

T.C.

DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA STREPTOZOTOSİN İLE  
OLUŞTURULAN DİYABET MODELİNDE  
GLP-1'İN ANKSİYETE BENZERİ DAVRANIŞ  
İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

GÜVEN GÜVENDİ

FİZYOLOJİ DOKTORA TEZİ

İZMİR-2019

TEZ KODU: DEU.HSI.PhD-2012970173

T.C.  
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA STREPTOZOTOSİN İLE  
OLUŞTURULAN DİYABET MODELİNDE  
GLP-1'İN ANKSİYETE BENZERİ DAVRANIŞ  
İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

FİZYOLOJİ DOKTORA TEZİ

GÜVEN GÜVENDİ

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Nazan UYSAL HARZADIN

Bu araştırma ÖYP ödeneğiyle desteklenmiştir.

TEZ KODU: DEU.HSI.PhD-2012970173

Dokuz Eylöl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı, Fizyoloji Doktora programı öğrencisi Güven Güvendi, “Sıçanlarda Streptozotosin İle Oluşturulan Diyabet Modelinde GLP-1’in Anksiyete Benzeri Davranış İle İlişkisinin Araştırılması” konulu doktora tezini 15.01.2019 tarihinde başarılı olarak tamamlamıştır.



**BAŞKAN**

Prof. Dr. Nazan UYSAL HARZADIN

Dokuz Eylöl Üniversitesi

Fizyoloji AD



**ÜYE**

Prof. Dr. Osman AÇIKGÖZ

Dokuz Eylöl Üniversitesi

Fizyoloji AD



**ÜYE**

Prof. Dr. Ahmet KOYU

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi

Fizyoloji AD



**ÜYE**

Prof. Dr. Eser ÖZ OYAR

İzmir Katip Çelebi Üniversitesi

Fizyoloji AD



**ÜYE**

Doç. Dr. Mehmet ATEŞ

Dokuz Eylöl Üniversitesi

Sağlık Hizmetleri MYO

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                   |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABLolar DİZİNİ.....                                                              | iv |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....                                                              | v  |
| KISALTMALAR .....                                                                 | vi |
| TEŞEKKÜR .....                                                                    | ix |
| ÖZET .....                                                                        | 1  |
| ABSTRACT .....                                                                    | 3  |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....                                                            | 5  |
| 2. GENEL BİLGİLER.....                                                            | 7  |
| 2.1. Glukagon Benzeri Peptid-1.....                                               | 7  |
| 2.1.1. Sentezi ve Salınımı .....                                                  | 8  |
| 2.1.2. Metabolizması .....                                                        | 9  |
| 2.1.3. Reseptörleri.....                                                          | 10 |
| 2.1.4. Periferik Etkileri .....                                                   | 11 |
| 2.1.5. Santral Etkileri.....                                                      | 16 |
| 2.2. Anksiyete .....                                                              | 19 |
| 2.2.1. Tanım ve genel bilgiler.....                                               | 19 |
| 2.2.2. Epidemiyoloji .....                                                        | 20 |
| 2.2.3. Stres yanıtı .....                                                         | 20 |
| 2.2.4. Sağlıklı stres yanıtının oluşturulması .....                               | 22 |
| 2.2.5. Anksiyete benzeri davranış gelişiminde görev alan beyin bölgeleri .....    | 26 |
| 2.2.6. Anksiyete benzeri davranış gelişiminde görev alan nörotransmitterler ..... | 27 |
| 2.3. Diabetes Mellitus .....                                                      | 29 |
| 2.3.1. Semptom ve komplikasyonlar .....                                           | 30 |
| 2.3.2. Diyabetin sınıflandırılması .....                                          | 31 |

|                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------|----|
| 2.3.3. Tip 2 DM tedavisi.....                               | 32 |
| 2.3.4. İnkretinlerin tedavi amaçlı kullanımı .....          | 33 |
| 2.3.5. DM ve anksiyete benzeri davranış ilişkisi.....       | 35 |
| 2.3.6. DM modeli – Streptozotosin ve DM .....               | 37 |
| 2.4. GLP-1 ve anksiyete benzeri davranış .....              | 37 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM.....                                     | 39 |
| 3.1. Araştırmanın Tipi.....                                 | 39 |
| 3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı .....                      | 39 |
| 3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi / Çalışma Grubu ..... | 39 |
| 3.4. Çalışma Materyali.....                                 | 39 |
| 3.4.1. Sitagliptin kullanımı .....                          | 40 |
| 3.5. Araştırmanın Değişkenleri .....                        | 40 |
| 3.6. Veri Toplama Araçları .....                            | 41 |
| 3.6.1. Anksiyete Benzeri Davranışın Değerlendirilmesi ..... | 41 |
| 3.6.2. Sakrifikasyon ve Doku Ayrımı.....                    | 43 |
| 3.6.3. Biyokimyasal İncelemeler .....                       | 44 |
| 3.6.4. Histolojik incelemeler .....                         | 49 |
| 3.7. Araştırma Planı ve Takvimi .....                       | 51 |
| 3.8. Verilerin Değerlendirilmesi .....                      | 52 |
| 3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları.....                       | 52 |
| 3.10. Etik Kurul Onayı.....                                 | 52 |
| 4. BULGULAR .....                                           | 53 |
| 4.1. İzlem Sonuçları .....                                  | 53 |
| 4.2. Davranış Deneylerinin Sonuçları.....                   | 54 |
| 4.2.1. Açık alan testi sonuçları .....                      | 54 |
| 4.2.2. Yükseltilmiş artı labirent deney sonuçları .....     | 56 |

|                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------|-----|
| 4.3. Biyokimyasal Analiz Sonuçları .....                     | 59  |
| 4.3.1. İleum GLP-1 düzeyleri .....                           | 59  |
| 4.3.2. İleum GLP-1R düzeyleri .....                          | 59  |
| 4.3.3. PFC GLP-1 düzeyleri .....                             | 60  |
| 4.3.4. PFC GLP-1R düzeyleri.....                             | 60  |
| 4.3.5. Plazma GLP-1 düzeyleri.....                           | 61  |
| 4.3.6. Plazma kortikosteron düzeyleri .....                  | 61  |
| 4.4. IHC Sonuçları .....                                     | 62  |
| 4.4.1. İleum GLP-1 düzeylerinin IHC değerlendirilmesi .....  | 62  |
| 4.4.2. İleum GLP-1R düzeylerinin IHC değerlendirilmesi ..... | 63  |
| 4.4.3. PFC GLP-1 düzeylerinin IHC değerlendirilmesi .....    | 64  |
| 4.4.4. PFC GLP-1R düzeylerinin IHC değerlendirilmesi.....    | 65  |
| 4.5. Korelasyon analizleri .....                             | 66  |
| 5. TARTIŞMA.....                                             | 67  |
| 6. SONUÇ VE ÖNERİLER .....                                   | 81  |
| 7. KAYNAKLAR.....                                            | 82  |
| 8. EKLER .....                                               | 126 |
| EK-1. Etik Kurul Onayı .....                                 | 126 |
| EK-2. Özgeçmiş.....                                          | 127 |

## TABLÖLAR DİZİNİ

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| Tablo 1. DM tanı kriterleri ..... | 32 |
|-----------------------------------|----|



## ŞEKİLLER DİZİNİ

|                                                                                                                         |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. Deney akış şeması .....                                                                                        | 40 |
| Şekil 2. Açık alan testi düzeneği .....                                                                                 | 42 |
| Şekil 3. YAL test düzeneği.....                                                                                         | 43 |
| Şekil 4. Grupların deney periyodu boyunca ağırlık değişimleri.....                                                      | 53 |
| Şekil 5. Gruplardaki net ağırlık değişimleri .....                                                                      | 54 |
| Şekil 6. Açık alan testinde kat edilen toplam mesafeler.....                                                            | 54 |
| Şekil 7. Açık alan testinde thigmotaksis süreleri.....                                                                  | 55 |
| Şekil 8. Açık alan testinde orta alanda geçirilen süreler.....                                                          | 55 |
| Şekil 9. Açık alan testindeki ortalama hızlar .....                                                                     | 56 |
| Şekil 10. YAL testinde açık kollarda geçirilen süreler.....                                                             | 56 |
| Şekil 11. YAL testinde kapalı kollarda geçirilen süreler.....                                                           | 57 |
| Şekil 12. YAL testinde orta alanda geçirilen süreler .....                                                              | 57 |
| Şekil 13. YAL testinde açık kollara giriş sayısı .....                                                                  | 58 |
| Şekil 14. YAL testinde kapalı kollara giriş sayısı .....                                                                | 58 |
| Şekil 15. İleum GLP-1 düzeyleri.....                                                                                    | 59 |
| Şekil 16. İleum GLP-1R düzeyleri .....                                                                                  | 59 |
| Şekil 17. PFC GLP-1 düzeyleri .....                                                                                     | 60 |
| Şekil 18. PFC GLP-1R düzeyleri .....                                                                                    | 60 |
| Şekil 19. Plazma GLP-1 düzeyleri .....                                                                                  | 61 |
| Şekil 20. Plazma kortikosteron düzeyleri .....                                                                          | 61 |
| Şekil 21. Gruplarda ileumda bulunan GLP-1'in IHC gösterimi.....                                                         | 62 |
| Şekil 22. İleum GLP-1 düzeylerinin IHC skorlaması.....                                                                  | 62 |
| Şekil 23. Gruplarda ileumda bulunan GLP-1R'nin IHC gösterimi .....                                                      | 63 |
| Şekil 24. İleum GLP-1R düzeylerinin IHC skorlaması.....                                                                 | 63 |
| Şekil 25. Gruplarda PFC'de bulunan GLP-1'in IHC gösterimi .....                                                         | 64 |
| Şekil 26. PFC GLP-1 düzeylerinin IHC skorlaması.....                                                                    | 64 |
| Şekil 27. Gruplarda PFC'de bulunan GLP-1R'nin IHC gösterimi.....                                                        | 65 |
| Şekil 28. PFC GLP-1R düzeylerinin IHC skorlaması .....                                                                  | 65 |
| Şekil 29. Prefrontal korteks GLP-1R düzeyleri ile YAL testinde açık kollarda geçirilen süre arasındaki korelasyon ..... | 66 |
| Şekil 30. PFC GLP-1R düzeyleri ile YAL testinde orta alanda geçirilen süre arasındaki korelasyon.....                   | 66 |



## KISALTMALAR

|        |                                            |
|--------|--------------------------------------------|
| 5-HT   | Serotonin                                  |
| ACTH   | Adrenokortikotropik hormon                 |
| ADP    | Adenin difosfat                            |
| AgRP   | Aguti ilişkili peptid                      |
| ALP    | Alkalen fosfataz                           |
| ALS    | Amyotrofik lateral skleroz                 |
| ANOVA  | Varyans analizi                            |
| AP     | Area postrema                              |
| ARC    | Arkuat nukleus                             |
| BCA    | Bikinkoninik asit                          |
| BDNF   | Beyin kaynaklı nörotropik faktör           |
| BNP    | Beyin natriüretik peptidi                  |
| cAMP   | Siklik adenzin monofosfat                  |
| CBG    | Kortikotropin bağlayıcı globulin           |
| CD26   | Cluster of differentiation-26              |
| CRH    | Kortikotropin salgılatıcı hormon           |
| CRHR   | Kortikotropin salgılatıcı hormon reseptörü |
| DM     | Diabetes mellitus                          |
| DNA    | Deoksiribonükleik asit                     |
| DPP-4  | Dipeptidil peptidaz-4                      |
| DPP-4i | Dipeptidil peptidaz-4 inhibitörü           |
| DR     | Dorsal raphe                               |

|           |                                                |
|-----------|------------------------------------------------|
| ELISA     | Enzyme-linked immunosorbent assay              |
| G6PDH     | Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz                   |
| GABA      | Gama amino bütirik asit                        |
| GIP       | Gastrik inhibitör polipeptid                   |
| GLP       | Glukagon benzeri peptid                        |
| GLP-1R    | Glukagon benzeri peptid-1 reseptörü            |
| GLP-1RA   | Glukagon benzeri peptid-1 reseptör agonisti    |
| GLP-1Rant | Glukagon benzeri peptid-1 reseptör antagonisti |
| GRPP      | Glisentini ilişkili pankreatik peptid          |
| HPA       | Hipotalamo pitüiter adrenal                    |
| HRP       | Horseradish peroxidase                         |
| IHC       | İmmünohisyokimya                               |
| IL        | İnterlökin                                     |
| IP        | Intervening peptide                            |
| LC        | Locus coeruleus                                |
| MPGF      | Büyük proglukagon parçası                      |
| mRNA      | Haberci ribonükleik asit                       |
| NAcc      | Nukleus akumbens                               |
| NAD       | Nikotinamid adenin dinükleotid                 |
| NE        | Norepinefrin                                   |
| NEP-24.11 | Nötral endopeptidaz 24.11                      |
| NO        | Nitrik oksit                                   |
| NPY       | Nöropeptid Y                                   |

|       |                                              |
|-------|----------------------------------------------|
| NTS   | Nukleus traktus solitarius                   |
| PBS   | Fosfat tamponlu tuz çözeltisi                |
| PC    | Prohormon konvertaz                          |
| PFC   | Prefrontal korteks                           |
| PKC   | Protein kinaz C                              |
| POMC  | Proopio melanokortin                         |
| Ppara | Peroksizom proliferatör-aktive reseptör alfa |
| PVN   | Paraventrikuler nukleus                      |
| PYY   | Peptid YY                                    |
| RNA   | Ribonükleik asit                             |
| SGLT  | Sodyum-glukoz taşıyıcısı                     |
| Skp2  | S-faz kinaz ilişkili protein-2               |
| SP-A  | Sürfaktan protein-A                          |
| SP-B  | Sürfaktan protein-B                          |
| SSS   | Santral sinir sistemi                        |
| STZ   | Streptozotosin                               |
| VO2   | Oksijen hacmi                                |
| WHO   | Dünya Sağlık Örgütü                          |
| YAL   | Yükseltilmiş artı labirent                   |

## TEŞEKKÜR

Uzun deneyler ve çalışmalar boyunca sabır ve anlayışla desteğini eksik etmeyen, doktora eğitimim ve tez çalışmamın her aşamasında çözüm odaklı yaklaşımıyla her zaman yanımda olan, davranış fizyolojisi alanında kendimi geliştirmemde yardımını esirgemeyen kıymetli danışmanım Prof. Dr. Nazan Uysal Harzadın'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez izleme komitesinde bulunan ve önerileriyle tezimin son halini almasında yardımcı olan Prof. Dr. Osman Açıkgöz ve Doç. Dr. Mehmet Ateş'e,

Eğitimim ve tez çalışmam boyunca bilgi ve donanımlarından yararlandığım başta Prof. Dr. Sevil Gönenç Arda, Prof. Dr. Cem Bediz, Prof. Dr. Osman Açıkgöz, Prof. Dr. Muammer Kayatekin, Prof. Dr. Müge Kiray ve Doç. Dr. İlkey Aksu olmak üzere tüm Dokuz Eylül Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Tez çalışmam sırasında ardı arkası kesilmeyen sorularıma yanıt veren, bilgileri ve deneyimleri ile beni destekleyen Doç. Dr. Mehmet Ateş ve Öğr. Gör. Dr. Servet Kızıldağ'a,

Sıçan sakrifikasyonunda yardımcı olan Prof. Dr. Amaç Kiray'a,

Tez çalışmamın her aşamasında bana destek olan ve yardımlarını esirgemeyen sevgili çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Aslı Karakılıç ve Uzm. Vet. Sevim Kandış'e,

Hayvan çalışmalarımnda ve deneylerimde bana sürekli desteğini sunan Ferhan Oral'a,

Doktora eğitimim sırasında ve tez yazımı boyunca bilimsel ve manevi desteğini eksik etmeyen eşim Uzm. Dr. Ece Güvendi'ye teşekkür ederim.

# SIÇANLARDA STREPTOZOTOSİN İLE OLUŞTURULAN DİYABET MODELİNDE GLP-1'İN ANKSİYETE BENZERİ DAVRANIŞ İLE İLİŞKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Güven GÜVENDİ, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji  
Anabilim Dalı, 35340, Inciraltı, İzmir

## ÖZET

**Giriş:** Glukagon-benzeri peptid-1 (GLP-1), çoğunlukla distal ileumdan salgılanan, glukozla uyarılan insülin sentezini artıran ve glukagon sekresyonunu düşüren bir inkretindir. GLP-1, plazmadaki dipeptidil-peptidaz 4 (DPP-4) enzimi tarafından inaktive edilmektedir. GLP-1'in anksiyete üzerine etkisi belirsizdir. Anksiyetenin diyabetik kişilerde daha sık görüldüğü iyi bilinmektedir.

**Amaç:** Bu çalışmanın amacı, diyabetik sıçanlarda GLP-1 ve anksiyete benzeri davranış ilişkisini araştırmaktır.

**Yöntem:** Çalışmada kullanılan dişi Wistar Albino cinsi sıçanlar dört gruba ayrılmıştır; (1) Sitagliptin (DPP-4 enzim inhibitörü), (2) Diyabet+sitagliptin, (3) Diyabet, (4) Kontrol. Diyabet oluşturmak amacı ile streptozotosin (intraperitoneal, tek doz, 40 mg/kg) verildi. Kırksekiz saat sonra kan glukoz düzeyi 250 mg/dl'den yüksek olan sıçanlar diyabetik olarak kabul edildi. Sitagliptin 21 gün boyunca 20mg/kg, oral yolla verildi. Deneklerin anksiyete seviyeleri açık alan ve yükseltilmiş artı labirent testleri ile değerlendirildi. Prefrontal korteks, ileum ve plazma GLP-1 ve GLP-1 reseptör seviyeleri ELISA ve immünohistolojik inceleme ile değerlendirildi.

**Bulgular:** Diyabetik olmayan sıçanlarda sitagliptin anksiyete düzeylerini artırmış, prefrontal kortekste GLP-1 ve GLP-1 reseptör düzeyleri ile plazma GLP-1 düzeylerini azaltmıştır ( $p < 0.05$ ). Ayrıca, anksiyete ile prefrontal kortekste GLP-1 reseptör düzeyleri arasında güçlü bir pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.63$ ,  $p < 0.01$ ). Diyabetik sıçanlar yükseltilmiş artı labirent testinde daha fazla anksiyete benzeri davranış sergilemiştir ( $p < 0.05$ ). Diyabetik sıçanlarda prefrontal kortekste GLP-1 reseptör düzeyleri azalmıştır ( $p < 0.05$ ). İleum GLP-1 ve GLP-1

reseptör düzeyleri ise diyabetik sıçanlarda düşük bulunmuştur ( $p < 0.05$ ). Diyabetiklerde sitagliptin anksiyete benzeri davranışı etkilememiş, prefrontal korteks ve ileum GLP-1 reseptör düzeylerini değiştirmemiş; ancak ileum GLP-1 düzeylerini azaltmıştır ( $p < 0.05$ ).

**Sonuç:** GLP-1'in sağlıklı sıçanlarda prefrontal korteks GLP-1 seviyesi ile korele olarak anksiyete benzeri davranışı artırdığı, diyabetik sıçanlarda ise prefrontal korteks GLP-1 seviyelerini ve anksiyete benzeri davranışı etkilemediği görülmüştür.

**Anahtar sözcükler:** GLP-1, anksiyete benzeri davranış, diyabet, sitagliptin



# INVESTIGATION OF THE RELATIONSHIP OF GLP-1 WITH ANXIETY-LIKE BEHAVIOUR IN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC RATS

Güven Güvendi, Dokuz Eylül University, Faculty of Medicine, Department of  
Physiology, 35340, İnciraltı, İzmir

## ABSTRACT

**Introduction:** Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) is an incretin that is secreted mostly in the terminal ileum and increases glucose-induced insulin synthesis while decreasing glucagon secretion. GLP-1 is inactivated by the dipeptidyl-peptidase 4 (DPP-4) enzyme in the plasma. The effect of GLP-1 on anxiety is unclear. It is well-known that anxiety is more common in diabetics.

**Aim:** The aim of this study was to investigate the relationship of GLP-1 with anxiety-like behavior in diabetic rats.

**Method:** Female Wistar Albino rats were divided into four groups; (1) Sitagliptin (DPP-4 enzyme inhibitor), (2) Diabetes+sitagliptin, (3) Diabetes, (4) Control. Diabetes was induced by streptozotocin (single 40mg/kg, intraperitoneally). After forty eight hours rats with blood glucose levels higher than 250mg/dL were considered as diabetic. Sitagliptin was given 20mg/kg orally for 21 days. Anxiety levels were evaluated with open field and elevated plus maze tests. GLP-1 and GLP-1 receptor levels in ileum, prefrontal cortex tissues and plasma were evaluated with ELISA and immunohistologic examination.

**Results:** In non-diabetic rats, sitagliptin increased anxiety levels, decreased plasma GLP-1 levels as well as both GLP-1 and GLP-1 receptor levels in prefrontal cortex ( $p<0.05$ ). Also, there was a strong positive correlation between anxiety and prefrontal cortex GLP-1 receptor levels ( $r=0.63$ ,  $p<0.01$ ). Diabetic rats exhibited greater anxiety-like behavior in the elevated plus maze test ( $p<0.05$ ). GLP-1 receptor levels in prefrontal cortex were decreased in diabetic rats ( $p<0.05$ ). Both GLP-1 and GLP-1 receptor levels in ileum were decreased in diabetic rats

( $p < 0.05$ ). Sitagliptin use in diabetics didn't affect anxiety-like behavior or change ileum and prefrontal cortex GLP-1 receptor levels; but decreased ileum GLP-1 levels ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** GLP-1 created anxiety-like behavior in healthy rats as correlated with the prefrontal cortex GLP-1 levels; but didn't affect prefrontal cortex GLP-1 levels or anxiety-like behaviour in diabetic rats.

**Key Words:** GLP-1, anxiety-like behaviour, diabetes, sitagliptin





## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

İnkretinler (glukagon benzeri peptid-1 (GLP-1) ve gastrik inhibitör polipeptid (GIP)), intestinal mukozada bulunan ve glukozla uyarılan insülin salınımını kuvvetlendiren hümorale faktörlerdir (1). İnkretinler oral glukoz alımı sonrası gerçekleşen insülin salınımının yaklaşık %60'ından sorumludur (2). GLP-1, glukagon ile amino asit benzerliği olan glukagon süperaillesinden bir hormondur (3). Besin alımını takiben özellikle distal ileumda bulunan enteroendokrin L hücreleri tarafından salgılanmaktadır (4). Salgılandıktan sonra gastrik boşalmayı yavaşlatmakta, glukoz ile tetiklenen insülin sentezini ve sekresyonunu artırmakta, glukagon sekresyonunu ve besin alımını azaltmakta, glukozun pankreas beta hücresine girmesi ile hücreden insülin salınmasına neden olmakta, glukozla dirençli olan pankreas beta hücrelerinin glukoz hassasiyetini artırmakta, beta hücrelerinde proliferasyonu ve rejenerasyonu uyarmakta, beta hücre apoptozunu engellemektedir (5). Plazmadaki yarı ömrü 1-2 dakikadır ve dipeptidil-peptidaz-4 (DPP-4) enzimi tarafından yıkılmaktadır (6).

Diyabetiklerde besin alımı sonrası gerçekleşen GLP-1 salınımı ile dolaşımdaki GLP-1'in yıkım hızının sağlıklı insanlardan farklı olmadığı gözlenmiştir, inkretin etkisinin reseptör düzeyindeki yanıt azalmasına bağlı olarak düşük görülmüştür (7). Bu etkiyi kuvvetlendirebilmek amacıyla GLP-1 reseptör agonistleri ve DPP-4 enzim inhibitörleri diyabet tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. Bu inkretinerjik ilaçların kullanımı ile diyabetiklerde kan glukoz düzeyleri normal seyretmekte, hastalık seyri de yavaşlamaktadır (8). Bu ilaçların diyabet tedavisinin yanısıra diyabete bağlı gelişen kardiyomiyopati, nöropati ve nefropati gibi komplikasyonlara karşı olumlu etkileri bulunduğu görülmüştür (9).

GLP-1 santral sinir sisteminde de sentezlenmektedir. Santral sinir sistemindeki sentez nukleus traktus solitariusta gerçekleşmektedir (10). Periferik GLP-1 kan beyin bariyerini geçmekte; santral sinir sisteminde direkt ya da vagal afferent nöronlar aracılığı ile de işlev görebilmektedir (11). Burada besin alımı ve iştah, davranış, bağırsak motilitesi ve kardiyovasküler fonksiyonları düzenleyici görevlerde yer almaktadır (3).

Anksiyete diyabetiklerde sık görülmektedir (12). GLP-1'in anksiyete benzeri davranış üzerine etkisi incelendiğinde çelişkili sonuçlar olduğu görülmektedir. Bazı kaynaklarda GLP-1'in anksiyolitik etkili olduğu belirtilirken, bazı kaynaklarda ise GLP-1'in anksiyete benzeri davranış gelişimine neden olduğu belirtilmektedir (13). GLP-1'in anksiyete benzeri davranış üzerine herhangi bir etkisinin bulunmadığını savunan yayınlar da mevcuttur (14).

Literatür incelendiğinde GLP-1 ile anksiyete benzeri davranış ilişkisinin net olarak ortaya konulamadığı görülmektedir. Bu çalışmanın amacı GLP-1'in anksiyete benzeri davranış ile ilişkisinin araştırılmasıdır. Bu amaç anksiyete benzeri davranışı olan ve olmayan deney gruplarında bir DPP-4 enzim inhibitörü olan sitagliptin kullanılmıştır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Glukagon Benzeri Peptid-1

Bağırsak mukozasının besin alımına yanıt olarak ürettiği bazı faktörlerin, endokrin pankreastan bazı maddelerin salınımını uyurabileceği ve böylece kan glukoz düzeylerinin düşebileceği kavramı ilk olarak 1900'lerin başlarında ortaya çıkmıştır. 1902'de Bayliss ve Starling, bağırsak mukozasının pankreasın ekzokrin sekresyonunu uyaran bir hormon içerdiğini öne sürmüştür (15).

İnkretin terimi ilk defa 1929 yılında Zunz ve La Barre tarafından kullanılmıştır. İnkretin, intestinal mukozada bulunan ve insülin salgılayan veya glukozla uyarılan insülin salınımını kuvvetlendiren hüморal bir faktör olarak tanımlanmıştır (16). İnce bağırsak mukozasından elde edilen inkretinin hipoglisemiye neden olduğu ve DM tedavisinde kullanılabileceği düşünülmüştür (17, 18). Glukozun vücuda alınma şekline bağlı olarak dolaşımdan uzaklaştırılma hızı değişebilmektedir; ağızdan alındıktan sonraki kandan uzaklaştırılma hızının, aynı miktardaki intravenöz uygulamaya göre daha fazla olduğu gösterilmiştir (19, 20). Yapılan çalışmalarda kan insülin düzeylerinin oral alımda intravenöz uygulamaya göre daha fazla yükseldiği gözlenmiştir (21, 22).

Bağırsakta üretilen peptiderjik sinyallerin besinlerin neden olduğu insülin yanıtını artırdığı etki “inkretin etkisi” olarak tanımlanmış (23), bağırsak ile Langerhans adacıkları arasındaki bu fonksiyonel ilişkiye de “inkretin aksı” ya da “enteroinsular aks” adı verilmiştir (24).

Tanımlanan ilk inkretin hormon domuz ince bağırsağından izole edilmiş, gastrik asit sekresyonunu inhibe etmesinden dolayı gastrik inhibitör polipeptid (GIP) olarak adlandırılmıştır (25). Sonrasında GIP'in inkretin etkisini tek başına oluşturamayacağı düşünülmüştür; ince bağırsak rezeksiyonu olan hastalarda yapılan bir çalışmada GIP düzeyleri benzer olmasına rağmen ileal segmentleri bırakılan hastalarda görülen inkretin etkisinin jejunal segmentleri bırakılan hastalara göre daha fazla olduğu gözlenmiş, distal ince bağırsakta bilinmeyen bir inkretin faktörünün bulunabileceği tartışılmıştır (26).

Proglukagon yapısı ilk defa 1983 yılında hamster pankreas adacıklarından izole edilen glukagon kodlayıcı mRNA nükleotid dizisi incelenerek ortaya çıkmıştır. Glukagondan başka

proglukagonun 91 amino asit içeren C-terminalinde iki adet glukagon benzeri dizi ile bu dizilerin etrafında olası kesim noktaları görülmüştür. Bu peptid yapıları glukagon benzerlikleri nedeniyle glukagon benzeri peptid (GLP)-1 ve GLP-2 adı verilmiştir (27). Sonrasında glukagon benzerlikleri nedeniyle insülinotropik aktivitelerine bakılmış, yalnızca GLP-1'in insülin sekresyonuna neden olabildiği bulunmuştur (2, 28).

### 2.1.1. Sentezi ve Salınımı

Dolaşımdaki GLP-1'in iki formu bulunmaktadır: GLP-1(7-36) amid ve GLP-1(7-37). Bu formlardan çoğunlukla GLP-1(7-36) olarak sentezlenmekte ve dolaşıma salınmaktadır. İnce ve kalın bağırsak boyunca enteroendokrin L hücreleri tarafından sentezlenen ve salgılanan GLP-1'in çoğunluğu ince bağırsağın distal kısmında üretilmektedir (29).

GLP-1, besin alımını takiben özellikle distal ileumda bulunan enteroendokrin L hücreleri tarafından salgılanmaktadır (30). Besinler bağırsağa ulaştığında GLP-1, GIP ile birlikte inkretin etki olarak da adlandırılan glukozun pankreas beta hücresine girmesi ile hücreden insülin salınmasına neden olmaktadır (29). Bu inkretin etkisi oral glukoz alımı sonrası gerçekleşen insülin salınımının %50-70'inden sorumludur (1). GLP-1 enteroendokrin L hücreleri tarafından salgılandıktan sonra gastrik boşalmayı yavaşlatmakta, glukoz ile tetiklenen insülin sentezini ve sekresyonunu artırmakta, glukagon sekresyonunu ve besin alımını azaltmaktadır (31, 32).

GLP-1, hem açlıkta hem de besin alımı arasında sürekli düşük düzeyde salgılanmaktadır (33). Açlık GLP-1 düzeyleri 5-10 pmol/L iken besin alımı sonrası dolaşımdaki bu düzey 2-3 katına çıkmaktadır (30). Dolaşımdaki GLP-1, birkaç dakika içerisinde dipeptidil peptidaz-4 (DPP-4) enzimi tarafından GLP-1(9-36)NH<sub>2</sub> ya da GLP-1(9-37)'ye yıkılmaktadır (34). GLP-1(9-36) sonrasında nötral endopeptidaz 24.11 (NEP-24.11) tarafından karboksi terminal peptidlere ve GLP-1(28-36)'ya yıkılmaktadır (35).

Bazal ve besinle uyarılan GLP-1 düzeylerinin gün içinde salgılanma ritimleri bulunmaktadır. Hem bazal hem de besinle uyarılmış GLP-1 düzeylerinin gün içinde sabaha göre daha düşük olduğu gözlenmektedir (36). Besinle uyarılan GLP-1 sekresyonunun kontrolünde muskarinik reseptörler görev almaktadır. M1 muskarinik reseptörleri bloke

edildiğinde yağlı besin alımı ile uyarılan GLP-1 sekresyonunun inhibe olduğu görülmüştür (37).

Proglukagon farklı dokularda farklı peptidler oluşturmak üzere prohormon konvertaz (PC) enzimleri yardımıyla post translasyonel modifikasyona uğramaktadır (29). Pankreas alfa hücrelerinde proglukagon genellikle PC2 tarafından yıkılmakta; glisentin ilişkili pankreatik peptidler (GRPP), glukagon, intervening peptide (IP)-1 ve büyük proglukagon parçası (MPGF) oluşturmaktadır. MPGF, sonrasında PC1/3 tarafından parçalanarak GLP-1 üretilmektedir (38). Beyinde ve bağırsakta GLP-1 proglukagonun PC1/3 tarafından yıkılmasıyla üretilmektedir. Bu yıkım sırasında ayrıca GRPP, oksintomodulin, IP-2 ve GLP-2 ortaya çıkmaktadır (38).

GLP-1, beslenme sonrası bifazik olarak salgılanmaktadır. Erken faz dakikalar içinde başlamakta ve 30-60 dakika sürmekte; ikinci faz ise besin alımından 1-3 saat sonra ortaya çıkmaktadır (39). Distal bağırsak bölgelerinde proksimale göre daha fazla L-hücresi bulunduğundan, erken faz GLP-1 artışının distaldeki L hücrelerinin indirekt uyarılarak gerçekleştiği düşünülmektedir (40). Hem metabolize olabilen hem de metabolize olmayan karbonhidratlar L-hücrelerinde GLP-1 sekresyonunu  $K_{ATP}$  kanallarını kapatıp sodyum-glukoz taşıyıcılarını (SGLT) aktive ederek uyarmaktadır (41).

GLP-1 üreten L hücrelerinde leptin reseptörleri eksprese edilmektedir (42). Leptin, L hücrelerinden GLP-1 salgılanmasını uyarmaktadır (43). Leptin direnci ilişkili obezite gelişiminde leptin direncinin yanısıra bazal ve glukozla uyarılmış GLP-1 sekresyonunda da azalma gözlenmiş, obez kişilerde görülen leptin direncinin azalmış GLP-1 düzeylerinden sorumlu olabileceği öne sürülmüştür (44).

### **2.1.2. Metabolizması**

GLP-1'in plazmadaki yarılanma ömrü yaklaşık 1-2 dakikadır ve dipeptidil-peptidaz-4 (DPP-4) enzimi tarafından yıkılmaktadır (45). CD26 olarak da bilinen DPP-4 ilk olarak 1966 yılında tanımlanmıştır (46). DPP-4, ikinci pozisyonunda alanin ya da prolin içeren proteinlerin N-terminusundan dipeptidleri ayırarak işlev gören bir serin proteaz ve ekzopeptidazdır (47). Bir tip 2 transmembran protein olan DPP-4, aynı zamanda hücre membranından ayrılarak dolaşıma katılmaktadır (48). DPP-4, membrana bağlı ve dolaşımda serbest olan olmak üzere proteolitik

aktivite gösteren iki forma sahiptir (49). Her iki form da enzimin katalitik aktivitesinden bağımsız biyolojik işlevlere sahiptir (47). DPP-4 pek çok hücrede eksprese edilmekte, DPP-4 gen transkripsiyonunu ve enzim aktivitesini belirleyen mekanizmalar ise tam olarak bilinmemektedir (50).

GLP-1'in yıkılmasına ek olarak DPP-4, T lenfositlerin kostimülasyonu ve proliferasyonunda da rol oynamaktadır (51). DPP-4 böbrek, akciğer, adrenal bezler, karaciğer, bağırsak, dalak, testis, pankreas ve santral sinir sistemi (SSS) gibi pek çok dokuyla birlikte lenfosit, makrofaj ve endotelial hücrelerin yüzeyinde eksprese edilmektedir (5). Özellikle endotelial hücre yüzeylerinde bulunan DPP-4, bağırsakta üretilen GLP-1'in yarısından fazlasının sistemik dolaşıma katılmadan önce portal dolaşım sırasında inaktive edilmesinden sorumludur (52).

Plazma GLP-1 düzeyi, DPP-4 aktivitesinin yanısıra renal eliminasyon ile de düzenlenmektedir (53, 54). Renal yetmezliği olan kişilerde plazma GLP-1 düzeylerinin sağlıklı kişilere göre yüksek seyrettiği bilinmektedir (55).

### **2.1.3. Reseptörleri**

SSS'deki GLP-1 reseptörleri (GLP-1R) amigdala, kaudat nukleus, putamen, globus pallidus, nukleus akumbens, hipokampus, subfornikal organ, interpedinküler nukleus, arkuat nukleus (ARC), paraventriküler nukleus (PVN), ventromedial hipotalamus, ventrolateral medulla, posterodorsal tegmental nukleus, area postrema (AP) ve nukleus traktus solitarius (NTS) beyin bölgelerinde görülmüştür (56, 57).

Periferik dokularda ise pankreas alfa, beta ve delta hücreleri ile asinar hücrelerde, vasküler düz kas hücrelerinde, sinoatrial nod miyositlerinde, duodenumdaki Brunner bezlerinde, bağırsak miyenterik plexusunda, vagal ve dorsal kök ganglionlarında, renal arteriol düz kaslarında, jukstaglomerüler hücrelerde, akciğer ve yağ dokusunda GLP-1R bulunmaktadır (58, 59).

#### **2.1.4. Periferik Etkileri**

##### **2.1.4.1. Pankreas**

GLP-1 pankreas beta hücrelerinde etkisini hücre membranındaki G proteini aracılı reseptörüne bağlanıp adenilat siklaz aktivasyonu ve siklik adenozin monofosfat (cAMP) artışı ile göstermektedir (33, 60). Görülen cAMP artışı ise yüksek glukoz düzeylerine bağlı olarak gerçekleşmektedir (61).

GLP-1'in pankreasa olan etkilerini belirleyebilmek amacıyla yapılan prelinik ve klinik çalışmaların çoğunlukla birbirini desteklemediği görülmektedir. Prelinik çalışmalarda GLP-1R aktivasyonunun insülin sekresyonunu artırıcı rolünün yanısıra pankreas beta hücre replikasyonunu artırıcı ve apoptozunu azaltıcı etkisi olduğu da gösterilmiştir (62, 63). Hiperglisemi (64), hiperlipidemi (65), inflamatuvar sitokin artışı (66) ve oksidatif stres (67) gibi apoptotik koşulların varlığında, GLP-1R aktivasyonunun pankreastaki beta hücrelerinin sağkalımına olumlu etkisi olduğu görülmüş; ancak bu etki klinik çalışmalarda görülememiştir (68, 69).

Yapılan hayvan çalışmalarında GLP-1R agonisti (GLP-1RA) veya DPP-4 inhibitörü (DPP-4i) kullanımı ile görülen beta hücre sayısının artışı, klinik araştırmalarda görülmemektedir (70). Hayvan deneylerinde genç hayvanlarda GLP-1RA veya DPP-4i kullanımı ile beta hücre sayısında bir artışın meydana geldiği, yaşlı hayvanlarda yapılan çalışmalarda ise beta hücre sayısının tedaviyle değişmediği görülmüştür (71). Azalan bu etkinin yaşla birlikte hücre siklusunda yer alan S-faz kinaz ilişkili protein-2 (Skp2) düzeyinde azalma ile açıklanabileceği belirtilmiştir (72). Ayrıca insan beta hücrelerinin rodent beta hücrelere göre GLP-1 gibi proliferatif etkilere daha dirençli olduğu ve beta hücre replikasyonunun daha az gerçekleştiği gösterilmiştir (73, 74).

Yapılan çalışmalarda GLP-1RA ya da DPP-4i kullanımı ile glukagon sekresyonunun azaldığı gösterilmiştir (75). Glukagon sekresyonundaki bu azalma ile alfa hücrelerinde hiperplazi geliştiğine dair insan çalışmaları bulunsa da (76), bu etki rodentlerde yapılan çalışmalarda gösterilememiştir (77). GLP-1RA ve DPP-4i kullanımının pankreasın duktal ve ekzokrin kısımlarına etkisi incelendiğinde de benzer sonuçlar ortaya çıkmaktadır. Rodentlerde

uzun süreli ve farklı ilaçlarla, farklı dozlarda GLP-1RA veya DPP-4i kullanımı ile duktal, asiner veya ekzokrin hiperplazi görülmemektedir (78, 79).

#### **2.1.4.2. Periferik sinir sistemi**

Yapılan çalışmalarda GLP-1'in periferik sinir sisteminde koruyucu etki gösterdiği görülmüştür. GLP-1RA'ların nöron gelişimini uyardığı, GLP-1R uyarımının nörotropik etkilere neden olduğu gözlenmiştir (80). Diyabetik sıçanlarda yapılan bir çalışmada GLP-1RA kullanımının sinir ileti hızının korunmasını olumlu etkilediği görülmüştür (81). Uzun süreli GLP-1 kullanımı ile diyabetik sıçanların dorsal kök ganglionlarında nöral gelişimin uyarıldığı, periferik sinirlerde ileti hızının tedavi almayan gruplara göre korunduğu görülmüştür (82).

#### **2.1.4.3. Sindirim sistemi**

GLP-1R uyarılması ile gastrik boşalma ve gastrik asit sekresyonu azalmaktadır (32). GLP-1 etkisiyle görülen gastrik boşalmanın yavaşlaması sonucu duodenuma besin geçişi yavaşlamakta, besin alımına sekonder gelişen kan glukoz düzeylerindeki artış azalmaktadır (83, 84). Bu etkiye ters olarak postprandial insülin düzeyleri artmaktadır (85, 86). İnsanlarda eritromisin kullanımı ile GLP-1 aracılı gastrik boşalma yavaşlamasının engellendiği, bunun sonucunda besine yanıt olarak gelişen insülin düzeyinin arttığı; ancak GLP-1'in kan glukoz düzeyini düşürücü etkisinin büyük oranda azaldığı görülmüştür (87). Bu da GLP-1'in gastrik boşalma üzerine olan etkisinin gösterdiği inkretin etkisinden daha önemli olabileceğini işaret etmektedir.

Midede paryetal hücrelerde GLP-1R bulunmaktadır (88). GLP-1'in paryetal hücrelerdeki reseptörlerini uyararak gastrik boşalma ve asit sekresyonunu inhibe ettiği düşünülmüş; ancak GLP-1 kullanımı sonrasında görülen gastrik boşalmada yavaşlama ve asit sekresyonunda azalma etkisinin vagal afferentlerin denervasyonu sonrasında ortadan kalktığı gözlenmiştir (89). GLP-1 kan-beyin bariyerini geçebilecek büyüklükte iken, albümine bağlı ve kan-beyin bariyerini geçemeyecek büyüklükte olan GLP-1RA'nın periferik uygulanmasının SSS'de motiliteyi düzenleyen nöronların aktivitesinin arttığı gözlenmiştir (90). Bu da GLP-1'in



gastrik boşalma ve asit sekresyonu üzerindeki etkisini vagus afferentleri aracılığıyla beyin sapı ve SSS'deki GLP-1R'leri uyarak gösteriyor olabileceğini desteklemektedir (5).

#### **2.1.4.4. Karaciğer**

Uzun süreli GLP-1R uyarımı ile hepatik yağlanma ve lipogeneze azalma, hepatik lipid oksidasyonu ve lipoprotein sekresyonunda artış görülmektedir (91, 92). Yapılan bazı çalışmalarda hepatositlerde GLP-1R haberci ribonükleik asit (mRNA)'sına rastlanırken (93), bazı çalışmalarda hepatositlerde GLP-1R mRNA'sı gözlenmemiştir (94). Bu nedenle GLP-1RA veya DPP-4i kullanımı ile hepatik yağlanma üzerine görülen olumlu etkilerin hepatositlerin direkt uyarılması ile ilişkili olduğu düşünülmemektedir.

#### **2.1.4.5. Böbrek**

Yapılan çalışmalarla böbrekte GLP-1R ve DPP-4'ün eksprese edildiği gösterilmiştir (95, 96). Histolojik incelemelerde böbrekte GLP-1R'lerin çoğunlukla proksimal tübülde olduğu gözlenmiştir (97).

GLP-1'in natriüretik ve diüretik etkileri bulunmaktadır (98). Sağlıklı insanlarda GLP-1 infüzyonunun üriner sodyum ekskresyonunu GFR'yi değiştirmeden doza bağlı bir şekilde artırdığı görülmüştür (99).

GLP-1RA'ların böbrekte inflamatuvar ve profibrotik süreçleri inhibe ederek endotelial fonksiyonları düzelttiği görülmüştür (100). Bu etkileri nedeniyle GLP-1RA'ların diyabetik nefropati gelişim hızını yavaşlattığı gösterilmiştir (101, 102).

#### **2.1.4.6. İskelet sistemi**

Yapılan çalışmalarda osteoblastlarda GLP-1R bulunduğu gözlenmiştir (103). GLP-1RA veya DPP-4i kullanımı ile kemik yoğunluğunda bir değişikliğin oluşmadığı görülmektedir (104, 105). Diyabetiklerde diğer antidiyabetik ilaçlara göre GLP-1RA kullanımının kırık oluşum

sıklığını değiştirmediği görülmüştür (106). Diyabetiklerde DPP-4i kullanımında ise diğer antidiyabetik ilaçlara göre kırık riskinde azalma görülmektedir (107, 108).

Araştırmalar incelendiğinde GLP-1RA veya DPP-4i kullanımının kemik yıkım göstergeleri üzerinde olumsuz bir etkisinin bulunmadığı görülmektedir. Uzun süreli GLP-1RA kullanan diyabetiklerde kemik yıkım göstergelerinden alkalen fosfataz (ALP) ve serum tip 1 kollajen C-terminal telopeptid düzeylerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (109).

#### **2.1.4.7. Akciğer**

İnsanlarda ve sıçanlarda yapılan çalışmalarda GLP-1R mRNA'larının trakeal submukozal bezlerde, pulmoner arter düz kas hücrelerinde ve tip 2 pnmositlerde bulunduğu gösterilmiş; GLP-1R uyarımı sonrasında müköz sekresyon ile sürfaktan sekresyonunda artış ve pulmoner arterde vazodilatasyon görülmüştür (110, 111). GLP-1RA kullanımı ile yalnızca sürfaktan sekresyonunun artmadığı, aynı zamanda sürfaktan protein-A ve B (SP-A ve SP-B) düzeylerinin de değişerek akciğerin fonksiyonel yapısının düzenlendiği saptanmıştır (112). Diyabetik sıçanlarda görülen SP-A ve SP-B düzeylerindeki düşüşün GLP-1RA kullanımı ile düzeldiği görülmüştür (113). GLP-1R uyarımının akciğer hasarı sonrasındaki doku onarımında dan önemli olduğu gösterilmiştir. Deneysel akciğer hasarı oluşturulan farelerde GLP-1RA kullanımı ile sağkalımın arttığı, akciğerde inflamasyonun azaldığı ve solunum fonksiyon testlerinde düzelme olduğu görülmüştür (114).

#### **2.1.4.8. İmmün sistem**

Kemik iliği, dalak, timus ve periferik lenf nodlarındaki immün hücrelerde GLP-1R bulunmaktadır (115). GLP-1R'nin uyarılması ile lenfositmrnn ya da proliferasyonunun etkilenmediği görülmüştür (115). GLP-1 düzeylerinin inflamasyon ile arttığı, artan GLP-1'in pek çok dokuda anti-inflamatuar etki gösterdiği görülmüştür (116, 117). Yapılan alışmalarda GLP-1'in doza bağımlı olarak lenfosit migrasyonunu azalttığı gösterilmiştir (118).

Bağırsaktaki immün sistem incelendiğinde intestinal intraepitelyal lenfositlerde GLP-1R bulunduğu gözlenmiş; bu hücrelerdeki GLP-1R'nin intestinal mukozanın inflamasyonunun

idaresinde görev aldığı gösterilmiştir (119). GLP-1R -/- hayvanlarda kontrol gruplarına göre daha yüksek düzeyde pro-inflamatuar genin eksprese olduğu, GLP-1 ++ hayvanlardan yapılan kemik iliği transplantasyonu sonrasında GLP-1RA kullanımı ile bu pro-inflamatuar durumun normale döndüğü bulunmuştur (119).

Pek çok yayında GLP-1RA'ların makrofajlarda endoplazmik retikulum stresi ile inflamasyonla ilişkili gen ve protein ekspresyonlarını azalttığı görülmüştür (120).

Yapılan insan çalışmalarında diyabetiklerde GLP-1RA kullanımının plazma insülin düzeylerini artırdığı, hemoglobin A1c (HbA1c) ve inflammatuar sitokin düzeylerini azalttığı gözlenmiştir (121, 122). Ancak GLP-1'in diyabetiklerde gösterdiği anti-inflamatuar etkisinin GLP-1R aktivasyonuna mı yoksa bu hastalarda GLP-1RA veya DPP-4i kullanımı ile glukoz düzeylerinin normal seviyelere gelmesine mi bağlı olarak görüldüğü henüz net olarak bilinmemektedir.

#### **2.1.4.9. Kardiyovasküler sistem**

GLP-1 kardiyak ve vasküler inflamasyonu hem direkt hem de indirekt yolla azaltmaktadır; vücut ağırlığında azalma ve kan glukozunun daha sıkı kontrol altında tutulmasıyla indirekt, GLP-1R bulunduran dokularda ise direkt anti-inflamatuar etki göstermektedir (123). Düşük dozlarda GLP-1RA kullanımı ile sıçanlarda ateroskleroz gelişiminin yavaşladığı görülmüştür (124). GLP-1'in bu etkiyi vasküler monosit adezyonunu azaltarak ya da damar içinde makrofaj birikimini engelleyerek oluşturduğuna dair kuvvetli bulgular vardır (125, 126). Bir GLP-1R antagonisti (GLP-1Rant) kullanıldığında GLP-1RA kullanımı ile görülen anti-aterojenik ve anti-inflamatuar etkilerin ortaya çıkmadığı görülmüştür (127).

GLP-1R, AP ve NTS gibi kardiyovasküler düzenlemenin yapıldığı santral bölgelerde de bulunmaktadır (5). Sıçanlarda intravenöz GLP-1RA uygulaması ile sistolik ve diyastolik kan basıncının arttığı, bu artışın katekolaminlerden bağımsız gerçekleştiği, santral veya periferik GLP-1Rant kullanımı ile bu etkinin ortadan kalktığı gösterilmiş; GLP-1RA'ların etkilerini hem santral hem de periferik mekanizmalarla gösterdiği bulunmuştur (128). Yapılan çalışmalarda GLP-1RA kullanımı ile santralde otonom merkezlerin aktive olduğu, sempatik preganglionik

nöronlara projeksiyon veren hipotalamik katekolaminerjik nöronların işlevinin arttığı ve adrenal medulladaki nöronların aktivitesinin yükseldiği gözlenmiş, santral GLP-1'in kardiyovasküler aktiviteyi düzenlerken sempatik sinir sistemini kullandığı düşünülmüştür (129). GLP-1R'nin kronik aktivasyonunda ise kan basıncında azalma, intestinal lipoprotein sekreyonunda azalma, inflamatuvar yanıtlarda zayıflama ve anti-aterojenik etkiler görülmektedir (130).

Otonom sinir sistemi kontrolünde AP'de bulunan GLP-1R'nin periferik GLP-1'in nöroendokrin ve otonomik etkilerine aracılık ettiği görülmektedir (131). Hayvan çalışmalarında kalp hızı ve kan basıncı üzerine etkileri görülen GLP-1RA'nın insanlarda bu parametreleri anlamlı düzeyde etkilemediği görülmektedir (132, 133).

Yapılan çalışmalarda GLP-1'in deneysel kardiyak hasar ya da kalp yetmezliği modellerinde kardiyoprotektif özellikler gösterdiği görülmüştür (134). İzole kalp preparatları kullanılarak yapılan çalışmalarda GLP-1'in kalp üzerine direkt koruyucu özelliklerinin bulunduğu gözlenmiştir (135). GLP-1R-/- farelerde septal miyokardiyal duvar kalınlığında artış ve anormal kardiyak kontraksiyonların geliştiği görülmüş, kardiyak gelişimde GLP-1R'nin önemli bir rolü olduğu düşünülmüştür (136).

### **2.1.5. Santral Etkileri**

#### **2.1.5.1. Nöroprotektif etkileri**

Yapılan çalışmalarda GLP-1R uyarımı ile nöroprotektif etkilerin oluştuğu, olasılıkla nöronlarda GLP-1 ile anti-apoptotik yolların uyarılarak bu etkilerin görüldüğü öne sürülmektedir (137). Bir GLP-1Rant olan exendin (5-39) infüzyonu yapılan sıçanlarda beta amiloid protein nedenli gelişen nörotoksisitenin azaldığı görülmüştür (138). Fare ve sıçan Alzheimer modellerinde yapılan çalışmalarda intrakranyal GLP-1 uygulaması ile bellekte uzun süreli potensiyasyonda (LTP) iyileşme, nöron ölümünde azalma, sinaptik plastisitede artma ve bellekte iyileşme gözlenmiştir (139, 140). Alzheimer hastalığı benzeri semptomlar oluşan APP/SP1 transgenik farelerde 8 hafta boyunca bir GLP-1RA olan liraglutid uygulaması ile bellekte ve davranış testlerinde olumlu değişikliklerin olduğu, sinaptik plastisitenin arttığı ve nöronal hasarın azaldığı gözlenmiştir (141). Huntington hastalığı genine (N17182Q) sahip

farelerde bir GLP-1RA olan exendin-4 kullanımı ile motor performansın geliştiği ve sağkalımın arttığı bulunmuştur (142). Fare Parkinson modellerinde yapılan çalışmalarda intraserebroventriküler GLP-1 analogu uygulamasının beyin dopamin düzeyini artırdığı, farelerin motor fonksiyonlarına koruyucu etki gösterdiği ve nöron ölümünü azalttığı gösterilmiştir (143, 144). Parkinson hastalığı modelinde GLP-1 ve exendin-4 kullanımının nöronal sağkalımı artırdığı, iskemi sonrası beyin hasarını azalttığı, dopamin düzeylerini normal düzeyde tutarak motor performansı geliştirdiği bulunmuş; bu etkilerin bir GLP-1Rant olan exendin (9-39) kullanımı ile ortadan kalktığı gözlenmiştir (145). Benzer bir Parkinson çalışmasında exendin-4 kullanımı ile SSS'de inflamasyon belirteçlerinin azaldığı ve dopaminerjik nöronların sağkalımının arttığı görülmüştür (146). Genetik amiotrofik lateral skleroz (ALS) modeli oluşturulmuş farelerde GLP-1 uygulamasının spinal kord yapısını koruyucu ve hayvanların motor nöron işlevlerini devam ettirici etkisi olduğu gösterilmiştir (147, 148). Orta serebral arter oklüzyonu yapılan sıçanlarda exendin-4 kullanımı ile infarkt alanının azaldığı gözlenmiştir (149). Bununla birlikte GLP-1'in nöroprotektif etkisini nasıl bir mekanizma ile gösterdiği henüz net olarak belirlenememiştir.

#### **2.1.5.2. Besin alımı ve iştah**

Periferik uygulanan GLP-1'in kan-beyin bariyerini aşarak SSS'ye geçebildiği gözlenmiştir (150). Floresan işaretli GLP-1RA ile yapılan çalışmalarda, işaretli GLP-1RA'nın SSS'ye geçişinde santral GLP-1R'lerin görev aldığı gözlenmiş, GLP-1R olmayan hayvanlarda periferik uygulanan GLP-1RA'nın SSS'ye geçmediği ve işaretli GLP-1RA'nın NTS'de görülmediği bildirilmiştir (151). Ancak santrale geçen GLP-1'in besin alımı ya da bağırsak motilitesini etkileme mekanizması tam olarak bilinmemektedir. İntravenöz uygulanan GLP-1 ya da GLP-1RA'nın santralde GLP-1R'ye bağlandığını ve besin alımını azalttığı görülmüştür (152). SSS'ye geçemeyen bir rekombinant GLP-1RA olan Albugon'un ve bir exendin-4-albumin konjugatı olan CJC1134'ün SSS'de GLP-1R'lerini etkileyerek besin alımını azalttığı ve GLP-1R eksprese eden hücrelerde GLP-1R bağımlı cAMP artışına neden olduğu gösterilmiştir (90, 153). Bu da periferik GLP-1R'lerin uyarılmasının tokluk ve bağırsak motilitesi ile ilgili olarak önemine işaret etmektedir. Yapılan çalışmalarla periferik GLP-1 uyarılarının santrale iletilmesinde vagusun rolü araştırılmıştır. Vagusun ana hepatik dalının

GLP-1'in neden olduğu besin alımı azalması ile ilişkili olmadığı; ancak subdiyafragmatik vagotominin besin alımı ve glukoz toleransı üzerindeki GLP-1 etkisini anlamlı bir şekilde azalttığı gözlenmiştir (154).

SSS'de GLP-1'in beyin sapı ile hipotalamus arasında tokluk sinyali taşıyan bir nörotransmitter işlevi gördüğü düşünülmektedir (3, 155). Periferik GLP-1RA kullanımı ile besin alımı azalmakta ve kilo kaybı gözlenmektedir (156). Periferik uygulanan GLP-1'in neden olduğu kilo kaybında ARC'deki GLP-1R'lerin etkili olduğu düşünülmektedir (151).

GLP-1RA kullanımı ile hem sağlıklı hem de obezlerde kilo kaybının geliştiğı bilinmektedir (157). GLP-1RA kullanımı ile görülen besin alımındaki azalmanın kullanılan GLP-1RA dozuna bağılı olarak değıştiğı belirtilmektedir (156). Ancak GLP-1R bulunmayan hayvanlarda yapılan çalışmalarda besin alımında artışın olmadığı ve obezitenin gelişmediğı gösterilmiş; buna bağılı olarak uzun dönem vücut ağırlığı kontrolünde GLP-1R'nin zorunlu olarak görev almadığı belirtilmiştir (158, 159).

GLP-1'in besin alımı ve kilo kaybı ile ilgili etkilerini sitokinler aracılığıyla gösteriyor olabileceğı düşünülmüş, yapılan bir çalışmada intraserebroventriküler exendin-4 uygulaması ile hipotalamusta interlökin (IL)-1 ve IL-6'nın arttığı gözlenmiştir. IL-1 ve IL-6 sinyalleri engellendiğinde ya da IL-1 ve IL-6 reseptörleri olmayan hayvanlar kullanıldığında ise exendin-4 kullanımı sonucunda uyarılan besin alımında azalma ve kilo kaybı ile ilgili etkilerin azaldığı belirtilmiştir (160).

Hayvanlarda yapılan çalışmalarda ghrelin uygulaması ile GLP-1'in neden olduğu besin alımında azalma etkisinin ortadan kaybolduğı görülmüştür (161). Santral ya da periferik exendin-4 uygulamasının ise plazma ghrelin düzeylerini azalttığı; ancak bu azalmanın GLP-1 kullanımı ile gerçekleşmediğı, exendin (9-39) kullanımı ile de inhibe olmadığı belirtilmiştir (162). Ayrıca insanlarda yapılan çalışmalarda GLP-1 kullanımı ile postprandial plazma ghrelin düzeylerinde düşüşün gözlenmediğı bildirilmiştir (163). Aynı çalışmada plazma ghrelin düzeyleri ile plazma insülin düzeyleri arasında ters bir ilişki görülmüş, GLP-1'in ghrelin üzerindeki etkisini insülin sekresyonu üzerinden indirekt olarak gösteriyor olabileceğı tartışılmıştır.

Literatürde, GLP-1R uyarımı ile gerçekleşen kilo kaybının enerji harcanımındaki artışa değil, iştahta azalmaya bağlı olarak gerçekleştiği görülmektedir. Dahası, GLP-1 kullanımı ile sağlıklı insanlarda dinlenim halindeki enerji tüketiminde azalma olduğu görülmüştür (164). Benzer sonuçlar diyabetik olmayan obez insanlarda da görülmektedir (165). Obez diyabetiklerde yapılan çalışmalarda da GLP-1RA kullanımı ile 24 saatlik enerji tüketiminde herhangi bir değişikliğin olmadığı gözlenmiştir (166).

## **2.2. Anksiyete**

### **2.2.1. Tanım ve genel bilgiler**

Anksiyete, bir bireyin potansiyel veya gerçek bir tehlikeyle başa çıkabilmesine yardımcı olan, hayatta kalabilmek için bireyin alarm mekanizmalarını harekete geçiren, şiddeti ayarlanabilen bir uyarılmışlık durumudur (12). Uygun seviyelerde, iç ya da dış tehditler için bir uyarı görevi görmektedir; bu da kişinin tetikte kalmasını ve bu gibi durumlarla başa çıkmaya hazırlanabilmesini sağlamaktadır (167). Anksiyetede görülen terleme, palpasyon, kan basıncında artış, sfinkter kontrolünde kayıp, gastrik ülser oluşumu gibi durumlar yüksek miktarda salgılanan epinefrin, norepinefrin (NE) ve kortizolden kaynaklanmaktadır (168).

Anksiyete ve performans arasındaki ilişki Yerkes ve Dodson tarafından ters U şeklinde bir eğri ile tarif edilmiştir (169). Yerkes-Dodson yasasına göre anksiyete, farklı görevlerin yerine getirilebilmesi için uygun bir seviyeye sahip olmalıdır; bu düzeyin üstünde veya altında olması performansı olumsuz etkilemektedir. Yapılacak işin zorluk düzeyi, performansı en yükseğe çıkarmak için gerekli olan optimal anksiyete seviyesini etkilemektedir. Daha zor işlerde, basit işlere göre daha düşük anksiyete seviyeleri gerekmektedir. İşin zorluğu ne olursa olsun, çok yüksek anksiyete seviyeleri performansı düşürmektedir (170).

Anksiyete kişinin günlük yaşam aktivitelerini engelleyecek, toplumsal izolasyona ve işyerinde sorun yaşamasına neden olacak kadar uzun sürüyorsa veya şiddetli ise patolojik olarak tanımlanmaktadır. Bu gibi durumlarda anksiyete, anksiyete bozukluğu olarak tanımlanan patolojik yanıtın bir parçası olarak nitelendirilmektedir (171). Anksiyete bozukluğu gerçek bir tehdit olmaksızın aşırı korku ve kaygı içinde bulunma, yorgunluk, uyku sorunları, konsantrasyon güçlüğü, irritabilite ve agresiflik ile karakterizedir (172). Anksiyete

bozukluklarının yaygın belirtileri içinde kognitif bozukluk, derin ve uzun düşünme periyodları ve konsantrasyon gücü bulunmamaktadır (173). Tüm psikiyatrik bozukluklar gibi anksiyete bozuklukları genetik, epigenetik, çevresel sebepler veya tetikleyicilerle birlikte karmaşık bir yapı oluşturmaktadır (174, 175). Anksiyete bozuklukları, depresyona yüksek oranda eşlik etmekte ve bireylerin yaşam kalitesinde genel bir düşüşe neden olabilecek çeşitli sağlık sorunları ile ilişkilendirilmektedir (176). Buna ek olarak, anksiyete bozuklukları bireylerin iş performansını bozduğu için ekonomiye büyük bir yük oluşturmaktadır (177). Bu nedenle anksiyete bozuklukları kişisel, toplumsal ve finansal olarak yüksek maliyete sahiptir.

### **2.2.2. Epidemiyoloji**

Anksiyete bozukluğu, dünya genelindeki %7,3 prevalansı ile oldukça yaygın görülen bir bozukluktur (178). Genel anksiyete bozukluğu kadınlarda daha sık görülmektedir (168). Gelişmiş ülkelerde yaşayan insanların yaklaşık yarısı hayatları boyunca zihinsel sağlık sorunlarıyla karşılaşmaktadır; bu sorunların içinde en yaygın olanı da anksiyete bozukluğudur (179). Anksiyete bozukluklarının yaşam boyu nüfusun yaklaşık %30'unda görüldüğü belirtilmektedir (180). Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre, anksiyolitikler üzerine yapılan harcama dünya genelinde 100,000 kişi başına ortalama 94.880 USD; daha zengin ülkelerde ise 100.000 kişi başına 315.560 USD'dir (181). Yine WHO verilerine göre birinci basamak sağlık hizmetinde tıbbi müdahalenin en yaygın nedenidir (182).

### **2.2.3. Stres yanıtı**

Stres yanıtı, homeostaza karşı gerçek veya algılanan bir tehdide yanıt olarak ortaya çıkan biyolojik bir olay kaskadıdır. Organizmanın hayatta kalmasını sağlamak için pek çok fizyolojik sistemin koordine edilmesini gerektirmektedir. Stresörlere karşı otonom ve nöroendokrin yanıtlar aynı anda oluşturulmaktadır. Otonom stres yanıtı, hipotalamik preotonomik kontrol merkezlerinden kaynaklanan sempatik motor ve hormonal yapıların uyarılmasını içermektedir; bu da beyindeki ve dolaşımdaki katekolaminlerin salınımına neden olmaktadır. Nöroendokrin stres yanıtı, birden fazla organ sistemini hedefleyen, dolaşımdaki kortikosteroidlerde bir artış ile sonuçlanan HPA aksının aktivasyonu ile oluşturulmaktadır (183).



İç ya da dış stresörlerle karşılaşıldığında bu durumlarla başa çıkabilmek için adrenal korteksten insanlarda kortizol, kemirgenlerde kortikosteron salgınmaktadır (184). Stres kaynağı ile karşılaştıktan 2-3 dakika sonra glukokortikoid düzeyleri hızlıca yükselmekte, stresin sonlandırılmasından 1-2 saat sonrasında ise normal düzeylerine geri dönmektedir (185). Kortizolün stres yanıtının oluşturulmasında önemli bir rolü bulunmaktadır. Anksiyete benzeri davranışları, uyanıklığı ve koşullandırılmış korku yanıtlarının ortaya çıkmasını desteklemek için amigdalayı aktive etmektedir (186). Kardiyak kontraktileti ve noradrenerjik beta reseptörlerinin duyarlılığını artırmaktadır (187). Artması muhtemel olan enerji ihtiyacını karşılayabilmek için musküler ve hepatik glikojenolizi uyarmakta, dolaşımdaki glukoz düzeylerini korumak amacıyla da periferik insülin direnci ile glukoneogenezi artırmaktadır (188, 189).

Yüksek plazma glukokortikoid düzeyleri çoğunlukla stresin göstergesi olarak kabul edilmektedir; artan adrenokortikal aktivite strese karşı gerçekleşen fizyolojik bir yanıttır (190). Anksiyete bozukluklarında serum ve tükürük kortizol düzeylerinin sağlıklı insanlara göre yüksek olduğu görülmektedir (191). Yapılan bir çalışmada diyabetiklerde plazma glukokortikoid düzeylerinde bir artış görülmemesine rağmen doku glukokortikoid düzeylerinin yüksek olduğu görülmüş; yüksek glukokortikoid düzeylerine hiperinsülineminin eşlik ettiği görülmüş; glukokortikoid düzeylerinde görülen bu artışın periferik insülin direncinde önemli bir rol oynadığı düşünülmüştür (192). Bununla beraber diyabetiklerde HPA aks aktivitesinde görülen artışın hiperinsülinemiye karşı gelişen fizyolojik bir yanıt olabileceği de tartışılmaktadır (193).

Kronik stres maruziyeti (194) ve kortikosteron yüksekliği (195) kortikosteron bağlayıcı globulin (CBG) düzeylerini azaltmaktadır. Normal koşullarda plazma kortikosteronunun %90-95'i CBG'ye bağlı ve inaktif durumda bulunmaktadır; CBG'nin azalması ile serbest ve aktif kortikosteron düzeyleri önemli derecede artmaktadır (196). Dahası, bazal kortikosteron düzeylerinde hafif bir artış ve CBG düzeylerinde hafif bir azalmanın birlikte görülmesi halinde serbest kortikosteron düzeyleri büyük ölçüde artmakta ve doku düzeyinde önemli etkilere neden olmaktadır (197) (Tablo 1). Kronik stres maruziyeti ile yükselen kortikosteron düzeyleri kortikosteron reseptörlerinin ekspresyonunu düşürmekte, bu şekilde HPA aksının negatif

geribildirim mekanizmasını da azaltmaktadır (198). Azalan negatif geribildirim nedeniyle bazal kortikosteron düzeyleri daha da artmaktadır (199).

#### **2.2.4. Sağlıklı stres yanıtının oluşturulması**

Sağlıklı stres yanıtının 4 ayağı bulunmaktadır:

1. Davranış yanıtlarının düzenlenmesi
  - a. Orta düzeyde bir anksiyete durumu oluşturmak
  - b. Dikkat ve kognisyon kayması
  - c. Disfori
  - d. Azalmış keyif ve ödül sistemi
2. Metabolik yanıtların düzenlenmesi
  - a. HPA aks aktivasyonu
  - b. Locus coeruleus (LC) – NE ve sempatik sinir sistemi aktivasyonu
  - c. Monoaminler
  - d. Glutamat sistemi
  - e. İnflamasyon, insülin direnci ve protrombotik durum
3. Strese karşı verilen yanıt sırasında nöronal bütünlüğün korunması
  - a. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF)
  - b. Nöroplastisite
  - c. Nöroenez
  - d. Endoplazmik retikulum stres yanıtı
  - e. Epigenetik uyum
4. Stres yanıtının uygun bir şekilde sürdürülmesi

##### *1. Strese karşı davranış yanıtlarının düzenlenmesi*

###### *A. Orta düzeyde bir anksiyete durumu oluşturmak*

Prefrontal korteks (PFC), amigdalayı baskılayarak anksiyete benzeri davranışların ortaya çıkmasını engellemektedir. Psikolojik stresörler PFC'nin işlevini kısıtlayarak amigdala aktivasyonuna ve stres yanıtının oluşmasına neden olmaktadır (200).

Anksiyete sırasında PFC inhibe olmakta ve inhibisyonu ortadan kaldıran amigdala anksiyete benzeri davranışların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (201). Fiziksel bir stresör ile karşılaşıldığında duyularla gelen bilgiler önce amigdalayı aktifleştirmekte, aktifleşen amigdala sonrasında PFC'yi inhibe etmektedir (202). Bu, pozitif bir döngünün gelişmesine neden olmaktadır. PFC inhibe olduğunda amigdalada aktive olmakta, aktive olan amigdala PFC'yi daha fazla inhibe etmekte, inhibe edilen PFC amigdalanın daha da aktive olmasına neden olmaktadır (203). Bu döngü kırılmadığı takdirde kişide kronik anksiyete ve depresyon ortaya çıkabilmektedir (189).

Amigdala stres yanıtı sırasında hipotalamo-pitüiter adrenokortikal (HPA) aksı, LC-NE sistemi ve sempatik sinir sisteminin uyarılmasında önemli bir role sahiptir; ayrıca PFC'nin subgenual ve dorsolateral bölgelerine ek olarak pek çok limbik, striatal, hipotalamik, otonom bölgeleri ve beyin sapını da etkilemektedir (189). HPA aks aktivitesi hipokampustaki tip 2 glukokortikoid reseptörünün uyarılması ile inhibe olmakta; bu geribildirim mekanizması ise akut stres sırasında düzgün çalışmamaktadır (204). Bu şekilde stres yanıtının stresör maruziyeti boyunca sürdürülebilmesi sağlanmaktadır.

#### *B. Dikkat ve kognisyon kayması*

Stres yanıtı sırasında kişinin dikkati önemsiz olaylardan tehdit edici olaylara doğru kaymaktadır. Stres kaynağı uzaklaşana kadar dikkatin tehdit edici etmenden başka yönlere kayması engellenmektedir. Bu da ventrolateral PFC aktivitesinin azalması ile sağlanmaktadır (205).

Stres sırasında düzeyleri artan kortizol ve NE duygusal olayların hatırlanmasında ve belleğin kuvvetlendirilmesinde görev almaktadır (206). Kortizol, hipokampusta önceden karşılaşılan olumsuz olay belleğine erişimi kolaylaştırırken tanımlayıcı belleğe erişimi zorlaştırmaktadır (207). Canlının karşılaştığı emosyonel olaylar daha iyi hatırlanmakta, üzerinden uzun bir süre geçse bile benzer bir stresörle karşılaşıldığında bu deneyimlere karşı oluşturulan yanıtlar bilinçsiz bir şekilde yeniden ortaya çıkmaktadır (208). Dorsolateral PFC'nin inhibisyonu çalışma belleğini olumsuz etkilemekte, bu sayede karşılaşılan tehdiye karşı kullanılmak üzere amigdalada kaydedilen emosyonel olay belleğine daha kolay erişilebilmektedir (209).

### *C. Disfori*

Subgenuel PFC disforik duyguların düzenlendiği önemli bir alandır (210). PFC aynı zamanda kişinin kendini değerlendirmesinde önemli rol oynamaktadır (211). Stresle karşılaşıldığında uygun miktarda salgılanan kortizol, nukleus akumbens aktivitesini orta düzeyde azaltmakta; bu şekilde sağlıklı bir stres yanıtı verebilmek için kişinin morali yeterince korunabilmektedir (212).

### *D. Azalmış keyif ve ödül sistemi*

Nukleus akumbens keyif ve ödül sisteminde önemli bir role sahiptir (213). Stres sırasında nukleus akumbens aktivitesinin azalması ile stres sırasında canlının keyif alma kapasitesi azalmaktadır (212).

## *2. Strese karşı metabolik yanıtların düzenlenmesi*

### *A. Stres yanıtında HPA aksının aktivasyonu*

Normal koşullarda subgenuel PFC, HPA aksı ve sempatik sinir sistemini inhibe etmektedir (214). Stres sırasında orta derecede inhibe edilen subgenuel PFC, bu inhibisyonun ortadan kalkmasına neden olmakta, CRH uyarımı ile ACTH salınımı artmakta, adrenal korteks ve medulladan kortizol ve NE salgılanmaktadır. Stres sırasında aktive olan amigdala da HPA aksı ve sempatik sinir sistemini aktive etmektedir (215).

CRH'nin normal stres yanıtı sırasında birçok ek işlevi bulunmaktadır. CRH amigdala, hipotalamus ve sempatik sinir uçlarında bulunmakta, salgılandıktan sonra anksiyete benzeri davranışların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (216). LC'yi aktive ederek stres yanıtında görev alan diğer dokuların uyarılabilirliğini artırmaktadır (217). NE ve epinefrin salgılanması için sempatomedüller sistemi aktive etmektedir (218).

### *B. LC ve sempatik sinir sisteminin aktivasyonu*

LC, strese karşı yanıtta görev alan nöronların birbirleriyle olan iletişimlerini düzenlemektedir (217). NE stres sırasında amigdalayı direkt aktive ederken subgenuel PFC'yi inhibe etmektedir (215). Noradrenerjik sistem ve sempatik sinir sisteminin HPA aksı, amigdala ve PFC üzerine pozitif geribildirim etkisi bulunmaktadır (189).

### *C. Monoaminler*

Stres sırasında dopaminerjik aktivite orta derecede azalmaktadır (219). Serotonin (5-HT) normalde subgenual PFC aktivitesini azaltmakta, postsinaptik 5-HT-la reseptörlerinin yeterince uyarılamaması ise subgenual PFC aktivitesini artırmaktadır (220).

### *D. Glutamat sistemi*

Glutamat, stres yanıtında görev alan nöronların uyarılabilirliğini artırmaktadır. Normalde stres yanıtı sırasında nöroplastisiteyi desteklemekte, aşırı arttığı durumlarda ise hücreyi ölüme götüren ekzotoksisteye neden olmaktadır (221). Akut stres sırasında glutamat salınımı artmakta, kronik stres durumunda yüksek glutamat düzeyleri devam etmekte; bunun sonucunda nöronal hasar ortaya çıkmaktadır (222).

### *E. Stres yanıtı sırasında inflamasyon, insülin direnci ve protrombotik durum*

Stres karşısında insülin direnci (223), orta düzeyde inflamasyon (224) ve protrombotik bir durum (223) gelişmekte, karşılaşılabilecek yaralanmalara karşı hazırlıklı olmak için uygun koşulların oluşması sağlanmaktadır.

## *3. Strese karşı verilen yanıt sırasında nöronal bütünlüğün korunması*

### *A. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF)*

BDNF SSS'de nörogenez, nöral kök hücrelerinin farklılaşması, dendrit dallanması, akson gelişimi ve yeni oluşan sinaptik bağlantıların düzenlenmesi gibi olaylarda görev almaktadır (225). Ayrıca normal stres yanıtının oluşumu ve sürdürülmesinde önemli bir yere sahiptir (226). Orta düzeyde stresle karşılaşıldığında BDNF düzeyleri artmakta, stres düzeyi arttığında ya da stres durumu uzadığında ise azalmaktadır (227). Bu nedenle uzamış stres maruziyetinde BDNF aracılı yürütülen işlevlerde aksamalar meydana gelmektedir (228).

### *B. Nöroplastisite*

Orta düzeyde stresle karşılaşıldığında sinaptik bağlantılar artmakta ve nöronlar arası yeni bağlantılar ortaya çıkmaktadır. Bu şekilde gelecekte benzer bir stresörle karşılaşıldığında verilen yanıtların daha kolay ve verimli oluşturulabilmesi sağlanmaktadır (229).

#### *4. Stres yanıtının uygun bir şekilde sürdürülmesi*

Stres yanıtının sürdürülmesinde pek çok mekanizma görev almaktadır. Keyifli davranışların dikkat dağıtıcı özelliklerinin azaltılması ve stres kaynağına karşı dikkatin artırılması stres yanıtının önemli parçalarından biridir (212). Stres sırasında uyku, yeme, cinsel aktivite gibi duygulara eğilim daha azdır (230). Normal bir stres yanıtında dorsolateral PFC aktivitesinin azalması sayesinde duygudurum genellikle sabit tutulmaktadır (206).

Normal koşullarda PFC geniş bağlantıları ile beyinde davranış, düşünce ve emosyonel durumu etkin bir şekilde düzenlemekte; stresle karşılaşıldığında ise beyin daha çabuk ve emosyonel yanıtlar üreten amigdala ve ilişkili limbik sistem bölgelerinin etkisine girmektedir (209).

##### **2.2.5. Anksiyete benzeri davranış gelişiminde görev alan beyin bölgeleri**

Anksiyete davranışının gelişiminde pek çok beyin bölgesi görev almaktadır; ancak hipokampus, PFC ve amigdala diğer beyin bölgelerine göre daha önemli rol oynamaktadır (231). Yapılan çalışmalarda bu bölgelerin strese karşı yanıtların düzenlenmesinde görev aldığı görülmüştür (232, 233). Hipokampus, PFC ve amigdala strese karşı verilen yanıtta HPA aksının yanıtını düzenlemektedir (234). Stres sırasında glukokortikoidler gibi nöroendokrin hormonlar ile CRH gibi nöropeptitlerin düzeylerinin artması, amigdalada bulunan stres yollarının uyarılabilirliğini artırmaktadır (235).

Dış çevre ile ilgili duyuusal bilgiler, talamus ve primer duyu korteks merkezleri tarafından işlenmekte ve kortikotalamik afferentler aracılığıyla amigdalaya iletilmektedir (236). Bilinç dışı tehdit algılanımının meydana geldiği ve önceki deneyimlerle karşılaştırmaların yapıldığı amigdala çekirdeklerine duyuusal bilgiler medial PFC ve hipokampus ile birlikte değerlendirilerek iletilmektedir (237, 238). Bazolateral amigdalada bulunan piramidal nöronlarının aktivasyonu anksiyete davranışlarının gelişimine katkıda bulunmakta (234), medial PFC ve hipokampustan gelen uyarılar ise amigdala yanıtını inhibe etmektedir (239). PFC'nin özellikle lateral ve medial bölgelerinin, amigdala ve ilişkili limbik yapıların aktivitesini kontrol ederek strese karşı oluşan yanıtı kontrol edip düzenlediği görülmektedir (240, 241). Bu yapıların herhangi birinin hasarlanması genellikle stres yanıtının sona

erdirilememesine ve strese karşı kuvvetlendirilmiş yanıtların oluşmasına neden olmaktadır (242). Beyin görüntüleme çalışmaları anksiyete bozukluklarının medial PFC ve amigdala meydana gelen çeşitli anormalliklerle ilişkili olduğunu ortaya koymuştur (235). Patolojik anksiyetenin, PFC ile amigdala arasındaki dengenin bozulmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (243). İnsanlarda hipokampus, PFC ve amigdala arasındaki bağlantılarda sorun yaşanması ve amigdalanın aşırı aktivitesi ile anksiyete düzeylerinde artış ve strese karşı artmış hassasiyetle karşılaşılmaktadır (244).

Uzun süreli stres maruziyeti ile hipokampus, PFC ve amigdala nöromorfolojik değişiklikler meydana gelmektedir (245). HPA aksı, uzamış stres durumunda anormal yanıtlar oluşturmaktadır (232). Kortizol ve NE amigdala duyarlılığını artırmakta, stres maruziyeti sonrasında anksiyete benzeri davranışların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (246). Amigdalanın tekrarlayıcı bir şekilde uyarılması, stres yaratan uyarana karşı uyarılabilirliği artan bağlantılarda kalıcı değişikliklerin gelişmesine neden olmakta; strese bağlı gelişen yanıtlar sonunda uyarandan bağımsız hale gelmektedir (12). Böylece çevrede tehdit unsurlarını algılayan ve değerlendiren mekanizmaların kontrolü bozulmaktadır. Amigdalanın uyarılabilirliği korkulu uyaranlarla karşılaşıldığında artmakta; bu artış, anksiyete bozukluklarında görülen spesifik ve non-spesifik semptomlarının oluşmasına katkıda bulunmaktadır (sıçanda donma, kalp hızında artış, irkilme, tedirginlik, hipoaljezi, defekasyon, işeme; insanda abartılı irkilme refleksi, endişe, kalp hızında artış, hissizleşme, diyare, işeme, aşırı tedirginlik gibi) (247). Anksiyolitik verilen hayvanlar strese maruz bırakıldığında bu hayvanlarda amigdalanın önceki stres maruziyetlerine göre daha az aktive olduğu görülmüştür (12). Stres yollarının kronik bir şekilde uyarılması, inhibitör etkili uyarıların etkisiz kalmasına neden olmaktadır; sürekli ve kontrol edilemeyen anksiyöz durum kişinin enerjisini tüketmekte, psikolojik ve biyolojik olarak olumsuz sonuçlar doğurmaktadır (248).

#### **2.2.6. Anksiyete benzeri davranış gelişiminde görev alan nörotransmitterler**

Anksiyete yanıtının oluşumunda çeşitli nörotransmitter ve nöropeptitler görev almaktadır; bu maddeler stres sırasında salınmakta, kronik stres varlığında ise bu sistemlerin işlevinde kalıcı değişiklikler meydana gelmektedir (249, 250). Tehdide ve şiddetli strese karşı gelişen nörobiyolojik yanıtlar duruma uygun bir şekilde uyarlanabilmekte ve organizmayı

hayatta tutabilmek için önemli bir değer taşımaktadır; ancak kronik olarak etkinleştirildiklerinde uygunsuz sonuçlar doğurabilmektedirler (251). Anksiyete ile ilişkili davranışların düzenlenmesinde rol oynayan nöropeptidler arasında kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) önemli bir rol oynamaktadır. Strese karşı otonom, nöroendokrin ve davranışsal açıdan önemli rol oynayan CRH, güçlü bir anksiyojenik nöropeptiddir (252). CRH içeren nöronlar esas olarak PVN'nin parvoselüler alt bölümünden kaynaklanmaktadır (253). HPA aksının düzenlenmesinde nöroendokrin rolü olan CRH nöronları aynı zamanda vazopressin (AVP) üretmekte ve hipofizdeki portal dolaşım sistemine adrenokortikotropin (ACTH) sekretagoları salgılamak için median eminense son bulmaktadır (252). ACTH de adrenal korteksten glukokortikoid salınımını uyarmaktadır (254).

Beyinde iki çeşit CRH reseptörü tanımlanmıştır: CRHR-1 ve CRHR-2 (255). CRH'nin anksiyojenik etkileri çoğunlukla CRHR-1 aracılı olarak ortaya çıkmakta, CRHR-2 ise stresle başa çıkmada rol oynamaktadır (256). CRH gen ekspresyonunun artması, strese karşı abartılı HPA aksı yanıtının oluşmasına ve anksiyete ile ilişkili davranışların artışına neden olmaktadır (251).

Homeostaza karşı herhangi bir tehdidin olması durumunda plazma glukokortikoid düzeyleri yükselmektedir. Glukokortikoid düzeylerinin organizmanın strese karşı direncini kuvvetlendirme amacıyla arttığı kabul edilmektedir (257). Yapılan araştırmalar, glukokortikoidlerin insülin sekresyonunu inhibe ettiğini, glukagon salınımını ise artırdığını göstermektedir (258). Ayrıca glukokortikoidler karaciğer hücrelerinde glukoneogenezisi stimüle ederek kan glukozunu düzeylerini artırmaktadır (259). Anksiyete bozukluğu olanlarda sağlıklı bireylere göre daha yüksek bazal kortizol düzeyleri bulunmakta, bu da vücutta olumsuz etkilere neden olmaktadır (260). Stres ile artan kortizol düzeylerinin, kronik dönemde hipokampus üzerine negatif etki ederek kognitif performansı azalttığı görülmektedir (261). Anksiyete bozukluğu tedavisi ile görülen kortizol düzeylerindeki azalma, bellekteki gelişmenin göstergesi olarak değerlendirilmektedir (261).

Stres maruziyeti beyinde noradrenerjik aktiviteyi artırmaktadır. Stres, özellikle LC, limbik bölgeler (hipotalamus, hipokampus ve amigdala) ve serebral kortekste NE'nin selektif yıkımında artışa neden olmaktadır (262).



SSS'de inhibitör özellik gösteren GABA, anksiyete benzeri davranışların gelişmesini engellemektedir (263). GABAerjik işlev bozukluklarının anksiyete semptomları ile ilişkili olduğu görülmektedir (264). GABA-A reseptörünün inhibisyonu ile anksiyete benzeri davranışlar görülmekte, GABAerjik uyarının artırılması ile ise anksiyete benzeri davranışlar inhibe olmaktadır (264).

PFC, mezokortikal projeksiyon sistemlerinin nöronlarından dopamin salınımını düzenlemektedir (265). Ventral-tegmental bölgeden kaynaklanan ve PFC'ye uzanan mezokortikal dopaminerjik nöronların, strese karşı verilen emosyonel tepkilerde görev aldığı gösterilmiştir (266). PFC'den dopamin salınımı, kaygı ve korkunun düzenlenmesi ile ilişkilidir (267). NAcc'nin kortikal yapılardan ve amigdaladan aldığı dopamin uyarılarının azalması anksiyete davranışının artmasına neden olmaktadır (268). Pankreas beta hücrelerinden insülin salgılanması çeşitli hormonlar ve nörotransmitterler tarafından düzenlenmekte; dopamin de bu düzenlemede önemli bir rol oynamaktadır (269). Streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan sıçanlarda korteks, hipotalamus ve serebellumunda dopamin seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur (270). PFC'deki düşük dopamin seviyelerinin, sıçanlarda anksiyete artışı ile ilişkili olduğu görülmüştür (271).

### **2.3. Diabetes Mellitus**

Diabetes mellitus (DM), insülin salgılanması ve insülin etkisinin ayrı ayrı ya da birlikte kusurlu olduğu, hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır (272). Dünyada 2014 yılında DM prevalansının %8.8 olduğu belirtilmektedir (273). DM görülme sıklığının 2050 yılına kadar büyük bir artış göstereceği, 2035 yılında Türkiye'de %18.5'e çıkacağı (274), 2050 yılında da global prevalansın yaklaşık %25 olacağı öngörülmektedir (275). ABD'de 2012 yılı itibarıyla DM'nin yıllık maliyetinin 245 milyar dolar olduğu, 176 milyar dolarının direkt DM ile ilişkili tedavilerden, 69 milyar dolarının DM'den kaynaklanan iş gücü kaybından kaynaklandığı görülmektedir (276).

Sağlıklı bireylerde kan glukoz düzeylerindeki artışa yanıt olarak pankreas adacıklarındaki beta hücrelerin granüllerinden insülin salınmaktadır (277). İnsülin, salgılandıktan sonra kandaki glukozun kas, karaciğer ve yağ dokusuna geçmesine neden olarak, kan glukozunu normal düzeylere çekmektedir (278). DM'si olan bireylerde insülin etkisindeki

azalma nedeniyle glukoz homeostazı bozulmakta, kan glukoz düzeyleri sağlıklı bireylere göre daha yüksek seyretmektedir (279).

DM'de görülen beta hücre yetmezliğinin patofizyolojisinde adacık hücrelerinin besin kaynaklı hasarlara karşı duyarlı olması suçlanmakta (280), bu hassasiyet nedeniyle adacık hücrelerinde başlangıç hasarının olduğu, hiperglisemi geliştikten sonra ise glukotoksik ve glukolipotoksik olayların bu hasarlanmayı gittikçe artırdığı düşünülmektedir (281). Hastalığın geç döneminde amiloid birikimi nedeniyle oluşan oksidatif ve endoplazmik strese karşı gelişen beta hücre apoptozu ile adacık beta hücrelerin kaybının hızlandığı öne sürülmektedir (282). İleri yaşlarda yeni beta hücrelerinin üretilmemesi nedeniyle de bu kaybın kalıcı hale geldiği düşünülmektedir (283).

### **2.3.1. Semptom ve komplikasyonlar**

Hiperglisemi durumunda böbrekten glukozun geri emilim kapasitesi aşılmakta ve idrarda glukoz görülmektedir (284). Bu durum osmotik diürece (poliüri) yol açmakta, artan sıvı kaybı nedeniyle su alımının da artmasına (polidipsi) neden olmaktadır (285). İnsüline duyarlı dokuların glukoz alımının azalması ile yağ metabolizması aktive olmakta, kilo kaybı yaşanmakta, yanıt olarak iştah artmakta ve kişi daha çok gıda tüketmeye başlamaktadır (polifaji) (286). Kontrol altına alınmayan DM akut dönemde yağın asetil CoA'ya dönüşünün artması ile ortaya çıkan diyabetik ketoasidoz ve hiperglisemik hiperosmolar sendromun da içinde bulunduğu hayatı tehdit eden durumlara yol açmakta (287); kronik dönemde ise sekonder komplikasyonlara neden olmaktadır (288). DM'nin uzun dönemde görülen komplikasyonları arasında görme kaybıyla sonuçlanan retinopati, renal yetmezlikle sonuçlanan nefropati, ayak ülserleri ve amputasyonlarla sonuçlanan periferik nöropati, genitoüriner ve kardiyovasküler semptomlarla kendini gösteren, seksüel disfonksiyona neden olan otonom nöropati bulunmaktadır (289).

Uzun süreli DM genellikle makrovasküler (koroner arter hastalığı, periferik dolaşım yetmezliği gibi) ve mikrovasküler (nefropati, nöropati, retinopati gibi) bozuklukların hastalığa sekonder gelişmesi ile karakterizedir (290). DM'nin en sık görülen komplikasyonu olan diyabetik retinopati nedeniyle körlük gelişebilmektedir (291). Diyabetik komplikasyonlar çoğunlukla enerji metabolizmasında meydana gelen bozukluk nedeniyle ortaya çıkmaktadır (292). Glukoz 6-fosfat dehidrogenazın (G6PDH) yüksek glukoz düzeyleri nedeniyle inhibe

olması oksidatif strese neden olmakta, glukozun aldoz redüktaz aracılığıyla sorbitole dönüşmesi ve sorbitol birikimi ile osmotik stres oluşmakta, bu da diyabetik komplikasyonların gelişmesine katkı sağlamaktadır (293).

### 2.3.2. Diyabetin sınıflandırılması

Amerikan Diyabet Derneği (ADA) diyabeti sınıflandırarak dört gruba ayırmıştır: (1) Pankreas beta hücrelerinden insülin salgılanmasının olmadığı veya çok az olduğu tip 1 diyabet; (2) insüline yanıtızsızlık ile giden tip 2 diyabet; (3) gebelik döneminde ortaya çıkan gebelik diyabeti (Gestasyonel Diabetes Mellitus); (4) diyabetin birlikte görüldüğü çeşitli sendromlar: gençlerdeki tip 2 diyabet-MODY, kistik fibrozis gibi pankreasın ekzokrin hastalıkları, uyuşturucu veya kimyasallarla tetiklenen diyabet (örneğin, AIDS tedavisinde veya organ transplantasyonundan sonra) (272).

Toplam DM hastalarının %5-10'unu oluşturan tip 1 DM, pankreastaki beta hücrelerin otoimmün yıkımı ve mutlak insülin yetmezliği ile karakterizedir (272). Tip 1 DM'nin patofizyolojisinde genetik nedenlerin yanı sıra viral enfeksiyonlar, immün bozukluklar, D vitamini yetmezliği ve prenatal faktörler yer almaktadır (294). Tip 1 DM genellikle çocukluk çağında tanı almakla birlikte her yaşta meydana gelebilmekte (295), tedavisinde insülin kullanılmaktadır.

Tip 2 DM, diyabeti olan bireylerin %90-95'inde görülen formdur. Genellikle insülin direnci ile karakterize olmakta ve beta hücre yıkımı olmaksızın göreceli insülin yetmezliğine neden olmaktadır (272). Tip 2 DM genellikle yavaş ve sessiz ilerlemekte, bu nedenle hastalar genellikle ileri yaşlarda tanı almaktadır (296). Genetik ve epigenetik olarak yatkın kişilerde tip 2 DM'nin gelişiminde patolojinin altında yatan ana neden alınan besinlerin metabolik olarak düzgün işlenememesidir (281). Aşırı beslenen, kilolu ya da obez kişilerin bazılarında ya DM hiç gelişmemekte ya da yaşamın geç evrelerinde ortaya çıkmaktadır. Bu kişiler tip 2 DM'ye karşı dirençli olup, alınan fazla besinleri kalp, kas, karaciğer gibi dokular yerine deri altı yağ dokularına depolayabilmektedir (297). Bu da alınan fazla besine karşı başarılı beta hücre adaptasyonu geliştirmeleri ve bu sayede kan glukoz konsantrasyonlarını normal ya da normale yakın düzeyde tutabilmeleri ile mümkün olmaktadır (298). Bu sayede insülin direnci gelişmemekte, visseral yağ dokusu yerine deri altı yağ dokusunda kütle artışı olmakta, karaciğer

yağlanması minimal düzeyde tutulmakta, organlar besin kaynaklı hasarlardan korunmaktadır (299).

DM gelişimine duyarlı kişilerde adaptasyon mekanizmaları başarılı yanıtlar üretememektedir (300). Beta hücreleri alınan besinlere karşı yeterli düzeyde insülin yanıtı oluşturamamakta, glukagon sekresyonu artmakta, inkretin yanıtında azalma görülmektedir (301). Deri altı yağ dokusunun kütlece artışı visseral yağ dokusuna göre göreceli olarak azalmakta, hipoadiponektinemi ve yağ dokusunda inflamasyon görülmekte, endojen glukoz üretiminde artış olmakta, periferik insülin direncinde artış meydana gelmektedir (143).

#### **Tablo 1. DM tanı kriterleri (302)**

*Aşağıda belirtilen 4 kriterden en az birini karşılayan kişilere DM tanısı konulmaktadır:*

- *HbA1C'nin %6,5 veya üzerinde olması*
- *Açlık kan glukoz konsantrasyonunun 126 mg/dL veya üzerinde olması*
- *OGTT sonrası 2. saat kan glukoz konsantrasyonunun 200 mg/dL veya üzerinde olması*
- *Hiperglisemi semptomları gösteren bir kişide kan glukoz konsantrasyonunun 200 mg/dL veya üzerinde bulunması*

#### **2.3.3. Tip 2 DM tedavisi**

Tip 2 DM tedavisinde genellikle oral antidiyabetikler kullanılmaktadır (303). Bu ilaçların içerisinde metformin, sülfonilüreler, tiazolidinedionlar, alfa glukozidaz inhibitörleri ve inkretinler bulunmaktadır. Oral antidiyabetikler DM tedavisinde etkili olmakla birlikte pek çok yan etkiye de neden olmaktadır (304). Metformin insülin duyarlılığını hücre içine glukoz alımını artırarak düzeltmekte, hepatik glukoz üretimini de azaltmaktadır (305). Yan etki olarak metformin anoreksiya ile bulantı ve diyare gibi gastrointestinal rahatsızlıklara neden olmaktadır (305). Sülfonilüreler insülin sekresyonunu beta hücrelerindeki  $K_{ATP}$  kanallarını inhibe ederek artırmaktadır (306). Ancak kronik sülfonilüre kullanımında sahip olduğu akut insülinotropik etki azalmakta, kan glukoz düzeylerinden bağımsız olarak insülin sekresyonunu uyarması nedeniyle de hipoglisemiye neden olabilmektedir (307). Alfa glukozidaz inhibitörleri etkilerini glukoz emilimini azaltarak göstermekte; ancak absorbe edilemeyen glukoz bağırsaktaki

koliform bakterilerce fermente edilmekte ve bağırsakta gaz oluşumuna neden olmaktadır (308). Tiazolidinedionlar insülin duyarlılığını artırmakta, ancak kemik dansitesinde azalmaya neden olmaktadır (309).

Hastalık ilerledikçe ve beta hücre fonksiyonu ile kütlesi azaldıkça oral antidiyabetiklerin glisemik kontrolü sağlama kabiliyeti de azalmakta; bu noktada tedaviye insülin eklenmesi gerekmektedir (303). İnsülin tedavisi içinde hipogliseminin de bulunduğu kan glukozunun hassas ayarlanamaması sonucu gelişen sorunlara neden olabilmektedir (310). İnsülin kullanımı ayrıca hastalarda kilo alımına da neden olabilmektedir (311).

#### **2.3.4. İncretinlerin tedavi amaçlı kullanımı**

GLP-1'in glukoz bağımlı insülin sentezini ve sekresyonunu artırıcı etkisi nedeniyle tip 2 DM patogenezindeki etkisi sorgulanmaktadır (312). Pankreas beta hücrelerindeki GLP-1R desensitizasyonunun DM oluşumuna neden olabileceği düşünülmektedir (313). DM'de gözlenen azalmış inkretin etkisinin nedeninin azalmış GLP-1 sekresyonu olabileceği öne sürülmüş, bu nedenle diyabetiklerde GLP-1 düzeyleri araştırılmaya başlanmıştır (314). Yapılan çalışmalarda diyabetiklerde besin alımı sonrası gerçekleşen GLP-1 salınımı ile dolaşımdaki GLP-1'in yıkım hızının sağlıklı insanlardan farklı olmadığı gözlenmiş, azalan inkretin etkisinin reseptör düzeyindeki yanıt azalmasına bağlı olduğu görülmüştür (315). DM'nin yetersiz kontrolü ile ortaya çıkan metabolik bozuklukların ise GLP-1 düzeylerinde azalmaya neden olabileceği gösterilmiştir (316).

Diyabetiklerde görülen inkretin etkisinde azalmanın GLP-1RA veya DPP-4i kullanılarak düzeltilebileceği düşünülmüş ve bu yönde araştırmalar yapılmıştır. GLP-1RA ve DPP-4i kullanımı ile diyabetiklerde kan glukoz düzeylerinin normal düzeylerine gerilediği ve hastalık seyrinin yavaşladığı görülmüştür (7, 317). Bu araştırmalar ışığında GLP-1RA ve DPP-4i'ler DM tedavisinde yaygın olarak kullanılmaya başlamıştır. GLP-1'in DM tedavisinin yanı sıra DM'ye bağlı gelişen kardiyomiyopati (318), nöropati (319) ve nefropati (320) gibi komplikasyonlara karşı olumlu etkisinin bulunduğu görülmüştür. Bu etkileriyle birlikte bilinen yan etkilerinin az olması nedeniyle GLP-1RA ve DPP-4i'ler DM tedavisinde metforminden sonra ikinci sırada kullanılması önerilen ilaç grubu haline gelmiştir (321).

DPP-4i'ler, plazma DPP-4 aktivitesini 24 saat boyunca %70-90 oranında düşürmekte, GLP-1 düzeylerini yaklaşık 2-3 kat artırmakta ve linagliptin haricinde renal yolla

atılmaktadırlar (322). Kan beyin bariyerini geçmemekte, iştah üzerine genellikle herhangi bir etkileri bulunmamakta ve gastrik boşalmayı etkilememektedirler (50). Yapılan in vitro ve klinik çalışmalar DPP-4 inhibisyonunun tip 2 DM kaynaklı beta hücre apoptozu üzerine olumlu etkileri olduğunu göstermektedir (323). Araştırmalarda pankreas adacıklarında DPP-4 aktivitesinin inhibe edilmesinin insülin sekresyonunu artırıcı etkisi olduğu görülmüştür (323, 324). Tip 2 DM modeli kullanılarak yapılan çalışmalarda DPP-4'ün inhibe edilmesiyle beta hücre kütlesi ve fonksiyonunda artış olduğu, bunun da pro-apoptotik genlerin baskılanması ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (325-327). Birer DPP-4i olan linagliptin ve vildagliptin kullanılarak yapılan çalışmalarda da beta hücrelerinin apoptozdan korunduğu, ilaç dozuna bağlı olarak pankreas ve serumda nitrik oksit konsantrasyonunun arttığı gözlenmiştir (328, 329). Başka bir çalışmada vildagliptin kullanımı ile insülin sekresyonunun ve beta hücrelerinin glukoza duyarlılığının arttığı görülmüştür (330). Ancak DPP-4i'lerin bu etkileri tam olarak nasıl mekanizmalarla oluşturduğu henüz bilinmemektedir.

#### **2.3.4.1. Sitagliptin**

Sitagliptin 2006 yılı itibariyle tip 2 DM tedavisinde kullanılmaya başlanan bir DPP-4i'dir (331). Farmakokinetiği incelendiğinde sitagliptinin klirensinin renal yolla gerçekleştiği, yarı ömrünün 8-12 saat olduğu ve tek doz 100 mg kullanımı ile DPP-4 inhibisyonunun 24 saat sonrasında  $\geq 80\%$  olduğu görülmektedir (8, 9). Sitagliptinin yaklaşık %75'i metabolize olmadan renal yolla atılmaktadır (332). Sitagliptin kullanımı ile besin alımı sonrası plazmada aktif GLP-1 düzeylerinin yaklaşık 2 kat arttığı; ancak 10 günlük kullanım sonunda total GLP-1 düzeylerinin anlamlı olarak azaldığı görülmüştür (8, 9). 3 yıl boyunca 14671 hastanın izlendiği TECOS çalışmasında sitagliptin kullanan hastalarda HbA1c düzeylerinin diğer antidiyabetiklere göre daha fazla düştüğü, kardiyovasküler olaylar açısından plasebodan farklı olmadığı, kalp yetmezliği, pankreatit ve pankreatik kanserlerin görülme sıklığını değiştirmediği bulunmuştur (333, 334). Diğer DPP-4i'ler ile karşılaştırıldığında sitagliptinin akut pankreatit riskini artırdığı, ancak pankreatik kanserlerin görülme sıklığını değiştirmediği gözlenmiştir (335).

Sitagliptinin DM tedavisinde metformin ile kombine edildiğinde her iki ilacın da monoterapiye göre daha fazla etki gösterdiği, ilaç toleransının da daha fazla olduğu rapor

edilmiştir (336). Bu etkiye metforminin hem GLP-1 sekresyonunu hem de pankreas GLP-1R düzeylerini artırmasının neden olduğu öne sürülmüş, yapılan çalışmalarda GLP-1R ekspresyonunu Ppara (peroksizom proliferatör-aktive reseptör alfa) ilişkili bir mekanizma ile direkt uyarak inkretin hormonların insülinotropik etkilerini artırdığı görülmüştür (337, 338). İki ilacın birlikte kullanılması ile kuvvetli anti-inflamatuar etkilerin geliştiği görülmüştür. Sitagliptinin metformin ile birlikte 4 hafta kullanılması sonucu endotelial projenitör hücrelerin sayısı artarken, bir proinflamatuar sitokin olan MCP-1'in plazma düzeylerinde de azalma görülmüştür (339).

Hem kısa hem de uzun süreli yapılan çalışmalarda sitagliptinin kan basıncı üzerine herhangi bir etkisinin bulunmadığı görülmüştür (340, 341).

### **2.3.5. DM ve anksiyete benzeri davranış ilişkisi**

Kronik hastalıklarda psikiyatrik bozuklukların görülme oranının yüksek olduğu bilinmektedir (342). DM tüm dünyada en sık görülen kronik endokrin metabolik bozukluktur (343). Anksiyete semptomları ve anksiyete bozuklukları DM hastalarında sık görülmektedir (344). Benzer şekilde, farelerde STZ ile oluşturulan diyabetik sıçanlarda anksiyete benzeri davranışlar daha sık görülmektedir (345, 346). Yapılan çalışmalara göre DM olanlarda yaşam boyunca anksiyete bozukluğu prevalansının toplum ortalamasına göre daha yüksek olduğu görülmektedir (347). Bu bozukluklar nedeniyle hastalığın kontrolü zorlaşmakta, daha yüksek maliyetler ortaya çıkmakta, hayat kalitesi azalmakta ve mortalite artmaktadır (348, 349). Diyabetiklerde görülen anksiyetenin düşük glisemik kontrol ile ilişkili olduğu bulunmuş (350), anksiyetenin tedavi edilmesi ile glisemik kontrolün arttığı gözlenmiştir (351). Ayrıca PFC gri cevher kalınlığı ile hücre sayısının diyabetik kişilerde azaldığı gösterilmiş, PFC kontrolü azaldığı için amigdala aktivitesinin artarak anksiyete gelişimine neden oluyor olabileceği tartışılmıştır (352).

HPA aksı iç ya da dış stresörlere karşı aktive edilen, homeostazı koruma ve sürdürme adına etkiler gösteren bir sistemdir (353, 354). DM, HPA aksında hiperaktiviteye neden olmaktadır (355). Diyabetiklerde bazal glukokortikoid düzeyleri yükselmiş ve negatif geribildirim mekanizmaları bozulmuştur (356). Diyabetiklerde HPA aksının aktive olması

hipotalamik kortikotropin salgılayan nöronların aktivasyonuna, pitüiter hücrelerden ACTH salgılanmasının değişmesine ya da adrenal duyarlılığın artmasına bağlı olarak gerçekleşebilmektedir (357). STZ verilen hayvanlarda kortikosteron düzeylerinin ve akut stresörlere karşı verilen yanıtın arttığı, pitüiter ACTH sekresyonunun ise azaldığı gözlenmiştir (358, 359). Diyabetiklerde HPA aksı aktivitesinin artışı ile glukokortikoid düzeylerinin yükseldiği, yüksek glukokortikoid düzeylerinin nörogenezi azaltıp apoptozu uyararak DM'nin nörolojik komplikasyonlarına katkıda bulunduğu görülmüştür (360). Ayrıca, glukokortikoidlerin beta hücre işlev bozukluğuna neden olduğu, yüksek düzeylerinin hiperglisemiye neden olduğu görülmektedir (361).

Depresyon ve anksiyete bozukluklarının patofizyolojisinde sıklıkla HPA aks aktivitesinin bozulması rol oynamaktadır (362). Yapılan çalışmalarda, kronik strese maruz bırakılan hayvanlarda HPA aks aktivitesinin arttığı görülmüştür (362). Ayrıca anksiyete bozukluklarında HPA aksında glukokortikoid geribildirim mekanizmasına karşı yanıtın azaldığı ve glukokortikoid reseptör fonksiyonlarının bozulduğu görülmüştür (363). Anksiyetesi olan diyabetik hastaların plazma glukoz kontrolünün daha kötü olduğu ve bu hastalarda DM ile ilişkili komplikasyonların daha sık görüldüğü gösterilmiştir (364).

DM'de anksiyete yanıtının oluşumunda önemli olan beyin bölgelerinde katekolaminerjik ve serotonerjik sistemlerin işleyişinin bozulduğu çeşitli yayınlarda gösterilmiştir. Hiperglisemi durumunda çeşitli beyin bölgelerinde NE düzeylerinin arttığı (365), serotonin (5-HT) düzeylerinin arttığı (366) ya da azaldığı (367) gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmalar diyabetiklerde görülen artmış anksiyete davranışının düzeyleri değişen NA ve 5-HT'ye bağlı olarak gerçekleşiyor olabileceğini desteklemektedir.

Gama-aminobütrik asit (GABA), anksiyete benzeri davranışın oluşumunda önemli bir yere sahiptir (368). STZ kullanılan diyabetik sıçanlarda hipotalamus ve beyin sapında GABA konsantrasyonlarında azalma olduğu gözlenmiştir (369). Yapılan bu çalışmalar ışığında serotonerjik ve noradrenerjik değişikliklerden başka GABAerjik sistemde meydana gelen değişikliklerin de diyabetiklerde anksiyete gelişimine katkıda bulunabileceği düşünülmektedir.



### 2.3.6 DM modeli – Streptozotosin ve DM

Streptozotosin (STZ) alkilleyici bir ajandır ve oksidan özelliğe sahiptir. STZ, yapısında bulunan ve kimyasal olarak glukoza benzeyen 2-deoksiglukoz aracılığıyla pankreas beta hücrelerinde bulunan GLUT-2 reseptörlerine bağlanmaktadır (370). STZ hücre içine alındıktan sonra metabolize olarak DNA zincirleri arasındaki çapraz bağları alkilleyerek RNA ve protein sentezini etkilemektedir (371). Metabolize olurken hücre içinde nitrik oksit (NO) düzeyleri artmakta, aşırı artan NO ise DNA hasarı oluşturmaktadır (372). DNA hasarına karşı bir DNA tamir enzimi olan poli (ADP-riboz) polimeraz aşırı şekilde sentezlenmekte, hücre içinde  $NAD^+$  depoları hızla tükenmekte, bunun sonucunda siklik ADP riboz düzeyleri düşerek insülin sekresyonu başta olmak üzere hücre fonksiyonları bozulmaktadır (373, 374). NO aynı zamanda mitokondride Krebs döngüsünü etkilemekte, akonitaz enzim aktivasyonunu engelleyerek mitokondrinin oksijen kullanımını azaltarak ATP üretimini kısıtlamaktadır (375). ATP'nin azalmasıyla beraber ksantin oksidaz ve buna bağlı olarak ürik asit düzeyleri yükselmekte, hücre içinde serbest oksijen radikallerinin düzeyleri artarak hücreyi nekroza götürmektedir (376). Bu şekilde pankreas beta hücreleri ölmekte, insülin sentezi yapılamamakta, canlı insüline bağımlı hale gelmektedir (377). Bu özelliği nedeniyle STZ deneysel DM modeli oluşturmak için sıkça kullanılmaktadır (378, 379).

### 2.4. GLP-1 ve anksiyete benzeri davranış

GLP-1'in anksiyete benzeri davranış üzerine olan etkisi incelendiğinde birbirinden farklı sonuçların elde edildiği ve bu konuda net bir sonuca varılamadığı görülmektedir. Yapılan bazı çalışmalarda GLP-1'in anksiyolitik etkisinin bulunduğu gözlenmiştir (380). Diyabetik farelerde yapılan bir çalışmada GLP-1RA kullanan hayvanların yükseltilmiş artı labirent (YAL) testinde açık kollarda geçirilen süre ile açık kollara giriş sayısının kontrol grubuna göre yüksek olduğu gözlenmiştir (381). Yapılan başka çalışmalarda da GLP-1RA verilen hayvanların YAL testinde açık kollarda daha fazla zaman geçirdiği gözlenmiştir (13, 382). Santral akut GLP-1 uygulamasının anksiyojenik etkilerinin olduğu görülse de, periferik kronik GLP-1RA ya da DPP-4i kullanımı ile anksiyolitik etkiler görülmektedir (380, 383). Benzer bir şekilde GLP-1R bulunmayan hayvanlarda anksiyete benzeri davranışın geliştiği gözlenmiştir (384). Yapılan bir çalışmada GLP-1'in amigdalada dopamin etkisini artırdığı gözlenmiş, aynı çalışmada

hayvanlarda anksiyolitik etkiler gözlenmiş, amigdalada artan dopaminerjik aktivitenin anksiyete benzeri davranışı azaltıcı bir etkiye neden olabileceği düşünülmüştür (385). Yapılan bazı çalışmalarda kalori kısıtlamasının anksiyeteyi azalttığı görülmüş; GLP-1RA kullanımı ile görülen anoreksik etkilerin anksiyolitik sonuçlara neden olabileceği tartışılmıştır (386).

Yapılan başka çalışmalarda ise GLP-1'in anksiyojenik etkisinin bulunduğu gözlenmiştir. GLP-1'in anksiyete benzeri davranışın gelişiminde yer aldığı düşüncesi intraserebroventriküler GLP-1 uygulaması sonrasında santral amigdala çekirdeğinde c-Fos aktivitesinde artışın gözlenmesi ile oluşmuştur (3). Farmakolojik düzeydeki GLP-1'in besin alımını azalttığının gözlenmesi ve besin alımı ile anksiyete benzeri davranış arasındaki ters ilişki dikkate alındığında bu peptidin emosyonel düzenlemede rol alabileceği düşünülmüştür (387). Yapılan bir çalışmada intraserebroventriküler GLP-1 uygulaması ile plazma ACTH ve kortikosteron düzeylerinin arttığı gözlenmiş, intraserebroventriküler GLP-1 uygulamasının anksiyete benzeri davranışa neden olduğu görülmüştür (13). Hayvanlara bir GLP-1Rant verildiğinde ise lityum klorür gibi bir stresör varlığında bile plazma ACTH ve kortikosteron düzeylerinde herhangi bir artışın olmadığı görülmüştür (13, 388). Yine insanlarda yapılan bir çalışmada GLP-1RA kullanımı ile plazma kortizol düzeylerinin arttığı görülmüştür (389).

Anksiyete benzeri davranışı uyardığı ya da inhibe ettiğine dair yayınların yanısıra bazı çalışmalarda GLP-1 uygulamasının anksiyete üzerine herhangi bir etkisinin bulunmadığı görülmüştür (14). İntraserebroventriküler GLP-1 uygulaması ile YAL testinde açık kollara giriş sayısında ve açık kollarda geçirilen sürede herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (390). Başka bir çalışmada GLP-1RA'nın kısa vadede HPA aksını aktive ederek CRH ve ACTH sekresyonunu uyardığı, bu şekilde adrenal korteks ile medullanın birlikte uyarılarak glukokortikoid ve katekolamin salınımının arttığı gözlenmiş; GLP-1RA'ların HPA üzerindeki bu etkisinin ise yaklaşık 1 hafta içinde azaldığı, uzun dönemde ise GLP-1RA kullanımı ile HPA aks aktivitesinin değişmediği gözlenmiştir (391).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. Araştırmanın Tipi**

Araştırma deneysel bir çalışmadır.

#### **3.2. Araştırmanın Yeri ve Zamanı**

Araştırma, Mayıs 2016 – Aralık 2018 tarihleri arasında, Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deneysel Araştırma Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir. Etik kurul onayı Nisan 2016'da alınmış; laboratuvar testleri, ölçümler ve istatistiksel analiz Temmuz 2016 – Aralık 2018 tarihleri arasında yapılmıştır.

#### **3.3. Araştırmanın Evreni ve Örneklemi / Çalışma Grubu**

Çalışmada yapılan tüm deneyler için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 28/04/2016 tarihinde 1/2016 no'lu toplantıda 1/2016 protokol numarasıyla; yapılması etik açıdan uygundur onayı alınmıştır. Çalışma Wistar Albino sıçanlar kullanılarak yapılmış, sıçanlar (1) kontrol, (2) diyabet, (3) diyabet+sitagliptin ve (4) sitagliptin grubu olmak üzere 4 grupta incelenmiştir.

#### **3.4. Çalışma Materyali**

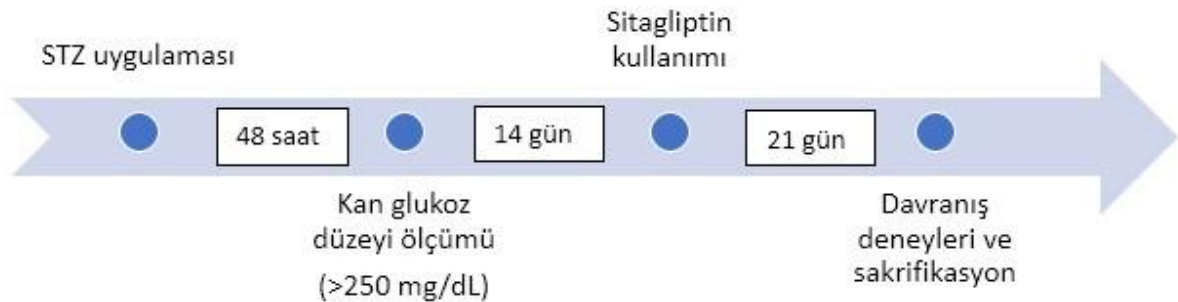
Bu araştırmada 41 adet 200-250g ağırlığında dişi Wistar Albino sıçan kullanılmıştır. Tüm sıçanlar  $23\pm 2^{\circ}\text{C}$  oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık periyod sağlanarak her kafeste 3-4 sıçan olacak şekilde, standart pellet yemlerine ve suya serbestçe erişebilecekleri konumda bulundurulmuştur. Deneyi gerçekleştirmek için 4 deney grubu oluşturulmuş, gruplar için deney hayvanı seçimi rastgele yapılmıştır. Gruptaki deneklerin ağırlıkları her gün, kan glukoz düzeyleri ise haftada bir ölçülerek takip edilmiştir.

Araştırmada kullanılan sıçanlarda 40 mg/kg tek doz intraperitoneal STZ uygulaması ile DM oluşturulmuştur. Uygulamadan 48 saat sonra hayvanlarda kan glukoz düzeylerine

bakılmış, oluşturulan modelde kan glukoz düzeyinin 250 mg/dL'nin üzerinde olması ile DM doğrulanmıştır (392).

#### *Gruplar*

1. Kontrol grubu (K) (n=11)
2. Diyabet grubu (DM) (n=11)
3. Diyabet olup sitagliptin tedavisi alanlar (DMDPP) (n=8)
4. Sitagliptin tedavisi alan sağlıklı sıçanlar (DPP) (n=9)



**Şekil 1. Deney akış şeması**

#### **3.4.1. Sitagliptin kullanımı**

Sitagliptin (DPP-4i) 20 mg/kg dozunda, 500 µl %0.9'luk serum fizyolojik sıvısında çözülerek, oral gavaj pipeti aracılığıyla ağızdan günde tek uygulama ile 21 gün boyunca uygulanmıştır (380). Kontrol ve DM gruplarına yalnız serum fizyolojik uygulanmıştır.

#### **3.5. Araştırmanın Değişkenleri**

**Bağımlı değişken:** Deney hayvanlarındaki anksiyete benzeri davranış

**Bağımsız değişken:** Sitagliptin uygulaması

### **3.6. Veri Toplama Araçları**

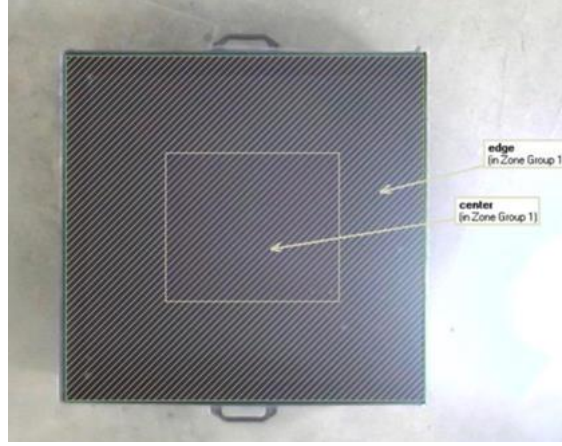
#### **3.6.1. Anksiyete Benzeri Davranışın Değerlendirilmesi**

Grupların anksiyete benzeri davranışları açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent (YAL) testleri ile değerlendirilmiştir. Tüm davranış deneyleri gündüz 09:00-13:00 saatleri arasında gerçekleştirilmiştir.

##### **3.6.1.1. Açık alan testi**

Açık alan testi koşullanma olmayan anksiyeteyi ölçmek amacıyla ilk olarak 1936 yılında tanımlanmış ve kullanılmıştır (393). Süresi değişkenlik göstermekle birlikte çoğunlukla 5 ya da 10 dk boyunca yapılmaktadır (394). Açık alan testi ile deney hayvanının lokomotor aktivitesi ve anksiyete seviyeleri değerlendirilebilmektedir (395). Açık alan testi sonuçlarının değerlendirilmesinde kemirgenlerin açık ve geniş alanlarda gezinmekten kaçınma davranışları temel alınmaktadır (395). Açık alan testinde hayvanın orta alandan kaçınması anksiyetenin bir göstergesi olarak değerlendirilmektedir (396, 397). Thigmotaksis, duvara yakın bölümlerde zaman geçirme isteği olarak tanımlanmakta, anksiyete benzeri davranış gösteren hayvanların bu davranışı daha sık gösterdiği kabul edilmektedir (397).

Açık alan testi için 1x1 metrelik bir alan kullanılmış ve bu alan 35 lükslük bir ışık kaynağı ile aydınlatılmıştır. Deney hayvanı alanın tam ortasına konup 5 dakikalık test süresince alan içindeki hareketleri kamera ile kaydedilerek analiz edilmiştir. Her bir deneğin test sonunda gezdiği tüm alanlar % 70'lik alkol ile temizlenmiştir. Açık alan testinde zemin 16 kareye bölünmüştür (12'si (%75) kenarlarda, 4'ü (%25) merkezde). Hayvanların alan içerisinde toplam gezinme mesafesi, toplam gezinme süresi, orta ve kenardaki alanlara toplam giriş sayısı Noldus Ethovision XT yazılımı (Hollanda) tarafından kaydedilmiş ve analizi yapılmıştır (398).



**Şekil 2. Açık alan testi düzeneği**

### **3.6.1.2. Yükseltilmiş artı labirent testi**

YAL testi koşullanma olmayan anksiyeteyi ölçmek amacıyla ilk olarak 1985 yılında tanımlanmış ve kullanılmıştır (399). Test; karşılıklı iki kolu duvarla çevrili, karşılıklı diğer iki kolu ise duvarsız ve açık olmak üzere artı şeklinde dört yoldan oluşan, yerden yüksek bir düzenek kullanılarak yapılmaktadır (400). Sıçanların normal eğilimi açık kollarda gezinmekten kaçınıp kapalı kollardaki köşelerde oturmaktır (401). Çevreyi tanıma davranışı gösteren, açık kollarda daha uzun süre zaman geçiren deneğin anksiyete seviyesi düşük olarak değerlendirilmektedir (402). Açık kollardan çekinme davranışının anksiyete benzeri davranışı gösterdiği kabul edilmektedir (403). Sıçanların düzeneğe ilk bırakıldıkları bölge olan orta alanda fazla zaman geçirmesi, sıçanın kapalı kollar ile açık kollara gitmek arasında karar veremediğini, bunun da yüksek anksiyete benzeri davranış nedeniyle gerçekleştiğini işaret etmektedir (404, 405). Testin aynı zamanda lokomotor aktiviteyi ölçmek için de kullanılabileceği tartışılmaktadır (406).

YAL testi için zeminden 50 cm yüksekte, merkezde 10x10 cm'lik bir merkez platform ile yanlarda 50 cm uzunluğunda, 10 cm genişliğinde, 0.5 cm yüksekliğinde duvarları bulunan iki açık ve 50 cm uzunluğunda, 10 cm genişliğinde, 40 cm yüksekliğinde duvarları bulunan iki kapalı koldan oluşan bir düzenek kullanılmıştır. Deney hayvanı açık kollardan birine bakacak şekilde merkez platforma bırakılarak 5 dakika boyunca kamera ile izlenmiş, açık ve kapalı kollara giriş sayısı ile merkez platformda ve kollarda geçirilen süre ölçülmüştür (69). Düzenek

her test sonunda % 70'lik alkol ile temizlenmiştir. Testin kayıt ve analizinde Noldus Ethovision XT yazılımı (Hollanda) kullanılmıştır.



**Şekil 3. YAL test düzeneği**

### **3.6.2. Sakrifikasyon ve Doku Ayrımı**

Sakrifikasyon günü ilaç uygulamalarından 30 dakika sonra davranış deneyleri gerçekleştirilmiş, deney bitiminin hemen sonrasında hafif eter anestezisi altında sol kardiyak ventrikülden deneğin tüm kanı alınarak yaşamı sonlandırılmıştır. Kanlar 5000g'de 5 dakika +4°C'de santrifüje edilerek plazmaları ayrılmıştır.

Gruplardaki hayvanların yarısından alınan dokularda histolojik inceleme, diğer yarısında ise enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ölçümü yapılmıştır. ELISA ölçümü için çıkarılan dokulardan fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS) kullanılarak homojenat ve süpernatantlar hazırlanmıştır. Ölçümler yapılabilmek için plazma ve doku homojenat ve süpernatantları -80°C'de saklanmıştır.

#### **3.6.2.1. Doku homojenatlarının hazırlanması**

Sonuçları olumsuz etkilememesi için dokularda kalan hemolize kan soğuk PBS (phosphate buffered saline) (0,01 M; pH = 7.4) ile temizlenmiştir. Sakrifikasyon sonrası -80°C'de saklanan PFC ve distal ileum dokuları öncelikle hassas doku tartısı ile tartılmıştır.

Örneklere doku ağırlığı (g):PBS hacmi (ml) oranı 1:9 olacak şekilde soğuk PBS eklenmiştir. Dokular sonrasında buz üzerinde ultrasonik homojenizatör kullanılarak homojenize edilmiştir. Homojenatlar 5000xg'de 10 dakika süresince soğutmalı santrifüjde çevrilerek süpernatantlar elde edilmiştir. Homojenizasyon işlemi tamamlanan dokular ELISA ölçümleri yapılana dek - 80°C'de saklanmıştır.

### **3.6.3. Biyokimyasal İncelemeler**

ELISA yöntemi ile plazma kortikosteron; plazma, ileum ve PFC GLP-1; ileum ve PFC GLP-1R düzeyleri ölçülmüştür. Doku homojenatlarının kullanıldığı tüm ELISA ölçümlerinde ölçüm sonuçları doku protein başına hesaplanmıştır.

#### **3.6.3.1. Kortikosteron ölçümü**

Serum kortikosteron analizi Elabscience sıçan kortikosteron kiti (Wuhan, Çin; katalog no: E-EL-R0269, duyarlık 1.88 pg/ml, tespit aralığı 3.13-200 ng/ml) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

##### *Kit içeriğinin hazırlanması*

- 1- Kullanım öncesi tüm reaktifler oda sıcaklığına getirilmiştir.
- 2- Yıkama solüsyonu: Konsantre yıkama solüsyonundan 10 ml alınıp 240 ml distile su içerisine konularak hazırlanmıştır.
- 3- Standart çalışma solüsyonu: referans standart 10,000xg'de bir dk süresince santrifüj edilmiştir. Referans standardın üzerine 1 ml referans standart ve örnek dilüenti eklenip karıştırılmış, ardından 5000pg/ml konsantrasyonunda çalışma solüsyonu elde edilmiştir. Sonrasında seri dilüsyonlar yapılmıştır.

Dilüsyon metodu: Yedi adet ependorf tüp alınarak her birine 500 µl referans standart ve örnek dilüenti eklenmiştir. İlk deney tüpüne hazırlanan 5000 pg/ml konsantrasyonundaki çalışma solüsyonundan 500 µl ilave edilmiş, sonrasında son tüp hariç her tüpe sırayla bir öncekinden 500 µl eklenerek 5000, 2500, 1250, 625, 312.5, 156.25, 78.13 ve 0 pg/ml konsantrasyonlarında olacak şekilde standart solüsyonlar hazırlanmıştır.



4- Biotinize tespit antikoru çalışma solüsyonu: kullanım öncesi santrifüjlenen konsantre biyotinize tespit antikoru, biotinize tespit antikor dilüenti ile 1:100 oranında karıştırılarak hazırlanmıştır.

5- Horseradish peroxidase (HRP) konjugat çalışma solüsyonu: konsantre HRP konjugatı 1:100 oranında HRP konjugat dilüenti ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

#### *Analizin yapılışı*

1- ELISA plağındaki ilk sütuna standart solüsyonlar ile kör örnek yerleştirilmiştir. Diğer kuyucuklara ölçümü yapılacak örnekler konulmuştur. Her kuyucuğa 50 µl standart ya da örnek konulmuştur. Hemen ardından 50 µl biyotinize tespit antikoru çalışma solüsyonu tüm kuyucuklara eklenmiştir. Sonrasında plağın üzeri kapatılmış, 37°C’de 45 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

2- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dikkatlice dökülmüştür. Yıkama işlemi için tüm kuyucuklara 350 µl yıkama solüsyonu eklenerek bu şekilde 1-2 dk bekletilmiş, sonrasında dikkatlice dökülmüştür. Plak temiz bir kurutma kağıdına vurularak kuyucuklarda kalan solüsyon uzaklaştırılmıştır. Bu yıkama işlemi üç kez tekrarlanmıştır.

3- Her kuyucuğa 100 µl HRP konjugat çalışma solüsyonu eklenmiştir. Sonrasında plağın üzeri kapatılarak 37°C’de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

4- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dikkatlice dökülmüştür. Yıkama işlemi ikinci basamakta açıklandığı gibi beş kez uygulanmıştır.

5- Her kuyucuğa 90 µl substrat reaktifi eklenmiştir. Plağın üzeri kapatılarak 37°C’de 15 dakika inkübasyona bırakılmış, plağın ışıktan korunmasına özen gösterilmiştir.

6- İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklenmiştir.

7- Optik yoğunluklar 450 nm’de Biotek marka ELx800 mikropalak okuyucu (Vermont, ABD) ile değerlendirilmiş, bu yoğunluklara göre kortikosteron düzeyleri hesaplanmıştır.

#### **3.6.3.2. GLP-1 ölçümü**

GLP-1 analizleri Finetest sıçan GLP-1 kiti (Wuhan, Çin; katalog no ER0996, duyarlık <9.375 pg/ml, tespit aralığı 15.625-1000 pg/ml) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### *Kit içeriğinin hazırlanması*

1- Kullanım öncesi tüm reaktifler oda sıcaklığına getirilmiştir.

2- Yıkama solüsyonu: Konsantre yıkama solüsyonundan 30 ml alınıp 720 ml distile su içerisine konularak hazırlanmıştır.

3- Standart çalışma solüsyonu: Referans standardın üzerine 1 ml referans standart ve örnek dilüenti eklenip 10 dakika boyunca karıştırılmış, ardından 1000pg/ml konsantrasyonunda çalışma solüsyonu elde edilmiştir. Sonrasında seri dilüsyonlar yapılmıştır.

Dilüsyon metodu: 6 adet ependorf tüp alınarak her birine 300 µl referans standart ve örnek dilüenti eklenmiştir. İlk deney tüpüne hazırlanan 1000 pg/ml konsantrasyonundaki çalışma solüsyonundan 300 µl ilave edilmiş, sonrasında son tüp hariç her tüpe sırayla bir öncekinden 300 µl eklenerek 500, 250, 125, 62.5, 31.25 ve 15.625 pg/ml konsantrasyonlarında olacak şekilde standart solüsyonlar hazırlanmıştır.

4- Biotinize tespit antikoru çalışma solüsyonu: kullanım öncesi santrifüjlenen konsantre biyotinize tespit antikoru, biyotinize tespit antikor dilüenti ile 1:100 oranında karıştırılarak hazırlanmıştır.

5- HRP konjugat çalışma solüsyonu: konsantre HRP konjugatı 1:100 oranında HRP konjugat dilüenti ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

### *Analizin yapılışı*

1- Kuyucuklara yükleme yapmadan önce 2 kez yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama işlemi için tüm kuyucuklara 350 µl yıkama solüsyonu eklenerek bu şekilde 1-2 dk bekletilmiş, sonrasında dikkatlice dökülmüştür. Plak temiz bir kurutma kağıdına vurularak kuyucuklarda kalan solüsyon uzaklaştırılmıştır.

Yıkama sonrasında ELISA plağındaki ilk sütuna standart solüsyonlar ile kör örnek yerleştirilmiştir. Diğer kuyucuklara ölçümü yapılacak örnekler konulmuştur. Her kuyucuğa 100 µl standart ya da örnek konulmuştur. Sonrasında plağın üzeri kapatılmış, 37°C’de 90 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

- 2- İnkübasyon sonrası kuyucuklara yıkama yapmadan 100 µl biyotinize tespit antikoru çalışma solüsyonu eklenmiştir. Sonrasında plağın üzeri kapatılarak 37°C’de 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
- 3- İnkübasyon sonrası yıkama işlemi ilk basamakta açıklandığı gibi 3 kez uygulanmıştır. Yıkama sonrası her kuyucuğa 100 µl HRP konjugat çalışma solüsyonu eklenmiştir. Sonrasında plağın üzeri kapatılarak 37°C’de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
- 4- İnkübasyon sonrası yıkama işlemi ilk basamakta açıklandığı gibi 5 kez uygulanmıştır. Her kuyucuğa 90 µl substrat reaktifi eklenmiştir. Plağın üzeri kapatılarak 37°C’de 15 dakika inkübasyona bırakılmış, plağın ışıktan korunmasına özen gösterilmiştir.
- 5- İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklenmiştir.
- 6- Optik yoğunluklar 450 nm’de Biotek marka ELx800 mikropalak okuyucu (Vermont, ABD) ile değerlendirilmiş ve hesaplanmıştır.

#### **3.6.3.3. GLP-1R ölçümü**

GLP-1R analizleri Finetest sıçan GLP-1R kiti (Wuhan, Çin; katalog no ER0418, duyarlık <0.094 ng/ml, tespit aralığı 0.156-10 ng/ml) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

##### *Kit içeriğinin hazırlanması*

- 1- Kullanım öncesi tüm reaktifler oda sıcaklığına getirilmiştir.
  - 2- Yıkama solüsyonu: Konsantre yıkama solüsyonundan 30 ml alınıp 720 ml distile su içerisine konularak hazırlanmıştır.
  - 3- Standart çalışma solüsyonu: Referans standardın üzerine 1 ml referans standart ve örnek dilüenti eklenip 10 dakika boyunca karıştırılmış, ardından 10 ng/ml konsantrasyonunda çalışma solüsyonu elde edilmiştir. Sonrasında seri dilüsyonlar yapılmıştır.
- Dilüsyon metodu: 6 adet ependorf tüp alınarak her birine 300 µl referans standart ve örnek dilüenti eklenmiştir. İlk deney tüpüne hazırlanan 10 ng/ml konsantrasyonundaki çalışma solüsyonundan 300 µl ilave edilmiş, sonrasında son tüp hariç her tüpe sırayla bir öncekinden 300 µl eklenerek 5, 2.5, 1.25, 0.625, 0.312 ve 0.156 ng/ml konsantrasyonlarında olacak şekilde standart solüsyonlar hazırlanmıştır.

4- Biotinize tespit antikoru çalışma solüsyonu: kullanım öncesi santrifüjlenen konsantre biyotinize tespit antikoru, biotinize tespit antikor dilüenti ile 1:100 oranında karıştırılarak hazırlanmıştır.

5- HRP konjugat çalışma solüsyonu: konsantre HRP konjugatı 1:100 oranında HRP konjugat dilüenti ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

#### *Analizin yapılışı*

1- Kuyucuklara yükleme yapmadan önce 2 kez yıkama işlemi yapılmıştır. Yıkama işlemi için tüm kuyucuklara 350 µl yıkama solüsyonu eklenerek bu şekilde 1-2 dk bekletilmiş, sonrasında dikkatlice dökülmüştür. Plak temiz bir kurutma kağıdına vurularak kuyucuklarda kalan solüsyon uzaklaştırılmıştır.

Yıkama sonrasında ELISA plağındaki ilk sütuna standart solüsyonlar ile kör örnek yerleştirilmiştir. Diğer kuyucuklara ölçümü yapılacak örnekler konulmuştur. Her kuyucuğa 100 µl standart ya da örnek konulmuştur. Sonrasında plağın üzeri kapatılmış, 37°C’de 90 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

2- İnkübasyon sonrası kuyucuklardaki solüsyon dikkatlice dökülmüş, yıkama yapılmamıştır. Kuyucuklara yıkama yapmadan 100 µl biyotinize tespit antikoru çalışma solüsyonu eklenmiştir. Sonrasında plağın üzeri kapatılarak 37°C’de 60 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

3- İnkübasyon sonrası yıkama işlemi ilk basamakta açıklandığı gibi 3 kez uygulanmıştır. Yıkama sonrası her kuyucuğa 100 µl HRP konjugat çalışma solüsyonu eklenmiştir. Sonrasında plağın üzeri kapatılarak 37°C’de 30 dakika inkübasyona bırakılmıştır.

4- İnkübasyon sonrası yıkama işlemi ilk basamakta açıklandığı gibi 5 kez uygulanmıştır. Her kuyucuğa 90 µl substrat reaktifi eklenmiştir. Plağın üzeri kapatılarak 37°C’de 15 dakika inkübasyona bırakılmış, plağın ışıktan korunmasına özen gösterilmiştir.

5- İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklenmiştir.

6- Optik yoğunluklar 450 nm’de Biotek marka ELx800 mikropalak okuyucu (Vermont, ABD) ile değerlendirilmiş ve hesaplanmıştır.

#### 3.6.3.4. BCA protein analizi

PFC ve ileum BCA (bikinkoninik asit) protein analizleri Elabscience BCA protein analiz kiti (Wuhan, Çin; katalog no: E-BC-K318, duyarlık 16.5 µg/ml, tespit aralığı 16.5-1000 µg/ml) kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

##### *Analizin yapılışı*

- 1- Protein standardı 1 ml protein standart dilüenti ile karıştırılmış, bu şekilde 10 mg/ml konsantrasyonunda stok solüsyonu elde edilmiştir.
- 2- Stok solüsyonu 1 mg/ml konsantrasyonda dilüe edilmiştir.
- 3- BCA çalışma solüsyonunun hazırlanması: reaktif A ve reaktif B 50:1 oranında karıştırılmıştır.
- 4- Standart solüsyondan sırayla 0, 4, 8, 12, 16, ve 20 µl alınarak kuyucuklara konulmuş, her kuyucuğa standart dilüent eklenerek hacim 20 µl'ye tamamlanmıştır.
- 5- Örneklerden 20 µl alınarak mikrolaktaki diğer kuyucuklara eklenmiştir.
- 6- Her bir kuyucuğa 200 µl BCA çalışma solüsyonu eklenmiş ve 37°C'de 30 dk inkübasyona bırakılmıştır.
- 7- Optik yoğunluklar 562 nm'de Biotek marka ELx800 mikrolak okuyucu (ABD) ile değerlendirilmiş ve hesaplanmıştır.

#### 3.6.4. Histolojik incelemeler

Çalışmada beyin ve ileum doku örnekleri ışık mikroskopisi ile değerlendirilmiştir. Çıkarılan örnekler oda sıcaklığında, %10'luk formalin solüsyonu içinde 48 saat tespit edilmiş, rutin doku takipleri yapıldıktan sonra parafin içine gömülerek bloklanmıştır.

##### *Parafin Takibi*

- 1- Fiksasyon: 48 saat, %10 formalin
- 2- 24 saat akarsuda yıkama
- 3- %70 etil alkol 20 dk

|                                      |        |
|--------------------------------------|--------|
| 4- %80 etil alkol                    | 20 dk  |
| 5- %96 etil alkol                    | 20 dk  |
| 6- Aseton I                          | 20 dk  |
| 7- Aseton II                         | 20 dk  |
| 8- Aseton III                        | 20 dk  |
| 9- Aseton IV                         | 20 dk  |
| 10- Ksilol I                         | 30 dk  |
| 11- Ksilol II                        | 30 dk  |
| 12- 60°C'lik etüvde erimiş parafin I | 1 saat |
| 13- Parafin II                       | 1 saat |
| 14- Parafin içinde bloklama          |        |

Mikrotom (Thermo Finesse-M+) yardımıyla bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alınarak örnekler lizinli lamlara yerleştirilmiştir. Beyin örneklerinden Paxinos ve Watson'un sıçan beyin atlasına göre tanımlanmış PFC seviyesine denk gelen seri kesitler alınmıştır.

Parafin kesitler deparafinize edilerek ileum doku örneklerine hematoksilin&eoizin (H&E) ile GLP-1 ve GLP-1R immün boyaması, beyin dokusu örneklerine de GLP-1 ve GLP-1R immün boyaması yapılmıştır.

#### **3.6.4.1. İndirekt İmmünohistokimya Yöntemi**

Kesitler 24 saat 60°C etüvde bekletildikten sonra immunohistokimyasal yöntemle boyanmıştır. GLP-1ve GLP-1R immunreaktivitesinin gösterilmesi amacıyla rat spesifik anti-GLP-1 (1:100; sc-57166, Santa Cruz) ve anti-GLP-1R (1:100; NLS1205, Novusbio) antikorları kullanılmıştır. Lizinli kesitler üç değişim ksilol ile deparafinizasyon işlemine tabi tutulmuştur. Ardından azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletilmiştir. Proteinaz K (Dako) solüsyonunda oda ısısında 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk %3'lük hidrojen peroksit uygulanmıştır. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler 30 dk oda ısısında bloklama

solüsyonu (İnvitrogen, Histostain-Plus Bulk Kit) ile enkübe edilmiş, ardından yıkama yapılmadan anti-GLP-1 ve GLP-1R antikorları ile bir gece +4°C’de enkübe edilmiştir. Ertesi gün fosfatlı tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler biyotinlenmiş sekonder antikor (İnvitrogen-Plus Broad Spectrum) ile 30 dk enkübe edilmiştir. Sekonder antikor enzimle işaretli (peroksidaz) avidin-biyotin kompleksi (streptavidin) (Histostain-Plus Broad Spectrum) ile bağlandıktan sonra antikor-biyotin-avidin-peroksidaz kompleksi %0.02 Diaminobenzidin (DAB) kullanılarak görünür hale getirilmiştir. Zemin boyaması Mayer’s hematoksilin ile yapılmıştır. Dereceli alkollerde dehidratasyon işlemi gerçekleştirilen kesitler ksilol ile şeffaflaştırma işleminden sonra entellan ile kapatılmıştır.

Boyama işlemlerinin tamamlanmasının ardından hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu (Olympus CX-41) ve video kameradan (Olympus DP21) oluşan görüntü analiz sistemi (CellSens Entry 1.7, Olympus) aracılığıyla bilgisayar ekranında kaydedilerek değerlendirilmiştir.

Dokulardaki immunreaktivite semikantitatif olarak 0 ile +++ arasında skorlanmıştır. Buna göre; 0 (immün reaktivite yok), +; hafif (1), ++; orta (2), +++; şiddetli (3) olarak değerlendirilmiştir (407)

### 3.7. Araştırma Planı ve Takvimi

|                                  |                            |
|----------------------------------|----------------------------|
| Literatür tarama                 | Mayıs 2016 – Aralık 2018   |
| Etik kurul onayı                 | Nisan 2016                 |
| Tez önerisi sunumu               | Mayıs 2016                 |
| Malzeme temini                   | Haziran 2016 – Ocak 2017   |
| Laboratuvar testleri             | Ocak 2017 – Ocak 2018      |
| Ölçümler ve istatistiksel analiz | Ağustos 2016 – Aralık 2018 |
| Tez yazımı                       | Temmuz 2016 – Aralık 2018  |

### 3.8. Verilerin Değerlendirilmesi

İstatistiksel analiz SPSS 21.0 programı ile yapılmıştır. Davranış testleri ile ELISA incelemesi sonucu elde edilen verilerde gruplar arasındaki farklılıklar two-way ANOVA post-hoc Bonferroni testi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar “ortalama  $\pm$  standart hata” şeklinde sunulmuştur. Gruplar arası korelasyon Pearson korelasyon analizi ile yapılmıştır.  $p < 0.05$  değeri istatistiksel olarak anlamlı sınır değer olarak değerlendirilmiştir.

Histolojik incelemelerdeki tüm veriler “ortalama  $\pm$  standart hata” olarak gösterilmiştir. Grupların ortalamaları arasındaki farklar SPSS programında one-way ANOVA post-hoc Bonferroni testi kullanılarak değerlendirilmiştir.  $p < 0.05$  anlamlılık düzeyi esas alınmıştır.

### 3.9. Araştırmanın Sınırlılıkları

Araştırmada, anksiyete ile ilgili görülebilecek değişikliklerin diyabet tedavisi nedeniyle değil GLP-1 nedeniyle gerçekleştiğini gösterebilmesi açısından GLP-1’den başka bir tedavi alan grubun bulunmasının uygun olacağı düşünülmüş, bu amaçla metformin tedavisi alan bir diyabetik grup oluşturulmuştur. Metformin verilen sıçanlarda izlem boyunca görülen yüksek ölüm sayısı, kalan sıçanlardan alınan örneklerde ise grup içi yüksek farklılıkların bulunması nedeniyle bu grup araştırma dışı bırakılmıştır.

Ayrıca doku analizi için sıçanlardan alınan amigdala ve pankreas örneklerinde grup içi yüksek farklılıkların bulunması, bazı örneklerin ölçüm için yeterli miktarda olmaması, bazılarının da kullanılan kitin ölçüm aralığında bulunmaması nedeniyle amigdala ve pankreas dokuları değerlendirilememiştir.

### 3.10. Etik Kurul Onayı

Çalışmada yapılan tüm deneyler için Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu’ndan 28/04/2016 tarihinde 1/2016 no’lu toplantıda 1/2016 protokol numarasıyla; yapılması etik açıdan uygundur onayı alınmıştır.



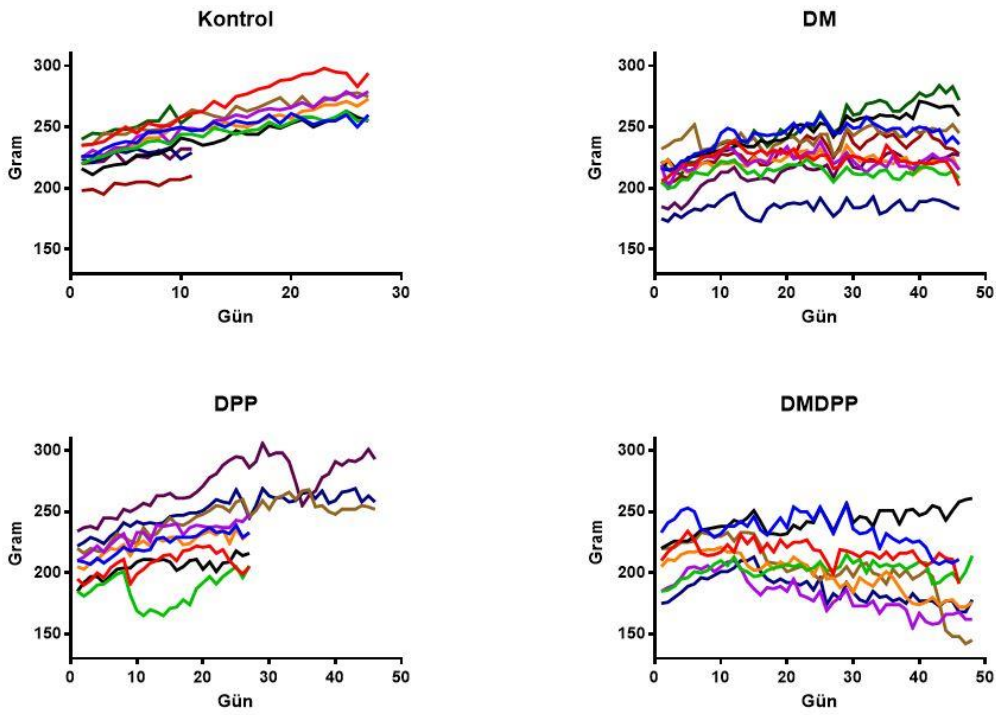
## 4. BULGULAR

### 4.1. İzlem Sonuçları

#### *Vücut ağırlıkları*

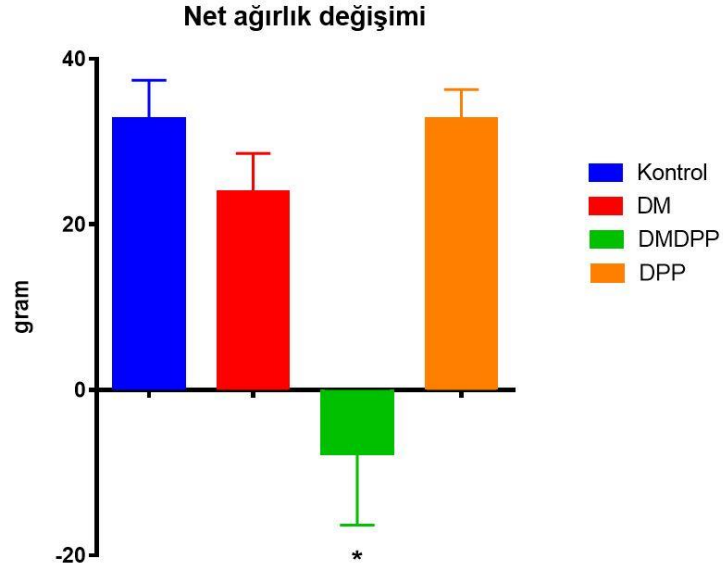
Grupların deney periyodu boyunca yapılan günlük tartımlarında gözlenen ağırlık değişimleri Şekil 4'te gösterilmiştir.

#### Grupların ağırlık değişimleri



Şekil 4. Grupların deney periyodu boyunca ağırlık değişimleri

Şekil 4'te gruplarda deney periyodu sonunda başlangıç ağırlıklarına göre karşılaştırılan ortalama ağırlık değişimleri verilmiştir. DMDPP grubunda görülen ortalama ağırlık değişimi kontrol, DM ve DPP gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ) (Şekil 5).

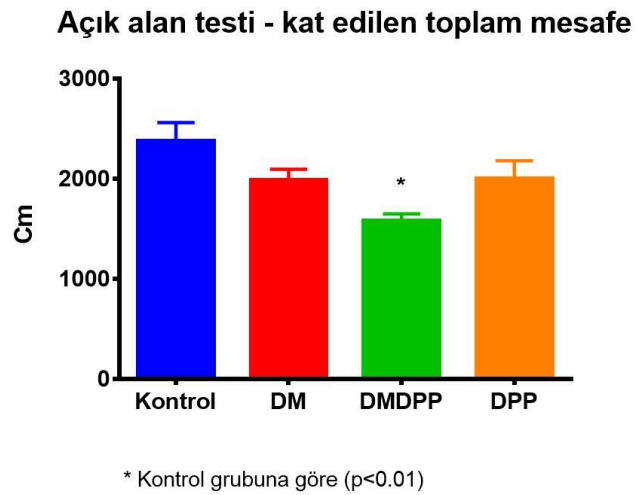


**Şekil 5. Grublardaki net ağırlık değişimleri**

## 4.2. Davranış Deneylerinin Sonuçları

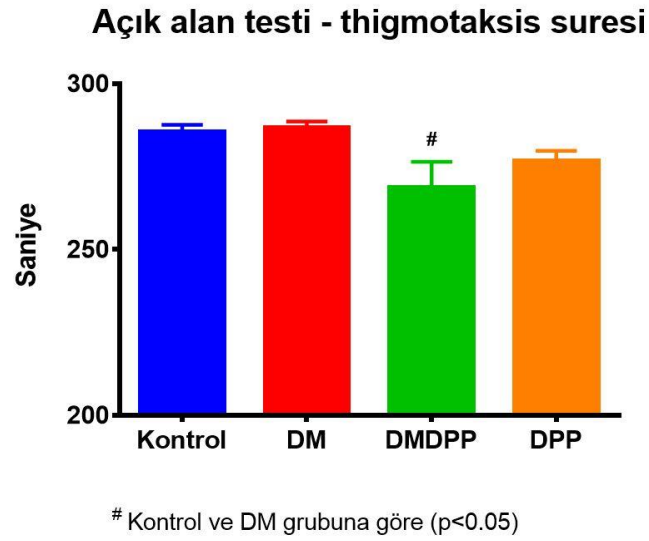
### 4.2.1. Açık alan testi sonuçları

DMDPP grubunda açık alan testinde toplam kat edilen mesafe kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ) (Şekil 6).



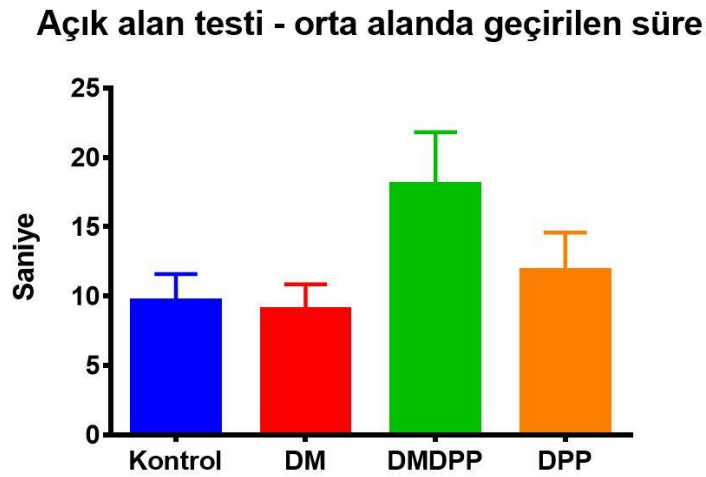
**Şekil 6. Açık alan testinde kat edilen toplam mesafeler**

DMDPP grubunda açık alan testinde thigmotaksis süresi kontrol ve DM gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Şekil 7).



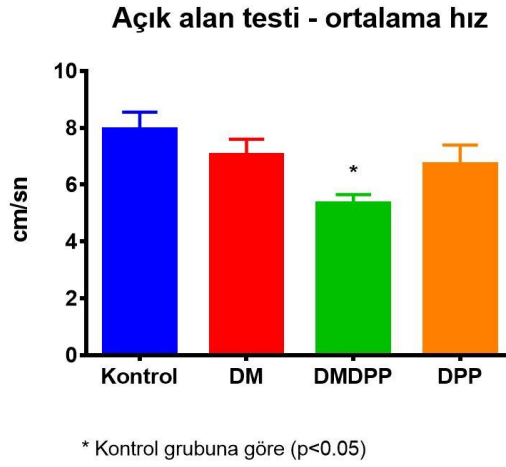
**Şekil 7. Açık alan testinde thigmotaksis süreleri**

Açık alan testinde orta alanda geçirilen süreler karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 8).



**Şekil 8. Açık alan testinde orta alanda geçirilen süreler**

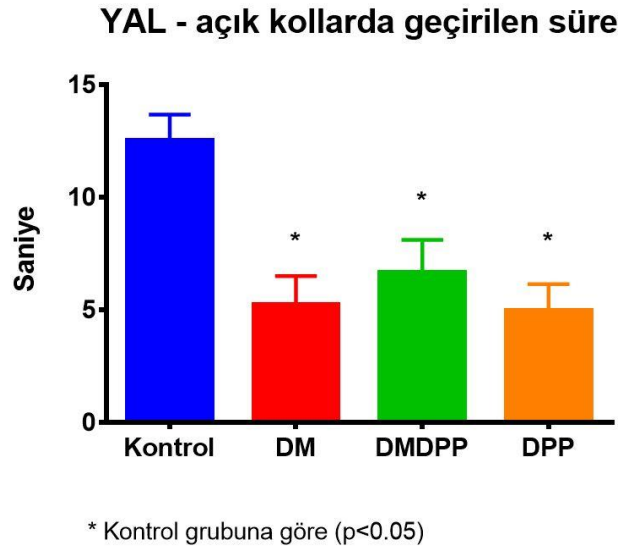
DMDPP grubunun açık alan testiindeki ortalama hızı kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Şekil 9).



**Şekil 9. Açık alan testiindeki ortalama hızlar**

#### 4.2.2. Yükseltilmiş artı labirent deney sonuçları

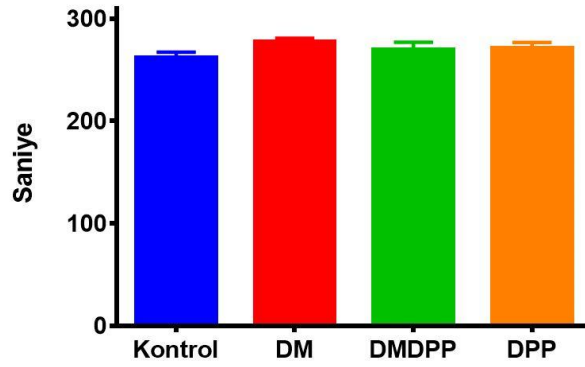
DM, DMDPP ve DPP gruplarında YAL testinde açık kollarda geçirilen süreler kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.05$ ) (Şekil 10).



**Şekil 10. YAL testinde açık kollarda geçirilen süreler**

Gruplar arasında YAL testinde kapalı kollarda geçirilen süreler değerlendirildiğinde anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Şekil 11).

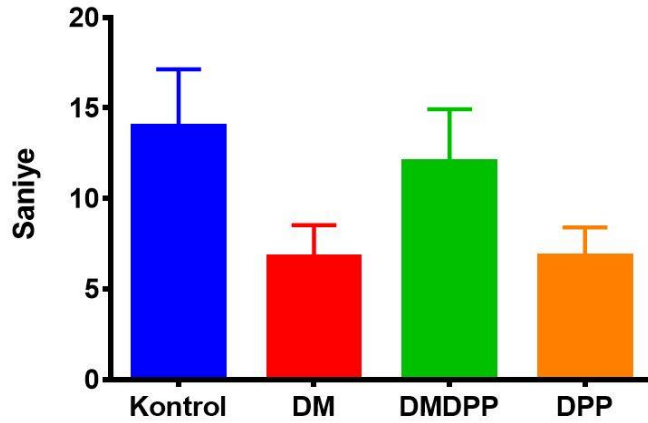
#### YAL - kapalı kollarda geçirilen süre



Şekil 11. YAL testinde kapalı kollarda geçirilen süreler

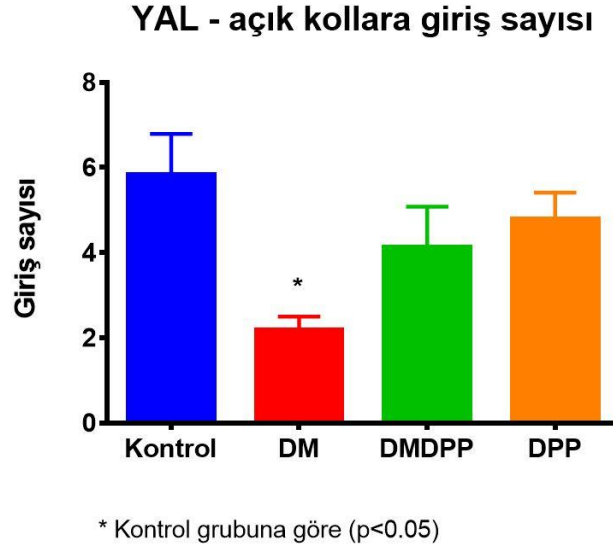
YAL testinde orta alanda geçirilen süreler karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 12).

#### YAL - orta alanda geçirilen süre



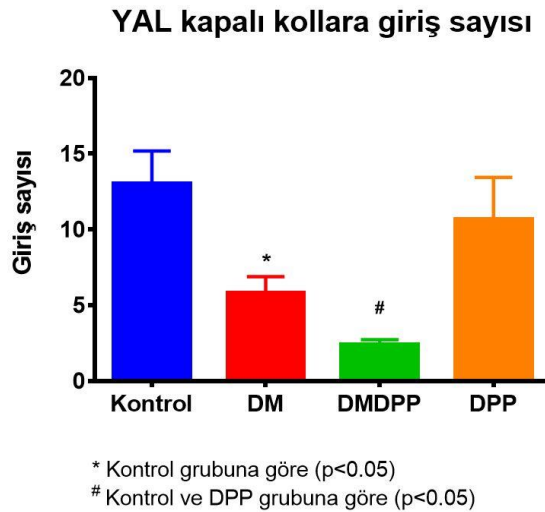
Şekil 12. YAL testinde orta alanda geçirilen süreler

DM grubunda YAL testinde açık kollara giriş sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.05$ ) (Şekil 13).



Şekil 13. YAL testinde açık kollara giriş sayısı

DM grubunda YAL testinde kapalı kollara giriş sayısı kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.05$ ). DMDPP grubunda YAL testinde kapalı kollara giriş sayısı ise kontrol ve DPP gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Şekil 14).

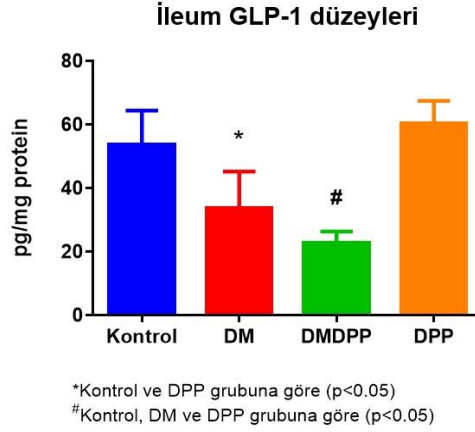


Şekil 14. YAL testinde kapalı kollara giriş sayısı

### 4.3. Biyokimyasal Analiz Sonuçları

#### 4.3.1. İleum GLP-1 düzeyleri

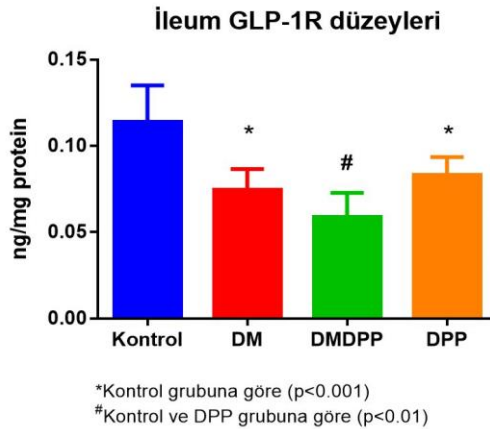
İleum GLP-1 düzeyleri DM grubunda kontrol ve DPP grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.05$ ). DMDPP grubunda ileum GLP-1 düzeyleri kontrol, DM ve DPP gruplarına göre anlamlı olarak düşüktür ( $p<0.05$ ) (Şekil 15).



Şekil 15. İleum GLP-1 düzeyleri

#### 4.3.2. İleum GLP-1R düzeyleri

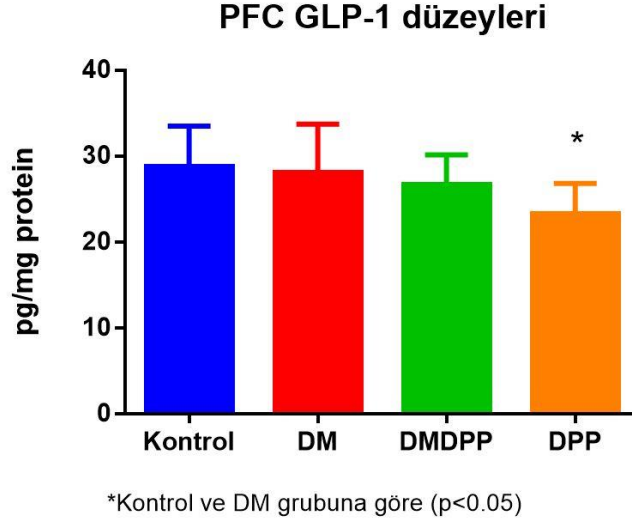
DM ve DPP gruplarında ileum GLP-1R düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.001$ ). DMDPP grubunda ise ileum GLP-1R düzeyi kontrol ve DPP grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ) (Şekil 16).



Şekil 16. İleum GLP-1R düzeyleri

#### 4.3.3. PFC GLP-1 düzeyleri

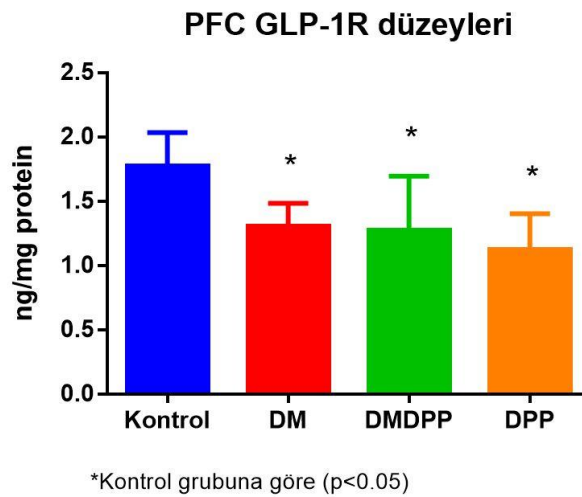
DPP grubunda PFC GLP-1 düzeyleri kontrol ve DM gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Şekil 17).



Şekil 17. PFC GLP-1 düzeyleri

#### 4.3.4. PFC GLP-1R düzeyleri

DM, DMDPP ve DPP gruplarında PFC GLP-1R düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.05$ ) (Şekil 18).

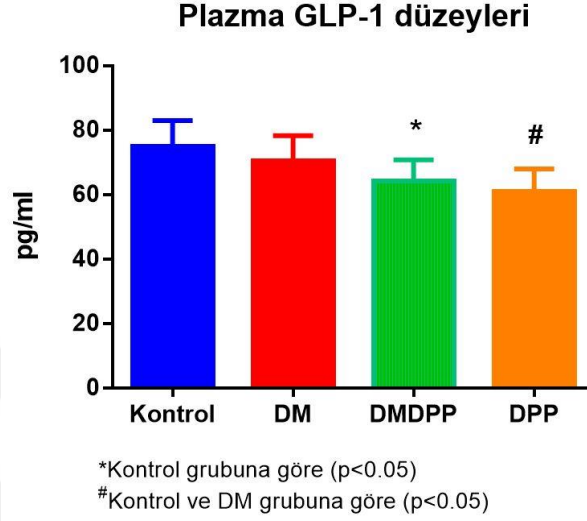


Şekil 18. PFC GLP-1R düzeyleri



#### 4.3.5. Plazma GLP-1 düzeyleri

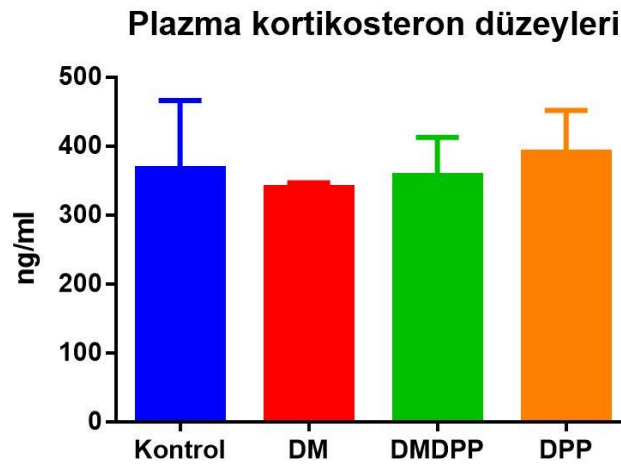
DMDPP grubunda plazma GLP-1 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). DPP grubunda ise plazma GLP-1 düzeyleri kontrol ve DM gruplarına göre anlamlı olarak azalmıştır ( $p<0.05$ ) (Şekil 19).



Şekil 19. Plazma GLP-1 düzeyleri

#### 4.3.6. Plazma kortikosteron düzeyleri

Gruplar arasında plazma kortikosteron düzeyleri arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır (Şekil 20).

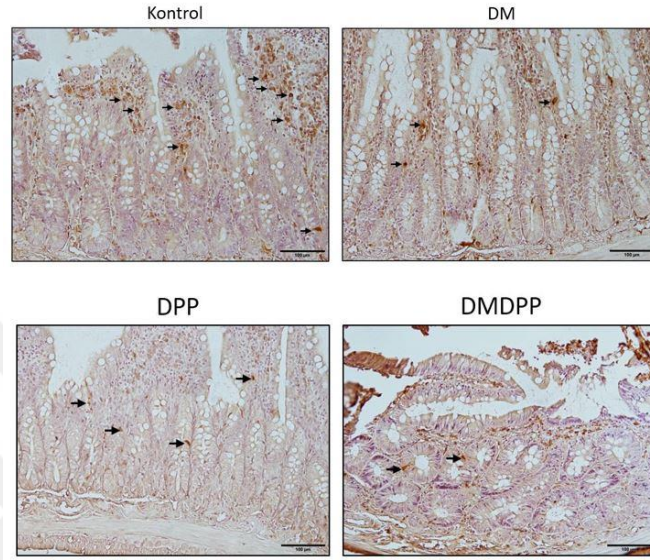


Şekil 20. Plazma kortikosteron düzeyleri

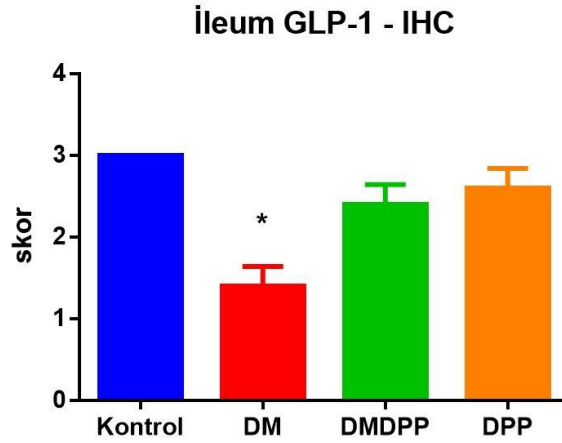
#### 4.4. IHC Sonuçları

##### 4.4.1. İleum GLP-1 düzeylerinin IHC değerlendirilmesi

İleum IHC incelemesinde DM grubunun GLP-1 skorları kontrol, DMDPP ve DPP gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ) (Şekil 21, 22).



Şekil 21. Gruplarda ileumda bulunan GLP-1'in IHC gösterimi

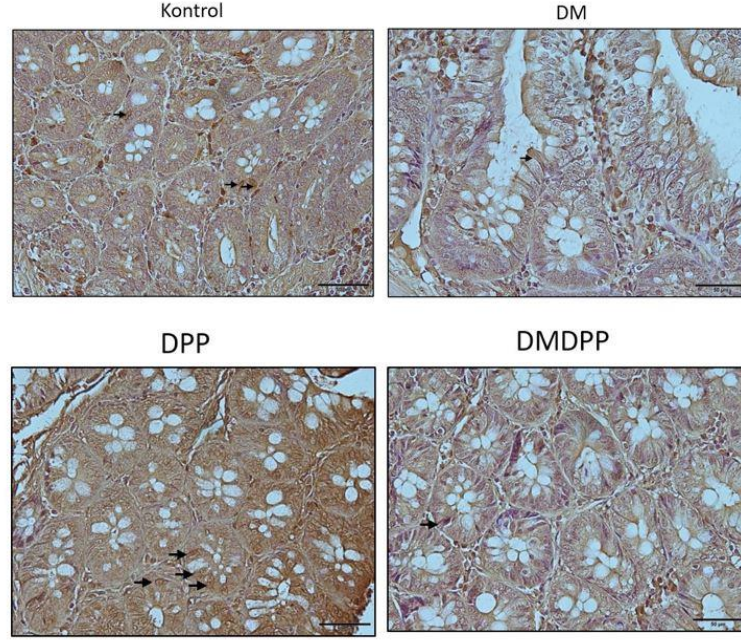


\*Kontrol, DMDPP ve DPP grubuna göre ( $p<0.05$ )

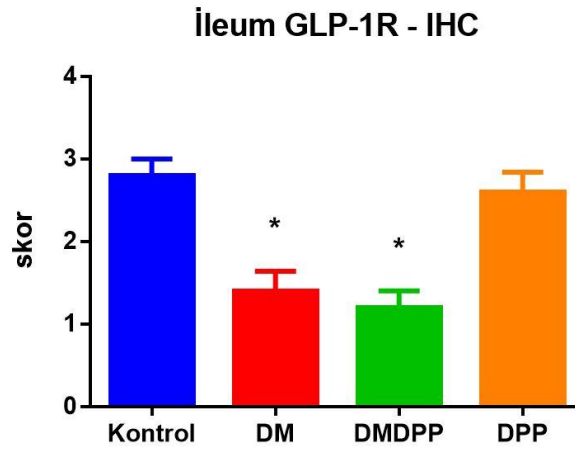
Şekil 22. İleum GLP-1 düzeylerinin IHC skorlaması

#### 4.4.2. İleum GLP-1R düzeylerinin IHC değerlendirilmesi

İleum IHC incelemesinde DM ve DMDPP gruplarının GLP-1R skorları kontrol ve DPP gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ) (Şekil 23, 24).



Şekil 23. Gruplarda ileumda bulunan GLP-1R'nin IHC gösterimi

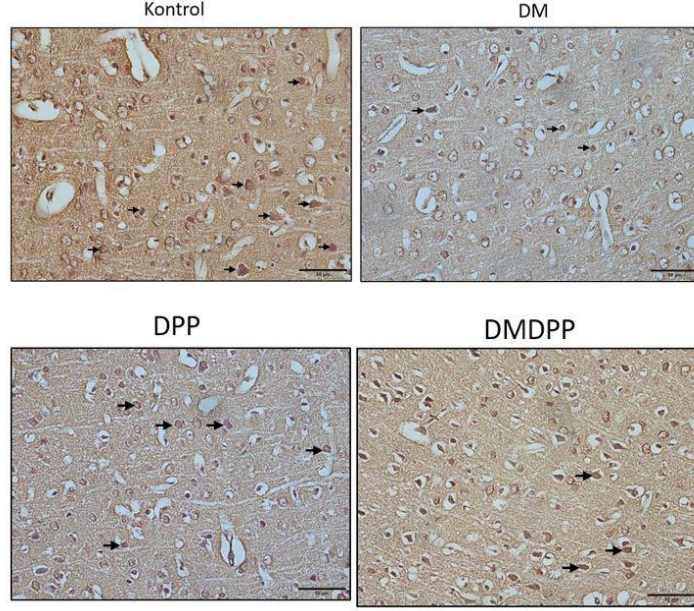


\*Kontrol ve DPP grubuna göre ( $p<0.01$ )

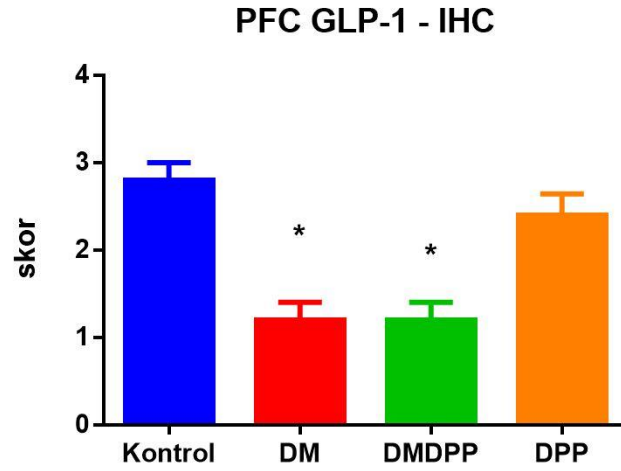
Şekil 24. İleum GLP-1R düzeylerinin IHC skorlaması

#### 4.4.3. PFC GLP-1 düzeylerinin IHC değ erlendirilmesi

PFC IHC incelemesinde DM ve DMDPP gruplarının GLP-1 skorları kontrol ve DPP gruplarına göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.01$ ) ( ekil 25, 26).



Şekil 25. Gruplarda PFC’de bulunan GLP-1’in IHC gösterimi



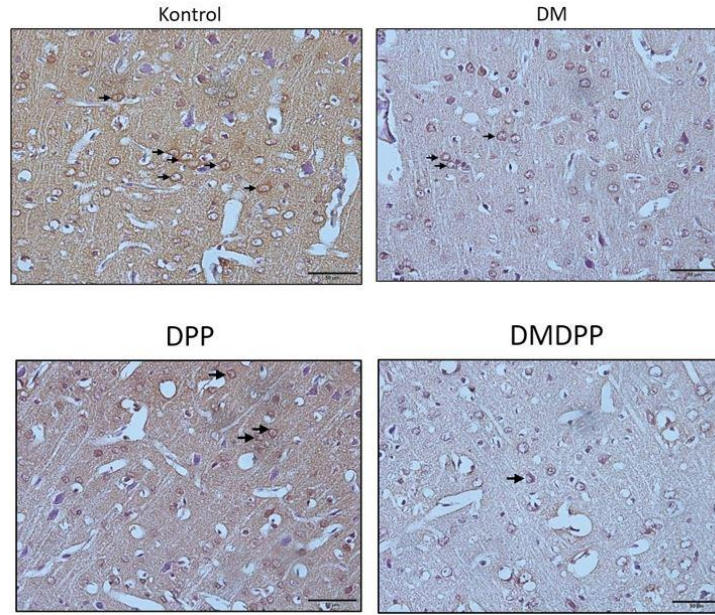
\*Kontrol ve DPP grubuna göre ( $p<0.01$ )

Şekil 26. PFC GLP-1 düzeylerinin IHC skorlaması

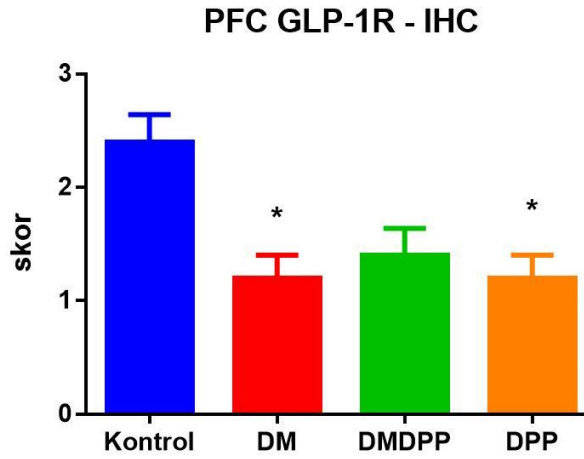


#### 4.4.4. PFC GLP-1R düzeylerinin IHC değ erlendirilmesi

PFC GLP-1R incelemesinde DM ve DPP gruplarının GLP-1R skorları kontrol grubuna göre anlamlı olarak d      bulunmuştur ( $p<0.01$ ) ( ekil 27, 28).



Şekil 27. Gruplarda PFC’de bulunan GLP-1R’nin IHC gösterimi

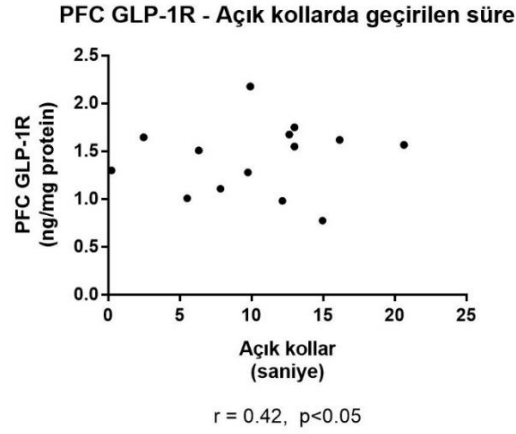


\*Kontrol grubuna göre ( $p<0.01$ )

Şekil 28. PFC GLP-1R düzeylerinin IHC skoruması

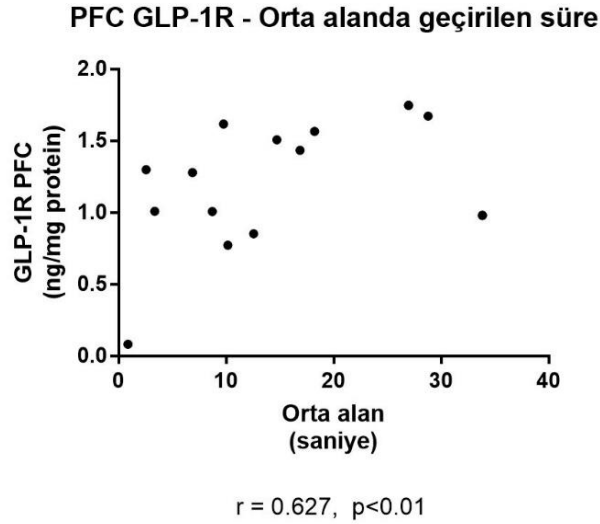
#### 4.5. Korelasyon analizleri

Prefrontal korteks GLP-1R düzeyleri ile YAL testinde açık kollarda geçirilen süre arasında orta kuvvette pozitif bir korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.420$ ,  $p < 0.05$ ) (Şekil 29).



**Şekil 29. Prefrontal korteks GLP-1R düzeyleri ile YAL testinde açık kollarda geçirilen süre arasındaki korelasyon**

Prefrontal korteks GLP-1R düzeyleri ile YAL testinde orta alanda geçirilen süre arasında kuvvetli pozitif bir korelasyon saptanmıştır ( $r = 0.627$ ,  $p < 0.01$ ) (Şekil 30).



**Şekil 30. PFC GLP-1R düzeyleri ile YAL testinde orta alanda geçirilen süre arasındaki korelasyon**

## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda sitagliptin verilen diyabet olmayan sıçanların kontrol grubuna göre anksiyete seviyelerinin arttığı; yani yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda daha az bulunduğu gözlemlendi. Ayrıca sitagliptin ile prefrontal korteks GLP-1 ve GLP-1R seviyelerinin ise anksiyete davranış ile korele olarak azaldığını tespit ettik. Sitagliptin ile ince bağırsak GLP-1 seviyeleri değişmezken, GLP-1R seviyelerinin ise azaldığını gözledik. Plazma GLP-1 seviyelerinin ise sitagliptin ile azalırken deneklerin ağırlıklarında bir değişiklik görülmedi.

Çalışmamızdaki diyabetik sıçanların ise sitagliptin tedavisi ile anksiyetelerinin arttığı; yani yükseltilmiş artı labirent testinin açık kollarında daha az süre geçirdikleri, açık alan testinde ise thigmotaksis süresinin azaldığı görüldü. Sitagliptinin diyabetik sıçanlarda prefrontal korteks GLP-1R seviyelerini azalttığı; ancak prefrontal korteks GLP-1 düzeylerinin değişmediği, ileum GLP-1 seviyelerinin azaldığı; ancak GLP-1R düzeylerinde farklılık olmadığı gözlemlendi. Çalışma boyunca yapılan takiplerde sitagliptin verilen diyabetik sıçan ağırlıklarının diyabet ve kontrol grubuna göre azaldığı tespit edildi.

Nöroprotektif etkileri bilinen GLP-1'in anksiyete yanıtının düzenlenmesinde rol oynadığı düşünülmektedir (408). Literatürde bu konuda 18 değişik sonuç bulunmaktadır; 5 çalışmada anksiyeteyi artırdığı, 6 çalışmada azalttığı, 7 çalışmada ise etkilemediği sonucuna ulaşılmaktadır.

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada intraserebroventriküler GLP-1Rant uygulamasından 15 dk sonra yükseltilmiş artı labirent testi yapılmış, kontrol grubuna göre GLP-1Rant uygulanan grupta açık kollarda geçirilen sürenin daha fazla olduğu görülmüştür (13). Aynı çalışmada santral amigdala çekirdeğine 0,1 veya 0,2 µg GLP-1 uygulaması ile 15 dk sonra yapılan yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen sürenin azaldığı gözlenmiştir (13). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada intraserebroventriküler 3 ve 10 µg dozda GLP-1 uygulamasından 60 dk sonra yapılan Vogel zıtlama testinde 10 µg GLP-1 uygulanan grupta anksiyete benzeri davranışın gelişerek cezalı içme sayısının azaldığı, 3 µg GLP-1 uygulanan grupta böyle bir durumun gözlenmediği; yapılan yükseltilmiş artı labirent testinde ise GLP-1 verilen gruplardaki sıçanların kontrol grubundan farklı olmadığı görülmüştür (390). Sıçanlarda intraperitoneal exendin uygulamasından 20 dk sonra davranış testleri yapılmış 1 µg/kg dozda exendin uygulamasının yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen süreyi azalttığı

görülmüştür (385). Aynı çalışmada intraserebroventriküler 10 µg dozda GLP-1 veya 0,15 µg dozda exendin uygulamasından 20 dk sonra yapılan davranış deneylerinde açık alan testinde orta alanda ve aydınlık-karanlık kutusu testinde aydınlık alanda geçirilen sürenin azaldığı görülmüştür (385). Aynı çalışmada DR'ye 2 µg dozda GLP-1 veya 0,05 µg exendin uygulamasından 20 dk sonra yapılan davranış deneylerinde yükseltilmiş artı labirent testinde orta alanda ve aydınlık-karanlık kutusu testinde aydınlık alanda geçirilen sürenin azaldığı görülmüştür (385). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada intraserebroventriküler 1, 10, 100 ng dozda GLP-1 uygulamasından 30 dk sonra yükseltilmiş artı labirent alan testi yapılmış, 1 ve 10 ng GLP-1 verilen sıçanların açık kollarda geçirdikleri süre azalmış, kapalı kollarda geçirdikleri süre ise artmış; 100 ng GLP-1 verilen sıçanlarda ise kontrol grubuna benzer sonuçlar çıkmıştır (409). GLP-1R knockdown farelerin yükseltilmiş artı labirent testinde kontrol grubuna göre açık kollarda daha fazla zaman geçirdiği görülmüştür (410).

2 günlük iken GLP-1 sentezini uyaran bir plazmid DNA enjeksiyonu yapılan sıçanların davranış özellikleri 8. haftada değerlendirilmiş, bu sıçanların yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda daha fazla zaman geçirdiği gözlenmiştir (382). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada 25-100 µg/kg arasındaki dozlarda intraperitoneal liraglutid uygulamasından 4 saat sonra yükseltilmiş artı labirent testi yapıldığında 50 µg/kg dozunda liraglutid yapılan gruptaki sıçanların açık kollarda geçirdiği sürenin diğer ilaç gruplarındaki sıçanlara ve kontrole göre daha fazla olduğu, diğer dozda ilaç verilen sıçanlarda ise kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği görülmüştür (383). Başka bir sıçan çalışmasında 5, 10, 20, 40 mg/kg dozunda oral sitagliptin verilen sıçanlarda 60 dk sonra yükseltilmiş artı labirent testi yapılmış, 20 mg/kg dozunda sitagliptin verilen gruptaki sıçanların açık kollarda geçirdiği sürenin diğer ilaç gruplarındaki sıçanlara ve kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu, diğer dozda ilaç verilen sıçanlarda ise kontrol grubu ile benzerlik gösterdiği görülmüştür (380). 8 haftalık GLP-1R knockout farelerde yapılan bir çalışmada farelerin yükseltilmiş artı labirent testinde orta alanda geçirdikleri sürelerin kontrol grubuna göre yüksek, akustik uyarı refleksi testindeki yanıtlarının da daha şiddetli olduğu görülmüştür (384). 1 aylıkken annelerinde ayrılan ve 3 ay boyunca intraperitoneal DPP-4i (2 mg/kg diprotin A veya 4 mg/kg sitagliptin) verilen sıçanlarda ilaç kullanımının 1. ayında anksiyete benzeri davranış geliştiği, 2. ve 3. ay sonunda yapılan testlerde ise anksiyete benzeri davranışın görülmediği bulunmuştur (411). 8 haftalık C57BL/6N farelerde yapılan bir çalışmada 14 gün boyunca intraperitoneal 20 nmol/kg liraglutid ile 5 mg/kg



kortikosteron uygulanan farelerde, yalnızca kortikosteron verilen farelere göre kuyruk asma testinde hareket artışı gözlenmiş, yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen sürenin değişmediği; ancak açık alan testinde orta alanda geçirilen sürenin arttığı görülmüştür (412).

Sıçanlarda intraperitoneal exendin uygulamasından 20 dk sonra davranış testleri yapılmış, 0,1 µg/kg dozda exendin uygulaması ile anksiyete benzeri davranışlarda bir değişiklik gözlenmemiştir (385). Aynı çalışmada 9 gün boyunca 0,2 µg dozda intraserebroventriküler exendin uygulamasının anksiyete benzeri davranışa herhangi bir etkisinin bulunmadığı görülmüştür (385). C57BL/6J farelerde yapılan bir çalışmada subkutan 1, 10 ve 20 µg/kg dozda exenatid ile 200 ve 1200 µg/kg dozda liraglutid verilen farelerde 60 dk sonra yapılan aydınlık-karanlık kutusu testinde kontrol grubuna göre benzer sonuç ortaya çıkmıştır (14). C57BL/6J farelerde yapılan bir başka çalışmada 14 gün boyunca günde iki kez 10 µg/kg dozda exenatid ile günde tek sefer 1200 µg/kg dozda liraglutid verilen farelerde aydınlık-karanlık kutusu testinde kontrol grubuna göre benzer sonuçlar görülmüştür (413). C57B/16 farelerde yapılan bir çalışmada intraperitoneal 25, 50, 100 ve 250 nmol/kg dozda GLP-1 uygulamasının 30 dk ardından yapılan açık alan testinde herhangi bir değişikliğe neden olmadığı, 21 gün boyunca intraperitoneal 25 nmol/kg dozda GLP-1 veya exendin (9-39) kullanımında da benzer sonuçların elde edildiği görülmektedir (414). Panik bozukluğu olan hastalar ile sağlıklı insanlarda 60 dk boyunca 2 pmol/kg/dk dozda intravenöz GLP-1 uygulamasının akut panik ölçeğine göre anksiyete durumunda herhangi bir değişikliğe neden olmadığı görülmüştür (415). Sıçanlara intraperitoneal 30 µg/kg exendin uygulandıktan 90 dk sonra açık alan testi yapıldığında orta alanda geçirilen sürenin kontrol grubuna göre değişmediği görülmüştür (416). Sıçanlarda tek sefer intraperitoneal 100 veya 200 µg/kg liraglutid, 3 veya 6 mg/kg sitagliptin uygulaması yapılan bir çalışmada ilaç alan gruplarda yükseltilmiş artı labirent ve açık alan testinde kontrol grubuna benzer sonuçlar elde edilmiştir (417).

Bizim çalışmamızda sıçanlara 21 gün boyunca oral yoldan 20 mg/kg dozda sitagliptin verilmiş, yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirdikleri süre kontrol grubuna göre azalmıştır. Bildiğimiz kadarıyla diyabeti olmayan sağlıklı deney hayvanlarında bir GLP-1RA veya DPP-4i kullanımı sonrası PFC’de GLP-1 veya GLP-1R düzeylerinin ölçüldüğü herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda sağlıklı sıçanlarda sitagliptin kullanımı ile PFC

GLP-1 ve GLP-1R düzeylerinin kontrol grubuna göre azaldığı görülmüştür. Korelasyon analizi yapıldığında PFC GLP-1R düzeyleri ile anksiyete benzeri davranış arasında negatif yönde kuvvetli bir ilişki bulunduğu görülmektedir. Farelerde işaretli GLP-1 kullanılarak yapılan bir çalışmada juguler vene verilen işaretli GLP-1'in 5 dk içinde kan beyin bariyerini aşarak SSS'ye geçebiliyor olduğu görülmüştür (150). Bizim bilgilerimize göre periferik GLP-1 düzeylerinin değişimi ile PFC GLP-1 veya GLP-1R düzeylerinin nasıl etkilendiğine dair bir bilgi bulunmamaktadır. Ayrıca periferde düzeyi artan GLP-1'in NTS'deki GLP-1 sentezini etkileyip etkilemediği veya PFC GLP-1 düzeylerinin NTS'de üretilen GLP-1 düzeyleriyle ilişkili olup olmadığı, PFC GLP-1R düzeylerinin bundan nasıl etkilendiği bilinmemektedir. Bu çalışma bildiğimiz kadarıyla sitagliptin kullanımı sonrası anksiyete benzeri davranış ile PFC GLP-1 ve GLP-1R düzeylerinin incelendiği ilk çalışmadır.

Yalnızca enerji dengesinin düzenlendiği beyin bölgelerinde değil; amigdala, dorsal raphe (DR) ve hipokampus gibi emosyonel düzenlemede görev alan bölgelerde de GLP-1R bulunması, GLP-1'in emosyonel düzenlemede görev alıyor olabileceğini işaret etmektedir (418). Emosyonun işlenmesinde ve anksiyete benzeri davranış gelişiminde amigdalanın önemli bir rolü bulunmaktadır (419). Amigdala yapısının değiştiği veya PFC ile bağlantılarının bozulduğu durumlarda anksiyete benzeri davranış meydana gelmektedir (420). NTS'de bulunan GLP-1 nöronlarının GLP-1R bulunan ve anksiyete ilişkili davranışlarda önemli bir bölge olan santral amigdala çekirdeğine uzantılar verdiği bilinmektedir (421). Bu da NTS'deki GLP-1 nöron aktivasyonunun anksiyete benzeri davranış gelişimine direkt etki edebileceğini düşündürmektedir. Yapılan çalışmalarda santral amigdala çekirdeğindeki nöronlar gibi PVN'deki bazı nöronların da emosyonel düzenlemede görev alan beyin bölgelerine uzantılarının bulunduğu ve anksiyete gelişiminde rol oynayabilecekleri düşünülmüştür (422). Bizim çalışmamızda sitagliptin kullanımı ile GLP-1 düzeyleri artarak PVN'deki CRH salınımını uyarmış, bu şekilde HPA aksı aktive olarak anksiyete benzeri davranışların gelişmesine neden olmuş olabilir.

Serotonin, anksiyete benzeri davranış gelişiminde önemli bir yere sahiptir (423). Anksiyete bozukluklarının tedavisinde serotonerjik ilaçlar kullanılmaktadır (424). NTS'de bulunan GLP-1 nöron uzantılarının DR'ye kadar ulaştığı da dikkate alındığında GLP-1'in anksiyete benzeri davranışın gelişiminde DR aracılı etkilerinin bulunabileceği düşünülmüş, bu

yönde araştırmalar yapılmıştır (425). DR'ye uygulanan GLP-1'in tek başına anksiyete benzeri davranış gelişimine neden olduğu görülmüş, bu sonuç GLP-1'in anksiyojenik etkilerini DR'de bulunan GLP-1R'lerin aktivasyonu ile gerçekleştirdiğini düşündürmüştür (385). Bu çalışmada sitagliptin kullanımı ile plazmada GLP-1 düzeyleri artarak DR uyarılmış, bu uyarı da anksiyete benzeri davranışların ortaya çıkmasına neden olmuş olabilir.

Obez olmayan erkek gönüllülerde 50 – 600 mg arası dozlarda kullanılan sitagliptinin 24 saat boyunca %80'in üzerinde DPP-4 inhibisyonu yaptığı ve sistemik GLP-1 düzeylerini yaklaşık 2 kat artırdığı gösterilmiştir (8). C57BL/6N fareler kullanılarak yapılan bir çalışmada 0,3-3 mg/kg arası dozlarda kullanılan sitagliptinin 60 dk içerisinde plazma GLP-1 düzeylerini yine yaklaşık 2 kat artırdığı görülmüş; her ne kadar kan beyin bariyerini geçiyor olsa da bu artışın GLP-1'in sitagliptin kullanımına rağmen düşük bir yarılanma ömrüne sahip olması nedeniyle SSS'de direkt etki gösterebilecek düzeyde olmayabileceği tartışılmış (426), ancak bu konuda herhangi bir ölçüm yapılmamıştır. Dolaşıma salınan GLP-1'in yaklaşık %50'sinin hepatik portal vene ulaştığı anda yıkıma uğramış olduğu bilinmektedir (427). Portal venin dolaşım sistemindeki en yüksek GLP-1 düzeyine sahip majör ven olması (427) ve portal ven çevresinde portal besin içeriğini algılayan pek çok afferent bulunması (428), bu bölgedeki GLP-1 içeriğinin SSS'ye sinyal iletiminde rol oynuyor olabileceğini düşündürmüştür (429). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda portal ven çevresindeki sinir sonlanmalarında ve nodoz ganglionda GLP-1R'lerin bulunduğu gözlenmiştir (430, 431). Sprague-Dawley tür sıçanlarda yapılan bir çalışmada portal vene 1-8 µmol/kg dozlarında bir DPP-4i verilmiş, portal ven GLP-1 düzeylerinin 5 dk içerisinde yaklaşık 1,5 katına çıktığı, 30 dk sonra ise normal düzeye gerilediği, sistemik dolaşımdaki GLP-1'in ise bu uygulamadan etkilenmediği görülmüştür (432). Aynı çalışmada vagotomi ile besin alımının nasıl değiştiği gözlenmiş, portal vene DPP-4i uygulanan kontrol grubundaki sıçanlarda besin alımının azaldığı, vagotomi yapıldıktan sonra DPP-4i uygulanan sıçanlarda ise besin alımının kontrol grubuna göre değişmediği görülmüştür. Bu bilgiler ışığında portal dolaşımda bulunan GLP-1'in de SSS'deki etkisini hepatportal sistemdeki nöral reseptörler aracılığıyla gösteriyor olabileceği düşünülmektedir (426). Bu çalışmada sitagliptin kullanımı ile görülen davranış değişiklikleri yalnızca GLP-1'in direkt SSS etkileşimi ile değil, portal dolaşımdaki GLP-1 düzeylerinin artıp, bu sinyalin bölgede bulunan nöral reseptörler aracılığıyla santrale iletilmesi nedeni ile de gerçekleşmiş olabilir.

Literatürde GLP-1'in diyabetiklerde genellikle anksiyolitik etki oluşturduğu, 1 yayında ise anksiyeteyi etkilemediği görülmektedir. STZ/nikotinamid kullanılarak diyabet oluşturulan farelerde 2 hafta boyunca subkutan 0.1 µg/kg dozunda exendin kullanımı ile yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen sürenin kontrol grubuna göre yüksek olduğu gözlenmiştir (381). STZ kullanılarak DM oluşturulmuş sıçanlarda 6 hafta subkutan 300 µg/kg liraglutid kullanımı ile diyabetiklere göre açık alan testinde orta alanda geçirilen süre ile yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollarda geçirilen sürenin arttığı görülmüştür (433). Diyabetik 304 hastanın izlendiği bir çalışmada 12 haftalık 0,9 mg/gün dozda liraglutid tedavisinin sonunda hastalarda anksiyete ölçeğinde anlamlı bir iyileşmenin görüldüğü gözlenmiştir (434). 71 diyabetiğin 18 ay boyunca exenatid kullandığı bir çalışmada hastaların anksiyete düzeylerinin tedavi başlangıcına göre azaldığı görülmüştür (435). Bu bilgilerden farklı olarak 702 diyabetikte yapılan bir araştırmada 1 yıl boyunca 1,2 ye da 1,8 mg liraglutid kullanımının anksiyeteyi etkilemediği görülmüştür (436).

Bizim çalışmamızda STZ kullanılarak diyabet oluşturulan sıçanlara 21 gün oral yoldan 20 mg/kg dozunda sitagliptin verilmiş, yükseltilmiş artı labirent testi ile açık alan testinde diyabetiklere benzer anksiyete düzeylerine sahip oldukları görülmüştür. Bildiğimiz kadarıyla diyabetiklerde bir GLP-1RA veya DPP-4i kullanımı sonrası PFC'de GLP-1 veya GLP-1R düzeylerinin ölçüldüğü herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Diyabetiklerde SSS'de diğer beyin bölgelerindeki GLP-1 ve GLP-1R düzeyleri incelenen yayınlarda diyabetiklerde santral GLP-1R düzeylerinin azaldığı, inkretin tedavisi ile bu düzeylerin yükseldiği, GLP-1 düzeylerinin ise değişmediği görülmektedir. STZ kullanılarak diyabet oluşturulan sıçanlarda ve genetik olarak hiperglisemi görülen farelerde yapılan bir çalışmada hipotalamus GLP-1 düzeyleri incelenmiş, bu hayvanlarda kontrol gruplarına göre hipotalamus GLP-1 düzeylerinin değişmediği görülmüştür (437). Roux-en-Y gastrik bypass ameliyatı yapılan diyabetik sıçanlarda 8 hafta sonra plazma GLP-1 düzeylerinin operasyon öncesine göre yükseldiği, hipotalamus GLP-1R ekspresyonunun da hem operasyon öncesine göre hem de kontrol grubundaki sağlıklı sıçanlara göre arttığı görülmüştür (438). Diyabetiklerde postmortem yapılan bir çalışmada diyabetiklerde özellikle PVN ve ARC'de GLP-1R ekspresyonunun diyabeti olmayanlara göre daha düşük olduğu görülmüştür (439). STZ/nikotinamid kullanılarak diyabet oluşturulan farelerde hipokampus GLP-1R ekspresyonunun sağlıklı farelere göre düşük olduğu gözlenmiş, 2 hafta boyunca subkutan günde 2 kez 0,1 µg/kg exendin verildiğinde

hipokampus GLP-1R gen ekspresyonunun arttığı görülmüştür (440). 12 hafta yüksek yağlı diyetle beslenen ve sonrasında STZ kullanımı ile diyabet oluşturulan yetişkin sıçanlara 20 gün boyunca 3,2 µg/kg/gün dozunda intraperitoneal exendin uygulandığında diyabetik kontrol grubuna göre hipokampal GLP-1R ekspresyonunda bir artışın olduğu görülmüştür (441). Bizim çalışmamızda diyabetiklerde sitagliptin kullanımı ile PFC GLP-1 ve GLP-1R düzeylerinin ilaç verilmeyen diyabetiklere göre değişmediği görülmüştür. Bu sonuç diyabetiklerde sitagliptin kullanımı ile kanda düzeyi artan GLP-1'in PFC'de GLP-1R ekspresyonunu artıracak düzeyde SSS'ye geçememesi nedeniyle olabilir. Bundan başka, sitagliptin kullanımına rağmen kan glukoz düzeyleri STZ kullanımı nedeniyle yüksek seyreden diyabetiklerde hiperglisemi nedeniyle GLP-1R ekspresyonunun azaldığı söylenebilir (442).

GLP-1'in stres yanıtı oluşumundaki nöral (sempatik terminaller) ve hümorale (adrenal medulla ve korteks) yolağı birlikte uyardığı düşünülmektedir (443). Yapılan çalışmalarda SSS'de GLP-1'in sempatik aktivite ile HPA aks aktivitesini artırdığı (444), plazma ACTH ve glukokortikoid düzeyleri ile plazma katekolamin düzeylerinin yükseldiği (445); GLP-1Rant kullanımı ile ise HPA aks aktivitesinin azaldığı gözlenmiştir (13). Bunun üzerine yapılan çalışmalar PVN'nin strese karşı verilen HPA aksı yanıtında önemli rol oynadığını göstermiştir (446). NTS'deki GLP-1 nöronlarının iç stresörlere bağlı olarak uyarıldığı (447), santral GLP-1'in de PVN'deki CRH nöronlarını uyararak HPA aks aktivitesini artırdığı görülmüştür (447, 448). PVN GLP-1R knockout farelerle yapılan bir çalışmada bu farelerde akut ve kronik strese karşı HPA aks yanıtının azaldığı, kronik strese karşı HPA aks hiperaktivitesinin önlendiği ve bu farelerde anksiyete benzeri davranışların azaldığı gözlenmiştir (410).

Kronik stres maruziyeti ile HPA aksının yeni stresörlere karşı daha şiddetli yanıtlar oluşturduğu bilinmektedir (388). Kronik stres maruziyetinde yeni stresörlere karşı yanıt oluşumunun kolaylaşması, yüksek glukokortikoid düzeylerine rağmen HPA aksının yeni bir stresör karşısında aktive olabilmesini sağladığından oldukça önemli bir yere sahiptir (449). GLP-1'in kronik stres sırasında HPA aks aktivitesini artırmadığı; ancak HPA aksının daha kolay aktive olmasını sağladığı gözlenmiş, bu etkiyi adrenal korteksin ACTH'a karşı olan hassasiyetini artırarak gösterdiği öne sürülmüştür (388).

GLP-1'in intraserebroventriküler uygulamalarının anksiyete benzeri davranış ve glukokortikoid salınımı üzerine olan etkisinin verildiği beyin bölgesine göre değişim gösterdiği

görülmektedir. Santral amigdala çekirdeğine GLP-1 uygulandığında plazma kortikosteron düzeylerinde anlamlı bir artış görülmemiş; ancak bu hayvanlarda anksiyete benzeri davranışın geliştiği görülmüştür. Aynı çalışmada PVN'ye GLP-1 uygulandığında ise plazma kortikosteron düzeylerinin yükseldiği; ancak anksiyete benzeri davranışın gelişmediği gözlenmiştir (13). Bu bilgiler ışığında GLP-1 ile gelişen anksiyete benzeri davranışın artan kortikosteron düzeylerine sekonder değil, GLP-1R uyarımına yanıt olarak oluştuğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da gruplar arasında kortikosteron düzeyleri açısından anlamlı bir fark görülmemiş; ancak sitagliptin verilen sıçanlarda anksiyete benzeri davranış gelişmiştir. Çalışmamızda sitagliptin verilen sıçanlarda santral amigdala çekirdeği aktive olarak plazma kortikosteron düzeylerini değiştirmeden anksiyete benzeri davranış gelişimine katkıda bulunmuş olabilir.

Literatürde GLP-1'in glukokortikoid salınımını uyardığı, stresörle karşılaşıldığında ise değiştirmedeği görülmektedir. Sağlıklı erkeklerde yapılan bir çalışmada intravenöz 1 µg/kg dozunda GLP-1 (7-36) amid veya intravenöz 5 µg/kg dozunda exendin-4 uygulamasının 20 dk içinde kortizol sekresyonunu artırdığı gözlenmiştir (192). Sıçanlarda intraperitoneal 10 µg/kg exenatid uygulamasının 90 dk içerisinde plazma kortikosteron düzeylerini artırdığı, 14 gün boyunca günde 2 kez intraperitoneal 10 µg/kg dozda uygulanması ile de bu yüksekliğin değişmediği görülmüştür (413). Sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada 0,1, 1 ve 10 µg dozlarında intraserebroventriküler GLP-1 uygulamasını takiben strese maruz bırakılan sıçanlardan 15., 30., 60. ve 120. dakikalarda alınan kan örneklerinde kontrol grubundaki sıçanlara göre bazal kortikosteron ve ACTH düzeyleri arasında herhangi bir fark bulunmamıştır (388). Ayrıca sıçanlarda yapılan bir başka çalışmada 5 gün boyunca intraserebroventriküler 2µg/2µl dozunda uygulanan GLP-1'in, sıçanlarda akut strese karşı verilen kortikosteron yanıt şiddetini kontrol grubundaki sıçanlara göre değiştirmedeği görülmüştür (450). Bu da çalışmamızda yükseltilmiş artı labirent testinde strese maruz kalan sıçanlarda plazma kortikosteron düzeylerinin kontrol grubuna göre benzer olmasını açıklayabilir.

Diyabetiklerde HPA aks aktivitesinin arttığı, kan glukokortikoid düzeylerinin yükseldiği bilinmektedir (451, 452). Ancak bizim çalışmamızda diyabetiklerle diğer gruplardaki sıçanların kan kortikosteron düzeyleri arasında anlamlı bir fark görülmemiştir. Diyabetiklerin yağ dokularının incelendiği bir çalışmada doku glukokortikoid düzeyleri yüksek bulunan kişilerde plazma glukokortikoid düzeylerinin normal düzeylerde seyrettiği

görülmüştür (192). Bizim çalışmamızda plazma kortikosteron düzeylerinin farklı bulunmamasına rağmen artmış anksiyete yanıtı doku glukokortikoid düzeylerinin yükselmesi nedeniyle olabilir.

Diyabetiklerde yapılan bir insan çalışmasında 12 hafta boyunca bir GLP-1RA olan liraglutid kullanımı ile kortizol/ACTH oranının arttığı görülmüştür (453). Bizim çalışmamızda sitagliptin verilen diyabetiklerle tedavi verilmeyen diyabetikler arasında kortikosteron düzeyleri açısından herhangi bir fark görülmemiştir. Bu durum DPP-4i'lerin GLP-1RA'lara göre plazma GLP-1 düzeylerini kortikosteron sentezini uyaracak kadar artırmıyor olması ile açıklanabilir (454).

Bizim bilgilerimize göre diyabeti olmayan hayvanlarda GLP-1 kullanımı ile ileum GLP-1 veya GLP-1R düzeylerinin nasıl değiştiği konusunda herhangi bir yayın bulunmamaktadır. Farelerde yapılan bir çalışmada 2 hafta boyunca günde 2 kez 10 nmol/kg dozunda bir GLP-1RA olan exendin uygulaması ile ileumda L-hücre sayısının arttığı, 14 gün boyunca 50 nmol/kg dozunda bir GLP-1Rant olan exendin 9-39 kullanımı ile L-hücre proliferasyonunun azaldığı gözlenmiş, ileum GLP-1 düzeyleri ise ölçülmemiştir (455). Bizim çalışmamızda sağlıklı sıçanlarda sitagliptin kullanımı ile ileum GLP-1 düzeyleri değişmemiş, GLP-1R düzeyleri ise azalmıştır. Fetal sıçan intestinal hücre kültüründe yapılan çalışmada somatostatin reseptör agonisti kullanımı ile doz bağımlı olarak GLP-1 sekresyonunun azaldığı görülmüştür (456). Dişi C57BL/6 fareler kullanılarak yapılan bir çalışmada pankreasta somatostatin reseptör inhibitörü kullanımı ile GLP-1 sekresyonunun arttığı gözlenmiştir (457). Yapılan çalışmalar ışığında DPP-4i kullanımı ile düzeyi artan GLP-1'in bağırsakta ve pankreastaki D-hücrelerinde sentezlenen somatostatin sekresyonunu uyardığı, bu şekilde bağırsak ve pankreastan salgılanan GLP-1 miktarının somatostatinin parakrin etkisi ile azalıyor olabileceği düşünülmektedir (458). Çalışmamızda sitagliptin kullanımı ile düzeyleri artan GLP-1'in ileumda GLP-1R düzeylerini azaltıcı bir geribildirim etkisi gösterdiği söylenebilir. Bununla birlikte ileumda üretilen GLP-1 henüz sistemik dolaşıma verilmediğinden burada üretilen GLP-1'in henüz enzim ile yıkılmadığı, bu nedenle sağlıklı sıçanlara sitagliptin verilmesiyle GLP-1 düzeylerinin değişmediği; bununla birlikte ileumdaki reseptör down regülasyonuna rağmen L hücresindeki GLP-1 üretiminin de değişmediği düşünülebilir.

Balb/c farelerde STZ uygulaması ile diyabet oluşturulan bir çalışmada yapılan immünohistokimyasal inceleme ve RT-PCR ölçümü sonucunda diyabetik farelerdeki ileum GLP-1 düzeylerinin sağlıklı farelerden farklı olmadığı bulunmuştur (459). Bildiğimiz kadarıyla diyabetiklerde ileum GLP-1 veya GLP-1R düzeyleriyle ilgili başka bir çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda diyabetik sıçanlarda sitagliptin kullanımı ile ileum GLP-1 düzeyleri azalmış, GLP-1R düzeyleri ise değişmemiştir. Çalışmamızda diyabetiklerde sitagliptin kullanımı ile ileum GLP-1 düzeylerinin azalması, plazmada düzeyi artan GLP-1'in somatostatin salınımı uyarması ve somatostatinin parakrin etkisi sonucunda GLP-1 sentezinin azalması ile açıklanabilir.

Bir reseptörün bir agoniste kronik olarak maruz kalması, aynı uyarana karşı gelişecek sonraki yanıtların azalmasına neden olmakta, bu olaya da homolog desensitizasyon denilmektedir (460). Bazı G-protein ilişkili reseptörlerde bu olay iki basamakta gerçekleşmektedir. Öncelikle agonistin bağlandığı reseptör G-protein ilişkili reseptör kinazlarca fosforillenmektedir. Bu da arrestin adı verilen proteinlerin reseptöre bağlanmasına neden olarak reseptörün G-proteinleri ile olan etkileşimini engellemekte, bu şekilde G-proteinine bağlı olan kısım desensitize ve internalize edilmektedir (461). Yapılan çalışmalarda GLP-1R'nin homolog desensitizasyona uğradığı gösterilmiştir (462, 463); ancak GLP-1R'nin homolog desensitizasyona ve internalizasyona uğradığı mekanizma henüz net olarak bilinmemektedir. Yapılan bir in vitro çalışmada hiperglisemik ortamdaki pankreas adacık hücrelerine GLP-1 verilmesi ile GLP-1R'nin reseptörün fosforile olduğu, bu fosforilasyon sonrası hücre içi cAMP, protein kinaz A ve protein kinaz C düzeylerinin yükseldiği, yükselen protein kinaz C düzeyleri ile de reseptör desensitizasyonunun gerçekleştiği; ancak reseptör ekspresyonunun değişmediği görülmüştür (462). Yapılan başka bir in vitro çalışmada ise hiperglisemik ortamdaki pankreas adacık hücrelerinde hiperglisemi nedeniyle hücre içi cAMP düzeylerinin artışı ve protein kinaz A düzeylerinin sürekli yüksek kalması sonucunda GLP-1R uyarımına bağlı gelişen cAMP sinyallerinde ve bununla birlikte GLP-1R ekspresyonunda azalma gözlenmiştir (463).

GLP-1R ekspresyonunun değişiminde akut ve kronik etkiler birbirinden farklılık göstermektedir. Pankreatektomi yapılarak diyabet oluşturulan sıçanlarda yapılan bir çalışmada akut dönemde pankreas adacık hücrelerinde GLP-1R ekspresyonunun arttığı, ancak kronik



dönemde GLP-1R ekspresyonunun azaldığı görülmüş, adacık hücreleri kullanılarak yapılan hücre kültüründe de hiperglisemik ortamda GLP-1R ekspresyonunun azaldığı gözlenmiş; diyabetiklerde azalan GLP-1 etkisinin hiperglisemi etkisiyle GLP-1R düzeylerinde görülen azalma nedeniyle ortaya çıkıyor olabileceği düşünülmüştür (464). Erken hiperglisemi döneminde GLP-1R düzeylerinin hiperglisemi ile başa çıkabilmek için artıyor olduğu, kronik maruziyet sonucunda ise bu kompanzasyon mekanizmasının işe yaramadığı düşünülmektedir (465). Yapılan bir insan çalışmasında kontrolsüz diyabetiklerden alınan pankreas adacık hücrelerinde GLP-1R ekspresyonunun sağlıklı insanlara göre azaldığı görülmüştür (442). Çalışmamızda diyabetiklerde ve sitagliptin verilen diyabetik sıçanlarda ileum GLP-1R düzeylerini kullandığımız diyabet modeli ile oluşturduğumuz kronik hiperglisemi nedeniyle kontrol grubuna göre düşük; ilaç verilmeyen diyabetiklerle sitagliptin verilen diyabetiklerde ise her iki grupta da hiperglisemi görülmesi nedeniyle benzer bulmuş olabiliriz.

Diyabeti olmayanlarda DPP-4i kullanımının plazma GLP-1 düzeylerine etkisi ile ilgili yayınlar incelendiğinde DPP-4i'nin plazma GLP-1 düzeylerini genellikle ya azalttığı (466) ya da değiştirmedığı (432) sonucuna ulaşılmaktadır. Köpeklerde yapılan bir çalışmada bir DPP-4i kullanımı ile plazma DPP-4 aktivitesinin %90'ın üzerinde inhibe edilmesi sonrasında besin alımına sekonder salgılanan GLP-1'in aktif formunun konsantrasyonunun arttığı; ancak dolaşımdaki toplam GLP-1 düzeylerinin azaldığı görülmüştür (466). Sağlıklı erkeklerde 7 gün süresince günde 100 mg sitagliptin kullanımının besin alımı sonrası aktif GLP-1 düzeylerini 2 katına çıkardığı görülmüş; ancak bu kişilerde total GLP-1 düzeylerinin ilaç kullanımı öncesine göre azaldığı gözlenmiştir (467). Yapılan başka bir çalışmada ise sıçanlara 1-8 µmol/kg dozlarında intraportal DPP-4i uygulamasının portal GLP-1 düzeylerini artırdığı; ancak sistemik dolaşımdaki GLP-1 düzeylerini etkilemediği gözlemlenmiştir (432).

Toft-Nielsen ve arkadaşları yaptıkları çalışmada eksojen GLP-1(7-37) infüzyonu ile kan GLP-1 düzeylerinin azaldığını gözlemişler, bu durumu olası bir negatif geribildirim mekanizmasını ile açıklamışlardır (468). Fetal sıçan intestinal hücre kültüründe yapılan bir çalışmada ortama GLP-1 verilmesi ile somatostatin düzeylerinin yükseldiği görülmüş, GLP-1 salgılayan L-hücresinin sekresyonunun direkt GLP-1 ile değil, somatostatin üzerinden indirekt yolla kontrol ediliyor olabileceği düşünülmüştür (469). Köpeklerde yapılan bir çalışmada DPP-4i kullanımı ile besin alımı sonrasında plazma GLP-1 düzeylerinin azaldığı görülmüştür (466). Bu azalmanın artan aktif GLP-1 düzeylerinin L-hücresi sekresyonu üzerinde negatif

geribildirim etki oluşturması nedeniyle gerçekleşmiş olabileceği (456); bağırsak mukozasında ve dolaşımda artan aktif GLP-1 düzeylerinin bağırsakta somatostatin salgılayıcı D-hücrelerince algılandığı ve bu hücrelerin gerçekleşen artışa parakrin somatostatin sekresyonu ile yanıt verdiği (470), somatostatinin bu şekilde L-hücresinin GLP-1 salgılama kapasitesini azalttığı düşünülmektedir (471). Çalışmamızda azalmış plazma GLP-1 seviyesi sitagliptin kullanımı ile serumda artan aktif GLP-1'in somatostatin aracılı negatif geribildirim etkisi nedeniyle ortaya çıkmış olabilir.

Nötral endopeptidaz 24.11 (NEP-24.11), pek çok farklı substratı parçalayan membrana bağlı yaygın bir çinko metallopeptidazdır (472). Böbrekte yoğun miktarda bulunduğundan peptid yapılı hormonların renal klirensinde görev aldığı düşünülmektedir (473). GLP-1'in yıkımından esas olarak DPP-4'n sorumlu olduğu düşünülse de domuzlarda yapılan bir çalışmada intravenöz GLP-1 uygulamasından sonra bir NEP-24.11 inhibitörü kullanıldığında plazma GLP-1 düzeylerinin yüksek kaldığı görülmüş, NEP-24.11'in de GLP-1'in yıkımında görev aldığı dşnlmştir (473). Farelerde yapılan bir çalışmada intravenöz GLP-1 uygulanan farelere NEP-24.11 inhibitörü verildiğinde GLP-1 düzeylerinin yükseldiği grlmştir (474). Başka bir çalışmada NEP-24.11 knockout farelerde plazma GLP-1 seviyelerinin yüksek olduğu tespit edilmiştir (475). Bundan başka, DPP-4 enziminin GLP-1'e N-terminal ucundan bağlanarak inaktive ettiği bilinmektedir, GLP-1'in DPP-4 inhibisyonu ile N-terminal ucundan yıkılmaya karşı korunduğu düşünülmektedir (473). NEP-24.11 ise GLP-1'i C-terminal ucuna bağlanarak inaktive etmektedir; bu nedenle NEP-24.11'in dolaşım sistemine geçen GLP-1'in yaklaşık yarısının yıkımından sorumlu olduğu öne sürülmektedir (5, 35). Bildiğimiz kadarıyla literatürde diyabeti olmayanlara DPP-4i verilmesiyle NEP-24.11 aktivitesinin nasıl değiştiğine dair bir bilgi bulunmamaktadır. Bizim alışmamızda diyabetik olmayan ve sitagliptin verilen sağlıklı sıçanlarda plazma GLP-1 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Bu sonuç, NEP-24.11 aktivitesinin sitagliptin kullanımı ile değişiyor olabileceğini düşündürmektedir.

Literatür incelendiğinde diyabetiklerdeki plazma GLP-1 düzeylerinin azaldığı (476) ya da değişmediği (316) görülmektedir. Diyabetiklerde DPP-4i kullanımı ile besin alımı sonrası görülen GLP-1 artışı tanımlanmıştır (477); ancak bildiğimiz kadarıyla diyabetiklerde DPP-4i kullanımı ile bazal GLP-1 düzeylerinin nasıl değiştiği konusunda herhangi bir yayın bulunmamaktadır. Literatürde diyabetiklerdeki NEP-24.11 aktivitesinin azaldığı

görülmektedir. Yapılan bir çalışmada tek doz 70 mg/kg STZ kullanılarak diyabet oluşturulan Wistar sıçanların 4 gün sonra renal korteks dokusu incelenmiş, diyabetik sıçanlarda renal korteks NEP-24.11 gen ekspresyonunun sağlıklı sıçanlara göre 1,8 kat azaldığı görülmüştür (478). Bizim çalışmamızda diyabetik sıçanların plazma GLP-1 düzeyleri bu nedenle etkilenmemiş olabilir.

GLP-1'in SSS'de tokluğu uyardığı ve besin alımını engellediği bilinmektedir (3). Farelerde yapılan çalışmalarda GLP-1'nin vücut ağırlığını azaltıcı etkisinin SSS'deki GLP-1R'lere bağlı olduğu görülmüştür (479, 480). GLP-1R ilişkili besin alımı inhibisyonunun arkuat çekirdekteki (ARC) anoreksijenik proopiomelanokortin (POMC) nöronlarının aktivasyonu ve aynı anda oreksijenik nöropeptit Y/Agouti-ilişkili peptid (NPY/AgRP) nöronlarının inhibisyonu ile gerçekleştiği düşünülmektedir (481). GLP-1 POMC/CART hücrelerini direkt olarak uyarmakta, aynı anda indirekt bir mekanizma ile ARC'deki NPY/AgRP hücrelerini de inhibe etmektedir (151). C57BL/6 farelerde yapılan bir çalışmada 200 nM exendin-4 uygulaması ile ARC'deki POMC nöronlarının sinyal üretme sıklığının arttığı gözlenmiştir (482). Bu yayınlar ışığında besin alımı ve tokluk ile ilgili beyin bölgesi olan hipotalamustaki ARC'nin GLP-1 ilişkili besin alımının düzenlenmesinde GLP-1'in üretildiği beyin sapından daha önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (481).

DPP-4, GLP-1 dışında besin alımının düzenlenmesinde görev alan nöropeptid Y (NPY), peptid tirozin tirozin (PYY) ve enterostatin gibi pek çok substratın yıkımından sorumludur (31). DPP-4'ün substratlarından biri olan PYY hem sağlam hem de yıkılmış haliyle aktif olan bir peptiddir. Sağlam form olan PYY 1-36 ile yıkım ürünü olan PYY 3-36'nın besin alımı üzerindeki etkisi birbirinden farklıdır; PYY 3-36 besin alımını azaltıp vücut ağırlığında azalmaya neden olurken (483), PYY 1-36 besin alımını uyarmaktadır (484). DPP-4i'lerin çoğunlukla vücut ağırlığına etki etmiyor olmasının nedeninin PYY 1-36 düzeylerinin artması ile PYY 3-36 düzeylerinde görülen azalmaya bağlı olabileceği de öne sürülmektedir (485).

DPP-4i'lerin büyük moleküler yapıları nedeniyle SSS'ye geçemediğinden, etkilerini periferik GLP-1 düzeylerini artırarak oluşturduğu düşünülmektedir (486). Ancak periferik GLP-1 seviyelerini de tokluk sinyali oluşturacak kadar yükseltmediği, bu nedenle çoğunlukla ağırlığa etki etmediği öne sürülmektedir (487). Bizim çalışmamızda da diyabetik olmayan sağlıklı sıçanlarda sitagliptin kullanımı kilo değişimine neden olmamıştır.

Diyabetiklerde GLP-1RA kullanımı ile belirgin bir kilo kaybının gözlemlendiği (31); ancak DPP-4i kullanımı ile vücut ağırlığının genellikle değişmediği (488), ya da düşük miktarda kilo kaybının meydana geldiği görülmektedir (489). 75283 diyabetik hastanın 30 ay boyunca izlendiği AIFA anti-diyabetik izlem çalışmasında DPP-4i kullanımı ile hastalarda ortalama %1-1.5 düzeyinde kilo kaybının geliştiği görülmüştür (490). Çalışmamızda sitagliptin kullanan diyabetik sıçanlarda diğer gruplara göre anlamlı bir kilo kaybı görülmüştür.

Kilo kaybının yalnızca azalan besin alımı ile değil, artan enerji ihtiyacı ile de gerçekleşebileceği düşünülmelidir. Yapılan bir çalışmada santral GLP-1 uygulaması ile sıçanlarda kilo kaybının yaşandığı, bu kaybın azalmış besin alımı nedeniyle gerçekleşmediği görülmüştür (388). Bu da GLP-1'in vücudun enerji harcama mekanizmalarını modüle ederek kilo kaybına neden olabileceğini düşündürmektedir. Santral GLP-1R aktivasyonunun kahverengi yağ dokusunda termogenezi artırarak vücut ağırlığını düzenlediği öne sürülmektedir (491). C57BL/6J fareler kullanılarak yapılan bir çalışmada DPP-4 substratı olan GLP-1 ve oksintomodulin gibi peptidlerin 1 nmol dozda intraserebroventriküler uygulanması sonrasında farelerde VO<sub>2</sub> tüketimi ile kahverengi yağ dokusunda termogenezin arttığı görülmüştür (492). Yapılan çalışmalarla bağırsaktan salgılanan ve preproglukagon ailesine ait olan oksintomodulinin kilo kaybını uyardığı (493), etkisini GLP-1R üzerinden gösterdiği, mide asit salgısının düzenlenmesi ve bağırsak motilitesine GLP-1 gibi etki ettiği gösterilmiştir (494). Oksintomodulinin farelerde ve insanlarda besin alımında bir değişikliğe neden olmadan kilo kaybına neden olduğu gözlenmiştir (492, 495). Çalışmamızda sitagliptin verilen diyabetik sıçanlarda görülen kilo kaybı, bu sıçanlarda artan enerji ihtiyacı nedeniyle gerçekleşmiş olabilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnkretinerjik ilaçlar son yıllarda diyabet tedavisinde oldukça sık kullanılmaya başlamıştır. Ancak bu kadar sık reçete edilen ve kullanılan bir ilacın davranış üzerine etkileri henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. GLP-1'in anksiyete benzeri davranış ile ilişkisini daha net görebilmek amacıyla yapılan bu çalışmada bir DPP-4i olan sitagliptinin diyabetiklerde anksiyete benzeri davranışı düzeltmediği, dahası sağlıklı sıçanlarda anksiyete benzeri davranışa neden olduğu görülmüştür.

Periferik GLP-1 düzeylerinin merkezi sinir sisteminde üretilen GLP-1'i nasıl etkilediği henüz bilinmemektedir. Bununla birlikte periferik GLP-1'in SSS'deki hangi etkilerini direkt ya da indirekt mi gösteriyor olduğu da henüz aydınlığa kavuşmamıştır. Ayrıca DPP-4 inhibisyonu ile GLP-1'in yanısıra düzeyleri artan diğer DPP-4 substratlarının davranış üzerinde nasıl bir net etki oluşturabileceği henüz bilinmemekte, daha sonraki çalışmalarla açığa kavuşturulmayı beklemektedir.

SSS'de pek çok bölgede reseptörü bulunan GLP-1'in bir GLP-1RA kullanımı ile düzeylerinin fizyolojik sınırların çok üstüne çıkarılmasının hem periferik hem de santral dokularda tanımlanması güç, birbirini engelleyen ya da kuvvetlendiren pek çok uyarının oluşmasına neden olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca SSS'deki düzeylerinin tam olarak nasıl davranışsal etkilere neden olduğu tam olarak aydınlatılamamış bir peptidin, GLP-1RA kullanımı ile olumlu periferik etkilerine karşın fizyolojik sınırlarının oldukça üstüne çıkarılmasının uzun vadede nasıl santral etkiler oluşturabileceği henüz net olarak bilinmemektedir. Bu nedenle inkretinerjik tedavi önerilen ve özellikle anksiyete tanısı almış hastaların davranış özelliklerinin ilaç kullanımı ile zaman içerisinde nasıl değiştiği yakın takip edilmelidir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Nauck MA, Homberger E, Siegel EG, Allen RC, et al. Incretin effects of increasing glucose loads in man calculated from venous insulin and C-peptide responses. *J Clin Endocrinol Metab*, 1986; 63(2): 492-98.
2. Kreymann B, Ghatei M, Williams G, Bloom S. Glucagon-like peptide-1 7-36: a physiological incretin in man. *Lancet*, 1987; 330(8571): 1300-04.
3. Turton MD, O'Shea D, Gunn I, Beak SA, et al. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*, 1996; 379(6560): 69-72.
4. Böttcher G, Alumets J, Håkanson R, Sundler F. Co-existence of glicentin and peptide YY in colorectal L-cells in cat and man. An electron microscopic study. *Regul Pept*, 1986; 13(3-4): 283-91.
5. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology*, 2007; 132(6): 2131-57.
6. Boonacker E, Van Noorden CJ. The multifunctional or moonlighting protein CD26/DPPIV. *Eur J Cell Biol*, 2003; 82(2): 53-73.
7. Gutniak M, Ørkov C, Holst JJ, Ahrén B, et al. Antidiabetogenic effect of glucagon-like peptide-1 (7–36) amide in normal subjects and patients with diabetes mellitus. *N Engl J Med*, 1992; 326(20): 1316-22.
8. Herman GA, Stevens C, Van Dyck K, Bergman A, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of sitagliptin, an inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, in healthy subjects: results from two randomized, double blind, placebo controlled studies with single oral doses. *Clin Pharmacol Ther*, 2005; 78(6): 675-88.
9. Bergman AJ, Stevens C, Zhou Y, Yi B, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of multiple oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-IV inhibitor: a double-blind, randomized, placebo-controlled study in healthy male volunteers. *Clin Ther*, 2006; 28(1): 55-72.
10. Rinaman L. Ascending projections from the caudal visceral nucleus of the solitary tract to brain regions involved in food intake and energy expenditure. *Brain Res*, 2010; 1350: 18-34.
11. Turton M, O'shea D, Gunn I, Beak S, et al. A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding. *Nature*, 1996; 379(6560): 69.

12. Rosen JB, Schulkin J. From normal fear to pathological anxiety. *Psychol Rev*, 1998; 105(2): 325-50.
13. Kinzig KP, D'Alessio DA, Herman JP, Sakai RR, et al. CNS glucagon-like peptide-1 receptors mediate endocrine and anxiety responses to interoceptive and psychogenic stressors. *J Neurosci*, 2003; 23(15): 6163-70.
14. Krass M, Rünkorg K, Vasar E, Volke V. Acute administration of GLP-1 receptor agonists induces hypolocomotion but not anxiety in mice. *Acta Neuropsychiatr*, 2012; 24(5): 296-300.
15. Bayliss WM, Starling EH. On the causation of the so-called 'peripheral reflex secretion' of the pancreas. (Preliminary communication.). *Proc R Soc Lond B*, 1902; 69(451-458): 352-53.
16. Zunz E, Barre JL. Contributions à l'étude des variations physiologiques de la sécrétion interne du pancréas. *Arch Int Physiol*, 1929; 31(2): 162-79.
17. Laughton N, Macallum AB. The relation of the duodenal mucosa to the internal secretion of the pancreas. *Proc R Soc Lond B*, 1932; 111(769): 37-46.
18. Barre JL, Still EU. Studies on the Physiology of Secretin: III. Further Studies on the Effects of Secretin on the Blood Sugar. *Am J Physiol*, 1930; 91(2): 649-53.
19. Dupre J. Effect of route of administration on disposal of glucose loads. *J Physiol-London*, 1964; 175(1).
20. Elrick H, Stimmeler L, Hlad Jr C, Arai Y. Plasma insulin response to oral and intravenous glucose administration. *J Clin Endocrinol Metab*, 1964; 24(10): 1076-82.
21. Dupre J. An intestinal hormone affecting glucose disposal in man. *Lancet*, 1964; 2: 672-73.
22. Arnould Y, Bellens R, Franckson J, Conard V. Insulin response and glucose-C14 disappearance rate during the glucose tolerance test in the unanesthetized dog. *Metabolism*, 1963; 12: 1122-31.
23. Dupre J, Beck J. Stimulation of release of insulin by an extract of intestinal mucosa. *Diabetes*, 1966; 15(8): 555-59.
24. Unger RH, Eisentraut AM. Entero-insular axis. *Arch Intern Med*, 1969; 123(3): 261-66.

25. Brown J, Dryburgh J, Ross S, Dupre J. Identification and actions of gastric inhibitory polypeptide. in *Proceedings of the 1974 Laurentian Hormone Conference*. 1975. Elsevier.
26. Lauritsen K, Moody A, Christensen K, Lindkær Jensen S. Gastric inhibitory polypeptide (GIP) and insulin release after small-bowel resection in man. *Scand J Gastroenterol*, 1980; 15(7): 833-40.
27. Bell GI, Santerre RF, Mullenbach GT. Hamster preproglucagon contains the sequence of glucagon and two related peptides. *Nature*, 1983; 302(5910): 716.
28. Mojsos S, Weir G, Habener J. Insulinotropin: glucagon-like peptide I (7-37) co-encoded in the glucagon gene is a potent stimulator of insulin release in the perfused rat pancreas. *J Clin Invest*, 1987; 79(2): 616-19.
29. Campbell JE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of incretin hormone action. *Cell Metab*, 2013; 17(6): 819-37.
30. Elliott R, Morgan L, Tredger J, Deacon S, et al. Glucagon-like peptide-1 (7–36) amide and glucose-dependent insulinotropic polypeptide secretion in response to nutrient ingestion in man: acute post-prandial and 24-h secretion patterns. *J Endocrinol*, 1993; 138(1): 159-66.
31. Drucker DJ, Nauck MA. The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes. *Lancet*, 2006; 368(9548): 1696-705.
32. Drucker DJ. Minireview: the glucagon-like peptides. *Endocrinology*, 2001; 142(2): 521-27.
33. Perfetti R, Merkel P. Glucagon-like peptide-1: a major regulator of pancreatic beta-cell function. *Eur J Endocrinol*, 2000; 143(6): 717-25.
34. Kieffer TJ, McIntosh C, Pederson RA. Degradation of glucose-dependent insulinotropic polypeptide and truncated glucagon-like peptide 1 in vitro and in vivo by dipeptidyl peptidase IV. *Endocrinology*, 1995; 136(8): 3585-96.
35. Hupe-Sodmann K, McGregor GP, Bridenbaugh R, Göke R, et al. Characterisation of the processing by human neutral endopeptidase 24.11 of GLP-1 (7–36) amide and comparison of the substrate specificity of the enzyme for other glucagon-like peptides. *Regul Pept*, 1995; 58(3): 149-56.



36. Lindgren O, Mari A, Deacon CF, Carr RD, et al. Differential islet and incretin hormone responses in morning versus afternoon after standardized meal in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2009; 94(8): 2887-92.
37. Anini Y, Hansotia T, Brubaker PL. Muscarinic receptors control postprandial release of glucagon-like peptide-1: in vivo and in vitro studies in rats. *Endocrinology*, 2002; 143(6): 2420-26.
38. Lee Y-S, Jun H-S. Anti-diabetic actions of glucagon-like peptide-1 on pancreatic beta-cells. *Metabolism*, 2014; 63(1): 9-19.
39. Sinclair EM, Drucker DJ. Proglucagon-derived peptides: mechanisms of action and therapeutic potential. *Am Physiol Soc*, 2005; 20(5): 357-65.
40. Chandra R, Liddle RA. Neurohormonal regulation of pancreatic secretion. *Cur Opin Gastroenterol*, 2012; 28(5): 483-87.
41. Gribble FM, Williams L, Simpson AK, Reimann F. A novel glucose-sensing mechanism contributing to glucagon-like peptide-1 secretion from the GLUTag cell line. *Diabetes*, 2003; 52(5): 1147-54.
42. Nonogaki K, Kaji T. The acute anorexic effect of liraglutide, a GLP-1 receptor agonist, does not require functional leptin receptor, serotonin, and hypothalamic POMC and CART activities in mice. *Diabetes Res Clin Pract*, 2016; 120: 186-9.
43. Clemmensen C, Chabenne J, Finan B, Sullivan L, et al. GLP-1/glucagon coagonism restores leptin responsiveness in obese mice chronically maintained on an obesogenic diet. *Diabetes*, 2014; 63(4): 1422-7.
44. Anini Y, Brubaker PL. Role of leptin in the regulation of glucagon-like peptide-1 secretion. *Diabetes*, 2003; 52(2): 252-59.
45. Mentlein R, Gallwitz B, Schmidt WE. Dipeptidyl peptidase IV hydrolyses gastric inhibitory polypeptide, glucagon like peptide 1 (7–36) amide, peptide histidine methionine and is responsible for their degradation in human serum. *Eur J Biochem*, 1993; 214(3): 829-35.
46. Hopsu-Havu VK, Glenner GG. A new dipeptide naphthylamidase hydrolyzing glycyl-prolyl- $\beta$ -naphthylamide. *Histochemie*, 1966; 7(3): 197-201.
47. Drucker DJ. Dipeptidyl peptidase-4 inhibition and the treatment of type 2 diabetes: preclinical biology and mechanisms of action. *Diabetes Care*, 2007; 30(6): 1335-43.

48. Röhrborn D, Eckel J, Sell H. Shedding of dipeptidyl peptidase 4 is mediated by metalloproteases and up-regulated by hypoxia in human adipocytes and smooth muscle cells. *FEBS Lett*, 2014; 588(21): 3870-77.
49. Mentlein R. Dipeptidyl-peptidase IV (CD26)-role in the inactivation of regulatory peptides. *Regul Pept*, 1999; 85(1): 9-24.
50. Röhrborn D, Wronkowitz N, Eckel J. DPP4 in diabetes. *Front Immunol*, 2015; 6: 386.
51. Cordero OJ, Salgado FJ, Viñuela JE, Nogueira M. Interleukin-12 enhances CD26 expression and dipeptidyl peptidase IV function on human activated lymphocytes. *Immunobiology*, 1997; 197(5): 522-33.
52. Hansen L, Deacon CF, Ørskov C, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1-(7–36) amide is transformed to glucagon-like peptide-1-(9–36) amide by dipeptidyl peptidase IV in the capillaries supplying the L cells of the porcine intestine. *Endocrinology*, 1999; 140(11): 5356-63.
53. 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. *J Clin Endocrinol Metab*, 1995; 80(3): 952-57.
54. Ruiz-Grande C, Pintado J, Alarcón C, Castilla C, et al. Renal catabolism of human glucagon-like peptides 1 and 2. *Can J Physiol Pharmacol*, 1990; 68(12): 1568-73.
55. Hegbrant J, Thysell H, Ekman R. Plasma levels of gastrointestinal regulatory peptides in patients receiving maintenance hemodialysis. *Scand J Gastroenterol*, 1991; 26(6): 599-604.
56. Cork SC, Richards JE, Holt MK, Gribble FM, et al. Distribution and characterisation of Glucagon-like peptide-1 receptor expressing cells in the mouse brain. *Mol Metab*, 2015; 4(10): 718-31.
57. Richards P, Parker HE, Adriaenssens AE, Hodgson JM, et al. Identification and characterisation of glucagon-like peptide-1 receptor expressing cells using a new transgenic mouse model. *Diabetes*, 2013: 1224-33.
58. Pyke C, Heller RS, Kirk RK, Ørskov C, et al. GLP-1 receptor localization in monkey and human tissue: novel distribution revealed with extensively validated monoclonal antibody. *Endocrinology*, 2014; 155(4): 1280-90.

59. Hou Y, Ernst SA, Heidenreich K, Williams JA. Glucagon-like peptide-1 receptor is present in pancreatic acinar cells and regulates amylase secretion through cAMP. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2015; 310(1): G26-G33.
60. Mayo KE, Miller LJ, Bataille D, Dalle S, et al. International Union of Pharmacology. XXXV. The glucagon receptor family. *Pharmacol Rev*, 2003; 55(1): 167-94.
61. Delmeire D, Flamez D, Hinke SA, Cali J, et al. Type VIII adenylyl cyclase in rat beta cells: coincidence signal detector/generator for glucose and GLP-1. *Diabetologia*, 2003; 46(10): 1383-93.
62. Farilla L, Bulotta A, Hirshberg B, Li Calzi S, et al. Glucagon-like peptide 1 inhibits cell apoptosis and improves glucose responsiveness of freshly isolated human islets. *Endocrinology*, 2003; 144(12): 5149-58.
63. Brubaker P, Drucker D. Minireview: glucagon-like peptides regulate cell proliferation and apoptosis in the pancreas, gut, and central nervous system. *Endocrinology*, 2004; 145(6): 2653-59.
64. Holz GG, Kihlreiber WM, Habener JF. Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1 (7-37). *Nature*, 1993; 361(6410): 362.
65. Buteau J, El-Assaad W, Rhodes C, Rosenberg L, et al. Glucagon-like peptide-1 prevents beta cell glucolipotoxicity. *Diabetologia*, 2004; 47(5): 806-15.
66. Tian L, Gao J, Hao J, Zhang Y, et al. Reversal of new-onset diabetes through modulating inflammation and stimulating  $\beta$ -cell replication in nonobese diabetic mice by a dipeptidyl peptidase IV inhibitor. *Endocrinology*, 2010; 151(7): 3049-60.
67. Kim J-Y, Lim D-M, Moon CI, Jo K-J, et al. Exendin-4 protects oxidative stress-induced  $\beta$ -cell apoptosis through reduced JNK and GSK3 $\beta$  activity. *J Korean Med Sci*, 2010; 25(11): 1626-32.
68. Bunck MC, Cornér A, Eliasson B, Heine RJ, et al. Effects of exenatide on measures of  $\beta$ -cell function after 3 years in metformin-treated patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2011; 34(9): 2041-47.
69. Rother KI, Spain LM, Wesley RA, Digon BJ, et al. Effects of Exenatide Alone and in Combination with Daclizumab on Beta Cell Function in Long-Standing Type 1 Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 2009.

70. Rankin MM, Kushner JA. Adaptive beta cell proliferation is severely restricted with advanced age. *Diabetes*, 2009.
71. Tschen S-I, Dhawan S, Gurlo T, Bhushan A. Age-dependent decline in  $\beta$ -cell proliferation restricts the capacity of  $\beta$ -cell regeneration in mice. *Diabetes*, 2009; 58(6): 1312-20.
72. Tschen S-I, Georgia S, Dhawan S, Bhushan A. Skp2 is required for incretin hormone-mediated  $\beta$ -cell proliferation. *Mol Endocrinol*, 2011; 25(12): 2134-43.
73. Parnaud G, Bosco D, Berney T, Pattou F, et al. Proliferation of sorted human and rat beta cells. *Diabetologia*, 2008; 51(1): 91-100.
74. Perl S, Kushner J, Buchholz B, Meeker A, et al. Significant human  $\beta$ -cell turnover is limited to the first three decades of life as determined by in vivo thymidine analog incorporation and radiocarbon dating. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010; 95(10): E234-E39.
75. Dunning BE, Gerich JE. The role of  $\alpha$ -cell dysregulation in fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes and therapeutic implications. *Endocr Rev*, 2007; 28(3): 253-83.
76. Butler AE, Campbell-Thompson M, Gurlo T, Dawson DW, et al. Marked expansion of exocrine and endocrine pancreas with incretin therapy in humans with increased exocrine pancreas dysplasia and the potential for glucagon-producing neuroendocrine tumors. *Diabetes*, 2013: 2595-604.
77. Busch S, Hoffmann P, Sahota P, Johnson R, et al. Studies in rodents with the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor vildagliptin to evaluate possible drug-induced pancreatic histological changes that are predictive of pancreatitis and cancer development in man. *Diabetes Obes Metab*, 2013; 15(1): 72-76.
78. Tatarkiewicz K, Belanger P, Gu G, Parkes D, et al. No evidence of drug-induced pancreatitis in rats treated with exenatide for 13 weeks. *Diabetes Obes Metab*, 2013; 15(5): 417-26.
79. Vrang N, Jelsing J, Simonsen L, Jensen AE, et al. The effects of 13 wk of liraglutide treatment on endocrine and exocrine pancreas in male and female ZDF rats: a quantitative and qualitative analysis revealing no evidence of drug-induced pancreatitis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2012; 303(2): E253-E64.

80. Perry T, Lahiri DK, Chen D, Zhou J, et al. A novel neurotrophic property of glucagon-like peptide 1: a promoter of nerve growth factor-mediated differentiation in PC12 cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002; 300(3): 958-66.
81. Jolivald C, Fineman M, Deacon CF, Carr R, et al. GLP-1 signals via ERK in peripheral nerve and prevents nerve dysfunction in diabetic mice. *Diabetes Obes Metab*, 2011; 13(11): 990-1000.
82. Himeno T, Kamiya H, Naruse K, Harada N, et al. Beneficial effects of exendin-4 on experimental polyneuropathy in diabetic mice. *Diabetes*, 2011: 2397-406.
83. Willms B, Werner J, Holst JJ, Orskov C, et al. Gastric emptying, glucose responses, and insulin secretion after a liquid test meal: effects of exogenous glucagon-like peptide-1 (GLP-1)-(7-36) amide in type 2 (noninsulin-dependent) diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996; 81(1): 327-32.
84. Meier JJ, Gallwitz B, Salmen S, Goetze O, et al. Normalization of glucose concentrations and deceleration of gastric emptying after solid meals during intravenous glucagon-like peptide 1 in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003; 88(6): 2719-25.
85. Nauck MA, Niedereichholz U, Ettler R, Holst JJ, et al. Glucagon-like peptide 1 inhibition of gastric emptying outweighs its insulinotropic effects in healthy humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1997; 273(5): E981-E88.
86. Wishart JM, Horowitz M, Morris HA, Jones KL, et al. Relation between gastric emptying of glucose and plasma concentrations of glucagon-like peptide-1. *Peptides*, 1998; 19(6): 1049-53.
87. Meier JJ, Kemmeries G, Holst JJ, Nauck MA. Erythromycin antagonizes the deceleration of gastric emptying by glucagon-like peptide 1 and unmasks its insulinotropic effect in healthy subjects. *Diabetes*, 2005; 54(7): 2212-18.
88. Broide E, Bloch O, Ben-Yehudah G, Cantrell D, et al. GLP-1 receptor is expressed in human stomach mucosa: analysis of its cellular association and distribution within gastric glands. *J Histochem Cytochem*, 2013; 61(9): 649-58.
89. Holmes GM, Browning KN, Tong M, Qualls-Creekmore E, et al. Vagally mediated effects of glucagon like peptide 1: in vitro and in vivo gastric actions. *J Physiol*, 2009; 587(19): 4749-59.

90. Baggio LL, Huang Q, Brown TJ, Drucker DJ. A recombinant human glucagon-like peptide (GLP)-1–albumin protein (albugon) mimics peptidergic activation of GLP-1 receptor–dependent pathways coupled with satiety, gastrointestinal motility, and glucose homeostasis. *Diabetes*, 2004; 53(9): 2492-500.
91. Mells JE, Fu PP, Sharma S, Olson D, et al. Glp-1 analog, liraglutide, ameliorates hepatic steatosis and cardiac hypertrophy in C57BL/6J mice fed a Western diet. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2011; 302(2): G225-G35.
92. Svegliati-Baroni G, Saccomanno S, Rychlicki C, Agostinelli L, et al. Glucagon like peptide 1 receptor activation stimulates hepatic lipid oxidation and restores hepatic signalling alteration induced by a high fat diet in nonalcoholic steatohepatitis. *Liver Int*, 2011; 31(9): 1285-97.
93. Gupta NA, Mells J, Dunham RM, Grakoui A, et al. Glucagon like peptide 1 receptor is present on human hepatocytes and has a direct role in decreasing hepatic steatosis in vitro by modulating elements of the insulin signaling pathway. *Hepatology*, 2010; 51(5): 1584-92.
94. Bullock BP, Heller RS, Habener JF. Tissue distribution of messenger ribonucleic acid encoding the rat glucagon-like peptide-1 receptor. *Endocrinology*, 1996; 137(7): 2968-78.
95. Campos RV, Lee YC, Drucker D. Divergent tissue-specific and developmental expression of receptors for glucagon and glucagon-like peptide-1 in the mouse. *Endocrinology*, 1994; 134(5): 2156-64.
96. Korner M, Stockli M, Waser B, Reubi JC. GLP-1 receptor expression in human tumors and human normal tissues: potential for in vivo targeting. *J Nucl Med*, 2007; 48(5): 736-43.
97. Schlatter P, Beglinger C, Drewe J, Gutmann H. Glucagon-like peptide 1 receptor expression in primary porcine proximal tubular cells. *Regul Pept*, 2007; 141(1-3): 120-28.
98. Yu M, Moreno C, Hoagland KM, Dahly A, et al. Antihypertensive effect of glucagon-like peptide 1 in Dahl salt-sensitive rats. *J Hypertens*, 2003; 21(6): 1125-35.
99. Gutzwiller J-P, Hruz P, Huber AR, Hamel C, et al. Glucagon-like peptide-1 is involved in sodium and water homeostasis in humans. *Digestion*, 2006; 73(2-3): 142-50.

100. Kodera R, Shikata K, Kataoka H, Takatsuka T, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor agonist ameliorates renal injury through its anti-inflammatory action without lowering blood glucose level in a rat model of type 1 diabetes. *Diabetologia*, 2011; 54(4): 965-78.
101. Mima A, Hiraoka-Yamamoto J, Li Q, Kitada M, et al. Protective effects of GLP-1 on glomerular endothelium and its inhibition by PKC $\beta$  activation in diabetes. *Diabetes*, 2012.
102. Park CW, Kim HW, Ko SH, Lim JH, et al. Long-term treatment of glucagon-like peptide-1 analog exendin-4 ameliorates diabetic nephropathy through improving metabolic anomalies in db/db mice. *J Am Soc Nephrol*, 2007; 18(4): 1227-38.
103. Pacheco-Pantoja EL, Ranganath LR, Gallagher JA, Wilson PJ, et al. Receptors and effects of gut hormones in three osteoblastic cell lines. *BMC Physiol*, 2011; 11(1): 12.
104. Bunck MC, Eliasson B, Cornér A, Heine RJ, et al. Exenatide treatment did not affect bone mineral density despite body weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*, 2011; 13(4): 374-77.
105. Gilbert MP, Marre M, Holst JJ, Garber A, et al. Comparison of the long-term effects of liraglutide and glimepiride monotherapy on bone mineral density in patients with type 2 diabetes. *Endocr Pract*, 2015; 22(4): 406-11.
106. Mabilieu G, Mieczkowska A, Chappard D. Use of glucagon like peptide 1 receptor agonists and bone fractures: A meta analysis of randomized clinical trials. *J Diabetes*, 2014; 6(3): 260-66.
107. Monami M, Dicembrini I, Antenore A, Mannucci E. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and bone fractures: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Diabetes Care*, 2011; 34(11): 2474-76.
108. Choi H, Park C, Lee Y-K, Ha Y-C, et al. Risk of fractures and diabetes medications: a nationwide cohort study. *Osteoporos Int*, 2016; 27(9): 2709-15.
109. Kim J-Y, Lee S-K, Jo K-J, Song D-Y, et al. Exendin-4 increases bone mineral density in type 2 diabetic OLETF rats potentially through the down-regulation of SOST/sclerostin in osteocytes. *Life Sci*, 2013; 92(10): 533-40.

110. Richter G, Feddersen O, Wagner U, Barth P, et al. GLP-1 stimulates secretion of macromolecules from airways and relaxes pulmonary artery. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 1993; 265(4): L374-L81.
111. Vara E, Arias-díaz J, Garcia C, Balibrea JL, et al. Glucagon-like peptide-1 (7–36) amide stimulates surfactant secretion in human type II pneumocytes. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001; 163(4): 840-46.
112. Romaní-Pérez M, Outeiriño-Iglesias V, Gil-Lozano M, González-Matías LC, et al. Pulmonary GLP-1 receptor increases at birth and exogenous GLP-1 receptor agonists augmented surfactant-protein levels in litters from normal and nitrofen-treated pregnant rats. *Endocrinology*, 2013; 154(3): 1144-55.
113. Romaní-Pérez M, Outeiriño-Iglesias V, Moya CM, Santisteban P, et al. Activation of the GLP-1 receptor by liraglutide increases ACE2 expression, reversing right ventricle hypertrophy, and improving the production of SP-A and SP-B in the lungs of type 1 diabetes rats. *Endocrinology*, 2015; 156(10): 3559-69.
114. Viby N-E, Isidor MS, Buggeskov KB, Poulsen SS, et al. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) reduces mortality and improves lung function in a model of experimental obstructive lung disease in female mice. *Endocrinology*, 2013; 154(12): 4503-11.
115. Hadjiyanni I, Siminovitch K, Danska J, Drucker D. Glucagon-like peptide-1 receptor signalling selectively regulates murine lymphocyte proliferation and maintenance of peripheral regulatory T cells. *Diabetologia*, 2010; 53(4): 730-40.
116. Kahles F, Meyer C, Möllmann J, Diebold S, et al. GLP-1 secretion is increased by inflammatory stimuli in an IL-6-dependent manner, leading to hyperinsulinemia and blood glucose lowering. *Diabetes*, 2014; 3221-29.
117. Lebherz C, Kahles F, Piotrowski K, Vogeser M, et al. Interleukin-6 predicts inflammation-induced increase of Glucagon-like peptide-1 in humans in response to cardiac surgery with association to parameters of glucose metabolism. *Cardiovasc Diabetol*, 2016; 15(1): 21.
118. Marx N, Burgmaier M, Heinz P, Ostertag M, et al. Glucagon-like peptide-1 (1-37) inhibits chemokine-induced migration of human CD4-positive lymphocytes. *Cell Mol Life Sci*, 2010; 67(20): 3549-55.



119. Yusta B, Baggio LL, Koehler J, Holland D, et al. GLP-1 receptor (GLP-1R) agonists modulate enteric immune responses through the intestinal intraepithelial lymphocyte (IEL) GLP-1R. *Diabetes*, 2015; 2537-49.
120. Liang C-P, Han S, Li G, Tabas I, et al. Impaired MEK signaling and SERCA expression promote ER stress and apoptosis in insulin-resistant macrophages and are reversed by exenatide treatment. *Diabetes*, 2012; 2609-20.
121. Hogan AE, Gaoatswe G, Lynch L, Corrigan MA, et al. Glucagon-like peptide 1 analogue therapy directly modulates innate immune-mediated inflammation in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Diabetologia*, 2014; 57(4): 781-84.
122. Chaudhuri A, Ghanim H, Vora M, Sia CL, et al. Exenatide exerts a potent antiinflammatory effect. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012; 97(1): 198-207.
123. Drucker DJ. The cardiovascular biology of glucagon-like peptide-1. *Cell Metab*, 2016; 24(1): 15-30.
124. Ussher JR, Drucker DJ. Cardiovascular actions of incretin-based therapies. *Circ Res*, 2014; 114(11): 1788-803.
125. Arakawa M, Mita T, Azuma K, Ebato C, et al. Inhibition of monocyte adhesion to endothelial cells and attenuation of atherosclerotic lesion by a glucagon-like peptide-1 receptor agonist, exendin-4. *Diabetes*, 2010.
126. Noyan-Ashraf MH, Shikatani EA, Schuiki I, Mukovozov I, et al. A glucagon-like peptide-1 analogue reverses the molecular pathology and cardiac dysfunction of a mouse model of obesity. *Circulation*, 2012; 127(1): 74-85.
127. Nagashima M, Watanabe T, Terasaki M, Tomoyasu M, et al. Native incretins prevent the development of atherosclerotic lesions in apolipoprotein E knockout mice. *Diabetologia*, 2011; 54(10): 2649.
128. Barragán JM, Eng J, Rodríguez R, Blázquez E. Neural contribution to the effect of glucagon-like peptide-1-(7—36) amide on arterial blood pressure in rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 1999; 277(5): E784-E91.
129. Yamamoto H, Lee CE, Marcus JN, Williams TD, et al. Glucagon-like peptide-1 receptor stimulation increases blood pressure and heart rate and activates autonomic regulatory neurons. *J Clin Invest*, 2002; 110(1): 43-52.

130. Ussher JR, Drucker DJ. Cardiovascular biology of the incretin system. *Endocr Rev*, 2012; 33(2): 187-215.
131. Yamamoto H, Kishi T, Lee CE, Choi BJ, et al. Glucagon-like peptide-1-responsive catecholamine neurons in the area postrema link peripheral glucagon-like peptide-1 with central autonomic control sites. *J Neurosci*, 2003; 23(7): 2939-46.
132. Edwards CMB, Stanley SA, Davis R, Brynes AE, et al. Exendin-4 reduces fasting and postprandial glucose and decreases energy intake in healthy volunteers. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001; 281(1): E155-E61.
133. Zander M, Madsbad S, Madsen JL, Holst JJ. Effect of 6-week course of glucagon-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and  $\beta$ -cell function in type 2 diabetes: a parallel-group study. *Lancet*, 2002; 359(9309): 824-30.
134. Nikolaidis LA, Elahi D, Hentosz T, Doverspike A, et al. Recombinant glucagon-like peptide-1 increases myocardial glucose uptake and improves left ventricular performance in conscious dogs with pacing-induced dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 2004; 110(8): 955-61.
135. Zhao T, Parikh P, Bhashyam S, Bolukoglu H, et al. Direct effects of glucagon-like peptide-1 on myocardial contractility and glucose uptake in normal and postischemic isolated rat hearts. *J Pharmacol Exp Ther*, 2006; 317(3): 1106-13.
136. Gros R, You X, Baggio LL, Kabir MG, et al. Cardiac function in mice lacking the glucagon-like peptide-1 receptor. *Endocrinology*, 2003; 144(6): 2242-52.
137. Perry T, Haughey NJ, Mattson MP, Egan JM, et al. Protection and reversal of excitotoxic neuronal damage by glucagon-like peptide-1 and exendin-4. *J Pharmacol Exp Ther*, 2002; 302(3): 881-88.
138. Oka J-I, Suzuki E, Kondo Y. Endogenous GLP-1 is involved in  $\beta$ -amyloid protein-induced memory impairment and hippocampal neuronal death in rats. *Brain Res*, 2000; 878(1-2): 194-98.
139. Hansen HH, Fabricius K, Barkholt P, Niehoff ML, et al. 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. *J Alzheimers Dis*, 2015; 46(4): 877-88.

140. Ji C, Xue G-F, Li G, Li D, et al. Neuroprotective effects of glucose-dependent insulintropic polypeptide in Alzheimer's disease. *Rev Neurosci*, 2016; 27(1): 61-70.
141. McClean PL, Parthasarathy V, Faivre E, Hölscher C. The diabetes drug liraglutide prevents degenerative processes in a mouse model of Alzheimer's disease. *J Neurosci*, 2011; 31(17): 6587-94.
142. Martin B, Golden E, Carlson OD, Pistell P, et al. Exendin-4 improves glycemic control, ameliorates brain and pancreatic pathologies and extends survival in a mouse model of Huntington's disease. *Diabetes*, 2008; 58(2): 318-28.
143. Hölscher C. Insulin, incretins and other growth factors as potential novel treatments for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Biochem Soc Trans*, 2014; 42(2): 593-99.
144. Athauda D, Foltynie T. The glucagon-like peptide 1 (GLP) receptor as a therapeutic target in Parkinson's disease: mechanisms of action. *Drug Discov Today Ther Strateg*, 2016; 21(5): 802-18.
145. Li Y, Perry T, Kindy MS, Harvey BK, et al. GLP-1 receptor stimulation preserves primary cortical and dopaminergic neurons in cellular and rodent models of stroke and Parkinsonism. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009; 106(4): 1285-90.
146. Kim S, Moon M, Park S. Exendin-4 protects dopaminergic neurons by inhibition of microglial activation and matrix metalloproteinase-3 expression in an animal model of Parkinson's disease. *J Endocrinol*, 2009; 202(3): 431-39.
147. Knippenberg S, Thau N, Dengler R, Brinker T, et al. Intracerebroventricular injection of encapsulated human mesenchymal cells producing glucagon-like peptide 1 prolongs survival in a mouse model of ALS. *PLoS One*, 2012; 7(6): e36857.
148. Sun H, Knippenberg S, Thau N, Ragancokova D, et al. Therapeutic potential of N-acetyl-glucagon-like peptide-1 in primary motor neuron cultures derived from non-transgenic and SOD1-G93A ALS mice. *Cell Mol Neurobiol*, 2013; 33(3): 347-57.
149. Briyal S, Gulati K, Gulati A. Repeated administration of exendin-4 reduces focal cerebral ischemia-induced infarction in rats. *Brain Res*, 2012; 1427: 23-34.
150. Kastin AJ, Akerstrom V, Pan W. Interactions of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) with the blood-brain barrier. *J Mol Neurosci*, 2002; 18(1-2): 7-14.

151. Secher A, Jelsing J, Baquero AF, Hecksher-Sorensen J, et al. The arcuate nucleus mediates GLP-1 receptor agonist liraglutide-dependent weight loss. *J Clin Invest*, 2014; 124(10): 4473-88.
152. Gutzwiller JP, Göke B, Drewe J, Hildebrand P, et al. Glucagon-like peptide-1: a potent regulator of food intake in humans. *Gut*, 1999; 44(1): 81-6.
153. Baggio LL, Huang Q, Cao X, Drucker DJ. An albumin-exendin-4 conjugate engages central and peripheral circuits regulating murine energy and glucose homeostasis. *Gastroenterology*, 2008; 134(4): 1137-47.
154. Hayes MR, Kanoski SE, De Jonghe BC, Lechner TM, et al. The common hepatic branch of the vagus is not required to mediate the glycemic and food intake suppressive effects of glucagon-like-peptide-1. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011; 301(5): R1479-R85.
155. Vrang N, Larsen PJ. Proglucagon derived peptides GLP-1, GLP-2 and oxyntomodulin in the CNS: role of peripherally secreted and centrally produced peptides. *Prog Neurobiol*, 2010; 92(3): 442-62.
156. Verdich C, Flint A, Gutzwiller J-P, Naslund E, et al. A meta-analysis of the effect of glucagon-like peptide-1 (7–36) amide on ad libitum energy intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001; 86(9): 4382-89.
157. De Silva A, Salem V, Long CJ, Makwana A, et al. The gut hormones PYY3-36 and GLP-17-36 amide reduce food intake and modulate brain activity in appetite centers in humans. *Cell Metab*, 2011; 14(5): 700-06.
158. Scrocchi L, Brown T, McCluskey N, Brubaker P, et al. Glucose intolerance but normal satiety in mice with a null mutation in the glucagon-like peptide 1 receptor gene. *Nat Med*, 1996; 2(11): 1254-58.
159. Scrocchi LA, Drucker DJ. Effects of aging and a high fat diet on body weight and glucose tolerance in glucagon-like peptide-1 receptor<sup>-/-</sup> mice. *Endocrinology*, 1998; 139(7): 3127-32.
160. Shirazi R, Palsdottir V, Collander J, Anesten F, et al. Glucagon-like peptide 1 receptor induced suppression of food intake, and body weight is mediated by central IL-1 and IL-6. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013; 110(40): 16199-204.

161. Chelikani PK, Haver AC, Reidelberger RD. Ghrelin attenuates the inhibitory effects of glucagon-like peptide-1 and peptide YY (3-36) on food intake and gastric emptying in rats. *Diabetes*, 2006; 55(11): 3038-46.
162. Pérez-Tilve D, González-Matías L, Alvarez-Crespo M, Leiras R, et al. Exendin-4 potently decreases ghrelin levels in fasting rats. *Diabetes*, 2007; 56(1): 143-51.
163. Hagemann D, Holst JJ, Gethmann A, Banasch M, et al. Glucagon-like peptide 1 (GLP-1) suppresses ghrelin levels in humans via increased insulin secretion. *Regul Pept*, 2007; 143(1-3): 64-68.
164. Flint A, Raben A, Rehfeld J, Holst J, et al. The effect of glucagon-like peptide-1 on energy expenditure and substrate metabolism in humans. *Int J Obes*, 2000; 24(3): 288.
165. Flint A, Raben A, Ersboll AK, Holst JJ, et al. The effect of physiological levels of glucagon-like peptide-1 on appetite, gastric emptying, energy and substrate metabolism in obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2001; 25(6): 781-92.
166. Harder H, Nielsen L, Thi TD, Astrup A. The effect of liraglutide, a long-acting glucagon-like peptide 1 derivative, on glycemic control, body composition, and 24-h energy expenditure in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2004; 27(8): 1915-21.
167. Lupien SJ, Maheu F, Tu M, Fiocco A, et al. The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain Cogn*, 2007; 65(3): 209-37.
168. Vahia VN. Diagnostic and statistical manual of mental disorders 5: A quick glance. *Indian J Psychiatry*, 2013; 55(3): 220-3.
169. M. Yerkes R, D. Dodson J. The Relation of Strength of Stimulus to Rapidity of Habit Formation. *J Comp Neurol Psychol*, 2004; 18(5): 459-82.
170. Teigen K. Yerkes-Dodson: A Law for all Seasons. *Theor Psychol*, 1994; 4: 525-47.
171. Mograbi DC, Castro-Gomes V, Cheniaux E, Landeira-Fernandez J. Psychobiological Aspects of Panic Disorder. In: F. Durbano, Editor. *A Fresh Look at Anxiety Disorders*. 1st ed: InTech; 2015. p. 51-64.
172. Nieuwenhuys A, Oudejans RR. Anxiety and perceptual-motor performance: toward an integrated model of concepts, mechanisms, and processes. *Psychol Res*, 2012; 76(6): 747-59.

173. Gualtieri CT, Morgan DW. The frequency of cognitive impairment in patients with anxiety, depression, and bipolar disorder: an unaccounted source of variance in clinical trials. *J Clin Psychiatry*, 2008; 69(7): 1122-30.
174. Yehuda R, LeDoux J. Response variation following trauma: a translational neuroscience approach to understanding PTSD. *Neuron*, 2007; 56(1): 19-32.
175. McEwen BS, Eiland L, Hunter RG, Miller MM. Stress and anxiety: structural plasticity and epigenetic regulation as a consequence of stress. *Neuropharmacology*, 2012; 62(1): 3-12.
176. Hoffman DL, Dukes EM, Wittchen HU. Human and economic burden of generalized anxiety disorder. *Depress Anxiety*, 2008; 25(1): 72-90.
177. Doran CM, Kinchin I. A review of the economic impact of mental illness. *Aust Health Rev*, 2017.
178. Baxter AJ, Scott KM, Vos T, Whiteford HA. Global prevalence of anxiety disorders: a systematic review and meta-regression. *Psychol Med*, 2013; 43(5): 897-910.
179. Pedersen CB, Mors O, Bertelsen A, Waltoft BL, et al. A comprehensive nationwide study of the incidence rate and lifetime risk for treated mental disorders. *JAMA psychiatry*, 2014; 71(5): 573-81.
180. Kessler RC, Demler O, Frank RG, Olfson M, et al. Prevalence and treatment of mental disorders, 1990 to 2003. *N Engl J Med*, 2005; 352(24): 2515-23.
181. Whitley R. Global mental health: concepts, conflicts and controversies. *Epidemiol Psychiatr Sci*, 2015; 24(4): 285-91.
182. Weiller E, Bisslerbe JC, Maier W, Lecrubier Y. Prevalence and recognition of anxiety syndromes in five European primary care settings. A report from the WHO study on Psychological Problems in General Health Care. *Br J Psychiatry Suppl*, 1998; (34): 18-23.
183. Pecoraro N, Dallman MF, Warne JP, Ginsberg AB, et al. From Malthus to motive: how the HPA axis engineers the phenotype, yoking needs to wants. *Prog Neurobiol*, 2006; 79(5-6): 247-340.
184. Axelrod J, Reisine TD. Stress hormones: their interaction and regulation. *Science*, 1984; 224(4648): 452-9.

185. Fleshner M, Watkins L, Lockwood L, Grahn R, et al. Blockade of the hypothalamic-pituitary-adrenal response to stress by intraventricular injection of dexamethasone: a method for studying the stress-induced peripheral effects of glucocorticoids. *Psychoneuroendocrinology*, 1993; 18(4): 251-63.
186. Makino S, Gold PW, Schulkin J. Effects of corticosterone on CRH mRNA and content in the bed nucleus of the stria terminalis; comparison with the effects in the central nucleus of the amygdala and the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *Brain Res*, 1994; 657(1-2): 141-49.
187. Sholter DE, Armstrong PW. Adverse effects of corticosteroids on the cardiovascular system. *Can J Cardiol*, 2000; 16(4): 505-11.
188. Maniscalco JW, Rinaman L. Interoceptive modulation of neuroendocrine, emotional, and hypophagic responses to stress. *Physiol Behav*, 2017; 176: 195-206.
189. Gold P. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. *Mol Psychiatry*, 2015; 20(1): 32.
190. Campos AC, Fogaca MV, Aguiar DC, Guimaraes FS. Animal models of anxiety disorders and stress. *Rev Bras Psiquiatr*, 2013; 35 Suppl 2: S101-11.
191. Albanidou-Farmaki E, Pouloupoulos AK, Epivatianos A, Farmakis K, et al. Increased anxiety level and high salivary and serum cortisol concentrations in patients with recurrent aphthous stomatitis. *Tohoku J Exp Med*, 2008; 214(4): 291-96.
192. Diz-Chaves Y, Gil-Lozano M, Toba L, Fandiño J, et al. Stressing diabetes? The hidden links between insulinotropic peptides and the HPA axis. *J Endocrinol*, 2016; 230(2): R77-94.
193. Fruehwald-Schultes B, Kern W, Born J, Fehm HL, et al. Hyperinsulinemia causes activation of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis in humans. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2001; 25 Suppl 1: S38-40.
194. Neufeld JH, Breen L, Hauger R. Extreme posture elevates corticosterone in a forced ambulation model of chronic stress in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 1994; 47(2): 233-40.
195. Armario A, Giralt M, Marti O, Gavalda A, et al. The effect of acute and chronic ACTH administration on pituitary-adrenal response to acute immobilization stress.

- Relationship to changes in corticosteroid-binding globulin. *Endocr Res*, 1994; 20(2): 139-49.
196. Mendel CM. The free hormone hypothesis: a physiologically based mathematical model. *Endocr Rev*, 1989; 10(3): 232-74.
  197. Pardridge WM. Transport of protein-bound hormones into tissues in vivo. *Endocr Rev*, 1981; 2(1): 103-23.
  198. Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. Stress down-regulates corticosterone receptors in a site-specific manner in the brain. *Endocrinology*, 1984; 114(1): 287-92.
  199. Keller-Wood ME, Dallman MF. Corticosteroid inhibition of ACTH secretion. *Endocr Rev*, 1984; 5(1): 1-24.
  200. Simpson JR, Drevets WC, Snyder AZ, Gusnard DA, et al. Emotion-induced changes in human medial prefrontal cortex: II. During anticipatory anxiety. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001; 98(2): 688-93.
  201. Likhtik E, Stujenske JM, Topiwala MA, Harris AZ, et al. Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. *Nat Neurosci*, 2014; 17(1): 106-13.
  202. Ji G, Neugebauer V. CB1 augments mGluR5 function in medial prefrontal cortical neurons to inhibit amygdala hyperactivity in an arthritis pain model. *Eur J Neurosci*, 2014; 39(3): 455-66.
  203. Gold AL, Morey RA, McCarthy G. Amygdala-prefrontal cortex functional connectivity during threat-induced anxiety and goal distraction. *Biol Psychiatry*, 2015; 77(4): 394-403.
  204. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*, 1992; 267(9): 1244-52.
  205. Larra MF, Pramme L, Schachinger H, Frings C. Stress and selective attention: Immediate and delayed stress effects on inhibition of return. *Brain Cogn*, 2016; 108: 66-72.
  206. McGaugh JL. The amygdala modulates the consolidation of memories of emotionally arousing experiences. *Annu Rev Neurosci*, 2004; 27: 1-28.
  207. Wingenfeld K, Wolf OT. Stress, memory, and the hippocampus. *Front Neurol Neurosci*, 2014; 34: 109-20.



208. Bass DI, Nizam ZG, Partain KN, Wang A, et al. Amygdala-mediated enhancement of memory for specific events depends on the hippocampus. *Neurobiol Learn Mem*, 2014; 107: 37-41.
209. Arnsten AFT. Stress signalling pathways that impair prefrontal cortex structure and function. *Nat Rev Neurosci*, 2009; 10(6): 410-22.
210. Drevets WC, Savitz J, Trimble M. The Subgenual Anterior Cingulate Cortex in Mood Disorders. *CNS spectrums*, 2008; 13(8): 663-81.
211. D'Argembeau A, Jedidi H, Baeteau E, Bahri M, et al. Valuing one's self: medial prefrontal involvement in epistemic and emotive investments in self-views. *Cereb Cortex*, 2012; 22(3): 659-67.
212. Berridge KC, Kringelbach ML. Neuroscience of affect: brain mechanisms of pleasure and displeasure. *Curr Opin Neurobiol*, 2013; 23(3): 294-303.
213. Roitman JD, Loriaux AL. Nucleus accumbens responses differentiate execution and restraint in reward-directed behavior. *J Neurophysiol*, 2014; 111(2): 350-60.
214. Diorio D, Viau V, Meaney MJ. The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *J Neurosci*, 1993; 13(9): 3839-47.
215. Phelps EA, LeDoux JE. Contributions of the amygdala to emotion processing: from animal models to human behavior. *Neuron*, 2005; 48(2): 175-87.
216. Vale W, Spiess J, Rivier C, Rivier J. Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin. *Science*, 1981; 213(4514): 1394-7.
217. Aston-Jones G, Cohen JD. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci*, 2005; 28: 403-50.
218. Brown MR, Fisher LA, Spiess J, Rivier C, et al. Corticotropin-releasing factor: actions on the sympathetic nervous system and metabolism. *Endocrinology*, 1982; 111(3): 928-31.
219. Zarrindast MR, Khakpai F. The Modulatory Role of Dopamine in Anxiety-like Behavior. *Arch Iran Med*, 2015; 18(9): 591-603.

220. Puig MV, Gullledge AT. Serotonin and prefrontal cortex function: neurons, networks, and circuits. *Mol Neurobiol*, 2011; 44(3): 449-64.
221. Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci*, 2011; 13(1): 22-37.
222. Gao J, Wang H, Liu Y, Li YY, et al. Glutamate and GABA imbalance promotes neuronal apoptosis in hippocampus after stress. *Med Sci Monit*, 2014; 20: 499-512.
223. Uchida Y, Takeshita K, Yamamoto K, Kikuchi R, et al. Stress augments insulin resistance and prothrombotic state: role of visceral adipose-derived monocyte chemoattractant protein-1. *Diabetes*, 2012; 61(6): 1552-61.
224. Steptoe A, Hamer M, Chida Y. The effects of acute psychological stress on circulating inflammatory factors in humans: a review and meta-analysis. *Brain Behav Immun*, 2007; 21(7): 901-12.
225. Marosi K, Mattson MP. BDNF mediates adaptive brain and body responses to energetic challenges. *Trends Endocrinol Metab*, 2014; 25(2): 89-98.
226. Autry AE, Monteggia LM. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacol Rev*, 2012; 64(2): 238-58.
227. Park H, Poo MM. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. *Nat Rev Neurosci*, 2013; 14(1): 7-23.
228. Greenberg ME, Xu B, Lu B, Hempstead BL. New insights in the biology of BDNF synthesis and release: implications in CNS function. *J Neurosci*, 2009; 29(41): 12764-67.
229. Pittenger C, Duman RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 2008; 33(1): 88-109.
230. Adam TC, Epel ES. Stress, eating and the reward system. *Physiol Behav*, 2007; 91(4): 449-58.
231. Canteras NS, Resstel LB, Bertoglio LJ, Carobrez Ade P, et al. Neuroanatomy of anxiety. *Curr Top Behav Neurosci*, 2010; 2: 77-96.
232. Mathew SJ, Price RB, Charney DS. Recent advances in the neurobiology of anxiety disorders: implications for novel therapeutics. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2008; 148c(2): 89-98.

233. Adhikari A, Topiwala MA, Gordon JA. Synchronized activity between the ventral hippocampus and the medial prefrontal cortex during anxiety. *Neuron*, 2010; 65(2): 257-69.
234. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci*, 2009; 10(6): 397-409.
235. Shin LM, Liberzon I. The neurocircuitry of fear, stress, and anxiety disorders. *Neuropsychopharmacology*, 2010; 35(1): 169-91.
236. Bishop SJ. Neural mechanisms underlying selective attention to threat. *Ann N Y Acad Sci*, 2008; 1129(1): 141-52.
237. Hermans EJ, Battaglia FP, Atsak P, de Voogd LD, et al. How the amygdala affects emotional memory by altering brain network properties. *Neurobiol Learn Mem*, 2014; 112: 2-16.
238. Roozendaal B, McEwen BS, Chattarji S. Stress, memory and the amygdala. *Nat Rev Neurosci*, 2009; 10(6): 423-33.
239. Hübner C, Bosch D, Gall A, Lüthi A, et al. Ex vivo dissection of optogenetically activated mPFC and hippocampal inputs to neurons in the basolateral amygdala: implications for fear and emotional memory. *Front Behav Neurosci*, 2014; 8: 64.
240. Quirk GJ, Beer JS. Prefrontal involvement in the regulation of emotion: convergence of rat and human studies. *Curr Opin Neurobiol*, 2006; 16(6): 723-7.
241. Campbell-Sills L, Simmons AN, Lovero KL, Rochlin AA, et al. Functioning of neural systems supporting emotion regulation in anxiety-prone individuals. *Neuroimage*, 2011; 54(1): 689-96.
242. McEwen BS. The ever changing brain: Cellular and molecular mechanisms for the effects of stressful experiences. *Dev Neurobiol*, 2012; 72(6): 878-90.
243. Kim MJ, Whalen PJ. The structural integrity of an amygdala–prefrontal pathway predicts trait anxiety. *J Neurosci*, 2009; 29(37): 11614-18.
244. Pruessner JC, Dedovic K, Pruessner M, Lord C, et al. Stress regulation in the central nervous system: evidence from structural and functional neuroimaging studies in human populations - 2008 Curt Richter Award Winner. *Psychoneuroendocrinology*, 2010; 35(1): 179-91.

245. Gorman JM, Docherty JP. A hypothesized role for dendritic remodeling in the etiology of mood and anxiety disorders. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci*, 2010; 22(3): 256-64.
246. McGaugh JL, Introini-Collison IB, Cahill LF, Castellano C, et al. Neuromodulatory systems and memory storage: Role of the amygdala. *Behav Brain Res*, 1993; 58(1): 81-90.
247. Davis M, Walker DL, Miles L, Grillon C. Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. *Neuropsychopharmacology*, 2010; 35(1): 105-35.
248. McEwen BS, Mendelson S. Effects of stress on the neurochemistry and morphology of the brain: Counterregulation versus damage. In: L. Goldberger and S. Breznitz, Editors. *Handbook of stress: Theoretical and clinical aspects*. 2nd ed. New York, NY, US: Free Press; 1993. p. 101-26.
249. Gilabert-Juan J, Castillo-Gomez E, Pérez-Rando M, Moltó MD, et al. Chronic stress induces changes in the structure of interneurons and in the expression of molecules related to neuronal structural plasticity and inhibitory neurotransmission in the amygdala of adult mice. *Exp Neurol*, 2011; 232(1): 33-40.
250. Flak JN, Ostrander MM, Tasker JG, Herman JP. Chronic stress-induced neurotransmitter plasticity in the PVN. *J Comp Neurol*, 2009; 517(2): 156-65.
251. Neumeister A, Daher RJ, Charney DS. Anxiety disorders: noradrenergic neurotransmission. *Handb Exp Pharmacol*, 2005; (169): 205-23.
252. McCall JG, Al-Hasani R, Siuda ER, Hong DY, et al. CRH Engagement of the Locus Coeruleus Noradrenergic System Mediates Stress-Induced Anxiety. *Neuron*, 2015; 87(3): 605-20.
253. Fuzesi T, Daviu N, Wamsteeker Cusulin JI, Bonin RP, et al. Hypothalamic CRH neurons orchestrate complex behaviours after stress. *Nat Commun*, 2016; 7: 11937.
254. Korte SM. Corticosteroids in relation to fear, anxiety and psychopathology. *Neurosci Biobehav Rev*, 2001; 25(2): 117-42.
255. Perrin MH, Vale WW. Corticotropin releasing factor receptors and their ligand family. *Ann N Y Acad Sci*, 1999; 885: 312-28.

256. Liebsch G, Landgraf R, Engelmann M, Lorsch P, et al. Differential behavioural effects of chronic infusion of CRH 1 and CRH 2 receptor antisense oligonucleotides into the rat brain. *J Psychiatr Res*, 1999; 33(2): 153-63.
257. Munck A, Guyre PM, Holbrook NJ. Physiological Functions of Glucocorticoids in Stress and Their Relation to Pharmacological Actions. *Endocr Rev*, 1984; 5(1): 25-44.
258. Kalhan SC, Adam PA. Inhibitory effect of prednisone on insulin secretion in man: model for duplication of blood glucose concentration. *J Clin Endocrinol Metab*, 1975; 41(3): 600-10.
259. Barseghian G, Levine R. Effect of corticosterone on insulin and glucagon secretion by the isolated perfused rat pancreas. *Endocrinology*, 1980; 106(2): 547-52.
260. Vreeburg SA, Zitman FG, van Pelt J, Derijk RH, et al. Salivary cortisol levels in persons with and without different anxiety disorders. *Psychosom Med*, 2010; 72(4): 340-7.
261. Lenze EJ, Dixon D, Mantella RC, Dore PM, et al. Treatment-related alteration of cortisol predicts change in neuropsychological function during acute treatment of late-life anxiety disorder. *Int J Geriatr Psychiatry*, 2012; 27(5): 454-62.
262. Bremner JD, Krystal JH, Southwick SM, Charney DS. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I. Preclinical studies. *Synapse*, 1996; 23(1): 28-38.
263. Mohler H. The GABA system in anxiety and depression and its therapeutic potential. *Neuropharmacology*, 2012; 62(1): 42-53.
264. Kalueff A, Nutt DJ. Role of GABA in memory and anxiety. *Depress Anxiety*, 1996; 4(3): 100-10.
265. Seamans JK, Yang CR. The principal features and mechanisms of dopamine modulation in the prefrontal cortex. *Prog Neurobiol*, 2004; 74(1): 1-58.
266. Pezze MA, Feldon J. Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Prog Neurobiol*, 2004; 74(5): 301-20.
267. Si W, Aluisio L, Okamura N, Clark SD, et al. Neuropeptide S stimulates dopaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex. *J Neurochem*, 2010; 115(2): 475-82.
268. Charney DS, Deutch AY, Krystal JH, Southwick SM, et al. Psychobiologic mechanisms of posttraumatic stress disorder. *Arch Gen Psychiatry*, 1993; 50(4): 295-305.

269. Nogueira CR, Machado UF, Curi R, Carpinelli AR. Modulation of insulin secretion and  $45\text{Ca}^{2+}$  efflux by dopamine in glucose-stimulated pancreatic islets. *Gen Pharmacol*, 1994; 25(5): 909-16.
270. Kumar TP, Antony S, Gireesh G, George N, et al. Curcumin modulates dopaminergic receptor, CREB and phospholipase c gene expression in the cerebral cortex and cerebellum of streptozotocin induced diabetic rats. *J Biomed Sci*, 2010; 17(1): 43.
271. Mizoguchi K, Tanaka Y, Tabira T. Anxiolytic effect of a herbal medicine, yokukansan, in aged rats: involvement of serotonergic and dopaminergic transmissions in the prefrontal cortex. *J Ethnopharmacol*, 2010; 127(1): 70-76.
272. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 2014; 37 Suppl 1: S81-90.
273. Roglic G. WHO Global report on diabetes: A summary. *International Journal of Noncommunicable Diseases*, 2016; 1(1): 3-8.
274. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, et al. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract*, 2014; 103(2): 137-49.
275. Boyle JP, Thompson TJ, Gregg EW, Barker LE, et al. Projection of the year 2050 burden of diabetes in the US adult population: dynamic modeling of incidence, mortality, and prediabetes prevalence. *Population health metrics*, 2010; 8: 29.
276. Economic costs of diabetes in the U.S. in 2012. *Diabetes Care*, 2013; 36(4): 1033-46.
277. Maechler P. Mitochondrial signal transduction in pancreatic beta-cells. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2012; 26(6): 739-52.
278. Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes*, 1988; 37(12): 1595-607.
279. Niswender KD. Basal insulin: beyond glycemia. *Postgrad Med*, 2011; 123(4): 27-37.
280. Kahn SE. The relative contributions of insulin resistance and beta-cell dysfunction to the pathophysiology of Type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2003; 46(1): 3-19.
281. Prentki M, Nolan CJ. Islet beta cell failure in type 2 diabetes. *J Clin Invest*, 2006; 116(7): 1802-12.
282. Poitout V, Robertson RP. Glucolipotoxicity: fuel excess and beta-cell dysfunction. *Endocr Rev*, 2008; 29(3): 351-66.

283. Perl S, Kushner JA, Buchholz BA, Meeker AK, et al. Significant human beta-cell turnover is limited to the first three decades of life as determined by in vivo thymidine analog incorporation and radiocarbon dating. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010; 95(10): E234-9.
284. McCaleb ML, Sredy J. Metabolic abnormalities of the hyperglycemic obese Zucker rat. *Metabolism*, 1992; 41(5): 522-5.
285. Olokoba AB, Obateru OA, Olokoba LB. Type 2 diabetes mellitus: a review of current trends. *Oman Med J*, 2012; 27(4): 269-73.
286. Abid A, Ahmad S, Waheed A. Screening for Type II Diabetes Mellitus in the United States: The Present and the Future. *Clinical medicine insights Endocrinology and diabetes*, 2016; 9: 19-22.
287. Van Ness-Otunnu R, Hack JB. Hyperglycemic crisis. *J Emerg Med*, 2013; 45(5): 797-805.
288. Pinhas-Hamiel O, Zeitler P. Acute and chronic complications of type 2 diabetes mellitus in children and adolescents. *Lancet*, 2007; 369(9575): 1823-31.
289. Porte D, Jr., Schwartz MW. Diabetes complications: why is glucose potentially toxic? *Science*, 1996; 272(5262): 699-700.
290. Ali A, Iqbal F, Taj A, Iqbal Z, et al. Prevalence of microvascular complications in newly diagnosed patients with type 2 diabetes. *Pakistan journal of medical sciences*, 2013; 29(4): 899-902.
291. Fong DS, Aiello L, Gardner TW, King GL, et al. Retinopathy in diabetes. *Diabetes Care*, 2004; 27 Suppl 1: S84-7.
292. Forbes JM, Cooper ME. Mechanisms of diabetic complications. *Physiol Rev*, 2013; 93(1): 137-88.
293. Tang WH, Martin KA, Hwa J. Aldose reductase, oxidative stress, and diabetic mellitus. *Front Pharmacol*, 2012; 3: 87.
294. Knip M, Veijola R, Virtanen SM, Hyoty H, et al. Environmental triggers and determinants of type 1 diabetes. *Diabetes*, 2005; 54 Suppl 2: S125-36.
295. Groop L, Pociot F. Genetics of diabetes--are we missing the genes or the disease? *Mol Cell Endocrinol*, 2014; 382(1): 726-39.

296. Kahn SE, Cooper ME, Del Prato S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. *Lancet*, 2014; 383(9922): 1068-83.
297. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. *Endocr Rev*, 2000; 21(6): 697-738.
298. Stefan N, Kantartzis K, Machann J, Schick F, et al. Identification and characterization of metabolically benign obesity in humans. *Arch Intern Med*, 2008; 168(15): 1609-16.
299. Unger RH, Scherer PE. Gluttony, sloth and the metabolic syndrome: a roadmap to lipotoxicity. *Trends Endocrinol Metab*, 2010; 21(6): 345-52.
300. Nolan CJ, Leahy JL, Delghingaro-Augusto V, Moibi J, et al. Beta cell compensation for insulin resistance in Zucker fatty rats: increased lipolysis and fatty acid signalling. *Diabetologia*, 2006; 49(9): 2120-30.
301. 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): 1117-25.
302. Marathe PH, Gao HX, Close KL. American Diabetes Association Standards of Medical Care in Diabetes 2017. *J Diabetes*, 2017; 9(4): 320-24.
303. 7. Approaches to Glycemic Treatment. *Diabetes Care*, 2016; 39 Suppl 1: S52-9.
304. Chaudhury A, Duvoor C, Reddy Dendi VS, Kraleti S, et al. Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2017; 8: 6.
305. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Metformin: Current knowledge. *J Res Med Sci*, 2014; 19(7): 658-64.
306. Sola D, Rossi L, Schianca GP, Maffioli P, et al. Sulfonylureas and their use in clinical practice. *Arch Med Sci*, 2015; 11(4): 840-8.
307. Lapane KL, Yang S, Brown MJ, Jawahar R, et al. Sulfonylureas and risk of falls and fractures: a systematic review. *Drugs Aging*, 2013; 30(7): 527-47.
308. Derosa G, Maffioli P. alpha-Glucosidase inhibitors and their use in clinical practice. *Arch Med Sci*, 2012; 8(5): 899-906.
309. Rizos CV, Elisaf MS, Mikhailidis DP, Liberopoulos EN. How safe is the use of thiazolidinediones in clinical practice? *Expert opinion on drug safety*, 2009; 8(1): 15-32.



310. 8. Pharmacologic Approaches to Glycemic Treatment. *Diabetes Care*, 2017; 40(Suppl 1): S64-s74.
311. Marin-Penalver JJ, Martin-Timon I, Sevillano-Collantes C, Del Canizo-Gomez FJ. Update on the treatment of type 2 diabetes mellitus. *World J Diabetes*, 2016; 7(17): 354-95.
312. Nauck MA, Baller B, Meier JJ. Gastric inhibitory polypeptide and glucagon-like peptide-1 in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2004; 53(suppl 3): S190-S96.
313. Kieffer TJ, Francis Habener J. The glucagon-like peptides. *Endocr Rev*, 1999; 20(6): 876-913.
314. Stonehouse AH, Holcombe JH, Kendall DM. Management of type 2 diabetes: the role of incretin mimetics. *Expert Opin Pharmacother*, 2006; 7(15): 2095-105.
315. D'alessio D. Is GLP-1 a hormone: Whether and When? *J Diabetes Investig*, 2016; 7: 50-55.
316. Vollmer K, Holst JJ, Baller B, Ellrichmann M, et al. Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes*, 2007.
317. Gallwitz B. Review of sitagliptin phosphate: a novel treatment for type 2 diabetes. *Vasc Health Risk Manag*, 2007; 3(2): 203-10.
318. Liu J, Liu Y, Chen L, Wang Y, et al. Glucagon-like peptide-1 analog liraglutide protects against diabetic cardiomyopathy by the inhibition of the endoplasmic reticulum stress pathway. *J Diabetes Res*, 2013; 2013.
319. Kan M, Guo G, Singh B, Singh V, et al. Glucagon-like peptide 1, insulin, sensory neurons, and diabetic neuropathy. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2012; 71(6): 494-510.
320. Górriz JL, Nieto J, Navarro-González JF, Molina P, et al. Nephroprotection by hypoglycemic agents: do we have supporting data? *J Clin Med Res*, 2015; 4(10): 1866-89.
321. Garber AJ, Abrahamson MJ, Barzilay JI, Blonde L, et al. AACE/ACE comprehensive diabetes management algorithm 2015. *Endocr Pract*, 2015; 21(4): 438-47.
322. Scheen AJ. A review of gliptins in 2011. *Expert Opin Pharmacother*, 2012; 13(1): 81-99.

323. Omar BA, Liehua L, Yamada Y, Seino Y, et al. Dipeptidyl peptidase 4 (DPP-4) is expressed in mouse and human islets and its activity is decreased in human islets from individuals with type 2 diabetes. *Diabetologia*, 2014; 57(9): 1876-83.
324. Nagamatsu S, Ohara-Imaizumi M, Nakamichi Y, Aoyagi K, et al. DPP-4 inhibitor des-F-sitagliptin treatment increased insulin exocytosis from db/db mice beta cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011; 412(4): 556-60.
325. Mu J, Woods J, Zhou YP, Roy RS, et al. Chronic inhibition of dipeptidyl peptidase-4 with a sitagliptin analog preserves pancreatic beta-cell mass and function in a rodent model of type 2 diabetes. *Diabetes*, 2006; 55(6): 1695-704.
326. Takeda Y, Fujita Y, Honjo J, Yanagimachi T, et al. Reduction of both beta cell death and alpha cell proliferation by dipeptidyl peptidase-4 inhibition in a streptozotocin-induced model of diabetes in mice. *Diabetologia*, 2012; 55(2): 404-12.
327. Han SJ, Choi SE, Kang Y, Jung JG, et al. Effect of sitagliptin plus metformin on beta-cell function, islet integrity and islet gene expression in Zucker diabetic fatty rats. *Diabetes Res Clin Pract*, 2011; 92(2): 213-22.
328. Shah P, Ardestani A, Dharmadhikari G, Laue S, et al. The DPP-4 inhibitor linagliptin restores beta-cell function and survival in human isolated islets through GLP-1 stabilization. *J Clin Endocrinol Metab*, 2013; 98(7): E1163-72.
329. Akarte AS, Srinivasan BP, Gandhi S. Vildagliptin selectively ameliorates GLP-1, GLUT4, SREBP-1c mRNA levels and stimulates beta-cell proliferation resulting in improved glucose homeostasis in rats with streptozotocin-induced diabetes. *J Diabetes Complications*, 2012; 26(4): 266-74.
330. Mari A, Scherbaum WA, Nilsson PM, Lalanne G, et al. Characterization of the influence of vildagliptin on model-assessed -cell function in patients with type 2 diabetes and mild hyperglycemia. *J Clin Endocrinol Metab*, 2008; 93(1): 103-9.
331. Gadsby R. New treatments for type 2 diabetes—the DPP4 inhibitors. *Prim Care Diabetes*, 2007; 1(4): 209-11.
332. Vincent SH, Reed JR, Bergman AJ, Elmore C, et al. Metabolism and excretion of the DPP-4 inhibitor [14C] sitagliptin in humans. *Drug Metab Dispos*, 2007; 35(4): 533-38.
333. Egan AG, Blind E, Dunder K, De Graeff PA, et al. Pancreatic safety of incretin-based drugs—FDA and EMA assessment. *N Engl J Med*, 2014; 370(9): 794-97.

334. Green JB, Bethel MA, Armstrong PW, Buse JB, et al. Effect of sitagliptin on cardiovascular outcomes in type 2 diabetes. *N Engl J Med*, 2015; 373(3): 232-42.
335. Buse JB, Bethel MA, Green JB, Stevens SR, et al. Pancreatic safety of sitagliptin in the TECOS study. *Diabetes Care*, 2017; 40(2): 164-70.
336. Goldstein BJ, Feinglos MN, Luncsford JK, Johnson J, et al. Effect of initial combination therapy with sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, and metformin on glycemic control in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2007; 30(8): 1979-87.
337. Cho Y, Kieffer T. New aspects of an old drug: metformin as a glucagon-like peptide 1 (GLP-1) enhancer and sensitiser. *Diabetologia*, 2011; 54(2): 219-22.
338. Maida A, Lamont B, Cao X, Drucker D. Metformin regulates the incretin receptor axis via a pathway dependent on peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  in mice. *Diabetologia*, 2011; 54(2): 339-49.
339. Fadini GP, Boscaro E, Albiero M, Menegazzo L, et al. The oral dipeptidyl peptidase-4 inhibitor sitagliptin increases circulating endothelial progenitor cells in patients with type 2 diabetes: possible role of stromal-derived factor-1 $\alpha$ . *Diabetes Care*, 2010; 33(7): 1607-09.
340. Mistry GC, Maes AL, Lasseter KC, Davies MJ, et al. Effect of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase 4 inhibitor, on blood pressure in nondiabetic patients with mild to moderate hypertension. *J Clin Pharmacol New Drugs*, 2008; 48(5): 592-98.
341. Jackson EK, Mi Z. Sitagliptin augments sympathetic enhancement of the renovascular effects of angiotensin II in genetic hypertension. *Hypertension*, 2008; 51(6): 1637-42.
342. Simon GE, VonKorff M, Barlow W. Health care costs of primary care patients with recognized depression. *Arch Gen Psychiatry*, 1995; 52(10): 850-56.
343. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. *Diabetes Res Clin Pract*, 2010; 87(1): 4-14.
344. Smith KJ, Béland M, Clyde M, Gariépy G, et al. Association of diabetes with anxiety: a systematic review and meta-analysis. *J Psychosom Res*, 2013; 74(2): 89-99.
345. Miyata S, Yamada N, Hirano S, Tanaka S-i, et al. Diabetes attenuates psychological stress-elicited 5-HT secretion in the prefrontal cortex but not in the amygdala of mice. *Brain Res*, 2007; 1147: 233-39.

346. Sharma AN, Elased KM, Garrett TL, Lucot JB. Neurobehavioral deficits in db/db diabetic mice. *Physiol Behav*, 2010; 101(3): 381-88.
347. Li C, Barker L, Ford E, Zhang X, et al. Diabetes and anxiety in US adults: findings from the 2006 Behavioral Risk Factor Surveillance System. *Diabet Med*, 2008; 25(7): 878-81.
348. Bajor LA, Gunzler D, Einstadter D, Thomas C, et al. Associations between comorbid anxiety, diabetes control, and overall medical burden in patients with serious mental illness and diabetes. *Int J Psychiatry Med*, 2015; 49(4): 309-20.
349. Naicker K, Johnson JA, Skogen JC, Manuel D, et al. Type 2 diabetes and comorbid symptoms of depression and anxiety: longitudinal associations with mortality risk. *Diabetes Care*, 2017; 40(3): 352-58.
350. Turkat ID. Glycosylated hemoglobin levels in anxious and nonanxious diabetic patients. *Psychosomatics*, 1982; 23(10): 1056-58.
351. Rubin RR, Peyrot M. Psychological issues and treatments for people with diabetes. *J Clin Psychol*, 2001; 57(4): 457-78.
352. Ajilore O, Narr K, Rosenthal J, Pham D, et al. Regional cortical gray matter thickness differences associated with type 2 diabetes and major depression. *Psychiat Res-Neuroim*, 2010; 184(2): 63-70.
353. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci*, 2006; 8(4): 383.
354. Roubos EW, Dahmen M, Kozicz T, Xu L. Leptin and the hypothalamo-pituitary-adrenal stress axis. *Gen Comp Endocrinol*, 2012; 177(1): 28-36.
355. Plotsky PM, Thrivikraman K, Watts AG, Hauger R. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis function in the Zucker obese rat. *Endocrinology*, 1992; 130(4): 1931-41.
356. Roy MS, Roy A, Gallucci WT, Collier B, et al. The ovine corticotropin-releasing hormone-stimulation test in type I diabetic patients and controls: suggestion of mild chronic hypercortisolism. *Metabolism*, 1993; 42(6): 696-700.
357. Chan O, Inouye K, Vranic M, Matthews SG. Hyperactivation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in streptozotocin-diabetes is associated with reduced stress responsiveness and decreased pituitary and adrenal sensitivity. *Endocrinology*, 2002; 143(5): 1761-68.

358. De Nicola A, Fridman O, Del Castillo E, Foglia V. Abnormal regulation of adrenal function in rats with streptozotocin diabetes. *Horm Metab Res*, 1977; 9(06): 469-73.
359. Scribner KA, Walker C-D, Cascio CS, Dallman MF. Chronic streptozotocin diabetes in rats facilitates the acute stress response without altering pituitary or adrenal responsiveness to secretagogues. *Endocrinology*, 1991; 129(1): 99-108.
360. Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, Carvalho LA, et al. Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2011; 35(3): 722-29.
361. van Raalte DH, Nofrate V, Bunck MC, Van Iersel T, et al. Acute and 2-week exposure to prednisolone impair different aspects of  $\beta$ -cell function in healthy men. *Eur J Endocrinol*, 2010; 162(4): 729-35.
362. De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*, 2005; 6(6): 463.
363. Raison CL, Miller AH. When not enough is too much: the role of insufficient glucocorticoid signaling in the pathophysiology of stress-related disorders. *Am J Psychiatry*, 2003; 160(9): 1554-65.
364. Collins M, Corcoran P, Perry I. Anxiety and depression symptoms in patients with diabetes. *Diabet Med*, 2009; 26(2): 153-61.
365. Trulsson M, Himmel C. Effects of insulin and streptozotocin induced diabetes on brain norepinephrine metabolism in rats. *J Neurochem*, 1985; 44(6): 1873-76.
366. Lacković Z, Šilković M, Kuci Z, Relja M. Effect of long lasting diabetes mellitus on rat and human brain monoamines. *J Neurochem*, 1990; 54(1): 143-47.
367. Bellush LL, Reid S, North D. The functional significance of biochemical alterations in streptozotocin-induced diabetes. *Physiol Behav*, 1991; 50(5): 973-81.
368. Nemeroff CB. The role of GABA in the pathophysiology and treatment of anxiety disorders. *Psychopharmacol Bull*, 2003; 37(4): 133-46.
369. Antony S, Kumar TP, Kuruvilla KP, George N, et al. Decreased GABA receptor binding in the cerebral cortex of insulin induced hypoglycemic and streptozotocin induced diabetic rats. *Neurochem Res*, 2010; 35(10): 1516-21.
370. Schnedl WJ, Ferber S, Johnson JH, Newgard CB. STZ transport and cytotoxicity. Specific enhancement in GLUT2-expressing cells. *Diabetes*, 1994; 43(11): 1326-33.

371. Rizvi RY, Shahabuddin, Rahman A, Hadi SM. Effect of alkylation with streptozotocin on the secondary structure of DNA. *Biosci Rep*, 1986; 6(6): 557-64.
372. Lenzen S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes. *Diabetologia*, 2008; 51(2): 216-26.
373. Morales JC, Li L, Fattah FJ, Dong Y, et al. Review of Poly (ADP-ribose) Polymerase (PARP) Mechanisms of Action and Rationale for Targeting in Cancer and Other Diseases. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 2014; 24(1): 15-28.
374. Okamoto H, Takasawa S, Tohgo A. New aspects of the physiological significance of NAD, poly ADP-ribose and cyclic ADP-ribose. *Biochimie*, 1995; 77(5): 356-63.
375. Tortora V, Quijano C, Freeman B, Radi R, et al. Mitochondrial aconitase reaction with nitric oxide, S-nitrosoglutathione, and peroxynitrite: mechanisms and relative contributions to aconitase inactivation. *Free Radic Biol Med*, 2007; 42(7): 1075-88.
376. Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res*, 2001; 50(6): 537-46.
377. Grunblatt E, Salkovic-Petrusic M, Osmanovic J, Riederer P, et al. Brain insulin system dysfunction in streptozotocin intracerebroventricularly treated rats generates hyperphosphorylated tau protein. *J Neurochem*, 2007; 101(3): 757-70.
378. Johansson EB, Tjalve H. Studies on the tissue-disposition and fate of [14C]streptozotocin with special reference to the pancreatic islets. *Acta Endocrinol (Copenh)*, 1978; 89(2): 339-51.
379. González E, Roselló-Catafau J, Jawerbaum A, Sinner D, et al. Pancreatic nitric oxide and oxygen free radicals in the early stages of streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat. *Braz J Med Biol Res*, 2000; 33: 1335-42.
380. Sharma AN, Pise A, Sharma JN, Shukla P. Dipeptidyl-peptidase IV (DPP-IV) inhibitor delays tolerance to anxiolytic effect of ethanol and withdrawal-induced anxiety in rats. *Metab Brain Dis*, 2015; 30(3): 659-67.
381. Celikyurt IK, Mutlu O, Ulak G, Uyar E, et al. Exenatide treatment exerts anxiolytic-and antidepressant-like effects and reverses neuropathy in a mouse model of type-2 diabetes. *Med Sci Monit Basic Res*, 2014; 20: 112-17.

382. Fan H, Wang L, Guo F, Wei S, et al. Neonatal intramuscular injection of plasmid encoding glucagon-like peptide-1 affects anxiety behaviour and expression of the hippocampal glucocorticoid receptor in adolescent rats. *J Biosci*, 2010; 35(1): 63-71.
383. Sharma AN, Pise A, Sharma JN, Shukla P. Glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptor agonist prevents development of tolerance to anti-anxiety effect of ethanol and withdrawal-induced anxiety in rats. *Metab Brain Dis*, 2015; 30(3): 719-30.
384. MacLusky NJ, Cook S, Scrocchi L, Shin J, et al. Neuroendocrine function and response to stress in mice with complete disruption of glucagon-like peptide-1 receptor signaling. *Endocrinology*, 2000; 141(2): 752-62.
385. Anderberg RH, Richard JE, Hansson C, Nissbrandt H, et al. GLP-1 is both anxiogenic and antidepressant; divergent effects of acute and chronic GLP-1 on emotionality. *Psychoneuroendocrinology*, 2016; 65: 54-66.
386. Lutter M, Sakata I, Osborne-Lawrence S, Rovinsky SA, et al. The orexigenic hormone ghrelin defends against depressive symptoms of chronic stress. *Nat Neurosci*, 2008; 11(7): 752-3.
387. Heilig M, Widerlöv E. Neuropeptide Y: an overview of central distribution, functional aspects, and possible involvement in neuropsychiatric illnesses. *Acta Psychiatr Scand*, 1990; 82(2): 95-114.
388. Tauchi M, Zhang R, D'alessio DA, Seeley RJ, et al. Role of central glucagon-like peptide-1 in hypothalamo-pituitary-adrenocortical facilitation following chronic stress. *Exp Neurol*, 2008; 210(2): 458-66.
389. Vella A, Shah P, Reed A, Adkins A, et al. Lack of effect of exendin-4 and glucagon-like peptide-1-(7, 36)-amide on insulin action in non-diabetic humans. *Diabetologia*, 2002; 45(10): 1410-15.
390. Möller C, Sommer W, Thorsell A, Rimondini R, et al. Anxiogenic-like action of centrally administered glucagon-like peptide-1 in a punished drinking test. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2002; 26(1): 119-22.
391. Pérez-Tilve D, González-Matías L, Aulinger BA, Alvarez-Crespo M, et al. Exendin-4 increases blood glucose levels acutely in rats by activation of the sympathetic nervous system. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2010; 298(5): E1088-E96.

392. Uysal N, Yalaz G, Acikgoz O, Gonenc S, et al. Effect of L-carnitine on diabetogenic action of streptozotocin in rats. *Neuro Endocrinol Lett*, 2005; 26(4): 419-22.
393. S. Hall C. Emotional behavior in the rat. III. The relationship between emotionality and ambulatory activity. *J Comp Psychol*, 1936; 22: 345-52.
394. Golani I, Kafkafi N, Drai D. Phenotyping stereotypic behaviour: collective variables, range of variation and predictability. *Appl Anim Behav Sci*, 1999; 65(3): 191-220.
395. Candland DK, Nagy ZM. The Open Field: Some Comparative Data. *Ann N Y Acad Sci*, 1969; 159(3): 831-51.
396. Treit D, Fundytus M. Thigmotaxis as a test for anxiolytic activity in rats. *Pharmacol Biochem Behav*, 1988; 31(4): 959-62.
397. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*, 2003; 463(1-3): 3-33.
398. Carter M, Shieh J. Chapter 2 - Animal Behavior. *Guide to Research Techniques in Neuroscience*. 1st ed. New York: Academic Press; 2009.
399. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*, 1985; 14(3): 149-67.
400. Hogg S. A review of the validity and variability of the elevated plus-maze as an animal model of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav*, 1996; 54(1): 21-30.
401. R.J. Rodgers B-JC, A. Dalvi, A. Holmes. Animal models of anxiety: an ethological perspective. *Braz J Med Biol Res*, 1997; 30: 289-304.
402. Carobrez AP, Bertoglio LJ. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neurosci Biobehav Rev*, 2005; 29(8): 1193-205.
403. Lister RG. Ethologically-based animal models of anxiety disorders. *Pharmacol Ther*, 1990; 46(3): 321-40.
404. de Visser L, Baars AM, Lavrijsen M, van der Weerd CM, et al. Decision-making performance is related to levels of anxiety and differential recruitment of frontostriatal areas in male rats. *Neuroscience*, 2011; 184: 97-106.



405. Miu AC, Heilman RM, Houser D. Anxiety impairs decision-making: psychophysiological evidence from an Iowa Gambling Task. *Biol Psychol*, 2008; 77(3): 353-8.
406. Belzung C, Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behav Brain Res*, 2001; 125(1-2): 141-9.
407. Uysal N, Agilkaya S, Sisman AR, Camsari UM, et al. Exercise increases leptin levels correlated with IGF-1 in hippocampus and prefrontal cortex of adolescent male and female rats. *J Chem Neuroanat*, 2017; 81: 27-33.
408. Larsen PJ, Holst JJ. Glucagon-related peptide 1 (GLP-1): hormone and neurotransmitter. *Regul Pept*, 2005; 128(2): 97-107.
409. Gulec G, Isbil-Buyukcoskun N, Kahveci N. Effects of centrally-injected glucagon-like peptide-1 on pilocarpine-induced seizures, anxiety and locomotor and exploratory activity in rat. *Neuropeptides*, 2010; 44(4): 285-91.
410. Ghosal S, Packard AE, Mahbod P, McKlveen JM, et al. Disruption of glucagon-like peptide 1 signaling in Sim1 neurons reduces physiological and behavioral reactivity to acute and chronic stress. *J Neurosci*, 2016: 1104-16.
411. Zubkov EA, Zorkina YA, Orshanskaya EV, Khlebnikova NN, et al. Changes in Gene Expression Profiles in Adult Rat Brain Structures after Neonatal Action of Dipeptidyl Peptidase-IV Inhibitors. *Neuropsychobiology*, 2017; 76(2): 89-99.
412. Weina H, Yuhu N, Christian H, Birong L, et al. Liraglutide attenuates the depressive- and anxiety-like behaviour in the corticosterone induced depression model via improving hippocampal neural plasticity. *Brain Res*, 2018; 1694: 55-62.
413. Krass M, Volke A, Runkorg K, Wegener G, et al. GLP-1 receptor agonists have a sustained stimulatory effect on corticosterone release after chronic treatment. *Acta Neuropsychiatr*, 2015; 27(1): 25-32.
414. McGovern SFJ, Hunter K, Hölscher C. Effects of the glucagon-like polypeptide-1 analogue (Val8)GLP-1 on learning, progenitor cell proliferation and neurogenesis in the C57B/16 mouse brain. *Brain Res*, 2012; 1473: 204-13.
415. Strawn JR, D'Alessio DA, Keck PE, Seeley RJ. Failure of glucagon-like peptide-1 to induce panic attacks or anxiety in patients with panic disorder. *J Psychiatr Res*, 2008; 42(9): 787-89.

416. Erreger K, Davis AR, Poe AM, Greig NH, et al. Exendin-4 decreases amphetamine-induced locomotor activity. *Physiol Behav*, 2012; 106(4): 574-78.
417. Kamble M, Gupta R, Rehan HS, Gupta LK. Neurobehavioral effects of liraglutide and sitagliptin in experimental models. *Eur J Pharmacol*, 2016; 774: 64-70.
418. Merchenthaler I, Lane M, Shughrue P. Distribution of preproglucagon and glucagon like peptide 1 receptor messenger RNAs in the rat central nervous system. *J Comp Neurol*, 1999; 403(2): 261-80.
419. Adhikari A, Lerner TN, Finkelstein J, Pak S, et al. Basomedial amygdala mediates top-down control of anxiety and fear. *Nature*, 2015; 527(7577): 179-85.
420. LeDoux J. The amygdala. *Curr Biol*, 2007; 17(20): R868-R74.
421. Han V, Hynes M, Jin C, Towle A, et al. Cellular localization of proglucagon/glucagon like peptide 1 messenger RNAs in rat brain. *J Neurosci Res*, 1986; 16(1): 97-107.
422. Knobloch HS, Charlet A, Hoffmann LC, Eliava M, et al. Evoked axonal oxytocin release in the central amygdala attenuates fear response. *Neuron*, 2012; 73(3): 553-66.
423. Deakin JFW. The role of serotonin in depression and anxiety. *Eur Psychiatry*, 1998; 13: 57s-63s.
424. Baldwin D, Rudge S. The role of serotonin in depression and anxiety. *Int Clin Psychopharmacol*, 1995; 9(Suppl 4): 41-45.
425. Llewellyn-Smith IJ, Gnanamanickam GJ, Reimann F, Gribble FM, et al. Preproglucagon (PPG) neurons innervate neurochemically identified autonomic neurons in the mouse brainstem. *Neuroscience*, 2013; 229: 130-43.
426. Holst JJ, Deacon CF. Glucagon-like peptide-1 mediates the therapeutic actions of DPP-IV inhibitors. *Diabetologia*, 2005; 48(4): 612-15.
427. Singh AK. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: Novel mechanism of actions. *Indian J Endocrinol Metab*, 2014; 18(6): 753-9.
428. D'Alessio DA. What if gut hormones aren't really hormones: DPP-4 inhibition and local action of GLP-1 in the gastrointestinal tract. *Endocrinology*, 2011; 152(8): 2925-6.
429. Waget A, Cabou C, Masseboeuf M, Cattan P, et al. Physiological and Pharmacological Mechanisms through which the DPP-4 Inhibitor Sitagliptin Regulates Glycemia in Mice. *Endocrinology*, 2011; 152(8): 3018-29.

430. Vahl TP, Tauchi M, Durler TS, Elfers EE, et al. Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1) Receptors Expressed on Nerve Terminals in the Portal Vein Mediate the Effects of Endogenous GLP-1 on Glucose Tolerance in Rats. *Endocrinology*, 2007; 148(10): 4965-73.
431. Nakagawa A, Satake H, Nakabayashi H, Nishizawa M, et al. Receptor gene expression of glucagon-like peptide-1, but not glucose-dependent insulinotropic polypeptide, in rat nodose ganglion cells. *Auton Neurosci*, 2004; 110(1): 36-43.
432. Fujiwara K, Gotoh K, Chiba S, Masaki T, et al. Intraportal administration of DPP-IV inhibitor regulates insulin secretion and food intake mediated by the hepatic vagal afferent nerve in rats. *J Neurochem*, 2012; 121(1): 66-76.
433. Palleria C, Leo A, Andreozzi F, Citraro R, et al. Liraglutide prevents cognitive decline in a rat model of streptozotocin-induced diabetes independently from its peripheral metabolic effects. *Behav Brain Res*, 2017; 321: 157-69.
434. Ishii H, Niiya T, Ono Y, Inaba N, et al. Improvement of quality of life through glycemic control by liraglutide, a GLP-1 analog, in insulin-naive patients with type 2 diabetes mellitus: the PAGE1 study. *Diabetol Metab Syndr*, 2017; 9: 3.
435. Grant P, Lipscomb D, Quin J. Psychological and quality of life changes in patients using GLP-1 analogues. *J Diabetes Complications*, 2011; 25(4): 244-46.
436. Bode BW, Testa MA, Magwire M, Hale PM, et al. Patient-reported outcomes following treatment with the human GLP-1 analogue liraglutide or glimepiride in monotherapy: results from a randomized controlled trial in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab*, 2010; 12(7): 604-12.
437. Kreymann B, Ghatti MA, Burnet P, Williams G, et al. Characterization of glucagon-like peptide-1-(7–36)amide in the hypothalamus. *Brain Res*, 1989; 502(2): 325-31.
438. Zynat J, Guo Y, Lu Y, Lin D. The Improvement of Hyperglycemia after RYGB Surgery in Diabetic Rats Is Related to Elevated Hypothalamus GLP-1 Receptor Expression. *Int J Endocrinol*, 2016; 2016: 5308347.
439. Ten Kulve JS, van Bloemendaal L, Balesar R, IJzerman RG, et al. Decreased hypothalamic glucagon-like peptide-1 receptor expression in type 2 diabetes patients. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016; 101(5): 2122-29.

440. Gumuslu E, Cine N, Ertan M, Mutlu O, et al. Exenatide upregulates gene expression of glucagon-like peptide-1 receptor and nerve growth factor in streptozotocin/nicotinamide-induced diabetic mice. *Fundam Clin Pharmacol*, 2018; 32(2): 174-80.
441. Yang Y, Ma D, Xu W, Chen F, et al. Exendin-4 reduces tau hyperphosphorylation in type 2 diabetic rats via increasing brain insulin level. *Molecular and Cellular Neuroscience*, 2016; 70: 68-75.
442. Shu L, Matveyenko AV, Kerr-Conte J, Cho JH, et al. Decreased TCF7L2 protein levels in type 2 diabetes mellitus correlate with downregulation of GIP- and GLP-1 receptors and impaired beta-cell function. *Hum Mol Genet*, 2009; 18(13): 2388-99.
443. Gil-Lozano M, Romaní-Pérez M, Outeiriño-Iglesias V, Vigo E, et al. Corticotropin-releasing hormone and the sympathoadrenal system are major mediators in the effects of peripherally administered exendin-4 on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis of male rats. *Endocrinology*, 2014; 155(7): 2511-23.
444. Gil-Lozano M, Perez-Tilve D, Alvarez-Crespo M, Martí A, et al. GLP-1 (7-36)-amide and exendin-4 stimulate the HPA axis in rodents and humans. *Endocrinology*, 2010; 151(6): 2629-40.
445. Ghosal S, Myers B, Herman JP. Role of central glucagon-like peptide-1 in stress regulation. *Physiol Behav*, 2013; 122: 201-07.
446. Koob GF. Corticotropin-releasing factor, norepinephrine, and stress. *Biol Psychiatry*, 1999; 46(9): 1167-80.
447. Rinaman L. Interoceptive stress activates glucagon-like peptide-1 neurons that project to the hypothalamus. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 1999; 277(2): R582-R90.
448. Larsen PJ, Tang-Christensen M, Jessop DS. Central administration of glucagon-like peptide-1 activates hypothalamic neuroendocrine neurons in the rat. *Endocrinology*, 1997; 138(10): 4445-55.
449. Akana SF, Dallman MF, Bradbury MJ, Scribner KA, et al. Feedback and facilitation in the adrenocortical system: unmasking facilitation by partial inhibition of the glucocorticoid response to prior stress. *Endocrinology*, 1992; 131(1): 57-68.

450. Tauchi M, Zhang R, D'Alessio DA, Seeley RJ, et al. Role of central glucagon-like peptide-1 in hypothalamo-pituitary-adrenocortical facilitation following chronic stress. *Exp Neurol*, 2008; 210(2): 458-66.
451. Grigsby AB, Anderson RJ, Freedland KE, Clouse RE, et al. Prevalence of anxiety in adults with diabetes: A systematic review. *J Psychosom Res*, 2002; 53(6): 1053-60.
452. Ates M, Dayi A, Kiray M, Sisman AR, et al. Anxiety- and depression-like behavior are correlated with leptin and leptin receptor expression in prefrontal cortex of streptozotocin-induced diabetic rats. *Biotech Histochem*, 2014; 89(3): 161-71.
453. Kamei S, Kaneto H, Tanabe A, Kinoshita T, et al. Increase in cortisol/ACTH ratio after chronic treatment with liraglutide in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab*, 2017; 43(4): 398-99.
454. Scheen AJ. Pharmacokinetics of dipeptidylpeptidase-4 inhibitors. *Diabetes Obes Metab*, 2010; 12(8): 648-58.
455. Grigoryan M, Kedeas MH, Charron MJ, Guz Y, et al. Regulation of mouse intestinal L cell progenitors proliferation by the glucagon family of peptides. *Endocrinology*, 2012; 153(7): 3076-88.
456. Chisholm C, Greenberg GR. Somatostatin-28 regulates GLP-1 secretion via somatostatin receptor subtype 5 in rat intestinal cultures. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002; 283(2): E311-E17.
457. Ørgaard A, Holst JJ. The role of somatostatin in GLP-1-induced inhibition of glucagon secretion in mice. *Diabetologia*, 2017; 60(9): 1731-39.
458. Yanagimachi T, Fujita Y, Takeda Y, Honjo J, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitor treatment induces a greater increase in plasma levels of bioactive GIP than GLP-1 in non-diabetic subjects. *Mol Metab*, 2017; 6(2): 226-31.
459. Taşçı SK, Bingöl SA. GLP-1 Localisation and Proglucagon Gene Expression in Healthy and Diabetic Mouse Ileum. *Journal of veterinary research*, 2018; 62(2): 237-42.
460. Lohse MJ, Benovic JL, Codina J, Caron MG, et al. beta-Arrestin: a protein that regulates beta-adrenergic receptor function. *Science*, 1990; 248(4962): 1547-50.
461. Ferguson S. Evolving concepts in G protein-coupled receptor endocytosis: the role in receptor desensitization and signaling. *Pharmacol Rev*, 2001; 53(1): 1-24.

462. Widmann C, Dolci W, Thorens B. Internalization and homologous desensitization of the GLP-1 receptor depend on phosphorylation of the receptor carboxyl tail at the same three sites. *Mol Endocrinol*, 1997; 11(8): 1094-102.
463. Baggio LL, Kim J-G, Drucker DJ. Chronic exposure to GLP-1r agonists promotes homologous GLP-1 receptor desensitization in vitro but does not attenuate GLP-1r-dependent glucose homeostasis in vivo. *Diabetes*, 2004; 53(suppl 3): S205-S14.
464. Xu G, Kaneto H, Laybutt DR, Duvivier-Kali VF, et al. Downregulation of GLP-1 and GIP receptor expression by hyperglycemia: possible contribution to impaired incretin effects in diabetes. *Diabetes*, 2007; 56(6): 1551-58.
465. Kimura T, Obata A, Shimoda M, Shimizu I, et al. Down-regulation of vascular GLP-1 receptor expression in human subjects with obesity. *Sci Rep*, 2018; 8(1): 10644.
466. Deacon C, Wamberg S, Bie P, Hughes T, et al. Preservation of active incretin hormones by inhibition of dipeptidyl peptidase IV suppresses meal-induced incretin secretion in dogs. *J Endocrinol*, 2002; 172(2): 355-62.
467. Baranov O, Kahle M, Deacon CF, Holst JJ, et al. Feedback suppression of meal-induced glucagon like peptide 1 (GLP-1) secretion mediated through elevations in intact GLP-1 caused by dipeptidyl peptidase-4 inhibition: a randomized, prospective comparison of sitagliptin and vildagliptin treatment. *Diabetes Obes Metab*, 2016; 18(11): 1100-09.
468. Toft-Nielsen M-B, Madsbad S, Holst JJ. Continuous subcutaneous infusion of glucagon-like peptide 1 lowers plasma glucose and reduces appetite in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*, 1999; 22(7): 1137-43.
469. Brubaker PL, Efendic S, Greenberg GR. Truncated and full-length glucagon-like peptide-1 (GLP-1) differentially stimulate intestinal somatostatin release. *Endocrine*, 1997; 6(1): 91-95.
470. Brubaker P, Efendic S, Greenberg G. Glucagon-like peptide-1 is a potent stimulator of intestinal somatostatin secretion. *Endocrinology*, 1997; 6: 91-95.
471. Hansen L, Hartmann B, Mineo H, Holst JJ. Glucagon-like peptide-1 secretion is influenced by perfusate glucose concentration and by a feedback mechanism involving somatostatin in isolated perfused porcine ileum. *Regul Pept*, 2004; 118(1-2): 11-18.
472. Turner AJ, Isaac RE, Coates D. The neprilysin (NEP) family of zinc metalloendopeptidases: genomics and function. *Bioessays*, 2001; 23(3): 261-69.

473. Plamboeck A, Holst JJ, Carr R, Deacon C. 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): 1882-90.
474. Windelov JA, Wewer Albrechtsen NJ, Kuhre RE, Jepsen SL, et al. Why is it so difficult to measure glucagon-like peptide-1 in a mouse? *Diabetologia*, 2017; 60(10): 2066-75.
475. Willard JR, Barrow BM, Zraika S. Improved glycaemia in high-fat-fed neprilysin-deficient mice is associated with reduced DPP-4 activity and increased active GLP-1 levels. *Diabetologia*, 2017; 60(4): 701-08.
476. Mannucci E, Ognibene A, Cremasco F, Bardini G, et al. Glucagon-like peptide (GLP)-1 and leptin concentrations in obese patients with Type 2 diabetes mellitus. *Diabet Med*, 2000; 17(10): 713-9.
477. Herman GA, Bergman A, Stevens C, Kotey P, et al. Effect of single oral doses of sitagliptin, a dipeptidyl peptidase-4 inhibitor, on incretin and plasma glucose levels after an oral glucose tolerance test in patients with type 2 diabetes. *J Clin Endocrinol Metab*, 2006; 91(11): 4612-9.
478. Tschope C, Reinecke A, Seidl U, Yu M, et al. Functional, biochemical, and molecular investigations of renal kallikrein-kinin system in diabetic rats. *Am J Physiol*, 1999; 277(6): H2333-40.
479. Sisley S, Gutierrez-Aguilar R, Scott M, D'Alessio DA, et al. Neuronal GLP1R mediates liraglutide's anorectic but not glucose-lowering effect. *J Clin Invest*, 2014; 124(6): 2456-63.
480. Renner S, Blutke A, Streckel E, Wanke R, et al. Incretin actions and consequences of incretin-based therapies: lessons from complementary animal models. *J Pathol*, 2016; 238(2): 345-58.
481. Heppner KM, Perez-Tilve D. GLP-1 based therapeutics: simultaneously combating T2DM and obesity. *Front Neurosci*, 2015; 9: 92.
482. Rønnekleiv OK, Fang Y, Zhang C, Nestor CC, et al. Research resource: Gene profiling of G protein-coupled receptors in the arcuate nucleus of the female. *Mol Endocrinol*, 2014; 28(8): 1362-80.

483. Koegler FH, Enriori PJ, Billes SK, Takahashi DL, et al. Peptide YY (3–36) inhibits morning, but not evening, food intake and decreases body weight in rhesus macaques. *Diabetes*, 2005; 54(11): 3198-204.
484. Ishihara A, Tanaka T, Kanatani A, Fukami T, et al. A potent neuropeptide Y antagonist, 1229U91, suppressed spontaneous food intake in Zucker fatty rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 1998; 274(5): R1500-R04.
485. Aaboe K, Knop FK, Vilsbøll T, Deacon CF, et al. Twelve weeks treatment with the DPP-4 inhibitor, sitagliptin, prevents degradation of peptide YY and improves glucose and non-glucose induced insulin secretion in patients with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*, 2010; 12(4): 323-33.
486. Chen D-Y, Wang S-H, Mao C-T, Tsai M-L, et al. Sitagliptin After Ischemic Stroke in Type 2 Diabetic Patients: A Nationwide Cohort Study. *Medicine*, 2015; 94(28): e1128.
487. Mulvihill EE, Drucker DJ. Pharmacology, physiology, and mechanisms of action of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors. *Endocr Rev*, 2014; 35(6): 992-1019.
488. Deacon CF, Holst JJ. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors for the treatment of type 2 diabetes: comparison, efficacy and safety. *Expert Opin Pharmacother*, 2013; 14(15): 2047-58.
489. Nauck MA. Incretin-based therapies for type 2 diabetes mellitus: properties, functions, and clinical implications. *Am J Med*, 2011; 124(1 Suppl): S3-18.
490. Montilla S, Marchesini G, Sammarco A, Trotta MP, et al. Drug utilization, safety, and effectiveness of exenatide, sitagliptin, and vildagliptin for type 2 diabetes in the real world: data from the Italian AIFA Anti-diabetics Monitoring Registry. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*, 2014; 24(12): 1346-53.
491. Beiroa D, Imbernon M, Gallego R, Senra A, et al. GLP-1 agonism stimulates brown adipose tissue thermogenesis and browning through hypothalamic AMPK. *Diabetes*, 2014; 63(10): 3346-58.
492. Lockie SH, Heppner KM, Chaudhary N, Chabenne JR, et al. Direct control of brown adipose tissue thermogenesis by central nervous system glucagon-like peptide-1 receptor signaling. *Diabetes*, 2012; 61(11): 2753-62.
493. Singh AK. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors: Novel mechanism of actions. *Indian J Endocrinol Metab*, 2014; 18(6): 753.



494. Baggio LL, Huang Q, Brown TJ, Drucker DJ. Oxyntomodulin and glucagon-like peptide-1 differentially regulate murine food intake and energy expenditure. *Gastroenterology*, 2004; 127(2): 546-58.
495. Wynne K, Park A, Small C, Meeran K, et al. Oxyntomodulin increases energy expenditure in addition to decreasing energy intake in overweight and obese humans: a randomised controlled trial. *Int J Obes*, 2006; 30(12): 1729.



## 8. EKLER

### EK-1. Etik Kurul Onayı

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

Toplantı No:1/2016

Toplantı tarihi: 28 Nisan 2016

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığına,

1/2016 protokol no'lu Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof. Dr. Nazan Uysal Harzadın'ın yürütücüsü olduğu "Sıçanlarda streptozotosin ile oluşturulan diyabet modelinde modelinde GLP-1'in anksiyete benzeri davranış ile ilişkisinin araştırılması" isimli projenin uygulanmasında etik açıdan sakınca yoktur.

Prof. Dr. Nazan Uysal Harzadın

DEÜ TF HADYEK Başkanı

Proje sahibi - katılmadı

Uzm. Vet. Hek. Sevim Kandıç

DEÜ TF HADYEK Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Amas Kiray

Üye

Proje çalışması - katılmadı

Prof. Dr. Durgül Özdemir

Üye

Prof. Dr. Lutfiye Karat

Üye

Prof. Dr. Ersin Koylu

Üye

Prof. Dr. Sevil Gönenç Arda

Üye

Prof. Dr. Nuri Arda

Üye

Ayşe Dayı

Üye

## EK-2. Özgeçmiş

### ÖZGEÇMİŞ

#### Güven GÜVENDİ

|                    |                                                       |
|--------------------|-------------------------------------------------------|
| TC Kimlik Numarası | 37738399458                                           |
| Doğum Yılı         | 1985                                                  |
| Yazışma Adresi     | Dokuz Eylül Üniversitesi Fizyoloji AD, Balçova, İZMİR |
| Telefon            | 0505 558 26 13                                        |
| Faks               | -                                                     |
| e-posta            | guvendi@yandex.com                                    |

#### EĞİTİM BİLGİLERİ

| Ülke    | Üniversite               | Fakülte       | Öğrenim alanı | Derece        | Mezuniyet Yılı |
|---------|--------------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|
| Türkiye | Dokuz Eylül Üniversitesi | Tıp Fakültesi | Tıp           | Yüksek Lisans | 2011           |

#### AKADEMİK DENEYİM

| Kurum/Kuruluş               | Ülke    | Bölüm/Birim     | Görev Türü | Görev Dönemi |
|-----------------------------|---------|-----------------|------------|--------------|
| Dokuz Eylül Üniversitesi    | Türkiye | Fizyoloji AD    | Araş. Gör. | 2013-        |
| Adnan Menderes Üniversitesi | Türkiye | Halk Sağlığı AD | Araş. Gör. | 2012-2013    |

## **YAYINLARI**

### **SCI, SSCI, AHCI indekslerine giren dergilerde yayınlanan makaleler**

- Sisman AR, Kiray M, Camsari UM, Evren M, Ates M, Baykara B, Aksu I, Guvendi G, Uysal N. "Potential novel biomarkers for diabetic testicular damage in streptozotocin-induced diabetic rats: nerve growth factor Beta and vascular endothelial growth factor", Dis Markers. 2014;2014:108106.
- Salman T, Demir L, Varol U, Akyol M, Oflazoglu U, Yildiz Y, Taskaynatan H, Cengiz H, Guvendi G, Kucukzeybek Y, Alacacioglu A, Tarhan O. "Serum apelin levels and body composition changes in breast cancer patients treated with an aromatase inhibitor", J BUON. 2016 Nov-Dec;21(6):1419-1424.
- Dayi A, Acikgoz A, Guvendi G, Bayrak L, Ersoy B, Gur C, Ozmen O. "Determination of Factors Affecting Physical Activity Status of University Students on a Health Sciences Campus", Med Sci Monit. 2017 Jan 19;23:325-334.
- Uysal N, Yuksel O, Kizildag S, Yuce Z, Gumus H, Karakilic A, Guvendi G, Koc B, Kandis S, Ates M. "Regular aerobic exercise correlates with reduced anxiety and increased levels of irisin in brain and white adipose tissue", Neurosci Lett. 2018 May 29;676:92-97.
- Ekerbicer N, Gurpinar T, Sisman AR, Guvendi G, Camsari UM, Uysal N. "Statins reduce testicular and ocular VEGF: A potential compromise to microcirculation", Microvasc Res. 2018 Sep;119:60-63.
- Uysal N, Kizildag S, Yuce Z, Guvendi G, Kandis S, Koc B, Karakilic A, Camsari UM, Ates M. "Timeline (Bioavailability) of Magnesium Compounds in Hours: Which Magnesium Compound Works Best?", Biol Trace Elem Res. 2018 Apr 21.
- Guvendi EU, Askin A, Guvendi G, Kocyigit H. "Comparison of Efficiency between Corticosteroid and Platelet Rich Plasma Injection Therapies in Patients with Knee Osteoarthritis", Arch Rheumatol. 2018 Sep;33(3):273-281.
- Karakilic A, Kizildag S, Kandis S, Guvendi G, Koc B, Camsari GB, Camsari UM, Ates M, Arda SG, Uysal N. "The effects of acute foot shock stress on empathy levels in rats", Behav Brain Res. 2018 Sep 3;349:31-36.

Kandis S, Ates M, Kizildag S, Camsari GB, Yuce Z, Guvendi G, Koc B, Karakilic A, Camsari UM, Uysal N. “Acetaminophen (paracetamol) affects empathy-like behavior in rats: Dose-response relationship”, Pharmacol Biochem Behav. 2018 Dec;175:146-151.

#### **Hakemli konferans/sempozyumların bildiri kitaplarında yer alan yayınlar**

Dayı A, Açıkgöz A, Guvendi G, Bayrak L, Ersoy B, Gür Ç, Özmen Ö. “Sağlık Kampüsündeki Üniversite Öğrencilerinin Fiziksel Aktivite Durumlarını Etkileyen Etmenlerin Belirlenmesi”, 14th International Sport Sciences Congress, Antalya, 01st-04th November, 2016.

Gencoglu C, Aksu I, Guvendi G, Gumus H, Sisman AR, Kiray M, Uysal N. “Preliminary Results: Aerobic Exercise Increases Leptin Levels In White And Brown Adipose Tissues”, 22nd Annual Congress of The European College of Sport Science, 5th-8th July 2017, Metropolisruhr-Germany.

Guvendi G, Ates M, Aksu I, Kiray M, Kiray A, Uysal N. “The effects of sitagliptin on anxiety-like behaviour and GLP-1 in streptozotocin-induced diabetic rats”, 3rd International Congress of Turkish Neuroendocrinology Society, Malatya, 29th June-1st July 2018.

Kandis S, Ates M, Kizildag S, Guvendi G, Koc B, Karakilic A, Camsari GB, Camsari UM, Uysal N. “Acetaminophen (paracetamol): “Empathy-killer” in a dose-response relationship in rats”, 3rd International Congress of Turkish Neuroendocrinology Society, Malatya, 29th June-1st July 2018.