



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KETAMİNİN DEPRESYON NÖROBİYOLOJİSİNDEKİ
ROLÜNÜN SIÇANLARDA KRONİK ÖNGÖRÜLEMİYEN
STRES MODELİNDE ARAŞTIRILMASI**

CANAN YALÇINKAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu

2017-İSTANBUL



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KETAMİNİN DEPRESYON NÖROBİYOLOJİSİNDEKİ
ROLÜNÜN SIÇANLARDA KRONİK ÖNGÖRÜLEMİYEN
STRES MODELİNDE ARAŞTIRILMASI**

CANAN YALÇINKAYA
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu

2017-İSTANBUL

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Farmakoloji
Tez Sahibi : Canan Yalçınkaya
Tez Başlığı : Ketaminin depresyon nörobiyolojisindeki rolünün sığınlarda
bronit ağrısızlaştırıcı etki mekanizmasında araştırılması
Sınav Yeri : Marmara Üniversite Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı
Sınav Tarihi : 06/06/2017

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Feyza ÇANUOĞLU

Kurumu

M.Ü

İmza

F. Anıoğlu.

Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)

Prof. Dr. Tijen Utkan

KOU TIP

Prof. Dr. Levent Karabacakal

M.Ü. Ecz. Fakültesi




Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 15.06.2017 tarih ve 68. sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

-Sınav evrakları 3 iş günü içinde ıslak imzalı tek kopya halinde Enstitüye teslim edilmelidir.

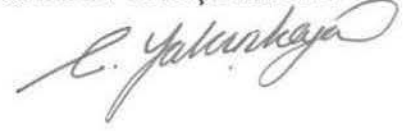
-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

06.06.2017

CANAN YALÇINKAYA



I. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezi çalışmamın her aşamasında yakın ilgi ve desteğini gördüğüm, bilimsel katkıları ile bana yardımcı olan, çalışmalarımın yönlendirilmesi ve sonuçlandırılmasında büyük emeği geçen ve ayrıca tecrübelerinden yararlanırken göstermiş olduğu hoşgörü ve sabırdan dolayı değerli hocam ve tez danışmanım Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı üyesi sayın Prof Dr. Feyza Arıcıoğlu'na,

Tezimin deney dönemi boyunca bana yol gösteren ve desteklerini esirgemeyen Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı üyesi sayın hocam Prof. Dr. Tijen Utkan'a,

Bu süreçte bana destek olan değerli arkadaşlarım Ecz. Tuğçe Baştaşkın Öcalan ve Ecz. Gülnaz Arkan'a,

Hayatım boyunca maddi, manevi desteklerini benden esirgemeyen her konuda yanımda olan en büyük destekçilerim sevgili anne ve babama teşekkürü bir borç bilirim.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-YLP-110915-0416 numaralı proje ile desteklenmiştir.

II. İÇİNDEKİLER

	Sayfa no
I. TEŞEKKÜR	i
II. İÇİNDEKİLER	ii
III. KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ	v
IV. ŞEKİL, TABLO ve RESİMLERİN LİSTESİ	vii
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	5
4.1. Majör Depresif Bozukluk	5
4.2. Major Depresif Bozukluğun Nöroanatomisi	6
4.3. Major Depresif Bozukluk Nörobiyolojisi	9
4.3.1. Major depresif bozuklukta monoaminlerin rolü (Monoamin hipotezi)	9
4.3.2. Major depresif bozuklukta glutamaterjik sistem	10
4.3.2.1. Glutamaterjik sistem	10
4.3.2.2. Glutamaterjik sistemde nörotransmisyon	12
4.3.2.3. Major depresif bozuklukta glutamaterjik sistemin rolü	15
4.3.3. Major depresif bozuklukta HPA aksı disregülasyonu	15
4.3.4. Major depresif bozukluğun BDNF üzerindeki etkisi	18
4.3.5. Major depresif bozuklukta GSK3 sinyali	21
4.3.6. Major depresif bozuklukta immunolojik mekanizmalar	23
4.3.6.1. Sitokin hipotezi ve inflamazom	24
4.3.7. Major depresif bozuklukta glial hücrelerin rolü ve ölçüm parametreleri	30

4.3.8. Major depresif bozuklukta stresin rolü	35
4.3.8.1. Akut stres	35
4.3.8.2. Kronik stres	36
4.3.9. Major depresif bozuklukta genetiğin rolü	37
4.3.10. Major depresif bozukluğun tedavisi	38
4.3.10.1. Yeni geliştirilen bir ajan olarak ketamin	39
4.3.10.1.1. İnflamasyon hipotezi perspektifinde ketamin bulguları	46
5. GEREÇ ve YÖNTEM	52
5.1. Kimyasal Maddeler	52
5.2. Deney Hayvanları	52
5.3. Deney Grupları	52
5.4. Sıçanlarda Depresyon Modelinin Oluşturulması	53
5.4.1. KÖHS modeli	53
5.5. Davranış Testleri	54
5.5.1. Sükroz tercih testi	54
5.5.2. Zorunlu yüzme testi	55
5.6. Gen Ekspresyon Analizleri	58
5.6.1. RNA izolasyonu	58
5.6.2. Komplementer DNA (cDNA) sentezi	59
5.6.3. Real-time PCR reaksiyonu	60
5.6.4. PCR sonuçların değerlendirilmesi	60
5.7. İmmunohistokimyasal analizler	58
5.7.1. Perfüzyon fiksasyonu	59
5.8. Verilerin İstatiksel Analizi	61
6. BULGULAR	62

6.1. Davranış DeneYlerinin Sonuçları	62
6.1.1. Vücut ağırlığı	62
6.1.2. Sükroz tercih testi	62
6.1.3 Zorunlu yüzme testi	63
6.2. PCR Analizleri Gen Ekspresyon Bulguları	64
6.2.1. NLRP1 ve NLPR3	64
6.2.2. Kaspaz 1	65
6.2.3. ASC	66
6.2.4. Sitokin düzeyleri : NF-κB, IL-1β ve IL-6	67
6.2.5. CD11b	70
6.3 İmmünohistokimyasal bulgular	70
6.3.1. Iba-1	70
6.3.2. GFAP	71
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	74
8. KAYNAKLAR	82
9. ÖZGEÇMİŞ	97
10. ETİK KURUL ONAY BELGESİ	99

III.KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ

ACTH	Adrenokortikotropik hormon
Akt	Serin treonin kinaz, Protein kinaz B
AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit
ASC	Apoptoz ile ilişkili speck benzeri protein
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
CLP	Çekal ligasyon ve ponksiyon
CRH	Kortikotropin salgılatıcı hormon
DAMP	Tehlike ilişkili moleküler kalıplar
EAAT	Eksitator amino asit transporterları
ERK	Ekstraselüler sinyal ile düzenlenen kinaz
Fz	Frizzled
GABA	γ -aminobutirik asit
GFAP	Glial fibriler asidik protein
Glu	Glutamat
GSK3	Glikojen sentaz kinaz 3
HPA	Hipotalamopitüiter adrenal eksen
Iba-1	İyonize kalsiyum bağlayan adaptör protein-1
IL	İnterlökin
IR	İmmünreaktif
KÖHS	Kronik öngörülemeyen hafif stres
LPS	Lipopolisakkarit
MAPK	Mitojen aktive edici protein kinaz

MEK	MAP/ERK kinaz
MHC	Temel doku-uygunluğu bileşeni
mTOR	Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi
NF-κB	Nükleer faktör kappa B
NLR	Nod benzeri reseptörler
NLRP1	Nod-benzeri reseptör protein 3
NLRP3	Nod-benzeri reseptör protein 3
NMDA	N-metil-D-aspartat
NOD	Nükleotid-bağlama oligomerizasyon domaini
PAMP	Patojen ilişkili moleküler kalıplar
PFC	Prefrontal korteks
PI3K	Fosfatidil inositol-3 kinaz
SSRI	Selektif serotonin reuptake inhibitörü
TLR	Toll-benzeri reseptör
TNFα	Tümör nekroz faktör alfa
TrKB	Tropomiyozin reseptör kinaz B
vGLUT	Veziküler glutamat taşıyıcısı
Wnt	Wingless

IV. ŞEKİL, TABLO ve RESİMLERİN LİSTESİ

İ) ŐEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1. Glutamat nörotransmisyonu

Şekil 2. Hipotalamo-pitüiter-adrenal-eksen

Şekil 3. BDNF-TrKB sinyal yolakları

Şekil 4. Wnt-Fz ve GSK3 sinyal yolakları

Şekil 5. Depresyonda immünolojik mekanizmalar

Şekil 6. NMDA reseptörü yapısı

Şekil 7. Ketaminin hızlı antipresan etkisi altında yatan sinyal yolakları

Şekil 8. Deney hayvanlarının sükröz tüketimi

Şekil 9. Deney hayvanlarının zorunlu yüzme testinde hareketsiz kalma süresi

Şekil 10. NLRP1 prefrontal korteks mRNA düzeyleri

Şekil 11. NLRP3 prefrontal korteks mRNA düzeyleri

Şekil 12. Kaspaz-1 prefrontal korteks mRNA düzeyleri

Şekil 13. ASC prefrontal korteks mRNA düzeyleri

Şekil 14. NF-κB prefrontal korteks mRNA düzeyleri

Şekil 15. IL-1β prefrontal korteks mRNA düzeyleri

Şekil 16. IL-6 prefrontal korteks mRNA düzeyleri

Şekil 17. CD11b prefrontal korteks mRNA düzeyleri

Şekil 18. Hipokampüste Iba-1 pozitif mikroglia hücre düzeyleri

Şekil 19. Hipokampüsün CA1 bölgesinde GFAP pozitif astrosit düzeyleri

Şekil 20. Hipokampüsün CA3 bölgesinde GFAP pozitif astrosit düzeyleri

Şekil 21. Hipokampüsün dentat girus bölgesinde GFAP pozitif astrosit düzeyleri

II) TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo 1. Vücut ağırlığı değişimi.



III) RESİMLERİN LİSTESİ

Resim 1. Kontrol (a), stres (b), akut ketamin (c) ve kronik ketamin (d) gruplarında hipokampusta Iba-1 immünreaktif mikroglia hücreleri



1. ÖZET

Ketaminin Depresyon Nörobiyolojisindeki Rolünün Sıçanlarda Kronik Öngörülemeyen Stres Modelinde Araştırılması

Öğrencinin Adı: Canan YALÇINKAYA

Danışmanı: Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

Anabilim Dalı: Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı

Amaç: Ketaminin, major depresif bozukluk tanılı hastalarda, hızlı ve güçlü bir antidepresan etki meydana getirdiğinin gösterilmesi etki mekanizmalarının aydınlatılmasını önemli bir araştırma hedefi haline getirmiştir. Bu çalışmada kronik öngörülemeyen hafif stres (KÖHS) modeli oluşturulan sıçanlarda akut ve kronik ketamin uygulamasının inflamatuvar mekanizmalar üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve yöntem: Wistar Albino sıçanlar; Kontrol, KÖHS, KÖHS+akut ketamin (10 mg/kg) ve KÖHS+kronik ketamin (10 mg/kg), olmak üzere gruplara ayrılmıştır (n=10). KÖHS modelinde çeşitli stresörler dönüşümlü olarak uygulanmış ve ketamin tek doz veya 4. haftadan itibaren haftada 1 uygulanmıştır. Antidepresan etkinlik, sükröz tercih testi ve zorunlu yüzme testiyle (FST) değerlendirilmiştir. Ardından sıçanlar ya dekapite edilerek, ya da perfüzyon fiksasyonu yapılarak beyin dokuları alınmış ve immünohistokimyasal ve moleküler analizler yapılmıştır.

Bulgular: Zorunlu yüzme testinde kronik ketamin uygulamasının KÖHS'in meydana getirdiği immobilité azalmasını tersine çevirdiği, akut ve kronik ketaminin strese artan NLRP1, Kaspaz-1, ASC, CD11b rölatif mRNA ekspresyonlarını ve Iba-1 pozitif hücre düzeyini anlamlı olarak azalttığı gösterilmiştir. Akut ketamin uygulaması KÖHS'in yükselttiği IL-6 ve IL-1 β seviyeleri ile hipokampusun CA1 bölgesindeki GFAP düzeylerini azaltmıştır.

Sonuçlar: Akut ketamin uygulamasının kronik öngörülemeyen hafif strese bağlı gelişen depresif-benzeri davranışları düzelterek antidepresan-benzeri etkiler meydana getirdiği bulunmuştur. Yaptığımız çalışmada KÖHS ile indüklenen prefrontal korteks NLRP1 inflamazom aktivasyonunu azalttığı, inflamatuvar sitokin yanıtlarını ve mikrogliya ve astrosit immünoaktivitelerini baskıladığı gösterilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Depresyon, ketamin, KÖHS, NMDA, nöroinflamasyon

2. SUMMARY

Investigation Of Ketamine's Role In Depression Neurobiology In Rats With Chronic Unpredictable Mild Stress Model

Student: Canan YALÇINKAYA

Supervisor: Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

Department: Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology

Aim: Clarification of ketamine's mechanism of action has become an important search target by shown to create a rapid and powerful antidepressant effect. In this study, examining the effects of acute and chronic ketamine administration on inflammatory routes was aimed to be studied in CUMS constituted rats.

Materials and methods: Male Wistar Albino rats were divided into Control, CUMS, CUMS+acute ketamine (10 mg/kg) and CUMS+chronic ketamine (10 mg/kg) groups (n=10). In CUMS model, various stressors were applied alternatively and ketamine was administered either once a week starting from 4th week or a single dose. Antidepressant activity was assessed with sucrose preference test and FST. Afterwards, rat's brain tissues were removed with decapitation or perfusion fixation and immunohistochemical and molecular analysis were performed.

Results: In FST, it was found that chronic ketamine administration reversed CUMS-related reduced immobility induced, acute and chronic ketamine administration significantly decreased stress-induced elevated relative mRNA expressions of NLRP1, Kaspaz-1, ASC, NF- κ B, CD11b and Iba-1 positive cell count. Acute ketamine administration reduced CUMS-induced elevation of IL-6 and IL-1 β levels and GFAP positive astrocyte levels in CA1 subregion of hippocampus.

Conclusion: It was found that acute ketamine administration produced antidepressant-like behaviours with refining depressive-like behaviours induced by CUMS. In our study, it was shown that ketamine decreased NLRP1 inflammasome activation which was triggered by CUMS in prefrontal cortex and inhibited inflammatory responses and microglia, astrocyte immunoreactivities.

Keywords: Depression, ketamine, CUMS, NMDA, neuroinflammatio

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Major depresif bozukluk; depresif duygu durum, özsaygıda azalma, anhedoni ve bozulmuş uyku düzeni, yeme, kognitif fonksiyonlar ile karakterize olan; yüksek oranda mortaliteye sahip bir rahatsızlıktır (Iwata ve ark., 2013). Depresyon, populasyonun %17'sini etkilemekle birlikte hastalara ciddi oranda rahatsızlık vermekte ve toplum için de sosyal ve ekonomik bir sorun teşkil etmektedir (Duman ve Voleti, 2012).

Major depresif bozukluğun patofizyolojisinde; uzun yıllardır noradrenalin ve serotonin nörotransmisyonundaki bozukluğun rol oynadığı düşünülmeye rağmen depresyon patogenezinin aydınlatılmasında tek başına monoamin hipotezinin yeterli olmadığı günümüzde bilinmektedir. (Iwata ve ark., 2013; Palazidou, 2012; Sanacora ve ark., 2012). Bu anlamda sinaptik plastisite ve nöroenezdeki azalmanın depresyon patofizyolojisinde anahtar rol oynadığı bulunmuştur (Browne ve Lucki, 2013). Ayrıca klinik çalışmalarda inflamasyonun depresyona neden olabileceği ile ilgili kanıtlar mevcuttur (Iwata ve ark., 2013). Romatoid artrit ve diyabet gibi kronik inflamatuvar hastalıklarda yüksek oranda depresyon komorbiditesi bulunduğu bilinmektedir (Iwata ve ark., 2013). Major depresyon hastalarında IL-1 β , IL-6, TNF- α (Tümör nekroz faktör alfa) gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinin arttığı ve sitokinlerin duygu durumu etkilediği, disfori ve anksiyeteye neden olduğu bildirilmiştir (Iwata ve ark., 2013). Ayrıca IL-1 β blokajının kronik strese maruziyet sonucu meydana gelen depresif davranışları ve hücrel cevapları bloke etmekte yeterli olduğu gösterilmiştir (Iwata ve ark., 2013). Depresyon hastalarında trisiklik antidepresanların ve SSRI (Selektif serotonin reuptake inhibitörü)'ların, inflamatuvar sitokinlerin serum düzeylerini düzelttiği ve IL-10 gibi anti inflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırdığı bulunmuştur (Iwata ve ark., 2013).

Depresyon tedavisinde standart yaklaşım monoaminerjik nörotransmitterler üzerine etki gösteren terapötik ajanların kullanılması olup, başlıca seçici serotonin gerialım inhibitörleri ve serotonin noradrenalin gerialım inhibitörlerinden yararlanılmaktadır (Zarate ve ark., 2013). Klinikte çok çeşitli antidepresanlar kullanılmasına karşın, hastaların yalnızca üçte biri antidepresan tedavisine anlamlı yanıt vermektedir (Li ve ark., 2011). Günümüzdeki ilaçlarla tedavide terapötik etkinin ortaya çıkışında haftalar, aylar süren bir gecikme söz konusu olup, hızlı etki gösteren ve daha etkili yeni antidepresan ajanların geliştirilmesi önem arz etmektedir (Li ve ark., 2011).

Ketamin, klinikte anestezi ve ağrı tedavisinde kullanılan iyonotropik glutamaterjik non-kompetitif N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistidir (Yang ve ark., 2013). Tek doz sub-psikomimetik ketamin uygulamasının major depresif bozukluk tanılı hastalarda, hızlı ve kaydadeğer bir antidepresan etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Kavalalı ve Monteggia, 2015). Başlıca depresyon semptomlarında ketamin uygulamasından sonraki 2 saat içinde hafifleme olduğu gösterilmiş ve bu etkinin iki haftaya kadar sürdüğü bulunmuştur (Kavalalı ve Monteggia, 2015). Ayrıca tedaviye dirençli depresyon hastalarında da yararlı olduğu gösterilmiştir (Browne ve Lucki, 2013). Bu sonuçlar antidepresan tedavide karşılaşılan en önemli sorunlara çözüm vaatmekle birlikte bu anlamda ketamin üzerine yapılan araştırmaları kritik bir noktaya taşımıştır. Her ne kadar ketaminin klinikte kullanımında potansiyel toksisite ve suistimal riski söz konusu olsa da, hayvan modelleri kullanılarak ketaminin antidepresan etki mekanizmalarının aydınlatılması güvenli ve hızlı ajanların geliştirilmesine olanak vermesi açısından önem taşımaktadır (Li ve ark., 2011). Bütün bu bilgiler göz önüne alındığında ketaminin hızlı antidepresan etkisinde önerilen mekanizmalar yanında, inflamatuvar mekanizmaların da rol oynayıp oynamadığının bilinmesi önem arz etmektedir.

Bu çalışmada kronik öngörülemez hafif stres ile depresyon modeli oluşturulan sıçanlarda ketamin uygulamasının inflamatuvar yollar ve davranış parametreleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Majör Depresif Bozukluk

Major depresif bozukluk, çökkün duygulanım, enerji azlığı ve ilginin ya da alınan zevkin kaybı, konsantrasyon azlığı, özgüven azalması, suçluluk duyguları, karamsarlık, kendine zarar verme ya da özkıyım düşünceleri, uyku düzeninde bozulma, iştah değişiklikleri ve libido azalması ile karakterize bir duygudurum bozukluğudur (Karamustafalıoğlu ve ark., 2011).

Major depresif bozukluk kronik, tekrarlayabilen, yüksek mortalite oranına sahip, tıbbi komorbiditelerin eşlik ettiği ciddi bir hastalıktır (Gold ve ark., 2015). Major depresif bozukluk en sık görülen duygu durum bozukluklarının başındadır ve yaşam boyu prevalansı %8-12'dir (Andrade ve ark., 2003). Kalıtsal kökenli olup, erkeklerin ortalama %8'ini, kadınların ise %15'ini etkilediği bulunmuştur (Gold ve ark., 2015). Hastaların %75'inde major depresif bozukluk nüks etmektedir ve tekrarlayan duraksama ve alevlenme evreleri ile karakterizedir (Gold ve ark., 2015). Hastalığın ilk epizodundan kurtulan hastaların %50'si eğer antidepresan tedavisine devam etmezse, 6 ay içinde ikinci epizodu yaşamaktadır (Gold ve ark., 2015). Major depresif bozukluk yaşayan ve hiçbir tedavi almayan %15'lik kesimin ise intihar ettiği bilinmektedir (Gold ve ark., 2015).

Hastaların yalnızca 1/3'ü reçete edilen ilk antidepresana yanıt vermekle birlikte, bazı hastalar aylarca ya da yıllarca süren çoklu ilaç denemelerine yanıt vermektedir (Gerhard ve ark., 2016). Depresyon tanılı bireylerin ortalama 1/3'ü iki ya da daha fazla birinci sıra antidepresan tedavisine yanıt vermemektedir ve tedaviye dirençli depresyon olarak adlandırılmaktadır (Gerhard ve ark., 2016). Major depresyon tanılı hastaların %23'ü depresyon tedavisi altında yaşamlarını sonlandırmaktadır ve tedavinin etkinliğinde eksiklik gözlenmektedir (Gerhard ve ark., 2016).

Dünya Sağlık Örgütü tarafından son zamanlarda yapılan bir araştırma, major depresif bozukluğun 2020 yılında ikinci disabilite nedeni olacağını göstermiştir (Gerhard ve ark., 2016).

Depresyon sadece mental rahatsızlık vermemektedir; inflamasyon, koagüasyon, metabolizma, otonomik fonksiyon, nöroendokrin regülasyon, uyku ve iştahı regüle eden biyolojik prosesleri de etkilemektedir (Gold ve ark., 2015).

4.2. Major Depresif Bozukluğun Nöroanatomi

Prefrontal korteks (PFC), frontal korteksin primer motor bölgesi ve premotor bölgesinin anteriorunda bulunmaktadır ve üç ana bölüme ayrılmış olup bunlar; dorsolateral, paralimbik (prefrontal korteksin orbital ve medial bölümleri) ve anterior singulat kortektir (Palazidou, 2012). Ventromedial ve dorsolateral prefrontal korteks birbirleri ile singulat girus ve hipokampus aracılığıyla ilişki kurar (Palazidou, 2012). Ventromedial prefrontal korteks, normal duygu gelişimi için önemlidir ve otonomik nöroendokrin yanıtları, ağrı modülasyonunu, agresyonu, seksüel ve yeme davranışlarını regüle eder (Palazidou, 2012). Orbital prefrontal korteks ise davranışsal ve duygu yanıtları düzeltmede rol oynar (Palazidou, 2012). Dorsolateral prefrontal korteks; kognitif kontrolde, kompleks görevlerin çözümlenmesinde, çalışma belleğinde bilginin işlenmesi ve sürdürülmesinde rol oynar (Palazidou, 2012).

Öğrenme ve hafızada önemli rol oynayan hipokampusün disfonksiyonunun uygunsuz duygusal yanıtlardan sorumlu olabileceği düşünülmektedir (Palazidou, 2012). Hipokampus, kortikosteroid reseptörlerinden zengindir ve HPA aksına (Hipotalamopitüiter adrenal eksen) negatif feedback sağlayan hipotalamusa fizyolojik olarak pek çok aksonla bağlıdır (Palazidou, 2012). Yetişkinlerde neo-nörojenezin devam ettiği bölgelerden biridir, bu yüzden yüksek nöroplastisite kapasitesi vardır (Palazidou, 2012). Yeni nöron gelişimi, hipokampüsteki dentat gyrusun subgranüler yüzeyinde ve olfaktör bulbusta devam etmektedir (Palazidou,

2012).

Beyin görüntüleme ve postmortem çalışmalarda, duygu durumun düzenlenmesinde ve depresyonda prefrontal korteks, hipokampus, singulat korteks, amigdala ve bazal ganglia gibi çeşitli anahtar bölgelerin rol oynadığı gösterilmiştir (Duman, 2014).

Manyetik rezonans çalışmaları, sağlıklı deneklerle karşılaştırıldıklarında depresyon hastalarında, anterior singulat korteks ve orbitofrontal kortekste büyük miktarda hacim azalması; putamen ve kaudatta ise orta miktarda hacim azalması olduğunu göstermiştir (Palazidou, 2012; Duman, 2014b). Ayrıca subgenual PFC de hacim azalması gösterilmiştir (Duman, 2014b).

Depresyonda, devamlılığı en fazla olan bulgu, prefrontal korteks ve hipokampüste meydana gelen hacim azalmasıdır (Duman, 2014). Hacim azalması, hastalık süresi, tedavi süresi ve depresyonun şiddetine bağlı olarak meydana gelir ve geçirilen depresif epizod sayısı ile ters orantılıdır; antidepresan tedavi ile tersine çevrilebilir (Gerhard ve ark., 2016; Duman, 2014; Duman, 2014b).

Hipokampal ve kortikal hacimlerdeki azalmanın altında yatan hücresel değişiklikler incelenmiştir (Duman, 2014b). Postmortem çalışmalar prefrontal korteks ve hipokampüste hücre sayısında değişim olmadan nöronal hücre gövde boyutunda azalma, atrofi ve prefrontal kortekste glialarda küçülme olduğunu göstermiştir; dolayısıyla nöronal proseslerde rol oynayan sinaptik bağlantıların azalmış olabileceği düşünülmüştür (Duman, 2014; Duman, 2014b). Son zamanlarda hazırlanan bir rapor, depresif hastaların prefrontal kortekslerindeki sinaps sayılarında da azalma olduğunu göstermiştir (Duman, 2014). Son zamanlarda yapılan başka bir araştırma ise, dorsal lateral prefrontal kortekste sinaps sayısında kaydadeğer bir düşüş olduğunu kanıtlamıştır (Duman, 2014b).

Prefrontal korteks sinaps sayısı ve davranış arasındaki direkt ilişki, mTORC1 (Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi kompleks 1) sinyal inhibitörünün (REDD1) rodentlerde sinaps sayısını azalttığı ve çaresizlik ve anhedonik davranışa neden olduğunu gösteren bir raporla kanıtlanmıştır (Gerhard ve ark., 2016).

Depresyon hastalarda yapılan postmortem çalışmalarda singulat korteks ve dorsolateral prefrontal kortekste glia sayısında azalma olduğu bulunmuştur (Duman, 2014b).

Major depresyonda prefrontal korteks ve hipokampüste aktivitede azalma mevcutken, korku, anksiyete ve duygu durum kontrolünde rol oynayan amigdalanın ise kontrolü azalmıştır (Gerhard ve ark., 2016). Amigdala boyutları ve aktivitesi artmıştır (Pittinger ve ark., 2008). MRI (manyetik rezonans görüntüleme) çalışmalarından hazırlanan bir meta analize göre, tedavi edilmemiş depresyon hastalarında amigdala hacmi azalmaktadır (Palazidou, 2012).

PET (Pozitron emisyon tomografisi) çalışmaları, duygusal süreçlerden sorumlu pekçok limbikal ve prefrontal kortikal bölgede bölgesel kan akımı ve glukoz metabolizması anormaliteleri olduğunu göstermiştir (Palazidou, 2012). Ayrıca depresyonda ventromedial prefrontal korteks ve lateral orbital prefrontal kortekste aktivite artışı, dorsolateral prefrontal kortekste ise aktivite azalması bulunmuştur (Palazidou, 2012). Depresyondaki dorsolateralprefrontal kortekste aktivite azalması psikomotor retardasyon ve anhedoni ile ilişkilendirilmiştir (Palazidou, 2012).

Depresyon tedavisine verilen yanıtın, metabolik aktivitede meydana gelen azalma ile ilişkili olduğu bilinmektedir ve kronik antidepresan ilaç tedavisinin pozitif yanıt olarak amigdala ve anterior singulat kortekste metabolik aktivitede azalma, hipokampüste ise hacim artışı meydana getirdiği bulunmuştur (Palazidou, 2012). Ayrıca kronik antidepresan tedavisinin, yetişkin sıçan hipokampüsündeki nörojenezi arttırdığı gösterilmiştir (Duman, 2014b). Postmortem çalışmalarda, tedavi altındaki depresyon hastalarında ölüm zamanında, hipokampüsteki hücre oluşumunun artmış olduğu bulunmuştur (Duman, 2014b). Preklinik çalışmalar ile, kronik antidepresan uygulamasının prefrontal kortekste glia oluşumunu arttırdığı gösterilmiştir (Duman, 2014b). Antidepresan ajanların nöronal ve glial hücre sayıları üzerindeki etkilerinin, etki mekanizmalarına katkı sağlıyor olabileceği düşünülmektedir (Duman, 2014b).

4.3. Major Depresif Bozukluk Nörobiyolojisi

Depresyonun heterojenliği ve kompleksliği, rol oynayan tek bir abnormaliteyi dahi tanımlamayı zorlaştırmakla birlikte, depresyonun altında yatan pek çok neden olduğunu akla getirmektedir (Duman, 2014b).

Birbirleriyle etkileşim halinde olup depresyonda rol oynadığı düşünülen ana bulgular; azalmış monoamin (serotonin ve noradrenalin) transmisyonu, düşmüş BDNF (beyin kaynaklı nörotrofik faktör) konsantrasyonu, artmış sitokin miktarı, HPA eksen disregülasyonu, subkortikal ve kortikal fonksiyonel ve yapısal beyin değişiklikleri ve duyarlı/koruyucu gen varyasyonlarıdır (Palazidou, 2012). HPA aksı disregülasyonu bu anormalitelerin büyük kısmından sorumludur (Palazidou, 2012).

Depresyonda, kortizol, kortikotropin salıverici hormon, proinflamatuvar sitokin konsantrasyon ve aktiviteleri yüksektir (Palazidou, 2012).

4.3.1. Major depresif bozuklukta monoaminlerin rolü (Monoamin hipotezi)

Monoamin hipotezi; depresyon hastalarında serotonin, noradrenalin ve dopamin eksikliği olduğu ve antidepresan ilaçların bu eksikliği normale çevirdiği anlayışı üzerine kuruludur (Palazidou, 2012; Hillhouse ve ark., 2015).

Monoamin hipotezinin gelişmesine neden olan iki önemli kanıt mevcuttur (Hillhouse ve ark., 2015). Bunlardan ilki; rezerpinin katekolamin ve serotonin üzerindeki etkisi, ikincisi ise antidepresan ilaçların farmakolojik etki mekanizmalarıdır (Hillhouse ve ark., 2015). Rezerpinin bazı hastalarda depresyonu hızlandırdığı bulunmuştur ve hayvanlarda depresif-benzeri etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Hillhouse ve ark., 2015). Rezerpin, veziküler monoamin transporterını inhibe ederek beyin monoaminlerinde azalma meydana getirmektedir (Hillhouse ve ark., 2015). İkinci kanıt ise, monoamin oksidaz inhibitörleri ve trisiklik antidepresanların farmakolojik etki mekanizması ile ilişkilidir (Hillhouse ve ark., 2015). Antidepresan ilaçlar primer olarak monoamin nörotransmitterleri hedef alarak

sinaptik boşluktaki miktarlarını arttırmayı böylece postsinaptik reseptör aktivasyonu meydana getirmesini amaçlamaktadır (Hillhouse ve ark., 2015). Selektif serotonin reuptake inhibitörleri de monoamin hipotezine destek sağlamaktadır (Hillhouse ve ark., 2015).

Son zamanlarda yapılan klinik çalışmalar, major depresif bozuklukta monoamin hipotezinin gözden geçirilmesi gerektiğini; sadece serotonin, noradrenalin ve dopamin azlığının major depresif bozuklukta rol oynamadığını göstermiştir (Hillhouse ve ark., 2015). Sağlıklı hastalarda meydana gelen monoamin azlığının depresif semptomlara neden olmadığı ortaya konulmuştur. (Hillhouse ve ark., 2015). Bu yüzden monoamin eksikliğinin daha çok modülatör bir rol oynayıp diğer nörobiyolojik sistemleri etkilediği ya da stresör varlığında rol oynadığı düşünülmektedir (Hillhouse ve ark., 2015).

4.3.2. Major Depresif Bozuklukta Glutamaterjik Sistem

4.3.2.1. Glutamaterjik sistem

Glutamat, merkezi sinir sistemindeki major eksitator nörotransmitterdir (Miladinovic ve ark., 2015). Nörojenez, sinaptogenez, programlı hücre ölümü (apoptozis) ve nöronların hayatta kalmasını regüle ettiğinden dolayı sinir sisteminde çok önemli bir yere sahiptir (Szakacs ve ark., 2012). Merkezi sinir sistemindeki bu kritik rolüne ek olarak kemik, testis, pankreas, epifiz, hipofiz ve adrenal bezler gibi periferik dokulardaki otokrin ve parakrin sinyal iletiminde rol oynar (Hinoi ve ark., 2004). Glutamat ayrıca santral sinir sistemine periferik aracılı ağrı iletiminde de görev almaktadır (Jang ve ark., 2004).

Glutamat düzeyleri; ekstraselüler sıvıdan fazla glutamat moleküllerinin uzaklaştırılmasını sağlayan ve çoğunlukta sinapsı çevreyelen astrositler üzerinde bulunan, sodyum bağımlı glutamat transporterları ile sıkı bir şekilde regüle edilir (Danbolt, 2001; Vandenberg ve Ryan, 2013).

Pek çok patolojik durumda ekstraselüler glutamat normal sınırların üzerindedir ve iyonotropik glutamat reseptörleri yüksek derecede aktiftir; bu da eksitotoksisteye ve çevreleyen postsinaptik nöronlarda hücre ölümüne neden olur (Choi, 1994; Choi ve ark., 1987).

Glutamat disregulasyonu şizofreni, epilepsi gibi çeşitli psikiyatrik, nörogelişimsel ve nörodejeneratif hastalıklarda karakterize edilmiştir (Javitt, 2004).

Glutamat reseptörleri nöronal ve non-nöronal hücrelerde lokalize olup, pek çok süreci regüle eder (Bliss ve Collingridge, 1993). Bunlardan iyonotropik glutamat reseptörleri (iGluR); N-metil-D-aspartat reseptörleri (NMDAR), α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit reseptörleri (AMPA) ve kainat reseptörlerinden meydana gelmektedir (Miladinovic ve ark., 2015). İyonotropik glutamat reseptörleri birkaç protein altbiriminin birleşiminden meydana gelir ve çeşitli reseptör izoformları oluşturabilmek için pek çok farklı şekilde bir araya gelir (Miladinovic ve ark., 2015).

AMPA ve kainat reseptörleri primer olarak sodyum akışını (influks) düzenlerken NMDA reseptörleri yüksek kalsiyum iletkenliğine sahiptir (Lewerenz ve Maher, 2015). NMDA reseptör aktivasyonu sinaptik plastisite ve öğrenmede önemli rol oynamaktadır (Miyamoto, 2006).

Üç NMDA reseptör ailesi bulunmuştur; bunlar NR1, NR2A-D, NR3A-B'dir. (Niciu ve ark., 2012). NR1 ekspresyonu beyinde sık rastlanır ve nöron gelişimi için önemlidir (Niciu ve ark., 2012). NR2A sıklıkla, neokorteks ve hipokampüste bulunmakla birlikte NR2B primer olarak ön beyinde bulunur (Niciu ve ark., 2012). Bunların aksine NR2C ve NR2D ise serebellum ve diensefalon/alt beyin sapında mevcuttur (Nakanishi, 1992). NR3A sıklıkla neokortekste bulunur ve disregülasyonunun şizofreni patogenezinde rol oynadığı gösterilmiştir (Henson ve ark., 2008). NR3B ise serebellum ve hipokampüste bulunmaktadır (Niciu ve ark., 2012).

NMDA reseptör yapısında tanımlanan ve iyon kanal açılışını regüle ettiği düşünülen 6 bağlantı bölgesi vardır; bunlar glutamat, glisin bağlanma bölgeleri,

poliamin bağlanma bölgesi, katyon (Mg^{2+} , Zn^{+2} ve H^+) bağlanma bölgeleridir (Niciu ve ark., 2012). NMDA reseptörleri monovalan katyonlara ek olarak, Ca^{++} iyonunun da hücre membranından geçişini sağlar (Görgülü ve Kırış, 2005). Bu reseptörler, gelen iletinin integrasyonu ile motor fonksiyon ve aktivitenin koordinasyonu ve programlamasında yer alır (Görgülü ve Kırış, 2005).

AMPA reseptörlerinin dağılımı NMDA reseptörlerine benzemektedir ancak NMDA reseptörleri serebellumda granüler hücre tabakasında yoğun iken AMPA reseptörleri moleküler tabakada daha fazladır (Görgülü ve Kırış, 2005). AMPA reseptörleri monovalan katyonlar (Na^+K^+,H^+) için daha seçicidir ve hızlı eksitator sinaptik geçişte rol oynar (Görgülü ve Kırış, 2005).

Kainat reseptörleri ise hipokampusta, neokorteksin iç ve dış tabakalarında bulunur (Görgülü ve Kırış, 2005). Postsinaptik reseptör aktivasyonu ve gama-aminobutirik asit (GABA) salınımı regülasyonu yaparak eksitator nörotransmisyonunda rol oynar (Machado-Vieira ve ark., 2012).

Metabotropik glutamat reseptörleri ise (mGluRs) indirekt olarak postsinaptik iyon kanallarını modüle eder ve G-protein ile kenetlidir (Miladinovic ve ark., 2015). Sekiz tane metabotropik glutamat reseptörü izoformu mevcuttur (iGluR1-8) ve bunlar çeşitli ikincil haberci sistemleri ile sinyal iletimini gerçekleştirir (Spooren ve ark., 2010).

4.3.2.2. Glutamaterjik sistemde nörotransmisyon

Nöronal glutamat üretimi için iki yol mevcuttur; bunlardan ilki glutamatın enerji kullanılarak glukoz ve aminoasit türevlerinden sentezidir (Niciu ve ark., 2012). Diğer yol ise; astrositlerden salınan glutaminin (Gln) presinaptik terminallere alınıp, mitokondriyal enzim glutaminaz tarafından glutamat (Glu) metabolize edilmesidir (Daikhin ve Yudkoff, 2000)

Glutamin presinaptik veziküllere veziküler glutamat taşıyıcısı (vGLUT) proteinleri aracılığıyla alınır ve voltaj bağımlı bir şekilde SNARE (Çözünebilir NSF

bağlı protein reseptörü) proteinleri ile veziküler etkileşim sonucunda sinaptik aralığa salınır (Niciu ve ark., 2012)

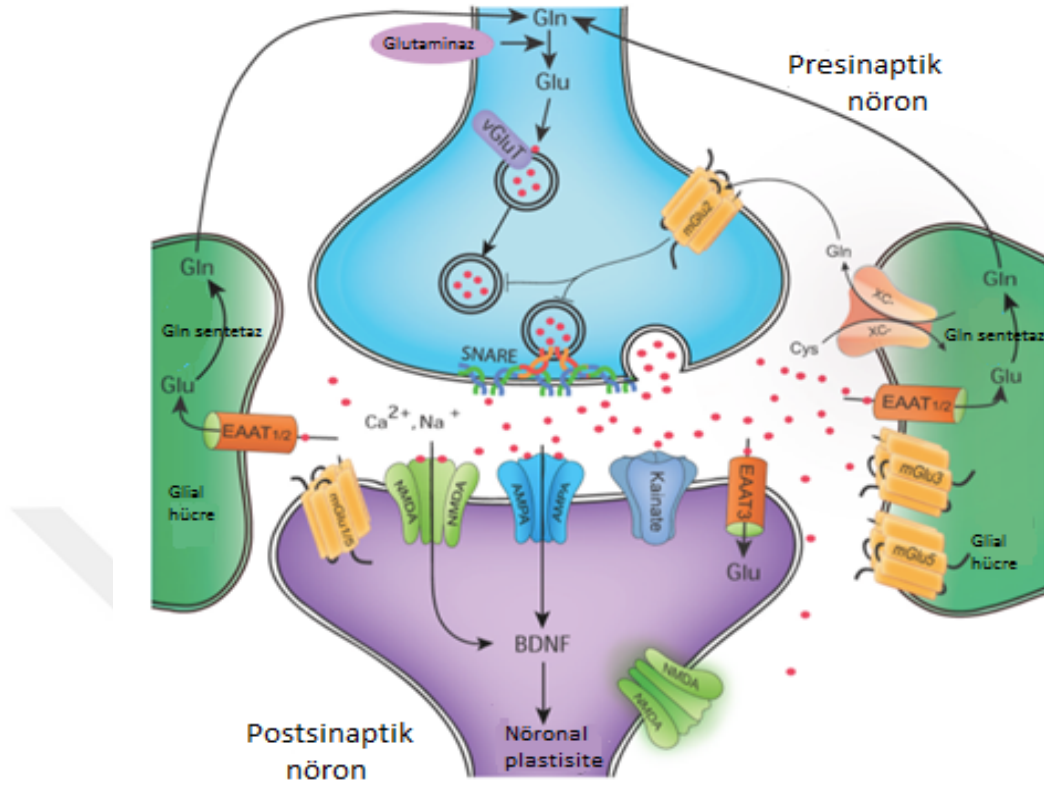
Günümüzde 3 vGLUT taşıyıcısı bilinmektedir; vGLUT1 ve vGLUT2 primer olarak glutamaterjik nöronlarda, vGLUT3 ise GABAerjik, kolinerjik monoerjik nöronlarda bulunabilmektedir (Fremeau ve ark., 2004).

Glutamaterjik sinaps; yüksek düzeyde eksitator amino asit transporterları (EAAT) bulunan astrosit hücreleri ile çevrelenmiştir ve bu EAAT'ler tarafından glutamat ekstraselüler aralıktan alınır (Niciu ve ark., 2012; Chaudhry ve ark., 1995).

Beş farklı EAAT (EAAT1-5) mevcuttur; EAAT1 ve EAAT2 primer olarak astrositiktir (Zhou ve Danbolt, 2013). EAAT1, neokorteks ve serebellumda bulunmakta olup astrositlerle sınırlıdır; EAAT2, ön beyinde çoğunlukla astrosit ve nadir olarak da nöronların üzerinde bulunur (Niciu ve ark., 2012). Glutamat transportunun %90'ı EAAT2 aracılığıyla düzenlenir (Lewerenz ve Maher, 2015). EAAT3 nöron spesifiktir ve GABAerjik presinaptik nöron uçlarında yüksek miktarda bulunur (Niciu ve ark., 2012). EAAT4 ise sadece serebellar purkinje nöronlarının dendritlerinde mevcuttur, EAAT5 ise retina-spesifiktir (Niciu ve ark., 2012). Bu transporterlar, her glutamat molekülü için iki ya da üç molekül sodyum ve protonun ko-transportunu gerçekleştirirken, potasyum iyonunun ise kontra-transportu gerçekleştirir (Zerangue ve Kavanaugh, 1996). Dolayısıyla, bu iyonların elektrokimyasal gradiyentlerinden yararlanarak, hücre içinde glutamat toplanması sağlanır (Lewerenz ve Maher, 2015)

Astrositlerde glutamat glutamine glutamin sentetaz aracılığıyla dönüştürülür ve nöronlar tarafından tekrar alınabilmesi için ekstraselüler aktarımı gerçekleştirilir (Niciu ve ark., 2012).

Gliyalarda bulunan sistin/glutamat antiportu (xc-) ise non sinaptik ekstraselüler glutamat düzeylerini regüle eder. (Miladinovic ve ark.,2015). xc- sistemi ekstraselüler sistin ve intraselüler glutamatın hücresel plazma membranından 1'e 1 oranında değiş tokuşunu düzenler (Bridges ve ark., 2012; Niciu ve ark., 2012) (Şekil 1).



Şekil 1. Glutamat nörotransmisyonu (Niciu ve ark., 2012). Glutamin glutamata glutaminaz aracılığıyla dönüştürülür. Glutamat veziküller glutamin transporter proteinleri aracılığıyla presinaptik veziküllere alınır ve SNARE proteinleri ile veziküler etkileşimlere bağlı olarak voltaj bağımlı bir şekilde salınır. Sinaptik salınımı gerçekleşen glutamat ekstraselüler ortamdan EAAT'ler aracılığıyla alınır. Astrositlerde glutamat glutamine glutamin sentetaz tarafından dönüştürülür ve nöronlar tarafından tekrar alınabilmesi için ekstraselüler aralığa salınır. Ayrıca sistin/glutamate antiportu olan xc- sistemi de glutamat döngüsünde katkıda bulunur. Glutamat reseptörleri presinaptik ve postsinaptik nöronlar ile birlikte glial hücrelerde de bulunabilir. Glu; Glutamat, Gln; Glutamin, xc-; sistin/glutamate antiport sistemi, EAAT; Eksitator amino asit transporterları

Glutamat reseptörleri; ionotropik (NMDA, AMPA, kainat) ve metabotropik (mGluR) reseptörler presinaptik postsinaptik nöronların yanında glial hücrelerde de bulunur (Niciu ve ark., 2012). Glutamatın etkisi; reseptör alttipi, lokalizasyonu (sinaptik, perisinaptik, ekstrasinaptik) ve sinyal proteinler ile etkileşimine bağlı olarak değişir (Niciu ve ark., 2012). Glutamat reseptör stimülasyonu, sadece hızlı ionotropik etki değil sinaptik plastisitede de etkiler meydana getirir (Niciu ve ark., 2012).

4.3.2.3. Major depresif bozuklukta glutamaterjik sistemin rolü

Beyinde glutamaterjik sinyal değişiklikleri genellikle bölgeye spesifik olarak gerçekleşir (Miladinovic ve ark., 2015).

Major depresif bozuklukta serebrospinal sıvıdaki glutamin miktarında, serum/plazmada ise glutamat düzeyinde artış gözlenmiştir (Levine ve ark., 2000; Mitani ve ark., 2006).

Major depresif bozukluk tanılı hastalarda manyetik rezonans spektroskopisinde prefrontal korteks ve anterior singulat kortekste glutamat düzeylerinde azalma gözlenmiştir (Auer ve ark., 2000; Hasler ve ark., 2007). Ayrıca depresyon hastalarında postmortem hipokampal örnekler üzerinde yapılan klinik incelemelerde AMPA (α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit) reseptör altünitelerini kodlayan genlerin ekspresyonunda azalma olduğu bulunmuştur (Duric ve ark., 2013).

Depresyon hastalarında prefrontal korteks, amigdala ve anterior singulat kortekste glial hücre dansitesi eksiklikleri ve nöron boyutunda azalma rapor edilmiştir (Miladinovic ve ark., 2015). Glial hücreler ekstraselüler glutamat konsantrasyonlarını regüle etmekte rol oynadığı için glial hücre eksiklikleri glutamat akümülyasyonuna ve onu takiben sinapslarda eksitotoksisiteye neden olabilmektedir (Miladinovic ve ark., 2015).

4.3.3. Major depresif bozuklukta HPA aksı disregülasyonu

Adrenal kortizol salınımı büyük ölçüde limbik sistem-hipotalamus-hipofiz ve adrenal eksenini tarafından düzenlenir (Türkçapar, 2001). Hipotalamustaki paraventricüler çekirdekten kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) salgılanır (Türkçapar, 2001). Hipotalamustan CRH salınımı, limbik nörotransmitter aktivitesi ve hipokampus tarafından belirlenir. (Türkçapar, 2001). CRH hipofizer portal dolaşım yoluyla ön hipofize ulaşır buradaki kortikotrop hücrelere etki ederek

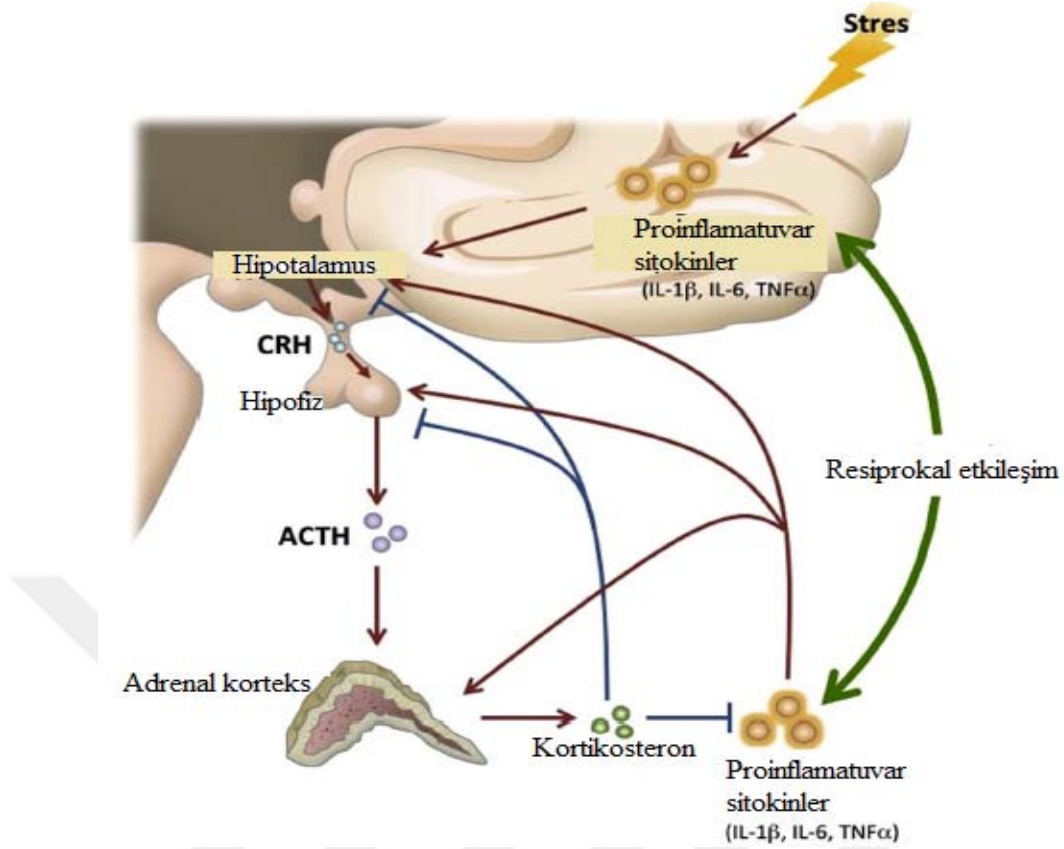
adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve onunla birlikte β -endorfin ve β -lipotropin salınımına yol açar (Türkçapar, 2001). Sistemik dolaşıma katılan ACTH böbrek üstündeki adrenal bez korteks hücrelerinde bulunan reseptörlerine bağlanarak glukokortikoid; insanlarda kortizol, sıçanlarda ise kortikosteron salgılanmasına yol açar (Türkçapar, 2001; Pariante ve Lightman, 2008). Dolaşıma katılan kortizol ise kan beyin bariyerini geçebilir ve hedef organlarda kendi reseptörlerini uyararak etkisini gösterir (Türkçapar, 2001).

Kortizol HPA eksenini; hipofizin ACTH üreten kortikotrop hücreleri, hipotalamus ve hipokampus düzeylerinde negatif feedback ile inhibe eder (Türkçapar, 2001). Glukokortikoidlerin ACTH salınımından sorumlu olan ön hipofizdeki hücreler üzerine inhibitör etkisi başlıca; hızlı ve yavaş feedback olmak üzere iki yolla gerçekleşir (Türkçapar, 2001). Bunlardan ilki olan kortizolün kandaki artış ve düşüş hızına duyarlı hızlı feedback düzeneği, hipokampüsteki glukokortikoid reseptörleri aracılığıyla işlemekte gerçekleşir ve kortizol artışı ACTH salınımının azalması ile sonuçlanır (Türkçapar, 2001). İkinci inhibisyonun ise, kandaki kortizolün kararlı durum konsantrasyonuna duyarlı yavaş feedback düzeneği ile hipofizer ve adrenal reseptörler aracılığıyla işlediği düşünülmektedir. (Türkçapar, 2001). Kortizolün yanısıra ACTH'ın da benzer şekilde merkezi inhibitör etkisi bulunmaktadır (Türkçapar, 2001). CRH periferik sempatik ve adrenomeduller sistemi aktive eder; hem noradrenalin hem de dopamin çevrimini (turn-over) bütün beyin bölgelerinde artırır (Türkçapar, 2001).

Glukokortikoidler nöronal sağkalım, nörogenез, hipokampus gibi kompleks anatomik yapıların boyutlarını, yeni anıların kazanılmasını ve olayların duygusal olarak değerlendirilmesini regüle eder (Pariante ve Lightman, 2008). Stres ve beyin fonksiyonları bağlamındaki rolü göz önüne alınırsa, HPA aksının psikiyatrik bozukluklarda, özellikle de major depresyonda anormal bulunması şaşırtıcı değildir (Pariante ve Lightman, 2008).

Major depresyonda, HPA ekseninde BOS (beyin omurilik sıvısı)'da gözlenebilen CRH aşırı salınımı, hipofizde büyüme, depresif epizod süresince kortizol salınımında özellikle akşamları ve gece olmak üzere artış gözlenmiştir (Türkçapar, 2001).

İnflamatuvar sitokinler, muhtemelen artmış IL-1 β (interlökin 1 β) düzeylerine bağılı olarak depresyonda artmış aktivitesi olan HPA aksının potent aktivatörleridir (Iwata ve ark. 2013). Yapılan bir meta analize göre depresyon hastalarının yaklaşık %73'ünde deprese olmayan bireyler ile karşılaştırıldığında artmış kortizol seviyeleri vardır (Iwata ve ark. 2013). IL-1 β hipotalamik kortikotropin saliverici hormon salınımını, pitüiter adrenokortikotropik hormon sekresyonunu ve adrenal steroidogenezi artırır (Iwata ve ark. 2013). Azalan glukokortikoid reseptör (GR) ekspresyonu ve fonksiyonu ve negatif feedbackte azalma ise HPA aksının IL-1 β aktivasyonuna katkı sağlar (Iwata ve ark. 2013). GR disfonksiyonunun rolü glukokortikoid direnci ile uyumludur bu da depresyon hastalarındaki IL-1 β artışı ile ilişkilidir (Iwata ve ark. 2013). Bu direnç HPA aksındaki inflamatuvar sitokin aktivasyonu neticesinde oluşmuş olabilir ve glukokortikoidler IL-1 β oluşum ve salınımını innhibe ettiği için kafa karıştırıcıdır (Iwata ve ark. 2013). Bu devamlı sürdürülen glukokortikoid düzeyleri hipokampüs ve medial prefrontal kortekste piramidal nöronlarda atrofiye neden olabilir böylece depresif semptomlara katkı sağlayabilir (Iwata ve ark. 2013). Bu etkiler yetişkin hipokampüsündeki eksitotoksisite, azalmış BDNF ekspresyonu ve/ve ya azalmış nörojeneze bağılı olabilir (Iwata ve ark. 2013). Hipokampal fonksiyonda düşüş ve negatif feedback aynı zamanda HPA aksının aşırı aktivasyonuna katkı sağlayabilir (Iwata ve ark. 2013 (Şekil 2).



Şekil 2. Hipotalamo-pitüiter-adrenal-eksen (Iwata ve ark., 2013). Proinflamatuvar sitokinler HPA aksını aktive eder. Hipotalamik CRH da hipofizi stimule eder sonucunda hipofizden ACTH salgılır ve bu adrenal korteksin uyarılmasına neden olur. Salınan glukokortikoid hipotalamus ve hipofiz yoluyla HPA aksına ve hipokampüse negatif feedback sağlar. Glukokortikoidler; proinflamatuvar sitokinleri normal şartlarda da suprese eder fakat depresyon hastalarında sitokin seviyeleri yüksek kalmaktadır. Yüksek glukokortikoid düzeyleri varlığında HPA aksının sitokin-aktivasyonu, HPA aksı hemostatik mekanizmalarının bozulmasından kaynaklanabilir. Bu inflamatuvar sitokinlerin hipotalamus, hipofiz ve adrenal korteks dahil HPA aksının her basamağını aktive edebilmesidir. Bu durumda glukokortikoid reseptör aracılı negatif feedbackinin bozulabilir. Bu modelde, beyindeki inflamatuvar sitokinler stres ile direk olarak aktive edilir. Ayrıca beyin proinflamatuvar sitokinleri karşılıklı olarak periferik sitokinleri etkileyebilir, bu da HPA aksını aktive edebilir ve diğer beyin bölgelerini etkileyebilir. Beyin ve periferde artmış proinflamatuvar sitokinler glukokortikoidler tarafından yapılan negatif feedbacki bozar (Iwata ve ark., 2013). CRH: Kortikotropin salgılatıcı hormon; ACTH; Adrenokortikotropik hormon

4.3.4. Major depresif bozukluğun BDNF üzerindeki etkisi

Hipokampus, yetişkin beyninde nöronal büyüme, hayatta kalma, olgunlaşma ve dallanmada ve sinaptik plastisitede major rol üstlenen BDNF açısından zengindir (Palazidou, 2012).

Stres hipokampüste BDNF sentezini suprese etmekle birlikte, antidepresan ilaçlar hipokampüste ve prefrontal kortekste sentezini ve sinyalini arttırmaktadır (Palazidou, 2012).

Depresyon hastalarında serum BDNF konsantrasyonları depresyonun şiddeti ile orantılı olarak düşüktür (Palazidou, 2012). Postmortem yapılan bir çalışmada, antidepresan tedavi alan ve almayan hastalar arasında ölüm zamanlarındaki, hipokampus BDNF konsantrasyonları arasında belirgin fark bulunmuştur (Palazidou, 2012).

Sıçanlarda kronik stres depresyon modelleri üzerine yapılan çalışmalar; özellikle hipokampüsteki dentat gyrusda BDNF mRNA ve protein seviyelerinde azalma olduğunu ve kronik antidepresan tedavisinin bu etkileri tersine çevirdiğini göstermiştir (Gerhard ve ark., 2016).

Santral ve periferik BDNF uygulamasının antidepresan benzeri etki gösterdiği bulunmuştur (Gerhard ve ark., 2016). Ayrıca, hipokampüsteki BDNF over-ekspresyonu, kronik strese bağlı gelişen depresyon-benzeri davranışların gelişimini önlemektedir (Gerhard ve ark., 2016). Ergenlik döneminde BDNF knock-downu, depresyon-benzeri davranışlara neden olmaktadır (Gerhard ve ark., 2016).

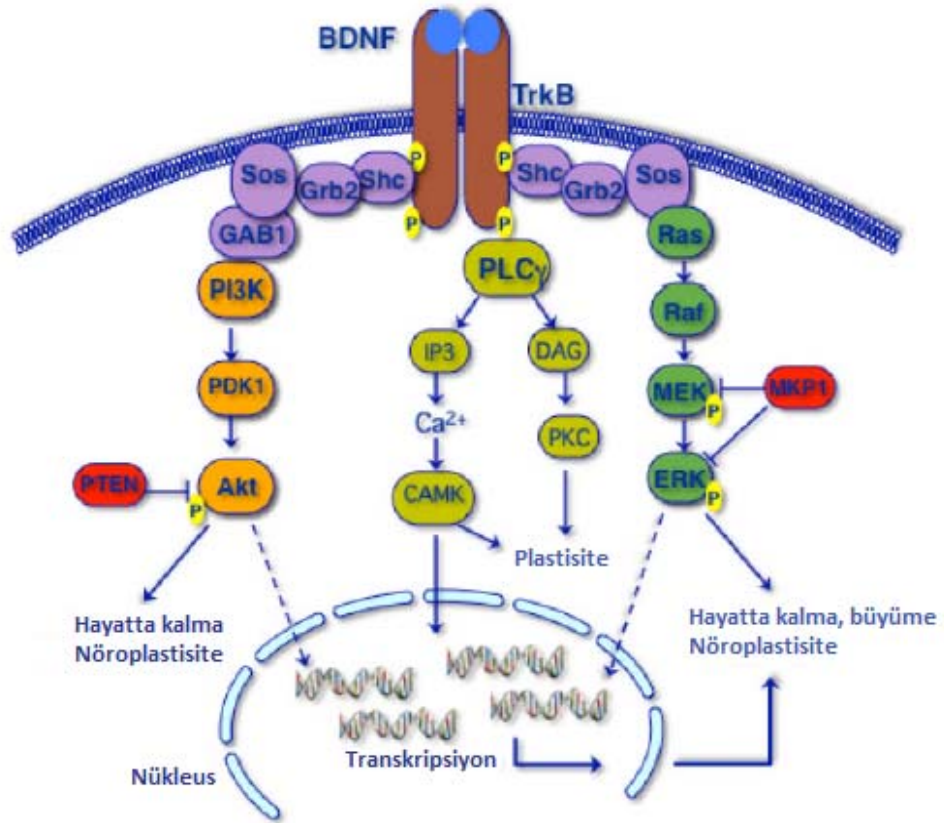
Strese duyarlılık ve dirençlilik bakımından bireysel farklar, BDNF ve genetik polimorfizm ile, özellikle de kodon 66'daki Val/Met alel polimorfizmi ile ilişkilidir (Gerhard ve ark., 2016). Met aleli aktiviteye bağımlı BDNF salınımını ve sürecini bloke eder ve depresyon ve strese duyarlılıkta artış ile ilişkilidir (Gerhard ve ark., 2016)

Ras-MAPK (Mitojen aktive edici protein kinaz) ve PI3K (Fosfatidil inositol-3 kinaz)-Akt (Serin treonin kinaz, protein kinaz B) gibi BDNF aracılı sinyal yolları depresyonda ve tedavi yanıtında rol oynamaktadır (Duman ve Voleti, 2012). Son yıllarda yapılan çalışmalar ERK (Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz) sinyalinin kronik stres ile azaldığı; antidepresan tedavisi ile tersine çevrildiğini ve ERK sinyal blokajının depresif ve anksiyete davranışlarına neden olduğunu göstermiştir (Duman ve Voleti, 2012). Postmortem çalışmalar; depresif ve intihar etmiş hastalarda,

hipokampüste Raf, MEK (MAP/ERK kinaz) ve ERK seviyelerinin düşük olduğunu raporlamıştır. Ayrıca depresyon hastalarının postmortem hipokampüslerinde, MEK-ERK yolağı negatif regülatörü olan MAP kinaz fosfataz 1 (MKP1) ekspresyonu artmıştır (Duman ve Voleti, 2012).

Rodent hipokampüsünde de kronik stresin MKP1 ekspresyonunu arttırdığı ve antidepresan tedavinin bunu geri çevirdiği bulunmuştur (Duman ve Voleti, 2012).

İntihar etmiş depresyon hastalarının, prefrontal ve oksipital kortekslerinde Akt azalmıştır (Duman ve Voleti, 2012). İntihar eden hastaların prefrontal korteks ve hipokampüslerindeki Akt fosforilasyon ve katalitik aktivitesi de azalmıştır, bunun da Akt'ın yukarı yolak negatif regülatörü olan PTEN (fosfataz ve tensin homologu) ekspresyonundaki artıştan kaynaklandığı düşünülmektedir (Duman ve Voleti, 2012). (Şekil 3).



Şekil 3. BDNF-TrkB sinyal yolları (Duman ve Voleti, 2012). BDNF'in ekstraselüler TrkB bölgesine bağlanması intraselüler tirozin kinaz bölgesinin dimerizasyonuna ve aktivasyonuna neden

olur. Bunun sonucunda tirozin rezidüleri otfosforilasyona uğrar ve adaptör proteinler ile etkileşimi ve Ras-MAPK, PI3K/Akt ve PLC- γ yolları gibi intraselüler sinyal yollarının aktivasyonu için bölge görevi yapar. TrKB'nin tirozin 515 fosforilasyonu, Shc adaptör proteinin bağlanmasına ve sonrasında Grb2 ve SOS bağlanmasına ve Ras-MAPK yolağının aktivasyonuna neden olur. Shc-Grb2 ayrıca GAB1 bağlanmasına ve PI3K-Akt yolağının aktivasyonuna neden olur. TrKB tirozin rezidü 816'nın fosforilasyonu PLCg bağlanması ile sonuçlanır bu da IP3 oluşumuna ve intraselüler Ca⁺⁺ ve DAG regülasyonuna neden olur. Sonucunda CAMK ve PKC aktive olur. Bu yollar sinaptik plastisite, hayatta kalma, büyüme, farklılaşma gibi pek çok hücrel fonksiyonu kontrol eder. Çalışmalar BDNF ve Ras-MAPK, PI3K-Akt yolağı komponentlerinin stres ve depresyonla azaldığı ve antidepresan tedavi ile arttığını göstermiştir (Duman ve Voleti, 2012). IP3; inositol trifosfat, PI3K;fosfatidil inositol-3 kinaz, TrKB; Tropomiyozin Reseptör Kinaz B, PLC- γ ;fosfolipaz C, Akt;serin treonin kinaz, Shc; Src homology 2 domain içeren adaptor protein, Grb2; Büyüme faktörü reseptör-bağlayıcı protein 2, SOS; son of sevenless, GAB1; Grb2-ilişkili bağlayıcı-1), PLCg;Fosfolipaz Cg, DAG; Diaçilgliserol, CAMK; Ca⁺² Kalmodulin-bağımlı protein kinaz, PKC; Protein Kinaz C.

4.3.5. Major depresif bozuklukta GSK3 sinyali

GSK3 (glikojen sentaz kinaz 3) beyinde yaygın bir biçimde eksprese olur ve iki formu bulunur her ikisi de fosforilasyon ile inhibe olur (Duman ve Voleti, 2012). Lityum direk olarak GSK3'ün katalitik aktivitesini inhibe eder; aynı zamanda bazı terapötik dozlarda fosforilasyonunu artırır (Duman ve Voleti, 2012). GSK3'ü fosforile edip inhibe eden birkaç kinaz vardır ve bunlardan biri Akt'tır (Duman ve Voleti, 2012). Lityum aracılı GSK3 fosforilasyonu Akt/b-arrestin/protein fosfaz 2A (PP2A) kompleksinin bozulması aracılığıyla gerçekleşir (Duman ve Voleti, 2012). GSK3 aynı zamanda SSRI antidepresanlarla 5-HT1A reseptörleri aktivasyonu aracılığıyla fosforile ve inhibe edilir (Duman ve Voleti, 2012). SSRI aracılı GSK3 fosforilasyonu hızlıca, saatler içinde ortaya çıkar. GSK3'ün primer hedeflerinden biri beta-katenin'dir ve beta-katenin fosforile olduğunda protozomal degradasyon için hedef haline gelir (Duman ve Voleti, 2012).

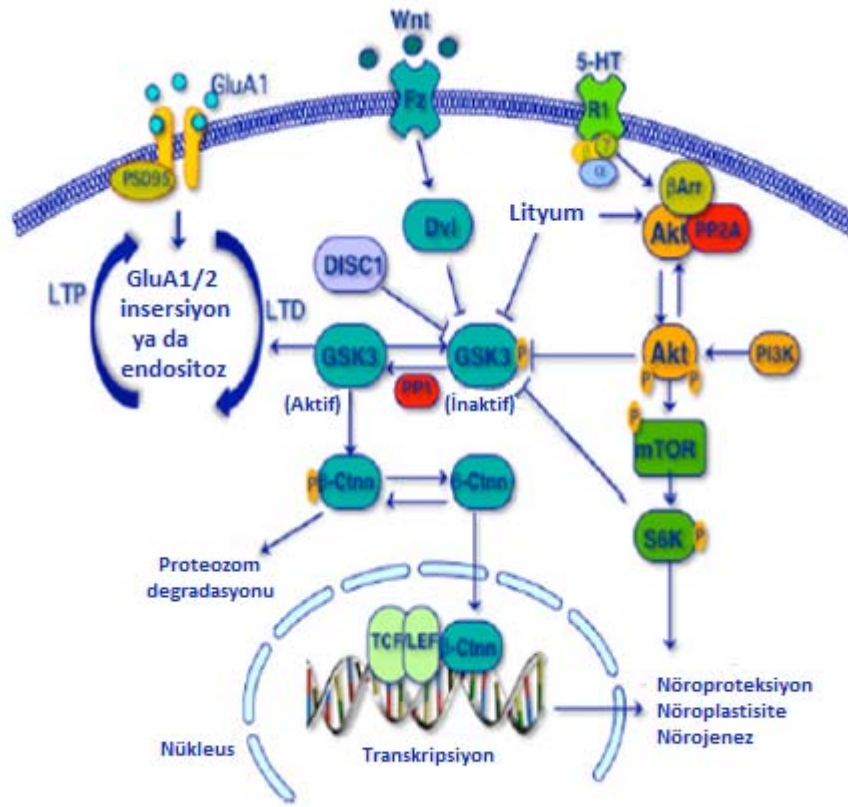
GSK3 inhibisyonu degradasyonu azaltır ve selüler lokalizasyona bağlı olarak gen transkripsiyon regülasyonu ya da hücre yapısı desteği olarak beta-katenin mevcudiyetini artırır (Duman ve Voleti, 2012). Beta-kateninin transkripsiyonal etkileri T-hücre faktörü (TCF) ve Lef (lymphoid enhancer-binding protein) arasındaki etkileşimler ile aracılığıyla gerçekleşir ve hücre spesifik hedef gen ekspresyonu ile sonuçlanır (Duman ve Voleti, 2012). GSK3 aynı zamanda CREB (cAMP response element-binding), hipokampal nörojenesis ve nörokorumayı regüle

eder (Duman ve Voleti, 2012). GSK3 amiloid beta-peptidlerin üretimini artırır ve monosit, mikroglia ve astrositlerdeki inflamatuvar yanıtlara katkı sağlar.

GSK3, depresyon, bipolar bozukluk, şizofrenide artmış insidansa sahip DISC1 geninin hedefidir (Duman ve Voleti, 2012). DISC1 fonksiyon kaybı nöronal progenitörlerin proliferasyonunda azalmaya ve davranışsal bozukluklara neden olabilmekte ve GSK3 inhibisyonu ile tersine çevrilebilmektedir (Duman ve Voleti, 2012).

Wnt (*drosophila wingless*) ve Fz (*frizzled*) reseptör sinyal sistemi GSK3'ün yukarı yolak regülatörleridir (Duman ve Voleti, 2012). Wnt sinyali, gelişme sırasında hücre büyüme ve farklılaşmasında rol oynar (Duman ve Voleti, 2012). Pek çok Wnt izoformları ve Fz reseptör alttipleri ve ilgili sinyal molekülleri, yetişkin beyinde nöronların hayatta kalma, fonksiyon ve plastisitede rol oynar (Duman ve Voleti, 2012). Wnt sekresyonu ve Fz reseptörlerine bağlanması Dsh (scaffolding protein disheveled) aktivasyonuna ve GSK3 inhibisyonuna neden olur (Duman ve Voleti, 2012).

Mikrodizilim çalışmaları, rodent hipokampüsünde antidepresanların, Wnt, Fz, Dsh reseptörleri ve altyolak transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonlarını regüle ettiği göstermiştir (Duman ve Voleti, 2012). Kronik antidepresan tedavisinin hipokampüste Wnt2 ekspresyonunu arttırmaktadır (Duman ve Voleti, 2012). Rodentlerde Fz6 knock-downı depresif ve anksiyete davranışlarına neden olmaktadır (Duman ve Voleti, 2012) (Şekil 4).



Şekil 4. Wnt-Fz ve GSK3 sinyal yolları (Duman ve Voleti, 2012). Wnt Fz'ye bağlanan LRP5 ko-reseptörüdür. Wnt aktivasyonu Dvl aktivasyonuna ve GSK3 inhibisyonuna neden olur. GSK3 aktivitesi fosforilasyon ile azalır bu da pek çok farklı kinaz özellikle de Akt aracılığıyla oluşur. GSK3'ün hedeflerinden biri β -Ctnn'dir. Beta katenin nükleusa transloke olabilir, TCF/LEF etkileşimi ile gen transkripsiyonunu artırabilir ya da hücre membranında yapısal etkilere meydana getirebilir. GSK3 aktivitesi lityum ve özellikle Akt olmak üzere birdizi sinyal yolağı ile inhibe edilir. Lityum GSK3'ü Akt'ı defosforile ve inaktif formda tutan Akt/b-arrestin2/PP2A kompleksini bozarak bloke eder. GSK3 ayrıca antidepresan yanıt meydana getiren pek çok sinyal yolağı ile bloke edilir (Duman ve Voleti, 2012). LRP5; Düşük dansite lipoprotein reseptör ilişkili protein 5; β -Ctnn; beta katenin

4.3.6. Major depresif bozuklukta immunolojik mekanizmalar

Depresyon patofizyolojisinde immunolojik mekanizmaların da rol oynadığı bilinmektedir (Palazidou, 2012). Proinflamatuvar sitokinler; letarji, iştah kaybı ve yorgunluk gibi depresyon semptomları ortaya çıkarmaktadır (Palazidou, 2012; Iwata ve ark., 2013). Ayrıca sitokinlerin duygu durumu etkileyerek, disfori ve anksiyeteye neden olduğu bilinmektedir (Iwata ve ark., 2013).

Ciddi depresyon olguları, immün aktivasyon ve artmış sitokin konsantrasyonları ile ilişkilidir (Palazidou, 2012). Artmış proinflamatuvar sitokin seviyelerinin, periferik triptofan (serotonin prekürsörü) eksikliği ile de ilişkili olduğu bulunmuştur (Palazidou, 2012).

4.3.6.1. Sitokin hipotezi ve inflamazom

Tanımlanmış beş kalıp tanıma reseptörü vardır; bunlar; Toll-benzeri reseptörler (TLR'ler), NOD (nükleotid bağlama oligomerizasyon domaini)-benzeri reseptörler (NLR'ler), RIG-1(retinoik asit induklenebilir gen-1)benzeri reseptörler (RLR'ler), C-tipi lektinler (CTL'ler) ve AIM (absent-in-melanoma)-benzeri reseptörler (ALR'ler)'dir (Kim ve ark., 2016). NLR, RLR, ALR reseptörleri intraselüler kalıp tanıma reseptörleri iken TLR ve CTL reseptörleri plazma membranında bulunur (Kim ve ark., 2016).

NLR proteinler, ortak olarak merkezinde NOD (NACHT: NAIP, CIITA, HET-E, ve TP-2), N- terminal ucunda efektör bölge, C-terminal ucunda ise lösinden zengin tekrarlayan bölge içerirler. (Kim ve ark., 2016). NACHT bölgesi dNTPaz aktivitesi ve oligomerizasyon ile ilişkilidir (Kim ve ark., 2016). C- terminal LRR bölgesi ise ligand bağlama ve aktivatör algılanmasında rol oynar (Kim ve ark., 2016). N terminal bölgesi ise diğer proteinler ile etkileşerek efektör fonksiyonları gerçekleştirir (Kim ve ark., 2016). Tanımlanmış 4 farklı N-terminal bölge vardır ve NLR'lerin 4 farklı alt grubunu oluşturur (Kim ve ark., 2016). Bunlar asidik transaktivasyon bölgesi (NLRA), bakuloviral inhibitör tekrar eden bölge (NLRB), kaspaz aktivasyon ve bağlanma bölgesi (CARD;NLRC) ve pirin bölgesidir (Kim ve ark., 2016).

NLRA alt grubunun sadece tek bir üyesi vardır bu da MHC-II transaktivatör (CIITA)'dır (Kim ve ark., 2016). Aynı şekilde NLRB alt grubunun da tek üyesi vardır; bu da NAIP'dir (Kim ve ark., 2016). NLRC ailesinin ise 6 üyesi vardır bunlar; NLRC1 (NOD1), NLRC2 (NOD2), NLRC3, NLRC4, NLRC5, ve

NLRX1'dir. NLRP ailesinin ise 14 üyesi vardır; NLRP1-14 (Nod benzeri reseptör protein-1-14) (Kim ve ark., 2016).

NLR'ler mikrobiyal patojenlerden (peptidoglikan, viral RNA vb) konakçı hücrelerden (ATP, kolesterol kristalleri, ürik asit vb) ve çevresel kaynaklardan (asbesti silika, UV radyasyonu vb.) çeşitli ligandları algılar (Kim ve ark., 2016). Pek çok NLR, kalıp tanıma reseptörü gibi çalışarak yukarıdaki ligandları tanır ve inflamatuvar yanıtları aktive eder (Kim ve ark., 2016). Aktive NLR'lerin dört fonksiyonu vardır bunlar; inflamazom oluşumu, sinyal transdüksiyonu, transkripsiyon aktivasyonu ve otofajidir (Kim ve ark., 2016)

NOD1; sadece gram negatif bakterilerde bulunan bir peptidoglikan olan γ -D-glutamyl-meso-diaminopimelic acid (iE-DAP)'i algılar (Kim ve ark., 2016). NOD2 ise gram pozitif ve gram negatif bakterilerde bulunan MDP'yi tanır (Kim ve ark., 2016). Hem NOD1 hem NOD2 ise; host-immun yanıtı regüle etmede önemli bir rol oynayan nükleer faktör kappa B (NF- κ B) sinyal yolağını aktive eder (Kim ve ark., 2016). Sitolitik peptidoglikan ligandlarının tanınması, NOD1/NOD2'nin serin/treonin kinaz olan ve NF- κ B'yi aktive eden RIP2 (reseptör etkileşim proteini 2) ile etkileşmesine izin verir (Kim ve ark., 2016). Aktive olan NF- κ B nukleusa hareket eder ve proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunu artırır (Kim ve ark., 2016). NOD1/NOD2'nin aksine NLRC3 ve NLRP2/4 TRAF6 [tümör nekroz faktör (TNF) reseptör ilişkili faktör 6]'yı modifiye ederek NF- κ B yolağının negatif regülatörleri olarak rol oynar (Kim ve ark., 2016). NLRP6 and NLRP12'nin de negatif regülatörler olduğu düşünülmektedir (Kim ve ark., 2016). NOD1/NOD2 NF- κ B yolağının aktivasyonuna ek olarak MAPK yolağını da aktive eder ve bunun sonucunda proinflamatuvar sitokin sekresyonu gerçekleşir (Kim ve ark., 2016).

Temel doku-uygunluğu bileşeni (MHC) genleri ve bunların yardımcı molekülleri adaptif immun yanıt için çok önemlidir (Kim ve ark., 2016). Son yıllardaki çalışmalar NLRC5'in MHC sınıf I geni ekspresyonunda elem bir rol üstlendiğini göstermiştir (Kim ve ark., 2016). interferon- γ tarafından uyarılan NLRC5, MHC sınıf I geni transaktivatörü olarak rol oynar (Kim ve ark., 2016).

Otofaji hücrelerin yok etmek ya da turn over amacıyla kendi kendilerinin sitoplazma parçalarını sindirdiği temel selüler homeostatik bir mekanizmadır (Kim ve ark., 2016). NOD1 ve NOD2'nin otofajiyi başlatabildiği bilinmektedir (Kim ve ark., 2016). NLRP4 ise otofajik süreçlerin negatif regülatörü olarak bilinir (Kim ve ark., 2016).

TLR'ler, immün hücrelerin hücre yüzeyinde bulunur ve patojen-ilişkili moleküler kalıpları tanıır (Iwata ve ark., 2013). Sonucunda IL-1 β , IL-6 ve TNF α gibi proinflamatuvar alarm sitokinler salınır (Iwata ve ark., 2013). TLR yanıtı olarak oluşan TNF- α , IL-6 indüksiyonu gen transkripsiyonu aktivasyonu ile ortaya çıkar (Iwata ve ark., 2013). Pro-IL-1 β işlenmesi ve salınımı, NLRP3 (Nod-benzeri reseptör protein 3) adlı inflamazom olarak adlandırılan multiprotein kompleksi aracılığıyla meydana gelir (Iwata ve ark., 2013).

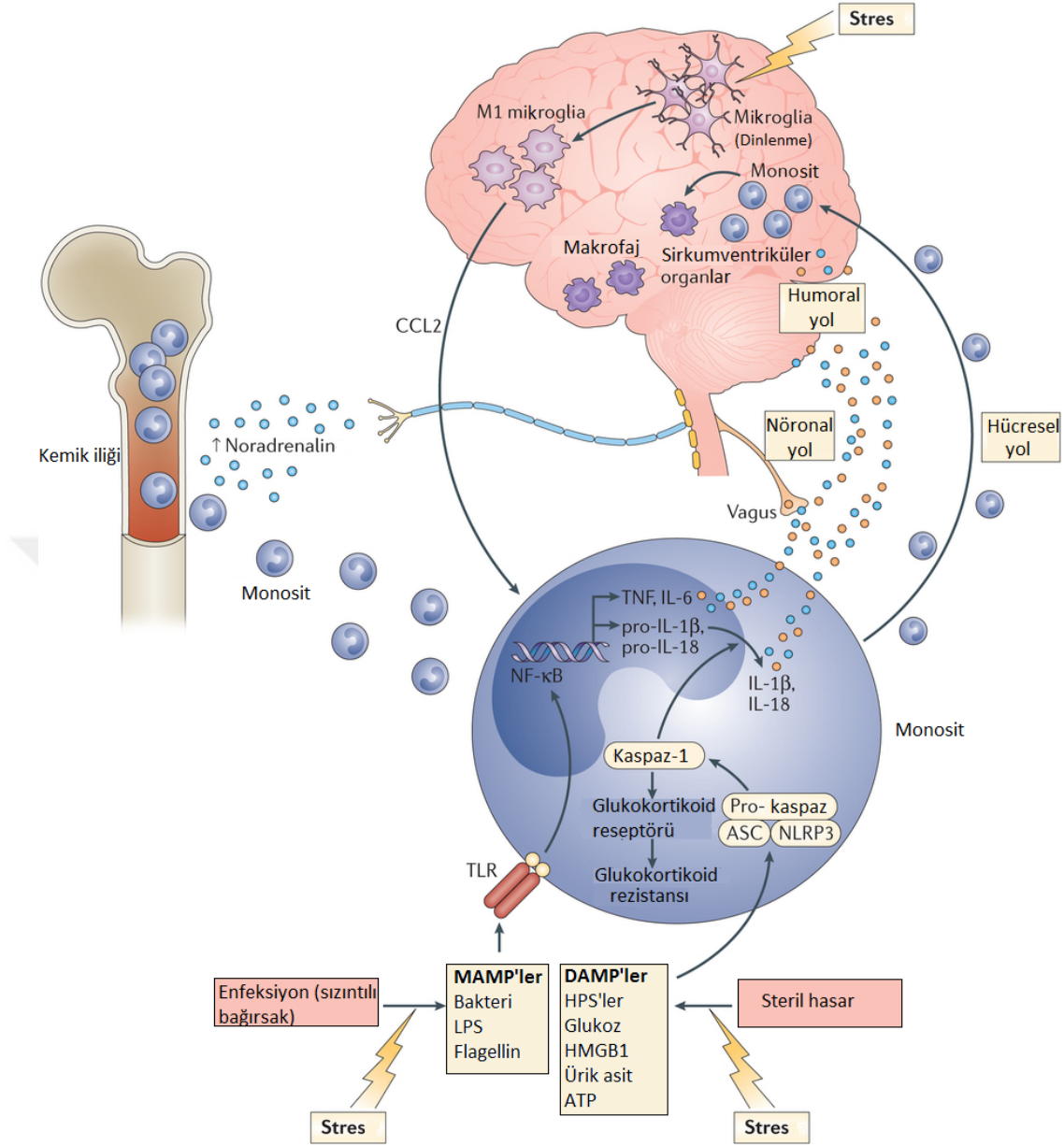
İnflamatuvar sitokinlerin, depresyon hastalarında düzeyleri artmış olmakla birlikte bunlar HPA aksının potent aktivatörleridir (Iwata ve ark., 2013). IL-1 β ; hipotalamik kortikotropin saliverici hormon salınımını, pitüiter adrenokortikotropik hormon sekresyonunu ve adrenal steroidojenezi artırır (Iwata ve ark., 2013). IL-1 β , IL-6 ve TNF α gibi pro-inflamatuvar sitokinlerin serum düzeylerinin depresyon hastalarında artmış olduğu gösterilmiştir (Iwata ve ark., 2013)

Psikolojik stres, NLRP3 inflamazomunu aktive ederek, IL-1 β salınımına neden olur (Iwata ve ark., 2013). Artmış IL-1 β seviyeleri depresif semptomların oluşmasında rol oynar (Iwata ve ark., 2013). Artmış glukoz, yağ asitleri, kolesterol kristalleri seviyeleri NLRP3 inflamazomunu aktive ederek sistemik hastalık komorbiditesine neden olabilir (Iwata ve ark., 2013). Psikosomatik hastalıkların da NLRP3 inflamazomu aracılığıyla sistemik hastalara neden olan psikolojik stresörler sonucunda ortaya çıkabileceği düşünülmektedir (Iwata ve ark., 2013).

İnflamazomlar patojenik mikroorganizmalara ve patojenik olmayan ya da steril stresöre yanıt olarak miyeloid hücrelerden şekil alan sitozolik protein kompleksleridir (Miller ve Raison 2016). Bugüne kadar 4 inflamazom kompleksi karakterize edilmiştir; bunlar NLRP1, NLRP3, NLRC4 ve AIM2'dir (Iwata ve ark. 2013).

İnflamazom kaspaz-1'i aktive eder. (Kim ve ark., 2016). Kaspaz-1'in aktivasyonu proinflamatuvar sitokin IL-1 β ve IL-18 yapım ve olgunlaşması ve inflamatuvar hücre ölümü anlamına gelen piroptozis ile sonuçlanmaktadır (Kim ve ark., 2016; Dick ve ark., 2016). Piroptozis immun yanıtta katkı sağlar ve sonucunda tehlike ilişkili moleküler kalıplar (DAMPs)'ın salımı gerçekleşir (Kim ve ark., 2016; Dick ve ark., 2016).

İnflamazomlar 8 NLR üyesi (NLRP1, NLRP2, NLRP3, NLRP6, NLRP7, NLRP12, NLRC4 ve NAIP) ve AIM2 tarafından aktive edilir (Kim ve ark., 2016). İnflamazom oluşumu patojen ya da steril aktivatörler ile tetiklenebilir (Kim ve ark., 2016). İnflamazomun patojen aracılı aktivatörleri bakteri, virus, fungus ve protozoalardan kaynaklanan çeşitli PAMP (Patojen ilişkili moleküler kalıplar)'lardır (Kim ve ark., 2016). Patojenlerin immun sistem tarafından tanınması kalıp tanıma reseptörleri aracılığıyla olur ve bunlardan patojen ilişkili moleküler kalıplar olarak bilinen pek çok patojen kaynaklı molekülü ve tehlike ilişkili moleküler kalıplar olarak bilinenler ise konakçı kaynaklı tehlike sinyallerini tanır (Dick ve ark., 2016). Steril aktivatörler ise kendinden kaynaklı DAMP'lar (ATP, kolesterol kristalleri, monosodyum ürat/kalsiyum pirofosfat dihidrat kristalleri, glukoz, amiloid beta, hyaluronan) ve çevre kaynaklı stimulanlar (alüminyum, asbest, silika, UV radyasyonu ve cilt iritanti) (Kim ve ark., 2016). Bu PAMP ve DAMP'lar sekiz NLR reseptörü tarafından algılanınca, NLR'ye pirin pirin alanı etkileşimi ile CARD içeren ASC (Apoptoz ile ilişkili speck benzeri protein) bağlanır (Kim ve ark., 2016). Sonrasında pro-kaspaz-1 CARD-CARD bölgesinden ASC'ye bağlanarak inflamazom yapısını tamamlar (Kim ve ark., 2016). NLRP1 prokaspaz-1 ile direk etkileşime geçen CARD bölgesi içerdiğinden, ASC olmadan da inflamazom oluşumunu sağlayabilir (Kim ve ark., 2016). NLRC4 pirin bölgesi olmadığından iki farklı inflamazom tipi oluşturabilir (Kim ve ark., 2016). ASC'nin NLRC4 inflamazomuna bağlanması IL-1 β and IL-18 üretimine neden olurken, ASC bağlanmadan oluşan NLRC4 inflamazomu piroptozis ile sonuçlanır (Kim ve ark., 2016) (Şekil 5).



Şekil 5. Depresyonda immünojenik mekanizmalar (Miller ve Raison 2016). Psikososyal stres durumunda; katekolaminler (noradrenalin gibi) aktive sempatik sinir sistem liflerinden salınarak kemik iliği üretimini stimüle eder ve miyeloid hücre (örneğin monosit) salınır. (Miller ve Raison 2016). Bu da periferik girerek, stresin başlattığı hasar-aracılı-moleküler-kalıp, bakteri ve barsaktan sızan mikrobiyal-aracılı-moleküler-kalıplar (MAMPs) bakteriyel ürünler ile karşılaşır (Miller ve Raison 2016). Bu DAMPs ve MAMPs sonrasında NF-κB, NOD-, LRR- ve pirin-kısmı-içeren protein 3 (NLRP3) inflamazomu gibi inflamatuvar sinyal yollarını aktive eder (Miller ve Raison 2016). NLRP3 stimülasyonu kaspaz-1'i aktive eder ve bu da olgun interlökin-1β ve interlökin 18 üretimine neden olurken glukokortikoid reseptörünü proteolitik yıkarak glukokortikoid rezistansına katkıda bulunur (Miller ve Raison 2016).NF-κB'in aktivasyonu tümör nekroz faktör ve IL-6 dahil diğer proinflamatuvar sitokinlerin salınımını stimüle eder, IL-1β and IL-18 ile birlikte humoral ve nöronal yollar ile beyne ulaşır (Miller ve Raison 2016). Psikososyal stres ayrıca mikroglialinin M1

proinflamatuvar fenotipine aktivasyonuna neden olarak, CCL2 salınımı ve sonucunda selüler yol ile aktive miyeloid hücrelerin beyine çekilmesini sağlar (Miller ve Raison 2016). Beyinde bir defa, aktive makrofajlar santral inflamatuvar yanıtları sürdürülmesini sağlar (Miller ve Raison 2016). NF- κ B; nükleer faktör- κ B, TNF; Tümör nekroz faktör, CCL2; CC kemokin ligand-2

NLRC4 ve NAIP, NAIP-NLRC4 inflamazomunu bakteriyel flagellin ve bakteritel tip 3 sekresyon sistemini tanımasına bağlı olarak oluşturur bu nedenle NLRC4 ve NAIP bakteriyel enfeksiyonlara duyarlılık ile ilişkilidir (Kim ve ark., 2016).

NLRP1 inflamazomu gram pozitif ve negatif bakterilerde bulunan peptidoglikan olan MDP ve antraks letal toksini ile aktive edilir (Kim ve ark., 2016). NLRP3 inflamazomu aktivasyonu ise alüminyum, silika, ATP, ürik asit gibi çeşitli PAMP'lar ve DAMP'lar ile gerçekleşir (Kim ve ark., 2016). NLRP7 ise bakteriyel lipopeptidi tanıır (Kim ve ark., 2016).

Laboratuvar hayvanlarında yapılan çalışmalar kronik hafif stresin NOD-, LRR- ve pirin alanı içeren protein 3 (NLRP3) inflamazomunu aktive ettiğini göstermektedir (Miller ve Raison 2016). NLRP3 blokajı, farelerdeki depresif benzeri davranışı ortadan kaldırırken, strese bağlı meydana gelen periferik kanda ve beyindeki IL-1 β artışını tersine çevirir (Miller ve Raison 2016).

NLRP3 inflamazom upregülasyonu ve kaspaz aracılı glukokortikoid reseptörünün proteolitik yıkımı, vücuttaki en potent antiinflamatuvar hormon olan glukokortikoidlerin etkisine rezistansa neden olabilir (Miller ve Raison 2016). Strese bağlı glukokortikoid rezistansı major depresif bozukluğa sahip hastalar için karakterize edilmiş bir biyolojik abnormalite olup artmış inflamasyon ile ilişkilidir (Miller ve Raison 2016).

NLRP3 inflamazomu ile kontrol eden inflamatuvar sitokinlerin stres ve depresyonda arttığı ile ilgili kanıtlar mevcuttur (Iwata ve ark. 2013). Pek çok çalışmada IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin depresif hastalarda düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (Iwata ve ark. 2013). Meta analiz çalışmaları özellikle en güçlü ve tutarlı kanıtın IL-6 ve TNF- α olduğunu göstermiştir (Iwata ve

ark. 2013). Başka bir çalışma ise antidepresan tedavinin IL-1 β serum düzeylerini azalttığı fakat TNF- α 'yi azaltmadığını ortaya koymuştur (Iwata ve ark. 2013).

Depresyon hastalarının periferik kan mononükleer hücrelerindeki NLRP3 ve kaspaz-1 ekspresyonundaki artış IL-1 β ve IL-18'in kan konsantrasyonunda artışı ile ilişkilidir ve depresyon derecesi ile korelasyon gösterir (Miller ve Raison 2016). Barsaktaki non-patojenik komensal bakteri ve PAMP'lar stres sırasında periferik dolaşıma sızabilir ve inflamazomları aktive edebilir. (Miller ve Raison 2016).

Momeni ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırma sonucunda depresif hastalarda ASC mRNA seviyelerinin ise, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış olduğunu göstermiştir (Dick ve ark., 2016).

4.3.7. Major depresif bozuklukta glial hücrelerin rolü ve ölçüm parametreleri

Merkezi sinir sisteminde yer alan üç glial hücre çeşidinden (astrozit, oligodendrisit, mikroglia) astrozit ya da astroglialar sayıca en fazla ve çok yönlü iş yapabilen glial hücrelerdir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Astrozitlerin iki major çeşidi olan protoplazmik ve fibroz astrozitler birbirlerinden morfoloji, biyokimya ve merkezi sinir sistemindeki yerleşim ve gelişimine göre ayrılırlar. (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Protoplazmik astrozitler gri maddede bulunur, yuvarlak nükleusları ve burdan çıkan pekçok küçük dalları vardır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Fibroz astrozitler ise protoplazmik astrozitlerden farklı olarak beyaz maddede bulunur, oval çekirdekleri ve daha az daha uzun ve daha ince dalları vardır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Astrozitler; glukoz metabolizması nörotransmitter uptakei (özellikle glutamat), sinaptik gelişim ve olgunlaşma ve kan beyin bariyeri gibi süreçleri regüle ederek nöronal mikro çevre için önem arz eder (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Major depresif bozuklukta hücre patolojisinde özellikle glial hücrelerde ve astrozitlerde azalma gözlenmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

Çeşitli hücre sayımı çalışmaları, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında major depresif bozukluk tanısı almış bireylerin glial hücre popülasyonlarında azalma

olduğunu ortaya koymuştur (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Bu azalma; dorsolateral prefrontal korteks, orbitofrontal korteks, subgenual korteks, anterior singulat korteks ve amigdalada gözlenmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Fakat Khundakar ve ark., yaşlı major depresif bozukluk yaşayan bireylerde orbitofrontal korteks ya da anterior singulat kortekste herhangi bir glial yoğunluk değişimi bulmamıştır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Ayrıca major depresif bozuklukta bireylerin dorsolateral prefrontal korteksindeki gri maddedeki glial hücre çekirdeğinin boyutunda artış ölçülmüştür (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Fakat başka bir çalışmada dorsolateral prefrontal kortekste glia boyutunda herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Astroitik hipertrofi, lokal inflamasyonu ifade ettiği için depresyonun nöroinflamasyon teorisine kanıt olarak kullanılmaktadır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

Astroitik belirteçler; glial fibriler asidik protein (GFAP), konneksin 40, konneksin 43 gibi gap junction proteinleri, su kanalı aquaporin-4, kalsiyum bağlayıcı protein S100B, EAAT1 ve EAAT2 ve glutamin sentetaz'dır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

GFAP, büyük miktarda santral sinir sistemindeki olgun ve reaktif astrosit hücrelerinde eksprese olur (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). 8 izoformu tanımlanmış olup bu izoformların fonksiyonları tamamiyle anlaşılamamıştır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). GFAP astrosit süreçlerinde ve hücre gövdelerinde eksprese olup, astrositlere mekanik güç ve şekli korumada yardımcı olduğu düşünülmektedir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Ayrıca GFAP hücre hareketi ve yapısı ile ilgili süreçlerde rol oynayıp, astrosit-nöron iletişimde rol oynadığı düşünülmüştür (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). GFAP antikoru bir astrosit-spesifik protein astrositleri diğer glial hücre çeşitlerinden ayırmak için immunohistokimyasal olarak kullanılabilir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Fakat GFAP antikoru olgun hayvan korteksindeki eksprese olan astrositlerin yalnızca %15-20'sini belirleyebilmektedir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Gri maddedeki GFAP ekspresyonu niceliği depresyonda GFAP-immunreaktif (IR) astrosit dansitesi ya da

GFAP-IR hücre gövdesini kapsayan bölge fraksiyonu adı verilen bölgeyi değerlendirerek ölçülür (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

Aynı yaşlardaki psikiyatri hastası olmayan kontrol bireyleri ile karşılaştırıldığında, depresyon hastası genç hastaların (<60 yaş) dorsolateral prefrontal kortekslerdeki gri maddedeki GFAP bölge fraksiyonu ve GFAP-IR astrosit densesinde belirgin bir azalma gösterilmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Ayrıca major depresif bozukluk tanılı genç ve yaşlı bireyler topluluğunda orbitofrontal korteksteği gri maddedeki GFAP-IR bölgesi fraksiyonunda belirgin bir düşüş gözlenmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Fakat geç başlangıçlı depresyonu olan daha yaşlı bireylerde dorsolateral prefrontal korteksteği gri maddedeki hücre densesinde ve GFAP-IR bölge fraksiyonunda artış bulunmuştur (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Bu nedenle kortikal gri maddedeki astrosit patoloji kalıbı depresyon hastası genç ve yaşlı bireylerde değişkenlik göstermektedir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

Muller ve ark. yaptığı bir çalışmada depresyonda hipokampüsteki CA1 ve CA2 bölgelerindeki GFAP-IR astrositlerinde ciddi bir azalma gösterilmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Ayrıca steroid tedavisi alan hastalarda, astrositlerdeki glukokortikoid reseptörlerine etki eden artmış glukokortikoid hormonlarının astrositlerdeki GFAP ekspresyonunun azalmasında rol oynamış olabileceğini düşündürmüştür (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

3 boyutlu kantitatif bir çalışma, antidepresan tedavisi almamış depresyon hastalarının hipokampüsünün hilusunda GFAP-IR astrosit densesinde ciddi bir azalma olduğunu göstermiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

Major depresif bozuklukta, GFAP protein seviyesi dorsolateral prefrontal ve orbitofrontal korteksteği gri maddede azalmış bulunmuştur (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Ayrıca depresyonda GFAP mRNA'nın anterior singulat korteksteği beyaz maddede daha az eksprese olduğu bulunmuştur (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Özetle, depresyonda frontolimbik kortikal bölgelerdeki, GFAP-IR astrosit fraksiyon bölge ve denseslerinde, GFAP protein ve mRNA seviyelerinde azalma meydana gelmesi major depresif bozuklukta disfonksiyonel

astrosit varlığını ortaya koymaktadır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Ayrıca astrositlerin dansitesindeki azalma; nörogörüntüleme çalışmalarında raporlanan depresyon hastalarının prefrontal kortekslerindeki hacimsel azalmayı kısmen açıklayabilir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

Depresyonda locus coeruleus, limbik talamik nuclei, putamen ve internal kapsülde glia-ilişkili gen ekspresyonunda azalma gösterilmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Chandley ve arkadaşları, depresyonda locys coeruleusta GFAP-IR dansitesinde azalmayı gözlemlemiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Ayrıca major depresyonda serebellum ve amigdalada da ciddi GFAP protein ekspresyonu ve GFAP-IR astrosit dansite azalması gösterilmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Pek çok çeşitli stres, GFAP-IR astrosit boyutunda azalmaya neden olmaktadır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Kronik hafif stres, sıçan medial prefrontal korteksindeki GFAP mRNA seviyesini belirgin şekilde azaltmaktadır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Kronik stres modelleri deney hayvanlarında GFAP ile ölçülen kortikal ve hipokampal astrositleri belirgin şekilde azalttığı; kronik stresin GFAP-IR astrositleri üzerindeki bu etkisinin kronik antidepresan tedavisi ile tersine çevrilebildiği gösterilmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

Astrositler beyinde nöroinflamatuvar ve nörodejeneratif süreçlerde rol oynamaktadır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Reaktif astrositler, mikroglia ve oligodendrisit ile birlikte interlökinler ve tümör nekroz faktör gibi çeşitli inflamatuvar sitokinlerin kaynağı ve hedefi olabilmektedir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Periferik sitokinler major depresif bozukluk ve antidepresan tedaviye yanıt biyomarkeri işlevi görebilir ve beyine girişleri astrositler tarafından sitokin oluşumunu indükleyebilmektedir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Major depresif bozuklukta C-reaktif protein (CRP), interlökin-1, interlökin-6 ve TNF- α , kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış olarak bulunur (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Prefrontal kortekste IL-1, IL-6, TNF- α protein ve mRNA düzeyleri duygudurum ve veya psikoaktif madde kullanım bozukluğu olan ergen intihar kurbanlarında belirgin şekilde artmış olarak bulunmuştur. (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

SSRI alan hastalarda plazmadaki inflamatuvar sitokin düzeyleri azalmıştır (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Astrositler aynı zamanda nöronal hasara yanıt verir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Hasara astrositik reaksiyon yanıt olarak GFAP ekspresyonu, boyutu ve sayısında artış meydana gelir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Fakat, depresyondaki astrositik patoloji GFAP ekspresyonu ve astrosit dansitedeki azalma ile karakterizedir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Bu nedenle major depresif bozukluk, hücre kaybından ziyade bozulmuş nöroplastisite ve selüler direnç ile ilişkili olarak değerlendirilir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013).

İyonize kalsiyum bağlayan adaptör protein-1 (Iba-1) ise mikroglial aktivite ölçütüdür (Calcia ve ark., 2016). Membran dalgalandırma ve fagositozda rol oynar (Calcia ve ark., 2016). Strese maruz kalmayan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, strese maruz kalan hayvanlarda hipokampüsteki Iba-1 aktivitesinin artmış olduğu gözlenmiştir (Calcia ve ark., 2016).

Kreisel ve arkadaşlarının 2014 yılında yaptığı bir araştırmada sıçanlarda kronik stres ile indüklenen depresyon-benzeri durumda mikroglial aktivasyondaki değişiklikleri incelemiştir (Kreisel ve ark., 2014). Sıçanların kronik hafif strese maruz kalmasının sükröz tercihinde ve mikroglia sayılarının dentat gyrusta belirgin medial prefrontal kortekste ise daha az belirgin azalmaya neden olduğunu gösterilmiştir (Kreisel ve ark., 2014). Ayrıca kronik hafif stres maruziyetinin mikroglial belirteçlerden CD11b ve Iba-1 mRNA ekspresyon seviyelerinde belirgin bir azalma meydana getirdiği ortaya konmuştur (Kreisel ve ark., 2014). 2 gün boyunca çeşitli öngörülemez stres uygulamasından sonra sıçanların dentat gyrusundaki Iba-1 mRNA seviyesinde %30 artış, 4 gün boyunca çeşitli öngörülemez stres uygulamasından sonra ise yaklaşık %50 artış gösterilmiştir (Kreisel ve ark., 2014). Çeşitli öngörülemez stresin uzun dönem (35 gün) uygulanmasının ise dentat gyrus Iba-1 mRNA seviyesini sıçanlarda (%35) ve farelerde ise (%27) azalttığını bulmuştur (Kreisel ve ark., 2014).

Wohleb ve arkadaşlarının 2011 yılında yayınladıkları bir çalışmada ise, RSD (tekrarlayan sosyal yenilgi)'nin Iba-1 pozitif hücre sayısında iki kattan fazla artış meydana getirdiği gösterilmiştir. (Wohleb ve ark., 2011). Farelerde 6 gün sosyal

defeatin, Iba-1-pozitif hücrelerin amigdalada (1.6-2.4 kat) ve hipotalamustaki paraventriküler nukleusta (1.5-2.8 kat) arttırdığı gözlenmiştir (Wohleb ve ark., 2011).

Bian ve ark., ise Kunming farelerine 40 gün boyunca çeşitli öngörülemez stres uygulanmasından sonra CA1 bölgesinde Iba-1 boyama miktarında 2 kat artış ölçmüştür (Bian ve ark., 2012).

Diz-Chavez ve arkadaşlarının prenatal stres üzerine yaptığı bir araştırmada ise prenatal strese maruz bırakılmış dişi yavruların dentat gyruslarında Iba-1 pozitif hücre sayısında artış meydana gelirken, erkeklerde belirgin bir değişim gözlenmemiştir. Bununla birlikte prenatal strese maruz bırakılmış erkek farelerde dentat gyruslarındaki Iba-1 sinyali belirgin derecede artmıştır. Erkek farelerin CA1 bölgelerinde ise belirgin bir Iba-1 aktivitesi değişimi raporlanmamıştır. (Diz-Chavez ve ark., 2012,2013).

Tynan ve arkadaşları ise 14 gün kronik kısıtlama stresinin Sprague-Dawley sıçanlarında Iba-1 pozitif hücre sayısında yaklaşık %29 artış yaptığını ortaya koymuştur. Fakat CA3 bölgesinde Iba-1 sinyal dansitesindeki artışın ortalama %60 olduğunu göstermiştir (Tynan ve ark., 2010).

Schiavone ve arkadaşları, 35 gün sosyal izolasyon uygulamasının prefrontal kortekste Iba-1 pozitif proteinde yaklaşık %15 gün artışına neden olduğunu göstermiştir (Schiavone ve ark., 2009).

4.3.8. Major depresif bozuklukta stresin rolü

4.3.8.1. Akut stres

Stres; major depresyona zemin hazırlamaktadır ve şiddeti, süresi ve doğal gelişim aşamalarını etkilemektedir (Gold ve ark., 2015). 1970'lerdeki psikososyal araştırmalar, stresli hayatın depresyonu tetikleyebileceğinin önemi üzerinede durmuştur (Palazidou, 2012).

Stres ve depresyonun, limbik ve kortikal beyin bölgelerindeki nöronların kaybına ve atrofiye neden olabildiği ve bunun da depresyon semptomları ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (Duman, 2014b). Rodentlerde yapılan prelinik stres ve depresyon çalışmalarında, çeşitli seviyelerdeki stresin, hipokampüsteki CA3 piramidal nöronlarında, layer II/III'te ve medial prefrontal kortekste V'de, apikal dendrit uzunluğu ve sayısında azalma meydana getirdiği bulunmuştur (Duman, 2014b). Ayrıca kronik strese maruziyet, prefrontal korteks ve hipokampüste bulunan sinaps bağlantılarının sayısını azaltmaktadır (Duman, 2014b). Sinaptik bağlantı kayıpları; fonksiyonel nöronal bağlantı kopmalarına ve depresyonda meydana gelen duygu durum kontrolünün bozulmasında rol oynayabilir (Duman, 2014b).

Sinaps ve dendrit kayıplarına ek olarak, prelinik çalışmalar stresin, yetişkin rodent hipokampüsündeki dentate gyrusda yeni nöron oluşumunu azalttığını göstermiştir (Duman, 2014b). Her ne kadar antidepressanların depresyon hastalarında, hipokampüsteki nöron oluşumunu arttırdığı bilinsede, depresyonun bazı beyin bölgelerindeki azalmış nöron oluşumu ile bağlantılı olup olmadığı tam olarak bilinmemektedir (Duman, 2014b).

4.3.8.2. Kronik stres

Kronik stresin santral sinir sisteminde, major depresyonda anormal fonksiyon gösteren beyin bölgelerinin nöroplastisitesindeki etkileri dahil olmak üzere pek çok etkisi vardır (Pittinger ve ark., 2008).

Geçici hafif stres öğrenme ve hafızayı artırabilir. Fakat kronik ve şiddetli stresin deney hayvanlarında hipokampüse bağımlı hafıza için kesinlikle yıkıcı olduğu gösterilmiştir (Pittinger ve ark., 2008).

Yeteri kadar şiddetli stresin rodent hipokampüsünde, uzun süreli potansiyalizasyonu zayıflattığı bilinmektedir (Pittinger ve ark., 2008). Ayrıca benzer şekilde stres sıçanlarda uzun dönem depresyonu arttırabilmektedir (Pittinger ve ark., 2008). Bu iki

etki de stres sırasında NMDA reseptör blokajı ile önlenebilmektedir (Pittinger ve ark., 2008).

Sürekli maruz kalınan stres, morfolojik olarak plastisiteye zarar vermektedir (Pittinger ve ark., 2008). Uzun süreli stresin hipokampal fonksiyon ve nöroplastisite kapasitesini negatif etkilediği bulunmuştur (Pittinger ve ark., 2008). Pek çok farklı akut ve kronik stres formunun rodent hipokampüsünde nörojenezi azalttığı gösterilmiştir (Pittinger ve ark., 2008). Stres nöroplastisiteyi pek çok yapısal düzeyde değiştirmektedir (Pittinger ve ark., 2008). Kronik stres dendritik dallanma sayısını azaltabilir ve kortikal dendritlerin uzunluğunu ve kompleksliğini azaltabilir, nörojenezi bozabilmektedir. (Pittinger ve ark., 2008).

Rodent modellerinde yapılan araştırmalardaki bulgulara göre ise depresyon gibi kronik strese maruz kalınması sonucu, prefrontal korteks ve hipokampüste glia ve nöron kaybı ve atrofi meydana gelebilir (Duman, 2014).

Stres, sinaptik plastisite ve amigdala nöron fonksiyonunu arttırmaktadır (Pittinger ve ark., 2008). Kronik stres, amigdala bağımlı öğrenmeyi, hipokampüs bağımlı deklaratif öğrenmenin üzerindeki etkilerinin aksine arttırmaktadır (Pittinger ve ark., 2008).

Sıçanlarda yapılan prelinik çalışmaları, kronik stresin zorunlu yüzme testinde ve sükröz tercih testinde gözlenebilen savunmasızlık/çaresizlik ve anhedoni meydana getirebileceğini göstermiştir (Gerhard ve ark., 2016). Kronik stresin meydana getirdiği davranış bozuklukları, medial prefrontal korteksteki spine sinaps fonksiyon ve sayısındaki azalma ile ilişkilidir (Gerhard ve ark., 2016). Kronik stres sonucu aynı etkiler, hipokampüsteki CA3 piramidal hücrelerde de gözlenmektedir (Gerhard ve ark., 2016).

4.3.9. Major depresif bozuklukta genetiğin rolü

1000 çocuk üzerinde genç yetişkinlik dönemlerine kadar yapılan bir çalışmada; 5-HTTLPR kısa alel taşıyıcıların, çocukluklarında ya da yıllar içinde stresli durumlar

ile karşılaşırsa, ciddi depresyon gelişimine daha yatkın olduğu olduğu bulunmuştur (Palazidou, 2012).

4.3.10. Major depresif bozukluğun tedavisi

Depresyon tedavisi için tanımlanan ilk ilaçlar, monoaminerjik ajanlardır ve hastalık bu anlamda serotonin, norepinefrin ve dopamin eksikliği olarak tanımlanmıştır (Gerhard ve ark., 2016).

Spesifik olarak klinik depresyon tedavisinde kullanılan ilaçlar; trisiklik antidepressanlar, reuptake inhibitörleri ve monoamin oksidaz inhibitörleridir (Gerhard ve ark., 2016). Non-selektif bağlanma özelliklerinin sonucu olarak, trisiklik antidepressanların, baş dönmesi, sedasyon, hafıza ve kognitif bozukluklar, ağız kuruluğu, artmış kan basıncı gibi yan etkileri vardır (Gerhard ve ark., 2016). Yan etki profilini geliştirmek adına, ilaç geliştirme çalışmaları, daha selektif reuptake inhibitörleri üzerinde yoğunlaşmış ve sonucunda başta fluoksetin olmak üzere çeşitli SSRI'lar piyasada yerini almıştır (Gerhard ve ark., 2016). Bu ilaçlar ise, beklenildiği üzere daha kolay tolere edilmekle birlikte başağrısı,, kronik seksüel disfonksiyon, kilo alımı gibi yan etkiler meydana getirmiştir (Gerhard ve ark., 2016). Ayrıca tedavi kesildiğinde; insomnia, başağrısı, bulantı ve iritabilite ile karakterize sendrom ortaya çıkmaktadır (Gerhard ve ark., 2016). Günümüzde kullanılan antidepressanlar, özellikle SSRI'lar, uzun dönemli tedavi gerektirmektedir ve limitli etkinliğe sahiptir (Duman, 2014b).

Depresyonun ilk episodunda etkili tedavi gerekliliği apaçiktir (Palazidou, 2012). Akut depresyon episodundan sonra relapsı önlemek için remisyon sırasında tedaviyi birkaç ay sürdürmek gereklidir (Palazidou, 2012). Birden fazla depresyon episodunu yaşayan kişiler içinse nüksü önlemek için uzun süreli tedavi verilmelidir (Palazidou, 2012). Depresyon prognozu, geçirilen episod sayısının yanında, hastalığın tedavisi yapılmadan geçirilen süre ile de ilişkilidir (Palazidou, 2012). Bu süre ne kadar uzunsa, tedaviye yanıt o kadar zayıf ve remisyon olasılığı ise o kadar düşüktür (Palazidou, 2012). Malesef pek çok hasta, düşük uyum, tedaviyi erken sonlandırma,

yetersiz tedavi gibi pek çok faktör yüzünden tam remisyona ulaşamamaktadır (Palazidou, 2012). Uzun dönem depresyon, sık rastlanır ve episodik depresyondan daha ciddidir (Palazidou, 2012). Bu hastalar sosyal fobi ve benzodazepin suistimalinden daha çok çekmektedir ve somatik ve psikolojik sağlıkları bozulmuştur (Palazidou, 2012)

Major depresif bozukluk tedavisinde yeni ajan geliştirilmesinde pek çok zorluk söz konusudur (Gerhard ve ark., 2016). Bunlardan biri, major depresif bozukluğun pek çok alttipi ve nedeni olmasıdır (Gerhard ve ark., 2016). Genetik yatkınlık ve stres ve travma başta olmak üzere çevresel faktörler depresyonda rol oynamaktadır (Gerhard ve ark., 2016). Diğer bir problem ise depresyonda ve tedavi yanıtında iyi biyomarkerlar olmamasıdır (Gerhard ve ark., 2016). Araştırmacıların karşılaştıkları bir başka problem ise yeni ilaç testi sırasındaki placebo etkidir (Gerhard ve ark., 2016). Major depresif bozukluk hakkında yapılan bir meta analiz, çalışmalar arasındaki plasebo yanıtların hayli değişken olduğunu göstermiştir (Gerhard ve ark., 2016).

4.3.10.1.Yeni geliştirilen bir ajan olarak ketamin

Ketamin, klinikte anestezi ve ağrı tedavisinde kullanılan iyonotropik ve glutamaterjik non-kompetitif N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistidir (Yang ve ark., 2013). Anestezi prosedürlerinde fensiklidin molekülüne daha güvenli bir alternatif oluşturulmak amacıyla 1960'larda geliştirilmiştir (Trujillo ve ark., 2011). Diğer anestezik ajanların kullanımı sırasında sıklıkla ortaya çıkan respiratuar ve kardiyovasküler depresyon komplikasyonlarına neden olmaması ve iyi bir anestezi sağlaması nedeniyle ketamin kullanıma girdiği ilk zamanlarda oldukça yaygın bir kabul görmüştür (Saraçoğlu, 2005). İsimlendirilmesi kimyasal yapısını belirten “keton” ve “amin” kelimelerinin birleştirilmesiyle meydana gelmiştir (Radvansky ve ark., 2015). Molekül formülü $C_{13}H_{16}ClNO$, [2-(2 klorofenil)-2-(metilamino) sikloheksanon] (Rasmussen, 2016), molekül kütlesi 237.725 g/mol'dür; klorofenil halkasının sikloheksanon halkasına bağlanması ile meydana gelir; toz ve

sulandırılmış formları mevcuttur (Radvansky ve ark., 2015). Ketamin molekülü S(+) ketamin ve R(-) ketamin olmak üzere iki enantiomer içerir; ticari olarak en sık kullanılan formu ise bu iki enantiomerin rasemik karışımıdır (Karacaer, 2015). S(+) ketamin preparatının NMDA reseptörlerine affinitesi R(-) ketaminden 4 kat fazladır (Karacaer, 2015).

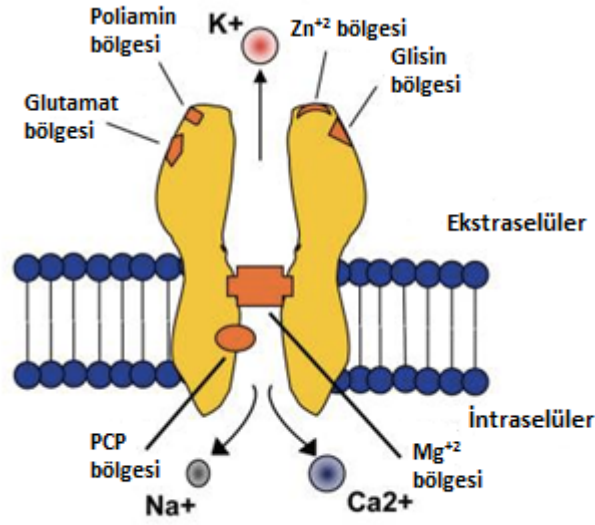
Ketamin hem suda hem de yağda çözünebildiği için intravenöz (i.v.), intramüsküler (i.m.), oral, rektal, subkutan (s.k.), epidural ve transnazal olarak kullanılabilir (Karacaer, 2015). Ketamin, intramüsküler yoldan uygulandığında hızla absorbe olur ve biyoyararlanımı yaklaşık %93 oranındadır (Clements ve ark., 1982). Oral uygulandığında ise yaklaşık %20, sublingual ve rektal yoldan uygulandığında %30, nazal yoldan uygulandığında ise %45 oranındadır (Yanagihara ve ark., 2003). IV uygulamada maksimum plazma konsantrasyonuna 1-5 dakikada, oral uygulamada ise 15-30 dakikada ulaşır (Karacaer, 2015).

Ketamin, insanlarda karaciğer sitokrom P450 enzim sistemi (CYP3A4) tarafından metabolize edilerek, norketamin ve dehidronorketamine dönüştürülür ve idrarla atılır (Moore ve ark., 2001).

Sıçanlarda yapılan bir çalışmada ketaminin tüm vücut dokularına dağıldığı, en yüksek oranda ise beyinde bulunduğu gösterilmiştir (Edwards ve Mather, 2001).

Ketamin NMDA reseptörlerinin fensiklidin bağlanma bölgesine nonkompetitif bir şekilde bağlanarak allosterik mekanizmalar ile reseptörün modifikasyonunu gerçekleştirerek reseptörü antagonize eder (Radvansky ve ark., 2015).

Her NMDA reseptörü tetraheteromerik yapıda olup, iki GluN1 ve iki GluN2 protein altünitesinden meydana gelir. (Miller ve ark., 2016). Ketamin fizyolojik Mg²⁺ varlığında non kompetitif bir şekilde GluN2A ve GluN2B içeren NMDA reseptörlerini eşit düzeyde bloke eder. (Kotermansky ve Johnson, 2009) (Şekil 6).



Şekil 6: NMDA reseptörü yapısı (Longone ve ark., 2011). NMDA reseptör yapısında tanımlanan ve iyon kanal açılışını regüle ettiği düşünülen 6 bağlantı bölgesi vardır; bunlar glutamat, glisin bağlanma bölgeleri, poliamin bağlanma bölgesi, fensiklidin bağlanma bölgesi, kation (Mg^{2+} , Zn^{2+}) bağlanma bölgeleridir. NMDA reseptörleri monovalan katyonlara ek olarak, Ca^{++} , K^+ , Na^+ geçişini sağlar. PCP;Fensiklidin

Tek, düşük doz ketamin uygulamasının major depresif bozukluk tanımlı hastalarda, hızlı ve kaydadeğer bir antidepresan etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Kavalalı ve Monteggia, 2015). Başlıca depresyon semptomlarında 40 dakika boyunca uygulanan 5mg/kg intravenöz infüzyondan (Berman ve ark., 2000) sonraki 2 saat içinde azalma olduğu gösterilmiş ve bir hastada bu etkinin iki haftaya kadar sürdüğü bulunmuştur (Kavalalı ve Monteggia, 2015). Tedaviye dirençli depresyon hastalarında da ketamin uygulamasının depresif semptomlarda hafifleme meydana getirdiği gösterilmiştir (Browne ve Lucki, 2013). Ketamin antidepresan etkisini düşük dozlarda göstermekte olup, artan dozlarda psikomimetik etki meydana getirip anestezi oluşturur. (Miller ve ark., 2016). NMDA reseptörlerin antagonize olması psikomimetik etkilere neden olabilmektedir ve tek doz ketaminin infüzyonunun antidepresan etki süresi birkaç gün boyunca devam etmektedir (Sanacora ve ark., 2012).

Berman ve arkadaşlarının 2000 yılında yaptığı araştırmada depresif hastalarda subanestezik dozlarda (0,5 mg/kg, iv) ketamin infüzyonu kullanarak Hamilton Depresyon Ölçeği'ne göre depresif semptomlarda gerileme olduğunu saptanmıştır

(Karacaer, 2015). Çalışmaya 8 hasta dahil edilmiş ve 0,5 mg/kg tek doz ketamin iv infüzyonla 40 dk'da uygulanmıştır (Karacaer, 2015). Hastaların tümünde ilk 3 günde depresif belirtilerde azalma saptanmış, bir hastada antidepresan etkiler infüzyon sonrası 2 haftaya kadar devam etmiştir (Karacaer, 2015).

Zarate ve arkadaşlarının 2006 yılındaki çalışmasında ise tek doz ketamin infüzyonu ile çalışmaya alınan 18 hastadan 12'sinde ilk gün depresif belirtilerde düzelme belirlenmiştir ve bu düzelme, 6 hastada bir hafta boyunca devam ederken, 2 hastada 2 hafta boyunca sürmüştür (Karacaer, 2015).

Subanestezik dozda (2.5 mg/kg) ketaminin farelerde akut ve sürdürülebilir antidepresan benzeri etki oluşturduğu gösterilmiştir (Maeng ve ark., 2008).

Yılmaz ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, tek doz ketamin uygulamasının (160 mg/kg i.p.) Wistar sıçanlarda çaresizlik davranışını uygulamadan sonra en az bir hafta boyunca düzelttiği bulunmuştur (Yılmaz ve ark., 2002).

Tizabi ve arkadaşlarının yaptığı araştırmaya göre ise Wistar Kyoto sıçanlarına akut olarak uygulanan 0.5 mg/kg ve 5.0 mg/kg i.p. (intraperitoneal) ketamin dozlarının ve kronik olarak 10 gün boyunca uygulanan günlük 0.5-2.5 mg/kg ketamin dozlarının zorunlu yüzme testinde immobil kalma süresini kısalttığı dolayısıyla antidepresan-benzeri davranışa neden olduğu bulunmuştur (Tizabi ve ark., 2012).

Gigliucci ve arkadaşlarının, Sprague-Dawley sıçanlar üzerinde yaptıkları bir araştırmada ise, 10-25 mg/kg tek doz intraperitoneal ketamin uygulamasının uygulamadan 1 ya da 24 saat sonra zorunlu yüzme testinde antidepresan benzeri etki gösterdiği sonucunu ortaya koymuştur (Gigliucci ve ark., 2013).

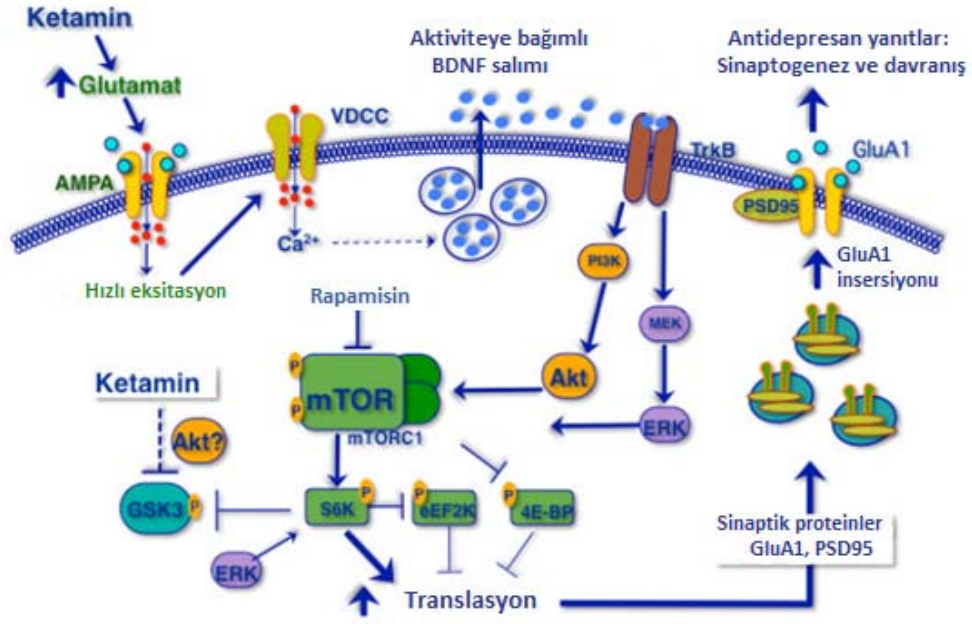
Duman ve arkadaşlarının 2011 yılında Sprague Dawley sıçanları üzerinde günlük i.p 10mg/kg dozda ketamin kullanılarak yaptıkları araştırmada kronik öngüremeyen stres indüklemeli anhedoninin ve anksiyojenik davranışların ketamin tarafından hızlı bir şekilde iyileştirildiği bulunmuştur (Li ve ark., 2011). Ayrıca bu çalışmada mTOR sentez kaskadının blokajının ketaminin davranışsal ve biyokimyasal etkilerini ortadan kaldırdığı gösterilmiştir (Li ve ark., 2011).

Zhou ve arkadaşlarının Sprague-Dawley sıçanlarda yaptığı çalışmaya göre 21 gün boyunca, tekrarlayan dozlarda ketamin (10mg/kg i.p., haftada bir) ile sitalopram (20 mg/kg p.o., her gün) kombinasyon tedavisinin tek başına uygulanan sitalopram tedavisine göre daha hızlı ve uzun süreli antidepresan-benzeri etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Zhang ve ark., 2015).

Bu sonuçlar antidepresan tedavide karşılaşılan en önemli sorunlardan antidepresan etkinin başlama süresinin gecikmesi ve de tedaviye direnç problemlerine çözüm vaatetmekle birlikte bu anlamda ketamin üzerine yapılan araştırmalar kritik bir öneme sahiptir.

Her ne kadar ketaminin klinikte kullanımında potansiyel toksisite ve suistimal riski söz konusu olsa da, hayvan modelleri kullanılarak ketaminin etki mekanizmalarının aydınlatılması güvenli ve hızlı ajanların geliştirilmesine olanak vermesi açısından önem taşımaktadır (Li ve ark., 2011).

Ketaminin, tipik monoamin reuptake inhibitörlerinden tamamen farklı bir mekanizma ile hızlı antidepresan etki meydana getirdiğinin keşfedilmiştir (Duman ve Voleti, 2012). Ketaminin bilinen hızlı antidepresan etki mekanizması; prefrontal korteksteki ekstraselüler glutamat düzeyinde artış meydana getirmesi ve sonucunda artan sinaptogeneze bağlıdır (Duman ve Voleti, 2012; Duman, 2014). Glutamat düzeylerindeki artış, inhibitör GABA nöronlardaki NMDA reseptörlerini bloke etmesi sonucu glutamat transmisyonundaki disinhibisyona neden olmasına bağlıdır (Duman, 2014a). Glutamaterjik artış, BDNF salınımının artmasına neden olur (Duman, 2014a). Bu da Tropomiyozin reseptör K-kinaz B (TrkB) ve sırasıyla fosfatidil inositol-3 kinaz (PIK3), Akt ve Ras-MAPK'ın uyarılmasına ve mTOR sinyal aktivasyonuna neden olur (Duman ve Voleti, 2012). Sonucunda yeni sinaps oluşumu için gerekli sinaptik protein sentezi artar (Duman ve Voleti, 2012). (Şekil 7).



Şekil 7. Ketaminin hızlı antidepresan etkisi altında yatan sinyal yolları (Duman ve Voleti,2012). Ketamin hızlıca ekstraselüler glutamat düzeylerini yükselterek hızlı eksitasyon/depolarizasyona neden olur. Bu da voltaj bağımlı Ca^{++} kanallarının (VDCC) aktivasyonuna ve aktivite bağımlı BDNF salınımına neden olur. Sonucunda TrkB ve alt sinyal yolları (PI3K-Akt and Ras-MAPK) stimule olur. Bu yollar mTOR sinyalini ve mTORC1'i stimule eder ve bu da S6 kinaz'ı (S6K, ribozomal S6 kinaz ailesi üyesi) ve sinaptik protein ekspresyonları, PSD95, AMPA reseptör GluA1 altünitesi dahil transkriptlerin lokal translasyonunu artırır. GluA1 içeren AMPA reseptörleri membran içine gömülü olup sinaptogeneze katkı sağlar. Ketaminin aracılı mTOR sinyali ve davranışsal yanıtlar AMPA reseptörleri, PI3K-Akt ya da MEK-ERK inhibisyonu ile bloke edilir. Ayrıca ketaminin sinaptogenik ve davranışsal etkileri selektif mTOR inhibitörü olan rapamisin ile ve BDNF delesyonu olan farelerde bloke edilir. Ketamin ayrıca GSK3 fosforilasyonunu bilinmeyen bir mekanizma muhtemelen Akt ve/veya S6K ile artırır (Duman ve Voleti,2012). mTORC1; Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi kompleks 1, PSD95; postsinaptik dansite-95, VDCC; Voltaj bağımlı kalsiyum kanalları.

GSK3'ün ketaminin antidepresan etki göstermesi için gerekli olduğu bulunmuştur (Duman ve Voleti, 2012). Ketamin, farelerde serebral korteks ve hipokampüste GSK3 fosforilasyonunu arttırmaktadır ve ketamin uygulaması ile gelişen davranışsal yanıtların GSK3 fosforilasyonu mutant knock-in farelerde bloke olduğu gösterilmiştir (Duman ve Voleti, 2012). Ketamin tarafından oluşturulan artmış GSK3 fosforilasyonu Akt stimülasyonu ile muhtemelen aktiviteye bağımlı BDNF salınımı aracılığıyla gerçekleşir (Duman ve Voleti, 2012). Monositlerdeki GSK3, ketamin tarafından stimule edilen mTOR yolu tarafından fosforile edilebilir (Duman ve Voleti, 2012).

Ketamin NMDA reseptörü dışında, monoaminerjik reseptörler, muskarinik reseptörler, opioid reseptörleri ve voltaj bağımlı kalsiyum kanalları ile etkileşir (Hirota ve Lambert, 1996). Opioid reseptörlerinden mu, kappa reseptörlerine bağlanır. (Karacaer, 2015; Hirota ve Lambert, 1996). Ketaminin antinosiseptif etkisinin inen monoaminerjik ağrı yollarındaki inhibitör etkiye bağlı olarak gerçekleştiği düşünülmektedir (Hirota ve Lambert, 1996). Ketaminin muskarinik reseptörleri inhibe etmesi sonucu bronkodilatasyon ve midriyazis gibi periferik etkiler görülebilir (Durieux, 1995). Ketamin, voltaja duyarlı kalsiyum kanalları ile etkileşerek hücre içi kalsiyum konsantrasyonunun azalmasına neden olur (Hirota ve Lambert, 1996).

Ketamin santral anestezik etkisini beyindeki NMDA reseptörleri ile etkileşerek gerçekleştirir. (Radvansky ve ark., 2015). Çalışmalar ketaminin ağrı algılamasında sorumlu beyin bölgelerinden anterior singulat korteks, insular korteks ve talamusu etkilediği bulunmuştur (Nagels ve ark. 2011; Rogers ve ark., 2004)

Depresyon tedavisinde her ne kadar klinikte çok çeşitli antidepresanlar kullanılsa da, hastaların yalnızca üçte biri antidepresan tedavisine anlamlı yanıt vermektedir (Li ve ark., 2011). Günümüzdeki ilaçlarla tedavide terapötik etkinin ortaya çıkışında haftalar, aylar süren bir gecikme söz konusu olup, hızlı etki gösteren ve daha etkili yeni antidepresan ajanların geliştirilmesi önem arz etmektedir (Li ve ark., 2011).

Ketamin katekolamin geri alımını inhibe ettiği için sempatomimetik aktiviteye sahiptir; dolayısıyla kan basıncı, kalp atım hızı, atım hacmi ve miyokard oksijen tüketimini hafif ve orta derecede arttırabilir (Green ve Li, 2000).

Ketaminin suistimal edilme potansiyeli ve kronik tedavi sonucu meydana gelen nörotoksisite ketaminle tedavideki ana sorunlardır (Chaki ve Fukumoto, 2015). Ayrıca yapılan bir çalışmada major depresyon tedavisinde ketamin alan hasta grubunda algı bozuklukları, konfüzyon, kan basıncında artış, öfori, baş dönmesi ve libido artışı gibi yan etkiler sık görülmüştür (Zarate ve ark., 2006)

4.3.10.1.1. İnflamasyon hipotezi perspektifinde ketamin bulguları

Düşük dozlarda ketamin kullanımının antiinflamatuvar etki meydana getirdiği gösterilmiştir (Iwata ve ark., 2013). Ketamin, lokal iyileştirme mekanizmalarına dokunmadan, antiproinflamatuvar etkisi sayesinde sistemik inflamasyonun şiddetlenmesini önlediği bulunmuştur (Loix ve ark., 2014).

Ketamin, sıçanlarda endotoksin indüklemeli şoku TNF- α , IL-6 gibi plazma sitokinlerinin salınımını inhibe ederek ve inflamasyonu azaltarak önlemiştir (Taniguchi ve ark. 2001, 2004).

Ketaminin, TNF- α , IL-6, iNOS, NF- κ B, ve aktivatör protein (AP)-1 gibi LPS indüklemeli proinflamatuvar sitokin ekspresyonunu IL-10 gibi antiinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu etkilemeden azalttığı bulunmuştur (Helmer ve ark. 2003a,b).

Klinik çalışmalarda inflamasyonun depresyona neden olabileceği ile ilgili kanıtlar mevcuttur (Iwata ve ark., 2013). Ketaminin antiinflamatuvar etkisinin antidepresan etkisi ile ilişkili olup olmadığı bilinmemektedir (Hurley ve Tizabi, 2013).

Major depresyon hastalarında IL-1 β , IL-6, TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin düzeylerinin arttığı ve bozulmuş olan HPA aksını aktive ettikleri bulunmuş ve sitokinlerin duygu durumu etkilediği, disfori ve anksiyeteye neden olduğu bildirilmiştir (Iwata ve ark., 2013). Ayrıca IL-1 β blokajının kronik strese maruziyet sonucu meydana gelen depresif davranışsal ve hücrel cevapları bloke etmekte yeterli olduğu gösterilmiştir (Iwata ve ark., 2013). Depresyon hastalarında trisiklik antidepresanların ve SSRI'ların, inflamatuvar sitokinlerin serum düzeylerini düzelttiği ve IL-10 gibi anti inflamatuvar sitokinlerin üretimini arttırdığı bulunmuştur (Iwata ve ark., 2013).

Loix ve arkadaşları, ketaminin inflamatuvar yanıtları inhibe ettiğini ve proinflamatuvar sitokin üretimini azalttığını ortaya koymuştur. Bu durum bu

parametrelerin ketaminin hızlı antidepresan etkisinde rol oynama ihtimalini arttırmaktadır (Yang, 2011).

Ketaminin, fare makrofaj Raw264.7 hücrelerindeki, LPS (lipopolisakkarit) ya da lipoteikoik asit aracılı tümör nekroz faktör TNF- α , interlökin (IL)-1 β ve IL-6 üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Chang ve ark., 2005; Wu ve ark., 2008; Chang ve ark., 2010)

Ayrıca Chang ve arkadaşları, ketaminin (100 and 250 μ M) sıçan mikroglial hücrelerinde nitrik oksit ve IL-1 β üretimini inhibe ettiğini fakat TNF- α üretimini inhibe etmediği sonucunu ortaya koymuştur (Chang ve ark., 2009).

Ketaminin düşük dozlarda LPS indüklemeli IL-1 β ve IL-6'yı, yüksek dozlarda ise TNF- α 'yı ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz (ERK1/2) fosforilasyonunu inhibasyonuna bağlı olarak bloke ettiği gösterilmiştir (Chang ve ark. 2009).

Ward ve arkadaşları, ketaminin LPS enjekte edilen sıçanlarda serum IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF α , ve interferon γ üretimini azalttığı fakat travmatik beyin hasarının neden olduğu hasara minimum etkisi olduğunu göstermiştir (Ward ve ark., 2011).

Insan hücrelerinde ketaminin, bütün kanda LPS tarafından in vitro indüklenen TNF α , IL-6, ve IL-8 üretimini inhibe ettiği bulunmuştur (Kawasaki ve ark., 1999).

Ketaminin aynı zamanda in vitro insan kanında endotoksin-aracılı TNF α , IL-6 ve IL-8 ekspresyonunu inhibe ettiği bulunmuştur (Taniguchi ve Yamamoto, 2005).

Welters ve arkadaşlarının 2011 yılında yaptığı bir araştırma, elektif koroner arter bypass graaftı sırasında anestezik olarak devamlı ketamin uygulamasının cerrahi sırasında ve sonrasında proinflamatuvar sitokin (IL-6 ve IL-8)'in yanıtını azalttığını göstermiştir (Welters ve ark., 2011).

Tanaka ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, aynı şekilde ketaminin glial hücrelerdeki LPS-aracılı IL-1 β upregülasyonunu suprese ettiği gösterilmiştir (Tanaka ve ark., 2013).

Shibakawa ve arkadaşları yaptıkları çalışmada ise ketaminin LPS uygulanmış astrosit ve mikroglial hücrelerin her ikisinde de TNF- α üretimini azalttığını göstermiştir (Shibakawa ve ark., 2005).

Adams ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, LPS uygulanan sıçanların serum IL-1, IL-6, interferon gama (IFN-) ve TNF- seviyelerinde kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında belirgin bir artış gözlenmiştir. Ketamin alan sıçanlarda ise bu dört sitokinin LPS'ye verdiği yanıtta azalma gözlenmiştir (Adams ve ark., 2008).

Zhu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; sıçanlara elektrokonvulsif şok uygulamasının Iba-1, ekspresyonunu upregüle ettiği, IL-1 ve TNF- salınımını tetiklediği; ketaminin ise bu ECS'ye bağlı moleküler değişiklikleri tersine çevirdiği gösterilmiştir (Zhu ve ark., 2015).

Wu ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada; astrositler ketamin (10, 100, 1000 μ M dozlarında) uygulamasından 15 dakika sonra ya da herhangi bir ilaç uygulaması yapılmadan LPS (1 μ g/ml) ile stimüle edilmiştir. Ketamin (100 ve 1000 μ M) dozlarının LPS ile stimüle edilmiş astrositlerden IL-1 β , IL-6 ve TNF- α üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ketaminin 10 μ M dozunun ise bu proinflatuar sitokinler üzerinde gözle görülür bir etkisi olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca GFAP yoğunluk ekspresyonu incelenmiş ve LPS stimülasyonundan sonra astrositlerin boyutlarında büyüme ve GFAP ekspresyonunda ciddi bir artış ölçülmüştür. Ketaminin ise bu artmış GFAP ekspresyonunu ve hücre gövde hacmini ciddi bir biçimde inhibe ettiği gösterilmiştir. Çalışmada astrositlerdeki TLR4 ekspresyonu da araştırılmış ve LPS stimülasyonunun astrositlerdeki TLR-4 ekspresyonunu belirgin bir şekilde up-regüle ettiği gösterilmiştir. Ketamin (100 ve 1000 μ M) dozlarının TLR4 ekspresyonunu suprese ettiği, 10 μ M dozundaki ketaminin ise LPS'nin indüklediği TLR4 ekspresyonunu azaltmadığı gösterilmiştir. Ayrıca astrositlerdeki total ve fosforile NF- κ B p-65 düzeyleri ölçülmüştür. Deney grupları arasında, astrositlerdeki total NF- κ B p-65 ekspresyonunda ciddi bir değişiklik gözlenmemiştir. Fakat fosforile NF- κ B p-65'nin LPS ile belirgin şekilde upregüle olduğu bulunmuştur. Ketamin (100 ve 1000 μ M) dozlarının astrositlerdeki LPS-indüklemeli NF- κ B p-65 fosforilasyonunu azalttığı, ketaminin 10 μ M dozunun

ise fosforile NF- κ B p-65 ekspresyonunu inhibe etmediği gösterilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda ise ketaminin LPS ile indüklenmiş astrosit aktivasyonu üzerindeki inhibitör etkisinin ve inflamasyon yanıtının TLR4 ekspresyonunu azaltması sonucu NF- κ B aktivasyonunu suprese ederek gerçekleştirebileceği çıkarımı yapılmıştır (Wu ve ark., 2012).

Welters ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada ise, ketaminin 100 μ M dozunun U937 hücrelerindeki NF- κ B bağlanmasını azalttığı ve bu etkinin 1 mM dozunda daha belirgin hale geldiği bulunmuştur. Ayrıca kan 10 ng/mL LPS ile stimüle edilmiş ve ketaminin nötrofil üzerindeki CD11b ve CD16 ekspresyonu üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Ketamin uygulaması yapılmadığında her iki reseptör ekspresyonunda da LPS aracılı belirgin bir artış gözlenmiştir. Ketaminin LPS-aracılı CD11b ve CD16 reseptör ekspresyonunda meydana gelen artışı azalttığı gösterilmiştir (Welters ve ark., 2010).

Sakai ve arkadaşları, invitro insan glioma hücrelerinde ve intakt fare beyin hücrelerinde ketaminin LPS'ye bağlı NF- κ B aktivasyonu üzerindeki etkisini incelemiştir. Çalışmanın sonucunda ketaminin LPS aracılı NF- κ B aktivasyonunu konsantrasyona bağımlı bir şekilde in vivo ve in vitro ortamda suprese ettiğini göstermiştir (Sakai ve ark., 2000).

Zhou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, şıçanlar gruplara ayrılıp, intraperitoneal salin, intraperitoneal LPS (10 mg/kg) enjeksiyonu ve intraperitoneal LPS enjeksiyonu (10 mg/kg) ve intraperitoneal ketamin uygulaması yapılmıştır. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, LPS uygulamasının polimorfonükleer lökosit CD11b ekspresyonunu arttırdığı ve ketamin gruplarının polimorfonükleer lökosit CD11b ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur ve ketaminin polimorfonükleer lökosit CD11b ekspresyonunu belirgin şekilde inhibe ettiği sonucuna varılmıştır (Zhou ve ark., 2007).

Brookes ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, ketamin anestezisinin hemoraja yanıt olarak oluşan lökosit adezyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir. Ketamin bu etkisini CD11b lökosit ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkisine bağlı olarak oluşturduğu ortaya konulmuştur (Brookes ve ark., 2006).

Unal ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada, subkronik streste akut ketamin uygulamasının NLRP3 inflamazomu üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Kontrol grubu hayvanlar ile karşılaştırıldığında, stres grubunun hipokampüsünde NLRP3, Kaspaz-1, ASC, NF- κ B, IL-1 β ve IL-18'in gen ekspresyonlarının belirgin şekilde arttığı bulunmuştur. Benzer şekilde stresin prefrontal kortekste de NLRP3, Kaspaz-1, ASC, NF- κ B gen ekspresyonları yükselttiği bulunmuştur. Tek doz ketamin uygulamasının hipokampüste bu parametreler üzerinde down-regülasyon yaptığı belirlenmiş fakat sadece IL-1 β 'de meydana gelen azalma stres grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Prefrontal kortekste ise stres+ketamin grubu stres grubu ile karşılaştırıldığında, Kaspaz-1, NF- κ B ve IL-18 ekspresyonunda azalmaya eğilim var iken sadece NLRP3 düzeyleri belirgin derecede azalmış bulunmuştur. Bu çalışmanın sonucunda subkronik kısıtlama stresinin NLRP3 inflamazomunu aktive ettiği ve akut ketaminin genel olarak NLRP3 inflamazom yolagındaki parametreleri downregüle etme eğiliminde olduğu gösterilmiştir (Unal ve ark., 2015).

Yang ve arkadaşlarının Wistar erkek sıçanlarda yaptığı bir araştırmada, endotoksinin ciddi akciğer hasarına neden olduğu, bunun da TNF-a ve IL-6 ekspresyonu ve NF- κ B aktivasyonu, mieloperoksidaz aktivite ve ıslak/kuru ağırlık oranı artışı ile karakterize olduğu gösterilmiştir. Ketaminin (5, 50 mg/kg) endotoksine bağlı NF- κ B aktivasyonunu inhibe ettiği bulunmuştur. Ketaminin sadece 50mg/kg dozunun endotoksin uygulaması sonrası TNF-a and IL-6 üretimini inhibe ettiği ortaya konmuştur (Yang ve ark., 2005).

Yu ve arkadaşlarının 2006 yılında yayınladığı bir çalışmada Sprague Dawley sıçanlarının barsaklarında liposakkarite bağlı oluşan NF- κ B aktivitesi ve TLR4 ekspresyon artışının 0.5 mg/kg, 2.5 mg/kg ve 10 mg/kg dozlarındaki ketamin tarafından suprese edildiği gösterilmiştir ve çalışmadan ketaminin LPS tarafından indüklenen NF- κ B aktivite artışını TLR4 ekspresyonunu suprese ederek inhibe ettiği sonucu çıkarılmıştır (Yu ve ark., 2006).

Yu ve arkadaşlarının 2007de yayımlanan çalışmasında ise, çekal ligasyon ve ponksiyon (CLP) ile indüklenen sıçan barsağındaki polimicrobial sepsiste ketaminin

inflatuar sitokinler, NF- κ B, TLR'ler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. CLP'den sonra NF- α , IL-6 konsantrasyonları, NF- κ B aktivitesi, TLR2 ve TLR4 ekspresyonlarının arttığı bulunmuştur. 5 ve 10 mg/kg ketaminin CLP aracılı IL-6 artışını suprese ettiği gösterilmiştir. Ketamin 2.5, 5 ve 10 mg/kg'ın ise intestinal TNF- α seviyesi, NF- κ B aktivitesini azalttığı ve TLR2 ve TLR4 ekspresyonlarını inhibe ettiği bulunmuştur (Yu ve ark., 2007).

Sun ve arkadaşları, ketaminin barsaktaki endotoksinin indüklediği proinflatuar sitokinler ve NF- κ B aktivasyonu üzerindeki koruyucu etkilerini araştırmış ve endotoksinin NF- κ B aktivitesinin, TNF- α ve IL-6 ekspresyonunu arttırdığını, 0.5 mg/kg dozunda ketaminin barsakta endotoksine bağlı TNF- α mRNA ve protein artışını suprese ettiğini ve NF- κ B aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir. IL-6 inhibisyonu için minimum ketamin dozu 5mg/kg bulunmuştur (Sun ve ark., 2004).

Yu ve arkadaşları 2002 yılında yaptıkları bir çalışmada ise, LPS stimülasyonu ile sıçan periferel kan mononükleer hücrelerinde artan TNF- α üretimi ve NF- κ B aktivasyonunu ketaminin doza bağımlı şekilde inhibe ettiğini ortaya koymuştur (Yun ve ark., 2002).

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Kimyasal Maddeler

Ketamin HCl (Ketalar) 10 mg/kg dozda enjeksiyonların hacmi 0,1 ml/100 ml olacak şekilde ayarlandı. Tüm enjeksiyonlar i.p. olarak deney protokolüne uygun biçimde her gün aynı saatte yapıldı.

5.2. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Wistar albino suşu yetişkin erkek sıçanlar (255-350 g) kullanılmıştır. Deney hayvanları Kocaeli Üniversitesi Deney Hayvanı Yetiştirme Ünitesinden temin edilmiştir. Sıçanlar, bir kafeste 5 adet olacak şekilde deneyden iki hafta önce kafeslere yerleştirilmiştir. Bütün deneyler sabah 9-12 saatleri arasında, standart laboratuvar koşulları altında; 22°C oda sıcaklığı, %65-70 nem ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü sağlanarak gerçekleştirilmiştir. Sıçanların su ve yem erişimi kısıtlama olmaksızın sağlanmıştır. Tüm hayvan deneyleri etik kurallara uygun olarak gerçekleştirilmiştir. Sadece aydınlık-karanlık döngüsü KÖHS uygulaması sırasında deney protokolüne uygun şekilde değiştirilmiştir ve hayvanlar sükröz tercih testine alınmadan 23 saat öncesi su ve yem erişimleri engellenmiştir. Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 14.07.2015 tarih ve 58.2015.mar sayı ile ve Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 12.11.2015 tarih ve KOÜ HAYDEK 11/7-2015 karar no ile onaylanmıştır (Ek-2, Ek-3).

Davranış deneyleri Kocaeli Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Birimi (DETAB)'da yapılmıştır. İmmünohistokimyasal analizler Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda, moleküler analizler ise İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Sinirbilim Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

5.3. Deney Grupları

Deney hayvanları 4 gruba ayrılmıştır:

1. Kontrol grubu (n = 10): Deney süresince herhangi bir stresöre maruz bırakılmamış ve 4., 5. ve 6. haftalarda haftada bir serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmış sağlıklı sıçanlardan oluşturulmuştur.
2. KÖHS grubu (n = 10): Deney süresince kronik öngörülemez stres modelinde yer alan stresörlere maruz kalmıştır. 4., 5. ve 6. haftalarda haftada bir serum fizyolojik enjeksiyonu yapılmıştır.
3. KÖHS + akut ketamin grubu (n = 10): Deney süresince kronik öngörülemez stres modelinde yer alan stresörlere maruz kalmıştır. Tedavi olarak, kronik stres uygulamasının 6. haftasının sonunda bir kez 10 mg/kg dozunda ketamin i.p. enjeksiyonu yapılmıştır. Kronik stres uygulamasının son 3 haftasında haftada bir kez serum fizyolojik i.p. enjeksiyonu yapılmıştır.
4. KÖHS + kronik grubu (n = 10): Deney süresince kronik öngörülemez stres modelinde yer alan stresörlere maruz kalmıştır. Tedavi olarak, kronik stres uygulamasının son 3 haftasında haftada bir kez 10 mg/kg ketamin i.p. enjeksiyonu yapılmıştır.

5.4. Sıçanlarda Depresyon Modelinin Oluşturulması

5.4.1. KÖHS modeli

Çalışmada depresyon modeli oluşturmak amacıyla sıçanlara Willner P. tarafından tanımlanan kronik öngörülemez hafif stres uygulaması yapılmıştır (Willner ve ark., 1992). Aşağıdaki stresörler belirtilen sürelerde dönüşümlü olarak uygulanmıştır.

- Kuyruktan asma (1 dakika boyunca)

- Kafes eğimlendirme (45°/24 saat)
- Kafes sallama (10 dakika)
- Gündüz/Gece siklusunun tersine çevrilmesi (24 saat)
- Soğuk suda yüzdürme (4 °C/ 5 dakika)
- Sıcak suda yüzdürme (45 °C/ 5 dakika)
- Talaş ıslatma (Kafes içerisindeki talaşın ıslanmasına yetecek kadar her kafes için ortalama 200 ml su kullanarak/24 saat)
- Kafesler arası eş değiştirme (48 saat)

Belirtilen stresörler, kontrol grubu dışındaki deney hayvanlarına 6 hafta süreyle ve her bir stresör her hayvana toplamda 3-4 kez uygulanmış olup; her gün deney hayvanları söz konusu stresörlerin birine mutlaka maruz bırakılmıştır. Aynı hayvana aynı stresör üstüste iki gün uygulanmamak koşulu ile farklı gün ve saatlerde uygulanmıştır. Stresörlerin sırası devamlı değiştirilerek hayvanların gelecek olan stresörü öngörememesi sağlanmıştır. Kontrol grubu bu süre boyunca kafes temizleme, su ve yem sağlama gibi uygulamalar dışında herhangi bir strese maruz bırakılmamıştır. 4. hafta kronik ketamin uygulanmaya başlanmıştır. Ketamin bu süre boyunca 7 günde 1 kez uygulanmış olup; tedavi KÖHS prosedürünün 6. haftasının sonuna kadar kronik olarak devam etmiştir. Akut ketamin uygulaması ise 6. haftanın sonunda tek doz olarak yapılmıştır.

5.5. Davranış Testleri

5.5.1. Sükroz tercih testi

Majör depresyonun temel belirtilerinden anhedoni davranışının değerlendirilmesi amacı ile sıçanlara sükroz tercih testi uygulanmıştır. Bu test prosedürü Sarkisova ve ark. tarafından dizayn edilmiştir (Sarkisova ve ark., 2010). Her sıçan, kendi kafesine eş bir test kafesine teker teker, 5 gün boyunca 15'er dakika

süreye yerleştirilmiş ve 200 ml %20 sükröz solüsyonuna erişimi sağlanmıştır. Bu adaptasyon sürecinin sonundaki 6. gün test günü kabul edilmiş ve sıçanlar tek tek kafeslere yerleştirilmiş ve 1 saat boyunca 200 ml %20 sükröz solüsyonu ve 200 ml suya aynı anda erişebilmeleri sağlanmıştır. Bu süre sonunda hayvanların tükettiği sükröz solüsyonu ve su miktarları ölçülmüştür. Deney hayvanlarının sükröz tercihi $[(\text{sükröz çözeltisi tüketimi [g]} / (\text{total sıvı tüketimi [g]} \times 100)]$ olarak hesaplanmıştır.

5.5.2. Zorunlu yüzme testi

Deney prosedürü daha önce Porsolt ve ark. tarafından tanımlanmıştır (Porsolt ve ark., 1977). Zorunlu yüzme testi, alıştırma ve test olmak üzere iki aşamada gerçekleştirilmiştir. Hayvanlar test gününden bir önceki gün teker teker, içi 30-31 cm yüksekliğine kadar su (25 ± 1 °C) ile doldurulmuş 40 cm yüksekliğinde 14 cm çapında silindir fanuslar içerisine yavaşça bırakılmış ve 15 dk. boyunca yüzdürülmüştür. Böylece hayvanların ortama alışması ve yüzmeyi öğrenmesi sağlanmıştır. Test için ise içerisinde aynı yükseklik ve aynı sıcaklıkta su bulunan alıştırma gününde kullanılan silindirlere hayvanlar teker teker yumuşak bir şekilde bırakılmış ve 5 dakika boyunca hareketleri video kamera aracılığıyla kaydedilmiştir. Hayvanların toplam immobilité (başını suyun dışında tutmaya yetecek kadar küçük hareketler yapmak dışında hareketsiz kalma davranışı) süreleri kaydedilmiştir. Her bir hayvandan sonra fanusların içerisindeki su değiştirilmiş ve 5 dakika sonunda fanustan alınan hayvanlar bir havlu yardımıyla kurutularak sıcak bir ortama alınmış, iyice kurduklarından emin olunduktan sonra ise kendi kafeslerine aktarılmıştır. Hayvanların depresyon-benzeri durumda olduklarında çaresizlik olarak nitelenen immobilité sürelerinde artma meydana geleceği ve antidepresanların bu durumu tersine çevireceği öngörülmüştür.

5.5.Gen ekspresyon analizleri

Çeşitli inflamatuvar medyatörlerin gen ekspresyon analizleri sıçanların prefrontal korteks beyin dokuları üzerinde real time PCR yöntemi ile gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda; IL-1 β , IL-6, NLRP1, NLRP3, kaspaz 1, ASC, NF- κ B, CD11b gen düzeyleri incelenmiştir.

5.6.1. RNA izolasyonu

RNA izolasyonu için hazır ticari solüsyonlar kullanılmıştır. MRC[®] (Cat. no: RN190) firmasının RNAzol RT solüsyonu kullanılarak total RNA izolasyonu şu şekilde gerçekleştirilmiştir: Sıçan beyin dokuları -80 derece derin dondurucudan çıkarılmış ve buz üzerine konulmuştur. Her örnekten yaklaşık 100 mg doku alınmış ve 5 ml eppendorf tüpü içerisine konulmuş; üzerine 1mL RNAzol RT solüsyonu eklenerek Qiagen Tissue Ruptor cihazı yardımıyla dokular homojen hale getirilmiştir. Homojenizasyon lizati üzerine 400 ul su eklenmiş ve karışım 15 saniye boyunca çalkalandıktan sonra 15 dakika beklemeye alınmıştır. Sonrasında karışım santrifüje konularak 12000 g de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonunda elde edilen 1mL süpernatant alınmış ve başka bir eppendorf tüpe konulmuştur. Süpernatant üzerine 5 ul 4-bromoanisole eklenmiş ve 15 saniye boyunca çalkalanmış, sonrasında ise 4 dakika bekletilmiştir. Bekleme sonrası karışım santrifüje konulmuş ve 12000 g de 10 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonunda elde edilen 750 ul süpernatant alınmış ve başka bir eppendorf tüpe yerleştirilmiştir. Süpernatant üzerine yine aynı oranda 750 ul isopropanol eklendikten sonra 15 dakika beklemeye alınmıştır. Bekleme sonrasında santrifüje konularak 12000 g de 15 dakika santrifüj yapılmıştır. Santrifüj sonunda üstte kalan süpernatant pipet ile atılmış ve çökeltinin üzerine 400 ul %75 etanol çözeltisi konulmuştur. Daha sonra santrifüje yerleştirilmiş ve 4000 g de 3 dakika boyunca santrifüj yapılmıştır. Bu işlem bir defa daha tekrarlanmıştır. Santrifüjden alındıktan sonra, alkol

(süpernatant) pipet ile alınıp atılmış ve çökelti üzerine 50 ul RNase free su eklenmiş ve karışım oda ısısında 2-3 dakika vorteksenerek iyice çözünmesi sağlanmıştır. RNA izolasyonu yapıldıktan sonra bütün örneklerin RNA konsantrasyonları ve saflıkları Thermo Scientific Nanodrop® 2000 cihazı yardımıyla ölçülmüştür. 1ul RNA örneği alındıktan sonra cihaza konularak konsantrasyon miktarı ve 260/280 ve 260/230 oranlarına bakılmış ve saflıkları belirlenmiştir. Ölçüm yapıldıktan sonra ise RNA'lar; komplementer DNA sentezlerinin yapılacağı tarihe kadar saklanmak üzere -80 derecede derin dondurucuya konulmuştur.

5.6.2. Komplementer DNA (cDNA) sentezi

RNA elde edildikten sonra bir diğer basamak olan komplementer DNA (cDNA) sentezine geçilmiştir. cDNA sentezi için hazır ticari kitlerden (Jena Bioscience®; Cat no: PCR511) yararlanılmıştır. Tüm işlemler buz üzerinde ve laminar akışlı kabin içinde yapılmıştır. cDNA sentezinden önce tüm RNA konsantrasyonları 100ng/ul olacak şekilde eşitlenmiştir. cDNA reaksiyonu; örnek başına toplam reaksiyon hacmi 20 ul olacak şekilde aşağıda gösterilen cDNA sentez kiti bileşenleri ve miktarları üzerinden yapılmıştır: RNAzsız su (10 ul), Script RT tampon (4 ul), dNTP karışım (1 ul), Oligo dT Primer (0.5 ul), DTT (1 ul), RNAz inhibitörü (1 ul), enzim (0.5 ul) ve RNA ürün (2 ul). Tüpe konulan tüm reaktifler enzim ilavesinden önce birkaç kez pipet ile karıştırılmıştır. Tüm reaktifler ve örnek tüpe konulmuş ve sonrasında tüpler Bio-Rad® termal cyler cihazına yerleştirilerek cDNA sentez reaksiyonu aşağıda belirtilen sıcaklık ve sürelerde gerçekleştirilmiştir: 42 derecede 10 dakika, 50 derecede 60 dakika ve 70 derecede 10 dakika. Bu sürenin sonunda elde edilen cDNA'lar analizlere kadar 20 derecede derin dondurucuya kaldırarak saklanmıştır.

5.6.3. Real-time PCR reaksiyonu

cDNA elde edildikten sonra araştırılması hedeflenen genlerin ekspresyon analizleri gerçek-zamanlı PCR yöntemi ile yapılmıştır. PCR işlemi için hazır ticari

kitlerden (Jena Bioscience®; qPCR GreenMaster with UNG/lowROX kit; Cat no: PCR306) yararlanılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler DNA Technology® (Katalog no: DN-10; Danimarka) firmasından alınmıştır. Tüm işlemler buz üzerinde ve laminar akışlı kabin içinde yapılmıştır. PCR; örnek başına toplam reaksiyon hacmi 20 ul olacak şekilde aşağıdaki kit bileşenleri ve miktarları üzerinden yapılmıştır: PCR grade su (6.8 ul), Real Time master karışım (10 ul), forward primer (0.6 ul), Reverse Primer (0.6 ul) ve cDNA ürün (2 ul). 96 kuyucuklu plate içine yerleştirilmiş standart ve örnek karışımları Agilent Stratagene 3005P cihazına konulmuş ve reaksiyon sıcaklık ve süreleri şöyle gerçekleştirilmiştir: 50 derecede 2 dakika, 95 derecede 2 dakika, 95 derecede 15 saniye, 50 derecede 40 saniye ve 72 derecede 30 saniye (40 siklus). Cihaz üzerinde EVA green deteksiyon seçilmiş ve 50 derece detection step olarak belirlenmiştir.

5.6.4. PCR sonuçların değerlendirilmesi

PCR sonrası elde edilen eşik dönüğü değeri (Ct; cycle threshold) 2^{-ddCt} metodu uygulanmış ve gen ekspresyon değeri kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır.

$$2^{-ddCt} = 2^{-[(Ct_{grup} - Ct_{grup \text{ housekeeping}}) - (Ct_{kontrol} - Ct_{kontrol \text{ housekeeping}})]}$$

5.7. İmmünohistokimyasal Analizler

Davranış deneyleri tamamlanan sıçanlar iki eş gruba ayrılmıştır. Birinci gruba perfüzyon fiksasyonu ve sonrasında serebrum diseksiyonu yapılmıştır. Çıkarılan serebrum fiksatif (%4 paraformaldehit) içerisinde 4°C'de saklanmıştır. İkinci grup ise anestezi uygulanmadan direk dekapitasyon yapılarak sakrifiye edildikten sonra hipokampus ve prefrontal korteks diseksiyonu yapılmıştır. İkinci gruptan alınan doku

örnekleri sıvı azotta dondurulmuş, analizler yapılncaya kadar -80°C’de muhafaza edilmiştir.

5.7.1. Perfüzyon fiksasyonu

Perfüzyon fiksasyonu yapılmasının amacı hızlı ve üniform bir şekilde dokuları yaşam-benzeri durumda tutmaktır. Küçük doku parçaları için dokuları direkt fiksatif içine koymak yeterli olsa da büyük dokular için fiksatif bütün bölgelere eşit oranda ulaşamayacağından fiksasyon yeterli derede olmayacaktır.

Fiksatif olarak %4 paraformaldehit kullanılmıştır. İşlem otomatik perfüzyon pompası ile gerçekleştirilmiş, cihazın bir borusu serum fizyolojik solüsyonu içine diğer borusu ise fiksatif içine yerleştirilmiş ve boruların tamamen içinde buldukları solüsyon ile dolu olmaları sağlanmış, içlerinde hava kabarcığı kalmamasına dikkat edilmiştir. Perfüzyon pompasının basıncının stabil ve 80mmHg olması sağlanmıştır. Deneye başlamadan önce deney için kullanılacak solüsyon ve tıbbi aletler deney masasına kullanıma hazır halde bulundurulmuştur.

Perfüzyon fiksasyonu yapılacak hayvan, ketamin/ksilazin enjeksiyonu ile anestezi altına alınmış ve genel durumu kontrol edilerek (kuyruk kısıtirma, parmak kısıtirma, ekstremitte çekme yanıtı, kornea refleksi, ölçülerek anestezi derinliği kontrol edilmiş) hayvanın tamamen anestezi altında olduğundan emin olunmuştur. Eğer gerekli ise idame ketamin/ksilazin enjeksiyonu yapılmıştır. Hayvan tamamen uyutulduktan sonra deney masasındaki plaka üzerine alınmıştır. Hayvana diyafram boyunca insizyon yapılmış ve göğüs kafesi kenarlardan kesilmiş, sternum uzaklaştırılmıştır. Kalp çevresindeki dokulardan kurtarılarak açığa çıkması sağlanmıştır. Kalbin sol ventrikül posterioruna ile küçük bir insizyon yapılmıştır ve intrakete buradan aorta yerleştirilmiştir. İntrakete serum fizyolojik içeren perfüzyon pompası borusu yerleştirilmiş, sağ atrium kanatılmış ve perfüzyon pompası çalıştırılmıştır. Hayvanın ağırlığının iki katı miktarda ml serum fizyolojik hayvanın vücudundan geçirilmiştir. Böylece hayvanın vücudunda bulunan bütün kanın akması

sağlanmıştır. Daha sonra intrakete fiksatifte bağlı olan boru yerleştirilmiş ve hayvanın ağırlığı kadar ml fiksatif geçirilmiştir. Hayvanın vücut katılığı net bir şekilde gözlenmiş ve sonrasında giyotinle dekapitasyon gerçekleştirilmiştir. Serebrum disekte edilip fiksatif (%4 paraformaldehit) içeren tüplere yerleştirilmiştir. Tüpler soğuk ortamda (4°C) muhafaza edilmiştir.

Fikse edilen beyin dokuları dorsal hipokampus seviyesinden kesilerek küçültülmüş ve doku takip cihazı (Leica TP1020) ile yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edilmiştir. Ksilende şeffaflandırmanın ardından sıvı parafin içerisinde 60°C'lik etüvde gece boyunca bekletilmiştir. Sonrasında doku gömme cihazında (Leica EG 1150 C) kasetlerle bloklama işlemi uygulanmıştır.

İmmünohistokimyasal çalışma için döner mikrotom (Leica RM2125RT) ile 5 mikron kalınlığında alınan parafin kesitler deparafinizasyon için ksilolde bekletilmiştir. İnen alkol serilerinden geçirilen kesitler %3 hidrojen peroksit solüsyonu ile 10 dk. muamele edildikten sonra çeşme suyu ve distile su ile yıkanmıştır. Antijen geri kazanımı için mikrodalga fırında sodyum sitrat solüsyonu uygulanmış ve fosfat tamponu ile yıkama yapılmıştır. Kesitlerin etrafı Pap pen ile çizilerek bloklama solüsyonunda bekletilmiştir. Kesitlerin üzerine anti-Iba-1 antikoru (Abcam, ab108539) eklenerek 37°C'de ve nemli ortamda 1 saat bekletilmiştir. Biotinli sekonder antikorda 20 dk. tutulan kesitler horse radish peroksidaz (HRP) streptavidinde 20 dk. bekletilmiş ve 3,3'-diaminobenzidin (DAB) uygulanmıştır. Zıt boyama için Mayer'in hematoksileni kullanılmıştır. Çeşme suyunda yıkandıktan sonra kesitler yükselen alkol serilerinden geçirilmiş, kurutulmuş ve entellan ile kapatılmıştır.

Mikroskopik inceleme ve fotoğraflama için Olympus DP72 CCD kamera sistemi eklentili Olympus BX51 ışık mikroskobu kullanılmıştır. Hipokampus bölgesinde x400 büyütmede toplam 5 alanda Iba-1 immünreaktif mikroglia hücreleri sayılmıştır. Her bir hayvan için sayım yapılan 5 alanın ortalaması alınmıştır.

5.8. Verilerin İstatiksel Analizi

Verilerin istatiksel analizi GraphPad Prism 5[®] programı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Gen ekspresyon verilerinin istatistiksel analizi tek yönlü varyans analizi (One way-ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey çoklu karşılaştırma testi kullanılmıştır.



6. BULGULAR

6.1. Davranış Deneilerinin Sonuçları

6.1.1. Vücut ağırlığı

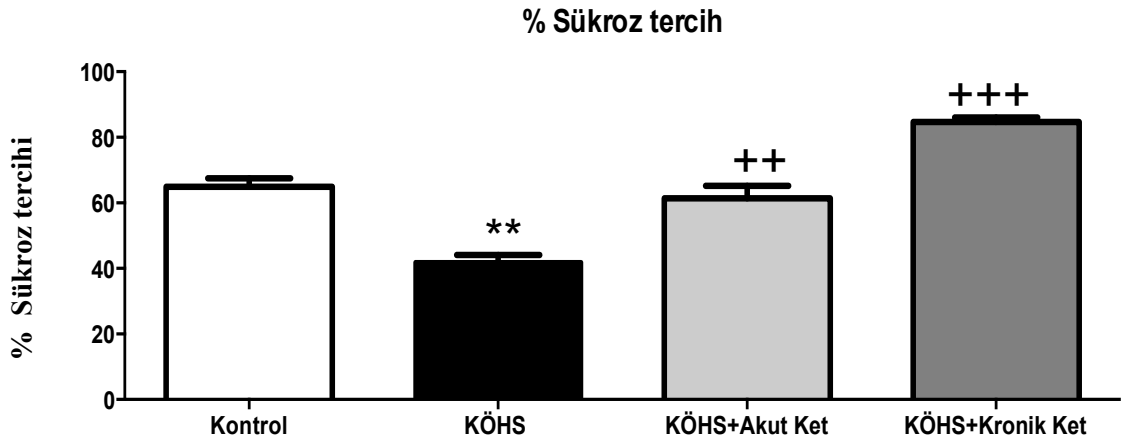
Vücut ağırlığı ölçümleri stres prosedürüne başlamadan önce (0. gün) ve deneyin sonunda alınmıştır. Her grup kendi başlangıç değeri ile karşılaştırılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalar One-way ANOVA ile yapılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı fark sadece KÖHS grubunda görülmüştür (* $p<0,05$).

Tablo 1. Vücut ağırlığı değişimi. Değerler ortalamanın \pm standart hata şeklinde gösterilmiştir.

Deney Grupları	0.gün ölçümleri (g)	6. hafta ölçümleri (g)
Kontrol	310,5 \pm 10,4	339,3 \pm 10,5
KÖHS	300,6 \pm 7,4	278,1 \pm 7,5*
KÖHS+ Akut Ketamin	255,8 \pm 5,7	287,3 \pm 5,8
KÖHS+ Kronik Ketamin	260,4 \pm 5,3	284,2 \pm 5,7

6.1.2. Sükroz tercih testi

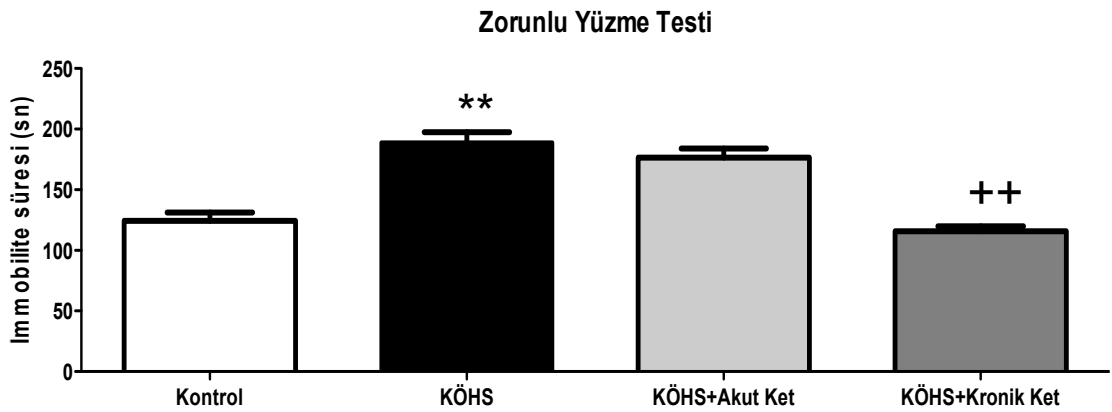
Çalışmada 6 hafta süre ile KÖHS modeline tabi tutulan sıçanlarda depresyonun en önemli göstergelerinden kabul edilen anhedoni-benzeri davranış kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,01$). Diğer yandan ketamin akut ($p<0,01$) ve aralıklarla kronik ($p<0,001$) uygulandığında KÖHS modelinde azalan sukroz tercihini istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde arttırmıştır (Şekil 8.)



Şekil 8. Deney hayvanlarının sükröz tüketimi. Kronik öngörülemeden stres uygulanan hayvanlarda kontrol grubuna göre sükröz tüketiminde anlamlı bir azalma gözlenmiştir. Akut ve kronik ketamin uygulamasının ise meydana gelen bu azalmayı arttırdığı bulunmuştur. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre; ++ $p < 0,01$, +++ $p < 0,001$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemeden hafif stres, Ket; ketamin.

6.1.3. Zorunlu yüzme testi

Bu testte immobilité süresi KÖHS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artmıştır ($p < 0,01$). Ketamin akut uygulandığında KÖHS modelinde artan immobilizasyon süresini istatistiksel olarak anlamlı bir biçimde değiştirmezken ($p > 0,05$) aralıklarla kronik uygulandığında anlamlı bir biçimde kısaltmıştır ($p < 0,01$) (Şekil 9.)

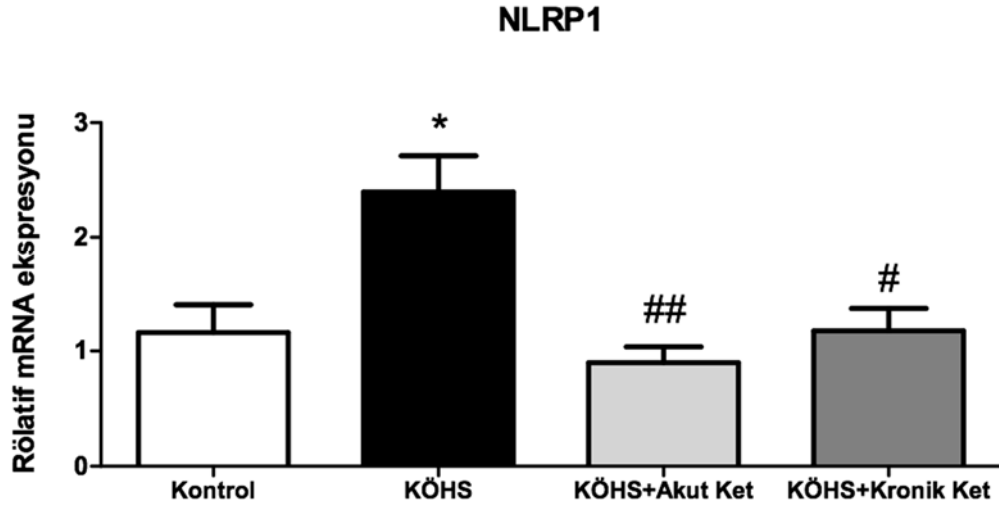


Şekil 9. Deneysel hayvanlarının zorunlu yüzmeye testinde hareketsiz kalma süresi. Stres grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hayvanların immobil kalma süresi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Kronik ketamin uygulamasının ise stres grubu ile karşılaştırıldığında immobile kalma süresinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana getirdiği gösterilmiştir. Akut ketamin uygulaması sonucu ise herhangi bir anlamlı değişiklik gözlenmemiştir. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre; ++ $p < 0,01$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir.

6.2. PCR Analizleri Gen Ekspresyonu Bulguları

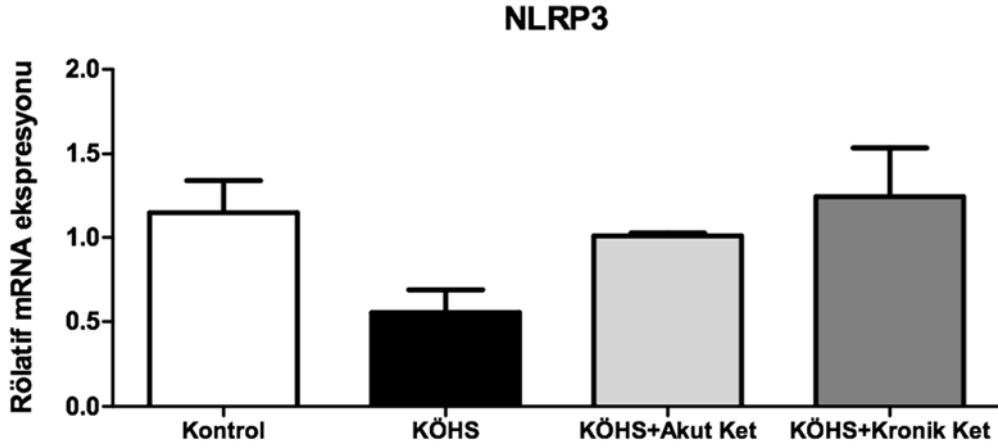
6.2.1. NLRP1 ve NLRP3

PCR analizleri 6 hafta kronik öngörülemez hafif stres prosedürünün inflamazom oluşturan protein NLRP1 ($F = 5,825$, $p < 0,05$) mRNA seviyelerinde anlamlı bir artış meydana getirdiğini göstermiştir. Sıçanlara tek doz ($p < 0,01$) ya da kronik intermitan ketamin ($p < 0,05$) uygulaması sonucu prefrontal kortekste KÖHS-aracılı NLRP1 mRNA düzeylerinde anlamlı bir azalma meydana gelmiştir (Şekil 10).



Şekil 10. NLRP1 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamasının \pm standart hatası şeklinde gösterilmiştir. * $p < 0,05$ kontrol grubuna göre; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. NLRP1; nod-benzeri reseptör proteini 1, KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Ket; ketamin.

PCR analizleri ile 6 hafta kronik öngörülemez hafif stres prosedürünün inflamazom oluşturan protein NLRP3 mRNA seviyelerinde anlamlı bir değişiklik meydana getirmediği bulunmuştur. Sıçanlara tek doz ya da kronik intermitan ketamin uygulaması sonucu prefrontal kortekste KÖHS-aracılı NLRP3 mRNA düzeylerinde anlamlı bir azalma meydana gelmemiştir (Şekil 11).

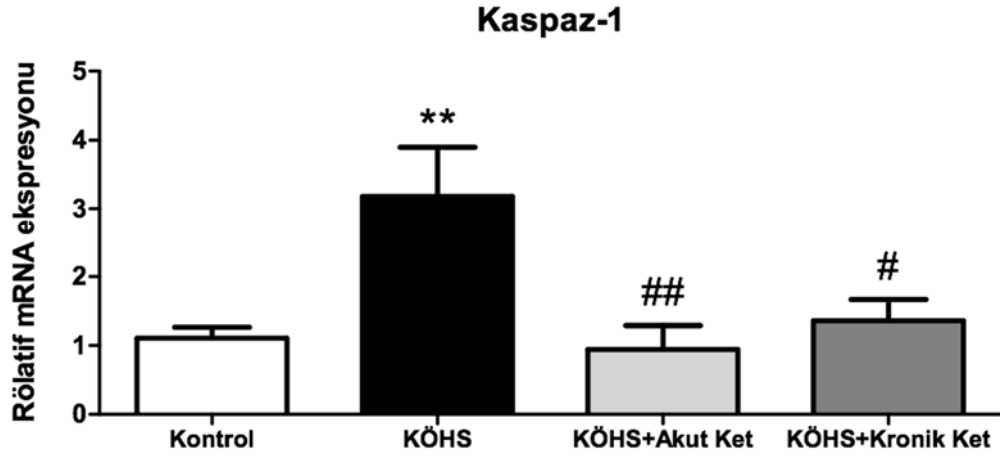


Şekil 11. NLRP3 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın \pm standart hatası şeklinde gösterilmiştir. NLRP3; nod-benzeri reseptör proteini 3, KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Ket; ketamin.

6.2.2. Kaspaz-1

NLRP1 ve NLRP3'e ek olarak, birlikte inflamazom oluşumuna katılan ve böylece IL-1 β aracılı inflamatuvar yanıtları başlatmada kritik rol oynayan diğer iki moleküler komponent olan kaspaz-1 ve ASC ölçülmüştür.

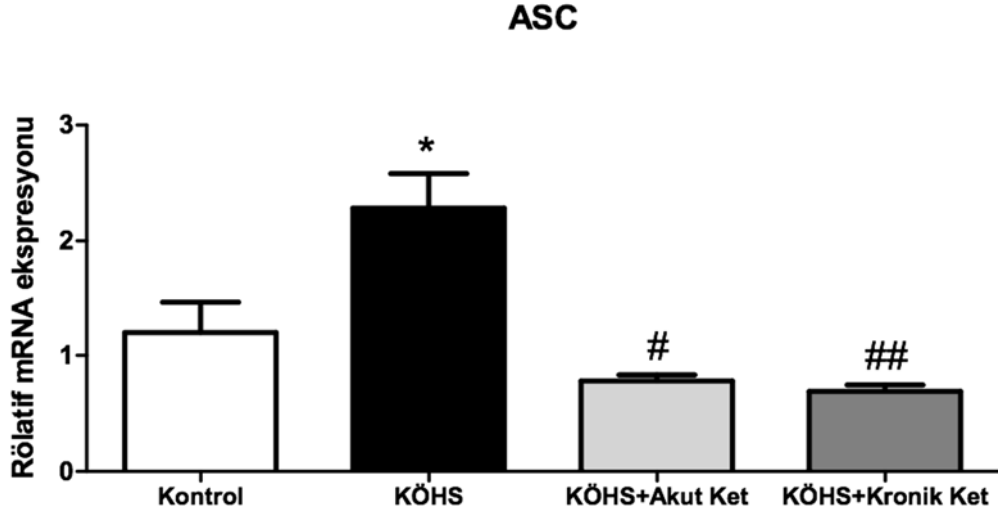
Çalışmamızda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KÖHS uygulanmış sıçanların prefrontal korteksinde kaspaz-1 rölatif mRNA düzeyleri ($F= 7,790$, $p<0,01$) anlamlı derecede artmış bulunmuştur ve bu durum akut ($p<0,01$) ve kronik ketamin ($p<0,05$) tedavileri ile tersine çevrilmiştir (Şekil 12).



Şekil 12. Kaspaz-1 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın \pm standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ** $p<0,01$ kontrol grubuna göre; # $p<0,05$, ## $p<0,01$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemeyen hafif stres, Ket; ketamin.

6.2.3. ASC

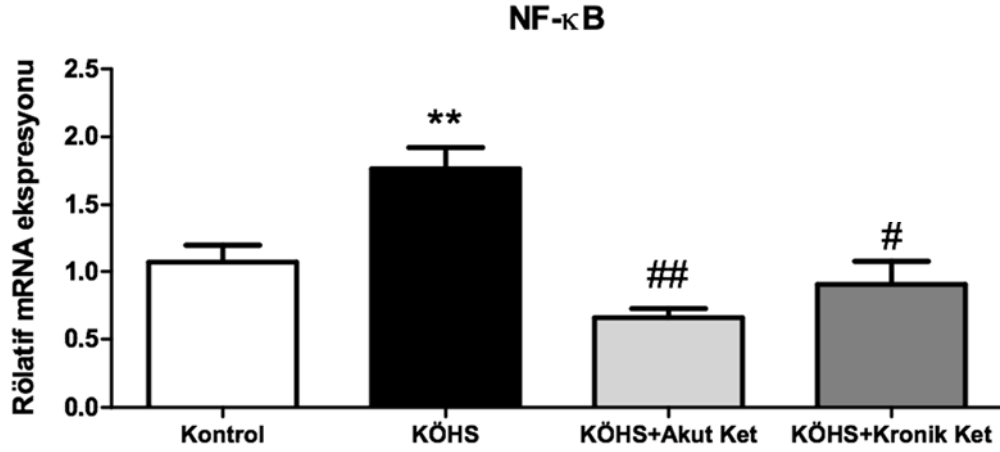
Benzer şekilde, inflamazom oluşumu için adaptör protein olan ASC'nin rölatif mRNA seviyeleri KÖHS prosedürümüz ile indüklenmiş ($F= 6,192$, $p<0,05$) ve akut ($p<0,05$) ve kronik ketamin ($p<0,01$) prefrontal kortekste KÖHS'e bağlı ASC mRNA seviyelerini azaltmıştır (Şekil 13).



Şekil 13. ASC prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamasının \pm standart hatası şeklinde gösterilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre; # $p<0,05$, ## $p<0,01$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. ASC; apoptoz ile ilişkili speck benzeri protein, KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Ket; ketamin.

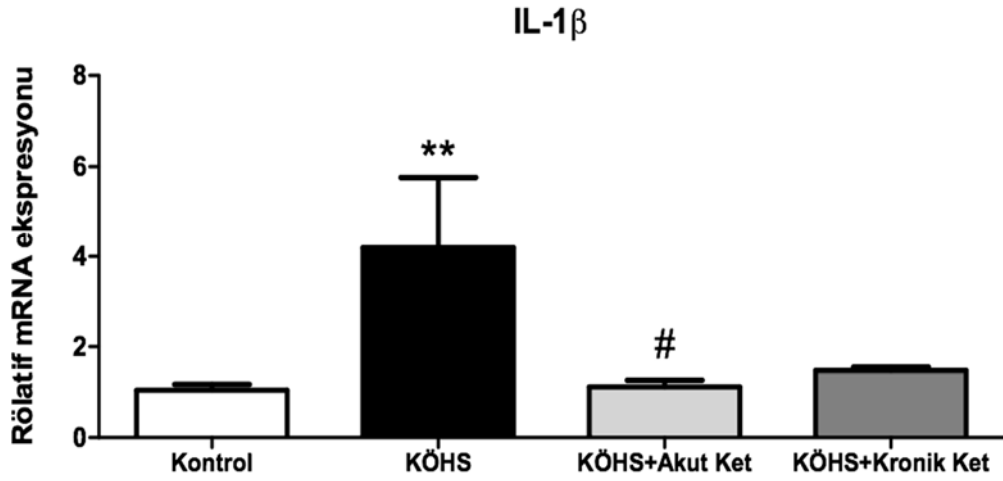
6.2.4. Sitokin düzeyleri: NF- κ B, IL-1 β ve IL-6

Ayrıca çalışmamızda; KÖHS ve ketamin tedavilerine yanıt olarak gelişebilecek, inflamatuvar kaskaddaki önemli bir transkripsiyonel faktör olan NF- κ B mRNA seviyelerindeki muhtemel değişiklikler araştırılmıştır. Akut ($p<0,01$) ve kronik intermitant ($p<0,05$) ketamin tedavilerinin KÖHS'ün indüklediği NF- κ B seviyelerini azalttığı ($F= 8,728$, $p<0,01$) istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 14).

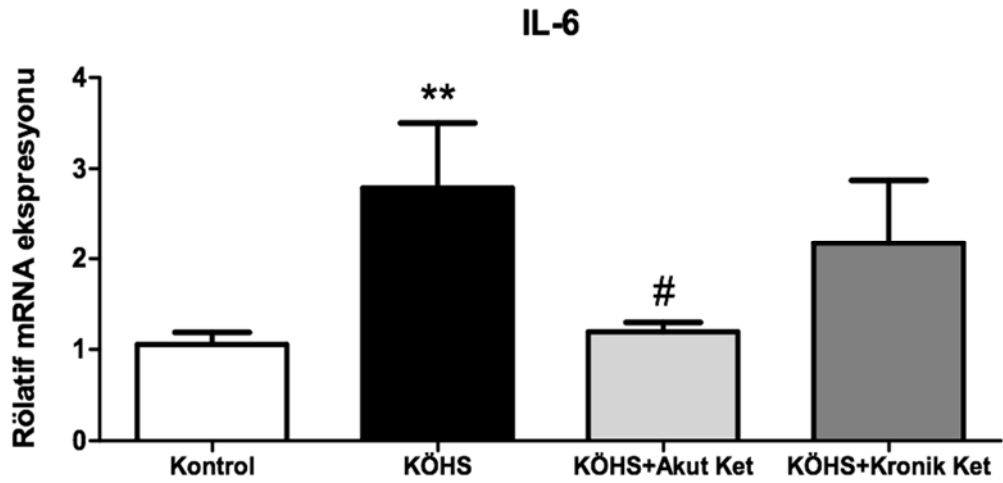


Şekil 14. NF-κB prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın \pm standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre; # $p < 0,05$, ## $p < 0,01$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. NF-κB; nükleer faktör kappa B, KÖHS; kronik öngörülemeyen hafif stres, Ket; ketamin.

Çalışmamızda 6 hafta boyunca KÖHS maruziyetinin, depresyonda büyük oranda rol oynayan iki majör proinflamatuvar sitokin olan IL-1 β ($F=4,482$, $p < 0,01$) ve IL-6 ($F= 4,766$, $p < 0,01$), rölatif gen ekspresyonlarında anlamlı olarak artışa neden olduğu bulunmuştur. Sadece akut uygulanan ketamin, IL-1 β ($p < 0,05$) ve IL-6 ($p < 0,05$) mRNA seviyelerinde anlamlı azalma meydana getirmiştir (Şekil 15, 16).



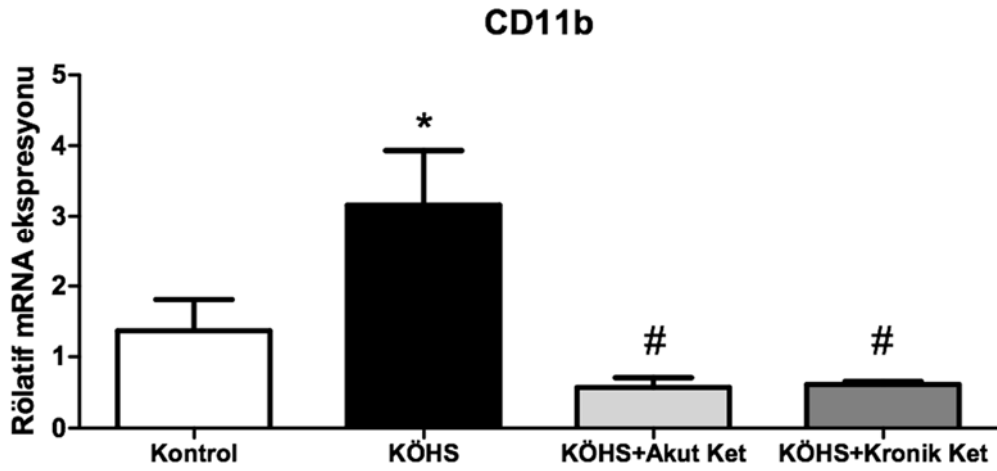
Şekil 15. IL-1 β prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın \pm standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre; # $p < 0,05$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. IL-1 β ; interlökin 1 beta, KÖHS; kronik öngörülemeyen hafif stres, Ket; ketamin.



Şekil 16. IL-6 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın \pm standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre; # $p < 0,05$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemeyen hafif stres, Ket; ketamin.

6.2.5. CD11b

Mikroglial aktivasyon indikatörü olan CD11b mRNA rölatif seviye değişimleri sıçanların prefrontal korteksinde araştırılmıştır. KÖHS'ün CD11b seviyelerini indüklediği ($F= 4,528$, $p<0,05$) ve akut ve kronik ketamin tedavisinin ($p<0,05$) KÖHS aracılı değişiklikleri istatistiksel anlamlı olarak tersine çevirdiği gösterilmiştir (Şekil 17).



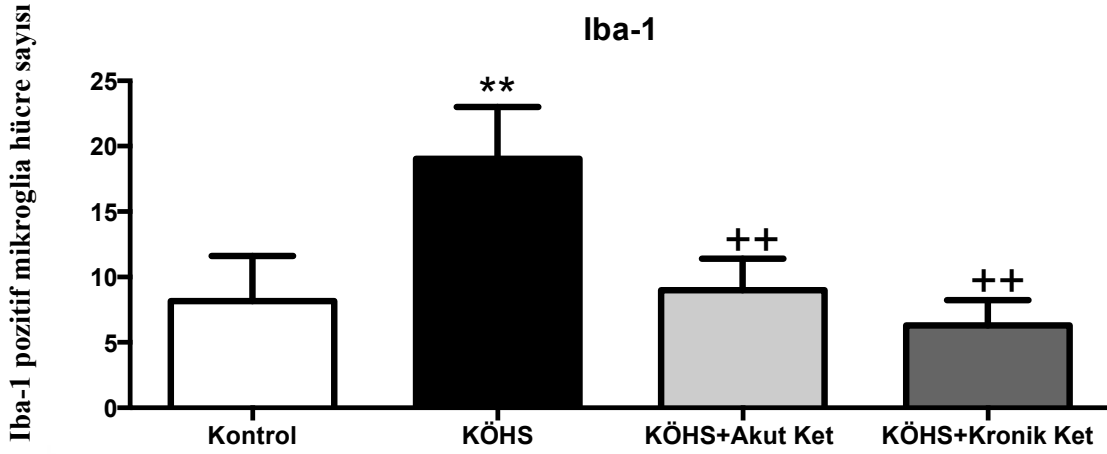
Şekil 17. CD11b prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın \pm standart hatası şeklinde gösterilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre; # $p<0,05$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemeyen hafif stres, Ket; ketamin.

6.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

6.3.1. Iba-1

Hipokampal Iba-1 immunoreaktivitesi kontrol grupları ile karşılaştırıldığında KÖHS gruplarında anlamlı olarak artmış bulunmuştur ($p<0,01$). Diğer taraftan akut

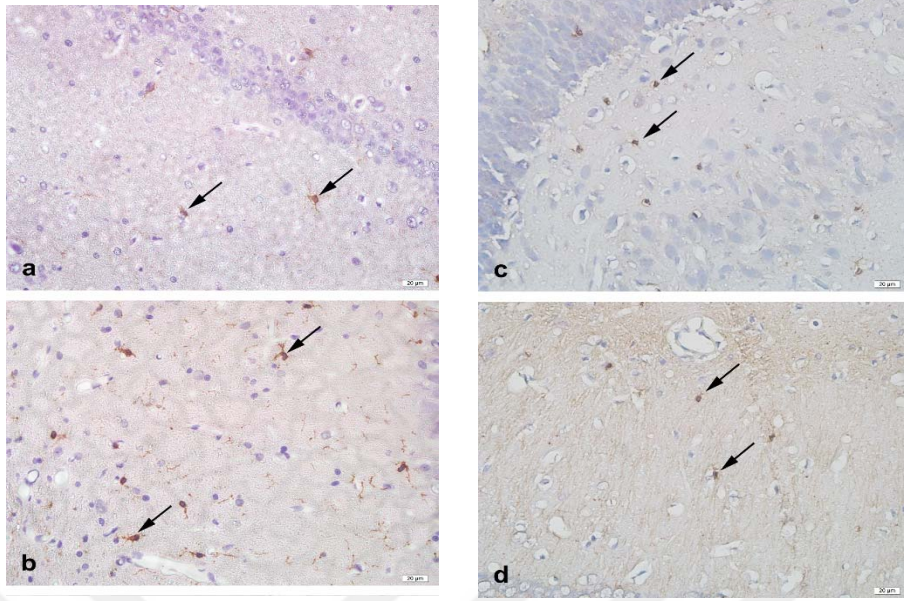
ve kronik intermitan ketamin tedavisinin KÖHS tarafından indüklenen hipokampal Iba (+) immunoreaktif hücreleri azaltmıştır ($p<0,01$) (Şekil 18).



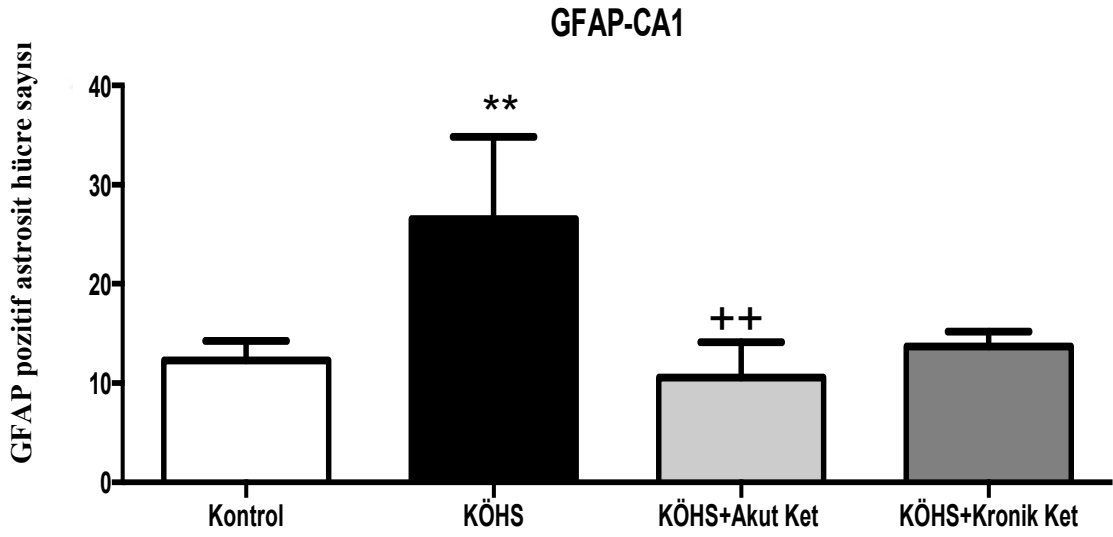
Şekil 18. Hipokampüste Iba-1 pozitif mikroglia hücre düzeyleri. Kontrol grubu ile kıyaslandığında stres grubunda Iba-1 pozitif mikroglia hücrelerinin sayıca arttığı gözlemlendi. Akut ve kronik ketamin, gruplarında stres grubuyla kıyaslandığında Iba-1 pozitif mikroglial hücrelerin azaldığı görüldü. ** $p<0,01$ kontrol grubuna göre; ++ $p<0,01$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Ket; ketamin.

6.3.2. GFAP

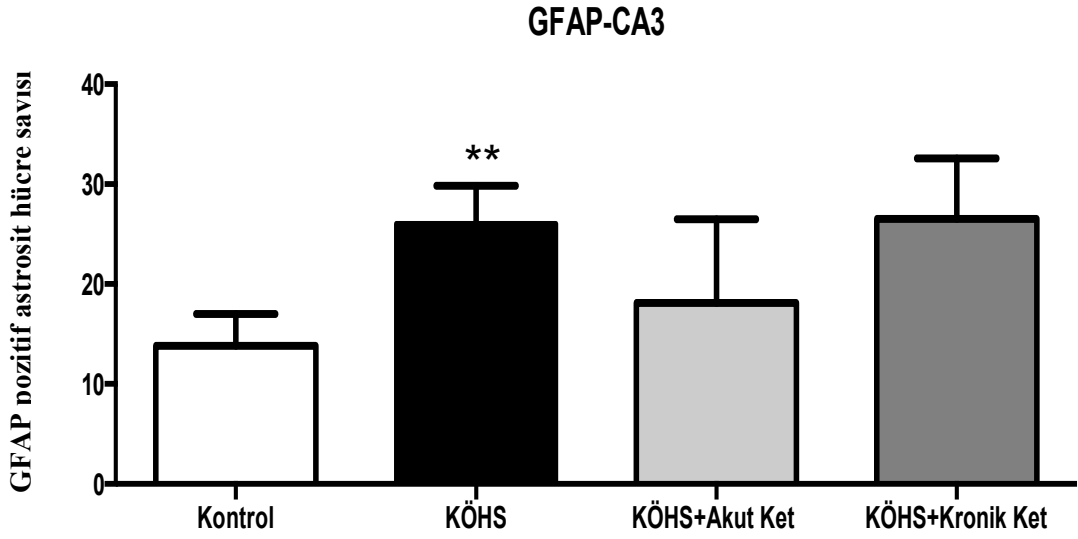
GFAP ekspresyonu hipokampal CA1, CA3 ve DG altbölgelerinde araştırılmıştır (Şekil 19, 20, 21). Çalışmamız KÖHS prosedürünün bütün hipokampal altbölgelerdeki GFAP ekspresyonunda anlamlı artış meydana getirdiğini ($p<0,01$), KÖHS+Akut ketamin grubunun farklı altbölgeelerde farklı sonuçlar oluşturduğunu göstermiştir. Sadece hipokampüsün CA1 altbölgesinde akut ketamin GFAP (+) astrosit ekspresyonunda anlamlı bir azalma meydana getirmiştir ($p<0,01$). Fakat kronik intermitan uygulamanın, çalışmamızda araştırdığımız bütün hipokampal altbölgelerdeki GFAP ekspresyonlarında herhangi bir değişiklik oluşturmadığı gösterilmiştir.



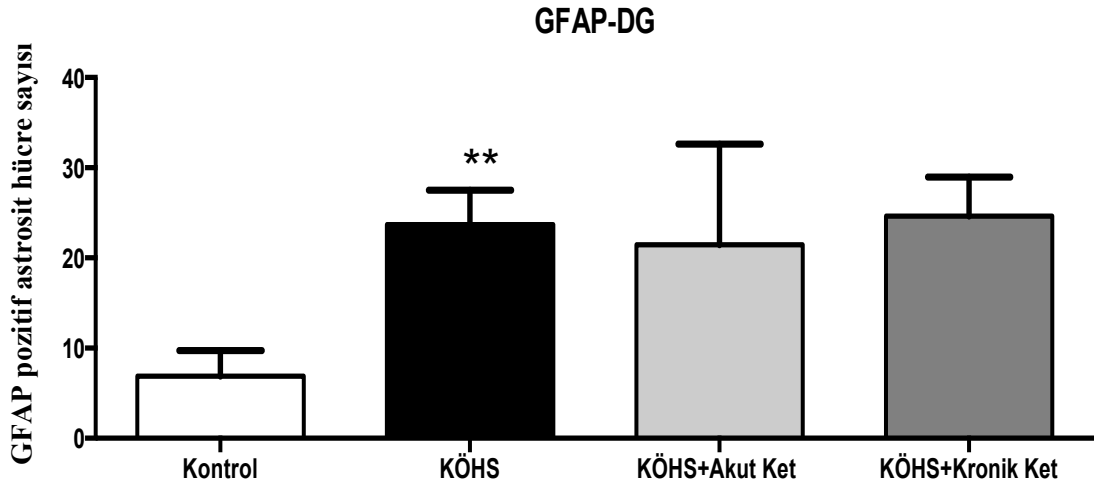
Resim 1. Kontrol (a), stres (b), akut ketamin (c) ve kronik ketamin (d) gruplarında hipokampusta Iba-1 immünreaktif mikroglia hücreleri (ok). Bar: 20 μ m. Orijinal büyütme: x400.



Şekil 19. Hipokampusun CA1 bölgesinde GFAP pozitif astrosit düzeyleri. Stres grubunda kontrol grubuna göre GFAP pozitif astrosit hücrelerinin anlamlı olarak sayıca yüksek olduğu gözlenmiştir. Akut ketamin stres grubuyla kıyaslandığında GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayısının azaldığı bulunmuştur. Kronik ketamin uygulamasının ise GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayısında azalma meydana getirme eğiliminde olduğu fakat sonucun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre; ++ $p < 0,01$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Ket; ketamin.



Şekil 20. Hipokampusun CA3 bölgesinde GFAP pozitif astrosit düzeyleri. Stres grubunda kontrol grubuna göre GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayıca yüksek olduğu gözlenmiştir. Akut ve kronik ketamin uygulamasının GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayısında anlamlı bir değişiklik meydana getirmediği gözlenmiştir. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Ket; ketamin.



Şekil 21. Hipokampusun dentat girus altbölgesinde GFAP pozitif astrosit düzeyleri. Stres grubunda kontrol grubuna göre GFAP pozitif astrosit hücrelerinin anlamlı olarak sayıca yüksek olduğu gözlenmiştir. Akut ketamin ve kronik ketamin tedavisinin GFAP pozitif astrosit hücre sayısında anlamlı bir değişiklik meydana getirmediği görülmüştür. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Ket; ketamin.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Ketaminin antidepresan etki mekanizması ile ilgili araştırmalar çoğunlukla akut uygulama ile yapılmış olup ketaminin kısa dönem etkileri üzerine odaklanılmıştır. Bununla birlikte ketaminin uzun dönem uygulanması sonucu inflamasyon hipotezi çerçevesinde meydana getirebileceği olası etkiler üzerinde yeterince veri mevcut değildir. Bu nedenle çalışmamızda, kronik ketamin uygulamasının kronik öngörülemeyen hafif stres ile oluşturan depresyon modelinde nöroinflamatuvar yollar üzerinde meydana getireceği uzun dönemli olası etkileri görebilmek ve akut uygulama ile karşılaştırabilmek adına deneyin, akut ve kronik olmak üzere iki ilaç grubundan oluşması planlanmıştır.

Kronik stres modelleri, diğer hayvan modellerine oranla depresyonu taklit etmede daha yüksek etiyolojik benzerlik ve görünüş geçerliliğine sahip olarak kabul edilmekte ve depresyon için yapılan prelinik çalışmalarda oldukça fazla tercih edilmektedir. Bu modellerden biri olan kronik öngörülemeyen hafif stres modelinde, stres uygulaması sonucunda hayvanların vücut ağırlıklarında ve sükroz tüketimlerinde düşme gözlenmektedir (Hill ve ark., 2012). Hayvanların sükroz tercihlerindeki azalma, majör depresif bozukta gözlenen anhedoni ile ilişkilendirilmektedir (Hill ve ark., 2012). Çalışmamızda; kontrol grubuna göre, stres grubunun vücut ağırlığında anlamlı olarak azalma gözlenmiş; akut ve kronik ketamin uygulanan gruplarda ise vücut ağırlıklarında artış eğilimi olduğu gösterilmiştir. Garcia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da benzer şekilde kronik öngörülemeyen stres uygulanan sıçanlarda vücut ağırlıklarında azalma gözlenmiş, akut ve kronik ketamin uygulamasının ise hayvanların vücut ağırlıklarında artış meydana getirdiği ortaya konulmuştur (Garcia ve ark., 2009).

Sükroz tercih testinde ise; stres grubu, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında sükroz tüketiminde azalma olduğu gözlenmiştir. Bu bağlamda kronik öngörülemeyen stres modelinin başarılı bir şekilde uygulanarak hayvanlarda anhedoni meydana geldiği düşünülebilir. Akut ketamin uygulamasının bu azalmayı anlamlı olarak

arttırdığı gösterilmiştir. Benzer şekilde Li ve arkadaşları da akut ketamin uygulamasının stres grubuna göre sükröz tercihinde artış meydana getirdiğini ortaya koymuştur (Li ve ark., 2011). Kronik ketamin uygulamasının ise sükröz tüketiminde anlamlı artış meydana getirdiği bulunmuştur. Garcia ve arkadaşları da yaptıkları çalışmada, kronik ketamin uygulamasının, hayvanlarda kronik hafif stres sonucu meydana gelen sükröz tüketimindeki azalmayı tersine çevirdiğini ortaya koymuştur (Garcia ve ark., 2009).

Sıçanlarda yapılan çalışmalarda kronik stresin aynı zamanda zorunlu yüzme testinde immobil kalma sürelerindeki artış ile gözlenebilen savunmasızlık/çaresizlik ve anhedoni meydana getirdiği gösterilmiştir (Gerhard ve ark., 2016). Çalışmamızda da zorunlu yüzme testinde elde edilen bulgular literatür bilgisini desteklemiş; kontrol grubu ile karşılaştırıldığında stres grubunun immobil kalma sürelerinde artış bulunmuştur. Akut ketamin uygulamasının, hareketsiz kalma sürelerinde herhangi bir anlamlı değişiklik meydana getirmediği gösterilmiştir. Tizabi ve arkadaşlarının yaptığı araştırmaya göre Wistar Kyoto sıçanlarına akut ve kronik uygulanan ketamin dozlarının zorunlu yüzme testinde immobil kalma süresini kısalttığı dolayısıyla antidepresan-benzeri davranışa neden olduğu ortaya konmuştur (Tizabi ve ark., 2012). Gigliucci ve arkadaşlarının, Sprague-Dawley sıçanlar üzerinde yaptıkları bir araştırmada ise, tek doz intraperitoneal ketamin uygulamasının uygulamadan 1 ya da 24 saat sonra immobil kalma süresinde azalma meydana getirerek zorunlu yüzme testinde antidepresan benzeri etki gösterdiği sonucunu ortaya koymuştur (Gigliucci ve ark., 2013). Bu bağlamda yukarıdaki literatürlerin referanslarına göre, akut ketamin uygulamasından beklenen immobil kalma süresinde anlamlı bir azalma çalışmamızda bulunmamıştır. Bununla beraber çalışmamızda kronik ketamin uygulamasının immobil kalma süresinde azalma meydana getirdiği gösterilmiştir.

İnsan nöronal NLRP1 inflamazomunun strese maruz kalan nöron kültürlerinde Kaspaz-1 ve sonrasında Kaspaz-6 aktivasyonundan sorumlu olduğu bilinmektedir (Kaushal ve ark., 2015). Kaspaz-1 aktivasyonu sonucu IL-1 β ile ilişkili nöroinflamasyon, Kaspaz-6 aktivasyonu sonucu ise aksonal dejenerasyon meydana gelmektedir (Kaushal ve ark., 2015). Çalışmamızda prefrontal korteksteki NLRP1

mRNA ekspresyonuna bakılmış ve kronik öngörülemez stres uygulanan hayvanlarda kontrol grubuna göre NLRP1 mRNA ekspresyonunda artış bulunmuştur. Akut ve kronik ketamin uygulamasının ise NLRP1 mRNA ekspresyonunda meydana gelen bu artışı anlamlı derecede azalttığı gösterilmiştir.

NLRP3 inflamazomunun ise stres tarafından aktive edilerek, kaspaz-1 aktivasyonu sonucu IL-1 β salınımına neden olduğu bilinmektedir (Iwata ve ark., 2013). Artmış IL-1 β seviyeleri de depresif semptomların oluşmasında rol oynamaktadır (Iwata ve ark., 2013). Bu verilerle uyumlu olarak depresyon hastalarının periferik kan mononükleer hücrelerindeki NLRP3 ile birlikte kaspaz-1 ekspresyonundaki artış bulunmuştur ve bu artışın depresyon derecesi ile korelasyon gösterdiği bilinmektedir. (Miller ve Raison 2016). Ünal ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada, subkronik strese prefrontal kortekste ve hipokampüste kaspaz-1 ve NLRP3 gen ekspresyonunun arttığı gösterilmiş, stres+ akut ketamin grubu stres grubu ile karşılaştırıldığında ise NLRP3 düzeylerinin belirgin derecede azaldığı, kaspaz-1'in ise azalma eğiliminde olduğu bulunmuştur (Ünal ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda ise prefrontal kortekste NLRP3 mRNA seviyeleri incelendiğinde, kontrol grubuna göre stres grubunun NLRP3 mRNA ekspresyonunu inhibe etme eğiliminde olduğu gözlenmiş fakat anlamlı bir sonuç bulunamamıştır. Akut ve kronik ketamin uygulamasının ise NLRP3 ekspresyonunda artış meydana getirme eğiliminde olduğu fakat sonuçların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bulunmuştur. Bu bağlamda bizim bulduğumuz sonuçlar yukarıda belirtilen daha önceki çalışmaların sonuçları ile çelişmektedir. Fakat çalışmamızda baktığımız prefrontal kortekste Kaspaz-1 mRNA ekspresyonu yukarıdaki veriler ile benzerlik göstermekte olup; stres grubunun Kaspaz-1 mRNA ekspresyonunda kontrol grubuna göre artış gözlenmiştir. Akut ve kronik ketamin uygulamasının ise bu artışı inhibe ettiğini gösterilmiştir.

ASC molekülü pro-kaspaz-1 ile etkileşerek inflamazom yapısında rol oynayan bir moleküldür. Momeni ve arkadaşlarının yaptığı araştırma sonucunda depresyon hastalarında ASC mRNA seviyelerinin, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında artmış olduğu gösterilmiştir (Dick ve ark., 2016). Çalışmamızda bulduğumuz sonuç da bu

veriyle korelasyon göstermekte olup, prefrontal korteksteki ASC mRNA ekspresyonunun kronik öngörülemez hafif strese kontrol grubuna göre arttığı gösterilmiştir. Akut ve kronik ketamin uygulamasının ise bu artışı inhibe ettiği bulunmuştur.

Proinflamatuvar sitokinlerin transkripsiyonunun artmasını sağlayan NF- κ B'nin depresyon patofizyolojisinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (Kim ve ark., 2016). Ketaminin astrositlerdeki LPS-indüklemeli NF- κ B p-65 fosforilasyonunu ve U937 hücrelerindeki NF- κ B bağlanmasını azalttığı bulunmuştur (Wu ve ark., 2012; Welters ve ark., 2010; Yu ve ark., 2006). Sakai ve arkadaşları, *in vitro* insan glioma hücrelerinde ve intakt fare beyin hücrelerinde ketaminin LPS aracılı NF- κ B aktivasyonunu konsantrasyona bağımlı bir şekilde *in vivo* ve *in vitro* ortamda suprese ettiğini göstermişlerdir (Sakai ve ark., 2000). Yu ve arkadaşlarının 2007'de yayımlanan çalışmasında, çekal ligasyon ve ponksiyon ile indüklenen sıçan barsağındaki polimikrobiyal sepsiste ketaminin NF- κ B aktivitesini inhibe ettiği bulunmuştur (Yu ve ark., 2007). Sun ve arkadaşları, endotoksinin NF- κ B aktivitesini arttırdığını, 0.5 mg/kg dozunda ketaminin barsakta endotoksine bağlı NF- κ B aktivasyonunu inhibe ettiğini göstermiştir (Sun ve ark., 2004). Çalışmamızda ise NF- κ B prefrontal korteks mRNA düzeyleri incelendiğinde, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kronik stres grubunun NF- κ B düzeyleri artmış bulunmuştur. Akut ve kronik ketamin uygulamasının ise bu artışı inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu bağlamda çalışmamızın sonucu yukarıdaki verileri desteklemektedir.

Artmış IL-1 β seviyelerinin depresif semptomların oluşmasında rol oynadığı ve antidepresan tedavinin IL-1 β serum düzeylerini azalttığı bilinmektedir (Iwata ve ark., 2013). Tanaka ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise, ketaminin glial hücrelerdeki LPS-aracılı IL-1 β upregülasyonunu suprese ettiği gösterilmiştir (Tanaka ve ark., 2013). Chang ve arkadaşları, ketaminin (100 and 250 μ M) sıçan mikrogial hücrelerinde nitrik oksit ve IL-1 β üretimini inhibe ettiği sonucunu ortaya koymuştur (Chang ve ark., 2009). Ketaminin düşük dozlarda LPS indüklemeli IL-1 β 'yi bloke ettiği gösterilmiştir (Chang ve ark. 2009; Ward ve ark., 2011). Çalışmamızda IL-1 β prefrontal korteks mRNA düzeyleri incelenmiş ve stres grubunun IL-1 β mRNA

ekspresyonu kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Akut ketamin uygulamasının ise yukarıdaki çalışmalarla benzer şekilde bu artışı azalttığı gösterilmiştir. Çalışmamızda kronik ketamin uygulamasının, IL-1 β mRNA düzeyini inhibe etme eğiliminde olduğu bulunmuş, fakat anlamlı bir sonuç gözlenmemiştir.

Major depresyon hastalarında yukarıda bahsedilen parametrelere ek olarak IL-6 düzeylerinin arttığı ve duygu durumu etkileyerek disfori ve anksiyeteye neden olduğu bildirilmiştir (Iwata ve ark., 2013). Ketaminin ise, sıçanlarda endotoksin indüklemeli şoku TNF- α , IL-6 gibi plazma sitokinlerinin salınımını inhibe ederek ve inflamasyonu azalttığı gösterilmiştir (Taniguchi ve ark. 2001, 2004). Ketaminin ayrıca IL-6 gibi LPS indüklemeli proinflamatuvar sitokin ekspresyonunu antiinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonunu etkilemeden azalttığı bulunmuştur (Helmer ve ark. 2003a,b). Çalışmamızda ise prefrontal korteksteki IL-6 mRNA ekspresyonu incelendiğinde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kronik öngörülemeyen hafif stres uygulanmış hayvanların IL-6 düzeylerinde yükselme gözlenmiştir. Akut ketamin uygulamasının ise bu artışı azalttığı bulunmuştur. Kronik ketamin uygulaması da IL-6 düzeyini inhibe etme eğiliminde olsa da anlamlı bir sonuç elde edilememiştir.

Kronik hafif stres maruziyetinin mikrogial belirteçlerden CD11b'nin mRNA ekspresyon seviyelerinde belirgin bir artma meydana getirdiği ortaya konmuştur (Kreisel ve ark., 2014). Ketaminin LPS-aracılı CD11b ekspresyonunda meydana gelen artışı azalttığı gösterilmiştir (Welters ve ark., 2010). Ayrıca ketaminin polimorfonükleer lökosit CD11 ekspresyonunu belirgin şekilde inhibe ettiği bulunmuştur (Zhou ve ark., 2007). Bizim de çalışmamızda CD11b prefrontal korteks mRNA düzeylerini incelendiğinde, kronik öngörülemeyen stres grubunun kontrol grubuna göre CD11b mRNA ekspresyonunun yüksek olduğu gösterilmiştir. Akut ve kronik ketamin uygulamasının ise CD11b ekspresyonunu azalttığı bulunmuştur.

Iba-1 molekülünün de mikrogial aktivite ölçütü olduğu bilinmektedir (Calcia ve ark., 2016). Calcia ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmalarında stres uygulanmayan sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, strese maruz kalan hayvanlarda hipokampüsteki Iba-1 aktivitesinin artmış olduğu gözlenmiştir (Calcia ve ark., 2016).

2 ve 4 gün boyunca çeşitli öngörülemeyen stres uygulamasından sonra sıçanların dentat gyrusundaki Iba-1 mRNA seviyesinde artış gösterilmiştir (Kreisel ve ark., 2014). Benzer şekilde öngörülemeyen stresin uzun dönem (35 gün) uygulanmasının dentat gyrus Iba-1 mRNA seviyesini sıçanlarda ve farelerde azalttığını bulmuştur (Kreisel ve ark., 2014). Bian ve ark., Kunming farelerine 40 gün boyunca çeşitli öngörülemeyen stres uygulanmasından sonra CA1 bölgesinde Iba-1 boyama miktarında 2 kat artış ölçmüştür (Bian ve ark., 2012). Çalışmamızda ise hipokampüsteki Iba-1 pozitif mikroglia hücre düzeyleri incelenmiş ve kontrol grubu ile kıyaslandığında stres grubunda Iba-1 pozitif mikroglia hücrelerinin sayıca arttığı gözlenmiştir. Akut ve kronik ketamine uygulamasının ise, KÖHS grubuyla kıyaslandığında Iba-1 pozitif mikroglial hücrelerde azalma meydana getirdiği gösterilmiştir.

Astrositik belirteçlerden GFAP'ın astrosit hücre gövdelerinde eksprese olduğu ve astrositlerde mekanik gücün sağlanmasında yardımcı olduğu düşünülmektedir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Ayrıca GFAP'ın hücre hareketi ve yapısı ile ilgili süreçlerde rol oynayıp, astrosit-nöron iletişiminde rol oynadığı düşünülmüştür (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Muller ve ark. yaptığı bir çalışmada depresyonda hipokampüsteki CA1 bölgesinde GFAP-IR astrositlerinde ciddi bir azalma gösterilmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Kronik hafif stresin, sıçan medial prefrontal korteksindeki GFAP mRNA seviyesini belirgin şekilde azalttığı bulunmuştur (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Kronik stres modellerinde deney hayvanlarında GFAP ile ölçülen kortikal ve hipokampal astrositlerde belirgin derecede azalma gözlenmiş; kronik stresin GFAP-IR astrositleri üzerindeki bu etkisinin kronik antidepresan tedavisi ile tersine çevrilebildiği gösterilmiştir (Rajkowska ve Stockmeier, 2013). Wu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ketaminin artmış GFAP ekspresyonunu ve hücre gövde hacmini ciddi bir biçimde inhibe ettiği gösterilmiştir (Wu ve ark., 2012). Bu bağlamda bizim bulduğumuz sonuçlar yukarıdaki verilerle çelişmektedir. Çalışmamızda hipokampüsteki CA1, CA3 ve dentat girustaki GFAP seviyeleri ölçülmüş ve KÖHS grubunda hipokampusun CA1, CA3 ve dentat gyrus bölgelerinde GFAP pozitif astrosit düzeyleri kontrol grubu ile

karşılaştırıldığında yüksek bulunmuştur. Akut ketaminin, CA1 bölgesindeki bu yüksekliği inhibe ettiği, CA3 ve dentat girus bölgelerindeki yüksekliği inhibe etme eğiliminde olduğu gösterilmiş fakat CA3 ve dentat girus bölgelerindeki sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Kronik ketamin uygulamasının ise hipokampusun CA1 bölgesindeki GFAP pozitif astrosit düzeylerini inhibe etme eğiliminde olduğu gösterilmiş fakat istatistiksel olarak anlamlı sonuç bulunamamıştır. Kronik ketamin uygulamasından sonra CA3 ve dentat girus bölgelerinde ise herhangi bir anlamlı değişiklik gözlenmemiştir.

Genel olarak çalışmamızdaki sonuçlara bakıldığında, sükröz tercih testi ve zorunlu yüzme testi davranış deneylerinde kronik ketamin kronik ketamin her iki testte de kronik öngörülemez stres uygulamasının etkilerini anlamlı bir biçimde tersine çevirirken akut ketamin uygulamasının sadece sükröz tercih testinde anlamlı bir sonuç meydana getirdiği gözlenmiştir. Bu bağlamda sükröz tercih testinde gözlenen sonuçlar yukarıda bahsedilen Li ve ark., ile Garcia ve ark., gösterdiği sonuçlar ile uyumlu bulunmuştur (Li ve ark., 2011). Fakat zorunlu yüzme testinde bulduğumuz sonuçlar literatür sonuçları ile karşılaştırıldığında kronik ketamin açısından uyumlu olmakla birlikte, akut ketamin uygulamasından beklenen immobilité süresinde azalma meydana gelmemiştir ve yukarıda bahsedilen literatür bilgisiyle (Gigliucci ve ark., 2013; Tizabi ve ark., 2012) çelişkili bulunmuştur. Bu bağlamda davranış deneyleri açısından incelendiğinde kronik ketamin uygulamasının akut ketamin uygulamasına göre antidepresan-benzeri etki meydana getirme potansiyeli daha yüksek olduğu düşünülebilir.

Yaptığımız immünohistokimyasal ve moleküler analizler neticesinde NLRP1, Kaspaz 1, ASC, NF-κB, CD11b, Iba-1 parametreleri üzerinde kronik öngörülemez hafif stresin meydana getirdiği etkilerin hem akut ve hem kronik ketamin uygulaması tarafından anlamlı bir biçimde geri çevrildiği gösterilmiştir. Fakat akut ketamin, KÖHS modelinin meydana getirdiği IL-1β ve IL-6 mRNA ekspresyonunu artışını tersine çevirirken kronik ketamin uygulaması bu parametrelerde anlamlı bir sonuç vermemiştir. Bu anlamda akut ve kronik ketamin uygulamasının depresyonun

nöroinflamatuvar hipotezi bağlamında etkinlik potansiyelinin karşılaştırılabilmesi için daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Sonuç olarak, çalışmamızda glutamaterjik NMDA reseptör antagonisti ketaminin akut ve kronik uygulamalarının kronik strese bağlı gelişen depresif-benzeri davranışları düzelterek antidepresan-benzeri etkiler meydana getirdiği gösterilmiştir. Ayrıca, çalışmamızda elde edilen moleküler ve histolojik analiz bulgularına göre ketamin ile oluşan antidepresan-benzeri etkilerin kısmen nöroinflamatuvar yanıtların baskılanması ile ilişkili olabileceği ortaya konulmuştur.

Son yıllarda yapılan çalışmalar; depresyon ile artmış inflamatuvar yanıtlar arasındaki ilişkiye dikkat çekmektedir. Özellikle hızlı antidepresan etkili ketaminin antiinflamatuvar etki potansiyeli taşıyabileceğine ilişkin literatür bilgisi ışığında çalışmamızda ketaminin depresyon ile ilişkili inflamazom aktivasyonu ile ilişkili moleküler komponentler ve çeşitli inflamatuvar medyatörlerin gen ekspresyon düzeyleri ve ayrıca, astrosit aktivasyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Elde edilen bulgularla ketaminin KÖHS ile indüklenen PFC NLRP1 inflamazom aktivasyonunu azalttığı, inflamatuvar sitokin yanıtlarını ve mikrogliya immünoreaktivitelerini baskıladığı ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada iyi valide edilmiş bir depresyon modelinde sıçanlarda ketamin uygulamasının antidepresan-benzeri etkiler meydana getirdiği ve söz konusu etkilerin nöroinflamatuvar yanıtların baskılanması ile kısmen ilişkili olabileceği gösterilmiştir.

8. KAYNAKLAR

Adams SD, Radhakrishnan RS, Helmer KS, Mercer DW. Effects of anesthesia on lipopolysaccharide-induced changes in serum cytokines. *J Trauma*. 2008;65(1):170-174.

Andrade L, Caraveo-Anduaga JJ, Berglund P, Bijl RV, de Graaf R, Vollebergh W, Dragomirecka E, Kohn R, Keller M, Kessler RC, Kawakami N, Kiliç C, Offord D, Ustun TB, Wittchen HU. The epidemiology of major depressive episodes: Results from the international consortium of psychiatric epidemiology (ICPE) surveys. *Int. J. Methods Psychiatr Res*. 2003;12(3): 3–21.

Auer DP, Putz B, Kraft E, Lipinski B, Schill J, Holsboer F. Reduced glutamate in the anterior cingulate cortex in depression: An in vivo proton magnetic resonance spectroscopy study. *Biol Psychiatry*. 2000;47(4):305–313.

Berman RM, Cappiello A, Anand A, Oren DA, Heninger GR, Charney DS, Krystal JH. Antidepressant effects of ketamine in depressed patients. *Biol Psychiatry*. 2000;47(4):351-354.

Bian Y, Pan Z, Hou Z, Huang C, Li W, Zhao B. Learning, memory, and glial cell changes following recovery from chronic unpredictable stress. *Brain Res Bull*. 2012;88:471–476

Bliss TV, Collingridge GL. A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus. *Nature*. 1993;361(6407):31-39.

Bridges RJ, Natale NR, Patel SA. System xc-cystine/glutamate antiporter: an update on molecular pharmacology and roles within the CNS. *Br J Pharmacol*. 2012;165(1):20-34.

Brookes ZL, Reilly CS, Lawton BK, Brown NJ. Intravenous anesthesia inhibits leukocyte-endothelial interactions and expression of CD11b after hemorrhage. *Shock*. 2006;25(5):492-499.

Browne CA, Lucki I. Antidepressant effects of ketamine: mechanisms underlying fast-acting novel antidepressants. *Front Pharmacol*. 2013;161(4):1-18.

Burgdorf J, Zhang XL, Nicholson KL, Balster RL, Leander JD, Stanton PK, Gross AL, Kroes RA, Moskal JR. GLYX-13, a NMDA receptor glycine-site functional partial agonist, induces antidepressant-like effects without ketamine-like side effects. *Neuropsychopharmacology*. 2013;8(5):729-742.

Calcia MA, Bonsall DR, Bloomfield PS, Selvaraj S, Barichello T, Howes OD. Stress and neuroinflammation: a systematic review of the effects of stress on microglia and the implications for mental illness. *Psychopharmacology (Berl)*. 2016;233(9):1637-1650.

Clements JA, Nimmo WS, Grant IS. Bioavailability, pharmacokinetics and analgesic activity of ketamine in humans. *J Pharm Sci*. 1982;71(5):539-542.

Chaki S, Fukumoto K. Potential of Glutamate-Based Drug Discovery for Next Generation Antidepressants. *Pharmaceuticals*. 2015;8(3):590–606.

Chang Y, Chen TL, Sheu JR, Chen RM. Suppressive effects of ketamine on macrophage functions. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005;204:27–35.

Chang HC, Lin KH, Tai YT, Chen JT, Chen RM. Lipoteichoic acid-induced TNF- α and IL-6 gene expressions oxidative stress production in macrophages are suppressed by ketamine through downregulating Toll-like receptor 2-mediated activation of ERK1/2 and NF κ B. *Shock*. 2010;33:485–492.

Chang Y, Lee JJ, Hsieh CY, Hsiao G, Chou DS, Sheu JR. Inhibitory effects of ketamine on lipopolysaccharide-induced microglial activation. *Mediators Inflamm.* 2009;2009:705379.

Chaudhry FA, Lehre KP, van Lookeren Campagne M, Ottersen OP, Danbolt NC, Storm-Mathisen J. Glutamate transporters in glial plasma membranes: highly differentiated localizations revealed by quantitative ultrastructural immunocytochemistry. *Neuron.* 1995;15(3):711–720.

Choi DW. Glutamate receptors and the induction of excitotoxic neuronal death. *Prog Brain Res.* 1994;100:47–51.

Choi DW, Maulucci-Gedde M, Kriegstein AR. Glutamate neurotoxicity in cortical cell culture. *J Neurosci.* 1987;7(2):357–368.

Daikhin Y, Yudkoff M. Compartmentation of brain glutamate metabolism in neurons and glia. *J Nutr.* 2000;130(4S):1026–1031.

Danbolt NC. Glutamate uptake. *Prog Neurobiol.* 2001;65(1):514–522.

Dick MS, Sborgi L, Rühl S, Hiller S, Broz P. ASC filament formation serves as a signal amplification mechanism for inflammasomes. *Nat Commun.* 2016;7:11929.

Diz-Chaves Y, Pernía O, Carrero P, Garcia-Segura LM. Prenatal stress causes alterations in the morphology of microglia and the inflammatory response of the hippocampus of adult female mice. *J Neuroinflammation.* 2012;9:71.

Diz-Chaves Y, Astiz M, Bellini MJ, Garcia-Segura LM. Prenatal stress increases the expression of proinflammatory cytokines and exacerbates the inflammatory response to LPS in the hippocampal formation of adult male mice. *Brain Behav Immun.* 2013;28:196–206.

Duric V, Banasr M, Stockmeier CA, Simen AA, Newton SS, Overholser JC, Jurjus GJ, Dieter L, Duman RS. Altered expression of synapse and glutamate related genes in post-mortem hippocampus of depressed subjects. *Int J Neuropsychopharmacol.* 2013;16(1):69–82.

Duman RS, Voleti B. Signaling pathways underlying the pathophysiology and treatment of depression: novel mechanisms for rapid-acting agents. *Trends Neurosci.* 2012;35(1):47-56.

Duman RS. Pathophysiology of depression and innovative treatments: remodeling glutamatergic synaptic connections. *Dialogues Clin Neurosci.* 2014a;16(1):11–27.

Duman RS. Neurobiology of Stress, Depression, and Rapid Acting Antidepressants: Remodeling Synaptic Connections. *Depress Anxiety.* 2014b;31(4): 291–296.

Durieux ME. Inhibition by ketamine of muscarinic acetylcholine receptor function. *Anesth Analg.* 1995;81(1):57-62.

Edwards SR, Mather LE. Tissue uptake of ketamine and norketamine enantiomers in the rat. Indirect evidence for extrahepatic metabolism inversion. *Life Sci.* 2001;69(17):2051-2066.

Freneau RT Jr, Voglmaier S, Seal RP, Edwards RH. VGLUTs define subsets of excitatory neurons and suggest novel roles for glutamate. *Trends Neurosci.* 2004;27(2):98–103.

Garcia LS, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Stertz L, Kapczinski F, Gavioli EC, Quevedo J. Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2009;33(3):450-455.

Gerhard DM, Wohleb ES, Duman RS. Emerging treatment mechanisms for depression: focus on glutamate and synaptic plasticity. *Drug Discov Today*. 2016;21(3):454-464.

Gigliucci V, O'Dowd G, Casey S, Egan D, Gibney S, Harkin A. Ketamine elicits sustained antidepressant-like activity via a serotonin-dependent mechanism. *Psychopharmacology*. 2013;228:157–166.

Gold PW, Machado-Vieira R, Pavlatou MG. Clinical and Biochemical Manifestations of Depression: Relation to the Neurobiology of Stress. *Neural Plast*. 2015;1-11.

Görgülü A, Kırış T. Eksitör Aminoasidler ve Eksitotoksisite. *Türk Nöroşirürji Dergisi*. 2005;15(1): 33-38.

Green SM, Li J. Ketamine in adults: what emergency physicians need to know about patient selection and emergence reactions. *Acad Emerg Med*. 2000;7(3):278-281.

Hasler G, van der Veen JW, Tumonis T, Meyers N, Shen J, Drevets WC. Reduced prefrontal glutamate/glutamine and gamma-aminobutyric acid levels in major depression determined using proton magnetic resonance spectroscopy. *Arch Gen Psychiatry*. 2007;64(2):193–200.

Helmer KS, Cui Y, Chang L, Dewan A, Mercer DW. Effects of ketamine/xylazine on expression of tumor necrosis factor-alpha, inducible nitric oxide synthase, and cyclo-oxygenase-2 in rat gastric mucosa during endotoxemia. *Shock*. 2003a;20(1):63–69.

Helmer KS, Cui Y, Dewan A, Mercer DW. Ketamine/xylazine attenuates LPS-induced iNOS expression in various rat tissues. *J Surg Res*. 2003b;112(1):70–78.

Henson MA, Roberts AC, Salimi K, Vadlamudi S, Hamer RM, Gilmore JH, Jarskog LF, Philpot BD. Developmental regulation of the NMDA receptor subunits, NR3A and NR1, in human prefrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2008;18(11):2560–2573.

Hillhouse TM, Porter JH. A brief history of the development of antidepressant drugs: From monoamines to glutamate. *Exp Clin Psychopharmacol.* 2015;23(1):1–21.

Hinoi E, Takarada T, Ueshima T, Tsuchihashi Y, Yoneda Y. Glutamate signaling in peripheral tissues. *Eur J Biochem.* 2004;271(1):1-13.

Hirota K, Lambert DG. Ketamine: its mechanisms of action and unusual clinical uses. *Brit J Anaesth.* 1996;77(4):441-443.

Hurley LL, Tizabi Y. Neuroinflammation, Neurodegeneration and Depression. *Neurotox Res.* 2013;23(2):131–144.

Iwata M, Ota KT, Duman RS. The inflammasome: Pathways linking psychological stress, depression and systemic illnesses. *Brain Behav Immun.* 2013;31:105-114.

Jang JH, Kim DW, Sang Nam T, Se Paik K, Leem JW. Peripheral glutamate receptors contribute to mechanical hyperalgesia in a neuropathic pain model of the rat. *Neuroscience.* 2004;128(1):169-176.

Javitt DC. Glutamate as a therapeutic target in psychiatric disorders. *Mol Psychiatry.* 2004;9(11):984-997.

Karacaer F. Ketamin: Yeni Bir Antidepresan?. *Current Approaches in Psychiatry.* 2015;7(1):30-40.

Karson A, Demirtaş T, Bayramgürler D, Balcı F, Utkan T. Chronic Administration of Infliximab (TNF- α Inhibitor) Decreases Depression and Anxiety-like Behaviour in Rat Model of Chronic Mild Stress. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2013;112:335–340.

Karamustafalıoğlu O, Yumrukçal H, Depresyon ve anksiyete bozuklukları. *Ş.E.E.A.H. Tıp Bülteni.* 2011;45(2):65-74.

Garcia LS, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Stertz L, Kapczinski F, Gavioli EC, Quevedo J. Ketamine treatment reverses behavioral and physiological alterations induced by chronic mild stress in rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2009;33(3):450-455.

Kavalalı ET, Monteggia LM. How does ketamine elicit a rapid antidepressant response? *Curr Opin Pharmacol*. 2015;20:35-39.

Kim YK, Shin JS, Nahm MH. NOD-Like Receptors in Infection, Immunity, and Diseases. *Yonsei Med J*. 2016;57(1):5-14.

Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, Ogata JI, Inoue Y, Shigematsu A. Ketamine suppresses proinflammatory cytokine production in human whole blood in vitro. *Anesth Analg*. 1999;89:665–669.

Kotermanski SE, Johnson JW. Mg²⁺ imparts NMDA receptor subtype selectivity to the Alzheimer's drug memantine. *J Neurosci*. 2009;29(9):2774-2779.

Kreisel T, Frank MG, Licht T, Reshef R, Ben-Menachem-Zidon O, Baratta MV, Maier SF, Yirmiya R.. Dynamic microglial alterations underlie stress-induced depressive-like behavior and suppressed neurogenesis. *Mol Psychiatry*. 2014;19(6):699-709.

Lewerenz J, Maher P. Chronic glutamate toxicity in neurodegenerative diseases-What is the evidence? *Front Neurosci* 2015;9(469):1-20.

Levine J, Panchalingam K, Rapoport A, Gershon S, McClure RJ, Pettegrew JW. Increased cerebrospinal fluid glutamine levels in depressed patients. *Biol Psychiatry*. 2000;47(7):586–593.

Li N, Liu RJ, Dwyer JM, Banasr M, Lee B, Son H, Li XY, Aghajanian G, Duman RS. Glutamate NMDA receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure. *Biol Psychiatry*. 2011;69(8):754–761.

Loix S, De Kock M, Henin P. The anti-inflammatory effects of ketamine: state of the art. *Acta Anaesthesiol Belg*. 2011;62(1):47-58.

Longone P, di Michele F, D'Agati E, Romeo E, Pasini A, Rupprecht R.. Neurosteroids as Neuromodulators in the Treatment of Anxiety Disorders. *Front Endocrinol*. 2011;2(55):1-9.

Machado-Vieira R, Ibrahim L, Henter ID, Zarate CA Jr. Novel glutamatergic agents for major depressive disorder and bipolar disorder. *Pharmacol Biochem Behav*. 2012;100(4):678-687.

Marazioti A, Kastellakis A, Antoniou K, Pappasava D, Thermos K. Somatostatin Receptors in the Ventral Pallidum/Substantia Innominata Modulate Rat Locomotor Activity. *Psychopharmacol*. 2005;181(2):319-326.

Miladinovic T, Nashed MG, Singh G. Overview of Glutamatergic Dysregulation in Central Pathologies. *Biomolecules*. 2015;5(4):3112-3141.

Maeng S, Zarate CA Jr, Du J, Schloesser RJ, McCammon J, Chen G, Manji HK. Cellular mechanisms underlying the antidepressant effects of ketamine: role of alpha-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptors. *Biol Psychiatry*. 2008;63(4):349–352.

Miller OH, Moran JT, Hall BJ. Two cellular hypotheses explaining the initiation of ketamine's antidepressant actions: Direct inhibition and disinhibition. *Neuropharmacology*. 2016;100:17-26.

Miller AH, Raison CL. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(1):22-34.

Mitani H, Shirayama Y, Yamada T, Maeda K, Ashby CR Jr, Kawahara R. Correlation between plasma levels of glutamate, alanine and serine with severity of depression. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2006;30(6):1155–1158.

Miyamoto E. Molecular mechanism of neuronal plasticity: induction and maintenance of long-term potentiation in the hippocampus. *J Pharmacol Sci*. 2006;100(5):433–442.

Moore KA, Sklerov J, Levine B, Jacobs AJ. Urine concentrations of ketamine and norketamine following illegal consumption. *J Anal Toxicol*. 2001;25(7):583-588.

Nagels A, Kirner-Veselinovic A, Krach S, Kircher T. Neural correlates of S-ketamine induced psychosis during overt continuous verbal fluency. *NeuroImage*. 2011;54(2):1307–1314.

Nakanishi S. Molecular diversity of glutamate receptors and implications for brain function. *Science*. 1992;258(5082):597–603.

Niciu MJ, Kelmendi B, Sanacora G. Overview of glutamatergic neurotransmission in the nervous system. *Pharmacol Biochem Behav*. 2012;100(4):656-664.

Palaziodou E. The neurobiology of depression. *British Medical Bulletin*. 2012;101:127–145.

Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci*. 2008;31(9):464-468.

Pittenger C, Ronald RS. Stress, Depression, and Neuroplasticity: A Convergence of Mechanisms. *Neuropsychopharmacology*. 2008;3:88–109.

Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatment. *Nature*. 1977;266:730–732.

Radvansky BM, Shah K, Parikh A, Sifonios AN, Le V, Eloy JD. Role of Ketamine in Acute Postoperative Pain Management: A Narrative Review. *BioMed Res Int*. 2015;3:1-10.

Rajkowska G, Stockmeier CA. Astrocyte pathology in major depressive disorder: insights from human postmortem brain tissue. *Curr Drug Targets*. 2013;14(11):1225-1236.

Rasmussen KG. Has psychiatry tamed the "ketamine tiger?" Considerations on its use for depression and anxiety. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016;4(64):218-224.

Rogers R, Wise RG, Painter DJ, Longe SE, Tracey I. An investigation to dissociate the analgesic and anesthetic properties of ketamine using functional magnetic resonance imaging. *Anesthesiology*. 2004;100(2):292–301.

Sakai T, Ichiyama T, Whitten CW, Giesecke AH, Lipton JM. Ketamine suppresses endotoxin-induced NF-kappaB expression. *Can J Anaesth*. 2000;47(10):1019-1024.

Sanacora G, Treccani G, Popoli M. Towards a glutamate hypothesis of depression: An emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. *Neuropharmacology*. 2012;62(1):63-77.

Saraçoğlu A. Ketamin: Popüler Bir Keyif Verici İlaç. *J Med Sci*. 2005;25(3):429-435.

Sarkisova KY, Kuznetsova GD, Kulikov MA, van Luijtelaar G. Spike-wave discharges are necessary for the expression of behavioral depression-like symptoms. *Epilepsia*. 2010;51:146–160.

Schiavone S, Sorce S, Dubois-Dauphin M, Jaquet V, Colaianna M, Zotti M, Cuomo V, Trabace L, Krause K-H. Involvement of NOX2 in the development of behavioral and pathologic alterations in isolated rats. *Biol Psychiatry*. 2009;66:384–392.

Shibakawa YS, Sasaki Y, Goshima Y, Echigo N, Kamiya Y, Kurahashi K, Yamada Y, Andoh T. Effects of ketamine and propofol on inflammatory responses of primary glial cell cultures stimulated with lipopolysaccharide. *Br J Anaesth*. 2005;95(6):803-810.

Spooren W, Lesage A, Lavreysen H, Gasparini F, Steckler T. Metabotropic glutamate receptors: their therapeutic potential in anxiety. *Curr Top Behav. Neurosci*. 2010;2:391–413.

Sun J, Wang XD, Liu H, Xu JG. Ketamine suppresses intestinal NF-kappa B activation and proinflammatory cytokine in endotoxic rats. *World J Gastroenterol*. 2004;10(7): 1028-1031.

Szakacs R, Janka Z, Kalman J. The "blue" side of glutamatergic neurotransmission: NMDA receptor antagonists as possible novel therapeutics for major depression. *Neuropsychopharmacol Hung*. 2012;14(1):29-40.

Tanaka T, Kai S, Matsuyama T, Adachi T, Fukuda K, Hirota K. General anesthetics inhibit LPS-induced IL-1 β expression in glial cells. 2013;8(12):82930.

Taniguchi T, Shibata K, Yamamoto K. Ketamine inhibits endotoxin-induced shock in rats. *Anesthesiology*. 2001;95(4):928–932.

Taniguchi T, Kanakura H, Takemoto Y, Yamamoto K. The antiinflammatory effects of ketamine in endotoxemic rats during moderate and mild hypothermia. *Anesth Analg*. 2004;98(4):1114–1120.

Taniguchi T, Yamamoto K. Anti-inflammatory effects of intravenous anesthetics on endotoxemia. *Mini Rev Med Chem*. 2005;5:241–245.

Tizabi Y, Bhatti BH, Manaye KF, Das JR, Akinfiresoye L. Antidepressant-like effects of low ketamine dose is associated with increased hippocampal AMPA/NMDA receptor density ratio in female Wistar-Kyoto rats. *Neuroscience*. 2012;213:72–80.

Trujillo KA, Smith ML, Sullivan B, Heller CY, Garcia C, Bates M. The Neurobehavioral Pharmacology of Ketamine: Implications for Drug Abuse, Addiction, and Psychiatric Disorders. *ILAR Journal*. 2011;52(3):366–378.

Türkçapar H.M. HPA (hipotalamik-pituiter[hipofiz]-adrenal) Ekseni. *Duygudurum Dizisi*. 2001;6:257-263.

Tynan RJ, Naicker S, Hinwood M, Nalivaiko E, Buller KM, Pow DV, Day TA, Walker FR. Chronic stress alters the density and morphology of microglia in a subset of stress-responsive brain regions. *Brain Behav Immun*. 2010;24:1058–1068.

Unal G, Terzioglu G, Şahin C, Yanikkaya Demirel G, Aricioglu F. The effect of acute ketamine administration on NLRP3 inflammasome activation in a sub-chronic stress model of rats. *Eur Neuropsychopharmacol*. 2015;25(2):226–227.

Vandenberg RJ, Ryan RM. Mechanisms of glutamate transport. *Physiol Rev*. 2013;93(4):1621–1657.

Ward JL, Harting MT, Cox Jr CS, Mercer DW. Effects of ketamine on endotoxin and traumatic brain injury-induced cytokine production in the rat. *J Trauma*. 2011;70:1471–1479.

Welters ID, Feurer MK, Preiss V, Muller M, Scholz S, Kwapisz M, Mogk M, Neuhauser C. Continuous S-(+)-ketamine administration during elective coronary

artery bypass graft surgery attenuates pro-inflammatory cytokine response during and after cardiopulmonary bypass. *Br J Anaesth.* 2011;106:172–179.

Welters ID, Hafer G, Menzebach A, Mühling J, Neuhäuser C, Browning P, Goumon Y. Ketamine inhibits transcription factors activator protein 1 and nuclear factor-kappaB, interleukin-8 production, as well as CD11b and CD16 expression: studies in human leukocytes and leukocytic cell lines. *Anesth Analg.* 2010;110(3):934-941.

Willner P, Muscat R, Papp M. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 1992;16:525–534.

Wohleb ES, Hanke ML, Corona AW, Powell ND, Stiner LM, Bailey MT, Nelson RJ, Godbout JP, Sheridan JF. β -Adrenergic receptor antagonism prevents anxiety-like behavior and microglial reactivity induced by repeated social defeat. *J Neurosci Off J Soc Neurosci.* 2011;31:6277–6288.

Wu GJ, Chen TL, Ueng YF, Chen RM. Ketamine inhibits tumor necrosis factor- α and interleukin-6 gene expression in lipopolysaccharide-stimulated macrophages through suppression of toll-like receptor 4-mediated c-Jun N-terminal kinase phosphorylation and activator protein-1 activation. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2008;228:105–113.

Wu Y, Li W, Zhou C, Lu F, Gao T, Liu Y, Cao J, Zhang Y, Zhang Y, Zhou C. Ketamine Inhibits Lipopolysaccharide- Induced Astrocytes Activation by Suppressing TLR4/NF- κ B Pathway. *Cell Physiol Biochem.* 2012;30(3):609-617.

Yanagihara Y, Ohtani M, Kariya S, Uchino K, Hiraishi T, Ashizawa N, Aoyama T, Yamamura Y, Yamada Y, Iga T. Plasma concentration profiles of ketamine and norketamine after administration of various ketamine preparations to healthy Japanese volunteers. *Biopharm Drug Dispos.* 2003;24(1):37-43.

Yang C. Does ketamine exert a fast-acting antidepressant effect via inhibition of pro-inflammatory cytokines? *Psychol Med.* 2011;41:1787–1789.

Yang C, Hong T, Shen J, Ding J, Dai XW, Zhou ZQ, Yang JJ. Ketamine exerts antidepressant effects and reduces IL-1 β and IL-6 levels in rat prefrontal cortex and hippocampus. *Exp Ther Med.* 2013;5(4):1093-1096.

Yang J, Li W, Duan M, Zhou Z, Lin N, Wang Z, Sun J, Xu J. Large dose ketamine inhibits lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats. *Inflamm Res.* 2005;54(3):133-137.

Yilmaz A, Schulz D, Aksoy A, Canbeyli R. Prolonged effect of an anesthetic dose of ketamine on behavioral despair. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002;71(1-2):341–344.

Yu M, Shao D, Yang J, Feng S, Xu J. Ketamine suppresses intestinal TLR4 expression and NF-kappaB activity in lipopolysaccharide-treated rats. *Croat Med J.* 2006;47(6):825-831.

Yu M, Shao D, Liu J, Zhu J, Zhang Z, Xu J. Effects of ketamine on levels of cytokines, NF- κ B and TLRs in rat intestine during CLP-induced sepsis. *Int Immunopharmacol.* 2007;7(8):1076-1082.

Yu Y, Zhou Z, Xu J, Liu Z, Wang Y. Ketamine reduces NFkappaB activation and TNFalpha production in rat mononuclear cells induced by lipopolysaccharide in vitro. *Ann Clin Lab Sci.* 2002;32(3):292-298.

Zarate CA Jr, Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA, Charney DS, Manji HK. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Arch Gen Psychiatry.* 2006;63(8):856-864.

Zarate C, Duman RS, Liu G, Sartori S, Quiroz J, Murck H. New paradigms for treatment-resistant depression. *Ann N Y Acad Sci.* 2013;1292:21-31.

Zerangue N, Kavanaugh MP. Flux coupling in a neuronal glutamate transporter. *Nature*. 1996;383(6601):634–637.

Zhang GF, Liu WX, Qiu LL, Guo J, Wang XM, Sun HL, Yang JJ, Zhou ZQ. Repeated ketamine administration redeems the time lag for citalopram's antidepressant-like effects. *Eur Psychiatry*. 2015;30(4):504-510.

Zhou Y, Danbolt NC. Glutamate as a neurotransmitter in the healthy brain. *J Neural Transm*. 2014;121(8):799–817.

Zhou ZQ, Yu YQ, Feng SW, Yu M, Liu HJ, Yang JJ. Ketamine inhibits polymorphonuclear leucocyte CD11b expression and respiratory burst activity in endotoxemic rats. *Inflamm Res*. 2007;56(4):149-153.

Zhu X, Li P, Hao X, Wei K, Min S, Luo J, Xie F, Jin J. Ketamine-mediated alleviation of electroconvulsive shock-induced memory impairment is associated with the regulation of neuroinflammation and soluble amyloid-beta peptide in depressive-like rats. *Neurosci Lett*. 2015;599:32-37.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Canan	Soyadı	YALÇINKAYA
Doğum Yeri	ESKİŞEHİR	Doğum Tarihi	19/02/1990
Uyruğu	T.C.	Tel	05543687803
E-mail	cananyalcinkaya@windowslive.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Yüksek Lisans	Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji (ECZ)	
Lisans	Eskişehir Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2012
Lise	Eskişehir Fatih Fen Lisesi	2007

İş Deneyimi

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Farmakovijilans Uzmanı	DeltaPV ilaç danışmanlık	2016-
Mesul Müdür	Fakülte Eczanesi	2013-2014

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu □

YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
87,5								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel

ALES Puanı	92		
-------------------	----	--	--

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
MS Office	İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.

Sertifika Bilgileri

Araştırmacılar için Deney Hayvanları Kullanımına ait Eğitim Sertifika Programı

Marmara Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi - 05.2015

Yayınlar

1. Arıcıoğlu F, Yalcınkaya C, Utkan T, Şahin C. Chronic intermittent administration of ketamine inhibited depressive symptoms in chronic unpredictable mild stress model in rats. Bull Clin Psychopharmacol 2016; 26 (Supp 1): p182. 8th International Congress on Psychopharmacology and 4th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 20-24 April 2016, Antalya, Turkey.
2. Arıcıoğlu F, Yalcınkaya C, Kandemir C, Şirvancı S, Özkartal-Şahin C, Utkan T. Ketamine suppresses microglial activation and induce antidepressant-like effect in rats. 25th European Congress of Psychiatry - EPA 2017 taking place in Florence, Italy from 1-4 April 2017

10. ETİK KURUL ONAY BELGESİ



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	58.2015.mar	ÇALIŞMA: BİLİMSEL		
	PROJE ADI	Ketaminin depresyon nörobiyolojisindeki rolünün Sıçanlarda kronik öngörülemez stres modelinde araştırılması			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU- Canan YALÇINKAYA			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER			
	DESTEKLEYİCİ				
KARAR BİLGİLERİ	TARİH: 14. 07. 2015 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurumumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.				
ETİK KURUL BİLGİLERİ					
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerinin incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.				
ÜYELER					
Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. İnci ALICAN	Fizyoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul (Yürütücü Sekreter)	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Dış Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Serap ŞIRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Vet.Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Şivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Dilek KÖKTÜRK	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



PROJE NO: 2015 /49 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Ketaminin Depresyon Nörobiyolojisindeki Rolünün Sıçanlarda Kronik Öngörülemez stres Modelinde Araştırılması
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ADI KURUMU	Prof.Dr.Feyza ARICIOĞLU MARMARA ÜNV.ECZACILIK FAK. FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Yük.Lis.Öğr.Canan YALÇINKAYA, Vet.Hek.Cüneyt ÖZER

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	X
------------------------------	--------------------------------------	----------

KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan uygun olduğu kararına varılmıştır.	
	KARAR NO: KOU HADYEK 11/7-2015	KARAR TARİHİ: 12/11/2005

ETİK KURUL ÜYELERİ			
UNVANI/ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Hüsnü EFENDİ Başkan	Kocaeli Üniversitesi (KOU) Tıp Fakültesi İç Hastalıkları AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Mine ŞEHİRALTI Başkan Vekili, Raportör	KOU Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Deontoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Tijen UTKAN Üye	KOU Deneysel Hayvanlar Araştırma Birimi, Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç.Dr. Ülkem CİLASUN Üye	KOU Diş Hekimliği Fakültesi Ağız, Diş, Çene Hastalıkları ve Cerrahisi AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Yrd. Doç. Dr. Fevzi UÇKAN Üye	KOU Fen-Edebiyat Fakültesi Genel Biyoloji AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Zafer CANTÜRK Üye	KOU Tıp Fakültesi Genel Cerrahi AD	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Güner ULAK Üye	KOU Tıp Fakültesi Farmakoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Prof. Dr. Melda YARDIMOĞLU YILMAZ Üye	KOU Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Doç. Dr. Murat KASAP Üye	KOU Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Cüneyt Özer Üye	KOU Deneysel Hayvanlar Araştırma Birimi	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Veteriner Hekim Akın Ziya ÜNAL Üye	Hayvan Hakları Derneği Veterinerler Odası	<input type="checkbox"/> Katıldı <input checked="" type="checkbox"/> Katılmadı	
Asiye ASLAN Üye	Emekli Öğretmen	<input checked="" type="checkbox"/> Katıldı <input type="checkbox"/> Katılmadı	

