



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA KRONİK ÖNGÖRÜLEMİYEN STRES İLE
OLUŞTURULAN DEPRESYON MODELİNDE HARMANIN
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

GÜLNAZ ARKAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

İSTANBUL-2017



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
MARMARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SIÇANLARDA KRONİK ÖNGÖRÜLEMİYEN STRES İLE
OLUŞTURULAN DEPRESYON MODELİNDE HARMANIN
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

GÜLNAZ ARKAN
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

İSTANBUL-2017

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Programın seviyesi : Yüksek Lisans
Anabilim Dalı : Farmakoloji
Tez Sahibi : Gökçe ARKAN
Tez Başlığı : Sigarlarda Kronik İnflamasyon Stres ile ilişkili Depresyon
Modelinde Hormonların Rolünün Araştırılması
Sınav Yeri : Marmara Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı / Eczacılık Fakültesi
Sınav Tarihi : 06/06/2017

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

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	Kurumu	İmza
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU	MÜECZ	F. Arıcıoğlu.
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)	KEOU TIP	
Prof. Dr. Tijen DÜKAN		
Prof. Dr. Levent KABASAKAL	M.Ü. Ecz. Fakültesi	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 15/06/2017 tarih ve 68 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

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

-Bu form bilgisayar ortamında doldurulacaktır.

BEYAN

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

31/05/2017



Gülnaz ARKAN

TEŞEKKÜR

Yüksek öğrenim ve tez sürecimde bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, psikofarmakoloji alanına olan ilgimi artıran ve bu alanda ufkumu geliştiren, yol göstericiliği ile akademik bakış açısı geliştirmemi sağlayan değerli tez danışman hocam Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu' na,

Tezimin deney aşamasında desteklerini esirgemeyen Prof. Dr. Tijen UTKAN'a ve DETAB çalışanlarına,

Lisansüstü süreçte bana destek olan ve süreci keyifli kılan Canan Yalçınkaya ve Tuğçe Baştaşkın'a,

Değerli arkadaşlarıma,

Hayatım boyunca olduğu gibi lisansüstü öğrenim sürecinde de bana olan güvenlerini göstererek motivasyonumun her daim yüksek olmasını sağlayan sevgili aileme,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez, Marmara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından SAG-C-YLP-110915-0415 numaralı proje ile desteklenmiştir.

I. İÇİNDEKİLER

I. TEŞEKKÜR	i
II. İÇİNDEKİLER	ii
III. KISALTMALAR ve SİMGELER LİSTESİ	v
IV. ŞEKİL, TABLO ve RESİMLERİN LİSTESİ	vi
1. ÖZET	1
2. SUMMARY	2
3. GİRİŞ ve AMAÇ	3
4. GENEL BİLGİLER	6
4.1. Majör Depresyon	6
4.1.1. Duygudurum bozuklukları: Majör depresyonda tanı	6
4.1.2. Majör depresyonun epidemiyolojisi	6
4.1.3. Depresyonun patofizyolojisi ve monoaminler	7
4.1.3.1. Geleneksel yaklaşım: Monoamin hipotezi üzerine tedavi yaklaşımları	8
4.1.3.2. Monoamin hipotezine dayanan günümüz antidepresan tedavileri	9
4.2. Stres	10
4.2.1. Stres yanıtında hipotalamik-pitüiter-adrenokortikal eksen ve sempatik sinir sisteminin rolü	11
4.2.2. Stres yanıtında steroidlerin rolü	12
4.3. Nörotrofik Faktörler	13
4.3.1. Stresin BDNF modülasyonu üzerindeki etkisi	13
4.3.2. Stres yanıtında sitokinlerin rolü	15
4.4. Glutamaterjik Sistemin Stres Yanıtındaki Rolü	16
4.5. Stres Yanıtında NLRP İnflamazomu ve İnflamatuvar Yanıtı Dair Parametreler	22
4.5.1. Major depresyonda inflamazom	23
4.6. Endojen Beta-karbolinler	26
4.6.1. Beta-karbolinlerin toksisiteleri	28
4.6.2. Imidazolin reseptörleri ve beta-karbolin etkileşimleri	29

4.6.3. Beta-karbolinler ve santral sinir sistemi	33
5. GEREÇ ve YÖNTEM	37
5.1. Kimyasal Maddeler	37
5.2. Deney Hayvanları	37
5.3. Deney Grupları	37
5.4. Kullanılan Model ve Testler	38
5.4.1. Kronik öngörülemeyen hafif stres modeli	38
5.4.2. Davranış testleri	39
5.4.2.1. Sükroz tüketim testi	39
5.4.2.2. Zorunlu yüzme testi	39
5.4.3. Gen ekspresyon analizleri	40
5.4.3.1. RNA izolasyonu	40
5.4.3.2. Komplementer DNA (cDNA) sentezi	41
5.4.3.3. Real-time PCR reaksiyonu	42
5.4.4. PCR sonuçlarının değerlendirilmesi	43
5.5. İmmünohistokimyasal Değişikliklerin Araştırılması	44
5.5.1. Perfüzyon fiksasyonu	44
5.6. Verilerin İstatistiksel Analizi	46
6. BULGULAR	47
6.1. Davranış Deneylerinin Sonuçları	47
6.1.1. Vücut ağırlığı	47
6.1.2. Sükroz tercih testi	47
6.1.3. Zorunlu yüzme testi	48
6.2. PCR Analizleri Gen Ekspresyon Bulgular	48
6.2.1. IL-1 β bulguları	49
6.2.2. IL-6 bulguları	50
6.2.3. IL-18 bulguları	50
6.2.4. NLRP1 bulguları	51
6.2.5. NLRP3 bulguları	52

6.2.6. Kaspaz-1 bulguları	53
6.2.7. ASC bulguları	54
6.2.8. NF-κB bulguları	55
6.2.9. CD11b bulguları	56
6.2.10. P2X7 bulguları	57
6.3. İmmünohistokimyasal Bulgular	57
6.3.1. Iba-1 bulguları	58
6.3.2. Hipokampus CA1 bölgesi GFAP bulguları	59
6.3.3. Hipokampus CA3 bölgesi GFAP bulguları	60
6.3.4. Hipokampus DG bölgesi GFAP bulguları	60
7. TARTIŞMA ve SONUÇ	61
8. KAYNAKLAR	69
9. ÖZGEÇMİŞ	84
10. ETİK KURUL ONAY BELGELERİ	86

III. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

ACTH	Adrenokortikotropik hormon
AMPA	α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propiyonik asit
ANOVA	Tek yönlü varyans analizi
BDNF	Beyin kökenli nörotrofik faktör
CARD	Kaspaz aktivasyon ve güçlendirme kalıntısı
CRF	Kortikotropin salıverici faktör
CRH	Kortikotropin salıverici hormon
EAAT	Eksitator amino asit taşıyıcısı
ERK	Ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinazlar
GABA	Gama-aminobütirik asit
GFAP	Glial fibriler asidik protei
GLAST	Glutamat-aspartat taşıyıcısı
GLT1	Glutamat taşıyıcısı
GR	Glukokortikoid reseptörü
HPA	Hipotalamo pitüiter adrenal eksen
Iba-1	İyonize, kalsiyuma bağlanan adaptör molekül-1
IKK	Kappa kinaz inhibitörü
IL	İnterlökin
KÖHS	Kronik öngörülemez hafif stres
LPS	Lipopolisakkarit
MAO	Monoamin oksidaz
MAPK	Mitojenle etkinleşen protein kinaz
MR	Mineralokortikoid reseptörü
NET	Noradrenalin taşıyıcısı
NF-κB	Nükleer faktör kappa b
NGF	Sinir büyüme faktörü
NLRP	Nod benzeri reseptör proteini
nNOS	Nöronal NOS
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz

NT-3	Nörotrofin 3
PI3K	İnositol-3-fosfat kinaz
PSD	Postsinaptik dansite
PVN	Hipotalamik paraventriküler çekirdek
p75	p75 reseptörü
p75	Pan-nörotrofik reseptör
SERT	Serotonin taşıyıcısı
SSGİ	Selektif serotonin geri alım inhibitörü
TNF	Tümör nekrozan faktör
Trk	Tirozin kinaz reseptörleri
TSA	Trisiklik antidepresan
5-HT	Serotonin

IV. ŞEKİL, TABLO ve RESİMLERİN LİSTESİ

i) ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil 1. İnflamasyon başlangıcında astrosit ve mikrogliyalardaki glutamat aktivitesi	19
Şekil 2. Beta-karkolinlerin açık ve kapalı kimyasal formülleri ve molekül ağırlıkları	28
Şekil 3. Deney hayvan gruplarının sükroz tüketimi	47
Şekil 4. Deney hayvan gruplarının zorunlu yüzme testinde hareketsiz kalma süreleri	48
Şekil 5. IL-1 β prefrontal korteks mRNA düzeyleri	49
Şekil 6. IL-6 prefrontal korteks mRNA düzeyleri	50
Şekil 7. IL-18 prefrontal korteks mRNA düzeyleri	50
Şekil 8. NLRP1 prefrontal korteks mRNA düzeyleri	51
Şekil 9. NLRP3 prefrontal korteks mRNA düzeyleri	52
Şekil 10. Kaspaz-1 prefrontal korteks mRNA düzeyleri	53
Şekil 11. ASC prefrontal korteks mRNA düzeyleri	54
Şekil 12. NF- κ B prefrontal korteks mRNA düzeyleri	55
Şekil 13. CD11b prefrontal korteks mRNA düzeyleri	56
Şekil 14. P2X7 prefrontal korteks mRNA düzeyleri	57
Şekil 15. Hipokampüste Iba-1 pozitif mikrogliyal hücreler	58
Şekil 16. Hipokampus CA1 bölgesinde GFAP konsantrasyonları	59
Şekil 17. Hipokampus CA3 bölgesinde GFAP konsantrasyonları	60
Şekil 18. Hipokampus DG bölgesinde GFAP konsantrasyonları	60

ii) TABLOLARIN LİSTESİ

Tablo 1. Major depresyonda saptanan mikrogial anomaliler	18
Tablo 2. Eksitatör amino asit taşıyıcıları	20
Tablo 3. I reseptörleri alt tipleri	30
Tablo 4. cDNA sentez kiti bileşenleri ve miktarları	42
Tablo 5. PCR kiti bileşenleri ve miktarları	43
Tablo 6. Vücut ağırlığı değişimi	47



iii) RESİMLERİN LİSTESİ

Resim 1. Deney hayvan gruplarının hipokampüslerinde mikrogial hücreler

58



1. ÖZET

Sıçanlarda Kronik Öngörülemeyen Stres İle Oluşturulan Depresyon Modelinde Harmanın Rolünün Araştırılması

Öğrencinin Adı: Gülnaz ARKAN

Danışmanı: Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

Anabilim Dalı: Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı

Amaç: Depresyonun patofizyolojisi strese maruziyet ve bunu takiben oluşan inflamatuvar yanıtlar ile ilişkilendirilmektedir. Çalışmamızda kronik öngörülemeyen hafif stres (KÖHS) ile depresyon modeli oluşturulan sıçanlarda kronik harman uygulamasının inflamatuvar yolaklar üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Gereç ve Yöntem: Erkek Wistar Albino sıçanlar (220-360 g) Kontrol, KÖHS, KÖHS+Harman 5 (5 mg/kg), KÖHS+Harman 10 (10 mg/kg) olmak üzere gruplara ayrılmıştır (n=10-12). Model çeşitli stresörlerin ardışık olmadan 6 hafta süre ile uygulanması ile oluşturulmuş ve 20. günden itibaren iki farklı dozda ve günde bir kere harman uygulanmıştır. Antidepresan etkinliğin değerlendirilmesinde sükröz tercih testi ve zorunlu yüzme testi kullanılmıştır. İnflamatuvar ve antiinflamatuvar yanıtlar immünohistokimyasal ve moleküler analizlerle belirlenmiştir.

Bulgular: Sükröz tercih testi 5 mg/kg harman tedavisinde ve zorunlu yüzme testi de hem 5 mg/kg hem de 10 mg/kg harman tedavilerinde antidepresan benzeri etkiyi göstermiştir. Moleküler ve immünohistokimyasal inflamatuvar parametrelerdeki değişiklikler gruplar arasında istatistiksel anlamlı farklar ortaya koymuştur. Kaspaz-1, IL-1 β , IL-6 düzeyleri ve Iba-1 mikrogial hücre aktivasyonu KÖHS'e oranla Harman 10'da istatistiksel anlamlı azalmıştır. NLRP3, IL-18, ASC ve CD11b gen ekspresyon düzeyleri ise KÖHS'le değişmemiş, tedaviden etkilenmemiştir. Hipokampus GFAP düzeyleri ve NF- κ B RNA ekspresyon seviyeleri KÖHS'le artmış, harman ile değişmemiştir. P2X7 reseptör ekspresyonu Harman 5 ile artmış Harman 10 ile azalmıştır. NLRP1 inflamazomu Harman 10 ile artmış olarak bulunmuştur.

Sonuçlar: Çalışmalarımızda ortaya çıkan veriler endojen beta-karbolin harmanın kronik öngörülemeyen hafif stres modeli ile depresyon oluşturulan sıçanlarda, depresif benzeri davranışlarda doza bağlı iyileşmeler sağladığını ortaya koymuştur. Beyin dokuları üzerinde yapılan analizlerimiz sonucunda depresyonun gelişiminde artığı görülen inflamatuvar parametrelerin bazılarının harman ile tedaviye yanıta istatistiksel anlamda azalma gösterdikleri sonuçlarını vermiştir.

Anahtar kelimeler: harman, depresyon, beta-karbolinler, inflamasyon, KÖHS

2. SUMMARY

Research of the role of harmane on chronic unpredictable mild stress induced depression in rats.

Student: Gülnaz ARKAN

Advisor: Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU

Department: Faculty of Pharmacy, Department of Pharmacology

Purpose: The pathophysiology of depression is associated with stress exposure and following inflammatory responses. In our study we aim to investigate the association between inflammatory pathways and chronic harmane therapy on chronic unpredictable mild stress (CUMS) induced depressive rats.

Materials and methods: Male Wistar Albino rats (body weight: 220-360 g) were separated into four groups as follow: Control, CUMS, CUMS+Harman5 (5 mg/kg), CUMS+Harman10(10 mg/kg) (n=10-12). In this model nonconsecutive various stressors were randomly implemented for 6 weeks and intraperitoneal harmane administration was started on 20th day till the end of experiments. In order to detect antidepressant activity of harmane sucrose preference test and forced swim test have been performed. Determination of inflammatory and antiinflammatory responses was via immunohistochemical and molecular analyses.

Findings: Behavioural tests data shows that the chronic administration of harmane contributes a recovery on depressive symptoms in a dose dependent manner. Sucrose preference test showed that 5 mg/kg harmane therapy demonstrates antidepressant effect and forced swim test results indicate that both 5 mg/kg and 10 mg/kg harmane therapy reverse depressive-like behaviours. Molecular and immunohistochemical analysis have shown statistically significant results. Levels of mRNA expression of caspase-1, IL-1 β , IL-6 and levels of Iba-1 immunoreactivity are significantly elevated with CUMS on PFC are reduced in Harmane10 group. Levels of NLRP3, IL-18, ASC ve CD11b gene expression are unchanged with CUMS and are not affected by therapy. Hippocampus levels of GFAP and NF- κ B gene expression levels are elevated with CUMS, not affected by harmane therapy. P2X7 gene expression was increased with Harmane5 and decreased with Harmane 10. Levels of NLRP1 inflammasome is found to be elevated with Harmane10.

Results: The data in our study revealed that an endogenous beta-carboline harmane indicates antidepressant-like effect on chronic unpredictable mild stress induced depressive rats in a dose-dependent manner. The analyses performed on brain tissues demonstrates that levels of some inflammatory parameters, associated with depression, have shown statistically significant responses to chronic harmane therapy.

Keywords: harmane, depression, beta-carbolines, inflammation, CUMS

3. GİRİŞ ve AMAÇ

Majör depresyon; depresif ruh hali, anhedoni, kişinin kendine duyduğu öz saygının azalması, kendini değersiz hissetme, uyku ve yeme bozuklukları ve bilişsel fonksiyonlarda bozulma ile karakterize bir duygudurum bozukluğudur. Dünya popülasyonunun yaklaşık %10'unda yaygın olarak görülmektedir.

1950'lerin sonlarından itibaren ilk antidepresanların keşfiyle, depresyonun patofizyolojisi ve tedavi yaklaşımları monoamin hipotezi ile yönetilmiştir. Günümüzde depresyon hastalarına, halen geçerliliğini koruyan ve depresyonda monoaminergic aşırımın artırılmasını hedef alan tedaviler uygulanmaktadır. Ancak klasik antidepresan tedavisinde, tedaviye yanıt gelişmemesi veya yanıtın geç gelişmesi gibi yaygın problemler bulunmaktadır.

Stres, günlük hayatın bir parçası olup tekrar eden veya travmatik stres olmak üzere iki şekilde ele alınan bir olgu olup, periferik organ sistemlerinde olduğu gibi santral sinir sisteminde de hastalık etkeni olarak görülmektedir. Stres, homeostaside rol alan ve davranışsal adaptasyonu düzenleyen bir olgudur ve hipotalamo-pitüiter-adrenal (HPA) eksenini üzerinde etkileri vardır. Depresyonda hipotalamo-pitüiter-kortizol hipotezi strese olan kortizol yanıtının depresyonda rolü olabileceğini savunmaktadır. Kronik stres ve uzun dönem kortikosteroid tedavisi hipokampal nöron kaybı ve hasarı ile ilişkilendirilmektedir. Hipokampal glukokortikoid seviyelerinde azalma uzun dönem strese yanıt oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda depresyon hastalarında HPA fonksiyon bozukluklarına rastlanmıştır. İmmün sistem aktivasyonu ve inflamatuvar sitokinlerin salınması, özellikle interlekin-1 (IL-1) ve interlekin-6 (IL-6), tümör nekroz faktör- α (TNF- α) ve bunların suda çözünür reseptörleri gibi doğrudan varolan immün sitokinlerin konsantrasyonları, depresyon hastalarında serebrospinal sıvı ve periferik kanda yüksek bulunmuştur. Depresyonda sitokin hipotezinin ortaya konulması ile sitokinler aracılığıyla oluşan immün yanıtı başlatan mekanizmaların önemi gündeme gelmiştir. Bu noktada makrofaj/mikroglia hücrelerinde IL-1 β ve IL-18

aracılı inflamatuvar yanıtların başlatılmasında görev alan ve Nod benzeri reseptör proteini 3'ün (NLRP3) aktivasyonu ile oluşan multi-protein kompleks yapısındaki NLRP3 inflamazomunun depresyon-sitokin hipotezine yeni bir ışık tutabileceği düşünülmektedir (Jones ve Thomsen, 2013). Son dönemde az sayıda çalışma gerçekleştirilmiş olan ancak giderek güçlenen NLRP3 inflamazom yolağının depresyonla ilişkisi yönünden ele alınması önem kazanmıştır. Bu kapsamda özellikle kronik stres ile oluşturulan veya inflamasyon ile indüklenen deneysel depresyon modellerinde, NLRP3 inflamazomunun aktivasyonuna çeşitli çalışmalarda dikkat çekilmiştir (Koo ve Duman, 2009, Iwata ve ark., 2013, Hannestad ve ark., 2011). Deneysel çalışmaların yanı sıra, yakın tarihte yayınlanan tek bir klinik çalışma ile NLRP3 inflamazom aktivasyonu artışının major depresyon hastalarında gözlemlendiği bildirilmiştir (Liu ve ark., 2015).

Depresyon hastalarının hipokampuslerinde ve diğer önbeyin bölgelerinde hacim azalması bulgularından yola çıkılarak, depresyonda, immün aracılı kortikosteroidlerin hücre içi nörotrofik faktörler ile etkileşimlerde inflamatuvar yanıtta etkileri olabileceği düşünülmektedir. Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) sinyalleme mekanizmasının stres yanıtında hipokampüste azaldığı bulguları depresyon patofizyolojisinde strese yanıtın bir devamı olarak nörotrofik faktörlerin de depresyon oluşum mekanizmalarında rolü olabileceğini düşündürmektedir.

Endojen beta-karbolinler ilk olarak, klonidin benzeri aktivite gösteren maddeler araştırılırken sıçan ve sığır beyninden elde edilen metanolik ekstraksiyonlardan izole edilmişlerdir (Atlas ve Burnstein, 1984). Beta-karbolinler bitkilerde, ısı görmüş yüksek protein içeren besinlerde (kızarmış et, balık, peynir, diğer et ürünleri), alkollü içeceklerde, demlenmiş kahvede ve sigara dumanında bulunurlar (Agui ve ark., 2007). Beta-karbolinlerin imidazolin bağlanma bölgeleri için potansiyel bir endojen ligand olabileceği ve imidazolin reseptörleri üzerinde klonidin benzeri aktivite gösterdikleri bilinmektedir.

Harmanın santral sinir sisteminde hipotalamus, hipokampus, serebral korteks, striatum, beyincik ve omurilikte varlığı radyoligand bağlanma ve otoradyografik çalışmalar ile gösterilmiştir.

Harman ve diğer beta-karbolinlerin monoamin oksidaz A (MAO-A) inhibisyonu yaptıkları bildirilmiştir. Bunlar MAO-A'nın selektif inhibitörleridir (May ve ark., 1994). MAO enzimleri ile etkileşimlerinin bir sonucu olarak harmanın pek çok fonksiyonel özelliğinin bulunduğu; noradrenalin, dopamin ve serotoninin (5-hidroksi triptamin, 5-HT) aktivitelerinin düzenlenmesinde etkili olduğu saptanmıştır. Sıçanlarda, hipotalamus içerisine beta-karbolin enjeksiyonunun, anksiyete benzeri davranış ve alkol tercihi üzerine etkileri olduğu gözlenmiş olup beta-karbolinlerin epilepsi (Ghazaleh ve ark., 2015), morfin bağımlılığı (Ghazaleh ve ark., 2015), sinir hasarı (Smith ve ark., 2013), nöropatik ağrı (Smith ve ark., 2009) ve bilişsel bozukluklar (Anderson ve ark., 2006) gibi santral sinir sistemi bozuklukları üzerine etkileri çalışılmış ve söz konusu patolojilerde harmanın olumlu etkileri olabileceği rapor edilmiştir. Ayrıca beta karbolinlerden özellikle harmanın benzodiazepin reseptörlerinin endojen ligandı olduğu ve bir invers agonist gibi davrandığı in vivo ve in vitro olarak gösterilmiştir. Beta-karbolinlerin MAO enziminin özellikle MAO-A izomerini seçici olarak inhibe edebildiği bilinmektedir. Güncel bilgiler harmanın atipik bir nörotransmitter olabileceği ve serotonerjik sistem üzerinden antidepresan etki potansiyeli üzerine yoğunlaşmıştır.

Çalışmada stres ve tedavi gruplarında depresyon modeli oluşturmak amacıyla sıçanlara 6 hafta boyunca kronik öngörülemez hafif stres uygulanarak harman 5 mg ve harman 10 mg ile gerçekleştirilen tedavilerde, harmanın antidepresan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda depresyon modeli oluşturulan sıçanlarda kronik harman uygulamasının inflamatuvar yolaklar üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Majör Depresyon

4.1.1. Duygudurum bozuklukları: Majör depresyonda tanı

Depresif bozukluklar DSM-IV-TR klasifikasyon sistemine göre primer semptom olarak, kişinin duygudurumundaki bozukluklar grubunun içerisinde kategorize edilmiştir. Duygudurum bozukluklarının öncül göstergesi, duygularda aşırılık durumu; rutin aktivitelerin gerçekleştirilmesini etkileyecek düzeyde uygunsuz, aşırı disforik ve öforik durumlar olarak bildirilmiştir (Hasler, 2010).

Depresif bozukluklar major depresyon, unipolar depresyon ya da klinik depresyon (1 ya da daha fazla depresif epizot), distimi (duygudurumunun en az iki yıl süreyle düşük seyretmesi hali) ve başka bir bozukluğa karakterize edilememiş depresif bozukluklar olarak sınıflandırılabilir. Distimili hastalar major depresyona yatkındırlar.

Majör depresyon; depresif ruh hali, anhedoni, kişinin kendine duyduğu öz saygının azalması, kendini değersiz hissetme, uyku ve yeme bozuklukları ve bilişsel fonksiyonlarda bozulma ile karakterize bir duygudurum bozukluğudur. Majör depresyon, geçici ruh hali değişiklikleri ve strese olan ani tepkilerden ayrılır. Günün büyük bölümünde düşük ruh hali, günlük aktivitelerden keyif alamama durumu, kilo kaybı veya artışı, uyku düzensizlikleri, ajitasyon veya uyuşukluk, yorgunluk, değersizlik veya acizlik hissi, düşünme veya hafızada bozukluklar, tekrar eden kişinin kendisine zarar verme isteği ve ölüm düşünceleri semptomlarının en az 5 tanesinin en az 2 hafta sürerek devam etmesini içerir (<http://www.dsm5.org/psychiatrists/practice/dsm> Erişim tarihi: 25.12.2016).

4.1.2. Majör depresyonun epidemiyolojisi

Majör depresyon, dünya popülasyonunun yaklaşık %10'unda yaygın olarak görülen, ciddi ve ilerleyici yönüyle kimi zaman yaşamı tehdit edebilen önemli bir

psikiyatrik hastalıktır. Tedavi edilmediği takdirde, bireylerde ölüm ve intihar düşünceleri baş gösterebilmektedir (Hasler 2010). Dünya popülasyonunda, farklı coğrafyalarda ve değişik ölçeklerde dağılım gösterebilmektedir. Bu dağılımın Asya’da çok düşük oranlar ve Avrupa’da en yüksek oranlar gibi belirgin uluslararası değişiklikler gösterdiği, ancak tüm örneklerde dağılım oranının kadınlarda erkeklere göre daha yüksek olduğu görülmektedir (Kessler ve ark., 2003).

Majör depresyon, yaygın, şiddetli seyreden, tekrar edebilen, bireyi güçsüz veya zayıf hissettiren ve hayatı tehdit edici potansiyeli olan bir afektif hastalıktır. Depresif hastaların %50’si tamamen iyileşme gösterirler, %20-30’u tedaviye yanıt vermezler ve %15’i intihar teşebbüsünde bulunurlar (Greden, 2001).

Dünya Sağlık Örgütü’nün 2000 yılında gerçekleştirdiği bir çalışmaya göre depresyon, insanların hayatlarında işlevsiz geçirdikleri sürenin primer etkenidir ve dünya hastalık yükünde 4. sırada yer almaktadır. 2020 yılında depresyonun dünya popülasyonunda her yaşta ve cinsiyette maluliyet ile geçen yaşam yılının 2. etkeni olması beklenmektedir. 2012 yılında bu durumun çoktan 15-44 yaş için geçerli olduğu bildirilmiştir (Holden, 2000). Genetik faktörlerin depresyona yatkınlık üzerinde büyük rolleri olduğu ikiz kardeşler üzerinde yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Kendler ve ark., 2006, Sullivan ve ark., 2000).

4.1.3. Depresyonun patofizyolojisi ve monoaminler

1950’lerin sonlarından itibaren, ilk antidepresanların tesadüfi keşfinin ardından, depresyonun patofizyolojisi ve tedavi yaklaşımları monoamin hipotezi ile yönetilmiştir. Günümüzde hala kullanılmakta olan monoaminergik tedavi, vakaların belirgin bir kısmını tedavi etmekte yetersiz bulunmuş ve tedaviye yanıtın geç geliştiği anlaşılmıştır.

Yakın zamanda gerçekleştirilen çalışmalar, duygudurum bozuklukları ve hayvan depresyon modellerinde bozulmuş nörotransmisyonun nöronal plastisite üzerinde

meydana getirdikleri değişikliklere bazı antidepresanların etki ettiğini ortaya koymuştur.

4.1.3.1. Geleneksel yaklaşım: Monoamin hipotezi üzerine tedavi yaklaşımları

1960'ların ortalarında trisiklik antidepresanların ve MAO inhibitörlerinin antidepresan etkilerinin farkedilmesi ile depresyonda temel oluşturan monoamin hipotezi öne sürölmüştür. Depresif semptomların monoamin miktarının farmakolojik olarak artışı ile azaldığı gözlemi, depresyonun bazı beyin bölgelerindeki monoamin nörotransmitterlerindeki fonksiyonel azalmaya dayandırılabilceği görüşü ortaya çıkmıştır. Bunun yanısıra serotonin prekürsörü olan triptofandaki azalma, dopamin/noradrenalin prekürsörleri olan rezerpin veya gıda ile alınan fenilalanin ve tirozinlerdeki azalmalar insanlarda depresif semptomların artışına neden olmuştur (Hillhouse ve Porter, 2015).

Monoamin hipotezi, depresyonda önde gelen hipotez olma durumunu sürdürüyor ve pek çok antidepresan bileşiğin geliştirilmesinde temel oluşturuyor ise de bu hipotez, semptomların ve antidepresan etkinin açıklanmasında yetersiz kalmaktadır. Depresyon fenotiplerinde klinik bulgular, yaş, hastalık derecesi ve tedavi yanıtları gibi parametrelerde ciddi çeşitlilikler gözlenmektedir. Bu durum depresyonun farklı nedenlerden ileri gelen pek çok değişik kategori ve seviyede gerçekteştiğini düşöndürmektedir. Bunun ötesinde günümüzde kullanılan tüm antidepresanlar monoaminerjik içeriği akut bir şekilde yükseltiyor olsa da duygudurumdaki düzelmeler ve antidepresan yanıt gelişiminde gecikmeler gözlenir.

Günümüzde antidepresanlar ile sağlanan sinaptik monoamin miktarındaki akut artışların, moleküler ve hücresel plastisiteyi düzenleyen ve devamındaki ileri mekanizmalar olan transkripsiyonel ve translasyonel değişimlere, bir diğer deyişle sekonder nöroplastik değişikliklere neden olduğu düşünölmektedir (Pittenger ve Duman, 2008).

Nöronal plastisite ya da yeniden yapılanma santral sinir sisteminin, bilgi ve bunlara verilen yanıtları toplayarak, gelecekteki benzer uyarılar ile gerekli ilişkilendirmelerin ardından uygun yanıtları tekrar kullanması fonksiyonudur.

Duygudurum bozukluğu hastalarında strese yanıt olarak, kronik antidepresan tedavisi ile sağlanan nöroplastik etkiler sayesinde geri dönüştürülebilir yapısal değişimlerin varlığı gözlenmiştir. Monoaminlerin sinaptik aralıktaki miktarlarındaki artış hücrenin yaşam süresini, nöroplastisiteyi ve yeni hücre oluşumunu gerçekleştiren intraselüler yolakları aktive etmektedir (Dale ve ark., 2015).

4.1.3.2. Monoamin hipotezine dayanan günümüz antidepresan tedavileri

Günümüzde depresyon için birkaç tedavi uygulanmaktadır. Bu tedavilerin neredeyse tümü monoamin sistemlerini hedef almaktadır. Bu durum nedeniyle 1950'lerden bu yana depresyon tedavisinde çok fazla bir gelişme ortaya konulamamış olduğu sonucuna varılabilir. 1950'lerde tüberküloz tedavisi için kullanılan iproniazidin (MAO inhibitörü) tüberküloz hastalarının duygudurumları üzerinde iyileştirici etkisinin fark edilmesi üzerine birkaç yıl içerisinde monoaminlere yönelik antidepresan tedavinin temeli atılmıştır. MAO, monoaminlerin yıkımını katalizleyen enzimdir ve inhibisyonu monoamin miktarında artışa yol açmaktadır. Daha sonraları antihistaminik ve zayıf antikolinerjik etkiye sahip imipraminin antipsikotik etkileri gözlemlenmiş olup KULN ve ark. tarafından araştırılmıştır. İmipramin; serotonin geri alım taşıyıcısı (SERT) ve noradrenalin geri alım taşıyıcısı (NET) blokajı yaparak serotonin ve noradrenalinin gerilalımını inhibe eder. SERT ve NET blokajının sinaptik aralıkta monoamin miktarını artırması sayesinde antidepresan etki gösterebileceği düşünülmüştür. Böylece antidepresan etkinin monoaminerjik uyarı iletimi ile ilişkilendirilmesi tekrar gündeme gelmiştir. Tüm bu bulgular ışığında depresyon etkeninin düşük monoamin miktarına bağlanması ile birlikte, depresyonda monoamin hipotezi öne sürülmüştür.

Monoaminerjik sistemlerin (serotonin, noradrenalin, dopamin), duygudurumları üzerinde farklı etkileri vardır. Yine de farklı monoaminlerin bu farklı etkilerinin

depresyon hastalarındaki çeşitlilik gösteren semptomların açıklanmasında kullanılabileceği düşünülmüştür. Akabinde yapılan araştırmalar selektif serotonin geri alım inhibisyonu ve selektif noradrenalin geri alım inhibisyonuna odaklanmıştır. Bu alanda geliştirilen bileşikler günümüz antidepresan tedavide kullanılmaktadır. Bir diğer antidepresan grubu olarak atipik antidepresanlar da monoaminerjik sistemi hedef alırlar. Atipik antidepresanlar presinaptik reseptörleri ve sinaptik monoaminerjik içeriği düzenleyerek monoamin döngüsünde rol oynarlar.

Presinaptik α_2 adrenerjik reseptörleri bloke ederek etkinlik gösteren mianserin atipik antidepresanların ilk örneğidir. α_2 adrenerjik reseptör blokerleri spesifik değildir. Daha sonraki dönemde α_2 antagonisti mirtazapin geliştirilmiştir (Smith ve ark., 1990). Mirtazapin presinaptik reseptörler üzerine etkisi ile serotonin ve noradrenalin miktarını artırır. İlaçsız tedavi olarak da elektrokonvulsif tedavi günümüzde halen uygulanan bir tedavidir. İlaçlı tedaviye yanıt gelişmediğinde uygulanır. Bir diğer ilaçsız tedavi yaklaşımı 1990'ların ortalarında öne sürülen transkraniyal manyetik rezonans tedavisidir.

4.2. Stres

Stres, günlük hayatın bir parçası olup, tekrar eden stres ve travmatik stres periferik organ sistemlerinde olduğu gibi santral sinir sisteminde de hastalık etkeni olarak görülmektedir. Uzun dönem maruz kalınan psikolojik stres sadece majör depresyonu tetiklemekle kalmaz aynı zamanda astım, romatoid artrit gibi psikosomatik hastalıkları da tetikler. Psikolojik stresin beyin ve periferik organlar üzerindeki etki mekanizmaları araştırılmıştır.

Yakın geçmişte, çoğalan sosyal ve ekonomik ihtiyaçlar strese maruziyetteki artışlara ve depresyon prevalansının artmasına neden olmuştur (Kessler ve ark., 2003). Fiziksel stresörlerin yanı sıra psikolojik stresörlerin de etkisi ile immün ve inflamatuvar süreçlerin aktivasyonunu takiben sitokin seviyelerinde meydana gelen artış, nöronlarda yapısal ve fonksiyonel değişikliklere yol açarak majör depresyon gelişmesine ortam hazırlamaktadır (Iwata M ve ark., 2013).

4.2.1. Stres yanıtında hipotalamik-pitüiter-adrenokortikal eksen ve sempatik sinir sisteminin rolü

HPA eksenini hem iç hem dış sinyaller tarafından aktive edilir. Hipotalamusta paraventriküler çekirdek nöronları, kortikotropin salım hormonu aracılığıyla medyan eminanstan hipofiz taşıma sistemini hedef alır. Kortikotropin salım faktörü hipofizin içerisine taşınır ve adrenokortikotropik hormonun plazma içerisinde salgısını artıran kortikotropinler üzerinde etki gösterir. Adrenal kortekste kortikotropin reseptörlerinin stimülasyonu glukokortikoidlerin kana salınmasını sağlar. Bu aktivasyonun; arteriyel kan basıncı artışı, kalp atımında yükselme, artan kalp yükü, kan glukoz düzeylerinde artış, kaslara kan derivasyonu, immün yanıt ve inflamasyonun baskılanması ve üreme davranış ve fizyolojisinin inhibisyonu gibi pek çok parasempatik etkileri vardır (Sapolsky ve ark., 2000). Glukokortikoidler homeostasinin sağlanması amacıyla negatif geribildirim mekanizması ile çalışır. Bu mekanizma hipotalamik kortizol reseptörlerindeki salım miktar ve süresini kısaltarak kortikotropin salım faktörü üretimini azaltır.

Stres, homeostaside rol alan ve davranışsal adaptasyonu düzenleyen bir olgudur ve HPA eksenini üzerine etki eder. Kronik stres maruziyeti anksiyete ve HPA ekseninin hiperaktivasyonunun devamı insanlarda depresyon patogenezi ile ilişkilendirilmiştir (Bhatnagar ve ark., 2002).

Depresyonda hipotalamo-pitüiter-kortizol hipotezi, strese olan kortizol yanıtın depresif benzeri davranışlara neden olabileceğini savunmaktadır. Yapılan çalışmalarda depresyon hastalarında HPA fonksiyon bozukluklarına rastlanmıştır. Psikolojik bir stresöre maruziyetin ardından iyileşme periyodunda, depresif hastaların plazma kortizol düzeyleri çok daha yüksek bulunurken depresif olmayan gönüllülerde bazal kortizol düzeylerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir. İntihar eden hastaların beyinlerinde yapılan postmortem incelemelerde prefrontal kortekste kortikotropin salıverici faktör (CRF) miktarının arttığı ve kortikotropin salıverici hormon 1 (CRH-1) reseptörlerinin mRNA'larında CRF çökeltisine yanıt olduğu düşünülen bir azalma saptanmıştır (Merali ve ark., 2004).

Duygudurum bozukluklarında HPA eksenindeki düzensizliklerin fark edilmesinin üzerine son yıllarda depresyon tedavisi için yeni yaklaşımlar geliştirilmiştir. CRF-1 reseptör antagonistlerinin depresyona etkisi çalışılmış ancak hastalarda görülen şiddetli hepatotoksisite nedeniyle bu tedavi bırakılmıştır. Daha yakın geçmişte glukokortikoid reseptör antagonisti olan mifepriston psikotik depresyon tedavisinde etkili bulunmuştur. Bu bileşiklerin beyindeki prefrontal korteks, amigdala, hipokampus, hipotalamus, HPA eksenindeki nöroendokrin döngünün gerçekleştiği bölgelerde ve stres ile kortikotropin miktarında artış görülen bölgelerde etki bıraktığı düşünülmektedir. Pozitif geri bildirim döngüsünün bu şekilde durdurulması depresyon iyileşmesinde daha uyumlu bir sürece neden olabilir (Gold ve ark., 2002).

4.2.2. Stres yanıtında steroidlerin rolü

HPA aktivitesini kontrol eden paraventriküler nöronlar hipokampus, prefrontal korteksin orta kısmı ve amigdala gibi beyin bölgelerinde yoğun miktarda bulunmaktadır. Bu bölgeler glukokortikoid reseptörlerce zengindir. Sıçan ve insan beyinlerinde hipokampal stimülasyon glukokortikoid salgısını azaltır ve hipokampal lezyonlar kortikosteron ve adrenokortikotropik hormon salımını artırır (Sapolsky ve ark., 2000). Kronik stres ve uzun dönem kortikosteroid tedavisi hipokampal nöron kaybı ve hasarı ile ve hipokampal glukokortikoid seviyelerinde azalma ve uzun dönem strese yanıt ile ilişkilendirilir (Sapolsky, 2001, Duman, 2004).

Prefrontal korteksin orta kısmının, HPA yanıtı daha kompleks bir yol ile düzenlediği bulunmuştur. Ön singulat kortekste ve prelimbik kısımlardaki lezyonlar adrenokortikotropik hormon ve kortikosteronu artırırken sağ infralimbik kortekste lezyonlar kortizol yanıtını azaltırlar (Sullivan ve Gratton, 1999). Bu durum medyal prefrontal korteks efferentlerin stres inhibisyonunda prelimbik kısım ventrolateral preoptik bölgeye, dorsomedyal hipotalamusa ve peri paraventriküler bölgeye yönlendirmeleri ile açıklanabilir. Stres eksitasyonunda ise amigdalanın orta ve merkez kısmı rol almaktadır.

Amigdalanın HPA eksenini aktive ettiği düşünülmektedir. Stresi takiben amigdalada meydana gelen yaygın lezyonlar HPA yükünü artıran stimülasyonu

gerçekleştirirken, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve/veya kortizol salgısını azaltırlar. Glukokortikoidlerin merkez amigdalada kortikotropin ekspresyonunu artırdığını gösteren çalışmalar vardır (Du ve Pang, 2015).

Beyinde glukokortikoidler, glukokortikoid reseptörleri ve mineralokortikoid reseptörleri olmak üzere iki çeşit reseptöre sahiptir. Mineralokortikoid reseptörleri ekspresyonu daha azdır, dolayısıyla glukokortikoid afinitesi glukokortikoid reseptörlerine oranla daha yüksektir. Glukokortikoid reseptörleri ve mineralokortikoid reseptörlerinin her ikisi de nükleer hormon reseptör ailesine mensupturlar. Yapılarında DNA bağlanma bölgesi ve ligand bağlanma bölgesini barındırırlar (Beato ve ark., 1995).

4.3. Nörotrofik Faktörler

Nörogelişimsel büyüme faktörlerinin yetişkin beyinde plastisite oluşturdıkları bilinmektedir. Nörotrofik faktörler veya bir diğer deyişle nörotrofinler, nöronları glutamat eksitotoksitesinden korumaktadırlar (Almeida ve ark., 2005). Nörotrofik faktör çalışmalarının öncesinde stresin özellikle hipokampus olmak üzere glukokortikoid reseptörlerince zengin beyin bölgelerinde hasara ve bu bölgelerdeki nöron atrofisine yol açabileceği bildirilmiştir. Bu durum beyin kısımlarındaki nöron ve glial hücre devrelerindeki artma ve azalma olarak tanımlanmaktadır.

Depresyon hastalarının hipokampuslerinde ve diğer önbeyin bölgelerinde hacim azalması gözlenmiştir. Strese yanıtta nörotrofik hipokampal yapılarda gerçekleşen bu değişiklikler nörotrofik faktörlerin analiz gerekliliğini ortaya çıkarmıştır. Sonuçlardan yola çıkılarak depresyon patofizyolojisinde nörotrofik faktörlerin rolü olabileceği hipotezi doğmuştur (Monteggia ve ark., 2004, Duman ve Monteggia, 2006).

4.3.1. Stresin BDNF modülasyonu üzerindeki etkisi

BDNF, büyüme faktörlerinde nörotrofin ailesinin bir üyesidir. BDNF, yetişkin memeli beyinde bulunmaktadır. Stres yanıtında hipokampüste BDNF sinyallerinin azaldığı saptanmıştır. Kronik antidepresan tedavisi ile bu durumun tersine çevrildiği bildirilmiştir (Duman ve Monteggia, 2006). Major depresyon

hastalarında serum BDNF düzeylerinin azalmış olduğu bildirilmiştir (Karege ve ark., 2002).

Stres ile azalan BDNF ekspresyonunun, strese bağlı artmış immün aracılı kortikosteroidlerden kaynaklandığı bir görüş bulunmaktadır. Çünkü kortikosteron verilen farelerde BDNF ekspresyonunun azalmış olduğu bulgularını içeren çalışmalar mevcuttur. Ayrıca adrenal bezleri çıkarılan hayvan çalışmalarında BDNF ekspresyonunda artma olduğu saptanmıştır. Aynı zamanda IL-1 β 'nin BDNF ekspresyonu üzerindeki inhibisyon etkisini gösteren çalışmalar da vardır.

5-HT_{2A} reseptör blokajı BDNF yanıtını kısmen azaltmaktadır. Bu durum hipokampüsteki gama-aminobütirik asit (GABA) internöronlarının sağladığı inhibisyon etkisi ile açıklanmaktadır.

Ancak BDNF ekspresyonundaki azalmanın depresyon patofizyolojisinde etkili olduğu hipotezinin sıkıntıları bulunmaktadır. Bunlardan birincisi BDNF ekspresyonu ve depresyon ilişkisini doğrulamayan veriler ortaya koyan klinik çalışmaların varlığıdır. İkinci olarak, önbeyin BDNF silinmesi gerçekleştirilen farelerin depresif semptomlar göstermedikleri gözlenmiştir. Ayrıca depresyon patofizyolojisinde önemli beyin bölgeleri nükleus akumbens ve Ventral tegmental alana doğrudan BDNF enjeksiyonu yapıldığında depresif benzeri semptomların ortaya çıktığı çalışmalar da mevcuttur (Krishnan ve Nestler, 2008).

Nörotrofinlerin hücresel aktiviteleri tirozin kinaz (Trk) reseptörleri ailesi ve nörotrofin reseptörü (p75) tarafından düzenlenir. TrkA, TrkB ve TrkC reseptörleri öncelik olarak sinir büyüme faktörü (NGF) (BDNF ve nörotrofin-3) tarafından aktive edilirken, diğer reseptörler tüm nörotrofinlere eşit ilgi gösterirler. Trk reseptörlerinin aktivasyonunu, Ras moleküllerinin aktivasyonu takip eder. Bunu mitojenle etkinleşen protein kinaz (MAPK) ailesi üyesi olan, ekstraselüler sinyalle düzenlenen kinazların (ERK) aktivasyonu ve fosfolipaz C- γ ile fosfatidilinozitol 3-kinaz aktivasyonu takip eder. Fosfolipaz C- γ Akt gibi PH(Pleckstrin homology) içeren proteinlerin aktivasyonuna yol açan diaçilgliserol ve inozitol 1,4,5-trifosfat ve fosfatidilinozitol 3-kinaz oluşturur (Huang ve Reichardt, 2003). Akt'ın aktivasyonun hücre canlılığının üzerinde akut etkileri vardır. Aktif Akt ve ERK'ler hücre çekirdeğine göç ederek transkripsiyon

faktörlerinin fosforilasyonunu sağlarlar. Böylece spesifik genlerin ekspresyonu sağlanarak hücre canlılığı korunur (Huang ve Reichardt, 2003, Hanada ve ark., 2004).

Nörotrofinlerin, antioksidan savunma sistemini uyararak, hipokampal nöron kültürlerini, glutamat-uyaranlı hücre ölümünden korudukları bilinmektedir (Mattson ve ark., 1995). Glutamat reseptörlerinin aşırı stimülasyonu sırasında fazla miktarda kalsiyum birikimine bağlı olarak mitokondride reaktif oksijen türleri oluşur. Mitokondrinin aşırı uyarılma enerjisinin sebep olduğu hücre ölümleri apoptoz veya nekroz ile gerçekleşir (Ankarcrona ve ark., 1995).

Almeida ve ark. glutamat toksisitesine karşı BDNF tarafından gelişen nörolojik korunmayı fosfatidilinozitol 3-kinaz ve Ras/ERK sistemleri üzerinden araştırmışlardır. Sonuçlarda BDNF'nin hipokampal nöronlar üzerindeki koruyucu etkisini kaspaz-3 benzeri enzimler aracılığıyla sinyalleme mekanizmaları üzerinden gerçekleştirdiği bildirilmiştir (Almeida ve ark., 2005).

Zhang ve arkadaşları kronik öngörülemez hafif stres (KÖHS) ile depresyon modeli oluşturulmuş farelere oksidatif stresi hedef alan hidrojen zengin su tedavisi uygulamışlardır. 4 haftalık hidrojenli su ile beslenen farelerin hipokampus ve kortekslerindeki IL-1 β seviyelerinde belirgin azalma saptanmıştır. Deneylerde fare hipokampus ve prefrontal kortekslerinde kaspaz-1 ve IL-1 β 'nın aşırı ekspresyonunda ve aşırı reaktif oksijen türleri üretimindeki azalma ve davranış deneyleri verilerindeki iyileşmelerin paralel sonuçlar ortaya çıkardığı bildirilmiştir (Zhang ve ark., 2015).

4.3.2. Stres yanıtında sitokinlerin rolü

İmmün sistem aktivasyonu ve inflamatuvar sitokinlerin salınması depresyon patofizyolojisi ile ilişkilendirilmiştir. Major depresyon hastalarının periferik dokularında ve beyinlerinde artmış inflamasyon biyogöstergeleri belirlenmiştir. Özellikle IL-1 ve IL-6, TNF- α ve bunların suda çözünen reseptörleri gibi doğuştan varolan immün sitokinlerin konsantrasyonları depresyon hastalarının serebrospinal sıvıları ve periferik kanında yüksek bulunmuştur (Raison ve ark., 2006). Depresyon hastalarında sitokin seviyelerindeki artışa yönelik bulguların dışında insan ve hayvan

deneklerde immün sitokin verilmesinin ardından gelişen davranışsal değişikliklerin major depresyon semptomları ile örtüştüğü gözlenmiştir (Dantzer ve ark., 2008).

Sitokinler beyine doğrudan kan beyin bariyerini geçerek veya viseral afferent sinirler aracılığı ile iletilirler. Beyinde duygudurum düzenlenmesi ile ilişkilendirilen yollara taşınırlar. Sitokinler beyin içerisinde nükleer faktör kappa B (NF- κ B) gibi inflamatuvar araçların aktivasyonu ile transdüklenir ve güçlenirler. Ayrıca sitokin reseptörlerine sahip mikrogliya ve astrosit hücreleri de beyindeki bir diğer sitokin ağını oluştururlar. Bu hücreler sitokin, kemokin, nöron ve benzeri çoklu hücre tiplerinin üretiminde rol oynarlar. Sitokinler depresyon ile ilişkilendirilmiş pek çok patofizyolojik yoldan görünür bir biçimde etkilenmektedirler. Bu olaylara nörotransmitter metabolizması, nöroendokrin fonksiyonlar, sinaptik plastisite ve bölgesel değişiklik gösteren beyin aktiviteleri dahildir (Raison ve ark., 2006).

Sitokinlerin depresyona yol açmalarındaki bir diğer mekanizma glukokortikoid reseptörler üzerindeki etkileri ile gerçekleşmektedir. Sitokinlerin glukokortikoid reseptörlerin ekspresyonunu azalttıkları bulunmuştur. Bu azalma işlemini glukokortikoid reseptörlerin sitoplazmadan çekirdeğe taşınmasını bloke ederek ve nükleer protein-protein etkileşimleri üzerinden glukokortikoid reseptör-DNA bağlanmasını bozarak gerçekleştirmektedirler. Bunlara ek olarak sitokinler glukokortikoid reseptörlerinin etkisiz olan beta izoformunun ekspresyonunu görece artırır (Pace ve Miller, 2009).

4.4. Glutamaterjik Sistemin Stres Yanıtındaki Rolü

Yüksek L-glutamat konsantrasyonları ve L-glutamat reseptörlerinin aşırı uyarılması nörotoksisiteye neden olmaktadır.

L-glutamat memeli santral sinir sistemindeki en önemli eksitatör nörotransmitterdir (Takaki ve ark., 2012). Reseptörleri başlıca N-metil-D-aspartat (NMDA), amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonat (AMPA), kainat ve G-proteinine bağlı metabotropik reseptörler olmak üzere çeşitlilik gösterir.

Santral sinir sistemi, nöronlar ve glial hücreler ile çevrelenmiştir. Glial hücreler; mikroglialar, astrositler ve oligodendrositlerdir (Allen ve Barres, 2009). Mikroglialar immün hücrelerin aktivasyonunda rol alan primer hücrelerdir. Mikroglia aktivasyonu gerçekleştiğinde hücreler dinlenme durumundan hareketli hale geçerler ve proinflamatuvar sitokinler, reaktif oksijen bileşenleri, nitrik oksit, L-glutamat ve ATP gibi çözünür maddelerin salımına yol açarlar. Bu faktörlerin bazılarının L-glutamat taşıyıcılarını doğrudan inhibe ettikleri bilinmektedir. Bunun yanı sıra inflamasyon ile aktive olan mikroglialar ile astrosit L-glutamat taşıyıcısı düzeyleri arasındaki doğrudan etkileşim araştırılmaktadır (Lehnardt, 2010). Santral sinir sistemi hücre gruplarından astrositler, majör fonksiyonel L-glutamat taşıyıcılarına ev sahipliği yapmaktadır. Astrositler nöron sinapslarına yakın konumlanmış küçük glial hücrelerdir. Nöroinflamasyonda mikrogliyal aktivasyona eşlik eden astrosit hücre kaybı görülmektedir. Astrositlerde bulunan L-glutamat taşıyıcılarının ekspresyonu metabotropik glutamat reseptörleri ile gerçekleşir.

Major depresyonda, inflamatuvar mekanizmaların harekete geçmeleri nedeniyle obezite, romatoid artrit, diyabet gibi eş zamanlı hastalıklar risk faktörlerini oluşturmaktadırlar. Buna dayalı olarak periferik immün modölatörlerin de psikiyatrik semptomların ortaya çıkmasında etkili oldukları bildirilmiştir (Dantzer ve ark., 2008). Sinir sisteminde gerçekleşen inflamasyonun nedeni mikrogliyal aktivasyon olarak görülmektedir (Yirmiye ve ark., 2015, Sui ve ark., 2016, Najjar ve Pearlman, 2015). Mikroglialar doku hasarı veya beyin enfeksiyonlarında santral sinir sisteminin ilk aktive olan hücreleridir. Patojen tanınması, fagositoz, antijen sunumu ve sinaps yeniden yapılanmasında görev alırlar (Boche ve ark., 2013). Nöroinflamasyondaki bu mikrogliyal aktivasyonlar kısıtlama stresi, akut stres, prenatal kısıtlama stresi, post travmatik stres bozukluğu, maternal uyku yoksunluğu, adrenalectomi, elektrik şoku(ayak) stresi, düşük doz lipopolisakkarit ile sağlanan stres de içerisinde bulunan stres modelleri uygulanan hayvan çalışmalarında da saptanmıştır (Reus ve ark., 2015).

Mikrogliyal anomalilerin majör depresyonda sitokinler üzerinde oluşturdıkları değişiklikler Tablo 1’de verilmiştir.

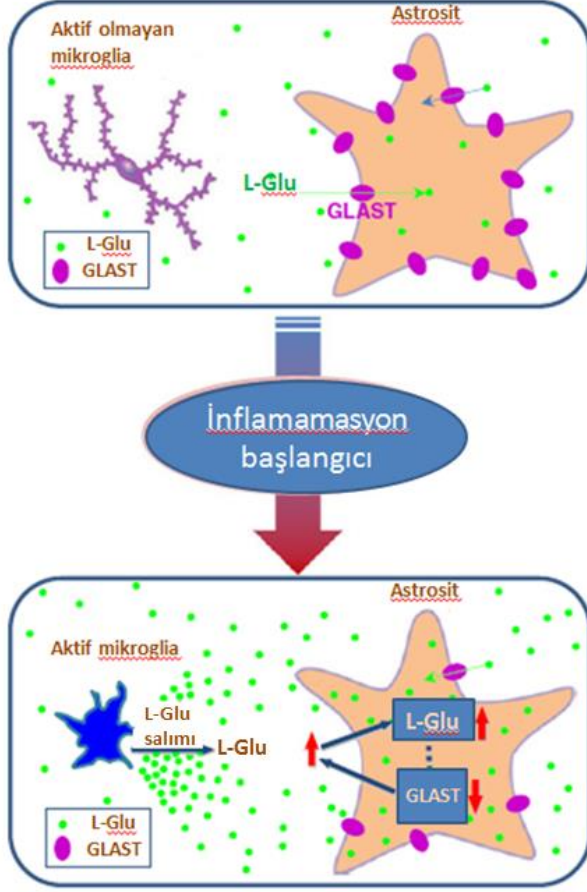
Tablo 1. Majör depresyonda saptanan mikrogliyal anomaliler

Anomali parametreleri	Depresyon ve Stres	Referans
Astrosit dansitesi	↓	Steiner ve ark., 2009, Correa ve ark., 2011
Mikrogliyal aktivasyon	↑	Torres-Platas ve ark., 2014
Inflamatuvar medyatörler	↑IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ , IL-1 β ve TNF- α	Miller ve ark., 2009
Mikroglia stimülatörleri	↑ Iba-1	Diz-Chaves ve ark., 2013

IL-6; interlökin 6, IL-8; interlökin-8, IL-12; interlökin-12, IFN- γ ; interferon- γ , IL-1 β ; interlökin-1 β , TNF- α ; tümör nekrozan faktörü- α , Iba-1; iyonize, kalsiyuma bağlanan adaptör molekül-1

Nöron-glia aktivasyonunun glutamaterjik sinyalleme ve immün sistem etkileşimi üzerinden depresyonun patofizyolojisi üzerindeki rolü, periferdeki sitokinlerin stres kaynaklı çoğalması, akabinde mikrogliyal aktivasyondaki artış ve santral sinir sisteminde IL-1 β ve TNF- α gibi proinflamatuvar mediyatörlerin sentezinin artması ile başlar. Mikrogliyal aktivasyon astrositlerde atrofiye neden olabilir ve bunun bir sonucu olarak IL-1 β konsantrasyonlarında yükselme ve glutamat geri alımında azalma gerçekleşir. Sinaptik aralıkta artan glutamat konsantrasyonu ve NMDA reseptörleri aracılığı ile nöronların içindeki kalsiyum miktarında artış gerçekleşir. Bu durum depresyon hastalarında serbest radikal oluşumuna sebebiyet vererek, proinflamatuvar gen ekspresyonunu artırır. Bir diğer yandan glukokortikoid reseptör antagonistleri, selektif serotonin geri alım inhibitörleri, düşük dozda kortikosteron ve NMDA reseptör antagonistlerinin mikrogliyal aktivasyonu azaltıcı etkileri olduğu bildirilmiştir (Reus ve ark., 2015).

Santral sinir sisteminde mikrogliyal aktivasyonun tespit edilmesi için gerçekleştirilen immunohistokimyasal çalışmalarda iyonize, kalsiyuma bağlanan adaptör molekül-1 (Iba-1) ile boyama yapılarak tespit edilmektedir. Astrositlerle birlikte bulundukları kültürlerde mikrogliyal Iba-1 ve CD11b ile immunohistokimyasal olarak kolaylıkla işaretlenebilirler (Jeong ve ark., 2013). Ayrıca purinerjik P2X7 reseptörlerinin ERK aktivasyonu ile mikrogliyal aktivasyonda ve proliferasyonda rol oynadığını bildiren çalışmalar bulunmaktadır (Lu ve ark., 2013).



Şekil 1. İnflamasyon başlangıcında astrosit ve mikrogliyalardaki glutamat aktivitesi.

Aktive olmuş mikrogliyalarda L-glutamat salımını gerçekleştirerek ekstraselüler glutamat konsantrasyonunu yükseltirler. Astrositler içerisindeki L-glutamat miktarı artış gösterir. Buna bağlı olarak astrositler içerisindeki L-glutamat taşıyıcıları down-regülasyona uğrarlar. Nöroinflamasyonun henüz başlangıcında ekstraselüler glutamat artışı taşıyıcı sistemlerin eksilmesine bağlı olarak daha fazla artar. 1. Aktif mikrogliyalardan L-glutamat salımı. 2. Ekstraselüler L-glutamat artışı ve bunu takiben astrositlerde intraselüler L-glutamat artışı. 3. Astrositlerdeki intraselüler L-glutamat artışının sonucunda, L-glutamatın glutamat aspartat taşıyıcısı (GLAST) ekspresyonunda down regülasyon oluşturmaları. 4. GLAST ekspresyonunda azalmanın ekstraselüler glutamat miktarını daha da arttırması (Takaki ve ark., 2012'den modifiye edilmiştir).

Nöronal hücre ölümünde eksitotoksisite önemli bir süreçtir. Nöron kaybında eksitotoksisite oldukça yaygın olarak görülmekte ve buna bir etken olarak beyinde aşırı miktarda glutamat salınması gösterilmektedir. Aşırı miktardaki ekstraselüler glutamat birikimi ve akabinde glutamaterjik reseptörlerde gelişen aşırı uyarılma reaktif ve eksitotoksik oksijen ve azot türevlerinin üretimine ve hücre ölümüne neden olan oksidatif strese sebebiyet vermektedir (Fortunato ve ark., 2010, Li ve ark., 2011). Nöronları, aşırı miktarda salınmış olan glutamat uyarısından korumak amacıyla astrositler bu aşırı miktardaki glutamayı ekstraselüler boşluktan astrosit hücre içine taşıma görevini gerçekleştirmektedirler. Bu taşıma işleminde astrositlerde bulunan eksitator amino asit taşıyıcılarının (EAAT) büyük rolü bulunmaktadır. Aynı zamanda glutamat glutamin döngüsünün düzenlenmesine de katkı sağlamaktadırlar. EAAT'ler

normal eksitator sinaptik transmisyonun korunmasını sağlarlar. Astrositlerde bulunan EAAT'ler ekstrasellüler glutamat konsantrasyonun nörotoksik seviyelerin altında tutulmasında primer görev alırlar (Rothstein ve ark., 1996). Bu düzenlemeleri çevre nöronlardaki Na^+/K^+ -ATPaz aktivasyonu ve glukoz taşıyıcılarının aktivasyonunu yöneterek ATP ve laktat düzeylerinin regülasyonu ile gerçekleştirirler.

Membran ilişkili proteinlerin çoğunluğu kolayca hücre içine alınabilirler ve intrasellüler kompartımanlarda bulunabilirler. Ancak EAAT'lerin hücre içine alınma mekanizmaları henüz aydınlatılmamıştır. Bu nedenle L-glutamatın hücreiçine alınması daha ayrıntılı sitoskeletal bir düzenleme gerektirmektedir.

EAAT'ler veziküler glutamat taşıyıcı proteinler ile hücre konumlanmaları ve farmakolojik karakterleri nedeniyle farklılık gösterirler (Beart ve O'Shea, 2007). EAAT'lerdeki bozukluklara ve disfonksiyonlara; Alzheimer hastalığı, amiotropik lateral skleroz, major depresyon ve epilepsi gibi pek çok nörolojik bozuklukta rastlanılmaktadır (Choudary ve ark., 2005). Bunun yanı sıra çalışmalarda glutamat konsantrasyonlarının artırılması ile in vivo ve in vitro inflamasyon modelleri kullanılmaktadır (Takaki ve ark, 2012). Toplamda 5 adet Na^+ aracılı glutamat taşıyıcısı belirlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Eksitator Amino Asit Taşıyıcıları (EAAT) (Beart ve O'Shea, 2007)

Eksitator amino asit taşıyıcısı	Konum/Dağılım
Glutamat-aspartat taşıyıcısı (EAAT1/GLAST)	Astrositler/Bergman glial hücreleri ve beyincik
Glutamat taşıyıcısı 1 (EAAT2/GLT-1)	Glial hücreler (beyindeki glutamat alımını %90 oranında gerçekleştirir.)
EAAT3	Nöronlar
EAAT4	Nöronlar ve serebellar purkinje hücreleri
EAAT5	Rod reseptörleri ve retina bipolar hücreleri

EAAT; eksitator amino asit taşıyıcısı, GLT; glutamat taşıyıcısı, GLAST; glutamat-aspartat taşıyıcısı.

Yapılan çalışmalar GLT-1 disfonksiyonunun bu nöronal hücre kaybının önlenmesinin aksamasına yol açtığı öngörüsü gerekçesiyle Alzheimer hastalığı, amiotropik lateral skleroz, inme, epilepsi, travmatik beyin hasarı gibi nörolojik bozukluklarla ilişkilendirilebileceğini göstermektedir. Bu nörolojik bozukluklarda

GLT-1 disfonksiyonu incelenmiş ve hipotez ile örtüşen veriler ortaya çıkmıştır (Lauderback ve ark., 2001). GLT-1 aktivitesinin ve ekspresyonunun arttığı durumlarda pek çok nörolojik hastalık modellerinde glutamat aşırı salımının azaldığı ve davranışlarda iyileşme sağlandığı tespit edilmiştir (Fortunato ve ark., 2010).

İnflamatuvar sitokinlerin de astrositlerdeki glutamat taşıyıcılarını doğrudan ve/veya dolaylı olarak azalttıkları bulunmuştur. IL-1 β ve TNF- α 'nın α -amino-3-hidroksi-4-izoksazol propiyonik asit ekspresyonunu artırarak glutamat ekspresyonunu doğrudan düzenlediği bildirilmiştir (Pickering ve ark., 2005).

Major depresyonda stres ve inflamatuvar mekanizmaların tetiklemesi ile eksitotoksisite kaynaklı nöronal hücre kaybına, astrositlerde meydana gelen hipertrofi ve hiperplazi eşlik etmektedir. Bu yanıtın saptanmasında glial fibriler asidik protein (GFAP) ekspresyonu incelenmiş olup bu proteinin ekspresyonunda belirgin artış gözlenmiştir (Davis ve ark., 2002). GFAP, astrosit hücre membranlarında ve astrositik aktivite artışında sentezlenen bir orta dereceli filaman proteinidir. Astrositlerin olgunlaşmasına katkıda bulunan proteinlerdir. Astrosit olgunlaşma göstergesi olarak çalışmalarda kullanılmaktadır. GFAP'ın upregülasyonu beyin lezyonlarında tespit edilen karakteristik bir parametredir. GFAP ekspresyonu tiroid hormonu ve glukokortikoidler gibi bazı hormonlar ve pek çok büyüme faktörü tarafından düzenlenmektedir (Gomes ve ark., 1999).

Major depresyon hastalarında yapılan bir çalışmada hastaların prefrontal kortekslerinde GFAP konsantrasyonlarının belirgin ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Johnston-Wilson ve ark., 2000). Bir diğer çalışmada immunohistokimyasal GFAP analizleri sonucu majör depresyon hastalarının dorsolateral prefrontal kortekslerinde GFAP konsantrasyonunun az olduğu bildirilmiştir (Miguel-Hidalgo ve ark., 2000). Çalışmalarda varılan bu sonuçlar majör depresyonda stres, inflamasyon ve glutamat eksitotoksitesi aracılı astrositlerde meydana gelen bozuklukların varlığını destekler niteliktedir.

4.5. Stres Yanıtında NLRP İnflamazomu ve İnflamatuvar Yanıt Dair Parametreler

İnflamasyon, birbirini tamamlayan iki sistem ile meydana gelir: doğuştan gelen immün sistem ve ardından harekete geçen adaptif immün sistemdir. Doğuştan immün sistemin tanıdığı reseptörler membranda yerleşmiş Toll-benzeri reseptörler (Toll-like receptor; TLR) ve Nod-benzeri reseptörler (Nod-like receptor; NLR)'dir. TLR'ler hem intraselüler hem de ekstraselüler uyarınları tanırken NLR'ler sitozolik agonistlere yanıt verirler. NLR ailesi çok çeşitli proteinleri içerir ve bu proteinler oligomerleşerek daha büyük protein kompleksleri oluştururlar. Bu yol ile inflamazom adı verilen moleküler yapıyı oluştururlar (Choi ve Ryter, 2014).

Bu multiprotein kompleksleri inflamatuvar kaspazların (kaspaz-1) aktivasyonuna neden olurlar. Kaspazların aktivasyonu sonucunda IL-1 β ve IL-18'in de içerisinde bulundukları inflamatuvar sitokinlerin salgılandığı süreçler başlar (Martinon ve ark., 2009). Böylece NLR ailesine ait inflamazomların (NLRP1, NLRP3 ve NRC4) kalıtsal ve adaptif immün sistemlerin hücrel strese kritik medyatörlerini temsil ettikleri söylenebilir.

NLR protein ailesi, NLR protein alt ailesi (NLRP1-14) ve ICE proteaz aktive edici faktör (IPAF)'tan oluşur. Çoğu NLR nükleotid bağlanma ve oligomerizasyon (NACHT) kalıntılarından meydana gelmektedir. NACHT kalıntıları ATP bağımlı oligomerizasyon aracılığıyla proinflamatuvar sitokin sinyalleme sisteminin aktivasyonunu sağlar. NACHT kalıntıları çoğunlukla C-terminal lösince zengin tekrarlardan ve N-terminal kaspaz aktivasyon ve güçlendirme kalıntısı (caspase activation and recruitment domain; CARD) veya pürin kalıntıları (PYD) ile çevrelenmiştir (Schroder ve Tschopp, 2010). NLRP'lerin PYD kalıntısı adaptor apoptoz ilişkili speck benzeri protein içeren kaspaz güçlendirme kalıntısı (caspase recruitment domain; ASC) içerirler. ASC'de hem N-terminal PYD hem de C-terminal CARD bulunur. ASC'nin CARD kalıntısı kaspaz-1 aracılı inflamazom oluşumunun esansiyel komponentidir.

NLRP1 ve NLRP3 inflamazomları kaspazı farklı şekillerde aktive ederler. NLRP1 CARD içermektedir. CARD pro-kaspaz-1/pro-kaspaz-5 aktivasyonunu sağlar (Faustin ve ark. 2007). Bunun sonucu olarak NLRP1'in doğrudan kaspaz-1 aktivasyonu için ASC stoğuna gereksinimi bulunmamaktadır (Schroder ve Tschopp, 2010). NLRP3 ise CARD kalıntısı bulundurmaz. NLRP3'teki PYD kalıntısı ASC ile etkileşerek pro-kaspaz-1'i uyarır (Faustin ve ark., 2007).

NLRP3 inflamazomunun aktivasyonu ve düzenlenmesinde TLR'lerin etkinliği, NF- κ B transkripsiyonu üzerinden gerçekleşir. TLR'ler inflamazom aktivitesini ve pro-IL-1 β üretimini düzenleyen kritik reseptörlerdir. TLR agonistleri (lipopolisakkarit; LPS gibi) NF- κ B transkripsiyonu ve IL-1 β promoter aktivasyonu ile IL-1 β sekresyonunu arttırmaları (Schroder ve Tschopp, 2010). IL-1 β 'nın kaspaz-1 ile sağlanan proteolitik kırılmasının öncesinde TLR agonistleri NF- κ B'ye bağlı sinyali aracılığıyla NLRP3 inflamazom oluşum yolunu kolaylaştırır.

4.5.1. Majör depresyonda inflamazom

Periferdeki sitokinlerin beyine geçişleri kısmi olarak afferent vagus siniri aracılığı ile gerçekleşir ve santral sinir sistemi bozukluklarına yol açar. Periferel sinir hasarının sitokin ekspresyonunu arttırarak depresif-benzeri davranışlara yol açtığı bildirilmiştir. Stres beyinde bu süreci IL-1 β upregülasyonu ile tetiklemektedir (Norman ve ark., 2010). Iwata ve ark. psikolojik strese yanıtta IL-1 β sekresyonundaki artışın ilk basamağı oluşturduğunu öne sürmüşlerdir (Iwata ve ark., 2013). Koo ve Duman akut ve kronik stres modellerinde NF- κ B yolakları aracılığı ile gerçekleşen IL-1 β salımının depresif benzeri davranışlara yol açtığını bildirmişlerdir (Koo ve Duman, 2008).

Yakın geçmişte depresyon ve NLRP3 inflamazomu arasındaki ilişki daha ayrıntılı araştırılmıştır. Major depresyon tanısı konulan hastaların IL-1 β ve IL-18 seviyelerinde artış saptanmış, bunun yanı sıra periferel kan mononükleer hücrelerinde NLRP3 inflamazomu tespit edilmiştir (Alcocer-Gomez ve Cordero, 2013, Ozaki ve ark., 2015).

Zhang ve ark., tarafından LPS ile oluşturulmuş depresyon modelinde fare beyrinde IL-1 β ve NLRP3 inflamazomunun mRNA ekspresyon seviyelerinde belirgin artış saptanmıştır. Bu çalışma da psikolojik stres ve depresyonda IL-1 β ve NLRP3'ün inflamatuvar medyatör olarak gözlendiğini destekler niteliktedir (Zhang ve ark. 2013). Sıçanlarda LPS enjeksiyonu ile inflamatuvar yanıtın gözlendiği bir başka çalışmada depresif davranışların gözlendiği ve bu durum beraberinde NLRP3 inflamazomu, IL-1 β düzeyleri artışı ve ASC aktivasyonu beraberinde pro-kaspaz-1'lerde artış bildirilmiştir (Zhu ve ark., 2017).

Erkek fareler üzerinde yapılan bir çalışmada glukokortikoid enjeksiyonu ile oluşturulan inflamatuvar yanıtın prefrontal korteks ve hipokampüste NLRP1 inflamazomunu arttırdığı ve hayvanlarda depresif benzeri davranışlara yol açtığı bildirilmiştir. Ayrıca bu hayvanların hipokampuslerinde kaspaz-1, ASC, IL-1 β , NF- κ B, IL-6, IL-18, TNF- α , kaspaz-5 düzeylerinde artış saptanmıştır (Kamo ve ark., 2013).

NLRP3 aktivasyonu sırasında mitokondriyal parçalanmaların kritik bir süreç olduğu önerilmektedir (Latz ve ark., 2013, Nakahira ve ark., 2011). Ancak majör depresyon hastalarındaki inflamazom oluşumu mitokondriyal disfonksiyon ile ilişkilendirilmemiştir (Alcocer-Gomez ve Cordero, 2013). Bu nedenle psikolojik stresle meydana gelen inflamasyonun mekanizması günümüzde halen tam olarak aydınlatılamamıştır.

Klinik uygulamalarda, bazı antidepresan tedavilerinin inflamazom aktivasyonu üzerinde düzenleyici etkisi bulunduğu ileri sürülmüştür. Amitriptilin (trisiklik antidepresan; TSA) majör depresyon hastalarında IL-1 β ve IL-18 üretimini ve NLRP3 ve kaspaz-1 aktivasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Alcocer-Gomez ve Cordero, 2013). Bunun yanı sıra bir antidiyabetik olan gliburidin stresle indüklenen depresyonda kaspaz-1 aktivasyonunu ve IL-1 β sekresyonunu inhibe ettiği, NLRP3 inflamazomu oluşumunda da etkili bir inhibitör rolü olduğu bildirilmiştir (Lamkanfi ve ark., 2009).

Warner-Schmidt ve arkadaşları depresyon hastalarında antidepresan ilaçlar ve antidepresanlar arasında antagonistik bir ilişkinin varlığını tespit etmişlerdir. Bu çalışmada selektif serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSGİ) depresyon hastalarının frontal kortekslerinde antiinflamatuvar ilaçlar tarafından normal koşullarda inhibe edilen TNF- α ve IFN- γ seviyelerinde artışa neden olduğu bulunmuştur. Bu durum TSA için geçerli değildir. Buradan TSA ve SSGİ'lerin antiinflamatuvar ilaçlarla farklı mekanizmalar üzerinden etkileşim gerçekleştirdiğini ortaya koymaktadır (Warner-Schmidt ve ark., 2011).

Depresyon nedenli NLRP3 aktivasyonu pek çok komorbid sistemik hastalıkla bağlantılı bulunmuştur (Iwata ve ark., 2013; Menu ve Vince, 2011). İnflamasyonun invaziv patojenler haricinde psikolojik stres eşliğinde de aktive olduğu pek çok çalışma ile desteklenmiştir (Raison ve Miller, 2013).

NF- κ B birden fazla alt ünitenin birleşmesi ile oluşmuş bir transkripsiyon faktörüdür ve inhibitörü inaktif konformasyonunu sitoplazmada tutmaktadır. NF- κ B aktivasyonu kalsiyum/ kalmodulin bağlı kinaz aracılığı ile gerçekleşir. NF- κ B'nin salınan ve aktif durumda olan konformasyonu sitoplazmadan çekirdeklere doğru yer değiştirerek hedef genlerin transkripsiyonunu başlatır (Gutierrez ve ark., 2005).

NF- κ B'nin sinapslarda lokalize olan p65 alt ünitesi eksik fareler ile yapılan bir çalışmada, farelerin uzamsal hafıza görevlerini yerine getiremedikleri saptanmıştır. Bu durum p65 eksik farelerin sinapslarda NF- κ B ekspresyonlarının eksikliğine dayandırılabilir. Bu sonuçlar NF- κ B p65 fosforilasyon mekanizması göz önünde bulundurulduğunda NF- κ B'nin nöronal gelişim üzerinde güçlü bir inhibisyon etkisi yaptığı görüşü desteklemektedir (Gutierrez ve ark., 2008). NF- κ B'nin kaynak efektörü olduğu bilinen kappa kinaz inhibitörüne (IKK) BDNF ve sitokinlerin başlattığı nöronal hücre kaybına yol açan mekanizmaların ileri adımlarında etkili bir parametre olduğu düşünülmektedir. Russo ve ark. 2009'da nükleus akumbenste dominant negatif IKK mutant ekspresyonunun bazal dendrit gövde sayısını azalttığını bildirmişlerdir (Russo ve ark., 2009). Christoffel ve ark. tarafından kronik sosyal yenilgi stresi uygulanan farelerde nöroplastisitenin araştırıldığı bir çalışmada NF- κ B'ye parametre olarak yer

verilmiştir. Kronik sosyal yenilgi stresi uygulanan farelerin nükleus akumbenslerinde IKK'nın belirgin up-regülasyonu saptanmıştır. Aynı çalışmada IKK inhibisyonu gerçekleştirildiğinde dendrit gövdelerinin tekrar geliştiği bildirilmiştir (Christoffel ve ark., 2011). Bu durum nükleus akumbensteki NF- κ B nedenli değişikliklerin nöronal morfoloji üzerindeki etkilerini ve stres ile indüklenen davranışsal bozukluklar üzerindeki etkilerini destekler niteliktedir (Christoffel ve ark., 2011).

Tüm bulgular bir arada değerlendirildiğinde NF- κ B tarafından düzenlenen gen transkripsiyonunun davranışsal değişikliklere ve nöroplastisiteye doğrudan etkisinin varlığı ve nöronal hücre kaybının gerçekleştiği yollarda NF- κ B'nin rolü göz önünde bulundurulduğunda, bu faktörün afektif ve nörodejeneratif hastalıklarda incelenebilecek bir parametre olabileceği sonucu çıkarılmıştır.

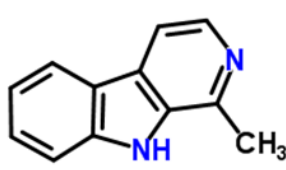
4.6. Endojen Beta-karbolinler

Endojen beta-karbolinlerin klonidin benzeri aktivite gösteren maddeler araştırılırken sıçan ve sığır beyninden elde edilen metanolik ekstraksiyonlarda ters faz HPLC tekniğiyle elde edilen ve klonidin benzeri aktivite gösterme özelliği bulunan ekstraktın içerisinde varlıkları bildirilmiştir (Atlas ve Burnstein, 1984). Bu maddelerin in vivo ve in vitro sentezleri araştırılmıştır. Beta-karbolinler in vitro ortamda formaldehit gibi karbonil içeren bileşiklerin varlığında indolaminlerin Pictet-Splenger siklizasyonu sonucu oluştuğunu gösteren kanıtlar bulunmaktadır. Böylece formaldehit ve asetaldehit oluşumuna neden olan yollardaki stimülasyonların in vivo beta-karbolin sentezinde artışa neden olmaktadır (Robinson ve ark., 2003).

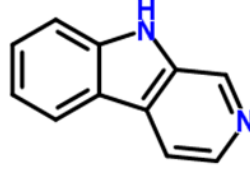
Beta-karbolin sentezinde alternatif bir yol da glioksilik asit kullanımı ile triptaminden hızlı bir şekilde beta-karbolin oluşmasıdır. Pirüvik asit glioksilik aside benzer özellik gösterir ve memeli dokularında bulunur. MAO inhibitörü varlığında triptamin ve pirüvik asitin beta-karbolinlere dönüştüğü görülmüştür (Susilo ve Rommelspacher, 1987). Bu sürecin in vitro psödofizyolojik ortamda gerçekleşmiyor olması nedeniyle enzimatik olduğu düşünülmektedir (Robinson ve ark., 2003).

Harman, *Peganum harmala* bitkisinden izole edilen (Celikyurt IK ve ark., 2012, Ghazaleh ve ark., 2015), molekül formülü $C_{12}H_{10}N_2$, molekül ağırlığı 182.221 Dalton olan endojen bir beta-karbolindir (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5281404#section=Top>, Erişim tarihi: 24.12.2016). Yapılan çalışmalarda % 50'lik etanolde, % 0,9'luk salinde çözünürlüğü gösterilmiştir (Nasehi M ve ark., 2013). Güney Amerika yerlileri, *Peganum harmala* bitkisinden elde ettikleri beta-karbolin türevlerini emanogog abortif olarak kullanmaktadırlar. Amazon bölgesinde beta- karbolin içeren bitkilerden *Banisteriopsis spp.*, *Tetrapteris*, *Virola spp.* ve *Anadenanthera spp.* 'nin halüsinojenik olarak kullanıldıkları bilinmektedir. Özellikle harmin ve harmalin *ayahuasca*'nın halüsiojenik etkilerinden sorumludur. Bu durum psikofarmakolojik etkilerinin araştırılmasına etken olmuştur (Moloudizargari ve ark., 2013). Beta-karbolinlerin pek çoğu bitkilerde, besinlerde, içeceklerde ve endojen olarak memeli dokularında bulunan indol alkaloidleridir. Bazı harman kalıntılarının endojen formasyonları memelilerde ve balıklarda görülmüştür. Özellikle ısı muamelesi görmüş yüksek protein içeren besinlerde (kızarmış et, balık, peynir, diğer et ürünleri), alkollü içecekler, demlenmiş kahve ve sigara dumanında bulunurlar (Agui ve ark., 2007). Bu bileşikler güçlü biyolojik aktiviteleri ve bunun yanı sıra oluşturdıkları istenmeyen etkileri nedeniyle toksikolojik açıdan büyük öneme sahiptirler. Sigara maruziyeti dışarıda bırakıldığında diyetle alınan beta-karbolinlerin bu maruziyete temel kaynak oluşturduğu bildirilmiştir.

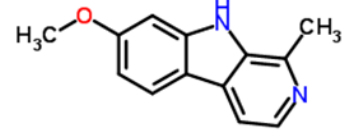
Günümüzde harman, norharman, tetrahidronorharman, harmin ve harmalin endojen beta-karbolinlerin başlıca örnekleridir. Endojen beta-karbolinlerin adlandırılmaları kafa karıştırıcı olabilir. Orijinal kimyasal isimleri olan 9-H-pirido (3,4-b) indol beta-karbolin ismiyle değiştirilmiştir. Kimyasal yapıları ayrıntılı olarak aşağıdaki gibidir (Şekil 2).



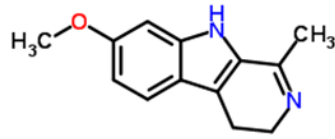
i. Harman
C₁₂H₁₀N₂
Ma: 182.221 Da



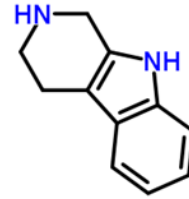
ii. Norharman
C₁₁H₈N₂
Ma: 168.195 Da



iii. Harmin
C₁₃H₁₂N₂O
Ma: 212.247 Da



iv. Harmalin
C₁₃H₁₄N₂O
Ma: 214.263 Da



v. Tetrahydronorharman
C₁₁H₁₂N₂
Ma: 172.226 Da

Şekil 2. Beta-karbolinlerin açık ve kapalı kimyasal formülleri ve molekül ağırlıkları (<http://www.chemspider.com/> Erişim tarihi: 01.01.2017). harman, norharman, tetrahydronorharman, harmin ve harmalin. Harmanın 1. konumdaki metil süstitüsüyonu MAO A inhibisyonundan sorumludur. Aynı durum bu konumda metil süstitüsüyonu barındıran diğer beta-karbolinler için de geçerlidir (May ve ark., 1994).

4.6.1. Beta-karbolinlerin toksisiteleri

Beta-karbolin toksisitelerinin Parkinson, kanser, alkolizm gibi patolojilerde etken olduğu bilinmektedir (Pfau ve Skog, 2004). Bunların yanı sıra harman ve norharmanın toksisite çalışmalarında mutajenik ve komutajenik etkiler raporlanmıştır. Bu etkilerin harman ve norharmanın DNA ve sitokrom P-450 gibi enzim sistemleri ile etkileşimi nedenli olduğu düşünülmektedir (Herraiz ve Galisteo, 2014, Robinson ve ark., 2003).

Geçmişten günümüze yapılan çalışmalarda bazı beta-karbolinlerin psikoaktif özellikleri araştırıldığında beta-karbolinlerin nörotoksik aktivitelerinin varlığı bulunmuştur. Bu aktivite *substantia nigra*'da birikimleri ve bunu takiben oluşan biyoaktif beta-karbolinyum katyonlarının oluşumu ile ilişkilendirilmiştir (Östergren ve ark., 2004). Yapılan çalışmalarda Parkinson hastalarında aromatik beta-karbolinlerin ve beta-karbolinyum katyonlarının yüksek oranda varlığı tespit edilmiştir (Matsubara

ve ark., 1998). Bu nörotoksik etkilerden en belirgin olanı halüsinojenik etkidir (Grella ve ark., 1998). Harmin ve harmalin'in halüsinojenik etkileri diğerlerine oranla daha kuvvetlidir. Yapılarına gömülü bulunan indoletilamin kalıntılarının indolalkilaminlerde gözlenen benzeri halüsinojenik etkiden sorumlu olduğu düşünülmektedir. Bunun yanı sıra klasik halüsinojenlerin 5-HT2 reseptörlerine antagonist bağlanma bölgelerinden bağlanmaları halüsinojenik etkiye neden olmaktadır. Beta-karbolinler de özellikle 5-HT2A reseptörüne bu antagonist bölgeden bağlanma göstermektedirler ve bu bağlanma da halüsinojenik etkiden sorumlu tutulmaktadır. Beta-karbolinlerin 5-HT2A reseptörüne agonist bölgeden bağlanmaları araştırılmaya başlanmıştır. Bu agonist bölge bağlanmasının araştırılması beta-karbolinlerin psikiyatride terapötik etkilerinin varlığının ve bu etkilerin neler olduğunun aydınlatılmasına yöneliktir (Glennon RA ve ark., 1999).

4.6.2. İmidazolin (I) reseptörleri ve beta-karbolin etkileşimleri

1945 yılında I'ya maruziyetin bir sonucu olarak bebeklerde ve çocuklarda sedasyon ve hipotansiyon etkileri gözlenmiştir. I içeren nazal dekonjestanların kullanımı sonucu suistimal vakaları ve yorgunluk, bradikardi, miyozis, hipotansiyon ve solunum depresyonu benzeri advers reaksiyonlar gözlenmiştir. I bağlanma bölgeleri olarak da adlandırılan I reseptörleri ilk olarak 1960'larda beta-karbolinlerin de içerisinde bulunduğu klonidin benzeri aktivite gösteren maddelerin, organizmada nazal dekonjestan etki dışındaki başta antihipertansif olmak üzere farklı farmakolojik etkiler meydana getirdiklerinin farkedilmesi ile araştırılmaya başlanmıştır. Başta klonidinin ve klonidin benzeri aktivite gösteren maddelerin bu etkileri sadece *nükleus traktus solitarii* ve *lokus sereleustaki* α -2 adrenerjik reseptörler aracılığı ile gerçekleştirdikleri düşünülmekteydi. Daha sonraları hipotansif etkinin sağlandığı ve baroreseptör refleks yolağının merkez istasyonunun santral sinir sisteminde *rostral ventrolateral medulla* olduğu keşfedilmiştir. Klonidin ve benzeri ilaçların santral etkilerini esas olarak bu bölgede yoğun olarak görülen ve bu sebeple araştırılmaya başlanan I reseptörleri üzerinden gösterdikleri ayrımına varılmıştır (Singh ve ark., 1995, Parker ve ark., 2004). Klonidin benzeri aktivite gösteren maddeler I reseptörlerinin endojen ligandı olarak araştırılmışlardır (Parker ve ark., 2004).

Klonidin benzeri aktivite gösteren maddelerin biyoaktif bileşenleri olan beta-karbolinlerin de I bağlanma bölgeleri için potansiyel bir endojen ligand olabileceği belirtilmiştir. I reseptörleri pek çok türde, çeşitli dokularda varlıklarını göstermekle birlikte bu dokular üzerinde çeşitli fizyolojik etkilerden sorumludurlar. Kardiyak, serebral, pankreatik başlıca olmak üzere organizmada pek çok dokuda bulunmaktadır. I bağlanma bölgeleri çok farklı tür ve dokularda tanımlanmışlardır (Dardonville ve Rozas, 2004).

1999'da ilk kez bazı beta-karbolinlerin I bağlanma bölgelerine yüksek afinite gösterdiği yayınlanmış, destekler nitelikteki sonuçlar sonraki yıllarda yapılan diğer çalışmalarla desteklenmiştir. Buna göre bazı β -karbolinlerin I1 ve I2 bağlanma bölgelerine yüksek afinite gösterdiği bulunmuştur (Husbands ve ark., 2001). Harman da dahil olmak üzere β -karbolinlerin I bağlanma bölgelerinin endojen ligand olması en güçlü gerekçe olarak voltaja duyarlı kalsiyum kanallarının aktivasyonunu gerçekleştiren nöronal eksitasyonu azaltmaları gösterilmiştir. Bu sayede kalsiyum kanallarının bloke olduğu ileri sürülmüştür (Moura ve ark., 2006).

Bağlanma ilgileri, konumları ve fizyolojik fonksiyonları değerlendirildiğinde I reseptörlerinin 3 alt tipinin varlığı belirlenmiştir. Bunlar I1, I2 ve I3 alt tipleridir (Tablo 3) (Lowry ve Brown, 2017, Anderson ve ark., 2006).

Tablo 3. I reseptörleri alt tipleri

Reseptör	Bulunduğu dokular	Substrat afiniteleri
I1	Beyin, kalp, böbrek, karaciğer ve pankreas plazma membranlarında (kan basıncının düzenlenmesi)	Yüksek: klonidin, moksonidin Orta: imidazolin Düşük: guanidin
I2	Yaygın dağılım; MAO-B için allosterik bağlanma bölgelerinde (santral etkiler)	Düşük: klonidin, 2-amino imidazolin
I3	Pankreatik beta hücreleri (insülin sekresyonunun düzenlenmesi)	Orta: Harman

I1: imidazolin reseptörü 1; I2: imidazolin reseptörü 2; I3: imidazolin reseptörü 3.

I1 reseptörleri periferel sinir sisteminde klonidin için yüksek ilgi gösterirler. Klonidin benzeri ilaçlar yüksek oranda norepinefrinin ve daha düşük oranda

epinefrinin sempatik sinir uçlarından salımını azaltarak periferel damar direnci, kalp atım hızı, kardiyak kasılabilirlik ve kan basıncında düşmeye yol açarlar. Normalde klonidin benzeri maddelerin α -2 adrenerjik reseptörleri uyarmalarının sonucu olduğu düşünölen bu etkilerde I1 reseptörlerinin daha etkili oldukları savunulmaktadır (Anderson ve ark., 2006).

Harmanın I bağlanma bölgeleri selektif ligandlarına benzeyen etkilerini destekleyen bir başka çalışmadan elde edilen bulgu: harmanın kan basıncı üzerine etkisinin sıçan beyinde I1 bağlanma bölgeleri ligandlarına oluşan yanıtla aynı mekanizma ile düzenlenmesidir (Musgrave ve Badoer, 2000).

I1 reseptörleri α -2 adrenerjik reseptörlerden bağımsız reseptörlerdir. Hücre membranında ayrı ayrı bulunurlar ve her ikisi de siklik adenosin monofosfat miktarlarını birbirinden bağımsız bir şekilde düşürme etkisi gösterirler. Ayrıca I1 reseptörleri N-tipi kalsiyum kanalları, G-proteini ile çalışan potasyum kanalları, adenosil reseptörleri, fosfatidilkolin spesifik fosfolipaz C ve nikotinik reseptörlerin sinyal transdüksiyonlarının yönetimi ile postgangliyonik sempatik nöronlarda meydana gelen sempatik etkinliğı baskırlar (Ernsberger, 1999).

I1 reseptörlerinin spesifik ligandı olan moksonidin ile fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, nonadrenerjik davranış değışiklikleri ve anksiyolitik etki gözlenmiştir. I1 reseptörlerinin üç alt tipi bulunmaktadır: klasik moksonidin duyarlı I1 reseptörleri (IRAS); sirazolin/klonidin-duyarlı I1 reseptörü; rilmenidin duyarlı I1 reseptörüdür.

I1 reseptörlerinin santral sinir sisteminde oluşturdukları önemli fizyolojik etkşlerden biri davranış üzerinedir. Depresif hastalarda bu reseptörlerin frontal korteks ve trombositlerde arttığı bulunmuştur. I'ların doza bağılı olarak trombosit agregasyonu üzerinde inhibe edici etkileri bulunmaktadır. I reseptörlerinin depresyonda arttığı hipotezine dayandırılarak trombosit I1 reseptör dansitesi majör depresyonda kabul görmüş bir göstergedir. Stres ve depresif bozukluklarda I1 reseptörlerinin trombositlerdeki miktarı artmıştır ancak bu etki anksiyetede görölmemiştir (Halaris ve Piletz, 2003).

I2 izoformunun organizmada I1'e oranla daha yaygın bir dağılıma sahip olduğu ve özellikle MAO enzimleri ile ilişkilendirildiği bildirilmiştir. Buna rağmen MAO enzimi üzerindeki I2 kalıntısı enzimin aktif bölgesinden uzakta ve bağımsızdır. I2 izoformunun MAO üzerindeki etkinliği tam olarak açıklanamamıştır (Dardonville ve Rozas, 2004, Tesson ve ark., 1995). I2 reseptörleri MAO-A ve MAO-B'nin allosterik bağlanma bölgelerinde ve mitokondrinin dış membranında bulunurlar. MAO-B üzerindeki aktivitesi oldukça düşük görülmüştür. Çalışmalar I reseptörlerinin MAO-B molekülerinin tümü ile ilişkilendirilemeyeceğini göstermiştir. I2 reseptörleri santral sinir sisteminde; *area postrema*, *pedinküller nükleus*, *arkuat nükleus*, *mamiller cisimcik* ve *hipofiz bezinde* lokalizedir (Garcia-Sevilla ve ark., 1999). Depresyon hastalarında yapılan çalışmalarda I1 reseptörlerinin aksine I2 reseptörlerinin bu hastaların frontal kortekslerinde azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum I2 reseptörleri ve ligandlarının depresyon ile ilişkili çalışmalarda araştırılmasına yol açmıştır. Sıçanlarda imipramin ile gerçekleştirilen kronik antidepresan tedavide I2 reseptör dansitesinde artış gözlenmiştir (Zhu ve ark., 1997). I2 reseptör ligandlarının nörolojik bozukluklarda nöron koruyucu etkisi olabileceğini gösteren çalışmalar gerçekleştirilmiştir (Thorn ve ark., 2012). Eroin bağımlılarının postmortem dokularında I2 reseptör dansitesinin azaldığı saptanmıştır (Sastre ve ark., 1996). I2 reseptör agonistleri ile yapılan ağrı tedavisinde, inflamasyon ve nöropatik ağrıda iyileşmeler olduğu bildirilmiştir (Ferrari ve ark., 2011). I2 reseptörlerinin endojen ligandı olan agmatin ile yapılan çalışmalarda bağımlılık ve nosisepsiyonda etkili olabilecekleri bulunmuştur.

Yakın geçmişte yapılan çalışmalar I2 reseptörleri ile cAMP ile aktifleşen protein kinaz ve PI3 kinaz/AKT sinyal yolları arasında bir ilişki bulunabileceğine ışık tutmuştur (Lui ve ark., 2010). Bir α -2 reseptör agonisti deksmedetomidinin serebral iskemide histomorfolojik düzelmelere neden olduğunun farkedilmesi ile I reseptör bağlanma bölgelerinin nöroprotektif özellikleri olabileceği görüşü ortaya çıkmıştır. Zhang ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada, nöronal hücre kaybının deksmedetomidin ile azaldığı, I2 reseptör agonisti ile AKT fosforilasyonunun %296 oranında arttığı ve bu etkinin I2 antagonisti uygulanması ile geri döndüğü

bildirilmiştir. PI3 kinaz/AKT sinyal yolağının inflamatuvar süreçlerde nöronal hücre kaybını önlediği ve hücre içi sinyal mekanizmasında bozukluklar ile inflamatuvar sitokinlerin arttığı gösterilmiştir. Depresyon patofizyolojisinde günümüzde öne çıkan nöronal plastisite ve inflamasyon ilişkisi göz önünde bulundurulduğunda beta-karbolinlerle yapılan tedavinin I2 reseptörleri üzerinden inflamatuvar süreçlerle meydana gelen depresif bozukluklar üzerinde etkili olabileceği düşünülmektedir (Zhang ark., 2015).

I3 reseptörü ATP-duyarlı potasyum kanallarının kapanması ve beta hücre membranlarındaki potasyum permeabilitesinde azalma oluşturarak aktivite gösterir. Bu reseptör alt tipinin K^+ -ATPaz'ın küçük bir komponenti olarak konumlandığı hipotezi ortaya konmuştur. Bu reseptörlerin temel farmakolojik etkileri pankreas β hücrelerinden glukoz bağımlı insülin sekresyonunun düzenlenmesidir (Anderson ve ark., 2006).

4.6.3. Beta-karbolinler ve santral etkileri

Harmanın santral sinir sisteminde *hipotalamus*, *hipokampus*, *serebral korteks*, *striatum*, *beyincik* ve *omurilikte* varlığı radyoligand bağlanma ve otoradyografik çalışmalar ile gösterilmiştir. Ayrıca en yüksek miktarda bulunduğu beyin bölgesinin hipotalamus olduğu ancak yine de bu farkın yüksek olmaması ve beyin bölgelerinde ortalama eşit dağılım gösterdiği bildirilmiştir (Anderson ve ark., 2006, May ve ark., 1991).

Santral sinir sisteminde harman ve diğer β -karbolinler serotonin, benzodiazepin, dopamin, opioit, nikotin, histamin ve I gibi çeşitli reseptörlerle etkileşirler (Arib ve ark., 2010, Glennon ve ark., 2000, Nasehi ve ark., 2013). Etkileştiği reseptör çeşitliliği nedeniyle harmanın santral sinir sisteminde nöromodülatör olabileceği düşünülmüş; anti-allodinik, anksiyolitik, antidepresan, antikonvülsif, tremorojenik, antioksidatif ve nörotoksik etkileri çalışılmıştır (Arıcıoğlu ve Utkan, 2003, Arıcıoğlu ve ark., 2003, Arıcıoğlu ve ark., 2003).

Harman ve diğer beta-karbolinler MAO-A enzimini farklı düzeylerde inhibe ederek çeşitli ölçeklerde fonksiyonel etkiler oluşturlar (May ve ark., 1991). MAO enzimi ile etkileşiminin bir sonucu olarak harmanın, noradrenalin, dopamin ve serotoninin aktivitesini düzenleyebileceği gösterilmiştir (Glennon ve ark., 2000). Özellikle nörokimyasal ve davranış çalışmaları harmanın, monoamin gerilimini bloke edebileceğini, MAO inhibisyonu üzerinden monoaminerjik etkinlikte potansiyalizasyon oluşturabileceğini göstermiştir. Bu fonksiyonu ile sinaptik aralıkta monoaminlerin bulunma sürelerini artırarak antidepresan etkiye yol açabilmektedir (Reiners ve ark., 1994, Herraiz ve ark., 2007).

Sıçanlarda korku koşullama testi ile 2013'te gerçekleştirilen bir çalışmada harmanın sedatif etkisi olduğu gösterilmiştir. Bu etkinin mekanizması tam olarak aydınlatılmamış olsa da MAO inhibisyonuna bağlı olduğu öne sürülmüştür (Smith ve ark., 2013). Bu durum beta karbolinlerin monoamin transmisyonu üzerine olası etkilerinin varlığını destekleyici niteliktedir. Yakın dönemde sıçanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada, harmanın etanol ve nikotin ile sağlanan antinosiseptif etkiyi artırdığı gösterilmiştir. Araştırmacılar tarafından bu etkinin I1 ve I2 bağlanma bölgelerine seçici ligand etkisinden kaynaklandığı ileri sürülmüştür (Aglawe ve ark., 2014). Harmanın Parkinson hastalığının patofizyolojisindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, MAO inhibisyonunun, monoamin reseptörleri ile etkileşmesi sonucu dopaminerjik nöronların aktivasyonuna neden olduğu bildirilmiştir. Dopaminerjik yollar üzerindeki bu etkinliğin harmanın, nörotoksisite, psikoz ve bağımlılık üzerindeki etkisini oluşturabileceği düşünülmüştür (Arib ve ark., 2010).

Harmanın MAO enzim inhibisyonu yapması ve benzodiazepin reseptörlerinin invers agonisti etkinliği mekanizmaları ile sıçanlarda anksiyolitik ve antidepresan etkiler oluşturduğu gözlenmiştir (Aricioglu ve Altunbas, 2003). Farelerde yapılan bir diğer çalışmada harmanın MAO enzim inhibisyonu ve monoaminerjik aşırımı artırmaya ek olarak, büyük olasılıkla I2 bağlanma bölgeleri ile de etkileşimi sonucu oluşturduğu antidepresan benzeri etki önceki çalışmayı destekler niteliktedir (Farzin ve Mansouri, 2006).

Bir diğerk beta-karbolin olan harminin antioksidatif, antigenotoksik, antidepresan ve anti plazmoidal etkileri gösterilmiştir. Ek olarak nöronal hücre kaybının söz konusu olduğu durumlarda nöroprotektif etkinliği de bildirilmiştir (Moura ve ark., 2007, Li ve ark., 2011). Nöronal hücre kaybı ve GLT-1 disfonksiyonu ilişkisi bölüm 4.4’ te anlatılmıştır ve GLT-1 disfonksiyonun akut ve kronik beyin hasarlarına yol açtığı, glutamat kaynaklı eksitotoksisitenin nörolojik hastalıklarda önemli bir süreç olarak yer aldığı belirtilmiştir. Harmin ile tedavi GLT-1 ekspresyonunda belirgin bir artma, IL-1 β ve TNF- α ekspresyon düzeylerinde belirgin bir azalma ile sonuçlanmıştır. Bu durum harminin hipokampüste apoptotik etkinliği azalttığıının bir göstergesidir. Daha önce yapılan çalışmalarda elde edilen veriler de harmin uygulamasının glutamat ve oksidatif stres ile oluşturulan nöronal hücre ölümlerini azalttığı yönündedir (Li ve ark., 2011, Fortunato ve ark., 2010).

Dakic ve ark. harminin nöronal hücre proliferasyonu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Çalışmada harmin uygulamasının mikroglialarda GFAP seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir. Böylece harminin glia hücrelerinin proliferasyonunda etkili olabileceği sonucuna varılmıştır (Dakic ve ark., 2016).

Fortunato ve ark. tarafından 2010 yılında gerçekleştirilen çalışmada kronik öngörüleemeyen hafif stres (KÖHS) modeli ile depresyon geliştirilen sıçanlara harmin verilmesinin anhedoniyi iyileştirdiği gösterilmiştir. Ayrıca bu sıçanlarda harmin verildiğinde adrenal bezlerdeki hipertrofilerde azalma, kandaki ACTH miktarında da belirgin bir düşüş saptanmıştır. Bu durum harminin stres varlığında sıçanlarda gözlemlenen davranış bozuklukları üzerine iyileştirici etkisi olabileceğini düşündürmektedir (Fortunato ve ark., 2010).

Chen ve ark. harminin Herpes simplex virüs (HSV) enfeksiyonunu inhibe edebileceğini, HSV kaynaklı artmış NF- κ B ve TNF- α ’yı inhibe ettiğini göstermişlerdir. Bu bulgudan hareketle proinflamatuvar sitokin salınımının arttığı depresyon üzerinde beta-karbolinlerin kullanılabileceği düşüncesini ortaya çıkarmıştır.

Sun ve ark. serebral iskemi modeli oluşturulan sıçanlarda harminin nöronların hayatta kalma derecesini, GLT-1 ve astrosit aktivasyonunu değerlendirmişlerdir. Çalışmada iskemi sonrası uygulanan harminin serebral infarkt hacimlerini küçülttüğünü ve nöronal kaybı azalttığını göstermişlerdir. Ayrıca harminin GLT-1 mRNA ve protein ekspresyonlarını artırdığını ve astrosit aktivasyonunda belirgin baskılanma sağladığını göstermişlerdir. Bu durum nörolojik hastalıklarda harminin nöroprotektif etkisi olabileceğini düşündürmektedir. (Sun ve ark., 2014).

Yukarıda özetlenmeye çalışılan bilgiler ışığında nöroinflamasyon, nöroplastisite ve nöron koruyucu etki potansiyeli olduğu düşünülen beta-karbolinlerin antidepresan etki potansiyelinin araştırılması ve olası etkinliğinin mekanizmasının aydınlatılması hedeflenmiştir.

5. GEREÇ VE YÖNTEM

5.1. Kimyasal Maddeler

Harman dimetilsülfoksitte çözülerek, 5 mg/kg ve 10 mg/kg'lık dozlar halinde intraperitoneal uygulandı. Çözeltiler enjeksiyon öncesinde taze olarak hazırlandı.

5.2. Deney Hayvanları

Çalışmada yetişkin, ağırlıkları 260-362 g arasında değişen Wistar albino erkek sıçanlar kullanıldı. Deney hayvanları Kocaeli Üniversitesi Deney Hayvanı Yetiştirme Ünitesi (DETAB)'nden temin edildi. Deneylerde kullanılan sıçanlar, sıcaklığı 22 ± 2 °C'de, nemi % 65-70 oranında korunan ve 12 saat aydınlık-12 saat karanlık döngüsüne uygun ortamda standart yem ve su kısıtlaması yapılmaksızın beslendi. Bu düzendeki standart gece – gündüz siklusu stres gruplarındaki hayvanlar için, KÖHS uygulaması sırasında deney protokolüne uygun şekilde değiştirildi. Çalışma protokolü Marmara Üniversitesi Deney Hayvanı Etik Kurulu tarafından 14.07.2015 tarih ve 56.2015.mar sayı ile onaylandı (Ek-2). Ayrıca çalışma için Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulundan 12.11.2015 tarih ve KOÜ HAYDEK 11/6-2015 karar no ile onay alındı (Ek-3). Davranış deneyleri Kocaeli Üniversitesi DETAB'da, immünohistokimyasal analizler Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda, moleküler analizler ise İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü Sinirbilim Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

5.3. Deney Grupları

Deney hayvanları gruplara ayrılmıştır:

1. Kontrol grubu (n=6): Deney süresince herhangi bir stresöre maruz bırakılmadı ve tedavi süresince serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı.
2. KÖHS grubu (n=12): Deney süresince kronik öngörülemez hafif stres modelinde yer alan stresörlere maruz kaldı. Tedavi süresince serum fizyolojik enjeksiyonu yapıldı.
3. KÖHS + Harman 5 grubu (n=10): Deney süresince kronik öngörülemez hafif stres modelinde yer alan stresörlere maruz kaldı. Tedavi olarak stres

uygulamasının son 3 haftasında günde 1 kez intraperitoneal harman 5 mg/kg verildi.

4. KÖHS + Harman 10 grubu (n=10): Deney süresince kronik öngörülemez hafif stres modelinde yer alan stresörlere maruz kaldı. Tedavi olarak stres uygulamasının son 3 haftasında günde 1 kez intraperitoneal harman 10 mg/kg verildi.

5.4. Kullanılan Model ve Testler

5.4.1. KÖHS modeli

Çalışmada KÖHS modelinde sıçanlar aşağıda tanımlanmış çeşitli stresörlere sırasıyla maruz bırakılmaktadırlar (Willner, 1997, Willner ve ark., 1996).

1. Soğuk suda yüzdürme (4 °C/ 5 dakika): Hayvanlar 50 cm yüksekliğindeki silindirler içerisindeki 4°C sıcaklıktaki suda 5'er dakika yüzdürülür.
2. Sıcak suda yüzdürme (45 °C/ 5 dakika): Hayvanlar 50 cm yüksekliğindeki silindirler içerisindeki 4°C sıcaklıktaki suda 5'er dakika yüzdürülür.
3. Kuyruktan asma (1 dakika) : Hayvanlar kuyruklarından tutularak kronometre yardımı ile 1 dakika boyunca asılı bırakılırlar.
4. Kafes eğimlendirme (45 °/24 saat): Kafeslerin bir kenarı 20 cm'lik platform üzerine dayandırılır. 24 saat boyunca bu şekilde bırakılır.
5. Kafes sallama (10 dakika): 10 dakika süre boyunca hayvanlar temiz kafese alınarak, yatay ekseninde sağa sola ve ileri geri olacak şekilde hareket ettirilir.
6. Gündüz/gece döngüsünün ters çevrilmesi (24 saat): Hayvanların gece gündüz döngü dengeleri ışık ayarı ile ters çevrilir. 07:00-19:00 arası gündüz ışığında 19:00- 07:00 arası karanlıkta bekletilirler.
7. Kafesler arası eş değiştirme (48 saat): Farklı grupların kafeslerinden 2 kafes arasında 1'er hayvan seçilip yerleri değiştirilir. 24 saatin ardından hayvanlar kendi gruplarının kafeslerine geri bırakılırlar.
8. Talaş ıslatma: Kafes içerisindeki talaşın ıslanmasına yetecek kadar her kafes için ortalama 200 ml su kullanarak hayvanlar 24 saat süresince ıslak kafes içerisinde bırakılırlar.

Bu stresörler rasgele düzenlenen takvime uygun bir şekilde, stresin başlangıç saati hergün değiştirilerek 6 hafta süresince kontrol grubu dışındaki tüm deney gruplarına uygulandı. Prosedürde kaynaklarda yer alan depresif semptomların gözlenmesi öngörülen 3. haftanın bitiminden itibaren tedavi grubuna intraperitoneal ilaç uygulaması yapılmaya başlandı.

5.4.2. Davranış testleri

Altıncı haftanın sonunda sükroz tüketim testi ve zorunlu yüzme testi yapılmıştır.

5.4.2.1. Sükroz tüketim testi

Model validasyonunda da önemli bir parametre deney hayvanının sükroz tercihinde belirgin azalmalar olmasıdır (Willner ve ark., 1992).

Strese maruz bırakılmayan kemirgenler doğal bir şekilde su yerine sükroz veya glukoz solüsyonları gibi tatlandırılmış solüsyonları %80 oranlarına varacak şekilde tercih ederler (Nielsen ve ark., 2000).

Deneyin son haftasında kafeslere 6 gün boyunca iki tane su şişesi yerleştirildi. Bu şişelerin birine 200 ml %20'lik sükroz çözeltisi, diğerinde ise 200 ml çeşme suyu doldurulmuştur. Deney sırasında hayvanlar tek tek kafeslere alınmıştır. İlk 5 gün şişeler kafeslere 15'er dakika bırakılmıştır ve bu süreç hayvanların alışma süreci olarak değerlendirilmiştir. Test günü öncesinde hayvanlar 24 saat süre ile susuz bırakıldılar. 6. Gün 23 saat aç ve susuz bırakılan hayvanların, 1 saat boyunca şişelere erişim sağlanmış ve su/sükroz çözeltisi tüketimi kaydedilmiştir. Ardından deney hayvanlarının sükroz tercihi $((\text{sükroz çözeltisi(g)}/\text{sükroz çözeltisi(g)} + \text{çeşme suyu(g)}) \times 100)$ hesaplanmıştır.

5.4.2.2. Zorunlu yüzme testi

Zorunlu yüzme testi; Sıçanların depresyon ile ilişkilendirilen çaresizlik davranışını gösterme durumlarının ölçümü amacıyla yapılan bir davranış testidir. Hayvanın silindir içerisinde teste maruz bırakıldığı süre boyunca dışarı çıkma gayreti, hareketli ve hareketsiz kalma sürelerinin ölçülmesi ile skorlandırılmaktadır. Depresif hayvanın hareketsiz kalma sürelerinin daha uzun olması beklenendir. Antidepresan

tedaviler ile hareketsiz kalma sürelerinin kısaldığı bilinmektedir. Deney prosedürü daha önce Porsolt ve ark. tarafından tanımlanan şekilde dizayn edilmiştir (Porsolt ve ark., 1977).

Test, alıştırma ve test günü olmak üzere ardışık iki gün sırasıyla uygulandı. Temiz plastik silindirler içerisine yukarıdan 15 cm'lik bir boşluk bırakılacak şekilde 22-25 °C su dolduruldu. Alıştırma gününde hayvanlar tek tek 15 dakika boyunca suda tutuldular. İkinci gün ise aynı şartlardaki silindirlere 5'er dakika boyunca bırakılarak kamera ile görüntüler kayıt altına alındı. Daha sonra kaydedilen görüntüler izlendi ve kronometre yardımı ile hayvanların hareketsiz kalma süreleri belirlendi (Petit-Demouliere ve ark., 2005).

5.4.3. Gen ekspresyon analizleri

5.4.3.1. RNA izolasyonu

Total RNA izolasyonu gerçekleştirilmiştir. RNA izolasyonu için kullanılan solüsyonlar: MRC® (Cat. no: RN190) firmasının RNAzol RT solüsyonu
İşlem basamakları:

- 1) -80 derece derin dondurucuda saklanan beyin dokuları, çıkarıldıklarında buz üzerine alınarak burada her bir örnekten 100 mg parça 5 ml'lik eppendorf tüpüne aktarılmıştır. Dokuların homojenize edilmesi amacıyla Qiagen Tissue Ruptor cihazı kullanılmıştır. Dokular cihaza alınmadan önce üzerine 1mL RNAzol RT solüsyonu eklenmiştir.
- 2) Homojenizasyon işleminin ardından, homojenize lizat üzerine 400 ul su eklenerek karışım 15 saniye boyunca çalkalandıktan sonra 15 dakika beklemeye alınmıştır.
- 3) Karışım 12000 g de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüjden elde edilen 1mL süpernatant alınıp başka bir eppendorf tüpe konulmuştur. Süpernatant üzerine 5 ul 4-bromoanisol eklenmiştir. Yeni karışım 15 saniye boyunca çalkalanmış ve 4 dakika beklenmiştir.
- 4) Beklemenin ardından karışım tekrar santrifüje konularak 12000 g de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Oluşan 750 ul süpernatant başka bir eppendorf tüpe

alınmıştır. Süpernatant üzerine 750 ul isopropanol eklenip ve 15 dakika bekletilmiştir.

- 5) Beklemenin ardından santrifüje konularak 12000 g de 15 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin bitiminde oluşan süpernatant pipet ile ayrılmıştır. Çökelti üzerine 400 ul %75 etanol koyulmuştur.
- 6) Çökelti+400 ul %75 etanol karışımı santrifüje konularak 4000 g de 3 dakika santrifüj edilmiştir.
- 7) Aynı işlem bir kez daha tekrarlanmıştır.
- 8) Santrifüj sonunda alkol (süpernatant) pipet ile atılarak çökelti üzerine 50 ul RNase free su eklenerek karışım oda sıcaklığında çözülmesi amacıyla yaklaşık 2-3 dakika boyunca vortekslenmiştir.

RNA izolasyonu işlemi gerçekleştirildikten sonra, örneklerin RNA konsantrasyonları ve saflıklarının ölçülmesi amacıyla Thermo Scientific Nanodrop® 2000 cihazı kullanılmıştır. Bu işlem: RNA' nın (1 ul) cihaz içerisine alınarak 260/280 ve 260/230 oranları ve konsantrasyonlarının değerlendirilmesine dayalı saflıklarının belirlenmesini sağlamıştır. Ölçümün ardından komplementer DNA sentezlerinin gerçekleştirileceği tarihe kadar RNA' lar; -80 derecede derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

5.4.3.2. Komplementer DNA (cDNA) sentezi

Komplementer DNA (cDNA) sentezi RNA izolasyonunun ardından yapılır. Jena Bioscience®; Cat no: PCR511 kiti cDNA analizi için kullanılmıştır. Sentez öncesi izole edilen RNA' ların konsantrasyonları 100 ng/ul düzeyinde sabitlenmiştir. cDNA reaksiyonunda her örnek için toplam reaksiyon hacmi 20 ul olarak hedeflenmiştir. Hedeflenen hacme uygun olacak şekilde işlemde kullanılan cDNA sentez kiti bileşenleri ve miktarları tabloda listelenmiştir.

Tablo 4. cDNA sentez kiti bileşenleri ve miktarları

Bileşen	Miktar (ul)
RNAse free su	10
Script RT buffer	4
dNTP mix	1
Oligo dT Primer	0,5
DTT	1
RNAse Inhibitor	1
Enzim	0,5
RNA ürün	2

Tüp içerisine alınan tüm reaktifler enzim eklenmesinin öncesinde birkaç kez pipet ile karıştırılmıştır. Reaktiflerin tüpe konulması ve karıştırılmasının ardından tüpler Bio-Rad® termal cycler cihazına bırakılarak sırasıyla 42 derecede 10 dakika, 50 derecede 60 dakika ve 70 derecede 10 dakika boyunca cDNA sentez reaksiyonu gerçekleştirilmiştir. Sentezlenen cDNA'lar 20 derecede derin dondurucuda analizler başlayıncaya dek muhafaza edilmiştir.

5.4.3.3. Real-time PCR reaksiyonu

cDNA sentezinin ardından gen ekspresyon analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu kapsamda gerçek-zamanlı PCR yöntemi kullanılmıştır. Jena Bioscience®; qPCR GreenMaster with UNG/lowROX kit; Cat no: PCR306 kitleri PCR'da kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan primerler DNA Technology® (Katalog no: DN-10; Danimarka) firmasından temin edilmiştir.

Örnekler buz üzerine, laminar akışlı kabin içerisine bırakılmıştır. Kabin içerisindeki her örnek için 20 ul toplam reaksiyon hacmi hedeflenerek tabloda verilen bileşenler ve miktarları ayarlanmıştır.

Tablo 5. PCR kiti bileşenleri ve miktarları

Bileşen	Miktar (ul)
PCR grade Su	6,8
Real Time Master Mix	10
Forward Primer	0,6
Reverse Primer	0,6
cDNA ürün	2

96 well plate içine konulan standart ve örnek karışımları Agilent Stratagene 3005P cihazı içerisinde sırasıyla birer siklus halinde; 50 derecede 2 dakika, 95 derecede 2 dakika ve 40 siklus halinde; 95 derecede 15 saniye, 50 derecede 40 saniye, 72 derecede 30 saniye reaksiyon gerçekleştirilmiştir.

50 derece detection step olarak belirlenmiş ve cihaz üzerinde EVA green deteksiyon seçilerek gen ekspresyon analizleri gerçekleştirilmiştir.

5.4.3.4. PCR sonuçlarının değerlendirilmesi

(Ct; cycle threshold) 2^{-ddCt} metodu PCR sonrası elde edilen eşik döngüsü değerleri üzerinde kullanılmıştır. Böylece kontrol grubuna rölatif olarak gen ekspresyon değerleri hesaplanması gerçekleştirilmiştir.

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

5.5. İmmünohistokimyasal Değişikliklerin Araştırılması

Deneylerin tamamlanmasının ardından immünohistokimyasal analiz ve moleküler analizlerde kullanılacak olan doku örneklerinin farklı metotlarla toplanması gerekliliği nedeniyle gruplar 2' ye ayrılmıştır.

- 1.Grup: Dekapitasyon ile sakrifiye edilmiştir. Hipokampus ve prefrontal korteks diseksiyonları yapılmış. Çıkarılan dokular sıvı azotta dondurularak muhafaza edilmiştir.
- 2.Grup: Perfüzyon fiksasyonunun ardından serebrumun çıkarılması ve % 4 paraformaldehit fiksatifinde muhafaza edilmesi gerçekleştirilmiştir.

5.5.1. Perfüzyon fiksasyonu

Serebrum gibi büyük doku muhafaza edilmesinde yalnızca fiksatif kullanımının dokunun her yerini fiksatifin örtmeyebileceği ve muhafazanın güçlüğü nedeniyle perfüzyon fiksasyonu uygulanır. Bu sayede perfüzyon sabitlenerek dokuların üniform ve canlı dokuya benzer özelliklerinin korunması sağlanır.

Perfüzyon fiksasyonunda otomatik perfüzyon pompası kullanılmıştır. Cihazın iki hortumundan biri serum fizyolojik solüsyonunun iletimi, diğeri ise fiksatif olarak kullanılmış olan %4'lük paraformaldehit çözeltisinin iletiminde kullanılmıştır. Deneye başlamadan önce tüm ekipman ve solüsyonlar deney tablasında hazır halde tutulmuştur. Her bir solüsyon kendi iletiminden sorumlu hortum içerisinden geçirilmiş ve böylece kabarcık oluşma riski giderilmiştir. Pompa basıncı 80 mmHg'ye ayarlanmıştır.

Hayvanlara anestezi altından perfüzyon fiksasyonu uygulanmıştır. Hayvanların anestezisinin gerçekleşmesi standart yöntemlerden kuyruk kısıtma, parmak kısıtma ve ekstremiteler çekme yanıtı ile kontrol edildikten sonra işleme başlanmıştır. Hayvanların cerrahi işlem öncesinde hayatta oldukları ve tamamen anestezi altında olduklarından emin olunmuştur. Anestezide intraperitoneal ketamin/ksilazin solüsyonu kullanılmıştır. Gereklilik dahilinde idame doza başvurulmuştur. Hayvana diyafram boyunca insizyon yapılmış ve göğüs kafesi kenarlardan kesilmiş, sternum

uzaklaştırılmıştır. Kalp, çevre dokulardan kurtarılmış, yalın bir şekilde açığa çıkarılmıştır. Kalbin sol ventrikül posterioruna set iğnesi ile küçük bir insizyon yapılmıştır ve iğne geri çekilerek intraket buradan aorta yerleştirilmiştir. İntrakete serum fizyolojik içeren perfüzyon pompası borusu yerleştirilmiş, sağ atrium kanatılmış ve perfüzyon pompası çalıştırılmıştır.

Hayvanın dolaşımındaki ve organlarındaki tüm kanın akıtılması amacıyla sayısal anlamda hayvanın vücut ağırlığının iki katına eşdeğer ml serum fizyolojik pompalanmıştır, kanın tümü akıtılmıştır. İntrakete bağlı serum fizyolojik borusu yerine fiksatifin aktığı boru bağlanmıştır. Sayısal olarak hayvanın ağırlığına eşdeğer ml fiksatif pompalanmıştır. Hayvanın vücudunun katılaşmasının gözleminin ardından hayvan giyotinle dekapite edilmiştir. Serebrum diseksiyonu gerçekleştirilmiştir. Çıkarılan serebrum fiksatif (%4 paraformaldehit) içeren tüplere yerleştirilmiştir. Tüpler soğuk ortamda (4°C) muhafaza edilmiştir.

Fikse edilen beyin dokuları dorsal hipokampus seviyesinden kesilerek küçültülmüş ve doku takip cihazı (Leica TP1020) ile yükselen alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edilmiştir. Ksilende şeffaflandırmanın ardından sıvı parafin içerisinde 60°C'lik etüvde gece boyunca bekletilmiştir. Sonrasında doku gömme cihazında (Leica EG 1150 C) kasetlerle bloklama işlemi uygulanmıştır. İmmünohistokimyasal çalışma için döner mikrotom (Leica RM2125RT) ile 5 mikron kalınlığında alınan parafin kesitler deparafinizasyon için ksilolde bekletilmiştir. İnen alkol serilerinden geçirilen kesitler %3 hidrojen peroksit solüsyonu ile 10 dk. muamele edildikten sonra çeşme suyu ve distile su ile yıkanmıştır. Antijen geri kazanımı için mikrodalga fırında sodyum sitrat solüsyonu uygulanmış ve fosfat tamponu ile yıkama yapılmıştır. Kesitlerin etrafı Pap pen ile çizilerek bloklama solüsyonunda bekletilmiştir. Kesitlerin üzerine anti-Iba-1antikoru (Abcam, ab108539) eklenerek 37°C'de ve nemli ortamda 1 saat bekletilmiştir. Biotinli sekonder antikorda 20 dk. tutulan kesitler horse radish peroksidaz (HRP) streptavidinde 20 dk. bekletilmiş ve 3,3'-diaminobenzidin (DAB) uygulanmıştır. Zıt boyama için Mayer'in hematoksileni kullanılmıştır. Çeşme suyunda yıkandıktan sonra kesitler yükselen alkol serilerinden geçirilmiş, kurutulmuş ve entellan ile kapatılmıştır.

Mikroskopik inceleme ve fotoğraflama için Olympus DP72 CCD kamera sistemi eklentili Olympus BX51 ışık mikroskobu kullanılmıştır. Hipokampus bölgesinde x400

büyütmede toplam 5 alanda Iba-1 immünreaktif mikrogia hücreleri sayılmıştır. Her bir hayvan için sayım yapılan 5 alanın ortalaması alınmıştır.

5.6. Verilerin İstatistiksel Analizi

GraphPad Prism 5[®] programı; verilerin istatistiksel analizlerinin gerçekleştirilmesinde kullanılmıştır. Tek yönlü varyans analizi (One way-ANOVA) yöntemi; gen ekspresyon verilerinin istatistiksel analizinin gerçekleştirilmesinde kullanılmıştır. Tukey çoklu karşılaştırma testi; post-hoc test olarak uygulanmıştır.



6. BULGULAR

6.1. Davranış Deneylerinin Sonuçları

6.1.1. Vücut ağırlığı

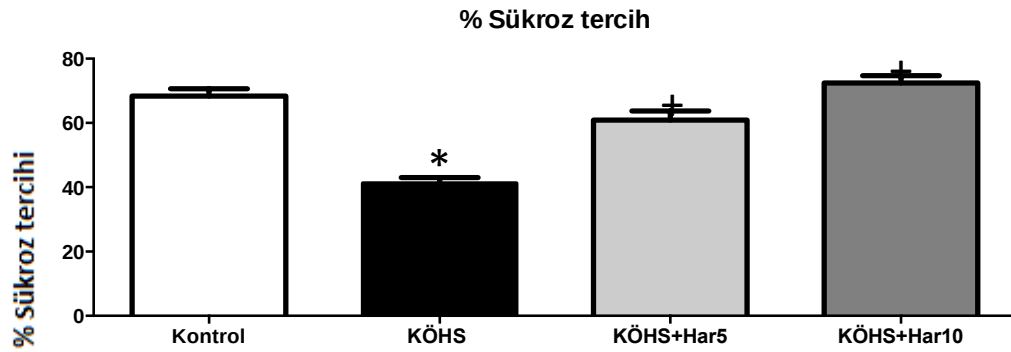
Vücut ağırlığı ölçümleri stres prosedürüne başlamadan önce (0. gün) ve deneyin sonunda alınmıştır. Her grup kendi başlangıç değeri ile karşılaştırılmıştır. Gruplar arası karşılaştırmalar One-way ANOVA ile yapılmıştır. İstatistiksel olarak anlamlı fark sadece KÖHS grubunda görülmüştür (* $p<0,05$).

Tablo 6. Vücut ağırlığı değişimi. Değerler ortalama $\pm$ standart hata şeklinde gösterilmiştir.

Deney Grupları	0.gün ölçümleri (g)	6. hafta ölçümleri (g)
Kontrol	336,5 $\pm$ 10,4	343,3 $\pm$ 9,5
KÖHS	352,6 $\pm$ 7,4	331,5 $\pm$ 7,5*
KÖHS+ Harman 5	280,3 $\pm$ 9,1	275 $\pm$ 9,1
KÖHS+ Harman 10	278 $\pm$ 7,8	260,1 $\pm$ 8,6

6.1.2. Sükroz tercih testi

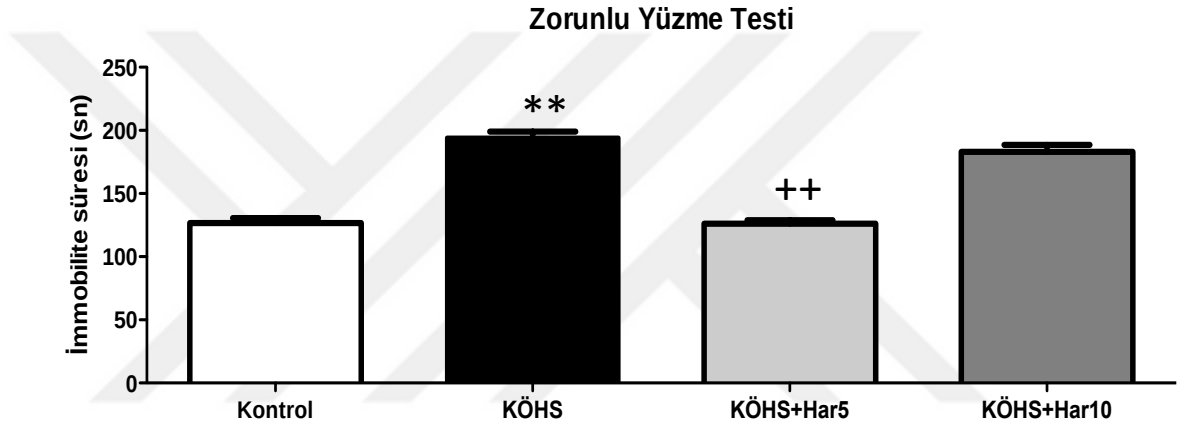
Çalışmamızda 6 hafta KÖHS prosedürü uygulanan sıçanlar kontrol grubu ($p<0,01$) ile kıyaslandığında sükroz tüketiminde belirgin bir % azalma olduğu gözlemlendi. Harman 5 ve 10 gruplarında, KÖHS grubuyla kıyaslandığında sükroz tüketiminde artış görüldü ($p<0,01$).



Şekil 3. Deney hayvan gruplarının sükroz tüketimi. Kronik öngörülemez stres modelinde (KÖHS) kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma gözlemlenmiştir. Harman tedavisi ile her iki dozda azalmanın geri döndüğü gösterilmiştir. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ** $p<0,01$ kontrol grubuna göre; ++ $p<0,01$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Har5,10; Harman 5 mg/kg ve 10 mg/kg.

6.1.3. Zorunlu yüzme testi

Kontrol grubu ile kıyaslandığında, KÖHS grubunda hareketsiz kalma süresinin belirgin oranda artmış olduğu gözlemlendi ($p<0,01$). Harman 5 grubunda ($p<0,01$), KÖHS grubuyla kıyaslandığında hareketsiz kalma süresinin anlamlı oranda kısa olduğu görüldü. Harman 10 tedavisinin hareketsiz kalma süresindeki artışı etkilemediği tespit edilmiştir. Bu sonuçlar, harmanın düşük dozda, KÖHS ile bozulan davranışlarda iyileşme sağladığını göstermektedir.



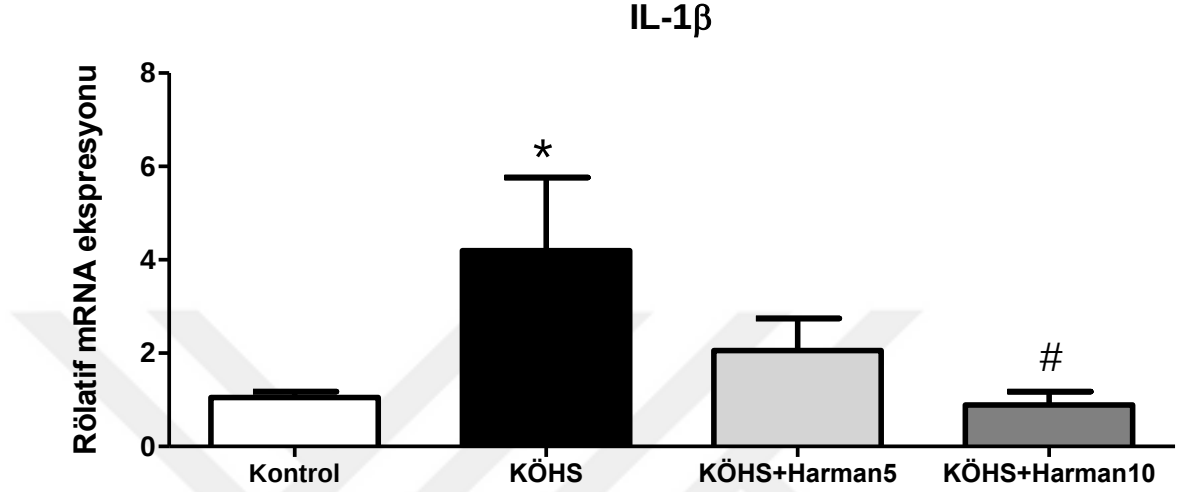
Şekil 4. Deney hayvan gruplarının zorunlu yüzme testinde hareketsiz kalma süreleri. Kronik öngörülemez stres modelinde (KÖHS) kontrol grubuna göre hayvanların immobil kalma süresi anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Harman 10 mg/kg ile anlamlı bir değişiklik gözlenmezken Harman 5 mg/kg uygulanması ile immobil kalma süresinde anlamlı bir azalma bulunmuştur. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ** $p<0,01$ kontrol grubuna göre; + $p<0,01$ KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Har5,10; Harman 5 mg/kg ve 10 mg/kg.

6.2. PCR Analizleri Gen Ekspresyon Bulguları

PCR analizleri verilerinde 6 haftalık KÖHS modelinin, prefrontal kortekste proinflatuvar sitokinler IL-1 β ($F=4,136$, $p<0,05$) ve IL-6'nın ($F=3,966$, $p<0,05$) mRNA ekspresyon düzeylerinde belirgin artış olduğu saptandı. Sadece yüksek doz (10 mg/kg) harman tedavisinin IL-1 β ($p<0,05$) ve IL-6 ($p<0,05$) RNA düzeylerinde

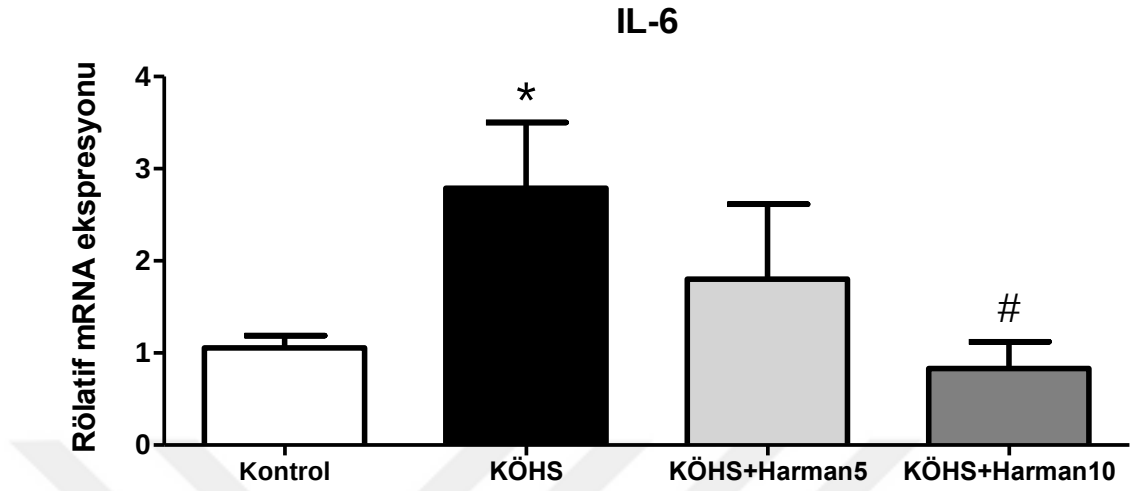
azalmaya yol açtığı gözlemlendi. IL-18 seviyelerinin KÖHS modeli ve depresyon tedavisinden belirgin olarak etkilenmediği saptandı.

6.2.1. IL-1 β bulguları



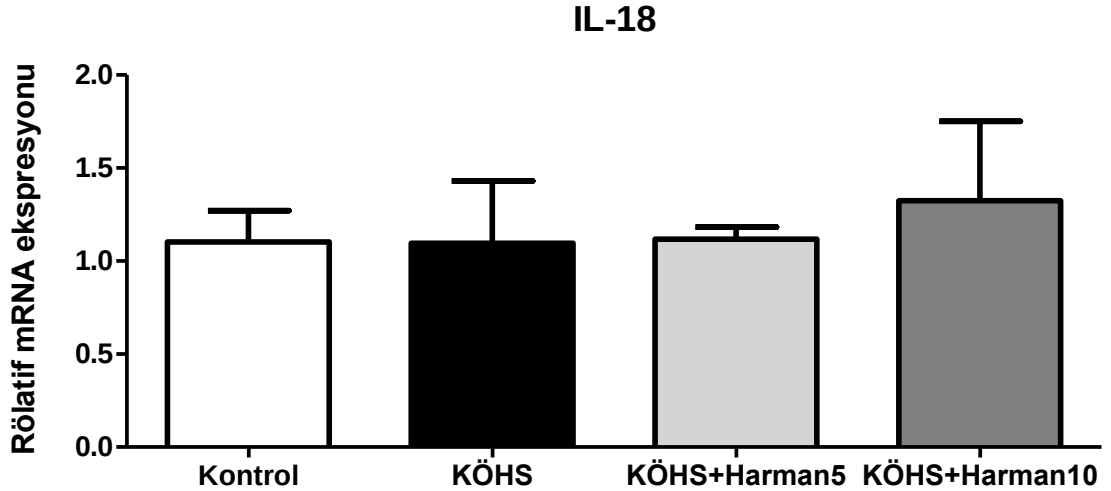
Şekil 5. IL-1 β prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre; # $p<0,05$, KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, IL-1 β ; interlökin-1beta Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

6.2.2. IL-6 bulguları



Şekil 6. IL-6 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre; # $p<0,05$, KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, IL-6; interlökin-6 Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

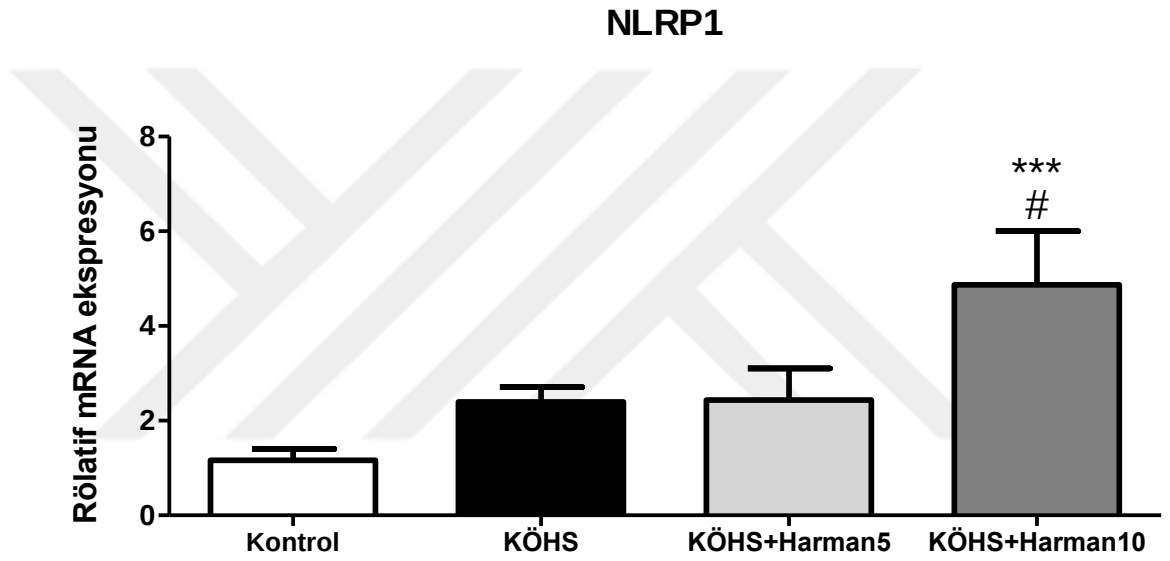
6.2.3. IL-18 bulguları



Şekil 7. IL-18 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. IL-18 düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, IL-18; interlökin-18 Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

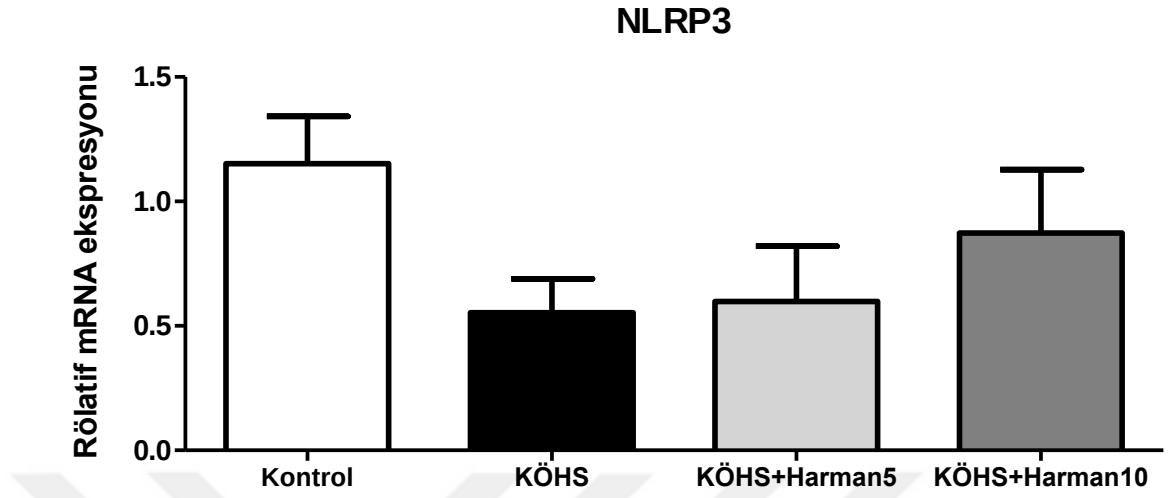
6.2.4. NLRP1 bulguları

Proinflamatuar sitokinlere ek olarak immün sistem uyarılması ve IL-1 β ile IL-6 üretimi ve salımından sorumlu, inflamazom oluşturunca proteinler olan NLRP1 ve NLRP3 araştırıldı. KÖHS gruplarının prefrontal korteks NLRP1 (F=10,12, p>0,05) ve NLRP3 (F=2,375, p>0,05) düzeylerinde belirgin değışiklikler gözlenmedi. Ancak harman 10 mg/kg tedavi grubundaki sıçanların prefrontal korteks NLRP1 mRNA düzeyleri KÖHS (p<0,05) ve kontrol (p<0,001) gruplarına oranla yüksek bulundu.



Şekil 8. NLRP1 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değeri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. *p<0,05 kontrol grubuna göre; #p<0,05, KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, NLRP1; nod-benzeri reseptör proteini 1, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

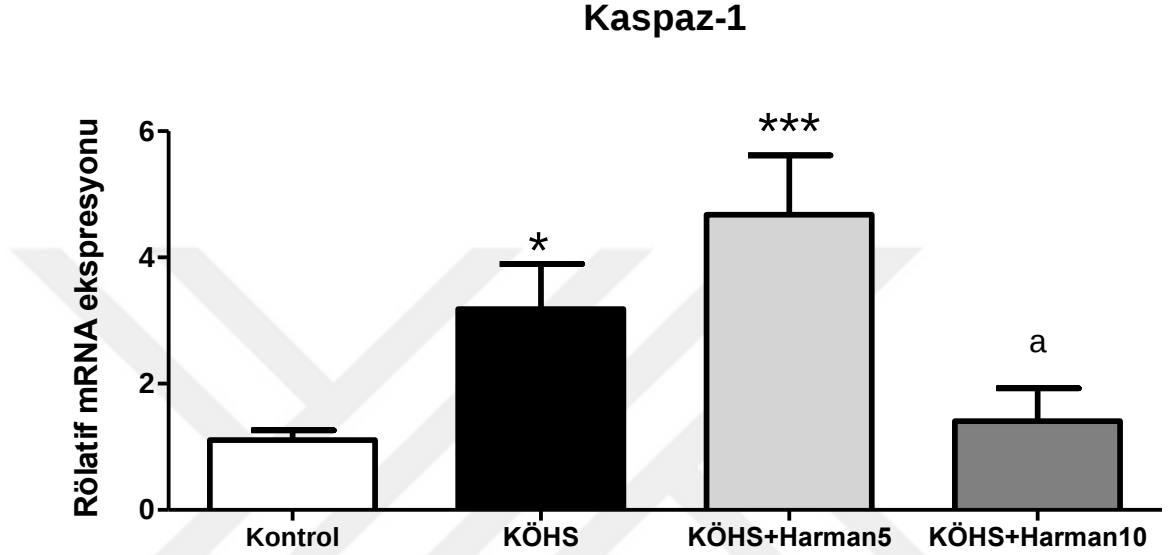
6.2.5. NLRP3 bulguları



Şekil 9. NLRP3 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. NLRP3 düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, NLRP3; nod-benzeri reseptör proteini 3, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

6.2.6. Kaspaz-1 bulguları

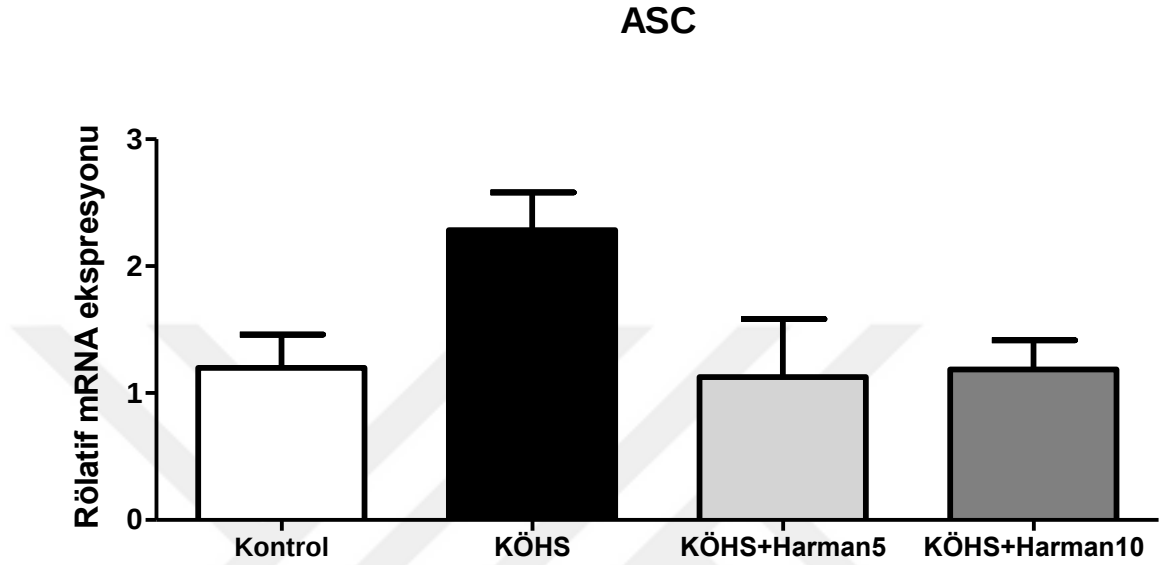
Hayvanların prefrontal korteks kaspaz-1 mRNA seviyeleri KÖHS ($F= 11,39$, $p<0,05$) ve KÖHS+Harman5 ($p<0,001$) gruplarında kontrol grubu ile kıyaslandığında artmış olduğu gözlemlendi. KÖHS+Harman 10 mg/kg ise KÖHS+Harman 5 mg/kg ($p<0,05$) grubu ile kıyaslandığında belirgin bir baskılama saptandı.



Şekil 10. Kaspaz-1 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre; # $p<0,05$, KÖHS grubuna göre; ^a $p<0,05$ KÖHS+Harman5 grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

6.2.7. ASC bulguları

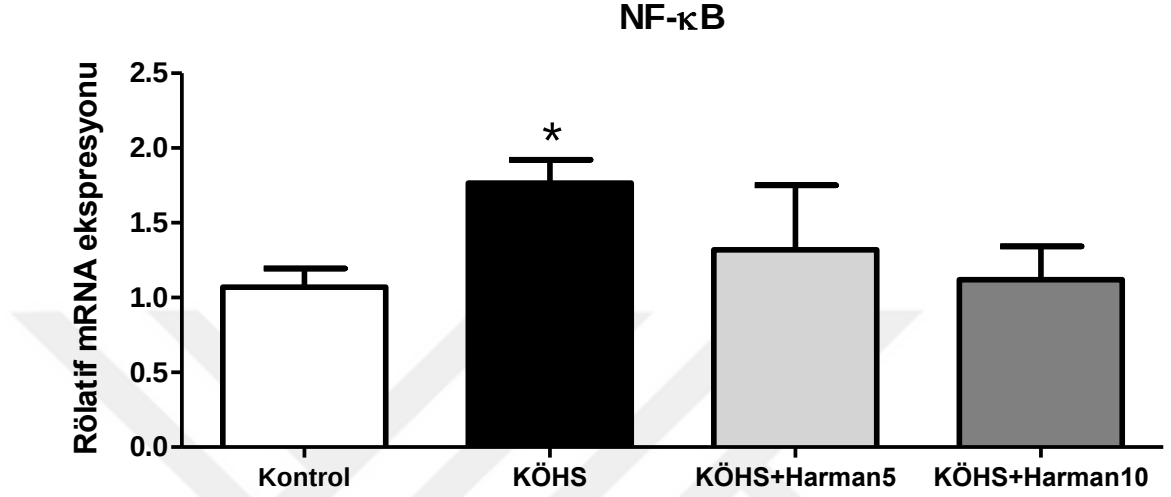
ASC mRNA seviyelerinde gruplar arasında farklılık eğilimleri olsa da istatistiksel anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 11. ASC prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ASC düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, ASC; apoptoz ile ilişkili speck-benzeri protein; Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

6.2.8. NF-κB bulguları

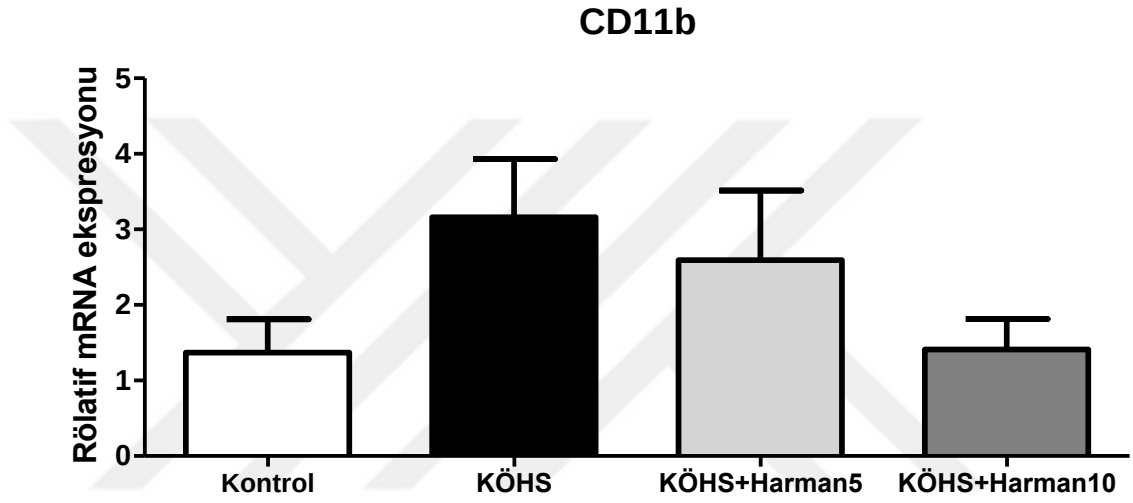
KÖHS ile belirgin artış gösteren NF-κB mRNA seviyelerinin, kronik 5 mg/kg ve 10 mg/kg harman tedavilerinden etkilenmediği görüldü.



Şekil 12. NF-κB prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. * $p < 0,05$ kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg. NF-κB; nükleer faktör kappa B

6.2.9. CD11b bulguları

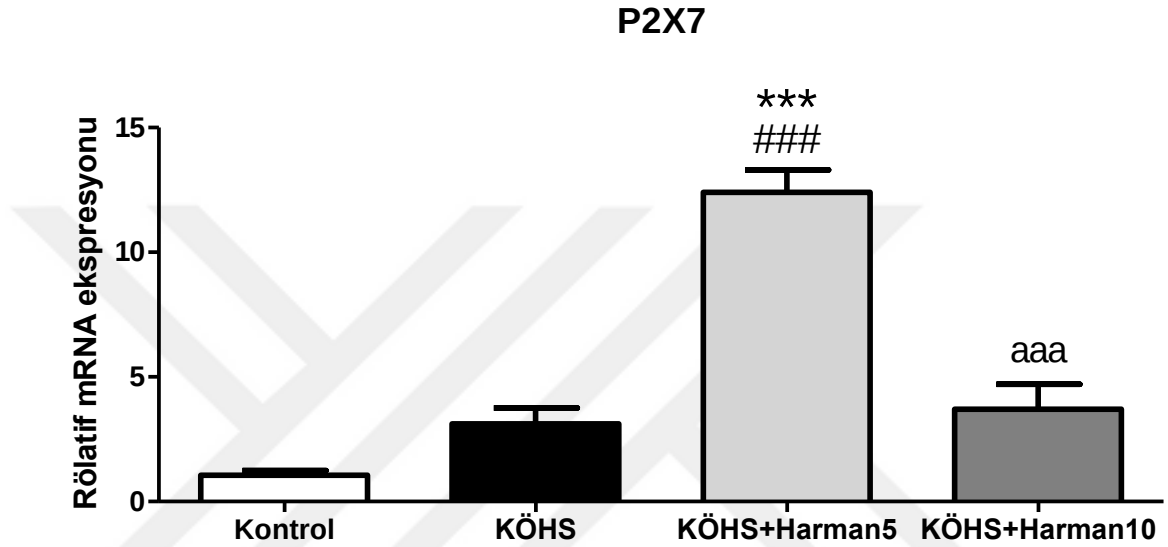
Mikroglial aktivasyonun belirlenmesi amacıyla prefrontal korteks CD11b mRNA seviyelerinin araştırılmasında, KÖHS ile rölatif artış gösteren CD11b mRNA seviyelerinin kronik 5 mg/kg ve 10 mg/kg harman tedavilerinden etkilenmediği görüldü.



Şekil 13. CD11b prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ASC düzeylerinde gruplar arasında istatistiksel anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. KÖHS; kronik öngörülemeyen hafif stres, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

6.2.10. P2X7 bulguları

Çalışmamızda kontrol ve KÖHS gruplarının kıyaslanmasında P2X7R mRNA konsantrasyonları istatistiksel anlamlı farklı bulundu. Harman 5 mg/kg ($F= 53,69$, $p<0,001$) grubu P2X7R gen ekspresyonunda kontrol grubuna kıyasla upregülasyon görülürken, harman 10 mg/kg ($p<0,001$) grubunda down-regülasyon saptandı.

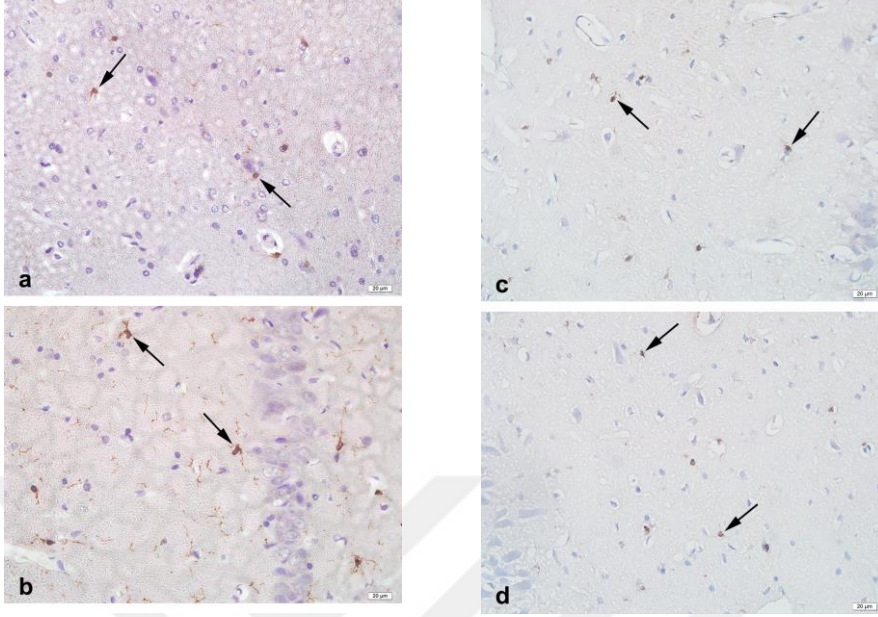


Şekil 14. P2X7 prefrontal korteks mRNA düzeyleri. PCR analizlerinde elde edilen gen ekspresyon değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak kontrol grubuna rölatif olarak hesaplanmıştır. İstatistiksel analiz tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) yöntemi ile yapılmış; post-hoc test olarak Tukey testi kullanılmıştır. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. * $p<0,05$ kontrol grubuna göre; # $p<0,05$, KÖHS grubuna göre; ^a $p<0,05$ KÖHS+Harman5 grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemeyen hafif stres, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg. P2X7; purinerjik 2X7 reseptör proteini.

6.3. İmmünohistokimyasal Bulgular

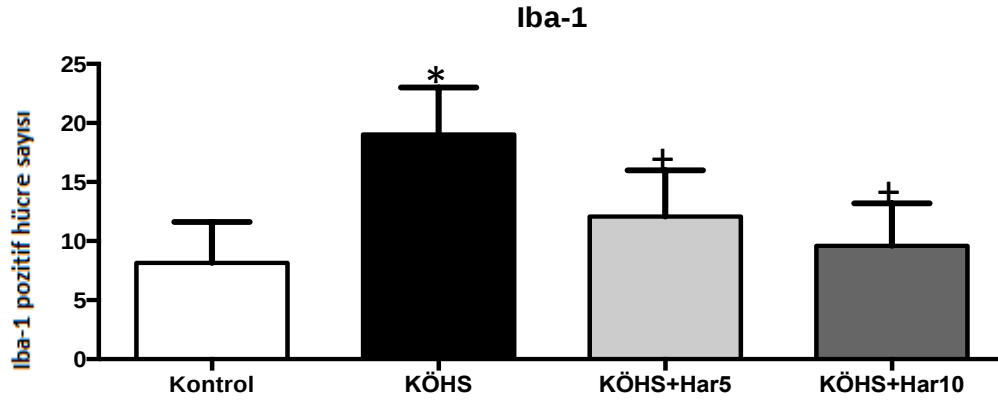
Hipokampal Iba-1 immünoreaktivite KÖHS grubunda, kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı yüksek bulundu ($p<0,01$). Her iki dozdaki harman tedavisi de KÖHS ile oluşan hipokampal Iba-1 pozitif immünoreaktivitede azalma sağlamıştır ($p<0,01$).

6.3.1. Iba-1 bulguları



Resim 1. Deney hayvan gruplarının hipokampuslerinde mikrogliya hücreleri Kontrol (a), stress (b), harman 5 mg (c) ve harman 10 mg (d) gruplarında hipokampüste Iba-1 immünreaktif mikrogliya hücreleri (ok). Bar: 20 μ m. Orijinal büyütme: x400.

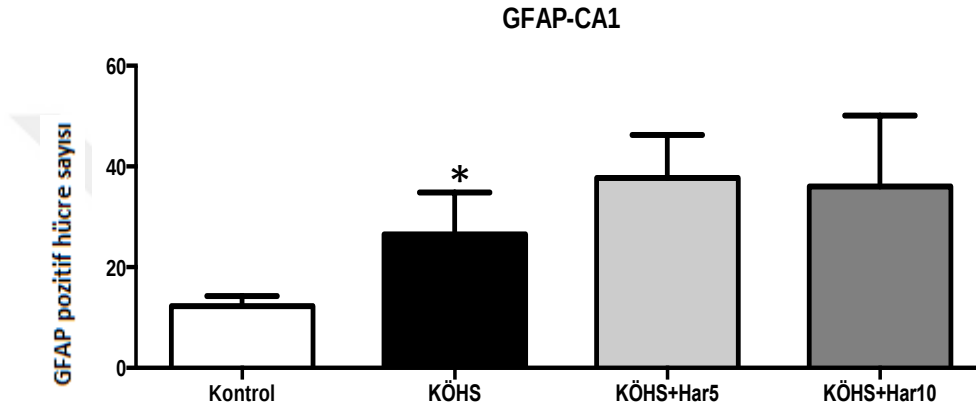
Kontrol grubu ile kıyaslandığında stres grubunda Iba-1 pozitif mikrogliya hücrelerinin sayıca arttığı gözlemlendi. Harman 5 ve 10 mg gruplarında, stres grubuyla kıyaslandığında Iba-1 pozitif mikrogliyal hücrelerin azaldığı görüldü.



Şekil 15. Hipokampüste Iba-1 pozitif mikrogliya hücre sayısı. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. **p<0,01 kontrol grubuna göre; †p<0,01 KÖHS grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

6.3.2. Hipokampus CA1 bölgesinde GFAP bulguları

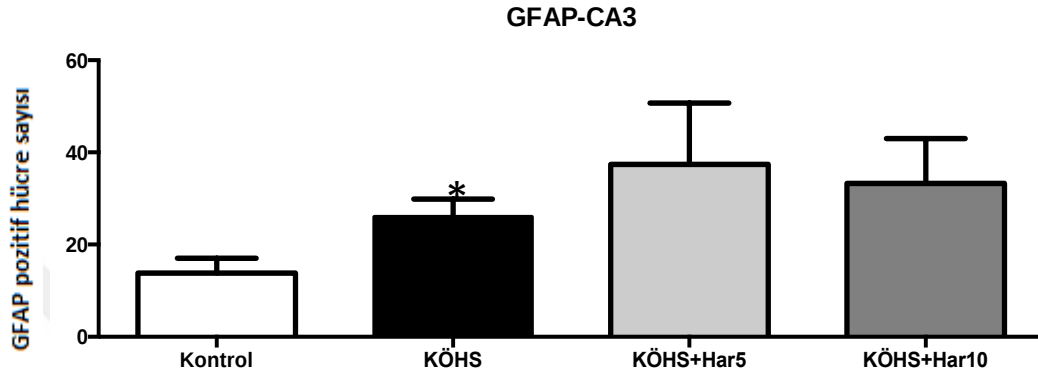
GFAP ekspresyonları hipokampusün CA1, CA3 ve DG alt bölgelerinde araştırılmıştır. Elde edilen verilere göre tüm alt bölgelerde GFAP ekspresyonunda belirgin bir artış saptanmıştır ($p<0,01$). Kontrol grubu ile kıyaslandığında stres grubunda GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayıca arttığı gözlemlendi. Harman 5 ve 10 tedavilerinin, KÖHS grubuyla kıyaslandığında GFAP pozitif astrosit hücre artışını etkilemediği görüldü.



Şekil 16. Hipokampus CA1’ de GFAP pozitif hücre sayısı. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ** $p<0,01$ kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

6.3.3. Hipokampus CA3 bölgesinde GFAP bulguları

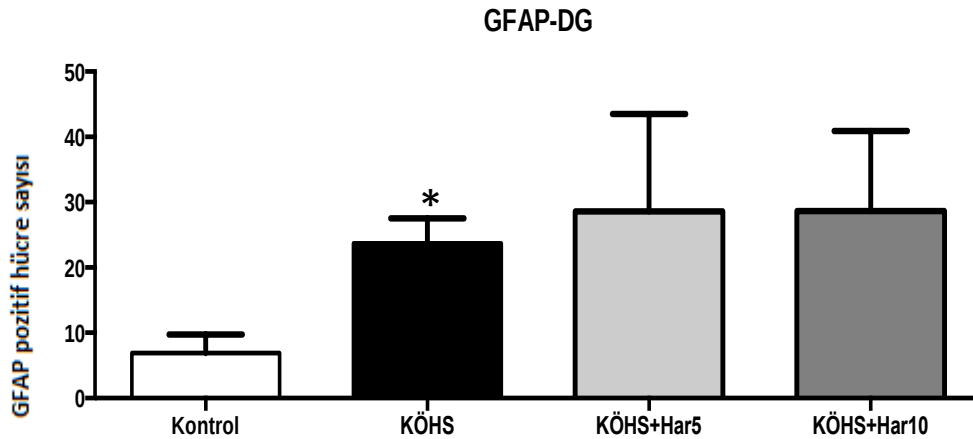
Kontrol grubu ile kıyaslandığında KÖHS grubunda GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayıca arttığı gözlemlendi. Harman 5 ve 10 tedavilerinin, KÖHS grubuyla kıyaslandığında GFAP pozitif astrosit hücre artışını etkilemediği görüldü.



Şekil 17. Hipokampus CA3'te GFAP pozitif hücre sayısı. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

6.3.4. Hipokampus DG bölgesinde GFAP bulguları

Kontrol grubu ile kıyaslandığında KÖHS grubunda GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayıca arttığı gözlemlendi. Harman 5 ve 10 tedavilerinin, KÖHS grubuyla kıyaslandığında GFAP pozitif astrosit hücre artışını etkilemediği görüldü.



Şekil 18. Hipokampus DG'de GFAP pozitif hücre sayısı. Veriler ortalamanın $\pm$ standart hatası şeklinde gösterilmiştir. ** $p < 0,01$ kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı farklılığı göstermektedir. KÖHS; kronik öngörülemez hafif stres, Harman5,10; Harman 5 mg/kg, 10 mg/kg.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Majör depresyon dünya popülasyonunun %10 gibi büyük bir diliminde rastlanılan, yaygın, şiddetli seyreden, tekrar edebilen, bireyi güçsüz veya zayıf hissettiren ve hayatı tehdit edici potansiyeli olan bir afektif hastalıktır. Günün büyük bölümünde düşük ruh hali, günlük aktivitelerden keyif alamama durumu, kilo kaybı veya artışı, uyku düzensizlikleri, ajitasyon veya uyuşukluk, yorgunluk, değersizlik veya acizlik hissi, düşünme veya hafızada bozukluklar, tekrar eden kişinin kendisine zarar verme ve ölüm düşünceleri semptomlarının en az 5 tanesinin en az 2 hafta sürerek devam etmesini içerir (<http://www.dsm5.org/psychiatrists/practice/dsm> Erişim tarihi: 25.12.2016). Depresif hastaların % 50' si tamamen iyileşme gösterirler, % 20-30'u tedaviye yanıt vermezler ve % 15' i intihar teşebbüsünde bulunurlar (Greden, 2001).

Geçmişten günümüze süregelen ve monoaminerjik aşırımın artırılması hedeflenen klasik antidepresan tedavi ile hastaların büyük bir kısmından yanıt alınamamakta ya da kısmi yanıt elde edilmektedir. Bu da mevcut monoamin hipotezinin geçerliliğini yitirdiğini göstermekte olup yeni tedavi arayışlarına yol açmaktadır. (Sanacora ve ark., 2012).

Harman, beta karbolin yapıda, *Peganum Harmala* bitkisinden elde edilen ve aynı zamanda vücutta çeşitli dokularda yaygın dağılım göstermesi ile birlikte santral sinir sisteminde *hipotalamus*, *hipokampus*, *serebral korteks*, *striatum*, *serebrum* ve *omurilikte* varlığı saptanmış olan endojen bir maddedir (Anderson ve ark., 2006, May ve ark., 1991). Daha önce santral sinir sisteminde öğrenme bellek (Çelikyurt ve ark., 2014), epilepsi (Ghazaleh ve ark., 2015), morfin bağımlılığı (Lowry ve Brown, 2017, Miralles ve ark., 2005, Arıcıoğlu ve ark., 2003), nöropatik ağrı (Aglawe ve ark., 2014, Ferrari ve ark., 2011, Arıcıoğlu ve ark., 2003), anksiyete (Smith ve ark., 2013), Parkinson hastalığı (Arib ve ark., 2010), depresyon (Farzin ve Mansouri, 2006) üzerine etkileri olabileceğini gösteren çalışmalar yapılmıştır. Harman ve diğer beta-karbolinlerin santral sinir sistemi üzerindeki bu etkilerini; serotonin, benzodiazepin, dopamin, opiat, nikotin, histamin reseptörlerine olan ilgileri (Nasehi ve ark., 2013, Arib ve ark., 2010, Glennon ve ark., 2000), MAO inhibisyonunu gerçekleştirmeleri

(Smith ve ark., 2013, Herraiz ve ark., 2007, Reiners ve ark., 1994), I reseptörlerine (özellikle I2) bağlanmaları (Lowry ve Brown, 2017, Thorn ve ark., 2012, Musgrave ve Badoer, 2000) ve glutamaterjik sistemde mikrogial aktivasyonda görev alan glutamat taşıyıcılarının ekspresyonları üzerindeki etkileri (Li ve ark., 2011, Fortunato ve ark., 2010) nedeni inflamatuvar mekanizmalar üzerinden yürüttükleri düşünülmektedir. Beta-karbolin harminin, depresyon ve inflamatuvar mekanizma ilişkisinin araştırıldığı çalışmada bulgulara depresyon üzerindeki düzeltici etkilerinin gözlenmesi üzerine, inflamatuvar mekanizmalarda meydana getirdikleri iyileşmelerin de bu etkiye katkısının olabileceği araştırmalara dahil edilmiştir (Fortunato ve ark., 2010). Harminin yüksek halüsinojenik özelliklerinin dezavantajları (Grella ve ark., 1998) ve bu alanda daha önce harman ile bir çalışma gerçekleştirilmemiş olması, harmanın depresyonda inflamasyon ilişkisinin araştırılması ve mekanizmaların aydınlatılabilmesinde tercih edilmesinde önemli bir etkidir.

Yakın dönemde gerçekleştirilen çalışmalarda depresyon ve stres ilişkili diğer patolojilerin, sitokinler aracılı artmış inflamatuvar yanıtlar ile arasındaki ilişki aydınlatılmıştır (Madrigal ve ark., 2002, Raison ve ark., 2006). Depresyon prevalansının pek çok otoimmün ve/veya kronik inflamatuvar hastalık varlığında arttığı bilinmektedir (Iwata ve ark., 2013). Depresyon ve stres ile ilişkili patolojilerde arttığı rapor edilen inflamatuvar yanıtların hücre içi yollar üzerinden bazı özelleşmiş mekanizmalarla tetiklendiği bilinmektedir. Bu kapsamda NLRP3 aktivasyonu ile oluşan multi-protein kompleks yapısındaki NLRP3 inflamazomunun depresyon-sitokin hipotezinin açıklanmasında yeni bir parametre ve risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (Iwata ve ark., 2013, Ozaki ve ark., 2015). Özellikle yakın dönemde yapılan deneysel ve klinik çalışmalar ile depresyonda NLRP3 inflamazomu aktivitesinin arttığı ve bunun depresyon-inflamasyon ilişkisine yeni bir boyut kazandıran patofizyolojik süreçlerden biri olabileceği ileri sürülmüştür.

Zhang ve arkadaşları tarafından LPS ile indüklenmiş depresyon modelinde, fare beyinde IL-1 β ve NLRP3 inflamazomu mRNA ekspresyon seviyelerinde belirgin artış tespit etmişlerdir. (Zhang ve ark., 2013). Zhu ve arkadaşları da sıçanlarda lipopolisakkarit enjeksiyonunun ardından NLRP3 inflamazomu ile IL-1 β düzeyleri

artışını ve pro-kaspaz-1'lerdeki artışı bildirmişlerdir (Zhu ve ark., 2017). Alcocer-Gomez ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği klinik bir çalışmada majör depresyon tanısı konulan hastaların IL-1 β ve IL-18 seviyelerinin yüksek olduğu ve periferik kan hücrelerinde NLRP3 inflamazomu rastlandığı bildirilmiştir (Alcocer Gomez and Cordero, 2013). Amitriptilinin (TSA) klinik uygulamalarında, majör depresyon hastalarında IL-1 β ve IL-18 üretimini ve NLRP3 ve kaspaz-1 aktivasyonunu inhibe ettiği bildirilmiştir (Alcocer-Gomez ve Cordero, 2013). Bir başka çalışmada stresle indüklenen depresyonda Gliburid'in (antidiyabetik), kaspaz-1 aktivasyonunu ve IL-1 β sekresyonunu inhibe ettiği, NLRP3 inflamazomu oluşumunda da etkili bir inhibitör rolü olduğu bildirmiştir. Bahsi geçen bulgular, antiinflamatuvar etkinin depresyon tedavisinde etkili olabileceği görüşünü destekler niteliktedir (Lamkanfi ve ark., 2009). Çalışmamızda ise 40 günlük KÖHS prosedürü ile depresyon tablosu oluşan sıçanların prefrontal korteks NLRP3 mRNA düzeylerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Elde ettiğimiz bulgular bu yönüyle literatür verileri ile örtüşmemektedir.

NLRP1 ve NLRP3 inflamazom formasyonlarının kaspaz aktivasyonu ve ASC etkileşimleri ile gerçekleştiği bilinmektedir (Faustin ve ark., 2007).

Çalışmamızda KÖHS modeli ile depresyon oluşturulan sıçanlarda kaspaz-1 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla anlamlı ölçüde yüksek bulunmuştur. KÖHS prosedürüne ek olarak 5 mg/kg dozda kronik harman tedavisi alan grupta stres ile indüklenen kaspaz-1 seviyelerindeki artışın yüksek seyrettiği görülmüştür. Diğer taraftan yüksek doz harman (10 mg/kg) tedavisi alan grupta stres ile indüklenen kaspaz 1 düzeylerinin düştüğü saptanmıştır. Elde edilen bulgulara göre; harman tedavisi kaspaz-1 düzeyleri üzerinde doza bağlı bir etki meydana getirmiştir.

Erkek fareler üzerinde yapılan bir çalışma glukokortikoid enjeksiyonunun prefrontal korteks ve hipokampüste NLRP1 inflamazomunu artırdığını göstermiştir. Bu hayvanlarda kaspaz-1, ASC, IL-1 β , NF- κ B, p-NF- κ B, IL-6, IL-18, TNF- α , kaspaz-5 düzeylerinde artış saptanmıştır (Kamo ve ark., 2013). Bizim çalışmamızda hem kontrol grubu hem de KÖHS grubu ile yapılan karşılaştırmalarda Harman 10 mg tedavi grubunda NLRP1 inflamazom düzeyleri istatistiksel anlamda yüksek bulunmuştur.

Kontrol grubu ile kıyaslandığında KÖHS grubunda IL-6 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Harman 10 mg tedavi gruplarını KÖHS grubu ile kıyasladığımızda ise IL-6 seviyelerinde istatistiksel anlamlı bir azalma gözlemledik. Harman ile tedavinin IL-6 seviyelerinde meydana getirdiği bu azalma, inflamatuvar yollarda etkili olduğunu destekler niteliktedir. Sonuçlarımızda gruplar arasında IL-18 düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. Söz konusu bulgudan hareketle çalışmamızda IL-18 düzeyleri ile depresyon tablosu arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Koo ve Duman akut ve kronik stres modellerinde NF- κ B yolları aracılığı ile gerçekleşen IL-1 β salımının depresif benzeri davranışlara yol açtığını bildirmişlerdir. (Koo ve Duman, 2008). Christoffel ve ark. tarafından kronik sosyal yenilgi stresi uygulanan farelerde nöroplastisitenin araştırıldığı bir çalışmada NF- κ B'nin etkisinin araştırılmasında, farelerin nükleus akumbenslerinde IKK'nın belirgin up-regülasyonu saptanmış olup, IKK inhibisyonu gerçekleştirildiğinde dendrit gövdelerinin tekrar geliştiği bildirilmiştir (Christoffel ve ark. 2011). Bu durum nükleus akumbensteki NF- κ B nedenli değişikliklerin nöronal morfoloji üzerindeki etkilerini ve NF- κ B'nin stres ile indüklenen davranışsal bozukluklar üzerindeki etkileri olabileceğini göstermektedir (Christoffel ve ark., 2011). Bir başka çalışmada Russo ve ark. 2009'da, nükleus akumbenste dominant negatif IKK mutant ekspresyonunun bazal dendrit gövde sayısını azalttığını bildirmişlerdir (Russo ve ark., 2009). Bizim moleküler analizlerimizde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında KÖHS grubunda NF- κ B düzeyleri istatistiksel anlamlı yüksek saptanmıştır. Ancak harman tedavi gruplarının NF- κ B düzeyleri üzerinde anlamlı etkisi bulunmamıştır.

Zhang ve arkadaşları bir diğer çalışmalarında KÖHS ile depresyon modeli oluşturulmuş farelere, oksidatif stresi hedef alan hidrojen zengin su tedavisi uygulamışlardır. 4 haftalık hidrojenli su ile beslenen farelerin hipokampus ve kortekslerindeki IL-1 β seviyelerinde belirgin azalma, hipokampus ve prefrontal kortekslerinde kaspaz-1 ve IL-1 β 'nin aşırı ekspresyonunun da azaldığını bildirmişlerdir (Zhang ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda KÖHS modeli ile depresyon oluşturulan hayvanlarda inflamatuvar etki ve hipokampal hücre kaybının

ölçümünde IL-1 β düzeylerine bakıldığında, kontrol grubu ile kıyaslandığında KÖHS grubunda IL-1 β düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptanmıştır. Harman 10 mg/kg tedavisinin ise KÖHS ile indüklenen IL-1 β seviyelerini düşürdüğü gözlenmiştir. Harman ile tedavinin IL-1 β seviyelerinde meydana getirdiği bu azalma inflamatuvar yollaklarda etkili olduğunu destekler niteliktedir.

Santral sinir sisteminde gerçekleşen inflamasyonun bir tetikçisi olarak da mikrogliyal aktivasyon görülmektedir (Yirmiye ve ark., 2015, Sui ve ark., 2016, Najjar ve Pearlman, 2015). Glutamat eksitotoksitesi inflamatuvar kaynaklı gerçekleşebilen ve apoptotik ve nekrotik nöronal ölümlerin başlıca etkenlerinden biri olarak görülen, glutamatın mikrogliyalardan aşırı salınması durumudur. Yapılan çalışmalarda depresyon ve stres varlığında astrosit dansitesinde azalma (Steiner ve ark., 2009, Correa ve ark., 2011) ve mikrogliyal aktivasyonda artma (Torres-Platas ve ark., 2014) olduğu bildirilmiştir (Lehnardt, 2010, Reus ve ark., 2015). Astrositlerle birlikte bulundukları kültürlerde mikrogliyal, Iba-1 ile imünohistokimyasal olarak kolaylıkla işaretlenebilirler. Ayrıca CD11b protein seviyeleri mikrogliyal aktivasyon hakkında bilgi vermektedir (Diz-Chaves ve ark., 2013, Jeong ve ark., 2013). Çalışmamızda Iba-1 ile işaretlenen mikrogliya hücreleri strese maruz bırakılan sıçanlarda sayıca artmıştır. Harman 5 ve 10 mg/kg tedavisi ise KÖHS ile indüklenen Iba-1 pozitif mikrogliyal hücre sayısını azaltmıştır. Ancak Gruplar arasında mikrogliya aktivasyonunun bir diğer göstergesi olan CD11b immünoreaktivitesinde bir değişim saptanmamıştır.

Nörolojik bozukluklarda glutamat, astrosit hücrelerindeki EAAT'ler (yüksek oranda GLT-1) tarafından sinapslardan uzaklaştırılır (Lauderback ve ark., 2001). GLT-1 aktivitesinin ve ekspresyonunun arttığı durumlarda pek çok nörolojik hastalık modellerinde glutamatın aşırı salımının azaldığı ve davranışlarda iyileşme sağlandığı tespit edilmiştir (Fortunato ve ark., 2010).

Major depresyonda stres ve inflamatuvar mekanizmaların tetiklemesi ile meydana gelen eksitotoksite kaynaklı nöronal hücre kaybına, astrositlerde görülen hipertrofi ve hiperplazi eşlik etmektedir. Bu yanıtın saptanmasında Glial Fibriler Asidik Protein (GFAP) ekspresyonu (astrosit olgunlaşma göstergesi) (Gomes ve ark., 1999)

incelenmiş olup, bu proteinin ekspresyonunda belirgin artış saptanmıştır (Davis ve ark., 2002). Major depresyon hastalarında yapılan bir çalışmada hastaların prefrontal kortekslerinde GFAP konsantrasyonlarının belirgin ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Johnston-Wilson ve ark., 2000). Beta-karbolinlerden harminin santral sinir sisteminde inflamatuvar mekanizmalar ilişkili etkileri yakın tarihlerde araştırılmaya başlanmıştır. Dakic ve ark. harminin insan nöronlarındaki proliferasyon üzerine etkisini araştırdıkları çalışmada, harmin ile tedavide mikrogliya GFAP seviyelerinin yükseldiğini bildirmişlerdir (Dakic ve ark., 2016). Bir diğer çalışmada majör depresyon hastalarının dorsolateral prefrontal kortekslerinde GFAP konsantrasyonunun az olduğu bildirilmiştir (Miguel-Hidalgo ve ark., 2000). Çalışmamızda harman tedavi gruplarında GFAP konsantrasyonlarının kontrol ve KÖHS gruplarına oranla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu durum astrositlerin eksitotoksiste karşıtı aktivitelerinin harman tedavisi ile arttığını destekler niteliktedir. Çalışmamızda hipokampus CA1 bölgesinde kontrol grubu ile kıyaslandığında KÖHS grubunda GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayıca arttığı görülmüştür. Harman 5 mg/kg ve 10 mg/kg tedavilerinin, KÖHS grubuyla kıyaslandığında GFAP pozitif astrosit hücre artışı etkilemediği saptanmıştır. Hipokampusun CA3 bölgesinde kontrol grubu ile kıyaslandığında KÖHS grubunda GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayıca arttığı ve Harman 5 mg/kg ve 10 mg/kg tedavilerinin, KÖHS grubuyla kıyaslandığında GFAP pozitif astrosit hücre artışı etkilemediği gözlenmiştir. Hipokampusun DG bölgesinde kontrol grubu ile kıyaslandığında KÖHS grubunda GFAP pozitif astrosit hücrelerinin sayıca arttığı gözlenirken Harman 5 mg/kg ve 10 mg/kg tedavilerinin, KÖHS grubuyla kıyaslandığında GFAP pozitif astrosit hücre artışı etkilemediği ortaya konmuştur.

2013'te gerçekleştirilen bir çalışmada sıçanlarda korku koşullama testinde harmanın sedasyon etkisinin MAO inhibisyonu kaynaklı olabileceği bildirilmiştir (Smith ve ark., 2013). Fortunato ve ark. tarafından 2010 yılında gerçekleştirilen çalışmada KÖHS modeli ile depresyon geliştirilen sıçanlarda gözlenen anhedoninin harmin verilmesi sonucu iyileşme gösterdiği ve harmin tedavisinde adrenal bezlerdeki hipertrofide azalma bildirilmiştir (Fortunato ve ark., 2010). Harmanın sıçanlarda oluşturduğu anksiyolitik ve antidepresan etkilerin araştırıldığı çalışmada bu etkilerin

gözlendiği ve etkilerin mekanizması olarak MAO enzim inhibisyonu ve harmanın benzodiazepin reseptörlerinin invers agonisti olması olabileceği öne sürülmüştür (Aricioglu ve Altunbas, 2003). Yapılan bir diğer çalışmada farelerde oluşturduğu antidepresan benzeri etkinin ölçüldüğü çalışmada, MAO enzim inhibisyonu ve monoaminergic aşırıdaki artma, tam aydınlatılamamış bir mekanizma ile de I2 bağlanma bölgeleri ile etkileşimin bu etkiye neden olduğu bildirilmiştir (Farzin ve Mansouri, 2006).

Sonuç olarak, çalışmamızda bir beta-karbolin türevi olan harmanın kronik uygulamasının kronik strese bağlı gelişen depresif-benzeri davranışları düzelterek antidepresan-benzeri etkiler meydana getirdiği gösterilmiştir. 5 mg/kg ve 10 mg/kg dozlarında uygulanan harman; sü kroz tercih testi ile değerlendirilen anhedoni-benzeri davranışları uygulanan her iki dozda da geri çevirirken; zorunlu yüzme testi ile değerlendirilen çaresizlik davranış kalıbını düşük dozda geri çevirmiştir. Dahası, çalışmamızda elde edilen moleküler ve histolojik analiz bulgularına göre kronik harman uygulaması ile oluşan antidepresan-benzeri etkilerin kısmen nöroinflamatuvar yanıtların baskılanması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar; depresyon ile artmış inflamatuvar yanıtlar arasındaki ilişkiye dikkat çekmektedir. Bu noktada özellikle inflamatuvar yanıtları başlatan inflamazom aktivasyonu ile ilişkili mekanizmaların depresyon patofizyolojisindeki potansiyel önemi gündeme gelmiştir. Bu kapsamda çalışmamızda kronik harman tedavisinin çeşitli inflamatuvar medyatörlerin gen ekspresyon düzeyleri ve ayrıca mikroglia, astrosit aktivasyonu üzerindeki etkisi incelenmiştir. Elde edilen bulgularla harmanın KÖHS ile indüklenen prefrontal korteks proinflamatuvar sitokin ve kaspaz-1 yanıtlarını azalttığı ve Iba-1 mikroglia immünoreaktivitesini baskıladığı gösterilmiştir.

Bu çalışmada iyi valide edilmiş bir depresyon modelinde kronik harman uygulamasının antidepresan-benzeri etkiler meydana getirdiği ve söz konusu etkilerin nöroinflamatuvar yanıtların baskılanması ile kısmen ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bundan hareketle I2 reseptörleri ile PI3K-AKT hücre içi sinyalleme yolları üzerinde düzeltici etki oluşturması, nörotrofik faktörler aracılı hücre proliferasyonu, glutamaterjik sistem reseptörleri aracılığı ile GLT-1 disfonksiyonunu iyileştirici etki yaparak mikrogial aktivasyonun indirgenmesini sağlayan mekanizmalarla glial hücre

proliferasyonu sağlama etkisi ışığında ve çalışmamızda bakılan inflamatuvar parametrelerin anlamlı sonuçları ile, harmanın, nöroinflamasyonun eşlik ettiği depresyon tablosunda potansiyel bir terapötik hedef olabileceği fikri çalışmamız ile desteklenmektedir.



8. KAYNAKLAR

Aglawe MM, Taksande BG, Kuldhariya SS, Chopde CT, Umekar MJ, Kotagale NR. Participation of central FSSRI

binding sites in antinociceptive effect of ethanol and nicotine in rats. *Fundam Clin Pharmacol* 2014;28:284-293.

Agui L, Pena-Farfal C, Yanez-Sedeno P, Pingarron JM. Determination of beta-carboline alkaloids in foods and beverages by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection at a glassy carbon electrode modified with carbon nanotubes. *Anal. Chim. Acta* 2007;585:323-330.

Airaksinen MM, Kari I. Beta-carbolines, psychoactive compounds in the mammalian body. Part I: Occurrence, origin and metabolism. *Med Biol*. 1981;59(1):21-34.

Airaksinen MM, Kari I. Beta-Carbolines, psychoactive compounds in the mammalian body. Part II: Effects. *Med Biol*. 1981;59(4):190-211.

Alcocer-Gómez E, de Miguel M, Casas-Barquero N, Núñez- Vasco J, Sánchez-Alcazar JA, Fernández-Rodríguez A, Cordero MD. NLRP3 inflammasome is activated in mononuclear blood cells from patients with major depressive disorder. *Brain Behav. Immun.* 2013;36:111-117.

Allen NJ, Barres BA. Glia-more than just brain glue. *JNeurosci* 2009;475:675-677.

Anderson NJ, Seif I, Nutt DJ, Hudson AL, Robinson ESJ. Autoradiographical distribution of imidazoline binding sites in monoamine oxidase A deficient mice. *JNC* 2006;96:1551-1559.

Anderson NJ, Tyacke RJ, Husbands SM, Nutt DJ, Hudson AL, Robinson ESJ. In vitro and ex vivo distribution of [³H]harmane, an endogenous β -carboline, in rat brain. *Neuropharmacology* 2006;50:269-276.

Ankarcrona M, Dypbukt JM, Bonfoco E, Zhivotovsky B, Orrenius S, Lipton SA and Nicotera P. Glutamate-induced neuronal death: a succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. *Neuron* 1995;15:961-973.

Arib O, Rat P, Molimard R, Chait A, Faure P, Beaurepaire R. Electrophysiological characterization of harmaline-induced activation of mesolimbic dopamine neurons. *Eur J Pharmacol* 2010;629:47–52.

Arıcıoglu F, Korcegez E, Ozyalcin S. Effect of Harmaline on Mononeuropathic Pain in Rats. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003;1009:180-184.

Arıcıoglu F, Utkan T. Inhibitory Effect of Harmaline on Morphine-Dependent Guinea Pig Ileum. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003;1009: 185-189.

Arıcıoglu-Kartal F, Kayır H, Uzbay T. Effects of harmaline and harmaline on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in morphine-dependent rats. *Life Sci J* 2003;73:2363-2371.

Atlas D, Burstein Y. Isolation and partial purification of a clonidine-displacing endogenous brain substance. *Eur. J. Biochem.* 1984;144:287-293.

Beart PM, O'Shea RD. Transporters for L-glutamate: An update on their molecular pharmacology and pathological. *Br J Pharmacol* 2007;150:5-17.

Beato M, Herrlich P, Schütz G. Steroid Hormone Receptors: Many Actors in Search of a Plot. *Cell* 1995;83:851-857.

Bhatnagar S, Huber R, Nowak N, Trotter P. Lesions of the posterior paraventricular thalamus block habituation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to repeated restraint. *J Neuroendocrinol.* 2002;14(5):403-410.

Birnbaum SG, Green TA. Nuclear factor kappa B signaling regulates neuronal morphology and cocaine reward. *J. Neurosci.* 2009;29:3529-3537.

Bourin M, Petit-Demouliere B, Dhonnchadha BN, Hascöet M. Animal models of anxiety in mice. *Fundam Clin Pharmacol.* 2007;21:567-574.

Celikyurt IK, Utkan T, Gocmez SS, Hudson A, Arıcıoglu F. Effect of harmaline, an endogenous β -carboline, on learning and memory in rats. *Pharmacol Biochem Behav* 2013;103:666-671.

Chen D, Su A, Fu Y, Wang X, Lv X, Xu W, Xu S, Wang H, Wu Z. Harmine blocks herpes simplex virus infection through downregulating cellular NF- κ B and MAPK pathways induced by oxidative stress. *Antiviral Res* 2015;123:27-38.

Choi AJS, Ryter SW. Inflammasomes: Molecular Regulation and Implications for Metabolic and Cognitive Diseases. *Mol. Cells* 2014;37(6):441-448.

Choudary PV, Molnar M, Evans SJ, Tomita H, Li JZ, Wawter MP, Myers RM, Bunney WE, Akil H, Watson SJ, Jones EG. Altered cortical glutamatergic and GABAergic signal transmission with glial involvement in depression. *PNAS* 2005;102:15653-15658.

Christoffel DJ, Golden SA, Dumitriu D, Robison AJ, Janssen WG, Ahn HF, Krishnan V, Reyes CM, Hang M-H, Ables JL, Eisch AJ, Dietz DM, Ferguson D, Neve RL, Greengard P, Kim Y, Morrison JH, Russo SJ. I-B Kinase Regulates Social Defeat Stress-Induced Synaptic and Behavioral Plasticity. *Journal Neurosci* 2011;31(1):314-321.

Christoffel DJ, Golden SA, Russo ST. Structural and synaptic plasticity in stress-related disorders. *Rev Neurosci*. 2011;22(5):535-549.

Correa F, Mallard C, Nilsson M, Sandberg M. Activated microglia decrease histone acetylation and Nrf2-inducible anti-oxidant defence in astrocytes: Restoring effects of inhibitors of HDACs, p38 MAPK and GSK3 β . *Neurobiol Dis* 2011;44:142-151.

Dakic V, Moraes Marciel R, Drummond H, Nascimento JM, Rindale P, Rehen SK. Harmine stimulates proliferation of human neural progenitors. *PeerJ* 2016;4:2727.

Dale E, Andersen-B B, Sanchez C. Emerging mechanisms and treatments for depression beyond SSRIs and SNRIs. *Biochem Pharmacol* 2015;122:10;17.

Dantzer R, O'connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*. 2008;9(1):46–56.

Davis S, Thomas A, Perry R, Oakley A, Kalaria RN, O'brien JT. Glial fibrillary acidic protein in late life major depressive disorder: an immunocytochemical study. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2002;73:556–560.

Robinson ESJ, Anderson NJ, Crosby J, Nutt DJ, Hudson AL. Endogenous β -carbolines as clonidine displacing substances. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003;1009:157–166.

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

Du X, Pang TY. Is dysregulation of the HPA-axis a core pathophysiology mediating co-morbid depression in neurodegenerative diseases? *Front Psychiatry* 2015;6:32.

Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. *Biol Psychiatry* 2006;59:1116–1127.

Ernsberger P. The I1-Imidazoline Receptor and Its Cellular Signaling Pathways. *Ann N Y Acad Sci.* 1999 Jun 21;881:35-53.

Farzin D, Mansouri N. Antidepressant-like effect of harmane and other β -carbolines in the mouse forced swim test. *European Neuropsychopharmacology* 2006;16:324-328.

Ferrari F, Fiorentino S, Mennuni L, Garofalo P, Letari O, Mandelli S, Giordani A, Lanza M, Caselli G. Analgesic efficacy of CR4056, a novel imidazoline-2 receptor ligand, in rat models of inflammatory and neuropathic pain. *J Pain Res* 2011;4:111-125.

Faustin B, Lartigue L, Bruey JM, Luciano, F, Sergienko E, Bailly-Maitre B, Volkmann, N, Hanein D, Rouiller I, Reed JC. Reconstituted NALP1 inflammasome reveals two-step mechanism of caspase-1 activation. *Mol. Cell* 2007;25:713-724.

Fortunato JJ, Gislaine ZR, Kirsch TR, Stringari RB, Fries GR, Kapczinski F, Hallak JE, Zuardi AW, Crippa JA, Quevedo J. Effects of beta-carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties. *Brain Res. Bull* 2010;81:491-496.

Fortunato JJ, Reus GZ, Kirsch TR, Stringari RB, Fries GR, Kapczinski F, Hallak JE, Zuardi AW, Crippa JA, Quevedo J. Effects of -carboline harmine on behavioral and physiological parameters observed in the chronic mild stress model: Further evidence of antidepressant properties. *Brain Res. Bull* 2010;81:491-496.

Garcia- Sevilla JA, Escriba PV, Guimon J. Imidazoline receptors and human brain disorders. *Ann. N.Y. Acad. Sci* 1999;881:392-409.

Ghazaleh HA, Lalies MD, Nutt DJ, Hudson AL. Harmane: An atypical neurotransmitter? *Neurosci. Lett.* 2015;590:1–5.

Glennon RA, Dukat M, Grella B, Hong SS, Costantino L, Teitler M, Smith C, Egan C, Davis K, Mattson MV. Binding of β -carbolines and related agents at serotonin (5-HT₂ and 5-HT_{1A}), dopamine (D₂) and benzodiazepine receptors. *Drug Alcohol Depend.* 2000;60:121–132.

Gold PW, Drevets WC, Charney DS, Drevets WC. New insights into the role of cortisol and the glucocorticoid receptor in severe depression. *Biol Psychiatry* 2002;52(5): 381-385.

Gomes FCA, Paulin D, Moura Neto V. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): modulation by growth factors and its implication in astrocyte differentiation. *Braz J Med Biol Res* 1999;32:619-631.

Greden JF. The burden of disease for treatment-resistant depression. *J Clin Psychiatry* 2001;62:26-31.

Grella B, Dukat M, Young R, Teitler M, Herrick-Davis K, Gauthier CB, Glennon RA. Investigation of hallucinogenic and related β -carbolines. *Drug Alcohol Depend* 1998;50:99-107.

Gutierrez H, Hale VA, Dolcet X, Davies A. NF- κ B signalling regulates the growth of neural processes in the developing PNS and CNS. *Development*. 2005; 132:1713-1726.

Gutierrez H, O'Keeffe GW, Gavalda N, Gallagher D, Davies AM. Nuclear factor κ B signaling either stimulates or inhibits neurite growth depending on the phosphorylation status of p65/RelA. *J. Neurosci*. 2008;28:8246-8256.

Halaris A, Piletz JE. Relevance of imidazoline receptors and agmatine to psychiatry. *Ann. N.Y. Acad. Sci*. 2003;1009:1-20.

Hanada M, Feng J and Hemmings BA. Structure, regulation and function of PKB/AKT-a major therapeutic target. *Biochim. Biophys. Acta* 2004;1697:3-16.

Hannestad J, DellaGioia N, Bloch M. The effect of antidepressant medication treatment on serum levels of inflammatory cytokines: a meta-analysis. *Neuropsychopharmacol*. 2011;36(12):2452-2459.

Hasler G. Pathophysiology of depression: do we have any solid evidence of interest to clinicians? *World Psychiatry* 2010;9:155-161.

Herraiz T, Galisteo J. Naturally-occurring tetrahydro-b-carboline alkaloids derived from tryptophan are oxidized to bioactive b-carboline alkaloids by heme peroxidases. *Biochem Biophys Res Commun* 2014;451:42-47.

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

Holden C. Global survey examines impact of depression. *Science* 2000;288:39.

Hu W, Zhang Y, Wu W, Yin Y, Huang D, Wang Y, Li W, Li W. Chronic glucocorticoids exposure enhances neurodegeneration in the frontal cortex and hippocampus via NLRP-1 inflammasome activation in male mice. *Brain Behav Immun* 2016;52:58-70.

Huang EJ and Reichardt LF. Trk receptors: roles in neuronal signal transduction. *Annu. Rev. Biochem.* 2003;72:609-642.

Husbands SM, Glennon RA, Gorgerat S, Gough R, Tyacke R, Crosby J, Nutt DJ, Lewis JW, Hudson AL. β -carboline binding to imidazoline receptors. *Drug Alcohol Depend* 2001;64:203-208.

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

Jeong H-K, Ji K, Min K, Joe E-H. Brain inflammation and microglia: facts and misconceptions. *Exp Neurobiol.* 2013;22(2):59-67.

Johnston-Wilson NL, Sims CD, Hofmann JP, Anderson L, Shore AD, Torrey EF, Yolken RH. Disease-specific alterations in frontal cortex brain proteins in schizophrenia, bipolar disorder, and major depressive disorder. *Mol Psychiatry* 2000;5:142-149.

Jones KA, Thomsen C. The role of the innate immune system in psychiatric disorders. *Mol. Cell. Neurosci.* 2013;53:52-62.

Kamo N, Ke B, Ghaffari AA, Busuttil RW, Cheng G, Kupiec-Weglinski JW. The ASC/Caspase-1/IL-1 β signaling triggers inflammatory responses by promoting HMGB1 induction in liver ischemiareperfusion injury. *Hepatology.* 2013;58(1): 351-362.

Karege F, Perret H, Bondolfi G, Schwald M, Bertschv G, Aubrey JM. Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychol Res* 2002;109:143–148.

Kendler KS, Gatz M, Gardner CO, Pedersen NL. Swedish national twin study of lifetime major depression. *Am J Psychiatry.* 2006;163:109-114.

Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Koretz D, Merikangas KR, Rush AJ, Walters EE, Wang PS. The epidemiology of major depressive disorder. *JAMA* 2003;289:3095.

Koo JW, Duman RS. Evidence for IL-1 receptor blockade as a therapeutic strategy for the treatment of depression. *Curr. Opin. Investig. Drugs* 2009;10:664-671.

Koo JW, Duman RS. IL-1 β is an essential mediator of the antineurogenic and anhedonic effects of stress. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2008;105:751-756.

Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. *Nature.* 2008; 455(7215):894-902.

Lamkanfi M, Mueller JL, Vitari AC, Misaghi S, Fedorova A, Deshayes K, Lee WP, Hoffman HM, Dixit VM. Glyburide inhibits the Cryopyrin/NLRP3 inflammasome. *J. Cell Biol.* 2009;187:61-70.

Latz E, Xiao TS, Stutz A. Activation and regulation of the inflammasomes. *Nat. Rev. Immunol.* 2013;13:397-411.

Lauderback CM, Hackett JM, Huang FF, Keller JN, Szweda LI, Markesberry WR, Butterfield DA. The glial glutamate transporter, GLT-1, oxidatively modified by 4-hydroxy-2-nonenal in the Alzheimer's disease brain: the role of A β 1-42. *J Neurochem* 2001;78:413-416.

Lehnardt S. Innate immunity and neuroinflammation in the CNS: the role of microglia in Toll-like receptor-mediated neuronal injury. *Glia* 2010;58:253-263.

Li JX, Zhang Y, Winter JC. Morphine-induced antinociception in the rat: Supra-additive interactions with Imidazoline I2 receptor ligands. *Eur J Pharmacol* 2011;669:59-65.

Li Y, Sattler R, Yang EJ, Nunes A, Ayukawa Y, Akhtar S, Ji G, Zhang PW, Rothstein JD. Harmine, a natural beta-carboline alkaloid, upregulates astroglial glutamate transporter expression. *Neuropharmacology* 2011; 60(7-8): 1168-1175.

Liu B, Xu C, Wu X, Liu F, Du Y, Sun J, Tao J, Dong J. Icariin exerts an antidepressant effect in an unpredictable chronic mild stress model of depression in rats and is associated with the regulation of hippocampal neuroinflammation. *Neurosci* 2015;294:193-205.

Lowry JA, Brown JT. Significance of imidazoline receptors in toxicology. *Clin Toxicol* 2014;52:454–469.

Lu K, Wang J, Hu B, Shi X, Zhou J, Tang Y, Peng Y. Brilliant blue G attenuates lipopolysaccharide-mediated microglial activation and inflammation. *Neural Regen Res*. 2013;8(7):599-608.

Lui TN, Tsao CW, Huang SY, Chang CH, Cheng JT. Activation of imidazoline I2B receptors is linked with AMP kinase pathway to increase glucose uptake in cultured C2C12 cells. *Neurosci Lett* 2010;474:144-147.

Marazioti A, Kastellakis A, Antoniou K, Papasava D, Thermos K. Somatostatin receptors in the ventral pallidum/substantia innominata modulate rat locomotor activity. *Psychopharmacology* 2005;181:319-326.

Martinon F, Mayor A, Tschopp J. The Inflammasomes: Guardians of the Body. *Annu. Rev. Immunol.* 2009;27:229-265.

Matsubara K, Gonda T, Sawada H, Uezono T, Kobayashi T, Kawamura T, Ohtaki K, Kimura K, Akaike A. Endogenously occurring β -carboline induces parkinsonism in nonprimate animals: A possible causative protoxin in idiopathic Parkinson's disease. *J. Neurochem.* 1998;70:2.

Mattson MP, Lovell MA, Furukawa K and Markesbery WR. Neurotrophic factors attenuate glutamate-induced accumulation of peroxides, elevation of intracellular Ca^{2+} concentration, and neurotoxicity and increase antioxidant enzyme activities in hippocampal neurons. *J. Neurochem.* 1995;65:1740–1751.

May T, Rommelspacher H, Pawlik M. [3H]harman binding experiments. I: A reversible and selective radioligand for monoamine oxidase subtype A in the CNS of the rat. *J Neurochem.* 1991;56(2):490-9.

Menu P, Vince JE. The NLRP3 inflammasome in health and disease: the good, the bad and the ugly. *Clin. Exp. Immunol.* 2011;166:1-15.

Merali Z, Du L, Hrdina P, Palkovits M, Faludi G, Poulter MO, Anisman H. Dysregulation in the Suicide Brain: mRNA Expression of Corticotropin-Releasing Hormone Receptors and GABAA Receptor Subunits in Frontal Cortical Brain Region. *J Neurosci* 2004;24(6):1478-1485.

Miguel-Hidalgo JJ, Baucom C, Dilley G, Overholser JC, Meltzer HY, Stockmeier CA, Rajkowska G. Glial Fibrillary Acidic Protein Immunoreactivity in the Prefrontal Cortex Distinguishes Younger from Older Adults in Major Depressive Disorder. *Biol Psychiatry* 2000;48:861-873.

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.

Moloudizargari M, Mikaili P, Aghajanshakeri S, Asghari MH, Shayegh J. Pharmacological and therapeutic effects of *Peganum harmala* and its main Alkaloids. *Pharmacogn Rev* 2013;7(14):199-212.

Monteggia LM, Barrot M, Powell CM, Berton O, Galanis V, Gemelli T, Meuth S, Nagy A, Greene RW, Nestler E. Essential role of brain-derived neurotrophic factor in adult hippocampal function. *PNAS* 2004;101-29:10827-10832.

Moura DJ, Richter MF, Boeira JM, Henriques JAP, Saffi J. Antioxidant properties of b-carboline alkaloids are related to their antimutagenic and antigenotoxic activities. *Mutagenesis* 2007;22-4:293-302.

Moura DJ, Rorig C, Viera DL, Henriques JAP, Roesler R, Saffi J, Boeira JM. Effects of β -carboline alkaloids on the object recognition task in mice. *Life Sci* 2006;79:2099-2104.

Musgrave IF, Badoer E. Harmane produces hypotension following microinjection into the RVLM: possible role of I(1)-imidazoline receptors. *Br Pharmacol* 2000;129(6):1057-1059.

Najjar S, Pearlman DM. Neuroinflammation and white matter pathology in schizophrenia: systematic review. *Schizophr. Res.* 2015;161:102-112.

Nakahira K, Haspel JA, Rathinam VA, Lee SJ, Dolinay T, Lam HC, Englert JA, Rabinovitch M, Cernadas M, Kim HP, Fitzgerald KA, Ryter S, Choi AMK. Autophagy proteins regulate innate immune responses by inhibiting the release of mitochondrial DNA mediated by the NALP3 inflammasome. *Nat. Immunol.* 2010;12:222-230.

Nasehi M, Mashaghi E, Khakpai F, Zarrindast MR. Suggesting a possible role of CA1 histaminergic system in harmane-induced amnesia. *Neuroscience Letters* 2013;556:5-9.

Nielsen CK, Arnt J, Sanchez C. Intracranial self-stimulation and sucrose intake differ as hedonic measures following chronic mild stress: interstrain and interindividual differences. *Behav Brain Res.* 2000;107(12):21-33.

Norman GJ, Karelina K, Zhang N, Walton JC, Morris JS, DeVries AC. Stress and IL-1b contribute to the development of depressive-like behavior following peripheral nerve injury. *Mol. Psychiatry* 2010;15:404-414.

Ozaki E, Campbell M, Doyle SL. Targeting the NLRP3 inflammasome in chronic inflammatory diseases: current perspectives. *J Inflamm Res* 2015;20:15-27.

Östergren A, Annas A, Skog K, Lindquist NG, Brittebo EB. Long-term retention of neurotoxic β -carbolines in brain neuromelanin. *J Neural Transm* 2004;111:141-157.

Pace TWW, Miller AH. Cytokines and Glucocorticoid Receptor Signaling: Relevance to Major Depression. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1179:86-105.

Parker CA, Anderson NJ, Robinson ESJ, Price R, Tyacke RJ, Husbands SM, Dillon MP, Eglen RM, Hudson AL, Nutt DJ, Crump MP, Crosby J. Harmane and Harmalan Are Bioactive Components of Classical Clonidine-Displacing Substance. *Biochem* 2004;4:16385-16392.

Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. *Psychopharmacology* 2005;177:245-255.

Pfau W, Skog K. Exposure to β -carbolines norharman and harman. *J Chromatogr A*, 2004;802:115-126.

Pickering M, Curniskey D, O'connor J. Actions of TNF- α on glutamatergic synaptic transmission in the central nervous system. *Exp Physiol* 2005; 90.5:663-670.

Piletz J, Baker R, Halaris A. Platelet imidazoline receptors as state marker of depressive symptomatology. *J Psychiatric Res* 2008;42:41-49.

Piletz JE, Zhu H, Ordway G, Stockmeier C, Dilly G, Reis D, Halaris A. Imidazoline receptor proteins are decreased in the hippocampus of the patient with major depression. *Biol Psychiatry* 2000;48:910-919.

Pittenger C, Duman RS. Stress, Depression, and Neuroplasticity: A Convergence of Mechanisms. *NeuroPsychopharmacology Reviews* 2008;33:88-89.

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

Raison CL, Capuron L, Miller AH. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of Depression. *Trends Immunol.* 2006;27(1):24-31.

Reiners J, Robert S, Frederick R, Masereel B, Vincent S, Wouters J. Synthesis and evaluation of b-carboline derivatives as potential monoamine oxidase inhibitors. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2011;19:134-144.

Robinson ESJ, Anderson NJ, Crosby J, Nutt DJ, Hudson AL. Endogenous b-carbolines as clonidine-displacing substances. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 2003;1009:157;166.

Russo SJ, Wilkinson MB, Mazei-Robison MS, Dietz DM, Maze I, Krishnan V, Renthal W, Graham A, Bimbaum SG, Green TA, Robison B, Lesselyong A, Perrotti LI, Bolanos CA, Kumar A, Clark MS, Neumaier JF, Neve RL, Bhakar AL, Barker PA, Nestler EJ. Nuclear factor kappa B signaling regulates neuronal morphology and cocaine reward. *J Neurosci* 2009;29(11):3529-3537.

Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions. *Endocr Rev* 2000;21(1):55-89.

Singh G, Hussain JF, Mackinnon A, Brown CM, Kendall DA, Willson VG. Evidence for the presence of non-catecholamine, clonidine-displacing substance in crude, methanolic extracts of bovine brain and lung. *Arch Pharmacol.* 1995;351(1):1726.

Smith KL, Ford GK, Jessop DS, Finn DP. Behavioural, neurochemical and neuroendocrine effects of the endogenous β -carboline harmaline in fear-conditioned rats. *J Psychopharmacol* 2013;27(2):162-170.

Smith KL, Roche M, Jessop DS, Finn DP. The effects of synthetic and endogenous imidazoline binding site ligands on neuronal activity in discrete brain regions of naive and restraint-stressed rats. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2009;19(5):371-80.

Steiner J, Walter M, Wunderlich MT, Bernstein HG, Panteli B, Brauner M, Jacobs R, Gos T, Rothermundt M, Bogerts B. A New Pathophysiological Aspect of S100B in Schizophrenia: Potential Regulation of S100B by Its Scavenger Soluble RAGE. *Biol. Psychiatry* 2009;65:1107-1110.

Sui D, Xie Q, Yi W, Gupta S, Yu X, Li J, Wang J, Wang J, Deng X, Resveratrol protects against sepsis-associated encephalopathy and inhibits the NLRP3/IL-1 β axis in microglia. *Mediators of Inflamm.* 2015; 10.

Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* 2000;157:1552-1562.

Sullivan RM, Gratton A. Lateralized Effects of Medial Prefrontal Cortex Lesions on Neuroendocrine and Autonomic Stress Responses in Rats. *J. Neurosci* 1999;19(7):2834-2840.

Sun P, Zhang S, Li Y, Wang L. Harmine mediated neuroprotection via evaluation of glutamate transporter 1 in a rat model of global cerebral ischemia. *Neuroscience Let* 2014;583:32-36.

Susilo R, Rommelspacher H. Formation of a β -carboline (1,2,3,4-tetrahydro-1-methyl- β -carboline-1-carboxylic acid) following intracerebro-ventricular injection of tryptamine and pyruvic acid. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 1987;335(1):70-6.

Takaki J, Fujimori K, Miura M, Suzuki T, Sekino Y, Sato K. L-glutamate released from activated microglia downregulates astrocytic L-glutamate transporter expression in neuroinflammation: the 'collusion' hypothesis for increased extracellular L-glutamate concentration in neuroinflammation. *J Neuroinflamm* 2012;9:275.

Tesson F, Limon-Boulez I, Urban P, Puype M, Vandekerckhove J, Coupry I, Pampon D, Parini A. Localization of I2-Imidazoline Binding Sites on Monoamine Oxidases. *J Biol Chem* 1995;270(17):9856-9861.

Thorn DA, An XF, Zhang Y, Piigini M, Li JX. Characterization of the hypothermic effects of imidazoline I2 receptor agonists in rats. *Br J Pharmacol* 2012;166:1936-1945.

Torres-Platas SG, Cruceanu C, Chen GG, Turecki G, Mechawar N. Evidence for increased microglial priming and macrophage recruitment in the dorsal anterior cingulate white matter of depressed suicides. *Brain Behav Immun* 2014;42:50-59.

Warner-Schmidt JL, Vanover KE, Chen EY, Marshall JJ, and Greengard P. Antidepressant effects of selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) are attenuated

by anti-inflammatory drugs in mice and humans. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2011;108:9262-9267.

Willner P, Moreau JL, Nielsen CK, Papps M, Sluzewska M. Decreased Hedonic Responsiveness Following Chronic Mild Stress Is Not Secondary to Loss of Body Weight. *Physiol Behav* 1996;60:129-134.

Willner P, Muscat R, Rapp M. Chronic mild stress-induced anhedonia: a realistic animal model of depression. *Neurosci Biobehav Rev.* 1992;16(4):525-534.

Willner P. Validity, reliability and utility of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation. *Psychopharmacology* 1997;134:319-329.
Yirmiya R, Rimmerman N, Reshef R. Depression as a microglial disease. *Trends Neurosci* 2015;38:10.

Zhang F, Ding T, Yu L, Zhong Y, Dai H, Yan M. Dexmedetomidine protects against oxygen–glucose deprivation-induced injury through the I2 imidazoline receptor-PI3K/AKT pathway in rat C6 glioma cells. *J. Pharm. Pharmacol.* 2012;64:120-127.

Zhang Y, Su W-J, Chen Y, Wu T-Y, Gong H, Shen X-L, Wang Y-X, Sun X-J, Jiang C-L. Effects of hydrogen-rich water on depressive-like behavior in mice. *Sci Rep* 2015;6:23742.

Zhong Z, Tao Y, Yang H. Treatment with harmine ameliorates functional impairment and neuronal death following traumatic brain injury. *Mol Medicine Rep* 2015;12:7985-7991.

Zhu H, Paul IA, McNamara M, Redmond A, Nowak G, Piletz JE. Chronic imipramine treatment upregulates IR2-imidazoline receptive sites in rat brain. *Neurochem. Int.* 1997;30:101-107.

Zhu W, Cao F-S, Feng J, Chen H-W, Wan J-R, Lu Q, Wang J. NLRP3 inflammasome activation contributes to long-term behavioral alterations in mice injected with lipopolysaccharide. *Neuroscience* 2017;343:77-84.

9. ÖZGEÇMİŞ

ÖZGEÇMİŞ

Adı	Gülnaz	Soyadı	ARKAN
Doğum Yeri	BOLU	Doğum Tarihi	06/05/1991
Uyruğu	T.C.	Tel	0530 947 45 30
E-mail	glnzarkn@gmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisansüstü (YL)	Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji (ECZ)	
Lisans	Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2014
Lise	Kabataş Erkek Lisesi	2009

İş Deneyimi

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
	Farmakovijilans Uzmanı	Eczacıbaşı İlaç Pazarlama A.Ş.	2016-...

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*
İngilizce	Çok iyi	Çok iyi	Çok iyi
İtalyanca	Orta	Orta	Orta

Yabancı Dil Sınav Notu #								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
78								

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı	81,75		

Program	Kullanma becerisi
MS Office	İyi

Sertifika Bilgileri

- 1) Araştırmacılar için Deney Hayvanları Kullanımına ait Eğitim Sertifika Programı
Marmara Üniversitesi Sürekli Eğitim Merkezi - 05.2015
- 1) Farmakovijilans Yetkilisi Eğitimi
TİTCK-11.2014
- 2) Kozmetik Ürünlerde Güvenlilik Değerlendirilmesi ve Kozmetovijilans
Eğitimi
Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi-06.2016

Yayınlar

1. Feyza Arıcıoğlu, Gülnaz Arkan, Cansu Kandemir, Serap Şirvancı, Ceren Özkartal, Tijen Utkan. Harmane suppresses microglial neuroinflammatory response and induce antidepressant-like effect in rats. (25th European Congress of Psychiatry - 1-4 April 2017, Florence, Italy)
2. Feyza Arıcıoğlu, Gülnaz Arkan, Ceren Şahin Özkartal, Tijen Utkan. Harmane, a beta carboline, ameliorates depression associated symptoms by using chronic unpredictable mild stress model in rats. (9. Uluslararası Psikofarmakoloji Kongresi ve 5. Uluslararası Çocuk ve Ergen Psikofarmakolojisi Sempozyumu, 26-30 Nisan 2017 Antalya)
3. Arıcıoğlu F, Sahin C, Unal G, Arkan G, Utkan T. Bioactive beta carbolines harman and norharman attenuate oxidative damage in sub-chronic stress model in rats. 4th World Psychiatric Association International Congress November 18-22, 2015, Taipei, Taiwan.

10.ETİK KURUL ONAY BELGELERİ



MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	56.2015.mar	ÇALIŞMA: BİLİMSEL		
	PROJE ADI	Sıçanlarda Kronik Öngörülemeyen Stres ile Oluşturulan Depresyon Modelinde Harmanın Rolünün Araştırılması			
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU			
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER			
	DESTEKLEYİCİ				
KARAR BİLGİLERİ	TARİH: 14.07.2015 Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.				
ETİK KURUL BİLGİLERİ					
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.				
ÜYELER					
Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. İnci ALİCAN	Fizyoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul (Yürütücü Sekreter)	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Vet.Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Dilek KÖKTÜRK	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	



T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



PROJE NO: 2015 /50 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Siçanlarda Kronik Öngörülemez stres ile Oluşturulan Depresyon Modelinde Harmanın Rolünün Araştırılması
	SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI KURUMU	Prof.Dr.Feyza ARICIOĞLU MARMARA ÜNV.ECZACILIK FAK. FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Yük.Lis.Öğr.Gülnaz ARKAN , Prof.Dr.Tijen UTKAN

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

KARAR BİLGİLERİ	Yukarıda başvuru bilgileri bulunan araştırma projesi Kocaeli Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesine dayanarak gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler açısından incelenmiş olup, araştırmanın yürütülmesinin etik açıdan uygun olduğu kararına varılmıştır. KARAR NO: KOU HADYEK 11/8-2015 KARAR TARİHİ: 12/11/2015
----------------------------------	---

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

