

**DEPRESYON OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
GLUTAMAT NÖROTRANSMİTTER AKTİVİTE
DEĞİŞİMLERİNİN TESPİTİ VE BETA LAKTAM
ANTİBİYOTİKLERİNİN DEPRESYON
TEDAVİSİNDEKİ MUHTEMEL ETKİLERİ**

Damla ÇETİN

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU

Doktora Tezi - 2014

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DEPRESYON OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA GLUTAMAT
NÖROTRANSMİTTER AKTİVİTE DEĞİŞİMLERİNİN
TESPİTİ VE BETA LAKTAM ANTİBİYOTİKLERİNİN
DEPRESYON TEDAVİSİNDEKİ MUHTEMEL ETKİLERİ**

Damla ÇETİN

**Tıbbi Farmakoloji Anabilim dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU**

**ERZURUM
2014**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

**DEPRESYON OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA GLUTAMAT
NÖROTRANSMİTTER AKTİVİTE DEĞİŞİMLERİNİN TESPİTİ VE
BETA LAKTAM ANTİBİYOTİKLERİNİN DEPRESYON
TEDAVİSİNDEKİ MUHTEMEL ETKİLERİ**

Damla ÇETİN

Tez Savunma Tarihi: 30. 05. 2014

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU (Marmara Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Prof. Dr. Zekai HALICI (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Abdülmecit ALBAYRAK (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Elif ÇADIRCI (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Doktora Tezi** olarak kabul edilmiştir.

4. 
Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

**Doktora Tezi
ERZURUM - 2014**

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	III
ÖZET.....	IV
ABSTRACT.....	V
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	IX
TABLolar DİZİNİ.....	X
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Depresyon.....	3
2.1.1. Tanım ve Tarihçe.....	3
2.1.2. Etiyolojisi.....	4
2.1.3. Depresyonun Nörobiyolojisi.....	5
2.1.3.1. Sinaptik Plastisite ve Depresyon.....	9
2.1.4. Biyolojik Aminler.....	12
2.1.5. Depresyonun Nöroanatomisi.....	14
2.1.6. Depresyon Tedavisi.....	19
2.2. Glutamat.....	21
2.2.1. Glutamatın Fizyolojik ve Kimyasal Özellikleri.....	21
2.2.2. Glutamaterjik Yolaklar.....	22
2.2.3. Glutamat Reseptörleri.....	23
2.2.4. Glutamat Taşıyıcıları.....	29
2.2.5. Glutamaterjik Sistemin Depresyon Tedavisindeki Yeri.....	31
2.3. Antibiyotikler.....	34
2.3.1. Beta Laktam Antibiyotikler.....	35
2.3.1.1. Sefalosporinler.....	36
2.4. Deneysel Stres Modelleri.....	38
2.4.1. Kısa Süreli Stres Modelleri.....	39
2.4.2. Uzun Süreli Stres Modelleri.....	39
3. MATERYAL VE METOT.....	40
3.1. Kimyasal Maddeler.....	40
3.2. Deney Hayvanları.....	40

3.3. Deney Grupları.....	40
3.4. Kullanılan Model ve Testler.....	41
3.4.1. Kronik Öngörülemeyen Stres Modeli.....	41
3.4.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi.....	42
3.4.3. Lokomotor Aktivite Testi.....	43
3.4.4. Zorunlu Yüzme Testi.....	44
3.4.5. Sukroz Tercih Testi.....	45
3.4.6. İn Vivo Voltametrik Çalışmalar.....	46
3.4.6.1. Mikroelektrotlar.....	46
3.4.6.2. Ag/AgCl Referans Elektrot.....	47
3.4.6.3. Kalibrasyon.....	47
3.4.6.4. Cam Pipet Hazırlama.....	50
3.4.6.5. Elektrot Yerleştirme.....	52
3.4.6.6. Data Analizi.....	53
3.5. İstatistik Analizler.....	54
4. BULGULAR.....	55
4.1. Davranış Testlerinin Sonuçları.....	55
4.1.1. Lokomotor Aktivite Sonuçları.....	55
4.1.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Sonuçları.....	62
4.1.3. Zorunlu Yüzme Testi Sonuçları.....	62
4.1.4. Vücut Ağırlığı.....	63
4.1.5. Sukroz Tüketimi.....	65
4.2. Voltametri Sonuçları.....	65
5. TARTIŞMA.....	68
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	75
KAYNAKLAR.....	76
EKLER.....	104
EK-1. ÖZGEÇMİŞ.....	104
EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU.....	105

TEŞEKKÜR

Akademik eğitimim süresince maddi manevi desteğini bir an olsun esirgemeyen ve engin tecrübesiyle her zaman yol gösteren, her konuda danışmanlığımı yapan, geleceğimi şekillendiren, öğrencisi olmaktan onur ve mutluluk duyduğum değerli hocam, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ahmet Hacımuftuoğlu'na,

Tezimin oluşturulmasında deneysel tecrübeleriyle yol gösteren, engin bilgilerini akataran ve paylaştan kıymetli hocam Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu'na, tez çalışmalarım süresince bilgi, deneyim ve desteklerini esirgemeyen Tıbbi Farmakoloji Anabilim dalı öğretim üyeleri kıymetli hocalarım Prof. Dr. Zekai Halıcı, Doç. Dr. Abdülmecit Albayrak ve Yrd. Doç. Dr. Erol Akpınar'a, Psikiyatri Anabilim dalı öğretim üyesi değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Halil Özcan', başta Araş. Gör. Ufuk Okkay olmak üzere tüm mesai arkadaşlarıma, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı çalışanlarına ve hayatım boyunca en büyük destekçilerim; sevgili annem Nejla Çetin'e, babam Şenbark Çetin'e, kardeşim Murat Çetin'e, ablam Evren Çetin Kavukçu'ya, yeğenim Esmâ Kavukçu'ya ve başta Sonay Memoğlu olmak üzere destek veren tüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması TUBİTAK 113S083 numaralı 1003 projesi tarafından desteklenmiştir.

Damla Çetin-2014

ÖZET

Depresyon Oluşturulmuş Sıçanlarda Glutamat Nörotransmitter Aktivite Değişimlerinin Tespiti ve Beta Laktam Antibiyotiklerinin Depresyon Tedavisindeki Muhtemel Etkileri

Amaç: Depresyonun glutamat ile olan ilişkisini ortaya koymak, depresyon tedavisinde sıklıkla kullanılan antidepresan ilaç olan essitalopramın glutamat geri alım hızı üzerine etkisini ortaya koymak ve depresyonu beta laktam antibiyotiklerden biri olan glutamat taşıyıcılarının sayısını ve aktivitesini artırdığı tespit edilmiş olan seftriakson ile tedavi etmek amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot: Kronik öngörülemez stres modeli ile deney hayvanlarına 40 gün süreyle çeşitli stresörler uygulanarak depresyon oluşturulmuştur. Stresör uygulamasının 20. gününde rastgele kontrol, depresyon, essitalopram ve seftriakson olarak 4 gruba ayrılan deney hayvanlarının 2 grubuna 20 gün süreyle essitalopram ve seftriakson tedavisi uygulanmıştır. Deney sonunda davranış testleri yapılmış ve depresyonla ilişkilendirilen DS, CA ve CC beyin bölgelerinde in vivo voltametri tekniğiyle glutamat geri alım hızları ölçülmüştür.

Bulgular: Kontrol grubuna göre depresyonlu hayvanların vertikal hareketlerinde farklılık görülmüştür. Toplam aldıkları mesafeler depresyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı farklılık göstermiştir. İn vivo voltametrik çalışmada depresyonda glutamat geri alım hızında yavaşlama görülmüştür.

Sonuç: Essitalopram ve seftriakson depresyonda görülen davranış değişikliğini geri çevirmiştir. DS ve CC bölgelerinde essitalopram ve seftriakson tedavisi, CA3 bölgesinde ise sadece essitalopram tedavisi glutamat geri alımındaki yavaşlamayı düzeltmiştir.

Anahtar Kelimeler: Beta laktam antibiyotikler, depresyon, glutamat.

ABSTRACT

The Detection of Glutamate Neurotransmitter Activity Changing in Depressed Rats and Contingent Effects of Beta Lactam Antibiotics in Depression Treatment

Aim: We aimed to indicate the relationship between depression and glutamate, and to reveal the effect of escitalopram, an antidepressant, which is widely used in depression treatment and reuptake parameters of glutamate, and to treat depression with ceftriaxone, one of the beta lactam antibiotics which increased the number and activity of glutamate transporters.

Material and Method: By chronic unpredicted stress model, by applying various stressors to experimental animals for 40 days, depression was formed. On the 20th day of stressor application, the treatment of escitalopram and ceftriaxone were applied for two groups of experimental animals divided as randomized control, depression, escitalopram and ceftriaxone for 20 days. At the end of the experiment, behavioral tests were made, and glutamate reuptake time in DS, CA and CC brain regions which are related with depression were measured by means of in vivo voltammetry technique.

Results : It was observed that there was difference in vertical movements of the animals with depression in terms of control group. Total distances they moved indicated a meaningful distinction in terms of control group. In this in-vivo voltametric study, It was also observed that there was a decrease in glutamate reuptake time in depression.

Conclusion : Escitalopram and ceftriaxone reversed behavioural changes seen in depression. Escitalopram and ceftriaxone treatment in DS and CC region, and only escitalopram treatment in CA3 region corrected the decrease glutamate reuptake time.

Key Words: Beta lactam antibiotics, depression, glutamate.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5HT	: Serotonin
AA	: Askorbik asit
ACTH	: Adrenokortikotropik hormon
ALS	: Amyotrofik lateral skleroz
AMPA	: α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionik asit
BKNF	: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
BSA	: Sığır serum albumin
CA1	: Cornu ammonis 1
CA2	: Cornu ammonis 2
CA3	: Cornu ammonis 3
CC	: Cingulat korteks
DA	: Dopamin
DOPAC	: 3,4-Dihidroksifenilasetik asid
DS	: Dorsal subiculum
EAAC	: Eksitatör aminoasit ulaşı
EAAT1	: Eksitatör amino asit taşıyıcıları 1
EAAT2	: Eksitatör amino asit taşıyıcıları 2
EAAT3	: Eksitatör amino asit taşıyıcıları 3

EAAT4	: Eksitator amino asit taşıyıcıları 4
EAAT5	: Eksitator amino asit taşıyıcıları 5
FAST	: Hızlı analitik sensör teknoloji
GABA	: Gamma-aminobütirik asit
GLAST	: Glutamat aspartat taşıyıcı
GLT1	: Glutamat taşıyıcı
HPA	: Hipotalamus-hipofiz-adrenal
IL-1 β	: İnterlökin 1 beta
IL-6	: İnterlökin 6
İP	: İntraperitoneal
KA	: Kainat
LC	: Lokus seruleus
LOD	: Analit için mikroeletrodun duyarlılığının tespit limiti
MAO	: Monoaminooksidaz inhibitörleri
mGluR	: Metabotropik glutamat reseptörleri
MR	: Magnetik rezonans
mTOR	: Mammalian target of rapamycin-rapamisinine memelilerdeki hedefi
NMDA	: N-metil-D-aspartat
NO	: Nitrik oksit

PBS	: Fosfat buffer solüsyon
R2	: Analit için mikroeletrodun duyarlılığının çizgiselliği
SBF	: Sinir büyüme faktörü
SNGI	: Serotonin/noradrenalin geri alım inhibitörleri
SSGI	: Selektif serotonin geri alım inhibitörleri
T80	: Sinyal azalmasının farklı persantillerinde iniş zamanı
TNF- α	: Tümör nekroz faktörü alfa
TSA	: Trisiklik antidepresanlar
VGlut	: Veziküler glutamat taşıyıcıları
VTA	: Ventral tegmental alan

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Hipokampusun anatomik yapısı.....	19
Şekil.2.2. Glutamaterjik yollar.....	23
Şekil 2.3. Glutamat reseptörleri ve taşıyıcıları.....	29
Şekil 2.4. Antibiyotiklerin sınıflandırılması.....	34
Şekil 3.1. Yükseltilmiş artı labirent.....	43
Şekil 3.2. Lokomotor aktivite testi.....	44
Şekil 3.3. Zorunlu yüzme testi.....	45
Şekil 3.4. Mikroelektrot kayıt bölgeleri.....	46
Şekil 3.5. Mikroelektrot ve cam pipet.....	47
Şekil 3.6. Voltametri çalışması esnasında gözlenen akımlar.....	54
Şekil 4.1.1. Kontrol grubundaki bir sıçanın yaptığı hareketler.....	58
Şekil 4.1.2. Depresyon grubundaki bir sıçanın yaptığı hareketler.....	59
Şekil 4.1.3. Essitalopram grubundaki bir sıçanın yaptığı hareketler.....	60
Şekil 4.1.4. Seftriakson grubundaki bir sıçanın yaptığı hareketler.....	61
Şekil 4.1.5. Yükseltilmiş artı labirenti açık kola giriş sayısı.....	62
Şekil 4.1.6. Zorunlu yüzme testi hareketsin kalma süreleri (sn).....	63
Şekil 4.1.7. Zamana göre ağırlık değişimleri.....	64
Şekil 4.1.8. Sukroz tüketim testi.....	65

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.3.1. Glutamat reseptörlerinin sınıflandırılması.....	26
Tablo 4.1.1. Vertikal hareketlerin sayısı.....	55
Tablo 4.1.2. Horizontal hareketlerin sayısı.....	56
Tablo 4.1.3. Toplam mesafe (cm).....	56
Tablo 4.2.1. CA3 bölgesindeki glutamat geri alım süreleri (sn).....	66
Tablo 4.2.2. DS bölgesindeki glutamat geri alım süreleri (sn).....	66
Tablo 4.2.3. CC bölgesindeki glutamat geri alım süreleri (sn)	67

1. GİRİŞ

Major depresif bozukluk, toplumda görülme sıklığı %16 olan yaygın bir hastalıktır. Tedavisi bazen yıllarca sürebilmekte ve tam iyileşme olmayabilmektedir. Hastaların %40'ında kısmen iyileşme olurken en az %15'inde belirtilerin çok az düzeldiği ya da hiç düzelmediği bilinmektedir.¹ Depresyon hastalığının patofizyolojisi tam olarak bilinmemekle beraber birçok etmenin bir araya gelmesi sonucu oluştuğu düşünülmektedir. Depresyonun etiyolojisiyle ilgili yapılan çalışmalar artarak sürmekte ve bu çalışmalar ışığında çeşitli hipotezler ortaya konulmaya devam etmektedir. Ve bu nedenle güncel tedavi olanakları sınırlı kalmaktadır. Günümüzde antidepresan ilaçlar depresif bozukluk tanısı konulan hastalarda en sık kullanılan ajanlardır. Günümüze değin en çok kabul gören ve monoamin hipotezine dayalı olarak geliştirilen tedavi seçenekleri dopamin, serotonin ve noradrenalin üzerinden etki göstermektedir. Ancak son yıllarda yapılan çalışmalar başka nörotransmitterlerin de depresyonun nörobiyolojisinde etkili olduğunu göstermiştir.^{2,3} Eksitator bir nörotransmitter olan glutamatin, depresyon hastalığının patofizyolojisinde rol oynadığı son yıllarda yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir.⁴ Glutamaterjik sistem ve depresyon temelli çalışmalara göre glutamatin depresyonla ilişkili olduğu ve yeni tedavi seçenekleri geliştirilmesinde önem arz ettiği görülmektedir.⁵ Glutamaterjik sistemin reseptörü olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistlerinin depresyon tedavisinde faydalı olduğu ve hali hazırda kullanılan antidepresan ajanlardan daha kısa sürede etki gösterdiği depresyon ile ilgili yapılan güncel çalışmalarda sıklıkla karşımıza çıkmaktadır.⁶ NMDA reseptör antagonistlerinin diğer antidepresan ilaçlara nazaran daha kısa sürede etki gösterme mekanizması tam olarak hala bilinmemektedir. Bununla beraber sinaptik aralıktaki glutamat seviyelerini değiştirdikleri düşünülmektedir.^{7,8} Depresyon hastalığındaki glutamat düzey değişimlerini ortaya koymak için yapılan fonksiyonel

manyetik rezonans görüntüleme, hacim çalışmaları, histopatolojik çalışmalar ve mikrodializ çalışmaları ile sinaptik aralıktaki glutamatın saniye saniye değişimini ortaya koyamadığından yetersiz kalmıştır. Bizim çalışmamızda nörotransmitterlerin saniye saniye hareketlerini tespit edebileceğimiz in vivo voltametri tekniği kullanılmıştır.⁹

Bu çalışmada kronik öngörülemeyen hafif stres modeli ile depresyon oluşturulmuş sıçanlarda in vivo voltametri tekniğiyle depresyonla ilişkili olduğu ispatlanmış¹⁰ beyin bölgelerine stereotaksik olarak girilerek ilk kez glutamat seviyeleri ölçülmüştür. Depresyon oluşturulmuş sıçanlarda tedavi amacıyla en etkin antidepresan olarak kullanılan essitalopram kullanılmıştır. Diğer bir tedavi grubu ise antibiyotik ajan olarak etkin şekilde kullanılmasının yanı sıra glutamat taşıyıcılarını etkilediği birçok çalışma tarafından gösterilmiş olan seftriaksondur.¹¹ Bu çalışma ile yalnızca depresyon glutamat arasındaki ilişki değil aynı zamanda depresyon tedavisinde yeni yeni kullanılmaya başlanan ve glutamaterjik sistemle ilişkili antidepresanların etkinliği, rutin olarak kullanılan antidepresanların glutamat ile olan ilişkisini ve glutamat taşıyıcılarını etkileyen, depresyon hastalığında muhtemel terapötik etkileri olabilecek seftriakson gibi ajanların etkinliği araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Depresyon

2.1.1. Tanım ve Tarihçe

Affektif (duygudurum) bozukluk tanımlamaları Hipokrat ile başlamış olup: melankolinin tanımını ilk kez o yapmıştır. Hipokrat'tan 500 yıl sonra Areteus melankoli ve depresyon arasındaki ilişkiye değinmiş, bu bozukluğun epizodik niteliğini belirtmiştir. Onbirinci yüzyılda Batı'da Avicenna olarak bilinen İbn-i Sina, delüzyon, halüsinasyon, insomnia, mani, melankoli, demans, epilepsi, paralizi, vertigo, inme ve tremor gibi nöropsikiyatrik hastalıkların tanımlarını ve tedavilerini içeren El-Kanun fi't-Tıb (Tıbbın Kanunu) veya Latince ismiyle Canon Medicinae adlı 14 ciltlik tıp ansiklopedisini yazarak Rönesans dönemine kadar olan süreçte nöropsikiyatri alanına büyük katkı sağlamıştır.¹²⁻¹⁴ Depresyon tedavisi vaka örneklerini sunduğu kitabının yanı sıra müziği de ruhsal hastalıkların tedavisinde kullanmıştır. Bu tedavi yöntemi Osmanlı Türk ruh hekimlerinin (Râzi, Şuuri, Farâbi gibi) öncülüğünde günümüz modern tıbbına da ışık tutmuştur. Büyük İslam âlimi Farabi (870-950) makamların insan ruh sağlığı üzerindeki etkilerini yazmıştır. İslam bilgini Ebu Bekir Razi, melankoliklerin tedavisi üzerine kitap yazmıştır. Ondokuzuncu yüzyılda Fransız hekimi Falret düzelme ve bozulmalarla giden manik depresif belirtiler gösteren olguları tanımlamış, buna 'la Folie Circularie' adını vermiştir.¹⁵ Tüm bu bilgiler ışığında depresyon ve melankolinin tanı ve tedavisinde bugüne kadar yerli ve yabancı birçok çalışma yapılmıştır.¹⁶

Duygudurum içsel olarak yaşanan, kişinin davranışları ve dünyayı algılamasını değiştiren sürekli duygu tonudur. Duygudurum normal, yükselmiş ya da çökkün olabilir. Bir duygudurum bozukluğu olarak nitelendirilen depresyonda duygudurumunun çökkün hali görülür.¹⁷ Depresyonda çökkün duygulanım, enerji azlığı

ve ilginin ya da alınan zevkin kaybı temel özelliklerdir. Konsantrasyon azlığı, özgüven azalması, suçluluk duyguları, karamsarlık, kendine zarar verme ya da intihar düşünceleri, uyku düzeninde bozulma, iştah değişiklikleri ve libido (cinsel istek) azalması diğer sık görülen belirtilerdir. Bu belirtilerin sayısı, tipi ve yoğunluğu, depresyonun şiddetini belirler.¹⁸

Depresyon başlığı altında tek bir hastalıktan değil, birçok alt gruptan oluşmuş bir hastalık kümesinden söz edilmektedir. Psikiyatrik bozukluklar değişik sınıflandırma sistemleriyle sınıflandırılırlar. Dünyada en fazla kabul gören sınıflandırma, Amerikan Psikiyatri Birliği'nin sınıflandırma sistemi olan Mental Bozuklukların Tanısal ve Sayımsal klavuzuna göre yapılmaktadır. Bu klavuza göre depresyon şu alt gruplar içerisinde değerlendirilmiştir:

1. Majör depresif bozukluk.
2. Distimik bozukluk.
3. Bipolar bozukluktaki depresyon.
4. Genel bir tıbbi duruma bağlı depresyon.
5. Depresyonlu uyum bozukluğu.
6. Başka türlü adlandırılmayan depresif bozukluk.
 - a- Premenstrüel disforik bozukluk.
 - b- Minör depresif bozukluk.
 - c- Yineleyen kısa depresif bozukluk.¹⁹

2.1.2. Etiyolojisi

Depresyon, etiyolojisi tam olarak bilinmeyen, duygudurumu, bilişsel, nörovegetatif ve motor işlevleri etkileyen, prevalansı yüksek bir sendromdur. Genetik, çevresel, biyolojik ve psikolojik etmenlerin birlikte ya da ayrı ayrı etkisiyle ortaya çıkar. Yaşam öyküsü ve stres sonrası normale dönebilme yeteneği, her etmenin bu karışımındaki

ağırlığını etkiler. Bireysel farklılıklar ve özellikle genetik yatkınlık, çevresel strese duyarlılığı artırabilir. Bu durum stereotipik depresif değişikliklerle sonuçlanan nörobiyolojik ve hormonal değişiklikleri tetikleyebilir.

Stresle karşı karşıya kalmaya eğilim, strese karşı duyarlılık, stresle başa çıkma yeteneği ve stresin nörobiyolojisi depresyon etiolojisiyle ilgili farklı teorileri birbirine bağlayan etmenlerdir.^{20,21}

2.1.3. Depresyonun Nörobiyolojisi

1960'ların ortalarında ileri sürülen monoamin hipotezi, depresyonla ilişkili en geçerli hipotez idi. Bu hipoteze göre depresyon; noradrenalin, serotonin ve dopamin gibi monoaminlerin eksikliği ile yakından ilişkilidir.²² Günümüzde depresyon tedavisinde kullanılan antidepresan ilaçların çoğunun bu üç nörotransmitter sisteminden en az biri ile ilişki içinde olduğu görülmektedir. Bu üç nörotransmitter sistem dışında hipotalamo-hipofizer yolak, Gamma-aminobütirik asit (GABA) -erjik sistem, kolesistokinin, glutamat ve nitrik oksit'in depresyon ve anksiyetenin oluşumuna katkısı olduğuna dair güçlü kanıtlar mevcuttur.²³ Uzun yıllar üstünde durulan monoamin hipotezinin günümüzde geçerliliği azalmıştır. Özellikle major depresyon hastalarının yaklaşık 1/3'ünün monoaminerjik aşırımı kuvvetlendirerek etkilerini gösteren mevcut farmakolojik tedavilere yanıt vermemesi depresyon patogenezinin aydınlatılmasında tek başına monoamin hipotezinin yeterli olmadığını göstermektedir.²⁴

Bu temel nörotransmitter sistemler depresyonun yanı sıra anksiyetenin nörobiyolojisinde de rol alır. Ventral tegmental alan (VTA) daki dopaminerjik nöronlar ve pedikülopontin nükleustaki kolinerjik nöronların uyanç ve dikkati artırarak anksiyete gelişimine minimal düzeyde katkı sağladığı bilinmekle beraber antidopaminerjik ve antikolinerjik ilaçların belirgin bir anksiyolitik etkisinin olmaması dopaminerjik ve

kolinerjik sistemlerin anksiyete ile direkt ilişkisini desteklememektedir. Yukarıda bahsedilen temel nörotransmitter sistemleri dışında santral nöropeptidler olan kolesistokinin ve P maddesi, santral sinir sisteminin GABA dışındaki diğer inhibitör nörotransmitteri olan adenozinin ve glutamaterjik sistem ile birlikte nöronal nitrik oksit'in de anksiyete gelişiminde ve sürdürülmesindeki rolü tartışılmaktadır.²⁵⁻²⁷

Monoaminergic, kolinerjik, GABAergic afferentler hipokampusta bulunur. Örneğin: glutamat ve aspartat, hipokampustan en çok salgılanan eksitator transmitter olarak bilinir. Somatostatin-immunoreaktif lifler, stratum lacunosum ve stratum oriens'te; glutamat dekarboksilaz immunoreaktif lifler, stratum pyramidalis, stratum radiatum ve stratum oriens'te; kolesistokinin immunoreaktif lifler ise özellikle stratum pyramidalis'te gösterilmiştir. Bunun yanında; Cornu ammonis 3 (CA3)'e giden yosunsu liflerde bir opioid peptid olan dinorfin, pek çok hipokampal alanda ise vazomotor intestinal polipeptid yaygın olarak bulunur.²⁸

Hipokampusu daha detaylı inceleyecek olursak ventral talamus, hipotalamus ve limbik sistemin diğer bölgelerine sinyaller gönderir. Böylece, hareketlerin davranış biçimine dönüşmesinden önce, limbik sistemi etkileyen hipokampus, davranışların şekillenmesine katkıda bulunmuş olur.^{29,30} Hipokampusun heyecan uyandıran reaksiyonlar veya heyecanın kontrolü, iç organlara ait aktivitenin düzenlenmesi gibi fonksiyonlara da katıldığı kabul edilmektedir. Genel olarak hipokampusun uyarılması ile kızgınlık, sakinlik veya hiperseksüalite ortaya çıkabilir. Hafif uyarılmasında ise, uyarım bittikten sonra bile saniyelerce süren epileptik bir nöbet görülebildiği rapor edilmiştir. Bu nöbetler sırasında hastalar koku, görme, işitme, dokunma ve benzeri tarzda halüsinasyonlar tanımlamışlardır. Hastalar nöbet esnasında bilinçlidirler ve hallüsinasyonların gerçek olmadığını bilirler.³¹

Beyin görüntüleme ve postmortem çalışmalar prefrontal korteks, hipokampus, cingulate korteks, amigdala ve bazal gangliyonlardaki duygudurum ve depresyonla ilişkili anahtar yapıları ortaya koymuştur. Kan akımı ve fonksiyonel görüntüleme çalışmaları sayesinde prefrontal korteks ve hipokampusta azalmış aktivite gözlemlenirken cingulate korteks ve amigdala da artmış aktivite gözlemlenmiştir.³²

Hipokampus lezyonları sonucu ortaya çıkan davranış değişikliklerinden, kortikal ve duysal uyaranlardan gelen bilgiyi kodlayamaması sorumlu tutulmuştur.³⁰ GABAerjik inhibitör nöronların ölümü, inhibisyonda azalmaya sebep olur. Bu azalma, özellikle CA3 alanındaki piramidal ve dentat granül hücrelerinde patolojik hipereksitabiliteye yol açar.³³ Ayrıca hipokampusta nöbetlere bağlı olarak oluşan hücre ölümlerinin altında yatan en kuvvetli muhtemel moleküler mekanizma, glutamat reseptör alt tipi NMDA ve intraselüler haberleşme ile nöron ölümüne sebep olan eksitotoksik mekanizmadır. Bununla birlikte, yine de nöron ölümünün nedeni tam olarak aydınlatılamamıştır. Nöbetler, çoğu hipokampal nöronda hücre onkojenik gen diğer bir adıyla c-fos gibi bir genin erken ekspresyonuna sebep olur ve tekrarlayan şiddetli nöbetlerle, ölmek üzere olan bazı hipokampal nöronlarda gecikmeli olarak uyarılır.³⁴ Bazı araştırmalar B vitamini eksikliği ve alkolün de, hipokampustaki nöronlarda hasar meydana getirdiğini göstermiştir.³⁵

Depresyonun diğer hastalıklarla ilişkisi incelendiğinde prevalansının tip 2 diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, otoimmün kaynaklı romatoid artrit, sistemik lupus eritematosus gibi kronik inflamatuvar hastalıklar ile arttığı bilinmektedir. Prevelans genel popülasyonda %16 düzeyinde iken tip 2 diyabette bu oran %26, romatoid artrit ise %13-20 düzeyinde görülmektedir.²⁴

Depresyonun diğer mekanizmalarla ilişkisinin ortaya çıkması için günümüzde çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Proinflamatuvar sitokinler ile depresyon hastalığının

ilişkinin araştırmak için yapılan çalışmalarda depresyon hastalarında serum interlökin 1 beta (IL-1 β), interlökin 6 (IL-6), tümör nekroz faktörü alfa (TNF- α) gibi proinflamatuvar sitokinlerin seviyelerinin arttığı gösterilmiştir.^{36,37} Proinflamatuvar sitokinlerin depresyon hastalığında rolü olduğunu destekleyen diğer bir bulgu ise depresyon tedavisinde kullanılan ilaçlardan olan trisiklik antidepresanların ve seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSGİ) sitokin serum seviyelerini azaltmasıdır.³⁸ Örneğin; proinflamatuvar sitokinlerden IL-1 β seviyeleri antidepresan tedavi ile azalırken diğer bir sitokin TNF- α seviyesinin değişmediği görülmüştür. Bu bulgu IL-1 β 'nın depresyon tedavisine yanıtta rol oynayabileceğini ve depresyonda bir belirleyici olabileceğini düşündürmüştür.³⁷

Yakın zamanda yapılan bir meta analiz çalışmasına göre depresyon hastalarının yaklaşık %73'ünün plazma kortizol düzeylerinin sağlıklı kişilere göre yüksek seyrettiği gösterilmiştir.³⁹ Hipotalamohipofizer yolak ve Adrenokortikotropik hormonun (ACTH) depresif bireylerde inaktif iken anksiyete ve artmış strese aktif olduğu bilinmektedir. Depresyon ve strese arttığı bilinen hipotalamus-pitüiter-adrenal (HPA) eksenin aktivasyonuna inflamatuvar sitokinlerin aracılık ettiği düşünülmektedir. IL-1 β 'nın hipotalamustan kortikotropin salıcı hormon salınımına ve dolayısıyla ACTH salgısı ve adrenal steroidojenezin artmasına neden olduğu gösterilmiştir.⁴⁰ Artmış glukokortikoid seviyeleri ile hipokampus ve medyal prefrontal korteksin piramidal hücrelerinde atrofi görülmektedir. Bu duruma azalmış beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BKNF) düzeylerinin ve depresif semptomların eşlik ettiği bilinmektedir.⁴¹ Diğer yandan deney hayvanlarına sistemik ve santral proinflamatuvar sitokin uygulanmasının depresif davranışa sebebiyet verdiği görülmüştür. Örneğin; IL-1 β 'nın lokomotor aktivite, sosyal eksplorasyon (keşif davranışı) ve beslenme davranışında azalma, anhedoni (zevk alamama), anksiyete benzeri davranışlar ve öğrenmede bozulma etkisinin olduğu

görülmüştür. TNF- α uygulaması ise sosyal keşif davranışı ve kilo azalmasının yanı sıra çaresizlik davranışı gözlenmiştir. IL-1 reseptör antagonisti uygulamasının TNF- α ile meydana gelen davranış değişikliklerini engellemesi; söz konusu davranış değişikliklerinin endojen IL-1 aracılı olabileceğini düşündürmüştür.⁴¹

2.1.3.1 Sinaptik Plastisite ve Depresyon

Depresyon kompleks ve heterojen bir durum olup; nöropatolojisi değişik beyin bölgeleriyle ilişkilendirilmektedir. Fonksiyonel ve yapısal nörogörüntüleme çalışmalarında prefrontal korteks, anterior cingulat korteks, talamus, hipotalamus, amigdala ve bazal gangliyonlar depresyonla ilişkili olabilecek beyin bölgeleri olarak ön plana çıkmaktadır.⁴²⁻⁴⁵ Depresyonla ilgili yapılan moleküler ve hücresel çalışmalarda hücre içi ve dışı sinyal iletiminde, nöroplastisitede, nöron metabolizmasında ve enflamatuvar süreçlerde değişiklikler olduğunu göstermektedir. Bu değişikliklerin pek çoğu depresyondaki nöroplastisite ile yakından ilişkilidir.⁴⁶⁻⁴⁸

Nöroplastisite, çeşitli çevresel uyaranlara bağlı olarak beyindeki nöronların ve sinapslarının yapısal özelliklerinin yanısıra işlevlerinin de değişmesi olarak tanımlanmaktadır. Bu değişiklikler başta depresyon olmak üzere çeşitli hastalıklara neden olabilirken öğrenme gibi önemli zihinsel fonksiyonların gelişebilmesinde ve hastalıkların iyileşebilmesinde de önemli bir role sahiptir.

Nöroplastisite ile dendrit dallanmasında artma, boylarında uzama, sinapsların etkinliğinde değişme, yeni sinaps oluşumu, yeni nöron oluşumu, nöronların hayatta kalma ve stres altında bozulmaya karşı dirençlerinin artması sağlanabilir. Nörogenesis olarak da adlandırılan yeni nöron oluşumuna hipokampusta ve koku merkezinde daha sık rastlanmaktadır. Bunun yanı sıra başta hipokampusun cornu ammonis bölgesi olmak üzere tüm hipokampus nöroplastisitesi en yüksek beyin bölgelerinden biridir.⁴⁹ Her

türlü zihinsel egzersiz ile hipokampal hacimde ve nöroeneziste artma görölürken, sürekli stres durumları hipokampal hacimde ve hipokampal nöronların nöroenezisinde azalmaya neden olur.⁵⁰

Nörotrofik faktörler nöronların hayatta kalmalarında, yaşamlarını sürdürebilmelerinde ve fonksiyonlarını yerine getirebilmelerinde çok önemli bir role sahiptir. Yanlış algının aksine nörotrofik faktörler santral sinir sisteminde nörotransmitter olarak görev yapmazlar; esas olarak nöronların gelişmelerine ve kendilerini yenilemelerine yardımcı olurlar. Nörotransmitterlerin görev yaptıkları fonksiyonel olarak önemli sinir yolaklarının yapısal olarak sağlıklı olmalarına ve görevlerini sürdürmelerine de katkıda bulunurlar.

Nörotrofik faktörlerin santral sinir sisteminde hücre ölümünün (apoptozis) programlanmasında ve yürütülmesinde de önemli rolleri vardır. Belli nöronlara özgü nörotrofik faktörlerin endojen veya eksojen nedenlere bağılı olarak eksilmesi veya hasarı söz konusu nöron veya nöron grubunun ölümü ile sonuçlanacak biyolojik olaylar zincirini tetikleyen bir etkidir. Nörotrofik faktörlerin en çok bilineni ve en eskisi 1950 yıllarında izole edilen sinir büyüme faktörüdür (SBF). Daha sonra BDNF ve bunu izleyerek başka nörotrofik faktörler de keşfedilerek beyindeki fonksiyonları detaylı bir şekilde incelenmiştir.⁵¹ Örneğin hareket kısıtlamasına dayanan kronik stresin üç hafta süre ile uygulanması sıçanların hipokampuslarında dendrit yapılarında bozulmalara neden olabilmektedir. Buna paralel olarak özellikle dentat girusta hücre proliferasyonları sonucunda hipokampal hacimde ve BDNF gibi nörotrofik faktörlerde azalma ile karakterize nöroenezisin bozulması, nöronal atrofi ve ölümler gözlenebilmektedir. Bu durum olumsuz yönde gelişen bir nöroplastisite olarak da yorumlanabilir. Beyinde gelişen bu olumsuz veya negatif nöroplastisite antidepresan ilaçlarla uzun süreli tedaviyle tekrar geri döndürülebilmektedir. Tianeptin başta olmak

üzere fluoksetin ve klomipramin gibi antidepresanlar ile tedavi sonrası azalmış hipokampal hacimde, BKNF miktarında, nörogeneziste ve dentritlerin boylarında anlamlı ölçüde artış görülmektedir.⁵⁰⁻⁵² Kronik stresin sadece hipokampal bölgede değil amigdalada da dentrit kayıplarına neden olduğu gösterilmiştir. Bu veri amigdalanın da depresyon gelişiminde rol oynayan ya da etkilenen bir nöroanatomik bölge olabileceğine işaret etmektedir. Yakın tarihlerde gerçekleştirilen iki ayrı çalışmanın sonuçları da özellikle hipokampusun CA1 ve CA3 bölgelerinin strese bağlı anksiyete ve depresyon oluşumunda önemli bir rolü olabileceğine işaret etmektedir. Örneğin yükseklik korkusu eşliğinde akut stres reaksiyonu oluşmuş sıçanlarda hipokampustan prefrontal kortekse giden liflerde uzun süreli potansiyel artışı, CA1 bölgesinin eksitatör postsinaptik potansiyellerin amplitüdünde düşme ile karakterize inhibisyon gözlenmiştir. Bu durum aynı zamanda sinaptik plastisitede bozulmaya işaret etmektedir.⁵³⁻⁵⁵ Tianeptin ve fluoksetin uzun süreli potansiyel artışında gözlenen bu bozukluğu anlamlı ölçüde düzeltebilmektedir. Yapılan çalışmalarda 7 gün süre ile strese maruz bırakılmış olan ağaç sincaplarında temporal korteks ve hipokampusta apoptozis geliştiği ve bunun tianeptin tedavisi ile önlendiği gösterilmiştir. Bütün bu veriler serebral korteksin yanısıra limbik sistemin ve limbik sistemde yer alan hipokampus ve amigdalanın gerek anksiyete gerekse depresyon oluşumunda önemli bir rolü olabileceğine işaret etmektedir. Tüm bu bulgular tianeptin, fluoksetin ve venlafaksin gibi bazı antidepresan ilaçların aynı zamanda anksiyolitik etkilerinin de olmasını açıklamakta ve bu etkilerinin özellikle hipokampus ve amigdalada sinaptik plastisite üzerine olan ortak etkilerinden kaynaklanabileceğini düşündürmektedir.^{56,57}

Strese bağlı hipokampal apoptoziste artış ve nörogeneziste azalma oluşması bu olumsuz değişikliklerin antidepresan tedavisi ile eski haline dönmesi depresyon

oluşumunda nöroplastisite veya nöroplastik değişikliklerin katkısı olabileceğine işaret etmektedir.²³

2.1.4. Biyolojik Aminler

Biyolojik göstergeler, hem hastalıkların fizyopatolojisinin anlaşılmasında, hem de tanı, prognoz, ve somatik tedavi açısından potansiyel yarar sağlamaktadırlar.⁵⁸ Affektif hastalıkların beyindeki nörotransmitter sistemlerindeki bozulma ile ilişkili olduğunu öne süren biyolojik amin varsayımı ruhsal durumun santral sinir sisteminde tek bir mediyatör sistemindeki değişme ile değil, sistemler arasındaki dengenin değişmesine bağlı olduğunu öne sürmektedir. Depresyonda serotonerjik sistemde ve noradrenerjik sistemde sabit bir etkinlik azalması veya artması değil bir instabilite veya düzenleme bozukluğu vardır.^{59(s.770-775)} Ayrıca sadece serotonin ve noradrenalinin değil diğer nörotransmitterlerin de depresyon oluşmasında rollerinin olduğu düşünülmektedir.⁵¹

GABA-erjik sistem ve depresyon: aminoasit yapısında olan GABA, santral sistemindeki en yaygın inhibitör nörotransmitterdir. Santral sinir sisteminde yer alan sinapsların yaklaşık olarak %40'ının nörotransmisyonunda GABA'yı kullandığı düşünülmektedir. Deneysel çalışmalarda GABA'nın postsinaptik bölgede birçok etkisinin GABA-A reseptörünün uyarılması ile olduğu gösterilmiştir. GABA modülün, presinaptik uçtan salınan GABA moleküllerine GABA reseptörünün afinitesini azaltır.^{25,60} GABA'nın depresyonla ilişkisine dair ilk klinik kanıt indirekt GABA agonisti antiepileptik bir ilaç olan valproatın bipolar depresyon tedavisinde etkili bulunması ile olmuştur.⁶¹ Klinik çalışmalarda depresyonlu hastaların serebrospinal sıvılarında GABA konsantrasyonu düşük bulunmuştur. Postmortem çalışmalarda da depresif hastaların beyinlerinde GABA konsantrasyonunun düşük olduğu gözlenmiştir.⁶² Bu bilgiler GABA-erjik aktivitenin azalmasının depresyonla ilişkisi olabileceği

hipotezini ortaya çıkarmıştır.⁶³⁻⁶⁵ Bu hipoteze göre GABA-erjik agonistlerin antidepresan etkisinin de olması beklenir. Ancak, tedavide kullanılan mevcut antidepresan ilaçların GABA-erjik sistem üzerine etkileri yoktur veya kısıtlıdır.

Noradrenerjik sistem ve depresyon: etkilerini alfa ve beta reseptörler aracılığı ile oluşturan noradrenalin de depresyonla birebir ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur. Noradrenerjik sistemin reseptörleri alfa ve beta olarak ayrılırlar. Bu reseptörlerin yaygın olarak alfa 1 ve alfa 2, beta 1 ve beta 2 alt tipleri bulunmaktadır. Beta reseptörlerin her iki alt tipi de beyinde bulunmaktadır. Bununla beraber alfa 1 reseptörler kortekste noradrenaline daha duyarlı iken alfa 2 reseptörler daha çok vasküler yapı ile ilişkilidir.⁶⁶ Depresyon tedavisinde alfa 2 adrenerjik reseptörler günümüzde üzerinde çalışmaların yapıldığı önemli bir farmakolojik hedeftir. Locus seruleusun (LC), uyarılarak noradrenalin düzeyinin artması otonomik ve emosyonel anksiyete semptomlarına neden olur.^{26,67,68}

Serotonerjik sistem ve depresyon: serotonerjik sistem iştah, enerji, uyku, libido, kognitif fonksiyonların ve duygudurumun modülasyonundan sorumludur. Beyin sapının dorsal ve medial raphe nükleusunda bulunan nöronlar beyindeki primer serotonin kaynaklarıdır.²⁶ Serotoninin LC üzerindeki düzenleyici etkileri ve amigdalaya gelen serotonerjik liflerin varlığı ile anksiyetadaki rolü açıklığa kavuşmuştur.^{26,69} Depresyonda monoamin hipotezinin dayanaklarından biri de noradrenalinin yanısıra serotonin azalmasının da depresyona neden olduğudur. Özellikle 1970'lerin ortalarından itibaren depresyonda serotonin eksikliği hipotezi daha da önem kazanmış, SSGİ' nin tedavide kabul görmesi ve yaygın şekilde kullanılmasının temelini oluşturmuştur.²³

Glutamaterjik sistem ve depresyon: eksitator bir nörotransmitter olan glutamatın reseptörü NMDA antagonistlerinin deney hayvanlarında antidepresan benzeri etkinlik oluşturduğu birçok çalışmada gösterilmiştir.⁷⁰ NMDA reseptör antagonistlerinin

antidepresan benzeri etkinlikleri göz önüne alındığında glutamaterjik sisteminin gelecekte depresyon tedavisine yönelik yeni ilaçların geliştirilmesinde önemli bir hedef olabileceği ortaya çıkmaktadır.

Glutamaterjik açıdan hipokampus incelendiğinde piramidal ve granüler hücreler hipokampal nöronların %90'ını oluşturur, kalan %10'u ise temel olarak GABA üreten ara nöronlardan oluşmuştur. CA1 bölgesindeki asetilkolin nikotinik reseptörleri, noradrenalin, serotonin (5HT), 5HT1A ve 5HT4 reseptörleri cornu ammonisteki diğer iyi tanımlanmış nörotransmitterlerin varlığını gösterir.⁷¹

2.1.5. Depresyonun Nöroanatomi

Beyindeki önemli nöroanatomik oluşumları içeren limbik sistem subkortikal yapılar içinde talamus, hipotalamus, hipokampus, pineal bez, hipofiz ve amigdala gibi yapılardan oluşan bellek ve duygudurum değişikliklerinden sorumlu önemli bir bölgedir.⁶⁰ Limbik yapılar içinde amigdala korku duygusu oluşumunda en önemli role sahip olan nöroanatomik oluşumdur.⁷² Amigdala ve amigdala ile nöronal bağlantılarla iletişim kuran lateral hipotalamus, vagusun dorsomedial nükleusu, nükleus ambiguus, parabrakial nükleus, VTA, LC, pedüncüloponsin nükleus, nükleus retikülaris ve hipotalamusun paraventriküler nükleusu normal ve patolojik anksiyete belirtilerinin oluşumunda rolü olan belli başlı nöroanatomik yapılardır.^{26,73} Limbik sistem anksiyete oluşumu kadar depresyonun patofizyolojisinde de önemli bir role sahiptir. Depresyonla ilişkili yakın tarihli çalışmalar limbik sistemin önemli bir parçası olan hipokampus üzerinde yoğunlaşmıştır.²³

Depresyonun beyin sol frontotemporal ve sağ parieto-okspital bölge lezyonları sonrası görülebileceği bilinmekte ve bu bölgelerin depresyonun nörobiyolojisi ile ilişkili olduğu görülmektedir.⁷⁴ Depresif bozukluk üzerine yapılan aktivasyon çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre depresyon ile subgenual cingulat korteks ve dorsolateral

prefrontal korteks arasında bağlantı olduğu öne sürülmektedir.⁷⁵ Unipolar ve bipolar affektif bozukluğu olan hastalarda beyinde yapısal değişikliklerin oluştuğunu destekleyen çok sayıda araştırma vardır. Bu değişiklikleri gösteren çalışmaların ortak sonucu ventrikül/beyin hacim oranının arttığı yönündedir.⁷⁶ Limbik-talamik-kortikal devrelerin (amigdala, medial talamus, orbital ve medial frontal korteksler dâhil) ve limbik-kortikal-striatal-pallidal-talamik devrelerin (Limbik-talamik-kortikal devrelerin bazı komponentleriyle striatumun ve pallidumun bazı kısımları) duygudurum bozukluklarının patofizyolojisinde yer aldığı bilinmektedir.⁷⁷ İnsan çalışmalarında depresyonu olan hastalarda istirahat halinde özellikle solda prefrontal korteks aktivitesinde azalmayla ilgili bulgular saptanmıştır. Depresyon şiddeti sıklıkla frontal hipometabolizmanın derecesi ile ilişkilendirilmektedir. Yapılan çalışmalarda depresyonun tedavisinden sonra bu hipometabolizmanın düzeldiği gösterilmektedir. Limbik sistem ile ilgili yapılan diğer çalışmalara göre depresyonda limbik sistem (talamus, amigdala, cingulat girus ve derin temporal yapılar) aktivitesinde artıştan söz edilmektedir. Limbik neokortikal bağlantılar üzerinde önemle durulmaktadır.^{78,79} Prefrontal korteks aktivitesinde azalma ile birlikte derin limbik sistem aktivitesinde artış gözlenmektedir. Buna bağlı olarak motivasyon azlığı, psikomotor yavaşlama, uyku ve iştah sorunları, konsantrasyon ve bellekte bozulma gibi belirtilerin yoğunlaşması, dopaminerjik ve noradrenerjik yolların yoğun bulunduğu bölgeler olması nedeniyle antidepresan tedavide buna dikkat edilmesi gerekmektedir. Limbik sistemin diğer parçalarına kıyasla amigdala aktivitesindeki artış daha dikkat çekicidir. Söz konusu aktivite artışının ailevi bir yatkınlık belirtisi olduğunu bildiren çalışmalar bulunmaktadır.^{79,80} Yoğun olarak serotonerjik sinir lifleriyle inerve edilen anterior cingulat bölge, talamus ve basal ganglia aktivitesinde azalma görülen olgularda üzüntü, keder, negatiflik, irritabilite, endişe, bilişsel katılık, olumsuz düşünce örüntüsü gibi

belirtilerin yoğunlaştığı ve bunların genellikle serotonerjik antidepresanlara yanıt verdiği bildirilmektedir.^{79,81} Prefrontal korteks aktivitesinde (özellikle solda) azalma ile birlikte temporal lop aktivitesinde artışın gözlemlendiği durumlarda üzüntü, irritabilite, ölüm düşünceleri, intihar girişimleri, paranoid düşünceler, atipik ağrılar ve uykusuzluk gibi belirtilerin sıklıkla görüldüğü ve bu grup olguların daha çok antikonvülsan etkili ilaçlardan (valproat gibi) yarar gördükleri düşünülmektedir.^{79,81,82}

Depresyonun çeşitli semptomları fonksiyonel olarak birbirine bağlı beyin bölgeleri vasıtasıyla ortaya çıkar. Bu bölgeler arasında ise prefrontal korteksin alt bölgeleri anahtar rol oynar.⁸³ Temel olarak üzüntü ile ilişkilendirilen subgenial anterior cingulat korteks bölgesini major depresif bozukluk ile ilişkilendiren çalışmalar da mevcuttur.⁸⁴ Duygudurum bozukluklarıyla ilişkili davranışsal ve duygudurum anomalilerinde temporolimbik-frontal-kaudat ağda oluşan bozukluk sonucu artış göstermektedir. Duygudurumun normal regülasyonu paralimbik frontal korteks ve bazal gangliyonları bağlayan yolakların bütünlüğüyle ilişkilidir. Bazı araştırmacılar duyguları ve duygudurumu destekleyen orbitofrontal-amigdala ağını hafıza ve çözümlemeyi destekleyen hipokampal-cingulat sistemden ayırmışlardır, diğer fonksiyonlarda bu iki sistem büyük bir uyum içinde hareket ederler. Bazı bölgeler duygudurum bozukluklarının patofizyolojisinin anlaşılmasında önem arz eder. Örneğin; hipokampus yakın zamanda duygudurum bozukluklarının araştırılmasında belirgin biçimde göze çarpmıştır. Depresyonun nörobiyolojisi açısından bakıldığında magnetik rezonans (MR) görüntüleme ile yapılan 32 meta-analiz çalışmasının sonucuna göre hipokampal hacim major depresif bozuklukta azalmıştır.⁸⁵ Amigdala ile yakın ilişki içerisinde olan hipokampus, lateral ventrikülün alt temporal boynuzundan başlayarak corpus callosumun spleniumunun ventriküler boynuzunun anterior ön aralığına kadar uzanan bilaminar gri maddeden oluşmuş bir yapıdır.⁷¹

Hipokampus dahilinde olan bölgelerden CA özellikle CA3'ün piramidal hücreleri, kronik stres veya glukokortikoidlere aşırı maruz kalmayı takiben oluşan hücre kaybına ve nöronal hücrelerin yeniden şekillenmesine en hassas bölgedir. Antidepresan tedaviler glial kaybı ve CA3'deki nöronal hücrelerin yeniden şekillenmesini önler ve bu bozuk şekillenmeyi geri çevirir.⁸⁶⁻⁸⁹

Hipokampus, bölgede bulunan öncü nöronların (nöral progenitörler) çoğalması ve göç etmesi ile koroid fissür kavisinin dış parçasından gelişir. Böylece hemisfer duvarı bir yandan kalınlaşırken, diğer yandan ventrikülün medial kenarına doğru bir çıkıntı yapmasıyla hipokampus oluşur.⁹⁰ Hipokampus; lateral ventrikülün alt boynuz tabanı boyunca uzanan, yaklaşık 5-8 cm uzunluğunda bir gri cevher tabakasıdır. Ventriküle bakan yüzü konveks, hemisferin alt kısmına bakan yüzü ise konkavdır.⁹¹ Ön tarafı geniş ve düz olup pes hipokampi adını alır. Bu bölümde digitationes hipokampi adı verilen pençe şeklinde iki veya üç yüzeysel çıkıntı bulunur. Hipokampusun bütün ventriküler yüzeyi kendi hücrelerinden gelen aksonların oluşturduğu alveus ile örtülüdür. Bu lifler medyalde yassı bir bant şeklinde birbirine yaklaşarak fimbria hipokampi'yi meydana getirir. Fimbria hipokampi'nin ön ucu uncus gri hipokampi'nin beyaz cevherinde sonlanır.^{90,92}

Hipokampus, hücre yapısındaki değişikliklerden dolayı CA1, CA2, CA3 ve CA4 gibi farklı alanlara bölünmüştür. Bunlardan CA1 subiculum'a, CA4 ise dentat girus'a en yakın olan alandır.⁹³

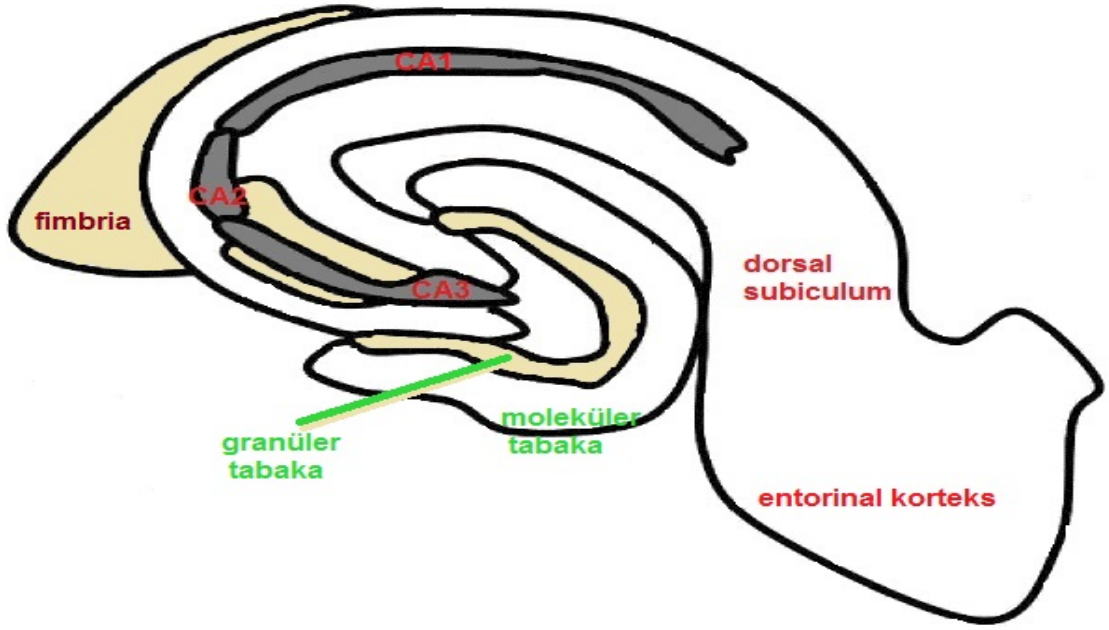
Hipokampal Yollar

Afferent yollar: hipokampus; tüm duyuşsal uyarıları içeren afferentlere sahiptir. Entorinal alandan gelen duyular şu dört yolla hipokampusa iletilir.

1. Perforant yollar: entorinal korteksten gelen aksonları subiculum boyunca dentat girusa ilerler ve CA4 alanı hariç tüm hipokampusa dağılır.

2. Yosunsu lifler: dentat girusdan CA3 alanına giderler.
3. Schaffer kollateralleri: CA3 ve CA2'den CA1 alanına uzanan piramidal hücre uzantılarıdır.
4. Alvear lifler: subkortikal alanlardan gelen bu lifler alveus'tan hipokampusa geçer ve hipokampusun CA1 kısmı ile subiculumun iç tabakasına dağılır.^{90,94-96} Ayrıca hipokampus forniks aracılığı ile nuklei anteriores talami, area hipotalamika posterior, corpus mamillare, area septalis, substantia innominata, ventral tegmental area, nuklei raphe ve nukleus parabrakialis'ten lifler alır.⁹⁷

Efferent yollar: forniks hipokampusun en büyük efferent yoludur. Hipokampus ve subiculumdan başlayan ve yaklaşık 1 milyon kadar olan miyelinli lifler, alveus'tan fimbria hipokampi'ye geçer. Bu lifler, splenium korporis kallosi'nin altında sirus forniks, talamus'un arkasında da corpus forniks olarak devam eder. İki sirus arasında çapraz yapan liflere commissura hipokampi adı verilir. Corpus forniks'ten sonra, columna forniks ismiyle uzanan aksonlar, foramen interventriküler önünde kavis yaparak nuklei anterior talami ve nukleus dorsalis lateralis talami'ye lifler (postkomissural lifler) verir. Buradan hipotalamusa uzanan liflerin çoğu corpus mamillar'de ve hipotalamusun ventromedial nukleusunda sonlanır. Kolumna forniks'ten commissura anterior'a ayrılan az sayıdaki forniks lifleri (prekomissural lifler) ise area septalis, substantia innominata ve area hipotalamika rostralis'e geçerler.⁹⁰



Şekil 2.1. Hipokampusün anatomik yapısı

2.1.6. Depresyon tedavisi

Klinikte kullanılan antidepresan etki gösteren tüm ilaçlar doğrudan veya dolaylı yoldan noradrenalin ve/veya serotoninin beyindeki etkilerini artırır. Tedavide kullanılan ilaçlar etki mekanizmalarına göre SSGİ, serotonin/noradrenalin geri alım inhibitörleri (SNGİ), trisiklik antidepresanlar (TSA), monoaminoksidaz (MAO) inhibitörleri ve atipik antidepresanlar olarak gruplara ayrılır.

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

SNGİ: Hem serotonin hem de noradrenalinin geri alımını seçici olarak inhibe ederler. SNGİ'lar ve trisiklik antidepresanlar hem serotonin hem de noradrenalinin geri alımı üzerindeki ikili etkilerinden dolayı nöropatik ağrının fiziksel belirtilerini rahatlatırlar. SNGİ'lar TSA'ların tersine adrenerjik, muskarinik veya histaminerjik reseptörler üzerinde etki göstermez böylelikle istenmeyen etkileri trisiklik antidepresanlardan azdır. SSGİ'ların etkisiz olduğu durumlarda tercih edilirler. Bu gruptaki ilaçlar; venlafaksin, duloksetin.

TSA: Noradrenalin ve serotoninin sinir hücresine geri alınımını engellerler. Depresyon belirtilerini iyileştirip dikkati artırır. İntihar isteğini azaltıp fiziksel aktiviteyi artırır. 2 hafta veya daha uzun sürede iyileştirici etki gösterir. Asetilkolin reseptör blokajının neden olduğu ciddi yan etki profiline sahiptirler. Bu gruptaki ilaçlar; imipramin, desipramin, klomipramin, amitriptilin, nortriptilin, opipramol, trimipramin, doksepin, amoksapin, maprotilin, protriptilin.

MAO inhibitörleri: MAO enzimini geri dönüşlü veya geri dönüşsüz olarak inaktive ederler ve böylece nörotransmitterlerin yıkıma uğramadan presinaptik nöronda birikerek sinaptik aralığa sızmasını sağlarlar. Hastaların özel bir diyet eşliğinde kullanmaları gerektiğinden çok sık tercih edilmezler. İyileştirici etki haftalar sonra ortaya çıkar. Hafif uyarıcı etkileri vardır. Sinir uçlarından depolanmış olan katekolaminlerin büyük miktarlarda salıverilmesine neden olan tiramini parçalamakla sorumlu olan MAO enzimidir. Bu enzimin yıkımı baş ağrısı, taşikardi, bulantı, hipertansiyon ve inmeye neden olur. Bu nedenle hastalar tiramin içeren gıdaları (tavuk ciğeri, eski peynir, şarap gibi) tüketmeleri konusunda bilgilendirilmelidir. Bu gruptaki ilaçlar; fenelzin, tranilsipromin, maklobemid.

Atipik antidepresanlar: çeşitli bölgelerde etki gösteren karışık bir ilaç grubudur. Bupropion, mirtazapin, nefazodon, trazodon vs.^{59(s.776-786),98(s.139-147)}

2.2. Glutamat

2.2.1. Glutamatın Fizyolojik ve Kimyasal Özellikleri

Beyin omurilik sıvısında yüksek konsantrasyonda bulunan glutamin beyinde krebs siklusunda alfa ketoglutaratın transaminasyonu yoluyla glukozdan veya glial hücrelerde sentezlenip sinir hücresi terminallerine taşınır. Burada mitokondriyal glutaminaz enzimiyle lokal olarak glutamata dönüşür.⁹⁹

Beyinde bol miktarlarda bulunan eksitator aminoasitler içerisinde en sık görüleni glutamattır. Memeli beyindeki nöronların %50'si nörotransmitter olarak glutamata kullanmaktadır. Glutamat esansiyel olmayan bir aminoasit olup glutaminden sentezlenir. İyonotropik ve metabotropik glutamat reseptörlerini uyararak etkisini ortaya çıkarır.^{100,101} Glutamat diğer nörotransmitterlere benzer şekilde sinaptik veziküllerde depolanır. Glutamat kan beyin bariyerini geçemez. Sinaptik aralığa salıverilmesinin ardından daha çok astrositler tarafından geri alınır ve glutamine çevrilir. Glutamin aktif bir taşıma süreciyle nöronlara aktarılır. Orada glutaminaz enzimi tarafından tekrar glutamata çevrilerek keseciklerde depolanır. Glutamat postsinaptik nöron ve daha az olarak presinaptik nöron tarafından da alınır. Bir kısmı da sinaps aralığından difüzyonla uzaklaşır.¹⁰²

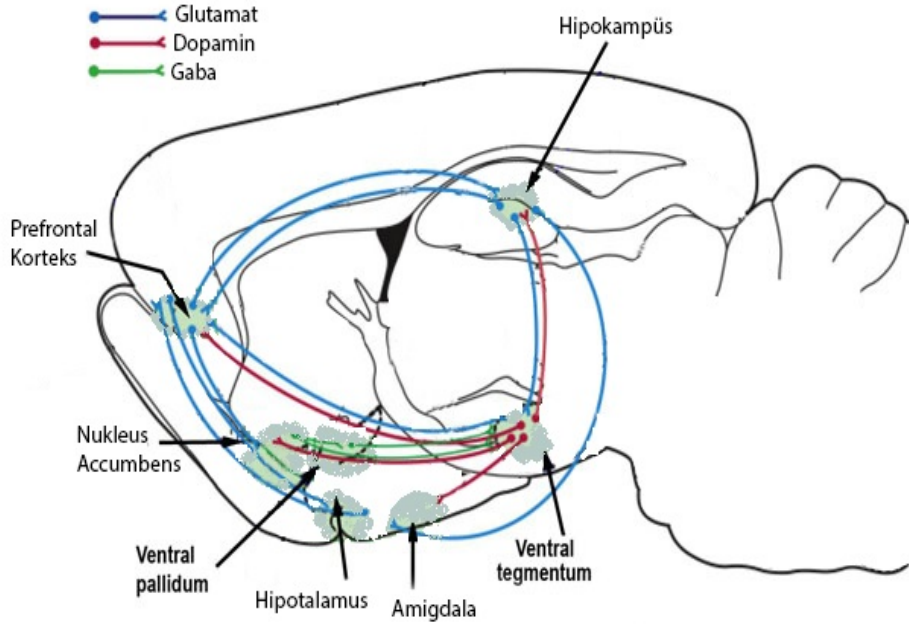
Glutamatın merkezi sinir sistemde önemli roller üstlendiği düşünülmektedir. Merkezi sinir sisteminin değişik bölgeleri arasındaki iletişimde ve döngülerde glutamaterjik yollar önemli yer tutmaktadır. Eldeki bilgiler iyonotrofik glutamat reseptör sisteminin nöropsikiyatrik hastalıklarda yer aldığını göstermektedir.^{103,104} Ayrıca glutamaterjik sistemin anksiyolitik ve antidepresan ilaçların etki düzeneklerinde

de yer aldığı düşünülmektedir.^{105,106} Glutamaterjik sistemin şizofrenide obsesif kompulsif bozuklukta, alkol bağımlılığında ve nörodejeneratif hastalıklarda rol oynadığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.^{107,108}

2.2.2. Glutamaterjik yollar

Glutamaterjik sistemin majör depresif bozukluğun nöropatolojisinde ve tedavisinde önemli rol oynadığına dair kanıtlar giderek artmaktadır. Buraya kadar bahsedilen depresyon glutamat ilişkisi ışığında karmaşık bir sistem olan glutamaterjik sistem ile ilgili yeni çalışma sahaları ortaya çıkmıştır. Antidepresan ilaçlar ile glutamat salıverilmesinin, geri alımının düzenlenmesi ve glutamat reseptörlerinin depresyondaki rolü ortaya konmaya çalışılmaktadır. Ekstraselüler sistein ile intraselüler glutamat dengesini sağlayan sistein-glutamat antiportörünü aktive etmek suretiyle etki gösteren N-asetil-L-sistein glutatyonun prekürsörü olup depresyon tedavisine yeni bir antioksidan yaklaşım getirmiştir. NMDA antagonisti bir ajan olan ketaminin sinirlerde sinyal iletimini sağlayan rapamisinin memelilerdeki hedefi ‘mammalian target of rapamycin’ (mTOR) yolağını hızla aktive ettiği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Akut ketamin tedavisinin beyin bölgelerinde nörotrofik faktörlerden BDNF ve mTOR ekspresyonundaki artışla desteklenmesinin yanında kronik stresle oluşan sinaptik ve nöronal yıkımları büyük hızla geri çevirebilmesi depresyon tedavisinde NMDA reseptörlerinin önemli olduğunu göstermektedir.¹⁰⁹

Glutamaterjik nörotransmisyon sistemi strese yanıt tepkilerinde büyük oranda yer almakta ve nörotoksosite ile sonuçlanmaktadır. Stresin hipokampus ve prefrontal kortekste sinaptik bazal glutamat konsantrasyonunu arttırdığı ve hipokampus ile hipotalamustaki glutamat reseptör işlevlerini değiştirdiği gösterilmiştir. Başka çalışmalar para limbik-hipotalamopituitar aksın strese yanıtı ile glutamaterjik sistemin yakından ilişkili olduğunu göstermektedir.^{110,111}



Şekil.2.2. Glutamaterjik yollar

2.2.3. Glutamat Reseptörleri

Glutamat postsinaptik hücre yüzeyindeki etkilerini iyonotropik ve metabotropik olarak ikiye ayrılan reseptörlerle etkileşime girerek oluşturur.¹¹²⁻¹¹⁴ Metabotropik glutamat reseptörleri G proteinleri ile eşleşmeli olan reseptörleridir (mGluR) ve 8 farklı alt tipi tanımlanmıştır. Sekiz adet olan bu metabotropik glutamat reseptörü aminoasit dizilişleri, reseptöre bağlanmaları, etkileri ve farmakolojik özellikleri göz önüne alınarak üç grupta incelenmektedir.¹¹⁵

Grup 1: mGlu1, mGlu5 (glia hücresinde, postsinaptik nöronda)

Grup 2: mGlu2, mGlu3 (glia hücresinde, presinaptik nöronda)

Grup 3: mGlu4, mGlu6, mGlu7, mGlu8 (presinaptik nöronda, postsinaptik nöronda)¹¹⁶

Metabotropik reseptörler ikincil haberci olarak görev yaparlar. Glutamaterjik aşırımı regüle ederler. Uyarılmaları hücre içi inozitol trifosfat ve diaçil gliserol

düzeylerini arttırır, hücre içi havuzlardan Ca^{++} salınımını sağlar.¹¹⁷⁻¹²³ Diaçilgliserol proteinkinaz C'yi aktive ederek voltaj bağımlı kalsiyum girişinin artmasına da yol açabilir.^{121,124-126} Metabotropik glutamat reseptörlerinden mGlu5'in depresyon ve şizofreni gibi psikiyatrik şizofrenilerde düzenleyici bir role sahip olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.¹²⁷

Diğer bir reseptör türü olan iyonotropik reseptörler ise uyarıldıklarında hücre membranından hücre içine iyon geçişini doğrudan etkileyen reseptörlerdir. Bu reseptörler Na^+ , K^+ ve Ca^{++} 'a olan farklı geçirgenlikleri nedeniyle NMDA, α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazolpropionik asit (AMPA) ve Kainat olmak üzere 3'e ayrılırlar.¹¹² NMDA reseptörleri hipokampus, striatum, talamus ve serebral ve serebellar korteksde yüksek dansitede bulunur. AMPA reseptörlerinin dağılımı da NMDA reseptörlerine benzer ancak NMDA reseptörleri serebellumda granüler hücre tabakasında yoğun iken AMPA reseptörleri moleküler tabakada daha fazladır. Kainat reseptörleri ise hipokampusda, neokorteksin iç ve dış tabakalarında bulunurlar.^{113,128} NMDA reseptörleri üzerinde en çok çalışılan ve bilgi sahibi olunan reseptör kompleksidir. Monovalan katyonlara ek olarak, Ca^{++} iyonunun da hücre membranından geçişini sağlar. Diğer iyonotropik reseptörlere kıyasla Ca^{++} 'a karşı en az 5 kez daha fazla geçirgen olduğu gösterilmiştir.¹²⁹ Santral sinir sistemine yaygın olarak dağılmıştır. Duysal ileti, bu iletinin integrasyonu, motorfonksiyon ve aktivitenin koordinasyonu ile programlamasında yer alır.¹³⁰ Bu reseptör başlıca 6 bölge içerir:

1. NMDA ve diğer agonist tanıma bölgesi; NMDA, glutamat ve diğer agonistler ile reaksiyona girer. Reseptör içindeki iyon kanalının açılmasını sağlayarak normal eksitator etkinin oluşmasını sağlar. Stimülasyonun sürmesi halinde ise patolojik eksitotoksik etki ortaya çıkar. Kompetitif eksitator aminoasid antagonistleri buraya yapışmak için glutamatla yarışır.^{126,131-134}

2. Katyon bağlanma bölgesi; kanal içinde yer alır, buraya Mg^{++} bağlanır ve membran boyunca olan iyon akımını bloke eder. Mg^{++} 'un etkisi agonist ve voltaj bağımlıdır. Yani iyon kapısı olarak işleyen reseptörü istirahat membran potansiyeli (-70 miliVolt) durumunda bloke eder. Reseptör tekrarlayan, uzun süreli uyarılarca (NMDA tanıma bölgesine sürekli bağlanan agonistlerin varlığında) depolarize edilmeye başladığı ve membran potansiyeli -30 miliVolt düzeylerine ulaştığı zaman Mg^{++} 'un etkisi kaybolarak iyon kapısı açılır.^{126,134,135}

3. Glisin bağlanma bölgesi; santral sinir sisteminde inhibitör nörotransmitter olarak çalışan glisin paradoksal olarak NMDA reseptörünün etkinliğini, dolayısıyla da eksitator iletiyi güçlendirir.^{126,134,136}

4. Poliamin bağlanma bölgesi; endojen poliaminlerden spermin ve spermidinin bağlanma yeri olan bu bölgenin işlevi, glisin gibi reseptörün aracılık ettiği yanıtı arttırmaktır. Buna karşılık her iki bölge de normal durumlarda tam olarak aktif değildir.^{126,134-136}

5. Çinko bağlanma bölgesi; bu bölge inhibitör etki gösterir aynı zamanda Zn^{++} blokajı voltaj bağımlıdır.^{135,136}

6. Kanal antagonist bağlanma bölgesi; reseptör kanal kompleksinin alt bölümünde yer alır. Eksitotoksik etkiyi antagonize edebilecek farmakolojik manipülasyonlara açık bir bölgedir. Bu bölgeye bağlanacak antagonistin bağlanma yerine ulaşabilmesi için kanalın açık olması, yani reseptörün NMDA, glutamat veya benzeri agonistlerce uyarılmış ve magnezyumun kanal kapatıcı etkisinin ortadan kaldırılmış olması gerekmektedir. Bu etki agonist bağımlı olmakla birlikte nonkompetitiftir, yani bağlanma yeri için agonistlerle yarışmaz aksine onların açtığı kanala girerek kanalın kapanmasını sağlar. Postsinaptik membran reseptörünün uyarılması arttıkça bu bölgeye yapışan non kompetitif antagonistlerin etkinliği de

artar.^{126,131,134,137} AMPA reseptörleri monovalan katyonlar (Na^+ , K^+ , H^+) için daha seçicidirler. Hızlı eksitator sinaptik geçişte rol oynarlar. Bu kanalların açılması ile Na^+ hücre içine girer ve depolarizasyon oluşur.^{114,138,139}

NMDA reseptörleri glutamata en yüksek afinite gösteren reseptörlerdir. Tetramerik kompleks olan NR1, NR2A-D ve NR3A/B alt tipleri vardır. AMPA reseptörlerinin alt üniteleri GluR1-4 tetramerik heteromer yapıdadır. Kainat (KA) reseptör alt üniteleri GluR5-7 ve KA1-2 dir.¹⁴⁰

Tablo 2.3.1. Glutamat reseptörlerinin sınıflandırılması

İyonotropik reseptörler			Metabotropik reseptörler		
NMDA	AMPA	Kainat	Grup 1	Grup 2	Grup 3
NR1	GluR1-4	GluR5-7	mGluR1	mGluR2	mGluR6-8
NR2A-D		KA1-2	mGluR5	mGluR3	
NR3A/B					

Dopaminerjik sistemin beynin çeşitli bölgelerindeki NMDA reseptörleri ile olan ilişkisi önemlidir. Subkortikal kısımlardan çıkan dopaminerjik yolların düzenleyicisi kortikal eksitator amino asitlerin nöronlarıdır.¹⁴¹ Sıçan prefrontal korteksindeki NMDA reseptörlerinin aktivasyonunun dopamin salınımının artmasına neden olduğu gösterilmiştir.¹⁴² Yine striatumda dopaminin (DA), GABA'nın dışa akımını inhibe etmesiyle davranışsal disinhibisyon meydana gelmektedir. Benzer şekilde, NMDA blokajı striatal GABAerjik dışa akımın azalmasına neden olmaktadır.¹⁴³ Böylece, NMDA antagonizması ile duygudurumla doğrudan ilişkili olan dopaminerjik sistem de etkilenmektedir. Farelerde uzun süre antidepresan uygulanmasının, neokortikal membranlardaki NMDA reseptörlerinin glisin kısımlarına bağlanan 5,7

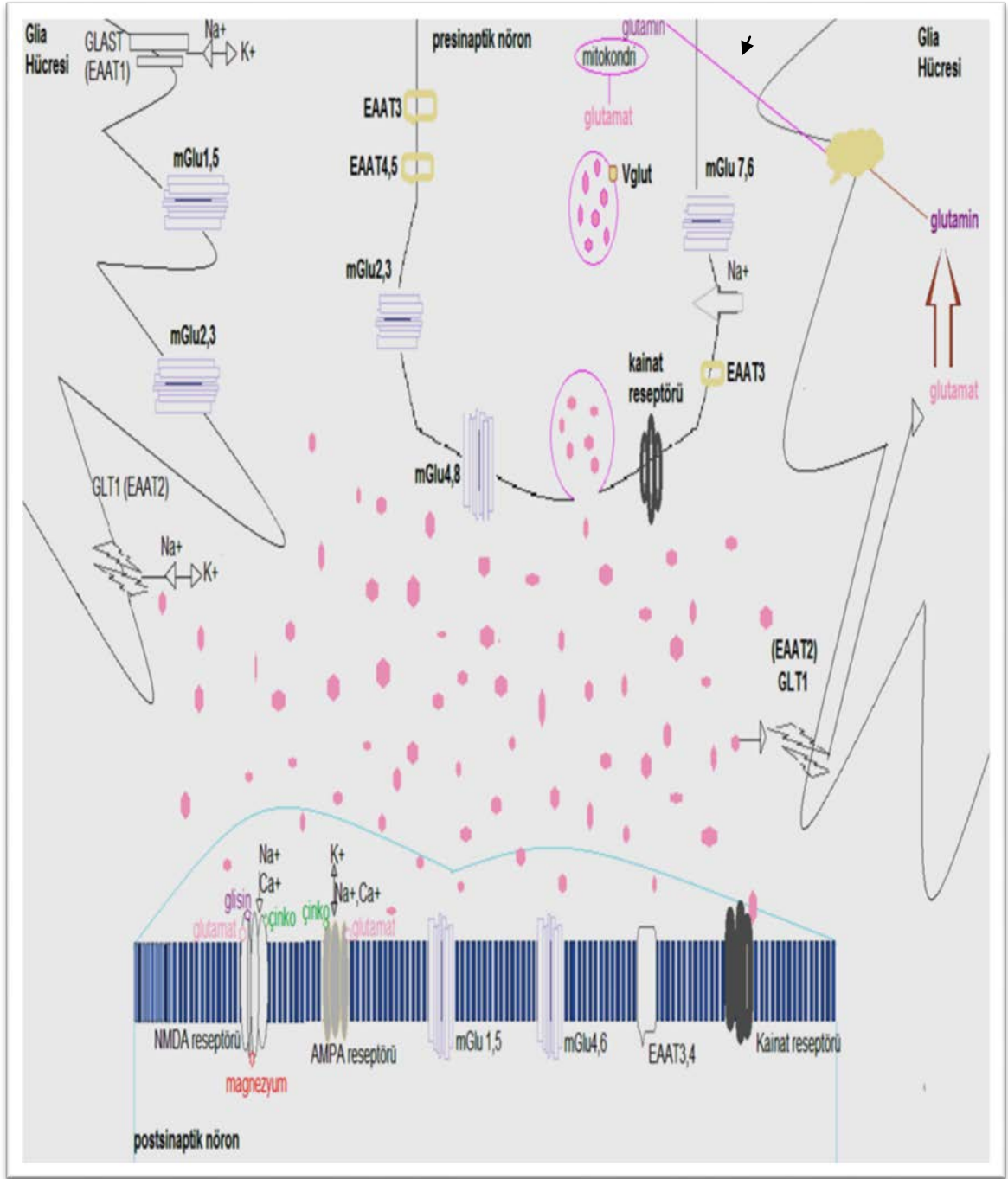
diklorokinürenik asidin glisinin inhibitör potansiyelini 2-4 kat azalttığı bulunmuştur.¹⁴⁴

İntihar eden kişilerin frontal kortekslerinde yapılan postmortem çalışmalarda NMDA reseptörlerinde değişiklikler saptanmıştır.¹⁴⁵

NMDA reseptörleri, öğrenme ve hafıza gibi fizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Ancak artmış glutamat salınımı sonucu NMDA reseptörünün aşırı aktivasyonu ile hücre içine Ca^{++} girişinin artışına neden olup nöronal ölüm, fosfolipazların aktivasyonu, mitokondriyel bozulma ve serbest radikallerin oluşmasına neden olmaktadır.¹⁴⁶ Glutamat toksisitesi denen bu durumun, serebral iskemi sonrası hücre hasarı, alzheimer, parkinson ve huntington hastalığı gibi durumlarda görülen hücre ölümünde payı olduğu düşünülmektedir. Bu çalışmalar spesifik NMDA reseptör blokerlerinin, glutamatın toksik etkisini engelleyebildikleri için klinikte bu hastalıkların tedavisinde kullanılmasını açıklar niteliktedir.^{147,148} NMDA reseptör antagonisti bir ajan olan memantin, glutamaterjik transmisyonun bozulduğu santral sinir sistemi hastalıklarında kullanılabileceğine dair çalışmalar mevcuttur.^{149,150} Diğer yandan yapılan çalışmalarda, memantin sıçanlarda lokomotor aktiviteyi değiştirmeden zorunlu yüzme testinde antidepresan benzeri etki göstermiştir. Aynı araştırmada, imipramin, venlafaksin ve fluoksetin ile beraber verildiğinde ise bu ilaçların antidepresan etkilerini artırmıştır. Memantin gösterdiği antidepresan etkide, nitrik oksit-soluble guanilat siklaz-siklik guanozin monofosfat yolağının rolünü araştırmak için yapılan bir çalışmada, L-arjinin, memantin antidepresan etkisini geri çevirmiştir. Farklı NMDA antagonistlerinin karşılaştırıldıkları çalışmalarda ise, memantin yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyolitik etki göstermediğini ve lokomotor aktivitede değişiklik yapmadığı gösterilmiştir.¹⁵¹

Çoğunlukla glia hücrelerinde bulunan eksitatör aminoasit taşıyıcılarının, glutamatın sinaptik düzeylerini ve iyonotropik reseptörlerin aktivasyonunu kontrol ettiği

gösterilmiştir. Bu da postsinaptik dansite proteinlerinin etkinliği üzerinde rol oynamaktadır.¹⁵² Prefrontal kortekste NMDA blokajının nükleus accumbenste dopamin ve asetilkolin salınımını arttırdığı, böylece prefrontal NMDA reseptörlerinin azalmış fonksiyonunun kortikolimbik devredeki disfonksiyonla ilişki olduğu öne sürülmektedir.¹⁵³ mGluR agonistlerinin prefrontal kortekste yer alan serotonin ile indüklenen eksitator postsinaptik devrelerin etkinliğini baskıladığı gösterilmiştir.¹⁵⁴ Bu durum, mGluR ve 5HT_{2A} reseptörlerinin psikotropik ilaçların etkinliği üzerinde ortak rol oynadıkları görüşünü desteklemektedir. Benzer olarak serotonin ve dopaminin, nitrik oksit glutamat yolağı aracılığıyla regüle edildiğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.^{155,156} Buna karşın, özellikle hipokampus, frontal korteks ve serebellumda, artmış 5HT düzeyinin glutamat iletiminde azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.¹⁵⁷ Yakın zamanda yapılan çalışmalar, stresle ilişkili nöropatolojilerin tedavisinde glutamatın rolü ve nitrik oksit (NO), mTOR gibi glutamat aracılığıyla iyonotropik reseptör aktivasyonunun regüle edildiği yollar üzerinde yoğunlaşmaktadır.¹⁵⁸⁻¹⁶⁰ Aynı konuda, monoaminerjik ve nitrejik sistemlerin bir arada gözlemlendiği çalışmalar da bulunmakta ve bu bulgular yeni tedavi yaklaşımlarının geliştirilmesi açısından önem arz etmektedir.¹⁶¹



Şekil 2.3. Glutamat reseptörleri ve taşıyıcıları

2.2.4. Glutamat Taşıyıcıları

Hücre dışı ortamda bulunan yüksek konsantrasyonlarda glutamatın nörotoksik etkilerine aracılık eden glutamat reseptörlerinin sadece sinapslarda değil; nöron soması (gövdesi), dendritler gibi nöronal unsurlarda da bulunması, nöronları glutamatın

eksitotoksik etkilerinden koruyabilmek için sadece sinaptik aralıktaki miktarının değil aynı zamanda ekstrasinaptik ortamdaki miktarının da kontrol altında tutulması gerektiğini göstermektedir.^{108,162,163} Daha önce değinildiği gibi glutamatın hücre dışı ortamdaki miktarını düzenlemek için bu transmitteri kimyasal yollarla parçalayacak bir enzim sistemi bulunmamaktadır. Bu durum glutamatın hücre dışı miktarının regülasyonu için bir taşıyıcı mekanizmanın önemini göstermiştir. Na^+ bağımlı bir taşıyıcı mekanizmanın glutamati özellikle astrositlere ve bunun yanında nöronlara geri taşımak suretiyle hücre dışı glutamat miktarını kontrol altında tuttuğu tespit edilmiştir. Astrositler ve nöronlar tarafından gerçekleştirilen geri alımın büyük kısmı (%95 oranında) bahsedilen bu Na^+ bağımlı ve yüksek afiniteli taşıyıcılarla ve az bir kısmı da (%5 oranında) Na^+ bağımsız (klor-bağımlı glutamat /sistin taşıyıcıları) bir mekanizmayla gerçekleştirilir.^{108,164,165} Glutamatın geri taşınması, sadece sinyal iletiminin sonlandırılması ve eksitotoksitenin önlenmesinde değil hücre içi glutamat havuzlarının yeni uyarılarla glutamatın tekrar salıverilmesi için doldurulması yönüyle de önem arz etmektedir.

Şu ana kadar EAAT1 (GLAST, glutamat-aspartat taşıyıcı), EAAT2 (GLT1, glutamat taşıyıcı), EAAT3 (EAAC, eksitatör amino asid ulaşı), EAAT4 (eksitatör amino asid taşıyıcı 4) ve EAAT5 olmak üzere toplam beş adet Na^+ bağımlı ve yüksek afiniteli glutamat (veya EAA) taşıyıcısı klonlanmıştır. GLAST ve GLT1 ilk defa sıçan, EAAC tavşan ve EAAT4 ile EAAT5 ise insandan izole edilmiştir. İnsanlarda bu taşıyıcı proteinlerden EAAT1 ve EAAT2 merkezi sinir sistemi astrositlerinde, EAAT3 merkezi sinir sistemi nöron somaları ve dendritlerinde, EAAT4 serebellar purkinje hücrelerinde ve EAAT5 özellikle retinada lokalize olmuştur.^{108,162,163,165} Bu taşıyıcılar vasıtasıyla 3 Na^+ ve 1 H iyonu yanında bir adet glutamat anyonu hücre içine geri taşınırken 1 K^+ iyonu ise hücre dışına çıkarılmaktadır. Nöronlar içerisine taşınan glutamat, burada

veziküler glutamat taşıyıcıları (VGlut) vasıtasıyla veziküller içerisine sekestre olmakta ve daha sonra salıverilmek üzere depolanmaktadır.¹⁶⁶ Glutamatı amonyum ile amide eden reaksiyonu katalizleyen glutamin sentaz enzimini ihtiva eden astrositlerde ise glutamat, enerji gerektiren bir reaksiyonla glutamat ve GABA prekürsörü olan glutamine dönüştürülmekte ve hücre dışı ortama salıverilmektedir. Astrosit tarafından salıverilen glutamin hücre dışı ortamdan nöronlar tarafından alınıp glutaminaz enzimi ile enerji gerektirmeyen bir reaksiyonla tekrar glutamata dönüştürülmektedir. Bu döngüye glutamat-glutamin döngüsü adı verilir.¹⁶⁶⁻¹⁶⁸

Glutamat taşıyıcıları, eksitatör sinapslarda salınan glutamatın sinaptik aralıktan temizlenmesinden sorumludur. Glutamat taşıyıcıları sinaptik aralıktaki aşırı salınımı azaltırlar böylece hücre dışı alanda birikmesini önlerler.^{108,169-171}

Hipokampusteki glutamat taşıyıcıları içinde oransal olarak en fazla görülen GLT1 dir.¹⁰⁸ GLT1 in down-regulasyonu, hücre dışı alanda glutamat seviyelerinde artışa neden olur ki bu da eksitotoksisitenin sebebidir.¹⁰⁸ Tam tersi olarak GLT1 in artmış ekspresyonu nöroprotektif olabilir. Beta laktam antibiyotiklerden olan seftriakson ile yapılan kronik tedavide seftriaksonun GLT1 geninin transkripsiyonunu artırarak GLT1 in up-regülasyon indüklediği ratlar üzerinde gösterilmiştir.^{172,173}

2.2.5. Glutamaterjik Sistemin Depresyon Tedavisindeki Yeri

NMDA tipi glutamat reseptörlerinin antidepresan ilaçların etki düzeneklerinde yeri olduğu düşüncesi her geçen gün güçlenmektedir. NMDA reseptörlerinin glisin-B kimyasında oluşan düşük düzenlenmenin antidepresan ilaç etkisinin ortak bir yolu olduğu ileri sürülmektedir.¹⁷⁴ Terapötik dozlarda kullanıldığında bir antidepresan olan desimipramin, doğrudan NMDA reseptör antagonizması yapmaktadır. Daha önce bahsedildiği gibi NMDA reseptörleri dopamin salgılanmasını da regüle etmektedir. Fare

korteksine verilen NMDA kortikal dopamin içeriğini azaltmaktadır. Bir antidepresan olan klomipraminin kronik (15 gün) uygulanmasında fare korteksinde dopamin içeriğini arttırdığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. NMDA uygulaması ise dopamin ve serotoninin ekstrasellüler düzeylerini azaltmaktadır. Kronik antidepresan uygulaması sonrasında NMDA'nın dopamin ve serotoninin ekstrasellüler düzeylerini azaltıcı etkisi ortadan kalkmaktadır. Bu bulgu klomipraminin antidepresan etkinliğinde NMDA reseptör antagonizmasının ve/veya NMDA reseptörlerinde uyumsal değişikliklerin de rolü olduğunu düşündürmektedir.^{175,176} Diğer yandan bazı duygudurum düzenleyici ilaçların moleküller glutamaterjik işlevleri zayıflatmış gösteren çalışmalar da yapılmıştır. Duygudurum düzenleyici ilaçların öncü molekülü olan lityumun tekrarlayan uygulamaları sonucu sinapstan glutamat alımını arttırdığı görülmüştür. Bunun yanı sıra glutamaterjik reseptör işlevlerini zayıflatmış ve glutamat reseptörlerinin uyarılması ile aktive olan hücre içi sinyal akışını azaltmış gösterilmiştir.^{177,178} Antikonvülzan ve voltaj duyarlı kalsiyum kanalı blokörü duygudurum düzenleyiciler glutamat salınımını azaltmakta ve glutamat reseptörlerinden başlayan hücre içi sinyal akımını baskılamaktadırlar.¹⁷⁹

Hayvan modellerinde NMDA reseptör antagonistlerinin antidepresan benzeri etkiler gösterdiğine dair bilgiler artmaktadır. Yarışmasız NMDA reseptör antagonistlerinin yarışmalı NMDA reseptör antagonistlerinin ve glisin-B kısmi agonistlerinin değişik hayvan deneylerinde antidepresan etkileri gözlenmiştir.^{101,174,180}

Depresyonun ve tedavisinin serotonerjik ve noradrenerjik sistemlerin yanı sıra beyin glutamat sistemi ile de ilişkili olduğu son yıllarda bildirilmektedir.¹⁸¹ Beyinde glutamat aktivitesinin artışı depresyonda oluşan nörobiyolojik değişikliklerden birisidir.¹⁸² Glutamat metabolizmasındaki NMDA ve diğer reseptör bozukluklarının depresyon ve intihara eğilimde rol oynadığını düşündüren bilgiler mevcuttur.^{158, 183, 184}

Depresyonda eksitatör aminoasitlerin plazma konsantrasyonlarında değişiklikler tanımlanmıştır.¹⁸⁵ Bu konuda yapılan bazı çalışmalarda glutamat düzeyinin yüksek olduğu bulunmuştur.¹⁸⁶ Plazma glutamat düzeyinin depresyonun şiddetiyle ilişkisi bulunmamakla birlikte, eksitatör aminoasitler ve inhibitör aminoasitler arasında bir dengesizliğin tespit edildiği de bildirilmiştir.¹⁸⁷ Duygudurum bozukluğu olan hastalarda yükselmiş plazma glutamat seviyelerinin bildirilmesine rağmen aynı grubun yaptığı başka bir çalışmada ilaç almayan depresyonlu hastalar ve kontroller arasında fark bulunmamıştır.^{187,188} Depresyonlu hastalarda kontrollere göre yükselmiş plazma, trombosit ve glutamat düzeyleri bulunurken başka bir çalışmada ise depresyonlu hastaların plazma ve platelet düzeylerinde cinsiyet eşleşmeli normal kontrollere göre farklılık gözlemlenmemiştir¹⁸⁶.

Glutamaterjik sistemin sitokinleri etkilediği bilinmektedir. Bu etki ile mikrogial serotonin metabolizmasının değişiminin yanı sıra kemokinler, apoptoz faktörleri, oksidatif hasar indikatörleri ve nitrojen metabolitleri gibi inflamatuvar mediyatörlerin miktarının değişimini tetiklemektedir.

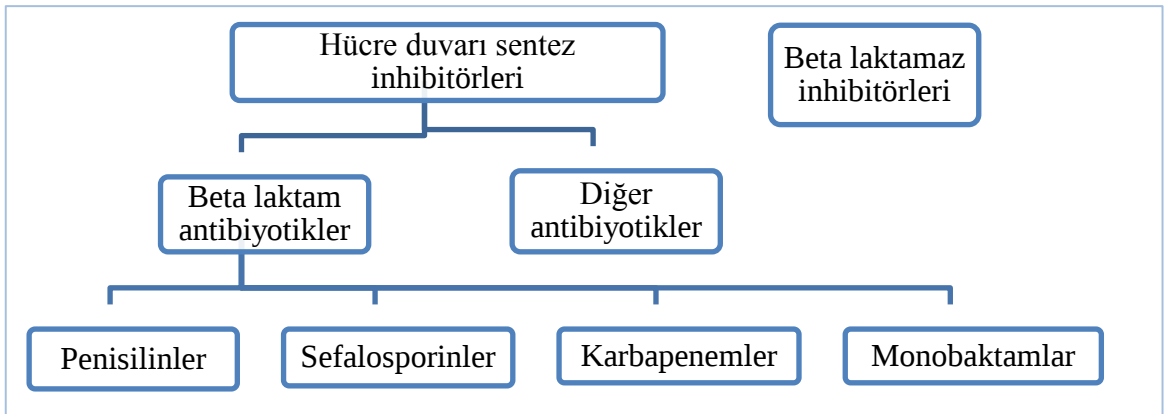
Artan sayıda kanıt glutamaterjik sistemin major depresyonun tedavisinde rol aldığını göstermektedir. Bilindiği üzere glutamaterjik sistem beyindeki en yaygın ve en önemli sistemdir. Bu bilgilere göre direk glutamaterjik sistemi etkileyen hiçbir antidepresan ilacın bulunmamış olması ilginçtir. Bazı yeni ilaç şirketleri depresyon ve şizofreni tedavisinde glutamaterjik sistem reseptörlerini ve sinaptik aralıktaki glutamat seviyesini değiştirecek mekanizmalar üzerinde araştırmalar yapmaktadırlar.¹⁸⁹

NMDA reseptör antagonistlerinden ketaminin depresyon gibi kronik bir hastalığın akut tedavisinde rol alabileceği son yıllarda yapılan çalışmalarda tartışılmış ve pek çok çalışmaya göre de etkin olduğu gösterilmiştir.¹⁹⁰ İnsanda ve hayvanda

anestezik olarak kullanılan ketaminin tek bir doz ile hızlı ve uzun süreli terapötik etki oluşturduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir.¹⁹¹

2.3. Antibiyotikler

Antibakteriyel ilaçlar içinde önemli bir ilaç grubu olan antibiyotikler, bakteriler, funguslar ve aktinomisetler gibi çeşitli mikroorganizma türleri tarafından biyosentez edilen ve diğer mikroorganizmaların gelişmesini önleyen ya da onları öldüren kimyasal maddelerdir. Eskiden antibiyotikler, genellikle sentez suretiyle yapılan kemoterapötiklerden ayrı bir ilaç grubu olarak kabul edilirdi. Antibiyotiklerden bir kısmının da diğer kemoterapötikler gibi sentez suretiyle elde edilmesiyle aradaki kaynağa ilişkin ufak fark kaybolmuştur. Bazı antibiyotikler etkilerini özellikle hücre duvarı sentezini engelleyerek gösterirler. Bakterilere özgü olan bu yapı memeli hücrelerinde bulunmaz. Hücre duvarı, peptidoglikan denilen polimer yapıdadır. Birbirine peptid bağlarıyla bağlanmış glikan birimlerinden oluşur. Bu etkiler en güçlü etkiyi çoğalmakta olan bakteriler üzerinde gösterirler. Büyümeyen ve üremeyen bakteriler üzerinde çok az etkili hatta etkisizdirler.^{59(s.188-198)}



Şekil 2.4. Antibiyotiklerin sınıflandırılması

2.3.1. Beta Laktam Antibiyotikler

Yapısında biri azot üçü karbon olan dört üyeli heterosiklik beta laktam halkası içeren antibiyotiklere beta laktam antibiyotikler denir. Beta laktam antibiyotikler ortak kimyasal yapı ve etki mekanizmasına sahip kullanışlı ve sıklıkla reçete edilen antibakteriyel ajanlardır. Bu grup antibiyotikler; duyarlı gram pozitif koklara karşı güçlü etkili olan penisilin G ve V gibi penisilinleri, penisilinaz üreten staphylococcus aureus'a karşı etkili olan nafsilin gibi penisiline dirençli penisilinleri, özellikle beta laktamaz inhibitörleri ile kombine edildiği zaman gram pozitif spektrumları artan ampisilin ve diğer ajanları, pseudomonas aeruginosa ya etkili piperasilin gibi geniş spektrumlu penisilinleri kapsar. Beta laktamlar aynı zamanda kuşaklarına göre sınıflandırılan sefalosporinleri de kapsar. Birinci kuşak sefalosporinlerin gram pozitiflere karşı etkililiği yüksektir gram negatiflere ise düşüktür. Gram negatif mikroorganizmalara biraz daha etkili olan ikinci kuşak sefalosporinler antianaerob etkili bazı ajanları da kapsar. Üçüncü kuşak sefalosporinler gram pozitif ajanlara karşı etkiliyken başta pseudomonas aeruginosaya karşı olmak üzere enterobacteriaceae grubuna karşı çok daha fazla etki gösterir. Dördüncü kuşak sefalosporinlerin, antimikrobiyal spektrumları üçüncü kuşakla aynıdır ve indüklenabilen kromozomal beta laktamazlar tarafından hidrolize edilmeye karşı dayanıklılıkları artmıştır.^{59, 98(353-365)}

MSS'nin majör eksitator nörotransmitteri glutamatın hücre dışı konsantrasyonundaki artışın bu transmitterin kendine özgü reseptörleri ile etkileşmek suretiyle aşırı uyarılmaya bağlı nöronal hasara sebep olduğuna daha önce değinilmişti. Glutamatın astrosit ve nöronlara geri taşınmasında meydana gelen aksaklıklar bu eksitator aminoasitin omuriliğin dorsal boynuzundaki sinapslarda yüksek konsantrasyonlara ulaşmasına ve aferent liflerle omuriliğin dorsal boynuzuna gelen ağrıya ilgili sinyallerin ampfilie edilmesine ve böylece hiperaljezinin oluşmasına

zemin hazırlamaktadır¹⁹². Glutamatın hücre dışı ortamdaki düzeylerinin, bu amino asiti astrosit ve nöronlara geri taşıyan yüksek afiniteli ve Na⁺ bağımlı bir taşıyıcı mekanizma aracılığıyla kontrol altında tutulduğu bilinmektedir. Yayınlanan çalışmalarda söz konusu taşıyıcı mekanizmanın elemanı olan GLT1 seviyelerinin beta laktam antibiyotik (penisilin deriveleri; amoksisilin, bakampisilin, ampisilin ve nafsilin ile sefalosporinler; seftriakson, sefoperazol, sefadroksil ve sefalotin) uygulaması ile %210-610 oranında arttığı tespit edilmiştir. Daha sonra bu bulguyu destekleyen birçok çalışma yapılmıştır.¹⁹³⁻¹⁹⁶

Beta laktam antibiyotiklerin, nukleus accumbens'de serotonin ve dopamin nörotransmitterlerinin artışına neden olarak antidepresan etki potansiyelinin olduğu yapılan mikrodializ çalışmalarıyla gösterilmiştir.¹⁹⁷

Beta laktam antibiyotiklerden olan penisilin benzeri antibiyotiklerin GLT1'i yüksek derecede düzenleyebileceği gösterilmiştir. Klavulanik asitin, halen major depresif bozukluk tedavisinde kullanılmak amacıyla faz 2 klinik araştırmalarla geliştirilmektedir. Klavulanik asitin antidepresan ilaçlara karşı sahip olduğu kesin avantajlar vardır. İlk olarak kognitif bozukluk, motor bozukluk ve seksüel disfonksiyon gibi tedaviye bağlı ciddi yan etkiler ortaya çıkmadan terapötik etkinliğe ulaşır. Başka bir avantajı da etkinin hızlı olmasıdır. Aslında klavulanik asit, bilinen nörotransmitter ilişkili reseptörlerle, taşıyıcılar ya da iyon kanallarıyla bağlanmaz ya da etkileşmez.¹⁹⁷

2.3.1.1. Sefalosporinler

1945 yılında Doktor Giuseppe Brotzu, Sardunya adasının lağım sularından elde ettiği bir mantarın birçok gram pozitif ve gram negatif bakterinin üremesini durdurduğunu fark etti ve buna *Sephalosporium acremonium* adını verdi. 1956 yılında

Newton ve Abraham ilk sefalosporini izole ettiler ve buna sefalosporin C adını verdiler.¹⁹⁸

Penisilinler gibi sefalosporinler de bakteri duvarının yapısında bulunan penisilin bağlayıcı proteinlere bağlanarak ve böylece peptidoglikan sentezini inhibe ederek antibakteriyel etki gösterirler. Genel olarak kullanıma ilk giren, sonraları 1. kuşak olarak sınıflandırılan sefalosporinlerin *Staphylococcus aureus*'a karşı ilgisi, sonra gelecek olan kuşaklardan çok daha fazladır. Sefuroksim, sefamandol ve sefonisidin içinde yer aldığı 2. kuşak sefalosporinler, gram negatif bakterilerin beta-laktamazlarına 1. kuşaktan daha dayanıklıdır ve en dayanıklısı da sefuroksimdir. 1980'lerde 3. kuşak sefalosporinler üretilmiştir. Önce sefotaksim, sonra seftizoksim, seftriakson, sefoperazon ve seftazidim, dünya ve Türkiye ilaç pazarlarında yerlerini almışlardır. Gerçekten 3. kuşak parenteral sefalosporinlerin geniş spektrumları ile antimikrobik kemoterapide yeni bir dönem başlattıkları bilinmektedir.¹⁹⁹

Üçüncü kuşak sefalosporin olan seftriakson, aerobik gram negatif basillerin çoğuna meningokoklar ve pnömokoklara etkilidir. Beta laktam antibiyotikler son zamanlarda nöroprotektif özellikleri olan başka bir ilaç grubu olarak sunulmaktadır.^{172,200}

Beta laktam antibiyotiklerden en etkilisi olan seftriakson iskeminin in vitro modelinde nöronal zararı azalmış ve amyotrofik lateral sklerozisin hayvan modelinde hücre kaybını geciktirmiştir. Seftriakson ile ilişkili nöroprotektif etki GLT1'in ekspresyonu ve aktivasyonunu artırmasıyla ilişkili olduğu gösterilmiştir.¹⁷²

GLT1 taşıyıcıları insanlar gibi fare beyinde de eksprese edilerek hücrel glutamat alımının %90 ını yönlendirerek glutamaterjik transmisyonu kontrol etmektedir.^{201,202} GLT1 taşıyıcılarının aktivitesini ve ekspresyonunu artırmak için bilinen ve kullanılan ilaçlar beta laktam antibiyotiklerdir.¹⁷² Glutamat molekülünün

hücre dışı kompartmanlardan hücre içine taşınması glutamatın sinaptik salınımından belirgin biçimde yavaştır.^{203,204}

Seftriakson aynı zamanda hipokampustaki sinaptik plastisiteyi araştırmak için de kullanılmıştır.¹⁷³ Yapılan araştırmalarda seftriaksonun bu etkisi özellikle hipkampil CA1 ve CA3 bölgelerinde gösterilmiştir.²⁰⁵

Yukarıda bahsedilen bilgilere dayanarak glutamat taşıyıcılarının sayısının azalmasına bağlı olarak geliştiğini düşündüğümüz depresyonu bu taşıyıcıların hem sayısını hem de aktivitesini artırdıkları tespit edilmiş olan beta laktam antibiyotiklerden seftriakson ile tedavi etmeye çalıştık.

2.4. Deneysel Stres Modelleri

Başta major depresif bozukluk olmak üzere birçok psikiyatrik bozukluğun nöropatolojik mekanizmalarının anlaşılması için hayvan modelleri kullanılmaktadır.²⁰⁶ Diğer tüm hayvan modellerinde olduğu gibi bu hayvan modeli de hastalığı tam olarak taklit edemez. Temelde stres yaratıcı işlemlere deney hayvanlarının maruz kalmasıyla oluşturulmaktadır. Depresif bir hayvan modelinin geçerli veya yeterli olabilmesi için aşağıdaki üç kriteri sağlamalıdır;

- a) Model, depresyonlu bir hastada gözlemlenen motor gerilik, bilişsel faaliyetlerde bozukluk, iritabilite ve iştah kaybı/artması gibi semptomlar denek üzerine değerlendirilmelidir.
- b) Model üzerinde depresyona özgün semptomların şiddeti antidepresan tedaviyle hafifletilebilmeli veya tamamen ortadan kaldırılabilmelidir.
- c) Depresyonun etkin kontrolü kronik ilaç tedavisiyle sağlanabildiği için deney hayvanlarında da kronik ilaç tedavisine yanıt alınmalıdır.²⁰⁷

2.4.1. Kısa Süreli Stres Modelleri

Zorunlu yüzme ve kuyruktan asma testleri, antidepresan etkinlik taramalarında en sık kullanılan akut stres modelleridir. Bir sıçan ya da fare, su doldurulmuş bir silindir tanka konulduğunda, hareketsiz kalıncaya kadar geçen süre ve belli bir süre içinde ne kadar hareketsiz kaldığı ölçülmektedir. Hareketsizlik, kaçmaya yönelik davranışta ısrarın kaybolması "davranışsal umutsuzluk" olarak yorumlanır. Zorunlu yüzme testi aslında öğrenilmiş çaresizliğe benzer bir yanıt, kaçamayacağı bir strese maruz kalan hayvanın kaçma çabasının sona ermesi üzerine kuruludur. Kuyruktan asma yöntemi farelerde kullanılırken sıçanlarda pek tercih edilmez.^{208, 209}

Yükseltilmiş artı labirent testi deney hayvanlarının merak güdüsünden faydalanarak kurulmuştur. Açık kol ile kapalı kol arasındaki çelişki anksiyete hakkında bilgi verdiğinden tedavinin anksiyolitik etkisi hakkında bilgi vermektedir.^{210,211}

2.4.2. Uzun Süreli Stres Modelleri

Kronik öngörülemez stres modeli, insanlardaki depresyonu tetikleyici faktörlerin ılımlı bir şiddette, 4-7 hafta süreyle deney hayvanlarının öngöremediği zamanlarda farklı stresörlere maruz kalması olarak tanımlanır.²¹² Kronik öngörülemez stres modelinde stresör olarak deney hayvanlarını sürekli ışık altında tutmak, kafesi ıslatmak, kafesi eğik bırakmak, kafesteki diğer hayvanları değiştirmek gibi işlemler uygulanır. Doğal şiddette olan bu stresörler ile oluşturulan modelin, taklit edilmeye çalışılan hastalığa daha yakın bir model olduğu düşünülmektedir.²¹³ Bunların sonunda depresyonun en temel belirtilerinden biri olan zevk almama durumu gözlenir.^{212, 214}

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Kimyasal Maddeler

Çalışmamızda kullanılan seftriakson (İsef 1g, IM flakon), essitalopram (Citoles 20 mg, film tablet) sırasıyla İ.E. Ulagay İlaç San. Türk A.Ş., Biofarma İlaç San. Tic. A.Ş., Abdi İbrahim İlaç San ve Tic. A.Ş. 'den temin edilmiştir.

3.2. Deney Hayvanları

Bu çalışmada Wistar albino sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanı Yetiştirme Ünitesinden temin edildi. Deneylerde kullanılan sıçanlar, sıcaklığı 22 ± 2 °C'de, nemi % 65 – 70 oranında korunan ve 12 saat aydınlık–12 saat karanlık dönemlerine sahip bir ortamda standart yemle beslendi. Bu düzendeki standart gece–gündüz siklusu stres gruplarındaki hayvanlar için, kronik öngörülemez stres modeli uygulaması sırasında deney protokolüne uygun şekilde değiştirildi. İn vivo voltametriye alınan deney hayvanları 270-310 gram ağırlığında olanlar arasından seçildi. Çalışma protokolü Atatürk Üniversitesi Deney Hayvanı Etik Kurulu tarafından 22.05.2013 tarih ve 42190979-01-02/2236 sayı ile onaylandı.

3.3. Deney Grupları

Deney hayvanları kontrol, stres, stres + essitalopram, stres + seftriakson olmak üzere gelişigüzel olarak 4 gruba ayrıldı:

1. Kontrol grubu (n = 10): deney süresince herhangi bir stresöre maruz kalmadan diğer deney gruplarıyla sürekli aynı ortamda bulunduruldu ancak diğer gruplara stresör uygulanırken kontrol grubuna sadece dokunma stresi uygulandı. Tedavi gruplarına tedavi uygulanırken steril serum fizyolojik intraperitonel (i.p.) enjeksiyonu yapıldı.

2. Stres grubu (n = 10): deney süresince kronik öngörülemez stres modelinde yer alan stresörlere maruz kaldı. Tedavi gruplarına tedavi uygulanırken steril serum fizyolojik i.p. enjeksiyonu yapıldı.

3. Stres + essitalopram grubu (n = 10): deney süresince kronik öngörülemez stres modelinde yer alan stresörlere maruz kaldı. Tedavi olarak, kronik stres uygulamasının üçüncü haftasında günde bir kez i.p. 10/mg/kg essitalopram enjeksiyonu yapıldı.²¹⁵

4. Stres + seftriakson grubu (n = 10): deney süresince kronik öngörülemez stres modelinde yer alan stresörlere maruz kaldı. Tedavi olarak, kronik stres uygulamasının üçüncü haftasında günde bir kez i.p. 200/mg/kg seftriakson enjeksiyonu yapıldı.²¹⁶

3.4. Kullanılan Model ve Testler

3.4.1. Kronik Öngörülemez Stres Modeli

Major depresif bozukluk yaygın ve kronik bir mental hastalıktır. Bu hastalığın nöropatolojisinin anlaşılması, daha iyi tedavi stratejilerinin geliştirilmesi açısından önemlidir.²¹⁷ Preklinik çalışmalar türe ve strese göre değişmekle birlikte akut ve kronik stresin beyinde yapısal ve fonksiyonel değişikliklere neden olduğunu göstermiştir. Kronik öngörülemez hafif stres modeli insanlarda depresif bozukluğa neden olabilecek bazı çevresel faktörleri taklit etmeye çalışılarak geliştirilmiştir.²¹⁸ Kronik öngörülemez stres modelinde stresörler orta şiddette ve öngörülemez zamanlarda belirli bir takvimine göre beş hafta süresince uygulandı.

1) Kafes eğimlendirme; deney hayvanlarının kafeslerinin altına 45 derece açıyla eğim verecek şekilde takoz yerleştirilerek 24 saat süreyle uygulandı.

2) Talaş ıslatma; deney hayvanlarının kafesinde bulunan talaşların 24 saat ıslak kalması sağlandı ve bu süre sonunda talaşlar yenileriyle değiştirildi.

- 3) 45 °C sıcak suda yüzdürme; deney hayvanları, sıcaklığı derece ile sürekli kontrol edilen havuzlarda beş dakika süreyle ayrı ayrı yüzdürüldü. Hayvanlar yüzdürme sonrasında kurulanıp kafeslerine yerleştirildiler.
- 4) Kafes sallama; deney hayvanları transfer aracına kafesleri ile birlikte alındı. Araç 10 dakika boyunca ileri geri sürülerek hayvanların bu süre zarfında sarsılmaları sağlandı.
- 5) Kuyruk kıştırma; deney hayvanlarının kuyrukları zarar görmeyecek şekilde bir dakika boyunca bant yardımıyla sabitlendirilerek kıştırıldı.
- 6) Gece – gündüz siklus değişimi; 24 saat süreyle siklus bozulacak şekilde uygulandı.
- 7) 4 °C soğuk suda yüzdürme; deney hayvanları sıcaklığı derece ile sürekli kontrol edilen havuzlarda beş dakika süreyle ayrı ayrı yüzdürüldü. Hayvanlar yüzdürme sonrasında kurulanıp kafeslerine yerleştirildiler.
- 8) Kısıtlama; deney hayvanlarının hareket edemeyecekleri bireysel kafeslerde dört saat boyunca bekletildi.
- 9) Kafesler arası eş değişimi; deney hayvanları rastgele kafeslerden rastgele alınarak değiştirildi. 48 saat sonunda eş değişimi sonlandırıldı.

Stres maruziyetinin hayvanlar tarafından öngörülme olasılığını en aza indirmek için uygulamalar günün farklı saatlerinde yapıldı.²¹⁸

3.4.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Çalışmada kol uzunlukları 50 cm, kol genişlikleri 14 cm ve kapalı kollarının yüksekliği 30 cm olan, yerden 50 cm yükseltilmiş karşılıklı iki kolu kapalı ve iki kolu açık artı şeklinde bir labirent kullanıldı. Stres oluştuktan sonra (3.haftanın sonunda) ve tedaviden sonra (40.gün) hayvanlar yükseltilmiş artı labirentin ortasına birer birer

bırakılıp altı dakika boyunca video kayıtları alındı. Deney sonuçları açık ve kapalı kollarda kaldıkları toplam süre ve bu kollara giriş sayıları açısından değerlendirildi.²¹⁹



Şekil 3.1. Yükseltilmiş artı labirent

3.4.3. Lokomotor Aktivite Testi

Lokomotor aktivite ölçüm sisteminin esası, her bir kenarı üzerinde kızılötesi ışık kaynakları içeren kare şeklinde bir dörtgendir. Bu dörtgenin içine sığacak büyüklükte kare şeklinde pleksiglas bir kafes yerleştirilir. Bu kafesin boyutları çeşitli ölçülerde olabilir. Deney hayvanı kafes içinde bir hareket yaptığında karşılıklı kızılötesi sensörler arasındaki iletişim kesilir ve bu deneğin yaptığı hareketin şekline göre cihaza bağlı bir kaydedici tarafından kaydedilir. Bu sistem yardımı ile rodentlerin horizontal, vertikal ve ambulator aktiviteleri kaydedilebilir. Horizontal hareket, deneğin yer değiştirme ve dikilme hareketleri yapmaksızın olduğu yerde yaptığı hareketlerdir. Vertikal hareket, dikilme hareketidir ve bantlar üzerindeki vertikal sensörler yardımı ile algılanır.

Ambulatuvar hareket ise deneğin kafes içinde dikilme haricinde yaptığı her türlü yer değiştirme (gezinme) hareketidir. Horizontal ve vertikal aktiviteler deney hayvanının stereotipik hareketleri ve agresivitesi hakkında fikir verici özelliktedir. Her üç aktivite ayrı ayrı değerlendirilebileceği gibi üçünün toplamı total lokomotor aktivite olarak da ifade edilebilir. Ayrıca deneklerin agresivitesi ve anksiyetesi de lokomotor aktivite ölçümleri ile değerlendirilebilir.²²⁰



Şekil 3.2. Locomotor aktivite testi

3.4.4. Zorunlu Yüzme Testi

Tedavinin sonunda (40.gün) tüm hayvanlar, kuyrukları havuzun tabanına temas etmeyecek yükseklikte 25 cm su ile doldurulmuş cam silindirlerde ayrı ayrı yüzdürüldü. Altı dakika boyunca video kayıtları alındı. Deney sonuçları hayvanların tümüyle hareketsiz kaldıkları sürenin toplamı açısından değerlendirildi.²²¹



Şekil 3.3. Zorunlu yüzme testi

3.4.5. Sukroz Tercih Testi

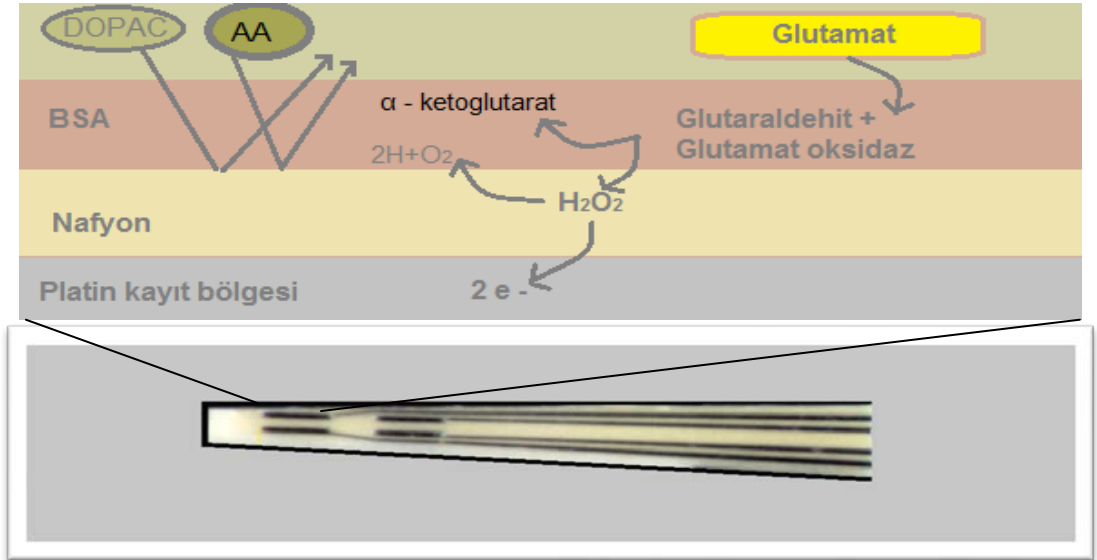
Sukroz tercih testi, kronik strese maruziyetinin 3. haftasının sonunda yapıldı. Testten önce deney gruplarının sukroza alışması için alıştırma prosedürü uygulandı. Alıştırma prosedürü; %1 lik sukroz solüsyonu içeren iki şişe sukroz solüsyonu 24 saat süreyle her bir kafese verildi. Sonraki gün %1 lik sukroz içeren sukroz solüsyonu ve su içeren solüsyon verildi. Alıştırma prosedüründen sonra deney grupları 24 saat süreyle yemsiz ve susuz bırakıldı. Sukroz tolerans testi deney gruplarının her birine 200 ml su ve 200ml %1 lik sukroz çözeltisi içeren sukroz solüsyonu koyuldu. 24 saat sonra tüketilen sukroz solüsyonu ve su miktarları kaydedildi. Sukroz tolarensı aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

sukroz solüsyonu tüketimi / toplam tüketilen sıvı hacmi (sukroz solüsyonu+su).²²²

3.4.6. İn Vivo Voltametrik Çalışmalar

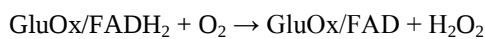
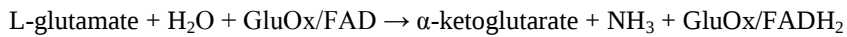
3.4.6.1. Mikroelektrotlar

Mikroelektrotlar seçici in vivo kayıtlar almak için üretilmiştir. Santral sinir sistemindeki glutamatın ve diğer nöroaktif moleküllerin sinaptik aralıktaki hızlı değişimlerinin eş zamanlı görüntülenmesi FAST-16 (hızlı analitik sensör teknoloji) sistemi aracılığıyla yapılmıştır. Bu çalışmada kullanılan mikroelektrotlar S2 (rat için) tipte olup kayıt bölgesi platinden yapılmış ve üzeri nafyon ile kaplanmıştır.²²³ Kayıt bölgesinde 4 kanal bulunmaktadır. Bu kayıt bölgelerinin en uç kısımda olan bölgeler L-glutamat oksidaz enzimi içermektedir. Bir gümüş (Ag/AgCl) referans elektrodu ile sürekli +0.7 Volt potansiyel uygulandığında söz konusu enzim tabakası sayesinde glutamat ölçülür. Akım, elektrot yüzeyinin çözelti içindeki glutamat konsantrasyonunun H₂O₂ oksidasyonuna yanıt olarak oluşur. Oluşan tepkimeler aşağıda gösterilmiştir.



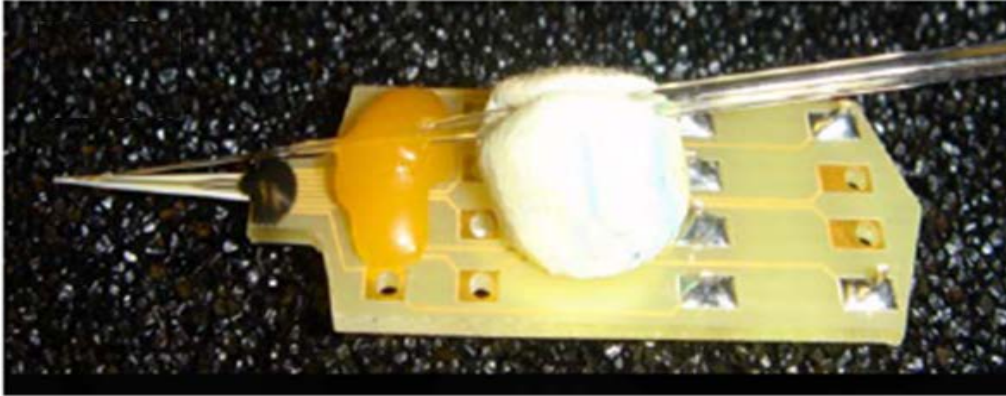
Şekil 3.4. Mikroelektrot kayıt bölgeleri.

DOPAC (3,4-Dihidroksifenilasetik asit), AA (Askorbik asit), BSA (sığır serum albümin)



3.4.6.2. Ag/AgCl Referans Elektrot

Büyük cam Ag/AgCl referans elektrodu, m-fenil diamin elektropolimerizasyonu ve mikroelettrot kalibrasyonu için uygun olmasına rağmen birçok biyolojik uygulama için çok büyüktür. Bu yüzden daha küçük tel yapıda Ag/AgCl referans elektrodu her deneye başlarken hazırlanmalıdır. Minyatür Ag/AgCl referans elektrodu, gümüş telden teflon kaplamayla hazırlanır. Ucu FAST-16 ile ilişkilendirilir. Diğer ucu NaCl ile doyurulmuş 1 M HCl içine yerleştirilir. Bir platin kablo zıt elektrot olarak solüsyona sokulur. 9 volt adaptör kullanılır. Uygulanan potansiyel, kloru kabloya hareketlendirir ve AgCl oluşur. Elektrik potansiyeli yaklaşık 10–15 dakika uygulanır. Tam iletim sağlandığında, platin zıt elektrodu çevresinde kabarcıklar görülür. Bu minyatür Ag/AgCl referans elektrotları in vivo kullanım öncesi 3 M NaCl içine sokulur.



Şekil 3.5. Mikroelettrot ve cam pipet

3.4.6.3. Kalibrasyon

Mikroelettrottaki platin kayıt bölgeleri peroksida ve L-gutamata farklı cevaplar verebilir. Standart eğimlerin tesbit edilebilmesi için deneyden önce in vitro olarak

kalibre edilmesi gerekir. Bu yüzden kalibrasyonlar, L-glutamatın oluşturduğu peroksitten oluşan analit konsantrasyonundaki değişimi, peroksidin oksidasyonu ile oluşan akım değişimine eşitlemek için kullanılır. Yoğunluğu bilinen analit, 37°'de 40 mililitrelik 0.05 M fosfat buffer solüsyona (PBS) eklenir ve FAST-16 sisteminde ölçülebilen pikoamper seviyelerinde bir akım oluşturur.

FAST-16 sistem yazılımı, her bir analit ilavesiyle akımları kaydeder. Her bir platin kayıt bölgesi için kalibrasyon eğimi oluşturur ve bu kalibrasyon eğimlerini depolar. Aynı zamanda askorbik asit gibi bilinen interferentler, kalibrasyon esnasında teste ilave edilir ve istenen analitin interferente göre seçiciliği test edilir. İn vivo deney esnasında kalibrasyon dataları geri çağırılır ve analitin konsantrasyonunun tespit edilebilmesi için kullanılır.

Kalibrasyon Hazırlama: nafyon kaplı mikroeletrotlar, 37°, 0.05 M PBS solüsyonunda en az bir saat bekletilir. Bu mikroeletrotlar solüsyona bir gece önceden de bırakılabilir. Suya batırma zamanına göre, analitin nafyon katından daha iyi difüzyonuna ve enzim katmanının aktivasyonuna izin verir. Solüsyonlar; 20 mM askorbik asit, 20 mM L-glutamik asit sodyum tuz hidrat, 8 mM Hidrojen peroksit olarak hazırlanır. Solüsyonlar buzdolabında 4 derecede depolanır. Askorbik asit ve hidrojen peroksit günlük taze hazırlanır. L-glutamat haftada bir hazırlanır.

Kalibrasyon Prosedürü: 40 mililitre 0.05 M PBS, 50 mililitre behere konur. İçindeki sıvı 37°C'ye ısıtılır. Çünkü L-glutamat oksidazın fizyolojik olarak bulunduğu derece 37°C'dir. Sıvı küçük manyetik karıştırıcı ile yavaşça karıştırılır. Ag/AgCl referans elektrodu solüsyona konur. Mikroeletrodun yarısı solüsyona indirilir.

FAST-16 başlangıç bilgileri girildikten sonra, mikroeletrot kayıt bölgesine +0.7 Volt akım uygulanır. Glutamat dışı ölçümlerde farklı voltajlar uygulanabilir.

Kalibrasyona başladıktan sonra akımın sabit bir taban seviyeye ulaşması beklenir (10–15 dakika ya da daha uzun). Sabit baseline oluştuktan sonra bilgisayarda baseline tuşuna basılır. Sonra 500 µl, 20 mM askorbik asit (interferent), sonuç beher konsantrasyonu 250 µM olacak şekilde eklenir. Yeni bir sabit taban seviyeye ulaşıldığında interferent tuşuna basılır. Sonra üç kere 40 mikrolitre, 20 mM L-glutamat, sonuç beher konsantrasyonu 20, 40 ve 60 mikromolar L-glutamat olacak şekilde ilave edilir. Analit her bir ilaveden ve kalibrasyon eğimi oluşumundan sonra kaydedilir. En son 40 mikrolitre, 8.8 mM hidrojen peroksit mikroelettrot duyarlılığını kesinleştirmek için eklenir. Test maddesi, seçiciliği kontrol etmek için eklenir, enzim kaplı ve enzim olmayan öz referans kayıtlarını normalize etmek için kullanılabilir. Burada Askorbat seçiciliği belirlerken Glutamat duyarlılığı belirler.

Test maddesinin ilavesi, istenen analitin standart eğiminin hesaplanmasına etki etmez. İn vivo kullanılan tüm kimyasalların, in vitro platin kayıt bölgelerinde elektrokimyasal olarak aktif olmadıklarından emin olunması gerekir. Bir kimyasalın platin kayıt bölgesine deney boyunca uygulanması öncesi elektrokimyasal olarak aktif olup olmadığı önemlidir. Bu durumda in vitro veya in vivo analit yoğunluk değişiminin ilacın lokal uygulamasından veya analitten kaynaklanıp kaynaklanmadığı test sonucu anlaşılmış olur. Kalibrasyonun bitiminde program durdurulur. Data kaydedilir. Mikroelettrot solüsyondan çıkarılır ve depo edilir. Nafyon kaplı mikroelettrot uçları, 0.05 M PBS içine konur.

Kalibrasyon kriterleri: kalibrasyon esnasında FAST-16 kayıt sistemi, L-glutamatın AA'ya göre seçiciliğini, eğrinin eğimini (analit için mikroelettrodun duyarlılığını), tespit limitini (TL) ve çizgiselliğini (R2) otomatik olarak hesaplar. L-glutamata karşı cevabın $R2 \geq 0.99$ olması gerekir. Düşük R2, iyi mikroelettrotlarda nadir görülür.

Mikroelektrodun eğimi veya duyarlılığı, L-glutamattaki değişimin hangi iyilikte ölçülebileceğini gösterir. Eğim, aynı zamanda mikroelektrodun kullanımı için en güvenilir ölçüt olan TL'nin hesaplanmasında da kullanılır. Mikroelektrot seçiminde TL kullanılır. TL mikroelektrot için tespit limitidir.

Analit yoğunluğu, kayıt sisteminin arka plan gürültüsünün üç katına eşit elektrot cevabıdır. TL, bu gürültüye atfedilemeyen, analit yoğunluğundaki en düşük tespit edilebilir değişimdir. Kullandığımız mikroelektrotlarda TL 0.2–1 mikromolardır. Bu da kayıt enzim içeriğine ve bölgelerin kayıt stabilitesine göre değişebilir. Kullanıcı, görmek istediği cevaptan daha düşük TL'li mikroelektrotları seçmek zorundadır.

Seçicilik; L-glutamatın AA gibi interferentlere göre duyarlılık oranını gösterir. L-glutamat eğiminin AA eğimine bölümüyle hesaplanır. 100/1 seçici mikroelektrot demek, 100 mikromolarlık AA konsantrasyon artışının L-glutamatta yalnızca 1 mikromolar konsantrasyon artışına yol açacağını gösterir. 100/1 seçicilikte kullanıcı mikroelektrodun AA' yı %99 etkinlikle blokladığını bilir. 100/1 ve üstü seçicilik iyi ve idealdir. Fakat 20/1 selektivite oranlarında da mikroelektrotlar kullanılabilir.

3.4.6.4. Cam pipet hazırlama

Vertikal pipet çekici, cam pipet hazırlamada kullanılır. Cam boruyu yüksek derecede ısıtarak çekme işlemi yapar. 1 mm dış çap, 0.58 mm iç çapa sahip mikropipet hazırlanır. Mikroskop kullanarak mikropipetin ucu kırılarak, tepesi 12–15 mikromilim olacak şekilde hazırlanır.

Cam mikropipet macun ve mumla birlikte kayıt bölgelerinin ortasına gelecek şekilde pozisyonlandırılır. Sonra mumla sabitleştirilir. Camın ucunun seramik yüzeye dokundurulmaması gerekir. Hatta platin kayıt bölgelerinden 50–100 mikron mesafede olması gerekmektedir. Bu mesafe, beyine indirildiği zaman mikroelektrot ve cam pipet

arasına yeterli miktarda merkezi sinir sistemi dokusunun girişine izin verir. Mikroelektrot, kayıt bölgelerine çok yakın olursa, basınçlı sıvının injeksiyonu in vivo dilüsyon etkisi oluşturur. Mesafe uzak olursa; L-glutamatın gliaya daha fazla alımına ve platin kayıt bölgelerine sınırlı difüzyonuna sebep olur. Tam uygun pozisyonun anlaşılabilmesi için, mikroelektroda mikroskopta iki farklı açıdan bakılması gerekir. Bu uygulama için iki bakış açılı mikroskop geliştirilmektedir. Bunların dışında ikili ve üçlü cam mikropipetler üretilmiştir. Bu sayede aynı beyin bölgesine iki veya üç farklı ilaç solüsyonu uygulanabilir. Cam mikropipetin ilave edilmesi, deneydeki en zor aşamalardan birisidir. Pratiklik önemlidir çünkü mikroelektrot performansı bozulmadan kısa bir zamanda bu işlemin yapılması gerekir. Önce ilaç solüsyonu 1 ml lik tüberkülin iğnesine çekilir. Sonra 0.22 mikromilimlik steril filtreden geçirilir. Diğer uçtan 30 numaralı hipodermik iğneye aktarılır. İğne cam mikropipetin içine sokulur. Cam pipet doldurulur ve hava kabarcığı oluşturulmadığından emin olunur. Hava kabarcığı ilacın basınç injeksiyonuyla etkili bir şekilde ulaştırılmasını önler ve ne kadar sıvının gönderildiğinin ve ne kadar ilacın verildiğinin tespitini zorlaştırır. Mikroelektrot beyine implante edilmeden basınç injeksiyonu test edilir. Solüsyon geri alınması gerekiyorsa 30 numaralı iğne sokularak madde geri çekilir.⁹

Ayrıca glutamatın dışarıdan uygulanmasına aracılık eden cam pipetin ucunun elektrota uzaklığı yaklaşık 50 mikrometre mesafede olması gerekmektedir. Eğer cam pipet daha uzak mesafede konumlandırılırsa beyin farklı bölgelerine ilaç verilip farklı bölgelerinden kayıt alınmış olur. Daha yakın mesafeye konumlandırılırsa arada beyin dokusu yetersiz olacağı için doku reaksiyonu olmadan direk elektrottan kayıt alınacaktır. Pipet çekici ile kırılmış olan cam pipetin ucunun çapı yaklaşık 25 mikrometre olması gerekir. Ucu çapının çok küçük olması verilen ilacın tıkanmasına çok geniş olması ise ilacın fazla miktarda akmasına neden olmaktadır.

3.4.6.5. Elektrot Yerleştirme

Kronik olarak implante edilen L-glutamat elektrodların çevre beyin dokusunda ya çok az ya da hiç beyin hasarına yol açmadığı gösterilmiştir. Sıçanlara 2, 4 veya 8 hafta süresince kronik olarak mikroeletrotlar implante edilmiş ve bu sürelerin sonunda sıçanların beyinleri çıkarılmış, kesitlere ayrılmış ve hem astrositler hem de mikroglialar boyanmıştır. Boyama sonucunda her üç zaman periyodu içinde implant çevresinde kontrol ile kıyaslanınca astrositlerin sayısında ve mikrogliya aktivasyonunda kontrole göre istatistiksel bir fark görülmemiştir.

Depresyonla ilişkili olduğu bilinen beyin bölgelerinden hipokampus ve prefrontal korteksin voltametrik olarak girilip kayıt alınabilecek alt anatomik yapıları seçilmiştir. Bu bölgelerden hipokampus dâhilinde olan olan cornu ammonis 3 ve dorsal subiculum, prefrontal korteks dâhilinde olan anterior cingulat korteks'in rat beyin atlasına göre Bregma, x ve y eksenlerinde 0 olarak kabul edilip koordinatlar belirlenmiştir. Stereotaksi cihazına göre belirlenip kafatasında açılan delikten elektrot sokulup kayıt alınmaya başlanmıştır. Belirlenen bölgelerin koordinatları aşağıda verildiği gibidir.

Dorsal subiculum (DS) (x ekseninde -3.1 / y ekseninde -6 / z ekseninde 3),

Cornu ammonis 3 (x ekseninde +3.2 / y ekseninde -3.6 / z ekseninde 3.5)

Anterior cingulat korteks (CC) (x ekseninde -0.6 / y ekseninde +1.7 / z ekseninde 2)

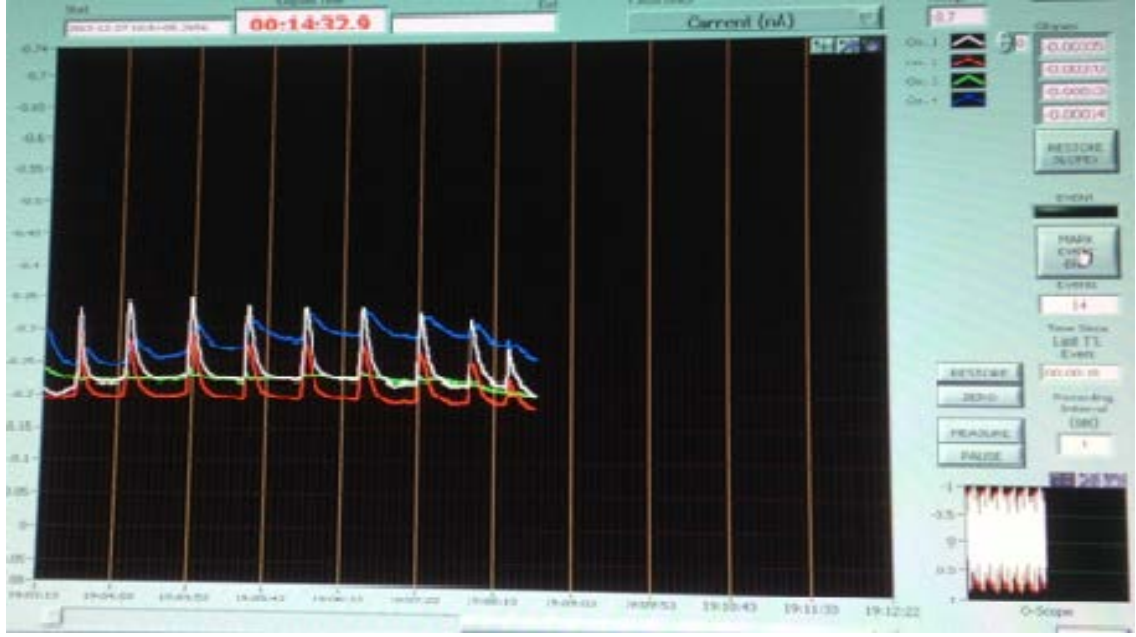
3.4.6.6. Data Analizi

Pikospitritzer III veya ilişkili donanım, FAST-16 kayıt sistemine bağlanır ve cam mikropipetten solüsyonlar basınçla injekte edildiğinde veya deneysel olaylar geliştiğinde yazılım olayları kaydeder. FAST-16 kayıt sistemi, her 4 kanalda otomatik

olarak amperometrik veya konoamperometrik bilgileri, zamanı ve basınç injeksiyon uygulamalarını kaydeder. Stereomikroskop cam mikropipetteki basınç injeksiyonu sonrası solüsyon düzeyindeki değişimi gösterebilir.

Konsantrasyondaki maksimum değişiklik, L-glutamat sinyalinin maksimum amplitüdü olarak düşünülür. Bu değer mikromolar olarak kaydedilir. Sonra sinyalin maksimum amplitüdü situmulus yapan miktara bölünür (cam mikropipetten injekte edilen hacim). İnjekte edilen sıvı stereomikroskopla görülür. Hacim değişimi pipetin iç çapına göre kalibre edilir. (Bizim cam pipetimiz milimetresinde 250 nanolitre solüsyon içerir). İnjekte edilen sıvı hacmi nanolitre olarak kaydedilir ve sonra amplitüt/nanolitre (mikromolar/nanolitre) nöronların eksitabilitesini verir.

Sonuçta sinyalin taban seviyeden maksimum amplitüde ulaşma zamanı, yükselme zamanı olarak adlandırılır. Maksimum amplitüdden sonra baseline'a doğru sinyal azalması olur. L-glutamatın klirensi L-glutamatın glial ve nöronal taşıyıcılarla hızlı alımı sonucudur. L-glutamat sinyalinin azalması verinin doğal logaritmik transformasyonunun çizgisel azalmasının eğimidir. Bu da $k-1$ adını alır. $k-1$ sinyalin maksimum amplitüdüyle çarpıldığında alım-geri alım oranı veya saniyede ekstraselüler boşluktan uzaklaştırılan L-glutamatın mikromoları elde edilir. Sonuçta sinyal azalması, azalmanın farklı persantillerinde değerlendirilebilir. Genel olarak T50 ve T80 iniş zamanı kullanılır.



Şekil 3.6. Voltametri çalışması esnasında gözlenen akımlar

3.5. İstatistiksel Analizler

Stres ile ortaya çıkan davranış değişikliklerinin ve voltametrik anizlerin değerlendirilmesinde “ortalama $\pm$ standart hata” olarak ifade edildi. Verilerin istatistiksel analizinde gruplar arasındaki farklılık gösterilirken tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Gruplar arası farklılıklar “Post-hoc Dunnett testi” ve “Tukey's Multiple Comparison Testi” uygulanarak incelendi. İstatistik analizlerinde sırasıyla ‘SPSS 15.0 for Windows’ ve ‘Prism 4-Graph Pad’ istatistik ve grafik yazılım programları kullanıldı. $p < 0.05$ ’den ve $p < 0.0001$ ’den küçük olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Davranış Testlerinin Sonuçları

4.1.1. Lokomotor Aktivite Sonuçları

30 dakika süreyle yapılan lokomotor aktivite testine göre deney gruplarının vertikal hareketlerinin sayısı aşağıdaki tabloda özetlenmiştir. Depresyon grubunun ortalaması ile kontrol grubunun ortalaması arasındaki anlamlı fark stres uygulanmasıyla vertikal hareketlerde azalma olduğunu göstermektedir. Essitalopram ile tedavi edilen grubun vertikal hareketlerinde bir değişiklik gözlemlenmemiştir. Ancak seftriakson tedavisinin depresyon grubuna göre vertikal hareketleri anlamlı şekilde artırdığı gözlemlenmiştir.

Tablo 4.1.1. Vertikal hareketlerin sayısı.

Deney Grupları	Örnek sayısı	(Ortalama $\pm$ SS)
Kontrol	6	27 $\pm$ 7 ⁺⁺
Depresyon	11	11.6 $\pm$ 5.5 ^{**}
Essitalopram	6	13.2 $\pm$ 2.6 [*]
Seftriakson	6	21.8 $\pm$ 5.5 ⁺

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Depresyon grubuna göre ⁺⁺p < 0.0001, ⁺p < 0.05

Kontrol grubuna göre ^{**}p < 0.0001, ^{*}p < 0.05

30 dakika süreyle yapılan lokomotor aktivite testine göre deney gruplarının horizontal hareketlerinin sayısı aşağıdaki tabloda özetlenmiştir. Depresyon grubunun ortalaması ile kontrol grubunun arasındaki anlamlı fark stres uygulanmasıyla horizontal hareketlerde azalma olduğunu göstermektedir. Essitalopram ile tedavi edilen grubun

horizontal hareketlerinde anlamlı bir artış görülmüştür. Seftriakson tedavisinin depresyon grubuna göre horizontal hareketleri anlamlı şekilde artırdığı gözlemlenmiştir.

Tablo 4.1.2. Horizontal hareketlerin sayısı.

Deney Grupları	Örnek sayısı	(Ortalama±SS)
Kontrol	6	2904±105 ⁺⁺
Depresyon	11	1890±370 ^{**}
Essitalopram	6	2479±268 ⁺
Seftriakson	6	2886±355 ⁺⁺

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Depresyon grubuna göre ⁺⁺p < 0.0001, ⁺p < 0.05

Kontrol grubuna göre ^{**}p < 0.0001

30 dakika süreyle yapılan lokomotor aktivite testinde deney hayvanlarının hareketlerini toplam mesafesi santimetre cinsinden aşağıdaki tabloda özetlenmiştir. Depresyon grubunun ortalaması ile kontrol grubunun arasındaki anlamlı fark stres uygulanmasıyla yürüme hareketlerinde azalma olduğunu göstermektedir. Essitalopram ve seftriakson ile tedavi edilen grubun yürüme hareketlerinde anlamlı bir artış görülmüştür.

Tablo 4.1.3. Toplam mesafe (cm).

Deney Grupları	Örnek sayısı	Ortalama±SS
Kontrol	6	1710±188 ⁺⁺
Depresyon	11	1156±312 ^{**}
Essitalopram	6	1598±231 ⁺
Seftriakson	6	1515±268 ⁺

Değerler ortalama ± standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Depresyon grubuna göre ⁺⁺p < 0.0001, ⁺p < 0.05

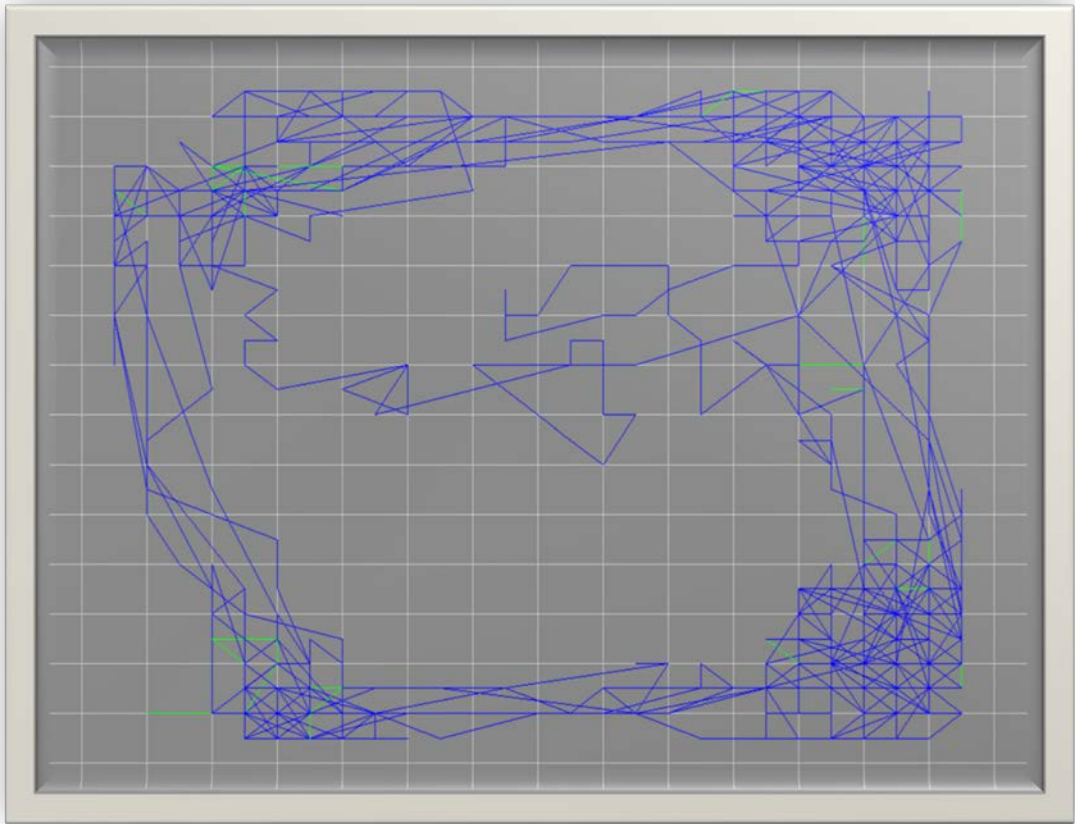
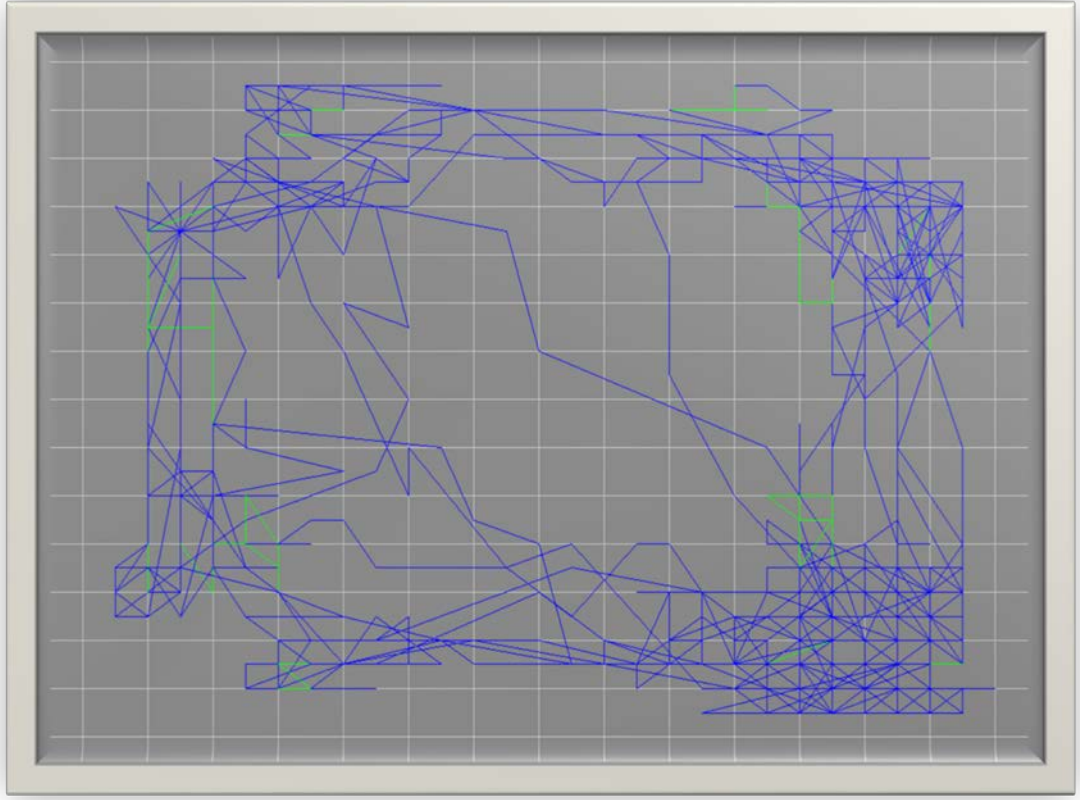
Kontrol grubuna göre ^{**}p < 0.0001

30 dakikalık süre zarfında yapılan lokomotor aktivite testinde deney hayvanlarının hareketleri cihaz tarafından sayılırken kafesin içindeki hareketleri şekilsel olarak rapor edilmektedir. Şekilsel datalar yardımıyla deney hayvanlarının iç dış alan tercihleri, ambulator hareketleri (mavi çizgiler) ve vertikal hareketleri (yeşil çizgiler) açıkça görülmektedir. Tüm deney gruplarından (kontrol, depresyon, essitalopram ve seftriakson) rastgele 2 farklı deney hayvanı seçilmiştir. Deney hayvanının deney sonunda (40. Gün) yapılan lokomotor aktivite testinde gösterdiği hareketlerin şekilleri aşağıda verilmiştir. Bu şekillere göre;

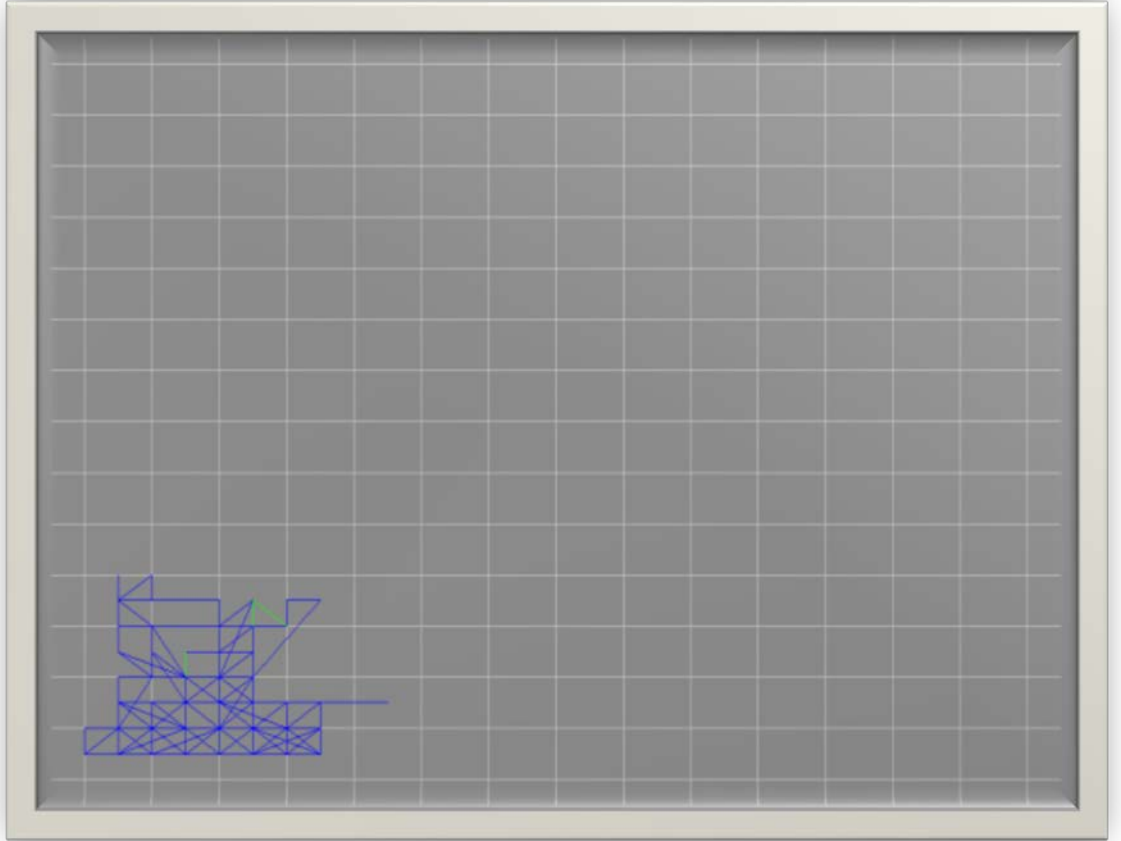
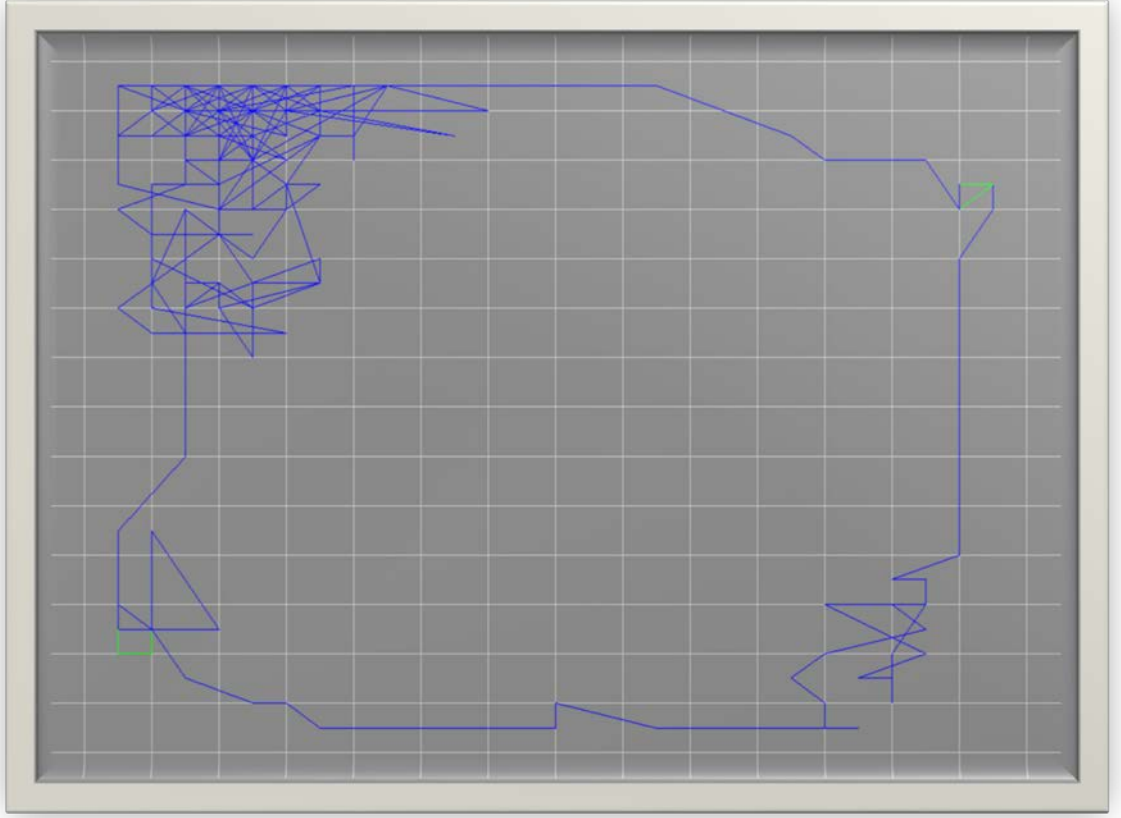
Verilen şekillerde kontrol grubundan seçilen herhangi 2 deney hayvanının da 30 dakikalık lokomotor aktivite testi süresince kafesin her köşesine gittiği ve iç alana geçmekten çekinmediği görülmüştür. Depresyon grubundan rastgele seçilen deney hayvanlarının ise genellikle bir köşede kaldıklarını, daha az hareket ettiklerini ve iç alana hiç geçmedikleri görülmüştür.

Essitalopram tedavisi uygulanan herhangi 2 deney hayvanının test süresince diğer köşelere de gittiğini, stres sonucu görülen hareket azlığını tersine çevirdiğini ve iç alana geçebildiklerini görmekteyiz.

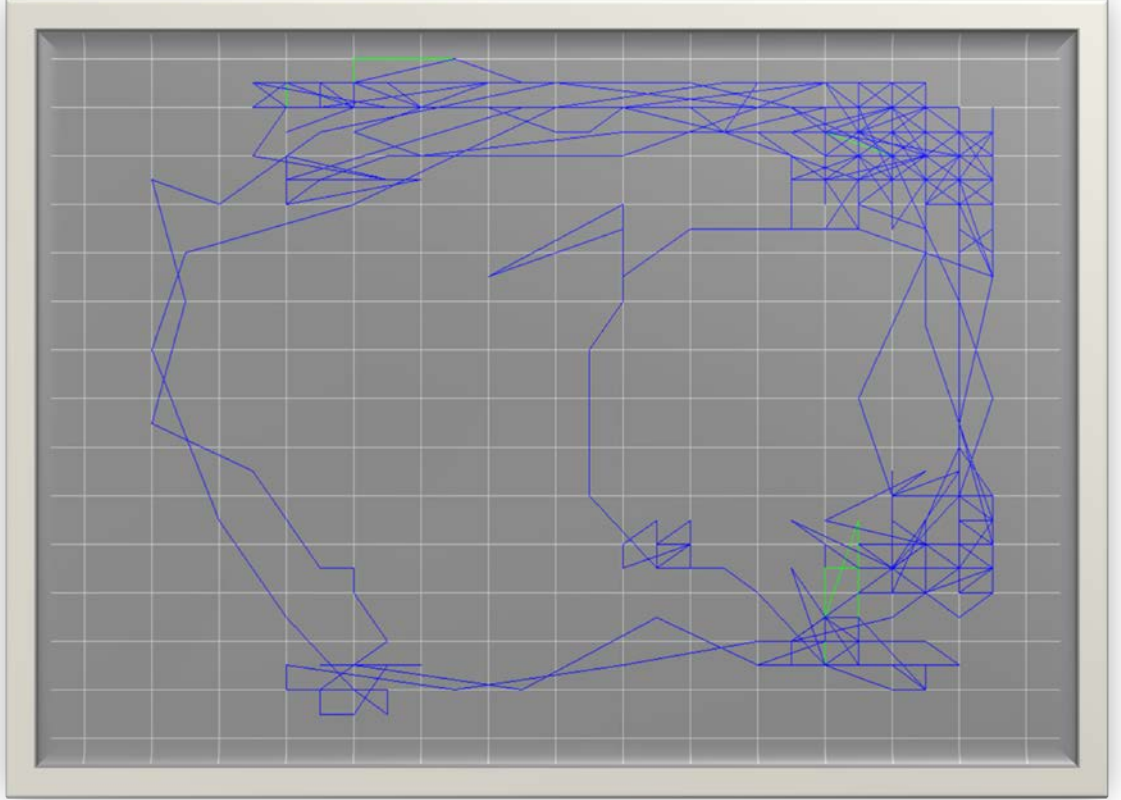
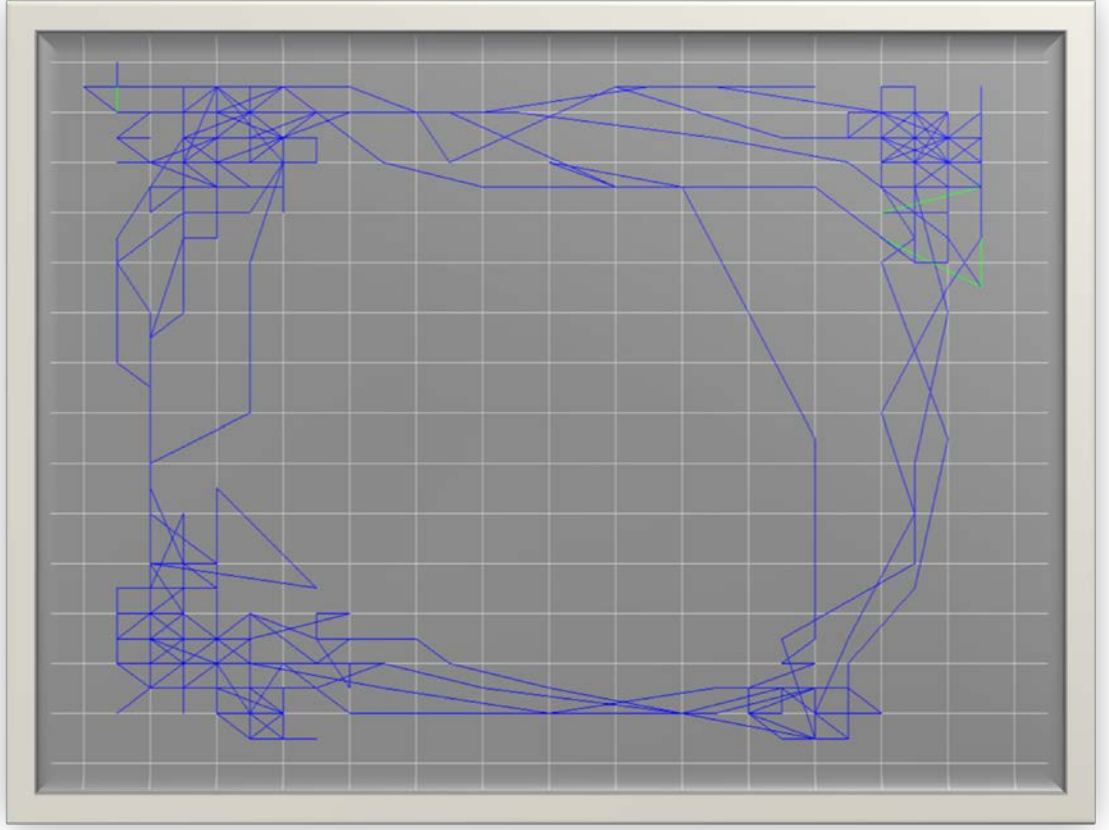
Seftriakson tedavisi uygulanan herhangi 2 deney hayvanının lokomotor testi esnasında diğer köşelere de gittiğini, depresyon grubuna göre daha fazla hareket ettiğini ve az da olsa iç alana geçtikleri görülmüştür.



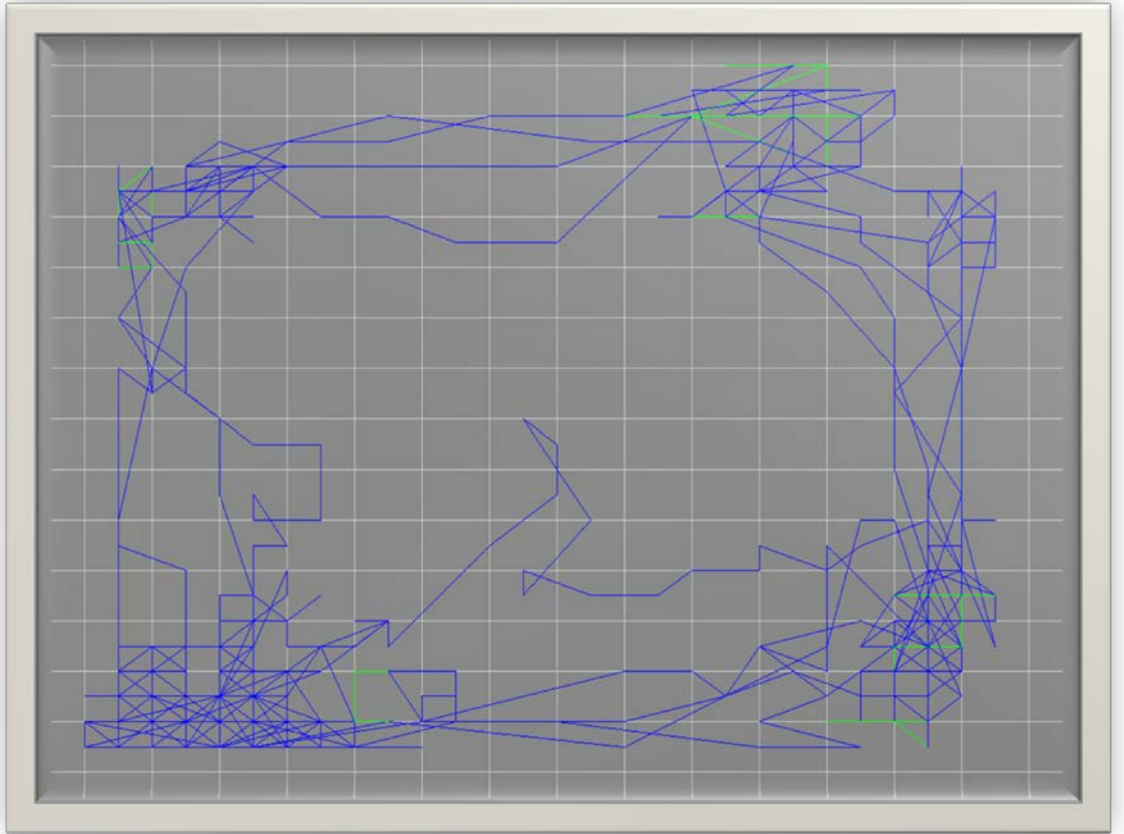
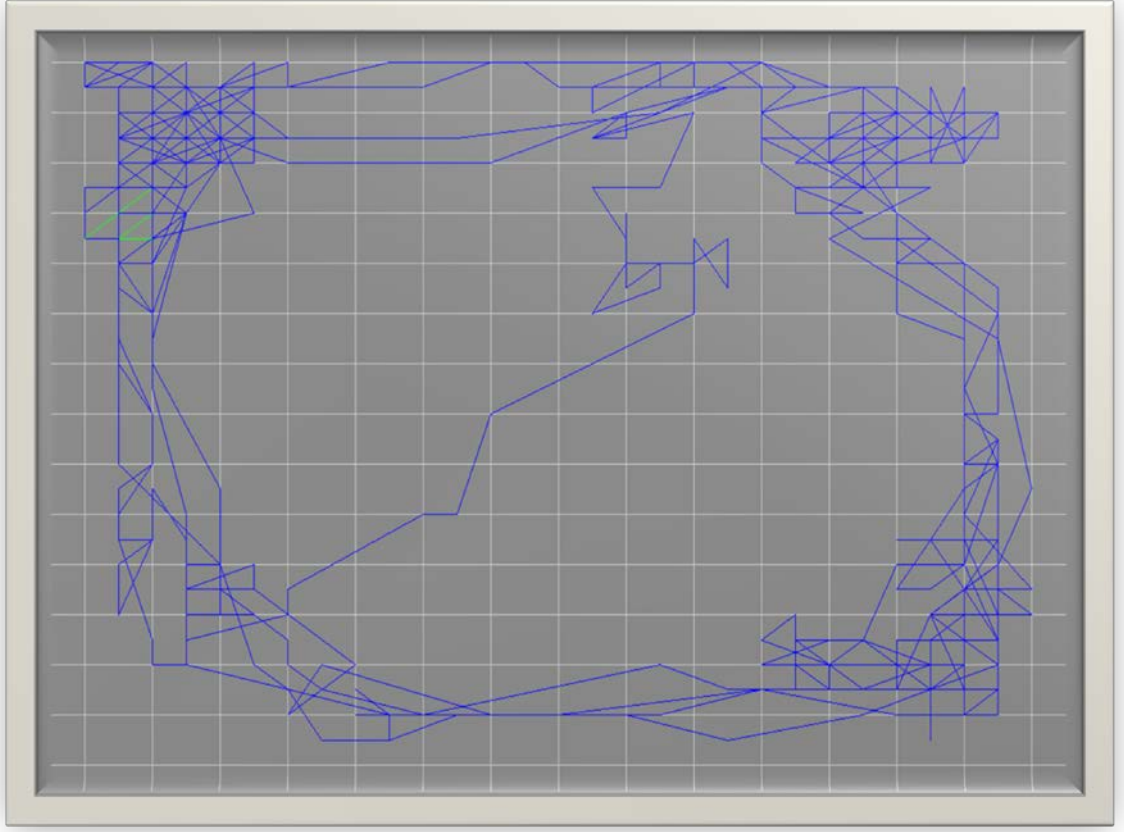
Şekil 4.1.1. Kontrol grubundaki bir sıçanın yaptığı hareketler.



Şekil 4.1.2. Depresyon grubundaki bir sıçanın yaptığı hareketler.



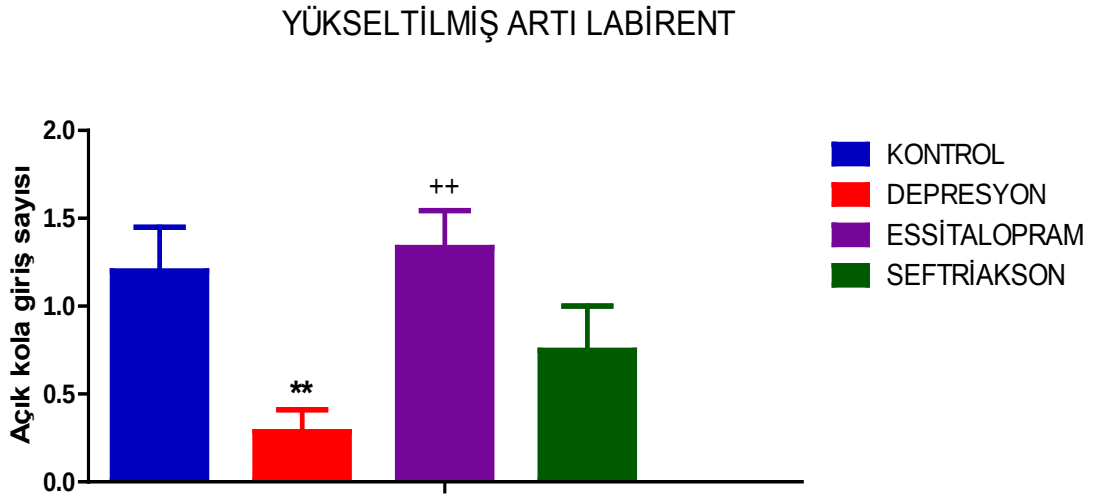
Şekil 4.1.3. Essitalopram grubundaki bir sıçanın yaptığı hareketler.



Şekil 4.1.4. Seftriakson grubundaki bir sıçanın yaptığı hareketler.

4.1.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Sonuçları

Yükseltilmiş artı labirent testinde 5 dakikalık süre içerisinde deney hayvanlarının açık kola giriş sayıları aşağıdaki şekilde özetlenmiştir. Kontrol grubunun ortalaması 1 ± 0.94 iken depresyon grubunda bu sayı düşerek 0.3 ± 0.5 olarak bulunmuştur. Essitalopram tedavisi ile bu sayı anlamlı bir artış göstererek grup ortalaması 1 ± 0.8 olarak bulunmuştur. Seftriakson tedavisi verilen grupta ise ortalama 0.5 ± 0.7 olarak bulunmuş ancak bu sayıdaki artış istatistiksel fark oluşturmamıştır.



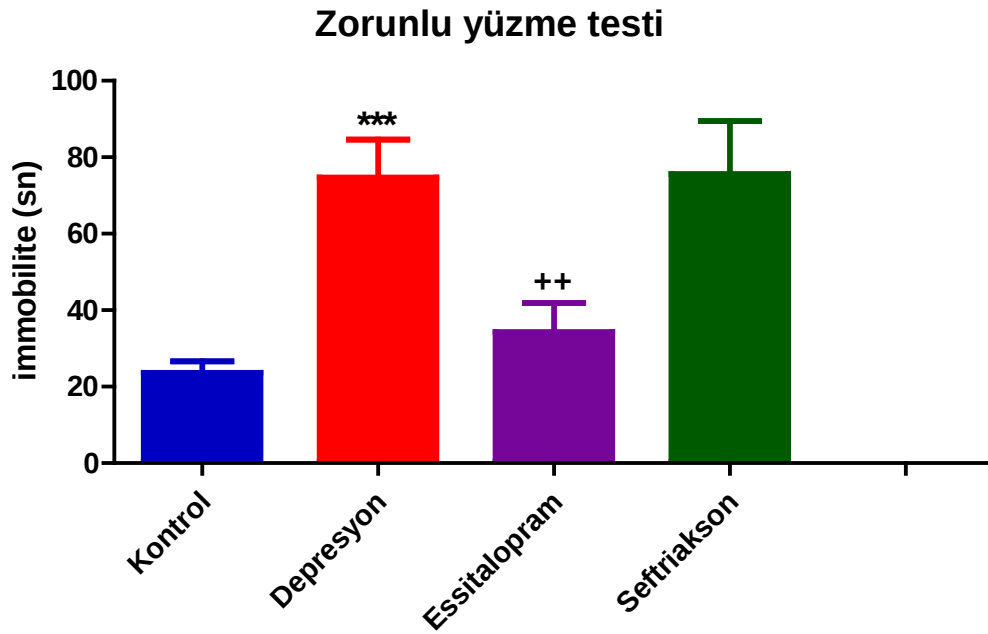
Şekil 4.1.5. Yükseltilmiş artı labirenti açık kola giriş sayısı.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.
Depresyon grubuna göre $++p < 0.001$, kontrol grubuna göre $**p < 0.001$

4.1.3. Zorunlu Yüzme Testi Sonuçları

5 dakikalık zorunlu yüzme testinde hareketsiz kalma süreleri saniye olarak verilmiştir. Hareketsiz kalma süresi kontrol grubunda 23.63 ± 8.484 sn, depresyon grubunda 74.70 ± 31.47 sn olarak bulunmuştur. Bu süre artışında anlamlı fark

gözlemlenmiştir. Essitalopram grubunun ortalamasının 34.25 ± 21.68 sn olması essitalopram tedavisinin hareketsiz kalma süresini kısalttığını göstermiştir. Essitalopram tedavisinde oluşan fark istatistiksel anlamlılık taşımaktadır. Seftriakson tedavisi ile hareketsiz kalma süresinin 75.60 ± 30.94 sn ortalama olması seftriakson tedavisinin hareketsiz kalma süresini etkilemediği görülmüştür.



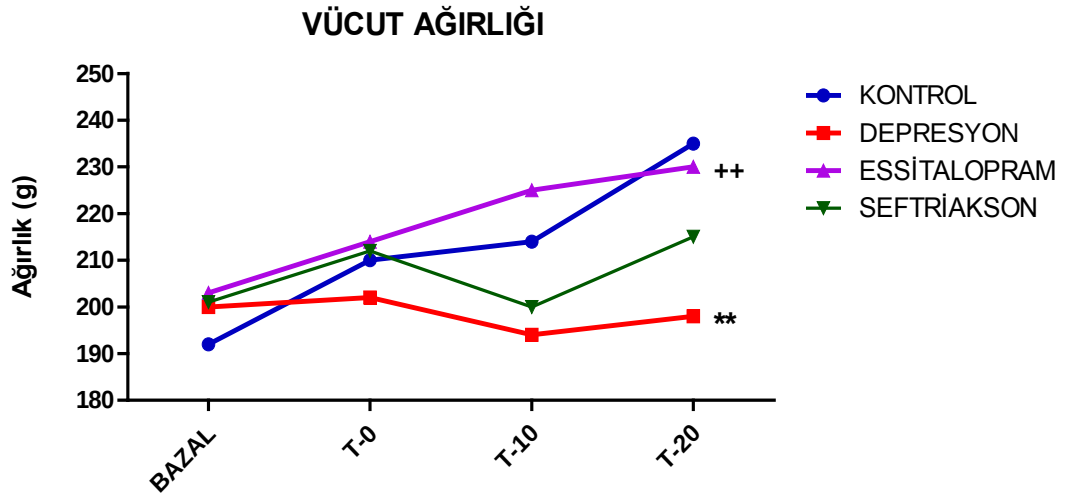
Şekil 4.1.6. Zorunlu yüzme testi hareketsiz kalma süreleri (saniye).

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.
Kontrole göre *** $p < 0.001$ ve depresyona göre ++ $p < 0.01$.

4.1.4. Vücut Ağırlığı

Tüm grupların deney süresinde belirli aralıklarla ağırlıkları ölçülmüş ve deney süresince deney hayvanlarının ağırlıklarındaki değişim aşağıdaki şekilde özetlenmiştir. Deneye başlamadan önce tüm grupların ağırlıkları ölçülüp bazal seviye olarak belirlenmiştir. Stres uygulamasının 20. gününün sonunda tedavinin 0. Günü olarak tekrar ölçülmüştür. 10 gün sonra tedavinin 10. günü, bundan 10 gün sonra tedavinin 20.

günü olarak ölçülmüştür. Deney sonunda kontrol grubuna göre depresyon grubunun kilo kaybı anlamlı fark oluşturmuştur. Bunun yanı sıra depresyon grubuna göre essitalopram grubu kilo kaybını geri çevirmiştir. Depresyon oluşturulan ve tedavi uygulanmayan deney hayvanların ağırlıkları 40 gün boyunca artmamıştır. Kontrol grubundaki deney hayvanlarının ağırlıkları 40 gün boyunca ortalama 40 g artmıştır. Essitalopram grubuna ise son 20 gün essitalopram tedavisi uygulanmış olup uygulanan tedavi ile ağırlık ortalamasında 32 g ağırlık artışı görülmüştür. Seftriakson tedavisi 40. Günde 15 g lık bir ağırlık artışına neden olmuştur. Kontrol grubunun ortalamaları sırasıyla 192.4 ± 14.0 , 206.5 ± 20.5 , 216.7 ± 23.1 , 239.0 ± 23.3 depresyon grubunun ortalaması sırasıyla 202.05 ± 23.4 , 197.18 ± 16.5 , 220.2 ± 17.01 , 240.3 ± 18.6 essitalopram grubunun ortalaması sırasıyla 203.6 ± 31.9 , 204 ± 24 , 234.8 ± 27.1 , 247.3 ± 27.8 seftriakson grubunun ortalaması sırasıyla 200.2 ± 9.2 , 199.1 ± 11.9 , 214.7 ± 16.4 , 240.8 ± 15 olarak tespit edilmiştir.

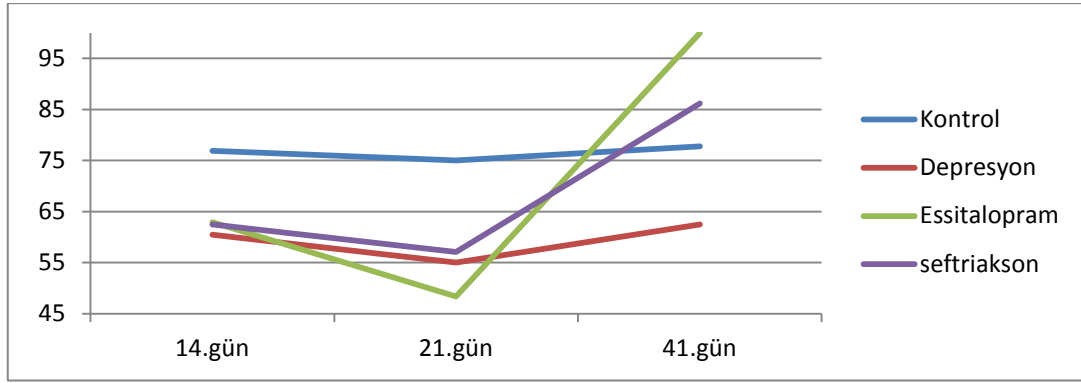


Şekil 4.1.7. Zamana göre ağırlık değişimleri.

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.
Kontrole göre $**p < 0.001$ ve depresyona göre $++p < 0.01$.

4.1.5. Sukroz Tüketimi

Her gruba eş zamanlı koyulan sukroz ve su çözeltilerinden tüketilen miktarlar belirlenerek her grubun sukroz tercihi ortaya konmuştur. Aşağıdaki tabloda grupların günlere göre tercihi verilmiştir. Sukroz tüketiminin toplam tüketilen sıvı hacmine oranı hesaplanarak bulunan değerler verilmiştir. Sukroz tüketim test günlerine göre sırasıyla kontrol grubu 76.9, 75, 77.8 depresyon grubu 60.5, 55, 62.5 essitalopram grubu 62.9, 48.4, 100 seftriakson grubu 62.5, 57.1, 86.2 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.1.8. Sukroz tüketim testi.

4.2. Voltametri Sonuçları

Her bölge için glutamat geri alım hızının ölçülmesi için cam pipet yardımıyla 200 milimolar konsantrasyonda hazırlanmış glutamat solüsyonundan toplamda 25 nanolitre verilmiştir.

Depresyonla ilişkisi bilinen hipokampusün CA3 bölgesinden alınan voltametrik kayıtlarda oluşan piklerin t80 süreleri (glutamatın geri alım süresinin t80'i) aşağıdaki tabloda özetlenmiştir. Kontrol grubunun geri alım süresinin ortalaması 3 ± 0 , depresyon grubunda ise bu ortalama 4.8 ± 0.45 olarak anlamlı şekilde uzamıştır. Essitalopram

tedavisi ile 3.2 ± 0.44 ortalamayla glutamat geri alım süresi anlamlı derecede kısalmıştır. Seftriakson tedavisi ise 5 ± 2 ortalamayla CA3 bölgesinde glutamat geri alım süresini etkilememiştir.

Tablo 4.2.1. CA3 bölgesindeki glutamat geri alım süreleri (sn).

Deney Grupları	Örnek sayısı	Ortalama $\pm$ SS
Kontrol	10	$3 \pm 0^+$
Depresyon	10	$4.8 \pm 0.45^*$
Essitalopram	10	$3.2 \pm 0.44^+$
Seftriakson	10	$5 \pm 2^*$

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Depresyon grubuna göre $^+p < 0.0001$

Kontrol grubuna göre $^*p < 0.05$

Hipokampusün DS bölgesinden alınan voltametrik kayıtlarda oluşan piklerin t80 süreleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir. Kontrol grubunun geri alım süresinin ortalaması 4.8 ± 0.45 , depresyon grubunda ise bu ortalama 7 ± 1.82 olarak anlamlı şekilde uzamıştır. Essitalopram tedavisi ile 4 ± 0.82 ortalamayla glutamat geri alım süresi anlamlı derecede kısalmıştır. Seftriakson tedavisi ile geri alım süresi 33.3 ± 0.58 ortalama olarak istatistiksel fark oluşturmuştur.

Tablo 4.2.2. DS bölgesindeki glutamat geri alım süreleri (sn).

Deney Grupları	Örnek sayısı	Ortalama $\pm$ SS
Kontrol	10	$4.8 \pm 0.45^+$
Depresyon	10	$7 \pm 1.82^*$
Essitalopram	10	$4 \pm 0.82^{++}$
Seftriakson	10	$33.3 \pm 0.58^{++}$

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Depresyon grubuna göre $^{++}p < 0.0001$, $^+p < 0.05$

Kontrol grubuna göre $^*p < 0.05$

Hipokampusün CC bölgesinden alınan voltametrik kayıtlarda oluşan piklerin t80 süreleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir. Kontrol grubunun geri alım süresinin ortalaması 3.14 ± 0.38 , depresyon grubunda ise bu ortalama 7.75 ± 0.5 olarak anlamlı şekilde uzamıştır. Essitalopram tedavisi ile 3 ± 0 ortalama ile glutamat geri alım süresi anlamlı derecede kısalmıştır. Seftriakson tedavisi ile geri alım süresi 4.17 ± 0.76 ortalama olarak istatistiksel fark oluşturmuştur.

Tablo 4.2.3. CC bölgesindeki glutamat geri alım süreleri (sn).

Deney Grupları	Örnek sayısı	Ortalama $\pm$ SS
Kontrol	10	$3.14 \pm 0.38^+$
Depresyon	10	$7.75 \pm 0.5^{**}$
Essitalopram	10	$3 \pm 0^+$
Seftriakson	10	$4.17 \pm 0.76^{+,*}$

Değerler ortalama $\pm$ standart sapma olarak ifade edilmiştir.

Depresyona göre $+p < 0.0001$

Kontrol grubuna göre $**p < 0.0001$, $*p < 0.05$

5. TARTIŞMA

Depresyon hastalığının oluşumunda glutamat nörotransmitterinin rol aldığını gösteren bilimsel deliller hızla artmaktadır. Glutamatın sentezini, geri alınımını ve metabolizmasını düzenleyen genlerin regülasyonu, glutamat seviyesinin artması, glutamaterjik reseptörlerin düzensiz fonksiyonları depresyonun patofizyolojisinde rol aldığı düşünülmektedir. Glutamat ile depresyon ilişkisini ortaya koyabilmek için fonksiyonel MR görüntüleme, hacim çalışmaları, histopatolojik çalışmalar ve mikrodializ çalışmaları yapılmıştır. Fakat sayılan çalışmaların hiç biri glutamatın sinaptik aralıktaki saniye saniye hareketlerini gösterememiştir. İn vivo voltametri tekniği ise nörotransmitterlerin hareketlerini saniyede bir tespit edebilmekte, ortamdaki bazal seviyelerini ortaya koyabilmekte ve glutamatın uzaklaştırılma parametreleri hakkında kesin bilgi vermektedir. Biz de depresyonda glutamat düzeylerindeki değişiklikleri tespit etmek için beyin depresyonla ilişkili bölgelerinde glutamat düzey değişimlerini in vivo voltametri tekniği ile test ettik. Depresyondaki monoamin hipotezinin gerçek olup olmadığının da ispatlanabileceği en etkili yöntem in vivo voltametridir. Nörotransmitter ölçümleri için çok önemli bir yöntem olan mikrodializ, pikomolar düzeylerde madde analizine imkân verse de, 20 dakikada bir örnek alınması, nörotransmitterler gibi saniyeler içerisinde salınıp geri alınan maddelere karşı yöntemin etkinliğini azaltmaktadır.

Yaptığımız çalışmada Wilner ve arkadaşları tarafından tarif edilmiş olan kronik öngörülemez hafif stres modeli ile depresyon oluşturulmuştur.²¹⁴ Depresyon modelinin olduğu lokomotor aktivite testi, yükseltilmiş artı labirent testi, zorunlu yüzme testi, sukroz tercih testi gibi davranış testleriyle teyit edilmiştir.²²¹

Tedavi edilmemiş major depresyonlu hastalarda ve hayvan modellerinde yapılan MR görüntüleme ve histopatolojik çalışmalarda CA, DS ve CC bölgelerinde volüm azalması tespit edilmiştir. Bu nedenle depresyon hayvan modeli oluşturduğumuz sıçanlarda beynin depresyonla ilişkili olduğu düşünülen ve anestezi altında elektrotlarla stereotaksik olarak güvenle girilebilecek bu bölgelerde in vivo voltametri çalışmaları yapılmıştır.^{213,224-226}

CA3, DS ve CC bölgelerinde lokal olarak uygulanan 200 milimolar eksojen glutamat klirensinin (ortamdan uzaklaştırılması) deney hayvanlarında anlamlı derecede uzadığı bulunmuştur. Doğrudan eksojen glutamatın kullanımı lokal potasyum uygulaması veya lokal elektriksel uygulama sonucu glutamat salınımı oluşturulmasından daha avantajlı olduğu düşünülmüştür. Çünkü diğer iki durumda da glutamatın dışında diğer nörotransmitterlerin de sinaptik aralığa salınması söz konusu olacaktı. Bu sayede oluşan elektrokimyasal sinyalin karakteri ve kaynağı tam olarak bilinmektedir. Böylece glutamatın sinaptik aralıktan geri alınım süresi ölçülebilmektedir. Eksitator aminoasitler 10 mikromolar konsantrasyondan yüksek olduğu zaman sinaptik aralığa ulaşabilir ve hücre dışı alanda birkaç mikrometre yayılabilir²²⁷ bu yüzden bizim çalışmamızda 200 milimolar 25 nanolitre dozunda glutamat sinaptik aralığa uygulanmış ve 10-100 mikromolar konsantrasyonda oluşmuş olan artışlar FAST-16 kayıt sistemi tarafından algılanmıştır.

2009 yılında Garcia ve arkadaşları depresyonun veziküler glutamat transporter 1 knockout fare modelinde MR spektroskopisi ile glutamat/GABA oranında artış tespit etmiştir.²²⁸ Mitani ve arkadaşları 2006 yılında depresyon hastalarında, depresyon şiddeti ile plazma glutamat seviyeleri arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermiştir.²²⁹ Aşırı sinaptik glutamat stimülasyonunun glia üstündeki glutamat taşıyıcılarına zarar verdiğini söyleyen çalışmalar olmasına rağmen²³⁰ nöron hücre kültürlerinde yapılmış olan

voltametric bir çalışmada yüksek doz glutamatın taşıyıcı aktivitesine zarar vermediği gösterilmiştir.²³¹

Matrisciano ve arkadaşları 2008 yılında parçacık duyarlı hat (flinders sensitive line) sıçanların hipokampusündeki presinaptik inhibitor otoreseptör olan mGluR2/3 reseptörlerinin ekspresyonlarının azaldığını göstermiştir.²³² Prefrontal korteksin hipokampusten glutamaterjik uyarılar aldığı da gösterilmiştir. Hipokampusteki mGlu reseptörlerinin kaybı prefrontal kortekse projeksiyon yapan glutamaterjik afferentlerin disinhibisyonuna yol açarak artmış glutamaterjik salınımına neden olur.⁹ Bizim çalışmamızda da prefrontal korteks kayıtları için CC bölgesi değerlendirilmiş ve bu bölgede glutamatın ortamdan geri alım sürelerinin uzadığı in vivo voltametric olarak gösterilmiştir.

Bu çalışmamız sonucunda elde edilen veriler ışığında glutamat nörotransmitterinin depresyonda rol aldığı ortaya konmuştur.

İn vivo yüksek hızlı kronoamperometrinin glutamatın hücre dışı alanda hızlıca uzaklaştırılmasını ölçmek için kullanılabilecek bir yöntem olduğu gösterilmiştir. Glutamatın sinaptik aralıktan uzaklaştırılması glutamat taşıyıcılarının aktivitesini göstermektedir. Elde ettiğimiz sonuçlar glutamat taşıyıcılarının fonksiyonlarının ve glutamat hareketlerinin in vivo olarak platin elektrotlarla seçici ve duyarlı bir şekilde tespit edilebileceğini göstermiştir. Söz konusu elektrotlar nafyon bariyeri kaplanarak glutamata seçici hale dönüştürülmüştür.

Glutamat geri alım süresindeki değişikliklerin bazı hastalıkların patofizyolojisinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir. Kronik ağrı ve ALS (amyotrofik lateral skleroz) bunlardan sadece iki tanesidir.^{99, 233, 234} Glutamat geri alımı, glutamat taşıyıcı aktiviteyle birebir ilişkilidir. Glutamat taşıyıcılarının aktivitelerinin artırılmasını sağlayan ilaçlar bu hastalıklarda faydalı bulunmuştur.²³⁵ Bu çalışmada da depresyon

oluşturulmuş deney hayvanlarının glutamat geri alım süresi normal hayvanlara göre farklı bulunmuştur. Bunun üzerine glial glutamat taşıyıcılarının aktivitelerini artırdığı ispatlanmış olan seftriakson depresyon modelinde tedavi amaçlı kullanılmıştır.²⁰⁵ Sonuçta DS ve CC bölgelerinde seftriakson tedavisinin glutamat taşınımını hızlandırdığı in vivo voltametrik olarak gösterilmiştir. Depresyon oluşturulmuş deney hayvanlarında glutamat geri alım hızı DS bölgesinde 7 saniye iken seftriakson tedavisi uygulanmış deney hayvanlarında bu hız 4 saniyeye düşmüştür. Aynı zamanda CC bölgesinde 7 den 3 saniyeye düştüğü çalışmamızın sonuçlarında gösterilmiştir. Bu hız ise depresyonlu hayvanlardan farklı kontrol grubundan farksızdır. Burada ilginç bir şekilde essitalopramın glutamat taşıyıcı aktiviteyi artırdığına dair herhangi bir çalışma bulunmamasına rağmen bizim çalışmamızla bu aktivitenin hızlandığı ilk kez gösterilmiştir. CA3 bölgesinde ise seftriakson taşıyıcı aktivite hızını artıramamış fakat essitalopram bu bölgede de taşıyıcı aktivite hızını artırabilmiştir. Wolak M.' nin 2013 yılında yaptığı çalışmada essitalopramın NMDA reseptör aktivasyonunu azalttığı gösterilmiştir²³⁶. Bizim çalışmamızda glutamat taşıyıcı aktivite hızının artması ortamdan glutamatın daha hızlı uzaklaşmasına neden olmakta ve NMDA reseptörüne ulaşacak olan glutamat miktarını azaltmaktadır ve bizim çalışmamız bu makalede söylenen NMDA aktivitesinin neden azaldığını açıklamaktadır. Seftriaksonun özellikle glutamatın GLT1 taşıyıcısının ekspresyonunu artırdığı bilinmektedir. EAAT1, EAAT3 ve EAAT4 taşıyıcılarının ekspresyonlarının seftriakson tedavisinden sonra değişmediği gösterilmiştir.¹⁷² Bir makalede CA3 bölgesinde EAAT1 seviyesinin diğer beyin bölgelerinden daha düşük olduğu gösterilmiştir.²³⁷ Bu delil CA3 bölgesinin depresyon biyolojisinde daha duyarlı olduğunu göstermektedir.²³⁸

Essitalopram tedavisinin antidepresan etkisi NMDA reseptörleri tarafından ortadan kaldırılmıştır. Yapılan bir çalışmada NMDA antagonisti CGP37849

antidepresan aktiviteyi artırmıştır. AMPA reseptörlerinin uyarılması ise antidepresan aktiviteye katkı yapmıştır.²³⁶

Essitalopramın depresyondaki faydalı etkisi sadece noradrenalin ve serotonin düzey artışı ile değil artmış glutamatın normalleştirilmesi ile de ilişkilidir. Yaptığımız çalışmada CA3 bölgesinde depresyon oluşturulmuş deney hayvanlarında glutamat geri alım hızı 4.8 sn olarak bulunurken essitalopram tedavisi uygulanan hayvanlarda bu hızın 3 saniyeye düştüğü görülmüştür. DS bölgesinde 7 saniyeden 4 saniyeye, CC bölgesinde ise 7 saniyeden 3 saniyeye düştüğü yaptığımız çalışmada gösterilmiştir. Araştırılan tüm bölgelerde essitalopram tedavisi glutamat geri alım sürelerini hızlandırmıştır. Essitalopramın diğer antidepresan ilaçlardan farklı olarak depresyon tedavisinde daha hızlı etki ettiği bildirilmiştir.²³⁹ Ayrıca NMDA reseptörü üstünde bağlayıcı bölgesi olan ketaminin de depresyon tedavisinde hızlı etki oluşturduğu gösterilmiştir.²⁴⁰ Bu iki çalışmayı bizim sonuçlarımızla birleştirdiğimiz zaman tedavideki hızlı etkinin glutamat üzerinden yürüdüğünü rahatlıkla söyleyebiliriz. Voltametrik olarak glutamatın, essitalopram tarafından uzaklaştırılmasının hızlandığını bu çalışmayla göstermiş olduk. Hızlı etki eden ketaminin glutamat reseptörünü kullanması hızlı etki eden essitalopramın da glutamatla ilişkili bir yoldan etki edebileceğini düşündürmektedir.

Yapılmış olan bir çalışmada depresyon oluşturulmuş sıçanlarda egzersiz ve essitalopram tedavisinin hipokampusta hücre proliferasyonunu artırdığı gösterilmiştir.²⁴¹ Bir başka çalışmada da farelerde egzersizle hipokampal hacmin arttığı ve buna paralel olarak glutamat seviyelerinin düştüğü gösterilmiştir.²⁴²

Depresyon oluşturulmuş deney hayvanlarında essitalopram ve seftriakson tedavisi ile anksiyolitik etki de gözlemlenmiştir. CC ve DS bölgelerinde essitalopram ve seftriakson tedavisi depresyonda görülen glutamat geri alım süresinin uzamasını

normale çevirmiş fakat CA3 bölgesinde sadece essitalopram geri alım süresinin uzamasını normale çevirmiştir. Seftriakson klinik olarak anksiyetenin daha iyi bir göstergesi olan yükseltilmiş artı labirent testinde açık kola giriş sayısını kontrole yaklaştırmıştır. Diğer yandan depresyonla daha fazla ilişkili olan zorunlu yüzme testinde hareketsiz kalma süresini kontrole yaklaştıramamıştır. Yaptığımız davranış testlerinde anksiyeteyi gösteren yükseltilmiş artı labirent testinin açık kola giriş sayılarına bakıldığında kontrol grubu 1 iken depresyon oluşturulmuş deney hayvanlarında 0.3'e düşmüş bu düşüşün seftriakson tedavisiyle 0.5'e çıktığı gösterilmiştir. Yaptığımız zorunlu yüzme testinde hareketsiz kalma süreleri; kontrol grubunda 23 saniye iken depresyon oluşturulmuş deney hayvanlarında bu süre 74 saniye olarak bulunmuştur. Bu sürenin seftriakson tedavisi ile sadece 34 saniyeye çıktığı görülmüştür. Bu sonuçlar bize seftriaksonun depresyondan ziyade anksiyete üzerinde daha fazla faydalı etkisinin olduğunu göstermiştir.²⁴³

Depresyonda esas etkilenen bölge hipokampustür. Hipokampusün en temel bölgelerinden olan cornu ammonis glutamat toksisitesine daha duyarlıdır.²³⁷ CA3 bölgesi depresyon ile birebir ilişkiliyken²²⁴ DS ve CC anksiyete ile ilişkilidir.^{244,245} Bu nedenle CA3 bölgesinde seftriakson tedavisi glutamat geri alımını hızlandıramamıştır. Fakat diğer DS ve CC bölgelerinde glutamat geri alımını hızlandırmıştır.

Depresyon oluşturulmuş deney hayvanlarında kilo alımı azalmış hatta kilo kaybı tespit edilmiştir. Depresyonda kaybedilen kilonun essitalopram tedavisi ile tekrar kazanıldığı ve kontrol grubunun ağırlık ortalamalarına yaklaştığı görülmüştür. Depresyon oluşturulmuş deney hayvanlarına uygulanan seftriakson tedavisi ile az miktarda ağırlık artışı görülmüştür. Depresyonda iştah ve kilo azalması beklenen bir durumdur²⁴⁶ ve antidepresan tedavi sonrası bu kilo kaybının yerine konduğu

gösterilmiştir.²⁴⁷ Seftriakson tedavisi uygulanan hayvanlarda anlamlı kilo artışının gözlemlenmesi glutamatın kilo artışı ile ilişkisinin olduğunu göstermiştir.²⁴⁸

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Depresyon oluşturulmuş deney hayvanlarında depresyonla ilişkili beyin bölgeleri incelenmiştir. Depresyonla ilişkili olan CA3, DS ve CC bölgelerinde glutamatın geri alım hızının süresinin %80 i (t80) depresyon oluşturulmuş grup ile kontrol grubu arasında farklılık olduğu gözlemlenmiştir. İn vivo voltametrik olarak yapılan incelemelerde DS ve CC bölgelerinde essitalopram ve seftriakson tedavisinin glutamat geri alımındaki yavaşlamayı düzelttiği görülmüştür. CA3 bölgesinde ise sadece essitalopram tedavisi glutamat geri alımındaki yavaşlamayı düzeltmiştir. Seftriakson tedavisinin glutamat transporter hızını düzeltici etkisi CA3 bölgesinde gözlenmemiştir. CA3 bölgesi depresyona daha spesifik iken, DS ve CC bölgelerinin hem depresyon hem de anksiyeteye yönelik olduğu görülmüştür.

Depresyon hastalığının tedavisinde günümüzde sıklıkla kullanılmakta olan antidepresan ilaçlar tedavi etkinliği açısından yetersiz kalmaktadır. Bu yetersizliğin esas nedeni depresyon hastalığının etiyolojisindeki mevcut yaklaşımların da yetersiz kalmasıdır.

Bu çalışma sonuçlarına göre glutamaterjik sistemin depresyon hastalığının etiyolojisinde ve tedavisinde önemli bir yeri olduğu görülmüştür. Depresyon hastalığının tedavisinde glutamat, glutamat taşıyıcıları ve glutamat reseptörleri üzerinden etki eden yeni tedavi hedefleri olabilir.

KAYNAKLAR

1. Chandley MJ, Szebeni K, Szebeni A, Crawford J, Stockmeier CA, Turecki G, Miguel-Hidalgo JJ, Ordway GA. Gene expression deficits in pontine locus coeruleus astrocytes in men with major depressive disorder. *Journal Psychiatry Neuroscience*, 2013, 38: 276-284.
2. Gaynes BN. Identifying difficult-to-treat depression: differential diagnosis, subtypes, and comorbidities. *Journal of Clinical Psychiatry*, 2009, 70 Suppl 6: 10-15.
3. Rush AJ, Trivedi MH, Wisniewski SR, Stewart JW, Nierenberg AA, Thase ME, Ritz L, Biggs MM, Warden D, Luther JF, Shores-Wilson K, Niederehe G, Fava M, Team SDS. Bupropion-SR, sertraline, or venlafaxine-XR after failure of SSRIs for depression. *The New England Journal of Medicine*, 2006, 354: 1231-1242.
4. Strzelecki D, Tabaszewska A, Barszcz Z, Jozefowicz O, Kropiwnicki P, Rabe-Jablonska J. A 10-week memantine treatment in bipolar depression: a case report. Focus on depressive symptomatology, cognitive parameters and quality of life. *Psychiatry Investigation*, 2013, 10: 421-424.
5. Mathews DC, Henter ID, Zarate CA. Targeting the glutamatergic system to treat major depressive disorder: rationale and progress to date. *Drugs*, 2012, 72: 1313-1333.
6. Lapidus KA, Soleimani L, Murrough JW. Novel glutamatergic drugs for the treatment of mood disorders. *Journal Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 2013, 9: 1101-1112.
7. Akinfiresoye L, Tizabi Y. Antidepressant effects of AMPA and ketamine combination: role of hippocampal BDNF, synapsin, and mTOR. *Psychopharmacology*, 2013, 230: 291-298.
8. Cetin M, Aricioglu F. Unmet needs in psychiatry and emerging novel pharmacological agents. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 2013, 23:199-204.

9. Hascup KN, Hascup ER, Stephens ML, Glaser PE, Yoshitake T, Mathe AA, Gerhardt GA, Kehr J. Resting glutamate levels and rapid glutamate transients in the prefrontal cortex of the Flinders Sensitive Line rat: a genetic rodent model of depression. *Neuropsychopharmacology*, 2011, 36: 1769-1777.
10. Sacher J, Neumann J, Funfstuck T, Soliman A, Villringer A, Schroeter ML. Mapping the depressed brain: a meta-analysis of structural and functional alterations in major depressive disorder. *Journal of Affective Disorders*, 2012, 140: 142-148.
11. Matos-Ocasio F, Hernandez-Lopez A, Thompson KJ. Ceftriaxone, a GLT-1 transporter activator, disrupts hippocampal learning in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2014, 4-8.
12. Aziz E, Nathan B, McKeever J. Anesthetic and analgesic practices in Avicenna's Canon of Medicine. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2000, 28: 145-151.
13. Syed İB. Islamic Medicine: 1000 years ahead of its times". *Journal of the Islamic Medical Association*, 2002, 2:2-9.
14. Brater DC, Daly WJ. Clinical pharmacology in the Middle Ages: Principles that presage the 21st century, *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 2000, 67:447-450.
15. Sadock BJ, Sadock AV, Kaplan IH. Comprehensive Textbook of Psychiatry: Ahıskal HS (eds). *Mood disorder: historical introduction and conceptual overview*, 1. Edition, Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2005:1559-1575
16. Örsel S. Depresyonda Tedavi: Genel ilkeler ve kullanılan antidepresan ilaçlar. *Klinik Psikiyatri*, 2004, 4:17-24.
17. Sami P, Pirkola SP, Isometsä E, Suvisaari Y, Aro H, Joukamaa M, Poikolainen K, Koskinen S, Aromaa A, Lönnqvist JK. DSM-IV mood-, anxiety- and alcohol use disorders and their comorbidity in the Finnish general population. *Social Psychiatry and Psychiatric Epidemiology*, 2005, 40:1-10

18. Dilbaz N, Seber G. Umutsuzluk kavramı: depresyon ve intiharda önemi. *Kriz*. 1993, 1: 134-138.
19. Savrun M. Depresyonun tanımı ve epidemiyolojisi. *İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri; Depresyon, somatizasyon ve psikiyatrik aciller sempozyumu*, 1990, 11-17.
20. Lieb R, Isensee B, Hofler M, Pfister H, Wittchen HU. Parental major depression and the risk of depression and other mental disorders in offspring: a prospective-longitudinal community study. *Archives of General Psychiatry*, 2002, 59: 365-374.
21. Bierut LJ, Heath AC, Bucholz KK, Dinwiddie SH, Madden PA, Statham DJ, Dunne MP, Martin NG. Major depressive disorder in a community-based twin sample: are there different genetic and environmental contributions for men and women? *Archives of General Psychiatry*, 1999, 56: 557-563.
22. Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *The American Journal of Psychiatry*, 1965, 122: 509-522.
23. Slattery DA, Hudson AL, Nutt DJ. Invited review: the evolution of antidepressant mechanisms. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 2004, 18: 1-21.
24. Şahin C, Arıcıoğlu F. Depresyon ve Sitokin Hipotezinde Yeni Bir Boyut: 'NLRP3 İnflamazomu'. *Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 2013, 3: 65-68.
25. Braestrup C, Nielsen M. Anxiety. *Lancet*, 1982, 2: 1030-1034.
26. Ninan PT. The functional anatomy, neurochemistry, and pharmacology of anxiety. *Journal Clinical Psychiatry*, 1999, 22: 12-17.
27. Dodel RC, Du Y, Bales KR, Ling ZD, Carvey PM, Paul SM. Peptide inhibitors of caspase-3-like proteases attenuate 1-methyl-4-phenylpyridinium-induced toxicity of cultured fetal rat mesencephalic dopamine neurons. *Neuroscience*, 1998, 86: 701-707.

28. Barry M, Bannister LH, Standring SM. Nervous System. In: Williams PL (eds). *Gray's Anatomy*, 38. Edition. London, Churchill Livingstone, 1995: 1121-5
29. Carpenter MB, Sutin J. *Human Neuroanatomy*, 8. Edition. Baltimore, Williams & Wilkins Press, 1983: 237.
30. Brodal H. *Neurological Anatomy*, 3. Edition. Oxford, Oxford University Press, 1981: 1546–1550.
31. Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology*. 1. Baskı. Merck yayıncılık, 1987: 980-981.
32. Duman RS. Pathophysiology of depression and innovative treatments: remodeling glutamatergic synaptic connections. *Dialogues in Clinical Neuroscience*, 2014, 16: 11-27.
33. Sloviter RS. Decreased hippocampal inhibition and a selective loss of interneurons in experimental epilepsy. *Science*, 1987, 235: 73-76.
34. Smeyne RJ, Vendrell M, Hayward M, Baker SJ, Miao GG, Schilling K, Robertson LM, Curran T, Morgan JJ. Continuous c-fos expression precedes programmed cell death in vivo. *Nature*, 1993, 363: 166-169.
35. Aktan ZA. Limbik Sistem Sendrom, 1997, 9: 65-69.
36. Simon NM, McNamara K, Chow CW, Maser RS, Papakostas GI, Pollack MH, Nierenberg AA, Fava M, Wong KK. A detailed examination of cytokine abnormalities in Major Depressive Disorder. *European Neuropsychopharmacology*, 2008, 18: 230-233.
37. Hannestad J, DellaGioia N, Bloch M. The effect of antidepressant medication treatment on serum levels of inflammatory cytokines: a meta-analysis. *Neuropsychopharmacology*, 2011, 36: 2452-2459.

38. Kenis G, Maes M. Effects of antidepressants on the production of cytokines. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2002, 5: 401-412.
39. Stetler C, Miller GE. Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: a quantitative summary of four decades of research. *Psychosomatic Medicine*, 2011, 73: 114-126.
40. Berkenbosch F, Van Oers J, del Rey A, Tilders F, Besedovsky H. Corticotropin-releasing factor-producing neurons in the rat activated by interleukin-1. *Science*, 1987, 238: 524-526.
41. Sanacora G, Treccani G, Popoli M. Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. *Neuropharmacology*, 2012, 62: 63-77.
42. Price JL, Drevets WC. Neurocircuitry of mood disorders. *Neuropsychopharmacology*, 2010, 35: 192-216.
43. Du MY, Wu QZ, Yue Q, Li J, Liao Y, Kuang WH, Huang XQ, Chan RC, Mechelli A, Gong QY. Voxelwise meta-analysis of gray matter reduction in major depressive disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2012, 36: 11-16.
44. Bora E, Fornito A, Pantelis C, Yucel M. Gray matter abnormalities in Major Depressive Disorder: a meta-analysis of voxel based morphometry studies. *The Journal of Affective Disorders*, 2012, 138: 9-18.
45. Murrough JW, Iacoviello B, Neumeister A, Charney DS, Iosifescu DV. Cognitive dysfunction in depression: neurocircuitry and new therapeutic strategies. *Neurobiology of Learning and Memory*, 2011, 96: 553-563.

46. Marsden WN. Stressor-induced NMDAR dysfunction as a unifying hypothesis for the aetiology, pathogenesis and comorbidity of clinical depression. *Medical Hypotheses*, 2011, 77: 508-528.
47. Kubera M, Obuchowicz E, Goehler L, Brzeszcz J, Maes M. In animal models, psychosocial stress-induced (neuro)inflammation, apoptosis and reduced neurogenesis are associated to the onset of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2011, 35: 744-759.
48. Pittenger C, Duman RS. Stress, depression, and neuroplasticity: a convergence of mechanisms. *Neuropsychopharmacology*, 2008, 33: 88-109.
49. Marsden WN. Synaptic plasticity in depression: molecular, cellular and functional correlates. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2013, 43: 168-184.
50. Czeh B, Michaelis T, Watanabe T, Frahm J, de Biurrun G, van Kampen M, Bartolomucci A, Fuchs E. Stress-induced changes in cerebral metabolites, hippocampal volume, and cell proliferation are prevented by antidepressant treatment with tianeptine. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2001, 98: 12796-12801.
51. Uzbay T. Anksiyete ve depresyonun nörobiyolojisi. *Klinik Psikiyatri*, 2004, 4: 3-11.
52. Reagan LP, Rosell DR, Wood GE, Spedding M, Munoz C, Rothstein J, McEwen BS. Chronic restraint stress up-regulates GLT-1 mRNA and protein expression in the rat hippocampus: reversal by tianeptine. *The Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101: 2179-2184.
53. Kullmann DM, Lamsa KP. LTP and LTD in cortical GABAergic interneurons: emerging rules and roles. *Neuropharmacology*, 2011, 60: 712-719.

54. Markram H, Gerstner W, Sjostrom PJ. A history of spike-timing-dependent plasticity. *Frontiers in Synaptic Neuroscience*, 2011, 3: 4.
55. Mendez P, Bacci A. Assortment of GABAergic plasticity in the cortical interneuron melting pot. *Neural Plasticity*, 2011: 976856.
56. Rocher C, Spedding M, Munoz C, Jay TM. Acute stress-induced changes in hippocampal/prefrontal circuits in rats: effects of antidepressants. *Cerebral Cortex*, 2004, 14: 224-229.
57. Lucassen PJ, Fuchs E, Czeh B. Antidepressant treatment with tianeptine reduces apoptosis in the hippocampal dentate gyrus and temporal cortex. *Biological Psychiatry*, 2004, 55: 789-796.
58. Çetin M, Çilden Ş, Başoğlu C, Tarhan N, Burkovik Y. Saldırganlık davranışının biyokimyasal ve nöroendokrinolojik göstergelerinin araştırılması: Kontrollü bir çalışma. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 1996, 4: 1-4.
59. Kayaalp O. *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*. 12. Baskı. Ankara, Pelikan Yayıncılık, 2009.
60. Brick J, Erickson C. Drugs, the brain, and behavior, The pharmacology of abuse and dependence. *The Haworth Medical*, 1998: 119-131.
61. Emrich HM, Von Zerssen D, Kissling W, Moller HJ, Windorfer A. Effect of sodium valproate on mania. The GABA-hypothesis of affective disorders. *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten*, 1980, 229: 1-16.
62. Shiah IS, Yatham LN. GABA function in mood disorders: an update and critical review. *Life Sciences*, 1998, 63: 1289-12303.
63. Lloyd KG, Zivkovic B, Scatton B, Morselli PL, Bartholini G. The gabaergic hypothesis of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 1989, 13: 341-351.

64. Petty F. GABA and mood disorders: a brief review and hypothesis. *The Journal of Affective Disorders*, 1995, 34: 275-281.
65. Markou A, Kosten TR, Koob GF. Neurobiological similarities in depression and drug dependence: a self-medication hypothesis. *Neuropsychopharmacology*, 1998, 18: 135-174.
66. Reisine T. Adaptive changes in catecholamine receptors in the central nervous system. *Neuroscience*, 1981, 6: 1471-1502.
67. Redmond DE, Huang YH. Current concepts. II. New evidence for a locus coeruleus-norepinephrine connection with anxiety. *Life Science*, 1979, 25: 2149-2162.
68. Stahl SM. Paying attention to your acetylcholine, Part 1: structural organization of nicotinic receptors. *Journal Clinical Psychiatry*, 2000, 61: 547-548.
69. Dubovsky SL, Thomas M. Beyond specificity: effects of serotonin and serotonergic treatments on psychobiological dysfunction. *Journal of Psychosomatic Research*, 1995, 39: 429-444.
70. Papp M, Moryl E. Antidepressant activity of non-competitive and competitive NMDA receptor antagonists in a chronic mild stress model of depression. *The European Journal of Pharmacology*, 1994, 263: 1-7.
71. Campbell S, Macqueen G. The role of the hippocampus in the pathophysiology of major depression. *Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 2004, 29: 417-426.
72. Davis M RD, Casell M. Neurotransmission in the rat amygdala related to fear and anxiety. *Trends in Neurosciences*, 1992, 7: 208-214.
73. Carvey PM. Drug Action in the Central Nervous System. *Oxford University*, 1998: 123-150.
74. Lusén PT, Bayer JL, Selis SR, Gwirtsman HE, Shelton RC, Bird RP, Nash JL. *Duygudurum bozuklukları*. Güneş kitabevi, 2003: 290-327.

75. Golinkoff M, Sweeney JA. Cognitive impairments in depression. *J The online version of Journal of Affective Disorders*, 1989, 17: 105-112.
76. Işık E. *Depresyon ve bipolar bozukluklar*. Ankara, Görsel sanatlar matbaacılık, 2003: 23-32
77. Gönül AS. Cortico-striato-cerebellar circuit dysfunction in psychotic (delusional) depression. *Yeni symposium*, 2002, 40: 76-77.
78. Drevets WC. Functional neuroimaging studies of depression: the anatomy of melancholia. *The Annual Review of Medicine*, 1998, 49: 341-361.
79. Özpoyraz N. Depresyonda nöroanatomik bağlantılar. *Klinik Psikiyatri*, 2002, 4: 68-72.
80. Vastag B. Decade of work shows depression is physical. *The Journal of the American Medical Association*, 2002, 287: 1787-1788.
81. Baxter LR, Phelps ME, Mazziotta JC, Schwartz JM, Gerner RH, Selin CE, Sumida RM. Cerebral metabolic rates for glucose in mood disorders. Studies with positron emission tomography and fluorodeoxyglucose F 18. *Archives of General Psychiatry*, 1985, 42: 441-447.
82. Martinot JL, Hardy P, Feline A, Huret JD, Mazoyer B, Attar-Levy D, Pappata S, Syrota A. Left prefrontal glucose hypometabolism in the depressed state: a confirmation. *The American Journal of Psychiatry's*, 1990, 147: 1313-1317.
83. Krishnan V, Nestler EJ. Linking molecules to mood: new insight into the biology of depression. *The American Journal of Psychiatry's*, 2010, 167: 1305-1320.
84. Vogt BA. Pain and emotion interactions in subregions of the cingulate gyrus. *Nature Reviews Neuroscience*, 2005, 6: 533-544.

85. McKinnon MC, Yucel K, Nazarov A, MacQueen GM. A meta-analysis examining clinical predictors of hippocampal volume in patients with major depressive disorder. *The Journal of Psychiatry and Neuroscience*, 2009, 34: 41-54.
86. Sapolsky RM. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Archives of General Psychiatry*, 2000, 57: 925-935.
87. Czeh B, Lucassen PJ. What causes the hippocampal volume decrease in depression? Are neurogenesis, glial changes and apoptosis implicated? *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 2007, 257: 250-260.
88. Joels M, Karst H, Alfarez D, Heine VM, Qin Y, van Riel E, Verkuyl M, Lucassen PJ, Krugers HJ. Effects of chronic stress on structure and cell function in rat hippocampus and hypothalamus. *Stress*, 2004, 7: 221-231.
89. McKernan DP, Dinan TG, Cryan JF. "Killing the Blues": a role for cellular suicide (apoptosis) in depression and the antidepressant response? *Progress in Neurobiology*, 2009, 88: 246-263.
90. Songur A, Özen O, Sarsılmaz M. Hipokampus. *Türkiye Klinikleri*, 2001, 21: 427-431.
91. Arıncı K, Elhan A, *Anatomi*, 1. Baskı. Ankara, Güneş Kitabevi, 1995:403-4.
92. Barr ML, Klerman JA. *The Human Nervous System*, 5. Edition. Philadelphia, JB Lippincott Comprehensive, 1988:266-9
93. Malykhin NV, Lebel RM, Coupland NJ, Wilman AH, Carter R. In vivo quantification of hippocampal subfields using 4.7. T fast spin echo imaging. *Neuroimage*, 2010, 49:1224-1230.
94. Bliss TV, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the dentate area of the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path. *Journal of Physiology*, 1973, 232: 331-356.

95. Szekely AD, Krebs JR. Efferent connectivity of the hippocampal formation of the zebra finch (*Taenopygia guttata*): an anterograde pathway tracing study using *Phaseolus vulgaris* leucoagglutinin. *The Journal of Comparative Neurology*, 1996, 368: 198-214.
96. Witter MP, Van Hoesen GW, Amaral DG. Topographical organization of the entorhinal projection to the dentate gyrus of the monkey. *The Journal of Neuroscience*, 1989, 9: 216-228.
97. Steward O, Scoville SA. Cells of origin of entorhinal cortical afferents to the hippocampus and fascia dentata of the rat. *The Journal of Comparative Neurology*, 1976, 169: 347-370.
98. Howland RD, Mycek M. Lippincott's Illustrated Reviews. Çeviri: Onat F, Gören Z, Karaalp A. *Farmakoloji*, 3. Baskı. Ankara, Nobel Tıp Kitabevi, 2009.
99. Türk Farmakoloji Derneği, Glutamat toksisitesi, http://www.tfd.org.tr/eski/TFD_kongre_2007/tfd2007_51_Hacimuftuoglu.pdf.
09.04.2014
100. Conn PJ, Pin JP. Pharmacology and functions of metabotropic glutamate receptors. *The Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 1997, 37: 205-237.
101. Sanacora G, Mason GF, Rothman DL, Krystal JH. Increased occipital cortex GABA concentrations in depressed patients after therapy with selective serotonin reuptake inhibitors. *The American Journal of Psychiatry's*, 2002, 159: 663-665.
102. Yüksel N. *Psikofarmakoloji*. 3. Baskı. Ankara, MN medikal ve nobel, 2007: 32-34
103. Wroblewski JT, Danysz W. Modulation of glutamate receptors: molecular mechanisms and functional implications. *The Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 1989, 29: 441-474.

104. Danysz W, Raulli R, Wroblewski JT. Concanavalin A enhances quisqualate-induced calcium influx in cerebellar granule cells in culture. *Acta Neurobiologiae Experimentalis-Warsaw*, 1996, 56: 649-656.
105. Wiley JL, Cristello AF, Balster RL. Effects of site-selective NMDA receptor antagonists in an elevated plus-maze model of anxiety in mice. *The European Journal of Pharmacology*, 1995, 294: 101-107.
106. Skolnick P, Layer RT, Popik P, Nowak G, Paul IA, Trullas R. Adaptation of N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptors following antidepressant treatment: implications for the pharmacotherapy of depression. *Pharmacopsychiatry*, 1996, 29: 23-26.
107. Carlsson ML. On the role of prefrontal cortex glutamate for the antithetical phenomenology of obsessive compulsive disorder and attention deficit hyperactivity disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2001, 25: 5-26.
108. Danbolt NC. Glutamate uptake. *Progress in Neurobiology*, 2001, 65: 1-105.
109. Aricioglu F. Understanding Depression: New Neurobiological and Clinical Perspectives. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 2012, 22: 6.
110. Moghaddam B, Bolinao ML, Stein-Behrens B, Sapolsky R. Glucocorticoids mediate the stress-induced extracellular accumulation of glutamate. *Brain Research*, 1994, 655: 251-254.
111. Calabresi P, Maj R, Pisani A, Mercuri NB, Bernardi G. Long-term synaptic depression in the striatum: physiological and pharmacological characterization. *The Journal of Neuroscience*, 1992, 12: 4224-4233.
112. Monaghan DT, Bridges RJ, Cotman CW. The excitatory amino acid receptors: their classes, pharmacology, and distinct properties in the function of the central

nervous system. *The Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 1989, 29: 365-402.

113. Muller D, Joly M, Lynch G. Contributions of quisqualate and NMDA receptors to the induction and expression of LTP. *Science*, 1988, 242: 1694-1697.

114. Young AB, Fagg GE. Excitatory amino acid receptors in the brain: membrane binding and receptor autoradiographic approaches. *Trends in Pharmacological Sciences*, 1990, 11: 126-133.

115. Pin JP, Duvoisin R. The metabotropic glutamate receptors: structure and functions. *Neuropharmacology*, 1995, 34: 1-26.

116. Pilc A, Wieronska JM, Skolnick P. Glutamate-based antidepressants: preclinical psychopharmacology. *Biological Psychiatry*, 2013, 73: 1125-1132.

117. Farooqui AA, Horrocks LA. Excitatory amino acid receptors, neural membrane phospholipid metabolism and neurological disorders. *Brain*, 1991, 16: 171-191.

118. Hansen AJ. Effect of anoxia on ion distribution in the brain. *The Annual Review of Physiology*, 1985, 65: 101-148.

119. Orrenius S, Ankarcrona M, Nicotera P. Mechanisms of calcium-related cell death. *Advances in neurology*, 1996, 71: 137-49; discussion 149-151.

120. Siesjo BK. Cerebral circulation and metabolism. *Journal of Neurosurgery*, 1984, 60: 883-908.

121. Siesjo BK. Mechanisms of ischemic brain damage. *Crit Care Med*, 1988, 16: 954-963.

122. Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part II: Mechanisms of damage and treatment. *Journal of Neurosurgery*, 1992, 77: 337-354.

123. Siesjo BK. Pathophysiology and treatment of focal cerebral ischemia. Part I: Pathophysiology. *Journal of Neurosurgery*, 1992, 77: 169-184.

124. Nellgard B, Wieloch T. Postischemic blockade of AMPA but not NMDA receptors mitigates neuronal damage in the rat brain following transient severe cerebral ischemia. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism*, 1992, 12: 2-11.
125. Sauter A, Rudin M. Treatment of hypertension with isradipine reduces infarct size following stroke in laboratory animals. *The American Journal of Medicine*, 1989, 86: 130-133.
126. Scatton B, Carter C, Benavides J, Giroux C. N-Methyl-D-Aspartate Receptor Antagonists - a Novel Therapeutic Perspective for the Treatment of Ischemic Brain Injury. *Cerebrovascular Diseases*, 1991, 1: 121-135.
127. Newell KA, Matosin N. Rethinking metabotropic glutamate receptor 5 pathological findings in psychiatric disorders: implications for the future of novel therapeutics. *BioMed Central Psychiatry's*, 2014, 14: 23.
128. Olverman HJ, Monaghan DT, Cotman CW, Watkins JC. [3H]CPP, a new competitive ligand for NMDA receptors. *The European Journal of Pharmacology*, 1986, 131: 161-162.
129. Schneggenburger R, Zhou Z, Konnerth A, Neher E. Fractional contribution of calcium to the cation current through glutamate receptor channels. *Neuron*, 1993, 11: 133-143.
130. Coyle JT, Bird SJ, Evans RH, Gulley RL, Nadler JV, Nicklas WJ, Olney JW. Excitatory amino acid neurotoxins: selectivity, specificity, and mechanisms of action. Based on an NRP one-day conference held June 30, 1980. *Neurosciences Research Program Bulletin*, 1981, 19: 1-427.
131. Albers GW, Goldberg MP, Choi DW. N-methyl-D-aspartate antagonists: ready for clinical trial in brain ischemia? *Annals of Neurology*, 1989, 25: 398-403.

132. Albin RL, Greenamyre JT. Alternative excitotoxic hypotheses. *Neurology*, 1992, 42: 733-738.
133. Kurumaji A, Nehls DG, Park CK, McCulloch J. Effects of NMDA antagonists, MK-801 and CPP, upon local cerebral glucose use. *Brain Research*, 1989, 496: 268-284.
134. Wong EH, Kemp JA. Sites for antagonism on the N-methyl-D-aspartate receptor channel complex. *The Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 1991, 31: 401-425.
135. Mayer ML, Westbrook GL. The physiology of excitatory amino acids in the vertebrate central nervous system. *Progress in Neurobiology*, 1987, 28: 197-276.
136. McMillian M, Pritchard GA, Miller LG. Characterization of Ca²⁺(+)-mobilizing excitatory amino acid receptors in cultured chick cortical cells. *The European Journal of Pharmacology*, 1990, 189: 253-266.
137. Choi DW. Calcium-mediated neurotoxicity: relationship to specific channel types and role in ischemic damage. *Trends in Neuroscience*, 1988, 11: 465-469.
138. Choi DW. Glutamate neurotoxicity and diseases of the nervous system. *Neuron*, 1988, 1: 623-634.
139. Furukawa T, Hoshino S, Kobayashi S, Asakura T, Takahashi M, Atsumi T, Teramoto A. The glutamate AMPA receptor antagonist, YM872, attenuates cortical tissue loss, regional cerebral edema, and neurological motor deficits after experimental brain injury in rats. *Journal of Neurotrauma*, 2003, 20: 269-278.
140. Niciu MJ, Ionescu DF, Richards EM, Zarate CA. Glutamate and its receptors in the pathophysiology and treatment of major depressive disorder. *Journal of Neural Transmission*, 2013, 1-18.

141. Johnson SW, Seutin V, North RA. Burst firing in dopamine neurons induced by N-methyl-D-aspartate: role of electrogenic sodium pump. *Science*, 1992, 258: 665-667.
142. Kalivas PW, Duffy P, Barrow J. Regulation of the mesocorticolimbic dopamine system by glutamic acid receptor subtypes. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1989, 251: 378-387.
143. Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. *The American Journal of Psychiatry's*, 1991, 148: 1301-1308.
144. Nowak G, Trullas R, Layer RT, Skolnick P, Paul IA. Adaptive changes in the N-methyl-D-aspartate receptor complex after chronic treatment with imipramine and 1-aminocyclopropanecarboxylic acid. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1993, 265: 1380-1386.
145. Nowak G, Ordway GA, Paul IA. Alterations in the N-methyl-D-aspartate (NMDA) receptor complex in the frontal cortex of suicide victims. *Brain Research*, 1995, 675: 157-164.
146. Witt A, Macdonald N, Kirkpatrick P. Memantine hydrochloride. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2004, 3: 109-110.
147. Sonkusare SK, Kaul CL, Ramarao P. Dementia of Alzheimer's disease and other neurodegenerative disorders--memantine, a new hope. *Pharmacology Research*, 2005, 51: 1-17.
148. Lu CW, Lin TY, Wang SJ. Memantine depresses glutamate release through inhibition of voltage-dependent Ca^{2+} entry and protein kinase C in rat cerebral cortex nerve terminals: an NMDA receptor-independent mechanism. *Neurochem Int*, 2010, 57: 168-176.
149. Moryl E, Danysz W, Quack G. Potential antidepressive properties of amantadine, memantine and bifemelane. *Pharmacol Toxicol*, 1993, 72: 394-397.

150. Rogoz Z, Skuza G, Maj J, Danysz W. Synergistic effect of uncompetitive NMDA receptor antagonists and antidepressant drugs in the forced swimming test in rats. *Neuropharmacology*, 2002, 42: 1024-1030.
151. Almeida RC, Felisbino CS, Lopez MG, Rodrigues AL, Gabilan NH. Evidence for the involvement of L-arginine-nitric oxide-cyclic guanosine monophosphate pathway in the antidepressant-like effect of memantine in mice. *Behav Brain Research*, 2006, 168: 318-322.
152. Zarate C, Machado-Vieira R, Henter I, Ibrahim L, Diazgranados N, Salvatore G. Glutamatergic modulators: the future of treating mood disorders? *Harv Rev Psychiatry*, 2010, 18: 293-303.
153. Del Arco A, Mora F. Prefrontal cortex-nucleus accumbens interaction: in vivo modulation by dopamine and glutamate in the prefrontal cortex. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008, 90: 226-235.
154. Zhang C, Marek GJ. Group III metabotropic glutamate receptor agonists selectively suppress excitatory synaptic currents in the rat prefrontal cortex induced by 5-hydroxytryptamine_{2A} receptor activation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2007, 320: 437-447.
155. Tao R, Auerbach SB. Regulation of serotonin release by GABA and excitatory amino acids. *J Psychopharmacol*, 2000, 14: 100-113.
156. Prast H, Philippu A. Nitric oxide as modulator of neuronal function. *Progress in Neurobiology*, 2001, 64: 51-68.
157. Ciranna L. Serotonin as a modulator of glutamate- and GABA-mediated neurotransmission: implications in physiological functions and in pathology. *Curr Neuropharmacol*, 2006, 4: 101-114.

158. Paul IA, Skolnick P. Glutamate and depression: clinical and preclinical studies. *Ann N Y Acad Sci*, 2003, 1003: 250-272.
159. Millan MJ. Multi-target strategies for the improved treatment of depressive states: Conceptual foundations and neuronal substrates, drug discovery and therapeutic application. *Pharmacol Ther*, 2006, 110: 135-370.
160. Li N, Lee B, Liu RJ, Banasr M, Dwyer JM, Iwata M, Li XY, Aghajanian G, Duman RS. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science*, 2010, 329: 959-964.
161. Harvey BH, Duvenhage I, Viljoen F, Scheepers N, Malan SF, Wegener G, Brink CB, Petzer JP. Role of monoamine oxidase, nitric oxide synthase and regional brain monoamines in the antidepressant-like effects of methylene blue and selected structural analogues. *Biochem Pharmacol*, 2010, 80: 1580-1591.
162. Balcar VJ. Molecular pharmacology of the Na⁺-dependent transport of acidic amino acids in the mammalian central nervous system. *Biol Pharm Bull*, 2002, 25: 291-301.
163. Tanaka K. Functions of glutamate transporters in the brain. *Neurosci Res*, 2000, 37: 15-19.
164. Kanner BI. Glutamate transporters from brain. A novel neurotransmitter transporter family. *FEBS Lett*, 1993, 325: 95-99.
165. Anderson CM, Swanson RA. Astrocyte glutamate transport: review of properties, regulation, and physiological functions. *Glia*, 2000, 32: 1-14.
166. Shigeri Y, Seal RP, Shimamoto K. Molecular pharmacology of glutamate transporters, EAATs and VGLUTs. *Brain Research Brain Research Rev*, 2004, 45: 250-265.

167. Hertz L. Glutamate, a neurotransmitter--and so much more. A synopsis of Wierzba III. *Neurochem Int*, 2006, 48: 416-425.
168. Hertz L, Dringen R, Schousboe A, Robinson SR. Astrocytes: glutamate producers for neurons. *The Journal of Neuroscience Res*, 1999, 57: 417-428.
169. Scanziani M. Competing on the edge. *Trends Neurosci*, 2002, 25: 282-283.
170. Amara SG, Fontana AC. Excitatory amino acid transporters: keeping up with glutamate. *Neurochem Int*, 2002, 41: 313-318.
171. Conti F, Weinberg RJ. Shaping excitation at glutamatergic synapses. *Trends Neurosci*, 1999, 22: 451-458.
172. Rothstein JD, Patel S, Regan MR, Haenggeli C, Huang YH, Bergles DE, Jin L, Dykes Hoberg M, Vidensky S, Chung DS, Toan SV, Bruijn LI, Su ZZ, Gupta P, Fisher PB. Beta-lactam antibiotics offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression. *Nature*, 2005, 433: 73-77.
173. Omrani A, Melone M, Bellesi M, Safiulina V, Aida T, Tanaka K, Cherubini E, Conti F. Up-regulation of GLT-1 severely impairs LTD at mossy fibre CA3 synapses. *J Physiol*, 2009, 587: 4575-4588.
174. Skolnick P. Antidepressants for the new millennium. *The European Journal of Pharmacology*, 1999, 375: 31-40.
175. Pallotta M, Segieth J, Whitton PS. Chronic but not acute clomipramine alters the effect of NMDA receptor regulation of dopamine release in rat frontal cortex. *Neurosci Lett*, 1999, 262: 187-190.
176. Pallotta M, Segieth J, Sadideen F, Whitton PS. Repeated but not acute clomipramine decreases the effect of N-methyl-D-aspartate receptor activation on serotonergic transmission between the raphe nuclei and frontal cortex. *Neuropharmacology*, 2001, 41: 294-300.

177. Manji HK, Lenox RH. Ziskind-Somerfeld Research Award. Protein kinase C signaling in the brain: molecular transduction of mood stabilization in the treatment of manic-depressive illness. *Biol Psychiatry*, 1999, 46: 1328-1351.
178. Dixon JF, Hokin LE. Lithium acutely inhibits and chronically up-regulates and stabilizes glutamate uptake by presynaptic nerve endings in mouse cerebral cortex. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95: 8363-8368.
179. Manji HK, McNamara R, Chen G, Lenox RH. Signalling pathways in the brain: cellular transduction of mood stabilisation in the treatment of manic-depressive illness. *Aust N Z J Psychiatry*, 1999, 33 Suppl: 65-83.
180. Ossowska G, Klenk-Majewska B, Szymczyk G. The effect of NMDA antagonists on footshock-induced fighting behavior in chronically stressed rats. *J Physiol Pharmacol*, 1997, 48: 127-135.
181. Leonard BE. Psychopathology of depression. *Drugs Today (Barc)*, 2007, 43: 705-716.
182. Palucha A, Pilc A. Metabotropic glutamate receptor ligands as possible anxiolytic and antidepressant drugs. *Pharmacol Ther*, 2007, 115: 116-147.
183. Petrie RX, Reid IC, Stewart CA. The N-methyl-D-aspartate receptor, synaptic plasticity, and depressive disorder. A critical review. *Pharmacol Ther*, 2000, 87: 11-25.
184. Pilc A, Chaki S, Nowak G, Witkin JM. Mood disorders: regulation by metabotropic glutamate receptors. *Biochem Pharmacol*, 2008, 75: 997-1006.
185. Berk M, Plein H, Ferreira D. Platelet glutamate receptor supersensitivity in major depressive disorder. *Clin Neuropharmacol*, 2001, 24: 129-132.
186. Mauri MC, Ferrara A, Boscati L, Bravin S, Zamberlan F, Alecci M, Invernizzi G. Plasma and platelet amino acid concentrations in patients affected by major depression and under fluvoxamine treatment. *Neuropsychobiology*, 1998, 37: 124-129.

187. Altamura C, Maes M, Dai J, Meltzer HY. Plasma concentrations of excitatory amino acids, serine, glycine, taurine and histidine in major depression. *Eur Neuropsychopharmacol*, 1995, 5 Suppl: 71-75.
188. Altamura CA, Mauri MC, Ferrara A, Moro AR, D'Andrea G, Zamberlan F. Plasma and platelet excitatory amino acids in psychiatric disorders. *The American Journal of Psychiatry's*, 1993, 150: 1731-1733.
189. Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and its discontents: the role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry*, 2009, 65: 732-741.
190. Zarate CA, 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: 856-864.
191. Karolewicz B, Cetin M, Aricioglu F. Beyond the glutamate NMDA receptor in major depressive disorder: The mTOR signaling pathway. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 2011, 21.
192. Weng HR, Chen JH, Cata JP. Inhibition of glutamate uptake in the spinal cord induces hyperalgesia and increased responses of spinal dorsal horn neurons to peripheral afferent stimulation. *Neuroscience*, 2006, 138: 1351-1360.
193. Rawls SM, Zielinski M, Patel H, Sacavage S, Baron DA, Patel D. Beta-lactam antibiotic reduces morphine analgesic tolerance in rats through GLT-1 transporter activation. *Drug Alcohol Depend*, 2010, 107: 261-263.
194. Lipski J, Wan CK, Bai JZ, Pi R, Li D, Donnelly D. Neuroprotective potential of ceftriaxone in in vitro models of stroke. *Neuroscience*, 2007, 146: 617-629.
195. Lee SG, Su ZZ, Emdad L, Gupta P, Sarkar D, Borjabad A, Volsky DJ, Fisher PB. Mechanism of ceftriaxone induction of excitatory amino acid transporter-2

- expression and glutamate uptake in primary human astrocytes. *J Biol Chem*, 2008, 283: 13116-13123.
196. Hu Y, Li W, Lu L, Cai J, Xian X, Zhang M, Li Q, Li L. An anti-nociceptive role for ceftriaxone in chronic neuropathic pain in rats. *Pain*, 2010, 148: 284-301.
197. Kim DJ, King JA, Zuccarelli L, Ferris CF, Koppel GA, Snowdon CT, Ahn CH. Clavulanic acid: a competitive inhibitor of beta-lactamases with novel anxiolytic-like activity and minimal side effects. *Pharmacol Biochem Behav*, 2009, 93: 112-120.
198. Ennis DM, Cobbs CG. The newer cephalosporins. Aztreonam and imipenem. *Infect Dis Clin North Am*, 1995, 9: 687-713.
199. Çalangu S. Parenteral sefalosporinler. *ANKEM dergisi*, 2010, 24: 14-18.
200. Thone-Reineke C, Neumann C, Namsolleck P, Schmerbach K, Krikov M, Scheff JH, Lucht K, Hortnagl H, Godes M, Muller S, Rumschüssel K, Funke-Kaiser H, Villringer A, Steckelings UM, Unger T. The beta-lactam antibiotic, ceftriaxone, dramatically improves survival, increases glutamate uptake and induces neurotrophins in stroke. *J Hypertens*, 2008, 26: 2426-2435.
201. Rothstein JD, Dykes-Hoberg M, Pardo CA, Bristol LA, Jin L, Kuncl RW, Kanai Y, Hediger MA, Wang Y, Schielke JP, Welty DF. Knockout of glutamate transporters reveals a major role for astroglial transport in excitotoxicity and clearance of glutamate. *Neuron*, 1996, 16: 675-686.
202. Mitani A, Tanaka K. Functional changes of glial glutamate transporter GLT-1 during ischemia: an in vivo study in the hippocampal CA1 of normal mice and mutant mice lacking GLT-1. *The Journal of Neuroscience*, 2003, 23: 7176-7182.
203. Wadiche JI, Amara SG, Kavanaugh MP. Ion fluxes associated with excitatory amino acid transport. *Neuron*, 1995, 15: 721-728.

204. Sheldon AL, Robinson MB. The role of glutamate transporters in neurodegenerative diseases and potential opportunities for intervention. *Neurochem Int*, 2007, 51: 333-355.
205. Koomhin P, Tilokskulchai K, Tapechum S. Ceftriaxone improves spatial learning and memory in chronic cerebral hypoperfused rats. *Scienceasia*, 2012, 38: 356-363.
206. Hart PC, Bergner CL, Smolinsky AN, Dufour BD, Egan RJ, Laporte JL, Kalueff AV. Experimental models of anxiety for drug discovery and Brain Research. *Methods Mol Biol*, 2010, 602: 299-321.
207. Leonard BE. *Animal models of depression in: antidepressant therapy*. London, Martin dunitz Ltd, 1998: 87-109.
208. Koray B, Ertuğrul A. Depresyon Araştırmalarında Kullanılan Hayvan Modelleri. *Klinik Psikiyatri*, 2005, 8: 123-134.
209. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *The European Journal of Pharmacology*, 1978, 47: 379-391.
210. Ohl F. Animal models of anxiety. *Handb Exp Pharmacol*, 2005: 35-69.
211. Walf AA, Frye CA. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*, 2007, 2: 322-328.
212. Bergner CL, Smolinsky AN, Hart PC, Dufour BD, Egan RJ, Laporte JL, Kalueff AV. Mouse models for studying depression-like states and antidepressant drugs. *Methods Mol Biol*, 2010, 602: 267-282.
213. Isikli S, Ugurlu O, Durmusoglu E, Kizilates G, Kitis O, Ozan E, Eker C, Coburn K, Gonul AS. Altered hippocampal formation shape in first-episode depressed patients at 5-year follow-up. *J Psychiatr Res*, 2013, 47: 50-55.

214. Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology*, 1987, 93: 358-364.
215. Vas S, Katai Z, Kostyalik D, Pap D, Molnar E, Petschner P, Kalmar L, Bagdy G. Differential adaptation of REM sleep latency, intermediate stage and theta power effects of escitalopram after chronic treatment. *J Neural Transm*, 2013, 120: 169-176.
216. Bellesi M, Melone M, Gubbini A, Battistacci S, Conti F. GLT-1 upregulation impairs prepulse inhibition of the startle reflex in adult rats. *Glia*, 2009, 57: 703-713.
217. Skolnick P, Legutko B, Li X, Bymaster FP. Current perspectives on the development of non-biogenic amine-based antidepressants. *Pharmacology Research*, 2001, 43: 411-423.
218. Yazir Y, Utkan T, Aricioglu F. Inhibition of neuronal nitric oxide synthase and soluble guanylate cyclase prevents depression-like behaviour in rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 2012, 111: 154-160.
219. File SE, Zangrossi H, Sanders FL, Mabbutt PS. Raised corticosterone in the rat after exposure to the elevated plus-maze. *Psychopharmacology*, 1994, 113: 543-546.
220. Uzbay T. Madde bağımlılığı çalışmalarında kullanılan deneysel hayvan modelleri. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi*, 2011, Madde bağımlılığı: 49-63.
221. Aricioglu F, Altunbas H. Harmane induces anxiolysis and antidepressant-like effects in rats. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2003, 1009: 196-201.
222. Jiang H, Wang Z, Wang Y, Xie K, Zhang Q, Luan Q, Chen W, Liu D. Antidepressant-like effects of curcumin in chronic mild stress of rats: involvement of its anti-inflammatory action. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2013, 47: 33-39.

223. Burmeister JJ, Moxon K, Gerhardt GA. Ceramic-based multisite microelectrodes for electrochemical recordings. *Analytical Chemistry*, 2000, 72: 187-192.
224. Huang Y, Coupland NJ, Lebel RM, Carter R, Seres P, Wilman AH, Malykhin NV. Structural changes in hippocampal subfields in major depressive disorder: a high-field magnetic resonance imaging study. *Biological Psychiatry*, 2013, 74: 62-68.
225. Gos T, Steiner J, Krell D, Biela H, Mawrin C, Krzyzanowski M, Brisch R, Piesniak D, Bernstein HG, Jankowski Z, Braun K, Bogerts B. Ribosomal DNA transcription in the anterior cingulate cortex is decreased in unipolar but not bipolar I depression. *Psychiatry Research*, 2013, 210: 338-345.
226. Jaworska N, Yang XR, Knott V, Macqueen G. A review of fMRI studies during visual emotive processing in major depressive disorder. *The World Journal of Biological Psychiatry*, 2014, 1-24
227. Clements JD. Transmitter timecourse in the synaptic cleft: its role in central synaptic function. *Trends in Neuroscience*, 1996, 19: 163-171.
228. Garcia-Garcia AL, Elizalde N, Matrov D, Harro J, Wojcik SM, Venzala E, Ramirez MJ, Del Rio J, Tordera RM. Increased vulnerability to depressive-like behavior of mice with decreased expression of VGLUT1. *Biological Psychiatry*, 2009, 66: 275-282.
229. Mitani H, Shirayama Y, Yamada T, Maeda K, Ashby CR, Kawahara R. Correlation between plasma levels of glutamate, alanine and serine with severity of depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 2006, 30: 1155-1158.
230. Pittenger C, Sanacora G, Krystal JH. The NMDA receptor as a therapeutic target in major depressive disorder. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets*, 2007, 6: 101-115.

231. Hacimuftuoglu A, Tatar A, Çetin D. Astrocyte/neuron ratio and its importance on glutamate toxicity in cultured cells by day: an in vitro voltammetric study. *The Federation of European Neuroscience*. 2012, 8:140.
232. Matrisciano F, Caruso A, Orlando R, Marchiafava M, Bruno V, Battaglia G, Gruber SH, Melchiorri D, Tatarelli R, Girardi P, Mathe AA, Nicoletti F. Defective group-II metabotropic glutamate receptors in the hippocampus of spontaneously depressed rats. *Neuropharmacology*, 2008, 55: 525-531.
233. Rothstein JD, Van Kammen M, Levey AI, Martin LJ, Kuncel RW. Selective loss of glial glutamate transporter GLT-1 in amyotrophic lateral sclerosis. *Annals of Neurology*, 1995, 38: 73-84.
234. Stephens RL. Glutamate transporter activators as anti-nociceptive agents. *The Eurasian Journal of Medicine*, 2011, 43: 182-185.
235. Hacimuftuoglu A, Saruhan F, Süleyman H, Çetin D, Halıcı Z, Göçer F. Paclitaxel-evoked pain and its therapy; in vivo voltametric study. *Worldpharma*, 2011, 19:3128.
236. Wolak M, Siwek A, Szewczyk B, Poleszak E, Pilc A, Popik P, Nowak G. Involvement of NMDA and AMPA receptors in the antidepressant-like activity of antidepressant drugs in the forced swim test. *Pharmacological reports*, 2013, 65: 991-997.
237. Medina A, Burke S, Thompson RC, Bunney W, Myers RM, Schatzberg A, Akil H, Watson SJ. Glutamate transporters: a key piece in the glutamate puzzle of major depressive disorder. *Journal of Psychiatric Research*, 2013, 47: 1150-1156.
238. Fu J, Liu Y, Wang Q, Zhao J. Effect of Shuganjiyu capsules on neuronal apoptosis in hippocampal CA3 area and the expression of caspase-3 in the brain of rat depression model. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2012, 37: 1198-1204.

239. Trkulja V. Is Escitalopram Really Relevantly Superior to Citalopram in Treatment of Major Depressive Disorder? A Meta-analysis of Head-to-head Randomized Trials. *Croatian Medical Journal*, 2010, 51: 61-73.
240. Browne CA, Lucki I. Antidepressant effects of ketamine: mechanisms underlying fast-acting novel antidepressants. *Frontiers in Pharmacology*, 2013, 4: 161.
241. Bjornebekk A, Mathe AA, Brene S. The antidepressant effects of running and escitalopram are associated with levels of hippocampal NPY and Y1 receptor but not cell proliferation in a rat model of depression. *Hippocampus*, 2010, 20: 820-828.
242. Biedermann S, Fuss J, Zheng L, Sartorius A, Falfan-Melgoza C, Demirakca T, Gass P, Ende G, Weber-Fahr W. In vivo voxel based morphometry: detection of increased hippocampal volume and decreased glutamate levels in exercising mice. *Neuroimage*, 2012, 61: 1206-1212.
243. Tordera RM, Garcia-Garcia AL, Elizalde N, Segura V, Aso E, Venzala E, Ramirez MJ, Del Rio J. Chronic stress and impaired glutamate function elicit a depressive-like phenotype and common changes in gene expression in the mouse frontal cortex. *European Neuropsychopharmacology*, 2011, 21: 23-32.
244. Yang H, Spence JS, Devous MD, Briggs RW, Goyal A, Xiao H, Yadav H, Adinoff B. Striatal-limbic activation is associated with intensity of anticipatory anxiety. *Psychiatry Research*, 2012, 204: 123-131.
245. Issler O, Carter RN, Paul ED, Kelly PA, Olverman HJ, Neufeld-Cohen A, Kuperman Y, Lowry CA, Seckl JR, Chen A, Jamieson PM. Increased anxiety in corticotropin-releasing factor type 2 receptor-null mice requires recent acute stress exposure and is associated with dysregulated serotonergic activity in limbic brain areas. *Biology of Mood & Anxiety Disorders*, 2014, 4: 1.

246. Privitera GJ, Misenheimer ML, Doraiswamy PM. From weight loss to weight gain: appetite changes in major depressive disorder as a mirror into brain-environment interactions. *Frontiers in Psychology*, 2013, 4: 873.
247. White W, Elmore L, Eluthin DR, Cates ME. Psychotropic induced weight gain: A review of management strategies. *Consultant* 360, 2013, 53:153-160
248. Horvath G, Reglodi D, Vadasz G, Farkas J, Kiss P. Exposure to enriched environment decreases neurobehavioral deficits induced by neonatal glutamate toxicity. *The International Journal of Molecular Sciences*, 2013, 14: 19054-19066.

EKLER

EK-1.ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler	
Adı Soyadı	: Damla ÇETİN
Doğum tarihi	: 02.10.1986
Doğum yeri	: İzmir
Medeni hali	: Bekar
Uyruğu	: T.C
Adres	: Atatürk Üniveristesi Lojmanları 27.Blok Kat:3 No:21 Erzurum
Telefon	: 05558339313
E-mail	: Damlacetin@me.com
Eğitim	
Lise	: Erzurum Lisesi (2003)
Lisans	: Kafkas Üniversitesi (2008)
Yüksek lisans	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı (2009-2011)
Doktora	: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı (2011-2014)
Yabancı Dil Bilgisi	
İngilizce: Orta derecede (KPDS 57, Mart 2008)	
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar	
İlgi Alanları ve Hobiler	
Fotoğraf, yürüyüş	

EK-2. ETİK KURUL ONAY FORMU

 T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 36643897-15
Konu : Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Kararı.

04.06.2013
ERZURUM

ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA
25240 – Kampus / ERZURUM

İlgi : 22.05.2013 tarih ve 42190979-01-02/2236 sayılı yazı.

İlgide kayıtlı yazıda belirtildiği üzere, Fakülteniz Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'nun yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Nörofarmakoloji Laboratuvarında yürütülecek olan "Depresyon Oluşturulmuş Sıçanlarda Glutamat Nörotransmitter Aktivite Değişimlerinin Tespiti ve β -Laktam Antibiyotiklerinin Depresyon Tedavisindeki Muhtemel Etkileri" başlıklı araştırma çalışması, Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 31.05.2013 tarih ve 1 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 18 no'lu kararı ile söz konusu araştırma çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle karar verilmiştir.

Bilgilerinize ve gereğini arz ederim.

06 Haziran 2013
Prof. Dr. Ozkan POLAT
Dekan

Prof. Dr. Derviş ÖZDEMİR
Başkan Vekili

Toplantı Tarihi : 31.05.2013
Toplantı Sayısı : 1
KARAR NO : 18- Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU'nun yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Nörofarmakoloji Laboratuvarında yürütülecek olan "Depresyon Oluşturulmuş Sıçanlarda Glutamat Nörotransmitter Aktivite Değişimlerinin Tespiti ve β -Laktam Antibiyotiklerinin Depresyon Tedavisindeki Muhtemel Etkileri" başlıklı araştırma çalışması ile ilgili Tıp Fakültesi Dekanlığının 22.05.2013 tarih ve 42190979-01-02/2236 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen araştırma çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğunun, mevcut oy birliği ile kabulüne; (Yönergenin 5/f maddesi gereğince, Prof.Dr. Ahmet HACİMÜFTÜOĞLU oylamaya katılmadı). karar verildi.

Adres : Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı. 25240 – Yakutiye / ERZURUM
Telefon : 0-442-236 08 80 Fax : 0-442-236 08 81 e-mail: hadyek@atauni.edu.tr