

# Sinaptik Enerji Kaynağı Glikojenin Kullanımının Engellenmesinin Depresyon-benzeri Davranışlara Etkisi



Erknaz Ecehan ERK<sup>1</sup>, Buket Nebiye DEMİR<sup>2</sup>, Hülya KARATAŞ KURŞUN<sup>3</sup>, Müge YEMİŞÇİ ÖZKAN<sup>4</sup>, Turgay DALKARA<sup>5</sup>, Emine EREN KOÇAK<sup>6</sup>

## ÖZET

## ABSTRACT

**Amaç:** Fizyolojik koşullarda astrositler, nöronal aktiviteye bağlı artan sinaptik enerji ihtiyacını karşılamak için laktat üretir. Majör depresyon patofizyolojisinde, bu sürecin bozulduğunu gösteren bulgular ışığında bu çalışmada, dişi ve erkek farelerde perisinaptik astrosit glikojeni kullanımının farmakolojik inhibisyonunun anksiyete-benzeri ve depresyon-benzeri davranışlar üzerindeki etkisinin incelenmesi amaçlandı.

**Yöntem:** Araştırma kapsamında 15 dişi, 14 erkek Swiss albino fareye glikojeni yıkan enzim glikojen fosforilaz inhibitörü DAB (1,4-dideoksi-1,4-imino-D-arabinitol); 15 dişi, 12 erkek Swiss albino fareye ise serum fizyolojik intrahippokampal olarak enjekte edilmiştir. Enjeksiyondan üç ve beş gün sonra, deney hayvanlarının anksiyete-benzeri ve depresyon-benzeri davranışları lökomotor aktivite, açık alan testi, aydınlık-karanlık kutu testi, kuyruktan asma testi ve sükröz tercihi testi ile değerlendirilmiştir.

**Bulgular:** DAB grubu erkek farelerde üçüncü gün ne depresyon-benzeri ne de anksiyete-benzeri davranışlarda kontrollere kıyasla anlamlı bir fark görülmüştür, ancak beşinci gün lökomotor aktivitede ( $p=0,05$ ) ve açık alanda geçirilen sürede ( $p=0,01$ ) artış gözlenmiştir. DAB grubu dişi farelerde de hem üçüncü hem de beşinci günlerde yapılan değerlendirmelerde, erkeklerdeki gibi, depresyon-benzeri ve anksiyete-benzeri davranışlar kontrollere benzer bulunmuştur. Sadece dişi farelerde sükröz tercih testinde toplam tüketilen sıvı içinde sükrözlü suyu tercih etme oranı kontrollere kıyasla ( $p=0,003$ ) daha yüksek bulunmuştur.

**Sonuç:** Hipokampusta glikojen kullanımının inhibisyonu ne dişi ne de erkek farelerde incelenen zaman aralıklarında anksiyete-benzeri ve depresyon-benzeri davranışları etkilemiştir. Deney grubu erkek farelerde açık alanda geçirilen süredeki artış, anksiyete-benzeri davranış ile değil, lökomotor aktivitedeki artışla ilişkilendirilmiştir. Anksiyete-benzeri davranışı değerlendirmekte kullanılan diğer bir test olan aydınlık-karanlık kutu testinde de fark görülmemiş olması bu kanıyı destekler niteliktedir. DAB uygulanan dişi farelerde sükröz tercihi testinde kontrollere kıyasla görülen artış hedonik davranışlarda artış olarak yorumlanabilir. Ancak, kullanılan farmakolojik ajanın glikojen yıkımını engellemesi homeostatik olarak şeker-aşermeyi artırmış, o nedenle sükröz tercihinde artış görülmüş de olabilir. İleri çalışmalarda enerji ve glukoz metabolizmasını hedef alan desenlerde davranışı değerlendirmek amacıyla farklı testlerin ve cerrahiden daha uzak zaman noktalarının seçilmesi daha uygun olabilir.

**Anahtar Sözcükler:** Glikojen, Depresyon-benzeri Davranış, Anksiyete-benzeri Davranış

## The Effect of Inhibition of Perisynaptic Astrocyte Glycogen Utilization on Depression-Like Behavior

**Objective:** Under physiological conditions, astrocytes produce lactate to meet the increased synaptic energy demand due to neuronal activity. In the light of the findings showing that this process is disrupted in the pathophysiology of major depression, the aim of this study is to investigate the effect of pharmacological inhibition of perisynaptic astrocyte glycogen utilization on anxiety-like behavior and depression-like behavior in female and male mice.

**Methods:** In this study, DAB (1,4-dideoxy-1,4-imino-D-arabinitol), which is an inhibitor of glycogen breaking enzyme glycogen phosphorylase, was intrahippocampally administered to 15 female and 14 male Swiss albino mice, while 15 female and 12 male Swiss albino mice received intrahippocampal saline injections. Three and five days after the injections, the anxiety-like and depression-like behaviors of the mice were assessed by locomotor activity, open-field test, light-dark box test, tail suspension test and sucrose preference test.

**Results:** Three days after injection, neither depression-like nor anxiety-like significant behavioral changes were detected in the male experimental group mice compared to the control group; but an increase in locomotor activity ( $p=0.05$ ) and time spent in the open-field ( $p=0.01$ ) were observed on the fifth day. In evaluations of the female experimental group mice on the third and fifth days, depression-like and anxiety-like behaviors were found similar to the control group, as seen in the male mice. The only significant difference in the experimental group female mice was found in the sucrose preference test, which revealed an increased tendency to prefer sucrose ( $p=0.003$ ) compared to the control group.

**Conclusion:** The inhibition of glycogen use in the hippocampus by DAB did not affect anxiety-like and depression-like behaviors 3 and 5 days after injection in both female and male mice. The increase in the time spent in the open-field by male experimental group mice was associated not with anxiety, but with increase in the locomotor activity. The fact that no significant difference was observed in the light-dark box test, which is another test used to evaluate anxiety, supported this opinion. The increase seen in the sucrose preference test in female experimental group mice was not interpreted as an increase in hedonic behavior because prevention of glycogen breakdown in the hypothalamus might have homeostatically increased sugar-craving and therefore resulted in an increase in sucrose preference. Different set of tests better targeting the energy and glucose metabolism and applied at farther time points than surgery are recommended for future studies.

**Keywords:** Glycogen, Depression-like Behavior, Anxiety-like Behavior

**Geliş Tarihi:** 19.07.2022, **Kabul Tarihi:** 19.12.2022, **Çevrimiçi Yayın Tarihi:** 27.10.2023

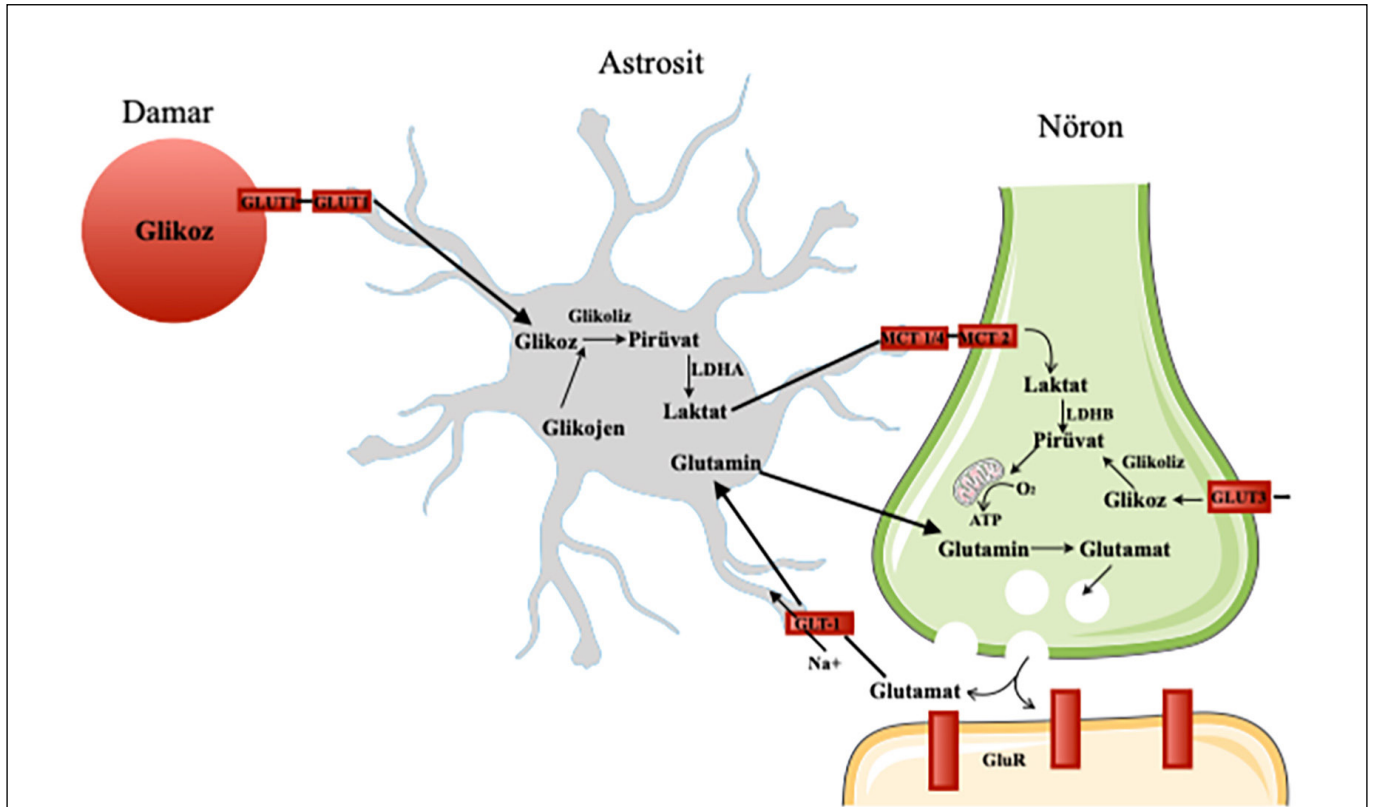
<sup>1</sup>Dr, <sup>2</sup>Öğr. Gör., <sup>3,4,5,6</sup>Prof., Hacettepe Üniv. Nörolojik Bilimler ve Psikiyatri Enstitüsü, Ankara.

**Dr. Emine Eren Koçak, e-posta:** emineerenkokac@gmail.com

## GİRİŞ

Depresyon patofizyolojisinde metabolik süreçlerin ve bu süreçlerde kilit rol oynayan glikojeni depolayan astrositlerin rol oynadığına işaret eden çok sayıda bulgu vardır. Majör depresif bozukluk (MDB) hastalarının beyinlerinde yapılan ölümardı incelemelerde subgenual prefrontal korteks, orbitofrontal korteks, dorsolateral prefrontal korteks, anterior singulat korteks ve amigdalada glial hücre yoğunluğunun azaldığı ortaya konmuştur (Ongur ve ark. 1998, Rajkowska ve ark. 1999, Cotter ve ark. 2001, Bowley ve ark. 2002). Özellikle son otuz yıldaki çalışmalar, astrositlerin sinaptik aktivite ile enerji metabolizmasını eşleştiren aktörler olarak önemini ortaya koymakta, bu eşleşmenin astrosit-nöron laktat mekiği (ANLS, astrocyte-neuron

lactate shuttle) (Kutu 1) ve glikojenolizin tetiklenmesi üzerinden gerçekleştiği düşünülmektedir. Astrositlerin özellikle de artmış enerji ihtiyacına cevap olarak dış ortama verdiği laktatın önemli bir kısmının kaynağının glikojen olduğu belirtilmektedir (Pellerin ve ark. 2007). Beyindeki glikojenin enerji ihtiyacının en fazla olduğu, ancak mitokondriden fakir olan perisinaptik astrosit son ayaklarında lokalize olması bu önermeyi desteklemektedir. Bir başka deyişle, dolaşımdan gelen glukoz önce glikojen olarak depolanmakta ve ihtiyaç olduğunda glikojenden serbestleştirilen glukozdan non-oksidatif olarak enerji üretilmektedir. Bu bulgu PET (Pozitron Emisyon Tomografisi) ve fMRG (Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme) çalışmalarında görülen aktiviteyle oksijenden



### Kutu 1. Astrosit-Nöron Laktat Mekiği (ANLM)

İn vivo ve in vitro biyokimyasal çalışmalar ile görüntüleme çalışmaları, vücutta enerji tüketiminin önemli bir kısmından sorumlu olan sinir sisteminde bu metabolik ihtiyacın ağırlıklı olarak sinapslarda lokalize olduğunu ve sinaptik aktivitenin yerel enerji tedariki ile eşleştirilmesi gerektiğini göstermiştir (Magistretti ve Allaman 2015). Bu bağlamda, eksitator sinaptik iletimle artan enerji ihtiyacının karşılanması için astrositler ve nöronlar arasındaki metabolik kenetlenme ANLM (astrocyte-neuron lactate shuttle, astrosit-nöron laktat mekiği) modeli ile açıklanmaya çalışılmaktadır. Modele göre, glutamaterjik nörotransmisyon sırasında hücre dışı aralıkta konsantrasyonu artan glutamat, astrosit uzantılarındaki özgül glutamat taşıyıcıları tarafından sodyum iyonu (Na<sup>+</sup>) bağımlı bir mekanizmayla geri alınır. Astrosit uzantılarında hücre içi Na<sup>+</sup> konsantrasyonunda görülen artış ise Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPaz'ı aktive ederek ATP tüketimine neden olur. Ayrıca astrositlerde glutamat, geri dönüşümünü sağlamak amacıyla glutamin sentaz tarafından glutamine dönüştürülüp nöronlara geri kazandırılır ve bu döngüde de ATP harcanır. Eksitatuvar sinaptik aktivitenin neden olduğu bu enerji harcayan süreçler, astrositlerin damarlar üzerindeki son ayaklarındaki GLUT1 adlı glukoz taşıyıcı ile kandan glukoz alımını uyarır ve astrosit içine alınan glukozun sinapslara gönderilmek üzere glikolitik yolla laktata çevrilmesini sağlar. Presinaptik terminal ve dendritler tarafından MCT (monocarboxylate transporter, monokarboksilat taşıyıcı) aracılığıyla hücre içine alınan laktat, pirüvata çevrilip trikarboksilik asit döngüsüne girerek enerji üretimi için kullanılır (Pellerin ve Magistretti 1994) (Şekil, Servier Medical Art'ta yer alan görseller kullanılarak hazırlanmıştır. Servier Medical Art, Creative Commons Atıf 3.0 Yerelleştirilmemiş Lisansı altında lisanslanmıştır).

Beynde glikojen metabolizması üzerine yapılan araştırmalar, nöral aktivite sırasında hücre dışı aralıkta biriken potasyum iyonlarının (K<sup>+</sup>) astrosit içerisine girişinin astrositte gerçekleşen glikojen yıkımına bağlı bir hadise olduğunu, glikojenoliz yoluyla enerji eldesi engellendiğinde astrositlerin hücre dışı potasyumu hücre içerisine alımının azaldığını göstermiştir (Xu ve ark. 2013). Benzer bir şekilde, astrosit hücre kültürlerinde yapılan çalışmalar hücre dışı glutamatın astrositler tarafından alınmasının glukoz varlığına rağmen astrosit glikojenine bağımlı olarak gerçekleştiğini ortaya koymuştur (Sickmann ve ark. 2009). Tüm bu bulgular, astrosit uzantılarındaki glikojenolizin sinaptik aktivite sonucu artan hücre dışı K<sup>+</sup> iyonu ve glutamat konsantrasyonunu tamponlayarak sinaptik aktivitenin devamlılığını sağlamada önemli bir rol üstlendiğini göstermektedir.

daha fazla glukoz kullanımını açıklamaktadır (aerobik glikoliz, Warburg etkisi) (Vaishnavi ve ark. 2010).

Astrositlerin sinaptik enerji ihtiyacını karşılamadaki kilit rolü göz önünde bulundurulduğunda MDB hastalarında bildirilen glial kaybın işlevsel önemi daha iyi anlaşılabilir. Nitekim hayvanda depresyonu modellemek için yaygın olarak kullanılan stresin prefrontal kortekste hücre dışı glutamat konsantrasyonunu artırarak astrositlerde glikojenolizi ve sinapslarda kullanılmak üzere laktat üretim ve salınımını tetiklediği gösterilmiştir (Moghaddam 1993, Hascup ve ark. 2010, Musazzi ve ark. 2010, Satoh ve Shimaki 2010, Iwata ve ark. 2016). Bu çalışmalarla uyumlu bir şekilde, hareketi kısıtlama ve ayağa elektrik şoku uygulama gibi psikolojik stresörlerin akut uygulamasının hipokampus, bazolateral amigdala ve medial prefrontal kortekste hücre dışında laktat konsantrasyonunu arttırdığı (Elekes ve ark. 1996, Uehara ve ark. 2003, Uehara ve ark. 2005, Uehara ve ark. 2007, Uehara ve ark. 2013), ancak kronik stres veya kronik kortikosterona maruz kalmanın hipokampal glikojen seviyesinde azalmaya sebep olduğu (Zhang ve ark. 2015) ortaya konmuştur. Bunun yanısıra hipokampusta glikojen sentaz gen ifadesinin azaltılmasının, sıçanlarda astrosit büyüklüğünün azalmasına ve depresyon-benzeri davranışa neden olduğu gösterilmiştir (Zhao ve ark. 2017).

MDB patofizyolojisinde ve antidepresanların etki mekanizmalarında rol alan noradrenalin, glukokortikoidler, serotonin (5HT) ve adozin gibi nöromodülatör moleküller, astrositlerdeki reseptörlerine bağlanarak glikojen döngüsünü düzenleyebilir. Noradrenalin nöronal aktivitenin durgun olduğu dönemlerde  $\alpha$ 2-adrenerjik reseptörlere bağlanarak glikojen sentezini uyarmakta, artmış nörotransmisyon durumunda ise  $\beta$ 1-adrenerjik reseptörler aracılığıyla glikojen yıkımını uyarmaktadır (Hertz ve ark. 2007, O'Donnell ve ark. 2012). Glukokortikoidler ise astrositlerde glikojen yıkımını uyarmakta (Tombaugh ve ark. 1992) ve tip 2 glukokortikoid reseptörleri aracılığıyla noradrenalinin glikojen sentezini tetikleyici etkisini inhibe etmektedir (Allaman ve ark. 2004). Birçok antidepresanın etki mekanizması içinde rolü olan serotonin ise, 5HT-2A ve 5HT-2B reseptörleri aracılığıyla glikojen yıkımını uyarmaktadır (Quach ve ark. 1982, Darvesh ve Gudelsky 2003). Astrosit-nöron metabolik kenetlenmesinde enerji kaynağı olarak kullanılan glikojen, daha önce bahsedildiği üzere sinapslara laktat şeklinde ulaştırılmaktadır. Laktatın antidepresan özellik gösterebileceği ve strese dayanıklılığı artırdığı yönünde çeşitli çalışmalar mevcuttur. Periton içine akut laktat uygulamasının, kemirgenlerde davranışsal umutsuzluk göstergesi olan zorla yüzdürme testinde hareketsiz geçirilen süreyi bir trisiklik antidepresan olan desipramin ile benzer ölçüde azalttığı gösterilmiştir (Carrard ve ark. 2018). Ayrıca, sosyal yenilgi stresi uygulanan hayvanlara stresten dört saat önce periton içine laktat verilmesinin sosyal yenilgi stresine dayanıklılık yarattığı ve anksiyete seviyesini düşürdüğü gözlenmiştir (Karnib ve ark. 2019).

Bu çalışmada, dişi ve erkek farelerde perisinaptik astrosit son ayaklarında glikojen kaynaklı sinaptik enerji tedariki aksatıldığında, anksiyete-benzeri ve depresyon-benzeri davranışların artacağı hipotez edilmiştir. Bu amaçla, glikojenolizin hız kısıtlayıcı basamağı olan glukoz-1-fosfat salınımını katalizleyen glikojen fosforilaz enzimi (Newgard ve ark. 1989), iki taraflı intrahipokampal DAB (1,4-dideoksi-1,4-imino-d-arabinitol) (Walls ve ark. 2008) enjeksiyonu ile inhibe edilerek depresyon-benzeri ve anksiyete-benzeri davranışlara etkileri gözlenmiştir.

## YÖNTEM

Çalışma kapsamında deney grubuna intrahipokampal DAB, kontrol grubuna ise serum fizyolojik enjeksiyonları yapılmış, üç gün sonra enjeksiyonların daha kısa vadedeki etkilerini gözlemleyebilmek amacıyla sırasıyla lökomotor aktivite/açık alan testi, aydınlık-karanlık kutu testi, kuyruktan asma testi ile sükröz tercih testi yapılmıştır. Üçüncü gün davranış testlerinden iki gün sonra ise enjeksiyonun beşinci gündeki davranışa olan etkilerini gözlemek amacıyla aynı testler aynı sırayla uygulanmış, sükröz tercih testi tekrarlanırsa sükrözün ödül değeri azalacağından bu etapta tekrar edilmemiştir.

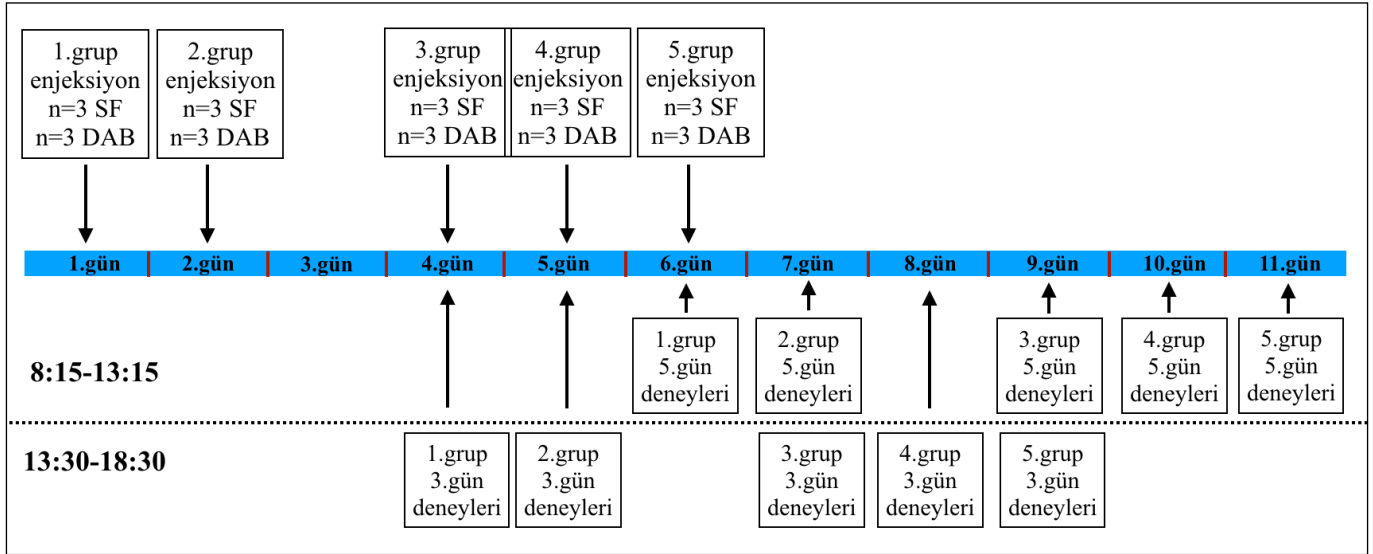
### Kullanılan Hayvanlar ve Barındırma Koşulları

Çalışmada ağırlıkları 25-40 gr arasında değişen 30 adet dişi, 26 adet erkek Swiss albino fare kullanılmış, hayvanlar sıcaklığı  $22\pm 3^\circ\text{C}$ 'de, nem oranı %50-60 arasında tutulan özel odada, saydam pleksiglas kafeslerde, 12'şer saatlik karanlık-aydınlık döngüsü altında barındırılmış olup su ve yem ad libitum olarak sağlanmıştır.

Çalışmadaki hayvan deneyleri, Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu tarafından 2018/42 dosya kayıt numarasıyla 4.9.2018 tarihinde onaylanmıştır.

### İntrahipokampal DAB ve Serum Fizyolojik Enjeksiyon Prosedürü

Prosedür için deney hayvanlarının anestezisi izofluran ile sağlanmış, başlangıç dozu olarak %4, idame dozu olarak %1,5-3 tercih edilmiştir. İşlem süresince 2 L/dakika oksijen desteği sağlanmış, hayvanın vücut sıcaklığı rektal prob ile takip edilip homeotermik battaniye ile  $37,0\pm 0,1^\circ\text{C}$ 'de sabit tutulmuş, doku oksijen saturasyonu ve nabız ise pulse oksimetre ile monitorize edilmiştir. Hayvanlar derin anestezisi sağlandıktan sonra stereotaktik pencereye yerleştirilmiş, enjeksiyon için kafatasında hipokampal koordinatlar (bregmaya göre 2,5 mm posterior, 2 mm lateral ve 3,6 mm derinlik) üzerine iki taraflı delik açılmıştır. Her iki hemisfere de 1,5  $\mu\text{l}$  DAB (serum fizyolojik içinde 1,5 mM), 26G kalınlıkta iğne ucundan mikroenjeksiyon pompası yardımıyla enjekte edilmiştir. Enjeksiyon bölgesine mikromanipülatör yardımıyla 8-10 dakikada ulaşılmış, DAB 0,15  $\mu\text{l}/\text{dk}$  hızla hipokampüse enjekte edilmiştir. Enjeksiyon tamamlandıktan sonra 1 dakika beklenmiş,



**Şekil 1.** Deney akış şeması. Görseldeki n sayıları deneye katılan dişi hayvan sayısını yansıtmakta olup erkek farelerde ise toplamda 14 adet hayvana DAB (1,4-dideoksi-1,4-imino-d-arabinitol), 12 adet hayvana SF (serum fizyolojik) enjekte edilmiştir.

enjeksiyon bölgesinden mikromanipülatörle yavaşça 5 dakika da çıkılmıştır. Kontrol grubunda ise aynı protokol uygulanmış ancak DAB yerine aynı hacimde serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır.

### Davranış Testleri

Davranış testlerinin zamanlamasının seçiminde, anestezinin ve cerrahinin yol açabileceği yan etkilerden uzak bir zaman belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu sebeple akut stresin davranışsal etkilerinin strese maruz kaldıktan beş gün sonra gösterildiği Daniels ve arkadaşlarının çalışmasından (Daniels ve ark. 2008) yararlanılarak enjeksiyon sonrası üçüncü ve beşinci günler davranış testleri için seçilmiştir. Davranış testlerinin tamamı, fare barındırma odasının aydınlık döngüde olduğu zaman aralığında gerçekleştirilmiş olup üçüncü gün davranış deneyleri 13:30-18:30, beşinci gün davranış deneyleri ise 08:15-13:15 saatleri arasında yapılmıştır. Davranış testlerinin aynı sirkadiyen dönem içinde uygulanabilmesi için gruplar beşe bölünerek deneye ardışık günlerde başlanmıştır (Şekil 1). Teste tabi tutulacak hayvanlar testten 10 dakika önce davranış deneyleri odasına alınarak odaya alışmaları beklenmiş, testler aşağıda belirtilen sırayla yapılmıştır. Testler arasında beşer dakika süreyle ara verilmiştir (Şekil 1). Dişi ve erkek grupları, hayvan üretimi ve laboratuvar koşullarına bağlı olarak 1 ay ara ile test edilmiştir.

**Lökomotor Aktivite Testi ile Açık Alan Testi:** Farelerin kare şeklinde, boyutları 22,5×22,5×30 cm<sup>3</sup> olan kutuda, 10 dakika boyunca toplam kat ettikleri mesafe Ethovision XT-8 ile izlenmiş ve lökomotor aktivite olarak kaydedilmiştir. Ayrıca programda kutunun merkezinde 11×11 cm<sup>2</sup> ebatlarında bir kare daha tanımlanarak aynı süre içerisinde farenin bu merkezi alanda kat ettiği mesafe açık alan testi olarak değerlendirilmiştir. Açık alanda (merkezde) geçirilen süre, anksiyete-benzeri

davranışın değerlendirilmesinde kullanılmıştır (Royce 1977, Seibenhener ve Wooten 2015).

**Aydınlık Kutu-Karanlık Kutu Testi:** Bu test için hayvanlar aydınlık ve karanlık bölmeleri olan kutuya aydınlık taraftan bırakılarak karanlık alana girme latansları ve her iki alanda geçirdikleri süre değerlendirilmiştir. On dakika süren testten elde edilen veriler anksiyete-benzeri davranış düzeyinin ölçümünde kullanılmıştır (Crawley ve Goodwin 1980, Takao ve Miyakawa 2006).

**Kuyruktan Asma Testi:** Hayvanlar kuyruklarının ucunun 2-3 mm proksimalinden dikey asılı kalacak şekilde yüzeye bantlanmış, asılı kaldıkları 6 dakikanın son 4 dakikasında kurtulmak için gösterdikleri hareketlilik kantifiye edilerek değerlendirilmiştir. Hareketsiz geçirilen süreler kıyaslanarak hayvanların depresyon-benzeri davranışlarının karşılaştırılması hedeflenmiştir (Steru ve ark. 1985, Can ve ark. 2012).

**Sükroz tercih testi:** DAB ve serum fizyolojik enjeksiyonlarından bir gün önce fare kafeslerine, sükroza alıştırma amacıyla ikisinde de %1'lik sükroz çözeltisi olan ikişer suluk yerleştirilmiştir. Deney günü sabahı ise suluklar kafeslerden alınarak deney hayvanları sükroz tercih testine kadar sekiz saat süreyle susuz bırakılmıştır. Sükroz tercih testi süresince hayvanlar tekli kafeslenmiştir. Ardından sükroz tercih testi için tüm kafeslere biri çeşme suyu, biri %1 sükroz solüsyonu içeren ikişer suluk yerleştirilmiş, sükrozlu sular kafeslerin yarısında sağ tarafa yarısında ise sol tarafa konulmuştur. On iki saat süren sükroz tercih testinin sonlanmasının ardından tüketilen toplam su ve sükrozlu su miktarı kaydedilmiştir. Fareler sükrozlu suyu tercih etmeye meyilli olduklarından, toplam sıvı tüketimi içinde sükrozlu su tercihinin azalması anhedoninin (keyif almama) bir ölçüsü olarak değerlendirilmektedir (Brown ve Murphy 1973, Liu ve ark. 2018).

## İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analizlerde IBM SPSS 20 yazılımı kullanılmış, istatistiksel analiz yöntemleri verilerin parametrik varsayımları sağlayıp sağlamamasına göre seçilmiştir. Lökomotor aktivite, aydınlık-karanlık kutu testinde aydınlık alanda geçirilen süre, açık alan testinde açık alanda geçirilen süre, kuyruktan asma testinde hareketsiz geçirilen süre ve sükröz tercih testinde tüketilen sükrözlü su miktarının tüketilen toplam sıvı miktarına oranı student t-testi ile; aydınlık-karanlık kutu testinde aydınlık alana geçme latansı sağkalım analizi ile değerlendirilmiştir. İstatistiksel anlamlılık eşiği  $p<0,05$  olarak belirlenmiştir. Lökomotor aktivitedeki değişimin açık alanda geçirilen toplam süre üzerine etkisi kovaryans analizi ANCOVA ile değerlendirilmiştir. Farelerin 3. ve 5. günlerdeki lökomotor aktivitelerinde, açık alanda geçirdikleri sürede ve kuyruktan asma testinde hareketsiz kaldıkları süredeki değişim tekrarlı ölçümler için ANOVA ile değerlendirilmiştir. Grafiklerdeki veriler ortalama $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

## BULGULAR

### Anksiyete-benzeri Davranış Testleri

Deney ve kontrol grubu hayvanlarının anksiyete-benzeri davranış düzeyini değerlendirmek amacıyla açık alan ve aydınlık-karanlık kutu testleri, davranış testlerinde gözlemlenebilecek olası farklılıkların lökomotor aktivite artışına bağlı olması ihtimalini dışlamak amacıyla lökomotor aktivite testi yapılmıştır. Açık alan testinde deney düzeneğinin merkezinde (açık alan) geçirilen süre düşük anksiyete-benzeri davranış düzeyi, kenarlarında geçirilen süre ise yüksek anksiyete-benzeri davranış düzeyi lehine yorumlanmıştır. Enjeksiyon sonrası 3.günde gerçekleştirilen açık alan testinde, açık alanda geçirilen süre açısından dişi ve erkek kontrol ve deney grupları arasında bir fark gözlenmemiştir ( $t(26)=0,16$ ,  $p=0,873$ ;  $t(24)=0,10$ ,  $p=0,920$ ) (Şekil 2A). Buna karşın, enjeksiyon sonrası 5. günde yapılan açık alan testinde deney grubu erkek farelerde, açık alanda geçirilen sürede artış kaydedilirken, dişilerde kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $t(20,094)=2,86$ ,  $p=0,01$ ;  $t(26)=1,47$ ,  $p=0,155$ ) (Şekil 2B).

Enjeksiyon sonrası 3. günde, lökomotor aktivite düzeyinde ne dişi ne de erkek farelerde kontrol gruplarına kıyasla istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmiştir ( $t(16,322)=0,71$ ,  $p=0,486$ ;  $t(23)=0,73$ ,  $p=0,472$ ) (Şekil 2C). Enjeksiyon sonrası 5.günde lökomotor aktivite testinde ise erkeklerde DAB grubunda kontrol grubuna kıyasla lökomotor aktivitede artış gözlenmiş olup dişilerde gruplar arası bir fark saptanmamıştır ( $t(21,456)=2,08$ ,  $p=0,05$ ;  $t(27)=-0,003$ ,  $p=0,997$ ) (Şekil 2D). Bu fark, deney grubu erkek farelerde enjeksiyon sonrası 5. günde açık alanda geçirilen sürede gözlenen artış ile birlikte değerlendirildiğinde, açık alanda geçirilen süre artışının

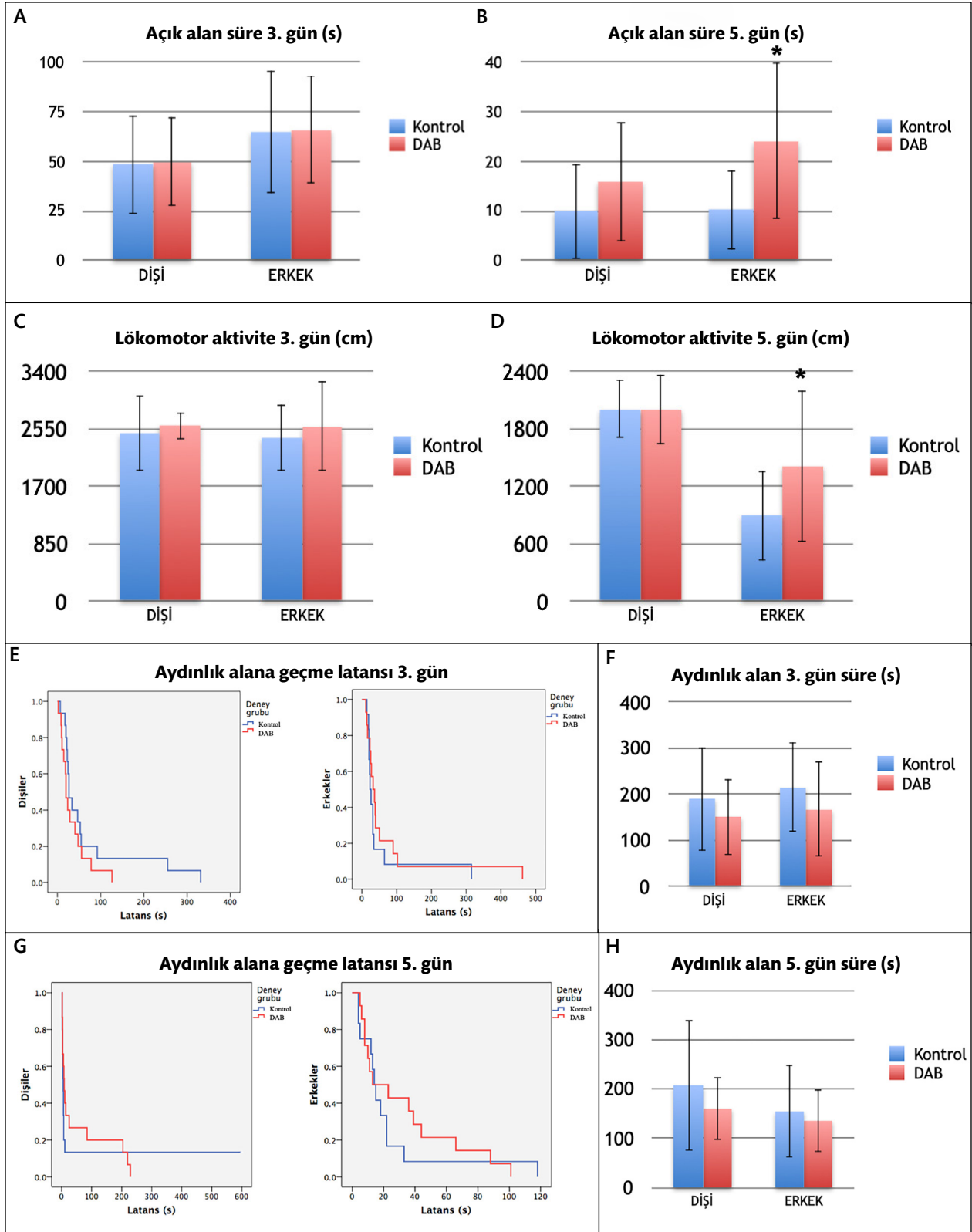
anksiyete-benzeri davranış ile değil lökomotor aktivitede artışla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu olasılığı değerlendirmek için yapılan ANCOVA (kovaryans) analizinde, lökomotor aktivitenin etkisi kontrol edildiğinde hem dişi hem de erkeklerin açık alanda geçirdikleri süre gruplar arasında benzer bulunmuştur (dişiler için  $F(1,24)=1,907$ ,  $p=0,180$ ; erkekler için  $F(1,22)=2,828$ ,  $p=0,107$ ).

Tekrarlayan ölçümlerin etkisini değerlendirmek için yapılan tekrarlı ölçümler için ANOVA'da hem erkek hem de dişi farelerde açık alanda geçirilen sürede zaman etkisi izlenmiştir (sırasıyla  $F(1,23)=75,366$ ,  $p<0,0001$ ;  $F(1,25)=60,004$ ,  $p<0,0001$ ). Beşinci günde gruptan bağımsız olarak hem erkeklerde hem de dişilerde açık alanda geçirilen ortalama süre üçüncü günden düşük bulunmuştur. Ancak her iki cinsiyette de zaman x grup etkisi saptanmamıştır (sırasıyla erkek ve dişi fareler için  $F(1,23)=0,570$ ,  $p=0,458$ ;  $F(1,25)=0,059$ ,  $p=0,810$ ). Benzer şekilde, hem erkek hem dişi farelerde lökomotor aktivitede zaman etkisi izlenmiştir (sırasıyla  $F(1,23)=87,522$ ,  $p<0,0001$ ;  $F(1,24)=44,973$ ,  $p<0,0001$ ). Beşinci günde gruptan bağımsız olarak tüm erkek ve dişilerde lökomotor aktivite üçüncü günden düşük bulunmuştur. Ancak zaman x grup etkisi saptanmamıştır (sırasıyla erkek ve dişi fareler için  $F(1,23)=0,903$ ,  $p=0,352$ ;  $F(1,24)=0,779$ ,  $p=0,386$ ). Bu bulgular, açık alanda geçirilen sürenin ve lökomotor aktivitenin her iki cinsiyette de zamanla azaldığını ancak bu etkinin DAB'ın etkileriyle ilişkili olmadığını ortaya koymaktadır.

Aydınlık-karanlık kutu testinde, enjeksiyon sonrası 3. gün aydınlık alana geçme latansı açısından dişilerde ve erkeklerde kontrol ve deney grupları arasında anlamlı bir fark görülmemiştir (Kaplan Meier sağkalım analizi; sırasıyla  $p=0,197$ ;  $p=0,297$ ) (Şekil 2E). Benzer şekilde, aydınlık alanda geçirilen süreler açısından da dişilerde ve erkeklerde gruplar arası anlamlı bir fark göze çarpmamaktadır ( $t(26)=-1,07$ ,  $p=0,295$ ;  $t(23)=-1,17$ ,  $p=0,254$ ) (Şekil 2F). Enjeksiyon sonrası 5. günde de, aydınlık alana geçme latansı açısından dişilerde ve erkeklerde kontrol ve deney grupları arasında bir fark gözlenmemiştir ( $p=0,342$ ,  $p=0,457$ ) (Şekil 2G). Aydınlık alanda geçirilen süreler de dişi ile erkek kontrol ve deney grupları arasında benzer bulunmuştur ( $t(20,418)=-1,24$ ,  $p=0,230$ ;  $t(24)=-0,64$ ,  $p=0,528$ ) (Şekil 2H).

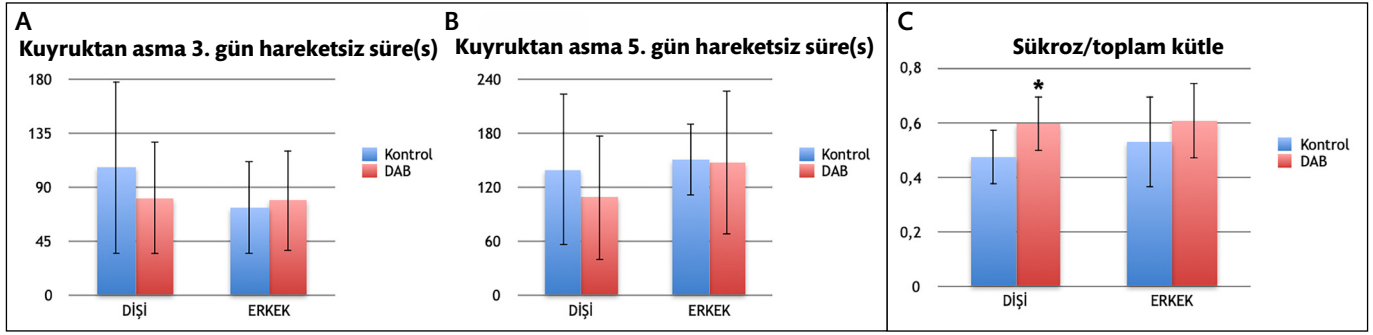
### Depresyon-benzeri Davranış Testleri

Çalışma kapsamında, deney ve kontrol grubu hayvanların depresyon-benzeri davranışlarını değerlendirmek amacıyla bir davranışsal umutsuzluk ölçeği olan kuyruktan asma testi ve anhedoni göstergesi olan sükröz tercih testi kullanılmıştır. Kuyruktan asma testinde, hareketsiz olarak geçirilen sürenin uzunluğu depresyon-benzeri davranış olarak değerlendirilmiştir. Enjeksiyon sonrası 3. gün kuyruktan asma testinde, dişilerde ve erkeklerde kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir



**Şekil 2.** A. Enjeksiyon sonrası 3.gün açık alan testi, açık alanda geçirilen süre. Dişiler için  $p=0,873$  ( $n=14$ /grup) ; erkekler için  $p=0,920$  ( $n=12-14$ /grup). B. Deney grubu (DAB) erkek farelerde 5.gün açık alan testinde, açık alanda geçirilen sürede artış gözlenmiştir ( $p=0,01$ ) ( $n=11-14$ /grup). Dişilerde ise kontrol ve deney grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p=0,155$ ) ( $n=14$ /grup). C. Enjeksiyon sonrası 3.gün lökomotor aktivite testi, katedilen mesafe. Dişiler için  $p=0,486$  ( $n=13-14$ /grup); erkekler için  $p=0,472$  ( $n=11-14$ /grup). D. Deney grubu (DAB) erkek farelerde, enjeksiyon sonrası 5. gün lökomotor aktivitede artış gözlenmiştir ( $p=0,05$ ) ( $n=12-14$ /grup). Dişilerde ise kontrol ve deney grupları arasında anlamlı bir fark saptanmamıştır ( $p=0,997$ ) ( $n=14-15$ /grup). E. Enjeksiyon sonrası 3.gün aydınlık alan testi. Aydınlik alana geçme latansı dişiler için  $p=0,197$  ( $n=14$ /grup), erkekler için  $p=0,297$  ( $n=11-13$ /grup). F. Enjeksiyon sonrası 3.gün aydınlık alan testi. Aydınlik alanda geçirilen süre dişiler için  $p=0,295$  ( $n=14$ /grup); erkekler için  $p=0,254$  ( $n=12-13$ /grup). G. Enjeksiyon sonrası 5.gün aydınlık alan testi. Aydınlik alana geçme latansı dişiler için  $p=0,342$  ( $n=13-14$ /grup), erkekler için  $p=0,457$  ( $n=11-13$ /grup). H. Enjeksiyon sonrası 5.gün aydınlık alan testi. Aydınlik alanda geçirilen süre dişiler için  $p=0,230$  ( $n=14-15$ /grup); erkekler için  $p=0,528$  ( $n=12-14$ /grup).





**Şekil 3. A.** Enjeksiyon sonrası 3.gün kuyruktan asma testi, hareketsiz geçirilen süre. Dişiler için  $p=0,223$  ( $n=15$ /grup); erkekler için  $p=0,713$  ( $n=12-14$ /grup). **B.** Enjeksiyon sonrası 5.gün kuyruktan asma testi, hareketsiz geçirilen süre. Dişiler için  $p=0,234$  ( $n=15$ /grup); erkekler için  $p=0,612$  ( $n=11-14$ /grup). **C.** Enjeksiyon sonrası 3.gün sükroz tercih testi. Dişi deney grubu (DAB) farelerde, tüketilen sükrozlu su kütlelerinin (g) toplam sıvı tüketimine oranı, kontrol grubu farelere göre daha yüksek bulunmuştur ( $p=0,003$ ) ( $n=15$ /grup). Erkeklerde ise istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $p=0,206$ ) ( $n=12-14$ /grup).

( $t(24,076)=-1,25$ ,  $p=0,223$ ;  $t(24)=0,37$ ,  $p=0,713$ ) (Şekil 3A). Benzer şekilde, enjeksiyon sonrası 5. gün yapılan kuyruktan asma testinde de dişilerde ve erkeklerde gruplar arası istatistiksel açıdan anlamlı fark saptanmamıştır ( $t(28)=-1,22$ ,  $p=0,234$ ;  $t(23)=-0,514$ ,  $p=0,612$ ) (Şekil 3B). Tekrarlayan ölçümlerin etkisini değerlendirmek için yapılan tekrarlı ölçümler için ANOVA'da hem erkek hem de dişi farelerde kuyruktan asma testinde hareketsiz geçirilen sürede etkisi izlenmiştir (sırasıyla  $F(1,23)=45,600$ ,  $p<0,0001$ ;  $F(1,28)=5,433$ ,  $p=0,027$ ). Beşinci günde gruptan bağımsız olarak hem erkeklerde hem de dişilerde hareketsiz geçirilen sürede üçüncü güne göre artış gözlenmiştir. Ancak her iki cinsiyette de zaman x grup etkisi saptanmamıştır (sırasıyla erkek ve dişi fareler için ( $F(1,23)=0,486$ ,  $p=0,493$ ;  $F(1,28)=0,089$ ,  $p=0,767$ ). Bu bulgu, kuyruktan asma testinde hareketsiz kalınan sürenin erkeklerde daha belirgin olmakla birlikte her iki cinsiyette de zamanla artış gösterdiğine işaret etmektedir (erkeklerde ortalama 63 saniye, dişilerde ortalama 25 saniye artış). Bu bulgu, üçüncü gün yapılan kuyruktan asma testi esnasında kaçış olmadığının öğrenilmesine, dolayısıyla davranışsal umutsuzluğun artmasına bağlı olabilir.

Depresyon-benzeri davranış ölçütü olarak kullanılan sükroz tercih testinde, test süresince farelerin tükettiği sükrozlu suyun miktarının tüketilen toplam sıvıya oranının düşüklüğü anhedoni lehine yorumlanmıştır. Enjeksiyon sonrası 3. gün yapılan sükroz tercih testinde; deney grubu dişi farelerde bu oran kontrol grubu farelerden daha yüksek bulunmuş olup erkeklerde ise gruplar arası istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmemiştir ( $t(28)=3,28$ ,  $p=0,003$ ;  $t(24)=1,30$ ,  $p=0,206$ ) (Şekil 3C).

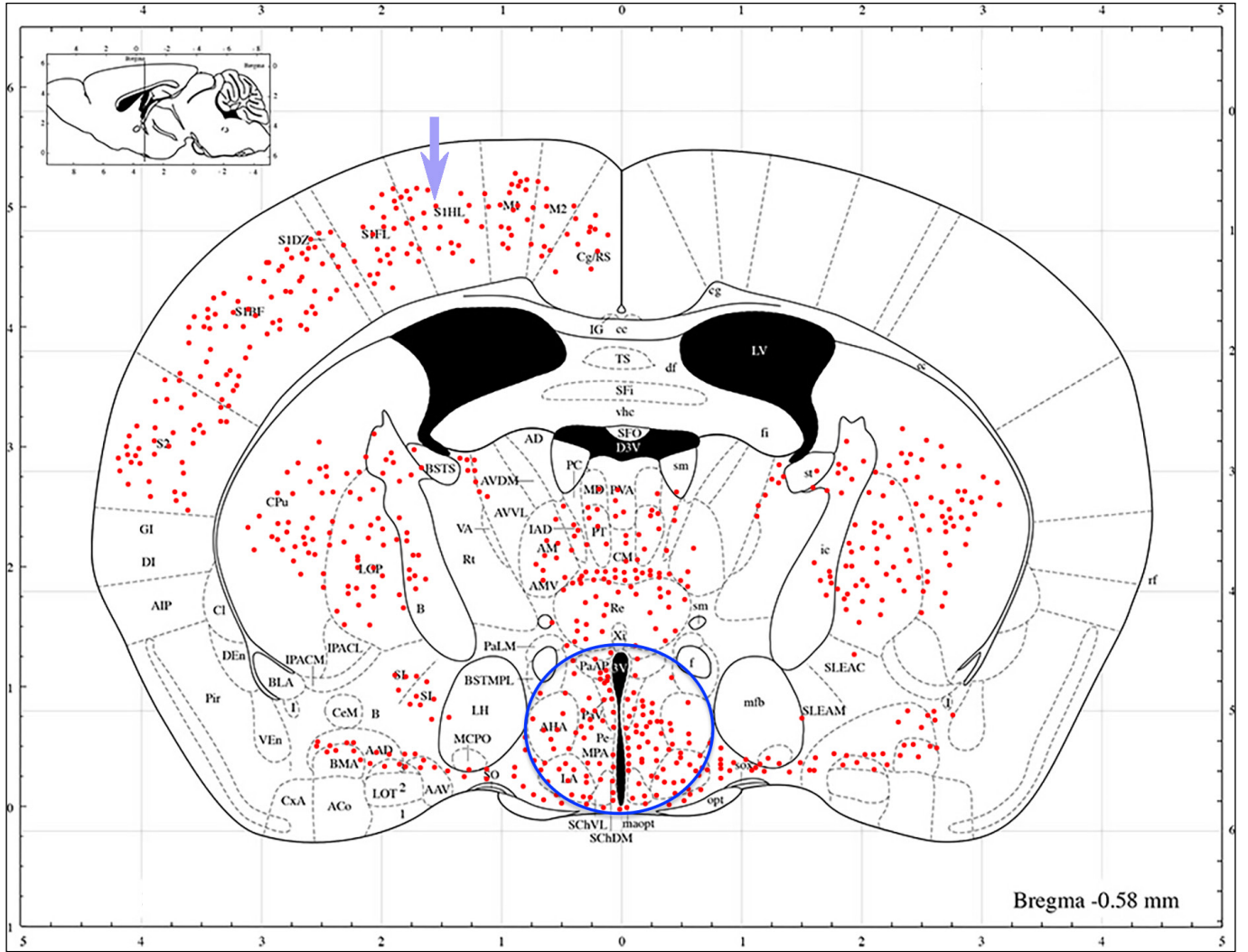
## TARTIŞMA

Astrosit-nöron metabolik kenetlenmesi çerçevesinde, artmış sinaptik aktivitenin yol açtığı enerji ihtiyacını karşılamak için astrositlerin nöronlara sağladığı laktatın büyük bir kısmının glikojenden geldiği göz önünde bulundurulduğunda (Pellerin

ve ark. 2007), astrositte glikojen ve laktat seviyelerinde azalmanın depresyon patofizyolojisinde rol oynaması olasıdır. Kronik yüksek kortikosteron düzeyleri ile kronik stresin astrosit glikojeninde azalmaya ve depresyon-benzeri davranışta artışa yol açtığını ortaya koyan çalışmalar bu önermeyi desteklemektedir (Zhang ve ark. 2015, Zhao ve ark.2017). Zira depresyonu modellemek için kullanılan stres uygulamaları sonucu glutamat salıverilmesinin, dolayısıyla sinaptik aktivitenin ve enerji gereksiniminin arttığı bilinmektedir (ayrıntılı gözden geçirme için bkz. Popoli ve ark. 2011). Bu bulgulardan hareketle bu çalışmada hipokampusta glikojen yıkımının engellenmesinin dişi ve erkek farelerde anksiyete-benzeri ve depresyon-benzeri davranışlar üzerine etkisi olup olmadığını inceledik.

Anksiyete-benzeri davranış değerlendirme için kullanılan açık alan testinde DAB enjeksiyonundan sonraki 3. gün her iki cinsiyette de anlamlı fark gözlenmezken, 5. gün açık alan testinde erkeklerde deney grubunun açık alanda geçirdiği süre kontrol grubundan daha uzun olarak saptanmıştır. Ancak bu grupta 5.gün lökomotor aktivite testinde katedilen toplam mesafenin kontrol grubuna kıyasla artmış olması, açık alanda geçirilen süredeki artışın artmış lökomotor aktiviteyle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Nitekim, bu ihtimali test etmek için yapılan ANCOVA (kovaryans) analizinde, lökomotor aktivitenin etkisi kontrol edildiğinde dişilerin ve erkeklerin açık alanda geçirdikleri süre gruplar arasında benzer bulunmuştur. Anksiyete-benzeri davranış düzeyini değerlendirmek için kullanılan bir diğer test olan aydınlık-karanlık kutu testinde de dişi ve erkeklerde kontrol ile deney grupları arasında her iki zaman noktasında da anlamlı bir fark gözlenmemesi yapılan bu yorumu destekler niteliktedir.

Buna ek olarak, tekrarlayan ölçümlerin etkisinin değerlendirildiği tekrarlı ölçümler için ANOVA analizinde açık alanda geçirilen sürenin ve lökomotor aktivitenin her iki cinsiyette de zamanla azaldığı ancak zaman x grup etkisi gözlenmediğinden bu azalmanın DAB'ın etkileriyle ilişkili olmadığı ortaya konmuştur. Bunun olası nedeni farelerin testin yapıldığı



**Şekil 4.** Tek hemisferine, şekilde mor ok ile gösterilen traseyi takip ederek intraserebroventriküler DAB enjeksiyonu yapılan farede, glikojenden enerji eldesinin engellenmesi nedeniyle sinaptik iyon dengesinin bozulması Panneksin 1 (Pan 1) kanallarının açılmasına sebep olmuştur. Pan 1 kanallarının açılmasının göstergesi olarak propiyum iyodür (PI) tutulumu kullanılmış olup kırmızı noktalar PI tutulumu olan bölgeleri göstermektedir (Görsel, Kıvılcım Kılıç'ın 2013 tarihli doktora tezinden alınmıştır.). Şekilden yola çıkarak, DAB'ın interstisyumda kolayca dağılabildiği ve mavi renkli çember içinde gösterilen hipotalamus da dahil olmak üzere enjeksiyon bölgesi dışındaki beyin bölgelerine ulaşabildiği söylenebilir.

kutuya almış olmaları, dolayısıyla da ikinci karşılaşmada kutuyu araştırma davranışlarının azalması olabilir.

Depresyon-benzeri davranış göstergelerinden davranışsal umutsuzluğu test eden kuyruktan asma testinde dişilerde ve erkeklerde kontrol ve deney grupları arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark kaydedilmemesine rağmen, bir diğer depresyon-benzeri davranış değerlendirme testi olan sükröz tercih testinde, dişi farelerde deney grubunun kontrol grubuna kıyasla sükrözlü suyu daha çok tercih ettiği gözlenmiştir. Bu bulgu, hipotezimizin aksine glikojen kullanımının engellenmesinin hedonik davranışta artışa yol açmış olabileceğine işaret etmektedir. Ancak testte gözlenen bu farkın, Şekil 4'te gösterildiği üzere interstisyumda kolayca dağılabilen DAB'ın (Kılıç 2013) hipotalamusa sızması sonucu homeostatik mekanizmaların şeker alımını uyarması sebebiyle gözlenmiş olabileceği de düşünülmüştür. Bu nedenle daha ileride yapılacak çalışmalarda hedonik davranışların, sükröz tercihi gibi

glikojen metabolizmasıyla ilişkili olabilecek bir test yerine, sosyal etkileşim gibi başka testlerle değerlendirilmesi daha güvenilir sonuçlar verebilir.

Çalışmamızda deney grubu ve kontrol grubu hayvanları arasında hem 3. gün hem 5. gün uygulanan davranış deneylerinde anksiyete-benzeri ve depresyon-benzeri davranışlar açısından anlamlılık arz eden sonuçlar gözlenmemiştir. Bu bulgu glikojenin ve laktatın depresyon-benzeri davranışlar için önemini ortaya koyan daha önceki çalışmaların bulgularıyla uyumlu değildir (Zhao ve ark. 2017, Carrard ve ark. 2018, Karnib ve ark. 2019). Bu çalışmalarda depresyonu modellemek amacıyla kemirgenlerde kronik kortikosteron veya kronik stres uygulamalarının hipokampusta astrosit glikojen seviyelerini düşürdüğü ve depresyon-benzeri davranışa yol açtığı; buna paralel olarak hipokampusta glikojeni azaltmak amacıyla glikojen sentezini sağlayan glikojen sentaz 1 enziminin RNA interferans yöntemiyle baskılanmasının



depresyon-benzeri davranışı artırdığı gösterilmiştir (Zhang ve ark.2015, Zhao ve ark. 2017). Akut laktat uygulamasının stres direncini artırıcı ve/veya antidepressan etkileri olduğuna işaret eden çalışmalar, glikojenin yıkılması sonucu ortaya çıkan laktatın depresyon patofizyolojisindeki rolünü desteklemektedir (Carrard ve ark. 2018, Karnib ve ark. 2019). Bizim bulgularımızla literatür arasındaki uyumsuzluk birçok nedenle ortaya çıkmış olabilir: Çalışmamızda davranış testleri anksiyete-benzeri ve depresyon-benzeri davranışların test edilebildiği geniş bir yelpaze oluşturacak şekilde seçilmiştir, bu amaçla ve akut enjeksiyon ile uygulanabilecek testlerin sayısının deney desenine bağlı sınırlılığı nedeniyle literatürde en çok kullanılan testler seçilmiştir. Bu nedenle sinapsa gerekli enerjinin glikojen kullanımı üzerinden kısıtlanmasının, bu çalışmada değerlendirilmemiş bir depresyon-benzeri davranışı etkilemesi olasılığı dışlanamaz. Nitekim, yukarıda bahsedilen çalışmalarda depresyon-benzeri davranışlar bizim çalışmamızdakinden farklı olarak zorla yüzdürme testindeki hareketsizlik süresi, kronik sosyal yenilgi stresini takiben sosyal etkileşim süresi, yükseltilmiş artı labirentinde açık kollarda geçirilen süre ile değerlendirilmiştir (Carrard ve ark. 2018, Karnib ve ark. 2019). Bunun yanısıra, bizim deney desenimiz bahsedilen çalışmalardan farklı olarak cerrahi müdahale içerdiğinden, her ne kadar davranış testleri enjeksiyondan sonraki 3-5 gün içinde gerçekleştirilmiş olsa da doku iyileşmesinin tam sağlanamaması ve/veya buna bağlı ağrı vb. nedenler kontrol grubunda da anksiyete-benzeri ve depresyon-benzeri davranışı artırarak deneye bağlı farkların görülmesini engellemiş olabilir. Benzer şekilde, enjeksiyon için kullanılan izofluran anestezisi DAB'ın depresyon-benzeri davranışlar üzerine etkilerini maskeleyebilir ya da davranış deneyleri esnasında yakın zamanda anestezi alınmış olmasına bağlı öngörülemeyen etkiler ortaya çıkmış olabilir. Tüm bunlar birlikte değerlendirildiğinde, ileride yapılacak çalışmalarda davranış deneylerinin cerrahinin travmatik etkileri ve anesteziden mümkün olduğunca uzak bir dönemde yapılması önerilir. Bu amaçla, farelere hipokampus içine kanül yerleştirilmesi, doku iyileşmesi için yeterli süre beklenmesi ve DAB/SF enjeksiyonlarının bu kanüllerden anestezi kullanılmadan yapılarak hayvanların davranış deneyine alınması, bahsedilen olası istenmeyen etkileri bertaraf edecek, davranış deneyi sonuçlarını karıştırıcı faktörlerden arındıracaktır.

Literatürde akut stres uygulamasının çeşitli beyin bölgelerinde laktat konsantrasyonunu arttırdığına işaret eden çalışmalar artan enerji talebine cevap verebilmek amacıyla laktat arzının da arttığına işaret etmektedir (Elekes ve ark. 1996, Uehara ve ark. 2003, Uehara ve ark. 2005, Uehara ve ark. 2007, Uehara ve ark. 2013). Bu sebeple, bu çalışmada uygulanan tek doz glikojen fosforilaz inhibitörü DAB'ın, bazal sinaptik aktivitede değişiklik olmadığı için sinaptik enerji arzında soruna yol açmamış olması da olasıdır. Akut olarak uygulanan DAB'ın sinaptik aralıktaki etkileri, telafi edici mekanizmalar tarafından dengelenmiş ve bu sebeple davranışa yansımamış olabilir.

DAB'ın maskelenmiş olması muhtemel davranışsal etkilerinin gözlemlenebilir kılınması için gelecekte yapılacak çalışmalarda tekrarlayan DAB enjeksiyonları yapılması ve/veya sinaptik aktivitenin, dolayısıyla sinaptik enerji ihtiyacının (talebin) DAB enjeksiyonu öncesinde akut stres uygulaması ile artırılması (başka bir deyişle arz tarafından karşılanamayacak kadar talep oluşturulması) önerilir.

Tüm bunların yanısıra, çalışmamızda glikojen kullanımının engellenmesinin depresyon-benzeri ve anksiyete-benzeri davranış üzerindeki etkileri sadece enjeksiyon sonrası üçüncü ve beşinci günlerde değerlendirilmiştir. Sinaptik enerji kullanımının bozulmasının davranışsal etkilerinin daha geç dönemde ortaya çıkma olasılığı nedeniyle, seçilen zaman noktalarında depresyon-benzeri ve anksiyete-benzeri davranışlar gözlenememiş olabilir. Bu sebeple davranışsal testlerin daha ileri bir zaman noktasında yapılması bilgi verici olabilir.

Özetle, bu çalışmada perisinaptik astrosit glikojeni kullanımının engellenmesinin dişi ve erkek farelerde farmakolojik inhibitör DAB'ın hipokampusa enjeksiyonundan sonraki üçüncü ve beşinci günde yapılan değerlendirmelerde depresyon-benzeri ve anksiyete-benzeri davranışlar üzerinde anlamlı etkisi görülmemiştir. İleride yapılacak çalışmalarda, anestezi ve cerrahinin etkilerini bertaraf edecek yöntemler seçilmesi, enerji arz/ talep dengesini bozacak yaklaşımların kullanılması önerilir.

## KAYNAKLAR

- Allaman I, Pellerin L, Magistretti PJ (2004) Glucocorticoids modulate neurotransmitter-induced glycogen metabolism in cultured cortical astrocytes. *J Neurochem* 88: 900-8.
- Banasr M, Duman RS (2008) Glial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors. *Biol Psychiatry* 64: 863-70.
- Belanger M, Allaman I, Magistretti PJ (2011) Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab* 14: 724-38.
- Bowley MP, Drevets WC, Ongur D ve ark. (2002) Low glial numbers in the amygdala in major depressive disorder. *Biol Psychiatry* 52: 404-12.
- Brown TS, Murphy HM (1973) Factors affecting sucrose preference behavior in rats with hippocampal lesions. *Physiol Behav* 11: 833-44.
- Can A, Dao DT, Terrillion CE ve ark. (2012) The tail suspension test. *J Vis Exp* 59: e3769.
- Carrard A, Elsayed M, Margineanu M ve ark. (2018) Peripheral administration of lactate produces antidepressant-like effects. *Mol Psychiatry* 23: 392-9.
- Cotter D, Mackay D, Chana G ve ark. (2002) Reduced neuronal size and glial cell density in area 9 of the dorsolateral prefrontal cortex in subjects with major depressive disorder. *Cereb Cortex* 12: 386-94.
- Cotter D, Mackay D, Landau S ve ark. (2001) Reduced glial cell density and neuronal size in the anterior cingulate cortex in major depressive disorder. *Arch Gen Psychiatry* 58: 545-53.
- Crawley J, Goodwin FK (1980) Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav* 13: 167-70.
- Daniels WM, de Klerk Uys J, van Vuuren P ve ark. (2008) The development of behavioral and endocrine abnormalities in rats after repeated exposure to direct and indirect stress. *Neuropsychiatr Dis Treat* 4: 451-64.
- Darvesh AS, Gudelsky GA (2003) Activation of 5-HT<sub>2</sub> receptors induces glycogenolysis in the rat brain. *Eur J Pharmacol* 464: 135-40.

- Dienel GA, Cruz NF (2004) Nutrition during brain activation: does cell-to-cell lactate shuttling contribute significantly to sweet and sour food for thought? *Neurochem Int* 45: 321-51.
- Dombro RS, Bender AS, Norenberg MD (2000) Association between cell swelling and glycogen content in cultured astrocytes. *Int J Dev Neurosci* 18: 161-9.
- Duric V, Banasr M, Stockmeier CA ve ark. (2013) Altered expression of synapse and glutamate related genes in post-mortem hippocampus of depressed subjects. *Int J Neuropsychopharmacol* 16: 69-82.
- Elekes O, Venema K, Postema F (1996) Evidence that stress activates glial lactate formation in vivo assessed with rat hippocampus lactography. *Neurosci Lett* 208: 69-72.
- Hascup ER, Hascup KN, Stephens M ve ark. (2010) Rapid microelectrode measurements and the origin and regulation of extracellular glutamate in rat prefrontal cortex. *J Neurochem* 115: 1608-20.
- Hertz L, Peng L, Dienel GA (2007) Energy metabolism in astrocytes: high rate of oxidative metabolism and spatiotemporal dependence on glycolysis/glycogenolysis. *J Cereb Blood Flow Metab* 27: 219-49.
- Hof PR, Pascale E, Magistretti PJ (1988) K<sup>+</sup> at concentrations reached in the extracellular space during neuronal activity promotes a Ca<sup>2+</sup>-dependent glycogen hydrolysis in mouse cerebral cortex. *J Neurosci* 8: 1922-8.
- Iwata M, Ota KT, Li XY ve ark. (2016) Psychological Stress Activates the Inflammasome via Release of Adenosine Triphosphate and Stimulation of the Purinergic Type 2X7 Receptor. *Biol Psychiatry* 80: 12-22.
- Karnib N, El-Ghandour R, El Hayek L ve ark. (2019) Lactate is an antidepressant that mediates resilience to stress by modulating the hippocampal levels and activity of histone deacetylases. *Neuropsychopharmacology* 44: 1152-62.
- Kılıç K (2013) Glikojen Döngüsünün Bozulmasının Kortikal Yayılan Depolarizasyon Oluşumu ve Pannexin 1 Kanalları Üzerine Etkisinin Araştırılması. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi.
- Liu MY, Yin CY, Zhu LJ ve ark. (2018) Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nat Protoc* 13: 1686-98.
- Magistretti PJ, Allaman I (2015) A cellular perspective on brain energy metabolism and functional imaging. *Neuron* 86: 883-901.
- Magistretti PJ, Morrison JH, Shoemaker WJ ve ark. (1981) Vasoactive intestinal polypeptide induces glycogenolysis in mouse cortical slices: a possible regulatory mechanism for the local control of energy metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 6535-9.
- Moghaddam B (1993) Stress preferentially increases extraneuronal levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex: comparison to hippocampus and basal ganglia. *J Neurochem* 60: 1650-7.
- Musazzi L, Milanese M, Farisello P ve ark. (2010) Acute stress increases depolarization-evoked glutamate release in the rat prefrontal/frontal cortex: the dampening action of antidepressants. *PLoS One* 5: e8566.
- Newgard CB, Hwang PK, Fletterick RJ (1989) The family of glycogen phosphorylases: structure and function. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 24: 69-99.
- Numakawa T, Adachi N, Richards M ve ark. (2013) Brain-derived neurotrophic factor and glucocorticoids: reciprocal influence on the central nervous system. *Neuroscience* 239: 157-72.
- O'Donnell J, Zeppenfeld D, McConnell E ve ark. (2012) Norepinephrine: a neuromodulator that boosts the function of multiple cell types to optimize CNS performance. *Neurochem Res* 37: 2496-512.
- Ongur D, Drevets WC, Price JL (1998) Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 13290-5.
- Pellerin L, Bouzier-Sore AK, Aubert A ve ark. (2007) Activity-dependent regulation of energy metabolism by astrocytes: an update. *Glia* 55: 1251-62.
- Pellerin L, Magistretti PJ (1994) Glutamate uptake into astrocytes stimulates aerobic glycolysis: a mechanism coupling neuronal activity to glucose utilization. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 10625-9.
- Popoli M, Yan Z, McEwen BS ve ark. (2011) The stressed synapse: the impact of stress and glucocorticoids on glutamate transmission. *Nat Rev Neurosci* 13: 22-37.
- Quach TT, Rose C, Duchemin AM ve ark. (1982) Glycogenolysis induced by serotonin in brain: identification of a new class of receptor. *Nature* 298: 373-5.
- Rajkowska G, Miguel-Hidalgo JJ, Wei J ve ark. (1999) Morphometric evidence for neuronal and glial prefrontal cell pathology in major depression. *Biol Psychiatry* 45: 1085-98.
- Royce JR (1977) On the construct validity of open-field measures. *Psychol Bull* 84: 1098-106.
- Satoh E, Shimeki S (2010) Acute restraint stress enhances calcium mobilization and glutamate exocytosis in cerebrocortical synaptosomes from mice. *Neurochem Res* 35: 693-701.
- Seibenhener ML, Wooten MC (2015) Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. *J Vis Exp* (96): e52434.
- Sickmann HM, Walls AB, Schousboe A ve ark. (2009) Functional significance of brain glycogen in sustaining glutamatergic neurotransmission. *J Neurochem* 109: 80-6.
- Sorg O, Magistretti PJ (1991) Characterization of the glycogenolysis elicited by vasoactive intestinal peptide, noradrenaline and adenosine in primary cultures of mouse cerebral cortical astrocytes. *Brain Res* 563: 227-33.
- Sorg O, Pellerin L, Stolz M ve ark. (1995) Adenosine triphosphate and arachidonic acid stimulate glycogenolysis in primary cultures of mouse cerebral cortical astrocytes. *Neurosci Lett* 188: 109-12.
- Steru L, Chermat R, Thierry B ve ark. (1985) The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology* 85: 367-70.
- Takao K, Miyakawa T (2006) Light/dark transition test for mice. *J Vis Exp* (1): 104.
- Tombaugh GC, Yang SH, Swanson RA ve ark. (1992) Glucocorticoids exacerbate hypoxic and hypoglycemic hippocampal injury in vitro: biochemical correlates and a role for astrocytes. *J Neurochem* 59: 137-46.
- Uehara T, Kurata K, Sumiyoshi T ve ark. (2003) Immobilization stress-induced increment of lactate metabolism in the basolateral amygdaloid nucleus is attenuated by diazepam in the rat. *Eur J Pharmacol* 459: 211-5.
- Uehara T, Matsuoka T, Itoh H ve ark. (2013) Chronic treatment with tandospirone, a 5-HT<sub>1A</sub> receptor partial agonist, suppresses footshock stress-induced lactate production in the prefrontal cortex of rats. *Pharmacol Biochem Behav* 113: 1-6.
- Uehara T, Sumiyoshi T, Itoh H ve ark. (2007) Role of glutamate transporters in the modulation of stress-induced lactate metabolism in the rat brain. *Psychopharmacology (Berl)* 195: 297-302.
- Uehara T, Sumiyoshi T, Matsuoka T ve ark. (2005) Enhancement of lactate metabolism in the basolateral amygdala by physical and psychological stress: role of benzodiazepine receptors. *Brain Res* 1065: 86-91.
- Vaishnavi SN, Vlassenko AG, Rundle MM ve ark. (2010) Regional aerobic glycolysis in the human brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 107: 17757-62.
- Walls AB, Sickmann HM, Brown A ve ark. (2008) Characterization of 1,4-dideoxy-1,4-imino-d-arabinitol (DAB) as an inhibitor of brain glycogen shunt activity. *J Neurochem* 105: 1462-70.
- Xu J, Song D, Xue Z ve ark. (2013) Requirement of glycogenolysis for uptake of increased extracellular K<sup>+</sup> in astrocytes: potential implications for K<sup>+</sup> homeostasis and glycogen usage in brain. *Neurochem Res* 38: 472-85.
- Zhang HY, Zhao YN, Wang ZL ve ark. (2015) Chronic corticosterone exposure reduces hippocampal glycogen level and induces depression-like behavior in mice. *J Zhejiang Univ Sci* 16: 62-9.
- Zhao Y, Xie W, Dai J ve ark. (2009) The varying effects of short-term and long-term corticosterone injections on depression-like behavior in mice. *Brain Res* 1261: 82-90.
- Zhao Y, Zhang Q, Shao X ve ark. (2017) Decreased Glycogen Content Might Contribute to Chronic Stress-Induced Atrophy of Hippocampal Astrocyte Volume and Depression-like Behavior in Rats. *Sci Rep* 7: 43192.

**Açıklama:** Çalışma, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından "doktora tez projesi" olarak desteklenmiştir.