

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARELERDE OLUŞTURULAN İMMOBİLİZASYON STRES
MODELİNDE MELATONİN-FLUOKSETİN
KOMBİNASYONUNUN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. MERVE İNCİ ÇAMÇI

**DANIŞMAN
PROF. DR. MERAL ERDİNÇ**

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DİYARBAKIR 2016

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARELERDE OLUŞTURULAN İMMOBİLİZASYON
STRES MODELİNDE MELATONİN-FLUOKSETİN
KOMBİNASYONUNUN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ecz. MERVE İNCİ ÇAMÇI

**DANIŞMAN
PROF. DR. MERAL ERDİNÇ**

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından
TIP.16.011 nolu Yüksek Lisans proje numarası ile desteklenmiştir.**

DİYARBAKIR 2016

DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

“Farelerde Oluşturulan İmmobilizasyon Stres Modelinde Melatonin–Fluoksetin Kombinasyonunun Etkilerinin Araştırılması” isimli Yüksek Lisans tezi 23.06.2016 tarihinde tarafımızdan değerlendirilerek başarılı bulunmuştur.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Meral Erdiñ

Tezi Teslim Eden: Ecz. Merve İnci Çamçi

Jüri Üyesinin

Ünvanı	Adı Soyadı	Üniversitesi-Fakültesi
Başkan	: Prof. Dr. Meral ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üye	: Prof. Dr. Engin ŞAHNA	Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üye	: Doç. Dr. Selçuk İLHAN	Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üye	: Doç. Dr. İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Üye	: Doç. Dr. Hasan AKKOÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi

Yukarıdaki imzalar tasdik olunur.

...../...../2016

Prof. Dr. Ali CEYLAN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

TEŞEKKÜR

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

Tez çalışmamın deneylerinin izlenmesi ve istatistiksel değerlendirme aşamasındaki yardımlarından ötürü Sayın Doç. Dr. Hasan AKKOÇ' a, yardımlarını esirgemeyen Sayın Doç. Dr. İlker KELLE' ye

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

Yüksek lisans eğitimimi de kapsayan tüm yaşamımda ilgisini, sevgisini ve desteğini esirgemeyen anneme, babama, kardeşime ve hayat arkadaşşıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ecz. Merve İnci Çamçı

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

1. Ön Sayfalar	Sayfa
1.1. Kapak	
1.2. İç Kapak	
1.3. Onay Sayfası.....	1
1.4. Teşekkür Sayfası.....	11
1.5. İçindekiler Dizini.....	111
1.6. Şekiller Dizini.....	vii
1.7. Tablolar Dizini.....	viii
1.8. Simgeler ve Kısaltmalar Dizini.....	ix
2. Özet Sayfaları	
Türkçe Özet.....	x1
İngilizce Özet.....	x111
3. Tez Metni	
3.1. Giriş ve Amaç	1
3.2. Genel Bilgiler.....	2
3.2.1. Stres.....	2
3.2.1.1. Stresin Patofizyolojisi.....	3
3.2.1.2. Stres Etkenleri.....	4
3.2.1.3. Deneysel Stres.....	4
3.2.1.4. Deneysel Stres Modelleri.....	5
3.2.1.4.1. Elektrik Şoku Uygulama.....	5
3.2.1.4.2. Hareketlerin Kısıtlanması.....	5
3.2.1.4.3. Suyu Daldırma.....	5
3.2.2. Psikofarmakoloji Açısından Önemli Nörotransmitterler.....	6
3.2.2.1. Aminoasit Yapılı Nörotransmitterler.....	6
3.2.2.1.1. Glutamat.....	6
3.2.2.1.2. GABA.....	6
3.2.2.1.3. Glisin.....	7

3.2.2.2. Düzenleyici Nörotransmitterler.....	7
3.2.2.2.1. Asetilkolin.....	7
3.2.2.2.2. Katekolaminler.....	7
3.2.2.2.3. Serotonin.....	8
3.2.3. Nöroanatomi.....	9
3.2.3.1. Serebral Korteks.....	9
3.2.3.1.1. Medial Prefrontal Korteks.....	9
3.2.3.1.2. Lateral Prefrontal Korteks.....	9
3.2.3.1.3. Orbitofrontal Korteks.....	9
3.2.3.1.4. Parietal Lob.....	10
3.2.3.1.5. Temporal Lob.....	10
3.2.3.1.6. Oksipital Lob.....	10
3.2.3.1.7. Parieto-Temporo-Oksipital Lob.....	10
3.2.3.1.8. Prefrontal Korteks.....	10
3.2.3.2. Bazal Gangliyonlar.....	10
3.2.3.3. Talamus.....	11
3.2.3.4. Limbik Sistem.....	11
3.2.3.4.1. Amigdala.....	11
3.2.3.4.2. İnsula.....	12
3.2.3.4.3. Gyrus Singuli.....	12
3.2.3.4.4. Hipokampus.....	12
3.2.3.5. Serebellum.....	13
3.2.3.6. Beyin Sapı.....	13
3.2.4. Stresin Nöroanatomi.....	14
3.2.4.1. Stresin Hipotalamusta Gözlenen Etkileri.....	14
3.2.4.2. Uzun Süreli Stresin Prefrontal Korteksteki Etkileri.....	14
3.2.4.3. Stresin Amigdaladaki Etkileri.....	15
3.2.4.4. Ventral Striatumda Strese Bağlı Değişiklikler.....	15
3.2.5. Kullanılan Davranış Testleri.....	16
3.2.5.1. Yükseltilmiş T Labirenti.....	16
3.2.5.2. Zorunlu Yüzme Testi.....	16
3.2.5.3. Pasif Sakınma Testi.....	16

3.2.5.4. Lokomotor Aktivite Değerlendirmesi.....	17
3.2.6. Antidepresanlar.....	17
3.2.6.1. Fluoksetin.....	18
3.2.6.2. Melatonin.....	19
3.2.6.2.1. Melatoninin Yapısı.....	19
3.2.6.2.2. Melatonin Sentezi.....	19
3.2.6.2.3. Melatonin Reseptörleri.....	20
3.2.6.2.4. Melatoninin Fizyolojik Etkileri.....	21
3.2.6.2.5. Melatoninin Antioksidan Özellikleri.....	21
3.2.6.2.6. Melatoninin Antidepresan Özellikleri.....	22
3.3. Gereç Ve Yöntem.....	23
3.3.1. Gereç.....	23
3.3.1.1. Kullanılan Araç Ve Gereçler.....	23
3.3.1.2. Kullanılan Deney Hayvanları.....	23
3.3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	23
3.3.2. Yöntem.....	24
3.3.2.1. Farmakolojik İnceleme.....	24
3.3.2.1.1. Zorunlu Yüzme Testi.....	24
3.3.2.1.2. Pasif Sakınma.....	25
3.3.2.1.3. Yükseltilmiş Artı Labirent testi.....	25
3.3.2.1.4. Açık Alan Testi.....	25
3.3.2.1.5. Ağrı Düzeyi Tayini.....	26
3.3.2.2. Biyokimyasal İnceleme.....	26
3.3.2.2.1. MDA Düzeyleri Tayini.....	26
3.3.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	26
3.4. Bulgular.....	27
3.4.1. Deneklerdeki Ağırlık Değişimi.....	27
3.4.2. Pasif Sakınma Testi Bulguları.....	28
3.4.3. Zorunlu Yüzme Testi Bulguları.....	29
3.4.4. Açık Alan Testi Bulguları.....	30
3.4.5. Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi Bulguları.....	34
3.4.6. Ağrı Deneyi Bulguları.....	36

3.4.7. MDA Bulguları.....	37
3.5. Tartışma.....	38
3.6. Sonuç ve Öneriler.....	42
3.7. Kaynaklar.....	43
3.8. Özgeçmiş.....	51



ŞEKİLLER DİZİNİ**Sayfa**

Şekil.1. Stres durumunda hipotalamo-pituiter-adrenal (HPA) aks mekanizması	3
Şekil 2. Fluoksetinin kimyasal yapısı.....	18
Şekil 3. Melatonin biyosentezi.....	20
Şekil 4. Deneklerin 1. ve 8. gündeki ağırlıkları.....	27
Şekil 5. Grupların öğrenme indeksi verileri.....	28
Şekil 6. Zorunlu yüzme testinde hareketli ve hareketsiz geçen süreler.....	29
Şekil 7. Açık alan testinde santral ve periferik alanda geçirilen süreler.....	31
Şekil 8. Açık alan testinde santral ve periferik alana giriş sayıları.....	31
Şekil 9. Açık alan testinde kat edilen mesafe.....	33
Şekil 10. Açık alan testinde ortalama hız.....	33
Şekil 11. Grupların santral, açık ve kapalı kollarda geçirdiği süreler.....	34
Şekil 12. Grupların santral, açık ve kapalı kollara giriş sayıları.....	35
Şekil 13. Deneklerin ağırlı uyarandan sakinme süreleri.....	36
Şekil 14. Grupların MDA değerleri	37

TABLolar DİZİNİ**Sayfa**

Tablo.1. Deneklerin 1. ve 8. gündeki ağırlıkları.....	27
Tablo.2. Grupların öğrenme indeksi verileri	28
Tablo 3. Zorunlu yüzme testinde hareketli ve hareketsiz geçen süreler.....	29
Tablo 4. Açık alan testinde santral ve periferik alanda geçirilen süreler.....	30
Tablo 5. Açık alan testinde kat edilen mesafe ve hızın karşılaştırılması.....	32
Tablo 6. Grupların yükseltilmiş artı labirent testi sonuçları.....	34
Tablo 7. Deneklerin santral, açık ve kapalı kollara giriş sayıları.....	35
Tablo 8. Deneklerin ağırlı uyarandan sakınma süreleri.....	36
Tablo 9. Grupların MDA değerleri	37

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

i.p	: intraperitoneal
Mel	: Melatonin
İM	: immobilizasyon
BDNF	: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
SSRI	: selektif serotonin re-uptake inhibitörü
HPA	: hipotalamo-pituiter-adrenal
Flu	: fluoksetin
CRF	: kortikotropin salgılatıcı faktör
ACTH	: adrenokortikotropik hormon
LTP	: uzun süreli güçlendirme (long term potentiation)
GABA-T	: GABA transaminaz
L-DOPA	: 3,4-hidroksi-L-fenilalanin
DAT	: dopamin transportörü
FNMT	: feniletanolamin N-metil transferaz
MAO	: monoaminooksidaz
DOPAC	: hidroksifenilasetikasit
KOMT	: katekol-o-metil transferaz
HVA	: homovanilik asit
MHPG	: 3-metoksi4-hidroksifenilglikol
DOMA	: 3,4-hidroksimandelikasit
DOPG	: 3,4-hidroksifenilglikol
VMA	: vanilimandelikasit
5-HT	: 5-hidroksi triptamin
SERT	: serotonin transporter
5-HIAA	: 5-hidroksiindolasetik asit
TSSB	: travma sonrası stres bozuklukları
LTD	: uzun erimli baskılama (long term depression)
NMDA	: N-metil-d-aspartat
PFC	: prefrontal korteks
mPFC	: mediyal prefrontal korteksinin

VTA	: ventral tegmental alan
O²⁻	: süperoksit anyonu
OH⁻	: Hidroksil
ROO⁻	: peroksil
RO⁻	:Alkoksil
REM	: Rapid eye movement



ÖZET

Strese maruziyet fizyolojik ve psikolojik birçok hasarı tetiklemektedir. Yapılan çalışmalarda stresin bu etkisinin temelini hipotalamo-pituiter-adrenal (HPA) aks ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Strese duyarsız hale gelme ile HPA sistemi baskılanmakta ve psikiyatrik hastalıkların böylelikle ortaya çıktığı düşünülmektedir. Stresin tetiklediği bu psikiyatrik bozuklukların antidepresan tedaviye yanıt verdiği, yapılan birçok çalışma ile desteklenmiştir.

Depresyon tedavisinde yaygın ve güvenilir olarak kullanılan fluoksetinin antidepresan, anksiyolitik ve antioksidan etkilerinin olduğu bilinmektedir. Melatoninin ise antidepresan etkisi olduğu düşünülmekte ve stresin tetiklediği oksidatif hasarda faydalı olduğu bilinmektedir.

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan immobilizasyon stres modelinde farelerde stresin indüklediği yolaklar üzerine fluoksetin, melatonin ve fluoksetin-melatonin kombinasyonunun tedavi edici etkileri araştırıldı. Bu amaçla, kullanılan erkek fareler sekiz gruba ayrıldı; 1.grup kontrol grubu (7 gün süre ile günde 1 defa 1 ml steril salin enjeksiyonu intraperitoneal (i.p)), 2.grup immobilizasyon stres grubu (İM) (7 gün süre ile günde 1 defa 1 ml steril salin enjeksiyonu (i.p)), 3.grup İM grubu + Melatonin (Mel) (7 gün süre ile günde 1 defa 10 mg/kg enjeksiyon (i.p)), 4.grup İM grubu + Fluoksetin (Flu) (7 gün süre ile günde 1 defa 20 mg/kg enjeksiyon (i.p)), 5.grup İM grubu + Mel (7 gün süre ile günde 1 defa 10 mg/kg enjeksiyon (i.p)) + Flu (7 gün süre ile günde 1 defa 20 mg/kg enjeksiyon (i.p)), 6. Grup Mel (7 gün süre ile günde 1 defa 10 mg/kg enjeksiyon (i.p)), 7. Grup Flu (7 gün süre ile günde 1 defa 20 mg/kg enjeksiyon (i.p)), 8. Grup Mel (7 gün süre ile günde 1 defa 10 mg/kg enjeksiyon (i.p))+ Flu (7 gün süre ile günde 1 defa 20 mg/kg enjeksiyon (i.p)) verilen farelerden oluştu. Yedinci günden sonra tüm gruplarda ağrı ve ağırlık kontrolü, açık alan testi kullanılarak lokomotor aktivite ve anksiyete, zorunlu yüzme testi kullanılarak depresyon, yükseltilmiş t labirenti testi kullanılarak anksiyete, pasif sakinme testi ile öğrenme bellek durumundaki değişiklikler değerlendirildi. Denekler eter anestezisi altında dekapitasyonla sakrifiye edilerek beyin dokuları izole edildi ve -80 °C' de saklandı. Saklanan beyin dokularındaki oksidatif hasarı değerlendirmek için MDA düzeyleri ölçüldü.

Deneylemler sonucunda; İM, İM+Mel, İM+Mel+Flu, Mel ve Mel+Flu gruplarındaki deneklerin ağırlıklarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ($p<0.05$) görülmüştür.

Pasif sakınma test düzeneğinden elde edilen sonuçlara göre; İM grubunun öğrenme indeksinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yükseldiği ($p<0.01$), İM+Mel ve İM+Mel+Flu gruplarının öğrenme indekslerinin ise İM' ye göre anlamlı olarak azaldığı ($p<0.05$) gözlenmiştir.

Zorunlu yüzme testi sonuçlarına göre; İM grubunda kontrol grubuna göre hareketsiz geçen sürenin arttığı ($p<0.05$), hareketli geçen sürenin azaldığı ($p<0.05$), diğer tüm gruplarda hareketlenmenin İM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı biçimde arttığı ($p<0.01$) gözlenmiştir.

Açık alan testinde; İM grubunda kontrol grubuna göre periferik alanda kalış süresinin anlamlı olarak arttığı ($p<0.01$), santral alanda kalış süresinin anlamlı olarak azaldığı ($p<0.01$), diğer gruplar İM grubu ile kıyaslandığında ise periferik alanda kalış sürelerinin azaldığı, santral alanda kalış sürelerinin anlamlı olarak arttığı ($p<0.01$) gözlenmiştir.

Yükseltilmiş t labirenti ve ağrı testinde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Beyin dokularında MDA düzeyi ölçümüne göre; İM grubunda kontrol grubuna göre MDA düzeyinin anlamlı olarak arttığı ($p<0.01$), diğer tüm gruplarda ise MDA düzeyinin İM grubuna göre anlamlı olarak azaldığı ($p<0.05$) gözlenmiştir.

Sonuç olarak; immobilizasyon uygulanarak deneklerde başarılı bir şekilde stres oluşturulmuş ve stres ile baş etmek amacıyla kullanılan melatoninin de en az fluoksetin kadar etkili olduğu, kombinasyonlarının ise ilaçların tek başlarına kullanılmalara göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmadığı görülmüştür.

Anahtar kelimeler: Stres, fluoksetin, melatonin, açık alan testi, zorunlu yüzme testi, yükseltilmiş t labirenti testi, pasif sakınma testi.

ABSTRACT

Exposure to stress triggers a lot of physiological and psychological illnesses. Studies show that the base for such effects of stress is related to hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis. Following desensitization to stress, HPA system is repressed and psychiatric diseases occur as a result. Many studies support that psychiatric disorders caused by stress respond to anti-depressant therapy.

Widely and safely used in depression treatment, fluoxetine is known to have anti-depressant, anxiolytic and anti-oxidant effects. Melatonin, on the other hand, is thought to have anti-depressant effects and is known to be beneficial against oxidative damage triggered by stress.

In our study, therapeutical effects of fluoxetine-melatonin combination on pathways induced by stress in rats have been researched with the immobilization stress model designed for the experiment. With this aim, male mice have been put into 8 groups; 1st group: control group (1 ml of sterile saline intraperitoneal (i.p.) once a day for 7 days), 2nd group: immobilization stress group (IM) (1 ml of sterile saline (i.p.) once a day for 7 days), 3rd group: IM + Melatonin (Mel) (10 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days), 4th group: IM + Fluoxetine (Flu) (20 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days), 5th group: IM + Mel (10 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days) + Flu (20 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days), 6th group: Mel (10 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days), 7th group: Flu (20 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days), 8th group: Mel (10 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days) + Flu (20 mg/kg (i.p.) once a day for 7 days). After the seventh day, for each group, pain and weight controls were made, and changes in locomotor activity and anxiety by using controlled open field test, depression by using forced swimming test, anxiety by using elevated plus maze test and cognitive memory by using passive avoidance test were measured. Subjects were sacrificed by decapitation under ether anesthesia and their brain tissues isolated to be preserved at -80 degrees and for the assessment of oxidative damage, MDA levels were measured.

As a result of the experiment, there was a statistically significant decrease in the weight of the IM subjects ($p < 0.05$) as well as IM, IM+Mel, IM+Mel+Flu, Mel and Mel+Flu groups ($p < 0.05$).

According to the results of passive avoidance test, there was a statistically significant increase in the learning index of the IM group compared to the control group ($p < 0.01$), and the learning index of IM+Mel and IM+Mel+Flu significantly decreased compared to the IM group ($p < 0.05$).

The results of the forced swimming test show inactivity increased and activity decreased in the IM group compared to the control group ($p < 0.05$). In addition, activity in all the other groups showed significant increase compared to the IM group ($p < 0.01$).

According to the open field test, time spent in the periphery increased and the time spent in the center significantly decreased in the IM group in comparison to the control group ($p < 0.01$). Compared with the IM group, there was a significant decrease in time spent in the periphery and a significant increase in time spent in the center by the other groups ($p < 0.01$).

In the elevated plus maze test, no statistically significant data was obtained ($p > 0.05$).

According to the MDA measurement, MDA in IM group significantly increased compared to the control group ($p < 0.01$) and MDA in all the other groups decreased significantly compared to the IM group ($p < 0.05$).

In conclusion, stress was created successfully in the subjects by the use of immobilization and melatonin was shown to be at least as effective as fluoxetine in stress treatment but using a combination of these does not make a significant difference compared to using them separately.

Key Words: Stress, Fluoxetine, Melatonin, open field test, forced swimming test, elevated plus maze, passive avoidance test

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Stres; organizmanın dengesini ve homeostazisini bozan fiziksel ve patolojik değişiklikler olarak tanımlanmakta ve birçok hastalığın en önemli sebebi olarak düşünülmektedir (1). Kronik stresin fiziksel ve psikolojik birçok hastalığın görülme olasılığını artırdığı, öğrenme-bellek düzeyinde değişikliklere yol açtığı, bilişsel işlevleri bozarak depresyon, anksiyete benzeri davranışsal bozukluklar oluşturduğu gösterilmiştir (2, 3).

Ayrıca stres esnasında meydana gelen nörokimyasal ve hormonal değişikliklerin oksidatif stres ile ilişkili olduğu bulunmuştur (3). Yapılan çalışmalarda subkronik stres uygulamasının oksidatif stres ile ilişkili olarak beyinde lipit peroksidasyonunu, nitrit düzeyini, katalaz aktivitesini artırdığı; glutasyon düzeyini azalttığı gösterilmiştir (1).

Stres esnasında serotonerjik, noradrenerjik, dopaminerjik etkinlik azalmaktadır (4). Serotonerjik sistem psikolojik durumun, duyguların, uykunun, açlık-tokluk hissinin en önemli belirleyicilerinden olup serotonerjik sistemin antioksidan etki gösterdiğine yönelik çalışmalar devam etmektedir (5). Fluoksetin selektif serotonin re-uptake 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 (6-8).

Ayrıca agomelatinin 5-HT_{2C} serotonin reseptörü antagonizması ve MT₁/MT₂ melatonin reseptörleri üzerine agonist etkisi (4); melatoninin antidepresan etki profilinin araştırılmasına yol açmış, yapılan çalışmalarda melatoninin çeşitli mekanizmalarla stresin yol açtığı oksidatif hasarı önleyebileceği ileri sürülmüştür (9) ve bu çalışmalar sonucunda agomelatinin bazı ülkelerde antidepresan olarak kullanılması söz konusu olmuştur.

Çalışmamızda deneysel olarak oluşturulan immobilizasyon stres modelinde farelerde stresin indüklediği yolaklar üzerine fluoksetin, melatonin ve fluoksetin-melatonin kombinasyonunun tedavi edici etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Bu amaçla stresin yol açtığı davranışsal parametrelere karşı melatonin, fluoksetin ve melatonin-fluoksetin kombinasyonu uygulanarak; deneklerdeki davranışsal değişimin lokomotor aktivite ile ilişkili olup olmadığı açık alan testi ile, ilaçların depresyon üzerine etkilerinin araştırılması zorunlu yüzme testi ile, anksiyete kontrolü yükseltilmiş t labirenti testi ile, öğrenme bellek durumundaki değişiklikler pasif sakınma testi ile ölçülecek ve ilaçların beyinde oluşan oksidatif hasara karşı koruyucu etkileri biyokimyasal olarak malondialdehit (MDA) düzeyleri ölçülerek incelenecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. STRES

Stres; organizmanın değişen çevre koşullarına adaptasyonunu uyaran, organizmanın uyarılmasını sağlayan, rahatsız edici uyaran olarak adlandırılmaktadır (10).

Genel Adaptasyon Sendromu olarak tanımlanan stres, sırasıyla alarm aşaması, direnme aşaması ve tükenme (yorulma) aşaması olmak üzere üç dönemde incelenmektedir. Bu evreler, yoğun fizyolojik, hormonal ve motor reaksiyonlarla birleşerek çeşitli davranışlara neden olmaktadır (11).

1. Alarm aşaması:

Canlının dış uyarı stres olarak algıladığı, sempatik sinir sisteminin etkin hale gelerek ani adrenalin salınımını gerçekleştirip kalp atışını hızlandırdığı, kan basıncını yükselttiği, solunumu hızlandırdığı bedenin savaş ya da kaç tepkisi gösterdiği, glukokortikoid sekresyonu artışı olan aşamadır. Stres kaynağının ve yoğunluğunun artması ile organizma strese duyarsızlaşmaya başlayarak davranışsal anomalilerin ilk belirtileri oluşmaktadır. Organizmanın homeostatik değişimleri şok durumunu; şok durumunda stres hormonlarının salınması ise karşı şok durumu meydana getirmektedir (11).

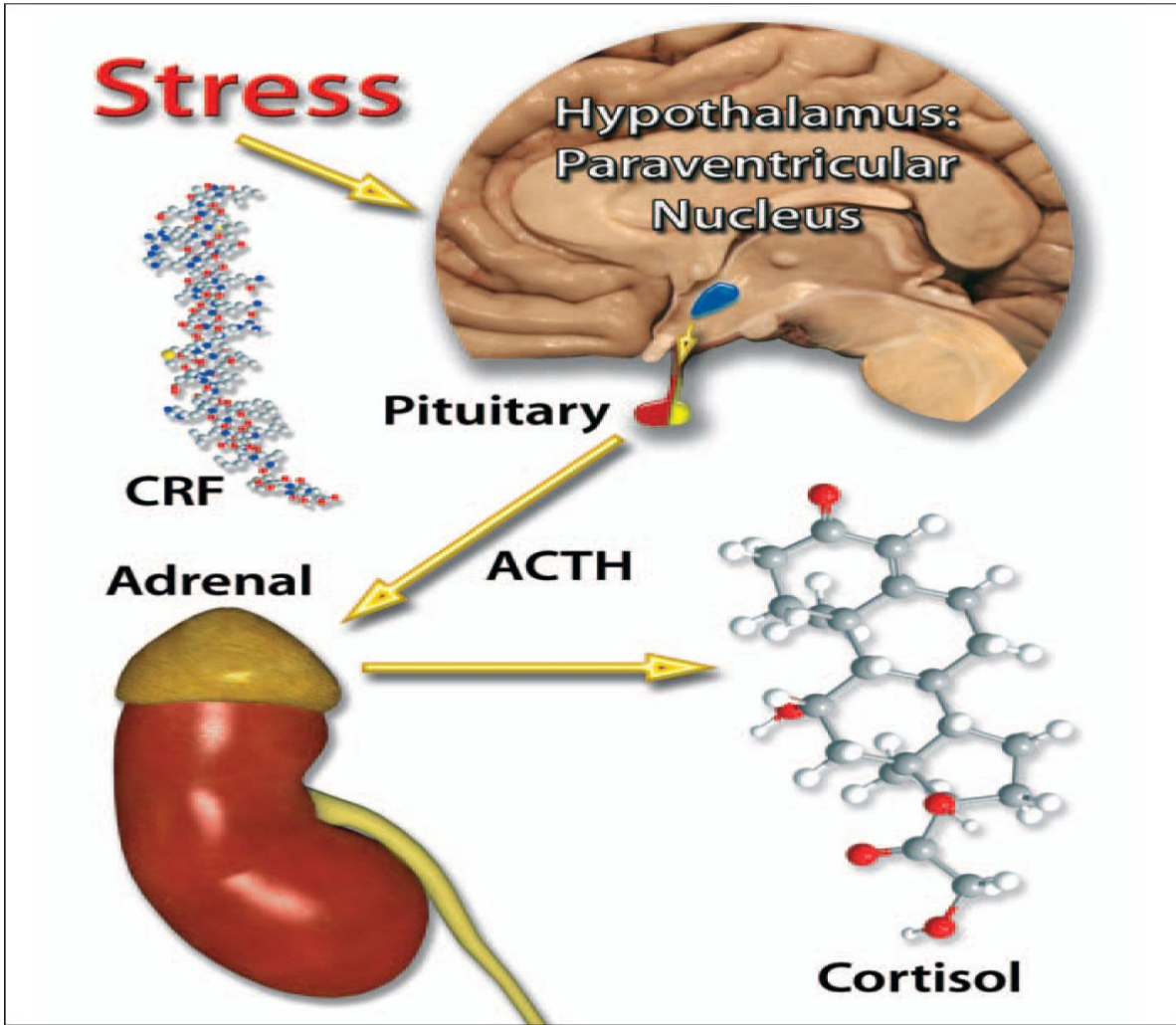
2. Direnme aşaması:

Organizmanın strese karşı duyarsızlaşmasını önleyebilmek için direncini normalin üzerine çıkararak normal durumuna dönmeye çalıştığı aşamadır. Organizma stresle başa çıkarsa kaybettiği enerjiyi ve oluşan hasarı gidermeye çalışır, parasempatik sistem aktivasyonu gerçekleşir. Organizma adaptasyon mekanizmaları geliştirerek devamlı strese maruz kalınmasına rağmen alarm reaksiyonlarının yavaşlamasına neden olmaktadır (11).

3. Tükenme aşaması:

Strese uyum sağlayan organizma artan stres kaynakları ve yoğunluğunu karşılayamamakta, direnç gösterememektedir. Stres kaynaklarıyla baş edilememesi veya uyum sağlanamaması durumunda, fiziksel ve davranışsal bozulmalar yaşanmakta ve tükenme aşamasına geçilmektedir. Tükenme aşamasında organizma mevcut stres kaynağı ve diğer stres kaynaklarına karşı daha savunmasızdır. Ancak stres direnci canlılar arasında farklılık göstermekte ve bazen tükenme aşamasında da yeni stres kaynaklarına karşı alarm reaksiyonları gelişebilmektedir (11).

2.1.1. Stresin Patofizyolojisi



Şekil1. Stres durumunda hipotalamo-pituiter-adrenal (HPA) aks mekanizması (12)

Kronik stres sonucu stres duyarlılığı artarak, beyin nöronlarının yaşamlarını sürdürmelerini sağlayan hedef gen olan beyin kaynaklı nörotrofik faktörün (BDNF) işlevi bastırılmakta, monoamin hipotezine göre de serotonin düzeyi azalmakta, noradrenalin ve dopamin düzeyi ani olarak artıp daha sonra düşmektedir. BDNF işlevindeki azalma prefrontal korteks ve hipokampusta atrofi ve hücre ölümüne neden olabilmektedir. Oluşan nöron hasarı antidepressan tedavi ile düzenlenen monoaminler vasıtasıyla geri döndürülebilmektedir. Apoptozise uğrayan kısımda nörogenез uyarılabilmektedir (4).

Beynin hipokampus ve amigdala kısmı normal durumda hipotalamo-pituiter-adrenal (HPA) uyarımı baskılar. Ancak kronik stres durumunda bu kısımlarda meydana gelen atrofi HPA ekseninin aşırı etkinliğine ve geri bildirim mekanizmasının duyarsızlaşmasına neden

olmaktadır. Ayrıca stres durumunda artan glukokortikoidlerin nöron atrofisini destekleyebildiği yönünde çalışmalar bulunmaktadır (13, 14).

Normal stres durumunda hipotalamus aktive olur, kortikotropin salgılatıcı faktör (CRF) salımı artar, bu durum hipofizin adrenal bezden glukokortikoid salınımını arttıracak adrenokortikotropik hormon (ACTH) salınımını artırır. Glukokortikoid salınımı geri bildirim mekanizmasını uyarıp CRF salımını durdurarak strese verilen cevabın durdurulmasına neden olmakta ve böylelikle stresle baş edilebilmektedir. Ancak kronik stres durumunda artan glukokortikoid hipokampusta atrofiye neden olup, HPA geri bildirim mekanizmasını bozarak HPA sisteminin aşırı etkinleşmesine neden olup psikiyatrik rahatsızlıkların ortaya çıkmasını uyarabilmektedir (4, 15).

2.1.2. Stres Etkenleri

Fiziksel, sosyal ve psikolojik stresörler olarak sınıflandırılmaktadırlar (16).

- 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.

2.1.3. Deneysel Stres

Deneysel olarak stres modeli oluşumu; akut ve kronik stres modelleri olarak iki başlıkta toplanabilir (16).

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 kullanılabilir.

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

2.1.4. Deneysel Stres Modelleri

2.1.4.1. 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 (17, 18).

2.1.4.2. Hareketlerin kısıtlanması:

İmmobilizasyon stres modeli deneklerin akut ve kronik uygulamaya bağlı olarak belirli gün ve saatlerde hareketsiz bırakılması sonucu oluşan nöropsikiyatrik bozukluklar ve oksidatif stres ile karakterize olan bir modeldir (3).

2.1.4.3. 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 (19). Bu şekilde oluşturulan stres modeli genellikle stres kaynaklı gastrik ülser modeli oluşturmak için kullanılmaktadır (20).

Zayıf stres oluşturmak için ise aşağıdaki yöntemler birkaç hafta süre ile uygulanabilmektedir (10):

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

2.2. PSİKOFARMAKOLOJİ AÇISINDAN ÖNEMLİ NÖROTRANSMİTTERLER:

2.2.1. Aminoasit Yapılı Nörotransmitterler

2.2.1.1. Glutamat:

Glutamat; duyuşsal bilgi, motor koordinasyon, duygular, bellek ve öğrenme gibi işlevleri olan merkezi sinir sisteminin temel uyarıcı nörotransmitteridir. Glutamat sinir uçlarında GABA öncü molekülü vasıtasıyla, krebs döngüsünde α -oksoqlutaratın transaminasyonundan ve glial hücrelerde glutaminaz enziminin aracılığıyla glutaminden oluşmaktadır. Glutamaterjik nöronlarda sinaptik veziküllerin içinde, oksidatif stres için savunucu glutatyonun bileşiminde ayrıca nöral ve glial tüm hücrelerde bulunmaktadır. Glutamatın vezikül içine alımı adenozin trifosfat (ATP), magnezyum ve glutamat taşıyıcıları vasıtasıyla gerçekleşmektedir. Glutamatın depolandığı vezikül presinaptik membranla birleşerek glutamatın sinir ucundan salınımı gerçekleşmektedir. Glutamatın hücre içine geri alınması ise yüksek afiniteli sodyum bağımlı glutamat taşıyıcıları aracılığıyla gerçekleşmektedir (10, 21).

Glutamat nöronları uzantıları aracılığıyla verileri daha uzak alanlara iletebilmektedir. Glutamat reseptörleri hipokampus ve neokorteks gibi bölümlerde yoğunlaşmakta olup klasik öğrenme modeli olan uzun süreli güçlendirme (long term potentiation: LTP) üzerindeki etkisi sayesinde öğrenme ve bellek fonksiyonlarının yürütülmesinde etkin rol almaktadır (10, 22).

2.2.1.2. GABA:

GABA beyinde oluşturduğu hiperpolarizasyon aracılığıyla diğer nörotransmitterlerin salınımını azaltarak baskılayıcı görev alan bir nörotransmitterdir. GABA'nın tüm beyinde yaygın olarak bulunması sebebiyle epilepsi, huntington hastalığı, alkolizm, diğer madde bağımlılıkları ve uyku bozukluğu gibi psikiyatrik hastalıkların kökenini oluşturabileceği düşünülmüştür. GABA sentezi; glikoz veya piruvattan elde edilen α -ketoglutaratın GABA transaminaz (GABA-T) ile glutamata, glutamatın glutamik asit dekarboksilaz ile GABA'ya dönüştürüldüğü GABA şantı olarak bilinen metabolik yolak ile gerçekleştirilmektedir. Sinaptik vezikül içinde depolanan GABA sinaptik aralığa salındığında; ya sinir ucundan geri alınıp vezikülden tekrar salınır ya da glial hücrelerce alınıp GABA-T ile süksiniksemialdehit ve glutamik aside dönüştürülerek nörona geri verilmektedir (10, 21).

GABA çoğunlukla beyinde korteks, striatum, hipotalamus, septum ve talamus gibi bölümlerde bulunmakta ve salınımları uyku esnasında artıp anksiyete esnasında azalmaktadır (21).

2.2.1.3. Glisin:

Glisin; beyin sapı ve spinal kordda az miktarda bulunan N-metil-D- aspartik asit (NMDA) işlevlerinin düzenlenmesinde görevli olan aminoasit yapılı bir nörotransmitterdir (10).

2.2.2. Düzenleyici Nörotransmitterler

2.2.2.1. Asetilkolin:

Asetilkolin presinaptik sinir ucunda asetil ve kolin radikalinin asetilkolin transferaz enzimi ile birleştirilmesi ile sentez edilir. Sinaptik aralıkta asetilkolinesteraz tarafından asetil ve koline dönüştürülür. Serbest kalan kolin tekrar asetilkolin sentezi için kullanılmaktadır (21).

Asetilkolinin öğrenme bellek bozukluklarının olduğu Alzheimer hastalığında, beyin bazı bölümlerinde düzeyinin azalmış olduğu bildirilmiştir (23). Yapılan çalışmalarda asetilkolin benzeri etki gösteren ilaçların bilginin edinilmesini ve geri çağırılmasını kolaylaştırdığı bulunmuştur. Depresyon durumunda asetilkolin/ dopamin oranının asetilkolin tarafına kaydığı üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca asetilkolinin uyku durumunun sürdürülmesi ve uykunun REM dönemine geçilmesini sağladığı ileri sürülmüştür (21).

2.2.2.2. Katekolaminler:

Dopamin, adrenalin ve noradrenalin katekolaminler olarak adlandırılmaktadırlar. Tirozinden; substrat olarak tirozin, oksijen radikali ve kofaktör olarak bipterini kullanan tepkimenin hız kısıtlayıcı basamağı olan tirozin hidroksilaz enzimi ile 3,4-hidroksi-L-fenilalanin (L-DOPA), L-DOPA' dan DOPA dekarboksilaz ile dopamin elde edilmektedir. Dopamin sinir ucunun depolarizasyonu ile sinaps aralığına salınır buradan dopaminin bir kısmı dopamin taşıyıcısı (DAT) aracılığıyla tekrar presinaptik uca alınıp vezikülde depolanır. Dopaminin bir kısmı ise adrenerjik sinir uçları ve kromafin hücrelerde noradrenalin vezikülü içine alınarak kofaktörü askorbik asit olan dopamin- β -hidroksilaz enzimi ile noradrenaline çevrilir. Vezikül içindeki noradrenalin sitoplazmaya salınarak kofaktörü S-adenozilmetiyonin olan feniletanolamin N-metil transferaz (FNMT) enzimi ile adrenaline dönüştürüp tekrar vezikül içine alınır. Katekolaminler re-uptake, veziküler re-uptake, ektranöronal re-uptake veya enzimatik olarak yıkılarak elimine edilmektedirler. Dopamin monoaminooksidaz (MAO) tarafından yıkılarak hidrosifenilasetikasit (DOPAC), DOPAC' ın katekol-O-metil transferaz (KOMT) ile yıkımı sonucu ise dopaminin ana metaboliti olan homovanilik asit (HVA) oluşmaktadır. Noradrenalinin enzimatik eliminasyonu ise MAO aracılığıyla 3,4-hidroksimandelikasit (DOMA) veya 3,4-hidroksifenilglükol (DOPG)' e daha sonra KOMT ile

vanililmandelikasit (VMA) veya 3-metoksi 4-hidroksifenilglükol (MHPG)' e dönüşümü şeklinde olur. Adrenalinin eliminasyonu ise noradrenaline benzer biçimde KOMT enzimi ile VMA ve MHPG eliminasyon ürünleri oluşacak şekilde olur (10, 21).

Dopamin salgılayan nöronların duyu durumun düzenlenmesi, lokomotor aktivitenin başlatılması ve sürdürülmesinde önemli olduğu, aşırı etkinliği durumunda psikoz benzeri durumların oluşabileceği gösterilmiştir (24). Ayrıca dopaminin çalışma belleği ve uzaysal bellek fonksiyonları ile ilgili görevler üstlendiği yapılan çalışmalarda ileri sürülmüştür (10, 21, 25).

Noradrenerjik nöron sisteminin; dikkatin toplanması, korku-panik reaksiyonları, anksiyojenik etki, serotonerjik sistemle birlikte uykunun REM (rapid eye movement) süresindeki kas gevşemesinden sorumlu olduğu, majör depresyonlu hastalarda yapılan bazı çalışmalarda noradrenalin etkinliğinin azaldığı bulgusuna rastlanmıştır (26). Adrenerjik sistemin davranışlar üzerine etkisi ise henüz tartışılmaktadır (10, 21).

2.2.2.3. Serotonin:

Serotonin; triptofandan triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksi triptofana, 5-hidroksi triptofan aromatik-L-aminoasit dekarboksilaz enzimi ile 5-hidroksi triptamine (5-HT) dönüştürülerek veziküllerde depolanmaktadır. Serotonin inaktivasyonu; serotoninin, serotonin pompası veya serotonin transporter (SERT) ile hücre içine geri alımı veya MAO-A enzimi ile inaktif şekli olan 5-hidroksiindolasetik aside (5-HIAA) dönüştürülmesi ile olmaktadır (10, 21).

Serotoninin duyu durum, panik, anksiyete süreci, depresyon ve uyku gibi birçok davranışsal yanıtın temelini oluşturduğu gibi bellek ve assosiyatif öğrenmeyi arttırdıklarına dair çeşitli çalışmalar da bulunmaktadır (27). Ayrıca serotoninin uyanıklık→nonREM→REM siklusunun düzenlenmesinde etkin olduğu bilinmektedir (21).

2.3. NÖROANATOMİ

2.3.1. Serebral Korteks

Serebral kortekste duyu, motor ve assosiasyon bölgeleri bulunmaktadır. Duyu bölgelerinin, duyuların bilince iletilmesinden; motor bölgelerinin, motor işlevlerin sistemli olarak başlatılması ve bitirilmesinden; assosiasyon bölgelerinin ise duyular vasıtasıyla elde edilen verilerin bir arada ve kazanılmış tecrübeler doğrultusunda değerlendirilmesi, bellekte bulunan bilgileri çağırarak şahsa özgü bireysel davranış şekillerinin sergilenmesinden sorumlu olduğu belirtilmiştir (10).

➤ Serebral korteksin psikofarmakoloji açısından önemli bazı bölümleri:

2.3.1.1. Medial Prefrontal Korteks

Medial prefrontal korteks ana olarak talamus, hipotalamus, amigdala, hipokampus, limbik ve medial temporal korteksten çoğunlukla dopaminerjik ve serotonerjik uzantılar alan karmaşık bağlantılı bir sistem olarak bilinmektedir. Beynin erken gelişen filogenetik olarak eski bir bölümüdür. Davranış olarak verilen cevap duygusal, içgüdüsel ve dürtülerle oluşturulmaktadır. İnferomedial frontal korteksin içgüdülerin anlamlandırılmasından dorsomedial frontal korteksin ise özellikle uygun düzey ve şiddette uyarılma ile odaklanmadan sorumlu olduğu bilinmektedir (28).

2.3.1.2. Lateral prefrontal korteks

Lateral prefrontal korteks; frontal korteksin yönetsel kısmından sorumlu olan, temel olarak lateral talamus, dorsal kaudat çekirdek ve neokorteks ile dopaminerjik yollar aracılığıyla bağlantısı olan kısımdır. Dorsolateral prefrontal korteksin temel olarak kişinin içinde bulunduğu duruma ilişkin karar verme davranışlardan sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (29).

2.3.1.3. Orbitofrontal korteks

Orbitofrontal korteks dopamin, noradrenalin ve glutamat yolları ve bazal ganglia, hipotalamus, beyin sapı, inferior temporal korteks, amigdala, singulat korteks ile olan anatomik bağlantıları ile çeşitli kaynaklardan gelen emosyonel bilgiyi düzenleyip entegre ederek motor ve otonomik cevaplar üzerinde etki göstermektedir. Orbitofrontal korteksin çalışma hafızasının fonksiyonları bakımından da önemli olduğu bulunmuştur (30).

2.3.1.4. Parietal lob

Temel işlevi, frontal lobun aktivitelerini sürdürebilmesi için duyuşal verilerin toplanması, birleştireilmesi, anlamlandırılması ve depolanmasını sağlamak olarak bildirilmiştir (10).

2.3.1.5. Temporal lob

Daha çok işitme verileri olmak üzere affektif bilgi, dil ve görsel algı girdilerinin işlenmesi ve belleğin kodlanmasında etkin olduğu düşünölmektedir (10).

2.3.1.6. Oksipital lob

Temel işlevi, renk, şekil ve hareketi içeren görsel algının yanı sıra uzamsal, nesne tanınması ve dil ile ilişkili fonksiyonları olan kısım olarak bilinmektedir (10).

2.3.1.7. Parieto-Temporo-Oksipital Korteks

Bu alan komşu işitme, görme ve somatosensöri asosiyasyon kortekslerinden gelen bilgilerin birleştirilip anlamlandırılarak dil, soyutlama, problem çözme gibi çok yönlü bir algılamanın yapıldığı ve diğer zihinsel aktivitelere temel oluşturan alandır (10).

2.3.1.8. Prefrontal korteks

Prefrontal korteksin davranışların amaçlar doğrultusunda başlatılması ve devam ettirilmesi, 'kendilik farkındalığı' duygusunun oluşturulması için; duyguların, temel güdülerin ve sosyal standartların karşılanması sağlayacak şekilde bireyin davranış yöneliminin düzenlenmesi, bir eylemi planlarken fiziksel şartların ve eylemin muhtemel sonuçlarının öngörölmesi, dikkatin toplanması ve doğru yönde yönlendirilmesi, problem çözümede zihinsel kalıpların dışına çıkılması gibi yönetici işlevleri olduğu bilinmektedir (10).

2.3.2. Bazal Gangliyonlar:

Bazal gangliyanın işlevlerinin aksaması ile karakterize olarak hareket bozuklukları meydana gelebilmektedir. Parietal ve temporal assosiyasyon korteksleri striatuma çok fazla veri aktardığı için ve dorsolateral, lateral orbitofrontal ve medial frontal döngülerin bazal gangliyalardan başlaması sebebiyle bazal gangliyanın kortikal işlevlere de katkı sağladığı düşünölmektedir. Bazal ganglia, serebral korteks ve talamus ağı bağlantısındaki olası hareket bozukluklarına, affektif ve bilişsel problemlere neden olabilmektedir (10).

2.3.3. Talamus:

Beynin motor, bilişsel ve duygusal yanıtlarının tümünün; talamusun yapısal/işlevsel segmentleri ve cevapların taşınmasını sağlayan sinir ağları ile düzenlenmesini ve davranışların ortaya çıkmasını dopamin, glutamat, serotonin ve noradrenalin yollarını kullanarak sağlayan çok önemli bir merkezi olarak bilinmektedir. Temel işlevleri; dikkatin düzenlenerek yoğunlaştırılması; duyu verilerinin anlamlı olanlarının seçilerek düzenlenip anlamlandırılması; anamlanan duyu verilerinin motor sonuçlarının uygulanması, devam eden zihinsel süreçler için önemli olan kortikal ve subkortikal yolların devreye sokulmasıdır (10).

2.3.4. Limbik Sistem

Limbik sistem; hipotalamusla birlikte duyguların gösterilmesinde etkin olan sistem olarak bilinmektedir. Ayrıca limbik sistemin öğrenme ve bellek işlevlerinin yürütülmesinde ve koku duyusu ile ilgili davranışsal cevapların verilmesinde özellikle ilkel memeli canlıların davranışlarında önemli yer tutan gıda bulma, çiftleşme, yavrularını tanıma, tehlikeyi sezme, savunma, saldırma gibi cevaplarında önem taşıdığı bilinmektedir. Daha gelişmiş memelilerde ise bu tip ilkel dürtülerden ve duyguların açığa vurulmasından limbik sisteme serebral korteksin assosiasyon alanlarından iletilen veriler çok daha fazla önem taşımaktadır (10).

2.3.4.1. Amigdala

Limbik sistemin bir parçası olan amigdala hiperaktivite oluşturan, korkuyu tetikleyen, konsantrasyon yetisini azaltan, anksiyete benzeri, ve agresif davranışlarla karakterize süreçlerde görev almakta, beyinde amigdala hasarı sonucu olarak korku dolu yüz ifadesinin tanınmaması ile belirginleşen durum ortaya çıkmaktadır (10).

2.3.4.2. İnsula

Limbik sistemin diğeri bir bölümü olan insulanın; duyularla elde edilen bilgilerin davranışsal olarak yansımalarını sağlayacak olan motor aktivite ile iletişiminden ve nöropsikiyatrik hastalıkların dışavurumundan sorumlu olduğu düşünülmektedir (10).

Yapılan çalışmalarda insulanın anksiyete bozuklukları, tourette sendromu, obsesif kompulsif bozukluk ve otizm gibi durumlarda etkin olduğu gösterilmiştir. İnsula boyutları şizofreni hastalarında küçük bulunmuştur. İnsulasında lezyon olan kişilerin duygularının dışavurumunda sorun yaşadıkları ifade edilmiştir. Frontotemporal demans, Alzheimer hastalığı, lewy cisimciği demansı gibi öğrenme-bellek düzeyinde oluşan hastalıklarda insulada doku kaybına rastlanılmıştır (31).

Yapılan çalışmalar sağlıklı kişilerde insulanın iğrenme, keder, dehşet içeren yüz ifadelerinin anlaşılması ve sınıflandırılmasında, ne tür durumlarda korku tepkilerinin verileceğine karar verilmesinde, bazı durum ya da nesnelere karşı fobi tepkilerinin oluşturulmasında, açlık belirtileri, hoş gitmeyen durumların anlaşılması esnasında aktif olduğu gösterilmiştir. Sonuç olarak; insulanın limbik sistemde oluşan duygular ile eylemlerin daha önceki tecrübelerle bakılarak anlamlandırıldığı, eylemleştirildiği nöron sistemi arasında kurulan bağlantıyı sağlayarak empatinin oluşumunda etkin olduğu bildirilmiştir (32).

2.3.4.3. Gyrus singuli:

Limbik sistemin bir parçası olan gyrus singulinin işlevi; insanlarda singulat korteksin uyarılması ile korku, öfori, depresyon, agresif yanıt, reflekslerin yitilmesi, seksüel eğilimde artma, tik benzeri davranışlar ve takıntılı, zorlayıcı, şartlanmış aktiviteye neden olmaktadır. Anterior singulat korteks hasarı duyguların tekdüzeleşmesi ve eylemlerin gerçekleştirilebilmesi için gerekli güdülerin azalması ile sonuçlanmaktadır (33).

2.3.4.4. Hipokampus:

Hipokampus ve çevresindeki kortikal yapıların; bellek kaybı olanlarda daha sonraki yaşamları ile birlikte oluşacak yeni anılarının depolanmasında görev aldıkları bilinmektedir (34). Hipokampus hacmi duygu durum bozuklukları ve travma sonrası stres bozuklukları (TSSB) gibi stres ile ilişkili hasarlarda strese maruz kalmayan veya TSSB gelişmemiş kişilere göre daha küçük olarak bulunmuştur (35). Hayvan modellerinde postnatal hipokampusta oluşan apoptozisin antidepresanlar ve elektro-convulzif tedavi ile oluşan nörojenez vasıtasıyla önlenildiği gösterilmiştir (36).

2.3.5. Serebellum:

Serebellum; motor aktivitelerin gerçekleşmesinde serebral korteks ve bazal ganglia ile birlikte rol almaktadır. Serebral korteks; motor cevabın planlanmasında ve uygulama emrinin verilmesinde, bazal ganglia; motor cevabın planlanan biçimde gerçekleşmesinde, serebellum ise planlanan motor cevabın gerçekleşmesi sırasında vücudun duruşunun ve dengesinin refleksif olarak sağlanması için görev almaktadır (10). Serebellar hasar sonucunda; denge kaybı, hareketlerde sinerjizmanın bozulması, koordinasyon kaybı, titreme, göz titremesi, kekeleme benzeri konuşma bozuklukları, normal duruş pozisyonunu alamama gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır (28). Serebellumun ayrıca klasik koşullanma, zaman bilinci, motor dışı öğrenme süreçleri ile zihinsel ve bedensel cevaplarda da etkin olduğu bildirilmiştir (37). Ayrıca yapılan çalışmalar serebellumun; otizm, şizofreni, anksiyete problemleri, dikkat dağınıklığı ve hiperaktivite sorunsalının patolojisinde etkin olduğunu ileri sürmektedir (38).

2.3.6. Beyin Sapı:

Beyin sapının çekirdekleri olan substansia nigranın kullandığı dopaminerjik, raphe çekirdeğinin kullandığı serotonerjik, locus serolousun kullandığı nöradrenerjik yollar ve bunların kullandığı uzantılar depresyon, şizofreni, anksiyete bozuklukları birçok psikiyatrik bozukluğun patofizyolojisinde rol oynamaktadır ve bu nedenle psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılan ajanların temel hedefi olmaktadır (10).

2.4. STRESİN NÖROANATOMİSİ

2.4.1. Stresin Hipotalamusta Gözlenen Etkileri

Orta şiddette süreğen olmayan stresin öğrenmeyi ve hafızayı güçlendirdiğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır. Şiddetli ve devamlı stresin ise öğrenme bellek üzerinde olumsuz etkisi olduğu gösterilmiştir (39).

Hipokampusa bağlı bellek oluşumunun önemli bir parçası olan uzun süreli güçlendirme (LTP: long term potentiation) şeklinde ifade edilen hipokampal sinaptik nörogenezin yeterince şiddetli bir stres tarafından hasar görebileceği düşünülmektedir. Şiddetli ve süreğen stres uzun erimli baskılamayı (LTD: long term depression) ise arttırmaktadır (40). Ayrıca stres sırasında LTP ve LTD' nin N-metil-D-aspartat (NMDA) tarafından korunmakta olduğu bilinmektedir (41). Stres durumunda serum glukokortikoid düzeylerinin stresin şiddetiyle orantılı olarak arttığı, stresin şiddetinin az olduğu durumlarda glukokortikoid düzeyinin de az olduğu ve LTP' yi geliştirdiği; stresin şiddeti ve glukokortikoid düzeyi arttığında ise LTP' yi azalttığı gösterilmiştir (42).

Uzun süreli strese maruziyetin veya glukokortikoid kullanımının hipokampusta nörojenezin bozulmasına ve hipokampal atrofiye neden olduğu gösterilmiştir (43).

2.4.2. Uzamış Stresin Prefrontal Korteksteki Etkileri

Devamlı stresin, farelerin mediyal prefrontal korteksinin (mPFC) piramidal hücrelerinin apikal dendritlerinde sadece mPFC kısmında olan belirgin bir gerilemeyi tetiklediği bilinmektedir. Dikkati başka alanlara yönlendirebilme yetisi; devamlı olarak strese maruz kalmış veya kronik kortikosteroid uygulanmış, mPFC işlevlerinin gerilediği hayvanlarda bozulmuştur (44). Kronik stres veya glukokortikoid uygulanmasının deney hayvanlarında mPFC' deki glia ve endotel hücrelerinin artışında azalmaya neden olduğu bilinmektedir (45). Glia'nın nörojenezde rolü olan glutamatın yapım ve yıkımı yanı sıra nöron metabolizmasına yardım etme gibi birçok rolü olduğu bilinmektedir (46). Stres ve majör depresif bozukluk (MDB) durumunda gözlenen glia sayısındaki azalma ve prefrontal dendrit atrofisinin hipofrontalite' ye neden olduğu ileri sürülmektedir (47). Akut stres ise amigdalanın prefrontal korteks (PFC)' e olan bağlantıları ile LTP ve LTD arasında tercih değişikliğine neden olabilmektedir (48).

2.4.3. Stresin Amigdaladaki Etkileri

Kronik stres uygulanmasının deney hayvanlarında amigdala bağlantılı korku öğrenmesini kuvvetlendirdiği bilinmektedir (49).

Stres amigdala nöronlarının sinaptik nöroenezini ve işlevini artırarak korku, anksiyete ve emosyonların kontrol edildiği yolların aşırı etkinleşmesine ve nöronların etkinleşmesi, amigdalanın sinaptik nöroenezinin artmasına neden olarak birbirini tetikleyen bu sürecin oluşumuna neden olmaktadır. Farelerde stresin amigdalanın ana hücrelerinde dallanma, dendrik uzama ve sinaptik bağlantıları arttırdığı bilinmektedir (50).

2.4.4. Ventral Striatumda Strese Bağlı Değişiklikler

Stres durumunda doğal ödül düzeneğinde temel rolü olan ventral tegmental alan (VTA)' dan akumbense doğru uzanan dopaminerjik yollar organizmanın homeostazisini koruyacak ve stresle ilişkili öğrenmeye katkıda bulunacak biçimde aktiflenebilmektedir (51).

2.5. KULLANILAN DAVRANIŞ TESTLERİ

2.5.1. Yükseltilmiş T Labirenti

Bilişsel fonksiyonları ölçmek amacıyla oluşturulmuş labirent düzenekleri belli bir miktar yükseltilip kollarından biri veya birkaçı kapalı diğerleri açık tutulmak suretiyle anksiyete ölçümü için uygun deneysel bir düzenek haline getirilebilir ve ilaçların anksiyolitik etkilerinin değerlendirilmesi için kullanılır (10).

Yükseltilmiş artı labirenti testlerinde deney hayvanı kendini kapalı kolda daha emniyette hisseder ve zamanının çoğunu doğal olarak kapalı kol veya kollarda geçirir. Anksiyolitik etkili ilaçlar deneğin açık kol veya kollarda kalma süresini arttırlar. Deneğin hareketleri düzeneğin üzerine yerleştirilecek bir kamera ile kaydedilip daha sonra da değerlendirilebilir (10).

2.5.2. Zorunlu Yüzme Testi

İlk olarak 1977 yılında Porsolt tarafından tanımlanmış bir testtir. Bu nedenle Porsolt zorunlu yüzme testi olarak adlandırılır. Sıçanlarda ilaçların antidepresan etkilerinin değerlendirilmesinde en sık kullanılan yöntemdir (10).

Yöntemin esası deney hayvanının boyunu geçen en az 18 cm çapında ve 40 cm yüksekliğinde 15 cm' lik kısmı su ile dolu bir silindirde yüzmeye bırakılmasıdır. Denek su dolu ortamda yüzmek zorundadır ve tutunup bu ortamdan kurtulabileceği bir yol bulunmamaktadır. Denek belli bir süre bu ortamda yüzerek içinde bulunduğu ortamdan kurtulma ile ilgili derin bir ümitsizlik geliştirir ve yüzme çabasını bırakarak hareketsiz bir şekilde (immobilizasyon) su yüzeyinde kalır. Bu hareketsiz kalma anı umutsuzluk durumu olarak isimlendirilir ve deneğin umutsuzluğa giriş ve bu durumda kalma süreleri kaydedilerek antidepresan etki yorumlanmaktadır. Antidepresan ilaçlar deneğin hareketsizlik süresini kısaltmaktadırlar (10).

Umutsuzluk testinde deneğin yüzmeye terk edildiği suyun ısısı 25-30 °C arasında tutulmalıdır, suyun ısısındaki değişiklikler alınacak yanıtlarda değişiklikler oluşturabilmektedir (10).

2.5.3. Pasif Sakınma Testi

Fare ve sıçanlarda öğrenme bellek fonksiyonlarını değerlendirmek amacıyla kullanılan serotonerjik, glutamaterjik, kolinerjik nörotransmisyonlara duyarlı olan bir testtir (52).

Bu testte birbirine eşit ebatta olan iki kısım vardır. Bu iki bölmenin ortasında deneklerin geçişini sağlayan açılıp kapatılabilir kapı bulunur. Bölmelerden biri karanlık diğeri

ise aşırı aydınlıktır. Deneklerin normal davranışı karanlık alanda olmak yönündedir (53). Denekler aydınlık bölme konular ve karanlık bölme geçmek isterler. 300 saniyede karanlık bölme geçmeyenler deney dışında bırakılır. Denek karanlık bölme geçtikten sonra kapı kapatılarak belirli süre ve şiddette elektrik şoku uygulanır. Bu edinimin ertesi günü deneklerin ilk gün tercih ettikleri, kendilerine şok verilen karanlık bölme yerine aydınlık bölmede kalmayı öğrenmesi pasif sakınmadır (54).

2.5.4. Lokomotor Aktivite Değerlendirmesi

Bu test genel lokomotor aktivite değerlendirilmesi için kullanılır. Eni ve boyu eşit olan üstü açık siyah bir kutu içerisinde deneklerin belirlenen santral ve periferik alana girme hızları ve giriş-çıkış sayıları, bu alanlarda kalma süreleri beş dakika boyunca ölçülerek değerlendirilir (55). Lokomotor aktivite aparatı ile anksiyete değerlendirilmesi de yapılabilmektedir. Deneklerin santral alanda kalış sürelerinin azalması, periferik alanda kalış sürelerinin artması anksiyete lehine değerlendirilmektedir (56).

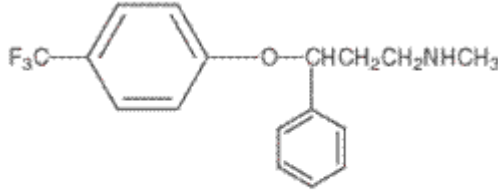
2.6. ANTİDEPRESANLAR

Sınıflandırılması

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

Selektif serotonin geri alım inhibitörleri tedavi dozlarında beyinde diğer nörotransmitter sistemlerine dokunulmaksızın serotonin geri alınımını çok güçlü bir biçimde bloke eden ajanlardır. Depresyon tedavisinin yanı sıra anksiyete bozukluklarının tedavisinde de kullanılabilirler. SSRI' ların uzun süre kullanımından sonra birden kesilmesi durumunda ekstrapiramidal yan tesirlerle birlikte kesilme sendromu gözlenebilmektedir (21).

2.6.1. Fluoksetin



Fluoxetine

Şekil 2. Fluoksetinin kimyasal yapısı

Fluoksetin fenilpropilamin türevi bir ilaçtır. Fluoksetin S/R formlarının 50/50 rasemik karışımı şeklinde bulunmaktadır. Fluoksetinin antidepresan ve anksiyolitik etkisini onaylayan birçok çalışma bulunmaktadır (7). Psikostimülan etkinlik gösterdiği bildirilmiştir. 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 (21).

Fluoksetin ayrıca serotonin etkisinin bloke edilmesinden, noradrenalin ve dopamin salınımının arttırılmasından 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 (4).

Fluoksetinin yarılanma ömrü 53 saattir. Norfluoksetinin yarılanma ömrü ise 5-16 gündür. Bu özelliği nedeni ile SSRI' ların karakteristik özelliği olan kesilme reaksiyonlarını azaltmaktadır. Ancak fluoksetin tedavisinden başka bir tedaviye geçilmek istenirse ilacın vücuttan uzaklaştırılması uzun sürmektedir (4).

2.6.2. Melatonin

Melatonin temel olarak insan beyninin pineal bezinden sentezlenmekle birlikte retina, timus, kemik iliği, deri, barsak, lens ve diğer kısımlarda da bulunan bir bileşiktir. Pineal melatonin membrandan geçerek tüm vücuda dağılır ancak retinal melatonin yalnızca gözde bulunur. Melatonin fizyolojik ve patolojik birçok süreçte etkindir. Melatonin klasik kronobiyoloji ile sirkadiyen gece- gündüz ritmini, dönemsel biyoritmi düzenleyen bir hormondur (10).

2.6.2.1. Melatoninin yapısı

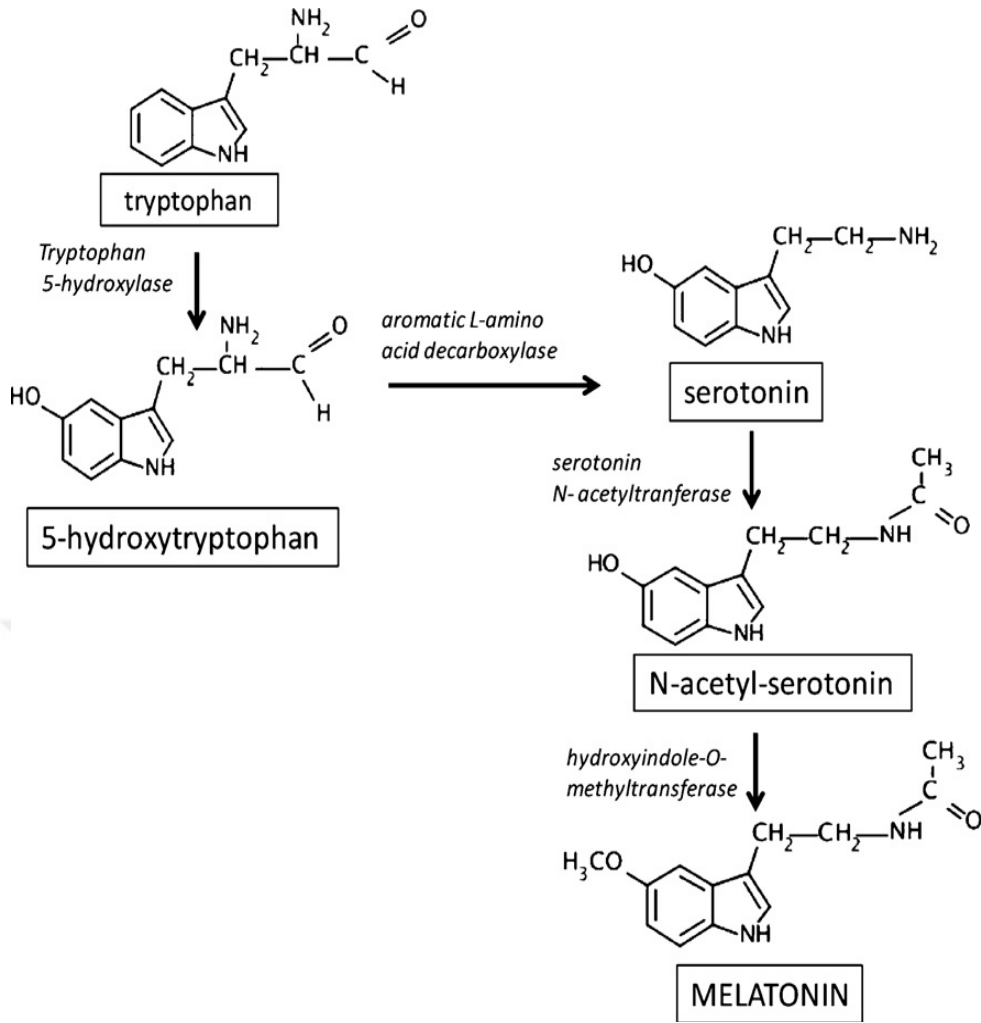
Melatonin reseptörlere bağlanmanın yanı sıra hücre içine ve vücut sıvılarına kolayca girmesini sağlayan amfifilik özelliğini yapısındaki iki fonksiyonel gruba borçlu olan bir indolamindir. Melatonin yağda iyi çözüldüğü için periferel dolaşımdan diğer hücre ve sıvılara kolayca difüze olabilmektedir. Serumda melatoninin %70 i albumine bağlı olarak %30 u ise çevre dokularda bulunur (10, 21).

2.6.2.2. Melatonin sentezi

Triptofan ve serotonin melatonin prekürsörüdür. Melatonin sentezinden iki önemli enzim sorumludur: serotonininden N-asetil serotonin oluşturan N asetil transferaz ve N-asetil serotonininden melatonin oluşturan hidroksiindol -O- metil transferaz (21).

Melatonin salınımı gece gündüz siklusuna bağlı olarak retino hipotalamik yol ve optik sinirlerin iletilerini retinal gangliyon hücre aksonları vasıtasıyla anterior hipotalamusa ulaştırması ile gerçekleşmektedir. Suprakiazmatik nukleus, paraventriküler nukleus ve pregangliyonik sempatik nöronlar ile pineal bezeye bağlıdır. Pinealosit membranın postgangliyonik sempatik kısmından salınan norepinefrin cAMP ve diğer ikinci habercileri uyarak melatonin sentezi ilk enzimi olan N-asetil transferazın salgılanmasını sağlar. Memeli olmayan canlılarda bu enzim pineal bezdeki sirkadiyen ritm tarafından kontrol edilir (4).

Melatonin salgılanması günlük bir ritimdedir. Gece saat üçe kadar melatonin sentezi ve salınımı stimüle olur, pik seviyelerine ulaşır. Daha sonra konsantrasyonu gün boyunca düşer. Pineal bezde sentezlendikten sonra melatonin kan, serebrospinal sıvı ve vücuttaki tükürük, meni, yumurtalık folikül sıvısı, amniyotik sıvı, safra gibi vücuttaki birçok sıvıda bulunur. Metabolize olmayan küçük miktardaki melatonin idrar ile atılır. Melatonin karaciğer P450 monoksijenazları tarafından 6-hidroksi melatonine konjugasyonundan sonra temel üriner metaboliti olan 6- sülfatoksi melatonine dönüştürülür (4, 10, 21).



Şekil 3. Melatonin biyosentezi (57)

2.6.2.3. Melatonin reseptörleri

Memelilerde 3 temel melatonin reseptörü bulunmuştur. Bunlardan ikisi 7 transmembranal G proteini kenetli MT_1 ve MT_2 ' dir. Bu reseptörlerin melatoninin moleküler yapısı ve kromozomal yerleşimi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. N bölgesinde MT_1 iki glikozilasyon, MT_2 ise bir glikozilasyon bölümüne sahiptir. Her iki reseptör de etkisini cAMP inhibisyonu, protein kinaz A aktivasyonu, fosfolipaz A_2 / C ve kalsiyum-potasyum kanallarıyla gösterir (21).

MT_3 reseptörü ise kinon redüktaz-2 olarak tanımlanan bir enzimdir. Melatonin ile ilişkili olduğu düşünülen diğer bir reseptör ise insanlarda da bulunan G proteini kenetli reseptör 50 (GPR50)' dir. Memeli olmayan türlerde ise Mel_{1C} ilk bulunan melatonin reseptörüdür. Melatonin reseptör ekspresyonunun da sirkadiyen ritim ile ilgili olduğu ispatlanmıştır (10, 21).

2.6.2.4. Melatoninin fizyolojik etkileri

Birçok fizyolojik–patolojik durumun senkronize edilmesinde etkindir. Gece gündüz döngüsü ile oluşan sirkadiyen ritmin ayarlanmasında etkindir. İmmun sistem cevabında, kilo kontrolünde, üremede, tümör büyümesinin inhibisyonunda, jet-lag durumunun önlenmesinde ve oksidasyonun azaltılmasında etkin rollerinin olduğu bildirilmiştir (58).

2.6.2.5. Melatoninin antioksidan özellikleri

Oksidatif stresle birlikte oluşan süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil (OH^\cdot), peroksil (ROO^\cdot) ve alkoksil (RO^\cdot) gibi reaktif oksijen türleri normal oksijen molekülüne göre daha yüksek kimyasal aktivite göstermektedir. Vücutta protein, lipit, DNA ve nükleotid koenzimler gibi biyolojik materyallerle etkileşime geçen dış atomik orbitalde bir yada daha fazla eşleşmemiş elektronlara sahip yüksek enerjili stabil olmayan serbest radikaller dokulara zarar verirler. Oluşan zararın yaşlanmayı arttırdığı veya yaşlanmayla arttığı kalp hastalıkları, kanserler, bağışıklık sisteminin zayıflaması, dejeneratif sinir sistemi hastalıkları ile ilişkili olduğu bulunmuştur (57).

Melatonin bağlanma bölgesi ve reseptöre ihtiyaç duymadan, serbest oksijen radikallerini toplayarak doku hasarını önleyebilir. Melatonin koruyucu özelliğini direkt serbest radikalleri elimine ederek, antioksidan enzimlerini melatonin reseptörleri aracılığıyla aktive ederek, pro-oksidatif enzimlerin inhibisyonuyla gösterir. Melatoninin indol nükleusundaki metoksi ve asetil grupları en zararlı radikallerden olan hidroksil radikalinin giderilmesinde etkin olmaktadır. Melatonin, hidroksil radikali ile reaksiyona girer ve indolil katyon radikaline dönüşerek ortamdaki süperoksit (O_2^-) radikalini tutar veya süperoksit dismutazın mRNA' sını arttırarak süperoksit radikalini engeller. Bunların yanı sıra melatonin; glukoz-6-fosfat dehidrogenaz, glutatyon redüktaz ve peroksidazın aktivitesini uyarır, H_2O_2 ' nin hücre içi konsantrasyonunu azaltır (57).

Melatonin serbest radikalleri tutması, zehirli ve kimyasal maddeleri uzaklaştıran yolları aktiflemesi gibi mekanizmalarla DNA'yı oksidatif hasardan koruyarak tümör oluşumunu baskılar. Melatonin kanserli hücrelerin gelişimi, bölünmesi ve çoğalması için gerekli linoleik asitin kanserli hücreye girmesini engellemekte ve metabolizmasını baskılamaktadır (57).

2.6.2.6. Melatoninin antidepresan özellikleri

Melatoninin; kronik stres uygulamasında imipramin, fluoksetin, desipramin gibi etkin olduğu bazı davranış testleri ile gösterilmiştir. Non-selektif melatonin MT₁/MT₂ reseptör antagonisti luzindolün melatoninin antidepresan etkisini tersine çevirdiği zorunlu yüzme testi ile gösterilmiştir (59). Bununla birlikte, MT₁ reseptörü olmayan farelerde yapılan çalışmalarda depresyon benzeri davranışlar gözlenmiştir. Bu nedenle; melatoninin antidepresan etkisinde diğer nörotransmitterlerinde katkısı olabileceği düşünülmüştür (60). Birçok çalışma depresyonda GABA_Aerjik sistemin az çalıştığı ve GABA agonistlerin antidepresan etki gösterebileceğini ileri sürmüştür. Melatoninin de GABA_A reseptör sayısını arttırdığı bu artışın antidepresan etkiye katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (61). Santral serotonerjik nörotransmisyon, periferel benzodiazepin reseptör, NMDA glutamat reseptör ve L-arginin nitrik oksit yolağı melatoninin antidepresan benzeri etkisini kapsamaktadır (62).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç:

3.1.1. Kullanılan araç ve gereçler:

Elevated plus maze (MAY EPM01-M)

Forced swimming test (MAY FSTM-M)

Passive avoidance test (MAY-PA 1014-M)

Open field test (MAY OP-M)

Hot plate test (MAY 9601)

İmmobilizasyon düzeneği

Hassas terazi (Sartorius BP 1215)

Santrifüj cihazı (Janetzki T5)

Cerrahi alet seti

Bilgisayar

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

3.1.2. Kullanılan Deney Hayvanları:

Çalışmada 13.04.2016 tarihli 16 nolu etik kurul onayı ile Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM)' nden temin edilen ortalama 40 gram ağırlığında 48 adet erkek BALB/c fare kullanıldı. Çalışma süresince 'Hayvan Haklarının Korunması' hususundaki esaslara özenle uyuldu.

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Melatonin (Sigma-Aldrich)

Fluoksetin (Sigma-Aldrich)

Absolut alkol (Merck)

3.2. Yöntem

Çalışma her biri 6 hayvandan oluşan 8 grupta gerçekleştirildi.

1. **Kontrol Grubu;** 7 gün süre ile günde 1 kez 1 ml (i.p) steril salin enjeksiyonu yapıldı.
2. **İmmobilizasyon Stres Grubu;** 7 gün süre ile günde 1 kez 1 ml (i.p) steril salin enjeksiyonu yapıldı. Günde 6 saat immobilizasyon stres düzeneğine bırakıldı.
3. **Melatonin+İmmobilizasyon Grubu;** 7 gün, günde 1 kez 10 mg/kg (i.p) Mel enjeksiyonu yapıldı. Ayrıca denekler günde 6 saat immobilizasyon stres düzeneğine bırakıldı.
4. **Fluoksetin+İmmobilizasyon Grubu;** 7 gün, günde 1 kez 20 mg/kg (i.p) Flu enjeksiyonu yapıldı. Ayrıca denekler günde 6 saat immobilizasyon stres düzeneğine bırakıldı.
5. **Melatonin+Fluoksetin+İmmobilizasyon Grubu;** 7 gün, günde 1 kez 20 mg/kg (i.p) Flu ve 10 mg/kg (i.p) Mel enjeksiyonu yapıldı. Ayrıca denekler günde 6 saat immobilizasyon stres düzeneğine bırakıldı.
6. **Melatonin (Mel) Grubu;** 7 gün, günde 1 kez 10 mg/kg (i.p) Mel enjeksiyonu yapıldı.
7. **Fluoksetin (Flu) Grubu;** 7 gün, günde 1 kez 20 mg/kg (i.p) Flu enjeksiyonu yapıldı.
8. **Melatonin+Fluoksetin Grubu;** 7 gün, günde 1 kez 20 mg/kg (i.p) Flu ve 10 mg/kg (i.p) Mel enjeksiyonu yapıldı.

3.2.1. Farmakolojik inceleme:

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 boyutlarda özel olarak hazırlanmış kafeslerde 7 gün, günde 6 saat tutulması ile oluşturuldu. 7. Günün sonunda davranış testleri uygulandı. Davranış testleri sonunda denekler eter anestezisi altında dekapitasyonla kurban edildi. Beyin dokuları izole edilerek -80 °C' de saklandı.

3.2.1.1. 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.

3.2.1.2. 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.

3.2.1.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent testinde kullanılan düzenek; yerden yüksekliği yaklaşık 50 cm olan, her biri 35 cm uzunluğunda iki açık ve iki kapalı kol ile 5x5 cm'lik santral alandan oluşan + (artı) şeklinde tamamen siyaha boyanmış bir düzenektir.

Düzeneğin ortasına konan deneğin hareketleri 5 dakikalık (300 sn) test süresince video kamera yardımı ile kaydedildi. Deney sonrasında elde edilen video kayıtları üzerinden deneklerin açık ve kapalı kollarda geçirdiği süre, açık ve kapalı kollara giriş sayısı Ethovision XT 11 (Noldus Inf. Tech. Netherlands) programı kullanılarak hesaplandı. Her bir deney sonrası yükseltilmiş artı labirent testi düzeneği % 20 alkol ve ardından çeşme suyu ile silinerek kurulandı.

3.2.1.4. 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.

3.2.1.5. Ağrı düzeyi tayini (Hot plate testi) :

Ağrı (analjezik etki) düzeyi ölçümü için, hot plate düzeneği kullanıldı.

Test, 56 °C sıcaklıkta metal zeminli ve etrafı pleksiglas bir kapla (H26 cm, D19 cm) çevrili bir sistem üzerinde gerçekleştirildi. Deneklerin arka ayaklarını yalamaları veya zıplama hareketi yapmaları halinde deney sonlandırıldı (max 30sn)

3.2.2. Biyokimyasal inceleme

3.2.2.1. MDA düzeyleri tayini:

Dokular Triklorasetik asit (TCA) içerisinde homojenize edildikten sonra santrifüj edildi. Süpernatanın hacmi kadar TBA (tiyobarbitürik asit) ilave edilip 10 dk kaynatıldı. 532 nm de absorbanslar okundu. MDA konsantrasyonu 1.56×10^5 molar ekstinksiyon katsayısı kullanılarak hesaplandı. Sonuçlar gram yağ doku başına nmol MDA olarak ifade edildi (63).

3.3. İstatistiksel Analiz

Veriler ortalama \pm standart hata 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.

4. BULGULAR

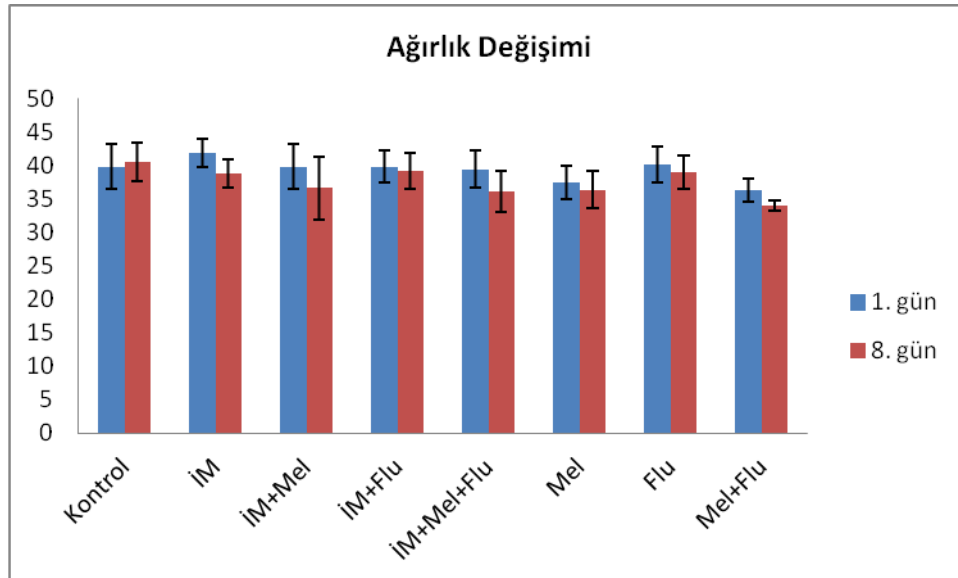
4.1. Deneklerdeki Ağırlık Değişimi

Deneklerin 1. ve 8. gün arasındaki ağırlık değişimi Tablo 1'de gösterilmektedir. Kontrol grubu dışındaki tüm gruplarda 1. ve 8. günler arasında ağırlık kaybı gözlenirken kontrol grubunda ortalama 0,7 gr ağırlık artışı gözlenmektedir. İM, İM+Mel, İM+Mel+Flu, Mel ve Mel+Flu gruplarında oluşan ağırlık değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. ($p<0.05$, Tablo 1, Şekil 3)

Tablo 1. Deneklerin 1. ve 8. gündeki ağırlıkları

İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin

Gruplar	1. gün ağırlık	8. gün ağırlık	Değişim	P
Kontrol	39,8±3,4	40,5±2,8	0,7	>0.05
İM	41,8±2,1	38,8±2,1	-3	0.027
İM+Mel	39,8±3,3	36,6±4,7	-3,2	0.027
İM+Flu	39,8±2,4	39,1±2,7	-0,7	>0.05
İM+Mel+Flu	39,4±2,8	36,1±3,1	-3,3	0.027
Mel	37,5±2,5	36,3±2,8	-1,2	0.038
Flu	40,1±2,6	39,0±2,5	-1,1	>0.05
Mel+Flu	36,3±1,7	34,0±0,8	-2,3	0.026



Şekil 4. Deneklerin 1. ve 8. gündeki ağırlıkları İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin

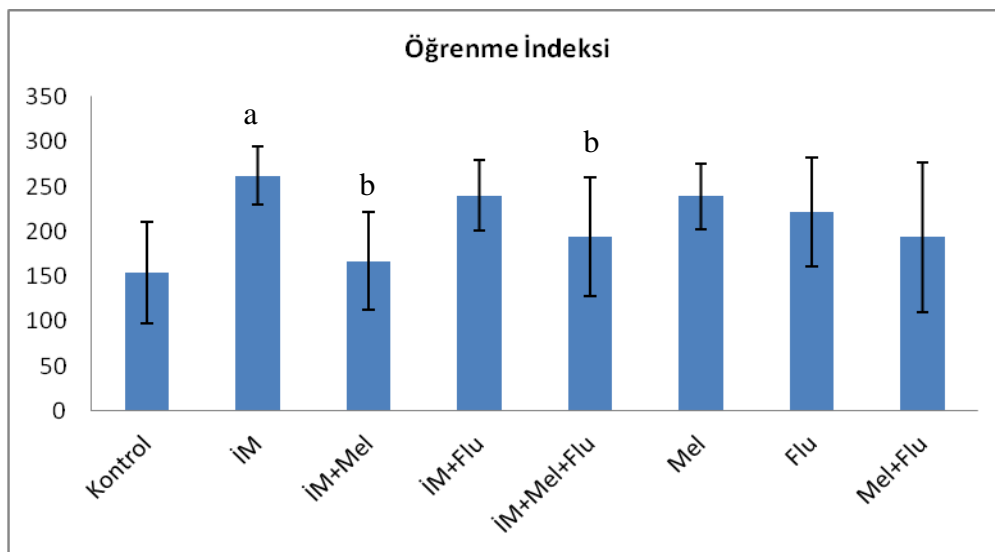
4.2 Pasif Sakınma Testi Bulguları

Gruplarda iki gün arka arkaya yapılan pasif sakınma testinden elde edilen veriler ile hesaplanan öğrenme indeksi değerleri Tablo 2' de gösterilmektedir. Bu verilere bakıldığında İM grubundaki deneklerin öğrenme indeksinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu gözlenmiştir ($p<0.01$). İM+Mel ve İM+Mel+Flu gruplarındaki öğrenme indeksi verileri ise İM grubuna göre anlamlı olarak düşüktür ($p<0.05$, Tablo 2, Şekil 5). Bu sonuçlar İM uygulanan grupta öğrenme ve dikkatin arttığını, immobilizasyona ilave olarak melatonin uygulanan gruplarda ise artmış olan öğrenme ve dikkatin azaldığını göstermektedir.

Tablo 2. Grupların öğrenme indeksi verileri. İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin

Gruplar	Öğrenme indeksi*
Kontrol	153,6±56,8
İM	262,0±32,8 ^a
İM+Mel	167,0±54,3 ^b
İM+Flu	239,8±39,5 ^c
İM+Mel+Flu	194,1±66,1 ^b
Mel	239,0±36,3 ^c
Flu	221,8±60,7
Mel+Flu	193,5±83,2

* $p<0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p<0.01$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^b $p<0.05$ İM grubu ile karşılaştırıldığında, ^c $p<0.05$ İM+Mel grubu ile karşılaştırıldığında,



Şekil 5. Grupların öğrenme indeksi verileri.

^a $p<0.01$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^b $p<0.05$ İM grubu ile karşılaştırıldığında,

4.3 Zorunlu Yüzme Testi Bulguları

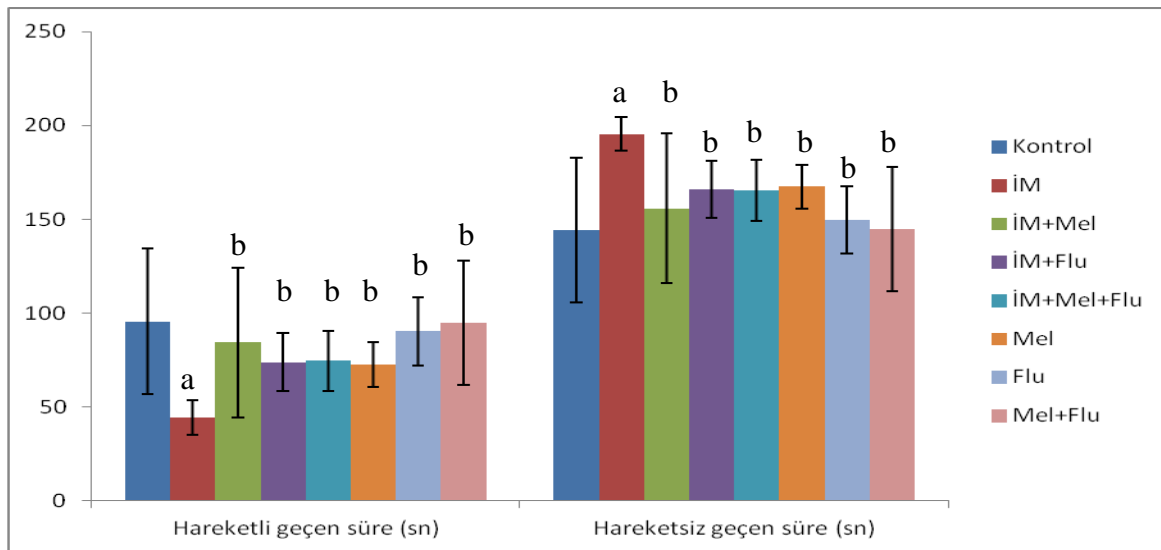
Deneyisel çalışmalarda depresyon eğilimini belirlemek için kullanılan zorunlu yüzme testi bulguları Tablo 3'te gösterilmektedir. Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında İM grubunda hareketsiz geçen sürenin anlamlı olarak arttığı, hareketli geçen sürenin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ($p<0.05$). İM ile birlikte veya onsuz ilaç uygulanan tüm gruplarda tek başına İM uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde hareketlenmenin arttığı gözlenmiştir ($p<0.01$, Tablo3, Şekil 6).

Tablo 3. Zorunlu yüzme testinde hareketli ve hareketsiz geçen süreler.

İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin

Gruplar	Hareketli geçen süre (sn)*	Hareketsiz geçen süre (sn)*
Kontrol	95,6±38,6	144,4±38,6
İM	44,4±9,18 ^a	195,5±9,18 ^a
İM+Mel	84,3±39,9 ^b	155,7±39,9 ^b
İM+Flu	73,9±15,3 ^b	166,0±15,3 ^b
İM+Mel+Flu	74,6±16,1 ^b	165,4±16,1 ^b
Mel	72,5±11,8 ^b	167,4±11,8 ^b
Flu	90,3±18,0 ^b	149,6±18,0 ^b
Mel+Flu	94,9±33,1 ^b	145,0±33,1 ^b

* $p<0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p<0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^b $p<0.01$ İM grubu ile karşılaştırıldığında



Şekil 6. Zorunlu yüzme testinde hareketli ve hareketsiz geçen süreler.

İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin

^a $p<0.05$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^b $p<0.01$ İM grubu ile karşılaştırıldığında

4.4. Açık Alan Testi Bulguları

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 ($p<0.01$, Tablo 4, Şekil 7). Bu sonuçlar çalışmamızda uyguladığımız immobilizasyonun deneklerde belirgin olarak anksiyete oluşturduğunu göstermektedir. İlaç uygulanan tüm gruplarda İM grubu ile karşılaştırıldığında periferik alanda geçirilen süre anlamlı olarak azalmış, santral alanda geçirilen süre anlamlı olarak artmıştır ($p<0.01$, Tablo 4, Şekil 7). Santral ve periferik alana giriş sayıları açısından kontrol grubu ile İM grubu arasında anlamlı bir farklılık bulunmamıştır ($p>0.05$, Tablo 4, Şekil 8).

Tablo 4. Açık alan testinde santral ve periferik alanda geçirilen süreler

İM: İmmobilizasyon, Mel: Melatonin, Flu: Fluoksetin

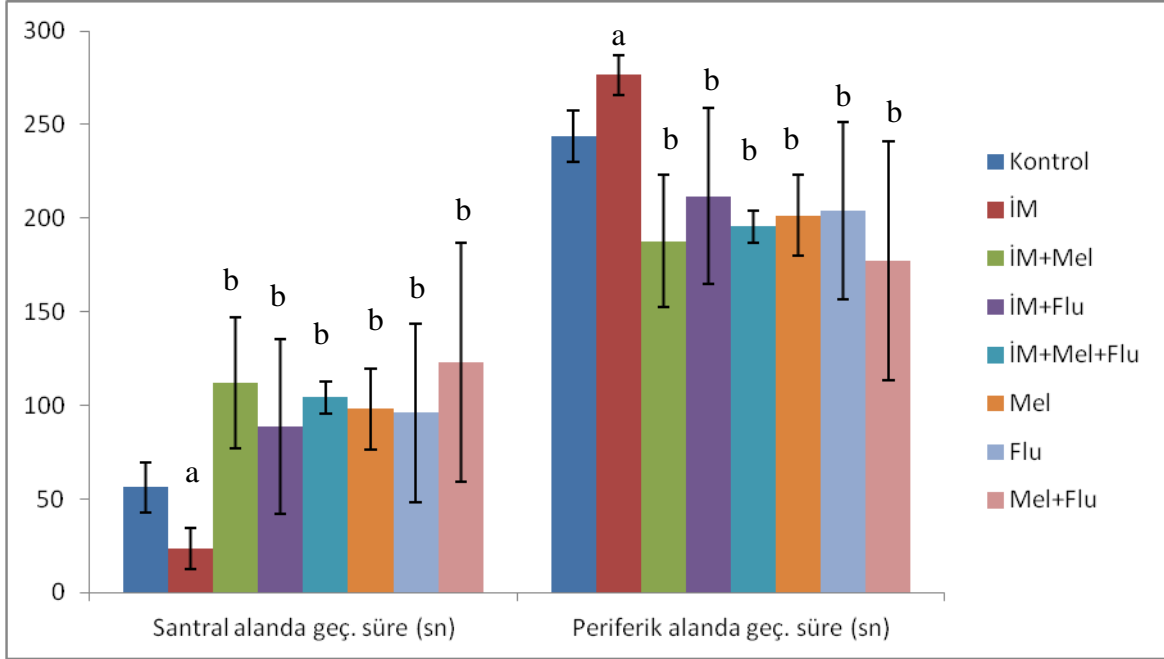
Gruplar	Santral alanda geçirdiği süre (sn)*	Periferik alanda geçirdiği süre (sn)*	Santral alana giriş sayısı *	Periferik alana giriş sayısı*
Kontrol	56,3±13,4	243,8±13,5	21,3±12,5	22,6±11,1
İM	23,4±10,8 ^a	276,5±10,8 ^a	13,3±5,6	14,3±5,6
İM+Mel	112,0±35,1 ^b	187,8±35,2 ^b	82,5±9,3 ^b	110,7±16,5 ^b
İM+Flu	88,9±46,7 ^b	211,9±46,9 ^b	130,6±54,6 ^b	205,8±93,4 ^b
İM+Mel+Flu	104,3±8,42 ^b	195,6±8,42 ^b	198,8±44,4 ^{b,c,d}	271,0±74,7 ^{b,c}
Mel	98,3±21,6 ^b	201,6±21,6 ^b	61,2±21,4 ^{b,e}	70,0±24, ^{b,c,d,e}
Flu	96,0±47,5 ^b	203,9±47,5 ^b	80,2±29,8 ^{b,f}	112,0±48,1 ^{b,d}
Mel+Flu	122,9±63,9 ^b	177,1±63,9 ^b	110,2±68,8 ^{b,d}	159,7±93,9 ^b

* $p<0.05$ Kruskal-Wallis testi

^a $p<0.01$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^b $p<0.01$ İM grubu ile karşılaştırıldığında,

^c $p<0.05$ İM+Mel grubu ile karşılaştırıldığında, ^d $p<0.05$ İM+Flu grubu ile karşılaştırıldığında,

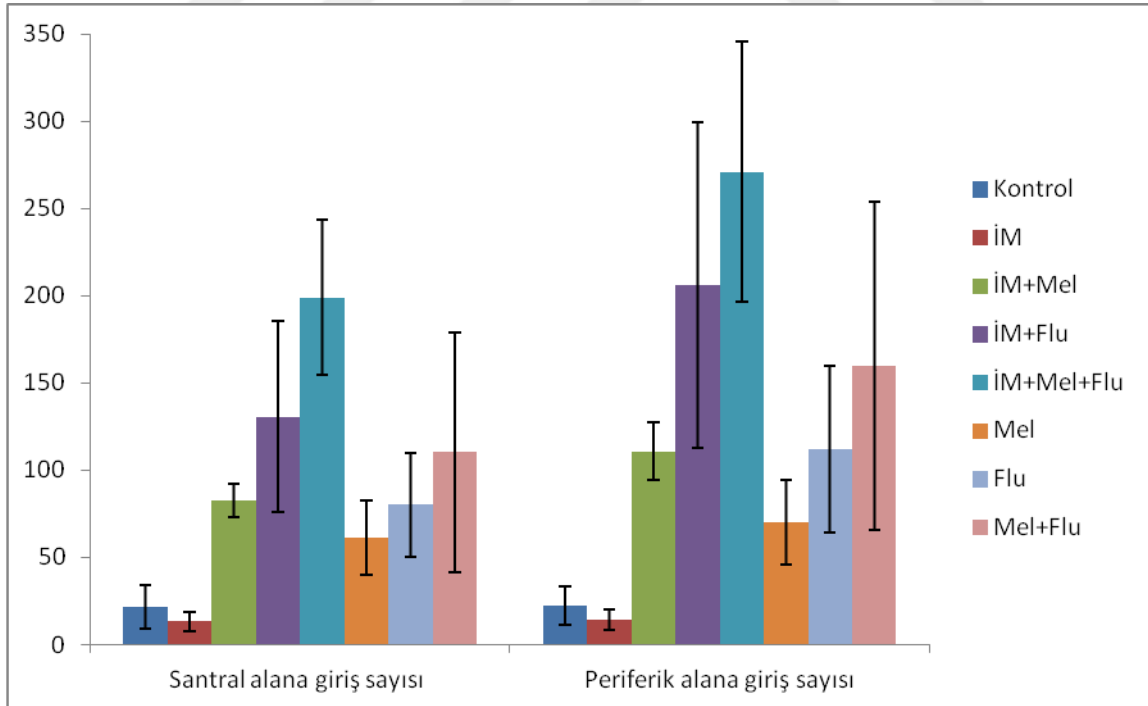
^e $p<0.01$ İM+Mel+Flu grubu ile karşılaştırıldığında, ^f $p<0.01$ İM+Mel+Flu grubu ile karşılaştırıldığında



Şekil 7. Açık alan testinde santral ve periferik alanda geçirilen süreler.

İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin

^ap<0.01 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^bp<0.01 İM grubu ile karşılaştırıldığında



Şekil 8. Açık alan testinde santral ve periferik alana giriş sayıları.

İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin

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 5' te sunulmuştur. İM grubu kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha az mesafe kat etmiştir ($p<0.01$, Tablo 5, Şekil 9). Ulaşılan ortalama hız açısından da İM grubunda kontrol grubuna göre bir azalma mevcuttur ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0.05$, Tablo 5, Şekil 9). İlaçlı tüm gruplarda kat edilen toplam mesafe ve ulaşılan ortalama hız İM grubuna göre anlamlı olarak artmıştır ($p<0.01$, Tablo 5, Şekil 9 ve 10).

Tablo 5. Açık alan testinde kat edilen mesafe ve hızın karşılaştırılması.

İM: İmmobilizasyon, Mel: Melatonin, Flu: Fluoksetin

Gruplar	Mesafe (cm)*	Hız (cm/sn)*
Kontrol	1616±320	5,38±1,06
İM	1127±320 ^a	4,53±0,86
İM+Mel	4624±775 ^b	15,3±2,5 ^b
İM+Flu	10404±4238 ^{b,d}	34,6±14,1 ^{b,d}
İM+Mel+Flu	11414±4264 ^{b,d}	38,1±14,3 ^{b,d}
Mel	2199±576 ^{b,d,e,f}	7,3±1,9 ^{c,d,e,f}
Flu	4244±2112 ^{b,e,f}	14,1±7,04 ^{b,e,f}
Mel+Flu	7698±5052 ^{b,g}	25,6±17,0 ^{b,g}

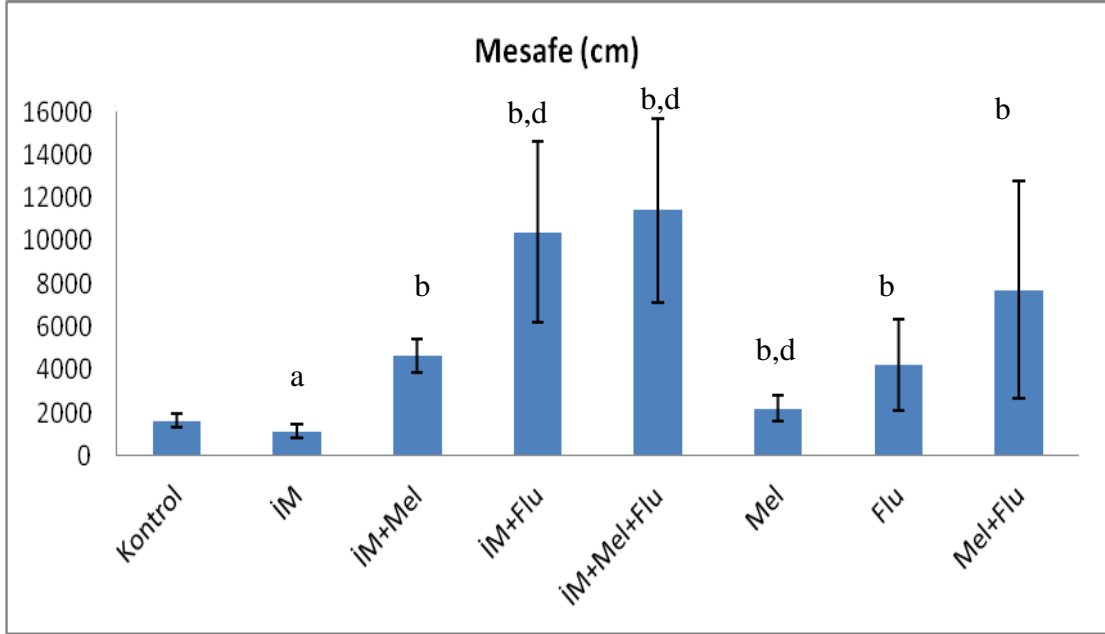
* $p<0.05$ Kruskal-Wallis testi

^a $p<0.01$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^b $p<0.01$ İM grubu ile karşılaştırıldığında,

^c $p<0.05$ İM grubu ile karşılaştırıldığında, ^d $p<0.05$ İM+Mel grubu ile karşılaştırıldığında,

^e $p<0.05$ İM+Flu grubu ile karşılaştırıldığında, ^f $p<0.05$ İM+Mel+Flu grubu ile karşılaştırıldığında,

^g $p<0.05$ Mel grubu ile karşılaştırıldığında

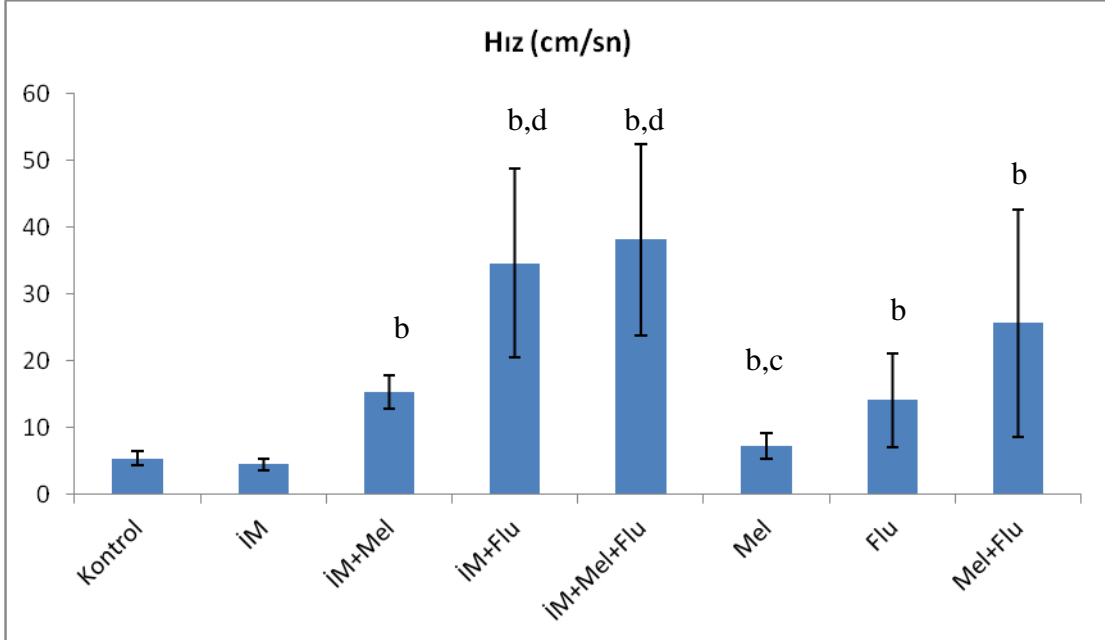


Şekil 9. Açık alan testinde kat edilen mesafe.

İM: İmmobilizasyon, Mel: Melatonin, Flu: Fluoksetin.

^ap<0.01 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^bp<0.01 İM grubu ile karşılaştırıldığında,

^dp<0.05 İM+Mel grubu ile karşılaştırıldığında



Şekil 10. Açık alan testinde ortalama hız.

İM: İmmobilizasyon, Mel: Melatonin, Flu: Fluoksetin.

^ap<0.01 kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^bp<0.01 İM grubu ile karşılaştırıldığında,

^cp<0.05 İM grubu ile karşılaştırıldığında, ^dp<0.05 İM+Mel grubu ile karşılaştırıldığında.

4.5. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Bulguları

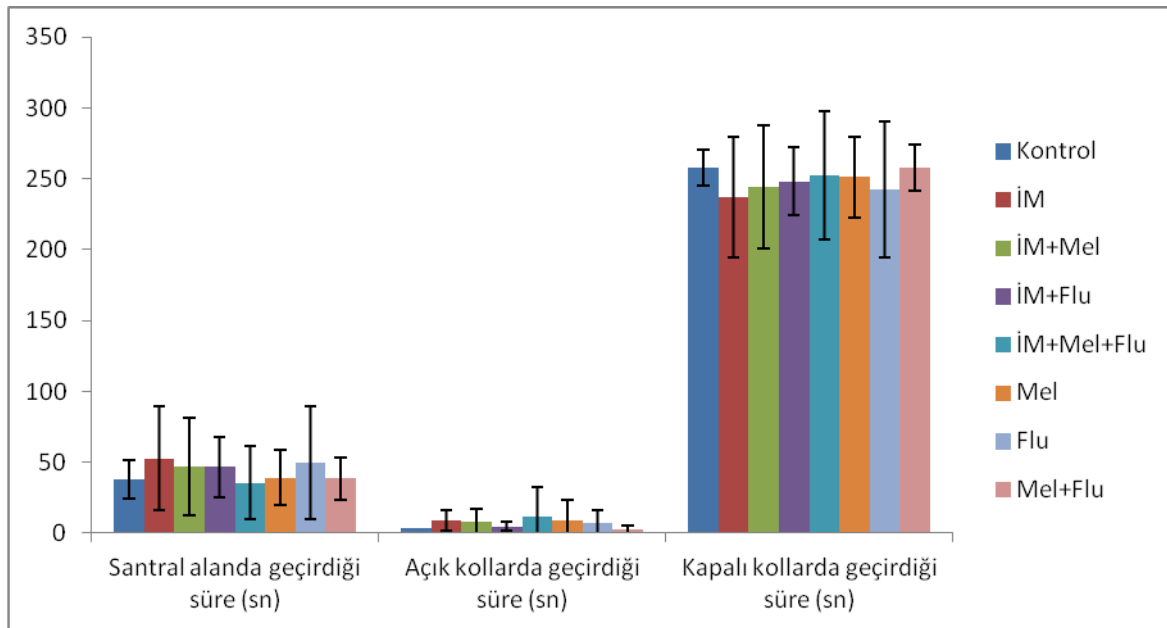
Çalışmamızda kullandığımız bir başka test olan yükseltilmiş labirent testinden elde ettiğimiz sonuçlar Tablo 6 ve 7' de gösterilmektedir. Elde edilen sonuçlar gruplar arasında farklılık göstermekle birlikte istatistiksel olarak bir anlamlılık gözlenmemiştir ($p>0.05$, Tablo 6-7, Şekil 11-12).

Tablo 6. Grupların yükseltilmiş artı labirent testi sonuçları.

İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin.

Gruplar	Santral alanda geçirdiği süre (sn)*	Açık kollarda geçirdiği süre (sn)*	Kapalı kollarda geçirdiği süre (sn)*
Kontrol	37,7±13,4	3,6±0,25	257,6±12,9
İM	52,6±36,5	9,3±7,2	237,1±42,4
İM+Mel	47,0±34,6	7,7±9,5	244,5±43,6
İM+Flu	46,7±21,2	4,5±3,2	248,3±23,6
İM+Mel+Flu	35,2±25,8	11,7±20,6	252,3±45,4
Mel	39,2±19,4	9,0±14,1	251,2±28,3
Flu	49,9±40,0	7,0±9,0	242,4±48,1
Mel+Flu	38,7±14,9	2,7±2,8	258,1±16,3

* $p>0.05$, Kruskal-Wallis testine göre



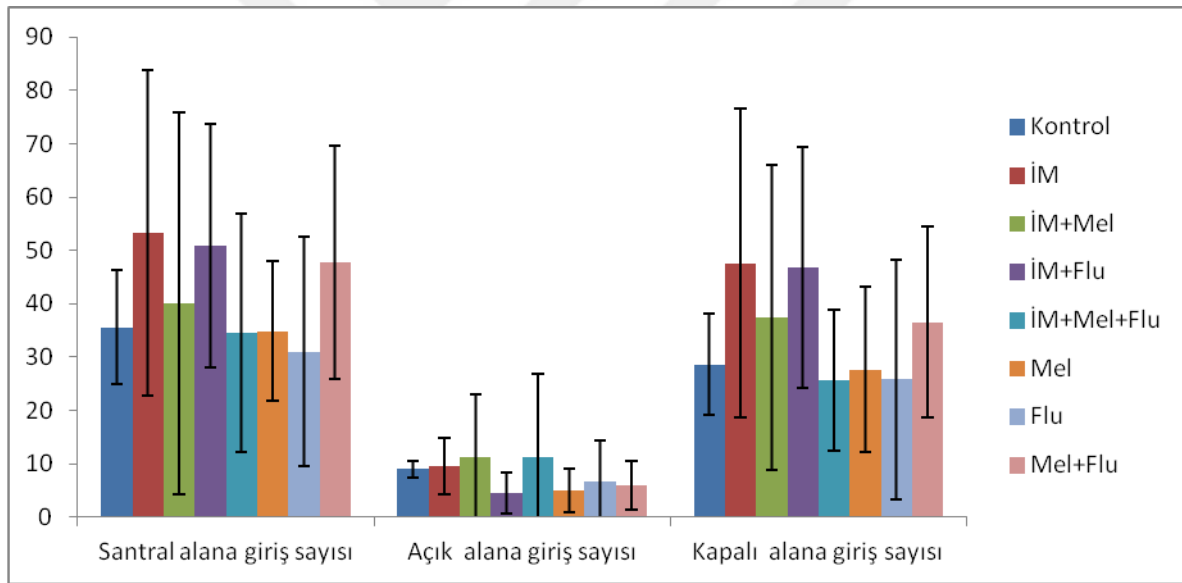
Şekil 11. Grupların santral, açık ve kapalı kollarda geçirdiği süreler.

İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin.

Tablo 7. Deneklerin santral, açık ve kapalı kollara giriş sayıları.
İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin.

Gruplar	Santral alana giriş sayısı*	Açık kollara giriş sayısı*	Kapalı kollara giriş sayısı*
Kontrol	35,6±10,7	9,0±1,5	28,6±9,5
İM	53,3±30,6	9,6±5,3	47,6±28,9
İM+Mel	40,1±35,8	11,3±11,6	37,5±28,6
İM+Flu	50,8±22,8	4,5±3,8	46,8±22,6
İM+Mel+Flu	34,6±22,4	11,3±15,5	25,6±13,2
Mel	34,8±13,1	5,0±4,0	27,6±15,5
Flu	31,0±21,5	6,8±7,6	25,8±22,5
Mel+Flu	47,8±21,8	6,0±4,6	36,5±17,9

* p>0.05, Kruskal-Wallis testine göre



Şekil 12. Grupların santral, açık ve kapalı kollara giriş sayıları.

İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin.

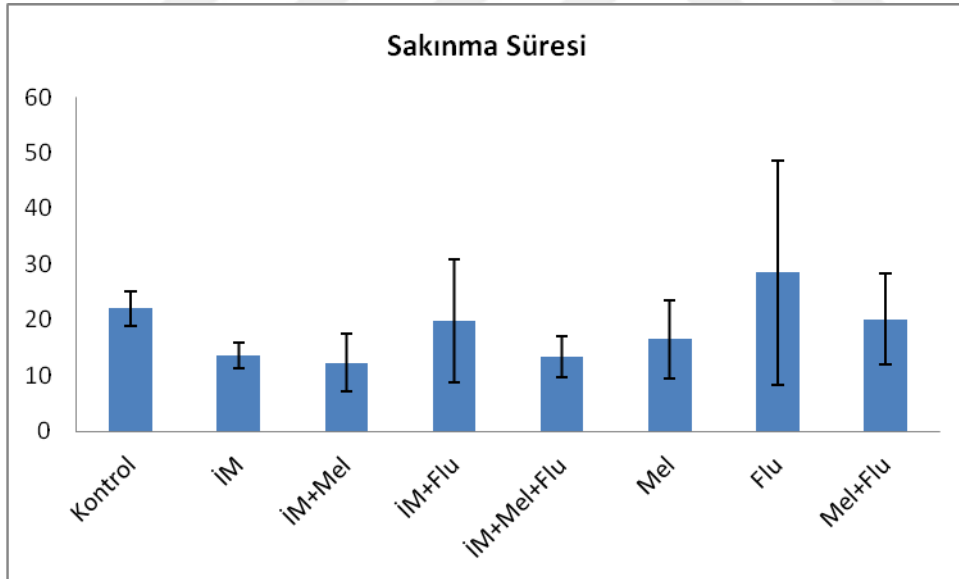
4.6. Ağrı Deneyi Bulguları

Ağrılı uyarandan sakınma süreleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$, Tablo 8, Şekil 13).

Tablo 8. Deneklerin ağrılı uyarandan sakınma süreleri.
İM: İmmobilizasyon, Mel: Melatonin, Flu: Fluoksetin.

Gruplar	Sakınma süresi (sn)*
Kontrol	22,0±3,2
İM	13,6±2,2
İM+Mel	12,3±5,2
İM+Flu	19,8±11,1
İM+Mel+Flu	13,3±3,7
Mel	16,5±7,0
Flu	28,5±20,1
Mel+Flu	20,1±8,2

* $p>0.05$, Kruskal-Wallis testine göre



Şekil 13. Deneklerin ağrılı uyarandan sakınma süreleri.

İM: İmmobilizasyon, Mel: Melatonin, Flu: Fluoksetin.

4.7. MDA Bulguları

Çalışma sonunda deneklerin beyin dokularından alınan örneklerinde MDA düzeyleri ölçüldü. İM grubunun MDA düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.01$, Tablo 9, Şekil 14). İM ile birlikte ilaç verilen veya İM yapılmadan ilaç verilen tüm grupların MDA düzeyleri sadece İM yapılan gruba göre anlamlı olarak düşük bulundu ($p<0.05$, Tablo 9, Şekil 14).

Tablo 9. Grupların MDA değerleri.

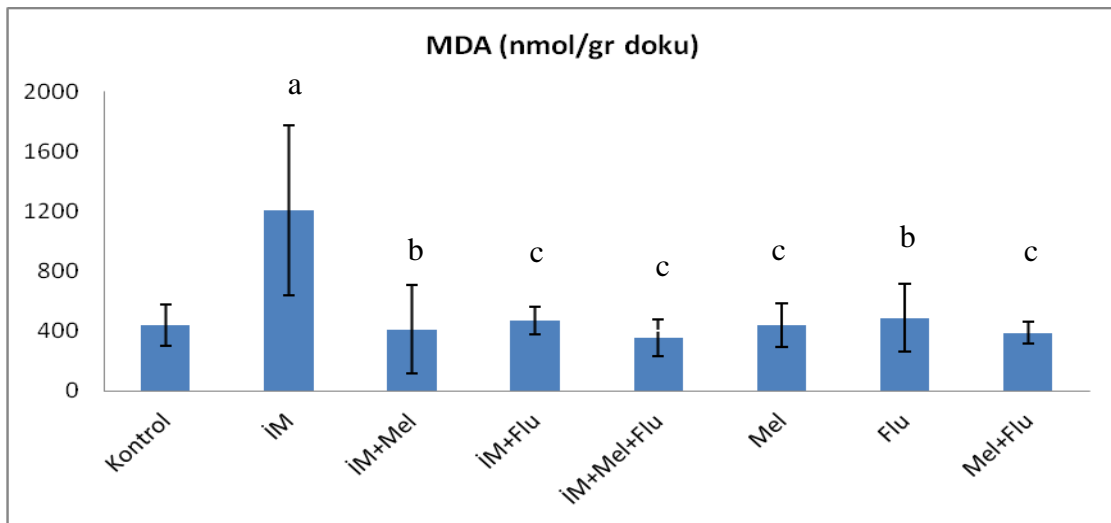
İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin.

Gruplar	MDA (nmol/gr doku)*
Kontrol	441,4±137,8
İM	1207,4±566,6 ^a
İM+Mel	410,9±292,1 ^b
İM+Flu	466,5±91,5 ^c
İM+Mel+Flu	351,7±120,8 ^c
Mel	438,1±142,4 ^c
Flu	487,3±224,9 ^b
Mel+Flu	387,5±71,6 ^c

* $p<0.05$ Kruskal-Wallis testi, ^a $p<0.01$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında,

^b $p<0.05$ İM grubu ile karşılaştırıldığında,

^c $p<0.01$ İM grubu ile karşılaştırıldığında,



Şekil 14. Grupların MDA değerleri. İM: İmmobilizasyon, Mel:Melatonin, Flu: Fluoksetin.

^a $p<0.01$ kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, ^b $p<0.05$ İM grubu ile karşılaştırıldığında,

^c $p<0.01$ İM grubu ile karşılaştırıldığında,

5. TARTIŞMA

Stres; organizmada fiziksel, psikolojik ve biyokimyasal değişikliklere neden olan birçok hastalığın patolojisinde rolü olduğu düşünölen bir süreçtir. Stres sık karşılaşılan ve zamanla organizmanın etkenlere duyarsızlaşarak davranışsal bozukluklar oluşturabildiği bir durumdur (4, 10). Oluşan davranışsal bozuklukların tedavi edilme gerekliliği deneysel stres modellerinin oluşturulmasına ve modeller üzerinde yapılan uygulamalar ile bu alandaki tedavi rejimlerinin gelişmesine katkı sağlamıştır. Bu doğrultuda deneklere elektrik şoku uygulama, hareket kısıtlanması, suya daldırma, sürekli aydınlık, gürültü, sıcak veya soğuk uygulanması, kafesteki eşlerin sürekli değişimi, kafeslerin sürekli nemli ve ıslak bırakılması, kafes pozisyonlarının sürekli değişimi gibi stresörler uygulanarak deneysel stres oluşturulabilmektedir (1-3).

Çalışmamızda kullandığımız deneysel stres modelinde deneklerin hareketlerinin kısıtlanması (immobilizasyon) ile oluşturulan stresin deneklerde anksiyete benzeri etki, depresif davranış, lokomotor aktivite değişiklikleri, ağrı düzeyinde ve beden ağırlığında değişiklikler oluşturduğu; bunların yanı sıra strese yanıt olarak nörokimyasal ve hormonal değişimler oluşturduğu bilinmektedir (1, 3). Ayrıca stres durumunda yapılan biyokimyasal analizlerde; lipit peroksidasyonun göstergesi olan MDA ve nitrit düzeyinin arttığı, glutatyon ve adrenal askorbik asit düzeylerinin azaldığı gösterilmiştir (2, 5).

Çalışmamızda immobilizasyon (İM) uygulayarak stres oluşturduğumuz gruptaki deneklerin ağırlığı deneyin ilk günü ve son günü yapılan ölçümlerde kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Benzer şekilde yapılan önceki çalışmalarda da İM grubunda kontrol grubuna göre besin alımının azalmasıyla birlikte deneklerin ağırlıklarının azaldığı gösterilmiştir (64-66).

Pasif sakinme test düzeneğini kullanarak yaptığımız emosyonel öğrenme indeksi ölçümüne göre İM grubunun öğrenme indeksi kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Yapılan bazı çalışmalarda stres uygulanmasının öğrenme belleği bozduğu (67, 68), bazı çalışmalarda da stresin öğrenme indeksini arttırdığı gösterilmiştir (69).

Depresyon ölçümü için kullanılan zorunlu yüzme testi ve kuyruktan asma testi ile yapılan çalışmalarda İM grubundaki deneklerin hareketsiz geçirdikleri süre kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır (70). Deneklerin hareketsiz geçirdikleri sürenin artması depresyon lehine yorumlanmaktadır. Yaptığımız çalışmada literatür ile uyumlu olarak zorunlu yüzme testinde İM grubundaki deneklerin hareketsiz geçirdikleri sürenin kontrol grubuna göre anlamlı olarak artması İM grubundaki deneklerde depresyonun başarılı bir şekilde oluşturulduğunu göstermiştir.

Açık alan testi verilerine göre; İM grubundaki deneklerin kontrol grubuna göre santral alanda geçirdikleri sürenin azaldığı, periferik alanda geçirdikleri sürenin anlamlı olarak arttığı gözlenmiş ve bu durum İM grubunda anksiyete oluştuğunun göstergesi olarak değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz sonuçların strese bağlı anksiyetenin meydana geldiği diğer çalışmalar ile uyumlu olduğu görülmüştür (71). Santral ve periferik alana giriş sayıları açısından İM grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. Buna karşılık çalışmamızda İM grubundaki deneklerin kontrol grubuna göre katettiği mesafe literatür ile uyumlu olarak anlamlı şekilde azalmıştır (5).

Yükseltilmiş t labirenti testi ile yapılan anksiyete kontrolü ve hot plate testi ile ölçülen ağrı yanıtına verilen cevaplarda yapılan incelemelerde gruplar arasında farklılıkların olduğu ancak bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edilmiştir.

Yapılan tüm testlerin sonucunda elde edilen verilere göre İM grubunda ağırlık azalması, anksiyete oluşumu, depresif duygu durumu, öğrenme- bellek iyileşmesi, lokomasyon azalması, lipit peroksidasyon düzeyinde artış gibi stres oluştuğuna dair bulgular gözlenmiştir.

Çalışmamızda oluşturulan bu immobilizasyon stres modeli üzerine fluoksetinin etkisine bakıldığında; fluoksetinin antidepresan, anksiyolitik, antioksidan etkili olduğu görülmüştür. Yapılan çalışmalarda da fluoksetinin immobilizasyon stresi üzerine benzer etkileri olduğu bildirilmiştir (7, 8, 28).

Pineal bezden salgılanan melatoninin, sirkadiyen ritmin ayarlanmasında, immün sistem yanıtlarında, kilo kontrolünde, üremede, tümör büyümesinin inhibisyonunda, jet-lag durumunun önlenmesinde ve oksidasyonun azaltılmasında etkin rollerinin olduğu bildirilmiştir (58). Ayrıca agomelatinin antidepresan etkisinin MT_1/MT_2 ve $5HT_{2C}$ reseptörleri üzerinden gerçekleştiğinin bulunması ile birlikte melatoninin de antidepresan etkisinin olabileceği tartışılmaya başlanmıştır (72). Bu konuda yapılan araştırmalar melatoninin bu etkisinin santral serotonerjik nörotransmisyon, dopamin, GABA, benzodiazepin, NMDA glutamat reseptörleri ve L-arginin nitrik oksit yolağı üzerinden oluşabileceğini göstermiştir (61, 62, 73).

Çalışmamızın başında ve sonunda yaptığımız ağırlık kontrollerinde İM, İM+Mel, İM+Mel+Flu, Mel ve Mel+Flu gruplarında ağırlıklar kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmıştır. Bu sonuçlar özellikle melatonin uygulanan tüm gruplarda ağırlıkların azaldığını göstermiştir. Oluşan bu ağırlık azalması İM grubuna göre daha fazla olsa da istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Benzer şekilde yapılan bazı çalışmalarda melatoninin ağırlık ile ilişkisi anlamlı bulunmazken (62), bazı çalışmalarda melatoninin ağırlıkta azalma oluşturduğu gösterilmiştir (5). Çalışmamızda fluoksetin uyguladığımız grupların ağırlıklarında kontrol

grubuna göre azalma gözlenmiştir ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuç fluoksetinin deneklerin ağırlıklarında azalma oluşturduğunu bildiren diğer çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (74-76).

Çalışmamızda bilişsel verileri ölçmemizi sağlayan pasif sakınma testi kullanılarak İM+Mel ve İM+Mel+Flu gruplarındaki öğrenme indeksi verileri İM grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük bulunmuştur. Bu sonuçlar immobilizasyona ilave olarak uygulanan melatoninin artmış olan öğrenme yetisini azalttığını göstermektedir. Yapılan çalışmalarda ise melatoninin oksidatif stresi önleyerek uzaysal öğrenme bellek üzerine faydalı olduğu, ancak bilişsel öğrenme üzerine etkisinin anlamlı olmadığı gösterilmiştir (77). Ayrıca bir başka çalışmada agomelatinin stres durumunda öğrenme belleği bozduğu gösterilmiştir (78). Yaptığımız çalışmada immobilizasyona ilave olarak uygulanan fluoksetinin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da immobilizasyon ile artmış olan öğrenme indeksini bir miktar azalttığı, sadece fluoksetin uygulamasının ise öğrenme indeksini arttırdığı gözlenmiştir. Çalışmamızda gözlemlediğimiz fluoksetinin öğrenme indeksi üzerine etkisi önceki çalışmalar ile benzerlik göstermektedir (79, 80).

Porsolt zorunlu yüzme testi; depresyonun belirlenmesi ve antidepresan tedavinin etkinliğinin ortaya konulabilmesi için deneklerin düzeneklerde geçirdikleri hareketli zaman artışının depresyon aleyhine, geçirilen hareketsiz zaman artışının depresyon lehine yorumlandığı bir testtir (81). Çalışmamızda kullandığımız bu testin sonuçlarına göre İM+Mel, İM+Flu, İM+Mel+Flu gruplarının hareketli geçirdikleri sürenin İM grubuna göre anlamlı olarak arttığı, hareketsiz geçirdikleri sürenin İM grubuna göre anlamlı olarak azaldığı görülmüştür. Bu veriler ile İM+Mel, İM+Flu, İM+Mel+Flu gruplarında depresyonun azaldığı sonucuna varılmıştır. Bu da fluoksetinin duygu durum parametrelerinde iyileşme sağladığını bildiren daha önceki çalışmalarla uyumluluk göstermektedir (70, 82, 83). Yapılan bazı çalışmalarda ise melatoninin antidepresan etkisi kuyruktan asma modeli ile gösterilmiş ve bu etkinin N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri ve L-arginin-nitrik oksit (NO) yolağı ile (84), ya da dopaminerjik reseptörler vasıtası ile oluşabileceği ileri sürülmüştür (73).

Açık alan testi ve yükseltilmiş t labirenti testi ile anksiyete değerlendirmesi yapılabilmektedir. Çalışmamızda yükseltilmiş t testi ile İM+Mel, İM+Flu, İM+Mel+Flu grupları ile İM grubu arasında bir farklılık gözlenmiş ancak bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Açık alan testinde ise İM+Mel, İM+Flu, İM+Mel+Flu gruplarında İM grubuna göre periferik alanda geçirilen süre anlamlı olarak azalmış, santral alanda geçirilen süre ise anlamlı olarak artmıştır. Bu sonuçlar stres durumunda oluşan anksiyeteye karşı uygulanan melatonin, fluoksetin ve kombinasyonlarının etkili olduğunu, kendi aralarında

birbirlerine üstünlüklerinin olmadığını göstermiştir. Yapılan bir çalışmada ise melatonin ve agomelatinin tek başlarına göstermedikleri anksiyolitik etkiyi düşük doz diazepamın etkisini potansiyalize ederek gösterdikleri bildirilmiştir (85). Daha önce yapılan çalışmalarda akut fluoksetin uygulamasının anksiyojenik (86, 87), kronik fluoksetin uygulamasının ise çalışmamız ile benzer şekilde anksiyolitik etkili olduğu gösterilmiştir (88).

Stres durumunda artan lipit peroksidasyonunun depresyon, anksiyete, öğrenme bellek patolojisinde etkili olduğu bildirilmiş (89-91), yaptığımız çalışmada da stres durumunda artan MDA düzeylerinin İM+Mel, İM+Flu, İM+Mel+Flu gruplarında İM grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Ancak melatonin, fluoksetin ve melatonin-fluoksetin kombinasyonu, MDA düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark oluşturmamıştır. Yapılan benzer çalışmalarda melatoninin stres ile oluşturulan gastrik ülser modelinde oluşan lipit peroksidasyonunu MDA düzeyini düşürerek önlediği (92), fluoksetinin stres ile artan MDA düzeyini azalttığı gösterilmiştir (93, 94).

Sonuç olarak çalışmamızda melatonin, fluoksetin ve melatonin-fluoksetin kombinasyonlarının uygulanması arasında stres üzerindeki iyileştirici etkileri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir. İmmobilizasyon stresine karşı melatoninin istatistiksel olarak anlamlı olmasa da fluoksetinden daha etkili olduğu görülmüştür. Yapılan birçok çalışma ile endojen olarak salgılanan veya ilaç olarak alınan melatoninin stres durumunda yararlı etkilerinin olduğu gösterilmiştir (95-98). Fluoksetinin uyuşukluk, bulantı, sinirlilik, tremor, uykusuzluk, terleme, ağız kuruluğu, diyare gibi yan etkilerinin olması (21) melatoninin fluoksetine iyi bir alternatif olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda strese bağlı oluşan davranış değişiklikleri üzerine antioksidan etkisi bilinen ve davranışsal parametreler üzerine etkisi araştırılan melatonin, antidepresan ve anksiyolitik tedavide geniş kullanıma sahip olan fluoksetin ve bu iki ilacın kombinasyonları karşılaştırılmıştır. Başarılı bir şekilde oluşturulan immobilizasyon stres modelinde değişen davranışsal ve oksidatif parametreler üzerine melatoninin, fluoksetinin ve melatonin- fluoksetin kombinasyonunun anlamlı bir iyileşme oluşturduğu tespit edilmiştir. Ancak oluşan iyileşmede gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmemiştir.

Çalışma sonunda melatoninin duygu durum ve anksiyete üzerine en az fluoksetin kadar etkin olduğu sonucuna varılmıştır. Melatonin karanlık ortamda salınımı artan endojen bir hormondur. Bu nedenle yaşam tarzında yapılacak bazı değişiklikler ve sağlıklı bir uyku için gereken önlemlerin alınması ile melatonin düzeyinin yükseltilebileceği göz önünde bulundurulduğunda melatoninin depresyon, sosyal fobi ve anksiyete tedavisinde fluoksetine iyi bir alternatif olabileceği düşünülmektedir. Gelecekteki çalışmalarda melatoninin stres belirteçleri üzerine etki mekanizmaları araştırılıp klinik pratikte antidepresan ve anksiyolitik özelliklerinden dolayı kullanımını sağlanabilir.

7. KAYNAKLAR

1. Sahin E, Gumuslu S. Immobilization stress in rat tissues: alterations in protein oxidation, lipid peroxidation and antioxidant defense system. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol.* 2007;144(4):342-7.
2. Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, Richards MC, Wakabayashi C, Kunugi H. Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2012;39(1):112-9.
3. Dhir A, Padi SS, Naidu PS, Kulkarni SK. Protective effect of naproxen (non-selective COX-inhibitor) or rofecoxib (selective COX-2 inhibitor) on immobilization stress-induced behavioral and biochemical alterations in mice. *Eur J Pharmacol.* 2006;535(1-3):192-8.
4. Stahl SM. Stahl'ın Temel Psikofarmakolojisi: İstanbul Tıp Kitabevi; 2015. 268-98 p.
5. 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.
6. 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.
7. David DJ, Samuels BA, Rainer Q, Wang JW, Marsteller D, Mendez I, et al. Neurogenesis-dependent and -independent effects of fluoxetine in an animal model of anxiety/depression. *Neuron.* 2009;62(4):479-93.
8. Novio S, Nunez MJ, Amigo G, Freire-Garabal M. Effects of fluoxetine on the oxidative status of peripheral blood leucocytes of restraint-stressed mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2011;109(5):365-71.
9. Ali T, Badshah H, Kim TH, Kim MO. Melatonin attenuates D-galactose-induced memory impairment, neuroinflammation and neurodegeneration via RAGE/NF-B-K/JNK signaling pathway in aging mouse model. *J Pineal Res.* 2015;58(1):71-85.
10. Yüksel N. Temel Psikofarmakoloji: Türkiye Psikiyatri Derneği Yayınları; 2010. 16-110 p.
11. Gencer YG. Stresin ratlarda bazı karaciğer enzimleri üzerine etkilerinin araştırılması: Yüzüncü Yıl Üniversitesi; 2014. 3-8 p.

12. Viamontes GI, Nemeroff CB. Brain-Body Interactions: The Physiological Impact of Mental Processes - The Neurobiology of the Stress Response. *Psychiat Ann.* 2009;39(12):975-84.
13. Zunszain PA, Anacker C, Cattaneo A, Carvalho LA, Pariante CM. Glucocorticoids, cytokines and brain abnormalities in depression. *Prog Neuro-Psychoph.* 2011;35(3):722-9.
14. Elgh E, Lindqvist Astot A, Fagerlund M, Eriksson S, Olsson T, Nasman B. Cognitive dysfunction, hippocampal atrophy and glucocorticoid feedback in Alzheimer's disease. *Biol Psychiatry.* 2006;59(2):155-61.
15. Lupien SJ, McEwen BS, Gunnar MR, Heim C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10(6):434-45.
16. gencer gy. Stresin ratlarda bazı karaciğer enzimleri üzerine etkilerinin araştırılması. van: yüzüncü yıl üniversitesi; 2014.
17. Bali A, Jaggi AS. Electric foot shock stress: a useful tool in neuropsychiatric studies. *Rev Neurosci.* 2015;26(6):655-77.
18. 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.
19. 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.
20. 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.
21. Kayaalp O. Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji ankara: Pelikan Yayıncılık; 2012. 651-825 p.
22. Naie K, Manahan-Vaughan D. Regulation by metabotropic glutamate receptor 5 of LTP in the dentate gyrus of freely moving rats: relevance for learning and memory formation. *Cereb Cortex.* 2004;14(2):189-98.
23. Blokland A. Acetylcholine: a neurotransmitter for learning and memory? *Brain Res Brain Res Rev.* 1995;21(3):285-300.
24. Coyle JT. Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis. *Cell Mol Neurobiol.* 2006;26(4-6):365-84.
25. Berke JD, Hyman SE. Addiction, dopamine, and the molecular mechanisms of memory. *Neuron.* 2000;25(3):515-32.

26. Chandley MJ, Ordway GA. Noradrenergic Dysfunction in Depression and Suicide. In: Dwivedi Y, editor. *The Neurobiological Basis of Suicide*. *Frontiers in Neuroscience*. Boca Raton (FL)2012.
27. King MV, Marsden CA, Fone KC. A role for the 5-HT(1A), 5-HT4 and 5-HT6 receptors in learning and memory. *Trends Pharmacol Sci*. 2008;29(9):482-92.
28. Benjamin S. *Clinical Neuroanatomy: A Neurobehavioral Approach*. *J Clin Psychiat*. 2010;71(5):657-8.
29. Fuster JM. The Prefrontal Cortex Makes the Brain a Preadaptive System. *Proceedings of the Ieee*. 2014;102(4):417-26.
30. Floresco SB, Magyar O. Mesocortical dopamine modulation of executive functions: beyond working memory. *Psychopharmacology*. 2006;188(4):567-85.
31. Nagai M, Kishi K, Kato S. Insular cortex and neuropsychiatric disorders: A review of recent literature. *Eur Psychiat*. 2007;22(6):387-94.
32. Carr L, Iacoboni M, Dubeau MC, Mazziotta JC, Lenzi GL. Neural mechanisms of empathy in humans: A relay from neural systems for imitation to limbic areas. *P Natl Acad Sci USA*. 2003;100(9):5497-502.
33. Rolls ET. Functions of the orbitofrontal and pregenual cingulate cortex in taste, olfaction, appetite and emotion. *Acta Physiol Hung*. 2008;95(2):131-64.
34. Brandt T, Schautzer F, Hamilton DA, Bruning R, Markowitsch HJ, Kalla R, et al. Vestibular loss causes hippocampal atrophy and impaired spatial memory in humans. *Brain*. 2005;128:2732-41.
35. Smith ME. Bilateral hippocampal volume reduction in adults with post-traumatic stress disorder: a meta-analysis of structural MRI studies. *Hippocampus*. 2005;15(6):798-807.
36. Morales P, Fiedler JL, Andres S, Berrios C, Huaiquin P, Bustamante D, et al. Plasticity of hippocampus following perinatal asphyxia: effects on postnatal apoptosis and neurogenesis. *J Neurosci Res*. 2008;86(12):2650-62.
37. Guell X, Hoche F, Schmahmann JD. Metalinguistic deficits in patients with cerebellar dysfunction: empirical support for the dysmetria of thought theory. *Cerebellum*. 2015;14(1):50-8.
38. Hoppenbrouwers SS, Schutter DJ, Fitzgerald PB, Chen R, Daskalakis ZJ. The role of the cerebellum in the pathophysiology and treatment of neuropsychiatric disorders: a review. *Brain Res Rev*. 2008;59(1):185-200.
39. Sapolsky RM. Stress and plasticity in the limbic system. *Neurochem Res*. 2003;28(11):1735-42.

40. Artola A, von Frijtag JC, Fermont PC, Gispen WH, Schrama LH, Kamal A, et al. Long-lasting modulation of the induction of LTD and LTP in rat hippocampal CA1 by behavioural stress and environmental enrichment. *Eur J Neurosci.* 2006;23(1):261-72.
41. Luscher C, Malenka RC. NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD). *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2012;4(6):1-15.
42. Mailliet F, Qi H, Rocher C, Spedding M, Svenningsson P, Jay TM. Protection of stress-induced impairment of hippocampal/prefrontal LTP through blockade of glucocorticoid receptors: implication of MEK signaling. *Exp Neurol.* 2008;211(2):593-6.
43. Warner-Schmidt JL, Duman RS. Hippocampal neurogenesis: opposing effects of stress and antidepressant treatment. *Hippocampus.* 2006;16(3):239-49.
44. Radley JJ, Rocher AB, Miller M, Janssen WG, Liston C, Hof PR, et al. Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex.* 2006;16(3):313-20.
45. Banasr M, Valentine GW, Li XY, Gourley SL, Taylor JR, Duman RS. Chronic unpredictable stress decreases cell proliferation in the cerebral cortex of the adult rat. *Biol Psychiat.* 2007;62(5):496-504.
46. Matute C, Domercq M, Sanchez-Gomez MV. Glutamate-mediated glial injury: mechanisms and clinical importance. *Glia.* 2006;53(2):212-24.
47. Pittenger C, Duman RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology.* 2008;33(1):88-109.
48. Maroun M. Stress reverses plasticity in the pathway projecting from the ventromedial prefrontal cortex to the basolateral amygdala. *Eur J Neurosci.* 2006;24(10):2917-22.
49. Joels M, Pu ZW, Wiegert O, Oitzl MS, Krugers HJ. Learning under stress: How does it work? *Trends Cogn Sci.* 2006;10(4):152-8.
50. Mahan AL, Ressler KJ. Fear conditioning, synaptic plasticity and the amygdala: implications for posttraumatic stress disorder. *Trends Neurosci.* 2012;35(1):24-35.
51. Nikolova YS, Bogdan R, Brigidi BD, Hariri AR. Ventral striatum reactivity to reward and recent life stress interact to predict positive affect. *Biol Psychiatry.* 2012;72(2):157-63.
52. 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.
53. 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.

54. 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.
55. 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.
56. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *European Journal of Pharmacology.* 2003;463(1-3):3-33.
57. Fatih Özçelik ME, Abdullah Bolu, Murat Gülsün. Melatonin: General Features and its Role in Psychiatric Disorders. *Current Approaches in Psychiatry.* 2013:179-203.
58. Macchi MM, Bruce JN. Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Front Neuroendocrinol.* 2004;25(3-4):177-95.
59. Micale V, Arezzi A, Rampello L, Drago F. Melatonin affects the immobility time of rats in the forced swim test: the role of serotonin neurotransmission. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2006;16(7):538-45.
60. Weil ZM, Hotchkiss AK, Gatien ML, Pieke-Dahl S, Nelson RJ. Melatonin receptor (MT1) knockout mice display depression-like behaviors and deficits in sensorimotor gating. *Brain Res Bull.* 2006;68(6):425-9.
61. Sanacora G, Saricicek A. GABAergic contributions to the pathophysiology of depression and the mechanism of antidepressant action. *CNS Neurol Disord Drug Targets.* 2007;6(2):127-40.
62. Detanico BC, Piato AL, Freitas JJ, Lhullier FL, Hidalgo MP, Caumo W, et al. Antidepressant-like effects of melatonin in the mouse chronic mild stress model. *Eur J Pharmacol.* 2009;607(1-3):121-5.
63. Pompella A, Maellaro E, Casini AF, Ferrali M, Ciccoli L, Comporti M. Measurement of lipid peroxidation in vivo: a comparison of different procedures. *Lipids.* 1987;22(3):206-11.
64. Ricart-Jane D, Rodriguez-Sureda V, Benavides A, Peinado-Onsurbe J, Lopez-Tejero MD, Llobera M. Immobilization stress alters intermediate metabolism and circulating lipoproteins in the rat. *Metabolism.* 2002;51(7):925-31.
65. Smagin GN, Howell LA, Redmann S, Jr., Ryan DH, Harris RB. Prevention of stress-induced weight loss by third ventricle CRF receptor antagonist. *Am J Physiol.* 1999;276(5 Pt 2):R1461-8.

66. Hu Y, Cardounel A, Gursoy E, Anderson P, Kalimi M. Anti-stress effects of dehydroepiandrosterone: protection of rats against repeated immobilization stress-induced weight loss, glucocorticoid receptor production, and lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol.* 2000;59(7):753-62.
67. Chajut E, Algom D. Selective attention improves under stress: implications for theories of social cognition. *J Pers Soc Psychol.* 2003;85(2):231-48.
68. 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.
69. 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.
70. 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):302-5.
71. Gregus A, Wintink AJ, Davis AC, Kalynchuk LE. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats. *Behav Brain Res.* 2005;156(1):105-14.
72. Yang J, Jin HJ, Mocaer E, Seguin L, Zhao H, Rusak B. Agomelatine affects rat suprachiasmatic nucleus neurons via melatonin and serotonin receptors. *Life Sci.* 2016;155:147-54.
73. Binfare RW, Mantovani M, Budni J, Santos AR, Rodrigues AL. Involvement of dopamine receptors in the antidepressant-like effect of melatonin in the tail suspension test. *Eur J Pharmacol.* 2010;638(1-3):78-83.
74. Aggarwal A, Jethani SL, Rohatgi RK, Kalra J. Selective Serotonin Re-uptake Inhibitors (SSRIs) Induced Weight Changes: A Dose and Duration Dependent Study on Albino Rats. *J Clin Diagn Res.* 2016;10(3):AF01-3.
75. Lightowler S, Wood M, Brown T, Glen A, Blackburn T, Tulloch I. An investigation of the mechanism responsible for fluoxetine-induced hypophagia in rats. *European Journal of Pharmacology.* 1996;296(2):137-43.
76. McGuirk J, Muscat R, Willner P. Effects of chronically administered fluoxetine and fenfluramine on food intake, body weight and the behavioural satiety sequence. *Psychopharmacology (Berl).* 1992;106(3):401-7.

77. Baydas G, Ozer M, Yasar A, Tuzcu M, Koz ST. Melatonin improves learning and memory performances impaired by hyperhomocysteinemia in rats. *Brain Res.* 2005;1046(1-2):187-94.
78. Gumuslu E, Mutlu O, Sunnetci D, Ulak G, Celikyurt IK, Cine N, et al. The Antidepressant Agomelatine Improves Memory Deterioration and Upregulates CREB and BDNF Gene Expression Levels in Unpredictable Chronic Mild Stress (UCMS)-Exposed Mice. *Drug Target Insights.* 2014;8:11-21.
79. Flood JF, Cherkin A. Fluoxetine enhances memory processing in mice. *Psychopharmacology (Berl).* 1987;93(1):36-43.
80. Ramanathan M, Kumar SN, Suresh B. Evaluation of cognitive function of fluoxetine, sertraline and tianeptine in isolation and chronic unpredictable mild stress-induced depressive Wistar rats. *Indian J Exp Biol.* 2003;41(11):1269-72.
81. Bogdanova OV, Kanekar S, D'Anci KE, Renshaw PF. Factors influencing behavior in the forced swim test. *Physiol Behav.* 2013;118:227-39.
82. Cryan JF, Page ME, Lucki I. Differential behavioral effects of the antidepressants reboxetine, fluoxetine, and moclobemide in a modified forced swim test following chronic treatment. *Psychopharmacology.* 2005;182(3):335-44.
83. Nowakowska E, Chodera A, Kus K. Anxiolytic and memory improving activity of fluoxetine. *Pol J Pharmacol.* 1996;48(3):255-60.
84. Mantovani M, Pertile R, Calixto JB, Santos AR, Rodrigues AL. Melatonin exerts an antidepressant-like effect in the tail suspension test in mice: evidence for involvement of N-methyl-D-aspartate receptors and the L-arginine-nitric oxide pathway. *Neurosci Lett.* 2003;343(1):1-4.
85. Loiseau F, Le Bihan C, Hamon M, Thiebot MH. Effects of melatonin and agomelatine in anxiety-related procedures in rats: interaction with diazepam. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2006;16(6):417-28.
86. Drapier D, Bentue-Ferrer D, Laviolle B, Millet B, Allain H, Bourin M, et al. Effects of acute fluoxetine, paroxetine and desipramine on rats tested on the elevated plus-maze. *Behav Brain Res.* 2007;176(2):202-9.
87. Kurt M, Arik AC, Celik S. The effects of sertraline and fluoxetine on anxiety in the elevated plus-maze test in mice. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2000;11(2):173-80.
88. Dulawa SC, Holick KA, Gundersen B, Hen R. Effects of chronic fluoxetine in animal models of anxiety and depression. *Neuropsychopharmacology.* 2004;29(7):1321-30.

89. Masood A, Nadeem A, Mustafa SJ, O'Donnell JM. Reversal of oxidative stress-induced anxiety by inhibition of phosphodiesterase-2 in mice. *J Pharmacol Exp Ther.* 2008;326(2):369-79.
90. Matsumoto K, Yobimoto K, Huong NT, Abdel-Fattah M, Van Hien T, Watanabe H. Psychological stress-induced enhancement of brain lipid peroxidation via nitric oxide systems and its modulation by anxiolytic and anxiogenic drugs in mice. *Brain Res.* 1999;839(1):74-84.
91. Salim S, Sarraj N, Taneja M, Saha K, Tejada-Simon MV, Chugh G. Moderate treadmill exercise prevents oxidative stress-induced anxiety-like behavior in rats. *Behav Brain Res.* 2010;208(2):545-52.
92. Kiarostami V, Samini L, Ghazi-Khansari M. Protective effect of melatonin against multistress condition induced lipid peroxidation via measurement of gastric mucosal lesion and plasma malondialdehyde levels in rats. *World J Gastroenterol.* 2006;12(46):7527-31.
93. Galecki P, Szemraj J, Bienkiewicz M, Florkowski A, Galecka E. Lipid peroxidation and antioxidant protection in patients during acute depressive episodes and in remission after fluoxetine treatment. *Pharmacol Rep.* 2009;61(3):436-47.
94. Khanzode SD, Dakhale GN, Khanzode SS, Saoji A, Palasodkar R. Oxidative damage and major depression: the potential antioxidant action of selective serotonin re-uptake inhibitors. *Redox Rep.* 2003;8(6):365-70.
95. Brzozowski T, Zwirska-Korcza K, Konturek PC, Konturek SJ, Sliwowski Z, Pawlik M, et al. Role of circadian rhythm and endogenous melatonin in pathogenesis of acute gastric bleeding erosions induced by stress. *J Physiol Pharmacol.* 2007;58 Suppl 6:53-64.
96. Esposito E, Genovese T, Caminiti R, Bramanti P, Meli R, Cuzzocrea S. Melatonin reduces stress-activated/mitogen-activated protein kinases in spinal cord injury. *J Pineal Res.* 2009;46(1):79-86.
97. Kato K, Murai I, Asai S, Komuro S, Matsuno Y, Matsukawa Y, et al. Central effect of melatonin against stress-induced gastric ulcers in rats. *Neuroreport.* 1997;8(9-10):2305-9.
98. Pertsov SS. Effect of melatonin on the thymus, adrenal glands, and spleen in rats during acute stress. *Bull Exp Biol Med.* 2006;141(3):292-5.

8. ÖZGEÇMİŞ

1989 yılında Diyarbakır' da doğdum. İlkokul, orta ve lise öğrenimimi Manisa' da tamamladım. 2007 yılında Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesini kazandım ve 2012 yılında mezun oldum. 2013 yılında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı' nda yüksek lisans eğitimime başladım. Halen aynı bölümde eğitimime devam etmekteyim. 2013 yılında Mardin/ Savur devlet hastanesine eczacı olarak atandım. 2014 yılında D.Ü. Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesi eczanesinde eczacı olarak çalışmaya başladım. 2015 yılından bu yana halen D.Ü. Eczacılık Fakültesi' nde araştırma görevlisi olarak çalışmaktayım.

