

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DIŞI SIÇANLARDA SİMVASTATİNİN ANKSİYETE ÜZERİNE ETKİLERİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Ertan ERDOĞMUŞ

TRABZON-2009

T.C
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI

DİŞİ SIÇANLARDA SİMVASTATİNİN ANKSİYETE ÜZERİNE ETKİLERİ

Ertan ERDOĞMUŞ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 24.10.2009

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 8.10.2009

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Mukadder OKUYAN

Jüri Üyesi : Prof.Dr.Ahmet AYAR

Jüri Üyesi : Prof.Dr.Nuri İhsan KALYONCU

Enstitü Müdürü : Prof.Dr.Orhan DEĞER

Ekim, 2009

TRABZON

ÖNSÖZ

“**Dişi sıçanlarda simvastatinin anksiyete davranışı üzerine etkileri**” adlı tez Karadeniz Teknik Üniversitesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda, değerli öğretim üyelerinin katkıları ile gerçekleştirilmiştir.

Yüksek lisans tez danışmanlığımı üstlenerek gerek konu seçimi, gerekse çalışmaların yürütülmesi sırasında ilgisini eksik etmeyen sayın hocam Yrd. Doç Dr. Mukadder OKUYAN’a, değerli yardımlarından dolayı Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Ahmet Ayar’a, Prof. Dr Ahmet Akgün’e, Doç. Dr. Şükrücan H. BAYTAN’ a ve Arş. Gör. Mehmet ALKANAT’a teşekkürlerimi sunarım.

Ertan ERDOĞMUŞ

2009

İÇİNDEKİLER

<u>ÖNSÖZ.....</u>	<u>I</u>
<u>İÇİNDEKİLER.....</u>	<u>II</u>
<u>ŞEKİLLER DİZİNİ.....</u>	<u>IV</u>
<u>TABLolar DİZİNİ.....</u>	<u>VI</u>
<u>SEMBOLLER VE KISALTMALAR.....</u>	<u>VII</u>
<u>1. GİRİŞ VE AMAÇ</u>	<u>1</u>
<u>2. GENEL BİLGİLER.....</u>	<u>3</u>
2.1 PLAZMA LİPİDLERİ VE ÖZELLİKLERİ.....	3
2.1.1 APOPROTEİNLER.....	4
2.1.2 LİPOPROTEİNLER	5
2.1.2.1 Şilomikronlar.....	5
2.1.2.2 Çok düşük dansiteli lipoproteinler (ÇDDL).....	6
2.1.2.3 Orta dansiteli lipoproteinler (ODL).....	6
2.1.2.4 Düşük dansiteli lipoproteinler (DDL).....	6
2.1.2.5 Yüksek dansiteli lipoproteinler (YDL).....	6
2.2. BEYİN LİPİDLERİ VE BEYİN LİPİD PROFİLİ.....	7
2.3. HİPOLİPİDEMİK İLAÇLAR.....	8
2.3.1 LİPOPROTEİN KATABOLİZMASINI ARTIRAN İLAÇLAR	8
2.3.1.1 Safra Asidini Bağlayan İlaçlar	8
2.3.2 LİPOPROTEİN SENTEZİNİ AZALTAN İLAÇLAR.....	9
2.3.2.1 Fibratlar.....	9
2.3.2.2 Nikotinik Asit (Niasin)	9
2.3.2.3 HMG-KoA Redüktaz İnhibitörleri (Statin'ler).....	10
2.4. ANKSİYETE.....	12
2.4.1 ANKSİYENİN TANIMI	13
2.4.2 ANKSİYETE İLE İLGİLİ NÖROANATOMİK YAPILAR	14
2.4.2.1 Septohipokampal sistem	14

2.4.2.2 Amigdala.....	15
2.4.3 ANKSİYETE OLUŞUMUNDA ROLÜ OLAN TEMEL NÖROTRANSMİTTER SİSTEMLERİ ...	15
2.4.3.1 GABA.....	16
2.4.3.2 Noradrenerjik sistem.....	16
2.4.3.3 Serotonerjik sistem	17
2.4.3.3.1 Anksiyetede rolü olan nöropeptidler, kolesistokinin ve P maddesi	18
2.4.3.3.2 Adenozin	18
2.4.3.4 Nitrik oksid ve glutamat ilişkisi	19
2.5. ÖSTRUS SIKLUSU.....	20
2.5.1 PROÖSTRUS	20
2.5.2 ÖSTRUS	20
2.5.3 METÖSTRUS.....	21
2.5.4 DiÖSTRUS	21
<u>3. MATERYAL METOD.....</u>	<u>22</u>
3.1 DENEKLER.....	22
3.2. ÇALIŞMA GRUPLARI	22
3.3. TESTLER.....	23
3.4 VAGİNAL SMEAR.....	23
3.5. YÜKSELTİLMİŞ ARTI LABİRENT (PLUS-MAZE)	25
<u>4. BULGULAR.....</u>	<u>27</u>
4.1 YÜKSELTİLMİŞ ARTI LABİRENT TESTİ BULGULARI.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
4.2. AKTİVİTE TESTİ BULGULARI.....	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
<u>5. TARTIŞMA.....</u>	<u>35</u>
<u>KAYNAKLAR.....</u>	<u>41</u>

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Kolesterol Üretiminde Mevalonat Yolu.....	11
Şekil 2: Dişi Sıçanda Östrus Basamakları.....	21
Şekil 3: Sıçanda Vaginal Smear Uygulaması.....	24
Şekil 4: Yükseltilmiş Artı Labirent Platformu	26
Şekil 5:Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Deneklerin Kapalı Kolda Kaldıkları Zaman (sn).....	28
Şekil 6: Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Deneklerin Kapalı Kola Giriş Sayısı	29
Şekil 7: Aktivite Testinde Deneklerin Toplam Hareket Sayısı.....	30
Şekil 8: Aktivite Testinde Deneklerin Kat Ettikleri Toplam Mesafe.....	31
Şekil 9: Aktivite Testinde Deneklerin Sterotipik Hareket Sayısı.....	32
Şekil 10: Aktivite Testinde Deneklerin Vertikal Giriş Sayısı.....	33

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. İnsan Plazma Lipoproteininin Çeşitli Özellikleri ve Kompozisyonları.....	3
Tablo 2: Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Deneklerin Kapalı Kolda Kaldıkları Zaman (sn).....	28
Tablo 3: Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Deneklerin Kapalı Kola Giriş Sayısı.....	29
Tablo 4: Aktivite Testinde Deneklerin Toplam Hareket Sayısı.....	30
Tablo 5: Aktivite Testinde Deneklerin Kat Ettikleri Toplam Mesafe.....	31
Tablo 6: Aktivite Testinde Deneklerin Sterotipik Hareket Sayısı.....	32
Tablo 7: Aktivite Testinde Deneklerin Vertikal Giriş Sayısı.....	33

SEMBOLLER VE KISALTMALAR

- BIS: Behavioral inhibition sistem
- ÇDDL: Çok düşük dansiteli lipoproteinler
- DDL: Düşük dansiteli lipoproteinler
- HMG-KoA: 3-hidroksi-3-metil glutaril-koenzim-A
- FPP: İzoprenoid farnesil pirofosfat
- GGPP: Geranilgeranil pirofosfat
- KKH: Koroner kalp hastalığı
- MTP: Mikrozomal trigliserid transfer proteini
- NO: Nitrik oksit
- NOS: Nitrik oksit sentetaz
- ODL: Orta dansiteli lipoprpteinler
- PAG: Periakuaduktal gri cevher
- YDL: Yüksek dansiteli lipoproteinler

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Epidemiyolojik çalışmaların verilerine göre dünyadaki en önemli ölüm nedenini kardiyovasküler hastalıklar oluşturmaktadır, yılda ortalama 17.2 milyon kişi bu hastalıklardan ölmektedir. Kardiyovasküler hastalıklar içinde ise en önemli yeri, arteroskleroz ve buna bağlı komplikasyonlar almaktadır. Miyokardiyal infarktüs ve koroner damar hastalıkları en sık rastlanan arterosklereoz komplikasyonlarından (1-4). Bu hastalıkların etiolojisinde başta gelen nedenlerden biri hiperlipidemidir.

Hiperlipidemi; plazma kolesterol ve trigliserid miktarının, popülasyonun % 95'i için kabul edilen "normal" sınırının üstüne çıkmasıdır (4). Bu konu ile ilgili yapılan pek çok insan ve hayvan çalışmaları koroner kalp hastalıkları (KKH) ile hiperlipidemi arasında anlamlı ilişkiler olduğunu ortaya koymuştur (3-4). Serum kolesterol düzeyi 230 mg/dl'nin üstünde olan orta yaşlı erkeklerde 65 yaşından önce KKH'ndan ölüm riski yaklaşık % 10 olduğu halde, kolesterol düzeyi 170 mg/dl'nin altında bulunanlarda risk %3'tür. Erkeklerde total veya düşük dansiteli lipoprotein (DDL) düzeyindeki her bir 5 mg/dl'lik artışın bu riski yaklaşık % 10 arttırdığı bulunmuştur. Yüksek dansiteli lipoprotein (YDL) kolesterol düzeyindeki her bir 5 mg/dl'lik artışın ise bu riski yaklaşık % 10 azalttığı görülmüştür (1, 3).

Arteroskleroz; damar duvarının intima tabakası altında plazma lipoproteinlerinin birikmesi, arteroskleroz plağının oluşması ve buna bağlı olarak damar lumeninin daralması ile karakterize bir arter hastalığıdır. Bu hastalıkta damardaki daralmanın yanı sıra trombus oluşumu da mümkün olmakta ve bu iki mekanizma iskemiye sebep olabilmektedir (1, 3). Arteroskleroza zemin hazırlayıcı etmenler, endotel disfonksiyonu ve damarda yağlanma çizgilerinin varlığıdır. Endotel disfonksiyonuna, endotel kaynaklı nitrik oksit (NO) miktarının ya da NO duyarlılığının azalması da neden olmaktadır (3). Endotel disfonksiyonun ardından arterosklerotik plak gelişimi gerçekleşir.

Statin grubu ilaçlar 3-hidroksi-3-metil glutaril-koenzim-A (HMG-KoA) redüktaz enzim inhibitörü olarak işlev görürler ve intraselüler kolesterol sentezini sınırlandırarak kolesterol sentezi ve arteroskleroz gelişiminden sorumlu plazma DDL miktarını azaltıcı yönde etkili olurlar (3). Statinler mevalonat yolunda

sadece kolesterol sentezini engellemez, koenzim Q-10 gibi birçok aktif maddenin oluşmasını da engellerler.

Statin ailesi fungal kaynaklı aktif ön ilaçlardır, doğal ve yarı sentetik türevleri bulunmuştur. Statinler hidrofilik ve lipofilik olarak iki çeşittir, simvastatin gibi lipofilik karakterde olan statinler kan beyin bariyerini daha hızlı geçerek etki gösterirler (5).

Kan beyin bariyerini aşan statinlerin beyinin lipid kompozisyonu üzerine etki ettikleri bilinmektedir (6-8). Vecka ve arkadaşları çalışmalarında fenofibrat, fluvastatin, lovastatin ve pravastatinin sıçanlarda beyinin lipid kompozisyonunu değiştirdiğini rapor etmişlerdir (9). Lutjohann ve arkadaşları kobaylarla yaptıkları çalışmada simvastatinin beyin kolesterol sentezini azalttığını göstermişlerdir (10).

Statinlerin yan etkileri pek çok klinik çalışmanın araştırma konusu olmuştur. Muldon ve arkadaşları hiperkolesterol tedavisi için simvastatin alan 308 yetişkinden oluşan grup ile yaptıkları çalışmada, kognitif fonksiyonlarda hafif bir azalma olduğunu tespit etmişlerdir (11). Golomb ve arkadaşları 1000 kişilik non-kardiyak hasta üzerinde yaptıkları klinik çalışmada statinlerin bilişsel işlevler, duygu durum, agresyon davranışı ile kan serotonin düzeyi arasındaki ilişkiyi pozitif bulmuşlar ve simvastatin tedavisinin kesilmesinden sonra hastaların bahsedilen merkezi sinir sistemi (MSS) işlevlerini geri kazandıklarını bildirmişlerdir (12). Ayrıca statin kullanan bazı hastaların bilişsel işlevlerinde geçici süre sorunlar yaşadıkları rapor edilmiştir (13, 14).

Young-Xu ve arkadaşları bu çalışmaların aksine uzun süre statin kullanan yaşlı hastalarda kardiyovasküler hastalıkların yanı sıra anksiyete, hostilete ve depresyonlarında da iyileşme gözlediklerini bildirmişlerdir (15). Baytan ve arkadaşları çalışmalarında 10 mg/kg/gün simvastatin alan sıçanlarda spasyal hafızanın etkilenmediğini göstermişlerdir (16).

Bu çalışmada amacımız kan beyin bariyerini geçen simvastatinin, anksiyete davranışı üzerinde ve hangi doz düzeyinde ne yönde etkili olduğunu incelemektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Plazma Lipidleri ve Özellikleri

Plazmadaki temel lipidler kolesterol ve trigliseridlerdir; az miktarda da fosfolipidler bulunur (3). Lipidler suda çözünmeyen moleküllerdir. Organizmadaki taşıma sistemi ise genellikle sulu ortamlardır ve lipidlerin de bu taşıma sistemlerini kullanarak organizmaya dağılması gerekmektedir. Bu biyolojik sorun, özelleşmiş proteinlerin lipidlerle yaptığı lipoprotein kompleks ile ortadan kalkmıştır. Lipoprotein kompleksler kanda emülsiyon haldedir ve organizmanın her yerine lipid partikülleri şeklinde taşınabilirler (1, 3).

Lipoproteinler lipid yapıların bir dokudan diğerine taşınmasında ara basamak olarak görev yaparlar (1). Lipoproteinler içerdikleri lipidlerin miktarının proteinlere oranına göre farklı özellikler göstermekte ve sınıflandırılmaktadırlar (Tablo 1). Lipid ve protein oranı partiküllerde yoğunluk farklılıklarına sebep olur. Genellikle partiküllerdeki yüksek lipid/protein oranı büyük çaplı fakat düşük dansiteli yapılar oluşturur. Lipoproteinlerin dansiteleri ile fonksiyonları arasında güçlü ilişkiler bulunmaktadır. Düşükten yüksek yoğunluğa göre lipoproteinler; şilomikronlar, çok düşük dansiteli lipoproteinler (ÇDDL), düşük dansiteli lipoproteinler (DDL), orta dansiteli lipoproteinler (ODL) ve yüksek dansiteli lipoproteinler (YDL) olarak adlandırılırlar (1).

Tablo 1. İnsan Plazma Lipoproteininin Çeşitli Özellikleri ve Kompozisyonları.

	Şilomikron	ÇDDL	DDL	YDL
Protein (% partikül yoğunluğu)	2	7	20	50
Trigliserol (% partikül yoğunluğu)	83	50	10	8
Kolesterol ((% partikül yoğunluğu; serbest+esterleşmiş)	8	22	48	20
Fosfolipid (% partikül yoğunluğu)	7	20	22	22
Partikül ağırlığı (dalton)	0.4-30x10 ⁶	10-100x10 ⁶	2-3,5x10 ⁶	1.75-3,6x10 ⁵
Yoğunluğu	<0,95	0.95-1,006	1.019-1,063	1.063-1.210
Çapı	80-1000	30-90	18-22	5-12
Apolipoprotein	AI, AII, AIV, B-48, CI, CII, CIII, E	B-100, CI, CII, CIII, E	B-100	AI, AII, AIV, CI, CII, CIII, D, E

2.1.1 Apoproteinler

Apoproteinler lipoproteinlerin vücutta taşınma, dağılma ve metabolize edilmelerinin düzenlenmesinde kritik bir öneme sahiptirler. İlk olarak tanımlandıklarında A, B, C, D ve E isimleri ile alfabetik sıralandırılmış daha sonra alt tiplerinin bulunması ile apo A-I, A-II, A-III, apo-B48, B100, apo C-I, C-II, apo-D ve E olarak isimlendirilmişlerdir (1, 3). Apo-B haricindeki apoproteinler çözünebilir proteinlerdir. Plazmada lipidlere bağlanmadan da bulunabilir ve lipidlere birleşip lipoprotein haline dönüşebilirler (1,3).

Apoproteinlerin bazıları lipoproteinlerde yapısal rol oynarlar. Bazıları da lipoproteinlerin yıkımı ile ilgili enzimleri aktive ederek lipid metabolizmasında aktif görev alırlar. Diğer yandan lipoproteinlerin, o lipoproteine özgü hücre membranı reseptörleri tarafından tanınmasını ve onlarla etkileşmesini sağlarlar (3).

Apo-B100 karaciğer hücresinde sentez edilen trigliseridin ve kolesterolün ÇDDL yapısı şekline getirilmesini sağlayan en önemli apoproteindir. Karaciğer hücresi içinde sentez edilen yağ asitleri, enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere, ÇDDL içindeki trigliseridler şeklinde kas ve yağ hücrelerine sevk edilirler. Bu hücreler tarafından trigliseridler alındıktan sonra; küçülmüş olan ÇDDL partikülü, DDL'ye dönüşmüş olur. Bu olay DDL'nin kolesterolden zenginleşmesine yol açar.

Apo-B'nin diğer tipi olan daha küçük molekülü apo-B48, apo-B'nin intestinal tipidir. Bu apoprotein barsak epitelinin absorpsiyon hücrelerinde sentez edilir. Absorbe edilen besin kaynaklı kolesterol ve trigliseridlerin şilomikron yapısı haline getirilmesini ve o şekilde diğer hücrelere taşınmasını sağlar (3).

2.1.2 Lipoproteinler

Lipoproteinler yukarıda belirtildiği gibi plazmada elektriksel yükleri, yoğunlukları, molekül büyüklükleri, kolesterol, trigliserid ve fosfolipid oranları farklı olan başlıca beş tip lipoprotein partikülü bulunur.

2.1.2.1 Şilomikronlar

Şilomikronlar diyet (eksojen) kaynaklı trigliseridleri taşıyan en büyük molekül ve en düşük dansiteli lipoprotein grubudur, yapısının %84'ünü trigliseridler %5'e yakın kısmını kolesterol oluşturur. Gıda alımından sonra ince barsak mukozasının epitel hücrelerinde absorbe edilen kolesterol ve trigliseridlerin şilomikronlara özgül bir apoprotein olan apo-B48 ile ve diğer bazı apoproteinlerle birleştirilmesi suretiyle yapılırlar. Şilomikronlar daha sonra hepatik ven ve kısmen de lenfatik kanal (ductus lymphaticus) sistemi içinde sistematik dolaşıma taşınırlar.

2.1.2.2 Çok düşük dansiteli lipoproteinler (ÇDDL)

Çok düşük dansiteli lipoproteinler(ÇDDL) yaklaşık %50 oranında endojen trigliserid ve %24 oranında kolesterol içerirler. Fonksiyon olarak karaciğerde sentez edilen endojen kaynaklı trigliseridin taşınmasından sorumludurlar (1). ÇDDL partikülleri, karaciğerde serbest yağ asitleri ve gliserolün esterleşmesi ile oluşan trigliserid moleküllerinin, apo-100 molekülleri ile birleştirilmesi ile oluşurlar (3). ÇDDL dokulardaki kapilerden geçerken, içindeki trigliseridlerin lipoprotein lipaz tarafından hidroliz edilmesi suretiyle parçalanır; böylece ODL üzerinden DDL'ye dönüşür. Kandaki DDL partiküllerinin hemen hepsi bu şekilde oluşur (3).

2.1.2.3 Orta dansiteli lipoproteinler (ODL)

Orta dansiteli lipoprotein(ODL) çeşidi ÇDDL ile DDL arasında ara metabolit olarak görev yapar. Karaciğerden kana salıverilen ÇDDL' nin dokularda kapilerden geçerken lipoliz sonucu DDL dönüşümü sırasında oluşur. Kanda ODL düzeyinin artması ateroskleroz ve KKH gelişmesini hızlandırır.

2.1.2.4 Düşük dansiteli lipoproteinler (DDL)

Düşük dansiteli lipoproteinler (DDL) plazma kolesterolünü taşıyan başlıca partiküllerdir, % 46 kadar kolesterol ve % 11 trigliserid içerirler. Plazmadaki total kolesterolün % 60-75'i bu fraksiyon içinde yer alır(1).

Hücrelerde DDL reseptörü sentezi bir geri bildirim (feed-back) mekanizma ile düzenlenir. Karaciğer hücresi içinde kolesterolün safra asidlerine dönüşümünün artması veya kolesterol biyosentezinin inhibisyonu sonucu hücre içinde kolesterol düzeyi düşerse, DDL reseptörü sentezi artar (3).

2.1.2.5 Yüksek dansiteli lipoproteinler (YDL)

Yüksek dansiteli proteinler (YDL) plazmada en yoğun bulunan lipoproteinlerdir, diğer lipoproteinlerin yaklaşık 10-20 katı miktara kadar

ulaşabilirler. YDL'ler küçük molekülü ve yüksek oranda (% 50'ye yakın) protein içeren lipoproteinlerdir, %22 fosfolipid , %20 kolesterol ve %10'dan az trigliserid içerirler. Hepatositlerde ve barsak epitelyum hücrelerinde sentez edilirler. YDL'ler plazmadan trigliseridlerin, kolesterolün temizlenmesinde ve kolesterolün dokulardan karaciğere geri taşınmasında ayrıca apoproteinlerin diğer lipoproteinler arasında taşınmasında önemli rol oynarlar (3).

Plazmanın temel lipid düzeyi, üç parametrenin ölçülmesi ile hesaplanır. Bunlar plazma total kolesterolü, plazma YDL kolesterolü ve plazma trigliserid konsantrasyonudur. Plazmada ölçülen DDL ve YDL değerlerinden ziyade, DDL-k/YDL-k oranı KKH ve diğer aterosklerotik komplikasyonların riskini öngörme bakımından önemlidir (1).

2.2. Beyin lipidleri ve beyin lipid profili

Kolesterol KKH ile ilişkili olmasına rağmen aslında organizmada birçok fonksiyonun sürdürülmesi için önemli bir yapı taşıdır. Örneğin; organizmadaki total esterleşmemiş kolestolün % 25'i MSS' de bulunmaktadır ve MSS'nin faaliyetlerini sürdürmesinde önemli görevler görür (4, 16). Kolesterol MSS'nde başlıca glia hücrelerinin plazma membranlarında ve bütün nöronların miyelin kılıflarında bulunmaktadır. Miyelin kılıf % 70'i oranında kolesterol ve %30 oranında proteinlerden oluşur (4,16).

Kolesterolün büyük çoğunluğu beyinde *in situ* olarak sentezlenir. Bu sentez beyin gelişiminin yoğun olduğu genç yaşlarda belirgindir. Erişkinliğe ulaşan bireyde daha düşük düzeylere iner. Kolesterol MSS'de bir geri dönüşüm halindedir. Beyinin gelişimi, yeniden modellenmesi ve nöron hasarlarının tamirinde tekrar kullanılır. Beyin kolesterol gereksiniminin bu denli düşük oluşu yarılanma ömrünün beş sene gibi uzun bir zamanı kapsamasından kaynaklanır (16). MSS kolesterolü kan beyin bariyerini (KBB) kolayca geçebilen formu olan 24S-hidroksikolesterolü dışarı verir.

Nöronlar kolesterol sentezleyebilmelerine rağmen erişkin bireylerde kolesterol sentezi genellikle astrositler gibi hücrelere bağlı olarak gerçekleştirilir. Kolesterol nöronlarda sinaptogenesiste de kullanılmaktadır.

2.3. Hipolipidemik ilaçlar

Hipolipidemik etkili ilaçlar, hiperlipidemik hastalarda kronik olarak ağızdan uygulanan ve lipideyi azaltan ilaçlardır. Arterlerde ateroskleroz gelişmesini yavaşlatmak ya da ateroskleroz oluşmuş durumda bunu geriletmek suretiyle, KKH, diğer aterosklerotik ve de iskemik kalp-damar hastalıkları riskini azaltmak için kullanılan ilaç grubudur (3).

Hipolipidemik ilaçların çoğu primer etkilerine göre, başlıca üç ana gruba ayrılabilirler (3).

1. Lipoprotein katabolizmasını artıran ilaçlar
 - a. Safra asidini bağlayan ilaçlar (kolestiramin ve kolestipol)
2. Lipoprotein sentezini azaltan ilaçlar
 - a. Fibratlar
 - b. Nikotinik asit (niasin)
 - c. HMG-KoA Redüktaz inhibitörleri (statin'ler)
3. Diğerleri
 - a. Omega- 3 polidoymamış yağ asitleri
 - b. Psyllium

2.3.1 Lipoprotein katabolizmasını artıran ilaçlar

2.3.1.1 Safra Asidini Bağlayan İlaçlar

Safra asidini bağlayan ilaçlar olan kolestiramin ve kolestipol ince bağırsaktan absorbe edilmeyen sentetik bir anyon değiştirici reçinlerdir (2, 3). Bu ilaçların etki mekanizması safra asitleri ve safra tuzları ile çözünmeyen bileşikler oluşturup feçesle atılmasını sağlamaktır. Böylece safranın emilip tekrar entero-hepatik sıklusa katılması engellenmiş olur. Safra asitlerinin fecesle atılması, karaciğerde kolesterolün DDL yerine safra asitlerinin üretiminde kullanılmasını sağlar ve plazma DDL seviyesini düşürür. Ayrıca kolestiramin ve kolestipol'ün diğer bir hipolipidemik etkisi de; karaciğer hücrelerinde DDL reseptör sayısını ve buna bağlı olarak da DDL girişini artırmalarıdır. Fakat bu ilaçlar aynı zamanda HMG-KoA aktivasyonuna neden olarak kolesterol sentezini hızlandırabilirler (2, 3).

2.3.2 Lipoprotein sentezini azaltan ilaçlar

2.3.2.1 Fibratlar

Lipoprotein sentezini azaltan ilaçlar klofibrat ve gemfibrozil, fibrik asit türevleri olup olup fibratlar olarak isimlendirilirler. İlk kullanılmaya başlanan ilaç klofibrattır, ancak Dünya sağlık örgütü ve koroner ilaç proje örgütlerinin; klofibratın kolitiazis, miyozit, malignensi, böbrek fonksiyon bozuklukları gibi dolaşım dışı patolojilere ve KKH'na bağlı gerçekleşmiş ölüm oranlarında artışa neden olduğunu belirtmesi, bu ilaçların kullanım değerini azaltmıştır (2, 3).

Klofibrat ve gemfibrozil aynı etki mekanizmasına sahiptir. İki ilaç da etkilerini lipoprotein lipaz aktivitesini stimüle edip, ÇDDL'den trigliseridlerin koparılmasını ve plazma trigliserid düzeyini düşürerek gerçekleştirirler (2).

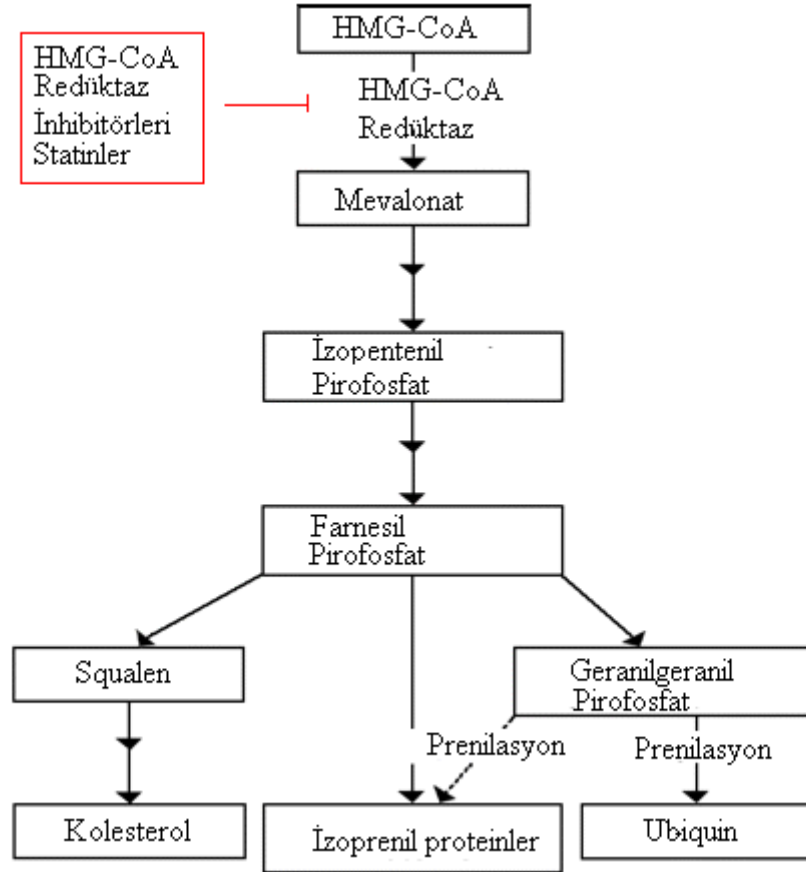
2.3.2.2 Nikotinik Asit (Niasin)

Nikotinik asit (piridin 3-karboksilik asit) suda çözünen B vitaminidir ve organizmaya alındıktan sonra nikotinamid adenin dinükleotid (NAD) ya da nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADP) olarak kullanılır (2, 4). Genellikle pellegra hastalığını önleyici vitamin olarak kullanılan nikotinik asidin hipolipidemik özelliği tümüyle farklı bir mekanizmadan kaynaklanmaktadır (3, 4). Niasinin hipolipidemik etkisi, yağ dokusunda lipolizin azaltılması ve karaciğerde apo-B ve ÇDDL sentezinin azaltılmasına dayanır. ÇDDL sentezinin azaltılması ve onun katabolik ürünleri olan ODL ve DDL'nin düzeylerinin plazmada düşmesine yol açar. ÇDDL sentezinin azalmasına bağlı olarak plazmada trigliseridlerin düzeyi düşer (2, 4). Nikotinik asit vücutta aterojenik bir lipoprotein olan lipoprotein A sentezini de azaltır, ek olarak YDL düzeyinde artış yapar ve YDL'nin apoprotein bileşimini değiştirir (2, 3). YDL düzeyini artırma bakımından halen var olan ilaçlardan en güçlüsüdür (3). Nikotinik asit gastrointestinal sistemde ciddi hasarlara ve hepatotoksititeye yol açtığı için bir çok ülkede kullanımı kısıtlanmış ya da yasaklanmıştır (2-4).

2.3.2.3 HMG-KoA Redüktaz İnhibitörleri (Statin'ler)

Organizmaya besinlerle alınan kolesterol *de novo* sentez (yeniden sentez) ile başta karaciğer olmak üzere diğer dokularda da üretilir. Literatür çalışmalarında, besinlerle alınan kolesterol miktarının azaltılmasının karaciğer kolesterol sentez kapasitesini % 80 artırdığı, diyet kolesterolün artırılmasının ise kolesterol üretiminde supresyona yol açtığını belirtmiştir (17). Bu durum organizmanın kolesterol düzeyini sabit sınırlar içinde tutmak amacıyla kullandığı hız kısıtlayıcı bir feedback mekanizmadır. Bu mekanizmanın kolesterol sentezinde 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A'nın (HMG-KoA) mevalonata dönüşümünde görev alan HMG-KoA redüktaz enziminden ileri geldiği anlaşılmıştır. İlk olarak Akira Endo çalışmalarında, penicillium citrinum'dan izole ettiği compactin ya da mevastatin'in bu hız kısıtlayıcı basamağı etkileyerek HMG-KoA redüktazı inhibe ettiğini rapor etmiştir (17). Bunu Aspergillus terreus'tan elde edilen lovastatin ile Nocardia autotrophica'dan elde edilen simvastatin ve mevastatin gibi fungal kaynaklı doğal maddelerin keşfi izlemiştir. Sonraki çalışmalarda pravastatin, atorvastatin ve benzerleri gibi yarı-sentetik türevleri yapılmış ve statin ailesi olarak adlandırılmıştır (18).

Statinler ön ilaçlardır ve absorbe edildikten sonra etkin şekillerine dönüştürülürler, HMG-KoA redüktaz enziminin substratı olan HMG-KoA'ya ve onun yarı indirgenmiş metabolitine benzerler ve HMG-KoA redüktaz enzimini kompetitif (yarışmalı) olarak inhibe ederler (Şekil1). Bu durum karaciğer hücrelerindeki kolesterol ve lipoprotein düzeyinin düşmesine, bu hücrelerin yüzeyindeki DDL reseptörlerinin dansitesinde artmaya yol açar (reseptör up-regülasyonu). Söz konusu ilaçlar hem lipoprotein sentezini azaltmak hem de apo-B içeren lipoproteinlerin karaciğer hücrelerine ve diğer hücrelere girişini, orada yıkımını artırmak suretiyle kandaki DDL kolesterolü ve total kolesterol düzeyini düşürürler, bir diğer yönden antiaterojenik özelliği olduğu kabul edilen YDL düzeyini arttırlar (3).



Şekil 1: Kolesterol üretiminde mevalonat yolu.

Statinlerin bu güne kadar en sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, diyare gibi gastrointestinal bozukluklar ve baş ağrısıdır. Seyrek görülen fakat ciddi sayılan yan etkileri miyozit-benzeri sendrom ve buna bağlantılı miyozit ile hepatotoksik etkilerine bağlı karaciğer bozukluğudur. Statinler yüksek dozda kullanılırsa ya da kendi eliminasyonlarını azaltan CYP3A4 inhibitörü ilaçlar ile, fibratlar ya da nikotinik asitle birlikte alınmaları durumunda, çizgili kaslar üzerindeki toksik etkileri şiddetlenir ve rabdomyoliz meydana gelebilir (3).

Simvastatin, Lovastatin'in 2'-metil yan zinciri yerine 2',2'-dimetil grubu eklenmek suretiyle elde edilen türevidir. Lovastatin gibi, lakton şeklinde bir ön ilaçtır. Vücutta lakton halkası açılarak aktif hidroksi asid şekline dönüştürülür. Simvastatinin etkin profili ve yan tesirleri lovastatine benzer; ancak HMG-KoA redüktaza afinitesi ve grametrik etki gücü lovstatinine göre daha yüksektir. Günde bir veya iki kez 10–20 mg dozunda ağızdan alınır, CYP3A4 enzimi ile yıkılır ve bu enzimi inhibe eden ilaçlar toksisitesini artırır (3).

Mevalonat yolu sadece kolesterol sentezinde kullanılmaz. Aynı zamanda hücrel respirasyonunda, sinyal transdüksiyonunda ve nitrik oksit (NO) üretiminde görev alan birçok molekülün sentezinde de kullanılmaktadır. Statinler tarafından engellenen mevalonat yolu ile aslında birçok hücrel yanıtta değişim gerçekleşmektedir (3).

Mevalonat yolunda üretilen en önemli moleküller izoprenoid farnesil pirofosfat (FPP) ve geranilgeranil pirofosfattır (GGPP). Bu moleküller hücrel sinyal transdüksiyonu ve sitoskeleton bütünlüğünün korunması için gerekli birçok proteinin post translasyonel modifikasyonu için gereklidir (19). Kısaca FPP ve GGPP hücrel sinyal üretimi, gen ekspresyonu, hücre büyümesi, farklılaşması ve değişiminde görev almaktadırlar. Statinler bazı etkilerini Ras ve Rho gibi intraselüler GTP-bağlayan protein ailesi vasıtasıyla gerçekleştirmektedir (20, 21).

Statinlerce mevalonat yolunda üretimi engellenen diğer bir aktif metabolit de koenzim Q olarak bilinen ubikinon'dur. Koenzim Q, elektron taşıyıcı mitokondrial respirasyon zincirinde oksidasyon-redüksiyon reaksiyonunun I, II ve III. basamaklarında görev almaktadır. Statinlerin bu mekanizmaya etkisi sonucu özellikle kaslarda miyopati ve rabdomiyoliz gelişmektedir (22,23).

Statinlerin diğer etkileri sadece mevalonat yolunda aktif metabolit eksikliğine bağlı gelişen komplikasyonlarla sınırlı değildir. Statinlerin kendileri de organizmada çok çeşitli etkilere sebep olur. Statinler kimyasal olarak heterojen yapı gösterirler. İlaç molekülünün aktif bölgeleri çok küçüktür ve bu ilaçların yan zincirleri de farmakodinamik olarak aktiftir ve böylece bazı özel etkilere sebep olurlar. Bunlar arasında antioksidan ve immün modülatör etkiler sayılabilir.

2.4. Anksiyete

Eski kaynaklarda anksiyete ve korkunun birlikte ele alındığını, çoğu zaman birbirine karıştırıldığını ve eş anlamda kullanıldığını görürüz. Anksiyete 19. yüzyılın sonlarında bir psikolojik kavram haline geldiği halde, günümüz psikolojisinde hala anksiyete ve korku kavramları tam olarak birbirinden ayrılmış değildir. Anksiyetenin korkudan ayrı bir psikolojik olay olarak ele alınışını psikanalitik teorilerde görürüz. Psikanalistler, korkuyu, kişiyi dışarıdan tehdit eden gerçek bir tehlikeye karşı gösterilen tepki, anksiyeteyi ise kontrolden

kaçmak üzere olan yasaklanmış bir içgüdüsel dürtü şeklinde kişiyi içerden tehdit eden bir tehlikeye karşı gösterilen sanal bir tepki olarak ele alırlar (24).

2.4.1 Anksitenin tanımı

Anksiyete, en belli başlı unsurları korku ve dehşet olan kronik ve karmaşık bir emosyonel durumdur; çeşitli sinir ve akıl hastalarında görülebilir (24). Anksiyete kişinin günlük işlevlerini yapamayacak kadar ve tıbbi yardım arayacak derecede ciddi bir gerilim durumu içinde olmasıdır (25).

Anksiyete canlının kendisini korunmasını sağlayan ve dışsal nedeni tam olarak belirlenemeyen bir endişe duygusudur ve her an tetikte olunması için gelen bir uyardır. Potansiyel bir tehlike karşısında organizmanın oluşan durumdan sakınmasını ve canlılığını devam ettirmesini sağlar. (26).

Anksiyete objektif bir tehlike durumu olmaksızın sanki varmış gibi algılanarak abartılı ve kişinin günlük yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen subjektif bir beklenti hissi, dehşet ve endişe ile karakterizedir. Anksiyetenin psikolojik ve somatik bileşenleri vardır. Psikolojik bileşenler önemli ölçüde bireysel değişkenlik gösterir. Somatik belirtiler arasında göğüste sıkışma, kalp çarpıntısı, terleme, baş ağrısı, midede boşluk duygusu, bulantı, diyare ve aşırı sinirlilik gibi belirtiler gösterilebilir (25, 27-29).

Normal anksiyete organizmanın biyolojik bir korunma sistemidir. Eğer anksiyete objektif bir tehlike durumu olmaksızın sanki varmış gibi algılanarak abartılı ve kişinin günlük yaşam kalitesini olumsuz yönde etkileyen subjektif bir beklenti hissi, dehşet, endişe ile karakterize ise “anormal anksiyete”den söz edilir. Anormal anksiyete patolojik bir olgudur ve mutlaka psikofarmakolojik tedaviyi gerektirir (30). Patolojik anksiyetenin şiddeti ve seyri önemli ölçüde değişkenlik gösterir. Süresi saniyeler ile aylar-yıllar arasında değişkenlik gösterebilir. Beklenmedik biçimde ani olarak ortaya çıkan, kısa süreli yoğun anksiyete “panik atak” adını alır.

2.4.2 Anksiyete ile ilgili nöroanatomik yapılar

Anksiyete beyindeki subkortikal yapılar içinde talamus, hipotalamus, hippokampus, pineal bez, hipofiz ve amigdala gibi önemli nöroanatomik oluşumları içeren limbik sistem gibi bellek ve duygu durum değişikliklerinden sorumlu bölgelerde oluşturulmaktadır (27).

2.4.2.1 Septohipokampal sistem

Septohipokampal sistem literatür bilgilerine göre, davranış inhibe edici sistemi (behavioral inhibition sistem BIS) uyararak anksiyete etkilerini oluşturmaktadır. Anksiyetenin oluşumunda serotonerjik sistem (raphe çekirdeği) ve noradrenerjik sisteme (locus coeruleus) ait nörotransmitter aktivitelerinin arttığı çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir. Bu bilgiyi doğrulayan bulgu, anksiyolitik ilaçların rafe çekirdeği ve lokus sereleusta impuls üretimini azaltıcı yönde etki göstermeleridir. Bu terapötik etki anksiyetenin oluşumunda her iki beyin bölgesinin sorumlu olduğunu düşündürmektedir (26).

Septum ve hipokampus literatür bilgilerine göre, BIS oluşmasında görev alan yapılardır. BIS beklenmedik olaylara bağlı olarak ortaya çıkan ve tehlike sinyali olarak değerlendirilebilecek bedensel işlevlerdeki değişimleri beyin sapı aracılığı ile alarak aktive olmaktadır. Anksiyolitik ilaçların duygu durum etkinliği üzerindeki etkinliğinden dolayı papez halkasını da bu sisteme dahil etmiştir. Septohipokampal aktivite iki monoamin sistem ile arttırılabilmekte, anksiyolitik ilaçlarla ise bu aktivitede azalmaya neden olmaktadır. Anksiyetenin oluşumunda “savaş/kaç” cevabı septohipokampal sistemin amigdala, hipotalamus ve periakvaduktal gri cevher (PAG) ile olan bağlantıları sonucu oluşmaktadır. Hayvanlarda bu devre harekete geçirildiği zaman insanlardaki panik nöbetlerine benzer alarm hali ve kaçma davranışı ortaya çıkarmaktadır (31).

2.4.2.2 Amigdala

Limbik yapılar içerisinde amigdala korku duyusu ve anksiyete oluşumunda görev alan en önemli nöroanatomik oluşumdur (27). Duyumsal enformasyon amigdalanın lateral ve bazolateral nükleusundan sonra amigdalanın merkezi çekirdeğine ulaşır. Buradan kalkan uyarılar hipotalamus ve beyin sapına ulaşırlar. Amigdaladan input alan ve korku/anksiyetenin oluşumunda görevli anatomik yapılar ise lateral hipotalamus, vagusun dorsomedial nükleusu, nükleus ambiguus, parabrakial nükleus, ventral tegmental alan, lokus serulus pedinkülopontin nükleus, nükleus retikularis ve hipotalamusun paraventriküler nükleusdur (31).

Amigdala diğer beyin bölgelerinden aldığı inputlarla korku ve anksiyetenin oluşumunda önemli rol oynar (32). Örneğin, serotoninin aracılık ettiği ve amigdalaya dorsal rafe çekirdeğinden gelen uyarılar, avertiv uyarılardan sakınma cevabının oluşumunda görev almaktadır (33). Dorsal rafe çekirdeğinden kalkıp periakvaduktal gri cevhere ulaşan serotoninin rol aldığı diğer bir yolak ise savaş/kaç cevabının oluşumunda rol alır (34).

2.4.3 Anksiyete oluşumunda rolü olan temel nörotransmitter sistemleri

Bilimsel çalışmaların sonuçları GABA-benzodiazepin reseptörü-Cl⁻ iyonofor kompleksi, noradrenerjik sistem ve serotonerjik sistem olmak üzere üç temel santral nörotransmitter sisteminin anksiyete oluşumunda önemli rollere sahip olduğunu göstermiştir (35). Bu temel nörotransmitter sistemlerinin yanı sıra ventral tegmental alandaki dopaminerjik nöronlar ve pedikülopontin nükleustaki kolinerjik nöronların da uyanıklık ve dikkati arttırarak anksiyete gelişimine minimal düzeyde katkı sağladığı bilinmektedir. Hipotalamo-hipofizer yolak ve ACTH'nin de depresiflerde inaktif iken, anksiyete ve artmış strese aktif olduğu bilinmektedir. Yukarıda bahsedilen temel nörotransmitter sistemleri dışında; santral nöropeptidler olan kolesistokinin ve P maddesi, santral sinir sisteminin diğer inhibitör nörotransmitteri olan adozin ve glutamaterjik sistem ile birlikte santral nitrik oksidin de anksiyete geliştirilmesindeki rolü tartışılmaktadır (35).

2.4.3.1 GABA

Amino asid yapısında olan GABA memeli santral sinir sistemindeki en yaygın inhibitör nörotransmitterdir. Santral sinir sistemindeki tüm sinapsların yaklaşık olarak %40'ının nörotransmisyonunda GABA'yı kullandığı düşünülmektedir (35, 36).

Günümüzdeki çalışmalar GABA'nın hem presinaptik hem de postsinaptik bölgede de inhibitör etkiler yaptığını göstermektedir (31).

1980'lerin başında GABA reseptörlerinin bağımsız olarak çalışmadığı, başta benzodiazepinler ve barbitüratlar olmak üzere bazı sedatif/hipnotik ve anksiyolitik etkili ilaçlara özgü başka reseptörlerin de GABA reseptörlerine komşu olarak bir klorür iyonoforu ile birlikte kompleks bir yapı oluşturduğu ve bu kompleksin total olarak çalışmasının inhibitör etkilerden sorumlu olduğu ileri sürülmüştür (37).

Bilimsel çalışmalar GABA'nın, benzodiazepin reseptörü-Cl iyonofor kompleksi (GABA-BZ-Cl) ile beraber pek çok santral sistemde normal ve patolojik anksiyete etkinliğinin azaltılmasında etkili olduğunu göstermiştir. GABA-BZ reseptörü-Cl-iyonoforu kompleksinin, eksitatör nitelikli transmitterin sinaptik aralığa salınmasını önlediği ve presinaptik inhibisyon yaptığı kabul edilmektedir (38).

GABA reseptörlerinin, GABA transmitteri aracılığı ile stimülasyonuna ek olarak benzodiazepinler ile de stimülasyonu önemlidir, çünkü sıçan beyinde benzodiazepin reseptörlerinin varlığının gösterilmesiyle anksiyetede benzodiazepinlerin olumlu etkilerini açıklamak mümkün olmuştur. Benzodiazepinler anksiyolitik etkilerini GABA-A reseptör-BZ-Cl iyonoforu kompleksini etkileyerek gösterirler (38).

2.4.3.2 Noradrenerjik sistem

Lokus serelus ponsun dorsal bölümünde yer alan ve santral sinir sistemindeki toplam noradrenalinin yaklaşık %70'ini içeren bir nukleustur (36). Lokus sereleustan çıkan noradrenerjik lifler serebral ve serebellar korteksleri, limbik sistemi, beyin sapını ve medulla spinalisi innerve eder. Lokus sereleusun santral

sisteminin otonomik ve emosyonel yanıtları ile ilişkili merkezi olduğu iddia edilmektedir (30).

Lokus sereleusun uyarılması ve noradrenalin düzeyinin artması korku duyumsama, taşikardi, tremor, ağız kurluğu, kan basıncında artış, gastrointestinal sistemde peristaltik hareketlerde artış, terleme ve pupillalarda genişleme gibi otonomik ve emosyonel anksiyete semptomlarına neden olur (34, 39).

Lokus serelustaki noradrenerjik nöron gövdelerinde GABA reseptörlerinin yüksek konsantrasyonda bulunduğu gözlenmiştir. Bu bağlamda benzodiazepinlerin anksiyete üzerindeki yararlı etkilerine, lokus seruleusta ki GABA aracılı noradrenerjik inhibisyonun katkısı olabileceği ileri sürülmüştür (39).

2.4.3.3 Serotonerjik sistem

Beyin sapının dorsal ve median rafe nükleusunda lokalize olan nöronlar beyindeki primer serotonin kaynaklarıdır. Serotonerjik sistem iştah, enerji, uyku, duyu durumu, libido ve kognitif fonksiyonların modülasyonundan sorumludur. (39).

Serotoninin anksiyetede rolü, lokus serelus üzerindeki modulatuar etkisi ve amigdalaya gelen serotonerjik liflerin varlığı ile desteklenmektedir (40).

Serotonerjik ve noradrenerjik sistemler arasındaki etkileşme anksiyete gelişimi ile ilişkili olabilir. Maymun beyinde gerçekleştirilen araştırma sonuçlarına göre lokus sereleus noradrenerjik nöronların yanı sıra serotonerjik nöronlara da sahiptir. Ayrıca santral serotonerjik merkez kabul edilen beyin sapı rafe sistemi noradrenerjik nöronlar tarafından da innerve edilirken, lokus serelusun da beyin sapı rafe sisteminden serotonerjik innervasyonlar aldığı saptanmıştır (30, 39, 41).

Lokus serelus ve noradrenerjik sistem ile bu etkileşim dışında, benzodiazepinlerin anksiyolitik etkilerinin de kısmen santral serotonerjik aktiviteyi modüle etmesinin de rolü olduğu ileri sürülmektedir (42).

Serotonin reseptörlerinden presinaptik 5-HT_{1A} otoreseptörlerinin ve postsinaptik 5-HT₃ reseptörlerinin anksiyete ile ilişkili olduğuna işaret eden önemli veriler mevcuttur. 5-HT_{1A} reseptörlerinin parsiyel agonisti olan buspiron,

ipsapiron ve gepiron gibi ilaçlar özellikle yaygın anksiyete bozukluğunun tedavisinde kullanılmaktadır (43).

2.4.3.3.1 Anksiyetede rolü olan nöropeptidler, kolesistokinin ve P maddesi

Kolesistokinin, beyin sapının ve orta beynin birçok bölümünde bulunan uyanıklık ve duygu durumu ile ilişkili bir nöropeptiddir (44). Kolesistokininin bir anksiyete bozukluğu tipi olan panik atakların olası bir nöromedyatörü olduğu ileri sürülmüştür (45).

Bir nörokinin olan P maddesi (substance P) ağrının duyumsanmasında önemli bir role sahiptir. P maddesinin ayrıca diğer nörokininler gibi anksiyetenin modülasyonunda da rolü olduğuna işaret eden deneysel çalışmalar mevcuttur (46). Transmitter P maddesinin anksiyojenik etkilerine, santral nitrik oksidin önemli bir katkısı olduğuna işaret eden deneysel bulgular elde edilmiştir (47).

2.4.3.3.2 Adenozin

Adenozin riboza bağlı bir pürindir ve beyinde kendine özgü reseptör dağılımı vardır. GABA gibi santral sinir sisteminin inhibitör nitelikli nörotransmitterlerinden birisidir ve beyinde birçok nöronun aktivitesini inhibe edici özelliğe sahiptir (48).

Adenozinin santral sinir sisteminde yer alan A1 ve A2a reseptör tiplerinin anksiyete ile ilişkili olduğuna işaret eden çalışmalar yapılmıştır. Adenozin reseptörlerinin nonspesifik bir antagonisti olan metilksantin türevi kafein ve teofilinin, santral adenozin reseptörlerini bloke ederek anksiyete semptomlarına neden olduğu iddia edilmektedir (49-52).

Ayrıca farelerde gerçekleştirilen bazı deneysel çalışmaların sonuçları selektif adenozin A1 reseptör agonistlerinin anksiyolitik etkiye sahip olduğuna işaret etmektedir (52, 53). Gerek adenozin A1 gerekse A2a reseptörlerinin yokluğunun farelerde anksiyete belirtilerini şiddetlendirdiği çalışmalar ile desteklenmektedir (54).

2.4.3.4 Nitrik oksid ve glutamat ilişkisi

Nitrik oksid (NO) periferde olduğu kadar santral sinir sisteminde de önemli biyolojik aktivitesi olan değişken ve çok kısa ömürlü (6–10 sn) bir gazdır. Hem periferde hem de santral sinir sisteminde NO prekürsörü amino asid L-argininden kalsiyum/kalmodulin, oksijen ve NADPH'nin de katıldığı ve NO sentetaz enzimi tarafından katalizlenen bir reaksiyonla sentezlenir (55).

NO'nun santral sinir sisteminde bir nörotransmitter fonksiyona sahip olduğu ve santral L-arginin-NO yolağının varlığından söz edilmektedir (56). NO sentezini katalizleyen enzim olan NOS 'nin amigdala, lokus serlus, dorsal periaquaduktal gri cevher, hipotalamus, hipokampus, striatum, korteks ve serebellum gibi beyin bölgelerinde var olduğu gösterilmiştir. Özellikle amigdala ve lokus serelustaki NOS varlığı, anksiyete ile NO ilişkisi bakımından önem taşımaktadır (57).

Deney hayvanlarında gerçekleştirilen bazı çalışmalarda, NOS inhibitörü ajanların, sıçanlarda alkol yoksunluk sendromunun erken döneminde ortaya çıkan lokomotor hiperaktivite ve ajitasyon gibi anksiyeteye benzer semptomları inhibe ettiği bildirilmiştir. Bu yararlı etkilerin NO prekürsörü L-argininin NOS inhibitörlerinden önce verilmesi ile önlediği bilisel çalışmalar ile gösterilmiştir (57). Yıldız ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışma sonuçları da NOS inhibitörü ajanların deney hayvanlarında direkt anksiyolitik etkiler oluşturduğuna işaret etmektedir (58).

Baretta ve arkadaşları ise yakın tarihlerde gerçekleştirdikleri bir çalışmada, farelerde P maddesinin anksiyojenik etkilerine NO'nun aracılık ettiğini düşündürülen bulgular elde etmişlerdir (47).

NO'nun santral sinir sistemindeki eksitatör etkisini, presinaptik sinir sonlanmasında glutamata serbestleterek postsinaptik membranda NMDA reseptör aktivasyonunu arttırmak suretiyle oluşturduğu sanılmaktadır (59).

Nitrikoksit ve glutamat ile ilgili amigdala ve lokus serelus başta olmak üzere hipotalamus, nükleus ambigius, nükleus retikularis ve paraventriküler nükleus gibi nöroanatomik yapılar ile santral noradrenerjik ve serotonerjik sistemlerin, anksiyete semptomlarının ortaya çıkmasında ve anormal anksiyetenin bir hastalık olarak sürdürülmesinde major role sahip oldukları söylenebilir. Yine santral

adenozin, kolesistokinin ve glutamat ile birlikte NO'nun da anksiyete oluşumunda önemli bir role sahip olduğunu düşündüren veriler bulunmaktadır (58).

2.5. Östrus Siklusu

İnsanlar ve primatların dışında memeli hayvanlarda menstruasyon (adet görme) görülmez. Bunlarda cinsel siklus, hayvanın türüne göre değişen ve yılın belli zamanlarında görülen kızgınlık (östrus) halinde belirir. Kızgınlık, ovulasyon zamanında görülen ve dişi hayvanı çiftleşmeye ve cinsel organları gebeliğe hazırlayan olaylar dizisidir. Bu gebeliğe ait değişiklikleri yaratan etken ovarium hormonlarıdır. Dişi sıçanlar poliöstrus hayvanlardır, proöstrus, östrus, metöstrus, diöstrus olmak üzere evrelendirilirler ve üreme siklusu östrus olarak adlandırılır (60).

Ovulasyon proöstrusun başlangıcında meydana gelir, östrus evresinin sonuna kadar devam eder. Seksüel olgunluğun başlangıcından itibaren 12. aya kadar bu siklus dişi sıçanlarda ortalama dört gündür (61).

2.5.1 Proöstrus

Bu evrede ovarium folikülü büyümekte ve östrojen hormonlarını salgılamaktadır. Ovarium tarafından salınan östrojenlerden en önemlisi östradiol'dür. Östradiol kana salınır, fallopian tüp hücrelerinin çoğalmasını ve silialarının artmasını sağlar. Bu hazırlık ovumun uterusu taşınması içindir. Aynı zamanda uterus mukozasında kan damarları şekillenir, hücreleri çoğalır, vagina duvarı kalınlaşır ve kornifiye olur ve böylece vagina çiftleşmeye hazır hale getirilir. Östrus siklusu boyunca prolaktin, LH ve FSH düşük seviyede kalır ancak proöstrus fazında artmaya başlar, proöstrus süresi 12 saattir, bu evrede büyük foliküller görülür (62).

2.5.2 Östrus

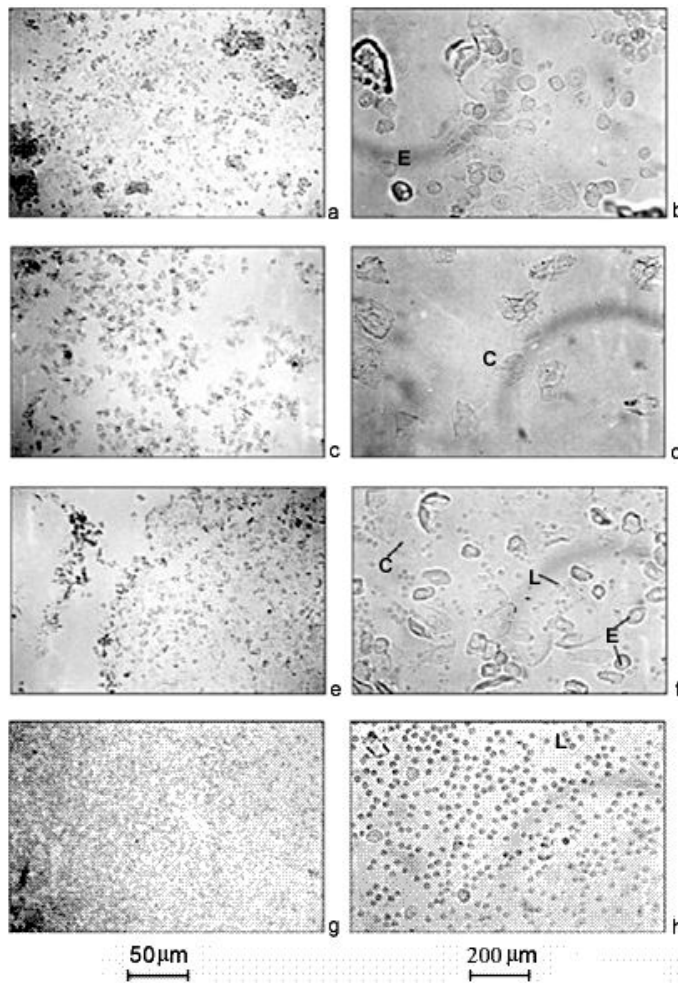
Bu evre dişinin erkeği kabul ettiği çiftleşme isteğinin görüldüğü evredir. Östrus evresi ovulasyonun gerçekleştiği aşamadır ve poliöstrus evrelerinin en kısa süreli evresidir; yaklaşık 12 saat kadar sürer (61).

2.5.3 Metöstrus

Korpus luteumun geliştiği ve progesteron hormonunun salındığı evredir. Progesteron yeni folikül oluşmasını ve yeni bir östrus siklusunun meydana gelmesini önler. Bu fazda östradiol seviyesi artmaya başlayarak korpus luteumun gelişimi sürdürülür (62).

2.5.4 Diöstrus

Kızgınlık evrelerinin en uzun süren evresidir; progesteron seviyesi belirgin bir artış göstererek, korpus luteum iyice büyür, endometrium kalınlaşır ve uterus kasları gelişir. Gebelik gerçekleştiğinde, bu evre gebelik sonuna kadar devam eder. Gebelik gerçekleşmezse, korpus luteum geriler; yeni bir folikül gelişir ve tekrar yeni bir kızgınlık evresi başlar (61,62,63).



Şekil 2: Dişi Sıçanda Östrus Basamakları: a-b: proestrus, c-d: estrus, e-f: metestrus, g-h: diestrus, L: lökosit, E: epitelyal hücre, C: karnifiye hücre (63).

3. MATERYAL METOD

Bu çalışma Karadeniz Teknik Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı Davranış laboratuvarında gerçekleştirildi.

3.1 Denekler

Çalışmada 24 adet 5–6 aylık 220–300 g ağırlığında Sprague Dawley cinsi dişi sıçanlar kullanıldı, deneklerin seçimi rastgele olarak yapıldı. Çalışma protokolü, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan 2008/15 no'lu onayla geçti. Deney öncesi çalışmaya dahil edilen sıçanlar iki ay süresince ışığı, sıcaklığı ve nemi yapay olarak kontrol edilen bir laboratuvara alındılar. Günlük biyolojik ritimleri ile ilgili aydınlık karanlık düzenlerinin devamlılığı amacıyla 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışık periyodları sağlandı. Ortam sıcaklığı 21 ± 2 ve nem oranı $\%50\pm 10$ olarak deney süresince korundu, ad-libitum beslenme yöntemi uygulandı.

3.2. Çalışma Grupları

Çalışma grupları; çözücü (vehicle), 7,5mg/kg ilaç ve 15mg/kg ilaç olmak üzere üç grup olarak belirlendi. Çözücü grubuna yalnızca homojenize edilmiş PBS (fosfat tamponlu tuz çözeltisi), ilaç gruplarına 7,5mg/kg simvastatin ve 15mg/kg simvastatin, fosfat tampon çözeltide çözülerek sıçanlara özel bir gastrik sonda ile ağızdan uygulandı. Solüsyon ve ilaç uygulaması eş hacimde bütün gruplar için 0,5 ml olarak verildi. İlaç ve PBS uygulaması 13 gün boyunca sabah 08:30'da aynı sıra izlenerek gerçekleştirildi. İlaç veya PBS uygulaması deneklere grup numaralarına göre beşer dakika arayla uygulandı. Çalışmada kullanılan denekler toplam 13 günlük bir süreçte PBS ya da ilaç verilerek testler bu süre içerisinde tamamlandı.

3.3. Testler

Gruplardaki deneklerin anksiyete değerlerinin ölçümü için yükseltilmiş artı labirent testi, günlük aktivitelerinin ölçülmesi için de aktivite testi uygulandı. Yükseltilmiş artı labirent testi için denekler deney öncesi habituasyona tabi tutuldu.

İki östrus siklusunu arka arkaya düzenli gösteren denekler çalışmaya dahil edildi. Siklus evresinin tayini için vaginal smear yöntemi kullanıldı. Belirtilen testler deneklere seksüel siklusun diöstrus evresinde yapıldı ve birinci günü takiben, diöstrustaki 1, 5, 9 ve 13. günlerde yükseltilmiş artı labirent testi uygulandı. Yükseltilmiş artı labirent testine saat 12:30'da başlandı, ve veriler video kayıt cihazları ile beş dakika kaydedildi. Kaydı alınan verilerin analizi için bilgisayar mühendisliği ile ortak geliştirilen bir program ile değerlendirildi. Bu program hayvanın yükseltilmiş artı labirent testi üzerindeki hareketlerini, açık-kapalı kollarında kaldığı zamanlarını kayıt etmektedir. Yükseltilmiş artı labirent testinden sonra deneklere 30 dakika süreyle aktivite testi uygulandı. Aktivite kafesi kapalı bir alan olup hayvanın belirlenen sürede yapmış oldukları hareketleri algılar ve bilgisayar ortamında kaydeder. Aktivite testinde deneklerin toplam hareket sayısı, kat edilen mesafe, stereotipik hareket ve vertikal hareket değişkenleri kaydedildi ve istatistiksel olarak yorumlandı.

İstatistiksel analizler SPSS v 13.01 (Lead Technologies Inc. Chicago, IL., USA) versiyonu kullanıldı. İstatistiksel analizler SPSS v 13.01 (Lead Technologies Inc. Chicago, IL., USA) versiyonu kullanıldı. Günlere göre grup içi karşılaştırmalarda Friedman varyans analizi testi kullanıldı. Tüm grupların gün ve doz bağımlı istatistiksel analizleri için çift yönlü varyans(two way anova) analizi kullanıldı.

3.4 Vaginal Smear

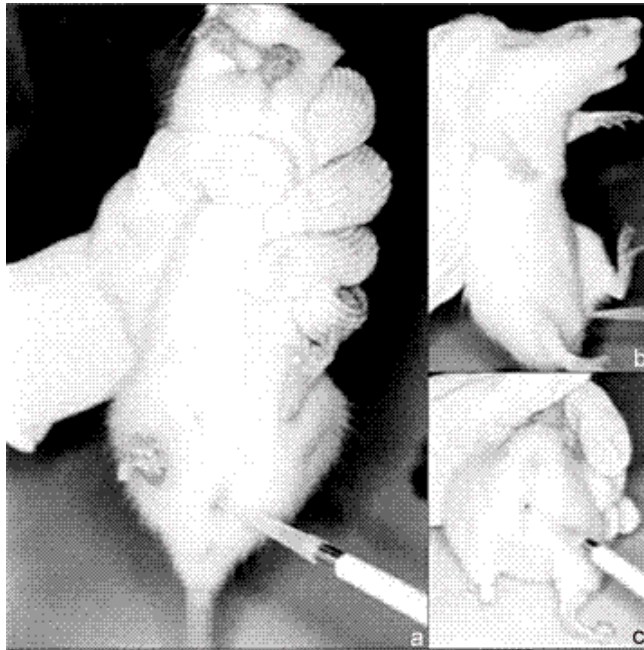
Vaginal smear memeli hayvanlarda siklus dönemlerinin tanımlanması, çiftleşme zamanının tespit edilmesi, ovulasyon zamanının belirlenmesi, siklus durumlarına bağlı olarak kontrollü hormon tedavilerinin yapılması ve bazı

genitopatolojik durumların ayırt edilmesinde büyük ölçüde yardımcı olan önemli bir muayene yöntemidir (63).

Seksüel siklus sırasında vagina epitelyum hücrelerinde meydana gelen değişimlerin vaginal smear yöntemi ile tanımlanarak dişi hayvanların seksüel siklusun hangi evresinde olduğu tespit edilmektedir (63).

Vaginal smear preparatlarında normal epitel hücrelerine ilave olarak varlıkları siklus dönemlerine göre değişen eritrosit ve lökositleri görmek mümkündür.

Vaginal smear pipet yöntemi ve eküvyon yöntemi olarak iki şekilde yapılmaktadır. Bu çalışmada siklus tayini pipet yöntemi kullanılarak yapıldı. Hayvanlara deney süresince saat 07:30–08:30 saatleri arasında vaginal smear uygulandı. Bu metotta, öncelikle puara sabitlenmiş pipete serum fizyolojik çekildi. Hayvanın başı aşağıya doğru tutuldu ve pipet vaginaya sokuldu. Puar yumuşakça birkaç kez sıkıldı, vaginanın yıkandığı sıvı tekrar pipete çekildi. Bu vaginal salgıdan bir damla lama damlatıldı. Üzerine lamel kapatıldı ve lam kurutularak preparat mikroskop altında incelendi. Preparattaki hücrelerin yerleşimine göre deneklerin siklus tayini gerçekleştirildi.



Şekil 3: Sıçanda vaginal smear uygulaması (63).

3.5. Yükseltilmiş Artı Labirent (Plus-Maze)

Yükseltilmiş artı labirent testi kemirgenlerde psikiyofarmakolojik çalışmalarda geçerliliği kabul görmüş anksiyete değerlendirilmesinde kullanılan bir modeldir. Koşulsuz anksiyete için kullanılan bu test ilk kez Pellow ve arkadaşları tarafından 1985 yılında uygulanmıştır (64). Yükseltilmiş labirent testi yerden belli yükseklikte tahtadan yapılan ve artı şeklinde olan bir anksiyete ölçüm yöntemidir.

Yükseltilmiş artı labirent iki açık, iki kapalı kol ve bunların birleştiği merkez bölgeden oluşmaktadır. Sıçanlarda kol boyutları 50x10 cm (boy x en), yerden yükseklik ise 50 cm'dir. Kapalı kolların üç kenarı, sıçanda 40 cm yüksekliğinde levha ile kapatılmıştır.

Test yapılırken, hayvan öncelikle başlangıç kutusunun içine konulur ve bu kutu yükseltilmiş labirentin merkezine hayvanın başı açık kola gelecek şekilde bırakılır ve daha sonra kutu kaldırılır. Beş dakika süreyle hayvanın hareketleri iki metre yükseklikte ve 90 derecelik açı ile yerleştirilmiş kamera ile kaydedilir.

Yükseltilmiş artı labirent testi yükseklik, ışıklandırma ve açık kolların anksiyeteyi arttırdığı esasına dayanmaktadır. Bu bağlamda açık kola giriş sayısı ve açık kolda geçirilen sürenin artması, denekte anksiyete davranışının varlığını ve süresini göstermektedir. Fare ya da sıçan labirentin merkezine bırakıldığında genellikle kapalı kolda kalır ve açık kola çıkmaktan kaçınır (67,66). Hayvanlar kapalı kolun sonuna yerleştirildiklerinde, kapalı kolda ilerleyip kafasını dışarı çıkarmadıkça açık kolu göremez.. Açık kol üzerinde yürümek onlara ürkütücü bir deneyim yaşatır. Fare ya da sıçanlar doğuştan açık alan ve yükseklikten korkarlar (64,65). Denekler tekrarlayan deneylerde sürekli kapalı kolun içine bırakılacak olursa, inhibitör kaçınma cevabını öğrenirler. Tersine açık kolun sonuna yerleştirilecek olurlarsa, kapalı kola doğru gider ve kaçınma cevabı gösterirler. Deneğin kapalı kolda kalarak açık kola girmemesi, öğrenilmiş korkuyu gösterirken, açık koldan kaçma eğilimi ise doğuştan gelen bir korkudan kaynaklanmaktadır (67).

Fare ve sıçan davranışlarının etken analiz çalışmalarına göre; Lister, açık kola giriş ve açık kolda kalma yüzdesini anksiyete etkeni, toplam kol girişlerini ise genel lokomasyon etkeni olarak tanımlamıştır (68, 69).

Yükseltilmiş labirente barbituratlar, anksiyolitik etki gösterirken, benzodiazepinler selektif olarak açık koldan kaçınmayı azaltmışlardır, antidepresanlar ise anksiyolitik özellik göstermemişlerdir (70, 71).



Şekil 4: Yükseltilmiş artı labirent platformu (64).

4. BULGULAR

Yükseltilmiş artı labirent test sonuçlarına göre kontrol ve simvastatin 7,5 mg/kg/gün gruplarında ilerleyen test günlerinde grup içi karşılaştırmada, kapalı kolda geçirdikleri zamanlarda anlamlı bir fark bulunmadı. Simvastatin 15 mg/kg/gün grubunda ise ilerleyen test günlerinde kapalı kolda kalma süresinde kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış görülmüştür ($p < 0.05$, $X^2 = 9.27$), (Tablo 2, Şekil 5); bu bulguyu destekleyecek şekilde kapalı kola giriş sayısında anlamlı bir azalma gözlenmiştir ($P < 0.05$ $X^2=8.160$), (Tablo 3, Şekil 6). Aktivite test sonuçları her grup için ayrı ayrı değerlendirildi ve hiçbir grupta ilerleyen test günlerine göre hareket sayısı (Tablo 4 Şekil 7 , kat etikleri mesafe (Tablo 5, Şekil 8), stereotipik hareket (Tablo 6, Şekil 9) ve vertikal hareketlerinde (Tablo 7, Şekil 10) anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$) .

Çalışma gruplarının kontrol grubu ile ilaç gruplarının karşılaştırılmasında ise çift yönlü varyans analizi yapıldı bu sonuçlara göre: Yükseltilmiş artı labirent testinde, deneklerin kapalı kolda kaldıkları zaman kontrol grubu -7.5 mg/gün $p=0.262$, 7.5 mg/gün-15 mg/gün $p=0.049$, kontrol-15 mg/gün $p=0.00008$ gruplar arasında kontrol ve 15 mg/gün grubu arasında anlamlı fark bulundu ($p < 0.05$). Yükseltilmiş artı labirent testinde deneklerin kapalı kola giriş sayısı: kontrol -7.5 mg/gün $p=0.849$, 7.5 mg/gün - 15 mg/gün grupları $p=0.999$, kontrol-15 mg/gün grupları $p=0.740$ anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Günlük aktivite test sonuçlarının grupla arası karşılaştırılmasında; deneklerin kat ettikleri toplam mesafe kontrol -7.5 mg/gün grupları $p=0.968$, 7.5 mg/gün- 15 mg/gün grupları $p=0.997$, kontrol-15 mg/gün grupları $p=0.882$; toplam hareket sayısı kontrol -7.5 mg/gün grupları $p=0.857$, 7.5 mg/gün - 15 mg/gün grupları $p=0.866$, kontrol-15 mg/gün grupları $p=1.000$; stereotipik hareket sayısı kontrol -7.5 mg/gün grupları $p=0.956$, 7.5 mg/gün - 15 mg/gün grupları $p=0.957$, kontrol-15 mg/gün grupları $p=1.000$. vertikal giriş sayısı kontrol -7.5 mg/gün grupları $p=0.215$, 7.5 mg/gün - 15 mg/gün grupları $p=0.814$, kontrol-15 mg/gün grupları $p=0.552$ anlamlı fark bulunamamıştır ($p > 0.05$).

Simvastatin günlük aktivite üzerinde grup karşılaştırılmasında da etkisi bulunmamıştır. Ancak grupların kendi aralarında karşılaştırılmasında kontrol ile 15

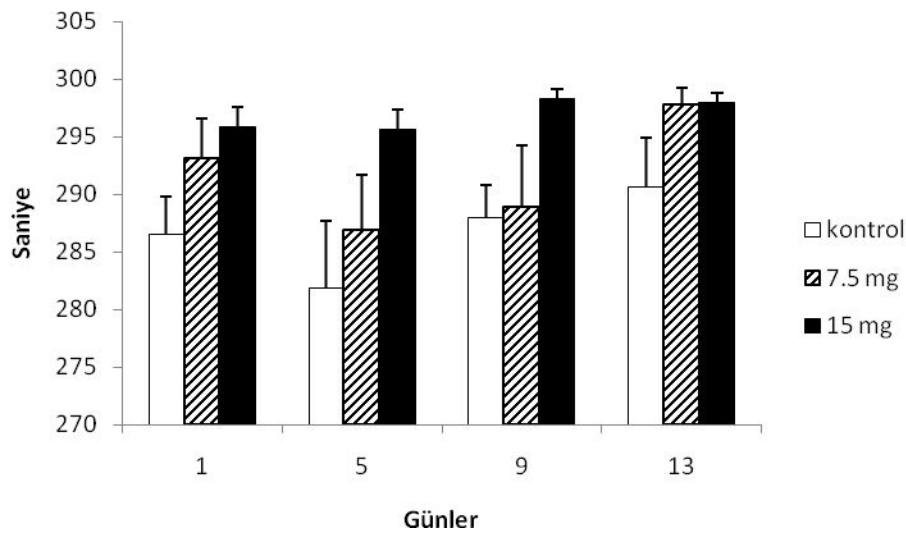
mg/gün grubu arasında anlamlı fark olması, simvastatin aksiyete davranışı üzerine etkili olabileceği hipotezimizi destekler yöndedir.

4.1 Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları

Tablo 2: Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Deneklerin Kapalı Kolda Kaldıkları Zaman (sn).

Kapalı kolda geçirdikleri zaman (sn)					
n=8	1. GÜN	5. GÜN	9. GÜN	13. GÜN	
Kontrol	286.60 ± 3.15	281.93 ± 5.75	288.0 ± 2.81	290.64 ± 4.29	P=0.148 X ² =5.354
7,5 mg sim	293.16 ± 3.38	286.93 ± 4.75	288.94 ± 5.35	297.77 ± 1.42	P=0.062 X ² =7.350
15 mg sim	295.88 ± 1.69	295.63 ± 1.68	298.30 ± 0.85	298.70 ± 0.74	P=0.022* X ² =9.608

Kontrol ve 7,5 mg/gün , 15 mg/gün gruplarında ilerleyen test günlerinde gruplar kendi içlerinde karşılaştırılmıştır, P < 0,05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. Friedman testinde 15 mg grubunda sonuçlar anlamlı bulunmuştur. Doza ve güne bağlı olarak yapılan çift yönlü varyans analizi sonucu da kontrol-15mg/gün (P =0.0008), 7.5 mg/gün-15 mg/gün grupları (p=0.049) arasında anlamlı bulunmuştur

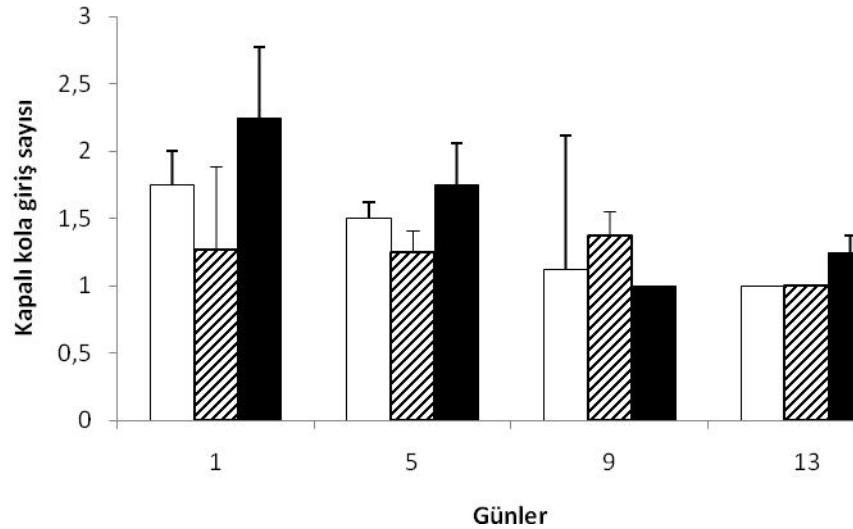


Şekil 5: Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Deneklerin Kapalı Kolda Kaldıkları Zaman (sn).

Tablo 3: Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Deneklerin Kapalı Kola Giriş Sayısı.

Kapalı kola giriş sayısı					
n=8	1. GÜN	5. GÜN	9. GÜN	13. GÜN	
Kontrol	1.75 ± 0.25	1.5 ± 0.26	1.12 ± 0.12	1.0 ± 0	P=0.58 X ² =7.471
7,5 mg sim	1.27 ± 0.62	1.25 ± 0.16	1.37 ± 0.18	1.0 ± 0	P=0.050 X ² =7.800
15 mg sim	2.25 ± 0.52	1.75 ± 0.31	1.0 ± 0	1.25 ± 0.12	P=0.043* X ² =8.160

Kontrol ve 7,5 mg/gün , 15 mg/gün ilerleyen test günlerinde kendi aralarında karşılaştırılması kapalı kola giriş sayısı (Friedman) * P < 0.05 anlamlı olarak kabul edilmiştir. Gruplar arası karşılaştırma sonucu P > 0.05 anlamlı fark bulunmamıştır .



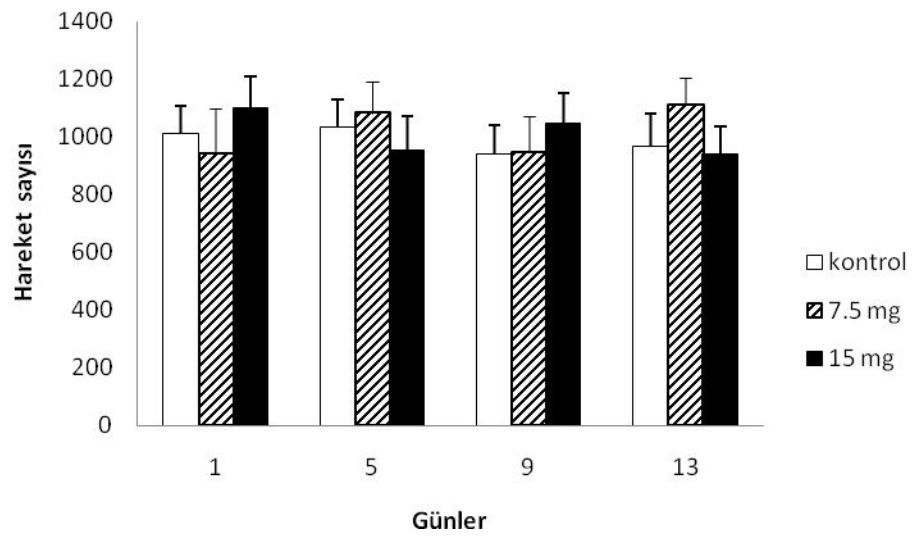
Şekil 6: Yükseltilmiş Artı Labirent Testinde Deneklerin Kapalı Kola Giriş Sayısı.

4.2. Aktivite testi bulguları

Tablo 4: Aktivite Testinde Deneklerin Toplam Hareket Sayısı

Toplam hareket sayısı					
n=8	1. GÜN	5. GÜN	9. GÜN	13. GÜN	
Kontrol	1013.25±96.12	1037.12 ± 90.94	940.37 ± 98.26	968.03 ± 113.68	P=0.717 X ² =1,350
7,5 mg sim	941.12 ± 156.26	1082.25± 110.98	945.62 ± 125.28	1112.25 ± 93.36	P=0.175 X ² =4.950
15 mg sim	1101.0 ± 107.50	954.5 ± 116.39	1049.5 ± 100.27	942.5 ± 93.26	P=0.495 X ² =2.392

Toplam hareket sayısı kontrol ve 7,5 mg/gün , 15 mg/gün ilerleyen test günlerinde kendi aralarında karşılaştırılması ve gruplar arası karşılaştırma sonucu P >0.05 anlamlı fark bulunmamıştır

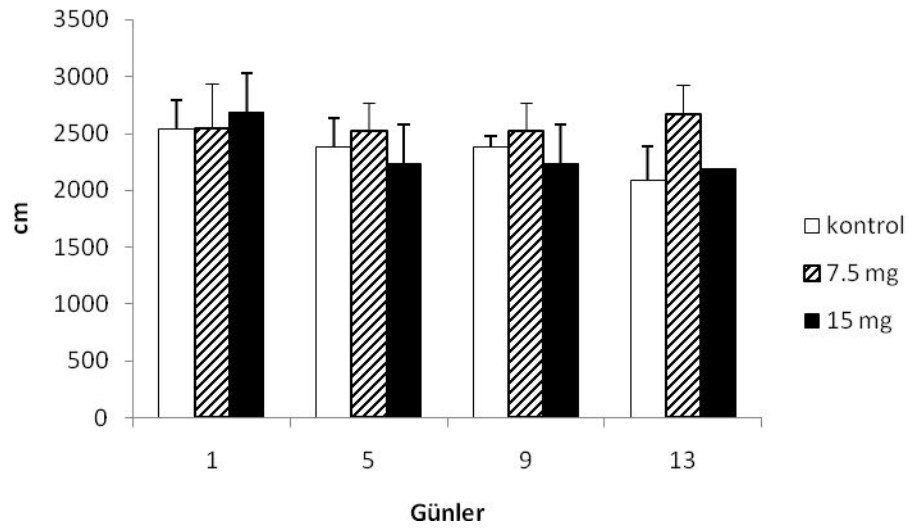


Şekil 7: Aktivite Testinde Deneklerin Toplam Hareket Sayısı

Tablo 5: Aktivite Testinde Deneklerin Kat Ettikleri Toplam Mesafe.

Toplam uzunluk (cm)					
n=8	1. GÜN	5. GÜN	9. GÜN	13. GÜN	
Kontrol	2536.81± 256.68	2381.83±249.68	2381.33±98.6	2092.16±289.71	P=0.212 X ² =4.500
7,5 mg sim	2541.07 ± 393.52	2517.08±255.17	2517.08±255.17	2667.45±259.35	P=0.801 X ² =1.00
15 mg sim	2688.71 ± 338.7	2239.52±336.44	2239.52±336.44	2184.88±245.76	P=0.608 X ² =1.833

Günlük aktivite testlerinde alınan mesafenin kontrol, 7,5 mg/gün ve 15 mg/gün gruplarında ilerleyen test günlerinde grupların kendi içlerinde Friedman testi ile karşılaştırılması. Yapılan doz ve güne bağlı iki yönlü varyans analizinde de ($P > 0.05$) fark bulunmamıştır

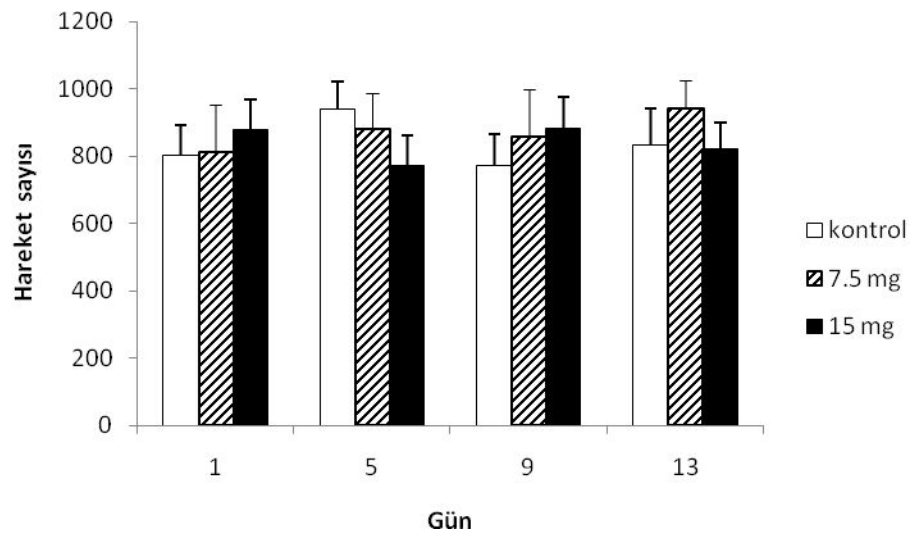


Şekil 8: Aktivite Testinde Deneklerin Kat Ettikleri Toplam Mesafe

Tablo 6: Aktivite Testinde Deneklerin Sterotipik Hareket Sayısı.

Sterotipik hareket sayısı					
n=8	1. GÜN	5. GÜN	9. GÜN	13. GÜN	
Kontrol	802.25 ±88.8	941.25±79.54	771.62 ±93.82	834.25±107.80	P=0.241 X ² =4.200
7.5 mg sim	809.62±144.89	880.62±105,06	855.62±141.67	940.0 ± 84.32	P=0.717 X ² =1.350
15 mg sim	880.37 ±88.05	772.0 ± 87.60	883.12 ± 93.81	823.25 ± 76.11	P=0.682 X ² =1.500

Günlük aktivite testlerinde sterotipik hareket sayısı kontrol, 7,5 mg/gün ve 15 mg/gün gruplarında ilerleyen test günlerinde grupların kendi içlerinde Friedmann testi ile karşılaştırılması. Yapılan doz ve güne bağlı iki yönlü varyans analizinde de(P>0.05) fark bulunmamıştır

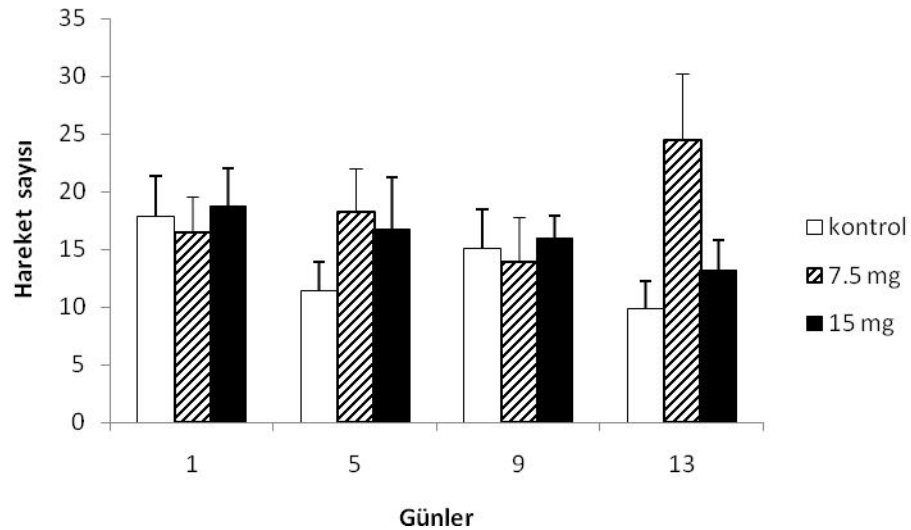


Şekil 9: Aktivite Testinde Deneklerin Sterotipik Hareket Sayısı.

Tablo 7: Aktivite Testinde Denklemin Vertikal Giriş Sayısı

Vertikal giriş sayısı					
n=8	1. GÜN	5. GÜN	9. GÜN	13. GÜN	
Kontrol	17.87 ± 3.52	11.50 ± 2.38	15.12 ± 3.30	9.87 ± 2.38	P=0.149 X ² =5.338
7.5 mg sim	16.50 ± 3.07	18.25 ± 3.74	13.87 ± 3.89	24.50 ± 5.70	P=0.428 X ² =2772
15 mg sim	18.75 ± 3.23	16.75 ± 4.45	16.0 ± 1.95	13.25 ± 2.50	P=0.729 X ² =1.303

Günlük aktivite testlerinde vertikal giriş sayısı kontrol, 7,5 mg/gün ve 15 mg/gün gruplarında ilerleyen test günlerinde grupların kendi içlerinde Friedman testi ile karşılaştırılması. Yapılan doz ve güne bağlı iki yönlü varyans analizinde de (P >0.05) fark bulunmamıştır



Şekil 10: Aktivite Testinde Denklemin Vertikal Giriş Sayısı

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada kolesterol düşürücü enzim inhibitörü olan simvastatinin anksiyete davranışı üzerine etkisi araştırıldı. HMG-KoA inhibitörü olan simvastatinin pek çok yan etkisinin olduğu bilinmektedir. Bunlardan rabdomiyoliz, hepatotoksite en yaygın bilinenleridir. Bilinen be yan etkilerine ek olarak statin kullanımının kognitif fonksiyonlara ve hafızaya yönelik olumsuz etkilerini olduğu literatürde belirtilmiştir (11,15). Muldon ve arkadaşları, deneklere uyguladıkları psikolojik testlerde, lovastatin alan grubun plasebo grubuna göre; mental fleksibilite, işlek bellek, ve hafızanın tekrar geri çağırılması gibi mental fonksiyonlarda daha düşük performans gösterdiklerini bildirmişlerdir (15). Orsi ve arkadaşları simvastatin alan bir kişide ilerleyici bir şekilde gelişen hafıza kaybının oluştuğunu, ilacın kesilmesi ile bu etkinin ortadan kalktığını rapor etmişlerdir (72). Wagstaff ve arkadaşları simvastatin kullanan 60 kişide hafıza kaybının oluştuğunu vaka raporlarında bildirmişlerdir (13). Mevcut bilgiler statinlerin periferik etkilerinin yanında, santral etkilerinin de olduğunu göstermektedirler. Statinler bu etkilerini nöron yapısında değişimlere yol açarak ya da MSS faaliyetlerini düzenleyen nörotransmitter düzeylerini değiştirerek gerçekleştirmektedir.

Statinlerin nöronal ve glial hüclere etkileri çeşitli çalışmalarla rapor edilmiştir (6,7,73). Vecka ve arkadaşları simvastatin uygulmasının, beyin lipid kompozisyonunu değiştirdiğini göstermişlerdir (9). Kirsch ve arkadaşları da, bazı statinlerin sinaptozomal plazma membranındaki kolesterol düzeyini etkilediğini, ayrıca lovastatin ve simvastatinin sinaptozomal plazma membranında sitofasiyal kolesterol düzeyini düşürdüğünü göstermişlerdir (6,7,74).

Statinlerin duygu durum ve davranışsal etkilerini MSS'de görev alan nörotransmitter sistemlerini etkileyerek gerçekleştirdiği çeşitli araştırmacılar tarafından rapor edilmiştir. Duits ve arkadaşları üç hastada, simvastatin kullanımına bağlı olarak depresyon, anksiyete düzeyinde artış ve intihar eğilimi gibi psikiyatrik semptomlar görüldüğünü rapor etmişlerdir (75,76). Simvastatinin etkilediği nörotransmitter sistemlerin depresyon ve anksiyetenin oluşumunda

görev aldıkları bilinmektedir. Bu ilişkinin varlığı simvastatinin anksiyete düzeyini değiştirebileceğini düşündürmektedir.

Wang arkadaşları çalışmalarında yüksek doz simvastatin tedavisinin prefrontal korteks ve striatumda dopamin düzeyini, geri alınımını değiştirmeden arttırdığını iddia etmektedirler (76). Çalışmamızda simvastatin 7,5 mg/kg/gün grubunda anksiyete benzeri davranış görülmedi. Bu da düşük doz simvastatin uygulamasının Wang'ın çalışmasına benzer şekilde anksiyete düzeyinde herhangi bir değişime sebep olmadığını göstermektedir. Darvesh ve arkadaşları çalışmalarında simvastatinin bir asetilkolinesteraz (AChE) gibi etki gösteren butirikolinesteraz (BChE) aktivitesini inhibe ettiğini rapor etmişlerdir (77). Sklan ve arkadaşları genetik çalışmalarında ACh, BChE genlerinin ve çevresel etmenlerin anksiyete davranışının oluşumunda etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Anksiyete ile kalıtım ve ACh düzeyi arasında ilişki olduğu yapılan çalışmalar ile vurgulanmıştır (78). Greig ve arkadaşları sıçan beyin kesitlerinde asetilkolinesteraz (AChE), butilinkolinesteraz (BChE) inhibitörlerinin asetilkolini aktive ettiklerini rapor etmişlerdir (79). Cibickova ve arkadaşları MSS çalışmalarında, simvastatinin sıçanların frontal korteksinde AChE'yi baskıladığını göstermişlerdir (80). Bir AChE varyasyonu olan AChE-R, kolinerjik limbik sistem yoluyla stresi artırmakta ve anksiyojenik etki gösterdiği iddia edilmektedir (81).

Simvastatin NO üretimini modüle ettiğine ilişkin çalışmalar bulunmaktadır (70). Li ve arkadaşları simvastatinin endotel hücrelerinde NO yapımını düzenleyen eNOS'un upregülasyonuna neden olduğunu ileri sürmüşlerdir (82). McGirt ve arkadaşları fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, simvastatin uygulamasının beyinde endotel kaynaklı nitrik oksit sentaz (eNOS) miktarını arttırdığını rapor etmişlerdir (83).

NOS inhibitörlerinin anksiyete üzerinde etkili oldukları hayvan testleriyle desteklenmektedir (65,67). Shin ve arkadaşları çalışmalarında aksiyolitik etkili morfinin NO sistemini module ettiğini iddia etmektedirler (66,84). Nitrik oksit inhibitörlerinin kemirgenlerde morfinin ve nikotinin neden olduğu anksiyete davranışını hafiflettiğini ve bu düzeltici etkilerini NMDA-NO inhibitörleri aracılığı ile yaptıkları iddia edilmektedir (85). Anksiyete oluşumunda NMDA reseptörlerinin işlevi olduğu bilimsel çalışmalar ile desteklenmektedir (86).

Çalışma sonuçları, simvastatinin dişi sıçanlarda günlük aktivite üzerinde etkili olmadığını, 15mg/kg/gün doz düzeyinde yükseltilmiş artı labirente kapalı kolda zamanını artırarak ($p < 0,05$) anksiyete benzeri davranışa neden olduğunu göstermektedir. Bu sonuçlara göre, hiperlipidemi tedavisinde yüksek doz simvastatinin kullanımının anksiyete düzeyini yukarıda mekanizmaları açıklanan çeşitli nörotransmitter sistemlerini etkileyerek değiştirebileceğini düşünmekteyiz.

Dünyada KKH tedavisinde yaygın olarak kullanılan statinlerin MSS'ye yönelik etkileri yeterince açıklanamamıştır. Çeşitli vaka raporları, literatürde belirtilen nörotransmitter sistemleri üzerine etkileri, davranış testlerinde elde edilen sonuçlar dikkatle incelenmelidir. Sıklıkla kullanımı tercih edilen bu ilaçların MSS'ye yönelik etkileri ve hangi mekanizmalar ile oluştuğu açıklığa kavuşturulması için pek bilimsel araştırmaya ihtiyaç vardır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Yükseltilmiş artı labirent testinde, kontrol ve simvastatin 7.5 mg/kg/gün gruplarında ilerleyen test günlerinde kapalı kolda harcadıkları zamanlarda anlamlı bir fark bulunmadı.
2. Yükseltilmiş artı labirent testinde, simvastatin 15 mg/kg/gün grubunda ilerleyen test günlerinde kapalı kolda kalma süresinin ve kapalı kola giriş sayısının anlamlı olarak artış gösterdiği belirlendi ($P < 0,05$).
3. Aktivite test sonuçları her grup için ayrı ayrı değerlendirildi ve hiçbir grupta ilerleyen test günlerine göre hareket sayısı, kat ettikleri mesafe, stereotipik hareket ve vertikal hareketlerinde anlamlı bir fark bulunmadı.

Statin kullanımının insanlarda nasıl ve ne yönde davranış değişikliğine yol açtığı yeterince açıklığa kavuşturulamamıştır. İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalar oldukça sınırlıdır ve sonuçları tartışmaya açıktır. Elimizdeki mevcut hayvan çalışmaları statinlerin hem bilişsel fonksiyonları hem de hafızanın modülasyonunu olumsuz yönde etkilediğini göstermektedir. Bu da simvastatinin insanlarda bazı bilişsel ve duygu durum fonksiyonlarını olumsuz yönde değiştirebileceğini işaret etmektedir.

Bu sonuçlara göre hiperlipidemi tedavisinde yüksek doz simvastatinin kullanımının anksiyete düzeyini değiştirebileceğini ve bu ilaçların daha dikkatli kullanılması gerektirdiğini, ek olarak simvastatinin yan etkileri için daha pek çok bilimsel çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmektedir.

ÖZET

Kolesterol sentez inhibitörü olan statinler, klinikte kardiyovasküler komplikasyonları engellemek için kullanılırlar. Bu ilaçların bazı bilişsel fonksiyonları etkilediği gösterilmiştir. Statin grubu ilaçlardan olan simvastatinin, nörotransmitterlerle bağlantılı olarak hafızayı modüle ettiği ve nöron yapısını değiştirdiği araştırmacılar tarafından bildirilmiştir. Ayrıca simvastatinin beyin kolesterol düzeyini ve lipit profilini etkilediği de gösterilmiştir.

Bu çalışmada, Sprague Dawley cinsi dişi sıçanlarda uzun süreli simvastatin uygulamasının anksiyete davranışına olan etkilerinin yükseltilmiş artı labirent testiyle incelemesi amaç edinilmiştir. Çalışma grupları kontrol (vehicle), simvastatin (7.5 mg/kg/gün ve 15 mg/kg/gün) olmak üzere üç grup olarak belirlendi ve her grup altı hayvandan oluşturuldu. Deneklere 13 gün boyunca; araç grubuna PBS (fosfat tamponlu tuz çözeltisi), ilaç grubuna ise oral yoldan gavajla (7.5 ve 15 mg/kg/gün) simvastatin uygulaması yapıldı. Deneklerin anksiyete davranış düzeyini etkileyebilecek seks steroid düzeyinin tayini için östrus siklusu değişimi göz önüne alındı ve testler diöstrus fazında yapıldı. Östrus basamaklarının tayini vajinal smear yöntemi ile gerçekleştirildi. Aktivite testinde, deneklerin toplam hareket sayısı, aldıkları toplam uzunluk, stereotipik hareket sayısı ve vertikal giriş sayıları kaydedildi. Anksiyete düzeyinin belirlenebilmesi için yükseltilmiş artı labirentte kapalı kolda kalma zamanı ölçüldü. Tüm testler deneyin 1, 5, 9, 13. günlerinde yapıldı.

Test sonuçları simvastatin (7.5 mg/kg/gün) uygulamasının kapalı kolda kalma süresini etkilemediğini ($p > 0.05$), simvastatin (15 mg/kg/gün) uygulamasının kapalı kolda kalma süresini kontrol grubuna göre anlamlı şekilde arttığını göstermektedir ($P = 0.028$, $CS = 9.127$). Aktivite test sonuçları simvastatinin günlük aktiviteyi etkilemediğini göstermektedir.

Çalışma sonuçları yüksek doz simvastatin uygulamasının (15 mg/kg/gün) dişi sıçanlarda anksiyet benzeri davranışa yol açtığını göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Simvastatin, anksiyete, yükseltilmiş artı labirent

SUMMARY

Statins, cholesterol synthesis inhibitors, are clinically used for preventing cardiovascular complications. It has been shown that a variety of cognitive functions affected by these drugs. Simvastatin, belongs to the statins, modulate the memory related to neurotransmitters and changes the neuronal structure. It has also been shown that simvastatin effects level of cholesterol and lipid composition in brain.

In this study, we aimed to investigate whether long-term simvastatin administration has any effect on the anxiety level in female Sprague Dawley rats. The animals were randomly divided into three groups (vehicle, simvastatin 7.5 mg/kg/day and 15 mg/kg/day) each consisting of six animals. For 13 days, vehicle (phosphate buffered saline) and simvastatin were administered orally to the rats. To synchronize the sexual steroid levels which can affect the anxiety level, oestrus cycle change was determined and all tests were performed in dioestrus phase. Oestrus phases were determined with vaginal smear method. In activity tests, total movement, total movement distance, stereotypic moves and vertical entries of all animals were recorded. To determine anxiety level of rats, time spend in closed arm was measured in elevated plus maze. All tests were performed on the 1st, 5th, 9th, and 13th days.

The results show that simvastatin (7.5 mg/kg/day) administration does not affect time spend in closed arms ($p > 0,05$) but simvastatin (15 mg/kg/day) administration statistically increased time spend in closed and entering a number to the closed arms compared the vehicle ($P = 0.028$, $CS = 9.127$). The activity test results show that, simvastatin does not affect daily activity.

The results indicate that simvastatin administration of its higher dose (15 mg/kg/day) cause anxiety like behavior in female rats.

Key words: Simvastatin, anxiety, elevated plus maze

KAYNAKLAR

1. Michael I. Gurr, John L. Harwood, Keith N. Frayn.: Lipid Biochemistry. 5th Edition, Blackwell Science Ltd, a Blackwell Publishing Company. Iowa, USA, 2002
2. Mary, J. Mycek, Richard, A. Harvey, Pamela, C. Champe Lippincott's Illustrated Reviews: Pharmacology 2nd Edition . Lippincott - Raven Publishers. Philadelphia New York., 1997.
3. Kayaalp, S.O. : Tıbbi Farmakoloji. 10. Baskı. Hacettepe-Taş yayınları, Ankara. 2002
4. Dietschy, J.M., Turley, S.D.: Cholesterol metabolism in the central nervous system during early development and in the mature animal. *J Lipid Res.*,45:1375–97, 2004.
5. Saheki, A., Terasaki, T., Tamai, I., Tsuji, A.: In vivo and in vitro blood-brain barrier transport of 3-hydroxy-3 methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors. *Pharmaceutical Res.*, vol.11,no.2., 1994.
6. Bosel, J., Gandor, F., Harms, C., Synowitz, M., Harms, U., Djoufack, P.C. : Neuroprotective effects of atorvastatin against glutamate-induced excitotoxicity in primary cortical neurones. *J. Neurochem.*, 92,1386-1398, 2005.
7. Lindberg, C., Crisby, M., Winblad, B., Schultzberg, M.: Effects of statins on microglia. *J. Neurosci. Res.*, 82, 10-19, 2005.
8. Pooler, M., Shijun, X., Wurtman, R.: The 3-hydroxy-3-methylglutaryl co-enzym A reductase inhibitor pravastatin enhances neurite outgrowth in hippocampal neurons. *Journal of Neurochemistry.*, 97, 716-723, 2006.
9. Vecka, M., Tvrzicka, E., Stankova, B., Novak, F., Novakov, O., Zak, A.: Hypolipidemic drugs can change the composition of rat brain lipids. *Tohoku J Exp Med.*, 204:299-308, 2004.
10. Lutjohann, D., Stroick, M., Bertsch, T., Kuhl, S., Lindenthal, B., Thelen, K.: High doses of simvastatin, pravastatin, and cholesterol reduce brain cholesterol synthesis in guinea pigs. *Steroids*, 69, 431-438, 2004.

11. Muldoon, M., Barger, S., Ryan, C., Flory, J., Lehoczky, J., Matthews, K., Manuck, S.: Effects of Lovastatin on cognitive function and psychological well-being. *Am J Med.*, 108:538-547, 2000.
12. Golomb, B.A., Kane, T., Dimsdale, J.E.: Severe irritability associated with statin cholesterol-lowering drugs. *Q J Med.*, 229-235, 2004.
13. Wagstaff, L.R., Mitton, M.W., Arvik, B.M., Doraiswamy, P.M.: Statin-associated memory loss: analysis of 60 case reports and review of the literature. *Pharmacotherapy.*, 23:871–880, 2003.
14. King, D.S., Wilburn, A.J., Wofford, M.R., Harrell, T.K., Lindley, B.J., Jones, D.W.: Cognitive impairment associated with atorvastatin and simvastatin. *Pharmacotherapy.*, 23, 1663-1667, 2003.
15. Baytan, S.H., Alkanat, M., Okuyan, M., Ekinci, M., Gedikli, E., Ozeren, M., Akgun, A.: Simvastatin impairs spatial memory in rats at a specific dose level. *Tohoku J. Exp. Med.*, 214, 341-349, 2008.
16. Björkhem, I., Lutjohann, D., Diczfalusy, U., Stahle, L., Ahlborg, G., Wahren, J.: Cholesterol homeostasis in human brain: turnover of 24S-hydroxycholesterol and evidence for a cerebral origin of most of this oxysterol in the circulation. *J Lipid Res.*, 39:1594–1600, 1998.
17. Endo, A., Kuroda, M., Tsujita, Y.: ML-236A, ML-236B, and ML-236C: new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinum*. *J Antibiot., Japan.*, 1976; 29:1346–8.
18. Gaw, A., Packard, J.C., Shepherd, J.: *Statins: The HMG-CoA Reductase Inhibitors in Perspective*. Second edition, Martin Dunitz, an imprint of the Taylor & Francis Group plc, London and New York., 2004.
19. Edwards, P.A, Ericsson, J.: Sterols and isoprenoids: signaling molecules derived from the cholesterol biosynthetic pathway. *Annu Rev Biochem.*, 68:157–85, 1999.
20. Bassa, B.V., Roh, D.D., Vaziri, N.D.: Effect of inhibition of cholesterol synthetic pathway on the activation of Ras and MAP kinase in mesangial cells. *Biochim Biophys Acta.*, 1449:137–49, 1999.

21. Cuthbert, J.A., Lipsky, P.E.: Regulation of proliferation and Ras localization in transformed cells by products of mevalonate metabolism. *Cancer Res.*, 57:3498–505, 1997
22. Laaksonen, R., Ojala, J.P., Tikkanen, M.J., Himberg, J.J. :Serum ubiquinone concentrations after short-and long-term treatment with HMG-CoA reductase inhibitors. *Eur J Clin Pharmacol.*, 46:313–17, 1994;.
23. Young-Xu, Y., Chan, K.A., Liao, J.K., Ravid, S., Blatt, C.M.: Long-term statin use and psychological well-being. *J Am Coll Cardiol.*, Aug 20;42(4):690-7, 2003. . *Eur J Clin Pharmacol.*, 46:313–17, 1994;.
24. Nemiah, John C.: Anksiyety Neurosis. Pp. 1198-1208 in: *Comprehensive Textbook of Psychiatry, Vol.1* (Alfred M. Freedman, Harold I. Kaplan, Benjamin J. Sadock, eds.), second edition, The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 1975.
25. Yüksel, N.: Ruhsal Hastalıklar. İkinci baskı. Gazi Üniv. Çizgi tıp yayınevi, Ankara, 2001,s. 169-170
26. Kasper, S., Boer, J.A., Sitsen, J.M.: *Handbook of Depression and Anxiety. Second Edition.* Marcel Dekker, Inc, New York, 2003, p. 666-673
27. Uzbay İ,T.: Anksiyetenin Nörobiyolojisi . *Klinik Psikiyatri.*, ek 1:5-13, 2002.
28. Rech, R,H.: *Drugs to Treated Anxiety and Related Disorders, Human Pharmacology Molecular to Clinical.* LB Wingard, TM Brody, J Larner. (Ed), London, Wolfe Publishing Ltd., 1991, s.353-359,.
29. Brick J, Erickson, C.K.: *Drugs, the brain, and behavior, The Pharmacology of Abuse and Dependence.* New York, The Haworth Medical Pres., s.119-131, 1998.
30. Hohen-Saric ,R., Merchant, A.F., Keyser, M.L.: Effects of clonidine on anxiety disorders. *Arch Gen Psychiatry.*, 38:1278-1282, 1981.
31. Stewart, S.H., Conrod, J.P: *Anxiety and Substance Use Disorders The Vicious Cycle of Comorbidity,* Springer Science+Business Media, LLC New York, USA., 2008
32. Goodfellow, N.M., Benekareddy, M., Vaidya, V.A., Lambe, E.K. : Layer II/III of the prefrontal cortex: Inhibition by the serotonin 5-HT1A receptor in development and stress. *J Neurosci.* 2009 Aug 12;29(32):10094-103.

33. Deakin, J.F.W., Graeff, F.G.: 5HT and mechanisms of defence. *J. Psychopharmacol.*, 5:305–315, 1991.
34. Redmond, D.E. and Huang, Y.H.: New evidence for a locus coeruleus norepinephrine connection with anxiety. *Life Sci.*, 25:2149–2162, 1979.
35. Braestrup, C.: Neurotransmitters and CNS disease, anxiety. *Lancet*, 6:1034, 1982.
36. Brick J, Erickson, C.K.: Drugs, the brain, and behavior, *The Pharmacology of Abuse and Dependence*. New York, The Haworth Medical Pres., s.119-131, 1998.
37. Tallman, J.F., Paul, S.M., Skolnick, P.: Receptors for the age of anxiety: Pharmacology of the benzodiazepines. *Science.*, 207:274-281, 1980.
38. Squires, R.F and Braestrup, C.: Benzodiazepine receptors in rat brain. *Nature*, 266:732-734, (1977).
39. Ninan, P.T.: The functional anatomy, neurochemistry, and pharmacology of anxiety. *J Clin Psychiatry*, 60(Suppl 22):12-17, 1999.
40. Dubovsky, S.L., Thomas, M.: Beyond specificity: Effects of serotonin and serotonergic treatments on psychobiological dysfunction. *J Psychosom Res.*, 39:429-444, 1995.
41. Mason, S.T., Fibiger, H.C.: Anxiety: The locus coeruleus disconnection. *Life Sci*, 25:2141-2147, 1979.
42. Stein, L., Wise, D.C., Belluzi, J.D.: Effects of benzodiazepines on central serotonergic mechanisms. *Adv Biochem Psychopharmacol.*, 10:1-12, 1975.
43. Yocca, F.D: Novel Anxiolytic Agents: Actions on Specific Subtypes of Central 5-HT Receptors, *Current and Future Trends in Anticonvulsant, Anxiety and Stroke Therapys*.145-167, 1990.
44. Rang, H.P., Dale, M.M., Ritter, J.M.: *Pharmacology.*, 4. Edition, Edinburgh, Churchill Livingstone., 1999, s.528-538.
45. Harro, J., Vasar, E., Bradwejn, J.: CCK in animal and human research on anxiety. *Trends Pharmacol Sci.*, 14:244-249, 1993.
46. Gavioli, E., Canteras, N.S., De Lima, T.C.M.: Anxiogenic-like effect induced by substance P injected into lateral septal nucleus. *Neuroreport.*, 10:3399-3403, 1999.

47. Baretta, I.P., Assreuy, J., De Lima, T.C.M.: Nitric oxide involvement in the anxiogenic-like effect of substance P. *Behav Brain Res*, 121:199-205, 2001.
48. Brundage, J.M., Dunwiddie, T.V.: Role of adenosine as a modulator of synaptic activity in the central nervous system. *Adv Pharmacol.*, 39:353-391, 1997.
49. Greden, J.F., Fontaine, M., Lubetsky, M.: Anxiety and depression associated with caffeinism among psychiatric inpatients. *Am J Psychiatry.*, 135:963-966, 1978.
50. Nehlig, A., Daval, J.L., Debry, G.: Caffeine and the central nervous system: Mechanisms of actions, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. *Brain Res.*, 17:139-170, 1992.
51. Fredholm, B.B.: Purinoceptors in the nervous system. *Pharmacol Toxicol.*, 76:228-239, 1995.
52. Jain, N., Kemp, N., Adeyemo, O.: Anxiolytic activity of adenosine receptor activation in mice. *Br J Pharmacol.*, 116:2127-2133, 1995.
53. Florio, C., Prezioso, A., Papaioannou, A.: Adenosine A1 receptors modulate anxiety in CD1 mice. *Psychopharmacology.*, 136:311-319, 1998.
54. Johansson, B., Halldner, L., Dunwiddie, T.V.: Hyperalgesia, anxiety, and decreased hypoxic neuroprotection in mice lacking the adenosine A1 receptor. *Proc Natl Acad USA.*, 98:9407-9412, 2001.
55. Bredt, D.S., Snyder, S.H.: Nitric oxide a novel neuronal messenger. *Neuron*, 8:3-11, 1992.
56. Moncada, S. And Higgs, E.A.: The L-arginine-nitric oxide pathway. *New Engl J Med.*, 329:2002-2012 1993.
57. Forstermann, U., Gorksy, L.D., Pollock, J.S.: Regional distribution of EDRF/NO synthesizing enzyme(s): In rat brain. *Biochem Biophys Res Commun.*, 168:727-732, 1990.
58. Yıldız, F., Ulak, G., Erden, B.F.: Anxiolytic-like effects of 7- nitroindazole in the rat plus-maze test. *Pharmacol Biochem Behav.*, 65:199-202, 2000.
59. Uzbay, İ.T. and Oglesby, M.W. Nitric oxide and substance abuse. *Neurosci Biobehav Rev.*, 25:43-52, 2001.

60. Kırşan, İ., Şenünver, A., Kılıçarslan, R.: Dişi Köpekte Vajinal Sitolojik Muayeneler Yardımı İle Seksüel Siklus Dönemlerinin Teşhisi. Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg. Cilt:2 Sayı:2 Sayfa 173-177, 1996)
61. Long, J. A. and Evans, H. M.: 1922 The estrous cycle in the rat and its associated phenomena. *Memories of University of California*, 1922, 6: 1-148.
62. Spornitz, U. M., Socin, C. D., David, A. A.: Estrous stage determination in rats by means of scanning electron microscopic images of uterine surface epithelium. *The Anat. Rec.*, 254: 116-126, 1999.
63. Marcondes, F. K., Bianchi, F. J., Tanno, A. P.: Determinations of the estrous cycle phases of rats: Some helpful considerations. *Brazilian Journal of Biology.*, vol.62 no.4a, Nov. 2002.
64. Pellow, S., Chopin, P., File, S.E., et al: Validation of open: closed arm entries in an elevated plus maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neuroscience Methods* 1985, 14: 149-167.
65. Volke, V., Koks, S., Vasar, E., Bourin, M., Bradwejn, J., Mannisto, P.T.: Inhibition of nitric oxide synthase causes anxiolytic-like behaviour in an elevated plus-maze. *Neuroreport*, 6, 1413-1416, 1995.
66. Shin, I.C., Kim, H.C., Swanson, J., Hong, J.T., Oh, K.W.: Anxiolytic effects of acute morphine can be modulated by nitric oxide systems. *Pharmacology.*, 68, 183- 89, 2003.
67. Volke, V., Soosaar, A., Koks, S., Bourin, M., Mannisto, P.T., Vasar, E.: 7-Nitroindazole, a nitric oxide synthase inhibitor, has anxiolytic-like properties in exploratory models of anxiety. *Psychopharmacology (Berl.)*, 131:399-405, 1997.
68. Lister RG. Ethologically based animal models of anxiety disorders. *Pharmacol Ther*; 46:321-340, 1990.
69. Weiss SM, Wadsworth G, Fletcher A, Dourish CT. Utility of ethological analysis to overcome locomotor confounds in elevated maze models of anxiety. *Neurosci Biobehav Rev* 1998; 23:265-271
70. Laufs, U., La Fata, V., Plutzky, J., Liao, J.K.: Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation*, 97, 1129-1135, 1998.

71. Wall PM, Messier C. Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neurosci Biobehav Rev*; 25:275-286, 2001.
72. Orsi ,A., Sherman, O., Woldeselassie, Z.: Simvastatin-associated memory loss. *Pharmacotherapy*. 21(6):767-9, 2001.
73. Marz, P., Otten, U., Miserez, A.R.: Statins induce differentiation and cell death in neurons and astroglia. *Glia*, 55, 1-12, 2007.
74. Kirsch, C., Eckert, G.P. & Mueller, W.E.: Statin effects on cholesterol microdomains in brain plasma membranes. *Biochem. Pharmacol.*, 65, 843-856, 2003.
75. Duits, N., Bos, F.M.: Psychiatric disorders with use of simvastatin. *Ned Tijdschr Geneeskd*. 26;137(26):1312-5, 1993.
76. Wang Q., Tang XN., Wang L., Yenari MA., Ying W., Goh BC.: Effects of high dose of simvastatin on levels of dopamine and its reuptake in prefrontal cortex and striatum among SD rats. *Neurosci. Lett.*, 408, 189-193, 2006.
77. Darvesh, S., Martin, E., Walsh, R., Rockwood, K.: Differential effects of lipid-lowering agents on human cholinesterases. *Clinical biochemistry.*, 37 42-49, 2004.
78. Sklan, E., Lowenthal, A., Korner, M., Ritov, Y., Landers, D., Rankinen, T., Bouchard, C., Leon, A., Rice, T., Rao, D.C., Wilmore, J., Skinner, J., Soreq, H.: Acetylcholinesterase/ paraoxonase genotype and expression predict anxiety scores in health, risk factors, exercise training, and genetics study. *Pnas.*, vol.101, no.15,5512-5517, 2004.
79. Greig, N.H., Utsuki, T., Ingram, D.K., Wang, Y., Pepeu, G., Scali, C. :Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer beta-amyloid peptide in rodent. *Proc Natl Acad Sci.*, 102:17213-8, 2005.
80. Cibickova, L., Palicka, V., Cibicek, N., Cermakova ,E., Micuda, S., Bartosova ,L., Jun, D.: Differential effects of statins and alendronate on cholinesterases in serum and brain of rats. *Physiol. Res.*, 56:765-770, 2007.
81. Adamec, R., Holmes, A., Blindell, J.: Vulnerability to lasting anxiogenic effects of brief exposure to predator stimuli: sex, serotonin and other factors-relevance to PTSD. *Neuroscience and biobehavioral reviews.*, 32 1287-1292, 2008.

82. Li, L., Cao, D., Kim, H., Lester, R., Fukuchi, K.: Simvastatin enhances learning and memory independent of amyloid load in mice. *Ann. Neurol.*, 60, 729-739, 2006.
83. McGirt, M.J., Lynch, J.R., Parra, A., Sheng, H., Pearlstein, R.D., Laskowitz, D.T., Pelligrino, D.A., Warner, D.S.: Simvastatin increases endothelial nitric oxide synthase and ameliorates cerebral vasospasm resulting from subarachnoid hemorrhage. *Stroke.*, 33, 2950-2956, 2002.
84. Workman, J.L., Trainor, B.C., Finy, M.S., Nelson, J.R.: Inhibition of neuronal nitric oxide reduces anxiety-like responses to pair housing. *Behavioural Brain Research.*, 187 109–115, 2008.
85. Gao, L., Wang W., Zucker, I.H.: Simvastatin inhibits central sympathetic outflow in Heart.: failure by a nitric-oxide synthase mechanism. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 326:278–285, 2008.
86. Bergink, V., Harold, J.G.M., Westenberg, H.G.M.: Glutamate and anxiety. *European Neuropsychopharmacology.*, 14 175– 183, 2004.