

PAPER DETAILS

TITLE: Piroglutamil Peptidlerin Farelerde Skopolaminle Olusturulmus Öğrenme-Bellek Bozuklugu
Üzerine Etkisi

AUTHORS: Ibrahim UYGUN,Seyma Nur BASARIR BOZKURT,Mohammad AL

YOUSEF,Mohammed Omer Khalid MOHAMMED,Pelin TANYERI,Firuzan AKAR,Bekir Faruk

ERDEN,Oguz MUTLU

PAGES: 446-455

ORIGINAL PDF URL: <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/2906667>

Piroglutamil Peptidlerin Farelerde Skopolaminle Oluşturulmuş Öğrenme-Bellek Bozukluğu Üzerine Etkisi

Effects Of Pyroglutamyl Peptides on Scopolamine Induced Learning-Memory Impairment in Mice

İbrahim Uygun¹, Şeyma Nur Başarır Bozkurt², Mohammad Al Yousef¹,
Mohammed Omer Khalid Mohammed¹, Pelin Tanyeri², Füzuran Akar¹, Faruk Erden¹,
Oğuz Mutlu¹

¹ Kocaeli University Medical Faculty, Pharmacology Department, 41001, Kocaeli, Türkiye

² Sakarya University Medical Faculty, Pharmacology Department, 54100, Sakarya, Türkiye

Yazışma Adresi / Correspondence:

Şeyma Nur Başarır Bozkurt

Sakarya University Faculty of Medicine, Department of Pharmacology, 54100 Sakarya, Türkiye

T: +90 534 962 23 33

E-mail: seymanurbasarir@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 20.01.2022

Kabul Tarihi / Accepted: 11.08.2023

Çevrimiçi / Online: 30.09.2023

Orcid ve Mail Adresleri

İbrahim Uygun <https://orcid.org/0000-0002-8786-1449>, uygunibrahim@hotmail.com

Şeyma Nur Başarır Bozkurt <https://orcid.org/0000-0002-2986-5089>, seymanurbasarir@yahoo.com

Mohammad Al Yousef <https://orcid.org/0000-0002-2438-0306>, ywsfalywsf423@gmail.com

Mohammed Omer Khalid Mohammed <https://orcid.org/0000-0003-3610-0487>, mohammadomer49@gmail.com

Pelin Tanyeri <https://orcid.org/0000-0002-2987-5834>, pelintanyeri@yahoo.com

Füzuran Akar <https://orcid.org/0000-0003-0948-3857>, firuzanakar@gmail.com

Faruk Erden <https://orcid.org/0000-0002-2542-5158>, farukerden@gmail.com

Oğuz Mutlu <https://orcid.org/0000-0003-0952-0742>, oguzmutlu80@hotmail.com

Cite this article/Atf:

Uygun İ, Başarır Bozkurt ŞN, Al Yousef M, Mohammed MOK, Tanyeri P, Akar F, Erden F, Mutlu O. Piroglutamil Peptidlerin Farelerde Skopolaminle Oluşturulmuş Öğrenme-Bellek Bozukluğu Üzerine Etkisi, Sakarya Tıp Dergisi 2023;13(3): 446-455 DOI: 10.31832/smj.1239798

Öz

Amaç	Adipokinetik hormon böceklerin şeker ve lipid mobilizasyonunda rol oynar. Adipokinetik hormonun sıçan şizofreni ve olfaktör bulbektomi modelinde öğrenme-bellek üzerine düzeltici etkileri görülmüştür. Adipokinetik hormonun sıçanlara intraperitoneal uygulanmasından sonra piroglutamil peptidleri içeren adipokinetik hormon metabolitlerinin kan-beyin bariyerini geçtiği hipotez edilmiştir. Bu çalışmanın amacı piroglutamil peptidlerin hem naif farelerde öğrenme-bellek üzerine etkisini hem de skopolaminle indüklenen bellek bozukluğu üzerine etkisini incelemektir.
Yöntem ve Gereçler	Bu çalışmada öğrenme-bellek fonksiyonlarını incelemek için modifiye yükseltilmiş artı labirent testi (mYAL) ve pasif sakınma testlerini kullandık. Skopolamin (1 mg/kg) ile piroglutamil peptid olarak piroglutamik asid-valin (pGlu-Val; 10 ve 20 mg/kg), piroglutamik asid-lösin (pGlu-Leu; 10 ve 20 mg/kg) kullandık.
Bulgular	mYAL testinde dipeptidlerin naif farelerde geçiş süresi-2 üzerine anlamlı etkisi yoktu. Skopolamin kısmi olarak ikinci denemede geçiş süresi-2'yi arttırırken, bu etki pGlu-Leu (10 ve 20 mg/kg; p=0,0064; p=0,0055 sırasıyla) tarafından anlamlı şekilde tersine çevrildi fakat pGlu-Val etkisizdi. Pasif sakınma testinde dipeptidlerin naif farelerde retansiyon latansı üzerine anlamlı etkisi yoktu. Skopolamin kontrol grubuna göre retansiyon latansını kısmen azaltırken dipeptidlerin hiçbirisi skopolamin grubunun retansiyon latansını tersine çevirmedi.
Sonuç	Sonuçta, piroglutamil peptidler naif farelerde öğrenme-bellek üzerine etki göstermedi. pGlu-Leu mYAL testinde skopolaminle indüklenen öğrenme bozukluğu üzerine düzeltici etki gösterirken, her iki peptid pasif sakınma testinde skopolaminle indüklenen bellek bozukluğu üzerine etki göstermedi.
Anahtar Kelimeler	Fare; Modifiye yükseltilmiş artı labirent; Öğrenme-bellek; Pasif sakınma; Piroglutamil peptidler

Abstract

Introduction	Adipokinetik hormone plays role in sugar and lipid mobilization of insects. Adipokinetik hormone exerted improving effects on learning and memory in schizophrenia and olfactory bulbectomy model of rats. It is hypothesized that metabolites of adipokinetik hormone, including pyroglutamyl peptides, pass the blood-brain barrier after the intraperitoneal administration of adipokinetik hormone to rats. The aim of this study is to investigate effects of pyroglutamyl peptides on learning and memory both in naive mice and in scopolamine-induced memory deterioration.
Materials and Methods	In this study, we used modified elevated plus maze (mEPM) and passive avoidance tests to examine learning and memory functions. We used scopolamine (1 mg/kg) and pyroglutamic acid-valine (pGlu-Val; 10 and 20 mg/kg), pyroglutamic acid-leucine (pGlu-Leu; 10 and 20 mg/kg) as pyroglutamyl peptides.
Results	In mEPM test there was no significant effect of dipeptides on transfer latency-2 in naive mice. Scopolamine partially increased transfer latency-2 in second trial and this effect was significantly reversed by pGlu-Leu (10 ve 20 mg/kg; p=0,0064; p=0,0055 respectively) although pGlu-Val had no effect. In passive avoidance test none of the dipeptides reversed retention latency of scopolamine group.
Conclusion	We found that pyroglutamyl peptides had no effect on learning and memory in naive mice. pGlu-Leu had improving effect on scopolamine induced learning impairment in the mEPM test while both of the peptides had no effect on scopolamine induced memory impairment in the passive avoidance test.
Keywords	Learning-memory; Mice; Modified elevated plus maze; Passive avoidance; Pyroglutamyl peptides



GİRİŞ

Böcek adipokinetik hormonları uçuş ve hareket gibi enerji gerektiren aktivitelerde böcek yağ dokusundan şeker ve lipid'in mobilizasyonundan sorumludurlar.¹ Deney hayvanlarına intraperitoneal olarak uygulanan adipokinetik hormonun beyne piroglutamik asitle başlayan 2 aminoasid uzunluğunda metabolitleri geçmektedir. L-piroglutamik asitle başlayan peptidlerin (piroglutamik peptidler) farelerde daha önce yapılan çalışmalarda antidepresan-benzeri etkileri gösterilmiştir.² Adipokinetik hormonun depresyon ve bellek üzerine etkilerinden piroglutamik asitle başlayan 2 aminoasid uzunluğundaki metabolitlerinin (pGlu-Val, pGlu-Leu) sorumlu olduğu belirlenmiştir. Daha önce yapılan çalışmalarda L-piroglutamik asid (p-Glu)'in beyinde hem glutamata dönüştüğü hem de glutamatin etkilerini antagonize ettiği görülmüştür.³ Yine yapılan çalışmalarda piroglutamik asidin skopolaminle oluşturulmuş bellek bozukluğunu tersine çevirdiği ve kolinerjik aktiviteyi artırdığı görülmüştür.^{4,5} Piroglutamik asidin insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda yaşa bağlı oluşan bellek bozuklukları üzerine de olumlu etkileri gösterilmiştir.^{6,7}

Kolinerjik nöronlar ve projeksiyonları santral sinir sisteminde öğrenme, bellek, hareketin kortikal organizasyonu ve serebral kan akımı kontrolü gibi birçok yaşamsal fonksiyonun düzenlenmesinde önemli rol oynar.⁸ Asetilkolin esteraz kolinerjik fonksiyonda önemli rol oynayan bir enzimdir.⁹ Bu enzim nörotransmitter asetilkolini kolinerjik sinapsların ve nöromusküler bağlantıların sinaptik yarığında hidrolize eder¹⁰ ve asetilkolinin etkisini ortadan kaldırır. Asetilkolin esteraz yine, inme¹¹, Alzheimer hastalığı¹² ve diabetes mellitus'a bağlı demans¹³ gibi birçok santral sinir sistemi bozukluğuyla ilişkilidir. Asetilkolinin etkisini ortadan kaldıran, kolinerjik sistemin inhibisyonunda yaygın olarak kullanılan ve farmakolojik olarak öğrenme-bellek bozukluğu oluşturan ilaç skopolamindir.¹⁴

Bu çalışmada daha önce yapılan araştırmalarda depresyon, anksiyete, stres bozuklukları^{15,16} ve yine şizofreni ve depresyon modellerinde bozulmuş bellek üzerinde etkin-

liği^{17,18} gösterilen adipokinetik hormonun etkin metabolitleri olarak görülen piroglutamik peptidlerin hem naif farelerde öğrenme-bellek üzerine etkisi hem de skopolaminle oluşturulmuş öğrenme-bellek bozukluğu üzerine etkilerinin modifiye yükseltilmiş artı labirent testi ve pasif sakınma testleri kullanılarak incelenmesi planlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Etik Komite Onayı

Bu araştırma protokolü Avrupa Topluluğu Konseyinin hayvan deneyleri etik kurallarına uymakta olup etik onay Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi etik kurulu (KOÜ HAD-YEK 8/1-2020 sayılı karar ile) tarafından alınmıştır.

Deney Hayvanları

Çalışmada 20-30g ağırlığında her grupta 8 adet olmak üzere 7-8 haftalık balb-c erkek fare (Sakarya Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Deney Hayvanları Birimi-Sakarya) kullanılmıştır. Deney öncesi Kocaeli Üniversitesi Deneysel Araştırma Birimi Laboratuvarı fare bakım odalarında fareler $21 \pm 1,5^{\circ}\text{C}$ oda sıcaklığında ve 12 saat aydınlık- 12 saat karanlık (aydınlık saat 20.00 'de) olacak şekilde ayarlanan ortamda tutulmuşlardır. Farelere yem olarak standart yem, içecek olarak musluk suyu verilmiştir. Farelerin yeni ortama uyum sağlamaları amacıyla fareler laboratuara geldikten iki hafta sonra deneye alınmış ve deneylerin 08:30-14:00 saatleri arasında yapılmasına özen gösterilmiştir.

Deneyler

Modifiye Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (mYALT)

Öğrenme-bellek ile ilişkili davranış modifiye yükseltilmiş artı-labirent testi ile ölçülür. Deneyler hafif aydınlık, yarı ses-geçirgen, masa lambası ile aydınlatılmış (80 lux) odada yapılır. Labirent tahtadan yapılmıştır ve iki açık (29 cm uzunluk x 5 cm genişlik) ve iki kapalı kolları (29 cm x 5 cm x 15 cm yükseklikte duvarları olan) birbirlerini çaprazlarlar ve 5cm'lik kare şeklinde merkez kısmı oluştururlar. Hayvanın düşmesini engellemek için açık alanlar kısa (1cm)'lik bir pleksiglas kenarlıkla çevrelenmiştir. Labirent

yerden 40 cm yüksekliktedir.

Modifiye yükseltilmiş artı labirent testi öğrenme ve bellek deneyleri için kullanıldığında deney iki aşamalı olarak yapılır. Birinci aşama, kazanım/öğrenim (acquisition) periyodudur. İkinci aşama ise bir gün önce kazanım/öğrenme periodunda, öğrenilen ve depolandığı düşünülen bilginin, 24 saat sonra anımsanacağı varsayılan retansiyon periyodudur (retention period). Birinci gün denekler yükseltilmiş artı labirentin açık kollarından birinin ucuna konulur. 90 sn içinde kapalı kollardan birine girmeyen farenin, hafifçe itilerek kapalı kollardan birine girmesi sağlanır. Farenin karanlık kollardan birine girmesi için geçen süre kaydedilir (GS1). Karanlık bölüme geçen farelerin bu kollarda 10 sn vakit geçirmeleri sağlanıp, bu süre sonunda fareler kafeslerine geri konulur. Bu uygulamadan tam 24 saat sonra fareler tekrar açık kollardan birinin ucuna konulur ve karanlık kollardan birine girmesi için geçen süre kaydedilir (GS2). Bu testte GS2 değerinin GS1 değerinden düşük olması deneklerin öğrendiğinin bir kanıtı olarak kabul edilmektedir.¹⁹

Pasif Sakınma (PS) Testi

Pasif sakınma testinde; pasif sakınma deney aleti (Ugo Basile, Passive Avoidance Controller Cat 7551, İtalya) kullanılmıştır. Pasif sakınma genellikle en hızlı öğrenme testlerinden biri olup Monleon ve arkadaşlarının metoduna²⁰ göre yapılmıştır. Bu test, birbirinden bir geçiş kapısı ile ayrılmış, biri karanlık (24x12.5x14 cm), diğeri aydınlık (7x12.5x14 cm) (2000 lux) olan iki bölmeden oluşmaktadır. Farelerin bölme içinde ayak bastıkları zemin 0,3 cm çapında paslanmaz çelik telden yapılmış ve birbirine 0,9 cm aralıklarla paralel olarak yerleştirilmiş ızgara yapısındadır. Zemin deney hayvanlarının ayağına programlı bir elektrik şoku verilebilecek şekilde ayarlanmıştır. Hayvanın elektrik şoku aldığı bölme karanlık olan bölgedir. Normalde farenin aydınlık bölmeye konduktan sonra kısa süre içinde tercih edilen karanlık bölmeye geçmesi beklenir.

İnhibitör sakınma testi 2 aşamadan oluşur: kazanım (acqui-

sition) denemesi ve hatırlama (retention) denemesi. Kazanım denemesinde, fare ızgara zeminden verilen ayak şokundan sakınmayı öğrenmek için eğitilir. Deneyin 1. günü (kazanım denemesi) fare aydınlık bölmeye yerleştirilir ve bölmeler arasındaki kapı 10 saniye sonra açılır. Fare aydınlık bölmeden karanlık bölmeye geçtiğinde (kuyruğun 2/3'ü karanlık bölmeye girmeli), kapı kapatılır ve karanlık kompartmanın ızgara zemininden hayvanın ayağına elektrik şoku (0.25mA/1 saniye) verilir. Farenin karanlık bölmeye geçmesi için geçen süre kaydedilir. Ayak şokunu aldıktan 30 saniye sonra, hayvanlar karanlık bölmeden alınır ve kafeslerine geri konulur. Karanlık bölmeye 300 saniye içinde geçmeyen fareler deneyden çıkarılır. Her eğitim denemesinden sonra, bölmeler temizlenerek kokuya bağlı olumsuz etkiler önlenir. Hatırlama denemesi, kazanım denemesinden 24 saat sonra yapılır. Fare eğitim denemesinde olduğu gibi aydınlık bölmeye yerleştirilir. Bölmeler arası kapı 10 saniye'lik alıştırmaya periyodundan sonra açılır. Hayvan elektrik şoku alacağını anlayarak normalde tercih ettiği karanlık bölmeye 300 saniye içinde geçmezse olayı öğrenmiş kabul edilir.

Hatırlama denemesinde karanlık bölmeye geçme süresi "hatırlama süresi indeksi" olarak kullanılır. Hatırlama denemesinde farelere ayak şoku uygulanmaz. Hatırlama süresi indeksi arttıkça öğrenilmiş deneyim daha iyi hatırlanır.

Açık Alan Testi

Farede lokomotor aktivite açık alan testi²¹ kullanılarak değerlendirilmiştir. Bu testte kullanılan cihaz 40 cm çapında ve 30 cm yüksekliğinde, PVC'den yapılmış dairesel açık bir alan olup, duvarlarından birine siyah- beyaz çizgili (30x20 cm) bir plaka yerleştirilmiştir. Zemin, biri merkezi olmak üzere, yedi eşit parçaya ayrılmış ve 100 lux şiddetinde sabit bir ışık ile aydınlatılmıştır.

Deneyler ses-izolasyonlu bir odada yapılmıştır. Açık alan testinde hayvanların lokomasyonu 5 dakika boyunca hayvanların zemindeki 7 eşit bölgenin birinden diğerine geçiş

sayısı kaydedilerek değerlendirilmiştir. Lokomasyon artışı toplam geçiş sayısında artış olarak değerlendirilmiştir. Açık alan testinde hayvanların anksiyetesi 5 dakika boyunca hayvanların orta zonda harcadığı zaman kaydedilerek değerlendirilmiştir. Anksiyolitik etki orta zonda harcanan toplam zamanda artış olarak değerlendirilmiştir.

Deney Planı ve İlaçlar

Modifiye yükseltilmiş artı labirent testi ve pasif sakinme testi öğrenme ve belleği değerlendirmek amacıyla, açık alan testi de lokomasyon ve anksiyeteyi değerlendirmek amacıyla uygulanmıştır. Tüm ilaçlar intraperitoneal (i.p.) olarak verilmiştir. mYAL testinde peptidler ve skopolamin akut olarak testin ilk gün denemesinden 30 dakika önce uygulanarak ilaçların öğrenme üzerine etkisine bakılmıştır. Pasif sakinme testinde peptidler ve skopolamin akut olarak testin ikinci gün denemesinden 30 dakika önce uygulanarak ilaçların bellek üzerine etkisine bakılmıştır. Açık alan testinde peptidler ve skopolamin akut olarak testten 30 dakika önce uygulanarak ilaçların lokomasyon ve anksiyete üzerine etkisine bakılmıştır. Deneylerde skopolamin (Sigma; St. Louis, USA), piroglutamik asit-valin (pGlu-Val) ve piroglutamik asit-lösin (pGlu-Leu) kullanılmıştır. Piroglutamil peptidler UCT Prag kimya departmanında sentezlenmiştir ve hediye olarak verilmiştir. Skopolamin ve peptidler %5 DMSO eklenmiş %0,9'luk serum fizyolojik içinde çözündürülerek deney sabahı taze olarak hazırlanmış ve intraperitoneal (i.p.) olarak 10g'lık ağırlık başına 0.1 ml olacak şekilde verilmiştir. İlaç dozları, davranış ve nörokimyasal çalışmalarda kullanılan dozlara göre belirlenmiştir.^{2,22} Deney gruplarındaki hayvan sayısı 8 olarak belirlenmiştir. Deneyde 10 adet grup bulunmaktadır. Bunlar kontrol grubu (%0,9 NaCl+ %5 DMSO), pGlu-Val 10 mg/kg, pGlu-Val 20 mg/kg, pGlu-Leu 10 mg/kg, pGlu-Leu 20 mg/kg, Skopolamin 1 mg/kg, Skopolamin 1+pGlu-Val 10 mg/kg, Skopolamin 1+pGlu-Val 20 mg/kg, Skopolamin 1+pGlu-Leu 10 mg/kg, Skopolamin 1+pGlu-Leu 20 mg/kg'dır.

İstatistiksel Analiz

Sonuçların değerlendirilmesinde tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) post-hoc Tukey's testi uygulanmıştır. Değerler ortalama standart hata (ort.±SH) olarak verilmiştir. F değeri serbestlik derecesini (degrees of freedom) ifade etmektedir. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Verilerin analizinde GraphPad Prism 5 istatistik analiz programı kullanılmıştır.

BULGULAR

Piroglutamil Peptidlerin mYALT'nde Etkileri

mYALT'nde grupların 1. gün geçiş süresi (GS-1) değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu [$F(9,70)=0.78$; $p=0.63$]. mYALT'nde grupların 2. gün geçiş süresi (GS-2) değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık vardı [$F(9,70)=3.07$; $p=0.0037$; şekil 1]. mYAL testinde dipeptidlerin naif farelerde geçiş süresi-2 üzerine anlamlı etkisi yoktu. Skopolamin kısmi olarak ikinci denemede geçiş süresi-2'yi artırırken, bu etki pGlu-Leu (10 ve 20 mg/kg; $p=0,0064$; $p=0,0055$ sırasıyla) tarafından anlamlı şekilde tersine çevrildi. pGlu-Val (10 ve 20 mg/kg) kısmi olarak skopolaminin etkisini tersine çevirirken sonuç anlamlı değildi (şekil 1).

Piroglutamil Peptidlerin

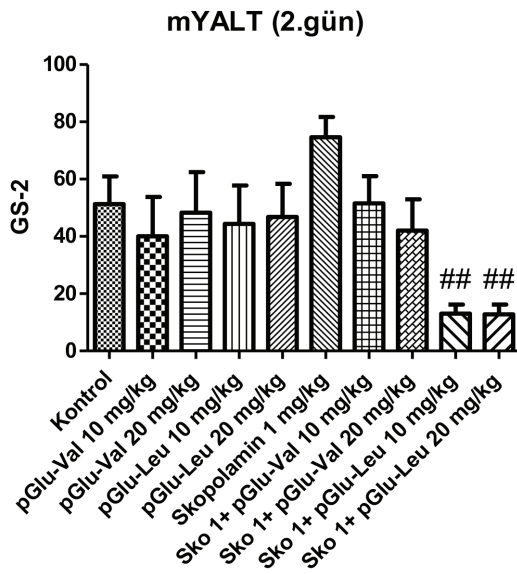
Pasif Sakınma Testinde Etkileri

Pasif sakinme testinde grupların 1. gün latansı değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu [$F(9,70)=0,80$; $p=0,60$]. Pasif sakinme testinde grupların 2. gün geçiş süresi (retansiyon latansı) değerlendirildiğinde gruplar arasında yine anlamlı farklılık yoktu [$F(9,70)=1,06$; $p=0,40$; şekil 2]. Pasif sakinme testinde dipeptidlerin naif farelerde retansiyon latansı üzerine anlamlı etkisi yoktu. Skopolamin kontrol grubuna göre retansiyon latansını kısmen azaltırken dipeptidlerin hiçbirisi skopolamin grubunun retansiyon latansını anlamlı olarak tersine çevirmedi (şekil 2).

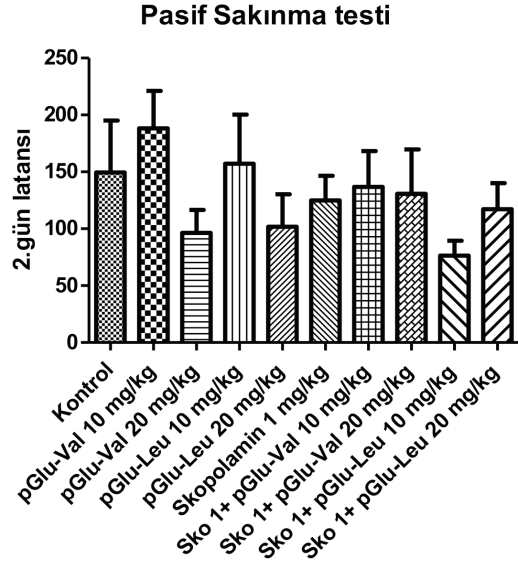
Piroglutamil Peptidlerin Açık Alan Testinde Etkileri

Açık alan testinde orta alanda harcanan zaman değeri-

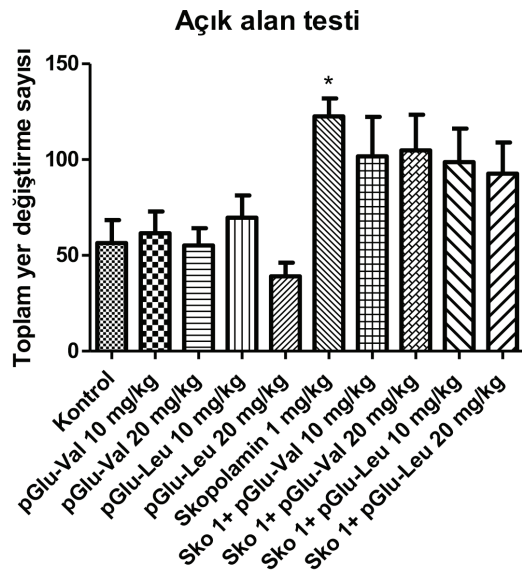
lendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık yoktu [$F(9,70)=1,43$; $p=0,18$]. Açık alan testinde, ilaçların hiçbirini kontrolle karşılaştırıldığında merkez zonda harcanan zamanı değiştirmede. Açık alan testinde toplam yer değiştirme sayısı değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı farklılık vardı [$F(9,70)=3,74$; $p=0,0007$; şekil 3]. Skopolamin açık alan testinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında toplam yer değiştirme sayısını anlamlı olarak artırırken ($p=0,02$) bu etki pGlu-Val ve pGlu-Leu tarafından kısmen azaltıldı ancak anlamlı değildi (şekil 3).



Şekil 1 Modifiye yükseltilmiş artı labirent testinde ilaçların 2. gün geçiş latansı (GS-2) üzerine etkileri ($n=8$). İlaçlar 1. gün denemesinden 30 dakika önce uygulanmıştır. Sonuçlar ort. $\pm$ SH olarak bildirilmiştir. ## $p=0,0064$; $p=0,0055$ sırasıyla skopolamin (1 mg/kg) grubu ile karşılaştırıldığında.



Şekil 2 Pasif sakınma testinde ilaçların 2. gün latansı (retansiyon) üzerine etkileri ($n=8$). İlaçlar 2. gün denemesinden 30 dakika önce uygulanmıştır. Sonuçlar ort. $\pm$ SH olarak bildirilmiştir.



Şekil 3. Açık alan testinde ilaçların toplam yer değiştirme sayısı üzerine etkileri ($n=8$). İlaçlar açık alan testinden 30 dakika önce uygulanmıştır. Sonuçlar ort. $\pm$ SH olarak bildirilmiştir. * $p=0,02$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında.

TARTIŞMA

Böcek adipokinetik hormonu şeker ve lipid mobilizasyonunda rol oynar ve böceklerin uçuş ve hareketinde gerekli enerji üretimini sağlar. Önceki çalışmalarda adipokinetik hormonun antidepresan, anksiyolitik ve analjezik etkileri farelerde gösterilmiş, yine adipokinetik hormon farelerde nörotrofik faktörleri ve nörojenezi artırmış ve sıçan olfaktör bulbektomi, posttravmatik stres ve şizofreni modellerinde olumlu etkiler göstermiştir. Önceki çalışmalarda, piroglutamik asid ve piroglutamik peptidleri de içeren adipokinetik hormonun metabolitlerinin adipokinetik hormonun sıçanlara intraperitoneal uygulanmasından sonra kan-beyin bariyerini geçtiği diğer çalışmalar tarafından da desteklendiği şekilde hipotez edilmiştir. Bu çalışmamızda iki piroglutamik peptidin hem naif farelerde hem de skopolamin uygulanmış farelerde öğrenme-bellek ve lokomasyon üzerine etkisini inceledik. Daha önceki çalışmalarda kullanılan adipokinetik hormonların başlangıç sekansına sahip iki dipeptid olan, piroglutamik asid-valin (pGlu-Val) ve piroglutamik asid-lösin (pGlu-Leu) kullandık.¹⁵⁻¹⁸ Modifiye yükseltilmiş artı labirent testi, pasif sakinme testi ve açık alan testlerini kullandık. pGlu-Val (10 ve 20 mg/kg) ve pGlu-Leu (10 ve 20 mg/kg)'ı piroglutamik peptidler olarak kullandık. mYAL ve pasif sakinme testlerinde naif farelerde dipeptidler herhangi anlamlı etki göstermedi. mYAL testinde pGlu-Leu skopolaminle bozulmuş öğrenme fonksiyonunu anlamlı olarak düzeltirken, pGlu-Val etki göstermedi. Pasif sakinme testinde ise her iki dipeptid skopolaminle bozulmuş bellek üzerine anlamlı etki göstermedi. Açık alan tesinde skopolamin (1 mg/kg) lokomasyonu anlamlı olarak artırırken, dipeptidler bu etkiyi kısmen tersine çevirdi. Açık alan testinde anksiyete üzerine ise ilaçlar herhangi etki göstermedi. Sonuç olarak pGlu-Leu skopolaminle bozulmuş öğrenme üzerine olumlu etki gösterirken, her iki dipeptid skopolaminle bozulmuş bellek üzerine etki göstermedi. Bu sonuçlar pGlu-Leu'nin pGlu-Val'e göre bilişsel bozukluklarda kullanım açısından bir üstünlüğünü göstermektedir ancak bu sonuçlar yeni metodlar kullanılarak desteklenmelidir.

Adipokinetik hormonlar böceklerde yağların mobilizasyonunu sağlayan metabolik nöropeptidlerdir.¹ Bu peptid hormonlar böcek beynine yapışmış nöroendokrin bir bez olan korpora kardiakada yerleşmiş nörosekretuar nöronların ürünleridir. Yakın zamandaki çalışmalarda, adipokinetik hormon/kırmızı pigment konsantre edici hormon peptid ailesinin antidepresan, anksiyolitik ve analjezik etkileri, hiperlokomozyona yol açtığı ve farelerde kronik enjeksiyondan sonra nöroprotektif etkileri gösterilmiştir.¹⁵ Ayrıca, adipokinetik hormon/kırmızı pigment konsantre edici hormon ailesi peptidlerin farelerde akut enjeksiyondan sonra antidepresan, anksiyolitik ve analjezik etkileri bulunmuştur.¹⁶ Diğer bir çalışmada, bu peptidlerin MK-801 ile indüklenen sıçan şizofreni modelinde öğrenme-bellek üzerine olumlu etkileri gösterilmiştir.¹⁷ Ayrıca yine sıçan olfaktör bulbektomi ve posttravmatik stres bozukluğu modellerinde bellek, depresyon ve anksiyete üzerine düzeltici etkileri bulunmuştur.¹⁸

Çeşitli tip böcek adipokinetik hormonları arasında bazı yapısal ve fonksiyonel farklılıklar bulunmaktadır. Kemirgenlerde yapılan önceki çalışmalarda, üç tip böcek adipokinetik hormonu kullanılmıştır, birincisi Anax imperator adipokinetik hormonudur; bu hormonun aminoasid sekansı pGlu-Val-Asn-Phe-Ser-Pro-Ser-Trp-NH₂ şeklindedir. Libellula auripennis adipokinetik hormonu sekansı pGlu-Val-Asn-Phe-Thr-Pro-Ser-Trp-NH₂ şeklindeyken, Phormia-Terra hipertrehalosemik hormon sekansı pGlu-Leu-Thr-Phe-Ser-Pro-Asp-Trp-NH₂ şeklindedir.²³ Önceki çalışmalarda, piroglutamik asid ve piroglutamik peptidleri de içeren adipokinetik hormonun metabolitlerinin adipokinetik hormonun sıçanlara intraperitoneal uygulanmasından sonra kan-beyin bariyerini geçtiği diğer çalışmalar^{2,22} tarafından da desteklendiği şekilde hipotez edilmiştir. Bu metabolitlerin adipokinetik hormonun önceki çalışmalarda¹⁵⁻¹⁸ görülen davranışsal etkilerinden sorumlu olduğunu düşünülmüştür. Bu nedenle, bu çalışmada piroglutamik peptidlerin naif farelerde ve skopolaminle bozulmuş öğrenme-bellek üzerine etkisini çalıştık. L-piroglutamik asid hem glutamata dönüşmekte hem de

beyinde glutamatın etkilerini antagonize etmektedir.³ Ayrıca, yakın zamandaki çalışmalarda, piroglutamik asid skopolaminle indüklenen bellek bozukluğunu tersine çevirdi ve hem kemirgenlerde hem insanlarda kolinerjik aktiviteyi artırdı.^{4,5} Piroglutamik asid ayrıca yaşlı insanlarda ve hayvanlarda bellek üzerine pozitif etkiler gösterdi.⁷ Yiyecek-kaynaklı piroglutamil peptidler farelerde antidepresan ve anksiyolitik etkiler gösterdi.^{2,22,24} Yine yakın zamandaki çalışmalarda piroglutamil peptidlerin farelerde antidepresan ve analjezik etkileri gösterilmiştir.²⁵ Bu çalışmada da önceki çalışmalara dayanarak pGlu-Leu'nin skopolaminle oluşturulmuş öğrenme bozukluğu üzerine olumlu etkisinde glutamaterjik ve kolinerjik sistemlerin rol oynayabileceği düşünülmüştür.

Piroglutamik asid (pGlu) L-glutamik asidin siklik türevidir. Glutamik asidin serbest amino grubunun laktam zinciri oluşturmak için siklize olduğu yaygın olmayan bir aminoasid türevidir. Non-enzimatik olarak glutamat, glutamin ve gama-glutamil peptidler oluşturur fakat ayrıca gama-glutamilsiklotransferazın L-aminoasid üzerindeki etkisi ile oluşabilir. pGlu beyinde kan akımını düzenlemek için tezgah üstü "akıllı ilaç" olarak satılmaktadır. pGlu önceki çalışmalarda sıçanlarda anksiyete ve bellek üzerine olumlu etkiler göstermiştir.^{26,7,5} Yakın zamandaki bir çalışmada, oksirasetam ve D-piroglutamik asid N-metil-D-aspartat reseptör antagonisti 2-amino-5-fosfonovalelerat tarafından indüklenen pasif sakinme davranışındaki bozulmayı antagonize etmiştir.²⁷ Yine pGlu skopolaminle indüklenen bellek bozukluğunu tersine çevirmiş ve beyin kolinerjik seviyelerini etkilemiştir.^{4,5} Piroglutamik asid yine insanlarda yaşla ilişkili bellek bozukluğunu ve yaşlı sıçanlarda öğrenme bellek kapasitesini düzeltmiştir.^{6,7} Yiyecek kaynaklı piroglutamil peptidler yine farelerde anksiyolitik ve antidepresan-benzeri etkiler göstermiştir.^{2,22}

Piroglutamil peptidler peptidlerin N-terminal pozisyonunda glutamin veya glutamik asid kalıntılarının molekül içi siklizasyonundan oluşmuştur. Bu işlem endojen olarak veya peptidler içeren yiyeceklerin işlenmesi sırasında olu-

şabilir. pGlu peptidlerin farklı özellikleri vardır, özellikle acı ve umami tadları içerir bu yüzden içinde bulundukları yiyeceklerin hissi özelliklerini etkileyebilir. Ayrıca pGlu peptidlerin sağlık üzerine bazı olumlu etkileri raporlanmıştır, bunlar arasında hepatoprotektif, antidepresan ve antienflamatuar etkiler bulunmaktadır.²⁴ Bu çalışmada piroglutamil peptid olarak iki dipeptid, piroglutamik asid-valin (pGlu-Val) ve piroglutamik asid-lösin (pGlu-Leu) kullandık. Bunlar kemirgenlerde yapılan önceki çalışmalarda kullanılan adipokinetik hormonların başlangıç sekanslarıdır.¹⁵⁻¹⁸

Önceki çalışmalarda piroglutamik asidin optik sinir hasarından sonra retinal ganglion hücrelerinin sağ kalımına katkıda bulunduğu gösterildi.²⁸ Başka bir çalışmada piroglutamik asid uygulanmasının guinea-pig serebral korteksinden asetilkolin ve GABA salınımını artırdığı belirtildi.²⁹ İntrauterin hipoksiye uğramış sıçanlarda bellek bozukluklarının nooglutit (N-5-hidroksi(nicotinoyl)-L-glutamin asid ve L-piroglutamil-D-alanin amid tarafından düzeltildiği gösterildi.³⁰ Nootropik bileşik L-piroglutamil-D-alanin-amid sıçanlarda etanol maruziyeti ile bozulan hipokampal uzun dönem potansiyalizasyonu düzeltti.³¹ Oksirasetam ve D-piroglutamik asid N-metil-D-aspartat reseptör antagonisti 2-amino-5-fosfonovalelerat tarafından indüklenen pasif sakinme davranış bozukluğunu antagonize etti.²⁷ Başka bir çalışmada D, L-pGlu'nin kortikal ve hipokampal kolinerjik mekanizmalarda etkili olduğu ve diğer 2-oksopirolidon türevleri gibi bellek artırıcı özellikleri gösterildi.⁵ Alzheimer hastalığında kortikal piroglutamat amiloid- β seviyelerinin bilişsel azalmaya yol açtığı gösterildi.³²

Önceki çalışmalarda yeni vazopressin parça analogu NC-1900 (pGlu-Asn-Ser-Pro-Arg-Gly-NH₂ acetate)'ün farelerde bellek retansiyon ve geri çağırılması üzerine etkileri çalışıldı. Sonuçlar NC-1900'ün bellek kazanımı ve geri çağırılması üzerinde güçlendirici etkileri olduğunu ve fosfolipaz C-protein kinaz C sisteminin oluşum aşamasında (fakat sonraki aşamalarda değil) ilişkili olabileceğini öner-

di.³³ Başka bir çalışmada NC-1900 hipokampal lezyonlar ile oluşturulan yer öğrenme bozukluklarını azalttı.³⁴

pGlu randomize, çift kör denemede 40 yaşlı hastada bellek bozukluklarında etkinliğinin değerlendirilmesi için plasebo ile karşılaştırıldı. 20 kişi pGlu, 20 kişi plasebo ile 60 gün boyunca tedavi edildi. Tedaviden 60 gün sonra 6 farklı bellek testi ile bellek fonksiyonları değerlendirildi. Sonuçlar pGlu'nun yaşla ilişkili bellek azalmasında bazı sözel bellek fonksiyonlarını düzeltmede etkili olduğunu gösterdi.⁶ Piroglutamik asidin arjinin tuzunun (2-okso-pirolidon karboksilik asid, PCA) yaşlı sıçanlarda öğrenme-bellek kapasiteleri üzerine etkisi subkronik tedavi protokolü (15 gün boyunca 0,1 ve 1 g/kg/gün i.p. enjeksiyon) kullanılarak çalışıldı. Aktif sakınma davranışının kazanılması ve kaybedilmesi sırik-atlama testi ile çalışıldı. Pasif sakınma cevabının retansiyonu pasif sakınma testi ile incelendi. pGlu sırik-atlama cevabının kazanım hızını artırırken, cevabın kaybolmasını inhibe etti. Bu açıdan 1 g/kg dozu 0,1 g/kg dozundan daha güçlüydü. Pasif sakınma testinde de pGlu ile tedavi sakınma retansiyonunda düzelmeye yol açtı. Bu sonuçlar pGlu'nun yaşlı sıçanlarda öğrenme-bellek kapasitesini düzelter aktif bir bileşik olduğunu göstermektedir.⁷ Piroglutamik asid ve türevlerinin (i.p enjeksiyondan sonra) glutamat ve NMDA (i.c.v.) ile indüklenen nöbetlerdeki koruyucu etkisi farelerde bilinen antiepileptiklerle ve eksitator aminoasid antagonistleri ile karşılaştırılarak çalışıldı. Piroglutamik asidin ve bazı türevlerinin glutamat ile indüklenen nöbetlerdeki etki gücü valproik aside benzerdi. İlginç olarak, piroglutamik asid NMDA ile indüklenen nöbetlere etki göstermedi, bu nöbetler diazepam ve 2-amino-5-fosfonoalerik asidle antagonize edildi. Bu yüzden, piroglutamik asidin non NMDA reseptörlerde eksitator aminoasid sentezinin başlangıç maddesi olabileceği düşünüldü.³⁵

Başka bir çalışmada L-triptofan (1), L-piroglutamik asit (2), L-piroglutamik-L-triptofan'ın (3) ve eşleşen etil ester türevlerinin (4-6) in vitro emilim özelliği, bu molekülle-

rin oral uygulanmasından sonra çalışıldı. Dipeptidler 3 ve 6 kan beyin bariyerini güçlü şekilde geçmiştir ve ilaçların santral sinir sistemine geçiş hızı artmıştır. Moleküller gastrik ve intestinal bölgede belirgin miktarda emilmiştir. Peptid bağları enzimler tarafından biyolojik sıvılarda hızla yıkıldığından, enzim hidroliz özellikleri doğal gastro-intestinal ortamda çalışılmıştır. 6'nın ester bağı hidrolizi %12 civarında iken, 5 saat sonra 3 ve 6'nın peptid bağı için önemli hidroliz gözlenmemiştir.³⁶

Önceki çalışmalarda, sıçanlarda MK-801 ile oluşturulmuş şizofreni modelinde ve depresyonun olfaktör bulbektomi modelinde adipokinetik hormonun öğrenme ve bellek üzerine olumlu etkileri bulunmuştur. Bu çalışmada da pGlu-Leu mYAL testinde skopolaminle bozulmuş bellek üzerine olumlu etki gösterdi. Önceki çalışmalarda, piroglutamik asid ve piroglutamik peptidleri içeren adipokinetik hormon metabolitlerinin kan beyin bariyerini geçerek etki gösterdiği hipotez edilmiştir. Bu çalışmada pGlu-Leu'nun skopolaminle bozulmuş bellek üzerindeki olumlu etkisi, önceki çalışmalarda görülen adipokinetik hormonun bellek üzerine olumlu etkilerinden piroglutamik peptidlerin sorumlu olabileceği tezini desteklemektedir. Ancak bu çalışmada pGlu-Val'in skopolaminle bozulmuş öğrenme-bellek üzerine herhangi etkisini göremedik. Bu durum kullanılan hayvan türüne, test metodlarına, kullanılan ilaç dozlarına, deney ortamı ve koşullarına bağlı olarak gelişmiş olabilir. Bu yüzden dipeptidlerin farklı dozlarda, farklı bellek fonksiyonları üzerine etkisi yine farklı bellek testleri kullanılarak yeniden çalışılmalı ve net etki aydınlatılmalıdır.

İlaçların lokomasyon ve anksiyete üzerine etkisi çalışma sonuçlarını nonspesifik şekilde etkileyebilmektedir. Bu yüzden bu çalışmada da skopolamin ve dipeptidlerin anksiyete ve lokomasyon üzerine etkisi açık alan testinde incelenmiştir. Açık alan testinde kullanılan ilaçlar anksiyete üzerine etki göstermemiştir, bu durum elde ettiğimiz sonuçların anksiyete ilişkili nonspesifik etkilere bağlı ola-

bileceği durumunu dışlamıştır. Skopolamin ise kullandığımız 1 mg/kg dozunda lokomasyonu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak artırmıştır. Skopolamin lokomasyonu artırdığı halde ne mYAL testinde ne de pasif sakınma testinde kontrol grubu ile skopolamin grubu arasında anlamlı fark oluşmuştur. Dipeptidler skopolaminin artırmış olduğu lokomasyonu kısmi olarak tersine çevirmiş ancak bu etki dipeptidlerin öğrenme-bellek üzerine etkisinin lokomoyonla ilişkili olabileceğini düşündürecek seviyede olmamıştır. Piroglutamil peptidler naif farelerde de kontrol grubu ile karşılaştırıldığında lokomasyon üzerine etki göstermemiştir. Tüm bu sonuçlar yine bu çalışmada kullanılan dipeptidlerin hem naif farelerde hem de skopolaminle oluşturulmuş öğrenme-bellek bozukluğu üzerindeki etkilerinin lokomasyona bağlı nonspesifik etkilere bağlı olabileceği durumunu dışlamaktadır.

Önceki çalışmalarda, adipokinetik hormonun kanda küçük peptidlere metabolize olduğu ve pGlu ve piroglutamik asid içeren dipeptidlerin kan beyin bariyerini geçebileceği ve adipokinetik hormonun davranış üzerine etkilerinden sorumlu olabileceği gösterilmiştir.¹⁸ Ayrıca, önceki çalışmalarda, adipokinetik hormon/kırmızı pigment konsantre edici hormon peptid ailesinin MK-801 ile indüklenen şizofreni modelinde bellek bozukluğunu tersine çevirdiği gösterilmiş, bu durum bu peptidlerin NMDA reseptörleri üzerinden etki gösterebileceğini düşündürmüştür.¹⁷ L-piroglutamik asid hem glutamata dönüşmekte hem de beyinde glutamatın etkisini antagonize etmekteydi.⁵ Ayrıca, önceki çalışmalarda, adipokinetik hormon sıçan posttravmatik stres modelinde beyin dopamin seviyelerini artırdı.¹⁸ Bu yüzden piroglutamil peptidlerin adipokinetik hormonun aktif metabolitleri olduğu, glutamaterjik ve dopaminerjik sistem üzerinden etki gösterdiği hipotez edilmiştir. Bu çalışmada özellikle pGlu-Leu ile elde ettiğimiz sonuçlarda kolinerjik, glutamaterjik ve dopaminerjik etki mekanizmaları rol oynamış olabilir. Piroglutamil peptidlerin etki mekanizması ileri in vitro ve in vivo çalışmalar ile aydınlatılmalıdır.

SONUÇ

Sonuç olarak pGlu-Leu skopolaminle bozulmuş öğrenme üzerine olumlu etki gösterirken, her iki dipeptid skopolaminle bozulmuş bellek üzerine etki göstermedi. Hem bu çalışma hem önceki çalışmalara dayanarak pGlu-Leu'nin bozulmuş öğrenme üzerine olumlu etkilerinden kolinerjik, glutamaterjik ve dopaminerjik sistemin sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Bu çalışmanın sonuçları pGlu-Leu'nin pGlu-Val'e göre bilişsel bozukluklarda kullanım açısından üstünlüğünü göstermektedir ancak bu sonuçlar yeni doz ve metodlar kullanılarak desteklenmelidir. Ayrıca bu peptidlerin etki mekanizması aydınlatılmalıdır.

Çıkar Çatışması

Yazarlar çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

Finansal Destek

Yazarlar finansal destek bildirmemişlerdir.

Yazarların Katkıları

İ.U ve O.M. çalışma konusunun belirlenmesi, makalenin yazılmasında, verilerin elde edilmesi ve düzenlenmesinde, Ş.N.B.B., M.A.Y. ve M.O.K.M. literatür taraması ve makalenin geliştirilmesinde, P.T., F.A. ve F.E. ise çalışmanın tüm aşamalarda danışmalık ve yazının gözden geçirilmesi aşamalarında rol almışlardır. Bütün yazarlar çalışmanın doğruluğu ve bütünlüğünden sorumlu olmayı kabul etmişlerdir.

References

- Gade G, Marco H.G. Adipokinetic and hypertrehalosemic neurohormones. *Encyclopedia of Entomology* 2008;44:5.
- Yamamoto Y, Mizushige T, Mori Y, Shimmura Y, Fukutomi R, Kanamoto R, et al. Antidepressant-like effect of food-derived pyroglutamyl peptides in mice. *Neuropeptides* 2015;51:25-9.
- Kumar A, Bachhawat AK. Pyroglutamic acid: throwing light on a lightly studied metabolite. *Current Science* 2012;102(2):288-97.
- Pepeu G, Spignoli G. Nootropic drugs and brain cholinergic mechanisms. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1989;13:77-88.
- Spignoli G, Magnani M, Giovannini MG, Pepeu G. Effect of pyroglutamic acid stereoisomers on ECS and scopolamine-induced memory disruption and brain acetylcholine levels in the rat. *Pharmacol Res Commun* 1987;19:901-12.
- Grioli S, Lomeo C, Quattropani MC, Spignoli G, Villardita C. Pyroglutamic acid improves the age associated memory impairment. *Fundam Clin Pharmacol* 1990;4:169-73.
- Drago F, Valerio C, D'Agata V, Astuto C, Spadaro F, Continella G, et al. Pyroglutamic acid improves learning and memory capacities in old rats. *Funct Neurol* 1988;3(2):137-43.
- Mesulam MM, Guillozet A, Shaw P, Levey A. Acetylcholinesterase knockouts establish central cholinergic pathways and can use butyrylcholinesterase to hydrolyze acetylcholine. *Neuroscience* 2002;110(4):627-39.
- Appleyard ME. Secreted acetylcholinesterase: non-classical aspects of a classical enzyme. *Trends Neurosci* 1992;15(12):485-90.
- Soreq H, Seidman S. Acetylcholinesterase - new roles for an old actor. *Nat Rev Neurosci* 2001;2(4):294-302.
- Ozkul A, Akyol A, Yenisey C. Oxidative stress in acute ischemic stroke. *J Clin Neurosci* 2007;14(11):1062-6.
- Chauhan V, Chauhan A. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Pathophysiology* 2006;13(3):195-208.
- Kuhad A, Sethi R, Chopra K. Lycopene attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. *Life Sci* 2008;83(3-4):128-34.
- Radionova KS, Belnik AP, Ostrovskaya RU. Original nootropic drug noopept prevents memory deficit in rats with muscarinic and nicotinic receptor blockade. *Bull Exp Biol Med* 2008;146(1):59-62.
- Mutlu O, Gumuslu E, Kokturk S, Ulak G, Akar F, Erden F, et al. Effects of chronic administration of adipokinetic and hypertrehalosemic hormone on animal behavior, BDNF and CREB expression in the hippocampus and neurogenesis in mice. *Fundam Clin Pharmacol* 2016;30:4-13.
- Mutlu O, Ulak G, Akar F, Erden F, Celikyurt IK, Bektas E, et al. Effects of Acute Administration of Adipokinetic Hormone on Depression, Anxiety, Pain, Locomotion and Memory in Mice. *Chin J Physiol* 2017;60:106-13.
- Mutlu O, Páleníček, T, Pinterová N, Šichová K, Horáček J, Holubová K, et al. Effects of the adipokinetic hormone/red pigment-concentrating hormone (AKH/RPCH) family of peptides on MK-801-induced schizophrenia models. *Fundam Clin Pharmacol* 2018;32(6):589-602.
- Mutlu O, Kurtas O, Kleteckova L, Pinterova N, Holubová K, Horacek J, et al. Effects of adipokinetic hormone/red pigment-concentrating hormone family of peptides in olfactory bulbectomy model and posttraumatic stress disorder model of rats. *Peptides Epub* 2020 Sep 18.
- Sharma AC, Kulkarni SK. Evaluation of learning and memory mechanisms employing elevated plus maze in rats and mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 1992;16(1):117-25.
- Monleon S, Urquiza A, Arenas MC, Vinader-Caerols C, Para A. Chronic administration of fluoxetine impairs inhibitory avoidance in male but not female mice. *Behav Brain Res* 2002;136(2):483-8.
- Ennaceur A, Delacour J. A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1. Behavioral data. *Behav Brain Res* 1988;31(1):47-59.
- Ohinata K, Mizushige T, Yamamoto Y, Harada M, Niimura Y. Antidepressant agent or anti-anxiety agent. *Japan Patent* 2014162735A;2014.
- Gade G. The Explosion of Structural Information on Insect Neuropeptides, *Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe* 1997;71:1-128.
- Gazmea B, Boachiea RT, Tsopmoba A, Udenigwea CC. Occurrence, properties and biological significance of pyroglutamylpeptides derived from different food sources. *Food Science and Human Wellness* 2019;8(3):268-74.
- Paoli F, Tanyeri P, Basarir S, Uygun I, Akar F, Celebi G, et al. Effects of Pyroglutamyl Peptides on Depression, Anxiety and Analgesia in Mice. *IJMRHS* 2021;10(5):56-62.
- Beni M, Pellegrini-Giampietro DE, Moroni F. A new endogenous anxiolytic agent: L-pyroglutamic acid. *Fundam Clin Pharmacol* 1988;2(2):77-82.
- Paoli F, Spignoli G, Pepeu G. Oxiracetam and D-pyroglutamic acid antagonize a disruption of passive avoidance behaviour induced by the N-methyl-D-aspartate receptor antagonist 2-amino-5-phosphonovaleate. *Psychopharmacology (Berl)* 1990;100(1):130-1.
- Oono S, Kurimoto T, Nakazawa T, Miyoshi T, Okamoto N, Kashimoto R, et al. Pyroglutamic acid promotes survival of retinal ganglion cells after optic nerve injury. *Curr Eye Res* 2009;34(7):598-605.
- Antonelli T, Carlà V, Lambertini L, Moroni F, Bianchi C. Pyroglutamic acid administration modifies the electrocorticogram and increases the release of acetylcholine and GABA from the guinea-pig cerebral cortex. *Pharmacol Res Commun* 1984;16(2):189-97.
- Trofimov SS, Ostrovskaya RU, Smol'nikova NM, Nemova EP, Gudashcheva TA, Kuznetsova EA, et al. The correction with nooglutil and L-pyroglutamyl-D-alanine amide of cognitive disorders in rats due to intrauterine hypoxia. *Eksp Klin Farmakol* 1995;58(6):10-3.
- Chepkova AN, Doreulee NV, Trofimov SS, Gudashcheva TA, Ostrovskaya RU, Skrebitsky VG. Nootropic compound L-pyroglutamyl-D-alanine-amide restores hippocampal long-term potentiation impaired by exposure to ethanol in rats. *Neurosci Lett* 1995;188(3):163-6.
- Pivtoraiko VN, Abrahamson EE, Leurgans SE, DeKosky ST, Mufson EJ, Ikonomic MD. Cortical pyroglutamate amyloid-β levels and cognitive decline in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging* 2015;36(1):12-9.
- Sato T, Tanaka K, Ohnishi Y, Teramoto T, Hirate K, Nishikawa T. The improvement of memory retention and retrieval of a novel vasopressin fragment analog NC-1900. *Nihon Yakurigaku Zasshi* 2002;120(1):57-60.
- Hori E, Uwano T, Tamura R, Miyake N, Nishijo H, Ono T. Effects of a novel arginine-vasopressin derivative, NC-1900, on the spatial memory impairment of rats with transient forebrain ischemia. *Brain Res Cogn Brain Res* 2002;13(1):1-15.
- Beani L, Bianchi C, Baraldi PG, Manfredini S, Pollini GP. Protection by pyroglutamic acid and some of its newly synthesized derivatives against glutamate-induced seizures in mice. *Arzneimittelforschung* 1990;40(11):1187-91.
- Giannola LL, De Caro V, Avellone G, Bousquet E. L-pyroglutamyl-L-tryptophan derivatives as potential drug carriers. II: Permeation behaviour and stability in the gastro-intestinal tract. *Pharmazie* 1996;51(7):487-9.