

Galanin ve Egzersizin Ratlarda Anksiyete Üzerine Etkisinin Açık Alan ve Yükseltmiş Artı Labirent Testleri ile Değerlendirilmesi

Evaluation of the Effect of Galanin and Exercise on Anxiety in Rats by Open Field and Elevated Plus Maze Tests

Asuman MERMERCİ¹, Recep ÖZMERDİVENLİ², Hayriye ORALLAR³, Ersin BEYAZÇİÇEK^{4*}, Mehmet Ali SUNGUR⁵

¹Balgat Ağz ve Dış Sağlık Merkezi, Ankara; ²Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, Aydın;

³Abant İzzet Baysal Üniversitesi Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği AD, Bolu;

⁴Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji AD, Düzce; ⁵Düzce Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim AD, Düzce

ÖZ

Amaç: Anksiyete, kaygı olarak bilinen, günlük yaşamda normal kabul edilen ve organizmayı korumak amaçlı gelişen bir davranış türüdür. Bu çalışmanın amacı egzersizle birlikte verilen eksojen galaninin anksiyete üzerine etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntemler: Çalışmada 96 yetişkin erkek Wistar Albino rat kullanıldı. Ratlar on ikişerli 8 gruba ayrıldı ve 4 gruba 6 hafta boyunca düzenli egzersiz yaptırıldı. Grupların yarısına galanin intraperitoneal (IP) ve intraserebroventriküler (ICV) şekilde verildi ve her grubun kendi kontrol grubuna da aynı yöntemlerle salin enjekte edildi. Altıncı hafta sonunda ratlara açık alan ve yükseltmiş artı labirent testleri uygulanarak kamera kayıtları alındı. Her iki testin de kayıtları incelenerek elde edilen katedilen toplam mesafeler ve hız değerleri ile açık alan testinde merkezde geçirilen süre ve yükseltmiş artı labirent testinde kapalı kolda geçirilen süre karşılaştırıldı.

Bulgular: Açık alan testinde, genel olarak ICV enjeksiyon yapılan ratlarda, IP enjeksiyon yapılan ratlara göre katedilen toplam mesafenin ($p<0,001$) ve hızın arttığı ($p<0,001$) tespit edilmiştir. Egzersiz ve galanin etkileşimi açısından bakıldığında da anlamlı bir farklılık tespit edilmemiş, yine ICV galanin verilen ratlarda IP galanin verilen ratlara kıyasla katedilen toplam mesafenin ($p=0,032$) ve hızın ($p=0,010$) arttığı görülmüştür. Yükseltmiş artı labirent testinde de egzersiz ve galanin etkileşimi istatistiksel olarak önemli bulunmamış, enjeksiyon şekli ve verilen madde etkileşiminin ise kapalı kolda kalış süresi ($p=0,020$) ve hız ($p=0,032$) açısından anlamlı olduğu tespit edilmiştir.

Sonuç: Galaninin santral olarak verilmesinin anksiyolitik etkinliği olabileceği gösterilmekle birlikte bu etkinin egzersizle birlikte değişmediği, galanin ile birlikte egzersiz uygulamasının bu etkinlik üzerine herhangi bir etkisi olmadığı belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Egzersiz; galanin; anksiyete; rat; açık alan testi; yükseltmiş artı labirent testi.

ABSTRACT

Aim: Anxiety, known as worry, considered normal in everyday life, and also it is a type of behavior developed to protect the organism. The aim of this study is to investigate the effects of exogenous galanin given with exercise on anxiety.

Material and Methods: In this study 96 adult male Wistar Albino rats were used. Rats were divided into 8 groups with twelve animals, and 4 of the groups were given regular exercise for 6 weeks. Galanin was administered intraperitoneally (IP) and intracerebroventricular (ICV) in half of the groups and saline was injected into the control group of each group with the same methods. At the end of the sixth week, open field and elevated plus maze tests were applied to the rats, and these tests recorded with the camera. The recordings of the both tests were analyzed, and total distance and speed values, the time spent in the open field test and the time spent in the closed arm of elevated plus maze were compared.

Results: In the open field test were determined that in general, the total distance ($p<0.001$) and the speed increased ($p<0.001$) in rats injected with ICV compared to the rats injected with IP. There is no significant difference was detected in terms of exercise and galanin interaction. Also the total distance ($p=0,032$) and the speed increased ($p=0,010$) in rats injected with ICV compared to the rats injected with IP. In elevated plus maze test, exercise and galanin interaction were not found to be statistically significant, however the interaction between the injection pattern and the given substance was found to be significant in terms of time spent in the closed arm ($p=0.020$) and speed ($p=0.032$).

Conclusion: Although it has been shown that central administration of galanin may have anxiolytic activity, this effect has not changed with exercise, and also it has been determined that exercise with galanin has no effect on this activity.

Keywords: Exercise; galanin; anxiety; rat; open field test; elevated plus maze test.

Sorumlu Yazar / Corresponding Author: Ersin BEYAZÇİÇEK, beyazcicek13@gmail.com, ORCID: orcid.org/0000-0002-6817-4512

Geliş Tarihi / Received: 29.11.2018 Kabul Tarihi / Accepted: 08.12.2018

GİRİŞ

Yaşamın normal bir parçası sayılan ve kaygı olarak da bilinen anksiyete, yaşam içinde değişik konularla ilgili olarak ortaya çıkabilir. Korku ve kaygıyla ilişkili davranışlar da aslında organizmayı korumak için hizmet eden adaptif türden davranışlardır (1). Anksiyete potansiyel bir tehlike algılandığında ortaya çıkarak organizmanın tehlikeli durumdan kendini koruyarak yaşamına devam etmesini sağlar. Eğer anksiyete objektif bir tehlike durumu olmaksızın sanki varmış gibi algılanarak abartılı ve kişinin günlük yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen şekilde, dehşet, endişe veya bir felaketin yaklaştığı duygusu ile karakterize ise "anormal anksiyete"den söz edilir (2). Bu davranışların kalıcı, aşırı olması ya da klinik olarak düzeltilemiyor olması ise mental bozukluk olarak tanımlanır (3). Anksiyete bozuklukları birey üzerinde yaygın fiziksel, sosyal, duygusal etkiler yaratarak yaşam kalitesini bozar ve mesleki işlev bozuklukları göstermesine neden olur (4-5).

Düzenli egzersizin anksiyetik bozukluk riskini de azalttığını gösteren çalışmalar mevcut olmakla birlikte (6), fiziksel hareketsizlik de anksiyete için bir risk faktörü oluşturmaktadır. Özellikle son 30 yıl içerisindeki yapılan egzersiz çalışmaları, anksiyete tedavisi için umut verici olmaktadır (7). Fiziksel aktivitenin, anksiyetik semptomların azaltılmasında etkili olduğu, standart formlardaki anksiyete tedavilerine alternatif olduğu ve özellikle de küçük ve orta düzeydeki anksiyete bozukluklarında yaşa, cinsiyete ve medikal tedavi alıp almamaya göre farklı etkisi olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (8,9). Anksiyeteyi artıran bir faktör olarak stres ve egzersiz arasındaki ilişki ile yapılan çalışmalarda, egzersizin aşırı stres durumlarında beyni nörobiyolojik, nöroendokrin ve nöroimmun yönlerden de koruduğu gösterilmiştir. Bu durumda egzersizin yaratmış olduğu stresin kontrol edilebilir, beyinde ödüllendirme yanıtına dayalı ve nöroprotektif etkilerinden dolayı diğer stres faktörlerinden ayrıldığı belirtilmiştir (10).

Anksiyojenik davranış geçmişli olan ratlarda düzenli üç haftalık egzersizin, davranış kalıbını anksiyotik olarak dönüşüme uğrattığı fakat bunun yanında, anksiyojenik ilaçların yüksek dozda verildiği ratlarda ise egzersizin herhangi bir etkisinin olmadığını bildirmiştir. Düzenli egzersiz yapan ratların sedanter ratlara göre stres seviyelerinin daha yüksek olduğunu gösteren kanıtların da yeterli olmadığını bildiren çalışmalar da mevcuttur (11). Buna rağmen anksiyete ve egzersiz çalışmalarında halen nasıl bir etkileşim olduğu belirsiz olmakla birlikte, egzersizin nörojenik, nöroplastik ve nörotrofik etkileri henüz aydınlatılmamıştır (12).

Bir nöropeptid olan galanin ailesinde; galanin, galanin benzeri peptid (galanin-like peptide, GALP), Galanin-mesaj ilişkili peptid (galanin-message associated peptide, GMAP) ve alanin olmak üzere 4 adet üyeye sahiptir. Biyolojik ve patolojik pek çok olayda görev alırlar. Profesör Viktor Mutt ve arkadaşları tarafından bulunan galanin, C terminalinde α -amide motifleri bulundurmasıyla dikkati çeken bir molekül olmuştur. Galaninin plazmadan temizlenme yarı ömrünün $3,7 \pm 0,4$ dakika olduğu belirtilmiştir. Moleküler olarak yazılışı $C_{146}H_{213}N_{43}O_{40}$ şeklinde olup molar kütlesi $3210,56$ g/mol'dür (13,14). Ratlarda galanin locus coeruleus bölgesinde noradrenalinle birlikte ve dorsal kök ganglionlarında seratoninle birlikte bulunmaktadır (15). Locus coeruleusta nörepinefrinle birlikte bulunan galanin, yüksek aktivasyon koşullarında ve amperometrik deneylerde nörepinefrinle birlikte salınmaktadır (16,17). Stresin ve stres yaratan faktörlerin locus coeruleusta, amigdalada ve hipotalamusta preprogalanin yapımını ve galanin reseptör yoğunluğunu artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (18).

Açık alan testi, deney hayvanında araştırılmak istenen ilaç enjeksiyonu ya da deney öncesi ve sonrası duygusal durumda meydana gelebilecek değişiklikleri saptamak için en çok kullanılan testlerden biridir (19-23). Aynı zamanda anksiyeteye bağlı gelişen duyguların, lokomotor aktivite ve sedasyonun tespitinde de kullanılabilen bir testtir. Açık alan testlerinde toplam katedilen mesafe, merkezde geçirilen süre, kenarlarda

geçirilen süre ve hız parametreleri değerlendirilmektedir. Toplam katedilen mesafe fazla, rat hareketli ve merkezde geçirilen süre fazla ise anksiyetenin az, kenarda geçirilen süre fazla ve rat hareketsiz ise anksiyetenin fazla olduğu ifade edilmektedir (23). Yükseltilmiş artı labirent testi teorik olarak, ratların doğuştan açık ve yüksek yerlerden korkuyor olmaları ve kendini korumasız ve güvensiz hissettiği açık alanlardan içgüdüsel olarak kaçınması üzerine kurulmuştur. Yükseltilmiş labirent deneylerinde ratlar yüzü açık olan kollardan birine bakar şekilde alanın merkezine doğru bırakılırlar. Ratların bilmedikleri çevreyi tanıma davranışları sırasında alanın yükseltilmiş olması anksiyeteyi artırıcı bir etkidir. Anksiyetik davranış gösteren ratlarda, kapalı kolda geçirilen süre artmakta, açık kolda harcanan süre azalmaktadır (24-26).

Bu çalışmada, galaninin intraserebroventriküler (ICV) veya intraperitoneal (IP) olarak verilmesinin anksiyete üzerine etkisinin ve galanin ile birlikte egzersiz uygulanması durumunda, anksiyete üzerine birlikte etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Hayvanlar

Çalışma, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde 23°C oda ısısında, 12L:12D fotoperiyodunda yetiştirilen, besin ve su alımları serbest olan 2-4 aylık ve ortalama 220 ± 30 gr ağırlığında, 96 adet Wistar Albino Rat ile gerçekleştirildi. Ratlar on ikişerli 8 gruba ayrıldı ve 4 gruba 6 hafta boyunca düzenli egzersiz yaptırıldı. Grupların yarısına galanin ICV ve IP şeklinde verilirken her grubun kendi kontrol grubuna da aynı yöntemlerle salin enjekte edildi. Çalışma için Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi etik kurulundan onay (2015/12) alındı.

Cerrahi Prosedür

ICV enjeksiyon yapılacak olan gruplara 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin verilerek anestezi altına alındı. Her bir hayvan anesteziye alındıktan sonra stereotaksik çerçeveye tespit edildi ve baş bölgesi tıraş edildikten sonra kafa derisi orta hat boyunca önden arkaya doğru bistiği ile kesildi. Daha sonra korteks üzerindeki kemik kısmı tur motoruyla inceltirilerek dikkatlice kaldırıldı. $1,4$ cm uzunlukta, 26° lık paslanmaz çelik hipodermik hortum, sağ ventriküle koordinatları $0,5$ mm posterior, $3,0$ mm bregma laterale, $4,0$ mm bregma ventrale ve $3,5$ mm derinliğe yerleştirildi. Hipokampus hizası korteks noktası belirlenerek kanül yerleştirildi. Yerleştirilen kanül dental akrilikle sabitlendi. Cerrahi işlem sonrası 7 gün iyileşmeye bırakılan ratlara bu süre boyunca analjezik olarak 10 mg/kg meloksikam intramüsküler olarak verildi.

Maddeler ve Dozları

Galanin (Bio-Techne Corporation, Minneapolis, MN, Amerika Birleşik Devletleri) halinde çözülerek stok çözelti hazırlandı ve $+4^{\circ}\text{C}$ derecede buzdolabında saklandı. Egzersizden 30 dakika önce, IP ilaç verilecek gruplara altı hafta boyunca 10 $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gün}$ dozunda, ICV ilaç verilecek olan gruplara ise eğitim süresince 3 nmol/kg/gün dozunda, cerrahi prosedür kısmında ayrıntıları anlatılan kanülden galanin veya salin enjeksiyonu yapıldı.

Yüzme Egzersiz Protokolü

Egzersizde kullanılan morris su tankı $1,4$ m dış çaplı, 60 cm yüksekliğinde, 48 cm derinlikte ve $26-28^{\circ}\text{C}$ sıcaklıktadır. Yüzme egzersizi ilk gün 5 dakika, ikinci gün 10 dakika, üçüncü gün 15 dakika, dördüncü gün 20 dakika, beşinci gün 25 dakika ve kalan diğer tüm günler boyunca 30 dakika olacak şekilde başlatıldı.

Açık Alan Testi

Test günü ilaç enjeksiyonları 30 dakika öncesinde yapılan ratlar, açık alan deney düzeneğine merkezden bırakılarak 5 dakika boyunca kamera kayıtları alınarak bilgisayar programına aktarıldı. Her hayvanın kamera kaydı sonrasında deney düzeneği temizlendi ve alkolle silinerek koddan arındırıldı.

Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent testinde yerden yüksekliği 50 cm olan artı şeklinde, uzunlukları 50 cm ve genişlikleri 10 cm'lik açık ve

kapalı alanlar içeren labirentler kullanılmaktadır. Test günü ilaç enjeksiyonları yarım öncesinde yapılan ratlar, yükseltilmiş artı labirent deney düzeneğine, yüzü açık olan kollardan birine bakar şekilde alanın merkezine doğru bırakıldı ve 5 dakika boyunca kamera kayıtları alınarak bilgisayar programına aktarıldı. Her hayvanın kamera kaydı sonrasında deney düzeneği temizlendi ve alkolle silinerek kokudan arındırıldı.

İstatistiksel Analiz

Katedilen toplam mesafe, hız, merkezde geçirilen süre ve kapalı kolda geçirilen süre üzerine ilk olarak verilen madde ile verme şeklinin birlikte (etkileşim) etkisi ve daha sonra galaninin verme şekli ile egzersizin birlikte (etkileşim) etkisi İki Yönlü Varyans Analizi ile incelenmiştir. Gruplar arasında anlamlı farklılık bulunması durumunda Tukey post hoc test istatistiği kullanılmıştır. İstatistiksel analizler SPSS v.22 paket programı ile yapılmış ve anlamlılık düzeyi 0,05 olarak dikkate alınmıştır.

BULGULAR

Açık alan testinde katedilen toplam mesafe, merkezde geçirilen süre ve hız, yükseltilmiş artı labirent testinde ise yine katedilen toplam mesafe ve hız ile birlikte kapalı kolda geçirilen süre incelenmiştir.

Açık Alan Testi Sonuçları

Egzersiz yaptırılmayan gruplarda açık alan testinde katedilen toplam mesafe ($p=0,239$), merkezde geçirilen süre ($p=0,822$) ve hız ($p=0,243$) bakımından, verilen madde ve verme şekli etkileşimleri anlamlı bulunmamıştır. Genel olarak galanin ve salin grupları arasında da anlamlı farklılık bulunmazken, maddelerin ICV ya da IP şeklinde verilmesi durumunda katedilen toplam mesafe ($p<0,001$) ve hız ($p<0,001$) bakımından anlamlı farklılık olduğu tespit edilmiştir. Genel olarak bakıldığında santral olarak galanin ve salin verilen grupların sistemik olarak verilen gruplara göre hem toplam katettikleri mesafenin hem de hızlarının daha fazla olduğu görülmüştür (Tablo 1, Şekil 1).

Tablo 1. Egzersiz yapmayan gruplarda açık alan testi sonuçları

		Galanin	Salin	p
Katedilen Toplam Mesafe (cm)	ICV	2482,61±492,56	2879,28±367,75	0,137
	IP	2095,29±445,16	2142,20±673,87	
	p	<0,001		
Merkezde Geçirilen Süre (dk)	ICV	4,92±0,12	4,92±0,05	0,392
	IP	4,87±0,26	4,90±0,12	
	p	0,739		
Hız (cm/dk)	ICV	497,34±99,07	576,45±74,29	0,139
	IP	419,71±89,40	429,22±135,03	
	p	<0,001		

Tablo 2. Galanin ile birlikte egzersiz yapan ve yapmayan gruplarda açık alan testi sonuçları

		Egzersiz (+)	Egzersiz (-)	p
Katedilen Toplam Mesafe (cm)	ICV	2432,91±562,64	2482,61±492,56	0,820
	IP	2208,38±403,27	2095,29±445,16	
	p	0,032		
Merkezde Geçirilen Süre (dk)	ICV	4,92±0,05	4,92±0,12	0,798
	IP	4,94±0,11	4,87±0,26	
	p	0,423		
Hız (cm/dk)	ICV	504,41±99,39	497,34±99,07	0,636
	IP	438,04±79,77	419,71±89,40	
	p	0,010		

Benzer şekilde, egzersiz ile galaninin birlikte etkisinin incelendiği gruplarda da katedilen toplam mesafe ($p=0,560$), merkezde geçirilen süre ($p=0,401$) ve hız ($p=0,833$) bakımından, galaninin verilme şekli ve egzersiz etkileşimleri anlamlı bulunmamış, genel olarak egzersiz yapan ve yapmayan gruplar arasında da anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür. Galaninin ICV ya da IP şeklinde verilmesi durumunda ise katedilen toplam mesafe ($p=0,032$) ve hız ($p=0,010$) bakımından anlamlı farklılık olduğu görülmüştür. Galaninin santral olarak verilmesi durumunda, yine toplam kat edilen mesafe ve hız sistemik olarak verilmesine göre daha yüksek bulunmuştur (Tablo 2, Şekil 2).

Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Sonuçları

Egzersiz yaptırılmayan gruplarda katedilen toplam mesafe bakımından verilen madde ve verme şekli etkileşimi anlamlı bulunmazken ($p=0,208$) kapalı kolda geçirilen süre ($p=0,020$) ve hız ($p=0,032$) bakımından verilen madde ve verme şekli etkileşimleri anlamlı bulunmuştur. Galanin ICV olarak verildiğinde IP olarak verilmesine kıyasla kapalı kolda daha uzun süre geçirilirken, salinde ise bunun tam tersi ICV olarak verilen grupta IP olarak verilen gruba göre kapalı kolda daha kısa süre geçirildiği görülmüştür. Testteki hızlar bakımından her iki madde için de ICV olarak verilmesi durumunda IP olarak verilmesine kıyasla daha yüksek hız değerleri elde edilmesine karşın, salin verilen grupta bu farklılığın galanin verilen gruba göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3, Şekil 3).

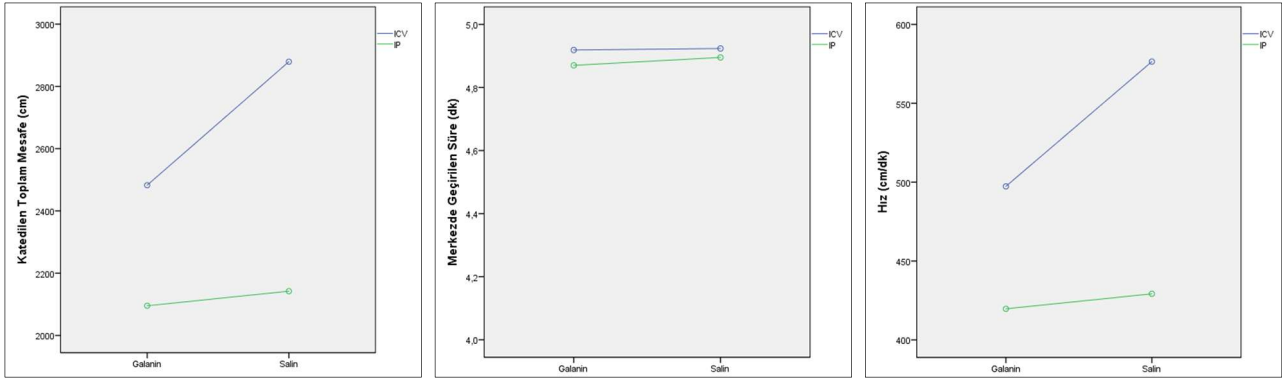
Yükseltilmiş artı labirent testinde, egzersiz ile galaninin birlikte etkisi incelendiğinde katedilen toplam mesafe ($p=0,807$), kapalı kolda geçirilen süre ($p=0,692$) ve hız ($p=0,281$) bakımından, galaninin verilme şekli ve egzersiz etkileşimleri anlamlı bulunmamış, genel olarak egzersiz yapan ve yapmayan gruplar arasında da anlamlı farklılık olmadığı görülmüştür. Galaninin ICV ya da IP olarak verilmesinde de katedilen toplam mesafe, kapalı kolda geçirilen süre ve hız bakımından yine istatistiksel olarak önemli bir farklılık olmadığı görülmüştür. (Tablo 4, Şekil 4).

Tablo 3. Egzersiz yapmayan gruplarda artı labirent test sonuçları

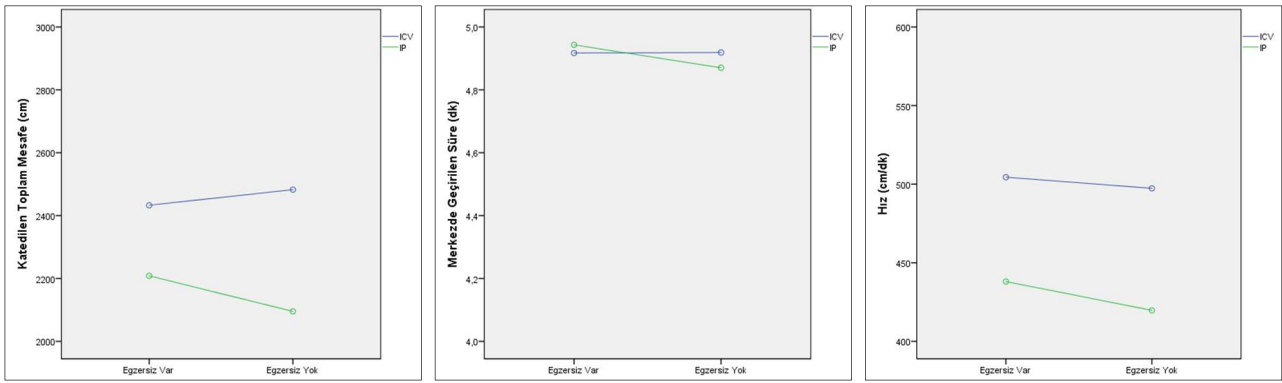
		Galanin	Salin	p
Katedilen Toplam Mesafe (cm)	ICV	1321,12±439,31	1747,89±696,84	0,092
	IP	1258,63±382,72	1325,95±353,14	
	p	0,086		
Kapalı Kolda Geçirilen Süre (dk)	ICV	4,16±0,35	4,04±0,42	0,839
	IP	3,86±0,68	4,40±0,34	
	p	0,127		
Hız (cm/dk)	ICV	314,78±84,61	408,73±96,43	0,001
	IP	281,76±91,09	265,61±70,43	
	p	0,125		

Tablo 4. Galanin ile birlikte egzersiz yapan ve yapmayan gruplarda yükseltilmiş artı labirent testi sonuçları

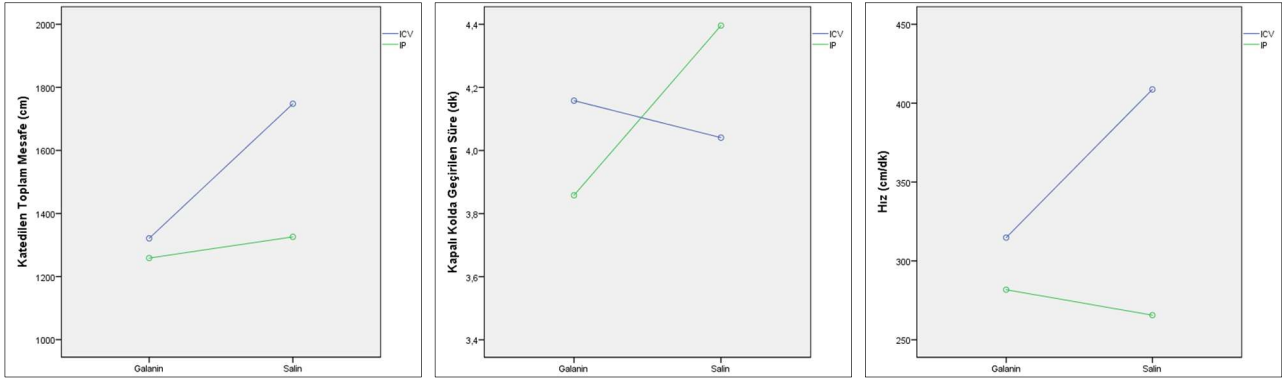
		Egzersiz (+)	Egzersiz (-)	p
Kapalı Kolda Geçirilen Süre (dk)	ICV	1281,32±294,38	1321,12±439,31	0,422
	IP	1164,36±401,87	1258,63±382,72	
	p	0,548		
Merkezde Geçirilen Süre (dk)	ICV	4,17±0,31	4,16±0,35	0,152
	IP	4,00±0,75	3,86±0,68	
	p	0,636		
Hız (cm/dk)	ICV	256,75±58,98	314,78±84,61	0,678
	IP	271,47±63,69	281,76±91,09	
	p	0,126		



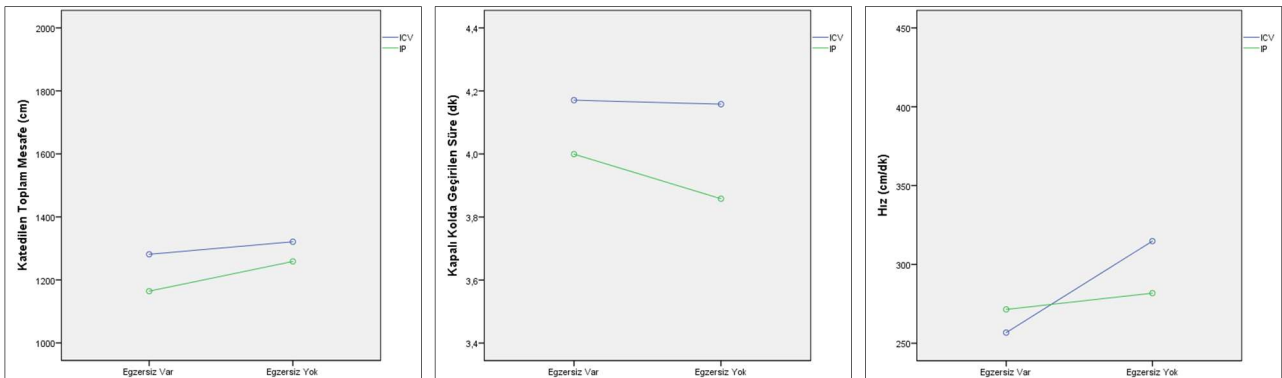
Şekil 1. Egzersiz yapmayan gruplarda açık alan testi sonuçları, IP: intraperitoneal, ICV: intrasebroventriküler



Şekil 2. Egzersiz yapan ve yapmayan gruplarda açık alan testi sonuçları, IP: intraperitoneal, ICV: intrasebroventriküler



Şekil 3. Egzersiz yapmayan gruplarda yükseltilmiş artı labirent testi sonuçları, IP: intraperitoneal, ICV: intrasebroventriküler



Şekil 4. Egzersiz yapan ve yapmayan gruplarda yükseltilmiş artı labirent testi sonuçları, IP: intraperitoneal, ICV: intrasebroventriküler

TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada galaninin egzersiz ile birlikte santral ve periferik uygulanmasının anksiyete üzerine etkisi araştırılmıştır. Açık alan testi sonuçlarına bakıldığında, ICV galanin verilen ratlarda, IP galanin verilen ratlara göre katedilen toplam mesafenin artmış olması, merkezde geçirilen sürenin fazla olması, dolayısıyla kenarda geçirilen sürenin kısalması ve ratların hızlarının artmış olması ICV verilen galaninin ratlarda anksiyeteyi azaltmış olduğunu düşündürmektedir. Bunun yanında kontrol gruplarıyla kıyaslandığında IP verilen galaninin ratlarda anksiyete üzerine tüm parametrelerde herhangi bir etkisi bulunamamıştır. Egzersizin anksiyete üzerine etkilerine galanin ile etkileşimi açısından bakıldığında, ICV ve IP olarak galanin verilen grupların egzersiz yapıp yapılmamasına göre kıyaslandığında aralarında herhangi bir anlamlı farklılık bulunmamaktadır. Egzersizin galaninle birlikte uygulanmasının anksiyete üzerine anlamlı herhangi bir etkisi saptanamamıştır.

Galanin ve egzersizin yükseltilmiş arti labirent testinde de anksiyete üzerine birlikte etkileri bakımından istatistiksel olarak önemli bir sonuç ortaya çıkmamıştır. Egzersiz yaptırılmayan grupta kapalı kolda geçirilen süre ve ratların hızlarında maddenin ICV veya IP olarak verilmesinin galanin ve salin için farklı sonuçlara neden olduğu görülmüştür. ICV olarak verilen galanin kapalı kolda geçirilen sürede artışa sebep olurken salin ise tam tersine ICV olarak verilmesi durumunda bu süreyi azaltarak anksiyete üzerine olumlu etki göstermektedir. Yine ICV olarak verilen galaninin ratların hızlarında küçük bir artış sağladığı, bununla birlikte ICV olarak verilen salinde ise bu etkinin galanine kıyasla daha fazla olduğu görülmüştür. Kapalı kolda geçirilen süre ve hız parametrelerinde ortaya çıkan bu sonuçlara bakıldığında IP ve ICV olarak verilen galaninin etkilerinin farklı olduğu görülmektedir. IP olarak verilmesi durumunda galanin ratlarda anksiyetik davranış kalıbı oluşturmamakla birlikte, saline kıyasla anksiyolitik davranış etkileri göstermekte, ICV olarak verildiğinde ise tam tersi saline kıyasla ratlarda anksiyetik davranış kalıbı ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu durumda egzersiz yapmayan gruplarda, anksiyetenin daha yüksek olduğu ve eksojen olarak verilen galaninin de anksiyetik davranışların artışında rol oynadığı görülmektedir. Egzersiz gruplarında ise eksojen verilen galanin olumlu etki göstermeye de herhangi bir anksiyetik davranışa da neden olmadığı görülmektedir. Dolayısıyla egzersizin, eksojen olarak verilen galanine bağlı gelişen anksiyetik davranışlardaki artışı engellediğini söylemek de mümkündür. Bu sonuç, egzersiz ile ilgili yapılan anksiyetik davranış çalışmalarındaki egzersizin anksiyeteyi azalttığı yönündeki sonuçlarla da uyumludur (11).

Egzersizle ilgili yapılan çalışmalar egzersiz ve stres arasındaki bağlantıyı farklı durumlarla açıklamışlardır. Egzersizin anksiyolitik (22,27,28), anksiyojenik (29) ya da etkisiz (11) olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. Egzersiz ve stres çalışmalarının bu kadar çok çeşitlilik göstermesinde, ratların yaşına, cinsiyetine, sosyal koşullarına, genetik varyasyonlara ve uygulanan stres testlerine göre değişkenlik gösterdiği bildirilmiştir (30,31). Bu çalışmada açık alan testi deneyinde, egzersizin galanin ile birlikte uygulanması durumunda anksiyete üzerine herhangi bir farklı etkisinin olmadığı görülmüştür. Bununla birlikte, yükseltilmiş arti labirent testinde egzersiz yapan grupta eksojen galanin verilmesinde anksiyetik davranış kalıbı oluşmazken, egzersiz yapmayan gruplarda anksiyete davranışları gerçekleşmiştir. Yapılan çalışmalarda egzersizin anksiyolitik etkilerini galanin üzerinden nörepinefrin salınımını azaltarak yaptığı düşünülmektedir (32,33). Bu durumda, egzersizin anksiyete üzerine doğrudan olumlu etkisine dair bir sonuç ortaya çıkmamakla birlikte, diğer yapılan çalışmalarla da uyumlu olarak egzersizin anksiyetik davranışları azalttığını söylemek mümkündür.

Hem galaninin hem de non selektif galanin agonistlerinin doza bağımlı olarak sistemik ve ICV enjeksiyonun anksiyetik davranışları azalttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (34). M35 ve M40 gibi galanin reseptör antagonistlerinin anksiyetik davranışları

azalttığını gösteren çalışmalar olmakla birlikte ilginçtir ki, GalR3 reseptör antagonisti SNAP37889 ve SNAP398299'un anksiyolitik davranışları oluşturduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur. Bu durum galanin reseptörlerinin anksiyetik ve anksiyolitik davranışlarda farklı etkiler yarattığını ayrıca beynin farklı bölgelerinden salgılanan galaninin de bu tip davranışlarda farklı etkiler gösterdiğini düşündürmektedir (35-38). Galaninin anksiyete üzerine farklı etkilerinin olduğunu gösteren çalışmalar mevcut olmakla birlikte bu çalışmada da ICV galaninin anksiyeteyi azaltıcı yönde etkisinin olduğunu söylemek mümkündür.

Bu çalışma, IP ve ICV verilen galaninin anksiyete üzerine etkileri bakımından yapılan ilk çalışma olması nedeniyle verilmiş etkisinin farklı olduğunu da ortaya koymaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen bulgular, galaninin ratlara santral olarak verilmesinin anksiyolitik etkinliği olabileceğini göstermesine rağmen, literatürdeki çelişkili bulgular mekanizmanın aydınlatılması için daha fazla çalışma yapılması gerektiğini göstermektedir.

Teşekkür

Bu çalışma Düzce Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Destek Programı kapsamında 2015.04.01.355 numaralı proje ile desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

1. Belzung C, Philippot P. Anxiety from a phylogenetic perspective: is there a qualitative difference between human and animal anxiety. *Neural Plast.* 2007;2007:59676.
2. Uzbay İT. Anksiyetenin nörobiyolojisi. *Klinik Psikiyatri Dergisi.* 2002;(Ek Sayı 1):5-13.
3. DSM-IV-TR, A.P.A. Diagnostic and statistical manual of mental disorders, text revision. Washington, DC: American Psychiatric Association, 2000.
4. Mendlowicz MV, Stein MBA. Quality of life in individuals with anxiety disorders. *J Psychiatry.* 2000;157(5):669-82.
5. Kessler RC, Aguilar-Gaxiola S, Alonso J, Chatterji S, Lee S, Ormel J, et al. The global burden of mental disorders: an update from the WHO World Mental Health (WMH) surveys. *Epidemiol Psichiatr Soc.* 2009;18(1), 23-33.
6. Goodwin RD. Association between physical activity and mental disorders among adults in the United States. *Prev Med.* 2003;36(6):698-703.
7. Abu-Omar K, Rütten A, Lehtinen V. Mental health and physical activity in the European Union. *Soz Praventivmed.* 2004;49(5):301-9.
8. Herring MP, O'Connor PJ, Dishman RK. The effect of exercise training on anxiety symptoms among patients: a systematic review. *Arch Intern Med.* 2010;170(4):321-31.
9. Carek PJ, Laibstein SE, Carek SMI. Exercise for the treatment of depression and anxiety. *Int J Psychiatry Med.* 2011;41(1):15-28.
10. Greenwood BN, Fleshner M. Exercise, stress resistance, and central serotonergic systems. *Exerc Sport Sci Rev.* 2011;39(3):140-9.
11. Fuss J, Ben Abdallah NM, Hensley FW, Weber KJ, Hellweg R, Gass P. Deletion of running-induced hippocampal neurogenesis by irradiation prevents development of an anxious phenotype in mice. *PLoS One.* 2010;5(9):e12769.
12. van Praag H. Exercise and the brain: something to chew on. *Trends Neurosci.* 2009;32(5):283-90.
13. Webling KE, Runesson J, Bartfai T, Langel U. Galanin receptors and ligands. *Front Endocrinol.* 2012;3:146.
14. Lang R, Gundlach AL, Kofler B. The galanin peptide family: Receptor pharmacology, pleiotropic biological actions, and implications in health and disease. *Pharmacol Ther.* 2007;115(2):177-207.
15. Corness J, Shi TJ, Xu ZQ, Brulet P, Hökfelt T. Influence of leukemia inhibitory factor on galanin/GMAP and neuropeptide Y expression in mouse primary sensory neurons after axotomy. *Exp Brain Res.* 1996;112(1):79-88.

16. Holmes PV, Crawley JN. Coexisting neurotransmitters in central noradrenergic neurons. In: Bloom FE, Kupfer DJ, editors. Psychopharmacology: The Fourth Generation of Progress. New York: Raven Press; 1995. p.347-53.
17. Huang HP, Wang SR, Yao W, Zhang C, Zhou Y, Chen XW, et al. Long latency of evoked quantal transmitter release from somata of locus coeruleus neurons in rat pontine slices. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104(4):1401-6.
18. O'Neal HA, Van Hoomissen JD, Holmes PV, Dishman RK. Prepro-galanin messenger RNA levels are increased in rat locus coeruleus after treadmill exercise training. *Neurosci Lett*. 2001;299(1-2):69-72.
19. Uchiumi K, Aoki M, Kikusui T, Takeuchi Y, Mori Y. Wheel-running activity increases with social stress in male DBA mice. *Physiol Behav*. 2008;93(1-2):1-7.
20. Karlsson RM, Holmes A, Heilig M, Crawley JN. Anxiolytic-like actions of centrally-administered neuropeptide Y, but not galanin, in C57BL/6J mice. *Pharmacol Biochem Behav*. 2005 Mar; 80(3):427-36.
21. Candland DK, Nagy ZM. The open field: some comparative data. *Ann N Y Acad Sci*. 1969;159(3):831-51.
22. Prut I, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol*. 2003;463(1-3):3-33.
23. Phillips KM. Effects of time and administration of ethanol on open field behavior in hamsters. *Physiol Behav*. 1982;29(5):785-7.
24. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nat Protoc*. 2007;2(2):322-8.
25. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods*. 1985;14(3):149-67.
26. Wall PM, Messier C. Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 2001;25(3):275-86.
27. Lieben CK, van Oorsouw K, Deutz NE, Blokland A. Acute tryptophan depletion induced by a gelatin-based mixture impairs object memory but not affective behavior and spatial learning in the rat. *Behav Brain Res*. 2004;151(1-2):53-64.
28. Binder E, Droste SK, Ohl F, Reul JM. Regular voluntary exercise reduces anxiety-related behaviour and impulsiveness in mice. *Behav Brain Res*. 2004;155(2):197-206.
29. Hopkins ME, Bucci DJ. BDNF expression in perirhinal cortex is associated with exercise-induced improvement in object recognition memory. *Neurobiol Learn Mem*. 2010;94(2):278-84.
30. Takahashi A, Nishi A, Ishii A, Shiroishi T, Koide T. Systematic analysis of emotionality in consomic mouse strains established from C57BL/6J and wild-derived MSM/Ms. *Genes Brain Behav*. 2008;7(8):849-58.
31. Stranahan AM, Lee K, Mattson MP. Central mechanisms of HPA axis regulation by voluntary exercise. *Neuromolecular Med*. 2008;10(2):118-27.
32. Yoshitake T, Wang FH, Kuteeva E, Holmberg K, Yamaguchi M, Crawley JN, et al. Enhanced hippocampal noradrenaline and serotonin release in galanin-overexpressing mice after repeated forced swimming test. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2004;101(1):354-9.
33. Grace L, Heschem S, Kellaway LA, Bugarith K, Russell VA. Effect of exercise on learning and memory in a rat model of developmental stress. *Metab Brain Dis*. 2009;24(4):643-57.
34. Rajarao SJ, Platt B, Sukoff SJ, Lin Q, Bender CN, Nieuwenhuijsen BW, et al. Anxiolytic-like activity of the non-selective galanin receptor agonist, galnon. *Neuropeptides*. 2007;41(5):307-20.
35. Pietropaolo S, Feldon J, Alleve E, Cirulli F, Yee BK. The role of voluntary exercise in enriched rearing: a behavioral analysis. *Behav Neurosci*. 2006;120(4):787-803.
36. Lyudyno VI, Abdurasulova IN, Klimenko VM. The role of the neuropeptide galanin in forming type-specific behavioral characteristics. *Neurosci Behav Physiol*. 2008;38(1):93-8.
37. Swanson CJ, Blackburn TP, Zhang X, Zheng K, Xu ZQ, Hökfelt T, et al. Anxiolytic- and antidepressant-like profiles of the galanin-3 receptor (Gal3) antagonists SNAP 37889 and SNAP 398299. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005;102(48):17489-94.
38. Rotzinger S, Lovejoy DA, Tan L. Behavioral effects of neuropeptides in rodent models of depression and anxiety. *Peptides*. 2010;31(4):736-56.