

MİHRAB ABUL	DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.	YÜKSEK LİSANS TEZİ	DIYARBAKIR-2019
--------------------	---	---------------------------	------------------------



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



İMMOBİLİZASYON STRESİNE MARUZ KALMIŞ FARELERDE

ETİL PİRUVATIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mihrab ABUL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hasan AKKOÇ

DİYARBAKIR-2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



İMMOBİLİZASYON STRESİNE MARUZ KALMIŞ FARELERDE

ETİL PİRUVATIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Mihrab ABUL
YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Hasan AKKOÇ

DİYARBAKIR-2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Mihrab ABUL'un hazırladığı "**İmmobilizsyon Stresine Maruz Kalmış Farelerde Etil Piruvatın Etkilerinin Araştırılması**" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: .../.../20..

Danışman Doç. Dr. Hasan AKKOÇ

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı Prof. Dr. Ensari GÜNELİ

Üye Doç. Dr. Hasan AKKOÇ

Üye Dr. Öğr. Üyesi Zeynep ERDOĞMUŞ ÖZGEN

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... tarih ve ...sayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

13/06/2019

Mihrab ABUL

İmza

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmamın deneysel, istatistiksel başta olmak üzere her aşamasında desteğini, yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Sayın Doç. Dr. Hasan AKKOÇ' a,

Yüksek lisans eğitimim süresince desteğini, bilgisini ve ilgisini esirgemeyen Sayın Prof. Dr. Meral ERDİNÇ' e,

Çalışmam esnasındaki katkılarından ve deneysel süreçteki yardımlarından dolayı Uzm. Ecz. Emre UYAR' a

Eğitim hayatım boyunca her türlü desteği ve ilgiyi esirgemeyen aileme ve yüksek lisans eğitimim süresince yanımda olan eşime teşekkür ederim.

Mihrab ABUL

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından TIP.17.018 nolu Yüksek Lisans proje numarası ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ONAY

BEYAN.....1

TEŞEKKÜR.....11

İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....111

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....VI

TABLolar DİZİNİ.....VII

ŞEKİLLER DİZİNİ.....VIII

1.1.ÖZET.....1

1.2.ABSTRACT.....1

2. GİRİŞ VE AMAÇ.....5

3. GENEL BİLGİLER.....7

3.1. STRES.....7

3.1.1. Stresin Patoizyolojisi.....7

3.1.2 Stres Etkenleri.....9

3.1.3. Deneysel Stres.....9

3.1.4. Deneysel Stres Modelleri.....10

3.1.4.1. Sosyal yenilgi/aşırı kalabalık.....10

3.1.4.2. Elektrik şoku uygulama.....10

3.1.4.3. Suya daldırma.....10

3.1.4.4. Kronik hafif stres.....11

3.1.4.5. Hareketlerin kısıtlanması (immobilizasyon stresi).....	11
3.2.KULLANILAN DAVRANIŞ TESTLERİ.....	12
3.2.1. Açık Alan Testi.....	12
3.2.2. Zorlu Yüzme Testi.....	12
3.2.3. Pasif Sakınma Testi.....	12
3.3. ANTİDEPRESANLAR.....	13
3.3.1. Fluoksetin.....	14
3.4 ETİL PİRUVAT.....	15
3.4.1. Piruvat.....	15
3.4.2. Etil Piruvatın Yapısı.....	16
3.4.3. Etil Piruvatın Etkileri.....	16
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	18
4.1. Gereç.....	18
4.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler.....	18
4.1.2. Kullanılan Denev Hayvanları.....	18
4.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	18
4.2.Yöntem.....	19
4.2.1. Davranış Deneyleri.....	19
4.2.1.1. Açık Alan Testi.....	20
4.2.1.2.Zorunlu Yüzme Testi.....	20
4.2.1.3.Pasif Sakınma Testi.....	20
4.2.2. Biyokimyasal İnceleme.....	21

4.3. İstatistiksel Analiz.....	21
5. BULGULAR.....	22
5.1. Deneklerdeki Ağırlık Değişim.....	22
5.2. Açık Alan Testi Bulguları.....	22
5.3. Zorlu Yüzme Testi Bulguları.....	26
5.4. Pasif Sakınma Testi Bulguları.....	28
5.5. Biyokimyasal Bulgular.....	29
6. TARTIŞMA.....	33
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	37
8. KAYNAKLAR.....	38
9. ÖZGEÇMİŞ.....	46
10. EKLER.....	47
10.1. TEZ SAVUNABİLİRLİK VE ORJİNALLİK BEYAN FORMU.....	47
10.2. ORJİNALLİK RAPORU.....	48
10.3. ETİK KURUL KARARI.....	49

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ACTH	:adrenokortikotrofik hormon
BDNF	:Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
EP	:Etil piruvat
FLO	:fluoksetin
GPX	:glutatyon peroksidaz
HPA	:hipotalamo-pituiter-adrenal
H₂O₂	:hidrojen peroksit
İM	:immobilizasyon
i.p	:intraperitoneal
CRF	:kortikotropin salgılatıcı faktör
MAO	:monoaminoksidaz inhibitörleri
SSRI	:selektif serotonin re-uptake inhibitörü
NGF	:stres büyüme faktörü
ROS	:reaktif oksijen türleri
SOD	:süperoksid dismutaz
TCA	:trisiklik antidepresanlar
5-HT	:5-hidroksi triptamin

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo.1. Deneklerin 1. ve 8. günkü ağırlıkları.....	22
Tablo.2. Grupların açık alan testinde aldıkları mesafe ve hızları.....	23
Tablo 3. Deneklerin açık alan testinde santral ve periferik alana giriş sayıları ve buralarda geçirdikleri süre.	25
Tablo 4. Zorunlu yüzme testinde hareketli ve hareketsiz geçen süreler.....	27
Tablo 5. Deneklerin pasif sakınma test sonuçları.....	28
Tablo 6. Grupların BDNF, NGF, GPX VE SOD değerleri.....	30

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. İmmobilizasyon stres modeli deney düzeneği.....	11
Şekil 2. Fluoksetinin kimyasal yapısı.....	14
Şekil 3. Piruvatın kimyasal yapısı.....	15
Şekil 4. Glikoliz sonucu piruvat oluşumu.....	15
Şekil 5. Piruvatın krebs döngüsüne girişi.....	15
Şekil 6. Etil piruvatın kimyasal yapısı.....	16
Şekil 7. Deneklerin 1. ve 8. gündeki ağırlıkları.....	22
Şekil 8. Açık alan testinde kat edilen mesafe.....	24
Şekil 9. Açık alan testinde ortalama hız.....	24
Şekil 10. Açık alan testinde santral ve periferik alanda geçirilen süreler.....	25
Şekil 11. Açık alan testinde santral ve periferik alana giriş sayıları.....	26
Şekil 12. Zorunlu yüzme testinde hareketli ve hareketsiz geçen süreler.....	27
Şekil 13. Pasif sakınma testinde birinci ve ikinci gündeki geçiş süreleri.....	29
Şekil 14. Grupların BDNF değerleri.....	30
Şekil 15. Grupların NGF değerleri.....	31
Şekil 16. Grupların GPX değerleri.....	31
Şekil 17. Grupların SOD değerleri.....	32

İmmobilizasyon Stresine Maruz Kalmış Farelerde Etil Pirüvatın Etkilerinin Araştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Mihrab ABUL

Danışmanı: Doç. Dr. Hasan AKKOÇ

Anabilim Dalı: Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

1.1. ÖZET

Amaç:Bu çalışmada antioksidan ve antiinflamatuvar etkinliği bilinen etil pirüvatın; yaşam kalitesini etkileyen en önemli sağlık problemlerinden biri olan stres üzerine etkisini ortaya koymak amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: İmmobilizasyon stres modeliyle stres oluşturulan fareler gruba ayrıldı; 1.grup kontrol grubu ve 2. grup immobilizasyon stres grubu (İM) (7 gün süre ile günde 1 defa 1 ml steril salin enjeksiyonu intraperitoneal (i.p)), 3.grup İM + Etil pirüvat grubu (EP) ve 4. grup EP grubu (7 gün süre ile günde 1 defa 50 mg/kg enjeksiyon (i.p)), 5.grup İM grubu + Fluoksetin(FLO) (7 gün süre ile günde 1 defa 5 mg/kg enjeksiyon (i.p)) verilen farelerden oluştu. Yedinci günden sonra tüm gruplarda ağırlık kontrolü, açık alan testi, zorunlu yüzme testi ve pasif sakınma testi yapıldı ve grupların beyin dokularında BDNF, NGF, GPX ve SOD düzeyleri ölçüldü.

Bulgular: Deneyler sonucunda; İM grubunda anlamlı bir şekilde ağırlık azalması, motor fonksiyonlarda bozulma, anksiyete ve depresyon benzeri davranışlar, öğrenme-bellek fonksiyonlarında bozulma ve biyokimyasal analizlerde BDNF, NGF, GPX ve SOD düzeylerinde azalma gözlenmiştir. İM+EP grubunda ise EP'nin kilo kaybına engel olmadığı, bozulan motor fonksiyonlarına olumlu bir etkisinin olmadığı ve NGF ve SOD düzeylerine anlamlı bir katkısı olmadığı gözlenmiştir. Fakat zorunlu yüzme testinde hareketlenmeyi arttırdığı ve BDNF ve GPX düzeylerini anlamlı bir şekilde normal değerlere yaklaştırdığı gözlenmiştir.

Sonuç: Etil pirüvatın depresyon benzeri davranışları düzeltmede fluoksetine yakın derecede etki gösterdiği ve bu etkinin oksidatif hasarı azaltıp nörotoksik faktörlerin sentezini artırarak gerçekleştirdiği söylenebilir.

Anahtar kelimeler: Stres, depresyon, fluoksetin, etil piruvat, immobilizasyon



Researching of the Effects of Ethyl Pyruvat on Mice Which Expose to Immobilization Stress

Student' Surname and Name: Mihrab ABUL

Adviser of Thesis: Doç. Dr. Hasan AKKOÇ

Department:Faculty of Medicine Department of Medical Pharmacology

1.2. ABSTRACT

Aim: In this study we aim to show that the effects of ethyl pyruvat, is known as an antioxidant and anti-inflammatory agent, on the stress that influence quality of life and an important health problem.

Material and Methods: Mice which was stressed by immobilization stres model put into 5 groups: 1st group; control group and 2nd group; immobilization stress group (IM) (1 ml of sterile saline intraperitoneal (i.p.) once a day for 7 days), 3rd group; İM+Ethy Pyruvat (EP) group and 4th group EP group ; (50 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days), 5th group; İM+Fluoxetin (FLO) group; (5 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days. After the 7th days weight controls, open field test, forced swimming test and passive avoidance test were made. Also in the brain tissue BDNF, NGF, GPX and SOD levels were measured

Results:The result of the experiment, in the İM group there was a statistically significant decrease in the weight, deterioration in locomotor activity and learning and memory fonction and anxiety and behavior like depression. In addition there was a significantly decrease in the levels of BDNF, NGF, GPX and SOD. In the IM+EP group; EP has no effect on the decrease of weigt, locomotor activity, learning-memory fonction and the levels of NGF and SOD. But in the forced swimming test; EP decreased immobililty time and also increased significantly BDNF and GPX levels.

Conclusion:As a result, ethyl pyruvat have effect rather like fluoxetin on depression-like behavior that induced by immobilization stres by reduce oxidative stres and enhance synthesis of neurotrophic factors.

Key Words: Stress, depression, fluoxetine, ethyl pyruvat, immobilization



2. GİRİŞ VE AMAÇ

Stres, fiziksel, psikolojik ve/veya çevresel uyarımlar yolu ile oluşabilen psikolojik homeostazisi etkileyebilecek bir faktördür. Organizmanın nörodavranışsal yapısını bozarak başta anksiyete bozuklukları olmak üzere birçok psikiyatrik hastalığa neden olabilir ya da yatkın hale getirebilir. Yaygın otonom ve merkezi etkilerinin yanında stres aynı zamanda bir takım emosyonel ve bilişsel işlevleri de bozmaktadır (1).

Stres esnasında serotonerjik, noradrenerjik, dopaminerjik etkinlik azalmaktadır (2). Serotonerjik sistem psikolojik durumun, duyguların, uykunun, açlık-tokluk hissini en önemli belirleyicilerinden olup serotonerjik sistemin antioksidan etki gösterdiğine yönelik çalışmalar devam etmektedir (3). Fluoksetin selektif serotonin geri alım inhibitörü (SSRI) olarak stres esnasında azalan serotonerjik etkiden kaynaklanan depresyon ve anksiyetenin önlenmesinde ve oluşan oksidatif hasara karşı beyin hücrelerinin korunmasında önemli bir terapötik ajan olarak kullanılmaktadır (4).

Etil piruvat önemli bir role sahip endojen bir metabolit olan piruvatın ester türevidir (5). Etil piruvatın nöroprotektif etkisi olduğu ve bu etkisinin antiinflamatuvar, antioksidan ve antiapoptik fonksiyonlarından kaynaklandığı gösterilmiştir. Hemorajik şok, akut pankreatit, sepsis ve inme gibi çeşitli stresörlerin neden olduğu hasarı azalttığı bildirilmiştir. Merkezi sinir sistemini etkileyen çeşitli hastalıklara karşı koruyucu rolü olduğu bilinmektedir (6). Ayrıca etil piruvatın tümör hücrelerinin çoğalmasını inhibe ettiğini gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (7).

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan immobilizasyon stres modelinde; etil piruvatın tedavi edici etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla immobilizasyon stresine maruz bıraktığımız deneklere etkilerini gözlemlemek amacıyla etil piruvat ve fluoksetin uygulandı. Deneklerin lokomotor aktivitelerini, anksiyete durumlarını, depresyon düzeylerini ve öğrenme-bellek kapasitelerini değerlendirmek amacıyla açık alan, zorunlu yüzme ve pasif sakınma testleri yapıldı. Ayrıca deneklerden alınan beyin doku örneklerinde beyin kaynaklı

nörotrofik faktör (BDNF), sinir büyüme faktörü (NGF), glutatyon peroksidaz (GPX) ve süperoksid dismutaz (SOD) düzeyleri analiz edildi.



3. GENEL BİLGİLER

3.1. STRES

Canlı organizmasında homeostasisi bozan her türlü uyaran stres olarak adlandırılmaktadır (8). Stres canlılarda adaptasyonu uyarır ve stresörlere karşı endojen stres cevap sistemi ile adapte olur (9). Genel adaptasyon sendromu olarak da bilinen stresin üç evresi olduğu belirlenmiştir:

1-Alarm evresi: Stres uyarını bu aşamada sempatik sinir sistemi harekete geçirerek vücut savunma sistemlerini etkin hale getirir (10). Adrenalin salınımı ile kalp atımının hızlandığı, kan basıncının yükseldiği, solunumun hızlandığı ve glukokortikoid salınımının arttığı evredir. Bu evrede vücut strese karşı duyarsızlaşmaya başlar (11).

2-Direnme veya adaptasyon evresi: Vücudun strese karşı normalin üzerinde direnç gösterdiği normal duruma dönmeye çalıştığı evredir. Vücut direnç gösterebilirse parasempatik sistem bu evrede aktive olur (11).

3- Tükenme evresi: Stres etkenleri ve yoğunluğu arttıkça vücut strese direnç gösterememektedir. Bu durumda fiziksel ve davranışsal bozulmalar yaşanmaya başlar ve tükenme evresine geçilir (11).

Uzun süre strese maruz kalmak vücut için zararlı sonuçlar doğurmaktadır. Stres major depresif bozukluk gibi, yaşam fonksiyonlarını etkileyen bazen intihara sürükleyen çeşitli psikiyatrik hastalıklara neden olmaktadır (9). Depresyon fizyolojik, davranışsal ve psikolojik semptomlarla karakterize olan karmaşık bir hastalıktır (12). Stres aynı zamanda öğrenme bellek gibi emosyonel ve bilişsel işlevleri de bozmaktadır (1).

3.1.1. Stresin Patofizyolojisi

Stresin patofizyolojisi henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Monoaminerjik transmitterlerin eksikliği, hipotalamik pitüiter adrenal (HPA) aksın hiperaktivitesi, kronik inflamasyon stresin vücuttaki sonuçlarından bazılarıdır (13).

Stres ve anksiyeteyi kontrol eden beyinde birkaç bölge bulunmaktadır. Özellikle amigdala, hipotalamik pituiter adrenal sistem ve lokus koreleus stres ve anksiyetenin kontrolünde önemli bölgelerdir. Lokus koreleus merkezi nöradrenerjik nükleustur ve stres, korku ve anksiyeteye ilgili davranışsal ve otonomik cevapları koordine eder (14). Stres beyin fonksiyonunu ve davranışını değiştiren karmaşık bir nöroendokrin cevabı tetikler. Nörepinefrin gibi katekolaminlerin ve kortikosteroid gibi stres hormonlarının salınımına neden olur (15). Serotonin de(5-HT) duyguların düzenlenmesinden sorumlu bir nörotransmitterdir. Stres durumunda 5-HT azalır ve depresyon gelişmesine katkı sağlar (12).

Stres HPA aksini aktive ederek stres hormonlarının salgılanmasına yol açar. Hipotalamusun paraventriküler hücrelerinden kortikotropik salgılatıcı faktör(CRF) salgılanır. Bu da CRF reseptörlerinin aktive olmasına ve adrenokortikotropik salgılatıcı hormonun (ACTH) salgılanmasına yol açar. ACTH adrenal bezlerinden glukokortikoid ve kortizol salınmasını uyarır. Glukokortikoidler negatif geri bildirimle beyinde ve pitüiterde HPA aks aktivasyonunu azaltmak için görev alırlar. Strese karşı oluşan bu yanıtlar yaşam için temel olan savaş ya da kaç tepkisidir (16).

HPA aksinin hiperaktivasyonu ile fazla salgılanan stres hormonları reaktif oksijen türlerinin aşırı üretilmesiyle oksidatif stresi uyarır. Öncelikle kortizol kan basıncının ve kalp hızının artmasıyla hedef dokulara özellikle de beyne daha fazla oksijen gitmesine yol açar. Dokulara verilen fazla oksijen hücre içinde zararlı etkiler ortaya çıkarır. Kortizol ayrıca mitokondriyal enzimlerin yıkılmasıyla elektron transport zincirini bozar ve elektron sızıntısına neden olur. Bu olaylar serbest elektronların salınmasına neden olur. Bu serbest radikallerin yükselmesi hücresel olayları olumsuz etkiler. Tüm hücreler serbest radikallerin yükselmesi durumunda aktive olan antioksidan bariyer olarak adlandırılan özel bir sisteme sahiptir. Antioksidan enzimler serbest oksijen radikallerinin fazla üretilmesini inhibe eder ve zararlı etkilerine karşı hücreleri korur. Süperoksid dismutaz (SOD) süperoksid anyon radikalini oksijen ve hidrojen peroksida katalizleyen önemli bir antioksidandır. Glutatyon peroksidaz ise hidrojen peroksidazı oksijen ve suya indirger (17).

BDNF, NGF gibi nörotrofik faktörler nöronal plastisitede önemli düzenleyici bileşenler olarak kabul edilmekte ve depresyon patolojisinde önemli bir role sahip

oldukları bilinmektedir. BDNF'nin öğrenme ve hafızayla ilgili işlevlerde önemli bir katkısı olduğu bilinmektedir. Strese maruz bırakılan hayvanlarda BDNF'nin işlevinin azaldığı ve antidepresan tedaviyle düzeltilebildiği gösterilmiştir. İnsanlarda depresyon durumunda BDNF'nin plazma düzeyleri azalmaktadır. Fakat BDNF'nin bu azalması hipokampus ve prefrontal kortekste sınırlıdır. Amigdala ve beyin ödüllendirme merkezinde ise BDNF düzeyi artmaktadır. Diğer taraftan antidepresanların hipokampüste BDNF üzerine etkisi güçlü fakat beyindeki beyin ödüllendirme merkezi gibi diğer yapılar üzerine ters etkileri bulunmaktadır (18).

Son yıllarda yapılan çalışmalar stresin immün sistemi de etkilediğini göstermektedir (19). İnflamasyon depresyonun patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır (20). Hayvan çalışmalarında eksternal ve internal stresin inflamatuvar sistemi aktive ettiği ve immün hücrelerden inflamatuvar sitokinlerin salındığı ileri sürülmüştür. Stres TNF- α , IL-1 β , and IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin yükselmesiyle ilişkilidir (21).

3.1.2. Stres Etkenleri

Fiziksel, sosyal ve psikolojik stresörler olarak sınıflandırılmaktadırlar (22).

1- Fiziksel stresörler: Travma, yoğun egzersiz, gürültülü ortam, sıcaklık, nem, çevre kirliliği, gıda kısıtlaması, cerrahi girişimler, hareketsizlik gibi durumlardan kaynaklanan stres vericiler olarak bilinmektedirler.

2- Sosyal stresörler: Alışılan çevreden uzaklaşma, yabancı bir kültür ortamında yaşama zorunluluğu, savaş, yoksulluk, işsizlik gibi durumlardan kaynaklanan stresler olarak bilinmektedirler.

3- Psikolojik stresörler: Fiziksel ve sosyal etmenlerin sonucu olarak ya da kendiliğinden ortaya çıkan genellikle tekrarlanan hayal kırıklığı, izolasyon gibi durumların neden olduğu stresler olarak tanımlanabilmektedirler.

3.1.3. Deneysel stres

Deneysel olarak stres modeli oluşumu; akut ve kronik stres modelleri olarak iki başlıkta toplanabilir (22).

1. Akut stres modelleri: Zorunlu yüzdürme, kuyruktan asma, öğrenilmiş çaresizlik modeli, yükseltilmiş t labirenti testi, sıcaklık stresi testi gibi testler akut deneysel stres oluşturmak için kullanılabilirlerdir.

2. Kronik stres modelleri: Sosyal yenilgi, kronik kısıtlanma, kronik değişken stres modeli ile oluşturulmuş testler kullanılabilirlerdir.

3.1.4. Deneysel Stres Modelleri

Depresyonun nörobiyolojisinin anlaşılması ve etkili tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için hayvan modellerinin geliştirilmesi en temel adımlardan biridir. Bir hayvan modelinin geçerli sayılabilmesi için insanda da benzer sonuçlar göstermesi gerekmektedir. Geçmiş yıllarda çeşitli modeller denenmiş fakat depresyonun bazı semptomları oluşturulamadığından başarılı olunamamıştır (23).

3.1.4.1. Sosyal yenilgi/aşırı kalabalık

Deneğin agresif hayvanların olduğu ortama bırakıldığı ve fiziksel yenilgiye izin verildiği bir modeldir. Bu modelde hayvanlar tekrarlayan şekilde agresif hayvanlara maruz bırakılır (23).

3.1.4.2. Elektrik şoku uygulama:

Deneğin ayağına elektrik ızgaralar vasıtası ile elektriksel şok verilmesi fiziksel ve duygusal bileşenleri olan kompleks bir stres olarak tanımlanabilmektedir. Elektriksel şok parametreleri uygulanan elektriğin yoğunluğuna ve süresine, akut veya kronik uygulanmasına göre değişiklik göstermektedir. Deneklerin ayaklarına uygulanan değişik yoğunluklardaki elektriksel şokun insanlardaki anksiyete, depresyon, post travmatik stres bozukluğuna benzer davranışsal ve nörokimyasal değişiklikler oluşturduğu gösterilmiştir (24, 25).

3.1.4.3. Suya daldırma:

Denekler hafif eter anestezisi altında tahta bir levhaya sabitlenmektedirler. Anestezi etkisi geçtikten sonra başları yukarıda ksifoid çıkıntıya kadar su içinde kalabilecekleri şekilde su dolu bir düzenek içerisine yerleştirilirler. Ve denekler bu

şekilde altı saat tutulurlar (26). Bu şekilde oluşturulan stres modeli genellikle stres kaynaklı gastrik ülser modeli oluşturmak için kullanılmaktadır (27).

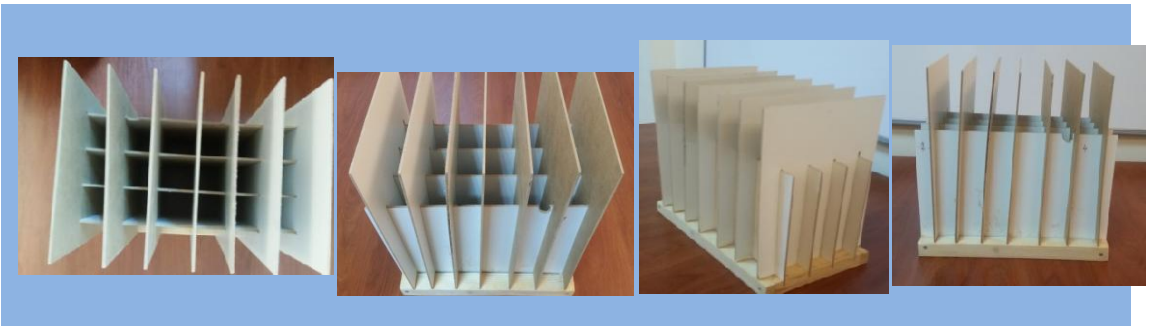
3.1.4.4. Kronik hafif stres:

Bu yöntemle stres oluşturmak için aşağıdaki yöntemler birkaç hafta süre ile uygulanabilmektedir (11).

1. Denekleri sürekli aydınlatılmış bir ortamda tutmak
2. İkamet ettikleri kafeste yattıkları ortamı sürekli nemli veya ıslak bırakmak
3. Ortamda rahatsız edici sürekli bir ses oluşturmak
4. Kafeste sürekli yaşadığı eşlerin değiştirilmesi
5. Kafesin pozisyonunun deneklere rahatsızlık verecek şekilde sık sık değiştirilmesi
6. Soğuk / sıcak uygulama

3.1.4.5. Hareketlerin kısıtlanması (İmmobilizasyon stresi)

Bu modelde hayvanlar belirli gün ve saatlerde hareket edemeyecekleri bir düzeneğe bırakılırlar. Uygulama biçimi yönünden kolay olduğu ve stres sistemini hızla aktive ettiği için en sık uygulanan stres modellerinden biridir (28, 29). Bunun sonucunda hayvanlarda depresyon benzeri davranışlar gözlenir (12).



Şekil 1. İmmobilizasyon stres modeli deney düzeneği

3.2. KULLANILAN DAVRANIŞ TESTLERİ

3.2.1. Açık Alan Testi

Lokomotor aktivitelerin ve anksiyetenin tespitinde kullanılan bir testtir. Eni ve boyu eşit üstü açık bir kutuda deneklerin hareketleri gözlenir. Deneklerin toplam katettikleri mesafe ve hız ölçülür. Ayrıca merkezde ve periferde geçirdikleri süreler ve bu alanlara giriş sayıları hesaplanır. Merkezi alanda geçirilen toplam sürenin ve bu alana giriş sayısının azalması anksiyetenin artması lehine tam tersi merkezi alanda geçirilen süre ve giriş sayısının artması anksiyetenin azalması lehine yorumlanır (30, 31).

3.2.2. Zorunlu yüzme testi

Porsolt'un zorlu yüzme testi olarak da bilinen yüzme testi, sıklıkla depresyon ve anksiyete araştırmalarında, antidepresanların etkinliğini araştırmada kullanılmaktadır (30). Bu testte hayvan boyunu geçen en az 18 cm çapında ve 40 cm yüksekliğinde, 15 cm'lik kısmı su ile dolu bir silindirde yüzmeye bırakılır. Bu testte deneğin yüzmeye terk edildiği suyun ısısı 25-30 °C arasında tutulmalıdır (11). Hareketsiz kalıncaya kadar geçirdiği süre ve belli bir süre içinde ne kadar hareketsiz kaldığı ölçülür. Hareketsizlik, kaçmaya yönelik davranışta ısrarın kaybolması davranışsal umutsuzluk olarak adlandırılır (32). Deneklerin hareketsiz kalmaya başladıkları sürenin kısalması anksiyetedeki artış ile orantılıdır (30).

3.2.3. Pasif sakinme testi

Fare ve sıçanlarda öğrenme bellek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla kullanılan serotonerjik, glutamaterjik, kolinerjik nörotransmisyonlara duyarlı olan bir testtir (33). Bu testte birbirine eşit ebatta olan iki kısım vardır. Bu iki bölmenin ortasında deneklerin geçişini sağlayan açılıp kapatılabilir kapı bulunur. Bölmelerden biri karanlık diğerisi ise aşırı aydınlıktır. Deneklerin normal davranışı karanlık alanda olmak yönündedir (34). Denekler aydınlık bölme konulur ve karanlık bölmeye geçmek isterler. 300 saniyede karanlık bölmeye geçmeyenler deney dışında bırakılır. Denek karanlık bölme geçtikten sonra kapı kapatılarak belirli süre ve şiddette

elektrik şoku uygulanır. Öğrenme-bellek fonksiyonları yerinde olan denekler bu edinimin ertesi günü ilk gün tercih ettikleri, kendilerine şok verilen karanlık bölme yerine aydınlık bölmede kalmayı tercih edeceklerdir (35).

3.3. ANTİDEPRESANLAR

Günümüzde antidepresan tedavinin temeli ilaç uygulamasından sonra monoaminerjik (dopamin, noradrenalin, serotonin) yayılımının arttırılması üzerinedir. Antidepresanlar için gerekli adaptasyonun sağlanmasının altında yatan moleküler değişikliklerin mekanizmasının anlaşılması için yoğun çalışmalar yapılmaktadır (18).

Antidepresanların Sınıflandırılması

1. Trisiklik antidepresanlar (TCA)
2. Selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI)
3. Monoamin oksidaz inhibitörleri (MAO)
4. Lityum ve diğer duyu durum düzenleyiciler
5. Antimanik ve / veya antidepresan etkili diğer ilaçlar

TCA: Noradrenalin ve serotoninin sinir hücresine geri alınımını engellerler.

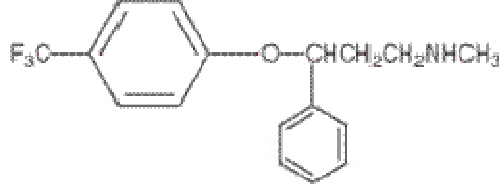
MAO inhibitörleri: MAO enzimini geri dönüşlü veya geri dönüşsüz olarak inaktive ederler ve böylece nörotransmitterlerin yıkıma uğramadan presinaptik nöronda birikerek sinaptik aralığa sızmasını sağlarlar.

SSRI: Serotoninin geri alınımını baskılayarak sinaptik aralıkta nörotransmitter düzeyinin artmasına ve sonuç olarak postsinaptik nöronal aktivitenin artmasına neden olurlar. İyileştirici etkileri 2 hafta sonra ortaya çıkar. Diğer antidepresanlara göre daha az istenmeyen etkileri vardır. Ancak güçsüzlük, uyku bozuklukları, seksüel disfonksiyon ve ilaç etkileşimleri görülebilir. Bu gruptaki bazı ilaçlar fluoksetin, paroksetin, fluvoksamin, sitalopram, essitalopram, sertralindir (36).

SSRI'ler MAOI ve TCA grubu ilaçlara göre güvenilir ve tolere edilebilir olması bakımından hala depresyon tedavisinde ilk tercih edilen ilaçlardır (21). Buna rağmen

antidepresan tedavide düşük yanıt oranı, terapötik etkinin geç başlaması ve çeşitli yan etkiler gibi problemler tedavinin başarısını sınırlamakta ve hastalarda farklı problemlere neden olmaktadır. Bu nedenle son yıllarda yeni ilaç araştırma ve geliştirme çalışmaları büyük önem kazanmıştır (37).

3.3.1. Fluoksetin



Fluoxetine

Sekil 2. Fluoksetinin kimyasal yapısı

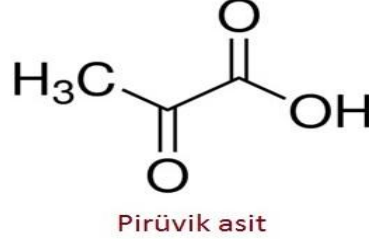
Fluoksetin güvenliği ve tolerabilitesi nedeniyle yaygın olarak kullanılan bir selektif serotonin geri alım inhibitörüdür (20).

Fluoksetin karaciğer CYP2D6 enzimleri ile etkin şekli olan norfluoksetine dönüştürülmektedir. Fluoksetin ve metaboliti norfluoksetin CYP2D6'yı güçlü, CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 enzimlerini zayıf olarak inhibe eder. Bu nedenle, aynı enzimlerle metabolize olan trisiklik antidepresanlar ve fenitoin gibi ilaçların kan plazma konsantrasyonlarının yükselmesine neden olurlar (36).

Fluoksetin ayrıca serotonin etkisinin bloke edilmesinden, noradrenalin ve dopamin salınımının artırılmasından sorumlu olan 5HT_{2C} antagonisti etki göstermiştir. Bu özellik fluoksetinin terapötik etkisinin yanı sıra tolere edilme profiline de katkı sunduğu düşünülmektedir. 5HT_{2C} antagonizması ilk dozdan itibaren enerji verici, yorgunluğu azaltıcı, dikkat ve odaklanmayı sağlayıcı olarak etki göstermektedir (2).

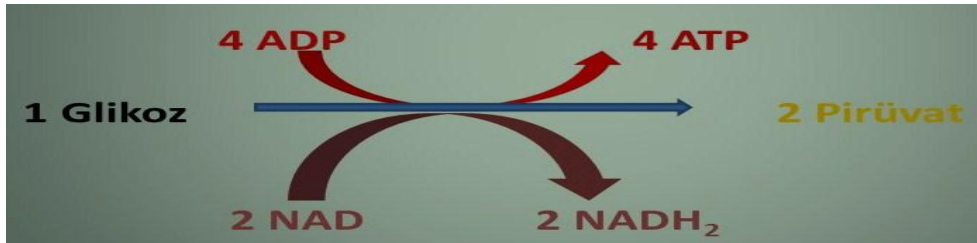
3.4. ETİL PİRUVAT

3.4.1. Piruvat



Şekil 3. Piruvatın kimyasal yapısı

Piruvat (2-oksopropanoik asit) ATP metabolizmasında bir ara üründür. Glikolizin son ürünü ve trikarboksilik asit döngüsünün substratıdır. Dışarıdan intravenöz piruvat uygulanmasının iki temel metabolik avantajı vardır. Birincisi sitozolde piruvat laktata dönüşerek NAD'ın NADH'e dönüşmesini sağlamak: İkincisi ise mitokondride TCA döngüsünde ATP sentezinde substrat olarak görev almak. (38).



Şekil 4. Glikoliz sonucu piruvat oluşumu

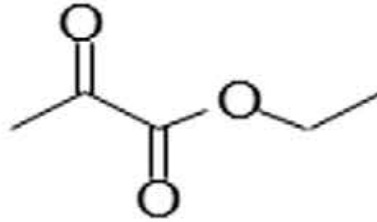


Şekil 5. Piruvatın krebs döngüsüne girişi

Piruvat yapısındaki alfa ketokarbonil sayesinde serbest oksijen radikallerine ve kısmen de H₂O₂ ye karşı önemli bir antioksidan olup nöroprotektif fonksiyona sahiptir. Sonuç olarak glikolizle piruvat üretimi oksidatif stresi en aza indirmektedir (38).

3.4.2. Etil Piruvatın yapısı

Piruvatstabil değildir ve hızla önemli bir metabolik inhibitör olan parapiruvata dönüşen piruvat hidrata dimerize olmaktadır (38). Bu nedenle Sims ve arkadaşları piruvatın bir türevi olan potasyum ve kalsiyum içeren tuzlu çözeltide stabil olan bir türevini geliştirmişlerdir (39). Etil piruvat piruvatın stabil ve lipofilik ester türevidir. EP elektriksel olarak nötrdür ve piruvatın hücre içine girmesi için gerekli olan taşıyıcılara EP'nin ihtiyacı yoktur, kolaylıkla hücre içine girer (38).



Şekil 6. Etil piruvatın kimyasal yapısı

3.4.3. Etil Piruvatın Etkileri

EP'nin öncelikle ratlarda mesenterik iskemi ve reperfüzyonla ilişkili yapısal ve fonksiyonel zararları iyileştirdiği 2001 yılında yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Daha sonraki çalışmalarda etil piruvatın deneysel modellerde koroner iskemi ve reperfüzyon hasarı, çeşitli sepsisler, hemorajik şok ve akut pankreatit gibi birçok hastalıkta terapötik faydaları rapor edilmiştir. Bunun dışında iskemi sonrası beyinde nöroprotektif etkileri gözlemlenmiştir (40).

Ayrıca iskemi veya oksidatif stres sonrası piruvatın oluşturmadığı antiinflamatuvar etkiyi oluşturduğu gösterilmiştir (38).

Son yıllarda yapılan çalışmalar serbest nitrojen radikallerinin Alzheimer, Parkinson, hungtinton's gibi çeşitli nörodejeneratif hastalıklara sebep olduğunu

göstermiştir. EP'nin serbet nitrojen türevlerine karşı da etkili olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. EP'nin peroksinitritin indüklediği DNA hasarını inhibe ettiği gösterilmiştir (39).

EP'nin antiinflamatuvar, antioksidatif, antiapoptoik ve iyon şelasyon etkilerine sahip multi fonksiyonel bir ajan olduğunu gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Antiinflamatuvar etkisini NF-kB aktivasyonunu ve HMGB1'in (high mobility group box-1) sekresyonunu ve salınımını baskılayarak göstermektedir. Antioksidan etkisini ise ROS'nin üretimini azaltarak ve dopaminle ilişkili PC12 hücrelerinde H₂O₂ nin parçalanmasını kolaylaştırarak göstermektedir. EP'nin çinko toksisitesine karşı NAD replasmanı ve direkt Zn⁺² şelasyonu yaparak nöroprotektif etki gösterdiği ortaya atılmıştır. Ayrıca EP'nin kalsiyumla şelasyon yaparak HMGB-1'in mikroglia da fosforilasyonunu ve sekresyonunu baskıladığı bulunmuştur (41).

EP'nin ratlarda serebral arter tıkanıklığında oluşan nörolojik hasarı azalttığı, önemli ölçüde ölü doku hacmini azalttığı, farelerin hipokampusünde CA1 Ve CA3'te kainik asidin indüklediği nöronal hücre ölümünü azalttığı yapılan çalışmalarla belgelenmiştir. Ayrıca Parkinson oluşturulan farelerde nigrostriyatal dopaminerjik nöronların ölümünü baskılamıştır (41).

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Gereç:

4.1.1. Kullanılan araç ve gereçler:

Zorunlu yüzme testi (MAY FSTM-M)

Pasif sakınma testi (MAY-PA 1014-M)

Açık alan testi (MAY OP-M)

İmmobilizasyon düzeneği

Hassas terazi (Sartorius BP 1215)

Santrifüj cihazı (Janetzki T5)

Cerrahi alet seti

Bilgisayar

Ethovision XT 11 (Noldus Inf. Tech. Netherlands) bilgisayar programı

Mikro Elisa Okuyucu (Robonik, Thane, Hindistan)

4.1.2. Kullanılan Deney Hayvanları:

Çalışmada 30.05.2101 tarihli 6 nolu etik kurul onayı ile Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM)' nden temin edilen 30-35 gram ağırlığında 35 adet erkek BALB/c fare kullanıldı. Çalışma süresince 'Hayvan Haklarının Korunması' hususundaki esaslara özenle uyuldu.

4.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Etil piruvat (Sigma-Aldrich)

Fluoksetin (Sigma-Aldrich)

Eter

%0.9 İzotonik NaCl

4.2. Yöntem

Çalışma her grupta 7 hayvan olmak üzere 5 grupta gerçekleştirildi.

1. Grup1, Kontrol Grubu; 7 gün süre ile günde 1 kez 1 ml i.p. yoldan steril salin solüsyonu uygulandı.

2. Grup 2, İmmobilizasyon Stres Grubu; 7 gün boyunca günde 6 saat immobilize tutulan hayvanlara 7 gün boyunca günde 1 kez 1 ml i.p yoldan steril salin solüsyonu i.p yoldan uygulandı.

3.Grup 3, Etil piruvat+İmmobilizasyon Grubu; 7 gün boyunca 6 saat immobilize tutulan hayvanlara günde 1 kez 50 mg/kg (1 ml) etil piruvat i.p yoldan uygulandı.

4. Grup 4, Etil Piruvat Grubu;7 gün boyunca günde 1 kez 50 mg/kg (1 ml) etil piruvat i.p yoldan uygulandı.

5. Grup 5, Pozitif Kontrol Grubu, İmmobilizasyon+Fluoksetin Grubu; 7 gün boyunca günde 6 saat immobilize tutulan hayvanlara günde 1 kez 5 mg/kg (1ml) fluoksetin i.p. yoldan uygulandı.

Enjeksiyonlar immobilizasyon yapılmasından 30 dk önce yapıldı.

4.2.1. Davranış Deneyleri:

Kullanılan deney hayvanlarının 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ortama maruz kalmasına dikkat edildi ve deneklere herhangi bir yiyecek/ su kısıtlaması uygulanmadı. İmmobilizasyon stres; eşit bölmelendirilmiş, deneklerin hareket edemeyecekleri eni 4 cm boyu ayarlanabilir küçük kafeslerde 7 gün boyunca günde 6 saat tutulması ile oluşturuldu. 7. Günün sonunda davranış testleri uygulandı. Davranış testleri sonunda denekler eter anestezisi altında dekapitasyonla sakrifiye edildi. Beyin dokuları izole edilerek -80 °C' de saklandı.

4.2.1.1. Açık Alan Testi

Açık alan testi için; bir ışık kaynağı ile aydınlatılmış, tamamı siyah renge boyalı, 40x40 cm boyutlarında yüksekliği 20 cm olan bir açık alan düzeneği kullanıldı. Açık alan düzeneğinin merkezine bırakılan farelerin tüm davranışları 5 dakikalık test süresince video takip sistemi ile kaydedildi. Test sonunda her bir deneğin periferik ve santral zonda geçirdiği toplam süreler ile deney süresince toplam hareketli ve hareketsiz kaldığı süreler hesaplandı.

Açık alan testi için yapılan kayıtlar Ethovision XT 11 (Noldus Inf. Tech. Netherlands) programı kullanılarak analiz edildi. Deneklerin anksiyete düzeyi periferik zonda kalma süresi ile değerlendirildi. Her bir deney sonrası açık alan düzeneği % 20 alkol ve ardından çeşme suyu ile silinerek kurulandı.

4.2.1.2. Zorunlu Yüzme Testi

Bu test; çapı 30 cm, yüksekliği 50 cm olan şeffaf silindir bir tankın 30 cm' lik kısmı su ile doldurularak yapıldı. Su dolu tankın içerisine bırakılan deneklerin kaçma çabası izlendi ve belirli bir süre içerisinde (6 dk) hareketsiz kalması beklendi. Test süresince deneklerde ilave bir strese neden olmaması için tankın içerisindeki suyun sıcaklığı sabit (24-26°C) tutuldu. Deney süresince deneklerin tüm hareketleri bir kamera yardımıyla kaydedildi. Deney sonrasında; deneklerin hareketli ve hareketsiz geçirdikleri süreler Ethovision XT 11 (Noldus Inf. Tech. Netherlands) programı kullanılarak analiz edildi.

4.2.1.3. Pasif Sakınma Testi

Pasif sakınma testinde kullanılan düzenek otomatik sürgülü bir kapı ile birbirine bağlanan eni, boyu ve yüksekliği 11x12x20 cm olan iki bölümden oluşmaktadır. Aydınlik bölüm beyaz ışık ile aydınlatılmakta, karanlık bölümde ise zemini birbirine paralel tellerden oluşan ve şok aletine bağlı olan çelik bir ızgara bulunmaktadır.

Pasif sakınma deneyi ardışık iki günde uygulandı. İlk gün, denekler 2000 lux ışığa maruz bırakıldı ve ortama alışması için 30 sn beklendikten sonra iki bölme arasındaki kapı açıldı. Deneklerin karanlık bölüme geçmesi beklenildi ve geçiş

süreleri (aydınlıktan kaçma süresi) kaydedildi. Deneklerin karanlık bölüme geçmesi ile birlikte otomatik kapı kapandı ve zeminde bulunan çelik ızgara yardımıyla deneklere 1 sn süre ile 0,75 mA elektrik şoku verildi. 15 sn bekleme takiben deney sonlandırıldı.

İkinci gün ise; denekler 2000 lux ışığa 30 sn maruz bırakıldıktan sonra ara bölme açıldı ve karanlık bölüme geçiş süreleri (karanlıktan sakınma süresi) kaydedildi. Beş dk süresince karanlık bölüme geçilmemesi durumunda deney sonlandırıldı. Her bir denek sonrası pasif sakınma düzeneği % 20 alkol ve ardından çeşme suyu ile silinerek kurulandı.

4.2.2. Biyokimyasal inceleme

Derin dondurucudan çıkarılan doku örnekleri hassas terazide tartıldı. Ardından her bir doku örneğine ağırlıklarının 9 katı hacimde 0.01 M, Ph:7.4 olan buzlu fosfat tampon solüsyonu eklenerek homojenize edildi. Homejenat 5 dakika 5000 g devirde santrifuj edildi ve süpernatant analizler için ayrıldı. Elde edilen süpernatantlarda beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), sinir büyüme faktörü (NGF), glutatyon peroksidaz (GPX), superoksid dismutaz (SOD) düzeyleri Elabscience firmasından alınan kitler ve Robonik readwell touch (Thane, India) mikroelisa okuyucu cihaz kullanılarak ölçüldü. Sonuçlar nanogram/ gram doku olarak ifade edildi.

4.3. İstatistiksel Analiz

Veriler ortalama \pm standart sapma olarak ifade edildi. Elde edilen verilerin istatistiksel analizinde, SPSS 16.0 (Chicago, Ill. Usa) programı kullanıldı. Çoklu grupların karşılaştırılmasında Kruskal-Wallis, ikili grupların karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi kullanıldı. 1. ve 8. günlerdeki ağırlıkların karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık için $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

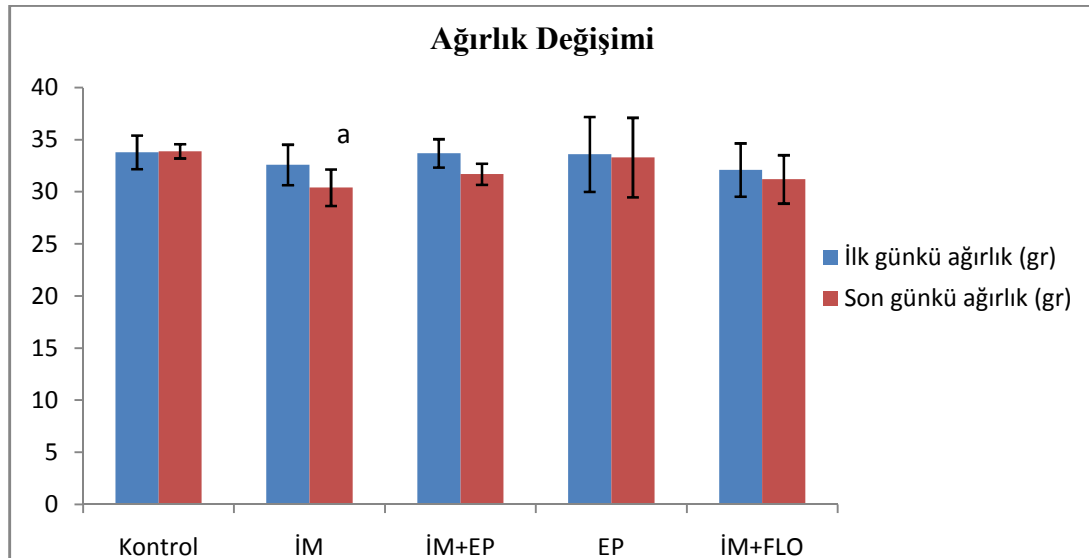
5.1. Deneklerdeki Ağırlık Değişimi

Deneklerin 1. ve 8. gün arasındaki ağırlık değişimi Tablo 1'de gösterilmektedir. İM VE İM+EP gruplarında 1. ve 8. gün arasında anlamlı bir kilo kaybı olduğu gözlenmiştir. ($p<0.05$, Tablo 1, Şekil 7)

Tablo 1. Deneklerin 1. ve 8. günlük ağırlıkları

İM: İmmobilizasyon, EP:Etil piruvat, FLO: Fluoksetin

	İlk günlük ağırlık (gr)	Son günlük ağırlık (gr)	Ağırlık değişimi	P
Kontrol	33,8±1,62	33,9±0,68	0,1	>0.05
İM	32,6±1,94	30,4±1,75 ^a	-2,2	<0.05
İM+EP	33,7±1,36	31,7±1,01	-2	<0.05
EP	33,6±3,60	33,3±3,82	-0,3	>0.05
İM+FLO	32,1±2,56	31,2±2,32	-0,9	>0.05



Şekil 7. Deneklerin 1. ve 8. günlük ağırlıkları İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin

5.2. Açık Alan Testi Bulguları

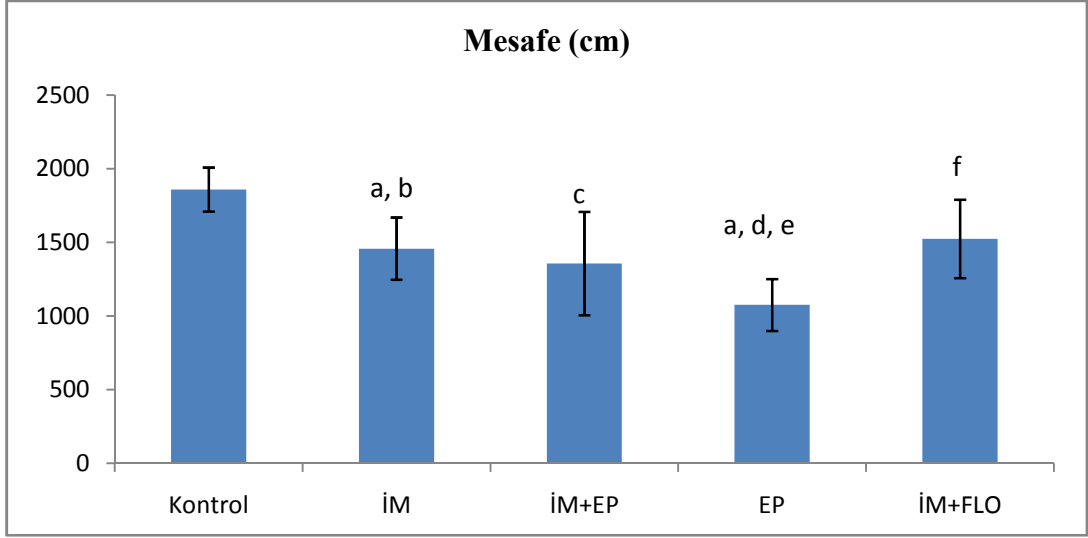
Açık alan testinde yapılan video kaydından deneklerin 5 dakika süre boyunca toplam hareket mesafeleri ve bu mesafeleri kat ederken ulaştıkları ortalama hız Ethovision-XT programı ile hesaplanmış ve Tablo 2’de sunulmuştur. Açık alan testinden elde ettiğimiz bulgulara bakıldığında İM grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deneklerin aldıkları mesafe ve hızlarında anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir. ($p<0.01$, Tablo 2, Şekil 8, 9). İM+EP grubu İM grubuyla kıyaslandığında deneklerin katettikleri mesafede artış olmadığı tam tersine azalma olduğu gözlenmiştir. Tek başına EP uygulanan gruba bakıldığında ise deneklerin aldıkları mesafeve hızlarında önemli derecede azalma olduğu görülmüştür. İM+FLO grubunda ise EP grubuna kıyasla aldıkları mesafe ve hızda bir artış olduğu gözlenmiştir. ($p<0.01$, Tablo 2, Şekil 8, 9).

Tablo 2. Grupların açık alan testinde aldıkları mesafe ve hızları (n=7)

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil piruvat, FLO: Fluoksetin

* $p<0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p<0.01$ vs kontrol, ^b $p<0.05$ vs EP, ^c $p<0.05$ vs kontrol, ^d $p<0.05$ vs İM, ^e $p<0.01$ vs İM+FLO, ^f $p<0.01$ vs EP

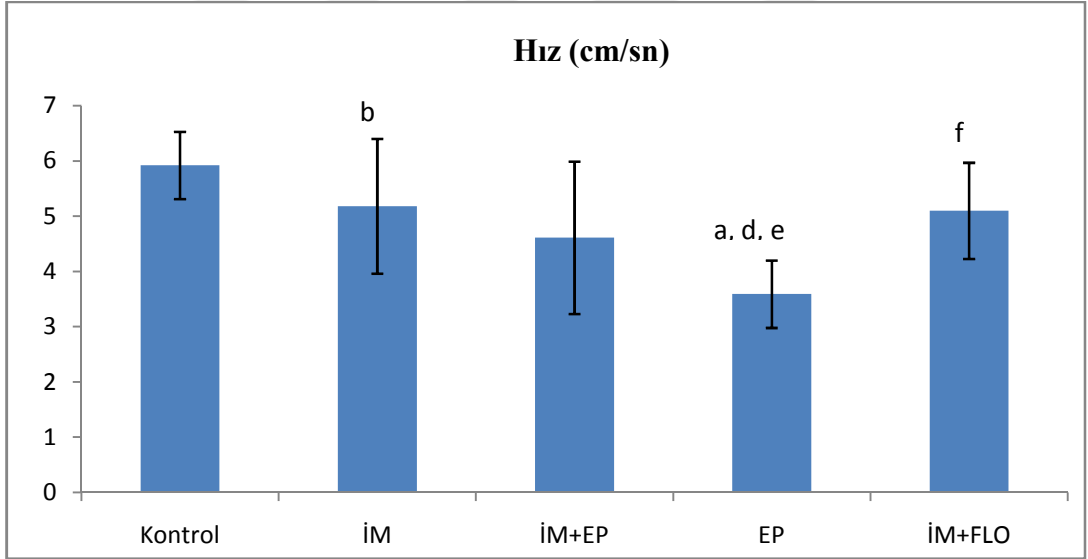
	Mesafe* (cm)	Hız* (cm/sn)
Kontrol	1859,2±149,1	5,92±0,61
İM	1457,6±211,5 ^{a,b}	5,18±1,22 ^b
İM+EP	1357,0±351,1 ^c	4,61±1,38
EP	1075,1±176,5 ^{a,d,e}	3,59±0,61 ^{a,d,e}
İM+FLO	1523,7±266,2 ^f	5,10±0,87 ^f



Şekil 8. Açık alan testinde kat edilen mesafe.

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin.

^ap<0.01 vs kontrol, ^bp<0.05 vs EP, ^cp<0.05 vs kontrol, ^dp<0.05 vs İM, ^ep<0.01 vs İM+FLO, ^fp<0.01 vs EP



Şekil 9. Açık alan testinde ortalama hız.

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin.

^ap<0.01 vs kontrol, ^bp<0.05 vs EP, ^cp<0.05 vs kontrol, ^dp<0.05 vs İM, ^ep<0.01 vs İM+FLO, ^fp<0.01 vs EP

Açık alan testinden elde ettiğimiz bulgulara bakıldığında İM grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında deneklerin santral alanda geçirdikleri sürenin azaldığı ve periferik alanda geçirdikleri sürenin anlamlı olarak arttığı gözlenmektedir (p<0.05,

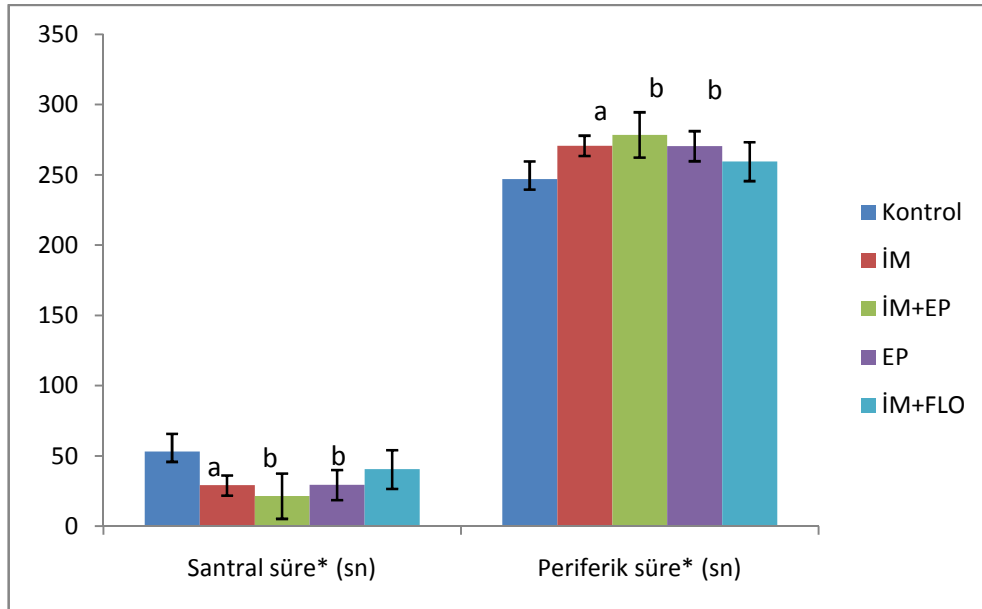
Tablo 3, Şekil 10). İM+EP grubuna bakıldığında ise kontrol grubuna göre santral alanda geçirilen sürede anlamlı bir artış, periferik alanda anlamlı bir azalma saptanmamıştır. İM+FLO grubunda ise İM grubuna kıyasla santral alanda geçirilen sürenin arttığı gözlenmiştir. ($p<0.01$, Tablo 3, Şekil 10).

Tablo 3.Deneklerin açık alan testinde santral ve periferik alana giriş sayıları ve buralarda geçirdikleri süre. (n=7)

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil piruvat, FLO: Fluoksetin

* $p<0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p<0.05$ vs kontrol, ^b $p<0.001$ vs kontrol

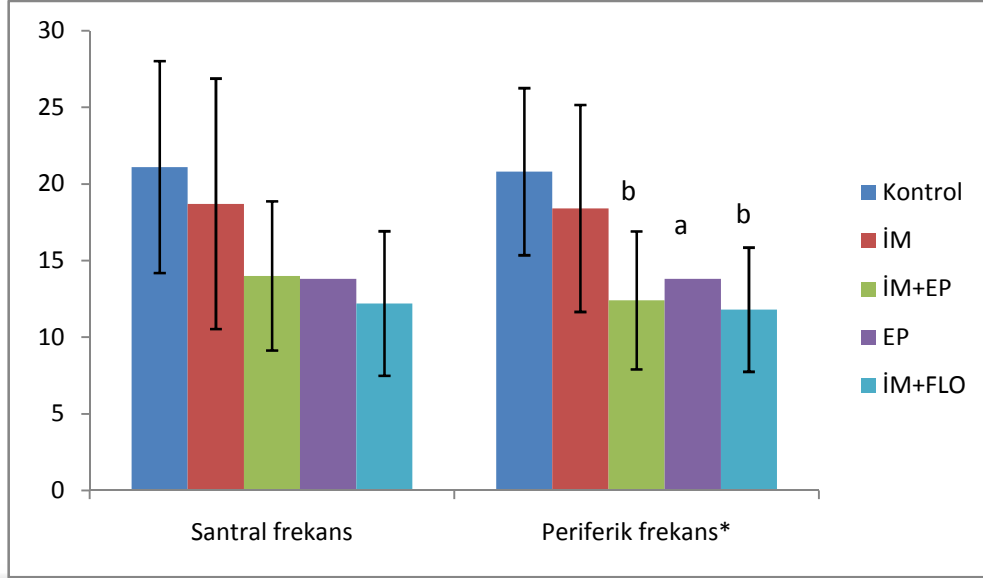
	Santral süre* (sn)	Periferik süre* (sn)	Santral frekans	Periferik frekans*
Kontrol	53,1±12,8	246,9±12,8	21,1±6,91	20,8±5,45
İM	29,1±7,20 ^a	270,8±7,20 ^a	18,7±8,17	18,4±6,75
İM+EP	21,5±16,1 ^b	278,5±16,1 ^b	14,0±4,86	12,4±4,50 ^b
EP	29,4±10,7 ^b	270,5±10,7 ^b	13,8±6,49	13,8±5,95 ^a
İM+FLO	40,5±13,8	259,5±13,8	12,2±4,71	11,8±4,05 ^b



Şekil 10. Açık alan testinde santral ve periferik alanda geçirilen süreler.

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin.

$p<0.05$ Kruskal-Wallis testi ^a $p<0.05$ vs kontrol, ^b $p<0.001$ vs kontrol



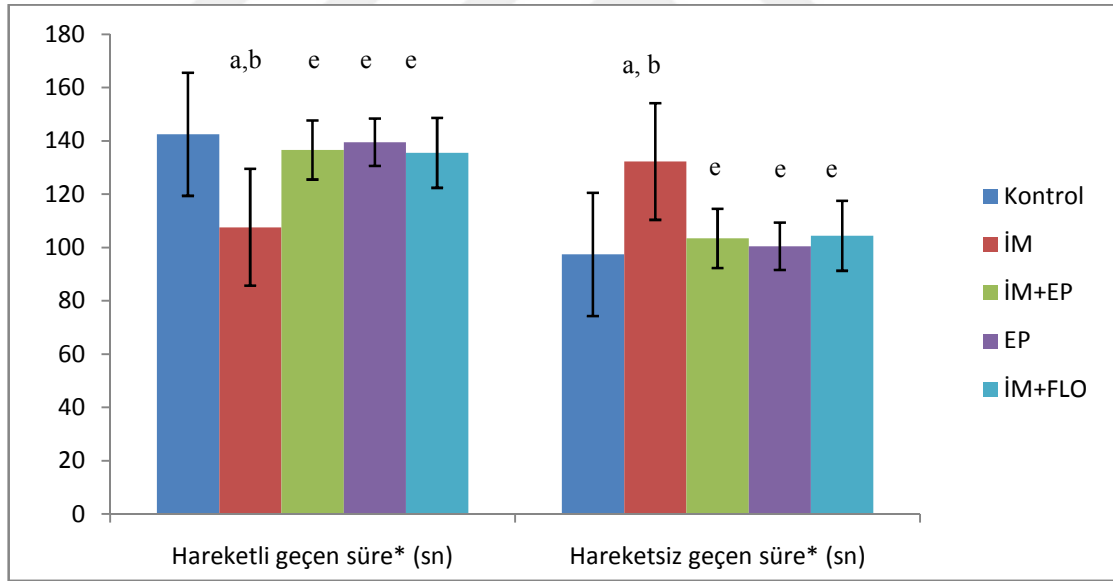
Şekil 11. Açık alan testinde santral ve periferik alana giriş sayıları.
İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin.
*p<0.05 Kruskal-Wallis testi ^ap<0.05 vs kontrol, ^bp<0.001 vs kontrol

5.3. Zorunlu Yüzme Testi Bulguları

Deneysel çalışmalarda depresyon eğilimini belirlemek için kullanılan zorunlu yüzme testi bulguları Tablo 6'da gösterilmektedir. Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında İM grubunda hareketsiz geçen sürenin anlamlı olarak arttığı, hareketli geçen sürenin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir (p<0.05). İM+EP grubunda hareketli ve hareketsiz geçen süreler İM grubuyla kıyaslandığında bu sürelerde anlamlı bir düzelme gözlenmiş olup İM+FLO grubundaki değerlere yaklaşmıştır (p<0.01, Tablo4, Şekil 12).

Tablo 4. Zorunlu yüzme testinde hareketli ve hareketsiz geçen süreler. (n=7 sn)
 İM: İmmobilizasyon, EP:Etil piruvat, FLO: Fluoksetin
 *p<0.05 Kruskal-Wallis testi, ^ap<0.05 vs kontrol, ^bp<0.05 vs İM+EP, ^cp<0.05 vsEP,
^dp<0.05 vs İM+FLO, ^ep<0.05 vs İM

	Hareketli geçen süre* (sn)	Hareketsiz geçen süre* (sn)
Kontrol	142,5±23,1	97,4±23,1
İM	107,6±21,9 ^{a,b,c,d}	132,3±21,9 ^{a,b,c,d}
İM+EP	136,6±11,1 ^e	103,4±11,1 ^e
EP	139,5±8,88 ^e	100,5±8,88 ^e
İM+FLO	135,5±13,1 ^e	104,4±13,1 ^e



Şekil 12. Zorunlu yüzme testinde hareketli ve hareketsiz geçen süreler.

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin.

*p<0.05 Kruskal-Wallis testi, ^ap<0.05 vs kontrol, ^bp<0.05 vs İM+EP, ^cp<0.05 vs EP,
^dp<0.05 vs İM+FLO, ^ep<0.05 vs İM

5.4. Pasif Sakınma Testi Bulguları

Gruplarda iki gün arka arkaya yapılan pasif sakınma testinden elde edilen veriler Tablo 5' te gösterilmektedir. Bu verilere bakıldığında İM grubundaki denekler kontrol grubuyla kıyaslandığında 1. gün daha geç geçmiştir. İM+EP grubuna bakıldığında ise 1. gün İM grubuyla karşılaştırıldığında daha erken geçmiştir ancak İM grubuyla geçiş süreleri arasında anlamlı bir fark bulunmamaktadır.

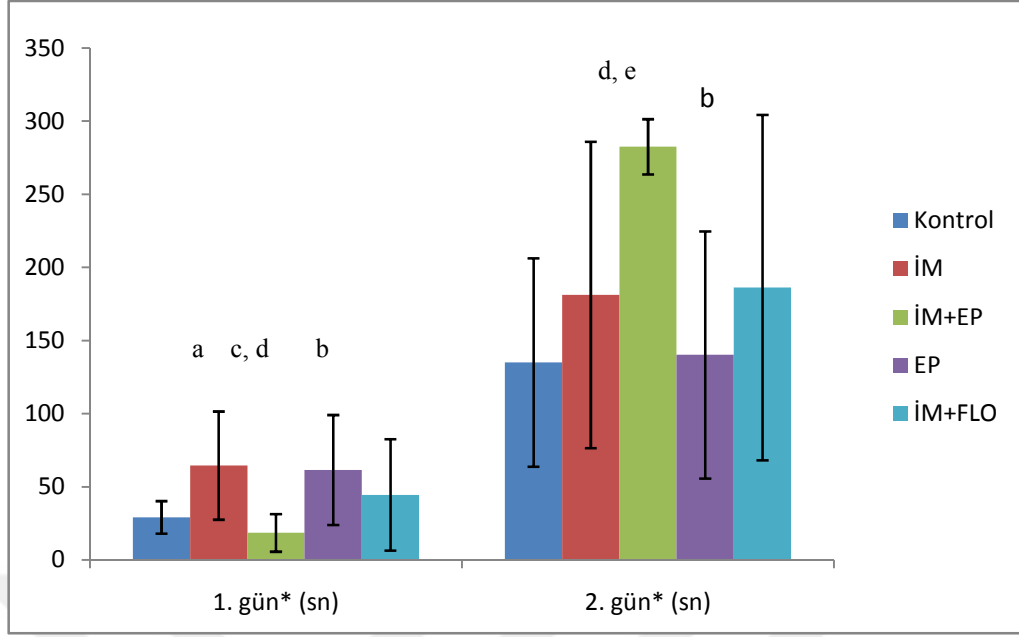
2. günkü geçiş süreleri bakıldığında ise İM grubuna bakıldığında kontrol grubuna kıyasla daha geç geçmiştir. İM+EP grubundaki denekler ise İM grubuna kıyasla daha geç geçmiştir.

Tablo5. Deneklerin pasif sakınma test sonuçları. (n=7)

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil piruvat, FLO: Fluoksetin

*p<0.05 Kruskal-Wallis testi, ^ap<0.05 vs kontrol, ^bp<0.05 vs İM+EP, ^cp<0.05 vs İM, ^dp<0.05 vs EP, ^ep<0.01 vs kontrol

	1. gün* (sn)	2. gün* (sn)
Kontrol	29,1±11,1	135,0±71,3
İM	64,5±37,0 ^{a,b}	181,2±104,7
İM+EP	18,5±12,9 ^{c,d}	282,5±18,9 ^{d,e}
EP	61,5±37,6 ^b	140,2±84,5 ^b
İM+FLO	44,5±38,1	186,2±118,1



Şekil 13. Pasif sakınma testinde birinci ve ikinci gündeki geçiş süreleri
 İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin. $p < 0.05$ Kruskal-Wallis testi,
^a $p < 0.05$ vs kontrol, ^b $p < 0.05$ vs İM+EP, ^c $p < 0.05$ vs İM, ^d $p < 0.05$ vs EP, ^e $p < 0.01$ vs kontrol

5.5. Biyokimyasal Bulgular

Çalışmamızdan elde edilen biyokimyasal bulgular tablo 6'da gösterilmektedir. İM grubuna bakıldığında nörotrofik faktörler olan BDNF ve NGF düzeyinde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$, Tablo 6, Şekil 14, 15). İM+EP grubuna bakıldığında ise İM grubuna kıyasla BDNF düzeyinde anlamlı bir artış görülmektedir. NGF düzeyi ise İM+EP grubunda İM grubuna göre artış göstermekle birlikte bu artış anlamlı bulunmamıştır ($p < 0.01$, Tablo 6, Şekil 14, 15). İM+FLO grubunda ise İM grubuna göre BDNF ve NGF düzeylerinde anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir ($p < 0.05$, Tablo 6, Şekil 14, 15).

İM grubunda GPX ve SOD değerlerine bakıldığında kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($p < 0.05$, Tablo 6, Şekil 16, 17). İM+EP grubuna bakıldığında İM grubuna göre GPX düzeyinde anlamlı bir artış gözlenmiştir. SOD değerinde ise İM+EP grubunda İM grubuna göre artış olmasına rağmen bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p < 0.01$, Tablo 6, Şekil 16, 17). İM+FLO

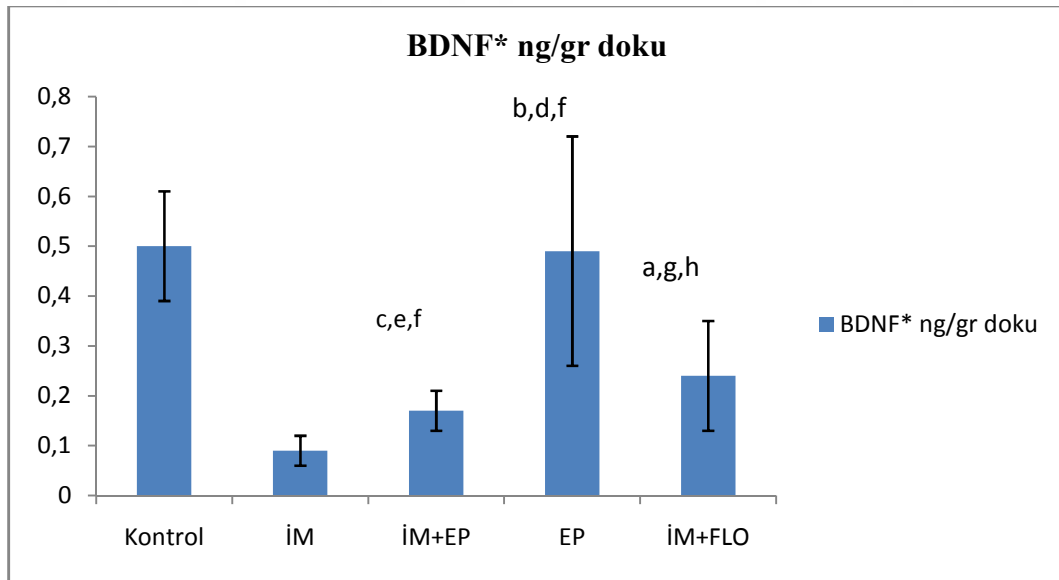
grubuna bakıldığında ise İM grubuna kıyasla GPX ve SOD düzeylerinde anlamlı bir artış gözlenmiştir ($p < 0.05$, Tablo 6, Şekil 16, 17).

Tablo 6. BDNF, NGF, GPX, SOD sonuçları (n=7)

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil piruvat, FLO: Fluoksetin

* $p < 0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p < 0.01$ vs kontrol, ^b $p < 0.01$ vs İM+EP, ^c $p < 0.01$ vs EP, ^d $p < 0.05$ vs İM+FLO ^e $p < 0.05$ vs kontrol, ^f $p < 0.01$ vs İM, ^g $p < 0.05$ vs İM, ^h $p < 0.05$ vs EP, ⁱ $p < 0.01$ vs İM+FLO, ^j $p < 0.05$ vs İM+EP

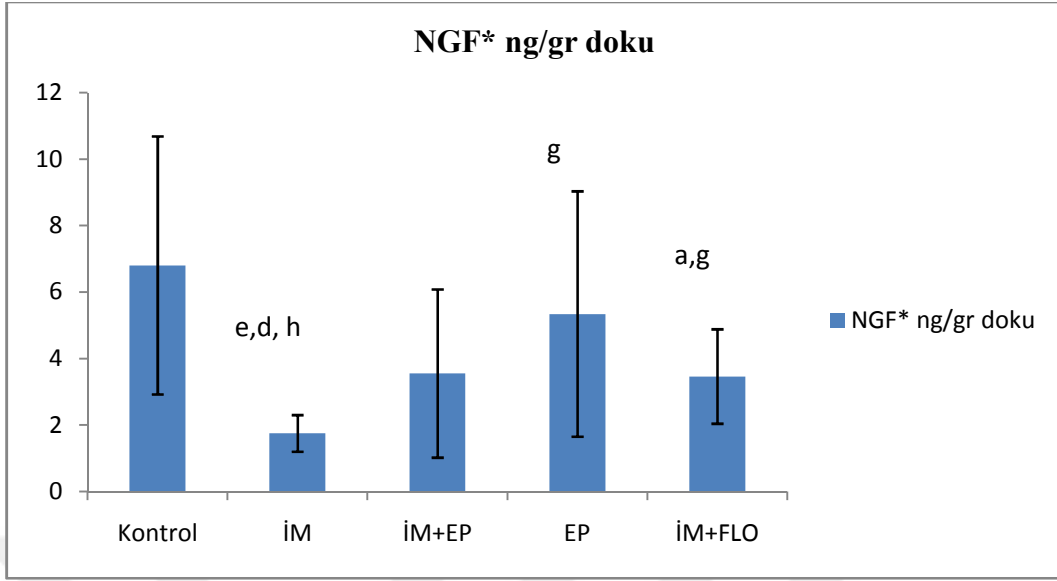
	BDNF*	NGF*	GPX*	SOD*
	ng/gr doku	ng/gr doku	ng/gr doku	ng/gr doku
Kontrol	0,50±0,11	6,80±3,88	0,84±0,33	0,45±0,12
İM	0,09±0,03 ^{a,b,c,d}	1,75±0,55 ^{e,d,h}	0,05±0,03 ^{a,b,c,i}	0,19±0,09 ^{a,h,j}
İM+EP	0,17±0,04 ^{c,e,f}	3,55±2,53	0,26±0,07 ^{a,c,f,i}	0,29±0,09 ^{e,g}
EP	0,49±0,23 ^{b,d,f}	5,34±3,69 ^g	0,83±0,43 ^{b,f}	0,47±0,19 ^g
İM+FLO	0,24±0,11 ^{a,g,h}	3,46±1,42 ^{a,g}	0,56±0,25 ^{b,f}	0,34±0,17



Şekil 14. Grupların BDNF değerleri,

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin.

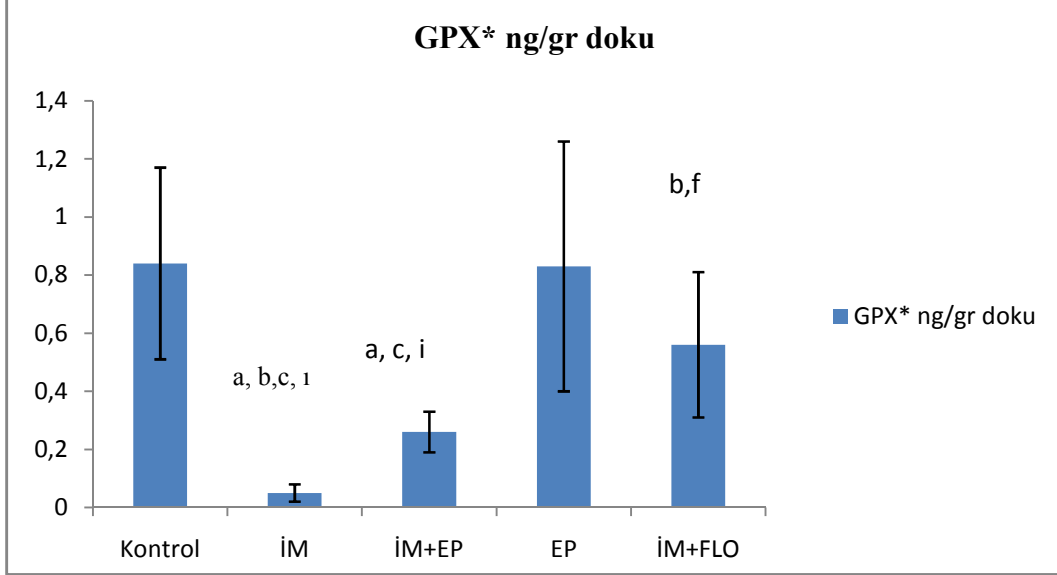
* $p < 0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p < 0.01$ vs kontrol, ^b $p < 0.01$ vs İM+EP, ^c $p < 0.01$ vs EP, ^d $p < 0.05$ vs İM+FLO ^e $p < 0.05$ vs kontrol, ^f $p < 0.01$ vs İM, ^g $p < 0.05$ vs İM, ^h $p < 0.05$ vs EP



Şekil 15. Grupların NGF değerleri,

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin.

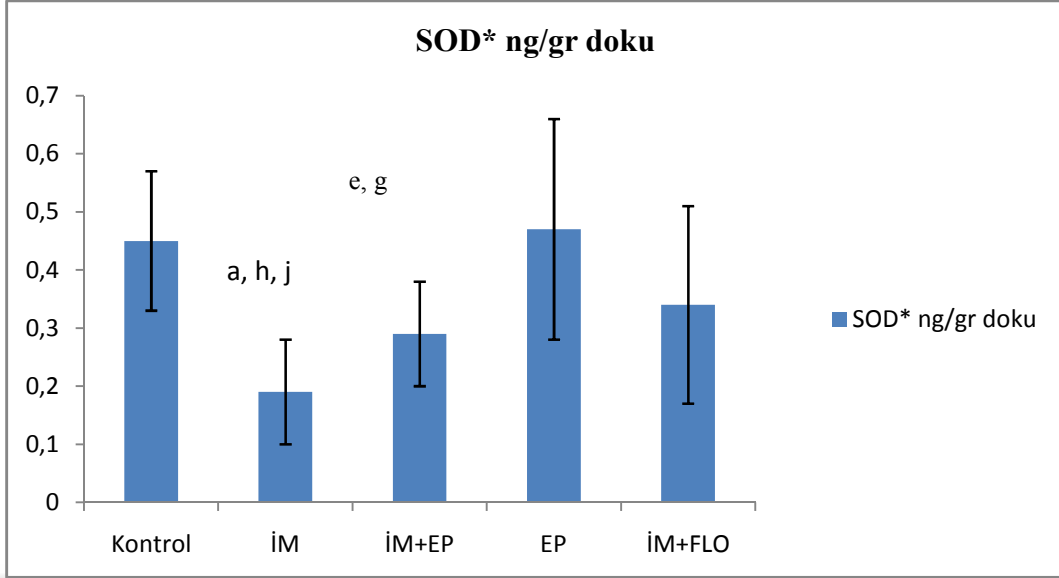
* $p < 0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p < 0.01$ vs kontrol, ^d $p < 0.05$ vs İM+FLO^e $p < 0.05$ vs kontrol, ^g $p < 0.05$ vs İM, ^h $p < 0.05$ vs EP



Şekil 16. Grupların GPX değerleri,

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin.

* $p < 0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p < 0.01$ vs kontrol, ^b $p < 0.01$ vs İM+EP, ^c $p < 0.01$ vs EP, ^f $p < 0.01$ vs İM, ⁱ $p < 0.01$ vs İM+FLO, ^j $p < 0.05$ vs İM+EP



Şekil 17. Grupların SOD değerleri,

İM: İmmobilizasyon, EP: Etil Piruvat, FLO: Fluoksetin.

* $p < 0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p < 0.01$ vs kontrol, ^c $p < 0.05$ vss kontrol ^g $p < 0.05$ vs İM, ^h $p < 0.05$ vs EP, ⁱ $p < 0.01$ vs İM+FLO, ^j $p < 0.05$ vs İM+EP

6. TARTIŞMA

Stres mental ve nörobiyolojik bozuklukla ilişkilidir ve organizmanın; tehdit edici faktörlerin neden olduğu duygusal gerilimin yükselmesiyle karakterize bir durumu olarak tanımlanabilir. Stres aynı zamanda vücudun stresörlere verdiği tepkiyle dengenin bozulduğu bir süreç olarak da ifade edilebilir (17). Stres anında beyinden vücuda savaş ya da kaç mesajı gelir. Stres uzun süre devam ederse vücuda zarar verir ve birçok sistemi de olumsuz etkiler. Beslenme bozuklukları, birçok metabolik fonksiyon bozuklukları, enfeksiyonlar, bağışıklık sisteminin çökmesi stresin olumsuz etkileri arasındadır. Kısacası stres, canlıların vücut fonksiyonlarını bozan ve dolayısıyla yaşam kalitesini etkileyen çağımızın en önemli sağlık sorunlarından biridir (8)

Stresin neden olduğu en önemli problemlerden biri olan depresyon dünyada 300 milyondan fazla insanı etkileyen dünyanın en önemli sağlık problemidir (37). Depresyon tedavisinde selektif serotonin geri alım inhibitörleri, trisiklik antidepresanlar, monoamin oksidaz inhibitörleri gibi çeşitli ilaçlar kullanılmaktadır (37, 42). Bu ilaçların uzun süre kullanılması gerektiği, çeşitli yan etkilere sebep olması, depresyonun patojenik faktörlerine bağlı olarak çoğu hastada etkili bir cevap alınamaması ve hastaların tedaviye direnç göstermesi gibi sebeplerden dolayı yeni antidepresan ilaçların bulunmasını gerekli kılmıştır (42). Biz de çalışmamızda antiinflamatuvar, antioksidan etkinliği olduğu bilinen yan etkisi çok az olan etil prüvatın; strese bağlı oluşan anksiyete, davranış ve biyokimyasal değişiklikler üzerine etkisini inceledik. Etil piruvatın bu etkilerini daha önce farklı çalışmalarda da pozitif kontrol grubu olarak kullanılan fluoksetinle karşılaştırdık (12, 43).

Çalışmamızda farelerde hareketlerin kısıtlanmasıyla depresyon oluşturuldu ve bu birkaç farklı davranış testi ile tespit edildi. İmmobilizasyon stres modelinin uygulandığı çalışmalarda deneklerde besin alımının azalmasına bağlı olarak ağırlık azalması olduğu görülmüştür (42, 43). Açık alan testiyle de motor fonksiyonlarının olumsuz etkilendiğini gösteren birçok çalışma mevcuttur (3, 14, 12). İmmobilize halde tutulan deneklerin anksiyete durumunun ölçüldüğü zorunlu yüzme testinde hareketli geçirilen sürelerde azalma olduğu ve hareketsiz geçirilen sürelerde artma olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (12, 43-45). Öğrenme bellek fonksiyonlarının

ölçüldüğü pasif sakinme testinde stresin öğrenme belleği bozduğunu gösteren makaleler bulunmaktadır (46-47). Ayrıca stres durumunda özellikle BDNF olmak üzere nörotrofik faktörlerde ve oksidatif hasarda artış olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (45, 46, 49, 50).

Yaptığımız çalışmada İM grubundaki deneklerin ilk ve son günkü ağırlıkları kontrol grubuyla kıyaslandığında anlamlı derecede azalmıştır. Açık alan testinden elde ettiğimiz verilere göre İM grubundaki deneklerin aldıkları mesafe ve hızlarında anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Bu durum İM grubundaki deneklerin motor fonksiyonlarının olumsuz etkilendiğinin göstergesidir. Santral ve periferik alanda geçirilen süreler açısından İM grubu kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise santral alanda geçirilen süre azalmış, periferik alanda geçirilen süre ise artmıştır. İM grubundaki deneklerin kontrol grubuna göre zorunlu yüzme testinde hareketli geçirdikleri süre anlamlı derecede azalmıştır. Öğrenme bellek fonksiyonlarını ölçmek için kullandığımız pasif sakinme testinde İM grubundaki denekler kontrol grubundakilere göre 1. gün karanlık alana daha geç geçmiştir. Yapılan biyokimyasal analizlerde ise İM grubunda kontrol grubuna göre BDNF ve NGF' de anlamlı bir azalma söz konusudur. İM grubunda kontrol grubuna kıyasla oksidatif hasarı gösteren GPX ve SOD değerlerinde anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. Tüm bu sonuçlar çalışmamızda literatürlerle de uyumlu olarak immobilizasyon stres modeliyle deneklerde başarılı bir şekilde stres oluşturduğumuzu göstermektedir.

Piruvat vücutta bulunan, enerji metabolizmasında önemli bir göreve sahip, antioksidan etkisi olduğu bilinen bir maddedir. Piruvatın etkilerinden yola çıkılarak piruvattan daha stabil, piruvatın bir türevidir olan etil piruvat formülize edilmiştir. Etil piruvatın antiinflatuar ve antioksidan etkisi birçok çalışmayla ortaya konmuştur (38). Çalışmamızda etil piruvatın immobilizasyon stres modeliyle oluşturduğumuz depresyon üzerine etkileri incelendi.

Hareketlerin kısıtlanmasıyla stres oluşturulup etil piruvat uygulanan İM+EP grubundaki deneklerin ağırlıklarına bakıldığında İM grubuna kıyasla anlamlı bir iyileşme gözlenmemiştir. Dolayısıyla immobilizasyona bağlı oluşan stresin neden olduğu kilo kaybına etil piruvatın olumlu bir etkisi olmamıştır.

Stresle bozulan motor fonksiyonların antidepresan tedaviyle düzeldiğini gösteren çalışmalar daha önce yapılmıştır (14, 51, 52). Yaptığımız çalışmada ise tam tersine açık alan testinden elde edilen verilere göre İM grubuna kıyasla İM+EP grubundaki deneklerin yol aldıkları mesafe ve hızda önemli bir azalma gözlenmiştir. İmmobilizasyonun olumsuz etkilediği motor fonksiyonları etil piruvatın İM+FLO grubunda görüldüğü gibi iyileşme beklenirken tam aksine daha fazla olumsuz etki meydana gelmiştir. Açık alan testinde deneklerin anksiyete değerlendirmesi için ölçülen santral ve periferik alanda geçirilen süreler bakıldığında ise İM+EP grubu ile İM grubu arasında anlamlı bir fark bulunmamıştır. İM+FLO grubu İM grubuyla karşılaştırıldığında ise santral ve periferik alanda geçirilen süreler kontrol grubundaki değerlere yaklaşmıştır. Sonuç olarak etil piruvatın anksiyete üzerine olumlu bir etkisi gözlenmemiştir.

Zorunlu yüzme testinde hareketli ve hareketsiz geçirilen süreler ölçülerek depresyonun varlığı ve antidepresan tedavinin etkinliği değerlendirilir. Daha önce yapılan çalışmalarda; stresle azalan hareketli geçirilen zamanın; stresin azaldığı durumlarda yeniden arttığı gözlenmiştir (12, 37,50, 51). Bizim çalışmamızda ise makalelerle uyumlu olarak İM+EP grubundaki deneklerin İM grubuyla karşılaştırıldığında hareketli geçen süre artmış ve hareketsiz geçen süre azalmıştır. İM+EP grubunda gözlenen bu sonuçlar İM+FLO grubuyla benzerdir. Dolayısıyla zorunlu yüzme testinden yola çıkarak etil piruvat fluoksetinde olduğu gibi immobilizasyon stresine bağlı oluşan depresyon benzeri davranışlar üzerinde iyileştirici etki gösterdiğini söyleyebiliriz. Strese maruz bırakılan farelerde fluoksetinin zorunlu yüzme testinde antidepresan etkisini gösteren çalışmalar bulunmaktadır (23).

Öğrenme bellek düzeyini ölçtüğümüz pasif sakınma testinden elde edilen verilere göre İM+EP grubuyla İM grubu arasında bir fark bulunmamaktadır.

Biyokimyasal analizlerde ise İM+EP grubu İM grubuyla kıyaslandığında BDNF ve NGF düzeyinde belirgin artış gözlenmiştir. Fakat NGF'deki artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Buna göre etil piruvat immobilizasyon stresine bağlı olarak azalan nörotrofik faktör düzeyini düzeltmiştir. Antidepresan tedaviyle BDNF ve NGF değerinin arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (12, 52, 53). Stresin arttığı

durumlarda azalan GPX ve SOD düzeylerinin stresin azaltılmasıyla tekrar normal seviyelere geldiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır. (49, 54). Yaptığımız çalışmada GPX ve SOD değerlerine bakıldığında; İM+EP grubundaki değerler İM grubuna göre yükselmiştir. Ancak SOD değerindeki artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bu sonuçlar EP'nin etkilerini özellikle Glutasyon aracılı antioksidan etki gösterdiğini düşündürmektedir. Biyokimyasal analizlerde İM+FLO grubuna bakıldığında İM grubuna kıyasla BDNF, NGF, GPX ve SOD değerlerinde düzelme gözlenmiştir.



7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda antiinflatuar ve antioksidan etkisi olduğu bilinen etil piruvatın strese bağlı oluşan davranış değişikliklerine, oksidatif hasara ve vücutta bulunan bazı nörotrofik faktörler üzerine etkisi araştırıldı. Etil piruvatın etkileri antidepresan olarak kullanılan fluoksetinle karşılaştırıldı.

Çalışmamızdan elde ettiğimiz sonuçlara göre immobilizasyon stres modeli başarılı bir şekilde uygulanmış ve yapılan davranış testleri ile deneklerde stres olduğu tespit edilmiştir. Etil piruvatın zorunlu yüzme testinde gözlenen depresyon benzeri davranışlar üzerinde fluoksetinle benzer şekilde iyileştirici etkileri bulunmuştur. Yapılan biyokimyasal analizlerden elde edilen sonuçlara göre etil piruvatın glutatyon üzerinden oksidatif hasarı azalttığı ve nörotrofik faktörlerin sentezini artırarak stres üzerine olumlu etkileri olduğu düşünülmektedir. Yan etkilerinin çok az olması bakımından etil piruvat etki mekanizmalarının aydınlatılacağı yeni araştırmalar ve klinik çalışmalar yapılarak depresyon tedavisinde kullanımı sağlanabilir.

8. KAYNAKLAR

1. Eşsizoglu A, Yildirim EA, Mengi M, Oral T, Yurdakoş E. The Effects of 7-Nitroindazole on Anxiety and Spatial Memory in Rats Exposed to Chronic Immobilization Stress. *Archives of Neuropsychiatry*. 2009; 46:157-162
2. Stahl SM. *Stahl'in Temel Psikofarmakolojisi*: İstanbul Tıp Kitabevi; 2015. 268-98 p.
3. Kumar A, Kaur G, Rinwa P. Buspirone along with melatonin attenuates oxidative damage and anxiety-like behavior in a mouse model of immobilization stress. *Chin J Nat Med*. 2014;12(8):582-9.
4. Avitsur R, Grinshpahet R, Goren N, Weinstein I, Kirshenboim O, Chlebowski N. Prenatal SSRI alters the hormonal and behavioral responses to stress in female mice: Possible role for glucocorticoid resistance. *Horm Behav*. 2016;84:41-9.
5. Fink MP, Ethyl pyruvate: a novel anti-inflammatory agent. *J Intern Med*. 2007; 261:349-362
6. Leel HK, Kim D, Kim SW, Leel H, Park JY. Anti-inflammatory and Antioexcitotoxic Effects of Diethyl Oxopropanamide, An ethyl Pyruvate Bioisoster, Exert Robust Neuroprotective Effects in the Postischemic Brain. *Sci. Rep.* 7, 42891. 2017
7. Birkenmeier G, Hemdan NY, Kurzl S, Bigl M, Pieroh p, Debebe T, Buchpld M, Thieme R, Wichmann G, Dehghani F. Ethyl Pyruvate Combats Human Leukemia Cells but Sparing Normal Blood Cells. *Plos ONE* 11(8):e1161571. 2016

8. Gencer YG, Çınar A, Comba B. Stresin Ratlarda Bazı Karaciğer Enzimleri Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg. 2105; 10 (1): 21-26
9. Son H, Jung S, Shin JH, Kang MJ, Kim HJ Anti-Stress and Anti-Depressive Effects of Spinach Extracts on a Chronic Stress-Induced Depression Mouse Model through Lowering Blood Corticosterone and Increasing Brain Glutamate and Glutamine Levels. J. Clin. Med. 2018; 7, 406
10. Kocatürk PA. Strese Cevap. Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi. 2000; 53 (1), 49-56
11. Yüksel N. Temel Psikofarmakoloji: Türkiye Psikiyatri Derneği Yayınları; 2010. 16-110 p.
12. Walia V. Influence of Stress and Fluoxetine on Immobility Period of Mice in Tail Suspension Test and Forced Swim Test. Asian J Pharm Clin Res, 2016; 9(2): 302-305
13. Li J, Hou L, Wang C, Jia X, Qin X, Wul C. Short Term Intrarectal Administration of Sodium Propionate Induces Antidepressant-Like Effects in Rats Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress. Frontiers in Psychiatry. 2018; 9: 454
14. Seo JH. Treadmill Exercise Alleviates Stress-induced Anxiety-like Behaviors in Rats. Journal of Exercise Rehabilitation 2018;14(5):724-730
15. Bohacek J, Roszkowski M. Stress Does not Increase Blood-brain Barrier Permeability in Mice. J. of Cerebral Blood Flow and Metabolism. 2016; 36 (7): 1304-1315

16. Jutkiewicz EM, Houshyar H, Hsin L, Rice KC. The Effects of CRF Antagonists, Antalarmin, CP154,526, LWH234, and R121919, in the Forced Swim Test and on Swim-induced Increases in Adrenocorticotropin in Rats. *Psychopharmacology (Berl)*. 2005; 180(2): 215–223.
17. Biala G, Pekala K, Boguszevska AC, Michalak A, Kruk-Slomka M, Budzyska B. Behavioral and Biochemical Interaction Between Nicotine and Chronic Unpredictable Mild Stress in Mice. *Mol Neurobiol*. 2017; 54: 904-921
18. Zablockat KR, Kreiner G, Baginska M, Nalepa I. Selective Depletion of CREB in Serotonergic Neurons Affects the Upregulation of Brain-Derived Neurotrophic Factor Evoked by Chronic Fluoxetine Treatment. *Frontiers in Neuroscience*. 2018; 12 (637)
19. Takahashi A, Flanigan ME, McEwen BS, Russo SJ. Aggression, Social Stress, and the Immune System in Humans and Animal Models. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2018; 12 (56)
20. Du RH, Tan J, Sun XY, Lu M, Ding JH, Hu G. Fluoxetine Inhibits NLRP3 Inflammasome Activation: Implication in Depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2016; 19(9): 1–9
21. Lu Y, Ho CS, Liu X, Chua AN, Wang W, McIntyre RS, Ho RC. Chronic Administration of Fluoxetine and Proinflammatory Cytokine Change in a Rat Model of Depression. *Plos One*. 2017; 12 (10)
22. Gencer GY. Stresin ratlarda bazı karaciğer enzimleri üzerine etkilerinin araştırılması. Van Yüzüncü Yıl üniversitesi; 2014.
23. Keenan RJ, Chan J, Donnelly PS, Barnham KJ, Jacobson LH. The Social Defeat/overcrowding Murine Psychosocial Stress Model Results in a

Pharmacologically Reversible Body Weight Gain but not depression-related Behaviours. *Neurobiology of Stress*. 2018; 9: 176–187

24. Bali A, Jaggi AS. Electric foot shock stress: a useful tool in neuropsychiatric studies. *Rev Neurosci*. 2015;26(6):655-77.
25. Bali A, Jaggi AS. Investigations on GSK-3 beta/NF-kB signaling in stress and stress adaptive behavior in electric foot shock subjected mice. *Behav Brain Res*. 2016;302:1-10.
26. Guo S, Gao Q, Jiao Q, Hao W, Gao X, Cao JM. Gastric mucosal damage in water immersion stress: mechanism and prevention with GHRP-6. *World J Gastroenterol*. 2012;18(24):3145-55.
27. Tanahashi N, Takagi K, Amagasu N, Wang G, Mizuno K, Kawanoguchi J, et al. Effect of acupuncture stimulation on rats with depression induced by water-immersion stress. *Neurosci Lett*. 2016;618:99-103.
28. Bowman, RE., Zrull, MC., Luine, VN. Chronic Restraint Stress Enhances Radial Arm Maze Performance In Female Rats. *Brain Res*. 2001;904(2): 279-89.
29. Endo, Y., Shiraki, K. Behavior and Body Temperature in Rats Following Chronic Foot Shock or Psychological Stress Exposure. *Physiol Behav*. 2000; 71(3-4): 263-8.
30. Aykaç A, Suer K, Taşkıran C. Models of Rat Behavior Used for Studies of Anxiety. *Marmara Medical Journal* 2015; 28: 1-7
31. Lahouel A, Kebieche M, Lakroun Z, Rouabhi R, Fetoui H, Chtourou Y, et al. Neurobehavioral deficits and brain oxidative stress induced by chronic low

dose exposure of persistent organic pollutants mixture in adult female rat. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2016.

32. Başar K, Ertuğrul A. Depresyon Araştırmalarında Kullanılan Hayvan Modelleri. *Klinik Psikiyatri.* 2005; 8: 123-134
33. Ogren SO, Eriksson TM, Elvander-Tottie E, D'Addario C, Ekstrom JC, Svenningsson P, et al. The role of 5-HT(1A) receptors in learning and memory. *Behav Brain Res.* 2008;195(1):54-77
34. Misane I, Ogren SO. Selective 5-HT1A antagonists WAY 100635 and NAD-299 attenuate the impairment of passive avoidance caused by scopolamine in the rat. *Neuropsychopharmacology.* 2003;28(2):253-64.
35. Lahouel A, Kebieche M, Lakroun Z, Rouabhi R, Fetoui H, Chtourou Y, et al. Neurobehavioral deficits and brain oxidative stress induced by chronic low dose exposure of persistent organic pollutants mixture in adult female rat. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2016:1-11.
36. Kayaalp O. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji Ankara: Pelikan Yayıncılık; 2012. 651-825 p.
37. Tokgöz G, Özkay Ü, Osmaniye D, Yücel N, Can Ö, Kaplancıklı Z. Synthesis of Novel Benzazole Derivatives and Evaluation of Their Antidepressant-Like Activities with Possible Underlying Mechanisms. *Molecules.* 2018; 23, 2881
38. Tokumar O, Kuroki C, Yoshimura N, Sakamoto T, Take, H, Ogata K, Kitano T, Nisimaru N, Yokoi I. Neuroprotective Effects of Ethyl Pyruvate on Brain Energy Metabolism after Ischemia-Reperfusion Injury: A ³¹P-Nuclear Magnetic Resonance Study. *Neurochem Res* (2009) 34:775–785

39. Chen W, Jia Z, Zhu H, Zhou K, Li Y, Misra HP. Ethyl Pyruvate Inhibits Peroxynitrite-induced DNA Damage and Hydroxyl Radical Generation: Implications for Neuroprotection *Neurochem Res* (2010) 35:336–342
40. Shen H, Hu X, Liu C, Wang S, Zhang W, Gao H, Stetler RA, Gao Y, Chen J. Ethyl Pyruvate Protects Against Hypoxic-ischemic Brain Injury Via Anti-cell Death and Anti-inflammatory Mechanisms. *Neurobiology of Disease*. 2010; 37: 711–722
41. Lee HK, Kim D, Kim SW, Lee H, Park JY, Yoon SH, Lee JK. Anti-Inflammatory and Antiexcitotoxic Effects of Diethyl Oxopropanamide, an Ethyl Pyruvate Bioisoster, Exert Robust Neuroprotective Effects in the Postischemic Brain. *Sci. Rep.* 2017
42. Jiang JH, Peng YL, Liang X, Li S, Chang X, Li L, Chang M. Centrally Administered Cortistation-14 Induces Antidepressant-Like Effects in Mice via Mediating Ghrelin and GABAA Receptor Signaling Pathway. *Frontiers in Pharmacology*. 2018; 9 (768)
43. Ihne JL, Fitzgerald PJ, Hefner KR, Holmes A. Pharmacological Modulation of Stress-induced Behavioral Changes in the Light/dark Exploration Test in Male C57BL/6J Mice. *Neuropharmacology*. 2012; 62(1): 464–473
44. Sun L, Liu P, Liu F, Zhou Y, Chu Z, Chu YG, Zhang Y, Wang J, Dang YH. Effects of *Hint1* Deficiency on Emotional-like Behaviors in Mice Under Chronic Immobilization Stress. *Brain and Behavior*. 2017
45. Yang B, Zhang JC, Han M, Yao W, Yang C, Ren Q, Ma M, Chen QX, Hashimoto K. Comparison of R-ketamine and Rapastinel Antidepressant Effects in the Social Defeat Stress Model of Depression. *Psychopharmacology*. 2016; 233:3647–3657

46. Chajut E, Algom D. Selective Attention Improves Under Stress: Implications for Theories of Social Cognition. *J Pers Soc Psychol.* 2003;85(2):231-48.
47. Jeong YH, Park CH, Yoo J, Shin KY, Ahn SM, Kim HS, et al. Chronic Stress Accelerates Learning and Memory Impairments and Increases Amyloid Deposition in APPV717I-CT100 Transgenic Mice, an Alzheimer's disease Model. *Faseb J.* 2006;20(6):729-31.
48. Camp RM, Johnson JD. Repeated Stressor Exposure Enhances Contextual Fear Memory in a Beta-Adrenergic Receptor-dependent Process and Increases Impulsivity in a non-beta Receptor-dependent Fashion. *Physiol Behav.* 2015;150:64-8.
49. Ma Z, Wang G, Cui L, Wang Q. Myricetin Attenuates Depressant-Like Behavior in Mice Subjected to Repeated Restraint Stress. *Int. J. Mol. Sci.* 2015; 16, 377–385
50. Podkowiak K, Pochwat B, Branski P, Pilc A, Poniewierzal A. Group II mGlu Receptor Antagonist LY341495 Enhances the Antidepressant-like Effects of Ketamine in the Forced Swim Test in Rats. *Psychopharmacology.* 2016; 233:2901–2914
51. Kim YR, Park B, Kim YH, Shim I, Kang I, Lee MY. Antidepressant Effect of *Fraxinus rhynchophylla* Hance Extract in a Mouse Model of Chronic Stress-Induced Depression. 2018
52. Jiang P, Dang R, Li H, Zhang L, Zhu W, Xue Y, Tang M. The Impacts of Swimming Exercise on Hippocampal Expression of Neurotrophic Factors in Rats Exposed to Chronic Unpredictable Mild Stress. 2014
53. Gu Z, Chu L, Han Y. Therapeutic Effect of Resveratrol on Mice with Depression. *Experimental and Therapeutic Medicine.* 2019; 17:3061-306

54. Doss V, Kuberapandian D. Antidepressant Activity of *Enicostemma Littorale* Blume in Shp2 (Protein Tyrosine Phosphatase)-inhibited Animal Model of Depression. *Int. J. Prev. Med.* 2016; 7: 112





TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Mihrab	Soyadı	ABUL
Doğum Yeri	Diyarbakır	Doğum Tarihi	08.03.1989
Uyruğu	T.C	Tel	05398304115
E-posta	mihrababul@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2012
Lise	Diyarbakır Anadolu Lisesi	2007

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl-Yıl)
Eczacı	T.C Sağlık Bilimleri Üniversitesi Diyarbakır Gazi Yaşargil Eğitim ve Araştırma Hastanesi	2013-

Yabancı Dil Sınav Notu	
ÜDS	60

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES	85		



DICLE ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ TEZ İNTİHAL FORMU

ÖĞRENCİ BİLGİLERİ

ADI VE SOYADI	Mihrab ABUL
ÖĞRENCİ NO	15856001
EĞİTİM – ÖĞRETİM YILI	2018-2019
YARIYIL	<input type="checkbox"/> Güz <input checked="" type="checkbox"/> Bahar
ANABİLİM DALI	Tıbbi Farmakoloji
PROGRAM	Yüksek Lisans
TEZ KONUSU	İmmobilizasyon stresine maruz bırakılmış farelerde etil piruvatın etkilerinin araştırılması

İNTİHAL RAPORU BİLGİLERİ

RAPOR TÜRÜ	Tez Savunma Sınavı Sonrası
SAYFA SAYISI	6
BENZERLİK ORANI	%12
RAPORLAMA TARİHİ	11/06/ 2019

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın kapak sayfası, giriş, ana bölümler, sonuç ve tartışma kısımlarından oluşan toplam 49 sayfalık kısmına ilişkin, 11/06/2019 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından *turnitin*adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan intihal raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 12 'dir.

Uygulanan filtrelemeler:

- Kabul/Onay sayfaları hariç,
- Kaynakça hariç
- Alıntılar hariç/dâhil
- Diğer

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Programlarda Tez Çalışması İntihal Raporu Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edilmesi durumunda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Mihrab ABUL 18/07/2019

Doç. Dr. Hasan AKKOÇ
Tez Danışmanı
18/07/2019

Prof. Dr. Meral ERDİNÇ
Anabilim Dalı Başkanı
18/07/2019

İMMOBİLİZASYON STRESİNE MARUZ KALMIŞ FARELERDE ETİL PİRUVATIN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLİK RAPORU

% **12**
BENZERLİK ENDEKSİ

% **9**
İNTERNET
KAYNAKLARI

% **7**
YAYINLAR

% **8**
ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

- 1** kutup.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı % **3**
- 2** Submitted to National University of Singapore Öğrenci Ödevi % **1**
- 3** Submitted to Maryville University Öğrenci Ödevi % **1**
- 4** acikerisim.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı % **1**
- 5** GENCER, Yıldırım Gökhan, ÇINAR, Ali and COMBA, Bahat. "Stresin ratlarda bazı karaciğer enzimleri (ast, alt, alp) üzerine etkilerinin araştırılması", Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi, 2015. Yayın % **1**
- 6** Submitted to Marmara University Öğrenci Ödevi <% **1**
- 7** Submitted to University of Keele Öğrenci Ödevi <% **1**

T.C. DİCLE ÜNİVERSİTESİ
PROF. DR. SABAHATTİN PAYZIN SAĞLIK BİLİMLERİ
ARASTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(DÜHADİK)

ETİK KURULU KARARI

TOPLANTI TARİHİ	KARAR NO	TOPLANTI SAYISI
30.05.2017	6	6

KARAR

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Husin AKKOÇ'un başkanlığında Doç. Dr. Mehmet ARU, Doç. Dr. İsmail UYAR, Doç. Dr. İlker KILIÇ, Uzm. Dr. Süleyman DÖNMEZEL ve Prof. Dr. Mehmet ERDİKÇİ'nin başkanlığındaki araştırma ekibi tarafından hazırlanan, "İmmobilizasyon Stresine Maruz Kalmış Farelerde Etül Pirüvatin Erkeklerinin Araştırılması" başlıklı ve 2017/03 protokol numarası taşıyan;

Deneysel Hayvanın	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
	Fare (BALB/c)	Erkek	35	8-12 hafta/35-40 gr

Etik Kurulunuzca değerlendirilip onaylanıp gerçekleştirileceği hususları kamuoyuna duyurularına karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mustafa YÜKÜŞ
(BAŞKAN)

Doç. Dr. Bekir ALTUNER
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Feyyaz ALTAN
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Akın KOÇHAN
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Özgür AKBALIK
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Hüseyin AKKAN
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. İbrahim ALAK
(ÜYE)

Prof. Dr. Ufuk ACUN KAYA
(ÜYE)

Prof. Dr. Özgür NİCE BOSTANCI
(ÜYE)

Doç. Dr. Ayşe MEŞİ
(ÜYE)

Doç. Dr. Ramazan DEMİREL
(ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Mehmet İbrahim AKBALIK
(ÜYE)

Öğr. Mevzuatı Yürütme KAHRAMAN
(ÜYE)