TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKUT KETAMİN UYGULAMASININ KOGNİTİF FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ECZ. EMRE UYAR

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. MERAL ERDİNÇ

DİYARBAKIR- 2018

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

AKUT KETAMİN UYGULAMASININ KOGNİTİF FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ECZ. EMRE UYAR

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
PROF. DR. MERAL ERDİNÇ

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri komisyonu tarafından 14-TF-126 nolu araştırma proje numarası ile desteklenmiştir.

DİYARBAKIR- 2018

Ek-2

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Emre Uyar'ın hazırladığı "Akut ketamin uygulamasının kognitif fonksiyonlar üzerine etkilerinin araştırılması" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Danışman Prof. Dr. Meral Erdinç _____

Jüri Üyeleri		İmza
Jüri Başkanı	Prof. Dr. Meral ERDİNÇ	Dicle Üni. Tıp Fakültesi
Üye	Prof. Dr. Güner ULAK	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi
Üye	Doç. Dr. Füruzan Yıldız AKAR	Kocaeli Üni. Tıp Fakültesi
Üye	Doç. Dr. İlker KELLE	Dicle Üni. Tıp Fakültesi
Üye	Doç. Dr. Hasan AKKOÇ	Dicle Üni. Tıp Fakültesi

Tarih: 27/03/2018

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun …./…/…. tarih ve ….. sayılı kararıyla onaylanmıştır.

…../…../……

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Ek-3

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda 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 olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü tez yazım kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

07/03/2017

Ecz. Emre Uyar

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim sırasında kıymetli tecrübe, bilgi ve birikimleri ile bana her daim yol gösteren ve desteğini her an hissettiğim değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Meral Erdinç'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Lisansüstü eğitimim boyunca engin bilgi ve tecrübeleri ile bana destek olan, güler yüzünü ve samimiyetini hiçbir zaman esirgemeyen saygıdeğer hocam Doç. Dr. İlker Kelle'ye, değerli bilgilerini paylaşmaktan, zamanını ayırıp sabırla ve ilgiyle yardım etmekten çekinmeyen sayın hocam Doç. Dr. Hasan Akkoç'a teşekkürü bir borç bilir ve şükranlarımı sunarım.

Biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesi ve yorumlanması sırasında kıymetli tecrübelerini paylaşan, güler yüzünü ve nezaketini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Levent Erdinç'e, histolojik analizlerde desteğini sunmaktan çekinmeyen hocam Prof. Dr. Yusuf Nergiz ve asistanı değerli arkadaşım Arş. Gör. Uğur Şeker'e, saygıdeğer hocam Doç. Dr. Selçuk Tünik'e, histolojik protokollerin gerçekleştirilmesi sırasında çalışmamıza destek olan Arş. Gör. Fırat Aşır ve Arş. Gör. Ayşegül Pala'ya içten teşekkür ederim.

Psikofarmakoloji alanındaki engin tecrübe ve bilgi birikimiyle bana yol gösterici olan, destek ve tecrübelerini aktarmaktan çekinmeyen başta saygıdeğer hocam Prof. Dr. Güner Ulak olmak üzere, Prof. Dr. Füruzan Yıldız Akar, Doç. Dr. Oğuz Mutlu, Doç. Dr. İpek Komşuoğlu Çelikyurt ve tüm Kocaeli Üniversitesi Farmakoloji ekibine sonsuz teşekkür eder ve saygılarımı sunarım.

Tüm hayatım boyunca desteklerini yanımda hissettiğim ablam Betül Uyar Ekmen'e, kardeşim Zeynep Uyar'a, annem Sevinç Uyar'a ve babam Aşur Uyar'a sonsuz teşekkürü borç bilirim.

Ecz. Emre UYAR

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ONAY i
BEYAN ii
TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ iv
RESİMLER DİZİNİ viii
TABLOLAR DİZİNİ x
ŞEKİLLER DİZİNİ xi
GRAFİKLER DİZİNİ xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ xiii
ÖZET xv
ABSTRACT xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ 1
2. GENEL BİLGİLER 3
2.1. NÖRONLARIN YAPISI VE İŞLEVLERİ 3
2.1.2. NÖRONAL İLETİ VE ANATOMİK AÇIDAN SİNİR SİSTEMİ 3
2.1.2.1. NÖROGELİŞİM 3
2.1.2.2. NÖROGENEZİS 3
2.1.2.3. APOPTOZİS VE NEKROZİS 4
2.1.2.4. SİNAPTOGENEZİS 5
2.1.2.5. SİNAPTİK PLASTİSİTE 6
2.1.2.6. SİNAPSLARIN ELENMESİ 7
2.2. KİMYASAL SİNİR İLETİMİ 8
2.2.1. NÖROTRANSMİTTERLER VE KO-TRANSMİTTERLER 8
2.2.1.1. NÖROTRANSMİTTER ODAKLARI 9
2.2.1.2. ASETİLKOLİN (ACH) 9
2.2.1.3. KATEKOLAMİNLER 10
2.2.1.3.1. DOPAMİN (DA) 10
2.2.1.3.2. NOREPİNEFRİN (NE) 10

2.2.1.4. SEMPATOMİMETİKLER 11
2.2.1.5. ANTİADRENERJİK AJANLAR 11
2.2.1.6. SEROTONİN (5-HT) 12
2.3. PSİKOFARMAKOLOJİDE ÖNEMLİ BEYİN BÖLGELERİ 13
2.3.1. SEREBRAL KORTEKS 13
2.3.2. PREFRONTAL KORTEKS (PFK) 13
2.3.3. HİPOKAMPUS 14
2.4. ÖĞRENME SÜREÇ ARAŞTIRMALARI 16
2.4.1. ÖĞRENME SÜREÇLERİ 16
2.5. PSİKOFARMAKOLOJİK İLAÇ HEDEFİ OLARAK İYON KANALLARI 18
2.5.1. LİGAND KAPILI İYON KANALLARI 18
2.5.1.1. TETRAMERİK ALT TİPLER 19
2.5.2. POZİTİF VE NEGATİF ALLOSTERİK MODÜLASYON 19
2.5.3. GLUTAMAT 20
2.5.4. NMDA RESEPTÖRLERİ 21
2.6. KETAMİN 22
2.6.1. KETAMİN'İN KLİNİK FARMAKOLOJİSİ 23
2.6.2. NON-NMDA GLUTAMAT RESEPTÖRLERİ 24
2.6.3. KETAMİN'İN OPİOİD RESEPTÖRLER İLE ETKİLEŞİMİ 25
2.6.4. KETAMİN'İN KOLİNERJİK VE ADRENERJİK ETKİLEŞİMLERİ 25
2.6.5. KETAMİN'İN $GABA_A$ RESEPTÖRLERİ İLE ETKİLEŞİMİ 26
2.6.6. KETAMİN ANESTEZİSİ VE BEKLENEN KOMPLİKASYONLAR 26
2.6.7. KETAMİN VE ÖNLEYİCİ ANALJEZİ 26
2.6.8. KETAMİN'İN NÖROPROTEKTİF VE NÖROREJENERATİF ETKİLERİ 27
2.6.9. KETAMİN NÖROTOKSİSİTESİ 28
2.7. DUYGU DURUMU BOZUKLUKLARI 30
2.7.1. DUYGU DURUMU BOZUKLUKLARINDA NÖROTRANSMİTTERLER 30
2.7.2. DEPRESYONDA MONOAMİN HİPOTEZİ 31
2.7.3. DEPRESYON SEMPTOMLARI VE İLGİLİ BÖLGELER 32
2.7.4. ANTİDEPRESANLAR 33
2.7.4.1. ANTİDEPRESAN SINIFLARI 34
2.7.4.1.1. SEÇİCİ SEROTONİN GERİ ALIM İNHİBİTÖRLERİ 35

2.7.4.1.1.1. FLUOKSETİN 36
2.7.4.1.2. DEPRESYONDA GLUTAMAT SİSTEMİ 36
2.7.4.1.2.1. DEPRESYON TEDAVİSİNDE KETAMİN 37
2.7.4.1.2.2. KETAMİN'İN ANTİDEPRESAN ETKİ MEKANİZMASI 38
2.7.4.1.2.3. KETAMİN İLE KLİNİK MDB TEDAVİSİ ÇALIŞMALARI 43
2.7.4.1.2.3.1. TEK DOZ ÇALIŞMALAR 43
2.7.4.1.2.3.2. TEKRARLANAN UYGULAMA ÇALIŞMALARI 43
2.7.4.1.2.3.3. İNTİHAR ENGELLEYİCİ ETKİLERİ 44
2.7.4.1.2.3.4. GÜVENLİĞİ VE TOLERE EDİLEBİLİRLİĞİ 44
2.7.4.1.3. DEPRESYONDA DİĞER NMDA RESEPTÖR ANTAGONİSTLERİ 45
3.1. GEREÇ 46
3.1.1. KULLANILAN ARAÇ VE GEREÇLER 46
3.1.2. KULLANILAN DENEY HAYVANLARI 46
3.1.3. KULLANILAN KİMYASAL MADDELER 47
3.2. YÖNTEM 48
3.2.2. PSİKOFARMAKOLOJİK İNCELEMELER 50
3.2.2.1. AÇIK ALAN TESTİ 51
3.2.2.2. YÜKSELTİLMİŞ ARTI LABİRENTİ TESTİ 53
3.2.2.3. ZORUNLU YÜZME TESTİ 55
3.2.2.4. PASİF SAKINMA TESTİ 57
3.2.3. BİYOKİMYASAL İNCELEME 61
3.2.3.1. MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ TAYİNİ 61
3.2.4. HİSTOLOJİK İNCELEME 62
3.2.4.1. HİSTOLOJİK TAKİP 62
3.2.4.2. HEMATOKSİLEN-EOZİN BOYAMA PROTOKOLÜ 62
3.2.4.3. İMMUNOHİSTOKİMYA PROTOKOLÜ 63
3.2.5. İSTATİSTİKSEL ANALİZ 64
4. BULGULAR 65
4.1. AĞIRLIK DEĞİŞİMİ 65
4.2. AÇIK ALAN TESTİ BULGULARI 67
4.3. YÜKSELTİLMİŞ ARTI LABİRENTİ TESTİ BULGULARI 73
4.4. ZORUNLU YÜZME TESTİ BULGULARI 76

4.5. PASİF SAKINMA TESTİ BULGULARI 78
4.6. AÇIK ALAN TESTİ 1 & 2 BULGULARI 84
4.7. ZORUNLU YÜZME TESTİ 1 & 2 BULGULARI 90
4.8. MALONDİALDEHİT DÜZEYLERİ BULGULARI 92
4.9. HİSTOLOJİK BULGULAR 94
4.9.1. İMMUNOHİSTOKİMYASAL BULGULAR 94
4.9.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR 108
5. TARTIŞMA 120
6. SONUÇ VE ÖNERİLER 125
REFERANSLAR 126

RESİMLER DİZİNİ

		Sayfa
Resim 1	Tetramerik iyonotropik reseptörler ve fensiklidin bağlanma bölgesi	19
Resim 2	Davranış deneyleri, denekler	50
Resim 3	Davranış deneyleri, açık alan (OF) testi	51
Resim 4	Davranış deneyleri, yükseltilmiş artı labirenti (EPM) testi	53
Resim 5	Davranış deneyleri, zorunlu yüzme testi (FST)	55
Resim 6	Davranış deneyleri, pasif sakınma (PA) testi	57
Resim 7	Davranış deneyleri, pasif sakınma testi, alıştırma aşaması	59
Resim 8	Biyokimyasal analizler, beyin koronal kesisi, hipokampus	61
Resim 9	K1 grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	96
Resim 10	FLU grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	97
Resim 11	MET grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	98
Resim 12	PCPA grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	99
Resim 13	GYKI grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	100
Resim 14	KET1 grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	101
Resim 15	KF grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	102
Resim 16	KM grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	103
Resim 17	KP grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	104
Resim 18	KG grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	105
Resim 19	K2 grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	106
Resim 20	KET2 grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama	107
Resim 21	K1 grubu beyin kesiti	108
Resim 22	FLU grubu beyin kesiti	109
Resim 23	MET grubu beyin kesiti	110
Resim 24	PCPA grubu beyin kesiti	111
Resim 25	GYKI grubu beyin kesiti	112
Resim 26	KET1 grubu serebrum ve serebellum kesitleri	113
Resim 27	KF grubu hipokampus kesiti	114

Resim 28	KM grubu hipokampus kesiti	115
Resim 29	KP grubu serebrum kesiti	116
Resim 30	KG grubu serebrum kesiti	117
Resim 31	K2 grubu beyin kesiti	118
Resim 32	KET2 grubu serebrum ve serebellum kesitleri	119

TABLOLAR DİZİNİ

		Sayfa
Tablo 1	Deneklerin ağırlık değişimi	65
Tablo 2	Grupların açık alan testi sonuçları	67
Tablo 3	Grupların açık alan testi sonuçları	70
Tablo 4	Grupların yükseltilmiş artı labirenti testi sonuçları	73
Tablo 5	Grupların zorunlu yüzme testi sonuçları	76
Tablo 6	Grupların pasif sakınma testi sonuçları	78
Tablo 7	K2 ve KET2 gruplarının açık alan testi 1 & 2 sonuçları, toplam katedilen mesafe ve hız	84
Tablo 8	K2 ve KET2 gruplarının açık alan testi 1 & 2 sonuçları, merkeze giriş sayıları ve merkezde geçirilen süreler	87
Tablo 9	Zorunlu Yüzme Testi 1 & 2 bulguları, hareketsiz geçirilen zaman	90
Tablo 10	Grupların prefrontal korteks ve hipokampus doku malondialdehit düzeyleri	92
Tablo 11	Grupların kaspaz-3 ekspresyon düzeyleri	94

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 1	Ketamin'in moleküler yapısı	22
Şekil 2	Duygu durumu spektrumu	30
Şekil 3	Fluoksetin'in moleküler yapısı	36
Şekil 4	Deney protokolü	49

GRAFİKLER DİZİNİ

		Sayfa
Grafik 1	Deneklerin ağırlık değişimi	66
Grafik 2	Açık Alan Testi bulguları, toplam katedilen mesafe	68
Grafik 3	Açık Alan Testi bulguları, hız	69
Grafik 4	Açık Alan Testi bulguları, merkeze giriş sayıları	71
Grafik 5	Açık Alan Testi bulguları, merkezde geçirilen süre	72
Grafik 6	Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi bulguları, açık kollara giriş yüzdeleri	74
Grafik 7	Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi bulguları, açık kollarda geçirilen süre yüzdeleri	75
Grafik 8	Zorunlu Yüzme Testi bulguları, hareketsiz zaman	77
Grafik 9	Pasif sakınma testi bulguları	79
Grafik 10	Pasif Sakınma Testi 1 (1. gün) bulguları, geçiş süreleri	80
Grafik 11	Pasif Sakınma Testi 1 (2. gün) bulguları, geçiş süreleri	81
Grafik 12	Pasif Sakınma Testi 2 (1. gün) bulguları, geçiş süreleri	82
Grafik 13	Pasif Sakınma Testi 2 (2. gün) bulguları, geçiş süreleri	83
Grafik 14	Açık Alan Testi 1 & 2 bulguları, toplam katedilen mesafe	85
Grafik 15	Açık Alan Testi 1 & 2 bulguları, hız	86
Grafik 16	Açık Alan Testi 1 & 2 bulguları, merkeze giriş sayıları	88
Grafik 17	Açık Alan Testi 1 & 2, merkezde geçirilen süre	89
Grafik 18	Zorunlu Yüzme Testi 1 & 2 bulguları, hareketsiz geçirilen zaman	91
Grafik 19	Malondialdehit düzeyleri	93
Grafik 20	Kaspaz-3 ekspresyon düzeyleri	95

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

pCPA	p-klorofenil alanin
PFK	Prefrontal korteks
DLPFK	Dorsolateral prefrontal korteks
OFK	Orbitofrontal korteks
ASK	Anterior singulat korteks
VMPFK	Ventromedial prefrontal korteks
LTP	Uzun süreli potansiyel artışı
MSS	Merkezi sinir sistemi
ACh	Asetilkolin
KA	Katekolamin
5-HT	5-hidroksitriptamin, serotonin
DA	Dopamin
NE	Norepinefrin
PCP	Fensiklidin
KPZ	Klorpromazin
TMN	Tuberomamiller çekirdek
SERT	Serotonin taşıyıcısı
DAT	Dopamin taşıyıcısı
NET	Norepinefrin taşıyıcısı
BDNF	Beyin kaynaklı nörotrofik faktör
NGF	Sinir büyüme faktörü
GDNF	Glial hücre hattı kökenli nörotrofik faktör
ADHD	Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu
NCAMs	Nöronal hücresel adezyon molekülleri
CAMs	Hücresel adezyon molekülleri
GABA	γ-aminobütirik asit
VDSK	Voltaja duyarlı sodyum kanalları
VDKK	Voltaja duyarlı kalsiyum kanalları
NMDA	N-metil-D-aspartat
AMPA	α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit

PAM	Pozitif allosterik modülatör
NAM	Negatif allosterik modülatör
MDB	Majör depresif bozukluk
NO	Nitrik oksit
NOS	Nitrik oksit sentaz
Cgmp	Siklik guanozin monofosfat
Fda	Food and Drug Administration
iGluRs	İyonotropik glutamaterjik reseptörler
mGluRs	Metabotropik glutamaterjik reseptörler
iPSC	İnsan pluripotent kök hücreleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
BOS	Beyin omurilik sıvısı
SSRI	Seçici serotonin geri alım inhibitörleri
TCA	Trisiklik antidepresanlar
MAOİ	Monoamin oksidaz inhibitörleri
mTOR	Mammalian target of rapamycin
GSK-3	Glikojen sentaz kinaz-3
NSAİ	Non-steroidal antienflamatuar
HDRS	Hamilton Depresyon Derecelendirme Skalası
i.p.	İntraperitoneal
MDA	Malondialdehit
TBA	Tiyobarbitürik asit
OF	Open Field, Açık Alan
EPM	Elevated Plus Maze, Yükseltilmiş Artı Labirenti
FST	Forced Swimming Test, Zorunlu Yüzme Testi
PA	Passive Avoidance, Pasif Sakınma
HE	Hematoksilen eozin
PBS	Fosfat Buffered Salin
H_2O_2	Hidrojen peroksit
ANOVA	Tek yönlü varyans analizi
SEM	Standart error of mean, Standart hata

Ek-4

Akut ketamin uygulamasının kognitif fonksiyonlar üzerine etkilerinin araştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı : Emre Uyar
Danışmanı : Prof. Dr. Meral Erdinç
Anabilim Dalı : Tıbbi Farmakoloji

ÖZET

Amaç:

Major Depresif Bozukluk tedavisinde kullanılan klasik ajanların etkilerinin belli bir periyod sonrasında başlaması ve vakaların önemli bir kısmında etkisiz kalmaları, yeni ve hızlı-etkili terapötik yaklaşımlara ihtiyaç duyulmasına sebep olmaktadır.

Literatürde, subanestezik tek-doz ketamin uygulamasının, hızlı ve güçlü antidepresan-benzeri etkiler oluşturduğu, tekrarlanan yüksek-doz uygulamaların ise kognitif fonksiyon bozukluklarına neden olduğu belirtilmektedir. Antidepresan etki oluşumuna, serotonerjik aşırımda güçlenme ve AMPA reseptör aktivasyonunu içeren çeşitli mekanizmaların katkı sağladığı vurgulanmaktadır.

Bu çalışmada, subanestezik dozda ketamin'in tekrarlanan uygulamaları ile emosyonel bellek süreçleri (edinme, pekiştirme ve geri çağırma) üzerine oluşan etkilerin incelenmesi; akut ketamin uygulamasının antidepresan etkinliğinde serotonerjik sistemin ve AMPA reseptörlerinin rollerinin araştırılması planlanmıştır.

Gereç ve Yöntem:

Bu amaçla deneklerin, methiothepin ile serotonin reseptör antagonizması veya p-klorofenil alanin ile serotonin deplesyonu suretiyle serotonerjik aktiviteleri, GYKI-52466 ile de AMPA reseptörleri baskılanmışır. Antidepresan kontrol grubu olarak fluoksetin kullanılmış ve ketamin ile kombinasyonunun etkileri değerlendirilmiştir.

Psikofarmakolojik incelemeler; zorunlu yüzme, açık alan, yükseltilmiş artı labirenti ve pasif sakınma test düzenekleriyle gerçekleştirilmiştir. Lipid peroksidasyonları, beyin malondialdehit seviyeleri incelenerek değerlendirilmiştir.

Beyin kesitlerinde kaspaz-3 ekspresyon seviyeleri incelenmiş ve histopatolojik değerlendirmeler yapılmıştır.

Bulgular:

Tekrarlanan ketamin uygulamalarıyla emosyonel bellek süreç performanslarında, kaspaz-3 ekspresyon ve malondialdehit seviyelerinde anlamlı farklılık gözlemlenmemiştir. Buna karşın, ketamin uygulanan grupların beyin kesitlerinde gerçekleştirilen histopatolojik incelemelerde kısmi nörodejeneratif bulgular tespit edilmiştir.

Subanestezik tek-doz ketamin uygulaması ile lokomotor aktivite etkilenmeksizin hızlı antidepresan-benzeri etkiler oluştuğu gözlemlenmiştir. Serotonerjik aktivitenin baskılanması ve AMPA reseptörlerinin antagonize edilmesi durumlarında ketamin'in antidepresan-benzeri etki oluşturmakta başarısız olduğu anlaşılmıştır.

Sonuç:

Kullandığımız subanestezik dozda ketamin'in tekrarlanan uygulamalarıyla beyinde kısmi nörodejenerasyonu işaret eden bulgular saptanmış, oluşan bu dejenerasyonun davranış deneyleri ile incelenen emosyonel bellek süreçlerini etkileyecek boyutta olmadığı anlaşılmıştır.

Gerçekleştirilecek ileri çalışmalar, ketamin'in antidepresan etki mekanizmasının ve glutamaterjik sistemin depresyondaki rolünün aydınlatılmasına olanak sağlayacaktır.

Anahtar Sözcükler: Ketamin, Kognitif fonksiyonlar, Major Depresif Bozukluk, NMDA reseptörleri, AMPA reseptörleri

Investigation of acute effects of ketamine administration on cognitive functions

Student's Surname and Name : Uyar, Emre
Adviser of Thesis : Prof. Dr. Meral Erdinç
Department : Medical Pharmacology

ABSTRACT

Aim:

Current antidepressant therapies to treat Major Depressive Disorder are being insufficient for a significant part of the patients and with a delayed onset of action. This lack of success and suspended effect are causing a vital problem especially in treatment-resistant and suicidal MDD patients. Finding new and fast-acting strategies in depression treatment is, therefore, essential.

In numerous preclinical and clinical studies, it is reported that a single low-dose ketamine administration produces robust and prolonged antidepressant-like effects. Current literature implies that various mechanisms may contribute antidepressant effects of ketamine including an increment in serotonergic transmission and increased activity of non-NMDA ionotropic AMPA receptors.

In the present study, we aimed to investigate the involvement of serotonergic system and AMPA receptors in antidepressant-like effects of low-dose ketamine and its effects on emotional memory processes.

Material and Method:

In this outcome, we either blocked the serotonin receptors with methiothepin or depleted serotonin with p-chlorophenyl alanine, and AMPA receptors were blocked with GYKI-52466. Fluoxetine was used as the antidepressant control, and effects of its combination with ketamine were evaluated.

We used a forced swimming test to measure depression, an open field test to measure locomotion and an elevated plus maze test to measure anxiety. A passive avoidance test was used to assess effects on emotional learning and memory processes (i.e., acquisition, consolidation, and retrieval). Brain prefrontal cortex and hippocampi tissues were isolated to measure malondialdehyde (MDA) levels as an

indicator of lipid peroxidation. Caspase-3 expressions in PFK slices and histopathological assessment of a wide range of brain areas were practiced.

Results:

Our data demonstrated that single-dose ketamine produces robust antidepressant-like effects and even one week after drug injection it was still effective, yet insignificantly. Furthermore, ketamine failed to produce antidepressant-like effects if serotonin was depleted or its receptors were blocked. Ketamine with an AMPA receptor antagonist also made a similar failure in reducing depression symptoms.

Ketamine did not cause a defect in emotional memory when used alone, yet it reduced memory acquisition and consolidation when combined with fluoxetine. Moreover, antiserotonergic drugs as pCPA and methiothepin were improved memory consolidation process. No significant difference was observed in malondialdehyde levels in brain PFK and hippocampi tissues with the drugs applied during the test procedure. Similarly, PFK caspase-3 expression level analyze has shown no significant difference between test groups. Yet, histopathological assessment has shown a variety of neurodegenerative symptoms including; perineural edema in pyramidal neurons, loss of cerebellar Purkinje cells, necrosis in hippocampal neurons and thrombosis in the subpial vascular area. Furthermore, proliferation in oligodendria cells was observed.

Conclusion:

Repetitive administrations of subanesthetic-dose ketamine did cause neurodegenerative symptoms. Still, the dosage we used was unable to affect emotional memory processes in behavioral tests. A single low-dose ketamine administration produced rapid antidepressant-like effects, and it is understood that the activity of serotonergic system and AMPA receptors are necessary for ketamine to exhibit this effect.

Prescribing ketamine a role in depression treatment may be possible with extensive research; to enlighten its mechanism of action, to reduce its side-effects and to prevent its abusive use. In the light of the latest research, an increment in indications of ketamine doesn't seem a distant possibility.

Key Words: Ketamine, Cognitive functions, Major Depressive Disorder, NMDA receptors, AMPA receptors

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Major Depresif Bozukluk (MDB) tedavisinde kullanılan klasik terapötik ajanların etkilerinin geç ortaya çıkması ve tedaviye dirençli MDB tanısı konmuş hastaların kayda değer bir kısmında etkin tedavi sağlayamaması (1), hızlı-etki gösteren yeni terapötik yaklaşımlara ihtiyaç duyulmasına neden olmaktadır.

Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar, glutamaterjik sistemin, duygu durumu bozukluklarının patogenezinde önemli rollerinin bulunduğuna işaret etmektedir (2). Literatürde, non-kompetitif bir N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptör antagonisti olan ketamin'in, subanestezik tek-doz uygulaması ile hızlı ve güçlü antidepresan etkiler oluştuğu belirtilmektedir (3). Literatürde, bu etkinin oluşumunda, serotonerjik aktivite artışı ve α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit (AMPA) reseptör aktivasyonunu da içeren çeşitli moleküler ve hücresel yolakların etkili olduğu ifade edilmektedir (4). Gerçekleştirilen çalışmalar, tekrarlanan ketamin uygulamaları sonucu kognitif fonksiyon bozuklukları ve nörodejenerasyon meydana geldiğini belirtmektedir (5).

Bu çalışmada, 30-40 gr ağırlığında erkek BALB/c fareler kullanılarak akut S(+) ketamin (20 mg/kg) uygulaması ile antidepresan-benzeri etki oluşumunda serotonerjik sistemin ve AMPA reseptörlerinin rollerinin araştırılması ve tekrarlanan uygulamalar ile emosyonel bellek süreçleri (edinme, pekiştirme, geri çağırma) üzerine etkilerin incelenmesi planlanmıştır.

Bu amaçla, bir serotonin deplesyon ajanı olan p-klorofenil alanin (pCPA, 150 mg/kg/g) ve bir serotonin reseptör antagonisti olan methiothepin (0.1 mg/kg) ile serotonerjik etkinlik ortadan kaldırılmış ve bir AMPA reseptör antagonisti olan GYKI-52466 (20 mg/kg) ile AMPA reseptörlerinin etkileri baskılanmıştır. Antidepresan kontrol grubu olarak fluoksetin (20 mg/kg) kullanılmıştır.

Çalışmamızda, antidepresan etkiler bir zorunlu yüzme test (FST) düzeneği, lokomotor aktivite üzerine etkiler bir açık alan (OF) test düzeneği, anksiyete üzerine etkiler açık alan ve yükseltilmiş artı labirenti (EPM) test düzenekleri, emosyonel bellek süreçleri üzerine etkiler ise bir pasif sakınma (PA) test düzeneği kullanılarak değerlendirilmiştir. Lipit peroksidasyon seviyelerini belirlemek için beyin prefrontal korteks (PFK) ve hipokampus dokularında malondialdehit (MDA) seviyeleri

incelenmiş, apoptoz seviyelerini belirlemek için PFK kaspaz-3 ekspresyon düzeyi tayini yapılmış ve beyin kesitlerinde rutin histopatolojik değerlendirmeler gerçekleştirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. NÖRONLARIN YAPISI VE İŞLEVLERİ

İnsan beyninde kimyasal iletişimi sağlayan ve sayısı milyarlarla ifade edilen nöron bulunmaktadır. Bunlar da başka nöronlarla sinapslar aracılığı ile bağlantı kurmaktadır. Beyinde farklı büyüklük, uzunluk ve şekillerde nöronlar bulunmakta ve bunların yerleşimleri işlevlerini belirlemektedir (6). İşlevleri bozulan nöronlar nedeniyle davranış bozuklukları ortaya çıkabilir. Bu bozukluklar, ilaçlar ile nöron işlevlerini etkilemek suretiyle düzeltilebilir veya daha da ağırlaştırılabilir. İlaçlar ile, normal nöronların da işlevlerini etkilemek suretiyle davranış bozuklukları oluşturulabilir (7).

2.1.2. Nöronal İleti ve Anatomik Açıdan Sinir Sistemi

Psikofarmakoloji, büyük oranda nöronların birbirleriyle kimyasal iletişimini konu alır. Nörotransmisyon, merkezi sinir sistemindeki nöronların anatomik, kimyasal ve elektriksel iletilerinin bütününe verilen isimdir. Anatomik açıdan sinir sistemi, nöron ağlarının oluşturduğu yapının bütünüdür (8).

2.1.2.1. Nörogelişim

Nöronların büyük bir kısmı, gebeliğin ikinci trimesterinin sonuna kadar seçilirler. Nöronal göç, döllenme sonrasında ilk haftalarda başlar ve doğum öncesinde büyük oranda tamamlanır. Bu yüzden, beyin gelişimi doğumdan önce, sonrasına nazaran daha aktiftir. Bununla birlikte, akson lif miyelinasyonu ve nöron dallanmalarını tamamlamaları gibi bazı süreçler ergenlik süresince fazla, sonrasında ise hayat boyu kısıtlı olarak devam eder. Beyin yeniden yapılanmasının (nöroplastisite) da hayat boyu devam ettiği düşünülmektedir, fakat bu süreç en çok çocukluk ve ergenlik dönemlerinde gerçekleşir. Nöron ve sinapslar da erken dönemlerde fazla, sonrasında ise belli bir düzeyde yenilenebilirlik özelliğine sahiptir (9).

2.1.2.2. Nörogenezis

Nörogenezis, döllenme sonrasında kök hücrelerin nöron oluşumu için farklılaşması ile başlar. Bu süreç, hipokampustaki gyrus dentatus ve bulbus olfaktorius'un subventriküler bölgesindeki nöronal öncüler gibi diğer bazı bölgelerde bulunan

yetişkin kök hücrelerinde de devam eder. Hipokampusun stres, yaşlanma ve hastalıklara karşı duyarlı bir beyin bölgesi olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle, hipokampusun plastisite yetisinin bulunması önemlidir. Hipokampal nörogenez; bilişsel aktivite, egzersiz, büyüme faktörleri ve bazı ilaçlarla uyarılma potansiyeline sahiptir (10).

Stres, depresyon, yaşlanma ve nörodejenerasyon gibi bazı durumlar hipokampusu etkilediği gibi, diğer beyin bölgelerinde de sinaps ve nöronların kaybı ile sonuçlanabilir. Bu durumun önüne geçmek, bilişsel aktivite, psikoterapi ve çeşitli psikofarmakolojik ilaçlar ile mümkün olabilir (11).

2.1.2.3. Apoptozis ve Nekrozis

Nöronların, hayat boyunca belli dönem ve durumlarda kendi hayatlarına son vermeleri durumu apoptozis olarak adlandırılır. Apoptozisi keşfeden bilim insanları, hem nekrozisi anımsatan bir çağrışım elde etmek, hem de tıpkı sararan bir yaprağın ağaçtan düşüşü gibi bir anlam taşıması için bu şekilde adlandırmışlardır (12).

Fötüs gelişimi sırasında üretilen nöronların büyük bir kısmı doğum öncesinde, özellikle bazı bölgelerde apoptozis yoluyla intihar ederler. Nöronun kendisi veya DNA'sı eğer bir virüs ya da toksine maruz kalırsa etraftaki sağlıklı nöronları korumak için nöron kendi hayatını sonlandırır. Apoptozis, olgunlaşmamış beynin bir parçasıdır. Gelişimin erken dönemlerinde nöronlar yedeklenerek üretilirler. Nöronlar, göç etmek, hedef nöronları uyarmak ve gelişim süreçlerini tamamlayabilmek amacıyla gerekli faktörlere ulaşmak için yarışırlar. Burada da doğal seleksiyon kuralına göre güçlü olan hayatta kalır. Apoptozis, hasar görmüş nöronların nekrozis sürecinde meydana gelen karışıklık olmadan gerçekleştiği doğal bir eliminasyon mekanizması olarak kabul görmektedir (9).

Apoptozis, hücre genomunda programlanıp, aktif hale getirildiği zaman, hücre ölümü ile sonuçlanacak olan olaylar zinciri başlatılır. Bu olay nekrozis gibi denetimsiz bir şekilde gerçekleşmez. Nekrozis, hızlı ve ciddi hasar meydana gelmesi ile karakterize bir durumdur. Buna karşın apoptozis, yavaş gelişir ve farkettirmeden yok olma ile karakterizedir. Nekrozis ile hücreler patlayarak yok olurken, apoptozis ile hücreler büzüşerek yok olurlar (13).

Merkezi ve periferik sinir sisteminde bulunan nöronların yaşamları bir kısım nörotrofik faktör tarafından düzenlenir. Bunlar beyin kaynaklı nörotrofik faktör

(BDNF), sinir büyüme faktörü (NGF), glial hücre hattı kökenli nörotrofik faktör (GDNF) gibi bileşiklerdir. Bu faktörler, nöronları apoptozise sürükleyebileceği gibi, apoptozisi durdurucu ve nöron gelişimini tetikleyici özelliklere de sahip olabilirler (13).

2.1.2.4. Sinaptogenezis

Nörotrofinler, akson dallanmalarını ve hedeflerini belirlemelerini düzenlerler. Beyin gelişimi sırasında nörotrofinler aksonları doğru hedeflerine ulaştırmak için rotalar oluştururlar ve aksonal büyüme konisi oluşturabilirler. Büyüme konisi oluşturulunca nörotrofinleri de içeren çeşitli faktörler, aksonal dallanmalar için bazı tanınma molekülleri üretirler ve bunları glia ve nöronlar aracılığı ile salgılatırlar. Tanınma molekülleri aksonları kendilerine doğru çekebilir ya da kendilerinden uzaklaştırabilirler. Büyüyen akson ucu uygun yere ulaştığında, kollapsin adı verilen moleküller ile durdurulur ve postsinaptik bağlantı kurmaları sağlanır (9).

Beyin gelişimi devam ederken aksonal büyüme konilerinin ilerleyişi yavaşlatılır fakat tam olarak durdurulmaz. Erişkin bir beyinde aksonal büyümenin devam etmesinin, gereklilik durumunda sinaps tamiri, yenilenmesi veya yeniden yapılandırılması ile ilgili olabileceği düşünülmektedir. Kollapsinlerden başka; integrinler, netrinler, kadherinler, sitokinler ve nöronal hücresel adezyon molekülleri (NCAMs) gibi bazı tanınma molekülleri de bu olayı denetlerler. Her şey uygun olarak gerçekleşirse, uyarılar düzgün bir şekilde ilerleyerek beyin bağlantılarının da doğru şekilde kurulmasını sağlarlar. Eğer bu olaylar zincirinde bir bozukluk ya da aksama meydana gelirse hatalı yönelimler oluşabilir ve dolayısıyla yanlış bağlantılar kurulabilir (10).

Nörodejeneratif bir hastalık tanımındaki en belirgin özelliklerden biri, oluşmuş olan hatasız sinapsların kaybedilmesi gibi düşünülmekteyse de, modern teoriler, yetersiz ve hatalı yeni sinaps oluşumunun da nörodejeneratif hastalık gelişiminde etkili olabileceğini vurgulamaktadır. İlaçlar ile hatalı ya da yetersiz sinaps oluşumunun engellenmesi ve düzeltilmesi mümkün gözükmemektedir. Buna karşın, iyi bir eğitim, egzersiz ve psikoterapi gibi tedavilerin, uzun sürede bu durumun kontrol altına alınmasına katkı sağlayabileceği düşünülebilir (7).

2.1.2.5. Sinaptik Plastisite

Nöron aksonları bağlantılarını düzgün bir biçimde oluşturduktan sonra, sinaptik bağlantıların birbirleriyle iletişimlerinin düzgün bir biçimde sürdürülmesi gerekmektedir. Sinaptik bağlantılar, nöronda hemen hemen her bölgede, akson-dendrit, akson-soma ve akson-akson bağlantısı gibi çeşitli şekillerde oluşabilir. Klasik aksodendritik sinapsların aksine, diğer tip oluşumlar asimetrik olarak tanımlanırlar. Bunun sebebi, iletişimin tek yönlü (anterograd); presinaptik nöron aksonundan, postsinaptik nöron dendrit, soma ve aksonuna doğru dizayn edilmiş olmasıdır. Presinaptik unsurlar, postsinaptik unsurlardan farklı dizayna sahiptirler (9).

Aksonların büyük bir kısmı, aday bir postsinaptik bölgeye yaklaşmadan önce, postsinaptik bölge ile moleküler bağlantı kurmak için gereken unsurlardan bazılarına sahip olduğu gibi; postsinaptik bölgelerin büyük bir kısmı, yakında akson bulunmasa bile, presinaptik bağlantı kurmada kullanılan bazı molekülleri içerir. Yarı-sinaps (hemisinaps) olarak adlandırılan bu sinapslar, bir bağlanma noktasına temas ettiğinde presinaptik yarı-sinaps ile postsinaptik yarı-sinaps arasında bir deneme bağlantısı kurabilirler. Bu durumda, iletişim eğer başarılı olursa bağlantı güçlendirilir, fakat başarısız iletişimler bağlantının koparılması ile sonlandırılır (15).

İki yarı-sinapsın birleşerek olgun bir işlevsel sinaps oluşturmaları için çeşitli moleküller bir araya gelmelidir. Bu moleküller, yarı-sinapslarda hazır bulunan ya da sinaps oluşturacak nöronun kendi genomuna gönderdiği kimyasal sinyaller ile hücre nükleusunda üretilerek sinaps oluşum bölgesine yönlendirilen bileşiklerdir (9).

Presinaptik ve postsinaptik yarı-sinapslar, hücresel adezyon molekülleri (CAMs, cellular adhesion molecules) ile birbirine sıkıca tutunurlar. Bu bölgede aynı zamanda aktin gibi hücre iskeleti proteinlerine de ihtiyaç duyulur. Presinaptik bölgede nörotransmitter içeren veziküller, sentez ya da yıkımdan sorumlu enzimler, geri alım taşıyıcıları, iyon kanalları ve nörotransmitter salıverilmesini sağlayan aktif bölge gibi yapılar bulunur. Postsinaptik bölgede ise presinaptik nörondan salıverilen nörotransmitterin bağlanması için özgül postsinaptik reseptörler, gelen sinyallerin algılanmasını sağlayan postsinaptik kalınlaşma bölgesi ve sinyal ileti molekülleri gibi yapılar bulunmaktadır (11).

Sinapslar olgunlaştıktan sonra da aktif bir bölge olarak yaşamlarını sürdürürler. Bir sinaps işlevsel olduğu müddetçe değişen durum ve kullanım miktarına göre sürekli olarak yenilenir. Mesela fazla nörotransmitter salındıkça, pre ve postsinaptik reseptör sayıları ve kalınlaşma bölgeleri değişiklik gösterebilir. Bu durum, nöronu korumak için gerçekleştirilen yapısal ve moleküler bir çeşit adaptasyon olarak düşünülebilir. Presinaptik bölgenin yoğun kullamı, postsinaptik etki bölgesinin bitişiğinde ayrı bir postsinaptik yapısal alan oluşumu ile postsinpatik cevabı artırabilir. Zamanla bu durum bir akson yan dalı oluşumuna sebep olarak, sonunda tam işlevsel bir sinaps oluşumu ile sonuçlanabilir (9).

2.1.2.6. Sinapsların Elenmesi

Sinapslar yaşamın ilk evrelerinde yoğun olarak üretilir ve özellikle ergenlik sonuna kadar üretilmiş olan bu sinapslar kontrollü bir biçimde elenirler. Sinapsların oluşumu ve elenmesi tüm yaşam boyunca belli bir seviyede devam eder (15).

Beyinde bulunan temel uyarıcı (eksitatör) nörotransmitter olan ve tüm nöronlar üzerinde etki gösterebilen glutamat beynin işlevlerini sürdürebilmesi için önemli görevler üstlenir. Yaşlanmış, işlevleri bozulmuş ya da gereksiz sinapslar, eksitotoksisiste yoluyla ortadan kaldırılabilir. Bu durum, beynin işlevselliğinin sürdürülebilmesi için bir gereklilik olmasına karşın, Alzheimer ve Multipl Skleroz (MS) gibi bazı hastalıklarda, uygun olmayan veya kontrolsüz elemeler şeklinde de kendini gösterebilir. Eksitasyon artışı, nöronal aktivitenin artmasına ve panik, acı ya da nöbet oluşumu gibi belirtilerin oluşmasına sebep olabilir. Şizofreni gibi eksitasyonun arttığı bazı hastalıklar nedeniyle de nöronlarda tahribat oluşabilir. Beynin böyle durumlarla karşılaşması durumunda, aşırı uyarılan sinapslarda tahribat meydana gelebilir (14). Bu nedenle belli bir seviyede eksitotoksisite gereklilik olmasına karşın, bu durumun kontrolden çıkması çeşitli patolojik durumların oluşumu ile ilişkilendirilebilir (6).

Nörogelişim sırasında, genetik programlama ile beynin sinaptik elenmesinin düzenlenmesi ve böylece gelişimin sorunsuz olarak tamamlanması gerekir. Sinaptik eleme, gelişim sırasında yoğun, sonrasında ise yaşam boyu belli bir düzeyde devam eder. Nöronların akson ve dendritlerinin yeni bağlantılar oluşturması ve eskilerin yok edilmesi, beyni sürekli bir değişim ve yenilenme durumunda tutarak sinaptik plastisitenin devamlılığını sağlar (16).

Nöronlar ve gliada bulunan nörotrofik faktörler sinaps oluşumunu ya da yıkımını uyarabilir. Anılan faktörlerin organizmada yaşam boyu üretilmesi, sinaptik plastisitenin sürdürülmesinin yanında, öğrenme ve bellek, duygusal olgunlaşma ve motor beceri gelişiminin hayat boyu devamlılığını sağlar. Eğitim ve düşünme gibi beyin aktivitesi gerektiren süreçlerin, bu faktörlerin üretimini ve salıverilmesini uyarabileceği gibi, kullanılmayan ve inaktif durumda bekleyen sinapslar ise apoptotik olarak yok edilebilir (17).

2.2. Kimyasal Sinir İletimi

Nörotransmisyon, anatomik bir altyapısı bulunan, fakat aslen kimyasal bir olaydır. Nöronlar arasında sinyal iletimi, sinaptik kavşağa salıverilen nörotransmitterler ve ko-transmitterler ile sağlanır (9).

2.2.1. Nörotransmitterler ve Ko-transmitterler

Beyinde birkaç düzine nörotransmitter tanımlanmıştır. Fakat klinikte kullanılan ilaçların büyük bir kısmının, serotonin (5-HT), norepinefrin (NE), dopamin (DA), asetilkolin (ACh), glutamat ve γ-aminobütirik asit (GABA) üzerinden etkilerini göstermeleri nedeniyle, bunlar klasik nörotransmitterler olarak adlandırılırlar. Klasik nörotransmitterler, amin ya da aminoasit yapısına sahip bileşiklerdir. Santral sinir sistemine etki eden ilaçlar, doğal bileşiklerin etkilerini taklit etmek suretiyle nöronal iletiyi etkileyebilirler (6).

Bir monoaminin, bir nöropeptid ile beraber etki göstermesi durumunda tanımlanan maddelere ko-transmitter, bu olaya ise ko-transmisyon adı verilir. Bazen bir nörotransmitter yalnız salıverilebileceği gibi, iki ko-transmitter birlikte de salıverilebilir. Bununla beraber, bir nörona iletilen uyarı, farklı nörotransmitterleri de içerebilir. Bir devredeki uyarıların anlaşılması, ilaç kombinasyonlarının çeşitli nörotransmitterleri aynı anda etkilemesi ile elde edilen tedavinin temelini oluşturabilir. Modern psikofarmakolojinin hedeflerinden biri, psikiyatrik hastalıklardaki anormal iletiyi etkilemek için özel bölgelerdeki nöronların hedef alınması şeklinde özetlenebilir (9).

2.2.1.1. Nörotransmitter Odakları

Bazı nörotransmitterlerin salıverildiği nöronların gövdeleri beyin sapında bulunurken, aksonları ise PFK ve diğer birçok beyin bölgesine uzanabilir. Bu bölgeler bazı nörotransmitterler için çakışmakla beraber, hiçbir zaman tamamen örtüşmezler ve daima farklı bölgelere projekte olurlar. Bir nörotransmitter ve salıverildiği nöron hangi bölgeye projekte oluyorsa, o bölgeyle ilgili işlevleri etkileyebilecekleri düşünülür (9).

Nörotransmitter yolakları, devre içinde bulunan nöronları düzenleyen moleküler ve anatomik zemini oluştururlar. Psikofarmakoloji, bir hastalığın tedavisinde hedeflenen bölge ve bu bölgeye etkili ilaç ya da ilaç kombinasyonlarının seçimi ve akılcı tedavi anlayışına dayanır (11).

2.2.1.2. Asetilkolin (ACh)

Genellikle beyin sapından ve ön beyinden köken alan asetilkolin yolakları; uyarılma ve bilinç gibi birçok önemli süreçte görev alırlar. Öğrenme ve bellek fonksiyonları ile ilgili en çok araştırılan merkezi sinir sistemi (MSS) nörotransmitterleri kuşkusuz asetilkolin'dir. Hem periferik hem de santral kolinerjik aşırımı etkileyerek bilişsel fonksiyonlar üzerine belirgin klinik etki gösteren atropin, skopolamin ve fizostigmin gibi ilaçlar, asetilkolin'in öğrenme ve bellek süreçlerinin oluşumunda etkinliği bulunduğu gerçeğini netlikle ortaya koymaktadır (18).

Normal kolinerjik aktiviteyi değiştirerek etki gösteren çeşitli ilaçlar, bilişsel fonksiyonların deneysel incelemelerinde kullanılabilmektedir. Bu ilaçlar, fizostigmin, neostigmin gibi kolinesteraz inhibitörlerini içeren kolinerjik agonist ve nikotin gibi kolinomimetik ajanlar; atropin ve skopolamin gibi antimuskarinik, antikolinerjik ajanlar olarak iki sınıfa ayrılabilirler (6).

Literatürde, kolinerjik aşırımı artıran ilaçların öğrenme ve bellek fonksiyonlarını iyileştirdiği, antikolinerjik ajanların ise buna karşı yönde bir etki oluşturduğu genel kanısı bulunmaktadır. Bu sebeple skopolamin gibi antikolinerjik ajanlar deneysel demans modeli oluşturmak amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. Muskarinik kolinerjik aşırımı deprese eden ilaçlar, bilgi edinme, depolama ve iyi öğrenilmiş bir bilginin geri çağırılması süreçlerini olumsuz yönde etkileyebilirler (19).

2.2.1.3. Katekolaminler

Son yıllarda yapılan birçok çalışma, katekolaminerjik (KA) aşırım üzerine etkili ilaçların, öğrenme süreçleri üzerine etkinliklerinin bulunduğunu göstermiştir. Adrenerjik aktiviteyi etkileyen birçok ilaç etkilerini dopamin ve norepinefrin nörotransmitterleri üzerinden göstermektedir. Çeşitli ilaçlar etkilerini seçici olarak gösterirken, bazıları birden fazla katekolamin miktarını değiştirerek etki oluşturmaktadırlar (20).

2.2.1.3.1. Dopamin (DA)

Dopaminerjik nöron uzantıları başta ventral tegmental alan ve substantia nigra olmak üzere beyin sapında bulunan merkezden çıkar ve medulla spinalis ve serebellum dışındaki birçok bölgeye doğru uzanırlar. Bu nöronlar, ödüllendirme, hareket sistemi, psikoz, bilinç gibi çeşitli işlevleri düzenlerler (21).

Talamus güçlü dopaminerjik uyarı alan bir bölgedir. Talamik dopamin sistemi, ventral mezensefalon, periakuaduktal gri madde, lateral parabrakial çekirdek ve hipotalamik çekirdek gibi çeşitli bölgelerden köken alır. Bu sistem talamustan geçerek striatum, amigdala ve neokortekse iletilen uyarıları süzme işlemine katkı sağlar. Bu sistemin uyarılma (arousal) ve uyku düzenlenmesi gibi olaylarda görevleri bulunmaktadır. Zona inserta'dan köken alan insertohipotalamik yolak, cinsel davranışların oluşumunda rol alan amigdaloid hipotalamik çekirdeklere projekte olur (20).

2.2.1.3.2. Norepinefrin (NE)

Norepinefrin'in, büyük bir kısmı beyinsapı nörotransmitter odağından (lokus seruleus), kalan kısmı ise lateral tegmental norepinefrin hücre sisteminden köken alır. Beyin sapı nörotransmitter odağının alt kısımlarındaki noradrenerjik hücre gövdelerinden köken alan spinal uzantılar ise ağrı yolaklarını düzenlerler (22).

Norepinefrin'in genel fonksiyonu savaş ya da kaç eylemine beyni ve bedeni hazırlamaktır. Norepinefrin uyku durumunda en az, uyanık iken daha fazla; stres, korku ve tehlike gibi durumlarda ise en fazla miktarda salgılanır. Norepinefrin'in beyinde, uyarılma ve dikkati artırma, uyanıklığı güçlendirme, bellek edinme ve geri çağırma süreçlerini kuvvetlendirme, ayrıca hareketliliği ve anksiyeteyi artırma gibi işlevleri bulunmaktadır (22).

2.2.1.4. Sempatomimetikler

Çeşitli ilaç türleri, davranış üzerine etkilerini sempatik aşırımı artırarak göstermektedir. Bunlar, L-DOPA gibi KA prekürsörleri, imipramin gibi KA geri alımını inhibe eden ilaçlar ve amfetamin gibi KA salıverilmesini uyaran ilaçlardır. KA prekürsörleri ve geri alım inhibitörü ilaçların öğrenme süreçlerine etkileri üzerine araştırmalar sınırlıyken, amfetaminin bu süreçlerdeki etkileri üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır. Diğer yandan, glutamaterjik sistem üzerine etki eden çeşitli ilaçların da katekolamin düzeylerini etkileyerek davranış süreçleri üzerine etkiler oluşturabileceği belirtilmektedir (6).

Bir non-kompetitif NMDA reseptör antagonisti olan ketamin, sempatik aktivite artışını da içeren çeşitli mekanizmalar ile davranış süreçlerini etkileme potansiyeline sahiptir (3). Yüksek-doz fensiklidin (PCP) ve MK-801 gibi diğer bazı NMDA reseptör antagonisti ilaç uygulamaları ile deneysel şizofreni ya da demans modeli oluşturmak mümkündür (23). Diğer bir NMDA reseptör antagonisti olan memantin ise eksitotoksisiteyi engelleyerek ve sinaptogenezisi uyararak demans tedavisinde kullanılmaktadır (24). Bu durum, belirtilen ilaçların çeşitli mekanizmalar ve reseptörler üzerinden farklı etkinliklerinin bulunduğunu göstermektedir.

2.2.1.5. Antiadrenerjik Ajanlar

Alfa-metil-p-tirozin (a-MPT) ile tirozin hidroksilaz inhibisyonu ve KA deplesyonu, rezerpin ile veziküler depoların boşaltılması ve klorpromazin (KPZ) ya da haloperidol gibi ajanlarla adrenerjik reseptörlerin bloke edilmesi suretiyle sinaptik aşırımın engellenmesi, öğrenme süreçlerinin baskılanması ile sonuçlanabilir (6).

Deneysel presedürlerde, eğitim öncesi antiadrenerjik ilaç uygulamasının öğrenilmiş bilgilerin geri çağrılması üzerine etkileri farklılık göstermektedir. KPZ, a-MPT (25) ve rezerpin (26) ile yapılan bazı çalışmalarda geri çağırma yetileri arasında bir farklılık bulunamamıştır. Bu durum, antiadrenerjik ilaçların öğrenme üzerine etiklerinin, ilaç uygulaması ile eğitim arasındaki süre ile değişebileceği ile ilişkili olabilir. Örneğin, eğitimden 2 saat önce uygulanan KPZ ile hatırlama yetilerinde belirgin bir değişiklik gözlemlenmemesine karşın (27), eğitimden 10 dk önce uygulanan KPZ ile hatırlama yetilerinin belirgin şekilde bozulduğu gösterilmiştir (28).

Öğrenme süreçleri oluşumunun etkilenmesinde, ilaç uygulaması ile eğitim arasındaki sürenin etkili olduğu diğer bir çalışma ile desteklenmiştir. Eğitimden 0-8 saat önce uygulanan a-MPT (100 mg/kg) ve eğitimden 24 saat sonra hatırlama yetilerinin incelendiği bir çalışmada bellek fonksiyon bozukluğunun ilaç uygulaması ile eğitim arasındaki sürenin 4 saatten az olduğu durumlarda geliştiği ortaya konmuştur (29). Düşük doz a-MPT (30 mg/kg) uygulaması sonrası değişik şiddetlerde elektrik şok uygulamaları ile (0.16 mA-1.6 mA) oluşan pasif-sakınma yanıtlarının incelendiği diğer bir çalışmada, düşük amperli elektrik şokunun pasif-sakınma yanıtını iyileştirdiği, yüksek amperlerde ise bozduğu belirtilmiştir (30).

2.2.1.6. Serotonin (5-HT)

Beyin sapı nörotransmitter merkezinde bulunan çekirdeklerden demetler halinde çıkan serotonin yolakları, serebellum dâhil birçok beyin bölgesine uzanarak; anksiyete, duygu durumu, uyku gibi birçok önemli olayın düzenlenmesinde görev alırlar. Alt serotonin çekirdekleri; rafe magnus, rafe obskurus ve rafe pallidustan oluşur ve ağrı yolaklarındaki aşırımın düzenlenmesinden sorumludurlar (9).

Öğrenme ve bellek fonksiyonlarının oluşumunda serotoninin etkileri uzun yıllardır incelenmekte ve bu konuda sürekli yeni bilgiler elde edilmektedir. Günümüzde genel kanı, serotonerjik aktiviteyi artıran ajanların bellek süreçlerini olumsuz etkilediği, antiserotonerjik ajanların ise bellek süreçlerini iyileştirdiği yönündedir. Fakat bu konu henüz net biçimde ortaya konulamamıştır ve üzerinde tartışılmaya devam edilmektedir (6).

p-chlorophenylalanine (pCPA) (30) ya da raphe nukleusu lezyonları ile gerçekleştirilen serotonin deplesyonunun bilişsel fonksiyonlarda iyileşme ile sonuçlandığı bildirilmiştir (31). pCPA'nın pasif-sakınma yanıtında bozulmaya yol açtığını savunan çalışmalar bulunmakla birlikte (32), bu sonuçlar tartışmalıdır. pCPA ile indüklenen kaçınma yetisindeki iyileşmenin, bilinmeyen bir uyarana karşı daha şiddetli yanıt oluşmasından ileri geldiği düşünülmektedir (30). Rodentlerde raphe nükleusu lezyonları ile gerçekleştirilen bir çalışmada, Y maze gecikme sürelerinin (latency) ve hata sayılarının azaldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada, serotonin deplesyonu sonrası şok ile indüklenen aktif-kaçınma yetisinde iyileşme olduğuna vurgu yapılmıştır (33).

2.3. PSİKOFARMAKOLOJİDE ÖNEMLİ BEYİN BÖLGELERİ

2.3.1. Serebral Korteks

Kortikal nöronlar, birçok beyin bölgesindeki nöronlar ile bağlantı ve ağ oluştururlar. Beynin motor yapısını teşkil eden bu ağlar, girdileri, beyin işlevlerinin ve davranışların oluşumu için çıktılara dönüştürerek etkilerini gösterirler. Kortikal ağın her bir bölgesi, düğüm (node) olarak adlandırılır (7).

Serebral korteks beynin en büyük bölümünü oluşturan, bellek, dikkat, algı, farkındalık, düşünce, dil ve bilinç gibi birçok önemli olayda anahtar rolleri bulunan bir beyin bölgesidir. Serebral korteks, gri madde adı verilen nöronal hücre gövdelerini içeren nöron dokusunun dış kısmını oluşturur. Ayrıca, sol ve sağ hemisferler olarak ikiye ayrılır ve bu hemisferler korpus kallosum aracılığı ile birbirine bağlanır (34).

Hücresel düzeyde serebral korteks başlıca iki yapısal özellikle karakterizedir;

1. Yüzeyinde, çeşitli duyusal, motor ve bilişsel fonksiyonların oluşumunu sağlayan işlevsel bölgeleri (gri cevher) ve
2. Bölgesel nöronların sinyal alma ve yanıt gönderme bağlantılarını organize eden alt katmanları (beyaz cevher) bulunmaktadır (35).

Bu iki önemli özelliği ile serebral korteks, modüler işlevselliğin sürdürülmesini sağlamaktadır. Yüksek miktarda nöronal ve glial hücreler, karmaşık dentritik ağlar ve aksonal uzantılar içeren serebral korteks kıvrımlı bir yapıya sahiptir ve böylece kafatası içerisinde geniş bir yüzey alanına sahip olabilmektedir. Geniş yüzey alanı, fonksiyonel bölgelerin etkinliği için önem arz etmektedir (35).

2.3.2. Prefrontal Korteks (PFK)

PFK, serebral korteksin frontal lobunun ön kısmında yerleşim gösteren ve arka kısımdan santral sulkus adı verilen bir yarık ile ayrılan işlevsel beyin bölgesidir. PFK, kişinin yaşama isteği ve kişilik özellikleri ile yakın ilişkilidir. Beynin bu bölgesi, kompleks bilişsel davranışların planlanması, kişilik ifadesi, karar alma ve sosyal davranışların düzenlenmesi gibi süreçlerde görev almaktadır. PFK'nın temel

görevi, düşüncenin ve hareketlerin hedefler doğrultusunda düzenlenmesi şeklinde tanımlanmaktadır (36).

PFK tarafından düzenlenen tipik fizyolojik özellik, yürütücü işlevlerin sürdürülmesidir. Yürütücü işlevler; tartışmalı düşüncelerin ayrımının yapılması, iyi ve kötünün belirlenmesi, iyi ve en iyinin seçimi, benzerlik ve farklılık tespiti, yapılan aktivitenin gelecekteki sonuçlarının hesaplanması, belirlenmiş bir hedef doğrultusunda çalışma, getirilerin tahmini, yapılan hareket sonucu beklentilerin oluşması ve sosyal kontrol yetenekleri ile ilişkilidir. PFK, belli kuralların öğrenilmesini sağlar, rostrakaudal aksis'in anteriorunda kalan bölgeler daha belirgin kuralların öğrenilmesinde etkilidir (36).

PFK'nın fonksiyonlarıyla ilgili kabul gören genel teori, kısa süreli hafızanın kaydedilmesinden bu beyin bölgesinin sorumlu olduğunu savunmaktadır. Bu teori, ilk defa primatlarda PFK hasarı sonrası kısa süreli hafıza bozukluğunun gözlemlenmesiyle ortaya çıkmıştır. Bununla beraber bu bozuklukta dorsolateral prefrontal korteks'in de etkili olduğu düşünülmektedir (11).

2.3.3. Hipokampus

İsmini Yunanca denizatından alan hipokampus, insan ve primatlarda beynin iki lobunda birer adet bulunan önemli bir beyin bölgesidir. Limbik sistemin bir parçası olan hipokampus, uzaysal belleğin oluşumundan ve kısa süreli hafızanın, uzun süreli hafıza olarak depolanmasından sorumludur. İnsanlarda hipokampus, serebral korteksin altında; primatlarda ise medial temporal lob içerisinde yerleşim gösterir. Ammon boynuzu ve dentat girus olmak üzere iki bölgeden oluşur (37).

Alzheimer Hastalığı ve diğer demans türlerinde hipokampal hasar sebebiyle kısa süreli hafıza kaybı ve oryantasyon bozukluğu gibi primer semptomların oluştuğu görülmektedir. Hipokampal hasar ayrıca hipoksi, ensefalit ve medial temporal lob epilepsisi nedeniyle de oluşabilir. Çift yönlü hipokampal hasar durumunda, yeni hatıra edinme güçlüğü ile karakterize geleceğe yönelik (anterograd) unutkanlık tablosu görülür (9).

Hipokampus, yaşanılan olaylar ile yeni hatıraların oluşumundan sorumludur. Yeni olay, mekân ve uyaranların algılanması da bu fonksiyonun bir parçası olarak düşünülebilir. Hipokampus ayrıca, amigdaladan gelen duygusal uyarıları kodlar,

böylece kötü tecrübe yaşanan bir mekânın benzer duygular uyandırmasını tetikleyebilir (37).

Rodentlerde, uzaysal bellek, navigasyon becerisi ve uzun süreli potansiyel artışı (LTP) araştırmalarında hipokampus sıklıkla incelenmektedir. Hipokampal LTP, hatıraların beyinde depolanmasıyla ilişkili temel mekanizmalardan biri olarak kabul edilmektedir (38).

2.4. ÖĞRENME SÜREÇ ARAŞTIRMALARI

İlaçlar, davranışın biyolojik mekanizmasının araştırılması amacıyla uzun zamandan beri deneysel araçlar olarak kullanılmaktadır. Bu araştırmalar, etki mekanizmaları bilinen çeşitli ilaçların yardımı ile, etkileri incelenmek istenen ilaç ya da moleküllerin etkinliklerinin değerlendirilmesi temelinde gerçekleştirilen ve davranışın nörobiyolojik altyapısının anlaşılmasına yönelik önemli bilgiler elde edilmesini sağlayan çalışmalardır. Antidepresan, anestezik, antipsikotik ve analeptikler gibi çeşitli farmakolojik ajanları da kapsayan bu ilaçlar, öğrenme ve bellek süreç araştırmalarında sıklıkla kullanılmaktadır (6).

Öğrenme süreci nörofarmakolojisinin araştırılması çalışmalarında kullanılan ilaçların etkileri; tür, yaş, deney türü ve eğitim süresi gibi birçok parametreye bağlı olarak değişiklik göstermektedir. Doz-etki ilişkisi, uygulama yolu, periferik ve santral etkilerdeki farklılıklar, biyoyararlanım, toksisite ve kronik uygulama ile tolerans gelişimi gibi diğer birçok parametre, bu çalışmaların gerçekleştirilmesi sırasında sıklıkla karşılaşılan muhtemel zorluklardır (39).

2.4.1. Öğrenme Süreçleri

Öğrenme sürecinin dört temel aşaması tanımlanmaktadır;
(1) duyusal kayıt ya da edinme (acquisition),
(2) depolama ya da pekiştirme (consolidation),
(3) idame etme ya da sürdürme (maintenance) ve
(4) geri çağırma (retrieval).

İlaçların deneklere uygulama zamanlarındaki değişiklikler ile öğrenme sürecinin çeşitli aşamaları üzerine etkilerin incelenmesi mümkün olmaktadır (40).
Bu yaklaşımlardan biri, ilacın edinme aşamasından uzun süre önce, belli bir süre uygulanmasıdır. Bu uygulama ile ilaçların edinme motor süreçleri üzerine etkileri ile oluşan performans değişiklikleri incelenebilir (40).

İkinci bir yaklaşım, ilacın eğitimden kısa süre önce uygulanmasıdır. Bu uygulama ile ilaçların davranış üzerine etkisinin kalmadığı varsayılan bir süre sonrasında eğitimin gerçekleştirilmesi ile deneklerin edinme süreç performanslarının değerlendirilmesi amaçlanır. Fakat bu yöntem ile ilaçların edinme süreçleri üzerine direk etkilerini incelemenin çeşitli zorlukları bulunmaktadır. Geri çağırmada

meydana gelen değişiklikler, ilaçların uyarılma ve dikkat gibi edinme yetisini etkilemesi muhtemel nonspesifik süreçler üzerine etkileri dolayısıyla gerçekleşebilir. Eğer edinme süreci etkilenirse, netice olarak geri çağırma süreci de etkilenebilir (40).

Üçüncü bir yaklaşım, ilacın eğitimden kısa bir süre sonra uygulanmasıdır. Bu uygulama ile ilaçların pekiştirme süreç performansları üzerine etkileri incelenebilmektedir. Denekler, ilaçların direk etkisinin ortadan kalktığı varsayılan bir süre sonra test edilebilir. Bu metod ile, eğitim süresinde ilaçların dikkat üzerine etkileri nedeniyle oluşması muhtemel performans değişiklikleri elimine edilebilir. Böylece, ilaçların bellek pekiştirme süreci üzerine etkileri, kontrol grubuyla karşılaştırılarak değerlendirilebilir (40). Ancak bir kısım ilaçlar etkilerini uygulamadan belli bir süre sonra, nörotransmitter sistemlerini etkileyerek göstermektedir. Örneğin, bir triptofan hidroksilaz inhibitörü ve serotonin deplesyon ajanı olan p-klorofenil alanin (pCPA), tam etkisini tekrarlanan günlük uygulamalarla, ancak ilk uygulamadan 3 gün sonra gösterebilmektedir. Normalde eğitimden sonra, dakikalar hatta saatler boyunca bellek pekiştirme süreci değişime karşı hassasiyetini sürdürmektedir, fakat pCPA gibi etki oluşturması uzun süren ajanlar, eğitim sonrası uygulama ile test edilebilirlik paradigmasına uygun değildirler (41).

Dördüncü bir yaklaşım ise, ilacın geri çağırma testi öncesinde uygulanmasıdır. Bu uygulama ile de ilaçların, geri çağırma yetileri üzerine etkileri kontrol grubu ile karşılaştırılarak değerlendirilebilir (40).

2.5. PSİKOFARMAKOLOJİK İLAÇ HEDEFİ OLARAK İYON KANALLARI

Psikofarmakolojide kullanılan birçok ilaç, etkilerini iyon kanalları üzerinden göstermektedir. Normalde, yüklerinden dolayı membranlardan geçemeyen iyonlar, iyon kanalları vasıtasıyla hücre içerisine giriş-çıkış yaparlar. Psikofarmakolojik olarak önemli iyon kanalları sodyum, kalsiyum, klor ve potasyumun membranlardan geçişini modifiye ederler (9).

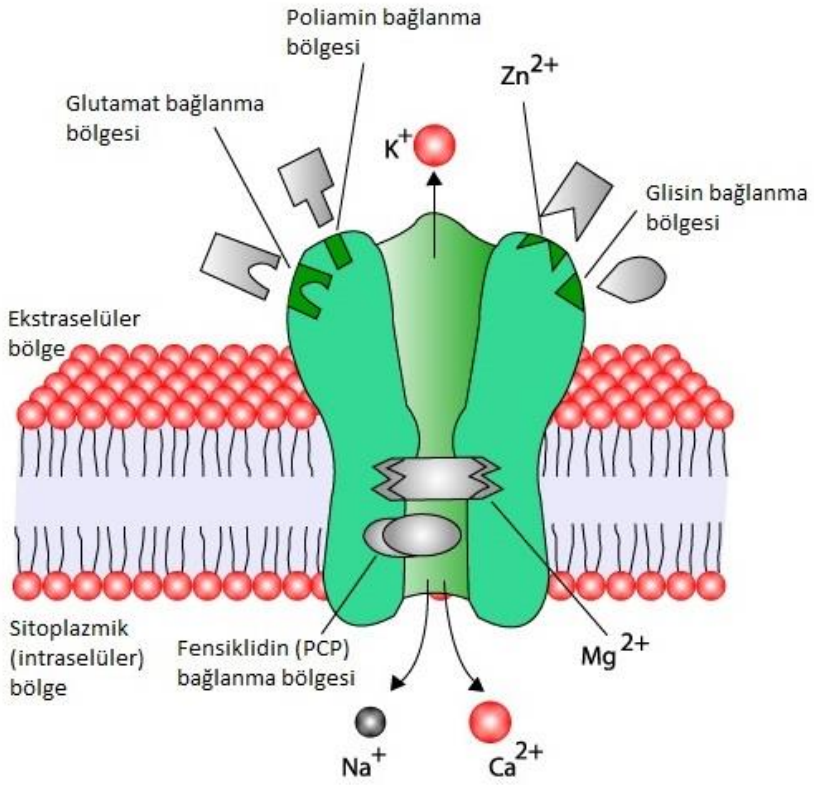
İyon kanalları, nörotransmitterler ile açılan ligand kapılı iyon kanalları (iyonotropik reseptörler, iyon kanalı-kenetli reseptörler) ve membran voltaj yükü ile açılan voltaj kapılı (voltaja duyarlı) reseptörler olarak iki temel sınıfa ayrılır (11).
İyon kanalında bulunan reseptöre bir nörotransmitter bağlandığında yapısal bir değişiklik oluşturur ve reseptör iyon kanalının açılmasını sağlar. İlaçlar, reseptör-iyon kanalı kompleksinde etki göstererek kanaldan iyon akışını hemen etkileyebileceği gibi, reseptördeki değişen sinyal aktarımından kaynaklanan uzun vadeli değişiklikler de meydana getirebilir. Bu uzun vadeli değişiklikler; fosfoprotein ve enzimlerin aktivitelerindeki değişiklikler, reseptör duyarlılığı, kanal geçirgenliği, protein sentezi ve gen ekspresyonlarındaki değişiklerden ileri gelmektedir (15).

İyon kanalları üzerine etkili ilaçların psikiyatrik semptomlar üzerine etkileri, iyon akışını anında değiştirmeleri nedeniyle belirgin ve hızlı olarak ortaya çıkar. Günümüzde, psikotrop ilaçların kayda değer bir kısmı bu tip reseptörler üzerinden etki göstermektedirler (9).

2.5.1. Ligand Kapılı İyon Kanalları

Ligand kapılı iyon kanalları, kanal etrafında bulunan aminoasit yapılı alt birimlerin birleşiminden meydana gelmektedir. Bu alt birimlerde ilaçlar, nörotransmitterler ve iyonlar gibi birçok madde için bağlanma bölgeleri bulunmaktadır. Nörotransmitterler, ko-transmitterler ya da allosterik modülatörler kanal açılma duyarlılığını artırabilir veya azaltabilirler (17).

2.5.1.1. Tetramerik alt tipler



Resim 1. Tetramerik iyonotropik reseptörler ve fensiklidin bağlanma bölgesi (42).

Ligand kapılı iyon kanallarının tetramerik alt tipleri, üç transmembran bölgeye sahip dört alt birimin bir araya gelmesi ile oluşmuştur. Bu alt birimlerin bir araya gelmesi ile, ortasında iyon kanalı bulunan tam işlevsel tetramerik bir reseptör yapısı ortaya çıkar. Her alt birimde, bir kısmı kanal içinde, büyük bir kısmı ise kanal dışında yerleşim gösteren reseptörler bulunur. Bu reseptörlere glutamaterjik reseptörler olan α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit (AMPA), N-metil-D-aspartat (NMDA) ve kainat reseptörleri örnek olarak verilebilir (17).

2.5.2. Pozitif ve Negatif Allosterik Modülasyon

Ligand kapılı iyon kanalları, nörotransmitterler haricinde diğer bazı maddeler vasıtasıyla da düzenlenebilir. Allosterik modülatör olarak adlandırılan bu maddeler kendi özgül bölgelerine bağlanarak etkilerini oluştururlar. Bunlar nörotrasnmitterlerden farklıdır, çünkü tek başlarına etki oluşturmazlarken nörotransmitter ile beraber bağlandığında etki oluştururlar. Nörotransmitterlerin etkisini artıran pozitif allosterik modülatörler (PAM) ve nörotransmitterlerin etkisini

azaltan negatif allosterik modülatörler (NAM) olmak üzere iki tip allosterik modülatör mevcuttur (9).

PAM'lar, nörotransmitter ile beraber bağlandığında, tam agonistin tek başına oluşturduğu etkiden daha fazla etki oluşturmasını sağlarken, NAM'lar agonistin tek başına oluşturduğu etkinin azalmasına ya da ortadan kalkmasına sebep olurlar (9). NAM'lara, magnezyum gibi iyonlar ve NMDA reseptörleri üzerine etki eden fensiklidin (PCP) ve ketamin gibi ilaçlar örnek olarak verilebilir. NMDA reseptörlerinin etkileri, kalsiyum kanalının magnezyum iyonu (Mg^{2+}) ile kapatılması ile ortadan kaldırılabilir. PCP ve ketamin gibi NMDA reseptörlerini bloke eden ilaçlar, kanal içerisindeki fensiklidin bağlanma bölgesine bağlanarak glutamat ve glisinin etkilerini ortadan kaldırırlar. Bu etki, ko-transmitterler olan glutamat ve glisin'in kendilerine özgül reseptörlerine bağlanmalarıyla ortadan kaldırılabilir (17).

2.5.3. Glutamat

Glutamat merkezi sinir sisteminde yaygın bulunan, primer eskitatör nörotransmitterdir. Presinaptik nöronlarda glutamat veziküller içerisinde depo edilir. Akson terminalinde aksiyon potansiyelinin oluşması ile hücre içerisine kalsiyum girişi ve sonrasında da veziküllerden glutamat salıverilmesi tetiklenir. Salıverilen glutamat, NMDA ve AMPA reseptörleri gibi glutamaterjik reseptörleri aktive eder. Sinaptik plasitisitenin sürdürülmesinde ve uzun süreli potansiyel artışı (LTP) oluşumunda önemli rolleri bulunan glutamat, öğrenme ve bellek fonksiyonlarının düzenlenmesinde de önemli roller üstlenir. LTP, özellikle hipokampus ve neokortekste gerçekleşir. Glutamat ile yalnızca anterograd ileti oluşmaz, ayrıca hacim nörotransmisyonu şeklinde çevre sinapslarda da etki oluşabilir (17).

Glutamaterjik aşırım, iyonotropik (iGluRs) ve metabotropik (mGluRs) glutamaterjik reseptörler ile düzenlenmektedir. İyonotropik reseptörler, ligand kapılı iyon kanallarıdır ve reseptöre bağlanan liganda göre isimlendirilirler. Bunlar; NMDA, AMPA ve kainat reseptörleridir (15).

NMDA reseptörlerinin aktive olması için ko-transmittere ihtiyaç duyulurken, diğer iyonotropik glutamaterjik reseptörler olan AMPA ve kainat reseptörleri, ko-transmittere ihtiyaç duymaksızın, yalnızca glutamat ile aktive olurlar. Bu durum, eksitasyonun hızla oluşması ile membranın depolarize olmasını sağlar. Eğer bu

durum uzun sürerse, agonistle indüklenmiş duyarsızlaşma olarak tarif edilen durum meydana gelir (43).

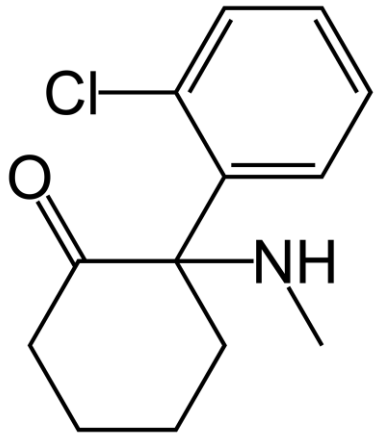
2.5.4. NMDA Reseptörleri

N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri, beyinde yaygın dağılım gösteren ve glutamat ile aktive olan eksitatör reseptörlerdir. NMDA reseptörleri, AMPA ve kainat reseptörleri ile birlikte iyonotropik glutamaterjik reseptörleri oluştururlar. NMDA reseptörleri aktif duruma geçmek için, glutamat'ın ve glisin'in (ya da D-serin) kendine özgül bağlanma noktalarına bağlanmalarına gereksinim duyar. NMDA reseptör aktivitesi, sinaptik plasitisitenin sürdürülmesi ve bilişsel fonksiyonların düzenlenmesi için oldukça önemlidir. NMDA reseptörleri ayrıca, ağrı oluşumu ve duygudurumunun düzenlenmesi gibi çeşitli olaylarda önemli roller üstlenmektedir (17).

Bu reseptörler, N-metil-D-aspartat'ın yalnızca NMDA reseptörleri ile agonistik etkileşim göstermesinden dolayı bu şekilde adlandırılmıştır. Aktive olan NMDA reseptörü, pozitif yüklü iyonların kanaldan geçişine izin verir. Kanalın açılışı ve kapanışı ligand bağlantılı bir mekanizma ile düzenlenirken, iyon akışı voltaj bağlantılıdır. Ekstraselüler magnezyum (Mg^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) iyonları kendi özgül bölgelerine bağlanarak diğer katyonların kanaldan geçişini engelleyebilir. Hücrenin depolarizasyonu, magnezyum ve çinko iyonlarının kanaldan uzaklaştırılarak, sodyum (Na^{2+}) ve daha düşük miktarda kalsiyum (Ca^{2+}) iyonlarının hücre içerisine ve potasyum (K^{+}) iyonlarının hücre dışarısına akışına olanak sağlar (44).

NMDA reseptörlerinden hücre içerisine kalsiyum iyonu akışı, öğrenme ve bellek fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli bir hücresel mekanizma olan sinaptik plasitisitenin sürdürülmesi ve LTP oluşumu için kritik öneme sahiptir. NMDA reseptörlerinin açılıp kapanmaları kompleks bir mekanizma ile düzenlenir. Reseptörler primer olarak ligand bağlantılı kanallar olmakla birlikte, daha zayıf düzeyde voltaj bağlantılı mekanizmalarla da düzenlenmektedir. Glutamat ve glisin (ya da D-serin) ko-transmitterlerinin kendi özgül reseptörlerine bağlanması ile kanalın açılması ligand bağlantılı düzenlenmeyi, magnezyum ve çinko iyonlarının kanaldan katyon geçişini engellemesi ise voltaj bağlantılı düzenlenmeyi açıklar (45). NMDA reseptör aktivitesi; fensiklidin, alkol (etanol), ketamin, dekstrometorfan ve MK-801 gibi bir kısım psikoaktif ilaç tarafından etkilenir (17).

2.6. KETAMİN



Şekil 1. Ketamin'in moleküler yapısı.

Ketamin, non-kompetitif NMDA reseptör antagonisti anestezik bir ilaçtır. Diğer anestezik ilaçlar arasında özel bir yeri bulunan ketamin, yaklaşık yarım asır kadar önce analjezik, amnezik, bilinci kapatıcı ve hareketi kısıtlayıcı etkileri ile bir mono-anestezik olması umuduyla piyasaya sürülmüştür (46). Ketamin kullanımına bağlı ciddi yan etkilerin bildirilmesi, kısa sürede ketamin'in anestezik popülaritesinin azalmasına neden olmuştur. Buna karşın, ketamin klinikte halen çeşitli endikasyonlarda sıklıkla tercih edilmektedir. Ketamin'in endike olduğu klinik örnekler; hemodinamik şok ve astımlı hastalarda anestezi indüksiyonu amacıyla, çocuklar gibi uyumsuzluk gösteren hastalarda sedatif olarak, psikiyatri kliniklerinde elektrokonvülzif şok terapisi sırasında anestezik ve analjezik olarak, yoğun bakım hastalarında sedatif ve analjezik olarak, yanık gibi ağrılı durumlarda kıyafet değişimi sırasında analjezik olarak ve bölgesel ya da lokal anesteziye destek olarak kullanımlarıdır (47). Düşük dozlarda elde edilen hızlı ve güçlü antidepresan-benzeri etkileri ile, bu endikasyonların sayıca artması muhtemel görülmektedir (3).

NMDA reseptörleri; NR1 alt birimin, NR2 alt birim ve alt sınıflarının (NR2A, NR2B, NR2C, NR2D) ve NR3 alt birim ve alt sınıflarının (NR3A or NR3B) birleşmesi ile oluşmuş heteromerik kompleks moleküllerdir. Bu alt birimlerin çeşitli kombinasyonları ile oluşmuş farklı farmakolojik ve biyolojik etkileri bulunan çok sayıda farklı tip NMDA reseptörleri bulunmaktadır (48). NMDA reseptörleri, nöronlar üzerinde eksitatör etkiler oluşturarak, sinir sisteminin gelişimi ve

farklılaşması, sinaptik plastisitenin sürdürülmesi gibi birçok fizyolojik süreçte ve patolojik durumun oluşumunda anahtar roller üstlenirler (49).

2.6.1. Ketamin'in Klinik Farmakolojisi

Piyasada bulunan ketamin, R(-) ve S(+) enantiyomerlerinin karışımını içeren bir preparattır. Farmakokinetik olarak ketamin, hızla dağılan ve yarılanma ömrü oldukça kısa bir ilaçtır; a-eliminasyonu 2-3 dakika içerisinde gerçekleşirken, p-eliminasyon yarı ömrü ise 2-3 saattir. Ketamin, büyük oranda karaciğer sitokrom p-450 enzimleri ile ana metaboliti olan norketamin'e yıkılır. Norketamin, anestezik olarak ketamin'in sadece 1/3'ü oranında etkili olmasına karşın, analjezik ve duygu durumu düzenleyici etkilerin oluşumunda önemli rollerinin bulunduğu düşünülmektedir. Norketamin ve diğer metabolitler böbrekler tarafından atılır (47).

Ketamin, iyon kanalında bulunan PCP bağlanma bölgesine bağlanır ve böylece glutamat aktivasyonunu non-kompetitif bir biçimde inhibe eder. PCP bağlanma bölgesi, magnezyum bağlanma bölgesiyle yakın yerleşim gösterir (17).

Ketamin, disosiyatif anestezi olarak tanımlanan, bilinç açık iken analjezik ve amnezik etkilerin oluştuğu, doza bağlı olarak merkezi sinir sistemi depresyonunun meydana geldiği bir durumun oluşmasına neden olur. Hasta uyanık olmasına karşın, tamamen ortamdan ve olanlardan habersizdir. Tarif edilen bu kataleptik durumun oluşumunda, talamokortikal yolağın elektrofizyolojik inhibisyonu ve limbik sistemin uyarılmasının beraber gerçekleşmesinin etkili olduğu düşünülmektedir (50).

Ketamin'in, analjezik ve amnezik etkileri haricinde önemli başka etkileri de bulunmaktadır. Solunum sistemi üzerinde klinik olarak etkili dozlarda bronkodilatör etkileri belirgindir (51), minimal respiratuar depresyon meydana getirir ve kan karbondioksit miktarında artışa (hiperkapni) neden olabilir. Solunum yolu reflekslerinde ise diğer anestezikler kadar belirgin bir etkisi bulunmamaktadır (52). Buna karşın, aşırı tükrük salgısına neden olabilir (53). Kalp atım sayısında ve kan basıncında belirgin bir artış gözlemlenir. Ketamin'in kalp üzerine direk baskılayıcı etkisi bulunmasına karşın, stimülan etkiler sempatik aktivasyon sonucu oluşur (54).

Uyanma süresi genellikle doza bağlıdır. Bu süreç, görülen halüsinasyonlarla karakterize psikotomimetik etkilerin ortaya çıkışı nedeniyle oldukça nahoş olabilir. Bunun önüne geçmek için ketamin sıklıkla benzodiazepin grubu bir ilaçla kombine edilerek uygulanır (55).

Ketamin'in son zamanlarda popülaritesini artıran diğer bir özelliği ise subanestezik dozlarda antidepresan-benzeri etkiler oluşturmasıdır (3). Tek doz ketamin uygulaması ile hızlı ve güçlü antidepresan etkiler oluştuğu, gerçekleştirilen birçok çalışma ile gösterilmiştir (4). Elde edilen bu antidepresan etkinin iki hafta kadar sürmesi, özellikle intihara meyilli ve tedaviye dirençli majör depresif bozukluk (MDB) tanısı konmuş hastaların tedavisinde ketamin'in umut vadeden alternatif bir tedavi seçeneği olarak düşünülmesine imkân tanımaktadır (56).

2.6.2. Non-NMDA Glutamat Reseptörleri

Non-NMDA glutamaterjik reseptörler, kiskalat, AMPA ve kainat reseptörleri olarak sınıflandırılmışlardır. Ketamin'in önceleri bu reseptörlerle etkileşime girmediği düşünülmüşse de, son yıllarda yapılan çalışmalar bunun doğru olmadığını göstermektedir (4).

Non-NMDA reseptörlerinin etkilerini, glutamat-nitrik oksit (NO)-siklik guanozin monofosfat (cGMP) sisteminin stimülasyonu ile oluşturduğu düşünülmektedir. NMDA reseptörleri gibi, non-NMDA reseptörlerinin aktive olması da intraselüler NO sentezini artırarak cGMP üretimini artırmaktadır (57).

Ketamin'in sempatik aktiviteyi artırıcı ve analjezik etkilerinin oluşumunda, NO sentez inhibisyonunun rol oynadığı düşünülmektedir (58). NO, hem periferik hem de sistemik etkili bir nörotransmitter olarak görev yapmaktadır. Ağrının algılanması en azından spinal bir seviyede NO ile ilişkilidir. Deneysel hayvan çalışmalarında, NO sentaz (NOS) inhibisyonu ile antinosiseptif etkiler oluştuğu gösterilmiştir (59). Parasetamol ve aspirin gibi bazı non-steroidal antienflamatuar (NSAİ) ilaçların da NO metabolizması ile etkileşime girdiği belirtilmektedir (60). Bu sonuçlar, ketamin'in klinik etkilerinin oluşumunda yalnızca NMDA reseptörleri ile etkileşimin rol oynamadığını açıklamaya yardımcı olabilir.

2.6.3. Ketamin'in Opioid Reseptörler ile Etkileşimi

Ketamin, G proteini-kenetli reseptörler olan mü (μ) ve kappa (κ) opioid reseptörler ile agonistik etkileşim göstermektedir. Ketamin ile indüklenen psikotomimetik etkilerin oluşumuna, özellikle benzer etkilere sahip κ-opioid reseptörler ile etkileşimin katkı sağladığı düşünülmektedir (61). Buna karşın, ketamin'in bu reseptörlere bağlanma afinitesinin, NMDA reseptörlerine olan afinitesinden oldukça düşük oluşu nedeniyle bu etkileşimlerin belirgin klinik etki oluşturma kapasitesinin olmadığını belirtilmektedir. Bu durum, naloksan ile ketamin'in analjezik etkilerinin ortadan kalkmadığının gösterilmesi ile netlik kazanmaktadır (62). Buna karşın bazı çalışmalarda, ketamin ile indüklenen analjezi ve kontraktilitenin naloksan ile önlenebildiği rapor edilmiştir (63).

2.6.4. Ketamin'in Kolinerjik ve Adrenerjik Etkileşimleri

Ketamin, hem nikotinik (64) hem de muskarinik (65) asetilkolin reseptörlerini etkileme potansiyeline sahiptir. Klinik dozlarda ketamin, NMDA reseptörleri tarafından indüklenen asetilkolin salıverilmesini baskılar (66). Nöromüsküler kavşaktaki nikotinik asetilkolin reseptörleri üzerindeki inhibitör etkisi, kas tonusunu santral mekanizmalarla artırdığı için, klinik olarak belirgin değildir (64). Ketamin'in muskarinik reseptörlere afinitesi, NMDA reseptörlere olan afinitesinin 10-20'de biri kadardır (66).

Ketamin, norepinefrin'in nöronal geri alımını bloke ettiği gibi, ekstranöronal geri alımı da bloke edebilir. Böylece, uzamış sinaptik cevap oluşumuna ve norepinefrin'in sistemik dolaşımda etkilerinin artışına neden olur (67). Ketamin, dopamin ve serotonin geri alımını da benzer bir şekilde inhibe ederek santral dopaminerjik ve serotonerjik aktivitede artış meydana getirir (68). Bu durum, ketamin ile indüklenen emezis oluşumunun mekanizmasını açıklamaya yardımcı olabilir. Ondansetron'un, ketamin ile indüklenen emezis tedavisinde etkili oluşu da, bu etkinin serotonin kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir (69). Ketamin'in monoaminerjik sistemle olan etkileşimleri farklılık göstermekle beraber, klinik etkilerinde bu etkileşimlerin rolü tam olarak anlaşılamamıştır.

2.6.5. Ketamin'in $GABA_A$ Reseptörleri ile Etkileşimi

Santral sinir sisteminde bulunan ana inhibitör nörotransmitter γ-aminobütirik asit (GABA)'tir. Rekombinant $GABA_A$ reseptörleri ile yapılan bir çalışmada, ketamin uygulamasından sonra $GABA_A$ ile indüklenen klor iyonu geçiş miktarında artış gözlemlenmiştir (70). Benzer sonuçların diğer çalışmalarda da elde edilmesine karşın, bu çalışmalarda kullanılan dozların klinik olarak kullanılanlardan yüksek oluşu nedeniyle ketamin-GABA etkileşiminin klinik etkilerinin belirgin olmadığı düşünülmektedir (71). Diğer bir çalışmada, $GABA_A$ reseptör antagonisti uygulamasının (bicuculline) pentobarbital ve propofol'un sinaptik transmisyon üzerindeki inhibitör etkilerini tamamen ortadan kaldırmasına rağmen, ketamin ile indüklenen inhibisyonu kısmen engellemiştir. Bu çalışmada ayrıca, ketamin ile eksitatör NMDA reseptör antagonizması ile postsinaptik nöronda inhibitör GABAerjik hâkimiyetin baskın hale gelmesi nedeniyle aksiyon potansiyeli oluşumunun engellenmesinin etkili olabileceği belirtilmiştir (72). Bu sonuçlar ketamin'in anksiyete üzerine etkilerinin, $GABA_A$ reseptörlerini doğrudan etkilemesinden ziyade, NMDA reseptör antagonizması sonucu eksitasyonun engellemesi ile GABAerjik inhibisyonun görece baskın hale gelmesi suretiyle oluştuğunu düşündürmektedir.

2.6.6. Ketamin Anestezisi ve Beklenen Komplikasyonlar

Ketamin anestezisinden sonra beklenen genel yan etkiler; amnezi, kısa süreli hafızada ve kognitif performasta değişiklikler, konsantrasyon güçlüğü, dikkat eksikliği, halüsinasyonlar, kabuslar, bulantı ve kusma'dır (73). Bu etkilerin, ketamin plazma konsantrasyonuna bağlı olarak değişiklik gösterdiği belirtilmektedir. Bu durum, psikostimülan etkilerin düşük konsantrasyonlarda daha az oluşma potansiyelinin bulunduğunu göstermektedir (47). Ketamin'in bir benzodiazepinle kombinasyonu, tolere edilebilirliğinde belirgin bir atış oluşturmakta, fakat bu uygulama ile uyanma süresinde de belirgin bir uzama meydana gelmektedir (55).

2.6.7. Ketamin ve Önleyici Analjezi

Bölgesel ya da lokal anesteziye ek olarak, düşük dozlarda ketamin (0.1-0.5 mg/kg) uygulaması ile belirgin bir analjezik etki oluşur. Çalışmalar, ketamin'in ağrılı

girişimlerden önce uygulanmasının daha etkili olduğunu göstermiştir. Bu etki, önleyici (preemptive) analjezi olarak adlandırılmaktadır (74).

Önleyici analjezide hedef, ağrı hatırası oluşumunu önleyerek, operasyon sonrası analjezik ilaç gereksinimini azaltmaktır (74). Yüksek miktarda afferent ağrılı uyaran omuriliğe ulaştığı zaman, MSS aşırı uyarılabilir bir duruma geçer. NMDA reseptörlerinin ağrı hafızası oluşumundan sorumlu olduğu ve antagonize edilmesinin ağrı oluşumunu engelleyebileceği düşünülmektedir. NMDA reseptör antagonizması ile hem santral uyarılmanın hem de hipersensitivitenin önüne geçilebilir (75).

Çeşitli çalışmalar, önleyici olarak düşük-doz ketamin uygulamasının operasyon sonrası opioid gereksiniminde azalma (%40-60) meydana getirdiğini belirtmektedir (76). Bu etki için, oldukça düşük dozlara gereksinim duyulduğu, oluşan etkinin yaklaşık 6 saat kadar sürdüğü ve bu dozlarda oluşan psikotomimetik etkilerin hastalar tarafından kabul edilebilir düzeyde olduğu belirtilmektedir (47).

2.6.8. Ketamin'in Nöroprotektif ve Nörorejeneratif Etkileri

Beyin hipoksisi-iskemisi, membran ve hücre hasarlarına neden olan, hatta nöron ölümüne kadar gidebilen bir patofizyolojik durum oluşturur. Bu durumun oluşumunda, NMDA ve non-NMDA reseptörlerin aktivasyonunun önemli rolü bulunmaktadır. Bu reseptörler, glutamat ya da aspartat tarafından yüksek düzeyde uyarılırsa, artmış transmembranal akış ile hücre içerisinde sodyum ve kalsiyum birikimi hücrenin şişmesine ve hücreyi ölüme götürecek olan yolakların aktivasyonuna neden olur. Nörodejenerasyon, AMPA reseptörleri ile daha yakın ilişkili olmakla beraber, NMDA reseptörleriyle de ilişkilidir (77).

Bir kısım hayvan çalışmalarında iskemi öncesi ketamin uygulaması ile hipoksik-iskemik hasarın azaltılabildiği belirtilmiştir (78). Literatürde, nöroprotektif etkilerin oluşumunda, BDNF salıverilmesindeki artış (79) ve mTOR aktivasyonunun etkili olabileceğine vurgu yapılmaktadır (80). Buna karşın yapılan bazı çalışmalarda, ketamin uygulamasının nörodejeneratif etkiler oluşturduğu belirtilmektedir (81). Sonuçlarda gözlemlenen farklılıkların; uygulanan doz, uygulama süresi, uygulama yolu ve deneysel modellerdeki farklılıklar gibi değişkenlerden ileri geldiği düşünülmektedir (47).

2.6.9. Ketamin Nörotoksisitesi

Gerçekleştirilen birçok çalışmada ketamin maruziyetinin, gelişmekte olan beyinde nöron harabiyeti oluşturma potansiyelinin bulunduğu belirtilmektedir (82). Primatlarda yapılan çalışmalarda, böyle bir maruziyet sonucu hayatın ilerleyen dönemlerinde kognitif fonksiyon bozuklukları gözlemlenebildiği rapor edilmiştir (83).

Ketamin ile indüklenen nörotoksisitenin mekanizmasını açıklamak için, rat fetüs kök hücreleri ve insan pluripotent kök hücreleri (iPSC) ile çalışmalar gerçekleştirilmiştir (84). Uzun süre klinik olarak etkili dozlarda ketamin maruziyeti sonucunda, rodent nöronal kök hücrelerinin NMDA reseptör sayılarında ve NR1 alt birim ekspresyonlarında artış gözlemlenmiştir (85). Gerçekleştirilen diğer bir çalışmada, ketamin'in NMDA reseptör NR2 (NR2A ve NR2C) alt tiplerinde de benzer up-regülasyonlar oluşturduğu belirtilmektedir (48). Ketamin reseptörden ayrıldıktan sonra, hücre içerisine yüksek seviyede kalsiyum iyon akışı, reaktif oksijen türleri (ROS) seviyelerinin artmasına neden olmaktadır. Bu durumun, artmış nöron hasarı ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (86). Buna karşın, farklılaşmamış kök hücrelerin yaşama yeteneği (viability) ve proliferasyonunun ketamin uygulamasından etkilenmediği gözlemlenmiştir. Kalsiyum görüntüleme çalışmalarında, NMDA uygulaması ile farklılaşmamış nöronal kök hücrelere kalsiyum akışı gözlemlenmediği, fakat aynı nöron kök hücrelerinden farklılaşmış nöronlarda ise hücre içi serbest kalsiyum seviyelerinde belirgin bir artış meydana geldiği rapor edilmiştir. Ketamin'in, farklılaşmamış nöronal kök hücrelerin yaşama yeteneğini ve proliferasyonunu etkilememesi, bu nöronlarda fonksiyonel NMDA reseptörlerinin oluşmamış olması ile açıklanabilmektedir (87).

Çeşitli nöropatolojik durumlarda meydana gelen nöron hücre ölümü, NMDA reseptörlerini de içeren nörotransmitter reseptörleri ile düzenlenmektedir. Up-regüle NMDA reseptörlerinin glutamat ile aktive edilmesi, hücre içerisine mitokondrinin tampon kapasitesini aşan miktarlarda kalsiyum akışına ve elektron transport sisteminin etkilenmesi ile toksik düzeyde ROS üretimine neden olur. Böylece fizyolojik seviyelelerdeki glutamat, nöron harabiyeti ve apoptoz ile sonuçlanacak olaylar dizisini başlatabilir (88). Diğer non-kompetitif NMDA reseptör antagonistleri

olan fensiklidin (PCP) ve dizocilpine (MK-801) ile gerçekleştirilen çalışmalarda da benzer sonuçlar elde edilmiştir (89,90).

Ketamin ile indüklenen nörotoksisiteye karşı, bir AMPA/kainat reseptör antagonisti olan CNQX ile kısmi koruma sağlanabildiği (91), buna karşın selektif bir NMDA reseptör antagonisti olan d-2-amino-5-phosphonovalerate (d-APV) ile güçlü koruyucu etkiler oluştuğu belirtilmiştir (92).

MK-801 ya da PCP uygulamasını takiben nöron hasarı meydana geldiğini belirten çok sayıda çalışma bulunmaktadır (89). Yüksek doz MK-801 ya da PCP uygulaması ile nörodejeneratif hasar geliştiği bilinmekte, bu nedenle anılan ilaçlar deneysel demans modeli oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır (93). Bu durum özellikle, tekrarlanan yüksek doz uygulamalardan sonra belirgin hale gelmektedir (90). Ketamin ile indüklenen nörotoksisitenin, uygulanan ilaç dozu, uygulama yolu, maruziyet süresi, maruziyetin hangi dönemde gerçekleştiği ve kullanılan hayvan türü ile yakın ilişkili olduğu düşünülmektedir (47).

2.7. DUYGU DURUMU BOZUKLUKLARI

Duygulanım bozuklukları diye de adlandırılan duygu durumu bozuklukları, içsel bir his veya duygunun dışa yansımasıdır. Duygu durumu spektrumununun ters uçlarında depresyon ve mani bulunmaktadır. Mani ve depresyon iki farklı uç olmasına karşın, tek uçlu (unipolar) ya da iki uçlu (bipolar, manik depresif) şeklinde de tanımlanabilir. Maninin daha düşük derecede ortaya çıkışı hipomani, hastanın mani ve depresyon arasında hızlı geçiş yaptığı durumlar ise hızlı döngülü olarak adlandırılır. Duygu durumu, hissedilen duygunun çeşit ve yoğunluğuna göre mani, hipomani, ötimi (normal duygu durumu), distimi ve depresyon şeklinde isimlendirilebilir (9).

Şekil 2. Duygu durumu spektrumu.

Major depresyon, hastada en az bir majör depresif epizodun meydana gelmesi şeklinde tanımlanan ve sık rastlanan bir duygu durumu bozukluğudur. Fakat hastalar genellikle tekrarlayan epizodlara maruz kalırlar. Distimi, depresif duygu şiddetinin daha düşük olduğu, fakat uzun süre devam eden bir bozukluktur. Tekrarlayan epizodlar arasında, distimiye ulaşacak kadar iyileşen majör depresif hastalarda, distimi epizodundan sonra tekrar bir majör depresif epizodunun ortaya çıkması durumunda, hastalık çift depresyon olarak isimlendirilir (9).

2.7.1. Duygu Durumu Bozukluklarında Nörotransmitterler

Duygu durumu bozukluklarının patofizyoloji ve tedavilerinde monoaminerjik üç ana nörotransmitterler olan serotonin (5-HT), dopamin (DA) ve norepinefrin (NE)'in önemli rollerinin bulunduğu düşünülmektedir. Duygu durumu bozukluklarında belirtilerin genellikle bu trimonoaminerjik nörotransmitter sistemlerinde çeşitli işlevsel bozuklukların meydana gelmesi durumunda ortaya çıktığı belirtilmektedir. Bu hastalıkların tedavisi, bu sistemlerden birini veya birkaçını aynı anda etkilemek

suretiyle gerçekleştirilir, fakat son yıllarda nörokininler ve glutamat üzerinde etkili olan tedaviler de araştırılmaktadır (94).

2.7.2. Depresyonda Monoamin Hipotezi

Depresyonu tanımlayan klasik teori, monoamin yapısındaki üç nörotransmitterdeki bir eksiklik nedeniyle oluştuğunu varsaymaktadır. Önceleri ilgi serotonin ve norepinefrin eksikliği üzerine yoğunlaşmış ve bu durum dopaminin geri planda kalmasına neden olmuştur. Günümüzde ise teori, tüm monoamin yapılı nörotransmitterlerin depresyon patogenezinde etkin rollerinin bulunduğuna, hatta nörokinin ve glutamat gibi farklı nörotransmitterlerin de hastalık oluşumuna katkı sağladığına işaret etmektedir (94).

Çeşitli çalışmalar, depresyon durumunda beyin omurilik sıvısı (BOS)'nda 5-HT ve NE metabolitlerinin azaldığını belirtmektedir. Fakat düşük 5-HT metabolitleri, antisosyal ve sınırda kişilik bozukluğu olan bireylerde de görülebilmektedir. Bu nedenle, düşük 5-HT seviyelerinin sadece depresyonla alakalı değil, aynı zamanda düşük dürtüsel kontrol durumuyla da ilişkili olduğu düşünülmektedir (95).

Monoamin hipotezinde son zamanlarda, monoamin yapılı nörotransmitterlerden ziyade, reseptör gen ekspresyonlarındaki farklılaşmalara ve bu reseptörler tarafından tetiklenen ikincil moleküler etkilere önemli yer verilmektedir. Bu hipotezde, reseptörlerdeki monoamin etkisindeki bir değişikliğin de depresyona yol açabileceği varsayılmaktadır (96).

Klasik monoamin hipotezi, depresyonun ana temasını monoamin eksikliği ile açıklamaktadır. Nörotransmitter eksikliği durumunda, postsinaptik monoamin reseptör sayılarında artış (up-regülasyon) meydana gelir ve bu durum depresyonun sebeplerinden biri olarak kabul edilir. İntihar eden depresif hastaların beyinlerinde serotonin reseptörlerinin sayısında artış olduğu tespit edilmiştir. Bazı nörogörüntüleme çalışmalarında, depresif hastaların serotonin reseptör sayılarında anomaliler gözlemlendiği rapor edilmiştir. Buna karşın, ne monoamin eksikliği ne de monoamin reseptörlerindeki anomaliler depresyonun sebebini tam olarak ortaya koyamamaktadır. Günümüzde, normal nörotransmitter ve reseptör varlığı durumunda postsinaptik nörondaki sinyal iletiminin bozulmasının da depresyona neden olabileceği olasılığı üzerinde durulmaktadır. Postsinaptik reseptörlerin distalinde

gerçekleşen moleküler olaylar, yetersiz sinyal iletimi ve gen ekspresyonlarındaki farklılaşmalar depresyonun sebebini açıklamaya yardımcı olabilir (94).

BDNF, nöronların yaşamlarını sürdürebilmesi için gerekli bir madde olmakla beraber, çeşitli nedenlerle geninin baskılanması durumunda nöronlar atrofiye gidebilir ve nöron apoptozisi oluşabilir. Monoaminerjik reseptörlerdeki yetersiz sinyal iletiminin, BDNF gen ekspresyonlarındaki değişiklikler nedeniyle nöronların atrofiye giderek apoptotik yolağı aktive etmeleri sonucunda oluşması, düşünülen olası mekanizmalardan birisidir. Bu durum, depresif durum oluşumuna ve epizodların tekrarına neden olabilir (97). Epizodların görülme sıklığındaki bir artış, tedaviye verilen yanıtta belirgin bir azalmaya sebep olur (9). Depresyon durumunda, hipokampal nöron boyutlarında azalmalar gözlemlenmiştir (98). Bu durum, depresyonun belleği nasıl etkilediğini açıklamaya yardımcı olabilir.

2.7.3. Depresyon Semptomları ve İlgili Bölgeler

Bir majör depresif epizod tanımlanırken, çeşitli belirtilerin bir arada oluşması gerekir. Her belirti, çeşitli beyin bölgelerindeki yetersiz bilgi işlenmesi ile varsayımsal olarak açıklanabilir. Ruhsal bozuklukların tanısal ve istatistiksel el kitabına göre (DSM 4. Baskı) majör depresif bir epizod, depresif duygu durumu ya da ilgi kaybı (apati) semptomlarından birisi ve diğer semptomların en az dördünün aynı anda görülmesi ile meydana gelir. Bu semptomlar; uyku bozuklukları (insomnia veya aşırı uyuma), iştah ve kilo değişiklikleri, psikomotor uyarılma (ajitasyon) ya da yavaşlama (retardasyon), suçluluk ve değersizlik hissi, yorgunluk, yürütücü işlev anomalileri ve intihar düşüncesi oluşumudur (9).

Majör depresif bir epizodun temel semptomu olan depresif duygu durumunun, özellike amigdala, anterior singulat korteks ve ventromedial prefrontal korteks gibi prefrontal kortekste bulunan duygusal bölgelerde eksik veri işlenmesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. İlgi kaybı, depresif epizodun önemli diğer semptomlarından birisidir ve bu durumun, ventromedial prefrontal korteks, dorsolateral prefrontal korteks, hipotalamik yürütme odakları ve nükleus akumbens bölgelerindeki yetersiz bilgi işleme ile ilişkili olabileceği belirtilmektedir (9).

Bu semptomların her biri, semptom oluşumuna aracılık eden beyin bölgeleri ile teorik olarak ilişkilendirilebilir. Bir majör depresif epizodda görülen her bir özgül semptomun tedavisinde, ilgili nörotransmitterlerin ve ilgili bölgelerin ilaçlarla

hedeflenmesi, yeni terapötik yaklaşımların temelini oluşturabilir. Bununla beraber, günümüzde mevcut tedavilerin büyük bir kısmı bu üç monoaminerjik nörotransmitterlerden bir ya da birkaçını etkilemek suretiyle etki oluşturmaktadır (11).

2.7.4. Antidepresanlar

Değişken duygu durumu, genellikle iyi veya stresli tecrübelerle ortaya çıkar ve bu durumlara adapte olunması ile sonuçlanır. Buna karşın, duygusal ve davranışsal değişikliklerin uzun süre devam etmesi, adaptasyon sorunları yaşanmasına ve MDB'nin karakteristik belirtisi olan majör depresif bir epizod ile karşılaşılmasına neden olabilir (10). MDB'nin en ciddi yan etkilerinden biri ise özellikle genç bireylerde intihar düşüncelerinin ortaya çıkmasıdır. İntihar, genç bireylerin ölüm nedenleri arasında yüksek bir orana sahiptir. Son yıllarda gerçekleştirilen bir çalışmada, depresyon nedenli asker intiharlarının, çarpışmada yaşanan kayıplardan fazla olduğu belirtilmektedir (99).

Antidepresanlar, major depresif epizod geçiren hastalarda genellikle semptomlarda iyileşme oluştururlar. Semptomların %50 ya da daha fazla azalması, terapötik bir yanıt olarak kabul edilmektedir. Günümüzde antidepresan tedavi ile semptomların tamamıyla düzelmesi ve bu durumun korunması amaçlanmaktadır. Böylece, depresif epizodun tekrar nüks etmesini engellemek hedeflenir. Tam bir iyileşme hedefine genellikle ilk antidepresan tedavi ile ulaşılması beklenmez (9). Günümüzdeki antidepresanların etkinliğinin kısıtlı olması nedeniyle, kombine antidepresan tedaviler uygulanmaktadır, fakat bu tedaviler bile bir kısım klinik vakada terapötik olarak etkisiz kalmaktadır (100).

Klinik araştırmalarda denenen antidepresan ilaçların ruhsat alabilmeleri için tedavi başlangıcından itibaren 8 hafta içinde hastaların üçte ikisinde yanıt oluşturmaları beklenir. Plasebo uygulamadan beklenen ise, hastaların yalnızca üçte birinde yanıt oluşturmalarıdır. Antidepresan tedavi ile yanıt oluşan hastalarda, plasebo ile tedavi edilen hastalara göre nüks oranlarının daha düşük olduğu bildirilmiştir (9).

Preklinik ve klinik araştırmalardaki sonuçların klinik pratiğe yansımalarında çeşitli problemler oluşabilir. Bunlar; plasebo yanıtlarındaki değişiklikler, plasebo ile elde edilen yanıtın ilaç yanıtı ile yakınlık göstermesi, değişen çevresel faktörler,

hastanın komorbiditesi ve tedaviye dirençli veya intihar düşünceleri olan hastaların çalışmalardan çıkarılmasıdır (100).

Hastaların üçte biri, ilk ay antidepresan tedavisini sonuçlandırmazlarken, sonuçlandıranların ise yaklaşık yarısı ikinci ay tedavisini tamamlalamaktadır. Hastaların dörtte birinden az kısmının yeterli olan üç aylık tedaviyi tamamlaması preklinik sonuçların klinik pratiğe yansımalarına gözlemlenen önemli problemlerden bir diğeridir. Yeterli miktarda alınmayan antidepresanın etki göstermesi beklenmez (9).

Antidepresan ile tedaviden sonra gelişmesi beklenen çeşitli yan etkiler bulunmaktadır. Hastanın tedavisini zorlaştıran bu semptomlar; uykusuzluk, yorgunluk, acılı fiziksel şikayetler, konsantrasyon güçlüğü, motivasyon ve ilgi eksikliğidir. Bu gibi yan etkiler, klasik antidepresan tedavilerin etkinliklerini sınırlandırmaktadır (101).

Antidepresan ilaçlar depresif duygu durumunu, fiziksel yavaşlamayı (retardasyon) ve intihar düşüncelerini azaltmada güçlü etki oluştururlar. Eğer bir antidepresan, hastanın semptomlarını azaltıyor ve iyileştiriyorsa, depresif bir epizodun nüks oranlarında belirgin bir azalma gözlemlenir. Ancak bazen tedavi olan hastalarda da nüks görülebilir (9).

Tüm hayat döngüsü boyunca antidepresanlar aynı yanıtı oluşturmazlar. 25-65 yaş aralığındaki bireyler antidepresan tedaviye en iyi cevap veren ve tolere edebilen kısmı oluşturur. Yarar-zarar oranının en iyi olduğu yaş aralığı yine benzer şekilde bu yaş aralığıdır. 19-25 yaş aralığındaki adolesan bireylerde, intihar eğilimindeki artış nedeniyle antidepresanların tolere edilebilirlikleri düşüktür. 6-12 yaş aralığındaki çocuklarda risk-yarar oranı en düşük seviyelerde, 13-18 yaş aralığındaki ergen bireylerde ise adolesanlarla çocuklar arasında seyretmektedir. 65 yaş üstü erişkin bireylerde, özellikle depresyon semptomları bu yaşta ilk defa görülmüşse ve semptomlar depresif duygu durumundan çok ilgi eksikliği ve bilişsel problemlerse, antidepresanlar genellikle güçlü bir etki oluşturmazlar ve yan etki sıklığı daha yüksektir (9).

2.7.4.1. Antidepresan Sınıfları

TCA ve monoamin oksidaz inhibitörleri (MAOİ), 60 yıldan uzun bir süre önce, sırasıyla, antipsikotik ve antitüberküloz ilaç araştırmaları sırasında tesadüfen

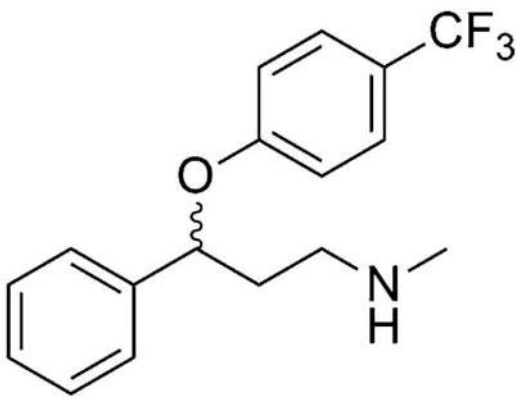
keşfedilmiş bileşiklerdir. Klasik antidepresanlar olarak adlandırılan bu ilaçlar genellikle monoamin yapılı nörotransmitterler olan serotonin, dopamin ve norepinefrinden bir ya da birkaçını etkileyerek sinaptik etkide artış meydana getirirler. Bu etkilerini genellikle monoaminlerin presinaptik nörona geri alım mekanizmalarını ya da nörotransmitter enzim kinetiğini etkileyerek oluştururlar (101). Bununla beraber, glutamaterjik NMDA reseptörlerinin blokajı ile antidepresan-benzeri etkiler elde edilmesi, glutamaterjik sistem üzerinden etkili ilaçların depresyon tedavisinde yeni bir terapötik yaklaşım olabileceğini göstermektedir (102).

Klasik antidepresan tedaviler, monoamin geri alım transportunu ya da metabolizmalarını engelleyerek, sinaptik kavşaktaki monoamin seviyelerinde ve transmisyonda artış meydana getirirler. Bu durum, antidepresanların klinik etkilerinin ortaya çıkmasından haftalarca önce gerçekleşir. Monoamin seviyelerindeki akut artış ile nörotransmitter reseptörlerinde adaptif değişiklikler meydana gelerek reseptör sayıları ve reseptör duyarlılığı azalır (sırasıyla; down regülasyon, desensitizasyon). Böylece antidepresanlar, depresyon durumunda artmış olan reseptör sayısını azaltarak, bu durumu tersine çevirirler. Tedavi pratiğinde, klasik antidepresanların terapötik etkilerinin ortaya çıkması ile yan etkilerine karşı adaptasyon gelişimi hemen aynı sürede gerçekleşir. Bu tip antidepresanların etkilerinde geçerli olan mekanizmanın monoamin miktarlarındaki artıştan ziyade, reseptörlerdeki adaptif değişiklikler olduğu düşünülmektedir (94). Gözlemlenen bu adaptif değişiklikler, gen ekspresyonlarındaki değişiklikler sonucunda meydana gelir. Bu durumun, sadece reseptör sentezinin durmasına değil, ayrıca BDNF ve NGF gibi maddelerin sentezlerindeki artışa bağlı olabileceği düşünülmektedir (103).

2.7.4.1.1. Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri

Seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI), en sık reçete edilen antidepresan sınıflarından birisidir. Bütün SSRI ilaçlar serotonin taşıyıcısını selektif ve güçlü bir biçimde inhibe ederek serotonin'in presinaptik nörona geri alımını engellerler ve sinaptik aralıktaki serotonin seviyelerini artırırlar. SSRI ilaçların majör depresif bozukluk, premenstrual siklus disforik bozukluğu, çeşitli anksiyete problemleri, yeme ile ilgili hastalıklar ve ödüllendirme bozuklukları gibi çeşitli durumlarda endikasyonları bulunmaktadır (104).

2.7.4.1.1.1. Fluoksetin



Şekil 3. Fluoksetin'in moleküler yapısı.

Fluoksetin, 1988 yılında piyasaya sürülen ilk SSRI ilaçtır ve depresyon tedavisinde büyük avantajlar sağlamıştır. Gerçekleştirilen çalışmalar, fluoksetin kullanan hastaların tedaviyi sürdürme oranlarının, trisiklik antidepresanlar (TCAs) gibi klasik ajanları kullananlara göre oldukça yüksek olduğunu göstermektedir. Ayrıca doz aşımı ihtimalinin de oldukça düşük olması nedeniyle fluoksetin güvenli bir antidepresan olarak kabul görmektedir. Etkisinin oldukça seçici olmasından dolayı fluoksetin, yan etki profili bakımından klasik antidepresan tedavilere göre avantajlı olmakla beraber, antidepresan etkinlikte ancak klasik ajanlar kadar başarı sağlayabilmektedir (105).

2.7.4.1.2. Depresyonda Glutamat Sistemi

Glutamat, merkezi sinir sistemindeki primer eksitatör nörotransmitterdir. Fizyolojik seviyelerde glutamaterjik aktivite dendrit gelişimi ve nöronal büyüme için gereklilik arz etmektedir. Buna karşın, aşırı glutamaterjik aktivitenin nörotoksik olduğu gösterilmiştir. Nöronlar ve mezenkimal hücreler üzerinde, nöronal hücre ölümünü engellemek için glutamaterjik nörotransmiyonu düzenleyen çeşitli reseptör ve geri alım mekanizmaları bulunmaktadır (106).

Dinlenme durumunda, NMDA reseptörleri magnezyum iyonu tarafında bloke edilir. Bu durum, glutamat ve glisinin bölgeye gelişi ile son bulur. Böylece, ektraselüler kalsiyum hücre içerisine akarak hücreyi depolarize duruma getirir (17). NMDA reseptör aktivasyonu ile aksiyon potansiyelinin oluşumu, artmış BDNF

ekpresyonu gibi potansiyel bir antidepresan-benzeri etki kaskadını tetikler (79). Buna karşın, AMPA reseptör aktivasyonu, NMDA reseptörlerinden daha hızlı bir kinetikle hücre içine sodyum iyon akışına neden olur. AMPA reseptörleri ile stimüle edilmiş depolarizasyon, magnezyum iyonunun NMDA reseptörlerinden uzaklaştırılmasını ve iyon kanalının açılmasını sağlar. Bu durum, AMPA reseptörleri ile stimüle edilen depolarizasyonun, NMDA reseptörlerinin uyarılmasından daha önce gerçekleşmesinin nedenini açıklamaya yardımcı olabilir. AMPA reseptörlerinin hızlı eksitasyonu, membran depolarizasyonunun diğer glutamat reseptörlerine kaymasına ve AMPA reseptörlerinin desensitizasyonuna neden olur (107).

2.7.4.1.2.1. Depresyon Tedavisinde Ketamin

TCA'lar ve MAO inhibitörleri gibi ilk jenerasyon antidepresan ilaçlar monoaminlerin geri alımlarını, yıkım veya reseptör farmakodinamiğini değiştirerek etkilerini oluştururlar. Daha sonra keşfedilen, SSRI ilaçlar gibi yeni nesil ajanların güvenlik ve tolere edilebilirlikleri klasik antidepresanlardan daha iyi olmakla beraber, terapötik etkinlikleri ilk jenerasyon tedavilerle benzerlik göstermektedir. MDB tedavisinde kullanılan klasik terapötik ajanların etkilerinin belli bir süre sonra ortaya çıkması ve hastaların belirgin bir kısmında etkinlik sağlayamaması, bu ajanların kullanımlarını kısıtlayan durumlardır. Bu nedenle, depresyon tedavisinde yeni farmakolojik yaklaşımların araştırılması ve geliştirilmesi gerekliliği ortaya çıkmaktadır (100).

Son yıllarda, yeni bir terapötik yolak olarak glutamaterjik sistem araştırmaların ilgi odağı haline gelmiştir (108). Yapılan birçok çalışma ile tedaviye dirençli MDB tedavisinde, tek bir subaneztezik doz ketamin uygulamasının hızlı ve güçlü antidepresan etkiler oluşturduğu gösterilmiştir (109). Ketamin'in bu klinik başarısı, birçok preklinik araştırmacıyı antidepresan etki oluşumunda glutamaterjik sistemin rolünü incelemeye yöneltmiştir (110). Günümüzde gerçekleştirilen çalışmalar, ketamin'in antidepresan etkinliğinin uzatılması, yan etkilerinin azaltılması ve nörobiyolojik etki mekanizmalarının anlaşılması üzerine yoğunlaşmıştır (111).

2.7.4.1.2.2. Ketamin'in Antidepresan Etki Mekanizması

Fensiklidin (PCP)'in sentetik bir türevi olan ketamin, NMDA reseptörlerine non-kompetitif ve orta düzeyde afinite ile bağlanır. PCP bağlanma noktasına bağlanarak glutamat ve ko-transmitter glisin'in etkilerinin tersi yönünde hareket ederek hücre içerisine kalsiyum iyon akışını durdurur. Ketamin'in, kısa yarılanma ömrüne kıyasla uzun süre antideprepresan etki göstermesi, bu gibi etkilerinin NMDA reseptör blokajından daha kompleks birtakım mekanizmalar ile oluştuğunu düşündürmektedir (80).

NMDA reseptörlerine olan afinitesine ek olarak ketamin çeşitli reseptör ve kanallarla da etkileşim gösterir. Bunlar; AMPA reseptörleri (112), $GABA_A$ reseptörleri (72), kolinerjik reseptörler (64-66), μ-opioiderjik reseptörler (61,62), substance P reseptörleri (113), dopamin D2 ve 5-HT_2 reseptörleri (68), voltaj-duyarlı kalsiyum ve sodyum kanalları (114), hiperpolarizasyon ile aktive-siklik nükleotid ile modüle olan (Hyperpolarization-activated cyclic nucleotide–gated, HNC) kanal alt birimleridir (115). Ayrıca ketamin monoaminerjik taşıyıcıları da etkileyerek sinaptik monoamin miktarlarında artış meydana getirir (116).

Oldukça düşük doz ketamin uygulamasını takiben 30-40 dk içerisinde hafif psikotomimetik ve disosiyatif etkiler gözlemlenirken, bu etkilerin 80 dk içinde ketamin'in metabolize edilmesi ile (p-yarılanma ömrü 180 dk) ortadan kalktığı rapor edilmiştir. Tek doz ketamin uygulamasını takiben, psikotomimetik aşama sonrasında antidepresan etkiler belirgin hale gelmekte ve oluşan bu terapötik etki 1 hafta kadar korunabilmektedir. Gerçekleştirilen çalışmalarda, ketamin'in antidepresan etkisini, hızlı oluşan ve metabolize edilmesinden sonra devam eden bir kaskadlar zincirini etkileyerek oluşturduğu belirtilmektedir (117).

İlginç olarak literatürde, düşük dozlarda ketamin (10-20 mg/kg) uygulaması ile antidepresan-benzeri etkilerin gözlemlenmesine karşın, yüksek dozlarda uygulanan ketamin'in (80 mg/kg) böyle bir etkinliğinin bulunmadığı belirtilmektedir. Bu durum, ketamin'in antidepresan-benzeri etkilerinde ters doz-etki ilişkisinin bulunduğunu düşündürmektedir (117).

Depresyonda ve stres bağlantılı hastalıklarda, prefrontal korteks (PFC) ve hipokampus gibi limbik beyin bölgelerindeki dendrit sayı ve uzunluklarında, dendritik diken yoğunluğunda azalmalar ve nöron atrofisi oluştuğu belirtilmiştir

(118). Depresif hastaların beyin PFK ve hipokampus bölgelerinin hacimlerinde belirgin azalmalar gözlemlendiği rapor edilmiştir (119). Gerçekleştirilen çalışmalarda, düşük doz ketamin uygulaması ile PFK bölgesi V piramidal nöronlarının dendridik diken sayılarında hızlı bir artış meydana geldiği belirtilmektedir. Düşük doz ketamin uygulaması ile, 24 saat içerisinde mantar şeklinde olgun dendritik diken sayılarında artış meydana gelmesi, ketamin'in dendritik stabiliteyi ve fonksiyonları güçlendirdiğini göstermektedir (120). Nörotransmitter ile indüklenen eksitatör postsinaptik akım (EPSC) ölçümü yapılan bir çalışmada, ketamin uygulamasının, PFK bölgesi V piramidal hücrelerinde, hem 5-HT hem de hipokretin'in EPSC frekans ve amplitüdünü artırdığı gösterilmiştir. EPSC amplitüdündeki artış, dendritik yoğunluktaki artış ile paralellik göstermektedir. 5-HT ve hipokretin ile indüklenen EPSC, sırasıyla, kortiko-kortikal ve talamo-kortikal bağlantı sayılarında artış olduğuna işaret etmektedir (121).

Sinaptogenezi uyarıcı etkilerine paralel olarak ketamin'in çeşitli davranış modellerinde hızlı antidepresan-benzeri etkiler oluşturduğu belirtilmektedir (79). Ketamin'in, kuyruktan asma testi (TST) (122) ve zorunlu yüzme testinde (FST) (100) hareketsiz zamanı azalttığı, öğrenilmiş çaresizlik (LH) paradigmasında başarısız kaçış denemesi sayılarını ve kaçış sürelerini azalttığı (47) ve novelty suppressed feeding test (NSFT)'te yiyeceğe ulaşma sürelerini azalttığı rapor edilmiştir (123). FST tipik antidepresanların akut uygulamalarına duyarlı olmakla beraber, LH sadece subkronik (7 gün) uygulamalara ve NSFT, bir anksiyete modeli olmakla beraber, kronik (21 gün) uygulamalara duyarlıdır (47). Çeşitli çalışmalar, ketamin'in FST'de gözlemlenen antidepresan-benzeri etkilerinin serotonin ile bağlantılı mekanizmalarla gerçekleştiğini belirtmektedir (124).

Normal hayvanlarda gerçekleştirilen çalışmalara ek olarak, ketamin'in kronik tahmin edilemeyen stres (CUS) modellerinde de etkinliği incelenmiştir. CUS modelinde, birkaç hafta boyu çeşitli stres etkenlerine sürekli maruziyet sonucu, depresyonun temel semptomlarından biri olan haz kaybı oluşmakta ve bu semptom klasik antidepresanlarla tedavi edilebilmektedir (79). Ek olarak kronik stres, PFK bölgesinin hacmini ve nöronların dendritik diken yoğunluğunu da azaltmaktadır. 3 hafta kronik stres maruziyetinin, PFK bölgesi V piramidal nöronlarının dendritik diken yoğunluğunu, 5-HT ve hipokretin ile indüklenen EPSC'yi azalttığı ve bu

etkilerin tek doz ketamin uygulaması ile ortadan kaldırılabildiği rapor edilmiştir (125). CUS ile indüklenen sinaptik kaybın davranış üzerine etkileri, bir ilgi kaybı ölçütü olan "sükroz tercih çalışması" ile incelenmiştir. Bu çalışmada, CUS'a maruz kalan hayvanların sükroz tercihlerinin azaldığı ve bu etkinin ketamin uygulaması ile ortadan kaldırılabildiği rapor edilmiştir (126). CUS maruziyeti, NSFT'de yiyeceğe ulaşma sürelerini artırmış ve bu durum da tek doz ketamin uygulaması ile ortadan kaldırılabilmiştir. Ketamin'in bu etkilerinin antidepresan etkinliklerine benzer bir şekilde yaklaşık 7 gün boyunca korunduğu belirtilmektedir (127).

Rapamisin protein kompleksinin memeli hedefi (mTOR), protein sentez süreçlerini düzenleyen bir serin/treonin kinaz'dır. Sinaptogenez için gerektiğinde protein sentezi mTOR tarafından kontrol edilmektedir. Ketamin'in sinaptogenetik ve davranış üzerine etkilerinin mTOR stimülasyonu ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir (47). Günümüz literatüründe, hızlı-etkili antidepresanların etkinliklerinin oluşumunda mTOR ile düzenlenen yolakların önemli rollerinin bulunabileceğine vurgu yapılmaktadır (120). Gerçekleştirilen bir çalışmada, bir NR2B selektif antagonisti olan RO25-6981 uygulaması ile mTOR sinyal iletiminde artış meydana geldiği, FST'de hareketsiz zamanın azaldığı ve bu etkilerin bir mTOR antagonisti olan rapamisin ile engellenebildiği rapor edilmiştir (128).

Rodent depresyon modellerinde, antidepresan etkinlik için AMPA reseptör aktivitesinin gerekli olduğu belirtilmektedir. Ketamin'in antidepresan etkinliğinde, NMDA reseptör bağlantılı mekanizmadan çok AMPA reseptör aktivasyonunun etkili olabileceği ifade edilmektedir (112). Ketamin, AMPA reseptörlerinin aktivitesini artırabilir (107). Gerçekleştirilen çalışmalarda, bir AMPA reseptör antagonisti olan NBQX ile ketamin'in antidepresan etkilerinin ortadan kaldırılabildiği belirtilmektedir. Ayrıca, MK-801 (non-kompetitif NMDA antagonisti) ve RO25-6981 (NR2B selektif antagonist) ile gözlemlenen antidepresan-benzeri etkilerin de NBQX ile ortadan kaldırılabildiği belirtilmiştir. Buna karşın, MK-801 ve RO25-6981 ile oluşan antidepresan etkilerin ketamin kadar uzun sürmediği belirtilmektedir (128). Ketamin uygulamasından sonra, hipokampal AMPA/NMDA reseptör yoğunluk oranlarında bir artış meydana geldiği gösterilmiştir (129). Bu sebeple son zamanlarda, AMPA reseptörlerinin hedeflenmesi ile glutamaterjik aşırımın düzenlenmesi, ortaya çıkan yeni bir antidepresan farmakolojik yaklaşım olarak

araştırılmaktadır (47). Antidepresanların glutamaterjik aktiviteyi azalttığı göz önüne alınırsa, AMPA reseptör agonistlerinin antidepresan etkiler oluşturmaları beklenmedik bir durum olarak görülebilir (80). Preklinik çalışmalarda, nootropik ajanları ve ampakinleri de içeren çeşitli AMPA aktivatörü moleküller ile antidepresan etkiler oluştuğu rapor edilmiştir (130). Buna karşın, literatürde AMPA reseptörleri üzerinden etki gösteren ajanların tek doz uygulamaları ile uzun süreli klinik etki oluşturma potansiyellerinin bulunup bulunmadığı araştırılması gereken bir konu olarak görülmektedir.

Ketamin'in antidepresan-benzeri etkilerini psikomimetik etkiler oluşmadan elde etmek amacıyla, CP-101,606 gibi NMDA reseptörlerinin NR2B alt birim antagonistleri ile gerçekleştirilen preklinik çalışmalar, bu ajanların da ketamin'e benzer antidepresan etki potansiyellerinin bulunduğunu göstermektedir (131). CUS ile indüklenen sükroz tercih azalmasının ve NSFT'de artmış yiyeceğe ulaşma sürelerinin, NR2B selektif antagonizması ile tamamen ortadan kalktığı bildirilmiştir (127). Bu sonuçlar, ketamin'in antidepresan etkilerinin oluşumunda NR2B antagonizmasının önemli rollerinin bulunduğunu göstermektedir. Buna karşın, bu ajanların psikomimetik etkiler oluşturmadan antidepresan etki oluşturup oluşturmadığı netlik kazanmamıştır (47).

NMDA reseptörlerinin inhibisyonu nitrik oksit sentaz (NOS) aktivitesinin azalmasına neden olur (132). Yüksek doz L-arjinin uygulaması ile depresyon semptomlarında artış meydana geldiği ve bu durumun NOS inhibitörleri ile engellenebildiği rapor edilmiştir (133). Gerçekleştirilen çalışmalar ile non-selektif bir NOS inhibitörü olan NG-Nitro-L-Arjinin Metil Ester (L-NAME) (134) ve selektif nöronal NOS inhibitörü 7-nitroindazol ile FST'de immobil zamanın azaltılabildiği gösterilmiştir (135). Ayrıca, depresif bireylerde hipokampal NOS ekspresyonlarının arttığı belirtilmektedir (136). Bu bilgiler, ketamin'in antidepresan etkinliğinde L-arjinin-NOS yolağının etkin rollerinin bulunduğunu göstermektedir (80).

BDNF, beyinde yaygın olarak bulunan bir nörotrofindir ve aktivasyonu nöronal büyüme, hayatta kalım ve plastisiteyi stimüle eder (9). Son yıllarda gerçekleştirilen çalışmalar, ketamin'in rodentlerde antidepresan-benzeri etki oluşturması için hipokampal piramidal nöronlardaki BDNF aktivitesindeki artışın önemine vurgu yapmaktadır (137). BDNF-knockout farelerde, zorunlu yüzme testi

ile gerçekleştirilen bir çalışmada, subanestezik ketamin'in minimal antidepresan etki oluşturduğu gösterilmiştir (138). Ketamin ayrıca, ökaryotik uzatıcı faktör 2 (eEF2)'nin fosforilasyonunu azaltan ekstrasinaptik NMDA reseptörlerini de bloke etmekte, BDNF üzerindeki inhibisyonu ortadan kaldırmakta ve dendritik ağları kuvvetlendirmektedir (139).

Ketamin uygulamasının, serin fosforilasyonunu artırarak duygu durumu dengeleyici ilaçların da hedefi olan glikojen sentaz kinaz-3 (GSK-3)'ü inhibe ettiği gösterilmiştir. Lityuma benzer bir şekilde, ketamin de GSK-3'ü inhibe eder. Bu fosforilasyon, rodentlerde antidepresan-benzeri etkilerin oluşumu için gereklidir (80). Bir çalışma, ketamin uygulamasının GSK-3 fosforilasyonunu artırdığını ve GSK-3 fosforilasyon knockout farelerde ketamin'in antidepresan etki oluşturmadığını belirtmektedir (140). Diğer bir çalışma, bir GSK-3 inhibitörü olan lityum ile ketamin'in beraber uygulanması sonucunda sinerjistik antidepresan-benzeri etkiler oluştuğunu rapor etmiştir. Benzer şekilde, lityum ve selektif GSK-3 antagonisti (SB 216763) ile düşük doz ketamin kombinasyonunun, antidepresan etkiyi ve sinaptogenezi potansiyelize ettiği gösterilmiştir (141). Buna karşın, antidepresan etkilerin oluşumunda GSK-3'ün rolü henüz netlik kazanmamıştır.

Rodentlerde gerçekleştirilen bir mikrodiyaliz çalışmasında, ketamin'in PFK'da ekstraselüler glutamat seviyelerini artırdığı belirtilmiştir. Bu çalışmada ayrıca, ketamin uygulamasının hipokampal presinaptik mekanizmaları hızla etkileyerek, klasik antidepresanların kronik uygulanması ile oluşan adaptif değişikleri, çok daha kısa sürede oluşturabileceğine vurgu yapılmıştır (142).

Nörotransmitter salıverilmesi, plazma membran bağlantılı proteinlerden olan sintaksin 1A ve SNAP25 (synaptosomal-associated protein 25 kDa) ve sinaptik bir protein olan vezikül-bağlantılı membran protein 2 (VAMP2, vesicle-associated membrane protein 2) proteinlerinin bir araya gelmesi ile oluşan SNARE (soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor attachment protein receptor) komplekslerine gereksinim duyar. Kadavralarda gerçekleştirilen çalışmalarda, depresif bireylerin hipokampus ve PFK bölgelerinde SNARE protein ekspresyon anomalileri tespit edilmiştir (143). Benzer şekilde, depresif bireylerin hipokampal sinaptotagmin I ekspresyonlarının azaldığı, sinapsin I seviyelerinin ise arttığı belirtilmiştir. Bu sonuçlar, ketamin'in antidepresan etkilerinin oluşumunda sinir uçlarındaki vezikül

sayısını düzenlemek suretiyle SNARE kompleks formasyonunu azaltmasının etkili olabileceğini düşündürmektedir.

Ketamin uygulaması, Thr (286)-phosphorylated αCaMKII (calcium/calmodulin dependent protein kinase II) ekspresyonunu azaltmaktadır. Bu durum, ketamin'in antidepresan etkilerinin oluşumunda, CaMKII'nin etkili bir ikincil mesaj yolağı olabileceğini düşündürmektedir (144). Bu sonuçlar, hipokampal nörotransmitter salıverilmesindeki bir azalmanın, ketamin'in antidepresan etkilerinin oluşumunda rollerinin bulunabileceği varsayımını ortaya çıkarmaktadır (145).

Ketamin uygulaması ile antidepresan-benzeri etki oluşumunda, fizyolojik bir NMDA reseptör antagonisti olan magnezyum iyonunun rolünün araştırıldığı bir çalışmada, yüksek dozlarda magnezyum iyonu ile ketamin'in benzer etkiler gösterdiği belirtilmektedir. Bu çalışmada ayrıca ketamin'in, azalmış glutamaterjik aktiviteyi dengelemek için glutamat salıverilmesindeki inhibisyonu ortadan kaldırdığı, AMPA reseptörlerinin aktivitelerinde artışa neden olduğu ve Akt/mTOR yolağını aktive ettiği belirtilmektedir (146).

2.7.4.1.2.3. Ketamin ile Klinik MDB Tedavisi Çalışmaları

2.7.4.1.2.3.1. Tek Doz Çalışmalar

Major depresif bozukluğu bulunan küçük bir hasta grubunda (n=7), tek subanestezik doz ketamin (0.5 mg/kg) infüzyonu ile gerçekleştirilen bir çalışmada, Hamilton Depresyon Derecelendirme Skalası (HDRS)'na göre değerlendirmeler yapılmış, ketamin ile skorlarda anlamlı bir düşüş gözlemlenmiş ve bu etkinin 3 gün boyunca korunduğu rapor edilmiştir (147). Bu deney sonra, daha geniş bir hasta grubunda tekrar edilmiş (n=18) ve benzer sonuçlar elde edilmiştir. Ketamin ile oluşan antidepresan etkinin zamanla azaldığı, fakat tek doz infüzyondan bir hafta sonra bile hastaların bir kısmında terapötik cevap kriterinin karşılandığı belirtilmiştir (148).

2.7.4.1.2.3.2. Tekrarlanan Uygulama Çalışmaları

Tekrarlanan ketamin uygulamaları ile antidepresan-benzeri etkinin sürdürülmesi mümkün gözükmektedir. Tedaviye dirençli depresyon hastaları üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada, haftada üç kere ketamin uygulaması ile 2 haftalık bir tedavi protokolü sonucunda hastaların bir kısmında terapötik etkinin 18 gün devam

ettiği bildirilmiştir (149). Diğer bir çalışmada, haftada bir ya da iki kere ketamin ile 3 hafta tedavi protokolü uygulanması sonucunda hastaların bir kısmında terapötik etkiler gözlemlenmiş, sonraki majör depresif epizod görülme süresinin 70 güne kadar uzadığı ve bu süre içerisinde hastaların kognitif performanslarında bir değişiklik gözlemlenmediği bildirilmiştir (150).

Bu sonuçlar göz önüne alındığında, tekrarlanan subanestezik doz ketamin uygulamasının, güvenilir, iyi tolere edilebilir ve depresyon tedavisinde etkili bir yöntem olduğu düşünülebilir. Fakat bu konuda gerçekleştirilmiş çalışmalardan elde edilen verilerdeki yetersizlik nedeniyle ketamin'in uzun süreli kullanımının önerilmesi için erken olduğu söylenebilir (100).

2.7.4.1.2.3.3. İntihar Engelleyici Etkileri

Ketamin, ayrıca intihar düşüncesini engelleme potansiyeli dolayısıyla da ilgi görmektedir. Yapılan çeşitli çalışmalarda, ketamin uygulamasını takiben intihar düşüncesi skorlarında belirgin bir azalma gözlemlendiği rapor edilmiştir. Bu çalışmalar, intihar düşünce skalası (Scale for Suicide Ideation)'na göre intihar düşüncesinin kısa sürede güçlü bir biçimde engellenebildiğini belirtmektedir. Skorların, infüzyon sonrası 40 dk içerisinde azaldığı ve bu etkinin 4 saat kadar devam ettiği rapor edilmiştir (151). İntihara meyili ve gelecekte olabilecek intiharları tespit etmek için kullanılan, imalı bağlantı testi (Implicit Association Test) ile gerçekleştirilen bir çalışmada ketamin uygulaması ile imalı intihar düşüncelerinin hızla azaldığı ve bu etkinin birkaç hafta kadar devam ettiği rapor edilmiştir (152).

2.7.4.1.2.3.4. Güvenliği ve Tolere Edilebilirliği

Ketamin, yaklaşık yarım asırdan beri güvenli ve etkin biçimde anestezik bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Yirmi yıldan uzun süredir subanestezik dozlarda ketamin, nöropsikiyatrik araştırmalarda, elektrokonvülsif şok terapisi sırasında anestezi ve analjezi, şizofrenik hastalarda provokatif tartışma durumu ve sağlıklı bireylerde psikotik etkiler oluşturmak amacıyla kullanılmaktadır (153).

Literatürde, ketamin uygulaması ile en sık ortaya çıkan yan etkilerin; sedasyon, baş dönmesi, sersemleme, koordinasyon bozukluğu ve bulanık görme olduğu belirtilmektedir. Ketamine bağlı oluşan yan etkilerin, çalışmalara katılan

hastaların büyük bir kısmı için kısmen kabul edilebilir, yarıya yakını için ise kabul edilebilir olduğu bildirilmiştir (154).

Ketamin, güçlü bir psikostimülan olan fensiklidin ile farmakolojik benzerliği nedeniyle suiistimale açık bir ilaç olarak kabul görmektedir (80). Buna karşın, son birkaç 10 yıl içinde ketamin'in hızlı ve güçlü antidepresan etkilerinin ortaya çıkışının, depresyon tedavisinde son yarım asrın en önemli keşiflerinden birisi olduğu yönünde görüşler bulunmaktadır (155).

2.7.4.1.3. Depresyonda Diğer NMDA Reseptör Antagonistleri

Ketamin'in antidepresan olarak kullanımını kısıtlayan en önemli klinik endişeler, halüsinojenik ve psikotomimetik etkileri nedeniyle suiistimal potansiyelinin bulunması ve kronik kullanımı ile gözlemlenen nörodejeneratif etkilerdir. Bu durum, yan etkileri bakımından daha iyi tolere edilebilen ve aynı zamanda oral yoldan uygulanabilecek diğer NMDA reseptör antagonistlerinin antidepresan etkilerinin araştırılmasına sebebiyet vermiştir (4).

Literatürde, antidepresan etkinlikleri ketamine göre daha zayıf olmakla beraber, diğer bazı NMDA reseptör antagonistlerinin de antidepresan etkilerinin bulunduğu belirtilmektedir. Bu ilaçlar ile disosiyatif ve psikotomimetik etkilerde belirgin bir azalma gözlenmesi, depresyon tedavisinde glutamaterjik sistem üzerinden etkili yeni ilaçların geliştirilmesi açısından önem arz etmektedir (156).

AP-7 ve MK-801 gibi NMDA reseptör antagonistleri ile gerçekleştirilen preklinik çalışmalarda gözlemlenen antidepresan-benzeri etkiler, depresyon tedavisinde glutamaterjik sistemin yeni bir terapötik yolak olma olasılığını gündeme getirmiştir (108). Diğer bir non-kompetitif NMDA reseptör antagonisti olan AZD6765 ile antidepresan benzeri etkiler gözlemlenmiş, fakat bu etkinin ketamin kadar kuvvetli ve uzun süreli olmadığı belirtilmiştir (157). Bir morfin türevi ve NMDA reseptör antagonisti olan dekstrometorfan, benzer şekilde zayıf antidepresan etkiler göstermiştir (158). Alzheimer Hastalığı'nın tedavisinde kullanılan bir NMDA reseptör antagonisti olan memantin, rodent çaresizlik modellerinde minimal antidepresan-benzeri etkiler göstermekte (156), fakat BDNF ekspresyonuda belirgin bir artış meydana getirmektedir (159).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Yükseltilmiş Artı Labirenti Test Düzeneği (MAY EPM01-M)

Zorunlu Yüzme Test Düzeneği (MAY FSTM-M)

Pasif Sakınma Test Düzeneği (MAY-PA 1014-M)

Açık Alan Test Düzeneği (MAY OP-M)

Hassas terazi (Sartorius BP 1215)

Homojenizator (Fisher Scientific Model FB50)

Santrifüj Cihazı (Thermo MicroCL 17R)

UV Spektrofotometre (UV-1205 Shimadzu)

Stereo Mikroskop (Zeiss Stereomicroscope Stemi 508)

Sınırlayıcı Hidrofobik Kalem (Sigma)

İnkübatör

Mikrodalga fırın

Humiditiy chamber

Tam Otomatik Rotary Mikrotom (Leica RM 2265,Germany)

80i mikroskop (Nikon, Japonya)

Cerrahi alet seti

Ethovision-XT 11 (Noldus, Netherlands) bilgisayar programı

SPSS 24.0 bilgisayar programı

NIS Elements V 3,09 programı

Image-J programı (NIH, ABD)

3.1.2. Kullanılan Deney Hayvanları

Çalışmamızda, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM)'nden temin edilen 10-12 haftalık, 35-45 gram ağırlığında erkek BALB/c fareler kullanıldı. Hayvanlar, deney protokollerinin başlangıcından 2 hafta önce, deneylerin gerçekleştirildiği DÜSAM-Tıbbi Farmakoloji Psikofarmakoloji Laboratuvarına getirilerek, sabit oda sıcaklığında (22±2 ^{o}C) ve standart laboratuvar koşullarında barındırıldı (12-saat aydınlık/karanlık siklus, aydınlık başlangıç 07:00).

Hayvanlar su ve yeme rahatça erişimi sağlanan kafeslerde, bir kafeste 8 fare bulunacak şekilde barındırıldı. Hayvanlar, test protokollerine aşina değillerdi ve tüm deneyler yarı-ses yalıtımlı ve loş ışıklı bir laboratuvarda her hayvana bireysel olarak 09:00 ve 12:00 saatleri arasında uygulandı. Deney protokolündeki tüm uygulamalar Avrupa Birliği Konseyi Direktifi 86 (24 Kasım 1986; 86/609/EEC) kurallarına göre ve Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (DÜHADEK, 2014-12)'ndan temin edilen etik onay çerçevesinde gerçekleştirildi.

3.1.3. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Fluoksetin (Sigma-Aldrich)
S(+) Ketamin (Merck)
Methiothepin (Sigma-Aldrich)
GYKI-52466 (Sigma-Aldrich)
p-klorofenil alanin (pCPA) (Sigma-Aldrich)
Parafin (İzolab)
Ksilol (Merck)
Etanol (Merck)
Metanol (Merck)
Hidrojen peroksit (Merck)
Fosfat buffered salin (Merck)
Tris-EDTA Buffer (Merck)
Entellan (Merck)
DAB kromojen (Thermo Scientific)
Blocking Solüsyon (Ultra V Block, Thermo Scientific)
Kaspaz-3 antikoru (Santa Cruz Biotechnology)
Biyotinli sekonder antikor (Thermo Scientific)
Streptavidin Peroxidase (Thermo Scientific)
Gill III hematoksilen boyası (Merck)
Harri's hematoksilen solüsyonu (filtre edilmiş) (Merck)
Eozin (Merck)

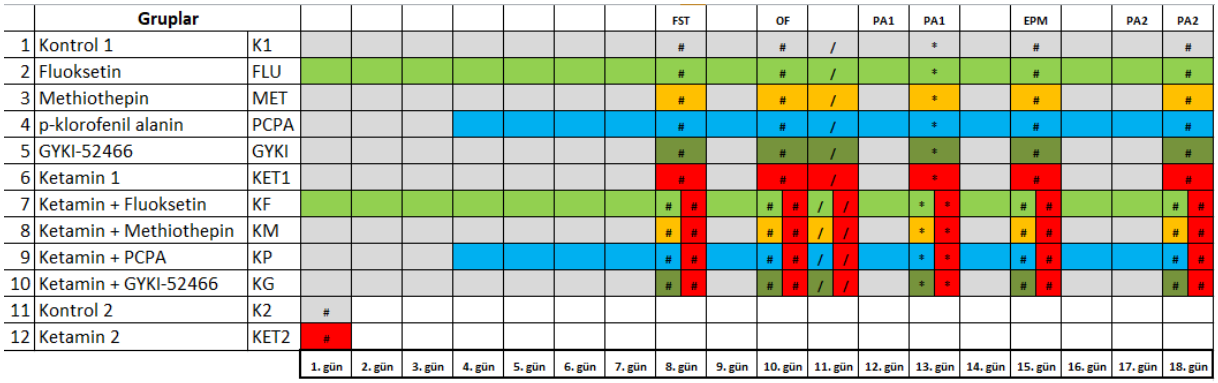
3.2. Yöntem

Çalışmamızda kullanılan ilaçlar, %0.9 salin içinde çözündürülerek, 0.1 ml/10 gram hacminde, intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. Deneklere enjeksiyonlar deney protokolüne göre günün aynı saatinde gerçekleştirildi. Çalışma protokolümüze göre farelere, fluoksetin (20 mg/kg, deney protokolünden önce 7 gün ve tüm deney protokolü süresince), p-klorofenil alanin (pCPA, 150 mg/kg, deney protokolünden önce 4 gün ve tüm deney protokolü süresince) uygulamaları ve ilaç almayan gruplara ise %0.9 salin uygulamaları gerçekleştirildi. S(+) Ketamin (20 mg/kg), methiothepin (0.1 mg/kg) ve GYKI-52466 (20 mg/kg) deneylerden 1 saat önce akut olarak uygulandı, bu gruplara deney yapılmayan günlerde salin enjekte edildi. Kullanılan ilaç dozları, literatürde bulunan önceki çalışmalara göre belirlendi.

Çalışma planına göre hayvanlara; zorunlu yüzme, açık alan, pasif sakınma (2 tekrar) ve yükseltilmiş artı labirenti test protokolleri uygulandı.

1. pasif sakınma (PA1) testi ilk gün deneyinden önce kronik uygulanan ilaçlar (fluoksetin ve pCPA) hariç, yalnızca salin uygulamaları gerçekleştirildi. Akut etkileri incelenen ilaçlar (ketamin, methiothepin ve GYKI-52466), ilk gün deneyinden 1 gün önce ve ikinci gün deneyinden 1 saat sonra uygulandı.

2. PA testi (PA2) ilk gün deneyinden önce kronik uygulanan ilaçlar (fluoksetin ve pCPA) hariç, yalnızca salin uygulamaları gerçekleştirildi. Akut etkileri incelenen ilaçlar (ketamin, methiothepin ve GYKI-52466), ikinci gün deneyinden 1 saat önce uygulandı.



Şekil 4. Deney protokolü.

#enjeksiyonlar deneylerden 1 saat önce gerçekleştirildi,

/enjeksiyonlar deneylerden 1 gün önce gerçekleştirildi,

*enjeksiyonlar deneylerden 1 saat sonra gerçekleştirildi.

FST: Forced swimming test, zorunlu yüzme testi; OF: Open field, açık alan; PA: Passive avoidance, pasif sakınma; EPM: Elevated plus maze, yükseltilmiş artı labirenti.

Deneysel protokolü tamamlanan hayvanlar, servikal dekapitasyon suretiyle sakrifiye edildi. Sakrifikasyon sonrasında, biyokimyasal ve histolojik incelemeler için hayvanların beyinleri alındı. Beyinler sagital bir kesi ile iki hemisfere ayrıldı ve beynin bir hemisferi histopatolojik incelemeler için %10'luk formaldehit solüsyonuna koyuldu. Diğer hemisfer ise malondialdehit (MDA) düzeyleri tayini için -85 ^{o}C dolapta bir gün süreyle bekletildikten sonra, koronal kesitlere ayrılarak, prefrontal korteks (PFK) ve hipokampus dokuları izole edildi. Elde edilen PFK ve hipokampus dokularında, tiyobarbitürik asit (TBA) metodu ile MDA düzeyleri tayini gerçekleştirildi.

3.2.2. Psikofarmakolojik İncelemeler

Resim 2. Davranış deneyleri, denekler.

3.2.2.1. Açık Alan Testi

Resim 3. Davranış deneyleri, açık alan (OF) testi.

Açık alan (OF) testi, rodentlerin keşif davranışlarını, lokomotor aktivitelerini ve anksiyete seviyelerini ölçmek için sıklıkla kullanılan bir testtir. Test, 1932 yılında Calvin Hall tarafından tasarlanmış ve araştırmacı, hayvan çekingenliği konusunda yaptığı çalışmalarda bu düzeneği kullanmıştır (160). Sonrasında araştırmacılar tarafından bu düzenek, hayvanların keşif, hareketlilik ve anksiyete düzeyleri gibi daha spesifik parametrelerinin değerlendirilmesine yönelik geliştirilmiştir.

Açık alan testi, hayvanların doğal olarak açık alanlardan kaçınmaları ve yeni bölgeleri keşfetme dürtüleri temeline dayanır. Bu test, ilaçların anksiyolitik veya anksiyojenik etkilerinin, aynı zamanda da lokomotor aktivite üzerine etkilerinin değerlendirilmesini sağlar (161).

Açık alan test aparatı, etrafı yüksek duvarlarla çevrili kare bir alandır. Kare alanın her bir kenarı 42 cm, duvarların yüksekliği ise 30 cm boyutlarındadır. Aparatın hem zemini hem de duvarları siyah reklidir. Test yapılan alan loş fakat

hayvanın ortamı görüp keşfedebileceği kadar aydınlatılmış olmalıdır. Stresi artırma potansiyelinden dolayı parlak ışıklandırmadan kaçınılmalıdır. Hayvanlar düzeneğe yerleştirildikten sonra, belirlenen süre (5 dk) boyunca serbestçe hareket etmeleri ve etrafı keşfetmeleri beklenir. Bu süre boyunca denekler düzeneğin tepesine yerleştirilen bir kamera sistemi ile kayıt altına alınır ve elde edilen kayıtlar değerlendirilir. Anksiyete seviyesi düşük olan hayvanlar alanda rahatça gezerlerken, yüksek anksiyetesi olan hayvanlar genellikle kenar bölgeleri tercih ederler.

Teste başlamadan önce kamera kaydı başlatılır, hayvan aparatın merkezine nazikçe yerleştirilir ve kronometre başlatılır. Hayvan, serbestçe gezinmesi için 5 dakika boyunca düzenek içerisinde tutulur. Test sonrasında, hayvan kafesine geri koyulur ve aparat temizlenerek bir sonraki test için hazırlanır. Elde edilen veriler EthoVision XT 11 sistemi ile incelenerek değerlendirilir.

Hayvanın test süresince toplam katettiği mesafe hayvanın lokomotor aktivitesi hakkında, aparatın merkezinde geçirdiği süre ve bu bölgeye giriş-çıkış sayıları ise hayvanın anksiyete seviyesi hakkında bilgi verir.

3.2.2.2. Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi

Resim 4. Davranış deneyleri, yükseltilmiş artı labirenti (EPM) testi.

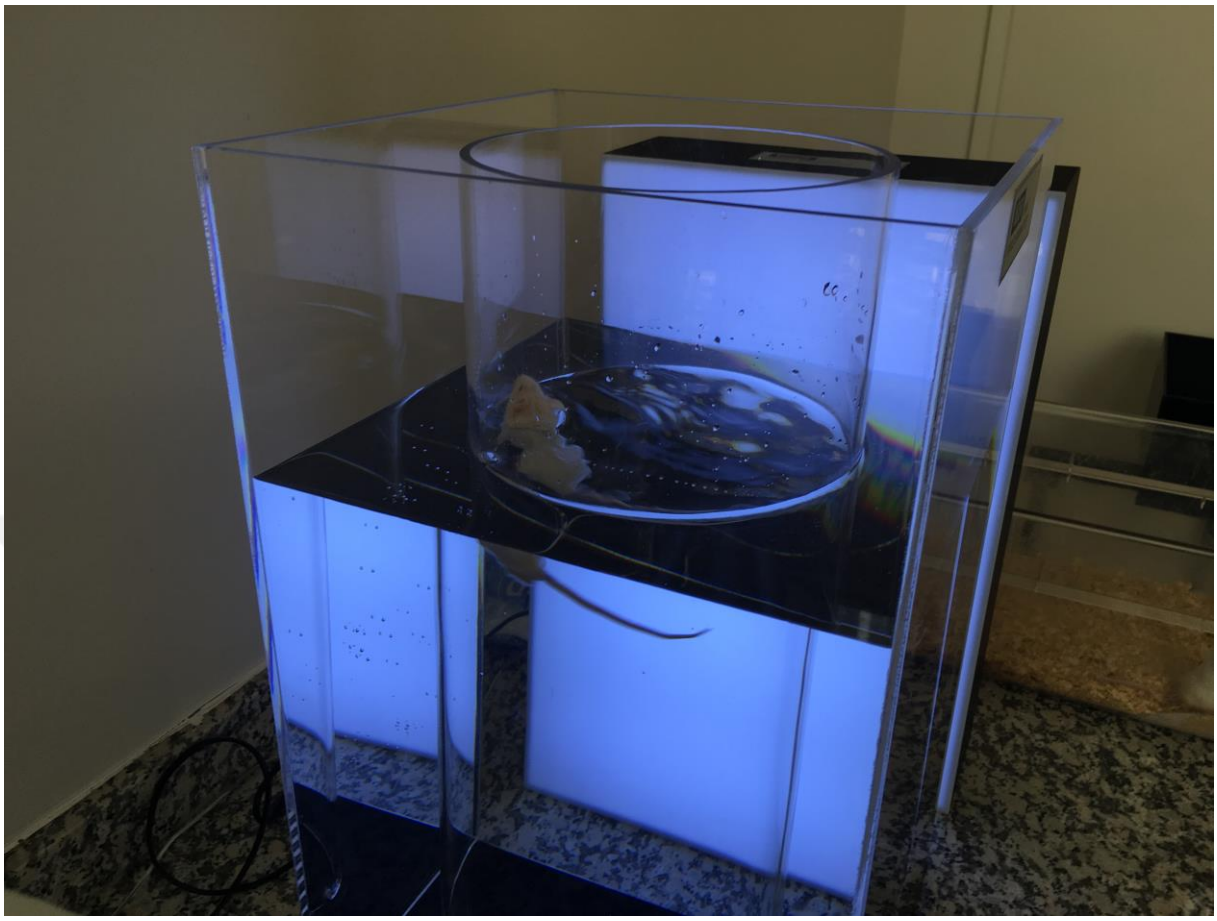
Yükseltilmiş artı labirenti (EPM) testi, anksiyete-benzeri davranış ölçümünde kullanılan en yaygın testlerden birisidir. Bu test, ilk defa 1955 yılında yapılan bir seri deneyler ve gözlemler sonucunda dizayn edilmiş ve tanımlanmıştır (162). Bu test düzeneği daha sonra artı şeklinede modifiye edilmiş ve şimdiki halini almıştır (163). Testin artı şeklinde modifiye hali, anksiyolitik ilaçların etkinliklerinin değerlendirilmesi açısından güçlü bir geçerlilik profiline sahiptir.

EPM testi, farelerin açık ve yüksek alanlardan kaçınmaları ve aynı zamanda farklı bir ortama koyulan hayvanların, doğal olarak çevreyi tanımaya çalışmaları ve hayatta kalmak için strateji geliştirmeleri temeline dayanmaktadır. Hayvanlar genellikle kapalı kolları tercih ederken açık kollardan kaçınırlar. Anksiyolitik etkili ilaç uygulanan hayvanlar, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında açık kollarda daha fazla vakit geçirmeye meyillidirler (164).

Labirent, bir merkez platform etrafında artı şeklinde karşılıklı iki kapalı ve iki açık kol olmak üzere dört koldan oluşan bir düzenektir. Karşılıklı konumlarda bulunan kapalı kollar yükseltilmiş duvarlarla çevrilidir ve diğer karşılıklı kolların ise kenarları açıktır, fakat açık kollar hayvanların düşmesini engellemek amacıyla 1 cm yüksekliğinde şeffaf plakalarla çevrilmiştir. Düzeneğin her bir kolunun eni 5 cm, boyu 25 cm uzunluğundadır. Kapalı kolların yükseltilmiş duvarları 16 cm uzunluğundadır ve merkez platform, kenarları 5 cm olan kare şeklinde bir bölgedir. Labirent, yerden 50 cm yükseklikte olacak şekilde dört ayak üzerine oturtulmuştur. Düzeneğin zemini ve duvarları siyah renkli, açık kollardaki düşmeyi engelleyen plakalar ise şeffaf renktedir.

Denekler labirentin merkez platformuna nazikçe yerleştirildikten sonra 5 dk boyunca labirent üzerinde serbestçe gezinmeleri beklenir. Deney, düzeneğin üzerine yerleştirilen bir kamera vasıtasıyla kayıt altına alınır. Kayıtlar, EthoVision XT 11 sistemi ile değerlendirilerek, deneklerin anksiyete durumları hakkında bilgi sahibi olunur.

3.2.2.3. Zorunlu Yüzme Testi



Resim 5. Davranış deneyleri, zorunlu yüzme testi (FST).

Zorunlu yüzme testi (FST), antidepresan-benzeri davranışları değerlendirmek amacıyla sık kullanılan deney modellerinden birisidir. Bu test, içi su dolu silindir şeklindeki bir tank içerisine bırakılan hayvanların, kaçma ihtimali bulunmayan bu ortamda; yüzme, tırmanma gibi aktif davranışları ile pasif, hareketsiz davranışlarının karşılaştırılması ve skorlanması esasına dayanır.

Bu test, 1970'lerin sonunda Porsolt tarafından tanımlanmıştır (165). Porsolt ve arkadaşları bu yöntem ile hayvanların depresif durumlarının ölçülebileceğini ve antidepresan ilaçların etkilerinin incelenebileceğini göstermiştir. Antidepresan ilaçların büyük bir kısmının, bu testte hareketsiz geçirilen zamanı azalttığı, aktif davranışları ise artırdığı gösterilmiştir. Porsolt'un yayınlarından sonra zorunlu yüzme testi, antidepresan ilaçların etkinliklerinin denenmesi ve yeni ilaçların keşfedilmesi için kullanılan yaygın bir metod haline gelmiştir.

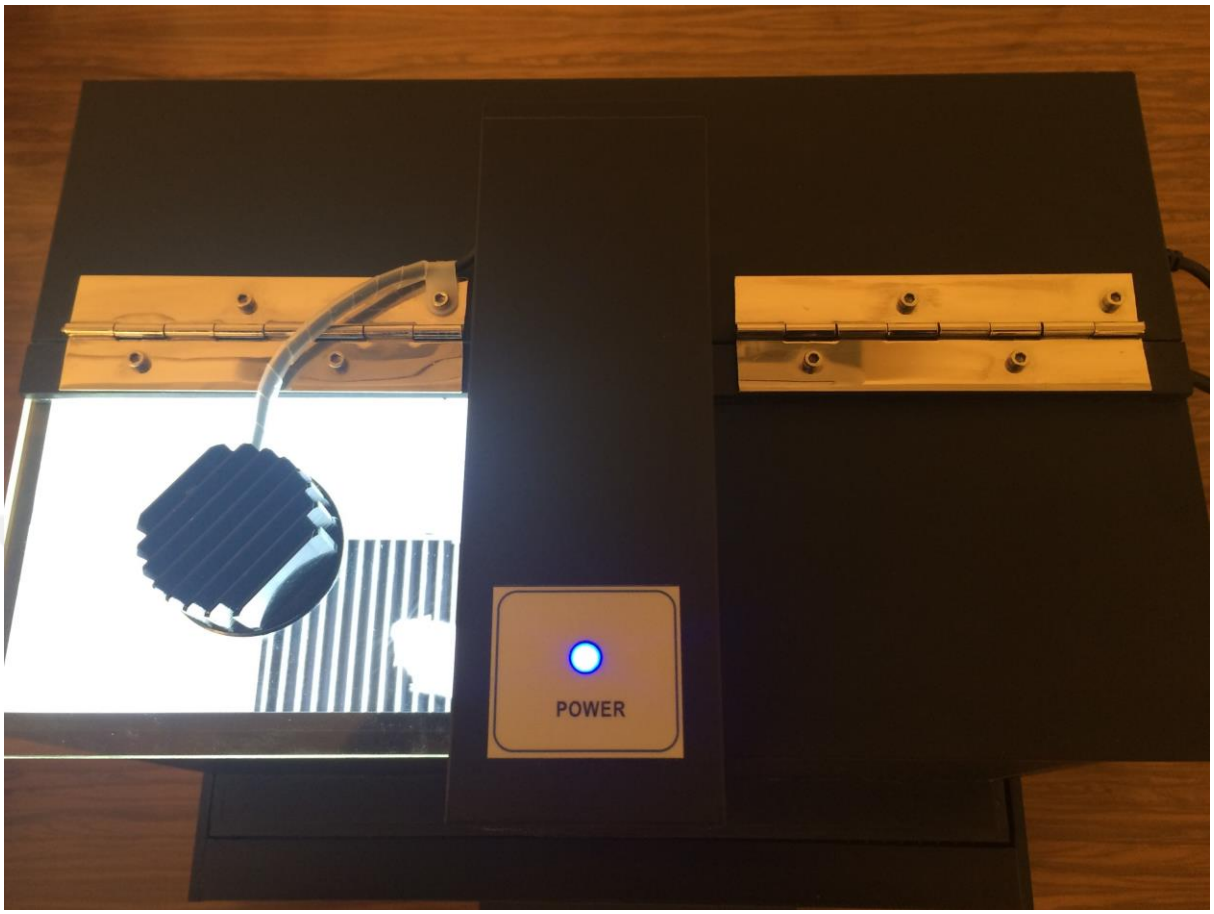
Zorunlu yüzme testi, hayvanların stresli bir durumdan kaçmaya çalışması temeline dayanmaktadır. Başlangıçta hayvanlar derin su içerisinde tipik olarak bu stresli durumdan kurtulmak için çabalarlar, fakat birkaç dakika sonra sadece kafalarını suyun üzerinde tutacak şekilde batmadan yüzmeye adapte olarak hareketsiz bir postüre bürünürler. Hayvanın, kaçmanın mümkün olmadığını anladığı, kurtulmak için çabalamaktan vazgeçtiği ve teslim olduğu an "çaresizlik", bu durum ise "öğrenilmiş çaresizlik" olarak tanımlanır. Hayvanların aktif hareketlerinin azalması ve hareketsiz geçirdiği sürelerin artması, depresyon düzeylerinin arttığını gösterir ve antidepresan ilaçlarla bu durum tersine çevrilebilir. Testten önce antidepresan ilaç uygulaması ile öğrenilmiş çaresizliğin ve hareketsiz zamanın azaltılabileceği belirtilmektedir (166).

Zorunlu yüzme testi aparatı, 25 cm yüksekliğinde ve 10 cm çapında silindir şeklinde bir tanktır. Tank, hayvanın kuyruk ya da patileriyle tank zeminine değemeyeceği şekilde, oda sıcaklığındaki (25 ^{o}C) temiz su ile doldurulur. Tankın su seviyesi üzerinde kalan kısmı hayvanın kaçamayacağı kadar yüksek olmalıdır.
Kayıt sistemi hazırlanır ve kamera pozisyonu kontrol edilir. Hayvan suya bırakılmadan önce kayıt başlatılır. Sonra hayvan, kafası suyun üzerinde kalacak şekilde nazik ve yavaşça suya bırakılarak kronometre başlatılır.

Test süreleri 4 dk ile 20 dk arasında değişmesine rağmen, araştırmalarda 6 dk test süresinin kullanımı yaygındır. Test düzeneğinin üzerine yerleştirilen bir kamera vasıtası ile her hayvanın hareketleri 6 dk boyunca kaydedilir. İlk 2 dk boyunca genellikle bütün hayvanlar aktif ve hareketli davranışlar sergilerler. Bu durumun araştırma sonuçlarını etkilemesini engellemek için, yalnızca kayıdın son 4 dk'sı değerlendirilir. Hayvanların son 4 dk içerisindeki aktif, hareketli davranışları ile hareketsiz geçirdiği süreler EthoVision XT 11 sistemi ile incelenir.

Test boyunca, araştırmacı hayvanları izlemeli ve her hayvanın yüzme eylemini gerçekleştirebildiğinden emin olmalıdır. Araştırmacı, hayvanın suya battığını ya da yüzme yetisine sahip olmadığını tespit ederse, hayvanı tanktan hemen çıkarmalıdır. Test tamamlandıktan sonra kayıt durdurulur ve hayvan tanktan çıkartılır, kuru bir havlu ile kurutulduktan sonra kafesine geri koyulur.

3.2.2.4. Pasif Sakınma Testi



Resim 6. Davranış deneyleri, pasif sakınma (PA) testi.

Pasif sakınma testi, psikofarmakoloji alanında sıklıkla kullanılan, hayvanlarda korku koşullanması ve sakınmaları temeline dayanan bir davranış testidir. Pasif sakınma testi, korku oluşturan öğrenilmiş bir tecrübenin hayvan tarafından hatırlanması ve bu durumun tekrarlanmasından sakınması temeline dayanır. Bu tip öğrenmede, geçmişte yaşanan kötü bir tecrübe, gelecekte bu durumdan sakınma içgüdüsü şeklinde kendini gösterir (167). Genellikle hayvanlar, patilerine uygulanan kısa süreli elektrik şoku gibi kötü bir tecrübe ile koşullanır ve bu durum hayvanda bir sakınma tepkisine yol açar. Hayvanın bu kötü tecrübeden sakınmayı öğrenmesi, içgüdülerini baskılaması ile oluşur. Yaşanılan kötü tecrübenin, elektrik şoku gibi aktif bir uyaran kaynaklı olması gerekir. Pasif sakınma deneyinin amacı, kötü bir tecrübeye maruz kalan rodentlerin korku koşullanmaları ve bu durumdan sakınmayı öğrenmelerini değerlendirmektir.

Pasif sakınma deneyi, arada açılır-kapanır bir kapı ile birbirine bağlanan, bir aydınlık ve bir karanlık odası bulunan bir düzenekte gerçekleştirilir. Rodentler aydınlık ortamlardan hoşlanmazlar, bu yüzden aydınlık odaya koyulan hayvanlar içgüdüsel olarak karanlık odaya geçmeyi tercih ederler. Hayvanların bir süre aydınlık odaya alışmaları beklenir, sonra aradaki kapının açılması ile karanlık odaya geçen hayvanlar elektrik şokuna maruz kalırlar. Hayvanın içgüdüsel olarak karanlığı tercih etmesi, böylece korku duygusu ile bütünleşir. Tekrar aydınlık odaya koyulan hayvan, şok ile bütünleştirdiği tecrübesi ile bu sefer karanlık odaya girmekten kaçınacaktır (168).

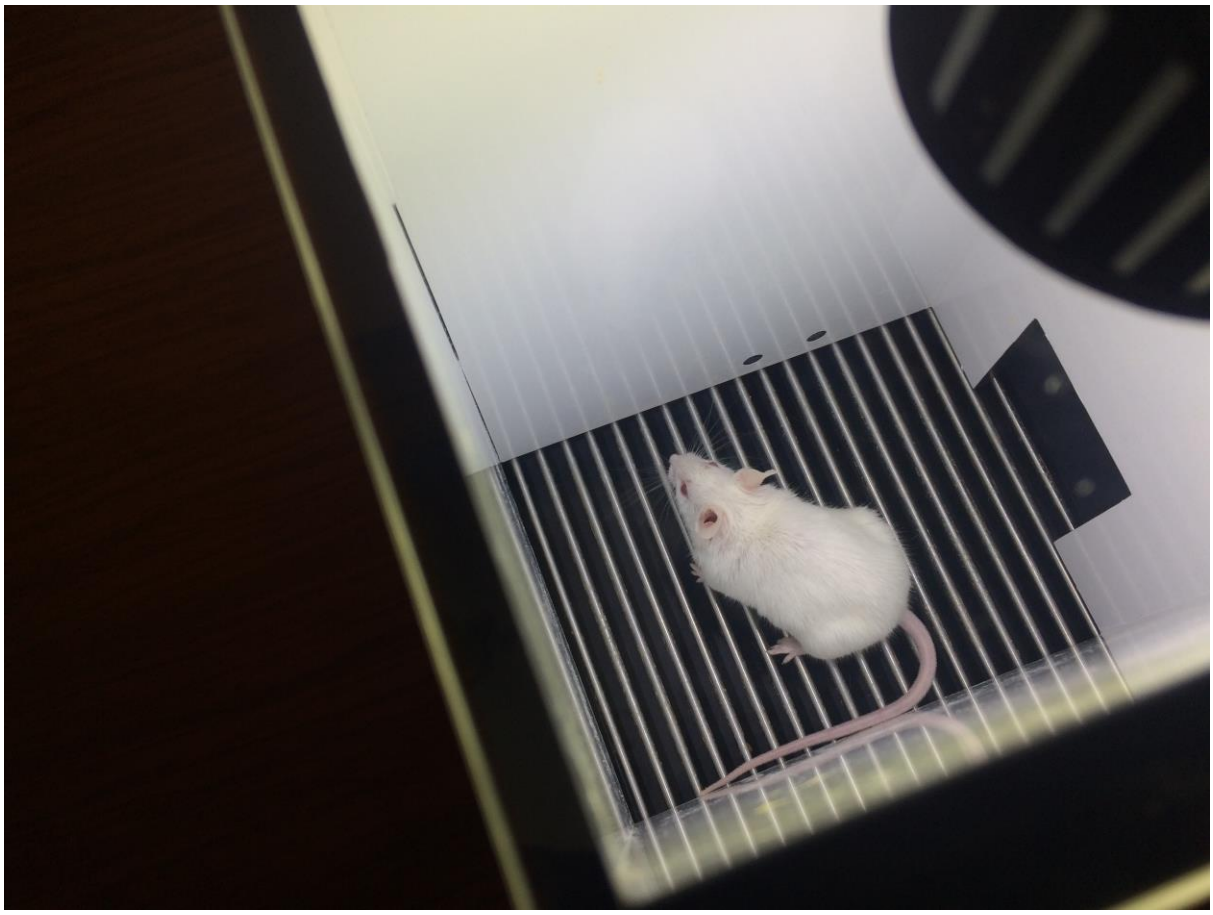
Pasif sakınma deneyi, ses izolasyonlu bir odada gerçekleştirilmeli ve hayvanlar deney yapılan odadan farklı bir odada barındırılmalıdırlar. Bu gereklilik, deney gerçekleştirilirken hayvanların çıkarabilecekleri sesleri diğer hayvanların duymalarını engellemek içindir.

Fazla stres ya da korku sakınma tecrübesini etkileyebileceği için, aradaki kapı açılmadan önce tüm hayvanlar sakin durumda olmalıdır. Bu yüzden, hayvanların aydınlık odaya alışma periyodları mümkün oldukça uzun tutulmalıdır. Bu sayede, hayvanlar aydınlık odaya aşina olurlar. Hayvanlara uygulanan şok, hayvanın donması veya zıplamasına neden olmayacak fakat bu kötü tecrübeden kaçınmasını sağlayacak şiddette olmalıdır (0,05-1,5 mA, 1 sn).

Pasif sakınma test protokolü;

Pasif sakınma test düzeneğinin bir odası bir ışık kaynağı ile aydınlatılırken diğer oda karanlıktır.

Alıştırma aşaması



Resim 7. Davranış deneyleri, pasif sakınma testi, alıştırma aşaması.

Hayvan, karanlık odaya arkası dönük olacak şekilde dikkatlice aydınlık odaya yerleştirilir (başlangıç pozisyonu). Bu prosedür, her seferinde aynı şekilde tekrarlanmalıdır. Hayvan, çevreyi incelemesi ve ortama alışması için bir süre bu odada tutulur.

Öğrenme aşaması

Bu sürenin sonunda iki odayı ayıran kapı açılır. Karanlık odayı gören hayvan hızlıca bu odaya yönelir ve içeri girer. Hayvanın dört patisi de karanlık odaya girdiğinde kapı kapanır ve elektrik şoku uygulanır (0,05-1,5 mA, 1 sn). Hayvanın karanlık odayı hatırlaması için, 10 saniye bu odada kalması beklenir. Sonra hayvan kafesine geri koyulur.

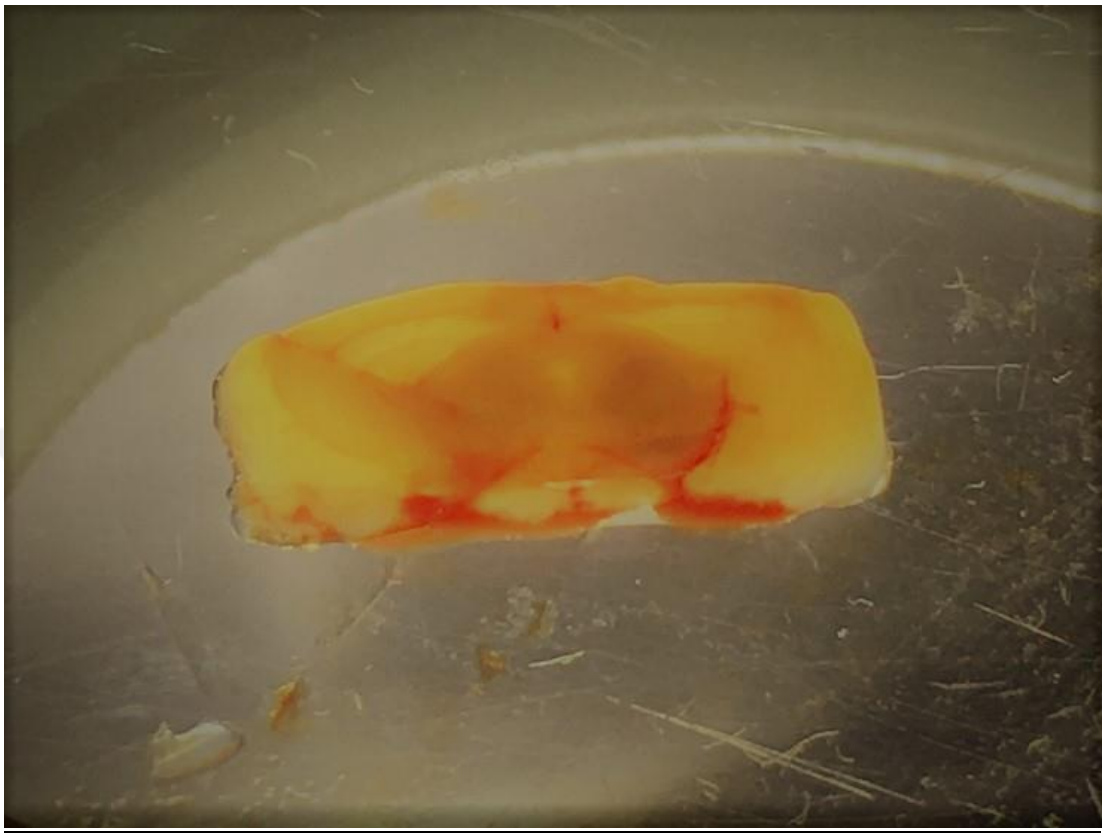
Hatırlama testi

Öğrenme aşamasını tamamlayan hayvanlar için ertesi gün tekrar aynı protokol uygulanır. Aydınlık odaya koyulan hayvan, önceki gün yaşadığı kötü tecrübeyi hatırlayarak kapı açıldığında karanlık odaya girmekten sakınacaktır. İkinci gün, odaları ayıran kapı açıldıktan sonra hayvanların karanlık odaya geçme süreleri ölçülür. Bu süre, "geçiş süresi (step-through latency)" olarak adlandırılır ve öğrenme düzeylerini gösterir.

Test, hayvanın karanlık odaya geçmesi ile sonlandırılır. Eğer hayvan 5 dakika (300 sn) boyunca karanlık odaya geçmezse, bu süre "geçiş süresi" olarak değerlendirilir ve deney sonlandırılır.

3.2.3. Biyokimyasal İnceleme

3.2.3.1. Malondialdehit Düzeyleri Tayini



Resim 8. Biyokimyasal analizler, beyin koronal kesisi, hipokampus.

Malondialdehit (MDA), lipit peroksidasyon ürünlerinden biridir. Doku MDA seviyeleri incelenerek, oksidasyon düzeyleri hakkında bilgi sahibi olunabilmektedir. MDA seviyeleri, tiyobarbitürik asit metodu ile hesaplandı. Bu metod; MDA'nın düşük PH ve yüksek sıcaklıkta, nükleofilik ekleme reaksiyonu ile 2-tiyobarbitürik asit ile reaksiyona girerek, kırmızı florasan ve 532 nanometrede pik absorbansı ölçülebilen bir ürün oluşturması temeline dayanmaktadır (169).

İzole edilen PFK ve hipokampus dokularının ağırlıkları, hassas terazi (Sartorius BP 1215) ile hesaplandı. Dokular, 0.5 ml %10 ve 4.5 ml %5 (ağırlık/hacim, a/h) trikloroasetik asit (TCA) solüsyonu eklenerek homojenize edildi (Fisher Scientific Model FB50). Elde edilen homojenat 4500 rpm'de 15 dk santrifüj edildi (Thermo MicroCL 17R). Santrifüj tüpünden alınan 1 ml süpernatant ayrı bir tüpe aktarıldı ve üzerine 1 ml %0.67 TBA (a/h) ilave edildi. Karışım, 100 ^{o}C'de 10

dk kaynatıldı. Karışım soğuduktan sonra spektrofotometre ile 532 nm'de absorbansları ölçüldü (UV-1205 Shimadzu). Elde edilen veriler, seyreltme faktörleri hesaba katılarak, molar ekstinksiyon katsayısı kullanılarak nmol/gram doku şeklinde hesaplandı ve ifade edildi.

3.2.4. Histolojik İnceleme

3.2.4.1. Histolojik Takip

Deneklerden alınan PFK doku örnekleri %10'luk tamponlanmış nötral formalin içerisine alındı. 16 saat süreyle formalinde bekletildikten sonra tespit işlemine tabi tutuldu. Tespit işlemi tamamlanan dokular 12 saat süreyle akarsu altında yıkanmak suretiyle formalinden arındırıldı. Bu işlemi müteakiben, dehitratasyon işlemi için sırasıyla %70, %80, %90 ve %96'lık alkollerde (etanol) 8 saat süreyle bekletilen dokular, daha sonra saf alkol (%99,9) içinde 2x20 dk bekletildikten sonra sudan arındırma işlemi tamamlandı. Alkolü dokudan uzaklaştırmak ve şeffaflaştırmak amacıyla, dokular önce 2x15 dk ksilolde bekletildikten sonra, parafin/ksilol (1/1, h/h) içerisinde 1 saat bekletilen dokular saf parafin içinde 4 saat süreyle tutuldu. N-filtrasyon işlemi sonrasında dokular parafin bloklara gömüldü. Tam otomatik rotary mikrotom (Leica RM 2265,Germany) kullanılarak, her bir parafin bloktan 4-6 μm koronal anterior kesitler alındı. Kesitlere, Hematoksilen-Eosin (H-E) ve kaspaz-3 immünohistokimya metodları uygulandı. Hazırlanan preparatları değerlendirmek için, 80i mikroskop (Nikon, Japonya) ve NIS Elements V 3,09 programı kullanıldı.

3.2.4.2. Hematoksilen-Eozin Boyama Protokolü

Parafin bloklardan alınan kesitler ksilolde parafinden arındırılarak, azalan konsantrasyonlarda alkolden geçirilerek en son distile su ile yıkandı. Harri's hematoksilen solüsyonunda (filtre edilmiş) 8 dk kadar bekletildi. Akarsuda 5 dk bekletilen kesitler hematoksilenden arındırıldı. %1'lik asit-alkol solüsyonuna bir defa daldırılıp-çıkartılan kesitler çeşme suyundan geçirilerek diferansiyasyon sağlandı. 10 dk çeşme suyunda yıkanan kesitler %80'lik etil alkolde 2 dk bekletildi. Kesitler, zıt-boyama işlemi için eozin-floksin solüsyonunda 2 dk kadar tutuldu. Parlatma ve

dehidratasyon amacıyla yükselen konsantrasyonlarda etanol serilerinden ve ksilolden geçirildi ve entellan ile kapatıldı.

3.2.4.3. İmmunohistokimya Protokolü

Prefrontal korteks dokusunda kaspaz-3 ekspresyon tayini için HRP tekniğine göre immunohistokimya uygulaması gerçekleştirildi (170). Rutin histolojik takiple bloklanan beyin dokularından alınan 5µm kalınlığındaki kesitlere apoptozis marker değerlendirmesi amacıyla Kaspaz-3 antikoru ile immunohistokimya yapıldı. Bloklardan lamlara alınan kesitler, parafin depolimerizasyonu için 55 °C ayarlı inkübatöre 30 dk süreyle bırakıldı. İnkübatörden alınan doku kesitleri 30'ar dakika 2 seri ksilol şalesinde bekletildi. Ksilolden alınan kesitler daha sonra azalan alkol (etanol) serilerinde (%100, %96, %90, %80, %70) 5'er dk dehidre edilerek distile suya kadar getirildi. Distile suda 10 dk bekletilen kesitler, 3x5 dk Fosfat Buffered Salin (PBS)'de yıkandı. PBS'te bekletilen kesitler Tris-EDTA Buffer'da 90 °C'ye ayarlı mikrodalga fırında Antijen Retrieval'a tabi tutuldu. Antijen retrieval, 5'er dakikadan 3 tekrar şeklinde uygulandı. Her 5 dakika sonunda kesitleri barındıran şale, mikrodalgadan alınarak oda ısısına gelmesi beklendi ve şalede azalan Tris-EDTA Buffer seviyesi stoktan eklenerek tamamlandı. Antijen retrieval uygulandıktan sonra oda ısısına gelen kesitler, 3x5 dk PBS'te yıkandı. Kesitlerde yer alan Endojen peroksidaz blokajı için doku örnekleri 15 dk metil alkolde hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H_2O_2) çözeltisine bırakıldı. H_2O_2'de bekletilen kesitler 3 x 5 dk süreyle PBS'te yıkandı. Yıkama işleminden sonra, dokuların etrafı sınırlayıcı hidrofobik kalem (Sigma) ile çizildi. Nonspesifik antikor bağlanmasını engellemek için doku kesitleri 7 dk Blocking Solüsyona (Ultra V Block, Thermo Scientific) tabi tutuldu. Blocking solüsyon aşamasından sonra PBS'te yıkama yapılmadan doku kesiti içeren alanlara PBS'te 1:300 oranında dilue edilen kaspaz-3 antikoru (Santa Cruz Biotechnology) damlatıldı. Kaspaz-3 ile tamamen örtülen doku kesitleri humiditiy chamber'a alınarak 4 °C'de gece boyu bekletildi. Antikor inkübasyonu sonrasında alınan kesitler 3x5 dk PBS'te yıkandı. Yıkanan kesitlere biyotinli sekonder antikor (Thermo Scientific) damlatıldı ve oda ısısında 20 dk bekletildi. Daha sonra kesitler 3x5 dk PBS'te yıkandı. Yıkanan kesitlere, sekonder antikora tutunan Streptavidin Peroxidase (Thermo Scientific) damlatıldı ve oda ısısında 20 dk

bekletildi. Daha sonra kesitler 3x5 dk PBS'te yıkandı. Strepatividin peroksidaz'ın ışık mikroskobunda görülebilir hale gelmesi için kesitlere DAB kromojen (Thermo Scientific) damlatıldı. Reaksiyon, ışık mikroskobu altında izlendi. Reaksiyon başladığında kesitler stop solüsyonu olarak kullanılan PBS'e alınarak reaksiyon sonlandırıldı. Zıt-boyama için kesitler Gill III hematoksilen boyası (Merck) ile 15 sn boyandı. Zıt-boyama uygulanan kesitler sırasıyla artan alkol serilerinde (%70, %80, %90, %96, %100) 5'er dk bekletildi. Saf alkolden sonra kesitler 30'ar dk 2 seri ksilolde bekletildi. Ksilolde parlaklığını kazanan doku kesitleri entellan ile kapatıldı. Kapatılıp kurumaya bırakılan kesitler ışık mikroskobu altında incelendi ve kaspaz-3 reaksiyon skalası elde edilmesi için preparatlardan elde edilen mikrograflar Image-J (NIH, ABD) programında analize alındı ve gruplar arasında kaspaz-3 pozitiflik yüzdesi değerlendirildi.

3.2.5. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler, SPSS 24 programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirildi. Gruplar arasında anlamlı farklılık tespit edilmesi durumunda, post hoc Tukey testi ile farklılıkların hangi gruplar arasında olduğu belirlendi. İkili grupların karşılaştırılmasında Student's t testi kullanıldı. Grupların önceki ve sonraki verilerinin karşılaştırılmasında ise eşleştirilmiş t testi (paired t test) kullanıldı. P değerinin 0.05'ten küçük olması durumunda farklılıklar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. Sonuçlar, ortalama ± standart hata (SEM) olarak gösterildi.

4. BULGULAR

4.1. Ağırlık Değişimi

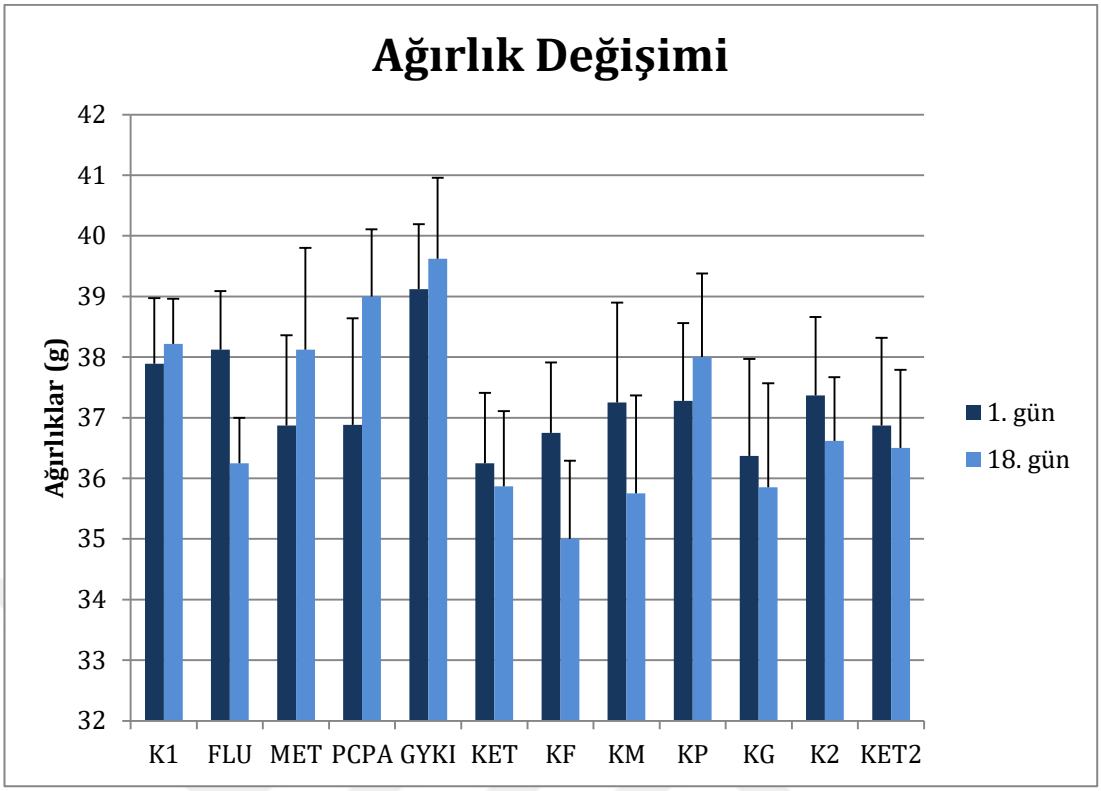
Deneylerden önce ve deneyler sonrasında denek ağırlıkları ölçülmüş olup, ağırlık ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur. Grupların önceki ve sonraki ağırlıkları arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0.05$, Tablo 1 ve Grafik 1).

Tablo 1. Deneklerin ağırlık değişimi.

K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466, K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

Gruplar	1. gün ağırlık (g)	18. gün ağırlık (g)	Değişim (g)
K1	37,89±1,08	38,22±0,74	0,33
FLU	38,12±0,97	36,25±0,74	-1,87
MET	36,87±1,49	38,12±1,68	1,25
PCPA	36,88±1,76	39±1,11	2,12
GYKI	39,12±1,07	39,62±1,34	0,5
KET1	36,25±1,16	35,87±1,24	-0,38
KF	36,75±1,16	35±1,29	-1,75
KM	37,25±1,65	35,75±1,62	-1,5
KP	37,28±1,28	38±1,38	0,72
KG	36,37±1,6	35,85±1,72	-0,52
K2	37,37±1,29	36,62±1,05	-0,75
KET2	36,87±1,45	36,5±1,29	-0,37

Hesaplamalarda eşleştirilmiş t testi (paired t test) kullanıldı.



Grafik 1. Deneklerin ağırlık değişimi. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda eşleştirilmiş t testi (paired t test) testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466, K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

4.2. Açık Alan Testi Bulguları

İlaç uygulamalarını takiben 1 saat sonra gerçekleştirilen açık alan (OF) testi sonuçları Ethovision XT 11 programı ile değerlendirilmiş olup, grupların toplam katettikleri mesafe ve hız ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur (Tablo 2, Grafik 2 ve Grafik 3).

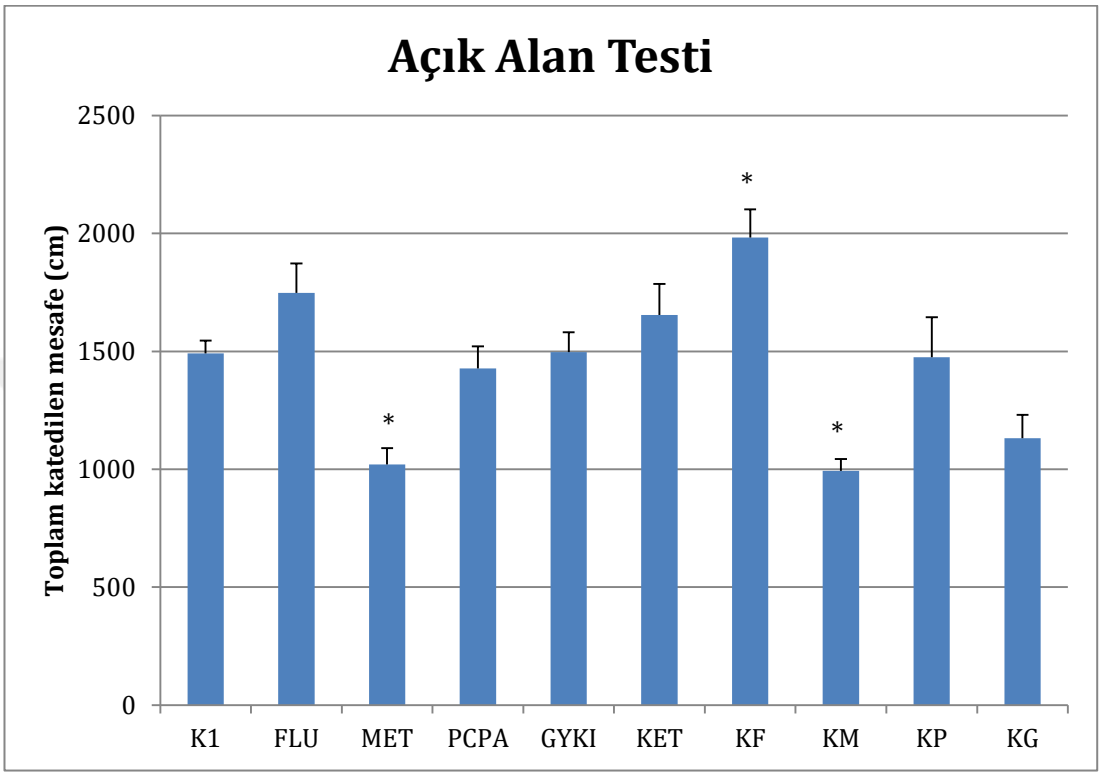
Tablo 2. Grupların açık alan testi sonuçları.

K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

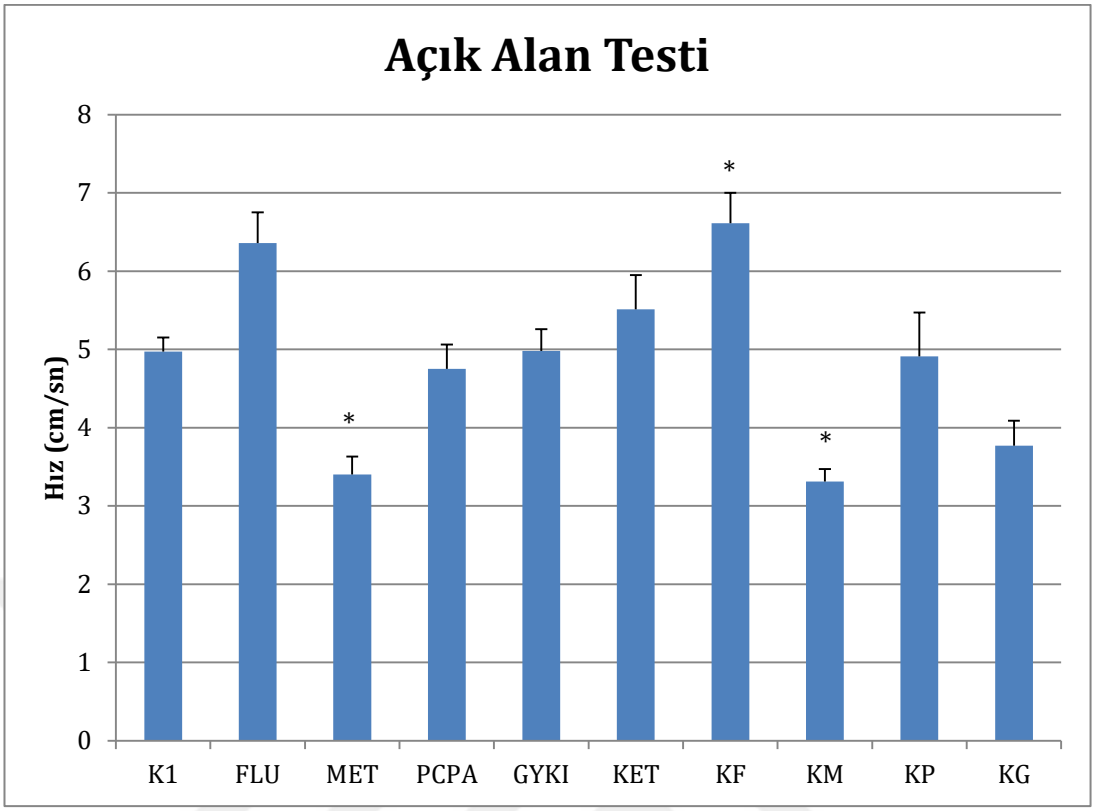
Gruplar	Mesafe (cm)	Hız (cm/sn)
K1	1491±54	4,97±0,18
FLU	1748±124	6,36±0,39
MET	1020±70 *	3,4±0,23 *
PCPA	1427±94	4,75±0,31
GYKI	1496±85	4,98±0,28
KET1	1654±132	5,51±0,44
KF	1983±119 *	6,61±0,39 *
KM	993±50 *	3,31±0,16 *
KP	1475±170	4,91±0,56
KG	1132±98	3,77±0,32

*$p<0.05$ K1 (Kontrol 1) grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.

K1 grubu ile karşılaştırıldığında, hız ve toplam katedilen mesafe bakımından, MET ($p<0.05$) ve KM ($p<0.05$) gruplarında azalma gözlemlenirken, KF ($p<0.05$) grubunda artış gözlemlenmiştir (Tablo 2, Grafik 2 ve Grafik 3).



Grafik 2. Açık Alan Testi bulguları, toplam katedilen mesafe. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. *$p<0.05$ K1 (Kontrol 1) grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.



Grafik 3. Açık Alan Testi bulguları, hız. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. *p<0.05 K1 (Kontrol 1) grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

Gerçekleştirilen açık alan (OF) testi sonuçları Ethovision XT 11 programı ile değerlendirilmiş olup, grupların merkeze giriş sayılarının ve merkezde geçirilen sürelerin ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur (Tablo 3, Grafik 4 ve Grafik 5).

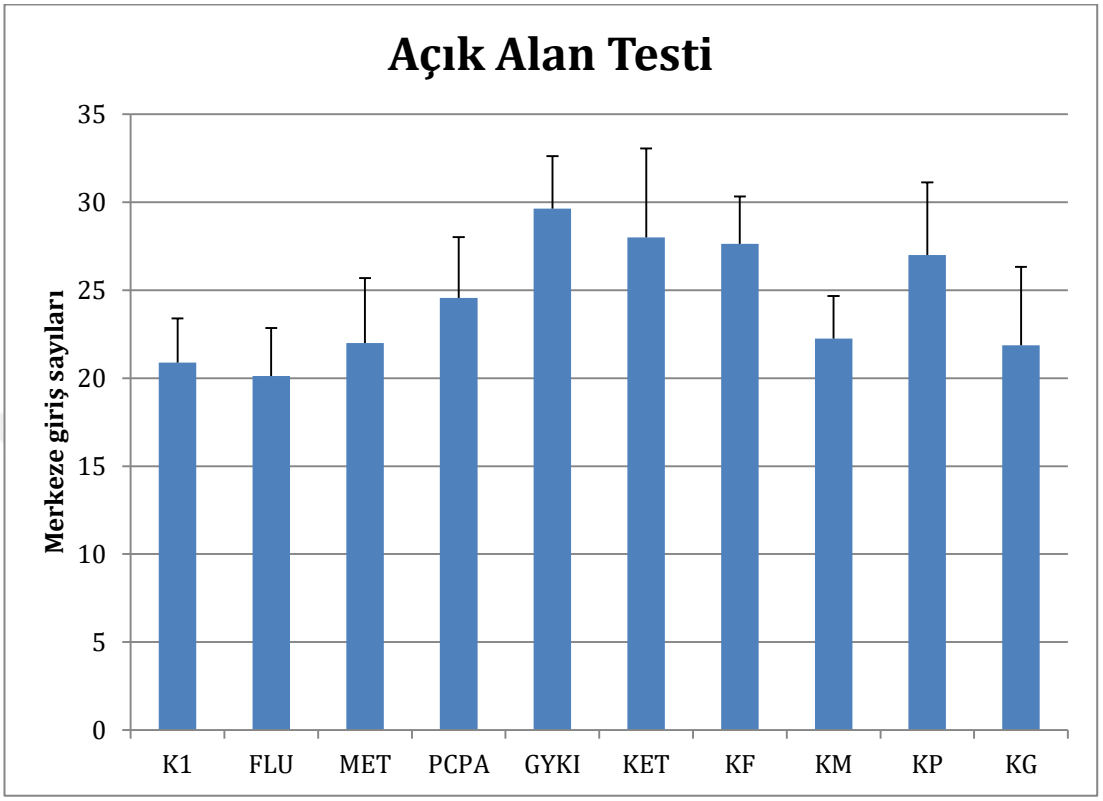
Tablo 3. Grupların açık alan testi sonuçları.

K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

Gruplar	Merkeze giriş sayıları	Merkezde geçirilen süre (sn)
K1	20,88±2,51	51±3,06
FLU	20,12±2,72	82±4,32
MET	22±3,69	60±8,99
PCPA	24,55±3,46	89±5,59*
GYKI	29,62±2,99	90±7,52*
KET1	28±5,05	81±6,9
KF	27,62±2,69	88±3,06
KM	22,25±2,41	71±13,64
KP	27±4,11	93±10,42*
KG	21,87±4,45	76±11,54

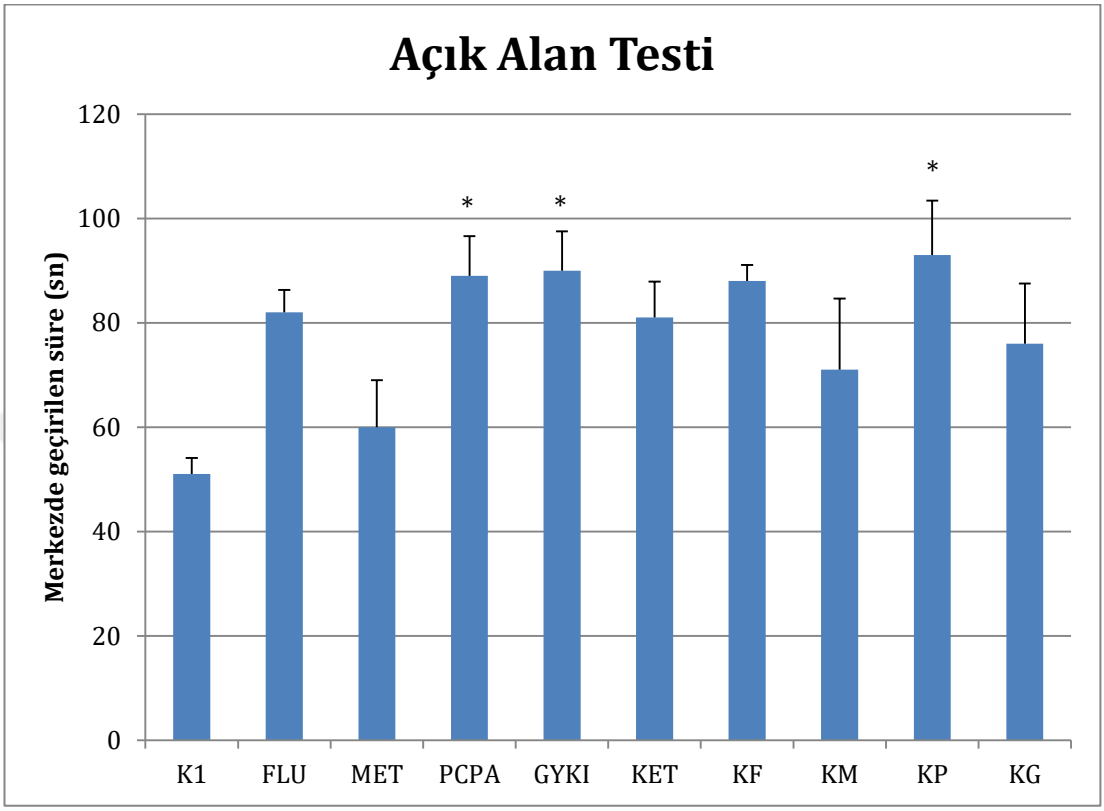
*$p<0.05$ K1 (Kontrol 1) grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.

Grupların merkeze giriş sayıları açısından gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0.05$, Tablo 3 ve Grafik 4).



Grafik 4. Açık Alan Testi bulguları, merkeze giriş sayıları. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

K1 grubu ile karşılaştırıldığında merkezde geçirilen süre, pCPA ($p<0.05$), GYKI ($p<0.05$) ve KP ($p<0.05$) gruplarında artış göstermiştir (Tablo 3 ve Grafik 5).



Grafik 5. Açık Alan Testi bulguları, merkezde geçirilen süre. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. *$p<0.05$ K1 (Kontrol 1) grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

4.3. Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi Bulguları

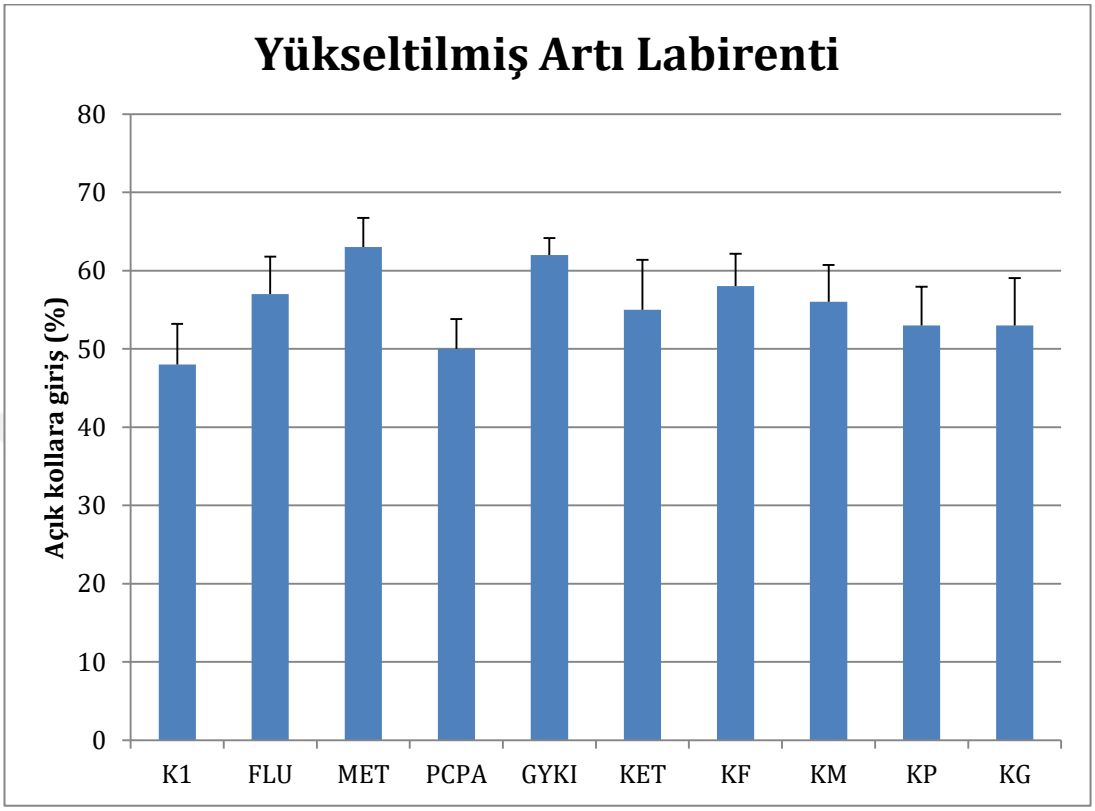
İlaç uygulamalarını takiben 1 saat sonra gerçekleştirilen yükseltilmiş artı labirenti (EPM) testi sonuçları Ethovision XT 11 programı ile değerlendirilmiş olup, grupların açık kollara giriş ve açık kollarda geçirilen süre yüzdelerinin ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur (Tablo 4, Grafik 6, Grafik 7).

Tablo 4. Grupların yükseltilmiş artı labirenti testi sonuçları.
K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

Gruplar	Açık kollara giriş (%)	Açık kollarda geçirilen süre (%)
K1	48±5,19	21±0,85
FLU	57±4,78	23±3,3
MET	63±3,75	24±3,12
PCPA	50±3,79	27±3,92
GYKI	62±2,17	34±1,83*
KET1	55±6,37	29±3
KF	58±4,16	27±1,96
KM	56±4,73	23±3,12
KP	53±4,92	25±2,69
KG	53±6,05	30±2,84

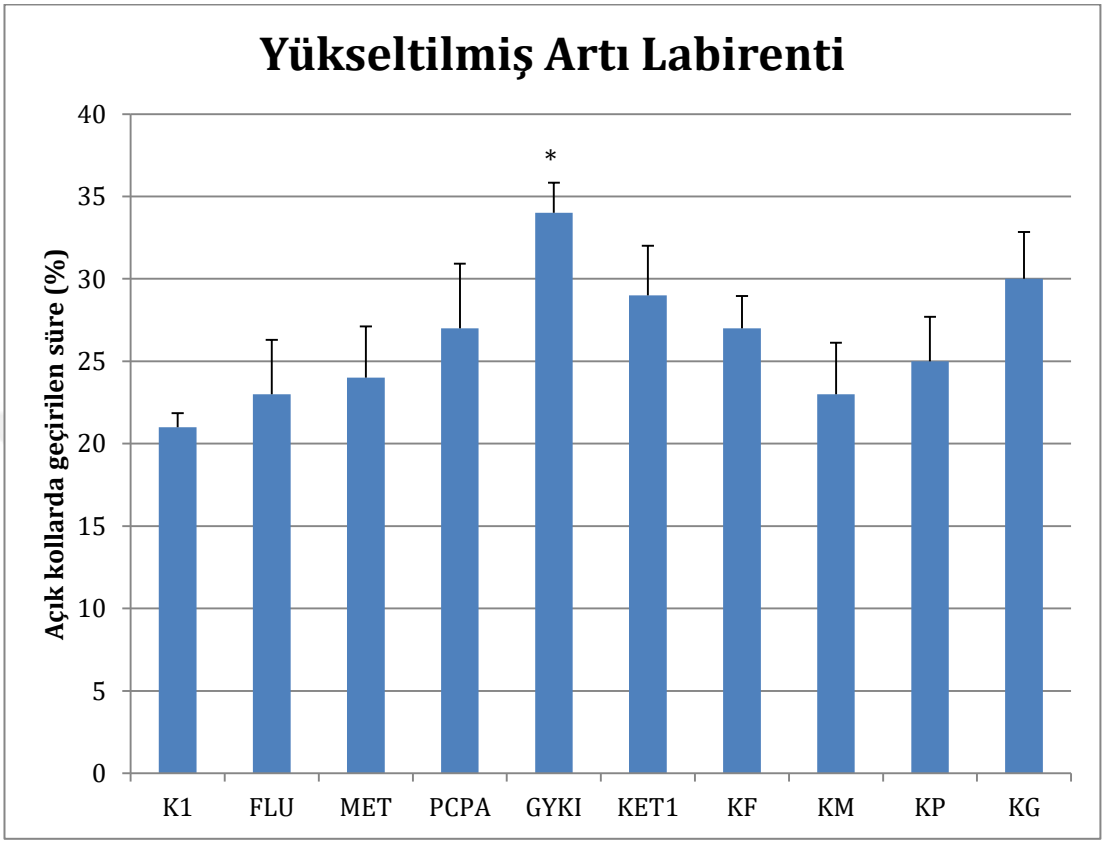
*p<0.05 K1 (Kontrol 1) grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.

K1 grubu ile karşılaştırıldığında açık kollara giriş yüzdeleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0.05$, Tablo 4 ve Grafik 6).



Grafik 6. Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi bulguları, açık kollara giriş yüzdeleri. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

K1 grubu ile karşılaştırıldığında açık kollarda geçirilen süre yüzdeleri bakımından GYKI ($p<0.05$) grubunda artış gözlemlenmiştir (Tablo 4, Grafik 7).



Grafik 7. Yükseltilmiş Artı Labirenti Testi bulguları, açık kollarda geçirilen süre yüzdeleri. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. *$p<0.05$ K1 (Kontrol 1) grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

4.4. Zorunlu Yüzme Testi Bulguları

İlaç uygulamalarını takiben 1 saat sonra gerçekleştirilen zorunlu yüzme testi (FST) sonuçları Ethovision XT 11 programı ile değerlendirilmiş olup, grupların hareketsiz geçirdikleri süre ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur (Tablo 5, Grafik 8).

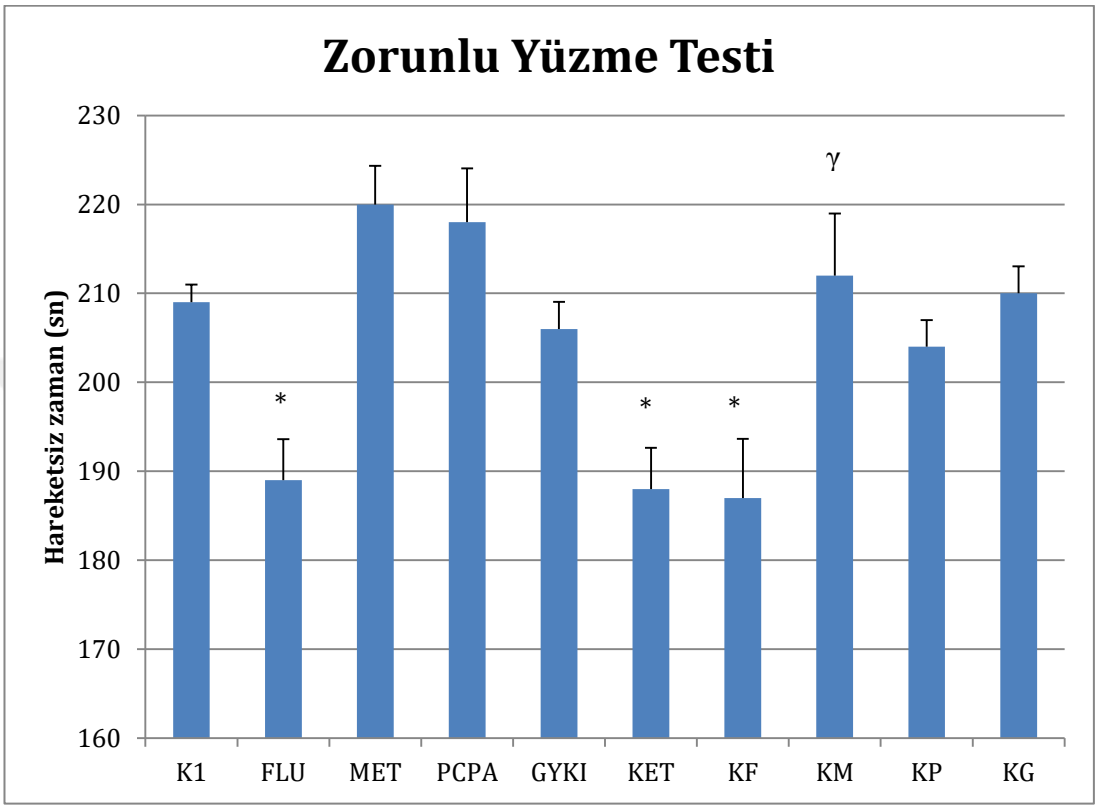
Tablo 5. Grupların zorunlu yüzme testi sonuçları.

K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

Gruplar	Hareketsiz zaman (sn)
K1	209±2
FLU	189±4,61*
MET	220±4,34
PCPA	218±6,05
GYKI	206±3,03
KET1	188±4,65*
KF	187±6,64*
KM	212±6,97$^{\gamma}$
KP	204±2,98
KG	210±3,03

*$p<0.05$ K1 grubu ile karşılaştırıldığında ve $^{\gamma}p<0.05$ KET1 grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.

K1 grubu ile karşılaştırıldığında, FLU ($p<0.05$), KET1 ($p<0.05$) ve KF ($p<0.05$) gruplarının hareketsiz zamanları azalırken, KET1 grubu ile karşılaştırıldığında, KM ($p<0.05$) grubunun hareketsiz zamanı artış göstermiştir (Tablo 5, Grafik 8).



Grafik 8. Zorunlu Yüzme Testi bulguları, hareketsiz zaman. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. *$p<0.05$ K1 (Kontrol 1) grubu ile karşılaştırıldığında ve $^{\gamma}p<0.05$ KET1 grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

4.5. Pasif Sakınma Testi Bulguları

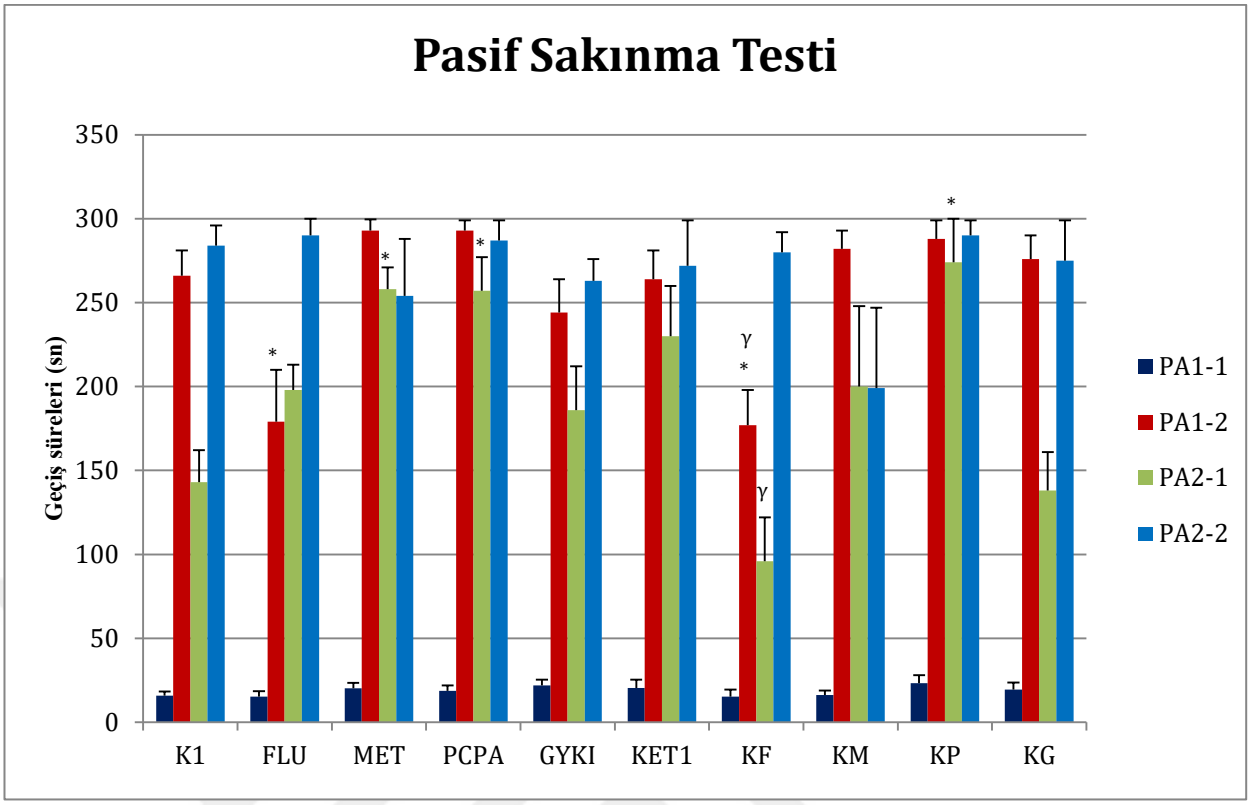
Gerçekleştirilen pasif sakınma testlerinde, grupların geçiş sürelerinin ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur (Tablo 6, Grafik 9-13).

Tablo 6. Grupların pasif sakınma testi sonuçları.

K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466, PA1: Pasif Sakınma Testi 1, PA2: Pasif Sakınma Testi 2.

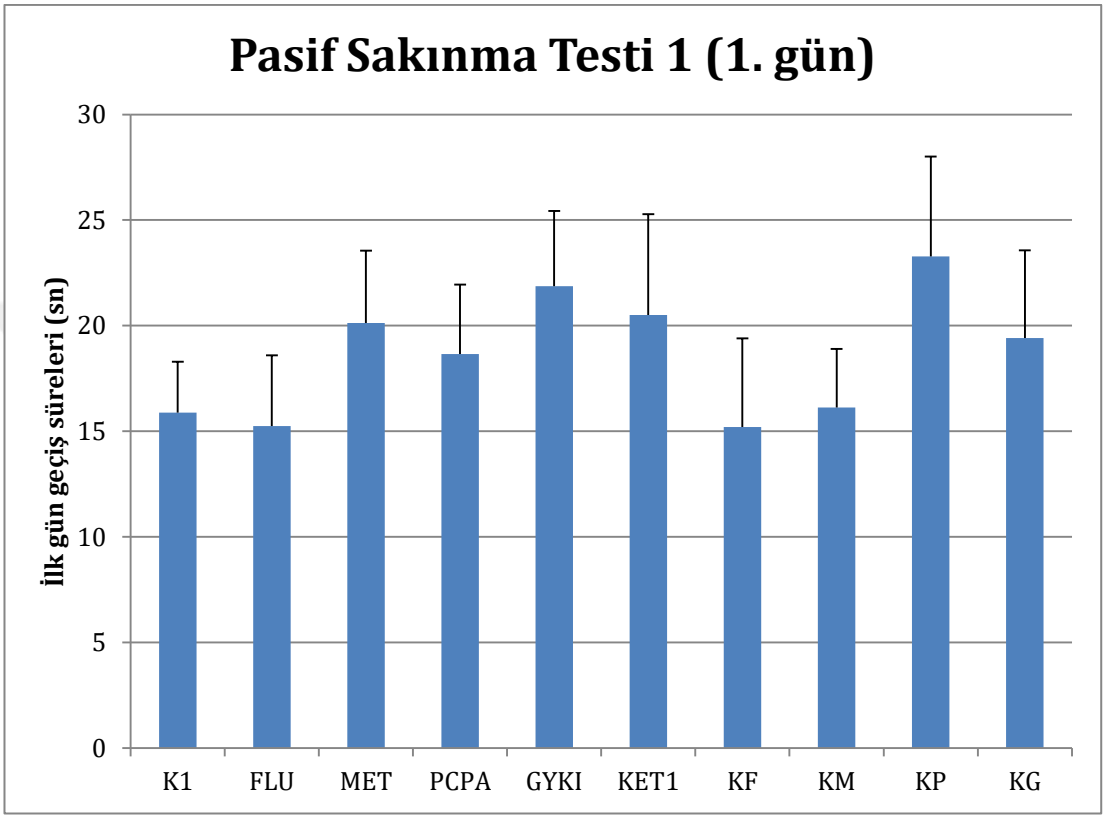
Gruplar	PA1 (1. gün) geçiş süreleri	PA1 (2. gün) geçiş süreleri	PA2 (1. gün) geçiş süreleri	PA2 (2. gün) geçiş süreleri
K1	16±2,41	266±15	143±19	284±12
FLU	15±3,34	179± 31*	198±15	290±10
MET	20±3,43	293±6,5	258±13*	254±34
PCPA	19±3,28	293±6	257±20*	287±12
GYKI	22±3,56	244±20	186±26	263±13
KET1	21±4,78	264±17	230±30	272±27
KF	15±4,2	177±21*$^{\gamma}$	96±26$^{\gamma}$	280±12
KM	16±2,77	282±11	200±48	199±48
KP	23±4,72	288±11	274±26*	290±9
KG	19±4,15	276±14	138±23	275±24

*$p<0.05$ K1 grubu ile karşılaştırıldığında ve $^{\gamma}p<0.05$ KET1 grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



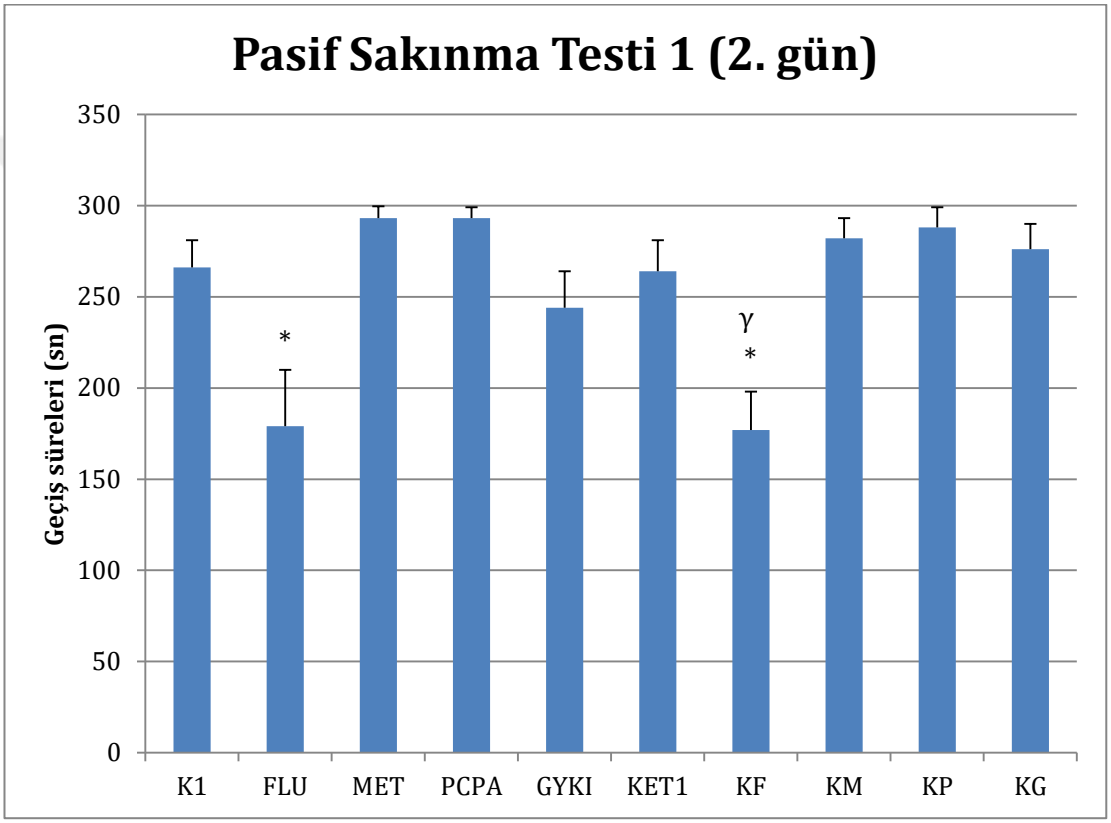
Grafik 9. Pasif sakınma testi bulguları. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. *p<0.05 K1 grubu ile karşılaştırıldığında ve $^{\gamma}$p<0.05 KET1 grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

İlaç uygulamalarını takiben 1 gün sonra pasif sakınma testi 1 (PA1) ilk gün deneyi gerçekleştirilmiş olup, grupların geçiş sürelerinin ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur. İlk gün deneyinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0.05$, Tablo 6 ve Grafik 9 ve 10).



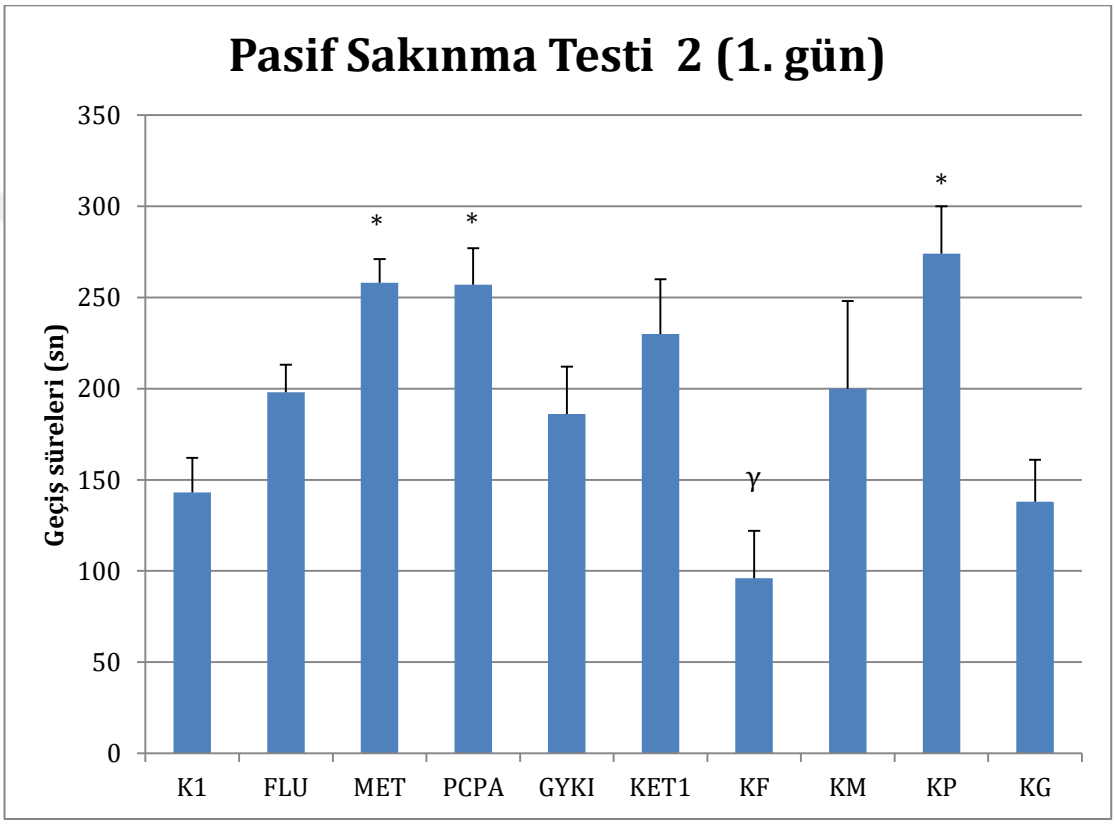
Grafik 10. Pasif Sakınma Testi 1 (1. gün) bulguları, geçiş süreleri. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

İlaç uygulaması yapılmaksızın pasif sakınma testi 1 (PA1) ikinci gün deneyi gerçekleştirilmiş ve deneyi tamamlanan hayvanlara, deneyden 1 saat sonra ilaç enjeksiyonları uygulanmıştır. Grupların geçiş sürelerinin ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur. K1 grubu ile karşılaştırıldığında, FLU ($p<0.05$) ve KF ($p<0.05$) gruplarının geçiş sürelerinde azalma gözlemlenmiştir. KET1 grubu ile karşılaştırıldığında, KF ($p<0.05$) grubunun geçiş sürelerinde azalma gözlemlenmiştir (Tablo 6 ve Grafik 9 ve 11).



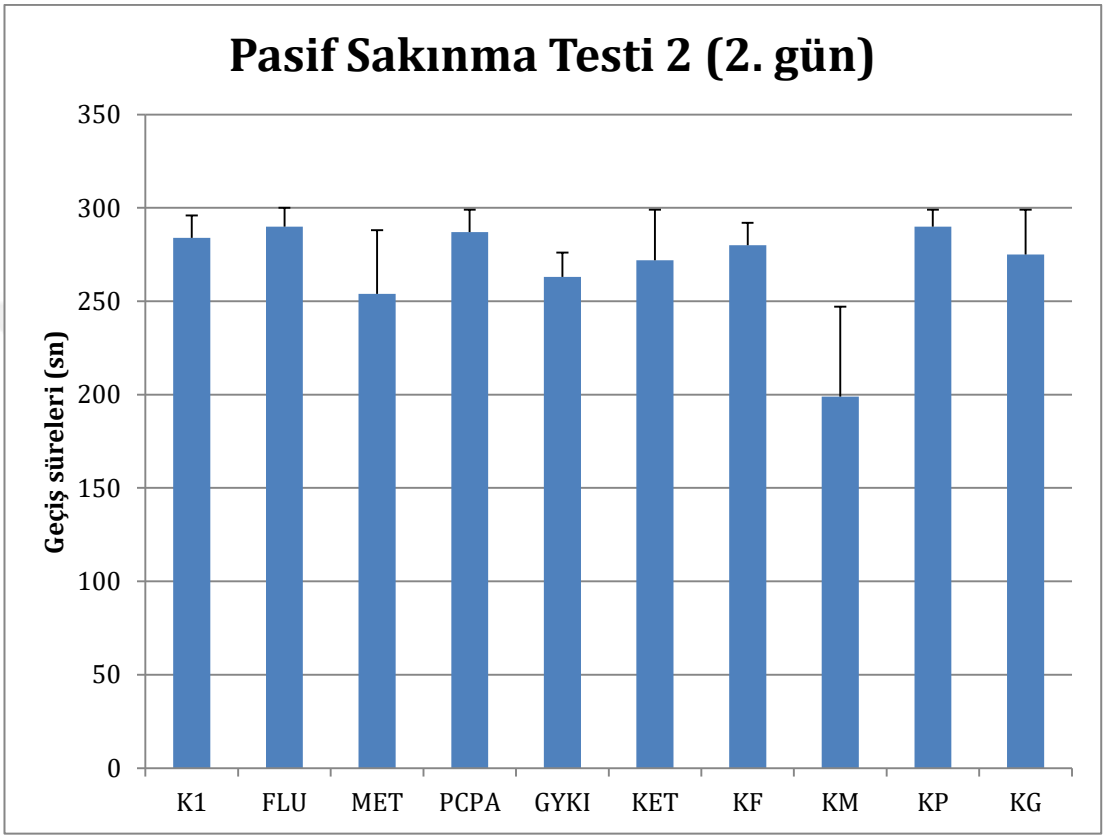
Grafik 11. Pasif Sakınma Testi 1 (2. gün) bulguları, geçiş süreleri. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. K1 grubu ile karşılaştırıldığında; *$p<0.05$ ve KET1 grubu ile karşılaştırıldığında $^{\gamma}p<0.05$. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

Pasif sakınma testi 2 (PA2) ilk gün deneyi, deney öncesinde ve sonrasında ilaç uygulaması yapılmaksızın gerçekleştirilmiş olup, geçiş sürelerinin ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur. K1 grubu ile karşılaştırıldığında, MET ($p<0.05$), PCPA ($p<0.05$) ve KP ($p<0.05$) gruplarının geçiş sürelerinde artış gözlemlenmiştir. KET1 grubu ile karşılaştırıldığında, KF ($p<0.05$) grubunun geçiş sürelerinde ise azalma gözlemlenmiştir (Tablo 6, Grafik 9 ve 12).



Grafik 12. Pasif Sakınma Testi 2 (1. gün) bulguları, geçiş süreleri. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. *$p<0.05$ K1 grubu ile karşılaştırıldığında ve $^{\gamma}p<0.05$ KET1 grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

İlaç uygulamalarını takiben 1 saat sonra pasif sakınma testi 2 (PA2) ikinci gün deneyi gerçekleştirilmiş olup, grupların geçiş sürelerinin ortalamaları, standart hataları (SEM) ile birlikte sunulmuştur. Gruplar arasında anlamlı bir fark gözlemlenmemiştir ($p>0.05$, Tablo 6, Grafik 9 ve 13).



Grafik 13. Pasif Sakınma Testi 2 (2. gün) bulguları, geçiş süreleri. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466.

4.6. Açık Alan Testi 1 & 2 Bulguları

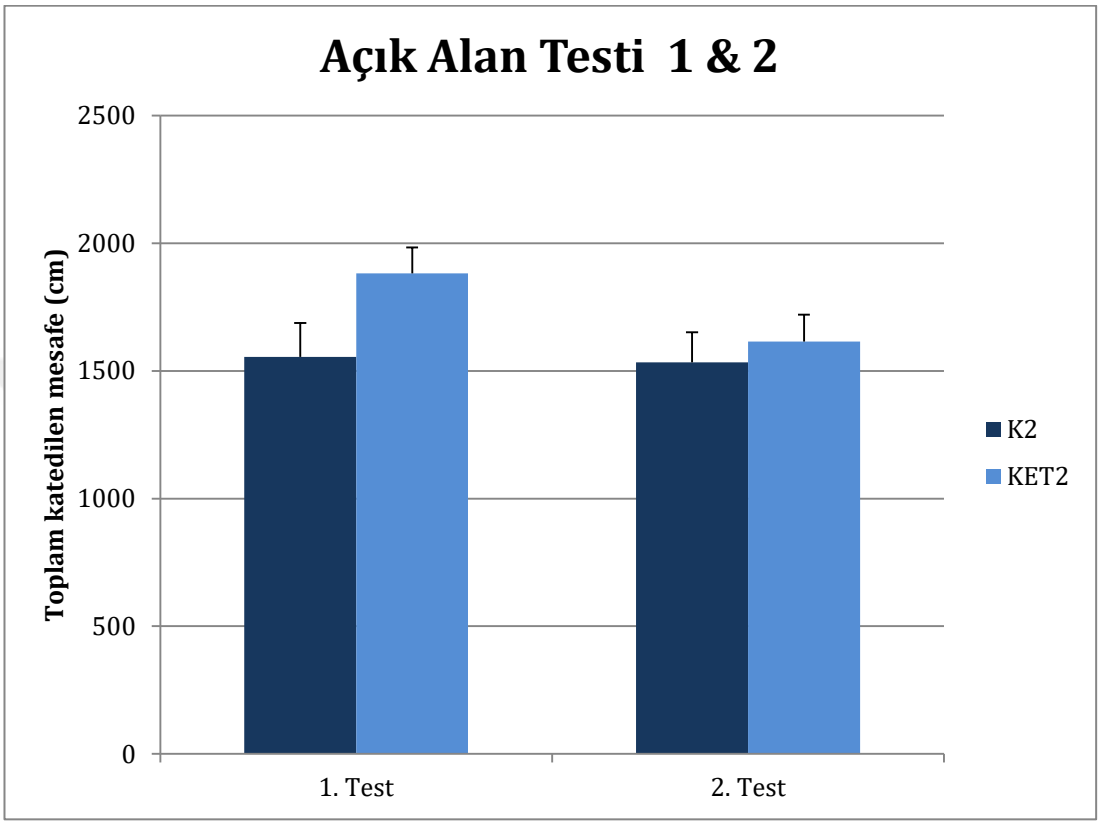
Deneklere tek doz ketamin ya da salin uygulamalarından 1 saat sonra, önce açık alan testi, hemen sonrasında ise zorunlu yüzme testi uygulanmıştır. Gerçekleştirilen deneylerin sonuçları Ethovision XT 11 programı ile değerlendirilmiş olup, grupların toplam katettikleri mesafe ve hız ortalamaları, standart hatalar (SEM) ile birlikte sunulmuştur. (Tablo 7, Grafik 14 ve 15).

Tablo 7. K2 ve KET2 gruplarının açık alan testi 1 ve 2 sonuçları, toplam katedilen mesafe ve hız.
K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2

Gruplar	**Açık alan testi 1, Toplam katedilen mesafe (cm)**	**Açık alan testi 1, Hız (cm/sn)**	**Açık alan testi 2, Toplam katedilen mesafe (cm)**	**Açık alan testi 2, Hız (cm/sn)**
K2	1554± 133,5	5,18± 0,44	1533± 117,4	5,1±0,39
KET2	1882± 101,2	6,27± 0,33	1615± 104,6	5,38±0,34

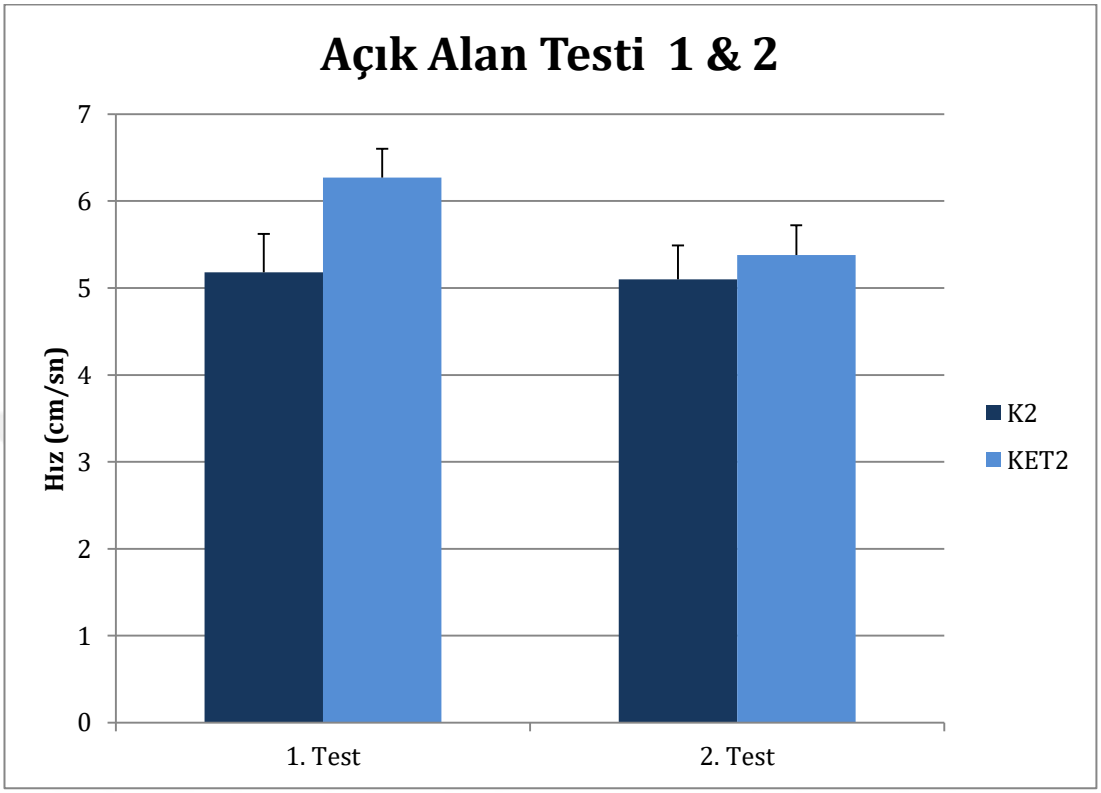
Hesaplamalarda Student’s t testi kullanıldı.

Açık alan 1 ve 2 testlerinde, grupların toplam katedilen mesafe ve hızları bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0.05$, Tablo 7, Grafik 14).



Grafik 14. Açık Alan Testi 1 & 2 bulguları, toplam katedilen mesafe. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda Student's t testi kullanıldı. K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

Açık alan 1 ve 2 testlerinde, grupların ortalama hızları bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0.05$, Tablo 7, Grafik 15).



Grafik 15. Açık Alan Testi 1 & 2 bulguları, hız. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda Student's t testi kullanıldı. K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

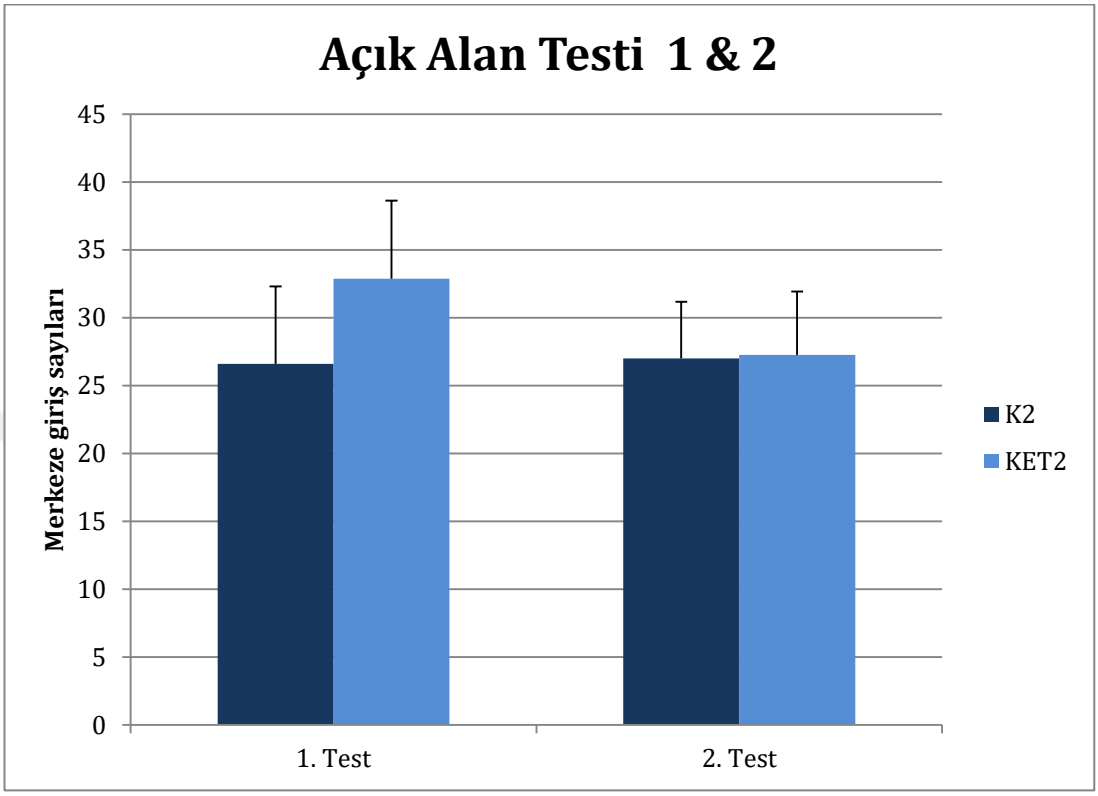
Gerçekleştirilen deneylerin sonuçları Ethovision XT 11 programı ile değerlendirilmiş olup, grupların merkeze giriş sayılarının ortalamaları, standart hatalar (SEM) ile birlikte sunulmuştur (Tablo 8, Grafik 16).

Tablo 8. K2 ve KET2 gruplarının açık alan testi 1 ve 2 sonuçları, merkeze giriş sayıları ve merkezde geçirilen süreler.
K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2

Gruplar	Açık alan testi 1, merkeze giriş sayıları	Açık alan testi 1, merkezde geçirilen süre	Açık alan testi 2, merkeze giriş sayıları	Açık alan testi 2, merkezde geçirilen süre
K2	26,6± 5,7	59,27± 10,23	27±4,17	56,14±7,25
KET2	32,87± 5,75	83,55± 11,35*	27,25±4,67	62,09±11,24

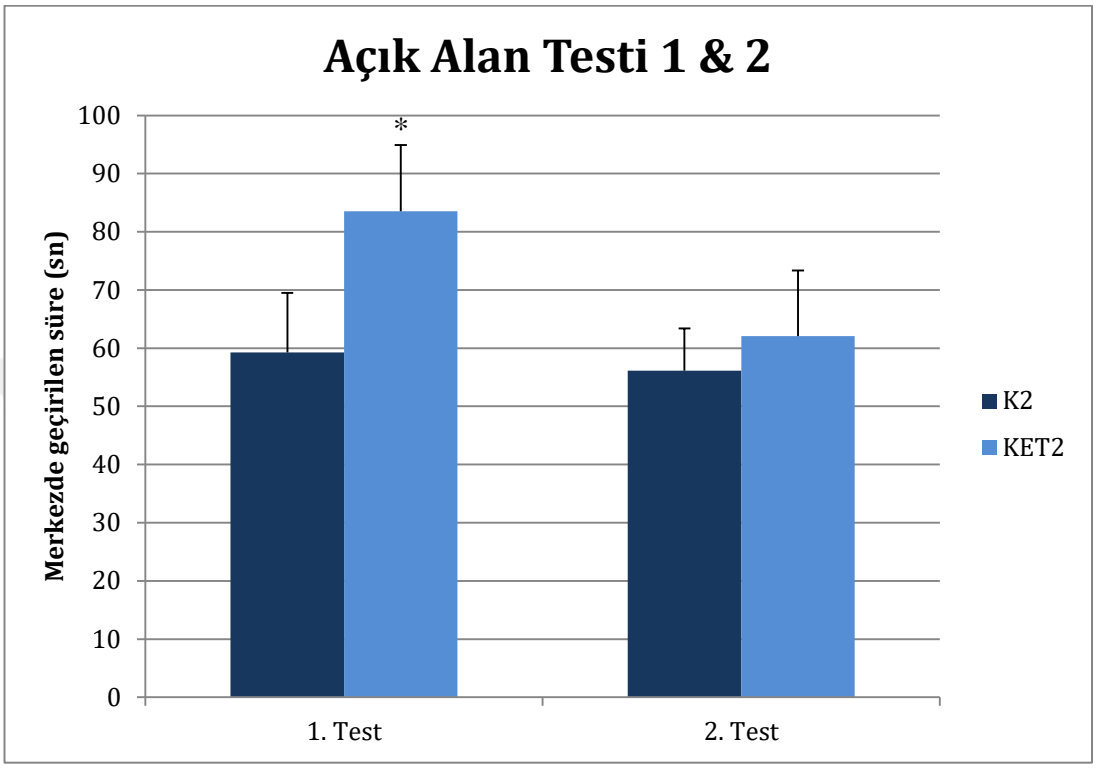
*p<0.05 K2 grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda Student's t testi kullanıldı.

İlk ve ikinci hafta testlerinde, grupların merkeze giriş sayıları bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir ($p>0.05$, Tablo 8, Grafik 16).



Grafik 16. Açık Alan Testi 1 & 2 bulguları, merkeze giriş sayıları. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda Student's t testi kullanıldı. K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

İlk hafta testinde, K2 grubu ile karşılaştırıldığında KET2 grubunun merkezde geçirdikleri süreler yüksek bulunmuştur ($p<0.05$). İkinci hafta testinde gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir ($p>0.05$, Tablo 8, Grafik 17).



Grafik 17. Açık Alan Testi 1 & 2, merkezde geçirilen süre. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. *$p<0.05$ K2 ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda Student's t testi kullanıldı. K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

4.7. Zorunlu Yüzme Testi 1 & 2 Bulguları

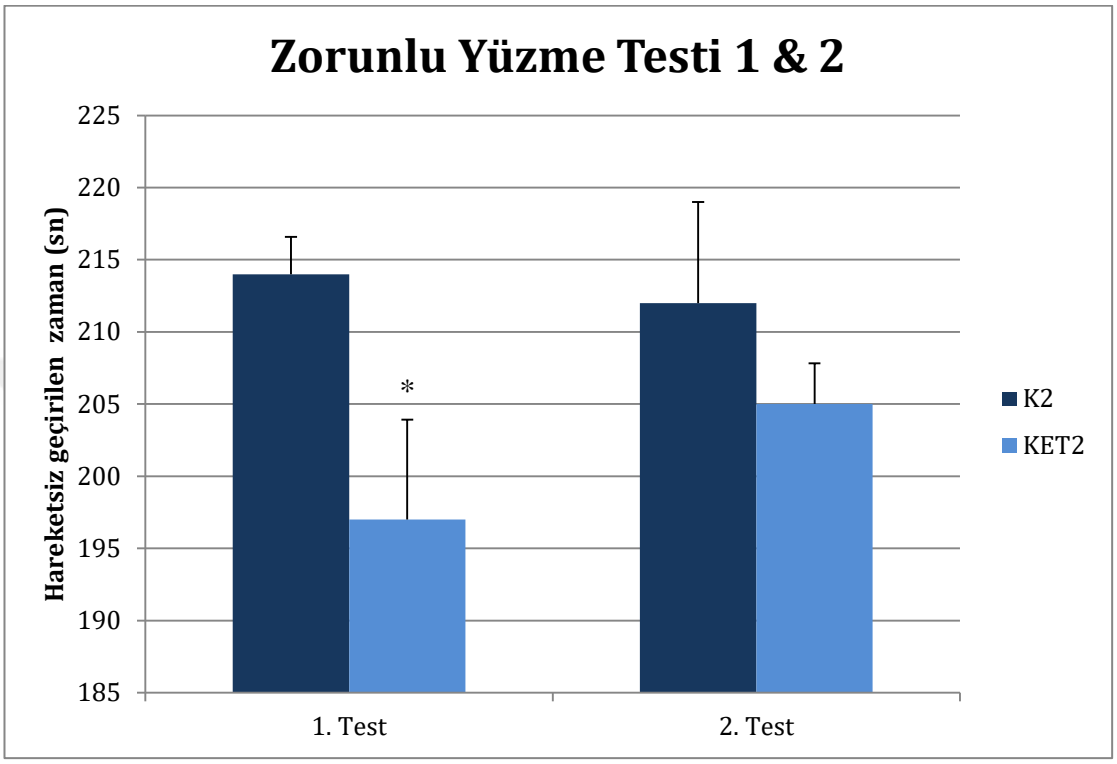
Gerçekleştirilen deneylerin sonuçları Ethovision XT 11 programı ile değerlendirilmiş olup, grupların hareketsiz zamanlarının ortalamaları, standart hatalar (SEM) ile birlikte sunulmuştur (Tablo 9, Grafik 18).

Tablo 9. Zorunlu Yüzme Testi 1 & 2 bulguları, hareketsiz geçirilen zaman.
K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

Gruplar	Zorunlu yüzme testi 1, hareketsiz zaman	Zorunlu yüzme testi 2, hareketsiz zaman
K2	214±2,59	212±7
KET2	197±6,93*	205±2,83

*p<0.05 K2 grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda Student's t testi kullanıldı.

İlk hafta testinde, K2 grubu ile karşılaştırıldığında hareketsiz geçirilen zamanın KET2 ($p<0.05$) grubunda daha az olduğu gözlemlenirken, ikinci hafta testinde gruplar arasında fark tespit edilememiştir ($p>0.05$, Tablo 9, Grafik 18).



Grafik 18. Zorunlu Yüzme Testi 1 & 2 bulguları, hareketsiz geçirilen zaman. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. *$p<0.05$ K2 grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda Student's t testi kullanıldı. K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

4.8. Malondialdehit Düzeyleri Bulguları

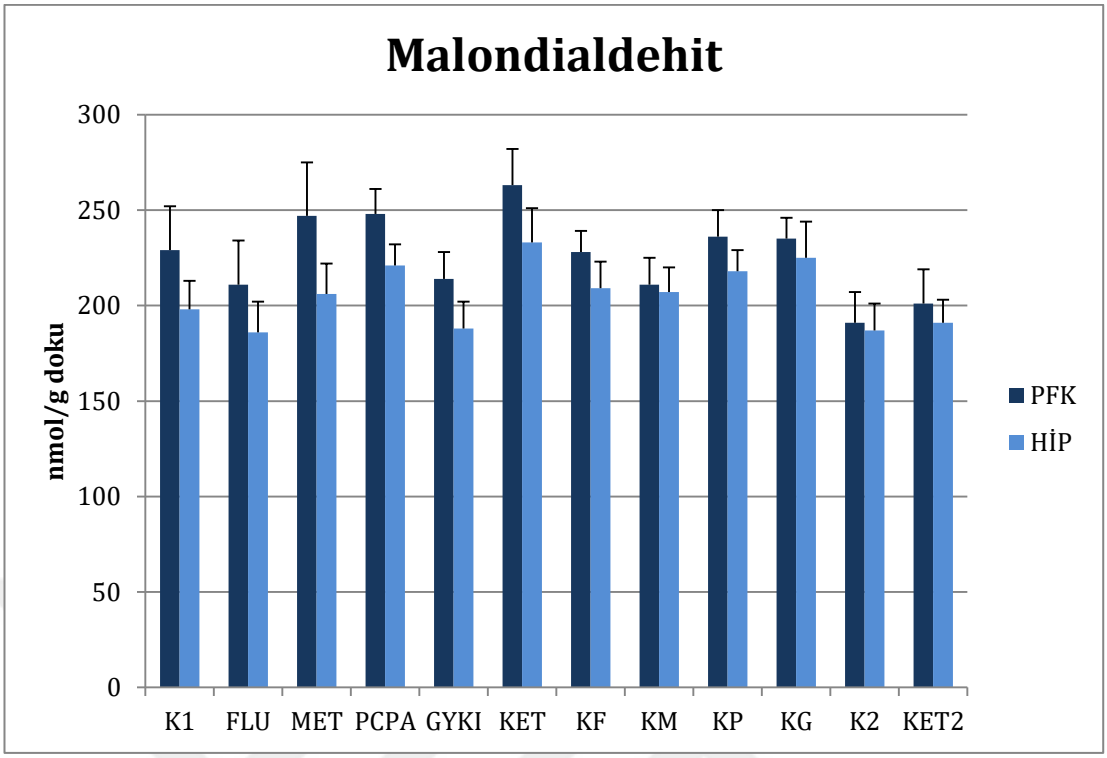
Deneklerin prefrontal korteks ve hipokampal malodialdehit (MDA) düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmedi ($p>0.05$, Tablo 10, Grafik 19).

Tablo 10. Grupların prefrontal korteks ve hipokampus doku malondialdehit düzeyleri (nmol/g doku).

K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466, K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

Gruplar	Prefrontal korteks (nmol/g doku)	Hipokampus (nmol/g doku)
K1	229±23	198±15
FLU	211±23	186±16
MET	247±28	206±16
PCPA	248±13	221±11
GYKI	214±14	188±14
KET	263±19	233±18
KF	228±11	209±14
KM	211±14	207±13
KP	236±14	218±11
KG	235±11	225±19
K2	191±16	187±14
KET2	201±18	191±12

Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Grafik 19. Malondialdehit düzeyleri. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466, K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2, PFK: Prefrontal korteks, HİP: Hipokampus.

4.9. Histolojik Bulgular

4.9.1. İmmunohistokimyasal Bulgular

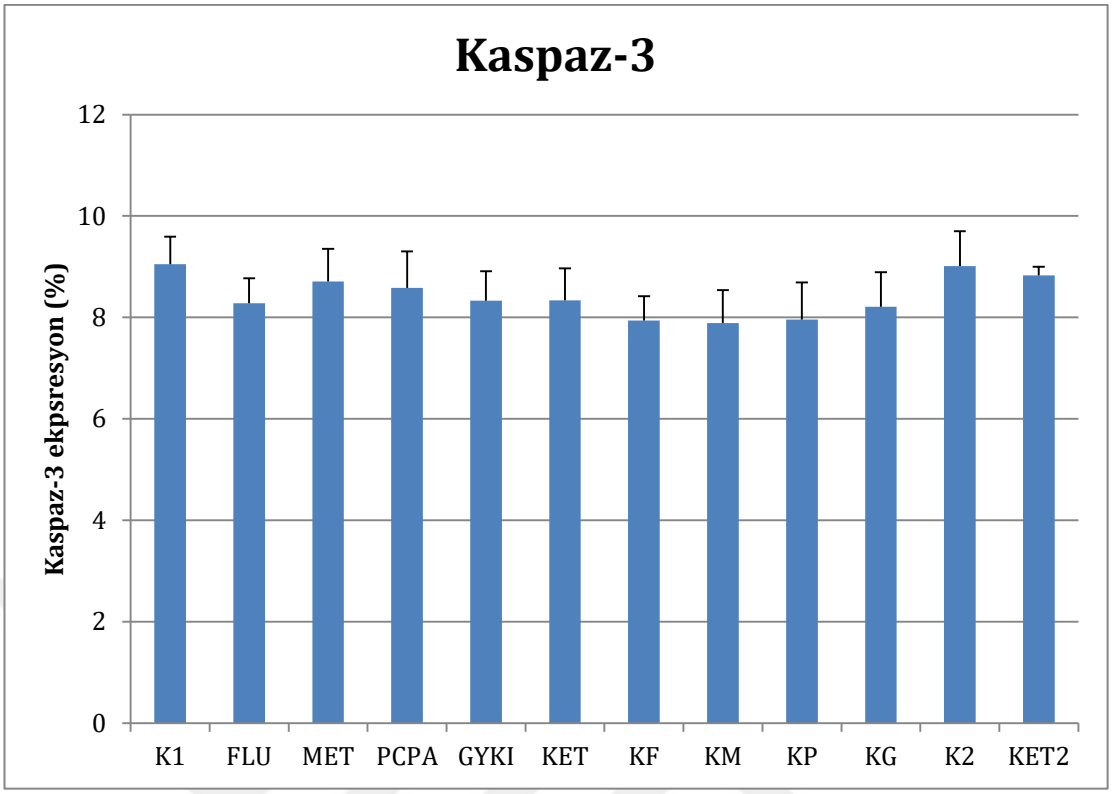
Deneklerden alınan beyin dokuları, kesitlere ayrılarak immünohistokimyasal metod ile kaspaz-3 ekspresyon tayini gerçekleştirilmiş olup, ekspresyon yüzdeleri, standart hataları ile birlikte sunulmuştur (Tablo 11, Grafik 20).

Tablo 11. Grupların kaspaz-3 ekspresyon düzeyleri.

K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466, K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

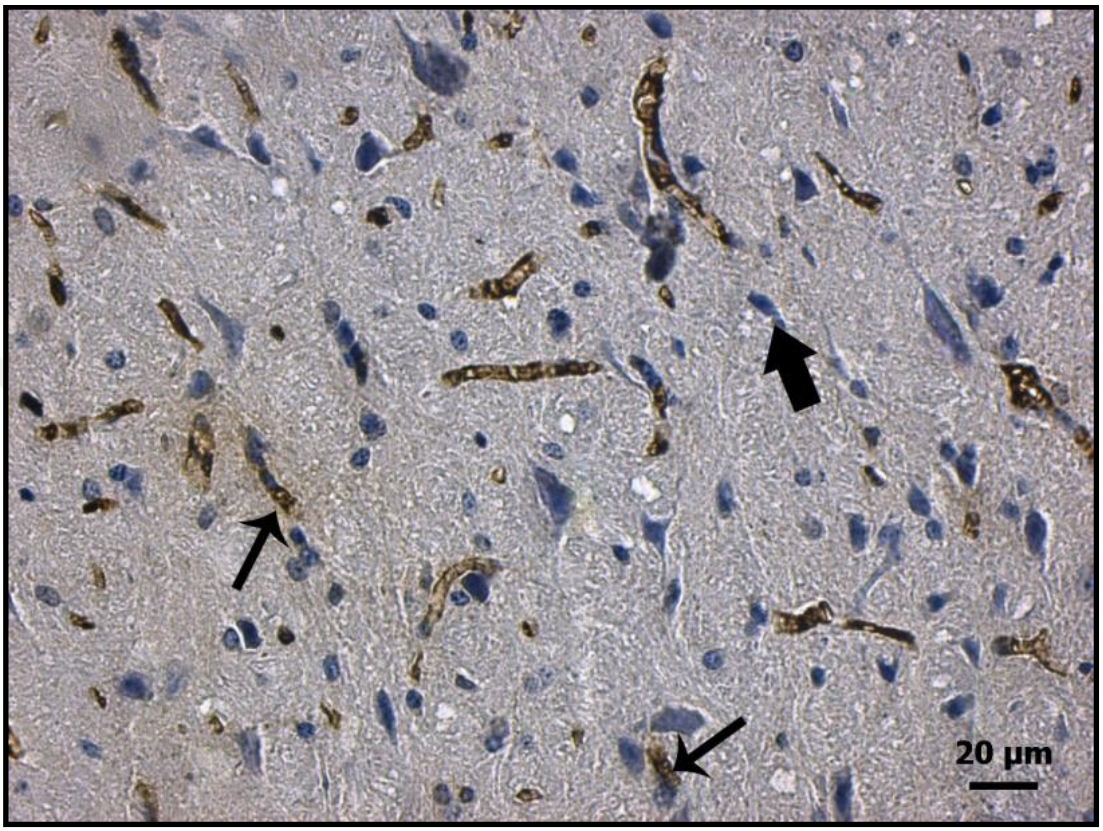
Gruplar	Kaspaz-3 ekspresyon düzeyleri (%)
K1	9,05±0,54
FLU	8,28±0,49
MET	8,71±0,64
PCPA	8,58±0,72
GYKI	8,33±0,58
KET	8,34±0,63
KF	7,94±0,48
KM	7,89±0,65
KP	7,96±0,73
KG	8,21±0,68
K2	9,01±0,69
KET2	8,83±0,17

Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



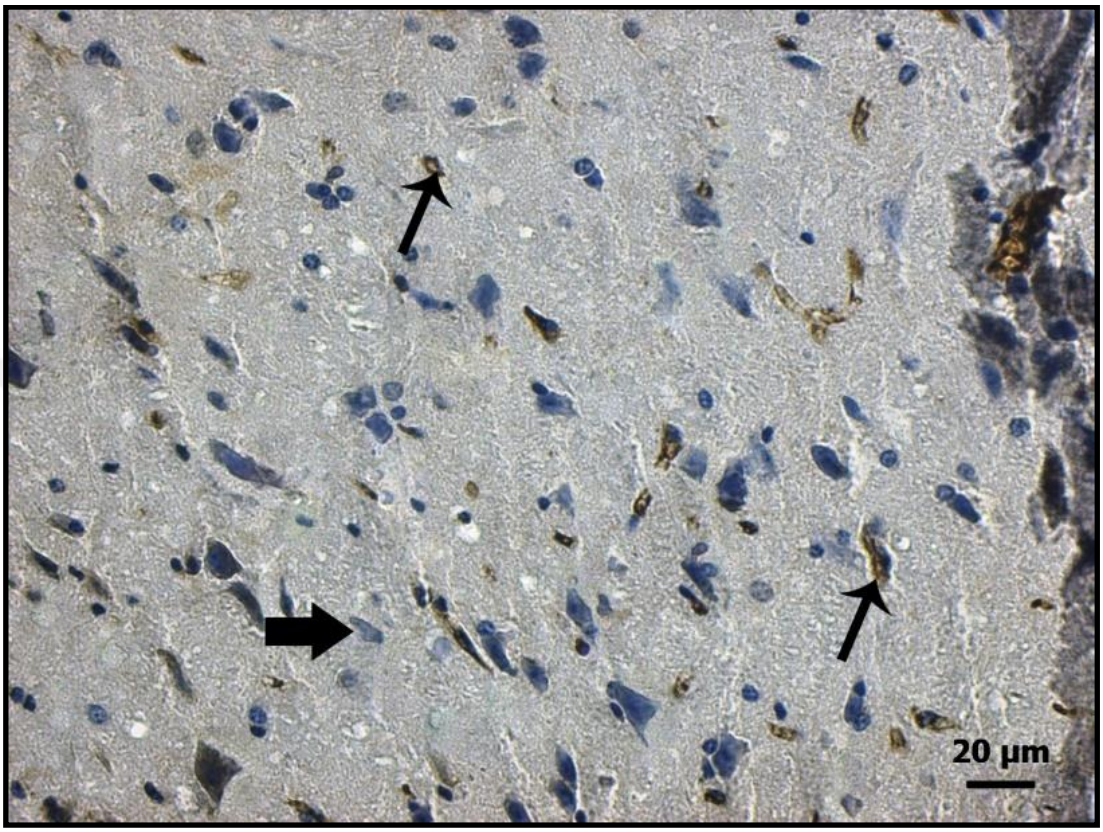
Grafik 20. Kaspaz-3 ekspresyon düzeyleri. Her sütun 7-9 farenin, ortalama ± SEM değerlerini belirtmektedir. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. K1: Kontrol 1, FLU: Fluoksetin, MET: Methiothepin, PCPA: pCPA, GYKI: GYKI-52466, KET1: Ketamin 1, KF: Ketamin + Fluoksetin, KM: Ketamin + Methiothepin, KP: Ketamin + pCPA, KG: Ketamin + GYKI-52466, K2: Kontrol 2, KET2: Ketamin 2.

Kontrol 1 Grubu (K1): K1 grubu beyin dokusunda Kaspaz-3 immunohistokimya uygulanan alanların %9,05'lik kısmında Kaspaz-3 ekspresyonu şekillendiği tespit edildi (Resim 9).



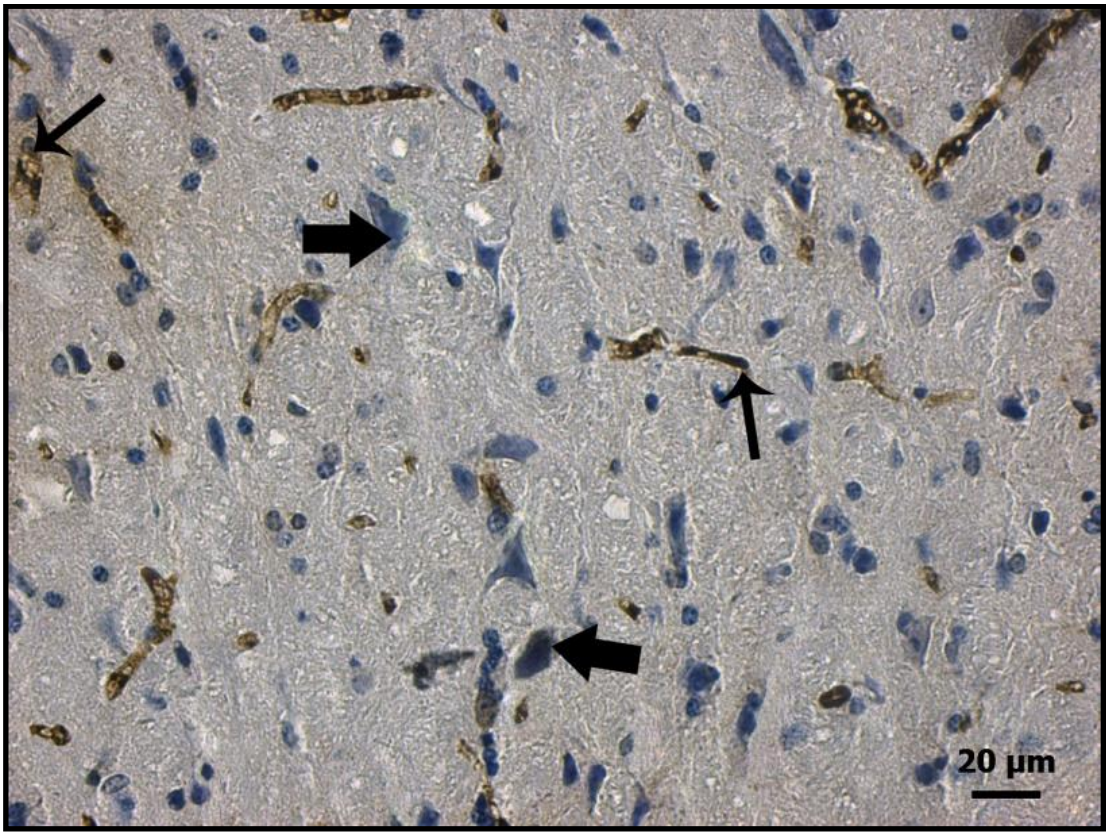
Resim 9. K1 grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. Ekspresyonun pozitif olduğu alanlar (ince ok), ekspresyonun negatif olduğu alanlar (kalın ok) (Anti-Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

Fluoksetin Grubu (FLU): FLU grubuna ait kesitlerde Kaspaz-3 antikor tutunum alanlarının %8,28'lik alanı oluşturduğu ve bu ekspresyon miktarının kontrol grubuyla anlamlı bir farkının bulunmadığı tespit edildi (Resim 10).



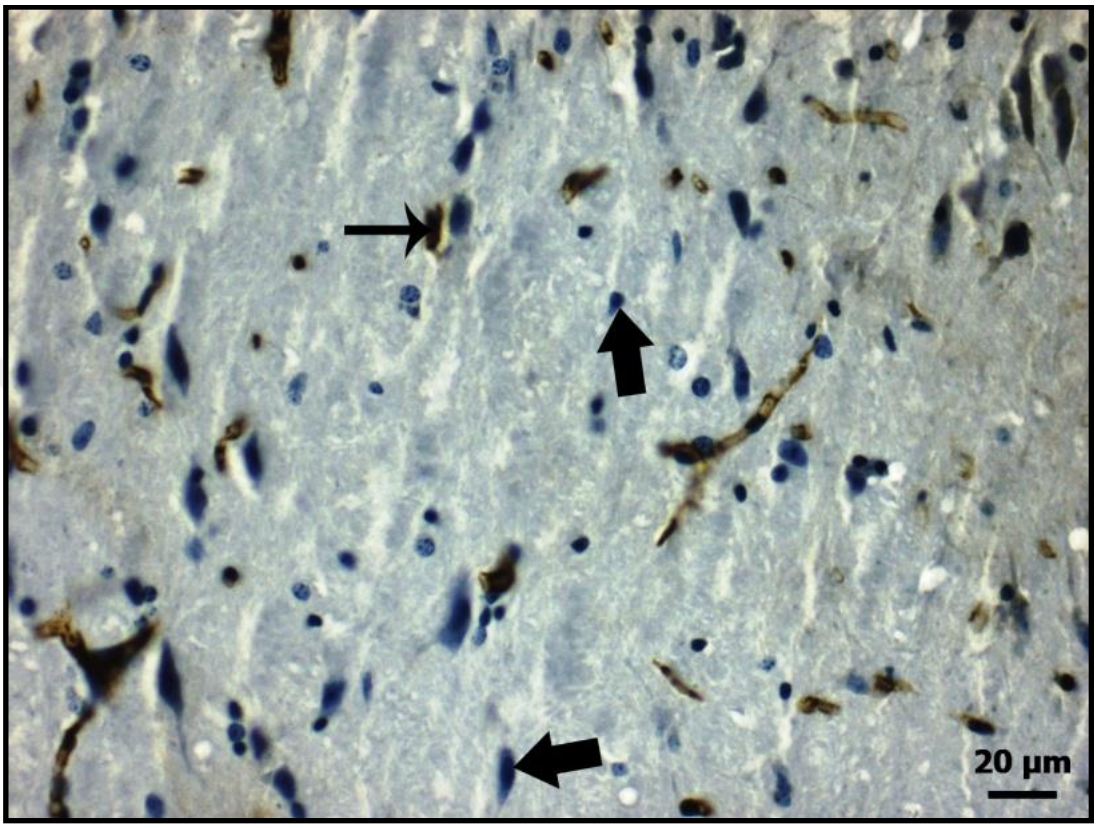
Resim 10. FLU grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. Ekspresyon alanları (ince ok) ve negatif alanlar (kalın ok) (Anti- Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

Methiothepin Grubu (MET): MET grubu beyin kesitinde yapılan immunohistokimyasal boyama ile Kaspaz-3 ekspresyonu'nun total doku'nun %8,71'lik alanında bulunduğu izlendi. Methiothepin grubunda Kaspaz-3 ekspresyonu oranının kontrol grubuna benzer olduğu tespit edildi (Resim 11).



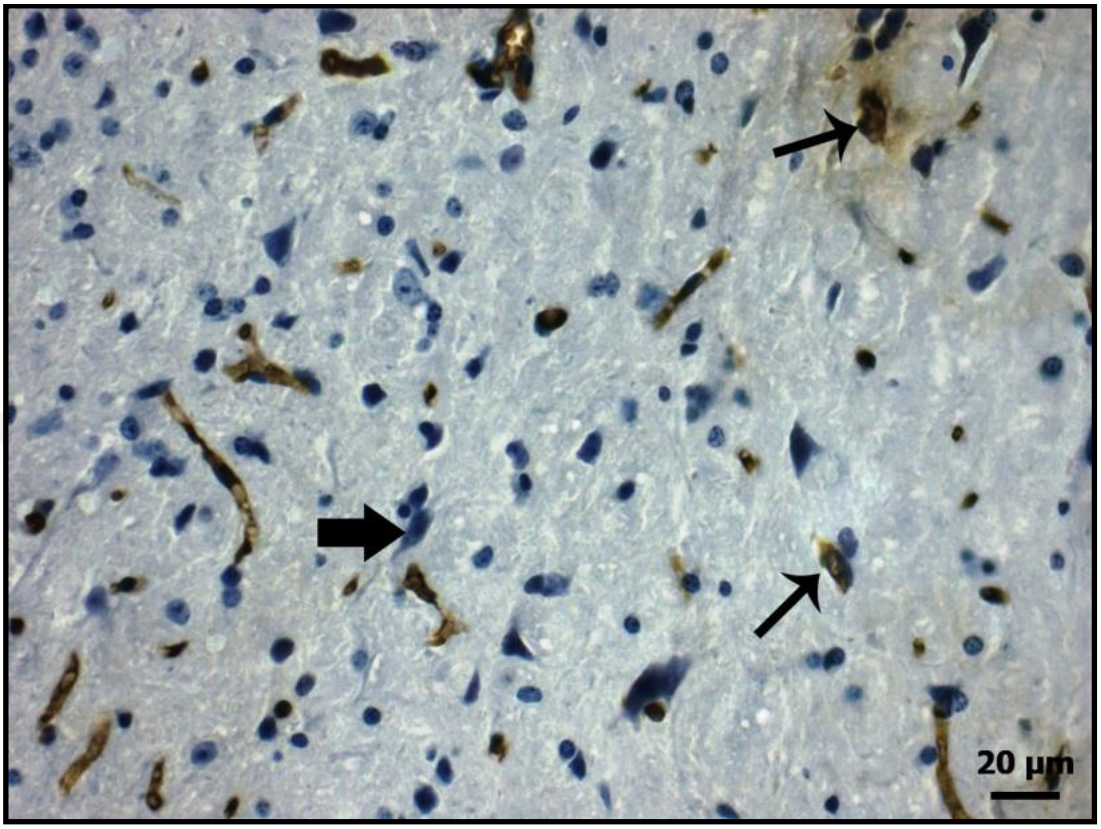
Resim 11. MET grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. Subpial alanda ve korteks perinöral alanlarda ekspresyon varlığı (ince ok), ekspresyon negatif olan alanlar (kalın ok) (Anti-Caspase-3, Bar: 20 µm).

pCPA Grubu (PCPA): PCPA grubu kesitlerinde yapılan analizde bu grubun Kaspaz-3 ekspresyonu'nun %8,58'lik alanda yer aldığı ve istatistiksel analizde bu ekspresyon miktarının kontrol grubuna benzer olduğu anlaşıldı (Resim 12).



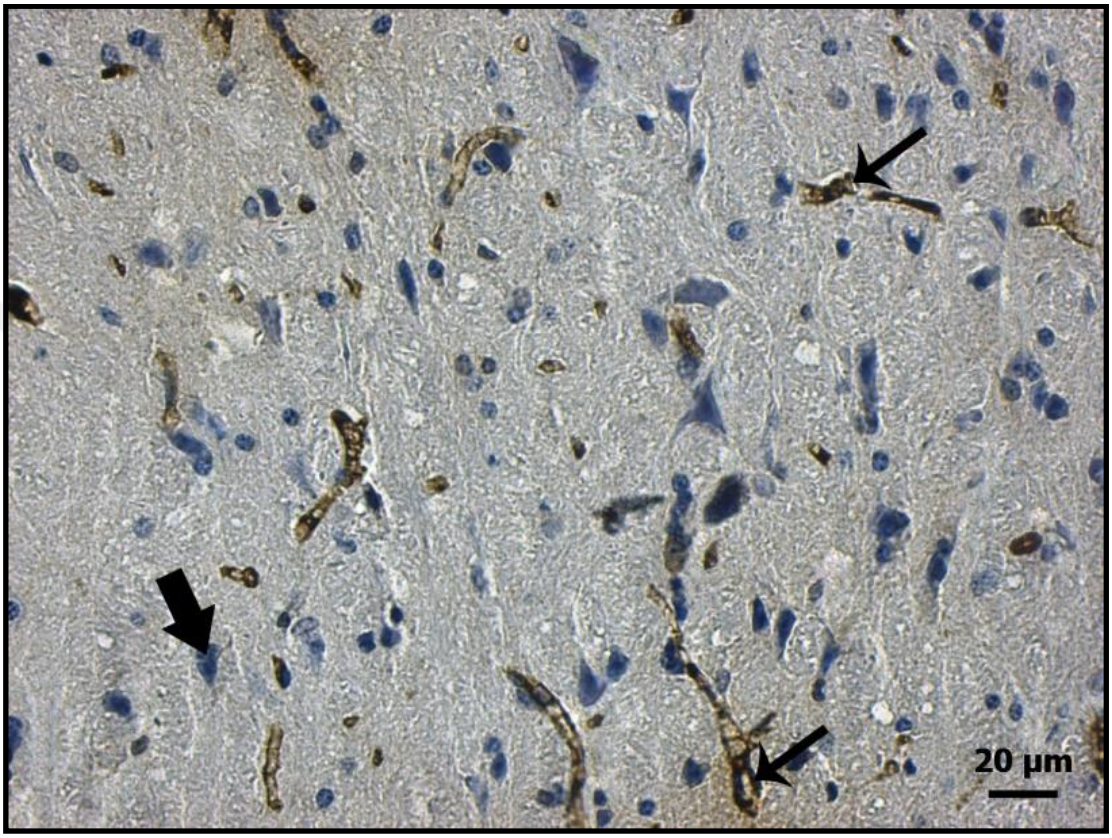
Resim 12. PCPA grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. Kortikal nöronlarda ve nöroglia hücrelerinde pozitif boyanma alanları (ince ok). Nöroglia ve nöronlarda negatif boyanma (kalın ok) (Anti-Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

GYKI Grubu (GYKI): GYKI grubu kesitlerinde gerçekleştirilen analizde Kaspaz-3 ekspresyonunun %8,33'lük alanda şekillendiği tespit edildi (Resim 13).



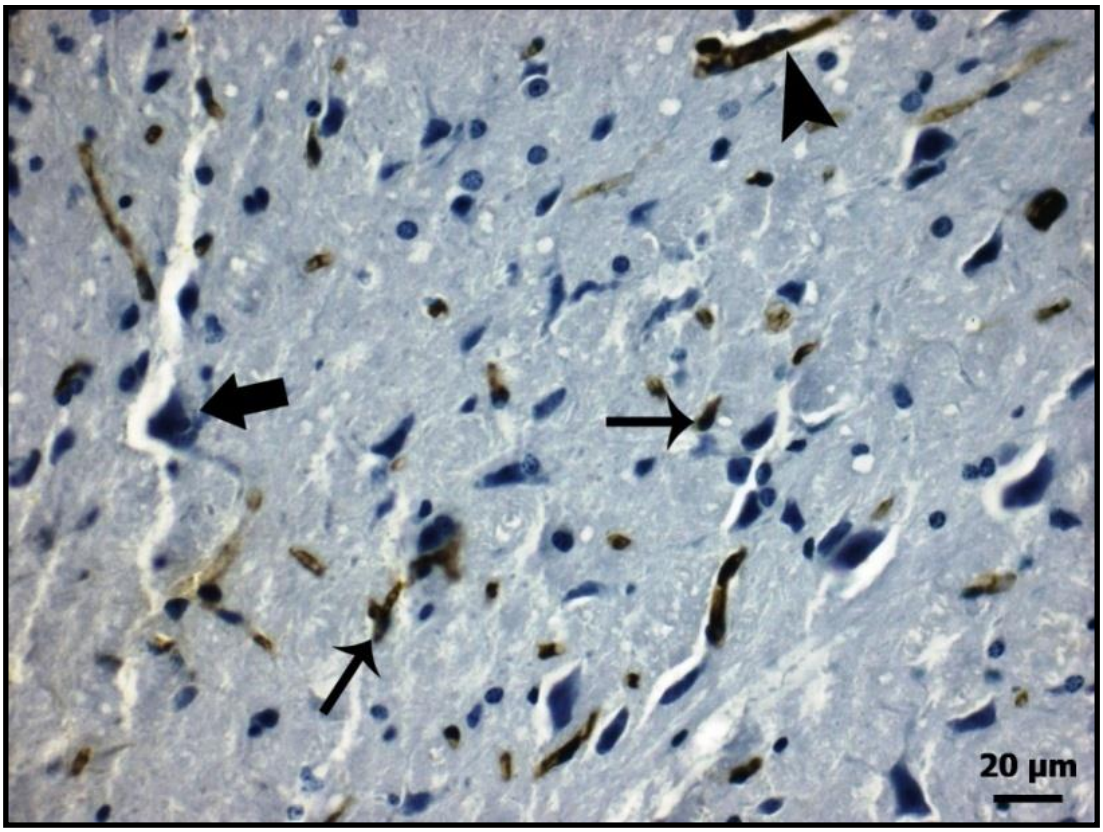
Resim 13. GYKI grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. Nöronlarda Kaspaz-3 pozitif alanlar (ince ok) ve Kaspaz-3 ekspresyonu bulunmayan alanlar (Kalın ok) (Anti-Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

Ketamin 1 Grubu (KET1): KET1 grubu beyin dokusu kesitlerinden alınan örneklerde Kaspaz-3 ekspresyon düzeyi %8,34 olarak tespit edildi. Ketamin grubundaki bu ekspresyon oranı'nın kontrol grubuyla benzer olduğu anlaşıldı (Resim 14).



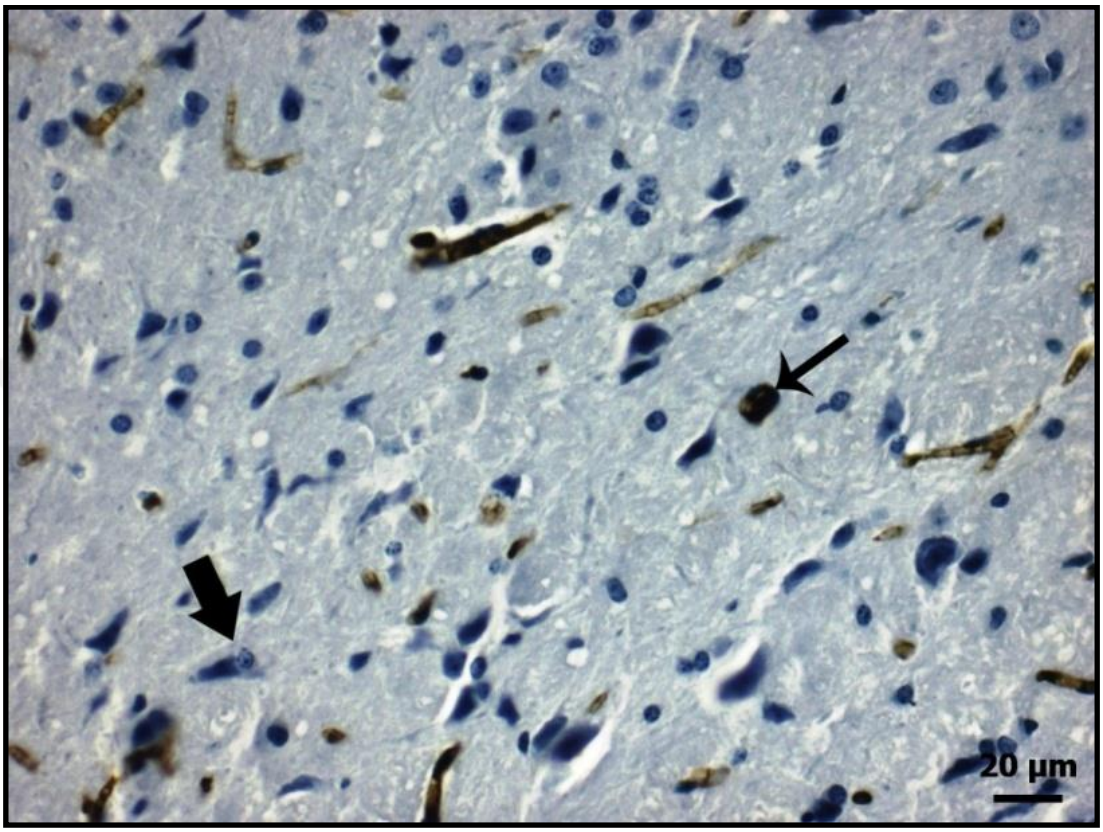
Resim 14. KET1 grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. KET1 grubunda pozitif boyanan (ince ok) ve negatif alanlar (kalın ok) (Anti-Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

Ketamin+Fluoksetin Grubu (KF): KF grubu beyin dokusu Kaspaz-3 ekspresyon oranı %7,94 olarak analiz edildi. İstatistiksel olarak bu ekspresyon düzeyinin Kontrol 1 grubuna benzer olduğu anlaşıldı (Resim 15).



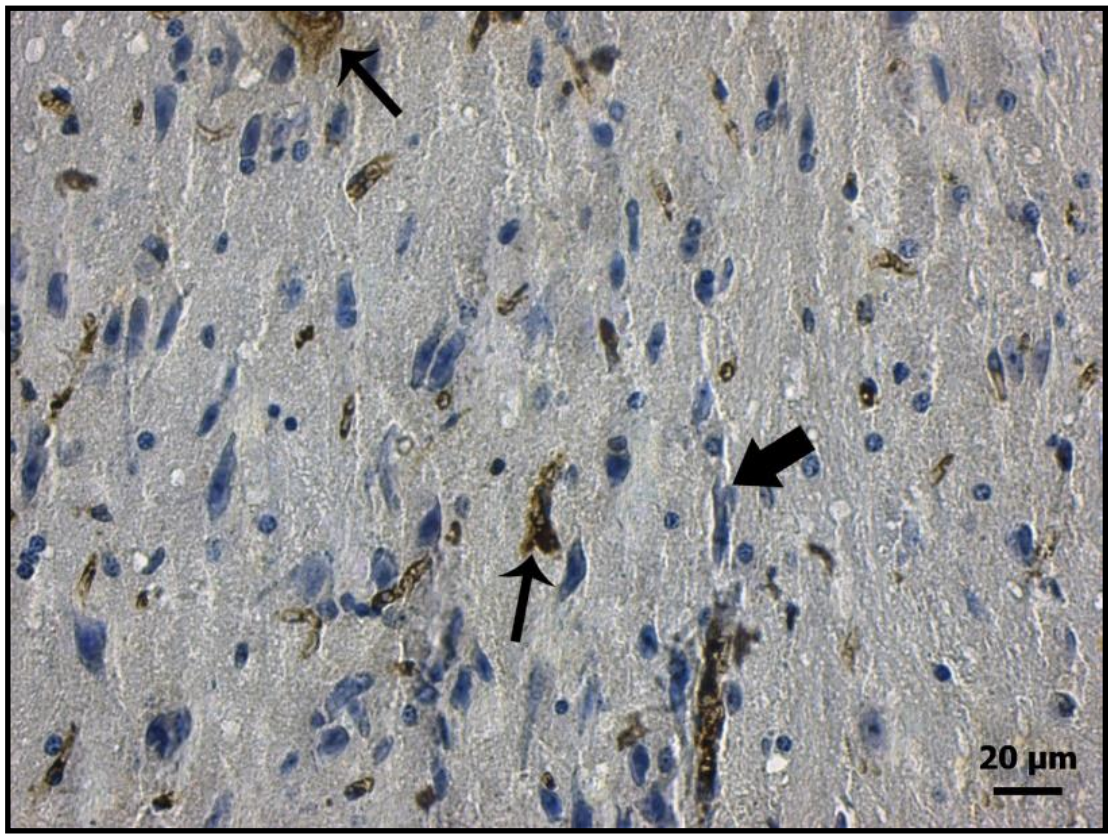
Resim 15. KF grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. KF grubunda Kaspaz-3 pozitif boyanan alanlar (ince ok), damar endotelindeki pozitivite (ok başı) ve negatif alanlar (kalın ok) (Anti-Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

Ketamin+Methiothepin Grubu (KM): KM grubu doku kesitlerinde Kaspaz-3 ekspresyonu %7,89'luk bir oran oluşturdu ve bu ekspresyon düzeyinin istatistik yönünden Kontrol 1 grubuna benzer olduğu tespit edildi (Resim 16).



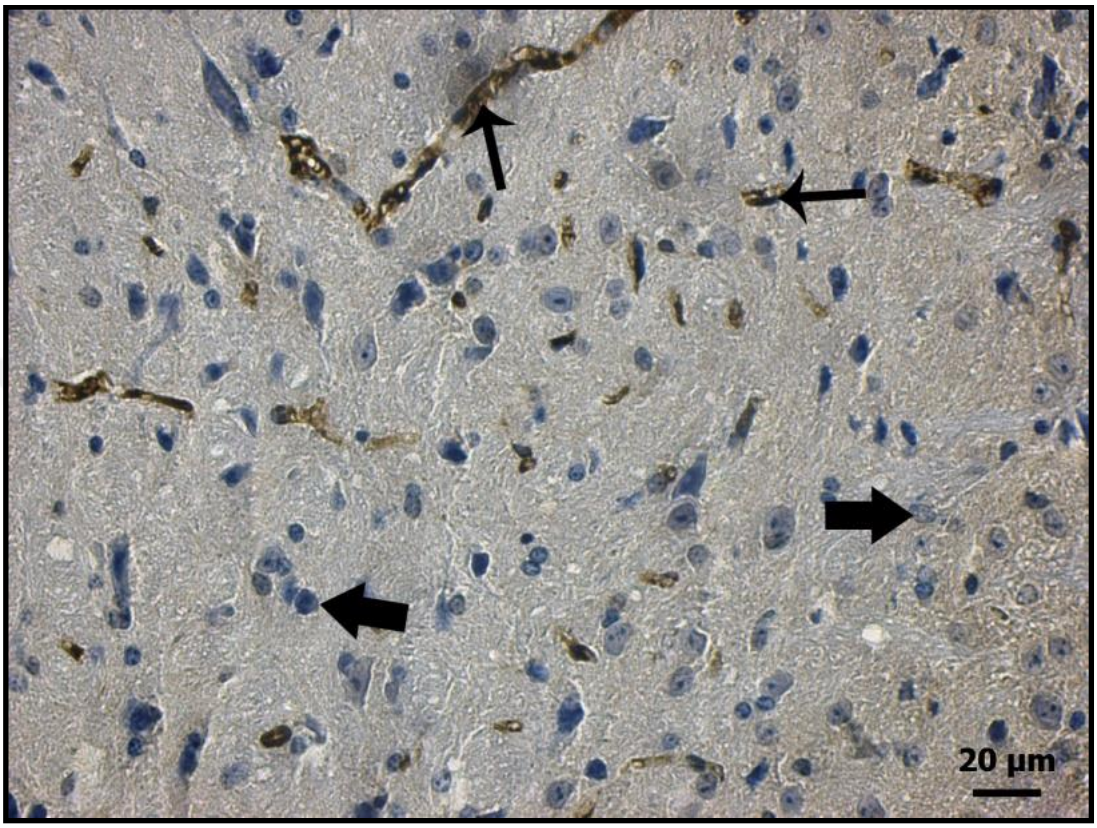
Resim 16. KM grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. KM grubunda Kaspaz-3 pozitif boyanan nöronlar (ince ok) ve Kaspaz-3 ekspresyonu negatif olan bölgeler (kalın ok) (Anti-Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

Ketamin+pCPA Grubu (KP): KP grubu kesitlerinde beyin dokusu Kaspaz-3 ekspresyonu analiz sonucunda %7,97'lik bir alanda ekspresyon olduğu tespit edildi ve bu ekspresyon düzeyinin kontrol grubu ile benzer olduğu istatistiksel olarak anlaşıldı (Resim 17).



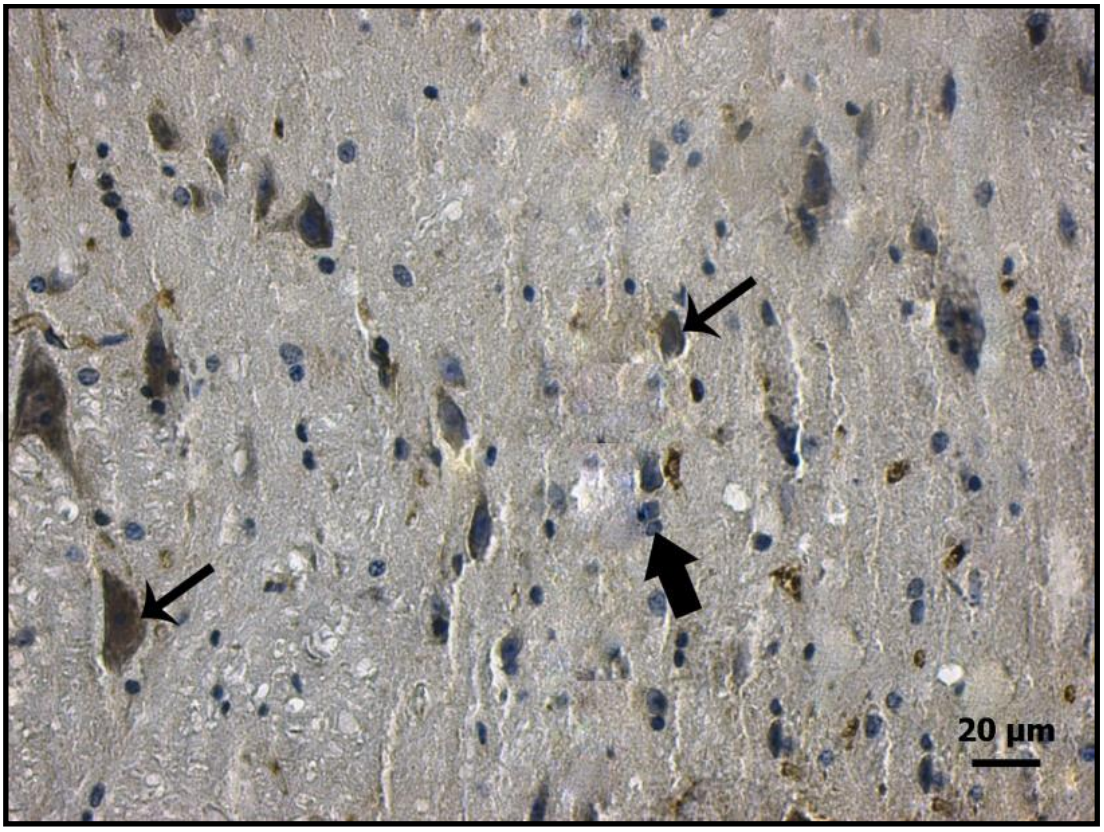
Resim 17. KP grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. KP grubunda Kaspaz-3'ün zayıf ve güçlü pozitiflik gösterdiği nöronlar (ince ok) ve perikaryon seviyesinde Kaspaz-3 negatif alanlar (kalın ok) (Anti- Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

Ketamin+GYKI Grubu (KG): KG grubu beyin dokusu kesitlerinde Kaspaz-3 ekspresyon oranı %8,33 olarak tespit edildi. Bu ekspresyon düzeyi'nin Kontrol 1 grubuna benzer olduğu anlaşıldı (Resim 18).



Resim 18. KG grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. KG grubunda Kaspaz-3'ün pozitiflik gösterdiği nöron perikaroyonları (ince ok) ve Kaspaz-3 negatif alanlar (kalın ok) (Anti- Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

Kontrol 2 Grubu (K2): K2 grubu Kaspaz-3 ekspresyonu %9,01 olarak tespit edildi (Resim 19).



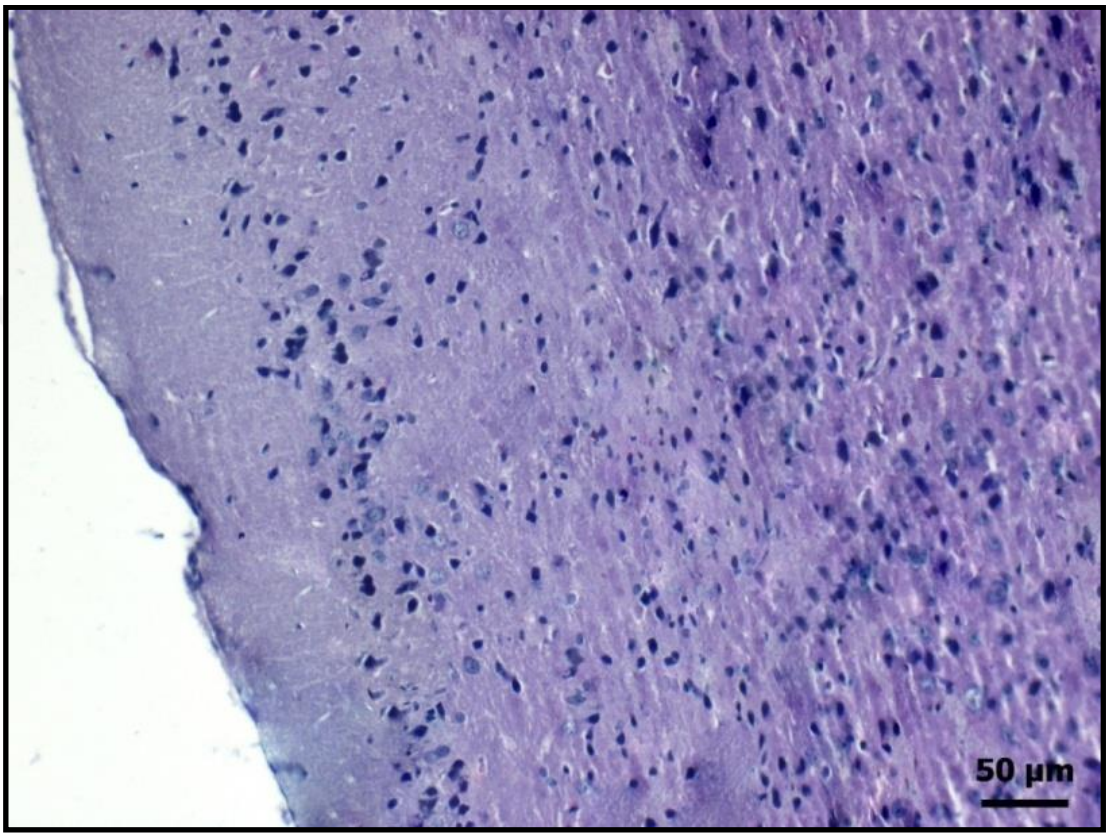
Resim 19. K2 grubu kaspaz-3 immunohistokimyasal boyama. K2 grubunda Kaspaz-3'ün kortikal alanda pozitif ekspresyon alanları (ince ok) ve Kaspaz-3 negatif bölgeler (kalın ok) (Anti- Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

Ketamin 2 Grubu (KET2): KET2 grubu beyin kesiti Kaspaz-3 immunohistokimyasal boyaması sonucunda bu gruptaki kesitlerde antikor tutunum alanlarının %8,83 olduğu ayrıca bu grubun Kontrol 2 (K2) grubuna benzer oranda Kaspaz-3 eksprese ettiği tespit edildi (Resim 20).

Resim 20. KET2 grubu immunohistokimyasal boyama. KET2 grubunda Kaspaz-3 pozitif ekspresyon alanları (ince ok) ve Kaspaz-3 negatif olan bölgeler (kalın ok) (Anti-Kaspaz-3, Bar: 20 µm).

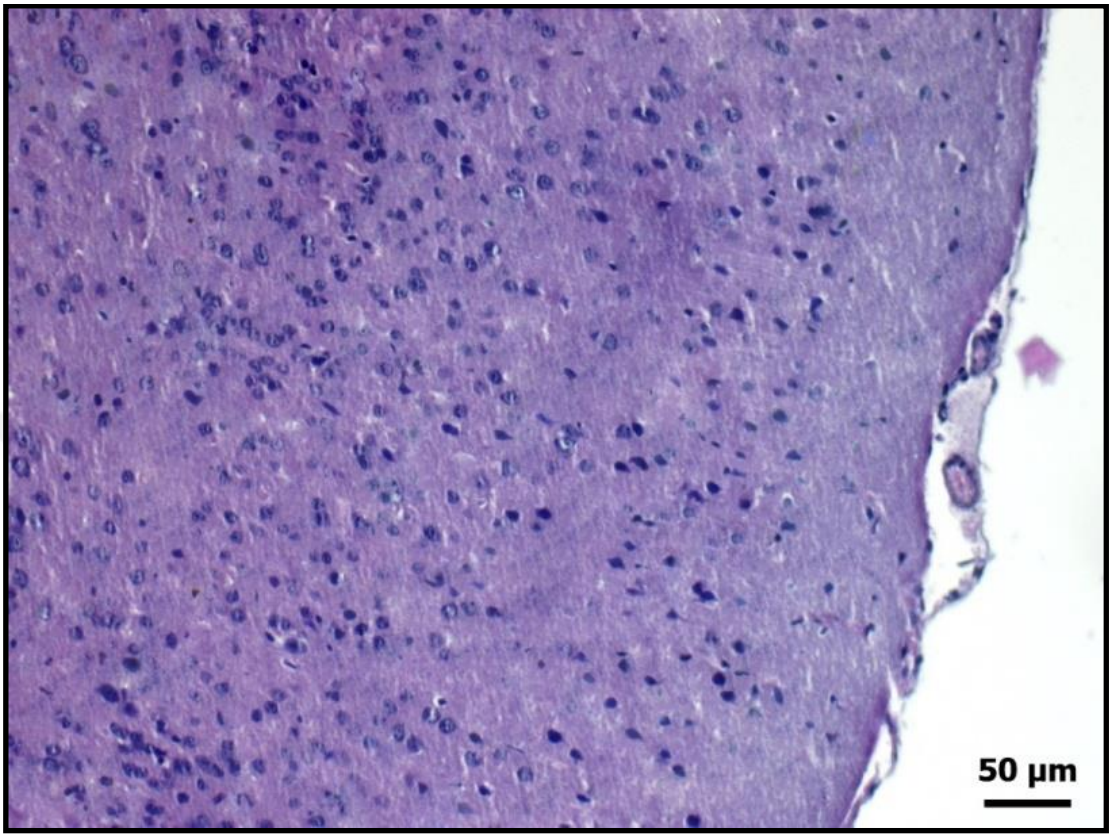
4.9.2. Histopatolojik Bulgular

Kontrol 1 Grubu (K1): Serebral kortekste normal histolojik yapı izlendi (Resim 21).



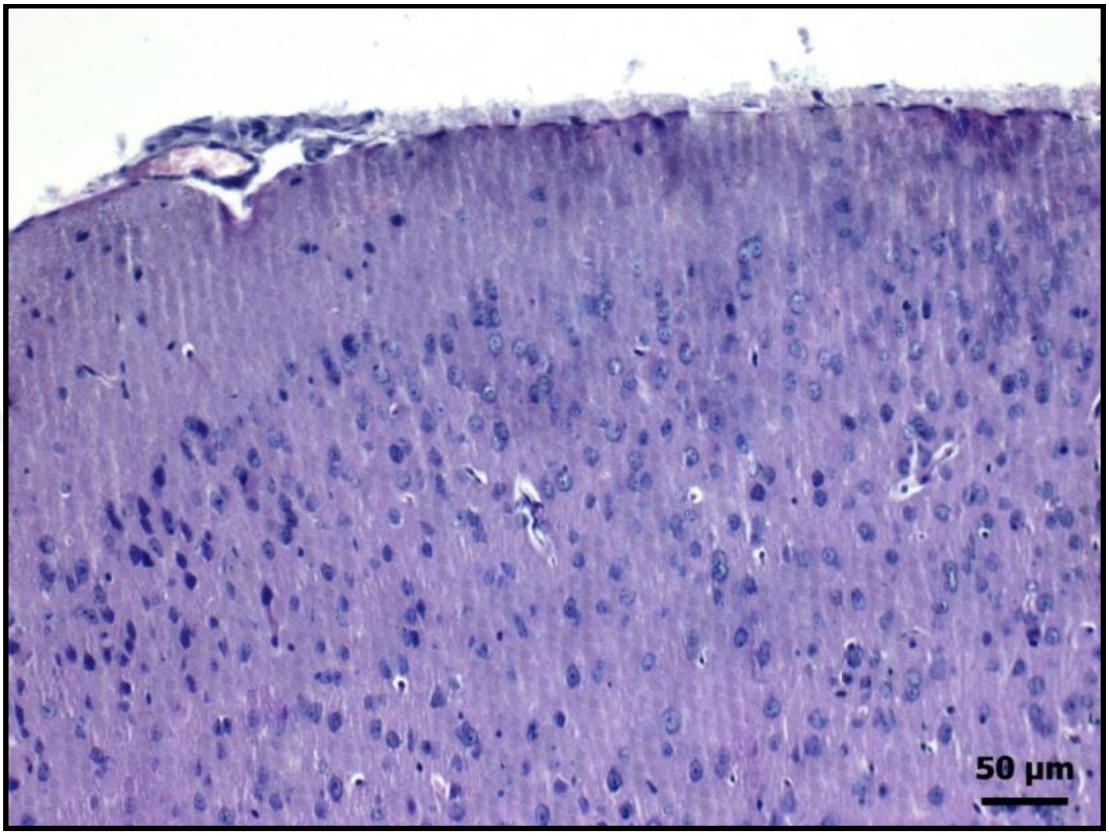
Resim 21. K1 grubu beyin kesiti. Beyin korteksinde normal histolojik görünüm (H-E, Bar: 50 µm).

Fluoksetin Grubu (FLU): Nöron, nöroglia hücreleri ve kan damarları normal yapıda görüldü (Resim 22).



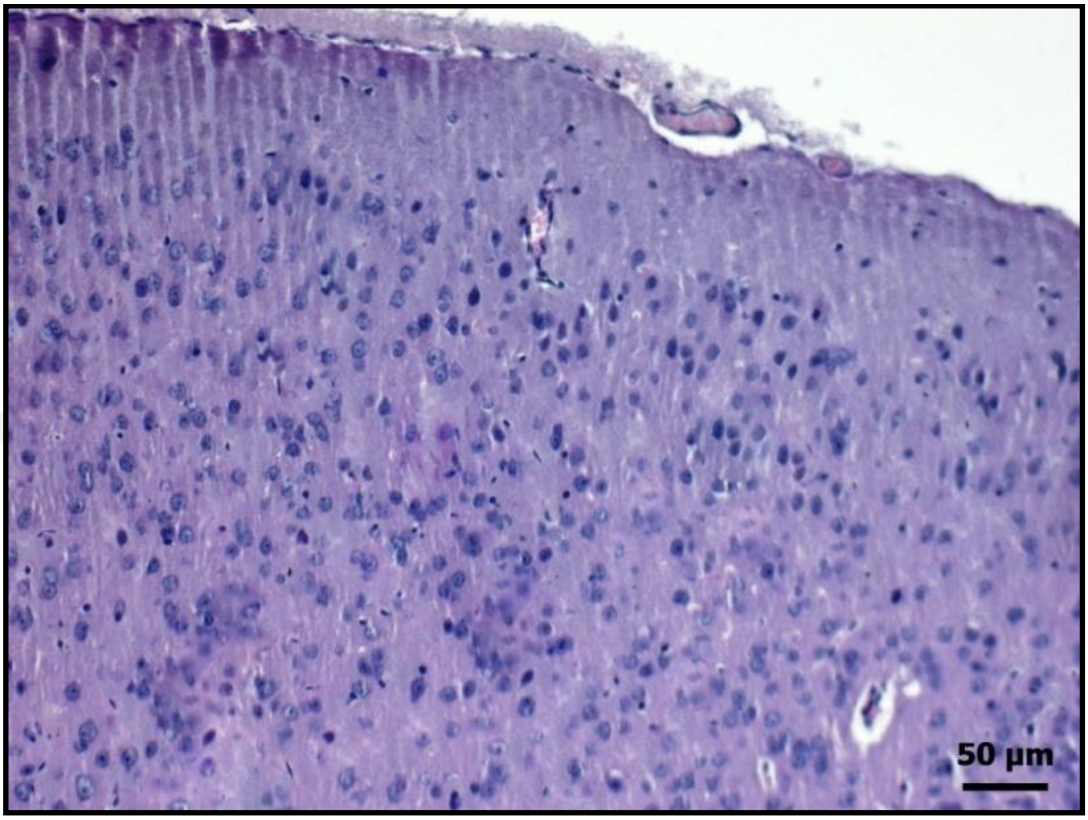
Resim 22. FLU grubu beyin kesiti. Korteks'in yapılanmasının kontrol grubuyla benzer yapıda olduğu izlenmektedir (H-E, Bar: 50 µm).

Methiothepin Grubu (MET): Beyin dokusunun normal histolojik yapıda olduğu izlendi (Resim 23).



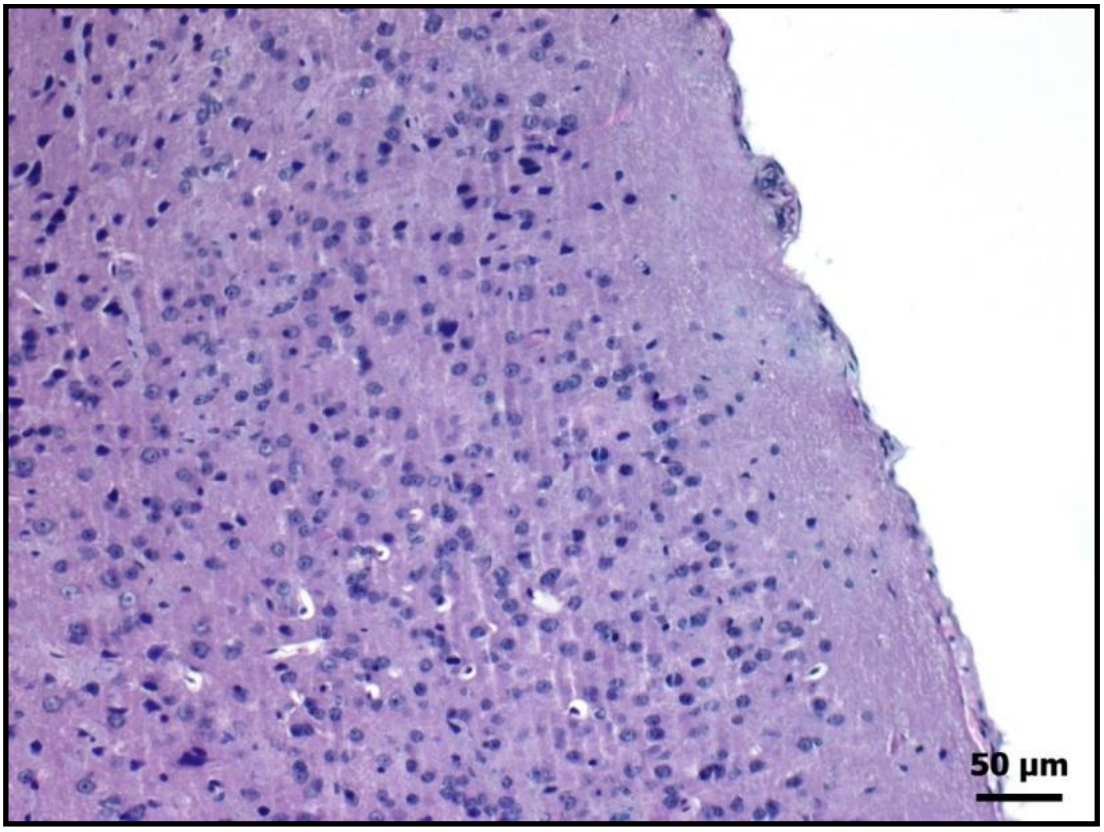
Resim 23. MET grubu beyin kesiti. MET grubundan alınan beyin dokusu örneklerinin kesitlerinde beyin tabakalarının K1 grubuna benzer şekilde düzenli dizildiği ve beyin dokusunun normal histolojik yapısı izlenmektedir (H-E, Bar: 50 µm).

pCPA Grubu (PCPA): Beyin kesitlerinin ışık mikroskobik incelemesinde herhangi bir patolojiye rastlanmadı (Resim 24).



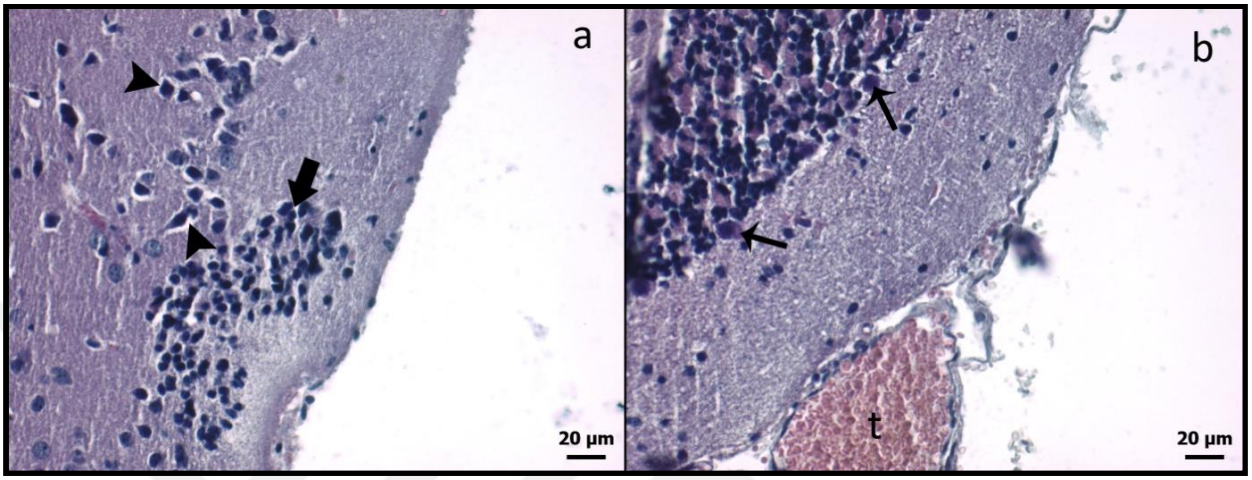
Resim 24. PCPA grubu serebrum kesitinde normal histolojik yapı izlenmektedir (H-E, Bar: 50 µm).

GYKI Grubu (GYKI): Pia mater ve serebral kortekste normal histolojik yapı izlendi (Resim 25).



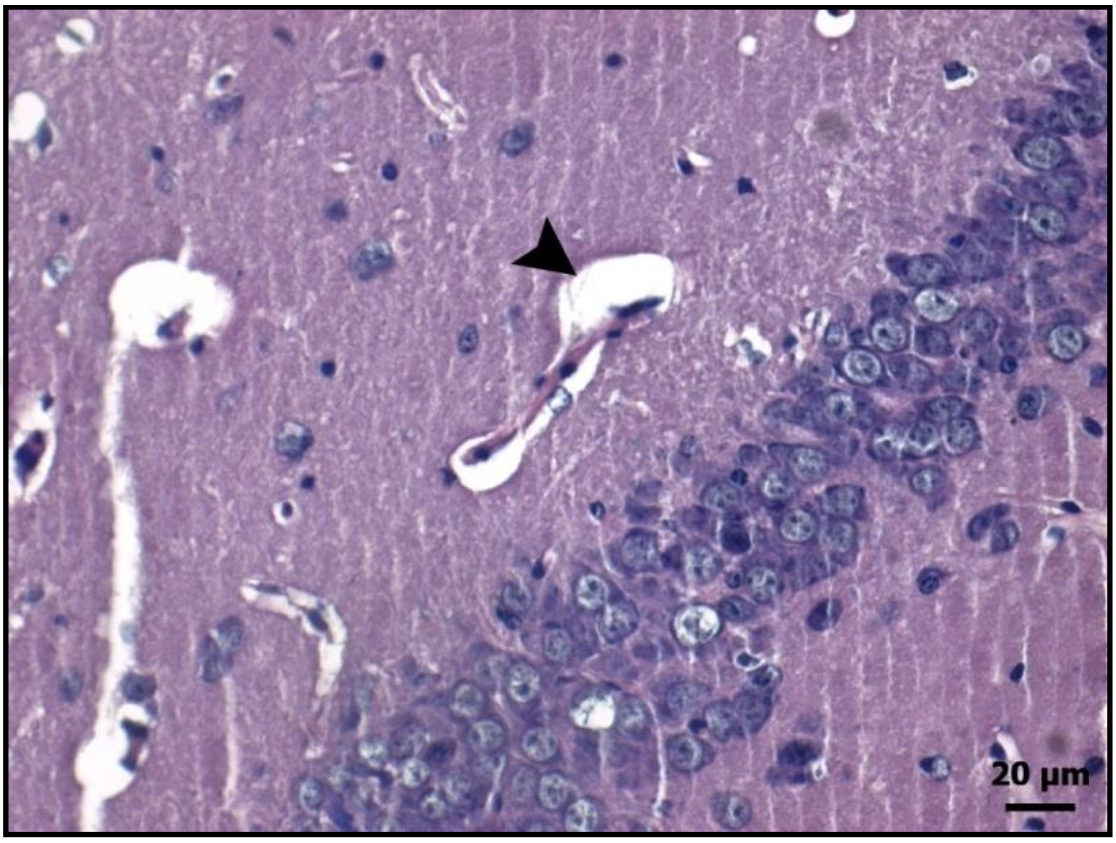
Resim 25. GYKI grubu beyin kesiti: GYKI grubu beyin kesitinde kontrol grubuna benzer histolojik yapılanma izlenmektedir (H-E, Bar: 50 µm).

Ketamin 1 Grubu (KET1): Ketamin uygulanan farelerin serebral piramidal nöronlarında kısmi perinöral ödem ve oligodendroglia hücrelerinde proliferasyon (satellitozis) izlendi. Bu grubun serebellumunda ise pürkinje hücre kaybı ve subpial vasküler alanda tromboz izlendi (Resim 26a, Resim 26b).



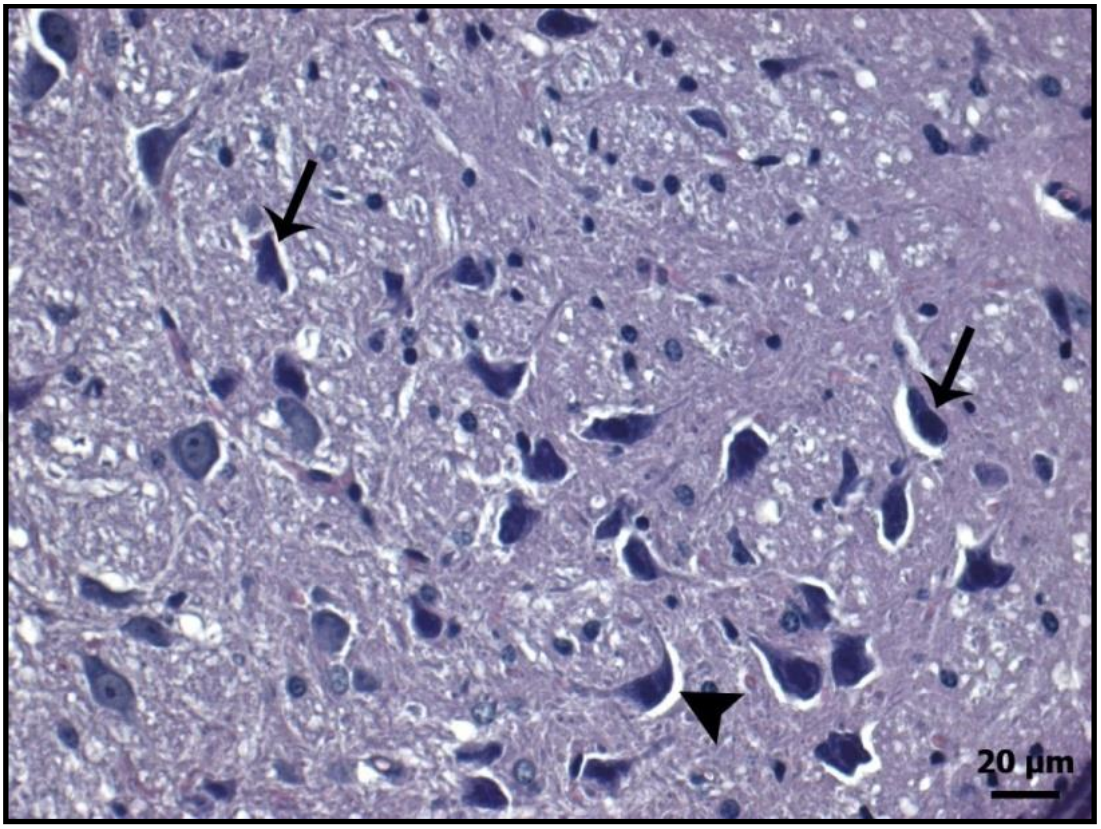
Resim 26 a-b. KET1 grubu serebrum ve serebellum kesitleri. Serebral korteks piramidal nöronlarında perinöral ödem (okbaşı) ve satellitozis (kalın ok) izlenmektedir (Resim 26a). Serebellum bölgesinde tromboz (t) ve purkinje hücrelerinde nekrozis (ince ok) (Resim 26b). (H-E, Bar: 20 µm).

Ketamin+Fluoksetin Grubu (KF): KF grubu korteksinde herhangi patolojik bir bulguya rastlanmadı. Ayrıca bu grubun hipokampusunda perivasküler ödem dışında nöronlarda normal histolojik yapı izlendi (Resim 27).



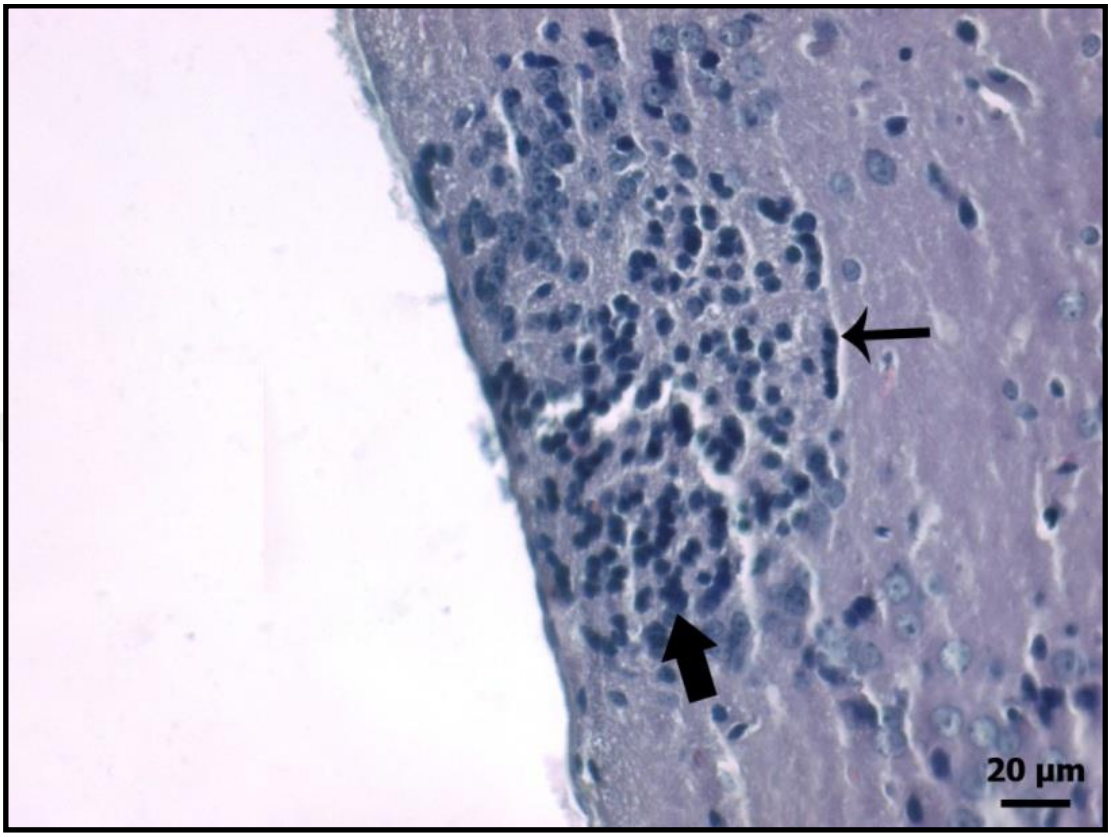
Resim 27. KF grubu hipokampus kesiti. Perivasküler ödem (okbaşı) hariç hipokampusun normal histolojik yapısı izlenmektedir (H-E, Bar: 20 µm).

Ketamin+Methiothepin Grubu (KM): KM grubu'nun hipokampal nöronlarında nekroz ve perinöral ödem şekillendiği tespit edildi (Resim 28).



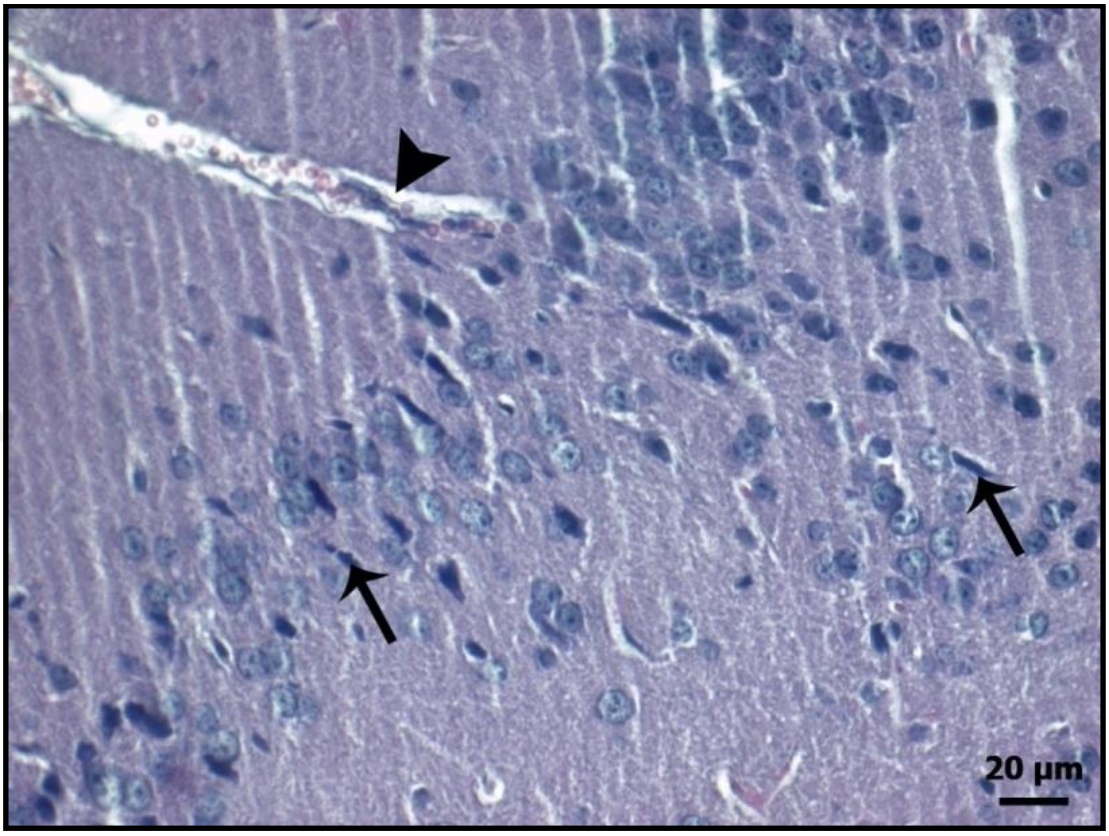
Resim 28. KM grubu hipokampus kesiti. Nöronlarda nekroz (ince ok) ve perinöral ödem (okbaşı) izlenmektedir (H-E, Bar: 20 µm).

Ketamin+pCPA Grubu (KP): KP grubu histolojik kesitlerinde serebral nöronlarda fokal nekrozis yanı sıra satellitozis izlendi (Resim 29).



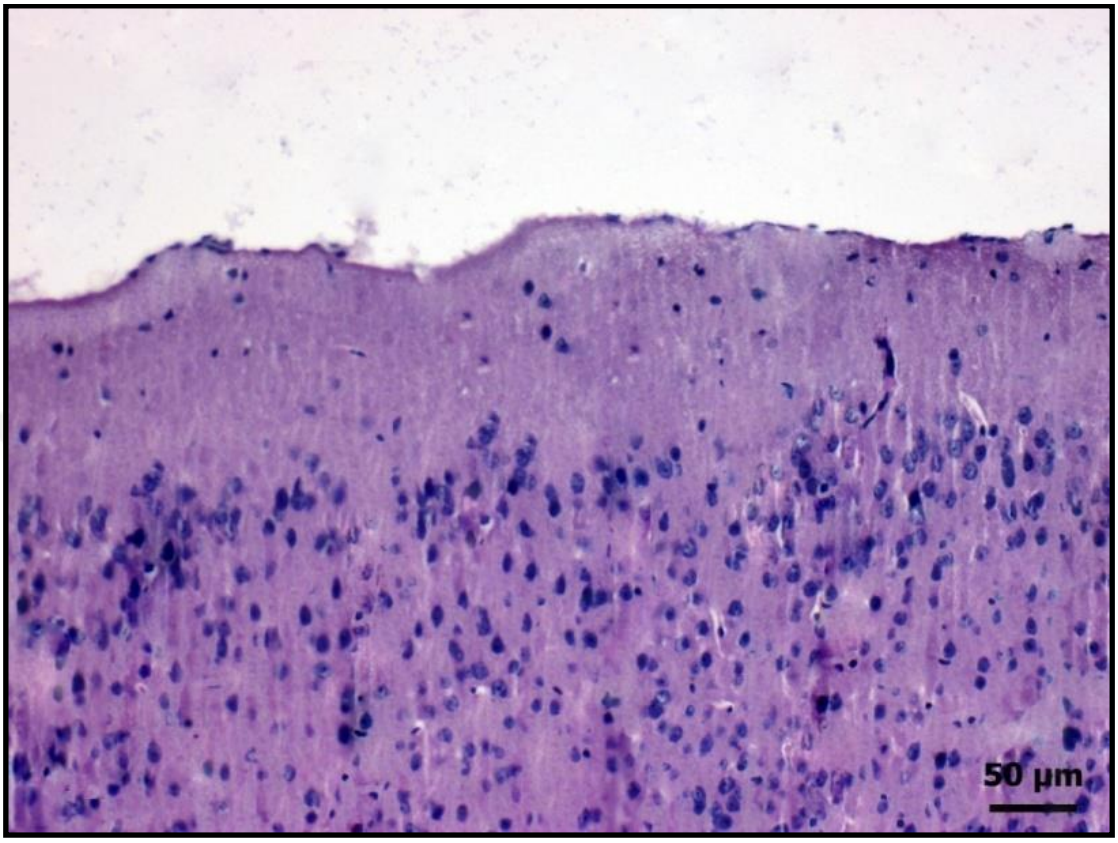
Resim 29: KP grubu serebrum kesiti. Serebral nöronlarda fokal nekrozis (ince ok) ve satellitozis (kalın ok) izlenmektedir (H-E, Bar: 20 µm).

Ketamin+GYKI Grubu (KG): Piramidal nöronlarda nekroz ve perivasküler ödem kaydedildi (Resim 30).



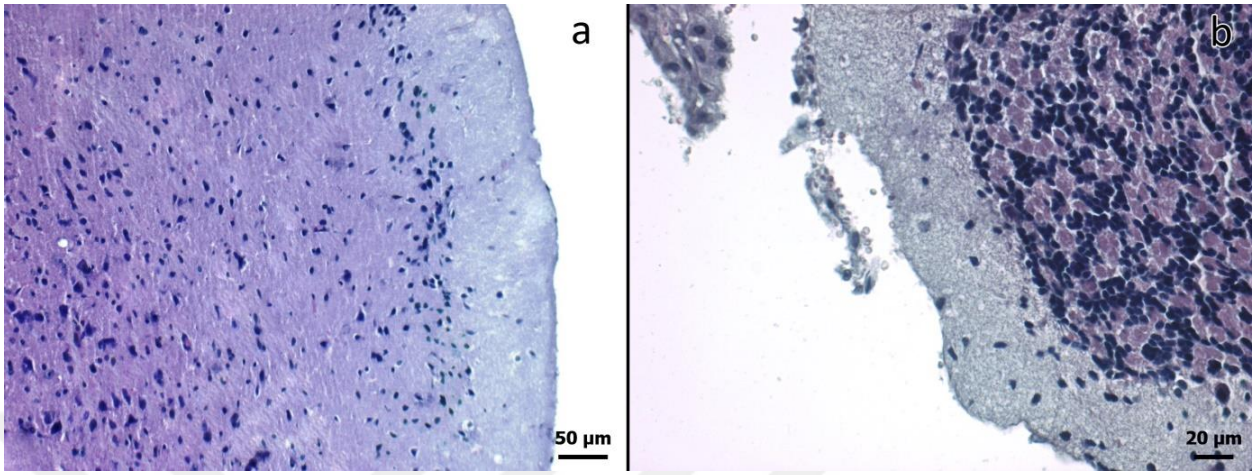
Resim 30. KG grubu serebrum kesiti. Piramidal nöronlarda yaygın nekrozis (ince ok) ve perivasküler ödem (okbaşı) (H-E, Bar: 20 µm).

Kontrol 2 Grubu (K2). Bu gruba ait farelerin serebrumunda herhangi bir patolojiye rastlanmadı (Resim 31).



Resim 31. K2 grubu beyin kesiti. K2 grubu beyin kesitinde normal histolojik yapının korunduğu tespit edildi (H-E, Bar: 50 µm).

Ketamin 2 Grubu (KET2): KET2 grubu serebrum (Resim 32a) ve serebellum (Resim 32b) kesitlerinde normal histolojik yapı izlenmektedir.



Resim 32. KET2 grubu serebrum ve serebellum kesitleri. Nöronlarda normal histolojik yapı gözlemlendi (Resim 32a) (H-E, Bar: 50 µm). Serebellumda purkinje hücrelerinde herhangi bir patolojiye rastlanmadı (Resim 32b) (H-E, Bar: 20 µm).

5. TARTIŞMA

Çalışmada, açık alan testinden elde ettiğimiz veriler, methiothepin (0.1 mg/kg) uygulanan gruplar hariç, kullanılan ilaçların lokomotor aktiviteyi etkilemediklerini göstermektedir. Methiothepin uygulanan grupların ise lokomotor aktivitelerinde anlamlı bir azalma tespit edilmiştir.

Zorunlu yüzme testinden elde edilen veriler, tek doz S(+) ketamin (20 mg/kg) uygulamasının, lokomotor aktiviteyi etkilemeksizin, bir hafta süreli subkronik fluoksetin (20 mg/kg/gün) uygulaması ile kıyaslanabilen düzeyde antidepresan-benzeri etkiler oluşturduğunu, fluoksetin ile kombinasyonunun ise bu etkiyi potansiyalize etmediğini göstermektedir. Ketamin ile, bir serotonin reseptör antagonisti olan methiothepin (0.1 mg/kg) ve bir serotonin deplesyon ajanı olan p-klorofenil alanin (pCPA; 150 mg/kg/gün) kombinasyonlarının hareketsiz zamanı artırmak suretiyle antidepresan etkiyi azalttıkları ve/veya ortadan kaldırdıkları gözlemlenmiştir. Methiothepin ile gözlemlenen hareketsiz zaman artışının, anılan ilacın lokomotor aktiviteyi baskılayıcı etkilerinden kaynaklandığı düşünülebilir. pCPA ile serotonerjik aktivitenin bloke edilmesi ile ketamin'in antidepresan-benzeri etkilerinin ortadan kalkması ise, antidepresan etki oluşumunda serotonerjik sistemin önemli rollerinin bulunduğuna işaret etmektedir. Günümüz literatürü, ketamin'in serotonerjik ve dopaminerjik transmisyonu artırdığını belirtmektedir (171,172). Ketamin uygulamasından sonra geçici olarak dopamin salıverilmesinin 5 kat arttığı, bazal dopamin seviyelerinin ise 2 katına çıktığı belirtilmektedir. Ketamin uygulaması ile ekstraselüler 5-HIAA seviyelerinde artış gözlemlenmesine karşın, bazal serotonin seviyelerinde bir değişiklik oluşmadığı belirtilmektedir (68). Ketamin'in ayrıca 5-HT_2 ve D_2 reseptörlerine afinitesinin bulunduğu rapor edilmiştir. Bu etkileşimlerin, ketamin ile indüklenen psikomimetik, halüsinojenik ve antidepresan-benzeri etkilerin oluşumunda rollerinin bulunabileceği vurgulanmaktadır (173).

Çalışmada, tek doz ketamin uygulamasından 1 hafta sonra gerçekleştirilen zorunlu yüzme testinde, ketamin uygulanan grubun hareketsiz zamanları kontrol grubuna kıyasla daha düşük olmakla beraber, fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu sonuç, ketamin'in antidepresan-benzeri etkilerinin ilaç uygulamasından 1 hafta sonrasına kadar kısmen devam ettiğini göstermektedir. Literatürde, ketamin uygulaması ile depresyon semptomlarında hızlı başlayan ve

uzun süre devam eden bir iyileşme meydana geldiği belirtilmektedir. Klinik bir çalışmada, ketamin infüzyonunu takiben oluşan antidepresan etkinin 3 gün boyunca korunduğu ve 1 hafta sonrasında hastaların bir kısmının terapötik cevap kriterini karşıladığı belirtilmiştir (147). Zorunlu yüzme testiyle gerçekleştirilen diğer bir çalışmada ise benzer şekilde tek doz ketamin uygulamasının hareketsiz geçirilen zamanı 72 saat boyunca belirgin olarak azalttığı rapor edilmiştir (174).

Çalışmada, ketamin'in bir α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazol propiyonik asit (AMPA) reseptör antagonisti olan GYKI-52466 (20 mg/kg) ile kombine edilmesi durumunda, zorunlu yüzme testinde antidepresan etkinin baskılandığı, GYKI-52466 tek başına uygulandığında ise hareketsiz zamanlarda bir değişiklik meydana gelmediği gözlemlenmiştir. Bu durum, ketamin'in antidepresan etkinliğinde, AMPA reseptör aktivitesinin önemli rollerinin bulunduğunu göstermektedir. Ketamin ile NMDA reseptörlerinin antagonize edilmesi durumunda, glutamatın başta AMPA reseptörleri olmak üzere diğer glutamaterjik reseptörlerdeki aktivitesinin artış gösterdiği belirtilmektedir (138). AMPA reseptör antagonistlerinin ketamin ile indüklenen antidepresan-benzeri etkileri engelleme potansiyellerinin bulunduğu yapılan çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (128). Günümüz literatürü, AMPA reseptörlerinin pozitif allosterik modülatörlerinin, beyin BDNF seviyelerini artırmak suretiyle nöron hayatta kalım ve yenilenmeleri üzerine olumlu etkiler oluşturabileceğine işaret etmektedir. Nitekim, rodent çalışmalarında AMPA reseptörlerini aktive eden ajanların antidepresan-benzeri etkiler oluşturduğu ifade edilmektedir. Bu etkilerin monoaminerjik değişiklikler ile bağlantılı olduğu düşünülmekle beraber, bu konu henüz netlik kazanmamıştır (130).

Çalışmada, tek doz ketamin uygulaması ile hem açık alan hem de yükseltilmiş artı labirenti testlerinde anksiyete belirtilerinde azalma gözlemlenmiş fakat farklılıklar anlamlı bulunmamıştır. Ek olarak, bir AMPA reseptör antagonisti olan GYKI52466 (20 mg/kg) ve antiserotonerjik bir ajan olan pCPA ile anksiyete belirtilerinin belirgin azaldığı gözlemlenmiştir. Literatürde, hipokampal retiküler-aktive olan teta salınımlarının azalmasının tüm anksiyolitik ajanlarda (benzodiazepinler, 5-HT1A agonistleri, SSRI ilaçlar) ortak bir etki mekanizması olduğu belirtilmektedir (175). Ketamin'in, diazepama benzer şekilde hipokampal

retiküler-aktive olan teta salınımlarını azalttığı ve anksiyolitik etkilerinin oluşumunda bu yolağın etkili olabileceği ifade edilmektedir (176).

Ketamin, NMDA reseptörlerine olan afinitesine kıyasla belirgin düşük afinite ile GABAerjik (71) ve opioiderjik reseptörlerle (61) de agonistik etkileşim göstermektedir. Fakat bu etkileşimlerin klinik etkili dozlardan daha yüksek dozlarda belirgin hale gelmesinden dolayı klinik etki oluşturma potansiyellerinin bulunmadığı düşünülmektedir (70). Bir çalışmada, $GABA_A$ reseptör antagonisti uygulamasının (bicuculline), pentobarbital ve propofol'un sinaptik transmisyon üzerindeki inhibitör etkilerini tamamen ortadan kaldırmasına rağmen, ketamin ile indüklenen inhibisyonu kısmen engellediği rapor edilmiştir (72). Eksitasyonun engellenmesi ile, postsinaptik nöronda inhibitör GABAerjik hâkimiyetin baskın hale gelmesi suretiyle aksiyon potansiyeli oluşumunun engellenmesinin, ketamin ile gözlemlenen anksiyolitik etkinin muhtemel mekanizmalarından olabileceği vurgulanmaktadır (177). Bununla beraber, ketamin uygulamasının anksiyeteyi artırdığını ya da etkilemediğini belirten çalışmalar da mevcuttur (178). Gerçekleştirilecek ileri araştırmalar, ketamin'in anksiyete üzerine etkilerinin anlaşılmasına katkı sağlayacaktır.

Çalışmada, ilk pasif sakınma (PA1) eğitim testinden 1 gün önce ketamin uygulaması (3. doz) yapılmış, eğitimden 24 saat sonra ise ilaç uygulanmaksızın ikinci gün testi gerçekleştirilmiştir. 2. gün testinde, fluoksetin ve ketamin-fluoksetin uygulanan grupların edinme performanslarında bozulma meydana geldiği, buna karşın yalnız ketamin uygulaması ile anlamlı bir değişiklik oluşmadığı gözlemlenmiştir. Serotonerjik transmisyonu artıran bir ajan olan fluoksetin'in analjezik potansiyeli göz önüne alındığında (179), gözlemlenen bu bozulmanın, kognitif fonksiyon bozukluğundan ziyade uygulanan elektrik şokunun daha düşük ağrı oluşturması nedeniyle kısıtlı pasif sakınma yanıtı gelişimi şeklinde ortaya çıktığı düşünülebilir.

PA1 ikinci gün testinden 1 saat (4. doz) ve 2 gün sonra birer ketamin (5. doz) uygulaması yapılmış ve son ilaç uygulamasından 2 gün sonra ikinci pasif sakınma (PA2) ilk gün testi, ilaç uygulanmaksızın gerçekleştirilmiştir. Bu testte methiothepin, pCPA ve ketamin-pCPA uygulanan grupların pekiştirme performanslarının iyileştiği gözlemlenmiştir. Bu sonuç, ketamin'in uygulanan dozda pekiştirme performansını etkilemediğini, methiothepin ve pCPA gibi antiserotonerjik ajanların ise pekiştirme

performansını iyileştirdiğini göstermektedir. Gözlemlenen bu iyileşmenin, antiserotonerjik ajanların hiperaljezi oluşturma potansiyelleri göz önüne alındığında (180), deneklerin uygulanan elektrik şokunu daha belirgin hissetmeleri suretiyle, yüksek pasif sakınma yanıtı oluşturmaları nedeniyle oluştuğu düşünülebilir. Bununla beraber literatürde, ilaçlar ya da genetik manipülasyon ile serotonerjik aktivitenin baskılanması sonucu, özellikle korku hafızası edinme ve geri çağırma süreçlerinde iyileşme meydana geldiğini belirten çalışmalar mevcuttur (181).

PA1 testinde, fluoksetin ve ketamin-fluoksetin kombinasyonu ile bozulan edinme performansının, PA2 ilk gün testinde normale yaklaştığı gözlemlenmiştir. Fluoksetin uygulanan gruplarda edinme testinde görülen bozulmanın, pekiştirme testinde düzelmesi, serotonin reseptörlerinin duyarsızlaşması ve down-regülasyonu ile ilişkili olabilir. PA2 ikinci gün testinden 1 saat önce ilaç uygulamaları (6. doz) gerçekleştirilmiş ve geçiş süreleri bakımından gruplar arasında fark tespit edilmemiştir. Bu sonuç, uygulanan ilaçların geri çağırma performanslarını etkilemediğine ve/veya iki kere aynı tecrübenin yaşanması nedeniyle tecrübenin iyice pekiştirildiğine işaret etmektedir. Tüm bu sonuçlar göz önüne alındığında, serotonerjik aktivitedeki artışın emosyonel bellek süreçlerinde bozulmalara neden olabileceği ve antiserotonerjik ajanlar ile anılan süreçlerin iyileşmesine katkı sağlanabileceği söylenebilir.

Çalışmada tekrarlanan ketamin uygulamaları ile beyin prefrontal korteks (PFK) ve hipokampal doku malondialdehit (MDA) seviyelerinde belirgin bir değişiklik oluşmadığı gözlemlenmiştir. İmmünohistokimyasal incelemelerde, kaspaz-3 ekspresyonları bakımından gruplar arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmezken, histopatolojik incelemelerde, ketamin uygulanan grupların serebral piramidal nöronlarında perinöral ödem, serebellar pürkinje hücre kaybı, hipokampal nöronlarında nekroz ve subpial vasküler alanda tromboz oluşumu izlenmiştir. Bu nörodejeneratif etkiler, tekrarlanan ketamin uygulaması yapılan gruplarda gözlemlenirken, tek doz uygulama yapılan grupta herhangi bir patolojiye rastlanmamıştır. Nörodejenerasyon gözlemlenen ketamin gruplarının emosyonel bellek süreçlerinin etkilenmemesi, oluşan dejenerasyonun davranış deneylerini etkileyecek boyutta olmadığını göstermektedir. Literatürde, ketamin uygulamasına

bağlı nörotoksisiteyi işaret eden çeşitli bulguların saptandığı (182), doz ve tekrar arttıkça bu gibi etkilerde artış meydana geldiği belirtilmektedir (117).

Histopatolojik incelemelerde, ketamin uygulanan grupların oligodentroglia hücrelerinde proliferasyon (satellitozis) oluşumu gözlemlenmiştir. Literatürde, düşük-doz ketamin uygulaması ile BDNF salıverilmesinde artış meydana geldiği (79), rapamisin'in memeli hedefi (mTOR)' nin aktive olduğu (80) ve böylece nöron rejenerasyonunun artış gösterdiği belirtilmektedir. Bu durum, dejeneratif süreçler ile hücrelerin apoptotik yolağa girmesi suretiyle yeni hücre yapımının uyarılması şeklinde yorumlanabilir.

Nörodejenerasyon, AMPA reseptörleri ile yakın ilişkili olmakla beraber, NMDA reseptörlerinin de bu drumun oluşumuna katkı sağladığı düşünülmektedir (107). NMDA ve non-NMDA reseptörlerinin glutamat ya da aspartat tarafından yüksek düzeyde uyarılması, artmış transmembranal akış ile hücre içerisinde sodyum ve kalsiyum birikimine, oksidasyon artışına, hücrenin şişmesine ve hücreyi ölüme götürecek yolakların aktivasyonuna neden olabilir (183). NMDA reseptör antagonizmasını müteakip, ilacın reseptörden ayrılması sonrası duyarlılığı artmış olan reseptörlerin fizyolojik seviyelerdeki glutamat ile aktivasyonu sonucu hücre içerisine toksik düzeyde kalsiyum akışı, NMDA reseptör antagonizması ile indüklenen nörodejenerasyonun mekanizmasını açıklamaya yardımcı olabilir (184). Literatürde, düşük dozlarda uygulanan ketamin'in nöroprotektif etkiler oluşturduğu, dozun ve uygulama sıklığının artması durumunda ise tam tersi bir etki potansiyelinin bulunduğu yönünde veriler bulunmaktadır (141). Ketamin uygulaması ile gerçekleştirilen çalışmaların sonuçlarındaki farklılıkların; uygulanan doz, uygulama süresi, uygulama yolu ve deneysel modellerdeki farklılık gibi değişkenlerden dolayı oluştuğu düşünülmektedir (185).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler, subanestezik tek-doz ketamin uygulaması ile hızlı başlayan ve bir hafta fluoksetin uygulaması ile kıyaslanabilen düzeyde antidepresan-benzeri etkiler oluştuğunu, bu etkinin oluşumunda serotonin varlığının, serotonin ve AMPA reseptör aktivitelerinin gerekliliğini göstermektedir.

Çalışmada uygulanan ketamin dozu ile emosyonel bellek süreçlerinin, lipid peroksidasyon seviyelerinin ve kaspaz-3 ekspresyon düzeylerinin etkilenmediği gözlemlenmiştir. Histopatolojik incelemelerde, ketamin uygulanan gruplarda kısmi nörodejenasyon tepit edilmiş, fakat bu dejeneratif etkilerin davranış deneylerini etkileyecek boyutta olmadığı anlaşılmıştır.

Ketamin ile elde edilen antidepresan etkinin uygulamadan birkaç gün sonra ortadan kalkması, tekrarlanan doz çalışmaları ile etkinin sürdürülebilirliğinin ve muhtemel taşifilaksi potansiyelinin belirlenmesini gerekli kılmaktadır. Bununla beraber, ketamin'in doz-etki ilişkisinin araştırılması, maksimum etki için en uygun doz ve dozlama sıklığının tespit edilmesi, uygulanan dozlarda oluşan yan etkilerin belirlenmesi önem arz etmektedir. Glutamaterjik sistem üzerinden etki eden farklı ilaçlar ve farklı uygulama yollarıyla gerçekleştirilecek çalışmalar ile antidepresan etki süresinin uzatılması, psikomimetik ve nörodejeneratif yan etkilerin azaltılması suretiyle depresyon tedavisinde alternatif terapötik yaklaşımların geliştirilmesi sağlanabilir.

Sonuç olarak ketamin, hızlı ve güçlü etki profili ile depresyon tedavisinde alternatif bir terapötik seçenek olarak ön plana çıkmaktadır. Yapılacak ileri çalışmalar ile elde edilecek bilgiler ışığında ketamin'in endikasyonlarının güncellenmesi mümkün olabilir.

REFERANSLAR

1. Sackeim, Harold A. "The definition and meaning of treatment-resistant depression." *Journal of Clinical Psychiatry* (2001).
2. Sanacora, Gerard, et al. "Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders." *Nature reviews Drug discovery* 7.5 (2008): 426-437.
3. Berman, Robert M., et al. "Antidepressant effects of ketamine in depressed patients." *Biological psychiatry* 47.4 (2000): 351-354.
4. Newport, D. Jeffrey, et al. "Ketamine and other NMDA antagonists: early clinical trials and possible mechanisms in depression." *American Journal of Psychiatry* 172.10 (2015): 950-966.
5. Jevtovic-Todorovic, Vesna, et al. "A comparative evaluation of the neurotoxic properties of ketamine and nitrous oxide." *Brain research* 895.1-2 (2001): 264-267.
6. Hunter, Bruce, et al. "Modulation of learning and memory: effects of drugs influencing neurotransmitters." *Drugs, Neurotransmitters, and Behavior*. Springer US, 1977. 531-577.
7. Stolerman, Ian, ed. *Encyclopedia of psychopharmacology*. Springer Science & Business Media, 2010.
8. Dodman, Nicholas H., and Louis Shuster. *Psychopharmacology of animal behavior disorders*. Blackwell Science, 1998.
9. Stahl, Stephen M. *Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications*. Cambridge university press, 2013.
10. Spiegel, René. *Psychopharmacology: an introduction*. John Wiley & Sons, 2003.
11. Meyer, Jerrold S., and Linda F. Quenzer. "Psychopharmacology: drugs, the brain, and behavior." (2005).
12. Konopleva, Marina, et al. "Apoptosis." *Drug Resistance in Leukemia and Lymphoma III*. Springer US, 1999. 217-236.
13. Estaquier, Jérome, et al. "The mitochondrial pathways of apoptosis." *Advances in Mitochondrial Medicine*. Springer Netherlands, 2012. 157-183.

14. Pitt, David, Peter Werner, and Cedric S. Raine. "Glutamate excitotoxicity in a model of multiple sclerosis." *Nature medicine*6.1 (2000): 67.
15. Kayaalp, Oğuz. *Tıbbi Farmakoloji*. Hacettepe-Taş, 1996.
16. Engert, Florian, and Tobias Bonhoeffer. "Dendritic spine changes associated with hippocampal long-term synaptic plasticity." *Nature* 399.6731 (1999): 66-70.
17. Collingridge, Graham L., and Jeffrey C. Watkins. *The NMDA receptor*. Oxford University Press, USA, 1994.
18. Woolf, Nancy J. "Acetylcholine, cognition, and consciousness." *Journal of Molecular Neuroscience* 30.1 (2006): 219-222.
19. Hasselmo, Michael E. "The role of acetylcholine in learning and memory." *Current opinion in neurobiology* 16.6 (2006): 710-715.
20. Kety, Seymour. "Brain catecholamines, affective states and memory." *The chemistry of mood, motivation, and memory*. Springer US, 1972. 65-80.
21. Riederer, P., et al. "The role of dopamine in the control of neurobiological functions." *The role of brain dopamine*. Springer Berlin Heidelberg, 1989. 1-17.
22. Goldstein, David S. *Stress, Catecholamines, and Cardiovascular Disease*. Oxford University Press, 1995.
23. Hashimoto, Takashi, and Yoshihiro Iwamura. "AC-3933, a benzodiazepine partial inverse agonist, improves memory performance in MK-801-induced amnesia mouse model." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 144 (2016): 45-52.
24. Wesnes, Keith A., et al. "Memantine improves attention and episodic memory in Parkinson's disease dementia and dementia with Lewy bodies." *International journal of geriatric psychiatry*30.1 (2015): 46-54.
25. Ahlenius, Sven. "Inhibition of catecholamine synthesis and conditioned avoidance acquisition." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1.3 (1973): 347-350.
26. Stumpf, Ch. "Drug action on the electrical activity of the hippocampus." *International review of neurobiology* 8 (1965): 77-138.

27. White, Ollan A., and Milton D. Suboski. "Resistance of one-trial discriminated avoidance to chlorpromazine." *Psychopharmacology* 16.1 (1969): 25-29.
28. Johnson, F. N. "The effects of chlorpromazine on the decay and consolidation of short-term memory traces in mice." *Psychopharmacology* 16.2 (1969): 105-114.
29. Essman, Walter B. "Drug effects and learning and memory processes." *Advances in Pharmacology* 9 (1971): 241-330.
30. Riege, Walter H. "One-trial learning and brain serotonin depletion by para-chlorophenylalanine." *International Journal of Neuroscience* 2.4-5 (1971): 237-240.
31. Lorens, Stanley A., and Libby M. Yunger. "Morphine analgesia, two-way avoidance, and consummatory behavior following lesions in the midbrain raphe nuclei of the rat." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2.2 (1974): 215-221.
32. Stevens, David A., Laurence D. Fechter, and Oscar Resnick. "The effects of p-chlorophenylalanine, a depletor of brain serotonin, on behavior: II. Retardation of passive avoidance learning." *Life sciences* 8.8 (1969): 379-385.
33. Steranka, Larry R., and Robert J. Barrett. "Facilitation of avoidance acquisition by lesion of the median raphe nucleus: evidence for serotonin as a mediator of shock-induced suppression." *Behavioral biology* 11.2 (1974): 205-213.
34. Springer, Sally P., and Georg Deutsch. *Left brain, right brain: Perspectives from cognitive neuroscience*. WH Freeman/Times Books/Henry Holt & Co, 1998.
35. Rakic, Pasko. "Evolution of the neocortex: a perspective from developmental biology." *Nature Reviews Neuroscience* 10.10 (2009): 724-735.
36. Miller, Earl K., David J. Freedman, and Jonathan D. Wallis. "The prefrontal cortex: categories, concepts and cognition." *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 357.1424 (2002): 1123-1136.

37. Douglas, Robert J. "The hippocampus and behavior." *Psychological bulletin* 67.6 (1967): 416.
38. Bliss, Tim VP, and Graham L. Collingridge. "A synaptic model of memory: long-term potentiation in the hippocampus." *Nature*361.6407 (1993): 31-39.
39. Herz, Albert. "Drugs and the conditioned avoidance response." *International review of neurobiology* 2 (1960): 229-277.
40. McGaugh, James L., and Lewis F. Petrinovich. "Effects of drugs on learning and memory." *International review of neurobiology* 8 (1965): 139-196.
41. Koe, B. Kenneth, and Albert Weissman. "p-Chlorophenylalanine: a specific depletor of brain serotonin." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 154.3 (1966): 499-516.
42. http://neurones.co.uk/Neurosciences/Images/1/NMDA%20receptor%20www.frca.co.uk.jpg
43. Watt, Alanna J., et al. "A proportional but slower NMDA potentiation follows AMPA potentiation in AMPA." *Nature neuroscience* 7.5 (2004): 518-524.
44. Monyer, Hannah, et al. "Heteromeric NMDA receptors: molecular and functional distinction of subtypes." *Science* 256.5060 (1992): 1217-1221.
45. Collingridge, G. L., and T. V. P. Bliss. "NMDA receptors-their role in long-term potentiation." *Trends in Neurosciences* 10.7 (1987): 288-293.
46. Rolly, G. "Use of Ketamine as Monoanesthetic in Clinical Anesthesia, Acid-Base Status and Oxygenation." *Ketamine*. Springer Berlin Heidelberg, 1969. 117-129.
47. Kohrs, Rainer, and Marcel E. Durieux. "Ketamine: teaching an old drug new tricks." *Anesthesia & Analgesia* 87.5 (1998): 1186-1193.
48. Cull-Candy, Stuart G., and Daniel N. Leszkiewicz. "Role of distinct NMDA receptor subtypes at central synapses." *sci STKE*2004.255 (2004): re16.
49. Liu, Lidong, et al. "Role of NMDA receptor subtypes in governing the direction of hippocampal synaptic plasticity." *Science*304.5673 (2004): 1021-1024.
50. Anis, N. A., et al. "The dissociative anaesthetics, ketamine and phencyclidine, selectively reduce excitation of central mammalian neurones

by N-methyl-aspartate." *British journal of pharmacology* 79.2 (1983): 565-575.

51. Cheng, Eugene Y., et al. "Direct relaxant effects of intravenous anesthetics on airway smooth muscle." *Anesthesia & Analgesia*83.1 (1996): 162-168.
52. Soliman, Magdi G., G. Fred Brindle, and Gustavo Kuster. "Response to hypercapnia under ketamine anaesthesia." *Canadian Journal of Anesthesia/Journal canadien d'anesthésie*22.4 (1975): 486-494.
53. Heinz, P., et al. "Is atropine needed with ketamine sedation? A prospective, randomised, double blind study." *Emergency medicine journal* 23.3 (2006): 206-209.
54. Wixson, S. K., et al. "The effects of pentobarbital, fentanyl-droperidol, ketamine-xylazine and ketamine-diazepam on arterial blood pH, blood gases, mean arterial blood pressure and heart rate in adult male rats." *Laboratory animal science* 37.6 (1987): 736-742.
55. Cartwright, P. D., and S. M. Pingel. "Midazolam and diazepam in ketamine anaesthesia." *Anaesthesia* 39.5 (1984): 439-442.
56. Murrough, James W., et al. "Antidepressant efficacy of ketamine in treatment-resistant major depression: a two-site randomized controlled trial." *American Journal of Psychiatry* 170.10 (2013): 1134-1142.
57. Garthwaite, John. "Glutamate, nitric oxide and cell-cell signalling in the nervous system." *Trends in neurosciences* 14.2 (1991): 60-67.
58. Gordh, Torsten, Rolf Karlsten, and Jens Kristensen. "Intervention with spinal NMDA, adenosine, and NO systems for pain modulation." *Annals of medicine* 27.2 (1995): 229-234.
59. Elliott, Kathryn, et al. "The NMDA receptor antagonists, LY274614 and MK-801, and the nitric oxide synthase inhibitor, NG-nitro-L-arginine, attenuate analgesic tolerance to the mu-opioid morphine but not to kappa opioids." *Pain* 56.1 (1994): 69-75.
60. Amin, Ashok R., et al. "The mode of action of aspirin-like drugs: effect on inducible nitric oxide synthase." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 92.17 (1995): 7926-7930.

61. Hirota, Kazuyoshi, et al. "Stereoselective interaction of ketamine with recombinant mu, kappa, and delta opioid receptors expressed in Chinese hamster ovary cells." *Anesthesiology* 90.1 (1999): 174-182.
62. Hustveit, Olav, Atle Maurset, and Ivar Øye. "Interaction of the chiral forms of ketamine with opioid, phencyclidine, σ and muscarinic receptors." *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 77.6 (1995): 355-359.
63. Huang, Cheng, et al. "Ketamine potentiates the effect of electroacupuncture on mechanical allodynia in a rat model of neuropathic pain." *Neuroscience letters* 368.3 (2004): 327-331.
64. Sasaki, Toshio, et al. "Nonstereoselective inhibition of neuronal nicotinic acetylcholine receptors by ketamine isomers." *Anesthesia & Analgesia* 91.3 (2000): 741-748.
65. Durieux, Marcel E. "Inhibition by ketamine of muscarinic acetylcholine receptor function." *Anesthesia & Analgesia* 81.1 (1995): 57-62.
66. Aronstam, Robert S., Latha Narayanan, and Deborah A. Wenger. "Ketamine inhibition of ligand binding to cholinergic receptors and ion channels." *European journal of pharmacology*78.3 (1982): 367-370.
67. Salt, P. J., P. K. Barnes, and F. J. Beswick. "Inhibition of neuronal and extraneuronal uptake of noradrenaline by ketamine in the isolated perfused rat heart." *BJA: British Journal of Anaesthesia*51.9 (1979): 835-838.
68. Lindefors, N., S. Barati, and W. T. O'Connor. "Differential effects of single and repeated ketamine administration on dopamine, serotonin and GABA transmission in rat medial prefrontal cortex." *Brain research* 759.2 (1997): 205-212.
69. Langston, William T., et al. "Effect of ondansetron on the incidence of vomiting associated with ketamine sedation in children: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial." *Annals of emergency medicine* 52.1 (2008): 30-34.
70. Gage, Peter W., and Brian Robertson. "Prolongation of inhibitory postsynaptic currents by pentobarbitone, halothane and ketamine in CA1 pyramidal cells in rat hippocampus." *British journal of pharmacology* 85.3 (1985): 675-681.

71. Lin, L. H., et al. "General anesthetics potentiate gamma-aminobutyric acid actions on gamma-aminobutyric acidA receptors expressed by Xenopus oocytes: lack of involvement of intracellular calcium." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 263.2 (1992): 569-578.
72. Sonner, James M., et al. "GABA (A) receptor blockade antagonizes the immobilizing action of propofol but not ketamine or isoflurane in a dose-related manner." *Anesthesia and analgesia* 96.3 (2003): 706-12.
73. Hollister, G. R., and J. M. B. Burn. "Side effects of ketamine in pediatric anesthesia." *Anesthesia & Analgesia* 53.2 (1974): 264-267.
74. Tverskoy, Mark, et al. "Preemptive effect of fentanyl and ketamine on postoperative pain and wound hyperalgesia." *Anesthesia & Analgesia* 78.2 (1994): 205-209.
75. Choe, Huhn, et al. "Epidural morphine plus ketamine for upper abdominal surgery: improved analgesia from preincisional versus postincisional administration." *Anesthesia & Analgesia*84.3 (1997): 560-563.
76. Fu, Eugene S., Rafael Miguel, and John E. Scharf. "Preemptive ketamine decreases postoperative narcotic requirements in patients undergoing abdominal surgery." *Anesthesia & Analgesia*84.5 (1997): 1086-1090.
77. Kwak, Shin, and John H. Weiss. "Calcium-permeable AMPA channels in neurodegenerative disease and ischemia." *Current opinion in neurobiology* 16.3 (2006): 281-287.
78. Shapira, Yoram, et al. "Therapeutic time window and dose response of the beneficial effects of ketamine in experimental head injury." *Stroke* 25.8 (1994): 1637-1643.
79. Liu, Wen-Xue, et al. "Regulation of glutamate transporter 1 via BDNF-TrkB signaling plays a role in the anti-apoptotic and antidepressant effects of ketamine in chronic unpredictable stress model of depression." *Psychopharmacology* 233.3 (2016): 405-415.
80. Stahl, Stephen M. "Mechanism of action of ketamine." *CNS spectrums* 18.4 (2013): 171-174.

81. Zou, Xiaoju, et al. "Prolonged exposure to ketamine increases neurodegeneration in the developing monkey brain." *International Journal of Developmental Neuroscience* 27.7 (2009): 727-731.
82. Huang, Lining, et al. "Ketamine potentiates hippocampal neurodegeneration and persistent learning and memory impairment through the PKCγ–ERK signaling pathway in the developing brain." *Brain research* 1476 (2012): 164-171.
83. Young, Chainllie, et al. "Potential of ketamine and midazolam, individually or in combination, to induce apoptotic neurodegeneration in the infant mouse brain." *British journal of pharmacology* 146.2 (2005): 189-197.
84. Bai, Xiaowen, and Zeljko J. Bosnjak. "Emerging model in anesthetic developmental neurotoxicity: human stem cells." *International journal of clinical anesthesiology* 1 (2013): 1002.
85. Liu, Fang, et al. "Ketamine-induced neurotoxicity and changes in gene expression in the developing rat brain." *Current neuropharmacology* 9.1 (2011): 256-261.
86. Yan, Jia, et al. "Repeated administration of ketamine can induce hippocampal neurodegeneration and long-term cognitive impairment via the ROS/HIF-1α pathway in developing rats." *Cellular Physiology and Biochemistry* 33.6 (2014): 1715-1732.
87. Liu, Fang, et al. "Ketamine-induced neuronal damage and altered N-methyl-D-aspartate receptor function in rat primary forebrain culture." *toxicological sciences* 131.2 (2012): 548-557.
88. Wang, Cheng, et al. "Relationship between ketamine-induced developmental neurotoxicity and NMDA receptor-mediated calcium influx in neural stem cell-derived neurons." *Neurotoxicology* (2016).
89. Olney, J. W., et al. "NMDA antagonist neurotoxicity: mechanism and prevention." *Science(Washington)* 254.5037 (1991): 1515-1518.
90. Fix, Andrew S., et al. "Neuronal vacuolization and necrosis induced by the noncompetitive N-methyl-D-aspartate (NMDA) antagonist MK (+) 801 (dizocilpine maleate): a light and electron microscopic evaluation of the rat retrosplenial cortex." *Experimental neurology* 123.2 (1993): 204-215.

91. Kaku, David A., Mark P. Goldberg, and Dennis W. Choi. "Antagonism of non-NMDA receptors augments the neuroprotective effect of NMDA receptor blockade in cortical cultures subjected to prolonged deprivation of oxygen and glucose." *Brain research* 554.1 (1991): 344-347.
92. Goldberg, MARK P., et al. "N-methyl-D-aspartate receptors mediate hypoxic neuronal injury in cortical culture." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 243.2 (1987): 784-791.
93. Ellison, Gaylord. "The N-methyl-D-aspartate antagonists phencyclidine, ketamine and dizocilpine as both behavioral and anatomical models of the dementias." *Brain Research Reviews*20.2 (1995): 250-267.
94. Hirschfeld, Robert. "History and evolution of the monoamine hypothesis of depression." *The Journal of clinical psychiatry*(2000).
95. Nemeroff, Charles B. "The neurobiology of depression." *SCIENTIFIC AMERICAN-AMERICAN EDITION*- 278 (1998): 42-49.
96. Nutt, David J. "Relationship of neurotransmitters to the symptoms of major depressive disorder." *The Journal of clinical psychiatry* 69 (2008): 4-7.
97. Angelucci, F., S. Brene, and A. A. Mathe. "BDNF in schizophrenia, depression and corresponding animal models." (2005): 345-352.
98. Sapolsky, Robert M. "The possibility of neurotoxicity in the hippocampus in major depression: a primer on neuron death." *Biological psychiatry* 48.8 (2000): 755-765.
99. Lineberry, Timothy W., and Stephen S. O'connor. "Suicide in the US Army." *Mayo Clinic Proceedings*. Vol. 87. No. 9. Elsevier, 2012.
100. Iadarola, Nicolas D., et al. "Ketamine and other N-methyl-D-aspartate receptor antagonists in the treatment of depression: a perspective review." *Therapeutic advances in chronic disease*6.3 (2015): 97-114.
101. Richelson, Elliott. "Pharmacology of antidepressants—characteristics of the ideal drug." *Mayo Clinic Proceedings*. Vol. 69. No. 11. Elsevier, 1994.
102. Sanacora, Gerard, et al. "Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders." *Nature reviews Drug discovery* 7.5 (2008): 426-437.

103. Angelucci, Francesco, et al. "Mapping the differences in the brain concentration of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) in an animal model of depression." *Neuroreport* 11.6 (2000): 1369-1373.

104. Arroll, Bruce, et al. "Efficacy and tolerability of tricyclic antidepressants and SSRIs compared with placebo for treatment of depression in primary care: a meta-analysis." *The Annals of Family Medicine* 3.5 (2005): 449-456.

105. March, John, et al. "Fluoxetine, cognitive-behavioral therapy, and their combination for adolescents with depression: Treatment for Adolescents With Depression Study (TADS) randomized controlled trial." *Jama* 292.7 (2004): 807-820.

106. Dawson, Geraldine Ed, and Kurt W. Fischer. *Human behavior and the developing brain*. Guilford Press, 1994.

107. Song, Insuk, and Richard L. Huganir. "Regulation of AMPA receptors during synaptic plasticity." *Trends in neurosciences*25.11 (2002): 578-588.

108. Trullas, Ramon, and Phil Skolnick. "Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions." *European journal of pharmacology* 185.1 (1990): 1-10.

109. Ibrahim, Lobna, et al. "Course of improvement in depressive symptoms to a single intravenous infusion of ketamine vs add-on riluzole: results from a 4-week, double-blind, placebo-controlled study." *Neuropsychopharmacology* 37.6 (2012): 1526-1533.

110. Sanacora, Gerard, Giulia Treccani, and Maurizio Popoli. "Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders." *Neuropharmacology* 62.1 (2012): 63-77.

111. Katalinic, Natalie, et al. "Ketamine as a new treatment for depression: a review of its efficacy and adverse effects." *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry* 47.8 (2013): 710-727.

112. Koike, Hiroyuki, Michihiko Iijima, and Shigeyuki Chaki. "Involvement of AMPA receptor in both the rapid and sustained

antidepressant-like effects of ketamine in animal models of depression." *Behavioural brain research* 224.1 (2011): 107-111.

113. Daló, Nelson L., and Alice A. Larson. "Effects of urethane and ketamine on substance P-and excitatory amino acid-induced behavior in mice." *European journal of pharmacology* 184.1 (1990): 173-177.

114. Yamakage, Michiaki, Carol Hirshman, and Thomas Croxton. "Inhibitory effects of thiopental, ketamine, and propofol on voltage-dependent calcium sup 2+ channels in porcine tracheal smooth muscle cells." *The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 83.6 (1995): 1274-1282.

115. Chen, Xiangdong, Shaofang Shu, and Douglas A. Bayliss. "HCN1 channel subunits are a molecular substrate for hypnotic actions of ketamine." *Journal of Neuroscience* 29.3 (2009): 600-609.

116. Machado-Vieira, Rodrigo, et al. "Ketamine and the next generation of antidepressants with a rapid onset of action." *Pharmacology & therapeutics* 123.2 (2009): 143-150.

117. Browne, Caroline A., and Irwin Lucki. "Antidepressant effects of ketamine: mechanisms underlying fast-acting novel antidepressants." *Frontiers in pharmacology* 4 (2013).

118. Zhou, Qiang, Koichi J. Homma, and Mu-ming Poo. "Shrinkage of dendritic spines associated with long-term depression of hippocampal synapses." *Neuron* 44.5 (2004): 749-757.

119. Wellman, Cara L. "Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration." *Developmental Neurobiology* 49.3 (2001): 245-253.

120. Li, Nanxin, et al. "mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists." *Science*329.5994 (2010): 959-964.

121. Liu, Rong-Jian, et al. "Brain-derived neurotrophic factor Val66Met allele impairs basal and ketamine-stimulated synaptogenesis in prefrontal cortex." *Biological psychiatry* 71.11 (2012): 996-1005.

122. Popik, Piotr, et al. "Lack of persistent effects of ketamine in rodent models of depression." *Psychopharmacology* 198.3 (2008): 421-430.

123. Iijima, Michihiko, Kenichi Fukumoto, and Shigeyuki Chaki. "Acute and sustained effects of a metabotropic glutamate 5 receptor antagonist in the novelty-suppressed feeding test." *Behavioural brain research* 235.2 (2012): 287-292.

124. Autry, Anita E., et al. "NMDA receptor blockade at rest triggers rapid behavioural antidepressant responses." *Nature* 475.7354 (2011): 91-95.

125. Duman, Ronald S., et al. "Signaling pathways underlying the rapid antidepressant actions of ketamine." *Neuropharmacology*62.1 (2012): 35-41.

126. Papp, Mariusz, and Elżbieta Moryl. "Antidepressant activity of non-competitive and competitive NMDA receptor antagonists in a chronic mild stress model of depression." *European journal of pharmacology* 263.1-2 (1994): 1-7.

127. Li, Nanxin, et al. "Glutamate N-methyl-D-aspartate receptor antagonists rapidly reverse behavioral and synaptic deficits caused by chronic stress exposure." *Biological psychiatry* 69.8 (2011): 754-761.

128. Maeng, Sungho, et al. "Cellular mechanisms underlying the antidepressant effects of ketamine: role of α-amino-3-hydroxy-5-methylisoxazole-4-propionic acid receptors." *Biological psychiatry* 63.4 (2008): 349-352.

129. Tizabi, Yousef, et al. "Antidepressant-like effects of low ketamine dose is associated with increased hippocampal AMPA/NMDA receptor density ratio in female Wistar–Kyoto rats." *Neuroscience* 213 (2012): 72-80.

130. Li, Xia, et al. "Antidepressant-like actions of an AMPA receptor potentiator (LY392098)." *Neuropharmacology* 40.8 (2001): 1028-1033.

131. Machado-Vieira, Rodrigo, et al. "Ketamine and the next generation of antidepressants with a rapid onset of action." *Pharmacology & therapeutics* 123.2 (2009): 143-150.

132. Liebenberg, Nico, Sâmia Joca, and Gregers Wegener. "Nitric oxide involvement in the antidepressant-like effect of ketamine in the Flinders

sensitive line rat model of depression." *Acta neuropsychiatrica* 27.2 (2015): 90-96.

133. Ergün, Yusuf, and Ufuk Güney Özer Ergün. "Prevention of pro-depressant effect of l-arginine in the forced swim test by N G-nitro-l-arginine and [1H-[1, 2, 4] Oxadiazole [4, 3-a] quinoxalin-1-one]." *European journal of pharmacology* 554.2 (2007): 150-154.

134. Sevgi, S., M. Ozek, and L. Eroglu. "L-NAME prevents anxiety-like and depression-like behavior in rats exposed to restraint stress." *Methods and findings in experimental and clinical pharmacology* 28.2 (2006): 95-100.

135. Mutlu, Oguz, et al. "New Approaches for the Therapy of Treatment Refractory Depression." *Psychology-Selected Papers*. InTech, 2012.

136. Zhou, Qi-Gang, et al. "Neuronal nitric oxide synthase contributes to chronic stress-induced depression by suppressing hippocampal neurogenesis." *Journal of neurochemistry* 103.5 (2007): 1843-1854.

137. Garcia, Lêda SB, et al. "Acute administration of ketamine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases BDNF levels in the rat hippocampus." *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 32.1 (2008): 140-144.

138. Lindholm, Jesse SO, et al. "The antidepressant-like effects of glutamatergic drugs ketamine and AMPA receptor potentiator LY 451646 are preserved in bdnf+/− heterozygous null mice." *Neuropharmacology* 62.1 (2012): 391-397.

139. Monteggia, Lisa M., Erinn Gideons, and Ege T. Kavalali. "The role of eukaryotic elongation factor 2 kinase in rapid antidepressant action of ketamine." *Biological psychiatry* 73.12 (2013): 1199-1203.

140. Björkholm, Carl, and Lisa M. Monteggia. "BDNF–a key transducer of antidepressant effects." *Neuropharmacology* 102 (2016): 72-79.

141. Liu, Rong-Jian, et al. "GSK-3 inhibition potentiates the synaptogenic and antidepressant-like effects of subthreshold doses of ketamine." *Neuropsychopharmacology* 38.11 (2013): 2268-2277.

142. Lorrain, D. S., et al. "Effects of ketamine and N-methyl-D-aspartate on glutamate and dopamine release in the rat prefrontal cortex: modulation by

a group II selective metabotropic glutamate receptor agonist LY379268." *Neuroscience* 117.3 (2003): 697-706.

143. Sudhof, Thomas C. "The synaptic vesicle cycle." *Annual review of neuroscience* 27 (2004): 509.

144. Müller, Heidi Kaastrup, et al. "Ketamine regulates the presynaptic release machinery in the hippocampus." *Journal of psychiatric research* 47.7 (2013): 892-899.

145. Naughton, Marie, et al. "A review of ketamine in affective disorders: current evidence of clinical efficacy, limitations of use and pre-clinical evidence on proposed mechanisms of action." *Journal of affective disorders* 156 (2014): 24-35.

146. Murck, Harald. "Ketamine, magnesium and major depression–From pharmacology to pathophysiology and back." *Journal of psychiatric research* 47.7 (2013): 955-965.

147. Berman, Robert M., et al. "Antidepressant effects of ketamine in depressed patients." *Biological psychiatry* 47.4 (2000): 351-354.

148. Zarate, Carlos A., et al. "A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression." *Archives of general psychiatry* 63.8 (2006): 856-864.

149. Rasmussen, Keith G., et al. "Serial infusions of low-dose ketamine for major depression." *Journal of Psychopharmacology*27.5 (2013): 444-450.

150. Blier, Pierre, Daniel Zigman, and Jean Blier. "On the safety and benefits of repeated intravenous injections of ketamine for depression." *Biological psychiatry* 72.4 (2012): e11-e12.

151. DiazGranados, Nancy, et al. "Rapid resolution of suicidal ideation after a single infusion of an NMDA antagonist in patients with treatment-resistant major depressive disorder." *The Journal of clinical psychiatry* 71.12 (2010): 1605.

152. Price, Rebecca B., et al. "Effects of intravenous ketamine on explicit and implicit measures of suicidality in treatment-resistant depression." *Biological psychiatry* 66.5 (2009): 522-526.

153. Domino, Edward F. "Taming the ketamine tiger." *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 113.3 (2010): 678-684.

154. Perry, Edward B., et al. "Psychiatric safety of ketamine in psychopharmacology research." *Psychopharmacology* 192.2 (2007): 253-260.

155. Duman, Ronald S., and George K. Aghajanian. "Synaptic dysfunction in depression: potential therapeutic targets." *science*338.6103 (2012): 68-72.

156. Quan, M-N., et al. "Possible antidepressant effects and mechanisms of memantine in behaviors and synaptic plasticity of a depression rat model." *Neuroscience* 182 (2011): 88-97.

157. Mealing, G. A. R., et al. "Differences in Degree of Trapping of Low-Affinity UncompetitiveN-Methyl-d-aspartic Acid Receptor Antagonists with Similar Kinetics of Block." *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 288.1 (1999): 204-210.

158. Lauterbach, Edward C. "Dextromethorphan as a potential rapid-acting antidepressant." *Medical hypotheses* 76.5 (2011): 717-719.

159. Tariot, Pierre N., et al. "Memantine treatment in patients with moderate to severe Alzheimer disease already receiving donepezil: a randomized controlled trial." *Jama* 291.3 (2004): 317-324.

160. Hall, Calvin, and Egerton L. Ballachey. "A study of the rat's behavior in a field. A contribution to method in comparative psychology." *University of California Publications in Psychology*(1932).

161. Schmitt, Ulrich, and Christoph Hiemke. "Strain differences in open-field and elevated plus-maze behavior of rats without and with pretest handling." *Pharmacology Biochemistry and Behavior*59.4 (1998): 807-811.

162. Montgomery, K. C. "The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory drive." *Journal of comparative and physiological psychology* 48.4 (1955): 254.

163. Handley, Sheila L., and Siddika Mithani. "Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour." *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology* 327.1 (1984): 1-5.

164. Walf, Alicia A., and Cheryl A. Frye. "The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents." *Nature protocols* 2.2 (2007): 322-328.

165. Porsolt, R. D., A. Bertin, and M. Jalfre. "Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants." *Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie* 229.2 (1977): 327-336.

166. Porsolt, Roger D., Anne Bertin, and Maurice Jalfre. "“Behavioural despair” in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine." *European journal of pharmacology* 51.3 (1978): 291-294.

167. Herrnstein, Richard J. "Method and theory in the study of avoidance." *Psychological review* 76.1 (1969): 49.

168. Bures, Jan, Olga Burešová, and Joseph P. Huston. *Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior*. Elsevier, 2016.

169. Pompella, Alfonso, et al. "Measurement of lipid peroxidation in vivo: a comparison of different procedures." *Lipids* 22.3 (1987): 206-211.

170. Phanithi, Prakasa Babu, et al. "Mild hypothermia mitigates post-ischemic neuronal death following focal cerebral ischemia in rat brain: immunohistochemical study of Fas, caspase-3 and TUNEL." *Neuropathology* 20.4 (2000): 273-282.

171. Kari, Hanumath Prasad, et al. "Effects of ketamine on brain monoamine levels in rats." *Research communications in chemical pathology and pharmacology* 20.3 (1978): 475-488.

172. Bacopoulos, N. G., D. E. Redmond, and R. H. Roth. "Serotonin and dopamine metabolites in brain regions and cerebrospinal fluid of a primate species: effects of ketamine and fluphenazine." *Journal of neurochemistry* 32.4 (1979): 1215-1218.

173. Kapur, S., and P. Seeman. "NMDA receptor antagonists ketamine and PCP have direct effects on the dopamine D2 and serotonin 5-HT2receptors--implications for models of schizophrenia." *Molecular psychiatry* 7.8 (2002): 837.

174. Maeng, Sungho, and Carlos A. Zarate. "The role of glutamate in mood disorders: results from the ketamine in major depression study and the

presumed cellular mechanism underlying its antidepressant effects." *Current psychiatry reports* 9.6 (2007): 467-474.

175. McNaughton, Neil, Bernat Kocsis, and Mihaly Hajós. "Elicited hippocampal theta rhythm: a screen for anxiolytic and procognitive drugs through changes in hippocampal function?." *Behavioural pharmacology* 18.5-6 (2007): 329-346.

176. Engin, E., D. Treit, and C. T. Dickson. "Anxiolytic-and antidepressant-like properties of ketamine in behavioral and neurophysiological animal models." *Neuroscience*161.2 (2009): 359-369.

177. Foster, Alan C., and John A. Kemp. "Glutamate-and GABA-based CNS therapeutics." *Current opinion in pharmacology* 6.1 (2006): 7-17.

178. Babar, Emine, et al. "Effects of ketamine on different types of anxiety/fear and related memory in rats with lesions of the median raphe nucleus." *European journal of pharmacology*431.3 (2001): 315-320.

179. McCleane, Gary. "Antidepressants as analgesics." *CNS drugs*22.2 (2008): 139-156.

180. Berge, Odd-Geir, Ole Bernt Fasmer, and Kjell Hole. "Serotonin receptor antagonists induce hyperalgesia without preventing morphine antinociception." *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 19.5 (1983): 873-878.

181. Dai, Jin-Xia, et al. "Enhanced contextual fear memory in central serotonin-deficient mice." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105.33 (2008): 11981-11986.

182. Vranken, Jan H., et al. "Severe toxic damage to the rabbit spinal cord after intrathecal administration of preservative-free S (+)-ketamine." *Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists* 105.4 (2006): 813-818.

183. Meldrum, Brian, and John Garthwaite. "Excitatory amino acid neurotoxicity and neurodegenerative disease." *Trends in pharmacological sciences* 11.9 (1990): 379-387.

184. Moghaddam, Bita, et al. "Activation of glutamatergic neurotransmission by ketamine: a novel step in the pathway from NMDA

receptor blockade to dopaminergic and cognitive disruptions associated with the prefrontal cortex." *Journal of Neuroscience* 17.8 (1997): 2921-2927.

185. Schiavone, Stefania, Marilena Colaianna, and Luigia Trabace. "Drugs of abuse and oxidative stress in the brain: from animal models to human evidence." *Mini-Reviews in Organic Chemistry*10.4 (2013): 335-342.

Ek-6

ÖZGEÇMİŞ

Adı	Emre	**Soyadı**	Uyar
Doğum Yeri	Antalya	**Doğum Tarihi**	01.08.1986
Uyruğu	TC	**Tel**	532 5494274
E-posta	eczemreuyar@hotmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Tezli Yüksek Lisans	Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji AD, Diyarbakır	2013
Lisans	Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eskişehir	2009
Lise	Cumhuriyet Fen Lisesi, Diyarbakır	2004

İş Deneyimi

	Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
	Eczacı	Dicle Üniversitesi, Tıp Fakültesi	2009-

Yabancı Dil Sınav Notu								
KPDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
82								

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	92.633	91.343	89.554