

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

**CERRAHİ MENOPOZ MODELİ OLUŞTURULAN GENÇ
DIŞI SIÇANLARDA GLP-1 AGONİSTİNİN DEPRESYON
BENZERİ DAVRANIŞLARA ETKİSİ**

CANDAN SAĞLAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. HALE SAYAN ÖZAÇMAK

ZONGULDAK

2022

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

**CERRAHİ MENOPOZ MODELİ OLUŞTURULAN GENÇ
DIŞI SIÇANLARDA GLP-1 AGONİSTİNİN DEPRESYON
BENZERİ DAVRANIŞLARA ETKİSİ**

CANDAN SAĞLAM

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. HALE SAYAN ÖZAÇMAK

*Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından desteklenmiştir.*

(BAP No: 2020-26259946-01)

ZONGULDAK

2022

ÖNSÖZ

Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji Anabilim Dalı'nda aldığım yüksek lisans eğitimi ve bu eğitim sürecinde ortaya koyduğumuz tez projemde, bilgi ve birikiminin yanı sıra sabır, anlayış ve sevgisini hiçbir zaman esirgemeyen tanımdan onur duyduğum saygıdeğer hocalarıma; başta öğrencisi olmaktan kıvanç duyduğum anabilim dalı başkanı ve tez danışmanım olan Sayın Prof. Dr. Hale SAYAN ÖZAÇMAK'a, ders dönemindeki eğitimleri ve tez aşamasında tecrübeleri ile her zaman destek olan bölüm hocalarımız Sayın Prof. Dr. V. Haktan ÖZAÇMAK ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi İnci TURAN'a teşekkür eder saygılarımı sunarım.

Gerek ders döneminde gerekse tez aşamasında yardımlarını esirgemeyen; başta Öğr. Gör. Meryem ERGENÇ'e olmak üzere Öğr. Gör. Salih ERDEM, Araş. Gör. Dr. Nazan ELMA, Araş. Gör. Dr. Bengisu KARAGÖZ ve meslektaşım Veteriner Hekim Osman ÇENGİL'e teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca her zaman yanımda olup desteklerini esirgemeyen anneme, abim Prof. Dr. Baran Can SAĞLAM'a ve yüksek lisans döneminde kaybettiğim babama ayrı ayrı teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans süreci boyunca desteğini, sevgisini ve sabrını bir an olsun esirgemeyen sevgili eşim Veteriner Hekim Tuğba SAĞLAM'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir. (BAP No: 2020-26259946-01)

Candan SAĞLAM

Zonguldak 2022

ÖZET

Candan SAĞLAM, Cerrahi Menopoz Modeli Oluşturulan Genç Dişi Sıçanlarda GLP-1 Agonistinin Depresyon Benzeri Davranışlara Etkisi, Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Zonguldak, 2022.

Menopoz, menstrüel siklusun kalıcı olarak sona ermesi anlamına gelen doğal biyolojik ve fizyolojik bir süreçtir. Kadınlar menopoza geçiş aşamasında depresyon, anksiyete gibi birçok fizyolojik ve psikolojik değişiklik yaşarlar. Amacımız, liraglutidin overektominin neden olduğu davranış değişikliklerini ve hipokampüste oksidatif stres, nöroinflamasyon ve beyin türevli nörotrofik faktör sinyali üzerine etkisini değerlendirmektir. Çalışmamızda 40 adet, üç aylık, genç dişi Wistar-Albino cinsi sıçanlar kullanılmıştır. Kontrol, kontrol ve glukagon benzeri peptid 1, overektomi, overektomi ve fluoksetin, overektomi ve glukagon benzeri peptid 1 olmak üzere rastgele seçimle 5 gruba ayrılmıştır. Operasyondan 5 hafta sonrasında zorlu yüzme testi, açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi uygulanmıştır. Hipokampüste beyin türevli nörotrofik faktör, siklik adenosin monofosfat yanıt elementi bağlayıcı protein, nükleer faktör eritroid 2 ile ilgili faktör 2 ve lipokalin-2 seviyeleri enzim bağlı immünosorbent deneyi yöntemiyle ölçülmüştür. Gruplar karşılaştırmaları için One Way ANOVA, grup içi değerlendirme için Bonferroni Post Hoc ve sonuçlar arasındaki korelasyon non-parametrik Spearman testi yapılmıştır. Overektomi sonucu oluşan depresyon ve anksiyete hipokampüste artan lipokalin-2 ve malondialdehit seviyeleri ile ilişkili olduğu gözlemlendi. Overektomize sıçanların hipokampüsünde beyin türevli nörotrofik faktör, siklik adenosin monofosfat yanıt elementi bağlayıcı protein, nükleer faktör eritroid 2 ile ilgili faktör 2 seviyeleri önemli ölçüde azaldı. Liraglutide, depresyon ve anksiyete semptomlarını önledi. Sonuçlarımız, glukagon benzeri peptid 1 reseptör agonistinin antidepresant ve anksiyolitik etkisinin, hipokampüste beyin türevli nörotrofik faktör ve nükleer faktör eritroid 2 ile ilgili faktör 2 seviyelerinin korunmasıyla, oksidatif stres ve lipokalin-2 seviyelerinin azalmasıyla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar Kelimeler: Overektomi, Oksidatif stres, MDA, GSH, GLP-1 agonisti.

ABSTRACT

Candan SAĞLAM, The Effect of Glucagon-Like Peptide-1 Agonist on Depression-Like Behaviors in Young Female Rats in The Surgical Menopause Model, Zonguldak Bulent Ecevit University, Institute of Health Sciences, Department of Physiology, M.Sc., Zonguldak, 2022.

Menopause is a natural biological and physiological process that means the permanent end of the menstrual cycle. Women experience many physiological and psychological changes such as depression and anxiety during the transition to menopause. Our aim was to evaluate the behavioral changes of liraglutide induced by ovariectomy and its effect on oxidative stress, neuroinflammation and brain-derived neurotrophic factor signaling in the hippocampus. Forty three month old, female, Wistar-Albino rats were used in our study. They were randomly divided into 5 groups as control, control and glucagon-like peptide 1, ovariectomy, ovariectomy and fluoxetine, ovariectomy and glucagon-like peptide 1. Forced swim test, open field test and elevated plus maze test were applied 5 weeks after the operation. Brain derived neurotrophic factor, cyclic adenosine monophosphate response element binding protein, nuclear factor erythroid 2 related factor 2 and lipocalin-2 levels in the hippocampus were measured by enzyme linked immunosorbent assay method. One Way ANOVA was used for group comparisons, Bonferroni Post Hoc for within-group evaluation, and the non-parametric Spearman test for correlation between results. It was observed that depression and anxiety resulting from ovariectomy were associated with increased lipocalin-2 and malondialdehyde levels in the hippocampus. Brain derived neurotrophic factor, cyclic adenosine monophosphate response element binding protein and nuclear factor erythroid 2 related factor 2 levels were significantly reduced in the hippocampus of ovariectomized rats. Liraglutide prevented symptoms of depression and anxiety. Our results suggest that the antidepressant and anxiolytic effect of glucagon like peptide 1 receptor agonist may be associated with the preservation of brain derived neurotrophic factor, nuclear factor erythroid 2 related factor 2 levels in the hippocampus and the reduction of oxidative stress and lipocalin-2 levels.

Key Words: Ovariectomy, Oxidative stress, MDA, GSH, GLP-1 agonist.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖNSÖZ	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT	v
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	ix
TABLO DİZİNİ	xii
ŞEKİL DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Depresyon ve Östrojen	4
2.2. Depresyon ve Oksidatif Stres	12
2.3. Depresyon ve BDNF/CREB.....	13
2.4. Depresyon ve nrf2	16
2.5. Depresyon ve Lipokalin-2	18
2.6. GLP-1 ve Etkileri	20
2.7. Yağ Dokusunun Menapoz ve Depresyon ile İlişkisi	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	24
3.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları	24
3.1.1. Overektomi protokolü.....	25
3.1.2. İlaç uygulaması	28
3.1.3. Vücut ağırlık ve kan glikoz düzeyi ölçümleri.....	28
3.2. Davranış Testleri	28
3.2.1. Zorlu yüzme testi (FST).....	28
3.2.2. Açık alan testi (OFT)	30
3.2.3. Yükseltilmiş artı labirent testi (EPM).....	31
3.3. Doku Örneklerinin Alınması	32
3.4. Oksidatif Stres Parametrelerinin Ölçümü.....	33
3.4.1. Doku homojenatlarının hazırlanması.....	33
3.4.2. MDA tayini	33
3.4.3. GSH tayini	33

3.5. ELISA Yöntemi ile Lipokalin-2/BDNF/CREB/nrf2 Ölçümü.....	33
4.BULGULAR.....	36
4.1. Vücut Ağırlıkları ve Kan Glikoz Seviyesi Değişimleri.....	36
4.2. Davranış Test Sonuçları	36
4.2.1. Zorlu yüzme testi (FST).....	36
4.2.1.1. Hareketsizlik	37
4.2.1.2. Yüzme süresi	38
4.2.1.3. Duvara tırmanma süresi	39
4.2.2. Açık alan testi (OFT)	40
4.2.2.1. Şahlanma sayısı.....	41
4.2.2.2. Merkez kare geçme sayıları	41
4.2.2.3. Perifer kare geçme sayısı	42
4.2.2.4. Temizlenme sayısı.....	43
4.2.3. Yükseltilmiş artı labirent testi sonuçları	44
4.2.3.1. Açık kola giriş sayısı.....	45
4.2.3.2. Açık kolda geçirilen süre	45
4.2.3.3. Kapalı kola giriş sayısı	46
4.2.3.4. Kapalı kolda geçirilen süre	47
4.2.4. Yağ dokusu ağırlıkları	48
4.2.4.1. Kahverengi yağ dokusu.....	49
4.2.4.2. Retroperitoneal yağ dokusu	49
4.2.4.3. Perirenal yağ dokusu	50
4.2.5. Oksidatif stres parametreleri.....	51
4.2.5.1. Hipokampus malondialdehit tayini sonuçları.....	51
4.2.5.2. Hipokampus GSH tayini sonuçları	52
4.2.6. ELISA sonuçları	53
4.2.6.1. Lipokalin-2 ELISA sonuçları.....	54
4.2.6.2. BDNF ELISA sonuçları	54
4.2.6.3. CREB ELISA sonuçları	55
4.2.6.4. Nrf2 ELISA sonuçları	56

5.TARTIŞMA	58
6. KAYNAKÇA.....	64
7. EKLER.....	91
Ek 1. Etik Kurul Kararı	91
8. ÖZGEÇMİŞ	92



SİMGELER VE KISALTMALAR

±	: Artı eksi
°C	: Santigrat derece
µl	: Mikrolitre
µmol	: mikromol
5HT	: 5 hidroksitriptamin
AcTH	: Adrenokortikotropik hormon
ALLO	: Allopregnanolone
ARE	: Antioksidan yanıt elementi
ATP	: Adenozin Trifosfat
AVP	: Vazopressin
BDNF	: Beyin türevli nörotrofik faktör
BHT	: Butilhidroksi toluenden
CA1	: Cornu ammonis 1
CA2	: Cornu ammonis 2
CA3	: Cornu ammonis 3
CA4	: Cornu ammonis 4
cAMP	: Siklik adenozin monofosfat
Cl	: Klor
CREB	: Siklik amp yanıt elementi bağlayıcı proteini
CRH	: Kortikotropin salgılatıcı hormon
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribo nükleik asit
EDTA	: Etilendiamin tetraasetik asit
ELİSA	: Enzim bağlı immunosorbent deneyi
EPM	: Yükseltilmiş artı labirent testi
ER	: Östrojen reseptörü

ER α	: Östrojen reseptörü alfa
ER β	: Östrojen reseptörü beta
ERK	: Hücre dışı regüle protein kinaz
FLX	: Fluoksetin
FSH	: Folikül stimule edici hormon
FST	: Zorlu yüzme testi
gr	: gram
GABA	: Gama aminobütirik asit
GLP-1	: Glukagon benzeri peptid 1
GLP-1R	: Glukagon benzeri peptid 1 reseptörü
GnRH	: Gonadotropin serbestleştirici hormon
GPGR	: G bağımlı östrojen reseptörü
GSH	: İndirgenmiş glutatyon
HO-1	: Hemoksijenaz 1
HPA	: Hipotalamus, hipofiz, adrenal aks
HPG	: Hipotalamus, hipofiz, gonadal aks
HRT	: Hormon replasman tedavisi
IL-1	: İnterlöikin 1
IL-1 β	: İnterlöikin 1 beta
IL-10	: İnterlöikin 10
IL-6	: İnterlöikin 6
KBB	: Kan beyin bariyeri
Keap-1	: Kelk benzeri ECH ile ilişkili protein 1
KONT.	: KONTROL
LCN2	: Lipokalin-2
LH	: Luteinleştirici hormon
LİRA	: Liraglutid
MDA	: Malondialdehit

Mg	: Miligram
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NFE2L2	: Nükleer faktör eritroidden türetilen 2 benzeri 2
Ng	: Nanogram
NGAL	: Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin
NLRP3	: Nod benzeri reseptör pirin içeren protein 3
nm	: Nanometre
nmol	: Nanomol
nrf2	: Nükleer eritroidden türetilen benzeri faktör 2
OFT	: Açık alan testi
OVX	: Overektomize
PCA	: Perklorikasit
PFC	: Prefrontal korteks
PKA	: Protein kinaz A
ROS	: Serbest oksijen türevleri
sn	: Saniye
SSS	: Santral sinir sistemi
TCA	: Triklorasetik asit
TNF- α	: Tümör nekroz faktör alfa
TrkB	: Tropomiyozin reseptör kinaz B
α	: Alfa
β	: Beta

TABLO DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1. Deneklerin Vücut Ağırlıkları ve Kan Glikoz Seviyeleri Değişimi.	36
2. Zorlu Yüzme Testi Sonuçları.	37
3. Deney Gruplarına Ait OFT Sonuçları.	40
4. Deney Gruplarına ait EPM Sonuçları.	44
5. Tüm Grupların Yağ Dokuları Sonuçları	48
6. Gruplar Arası Oksidatif Stres Parametrelerinin Sonuçları.....	51
7. Deney Gruplarına ait Hipokampus Dokusu lipokalin-2, bdnf, creb ve nrf2 Sonuçları.....	53

ŞEKİL DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
1. Östrojenin Çeşitleri ve Kimyasal Yapıları.....	4
2. ER α ve ER β 'nın Beyin Bölümlerindeki Şematik Dağılımı	6
3. HPA Aksı ve Negatif Geri Bildirimi	8
4. Stresin Reprodüktif Hormonlara Etkisi.....	10
5. Östrus Dönemlerinde Östrojenin Dendritik Dikenler (spine) Üzerine Etkileri	11
6. Depresif Benzeri Davranışta BDNF-ERK-CREB Yolunun Şematik Görünümü	15
7. Östojen, BDNF Reseptör Etkileşimi	16
8. Nrf2 Depresyon İlişki Şeması.	18
9. Operasyon Öncesi Denek Tüylerinin Temizlenmesi.	25
10. Operasyon Bölgesi Antisepsi İşlemi.	26
11. Deri İnsizyonu Uygulaması.....	26
12. Kas ve Periton Katmanlarının Diseksiyonu.	27
13. Over ve Tuba Uterininin Forseps ile Çıkartılması.....	27
14. Zorlu Yüzme Testi.....	30
15. Açık Alan Testi.	31
16. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi.	32
17. Tüm Gruplara Ait Zorlu Yüzme Testindeki Hareketsizlik Süreleri.	38
18. Tüm Gruplara Ait Zorlu Yüzme Testindeki Yüzme Süreleri Sonuçları.	39
19. Tüm Gruplara Ait Zorlu Yüzme Testindeki Duvara Tırmanma Süreleri Sonuçları. .	40
20. Tüm Grupların Açık Alan Testi Şahlanma Sayıları.....	41
21. Tüm Gruplara Ait Açık Alan Testindeki Merkez Kare Geçme Sayıları Sonuçları. ..	42
22. Tüm Gruplara Ait Açık Alan Testindeki Perifer Kare Geçme Sayıları Sonuçları.....	43
23. Tüm Gruplara Ait Açık Alan Testindeki Kendini Temizleme Sayısı Sonuçları.....	44
24. Denek Gruplarının EPM'deki Açık Kola Giriş Sayıları Sonuçları.....	45
25. Tüm Gruplara Ait EPM'deki Açık Kolda Geçirilen Süre Sonuçları.	46
26. Tüm Gruplara Ait EPM'de Kapalı Kola Giriş Sayıları.	47
27. Tüm Gruplara Ait EPM'deki Kapalı Kolda Geçirilen Süre Sonuçları.	48
28. Tüm Gruplara Ait Kahverengi Yağ Dokusu Ağırlıkları Sonuçları.	49
29. Tüm Gruplara ait Retroperitoneal Yağ Dokusu Ağırlıkları Sonuçları.	50
30. Tüm Grupların Perirenal Yağ Dokusu Ağırlıkları Sonuçları.....	50

31. Hipokampüs MDA Seviyeleri.....	52
32. Hipokampüs GSH Seviyeleri.	53
33. Hipokampüs Lipocaline-2 Düzeyleri.	54
34. Hipokampüs BDNF Düzeyleri.....	55
35. Hipokampüs CREB Düzeyleri.	56
36. Hipokampüs nrf2 Düzeyleri.	57



1.GİRİŞ

Doğal menopoza, menstrüel döngünün kalıcı olarak sona ermesi anlamına gelmekte olup, overlerden salgılanan gonadal hormonların eksikliği ile karakterize doğal, biyolojik ve fizyolojik bir süreçtir. Dünya üzerinde menopozun başlangıcı 50-55 yaş aralığıdır. Her ne kadar cerrahi uygulamalar ve radyoterapi, kemoterapi gibi tedavi yöntemleri ortalama menopoz yaşını düşürse de bu yaş aralığı ortalama olarak 51 yaştır (1). Kadınlar hayatlarının üçte birini menopoz sonrası yaşamaktadırlar (1). Menopoz sonrası kadınlarda ovarian hormonların seviyesindeki azalma ile birlikte sıcak basması, hararet ve gece terleme gibi vazomotor semptomlar yaşamaktadır. Bu semptomlara ek olarak sinirlilik, duygu durumu ve uyku bozukluğu, yorgunluk hali, libido azalması, dispareni ve atrofik vajinit görülmektedir (2).

Kadınlarda menopoz kaynaklı yaşam kalitesini düşüren semptomları tedavi etmek için sıklıkla östrojen replasman tedavisi gibi çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Hormon replasman tedavisi meme kanseri ve tromboembolizm riskini arttırdığı gerekçesiyle son yıllarda tercih edilmemektedir. Menopoz sürecindeki semptomların azaltılması için alternatif tedavi yöntemlerinin değerlendirilmesi gerekmektedir (3). Birçok araştırmada deney hayvanlarında gerçekleştirilen cerrahi menopoz modeli, kadınlardaki menopoz sonrası koşulları taklit etmek ve hormonların azalmasıyla ilgili hastalıkları incelemek için yaygın olarak kullanılmaktadır.

Depresyon, şiddetli mutsuzluk durumundan majör depresif bozukluğa kadar değişen olumsuz duygudurum belirtilerini tanımlamak için kullanılan genel bir terimdir (4). Kadınlarda depresyon, erkeklere göre iki kat daha fazla sıklıkla gözlenir (5). Erkek ve kadın beyinleri arasındaki yapısal farklılıklar, serotonin, gama-aminobütirik asit (GABA), allopregnanolon, östrojen ve kortikosteroidler gibi çeşitli nörotransmitterlere ve hormonlara karşı duyarlılığın değişmesi, genetik yatkınlık ve kültürel faktörler, sosyal izolasyon kadınlarda depresyon gelişimine katkıda bulunur (6). Üreme hormonlarının depresyon üzerine etkileri hakkında birçok çalışma bulunduğu gibi depresyonun da üreme hormonları üzerinde etkileri bulunmaktadır (5). Major depresif bozukluklarda hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) ekseninin fonksiyonlarında bozukluklar meydana

gelir (7). HPA eksenindeki bu bozukluklar glukokortikoidlerin gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) nöronlarının, gonadotropin ve gonadların endokrin fonksiyonlarını engellemektedir (8). Depresyon sırasında meydana gelen aşırı kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH) seviyesi hipotalamik-hipofiz-gonadal (HPG) ekseninin inhibisyonuna yol açmaktadır (9).

Kadınlar hayatları boyunca üreme hormonları seviyeleri değişikliklerine bağlı olarak duygudurum bozukluğu ve depresyon gelişme riski ile karşı karşıya kalırlar. Depresyon riskinin kadınlarda ergenlik başlangıcı, doğum sonrası, doğum kontrol ilaçları kullanımı ve perimenopoz döneminde artışı bu ilişkiyi doğrulamaktadır. Kadınlarda östrojen tedavisinin depresyon bulgularını azaltmada etkili olduğu gösterilmiştir (10). Benzer şekilde overektomize sıçanlarda östrojen reseptör agonistlerinin antidepresant ve anksiyolitik olduğu saptanmıştır (10,11). Jacobs ve ark. (2015) yaptığı çalışmada 17 β -estradiolün amigdala, hipokampus ve hipotalamus dahil olmak üzere beynin stres ile ilgili alanları üzerinde etkili olduğunu göstermişlerdir (10). Sağlıklı bireylerde menstrüel döngünün düşük östradiol fazı sırasında, yüksek östradiol fazına kıyasla bu beyin alanlarının daha fazla aktif olduğunu saptamışlardır (12). Aynı çalışmada, depresif hastalarda bu fark gözlenmemiştir, bu da depresif hastalarda stresle ilgili nöronal yanıtı sağlamak için östradiolün etkili olmadığını göstermiştir. Bu durumun stres bağlı olarak östrojen reseptörlerinde aşağı regülasyonuna bağlı östrojenin etkisinin azalmasından kaynaklanabileceğini bildirmişlerdir (12). Deney hayvanlarında ortaya çıkan depresyon ve anksiyete benzeri davranışlarının oluşumunda oksidatif stres artışı, nöroinflamasyon, serotonin ve BDNF düzeylerinde azalma ile ilişkili olduğu vurgulanmaktadır (13,14,15,16).

Glukagon benzeri peptid 1 (GLP-1), barsaklarda enteroendokrin olarak bilinen L hücrelerinden, daha az miktarda pankreas alfa hücrelerinden ve nöronlarda preglukagon olarak salgılanan inkretin peptid hormondur. Glukagon benzeri peptid 1 spesifik G protein bağımlı reseptöre sahip bir hormondur (17). Drucker ve ark. yaptıkları çalışma sonucunda 1988 yılında GLP-1 potansiyel bir inkretin hormon olarak tanımlanmıştır (18). GLP-1 reseptör agonisti ilaçlar tip 2 diyabet hastalarının tedavisinde ruhsatlandırılmış ilaçlardır. GLP-1 reseptör agonisteleri, pankreasta insülin salınımını tetikleyen GLP-

1 reseptörlerini uyararak etki eder (19). GLP-1 sinyal iletimine, G-proteinine bağı bir reseptör olan GLP-1 reseptörü (GLP-1R) aracılık eder, bu da protein kinaz A'nın (PKA) ve cAMP tarafından düzenlenen siklik adenosin monofosfata (cAMP) bağı aktivasyonuna yol açar. L-tipi voltaj kapılı kalsiyum kanallarının aktivasyonu yoluyla beta-pankreatik hücrelerden insülin salınımını sinerjik bir şekilde güçlendirir (20).

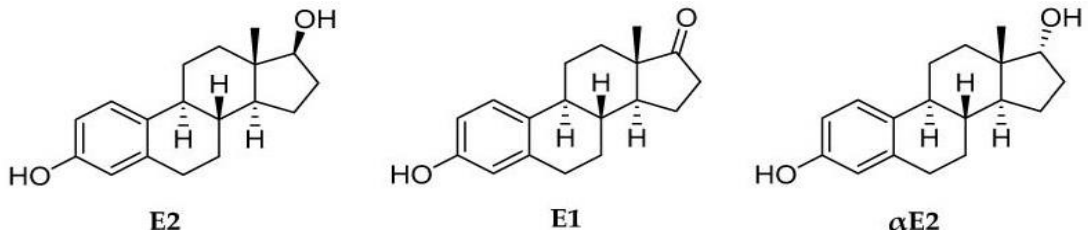
Son zamanlarda yapılan çalışmalarda GLP-1 reseptör agonistlerinin nöroprotektif etkili olduğı ve nöral plastisiteyi arttırdığı bildirilmiştir (17). GLP-1 ve analoglarının birçoğı kan-beyin bariyerini (KBB) geçebilir ve nöroprotektif etkiler gösterebilir (20). GLP-1R agonistleri ile tedavinin, öğrenme ve hafıza dahil olmak üzere davranışsal performansı iyileştirdiğı ve ayrıca depresif davranışı azalttığı gösterilmiştir (21). GLP-1, gıda alımı ve insülin ile ilişkili etkilerinin yanısıra sinaptik plastisitenin kontrolünde rol oynar ve bu nedenle öğrenme, hafıza, anksiyete ve depresyon gibi sinaptik işlevlerle ilişkili çeşitli sinyal yollarında düzenleyici bir etkiye sahiptir (22).

Bu tez çalışmasının amacı, cerrahi menopoz modeli uygulanmış genç dişi sıçanlarda GLP-1 reseptör agonisti uygulamasının depresif ve anksiyete benzeri davranışlar ile hipokampus oksidatif stres, lipokalin 2 ve BDNF/CREB sinyali üzerindeki etkisini değerlendirmektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. Depresyon ve Östrojen

Östrojen, beyinde çeşitli etkileri olan steroid bir hormondur. Kadınlarda östrojen sentezinin sonlanması ile meydana gelen menopoza döneminde oluşan duygusal ve strese bağlı hastalıkların insidansı ve prevalansı erkeklere göre 2-3 kat daha fazladır (23,24). Geçmişten günümüze kadar yapılan birçok bilimsel araştırmada östrojen eksikliğinin kadınlarda ruh hali ve duygu durum bozukluğu meydana getirmesi ile hayat standartlarını ciddi anlamda düşürdüğü ortaya konulmuştur. Bu durum beynin çeşitli bölgelerinde bulunan ve depresyon patofizyolojisinde önemli bir role sahip olan östrojen reseptörlerinin varlığı ve işlevselliği ile ilişkilidir. Östrojen hormonu; birçok nörolojik, psikiyatrik ve nörodejeneratif hastalıklarda santral sinir sisteminde nöroprotektif etkileri olan steroid hormondur. Dolaşımda bulunan en güçlü östrojen formu ise 17 β -östradioldür (25,26,27) (Şekil 1). Doğal menopoza veya cerrahi menopoza ile ilişkili ruhsal bozukluk ve depresyonun yanı sıra, klinik kullanım ile santral sinir sistemini etkileyen travma, felç, psikiyatrik bozukluklar, bilişsel gerileme ve çeşitli nörodejeneratif rahatsızlıklarda umut vaad edici etkileri birçok çalışma ile kanıtlanmıştır (25,28,29).

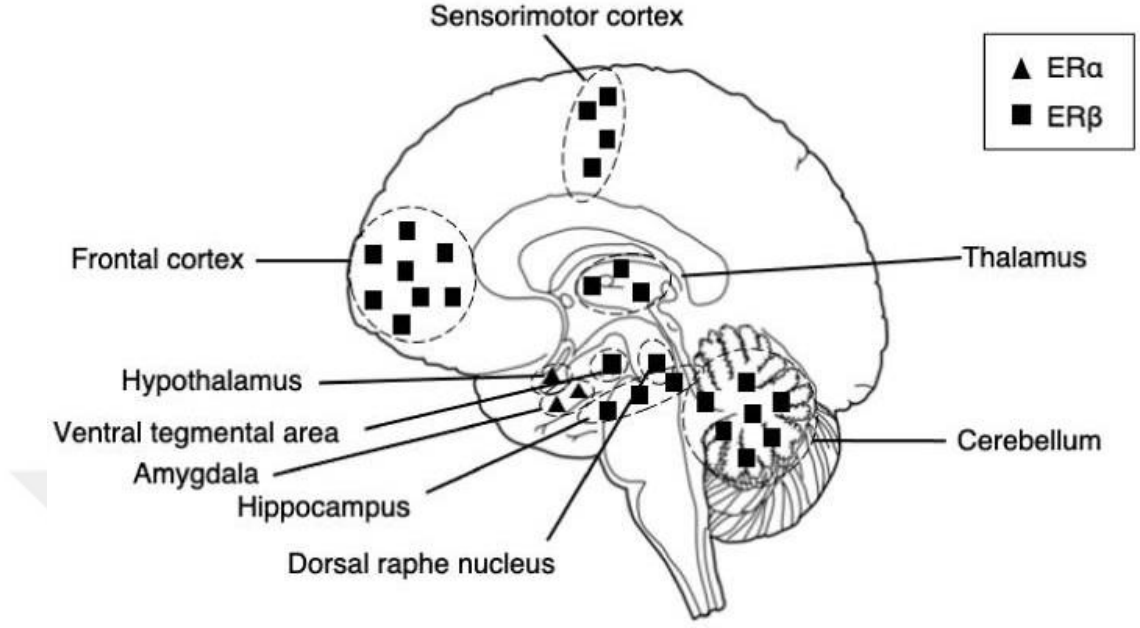


Şekil 1. Östrojenin Çeşitleri ve Kimyasal Yapıları. E2 17 β -östradiol, E1 Östron ve αE2 17 α -östradiol (30)

Kadınlarda menopoza öncesi normal üreme döneminde, yumurtalık hormonları ve peptidleri (İnhibin A-B) hipotalamusa ve hipofize etki ederek gonadotropin salgılanmasını engeller (31). Yumurtalıkların yaşlanması ile granüloza hücre sayısının belirteci olan inhibin B azalması sebebiyle folikül stimüle edici hormon (FSH) düzeyinde artış

oluşmaktadır. Östrojen seviyesinin daha da azalması ile GnRH salınımı daha fazla arttırır (32,33). Rance ve ark. yaptığı bir çalışmada, otopsi yapılan postmenopozal kadınların medial bazal hipotalamusunda GnRH gen ekspresyonlarının yüksek olduğunu göstermişlerdir (34). Azalan östrojen seviyeleri ile FSH ve LH yarı ömürleri uzar ve son menstüriyel periyottan itibaren menopozun ilk yıllarında östrojene oranla FSH seviyesi 15 kat, LH seviyesinde ise 10 kat artış görülür (35).

Östrojenler etkilerini östrojen reseptörleri ile gösterirler. Östrojen reseptörü alfa ($ER\alpha$), östrojen reseptörü beta ($ER\beta$) ve G protein-bağlı reseptör 30 (GPER) olmak üzere üç farklı reseptörü bulunmaktadır (36,37). Bu reseptörler yapısal bölgeye, aminoasit terminaline ve östrojen yanıt elemanına sahiptirler. $ER\alpha$ ve $ER\beta$ reseptörleri, hipokampüs, hipotalamus, amigdala, talamus, serebellum, bazal ganglion ve korteksin talamik bağlantılı bölgeleri dahil olmak üzere beyin bölgelerinde yaygın olarak dağılmıştır. Ayrıca GPER'ler hipokampüs, korteks ve hipotalamusta da eksprese edilmektedir (38,39). Deney hayvanlarında ve kemirgenler üzerinde yapılan araştırmalarda $ER\alpha$ ve $ER\beta$ reseptörlerinin hücre çekirdeklerinde daha az ancak hücre membranlarında yüksek bir oranda eksprese edildiği gösterilmiştir (40,41). İnsanlarda, $ER\beta$ talamusta ve paraventriküler çekirdeklerde düşük seviyede bulunurken, $ER\alpha$ hipotalamik posterior çekirdekte daha fazla bulunmaktadır (Şekil 2).

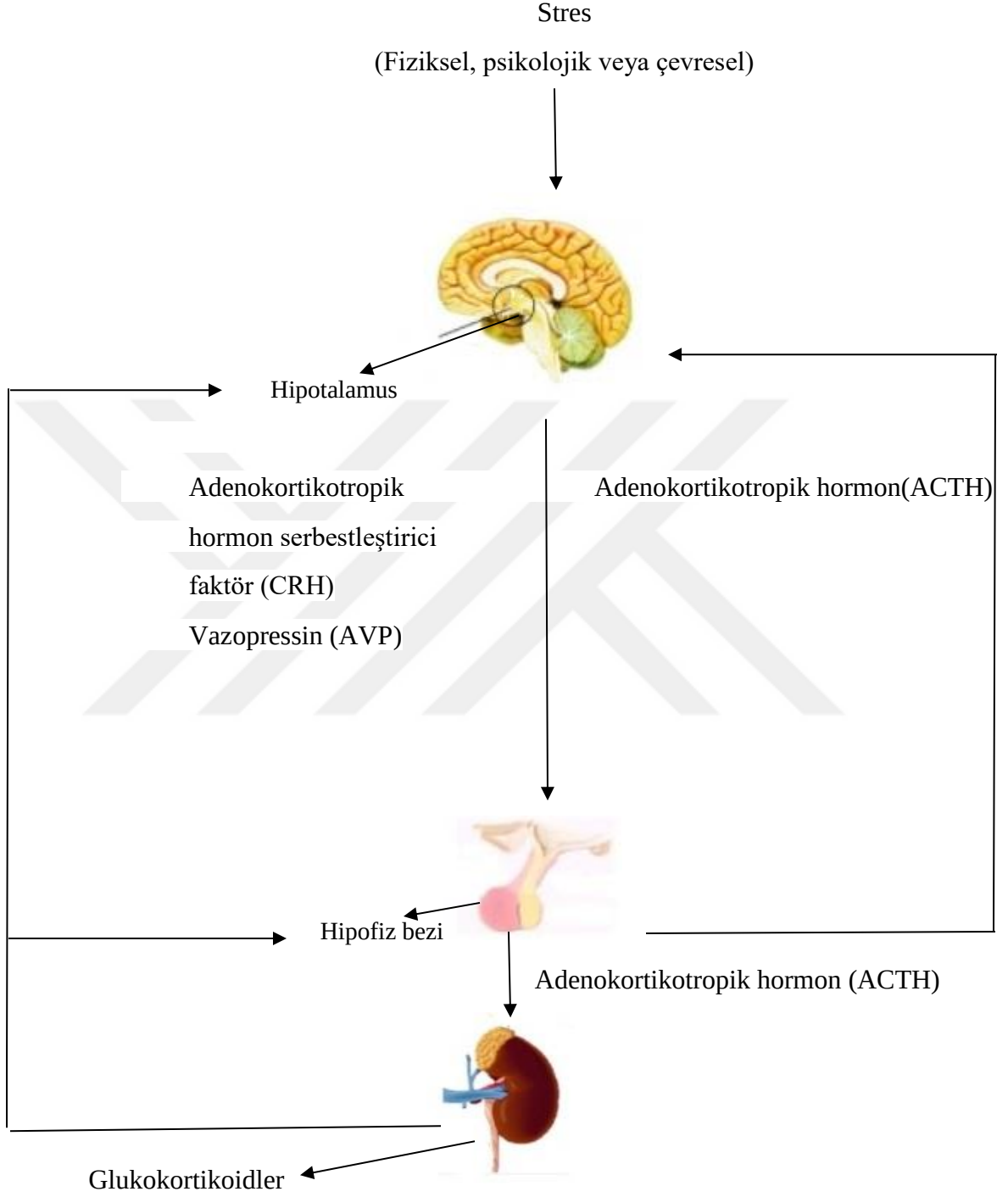


Şekil 2. ERα ve ERβ'nın Beyin Bölümlerindeki Şematik Dağılımı (42)

Birçok araştırmacının yaptığı çalışmalar doğrultusunda elde edilen kanıtlar, östrojen reseptörlerinin sinyallerinin majör psikiyatrik bozukluklarda dopaminerjik, serotonerjik ve glutamaterjik nörotransmitter sistemlerinde modülatör etkiler sağladığını göstermektedir (43). Özellikle serotonin düzeylerindeki değişiklikler depresyon ve anksiyete gibi duygu durum bozuklukları meydana getirmektedir (44). Santral sinir sisteminde 5HT seviyelerinin östrojen ile arttığı daha önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Östrojenin ERα ve ERβ reseptörleri serotonerjik nöronlarda yüksek oranda eksprese edilirken, serotonerjik nörotransmisyonuna östrojenin etkisinin ERβ ile meydana geldiği düşünülmektedir (45,46,47). Östrojenler, 5HT sentezini yükseltmek için triptofan hidroksilaz ekspresyonunu artırır (48,49). Yapılan çalışmalarda overektomize kobaylarda ve insan olmayan primatlarda östrojen tedavisi ile triptofan hidroksilazın ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (50,51). Overektomize deney hayvanlarında östrojen tedavisinin dorsal ve posterior hipotalamusta 5HT_{2C} reseptör ekspresyonunu azalttığı, diğer hipotalamik alanlarda ise azalma görülmemiştir (52,53). Bunun sebebi olarak 5HT_{2C} reseptör geninin aşağı regülasyonu östrojenin 5HT nörotransmisyonunda değişiklik oluşturmaya bağlı olduğu düşünülmüştür.

Östrojenler, 5HT1A reseptör aracılığı ile 5HT'nin inhibitör etkilerinden sorumludur. 5HT1A reseptörünün artışı ile dorsal ve medial raphede serotonerjik nöronları inhibe ederken, hipokampüste 5HT salınımını azaltır (54). Bu bilgiye dayanarak 5HT1A reseptör inhibisyonunun antidepresant bir etki yaratacağı düşünülmektedir. Östrojen ile tedavi edilen overektomize sıçanlarda yapılan deneyde, OVX sıçanların dentat girus ve hipokampus CA2 bölgesinde 5HT1A seviyesinin azalmış olduğu görülmüştür (55). Yapılan araştırmaların sonucunda ortaya çıkan kanıtların çoğu östrojenin 5HT1A reseptörü aktivasyonu veya reseptörünün aşağı regüle edilmesini ve G proteini ile ilişkili etkilerini azalttığını göstermiştir (56).

Östrojen eksikliği sonucunda oluşan depresyon ve diğer depresif bozukluklarda hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) ekseninde düzensizlikler meydana gelmektedir. Kortizol HPA ekseninde en belirgin hormon olarak merkezi sinir sistemine glukokortikoid ve mineralokortikoid reseptörleri üzerine etki ederek negatif geri bildirim ile düzenleme sağlar (57,58). Strese olan yanıt, hipotalamusun özellikle paraventriküler nükleuslarından kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) nöronlarının aktivasyonu ile başlar ve CRH hipofiz portal sistemine kan dolaşıma aktarılır (59,60). Hipofiz bezinden adenokortikotropik hormon (ACTH) salgısı tetiklenir ve adrenal bezden kortikosteron salınımı meydana gelir (59,60). Bu esnada CRH nöronları enkefalin, dinorfin, arginin-vasopressin, anjiyotensin ve oksitosin gibi nöropeptid içeren nöronlara projekte olup, oluşan strese karşı ve buna bağlı gelişen depresyon üzerine otonomik bir tepki başlatır (59,60). Bu fizyolojik olaylar dizisi savaş ya da kaç tepkisini başlatır (59,60) (Şekil 3).



Şekil 3. HPA Aksı ve Negatif Geri Bildirimi (61)

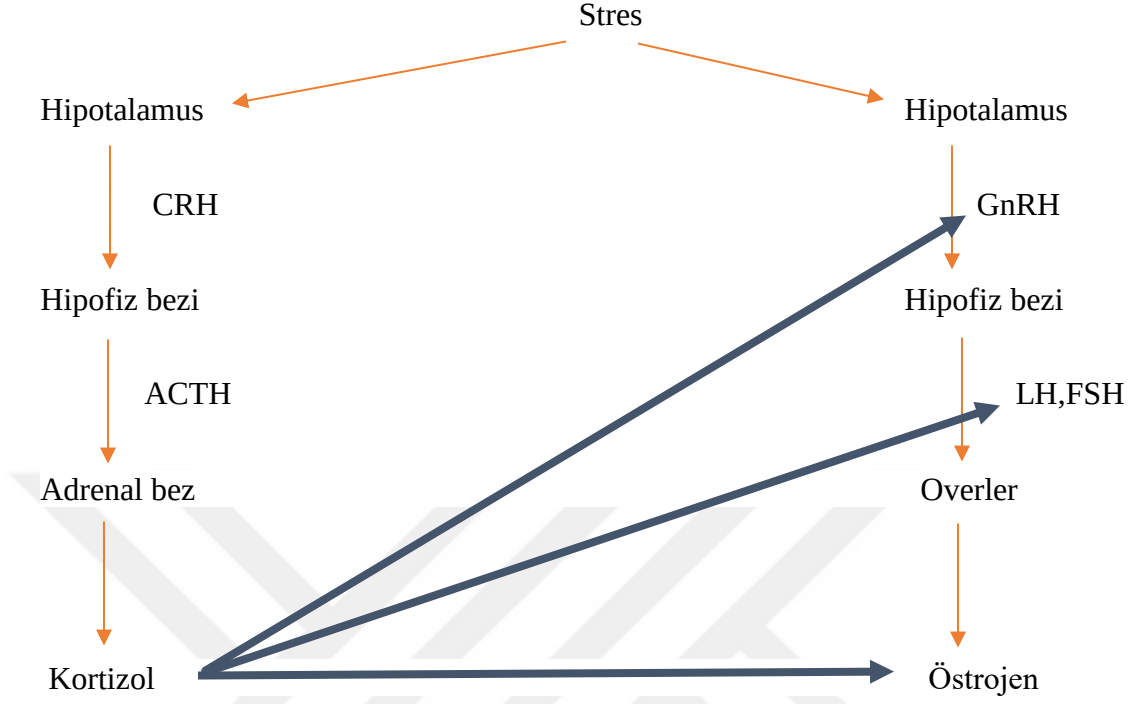
Östrojenin tükenmesi sonucunda meydana gelen depresyondaki östrojenin rolünün yanı sıra progesteron türevli nörosteroidlerin değişikliği de depresyon şiddetini etkilemektedir. Progesteronun A halkasındaki strese duyarlı bir metabolit olan

allopregnanolone (ALLO), GABA ile indüklenir ve klor (Cl⁻) iyon değişikliğine göre pozitif allosterik bir modülasyon sağlar (62,63).

GABA, memeli hayvanlarda merkezi sinir sisteminde bulunan inhibitör bir nörotransmitterdir. Stres kaynaklı HPA eksenini negatif geri bildirim ile etkilemek dışında anksiyolitik ve antidepresan bir etki ortaya koyar (64,65). Premenopozal kadınlarda ALLO konsantrasyonları luteal fazda en yüksek seviyelerde seyrederken foliküler fazda en düşük seviyelerdedir (66). Buna rağmen postmenopozal kadınlarda adrenal bezler periferik ALLO'nun tek kaynağıdır ve bu periferik ALLO kan beyin bariyerini (KBB) rahatça geçebilir (67). Bu nedenle santral sinir sistemindeki konsantrasyonları depresyon patofizyolojisinde önemlidir.

Menopoz geçişinde oluşan depresyon şiddeti hakkında HPA eksen aktivitesi ve östrojen-kortizol reaktivitesi üzerine yapılan çalışmalar günümüzde yapılan çalışmalara ışık tutmaktadır. Komesaroff ve ark. 1999 yılında menopoz geçişi sırasında kadınlarda sekiz haftalık oral östradiol ve plasebo tedavisini uygulamışlardır (68). Yapılan bu çalışma sonucunda östradiol tedavisinin menopoz sonucu oluşan depresyon ve strese karşı azalmış bir kortizol yanıtı oluşturduğunu görmüşlerdir (68). Yine yapılan bir başka çalışmada 91 kadının sabah alınan idrar örnekleri ile kortizol ölçümü yapılmıştır (69). Geç menopoza giren 22 kadının %68'inde kortizolde bir artış meydana geldiğini ve bu durumun oluşan depresyonun yanı sıra hafızayı da etkilediği görülmüştür (69). Bu çalışmalar ile depresyonun HPA eksenini hormon konsantrasyonundaki değişikliklerle beraber yumurtalık hormonlarının menopoz geçiş sırasında HPA tepkilerini düzenlediğini göstermektedir (70).

Menopoz sonucu kadınlarda meydana gelen depresyondan etkilenen HPA aksı ve nihayetinde artan kortizol seviyesi hipotalamik-hipofiz-gonadal (HPG) aksın inhibe olmasına neden olur (71,72) (Şekil 4).



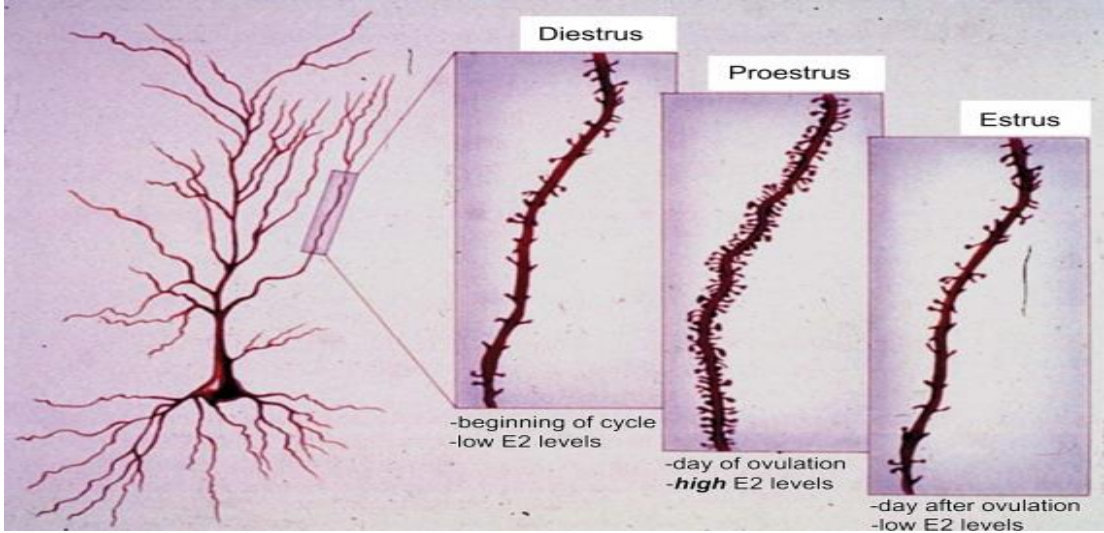
Şekil 4. Stresin Reprodüktif Hormonlara Etkisi (73)

Majör depresyon gibi stres ile seyreden rahatsızlıklarda artan CRH üreme fonksiyonlarını hormonal yollarla azalttığı yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (74,75). CRH'nin LH ve GnRH üzerinde inhibitör etkisi bilinen bir bilgidir (76). Bu bilgi Maeda ve ark. 1994 yılında kemirgenler üzerinde yaptıkları çalışmada bir kez daha doğrulanmıştır (77). Sıçanların CRH nöronları ve GnRH nöronları arasında doğrudan bir sinaptik bağlantı olduğunu gösteren raporlar da mevcuttur (78).

Östrojen türlerinden özellikle 17β -östradiolün birçok araştırmacı tarafından nöroprotektif olduğu rapor edilmiştir. Östrojenin nöral yapı ve fonksiyonları koruması, sinaptik plastisite ve bilişsel işlev üzerindeki etkisi ile ilişkilendirilmiştir (79). Östrojenin eksikliğinde inme, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı gibi nörolojik bozukluk risklerinin arttığı da gösterilmiştir (80). Östrojenin hipokampal, kortikal ve birçok beyin alanında nöroprotektif etkisi vardır. Bu nöroproteksiyon nöral ATP'nin korunması, antioksidan fonksiyonlar ve genomik-nongenomik östrojen reseptör aktivasyonu ile gerçekleşir (81). Östrojen ayrıca hücre içine girip çekirdekteki genlere bağlanarak, antiapoptik genleri yukarı regülasyonu, gen transkripsiyonun artışı ve proapoptik genleri

aşağı regüle edebilme yeteneğine sahiptir (82,83,84). Uzun süreli östrojen azalması sonucunda hipokampüste ve ER α başta olmak üzere östrojen reseptörlerinde anlamlı bir azalma söz konusudur (85). ER α da azalma sonucunda hipokampus duyarlılığı değişir ve duygu durum bozukluğu, biliş ve ruh halinde değişimlerle klinik olarak belirgin bir hal alır (84).

Hipokampus, östrojenin etkisi için ideal bir hedeftir. Östrojen varlığı veya yokluğunda hipokampal nöronlarda nöroplastisite farklılıkları klinik düzeyde gözlemlenebilir. Hipokampüste nörotrofik faktör seviyeleri östrus döngüsü süresince farklılıklar gösterir ancak overektomi olan deneklere östrojen verilmesiyle nörotrofik faktörlerin arttığı yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir (85). Overektomize dişi sıçanlarda yapılan çalışmada östrojen tedavisi ile hipokampus nöronlarının dendritik dikenlerinin (spine) belirgin bir şekilde arttığı saptanmıştır (86,87,88) (Şekil 5). Bu etkiler klinikte kullanılan tipik antidepresant tedavilerinde de görülmektedir. Antidepresantlar ve östrojenin varlığı nörojenezi artırır (89).



Şekil 5. Östrus Dönemlerinde Östrojenin Dendritik Dikenler (Spine) Üzerine Etkileri (90)

2.2. Depresyon ve Oksidatif Stres

Hücreler normal şartlar altında reaktif oksijen türevlerini denge içinde tutar. Ancak dış ortamdan gelen zararlı durumlara karşı reaktif oksijen türlerinin üretiminin artması ile oksidatif stres meydana gelir. Her ne kadar normal koşullarda solunum, dolaşım, sindirim ve üreme sistemleri gibi vücutta birçok sistem için oksidatif stres ve antioksidan stres mekanizmaları denge içinde olsa da fazla miktarda artan oksidatif stres mitokondriyal disfonksiyon meydana getirmesiyle olağan fizyolojik durumu ve nihayetinde yaşamsal kaliteyi bozmaktadır. Aşırı reaktif oksijen türleri (ROS) birikmesi metabolik yolları etkileyerek organellerin fonksiyonlarını bozabilir. En önemli ROS kaynaklarından biri NADPH oksidazdır. Bu kompleks sitozolik NADPH'den elektron taşır ve hücre dışında süperoksit oluşturur (91). NADPH oksidaz, hem oksijenaz 1 (HO-1) gibi genleri düzenlemek için antioksidan yanıt elementini (ARE) aktive edebilir, hem de nrf2-ARE yoluyla aktivasyonu ile antioksidan seviyesini arttırarak hücreleri serbest radikallerin zararlı etkilerinden korur (92).

Direkt veya dolaylı olarak kronik stres, prefrontal kortekste (PFC) hacim azalması ve hipokampüste sinaptik protein ekspresyonunun azalmasına yol açar (93,94). Ayrıca hipokampusta ve PFC'de dendritik dallanmayı azaltır ve sonuçta depresyon benzeri davranışlar gözlemlenir (95,96,97). Beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF) stres ve depresyon patofizyolojisinde önemli bir rol oynar. Majör depresif hastalık ve kronik stres modelleri oluşturulan deney hayvanlarının PFC ve hipokampuslerinde BDNF'nin ilgili promotörlerinin epigenetik modifikasyonları yoluyla eksonlarının aşağı regüle olduğu gözlemlenmiştir (98,99). Birçok insan ve deneysel çalışmada oksidatif stresin depresyon patolojisi ile ilişkisi gösterilmiştir. Öyle ki kronik stres ile artan oksidatif stresin, artmış ROS ve antioksidan dengesizlikleri ile seyrettiği ortaya konulmuştur (100). Seo ve ark. yaptığı çalışmada kısıtlama stresine maruz kalan farelerde NADPH oksidazın depresyona katkıda bulunduğu ve hipokampüste NADPH oksidaz alt birimlerinin inhibisyonunun depresif benzeri davranışları iyileştirdiği görülmüştür (101).

Oksidatif stres sonucunda, ATP seviyesinde azalma, glikoliz inhibisyonu ve güçlü bir antioksidan olan glutatyonda azalma meydana gelir (102). Kalsiyum pompasındaki

inaktivasyon sonucunda hücre içi kalsiyum artışı, membran depolarizasyonu sonucunda membran geçirgenliği artar. Bu nedenle DNA oksidatif hasarı meydana gelir. Artan ROS, başta prostaglandin salınımını takiben inflamatuvar sitokin salgılanmasına yol açar ve bu durum beyin bölgelerinde nörodejeneratif değişikliklerle sonuçlanabilir ki oluşan oksidatif hasarın şiddetine göre apoptoz veya nekroz şekillenebilir (102,103,104). HPA eksenin disfonksiyonu sonucunda kanda artan kortizol seviyesi, glikoz metabolizmasını, nitrojen serbest radikalleri ve ROS üretiminin hızlanmasına neden olmaktadır (105,106,107). ROS aktivitesi sonucunda ksantin oksidaz ve serotonin metabolizmasında yer alan monoamin oksidaz artışı söz konusu olur.

ROS'un ayrıca hücrede DNA'nın yanı sıra hücre zarı dahil protein ve yağ asitlerine de zararlı etkileri olur (108,109). Çoklu doymamış yağ asitleri ve lipid peroksidasyonu son ürünü olan malondialdehit (MDA) vücudun antioksidan savunma sisteminin zayıflamasına sebebiyet verir. Bu bilgi adına depresyon teşhisi konan hastaların MDA serum konsantrasyonlarında önemli derecede bir artış mevcuttur (110,111). Birçok çalışmada, depresyon hastalarının SSS'deki sinir hücrelerinin sayısında bir azalma olabileceği gösterilmiştir. MDA, TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin artışı klinik öncesi depresyon gelişimi ile ilişkilidir (112). BDNF kan-beyin bariyerini geçebilir ve ayrıca dopaminerjik, serotonerjik, noradrenerjik ve kolinerjik bağlantı oluşumunda etkilidir ki sıçanlarda yapılan çalışmalarda depresyon modellerinde önemli ölçüde azalmış BDNF konsantrasyonları gösterilmiştir (112,113). Depresyona maruz kalmış hastaların hipokampal hacimlerinde azalma gözlemlenmesine rağmen antidepresant kullanan hastaların serumlarında yüksek BDNF seviyeleri görülmüştür ki depresyonun özellikle hipokampusu etkilediği düşünülmektedir (114,115).

2.3. Depresyon ve BDNF/CREB

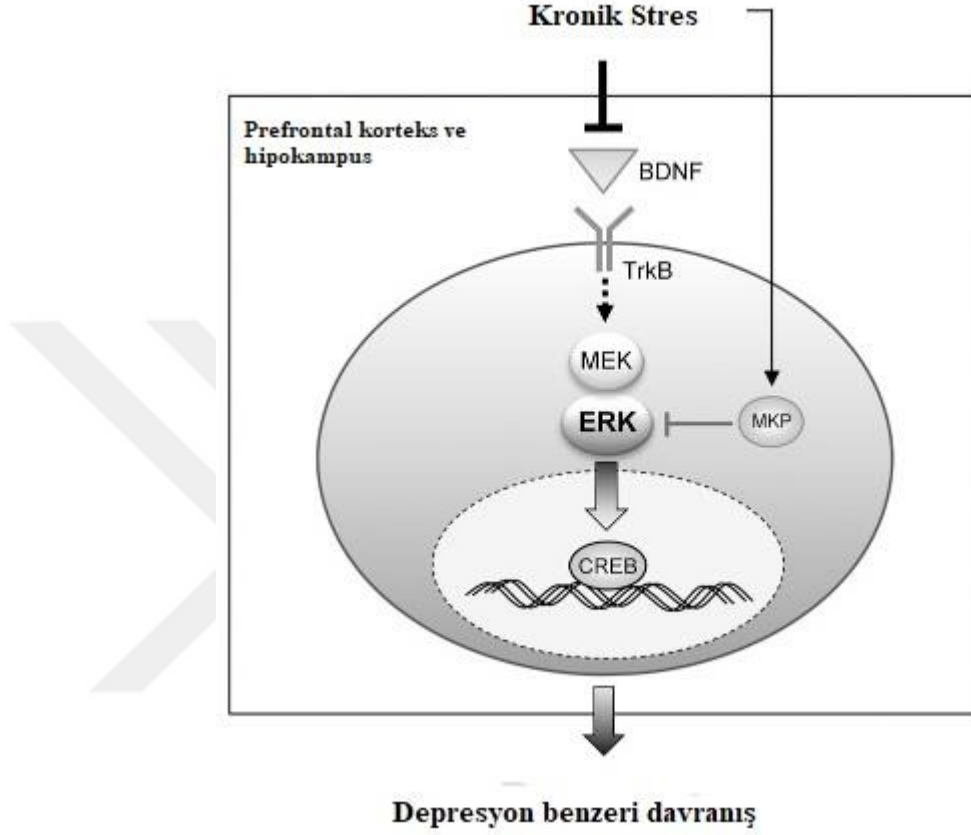
Beyin türevli nörotrofik faktör (BDNF), merkezi sinir sisteminde nöron canlılığını korumak, sürdürmek ve gelişimini sağlamak açısından en önemli nötrofinlerden biridir. Beyin fonksiyonlarının gelişimini ve korunmasını sağlamak amacıyla, tropomiyozin reseptör kinaz B (TrkB) 'yi aktive ederek birçok hücrel süreci düzenlemektedir. BDNF,

korteks ve hipokampüste bulunan astrositlerden ve glutamaterjik nöronlar tarafından eksprese edilir (116,117,118). BDNF ve TrkB reseptörü, endotel hücreler, kardiyomiyositler, vasküler düz kas hücreleri, lökositler, megakaryositler ve trombositler gibi nöronal olmayan doku hücrelerinde de bulunurlar (119,120,121) (Şekil 6).

Son yıllarda yapılan birçok araştırmada psikiyatrik hastalıklarla ilgili olarak periferik BDNF seviyesinin bir biyobelirteç olarak kullanılabileceği önerilmektedir (122,123). Öyle ki majör depresyon hastalığında intihar eden kurbanların postmortem beyin dokularının hipokampüsünde ve prefrontal korteksinde BDNF ve TrkB ekspresyonunda azalma görülmüştür (124). Sinaptik serotonin ve reseptörlerindeki değişiklikler, sinaptik plastisite ve nöroenez ile ilişkilidir ki bu sinyalleşmede oluşan dengesizliklerin depresyonun patofizyolojisinde rol aldığı düşünülmektedir (125,126). BDNF, 5-HT sisteminin bir modülatörü olarak görev yapar ve olası değişikliklerde antidepresan ilaçlarla nöroplastik değişiklikler arasında bağlantı görevi görür. BDNF gibi nörotrofik proteinler, serotonin reseptörleri ve hücre içi sinyal kaskadları ile hücre iskeletinin düzenlenmesinden sorumludur (127,128,129). Bu nedenle, 5-HT-BDNF etkileşimindeki düzensizlik, nöropsikiyatrik ve davranışsal anormalliklerin gelişiminden sorumlu olabilir (129).

Serin treonin kinaz Akt ve CREB gibi transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu hücrel streslere, yaralanmalara karşı nöral yaşamı sürdürme ve koruma sağlar (130). CREB öğrenme, hafıza ve bilişi artırır, Akt aktivasyonu ile hücrel sağkalım yükselirken bu iki durumun gerçekleşmesi de CREB genlerinin ekspresyonu yükseltir (131). CREB, öğrenme ve hafıza düzenlemesinde oynadığı role ek olarak nöronal tepkilerde de kritik bir rol oynar. BDNF, hücre iskeletinde bulunan aktinin yeniden birleştirilmesinde, dendritik diken ve dendritik omurga oluşumunda da önemli bir rol oynar (132). Dendritik omurga yapısında bulunana aktin filamentleri, sinaptik bağlantı oluşumunda etkilidir. Östrojen bu aktin filamentleri ağını düzenleyerek sinaps oluşumunun sağlıklı bir şekilde olmasına aracılık eder (133,134). LIM kinaz tarafından kofilinin fosforilasyonu, aktin filamenti uzamasını ve dendritik omurga desteği açısından önemlidir ki kofilin aktin filamentlerinin zarar görmesini destekleyen bir aktin bağlayıcı proteindir (135). Bu durumda LIM kinaz

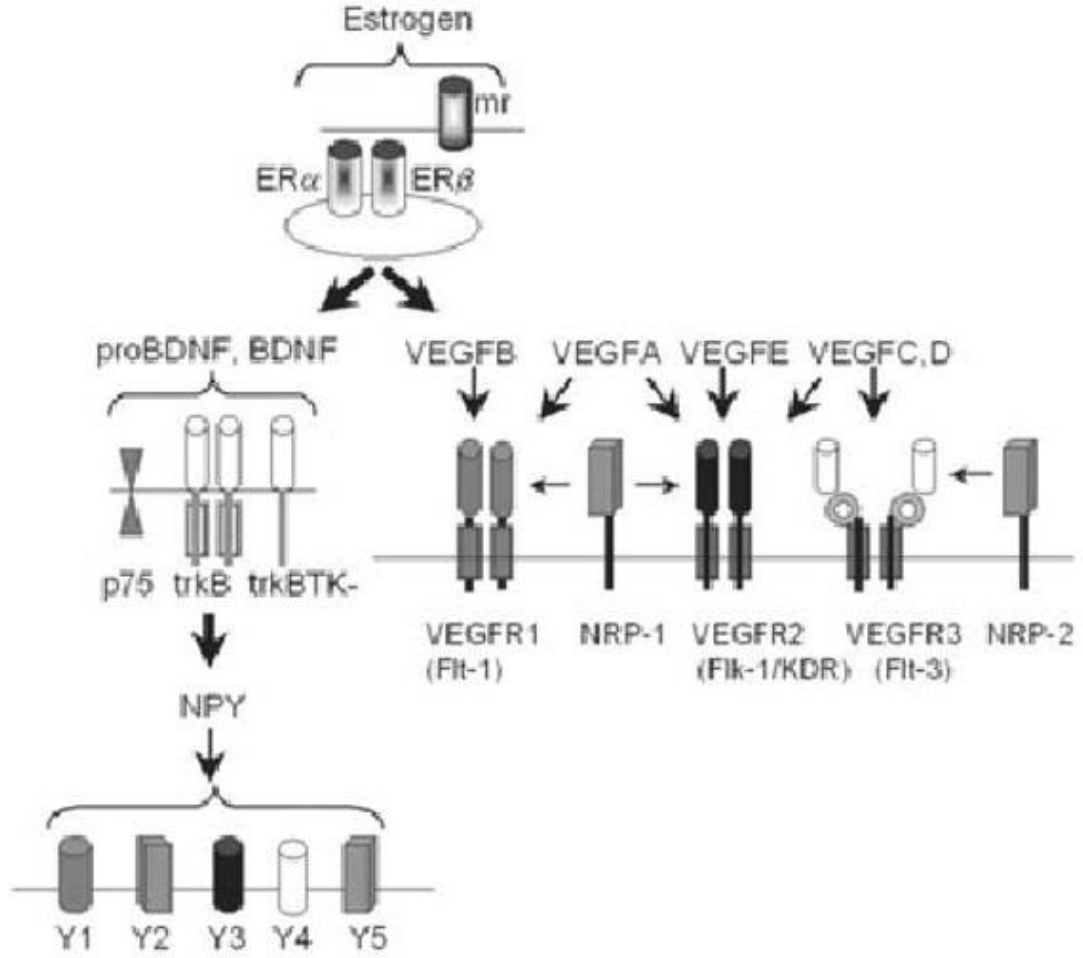
tarafından kofilinin fosforilasyonu ve aktin desteklenmesi depresif benzeri davranışların iyileştirilmesi açısından önemlidir.



Şekil 6. Depresif Benzeri Davranışta BDNF-ERK-CREB Yolunun Şematik Görünümü (135)

Menopoz ile oluşan östrojen kaybı sonucunda hipokampal CA3 piramidal nöronların ve PFC piramidal nöronlarının atrofi meydana gelmektedir (137,138,139). BDNF ekspresyonu ayrıca progesteron ve östrojen tarafından da düzenlenmektedir (140).

1995 yılında yapılan çalışmada, östrojenin BDNF geni üzerindeki östrojene duyarlı bir yanıt elemanı ile BDNF ekspresyonunu arttırabileceği gösterilmiştir (141). Yumurtalıkları alınmış dişi sıçanlarda yapılan östrojen tedavisi ile birçok beyin bölgesinde BDNF mRNA seviyelerinin yükseldiği gözlemlenmiştir (141,142). BDNF, TrkB'ye yüksek affinite ile bağlanırken ayrıca reseptör p75'e de bağlanır (143,144) (Şekil 7).



Şekil 7. Östrogen, BDNF Reseptör Etkileşimi (145)

Santral sinir sistemi üzerinde meydana gelen rahatsızlıklarda, birçok nörolojik bozukluklarda ve psikiyatrik hastalıklarda meydana gelen patolojide BDNF'nin rolü tarih boyunca yapılan çalışmalarda önem arz etmiştir.

2.4. Depresyon ve nrf2

NFE2L2 olarak da adlandırılan nrf2, temel bir lösin fermuar proteinidir ve redoks duyarlı bir transkripsiyon faktörüdür. Nrf2, oksidatif stresi tetikleyen hücre içi redoks homeostazını koruyarak vücudun endojen antioksidan savunma sisteminde önemli bir rol oynar (146). nrf2, fizyolojik koşullar altında sitozolde cullin-3/Rbx kompleksi içinde bir adaptör olan Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein-1 (Keap-1) ile bağlantılı olarak inaktif

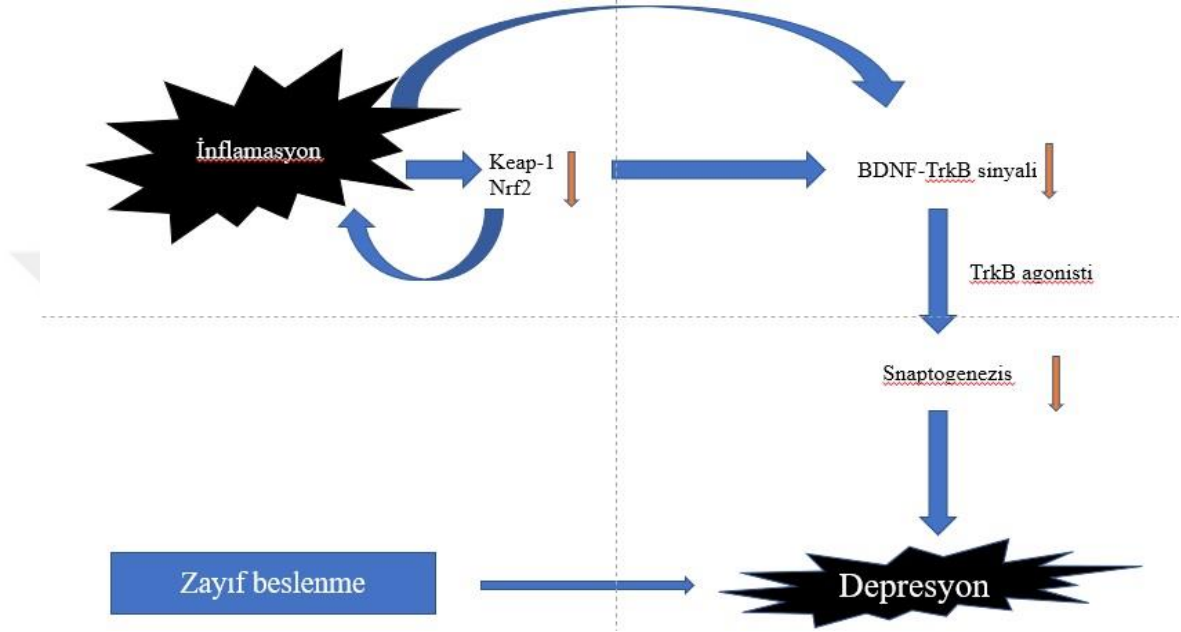
bir şekilde bulunur. İnflamasyon ve oksidatif stres koşullarında nrf2, Keap-1'den ayrılır ve elektrofil duyarlı bir antioksidan yanıt elemanına bağlanır (147).

Depresyonda nrf2 ekspresyonunda azalma daha önce yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (148). Strese maruz bırakılan sıçanlarda depresyona karşı daha savunmasız oldukları ve meydana gelen oksidatif stres sonucunda azalan antioksidan ve detoksifiye edici enzimlerin azalmasında nrf2'nin azalmış nükleer translokasyonuna bağlı olduğu bildirilmektedir (149). Yapılan çalışmalarda BDNF eksikliği kaynaklı oluşan oksidatif strese daha duyarlı olan kemirgenlerde BDNF ve nrf2 seviyeleri arasında pozitif bir ilişki olduğu ortaya konulmuştur (148,149). Aynı şekilde Mendez ve ark. 2015 yılında yaptıkları çalışmada, kortikosteron ile tedavi edilen depresif sıçanların hipokampusünde BDNF ve nrf2 arasında pozitif bir korelasyon kurmuşlardır (150). Aynı çalışmada nrf2 nakavt kemirgenlerin prefrontal korteksinde serotonin, glutamat ve dopamin gibi nörotransmitterlerinde değişiklik gözlemlenmiştir (151).

Depresyonun yanısıra çeşitli nörolojik hastalıklar da düşük nrf2 seviyeleri ile ilişkilidir. Alzheimer hastalığı olan hastaların hipokampal astrositlerinde düşük nrf2 seviyeleri görülmüştür (152). Nrf2, astrositlerde glutatyon redoks sinyallemede rol alan enzimleri düzenleyerek nöronları oksidatif ve inflamatuvar sitokinlerin zararlı etkilerinden korur (153,154). Depresyon benzeri davranış gösteren fareler üzerinde yapılan çalışmada hipokampus CA3, PFC ve dentat girusta Keap-1 ve nrf2 protein düzeylerinde azalma olduğu gözlemlenmiştir (155). Freitas ve ark. yaptığı çalışmada nrf2 ve BDNF yapımının uyarılması sonucunda antidepresan benzeri bir etki tespit edilmiştir. nrf2 nakavt fareler depresyon benzeri davranışları göstermeye devam etmişlerdir (156). Nrf2 ve BDNF yapımı uyarılmış farelerin hipokampus CA1 bölgesindeki astrositler ve mikroglialarında morfolojik değişiklikler de önlenmiştir (156).

Nrf2 nakavt farelerde serum TNF- α , IL-6, IL-10 ve IL-1 β seviyelerinin önemli ölçüde yüksek olduğu gösterilmiştir (155). Yapılan çalışmadaki nrf2 nakavt kemirgenlerin inflamasyona sahip olduğu düşünülmüş olup, depresyon ve anksiyete için yapılan testlerde ahedoniaya sahip oldukları gözlemlenmiştir (155). Ek olarak serotonin geri alım inhibitörü olan fluoksetin ile yapılan kronik tedavi sonucunda nrf2 nakavt farelerin

hipokampus ve PFC'lerinde BDNF seviyesi artmış olup, nrf2 sinyalinin güçlenip nöroproteksiyona destek sağladığı düşünülmüştür (151) (Şekil 8).



Şekil 8. Nrf2 Depresyon İlişki Şeması (157)

2.5. Depresyon ve Lipokalin-2

Nötrofil jelatinazla ilişkili lipokalin (NGAL)olarak bilinen Lipokalin-2 (LCN2), küçük hidrofobik yapıların taşınmasına katkıda bulunan 25 kDa ağırlığında bir glikoproteindir (158,159,160). Hücre göçü, hücre farklılaşması ve doğuştan gelen bağışıklık gibi çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynar (161,162). LCN2, böbrek, karaciğer, yağ hücreleri, kemik iliği ve uterusu ifade eder (163). LCN2 reseptörlerinin mikrogliya, astrosit ve nöronlarda varlığı tespit edilmiştir (164,165,166). LCN2 gliyal hücrelerden salgılanması ile nöronal morfolojik değişiklikleri düzenler (164). LCN2 nöronal hücre ölümüne katkıda bulunarak santral sinir sisteminde bir kemokin indükleyicisi olarak görev yapar (167).

Lipokalin-2, bir sitokin görevi görmekle beraber inflamasyon, enfeksiyon, yaralanma ve otoimmün bozukluklarda yukarı regüle olan bir glikoproteindir (168). LCN2 inflamasyon bölgelerinde granülositlerin hücre içine girmesine neden olur ve bu granülositler LCN2 sentezini hızlandırır. Bu durum lokal doku hasarında ve inflamasyonunda oluşan olumsuz durumu hızlandırır (168). Bazı bulaşıcı hastalıklarda LCN2 dolaşıma salınır ve genel bir inflamatuvar belirteç olarak gözlemlenir (168). Multiple skleroz gibi hastalıklarda LCN2 aktif fazda yüksek oranlarda bulunurken, hafif bilişsel bozukluklarda beyin omurilik sıvında azalmıştır (169,170). Ayrıca, in vitro veriler, LCN2'nin astrositler ve mikroglialar tarafından reaktif astrositozun bir otokrin aracısı olarak salgılandığını, mikrogliaların deramifikasyonunda ve nöronal hücre ölümünde rol oynadıklarını göstermektedir (171,172,173). LCN2 kemirgenlerde stres üzerine hipokampus ve amigdalada nöronal morfolojiyi ve uyarılabilirliği düzenlemektedir (174). Nöroinflamasyon ile seyreden Alzheimer hastalığı, Parkinson, multiple skleroz ve frontotemporal lobe dejenerasyon ve sepsis gibi hastalıklarda LCN2 gliyaların proinflamatuvar aktivasyonunu destekler ve nötrofil, makrofaj gibi hücrelerin beyne geçmesini arttırabilir (175,176). Ayrıca, sistemik lupusda LCN2 mikroglial aktivasyona neden olurken, astrositlerde bir etkiye neden olmamıştır (177). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise LCN2'nin kardiyak fibroblastlarda NLRP3 aktivasyonunu indüklediği, IL-1 β ve kaspaz-1 üretimini arttırdığı görülmüştür (178).

Son zamanlarda LCN2'nin, endişeli davranış, yaşlılığa bağlı bilişsel gerileme, psikolojik stresi takiben hipokampüste arttığı gösterilmiştir ve bu veriler ışığında bir biyobelirteç olarak görülmeye başlanmıştır (179,180). Dorsal hipokampus CA1 nöronlarında LCN2 artışı anksiyete davranışlarını modüle edebilmektedir (181). Hipokampal CA3 bölgesi, HPA ekseninin düzenlenmesinde negatif geri beslemeyi uyarak stres yanıtlamasında çok önemli bir rol oynar ve aynı zamanda dinamik stres kaynaklı yapısal plastisite gösterir (182,183). Stresin hipokampal CA3 nöronlarının retraksiyon indüklediği ve böylece HPA ekseninin aktivitesinin bozularak glukokortikoid salınımının düzensizliğine neden olduğu düşünülmektedir (184). LCN2'nin, hipokampusun CA3 bölgesindeki piramidal nöronlarında strese bağlı dendritik retraksiyon ve hipokampal atrofiye katkıda bulunan mekanizmalar içinde bulunduğu belirtilmiştir (185).

2.6. GLP-1 ve Etkileri

GLP-1, enteroendokrin hücrelerde, pankreas α hücrelerinde ve nükleus traktus solitariusda eksprese edilen 18 kDa ağırlığında bir protein olarak proglukagonun proteolitik bölünmesiyle üretilen inkretin bir hormondur (186,187). Proglukagon, glukagon ve ana proglukagon fragmanını üretmek için prohormon dönüştürücü 2 ile etkileşir ve az bir miktar (%10-20) GLP-1 üretmek için parçalanır (188). Ana GLP-1 kaynakları; az miktarda duodenumda, jejunumda ve en çok ileumda bulunan enteroendokrin hücrelerdir (189). GLP-1 etkilerini reseptörü olan GLP-1R ile gösterir (190). GLP-1, uzun zamandır araştırmacılar tarafından insülin salgılanması için güçlü bir uyarıcı ve enerji homeostazının ana düzenleyicisi olarak kabul görmüştür (191). GLP-1, inkretin olarak insülin salgısını artırır ve glukagon sekresyonunu inhibe ederek hiperglisemiye karşı koruyucu bir etki ortaya koyar (192). Bunun yanı sıra mide motlitesi ve salgıları üzerinde inhibe edici bir etkisi vardır (192). Yakın zaman içindeki araştırmalar ise beyin üzerinde gerek iştah gerekse ödül ile ilgili davranışsal düzenlemeler ile ilişkili nöral etkilerinin olduğunu göstermiştir (193,194).

GLP-1 salgılanması, gıda alımı, yağ, karbonhidrat ve proteinler tarafından tetiklenir (195,196). GLP-1, protein kinaz A ve cAMP'ye bağlı mekanizmalar ile ATP tarafından düzenlenen potasyum kanallarını inhibe ederek etki eder (197,198,199). Bu durum L tipi voltaj kapılı kalsiyum kanallarının aktivasyonunu artırır ve böylece insülin sekresyonu artar (200).

GLP-1, çok fazla reseptör dağılımı bulunduğu için çeşitli bölgelerde etki gösterir ve homeostazı etkileyebilir. GLP-1 beslenme üzerine etkileri parabrakial çekirdekte incelenmiştir ve bu bölgeye GLP-1 reseptör agonisti exendin-4 uygulaması sonucunda gıda alımında bir baskılanma olduğu görülmüştür (201). Exendin-4 nöronlar üzerinde cFos gen ekspresyonunu artırır (202,203,204). Ayrıca, nükleus traktus solitariusda bulunan astrositlerde GLP-1'in kalsiyum dinamiklerini etkilediği gösterilmiştir (205).

GLP-1, hipotalamik arkuat çekirdeğine mikroenjeksiyonlarla uygulandığı zaman 2 saatlik kümülatif gıda alımında herhangi bir etki oluşturmazken, liraglutid uygulamasında 24 saatlik süreçte gıda alımını azalttığı gösterilmiştir (206). GLP-1'in

kisspeptin eksprese eden nöronlara etki ettiği bulunmuştur böylece GLP-1'in hipotalamik-hipofiz-gonadal eksenini üzerine de etki edebileceği bildirilmektedir (207).

GLP-1 'in hipokampus nöral aktivitesi üzerinde hem metabolik hem de enerji dengesi açısından etkileri bulunmaktadır (208). Gıda alımı azalması sonucunda kalori azalması ile Sirtuin 1'in (SIRT1) ekspresyonunu da indükler (209). SIRT1, BDNF ve CREB'e bağlı ekspresyonları desteklemesinin dışında, nöral hayatta kalma ve nöral plastisiteyi etkileyen genler için gereklidir (210,211). GLP-1 reseptör agonistlerinin regülasyonundaki artış periferik glukoz homeostazını ve bilişsel gerilemede rol oynayan genler üzerine etki ederek hipokampal nörojenez ve hafızayı iyileştirir (212). GLP-1 reseptörü nakavt farelerde sinaptik plastisite bozulur (213). Anestezi uygulanmış sıçanların CA1 nöronlarında yapılan in vivo araştırmada liraglutid kullanımı ile hem sinaptik plastisitede iyileşme hem de sıçanlarda LTP'yi arttırdığı gözlemlenmiştir (212).

2.7. Yağ Dokusunun Menopoz ve Depresyon ile İlişkisi

Yağ dokusu duygu durum bozuklukları, anksiyete bozuklukları, stres ve hiperaktivite dahil olmak üzere birçok zihinsel bozuklukta rol oynamaktadır (214,215). Merkezi sinir sisteminde çeşitli adiposit reseptörü bulunur ve bu reseptörler nöroplastik yollarla beyin fonksiyonlarını etkilerler (216,217). Majör depresif bozukluklarda ve şizofrenide adiponektinin serum seviyesinde azalma meydana gelmektedir (218,219). Ayrıca adiponektinin yetersizliği durumunda hipotalamik-hipofiz-adrenal eksen işlevi de bozulur (220).

Menopozun abdominal, subkutan ve total visceral yağ dokusunda artışa neden olduğu yapılan araştırmalarda gösterilmiştir (221,222). Cerrahi menopoz ile artan yağ dokusu, menopoz sonucunda oluşan kilo alımları ile doğru orantılıdır (223). Hormon replasman tedavisinin sonucu olarak yağ dokusundaki kayıp tamamen östrojen etkisiyle abdominal yağ kütlesinde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (223,224). Üç yıl boyunca süren bir çalışmada hormon replasman tedavisinin açlık glikoz seviyesi ve diyabet insidansını istatistiksel olarak azalttığı bildirilmiştir (225). Ayrıca östrojen ile

tedavi edilen postmenopozal kadınlarda viseral yağlanmanın azaldığı, bu durumun da kardiyovasküler hastalık riskleri azaltmıştır (226).

Postmenopozal dönemde yağ birikimi cilt altı bölgesinden viseral bölgeye kayar ve buna paralel olarak metabolik bozukluk riski artar (217). Ayrıca kilo alımı postmenopozal depresyonun etiyolojilerinden biridir (227). Adipozite ve depresyon arasındaki ilişkiyi araştıran birçok çalışma olmasına rağmen, bir fikir birliğine varılamamıştır. Çoğu çalışma, depresyonun özellikle kadınlarda obezite ile pozitif ilişkili olduğunu öne sürerken (228,229,230), son zamanlarda yapılan bir çalışma, artan yağ içeriği ile depresyon prevalansında düşüş eğilimi göstermiştir (231). Xiong ve ark. 2017 yılında yaptığı çalışmada depresif semptomları olan postmenopozal kadınların, depresif semptomları olmayan kadınlara kıyasla eş zamanlı abdominal obeziteye sahip olma olasılığı daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Buna karşın menopoz sonrası kadınlarda, östrojen seviyeleri, androjenleri östrojenlere dönüştüren bir aromataz kaynağı olarak hizmet eden adipoz doku miktarı ile doğrudan pozitif bir ilişki gösterir. Bu nedenle, daha yüksek miktarda yağ dokusuna ve dolayısıyla daha yüksek östrojen seviyelerine sahip olan postmenopozal kadınların, düşük seviyeli yağ depoları nedeniyle düşük östrojen seviyelerine sahip olan postmenopozal kadınlara göre depresif semptomlara daha az eğilimli olmaları beklenebileceği de bildirilmektedir (232). Son zamanlarda yapılan çalışmalar obezite ve depresyonun birbiriyle ilişkili olduğunu ve bu ilişkinin santral obezitesi olan kişilerde daha net olduğunu göstermiştir (233).

Son zamanlarda depresyon veya depresif semptomların artmış kardiyovasküler hastalık morbidite, mortalitesi ve diyabet riski ile ilişkili olduğunu gösteren tutarlı kanıtlar elde edilmiştir (234). Depresyon ve adipozite arasındaki ilişki çift yönlü görünmektedir ve bu cinsiyet ve yağ dağılımı ile değiştirilebilmektedir. Depresyon, kadınlarda daha fazla yağlanma ile ilişkili görülmektedir. Tersine, obezite, özellikle viseral yağlanma, yaşlı erkeklerde artan depresif semptom riski ile ilişkilidir ancak yaşlı kadınlarda ilişkili görülmemiştir. Çoğunlukla kadınlarda yapılan küçük çalışmalar, depresif hastaların, depresyonu olmayan bireylere kıyasla daha yüksek miktarlarda viseral yağ dokusuna sahip olduğunu göstermektedir. Bu veriler, adipozite ve depresif semptomlar arasında

karmaşık bir ilişki olduğunu ve geniş toplulukları ek araştırmalara ihtiyaç olduğunu göstermektedir (235).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Projemizde Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan temin edilen ağırlıkları 200-220 gr arasında değişen ve 12 haftalık olan 40 adet dişi Wistar-Albino cinsi sıçan kullanılmıştır. Proje süresi boyunca sıçanlar Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda günlük yem ve su değişikliği sağlanmış olup ad libitum beslenme ile rahat hareket edebilecekleri üstü kapalı tel kafeslerde barındırıldı. 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ oda ısıda ve %65 nem olan odada tutuldular. Tüm sıçanların bakımları, Tıbbi Araştırmalar Ulusal Derneği tarafından biçimlendirilen “Deney Hayvanlarının Bakım Prensipleri” ne ve Laboratuvar Hayvanı Kaynakları Enstitüsü tarafından düzenlenen “Laboratuvar Hayvanlarının Bakım ve Kullanımı için Kılavuz” una uygun olarak yapılmıştır.

Denekler rastgele eşit sayıda ve ortalama eşit ağırlıkları olacak şekilde seçilerek 5 gruba ayrılmıştır.

Grup 1: (KONTROL) Overektomi uygulanmamış ve ilaç uygulaması yerine SF s.c. yolla uygulanmış grup. (n=8)

Grup 2: (KONTROL +GLP-1) Overektomi uygulanmamış ve 150 μl /kg dozunda s.c. yolla GLP-1 agonisti uygulanmış grup. (n=8)

Grup 3: (OVX) Overektomi uygulanmış ve s.c SF uygulanmış grup. (n=8)

Grup 4: (OVX+FLX) Overektomi uygulanmış ve gavaj yoluyla 15 mg/kg dozunda fluoksetin uygulanmış grup. (n=8)

Grup 5: (OVX+GLP-1) Overektomi uygulanmış ve 150 μl /kg dozunda s.c. yolla GLP-1 agonisti uygulanmış grup. (n=8)

3.1.1. Overektomi protokolü

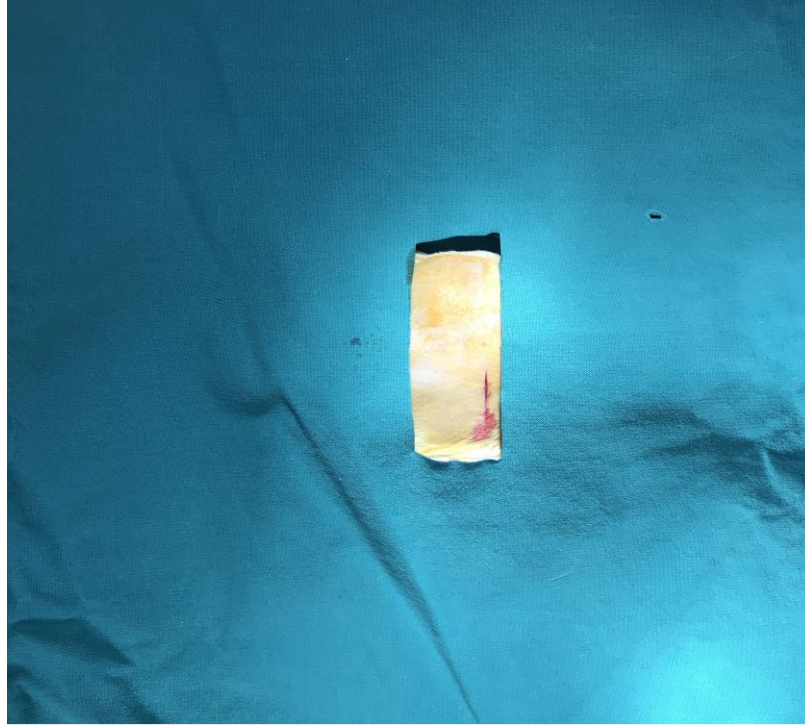
Projemizde, grup 3,4,5'e overektomi operasyonu uygulanmıştır. Bütün cerrahi gereçler ve cerrahi uygulamalar için asepsi ve antisepsi koşulları sağlanmıştır. Grup 3,4,5'deki denekler intraperitoneal yolla ksilazin (10 mg/kg) ve ketamin (90 mg/kg) enjeksiyonu ile genel anestezi altına alınmıştır. Deneklerin sırt bölgesinin median hattının sağ ve sol tarafları son kostasından kaudaline doğru traş edilmiştir ve batikon ile temizlenmiştir. Deneklerin temizlenen sağ ve sol bölgelerine medialden laterale 1 cm.'lik bir insizyon ile deri kesisi yapılmıştır. Kas ve periton açıldıktan sonra overler tuba uterina hattından ligature edilerek diseksiyonu gerçekleştirilmiştir. Oluşturulan cerrahi kesi steril ipek sütür ile dikilerek kapatılmıştır. Grup 1 ve 2'ye cerrahi uygulamanın oluşturduğu stresin meydana gelmesi amacıyla sadece deri insizyonu yapılmıştır (Şekil 9,10,11,12,13).



Şekil 9. Operasyon Öncesi Denek Tüylerinin Temizlenmesi



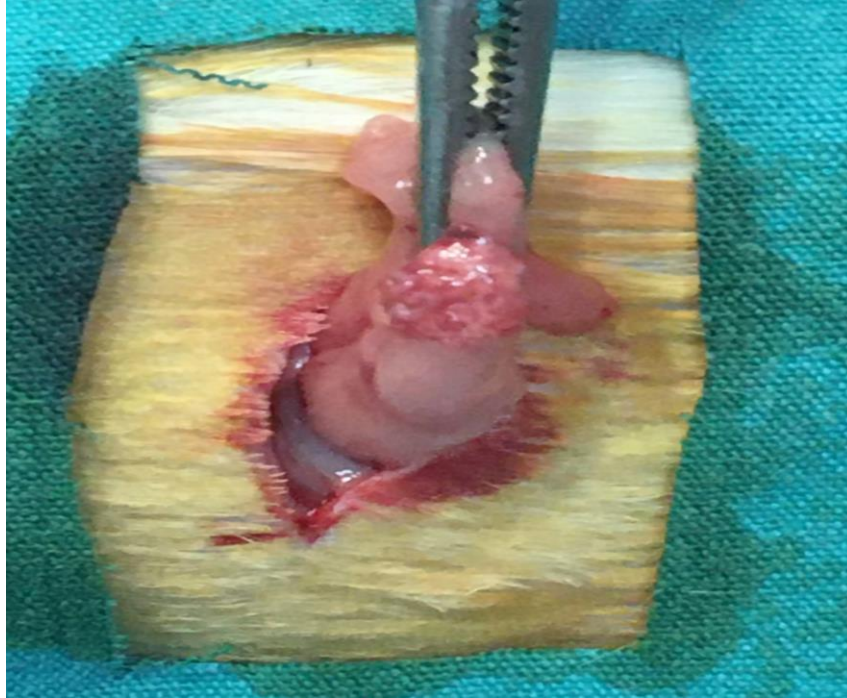
Şekil 10. Operasyon Bölgesi Antisepsi İşlemi



Şekil 11. Deri İnsizyonu Uygulaması



Şekil 12. Kas ve Periton Katmanlarının Diseksiyonu



Şekil 13. Over ve Tuba Uterinanın Forseps ile Çıkartılması

3.1.2. İlaç uygulaması

Overektomi operasyonu sonrasında 5 hafta sonra ilaç uygulamalarına başlanmıştır. Grup 1 ve Grup 3'e SF s.c. enjeksiyonla 14 gün boyunca her gün aynı saatte uygulanmıştır. Grup 2'ye ve Grup 5'e GLP-1 agonisti olan Liraglutide (Victoza®) 14 gün boyunca her gün aynı saatte s.c. yolla 150 µl /kg dozunda uygulanmıştır. Grup 4'e gavaj yoluyla 15 mg/kg dozunda fluoksetin uygulanmıştır. Fluoksetin uygulaması, GLP-1 agonistinin antidepresan etkisini karşılaştırmak amacı ile kullanılmıştır.

3.1.3. Vücut ağırlık ve kan glikoz düzeyi ölçümleri

Sıçanların vücut ağırlığı değişiklikleri ve kan glikoz seviyeleri, hem deneyin başlangıcında hem de liraglutid veya fluoksetin ile 14 günlük tedavi sırasında haftalık olarak izlendi.

3.2. Davranış Testleri

Bütün davranış testleri, sabit sıcaklık ve aydınlık ortamda saat 09:00 ile 15:00 saatleri arasında yapılmıştır.

3.2.1. Zorlu Yüzme Testi (FST)

Zorla yüzme testi, Porslot ve ark. tarafından "sıçanlarda depresyona benzeyen bir davranışsal duruma neden olmak için yeni bir yöntem" olarak tanımlanmıştır (236). Bu modelin, kemirgenlerde oldukça kısa bir süre içinde "davranış umutsuzluğu" olarak adlandırılan düşük bir ruh hali durumunu indüklediği açıklanmıştır. FST depresif benzeri semptomların indüklenmesi için sadece sınırlı zamana ihtiyaç duyulduğundan, hastalarda klinik depresyonun gelişme süresinin aksine, potansiyel antidepresantların etkilerini incelemek için hızlı bir araç olarak görülmektedir (237,238).

Overektomi operasyonu sonrasında geçen 5 haftanın ve 14 gün ilaç uygulamalarının ardından denekler, zorlu yüzme testinin yapılacağı günün bir gün öncesinde suya alıştırılması amacıyla 15 dk. boyunca yüzdürülmüştür. Bu yüzdürme testi 45cm.x 30 cm. llerindeki silindirik ve Őeffaf cam yapıda olan fanusun içine 30cm. seviyesine kadar doldurulmuŗ ve 22 ± 1 °C su içinde yapılmıŗtır. 24 saat sonra teste tabi tutulan denekler 5 dk boyunca yzdrlmŗ ve analiz edilmesi amacıyla kamera ile kayıt altına alınmıŗtır. Her denekten sonra kullanılan su deėiŗtirilmiŗtir. Uygulanan bu testte deneklerin cam fanus çeperlerine tırmanma, hareketsiz kalma ve yüzme süreleri analiz edilmiŗtir. Bir hayvan suda pasif bir Şekilde dik pozisyonda duruyorsa ve burnu hemen su yzeyindeyse hareketsiz olarak kabul edildi. Sıçanlar, her iki n patisini de cam fanus duvarlarına yakın bir yerde, Őiddetle kaçmaya alıŗırken kuvvetli bir Şekilde yukarı ve aŗaėı hareket ettiğinde tırmanma davranıŗı olarak kabul edildi. Test peryotlarından sonra, sıçanlar havlularla kurutuldu ve kafeslerine yerleŗtirildi. Hareketsiz kalma süreleri depresyon benzeri davranıŗ olarak kabul edilmiŗtir. (239) (Şekil 14).



Şekil 14. Zorlu Yüzme Testi

3.2.2. Açık alan testi (OFT)

Açık alan testi ilk olarak 1934'te Hall tarafından geliştirilmiştir ve ilk olarak kemirgenlerde duygusallığa dayanan davranışları ölçmek için kullanılmıştır (240). Genel lokomotor aktivite ve anksiyete seviyesini ölçmek amacıyla kemirgen deneklerde kullanılan bir testtir. Açık alan testi, keşfedici davranışı ve kaygıyla ilgili davranışı değerlendirmek için kullanılmaktadır (241). Açık alan testi 80cm.x80cm.x30cm.

ölçülerinde beyaz renk kaplamalı ahşap alan içinde yapılmıştır. Bu alan 16 eşit kareye bölünmüştür ve bütün denekler test için aynı noktadan alana bırakılmıştır. Her test sonunda alan %20'lik alkol ile temizlenmiştir. 5 dk. boyunca uygulanan testte deneklerin şahlanma, merkez kare geçme sayısı, perifer kare geçme sayısı ve kendini temizle sayıları kamera ile kayıt altına alınmıştır ve ölçülmüştür. Periferde geçilen kare sayısı, şahlanma sayısında ve temizlenme sayısındaki artma anskiyete benzeri davranışı göstermektedir.



Şekil 15. Açık Alan Testi

3.2.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (EPM)

Yükseltilmiş artı labirent testi File ve ark. tarafından kemirgenlerde anksiyete davranışlarını belirlemek için geliştirilmiş bir yöntemdir (242). Yükseltilmiş artı labirent testi kemirgenlerin karanlık, kapalı alanlara girme eğilimine ve yüksek açık alan korkusuna dayanır (243).

14 gün boyunca uygulanan ilaçların ardından denekler EPM testine tabi tutulmuştur. EPM test platformu 50cm yükseklikte olup 2 adet karşılıklı 50cm.x10cm. kapalı kol ve 2 adet karşılıklı 50cmx10cm açık koldan oluşturulmuştur (Şekil 16). Bütün

denekler merkezi alandan platforma bırakılmış olup 5 dk. boyunca test edilip kamera ile kayıt altına alınmıştır. 5 dk.'lık test boyunca deneklerin kapalı kolda ve açık kolda geçirdikleri süreler ölçülmüş olup, bu kollara giriş sayıları da kaydedilmiştir. Her test sonrasında platform %20'lik alkol ile temizlenmiştir. Kapalı kolda geçirilen süre ve giriş sayılarındaki artış anksiyete benzeri davranış olarak kabul edilmiştir.



Şekil 16. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

3.3. Doku Örneklerinin Alınması

Tüm denekler davranış testleri bitiminden hemen sonra yüksek doz anestezi uygulanarak feda edildi. Deneklerin hipokampus dokuları buz üstünde çıkartılmıştır. Çıkartılan dokular eşit parçalar halinde -80 °C'de çalışma gününe kadar muhafaza edilmiştir. Deneklerin uterusları, perirenal, perigonadal, retroperitoneal yağ dokuları ile kahverengi yağ dokuları çıkartılıp tartılmıştır.

3.4. Oksidatif Stres Parametrelerinin Ölçümü

3.4.1. Doku homojenatlarının hazırlanması

Hipokampus dokuları ağırlıkları tartıldıktan sonra 9 kat %10'luk triklorasetik asit (TCA, Sigma Chemical Co., St. USA) eklenmiştir ve dokular eşit sürelerde homojenizör ile homojenize edilmiştir.

3.4.2. MDA tayini

MDA analizi Casini ve ark. belirlediği yöntemle yapılmıştır (244). Yukarıda anlatılan yöntemle hazırlanan homojenatlar 20°C /3000g/15dk santrifüj edilmiştir. Süpernatant üzerine %1'lik butilhidroksi toluenden (BHT, Sigma Chemical Co.St. USA) ve %0.67'lik tiyobarbitürik asit (TBA, Sigma Chemical Co.,St. Louis, MO, USA) eklendikten sonra 15 dakika kaynatılmıştır. Kaynama sonrası 3 dk 300 rpm'de santrifüj edilen örneklerin absorbanı 535 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuştur.

3.4.3. GSH tayini

GSH düzeyleri Aykaç ve ark. metoduna göre yapılmıştır (245). TCA ile homojenizasyon sonrası hazırlanan süpernatantlara 1 ml 0.3M Na₂HPO₄ (Sigma Chemical Co.St. USA) ve 125 µl ditiobisnitrobenzoat (Sigma Chemical Co.St. USA) eklenmiştir. Örneklerin absorbanı 412 nm dalga boyunda spektrofotometrede okunmuştur.

3.5. ELISA Yöntemi İle Lipokalin-2/BDNF/CREB/nrf2 Ölçümü

Deneklerin hipokampuslarında lipokalin-2 (neutrophil gelatinase associated lipokalin) (Wuhan Fine Biotech Co.Ltd., Rat Lipokalin-2/NGAL Catalogue

No.:ER00003), BDNF (Brain Derived Neurotrophic Factor) (Wuhan Fine Biotech Co.Ltd., Rat BDNF Catalogue No.:ER0008), CREB (cAMP response element-binding protein) (Wuhan Fine Biotech Co.Ltd., Rat CREB Catalogue No.:ER0865) ve NFE2L2(Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (nrf2) (Wuhan Fine Biotech Co.Ltd., Rat NFE2L2 Catalogue No.:ER0666) seviyelerine enzyme-linked immün sorbent assay (ELISA) methodu ile bakılmıştır.Doku homojenanti hazırlamak amacıyla 0,01M ve 7,4 pH PBS (Phosphate-buffered saline) hazırlanmıştır. Doku tartımları yapıldıktan sonra her 1 g doku için 9 ml PBS eklenmiştir. Dokuların homojenizasyonu sonrası 5000xg'de 5dk boyunca santrifüj edilmiştir. Süpernatantlar hazırlandıktan sonra ELISA prosedürü uygulanmıştır.

Prosedür:

- 1.Numune seyreltme tamponu ile mikrolaka 2 defa yıkanmıştır.
- 2.Plaka üzerindeki her gözeneğe 100 µl numune eklenmiştir.
- 3.Plaka üzeri kapatıldıktan sonra 37 °C'de 90 dk. inkübe edilmiştir.
- 4.İnkübasyon sonrası plaka yıkama tamponu ile 2 defa yıkanmıştır.
- 5.Plaka üzerindeki her gözeneğe 100 µl biotin etiketli antikor gözenek duvarlarına değdirilmeden eklenmiştir. 37 °C'de 60 dk boyunca inkübe edilmiştir.
- 6.Yıkama tamponu ile 1-2 dk aralıklarla 3 defa yıkanmıştır.
- 7.Plaka üzerindeki her göze 100 µl HRP-Streptavidin Conjugate (SABC) eklenmiştir ve 37 °C'de 30 dk. boyunca inkübe edilmiştir.
- 8.Yıkama tamponu ile 1-2 dk. aralıklarla 5 defa yıkanmıştır.
- 9.Plaka üzerindeki her göze 90 µl TMB Substrate eklenmiştir ve ışığa maruz bırakılmadan 37 °C'de 10-20 dk. boyunca inkübe edilmiştir.
- 10.Plaka üzerindeki her göze 50 µl durdurma solüsyonu eklenmiştir ve rengin sarıya döndüğü kontrol edilmiştir.
- 11.Mikrolaka okuyucu ile 450 nm.'de absorbans okunmuştur.

12. BDNF, CREB ve lipokalin-2 düzeyleri kite ait standartlardan elde edilen eğri kullanılarak hesaplanmıştır ve sonuçlar pg/ml olarak belirlenmiştir.

3.6. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizler SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin normal dağılım testleri Kolmogorov-Smirnova ile yapılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalar için One Way Anova testi uygulandı, grup içi farklılıklar Bonferroni Post Hoc testi sonuçları alınmıştır. P değerinin <0.05 olduğu değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Elde edilen sonuçlar arasındaki korelasyon non-parametrik Spearman testi ile değerlendirilmiştir.

4.BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlıkları ve Kan Glikoz Seviyesi Değişimleri

Denek gruplarının GLP-1 reseptör agonisti tedavisi süresi boyunca kan glikoz seviyeleri ve vücut ağırlıkları ölçülmüştür ve sonuçları Tablo 1’de gösterilmiştir. Ovariectomi sonrası liraglutid tedavisi sonucunda vücut ağırlıklarındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı görülmemiştir. Deney sonunda kan glikoz düzeyi OVX grubunda KONTROL+GLP-1 ile OVX+GLP-1 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir yükselme göstermiştir (p=0.005).

Tablo 1. Deneklerin Vücut Ağırlıkları ve Kan Glikoz Seviyeleri Değişimi

	Vücut ağırlığı (g)			Kan glikoz seviyesi (mg/dl)		
	Deneyin başlangıcı	Liraglutid uygulaması başlangıcı	Deney sonu	Deneyin başlangıcı	Liraglutid uygulaması başlangıcı	Deney sonu
KONTROL	231.50±9.45	239.62±9.39	246.12±7.89	93.37±8.79	97.65±2.99	97.62±2.19
KONTROL+GLP-1	219.25±8.37	230.25±10.02	235.12±9.73	84.12±4.26	88.87±3.96	87.00±2.23*
OVX	236.62±4.61	252.12±4.95	259.75±5.99	102.37±4.26	95.50±1.33	103.87±3.94
OVX+FLX	237.75±6.89	239.40±6.39	250.00±9.04	94.00±3.01	101.62±5.01	95.00±4.50
OVX+GLP-1	219.25±8.37	230.25±10.02	233.00±10.03	85.50±3.55	101.00±3.93	98.25±2.45*

OVX grubunda kan glikoz düzeyi KONTROL+GLP-1 ve OVX+GLP-1 grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu. * OVX grubuna göre anlamlı farklılığı göstermektedir (p<0.005).

4.2. Davranış Test Sonuçları

4.2.1. Zorlu Yüzme Testi (FST)

Çalışmamızda kullanılan denekler zorlu yüzme testine tabi tutulmuştur. Elde edilen sonuçlar ve gruplar arası farklılıklar tabloda gösterilmiştir (Tablo 2).

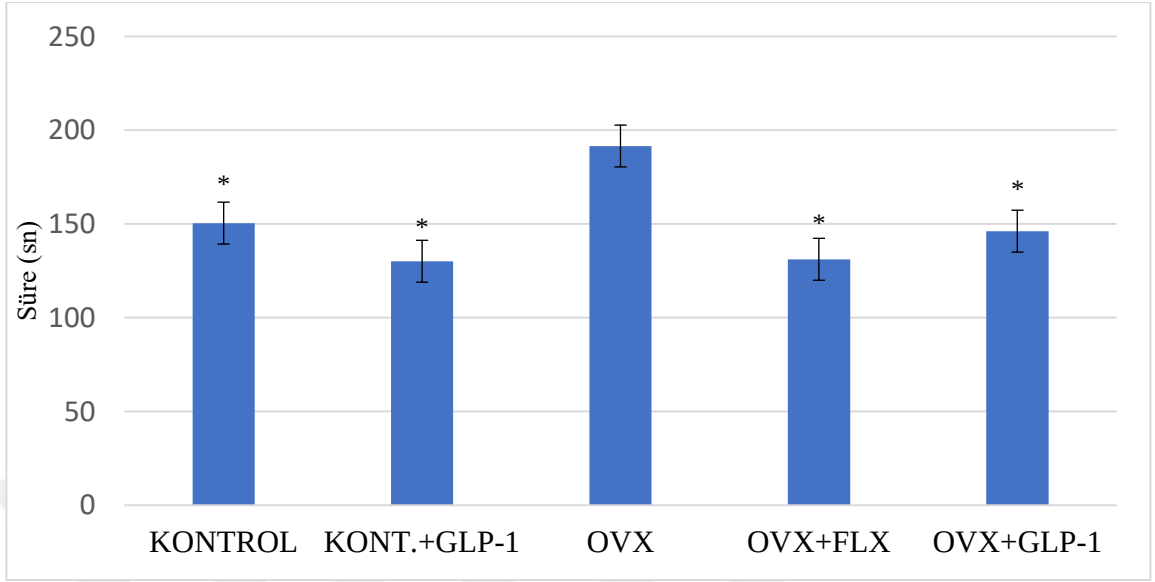
Tablo 2. Zorlu Yüzme Testi Sonuçları

	HAREKETSİZLİK SÜRESİ (sn)	YÜZME SÜRESİ (sn)	ÇEPERE TIRMANMA SÜRESİ (sn)
KONTROL	150.46±3.68*	52.57±8.34	106.87±3.16
KONTROL+GLP-1	130.11±8.28*	48.91±6.68	129.64±13.59*
OVX	191.556±7.48	31.15±4.85*	74.44±9.08
OVX+FLX	131.17±16.34*	76.24±11.31	96.32±13.19*
OVX+GLP-1	146.16±6.39*	55.77±7.12	130.09±19.18

OVX grubunun FST’de hareketsizlik süresinin KONTROL *(p=0.08), KONTROL+GLP-1 *(p=0.000), OVX+FLX *(p=0.000) ve OVX+GLP-1 *(p=0.04) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı bulunmuştur. OVX+FLX grubundaki deneklerin yüzme süreleri OVX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksektir *(p=0.005). OVX grubunda KONTROL+GLP-1 grubuna göre duvara tırmanma süreleri istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görülmektedir (p=0.036). GLP-1 uygulanan OVX grubunda duvara tırmanma süresi OVX grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur (p= 0.034).

4.2.1.1. Hareketsizlik

Deneklerin zorlu yüzme testinde hareketsiz kaldığı süre saniye cinsinden Şekil 17’de gösterilmiştir. Veriler sonucunda OVX grubunun FST’de hareketsizlik süresinin KONTROL (p=0.08), KONTROL+GLP-1 (p=0.000), OVX+FLX (p=0.000) ve OVX+GLP-1 (p=0.04) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı bulunmuştur. OVX grubunda artan hareketsizlik süresine karşı GLP-1 tedavisi bu hareketsizliği azaltmıştır (Şekil 17).

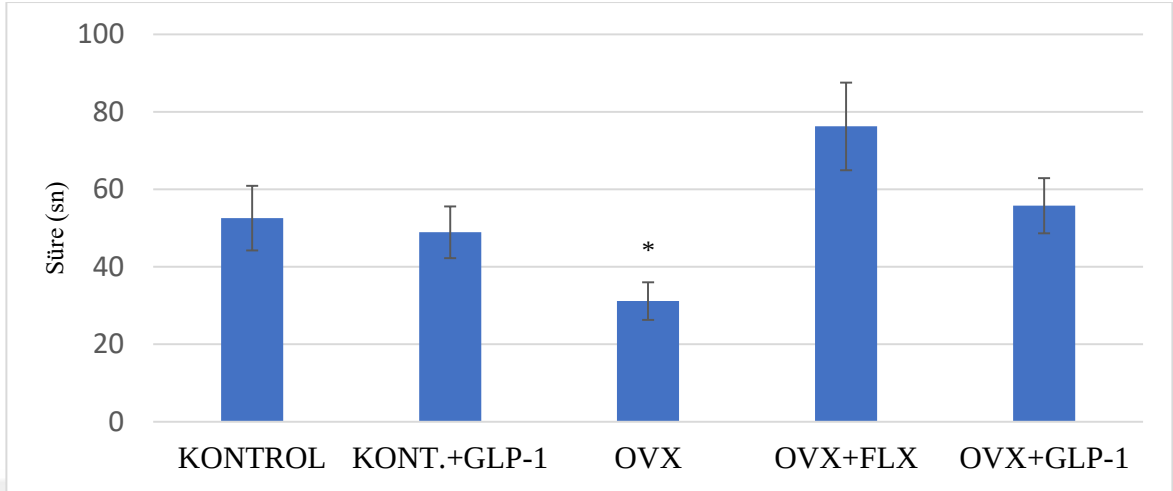


OVX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. KONTROL ($p=0.08$), KONTROL+GLP-1 ($p=0.000$), OVX+FLX ($p=0.000$) ve OVX+GLP-1 ($p=0.04$). Sonuçlar ortalama $\pm$ Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta $n=8$.

Şekil 17. Tüm Gruplara Ait Zorlu Yüzme Testindeki Hareketsizlik Süreleri

4.2.1.2. Yüzme süresi

Deney gruplarının zorlu yüzme testinde yüzme süreleri sonuçları Şekil 18’de gösterilmiştir. OVX+FLX grubundaki deneklerin yüzme süreleri OVX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde daha yüksektir ($p=0.005$). OVX+GLP-1 grubu denekler OVX grubuna göre yüzme süreleri yüksektir ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Cerrahi menopozun bir belirtisi olarak depresif benzeri davranış GLP-1 tedavisi ile tersine dönmüştür. Öyle ki antidepresan etki sonucunda oluşan etki ile deneklerin yüzme sürelerinde artış olmuştur. Bu etki GLP-1 reseptör agonisti olan liraglutidin antidepresan etkisini göstermiştir (Şekil 18).

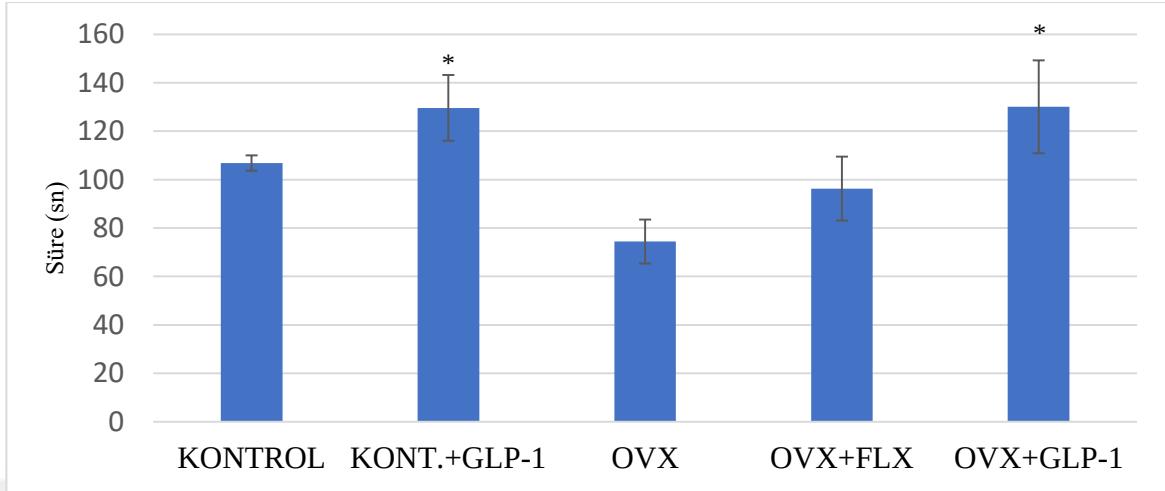


*OVX ile OVX+FLX grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır ($p=0.005$). Sonuçlar ortalama $\pm$ Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta $n=8$.

Şekil 18. Tüm Gruplara Ait Zorlu Yüzme Testindeki Yüzme Süreleri Sonuçları

4.2.1.3. Duvara tırmanma süresi

Deneklerin zorlu yüzme testinde yüzme kabininin çeperine tırmanma süreleri Şekil 19’da gösterilmiştir. Duvara tırmanma süresinin OVX grubunda Kontrol+GLP-1 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görülmektedir ($p=0.036$). GLP-1 uygulanan OVX grubunda duvara tırmanma süresi OVX grubuna göre anlamlı yüksek bulunmuştur ($p= 0.034$). Cerrahi menopoz ve nihayetinde oluşan östrojen eksikliğine bağlı depresyon deneklerin bulundukları alandan çıkma çabasını azalmıştır. Bu şekilde bir depresif davranışa sahip deneğin GLP-1 ile tedavisi sonucunda antidepresant etki ile depresyonun azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 19).



*OVX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. KONTROL+GLP-1 ($p=0.036$), OVX+GLP-1 ($p=0.034$). Sonuçlar ortalama $\pm$ Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta $n=8$.

Şekil 19. Tüm Gruplara Ait Zorlu Yüzme Testindeki Duvara Tırmanma Süreleri Sonuçları

4.2.2. Açık alan testi (OFT)

Çalışmamızda kullanılan deneklerin grupları açık alan test sonuçları karşılaştırmalı tabloda gösterilmiştir (Tablo 3).

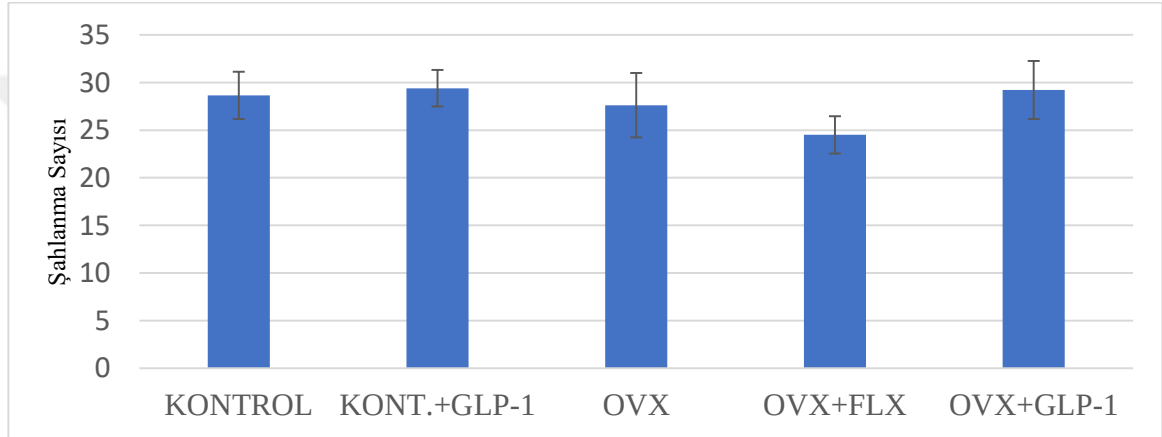
Tablo 3. Deney Gruplarına Ait OFT Sonuçları

	ŞAHLANMA SAYISI	MERKEZİ KARE GEÇME	PERİFERDEN GEÇİLEN KARE SAYISI	KENDİNİ TEMİZLEME SAYISI
KONTROL	28.65 $\pm$ 2.48	6.82 $\pm$ 0.96*	30.33 $\pm$ 5.66*	3.75 $\pm$ 0.57
KONTROL+GLP-1	29.40 $\pm$ 1.92	7.83 $\pm$ 1.1#*	37.33 $\pm$ 3.82	3.87 $\pm$.69
OVX	27.62 $\pm$ 3.38	2.76 $\pm$ 0.5	52.91 $\pm$ 4.97	3.50 $\pm$ 0.66
OVX+FLX	24.50 $\pm$ 1.96	3.76 $\pm$ 0.7	36.13 $\pm$ 4.13	4 $\pm$ 0.76
OVX+GLP-1	29.21 $\pm$ 3.05	4.87 $\pm$.85	33.57 $\pm$ 3.80*	2.75 $\pm$ 0.43

OVX grubunda merkezden geçilen kare sayısı KONTROL *($p=0.017$), KONTROL+GLP-1 *($p=0.03$) gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı ve OVX+FLX grubunda ise KONTROL+GLP-1 grubuna göre anlamlı azalma saptanmıştır #($p=0.023$). KONTROL ile OVX arasında *($p=0.046$) ve OVX+GLP-1 ile OVX arasında *($p=0.046$) perifer kare geçme sayılarında anlamlı farklılık bulunmaktadır.

4.2.2.1. Şahlanma sayısı

Açık alan testi süresince deneklerin şahlanma sayıları şekil 20’de gösterilmiştir. OVX+FLX grubu diğer denek gruplarına göre daha az şahlanma sayısına sahipken bu veri istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. GLP-1 tedavisi hem overektomi deney hayvanlarında şahlanma sayısı açısından anlamlı bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil 20).

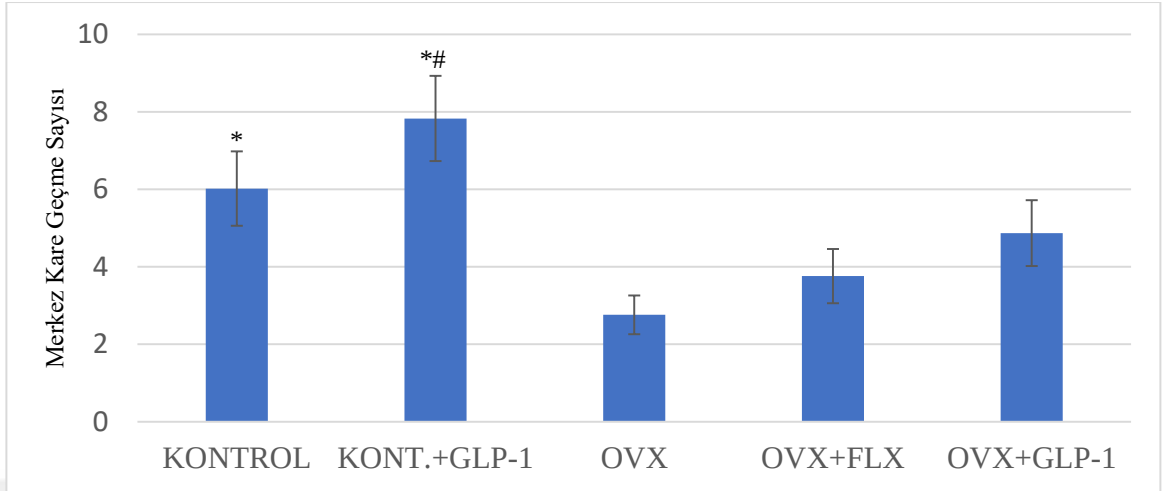


Sonuçlar ortalama ± Standart Hata olarak gösterilmiştir. Grupların verileri arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. Her grupta n=8.

Şekil 20. Tüm Grupların Açık Alan Testi Şahlanma Sayıları

4.2.2.2. Merkez kare geçme sayıları

Çalışmamızdaki denek gruplarının açık alan testindeki merkez kare geçme sayıları şekil 21’de gösterilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre OVX grubunda merkezden geçilen kare sayısı KONTROL ($p=0.017$), KONTROL+GLP-1($p=0.03$) gruplarına istatistiksel olarak anlamlı olarak azaldığı saptanmıştır. OVX+FLX grubunda ise KONTROL+GLP-1 grubuna göre anlamlı azalma saptanmıştır ($p=0.023$). GLP-1 ile tedavi ile OVX+GLP-1 grubunda merkezden geçilen kare sayısında diğer gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı bir değişiklik gözlenmiştir (Şekil 21).

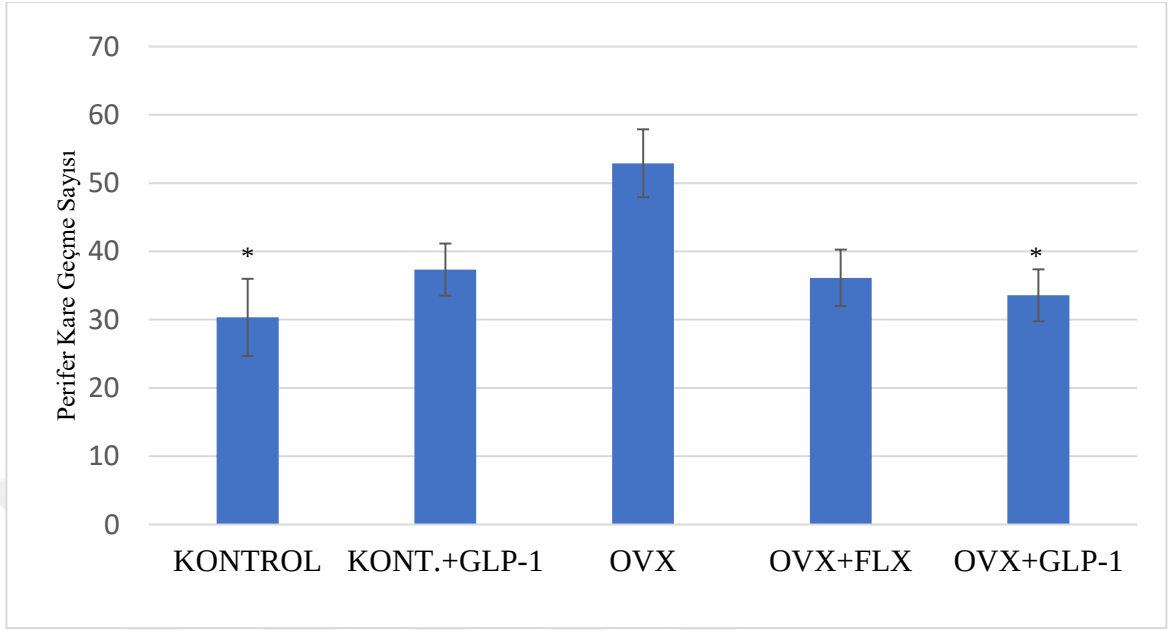


* OVX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. KONTROL (p=0.017), KONTROL+GLP-1 (p=0.03). # OVX+FLX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. KONTROL+GLP-1 (p=0.023). Sonuçlar ortalama ± Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta n: 8.

Şekil 21. Tüm Gruplara Ait Açık Alan Testindeki Merkez Kare Geçme Sayıları Sonuçları

4.2.2.3. Perifer kare geçme sayısı

Deney gruplarının açık alan testindeki perifer alanda geçilen kare sayıları Şekil 22’de gösterilmiştir. Sonuçlarımıza göre OVX grubu deneklerin perifer alanda geçilen kare sayısının KONTROL ve OVX+GLP-1 gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı saptanmıştır (p=0.046). Cerrahi menopoz modellemesinin sonucunda azalan östrojen seviyesi ve beraberinde gelişen anksiyete ile açık alan testinde perifer alandan geçilen kare sayısının artmasına neden olmuştur. Bu durum GLP-1 reseptör agonisti ile tedavi sonrasında tersine dönmüştür (Şekil 22).

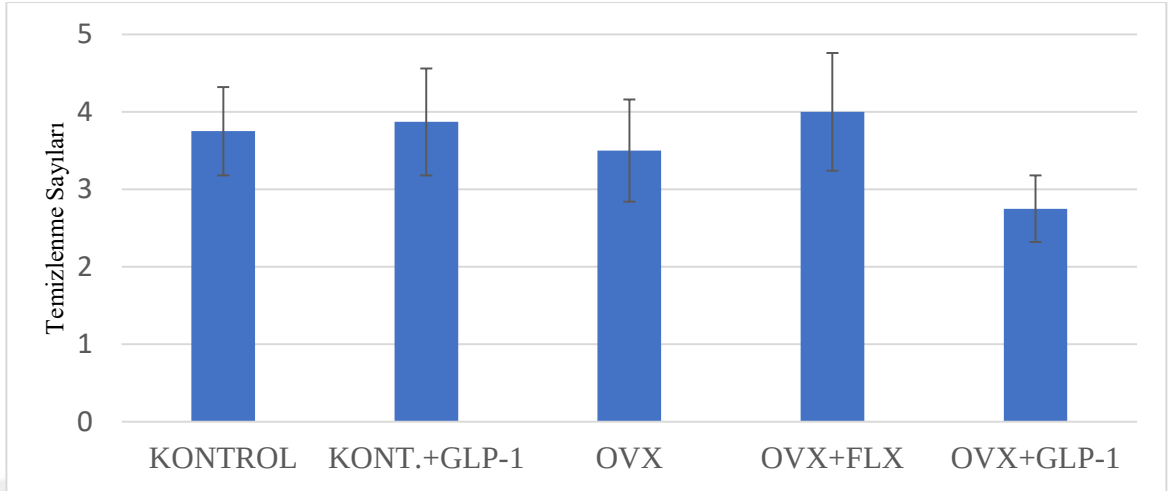


* OVX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. KONTROL ($p=0.046$) ve OVX+GLP-1 ($p=0.046$). Sonuçlar ortalama $\pm$ Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta $n: 8$.

Şekil 22. Tüm Gruplara Ait Açık Alan Testindeki Perifer Kare Geçme Sayıları Sonuçları

4.2.2.4. Temizlenme sayısı

Deney gruplarının açık alan testinde kendini temizleme sayıları şekil 23'de gösterilmiştir. OVX+GLP-1 grubu denekleri diğer gruplardaki deneklere göre daha az kendini temizleme eylemi yapmıştır ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildir (Şekil 23).



Sonuçlar ortalama ± Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta n:8

Şekil 23. Tüm Gruplara Ait Açık Alan Testindeki Kendini Temizleme Sayısı Sonuçları

4.2.3. Yükseltilmiş artı labirent testi sonuçları

Çalışmadaki deneklerin grupları EPM testi sonuçları açık kola giriş sayısı, açık kolda kalış süresi, kapalı kola giriş sayısı ve kapalı kolda kalış süresi olarak Tablo 4’ de gösterilmiştir.

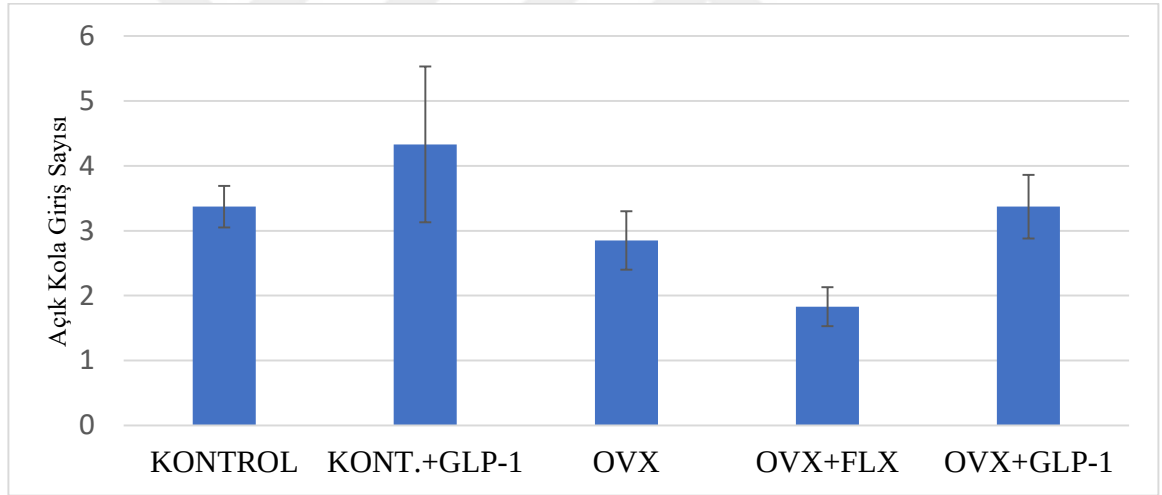
Tablo 4. Deney Gruplarına ait EPM Sonuçları

	AÇIK KOLA GİRİŞ SAYISI	AÇIK KOLDA GEÇİRİLEN SÜRE (sn.)	KAPALI KOLA GİRİŞ SAYISI	KAPALI KOLDA GEÇİRİLEN SÜRE (sn.)
KONTROL	3.37±0.32	68.81±6.78*	4.85±0.45*	167.80±13.59#
KONTROL+GLP-1	4.33±1.20	78.0±10.24*	5.40±0.70	143.05±22.41*
OVX	2.85±0.45	28.29±3.57	8.20±0.73	217.64±10.26
OVX+FLX	1.83±0.30	39.56±13.22	6.16±1.07	241.46±13.24
OVX+GLP-1	3.37±0.49	65.47±7.22*	3±0.48*	202.87±7.96

KONTROL, KONTROL+GLP-1 ve OVX+GLP-1 gruplarına kıyasla açık kolda geçirilen süreler istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu görülmektedir (sırasıyla *p=0.041, *p=0.007, *p=0.05). OVX+FLX grubunda kapalı kolda kalış süresi KONTROL # (p=0.025), ve KONTROL+GLP-1 * (p=0.008) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. OVX grubunda kapalı kola girme sayısı kontrol ve OVX+GLP-1 grubuna göre arttığı saptanmıştır (sırasıyla *p=0.030, *p=0.001).

4.2.3.1. Açık kola giriş sayısı

Tüm denek gruplarının yükseltilmiş artı labirent testinde açık kola giriş sayıları Şekil 24’de gösterilmiştir. OVX grubunun, KONTROL ve KONTROL+GLP-1 grubuna göre elde edilen değerlerde her ne kadar farklılık bulunsa da bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı değildir. OVX+FLX grubunun açık kola giriş sayısı diğer gruplara göre azaldığı bulunmuştur ancak bu veri istatistiksel olarak anlamlı değildir. Overektomize edilip GLP-1 ile tedavi edilen grubun KONTROL grubuna yakın seviyelerde açık kola giriş yaptığı gözlemlenmiştir. Cerrahi menopoz her ne kadar açık kola giriş sayısını düşürse de KONTROL+GLP-1 grubundaki aktivite OVX grubuna göre yüksek bulunmuştur (Şekil 24).



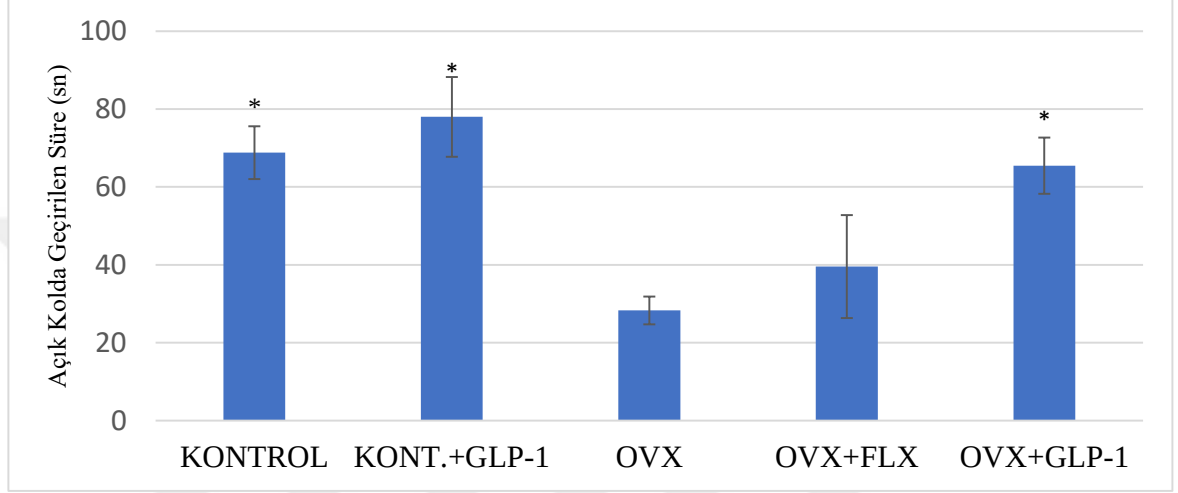
Grupların verileri arasında anlamlı fark bulunmamaktadır. Sonuçlar Ortalama ± Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta n=8.

Şekil 24. Denek Gruplarının EPM’deki Açık Kola Giriş Sayıları Sonuçları

4.2.3.2. Açık kolda geçirilen süre

Tüm grupların EPM’de açık kolda geçirilen süre sonuçları Şekil 25’de gösterilmiştir. OVX grubunun geçirdiği süre diğer gruplarla karşılaştırıldığında KONTROL, KONTROL+GLP-1 ve OVX+GLP-1 gruplarına kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azalmış olduğu görülmektedir (sırasıyla $p=0.041$, $p=0.007$, $p=0.05$).

GLP-1 reseptör agonisti ile tedavi edilen gruplarda açık kolda geçirilen sürenin daha yüksek olduğu bu nedenle anksiyete benzeri davranışların azaldığı gözlemlenmiştir (Şekil 25).

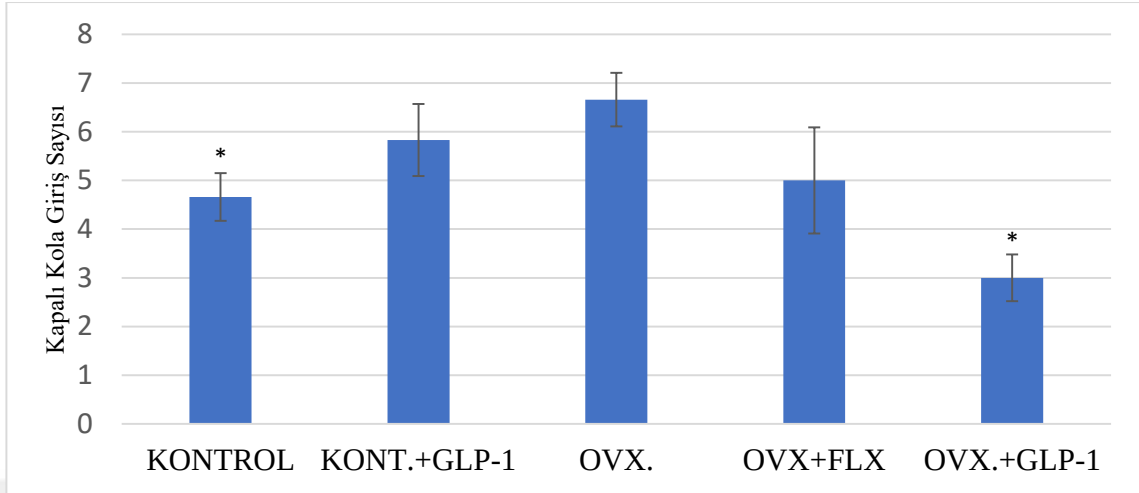


* OVX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. KONTROL ($p=0.041$), KONTROL +GLP-1 ($p=0.007$) ve OVX+GLP-1 ($p=0.05$). Sonuçlar Ortalama $\pm$ Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta $n=8$.

Şekil 25. Tüm Gruplara ait EPM'deki Açık Kolda Geçirilen Süre Sonuçları

4.2.3.3. Kapalı kola giriş sayısı

Tüm denek gruplarının EPM kapalı kola giriş sayıları Şekil 26'da gösterilmiştir. OVX grubunda kapalı kola girme sayısı KONTROL ve OVX+GLP-1 grubuna göre arttığı saptanmıştır (sırasıyla $p=0.030$, $p=0.001$). GLP-1 tedavisinin anksiyete benzeri davranışı azalttığı görülmektedir (Şekil 26).

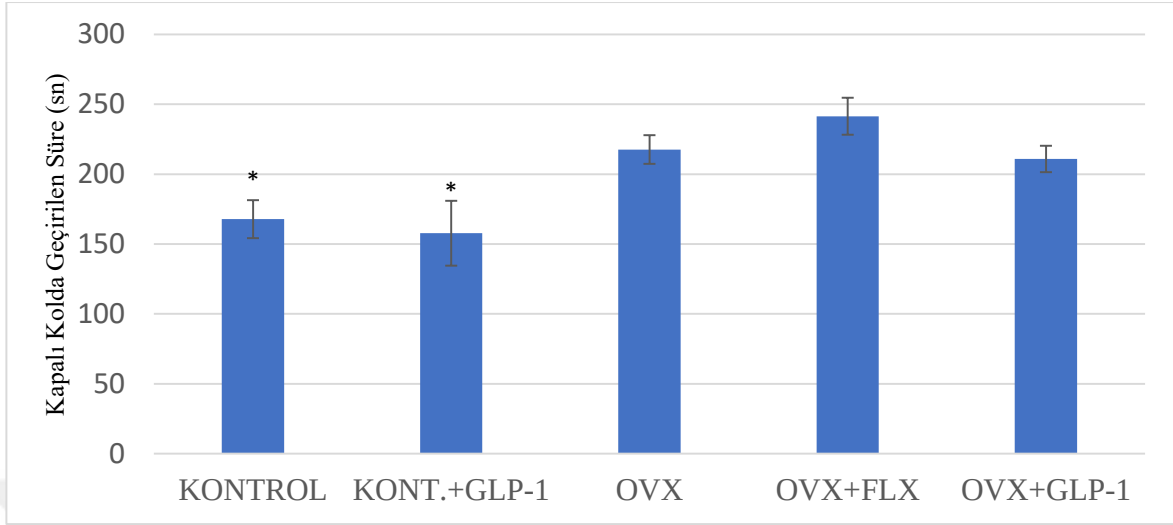


*OVX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. KONTROL ($p=0.030$) ve OVX+GLP-1 ($p=0.001$). Sonuçlar Ortalama $\pm$ Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta $n=8$.

Şekil 26. Tüm Gruplara ait EPM’de Kapalı Kola Giriş Sayıları

4.2.3.4. Kapalı kolda geçirilen süre

Deney gruplarının EPM’deki kapalı kola giriş sonuçları Şekil 27’de gösterilmiştir. OVX+FLX grubunda kapalı kolda kalış süresi KONTROL ($p=0.025$), ve KONTROL+GLP-1 ($p=0.008$) ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. OVX+GLP-1 grubunun kapalı kolda kalış süresi OVX grubuna göre düşük bulunmasına karşın istatistiksel olarak fark tespit edilememiştir (Şekil 27).



*OVX+FLX grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir. KONTROL (p=0.025), KONTROL+GLP-1 (p=0.008). Sonuçlar Ortalama $\pm$ Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta n=8.

Şekil 27. Tüm Gruplara ait EPM'deki Kapalı Kolda Geçirilen Süre Sonuçları

4.2.4. Yağ dokusu ağırlıkları

Denekler feda edildikten sonra kahverengi, retroperitonel ve perirenal yağ dokularının ağırlık ölçümleri yapılmıştır (Tablo 5).

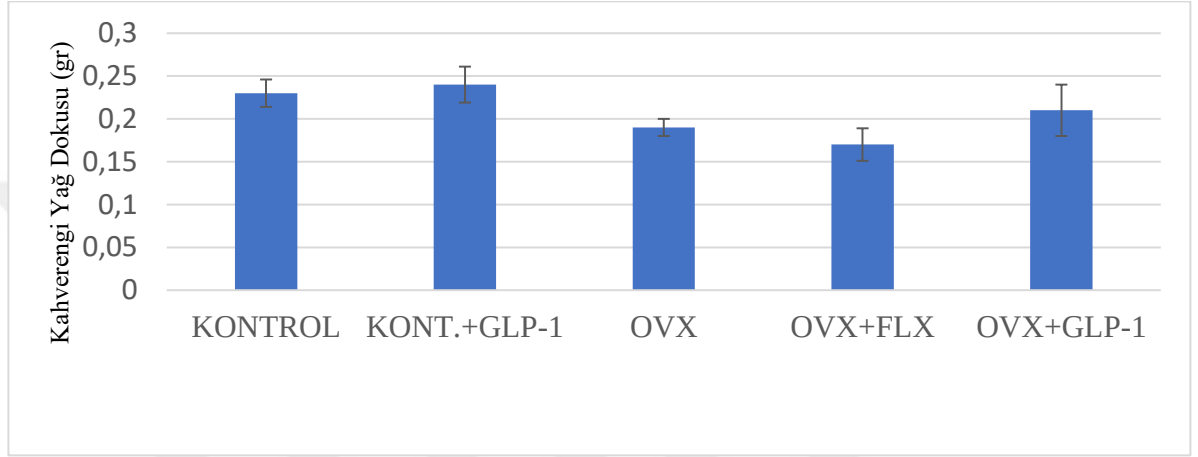
Tablo 5. Tüm Grupların Yağ Dokuları Sonuçları

	KAHVERENGİ YAĞ DOKUSU (gr.)	RETROPERİTONEL YAĞ DOKUSU (gr.)	PERİRENAL YAĞ DOKUSU (gr.)
KONTROL	0.23 $\pm$ 0.016	1.87 $\pm$ 0.15	0.40 $\pm$ 0.036*
KONTROL+GLP-1	0.24 $\pm$ 0.021	1.33 $\pm$ 0.14*	0.49 $\pm$ 0.038
OVX	0.19 $\pm$ 0.01	2.70 $\pm$ 0.42	0.60 $\pm$ 0.036
OVX+FLX	0.17 $\pm$ 0.019	1.03 $\pm$ 0.207*	0.47 $\pm$ 0.022
OVX+GLP-1	0.21 $\pm$ 0.090	1.45 $\pm$ 0.18*	0.54 $\pm$ 0.048

Retroperitonel yağ dokusu ağırlıklarında KONTROL+GLP-1 ile OVX arasında *(p=0.002), OVX+FLX ile OVX arasında *(p=0.000), OVX+GLP-1 ile OVX arasında *(p=0.006) anlamlı farklılık bulunmaktadır. KONTROL ile OVX grupları arasında perirenal yağ dokusu açısından anlamlı farklılık bulunmaktadır *(p=0.020).

4.2.4.1. Kahverengi yağ dokusu

Deneklerin kahverengi yağ dokuları ağırlıkları Şekil 28’de gösterilmiştir. Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (Şekil 28).

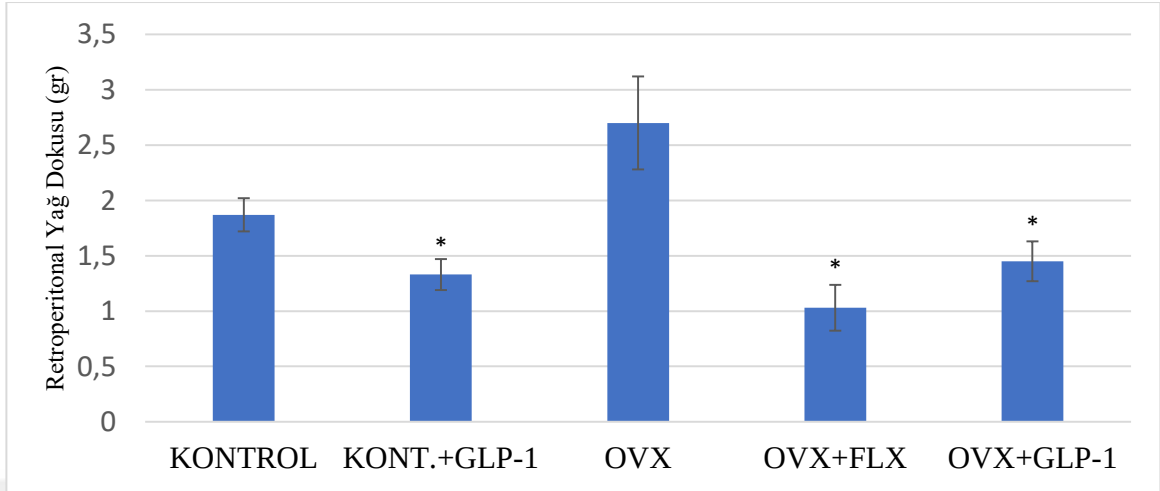


Sonuçlar ortalama $\pm$ Standart Hata olarak gösterilmiştir. Her grupta n=8.

Şekil 28. Tüm Gruplara ait Kahverengi Yağ Dokusu Ağırlıkları Sonuçları

4.2.4.2. Retroperitonel yağ dokusu

Denek gruplarının retroperitonel yağ dokularının ağırlıkları grafikte gösterilmiştir (Şekil 29). KONTROL+GLP-1 ile OVX arasında ($p=0.002$), OVX+FLX ile OVX arasında ($p=0.000$), OVX+GLP-1 ile OVX arasında ($p=0.006$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır.

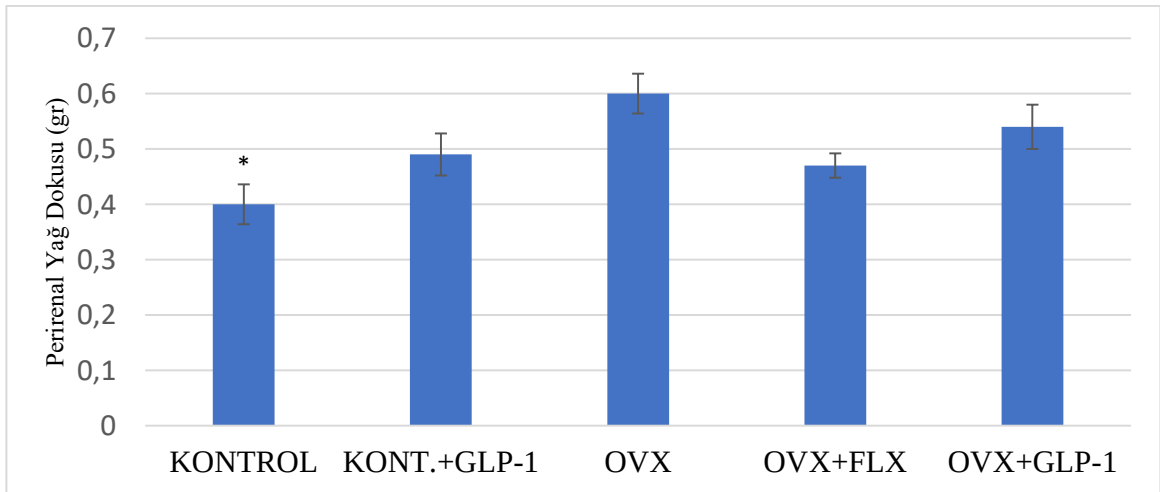


KONTROL+GLP-1 ile OVX arasında *(p=0.002), OVX+FLX ile OVX arasında *(p=0.000), OVX+GLP-1 ile OVX arasında *(p=0.006) anlamlı farklılık bulunmaktadır. (Her grupta n: 8)

Şekil 29. Tüm Gruplara Ait Retroperitoneal Yağ Dokusu Ağırlıkları Sonuçları

4.2.4.3. Perirenal yağ dokusu

Deneklerin gruplara göre perirenal yağ doku ağırlıkları ölçülmüştür. OVX grubunun perirenal yağ doku ağırlıkları KONTROL grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermiş ve yükselmiştir (p=0.020), (Şekil 30).



KONTROL ile OVX grupları arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır (p=0.020). Her grupta n: 8

Şekil 30. Tüm Grupların Perirenal Yağ Dokusu Ağırlıkları Sonuçları

4.2.5. Oksidatif stres parametreleri

Denekler feda edildikten sonra gruplarına göre; hipokampus dokuları çıkarılmıştır. Bu dokularda oksidatif stres hasarını tayin edebilmek için lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon olan GSH analizleri gerçekleştirilmiştir. Deney gruplarının elde edilen sonuçları tabloda gösterilmiştir (Tablo 6).

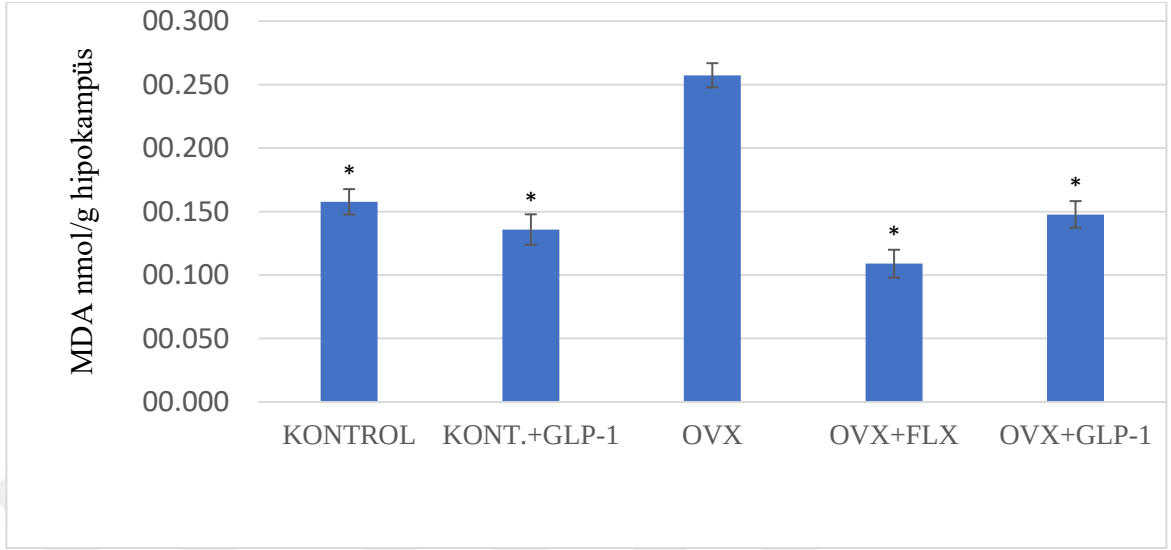
Tablo 6. Gruplar Arası Oksidatif Stres Parametrelerinin Sonuçları

	HİPKAMPUS MDA (nmol/g)	HİPOKAMPUS GSH (μmol/g)
KONTROL	151.67±12.94*	30.31±3.54
KONTROL+GLP-1	135.82±12.66*	21.20±1.54
OVX	257,37±28.21	16.47±2.17*
OVX+FLX	108.94±11*	12.48±1.51*
OVX+GLP-1	147.72±14.65*	13.42±2.24*

Hipokampus MDA seviyeleri OVX grubunda, KONTROL *(p=0.002), KONTROL+GLP-1 *(p=0.000), OVX+FLX *(p=0.05) ve OVX+GLP-1 *(p=0.003) gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. KONTROL grubunun hipokampus GSH düzeyi OVX *(p=0.004), OVX+FLX *(p=0.001) ve OVX+GLP-1 *(p=0.001) grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlenmektedir.

4.2.5.1. Hipokampus malondialdehit tayini sonuçları

Deney gruplarının hipokampus dokularında, lipid peroksidasyon sonucu oluşan MDA sonuçları ölçülmüştür. Hipokampal doku MDA seviyesi OVX grubunda, KONTROL (p=0.002), KONTROL+GLP-1(p=0.000), OVX+FLX (p=0.05) ve OVX+GLP-1 (p=0.003) gruplarına göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Beynin hipokampus bölgesinde cerrahi menopoz sonucu oksidatif stresin bir göstergesi olarak lipid peroksidasyonunun son ürünü MDA seviyesinin yükselmesine neden olmuştur. Deney süresince kullanılan fluoksetin ve GLP-1 ovarektomiye bağlı oluşan oksidatif stresini baskılamada etkili olmuştur (Şekil 31).

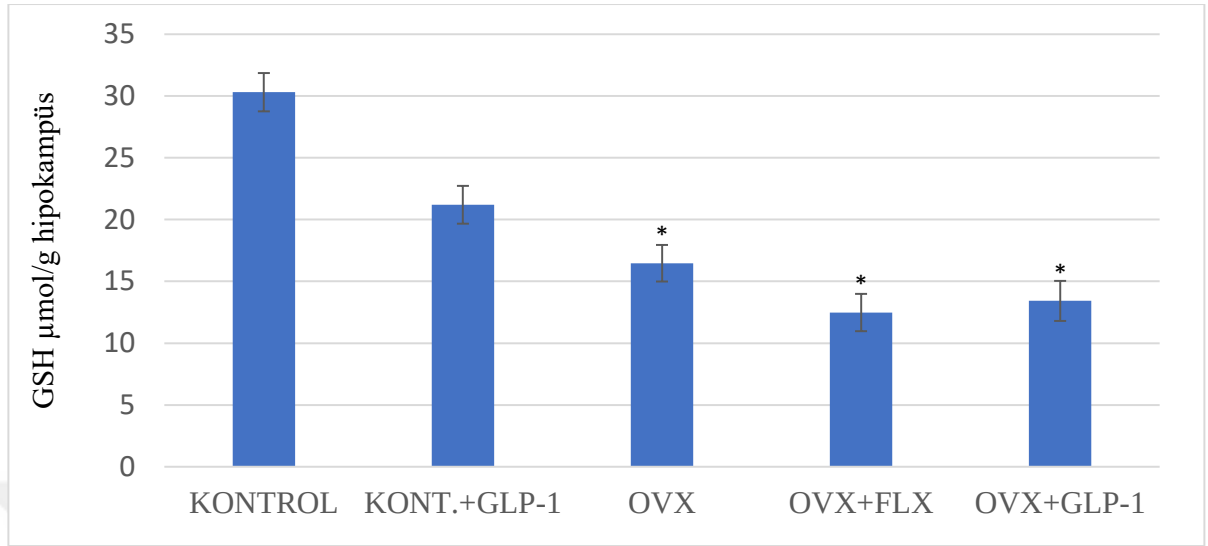


*p=0.002 OVX/ KONTROL göre anlamlılık göstermektedir. *p=0.0001 OVX/ KONTROL LİRA göre anlamlılık göstermektedir. *p=0.003 OVX/OVX+LİRA göre anlamlılık göstermektedir. OVX+FLX ile OVX arasında anlamlı fark vardır *(p=0.05) n=8 her grupta.

Şekil 31. Hipokampus MDA Seviyeleri.

4.2.5.2. Hipokampus GSH tayini sonuçları

Deney gruplarının hipokampus dokularında GSH seviyeleri ölçülmüştür. KONTROL grubuna ait hipokampus GSH düzeylerinin OVX ($p=0.004$), OVX+FLX ($p=0.001$) ve OVX+GLP-1($p=0.001$) grupları ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlenmektedir. Meydana gelen oksidatif hasar nedeniyle overektomi gruplarında GSH seviyesi azalmıştır. (Şekil 32). Ancak GLP-1 uygulaması overektomi ile oluşan hipokampus GSH seviyesini KONTROL grubu seviyelerine getirmede etkili olmadığı gözlenmiştir.



*p=0.005 OVX ile KONTROL grubuna göre anlamlılık göstermektedir. *p=0.001 OVX+LİRA ile KONT. grubuna göre anlamlılık göstermektedir. OVX+FLX ile KONTROL arasında anlamlılık vardır. *p=0.005. n=8 her grupta.

Şekil 32. Hipokampus GSH Seviyeleri

4.2.6. ELİSA sonuçları

Deney gruplarına ait hipokampus dokusu lipokalin-2, BDNF, CREB ve nrf2 protein düzeyleri ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür.

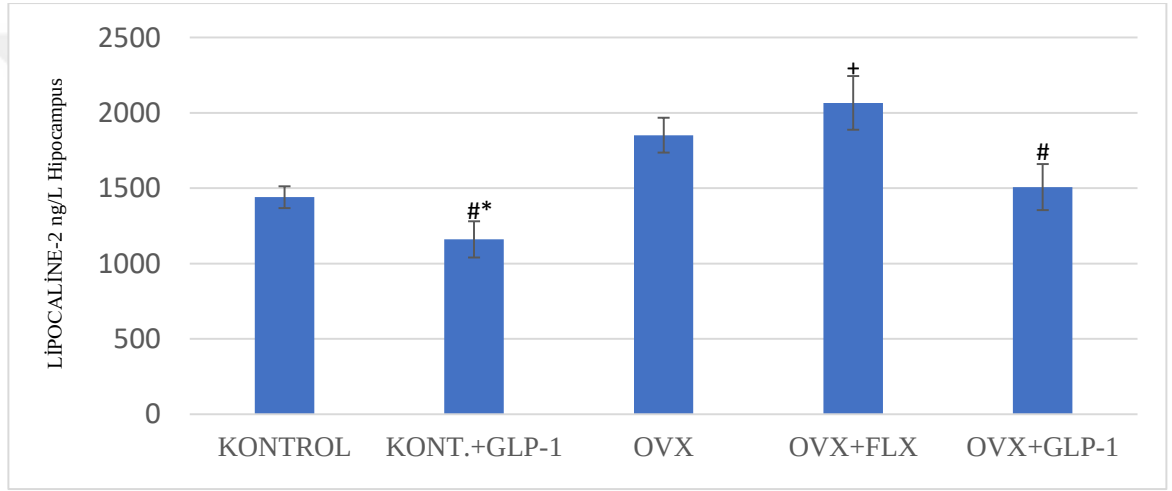
Tablo 7. Deney Gruplarına ait Hipokampus Dokusu lipokalin-2, bdnf, creb ve nrf2 Sonuçları

	LİPOKALİN-2 ng/ml	BDNF ng/ml	CREB ng/ml	nrf2 ng/ml
KONTROL	1440.02±72.33	1108.44±25.60	3.25±0.24	1104.20±24.96*
KONTROL+GLP-1	1160.14±120.14#*	1152.74±63.36*	2.36±0.76*	1120.46±61.02*
OVX	1851.56±115.57	918.51±19.76	2.51±.14*	908.98±12.65
OVX+FLX	2065.78±178.13+	1005.22±41.01	2.42±0.21*	996.46±75.29
OVX+GLP-1	1401.24±134.36#	1036.90±73.58	2.84±0.092	983.73±41.51

OVX+FLX grubuna ait hipokampus lipokalin-2 düzeylerinde KONTROL +(p=0.047), KONTROL+GLP-1 +(p=0.000)ve OVX+GLP-1 +(p=0.021)gruplarına göre anlamlı artış göstermiştir. OVX grubuna ait lipokalin-2 düzeyleri KONTROL+GLP-1 grubuna #(p=0.01) ve OVX+GLP-1 #(p=0.045) istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. Hipokampus BDNF seviyelerinde KONT.+GLP-1 ile OVX grupları arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır *(p=0.027). Hipokampus CREB seviyelerinde, KONTROL grubuna göre OVX+FLX grubunda +(p=0.026), KONTROL+GLP-1 grubunda +(p=0.010) ve OVX grubunda +(p=0.046) anlamlı farklılık vardır. Hipokampus nrf2 seviyelerinde, KONTROL ile OVX grupları arasında *(p=0.030) ve KONTROL+GLP-1 ile OVX *(p=0.022) grupları arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır.

4.2.6.1. Lipokalin-2 ELISA sonuçları

OVX+FLX grubuna ait hipokampus lipokalin-2 düzeylerinde KONTROL ($p=0.047$), KONTROL+GLP-1 ($p=0.000$)ve OVX+GLP-1 ($p=0.021$)gruplarına göre anlamlı artış saptanmıştır. OVX grubuna ait lipokalin-2 düzeyleri KONTROL+GLP-1 grubuna göre ($p=0.01$) istatistiksel olarak anlamlı artmıştır (Şekil 33).

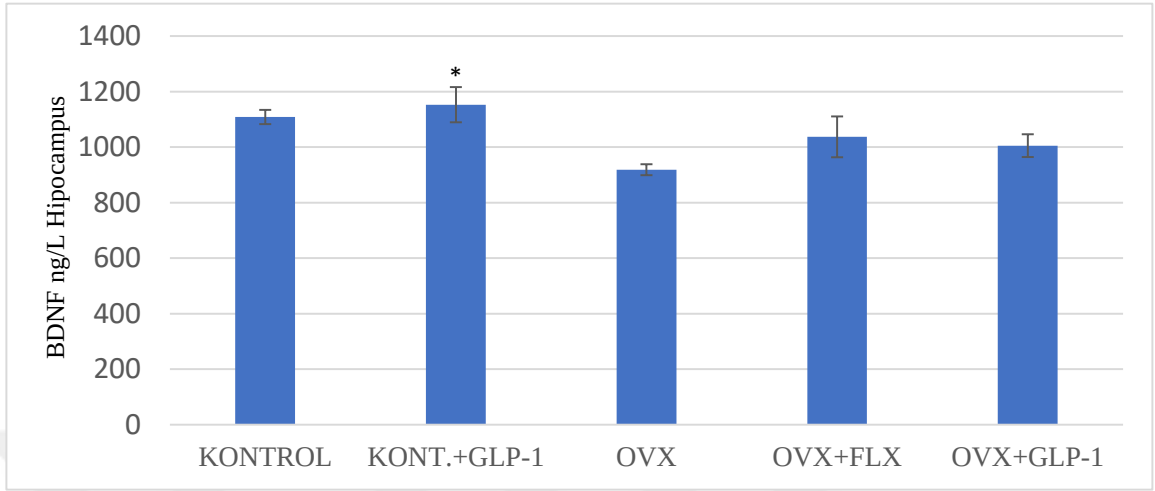


Sonuçlar $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir. OVX+FLX grubuna ait hipokampus lipokalin-2 düzeylerinde KONTROL ($p=0.047$), KONTROL+GLP-1 ($p=0.000$)ve OVX+GLP-1 ($p=0.021$)gruplarına göre anlamlı artış göstermiştir. OVX grubuna ait lipokalin-2 düzeyleri KONTROL+GLP-1 grubuna ($p=0.01$) ve OVX+GLP-1 ($p=0.045$) istatistiksel olarak anlamlı artmıştır. Her grupta $n=8$.

Şekil 33. Hipokampus Lipocaline-2 Düzeyleri

4.2.6.2. BDNF ELİSA sonuçları

Deney gruplarının hipokampus BDNF düzeyleri ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. KONTROL+GLP-1 ile OVX grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmaktadır ($p=0.027$), (Şekil 34).

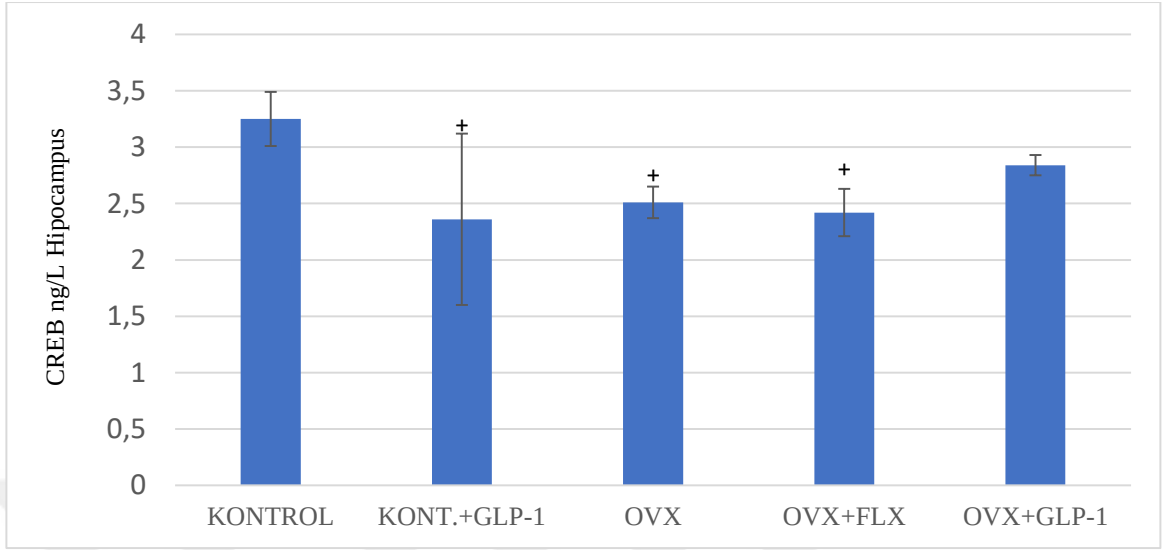


Sonuçlar $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir. KONTROL+GLP-1 ile OVX grupları arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır *($p=0.027$). Her grupta $n=8$.

Şekil 34. Hipokampus BDNF Düzeyleri

4.2.6.3. CREB ELİSA sonuçları

Deney gruplarının hipokampus CREB seviyeleri ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. Sonuçlarımızda KONTROL grubu ile OVX+FLX grubu ($p=0.026$), KONTROL grubu ile KONTROL+GLP-1 grubu ($p=0.010$) ve OVX grupları ($p=0.046$) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmuştur. (Şekil 35). CREB seviyesi overektomi ile hipokampus dokusunda azalmıştır.

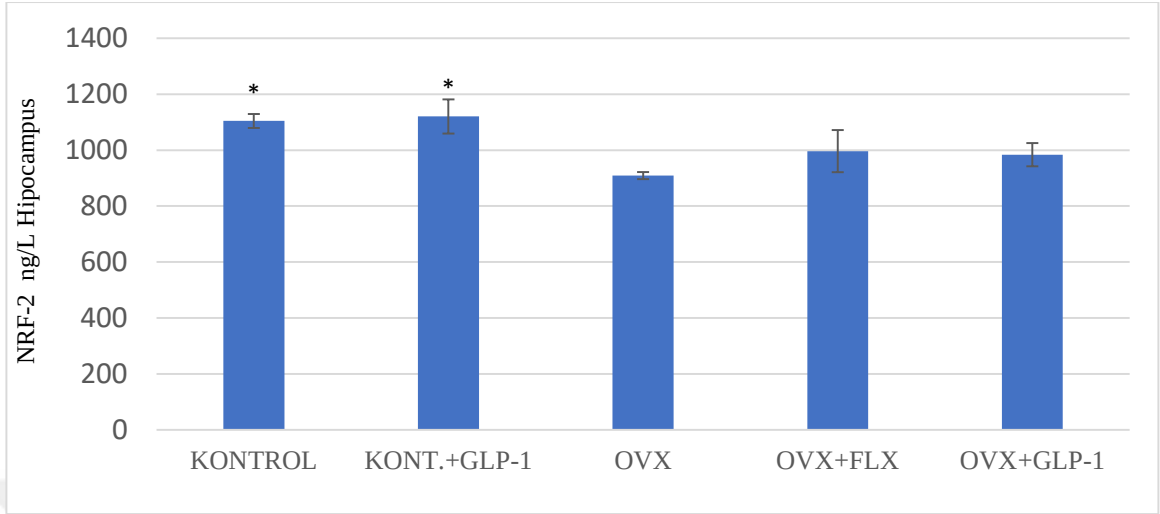


Sonuçlar $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir. KONTROL grubuna göre OVX+FLX grubunda $+(p=0.026)$, KONTROL+GLP-1 grubunda $+(p=0.010)$ ve OVX grubunda $+(p=0.046)$ anlamlı farklılık vardır. Her grupta $n=8$.

Şekil 35. Hipokampus CREB Düzeyleri

4.2.6.4. Nrf2 ELİSA sonuçları

Deneklerin hipokampus dokularında nrf2 ELİSA yöntemi ile ölçülmüştür. Sonuçlarımızda KONTROL ile OVX grubu arasında ($p=0.030$) ve KONTROL+GLP-1 ile OVX grubu arasında ($p=0.022$) istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır. (Şekil 36). Nrf2 düzeyleri ovarektomi ile azalmıştır.



Sonuçlar $\pm$ standart hata olarak gösterilmiştir. KONTROL ile OVX grupları arasında ($p=0.030$) ve KONTROL.+GLP-1 ile OVX ($p=0.022$) grupları arasında anlamlı farklılık bulunmaktadır. Her grupta $n=8$.

Şekil 36. Hipokampus nrf2 Düzeyleri

Hipokampus BDNF düzeyi ile açık alan testinde (OFT) geçilen merkezi kare sayısı arasında kuvvetli bir ilişki olduğu Spearman testi ile belirlenmiştir ($r= -0.955$, $p=0.003$). Ayrıca EPM testinde kapalı kola giriş sayısı ile BDNF düzeyi arasında korelasyon gözlemlenmiştir ($r=1.000$, $p<0.001$).

FST testinde hareketsizlik ($r=0.894$, $p=0.041$) ve yüzme süreleri arasında bir korelasyon tespit edilmiştir ($r=0.829$, $p=0.042$).

Hipokampus MDA seviyeleri ile BDNF düzeyleri arasında negatif bir korelasyon tespit edilmiştir ($r=0.880$, $p=0.021$).

5.TARTIŞMA

Bu çalışmanın en belirgin ve birincil bulgusu cerrahi menopozun depresyon ve anksiyete benzeri davranışa neden olduğunun gözlenmesidir. Cerrahi menopozun bu etkisinde hipokampüsde oksidatif stres ve lipokalin-2 düzeylerin artması ve BDNF/CREB ve nrf2 seviyelerinin azalmasının rolü bulunabileceği gözlenmiştir. Glukagon benzeri peptid 1 agonisti olan liraglutid ile uygulanan tedavi sonucunda, menopoz ile ortaya çıkan depresif ve anksiyete benzeri davranışların tersine döndüğü görülmüş olup, BDNF/CREB, nrf2, lipokalin-2 ve oksidatif stres düzeyleri normal seviyelere gelmiştir.

Daha önce yapılan birçok çalışmada farelerde ve sıçanlarda overektomiden 2 ila 7 hafta sonra östrojen seviyesinin düşmesiyle birlikte depresyon benzeri davranışların geliştiği gösterilmiştir. Çalışmamızda overektomiden 7 hafta sonrasında FST’de hareketsizlik süresinin artışı ve tırmanma süresinin azalması ile karakterize olan depresyon benzeri davranışın geliştiği saptanmıştır. Çalışmamızın bu bulgusu, overektominin 7 hafta sonra deneklerde depresyon benzeri davranışa neden olması ile daha önceki çalışmalarla benzerlik göstermektedir. Sıçanlarda overektomi sonrası depresyon benzeri davranışların gelişmesinde beyin serotonin metabolizmasındaki değişikliklerin rol oynadığı bildirilmiştir. Abd-Rabo et al., (2021), 5-HT1A ve 5HT2A reseptör mRNA ekspresyonunun azaldığını, limbik bölgede serotonin içeriğinin ve sinaptik serotonin seviyelerinin değiştirdiğini göstermişlerdir (246).

Yumurtalıkları alınmış dişi sıçanların beyin bölgelerinde oksidatif hasarın artması ve antioksidan savunmanın azalması sonucunda depresyon ve anksiyete benzeri davranışları içeren davranışsal değişikliklerin olduğu daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (247,248). Overektomi aynı zamanda depresyon ve anksiyete ile ilişkili beyin bölgelerinde de oksidatif stresin artışına neden olmaktadır. Antioksidanların kullanımının ovarektomize sıçanlarda davranış değişiklikleri ile birlikte beyinde oksidatif stresin azaldığı rapor edilmiştir (249). Çalışmamızda overektomi, hipokampüsün MDA içeriğinin artmasına, aynı zamanda nrf2 ve GSH içeriğinin azalmasına ve depresyon benzeri davranışların gelişmesine neden oldu. Bu çalışmadaki bulgular sonucunda overektominin artmış hipokampal oksidatif stres ile ilişkili olarak depresyona neden

olduğunu göstermektedir. Ayrıca sonuçlarımız, liraglutid ile tedavinin azalan MDA seviyesinin ortaya koyduğu gibi overektominin neden olduğu oksidatif stresi azaltmada etkili olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın sonucunda ayrıca fluoksetinin hipokampus MDA seviyesini azaltarak depresyon benzeri davranışları iyileştirmede etkili olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular fluoksetinin depresif davranışı ve oksidatif stresi iyileştirdiğini bildiren diğer çalışmalarla benzerlik göstermektedir (250,251).

Overektomiye bağlı olarak gonadal steroid azalması ve oluşan oksidatif strese en duyarlı beyin bölgelerinden birinin hipokampus olduğu ileri sürülmüştür (249,252). GSH, memeli vücudunda en çok bulunan antioksidandır ve mitokondriden salınan serbest oksijen radikallerini temizler (253). Liraglutid ile uygulanan tedavi sonrasında overektomize sıçanların hipokampuslarında GSH seviyesi bir miktar yükselmiştir, ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Beyindeki antioksidan savunma sistemi nrf2'nin transkripsiyonel aktivasyonunun kontrolü altındadır. Nrf2, oksidatif stresin zararlı etkisine karşı hücrel antioksidan savunmaların ana aktivatörü olarak kabul edilmektedir (254). GLP-1'in yıkımını engelleyen dipeptidil peptidaz4 inhibitörleri ile tedavinin hipokampüste nrf2 aktivitesinde artışa ve oksidatif/nitratif strese azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (255). Spesifik olarak liraglutid, hipokampüste ve diğer beyin dokularında nrf2 seviyesini de artırır (256,257). Nrf2 seviyesindeki artışın, oksidatif stresle mücadele etmek amacıyla savunma sistemini harekete geçirdiğini söyleyebiliriz. Verilerimiz, liraglutid tedavisinin ardından azalan MDA seviyesinin, liraglutidin nrf2 aktivasyonu yoluyla bir antioksidan etki gösterebileceğini ortaya koymaktadır.

GLP-1, hem nöral büyüme faktörlerinin ekspresyonunu desteklediği hem de oksidatif ve glutamat kaynaklı ekzitotoksik hasara karşı koruyucu etkileri olduğu için sinaptik plastisite ve bilişsel işlevlerde önemli bir rol oynar. GLP-1, duygu durumu ve ruh halini düzenleyen beyin alanlarını da etkileyebilmektedir (258). Çalışmamızın verileri, OVX sıçanların EPM'nin açık kollarında daha az zaman geçirdiklerini göstermektedir. Liraglutid ile tedavi uygulanması sonrası OFT' de periferik alanlara geçişte önemli derecede bir azalma gözlemlenmiştir ve elde edilen bu sonuç uygulanan liraglutidin önemli bir anksiyolitik etkisi olduğunu ortaya koymaktadır. Yapılan son çalışmalar GLP-1 reseptör agonistlerinin anksiyolitik etkiler gösterdiğini bildirmektedir (259).

Liraglutidinin anksiyolitik etkileri, yumurtalıkları alınmış dişi sıçanlarda daha önce hiçbir çalışmada ortaya konulmamıştır. Bu bağlamda elde ettiğimiz sonuçlarımız liraglutidin overektominin neden olduğu anksiyete benzeri davranışlara karşı koruyucu bir etkisi olabileceğini işaret etmektedir. Liraglutidin, farelerde hem kortikosteron kaynaklı depresyonda hem de pentilentetrazol kaynaklı epilepside depresif ve anksiyete benzeri davranışları iyileştirdiği gösterilmiştir (260,261). Kamble ve ark., liraglutid uygulamasının FST’de antidepresan etkisinin olmadığını ancak EPM testinde anksiyolitik etki gösterdiğini saptamışlardır (262). Sonuçlarımıza benzer bir şekilde, Weina ve ark. liraglutid tedavisinin sıçanlarda kronik kortikosteron kaynaklı depresyon ve anksiyete benzeri davranışları azalttığını bulmuşlardır (260). Liraglutidin antidepresif ve anksiyolitik etki mekanizmalarının glikojen sentaz kinaz 3 β enziminin azalması ve BDNF düzenin artması ile ilişkili olduğu ileri sürülmektedir (260,261). Bir diğer çalışmada ise GLP-1’in beyin serotonerjik metabolizmasını etkilediğini bildirmektedir. Örneğin, GLP-1 tedavisi, lipopolisakkarit kaynaklı bir otizm modelinde beynin serotonerjik aktivitesini artırır (263).

Bu çalışmada, OVX sıçanlarda fluoksetin tedavisi ile depresyon benzeri davranışların azaldığı saptanmıştır. Fluoksetin tedavisi, EPM’nin kapalı kollarında geçirilen sürenin artması ve OFT’nin merkezinden geçilen kare sayısının artması olarak belirlenen anksiyete benzeri davranışları engelleyememiştir. Standart bir antidepresan olan fluoksetin ile GLP-1 reseptör agonisti liraglutidi karşılaştırdığımızda, antidepresan ve anksiyolitik etkilerinde birkaç farklılık olduğunu gözlemledik. Fluoksetin, FST’de yüzme süresini artırırken liraglutidin böyle bir etkisi bulunmamaktaydı. Öte yandan, liraglutid OFT’de periferdeki karelerden geçiş sayısını azalttı, ancak fluoksetin bu durumda etkili olmadı. Merkez geçilen kare sayısı ile BDNF arasında kuvvetli bir ilişki görülmüş olup, BDNF seviyesi artarken merkezde geçilen kare sayısı da artmıştır. Serotonerjik ilaçlar, hareketsizlik süresini azaltırken yüzme davranışını artırırlar (264). Bu veriler, liraglutid ile tedavinin serotonerjik yoldan bağımsız olarak antidepresan olarak etkili olabileceği düşünülmektedir. Chen ve ark., kronik fluoksetin tedavisinin sosyal izolasyon uygulanmış sıçanlarda depresyon benzeri davranışları tersine çevirdiği ancak anksiyete benzeri davranışlar üzerinde etkili olmadığını belirtmişlerdir (265).

Depresyona nöroinflamasyon, nöral plastisitede azalma ve monoamin bozukluklarının diğer semptomlarına ek olarak oksidatif stres artışı eşlik eder (266). Over hormonları duygu durum bozukluklarının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Menopoz sonrası kadınlarda artan depresyon insidansı hormon replasman tedavisi ile azaltılabilmektedir (267). Daha önce yapılan çalışmalarda, overektominin inflamatuvar sitokinlerin hipokampal içeriğinde önemli bir artışa neden olduğunu ve östrojen tedavisinin inflamatuvar belirteçleri azaltmada etkili olduğunu gösterilmiştir (268). Östrojen replasman tedavisi hem PFC'deki sitokinlerin yükselmesini hem de depresyon benzeri davranışları engellemiştir (268). Depresyon benzeri davranışlar, artan hipokampal inflamatuvar mediatör seviyeleri ile ilişkilidir (269). Lipokalin-2'nin proinflamatuvar sitokinlerin üretimi yoluyla nöroinflamasyonda önemli bir rol oynadığı öne sürülmektedir (270). Bu çalışmada, overektomi sonrası hipokampal lipokalin-2'nin içeriğinin artmasının, sıçanlarda depresif ve anksiyete benzeri davranışlarla korele olduğunu gözlemledik. Verilerimiz ayrıca liraglutid ile tedavinin OVX sıçanlarının hipokampusünün lipokalin-2 içeriğinde artışı önlediğini gösterdi. Fluoksetin ile tedavi edilen OVX grubunda ise hipokampus lipokalin-2 seviyesi önemli ölçüde yükseldi. Fluoksetin tedavisinin kronik öngörülme-yen hafif stresli sıçanların hipokampuslerinde IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin mRNA ekspresyon düzeylerini önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (255). İlginç bir şekilde bu çalışmada fluoksetin tedavisi hipokampusünün lipokalin-2 içeriğini arttırdı. Önceki çalışmalar hem lipopokisakkarit enjeksiyonu hem de psikolojik stresörler tarafından inflamatuvar yanıtın başlatılmasının ardından beyinde lipokalin-2 seviyelerinin yukarı regüle ettiğini göstermiştir. Lipokalin-2'nin artışı, hem hipokampal sinaptik yapıların yoğunluğunun azalması hem de proapoptik sinyalleşme ile ilişkilidir. Gouweleeuw ve ark. hipokampal lipokalin-2 içeriğinin sıçanlarda depresyon benzeri davranışlarla ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (270).

BDNF beyindeki en önemli nötrofinlerden biridir ve nöral yaşam, nörogenez ve sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde çok önemli bir rolü vardır. Hem hayvanlarda hem de insanlarda depresyon patofizyolojisinde rol oynamaktadır (271). CREB, BDNF/TrkB sinyal yolağının aşağı yönlü hedefidir. Fosforile edildikten sonra sinaps oluşumu ve aktivitesi için önemli olan ve birçok antidepresanın terapötik etkileri için gerekli olan

hipokampüste BDNF transkripsiyonunu arttırabilir (272). Nöronal hayatta kalma ve plastisite genellikle CREB ve BDNF ekspresyonu ölçülerek değerlendirilmektedir (273). Gonadal hormon durumunun, BDNF ve CREB ekspresyonunu düzenleyebildiği bildirilmektedir. Nitekim östrojenlerin hipokampüste BDNF düzeyleri ve TrkB reseptörünü arttırdığı bilinmektedir. Perimenopozal kadınlarda ve OVX sıçanlarda BDNF düzeyinin azaldığı daha önce yapılan çalışmalarda bulunmuştur (274,275). Hipokampal BDNF düzeyi depresyonun patogenezinde yer aldığı için önemlidir (272). Mevcut çalışmada OVX sıçanlarının BDNF/CREB seviyesi önemli ölçüde azalmıştır, bu da BDNF/CREB seviyesinde azalmanın overektominin neden olduğu davranış değişikliklerinin patofizyolojisinde rol oynadığını düşündürmektedir. Verilerimiz aynı zamanda liraglutid tedavisinin BDNF seviyesini arttırdığını göstermiştir ki bu, liraglutidin hipokampüste BDNF ekspresyonunu uyardığı önceki çalışma ile uyumludur (253,261). Ek olarak, artan BDNF seviyesi, depresif ve anksiyete benzeri davranışların iyileşmesi ile ilişkilidir. Bu, GLP-1 reseptör agonistlerinin hipokampal BDNF seviyesini artırdığını, sinaptik plastisiteyi iyileştirdiğini ve depresif ve anksiyete benzeri davranışları azalttığını bildiren daha önce yayınlanmış çalışmalarla paraleldir (276,277). Hipokampus BDNF düzeyi ile FST testinde hareketsizlik ve yüzme süreleri arasında negatif korelasyon gözlemlenmiştir. BDNF düzeyi azalırken hareketsizlik süresi artmıştır. Hipokampusun MDA ve BDNF düzeyleri arasında negatif bir korelasyon vardır. Yani doku BDNF düzeyi azalırken, MDA seviyesinde artış birlikte gözlemlenmiştir.

Araştırmalar, kadınlarda azalmış östrojen seviyeleri ile depresyon arasında bir ilişkiye işaret etmektedir. Kadınların özellikle perimenopozal ve postmenopozal dönemlerde strese bağlı psikolojik rahatsızlıklara erkeklere göre daha yatkın oldukları iyi bilinmektedir. Hormon replasman tedavisi (HRT) genellikle depresyon tedavisinde kullanılan bir yöntemdir. Ancak HRT'nin koroner arter hastalığı, tromboembolizm, meme kanseri ve endometriyal kanser riskini arttırdığı bildirilmiştir (278). Menopoz döneminde metabolik hastalıklarla duygudurum bozukluklarının görülme sıklığının arttığı düşünüldüğünde, GLP-1 reseptör agonistlerinin kullanımı potansiyel bir tedavi seçeneği olabilir. Çalışmamızın sonuçları bu potansiyel için umut verici olsa da beyin nörodavranışsal bozuklukların tedavisinde GLP-1 agonistlerinin kullanımına yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Çalışmamız sonucunda ovarektomi ile ortaya çıkan

davranışsal değişikliklerin altında yatan mekanizmalar içinde lipokalin-2 ve oksidatif stres artışı ile BDNF, CREB ve nrf2 düzeylerinin azalmasının yer aldığı gözlenmiştir. Liraglutidin overektomi sonrası hipokampus BDNF ve nrf2 seviyelerinin korunmasına yardımcı olabileceği saptanmıştır. Bu sonuçlara göre liraglutidin antidepresif ve anksiyolitik etkilerinin mekanizmaları içinde BDNF ve nrf2 seviyesinin korunmasının yer aldığını söyleyebiliriz. BDNF, anti-depresyon tedavilerinin etkileri için bir hedeftir. Bu sonuçlara göre çalışmamız postmenopozal depresyon için yeni bir tedavi seçeneği sunmaktadır. Sonuç olarak, liraglutid ile tedavi, perimenopozal dönemde veya çeşitli nedenlerle gonadal hormon eksikliğine bağlı gelişen davranışsal değişikliklerin tedavisi için yararlı bir tedavi seçeneği olabilir.

6. KAYNAKÇA

1. Peacock K, Ketvertis KM (2022). Menopause. Erişim adresi: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507826/>. Erişim tarihi:24.04.2022.
2. Valdes A, Bajaj T (2021). Estrogen Therapy. Erişim adresi: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541051/>. Erişim tarihi:24.04.2022.
3. Nedstrand E, Wijma K, Wyon Y, Hammar M. Applied relaxation and oral estradiol treatment of vasomotor symptoms in postmenopausal women. *Maturitas* 51(2):154-62, 2005.
4. Bromberger JT, Epperson CN. Depression During and After the Perimenopause: Impact of Hormones, Genetics, and Environmental Determinants of Disease. *Obstet Gynecol Clin North Am* 45(4):663-678, 2018.
5. Padda J, Khalid K, Hitawala G, Batra N, Pokhriyal S, Mohan A, Zubair U, Cooper AC, Jean-Charles G. Depression and Its Effect on the Menstrual Cycle. *Cureus* 13(7):e16532, 2021.
6. Burt VK, Stein K. Epidemiology of depression throughout the female life cycle. *J Clin Psychiatry* 2002;63 Suppl 7:9-15, 2002.
7. Keller J, Gomez R, Williams G, Lembke A, Lazzeroni L, Murphy GM Jr, Schatzberg AF. HPA axis in major depression: cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition. *Mol Psychiatry* 22:527–536, 2017.
8. Joseph DN, Whirledge S. Stress and the HPA axis: Balancing homeostasis and fertility. *Int J Mol Sci*18:2224,2017.
9. Raftogianni A, Roth LC, García-González D, Bus T, Kühne C, Monyer H, Spergel DJ, Deussing JM, Grinevich V. Deciphering the contributions of CRH receptors in the brain and pituitary to stress-induced inhibition of the reproductive axis. *Front Mol Neurosci* 11:305, 2018.
10. Jacobs EG, Holsen LM, Lancaster K. 17 β -estradiol differentially regulates stress circuitry activity in healthy and depressed women. *Neuropsychopharmacology* 40:566–576, 2015.

11. Oyola MG, Portillo W, Reyna A, Foradori CD, Kudwa A, Hinds L. Anxiolytic effects and neuroanatomical targets of estrogen receptor-beta (ERbeta) activation by a selective ERbeta agonist in female mice. *Endocrinology* 153:837–846, 2012.
12. C.H. Lee, S.J. Jeon, K.S. Cho, E. Moon, A. Sapkota, H.S. Jun, J.H. Ryu, J.W. Choi. Activation of glucagon-like peptide-1 receptor promotes neuroprotection in experimental autoimmune encephalomyelitis by reducing neuroinflammatory responses. *Mol. Neurobiol* 55(4):3007-3020, 2018.
13. Turan I, Sayan Özaçmak H, Erdem S, Ergenc M, Ozacmak VH. Protective effect of metformin against ovariectomy induced depressive- and anxiety-like behaviours in rats: role of oxidative stress. *Neuroreport* 32(8):666-671, 2021.
14. Menze ET, Ezzat H, Shawky S, Sami M, Selim EH, Ahmed S, Maged N, Nadeem N, Eldash S, Michel HE. Simvastatin mitigates depressive-like behavior in ovariectomized rats: Possible role of NLRP3 inflammasome and estrogen receptors' modulation. *Int Immunopharmacol* 95:107582, 2021.
15. Banin RM, Machado MMF, de Andrade IS, Carvalho LOT, Hirata BKS, de Andrade HM, Júlio VDS, Ribeiro JSFB, Cerutti SM, Oyama LM, Ribeiro EB, Telles MM. Ginkgo biloba extract (GbE) attenuates obesity and anxious/depressive-like behaviours induced by ovariectomy. *Sci Rep* 11(1):44, 2021.
16. Wu S, Ye M, Li Z, Bu S, Zhang Y. Long-term supplementation of dehydroepiandrosterone improved depressive-like behaviors by increasing BDNF expression in the hippocampus in ovariectomized rats. *Heliyon* 6(10):e05180, 2020.
17. Drucker DJ, Asa S. Glucagon gene expression in vertebrate brain. *J Biol Chem* 263(27):13475-8, 1988.
18. Freiherr J, Hallschmid M, Frey WH 2nd, Brünner YF, Chapman CD, Hölscher C, Craft S, De Felice FG, Benedict C. Intranasal insulin as a treatment for Alzheimer's disease: a review of basic research and clinical evidence. *CNS Drugs* 27(7):505-14, 2013.
19. Yongjian Zhou, Zhe Li, Xuezhao Cao, Hong Ma, Paul F. White, Xiaohan Xu, Yanhua Jiang, Xijia Sun, Yong Cui. Exendin-4 improves behavioral deficits via GLP-1/GLP-1R signaling following partial hepatectomy. *Brain Research* 1706:116-124, 2019.

20. Victor A. Gault, Christian Hölscher. GLP-1 receptor agonists show neuroprotective effects in animal models of diabetes. *Peptides* 100:101-107, 2018.
21. Song WJ, Seshadri M, Ashraf U, Mdluli T, Mondal P, Keil M, Azevedo M, Kirschner LS, Stratakis CA, Hussain MA. Snapin mediates incretin action and augments glucose-dependent insulin secretion. *Cell Metab* 13(3):308-19, 2011.
22. Yildirim Simsir I, Soyaltin UE, Cetinkalp S. Glucagon like peptide-1 (GLP-1) likes Alzheimer's disease. *Diabetes Metab Syndr* 12(3):469-475, 2018.
23. Bromet E, Andrade LH, Hwang I, Sampson NA, Alonso J, de Girolamo G, de Graaf R, Demyttenaere K, Hu C, Iwata N, Karam AN, Kaur J, Kostyuchenko S, Lépine JP, Levinson D, Matschinger H, Mora ME, Browne MO, Posada-Villa J, Viana MC, Williams DR, Kessler RC. Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. *BMC Med* 9:90, 2011.
24. Kessler RC, McGonagle KA, Nelson CB, Hughes M, Swartz M, Blazer DG. Sex and depression in the National Comorbidity Survey II: Cohort effects. *J Affect Disord* 30(1):15-26, 1994.
25. Villa A, Vegeto E, Poletti A, Maggi A. Estrogens, neuroinflammation, and neurodegeneration, *Endocr Rev* 37(4):372-402, 2016.
26. Luchetti S, Huitinga I, Swaab DF. Neurosteroid and GABA-A receptor alterations in Alzheimer's disease, Parkinson's disease and multiple sclerosis. *Neuroscience* 191:6-21, 2011.
27. Del Río JP, Alliende MI, Molina N, Serrano FG, Molina S, Vigil P. Steroid Hormones and Their Action in Women's Brains: The Importance of Hormonal Balance. *Front Public Health* 6:141, 2018.
28. Hall JE. Endocrinology of the Menopause. *Endocrinol Metab Clin North Am* 44(3):485-96, 2015.
29. Kwakowsky A, Milne MR, Waldvogel HJ, Faull RL. Effect of Estradiol on Neurotrophin Receptors in Basal Forebrain Cholinergic Neurons: Relevance for Alzheimer's Disease. *Int J Mol Sci* 17(12):2122, 2016.
30. Prokai-Tatrai K, Prokai L. A Novel Prodrug Approach for Central Nervous System-Selective Estrogen Therapy. *Molecules* 24(22):4197, 2019.

31. Al Sweidi S, Sánchez MG, Bourque M, Morissette M, Dluzen D, Di Paolo T. Oestrogen receptors and signalling pathways: implications for neuroprotective effects of sex steroids in Parkinson's disease. *J Neuroendocrinol* 24(1):48-61, 2012.
32. Shaw ND, Histed SN, Srouji SS, Yang J, Lee H, Hall JE. Estrogen negative feedback on gonadotropin secretion: evidence for a direct pituitary effect in women. *J Clin Endocrinol Metab* 95(4):1955-61, 2010.
33. Gill S, Sharpless JL, Rado K, Hall JE. Evidence that GnRH decreases with gonadal steroid feedback but increases with age in postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 87(5):2290-6, 2002.
34. Rance NE, Uswandi SV. Gonadotropin-releasing hormone gene expression is increased in the medial basal hypothalamus of postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 81(10):3540-6, 1996.
35. Hall JE. Neuroendocrine physiology of the early and late menopause. *Endocrinol Metab Clin North Am* 33(4):637-59, 2004.
36. Prossnitz ER, Sklar LA, Oprea TI, Arterburn JB. GPR30: a novel therapeutic target in estrogen-related disease. *Trends Pharmacol Sci* 29(3):116-23, 2008.
37. Hwang WJ, Lee TY, Kim NS, Kwon JS. The Role of Estrogen Receptors and Their Signaling across Psychiatric Disorders. *Int J Mol Sci* 22(1):373, 2020.
38. Hwang WJ, Cho KIK, Kwak YB, Lee J, Kim M, Lee TY, Kwon JS. Intact thalamic microstructure in asymptomatic relatives of schizophrenia patients with high genetic loading. *Schizophr Res* 230:111-113, 2021.
39. Prossnitz ER, Arterburn JB. International Union of Basic and Clinical Pharmacology XCVII. G Protein-Coupled Estrogen Receptor and Its Pharmacologic Modulators. *Pharmacol Rev* 67(3):505-40, 2015.
40. Küppers E, Beyer C. Expression of estrogen receptor-alpha and beta mRNA in the developing and adult mouse striatum. *Neurosci Lett* 276(2):95-8, 1999.
41. Osterlund MK, Keller E, Hurd YL. The human forebrain has discrete estrogen receptor alpha messenger RNA expression: High levels in the amygdaloid complex. *Neuroscience* 95(2):333-42, 2000.
42. Kulkarni J, Butler S, Riecher-Rössler A. Estrogens and SERMS as adjunctive treatments for schizophrenia. *Front Neuroendocrinol* 53:100743, 2019.

43. Coppen AJ, Doogan DP. Serotonin and its place in the pathogenesis of depression J Clin Psychiatry 49 Suppl:4-11, 1988.
44. Lu NZ, Shlaes TA, Gundlah C, Dziennis SE, Lyle RE, Bethea CL. Ovarian steroid action on tryptophan hydroxylase protein and serotonin compared to localization of ovarian steroid receptors in midbrain of guinea pigs. Endocrine 11(3):257-67, 1999.
45. Bethea CL, Brown NA, Kohama SG. Steroid regulation of estrogen and progesterone receptor messenger ribonucleic acid in monkey hypothalamus and pituitary. Endocrinology 137(10):4372-83, 1996.
46. Kraynak M, Willging MM, Kuehlmann AL, Kapoor AA, Flowers MT, Colman RJ, Levine JE, Abbott DH. Aromatase Inhibition Eliminates Sexual Receptivity Without Enhancing Weight Gain in Ovariectomized Marmoset Monkeys. J Endocr Soc 6(6):bvac063, 2022.
47. Bethea CL, Lu NZ, Gundlah C, Streicher JM. Diverse actions of ovarian steroids in the serotonin neural system. Front Neuroendocrinol 23(1):41-100, 2002
48. Krolick KN, Zhu Q, Shi H. Effects of Estrogens on Central Nervous System Neurotransmission: Implications for Sex Differences in Mental Disorders. Prog Mol Biol Transl Sci 160:105-171, 2018
49. Pecins-Thompson M, Brown NA, Kohama SG, Bethea CL. Ovarian steroid regulation of tryptophan hydroxylase mRNA expression in rhesus macaques. J Neurosci 16(21):7021-9, 1996.
50. Bethea CL, Mirkes SJ, Shively CA, Adams MR. Steroid regulation of tryptophan hydroxylase protein in the dorsal raphe of macaques. Biol Psychiatry 47(6):562-76, 2000.
51. Sumner BE, Fink G. Testosterone as well as estrogen increases serotonin_{2A} receptor mRNA and binding site densities in the male rat brain. Brain Res Mol Brain Res 59(2):205-14, 1998.
52. Burnet PW, Eastwood SL, Lacey K, Harrison PJ. The distribution of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptor mRNA in human brain. Brain Res 676(1):157-68, 1995.
53. Gundlah C, Pecins-Thompson M, Schutzer WE, Bethea CL. Ovarian steroid effects on serotonin 1A, 2A and 2C receptor mRNA in macaque hypothalamus. Brain Res Mol Brain Res 63(2):325-39, 1999.

54. Bohmaker K, Eison AS, Yocca FD, Meller E. Comparative effects of chronic 8-OH-DPAT, gepirone and ipsapirone treatment on the sensitivity of somatodendritic 5-HT_{1A} autoreceptors. *Neuropharmacology* 32(6):527-34, 1993.
55. Birzniece V, Johansson IM, Wang MD, Seckl JR, Bäckström T, Olsson T. Serotonin 5-HT_{1A} receptor mRNA expression in dorsal hippocampus and raphe nuclei after gonadal hormone manipulation in female rats. *Neuroendocrinology* 74(2):135-42, 2001.
56. Pecins-Thompson M, Bethea CL. Ovarian steroid regulation of serotonin-1A autoreceptor messenger RNA expression in the dorsal raphe of rhesus macaques. *Neuroscience* 89(1):267-77, 1999.
57. Swaab DF, Bao AM, Lucassen PJ. The stress system in the human brain in depression and neurodegeneration. *Ageing Res Rev* 4(2):141-94, 2005.
58. Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci* 31(9):464-8, 2008.
59. Füzesi T, Daviu N, Wamsteeker Cusulin JI, Bonin RP, Bains JS. Hypothalamic CRH neurons orchestrate complex behaviours after stress *Nat Commun* 7:11937, 2016.
60. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci* 10(6):397-409, 2009.
61. Peng GJ, Tian JS, Gao XX, Zhou YZ, Qin XM. Research on the Pathological Mechanism and Drug Treatment Mechanism of Depression. *Curr Neuropharmacol* 13(4):514-23, 2015.
62. Crowley SK, Girdler SS., Neurosteroid, GABAergic and hypothalamic pituitary adrenal (HPA) axis regulation: what is the current state of knowledge in humans? *Psychopharmacology (Berl)* 231(17):3619-34, 2014.
63. Morrow AL, Suzdak PD, Paul SM., Steroid hormone metabolites potentiate GABA receptor-mediated chloride ion flux with nanomolar potency, *Eur J Pharmacol* 142(3):483-5, 1987.
64. Guo AL, Petraglia F, Criscuolo M, Ficarra G, Nappi RE, Palumbo MA, Trentini GP, Purdy RH, Genazzani AR., Evidence for a role of neurosteroids in modulation of diurnal changes and acute stress-induced corticosterone secretion in rats, *Gynecol Endocrinol* 9(1):1-7, 1995.

65. Rodríguez-Landa JF, Contreras CM, Bernal-Morales B, Gutiérrez-García AG, Saavedra M., Allopregnanolone reduces immobility in the forced swimming test and increases the firing rate of lateral septal neurons through actions on the GABAA receptor in the rat, *J Psychopharmacol* 21(1):76-84, 2007.
66. Pluchino N, Cubeddu A, Giannini A, Merlini S, Cela V, Angioni S, Genazzani AR., Progesterone and brain: an update, *Maturitas* 62(4):349-55, 2009.
67. MacKenzie G, Maguire J., The role of ovarian hormone-derived neurosteroids on the regulation of GABAA receptors in affective disorders, *Psychopharmacology (Berl)* 231(17):3333-42, 2014.
68. Komesaroff PA, Esler MD, Sudhir K. Estrogen supplementation attenuates glucocorticoid and catecholamine responses to mental stress in perimenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 84(2):606-10 1999.
69. Woods NF, Carr MC, Tao EY, Taylor HJ, Mitchell ES. Increased urinary cortisol levels during the menopausal transition. *Menopause* 13(2):212-21, 2006.
70. Gordon JL, Girdler SS, Meltzer-Brody SE, Stika CS, Thurston RC, Clark CT, Prairie BA, Moses-Kolko E, Joffe H, Wisner KL. Ovarian hormone fluctuation, neurosteroids, and HPA axis dysregulation in perimenopausal depression: a novel heuristic model. *Am J Psychiatry* 172(3):227-36, 2015.
71. Claes SJ. Corticotropin-releasing hormone (CRH) in psychiatry: from stress to psychopathology. *Ann Med* 36(1):50-61, 2004.
72. Raftogianni A, Roth LC, García-González D, Bus T, Kühne C, Monyer H, Spergel DJ, Deussing JM, Grinevich V. Deciphering the contributions of CRH receptors in the brain and pituitary to stress-induced inhibition of the reproductive axis. *Front Mol Neurosci* 11:305, 2018.
73. Padda J, Khalid K, Hitawala G, Batra N, Pokhriyal S, Mohan A, Zubair U, Cooper AC, Jean-Charles G. Depression and its effect on the menstrual cycle *Cureus* 13(7):e16532, 2021.
74. Vermeulen A. Environment, human reproduction, menopause, and andropause. *Environ Health Perspect* 101 Suppl 2:91-100, 1993.

75. Gold PW, Chrousos GP. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry* 7(3):254-75, 2002.
76. Rivier C, Vale W. Influence of corticotropin-releasing factor on reproductive functions in the rat. *Endocrinology* 114(3):914-21, 1984.
77. Maeda K, Cagampang FR, Coen CW, Tsukamura H. Involvement of the catecholaminergic input to the paraventricular nucleus and of corticotropin-releasing hormone in the fasting-induced suppression of luteinizing hormone release in female rats. *Endocrinology* 134(4):1718-22, 1994.
78. MacLusky NJ, Naftolin F, Leranth C. Immunocytochemical evidence for direct synaptic connections between corticotrophin-releasing factor (CRF) and gonadotrophin-releasing hormone (GnRH)-containing neurons in the preoptic area of the rat. *Brain Res* 439(1-2):391-5, 1988.
79. Yang LC, Zhang QG, Zhou CF, Yang F, Zhang YD, Wang RM, Brann DW. Extranuclear estrogen receptors mediate the neuroprotective effects of estrogen in the rat hippocampus. *PLoS One* 5(5):e9851, 2010.
80. Shang Y, Brown M. Molecular determinants for the tissue specificity of SERMs. *Science* 295(5564):2465-8, 2002.
81. Brann DW, Dhandapani K, Wakade C, Mahesh VB, Khan MM. Neurotrophic and neuroprotective actions of estrogen: basic mechanisms and clinical implications. *Steroids* 72(5):381-405, 2007.
82. Dubal DB, Shughrue PJ, Wilson ME, Merchenthaler I, Wise PM., Estradiol modulates bcl-2 in cerebral ischemia: a potential role for estrogen receptors, *J Neurosci* 19(15):6385-93, 1999.
83. Choi YC, Lee JH, Hong KW, Lee KS. 17 Beta-estradiol prevents focal cerebral ischemic damages via activation of Akt and CREB in association with reduced PTEN phosphorylation in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 18(5):547-57, 2004
84. Scott E, Zhang QG, Wang R, Vadlamudi R, Brann D. Estrogen neuroprotection and the critical period hypothesis. *Front Neuroendocrinol* 33(1):85-104, 2012.

85. Gibbs RB. Levels of trkA and BDNF mRNA, but not NGF mRNA, fluctuate across the estrous cycle and increase in response to acute hormone replacement. *Brain Res* 787(2):259-68, 1998.
86. Gould E, Woolley CS, Frankfurt M, McEwen BS. Gonadal steroids regulate dendritic spine density in hippocampal pyramidal cells in adulthood. *J Neurosci* 10(4):1286-91, 1990.
87. MacLusky NJ, Luine VN, Hajszan T, Leranth C. The 17alpha and 17beta isomers of estradiol both induce rapid spine synapse formation in the CA1 hippocampal subfield of ovariectomized female rats. *Endocrinology* 146(1):287-93, 2005.
88. Woolley CS, Gould E, Frankfurt M, McEwen BS. Naturally occurring fluctuation in dendritic spine density on adult hippocampal pyramidal neurons. *J Neurosci* 10(12):4035-9, 1990
89. Duman RS, Nakagawa S, Malberg J. Regulation of adult neurogenesis by antidepressant treatment. *Neuropsychopharmacology* 25(6):836-44, 2001.
90. Hara Y, Waters EM, McEwen BS, Morrison JH. Estrogen Effects on Cognitive and Synaptic Health Over the Lifecourse. *Physiol Rev* 95(3):785-807, 2015.
91. Bedard K, Krause KH. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. *Physiol Rev* 87(1):245-313, 2007.
92. Sivandzade F, Bhalerao A, Cucullo L. Cerebrovascular and Neurological Disorders: Protective Role of NRF2. *Int J Mol Sci* 20(14):3433, 2019.
93. Price JL, Drevets WC. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology* 35(1):192-216, 2010.
94. Price JL, Drevets WC. Neural circuits underlying the pathophysiology of mood disorders. *Trends Cogn Sci* 16(1):61-71, 2012.
95. Radley JJ, Rocher AB, Miller M, Janssen WG, Liston C, Hof PR, McEwen BS, Morrison JH. Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex* 16(3):313-20, 2006.
96. Duman CH, Duman RS. Spine synapse remodeling in the pathophysiology and treatment of depression. *Neurosci Lett* 601:20-9, 2015.
97. McEwen BS, Nasca C, Gray JD. Stress Effects on Neuronal Structure: Hippocampus, Amygdala, and Prefrontal Cortex. *Neuropsychopharmacology* 41(1):3-23, 2016.

98. Tian F, Hu XZ, Wu X, Jiang H, Pan H, Marini AM, Lipsky RH. Dynamic chromatin remodeling events in hippocampal neurons are associated with NMDA receptor-mediated activation of Bdnf gene promoter 1. *J Neurochem* 109(5):1375-88, 2009.
99. Januar V, Saffery R, Ryan J. Epigenetics and depressive disorders: a review of current progress and future directions. *Int J Epidemiol* 44(4):1364-87, 2015.
100. Maes M, Galecki P, Chang YS, Berk M. A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro)degenerative processes in that illness. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 35(3):676-92, 2011.
101. Seo JS, Park JY, Choi J, Kim TK, Shin JH, Lee JK, Han PL. NADPH oxidase mediates depressive behavior induced by chronic stress in mice *J Neurosci* 32(28):9690-9, 2012.
102. Herbet M, Izdebska M, Piątkowska-Chmiel I, Gawrońska-Grzywacz M, Natarska-Chomicka D, Pawłowski K, Sysa M, Ślaska B, Dudka J. α -Tocopherol Ameliorates Redox Equilibrium and Reduces Inflammatory Response Caused by Chronic Variable Stress. *Biomed Res Int* 2018:7210783, 2018.
103. Herbet M, Szumelda I, Piątkowska-Chmiel I, Gawrońska-Grzywacz M, Dudka J. Beneficial effects of combined administration of fluoxetine and mitochondria-targeted antioxidant at in behavioural and molecular studies in mice model of depression. *Behav Brain Res* 405:113185, 2021.
104. Herbet M, Natarska-Chomicka D, Ostrowska M, Gawrońska-Grzywacz M, Izdebska M, Piątkowska-Chmiel I, Korga A, Wróbel A, Dudka J. Edaravone presents antidepressant-like activity in corticosterone model of depression in mice with possible role of Fkbp5, Comt, Adora1 and Slc6a15 genes. *Toxicol Appl Pharmacol* 380:114689, 2019.
105. Şimşek Ş, Yüksel T, Kaplan İ, Uysal C, Aktaş H. The levels of cortisol and oxidative stress and DNA damage in child and adolescent victims of sexual abuse with or without post-traumatic stress disorder. *Psychiatry Investig* 13(6):616-621, 2016.
106. Vaváková M, Ďuračková Z, Trebatická J. Markers of oxidative stress and neuroprogression in depression disorder. *Oxid Med Cell Longev* 2015:898393, 2015.

107. Sacher J, Rekkas PV, Wilson AA, Houle S, Romano L, Hamidi J, Rusjan P, Fan I, Stewart DE, Meyer JH. Relationship of monoamine oxidase-A distribution volume to postpartum depression and postpartum crying. *Neuropsychopharmacology* 40(2):429-35, 2015.
108. Feng Z, Hu W, Marnett LJ, Tang MS. Malondialdehyde, a major endogenous lipid peroxidation product, sensitizes human cells to UV- and BPDE-induced killing and mutagenesis through inhibition of nucleotide excision repair. *Mutat Res* 601(12):125-36, 2006.
109. Sivonová M, Zitnanová I, Hlincíková L, Skodáček I, Trebatická J, Duracková Z. Oxidative stress in university students during examinations, *Stress* 7(3):183-8, 2004.
110. Khanzode SD, Dakhale GN, Khanzode SS, Saoji A, Palasodkar R. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. *Redox Rep* 8(6):365-70, 2003.
111. Gałecki P, Szemraj J, Bieńkiewicz M, Zboralski K, Gałecka E. Oxidative stress parameters after combined fluoxetine and acetylsalicylic acid therapy in depressive patients. *Hum Psychopharmacol* 24(4):277-86, 2009.
112. Trzeciak P, Herbert M. Role of the intestinal microbiome, intestinal barrier and psychobiotics in depression. *Nutrients* 13(3):927, 2021.
113. Shimizu E, Hashimoto K, Okamura N, Koike K, Komatsu N, Kumakiri C, Nakazato M, Watanabe H, Shinoda N, Okada S, Iyo M. Alterations of serum levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in depressed patients with or without antidepressants. *Biol Psychiatry* 54(1):70-5, 2003.
114. Rajkowska G. Postmortem studies in mood disorders indicate altered numbers of neurons and glial cells. *Biol Psychiatry* 48(8):766-77, 2000.
115. Sheline YI, Sanghavi M, Mintun MA, Gado MH. Depression duration but not age predicts hippocampal volume loss in medically healthy women with recurrent major depression. *J Neurosci* 19(12):5034-43, 1999.
116. Andreska T, Aufmkolk S, Sauer M, Blum R. High abundance of BDNF within glutamatergic presynapses of cultured hippocampal neurons. *Front Cell Neurosci* 8:107, 2014.

117. Clarke LE, Liddelow SA, Chakraborty C, Münch AE, Heiman M, Barres BA. Normal aging induces A1-like astrocyte reactivity. *Proc Natl Acad Sci USA* 115(8):E1896-E1905, 2018.
118. Parkhurst CN, Yang G, Ninan I, Savas JN, Yates JR 3rd, Lafaille JJ, Hempstead BL, Littman DR, Gan WB. Microglia promote learning-dependent synapse formation through brain-derived neurotrophic factor. *Cell* 155(7):1596-609, 2013.
119. Pius-Sadowska E, Machaliński B. BDNF- A key player in cardiovascular system. *J Mol Cell Cardiol* 110:54-60, 2017.
120. Anders QS, Ferreira LVB, Rodrigues LCM, Nakamura-Palacios EM. BDNF mRNA Expression in Leukocytes and Frontal Cortex Function in Drug Use Disorder. *Front Psychiatry* 11:469, 2020.
121. Amadio P, Sandrini L, Ieraci A, Tremoli E, Barbieri SS. Effect of clotting duration and temperature on BDNF measurement in human serum. *Int J Mol Sci* 18(9):1987, 2017.
122. Klein AB, Williamson R, Santini MA, Clemmensen C, Ettrup A, Rios M, Knudsen GM, Aznar S. Blood BDNF concentrations reflect brain-tissue BDNF levels across species. *Int J Neuropsychopharmacol* 14(3):347-53, 2011.
123. Mondal AC, Fatima M. Direct and indirect evidences of BDNF and NGF as key modulators in depression: role of antidepressants treatment. *Int J Neurosci* 129(3):283-296, 2019.
124. Pandey GN, Ren X, Rizavi HS, Conley RR, Roberts RC, Dwivedi Y. Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor signalling in post-mortem brain of teenage suicide victims. *Int J Neuropsychopharmacol* 11(8):1047-61, 2008.
125. Castrén E, Rantamäki T. The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: Reactivation of developmental plasticity. *Dev Neurobiol* 70(5):289-97, 2010.
126. Crispino M, Volpicelli F, Perrone-Capano C. Role of the serotonin receptor 7 in brain plasticity: From development to disease. *Int J Mol Sci* 21(2):505, 2020.

127. Speranza L, Labus J, Volpicelli F, Guseva D, Lacivita E, Leopoldo M, Bellenchi GC, di Porzio U, Bijata M, Perrone-Capano C, Ponimaskin E. Serotonin 5-HT₇ receptor increases the density of dendritic spines and facilitates synaptogenesis in forebrain neurons. *J Neurochem* 141(5):647-661, 2017.
128. Speranza L, Giuliano T, Volpicelli F, De Stefano ME, Lombardi L, Chambery A, Lacivita E, Leopoldo M, Bellenchi GC, di Porzio U, Crispino M, Perrone-Capano C. Activation of 5-HT₇ receptor stimulates neurite elongation through mTOR, Cdc42 and actin filaments Dynamics. *Front Behav Neurosci* 9:62, 2015.
129. Popova NK, Naumenko VS. Neuronal and behavioral plasticity: the role of serotonin and BDNF systems tandem. *Expert Opin Ther Targets* 23(3):227-239, 2019.
130. Tanaka K, Nogawa S, Nagata E, Ito D, Suzuki S, Dembo T, Kosakai A, Fukuuchi Y. Persistent CREB phosphorylation with protection of hippocampal CA1 pyramidal neurons following temporary occlusion of the middle cerebral artery in the rat. *Exp Neurol* 161(2):462-71, 2000.
131. Walton MR, Dragunow I. Is CREB a key to neuronal survival? *Trends Neurosci* 23(2):48-53, 2000.
132. Ravindran S, Nalavadi VC, Muddashetty RS. BDNF induced translation of limk1 in developing neurons regulates dendrite growth by fine-tuning cofilin1 activity. *Front Mol Neurosci* 12:64, 2019.
133. Cingolani LA, Goda Y. Actin in action: the interplay between the actin cytoskeleton and synaptic efficacy. *Nat Rev Neurosci* 9(5):344-56, 2008.
134. Spencer JL, Waters EM, Milner TA, McEwen BS. Estrous cycle regulates activation of hippocampal Akt, LIM kinase, and neurotrophin receptors in C57BL/6 mice. *Neuroscience* 155(4):1106-19, 2008.
135. Deng Y, Wei J, Cheng J, Zhong P, Xiong Z, Liu A, Lin L, Chen S, Yan Z. Partial amelioration of synaptic and cognitive deficits by inhibiting cofilin dephosphorylation in an animal model of alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 53(4):1419-32, 2016.
136. Wang JQ, Mao L. The ERK Pathway: Molecular mechanisms and treatment of depression. *Mol Neurobiol* 56(9):6197-6205, 2019.

137. Popoli M, Yan Z, McEwen BS, Sanacora G. The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci* 13(1):22-37, 2011.
138. McEwen BS, Eiland L, Hunter RG, Miller MM. Stress and anxiety: structural plasticity and epigenetic regulation as a consequence of stress. *Neuropharmacology* 62(1):3-12, 2012.
139. Morrison JH, Baxter MG. The ageing cortical synapse: hallmarks and implications for cognitive decline. *Nat Rev Neurosci* 13(4):240-50, 2012.
140. Bath KG, Schilit A, Lee FS. Stress effects on BDNF expression: Effects of age, sex, and form of stress. *Neuroscience* 239:149-56, 2013.
141. Sohrabji F, Miranda RC, Toran-Allerand CD. Identification of a putative estrogen response element in the gene encoding brain-derived neurotrophic factor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 92(24):11110-4, 1995.
142. Singh M, Meyer EM, Simpkins JW. The effect of ovariectomy and estradiol replacement on brain-derived neurotrophic factor messenger ribonucleic acid expression in cortical and hippocampal brain regions of female Sprague-Dawley rats. *Endocrinology* 136(5):2320-4, 1995.
143. Chao MV, Rajagopal R, Lee FS. Neurotrophin signalling in health and disease. *Clin Sci (Lond)* 110(2):167-73, 2006.
144. Reichardt LF. Neurotrophin-regulated signalling pathways *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 361(1473):1545-64, 2006.
145. Cross MJ, Dixelius J, Matsumoto T, Claesson-Welsh L. VEGF-receptor signal transduction. *Trends Biochem Sci* 28(9):488-94, 2003.
146. Moi P, Chan K, Asunis I, Cao A, Kan YW. Isolation of NF-E2-related factor 2 (Nrf2), a NF-E2-like basic leucine zipper transcriptional activator that binds to the tandem NF-E2/AP1 repeat of the beta-globin locus control region. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91(21):9926-30, 1994.
147. Kobayashi A, Kang MI, Okawa H, Ohtsui M, Zenke Y, Chiba T, Igarashi K, Yamamoto M. Oxidative stress sensor Keap1 functions as an adaptor for Cul3-based E3 ligase to regulate proteasomal degradation of Nrf2. *Mol Cell Biol* 24(16):7130-9, 2004.

148. Bouvier E, Brouillard F, Molet J, Claverie D, Cabungcal JH, Cresto N, Doligez N, Rivat C, Do KQ, Bernard C, Benoliel JJ, Becker C. Nrf2-dependent persistent oxidative stress results in stress-induced vulnerability to depression. *Mol Psychiatry* 22(12):1701-1713, 2017.
149. Rojo AI, Sagarra MR, Cuadrado A. GSK-3 β down-regulates the transcription factor Nrf2 after oxidant damage: relevance to exposure of neuronal cells to oxidative stress. *J Neurochem* 105(1):192-202, 2008.
150. Hacioglu G, Senturk A, Ince I, Alver A. Assessment of oxidative stress parameters of brain-derived neurotrophic factor heterozygous mice in acute stress model. *Iran J Basic Med Sci* 19(4):388-93, 2016.
151. Mendez-David I, Tritschler L, Ali ZE, Damiens MH, Pallardy M, David DJ, Kerdine-Römer S, Gardier AM. Nrf2-signaling and BDNF: A new target for the antidepressant-like activity of chronic fluoxetine treatment in a mouse model of anxiety/depression. *Neurosci Lett* 597:121-6, 2015.
152. Ramsey CP, Glass CA, Montgomery MB, Lindl KA, Ritson GP, Chia LA, Hamilton RL, Chu CT, Jordan-Sciutto KL. Expression of Nrf2 in neurodegenerative diseases. *J Neuropathol Exp Neurol* 66(1):75-85, 2007.
153. Habas A, Hahn J, Wang X, Margeta M. Neuronal activity regulates astrocytic Nrf2 signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 110(45):18291-6, 2013.
154. Baxter PS, Hardingham GE. Adaptive regulation of the brain's antioxidant defences by neurons and astrocytes. *Free Radic Biol Med* 100:147-152, 2016.
155. Yao W, Zhang JC, Ishima T, Dong C, Yang C, Ren Q, Ma M, Han M, Wu J, Suganuma H, Ushida Y, Yamamoto M, Hashimoto K. Role of Keap1-Nrf2 signaling in depression and dietary intake of glucoraphanin confers stress resilience in mice. *Sci Rep* 6:30659, 2016.
156. Freitas AE, Egea J, Buendia I, Gómez-Rangel V, Parada E, Navarro E, Casas AI, Wojnicz A, Ortiz JA, Cuadrado A, Ruiz-Nuño A, Rodrigues ALS, Lopez MG. Agmatine, by Improving Neuroplasticity Markers and Inducing Nrf2, Prevents Corticosterone-Induced Depressive-Like Behavior in Mice. *Mol Neurobiol* 53(5):3030-3045, 2016.

- 157.Hashimoto K. Essential Role of Keap1-Nrf2 signaling in mood disorders: Overview and future perspective. *Front Pharmacol* 9:1182, 2018.
- 158.Goetz DH, Holmes MA, Borregaard N, Bluhm ME, Raymond KN, Strong RK. The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol Cell* 10(5):1033-43, 2002.
- 159.Flower DR. The lipocalin protein family: structure and function. *Biochem J* 318:1-14, 1996.
- 160.Kehrer JP. Lipocalin-2: pro- or anti-apoptotic? *Cell Biol Toxicol* 26(2):83-9, 2010.
- 161.Biessels GJ, Reagan LP. Hippocampal insulin resistance and cognitive dysfunction. *Nat Rev Neurosci* 16(11):660-71, 2015.
- 162.Xiang Q, Zhang J, Li CY, Wang Y, Zeng MJ, Cai ZX, Tian RB, Jia W, Li XH. Insulin resistance-induced hyperglycemia decreased the activation of Akt/CREB in hippocampus neurons: Molecular evidence for mechanism of diabetes-induced cognitive dysfunction. *Neuropeptides* 54:9-15, 2015.
- 163.Ma L, Wang J, Li Y. Insulin resistance and cognitive dysfunction. *Clin Chim Acta* 444:18-23, 2015.
- 164.Lee S, Lee J, Kim S, Park JY, Lee WH, Mori K, Kim SH, Kim IK, Suk K. A dual role of lipocalin 2 in the apoptosis and deramification of activated microglia. *J Immunol* 179(5):3231-41, 2007.
- 165.Lee S, Park JY, Lee WH, Kim H, Park HC, Mori K, Suk K., Lipocalin-2 is an autocrine mediator of reactive astrocytosis. *J Neurosci* 29(1):234-49, 2009.
- 166.Jeon S, Jha MK, Ock J, Seo J, Jin M, Cho H, Lee WH, Suk K. Role of lipocalin-2-chemokine axis in the development of neuropathic pain following peripheral nerve injury, *J Biol Chem*. 288(33):24116-27, 2013.
- 167.Lin HH, Liao CJ, Lee YC, Hu KH, Meng HW, Chu ST. Lipocalin-2-induced cytokine production enhances endometrial carcinoma cell survival and migration. *Int J Biol Sci* 7(1):74-86, 2011.
- 168.Jha MK, Lee S, Park DH, Kook H, Park KG, Lee IK, Suk K. Diverse functional roles of lipocalin-2 in the central nervous system. *Neurosci Biobehav Rev* 49:135-56, 2015.

169. Berard JL, Zarruk JG, Arbour N, Prat A, Yong VW, Jacques FH, Akira S, David S. Lipocalin 2 is a novel immune mediator of experimental autoimmune encephalomyelitis pathogenesis and is modulated in multiple sclerosis. *Glia* 60(7):1145-59, 2012.
170. Naudé PJ, Nyakas C, Eiden LE, Ait-Ali D, van der Heide R, Engelborghs S, Luiten PG, De Deyn PP, den Boer JA, Eisel UL. Lipocalin 2: novel component of proinflammatory signaling in Alzheimer's disease. *FASEB J* 26(7):2811-23, 2012.
171. Lee S, Park JY, Lee WH, Kim H, Park HC, Mori K, Suk K. Lipocalin-2 is an autocrine mediator of reactive astrogliosis. *J Neurosci* 29(1):234-49, 2009.
172. Lee S, Lee J, Kim S, Park JY, Lee WH, Mori K, Kim SH, Kim IK, Suk K. A dual role of lipocalin 2 in the apoptosis and debranching of activated microglia. *J Immunol* 179(5):3231-41, 2007.
173. Lee S, Lee WH, Lee MS, Mori K, Suk K. Regulation by lipocalin-2 of neuronal cell death, migration, and morphology. *J Neurosci Res* 90(3):540-50, 2012.
174. Skrzypiec AE, Shah RS, Schiavon E, Baker E, Skene N, Pawlak R, Mucha M. Stress-induced lipocalin-2 controls dendritic spine formation and neuronal activity in the amygdala. *PLoS One* 8(4):e61046, 2013.
175. Dekens DW, Eisel ULM, Gouwleeuw L, Schoemaker RG, De Deyn PP, Naudé PJW. Lipocalin 2 as a link between ageing, risk factor conditions and age-related brain diseases. *Ageing Res Rev* 70:101414, 2021.
176. Zhang J, Novakovic N, Hua Y, Keep RF, Xi G. Role of lipocalin-2 in extracellular peroxiredoxin 2-induced brain swelling, inflammation and neuronal death. *Exp Neurol* 335:113521, 2021.
177. Mike EV, Makinde HM, Gulinello M, Vanarsa K, Herlitz L, Gadhvi G, Winter DR, Mohan C, Hanly JG, Mok CC, Cuda CM, Putterman C. Lipocalin-2 is a pathogenic determinant and biomarker of neuropsychiatric lupus. *J Autoimmun* 96:59-73, 2019.

178. Song, E., Jahng, J. W., Chong, L. P., Sung, H. K., Han, M., Luo, C., Wu, D., Boo, S., Hinz, B., Cooper, M. A., Robertson, A. A., Berger, T., Mak, T. W., George, I., Schulze, P. C., Wang, Y., Xu, A., & Sweeney, G. Lipocalin-2 induces NLRP3 inflammasome activation via HMGB1 induced TLR4 signaling in heart tissue of mice under pressure overload challenge. *American Journal of Translational Research* 9(6):2723–2735, 2017.
179. Mucha M, Skrzypiec AE, Schiavon E, Attwood BK, Kucerova E, Pawlak R. Lipocalin-2 controls neuronal excitability and anxiety by regulating dendritic spine formation and maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108(45):18436-41, 2011.
180. Ferreira AC, Dá Mesquita S, Sousa JC, Correia-Neves M, Sousa N, Palha JA. Marques F. From the periphery to the brain: Lipocalin-2, a friend or foe? *Prog Neurobiol* 131:120-36, 2015.
181. File SE, Kenny PJ, Cheeta S. The role of the dorsal hippocampal serotonergic and cholinergic systems in the modulation of anxiety. *Pharmacol Biochem Behav* 66(1):65-72, 2000.
182. Dunn JD, Orr SE. Differential plasma corticosterone responses to hippocampal stimulation. *Exp Brain Res* 54(1):1-6, 1984.
183. McEwen BS, Milner TA. Understanding the broad influence of sex hormones and sex differences in the brain. *J Neurosci Res* 95(1-2):24-39, 2017.
184. Conrad CD. What is the functional significance of chronic stress-induced CA3 dendritic retraction within the hippocampus? *Behav Cogn Neurosci Rev* 5(1):41-60, 2006.
185. McEwen BS. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res* 886(1-2):172-189, 2000.
186. Bell GI, Sanchez-Pescador R, Laybourn PJ, Najarian RC. Exon duplication and divergence in the human preproglucagon gene. *Nature* 304(5924):368-71, 1983.
187. Heinrich G, Gros P, Habener JF. Glucagon gene sequence. Four of six exons encode separate functional domains of rat pre-proglucagon. *J Biol Chem* 259(22):14082-7, 1984.
188. Holst JJ, Bersani M, Johnsen AH, Kofod H, Hartmann B, Orskov C. Proglucagon processing in porcine and human pancreas. *J Biol Chem* 269(29):18827-33, 1994.

189. Baggio LL, Drucker DJ. Biology of incretins: GLP-1 and GIP. *Gastroenterology* 132(6):2131-57, 2007.
190. Thorens B. Expression cloning of the pancreatic beta cell receptor for the glucorecretin hormone glucagon-like peptide 1, *Proc Natl Acad Sci U S A* 89(18):8641-5, 1992.
191. Orskov C. Glucagon-like peptide-1, a new hormone of the entero-insular axis. *Diabetologia* 35(8):701-11, 1992.
192. Hansotia T, Drucker DJ. GIP and GLP-1 as incretin hormones: lessons from single and double incretin receptor knockout mice. *Regul Pept* 128(2):125-34, 2005.
193. Pabreja K, Mohd MA, Koole C, Wootten D, Furness SG. Molecular mechanisms underlying physiological and receptor pleiotropic effects mediated by GLP-1R activation. *Br J Pharmacol* 171(5):1114-28, 2014.
194. Rowlands J, Heng J, Newsholme P, Carlessi R. Pleiotropic Effects of GLP-1 and Analogs on Cell Signaling, Metabolism, and Function. *Front Endocrinol (Lausanne)* 9:672, 2018.
195. Belza A, Ritz C, Sørensen MQ, Holst JJ, Rehfeld JF, Astrup A. Contribution of gastroenteropancreatic appetite hormones to protein-induced satiety. *Am J Clin Nutr* 97(5):980-9, 2013.
196. Gribble FM, Reimann F. Signalling in the gut endocrine axis. *Physiol Behav* 176:183-188, 2017.
197. Drucker DJ, Philippe J, Mojsov S, Chick WL, Habener JF. Glucagon-like peptide I stimulates insulin gene expression and increases cyclic AMP levels in a rat islet cell line. *Proc Natl Acad Sci U S A* 84(10):3434-8, 1987.
198. Kang G, Chepurny OG, Malester B, Rindler MJ, Rehmann H, Bos JL, Schwede F, Coetzee WA, Holz GG. CAMP sensor Epac as a determinant of ATP-sensitive potassium channel activity in human pancreatic beta cells and rat INS-1 cells. *J Physiol* 573:595-609, 2006.

199. Nakazaki M, Crane A, Hu M, Seghers V, Ullrich S, Aguilar-Bryan L, Bryan J. cAMP-activated protein kinase-independent potentiation of insulin secretion by cAMP is impaired in SUR1 null islets. *Diabetes* 51(12):3440-9, 2002.
200. Holz GG 4th, Kühtreiber WM, Habener JF. Pancreatic beta-cells are rendered glucose-competent by the insulinotropic hormone glucagon-like peptide-1(7-37). *Nature* 361(6410):362-5, 1993.
201. Alhadeff AL, Baird JP, Swick JC, Hayes MR, Grill HJ. Glucagon-like Peptide-1 receptor signaling in the lateral parabrachial nucleus contributes to the control of food intake and motivation to feed. *Neuropsychopharmacology* 39(9):2233-43, 2014.
202. Richard JE, Farkas I, Anesten F, Anderberg RH, Dickson SL, Gribble FM, Reimann F, Jansson JO, Liposits Z, Skibicka KP. GLP-1 receptor stimulation of the lateral parabrachial nucleus reduces food intake: neuroanatomical, electrophysiological, and behavioral evidence. *Endocrinology* 155(11):4356-67, 2014.
203. Campos CA, Bowen AJ, Schwartz MW, Palmiter RD. Parabrachial CGRP Neurons Control Meal Termination. *Cell Metab* 23(5):811-20, 2016.
204. Sternson SM, Eiselt AK. Three Pillars for the Neural Control of Appetite. *Annu Rev Physiol* 79:401-423, 2017.
205. Reiner DJ, Mietlicki-Baase EG, McGrath LE, Zimmer DJ, Bence KK, Sousa GL, Konanur VR, Krawczyk J, Burk DH, Kanoski SE, Hermann GE, Rogers RC, Hayes MR. Astrocytes Regulate GLP-1 Receptor-Mediated Effects on Energy Balance. *J Neurosci* 36(12):3531-40, 2016.
206. Beiroa D, Imbernon M, Gallego R, Senra A, Herranz D, Villarroya F, Serrano M, Fernø J, Salvador J, Escalada J, Dieguez C, Lopez M, Frühbeck G, Nogueiras R. GLP-1 agonism stimulates brown adipose tissue thermogenesis and browning through hypothalamic AMPK. *Diabetes* 63(10):3346-58, 2014.
207. Heppner KM, Baquero AF, Bennett CM, Lindsley SR, Kirigiti MA, Bennett B, Bosch MA, Mercer AJ, Rønnekleiv OK, True C, Grove KL, Smith MS. GLP-1R Signaling Directly Activates Arcuate Nucleus Kisspeptin Action in Brain Slices but Does not Rescue Luteinizing Hormone Inhibition in Ovariectomized Mice During Negative Energy Balance. *eNeuro* 4(1):0198-16.2016, 2017.

208. Fusco S, Pani G. Brain response to calorie restriction. *Cell Mol Life Sci* 70(17):3157-70, 2013.
209. Fusco S, Maulucci G, Pani G., Sirt1: def-eating senescence? *Cell Cycle* 11(22):4135-46, 2012.
210. Jeong H, Cohen DE, Cui L, Supinski A, Savas JN, Mazzulli JR, Yates JR 3rd, Bordone L, Guarente L, Krainc D. Sirt1 mediates neuroprotection from mutant huntingtin by activation of the TORC1 and CREB transcriptional pathway. *Nat Med* 18(1):159-65, 2011.
211. Fusco S, Ripoli C, Podda MV, Ranieri SC, Leone L, Toietta G, McBurney MW, Schütz G, Riccio A, Grassi C, Galeotti T, Pani G. A role for neuronal cAMP responsive-element binding (CREB)-1 in brain responses to calorie restriction. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109(2):621-6, 2012.
212. Gault VA, Hölscher C. GLP-1 agonists facilitate hippocampal LTP and reverse the impairment of LTP induced by beta-amyloid. *Eur J Pharmacol* 587(1-3):112-7, 2008.
213. Abbas T, Faivre E, Hölscher C. Impairment of synaptic plasticity and memory formation in GLP-1 receptor KO mice: Interaction between type 2 diabetes and Alzheimer's disease. *Behav Brain Res* 205(1):265-71, 2009.
214. Beumer W, Drexhage RC, De Wit H, Versnel MA, Drexhage HA, Cohen D. Increased level of serum cytokines, chemokines and adipokines in patients with schizophrenia is associated with disease and metabolic syndrome *Psychoneuroendocrinology* 37(12):1901-11, 2012.
215. Warren MW, Hynan LS, Weiner MF. Lipids and adipokines as risk factors for Alzheimer's disease. *J Alzheimers Dis* 29(1):151-7, 2012.
216. Ahima RS, Flier JS. Leptin. *Annu Rev Physiol* 62:413-37, 2000.
217. Rybakowski F, Slopian A, Tyszkiewicz-Nwafor M. Inverse relationship between leptin increase and improvement in depressive symptoms in anorexia nervosa. *Neuro Endocrinol Lett* 35(1):64-7, 2014.
218. Lehto SM, Huotari A, Niskanen L, Tolmunen T, Koivumaa-Honkanen H, Honkalampi K, Ruotsalainen H, Herzig KH, Viinamäki H, Hintikka J. Serum adiponectin and resistin levels in major depressive disorder. *Acta Psychiatr Scand* 121(3):209-15, 2010.

- 219.Cohn TA, Remington G, Zipursky RB, Azad A, Connolly P, Wolever TM. Insulin resistance and adiponectin levels in drug-free patients with schizophrenia: A preliminary report. *Can J Psychiatry* 51(6):382-6, 2006.
- 220.Lo Sauro C, Ravaldi C, Cabras PL, Faravelli C, Ricca V. Stress, hypothalamic-pituitary-adrenal axis and eating disorders. *Neuropsychobiology* 57(3):95-115, 2008.
- 221.Franklin RM, Ploutz-Snyder L, Kanaley JA. Longitudinal changes in abdominal fat distribution with menopause. *Metabolism* 58(3):311-5, 2009.
- 222.Phillips GB, Jing T, Heymsfield SB. Does insulin resistance, visceral adiposity, or a sex hormone alteration underlie the metabolic syndrome? *Studies in Women. Metabolism* 57(6):838-44, 2008.
- 223.Tom SE, Cooper R, Patel KV, Guralnik JM. Menopausal characteristics and physical functioning in older adulthood in the National Health and Nutrition Examination Survey III. *Menopause* 19(3):283-9, 2012.
- 224.Santen RJ, Allred DC, Ardoin SP, Archer DF, Boyd N, Braunstein GD, Burger HG, Colditz GA, Davis SR, Gambacciani M, Gower BA, Henderson VW, Jarjour WN, Karas RH, Kleerekoper M, Lobo RA, Manson JE, Marsden J, Martin KA, Martin L, Pinkerton JV, Rubinow DR, Teede H, Thiboutot DM, Utian WH. Postmenopausal hormone therapy: an Endocrine Society scientific statement. *J Clin Endocrinol Metab* 95(7 Suppl 1):s1-s66, 2010.
- 225.Margolis KL, Bonds DE, Rodabough RJ, Tinker L, Phillips LS, Allen C, Bassford T, Burke G, Torrens J, Howard BV. Women's Health Initiative Investigators. Effect of oestrogen plus progestin on the incidence of diabetes in postmenopausal women: results from the Women's Health Initiative Hormone Trial. *Diabetologia* 47(7):1175-1187, 2004.
- 226.Mattiasson I, Rendell M, Törnquist C, Jeppsson S, Hulthén UL. Effects of estrogen replacement therapy on abdominal fat compartments as related to glucose and lipid metabolism in early postmenopausal women. *Horm Metab Res* 34(10):583-8, 2002.
- 227.Xiong Q, Hu X, Xu Y, Zhang X, Pan X, Xiao Y, Ma X, Bao Y, Jia W. Association of visceral fat area with the presence of depressive symptoms in Chinese postmenopausal women with normal glucose tolerance. *Menopause* 24(11):1289-1294, 2017.

228. Onyike CU, Crum RM, Lee HB, Lyketsos CG, Eaton WW. Is obesity associated with major depression? Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Epidemiol* 158:1139–1147, 2003.
229. Ma J, Xiao L. Obesity and depression in US women: results from the 2005-2006 National Health and Nutritional Examination Survey Obesity (Silver Spring) 18:347–353, 2010.
230. Rivenes AC, Harvey SB, Mykletun A. The relationship between abdominal fat, obesity and common mental disorders: results from the HUNT study. *J Psychosom Res* 66:269–275, 2009.
231. Chang HH, Yen ST. Association between obesity and depression: evidence from a longitudinal sample of the elderly in Taiwan. *Aging Ment Health* 16:173–180, 2012.
232. Jasienska G, Ziomkiewicz A, Górkiewicz M, Pajak A. Body mass, depressive symptoms and menopausal status: an examination of the "Jolly Fat" hypothesis. *Womens Health Issues* 15(3):145-51, 2005.
233. Lee ES, Kim YH, Beck SH, Lee S, Oh SW. Depressive mood and abdominal fat distribution in overweight premenopausal women. *Obes Res* 13(2):320-5, 2005.
234. Everson-Rose SA, Lewis TT, Karavolos K, Dugan SA, Wesley D, Powell LH. Depressive symptoms and increased visceral fat in middle-aged women. *Psychosom Med* 71(4):410-6, 2009.
235. Murabito JM, Massaro JM, Clifford B, Hoffmann U, Fox CS. Depressive symptoms are associated with visceral adiposity in a community-based sample of middle-aged women and men. *Obesity (Silver Spring)* 21(8):1713-9, 2013.
236. Porsolt RD, Pichon ML, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 266:730-732, 1977.
237. Browne RG. Effects of antidepressants and anticholinergics in a mouse "behavioral despair" test. *Eur J Pharmacol* 58:331-334, 1979.
238. Unal G, Canbeyli R. Psychomotor retardation in depression: A critical measure of the forced swim test. *Behavioural Brain Research*. 372:112047, 2019
239. M.J. Detke, M. Rickels, I. Lucki, Active behaviors in the rat forced swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants, *Psychopharmacology (Berl.)*, 121, pp. 66-72, 1995.

240. Hall CS. Emotional behavior in the rat. I. Defecation and urination as measures of individual differences in emotionality. *J Comp Psychol* 18:385–403, 1934.
241. Tatem KS, Quinn JL, Phadke A, Yu Q, Gordish-Dressman H, Nagaraju K. Behavioral and locomotor measurements using an open field activity monitoring system for skeletal muscle diseases. *J Vis Exp* 91:51785, 2014
242. 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* 14:149–167, 1985.
243. Barnett SA. *The Rat—A Study in Behavior*. Revised edition. pp 318, Univ. Chicago Press; Chicago, USA, 1975.
244. Casini AF, Ferrali M, Pompella A, Maellaro E, Comporti M. Lipid peroxidation and cellular damage in extrahepatic tissues of bromobenzene-intoxicated mice. *Am J Pathol* 123(3):520–31, 1986.
245. Aykaç G, Uysal M, Süha Yalçın A, Koçak-Toker N, Sivas A, Öz H. The effect of chronic ethanol ingestion on hepatic lipid peroxide, glutathione, glutathione peroxidase and glutathione transferase in rats. *Toxicology* 36(1):71–6, 1985.
246. Phung TK, Waltoft BL, Laursen TM, Settnes A, Kessing LV, Mortensen PB, Waldemar G. Hysterectomy, oophorectomy and risk of dementia: a nationwide historical cohort study. *Dement Geriatr Cogn Disord* 30:43-50, 2010.
247. Mehranfard D, Linares A, Chabbra A, et al. Preliminary study of ovariectomy and chronic losartan-induced alterations in brain AT1 receptors. *Brain Res* 1766:147520, 2021.
248. Campos GV, de Souza AMA, Ji H, West CA, Wu X, Lee DL, Aguilar BL, Forcelli PA, de Menezes RC, Sandberg K. The Angiotensin Type 1 Receptor Antagonist Losartan Prevents Ovariectomy-Induced Cognitive Dysfunction and Anxiety-Like Behavior in Long Evans Rats. *Cell Mol Neurobiol* 40:407-420, 2020.
249. Abd-Rabo MM, Georgy GS, Saied NM, Hassan WA. Involvement of the serotonergic system and neuroplasticity in the antidepressant effect of curcumin in ovariectomized rats: Comparison with oestradiol and fluoxetine. *Phytother Res* 33: 387-396, 2019.
250. Archer DF, Oger E. Estrogen and progestogen effect on venous thromboembolism in menopausal women. *Climacteric* 15:235-240, 2012.

251. Antoine C, Ameye L, Paesmans M, Rozenberg S. Treatment of climacteric symptoms in breast cancer patients: A retrospective study from a medication databank. *Maturitas* 78:228-32, 2014.
252. Machado MMF, Banin RM, Thomaz FM, de Andrade IS, Boldarine VT, de Souza Figueiredo J, Hirata BKS, Oyama LM, Lago JHG, Ribeiro EB, Telles MM. Ginkgo biloba Extract (GbE) Restores Serotonin and Leptin Receptor Levels and Plays an Antioxidative Role in the Hippocampus of Ovariectomized Rats. *Mol Neurobiol* 58:2692-2703, 2021.
253. de Souza AG, Chaves Filho AJM, Souza Oliveira JV, et al. Prevention of pentylenetetrazole-induced kindling and behavioral comorbidities in mice by levetiracetam combined with the GLP-1 agonist liraglutide: Involvement of brain antioxidant and BDNF upregulating properties. *Biomed Pharmacother* 109:429-439, 2019.
254. Djordjevic J, Djordjevic A, Adzic M, Mitic M, Lukic I, Radojcic MB. Alterations in the Nrf2-Keap1 signaling pathway and its downstream target genes in rat brain under stress. *Brain Res* 1602:20-31, 2015.
255. Nader MA, Ateyya H, El-Shafey M, El-Sherbeeney NA. Sitagliptin enhances the neuroprotective effect of pregabalin against pentylenetetrazole-induced acute epileptogenesis in mice: Implication of oxidative, inflammatory, apoptotic and autophagy pathways. *Neurochem Int* 115:11-23, 2018.
256. Djordjevic J, Djordjevic A, Adzic M, Mitic M, Lukic I, Radojcic MB. Alterations in the Nrf2-Keap1 signaling pathway and its downstream target genes in rat brain under stress. *Brain Res* 1602:20-31, 2015.
257. Martín-Hernández D, Bris ÁG, MacDowell KS, García-Bueno B, Madrigal JL, Leza JC, Caso JR. Modulation of the antioxidant nuclear factor (erythroid 2-derived)-like 2 pathway by antidepressants in rats. *Neuropharmacology* 103:79-91, 2016.
258. Martín-de-Saavedra MD, Budni J, Cunha MP, Gómez-Rangel V, Lorrio S, Del Barrio L, Lastres-Becker I, Parada E, Tordera RM, Rodrigues AL, Cuadrado A, López MG. Nrf2 participates in depressive disorders through an anti-inflammatory mechanism. *Psychoneuroendocrinology* 38:2010–2022, 2013.

259. Felger JC, Treadway MT. Inflammation Effects on Motivation and Motor Activity: Role of Dopamine. *Neuropsychopharmacology* 42:216-241, 2017.
260. Weina H, Yuhu N, Christian H, Birong L, Feiyu S, Le W. Liraglutide attenuates the depressive-and anxiety-like behaviour in the corticosterone induced depression model via improving hippocampal neural plasticity. *Brain Res* 1694:55-62, 2018.
261. Filho A, Souza A, Macedo D. Prevention of pentylenetetrazole-induced kindling and behavioral comorbidities in mice by levetiracetam combined with the GLP-1 agonist liraglutide: involvement of brain antioxidant and BDNF upregulating properties. *Biomed Pharmacother* 109:429-439, 2018.
262. Kamble M, Gupta R, Rehan HS, Gupta LK. Neurobehavioral effects of liraglutide and sitagliptin in experimental models. *Eur J Pharmacol* 774:64-70, 2016.
263. Solmaz V, Tekatas A, Erdoğan MA, Erbaş O. Exenatide, a GLP-1 analog, has healing effects on LPS-induced autism model: Inflammation, oxidative stress, gliosis, cerebral GABA, and serotonin interactions. *Int J Dev Neurosci* 80:601-612, 2020.
264. Detke MJ, Lucki I. Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced-swimming test: The effects of water depth. *Behav Brain Res* 73:43-46, 1996.
265. Chen L, Ke Y, Ma H, Gao L, Y. Zhou Y, Zhu H, Liu H, Zhang F, Zhou W. Fluoxetine and Ketamine Reverse the Depressive but Not Anxiety Behavior Induced by Lesion of Cholinergic Neurons in the Horizontal Limb of the Diagonal Band of Broca in Male Rat. *Front Behav Neurosci* 15:602708, 2021.
266. Saied NM, Georgy GS, Hussien RM, Hassan WA. Neuromodulatory effect of curcumin on catecholamine systems and inflammatory cytokines in ovariectomized female rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 48:337-346, 2021.
267. Toffol E, Heikinheimo O, Partonen T. Hormone therapy and mood in perimenopausal and postmenopausal women. *Menopause* 22:564-578, 2015.
268. Najjar F, Ahmad M, Lagace D, Leenen FHH. Sex differences in depression-like behavior and neuroinflammation in rats post-MI: role of estrogens. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 315:1159-1173, 2018.

269. Menze ET, Ezzat H, Shawky S, Sami M, Selim EH, Ahmed S, Maged N, Nadeem N, Eldash S, Michel HE. Simvastatin mitigates depressive-like behavior in ovariectomized rats: Possible role of NLRP3 inflammasome and estrogen receptors' modulation. *Int Immunopharmacol* 95:107582, 2021.
270. Gouweleeuw L, Hovens IB, Liu H, Naudé PJW, Schoemaker RG. Differences in the association between behavior and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in male and female rats after coronary artery ligation. *Physiol Behav* 163:7-16, 2016.
271. Martinowich K, Manji H, Lu B. New insights into BDNF function in depression and anxiety. *Nature Neuroscience* 10:1089–1093, 2007.
272. Li J, He P, Zhang J, Li N. Orcinol glucoside improves the depressive-like behaviors of perimenopausal depression mice through modulating activity of hypothalamic-pituitary-adrenal/ovary axis and activating BDNF- TrkB-CREB signaling pathway. *Phytother Res* 35:5795-5807, 2021.
273. Mohamed SK, Ahmed AAE, El Morsy EM, Nofal S. The protective effect of zeranol in cerebral ischemia reperfusion via p-CREB overexpression. *Life Sci* 217: 212-221, 2019.
274. Palleria C, Leo A, Andreozzi F, Citraro R, Iannone M, Spiga R, Sesti G, Constanti A, De Sarro G, Arturi F, Russo E. Liraglutide prevents cognitive decline in a rat model of streptozotocin-induced diabetes independently from its peripheral metabolic effects. *Behav Brain Res* 321:157-169, 2017.
275. Kamble M, Gupta R, Rehan HS, Gupta LK. Neurobehavioral effects of liraglutide and sitagliptin in experimental models. *Eur J Pharmacol* 774:64-70, 2016.
276. Weina H, Yuhu N, Christian H, Birong L, Feiyu S, Le W. Liraglutide attenuates the depressive-and anxiety-like behaviour in the corticosterone induced depression model via improving hippocampal neural plasticity. *Brain Res* 1694:55-62, 2018.
277. Filho A, Souza A, Macedo D. Prevention of pentylenetetrazole-induced kindling and behavioral comorbidities in mice by levetiracetam combined with the GLP-1 agonist liraglutide: involvement of brain antioxidant and BDNF upregulating properties. *Biomed Pharmacother* 109:429-439, 2018.
278. Smith T, Sahni S, Thacker HL. Postmenopausal Hormone Therapy-Local and Systemic: A Pharmacologic Perspective. *J Clin Pharmacol* 2:S74-S85, 2020.

7.EKLER

Ek 1. Etik Kurul Kararı



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



TOPLANTI TARİHİ : 01/10/2020
TOPLANTI NO : 2020/08

- 1- Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2020-27-01/10 Protokol no'lu "Cerrahi Menopoz Modeli Oluşturulan Genç Dişi Sıçanlarda GLP-1 Agonistinin Depresyon Benzeri Davranışlara Etkisi" konulu çalışmasının Etik Kurul İlkelerine uygun olduğuna,
Oy birliği ile karar verildi.

(ASLI GİBİDİR)

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

8. ÖZGEÇMİŞ

Candan SAĞLAM, ilk okulu Zonguldak Yayla İlköğretim okulunda, orta okulu Zonguldak TED Kolejinde ve lise öğrenimini Zonguldak Atatürk Anadolu Lisesinde tamamlamıştır. 2008 senesinde Uludağ Üniversitesi Veterinerlik Fakültesinden mezun olduktan sonra Edirne'nin Süloğlu ilçesinde yedek subay olarak askerlik görevini tamamlamıştır. 2009 senesinde C.P. Group firmasında üretim saha şefi olarak çalışmıştır. 2014 senesinde Zonguldak İl Özel İdaresi bünyesinde Veteriner Hekim olarak görev yapmaya başlamış olup, halen bu göreve devam etmektedir. Zonguldak Bülent Ecevit Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji anabilim dalında yüksek lisans öğrenimini sürdürmektedir.