

Atrial Natriüretik Peptidin Kronik İmmobilizasyon Stresine Maruz Bırakılmış Sıçanlarda Davranışsal Umutsuzluk Üzerine Etkisi

The Effects of Atrial Natriuretic Peptide on Behavioral Despair in Rats Exposed to Chronic Immobilization Stress

Ejder Akgün Yıldırım¹, Murat Mengi², Sibel Turhan³, Ertan Yurdakoş⁴

¹Uz.Dr., Bakırköy Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ³Uz.Dr., Serbest Hekim, ²Dr., ⁴Prof.Dr., İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, İstanbul

ÖZET

Amaç: Atrial natriüretik peptidin (ANP) anksiyolitik etkinliği deneysel olarak gösterilmiştir. Çalışmamızda intraserebroventriküler olarak uygulanan ANP'nin kronik immobilizasyon stresine maruz bırakılmış sıçanlarda davranışsal umutsuzluk üzerine etkisi araştırılmıştır. **Yöntem:** Çalışmada 250-300 g ağırlığında, Wistar-albino erkek erişkin sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları 4 gruba ayrıldı. 1-Kontrol grubu: Cerrahi girişim ve madde enjeksiyonu yapılmayan grup (n=8). 2-Sham grubu: İntraserebroventriküler 5 µl serum fizyolojik uygulanan grup (n=8). 3-Kronik immobil grup: iki hafta süreyle günde 7'şer dakika immobilizasyon stresi ve intraserebroventriküler 5 µl serum fizyolojik uygulanan grup (n=8). 4-ANP grubu: iki hafta süreyle günde 7'şer dakika immobilizasyon stresi ve 0.5 µg/5 µl intraserebroventriküler ANP uygulanan grup (n=8). Davranışsal test olarak Porsolt yüzme testi kullanıldı. Sonuçlar tek yönlü ANOVA ve Wilcoxon testleri kullanılarak değerlendirildi. **Bulgular:** Porsolt yüzme testinde kontrol ve sham gruplarında immobilizasyon süreleri uzamış ve davranışsal umutsuzluk gelişmiştir. Diğer taraftan kontrol ve sham grupları ile karşılaştırıldığında kronik immobil ve ANP gruplarında belirgin bir davranışsal umutsuzluk durumu gelişmemiştir. **Sonuç:** Bu sonuçlar Porsolt yüzme testinde hem kronik hafif derecede stresin hem de kronik hafif derecede strese maruz bırakılmış sıçanlarda intraserebroventriküler ANP uygulamasının davranışsal umutsuzluk gelişmesi üzerinde koruyucu etkisi olduğunu göstermektedir. Diğer taraftan bu etkinlikte ANP'nin rolü yeterince aydınlatılamamıştır.

Anahtar Sözcükler: Atrial natriüretik peptid, davranışsal umutsuzluk, kronik stres.

(*Klinik Psikiyatri 2012;15:7-17*)

SUMMARY

Objectives: Anxiolytic efficacy of atrial natriuretic peptide (ANP) was shown in experimental studies. In our study, we evaluated the effect of intracerebroventricular administration of ANP on behavioral despair in rats exposed to chronic immobilization stress. **Method:** In this study, Wistar-Albino male adult rats weighing 250-300 g have been used. Study animals were randomly assigned into four groups. 1-Control group: Group did not undergone surgical intervention and did not received substance injection (n=8). 2-Sham operated group: Group was administered 5 µl physiologic serum via intracerebroventricular route (n=8). 3-Chronic immobilization group: Group was exposed to 7 minutes daily immobilization stress for two weeks and was administered 5 µl physiologic serum via intracerebroventricular route (n=8). 4-ANP group: Group was exposed to 7 minutes daily immobilization stress for two weeks and administered 0.5 µg/5 µl intracerebroventricular ANP (n=8). As behavioral test, Porsolt's swimming test was used. The results were analyzed statistically by using one way ANOVA-Tukey and Wilcoxon tests. **Results:** In the Porsolt's Swimming test, the control and the sham operated group animals exhibited the well-documented behavioral despair by a significant increase in immobilization time when compared with that of the pre-test. On the other hand, compared with the control and the sham operated group, animals in the chronic immobilization group and ANP administered group did not show behavioral despair obviously. **Conclusion:** These results suggest that in Porsolt's swimming test, both chronic mild stress and intracerebroventricular ANP administration in the rats exposed to chronic mild (immobilization) stress have preventive effects on the development of behavioral despair, but the direct role of ANP in these effects is not clear.

Key Words: Atrial natriuretic peptide, behavioral despair, chronic stress.

GİRİŞ

Atrial natriüretik peptid (ANP) atrium hücrelerinde yaygın olarak bulunan ve diürez ve natriürece neden olan peptid yapılı bir hormondur (Griebel 1999, Uçar ve Turhan 2005). ANP atrium dışında vücutta yaygın olarak bulunur. Merkez sinir sisteminin bir çok bölgesinde ANP ile ilişkili yapılar bulunmaktadır (Skofitsch ve ark. 1985, Langup ve ark. 1995, Muller ve ark. 2002). Sinir sisteminde bir nöropeptid olarak işlev gördüğü kabul edilmektedir (Griebel 1999).

Genel anlamda ANP stres koşulunda hipotalamo-hipofizo-adrenal (HPA) sistemini hemen her basamakta baskılamaktadır (Kellner ve ark. 1992, Strohle ve ark. 1997, Arlt ve ark. 2001). ANP'nin sıçanlarda bazal kortikotropin salgılayıcı faktör (CRF) salınımı üzerine etkisi bulunmazken strese yanıt olarak artan CRF'nin salınımında doza bağlı inhibitör etki gösterdiği, noradrenalin tarafından uyarılan CRF salınımını in vitro olarak antagonize ettiği bildirilmiştir (Ibanez-Santos ve ark. 1990). Bununla birlikte ANP'nin HPA sisteminin genel bir inhibitörü olmayıp daha çok stresin emosyonel bileşenleri üzerinden çalışan karmaşık bir anti-stresör olduğu ileri sürülmektedir (Griebel 1999). CRF ile uyarılmış adrenokortikotropik hormon salgılanmasını in vivo baskılaması gönüllü insan deneklerde de gösterilmiştir (Kellner ve ark. 1992).

ANP'nin anksiyete üzerine etkisi ile ilgili çalışmalarda intraserebroventriküler (ICV) ANP uygulanmasının yükseltmiş t testinde, açık alan testinde ve sosyal interaksyon testinde anksiyolitik etki gösterdiği bildirilmiştir (Strohle ve ark. 1997, Bidzseranova ve ark. 1991c, Bidzseranova ve ark. 1992a, Biro ve ark. 1995, Bhattacharya ve ark. 1996). Heilig ve ark. tarafından 1992 yılında yayınlanan, operant konflikt testi (Geller-Seifter) kullanılarak nöropeptid Y, ANP, büyüme hormonu salgılayıcı hormon ve beta-endorfininin sıçanlarda anksiyete üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışmada ise ANP'nin anksiyolitik etkisinin olmadığı öne sürülmüştür.

İnsan deneklerde yapılan çalışmalar ANP'nin panik atağı sınırladığı ya da atak sırasında ANP'nin düşük anksiyete düzeyleri ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Kellner ve ark. 1995, Strohle ve ark. 2001, Wiedemann ve ark. 2001).

ANP'nin anksiyolitik ve anti stresör etkinliği bir çok çalışmada bildirilmesine rağmen depresif belirtiler üzerine etkisi ile ilgili bilgiler çok sınırlıdır. Egzersize bağlı olarak ANP düzeyi arttıkça anksiyete ve depresyon ile ilişkili belirtilerin azaldığı bildirilmiş, ancak bu çalışmalar daha çok kardiyak yakınması olan hastalarda yapılmıştır (Krogh ve ark. 2011, Wisén ve ark. 2011, Strohle ve Holsboer 2003, Strohle ve ark. 2006). Sosyal zedeleme modeli hariç deneysel olarak oluşturulmuş bir stres modeli üzerinde ANP etkisi ölçülmemiştir. Yapılan ölçümler doğrudan ya da dolaylı olarak anksiyete ile ilişkili parametreleri değerlendirmektedir. ANP'nin anksiyolitik etkinlik dışında diğer emosyonel etkileri üzerine bilgiler sınırlıdır.

Bu çalışmada kronik immobilizasyon stresine maruz bırakılan sıçanlarda ICV uygulanan ANP'nin bir davranışsal umutsuzluk-depresyon/-emosyonel öğrenme modeli olan Porsolt yüzme testindeki etkinliği araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen Wistar-albino erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar standart laboratuvar koşullarında 12 saat karanlık 12 saat aydınlıkta, 20-22 °C sabit ısıda, %45-%55 nem oranında ve aynı ortamda tutuldular. Beslenmeleri, %21 oranında protein içeren sıçan yemi ve musluk suyu ile sağlandı. Deneyler esnasında temastan doğacak huzursuzluğun en aza indirgenmesi amacı ile sıçanlar genç erişkin dönemlerine kadar davranış testlerini uygulayacak araştırmacının çıplak el temasına alıştırıldı. Etik açıdan "Guide for the care and use of laboratory animals" prensiplerine uyuldu.

Deney hayvanları 4 gruba ayrıldı. Deney grupları ve her bir gruptaki hayvan sayısı aşağıdaki gibidir:

1- Kontrol grubu: Herhangi bir cerrahi girişim ve madde enjeksiyonu yapılmayan grup (n=8).

2- Sham grubu: İntraserebroventriküler (ICV) kanül takılan, ICV 5 µl serum fizyolojik uygulanan grup (n=8). Sham grubu, ICV ANP uygulaması ile oluşan davranış değişikliklerinin ANP'ye özgü olup olmadığının araştırılması amacı ile planlandı. Bu grupta, lateral ventriküle uygulanan ANP ile aynı

miktarda serum fizyolojinin (5 µl) benzer davranışsal yanıtlara neden olup olmadığı ve yapılmış olan cerrahi girişimin kontrol grubundaki hayvanlara göre davranış değişikliklerine yol açıp açmadığı araştırıldı.

3-Kronik immobil grup: ICV kanül takılan ve iki hafta süreyle günde 7'şer dakika immobilizasyon stresi uygulanıp, ICV 5 µl serum fizyolojik uygulanan grup (n=8).

4-ICV ANP grubu: ICV kanül takılan ve iki hafta süreyle günde 7'şer dakika immobilizasyon stresi ve 0.5 g/5µl ICV ANP uygulanan grup (n=8).

ICV kalıcı kanül takılması

Araştırmamızda deney hayvanları, kilogram başına 50 mg ketamin'in (Ketalar; ketaminhidroklorür 50 mg/ml ECZACIBAŞI, TR) intraperitoneal enjeksiyonu ile anestezi uygulandı.

Kronik ICV kanül takılması stereotaksik yöntem ile gerçekleştirildi. Kafatasındaki bregma ve lambda noktaları referans alınarak sol lateral ventriküle uyan koordinatlara (AP-1 mm, LAT-1.5 mm, DV-3.5 mm) kanülün (Single Guide Canula C 313 G) yerleştirilip, sabitlemesiyle gerçekleştirildi. Bu işlem için stereotaksi aleti (STOELTING CO. STELLAR CAT. NO. 51400) kullanıldı. Kanülü sabitlemek için çelik çiviler yerleştirildi ve akrilik çimento (CROFORM acrylic powder+soğuk likid) ile sıvand. Kronik kanülasyon işlemleri tamamlanan sıçanlar cerrahi girişimden sonra 6 gün iyileşmeye bırakıldı.

Kronik İmmobilizasyon Stresi

Çalışmada 3. ve 4. deney grupları olan kronik immobil ve ICV ANP gruplarına kronik hafif derecede stres modeli olarak gün içi kısa süreli kronik immobilizasyon stresi uygulandı. Kronik immobilizasyon stresi, erişkin sıçanların içinde hareket etmelerine olanak vermeyecek boyutlarda olan tel, pleksiglas vb. maddelerden yapılmış kafeslerde hayvanların belirli periyotlarda, gün içinde belirli bir süre tutulmaları ile oluşturulur. Çalışmamızda 7 cm çapında 13 cm yüksekliğinde silindirik şekilde tel kafesler kullanıldı. Hayvanlara cerrahi iyileşmenin 7. gününden itibaren 15 gün süresince, günde 7 dakika immobilizasyon stresi uygulandı. Kronik

immobilizasyon stresi uygulanan hayvanların anksiyete parametreleri deneysel modellerde kontrollere göre yüksek olduğu bildirilmiştir (Kaşar ve ark. 2009).

ICV ANP ve serum fizyolojik uygulanması

Çalışmada ANP olarak sıçan natriüretik peptid (rANP: sentetik, saflık %99, peptid içeriği %83; SIGMACO, USA) kullanıldı. Serum fizyolojik çözeltisinde sulandırılan rANP sıçan başına 0.5 µg (500 ng) olacak şekilde 5 µl enjeksiyonlar şeklinde uygulandı. Sham ve kontrol gruplarına eş hacimsel doz da serum fizyolojik verildi. Enjeksiyonlar 10 µl'lik Hamilton injektörünün ucuna takılı polietilen tüpe bağlı internal kanül (Single İnternal Canula C 313 I) aracılığı ile yapıldı. Sol lateral ventriküle ANP ve serum fizyolojik enjeksiyonları, sıçanın kafasında bulunan kronik kanülün kapağı açıldıktan sonra 20 saniyede 1 µl gidecek şekilde yapıldı.

Deneylere enjeksiyonlardan 15 dakika sonra başlandı. Tüm deneyler tamamlandıktan sonra sol lateral ventriküle metilen mavisi verilip, enjeksiyonların ventrikül içine doğru yapılıp yapılmadığı kontrol edildi.

Porsolt Yüzme Testi

Porsolt yüzme testinde ise 30 cm çapında, 45 cm yüksekliğinde pleksiglas malzemeden yapılmış silindirik bir tank kullanıldı. Tanka 15 cm yüksekliğe kadar 25 °C ısıda su dolduruldu ve sıçanlar 24 saat ara ile iki kez kaba konulup 10 dakika boyunca teste tabi tutuldular.

Davranışsal umutsuzluk ve depresyon modeli olarak kullanılan bu testte, ilk kez suya konulan deney hayvanı ortamdan kurtulmak için çabalar ve özellikle deney süresinin sonlarına doğru hareketsiz kalmaya başlar. Test, 24 saat sonra tekrar edilince öğrenilmiş çaresizliğe giren deney hayvanlarının çabalama süreleri kısılırken, hareketsiz kalma süreleri ise uzar (Porsolt ve ark. 1977, 1978). Hareketsiz kalma süresi immobilizasyon süresi olarak ölçüldü ve sıçanın kulakları dahil su altında hareketsiz kalarak geçirdiği süre olarak kabul edildi. Çabalama süresi; sıçanın sıçayarak kurtulmaya çalıştığı ya da dalarak su altında çıkış aramakla geçirdiği zaman olarak ölçüldü.

Tablo 1. Grupların ilk 5 dakika ve toplam çabalama sürelerinin grup içi karşılaştırılması

Deney grubu	n	İlk 5 dk çabalama süresi (sn)			Toplam immobilizasyon süresi (sn)		
		PYT I ORT±SS	PYT II ORT±SS	p	PYT I ORT±SS	PYT II ORT±SS	p
KONTROL	8	27.87±8.16	8.50±4.86	0.012	29.00±8.07	5.37±6.23	0.012
SHAM	8	31.50±12.78	12.00±9.62	0.012	35.00±17.65	12.87±9.65	0.012
KRONİK İMMOBİL	8	20.25±12.63	11.25±10.20	0.017	22.00±13.23	12.87±10.78	0.017
ANP	8	20.25±7.49	11.12±7.10	0.025	24.5±9.42	15.87±7.84	0.018

Wilcoxon Test, n: denek sayısı; ORT: ortalama; SS: standart sapma

Porsolt yüzme testi 24 saat ara ile uygulandı. Uygulanan testler video kamera ile kayıt edilip daha sonra bağımsız iki gözlemci tarafından tekrar izlenerek değerlendirildi. Testte ilk 5 dakika immobilizasyon süresi, total immobilizasyon süresi, ilk 5 dakika çabalama süresi ve total çabalama süresi kronometre aracılığı ile ölçüldü.

İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler Windows için SPSS 16.0 istatistiksel paket programı kullanılarak yapıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel yöntemlerin (ortalama ve standart sapma vb) yanı sıra grupların porsolt test sonuçlarının grup içi karşılaştırılmalarında Wilcoxon testi, gruplar arası karşılaştırmada tek yönlü ANOVA-Tukey testi kullanıldı. Olasılık düzeyi olarak 0.05 istatistiksel anlamlılık değeri olarak kabul edildi.

BULGULAR

İlk gün uygulanan Porsolt yüzme testi (PYT I) ile 24 saat sonra uygulanan Porsolt yüzme testi (PYT II) her bir deney hayvanı için ilk gün ile aynı koşullar sağlanarak uygulandı.

İlk 5 dakikadaki çabalama süreleri

Gruplar arası değerlendirmede hem PYT I (F=2.287, p=0.100) hem de PYT II ilk 5 dakika çabalama sürelerinde (F=0.276, p=0.842) anlamlı fark saptanmadı (Şekil 1, Şekil 2)

Grup içi değerlendirmede ise kontrol grubunda PYT I ve PYT II'den elde edilen ilk 5 dakikadaki çabalama süreleri, PYT II'de PYT I'e göre anlamlı olarak kısaldı. Benzer şekilde Sham grubunun da

PYT I'e göre ilk 5 dakikadaki çabalama süreleri, PYT II'de anlamlı olarak kısaldı (Tablo 1, Şekil 3).

Kronik immobilizasyon grubunda PYT I ve PYT II'den elde edilen ilk 5 dakikadaki çabalama sürelerinin PYT II'de, PYT I'e göre anlamlı olarak kısaldığı görüldü. Kronik immobilizasyon stresi uygulanıp ANP verilen grupta da benzer şekilde PYT II ve PYT I ilk 5 dakika çabalama süreleri arasında PYT II'de anlamlı kısalma saptandı (Tablo 1, Şekil 3).

Toplam çabalama süresi

PYT I ve PYT II toplam çabalama süreleri arasındaki fark ilk 5 dakikadaki çabalama süreleri farkına benzerdi. Tüm deney gruplarında PYT I ve PYT II'den elde edilen toplam çabalama sürelerinin PYT II'de, PYT I'e göre istatistiksel açıdan anlamlı derecede kısaldığı görüldü (Tablo 1, Şekil 4).

Gruplar arası değerlendirmede ise hem PYT I (F=1.626, p=0.206) hem de PYT II sürelerinde (F=2.070, p=0.127) anlamlı fark saptanmadı (Şekil 1, Şekil 2).

İlk 5 dakikadaki immobilizasyon süreleri

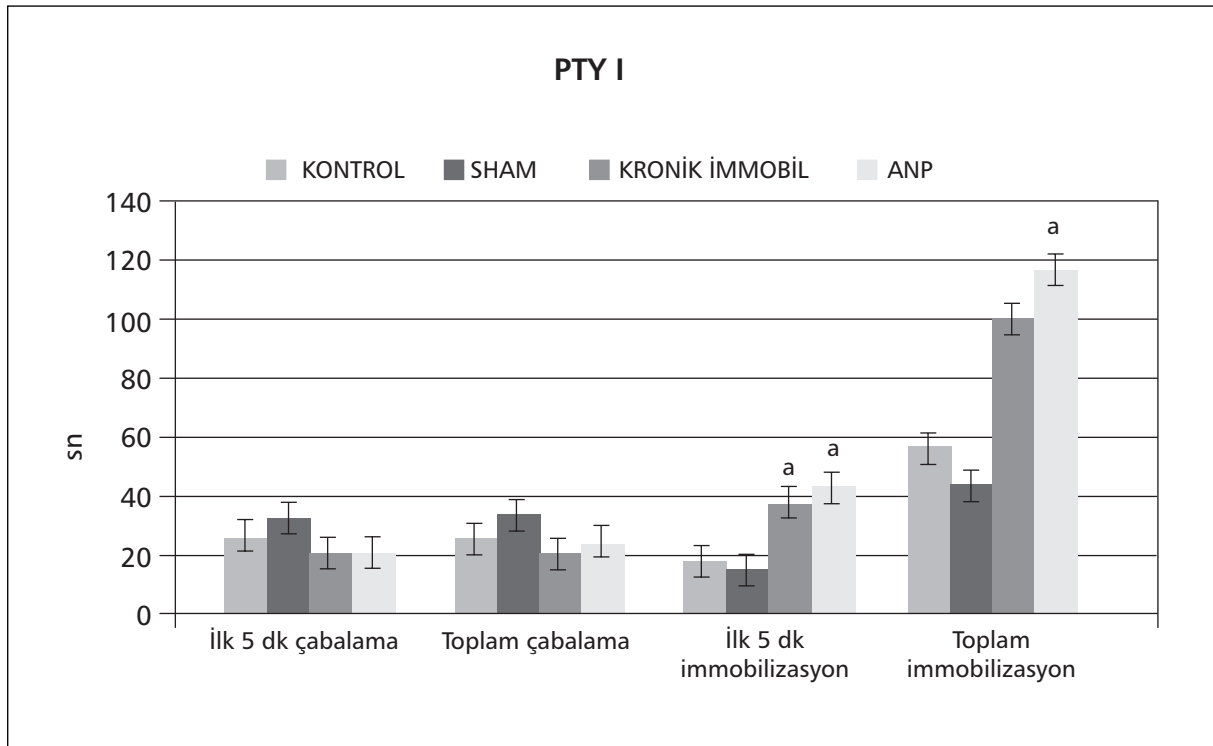
Gruplar arası değerlendirme Sham grubun PYT I ilk 5 dakikada immobilizasyon süreleri kronik immobil grubun ve ANP grubunun sürelerinden anlamlı olarak kısa bulundu (F=5.213, p=0.042, p=0.018). PYT II ilk 5 dakikada immobilizasyon sürelerinde gruplar arasında fark saptanmadı (F=0.959, p=0.426). (Şekil 1, Şekil 2).

Kontrol grubunda PYT I ve PYT II'den elde edilen ilk 5 dakikadaki immobilizasyon süreleri, PYT II'de PYT I'e göre anlamlı olarak uzadı. Sham grubunun da ilk 5 dakikadaki immobilizasyon süreleri, PYT

Tablo 2. Grupların ilk 5 dakika ve toplam immobilizasyon sürelerinin grup içi karşılaştırılması

Deney grubu	n	İlk 5 dk immobilizasyon süresi (sn)			Toplam immobilizasyon süresi (sn)		
		PYT I ORT.±SS	PYT II ORT.±SS	p	PYT I ORT.±SS	PYT II ORT.±SS	p
KONTROL	8	17.62±12.38	46.25±19.89	0.012	57.62±23.68	128.12±52.79	0.012
SHAM	8	13.37±5.42	39.62±24.92	0.012	48.00±18.26	98.75±44.70	0.012
KRONİK İMMOBİL	8	39.25±25.20	69.50±55.45	0.093	99.75±66.91	130.50±75.13	0.161
ANP	8	42.62±23.15	53.62±37.54	0.833	114.87±60.07	132.12±41.96	0.674

Wilcoxon Test, n: denek sayısı; ORT: ortalama; SS: standart sapma



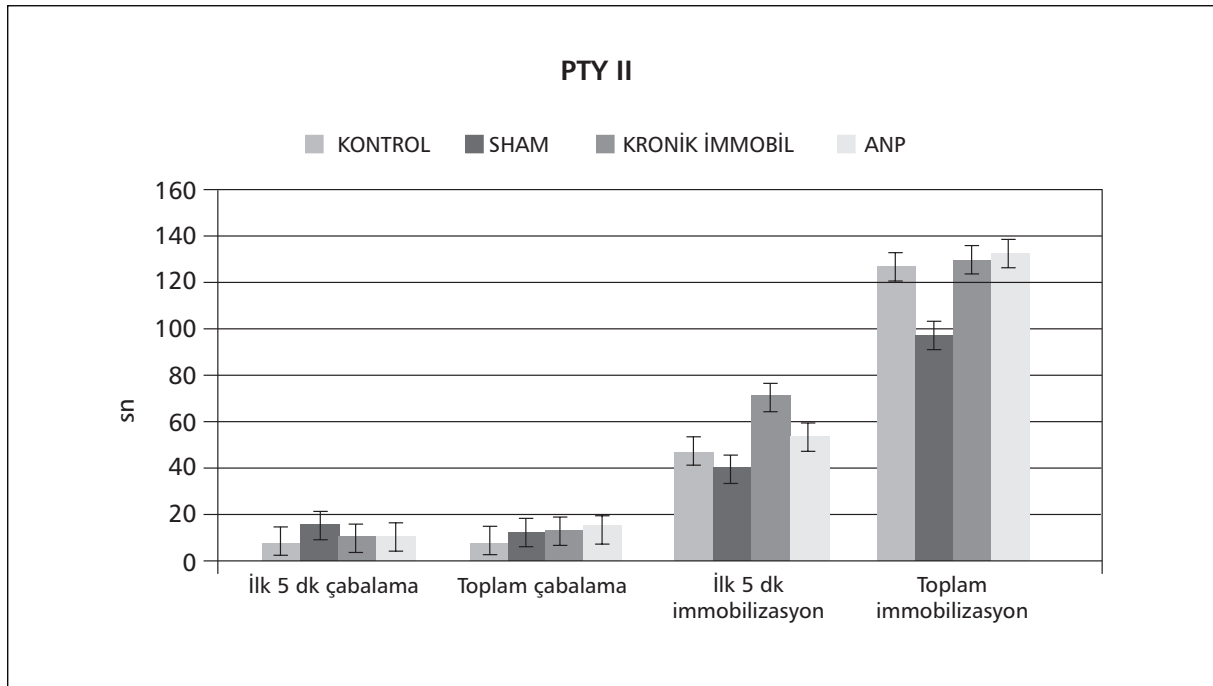
Şekil 1. Porsolt yüzme testinde, deney gruplarının PYT I'den elde edilen verilerinin gruplar arası istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalamanın (M) standart hatasını (S.E.) göstermektedir. ANOVA-Tukey (a: Sham grubuna göre anlamlılık).

II'de PYT I'e göre anlamlı olarak uzadığı görüldü (Tablo 2, Şekil 5).

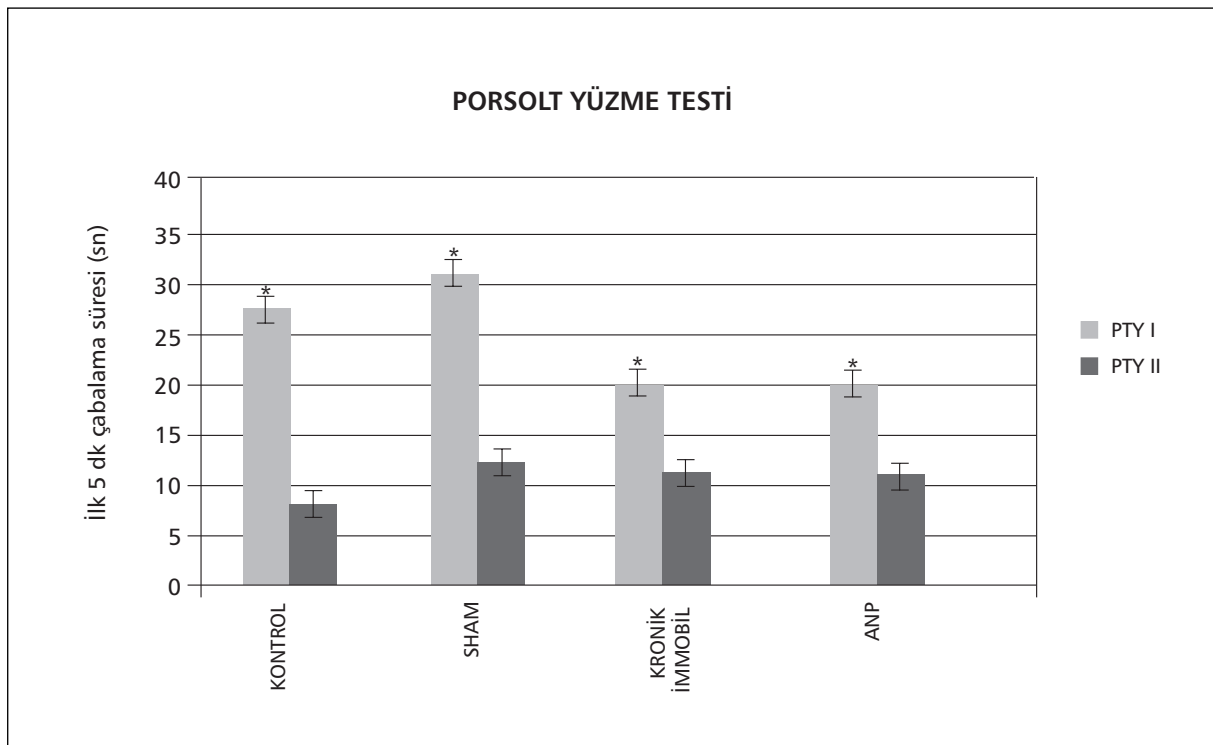
Kronik immobilizasyon grubunda ise PYT I ve PYT II'nin ilk 5 dakika immobilizasyon süreleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Kronik immobilizasyon stresi uygulanıp ANP verilen grupta da benzer şekilde ilk 5 dakika immobilizasyon süreleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı (Tablo 2, Şekil 5).

Toplam immobilizasyon süreleri

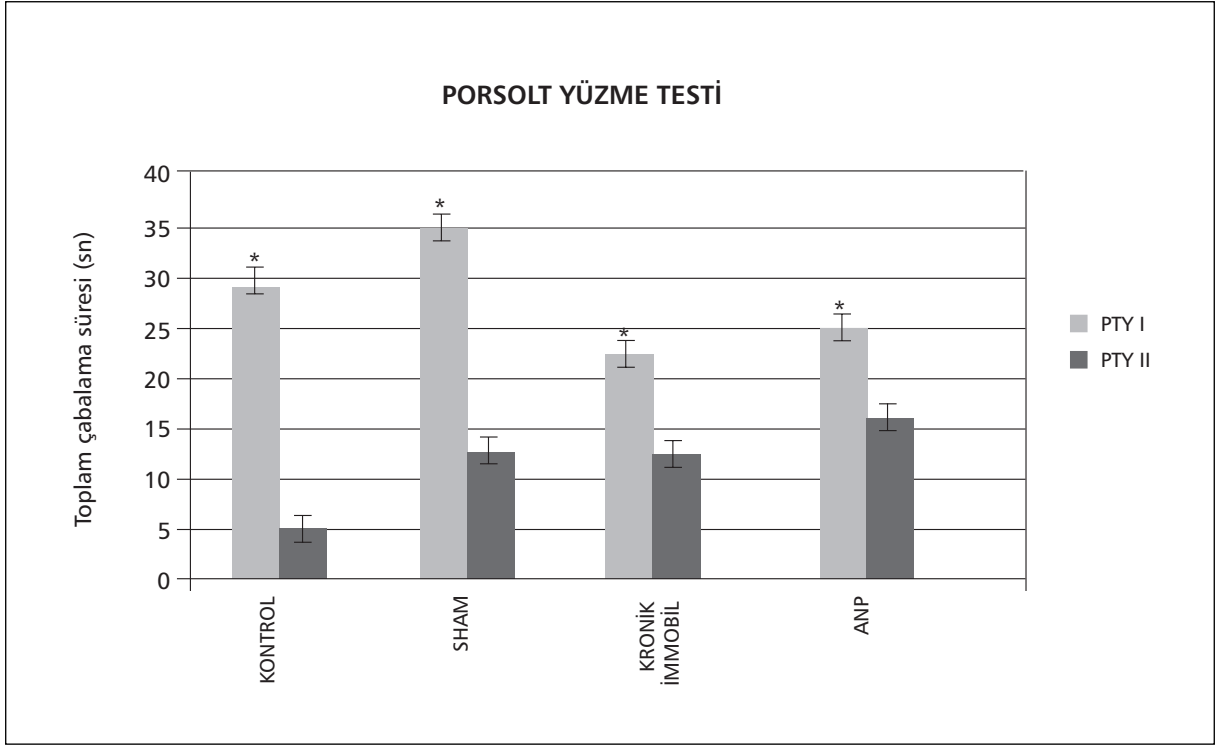
Grup içi değerlendirmelerde grupların toplam immobilizasyon süreleri ilk 5 dakikadaki immobilizasyon sürelerine benzerdi. Kontrol, sham gruplarında PYT I ve PYT II'den elde edilen toplam immobilizasyon süreleri, PYT II'de PYT I'e göre istatistiksel olarak anlamlı derecede uzadığı görüldü (Tablo 2, Şekil 6).



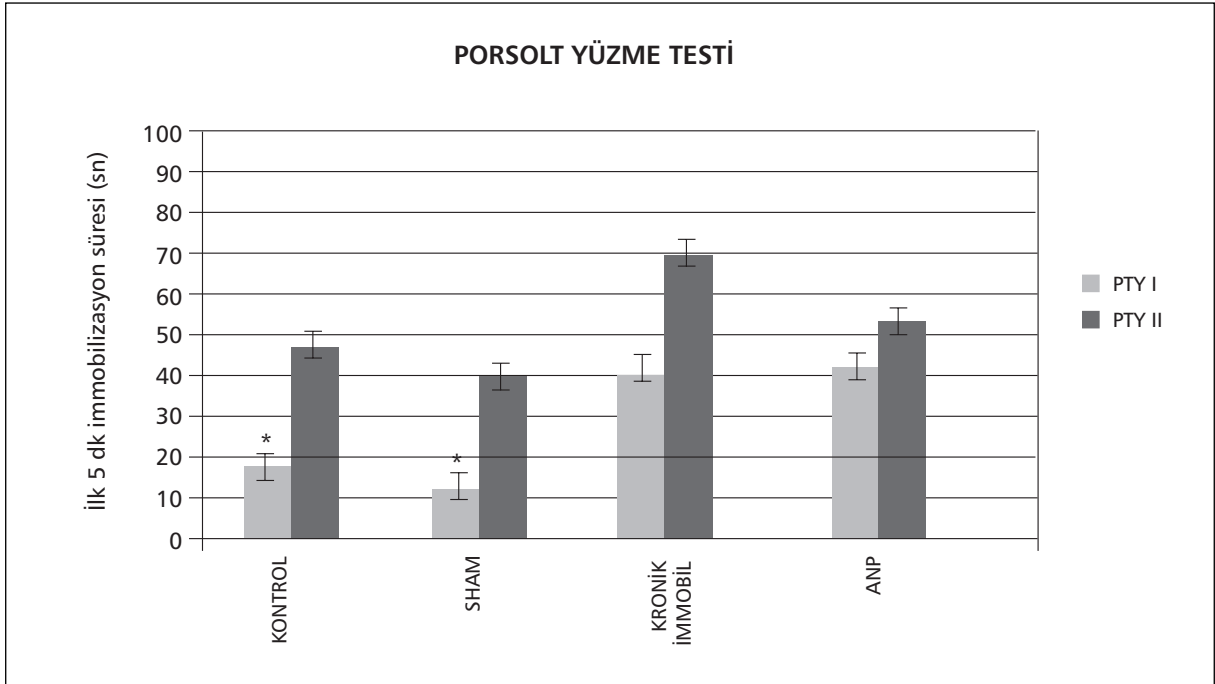
Şekil 2. Porsolt yüzme testinde, deney gruplarının PYT II'den elde edilen verilerinin gruplar arası istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalamanın (M) standart hatasını (S.E.) göstermektedir.



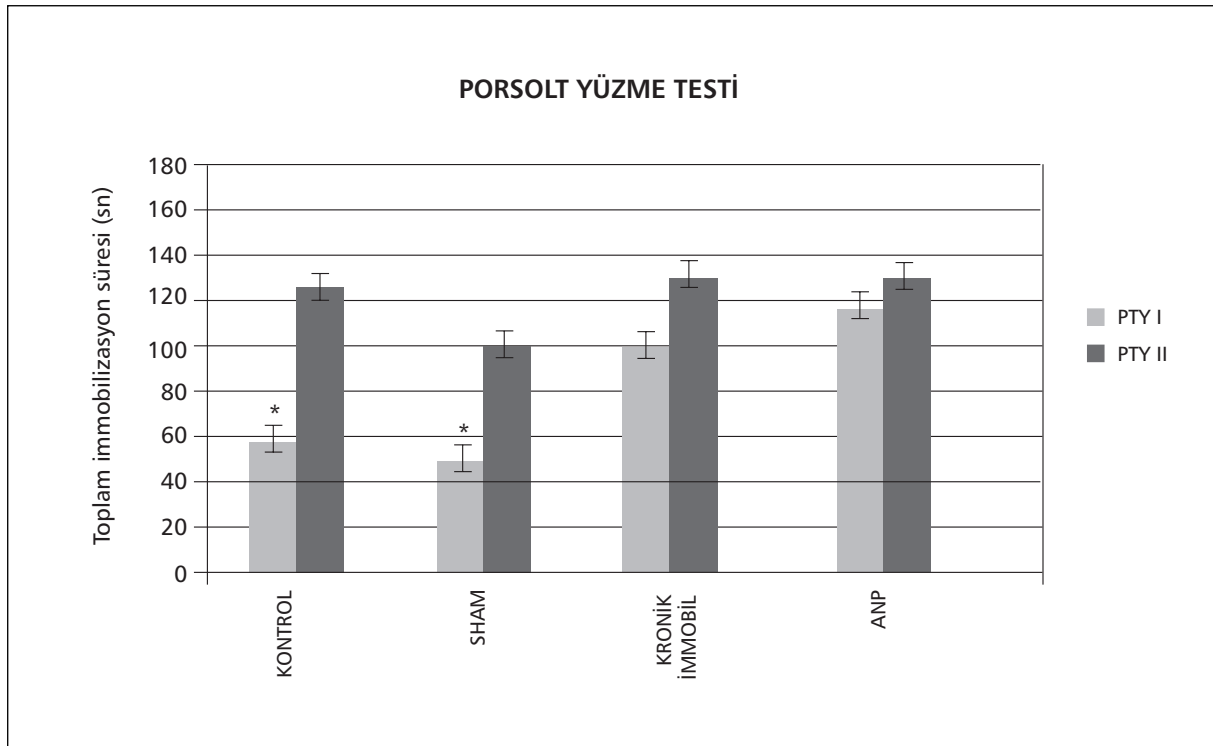
Şekil 3. Porsolt yüzme testinde, belirtilen her deney grubunun PYT I ve PYT II'den elde edilen ilk 5 dk çabalama sürelerinin gruplar içindeki değişiminin istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalamanın (M) standart hatasını (S.E.) göstermektedir (*p<0.05).



Şekil 4. Porsolt yüzme testinde, belirtilen her deney grubunun PYT I ve PYT II'den elde edilen toplam çabalama sürelerinin gruplar içindeki değişiminin istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalama (M) standart hatayı (S.E.) göstermektedir (* $p < 0.05$).



Şekil 5. Porsolt yüzme testinde, belirtilen her deney grubunun PYT I ve PYT II'den elde edilen ilk 5 dk immobilizasyon sürelerinin gruplar içindeki değişiminin istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalama (M) standart hatayı (S.E.) göstermektedir (* $p < 0.05$).



Şekil 6. Porsolt yüzmeye testinde, belirtilen her deney grubunun PTY I ve PTY II'den elde edilen toplam immobilizasyon sürelerinin gruplar içindeki değişiminin istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalamannın (M) standart hatasını (S.E.) göstermektedir (* $p < 0.05$).

Kronik immobilizasyon grubunda PTY I ve PTY II'nin toplam immobilizasyon süreleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Kronik immobilizasyon stresi uygulanıp ANP verilen grupta da PTY I ve PTY II'nin toplam immobilizasyon süreleri arasındaki fark anlamlı değildi (Tablo 2, Şekil 6).

Gruplar arası değerlendirmede sham grubu ve ANP grubunun PTY I toplam immobilizasyon süreleri arasındaki fark anlamlı bulundu ($F=3.719$, $p=0.041$). ANP grubunun süresi daha kısaydı. PTY II toplam immobilizasyon sürelerinde gruplar arasında fark saptanmadı ($F=0.658$, $p=0.585$) (Şekil 1, Şekil 2).

TARTIŞMA

Çalışmamızın sonuçları genel olarak değerlendirildiğinde kontrol ve sham gruplarında davranışsal umutsuzluk olarak tanımlanan motivasyonel-emosyonel süreç gelişmiştir. Her iki grupta da immobilizasyon süreleri ikinci gün anlamlı olarak uzamış, çabalama süreleri ise kısalmıştır.

Kronik immobilizasyon stresi uygulanan grupta ise davranışsal umutsuzluk kısmen gelişmiş, çabalama süresi kısalmışken immobilizasyon sürelerinde uzama anlamlı bulunmamıştır. Kronik immobilizasyon stresi uygulanıp ANP verilen grupta ise sonuçlar kronik immobilizasyon uygulanan grup ile benzerdir. Bu açıdan ANP uygulaması belirgin farklılık oluşturmamıştır. Diğer taraftan gruplar arası karşılaştırmalarda ilk 5 dakika immobilizasyonda kronik immobil ve ANP grupları ile sham grubu arasında fark saptanmışken, toplam immobilizasyon sürelerinde sadece ANP ve sham grubu arasında fark saptanmıştır. Ayrıca ilk 5 dakika immobilizasyon sürelerinde ANP ve kontrol grubu arasında anlamlılığa oldukça yakın bir fark ($p=0.051$) elde edilmiştir. PTY II sonuçlarında ise fark saptanmamıştır. Bu bulgular ANP'nin kronik stresten bağımsız olarak davranışsal umutsuzluk gelişmesini engellemede bir etkisi olduğunu gösteriyor olabilir.

Porsolt testini bir depresyon modeli olduğu düşünüldüğünde kontrol ve sham gruplarında

davranışsal umutsuzluk oluşmuş, yani depresyon gelişmiş, kronik immobilizasyon ve ANP gruplarında ise kısmen oluşmuştur. Bu açıdan kronik immobilizasyon uygulaması davranışsal umutsuzluk gelişmesine karşı koruyucudur, beraberinde ANP enjeksiyonunun etkisi ise tartışmalıdır.

Kronik immobilizasyon stresinin anksiyeteye neden olduğu bilinmektedir (Kaşar ve ark. 2009). Diğer taraftan çalışmamızda kronik stres uygulanan kronik immobilizasyon ve ANP gruplarında depresif belirtilerin daha az görülmesi dikkate değer bir bulgudur. Bu farklılık birkaç nedenden kaynaklanıyor olabilir. Çalışmamızda kullandığımız stres kısa süreli ve hafif derecededir. Her iki gruba da kronik immobilizasyon stresinin uygulanmış olması ve hayvanların kronik strese bağlı olarak yeni bir stresli duruma (Porsolt yüzme testinin oluşturduğu) yönelik doğal tepkilerinin etkilenmiş olması ile açıklanabilir. Stres koşullarına yönelik adaptif bir yanıtın gelişmiş olması da mümkündür. Bir farmakolojik ajanın antidepresan etkinliğin ölçülmesinde Porsolt testi öncesi kronik stres uygulanması önerilmektedir. Porsolt testinde test öncesi uygulanan kronik stresin eksplorasyonu bozarak immobilizasyon davranışını artıracağı öne sürülmüştür (Garcia-Marquez ve Armario 1987). Bununla birlikte Platt ve Stone (1982) kronik immobilizasyon stresinin kendisinin Porsolt testinde antidepresan etkinlik gösterebileceğini bildirmişlerdir. Yazarlar tek uygulamalı stresin etki göstermediğini ancak sürekli (11 gün) stresin antidepresan etkiyi sağladığını göstermişlerdir. Çalışmamızın sonuçları Platt ve Stone'un verileri ile uyumaktadır. Ayrıca çalışmamız bulgularına göre ANP'nin kronik stres ile ortaya çıkan bu durumu olumsuz etkilemediği söylenebilir. Diğer taraftan ANP kronik strese bağlı adaptif antistresör yanıtı güçlendirmiş olabilir. ANP'nin stres durumunda artan HPA aksına karşı antistresör bir etki gösterdiği, ayrıca etkisi kanıtlanmış bir anksiyolitik olduğu bilinmektedir (Griebel 1999). ANP, Porsolt testinin yarattığı anksiyeteyi azaltarak immobilizasyon süresinde kısalmaya neden olmuş olabilir

ANP ve depresyon ile ilgili veriler daha çok depresyon, egzersiz ve ANP ilişkisi üzerinedir (Krogh ve ark. 2011, Wisén ve ark. 2011, Ströhle ve Holsboer 2003). ANP'nin kronik stres durumunda da arttığı bilinmektedir (Wann ve ark. 2010). Kalp yetmezliği olan olgularda ANP düzeyinin depres-

yon ve anksiyete skorları ile ters orantılı olduğu, ANP düzeyinin artıkça depresyon ve anksiyete skorlarının azaldığı bildirilmiştir (Herrmann-Lingen ve ark. 2003). Porsolt testinin de yoğun egzersiz benzeri bir aktiviteyi tetiklediği düşünüldüğünde bu test sırasında endojen ANP düzeyinde artma olabilir. Ayrıca ANP enjeksiyonu ile bu antidepresan etkinlik güçlenmiş olabilir. Çalışmamız ile benzer bir deneysel modelde endojen ANP düzeylerinin ölçüldüğü bir araştırma bu sorunların yanıtlanması açısından fayda sağlayabilir.

Porsolt testi her ne kadar uygulama kolaylığı açısından tercih edilse de (Cryan ve ark. 2002) test ile ilgili bir diğer tartışma doğrudan lokomotor aktivitede artışa neden olan durumların testin depresif belirtiler üzerindeki özgüllüğünü bozuyor oluşu üzerinedir. Amfetamin ya da skopolamin gibi motor aktivitede artışa yol açan maddeler yalnızca pozitif yanıtı neden olabilirler (Başar ve Ertuğrul 2005). Poggioli ve ark. (1992) 5µg ve 10µg dozlarında ICV atriopetin II'nin cinsel eylem süresini kısalttığını ve alınan besin miktarını artırdığını, açık alan testlerinde eksplorasyon ve lokomotor davranışı (geçilen kare sayısında ve şahlanma sayılarında) artırdığını bildirmişlerdir.

Porsolt zorunlu yüzme testi davranışsal umutsuzluk açısından bir depresyon testi olarak nitelendirilse de aynı zamanda bir öğrenme testidir. Testin sadece davranışsal umutsuzluğu ölçen bir test olarak tanımlanması eleştirilmiştir (Nishimura ve ark. 1988). Deneysel hayvanın aynı ortamda olduğunu fark etmesi ile çabalama davranışının azalması hayvanın daha önce deneyimlediği stresli durumu tanımlaması, diğer taraftan hareketsiz kalmada artma ise enerjisini boşa harcamayarak bir tür sağ kalım davranışı olduğu şeklinde de yorumlanmaktadır (Başar ve Ertuğrul 2005). Bu açıdan bakıldığında çalışmamızda kronik stres ile bozulan emosyonel öğrenme sürecinde ANP uygulaması ile bir düzelme gözlemlenmedi. ANP'nin pasif kaçınma davranışının yerleşmesinde ve aktif kaçınma refleksinin sönmesini geciktirme gibi öğrenme süreçlerindeki anti-amnestik etkisi bilinmektedir (Bidzseranova ve ark. 1991a, 1991b, 1992a, 1992b). Porsolt testinde ANP'nin öğrenme ve bellek üzerine olumlu etkisinin gözlenmemesi aktif-pasif kaçınma testlerindeki ve Porsolt testindeki öğren-

me süreçlerinin farklılığından kaynaklanıyor olabilir. Porsolt testi ise daha primitif olan emosyonel bellek ile ilişkili durmaktadır. ANP'nin emosyonel öğrenmede etkisiz olması muhtemelen öğrenme üzerine etkilerini farklı yollarla, farklı reseptörler, farklı ANP'erişik nöronlar üzerinden gösteriyor olmasından kaynaklanıyor olabilir. Ayrıca kronik strese bağlı hipokampal bölgede olası morfolojik değişiklikler nedeniyle akut ANP uygulamasının yetersiz kalmış olması da mümkündür.

Çalışmamızda ANP'nin tek bir doz aralığında uygulanması doza bağlı değişiklikleri görmek açısından bir kısıtlılık oluşturmaktadır. Çalışmamızda daha önceki çalışmalarda ANP'nin anksiyolitik etkinliğinin gözlemlendiği 0.5µg (500 ng) dozu seçilmiştir. Ayrıca Porsolt testi ve ANP ile ilgili verilerin sınırlı oluşu, ANP ile ilgili başka depresyon modellerinde çalışma yapılmamış olması ve testin duyarlılığı ile ilgili sorunlar sonuçların yorumlanmasını güçleştirmiştir.

SONUÇ

Sonuç olarak kronik hafif derecede stres ve 0.5 µg dozunda ICV ANP uygulaması davranışsal umutsuzluk gelişmesini engellemiştir. Diğer taraftan her ne kadar gruplar arası karşılaştırmalarda bazı parametrelerde ANP uygulanan grubun sonuçları farklı olsa da davranışsal umutsuzluğun gelişmemesinin ANP'nin doğrudan etkinliği ile ne derece ilişkili olduğu tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu durum belirlenmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır. Ayrıca ANP ile ilgili farklı depresyon modellerinde yapılacak çalışmalar peptidin anksiyolitik etki dışındaki emosyonel etkinliğinin daha iyi anlaşılmasını sağlayacaktır.

Yazışma adresi: Dr. Ejder Akgün Yıldırım, Bakırköy Ruh Sağlığı ve Sinir Hastalıkları Eğitim ve Araştırma Hastanesi, ejderyildirim@yahoo.com

KAYNAKLAR

- Arlt J, Jahn H, Kellner M ve ark. (2003) Modulation of sympathetic activity by corticotropin-releasing hormone and atrial natriuretic peptide. *Neuropeptides*, 37:362-368.
- Başar K, Ertuğrul A (2005). Depresyon araştırmalarında kullanılan hayvan modelleri. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 8:123-134.
- Bhattacharya SK, Chakrabarti A, Sandler M ve ark. (1996) Anxiolytic activity of intraventricularly administered atrial natriuretic peptide in the rat. *Neuropsychopharmacology*, 15:199-206.
- Bidzseranova A, Gueron J, Balaspiri L ve ark. (1992) Intracerebroventricularly administered atrial natriuretic peptide (ANP) antiserum attenuates fear-motivated learning behavior in rats. *Peptides*, 13:957-960.
- Bidzseranova A, Gueron J, Penke B ve ark. (1991) The effects of atrial natriuretic peptide on active avoidance behavior in rats. The role of transmitters. *Pharmacol Biochem Behav*, 40:61-64.
- Bidzseranova A, Gueron J, Toth G ve ark. (1992) Behavioral effects of atrial and brain natriuretic peptides in rats. *Neuroreport*, 3:283-285.
- Bidzseranova A, Telegdy G, Penke B (1991) The effects of atrial natriuretic peptide on passive avoidance behaviour in rats. *Brain Res Bull*, 26:177-180.
- Bidzseranova A, Toth G, Telegdy G (1991) The effects of atrial natriuretic peptide on the open-field activity of rats. The role of neurotransmitters. *Neuropeptides*, 20:163-167.
- Biro E, Gardi J, Vecsernyes M ve ark. (1996) The effects of atrial natriuretic peptide (ANP1-28) on corticotropin releasing factor in brain of rats. *Life Sci*, 59:1351-1356.
- Biro E, Toth G, Telegdy G (1995) Involvement of neurotransmitters in the 'anxiolytic-like' action of atrial natriuretic peptide in rats. *Neuropeptides*, 29:215-220.
- Cryan JF, Markou A, Lucki I (2002) Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci*, 23:238-245.
- Garcia-Marquez C, Armario A (1987) Chronic stress depresses exploratory activity and behavioral performance in the forced swimming test without altering ACTH response to a novel acute stressor. *Physiol Behav*, 40:33-38.
- Griebel G (1999) Is there a future for neuropeptide receptor ligands in the treatment of anxiety disorders? *Pharmacol Ther*, 82:1-61.
- Heilig M, McLeod S, Koob GK ve ark. (1992) Anxiolytic-like effect of neuropeptide Y (NPY), but not other peptides in an operant conflict test. *Regul Pept*, 41:61-69.
- Herrmann-Lingen C, Binder L, Klinge M (2003) High plasma levels of N-terminal pro-atrial natriuretic peptide associated with low anxiety in severe heart failure. *Psychosom Med*. 65:517-522.
- Ibanez-Santos J, Tsagarakis S, Rees LH ve ark. (1990) Atrial natriuretic peptides inhibit the release of corticotrophin-releasing factor-41 from the rat hypothalamus in vitro. *J Endocrinol*, 126:223-228.
- Kasar M, Mengi M, Yıldırım EA ve ark. (2009) Different effects of tianeptine pretreatment in rats exposed to acute stress and repeated severe stress. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*, 31:157-163.
- Kellner M, Herzog L, Yassouridis A ve ark. (1995) Possible role of atrial natriuretic hormone in pituitary-adrenocortical unre-

- sponsiveness in lactate-induced panic. *Am J Psychiatry*, 152: 1365-1367.
- Kellner M, Wiedemann K, Holsboer F (1992) Atrial natriuretic factor inhibits the CRH-stimulated secretion of ACTH and cortisol in man. *Life Sci*, 50:1835-1842.
- Kroggh J, Ströhle A, Westrin A ve ark. (2011) N-terminal proatrial natriuretic peptide response to acute exercise in depressed patients and healthy controls. *Psychoneuroendocrinology*, 36:656-663.
- Langub MC Jr, Watson RE Jr, Herman JP (1995) Distribution of natriuretic peptide precursor mRNAs in the rat brain. *J Comp Neurol*, 356:183-199.
- Muller D, Middendorff R, Olcese J ve ark. (2002) Central nervous system-specific glycosylation of the type A natriuretic peptide receptor. *Endocrinology*, 143:23-29.
- Nishimura H, Tsuda A, Oguchi M ve ark. (1988) Is immobility of rats in the forced swim test "behavioral despair"? *Physiol Behav*, 42:93-95.
- Platt JA, Stone EA (1982) Chronic restraint stress elicits a positive antidepressant response on the forced swim test. *Eur J Pharmacol*, 82:179-181
- Poggioli R, Vergoni AV, Rasori E ve ark. (1992) Behavioral effects of atriopeptin in rats. *Neuropeptides*, 22:149-154.
- Porsolt RD, Anton G, Blavet N ve ark. (1978) Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol*, 47:379-391.
- Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M (1977) Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266:730-732.
- Skofitsch G, Jacobowitz DM, Eskay RL ve ark. (1985) Distribution of atrial natriuretic factor-like immunoreactive neurons in the rat brain. *Neuroscience*, 16:917-948.
- Strohle A, Feller C, Strasburger CJ ve ark. (2006) Anxiety modulation by the heart? Aerobic exercise and atrial natriuretic peptide. *Psychoneuroendocrinology*, 31:1127-1130.
- Strohle A, Jahn H, Montkowski A ve ark. (1997) Central and peripheral administration of atriopeptin is anxiolytic in rats. *Neuroendocrinology*, 65:210-215.
- Strohle A, Kellner M, Holsboer F ve ark. (2001) Anxiolytic activity of atrial natriuretic peptide in patients with panic disorder. *Am J Psychiatry*, 158:1514-1516.
- Ströhle A, Holsboer F (2003) Stress responsive neurohormones in depression and anxiety. *Pharmacopsychiatry*, 36(Suppl 3):207-214.
- Uçar F, Turhan S (2005) Natriüretik peptidler. *Türk Hij Den Biyol Derg*, 62:49-54
- Wann BP, Audet MC, Gibb J ve ark. (2010) Anhedonia and altered cardiac atrial natriuretic peptide following chronic stressor and endotoxin treatment in mice. *Psychoneuroendocrinology*, 35:233-240.
- Wiedemann K, Jahn H, Yassouridis A ve ark. (2001) Anxiolyticlike effects of atrial natriuretic peptide on cholecystokinin tetrapeptide-induced panic attacks: preliminary findings. *Arch Gen Psychiatry*, 58:371-377.
- Wisén AG, Ekberg K, Wohlfart B ve ark. (2011) Plasma ANP and BNP during exercise in patients with major depressive disorder and in healthy controls. *J Affect Disord*, 129:371-375.