

**T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARE DEPRESYON MODELİNDE TREK1 VE TRPC3/6 İYON  
KANAL İNHİBİTÖRLERİNİN MİKRORNA EKSPRESYONLARI  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Arş. Gör. İlay BURAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Halit ELYAS

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Emin ERDAL

MERSİN – 2015

**T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**FARE DEPRESYON MODELİNDE TREK1 VE TRPC3/6 İYON  
KANAL İNHİBİTÖRLERİNİN MİKRORNA EKSPRESYONLARI  
ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Arş. Gör. İlay BURAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Prof. Dr. Halit ELYAS

İKİNCİ DANIŞMAN

Prof. Dr. M. Emin ERDAL

Bu tez Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından TF.13.58 No'lu  
proje olarak desteklenmiştir.

Tez No: 286

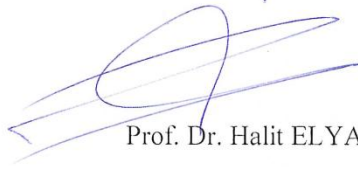
MERSİN – 2015

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

TEŞEKKÜR

Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programı çerçevesinde yürütülmüş olan “Fare Depresyon Modelinde TREK1 ve TRPC3/6 İyon Kanal İnhibitörlerinin mikroRNA Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı çalışma, jürimiz tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

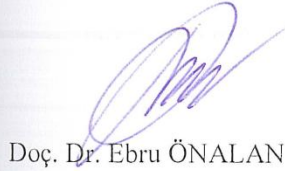
Tez Savunma Tarihi 23/07/2015



Prof. Dr. Halit ELYAS

Fırat Üniversitesi

Jüri Başkanı



Doç. Dr. Ebru ÖNALAN

Fırat Üniversitesi

Jüri Üyesi



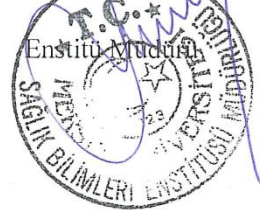
Doç. Dr. Ömer BARLAS

Mersin Üniversitesi

Jüri Üyesi

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun 05.08.2015 tarih ve 2015/246 sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Doç Dr. Fehmi ATEŞ



## TEŞEKKÜR

“Fare depresyon modelinde TREK1 ve TRPC3/6 iyon kanal inhibitörlerinin mikroRNA ekspresyonları üzerine etkilerinin araştırılması” başlıklı tezimin hazırlanması sürecinde, başta hayatımın her aşamasında en büyük destekçim olan ailem olmak üzere akademik eğitimim süresince, tüm bilgi birikimi ile anlayışla yol gösteren, danışman hocam Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Halit ELYAS’a, tezimin gerek laboratuvar gerekse yazım aşamalarında yükümü hafifleten, ihtiyaç duyduğum her an destekçim olan Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Doç. Dr. Ebru ÖNALAN’a, tezimin hazırlanma sürecinde göstermiş olduğu anlayış ve katkıları için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. M. Emin ERDAL’a, tezime önemli katkıları olan arkadaşım Arş. Gör. Ahmet TEKTEMUR’a, laboratuvar çalışmalarına olan katkılarından dolayı ekip arkadaşlarım Seda Özaydın, Esin Öz, Arş. Gör. Z. Betül ÇELİK ve sevgili kardeşim Abayhan BURAN’a, çalışma arkadaşım Arş. Gör. Damla YÜKSEL’e, Fırat AŞIR’a ve birbirinden değerli tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER

<b>Kabul ve Onay</b>	<b>ii</b>
<b>TEŞEKKÜR</b>	<b>iii</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>iv</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	<b>vii</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b>	<b>viii</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b>	<b>xi</b>
<b>ÖZET</b>	<b>xii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xii</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>4</b>
2.1. Majör Depresif Bozukluğun Tanımı ve Epidemiyolojisi	4
2.2. Majör Depresif Bozukluğun Tarihçesi	5
2.3. Majör Depresif Bozukluğun Etiyolojisi	6
2.3.1. Psikososyal Etkenler	6
2.3.1.1. Klasik Psikanalitik Görüş	6
2.3.1.2. Benlik Psikolojisi	6
2.3.1.3. Bilişsel Görüş	6
2.3.1.4. Öğrenilmiş Çaresizlik Görüşü	7
2.3.1.5. Stresli Hayat Olayları	7
2.3.2. Genetik Etkenler	7
2.3.3. Biyolojik Etkenler	8
2.3.3.1. Biyojenik Aminler	8
2.3.3.1.1. Serotonin	8
2.3.3.1.2. Dopamin	9
2.3.3.1.3. Norepinefrin (Noradrenalin)	9
2.3.3.1.4. GABA	10
2.3.3.1.5. Asetilkolin	10
2.3.4. Nöroendokrin Sistem	11
2.3.5. Nörotrofinlerin Rolü	11
2.3.6. Nöroplastisite	12
2.3.7. Serebro-Vasküler Olaylar	12

2.3.8. İmmün Sistem	13
2.3.9. Lipitlerin Rolü	13
2.3.10. Biyoritm	13
2.4. Depresyon Oluşumunda Risk Etkenleri	13
2.5. Majör Depresyonun Nöroanatomisi	14
2.5.1. Limbik Yapılar	14
2.5.2. Frontal Korteks	15
2.6. Majör Depresyon Tedavisinde Kullanılan Antidepresanlar	16
2.6.1. Monoamin Oksidaz İnhibitörleri	16
2.6.2. Trisiklik Antidepresanlar	17
2.6.3. Seçici Serotonin Gerilim İnhibitörleri (SSRI)	17
2.6.4. Alfa 2 Adrenoreseptör Antagonistleri	17
2.6.5. Seçici Noradrenerjik Gerilim İnhibitörleri	18
2.6.6. Noradrenalin ve Dopamin Gerilim İnhibitörleri	18
2.6.7. Serotonerjik ve Noradenerjik Gerilim İnhibitörleri	18
2.6.8. Serotonin 2A Antagonistleri/Serotonin Geri Alım İnhibitörleri	18
2.7. Majör Depresif Bozukluk Çalışmalarında Kullanılan Fare Modelleri	19
2.7.1. Kronik Hafif Stres (Chronic Mild Stress ) Prosedürü	19
2.7.2. Zorunlu Yüzme Testi	20
2.7.3. Kuyruktan Asma Testi (Tail Suspension Tets)	21
2.7.4. Olfakter Bulbektomi	22
2.7.5. Genetik Modeller	22
2.8. MikroRNA'lar	22
2.8.1. miRNA'ların Tarihçesi	23
2.8.2. miRNA'ların Adlandırılması	24
2.8.3. miRNA'ların Biyogenezi ve Hedef mRNA ile Etkileşimi	25
2.8.4. miRNA'lar ve Depresyon	28
2.9. İyon Kanalları	35
2.9.1. Mekanik Kapılı İyon Kanalları	35
2.9.1.1. TREK1	35
2.9.1.2. TRPC3/6	36
2.9.2. Ligand Kapılı İyon Kanalları	37
2.9.2.1. Nikotinik Asetilkolin Reseptörü (nAChR) Kanalı	37
2.9.2.2. GABA ve Glisin Reseptör Kanalları	37

2.9.2.3. 5-HT-kapılı Kanal	38
2.9.2.4. Glutamat Reseptör Kanalları	38
2.9.3. Voltaj-Kapılı İyon Kanalları	39
2.9.3.1. Voltaj Kapılı Sodyum Kanalı	39
2.9.3.2. Voltaj Kapılı Potasyum Kanalı	39
2.9.3.3. Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı	39
2.10. Depresyonda İyon Kanalları ve miRNA İlişkileri	40
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	<b>42</b>
3.1. Çalışma Gruplarının Tanımı	42
3.2. Kullanılan Araçlar-Gereçler, Kimyasallar ve Sarf Malzemeleri	43
3.2.1. Kullanılan Araçlar-Gereçler	43
3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler	44
3.3. Kullanılan İlaçların Hazırlanması	44
3.4. Yöntemler	45
3.4.1. Kronik Hafif Stres (Chronic Mild Stress ) Prosedürü	45
3.4.2. Zorunlu Yüzme Testi	46
3.4.3. ELISA Testi ile Serotonin Seviyesi Tayini	46
3.4.4. Tri Reagent ile RNA İzolasyonu	47
3.4.5. Spektrofotometrik RNA Ölçümü	48
3.4.6. Komplementer DNA Sentezi	48
3.4.7. Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu	50
3.5. İstatistiksel Analizler	52
<b>4. BULGULAR</b>	<b>53</b>
4.1. Elisa Testi Verilerinin Değerlendirilmesi	53
4.2. Zorunlu Yüzme Testi Davranış Verilerinin Değerlendirilmesi	54
4.3. Grupların miRNA Ekspresyon Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	59
4.4. TRPC3 ve TRPC6 İyon Kanallarının Ekspresyon Ölçümlerinin Değerlendirilmesi	68
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>70</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b>	<b>86</b>
<b>7. KAYNAKLAR</b>	<b>89</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>108</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.1.</b>	Beynin Limbik Yapıları	15
<b>Şekil 2.2</b>	Beynin Frontal Korteks Bölgesi	16
<b>Şekil 2.3.</b>	ZYT’de Hareketsizlik, Yüzme ve Tırmanma Davranışları	21
<b>Şekil 2.4.</b>	Kuyruktan Asma Testi	21
<b>Şekil 3.1.</b>	Exportin-5 aracılığı ile miRNA' nın Nükleustan Sitoplazmaya taşınımı	26
<b>Şekil 3.2.</b>	miRNA Biyogenezi	27
<b>Şekil 4.1.</b>	Gruplara Ait Total Beyin Serotonin Değerleri	53
<b>Şekil 4.2.</b>	Gruplara Ait Zorunlu Yüzme Testi Yüzme Davranışı Verileri	54
<b>Şekil 4.3.</b>	Gruplara Ait Zorunlu Yüzme Testi Tırmanma Davranışı Verileri	55
<b>Şekil 4.4.</b>	Gruplara Ait Zorunlu Yüzme Testi Hareketsizlik Davranışı Verileri	55
<b>Şekil 4.5.</b>	Gruplara Ait miR-9-5p Ekspresyon Değerleri	59
<b>Şekil 4.6.</b>	Gruplara Ait miR-16-5p Ekspresyon Değerleri	59
<b>Şekil 4.7.</b>	Gruplara Ait miR-30c-5p Ekspresyon Değerleri	60
<b>Şekil 4.8.</b>	Gruplara Ait miR-34a-5p Ekspresyon Değerleri	60
<b>Şekil 4.9.</b>	Gruplara Ait miR-128-1-Ep ekspresyon Değerleri	61
<b>Şekil 4.10.</b>	Gruplara Ait miR-129-5p Ekspresyon Değerleri	61
<b>Şekil 4.11.</b>	Gruplara Ait miR-132-3p Ekspresyon Değerleri	62
<b>Şekil 4.12.</b>	Gruplara Ait miR-139-5p Ekspresyon Değerleri	62
<b>Şekil 4.13.</b>	Gruplara Ait miR-219a-5p Ekspresyon Değerleri	63
<b>Şekil 4.14.</b>	Gruplara Ait miR-382-5p Ekspresyon Değerleri	63
<b>Şekil 4.15.</b>	Gruplara Ait miR-497-5p Ekspresyon Değerleri	64
<b>Şekil 4.16.</b>	Gruplara Ait TRPC3 mRNA Ekspresyon Değerleri	68
<b>Şekil 4.17.</b>	Gruplara Ait TRPC6 mRNA Ekspresyon Değerleri	69



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<b>Çizelge 2.1.</b> miRNA'ların isimlendirilmesinde kullanılan bazı kısaltmalar	25
<b>Çizelge 2.2.</b> Çalışmada kullanılan ve depresyonla ilişkili olduğu düşünülen bazı mikroRNA'ların sinir sistemindeki görevleri ve kromozomal lokalizasyonlar	33
<b>Çizelge 2.3.</b> miRNA Veritabanları	34
<b>Çizelge 2.4.</b> Depresyonda etkili olduğu düşünülen bazı iyon kanalları ve inhibitörleri	40
<b>Çizelge 3.1.</b> Haftalık kronik hafif stres protokolü	45
<b>Çizelge 3.2.</b> TRPC3/6 için cDNA karışım miktarı	49
<b>Çizelge 3.3.</b> TRPC3/6 için cDNA sentezi PCR programı	49
<b>Çizelge 3.4.</b> miRNA'lar için cDNA karışım miktarı	50
<b>Çizelge 3.5.</b> miRNA'lar için cDNA sentezi PCR programı	50
<b>Çizelge 3.6.</b> RT-PCR' da Kullanılan microRNA primerleri	51
<b>Çizelge 3.7.</b> RT-PCR için kullanılan bileşikler	51
<b>Çizelge 3.8.</b> RT-PCR programı	52
<b>Çizelge 5.1.</b> Stres ve depresyonla ilişkili miRNA'lar	74

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

<b><math>\alpha</math></b>	: Alfa
<b><math>\beta</math></b>	: Beta
<b><math>\mu</math>l</b>	: Mikrolitre
<b>5-HIAA</b>	: 5- hidroksiindolasetikasit
<b>5-HT</b>	: 5-Hidroksitriptofan (Serotonin)
<b>ACTH</b>	: Adreno Cortiko Trophic Hormone
<b>AGO</b>	: Argonaute
<b>Bcl-2</b>	: B-cell lymphoma 2
<b>BDNF</b>	: Brain-Derived Neurotrophic Factor (Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör)
<b>BOS</b>	: Beyin Omurilik Sıvısı
<b>Ca</b>	: Kalsiyum
<b>CaMK</b>	: Ca <sup>2+</sup> /calmodulin-dependent kinase
<b>cDNA</b>	: Komplementer Deoksiribonükleik Asit
<b>cm</b>	: Santimetre
<b>CREB</b>	: cAMP Response Element-Binding Protein
<b>DA</b>	: Dopamin
<b>db</b>	: Desibel
<b>DGCR8</b>	: DiGeorge sendromu kritik bölge 8
<b>dk</b>	: Dakika
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik Asit
<b>DSM-V</b>	: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders 5
<b>EGF</b>	: Epidermal Growth Factor
<b>ENaC</b>	: Epitelyal Sodium Channel
<b>FOXP2</b>	: Forkhead box protein P2
<b>GABA</b>	: Gamma-Aminobütirik Asit
<b>GLUR</b>	: Glutamat Reseptörü
<b>HPA</b>	: Hipotalamo-Pituiter-Adrenal eksen

<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>K</b>	: Potasyum
<b>kg</b>	: Kilogram
<b>KHS</b>	: Kronik Hafif Stres
<b>lx</b>	: Lüks
<b>MAOI</b>	: Monoamin Oksidaz İnhibitörü
<b>MAPK</b>	: Mitogen Activated Protein Kinase
<b>MDB</b>	: Majör Depresif Bozukluk
<b>mg</b>	: Miligram
<b>miRNA</b>	: Mikro Ribonükleik Asit (mikroRNA)
<b>mRNA</b>	: Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>MSS</b>	: Merkezi Sinir Sistemi
<b>Na</b>	: Sodyum
<b>ncRNA</b>	: Kodlama yapmayan (noncoding) Ribonükleik Asit
<b>NE</b>	: Norepinefrin
<b>ng</b>	: Nanogram
<b>NGF</b>	: Neuron Growth Factor (Nöron Büyüme Faktörü)
<b>NLRP3</b>	: Nod Like Reseptor Protein 3
<b>NMDA</b>	: N-methyl-D-aspartate Receptor
<b>NO</b>	: Nitrit Oksit
<b>P2RX7</b>	: Purinergic Receptor P2x Ligand-Gated Ion Channel 7
<b>PKC</b>	: Protein kinase C
<b>PCR</b>	: Polimeraz Zincir (Chain) Reaksiyonu
<b>RISC</b>	: RNA Induced Silencing Complex
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>RT-PCR</b>	: Real Time Polimerase Chain Reaction
<b>RPM</b>	: Dakikadaki Devir Sayısı
<b>Pre-miRNA</b>	: Prekürsör (öncül) miRNA
<b>Pri-miRNA</b>	: Primary (ilk) miRNA

<b>sa</b>	: Saat
<b>cAMP</b>	: Siklik Adenozin Monofosfat
<b>SIRT1</b>	: Sirtuin 1
<b>SERT</b>	: Serotonin Transporter
<b>SMAD5</b>	: SMAD Family Member 5
<b>sn</b>	: Saniye
<b>SSRI</b>	: Selective Serotonin Reuptake Inhibitor (Seçici Serotonin Geri alım İnhibitörü)
<b>TNF</b>	: Tumor Necrosis Factor
<b>SNP</b>	: Single Nucleotide Polymorphism (Tek Nükleotid Polimorfizmi)
<b>TREK</b>	: TWIK-Related Potassium Channel
<b>Trk</b>	: Tropomyosin Related Kinase
<b>TRPC</b>	: The Canonical Transient Receptor Potential Channel
<b>UTR</b>	: Untranslated Region
<b>Zn</b>	: Çinko
<b>ZYT</b>	: Zorunlu Yüzme Testi

## ÖZET

### Fare Depresyon Modelinde TREK1 ve TRPC3/6 İyon Kanal İnhibitörlerinin mikroRNA Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Derin üzüntülü duygu durumu olarak tanımlanan depresyon yaygın görülen bir hastalıktır. Son yıllarda mikroRNA ve iyon kanallarındaki değişimlerin depresyona neden olabileceği belirtilmektedir. Çeşitli çalışmalarda miRNA'lar ile sinyal iletiminin önemli elemanları olan iyon kanalları arasında ilişki olduğu saptanmıştır. Ancak iyon kanal aktivitelerindeki değişimlerin miRNA'ların sentezi üzerine etkileri bilinmemektedir. Çalışmamızda fare depresyon modelinde, beynin prefrontal korteks bölgesinde mikroRNA ekspresyonları ve TREK1 iyon kanal inhibitörü anandamide ve TRPC3/6 inhibitörü norgestimate'ın mikroRNA ekspresyonu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmada albino BALB/c ırkı fareler kullanıldı. Gruplar kontrol, sham, sertralin, anandamide, sertralin+anandamide, norgestimate ve sertralin+norgestimate olarak düzenlendi. Farelerde depresyon modeli kronik hafif stres protokolü ile oluşturuldu ve depresyon düzeyinin değerlendirilmesinde zorunlu yüzme testi kullanıldı. Çalışmada kullanılan inhibitörler 5mg/kg/gün dozunda sertralin ise 10mg/kg/gün dozunda verildi. Grupların total beyin dokularının serotonin seviyeleri ELİSA, miRNA ve iyon kanallarının ekspresyon düzeyleri ise RT-PCR ile değerlendirildi.

Analizler sonucunda depresyonda (sham grubunda) miR-9-5p, miR-128-1-5p, miR-382-5p'de anlamlı artış ve miR-16-5p, miR-129-5p, miR-219a-5p'de anlamlı azalma olduğu belirlendi. Çalışmamızda iyon kanal inhibitörlerinin miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p ve miR-382-5p ekspresyonlarını anlamlı olarak arttırdığı bulundu. Sertralin+inhibitör uygulanan gruplarda ise miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-129-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p, miR-497-5p'de önemli bir artış olduğu görüldü. İnhibitörlerin özellikle sertralinle birlikte kullanıldığında ZYT'de antidepresif etkiye sahip olduğu belirlendi.

Literatürle uyumlu olarak özellikle miR-9-5p ve miR-128-1-5p'deki artışın depresyon etyopatogenezinde önemli roller oynayabileceği düşünülmektedir. Anandamide ve norgestimate'ın ZYT'de antidepresif etkiye sahip olmaları bu inhibitörlerin sertraline ek olarak tedavide kullanılabileceğini göstermektedir. Çalışmamız iyon kanal inhibitörlerinin miRNA'lar üzerine etkilerinin anlaşılması ve yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasına yönelik çalışmalara ışık tutması bakımından önem taşımaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Depresyon, mikroRNA, TRPC3, TRPC6, TREK1, Norgestimate, Anandamide, Kronik Hafif Stres, Zorunlu Yüzme Testi.

## ABSTRACT

### **The Investigation Of The Effects On microRNA Expressions of TREK1 and TRPC3/6 Ion Channel Inhibitors In A Mouse Model Of Depression.**

Depression which is defined as profound sad-soul feeling is a common disease. In recent years, it is mentioned that alteration of microRNAs and ion channels can cause to depression. Association between miRNAs and ion channels that are important molecules in signal transduction pathway has been shown by many studies. However, the effects on synthesis miRNAs of changes in ion channel activities are unknown. In our study, we aimed to investigation of effects on miRNA expression of norgestimate, inhibitor of TRPC3/6 ion channel and anandamide, inhibitor of TREK1 ion channel and miRNA expression in prefrontal cortex region of brain in mouse model of depression.

In this study, strains of albino BALB/c mice were used. Groups as sham, sertraline, anandamide, sertraline+anandamide, norgestimate and sertraline+norgestimate were organized. Depression model in mice was created with chronic mild stress protocol and forced swim test was used to assess level of depression. Inhibitors used in this study 5mg/kg/day were given and also sertraline 10mg/kg/day was given. Serotonin was measured from total tissues of brain in all groups by ELISA tool. miRNA and ion channel expression were quantified by RT-PCR.

Statistical analysis showed that a significant increase was determined in miR-9-5p, miR-128-1-5p, miR-382-5p, while a significant decrease was determined in miR-16-5p, miR-129-5p, miR-219a-5p in depression (in sham group). It was found that ion channel inhibitors led to significantly increase in expression of miR-16-5p, miR-30, miR-34, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p and miR-382-5p in depression. It is also demonstrated that miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-129-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p, miR-497-5p was a significant increase in the groups treated sertraline+inhibitor. It has been determined to have effect of antidepressant at FST when the combination of especially sertraline and ion channel inhibitors was used.

Consistent with the literature, increase in particularly miR-9-5p and miR-125-1-5p is thought to be taken important roles in depression etiopathogenesis. Since anandamide and norgestimate have antidepressive effect in FST, both of them can be used in treatment of depression in addition to sertraline. Our study is important since it contributes to understanding of their effects on miRNAs of ion channels and elucidates to find novel treatments of depression.

**Key Words:** Depression, microRNA, TRPC3, TRPC6, TREK1, Norgestimate, Anandamide, Chronic Mild Stress, Forced Swimming Test

# 1. GİRİŞ

Depresyon, dünya çapında oldukça yaygın görülen önemli bir halk sağlığı problemidir (1). Yaşam boyu yaygınlığı % 17-21 olarak bildirilen Major Depresif Bozukluk (MDB) yineleme oranları yüksek olan ve Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre fiziksel, sosyal ve mesleki yeti yitimine yol açan sebepler arasında ilk sırada yer alan ruhsal hastalıktır (2). Depresyon derin üzüntülü bir duygu durumu içinde bireyin düşünce, konuşma ve hareketlerinde yavaşlama, durgunluk, değersizlik, güçsüzlük, isteksizlik, karamsarlık duygu ve düşünceleri ile fizyolojik işlevlerde yavaşlama gibi belirtilerin yaşandığı bir sendromdur (3).

Major depresif bozukluğun % 32-42'sinin kalıtıldığıının anlaşılması ile sorumlu olabilecek genlere ilgi oldukça artmıştır. Aday gen çalışmaları içinde “Brain-derived Neurotrophic Factor” (BDNF), “Tryptophan Hydroxylase 2” (TPH2) ve “Serotonin Transporter” (SERT) gibi genler bulunmaktadır (4). Depresyon etiyolojisinde özellikle Norepinefrin (NE) ve Serotonin (5-HT) etkinliğinde azalma en çok kabul gören bulgulardan biridir (5). Özellikle Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörlerinin (SSRI) depresyon tedavisinde etkin bir biçimde kullanılıyor olması serotoninin depresyondaki rolünü destekler niteliktedir (6). Son yıllarda yapılan çalışmalarda çeşitli aday miRNA'lardaki değişimlerin de depresyona neden olabileceği belirtilmiştir (7).

mikroRNA'lar (miRNA), yüksek seviyede korunan DNA bölgelerinden kodlanan fakat proteine translasyonu gerçekleşmeyen, yaklaşık 18-24 nükleotid uzunluğunda, küçük RNA molekülleridir (8). DNA'dan transkripsiyonu yapılan ancak protein çevirisi yapılmayan genler tarafından kodlanan miRNA'lar, hedef genin mesajcı RNA (mRNA)'lara düşük özgüllükte bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olabileceği için gen ifade edilmesinin kontrolünde önemli rollere sahiptir (9). Son yıllarda yapılan miRNA çalışmalarında bir çok miRNA'nın beyine spesifik olduğu veya ifadesinin beyinde daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum miRNA'ların beyin gelişiminde ve fonksiyonunda önemli rollere sahip olduğunu düşündürmektedir. Bu nedenle beyinde bulunan ve çoğu spesifik olan miRNA'lardaki bir kusurun, sinir sistemini de doğrudan etkileyerek çeşitli sinir sistemi hastalıklarına

neden olması muhtemeldir. Sinaptik ve bilişsel işlev bozukluklarının görüldüğü Alzheimer hastalığı, madde bağımlılığı, uyku bozukluğu, stres gibi patolojik durumlarda beyinde miRNA anlatımında değişimlerin görülmesi bu düşüncüyü desteklemektedir (10).

Hücre içi sinyal iletimindeki işlevsel bozukluklar başta depresyon olmak üzere duygudurum bozukluklarının etiyolojisinde önemli bir rol oynamaktadırlar (11). Hücre içi sinyalizasyonun önemli elemanlarından iyon kanalları membranın lipid çift tabakasını kesen ve bu tabaka boyunca iyonların hareketini kolaylaştıran makromoleküler protein komplekslerdir. İyon kanalları, membranda 3-5Å çapta delikler oluşturur ve iyonların hareketi bu delikler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu kanallardan akan  $Ca^{+2}$  gibi iyonlar bir ikincil habercinin kaynağı olarak hücre içi sinyalizasyona katılmaktadır (12). İyon kanallarında meydana gelen değişimler hücresel mekanizmaların işleyişini derinden etkilemektedir. Günümüzde yapılan moleküler temelli çalışmalarda iyon kanalları ve ilişkili genler oldukça önem kazanmıştır (13). İyon kanal ekspresyonlarının kontrolünde transkripsiyon faktörlerinin kritik bir role sahip oldukları bilinmekteydi ancak son yıllarda yapılan çalışmalarda gen ifadesi kontrolünün önemli elemanlarından mikroRNA'ların iyon kanallarının düzenlenmesi sürecine de dahil olduğu belirlenmiştir (14). MikroRNA'lar çeşitli iyon kanal genlerini ve iyon kanalları ile ilişkili genleri hedef aldıkları gibi iyon kanallarının da miRNA'ların düzenlenmesinde etkisi olduğu bilinmektedir (15). Ancak bu alanda yapılmış çok fazla çalışma bulunmamaktadır.

Bu bilgiler doğrultusunda planladığımız çalışmada, farelerde kronik hafif stress protokolü ile oluşturulan depresyon modelinde Beynin prefrontal korteks bölgesinde, mikroRNA ekspresyonları ve depresyonla ilgili olduğu düşünülen iyon kanallarından TREK1'in inhibitörü anandamide ve TRPC3/6'nın inhibitörü norgestimate'ın mikroRNA ekspresyonu üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

Çalışmamızın 3 temel alanda katkı sağlayabileceği düşünülmektedir. İlk olarak mikroRNA'ların fare depresyon modelinde araştırılmasıyla hastalık etyopatogenezinde önemli rol oynayabilecek mikroRNA'lar belirlenecektir. İkinci olarak TREK1 ve TRPC3/6 iyon kanal genlerinin depresyon için aday genler olabileceği belirtilmesine karşın in vivo deneylerde bu kanalların mikroRNA'lar üzerine etkileri bilinmemekte ve bu alanda yeterli çalışma bulunmamaktadır. TREK1 ve TRPC3/6 iyon kanal



inhibitörlerinin depresyon hastalığının fare modelinde mikroRNA ekspresyonlarını değiştirip değiştirmediği ve yeni terapötik bir hedef olarak kanal inhibitörlerinin etkinliğinin belirlenmesi sağlanacaktır. Üçüncü olarak iyon kanalları ve mikroRNA'lar arasındaki ilişkiler ortaya çıkartılacaktır. Çalışmamız depresyonda iyon kanalı ve miRNA ilişkileri konusunda yapılan ilk çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Majör Depresif Bozukluğun Tanımı ve Epidemiyolojisi

Depresyon, nörobiyolojik tabanı olan, Beynin yapısal ve fonksiyonel bozuklukları ile ilişkilendirilen ve dünya çapında 350 milyon kişiyi etkileyen psikiyatrik bir hastalıktır (16,17,18). Yaşam boyu yaygınlığı % 17-21 olarak bildirilen Majör Depresif Bozukluğun (MDB), Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre 2030 yılında sosyal ve ekonomik yük getirisi açısından kalp damar hastalıklarından sonra 2. sırada yer alan bir hastalık olacağı tahmin edilmektedir (17,19). Türkiye'de depresyonun yaygınlığı ile ilgili Sağlık Bakanlığı tarafından yapılan en son çalışma 1998'de yapılan "Türkiye Ruh Sağlığı Profili" araştırmasıdır. Bu çalışmada depresif nöbet yaygınlığı % 4,0 olarak belirtilmiştir. Yaygınlık oranları kadınlarda % 5,4, erkeklerde ise % 2,3'tür (20). Ülkemizde Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Müdürlüğü tarafından 2004'te Başkent Üniversitesi'ne yaptırılan Ulusal hastalık yükü ve maliyet etkililik projesinde 15-59 yaş aralığında en fazla yeti yitimine neden olan hastalık olarak MDB ilk sırada yer almaktadır (21). Majör depresyonun yüksek hastalık yüküne sahip olması, sık görülen kronik bir rahatsızlık olması, durumda süregelenleşme, yinelemelerle seyretmesi, tedaviye yanıtın geç ortaya çıkması gibi nedenlerle açıklanmaktadır (22).

Depresyon, normal üzüntü halinden, şiddetli psikotik belirtiler gösteren durumlara kadar varabilmektedir. Her insanın yaşayabileceği bu üzüntü hali, ancak şiddetli, yoğun ve uzun süreli olduğunda majör depresyon olarak tanımlanmaktadır (23). Majör depresyon; derin üzüntülü bir ruh hali içinde kişinin düşünce ve hareketlerinde yavaşlama, karamsarlık, kendine duyduğu saygının azalması, değersiz hissetme, uyku ve yeme bozuklukları, isteksizlik, durgunluk ile bilişsel fonksiyonlarda ve fizyolojik işlevlerde bozulma ile karakterize edilen, ilerlediği takdirde intihara sürükleyen bir rahatsızlıktır (18, 24).

Majör depresyonun klinik tanısı DSM-V'e (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders) göre aşağıdaki belirtilerden en az 5'i 2 hafta boyunca görüldüğü takdirde konulmaktadır. Bu belirtilerden biri mutlaka depresif ruh hali, hayattan zevk

almama (anhedoni) veya çevresine karşı ilgisizlik olmalıdır. Major depresyonun 9 semptomu şunlardır; (25,26)

1. Her gün, gün boyu süren depresif duygudurum (Üzgün, boşlukta hissetme, ağlamaklı görünüm)
2. Her gün ve gün boyu süren etkinliklere ilgide azalma, eskisi kadar zevk alamama
3. Önemli derecede kilo kaybı ya da kilo alımı
4. İnsomnia ya da hipersomnia (Uykusuzluk ya da aşırı uyuma)
5. Psikomotor ajitasyon ya da retardasyonun olması (davranışlarda aşırı artma ya da gerileme)
6. Yorgunluk, bitkinlik ve enerji kaybının olması
7. Değersizlik, aşırı ya da uygun olmayan suçluluk duygularının (gerçek dışı yargı) olması
8. Düşüncesini yoğunlaştırmada azalma ya da kararsızlık
9. Yineleyen ölüm düşünceleri (intiharla ilgili).

İntihar vakalarının % 50-70'inin bir duygudurum bozukluğundan kaynaklandığı ve bu vakaların % 80'ini major depresyon tanısı koyulan hastaların oluşturduğu bilinmektedir (23). Depresyon tedavisi için kullanılan antidepresan sayısı gün geçtikçe artmasına rağmen, ilaç etkinliği ile ilgili çalışmalarda depresyon hastalarının ancak %50'sinin tedaviye cevap verdiği, %10-15 hastadan ise hiç yanıt alınmadığı belirlenmiştir (22, 2)

## **2.2. Majör Depresif Bozukluğun Tarihçesi**

Duygudurum bozuklukları ile ilgili gözlemler, insanlık tarihi boyunca, değişik çağlarda değişik toplumlarda, çeşitli mitolojilerde ve dinlerde yer almıştır (27,28).

Depresyonun ilk tanımı M.Ö 5. yy'de yaşamış olan Hipokrat tarafından yapılmış ve ruhsal hastalıkların, olağanüstü güçler nedeniyle değil, doğal nedenlerle oluştuğunu bunun nedenin de dalaktan fazla üretilen kara safra olduğunu iddia etmiştir. "melan" siyahın, "koli" ise safranın karşılığı olup melankoliyi bu şekilde tanımlamıştır (29). İbni Sina (M.S. 980-1037) ruhu beynin bir fonksiyonu olarak görmüş ve buradaki

herhangi bir bozukluğun melankoliyi ortaya çıkardığını söylemiştir. Melankolide farklı duygudurumları tanımlamış ve bunun vücut sıvılarının değişik oranlarda karışımından kaynaklandığı düşüncesi ile günümüz nörotransmitter hipotezinin öncüsü olmuştur (30). 1750'lerden itibaren “*depression*” sözcüğü melankoli teriminin eşanlamlısı olarak kullanılmıştır. Latince “*de primere*” sözcüğünden kökenlenen Fransızca “*depression*” sözcüğü İngilizceye de aynı şekilde geçmiştir. Türkçeye “çöküntü” olarak çevrilen bu sözcük, birçok olguyu tanımlamakta kullanılmaktadır (31).

### **2.3. Majör Depresif Bozukluğun Etiyolojisi**

Depresyonun ortaya çıkmasına yol açan sebepler, psikososyal, genetik ve biyolojik olarak üç ana başlık altında incelenebilir (32).

#### **2.3.1. Psikososyal Etkenler**

##### **2.3.1.1. Klasik Psikanalitik Görüş**

Freud ve K. Abraham yas ve depresyon arasındaki benzerlikler üzerinde durmuş ve aralarındaki farkı "agresyonun bireyin kendine yönelmesi" modeli ile açıklamışlardır. Bu modele göre sevilen bir nesnenin kaybı sonucu kaybedilen, introjekte (içe-atım) edilmekte, yani sevilen nesne ve ya kişinin tasarımı benliğin içinde saklanmaktadır (32).

##### **2.3.1.2. Benlik Psikolojisi**

E. Bibring'e göre depresyona yol açan çatışmalar salt benlik içinde de olabilmektedir. Bireyin benliğin özsever beklentilerinin gerçekleşmediği durumlarda, çaresizlik ve benlik saygısında azalmayla karşı karşıya kaldığı ve benliğin işlevlerini yerine getiremediğini öne sürmektedir (33).

##### **2.3.1.3. Bilişsel Görüş**

Beck'in bilişsel kuramına göre depresyon durumunda bireyin çevresi ve kendisi ile ilgili algılamaları, değerlendirmeleri ve yorumlarında yanlılıklar, çarpıklıklar,

yanlılıklar bulunmaktadır. Bu kalıplaşmış düşünce şemaları kişide karamsarlık, çaresizlik gibi duygular oluşturmaktadır (32).

#### **2.3.1.4. Öğrenilmiş Çaresizlik Görüşü**

Seligman köpeklere elektrik akımı verip kaçma girişimlerini engellediğinde köpeklerin bir süre sonra kaçma çabasını bıraktıklarını ve insanlardaki depresyona benzer şekilde durgun üzüntülü bir duruma girdiklerini görmüştür. Bu görüşe göre erken yaşlardan itibaren olumsuz hayat şartlarıyla karşılaşan ve bu şartların üstesinden gelemeyen bireylerde depresyon görülebileceği belirtilmiştir (34).

#### **2.3.1.5. Stresli Hayat Olayları**

Stresli hayat olaylarının depresyona zemin hazırladığı bilinmektedir (35). Bireyin yaşadığı olayı nasıl algılayıp değerlendirdiği ve bu olayın üstesinden gelme gücünün ne kadar olduğu önemlidir (34). Otoritelere göre yeterli şiddette bir stres beyinde nöron kaybına ve nörotransmitter düzeylerinde, reseptör sayı ve duyarlılığında, sinaptik bileşkede değişikliklere neden olabilmektedir (32). Depresyon tanısı alan hastalarla, kontrol grupları karşılaştırıldığında depresyon tanısı koyulmuş hastaların daha fazla sayıda ve daha ciddi derecede major yaşam olayı ile karşılaştıkları tespit edilmiştir (35).

#### **2.3.2. Genetik Etkenler**

Son yıllarda, moleküler genetik alanında kaydedilen önemli gelişmeler, bazı hastalıklara yatkınlık oluşturan ve ya sorumlu olan genlerin belirlenmesine olanak sağlamıştır (36). Aile, ikiz ve evlat edinme çalışmaları MDB'nin ailesel bir bozukluk olduğuna dair bilgiler sunmaktadır (37). Major depresyon hastalarının birinci derece yakınlarında hastalığın görülme riski normal popülasyona göre 2-3 kat daha fazladır (32). Tek yumurta ikizleri ile yapılan çalışmalarda birlikte hastalanma oranı dizigot ikizlerin birlikte hastalanma oranınının 3,6 katı olarak bulunmuştur (38). Biyolojik ebeveynlerinde duygudurum bozukluğu olan çocuklarda onları evlatlık alan

ebeveynlerde bir mizaç bozukluğu olmasa bile depresyon geliştirme riski normal populusyona göre daha fazla bulunmuştur (32).

MDB'nin % 32-42'sinin kalıtıldığıının anlaşılması ile sorumlu olabilecek genlere ilgi oldukça artmıştır. (4). Bu genlerdeki polimorfizmlerden bazılarının depresyon oluşumu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (39). Yapılan çalışmalarda nörojenezi ve plastisiteyi düzenleyen gen ekspresyonlarında meydana gelen değişimlerin depresyon patogenezinde rol oynadığı tespit edilmiştir (8). Çalışmalar BDNF, TPH2 ve SERT gibi genler üzerine yoğunlaşmıştır (4). 17. kromozomda yer alan serotonin taşıyıcı genin (SERT) polimorfizmi ile depresyon arasında ilişki bulunması bu alandaki çalışmaları hızlandırmıştır. Aynı şekilde dopamin reseptörlerinden olan D4 reseptör genindeki polimorfizm ile majör depresyon arasında ilişki olduğu belirtilmiştir (38).

### **2.3.3. Biyolojik Etkenler**

#### **2.3.3.1. Biyojenik Aminler**

Duygudurum bozukluklarının etiolojisinde biyojenik amin düzensizliklerinin rol oynadığı bilinmektedir (40). 1960'lı yıllarda öne sürülen katekolamin ve serotonin (5-HT) hipotezleri duygudurum bozukluklarında biyojenik aminlerdeki değişikliklere verilen önemi artırmıştır (32).

##### **2.3.3.1.1. Serotonin**

Serotonin bu güne kadar üzerinde en fazla durulan ve hakkında en çok bilgiye sahip olunan nörotransmitterdir. Diyetle alınan aminoasitlerden biri olan triptofan, serotonerjik nöron içine aktif taşıma pompasıyla alınıp triptofan hidroksilaz enzimi vasıtasıyla 5-hidroksitriptofana (5-HTP) daha sonrada L-aminoasit dekarboksilaz enzimi aracılığı ile serotonine dönüştürülür (41).

Veziküllerde depolanan ve gerektiğinde nöronal iletim için sinaptik aralığa salınan serotoninin uyku, iştah, nöroendokrin işlevlerin, duygudurumunun düzenlenmesinde rolü vardır. Bu düzenlerdeki bozulmalar anksiyete, depresyon gibi psikiyatrik rahatsızlıklara neden olmaktadır (42). Sinaptik aralığa boşalan serotoninin

bir kısmı işlevini gördükten sonra özel geri alım pompası ile geri alınmaktadır. Bu süreç üretilen serotoninin daha ekonomik olarak kullanılmasını sağlamaktadır (41). Serotoninin Mono Amin Oksidaz-A enzimi ile etkileşmesinin sonucu olarak 5-hidroksiindolasetaldehit oluşur ve bu metabolit aldehit dehidrogenaz aracılığıyla aldehitlenerek ana metaboliti olan 5- hidroksiindolasetikasite (5-HIAA) dönüşüp önce Beyin omurilik sıvısına (BOS), sonra kan ve idrara geçerek atılır (42). Depresyonlu hastaların BOS'unda Serotonin'in temel metaboliti olan 5-hidroksiindolasetik asit (5-HIAA) düzeylerinin düşük bulunması, 5-HT'nin depresyon patogenezinde rolü olduğunu düşündürmüştür. Özellikle özkıyım sonucu ölen kişilerde yapılan incelemelerde beyindeki 5-HT ve 5-HIAA düzeylerinin düşüklüğü bu görüşü desteklemiştir (32). 1970'lerden itibaren depresyona serotonin eksikliğinin neden olduğu düşüncesi önem kazanmış ve seçici serotonin geri alım inhibitörleri tedavi aracı olarak kullanılmaya başlanmıştır. Seçici serotonin geri alım inhibitörleri serotoninin geri alımını engelleyerek serotonerjik aktivitenin artmasını sağlamaktadır (43).

#### **2.3.3.1.2. Dopamin**

Dopamin (DA); Merkezi sinir sisteminde katekolaminlerin büyük kısmını oluşturan bir nörotransmitterdir (44). L-tirozin aminoasidi kandan spesifik bir aktif taşıma pompası ile nöron içine alınıp tirozin hidroksilaz enzimi aracılığı ile Dopa'ya dönüştürülür. Daha sonra Dopa, Dopa Dekarboksilaz enzimi vasıtasıyla dopamine dönüştürülür. Dopamin, büyüme hormonu salgısı, prolaktin salgısı ve motor kontrolde rol oynaması nedeniyle şizofreni gibi psikiyatrik hastalıkların oluşmasına neden olmaktadır (42). Dopaminin de diğer biyojenik aminler gibi depresyonda azaldığı tespit edilmiştir (32). Antidepresanların dopamin iletimini artırarak depresif duyguları düzenlediği bilinmekte ancak depresyon ve dopaminerjik sistem arasındaki ilişki hakkındaki bulgular henüz yeterli değildir (42).

#### **2.3.3.1.3. Norepinefrin (Noradrenalin)**

Norepinefrin sentezi, dopamin sentezi ile başlamaktadır (45). Sentezlenen dopaminin, beta hidroksilaz enzimi ile etkileşmesi sonucu norepinefrin (NE) sentezlenmektedir. Veziküllerde depolanan ve gerektiğinde nöronal iletim için sinaptik

aralığa salınan norepinefrin, kalp damar sistemi, solunum ve gastrointestinal sistem üzerinde bazı noradrenerjik alanların uyarılmasının haz verici duygular yaratması nedeniyle depresyon, mani, anksiyete gibi durumların oluşmasına neden olabilen bir nörotransmitterdir (42). Noradrenalin etkisini alfa ( $\alpha_1$  ve  $\alpha_2$ ) ve beta ( $\beta_1$  ve  $\beta_2$ ) reseptörleri ile oluşturmaktadır (43). Depresif hastalarda noradrenalin seviyelerinin azalması ilgi kaybı, zevk alamama, konsantre olamama, ümitsizlik ve karamsarlık gibi semptomlarda artış oluşturmaktadır. Depresyon hastalarının çoğunun plazma noradrenalin yoğunluğunda ve reseptörlerinde artış saptanmıştır (45). Depresyon tedavisinde sinaptik aralıkta noradrenalin geri alımının arttırılması veya santral  $\alpha_2$  adrenerjik reseptör inaktivasyonu yöntemleri kullanılmaktadır (43). Norepinefrin tesirini arttıran trisiklik antidepresanların ve noradrenerjik antidepresan ilaçların sağladığı yarar NE'nin depresyondaki önemini göstermektedir (33).

#### **2.3.3.1.4. GABA**

Amino asit yapısında olan “Gamma-aminobütirik asit” (GABA) memeli santral sistemindeki en yaygın inhibitör nörotransmitterdir. Santral sinir sistemindeki tüm sinapsların yaklaşık % 40'ının nörotransmisyonunda GABA'yı kullandığı tahmin edilmektedir (43). Majör depresyon hastalarının 1/3'ünde GABA düzeyinde azalma gözlenmiştir (42).

#### **2.3.3.1.5. Asetilkolin**

Asetilkolin sinir impulslarının sinapslardan geçişini kolaylaştıran bir nörotransmitter maddedir. Kolinerjik/noradrenerjik denge bozukluğu hipotezine göre bu nörotransmitterler arasındaki denge bozukluğu, depresyonda kolinerjik etkinliği arttırmaktadır. Kolinerjik aktiviteyi arttıran bazı ilaçların depresif belirtiler ortaya çıkarması ve trisiklik antidepresanlardaki antikolinerjik etki bu hipotezi desteklemektedir (32).



#### **2.3.4. Nöroendokrin Sistem**

Depresyonda nörotransmitterlerin işlevinde oluşan bozukluklar hipotalamusu etkileyerek nöroendokrin düzensizliklere sebep olabilmektedirler. Özellikle tiroid ve adrenal sistemlerde oluşan düzensizliklerin depresyona neden olduğu bilinmektedir (42).

Hormonal eksenler, bazı peptid hormonların klasik nörotransmitterler gibi işlev görmesinden, nöroendokrin eksenlerin hormonları kan yoluyla beyine taşınarak geri bildirim (feedback) oluşturarak nöronal fonksiyonu etkilemesinden ve bazı psikiyatrik hastalıkların klasik nöroendokrin eksenlerin hipoaktivitesi veya hiperaktivitesi ile seyretmesinden dolayı önem taşımaktadırlar (46).

İnsan ve hayvanlarda stres durumunda gösterilen endokrin reaksiyon Hipotalamo-Pituitar-Adrenal (HPA) eksen aktivasyonudur (46). HPA ekseninin organ ve salgıları; hipotalamus ve salgısı “Corticotropin Releasing Factor” (CRF), hipofiz ve hipofizden salgılanan “Adreno Cortico Trophic Hormone” (ACTH), adrenal bezler ve salgısı kortizoldür (47). Depresyon ile HPA ekseninin işlevindeki bozukluklar arasındaki bağlantı kortizol miktarındaki yükselmeye ilişkilendirilmektedir. Hipotalamo-Hipofizo-Tiroid eksenini ile depresyon arasındaki ilişki ise BOS'ta “Tyrotropin Releasing Hormon” (TRH) düzeylerindeki artışa bağlanmaktadır (42). Azalmış gece melatonin salınımı, folikül stimüle edici hormon ve luteinleştirici hormon seviyelerinin azalması, prolaktin seviyesinin artması ve erkeklerde azalan testosteron hormon seviyeleri depresyon etiyolojisinde etkili olduğu düşünülen diğer nöroendokrin değişimlerdir (48).

#### **2.3.5. Nörotrofinlerin Rolü**

Nörotrofik faktörler; nöronların gelişiminde ve korunmasında rol alması nedeniyle büyük öneme sahip moleküllerdir. Nörotrofik faktörler arasında en iyi tanımlanmış olanlar; BDNF, Neuron Growth Factor (NGF), nörotrofin 3 (NT-3) ve nörotrofin 4 (NT-4)'tür. Nörotrofik faktörler etkilerini “Mitogen Activated Protein Kinase” (MAPK) döngüsünü, Phosphatidylinositol –3 kinase (PI3K)–Akt ve fosfolipaz C döngüsünü etkileyerek göstermektedirler. MAPK döngüsünün aktivasyonu, proapoptotik protein olan BAD fosforilasyonunu indükleyerek ve antiapoptotik protein

olan Bcl-2 ekspresyonunu arttırarak apoptozu inhibe etmektedir (49). Depresyon ile ilişkili araştırmaların sonucunda, BDNF'nin diğer nörotrofik faktörlere göre depresyondaki rolünün daha fazla olduğu görölmektedir (50). Strese maruz kalındığında hipokampusta BDNF seviyeleri önemli ölçülerde downregölasyona uğramaktadır (11,50). Strese yanıt olarak BDNF downregölasyonunun hipokampusta atrofiye neden olduğu düşünölmektedir (42). Postmortem beyin incelemelerinde, antidepresan ilaç kullanan bireylerde antidepresan kullanmayan bireylere göre daha yüksek oranlarda BDNF seviyesi tespit edilmiştir (50). Antidepresanların hipokampusta ‘‘cAMP Response Element-Binding Protein’’ (CREB) ve BDNF’yi aktive ettikleri ve bunun hipokampusu yüksek glukokortikoid seviyesi gibi stres verici uyarılardan koruduğu saptanmıştır (49).

### **2.3.6. Nöroplastisite**

Nöroplastisite, kısaca çeşitli iç ve dış uyarılara bağlı olarak beyindeki nöronların ve bunların oluşturduğu sinapsların yapısal özellikleri ve işlevlerindeki değişiklikler olarak tanımlanabilir (49). Bellekte bilginin depolanması, birleştirilmesi ve filtre edilmesi gibi mekanizmaların sinaptik plastisitenin oluşumunu sağlamaktadır. Bu işlevlerdeki herhangi bir aksama duygudurum bozuklukların etyopatogenezinde yer alabilmektedir (11,51). Her türlü zihinsel egzersiz ile hipokampal hacimde ve nörogenezde artma görölürken, sürekli stres durumları hipokampal hacimde ve hipokampal nörogenezde azalmaya neden olmaktadır (49). Bazı araştırmalarda antidepresan tedavilerinin hipokampusta stresin neden olduğu atrofi ve hücre ölümü gibi etkileri geriye döndürebildiği, yeni nöron oluşumunu hızlandırdığı ve nöroplastisite üzerinde olumlu etkileri olduğu saptanmıştır (51).

### **2.3.7. Serebro-Vasküler Olaylar**

Serebro vasküler hastalıkların depresyonla beraber seyretmesi ‘‘vasküler depresyon’’ varsayımının ortaya çıkmasına neden olmuştur (42). Bilgisayarlı tomografi ile yapılan çalışmalarda depresyon hastalarında ventrikül genişlemesi ve buna bağlı olarak ventrikül/beyin oranında artma bulunmuştur (33).

### 2.3.8. İmmün Sistem

Merkezi sinir sistemi ile bağışıklık sistemi arasında peptidler, hormonlar ve diğer iletiler aracılığı ile doğrudan bir ilişki olduğu yönünde güçlü kanıtlar vardır. Sitokinler bağışıklık sistemi hormonları olarak değerlendirilen farklı protein gruplarıdır ve endokrin, elektrofizyolojik ve davranışsal olarak etkin oldukları bilinmektedir. Depresif hastalarda immün sistemin baskılandığı saptanmıştır. Depresyonda görülen bazı belirtiler sitokinlerin arttığı hastalıklarda da görülebilmektedir (52).

### 2.3.9. Lipitlerin Rolü

Serum ve membran lipit düzeyleri ve psikiyatrik bozukluklar arasındaki ilişki son yıllarda üzerinde çok çalışılan bir konudur (42,53). Omega-3 esansiyel yağ asidi eksikliğinin depresyona zemin hazırladığı bilinmektedir (42). Depresif ve manik hastalarda kolesterol düzeyinin düşük olduğu saptanmış ancak bu konuda henüz yeterli veri elde edilememiştir (54). Kolesterolün membran geçirgenliğini değiştirerek serotonin bağlanma ve geri alımını etkilediği düşünülmektedir (42).

### 2.3.10. Biyoryitm

Depresyona neden olan etkenler arasında sirkadiyen ritmin bozukluğunun önemli bir faktör olduğu düşünülmektedir. Uyku düzensizliği tedavilerinin depresyona iyi gelmesi bu görüşü desteklemektedir (32).

## 2.4. Depresyon Oluşumunda Risk Etkenleri

- a. **Yaş:** Depresyon 18- 45 yaş aralığındaki kişilerde daha sık görülmektedir.
- b. **Cinsiyet:** Depresyon kadınlarda erkeklere göre daha fazla görülmektedir. Adet görme, gebelik, lohusalık, emzirme, menopoz, doğum kontrol hapi kullanımı ve kadına toplumda biçilen rol, kadında ruhsal hastalıkların daha çok görülmesinin altında yatan sebepler olarak gösterilmektedir.
- c. **Medeni durum:** Ayrı yaşama, boşanma, eş kaybı gibi durumları yaşayan kişilerde depresyon daha yüksek oranda görülmektedir.

- d. Çocukluk dönemi yaşantıları:** Çocukluk dönemindeki kayıplar, ebeveynlerin tutumu, şiddet görme, cinsel istismar gibi durumlar depresyon belirtilerinin erken başlamasına neden olabilmektedir.
- e. Aile öyküsü ve genetik özellikler:** Ailede majör depresyon öyküsünün varlığı önemli bir risk etkeni oluşturmaktadır.
- f. Sosyo-ekonomik durum:** İşsizlik, yoksulluk gibi durumlar depresyon için risk yaratmaktadır.
- g. Güç yaşam olayları:** Güç yaşam olayları aşırı şiddette ve başa çıkılmaz olduğunda ruhsal dengeyi sarsarak ruhsal hastalıkların gelişmesine neden olabilmektedir.
- h. Bedensel hastalıklar:** Depresyonun gelişmesinde sorumlu tutulan etkenlerden biri de bedensel hastalıklar ve bunların sağaltımıdır. Hastanelerde yatan hastaların % 22-33'ünde, ayakta tedavi edilen hastaların ise % 6-20'sinde depresif belirtiler saptanmıştır (42,55).

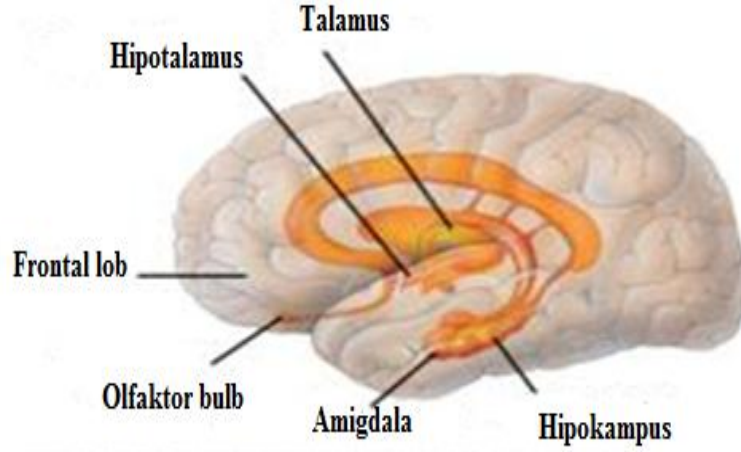
## **2.5. Majör Depresyonun Nöroanatomisi**

Majör depresyon hastalarıyla yapılan çalışmalarda limbik, kortikal, striatal, pallidal, talamik nöral devrelerin hastalıktan sorumlu olabileceği görülmüştür (56). Farelerde oluşturulan depresyon modeli çalışmalarında da çoğunlukla beynin hipokampus, frontal korteks, striatum, hipotalamus bölgeleri incelenerek depresyon oluşumunda etkili beyin bölgeleri olabilecekleri belirtilmiştir (57,58).

### **2.5.1. Limbik Yapılar**

Hipokampus, singulat girus, hipotalamus ve amigdala'nın birlikteliğinden oluşan yapıdır (Şekil 2.1.). Limbik sistem, özellikle korku, öfke ve seksüel davranışlarla ilgili duyguların kontrolünü ve bellek işlevlerinin yürütülmesini sağlayan bölge olarak bilinmektedir. (59, 60). Emosyonel beyin ya da affektif beyin olarak bilinen bu bölgenin zedelenmesi durumunda görsel işlevlerin yürütülmesinde zorluklar, duygusal alanda karışıklıklar ortaya çıkmaktadır (61). Depresyonla ilişkili yakın tarihli çalışmalarda limbik sistemin önemli bir parçası olan hipokampusa odaklanılmıştır (43). Depresyon çalışmalarında hipokampusta nörogenezin bozulduğu, hipokampus hacminin azaldığı ve

antidepresanların nörogenezi arttırdığı gözlenmiştir (62). Ayrıca depresyon olgularında talamus, amigdala, singulat girus ve derin temporal yapıların aktivitesinde artış tespit edilmiştir (61).

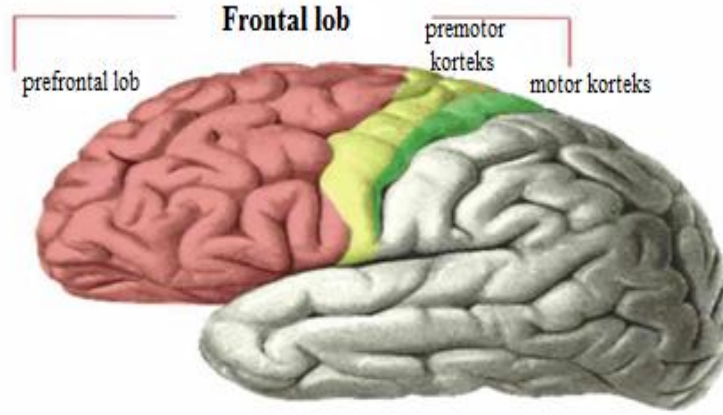


Şekil 2.1. Beynin limbik yapıları (63)

### 2.5.2. Frontal Korteks

Temel olarak karmaşık motor işlevleri ve bilişsel davranışı yöneten bir bölge olan prefrontal alan iç ve dış uyaranları değerlendirip uygun motor yanıtı verme, bilinçli olarak bir eylemi tasarlama ve gerçekleştirme işlevini yürütmektedir (61). Özellikle medial prefrontal korteksin duygudurum değişimleriyle ilişkili olduğu düşünülmektedir (64). Prefrontal korteks aktivitesinde azalma ile birlikte temporal lobe aktivitesinde artışın gözlemlendiği durumlarda üzüntü, ölüm düşünceleri, özkıyım girişimleri, atipik ağrılar ve uykusuzluk gibi belirtiler ortaya çıkmaktadır (61).

Prefrontal alanın striatum, globus pallidus ve substantia nigra, mediodorsal talamus ile olan bağlantıları temel beyin döngülerini oluşturmaktadır. Bu döngülerde oluşan aksaklıkların depresyon etyopatogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (Şekil 2.2.) (64).



Şekil 2.2 Beynin frontal korteks bölgesi (65)

## 2.6. Majör Depresyon Tedavisinde Kullanılan Antidepresanlar

Depresyonun bilinen ilk farmakolojik tedavisinin Troyalı Helena'nın "nepenthes" adlı morfin türevini antidepresif amaçlı kullanımı olduğu düşünülmektedir (66). Antidepresan grubu ilaçlar, 1950'li yıllarda tüberküloz tedavisi için yapılan araştırmalar sırasında bulunmuştur. Tüberküloz tedavisi için İproniazid kullanan hastaların, depresif belirtilerinde gerileme olduğu gözlenmiştir (67). 1950 ve 1960'lardaki bu keşifler antidepresan ilaç tedavisi ve depresyon şikayeti bulunan hastalar için yeni ve daha iyi tedavilerin geliştirilmesine yönelik ilgiyi arttırmıştır (68).

Antidepresanlar başta depresyon olmak üzere birçok psikiyatrik hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır (69). Bu ilaçlar enzim ya da reseptör inhibitörleri ve geri alım engelleyicileri olarak etkilerini göstermektedirler. Antidepresan olarak kullanılan ilaçlar ve bu ilaçların etken maddelerinin sınıflandırılması aşağıda yapılmıştır.

### 2.6.1. Monoamin Oksidaz İnhibitörleri

Serotonin, noradrenalin ve dopamin yıkımını düzenleyen bir enzim olarak işlev gören monoaminoksidaz enziminin inhibisyonu, sinaptik boşlukta nörotransmitter birikimine neden olmaktadır. Bu birikim noradrenalin ve serotonin düzeylerini arttırmaktadır (70).

- Moklobemid

### **2.6.2. Trisiklik Antidepresanlar**

Trisiklik antidepresanlar serotonin ve noradrenalin gerialım pompalarını ve az da olsa dopamin gerialım pompalarını bloke etmektedir (71).

- Opipramol
- İmipramin
- Klomipramin
- Amitriptilin

### **2.6.3. Seçici Serotonin Gerialım İnhibitörleri**

Dünya çapında en çok kullanılan antidepresanlar olan Seçici serotonin gerialım inhibitörleri (SSRI), serotonin geri alımını inhibe eder ve seçici olarak serotonin iletimini artırır, post sinaptik reseptörlerin sayı ve duyarlılığını azaltırlar (70,72,73). SSRI'lar muskarinik, histaminik ve adrenerjik alıcılara bağlanma eğilimi göstermezler böylece diğer antidepresanların yaptığı yan etkilerin çoğunu göstermezler (73).

- Sertralin
- Fluoksetin
- Paroksetin
- Fluvoksamin
- Sitalopram
- Essitalopram

### **2.6.4. Alfa 2 Adrenoreseptör Antagonistleri**

Bu antidepresan grubunun diğerlerinden farkı, serotonin ve noradrenalin düzeylerini monoaminleri veya monoamin geri alım pompalarını inhibe etmeden arttırmasıdır (69).

- Mianserin
- Mirtazapin

### **2.6.5. Seçici Noradrenerjik Geri Alım İnhibitörleri**

Noradrenalin geri alımının inhibisyonu sonucunda sinaptik aralıkta noradrenalin düzeyinin artması ve noradrenerjik iletinin modifikasyonu bu sınıf antidepresan ilaçların en önemli etki mekanizmaları arasında yer almaktadır (74).

- Reboksetin
- Maprotilin

### **2.6.6. Noradrenalin ve Dopamin Geri Alım İnhibitörleri**

Diğer antidepresiflerden daha seçici olarak dopamin geri emilimini inhibe eder. Ayrıca düşük oranda noradrenalin üzerine etkisi olup, serotonerjik ve antikolinerjik etkisi yoktur (70).

- Bupropion

### **2.6.7. Serotonerjik ve Noradrenerjik Geri Alım İnhibitörleri**

İkili serotonerjik ve noradrenerjik geri alım inhibitörleri olarak adlandırılan bu sınıf, benzer klinik etki profili olan TSA'lardan farklı olarak diğer reseptör sistemlerini etkilememektedirler (71).

- Venlafaksin
- Milnasipran
- Duloksetin

### **2.6.8. Serotonin 2A Antagonistleri/ Serotonin Geri Alım İnhibitörleri**

Bu grup antidepresanlar serotonin 2A reseptörlerini ve serotonin geri alımını inhibe etmektedirler (71).

- Nefazodon
- Tianeptin
- Trazodon
- Gepiron



## **2.7. Majör Depresif Bozukluk Çalışmalarında Kullanılan Fare Modelleri**

Model hayvan; hipotezi bilimsel kurallara göre kurulmuş araştırmalarda, biyolojik olayların anlaşılması için kullanılan deney hayvanlarıdır (75). Ülkemizde bu konuda yetkili kurum olan Orman ve Su İşleri Bakanlığının Şubat 2014 tarihli Resmi gazetede yayınlanan “Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmeliği’nde deney hayvanı; deneysel prosedürlerde kullanılan, serbest yaşayan veya çoğalan larva biçimleri, canlı kafadanbacaklılar ve normal fetal gelişimlerinin son üçte birlik döneminden itibaren memeliler dahil insan olmayan herhangi bir omurgalı canlı olarak tanımlanmaktadır. Çalışmalarda deney hayvanı olarak kullanılan hayvanlar arasında en büyük yüzdeyi fare ve sıçanlar teşkil etmektedir (76). İnsanda yapılması güç olan birçok çalışma için kullanılan hayvan modelleri, yeni tedavi araçlarının ve yöntemlerinin bulunması aşamasında önemli bir yere sahiptir (77).

Depresyon çalışmalarında genellikle transgenik fareler, kuyruktan asma testi, zorunlu yüzme testi, kronik hafif stres gibi fare modelleri kullanılmaktadır (77).

### **2.7.1. Kronik Hafif Stres (Chronic Mild Stress ) Prosedürü**

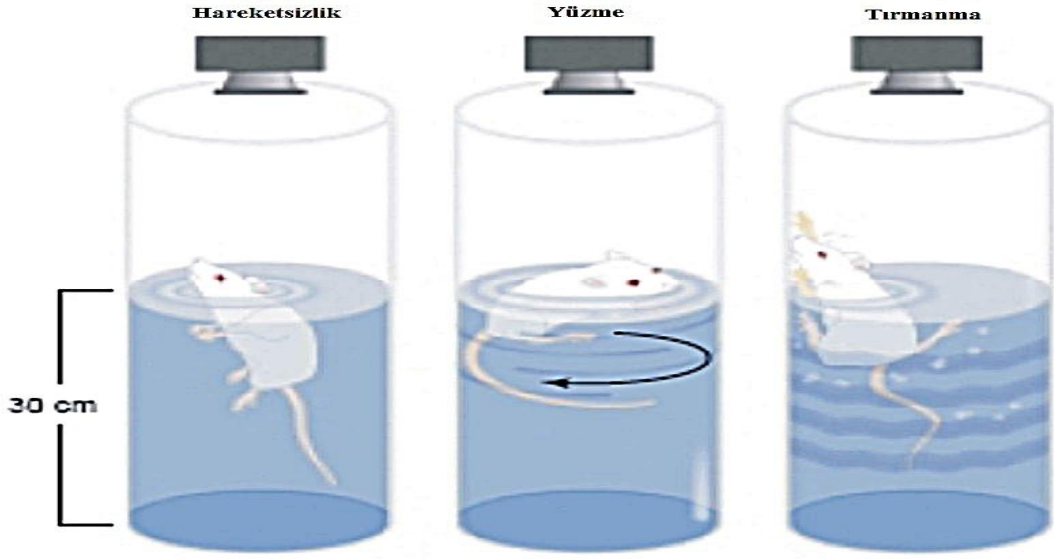
Kronik hafif stres (KHS) protokolü, depresyon hayvan modeli çalışmalarında sık kullanılan ve güvenilirliği yüksek olan bir yöntemdir (78, 79). KHS modeli Katz ve Hers (1981) tarafından geliştirilmiş ve daha sonra Willner (1987) tarafından yeniden tasarlanıp farelere adapte edilmiştir (80,81,82). Birçok çalışmada KHS’in kemirgenlerin davranışlarında depresyon semptomları ile paralel değişimler oluşturduğu gözlenmiştir (78).

Standart bir KHS protokolü bulunmamakla birlikte her laboratuvarında farklı şekillerde uygulanabilmektedir (78). Kronik hafif stres oluşturmak amacı ile fareler genelde 4-7 hafta süre ile rastgele olarak günlük 2-3 stres faktörüne maruz bırakılırlar (83,84). Çalışılmış protokollerde genellikle susuz bırakma, boş su şişesi verme, aç bırakma, tüm gece aydınlıkta bırakma, gündüz karanlıkta bırakma, kafesi 45° eğik bırakma, kafese nemli talaş bırakma, kuyruktan asma, kafese yabancı bir cisim koyma, izolasyon, beyaz sese maruz bırakma, parlak ışık verme gibi stres faktörleri uygulanmaktadır (84-90).

### 2.7.2. Zorunlu Yüzme Testi (ZYT)

Kemirgenlerle yapılan depresyon çalışmalarında özellikle de antidepresan tedavi taramalarında en çok kullanılan ve güvenilirliği yüksek olan hayvan modeli “Zorunlu Yüzme Testi”dir (91,92). Zorunlu yüzme testi ilk olarak Porsolt ve arkadaşları tarafından 1977’de uygulanmıştır. Günümüzde Porsolt’un çalışmasının geliştirilmiş hali kullanılmaktadır (93). Testin ilk halinde sadece hareketsizliğe geçiş ve hareketsizlik süresi dikkate alınırken, testin güncellenmiş halinde yüzme hareketi, tırmanma hareketi ve hareketsizlik süreleri de incelenmektedir (94). Zorunlu yüzme testi, kaçamayacağı bir strese maruz kalan hayvanın kaçma çabasının sona ermesi üzerine öğrenilmiş çaresizliğe benzer bir davranış göstermesi temeline dayanmaktadır (77).

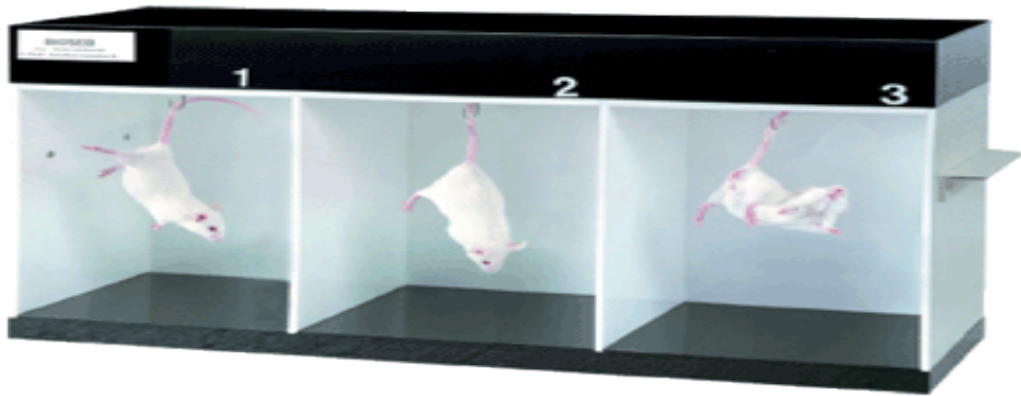
Pleksiglastan yapılmış silindirik şeklinde, 27 cm çapında ve 50 cm yüksekliğinde konteynerin içi 30 cm’ye kadar 24-26°C arasında su ile doldurulur. Deneklere ilk gün 15 dakika yüzme işlemi uygulanır. 24 saat sonra denekler 6 dakika zorunlu yüzmeye bırakılır. Toplam süre boyunca farelerin hareketsizlik (başın su üstünde olduğu vücudun hareketsiz kaldığı dönemler), yüzme ve tırmanma parametrelerini hesaplayabilmek için video kaydı yapılır (Şekil 2.3.). Son gün yapılan 6 dakikalık kaydın son 4 dakikası tarafsız bir gözlemci tarafından 5 saniyelik aralıklarla skorlama (yüzme, tırmanma ve hareketsizlik) yapılarak hesaplanır (95). Hareketsizlik, "davranışsal umutsuzluk" olarak yorumlanmaktadır (77). Çeşitli çalışmalarda antidepresan ilaç verilen deneklerin tırmanma ve yüzme davranışlarında artış olduğu gözlenmiştir (92).



Şekil 2.3. ZYT’de hareketsizlik, yüzme ve tırmanma davranışları (96)

### 2.7.3. Kuyruktan Asma Testi (Tail Suspension Test)

Hayvanların kuyruklarından havada asılı tutuldukları ve hayvanın hareketsiz kalma süresinin ölçüldüğü bu test, davranışsal umutsuzluk üzerine kurulması bakımından zorunlu yüzme testine benzemektedir (77). Fareler sesten ve görsellikten yalıtılmış kabin içinde yaklaşık 70 cm yükseklikten kuyruklarının 1 cm ucundan yapışkan bir bantla 6 dk asılarak video kaydı yapılır (Şekil 2.4.). Total hareketsizlik süresi skorlanır (97).



Şekil 2.4. Kuyruktan asma testi (98)

#### **2.7.4. Olfakter Bulbektomi**

Sıçan ve farelerin olfakter bulbuslarının bilateral alınması, hayvanlarda depresyona benzer davranışsal, nörokimyasal, nöroendokrin ve nöroimmun değişikliklere sebep olmaktadır (99). Açık alan testi ile hareketlilikteki artış değerlendirilmektedir (77).

#### **2.7.5. Genetik Modeller**

Genetik biliminin gelişmesiyle çeşitli hastalıklarda rol oynayan genlerin bilinmesi mümkün hale gelmiştir. Genetik hayvan modellerinde hastalıkta rolü olduğu düşünülen proteinler hedef alınarak genetik yapısı değiştirilmiş, transgenik hayvanlar elde edilmektedir (77). Genomunda başka bir canlıya ait rekombinant bir gen taşıyan hayvanlar “Transgenik” olarak adlandırılmaktadır (100). Transgenik fareler, genlerin fonksiyonlarının ve gen düzenlemelerinin canlı hayvanlar üzerinde çalışılmasına fırsat vermesi bakımından diğer sistemlere göre avantajlar sağlamaktadırlar (101). Transgenik hayvan üretiminde gen transfeksiyonu çeşitli yöntemlerle yapıyor olmasına rağmen en yaygın kullanılanı tek hücreli embriyonun (zigot) bir pronukleusuna rekombinant DNA'nın doğrudan mikroenjeksiyon ile verilmesi yöntemidir (77, 100). Genetik yapıya gen eklenmesi yanında gen silinmesi de çalışmalarda sık kullanılan bir yöntemdir (77). Laboratuvar koşullarında bir geni belirli bir DNA parçasıyla inaktive ederek oluşturulan ve “knock-out” olarak adlandırılan bu deney hayvanları çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır (75).

Depresyon çalışmalarında serotonin, norepinefrin, dopamin taşıyıcıları bakımından transgenik olan hayvanlar kullanılabilir (102).

#### **2.8. mikroRNA'lar**

İnsan genomu; yaklaşık 20,000 kodlama yapan genden oluşan nükleer genom ve 37 genden oluşan mitokondrial genom olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır (103, 104). Gen terimi daha önceleri mRNA kodlayan genom bölgeleri olarak bilinirken, günümüzde yapılan çalışmalarla genomun gen regülasyonunda görevli yüzlerce protein kodlamayan RNA'lar da (ncRNA) transkribe ettiği anlaşılmıştır (105). Temel genetik

bilgiyi barındıran nüklear genomda bulunan bazı bilgiler önce RNA'ya daha sonra proteine dönüştürülürken, genomun bazı bölgelerinden transkripsiyon ile RNA'ya çevrilen, ancak proteine dönüştürülmeyen RNA molekülleri ortaya çıkmaktadır (106).

İnsanda protein kodlayan DNA sekansı, genomun yaklaşık %1,1'ini oluşturmaktadır (104). “*Caenorhabditis elegans*” gibi organizmalar insanla neredeyse aynı miktarda protein kodlayan gene sahiptir (107). Total genomdaki ncRNA oranlarının incelenmesi ile biyolojik komplekslik ve protein kodlamayan RNA'ların miktarı arasında bir ilişki olduğu görülmüştür (108). Önceleri sadece bilgiyi depolayan ve DNA ile protein arasında basit bir bilgi taşıyıcısı olarak görülen RNA'nın, organizmaların gelişiminde önemli bir rol oynadığı ve kilit bir molekül olduğu artık bilinmektedir (109). Protein kodlamayan ve bir kısmının fonksiyonu henüz bilinmeyen RNA'ların tanımlanması, kompleks ökaryotik genomda bulunan bilgilerin ve gen anlatımının anlaşılması açısından büyük bir öneme sahiptir (106). İnsan genomunun %62'sini kapsayan kodlamayan RNA'ların (ncRNA) hücrel savunmada, gelişimsel süreçlerde, farklılaşmada, DNA replikasyonunda ve post-transkripsiyonel susturumda görev aldıkları gösterilmiştir (109).

MikroRNA (miRNA)'lar, yüksek seviyede korunan DNA bölgelerinden kodlanan fakat proteine translasyonu gerçekleştirilmeyen, yaklaşık 18-24 nükleotid uzunluğunda, küçük RNA molekülleri (8). DNA'dan transkripsiyonu yapılan ancak protein çevirisi yapılmayan genler tarafından kodlanan miRNA'lar, hedef genin mesajcı RNA (mRNA)'lara düşük özgüllükte bağlanmasına, mRNA yıkımına ve translasyonel inhibisyona neden olabileceği için gen ifade edilmesinin kontrolünde önemli rollere sahiptir (9). miRNA'lar bu sayede hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve hücre ölümü gibi süreçlere dahil olabilmektedir (106).

### **2.8.1. miRNA'ların Tarihçesi**

miRNA'lar, 1993'te Victor Ambros ve çalışma arkadaşlarının *Caenorhabditis elegans* 'ın gelişiminin kontrolündeki kusurları inceleyen bir araştırma yapması ile hayatımıza girmiştir (110). Ambros ve ekibi lin-4 içeren bölgeyi klonlayarak, klonlanan bölgenin gen ürününün kısa saç tokası şeklinde, 22 nükleotid uzunluğunda, kodlama yapmayan bir RNA olduğunu keşfetmişlerdir (106). Lin-4'ün, lin-14 mRNA'sının 3'UTR alanında bulununan bölge ile komplementer bir RNA kodladığı ve bu küçük

kodlamayan RNA'nın, lin-14'ün translasyonunu baskılayarak larval gelişimin zamanlanmasını düzenlediği anlaşılmıştır (111). 2000 yılında Reinhart ve ekibi Ruvkun Laboratuvarında yine *C. Elegans*'da 22 nükleotid uzunluğunda, 2. Bir miRNA, let-7'yi keşfetmişlerdir (112). Ekip, Let-7'nin, lin-42, lin-57, lin-28 ve daf-12 mRNA'larının 3'UTR bölgesine bağlanarak bu genlerin translasyonunu engellediğini bildirmişlerdir (113,114). 2000 yılında Hannon grubu siRNA moleküllerinin hedef RNA'yı nükleaz aktivitesi içeren RISC (RNA induced silencing complex) aracılığı ile yıktığını bulmuştur. 2001 yılında yine Hannon ve ekibi tarafından küçük çift iplikli RNA'yı kesen bir enzim bulunmuş ve bu enzime "Dicing" kelimesinden türetilen "Dicer" ismi verilmiştir. RNA interferans sürecine dahil olan enzimlerin miRNA biyogenezinde de aynı işlevi gördüğü anlaşılmıştır (106).

Bu tarihlerden sonra miRNA ile ilgili çalışmalar önem kazanmış ve hızla yeni bilgiler edinilmeye başlanmıştır (112).

### 2.8.2. miRNA'ların Adlandırılması

miRNA'nın ilk keşfedildiği tarihten bugüne kadar farklı türlerde binlerce miRNA tanımlanmıştır. Araştırmalarda miRNA isimlerinde çakışıklık olmamasını sağlamak için miRNA'ların isimlendirilmesine gereksinim duyulmuştur. Yeni bulunan bir miRNA'nın isimlendirilebilmesi için klonlama, anlatım ya da miRNA işlenmesi gibi çalışmalarla deneysel olarak doğrulanması ve ilgili makalenin yayınlanması gerekmektedir (106).

miRNA isimlendirilmesinde en başa türü belirten kısaltmalar yazılmaktadır. Örneğin; insan (*Homo sapiens*) kaynaklı miRNA'lar için "hsa", fare (*Mus musculus*) kaynaklı miRNA'lar için "mmu" kodu en başta yer alır (Çizelge 2.1.). MikroRNA'ların öncü ve ya olgun miRNA ayrımı da isimlendirmede yer almaktadır. Küçük r harfi (mir) öncü miRNA'yı büyük "R" harfi ise (miR) olgun miRNA'yı ifade etmektedir (115). İsimlendirmede mir/miR kısaltmasından sonra gelen rakam ise miRNA'ların bulunuş sırasına göre verilmektedir. Paralog genlerden kodlanan miRNA'lar neredeyse benzer dizilere sahiptirler ve adlandırılırken miR-34a-5p, miR-34b, miR-34c örneğinde olduğu gibi rakamdan sonra bir harf kullanılmaktadır. Pre-miRNA saç tokasının 3' ve ya 5' ucundan köken alan miRNA'lar "-3p" ve "-5p" ekleri kullanılarak belirtilirler (116). miRNA biyogenezi ile oluşan birincil transkript

için “pri” ön eki kullanılırken bu transkriptin ribonükleaz enzimleri ile kesilmesi ile oluşan öncü miRNA için ise “pre” ön eki kullanılmaktadır. miRNA ipliklerinin termodinamik kararlılık nedeni ile sadece bir ipliği aktiftir. miRNA çiftinden diğer uçtakine göre daha düşük seviyede ifade edilen miRNA’lar inaktif olarak kabul edilirler. Bu miRNA’lar adlandırılırken numaradan sonra “\*” işareti koyulmaktadır (106, 117).

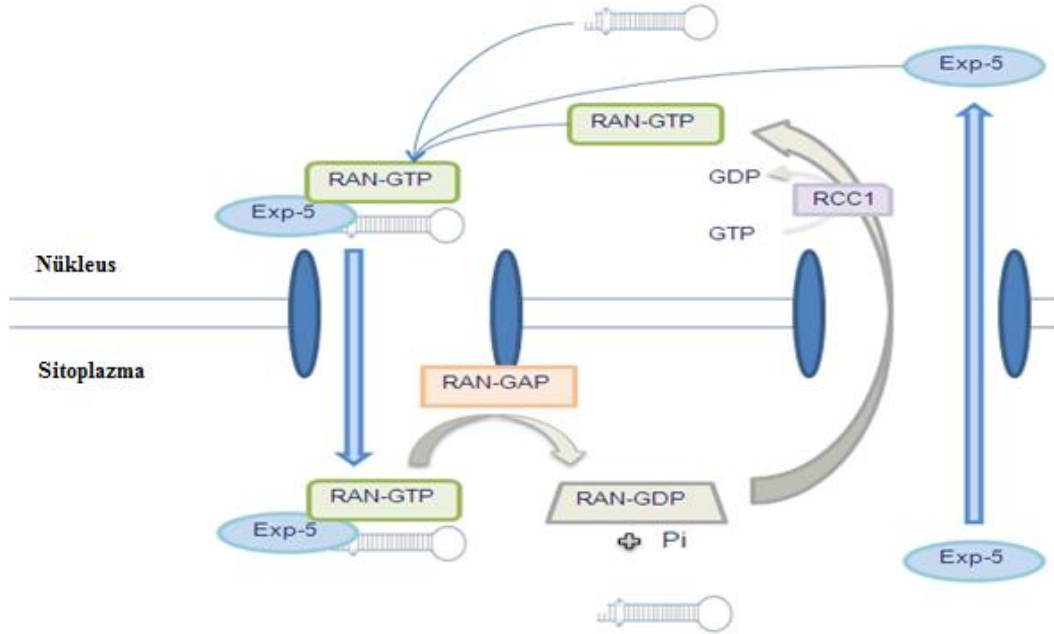
**Çizelge 2.1.** miRNA’ların isimlendirilmesinde kullanılan bazı kısaltmalar (106)

Tür	Tür Adı	Ön eki
İnsan	<i>Homo sapiens</i>	hsa
Fare	<i>Mus musculus</i>	mmu
Sıçan	<i>Rattus norvegicus</i>	rno
Meyve sineği	<i>Drosophila melanogaster</i>	dme
Virüs	<i>Viral</i>	v
Solucan	<i>Caenorhabditis elegans</i>	cel
Zebrafish	<i>Danio rerio</i>	dre
Şempanze	<i>Pan troglodytes</i>	ptr
Rhesus Maymunu	<i>Macaca mulatta</i>	mml
Koyun	<i>Ovis aries</i>	oar
Tavuk	<i>Gallus gallus</i>	gga
At	<i>Equus caballus</i>	eca

### 2.8.3. miRNA’ların Biyogenezi ve Hedef mRNA ile Etkileşimi

MikroRNA’lar RNA polimeraz II aracılığı ile pri-miRNA’lar olarak çekirdekte transkribe edilirler (118). Pri-miRNA’lar “cap” ve “poli A” kuyruğuna sahip sap-ilmik yapısındadır (8). Olgun olmayan bu birincil miRNA’lar yaklaşık 70-100 nükleotid uzunluğundadırlar (119). miRNA geni transkripsiyonu RNA polimeraz II enzimi aracılığı ile gerçekleşse de son zamanlarda yapılan çalışmalarda bazı insan miRNA’larının, RNA polimeraz III tarafından transkribe edildiği bulunmuştur (106). Transkripsiyondan sonra biyogenezdeki diğer süreç, olgun olmayan pri-miRNA’ların mikroişlemci kompleks adı verilen bir enzimatik kompleks tarafından çekirdekte pre-miRNA’lara dönüşümüdür (9,119). Bu enzimatik kompleks RNaz III ailesi üyesi Droshadan ve insan DiGeorge sendromu kritik bölge 8 (DGCR8) proteinlerinden oluşur (8,120). Pri-miRNA’nın enzimatik kompleks ile kesilmesiyle 70 nükleotidlik

pre-miRNA oluşur (121). Pre-miRNA şeklini alan miRNA çekirdekten sitoplazmaya çift iplikli RNA bağlama kapasitesine sahip RAN-GTPaz ile ilişkili, çekirdek yerleşimli, özel taşıyıcı bir protein olan Exportin-5 aracılığı ile taşınır (Şekil 3.1.) (106).

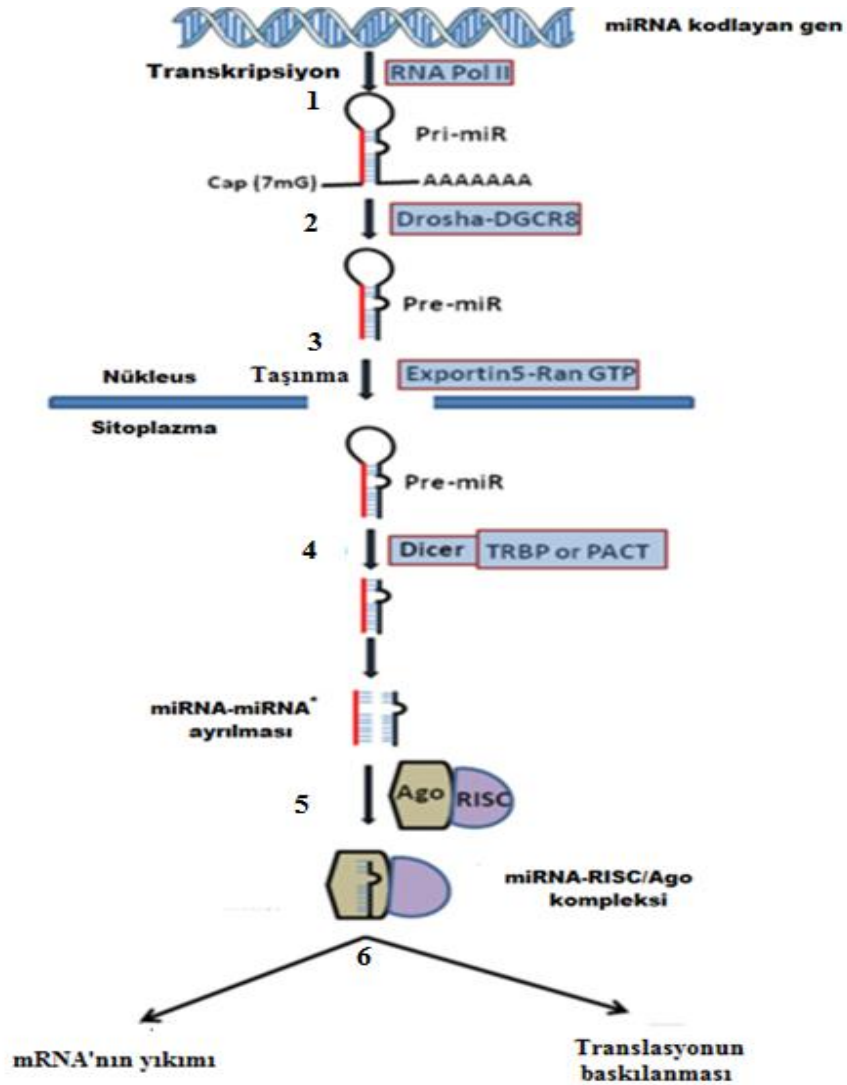


**Şekil 3.1. Exportin-5 aracılığı ile miRNA'nın nükleustan sitoplazmaya taşınımı:** Exp-5/RAN-GTP/pre-miRNA kompleksi nükleusun nükleoporinlerine bağlanır ve nüklear porlardan geçer. pre-miRNA'lar sitoplazmaya salınımı için RAN-GTPaz aktive edici protein GTP'nin GDP'ye hidrolizini gerçekleştirir. Daha sonra eksportin-5 ve RAN-GDP nükleusa geri taşınır ve yeni bir taşınım için Guanin nükleotid değişim faktörünün (RanGEF) aktivasyonu ile RanGDP, RanGTP haline geçer (122, 123).

Çekirdekten sitoplazmaya geçen pre-miRNA'lar bir başka RNaz III enzimi olan Dicer enzimi ve transaktive edici yanıt oluşturan çift zincir RNA bağlanma proteini "Trans-activation Response RNA-binding Protein" (TRBP) veya PACT (protein activator of the interferon induced protein kinase) vasıtasıyla kesilerek yaklaşık 22 nükleotid uzunluğunda olgun çift zincirli miRNA'lara dönüştürülür (124,125). Pre-miRNA'nın Dicer ile kesiminden sonra, miRNA zincirlerinden sadece biri "Argonaute" (AGO) içeren "RNA Induced Silencing Complex" (RISC) ile kompleks oluşturur. Anti-kılavuz veya "yolcu iplik" olarak adlandırılan diğer zincir ise yıkılır (126). Rehber dizi genellikle hücre içerisindeki hedef mRNA'ların 3'UTR (untranslated region) bölgesine bağlanıp ve hedef mRNA dizisiyle tamamen eşleştiğinde, AGO2'nin



katalitik bölgesi hedef mRNA'yı yıkıma uğrattır. Hedef mRNA dizisi ile miRNA rehber dizisi arası eşleşme kısmi olarak gerçekleştiğinde, yani tohum dizisinde eşleşme olduğunda (seed sequence, miRNA'nın ilk 2-8 nükleotidi), translayonel baskılama olur ve diziyeye özgü olmayan P cisimciklerinin oluşumuyla mRNA'ların yıkımına neden olur (Şekil 3.2.) (127). P-cisimciği, RNA ve RNA ile etkileşen enzimler ve proteinlerce zengindir ve burada miRNA bağlı mRNA parçalanabileceği gibi, bir süre bekletilip daha sonra sitoplazmaya bırakılarak tekrar translayona girmesi de sağlanabilir (128).



**Şekil 3.2. miRNA biyogenezi.** 1. pri-miRNA transkripti oluşumu. 2. pri-miRNA'dan pre-miRNA oluşumu. 3. Pre-miRNA'nın sitoplazmaya taşınımı. 4. Pre-miRNA'ların Dicer enzimi ile olgun miRNA'lara dönüşümü 5. miRNA'nın AGO-RISC kompleksi ile birleşmesi. 6. mRNA'nın translayonel olarak baskılanması veya yıkımı (129).

#### 2.8.4. miRNA'lar ve Depresyon

Gen anlatımının düzenlenmesinde rol alan miRNA'lar oldukça karmaşık bir yapıya sahip olan sinir sisteminin gen anlatımlarının düzenlenmesinde de görev alırlar. Son yıllarda yapılan miRNA çalışmalarında bir çok miRNA'nın beyine spesifik olduğu veya anlatımının beyinde daha fazla olduğu görülmüştür. Bu durum miRNA'ların beyin gelişiminde ve fonksiyonunda önemli rollere sahip olduğunu göstermektedir (130,131). Beyinde bol miktarda bulunan miRNA'ların, sinir sistemi gelişim aşamalarında yer alan; nöral indüksiyon, nöral plak ve nöral tüp gelişimi sırasında aksis oluşumu, nörogenez, nöronal farklılaşma, sinaptogenez, nöral morfogenez, gliogenez, dentirogenез, nöral kök hücre yönelmesi, nörit büyümesi, nöronal ve glial hücre tipleri arasında özgül iletişim bölgelerinin kurulması ve korunmasında rol almaktadır. Bu nedenle beyinde bulunan ve çoğu spesifik olan miRNA'lardaki bir kusurun, sinir sistemini de doğrudan etkileyerek çeşitli sinir sistemi hastalıklarına neden olması muhtemeldir. Sinaptik ve bilişsel işlev bozukluklarının görüldüğü Alzheimer hastalığı, madde bağımlılığı, uyku bozukluğu, stres gibi patolojik durumlarda beyinde miRNA anlatımında değişimlerin görülmesi bu düşüncüyü desteklemektedir (106).

Depresyon etiolojisinde yer alan en önemli etkenlerden birisi de strestir. Kronik stres nörotrofin seviyelerinde azalmaya ve nörogenezde hasarlara neden olmaktadır. Farelerde akut hareket sınırlaması ile oluşturulan stres durumunda beynin frontal korteks bölgesinde miR-9, miR-26b, miR-29b, miR-30b, miR-30c, miR-30e, miR-125a, miR-126-3p, miR-129-3p, miR-207, miR-212, miR-351, miR-423, miR-487b, miR-494, miR-690, miR-691, miR-709, miR-711 ve Let-7a-e'nin arttığı tespit edilmiştir (7). Çeşitli çalışmalar stresin bireylerde glukokortikoid seviyelerini düzensizleştirdiği göstermiş ve miR-18a'nın ve miR-124a'nın glukokortikoid reseptörlerini downregüle ettiği belirlenmiştir (4). Ayrıca stresin, hipokampus ve prefrontal kortekste sinaptik glutamat konsantrasyonunu arttırdığı ve hipokampus ile hipotalamustaki glutamat reseptör işlevlerini değiştirdiği bilinmektedir. Depresyonlu hastalarda glutamaterjik sistem bozukluklarının görülmesi de bu bilgiyi desteklemiştir (132). Kortikal nöronlarda miR-132'nin upregülasyonu glutamat reseptörlerinin artışına neden olmaktadır (133). Stres sisteminin başlıca efektör molekülü olan glukokortikoid

hormonların diurnal salınımı sirkadiyen sistem tarafından sağlanmaktadır (106). Bu nedenle sirkadiyen ritm bozuklukları, depresyonda etkili olduğu bilinen faktörlerdendir. miR-96,-182,-183 gibi bazı miRNA'ların sirkadiyen ritmin düzenlenmesine katkıda bulunduğu belirlenmiştir (134). Depresyon oluşumunda çoğu genetik kontrol altında olan biyolojik ritim değişiklikleri önemli rol oynamaktadır. Bu genlerdeki polimorfizimlerden bazılarının depresyon oluşumu ile bağlantılı olduğu bilinmektedir (135). Depresyonla ilişkilendirilen tek nükleotid polimorfizimlerden (SNP) biri sinaptik nörotransmisyonun düzenlenmesine dahil olduğu bilinen "Purinergic Receptor P2x Ligand-Gated Ion Channel 7" (P2RX7) geninin polimorfizimidir. Bu TNP miR-1302 ve miR-625'in hedefi olarak bilinmektedir (136). Ayrıca miR-30e ve miR-183 gibi miRNA'ların polimorfizimlerinin de MDB'de potansiyel rol oynadığı bilinmektedir (137, 138). miRNA oluşum mekanizmasında görev alan genlerden AGO1 (rs636832) ve "DiGeorge syndrome chromosomal [or critical] region 8" DGCR8 (rs3757) polimorfizimleri de depresyonla ilişkilendirilmiştir (136,137,138).

Beyin işlevlerinin neredeyse her sürecinde önemli roller üstlenen miRNA'ların oluşum mekanizmasında işlev gören Dicer, Drosha, RISC, DGRC8 moleküllerindeki kusurlar miRNA biyogenezini bozmakta ve depresyon oluşumuna katkıda bulunmaktadır (139). Dicer knock-out farelerde nöron hacimlerinde ve akson dallanmalarında azalma görülürken, DGRC8 knock-out farelerle yapılan çalışmalarda sinaptik bağlantı sayısında ve dendrit dallanmalarında azalma olduğu gözlenmiştir (7).

Dendritlerin büyümesi ve dallanması, sinapsların yeniden yapılması gibi süreçlerin sadece embriyonik gelişim aşamasında değil, erişkinlerde de devam ettiğinin anlaşılması ile son yıllarda yapılan çalışmalar depresyondaki hastaların beyinlerinin duygudurum ile ilgili bölgelerinde bazı yapısal değişikliklerin meydana geldiğini, hastalığın glial hücre ve nöronlarında azalma kaynaklı olabileceğini göstermiştir. Bu bilgiler doğrultusunda günümüzde, nörogenezi ve plastisiteyi düzenleyen gen ekspresyonlarında meydana gelen değişimlerin depresyon patogenezinde rol oynadığı belirlenmiştir (8,52). miRNA'nın beyindeki işlevlerini inceleyen çeşitli çalışmalar miRNA'ların nörogenez ve sinaptik plastisitede önemli roller üstlendiğini göstermiştir (3). Çalışmalar doğrultusunda beyinde yüksek seviyelerde bulunan ve dendritlerde ve sinaptik alanlarda lokalize olduğu bilinen miR-134'ün aksonların ve dendritlerin

gelişmesi ve sinaptik düzenlenmede, miR-132'nin ise nöronal plastisitede görev aldığı belirlenmiştir (140,141).

Bir nörotrofin olan ve nöral gelişim ve plastisitede önemli rolü olan BDNF'nin MDB patolojisinde etkili olduğu bilinmektedir (2). BDNF “Tropomyozin Related Kinase” (TRK) reseptörüne yüksek bağlanma kapasitesine sahiptir ve bu iki molekül beyinde oldukça bol miktarda bulunmaktadır. Bu ligand reseptör kompleksi, miRNA'lar gibi birçok nörolojik olayda rol oynamaktadır. Bu nedenle BDNF, TRK ve beyine spesifik miRNA'lar arasındaki ilişkiye ilgi oldukça artmıştır (143). miR-9,-16, -124, -128a, -128b,-132, -134, -138,-212 ile BDNF seviyeleri arasında bağlantı olduğu görülmüştür (141, 143). Downregülasyonu intihar davranışlarıyla ilişkilendirilen TRKB-T1 düzenlenmesinde miR-185 görev almaktadır (11). Dendritlerde lokalize olan miR-134 dendrit yapısını düzenleyen Limk1 mRNA'sını baskılamaktadır. Bu baskıyı BDNF azaltmaktadır (143).

BDNF transkripsiyonunda rol oynayan CREB, Siklik Adenozin Monofosfat'ın (cAMP) genetik transkripsiyondaki pozitif etkisini arttıran bir transkripsiyon faktörüdür. cAMP hücrede protein kinaz A enzimini aktive ederek genetik transkripsiyonun aktive olmasına yardım (143).

Protein kinazlar adrenerjik ve serotoninerjik reseptörlerin uyarılması ile aktive olmaktadır. Gen transkripsiyonunun artması ile nöroplastisite için gerekli olan nörotrofinlerin ya da ilgili bazı proteinlerin üretimi artmaktadır (51). Nöral plastisiteyle ilgili transkripsiyon faktörü CREB'i hedeflediği tahmin edilen miR-22, miR-200b, miR-211 ve miR-300 gibi bazı miRNA ekspresyonlarının depresyon modeli oluşturulmuş hayvanlarda arttığı tespit edilmiştir. Fare hipokampusunda miR-134 ün baskılanması sonucu BDNF ve CREB artışı ile sirtuin 1 (SIRT1)'in sinaptik plastisiteyi güçlendirdiği belirlenmiştir (138).

Nörotrofik faktörlerin etkilerini bazı sinyal yollarını etkileyerek gösterdikleri bilinmektedir (49). Bu sinyal yollarından “Protein Kinase C” (PKC), “Phosphatase and Tensin Homolog” (PTEN), “Mitogen Activated Protein Kinase” (MAPK), Wnt/b-catenin ve adrenerjik sinyal yolları MDB oluşumuna dahil olan miRNA hedefleri olarak tanımlanmaktadır (143). Nörotrofinler, fosfoinositol 3-kinaz/Akt ve RAS/MAPK yolları üzerinden etki oluşturarak bir proapoptotik protein olan BAD fosforilasyonun indüklenmesi ve majör antiapoptotik protein Bcl-2 ekspresyonunun

artması yoluyla nöron apoptozunu inhibe ederek nöronların korunmasında rol oynamaktadırlar (49). Uzmanlarca belirlenen miRNA hedefleri arasında antiapoptotik protein Bcl-2, büyüme faktörlerinden IGF1, FGF1, FGFR1, VEGF ve GDNF, DNA metiltransferaz 3B, nörotransmitter reseptörleri GABRA4 ve 5-HT4'ün intihar veya depresyon durumlarına değişimler gösterdiği veya antidepresan mekanizmalarına dahil olduğu bilinmektedir (7,8). Smalheiser ve arkadaşlarının (2014) yaptığı çalışmada Bcl-2 ile miR-34a arasında ilişki olduğu gözlenmiştir. Ayrıca beyinde eksprese olan ve depresyonlu kişilerde kayda değer değişimler gösterdiği bilinen çoğu miRNA'nın beyinde aktif olan "Microphthalmia-Associated Transcription Factor" (MITF), "SMAD Family Member 5" (SMAD5), MYCN, "Estrogen Receptor Alpha" (ESR1) ve BACH2 gibi transkripsiyon faktörlerini hedeflediği düşünülmektedir. ESR1'in mir-148b, -301a, -496 tarafından hedeflendiği bilinmektedir (8).

Depresyonda oldukça önemli rolü olduğu bilinen Serotonin taşıyıcısı SERT'i hedefleyen miR-16, serotonerjik sinyalleri düzenleyerek depresif nörofizyolojinin ayarlanmasında rol oynamaktadır (138, 139). miR-96 serotonin reseptörlerinden 5-HT1B'i negatif olarak düzenlemektedir (138). miR-195 5-HT2A serotonin reseptörünü ve 5-HT4 reseptörünü düzenlemektedir (139). Çeşitli çalışmalarda depresyon tedavisinde kullanılan SSRI'ların miRNA'ları etkilediği görülmüş ve miRNA'ların antidepresan cevaplarının biomarkeri olarak kullanılabileceği belirtilmiştir (144). SERT'i hedeflediği bilinen miR-16 serotonerjik ve noradrenerjik nöronlarda fluoxetine aktivitesinde etkileri olduğu belirlenmiştir. Beynin raphe nuclei bölgesinde bulunan serotonerjik nöronlarda fluoxetine, kanonik Wnt sinyal yolağını antagonize ederek mir-16 seviyesini artırır ve nörotrofik faktör S100b nin salınımını arttırmaktadır. S100b Beynin locus coeruleus bölgesinde bulunan noradrenerjik nöronlarda SERT ekspresyonu üzerindeki baskıyı miR-16 seviyesini azaltarak ortadan kaldırmaktadır. fluoxetine maruziyetinde noradrenerjik nöronlar yeni 5-HT kaynağı olarak kullanılır. Kronik stres modeli farelerde raphe nuclei'ye miR-16 enjeksiyonu veya locus coeruleus'a antimir-16 enjeksiyonunun fluoxetine ile aynı etkiyi yarattığı belirlenmiştir (145). Lityum ve valproat tedavilerinin de çeşitli miRNA'lar üzerine etkileri belirlenmiştir. Lityum ve valproate ile downregüle olan miR-128-1-5p, miR-24 ve miR-34a'nın "Dipeptidyl-Peptidase 10" (DPP10), "Glutamate Receptor Metabotropic 7"

(GRM7) ve ‘‘Thyroid Hormone Receptor Beta’’ (THRB) gibi hipokampal protein seviyelerinde önemli bir artışa neden olduğu belirlenmiştir (7).

Klinik ve deneysel çok sayıda çalışma ile depresif sendromların enfeksiyonlarla ilgili davranışsal etkilerle yakın ilişkili olduğu ve interlökin (IL)-1, IL-6 gibi sitokinler ve ‘‘Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ ’’ (TNF) ekspresyonlarının hastalarda arttığı belirlenmiştir (139). Makrofaj, mikroglia gibi immün sistem hücrelerinin sitozolünde yerleşim gösteren ‘‘Nod Like Receptor Protein 3’’ (NLRP3)’ün aktivasyonunun, depresyon ile ilişkisi araştırılan proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 $\beta$  ve IL-18 aracılı inflamatuvar yanıtların başlamasından sorumlu olduğu keşfedilmiştir (24). miR-223 NLRP3 ekspresyonunu baskılayarak NLRP3 inflamazomunun oluşumuna engel olmaktadır (146). Bu süreçlerde rol oynayan makrofaj ya da glia hücre membranında yerleşim gösteren Toll benzeri reseptör (Toll Like Receptors; TLR) sinyal yolağının kontrolü de çeşitli miRNA’lar tarafından sağlanmaktadır (147).

Son yıllarda, hayvan modellerinde ve klinik depresyon hastalarının post-mortem dokularında yapılan çalışmalar, mikroRNA ekspresyonlarında değışimlerin olduğu göstermekte ve bu bulgular doğrultusunda mikroRNA’ların klinik depresyon tedavilerinde kullanılabileceğı, mikroRNA odaklı yeni antidepresan tedavileri geliştirilebileceğı düşünölmektedir (Çizelge 2.2.) (4,139).

**Çizelge 2.2.** Çalışmada kullanılan ve depresyonla ilişkili olduğu düşünülen bazı mikroRNA'ların sinir sistemindeki görevleri ve kromozomal lokalizasyonları

FARE		İNSAN		Fonksiyonları	Kaynaklar
mikroRNA'lar	Kromozom lokalizasyonu	mikroRNA'lar	Kromozom lokalizasyonu		
mmu-mir-9-1	3	hsa-mir-9-1	1	Santral sinir sistemi gelişiminde, nöronal hacmin belirlenmesinde, akson büyüme ve dallanmasında görev almaktadır.	(148, 149)
mmu-mir-9-2	13	hsa-mir-9-2	5		
mmu-mir-9-3	7	hsa-mir-9-3	15		
mmu-mir-16-1	14	hsa-mir-16-1	13	Serotonerjik sinyalleri düzenlemektedir. Aksonal protein sentezinin düzenlenmesinde, akson gelişimi ve fonksiyonunda, nöral büyüme ve gelişimde rol oynadığı düşünülmektedir.	(150-153)
mmu-mir-16-2	3	hsa-mir-16-2	3		
mmu-mir-30c-1	4	hsa-mir-30c-1	1	Nöronal devrelerin gelişebilmesi için nöronların aksonları doğru hedefe göndermesini sağlayan olfaktör bulbda eksprese olan SEMA3A geninin düzenleyicisidir.	(154, 155)
mmu-mir-30c-2	1	hsa-mir-30c-2	6		
mmu-mir-34a	4	hsa-mir-34a	1	Nörogenez, nöronal farklılaşma ve sinaptogenezde rol oynadığı düşünülmektedir.	(156, 157)
mmu-mir-128-1	1	hsa-mir-128-1	2	Nörogenez ve sinaptogenezde görev almaktadır.	(158,159)
mmu-mir-128-2	9	hsa-mir-128-1	3		
mmu-mir-129-1	6	hsa-mir-129-1	7	Nöronal tümör büyümesini baskılamaktadır. Fetal beyinde serebellum gelişimi ve nöral gelişim ile ilişkili FOXP2 ekspresyonunu düzenlemektedir.	(160-162)
mmu-mir-129-2	2	hsa-mir-129-2	11		
mmu-mir-132	11	hsa-mir-132	17	Nöron gelişimini ve olgunlaşmasını indüklemektedir. Dendrit uzama ve dallanmasını arttırmaktadır.	(163, 164)
mmu-mir-139	7	hsa-mir-139	11	Kortikal nöronal göçü modüle etmektedir.	(165,166)
mmu-miR-219a-1	17	hsa-mir-219a-1	6	Oligodendrosit öncü hücrelerinin farklılaşmasını ve myelinizasyonu kontrol etmektedir. Sinaptik plastisite ve beyin gelişiminden sorumlu NMDA reseptörü ile ilişkilidir.	(167-169)
mmu-mir-219a-2	2	hsa-mir-219a-2	9		
mmu-mir-382	12	hsa-mir-382	14	Beyin gelişiminde ve fonksiyonunda görev alan genleri hedeflemektedir.	(170, 171)
mmu-mir-497	11	hsa-mir-497	17	Bcl-2 ile ilişkilidir, Nöronal ölümü düzenlenmesinde ve nörogenezde rol almaktadır.	(172, 173)

Çizelge 2.3. miRNA veritabanları (106)

İsim	İçerik	Tür	URL
miRBase	Tüm yayımlanmış dizilimlerin ve hedef tahminleri için miRNA gen veri havuzu için adlandırma	Herhangi biri	<a href="http://www.mirbase.org/">http://www.mirbase.org/</a>
Rfam	miRNA ve snoRNA içeren ncRNA ailelerinin oluşturulması	Herhangi biri	<a href="http://rfam.sanger.ac.uk/">http://rfam.sanger.ac.uk/</a>
microRNA Registry	miRBase yerine geçmiştir, miRNA'ların adlandırma tarihe göre verir.	Herhangi biri	<a href="http://www.mirbase.org/registry.shtml">http://www.mirbase.org/registry.shtml</a>
MicroRNA.org	mirBase yansımali miRNA genleri hedefleri tahmin eder ve anlatım profili sağlar	İnsan, Fare, Sıçan	<a href="http://www.microna.org/microna/home.do">http://www.microna.org/microna/home.do</a>
miRGen	Genom tarayıcılarında hedefler ve miRNA genleri için pozisyon bilgisini modeller	Hayvan	<a href="http://www.diana.pcbi.upenn.edu/miRGen.html">http://www.diana.pcbi.upenn.edu/miRGen.html</a>
Argonaute	Curated miRNA'ları ve hedeflerini içerir mirWalk yerine geçti	Memeliler	<a href="http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/argonaute">http://www.umm.uni-heidelberg.de/apps/zmf/argonaute</a>
TarBase	Deneyisel olarak doğrulanmış miRNA hedeflerinin manuel olarak curated veritabanı	Herhangi biri	<a href="http://diana.cslab.ece.ntua.gr/tarbase/">http://diana.cslab.ece.ntua.gr/tarbase/</a>
miRGator	miRanda, PicTar ve TargetScanS ve ilave bilgileri birleştirir	Omurgalılar	<a href="http://genome.ewha.ac.kr/miRGator/">http://genome.ewha.ac.kr/miRGator/</a>
miR2Disease	miRNA anlatım örneği ve deneyisel olarak doğrulanmış hedefleri içeren manuel miRNA curated veritabanı	İnsan	<a href="http://www.mir2disease.org/">http://www.mir2disease.org/</a>
miRNAmap	Deneyisel olarak doğrulanmış miRNA genlerini ve hedeflerini ayrıca hedef tahminini içerir	Hayvan	<a href="http://mirnamap.mbc.nctu.edu.tw/">http://mirnamap.mbc.nctu.edu.tw/</a>
microTranspoGene	Transpoze elementleri ve onların türevi microRNA'ları içerir	Hayvan	<a href="http://transpogene.tau.ac.il/microTranspoGene.html">http://transpogene.tau.ac.il/microTranspoGene.html</a>
DIANA-mirPath	Moleküler yol izlerini ve miRNA'nın onlara etkilerini modeller, hedefleri ve gen çeşitliliğini göz önüne alır	İnsan, Fare	<a href="http://diana.cslab.ece.ntua.gr/pathways/">http://diana.cslab.ece.ntua.gr/pathways/</a>
miRNApath	miRNA hedeflerini metabolik yol izlerine bağlar	Herhangi	<a href="http://lgmb.fmrp.usp.br/mirnapath/">http://lgmb.fmrp.usp.br/mirnapath/</a>
RNA STRAND	RNA ikincil yapı veri havuzu	Herhangi	<a href="http://www.rnasoft.ca/strand/">http://www.rnasoft.ca/strand/</a>
Ucbase & miRfunc	Bazıları insan hastalıkları ile ilişkili miRNA hedeflerinden bazılarının aşırı korunmuş dizilimlerinin derlemesi	İnsan, Fare, Sıçan	<a href="http://microna.osu.edu/">http://microna.osu.edu/</a>
PhenomiR	İstatistiksel analizleri mümkün kılan, kapsamlı meta bilgisini içeren manuel curated bilgi tabanı	İnsan	<a href="http://mips.helmholtz-muenchen.de/phenomir/">http://mips.helmholtz-muenchen.de/phenomir/</a>
miRSel	miRNA hedefleri için otomatik olarak türetilen veri madenciliği sonuçlarını içerir (günlük olarak güncellenir)	Herhangi biri	<a href="http://services.bio.ifi.lmu.de/mirsel/">http://services.bio.ifi.lmu.de/mirsel/</a>
S-MED	İnsan sarkomasının miRNA anlatımprofilini içeren veri havuzu	İnsan	<a href="http://www.oncomir.umn.edu/SMED/">http://www.oncomir.umn.edu/SMED/</a>
HlungDB	İnsan akciğer kanseri için gen, protein, miRNA ve klinik bilgilerini bütünleştirir	İnsan	<a href="http://www.megabionet.org/bio/hlung">http://www.megabionet.org/bio/hlung</a>
DIANA-mirExtTra	miRNA anlatım, hedefleme ve hastalık bağlantıları, mirPath'i bütünleştirir	İnsan, fare	<a href="http://diana.cslab.ece.ntua.gr/hexamers/">http://diana.cslab.ece.ntua.gr/hexamers/</a>
mirWalk	Argonaute'un yerine geçmiştir	İnsan, Fare, Sıçan	<a href="http://www.ma.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/">http://www.ma.uni-heidelberg.de/apps/zmf/mirwalk/</a>



## 2.9. İyon Kanalları

Uyarılabilir hücreler, elektriksel sinyal üretir ve bu sinyalleri belirli noktalara iletirler. Elektriksel sinyalin oluşmasında hücre membranında bulunan iyon kanalları büyük rol oynamaktadır (174) İyon kanalları membranın çift lipid tabakasını kesen ve bu tabaka boyunca iyonların hareketini kolaylaştıran makromoleküler protein kompleksleridir. Bu kanallar membranda 3-5Å çapta delikler oluşturur ve iyonların hareketi bu delikler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Bu kanallardan akan iyonlar,  $Ca^{+2}$  gibi ikincil bir habercinin kaynağı olarak hücre içi sinyalizasyona katılabilmektedir. (12). Hücre içi sinyal iletimindeki işlevsel bozuklukların başta depresyon olmak üzere duygudurum bozukluklarının etiolojisinde önemli rolleri vardır (11).

İyon kanalları kapılı ve kapısız iyon kanalları olmak üzere iki çeşittir. Kapısız iyon kanalları her zaman iyon geçişine açıkken, kapılı iyon kanallarının mekanik kapılı, ligand (nörotransmitter) kapılı ve voltaj kapılı olmak üzere 3 majör alt sınıfı vardır. (12, 123).

### 2.9.1. Mekanik Kapılı İyon Kanalları

Hücre zarının mekanik olarak uyarılması ile açılan kanallardır (175). Duyma, dokunma, osmotik çekim, hücrenin şişmesi, sıcaklık, pH gibi canlı hücrelerin membran gerilimini etkileyen birçok mekanik kuvvet vardır. Hücresel süreçlerde mekanik uyarılar hücre membranında biyokimyasal veya elektriksel sinyallere dönüştürülerek birçok fizyolojik mekanizmanın işlenmesini sağlamaktadır (176).

#### 2.9.1.1. TREK1

“TWIK-Related Potassium Channel” (TREK) iyon kanalı ailesi TREK-1 (KCNK2, K2P2.1), TREK-2 (KCNK10, K2P10.1) ve “TWIK-Related Arachidonic Acid-stimulated  $K^+$  channel” (TRAAK; KCNK4, K2P4.1) kanallarından oluşmaktadır (177).

Memeli  $K_{2P}$  alt üniteleri 4 transmembran segment ve 2 por alanına sahiptir. Yüksek seviyede beyinde eksprese olan TREK-1 iyon kanalları mekanosensitif potasyum kanalları olarak tanımlanmıştır (178). Farede 1H6 ve insanlarda 1q41

numaralı kromozomda lokalize olan KCNK2 adlı genden eksprese olmaktadır (179). Daha çok beynin prefrontal korteks, hippocampus, hipotalamus, serotonerjik nöronlarda ve dorsal kök ganglion nöronlarında eksprese olan TREK-1'in duyu düzenlemelerinde önemli fonksiyonları olduğu bilinmektedir (180).

### 2.9.1.2.TRPC3/6

“The Transient Receptor Potential” (TRP) iyon kanal ailesi seçici olmayan kalsiyum'a geçirgen mekanosensitif katyon kanallarıdır (181). TRP kanalları sıcak/soğuk, doğal kimyasal bileşikler (mentol, acı biber vs.), mekanik uyarın, lipid tabakanın içeriğindeki değişiklikler gibi birçok uyarın ile açılmaktadır. TRP kanalları kan basıncı ve düz kas tonusunun düzenlenmesi, renal  $Ca^{+2}$  /  $Mg^{+2}$  kontrolü, keskin tad ve kokulu bileşiklerin (hardal, sarımsak gibi), mekanik değişikliklerin, ağrının, ısının, tadın, kokunun, sesin, feromonların, ışığın algılanması gibi önemli birçok süreçte işlev görmektedir (182) . Bütün TRP kanal alt üniteleri 6 transmembran segmentten (S1-6) oluşmakta ve S5-S6 arasında por oluşturmaktadır. Ayrıca intraselüler kısımda NH<sub>2</sub> ve COOH ucu bulunmaktadır. Aminoasit homolojilerine göre TRP superfamilyası TRPC (klasik ya da canonical), TRPA (ankyrin zengin protein), TRPM (melastatin), TRPV (vanilloid), TRPP (polisistin), TRPN (No Mechanoreceptor Potential C (NOMPC)), TRPML (mukolipin) olmak üzere 7 subfamilyaya ayrılmaktadır (182, 183 ).

“The Canonical Transient Receptor Potential Channel ” (TRPC) kanal ailesinin 7 üyesi (TRPC1-7) vardır (181). TRPC3 geni insanda kromozom 4q25-q27, farede ise 3B'de lokalize olmuştur (184). TRPC3 nöronal depolarizasyon, nöronal esneklik ve gelişme gibi birçok nörobiyolojik sürece dahil olmaktadır. TRPC3 bağımlı kalsiyum sinyali BDNF'nin nöronal büyüme ve gelişmedeki rolü ile ilişkilidir. TRPC3 büyük ölçüde Beynin prefrontal korteks ve serebellum bölgelerinde eksprese olmaktadır (185).

TRPC6 geni insanda kromozom 11q21-q22'de bulunurken farede 9A1 numaralı kromozomda yer almaktadır (186). Gelişmekte olan beyinde dendrit büyümesi, sinaps oluşumunu desteklemektedir. Ayrıca son zamanlarda yapılan çalışmalarda TRPC6'nın nöron canlılığının sürdürülmesinde sinaptogenezde temel teşkil ettiğini ve serebellumda granula hücrelerinin canlılığının BDNF aracılığıyla sürdürülmesinde etkili olduğu anlaşılmıştır (187). Bu bilgilere dayanarak TRPC kanallarının birçok nöropsikiyatrik hastalıkta rolü olabileceği düşünülmektedir (188).

## **2.9.2. Ligand Kapılı İyon Kanalları**

Ligand kapılı iyon kanalları, bir sinirle diğer sinirin ucu veya kas arasındaki iletişimi sağlamaktadırlar. Bu kanalların açılması için özel bir ligand gerekmektedir (175). Nörotransmitterler postsinaptik hücredeki iyon kanallarının açılmasını direkt veya indirekt etkilerler. İyon kanallarının direk olarak açılmasını kontrol eden ve yapıları içinde ligand-kapılı iyon kanalları barındıran reseptörler iyonotropik reseptörler olarak adlandırılırlar. Nörotransmitteri tanıma ve efektör mekanizmanın aktivasyonu aynı molekül tarafından gerçekleştirilir. İyon kanallarının açılmasını indirekt olarak kontrol eden metabotropik reseptörler ikincil mesajcı yola birleşmişlerdir ve iyonotropik reseptörlere göre daha yavaş etki etmektedirler (189)

### **2.9.2.1. Nikotinik Asetilkolin Reseptörü (nAChR) Kanalı**

$K^+$  ve  $Na^+$  iyonlarının hücre içine alımını sağlayan reseptörlerdir (123,175). Nikotinik ACh reseptörleri MSS'de, otonomik gangliyonlarda, postgangliyonik nöronlarda, adrenal medullada ve iskelet kasında bulunurlar. Nöronal nikotinik kolinerjik reseptörlerin çoğu MSS'de glutamin içeren aksonlarda presinaptik olarak bulunur ve glutamin salınımını artırırlar. Bu reseptörlerin en önemli özelliği  $Ca^{+2}$  iyonuna olan yüksek geçirgenliğidir (189). Bu reseptörün çeşitli psikiyatrik hastalıklarda kaybı gözlenmektedir (132)

### **2.9.2.2. GABA ve Glisin Reseptör Kanalları**

Memeli merkezi sinir sisteminde hızlı inhibitör iletim, GABA veya glisin reseptörlerindeki  $Cl^-$ 'a duyarlı kanalların açılması sayesinde olmaktadır (12). GABA beyindeki ana inhibitör transmitterdir. Bilinen 3 GABA reseptöründen  $GABA_A$  ve  $GABA_C$  İyonotropik reseptörler olup  $Cl^-$  iyonu geçişine izin vermektedirler. Metabotropik reseptör olan  $GABA_B$  ise G proteinlerine bağlı olup  $K^+$  kanallarında geçirgenliği arttırmaktadır ve adenilil siklazı ve buna bağlı  $Ca^{+2}$  akışını inhibe etmektedir. Glisin beyinde ‘‘N-methyl-D-aspartate receptor’’ NMDA reseptörleri üzerinden eksitator bir etki gösterirken aslında beyin sapı ve spinal kordda doğrudan

inhibisyondan sorumludur. Motor nöronlardaki glisin reseptörü GABA gibi Cl<sup>-</sup> iletkenliğini arttıran iyonotropik bir reseptördür (175, 189).

### **2.9.2.3. 5-HT-Kapılı Kanal**

Serotonin, etkilerini presinaptik ve postsinaptik hücre membranlarında bulunan farklı tipteki reseptörleri (5-HT1-5-HT7) üzerinden göstermektedir. 5-HT1 ve 5-HT5 reseptör ailesi uyarıldığında Protein Kinaz A (PKA) yolağı baskılanmaktadır. 5-HT2 ailesi uyarıldığında ise ‘‘Protein Kinase C’’ (PKC) aracılığı ile sinyal iletimi gerçekleşmektedir. İyon kanalları ile ilişkili bir aile olan 5-HT3 ailesinde ise serotonin reseptöre bağlandığında plazma zarı depolarizasyona uğramaktadır. 5-HT4, 5-HT6 ve 5-HT7 Gs proteiniyle ilişkili olup serotonin ile etkileştiğinde hücre içinde cAMP derişimini artırmaktadır. Reseptörlerin çoğu merkezi sinir sisteminde yerleşmiş olmakla birlikte kalp kapakçıklarında, ince barsakta, koroner arterlerde, uterusu, plateletlerde ve K<sup>+</sup>/Ca<sup>+2</sup> iyon kanallarında da bulunmaktadır. Serotonerjik nörotransmisyonu, farmakolojik uygulamaların; duygusal süreci, duygusal hafızayı, dikkati ve karar verme mekanizmasını değiştirdiği ve davranış bozuklukları değişikliğine yol açtığı bilinmektedir (190).

### **2.9.2.4. Glutamat Reseptör Kanalları**

Glutamat santral sinir sistemindeki en önemli eksitatör transmittedir. Hem iyonotropik hem de metabotropik reseptörlere etki eder (189). Na<sup>+</sup> ve K<sup>+</sup>un her ikisini de geçiren bir katyon kanalına bir glutamat molekülünün bağlanması kanalın açılmasına dolayısıyla zarın depolarizasyonuna neden olmaktadır. Zarın depolarize olması voltaj kapılı sodyum kanallarının açılmasına neden olarak aksiyon potansiyelini oluşturmaktadır (175). Glutamaterjik iletim, öğrenme ve bellek oluşumlarının altında yatan uzun süreli değişikliklerde yer alır (12).

### **2.9.3. Voltaj-Kapılı İyon Kanalları**

#### **2.9.3.1.Voltaj Kapılı Sodyum Kanalı**

Voltaj kapılı Na<sup>+</sup> kanalları aksiyon potansiyeli esnasında hücre zarını depolarize eder dolayısıyla bu kanalların zardaki dağılımı sinir hücre zarının uyarılabilme özelliğini etkilemektedir (175).

#### **2.9.3.2.Voltaj Kapılı Potasyum Kanalı**

İntegral proteinlerden oluşmuş kanallardır. Çalışma prensipleri teorik olarak Na<sup>+</sup> kanallarına benzemektedir. Hücre membranlarında bulunan K<sup>+</sup> kanalı, membranın depolarize olması durumunda K<sup>+</sup> dışarıya doğru zayıf olarak iletilirken, hiperpolarize olması halinde içeriye doğru iletilmektedir (191).

#### **2.9.3.3.Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalı**

Merkezi sinir sisteminde (MSS) nörotransmitter salınımı sürecinde çok çeşitli Ca<sup>+2</sup> kanalları görev almaktadır. Birçok kas ve salgı hücresinde ve sinir uçlarında kalsiyum iyonu derişimini kontrol etmekte kritik önemleri vardır. Ayrıca, ikincil haberci oldukları için, kalsiyum iyonlarının membran potansiyelini etkileyebilecek başka hücre içi kontrol mekanizmalarını da kontrol etme özelliği vardır. Kalsiyum kanalları membranın uyarılabilirliğinin, iletim maddelerinin salınımının ve gen ekspresyonunun önemli modülatörleridir (12). Bu fonksiyonları yapabilmek için N,T,L gibi farklı tiplerde Ca<sup>+2</sup> kanalları bulunmaktadır (175).

**Çizelge 2.4.** Depresyonda etkili olduğu düşünülen bazı iyon kanalları ve inhibitörleri

İyon kanalı	İnhibitörü	Kaynak
ASIC1a	PcTX1 (Psalmostoxin)	(192,193)
CACNA1C	x-Agotoxin IVA	(194, 195)
HCN1	Ivabradine, Zatebradine	(196,197)
HCN4	Ivabradine	(198, 199)
P2RX7	A438079	(200, 201)
TREK1	Anandamide	(202, 203)
TRPC3	Norgestimate	(185, 204, 205)
TRPC6	Norgestimate	(187, 204, 205)

## 2.10. Depresyonda İyon Kanalları ve miRNA İlişkileri

Hücre içi sinyal iletimindeki düzensizlikler başta depresyon olmak üzere duygudurum bozukluklarının altında yatan önemli nedenlerdendir. Son yıllarda hayvan çalışmaları ve elektrofizyolojik çalışmalar ile hücre içi sistemlerin işleyişinde ortaya çıkan değişimlerin anlaşılmasını sağlamıştır. Beyin görüntüleme çalışmaları sayesinde duygudurum bozukluklarının moleküler ve yapısal düzeydeki değişikliklerle olan ilişkisi aydınlatılmaya başlanmıştır (51). Nörotransmitter düzensizlikleri, sodyum potasyum ve kalsiyum aktivitesindeki düzensizlikler, voltaj kapılı iyon kanallarında düzensizlik ve ikincil mesajcı sistemlerdeki düzensizlikler duygudurum hastalıklarının etiyolojisinde öne sürülen değişikliklerdir (206). Hücre zarından iyonların geçişini sağlayan iyon kanalları, hücrelerin işlevleri için önemli rollere sahiptir. Voltaj veya ligand bağımlı iyon kanallarının veya kanal düzenleyici proteinlerin yapısal veya işlevsel bozuklukları, her türlü hücreyi ve özellikle de uyarılabilme özelliği olan çok sayıda dokuyu ve organı ilgilendiren, "kanalopati" olarak adlandırılan çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Sinir ve kas dokularının uyarılabilirlik özelliği nedeniyle bugün bilinen kanalopatilerin önemli bir kısmı nörolojik hastalıklara yol açtığı bilinmektedir (207). Günümüzde yapılan genetik çalışmaların çoğu duygudurum hastalıklarıyla bağlantılı olduğu düşünülen ve iyon kanallarının düzenlenmesinde rolü olan genler üzerine yapılmaktadır (13). Gen ifadesi kontrolünün önemli elemanlarından mikroRNA'lar iyon kanallarının düzenlenmesi sürecine de dahil olmaktadır (14).

MikroRNA'lar çeşitli iyon kanal genlerini ve iyon kanalları ile ilişkili genleri hedef aldıkları gibi iyon kanallarının da miRNA'ların düzenlenmesinde etkisi olduğu bilinmektedir (15). Hücreler doğal doku ortamlarında büyüme faktörleri, nörotransmitterler, inorganik iyonlar, pH, oksijen, sıcaklık ve osmoz gibi faktörlerin olduğu ekstraselüler çözünebilir bir mikro çevre içinde bulunmaktadır. Bu faktörler aynı zamanda önemli hücrel faaliyetlere dahil olan çeşitli intraselüler sinyal yolları ile birleşmektedir. Bu mikro çevredeki değişimler miRNA ekspresyonlarının değişimlerine neden olmaktadır (15). Son yıllarda, hayvan modellerinde ve klinik depresyon hastalarının post-mortem dokularında yapılan çalışmalar, mikroRNA ekspresyonlarında değişimlerin olduğu göstermektedir (4, 139).

Bu bilgiler doğrultusunda planladığımız çalışmada, farelerde oluşturulan depresyon modelinde beynin prefrontal korteks bölgesinde depresyonla ilgili olduğu düşünülen iyon kanallarından TREK1'in inhibitörü anandamide ve TRPC3/6'nın inhibitörü norgestimate'ın miR-9-5p, miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-129-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p, miR-382-5p ve miR-497-5p mikroRNA ekspresyonu ve serotonin düzeyleri üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Çalışma Gruplarının Tanımı

Çalışmada denek olarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden (FÜDAM) temin edilen 3 aylık albino BALB/c ırkı, toplam 49 adet erkek fare kullanıldı. Çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanlığının 05.09.2013 tarihili 2013/07 toplantı sayılı ve 103 karar no'lu onayı alındıktan sonra başlatıldı.

Fareler yaklaşık 23°C ortam sıcaklığında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortamda, su ve yemleri ad libitum verilerek, üst kısmı ızgaralı polikarbonat (50cm×30cm×20cm) koloni kafeslerinde yaşatıldı. Kontrol grubu bu şartlarda deney sonuna kadar yaşatılmaya devam ettirilirken diğer gruplara yöntemler kısmında bahsedilen çeşitli uygulamalar yapıldı.

Çalışmada her grupta 7 fare olacak şekilde 7 grup oluşturuldu.

- 1. Kontrol grubu:** Bu gruba herhangi bir işlem uygulanmadı.
- 2. Sham grubu:** Yöntemler bölümünde detaylı olarak anlatılan KHS protokolü ve ZYT uygulanarak sertralin, anandamide ve norgestimate yerine çalışma gruplarıyla aynı miktar/gün serum fizyolojik uygulandı.
- 3. Sertralin grubu:** Depresyon tedavisinde serotonin geri alım inhibitörü olarak kullanılan sertralin intraperitoneal olarak 10 mg/kg dozda verildi. KHS protokolü uygulandıktan sonra fareler ZYT'ye tabi tutuldu.
- 4. Anandamide grubu:** TREK1'in spesifik inhibitörü olan anandamide 5mg/kg olacak şekilde subkutan olarak verildi. KHS protokolü uygulandıktan sonra fareler ZYT'ye tabi tutuldu
- 5. Anandamide+Sertralin grubu:** Anandamide subkutan olarak 5mg/kg ve sertralin 10 mg/kg olacak şekilde intraperitoneal olarak verildi. KHS protokolü uygulandıktan sonra fareler ZYT'ye tabi tutuldu
- 6. Norgestimate grubu:** TRPC3/6 blokeri olan norgestimate 5mg/kg olacak şekilde subkutan olarak verildi. KHS protokolü uygulandıktan sonra fareler ZYT'ye tabi tutuldu



7. **Norgestimate+Sertralin grubu:** Norgestimate subkutan olarak 5mg/kg ve sertralin 10mg/kg olacak şekilde intraperitonel olarak verildi. KHS protokolü uygulandıktan sonra fareler ZYT'ye tabi tutuldu.

### **3.2. Kullanılan Araçlar-Gereçler, Kimyasallar ve Sarf Malzemeleri**

#### **3.2.1. Kullanılan Araçlar-Gereçler**

- -20°C derin dondurucu: Arçelik, Türkiye
- -80°C derin dondurucu: Nuaire, Meksika
- Etüv: Gallenkamp, Economy Incubator Size, Ukranya
- ELISA cihazı: Biotek, ELX800, ABD
- Falkon Tüp: Corning® 430766, 15 mL Centrifüğe Tube, Meksika
- Homojenizatör: Next Advance, Averill Park NY, Bullet Blender Storm, Katalog No: BBY24M, ABD
- Homojenizatör Boncuğu: Next Advance, GB05-RNA 0.5mm Dia, RNase-Free Glass Beads, Katalog No: GB05, ABD
- Mini Plate Spin: Labnet C1000, ABD
- Otomatik Pipetler: Socorex, Acura 825, İsviçre
- PCR ve Qubit tüpleri (0.6ml): Neptune, Katalog No: 3737.S.X, Biotix Laboratory Media, İngiltere
- Plate Yapıştırıcı: Applied Biosystems, MicroAmp, Optical Adhesive Film, Katalog No: 4311971, ABD
- Plate: AB Applied Biosystems, MicroAmp, Fast Optical 96-Well Reaction Plate With Barcode (0,1 mL), Katalog No: 4346906, Singapur
- Termal Döngü Cihazı: Biometra, Almanya
- Qubit® 2,0 Fluormeter: Invitrogen by life technologies, Avustralya
- Real Time-PCR cihazı: Applied Biosystems, ABI Prism 7500 Fast Real Time PCR Instrument, Foster City, CA
- Santrifüj: Sigma 3K30, Almanya
- Spin: Labnet International, Katalog No:C1031B-230V, Kore
- Vorteks: Elektro-Mag, Türkiye

### 3.2.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Arachidonoyl Ethanolamide Lipid Maps MS Standard (Anandamide), Cayman Chemical Company, Katalog No: 10007270, Kanada
- Mouse serotonin (ST) ELISA Kit: Hangzhou EASTBIOPHARM Co. Ltd. Kat No: CK-E91028, ABD
- Lustral (Sertralin HCl) antidepresan 50 mg, 28 çentikli film tablet, Pfizer, Türkiye
- Norgestimate (200mg), USP, Katalog No: 1471914, ABD
- Nuclease Removal Reagent (500 mL), Bioshop, Katalog No: NUC555, Kanada
- Qubit® RNA Assay Kit For Use With The Qubit® 2,0 Fluorometer: Invitrogen/Molecular Probes, Katalog No: Q32852, ABD
- TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit, Applied Biosystems, Katalog No: 4366596, ABD
- TaqMan® Gene Expression Master Mix, Applied Biosystems, Katalog No:4369016, ABD
- The High Capacity RNA-to-cDNA™ Kit, Applied Biosystems, Katalog No: 4387406, ABD
- Tri Reagent 200 ml, MRC, Bioshop, Katalog No: TR 118, Kanada

### 3.3. Kullanılan İlaçların Hazırlanması

Çalışmada kullandığımız Norgestimate toz halde olup etanolde çözülerek hayvanlara 5 mg/kg dozda subkutan olarak uygulanmıştır. Anandamide üretici firmanın sunmuş olduğu 5 mg/ml'lik etanoldeki solüsyon halinde satın alınmıştır. Her hayvana 5 mg/kg dozda anandamide etanolde çözülerek subkutan olarak enjekte edilmiştir.

Sertralinin 50 mg'lık tabletleri havanda toz haline getirildikten sonra metanolde sonikatör yardımıyla homojen hale getirilmiş ve her bir hayvana 10 mg/kg dozda intraperitonel olarak uygulanmıştır. Her bir farenin yaklaşık ağırlığı 40 gr olarak ölçülmüştür.

### 3.4. Yöntemler

#### 3.4.1. Kronik Hafif Stres (Chronic Mild Stress ) Prosedürü

Kronik hafif stres (KHS), depresyon hayvan modeli çalışmalarında en çok kullanılan ve güvenilirliği yüksek olan bir yöntemdir (78,79).

Standart bir KHS protokolü bulunmayıp, her laboratuvarında farklı şekillerde uygulanabilmektedir (78). Çalışmada Willner'in ve diğer bazı araştırmacıların çalışmaları baz alınarak bir KHS protokolü oluşturuldu. Kronik hafif stres oluşturmak amacı ile fareler 7 hafta rastgele olarak günlük 2-3 stres faktörüne maruz bırakıldı. Stres faktörleri 18-24 saat susuz bırakma + 30 dk boş suluk verme, 12-24 saat aç bırakma, 12 saat gece aydınlıkta bırakma, 3 saat gündüz karanlıkta bırakma, 8 saat kafesi 45° eğik bırakma, 14 saat ıslak talaşlı kafeste bırakma, 5 dk kuyruktan asma, 24 saat kafese yabancı bir cisim koyma, 24 saat izolasyon, 1 saat 80 db beyaz sese maruz bırakma, 3 saat 2000 lx beyaz ışık verme olarak belirlendi (Çizelge 3.1.).

Çizelge 3.1. Haftalık kronik hafif stres protokolü

Stres faktörü	Pazartesi	Salı	Çarşamba	Perşembe	Cuma	Cumartesi	Pazar
Aç bırakma (12 sa)	●				●		
Susuz bırakma (16 sa) +boş suluk (30 dk)					●		
Nemli talaşta bırakma (14 sa)							●
2000 lx ışığa maruz bırakma (3 sa)	●	●				●	
Gündüz karanlıkta bırakma (3 sa)		●			●		●
Kafesi 45 eğik koyma (8 sa)			●				
Kafese yabancı bir cisim koyma (24 sa)				●			
Kuyruktan asma (5 dk)			●				
Gece aydınlıkta bırakma (12 sa)				●			
80 dB beyaz sese maruz bırakma (1 sa)	●					●	
İzolasyon (24 sa)						●	

### **3.4.2. Zorunlu Yüzme Testi**

Kemirgenlerle yapılan depresyon çalışmalarında özellikle de antidepresan tedavi taramalarında en sık kullanılan ve güvenilirliği yüksek olan hayvan modeli Zorunlu yüzme testidir (91, 92). ZYT’de uyguladığımız işlemler, Porsolt ve arkadaşlarının (1977) fareler için tanımladığı davranış testi ile benzerdir (93).

Pleksiglastan yapılmış silindir şeklinde, 27 cm çapında ve 50 cm yüksekliğinde konteynerin içi 30 cm’ye kadar 24-26°C arasında su ile dolduruldu. Deneklere ilk gün 15 dk’lık yüzme işlemi uygulandı. Bu işlemden 15 dk sonra anandamide (5mg/kg) ve norgestimate (5mg/kg) subkutan olarak, sertralin (10 mg/kg) ise intraperitonel olarak enjekte edildi. 24 saat sonra deneklere yüzdürme işlemi uygulanmadan 5 saat önce ikinci doz, 1 saat önce de üçüncü doz uygulandı. İlaçların ikinci ve üçüncü dozu ilk günkü miktarlarla aynı olacak şekilde enjekte edildi. Daha sonra 6 dk zorunlu yüzmeye bırakıldı. Toplam süre boyunca farelerin hareketsizlik (başın su üstünde olduğu vücudun hareketsiz kaldığı dönemler), yüzme ve tırmanma parametrelerini hesaplayabilmek için video kaydı yapıldı. Son yüzdürme kayıtlarının son 4 dakikası tarafsız bir gözlemci tarafından 5 saniyelik aralıklarla skorlama (yüzme, tırmanma ve hareketsizlik) yapılarak hesaplandı (95).

Deneylerden hemen sonra deneklere anestezi işlemi uygulanarak beyinleri hızlıca açıldı. Prefrontal korteks bölgesi ayrıldı. Alınan dokular sıvı azot tankına alınarak hemen donduruldu, daha sonra -80°C’de saklandı.

### **3.4.3. ELISA Testi ile Serotonin Seviyesi Tayini**

Beyin dokusu örneklerinde serotonin seviyesi tayini ELISA yöntemi ile fare serotonin ELISA Kiti kullanılarak gerçekleştirildi. Yöntemin uygulanabilmesi için beyin dokusu homojenizasyon cihazında 1000 µl PBS (Ph: 7,4) ile homojenize edildi. Santrifüjleme (2000-3000 RPM) işlemi uygulandıktan sonra supernatant kısım alınarak kullanıldı.

Kit içinde bulunan standart solüsyonlar 96, 48, 24, 12, 6 ng/ml olacak şekilde hazırlandı.

Çalışma protokolü aşağıdaki gibidir:

1. Örnek yüklemesi:

a. **Kör kuyucuk:** Örnek, biotinli serotonin antikoru ve streptavidin-HRP kuyucuklara eklenmeyip sadece kromojen A, kromojen B ve stop solüsyonu eklendi.

b. **Standart Kuyucukları:** 50 µl standart ve 50 µl streptavidin-HRP kuyucuklara eklendi.

c. **Test Kuyucukları:** Kuyucuklara 40 µl örnek, 10 µl serotonin antikoru ve 50 µl streptavidin-HRP eklendi. Plate koruma membranı yapıştırıldı. Hafifçe sallayarak karıştırıldıktan sonra plate 37°C' de 60 dk inkübasyona bırakıldı.

2. İnkübasyondan sonra plate koruma membranı çıkarıldı. Sıvı boşaltıldı kalan sıvı da hafifçe sallanarak boşaltıldı. Daha sonra plate distile su ile dilute edilmiş (20X) yıkama solüsyonu ile yıkandı. 30 dk bekledikten sonra sıvı boşaltıldı ve bu işlem 5 kez tekrarlandı.

3. Her kuyucuğa önce 50 µl solüsyon A daha sonra 50 µl solüsyon B eklenip hafifçe karıştırılıp 37°C' de 10 dk karanlıkta ortamda inkübasyona bırakıldı.

4. Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi. ( mavi renk hemen sarı renge dönüşür.)

5. Referans olarak 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında okuma yapıldı.

6. Hesaplama işlemi gerçekleştirildi.

#### 3.4.4. Tri Reagent ile RNA İzolasyonu

1. 30-40 mg doku alındı, ependorf tüplere konularak üzerlerine 500 µl Tri Reagent eklendi.

2. Homojenizasyon boncuklarından doku miktarı kadar eklendi.

3. Homojenizatörün 8. hızında 5 dk homojenize edildi.

4. 5 dk oda sıcaklığında bekletildi.

5. Tüpler içindeki homojenizatör boncukları ile birlikte 12.000 x g'de 2 dk santrifüj edildi.

6. Süpernatant kısımlar yeni tüplere aktarıldı üzerine 100 µl kloroform eklenip yaklaşık 15 sn vortekslendi.

7. Tüpler oda sıcaklığında 2-3dk bekletildi.

8. 12.000 x g'de 2-4°C'de 15 dk santrifüj edildi.
9. Santrifüj işleminden sonra 3 faza ayrılan sıvının en üst fazı başka tüpe alındı.
10. 250 µl izopropil alkol eklendi.
11. 10 dk oda sıcaklığında bekletildi.
12. 12.000 x g'de 2-4°C'de 10 dk santrifüj edildi.
13. Süpernatant kısımlar döküldü.
14. Pellet üzerine 500 µl % 75'lik etanol eklendi.
15. Vortekslendi ve 7500 x g'de 2-4°C'de 5 dk santrifüj edildi.
16. Süpernatant atıldı ve etanol işlemi tekrarlandı.
17. Süpernatant atıldı ve tüpler bir müddet oda sıcaklığında bekletilerek etanolün uçması sağlandı.
18. Kuruyan tüplerin üzerine dietilpirokarbonatlı (DEPC) su eklendi ve pipetaj yapıldı.
19. İzole edilen RNA'lar -80°C'de saklandı.

#### **3.4.5. Spektrofotometrik RNA Ölçümü**

RNA ölçümü için Qubit® RNA assay kit for use with The Qubit® 2,0 fluorometer (İnvitrogen/Molecular Probes) kullanıldı.

Kit protokolüne göre Qubit Buffer™'dan 199×n µl ve Qubit Reagent™'den 1×n µl alınarak Qubit çalışma solüsyonu hazırlandı (n = örnek sayısı). RNA örneklerinden 1 µl ve solüsyondan 199 µl alınarak eppendorf tüplere koyuldu. 2 dk oda sıcaklığında bekletildikten sonra tüpler cihaza yerleştirilerek RNA miktarı µg/ml olarak ölçüldü.

Komplementer DNA (cDNA) sentezinde eşit RNA miktarlarında çalışılabilmesi için okunan en düşük RNA değeri standart olarak alındı. kontrol grubu, sham grubu, sertralin grubu, anandamide grubu, sertralin+anandamide grubu, norgestimate grubu, sertralin+norgestimate grubu olmak üzere toplamda 7 RNA havuzu oluşturuldu.

#### **3.4.6. Komplementer DNA Sentezi**

TRPC3, TRPC6 genlerinin RT-PCR'ı için kullanılacak cDNA'lar için havuz yapılan RNA örneklerinden 10 µl kullanıldı. cDNA sentezi toplam 20 µl hacimde gerçekleştirildi. Sentez için 10µl RNA örneği, 2 µl 10×RT random primer, 2 µl 10×RT

buffer, 0,8 µl 25×dNTP mix, 4,2 µl nükleaz içermeyen su ve en son olarak 1µl MultiScribe™ Reverse Transcriptase enzimi kullanıldı (Çizelge 3.2.). Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. 25°C’de 10 dk, 37°C’de 120 dk, 85°C’de 5 dk ve en son sıcaklık 4°C olacak şekilde cihazda bekletildi (Çizelge 3.3.). Oluşan cDNA örnekleri -20°C’de saklandı.

**Çizelge 3.2.** TRPC3/6 için cDNA karışım miktarı (20µl’lik reaksiyon) (The High Capacity RNA-to-cDNA™ Kit, Applied Biosystems, Katalog No: 4387406)

Bileşik	Hacim (µl)
10X RT tamponu	2,0
25X dNTP karışımı (100mM)	0,8
MultiScribe™Revers Transkriptaz (50U/µl)	1,0
10XRT Random Primer	2,0
RNase Inhibitor	1,0
RNA örneği	10
Nükleaz içermeyen H <sub>2</sub> O	3,2
Reaksiyon toplamı	20

**Çizelge 3.3.** TRPC3/6 için cDNA sentezi PCR programı

PCR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	25°C	37°C	85°C	4°C
Zaman	30 dk	120 dk	5 dk	∞

cDNA sentezi toplam 15 µl hacimde gerçekleştirildi. MikroRNA’lardan cDNA sentezi için 5 µl RNA kullanıldı. Sentez için 5 µl RNA örneği, 3 µl primer ve hazırlanan cDNA master mix’ten 7 µl kullanıldı (Çizelge 3.4.). Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. 16°C’de 30 dk, 42°C’de 30 dk, 85°C’de 5 dk ve 4°C’de ∞ olacak şekilde cihazda bekletildi (Çizelge 3.5.). Oluşan cDNA örnekleri -20°C’de saklandı.

**Çizelge 3.4.** miRNA'lar için cDNA karışım miktarı (15 µl'lik reaksiyon) (micro RNA Reverse Transcription Kit, Applied Biosystem, ABD, Katalog no: 4366596)

Bileşik	Hacim (µl)
10X RT Tamponu	1.5
dNTP karışımı (100mM)	0.15
MultiScribe™ Revers Transkriptaz (50U/ µl)	1.00
RNase İnhibitor (20U/ µl)	0.19
Primer	3
RNA örneği	5
Nükleaz içermeyen H <sub>2</sub> O	4.16
Reaksiyon toplamı	15

**Çizelge 3.5.** miRNA'lar için cDNA sentezi PCR programı

PCR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	16°C	42°C	85°C	4°C
Zaman	30 dk	30 dk	5 dk	∞

### 3.4.7. Gerçek Zamanlı (Real Time) Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu

Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA'lar sekans spesifik primerlerin varlığında Gerçek Zamanlı (Real Time) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile amplifiye edildi. Deneklerin beyinlerinin prefrontal korteks bölgesinde miR-9, miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-129-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p, miR-382-5p, miR-497-5p ve TRPC3/6 ekspresyon düzeyleri incelendi (Çizelge 3.6.). RT-PCR analizleri sonucunda gen ekspresyonundaki farklılıkların hesaplanmasında  $2^{-\Delta\Delta CT}$  metodu kullanıldı.

Real Time-PCR üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. plate kuyucuklarına cDNA örneklerinden 2µl koyuldu. Her bir örnek için 5µl TaqMan Master Mix, 2,5 µl nükleaz içermeyen su ve 0,5 µl primer hibridizasyon probu örnek sayısına göre bileşen miktarları hesaplanarak ependorflara bırakıldı ve vortekslendi. Plate'deki cDNA örneklerinin üzerine hazırlanan karışımdan 8µl pipet ile bırakılarak plate'in üzeri optik



filmle kapatıldı (Çizelge 3.7.). Plate örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla mini plate spin cihazında 1 dakika santrifügasyon işlemine tabi tutuldu.

**Çizelge 3.6.** RT-PCR’ da kullanılan microRNA primerleri: (Life Technologies)

<b>miRNA</b>	<b>Katalog Numarası</b>
mmu-miR-9-5p	000583
mmu-miR-16-5p	000391
mmu-miR-30c-5p	000419
mmu-miR-34a-5p	000426
mmu-miR-128-1-5p	464067_mat
mmu-miR-129-5p	000590
mmu-miR-132-3p	000457
mmu-miR-139-5p	002289
mmu-miR-219a-5p	000522
mmu-miR-382-5p	000572
mmu-miR-497-5p	001346
snoRNA202	001232

**Çizelge 3.7.** RT-PCR için kullanılan bileşikler (TaqMan gene expression master mix, Applied Biosystems, katalog No:4369016)

<b>Bileşikler</b>	<b>Hacim (µl) X Örnek Sayısı</b>
cDNA	2,0
Primer-prob	0,5
TaqMan mix	5,0
Nükleaz içermeyen H <sub>2</sub> O	2,5
Toplam	10,0

Gen ekspresyon seviyeleri, Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR sistemi ile ölçüldü. Çalışmada miRNA’lar için snoRNA-202, TRPC3 ve TRPC6 iyon kanalları için

ise GAPDH kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Isı koşulları 50°C’de 2 dakika, 95°C’de 10 dakika, 95°C’de 15 saniye ve 60°C’de 1 dakika olacak şekilde ayarlandı (Çizelge 3.8.).

**Çizelge 3.8.** RT-PCR programı

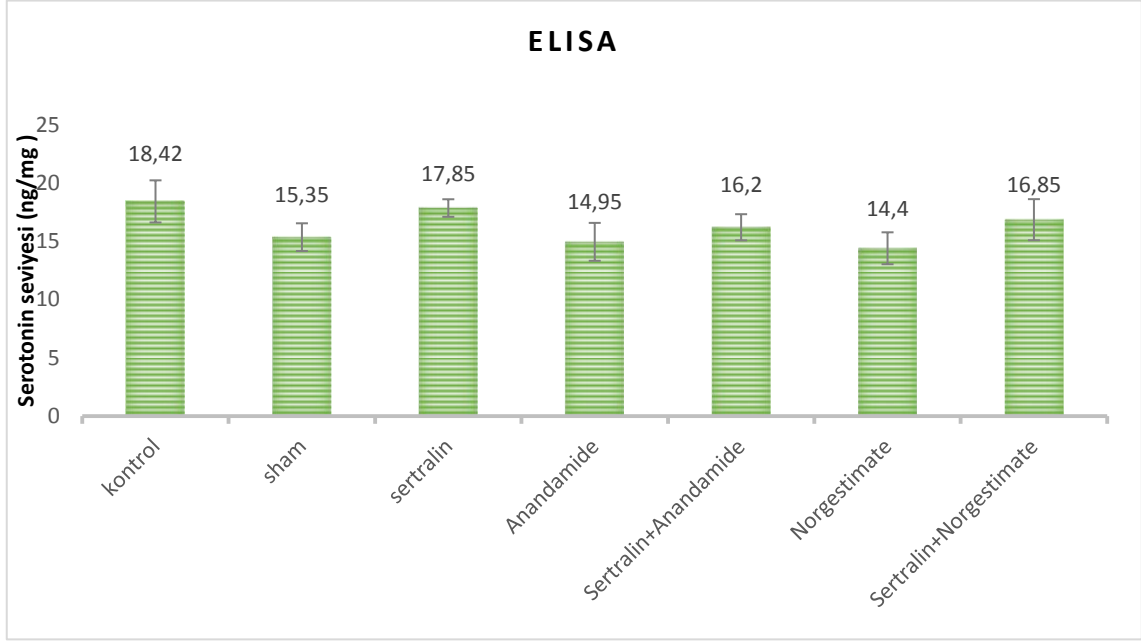
<b>RT-PCR</b>	<b>1.Adım</b>	<b>2. Adım</b>	<b>3. Adım</b>	<b>4. Adım</b>
Sıcaklık	50°C	95°C	95°C	60°C
Zaman	2 dk	10 dk	15 sn	1 dk

### **3.5. İstatistiksel Analizler**

Tüm istatistiksel analizler için SPSS 16 (Statistical Package for the Social Sciences) paket programı kullanıldı. RT-PCR, Elisa, ZYT gibi parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması için t testi kullanıldı (208).  $p < 0,05$  değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

### 4.1. Elisa Testi Verilerinin Değerlendirilmesi



Şekil 4.1. Gruplara ait total beyin serotonin değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

**Elisa test verilerinin istatistiksel sonuçlarına göre grupların serotonin seviyeleri değerlendirildiğinde;**

Kontrol grubu ile sham ( $p=0,006$ ), anandamide ( $p=0,006$ ), sertralin+anandamide ( $p=0,006$ ) ve norgestimate ( $p=0,006$ ) grupları karşılaştırıldığında Sham ve anandamide, sertralin+anandamide ve norgestimate gruplarının serotonin seviyelerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir.

Kontrol grubu ile sertralin ( $p=0,84$ ) ve norgestimate+anandamide ( $p=0,81$ ) grupları karşılaştırıldığında kontrol grubu ile aralarında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Sham grubu ile sertralin grubu karşılaştırıldığında sertralin grubun serotonin değerinde anlamlı bir artış ( $p=0,01$ ) saptanırken sham grubu ile anandamide ( $p=0,688$ ), sertralin+anandamide ( $p=0,421$ ), norgestimate ( $p=0,195$ ), sertralin+norgestimate ( $p=0,09$ ) grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Sertralin grubu ile anandamide ve norgestimate grupları karşılaştırıldığında anandamide ( $p=0,014$ ) ve norgestimate ( $p=0,01$ ) gruplarının serotonin seviyelerinde anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür.

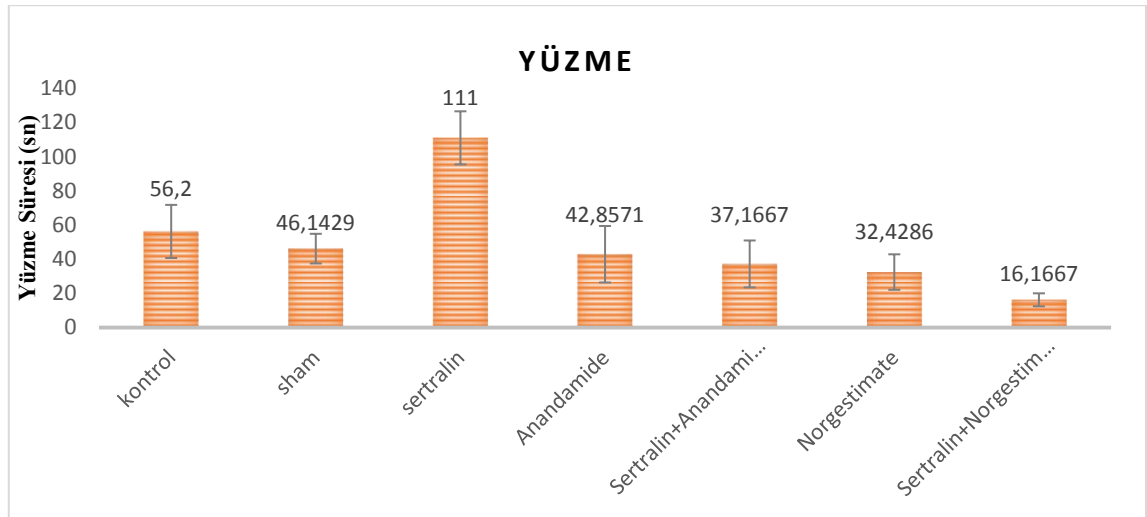
Sertralin grubu ile sertralin+anandamide ( $p=0,054$ ) ve sertralin+norgestimate ( $p=0,283$ ) grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark saptanmamıştır.

Anandamide grubu ile sertralin+anandamide ( $p=0,173$ ), norgestimate ( $p=0,688$ ), sertralin+norgestimate ( $p=0,149$ ) grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir.

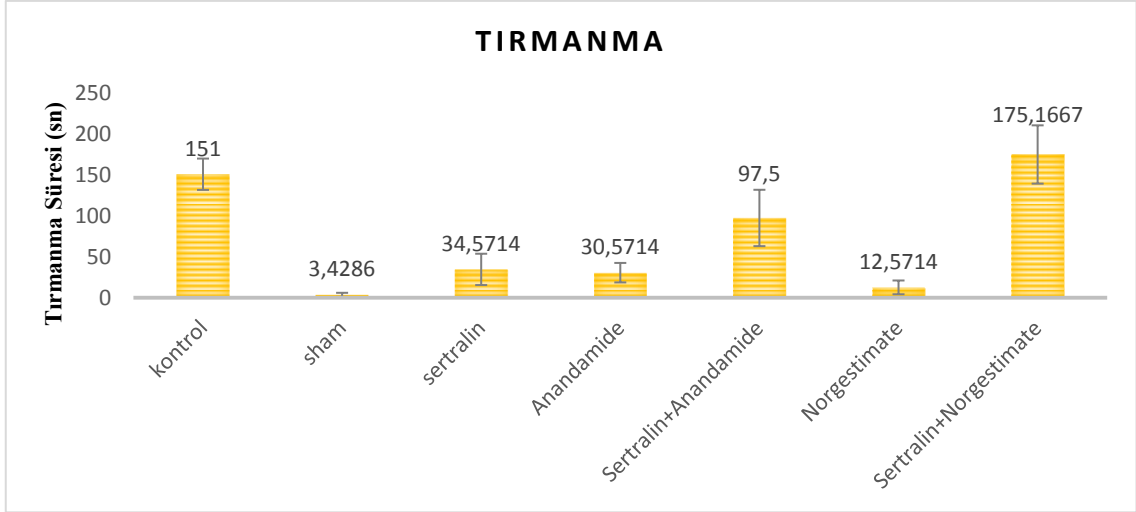
Sertralin+anandamide grubu ile norgestimate ( $p=0,054$ ), sertralin+ norgestimate ( $p=0,574$ ) grupları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Norgestimate grubu ile sertralin+norgestimate grubu karşılaştırıldığında sertralin+norgestimate ( $p=0,016$ ) grubunun serotonin seviyesinde anlamlı bir artış görülmüştür (Şekil 4.1.).

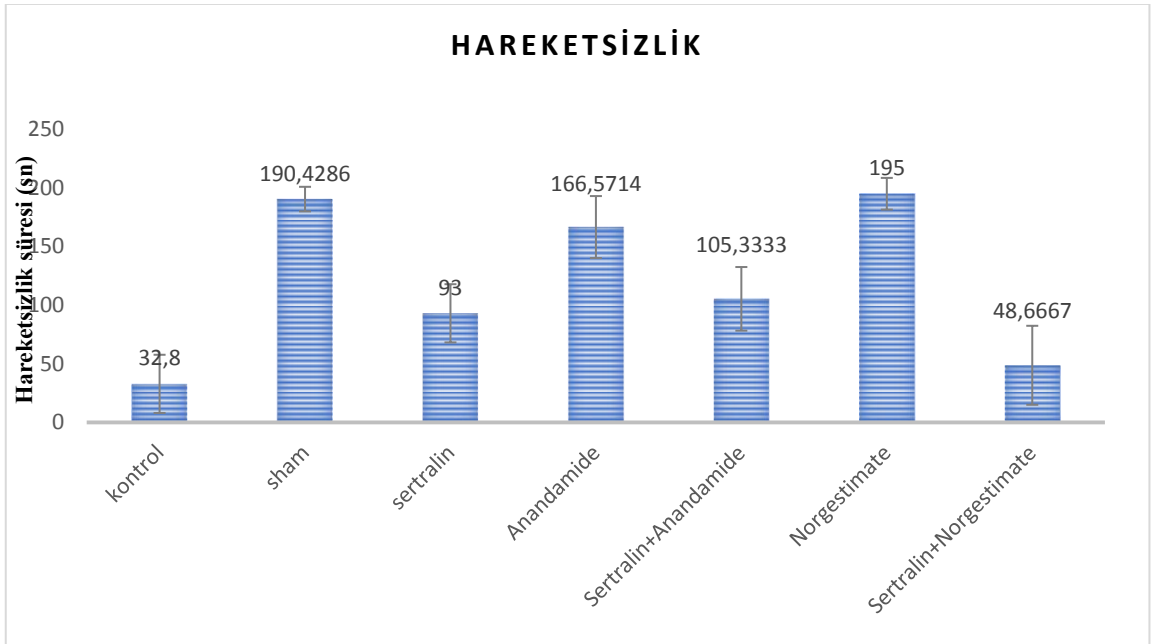
#### 4.2. Zorunlu Yüzme Testi Davranış Verilerinin Değerlendirilmesi



Şekil 4.2 Gruplara ait zorunlu yüzme testi yüzme davranışı verileri. Değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.



**Şekil 4.3** Gruplara ait zorunlu yüzme testi tırmanma davranışı verileri. Değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.



**Şekil 4.4** Gruplara ait zorunlu yüzme testi hareketsizlik davranışı verileri. Değerler ortalama  $\pm$  standart hata olarak verilmiştir.

**Zorunlu yüzme testi verilerinin istatistiksel sonuçları değerlendirildiğinde;**

Kontrol ile sham grupları yüzme davranışları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmezken ( $p=0,44$ ) tırmanma davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,001$ ) ve hareketsizlik davranışlarında anlamlı bir artış ( $p=0,001$ ) olduğu saptanmıştır.

Kontrol ve sertralin grupları karşılaştırıldığında hareketsizlik davranışında anlamlı bir fark görülmemiştir ( $p=0,16$ ). Yüzme davranışında anlamlı bir artış ( $p=0,021$ ), tırmanma davranışında ise anlamlı bir azalma olduğu ( $p=0,006$ ) belirlenmiştir.

Kontrol ve anandamide grupları yüzme davranışları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmezken ( $p=0,54$ ) tırmanma davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,001$ ) ve hareketsizlik davranışlarında anlamlı bir artış ( $p=0,009$ ) olduğu saptanmıştır.

Kontrol ve sertralin+anandamide grupları yüzme ( $p=0,294$ ), tırmanma ( $p=0,276$ ) ve hareketsizlik ( $p=0,116$ ) davranışları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Kontrol ve norgestimate grupları yüzme davranışları ( $p=0,13$ ) bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmezken tırmanma davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0$ ) ve hareketsizlik davranışlarında anlamlı bir artış ( $p=0,001$ ) olduğu saptanmıştır.

Kontrol ve sertralin+norgestimate grubu karşılaştırıldığında norgestimate+anandamide grubunun yüzme davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,001$ ) gözlenirken tırmanma ( $p=0,621$ ) ve hareketsizlik ( $p=0,744$ ) davranışlarında anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Sham grubu ile sertralin grubu karşılaştırıldığında sertralin grubun yüzme ( $p=0,003$ ) davranışında anlamlı bir artış görülürken hareketsizlik davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,004$ ) görülmüştür. Tırmanma davranışında ise anlamlı bir fark ( $p=0,133$ ) saptanmamıştır.

Sham grubu ile anandamide grupları yüzme ( $p=0,86$ ) ve hareketsizlik ( $p=0,418$ ) davranışları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir. Tırmanma davranışında ise anlamlı bir artış ( $p=0,4$ ) görülmüştür.

Sham grubu ile sertralin+anandamide grupları yüzme davranışları ( $p=0,58$ ) bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmezken tırmanma davranışında anlamlı bir artış ( $p=0,013$ ) ve hareketsizlik davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,01$ ) tespit edilmiştir.

Sham grubu ile norgestimate grupları yüzme ( $p=0,33$ ), tırmanma ( $p=0,31$ ) ve hareketsizlik ( $p=0,79$ ) davranışları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Sham grubu ile sertralin+norgestimate grubu karşılaştırıldığında sertralin+norgestimate grubunun yüzme davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,012$ ) gözlenirken tırmanma davranışında anlamlı bir artış ( $p=0,001$ ) ve hareketsizlik davranışlarında anlamlı bir azalma ( $p=0,001$ ) olduğu görülmüştür.

Sertralin ve anandamide grupları karşılaştırıldığında anandamide grubunun yüzme davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,011$ ) görülürken, tırmanma ( $p=0,86$ ) ve hareketsizlik ( $p=0,065$ ) davranışında anlamlı bir fark belirlenmemiştir.

Sertralin ve sertralin+anandamide grupları karşılaştırıldığında sertralin+anandamide grubunun yüzme davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,005$ ) görülürken tırmanma ( $p=0,125$ ) ve hareketsizlik davranışında ( $p=0,74$ ) anlamlı bir fark belirlenmemiştir.

Sertralin ve norgestimate grubu karşılaştırıldığında norgestimate grubunun yüzme davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,001$ ) ve hareketsizlik davranışlarında anlamlı bir artış ( $p=0,004$ ) görülürken tırmanma davranışında anlamlı bir fark ( $p=0,314$ ) görülmemiştir.

Sertralin ve sertralin+norgestimate grupları karşılaştırıldığında sertralin+norgestimate grubunun yüzme davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,001$ ), tırmanma davranışında anlamlı bir artış ( $p=0,004$ ) görülürken hareketsizlik davranışında ( $p=0,303$ ) anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Anandamide grubu ile sertralin+anandamide grubu karşılaştırıldığında sertralin+anandamide grubunun yüzme ( $p=0,8$ ), tırmanma ( $p=0,076$ ) ve hareketsizlik ( $p=0,136$ ) davranışlarında anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Anandamide grubu ile norgestimate grupları karşılaştırıldığında norgestimate grubunun yüzme ( $p=0,6$ ), tırmanma ( $p=0,241$ ) ve hareketsizlik ( $p=0,357$ ) davranışlarında anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Anandamide ve sertralin+norgestimate grupları karşılaştırıldığında yüzme ( $p=0,173$ ) davranışında anlamlı bir değişim görülmezken tırmanma davranışında ( $p=0,002$ ) anlamlı bir artış ve hareketsizlik davranışında ( $p=0,018$ ) anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür.

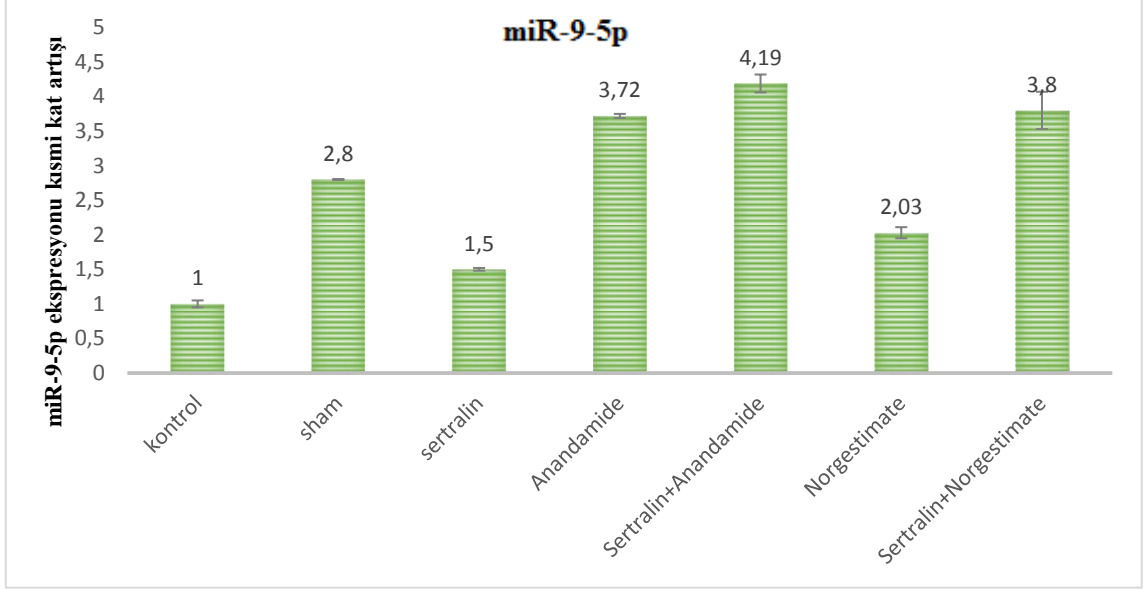
Sertralin+anandamide grubu ile norgestimate grupları yüzme davranışları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmezken ( $p=0,785$ ) tırmanma ( $p=0,026$ ) ve hareketsizlik ( $p=0,01$ ) davranışlarında anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir.

Sertralin+anandamide grubu ile sertralin+norgestimate grupları yüzme ( $p=0,172$ ), tırmanma ( $p=0,149$ ) ve hareketsizlik ( $p=0,219$ ) davranışları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmemiştir.

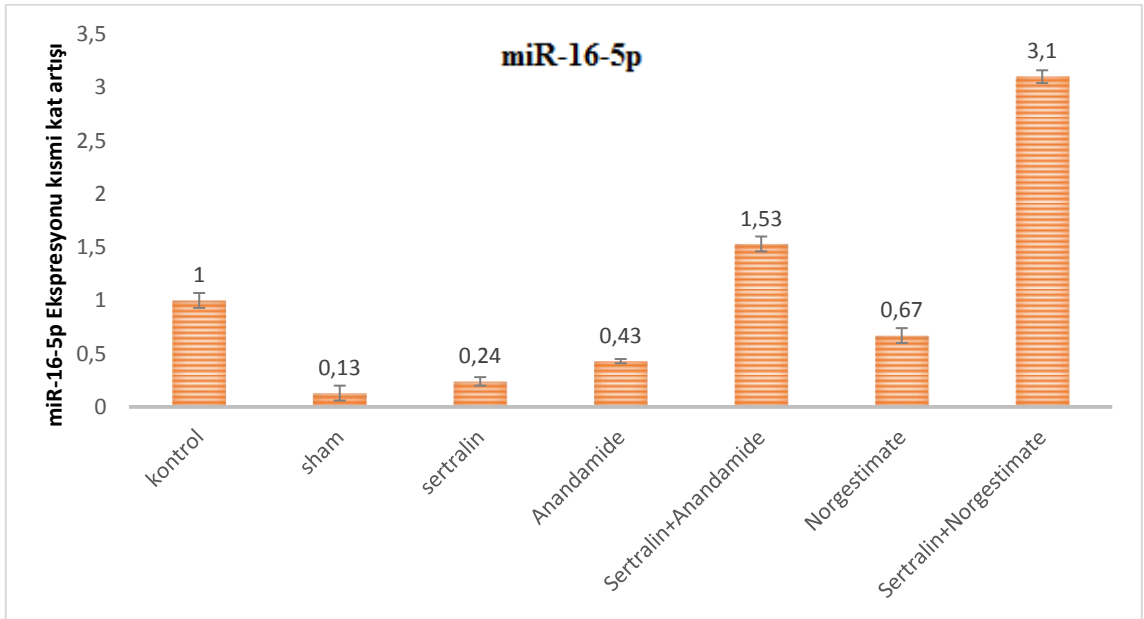
Norgestimate grubu ile sertralin+norgestimate grupları yüzme davranışları bakımından karşılaştırıldığında anlamlı bir fark görülmezken ( $p=0,196$ ) tırmanma davranışında anlamlı bir artış ( $p=0,001$ ), hareketsizlik davranışında anlamlı bir azalma ( $p=0,001$ ) olduğu tespit edilmiştir.



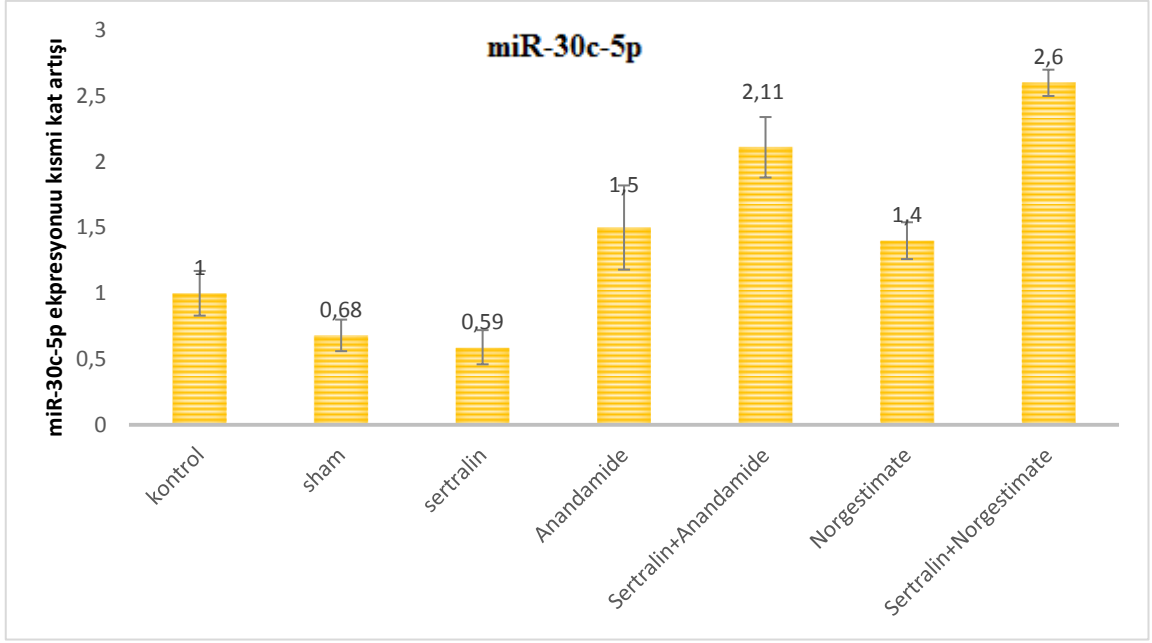
### 4.3. Grupların miRNA Ekspresyon Ölçümlerinin Değerlendirilmesi



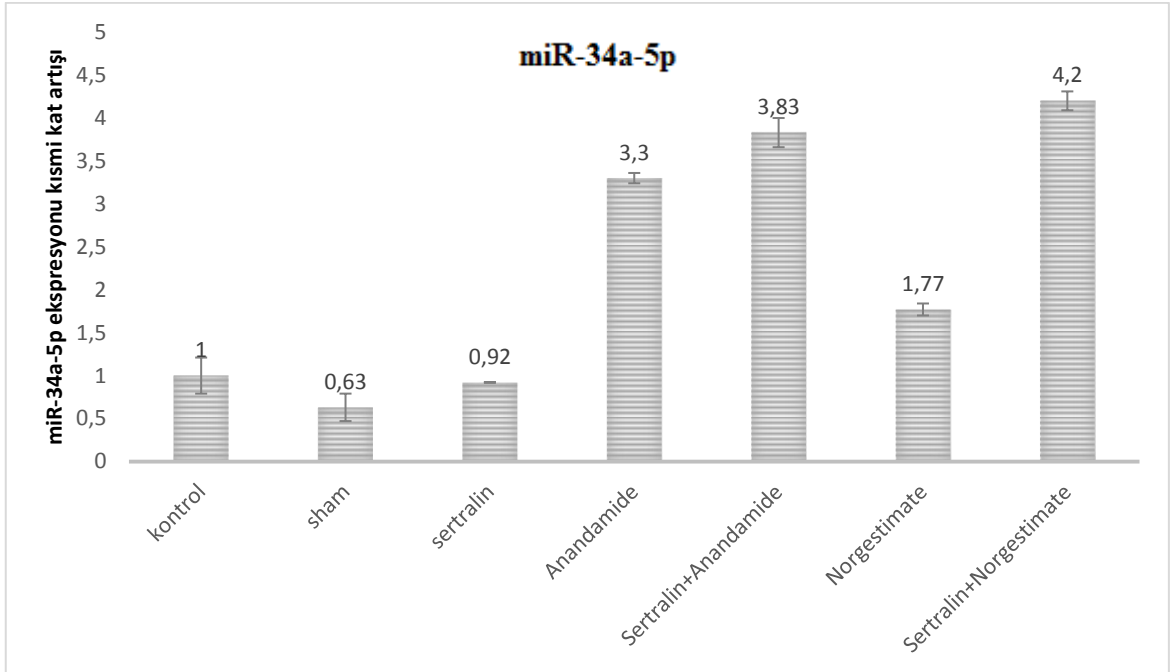
Şekil 4.5. Gruplara ait miR-9-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir



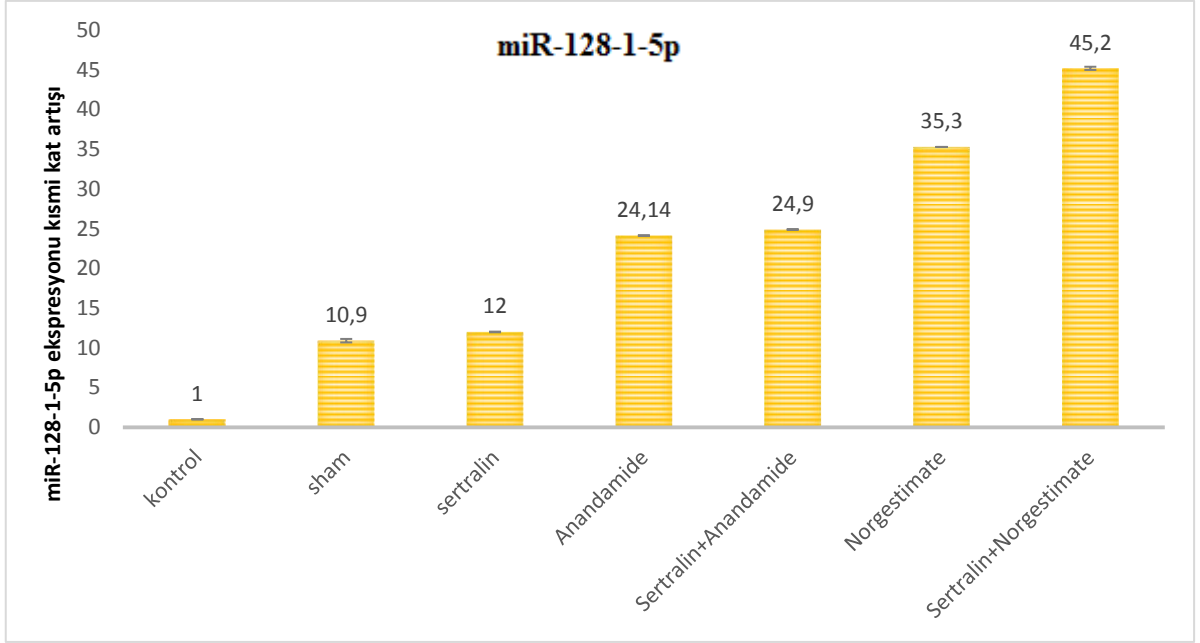
Şekil 4.6. Gruplara ait miR-16-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



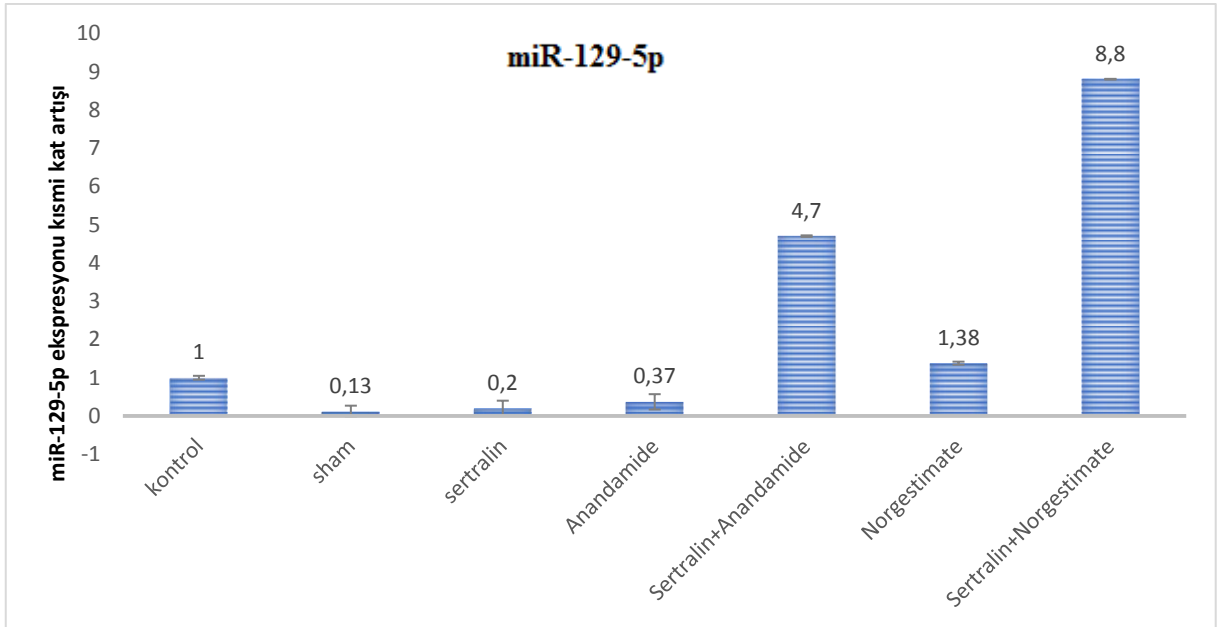
**Şekil 4.7.** Gruplara ait miR-30c-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



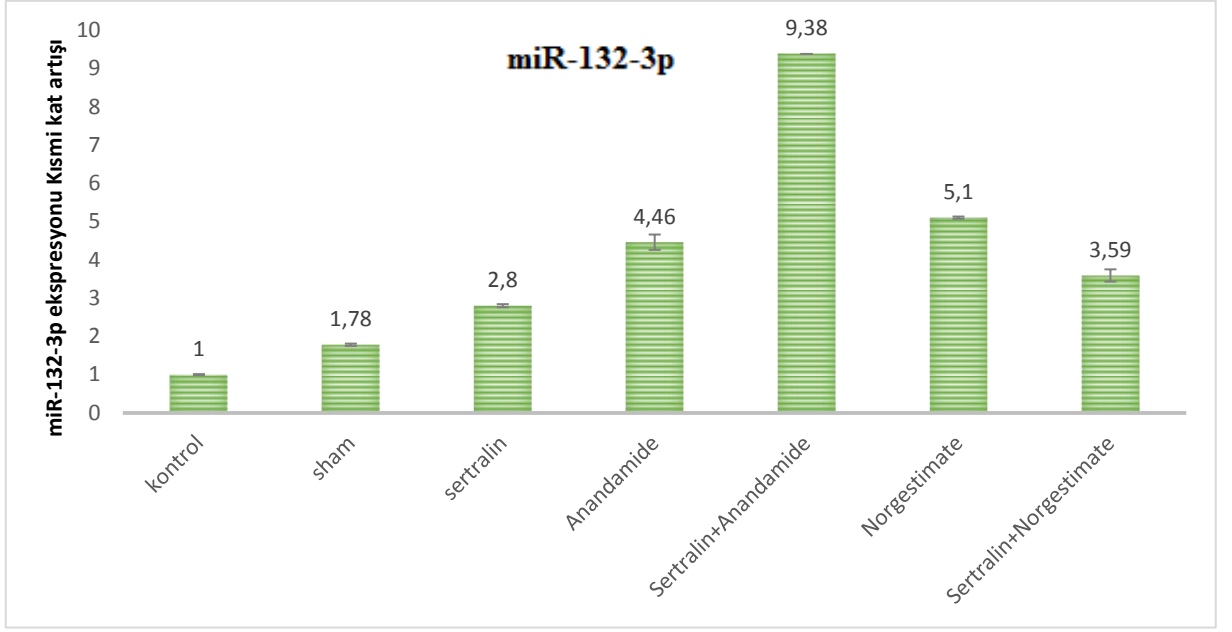
**Şekil 4.8.** Gruplara ait miR-34a-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



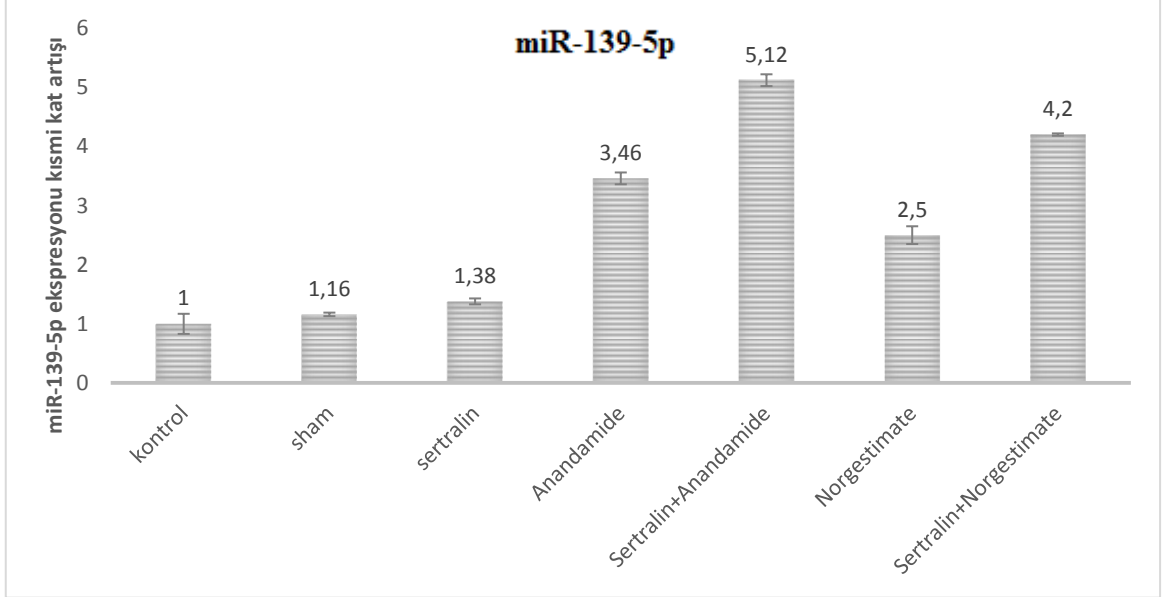
**Şekil 4.9.** Gruplara ait miR-128-1-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



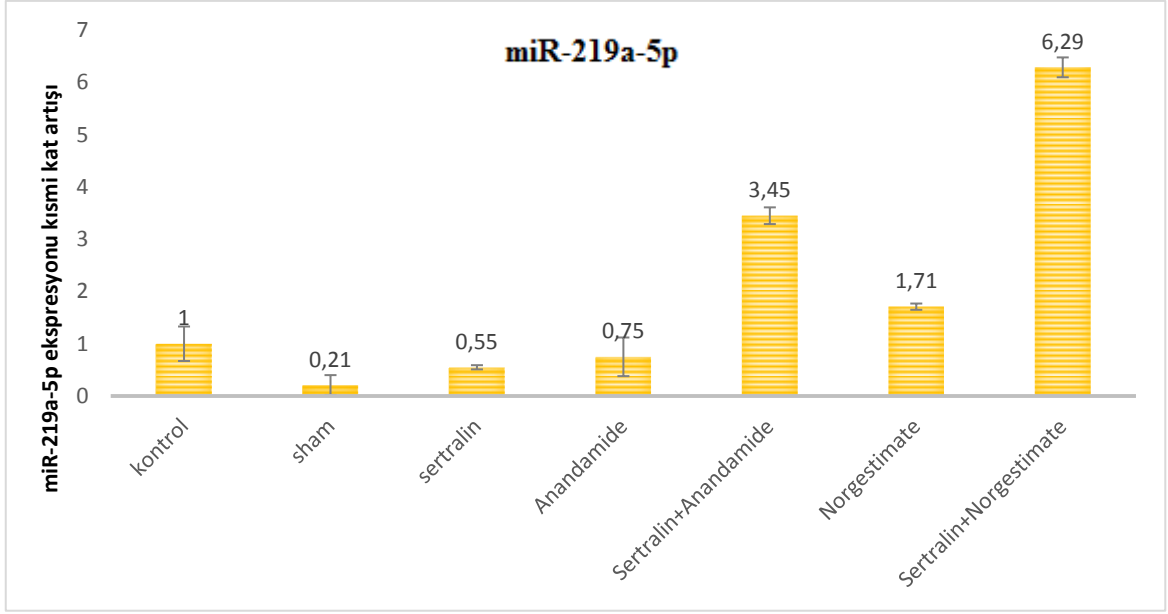
**Şekil 4.10.** Gruplara ait miR-129-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



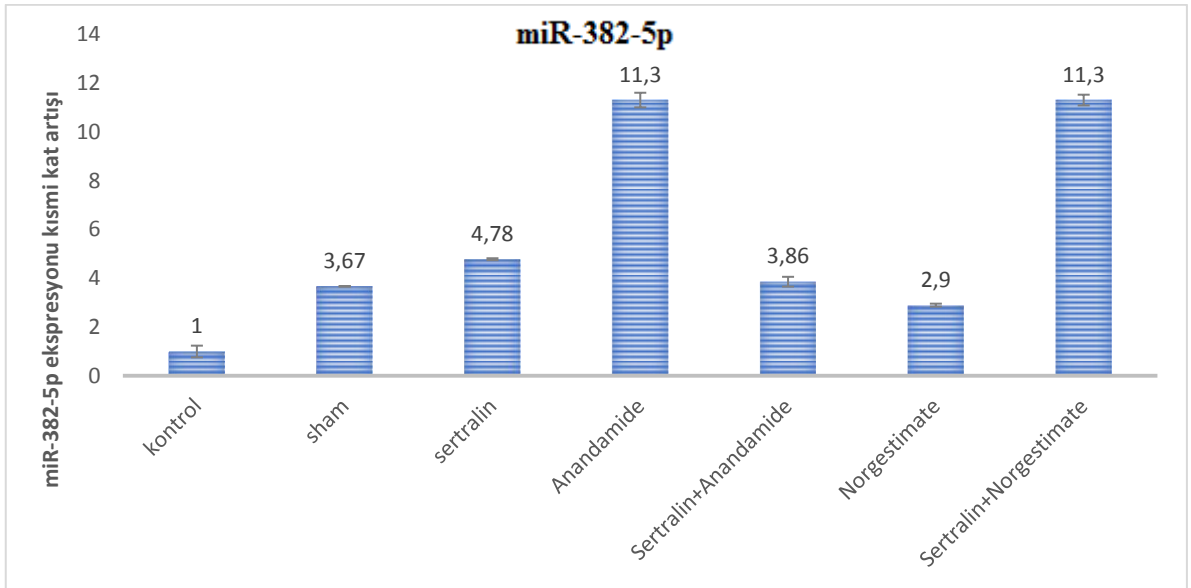
**Şekil 4.11.** Gruplara ait miR-132-3p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



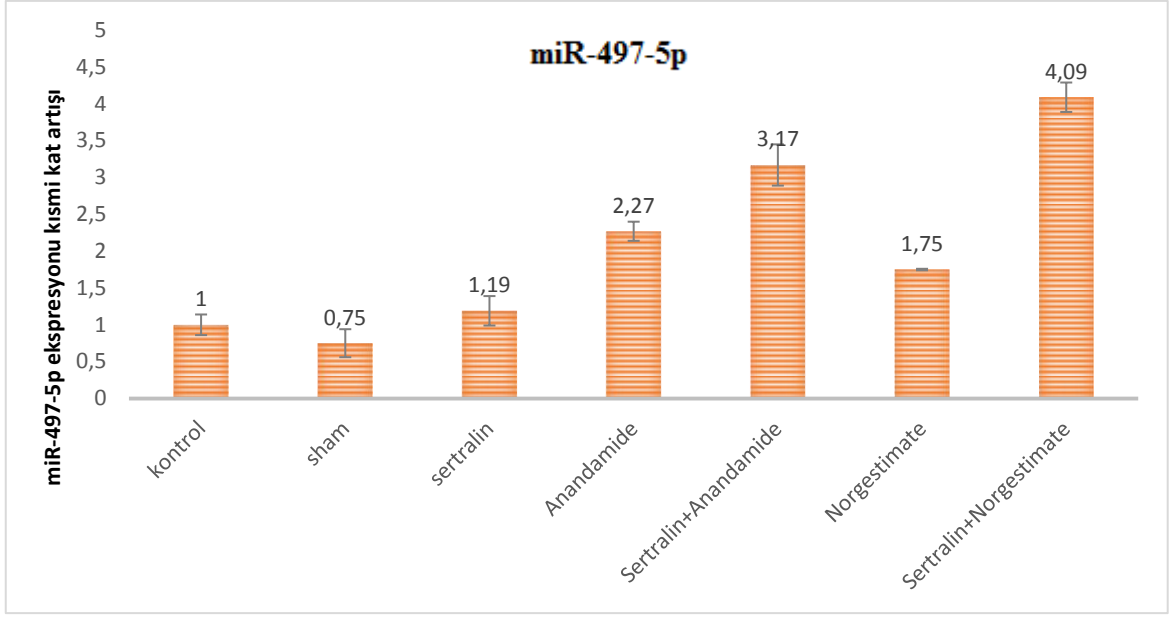
**Şekil 4.12.** Gruplara ait miR-139-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



**Şekil 4.13.** Gruplara ait miR-219a-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



**Şekil 4.14.** Gruplara ait miR-382-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



**Şekil 4.15.** Gruplara ait miR-497-5p ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

#### **RT-PCR verilerinin istatistiksel analizine göre;**

Kontrol grubu ile sham grubu karşılaştırıldığında miR-9-5p ( $p=0,01$ ), miR-128-1-5p ( $p=0,001$ ), miR-382-5p'de ( $p=0,005$ ) anlamlı bir artış görülürken miR-16-5p ( $p=0,001$ ), miR-129-5p ( $p=0,001$ ), miR-219a-5p ( $p=0,003$ ), mikroRNA'larında anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir. miR-30c-5p ( $p=0,180$ ), miR-34a-5p ( $p=0,117$ ), miR-132-3p ( $p=0,062$ ), miR-139-5p ( $p=0,555$ ), miR-497-5p' de ( $p=0,288$ ) ise istatistiki olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Kontrol grubu ile sertralin grubu karşılaştırıldığında, miR-128-1-5p ( $p=0,001$ ), miR-132-3p-3p ( $p=0,01$ ), miR-382-5p'de ( $p=0,003$ ) anlamlı bir artış olduğu, miR-16-5p ( $p=0,004$ ) ve miR-129-5p' de ( $p=0,004$ ) anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. miR-9-5p ( $p=0,131$ ), miR-30c-5p ( $p=0,086$ ), miR-34a-5p ( $p=0,753$ ), miR-219a-5p ( $p=0,058$ ), miR-139-5p ( $p=0,224$ ) ve miR-497-5p'de ( $p=0,471$ ) ise istatistiki olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Kontrol grubu ile anandamide grubu karşılaştırıldığında miR-9-5p ( $p=0,00$ ), miR-34a-5p ( $p=0,006$ ), miR-128-1-5p ( $p=0,001$ ), miR-132-3p ( $p=0,003$ ), miR-139-5p ( $p=0,005$ ), miR-382-5p ( $p=0,001$ ) ve miR-497-5p ( $p=0,027$ ) mikroRNA'larında anlamlı

bir artış olduğu görülürken miR-16-5p (p=0,022), miR-129-5p (p=0,012), istatistiki olarak anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. miR-30c-5p (p=0,145) ve miR-219a-5p'de (p=0,288) ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Kontrol grubu ile sertralin+anandamide grubu karşılaştırıldığında miR-9-5p (p=0,003), miR-30c-5p (p=0,033), miR-34a-5p (p=0,004), miR-128-1-5p (p=0,001), miR-129-5p (p=0,002), miR-219a-5p (p=0,005), miR-132-3p (p=0,001), miR-139-5p (p=0,002), miR-382-5p (p=0,004) ve miR-497-5p'de (p=0,012) istatistiki olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-16-5p'de (p=0,13) ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Kontrol grubu ile norgestimate grubu karşılaştırıldığında miR-9-5p (p=0,036), miR-128-1-5p (p=0,001), miR-132-3p (p=0,002), miR-139-5p (p=0,015) ve miR-382-5p (p=0,009) mikroRNA'larında anlamlı bir artış olduğu ve miR-16-5p'de (p=0,038) anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. miR-30c-5p (p=0,201), miR-34a-5p (p=0,064), miR-129-5p (p=0,224), miR-219a-5p (p=0,191) ve miR-497-5p' de (p=0,07) ise istatistiki olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Kontrol grubu ile sertralin+norgestimate grubu karşılaştırıldığında miR-9-5p'de (p=0,001), miR-16-5p (p=0,001), miR-30c-5p (p=0,045), miR-34a-5p (p=0,001), miR-128-1-5p (p=0,001), miR-129-5p (p=0,001), miR-132-3p (p=0,016), miR-139-5p (p=0,001), miR-219a-5p (p=0,007), miR-382-5p (p=0,002) ve miR-497-5p'de (p=0,004) istatistiki olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür.

Sham grubu ile sertralin grubu karşılaştırıldığında miR-129-5p'de anlamlı bir azalma, miR-219a-5p'de anlamlı bir artış görülürken miR-9-5p (p=0,056), miR-16-5p (p=0,062), miR-30c-5p (p=0,555), miR-34a-5p (p=0,174), miR-128-1-5p (p=0,67), miR-132-3p (p=0,113), miR-139-5p (p=0,471), miR-382-5p (p=0,298) ve miR-497-5p (p=0,113) mikroRNA'larında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Sham grubu ile anandamide grubu karşılaştırıldığında, miR-16-5p (p=0,007), miR-30c-5p (p=0,027), miR-34a-5p (p=0,002), miR-128-1-5p (p=0,024), miR-129-5p (p=0,011), miR-132-3p (p=0,016), miR-139-5p (p=0,008), miR-219a-5p (p=0,007), miR-382-5p (p=0,008) ve miR-497-5p (p=0,008) mikroRNA'larında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-9-5p' de (p=0,288) ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Sham grubu ile sertralin+anandamide grubu karşılaştırıldığında miR-16-5p (p=0,001), miR-30c-5p (p=0,009), miR-34a-5p (p=0,001), miR-128-1-5p (p=0,003), miR-129-5p (p=0,001), miR-132-3p (p=0,002), miR-139-5p (p=0,003), miR-219a-5p (p=0,001), miR-497-5p'de (p=0,004) istatistiki olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-9-5p (p=0,156) ve miR-382-5p'de (p=0,841) ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Sham grubu ile norgestimate grubu karşılaştırıldığında miR-16-5p (p=0,003), miR-30c-5p (p=0,034), miR-34a-5p (p=0,011), miR-128-1-5p (p=0,006), miR-129-5p (p=0,011), miR-132-3p (p=0,01), miR-139-5p (p=0,027), miR-219a-5p (p=0,002), miR-497-5p'de (p=0,021) istatistiki olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-9-5p (p=0,224) ve miR-382-5p'de (p=0,357) ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Sham grubu ile sertralin+norgestimate grubu karşılaştırıldığında miR-9-5p (p=0,001), miR-16-5p (p=0,001), miR-34a-5p (p=0,001), miR-128-1-5p (p=0,001), miR-129-5p (p=0,001), miR-139-5p (p=0,001), miR-219a-5p (p=0,001), miR-497-5p'de (p=0,002) istatistiki olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-30c-5p (p=0,278), miR-132-3p (p=0,232) ve miR-382-5p'de (p=0,324) ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Sertralin grubu ile anandamide grubu karşılaştırıldığında miR-9-5p (p=0,018), miR-30c-5p (p=0,015), miR-34a-5p (p=0,005), miR-128-1-5p (p=0,038), miR-139-5p (p=0,016), miR-382-5p'de (p=0,029), miR-497-5p'de (p=0,047) istatistiki olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-16-5p (p=0,066), miR-129-5p (p=0,224), miR-132-3p (p=0,113) miR-219a-5p'de (p=0,232) ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Sertralin grubu ile sertralin+anandamide grubu karşılatırıldığında miR-9-5p (p=0,012), miR-16-5p (p=0,001), miR-30c-5p (p=0,006), miR-34a-5p (p=0,003), miR-128-1-5p (p=0,048), miR-129-5p (p=0,001), , miR-132-3p (p=0,006), miR-139-5p (p=0,004), miR-219a-5p (p=0,001) ve miR-497-5p'de (p=0,021) istatistiki olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-382-5p'de (p=0,374) ise anlamlı bir değişim saptanmamıştır.

Sertralin grubu ile norgestimate grubu karşılaştırıldığında miR-16-5p (p=0,02), miR-30c-5p (p=0,019), miR-34a-5p (p=0,045), miR-128-1-5p (p=0,009), miR-129-5p (p=0,002), , miR-219a-5p'de (p=0,012) anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-9-5p



(p=0,288), miR-132-3p (p=0,058), miR-139-5p (p=0,058), miR-382-5p'de (p=0,098), miR-497-5p'de (p=0,174) ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Sertralin grubu ile sertralin+norgestimate grubu karşılaştırıldığında miR-9-5p (p=0,001), miR-16-5p (p=0,001), miR-34a-5p (p=0,001), miR-128-1-5p (p=0,001), miR-129-5p (p=0,001), miR-139-5p (p=0,001), miR-219a-5p'de (p=0,001), miR-497-5p'de (p=0,007) anlamlı bir artış görülürken miR-30c-5p (p=0,573), miR-132-3p (p=0,573), ve miR-382-5p'de (p=0,773) ise anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Anandamide ile sertralin+anandamide grubu karşılaştırıldığında miR-16-5p (p=0,005), miR-129-5p (p=0,001), miR-132-3p (p=0,029), miR-219a-5p'de (p=0,003) anlamlı bir artış görülürken miR-382-5p'de (p=0,009) anlamlı bir azalma görülmüştür. miR-9-5p (p=0,630), miR-30c-5p (p=0,228), miR-34a-5p (p=0,555), miR-128-1-5p (p=0,717), miR-139-5p (p=0,156) ve miR-497-5p'de (p=0,640) ise anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Anandamide ile norgestimate grubu karşılaştırıldığında miR-9-5p (p=0,56), miR-16-5p (p=0,395), miR-30c-5p (p=0,797), miR-34a-5p (p=0,051), miR-128-1-5p (p=0,167), miR-132-3p (p=0,573), miR-139-5p (p=0,232), miR-497-5p'de (p=0,298) anlamlı bir değişim görülmezken miR-129-5p (p=0,004) ve miR-219a-5p'de (p=0,046) anlamlı bir artış, miR-382-5p'de (p=0,004) ise anlamlı bir azalma belirlenmiştir.

Anandamide ile sertralin+norgestimate grubu karşılaştırıldığında miR-132-3p (p=0,058), miR-497-5p'de (p=0,095) anlamlı bir değişim görülmezken, miR-9-5p (p=0,001), miR-16-5p (p=0,001), miR-30c-5p (p=0,009), miR-34a-5p (p=0,042), miR-128-1-5p (p=0,001), miR-129-5p (p=0,001), miR-139-5p (p=0,001) ve miR-219a-5p (p=0,003) ve miR-382-5p'de (p=0,11), anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir.

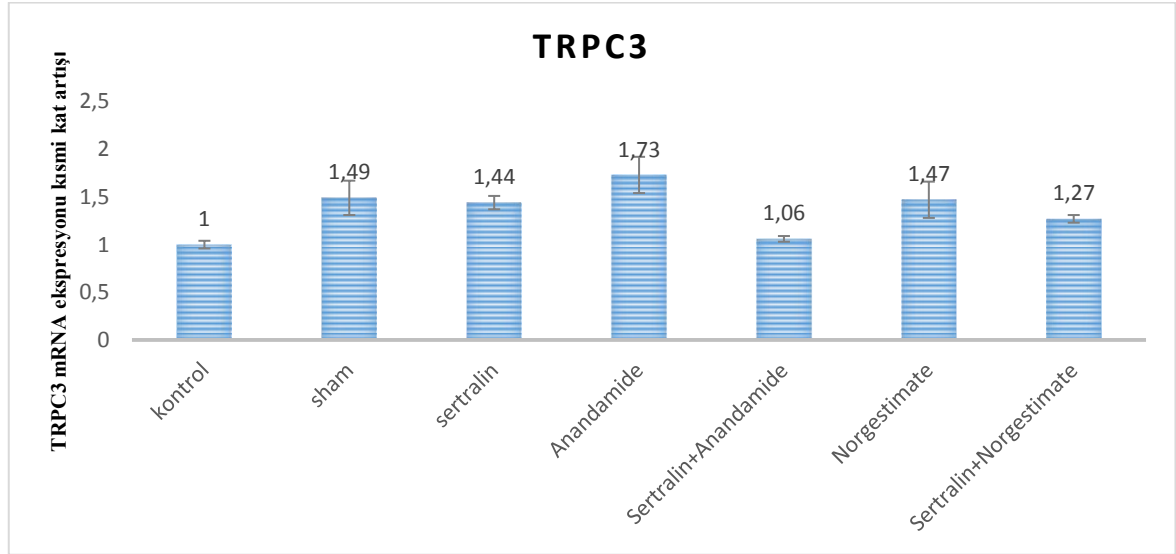
Sertralin+anandamide ile norgestimate grupları karşılaştırıldığında miR-9-5p (p=0,033), miR-16-5p (p=0,006), miR-34a-5p (p=0,027), miR-129-5p (p=0,006), miR-139-5p (p=0,034), miR-219a-5p'de (p=0,010) anlamlı bir azalma görülürken miR-30c-5p (p=0,166), miR-128-1-5p (p=0,397), miR-132-3p (p=0,053), miR-382-5p (p=0,278), miR-497-5p'de (p=0,139) anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Sertralin+anandamide ile sertralin+norgestimate grupları karşılaştırıldığında miR-16-5p (p=0,001), miR-30c-5p (p=0,004), miR-129-5p'de (p=0,001) anlamlı bir artış, miR-9-5p (p=0,001), miR-132-3p (p=0,004), miR-139-5p'da (p=0,001) ise anlamlı bir azalış olduğu görülmüştür. miR-34a-5p (p=0,083), miR-219a-5p (p=0,732),

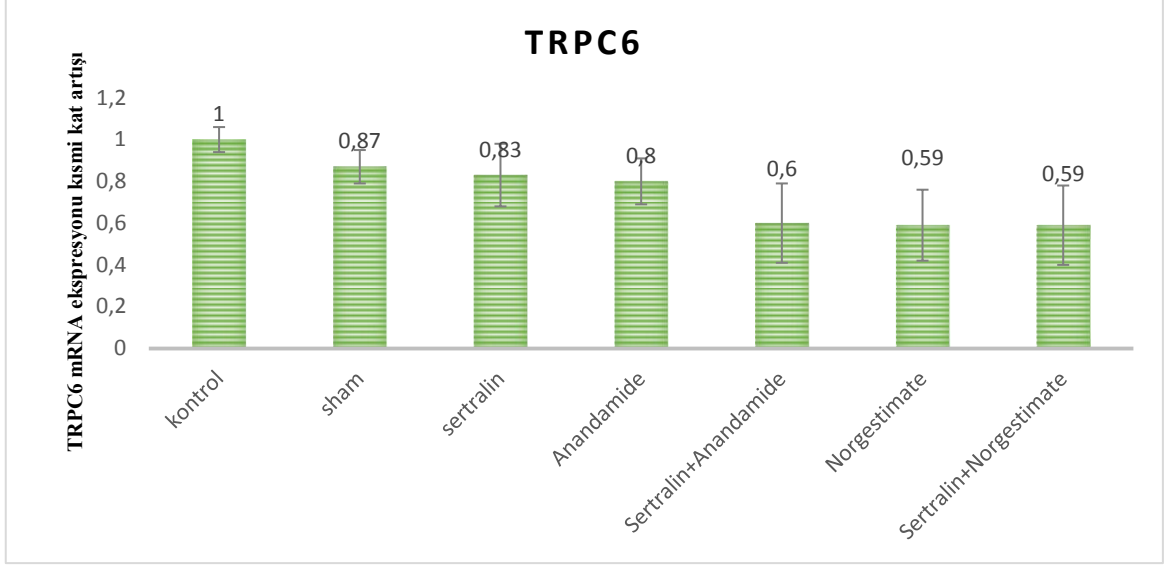
miR-382-5p ( $p=0,427$ ), miR-497-5p'de ( $p=0,125$ ) ise anlamlı bir değişim saptanmamıştır.

Norgestimate ile sertralin+norgestimate grupları karşılaştırıldığında miR-382-5p'de ( $p=0,083$ ) anlamlı bir değişim görülmezken miR-9-5p ( $p=0,001$ ), miR-16-5p ( $p=0,001$ ), miR-30c-5p ( $p=0,012$ ), miR-34a-5p ( $p=0,005$ ), miR-128-1-5p ( $p=0,001$ ), miR-129-5p ( $p=0,001$ ), miR-139-5p ( $p=0,001$ ), miR-219a-5p ( $p=0,014$ ), miR-497-5p'de ( $p=0,028$ ) anlamlı bir artış, miR-132-3p ( $p=0,032$ ) ise anlamlı bir azalış olduğu görülmüştür.

#### 4.4. TRPC3 ve TRPC6 İyon Kanallarının Ekspresyon Ölçümlerinin Değerlendirilmesi



Şekil 4.16. Gruplara ait TRPC3 mRNA ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.



**Şekil 4.17.** Gruplara ait TRPC6 mRNA ekspresyon değerleri. Değerler ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verilmiştir.

RT-PCR verilerinin istatistiksel analizlerine göre gruplar arasında TRPC3 ve TRPC6 mRNA ekspresyonlarında anlamlı bir değişim görülmemiştir.

## 5. TARTIŞMA

Depresyon toplumda sık görülen ve hayat kalitesi üzerine ciddi olumsuz etkileri olan bir hastalıktır. Hastalığın etyopatogenezinden sorumlu tutulan pek çok etiyolojik faktör olmasına rağmen mikroRNA'ların hastalığın etyopatogenezindeki rolleri hakkında çok az şey bilinmektedir (1). MikroRNA'lar özellikle beyinde oldukça yüksek oranda sentezlenmektedirler (130, 131). Ancak yapılan insan çalışmalarında depresyonlu bireylerin postmortem beyin dokularındaki miRNA profillerinin incelenmesi pek mümkün olmamıştır. Beyinde mikroRNA profillerinin ölçüldüğü pek çok fare çalışması olmasına rağmen bu çalışmalarda genellikle sadece miRNA profilleri değerlendirilmiştir. Çalışmamızda ise farede oluşturulan depresyon modelinde mikroRNA'lar ile iyon kanalları arasındaki ilişkiler değerlendirilmiş olup elde edilen veriler mikroRNA'lar ile iyon kanal işlev bozuklukları arasında önemli ilişkilerin varlığını destekler niteliktedir. Bu bağlamda çalışmamızda 3 temel bulgu elde edilmiştir. İlk olarak fare depresyon modelinde beyinde sentezlenen miRNA'lardan miR-9-5p, miR-128-1-5p, miR-382-5p'de anlamlı bir artış ve miR-16-5p, miR-129-5p, miR-219a-5p'de anlamlı bir azalma olduğu, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-497-5p-5p gibi bazı miRNA'larda ise anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür. Özellikle miR-9-5p ve miR-128-1-5p düzeylerinde literatürdeki diğer çalışmalarla örtüşecek şekilde artış olduğu belirlenmiştir (7,209,210). İkincisi, iyon kanal inhibitörlerinin genel olarak miRNA sentezini artırdığı belirlenmiştir. Özellikle iyon kanal inhibitörlerinin genel olarak miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p ve miR-382-5p ekspresyonlarını artırdığı bulunmuştur. Üçüncüsü, kullanılan iyon kanal inhibitörleri Anandamide ve Norgestimate'ın fare depresyon modelinde zorunlu yüzme testinde antidepresif etkiye sahip olduğu saptanmıştır. Bu açıdan ZYT'de sertralin ve inhibitörlerin beraber kullanıldığı gruplarda antidepresif etkinliğin sadece sertralin kullanılanlara göre anlamlı şekilde arttığı tespit edilmiştir.

Son yıllarda yapılan hayvan çalışmaları ve elektrofizyolojik çalışmalarla hücre içi sinyal iletim mekanizmaları ve bu mekanizmalarda gelişen bozukluklar daha iyi bir şekilde anlaşılmaya başlanmıştır (11). Voltaj veya ligand bağımlı iyon kanallarının veya kanal düzenleyici proteinlerin yapısal veya işlevsel bozuklukları pek çok hastalıkla

ilişkilendirilmektedir. Sinyal mekanizmasının önemli bir parçası olan iyon kanalları beyinde nörotransmisyon, nöral farklılaşma, plastisite gibi süreçlerde önemli görevler üstlenmektedir. Bu nedenle iyon kanal bozukluklarının çeşitli nöral hastalıklara sebep olduğu bilinmektedir (211). Ancak yaygın psikiyatrik hastalıkların patofizyolojisinde iyon kanallarının nasıl bir değişim gösterdiği hakkında yeterli çalışma bulunmamaktadır. Smolin ve ekibinin (2012) yapmış olduğu bir çalışmada bipolar bozukluk, şizofreni ve majör depresyon gruplarında çeşitli iyon kanal genlerinin ekspresyonlarına bakılmış ve bu hastalık durumlarında iyon kanal ekspresyonlarında anlamlı değişimlerin olduğu görülmüştür. Majör depresif bozukluk vakalarının postmortem beyin dokularında yapılan bu çalışmada KCNN3, KCNS3, CLCN7 gibi iyon kanallarının ekspresyonlarında artış olduğu belirlenmiştir (212). Coryell ve ekibinin (2009) depresyon ve iyon kanalı ilişkisi araştırmaları kapsamında yapmış olduğu çalışmada ise yine depresyonda etkili olduğunu düşündükleri ASIC1A kanalının inhibisyonunun antidepresan etkiye benzer davranışsal değişimler oluşturduğunu gözlemlemişlerdir (192). Ayrıca çeşitli çalışmalarda Beynin duygu düzenlenmesi ile ilgili kısımlarında bol bulunan ANK3, CACNA1C, P2RX7, HCN4 gibi iyon kanallarındaki polimorfizmler majör depresif bozuklukla ilişkilendirilmektedir (194,199,213).

TRPC kanallarının memeli beyinde oldukça yüksek seviyede eksprese olduğu bilinmektedir. TRPC3 kanalının dendrit büyümesi, hipokampal nöron hücrelerinin çoğalma ve farklılaşma süreçlerinin kontrolü gibi önemli rolleri vardır. TRPC3 mGluR bağımlı sinaptik iletme aracı olmaktadır (188, 211).

Biyojenik amin geri alım inhibitörlerinin antidepresan etkisi bilinmektedir. Hiperforin, “*Hypericum perforatum*” bitkisinde bulunan bioaktif bir bileşik olup dopamin, norepinefrin, serotonin ve glutamat gibi nörotransmitterlerin geri alım inhibitörüdür. Son zamanlarda bu bileşiğin antidepresif özelliklerinin temelinde yatan mekanizmanın spesifik olarak TRPC6 iyon kanalını aktive etmesi olduğu anlaşılmıştır. TRPC6'nın aktivasyonu sonucu hücre için kalsiyum artışının cAMP-PKA-CREB yolağını aktive ederek BDNF reseptörü olan olan TrkB ekspresyonunu artırdığı belirlenmiştir (214). Depresif epizodlu hastalarda yapılan çalışmalar, serum BDNF düzeylerinin kontrole göre anlamlı olarak daha düşük bulunduğunu göstermiştir (215). Ayrıca rat ve farelerde oluşturulan depresyon modellerinde beyin BDNF düzeylerinin

azaldığı ve çeşitli antidepresanların BDNF düzeylerini düzelttiği belirlenmiştir. (216). Depresyon patogenezinde önemli rolü olan BDNF aktivitesine bağlı yaşamsal mekanizmalar, PLC/IP3R, ERK/CREB ve PI3K/Akt/NF-κB gibi Ca<sup>+2</sup>'a bağlı sinyal yolları sayesinde gerçekleşmektedir. TRPC3 veya TRPC6 downregülasyonu BDNF etkisini bloke ederek bu mekanizmaların aksamasına neden olmaktadır. Dendrit morfolojisinin düzenlenmesinde rolü olan transkripsiyon faktörü CREB, TRPC3 ve TRPC6 tarafından düzenlenmektedir. Çeşitli çalışmalarda TRPC6'nın inhibe edilmesinin hipokampal nöronların dendrit uzunluğunun azalmasına yol açtığı belirtilmiştir. Ayrıca TRPC3 veya TRPC6 downregülasyonu apoptozise yol açtığı bilinmektedir. TRPC6 transgenik farelerde CaMK4 ve CREB fosforilasyonu artmaktadır (188). Bu bilgiler doğrultusunda depresyon vakalarında TRPC3/6 mRNA ekspresyonlarının değişim göstermesi beklenmektedir. Ancak yapmış olduğumuz çalışmada, depresyon durumunda, TRPC3 ve TRPC6 iyon kanal ekspresyonlarının anlamlı bir değişime uğramadığı saptanmıştır.

Çalışmamızda değerlenddiğimiz diğer bir iyon kanalı olan TREK-1 kanalları özellikle beynin prefrontal korteks ve hipokampus bölgelerinde yoğun olarak eksprese olmaktadır. Bu iyon kanalının eksikliğinde farelerde depresyona karşı bir direnç olduğu görülmüştür. Tsai'nin yaptığı (2008) bir çalışmada farelerde TREK-1 inhibisyonunun stres durumunda kortikosteron seviyelerini azalttığı ve farelerin davranışlarının antidepresan uygulaması yapılan farelerle benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Bu bulgular TREK-1 kanal inhibitörlerinin potansiyel yeni bir antidepresan olabileceğini göstermiştir (217).

İyon kanallarının ekspresyonlarında değişim olmaması bu kanalların aktivitesindeki değişimleri yansıtmamaktadır. TRPC3/6 ve TREK-1 kanalının aktivitesindeki değişimler de nöron hücrelerinde iyon dengesizliklerine neden olarak bazı mikroRNA'ların ekspresyonlarını değiştirmeleri muhtemeldir.

Depresif hastaların prefrontal korteksinde hipoaktivasyon olduğu bilinmektedir (218). Özellikle bu bölgede meydana gelen miRNA düzeylerindeki değişimlerin belirlenmesi hipoaktivasyona aracılık eden mekanizmaların ortaya koyulması açısından oldukça önemlidir. İnsanda depresyon hastalarının beynin prefrontal korteksindeki miRNA düzeylerinin değerlendirildiği çok az sayıda postmortem çalışma bulunmaktadır. Smalheiser ve arkadaşlarının (2014) depresif intihar hastalarının

postmortem beyinlerinin prefrontal korteks bölgesinde miRNA düzeylerini değerlendirdikleri çalışmalarında, mikroRNA'ların ekspresyonlarının azaldığını belirlemişlerdir (219). Ayrıca farelerde akut hareket sınırlaması ile oluşturulan stres durumunda beynin frontal korteks bölgesinde miR-9-5p, miR-26b, miR-29b, miR-30b, miR-30c-5p, miR-30e, miR-125a, miR-126-3p, miR-129-3p, miR-207, miR-212, miR-351, miR-423, miR-487b, miR-494, miR-690, miR-691, miR-709, miR-711 ve Let-7a-e'nin arttığı tespit edilmiştir (7).

Yapılan diğer çalışmalar daha çok hayvan modellerini ve insanda periferik kandan elde edilen örneklerdeki miRNA'düzeylerinin değerlendirilmesini kapsamaktadır. Bu alışmalar aşağıdaki çizelgede özetlenmiştir (izelge 5.1.). Yapılan çalışmalarda genel olarak gözlemlenen en önemli bulgulardan biri her bir çalışmada farklı miRNA'larda değişimlerin gözlenmiş olmasıdır.

**Çizelge 5.1.** Stres ve depresyonla ilişkili miRNA'lar

<b>Çalışmalar</b>	<b>miRNA'lar</b>	<b>Kaynaklar</b>
Kısıtlama	Frontal korteks: miR-9, miR-26b, miR-29b, miR-30b, miR-30c, miR-30e, miR-125a, miR-126-3p, miR-129-3p, miR-207, miR-212, miR-351, miR-423, miR-487b, miR-494, miR-690, miR-691, miR-709, miR-711, Let-7 a-e let-7a, miR-9, miR-26a/b, miR-30b/c, miR-125a	218
Hareketsizlik	Hipokampus CA1, amigdala: miR-134, miR-183, miR-132, Let-7a-1, miR-9-1, miR-124a-1	219
Kronik hafif stres modeli	Hipokampus: miR298, miR-130b, miR-135a, miR-323, miR-503, miR-15b, miR-532 miR-125a, miR7a, miR-212, miR-124, miR-139, miR-182	220
Erken yaşam stresörleri	Medial prefrontal korteks: pre-miRs 132, 124-1, 9-1, 9-3, 212, 29a	221
Öğrenilmiş çaresizlik	Frontal korteks: mmu-miR-184, mmu-miR-197, mmu-miR-107, mmu-miR-329, mmu-miR-125a-5p, mmu-miR-872, mmu-miR-181c, mmu-miR-18a, mmu-miR-29b, mmu-let-7a, rno let-7e, rno-miR-20a	222
Postmortem beyin çalışmaları	Prefrontal korteks: hsa-miR-142-5p, hsa-miR-33a, hsa-miR-137, hsa-miR-489, hsa-miR-148b, hsa-miR-101, hsa-miR-324-5p, hsa-miR-301a, hsa-miR-146a, hsa-miR-335, hsa-miR-494, hsa-miR-20b, hsa-miR-376a, hsa-miR-190, hsa-miR-155, hsa-miR-660, hsa-miR-552, hsa-miR-453, hsa-miR-130a, hsa-miR-27a, hsa-miR-497, hsa-miR-10a, hsa-miR-20a, hsa-miR-142-3p	217
Periferel mononükleer hücreler	has-miR-107, miR-133a, miR-148a, miR-200c, miR-381, miR-425-3p, miR-494, miR-517b, miR-579, miR-589, miR-636, miR-652, miR-941	223
Tüm kan hücreleri (12 haftalık escitalopram tedavisi)	hsa-miR-130b, hsa-miR-505, hsa-miR-29b-2, hsa-miR-26b, hsa-miR-22, hsa-miR-26a, hsa-miR-664, hsa-miR-494, hsa-let-7d, hsa-let-7g, hsa-let-7e, hsa-miR-34c-5p, hsa-let-7f, hsa-miR-629, hsa-miR-106b, hsa-miR-103, hsa-miR-191, hsa-miR-128, hsa-miR-502-3p, hsa-miR-374b, hsa-miR-132, hsa-miR-30d, hsa-miR-500, hsa-miR-770-5p, has-miR-589, hsa-miR-183, hsa-miR-574-3p, hsa-miR-140-3p, hsa-miR-335, hsa-miR-361-5p	224

Çalışmamızda kontrol ile sham grubu (depresyon grubu) karşılaştırıldığında miR-9-5p, mir-128-1-5p ve miR-382-5p ekspresyonunun arttığı, miR-16-5p, miR-129-5p ve mir-219a-5p'nin azaldığı, mir-30c-5p, mir-34a-5p, mir-132-3p, mir-139-5p, mir-497-5p'nin ise değişmediği belirlenmiştir.



Beyinde bol miktarda bulunduğu bilinen miR-9 özellikle santral sinir sistemi gelişiminde, nöronal hacmin belirlenmesinde, aksonal uzama ve dallanmada görevli olan bir miRNA'dır. Nörogenezi ve plastisiteyi düzenleyen gen ekspresyonlarında meydana gelen değişimlerin depresyon patogenezinde rol oynadığı bilinmektedir (8, 52). miR-9; REST, SIRT1, "Forkhead box protein P2" (FOXP2) gibi depresyon oluşumunda rol oynayan genleri hedeflemektedir. REST'in beyin gelişiminde ve plastisitede görev alan birçok miRNA ile ilişkili olduğu bilinmektedir. SIRT1 nöronal farklılaşma ve canlılığın sürdürülmesinde görev almaktadır (225). SIRT1 geninin azalan ekspresyonunun MDB patogenezinde etkili olduğu bilinmektedir (226). Bir transkripsiyon faktörü olan FOXP2 proteini sinir sistemi gelişiminde ve fonksiyonunda görevi olan yüzlerce genin ekspresyonunu kontrol etmektedir. Tao ve arkadaşlarının (2013) Çin populasyonunda yaptığı çalışmada, FOXP2 rs10447760 varyantının, şizofreni ve majör depresif bozuklukta etkili olduğu bulunmuştur (227). Çalışmamızda depresyonda miR-9-5p düzeyinde anlamlı bir artış görülmüştür. Uyumlu şekilde tedavi amaçlı sertralin uygulanan grupta miR-9-5p seviyesi depresyon grubuna göre anlamlı şekilde azalma göstermiştir.

Çalışmamızda artış gösteren ve nörogenez ve sinaptogenezde görev alan diğer bir miRNA olan miR-128-1-5p önemli bir sinyal yolağı olan ve depresyon patogenezinde rol aldığı bilinen "Extracellular Signal-Regulated Kinase" (ERK2)'ı hedeflemektedir. Depresyon hastalarının çeşitli beyin bölgelerinde ERK aktivitesinin azaldığı görülmüştür (228, 229). Antidepresan tedavileri ile downregüle olan miR-128a'nın GRM7 seviyelerinde artışa neden olduğu bilinmektedir (7).

Beyin gelişiminde ve fonksiyonunda görevli genlerin düzenlenmesinde görev alan miR-382-5p depresyon patogenezinde rolü olduğu bilinen BDNF ve DRD1 gibi genleri hedeflemektedir (229). Çalışmamızda depresyon durumunda miR-382-5p düzeyinde anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Bu anlamlı artışın depresyonda genel olarak azalmış olan BDNF düzeylerinden sorumlu olan mekanizmalara katkı sağlaması muhtemeldir (216).

Çalışmamızda depresyon durumunda miR-16-5p'de anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. miR-16 serotonerjik sinyalleri düzenlenmesinde, aksonal protein sentezinin düzenlenmesinde, akson gelişimi ve fonksiyonunda, nöral büyüme ve gelişimde rol oynamaktadır (150-153). miR-16'nın SERT, BDNF, GRM7, Wnt2,

CREB1, MAP2K1 gibi depresyonda rolü olan birçok geni hedeflediği bilinmektedir (229). Depresyonda oldukça önemli rolü olan serotonin taşıyıcısı SERT'i hedefleyen miR-16, serotonerjik sinyalleri düzenleyerek depresif nörofizyolojinin kontrolünü sağlamaktadır (138, 139). Nöral gelişim ve plastisitede önemli rolü olması dolayısıyla BDNF'nin MDB patolojisinde etkili olduğu bilinmektedir. Yüksek miR-16 seviyelerinin BDNF ekspresyonunu azaltması dolayısıyla depresyon benzeri davranışlara neden olması beklenmektedir. Ancak bizim çalışmamızla benzer şekilde Bai ve arkadaşlarının (2012) yaptığı bir çalışmada kronik stres modeli uygulanan ratlarda miR-16 seviyelerinde artış görülmemiştir. Ancak aynı çalışmada annelerinden ayrı tutulan yavrularda miR-16 seviyelerinde artış ve BDNF seviyelerinde düşüş gözlemlenmiştir (230). Başka bir çalışmada ise kronik stres modeli oluşturulan farelerde beyin sapının raphe çekirdeği bölgesine miR-16 enjeksiyonu veya locus coeruleus bölgesine anti-miR-16 enjeksiyonunun bir antidepresan olan fluoxetine ile aynı etkiyi yarattığı belirlenmiştir (4). Major depresif bozukluk oluşumuna dahil olan sinyal yollarından ERK-MAPK, Wnt/ $\beta$ -catenin sinyal yolları bazı miRNA'ların hedefleri olarak tanımlanmaktadır (143). miR-16'nın hedefi olan Wnt-2, antidepresan tedavilerine cevaben artış göstermektedir (231). Ancak çalışmamızın tedavi grubu olan sertralin grubunda miR-16'da anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Fetal beyinde serebellum gelişimi ve nöral gelişim ile ilişkili olduğu bilinen miR-129, FOXP2 ve CAMK2A genlerini hedeflemektedir (229). Mental rahatsızlıkların patofizyolojisinde ve farmakolojisinde rolü olan ve beyinde oldukça bol olduğu bilinen CAMK2A ekspresyonunun depresyon durumunda artış gösterdiği belirlenmiştir (232). Çalışmamızda depresyon durumunda miR-129-5p düzeyinde anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür.

Oligodendrosit öncü hücrelerinin farklılaşmasını ve myelinizasyonu kontrol eden, ayrıca sinaptik plastisite ve beyin gelişiminden sorumlu NMDA reseptörü ile ilişkili olduğu bilinen miR-219, CAMK2G genini hedeflemektedir (167,168,169,229). CAMK yolağının antidepresan aktivitesinde ve depresyon patogenezinde rolü olduğu bilinmektedir. CAMK yine depresyonda ekspresyonunun azaldığı bilinen CREB'in fosforilasyonunu gerçekleştirmektedir (233). Çalışmamızda depresyon durumunda miR-219-5p düzeyindeki anlamlı azalma bu yolağı etkileyerek depresyondaki nörofizyolojik değişimlere katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Nöronal devrelerin gelişiminin kontrolünü sağlayan miR-30, nöronal gelişim ve sinaptik plastisitede görev alan GLUR2 ve nöronal plastisiteyle ilgili transkripsiyon faktörü CREB gibi genleri hedeflemektedir (154, 155, 229). Çeşitli çalışmalar stresin bireylerde glukokortikoid seviyelerini düzensizleştirdiği göstermiş ve bazı miRNA'ların glukokortikoid reseptörlerini downregüle ettiği belirlenmiştir (4). Depresyonlu hastalarda glutamaterjik sistem bozukluklarının görülmesi de bu bilgiyi desteklemektedir (132). Yapmış olduğumuz çalışmada depresyon durumunda miR-30 düzeyinde anlamlı bir değişim görülmemiştir. Ancak anandamide ve norgestimate gruplarında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür.

Nörogenez, nöronal farklılaşma ve sinaptogenezde rol oynadığı düşünülen ve üzerinde durulan bir miRNA olan miR-34, beyinde eksprese olan ve depresyonlu kişilerde kayda değer değişimler gösterdiği bilinen bcl-2, VEGFA, GRM7, MYCN, MITF, MAP2K1, CDH1 gibi birçok önemli geni hedeflemektedir (8, 156, 157, 229). Antidepresan tedavilerinin beyinde miR-34 seviyelerini arttırdığı belirtilmektedir (234). Ancak çalışmamızda depresyon ve sertralin grubunda miR-34a-5p düzeyinde anlamlı bir değişim görülmemiştir. Anandamide ve norgestimate gruplarında ise miR-34a-5p düzeyleri anlamlı artış göstermiştir.

Nöron gelişimi ve olgunlaşmasını, dendrit uzama ve dallanmasını sağlayan miR-132'nin, düzensizliklerinin depresyonda önemli rolü olduğu bilinen sirkadiyen ritm genlerini ve nöral aktiviteyi düzenleyen transkripsiyonal düzenleyici MECP2 genini hedeflediği belirlenmiştir. (4). Çalışmamızda miR-132-3p depresyon grubunda artmasına rağmen anlamlı bir artış göstermemiştir. Ancak anandamide ve norgestimate gruplarında anlamlı artış olduğu saptanmıştır.

Kortikal nöronal göçü düzenleyen miR-139, FOXP2 genini hedeflemektedir (165, 166, 229). Çalışmamızda depresyon grubunda miR-139-5p düzeyinde anlamlı bir değişim görülmemiştir. Anandamide ve norgestimate gruplarında ise anlamlı bir artış olduğu görülmüştür.

Nöronal ölümü düzenlenmesinde ve nörogenezde görev alan miR-497, Bcl-2, GRM7, BDNF, CREB, 5HT-4, SMAD5, MAP2K1, DRD1 gibi depresyon patogenezinde rolü olduğu bilinen birçok geni hedeflemektedir (172, 173, 229). Uzmanlarca belirlenen miRNA hedefleri arasında olan anti-apoptotik protein Bcl-2 ve 5-HT4'ün intihar veya depresyon durumlarında değişimler gösterdiği veya antidepresan

mekanizmalarına dahil olduğu bilinmektedir (7,8). Yin ve ekibinin (2010) yaptığı çalışmada miR-497'nin bcl-2 ekspresyonunu baskıladığı görülmüştür (235). Çalışmamızda depresyon grubunda miR-497-5p düzeyinde anlamlı bir değişim görülmemiştir. Ancak anandamide ve norgestimate gruplarında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür.

İyon kanallarında meydana gelen değişimler hücrel mekanizmalarda derin etkiler bırakmaktadır. Günümüzde yapılan moleküler temelli çalışmaların çoğu kalp, kas ve duygudurum hastalıkları gibi çağımızda ciddi olumsuzluklar yaratan rahatsızlıklar ile bağlantılı olduğu düşünülen iyon kanallarının düzenlenmesinde rolü olan genler üzerine yapılmaktadır (13). Transkripsiyon faktörlerinin iyon kanal ekspresyonlarının kontrolünde kritik bir role sahip oldukları bilinmekteydi ancak son yıllarda yapılan çalışmalarla yeni düzenleyici bir molekül olarak miRNA'lar keşfedilmiştir (15). Şu ana kadar iyon kanalları ve mikroRNA'lar arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalar genellikle mikroRNA'ların iyon kanal genlerinin ekspresyonunu düzenleme mekanizmalarının ortaya koyulması amacıyla yönelik olarak kurgulanmıştır. Gen ifadesi kontrolünün önemli elemanlarından mikroRNA'lar çeşitli dokularda iyon kanallarının düzenlenmesi sürecine dahil olmaktadır (14). Luo ve ekibinin (2008) yapmış olduğu çalışmada Atrial fibrilasyon hastalarında miR-1 downregulasyonunun CACNB2 proteininin ekspresyon seviyesini arttırdığı belirlenmiştir. Luo ve arkadaşlarının (2008) başka bir çalışmasında ise kardiyak hipertrofi hastalarında miR-1 ve miR-133'ün HCN2 kanalını düzenlediği bildirilmiştir (236). Yang ve arkadaşlarının (2007) ratlarda yaptığı kardiyak aritmi çalışmasında miR-1'in aşırı ekspresyonunun KCNJ2'yi baskıladığı belirtilmiştir (237). Favereaux ve ekibinin (2011) nöropatik kronik ağrı modeli oluşturduğu ratlarda ise miR-103'ün CACNA1C'nin ekspresyonunu düzenlediği görülmüştür (238). Parthasarathy ve arkadaşlarının (2012) akut akciğer hasarı olan hastalarda yaptığı bir çalışmada miR-16'nın aşırı ekspresyonunun epitelyal sodyum kanalı (ENaC) seviyesinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (239). Belirtilen çalışmalar gibi birçok çalışma miRNA'ların iyon kanalları üzerindeki etkilerine odaklanmıştır. Ancak iyon kanallarının miRNA'lar üzerinde nasıl bir etki oluşturduğuna dair fazla çalışma bulunmamaktadır. MikroRNA'lar çeşitli iyon kanal genlerini ve iyon kanalları ile ilişkili genleri hedef aldıkları gibi iyon kanallarının da miRNA'ların düzenlenmesinde etkisi olduğu bilinmektedir (15). Hücrelerin doğal

ortamlarında içinde buldukları mikro çevredeki değişimler miRNA'ların değişimlerine neden olmaktadır. İyon akışındaki düzensizliklerin mikro çevre değişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Çeşitli patolojik kalp rahatsızlığı çalışmalarında iyon dinamiğindeki düzensizliklerin miR-195'te artışa neden olduğu, miR-1 ve miR-133'de ise azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (240).

Çalışmamızda özellikle anandamide, anandamide+sertralin, norgestimate ve norgestimate+sertralin gruplarında elde edilen en önemli veri genel olarak miRNA düzeylerinin diğer gruplara göre artmasıdır. Çalışmamızda iyon kanal inhibitörü Anandamide kullanıldığında miR-16, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p ve miR-382-5p mikroRNA'ların ekspresyonunda artış olduğu miR-9-5p ekspresyonunda ise anlamlı bir değişim olmadığı saptanmıştır. Yine Norgestimate kullanıldığında ise miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p mikroRNA'ların ekspresyonunda artış görülürken miR-9-5p ve miR-382-5p ekspresyonunda anlamlı bir değişim olmadığı belirlenmiştir. Sertralin+anandamide grubunda miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-129-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p, miR-497-5p'de istatistiki olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-9-5p ve miR-382-5p'de ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir. Sertralin+norgestimate grubunda miR-9-5p, miR-16-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-129-5p, miR-139-5p, miR-219a-5p, miR-497-5p'de istatistiki olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-30c-5p, miR-132-3p ve miR-382-5p'de ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Yapmış olduğumuz çalışmada depresyon modeli oluşturulmuş farelerde TRPC3/6 ve TREK1 iyon kanallarını spesifik inhibitörlerle inhibe ederek çeşitli miRNA'larda oluşan değişimleri gözlemledik. Bu gözlemler sonucu depresyon durumunda iyon kanal inhibitörü verilen grupların özellikle miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p ve miR-382-5p ekspresyon düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişimler olduğunu saptadık. mikroRNA'ların özellikle iyon kanal inhibitörlerinin verildiği gruplarda artma mekanizmasını açıklamak bu alanda çok sınırlı sayıda çalışma olduğundan dolayı oldukça güçtür. miRNA genlerinin transkripsiyonu, protein kodlayan genlerin transkripsiyonuna benzemektedir. miRNA'lar özellikle doku ve gelişimsel olarak spesifik şekilde düzenlenmektedirler. Yapılan çalışmalar daha çok miRNA genlerinin

transkripsiyonunun nasıl düzenlendiği veya miRNA'ların farklı genlerin translayonunu nasıl düzenledikleri üzerine yoğunlaşmıştır. Hücre bölünmesinin ilerlemesi, büyüme faktör sinyalizasyonu ve nöral aktivite, miRNA stabilitesini etkileyen önemli faktörler arasında yer almaktadır. miRNA'ların ekspresyonlarında çeşitli uyarılarla değişimlerin araştırıldığı çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bunlara örnek olarak Rüegger ve ekibinin (2010) yapmış olduğu çalışmada “non-tumorigenic human breast cells” (MCF10A) immortalize hücre hatları Epitelyal Büyüme (Growth) Faktörleri (EGF) ile uyarıldığı zaman miRNA ekspresyonunun azaldığı belirlenmiştir. EGF uygulamasını takiben 1 saat için miRNA sentezinin %50 azaldığı belirlenmiştir (241). Benzer bulgular insan HeLa hücre hattında da gösterilmiştir. EGF'ye karşı bu hızlı cevabın proliferasyon ve migrasyon gibi hücre aktivitelerine hazırlık olarak gerçekleştiği belirtilmiştir (241). Krol ve arkadaşları (2010) rat retinasında mir-183/967182 gen kümesi ve ilaveten mir-204, mir-211'in ışığa bağlı olarak düzenlendiğini göstermişlerdir. Bu miRNA'ların ışıktan karanlığa geçildiğinde 90 dakika içinde sentezlerinin %50 oranında düştüğünü belirlemişlerdir (118). miRNA'ların turnoverı özellikle beyin dokusunda çok hızlıdır. Postmortem insan beyninde miRNA turnoverı yaklaşık 3,5 saattir. Nöronal miRNA'ların hızlı turnoverı nöronal aktiviteye bağlıdır. Glutamat reseptörlerinin bloke edilmesiyle bu hızlı turnover engellenebilmektedir. Ancak mir-132 mikroRNA'sı beklenilenin tersi bir şekilde etki göstermektedir. Glutamat reseptörlerinin bloklanması parçalanmayı aktive ederken, glutamatın ilavesi mir-132'nin parçalanmasını yavaşlatmaktadır. Bir deniz sümüklüböceği türü olan *Aplysia californica*'ya serotonin verildiğinde nöronal miRNA'ların hızla parçalandığı belirlenmiştir. Serotonin verilmesini takiben yaklaşık 3,5 saatten daha kısa bir süre içinde mir-124 ve mir-184 düzeylerinde azalma olduğu belirlenmiştir (241). Çalışmamızda anandamide, norgestimate, anandamide+sertralin ve sertralin+norgestimate gruplarının serotonin düzeylerinde kontrole göre azalma olduğu belirlenmiştir. Serotonin düzeylerindeki bu azalmanın miRNA düzeylerindeki artışı ekspresyonu artırarak, parçalanmasını azaltarak ya da stabilitesini artırarak etkileyebileceği düşünülmektedir. Moleküler düzeyde mikroRNA'ların ekspresyonlarındaki değişimler 1) primer miRNA transkriptlerinin transkripsiyonel ve epigenetik olarak baskılanmasında azalma, 2) miRNA işlenmesindeki değişimler (dicer, drosha, DGCR8, fosfo-TRBP), 3) Argonat homolog proteinlerin düzeyindeki değişimler, 4) miRNA'ların hızlı turnoverı, mekanizmaları ile

açıklanabilir (219). Yukarıda belirtilen 4 mekanizmayı etkileyecek tüm fizyolojik ve patolojik süreçler miRNA düzeylerini etkileyebilmektedir. Bu mekanizmaları etkileyebilecek en önemli mekanizmalardan birisi depresyonun genel karakteristik özelliklerinden olan serotonin düzeyindeki değişimler olabilir. İyon kanal inhibitörlerinin aksiyon potansiyelinde değişimler meydana getirdiği patch clamp deneylerinde gösterilmiştir. Özellikle bu iyon kanal inhibitörleri prefrontal korteks bölgesinde aksiyon potansiyelinde değişimler meydana getirerek miRNA düzeylerini etkileyebilir.

TREK-1 kanal inhibitörü olan Anandamide'in farelerde oluşturulan depresyon üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma olmamasına rağmen diğer  $K^+$  kanallarının antidepresan etkinlikleri hakkında pek çok çalışma yapılmış ve farklı  $K^+$  kanal inhibitörlerinin antidepresan etkinliği gösterilmiştir. Aşağıda bu inhibitörlerin etkinliği ile ilgili olarak pek çok örnek verilmiştir.

Takahashi ve ekibinin (2006) yapmış olduğu çalışmada glibenclamide, charybdotoxin ve apamin gibi  $K^+$  kanal blokerleri incelenmiştir (242). Glibenclamide pankreatik  $\beta$  hücre tiplerinde, kalp kası, iskelet kası ve bazı beyin nöronlarında  $K^+$  kanallarını bloke etmektedir. Pankreatik  $\beta$  hücrelerinde ATP ile düzenlenen  $K^+$  kanalları sulfonilyureas, glibenclamide gibi insülin bağımsız diyabet tedavisinde kullanılan oral hypoglisemik ajanlar için hedeflidir. Uyarılma mekanizması ATP duyarlı  $K^+$  kanallarının inhibisyonu ile gerçekleşmektedir. Charybdotoxin, "*Leiurus quinquestriatus*" akrebinin zehrinde bulunan bir peptid olup GH3 ön hipofiz hücrelerinde ve primer sıgır aortik düz kas hücrelerinde bulunan  $Ca^{+2}$  tarafından aktive edilen  $K^+$  kanallarının selektif blokeridir. Apamin, "*Apis mellifera*" bal arısının zehrinde bulunan bir peptid olup  $Ca^{+2}$  bağımlı  $K^+$  iletimini selektif olarak bloke etmektedir. Voltage-clamp teknikleri apaminin diğer iyon kanallarını etkilemediğini göstermiştir. Çalışmada bu ve diğer  $K^+$  kanal blokerlerinin ZYT'de antidepresan benzeri etkisi olduğu gösterilmiştir. Ayrıca fluoxetine, desipramine, amitriptyline, nortriptyline, clomipramine, maprotiline, citalopram ve paroxetine gibi antidepresanlar terapötik bir etki olarak  $K^+$  akımını inhibe etmektedir (243). Ekibin yapmış olduğu çalışmada GIRK2,  $K^+$  kanalının antidepresanlardan fluoxetine ve desipramine ile inhibisyonunun nöral hücre ölümünü baskıladığı ve mutant farelerin motor yeteneklerinin geliştiği görülmüştür (242). Bu çalışma ile  $K^+$  kanal inhibisyonunun depresyonun patofizyoloji ve tedavisi ile ilişkili

olduğunun görülmesi görüşümüzü desteklemektedir. Çeşitli çalışmalarda antidepresan kombinlerinin ve  $K^+$  blokerlerinin ZYT'de antidepresan etki yarattığı gözlenmiştir.

Agmatine, adenosine ve tramadol gibi antidepresan özelliğe sahip bileşikler, çeşitli  $K^+$  kanal blokerleri ile kombinlediğinde FST'de antidepresan benzeri etki yaratmaktadır. Dahası TREK1 geninin delesyonu stres durumunda 5-HT nörotransmisyonunun artışına ve kortikostereon seviyelerinin düşmesine neden olarak depresyona direnç oluşturmaktadır. Bu kanallardaki değişimlerin duygu değişimlerine neden olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle bu  $K^+$  kanalları yeni antidepresan ilaç geliştirilmesi sürecinde potansiyel hedef olabileceği düşünülmektedir.

Fluoxetine ve norfluoxetine TREK1  $K^+$  kanallarını bloke etmektedir. Dolayısıyla bu blok etkisi, bu antidepresanlar ile yapılan tedavide de ortaya çıkabilmektedir (243). Farelere etkili dozlarda folik asit (antidepresan ajan) ve  $K^+$  kanal blokerlerinin kombine uygulaması FST'de antidepresan benzeri etki yaratmıştır. Farelerde  $Ca^{+2}$  tarafından aktive edilen voltaj bağımlı  $K^+$  kanalları ZYT'de hareketsizlik süresinin modülasyonunda önemli rol oynamaktadır.  $Ca^{+2}$  tarafından aktive edilen yüksek geçirgenlikli  $K^+$  kanalı NO hedeflerinden biri olarak bilinmektedir. Glibenclamide, apamin ve charybdotoxin gibi farklı  $K^+$  kanal blokerleri de ZYT'de antidepresan benzeri etki yaratmıştır. Bu etki farelerde sildenafil veya L-arginin uygulaması ile önlenmiştir. Bu nedenle bu sonuçlar NO ve cGMP'nin bazı  $K^+$  kanallarının önemli düzenleyicileri olduğunu göstermektedir (243).

$K^+$  kanallarının NMDA reseptörleri ve L-arginine-NO yollarının aktivasyonu ile düzenlenen ana hedeflerden birini temsil ettiği düşünüldüğünde,  $K^+$  kanallarının inhibe edilmesi NMDA reseptörlerinin ve folik asit aracılı NO üretiminin inhibisyonu ile sonuçlanabilir. Yapılan çalışmada bu vitaminin antidepresan benzeri etkisinin NMDA reseptörlerinin ve NO sentezinin inhibisyonu ile gerçekleşebileceği belirtilmiştir. Bu nedenle folik asit ile NMDA- L-arginine-NO yolağı aracılığı ile  $K^+$  kanallarının indirekt modülasyonu bu çalışmada bildirilmiş davranış sonuçlarının açıklaması olabilir. Ancak folik asitin bu kanalları direk inhibe etme olasılığı göz ardı edilemez. Hipotezi güçlendirmek için bir  $K^+$  kanal açıcı olan cromakalim uygulanan farelerde ZYT'de hareketsizlik süresinde azalmayı önlediği görülmüştür. Literatür verileri yüksek dozlarda cromakalim uygulamasının ZYT'de hareketsizlik süresini arttırdığını göstermektedir. Hayvanlara cromakalim uygulamasının imipramine,



amitriptyline, desipramine ve paroxetine gibi antidepresanların anti-hareketsizlik etkisini tersine çevirdiği görülmüştür. Etkili dozlarda fluoxetine ve K<sup>+</sup> kanal inhibitörlerinin kombini ZYT'de antidepresan etki yaratmaktadır ve bu etki K<sup>+</sup> kanal açıcıları ile engellenebilmektedir (242, 243).

Yapılan pek çok çalışmada K<sup>+</sup> kanal inhibitörlerinin antidepresan etkinliği belirlenmiştir. Çalışmamızda anandamide verdiğimiz gruplarda ZYT'de yüzme açısından bir farklılık olmamasına rağmen tırmanma davranışında artış ve hareketsizlik davranışında azalma olduğu belirlenmiştir. Bu veri anandamide'in diğer K<sup>+</sup> kanal inhibitörlerine benzer şekilde ZYT'de düzelmeye neden olduğunu ve antidepresan etkinliğe sahip olduğunu göstermektedir.

Kalsiyum ve kalsiyum kanalları nörotransmitter salınımından ve merkezi sinir sisteminin fonksiyonundan sorumludur. Nifedipin gibi kalsiyum kanal blokerleri çeşitli kardiovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Depresyon tedavisinde trisiklik antidepresanlar, SSRI'lar, serotonin ve epinefrin gerilim inhibitörleri ve çeşitli antidepresanlar kullanılmaktadır. Ancak bu tedavilerinin büyük kısmında terapide komplikasyonlar olabilmekte veya bazı hastalarda ilaç cevabı alınamayabilmektedir. Son zamanlarda kalsiyum kanal inhibitörlerinin ve kalsiyumun duygudurum hastalıklarında önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir. Gerilime bağlı kalsiyum kanalı antagonistlerinin kemirgenlerde stres önleyici ve benzeri etkileri ürettiği bilinmektedir. Herhangi bir noktada, hücre içi sinyal yolağındaki Ca<sup>+2</sup>-kalmodulin-NOS-guanilil siklazın kesintisi antidepresan benzeri etkiler üretebilmektedir (244).

Aburawi ve arkadaşlarının (2007) yaptığı çalışmada bir kalsiyum kanal blokeri olan nifedipinin zorunlu yüzme testinde hareketsizlik başlangıcını geciktirdiği ve bu antidepresan etkisini 5-HT1A aktivasyonu aracılığı ile gerçekleştirdiği belirlenmiştir. Nifedipin GABA'nın aktivasyonu ile Na<sup>+</sup>'nın salımına yol açarak nifedipinin antidepresan etki göstermesine sebep olmaktadır. Nifedipin'in, GABA reseptörlerinin ve Na<sup>+</sup>'nın hücre içi kalsiyum salınımını arttırarak antidepresan etkiyi oluşturduğu belirlenmiştir (245). Aynı çalışmada yüzme testindeki hareketsizlik başlangıcının gecikmesine neden olan diğer bir kalsiyum kanal blokeri verapamilin de antidepresan benzeri etkisi olduğu gösterilmiştir. Farklı türdeki kalsiyum girişleri üzerindeki çalışmalar verapamilin, Na<sup>+</sup> salınımının artmasına neden olan prejunctional  $\alpha_2$  reseptörlerini engellediğini göstermiştir. Verapamil doğrudan katekolamin salınımını

etkileyebilmektedir. Bir şekilde katekolamin depolama kesecikleri ile etkileşim halinde olduğundan katekolamin alımını azaltabilmektedir. Böylece sempatik sinirlerden  $\text{Na}^+$  salınımını arttırmaktadır. Verapamilin kalsiyum içeri akışında,  $\text{Na}^+$  kaynaklı artışı üzerinde bir etkisi yoktur; bu da verapamil duyarlı ve verapamil duyarsız kalsiyum kanalları olduğunu göstermektedir. Allgaier ve arkadaşlarına (1995) göre bu etki nikotinik reseptör antagonistleri tarafından bloklandığından dolayı nikotinik kolinoseptörlerin alt sınıfı üzerindeki etkisi ile sempatik nöronlardan salınan  $\text{Na}^+$ , ATP'yi indüklemektedir (245,246).

Endojen 5-HT artışı dışardaki kalsiyumun varlığından bağımsızdır. Serotonin antidepresan etkileri üretmek için 5-HT<sub>1A</sub> reseptörlerini aktive etmektedir. Ayrıca kalsiyum geçişini indükleyen 5-HT<sub>3</sub> presinaptik reseptörleri de aktive etmektedir. Bunu da hücre içi depolardaki  $\text{Ca}^{+2}$  salınımını tetikleyerek; sitoplazma ve nükleusta kalsiyumun artmasına yol açarak gerçekleştirmektedir. Aktive edilen 5-HT<sub>3</sub> postsinaptik reseptörleri depolarizasyonu indüklemektedir. Sonuç olarak iki mekanizmada antidepresan etkiyle sonuçlanmaktadır. Serotonin 5-HT<sub>3</sub> reseptörleri ile GABA nörotransmisyonu regüle etmektedir. Bu ayrıca 5-HT<sub>1C</sub> reseptörlerini de etkileyerek klorid kanal aktivitesini de arttırmaktadır. Artan  $\text{Ca}^{+2}$ 'un klorid kanallarını aktive ettiği gösterilmiştir. Bu aktivite kloridin hücre membranından sızmasıyla depolarizasyona sebep olması ile voltaj kapılı kalsiyum kanallarının açılmasına yol açmaktadır. Klorid hücre içi depolardan salınan  $\text{Ca}^{+2}$  tarafından ve voltaj bağımlı kalsiyum kanallarından giren  $\text{Ca}^{+2}$  ile de aktive edilebilmektedir (245).

Verapamil yüksek  $\text{K}^+$  depolarizasyonunu indükleyerek GABA'nın salınmış  $\text{Ca}^{+2}$  bağımlı fraksiyonlarını modifiye edememektedir. Hipokampustaki  $\text{Zn}^{+}$ 'nin presinaptik etkisi sinaptik boşluktaki GABA'nın salınımını arttırmaktadır.  $\text{Zn}^{+}$  etkisi Verapamilden etkilenmemektedir. Çinko, hipokampus bölgesindeki AMPA/kainat reseptörlerinin güçlendirici etkisi tarafından GABA salınımını artırıp ve bunu takiben presinaptik glutamat salınımını azaltmaktadır. Çinko glutamatın nöromodulator inhibitörü olarak düşünülmektedir. NMDA reseptör kapıları voltaj bağımlı ve bağımsız olmak üzere çinko için iki inhibitör bölge içermektedir.  $\text{Ca}^{+2}$  kanalları indüklenmiş-depolarize GABA salınımının regülasyonunda iki rol oynamaktadır. İlk olarak indüklenmiş depolarize  $\text{Ca}^{+2}$  girişine izin vermektedir. İkinci olarak dışardaki  $\text{Ca}^{+2}$  içermeyen bir

mekanizma ile GABA salınımını etkilemektedir. Kolin alınımının blokajı verapamil'in antidepresan etkisinde önemli rol oynamaktadır (245).

Alprazolam benzodiazepine reseptörlerinden bağımsız olarak antidepresan etki yaratabilmektedir. Benzodiazepine ve  $Ca^{+2}$  kanal inhibitörleri adenozin transportunda önemli etkiye sahiptir. Benzodiazepine bağlanma bölgeleri, beyin membranlarındaki voltaj duyarlı  $Ca^{+2}$  kanallarını regüle etmektedir. Diazepam, yüzme labirentindeki hareketsizlik zamanını etkilememektedir, ancak imipramin'in antidepresan etkisiyle antagonisttir. Bu da alprazolam ve imipramine'in ikisinde voltaj duyarlı  $Ca^{+2}$  kanalları ile antidepresan etki yarattığı anlamına gelmektedir. İmipramin; biyojenik aminlerin, serotoninin ve  $Na^{+}$ 'nın presinaptik alınımını antidepresan etki üretmek için inhibe edebilmektedir. İmipramin, GABAerjik mekanizması ile bu antidepresan etkiyi yaratabilmektedir. İmipramin, hücre içi depolardan kalsiyum salınımını arttırabilmektedir. Bu etkiyi  $Na^{+}$  konsantrasyonunu arttırarak ve GABA reseptör aktivasyonu ile gerçekleştirmektedir. Fare üzerinde yapılan bu çalışmalarda ZYT'de verapamil'in antidepresan benzeri etkisi olduğu görülmüştür. Verapamil ile kombini yapılan alprozolam ve imipramine uygulamaları ekstra antidepresan etki göstermiştir. Verapamilin gösterdiği etkinin sebebi anlaşılammıştır (245). Hem imipramin hem de nifedipin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında; hareketsizliğin başlangıcını sırasıyla %75 ve %81 oranlarında geciktirdiği görülmüştür. İmipraminin ve nifedipinin birlikte kullanılması, kontrol grubuna göre hareketsizliğin başlangıcını %73 oranında geciktirmiştir. Bu gözlem nifedipinin kendi antidepresan mekanizması olduğunu, hem de L tipi kalsiyum kanal aktivasyonu üzerinden imipramin mekanizmasını blokladığını göstermiştir. Bu çalışma nifedipinin antidepresan özelliğe sahip olduğunu göstermiştir. Nifedipin ve alprozolamın kombine kullanımı, antidepresan etkiyi arttırmıştır. Bu bulgu nifedipin ve alprazolam'ın farklı mekanizmalar içerdiğini göstermektedir (245).

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz kalsiyum kanallarından TRPC3 ve TRPC6 inhibitörü olan norgestimate'ın yüzme ve hareketsizlik davranışını etkilemediği ancak tırmanma davranışını arttırarak antidepresan etkinlik gösterdiği belirlenmiştir. Daha önce bu spesfik kanal blokerinin ZYT üzerine etkilerinin araştırıldığı çalışma mevcut değildir. Ancak diğer kalsiyum kanal blokerlerine benzer şekilde etki göstererek antidepresan etkinliğe sahip olduğu muhtemeldir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Günümüzde depresyonda serotonin seviyelerinin azaldığı bilinmektedir. Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sham, anandamide, sertralin+anandamide ve norgestimate gruplarının serotonin seviyelerinde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Sonuçlarımız depresyonda serotonin seviyesinde azalma olduğu bilgisi ile uyushmaktadır. Ayrıca tedavi amaçlı kullanmış olduğumuz güncel bir serotonin geri alım inhibitörü olan sertralinin uygulandığı grubumuzun serotonin değerinde anlamlı bir artış saptanması serotonin- depresyon ilişkisini desteklemektedir.

Çalışmamızda major depresif bozuklukta miR-9-5p, miR-128-1-5p, miR-382-5p'de anlamlı bir artış görülürken miR-16-5p, miR-129-5p, miR-219a-5p'de ise anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir. Elde ettiğimiz bu sonuçlar miRNA'ların MDB patogenezinde dahil olabileceği düşüncesini doğrular niteliktedir. Hastalık etyopatogenezinde yer alan miRNA'ların tespit edilerek ekspresyon profillerinin belirlenmesi depresyonun altında yatan genetik faktörlerin bulunması ve yeni ilaç hedefleri geliştirilebilmesi için önem teşkil etmektedir. Ekspresyon değerlerine bakmış olduğumuz mikroRNA'lardan miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-497-5p'de istatistiki olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir. Bu miRNA'ların beyin depresyonla ilişkili diğer bölgelerindeki ekspresyonlarına da bakılması önerilmektedir.

Depresyonda sertralin miR-129-5p'de anlamlı bir azalmaya, miR-219'da anlamlı bir artışa neden olurken miR-9-5p, miR-16-5p, miR-30, miR-34, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-382-5p ve miR-497-5p mikroRNA'larında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim sağlamamıştır. Sertralinin depresyonda miRNA'lar üzerine etkisini araştıran daha kapsamlı bir çalışma yapılması antidepresanlar ve miRNA'lar arasındaki ilişkinin anlaşılması bakımından önemlidir.

İyon kanallarındaki düzensizliklerin depresif bozuklukların etyopatogenezinde kayda değer bir rolü olduğu çeşitli araştırmalarla bildirilmiş olmasına karşılık çalışmamızda depresyonda TRPC3 ve TRPC6 iyon kanal ekspresyonlarında anlamlı bir değişim saptamadık. Beynin başka bölgelerinde ve diğer iyon kanalları üzerinde çalışmaların devam ettirilmesi önerilmektedir.

Ekstraselüler sinyallerin miRNA ekspresyonunu nasıl etkilediğine dair çalışmalar oldukça azdır. İyon kanalları ve mikroRNA'lar arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalar genellikle mikroRNA'ların iyon kanal genlerinin ekspresyonunu düzenleme mekanizmalarının ortaya konması amacıyla yönelik olarak kurgulanmıştır. Tersine bir düşünceyle yola çıktığımız çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular iyon kanallarının miRNA'lar üzerinde etkisini oldukça açıkça göstermektedir.

Çalışmamızda majör depresif bozuklukta iyon kanal inhibitörleri anandamide ve Norgestimate uygulanan gruplardan elde edilen en önemli veri genel olarak miRNA düzeylerinin diğer gruplara göre belirgin bir artış göstermesidir. Çalışmamızda iyon kanal inhibitörü anandamide kullanılan grupta miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p ve miR-382-5p mikroRNA'ların ekspresyonunda artış olduğu miR-9-5p ekspresyonunda ise anlamlı bir değişim olmadığı saptanmıştır. Yine norgestimate kullanıldığında ise miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p mikroRNA'ların ekspresyonunda artış görülürken miR-9-5p ve miR-382-5p ekspresyonunda anlamlı bir değişim olmadığı belirlenmiştir. Bu bilgiler doğrultusunda iyon kanallarının miRNA'lar ve sinyal yolları üzerine etkisinin araştırılması iyon kanal ilişkili hastalıkların tedavi ve teşhisinde yeni hedeflerin bulunmasını sağlayabilmesi bakımından oldukça önem teşkil etmektedir. Çalışmamız bu bakımdan önemli bir kaynak görevi görmektedir.

Sertralin+anandamide grubunda miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-129-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p, miR-497-5p'de istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-9-5p ve miR-382-5p'de ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir. Sertralin+norgestimate grubunda miR-9-5p, miR-16-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-129-5p, miR-139-5p, miR-219a-5p, miR-497-5p'de istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-30c-5p, miR-132-3p ve miR-382-5p'de ise anlamlı bir değişim belirlenmemiştir.

Özellikle norgestimata hareketsizlik davranışında ciddi azalma sağlamış olup potansiyel bir tedaviye yardımcı ilaç konumundadır. Çalışmamız depresyonda miRNA etkinliklerinin ve iyon kanal inhibitörlerinin miRNA'lar üzerine etkilerinin anlaşılması ve yeni tedavi yöntemlerinin bulunmasına yönelik çalışmalara ışık tutması bakımından oldukça önem taşımaktadır. Bu alanda yapılacak yeni çalışmaların özellikle farklı iyon

kanal inhibitörlerinin benzer etkinliklerinin ortaya konmasına yönelik olarak planlanması, bu alandaki bilgi eksikliklerini tamamlayacak ve çalışmamızın bulgularını doğrulayacaktır.

Sonuç olarak miRNA düzeylerinin ölçülmesi özellikle MDB’de miRNA’ların nasıl düzenlendiğinin ortaya konması açısından oldukça önemlidir. İyon kanallarının miRNA ekspresyonu üzerindeki etkilerin araştırılması iyon kanalları ile ilişkili hastalıklar için yeni terapötik hedeflerin bulunması bakımından önem taşımaktadır.

## 7. KAYNAKLAR

1. **Kupfer DJ, Frank E, Phillips ML.** Major depressive disorder: New clinical, neurobiological, and treatment perspectives. *The Lancet*, **2012**; 379: 1045-1055.
2. **Karamustafaloğlu O, Göksan YB.** Major depresif bozukluk tedavisinde yetersiz yanıtın yönetimi ve yeni tedavi seçenekleri. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, **2011**; 21: 20-25.
3. **Pınar ŞE, Havva TEL.** Depresyon tanılı birey ve hemşirelik yaklaşımı. *Journal of Psychiatric Nursing*, **2012**; 3: 86-91.
4. **Mouillet-Richard S, Baudry A, Launay JM, Kellermann O.** MicroRNAs and depression. *Neurobiology of Disease*, **2012**; 46: 272-278.
5. **Jensen T, Edwards JG.** Calcineurin is required for TRPV1-induced long-term depression of hippocampal interneurons. *Neuroscience Letters*, **2012**; 510: 82-87.
6. **Tamam L, Zeren T.** Depresyonda serotonerjik düzenekler. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2002**; 5: 11-18.
7. **Dwivedi Y.** Evidence demonstrating role of microRNAs in the etiopathology of major depression. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, **2011**; 42(2): 142-156.
8. **Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV.** MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Dergisi*, **2011**; 38: 113-120.
9. **Konaç E, Önen Hİ, Sözen S.** Üroonkolojide MikroRNA (miRNA)'ların yeri ve önemi. *Üroonkoloji Bülteni*, **2010**; 1: 3-13.
10. Türkiye Bilimler Akademisi Ders Kitapları 7. mikroRNA ve Sinir Sistemi. Ankara, **2011**.
11. **Sevinçok L.** Depresyonda hücre içi Bozukluklar. *Klinik Psikiyatri*, **2002**; 4: 57-67
12. **Akay A, Sümer-Turanlıgil NC, Uyanıkgil Y.** İyon kanalları ve epilepsi patojenezindeki rolleri. *Arşiv*, **2010**; 19: 72-84.
13. **Askland K, Read C, Moore J.** Pathways-based analyses of whole-genome association study data in bipolar disorder reveal genes mediating ion channel activity and synaptic neurotransmission. *Human Genetics*, **2009**; 125(1), 63-79.
14. **Luo X, Zhang H, Xiao J, Wang Z.** Regulation of human cardiac ion channel genes by microRNAs: theoretical perspective and pathophysiological implications. *Cellular Physiology and Biochemistry*, **2010**; 25(6): 571-586.

15. **Wang Z.** miRNA in the regulation of ion channel/transporter expression. *Comprehensive Physiology*, **2013**, 2: 599-653.
16. **Palazidou E.** The neurobiology of depression. *British Medical Bulletin*, **2012**; 101(1): 127-145.
17. World Health Organization. Depression: a global public health concern, **2012**:6-8
18. **Maurer DM.** Screening for depression. *Depression*, **2012**; 85(2):139-144.
19. **Kloiber S, Czamara D, Karbalai N, Müller-Myhsok B, Hennings J, Holsboer F, Lucae S.** ANK3 and CACNA1C–Missing genetic link for bipolar disorder and major depressive disorder in two German case-control samples. *Journal of Psychiatric Research*, **2012**; 46: 973-979.
20. **Erol N, Kılıç C, Ulusoy M, Keçeci M, Şimşek Z.** Türkiye ruh sağlığı profili raporu. *Birinci baskı*, Ankara, 1998.
21. Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkezi Müdürlüğü, Başkent Üniversitesi. Ulusal Hastalık Yüğü ve Maliyet-Etkililik Projesi. Hıfzıssıhha Mektebi Müdürlüğü, Ankara, **2004**: 267-305
22. **Akkaya C, Eker S.S, Sarandöl A, Cangür Ş, Kırılı S.** Majör depresif bozuklukta düzelmenin öngörücüleri. *Nöropsikiyatri Arşivi*, **2013**; 50(2): 122-129.
23. **Pazvantoğlu O, Okay T, Dilbaz N, Şengül C, Bayam G.** Major depresyon tanısı alan hastalarda somatik belirtilerin yoğunluğunun intihar düşüncesi, davranışı ve niyetine etkisi. *Klinik Psikiyatri*, **2004**; 7: 153-160.
24. **Şahin C, Arıcıoğlu F.** Depresyon ve sitokin hipotezinde yeni bir boyut: NLRP3 inflamazomu. *Journal of Marmara University Institute of Health Sciences*, **2013**; 3(2): 65-68.
25. Erişim: <https://ahupakdemirli.wordpress.com/tag/dsm-iv-depresyon-kriterleri>. ErişimTarihi: **02.06.2015**
26. **Black DW, Grant JE.** DSM-5 Guidebook: The Essential Companion to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. Fifth edition. American Psychiatric Journal. **2014**.
27. **Özakkaş T.** Psikiyatrinin kısa tarihi. Azerbaycan tıp eğitiminde psikiyatri. *International Journal of Human Sciences*, **2006**; 1(1):1-4.
28. **Köknel Ö.** Duygudurum bozukluklarının tarihçesi. *Duygudurum Dizisi*, **2000**; 1: 5-11.
29. **Özgan AY,** Depresyon. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Öğrenci Bilimsel Dergisi*, **2012**; 5(6): 1-5.



30. **Yetgin S, Özgen F.** Tarihsel bakış içinde depresyon. *Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Dergisi*, **2007**; 3(47):1-5.
31. **Aylaz R, Güllü S, Güneş G.** Aerobik yürüme egzersizin depresif belirtilere etkisi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Elektronik Dergisi*, **2011**; 4 (4): 172-177
32. **Yemez B, Alptekin K.** Depresyon etiyojisi. *Psikiyatri Dünyası*, **1998**; 1: 21-25.
33. **Balcıoğlu İ. İ.Ü.** Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Depresyon, Somatizasyon ve Psikiyatrik Aciller Sempozyumu kitapçığı, **1999**: 19-28.
34. Depresyon somatizasyon ve psikiyatrik aciller. Sempozyum Dizisi Yayın No:17. **1999**.
35. **Tuğrul CD.** Stres ve depresyon. *Psikiyatri Dünyası*, **2000**; 4: 12-17.
36. **Ateş İ, Abay E.** Ruhsal hastalıklar ve genetik. *Psikiyatri Dünyası*, **2001**; 5: 24-29.
37. **Hasler G.** Depresyonun Fizyopatolojisi: Klinisyenlerin ilgisine sunabileceğimiz somut kanıtımız var mı? *Dünya Psikiyatri Birliği*, **2010**; 9: 155-161.
38. **Herken H.** Depresyonun etiyojisinde genetik kanıtlar. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2002**; 5: 5-10.
39. **Yüksel N.** Agomelatinin klinik kullanımı: Major depresyon. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2012**; 15: 20-28.
40. Depresyon/Modern tıp seminerleri 18. Güneş Kitabevi Yayınları. **2001**.
41. **Tamam L, Zeren T.** Depresyonda serotonerjik düzenekler. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2002**; 5: 11-18
42. **Işık E.** Depresyon ve bipolar bozukluklar. *Duygudurum Bozuklukları*. **2003**.
43. **Uzbay, T.** Anksiyete ve depresyonun nörobiyolojisi. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2004**; 4: 3-11.
44. **Sayın A.** Dopamin reseptörleri ve sinyal iletim özellikleri. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2008**; 11(3): 125-134.
45. **Uğuz Ş, Yurdağül E.** Noradrenerjik sistem ve depresyon. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2002**; 5: 19-23.

46. Eşel E, Sofuoğlu S. Depresyonun nöroendokrinolojisi. *Duygudurum Bozuklukları Dergisi*, 2001; (3): 132-144.
47. Türkçapar MH. HPA (hipotalamik-pituiter [hipofiz]-adrenal) eksen. *Duygudurum Dizisi*, 2001; 6: 257-263.
48. Askın R. Depresyon el kitabı. 2. Baskı. Konya: Roche. 1999.
49. Kotan Z, Sarandöl A, Eker S.S, Akkaya C. Depresyon, nöroplastisite ve nörotrofik faktörler. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 2009; 1(1): 22.
50. Gönül AS, Akdeniz F. Depresyon, nöroplastisite, nörogenesis ve nörotrofik faktörler. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 2002; 4: 51-56.
51. Gürpınar D, Erol A, Mete L. Depresyon ve nöroplastisite. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 2007; 17(2): 100-110.
52. Tuğlu C, Kara SH. Depresyon, sitokinler ve bağışıklık sistemi. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 2003; 13: 142-150.
53. Selvi Y, İnci R, Kıran ÜK, Ağargün MY, Özer ÖA, Eryonucu B. Postpartum depresyon ve serum kolesterolü. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, 2004; 7: 48-50.
54. Altınbaş K, Özer A, Çakmak C, Kurt E, Oral ET. İki uçlu duygudurum bozukluğu ve lipit döngüsellik ilişkisi. *Düşünen Adam Psikiyatri ve Nörolojik Bilimler Dergisi*, 2010; 23: 158-165.
55. Ünal S, Özcan E. Depresyonda hazırlayıcı, ortaya çıkarıcı ve koruyucu etkenler. *Anadolu Psikiyatri Dergisi*, 2000; 1(1), 41-48
56. Bilgi MM, Özalay Ö, Eker MÇ, Kitiş Ö, Ozan E, Eker Ö, Gönül AS. İlk atak depresyon hastalarında azalmış frontal korteks hacimleri. *Türk Psikiyatri Dergisi*, 2010;21(3):185-194.
57. Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Kiely B, Cryan JF, Dinan TG. Effects of the probiotic “Bifidobacterium infantis” in the maternal separation model of depression. *Neuroscience* 2010; 170: 1179-1188.
58. Schulte-Herbrüggen O, Vogt MA, Hörtnagl H, Gass P, Hellweg R. Pramipexole is active in depression tests and modulates monoaminergic transmission, but not brain levels of BDNF in mice. *European Journal of Pharmacology* 2012; 677: 77-86.
59. Yıldırım D. Psikiyatrik hastalıklarda radyolojik görüntüleme: Yeni gelişmeler. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, 2010; 2(3): 333-361.

60. Erişim: <http://www.dicle.edu.tr/Contents/42545546-8a2f-4622-81e5-2040f77e015a.pdf>. Erişim tarihi: **02.06.2015**
61. **Eker M.Ç, Eker Ö.D.** Depresyon patofizyolojisinde hipokampusun rolü. *Current Approaches in Psychiatry/Psikiyatride Guncel Yaklasimlar*, **2009**; 1(1): 11-21
62. **Özpoğraz N.** Depresyonda nöroanatomik bağlantılar. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2002**; 5: 68-72.
63. Erişim: <http://nbeyin.com.tr/blog/muzik-ve-zihin-uzerine-carpici-gercekler-bolum-1/>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**
64. **Öztürk E, Aydın H.** Depresyonla ilgili nöroanatomik çalışmalar. *Duygudurum Dizisi*, **2001**; 3: 126-131.
65. Erişim: [http://www.didmancreatagod.com/Chapter\\_excerpts/Ch%2026%20Frontallobes.html](http://www.didmancreatagod.com/Chapter_excerpts/Ch%2026%20Frontallobes.html)  
Erişim Tarihi: **02.06.2015**
66. **Oral T.** Karasevda'dan depresyon'a hüznün tarihi. *Başka Psikiyatri ve Düşünce Dergisi*, **2009**;1: 1-10
67. **Köknel, Ö.** Modern psikofarmakolojinin ellinci yılında türkiye'de ve dünyada psikofarmakoloji ve psikofarmakolojik araştırmalarının tarihçesi. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, **2002**; 12: 201-210.
68. **Ferguson, JM.** SSRI antidepressant medications: adverse effects and tolerability. *Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry*, **2001**; 3(1): 22-27.
69. **Güneş ML, Yazıcı E, Yazıcı AB, Ferah I, Çadırcı E.** Antidepressan ilaçların gastrik ülser üzerine etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, **2013**; 40(4): 691-699.
70. **Ceylan ME, Yazan B.** Depresyonun Biyolojik Tedavileri. *Psikiyatri Dünyası*, 1998; 2: 60-67
71. **Örsel, S.** Depresyonda tedavi: genel ilkeler ve kullanılan antidepressan ilaçlar. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2004**; 4: 17-24
72. Erişim: <http://psikoloji.gen.tr/forum/televi-bi%C3%A7imleri/ila%C3%A7-televisi/4326-antidepressan-ila%C3%A7lar>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**
73. **Kirli S.** Eski ve yeni antidepressanlar: Biz neredeyiz? *Journal Of Biological Psychiatry*, **2002**; 3(3): 112-113.
74. Erişim: [http://www.bursapsikiyatri.com/makale.php?id=167&k\\_id=307#.U\\_CNV\\_1\\_tUU](http://www.bursapsikiyatri.com/makale.php?id=167&k_id=307#.U_CNV_1_tUU). Erişim tarihi: **02.06.2015**

75. Erişim: <http://tip.baskent.edu.tr/egitim/mezuniyetoncesi/calismagrp/ogrsmpzsnm16/16.P11.pdf>.  
Erişim tarihi: **02.06.2015**
76. **Erkeç ÖE, Arihan O.** Animal models in medical studies Tıbbi çalışmalarda hayvan modelleri. *International Journal of Human Sciences*, **2014**; 11(2): 50-63.
77. **Başar K, Ertuğrul A.** Depresyon araştırmalarında kullanılan hayvan modelleri. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2005**; 8: 123-134.
78. **Willner, P.** Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS. *Neuropsychobiology*, **2004**; 52(2): 90-110.
79. **Wu HH, Wang, S.** Strain differences in the chronic mild stress animal model of depression. *Behavioural Brain Research*, **2010**; 213(1): 94-102.
80. **Willner P.** Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology*, 1997; 134(4): 319-329.
81. **Katz RJ.** Animal models and human depressive disorders. *Neuroscience Biobehavioral Reviews*, 1981; 5: 231-246.
82. **Wiborg O.** Chronic mild stress for modeling anhedonia. *Cell and Tissue Research*, **2013**; 354(1): 155-169.
83. **Isingrini, E, Camus V, Le Guisquet, AM, Pingaud M, Devers S, Belzung C.** Association between repeated unpredictable chronic mild stress (UCMS) procedures with a high fat diet: a model of fluoxetine resistance in mice. *Plos One*, **2010**; 5(4):1-8
84. **Cuadrado-Tejedor M, Ricobaraza A, Del Río J, Frechilla D, Franco R, Pérez-Mediavilla A, Garcia-Osta A.** Chronic mild stress in mice promotes cognitive impairment and CDK5-dependent tau hyperphosphorylation. *Behavioural Brain Research*, **2011**; 220(2): 338-343.
85. **Melo I, Drews E, Zimmer A, Bilkei-Gorzo A.** Enkephalin knockout male mice are resistant to chronic mild stress. *Genes, Brain and Behavior*, **2014**; 13(6): 550-558.
86. **Hong M, Zheng J, Ding ZY, Chen JH, Yu L, Niu Y, Wang, LL.** Imbalance between Th17 and Treg cells may play an important role in the development of chronic unpredictable mild stress-induced depression in mice. *Neuroimmunomodulation*, **2012**; 20(1): 39-50.
87. **Azpiroz A, Fano E, Garmendia L, Arregi A, Cacho R, Beitia G, Brain PF.** Effects of chronic mild stress (CMS) and imipramine administration, on spleen mononuclear cell proliferative response, serum corticosterone level and brain norepinephrine content in male mice. *Psychoneuroendocrinology*, **1999**; 24(3): 345-361.

88. **Liu Y, Yang N, Hao W, Zhao Q, Ying T, Liu S, Zuo P.** Dynamic proteomic analysis of protein expression profiles in whole brain of Balb/c mice subjected to unpredictable chronic mild stress: implications for depressive disorders and future therapies. *Neurochemistry International*, **2011**; 58(8): 904-913.
89. **Kamal SM.** Venlafaxine induces neurogenesis in frontal cortex and nucleus accumbens of albino mice exposed to chronic mild stress-induced anhedonia. *The Pharma Research*, **2013**; 9(2): 1-11.
90. **Mao QQ, Huang Z, Zhong XM, Xian YF, Ip SP.** Brain-derived neurotrophic factor signalling mediates the antidepressant-like effect of piperine in chronically stressed mice. *Behavioural Brain Research*, **2014**; 261:140-145.
91. **Abdelhamid RE, Kovács KJ, Nunez MG, Larson AA.** Depressive behavior in the forced swim test can be induced by TRPV1 receptor activity and is dependent on NMDA receptors. *Pharmacological Research*, **2014**; 79: 21-27.
92. **Costa APR, Vieira C, Bohner LO, Silva CF, da Silva Santos, EC, De Lima, TCM, Lino-de-Oliveira C.** A proposal for refining the forced swim test in Swiss mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **2013**; 45: 150-155.
93. **Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M.** Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, **1977**; 266:730-732.
94. **Uzunok B, Kahveci N, Güleç G.** Sıçanlarda zorunlu yüzme testi ile oluşturulan depresyon modelinde nitrik oksitin rolü. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **2010**; 36(1): 23-27.
95. **Harkin AJ, Bruce KH, Craft B, Paul IA.** Nitric oxide synthase inhibitors have antidepressant-like properties in mice: 1. Acute treatments are active in the forced swim test. *European Journal of Pharmacology*, **1999**; 372(3): 207-213.
96. Erişim: <http://sperlaghlab.hu/methods>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
97. **Chahardehi AM, Ibrahim D, Abolhassani F, Sulaiman SF.** antidepressant-like effects of elatostema umbellatum and urtica dioica in mice using forced swim test and tail suspension test. *Annual Research & Review in Biology*, **2014**; 4(14): 2396-2405.
98. Erişim: <http://www.slideshare.net/ParthaSarkar7/screening-of-antidepressant-agents-31759652>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
99. **Kelly JP, Wrynn AS, Leonard BE.** The olfactory bulbectomized rat as a model of depression: an update. *Pharmacology & Therapeutics*, **1997**; 74(3): 299-316.
100. Erişim: <http://www.jcam.com.tr/files/KATD-494.pdf>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.

- 101. Bağış H.** Transgenik biyoreaktörlerde rekombinant proteinlerin üretimi. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, **2002**; 28(1): 113-123.
- 102. Perona MT, Waters S, Hall FS, Sora I, Lesch KP, Murphy DL, Uhl GR.** Animal models of depression in dopamine, serotonin and norepinephrine transporter knockout mice: prominent effects of dopamine transporter deletions. *Behavioural Pharmacology*, **2008**; 19(5-6): 566-574.
- 103.** Erişim: [http://www.ensembl.org/Homo\\_sapiens/Info/Annotation](http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Annotation). Erişim Tarihi: 02.06.2015.
- 104. Tom Strachan and Andrew Read.** Human Molecular Genetics. Fourth Edition. **2010**.
- 105. Taft RJ, Pang KC, Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS.** Non-coding RNAs: regulators of disease. *Journal of Pathology* **2010**; 220: 126–139.
- 106.** Türkiye Bilimler Akademisi Ders Kitapları 7. mikroRNA ve Sinir Sistemi. Ankara. **2011**.
- 107. Costa FF.** Non-coding RNAs: new players in eukaryotic biology. *Gene*, **2005**; 357: 83-94.
- 108. Taft RJ, Pheasant M, Mattick JS.** The relationship between nonprotein- coding DNA and eukaryotic complexity. *Bioessays* **2007**; 29: 288–299.
- 109. Akkaya ZY, Dinçer P.** Tedavi yaklaşımlarında yeni bir dönem: Kodlamayan RNA'lar ve hastalıklar. *Marmara Medical Journal*, **2013**; 26: 5-10.
- 110. Tétreault N, Guire VD.** miRNAs: Their discovery, biogenesis and mechanism of action. *Clinical Biochemistry*, **2013**; 46: 842–845.
- 111. Yong Huang, Xing Jia Shen, Quan Zou, Sheng Peng Wang, Shun Ming Tang, Guo Zheng Zhang** Biological functions of microRNAs: a review *Journal of Physiology and Biochemistry*, **2011**; 67: 129-139.
- 112. Almeida MI, Reis RM, Calin GA.** MicroRNA history: Discovery, recent applications, and next frontiers. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, **2011**; 717(1): 1-8.
- 113. Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Ruvkun G.** The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*, **2000**; 403: 901-906.
- 114. Abrahante JE, Daul AL, Li M, Volk ML, Tennessen JM, Miller EA, Rougvie AE.** The *Caenorhabditis elegans* hunchback-like gene *lin-57/hbl-1* controls developmental time and is regulated by microRNAs. *Developmental Cell*, **2003**; 4: 625-637.

115. **Luense LJ, Carletti MZ, Christenson LK.** Role of Dicer in female fertility. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, **2009**; 20: 265-272.
116. **Ambros V, Bartel B, Bartel DP, Burge CB, Carrington JC, Chen X, Tuschl T.** A uniform system for microRNA annotation. *RNA*, **2003**; 9(3): 277-279
117. **Ahmed F, Ansari HR, Raghava GP.** Prediction of guide strand of microRNAs from its sequence and secondary structure. *BMC Bioinformatics*, **2009**; 10: 105-117.
118. **Krol J Loedige I, Filipowicz W.** The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nature Reviews Genetics*, **2010**; 11: 597-610.
119. **Kusenda B, Mraz M, Mayer J, Pospisilova S.** MicroRNA biogenesis, functionality and cancer relevance. *Biomedical Papers*, **2006**; 150: 205-215.
120. **Kadener S, Rodriguez J, Abruzzi KC, Khodor YL, Sugino K, Marr MT, ... & Rosbash M.** Genome-wide identification of targets of the drosha-pasha/DGCR8 complex. *RNA*, **2009**; 15: 537-545.
121. **Bonev B, Papalopulu N.** Methods to Analyze microRNA expression and function during xenopus development. *Humana Press*, **2012**: 445-459.
122. Erişim: <https://www.bioscience.org/2012/v17/af/4068/figures.htm>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
123. **Harvey L, Berk A, Kaiser CA et al.** Moleküler Hücree Biyolojisi. Palme Yayıncılık. 6. Baskıdan çeviri. **2011**
124. **Tunalı NE, Tiryakioğlu NO.** Kanserde MikroRNA'ların Rolü. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, **2010**; 30: 1690-1700.
125. **Bağcı Ö.** mikroRNA'lar (miRNA) ve kanser. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, **2014**; 40 (2): 105-109
126. **Zamani AG, Zamani A.** MikroRNA'lar ve akciğer kanseri. *Tuberk Toraks*, **2013**; 61: 57-62.
127. **Pirkevi C, Başak AN.** Ribonükleik asit interferansı ve huntington hastalığının moleküler tedavisi. *Parkinson Hastalığı ve Hareket Bozuklukları Dergisi*, **2010**; 13: 18-27
128. **Bodur E, Demirpençe E.** Kodlamayan RNA'lar ve gen susturumu. *Hacettepe Tıp Dergisi*, **2010**; 41(8): 82-89.
129. **Giraldez AJ, Cinalli RM, Glasner ME, Enright AJ, Thomson JM, Baskerville S, Schier AF.** MicroRNAs regulate brain morphogenesis in zebrafish. *Science*, **2005**; 308: 833-838.

130. **Lagos-Quintana M, Rauhut R, Yalcin A, Meyer J, Lendeckel W, Tuschl T.** Identification of tissue-specific microRNAs from mouse. *Current Biology*, **2002**; 12(9): 735-739.
131. **Sempere LF, Freemantle S, Pitha-Rowe I, Moss E, Dmitrovsky E, Ambros V.** Expression profiling of mammalian microRNAs uncovers a subset of brain-expressed microRNAs with possible roles in murine and human neuronal differentiation. *Genome Biology*, **2004**; 5: 1-13.
132. **Tural Ü, Önder E.** Glutamaterjik sistem, N-Metil-D-Aspartik asit reseptörleri ve depresyon. *Klinik Psikiyatri Dergisi*, **2002**, 4: 30-34.
133. **Numakawa T, Yamamoto N, Chiba S, Richards M, Ooshima Y, Kishi S, Kunugi H.** Growth factors stimulate expression of neuronal and glial miR-132. *Neuroscience letters*, **2011**; 505(3): 242-247.
134. **Saus E, Soria V, Escaramís G, Vivarelli F, Crespo J.M, Kagerbauer B, Mencho'n J.M, Urretavizcaya M, Grataco's M, Estivill X.** Genetic variants and abnormal processing of pre-miR-182, a circadian clock modulator, in major depression patients with late insomnia. *Human Molecular Genetics*, **2010**; 19(20): 4017-4025
135. **Xu B, Hsu P.K, Stark K.L, Karayiorgou M, Gogos J.A.** Derepression of a novel neuronal inhibitor is a major outcome of miRNA dysregulation due to 22q11. 2 microdeletion. *Cell*, **2013**; 152(1-2): 262-275.
136. **Geaghan M, Cairns MJ.** microRNA and post-transcriptional dysregulation in psychiatry. *Biological Psychiatry*, **2014**;1-9.
137. **Liu X, Zhang L, Cheng K, Wang X, Ren G, Xie P.** Identification of suitable plasma-based reference genes for miRNAome analysis of major depressive disorder. *Journal of affective disorders*, **2014**; 163: 133-139.
138. **Im H.I, Kenny P.J.** MicroRNAs in neuronal function and dysfunction. *Trends in Neurosciences*, **2012**; 35(5): 325-334.
139. **Hansen K.F, Obrietan K.** MicroRNA as therapeutic targets for treatment of depression. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, **2013**; 9: 1011-1021.
140. **Durmaz AA, Özkınay F.** Nörogenetik ve nöropsikiyatrik hastalıklarda epigenetik. *Turkiye Klinikleri Dergisi*, **2013**; 9(4):138-146.
141. **Tai HC, Schuman EM.** MicroRNA: microRNAs reach out into dendrites. *Current Biology*, **2006**; 16(4): 121-123.
142. **Numakawa T, Richards M, Adachi N, Kishi S, Kunugi H, Hashido K.** MicroRNA function and neurotrophin BDNF. *Neurochemistry International*, **2011**; 59(5): 551-558.



143. **Serafini G, Pompili M, Hansen K.F, Obrietan K, Dwivedi Y, Shomron N, Girardi P.** The involvement of MicroRNAs in major depression, suicidal behavior, and related disorders: a focus on miR-185 and miR-491-3p. *Cellular and Molecular Neurobiology*, **2014**; 34(1): 17-30.
144. **Oved K, Morag A, Pasmanik-Chor M, Oron-Karni V, Shomron N, Rehavi M, Gurwitz D.** Genome-wide miRNA expression profiling of human lymphoblastoid cell lines identifies tentative SSRI antidepressant response biomarkers. *Pharmacogenomics*, **2012**; 13(10): 1129-1139.
145. **Baudry A, Mouillet-Richard S, Launay JM, Kellermann O.** New views on antidepressant action. *Current Opinion in Neurobiology*, **2011**; 21(6): 858-865.
146. **Bauernfeind F, Rieger A, Schildberg FA, Knolle PA, Schmid-Burgk JL, Hornung V.** NLRP3 inflammasome activity is negatively controlled by miR-223. *The Journal of Immunology*, **2012**; 189(8): 4175-4181.
147. **O'Neill LA, Sheedy FJ, McCoy CE.** MicroRNAs: the fine-tuners of Toll-like receptor signalling. *Nature Reviews Immunology*, **2011**; 11(3): 163-175.
148. **Omran A, Elimam D.** Could silencing of brain-enriched miR-9 reduce seizures in drug resistant epileptic developing brains? *Molecular & Cellular Epilepsy*, **2014**; 1(4): 10-14800.
149. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genomedatabase/details/mirna/00053>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**
150. **Kaplan BB, Kar AN, Gioio A E, Aschrafi A.** MicroRNAs in the axon and presynaptic nerve terminal. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **2013**; 7 (126): 1-5.
151. **Kar AN, MacGibeny MA, Gervasi NM, Gioio AE, Kaplan BB.** Intra-axonal synthesis of eukaryotic translation initiation factors regulates local protein synthesis and axon growth in rat sympathetic neurons. *The Journal of Neuroscience*, **2013**; 33(17): 7165-7174.
152. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/details/mirna/000391>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
153. **Sun T, Li S, Yang J, Yin Y, Ling S.** Identification of a microRNA regulator for axon guidance in the olfactory bulb of adult mice. *Gene*, **2014**; 547(2): 319-328.
154. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/details/mirna/000419>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
155. **Mollinari C, Racaniello M, Berry A, Pieri M, de Stefano MC, Cardinale A, Merlo D.** miR-34a regulates cell proliferation, morphology and function of newborn neurons resulting in improved behavioural outcomes. *Cell Death & Disease*, **2015**; 6(1): 1-15.

156. **Agostini M, Tucci P, Steinert JR, Shalom-Feuerstein R, Rouleau M, Aberdam D, Melino G.** microRNA-34a regulates neurite outgrowth, spinal morphology, and function. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2011**; 108(52): 21099-21104.
157. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/details/mirna/000426>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
158. **Franzoni E, Booker SA, Parthasarathy S, Rehfeld F, Grosser S, Srivatsa S, Wulczyn FG.** miR-128 regulates neuronal migration, outgrowth and intrinsic excitability via the intellectual disability gene Phf6. *eLife*, **2015**; 4: 1-23.
159. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/details/mirna/464067>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
160. **Follert P, Cremer H, Béclin C.** MicroRNAs in brain development and function: A flexibility and stability. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **2014**; 7:1-8.
161. **Fu L, Shi Z, Luo G, Tu W, Wang X, Fang Z, Li X.** Multiple microRNAs regulate human FOXP2 gene expression by targeting sequences in its 3' untranslated region. *Molecular Brain*, **2014**; 7(1): 71-78.
162. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/details/mirna/000590>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
163. **Loohuis NO, Kos A, Martens GJ M, Van Bokhoven H, Kasri NN, Aschrafi A.** MicroRNA networks direct neuronal development and plasticity. *Cellular and Molecular Life Sciences*, **2012**; 69(1): 89-102.
164. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/details/mirna/000457>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
165. **Huang Y, Jiang J, Zheng G, Chen J, Lu H, Guo H, Wu C.** miR-139-5p modulates cortical neuronal migration by targeting *Lis1* in a rat model of focal cortical dysplasia. *International journal of Molecular Medicine*, **2014**; 33(6): 1407-1414.
166. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genomedatabase/browse/mirna/keyword/002289?ICID=uc-mirna-002289>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
167. **Cui QL, Bin JM, Bull SJ, Kennedy TE, Bar-Or A, Antel J, Dhaunchak A.** Regulation of miRNA-219 and miRNA clusters 338 and 17-92 in oligodendrocytes. *Frontiers in Genetics*, **2012**; 3: 46-59.

168. **Kocerha J, Faghihi MA, Lopez-Toledano MA, Huang J, Ramsey AJ, Caron MG, Wahlestedt, C.** MicroRNA-219 modulates NMDA receptor-mediated neurobehavioral dysfunction. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **2009**; 106(9): 3507-3512.
169. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/details/mirna/000522>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
170. **Mor E, Kano SI, Colantuoni C, Sawa A, Navon R, Shomron N.** MicroRNA-382 expression is elevated in the olfactory neuroepithelium of schizophrenia patients. *Neurobiology of Disease*, **2013**; 55: 1-10.
171. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/details/mirna/000572>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
172. **Vaishnavi V, Manikandan M, Tiwary BK, Munirajan AK.** Insights on the functional impact of microRNAs present in autism-associated copy number variants. *Plos One*, **2013**; 8(2), 1-13.
173. Erişim: <https://www.lifetechnologies.com/order/genome-database/details/mirna/001346>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
174. Erişim: [http://www.emo.org.tr/ekler/28e20bb0ffe9129\\_ek.pdf](http://www.emo.org.tr/ekler/28e20bb0ffe9129_ek.pdf). Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
175. **Güneş HV.** Moleküler Hücre Biyolojisi. İstanbul Tıp Kitapevi. 3. Baskı.**2013**.
176. Martinac B. Mechanosensitive ion channels: molecules of mechanotransduction. *Journal of Cell Science*, **2004**; 117(12): 2449-2460.
177. **Borsotto M, Veyssiere J, Moha ou Maati H, Devader C, Mazella J, Heurteaux C.** Targeting two-pore domain K<sup>+</sup> channels TREK-1 and TASK-3 for the treatment of depression: a new therapeutic concept. *British journal of pharmacology*, **2015**; 172(3): 771-784.
178. **Alloui A, Zimmermann K, Mamet J, Duprat F, Noel J, Chemin J, Lazdunski M.** TREK-1, a K<sup>+</sup> channel involved in polymodal pain perception. *The EMBO Journal*, 2006; 25(11): 2368-2376.
179. Erişim: [http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?Term=ortholog\\_gene\\_3776\[group\]](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?Term=ortholog_gene_3776[group]). Erişim Tarihi: 02.06.2015.
180. **Dedman A, Sharif-Naeini R, Folgering JH, Duprat F, Patel A, Honoré E.** The mechano-gated K2P channel TREK-1. *European Biophysics Journal*, **2009**; 38(3): 293-303.
181. **Trebak M, Vazquez G, Bird GSJ, Putney JW.** The TRPC3/6/7 subfamily of cation channels. *Cell Calcium*, **2003**; 33(5): 451-461.

182. **Eraç Y, Selli Ç, Tosun M.** Kalsiyumun çok yönlü işlevselliğinde TRPC iyon kanallarının rolü. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy*, **2009**; 28(2): 161-83.
183. **Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA.** Transient receptor potential cation channels in disease. *Physiological Reviews*, **2007**; 87(1): 165-217.
184. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=trpc3>. Erişim Tarihi: 02.06.2015.
185. **Roedding AS, Gao A F, Wu AM, Li PP, Kish SJ, Warsh JJ.** TRPC3 protein is expressed across the lifespan in human prefrontal cortex and cerebellum. *Brain Research*, **2009**; 1260, 1-6.
186. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=trpc6>. Erişim Tarihi: 02.06.2015.
187. **Beis D, Schwarting RK, Dietrich A.** Evidence for a supportive role of classical transient receptor potential 6 (TRPC6) in the exploration behavior of mice. *Physiology & Behavior*, **2011**; 102(2): 245-250.
188. **Zeng C, Tian F, Xiao B.** TRPC Channels: Prominent candidates of underlying mechanism in neuropsychiatric diseases. *Molecular Neurobiology*, **2014**; 1-17.
189. Erişim: [www.gata.edu.tr/Metin/MSS'deNoronalileti.doc](http://www.gata.edu.tr/Metin/MSS'deNoronalileti.doc). Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
190. Erişim: <http://tip.baskent.edu.tr/egitim/mezuniyetoncesi/calismagrp/ogrsmpzsnm14/14.P3.pdf>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
191. Erişim: <http://194.27.141.99/dosya-depo/ders-notlari/sefik-dursun/003%20H%DCCRE%20MEMBRAN%20B%DDYOF%DDZ%DD%D0%DD-Prof.Dr%20DEefik%20Dursun.pdf>. Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
192. **Coryell MW, Wunsch AM, Haenfler JM, Allen JE, Schnizler M, Ziemann AE, Wemmie JA.** Acid-sensing ion channel-1a in the amygdala, a novel therapeutic target in depression-related behavior. *The Journal of Neuroscience*, **2009**; 29: 5381-5388.
193. **Xiong ZG, Pignataro G, Li M, Chang SY, Simon RP.** Acid-sensing ion channels (ASICs) as pharmacological targets for neurodegenerative diseases. *Current Opinion in Pharmacology*, **2008**; 8: 25-32.
194. **Kloiber S, Czamara D, Karbalai N, Müller-Myhsok B, Hennings J, Holsboer F, Lucae S.** ANK3 and CACNA1C–Missing genetic link for bipolar disorder and major depressive disorder in two German case-control samples. *Journal of Psychiatric Research* **2012**; 46: 973-979.

195. **Nair A, Simonetti M, Birsa N, Ferrari MD, van den Maagdenberg AM, Giniatullin R, Fabbretti, E.** Familial hemiplegic migraine Cav2.1 channel mutation R192Q enhances ATP-gated P2X3 receptor activity of mouse sensory ganglion neurons mediating trigeminal pain. *Molecular Pain* **2010**; 6: 48-65.
196. **Shah MM.** HCN1 channels: A new therapeutic target for depressive disorders. *Science Signaling*, **2012**; 5: 44.
197. **McClure KJ, Maher M, Wu N, Chaplan SR, Eckert WA, Lee DH, Grice CA.** Discovery of a novel series of selective HCN1 blockers. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2011**; 21: 5197-5201.
198. **Thollon C, Bedut S, Villeneuve N, Cogé F, Piffard L, Guillaumin JP, Brunel-Jacquemin C, Chomarat P, Boutin JA, Peglion JL, Vilaine JP.** Use-dependent inhibition of hHCN4 by ivabradine and relationship with reduction in pacemaker activity. *British Journal of Medicine and Medical Research*. **2007**; 150: 37-46.
199. **Kelmendi B, Holsbach-Beltram, M, McIntosh AM, Hilt L, George ED, Kitchen RR, Simen AA.** Association of polymorphisms in -HCN4- with mood disorders and obsessive compulsive disorder. *Neuroscience Letters*, **2011**; 496: 195-199.
200. **Halmi Z, Dome P, Vereczkei A, Abdul-Rahman O, Szekely A, Gonda X, Nemoda Z.** Associations between depression severity and purinergic receptor P2RX7 gene polymorphisms. *Journal of Affective Disorders*, **2013**; 150: 295-299.
201. **Jimenez-Pacheco A, Mesuret G, Sanz-Rodriguez A, Tanaka K, Mooney C, Conroy R, Engel T.** Increased neocortical expression of the P2X7 receptor after status epilepticus and anticonvulsant effect of P2X7 receptor antagonist A-438079. *Epilepsia*, **2013**; 54: 1551-1561.
202. **Ye DQ, Zhang ZJ, Li Y.** TREK1 potassium channels and depression. *Acta Pharmaceutica Sinica*, **2012**; 47: 1403-1408.
203. **Maingret F, Patel AJ, Lazdunski M, Honoré E.** The endocannabinoid anandamide is a direct and selective blocker of the background K<sup>+</sup> channel TASK-1. *The EMBO journal*, **2001**; 20: 47-54.
204. **Harteneck C, Gollasch M.** Pharmacological modulation of diacylglycerol-sensitive TRPC3/6/7 channels. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **2011**; 12: 35-41.
205. **Miehe S, Kleemann HW, Struebing C.** European Patent No. EP 2266575. Munich, Germany: European Patent Office, **2010**.
206. **Kesebir S, Güven S, Koç İ.** Epilepsi ve duygudurum bozuklukları. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar*, **2012**; 4(1): 51-68.

207. **Utine GE.** Kanalopatiler. *Türkiye Klinikleri Journal of Pediatrics*, **2013**; 9(4):60-64.
208. Statistical Package for the Social Sciences 16 (SPSS 16). SPSS for windows. Version 16.0. Chicago: SPSS Inc, **2009**.
209. **Rinaldi A, Vincenti S, De Vito F, et al.** Stress induces region specific alterations in microRNAs expression in mice. *Behavioral Brain Research* **2010**;208:265-269.
210. **Bocchio-Chiavetto L, Maffioletti E, Bettinsoli P, et al.** Blood microRNA changes in depressed patients during antidepressant treatment. *European Neuropsychopharmacology*. **2013**; 23: 602-611.
211. **Selvaraj S, Sun Y, Singh BB.** TRPC channels and their implications for neurological diseases. *CNS & Neurological Disorders Drug Targets*, **2010**; 9(1): 94-104.
212. **Smolin B, Karry R, Gal-Ben-Ari S, Ben-Shachar D.** Differential expression of genes encoding neuronal ion-channel subunits in major depression, bipolar disorder and schizophrenia: implications for pathophysiology. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, **2012**; 15(7): 869-882.
213. **Lucae S, Salyakina D, Barden N, Harvey M, Gagné B, Labbé M, Müller-Myhsok B.** P2RX7, a gene coding for a purinergic ligand-gated ion channel, is associated with major depressive disorder. *Human Molecular Genetics*, **2006**; 15(16): 2438-2445.
214. **Bouron A, Lorrain E.** Cellular and molecular effects of the antidepressant hyperforin on brain cells: Review of the literature. *Encephale*, **2014**; 40(2):108-113.
215. **Rabie MA, Mohsen M, Ibrahim M, El-Sawy Mahmoud R.** Serum level of brain derived neurotrophic factor (BDNF) among patients with bipolar disorder. *Journal of Affective Disorders*, **2014**;162: 67-72.
216. **Tadahiro Numakawa, Shingo Nakajima, Naoki Adachi, Misty Richards and Hiroshi Kunugi.** Neurotrophin BDNF and Novel Molecular Targets in Depression Pathogenesis Author information. *Journal of Neurology & Translational Neuroscience*, **2013**; 1(3): 1021-1029.
217. **Tsai SJ.** Sipatrigine could have therapeutic potential for major depression and bipolar depression through antagonism of the two-pore-domain K<sup>+</sup> channel TREK-1. *Medical Hypotheses*, **2008**; 70(3): 548-550.
218. **Townsend JD, Eberhart NK, Bookheimer SY, Eisenberger NI, Folland-Ross LC.** fMRI activation in the amygdala and the orbitofrontal cortex in unmedicated subjects with major depressive disorder. *Psychiatry Research*, **2010**; 183: 209–217.

219. **Smalheiser NR, Lugli G, Zhang H, Rizavi H, Cook EH, Dwivedi, Y.** Expression of microRNAs and other small RNAs in prefrontal cortex in schizophrenia, bipolar disorder and depressed subjects. *Plos One*, **2014**; 9(1): 1-12.
220. **Meerson A, Cacheaux L, Goosens KA, et al.** Changes in brain microRNAs contribute to cholinergic stress reactions. *Journal of Molecular Neuroscience*. **2010**;40: 47-55.
221. **Cao MQ, Chen DH, Zhang CH, Wu ZZ.** Screening of specific microRNA in hippocampus of depression model rats and intervention effect of Chaihu Shugan San. *Zhongguo Zhong Yao Za Zhi*. **2013**; 38: 1585-1589.
222. **Uchida S, Nishida A, Hara K, et al.** Characterization of the vulnerability to repeated stress in Fischer 344 rats: possible involvement of microRNA-mediated down-regulation of the glucocorticoid receptor. *European Journal of Neuroscience*. **2008**; 27: 2250-2261.
223. **Smalheiser NR, Lugli G, Rizavi HS, et al.** MicroRNA expression is downregulated and reorganized in prefrontal cortex of depressed suicide subjects. *Plos One*. **2012**;7:1-11.
224. **Belzeaux R, Bergon A, Jeanjean V, et al.** Responder and nonresponder patients exhibit different peripheral transcriptional signatures during major depressive episode. *Translational Psychiatry*. **2012**; 2: 1-12.
225. **Lafontaine-Lacasse M, Richard D, Picard F.** Effects of age and gender on SIRT1 mRNA expressions in the hypothalamus of the mouse. *Neuroscience Letters*, **2010**; 480(1): 1-3.
226. **Wan Y, Liu Y, Wang X, Wu J, Liu K, Zhou J, Zhang C.** Identification of Differential MicroRNAs in Cerebrospinal Fluid and Serum of Patients with Major Depressive Disorder. *Plos One*, **2015**; 10(3): 1-12.
227. **Li T, Zeng Z, Zhao Q, Wang T, Huang K, Li J, Shi Y.** FoxP2 is significantly associated with schizophrenia and major depression in the Chinese Han Population. *The World Journal of Biological Psychiatry*, **2013**; 14(2): 146-150.
228. **Kempermann G, Kronenberg G.** Depressed new neurons? Adult hippocampal neurogenesis and a cellular plasticity hypothesis of major depression. *Biological Psychiatry*, **2003**; 54(5): 499-503.
229. Erişim: <http://mirdb.org/cgi-bin/search.cgi> Erişim Tarihi: **02.06.2015**.
230. **Bai M, Zhu X, Zhang Y, Zhang S, Zhang L, Xue L, Zhang X.** Abnormal hippocampal BDNF and miR-16 expression is associated with depression-like behaviors induced by stress during early life. *Plos One*, **2012**; 7(10): 1-8.
231. **Baudry A, Mouillet-Richard S, Launay JM, Kellermann O.** New views on antidepressant action. *Current Opinion in Neurobiology*, **2011**; 21(6): 858-865.

232. **Tochigi M, Iwamoto K, Bundo M, Sasaki T, Kato N, Kato T.** Gene expression profiling of major depression and suicide in the prefrontal cortex of postmortem brains. *Neuroscience Research*, **2008**; 60(2): 184-191.
233. **Shi Y, Yuan Y, Xu Z, Pu M, Wang C, Zhang Y, Zhang, Z.** Genetic variation in the calcium/calmodulin-dependent protein kinase (CaMK) pathway is associated with antidepressant response in females. *Journal of Affective Disorders*, **2012**;136(3): 558-566.
234. **Kolshus E, Dalton VS, Ryan KM, McLoughlin DM.** (2014). When less is more. microRNAs and psychiatric disorders. *Acta Psychiatrica Scandinavica*, **2014**; 129(4): 241-256.
235. **Yin KJ, Deng Z, Huang H, Hamblin M, Xie C, Zhang J, Chen YE.** miR-497 regulates neuronal death in mouse brain after transient focal cerebral ischemia. *Neurobiology of Disease*, **2010**; 38(1): 17-26.
236. **Luo X, Lin H, Pan Z, Xiao J, Zhang Y, Lu Y, Wang, Z.** Down-regulation of miR-1/miR-133 contributes to re-expression of pacemaker channel genes HCN2 and HCN4 in hypertrophic heart. *Journal of Biological Chemistry*, **2008**; 283(29): 20045-20052.
237. **Yang B, Lin H, Xiao J, Lu Y, Luo X, Li B, Wang, Z.** The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. *Nature Medicine*, **2007**; 13(4): 486-491.
238. **Favereaux A, Thoumine O, Bouali-Benazzouz R, Roques V, Papon MA, Salam S, Landry M.** Bidirectional integrative regulation of Cav1. 2 calcium channel by microRNA miR-103: role in pain. *The EMBO Journal*, **2011**; 30(18): 3830-3841.
239. **Parthasarathy PT, Galam L, Huynh B, Yunus A, Abuelenen T, Castillo A, Kolliputi N.** MicroRNA 16 modulates epithelial sodium channel in human alveolar epithelial cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **2012**; 426(2): 203-208.
240. **Jiang X, Zhang JT, Chan HC.** Ion channels/transporters as epigenetic regulators? A microRNA perspective. *Science China Life Sciences*, **2012**; 55(9): 753-760.
241. **Rüegger S, Grobhans H.** MicroRNA turnover: when, how, and why. *Trends in Biochemical Sciences*, **2012**; 37(10): 436-446.
242. **Budni J, Freitas AE, Binfaré RW, Rodrigues ALS.** Role of potassium channels in the antidepressant-like effect of folic acid in the forced swimming test in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **2012**; 101(1): 148-154.
243. **Takahashi T, Kobayashi T, Ozaki M, Takamatsu Y, Ogai Y, Ohta M, Ikeda K.** G protein-activated inwardly rectifying K<sup>+</sup> channel inhibition and rescue of weaver mouse motor functions by antidepressants. *Neuroscience Research*, **2006**; 54(2): 104-111.



244. **Ashok KS, Khadka A, Dahiya N.** Effects of calcium channel blocker, nifedipine, on antidepressant activity of fluvoxamine, venlafaxine and tianeptine in mice. *International Journal of Basic & Clinical Pharmacology*, **2015**; 4(1): 82-88.
245. **Aburawi SM, Al-Tubuly RA, Alghzawi EA, Gorash ZM.** Effects of calcium channel blockers on antidepressant action of alprazolam and imipramine. *The Libyan Journal of Medicine*, **2007**; 2(4): 169.
246. **Clemens Allgaier, Henning Wellmann, Angelika Schobert, Gerhart Kurz and Ivar von Kügelgen.** Cultured chick sympathetic neurons: ATP-induced noradrenaline release and its blockade by nicotinic receptor antagonists. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **1995**; 352(1): 25-30.

## ÖZGEÇMİŞ

22 Ağustos 1989 yılında Elazığ'da doğdu. İlkokul ve Ortaokulu Elazığ'da okudu. 2003 yılında Elazığ Merkez Anadolu Lisesini kazandı. Lise öğreniminin hazırlık ve 1. sınıflarını Kırgızistan'ın Bişkek şehrinde bulunan Türkiye Milli Eğitim Bakanlığına bağlı Kırgız-Türk Anadolu Lisesinde, 2. ve 3. sınıflarını ise Elazığ Merkez Anadolu Lisesinde okudu.

2008 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandı ve 2012'de bu bölümden "Pedagojik Formasyon Sertifikası" olarak mezun oldu. Mezun olduğu yıl Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisansa başladı. 2013 yılının Aralık ayında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında Araştırma Görevlisi olarak çalışmaya başladı.

2012-2013 eğitim öğretim yılı itibariyle başladığı Yüksek Lisans eğitimine Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalında devam etmektedir.