TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EFAVİRENZ'İN ANKSİYOJENİK VE DEPRESYON BENZERİ ETKİLERİNDE MONOAMİNERJİK, GABAERJİK VE NİTRERJİK SİNİR İLETİM SİSTEMLERİNİN ROLÜ

Selim KARAHAN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. Meral ERDİNÇ

DİYARBAKIR-2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

EFAVİRENZ'İN ANKSİYOJENİK VE DEPRESYON BENZERİ ETKİLERİNDE MONOAMİNERJİK, GABAERJİK VE NİTRERJİK SİNİR İLETİM SİSTEMLERİNİN ROLÜ

Selim KARAHAN

DOKTORA TEZİ

TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof.Dr. Meral ERDİNÇ

DİYARBAKIR-2019

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Selim KARAHAN'nın hazırladığı "**Efavirenz'in Anksiyojenik ve Depresyon Benzeri Etkilerinde Monoaminerjik, GABAerjik ve Nitrerjik Sinir İletim Sistemlerinin Rolü**" başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: 27/11/2019

Danışman	Prof.Dr. Meral ERDİNÇ	Dicle Üni. Tıp Fak.

Jüri Üyeleri İmza

Jüri Başkanı	Prof.Dr. Meral ERDİNÇ	Dicle Ü. Tıp Fak.
Üye	Prof.Dr. Nuriye METE	Dicle Ü. Tıp Fak.
Üye	Prof.Dr. M. Ensari GÜNELİ	Dokuz Eylül Ü. Sağlık Hiz. MYO
Üye	Doç.Dr. Mehmet ATEŞ	Dokuz Eylül Ü. Sağlık Hiz. MYO
Üye	Doç.Dr. İlker KELLE	Dicle Ü. Tıp Fak.

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 11/12/2019 tarih ve ...29/13..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

11/12/2019

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

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

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.

06/11/2019

Selim KARAHAN

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 ERDİNÇ'e sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Doktora eğitimim süresi boyunca akademik tecrübesi ile yardımlarını esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerinden istifade ettiğim Anabilim Dalı öğretim üyesi değerli hocam Doç.Dr. İlker KELLE'ye; biyokimyasal analizlerin gerçekleştirilmesi ve yorumlanması sırasında kıymetli tecrübelerini paylaşan değerli hocam Prof.Dr. Levent ERDİNÇ'e tezimin her aşamasında yapmış olduğu katkılarından dolayı Dr. Emre UYAR'a;; akademik hayatımda desteklerini her zaman hissettiğim ve analiz yöntemlerinin gerçekleştirilmesi için laboratuvarlarını açarak çalışmamıza emeği geçen Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Uygulama ve Araştırma Merkezi (DÜSAM) Müdürü değerli hocam Prof.Dr. Beran YOKUŞ'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Deney hayvanlarıyla ilgili çalışmalardaki yardımlarından dolayı DÜSAM personellerine; doktora eğitimim sırasında samimi yardımlarından dolayı Anabilim Dalı sekreteri Zülfi YILDIZ'a ayrıca teşekkürü bir borç bilirim.

Üzerimden maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen ve her zaman yanımda olan aileme, manevi kardeşim Ömer'e, doktora eğitimim süresince sonsuz desteği ve sabrı ile her zaman yanımda olan sevgili eşim Zehra'ya ve bu süreçte zamanımı esirgediğim biricik kızım Dicle'ye en içten teşekkürlerimi sunarım, onlara minnettarım…

Bu tez, Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından TIP.17.013 numaralı proje ile desteklenmiştir. Katkılarından dolayı Dicle Üniversitesi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Selim KARAHAN

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ONAY ..... **i**
BEYAN ..... **ii**
TEŞEKKÜR ..... **iii**
İÇİNDEKİLER DİZİNİ ..... **iv**
RESİMLER DİZİNİ ..... **viii**
TABLOLAR DİZİNİ ..... **ix**
ŞEKİLLER DİZİNİ ..... **xi**
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ ..... **xii**
1. ÖZET **1**
1.1. Türkçe Özet 1
1.2. Abstract 3
2. GİRİŞ ve AMAÇ **5**
3. GENEL BİLGİLER **8**
3.1. Major Depresif Bozukluk (MDB, *MDD*) 8
3.1.1. Major depresif bozukluğun sınıflandırılması 9
3.1.2. Major depresif bozukluğun fizyopatolojisi 9
3.1.2.1. Major depresif bozukluğun moleküler ve nörobiyolojik temelleri 10
3.1.2.1.1. Monoaminerjik bozukluklar (monoamin hipotezi) 10
3.1.2.1.2. Nöroinflamasyon süreçleri 11
3.1.2.1.3. Noronal fonksiyon bozuklukları 12
3.1.2.1.4. Hipotalamus-hipofiz-adrenal aks modülasyonunun rolü, stres ve nöroendokrin sistem 13
3.1.3. Antidepresan tedavinin farmakolojik temelleri 13
3.2. Anksiyete Bozuklukları (AB, *AD*) 15
3.2.1. Anksiyete bozukluklarının sınıflandırılması 16
3.2.2. Anksiyete bozukluklarının fizyopatolojisi 17
3.2.2.1. Anksiyete bozukluklarının nörobiyolojik ve moleküler temelleri 18
3.2.2.1.1. Anksiyete oluşumunda rolü olan temel nörotransmitter sistemleri 18
3.2.2.1.1.1. GABA-erjik sistem 18
3.2.2.1.1.2. Monoaminerjik sistem 19

3.2.2.1.2. Anksiyete bozuklukları ve nitrik oksid (NO) 21
3.2.2.1.3. Anksiyete bozuklukları ve nöronal fonkisyonlar 21
3.2.3. Anksiyete bozuklukları tedavisinin farmakolojik temelleri 22
3.3. İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV) 23
3.3.1. HIV'in Tarihçesi 23
3.3.2. HIV/AIDS pandemisi 24
3.3.2.1. Dünyada HIV/AIDS 24
3.3.2.2. Türkiye'de güncel durum 25
3.3.3. HIV'in özellikleri 25
3.3.4. HIV-1'in replikasyon döngüsü 26
3.3.5. HIV enfeksiyonunun doğal seyri ve klinik özellikleri 27
3.4. Antiretroviral tedavi 28
3.4.1. Giriş/füzyon inhibitörleri (FI) 29
3.4.2. İntegraz inhibitörleri (INSTI) 30
3.4.3. Proteaz inhibitörleri (PI) 30
3.4.4. Reverz transkriptaz inhibitörleri 30
3.4.4.1. Nükleozid/nükleotid reverz transkriptaz inhibitörleri (NRTI) 30
3.4.4.2. Non-nükleozid reverz transkriptaz inhibitörleri (NNRTI) 31
3.5. Efavirenz 31
3.5.1. Efavirenz'in farmakolojik özellikleri 32
3.5.2. Efavirenz'in farmakokinetiği 33
3.5.3. Efavirenz'in yan etkileri 35
3.5.3.1. Efavirenz'in nöropsikiyatrik yan etkileri 36
3.5.3.1.1. Efvavirenz ve duygudurum bozuklukları 37
3.5.3.1.2. Efvavirenz ve anksiyete bozuklukları 39
3.5.4. Efavirenz kaynaklı nöropsikiyatrik ve nörotoksik yan etkilerin muhtemel moleküler mekanizmaları 40
3.5.5. Efavirenzin kötüye kullanımı 44
4. GEREÇ ve YÖNTEM 46
4.1. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri 46
4.2. Kullanılan Cihazlar ve Aletler 46

4.3. Deney Hayvanları 47
4.4. Deneysel Gruplar ve İlaç Uygulamaları 48
4.5. Davranış Deneyleri 51
4.5.1. Açık alan testi (Open Field, OF) 51
4.5.2. Aydınlık/karanlık kutusu testi (Light/Dark Box, LDB) 52
4.5.3. Yükseltilmiş artı labirenti testi (Elevated Plus Maze, EPM) 52
4.5.4. Kuyruktan asma testi (Tail Suspension Test, TST) 53
4.5.5. Zorunlu yüzme testi (Forced Swimming Test, FST) 54
4.6. Cerrahi İşlemler ve Biyolojik Materyallerin Çıkarılması 54
4.7. Gen Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi 55
4.7.1. Total RNA izolasyonu 55
4.7.2. Primerlerin hazırlanışı 57
4.7.3. DNA digesyon 58
4.7.4. Komplementer DNA (cDNA) sentezi 58
4.7.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı (Real-time) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR) 59
4.8. Biyokimyasal İncelemeler 60
4.8.1. Malondialdehit Düzeyleri Tayini 60
4.9. İstatistiksel Analiz 61
5. BULGULAR 62
5.1. Davranış Deneyleri 62
5.1.1. Açık alan testi (OF) bulguları 62
5.1.2. Yükseltilmiş artı labirenti testi (EPM) bulguları 66
5.1.3. Aydınlık/karanlık kutusu testi (LDB) bulguları 68
5.1.4. Kuyruktan asma testi (TST) bulguları 70
5.1.5. Zorunlu yüzme testi (FST) bulguları 71
5.2. Real-Time PZR Analizleri 73
5.2.1. pFK dokularında BDNF mRNA ekspresyon profili 73
5.2.2. pFK dokularında VEGF-A mRNA ekspresyon profili 74
5.2.3. pFK dokularında PGC-1α mRNA ekspresyon profili 76
5.2.4. pFK dokularında TFAM mRNA ekspresyon profili 77
5.2.5. pFK dokularında UCP-2 mRNA ekspresyon profili 78

5.2.6. pFK dokularında IL-1β mRNA ekspresyon profili 80
5.2.7. pFK dokularında IL-6 mRNA ekspresyon profili..... 81
5.2.8. pFK dokularında TNF-α mRNA ekspresyon profili 83
5.3. pFK dokularında Malondialdehit (MDA) Düzeyleri 84
6. TARTIŞMA.....87
6.1. Davranış Deneyleri 87
6.2. Real-Time PZR Analizleri 94
6.3. Malondialdehit Düzeyleri..... 99
7. SONUÇ ve ÖNERİLER 100
8. KAYNAKLAR 102
9. ÖZGEÇMİŞ 121
10. EKLER 123
10.1. ETİK KURUL KARARI 123
11. ORJİNALLİK RAPORU.....124

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1	(A) Dokuların trizol solüsyonunda homojenizasyonu ve (B) total RNA'nın elde edilmesi	57

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 1	Başlıca antidepresan sınıf ve ilaçları: MAOI'leri, TAD'lar ve ikinci nesil antidepresanlar	15
Tablo 2	EFV'in farmakokinetik özellikleri	36
Tablo 3	Deney grupları ve uygulanacak dozlar	49
Tablo 4	Fare housekeeping (referans) genler	58
Tablo 5	Fare hedef genleri	59
Tablo 6	cDNA sentezi için gerekli reaktifler ve bunlara karşılık gelen hacimleri	60
Tablo 7	qRT-PZR deneyleri için reaktifler ve karşılık gelen hacimleri.	60
Tablo 8	Açık alan testi sonuçları, toplam katedilen mesafe	63
Tablo 9	Açık alan testi sonuçları, merkezde geçirilen süre	64
Tablo 10	Açık alan testi sonuçları, merkeze giriş süreleri	66
Tablo 11	Yükseltilmiş artı labirenti sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	67
Tablo 12	Aydınlık/karanlık kutusu testi sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	70
Tablo 13	Kuyruktan asma testi sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	71
Tablo 14	Zorunlu yüzme testi sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması	73
Tablo 15	Tüm gruplarda BDNF gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri	74
Tablo 16	Tüm gruplarda VEGF-A gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri	76
Tablo 17	Tüm gruplarda PGC-1α gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri	77
Tablo 18	Tüm gruplarda TFAM gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri	78
Tablo 19	Tüm gruplarda UCP-2 gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri	80
Tablo 20	Tüm gruplarda IL-1β gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri	81

Tablo 21	Tüm gruplarda IL-6 gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri	83
Tablo 22	Tüm gruplarda TNF-α gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri	84
Tablo 23	Tüm grupların PFK dokularında malondialdehit düzeyleri	86

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1	(A) Olgun HIV virüsünün yapısı. (B) Olgun HIV virüsünün elektron mikroskobundaki görüntüsü	27
Şekil 2	Efavirenz'in yapısal formülü	33
Şekil 3	Deney dizaynı	50
Şekil 4	qRT-PZR deneyleri için reaksiyon koşulları	61
Şekil 5	Açık alan testi bulguları, tüm grupların toplam katedilen mesafelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	64
Şekil 6	Açık alan testi bulguları, tüm gruplarda merkezde geçirilen sürelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	65
Şekil 7	Açık alan testi bulguları, tüm gruplarda merkeze giriş sürelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	66
Şekil 8	Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları, tüm gruplarda açık alana giriş sürelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması	68
Şekil 9	Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları, tüm gruplarda açık kollarda geçirilen sürelerin istatistiksel olarak karşılaştırılması	69
Şekil 10	Aydınlık/karanlık kutusu testi bulguları, tüm gruplarda aydınlık alanda geçirilen sürelerin istatistiksel olarak karşılaştırılması	70
Şekil 11	Kuyruktan asma testi bulguları, tüm grupların hareketsiz geçirdikleri süre ortalamalarının istatistiksel olarak karşılaştırılması	72
Şekil 12	Zorunlu yüzme testi bulguları, tüm grupların hareketsiz geçirdikleri süre ortalamalarının istatistiksel olarak karşılaştırılması	73
Şekil 13	BDNF rölatif mRNA kat artışı grafiği	75
Şekil 14	VEGF-A rölatif mRNA kat artışı grafiği	76
Şekil 15	PGC-1α rölatif mRNA kat artışı grafiği	77
Şekil 16	TFAM rölatif mRNA kat artışı grafiği	79
Şekil 17	UCP-2 rölatif mRNA kat artışı grafiği	80
Şekil 18	IL-1β rölatif mRNA kat artışı grafiği	82
Şekil 19	IL-6 rölatif mRNA kat artışı grafiği	83
Şekil 20	TNF-α rölatif mRNA kat artışı grafiği	85
Şekil 21	Malondialdehit düzeyleri	86

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

5-HT	Serotonin
7-OH-EFV	7-hidroksiefavirenz
8-OH-EFV	8-hidroksiefavirenz
Ach	Asetilkolin
ACK	Anterior Cingulate Korteks
ACTH	Adrenokortikotropin Hormon
AMPK	AMP ile Aktive Olan Protein Kinaz
ART	Antiretroviral tedavi
ATP	Adenosin Trifosfat
BDNF	Beyin Kaynaklı Nötrofik Faktör
BZD	Benzodiazepinler
BOS	Beyin Omirilik Sıvısı
CCR5	C-C kemokin reseptörü 5
CRH	Kortikropropin Salgılayan Hormon
CXCR4	C-X-C kemokin reseptörü 4
DA	Dopamin
dlPFK	Dorsolateral Prefrontal Korteks
DSM-V	Mental Bozuklukların Tanısal Ve İstatistiksel El Kitabı
EFV	Efavirenz
FDA	ABD Gıda ve İlaç İdaresi
FGF-2	Fibroblast Büyüme Faktörü-2
FI	Füzyon İnhibitörleri
GABA	γ-aminobütrik asit
HAART	Yüksek Düzeyde Aktif Antiretroviral Tedavi (Highly Active Antiretroviral Therapy)
HCAEC	İnsan Koroner Arter Endotelyal Hücre Kültürü
HIV-1	İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü Tip-1

HIV-1 RT	HIV-1 Reverz Transkriptaz
HPA	Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Aksı
IGF-1	İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1
IL-1β	İnterlökin-1β
IL-6	İnterlökin-6
INSTI	İntegraz İnhibitörleri
KK	Kreatinin Kinaz
KS	Kaposi sarkoması
LC	Locus Ceruleus
MAOI	Monoamin Oksidaz İnhibitörleri
MDA	Malondialdehit
MDB	Majör Depresif Bozukluk
mPFK	Medial Prefrontal Korteks
MSS	Merkezi Sinir Sistemi
NAc	Nükleus Accumbens
NDRI	Norepinefrin-Dopamin Geri Alım İnhibitörleri
NE	Norepinefrin
NF-κB	Nükleer Faktör-Kb
NGF	Sinir Büyüme Faktörü
NMDA	N-Metil-D-Aspartik Asit
NNRTI	Non-Nükleozid Reverz Transkriptaz İnhibitörü
NRTI	Nükleozid Reverz Transkriptaz İnhibitörü
OKB	Obsesif-Kompulsif Bozukluk
PCP	*Pneumocystis carinii* Pnömonisi
PEP	Post Maruziyet Profilaksisi
pFK	Prefrontal Korteks
PGC-1α	Peroksizom Proliferatif-aktive Edici Reseptör Gama Koaktivatör 1-Alfa
PI	Proteaz İnhibitörleri
PIC	Preintegrasyon Kompleksi

PVN	Paraventriküler Nucleus
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
RT	Reverz Transkriptaz
RVLM	Rostral Ventrolateral Medulla
SEM	Standart Hata
SERT	5-HT Reseptör Taşıyıcısı
SIV	Simian İmmün Yetmezlik Virüsü
SNRI	Serotonin-Norepinefrin Geri Alım İnhibitörleri
SSRI	Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörleri
TAD	Trisiklik Antidepresanlar
TFAM	Mitokondriyal Transkripsiyon Faktör
TNF-α	Tümör Nekrozsiz Faktör Alfa
TSSB	Travma Sonrası Stres Bozukluğu
UCP-2	Uncoupling Protein-2
VEGF	Vasküler Endotel Büyüme Faktörü
vmPFK	Ventromedial Prefrontal Korteks
VTA	Ventral Tegmental Alan
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
YAB	Yaygın Anksiyete Bozuklukları

1. ÖZET

1.1. Türkçe Özet

Efavirenz'in Anksiyojenik ve Depresyon Benzeri Etkilerinde Monoaminerjik, GABAerjik ve Nitrerjik Sinir İletim Sistemlerinin Rolü

Öğrencinin Adı ve Soyadı : Selim KARAHAN

Danışmanı : Prof. Dr. Meral ERDİNÇ

Anabilim Dalı : Tıbbi Farmakoloji

Amaç: Efavirenz (EFV), HIV-1 tedavisinde sıklıkla kullanılan bir ilaçtır. EFV ile tedavinin ilk haftalarında birçok nöropsikiyatrik yan etkinin gelişimesi, kullanımını kısıtlayan bir durumdur. Bu çalışmada, akut EFV uygulamasının farelerde anksiyete ve depresyon benzeri nöropsikiyatrik yan etkileri ve bu etkilere aracılık eden nöronal mekanizmaları ortaya koymak amacıyla EFV'in prefrontal korteks (pFK) dokularında mitokondriyal ve nöronal fonksiyonlar, oksidatif stres ve inflamasyon mekanizmaları üzerine olan etkileri araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamızda, BALB/c türü erkek fareler Kontrol, EFV, EFV+ATR, EFV+BCL, EFV+ M10907, EFV+SHTN, EFV+HPDL, EFV+FBZM, EFV+PRPL ve EFV+AMGN olarak 10 gruba (n=7) ayrıldı. Herbir grupta, deneklere EFV (20 mg/kg, i.p.) uygulamasından 30 dk. önce monoaminerjik, GABAerjik ve nitrerjik reseptör antagonistleri (i.p.) uygulandı. İlaç uygulamalarından 60 dk. sonra denekler açık alan, yükseltilmiş artı labirent, aydınlık/karanlık kutusu, kuyruktan asma ve zorunlu yüzme testlerine tabi tutularak psikofarmakolojik incelemeler gerçekleştirildi. Sakrifiye edilen farelerin pFK dokularında BDNF, VEGF-A, PGC-1α, TFAM, UCP-2, IL-1β, IL-6 ve TNF-α genlerinin ekspresyon düzeyleri Real-time PZR yöntemi ile ölçüldü. pFK dokularında malondialdehit düzeyleri ölçülerek biyokimyasal incelemeler gerçekleştirildi.

Bulgular: Akut EFV uygulaması, farelerde anksiyete ve depresyon benzeri davranış değişikliklerine neden oldu. Gelişen depresyon ve anksiyete tablosu, atropin ve aminoguanidin ile tersine çevrildi. EFV, pFK dokularında BDNF ve TFAM genlerinin ekspresyonlarını önemli şekilde düşürdü; IL-1β düzeylerini arttırdı. Düşmüş olan BDNF düzeyleri M10907 ile tersine çevrildi. Artan IL-1β düzeylerinin ise siproheptadin ve aminoguanidin ile tersine çevrildiği görüldü. EFV'in, pFK dokularında malondialdehit seviyelerini arttırdığı saptandı.

Sonuç: Çalışmamızda, EFV'in anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilerinde nitrerjik ve kolinerjik sinir iletim sistemlerinin önemli rollerinin bulunduğu, EFV uygulamasının

nöronal fonksiyonları ve mitokondriyal enerji homeostazını bozduğu, inflamatuar ve oksidatif stres ile ilgili mekanizmaları tetiklediği görülmüştür.

Anahtar Sözcükler: Efavirenz, Depresyon, Anksiyete, Sinirsel iletim, Nitrerjik Sistem

1.2. Abstract

The Role of Monoaminergic, GABAergic and Nitrergic Neurotransmission Systems in Anxiogenic and Depression-like Effects of Efavirenz

Student's Surname and Name : KARAHAN, Selim

Adviser of Thesis : Prof. Dr. Meral ERDİNÇ

Department : Medical Pharmacology

Aim: Efavirenz (EFV) is an antiretroviral drug and frequently used in HIV-1 treatment. Several neuropsychiatric side effects occur during the first weeks of EFV administration and these side effects restrict the using EFV in the HIV-1 treatment. In this study, it was aimed to investigate the acute effects of EFV administration including anxiogenic and depression-like effects in mice and to understand potential neurotransmission mechanisms of these effects during the acute EFV administration. In addition, the effects of EFV administration on neuronal and mitochondrial functions, oxidative stress and inflammation mechanisms were also examined.

Material and Method: For those purposes, BALB/c type male mice were divided into 10 equal groups (n=7) as following; Control, EFV, EFV+ATR, EFV+BCL, EFV+M10907, EFV+SHTN, EFV+HPDL, EFV+FBZM, EFV+PRPL and EFV+AMGN. In treatment groups, one of monoaminergic, GABAergic or nitrergic receptor antagonists (i.p.) was administered to mice 30 min before EFV administration (20 mg/kg, i.p.). Sixty min after the last drug administration, psychopharmacological experiments (open field test, elevated plus maze, light/dark box test, tail suspension test, and forced swimming test) were performed. The expression profiles of BDNF, VEGF-A, PGC-1α, TFAM, UCP-2, IL-1β, IL-6 and TNF-α genes in mice brain prefrontal cortex (pFK) were detected by using Real-time PCR. Level of Malondialdehyde in pFK tissues were measured and biochemical parameters in brain samples were detected.

Results: Acute EFV administration caused anxiety and depression-like behavioral changes in mice. Developing depression and anxiety statement was reversed with atropine and aminoguanidine. While EFV administration significantly decreased expression levels of BDNF and TFAM genes in pFK tissues, level of IL-1β gene was increased. However, in EFV+SHTN and EFV+AMGN groups, IL-1β mRNA levels were decreased. In EFV+M10907 group, BDNF mRNA level was increased, compared to EFV group. EFV also caused an increase in malondialdehyde level in pFK tissues.

Conclusion: This study clearly indicates that nitrergic and cholinergic neurotransmission systems play important roles in response to the anxiogenic and

depression-like effects of EFV. It was also found that EFV administration disrupts neuronal functions and mitochondrial energy homeostasis and may trigger mechanisms related to inflammatory and oxidative stress.

Key Words: Efavirenz, Depression, Anksiety, Neurotransmission, Nitrergic System

2. GİRİŞ ve AMAÇ

Dünyada 35 milyon insanın HIV-1 (*İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü Tip-1*) ile yaşadığı tahmin edilmekte ve her yıl yaklaşık 2 milyon yeni enfeksiyon vakası bildirilmektedir. Geliştirilen kombine antiretroviral tedaviler, HIV-1'in neden olduğu morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde azaltmış ve hastalığı uzun süreli tedavi gerektiren kronik bir durum haline getirmiştir. Dünya genelinde halihazırda 10 milyon HIV-1'li hastanın antiretroviral tedavi gördüğü bildirilmekte ve Dünya Sağlık Örgütü (WHO) hedefleri içinde bu sayının daha da artacağı düşünülmektedir (1). HIV-1 tedavisinde kullanılan ilaç rejimleri, genellikle iki nükleosid reverz transkriptaz inhibitörü (NRTI) ve güçlendirilmiş bir proteaz inhibitörü (PI) ilacın kombinasyonu şeklinde veya iki NRTI ve bir non-nükleosid reverz transkriptaz inhibitörü (NNRTI) ilacın kombinasyonu şeklindedir (2). Hastaların hayatlarının geri kalan kısmında çoğunlukla bu ilaç kombinasyonlarına maruz kalması ve maruz kalma süresinin uzunluğu göz önüne alındığında, enfekte hastalarda kardiyovasküler (3), metabolik (4) ve nörolojik hastalıklar (5) gibi komorbiditelerin gelişme riskleri yükselebilmektedir.

Efavirenz (EFV), üstün virolojik etkinliği nedeniyle HIV-1'e karşı tedavide antretroviral ilaçların bileşeni olarak sıklıkla kullanılan, kan-beyin bariyerini geçebilen ve uzun yarılanma ömrüne sahip bir ilaçtır (6, 7). Bu nedenlerden dolayı EFV, HIV enfeksiyonu için en sık reçete edilen tedavi kombinasyonları içinde yer almaktadır. 1998 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) HIV-1 tedavisi için onaylanmasından bu yana EFV, yüksek düzeyde aktif antiretroviral tedaviler (*Highly Active Antiretroviral Therapy*, HAART) için bir köşe taşı olmuştur. EFV, genellikle lamivudine/zidovudine (Combivir©) ve tenofovir/emtricitabine (Truvada©) ikili kombinasyonlarıyla yapılan tedavilerde ilave ilaç olarak kullanılır. Ayrıca tenofovir/emtricitabine/efavirenz (Atripla©) şeklinde üçlü kombinasyonuna olanak sağlayan preparatı da vardır (8, 9). EFV'in etki mekanizması esas olarak virüsün polimeraz aktif bölgesinde bulunan HIV-1 reverz transkriptaz (HIV-1 RT) enziminin nonkompetitif inhibisyonuyla DNA-RNA aktivitesini bloke etmek şeklindedir. Ayrıca HIV-1 RT enziminin heterodimerizasyonunu arttırıcı

etkisi olduğu ve HIV-1 RT enzimiyle oluşan virüs DNA'larının konakçı hücre DNA'sına integrasyonu sonucu konakçı hücre içi HIV-1 Gag ve Gag-Pol poliproteinlerinin oluşum süreçlerini hızlandırarak viral partiküllerin oluşumunu azalttığı da gösterilmiştir (10).

HIV düzeylerini düşürmede ve bağışıklık sistemini güçlendirmede önemli katkıları olmasına rağmen, standart dozlarında –özellikle tedaviye başlandığı ilk haftalarda- depresyon, anksiyete, uyku bozukluğu, konsantrasyon eksikliği, agresif davranışlar, halüsinasyon, paranoya, psikoz ve sanrılar gibi nöropsikiyatrik yan etkilerinin gelişmesi EFV'in kullanımını kısıtlamaktadır (11, 12). Mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu etkileyerek enerji homeostazında değişiklikler yapması (13), glial hücrelerde nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu indükleyerek nitrik oksit miktarının artmasına ve mitokondrial O_2 tüketiminin azalmasına neden olması (14, 15), beyin endotelyal hücrelerinde mitokondrial endoplazmik retikulum stres ve otofajik yanıtları bozması (16), kan-beyin bariyeri bütünlüğünü bozması (17), kannabinoid reseptör agonistleri ile beraber kullanıldığında tümör hücrelerindeki sitotoksik etkilerinin sinerjistik olarak arttırması (18), amiloid-beta peptid miktarını arttırarak oksidatif stres ve inflamasyona neden olması (19) gibi etkiler EFV'in nörolojik yan etkilerinin nedeni olarak gösterilen çalışmalardır. Fakat EFV'nin merkezi sinir sistemine (MSS) olan etkilerinin moleküler mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır.

EFV, MSS'de rol oynayan sinir iletim mekanizmalarını etkileyerek duygu-durum, stres, motivasyon ve bilişsel fonksiyonların düzenlenmesinde rol oynayan bazı nörotransmitterlerin aktivitesini değiştirir. Son yapılan çalışmalarda, EFV'in serotonin 5-HT6 reseptörünün invers agonisti, 5-$HT3_A$ reseptör blokörü, 5-$HT2_A$ ve 5- $HT2_C$ antagonisti olduğu bildirilmiştir (20). EFV tedavisinin ilk haftalarında görülen halüsinojenik etkinin serotonin 5-$HT2_A$ reseptörü üzerinden oluştuğu düşünülmektedir (21). Bazı *in vivo* çalışmalarda, EFV'in spontan davranışları etkilemeden anksiyeteyi arttırdığı bildirilmiştir (22). Aynı şekilde, EFV'in kronik dozlarda sıçanların strese duyarlılığını arttırdığı ve depresyon benzeri etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Bunun yanısıra, EFV'in proinflamatuar sitokinlerin seviyesini arttırarak depresyon gelişimine

neden olduğu gösterilmiştir (23). Sıçanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada, akut EFV uygulamasının anksiyeteye, subkronik EFV uygulamasının ise hem anksiyete hem de depresyona neden olduğu bildirilmiş ve nöropskiyatrik etkilerinin striatal monoaminerjik nörotransmitter miktarının değişmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (24).

Uzun sureli virolojik baskılamanın sonucunda, daha iyi klinik sonuçlar ve daha uzun sağkalım ile hastalar uzun yıllar antiretroviral ajanlara maruz kalabilmektedir. Bu nedenle, antiretroviral ilaç rejimlerinin güçlü klinik etkinlikleri korunmaya çalışılırken, aynı zamanda bu rejimlerin güvenliği ve tolere edilebilirliği arttırılmaya çalışılmaktadır (25). EFV'in MSS'ne olan etkilerinin moleküler mekanizmalarının aydınlatılması antiretroviral tedavinin klinik etkinliğine yarar sağlayacaktır. EFV'in kronik kullanımı, antiretroviral tedavilerin ana bir bileşeni olması ve son zamanlarda rapor edilen kötüye kullanım vakaları nedeniyle nöropsikiyatrik yan etkilerinin açığa kavuşturulması önem arz etmektedir.

Bu çalışmada, EFV'in anksiyojenik ve depresyon benzeri yan etkilerini nöropsikiyatrik ve nörotoksik açıdan incelemek amaçlandı. EFV'in MSS'de depresyon ve anksiyete bozuklukları ile ilgili sinir iletim sistemleri üzerine etkilerini araştırmak amacıyla monoaminerjik, GABAerjik ve nitrerjik reseptör antagonistleri kullanılarak hangi sinir iletim sistemlerinin bu etkilere aracılık ettiği ve davranış değişikliklerine olan etkileri araştırıldı. Bu konuyla ilgili yeterli bilgi literatürde mevcut değildir. Aynı zamanda nöronal fonksiyonlar, nöron mitokondriyal harabiyeti, oksidatif stres ve inflamatuar süreçlerde görev alan bazı genlerin ekspresyon düzeyleri Real-time PZR yöntemi ile araştırılarak EFV'in nöropsikiyatrik ve nörotoksik yan etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmalar aydınlatılmaya çalışıldı.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Major Depresif Bozukluk (MDB, *MDD*)

Unipolar Depresyon olarak da bilinen Majör Depresif Bozukluk (MDB, *MDD*), gelişmiş ülkelerde yılda yaklaşık % 7 görülme sıklığı (26) ile dünyada önde gelen hastalıklardan biridir (27, 28). DSÖ, MDB'nin morbidite ile ilişkili ve nispeten yüksek intihar oranları nedeniyle dünya çapında hastalık yükünün artması açısından önemli nedenlerinden biri olduğunu belirtmekte ve 2030 yılına kadar küresel hastalık yüküne en büyük katkı yapan tek etken olacağı tahmininde bulunmaktadır (29). ABD'de depresif bozuklukların yaşam boyu prevalansının yaklaşık % 17 olduğu tahmin edilmektedir ve buna benzer bir seviye Avrupa ülkeleri için de bildirilmektedir (30, 31). Hastaların depresif semptomlar gösterdiği dönemlerin sayısı nispeten yüksektir ve MDB erken yaşlarda (29-34 yaş) görülme eğilimindedir (32). Depresyon tablosu, yüksek düzeyde kişisel acı ve intihara neden olur ve ölüme yol açabilecek diğer komorbid tıbbi durumların riskini arttırır (33). İntihar ederek ölenlerin yaklaşık % 2-9'unda MDB semptomları görülmüştür (34).

MDB, duygusal düzenlemedeki anormallikler ile karakterize, oldukça yaygın, karmaşık ve heterojen bir zihinsel bozukluktur. Bir duygu durum bozukluğu olarak MDB, uygun duygusal düzenlemenin insan sağlığı ve refahı için kritik önemini göstermektedir (35). DSÖ MDB'nu değersizlik hissi, ilgi ya da zevk kaybı, suçluluk duygusu ya da düşük özgüven duygusu, üzüntü, zayıf konsantrasyon, günlük aktiviteleri gerçekleştirememe, uykusuzluk ve iştahsızlık ile karakterize yaygın bir zihinsel bozukluk olarak tanımlar (3, 36, 37). MDB ile ilişkili semptomlar diğer psikiyatrik ve nörodejeneratif koşullarda da mevcut olduğundan, MDB'nin teşhisi zor olabilmektedir (38). Depresyon etiyolojisi tam olarak anlaşılmadığından, yararlı tanı testlerinin yanı sıra etki gücü yüksek ve hızlı etkili antidepresan tedavi stratejilerinin geliştirilmesi çok zor olmuştur (39).

3.1.1. Major depresif bozukluğun sınıflandırılması

Mevcut depresyon çalışmalarının çoğu MDB üzerine odaklanmaktadır. MDB biyolojik, psikolojik, genetik, sosyal ve ailesel faktörlerinin tetiklediği heterojen bir hastalıktır (40). DSÖ'nün yayınladığı Uluslararası Hastalık ve İlişkili Bozukluk Sınıflaması-10'a göre, MDB depresif epizod ve distimi olmak üzere iki ana alt kategoriye ayrılmaktadır. Depresif epizodun seviyeleri, hafif, orta, şiddetli olarak sınıflandırılabilir; genellikle 2 haftadan daha uzun sürer (41). Hasta uygun tedavi almazsa, tekrarlayan depresif epizod ve distimi riski artmış olur. Distimi, semptomların MDB'ye benzer olduğu, ancak daha uzun, en az 2 yıl, bazen on yıllarca süren hafif depresyonun kalıcı veya kronik bir şekli olarak tanımlanır (42, 43). Mental Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı (DSM-V), MDB tanısı için 2 haftalık bir süre içerisinde beş veya daha fazla semptom bulunması gerektiğini belirtir. Bu semptomlar arasında, günün büyük kısmı için depresif ruh hali, ilgi ya da zevk kaybı, önemli kilo kaybı veya kilo alımı, uykusuzluk veya aşırı uyuşukluk, yorgunluk veya enerji kaybı, konsantre olamama, tekrarlayan ölüm düşünceleri ve intihar düşüncesi/girişimi bulunur (37).

3.1.2. Major depresif bozukluğun fizyopatolojisi

MDB'nin fizyopatolojisinin altında yatan etiyoloji; genetik, epigenetik, çevresel, klinik ve sosyal faktörlerin karmaşık ve sıklıkla değişen bir etkileşimi sonucunda ortaya çıkar. Yıllar boyunca bu psikiyatrik bozukluğun fizyopatolojisini açıklamak için birçok teori geliştirilmiştir, ancak etiyolojisini açıklayabilecek tam kapsamlı ve birleştirici bir mekanizma henüz yoktur (44, 45).

Çok sayıda beyin bölgesinin duygu durum düzenlenmesine ve duygusal davranışlara katkıda bulunduğu düşünülmektedir ve bu nedenle MDB boyunca çeşitli makroskopik beyin değişikliklerinin ortaya çıkması şaşırtıcı değildir. Bu hastalığın fizyopatolojisinde yer aldığı tahmin edilen ana beyin bölgelerinin bazıları dorsolateral prefrontal korteks (dlPFK), hipokampus, ön cingulate korteks, insula ve superior temporal gyrus'dur. Sağlıklı kontrollere kıyaslandığında depresyonlu hastaların beyinlerindeki bu bölgelerde azalmış aktivite görülür. Bununla beraber, antidepresan tedaviden sonra bu

bölgelerde artmış aktivite ve negatif duygusal uyarıcılara verilen yanıtta azalma olduğu gösterilmiştir (46). MDB'de, çalışma belleğine ve planlı düşünmeye katkıda bulunan bir bölge olan dlPFK'in aktivitesinin azaldığı tahmin edilmektedir. dlPFK aktivitesinin azalması bilişsel yetersizliğe de neden olur (47).

MDB'de aktivitesinin değiştiği diğer bölgeler arasında medial ve inferior frontal korteks gibi kortikal-limbik ağlar, ayrıca amigdala ve striatumda (kaudat ve putamen) bulunur. MDB hastalarında bu bölgelerde artmış aktivite (negatif uyaranlara cevap olarak aşırı aktif) ve antidepresan tedaviye cevap olarak azalmış aktivite görülür (48).

3.1.2.1. Major depresif bozukluğun moleküler ve nörobiyolojik temelleri

Depresyonun moleküler ve nörobiyolojik temelleri ile ilgili mekanizmaların bazıları arasında monoaminerjik (49) ve glutamaterjik transmisyondaki değişiklikler (50), spesifik beyin yapılarının sinaptik plastisite ve atrofisindeki eksiklikler (51, 52), yüksek düzeyde nöroinflamasyon ve oksidatif hasar oluşumu (53) ve hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) eksenindeki fonksiyonların hiperaktivasyonu (54) bulunmaktadır (55, 56). Ancak, bu bulgular her hastada mevcut değildir ve bu mekanizmaları doğrudan hedef alan tedaviler sadece kısmen araştırılmıştır. Karmaşık doğası, heterojenliği ve diğer komorbid psikiyatrik bozukluklarla ilişkisi, depresyonun kesin nörobiyolojik mekanizmalarının tanımlanmasındaki ana sınırlılıklar olarak görülür (44).

3.1.2.1.1. Monoaminerjik bozukluklar (monoamin hipotezi)

Depresyonun etiyolojik nedenleri ile ilgili yakın tarihe kadar yapılan çalışmalar ve gözlemler monoaminerjik sistemin bozulmasıyla ilgili olmuştur (44, 57). Depresyonun fizyopatolojisi için temel bir hipotez olan monoamin hipotezi depresyonun, serotonin (5-HT), norepinefrin (NE) ve dopamin (DA) dahil olmak üzere bir veya daha fazla monoamin seviyesindeki değişiklikten kaynaklandığını belirtir. Monoaminerjik bozukluklar antidepresan ilaç gelişiminde temel mekanizma olmaya devam etmektedir (58).

MDB tanısı konulan hastalarda 5-HT metabolitlerinin düşüklüğü, trisiklik antidepresanlar (TAD'lar), selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'lar) ve

serotonin-norepinefrin geri alım inhibitörleri (SNRI'lar) gibi antidepresanların beyindeki 5-HT seviyelerini arttırarak depresyon tablosunu iyileştirmesi serotonerjik sistemin MDB'daki önemini gösterir. Fakat daha sonra yapılan çalışmalarda, artan 5-HT seviyelerinin antidepresan ilaç etkileri için gerekli olduğunu, fakat yalnızca 5-HT tükenmesinin depresif semptomlara neden olmak için yeterli olmadığını gösterdi (59).

Duygu-durum fizyolojisine etki eden önemli nörotransmitterlerden birisi de NE'dir. TAD'lar, SNRI'lar ve norepinefrin-dopamin geri alım inhibitörleri (NDRI'lar) gibi NE geri alımını engelleyen ve Mirtazapin gibi NE salgılanmasını artıranlar ilaçların depresyon tedavisinde etkili olmuş atidepresanlardır (58).

MDB'nin en sık görülen semptomlarından olan ödül duygusu ve motivasyondaki azalma, çalışmaların dopaminerjik aktiviteler üzerinde yoğunlaşmasına neden olmuştur. Özellikle, MDB hastalarda nükleus accumbens (NAc) ve ventral tegmental alandan (VTA) oluşan mesolimbik dopaminerjik aktivitede azalma olduğu gösterilmiştir (60-62). Benzer şekilde, MDB hastalarının beyin omurilik sıvısındaki DA metabolitlerinin konsantrasyonlarının da sağlıklı bireylerinkinden daha düşük olduğu gösterilmiştir (63). DA ve ödül devresi MDB için varsayılan hedefler olarak tanımlanırken, MDB patogenezindeki heterojenlik ve karmaşıklık ideal ve birleştirici bir mekanizmanın ortaya konmasında önemli bir engel teşkil etmektedir.

Son zamanlarda *in vivo* depresyon modellerinde ve MDB'li hastalarda yapılan çalışmalar, beyindeki başlıca uyarıcı nörotransmiter olan glutamatın da MDB patogenezinde rol aldığını bildirmektedir (50, 64, 65). Gluatamat, ruh hali düzenlemesinde de yer alan ve son dönemde üzerinde yoğun bir şekilde çalışılılan bir nörotransmitterdir. Bir N-metil-D-aspartik asit (NMDA) reseptör antagonisti olan ketaminin kuvvetli ve hızlı etkili bir antidepresan olarak işlev görmesi, antidepresan tedavisi için olası bir hedef olarak glutamaterjik sisteme büyük ilgi duyulmasına neden olmuştur. Klinik çalışmalar, ketaminin geleneksel antidepresanların tersine saatler içinde meydana gelen hızlı bir antidepresan etkisine yol açtığını göstermiştir (66).

3.1.2.1.2. Nöroinflamasyon süreçleri

MDB'nin nörobiyolojisi tümör nekrozsiz faktör (TNF-α), interlökin-6 (IL-6) ve interlökin-1β (IL-1β), kompleman faktörleri, T hücrelerinin aktivasyonu ve otoimmün reaksiyonlar gibi immün inflamatuar değişiklikleri içerir (67). Fizyolojik koşullar altında mikroglial hücreler, homeostazının önemli düzenleyicileridir (68). Bununla birlikte, sitokinler tarafından aktive edildikten sonra mikroglial hücrelerin, 5-HT ve DA sentezine müdahale ederek ve glutamaterjik dengesizliğe neden olarak MDB'nun gelişmesinde önemli bir rol oynadığı varsayılmaktadır. IL-1β ve TNF-α gibi proinflamatuar sitokinlerin, 5-HT reseptör taşıyıcısı (SERT) gibi monoamin geri alım taşıyıcılarının ekspresyonunu ve fonksiyonunu arttırdığı veya reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini teşvik ettiği gösterilmiştir (69). Benzer şekilde depresyonlu hastalarda IL-1β, IL-2, IL-6, TNF-α, CRP ve PGE_2 inflamatuar belirteçlerin seviyelerinde artış olduğu bildirilmiştir (70). Son 20 yılda, psikiyatrik araştırmalar, inflamatuar süreçlerin ve beyin-immün etkileşimlerinin MDB patogenezinde rol oynadığı ve serotonerjik ve noradrenerjik fonksiyon bozukluklarına katkıda bulunabileceği hipotezini desteklemiştir (71).

3.1.2.1.3. Noronal fonksiyon bozuklukları

Nörotransmisyonun etkinliğinde kalıcı değişiklikler ile sonuçlanan hücresel süreçler olarak tanımlanan sinaptik plastisitede bozulmalar depresyon patogenezinde de gösterilmiştir (72). Beyindeki spesifik nötrofik faktör seviyelerinin azaltılmasının, özellikle sinaptik plastisite ve hipokampal nörogenez gibi fonksiyonları etkileyebilecek yaygın nöronal fonksiyon bozukluğuna neden olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda duygu durum düzenlenmesinde yer alan bazı bölgelerin (örn. pFK ve hipokampüs) işleyişini tehlikeye sokarak limbik sistemle olan bağlantısını bozar (73, 74). Geçtiğimiz yıllarda yapılan çalışmalarda, MDB etiyolojisine katkıda bulunan beyin kaynaklı nötrofik faktör (BDNF), vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF), fibroblast büyüme faktörü-2 (FGF-2), sinir büyüme faktörü (NGF) ve insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) gibi çeşitli nörotrofik ve büyüme faktörlerinin MDB patogenezinde rol aldığını göstermektedir (38). Nörogenezi düzenlediği iyi bilinen bir faktör olan BDNF, nöronal sağkalım (75) ve sinaptik plastisite (76) ve bilişsel ve duyuşsal işlevlere katkıda bulunmak (77) gibi

etkilerinden dolayı MDB en çok çalışılan nörotrofik faktör olmuştur. Birçok çalışmada, BDNF serum düzeyinin MDB'li hastalarda azaldığı ve antidepresanların BDNF ekspresyonunu arttırdığı gösterilmiştir (51, 78).

3.1.2.1.4. Hipotalamus-hipofiz-adrenal aks modülasyonunun rolü, stres ve nöroendokrin sistem

Vücudun strese verdiği nöroendokrin tepkisine hipotalamus-hipofiz-adrenal (HPA) aksı aracılık eder. Gerçek veya algılanan bir strese yanıt olarak, hipotalamusta bulunan paraventriküler nucleus'deki (PVN) kortikropropin salgılayan hormon (CRH) nöronları aktive edilir ve CRH'yi hipofizeal portal sistem yoluyla kan akışına salgılar. CRH, hipofiz bezinden adrenokortikotropin hormon (ACTH) salınımını uyarır, bu da adrenal bezden kortikosteron salınımını tetikler (79). Buna paralel olarak, CRH nöronları enkefalin, dynorphin, arginin-vazopressin, anjiyotensin ve oksitosin gibi nöropeptid içeren diğer nöronlara ek olarak, rostral ventrolateral medulladan (RVLM) çıkıntı yapar ve strese otonomik yanıtı başlatır. Strese verilen bu nöroendokrin tepkiler, strese karşı fizyolojik ve davranışsal cevabı koordine ederek "savaş ya da kaç" cevabını başlatır (80). Hayvan çalışmaları, tekrarlanan psikososyal ya da çevresel stresin ve bunun sonucunda gelişen HPA aksının hiperaktivasyonun, sinaptik plastisite bozukluklarına ve nörotransmiter düzensizliğine neden olarak anksiyete ve depresif benzeri davranışlara yol açtığını göstermiştir (81). Benzer şekilde, glukokortikoidlerin aşırı salgılanmasının ve glukokortikoid reseptör fonksiyonunun düzensizliğinin depresyon bozukluklarının patogenezinde rol oynadığı görülmektedir (82).

3.1.3. Antidepresan tedavinin farmakolojik temelleri

MDB fizyopatolojisi ile ilgili sınırlı bilgilerimize rağmen, farmakolojik açıdan birçok etkili tedavi vardır. MDB tedavisinde kullanılan ilaçlar, başlangıçta genellikle tamamen farklı endikasyonlar için kullanılırken klinik gözlemler neticesinde

keşfedilmiştir. Yarım yüzyıldan fazla bir süre boyunca yapılan birçok depresyon araştırması, bu tedavilerin nasıl çalıştığını anlamanın, depresyonun nedenleri hakkında yeni bir bakış açısı ortaya çıkaracağı fikrine dayanıyordu. Sonuç olarak, bu ilaçların ayrıntılı etki mekanizmaları kullanımından uzun yıllar sonra ortaya çıkarılmıştır (83). Psikofarmakoloji alanı geliştikçe, ilaç hedeflerinin ve bu ilaçların biyokimyasal etkilerinin daha iyi anlaşılması adına büyük bir aşama gösterilmiştir. Bunun çok önemli bir sonucu, benzer biyokimyasal etkilere ulaşabilecek ancak azaltılmış yan etki profiline sahip, güvenli ve daha seçici ilaçların geliştirilmeye başlanması olmuştur (84, 85).

Antidepresanlar, beynin fonksiyonel yapısını oluşturan; duyguları, strese verilen tepkileri düzenleyen nörotransmiterlerin genel dengesini etkiler. MDB, üç ana kategoride yer alan farmakolojik ajanların kullanımıyla tedavi edilmektedir: monoamin oksidaz inhibitörleri (MAOI'ler), TAD ve ikinci nesil antidepresanlar (Tablo 1). MAOI'ler, monoamin oksidaz enzim ailesinin aktivitesini seçici olarak inhibe eden bir enzim sınıfıdır. Böylece sinapslarda monoaminerjik aktiviteyi arttırarak etki gösterirler. MAOI'leri, sıklıkla birinci basamak tedavi olarak kullanılır (86).

Günümüzde pek çok tedavi, MDB'den etkilenen hastaların semptomlarını iyileştirmek için seçici nörotransmitter geri alım inhibitörlerinin kullanımına dayanmaktadır. TAD'lar, depresyon tedavisinde kullanılan birinci nesil ilaçlardır, ancak genelleşmiş anksiyete bozukluğu ve sosyal fobi gibi diğer tıbbi hastalıkların tedavisinde de kullanılırlar. TAD'ların çoğunluğu esas olarak 5-HT ve NE taşıyıcılarını bloke ederek 5-HT-NE geri alım inhibitörleri olarak görev yapar, bunun sonucunda bu nörotransmiterlerin sinaptik konsantrasyonlarını doğrudan yükselterek nörotransmisyonu arttırır (87-89). Bu ilaçlar önemli terapötik faydalar sağlamasına rağmen, antidepresan yanıtı indüklemek için haftalar-aylar geçmesi gerekir ve hastaların % 33'ünün tedaviye dirençli olduğu düşünülür (90). Aynı zamanda, kilo alımı, uyuşukluk ve baş dönmesi gibi yan etkiler kullanımını sınırlamaktadır (91). TAD'larla tedavi edilen hastalarda, özellikle tedavi süresi 9 aydan az olduğunda, nüks sık görülür (92). Günümüzde daha az yan etki gösteren yeni antidepresanların geliştirilmesiyle TAD'ların kullanımı azalmıştır.

TAD’lara çok benzeyen ancak daha az toksik ve yan etkiye sahip olan ilaç grubu ise SSRI’dir. SSRI'ler MDB tedavisinde en çok reçete edilen ilaçlardır. 5-HT’in sinaps aralığındaki seviyesini, presinaptik hücreye yeniden alımını inhibe ederek arttırırlar, bu da daha iyi nörotransmisyon ve daha iyi bir ruh hali sağlar (84).

Tablo 1: Başlıca antidepresan sınıf ve ilaçları: MAOI'leri, TAD'lar ve ikinci nesil antidepresanlar (93).

Antidepresan Sınıfı	İlaçlar	Etki Mekanizması	Yan Etkileri
MAOI'leri	Tranilsipromin Fenelzin Maklobemid	Monoamin oksidaz enziminin aktivitesini inhibe ederler.	Kilo alımı, uykusuzluk, hipertansiyon, ilaç etkileşimleri
TAD'lar	İmipramin Amitriptilin Amoksapin	5-HT ve norepinefrin geri alımını inhibe ederler.	Kardiyovasküler toksisite, sedasyon
İkinci Nesil Antidepresanlar	Bupropion Fluoksetin Sitalopram Paroksetin	5-HT ve DA geri alımını inhibe ederler.	Uykusuzluk, epileptik nöbet riski, serotonin sendromu

3.2. Anksiyete Bozuklukları (AB, *AD*)

Anksiyete; yaygın olarak ortaya çıkan, olumsuz duygusal bir haldir ve öznel endişe ve korku duyguları ile karakterize edilir. Anksiyete duygusu dış ya da iç uyaranlara karşı organizmanın zarar görmesini önlemek veya azaltmak; böylece hayatta kalmasını sağlamak için gelişen gelişmiş davranışsal tepkileri ortaya çıkarır. Potansiyel tehdit beklentisi veya yakın tehlike ile karşı karşıya kalındığında belirli ölçülebilir davranışsal, fizyolojik, hormonal ve otonomik reaksiyonlar oluşur (94, 95). Anksiyete, organizma için uyarlanabilir alarm mekanizması olarak işlev görür. Bu tepkiler, ilgili çevresel uyaranlara cevap olarak uygun şekilde gerçekleştiğinde adaptif ve faydalıdır. Fakat normal çevresel koşullara karşı uyarılmış davranışsal tepkiler oluşması ve bu tepkilerin devam etmesi anksiyete ile ilişkili bozuklukların gelişmesine yol açabilir (96-99).

Anksiyete bozukluklarının (AB) etiyolojisi ile ilişkilendirilen psikososyal stresler; ebeveynlerden, ebeveynlerin evlilik uyuşmazlığından, çocukluk hastalıklarından, cinsel ya da fiziksel şiddetten ya da ailenin akıl hastalığı geçmişinden kaynaklanan travmatik

durumlar gibi çocukluk veya ergenlik sırasındaki travmatik deneyimleri içerir. Her ne kadar kötü yetiştirme durumları AB'nın ana nedeni olarak görünse de, ebeveyn tutumlarının etiyolojisine katkılarını destekleyen kanıtlar zayıftır. Çocukluk çağı sıkıntısına ek olarak, yetişkinlik sırasındaki travmatik olaylar, örneğin bir aile üyesinin boşanması veya ölmesi, AB'nın olası nedenleri olarak varsayılmıştır (100).

AB, en yaygın psikiyatrik bozukluklardan biridir ve toplum için önemli ekonomik yük getirir (101, 102). Erişkinlerde yaşam boyu prevalansının % 28'den fazla olduğu tahmin edilmektedir. 2013 yılı itibariyle, dünya genelinde dokuz kişiden biri geçmiş yıllarda bir endişe bozukluğuna sahip olmuştur (103). Avrupa'da 2010 yılı itibariyle 60 milyon insanın AB'na sahip olduğu rapor edilmiştir (104). Bu bozukluklar batı ülkelerinde yaygın, Çin gibi Asya ülkelerinde ise daha az görülür (27). Epidemiyolojik çalışmalarda 50 yaşından sonra AB prevalansında belirgin bir azalma gözlenmiştir (105). 55 yaş ve üstü yetişkinlerin AB yaşama olasılığı 35-54 yaş grubuna göre % 20 daha azdır. Dünya genelinde kadınların kaygı bozukluğu yaşama ihtimali ise, erkeklerden iki kat daha fazladır (106). Geniş semptom yelpazesi ve diğer psikiyatrik durumlarla olan yüksek komorbidite ilişkisi nedeniyle patolojik anksiyetenin tedavisine yönelik yaklaşımlar önemini korumaktadır (107). Özellikle hasta popülasyonun genelinde anksiyete ve depresyon bozuklukları arasında yüksek komorbidite görülür (108, 109).

AB olan kişiler çevresel (sosyal durumlar veya yabancı yerler) veya içsel (olağandışı bedensel duygular) etkilere karşı aşırı korku, endişe veya algılanan tehditlerden kaçınma davranışları gösterirler. Korku, algılanan yakın tehdidin bir sonucu olarak ortaya çıkarken, kaygı ise algılanan gelecekteki tehditlerle ilgili bir beklenti halidir. Çocukluk ve ergenlikte görülen korku ve kaygı gelişimseldir. Yetişkinlik boyunca da geçici korku ve kaygı özellikle stresli dönemlerde ortaya çıkabilmektedir. Fakat bu semptomlar devam etmedikçe (en az 6 ay boyunca) anksiyete olarak değerlendirilmez (95).

3.2.1. Anksiyete bozukluklarının sınıflandırılması

AB arasında yaygın anksiyete (YAB), panik anksiyete, sosyal anksiyete, fobiler ve ayrılma anksiyetesi, travma sonrası stres bozukluğu (TSSB) ve obsesif-kompulsif bozukluk (OKB) yer almaktadır (100). Fakat özellikle TSSB ve OKB gibi bozukluklar günümüzde AB'ndan ayrı olarak değerlendirilmektedir (37). Anksiyete ile ilişkili bozuklukların farklılığı ve diğer psikiyatrik hastalıklar arasında semptomların örtüşmesi anksiyete tedavisinde tanısal bir zorluk ortaya çıkartır (110). Büyük araştırma çabaları patolojik anksiyete için yeni ve daha etkili tanı ve tedaviler geliştirmeyi hedeflemektedir.

AB için başlangıç yaşı, bozukluklar arasında farklılık gösterir. Ayırılma anksiyetesi bozukluğu ve spesifik fobi çocuklukta başlar (ortalama 7 yaşında). Daha sonraki yaşlarda sosyal anksiyete bozuklukları görülebilir (13 yıl). Panik atak olmadan agorafobi (20 yaş) ve panik bozukluğu (24 yaş) ise gençlik ve daha sonraki yıllarda görülür (111). Prevalans çalışmalarında üzerinde en çok çalışılan ve klinik ortamlarda en sık tedavi edilen anksiyete bozukluğu ise panik atak bozukluklarıdır (106).

3.2.2. Anksiyete bozukluklarının fizyopatolojisi

AB'nın fizyopatolojisi henüz iyi anlaşılmamıştır. AB, çok çeşitli koşullar grubudur ve günümüzde anksiyetenin patolojik formlarının altında yatan nöropatofizyolojik mekanizmaların anlaşılamaması bu heterojenliği yansıtmaktadır (112). 'Normal' anksiyeteden anksiyete bozukluğuna geçişin psikososyal stresörlerle nörobiyolojik değişikliklerin etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir (113). Anksiyete ile ilgili değişimlerin ve çevresel tehditlere verilen tepkilerin modülasyonunda amigdala, hipokampus ve medial prefrontal korteks (mPFK) gibi çeşitli beyin bölgeleri yer almaktadır. Ayrıca hipotalamus, orta beyin (örneğin, raphe nuclei) ve beyin sapı (örneğin, periakueduktal gri) da anksiyete bozukluklarında rol alır (114). Gelişmiş beyin görüntüleme çalışmaları duygusal uyarıcıların işlenmesi sırasında, amigdala ve insula gibi limbik bölgelerde aşırı aktivite gösterme eğilimi görüldüğü, bu bölgeler ve birbirleri ile beynin mPFK gibi bazı bölgeleri arasında anormal fonksiyonel bağlantı olduğu anlaşılmıştır (95, 115).

Genel olarak bakıldığında AB'ndaki patogenez ile ilgili ortaya çıkan veriler amigdalayı merkeze alan bir sinir sistemi modelinin temellendirilmesine sebep olmuştur (116-118). Bu modelde amigdaladan ventromedial prefrontal kortekse (vmPFK) ve anterior cingulate kortekse (ACK) çift yönlü iletişim ve bu bölgelerin tümünün hipokampüs ile fonksiyonel çapraz iletişimi gözlenir (114). İstekli öğrenmeyle ilişkili esneklik için kritik bir yer olan bu limbik çekirdek grubu, endişeli hastalarda anormal aktivasyon ve bağlantı düzenleri gösterir (119). pFK ve alt bölümleri olan ventromedial kısım ve ACK'de korku ile ilgili davranış ve bozukluklarda rol oynamaktadır (120). Ayrıca, etkileşim ve çok modlu duyusal işlemlerden sorumlu olan insula, bu devrenin bir parçası olarak önemlidir. Bununla birlikte, hem artmış hem de azalmış amigdala hacimleri insan anksiyete bozuklukları ile ilişkilendirilmiştir (121, 122).

Sadece mekansal hafıza ve navigasyonla ilgili olduğu düşünülen beyin yapısı olan hipokampüsün de anksiyete bozukluklarında rol aldığı hem klinik hem de klinik öncesi kanıtlarla desteklenmektedir (123, 124). Diğer taraftan, beyindeki serotonerjik nöronların ana kaynağı olan raphe çekirdeklerinin de anksiyete ile ilgili tepkilere aracılık eden yapıların temel bir bileşeni olduğu görülmektedir (125). Geleneksel olarak bir ödül işleme ve değerlendirme alanı olarak kabul edilen dopaminerjik hücre gövdelerinin bulunduğu VTA da, bu devrenin bir parçası olarak düşünülür (126, 127).

3.2.2.1. Anksiyete bozukluklarının nörobiyolojik ve moleküler temelleri

3.2.2.1.1. Anksiyete oluşumunda rolü olan temel nörotransmitter sistemleri

3.2.2.1.1.1. GABA-erjik sistem

Anksiyete fizyopatolojisinde etkili olan önemli nörotransmitter sistemlerinden biri GABAerjik sistemdir. γ-aminobütrik asit (GABA) mPFK ve amigdalada ana inhibitör nörotransmisyon olanağı sağlayarak, bir dizi korku ve endişe ile ilgili davranış üzerinde

güçlü bir etkiye aracılık eder (128, 129). $GABA_A$ reseptörü agonistleri, amigdaladaki bazı alt-bölgeleri geçici olarak etkisiz hale getirerek kaygının ortadan kalkmasına katkıda bulunur (130). GABA iletimini arttıran ilaçların, hem deney hayvanlarında hem de insanlarda anormal korku ve anksiyete ile ilgili davranışların azaltılmasında etkili olduğu iyi bilinmektedir (131). Bu nedenle, mPFK-amigdala arasındaki GABAerjik nörotransmisyonun, anksiyete ile ilişkili yanıtların modülasyonu için umut verici bir hedef olduğu düşünülmektedir.

3.2.2.1.1.2. Monoaminerjik sistem

AB'nın biyolojik etiyolojisi, monoamin nörotransmitter eksikliği ve nörotransmitter reseptörlerinin anormal fonksiyonu ile yakından ilişkilidir. Üç monoamin nörotransmitter sisteminin (5-HT, NE ve DA) bozulması, farklı beyin bölgelerinde AB ile ilgili çeşitli sinir devrelerinde bozukluklara neden olabilir (132).

Serotonerjik iletimi artıran ilaçların hastalardaki anksiyete semptomlarını hafifletmede etkili olduğu bilinmektedir ve aynı zamanda hayvanlarda korku ve endişe ile ilgili davranış değişiklikleri için de kanıtlanmıştır (133). 5-$HT2_A$, 5-$HT2_B$ ve 5-$HT2_C$ reseptörleri birden fazla hücresel sinyalleşme yolunda etki gösterir ve çeşitli fizyolojik beyin fonksiyonlarının düzenlenmesinde rol oynar. Obezite, uyku, hafıza, bağımlılık, şizofreni, anksiyete ve depresyon gibi psikiyatrik bozukluklar için terapotik hedefler oluştururlar (134). Ritanserin ve ketanserin gibi çoğu seçici olmayan 5-$HT2_A$ reseptör antagonistlerinin anksiyolitik etki gösterdiği bildirilmiştir (135, 136). Bu verilere rağmen, her 5-HT2 reseptörü alt tiplerinin, yüksek oranda seçici reseptör ligandlarının bulunmamasından dolayı bu davranışsal tepkilerin modülasyonundaki spesifik katkısı hakkında çok az şey bilinmektedir (137).

Birden fazla hücre tipinde farklı şekilde eksprese edilmiş çoklu 5-HT reseptör alt tipleri, hem anksiyolitik hem de anksiyojenik etkilere sahip 5-HT nörotransmisyonuna aracılık edebilirler. Örneğin, hipokampal dokuda 5-$HT1_A$ reseptörünün aktivasyonu anksiyolitik etkiler üretebilirken, 5-$HT2_A$ aktivasyonu anksiyojenik etki gösterir. 5-$HT1_A$ genlerinin susturulması, aşırı ekspresyonu, mutasyonu veya bastırılması ile ilgili yapılan

çalışmalar, hem presinaptik hem de postsinaptik 5-HT1$_A$ reseptörlerinin anksiyete fenotiplerine katkıda bulunduğunu öne sürmektedir (138).

Artan noradrenerjik aktivite, beyindeki korku ve anksiyete devrelerinin aktivasyonu ile ilişkilidir. NE'in kendisi veya NE fonksiyonunu arttıran ilaçlar insanlarda panik atakları indükleyebilir (139). Stres koşullarında kortikotropin salgılayan faktör, NE salgılayan ve uyanıklık ve anksiyete semptomlarını indükleyen, locus ceruleus (LC)-temporal hipokampüsteki NE enerji yolunu aktive edebilir. Yapılan çalışmalar yaygın anksiyete bozukluğu olan hastalarda serum katekolamin konsantrasyonlarında artış (özellikle NE) olduğunu gösterir (140). Bu durum, bazı klinik hekimler arasında SNRI'lerin ve NERI'lerin en azından tedavinin ilk aşamasında anksiyogenik olabileceği algısına yol açmıştır (141). Noradrenerjik iletimi arttıran ilaçların AB tedavisinde kullanılması "noradrenerjik paradoks" olarak bilinir ve altında yatan mekanizma henüz tam olarak anlaşılamamıştır (142). Panik atak hastalarında beynin noradrenerjik hücre gövdelerinin çoğunu içeren bir bölge olan LC'un uyarılmasının hastalarda anksiyeteyi uyardığı ve LC'da NE metabolitlerinin konsantrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir (143).

DA reseptör fonksiyonundaki eksiklik pFK'ten amigdalaya gerçekleşen inhibisyonda başarısızlığa yol açabilir; korku ve patolojik endişenin ortaya çıkmasına neden olan amigdala'nın aşırı uyarılabilirliğini indükleyebilir (144). Mezolimbik ve mezokortikal dopaminerjik aktivite korku ve anksiyete davranışlarını arttırır (145). Mezokortikolimbik dopaminerjik sistem amigdala tarafından kontrol edilen VTA'daki dopaminerjik nöronlar tarafından düzenlenir. Normal koşullar altında, amigdaladaki ilgili bölgelerin aktivitesi mPFK tarafından baskılanır. Ancak stresli koşullarda, dopaminerjik nörotransmisyon, amigdalayı kortikal inhibisyondan kurtarır ve anksiyete yanıtlarının gelişmesine yol açar (146). Araştırmalar, sağlıklı kontrollere kıyasla sosyal anksiyete bozukluğu olan hastalarda DA taşıyıcı yoğunluğunun ve striatumda D_2 reseptörü bağlanma oranının azaldığını göstermiştir (138).

Bu nörotransmisyon sistemlerinden farklı olarak bazı beyin bölgelerindeki kolinerjik nöronların özellikle dikkati arttırarak anksiyete gelişimini az da olsa engellediği

düşünülmektedir. Fakat antikolinerjik ilaçların belirgin bir anksiyolitik etkisi görülememiştir (147). Güncel bazı çalışmalarda ise hipokampustaki ACh sinyallerinin anksiyete ve depresyon ile ilgili davranışları teşvik ettiği bildirilmektedir (148, 149).

3.2.2.1.2. Anksiyete bozuklukları ve nitrik oksid (NO)

Nitrik Oksid (NO), majör bir inflamatuar mediatördür ve upregülasyonu birçok nöropatolojik durumun altında yatan faktördür (150). NO, MSS'nin fizyolojisinde önemli bir rol oynar. Ayrıca, hipokampal nörogenez, nöronal fonksiyonlar, sinir büyüme faktörü sentezi, HPA aksı aktivitesi NO tarafından modüle edilir. Bununla birlikte, ROS üreterek bazı patolojik süreçlere dahil edildiğinde zararlı etkileri olur. Beyindeki NO aktivitesinin artması veya işlev bozukluğu anksiyete patogenezinde önemli rol oynar (151, 152).

Nitrik oksit sentazlar (NOS), katalitik sentaz ailesinin üyelerinden olan enzimlerdir ve NO sentezinde görev alır. Nöronal NOS (nNOS), endotel NOS (eNOS) ve indüklenebilir NOS (iNOS) olmak üzere 3 NOS türü vardır. eNOS ve nNOS, sırasıyla endotel ve sinir hücrelerinde yapısal olarak eksprese edilirken; makrofaj izoformu olan iNOS sitokinler tarafından indüklenir (153). Medial amigdalada NOS içeren hücrelerin bol miktarda bulunması, NO'nun bu yapılardaki strese bağlı tepkilerin işlenmesinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir (154). Medial amigdalada NOS inhibisyonu ayrıca, yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyolitik etkiler üretir (155). S-etilizotiyoüre tarafından iNOS'un selektif inhibisyonunun anksiyolitik etki ürettiği gösterilmiştir (156).

3.2.2.1.3. Anksiyete bozuklukları ve nöronal fonkisyonlar

Nörotrofinler, nörogenezde rol oynayan önemli proteinlerdir. Nörotrofinler arasında NGF, BDNF, nörotrofin-3, nörotrofin-4 ve artemin gibi nötrofik faktörler bulunur. BDNF, merkezi sinir sistemi ve periferik sinir sistemindeki nöronlar üzerinde etkili bir proteindir ve nörogenezde ve yeni sinapsların oluşumunda önemli rol oynar. BDNF'nin depresyon ve anksiyete etiyolojisinde yer aldığı, ancak anksiyete bozukluklarında beyin BDNF düzeyleri ile ilgili verilerin yetersiz olduğu düşünülmektedir. Nörotrofik faktörlerin anksiyete bozukluklarına kıyasla duygudurum

bozukluklarında daha önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir. Beyin atrofisi ve büyüme faktörlerinin miktarının azalması duygudurum bozukluklarında gözlenirken, anksiyete bozukluklarında böyle bir patolojiden henüz kesin bir şekilde bahsedilememektedir (100).

3.2.3. Anksiyete bozuklukları tedavisinin farmakolojik temelleri

Bütün AB'nın semptomları hafif ve geçicidir. Çoğunlukla psikolojik tedaviler uygulanan anksiyetede sosyal ve mesleki ortamlarla ilişkili bir bozulma olmaz ise ilaç tedavisi gerekmez. Bununla birlikte, bir hasta belirgin bir sıkıntı gösterdiğinde ya da hastalığın neden olduğu komplikasyonlardan (örneğin, ikincil depresyon, intihar düşüncesi ya da alkol kötüye kullanımı) muzdarip olduğunda tedavi endikedir. AB çoğunlukla ayakta tedavi edilebilir özelliktedir. Hastanede yatış endikasyonları ise intihar, standart tedavilere cevap verememe veya buna bağlı komorbidite (majör depresyon), kişilik bozuklukları veya madde bağımlılığı gibi sorunları içerir (111, 114).

AB'nda etkili olan beyin alanlarının aktivitesi, bazı nörotransmiter ve nöromodülatörler tarafından modüle edilir. Anksiyete ile ilgili bozuklukların mevcut davranışsal olmayan tedavilerinin temelinde bu sistemleri hedefleyen farmakolojik bileşiklerin kullanımı bulunmaktadır. Bu tedavilerin çoğu, semptomların kısa süreli azaltılmasında etkili olurlar. Aynı zamanda etki sürelerinin geç başlaması ve primer etki aktivitesi anksiyeteye yönelik olmaması bu tedavi yaklaşımının olumsuzluklarındandır. Bununla birlikte, bu tür bileşiklerin kullanımı, daha önce belirtmiş olduğumuz beyin alanlarındaki anksiyete ile ilgili davranış ve bozukluklara katılan nörotransmitter sistemlerine ışık tutmuştur (127).

Antidepresanlar, çoğu anksiyete bozukluğu için (spesifik fobiler hariç) birinci basamak farmakolojik tedavinin ana bileşenleridir. Anksiyete bozukluğu olan birçok hastada depresyonun da gelişmesi (109), antidepresanların kullanımının tedavi etkinliğini arttırır. Anksiyete tedavisinde en yaygın kullanılan ve "geniş spektrumlu" anksiyolitik etkileri olan antidepresan ilaçlar SSRI ve SNRI'dir (5). Bu antidepresan ilaçların anksiyolitik etkilerinin başlaması 2 ila 4 hafta sürebilmektedir. Aynı zamanda bir SSRI

ilaç tedavisinin kesilmesi rebound geri çekilme reaksiyonlarının gelişmesine neden olabilir (111).

1950'lerden bu yana, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından anksiyete için birincil endikasyonlarla onaylanan yeni moleküler bileşikler; benzodiazepinler, atipik anksiyolitik buspiron, meprobamat ve hidroksizin pamoat ile sınırlandırılmıştır (157). Anksiyete tedavisinde kullanılan bu ilaçlar antidepresanlardan daha üstün tedavi etkinliği gösterirler (114). Aynı zamanda, anksiyete bozukluklarının tedavisinde kullanılabilecek diğer ilaçlar gabapentin ve pregabalindir. Pregabalinin yaygın anksiyete bozukluğunda iyi bir etkinlik gösterir (158).

Anksiyete bozukluğu olan birçok hastaya hızlı başlangıçlı etkinliklerinden dolayı benzodiazepinler (BZD) önerilmektedir. BZD'ler GABA'nın sinirsel iletimini arttırarak etki gösterirler (159). BZD'lerin anksiyolitik etkileri oral veya parenteral uygulamadan hemen sonra başlar (160). Antidepresanların aksine, BZD'ler başlangıçta artan titreme ve uykusuzluğa yol açmazlar. ABD'de anksiyete bozukluğu olan hastaların %55 ila %94'ü BZD'ler ile tedavi edilmektedir. Aynı şekilde, Avrupada yayımlanan çalışmalar da yüksek oranda uzun süreli BZD kullanımının olduğunu göstermiştir (161). BZD'ler, anksiyete bozukluklarının tedavisi için etkililiği kanıtlanmış ilaçlardır ve uzmanların çoğu, ikinci veya üçüncü basamak ajanlar olarak kullanılmasını önerirler (162). Bununla birlikte, olası kötüye kullanım ve bağımlılık ile ilgili endişeler kullanımlarını sınırlandırmaktadır ve bu ilaçlar alkol veya diğer madde kullanım bozuklukları olan kişilerde dikkatli kullanılmalıdır (veya hiç kullanılmamalıdır). Gabapentin ve pregabalin gibi γ-aminobütirik asit (GABA) sinyalini modüle eden anti-epileptik ilaçlar, potansiyel kötüye kullanım konusunda endişe duyulduğunda BZD'lere alternatif olarak kullanılırlar (114).

3.3. İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü (HIV)

3.3.1. HIV'in Tarihçesi

HIV ile ilişkili bildirilen ilk vakalar, 1981 yılında ABD'deki agresif Kaposi sarkoması (KS) ve *Pneumocystis carinii* pnömonisi (PCP) ile hastaneye başvuran genç

eşcinsel erkeklerde rapor edildi. Bu nadir fırsatçı enfeksiyonların, en çok bağışıklık sistemi zayıf olan kişilerde kendini gösterdiği bilinmekteydi ve bu hastaların ikisi, tanısından kısa bir süre sonra öldü (163). KS ve PCP vakaları ve ölümler daha fazla rapor edilmeye ve diğer ülkelerde de görülmeye başlayınca bu yeni durum tüm dünyanın dikkatini çekmeye başardı (164). Hastalığın nedeni bilinmiyordu bu sebeple epidemiyolojik ve virolojik çalışmalar hız kazanmaya başladı. İki yıl sonra, iki bağımsız araştırma grubu nedensel ajan olarak bir retrovirüsü tanımladı. Virüs Luc Montagnier ve arkadaşları (165) tarafından izole edildi ve bir yıl sonra virüs ile AIDS arasındaki bağlantının ilk kanıtını Gallo ve arkadaşları yaptıkları çalışmada göstermiş oldu (166). Birkaç yıllık araştırmanın ardından, 1986 yılında virüs *insan immün yetmezlik virüsü* (HIV) olarak adlandırıldı (167).

İlk AIDS vakaları bildirildiği sırada, HIV dünyanın neredeyse tüm bölgelerine yayılmıştı ve on binlerce kişi zaten HIV ile enfekte olmuştu. Gerçekleştirilen epidemiyolojik çalışmalar, HIV pandemisinin ne kadar şiddetli olduğuna dair ilk ipuçlarını vermişti (168). Sahra-altı Afrika, dünya çapında toplam HIV vakalarının üçte ikisini barındırarak ciddi bir şekilde etkilendi. Pandeminin ilk on yılında, bölgenin pek çok ülkesinde HIV prevelansı %10 ila %40'a ulaşmıştı (169). Sahra-altı Afrika'daki bu yüksek prevalans, muhtemelen bu bölgenin HIV'in kaynağı olduğu gerçeğinden de kaynaklanmaktadır (170). HIV'in 1931'de, *simian immün yetmezlik virüsü* (SIV) ile enfekte olmuş insan olmayan primatlardan çoklu enfeksiyonlar yoluyla insan popülasyonuna girdiği düşünülmektedir. Bu nedenle, virüsün insan nüfusu içine girmesi ile AIDS vakalarının ortaya çıkması arasında yaklaşık 50 yıl geçtiği tahmin edilmektedir.

3.3.2. HIV/AIDS pandemisi

3.3.2.1. Dünyada HIV/AIDS

İlk tanınma ve keşfinden yaklaşık 38 yıl sonra, AIDS, hastalığın yayılmasını engellemek için uygulanan çok sayıda çabaya rağmen hala ciddi bir küresel halk sağlığı ve gelişim problemi olmaya devam etmektedir. Bugüne kadar yaklaşık 74,9 milyon insan HIV ile enfekte olmuş ve salgının başlamasından bu yana yaklaşık 32 milyon insanın

AIDS ile ilgili hastalıklardan dolayı öldüğü rapor edilmiştir. 2018 verilerine göre dünya çapında yaklaşık 37,9 milyon insan HIV ile yaşamakta ve her yıl yaklaşık 1,7 milyon kişi HIV ile enfekte olmaktadır (171). HIV ile mücadele programları ve antiretroviral tedaviler için gösterilen küresel çabalar sayesinde yeni HIV enfeksiyonları önemli bir şekilde azalmıştır. Bununla birlikte, yeni HIV enfeksiyonlarındaki düşüş hızı, 2016 yılında Birleşmiş Milletler Genel Kurulu tarafından kabul edilen Hızlı Takip Hedefine (Fast-Track Target) ulaşmak için çok yavaştır: 2020 yılına kadar yılda 500.000'den az yeni enfeksiyon hedefi (172). WHO'nun 2017 verilerine göre HIV enfeksiyonuna sahip bireylerin % 69'unun Afrika kıtasında yaşamakta olduğu bildirilmektedir. Bununla birlikte, HIV enfekte bireylerin % 9,4'ünün Güney Doğu Asya'da, % 9,2'sinin Amerika'da, % 6,2'sinin Avrupa'da, % 4'ünün Batı Pasifik bölgesinde ve % 1'inin Doğu Akdeniz bölgesinde yaşadığı tahmin edilmektedir (173).

3.3.2.2. Türkiye'de güncel durum

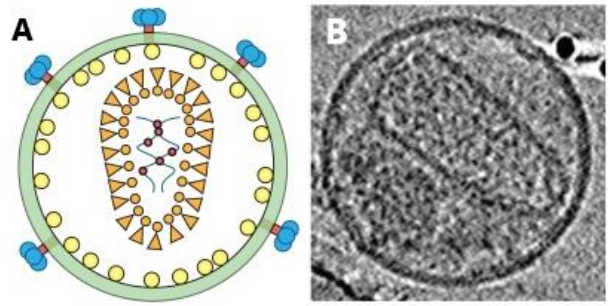
Ülkemizde HIV enfekte hastaların sayısı gelişmekte olan ülkelerdeki kadar yüksek değildir. İlk vakanın 1985 yılında 3 HIV pozitif hasta ile bildirildiği Türkiye'de HIV/AIDS vakalarında her geçen gün artış gözlenmektedir. Sağlık Bakanlığı verilerine göre 2019 yılı itibariyle 21520 HIV/AIDS vakası vardır ve 1 Ocak-31 Aralık 2018 tarihleri arasında yaklaşık 3356 yeni HIV vakası tespit edilmiştir. Tespit edilen bu vakalarda ana bulaşma yolu heteroseksüel cinsel temastır (% 36,5) ve bunu homoseksüel cinsel temas (% 13,1) ve damar içi madde kullanımı (% 1,5) takip eder. Bununla birlikte, HIV/AIDS en çok 20 ila 49 yaş aralığındaki erkeklerde görülür (174). Bu veriler dikkate alındığında Türkiye'de her yıl yeni HIV/AIDS vakalarının arttığı ve ülkemizde de önemli bir sağlık sorunu haline geldiği gözlenmektedir.

3.3.3. HIV'in özellikleri

HIV, uzun bir inkübasyon periyodu (lentus=yavaş) ile karakterize edilen Lentiviridae cinsine ait bir retrovirüstür. İki tür HIV vardır: dünya genelinde en yaygın görülen HIV-1 ve daha az patojenik, çoğunlukla Batı Afrika'da bulunan HIV-2 (175, 176). Küresel olarak HIV enfeksiyonlarının çoğunun sebebi olan HIV-1 virüsü dört gruba

ayrılır: M (majör), O (outlier), N (nonmajor/nonoutlier) ve P. M grubu dünya genelinde en yaygın (yaklaşık % 90) dağılım gösteren HIV-1 grubudur (177, 178). Bu nedenle ilaç ve tedavi geliştirme stratejileri M grubu HIV-1 retrovirüsleri üzerine yoğunlaşmıştır.

HIV virüsü genetik bilgiyi DNA yerine RNA şeklinde taşır ve dolayısıyla konakçı hücre kromozomuna dahil edilmeden önce RNA'yı DNA'ya transkribe etmek için reverz transkriptaz enzimini kullanır. HIV-1 viral partikülleri şekil olarak küreseldir ve çapı ortalama 100 nm'dir. Viral zarf olarak da bilinen çift katmanlı bir lipoprotein membranı virüsü çevreler. Viral çekirdek, iki tekli HIV RNA dizisini ve reverz transkriptaz, proteaz, ribonükleaz ve integraz gibi HIV replikasyonu için gerekli enzimleri çevreleyen viral kapsül proteinini (p24) içerir (179). HIV-1 virüsünün yapısı Şekil xx'de gösterilmiştir.



Şekil 1: (A) Olgun HIV virüsünün yapısı. (B) Olgun HIV virüsünün elektron mikroskobundaki görüntüsü (180).

3.3.4. HIV-1'in replikasyon döngüsü

HIV-1, belirli vücut sıvıları yoluyla yayılır ve özellikle CD4 reseptörüne sahip hücrelere enfekte olarak bağışıklık sistemi ile savaşır. CD4 reseptörü, HIV-1'in ana hedefleri olan T hücreleri, makrofajlar, mikroglia ve dendritik hücreler üzerinde eksprese edilir. $CD4^+$ T hücreleri, eksojen patojenlere karşı adaptif immün yanıtta çok önemli bir rol oynar. $CD4^+$ hücrelerinin kaybı, konakçı bağışıklık sistemi üzerinde dramatik bir etkiye sahiptir ve bu da tüberküloz, diğer bakteriyel ve fungal enfeksiyonlar gibi fırsatçı enfeksiyonlara karşı vücudu savunmasız bırakır (181). Bununla birlikte, CD4 reseptörüne ek olarak, konakçı hücre yüzeyinde bulunan insan ko-reseptörleri de (C-C kemokin

reseptörü 5 (CCR5) ve C-X-C kemokin reseptörü 4 (CXCR4)) virüsün konakçı hücreyi tanıması için gereklidir (182).

HIV-1'in yaşam döngüsü, serbest ve olgun virüsün kan dolaşımına girmesiyle başlar. HIV-1 zarf glikoproteini olan gp120, hedef hücrelerin hücre zarı içindeki lipid bakımından zengin bölgelerde bulunan CD4 reseptörlerine bağlanır. Bu durum, virüsün hedef hücrede CCR5 veya CXCR4 ko-reseptöre bağlanmasına izin veren viral zarfta bir konformasyon değişikliğine yol açar. Bu sayede virüs hücre zarı ile birleşir (füzyon) ve viral proteinlerini konakçı hücre sitoplazmasına aktarır (183, 184). Viral proteinler sitoplazmaya vardığında, viral RT enziminin aracılık ettiği reverz transkripsiyon süreci başlatılır ve konakçı genoma entegrasyon için gerekli olan tek iplikçikli viral RNA genomundan çift zincirli (*double strand:ds*) bir DNA meydana getirilir (185, 186). Oluşan bu *ds*DNA'ya provirüs denir. Viral ve konakçı proteinlerle birlikte provirüs, çekirdek porlarına yönlendirilen preintegrasyon kompleksini (PIC) oluşturur. PIC, konakçı hücrenin çekirdeğine girdiğinde, PIC'nin parçası olan viral enzim integrali, viral DNA'nın konakçı hücre kromozomuna entegrasyonunu katalize eder. Bu şekilde konakçı DNA çift sarmalı açılarak provirüs entegrasyonu sağlanmış olur. Bu entegrasyon sonrasında provirüs, yeni enfeksiyöz viral partiküllerin üretimi için konakçı hücrenin moleküler mekanizmasını kullanır (187). Yeni üretilen ve mutasyona uğramış viral proteinler ve genomlar, konakçı hücreden tomurcuklanıp yeni konakçı hücreleri enfekte etmek amacıyla enzimatik olgunlaşma sürecini geçirmek için paketlenerek konakçı hücreden ayrılır (188).

3.3.5. HIV enfeksiyonunun doğal seyri ve klinik özellikleri

HIV-1, ağırlıklı olarak genital sıvılar ve kontamine kan gibi vücut sıvıları yoluyla iletilir. En yaygın bulaşma yolları cinsel ilişki, iğne paylaşımı, sterilize edilmemiş tıbbi ekipman kullanımı, mesleki maruziyet (örneğin iğne ile yaralanma) veya kan transfüzyonu şeklindedir. Ek olarak, HIV'in anneden çocuğa dikey geçişi, hamilelik, doğum ve anne sütü ile ortaya çıkabilir (189). HIV-1 bulaşmasından sonra genellikle üç klinik hastalık evresi vardır: birincil/akut enfeksiyon, kronik asemptomatik enfeksiyon ve

AIDS. Enfeksiyondan sonraki ilk haftalarda birçok hasta, ateş benzeri semptomlara benzer güçlü immün yanıtlar gösterir. Akut HIV-1 enfeksiyon sendromu olarak da adlandırılan bu ilk aşamayı, yavaş virüs replikasyonunun eşlik ettiği yaklaşık 10 yıl süren asemptomatik bir dönem izler (190). HIV'in temel hedefi, enfekte olmuş ve daha sonra tükenmiş olan, yeterli ve etkili bağışıklık tepkilerini sağlama kabiliyetine sahip olan $CD4^+$ T lenfositleridir. HIV-1 olgun $CD4^+$ T lenfosit hücrelerini yok eder ve vücudun onları yeniden büyütme yeteneğini azaltır. Sağlıklı bir kişide CD4 hücre sayısı 500-1600 hücre / mm^3 arasındadır. Fırsatçı enfeksiyon riski, hastanın CD4 sayısı 200 hücrenin altında düştüğünde artar (191). $CD4^+$ T hücre sayısı ve plazma HIV RNA viral yükü, hastalığın ilerlemesini izlemek için önemli laboratuvar belirleyicileridirler. CD4 sayısı immün yetkinliğin bir göstergesi iken, viral yük hastalık ilerlemesi için bir belirteçtir (192). HIV enfeksiyonunun terminal fazı, CD4 hücrelerinin tükenmesi, AIDS ile sonuçlanan şiddetli fırsatçı enfeksiyonlara yatkınlık ve tedavi edilmezse kaçınılmaz ölüm ile karakterizedir (193).

3.4. Antiretroviral tedavi

Antiretroviral ilaçlar, başta HIV olmak üzere retrovirüslerle enfekte olmuş hastaların tedavisi için kullanılan ilaçlardır. Antiretroviral tedavinin (ART) amacı, vücuttaki HIV viral yükünü düşük seviyede tutmaktır. Bu, vücutta bağışıklık sisteminin zayıflamasına engel olur ve HIV'in neden olduğu semptomların azalmasında fayda sağlar. Haziran 2017 verilerine göre, dünya çapında HIV ile yaşayan yaklaşık 36,7 milyon insanın 20,9 milyonu ART'ye erişmekte olduğu rapor edilmiştir (194). 2010 yılında sadece 7,7 milyon insanın ART aldığı düşünüldüğünde bu gelişme son derece önemlidir. Fakat ne yazık ki, dünya genelinde ART'ye erişim UNAIDS'in 2030 yılına kadar salgın hastalığın sona erdirilmesi hedefinden çok uzakta kalmaktadır (195).

Günümüzde HIV tedavisinde kullanılan, FDA tarafından onaylanmış birçok antiretroviral ilaç vardır. ART'nin ilk yıllarında ilaçlar monoterapi şeklinde uygulanmıştı. 1987 yılında, bir RT inhibitörü olan zidovudin HIV enfeksiyonunun tedavisinde kullanılabilen ilk antiretroviral ilaç olmuştur. Ancak zidovudin monoterapisine karşı hızla

direnç gelişmiştir (196). 1996 yılında, HIV yaşam döngüsünde farklı aşamalara etki eden ilaçların bir kombinasyonu kullanılarak vücuttaki viral replikasyonu tamamen baskılayabilen yüksek aktif antiretroviral tedavi (HAART) olarak bilinen üçlü ilaç kombinasyonları çağının temelleri atıldı (197). Klinisyenler tarafından yaygın bir şekilde uygulanmaya başlayan HAART rejimleri, bireylerin daha iyi bir yaşam kalitesine sahip olmalarına yardımcı olarak HIV'i yönetilebilir ancak kronik bir enfeksiyon hastalığına dönüştürdü (198).

HAART, üç veya daha fazla antiretroviral ilacın eşzamanlı uygulanmasını içerir. Hâlihazırda HIV'in yaşam döngüsündeki farklı mekanizmalara etki edebilen 6 temel antiretroviral ilaç sınıfı vardır: nükleosid/nükleotit reverz transkriptaz inhibitörleri (NRTI), nükleosid olmayan reverz transkriptaz inhibitörleri (NNRTI), proteaz inhibitörleri (PI), giriş inhibitörleri (CCR5 inhibitörleri, füzyon İnhibitörleri (FI)), integraz inhibitörleri (INSTI) (199). Alışılmış HAART rejimi; iki NRTI artı bir NNRTI veya iki NRTI artı PI gibi üç veya daha fazla farklı ilacı birleştirerek uygulanır (200). Üçüncü ajan, klinik senaryo ve mevcut kaynaklara bağlı olarak değişebilmektedir. Viral yük, hastanın CD4 sayısı, yaş, tolere edilebilirlik ve antiretroviral ilaç mevcudiyeti, ilaç kombinasyonu seçiminde önemli faktörlerdir (201). Birçok kombinasyon terapisi olmasına rağmen, WHO, yakın zamanda HIV tanısı konan herkes için başlangıç olarak Tenofovir, Efavirenz ve Emtricitabine içeren sabit dozlu bir kombinasyon olan Atripla©'yı önermiştir. Efavirenzin yan etkilere neden olduğu durumlarda, Nevirapin genellikle ikame bir ilaç olarak kullanılır (202).

3.4.1. Giriş/füzyon inhibitörleri (FI)

Giriş ve füzyon inhibitörleri, HIV'in erken yaşam döngüsüne etki eder ve virüsün konakçı hücrelere girmesini önler. Giriş inhibitörleri, konakçı hücreler üzerindeki kemokin reseptörlerine (CCR4 / CCR5) bağlanır ve ko-reseptör-viral etkileşimi önler. Şu anda sadece Maravirok adı verilen bir CCR5 inhibitörü onay almıştır (203). Viral girişi önlemeye yönelik bir başka yaklaşım, viral zarfın hücre membranı ile füzyonunu inhibe etmektir. Enfuvirtide, gp41 proteinin hücre membranı ile etkileşime girmesini önleyen ve

füzyonun durmasını sağlayan sentetik bir peptiddir. Yüksek dozlama sıklığı (günde iki kez) ve uygulama yolu (subkütanöz) göz önüne alındığında rutin tedavide kullanımı sınırlıdır. Diğer ilaçlara direnç gelişmiş hastalara son ilaç seçeneklerinden biridir (204).

3.4.2. İntegraz inhibitörleri (INSTI)

İntegraz inhibitörleri (INSTI), konakçı hücre DNA'sına viral DNA'nın entegrasyonu için gerekli olan HIV integraz enzimini inhibe ederler. İntegraz enzimleri konakçı hücrelerde bulunmaz, bu yüzden önemli ilaç hedeflerindendirler (205). HIV-1 replikasyonundaki merkezi rolü nedeniyle, entegrasyon aşamasını hedefleyen birçok inhibitör geliştirilmiştir. Raltegravir (RAL), 2007 yılında FDA tarafından onay alan ilk INSTI'dür (206, 207). Bu sınıfa ait diğer ilaçlar ise dolutegravir ve klinik faz çalışmaları devam eden elvitegravirdir.

3.4.3. Proteaz inhibitörleri (PI)

PI, büyük HIV öncü proteinlerini konakçı hücre zarından tomurcuklanabilen enfeksiyöz viral partiküllere ayırmaktan sorumlu olan HIV proteaz enzimini hedef alır. Proteaz enzimi, Gag-Pol poliproteininin fonksiyonel viral proteinler üretmek için proteolitik bölünmesinden sorumludur. Bu sürecin inhibisyonu tamamlanmamış viral olgunlaşmaya yol açar; bu da tamamlanmamış, enfeksiyöz olmayan viryonların oluşmasına neden olur (208). Bu sınıftaki birkaç ilaç şu anda piyasadadır: atazanavir, ritonavir, indinavir, darunavir, fosamprenavir, nelfinavir, saquniavir ve tipranavir. Ne yazık ki, uzun süreli tedavide PI'ların çoğuna yan etkiler eşlik etmektedir. En yaygın yan etkiler, dislipidemi, insülin direnci ve lipodistrofi/lipoatrofi gibi kardiyo-serebrovasküler hastalıklar ve metabolik sendromlardır (209).

3.4.4. Reverz transkriptaz inhibitörleri

3.4.4.1. Nükleozid/nükleotid reverz transkriptaz inhibitörleri (NRTI)

NRTI, geliştirilen antiretroviral ilaçların birinci sınıfını oluşturur ve mevcut HAART rejimlerinin ana omurgası olarak bilinir (200). RT enzimi için substrat olarak hareket eden bu ilaçlar, büyüyen viral DNA zincirine dahil olarak doğal deoksinükleotitlerle rekabet ederler. Bu bileşikler 3' hidroksil grubu içermediğinden deoksinükleotitlerin bağlanmasını

engelleyerek viral RNA'dan DNA oluşumunu bloke ederler (210). NRTI'nın genel tolere edilebilirliği oldukça iyidir. Hap yükü, diğer ilaç sınıflarına göre düşüktür. Bu da hastada uyunç problemini azaltır. Ayrıca, NRTI'ler karaciğer CYP450 enzim sistemleri ile metabolize edilmeden böbrek atılımına maruz kaldıkları için ilaç etkileşimi olasılığı düşüktür. Bu potansiyel avantajlara rağmen; hala yaygın olarak kullanılan ilk kuşak NRTI'lar, uzun vadede olumsuz etkilere neden olabilecek mitokondriyal toksisiteye neden olur (211). Günümüzde, en yaygın olarak kullanılan NRTI'lar, tenofovir ve abakavirdir. Lamivudin, stavudin, emtrisitabin, didanozin ve zidovudin bu sınıfta yer alan diğer ilaçlardandır.

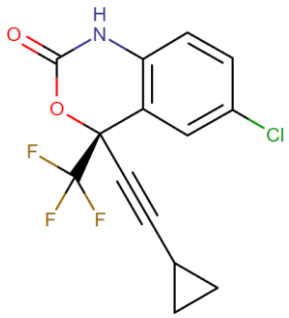
3.4.4.2. Non-nükleozid reverz transkriptaz inhibitörleri (NNRTI)

NNRTI'leri, NRTI'lar ile aynı viral hedef üzerinde etki eder, ancak eylem mekanizması önemli ölçüde farklılık gösterir. NNRTI, non-kompetitif inhibisyola RT enzimini inhibe eder. RT üzerindeki allosterik bölgeye bağlanarak konformasyonel bir değişikliğe yol açar. Bu konformasyonel değişim, endojen nükleozitlerin bağlanma afinitesinde bir azalmaya yol açar ve reverz transkripsiyonu bozar (212). HIV-1'in aksine NNRTI'lar HIV-2'ye karşı etkili ilaçlar değillerdir. NRTI'lerden farklı olarak, NNRTI'ların çabuk etki göstermesi ve uzun bir plazma yarı ömrüne sahip olması önemli avantaj sağlamaktadır. NNRTI'lar iyi tolere edilir ve basit dozajlama imkânı sağlar. Fakat reverz transkripsiyon esnasında gelişen tek nokta mutasyonlarına karşı etkisiz kalabilmektedirler (213). Virolojik baskılama için güçlü ajanlar olmalarına rağmen ilaç etkileşimleri, önemli yan etkiler ve HIV-1 tarafından direnç gelişimi gibi durumlar kullanımını sınırlandırmaktadır (214). Tüm NNRTI'lar CYP450 tarafından yüksek oranda metabolize edilir ve güçlü enzim indükleyicileridir. Bu nedenle, ilaç etkileşimlerine neden olurlar (215). İlk jenerasyon NNRTI'ler Nevirapin ve Efavirenzdir. Yakın zamanda Etravirin ve Rilpivirin gibi ikinci jenerasyon ilaçlar klinik kullanıma sunulmuştur (216).

3.5. Efavirenz

Efavirenz (Sustiva©, Stocrin©) dünyada en yaygın reçete edilen antiretroviral ilaçlardan biridir. Benzoksamin türevi olan EFV, HIV-1 RT enzimini non-kompetitif inhibe eden

güçlü bir NNRTI ilaçtır ve diğer antiretroviral ilaçlar birlikte HAART'de yaygın olarak kullanılmaktadır (11, 217). Doğrudan enzime bağlanır ve DNA-RNA polimerazın aktivitelerini bloke ederek enzimin katalitik bölgesinin tahrip olmasına neden olur (218). EFV, kimyasal olarak (S)-6-kloro-4-(siklopropiletinil)-l,4-dihidro-4-(triflorometil)-2H-3,1-benzoksazin-2-on olarak adlandırılır (219). Kimyasal formülü $C_{14}H_9ClF_3NO_2$'dir ve yapısal formülü Şekil 2'te gösterilmiştir. EFV zayıf asit yapısında ve suda çözünmeyen bir ilaçtır (pKa =10,2). Molekül ağırlığı 315,68 g/mol'dür. FDA tarafından biyofarmasötik sınıflandırma sistemi rehberliğine göre sınıf II bir ilaçtır (düşük çözünürlük, yüksek geçirgenlik) (220, 221).



Şekil 2: Efavirenz'in yapısal formülü (222)

EFV'in iki NRTI ile kombinasyonu birinci basamak ART'nin klinik çalışmalarında referans standardı olarak kabul edilmektedir (223). 2006 yılında; tenofovir disoproksil fumarat (NtRTI)/ emtrisitabin (NRTI)/ EFV'dan (NNRTI) (sırasıyla 300mg/200mg/600mg) oluşan ilk sabit doz kombinasyon ilaç olan Atripla© ABD'de FDA onayı alarak küresel HIV pandemisi ile mücadelede önemli bir adım atılmıştır (224). Uzun süreli etkililik ve güvenliği, günde bir kez dozlama kolaylığı, tenofovir ve emtrisitabin ile tek tabletli bir eş-formülasyonun mevcudiyeti (Atripla©) ve ara sıra cevapsız dozu affeden uzun bir yarılan ömrüne sahip olması EFV'in tercih edilmesinin önemli sebeplerindendir (217, 225). Aynı zamanda, HIV bulaşma riski yüksek olan materyallere maruz kalanlarda HIV bulaşmasını önlemek için genişletilmiş post maruziyet profilaksisi (PEP) rejiminin bir parçası olarak da diğer antiretroviral ajanlarla birlikte kullanılmaktadır (226).

3.5.1. Efavirenz'in farmakolojik özellikleri

Diğer NNRTI'ler gibi EFV, hücre içi metabolizmaya ihtiyaç duymadan etki gösterir ve EFV'in etki alanı, HIV ile enfekte olmuş hücrelerin içerisindedir (227). EFV, enzim konformasyonunu değiştiren ve substratlara erişimi önleyen allosterik bir mekanizma vasıtasıyla HIV-1 reverz transkriptazın hidrofobik bölgesine non-kompetitif bir şekilde bağlanarak RNA ve DNA bağımlı polimeraz aktivitesini bloke eder. Sonuç olarak konak hücrelerde viral replikasyon inhibe olur (228). EFV'in MSS'ne olağanüstü etkin nüfuzu ve viral RT inhibisyonuna olan benzersiz etkisi klinik açıdan önemli avantaj olarak görülür. Bu avantajlarından dolayı, diğer antiretroviral rejimlerle karşılaştırıldığında yüksek nörolojik toksisite riskine rağmen birinci basamak tedavinin önemli bileşenlerinden biri olarak kabul edilir (229).

3.5.2. Efavirenz'in farmakokinetiği

EFV, oral uygulamadan sonra iyi emilir ve 3 ila 5 saat sonra plazma pik konsantrasyonlarına (C_{max}) ulaşır. Yetişkinlerde önerilen doz günde bir kez 600 mg'dır. Gıdalarla birlikte alımı, EFV'nin biyoyararlanımını arttırır. Nörolojik ve psikiyatrik yan etkilerinin azaltılması için yatmadan önce aç karnına alınması tavsiye edilir. Tekrarlayan dozlarda, 6-10 gün içinde kararlı durum konsantrasyonlarına ulaşılır. HIV pozitif hastalarda yapılan çalışmalarda, günde 600 mg oral uygulamadan sonra, C_{max} değeri 12,9±3,7 µmol/L ve minimum plazma konsantrasyonu (C_{min}) 5,6±3,2 µmol/L olduğu gösterilmiştir (230, 231).

EFV, plazma albümine yüksek oranda bağlanır (> % 99). Kan-beyin bariyerini geçer ve beyin-omirilik sıvısında (BOS) yeterli konsantrasyonlara ulaşır (232). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, 15 mg/kg dozunda intraperitoneal yolla (ip.) verilen EFV'in 1 saat içerisinde plazma konsantrasyonuna oranla 4,6 kat daha fazla beyinde biriktiği gösterilmiştir (233). Tekli oral dozu takiben 52 ila 76 saat arasında değişen uzun bir yarılanma ömrüne ($t_{1/2}$) sahiptir ve otoindüksiyon nedeniyle, uzun süreli uygulamadan sonra 40 ila 55 saatlik bir yarı ömür ortaya çıkar (234, 235). Almond ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, bir ay boyunca günde bir kez 200 ila 600 mg EFV alan HIV-1 ile enfekte hastalarda (n=9), beyin omurilik sıvısı konsantrasyonları ilgili plazma

konsantrasyonunun % 0,26 ila 1,19'u (ortalama % 0,69) arasında olduğu gösterilmiştir. Bu oran plazmadaki EFV'in plazma proteinine bağlı olmayan (serbest) fraksiyonundan yaklaşık 3 kat daha yüksektir. Aynı çalışmada, EFV'in hücrelerde biriktiği ve % 90'lık inhibitör konsantrasyonunun (IC_{90}) çok üzerinde hücre içi konsantrasyonlara ulaştığı bildirilmiştir (227).

EFV esas olarak hepatik sitokrom P450 (CYP) enzimleri tarafından hidroksilasyon sonucu metabolize olur (236). CYP2B6, CYP3A5, CYP3A4 ve CYP1A2 mikrozomal enzimleri EFV metabolizasyonunda etkili olan enzimlerdir. EFV'in primer ve majör metaboliti 8-hidroksiefavirenz'dir (8-OH-EFV) ve metabolizasyon süreci önemli ölçüde CYP2B6 enzimi ile olur. Diğer bir önemli metaboliti ise 7-hidroksiefavirenz'dir (7-OH-EFV). Oluşan metabolitler idrar ve safra (% 1'den azı) ile vücuttan atılırlar (230). EFV, CYP mikrozomal enzimlerini indükleyerek kendi metabolizmasını hızlandırır ve çoklu dozlamayı takiben daha düşük plazma konsantrasyonlarına neden olur. Bu etkinin, EFV tarafından CYP2B6 enziminin indüksiyonuna bağlı olduğu bulunmuştur (237). Aynı zamanda, CYP3A4 indüksiyonu ile birçok ilacın klirensini (CL) arttırdığı bilinmektedir (219, 238).

Yaygın olarak kabul edilen 1-4 mg/L arasındaki terapötik tedavi aralığı, hem MSS yan etkilerini en aza indirir, hem de viral supresyonu sağlar (239). İlaç-ilaç etkileşimleri EFV plazma konsantrasyonlarını önemli ölçüde değiştirme potansiyeline sahiptir ve ciddi klinik sonuçlara neden olabilir (240). ARV ilaçların çoğunlukla kombinasyon şeklinde uygulanması ve fırsatçı enfeksiyonların ve diğer HIV ile ilişkili hastalıkların tedavisine yönelik ilaçlarla beraber kullanılmasından dolayı HIV hastalarında ilaç etkileşimlerinin olasılığı oldukça yüksektir (241). Karbamazepin, lopinavir/ritonavir (Kaletra©), nevirapin, rifampisin gibi ilaçlar plazma EFV konsantrasyonlarını düşürerek suboptimal terapötik yanıt veya ilaç direncinin gelişmesine yol açabilirler (242, 243); darunavir, flukonazol, ritonavir, valproik asit, vorikonazol gibi ilaçlar ise EFV'in plazma konsantrasyonlarını arttırarak MSS yan etkilerini şiddetlendirirler (243).

Tablo 2: EFV'in farmakokinetik özellikleri (219)

Dozaj (mg)	600 /oral
t_{max}(saat)	3-5
C_{max} (µg/mL)	4,1
CL (L/h)	9,4
Vd (L/kg)	3,8
F	% 40–45
$t_{1/2}$ (h)	52–76, Tek doz 40–55, Çoklu doz
Plazma Proteinlerine Bağlanma Oranı	>99%

t_{max}: maksimum plazma konsantrasyona ulaşma süresi (C_{max}); CL: Plazma klirensi; Vd: Dağılım hacmi; F: biyoyararlanım: $t_{1/2}$: yarı ömür.

3.5.3. Efavirenz'in yan etkileri

Kombine antiretroviral tedavi (cART) ile ilişkili yan etkilerin klinik önemi, hastaların yaşam boyu tedaviye bağlı olmaları nedeniyle özellikle önemlidir. 20'den fazla potansiyel ART kombinasyonu mevcuttur ve EFV, kombine tedavide önemli bir ilaçtır. Güvenli bir ilaç olarak kabul edilmekle birlikte, EFV-bazlı rejimler lipid bozuklukları (244-246), hepatotoksisite (247-249), kardiyovasküler (3), dermatolojik (250) ve psikiyatrik (5) semptomlar ile ilişkili bulunmuştur.

EFV kullanan hastalarda lipoatrofi ve plazma lipidlerinin bozulması görülebilir (251). EFV kaynaklı lipoatrofi oluşumu, kısmen lipogenez ve farklılaşma inhibisyonu da dahil olmak üzere adipositler üzerindeki etkilerden kaynaklanıyor olabilir (252). Mitokondriyal disfonksiyon, EFV ile oluşan karaciğer hasarının önemli bir mekanizması olarak kabul edilir ve mitokondriyal solunum zincirinin inhibisyonu, yağ asidi beta-oksidasyonu ve ROS'un artan üretimi gibi yollarla gerçekleştiği öne sürülmektedir (253, 254). Deney hayvanlarında yapılan çalışmalar ve bazı vaka çalışmaları, EFV'in nöronal tüp defektleri potansiyeline sahip olması nedeniyle gebeliğin ilk trimesterinde

kullanılmaması gerektiğini bildirir. Bu nedenle EFV, FDA tarafından gebelik kategorisi D'ye alınmıştır (255, 256).

3.5.3.1. Efavirenz'in nöropsikiyatrik yan etkileri

Akut MSS etkileri, EFV tedavisi ile ilişkili en iyi bilinen yan etkilerdir ve hastaların % 50'sinden fazlasında görüldüğü bildirilmiştir (239, 257). Semptomlar baş dönmesi, baş ağrısı, konfüzyon, konsantrasyon bozukluğu, ajitasyon, amnezi, depresyon (258), anksiyete (22), halüsinasyonlar, uyku anormallikleri ve anormal rüyalardır (208, 259, 260). Bu semptomlar genellikle tedavinin ilk birkaç günü içinde ortaya çıkar (261) ve hastaların yaklaşık % 4-10'unda EFV'in erken kesilmesine neden olurlar (239, 262). Tedavi devam ettiğinde, nöropsikiyatrik belirtilerin çoğunun prevalansı birkaç hafta içinde azalır (229, 261). Bununla birlikte, az sayıda hastada nöropsikiyatrik bozuklukların birkaç ay veya daha uzun süre devam ettiği (262, 263) veya EFV ile birkaç ay tedaviden sonra ilk defa ortaya çıktığı belirtilmiştir (264, 265). Kronik nöropsikiyatrik yan etkiler, tedavi başarısızlığı ve ilaç uyuncunun düşmesine ve sonuç olarak HIV RNA seviyesinin rebound yükselmesine neden olur (262, 266).

EFV, 1998'de onaylanmasından bu yana sürekli olarak incelenen, hem insan klinik çalışmalarında hem de hayvan modellerinde nöropsikiyatrik yan etkilerle ilişkilendirilmiş bir ilaçtır. Bazı büyük randomize kontrollü (261, 267-269), kesitsel (270-272) ve kohort (273, 274) çalışmalar EFV'in nöropsikiyatrik yan etkilerini açıkça göstemiştir. Kenedi ve arkadaşlarının yakın zamanda yapmış olduğu bir çalışmada EFV ile tedavi edilen hastaların yaklaşık % 50'sinde canlı rüyalar, uykusuzluk ve duygudurum değişiklikleri bildirilmiştir (260). Başka bir çalışmada ise, EFV temelli tedavi alan antiretroviral-naif hastalarda PI ve diğer NNRTI bazlı rejimlere kıyasla anlamlı derecede yüksek nörolojik ve psikiyatrik yan etkiler bildirilmiştir (275).

EFV bazlı rejimlerle ilgili güncel ve kapsamlı bir sistematik derlemede; EFV temelli tedavinin HIV-1 enfekte hastalarda en çok tercih edilen tedavi seçeneklerinden biri olarak düşünüldüğü, ancak EFV'in nöropsikiyatrik yan etki profili nedeniyle daha önce psikiyatrik rahatsızlığı mevcut olan hastalarda dikkatli reçete edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (276). Psikiyatrik hastalık öyküsü, depresif belirtiler veya madde bağımlılığı olan hastalarda EFV kaynaklı nöropsikiyatrik yan etki riskinin arttığı gözlenmiştir (273, 277). Bazı güncel tedavi klavuzları etkin bir psikiyatrik hastalığı olan ve psikoaktif ilaç alan hastalarda EFV'in kontraendike olduğunu, bunun yerine nevirapin veya lopinavir/ritonavir kullanımının daha yararlı olacağını belirtmiştir (278, 279).

Plazma ve hücre içi EFV konsantrasyonlarının ve CYP2B6 polimorfizminin tetiklenen erken nöropsikiyatrik rahatsızlıkların belirleyicileri olduğu öne sürülmüştür (280, 281). EFV'in kademeli doz azaltımının nöropsikiyatrik yan etkilerinin hem sıklığını hem de şiddetini azalttığı gösterilmiştir (281). Bununla birlikte, hastaların EFV'in nöropsikiyatrik yan etki geliştirme riski taşıyan tam plazma düzeyini belirlemeye yönelik çalışmalar çelişkilidir (282). Klinik deneyler EFV ve metabolitlerinin plazma konsantrasyonlarına bağlı olarak hastalarda gelişen nöropsikiyatrik yan etkilerin başlama zamanı, süresi ve şiddetinin kişiler arasında değişkenliğini göstermektedir (283, 284).

3.5.3.1.1. Efavirenz ve duygudurum bozuklukları

Çalışmalar, nöropsikiyatrik yan etkilerin bir parçası olarak EFV deneyimi olan hastaların % 25'inin duygudurum değişiklikleri olduğunu bildirmiştir (263, 264, 285). Olguların yaklaşık % 2'sinde sanrı, paranoya, duyarsızlaşma, halüsinasyonlar, agresif davranışlar, anormal düşünme, mani ve şiddetli depresyon gibi daha ciddi nörolojik etkiler bildirmiştir (258, 286). Bazı olgu sunumlarında EFV'in maniyi arttırdığı ve faz 3 denemelerinde öfori ve mani görülme sıklığının % 7 olduğu rapor edilmiştir (264, 287). Uzun süreli EFV kullanımı sırasında, özellikle uyku bozukluğu ve depresyon benzeri semptomların görülme sıklığı artmaktadır (270).

EFV ile depresyonun gelişimi veya tetiklenmesi arasında bir ilişki olduğunu gösteren birçok vaka çalışması vardır. EFV'in doğrudan depresyonla ilişkili olduğu

bulgusuna dair veriler ile ilgili tartışmalar vardır ve bu bir araştırma alanı olmaya devam etmektedir (261, 263, 277, 281, 288). Ne yazık ki, bu konuya değinmeye çalışan araştırmalar ya kesitsel çalışmalardır ya da nispeten kısa bir takip periyodu olan klinik çalışmalar olmuştur. Akut depresyon ve intihar eğilimi vakaları bildirilen çalışmalarda (289, 290) EFV uygulanan hastalarda yüksek depresyon prevalansı olmasına rağmen (277, 291), bazı az sayıda çalışma EFV kullanımı ve depresif bozukluklar arasında bir ilişki bulamamıştır (261, 263, 292). Bu tür çelişkili sonuçların rapor edilmesi EFV'in toksisite araştırmalarında erken anektotik olgu sunumları ve kesitsel kontrollü çalışmaların değerlendirme ölçütlerindeki (örneklem büyüklükleri, hasta kabul yöntemleri ve nöropsikiyatrik komplikasyonların değerlendirilmesi) farklılıklardan kaynaklanıyor olması muhtemeldir. Bundan dolayı, daha büyük hasta populasyonlarında ve nitelikli ölçüm metodlarıyla yapılan çalışmaları dikkate almak daha uygun olacaktır (229).

Retrospektif bir çalışmada, tedavi sırasında EFV'in yerine başka bir antiviral ile değiştirilmesinin depresyonu da içeren çeşitli nöropsikiyatrik durumları çözdüğünü göstermiştir (293). 1897 hastanın incelendiği retrospektif bir çalışmada; EFV ile diğer ilaçlar karşılaştırıldığında depresyon şikayetlerinin görülmesi anlamlı olarak yüksekti (12). Yakın zamanda benzer iki çalışmada, tedavi esnasında EFV'den alternatif bir rejime geçiş yapan hastaların depresyon ve diğer semptomlarının büyük oranda çözüldüğü gösterilmiştir (294, 295). Buna benzer çalışmalar, depresyonun EFV tarafından provoke edilebileceğini desteklemiştir.

2018'de Uganda'da yapılan prospektif çalışmada CYP2B6 genetik polimorfizm olan hastalarda plazma EFV konsantrasyonlarına paralel olarak depresyon belirtilerinin artmış olduğunu göstermektedir (296). CYP2B6 polimorfizmleri ile yüksek EFV plazma konsantrasyonu arasında net bir korelasyon vardır ve bu genetik varyans daha şiddetli CNS toksisitesi ile ilişkilidir (297-299).

EFV'in nöropsikiyatrik yan etkilerinde ana metaboliti olan 8-OH-EFV'in de rol oynayabileceği ile ilgili çalışmalar bildirilmiştir (300, 301). 8-OH-EFV'in KBB'ni geçebildiği ve toksik EFV konsantrasyonlarında periferik konjugasyonunun inhibe

edildiği bilinmektedir. 2015'te yapılan bir çalışmada 8-OH-EFV'in duygu-durum değişiklikleri ile ilgili olduğunu ve 8-OH-EFV konsantrasyonun terapötik ilaç takibi için uygun bir parametre olabileceğini bildirmiştir. Aynı çalışmada 8-OH- EFV'in neden olduğu kısa ve uzun vadeli etkilerdeki katkısının farklı olduğu gösterilmiştir. Kısa vadeli etkilerin EFV konsantrasyonuna bağlı olduğunu, uzun vadeli olumsuz reaksiyonların ise 8-OH-EFV birikimiyle daha fazla ilişkili olacağı iddia edilmiştir (302).

Antidepresanlar (sitalopram, sertralin, mirtazepin, reboksetin, venlafaksin), antipsikotikler (olanzapin, risperidon, amisülpirid, sülfirid), duygudurum düzenleyicileri (valproat, lamotrijin) ve anksiyolitik (oksazepam, lorazepam, temazepam, zopiklon) gibi çeşitli psikotrop ilaçlar EFV'in nöropsikiyatrik yan etkilerini hafifletir (303). Ancak psikotrop ilaçlar ve antiretroviral ilaçlar arasındaki etkileşim önemli bir sorundur. Geniş spektrum aktivitesi ve ART ile minimum ilaç etkileşimi olan uygun bir psikotropik ajanın seçimi, ART ile ilişkili nöropsikiyatrik yan etkilerin önlenmesinde zorlu bir noktadır (304).

3.5.3.1.2. Efvavirenz ve anksiyete bozuklukları

EFV'in neden olduğu MSS etkilerinin çoğu, tek bir dozdan sonra bile erken görünür ve 1 ay içerisinde hafifler. Bununla birlikte, çok sayıda vakada (bazı raporlarda % 40'a kadar), anksiyete veya depresyon gibi etkiler çok daha uzun süreler boyunca devam eder. Bazı vakalarda EFV tedavisinin başlamasından yıllar sonra bile tedavi değişikliği gerektirebilir (284).

Klinik çalışmalarda EFV'in % 16-35 oranında kaygıyı artırdığı bildirilmiştir (264, 271). Yapılan bir çalışmada EFV alan deneklerin % 19'unun şiddetli stres ve anksiyete yaşadığını ortaya koymuştur. Aynı çalışmada, EFV grubundaki hastaların kontrol grubundaki hastalara göre daha fazla ajite olduğu, huzursuzluk yaşadığı ve daha kolay sinirlendikleri gözlenmiştir (271). Başka bir çalışmada ise, uzun süreli EFV takibinde (184 hafta) anksiyete ve kötü rüyaların devam ettiği bulunmuştur (305). Bununla birlikte, Gutierrez-Valencia ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada artan anksiyeteden şikâyetçi olanların yaklaşık dörtte üçünde semptomların hafif olduğu bildirilmiştir. Yine

aynı şekilde EFV kullanan hastalarda panik atakların şiddeti ile ilgili herhangi bir semptom gözlenmediği bildirilmiştir (284). Yapılan bir çalışmada 3 yıl EFV alan hastalarda, nöropsikolojik performansları başlangıçtan itibaren düşmediği halde anormal rüya ve kaygı düzeylerinin daha yüksek bir seviyede olduğu görülmüştür (305). EFV'in tedavisine başlanmasından sonra iki hastada TSSB rekürrensi bildirilmiştir (306). Bunlardan birinde, epizotlar sırasında hasta efavirenz'e devam edebilmiş ve semptomlar 4 hafta içinde düzelmiştir (307).

3.5.4. Efavirenz kaynaklı nöropsikiyatrik ve nörotoksik yan etkilerin muhtemel moleküler mekanizmaları

EFV kaynaklı nöropsikiyatrik ve nörotoksik yan etkilerin nedeni hâlihazırda tam olarak anlaşılabilmiş değildir. EFV'in nörotoksisitesine dair bol miktarda klinik kanıt olmasına rağmen, EFV'in diğer antivirallere göre artmış MSS toksisitesini anlama çabaları sonuçsuz kalmıştır. Ancak yakın zamanda yapılan çalışmalarda, muhtemel mekanizmalar ile ilgili önemli bilgiler elde edilmiştir (208).

EFV, MSS'de birçok reseptör ile etkileşime girer ve stres, motivasyon, duygu-durum, bilişsel fonksiyonların düzenlenmesinde etkili olan bazı nörotransmitterlerin aktivitesini değiştirir. Serotonin 5-HT6 reseptörünün invers agonisti, 5-$HT2_A$ agonisti, 5-$HT2_C$ parsiyel agonisti, 5-$HT3_A$ reseptör blokörü; aynı zamanda M_1 ve M_3 muskarinik reseptörlerin agonist uyarımını bloke edici etkisi olduğu bulunmuştur (20). EFV'in halüsinojenik etkisinin özellikle serotonin 5-$HT2_A$ reseptörü üzerinden gerçekleştirildiği bilinmektedir (21) ancak bu etkinin karmaşık bir reseptör kümesinin aktivasyonu nedeniyle olabileceği de bildirilmiştir (20). *In vivo* çalışmalarda EFV'in nöropsikiyatrik ve davranışsal etkileri ile ilgili bilgiler yetersiz ve kafa karıştırıcıdır. Farelerde EVF ve nevirapinin subkronik dozlarda verildiğinde karşılaştırılan davranış değişikliklerine bakıldığında; EFV'in spontan davranışları etkilemeden anksiyeteyi arttırdığı görülmüş ve her iki NNRTI'nin tanıma belleğini (*recognition memory*) bozduğu fakat caydırıcı belleği (*aversive memory*) ise en fazla EFV'in bozduğu bildirilmiştir (22). Yine başka bir çalışmada, EFV'in kronik dozlarda sıçanlarda uzaysal belleği (*spatial memory*) bozduğu,

strese duyarlılığını arttırdığı ve depresyon benzeri etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Ayrıca EFV'in IL-1β ve TNF-α gibi bazı proinflamatuar sitokinlerin seviyesini arttırdığı ve paroksetin ile depresyon benzeri etkilerinin engellendiği bildirilmiştir. Bu sonuçlardan yola çıkarak proinflamatuar sitokinlerin EFV'in depresyon benzeri etkilerinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (23). 2017'de sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada ise akut EFV uygulamasının anksiyeteye, subkronik EFV uygulamasının ise hem anksiyete hem de depresyona neden olduğu bildirilmiş ve nöropskiyatrik etkilerinin striatal monoaminerjik nörotransmitter miktarının değişmesinden kaynaklandığı bildirilmiştir (24).

EFV alan bazı hastalarda gözlenen depresif semptomların, bu ilacın serotonin üretimi veya reseptör duyarlılığı üzerindeki doğrudan etkisi ile ilişkili olduğu henüz tam olarak bilinmemektedir. Son yıllarda yapılan birçok çalışma, nöropsikiyatrik bozukluklara dolaylı birçok mekanizmanın neden olabileceğini iddia etmektedir. Aynı şekilde, beyindeki inflamatuar değişikliklerin depresyonla ilişkili olduğu bildirilmiştir (308, 309).

EFV'in diğer antivirallere göre artmış MSS toksisitesinin moleküler ve hücresel mekanizmalarını anlama çabaları bugüne kadar sonuçsuz kalmıştır. Nöronal mitokondri, büyüme ve sağkalım için çok önemlidir. Nöronlar ATP üretimi, hücre içi Ca^{2+} homeostazisi, sinaptik fonksiyon ve hücre ölümünün başlatılması için mitokondriye ihtiyaç duyarlar (310). Yapılan çalışmalarda, spesifik mitokondriyal toksisitenin EFV ile ortaya çıkabileceği, ancak incelenen diğer antivirallerde bulunmadığı ileri sürülmüştür (311). EFV'in özellikle hepatik hücrlerde hücresel biyoenerjetiğin ana şalteri olan AMP ile aktive olan protein kinazın (AMPK) aktivasyonuna katkıda bulunan mitokondriyal fonksiyonları tetiklediği iyi bilinmektedir (249). Ayrıca, EFV'nin, AMPK'nin aktivasyonu ile uyumlu bir şekilde glukoz ve lipojenik yolların metabolizmasını değiştirdiğini gösteren kanıtlar vardır (252, 312). Diğer temel bilim çalışmaları, EFV'in beyindeki enerji metabolizmasını engelleyebileceği olasılığını desteklemektedir (13, 19, 313, 314). EFV'in sıçan beynindeki enerji üretiminde önemli rol oynayan kreatinin kinazı (KK) (313) ve sitokrom c'yi (13) inhibe ettiği gösterilmiştir. KK; beyin, iskelet kası ve kalp gibi yüksek

enerji tüketen dokular için çok önemli bir enzimdir. Bu enzim, hücresel adenosin trifosfat (ATP) düzeylerini tamponlama sistemi olarak çalışır. KK fosforil grubunun fosfokreatinden adenosin difosfata geri dönüşümlü transferini katalize eder ve ATP'yi yeniden üretir (315). Streck ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, kronik EFV uygulamasının fare serebral korteks, striatum ve hipokampüsünde kompleks IV aktivitesini inhibe ederek mitokondriyal oksidatif fosforilasyonu bozduğu gösterilmiştir (13). Kompleks IV inhibisyonu mitokondride ROS oluşumunu artırabilir ve bunun sonucunda mitokondriyal genomda, lipoperoksidasyonda ve proteinlerin oksidatif hasarında anormalliklere neden olur (314). Mitokondriyal toksisiteyi öne süren *in vitro* çalışmalar, nöronal hücre hatlarında azalmış hücresel ATP depolarını ve azalan mitokondriyal membran potansiyelini gösteren çalışmaları içermektedir (19). Nöronal ve glial hücre kültürü üzerinde yapılan bir çalışmada, EFV'in hem glial hemde nöronal hücrelerde proliferasyonu, hücresel oksijen kullanımını, mitokondriyal membran potansiyelini azalalttığı ve reaktif oksijen metabolitlerinin üretimini arttırdığı gösterilmiştir. Buna ek olarak, HIV'li hastalarda gelişen nöroinflamasyon koşullarında EFV'in bu etkilerinin daha da yıkıcı olabileceği tahmin edilmektedir (14). Başka bir çalışmada, 30 uM EFV'in sıçan astrositlerinin primer kültürlerinde (24 saat) mitokondri kaynaklı oksidatif stres ile ilgili bir etki ile hücre canlılığını azalttığını göstermiştir (316). Sonuç olarak, EFV'in akut mitokondriyal inhibisyonu içeren bir mekanizma ile nöronların ve glial hücrelerin enerjisel dengesi ve canlılığı üzerinde doğrudan ve spesifik bir etkisinin olması muhtemeldir.

EFV'in nöron ve glial hücreler üzerindeki mitokondriyal etkilerinde NO'nun rolünü değerlendirildiği bir çalışmada, ekzojen NO'in EFV'in etkisini potansiyalize ettiği bildirilmiştir. NO farklı nöroinflamatuar ve nörodejeneratif hastalıkların patogenezi ile ilişkili kritik bir proinflamatuar MSS mediatörüdür. Nöronal hücreler daha çok n(NOS) eksprese ederken, glial hücreler bol miktarda iNOS eksprese ederler (150). Aynı çalışmada, EFV konsantrasyonlarının glial hücrelerde iNOS ekspresyonunu indüklediğini ve bu şekilde üretilen NO'nun EFV'nin inhibe edici mitokondriyal etkilerine katıldığını göstermiştir (15).

EFV'in fare beynindeki mutajenik ve genotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada (317), EFV tedavisi sırasında gözlenen bazı toksik etkilerin oksidatif stresin neden olduğu DNA hasarı nedeniyle olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmada, subkronik EFV uygulamasının beyinde artan DNA hasarına yol açtığı bildirilmiştir. Mitokondriyal fonksiyon bozukluğu ve oksidatif stresin, EFV uygulanan farelerin beyin dokularında gözlenen DNA hasarına katkısı da mümkün olabilir.

EFV'in nöropsikitrik yan etkileri ile ilgili olası diğer mekanizmalardan biri de kannabinoid reseptörleri üzerinden göstermiş oldukları etkilerdir. EFV'in kanser hücreleri üzerindeki sitotoksik etkilerine kannabinoid reseptörlerinin aracılık ettiği r bildirilmiştir. EFV, kannabinoid reseptör tip 1 (CB1) eksprese eden tümör hücrelerinde selektif sitotoksik etki gösterir (18).

EFV'in bir metaboliti olan 8-OH-EFV'in de, nöronal hücre hatlarında enerji metabolizması üzerinde olumsuz etkisinin olduğu gösterilmiştir (300). 8-OH-EFV'in primer insan hepatositlerinde toksisiteyi uyardığı bilinmektedir (318). Benzer şekilde, 8-OH-EFV'nin nöronal kalsiyum homeostazisini düzensizleştiren ve düşük nanomolar aralıktaki dendritik dikenleri tahrip eden güçlü bir nörotoksin olduğuna dair sonuçlar bildirilmektedir. Aynı çalışmada, 8-OH-EFV etkilerinin ana ilaçtan farklı olduğu gösterilmiştir (301). Bu sonuçlar, EFV'in neden olduğu nörotoksisite mekanizmalarında 8-OH-EFV'nin ihmal edilmemesi gerektiğini gösterir (302). EFV'in hızlı metabolizması düşünüldüğünde, EFV'in veya biriken primer metabolitinin bu etkilerden sorumlu olup olmadığı açıklığa kavuşturulmalıdır.

Efavirenz birçok reseptör, taşıyıcı ve iyon kanalı ile benzer konsantrasyonlarda etkileşime girer (21). 2017'de yapılan bir çalışmada, EFV'in $GABA_A$ üzerinde ikili etkilere neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada; düşük EFV konsantrasyonlarında $GABA_A$ reseptör komleksinde allosterik olarak artmış akımlar gözlenirken, yüksek konsantrasyonlarda $GABA_A$ akımı inhibe olmuştur. EFV'in yüksek konsantrasyonlarda inhibe edici modülasyonu, incelenen tüm alt birim konfigürasyonlarında belirgin olduğu görülmüştür. EFV konsantrasyonlarına ve spesifik beyin bölgelerinde eksprese edilen

$GABA_A$ reseptör alt birim bileşenlerine bağlı olarak agonist veya antagonist olarak görev yapabilir. Böylece, EFV'in $GABA_A$ reseptörleri üzerindeki etkisiyle ilgili oluşan yan etkilerinde, depresyon, anksiyete ve sinirlilik gibi farklı etkiler gözlenebilir (319).

EFV'in, *in vitro* olarak nöronlar dahil olmak üzere birçok hücre tipinde otofajiyi tetiklediği gösterilmiştir (320, 321). Nöronal hücre hatlarında ve primer nöronlarda EFV'in mitokondri ve otofaji üzerindeki etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, SH-SY5Y hücrelerinde, EFV'in artan otofaji, mitokondriyal parçalanma ve mitokondriyal depolarizasyona denk gelen ATP üretiminde bir düşüşe neden olduğu görülmüştür. Buna ek olarak, EFV primer nöronlarda ATP üretimini azaltıp otofajiyi tetiklediği ve mitokondriyal morfolojiyi değiştirdiği bildirilmiştir (320). Bu değişiklikler, klinik EFV kullanımında gözlenen merkezi sinir sistemi toksisitesine neden olan mekanizmalarda yer alabilir. Başka bir çalışmada ise, EFV farmakolojik olarak alakalı konsantrasyonlarında, ısı şok proteinlerinin indüklenmesi, ER stresi ve otofajiye bağlı olarak insan endotel hücrelerinde ROS'un oluşmasına yol açtığı gösterilmiştir (322). Bununla birlikte, astrosit hücrelerinde yapılan bir çalışmada ise EFV'in mitofajik mekanizmaları tetiklemediği bulunmuştur (323).

3.5.5. Efavirenzin kötüye kullanımı

HIV enfeksiyonunun oldukça yaygın olduğu ve antiretroviral ilaçların kullanımının yüksek olduğu Afrika ülkelerinde, çocuklar ve ergenler tarafından belirgin halüsinojenik etkiler yaşamak için yasadışı bir şekilde EFV kullanımı görülmektedir (324). Özellikle Güney Afrika gibi bazı ülkelerde insanlar, "Nyaope" veya "Woonga" ismiyle pazarlanan yasadışı bir EFV-kannabinoid karışımını (kokteyl) inhale ederek kullanmaktadırlar (325). EFV kullanımı her ne kadar HIV tedavisine oluşturduğu yan etkiler açısından ilaç uyuncunu olumsuz etkilese de, HIV enfekte olmayan insanlarda kullanımın yaygınlaşması endişe verici boyuttadır. Örneğin Miami/Florida kentinde insanların metamfetamin ve ecstasy gibi uyuşturucu maddelerinin etkisini arttırmak için EFV kullandıkları rapor edilmiştir (326). Yapılan çalışmalar EFV'in psikoaktif bir farmakolojik profile sahip olduğunu göstermektedir. EFV, birçok moleküler hedefle

etkileşime girmesine rağmen, 5-$HT2_A$ reseptörü aracılığıyla liserjik asit dietilamin (LSD) benzeri halüsinojenik etkiler meydana getirmesi psikoaktif etkilerinin altında yatan en önemli mekanizma olarak tahmin edilmektedir (21, 327).

4. GEREÇ ve YÖNTEM

4.1. Kullanılan Kimyasal ve Sarf Malzemeleri

Haloperidol (Norodol-Ali Raif İlaç San. Aş.)

Bikukulin Metiodid (Sigma Aldrich-14343)

Propranolol Hidroklorid (Sigma Aldrich-40543)

Siproheptadin Hidroklorid (Sigma Aldrich-C6022)

Fenoksibenzamin Hidroklorid (Sigma Aldrich-B019)

Aminoguanidin Hidroklorid (Sigma Aldrich-396494)

M100907 (Sigma Aldrich-M3324)

Atropin Sülfat (OSEL)

Dimetil sülfoksit (DMSO) (Fisher Bioreagents)

Trizol RNA Ekstraksiyon Solüsyonu (VWR Amresco-N580)

Kloroform (VWR Amresco-0757)

İsopropranolol (Applichem-A3928)

Etanol (Merck)

Metanol (Merck)

Trikloroasetik asit (Merck)

Tiyobarbitürik asit (Merck)

iScript cDNA Sentez Kiti (Biorad-1708891)

DNase I (Thermo-EN0521)

SYBR Green Supermix (Biorad)

PZR Mikrotüpleri (VWR:732-2913)

Bilyeli Homojenizasyon Tüpleri (Beadbug-D1032-05)

Parafin (İzolab)

Eter (Sigma Aldrich)

4.2. Kullanılan Cihazlar ve Aletler

Açık Alan Test Düzeneği (MAY OP-M)

Aydınlık Karanlık Kutusu Test Düzeneği (MAY LDB-216)

Yükseltilmiş Artı Labirenti Test Düzeneği (MAY EPM01-M)

Zorunlu Yüzme Test Düzeneği (MAY FSTM-M)

Kuyruktan Asma Test Düzeneği (MAY TST-215-3)

Hassas Teraziler (Sartorius BP 1215, Shimadzu-AUX220)

Homojenizatörler (Fisher Scientific-Model FB50, BeadBug-D1030-E)

Soğutmalı Santrifüj Cihazları (Thermo MicroCL 17R)

UV Spektrofotometre (Shimadzu-UV-1205)

Stereo Mikroskop (Zeiss Stereomicroscope-Stemi 508)

Real-time PZR Sistemi (Applied Byosystem-StepOnePlus)

Termal Cycler (Eppendorf, Mastercycler 6331)

Nanodrop (Thermo-2000C)

Otomatik Referans Pipet Seti 0,2-2 ul, 2-20 ul, 20-200 ul, 100-1000 ul (Eppendorf)

Mini Santrifüjler (Sprout- UL STD 61010-1)

Jel Görüntüleme Cihazı (UVP- GelDoc-It2 310)

Vorteks (Genie2- G560E)

-80 °C Derin Dondurucu (Panasonic- MDF-U53865-PE)

-30 °C Buz Dolabı (Sanyo-7FB-6-P405-169000)

Taşınabilir Azot Tankı (Antech Scientific)

Cerrahi alet seti

Ethovision-XT 11 (Noldus, Netherlands) Bilgisayar Programı

SPSS 24.0 Bilgisayar Programı

4.3. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (DÜSAM)'nden temin edilen 35-45 gram ağırlığında 70 adet 10-12 aylık erkek BALB/c türü konvansiyonel fındık faresi kullanıldı. Hayvanların vücut ağırlıkları belirlenerek vücut ağırlık ortalamaları birbirine en yakın olacak şekilde 10 gruba (her kafeste 7 hayvan) ayrıldı ve deneylerin başlangıcından 2 hafta önce DÜSAM-Tıbbi Farmakoloji-Psikofarmakoloji Laboratuvarına getirilerek 22±2 ºC sıcaklık aralığında, 12 saat karanlık-aydınlık siklusa tabi tutulan bir odada, su ve yeme erişimleri serbest şekilde

(*ad libitum*) barındırıldı. Çalışma protokolü Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 30.05.2017 tarih ve DÜHADEK/2017-12 protokol sayısı ile etik onay çerçevesinde gerçekleştirildi. Davranış deneyleri DÜSAM-Tıbbi Farmakoloji Psikofarmakoloji Laboratuvarında, biyokimyasal analizler D.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji ve Tıbbi Biyokimya Anabilim dallarında, moleküler analizler ise DÜSAM Laboratuvarlarında gerçekleştirilerek tamamlandı.

4.4. Deneysel Gruplar ve İlaç Uygulamaları

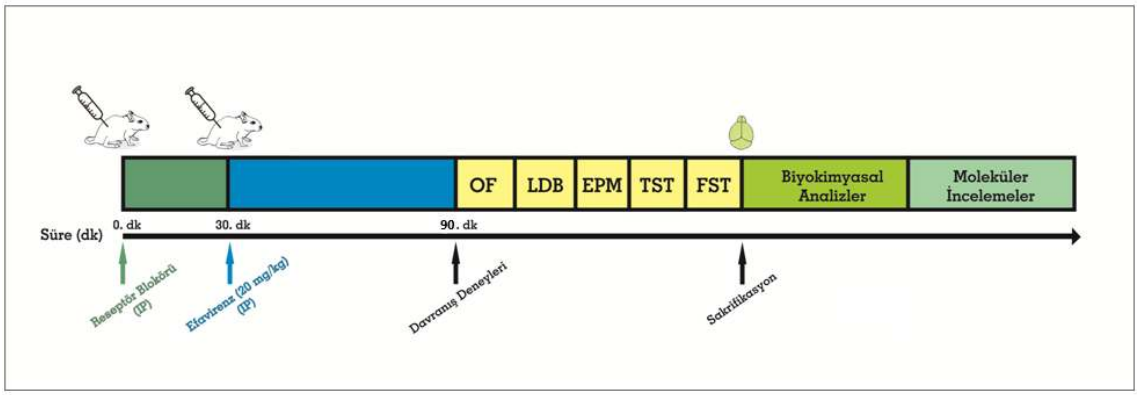
Deney aşamasında, gruplar uygulanacak ilaçlara gore 10 gruba ayrıldı. Deney protokolündeki gruplar Tablo 3'te gösterilmektedir.

Tablo 3: Deney grupları ve uygulanacak dozlar

Gruplar	**Grup Adı**	**Hayvan Sayısı (n)**	**İlk Enjeksiyon**	**İkinci Enjeksiyon**
Grup 1	Kontrol	7	Fizyolojik Serum	DMSO+Fizyolojik Serum (1:6, v:v)
Grup 2	EFV	7	Fizyolojik Serum	Efavirenz (20 mg/kg)
Grup 3	EFV+ATR	7	Atropin (2 mg/kg)	Efavirenz (20 mg/kg)
Grup 4	EFV+BCL	7	Bikukulin (2 mg/kg)	Efavirenz (20 mg/kg)
Grup 5	EFV+M10907	7	M10907 (0,1 mg/kg)	Efavirenz (20 mg/kg)
Grup 6	EFV+SHTN	7	Siproheptadin (3 mg/kg)	Efavirenz (20 mg/kg)
Grup 7	EFV+HPDL	7	Haloperidol (10 ug/kg)	Efavirenz (20 mg/kg)
Grup 8	EFV+FBZM	7	Fenoksibenzamin (2 mg/kg)	Efavirenz (20 mg/kg)
Grup 9	EFV+PRPL	7	Propranolol (10 mg/kg)	Efavirenz (20 mg/kg)
Grup 10	EFV+AMGN	7	Aminoguanidin (100 mg/kg)	Efavirenz (20 mg/kg)

Farelere verilecek EFV dozu literatürde kemirgenlere uygulanan dozlar dikkate alınarak belirlenmiştir (328). Her bir gruptaki farelere EFV uygulanmasından 30 dk öncesinde **atropin** (nonselektif muskarinik asetilkolin reseptör antagonisti) (Grup 3), **bikukulin** ($GABA_A$ reseptör antagonisti) (Grup 4), **M100907** (potent 5-$HT2_A$ antagonisti) (Grup 5), **siproheptadin** (5-HT2 nonselektif serotonerjik reseptör antagonisti) (Grup 6), **haloperidol** (D2, D3, D4 dopamin reseptör antagonisti) (Grup 7), **fenoksibenzamin**

(nonselektif α-adrenerjik reseptör antagonisti) (Grup 8), **propranolol** (nonselektif β-adrenerjik reseptör antagonisti) (Grup 9), **aminoguanidin** (selektif iNOS ihibitörü) (Grup 10) gibi reseptör antagonistleri uygulanarak belirli bazı sinyal iletim mekanizmaları inhibe edildi. EFV uygulamasından 60 dk. sonra ise davranış deneylerine geçildi. Bu deney protokolü ve uygulanan reseptör antagonistlerinin etkili dozları, dozların etkili olduğu önceki çalışmalara dayanılarak oluşturuldu (329-334) ve yeniden dizayn edildi. Deney protokolünde uygulanan reseptör antagonistlerinin dozları davranış deneylerini etkilemeyecek şekilde seçilmiştir. Deney dizaynı Şekil 3'te gösterilmektedir.



Şekil 3: Deney dizaynı

Deney protokolüne göre herbir gruptaki hayvanlar (n=7) aynı gün içinde deneye alınarak deney prosedürleri gerçekleştirildi. EFV hayvan başına 20 mg/kg (328) dozunda olacak şekilde 0,5 ml DMSO'da çözdürüldü. Daha sonra üzerine 3 ml 0,9 %'luk serum fizyolojik eklenerek homojen bir solüsyon hazırlandı. EFV solüsyonu herbir grup için deney öncesinde taze olarak hazırlandı. Reseptör antagonisti ilaçlar ise uygulama öncesinde 0,9 %'luk serum fizyolojik içerisinde çözdürülerek hazırlandı. Kontrol grubunda ise hiçbir ilaç uygulanmadan sadece 0,9%'luk serum fizyolojik ve DMSO'lu serum fizyolojik uygulandı. Böylelikle deney hayvanlarının maruz kalacağı enjeksiyon stresi dengelenerek tüm çalışma grupları açısından deney protokolü optimize edilmiş oldu.

Deneyler hergün aynı saatte başlayarak (08:00) gerçekleştirildi. Bütün ilaç uygulamaları intraperitoneal (ip.) yoldan gerçekleştirildi. EFV uygulamasında 30 dk. önce

reseptör antagonisti ilaçlar uygulandı. İlaç enjeksiyonlarının bitmesinde 60 dk. sonra ise davranış deneylerine geçildi. Deney gruplarında ilaç uygulamaları şu şekilde yapılmıştır:

Kontrol grubu (Grup 1): Kontrol grubundaki hayvanlara ilk enjeksiyonda intraperitoneal (ip.) yoldan serum fizyolojik uygulandı. 30 dk. sonra DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) içinde çözdürülerek ip. olarak uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine geçildi.

EFV grubu (Grup 2): EFV grubundaki hayvanlara ilk enjeksiyonda yine serum fizyolojik ip. yoldan uygulandı. 30 dk. sonra EFV (20 mg/kg) DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) solüsyonunda çözdürülerek ip. yoldan uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine geçildi.

EFV+ATR grubu (Grup 3): Bu gruptaki hayvanlara ilk enjeksiyonda serum fizyolojik içinde sulandırılmış Atropin Sülfat (2 mg/kg) uygulandı. 30 dk. sonra EFV (20 mg/kg) DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine başlandı.

EFV+BCL grubu (Grup 4): Bu gruptaki hayvanlara ilk enjeksiyonda serum fizyolojik içinde sulandırılmış Bikukulin Metiodid (2 mg/kg) uygulandı. 30 dk. sonra EFV (20 mg/kg) DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine başlandı.

EFV+M10907 grubu (Grup 5): Bu gruptaki hayvanlara ilk enjeksiyonda serum fizyolojik içinde sulandırılmış M10907 (0,1 mg/kg) uygulandı. 30 dk. sonra EFV (20 mg/kg) DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine başlandı.

EFV+SHTN grubu (Grup 6): Bu gruptaki hayvanlara ilk enjeksiyonda serum fizyolojik içinde sulandırılmış Siproheptadin Hidroklorid (3 mg/kg) uygulandı. 30 dk. sonra EFV (20 mg/kg) DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine başlandı.

EFV+HPDL grubu (Grup 7): Bu gruptaki hayvanlara ilk enjeksiyonda serum fizyolojik içinde sulandırılmış Haloperidol (10 ug/kg) uygulandı. 30 dk. sonra EFV (20 mg/kg) DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine başlandı.

EFV+FBZM grubu (Grup 8): Bu gruptaki hayvanlara ilk enjeksiyonda serum fizyolojik içinde sulandırılmış Fenoksibenzamin Hidroklorid (2 mg/kg) uygulandı. 30 dk. sonra EFV (20 mg/kg) DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine başlandı.

EFV+PRPL grubu (Grup 9): Bu gruptaki hayvanlara ilk enjeksiyonda serum fizyolojik içinde sulandırılmış Propranolol Hidroklorid (10 mg/kg) uygulandı. 30 dk. sonra EFV (20 mg/kg) DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine başlandı.

EFV+AMGN grubu (Grup 10): Bu gruptaki hayvanlara ilk enjeksiyonda serum fizyolojik içinde sulandırılmış Aminoguanidin Hidroklorid (100 mg/kg) uygulandı. 30 dk. sonra EFV (20 mg/kg) DMSO/serum fizyolojik (1/6, v/v) solüsyonunda çözdürülerek uygulandı. 60 dk. sonra davranış deneylerine başlandı.

4.5. Davranış Deneyleri

4.5.1. Açık alan testi (Open Field, OF)

Açık alan testi (OF) farelerde hareketlilik (lokomotor aktivite), anksiyete ve keşif davranışları için kullanılan bir testtir. Calvin Hall tarafından tasarlanan bu test, farelerin serbestçe keşfedebilecekleri kare bir kutudan oluşur (335). Test, farelerin yeni, aydınlık, açık ortamlara karşı hareket etme isteksizliğine dayanmaktadır. Fareler doğal olarak duvarlara yakın kalma eğilimindedirler ve açık, merkezi alanlardan kaçınırlar (336). Kemirgenlerin bu özelliğinden yararlanan araştırmacılar ilaçların lokomotor aktiviteye olan etkilerini ve anksiyojenik veya anksiyolitik etkilerini incelemek amacıyla bu testi yaygın olarak kullanmışlardır.

Çalışmamızda kullandığımız açık alan testi siyah renkte pleksiglas malzemeden yapılmış kare şeklinde (42 cm x 42 cm x 30 cm) bir test düzeneğiydi. Her bir fare, düzeneğin ortasına bırakılarak spontan aktivitesi 5 dakika boyunca videoya kaydedildi. Kat edilen toplam mesafe, merkezi alanda harcanan zaman ve merkezi alana giriş-çıkış ile ilgili veriler EthoVision XT 11 sistemi ile incelenerek değerlendirildi. Değerlendirme sırasında hayvanların toplam kat ettikleri mesafe lokomotor aktiviteyi; merkezi alanda harcadıkları zaman ve merkezi alana giriş-çıkışları ise anksiyete durumu hakkında bilgi verdi.

4.5.2. Aydınlık/karanlık kutusu testi (Light/Dark Box, LDB)

Aydınlık/karanlık kutusu testi, farelerin ışık için doğuştan gelen isteksizliğine ve yeni ortamlara cevap olarak keşif davranışları gösterme eğilimlerine dayanır (337). Karanlık bölümdeki süre yüzdesi, aydınlığa karşı algılanan isteksizlikle doğrudan ilgilidir. Bu test ile hayvanlar, aydınlık alanlardan kaçınma eğilimi ile yeni bir çevreyi keşfetme eğilimi arasında bir çelişkiye zorlanırlar. Anksiyetesi düşük fareler çevreyi daha iyi keşfetme ve daha fazla bölmeler arası geçiş yapma eğilimindedirler (338).

Çalışmamızda kullandığımız aydınlık/karanlık kutusu, iki eşit kompartman ve arada geçişin sağlanması için bir kapı (10 cm x 10 cm) olacak şekilde ikiye ayrılmış kare şeklinde (40 cm x 40 cm x 35 cm) bir test düzeneğidir. Aydınlık bölmesi şeffaf, karanlık bölmesi siyah renkte pleksiglas malzemeden yapılmıştır. Her bir fare, kapıyı görmeyecek şekilde aydınlık bölmenin ortasına bırakılarak spontan aktivitesi 5 dakika boyunca videoya kaydedildi. Test sonunda bölmeler %70 etanol ile temizlendi. Aydınlık ve karanlık bölmelerde harcanan zaman ve karanlıktan aydınlığa geçişlerin sayısı ile ilgili veriler (339) EthoVision XT 11 sistemi ile incelenerek değerlendirildi.

4.5.3. Yükseltilmiş artı labirenti testi (Elevated Plus Maze, EPM)

İlk olarak Pellow ve arkadaşları tarafından geliştirilen yükseltilmiş artı labirent (EPM) test düzeneği, farelerde anksiyete üzerine etkilerini değerlendirmek için basit ve güvenilir bir yöntemdir. Labirentin yükseltilmesi ile açık kollarda sağlanan bilinmezlik,

açık alan tepkisi ve yükseklik unsurları ile birleştirilmiş olur. Açık ve kapalı kollarda harcanan toplam süre, kaygı benzeri davranışların bir ölçüsü olarak yorumlanır (340).

Çalışmamız sırasında gerçekleştirilen EPM testinde labirent, artı işareti şeklinde dikey kesişen iki açık ve iki kapalı koldan oluşmakta ve labirent yerden yaklaşık 50 cm yüksekliktedir. Karşılıklı konumlanan kapalı kollar yükseltilmiş duvarlar ile çevrelenmiştir. Kollar 5 cm genişliğinde ve 25 cm uzunluğundadır. Kapalı kollardaki duvarlar ise 16 cm yüksekliğindedir. Merkez alanı, kenarları 5 cm olan bir karedir.

Fareler, aynı kapalı kola bakan labirentin merkez alanına yerleştirildi ve spontan davranışlar labirentin üzerine yerleştirilmiş bir video kamera sistemi ile 5 dk. boyunca kaydedildi. Her hayvandan sonra labirent % 70 etanol ile temizlenerek testlere devam edildi. Hayvanların açık kola girişlerinin yüzdeleri ve açık-kapalı kollarda harcanan süre yüzdeleri hesaplandı. Anksiyetesi yüksek hayvanlar, yükseltilmiş artı labirentin kapalı kollarında kalma eğilimindedir (338, 340).

4.5.4. Kuyruktan asma testi (Tail Suspension Test, TST)

Kuyruktan asma testi (TST), hayvanların hafif strese maruz bırakılmasını içeren bir model olarak yaygın bir biçimde kullanılmaktadır ve kaçınılmaz veya kontrol edilemez strese kısa süreli maruz kalma esnasında hayvanın depresyon profilini ve ilaç yanıtını güvenilir bir şekilde saptamaktadır (341). Steru ve ark. tarafından geliştirilen bu test, hayvanın aktif olarak stresli bir uyarandan kaçmaya çalışacağı varsayımına dayanmaktadır. Fareler başlangıçta yukarı doğru çıkmak veya katı bir yüzeye tırmanmak için mücadele eder. Hayvan mücadeleyi bıraktığında ve hareketsiz kaldığında vazgeçtiği kabul edilir. Daha uzun hareketsiz kalma süreleri depresyon benzeri bir durumun özelliğidir (342). TST, FST ile ortak bir teorik temeli ve davranış ölçütünü paylaşır. FST'ye göre en önemli avantajı yüzme testindeki performansı etkileyebilecek hipotermi veya motor fonksiyon bozukluğu problemlerine sahip olmamasıdır (343).

Çalışmamızda, fareler havada sarkacak ve aşağı bakacak şekilde yapışkan bantlar ile kuyruklarından asılarak kuyruk süspansiyonuna tabi tutuldu. Kuyruklarından asılan

fare ile zemin arasında yaklaşık 30 cm mesafe vardı. Deneyler, sadece düzeneğin aydınlatıldığı bir ortamda gerçekleştirildi. Test sırasında farelerin 6 dk. boyunca spontan hareketleri izlenerek video sistemi ile kaydedildi. 6 dakikalık sürenin son 4 dakikasındaki davranışlar EthoVision XT 11 sistemi ile incelenerek değerlendirildi. Değerlendirme sırasında hayvanların hareketli (mobil) ve hareketsiz (immobil) kaldıkları süre depresyon durumu hakkında bilgi verdi.

4.5.5. Zorunlu yüzme testi (Forced Swimming Test, FST)

Zorunlu yüzme testi (FST), deneysel farmakolojik çalışmalarda mevcut ve yeni moleküllerin antidepresan potansiyelini araştırmak için en yaygın kullanılan hayvan modelidir (344). Porsolt ve ark. tarafından geliştirilen bu test, hayvanın içinden çıkamadığı su dolu bir silindirde hareketsiz bir duruş geliştirdiği gözlemine dayanmaktadır (345). Başlangıçta hayvan kaçmaya çalışır. Kurtulamayacağını anladığında, su seviyesinin üzerinde kalması için gerekli pasif bir davranış olan hareketsizlik duruşunu benimser. Bu testte, depresyon seviyeleri düşük olan hayvanlar daha uzun süreli kaçış yönelimli davranışlar sergilerler.

Çalışmamızda kullandığımız FST düzeneği 25 cm yükseklikte 10 cm çapında silindir bir su tankıdır. Çalışmaya başlamadan önce, düzeneğe hayvanların kuyruk ve ayaklarının zemine temas edemeyeceği miktarda su (25 ˚C) dolduruldu. Daha sonra her bir hayvan kafası suya batmayacak şekilde tankın içine bırakıldı. Hayvanın spontan davranışları 6 dk boyunca izlenerek videoya kaydedildi. 6 dakikalık sürenin son 4 dakikasındaki davranışlar EthoVision XT 11 sistemi ile incelenerek değerlendirildi. Değerlendirme sırasında hayvanların hareketli (mobil) ve hareketsiz (immobil) kaldıkları süre depresyon durumu hakkında bilgi verdi.

4.6. Cerrahi İşlemler ve Biyolojik Materyallerin Çıkarılması

Her bir gruptaki tüm hayvanlar davranış deneylerinin hemen ardından anestezi altında servikal dekapitasyon yöntemiyle ötenazi edildi. Daha sonra, farelerin beyin dokuları kafatasından dikkatlice çıkarıldı. Farelerin pFK dokuları (n=7) soğuk plaka

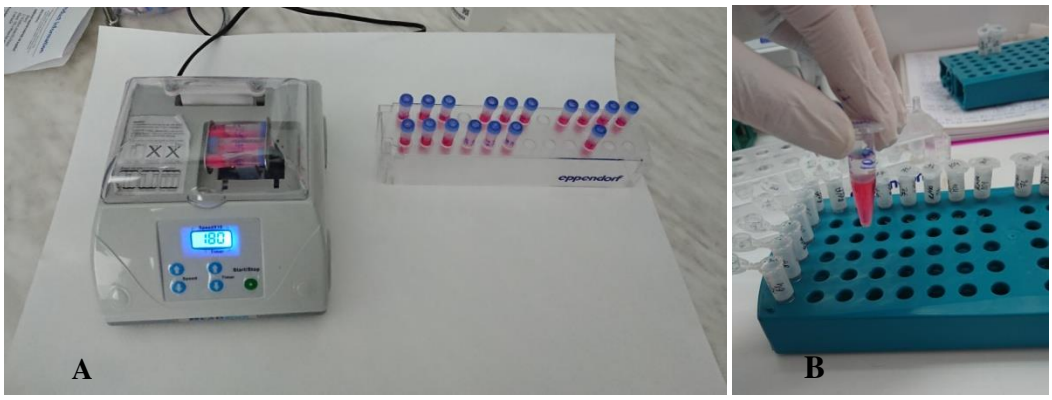
üzerinde disekte edildi. pFK, biyokimyasal ve moleküler analizler için -80 °C'de muhafaza edildi.

4.7. Gen Ekspresyon Düzeylerinin Belirlenmesi

4.7.1. Total RNA izolasyonu

Beyin pFK dokularından RNA izolasyonu, RiboZol™ RNA Extraction Reagent (VWR-Amresco) solüsyonu kullanılarak üretici firmanın önerdiği protokole göre yapıldı. Çalışma steril bir ortamda gerçekleştirildi ve çalışmaya başlanmadan önce bazı ön hazırlıklar yapıldı. Her bir gruptan 4 hayvanın frontal korteks dokularında total RNA izolasyonu gerçekleştirildi. Total RNA izolasyonu şu şekilde gerçekleştirildi:

1. Homojenizasyonda kullanılacak olan bilyeli tüpler (Beadbug) numaralandırılarak her bir tüpe 1 ml trizol solüsyonu eklendi.
2. -80˚C'de kryotüplerde muhafaza edilen pFK dokularından yaklaşık 50 mg doku örneği alınarak trizol solüsyonu içeren tüplere aktarıldı.
3. Trizol solüsyonunda yüzdürülen dokular homojenizasyon cihazına (BeadBug-D1030-E) yerleştirilerek bilyelerin hareketi sayesinde dokuların trizolde homojen dağılımı sağlandı (Resim 1A) ve homojenizasyon tüplerinde parçalanan dokular ependorf tüplerine aktarıldı.
4. Üzerine 200 ul kloroform eklenerek 5 dk. vortekslendi.
5. 3 dk. oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra +4˚C soğutmalı santifrüjde 12000 x *g* hızında 15 dk. santifrüj edildi.
6. Santifrüjün ardından, örnek 3 faza ayrıldı: altta fenol-kloroform fazı (kırmızı), ortada DNA ve proteinlerin olduğu ince bir tabaka (beyaz) ve en üstte RNA nın bulunduğu renksiz berrak sulu bir faz (Resim 1B).



Resim 1: (A) Dokuların trizol solüsyonunda homojenizasyonu ve (B) total RNA'nın elde edilmesi.

7. Tüpleri sarsmadan üstte kalan sulu fazdan DNA ve proteinlerin olduğu orta katmana müdahale etmeyecek bir şekilde 450 ul supernatant alarak RNase free tüplere aktarıldı.

8. Aldığımız süpernatantın üzerine 0,5 ml isopropanol ekleyerek tüpleri 20-25 kez terz yüz edip RNA'ya zarar vermeden homojen dağılım sağlandı.

9. 10 dk. oda sıcaklığında inkübe edildikten sonra +4˚C soğutmalı santifrüjde 12000 x *g* hızında 10 dk. santifrüj edildi.

10. Santifrüj sonrasında RNA dibe çökerek gözle görülebilir beyaz bir pelet halinde topaklandı. Üstteki supernatant döküldü ve elde ettiğimiz RNA'nın alkolden uzaklaştırılması için yıkamalara geçildi.

11. Pelet üzerine 1 mL etanol (%75, -20°C) eklenerek vortekslendikten sonra 7500 x *g* hızında 5 dk. santifrüj (+4˚C) edildi. Supernatant boşaltılarak aynı işlem 2 kez tekrar edildi (x2).

12. Daha sonra pelet üzerine 1 mL etanol (%95, -20°C) eklenerek vortekslendikten sonra 7500 x *g* hızında 5 dk. santifrüj (+4˚C) edildi.

13. Süpernatant döküldükten sonra elde ettiğimiz RNA'ları etanolden uzaklaştırmak için tüpler kurutuldu.

14. Son olarak pelet üzerine 80 µl RNase free su eklenerek RNA miktar ölçümlerine geçildi.

15. Elde edilen RNA'lar nanodrop cihazı (Thermo-2000C) ile kantitatif ölçüldü. Ölçüm yaparken özellikle RNA saflığını gösteren A260/A280 ve A260/A230 oranlarına dikkat

edildi. A260/A280 için 2±0,1 ve A260/A230 için 2±0,3 aralığındaki değerler c-DNA için kabul edilebilir değerler olarak belirlendi.

4.7.2. Primerlerin hazırlanışı

Primerler, NCBI gen veritabanına göre tasarlandı. Primerler, önceki ekzonun sonuna ve bir sonrakinin başlangıcına bağlanan en az bir intronik sekans içerecek şekilde tasarlanmıştır. Böylece, primerlerin potansiyel olarak kontamine edici, DNA'da bulunabilen intronik dizilere bağlanma olasılığı azaltıldı. Seçilen ileri (forward) ve geri (reverse) primerler tablolarda listelenmiştir (Tablo 4, Tablo 5). Primerler BM Laboratuvar Sistemleri (Ankara, Türkiye) tarafından sentezlendi. Liyofilize haldeki fare primerlerinden 100 pMol/µl konsantrasyonunda bir ana stok elde etmek için ilave edilmesi gereken nükleaz içermeyen dH_20 miktarı, üretici tarafından sağlanan bilgi formundaki miktara göre belirlenip eklendi. Daha sonra her bir genin ileri ve geri primerlerinden 20 µl alınıp başka bir tüpte karıştırılarak PZR aşamasına kadar -20˚C'de muhafaza edildi.

Tablo 4: Fare housekeeping (referans) genler

Gen	Primer Türü	Primer Sekans Dizilimi
GAPDH	forward	TCCATGACAACTTTGGCATTG
	reverse	CAGTCTTCTGGGTGGCAGTGA
β-aktin	forward	CCATCATGAAGTGTGACGTGG
	reverse	GTCCGCCTAGAAGCATTTGCG

Tablo 5: Fare hedef genleri

Gen	Primer Türü	Primer Sekans Dizilimi
BDNF	forward	TCATACTTCGGTTGCATGAAGG
	reverse	ACACCTGGGTAGGCCAAGTT
TFAM	forward	TGGAGGGAGCTACCAGAAGCAG
	reverse	GCCTCCTTCTCCATACCCATCAGC
PGC-1α	forward	AGACAAATGTGCTTCCAAAAAGAA
	reverse	GAAGAGATAAAGTTGTTGGTTTGGC
UCP-2	forward	AATGTTGCCCGTAATGCC
	reverse	CCCAAGCGGAGAAAGGAA
IL-1β	forward	ACCTGTCCTGTGTAATGAAAGACG
	reverse	TGGGTATTGCTTGGGATCCA
IL-6	forward	GAGAAAAGAGTTGTGCAATGGC
	reverse	CCAGTTTGGTAGCATCCATCAT
VEGF-A	forward	GAGACCCTGGTGGACATC
	reverse	TTTCTTTGGTCTGCATTC
TNF-α	forward	TGAACTTCGGGGTGATCG
	reverse	TCCAGCTGCTCCTCCACT

4.7.3. DNA digesyon

DNA digesyon aşamasında genomik DNA kalıntılarını parçalamak için DNase I (Thermo Fisher, ABD) enzimi kullanıldı. DNase I enzimi, tek ve çift sarmallı DNA'yı parçalayan bir endonükleazdır. Nanodrop'ta konsantrasyonları ölçülen RNA'ları 1 µg konsantrasyonunda olacak hacimde alınarak DNA digesyon için hazırlanan hızlı reaksiyon tüplerine kondu. Üretici firmanın protokolüne göre 1µg total RNA üzerine 1 µl DNase Reaksiyon Tamponu (10x, $MgCl_2$ içeren) ve 1 µl DNase enzim (RNase-free) konuldu. Daha sonra tüpler hacim 10 µl olacak şekilde ultra saf su ile tamamlandı. Tüpler sırasıyla santrifüj, vorteks, santrifüj edildi. Daha sonra 37°C'de 30 dakika qPZR'da (Eppendorf, ABD) bekletildi. DNase enzimini durdurmak için 1 µl 50 mM'lık EDTA eklenerek 65°C'de 10 dk. bekletildi. Daha sonra cDNA (komplementer DNA) yapımına geçildi.

4.7.4. Komplementer DNA (cDNA) sentezi

Total RNA'dan cDNA sentezi RevertAid First Strand cDNA sentez kiti (Thermo Fisher, ABD) kullanılarak gerçekleştirildi. cDNA sentezi, üretici tarafından sağlanan protokole göre yapıldı. cDNA sentezi reaksiyonunda kullanılan reaktif hacimleri tabloda gösterilmektedir (Tablo 6). Her bir örnek için; 1 µg/10 µl total RNA üzerine 1 µl random

hexamer ve 1 µl oligo(dT) eklendi. Daha sonra 5x reaksiyon tamponundan 4 µl, RiboLock RNase inhibitöründen 1 µl, RevertAid reverz transkriptaz enziminden 1 µl, 10 µM dNTP mix'ten 2 µl eklendi. Reaktiflerin eklendiği hızlı reaksiyon tüpleri santifrüj, vorteks ve tekrar santifrüjlendi. PZR'da 25°C (5 dk.)/42°C (60 dk.)/70°C (5 dk.) inkübe edilerek cDNA sentezi gerçekleştirildi.

Tablo 6: cDNA sentezi için gerekli reaktifler ve bunlara karşılık gelen hacimleri

Reaktif	**Örnek Başına Hacim**
Template RNA	10 µl
Oligo(dT)18 Primer, 100 µM	1 µl
Random Hexamer Primer, 100 µM	1 µl
5x Reaksiyon Tamponu	4 µl
RiboLock RNase İnhibitörü (20 U/µl)	1 µl
10 mM dNTP Mix	2 µl
RevertAid Reverz Transkriptaz Enzimi (200 U/µl)	1 µl
Toplam hacim	**20 µl**

4.7.5. Kantitatif Gerçek Zamanlı (Real-time) Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PZR)

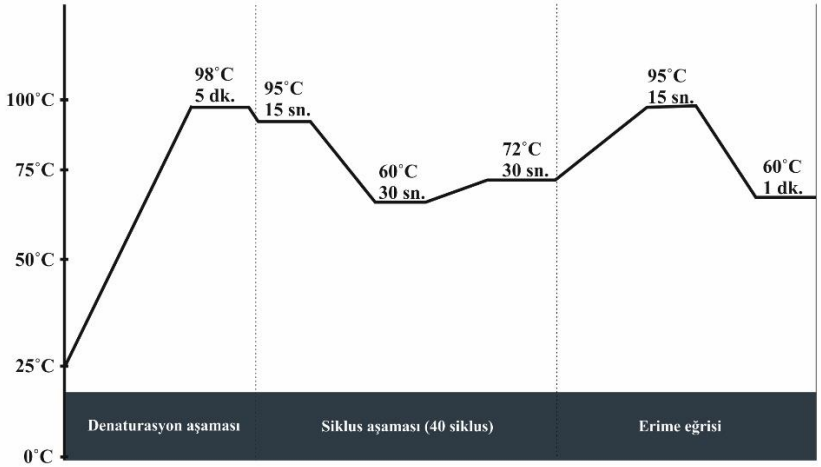
Kantitatif gerçek zamanlı (Real-time) polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PZR) için çift iplikçi DNA'ya bağlanabilen SsoAdvanced SYBR Green Supermix (BioRad, ABD) SybrGreen florosan boya kullanıldı ve reaksiyonlar üreticinin talimatına göre gerçekleştirildi. Reaksiyonlar PZR hızlı reaksiyon tüplerinde gerçekleştirildi. Her bir örnek için PZR tüpüne konulan reaktifler ve hacimleri Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7: qRT-PZR deneyleri için reaktifler ve karşılık gelen hacimleri.

Reaktif	**Hacim**
Template cDNA	1 µl
SybrGreen	5 µl
Primer (ileri+geri)	0,2 µl
dH_2O	3,8 µl
Toplam Hacim	**10 µl**

Reaksiyonların her bir gen için spesifik olduğundan emin olmak adına erime eğrileri (melting curve) elde edildi ve her reaksiyon için analiz edildi. Tüm reaksiyonlar

ikili (duplikate) olarak gerçekleştirildi. Aynı zamanda, sonuçları değiştirebilecek primerlerin amplifikasyonunun veya primer-dimer oluşumunun olmadığından emin olmak için referans genlerden iki kontrol gen (GAPDH ve β-aktin) kullanılmıştır. Fare pFK dokularında BDNF (brain derived neurotrophic factor), VEGF-A (vascular endothelial growth factor A), PGC-1α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha), TFAM (mitochondrial transcription factor A), UCP-2 (mitochondrial uncoupling protein 2), IL-1β (interleukin 1 beta), IL-6 (interleukin 6), TNF-α (tumor necrosis factor alpha) genlerinin rölatif mRNA ekspresyonları Step One Plus RT-PCR System Technology (Applied Biosystem, ABD) cihazı ile ölçülmüştür. Optimizasyonu sağlanmış qRT-PZR reaksiyon koşulları şekil 4'de verilmiştir. qRT-PZR mRNA ekspresyon değerlerinin normalizasyonunda $2^{-\Delta\Delta Ct}$ metodu kullanılmıştır (346).



Şekil 4: qRT-PZR deneyleri için reaksiyon koşulları

4.8. Biyokimyasal İncelemeler

4.8.1. Malondialdehit Düzeyleri Tayini

Serbest radikaller, bir veya daha fazla eşleştirilmemiş elektrona sahip olan bileşikler veya atomlardır. Serbest radikaller proteinler, nükleik asitler ve lipitler gibi bazı vücut makromoleküllerini okside eder. Proteinlerin, nükleik asitlerin ve lipitlerin serbest radikal oksidasyonu her biri karbonil bileşikleri, malondialdehit (MDA) ve deoksiguanozin P üretir (347). Lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olan MDA

düzeyleri, daha önce Coladove arkadaşları tarafından geliştirdikleri tiyobarbitürik asit (TBA) analiz yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak ölçülmüştür (348). Bu yöntemle, lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA, bir dokudaki genel peroksidasyonun güvenilir bir değerlendirmesini sağlar.

Farelerin beyinlerinde dissekte edilen pFK dokularının ağırlıkları hassas terazi (Sartorius BP 1215) vasıtasıyla tartıldı. Dokular, 0,5 ml %10 ve 4,5 ml % 5 (ağırlık/hacim, a/h) trikloroasetik asit (TCA) solüsyonuna daldırılarak homojenizasyon (Fisher Scientific Model FB50) aşamasına geçildi. Doku homojenatları 4500 rpm'de 15 dk. santrifüj edildi (Thermo MicroCL 17R). Elde edilen süpernatantlar ayrı tüplere aktarıldı ve her bir tüpe 1 ml % 0,67 TBA (a/h) eklendi. 100˚C'de 10 dk. kaynatılan çözelti oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Numunelerin her birinde oluşan MDA miktarı, karışımın absorbans değerleri spektrofotometre (UV-1205 Shimadzu) cihazı ile 532 nm'de ölçülerek oluşturuldu. Ortaya çıkan veriler, seyreltme faktörleri hesaba katılıp, molar ekstinksiyon katsayısı ile nmol/gram doku şeklinde hesaplanarak değerlendirildi (349).

4.9. İstatistiksel Analiz

Çalışmamızda elde edilen veriler SPSS programı kullanılarak gerçekleştirildi. Grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans (one-way ANOVA) analizi kullanıldı. Gruplar arası anlamlı farklılık halinde, post hoc Tukey testi ile bu farklılığın hangi gruplar arasında olduğu belirlendi. Grup ortalamaları Ortalama±Standart Hata (*Standart Error of Mean*, SEM) olarak gösterildi. P değerinin 0,05'ten düşük olduğu durumlarda gruplar arası farklılık anlamlı olarak kabul edildi. Belirlenen farklılıklar tablo ve grafikler üzerinde farklı harflerle gösterildi.

5. BULGULAR

5.1. Davranış Deneyleri

5.1.1. Açık alan testi (OF) bulguları

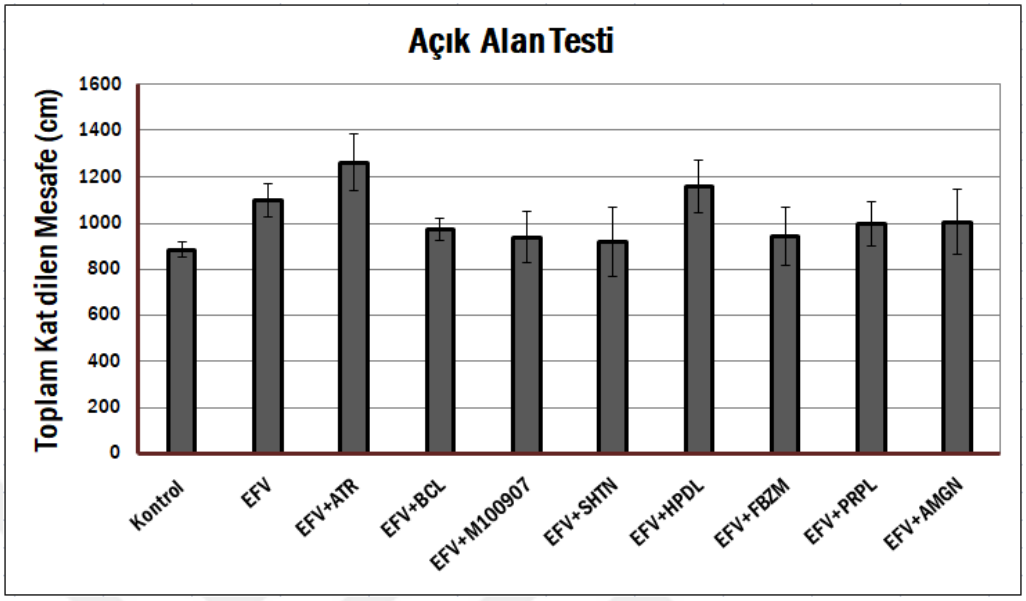
İlaç uygulamalarından 1 saat sonra gerçekleştirilen açık alan testinde grupların toplam katettikleri mesafe, merkezde geçirilen süre ve merkeze giriş süreleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 8, Tablo 9, Tablo 10, Şekil 5, Şekil 6, Şekil 7).

Tablo 8: Açık alan testi sonuçları, toplam katedilen mesafe

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	Katedilen Mesafe (cm) (ortlama±SEM)
Kontrol	886,18±35,22
EFV	1100,5±74,22
EFV+ATR	1263,8±121,40
EFV+BCL	975,47±48,71
EFV+M100907	939,56±112,27
EFV+SHTN	918,73±151,37
EFV+HPDL	1160±113,37
EFV+FBZM	944,07±127,68
EFV+PRPL	997,1±93,65
EFV+AMGN	1005,5±140,32

$p<0,05$ Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 5: Açık Alan Testi bulguları, tüm grupların toplam katedilen mesafelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması. p<0,05 EFV ve Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hocTukey testi kullanıldı.

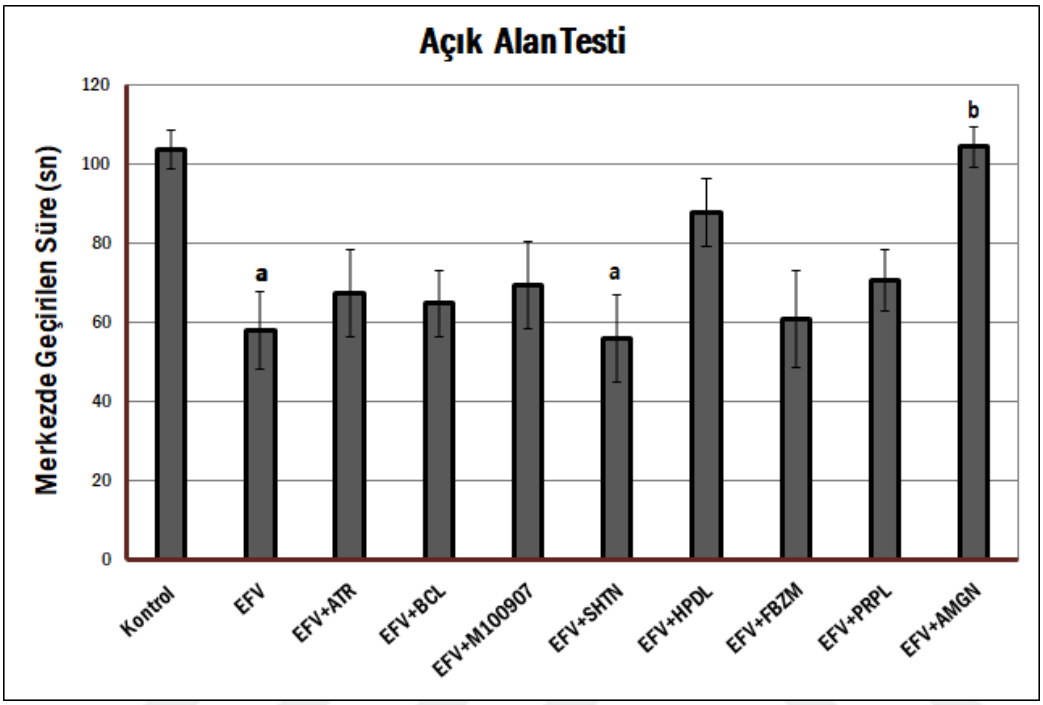
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, toplam katedilen mesafede bütün gruplarında yükselme olduğu görülmüştür. Fakat gruplar arasında kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p<0,05). Aynı şekilde EFV grubu ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır (p<0,05, Şekil 5).

Tablo 9: Açık alan testi sonuçları, merkezde geçirilen süre

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	Merkezde Geçirilen Süre (sn) (ortlama±SEM)
Kontrol	103,99±4,90
EFV	**58,24±9,73[a]**
EFV+ATR	67,62±11,13
EFV+BCL	64,97±8,48
EFV+M100907	69,42±10,98
EFV+SHTN	**56,01±11,04[a]**
EFV+HPDL	87,86±8,64
EFV+FBZM	61,12±12,34
EFV+PRPL	70,84±7,62
EFV+AMGN	**104,44±4,91[b]**

[a]p<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b]p<0,05 EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyansanalizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 6: Açık alan testi bulguları, tüm gruplarda merkezde geçirilen sürelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması. [a]p<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b]p<0,05 EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı.

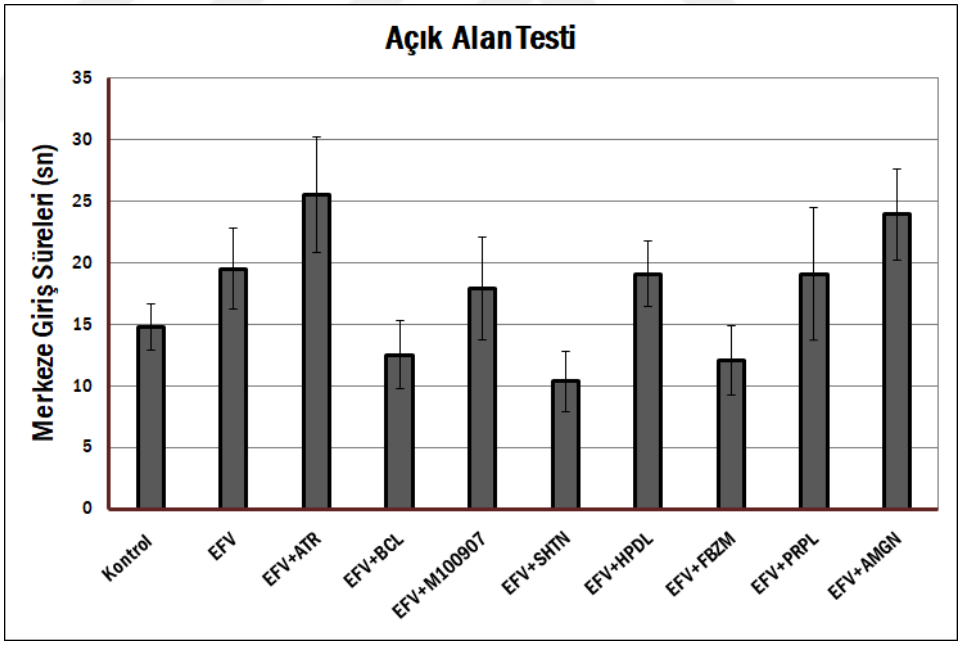
Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, merkezde geçirilen sürelerde EFV, EFV+ATR, EFV+BCL, EFV+M100907, EFV+SHTN, EFV+HPDL, EFV+FBZM ve EFV+PRPL gruplarında düşüş olduğu; EFV+AMGN grubunda ise artış olduğu görülmüştür. Merkezde geçirilen süre bakımından Kontrol grubuna kıyasla düşüş gözlenen gruplar arasında sadece EFV ve EFV+SHTN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş saptanmıştır (p<0,05). EFV grubu ile karşılaştırıldığında, EFV+AMGN grubunda merkezde geçirilen sürelerin EFV grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu saptanmıştır. Diğer gruplarda ise EFV grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p<0,05, Şekil 6).

Tablo 10: Açık alan testi sonuçları, merkeze giriş süreleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	Merkeze Giriş Süreleri (sn) (ortlama±SEM)
Kontrol	80,85±12,95
EFV	41,10±9,52
EFV+ATR	57,62±10,51
EFV+BCL	44,97±7,98
EFV+M100907	112,28±30,25
EFV+SHTN	41,73±9,70
EFV+HPDL	87,86±8,64
EFV+FBZM	49,69±10,76
EFV+PRPL	70,84±7,62
EFV+AMGN	103,01±5,83

p<0,05 Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 7: Açık alan testi bulguları, tüm gruplarda merkeze giriş sürelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması. p<0,05 EFV ve Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı.

Kontrol grubu karşılaştırıldığında, merkeze giriş süreleri bakımından EFV, EFV+ATR, EFV+M100907, EFV+HPDL, EFV+PRPL ve EFV+AMGN gruplarında

artış; EFV+BCL, EFV+SHTN ve EFV+FBZM gruplarında düşüş gözlenmiştir. Fakat gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$, Şekil 7).

5.1.2. Yükseltilmiş artı labirenti testi (EPM) bulguları

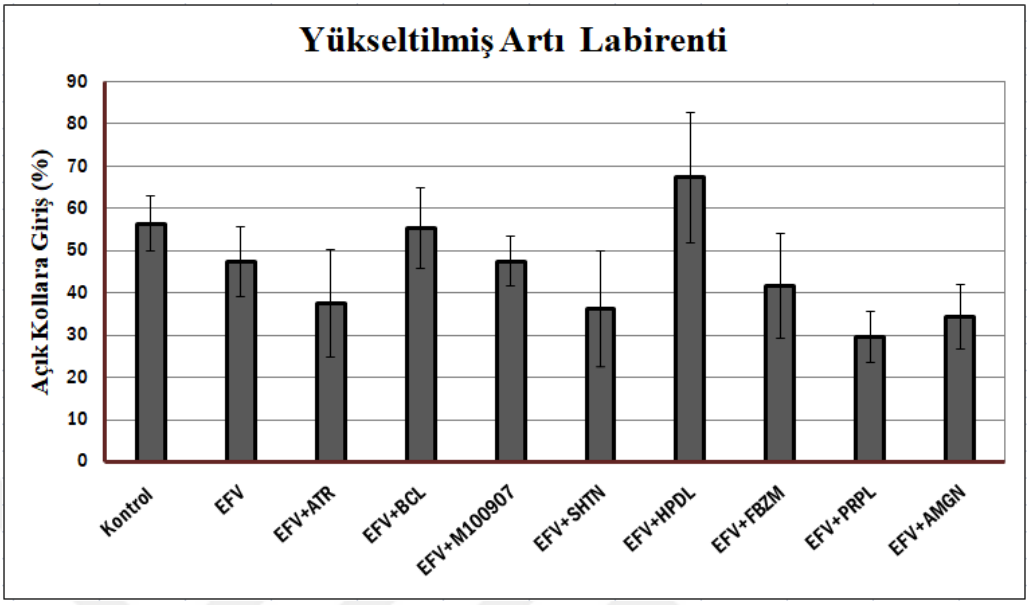
Açık alan testinin ardından gerçekleştirilen yükseltilmiş artı labirenti testinde grupların açık kollara giriş ve açık kollarda geçirilen süre yüzdelerinin ortalamaları standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 11, Şekil 8, Şekil 9).

Tablo 11: Yükseltilmiş artı labirenti sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

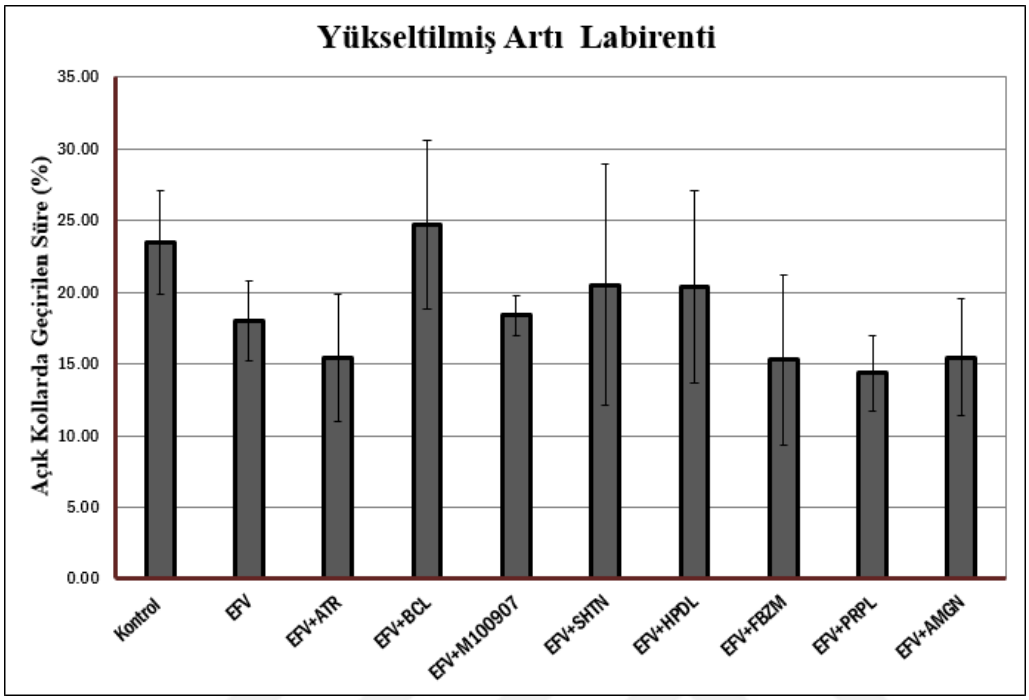
Deney Grupları	Açık Kollara Giriş (%) (ortlama±SEM)	Açık Kollarda Geçirilen Süre (%) (ortlama±SEM)
Kontrol	56,59±6,67	23,48±3,66
EFV	47,59±8,26	17,96±2,78
EFV+ATR	37,59±12,80	15,45±4,46
EFV+BCL	55,61±9,57	24,69±5,91
EFV+M100907	47,64±5,99	18,38±1,42
EFV+SHTN	36,47±13,70	20,52±8,39
EFV+HPDL	67,49±15,40	20,41±6,71
EFV+FBZM	41,77±12,50	15,28±5,94
EFV+PRPL	29,80±6,09	14,36±2,61
EFV+AMGN	34,50±7,57	15,46±4,05

$p<0,05$ Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 8: Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları, tüm gruplarda açık alana giriş sürelerinin istatistiksel olarak karşılaştırılması. $p<0,05$ EFV ve Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, açık kollara giriş yüzdelerinin ortalamalarında EFV+HPDL grubu dışındaki bütün gruplarda düşüş olduğu gözlenmiştir. Gruplar arasında kontrol ve EFV gruplarına kıyasla anlamlı bir fark saptanmamıştır ($p<0,05$, Şekil 8).



Şekil 9: Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları, tüm gruplarda açık kollarda geçirilen sürelerin istatistiksel olarak karşılaştırılması. $p<0,05$ EFV ve Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, açık kollarda geçirilen süre yüzdelerinin ortalamaları bakımından EFV+BCL grubu dışındaki bütün gruplarda düşüş olduğu gözlenmiştir. Fakat gruplar arasında Kontrol ve EFV gruplarına kıyasla anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$, Şekil 9).

5.1.3. Aydınlık/karanlık kutusu testi (LDB) bulguları

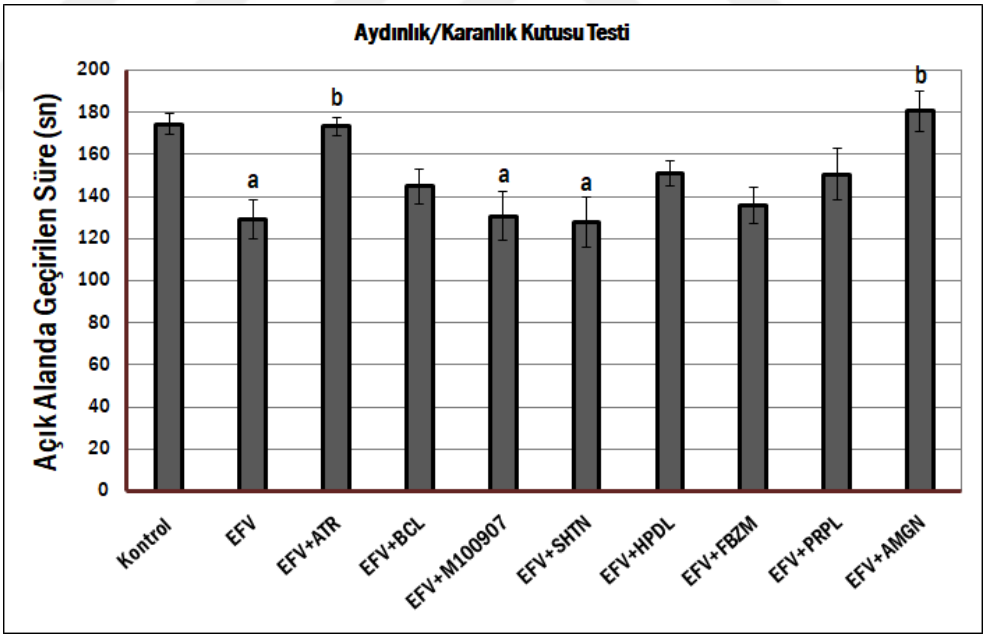
Yükseltilmiş artı labirent testinin ardından gerçekleştirilen aydınlık/karanlık kutusu testinde grupların aydınlık alanda geçirdikleri süreler standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 12, Şekil 10).

Tablo 12: Aydınlık/karanlık kutusu testi sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	Aydınlık Alanda Geçirilen Süre (sn) (ortlama±SEM)
Kontrol	174,55±5,05
EFV	**129,5±9,23[a]**
EFV+ATR	**173,54±4,32[b]**
EFV+BCL	145,12±8,23
EFV+M100907	**130,83±11,68[a]**
EFV+SHTN	**128,02±12,01[a]**
EFV+HPDL	151,1±5,96
EFV+FBZM	135,98±8,47
EFV+PRPL	150,68±12,41
EFV+AMGN	**180,69±9,78 [b]**

[a] p<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b]p<0,05 EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 10: Aydınlık/karanlık kutusu testi bulguları, tüm gruplarda aydınlık alanda geçirilen sürelerin istatistiksel olarak karşılaştırılması. [a] p<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b] p<0,05 EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, aydınlık alanda geçirilen süre bakımından EFV, EFV+M100907 ve EFV+SHTN grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu; diğer gruplarda ise Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$). EFV grubu ile karşılaştırıldığında, EFV+ATR ve EFV+AMGN gruplarında aydınlık alanda geçirilen süre bakımından EFV grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek olduğu görülmüştür. Diğer gruplarda ise EFV grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$, Şekil 10).

5.1.4. Kuyruktan asma testi (TST) bulguları

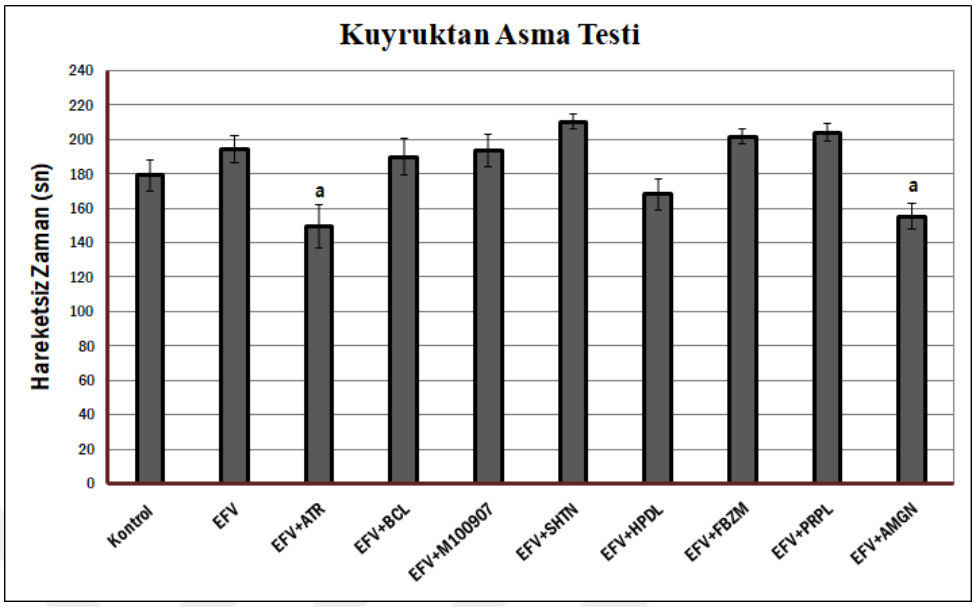
Aydınlık/karanlık kutusu testinin ardından gerçekleştirilen kuyruktan asma testinde grupların hareketsiz geçirdikleri süre ortalamaları standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 13, Şekil 11).

Tablo 13: Kuyruktan asma testi sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	Hareketsiz Zaman (sn) (ortlama±SEM)
Kontrol	179,62±8,88
EFV	195,19±8,01
EFV+ATR	**150,03±12,49[a]**
EFV+BCL	190,62±10,25
EFV+M100907	194,31±9,28
EFV+SHTN	210,87±4,38
EFV+HPDL	168,57±8,86
EFV+FBZM	202,27±4,26
EFV+PRPL	204,75±5,43
EFV+AMGN	**155,93±7,60[a]**

[a] $p<0,05$ EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 11: Kuyruktan asma testi bulguları, tüm grupların hareketsiz geçirdikleri süre ortalamalarının istatistiksel olarak karşılaştırılması. [a] $p<0,05$ EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hareketsiz geçirdikleri süre ortalamalarında EFV, EFV+BCL, EFV+M100907, EFV+SHTN, EFV+FBZM ve EFV+PRPL gruplarında artış olduğu; EFV+ATR, EFV+HDL ve EFV+AMGN gruplarında ise düşüş olduğu görülmüştür. Fakat gruplar arasında kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$). EFV grubu ile karşılaştırıldığında, EFV+ATR ve EFV+AMGN gruplarının hareketsiz geçirdikleri süre ortalamaları bakımından EFV grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu saptanmıştır. Diğer gruplarda ise EFV grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$, Şekil 11).

5.1.5. Zorunlu yüzme testi (FST) bulguları

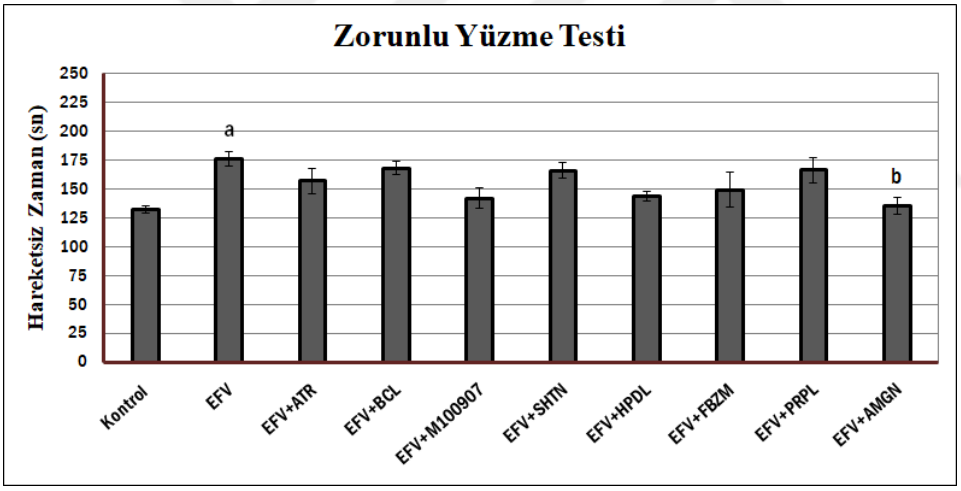
Kuyruktan asma testinin ardından gerçekleştirilen zorunlu yüzme testinde grupların hareketsiz geçirdikleri süre ortalamaları standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 14, Şekil 12).

Tablo 14: Zorunlu yüzme testi sonuçlarının gruplar arası karşılaştırılması

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	Hareketsiz Zaman (sn) (ortlama±SEM)
Kontrol	132,68±3,49
EFV	**176,92±6,41[a]**
EFV+ATR	157,29±11,15
EFV+BCL	168,34±5,72
EFV+M100907	142,58±8,84
EFV+SHTN	166,37±6,83
EFV+HPDL	144,47±4,04
EFV+FBZM	149,81±15,20
EFV+PRPL	166,84±10,99
EFV+AMGN	**135,59±7,10[b]**

[a] p<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b]p<0,05 EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 12: Zorunlu yüzme testi bulguları, tüm grupların hareketsiz geçirdikleri süre ortalamalarının istatistiksel olarak karşılaştırılması. [a] p<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b] p<0,05 EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA); takiben post hoc Tukey testi kullanıldı.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, hareketsiz geçirdikleri süre ortalamalarında bütün gruplarda artış olduğu görülmüştür. Kontrol grubuna göre EFV grubundaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Diğer gruplarda ise anlamlı bir fark görülmemiştir (p<0,05). EFV grubu ile karşılaştırıldığında, EFV+AMGN grubunun hareketsiz geçirdikleri süre ortalamaları bakımından EFV grubuna göre istatistiksel olarak

anlamlı bir düşüş olduğu saptanmıştır. Diğer gruplarda ise EFV grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$, Şekil 12).

5.2. Real-Time PZR Analizleri

Fare PFK dokularında **BDNF, VEGF-A, PGC-1α, TFAM, UCP-2, IL-1β, IL-6** ve **TNF-α** gen ekspresyon düzeyleri Real-time PZR yöntemi kullanılarak EFV'in nöronal fonksiyonlar, nöron mitokondriyal biyogenezis ve proinflamatuar süreçler üzerine etkileri incelenmiştir.

5.2.1. pFK dokularında BDNF mRNA ekspresyon profili

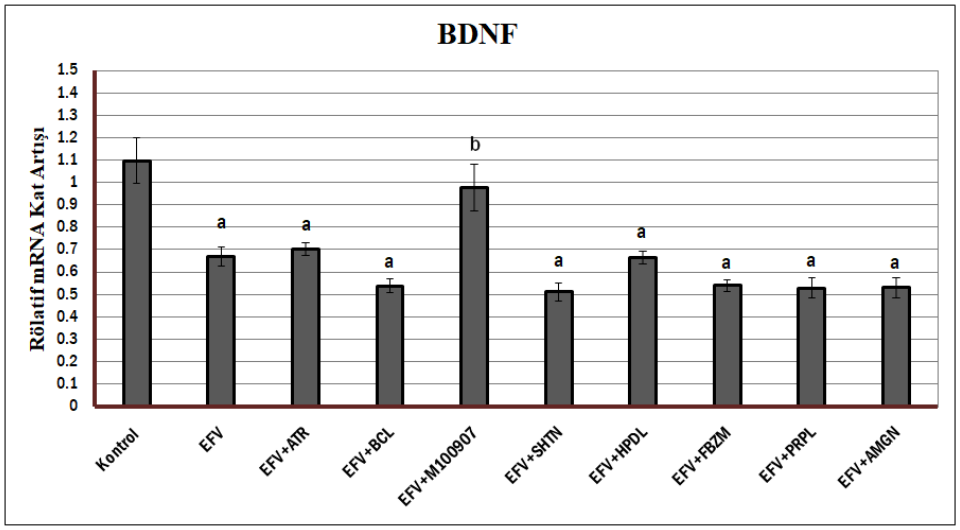
EFV ve reseptör blokörlerinin nöronal fonksiyonlar üzerine etkisinin araştırılması amacıyla pFK dokularında BDNF geninin mRNA ekspresyonları belirlendi. BDNF gen ekspresyonu ortalama değerleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 15, Şekil 13).

Tablo 15: Tüm gruplarda BDNF gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	BDNF (ortlama±SEM)
Kontrol	1,10 ±0,10
EFV	**0,67 ± 0,04** [a]
EFV+ATR	**0,70 ± 0,03** [a]
EFV+BCL	**0,54 ±0,03**[a]
EFV+M100907	**0,98±0,10**[b]
EFV+SHTN	**0,51±0,04**[a]
EFV+HPDL	**0,67±0,03**[a]
EFV+FBZM	**0,54 ±0,03**[a]
EFV+PRPL	**0,53 ±0,05**[a]
EFV+AMGN	**0,53 ±0,04** [a]

[a]$p<0,05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b] $p<0,05$ EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyansanalizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 13: BDNF rölatif mRNA kat artışı grafiği. [a] $p<0,05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b] $p<0,05$ EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Gruplar arasındaki farklılığın önemi tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post hoc Tukey kullanılmıştır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, BDNF rölatif mRNA kat artışı bakımından EFV, EFV+ATR, EFV+BCL, EFV+SHTN, EFV+HPDL, EFV+FBZM, EFV+PRPL ve EFV+AMGN gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu; EFV+M100907 grubundaki düşüşün ise istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p<0,05$). EFV grubu ile karşılaştırıldığında EFV+M100907 grubunun BDNF rölatif mRNA kat artışı bakımından EFV grubuna göre anlamlı bir artış olduğu saptanmıştır. Diğer gruplarda ise EFV grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$, Şekil 13).

5.2.2. pFK dokularında VEGF-A mRNA ekspresyon profili

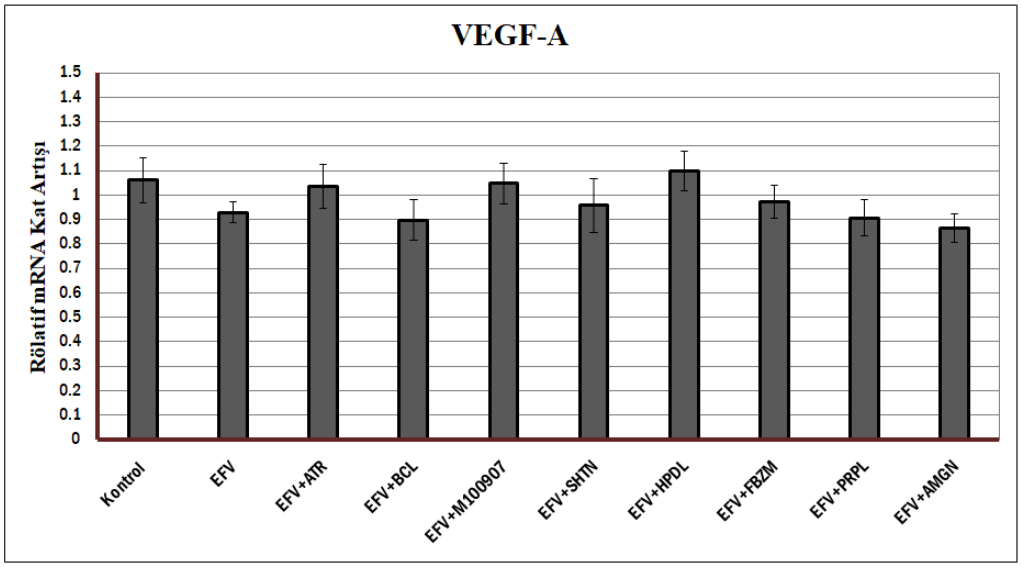
EFV ve reseptör blokörlerinin nörogenezis ve nöronal fonksiyonlar üzerine etkisinin araştırılması amacıyla pFK dokularında VEGF-A geninin mRNA ekspresyonları belirlendi. VEGF-A gen ekspresyonu ortalama değerleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 16, Şekil 14).

Tablo 16: Tüm gruplarda VEGF-A gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	VEGF-A (ortlama±SEM)
Kontrol	1,06 ± 0,09
EFV	0,93 ± 0,04
EFV+ATR	1,03 ± 0,09
EFV+BCL	0,90 ± 0,08
EFV+M100907	1,05 ± 0,08
EFV+SHTN	0,96 ± 0,11
EFV+HPDL	1,10 ± 0,08
EFV+FBZM	0,97 ± 0,069
EFV+PRPL	0,91 ± 0,07
EFV+AMGN	0,86 ± 0,06

p<0,05 Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 14: VEGF-A rölatif mRNA kat artışı grafiği. p<0,05 Kontrol ve EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Gruplar arasındaki farklılığın önemi tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post hoc Tukey kullanılmıştır.

Kontrol grubu ve EFV ile karşılaştırıldığında, VEGF-A rölatif mRNA kat artışı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p<0,05, Şekil 14).

5.2.3. pFK dokularında PGC-1α mRNA ekspresyon profili

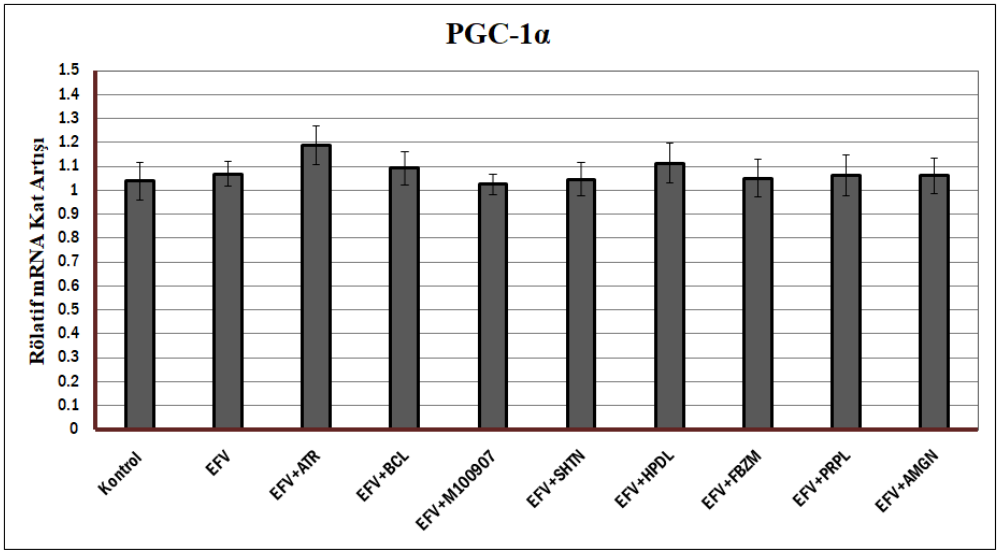
EFV ve reseptör blokörlerinin nöron mitokondriyal biyogenezis üzerine etkisinin araştırılması amacıyla pFK dokularında PGC-1α geninin mRNA ekspresyonları belirlendi. PGC-1α gen ekspresyonu ortalama değerleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 17, Şekil 15).

Tablo 17: Tüm gruplarda PGC-1α gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	PGC-1α (ortlama±SEM)
Kontrol	1,04±0,08
EFV	1,07±0,05
EFV+ATR	1,19±0,08
EFV+BCL	1,09±0,70
EFV+M100907	1,03±0,04
EFV+SHTN	1,05±0,07
EFV+HPDL	1,11±0,08
EFV+FBZM	1,05±0,08
EFV+PRPL	1,06±0,09
EFV+AMGN	1,06±0,07

$p<0,05$ Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 15: PGC-1α rölatif mRNA kat artışı grafiği. p<0,05 Kontrol ve EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Gruplar arasındaki farklılığın önemi tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post hoc Tukey kullanılmıştır.

Kontrol grubu ve EFV ile karşılaştırıldığında, PGC-1α rölatif mRNA kat artışı bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p<0,05, Şekil 15).

5.2.4. pFK dokularında TFAM mRNA ekspresyon profili

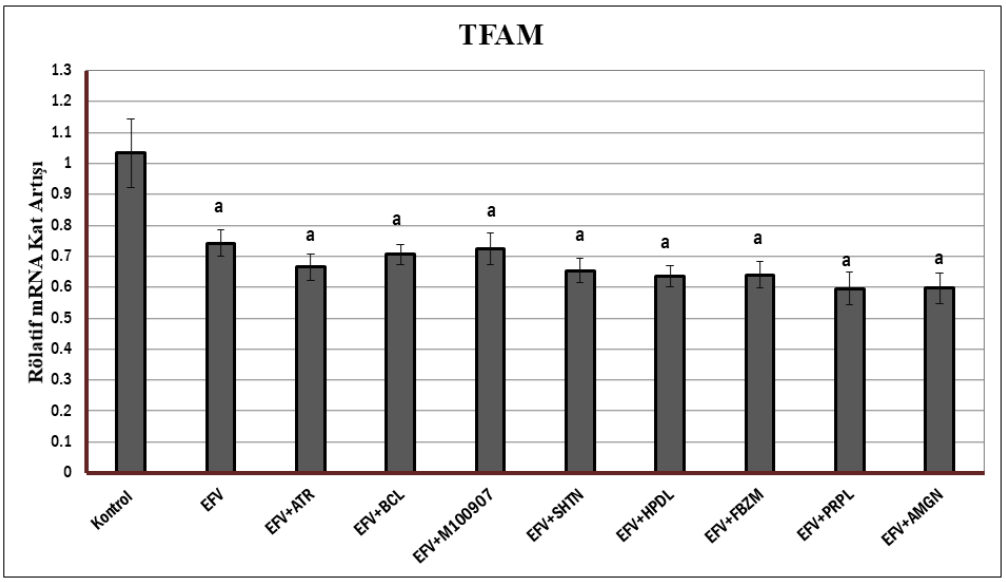
EFV ve reseptör blokörlerinin nöron mitokondriyal biyogenezis ve fonksiyonları üzerine etkisinin araştırılması amacıyla pFK dokularında TFAM geninin mRNA ekspresyonları belirlendi. TFAM gen ekspresyonu ortalama değerleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 18, Şekil 16).

Tablo 18: Tüm gruplarda TFAM gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	TFAM (ortlama±SEM)
Kontrol	1,03±0,11
EFV	**0,74±0,04[a]**
EFV+ATR	**0,66±0,04[a]**
EFV+BCL	**0,71±0,03[a]**
EFV+M100907	**0,72±0,05[a]**
EFV+SHTN	**0,65±0,04[a]**
EFV+HPDL	**0,64±0,03[a]**
EFV+FBZM	**0,64±0,04[a]**
EFV+PRPL	**0,60±0,05[a]**
EFV+AMGN	**0,60±0,05[a]**

[a]p<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 16: TFAM rölatif mRNA kat artışı grafiği. [a] $p<0,05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Gruplar arasındaki farklılığın önemi tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post hoc Tukey kullanılmıştır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, TFAM rölatif mRNA kat artışı bakımından bütün gruplarda istatistiksel olarak anlamlı düşüş olduğu görülmüştür ($p<0,05$). EFV grubu ile karşılaştırıldığında ise diğer gruplardaki TFAM rölatif mRNA kat artışı değişikliklerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p<0,05$, Şekil 16).

5.2.5. pFK dokularında UCP-2 mRNA ekspresyon profili

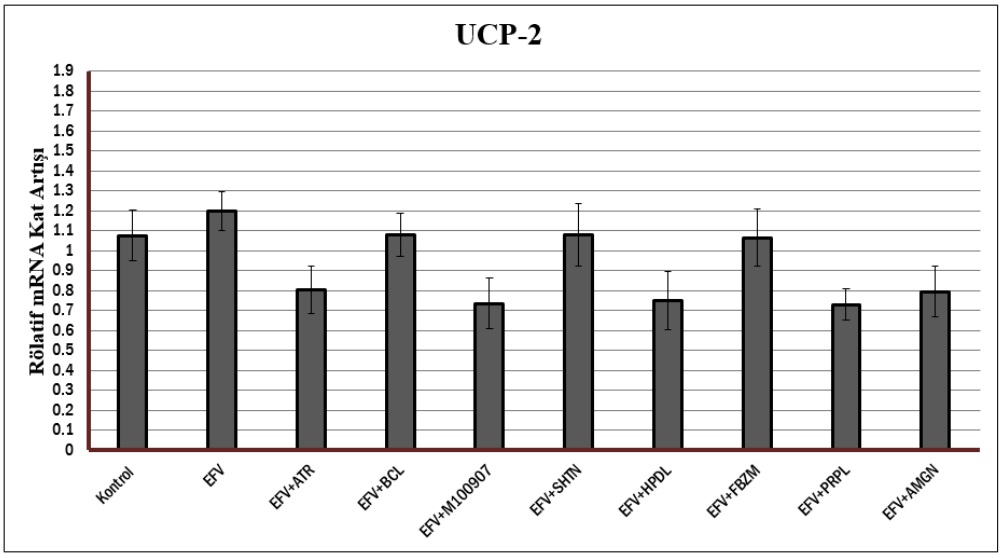
EFV ve reseptör blokörlerinin nöronal fonksiyonlar üzerine etkisinin araştırılması amacıyla pFK dokularında UCP-2 geninin mRNA ekspresyonları belirlendi. UCP-2 gen ekspresyonu ortalama değerleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 19, Şekil 17).

Tablo 19: Tüm gruplarda UCP-2 gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	UCP-2 (ortlama±SEM)
Kontrol	1,08±0,13
EFV	1,20±0,10
EFV+ATR	0,80±0,12
EFV+BCL	1,08±0,11
EFV+M100907	0,74±0,13
EFV+SHTN	1,08±0,16
EFV+HPDL	0,75±0,15
EFV+FBZM	1,07±0,14
EFV+PRPL	0,72±0,08
EFV+AMGN	0,80±0,13

p<0,05 Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 17: UCP-2 rölatif mRNA kat artışı grafiği. p<0,05 Kontrol ve EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Gruplar arasındaki farklılığın önemi tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post hoc Tukey kullanılmıştır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, UCP-2 rölatif mRNA kat artışı bakımından EFV+ATR, EFV+M100907, EFV+HPDL, EFV+PRPL ve EFV+AMGN gruplarında düşüş olduğu; EFV grubunda ise artış olduğu görülmüştür. Fakat bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p<0,05). EFV grubu ile

karşılaştırıldığında ise diğer gruplardaki UCP-2 rölatif mRNA kat artışı değişikliklerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p<0,05$, Şekil 17).

5.2.6. pFK dokularında IL-1β mRNA ekspresyon profili

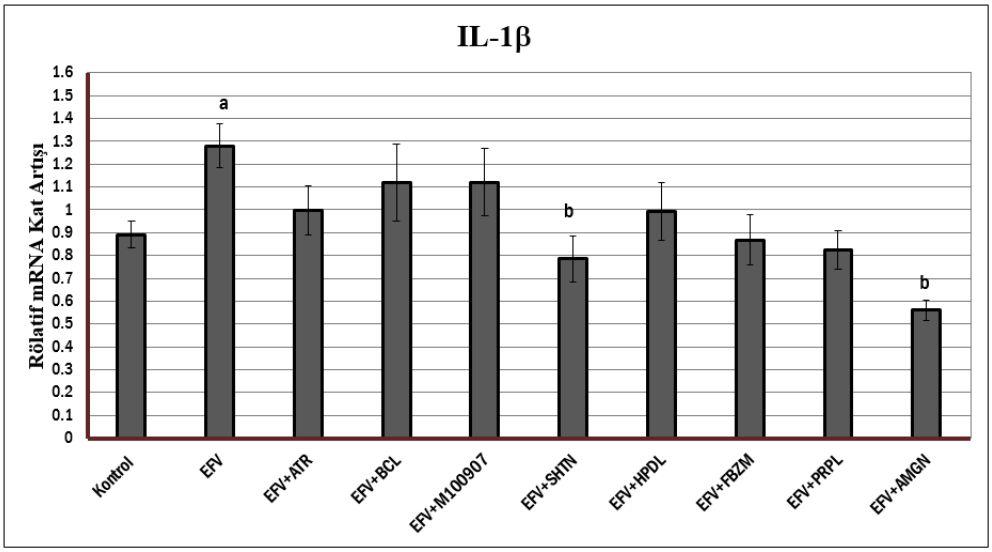
EFV ve reseptör blokörlerinin proinflamatuar etkilerinin araştırılması amacıyla pFK dokularında IL-1β geninin mRNA ekspresyonları belirlendi. IL-1β gen ekspresyonu ortalama değerleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 20, Şekil 18).

Tablo 20: Tüm gruplarda IL-1β gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	IL-1β (ortlama±SEM)
Kontrol	0,89±0,06
EFV	**1,28±0,10[a]**
EFV+ATR	1,00±0,11
EFV+BCL	1,12±0,17
EFV+M100907	1,12±0,15
EFV+SHTN	**0,79±0,10[b]**
EFV+HPDL	1,00±0,13
EFV+FBZM	0,87±0,11
EFV+PRPL	0,82±0,08
EFV+AMGN	**0,56±0,05[b]**

[a]$p<0,05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b] $p<0,05$ EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyansanalizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 18: IL-1β rölatif mRNA kat artışı grafiği. [a] $p<0,05$ Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. [b] $p<0,05$ EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Gruplar arasındaki farklılığın önemi tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post hoc Tukey kullanılmıştır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, IL-1β rölatif mRNA kat artışı bakımından EFV, EFV+ATR, EFV+BCL, EFV+M100907 ve EFV+HPDL gruplarında artış olduğu görülmüştür. Bu gruplardan sadece EFV grubundaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). EFV grubu ile karşılaştırıldığında EFV+SHTN ve EFV+AMGN gruplarının IL-1β rölatif mRNA kat artışı bakımından EFV grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir düşüş olduğu saptanmıştır. Diğer gruplarda ise EFV grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$, Şekil 18).

5.2.7. pFK dokularında IL-6 mRNA ekspresyon profili

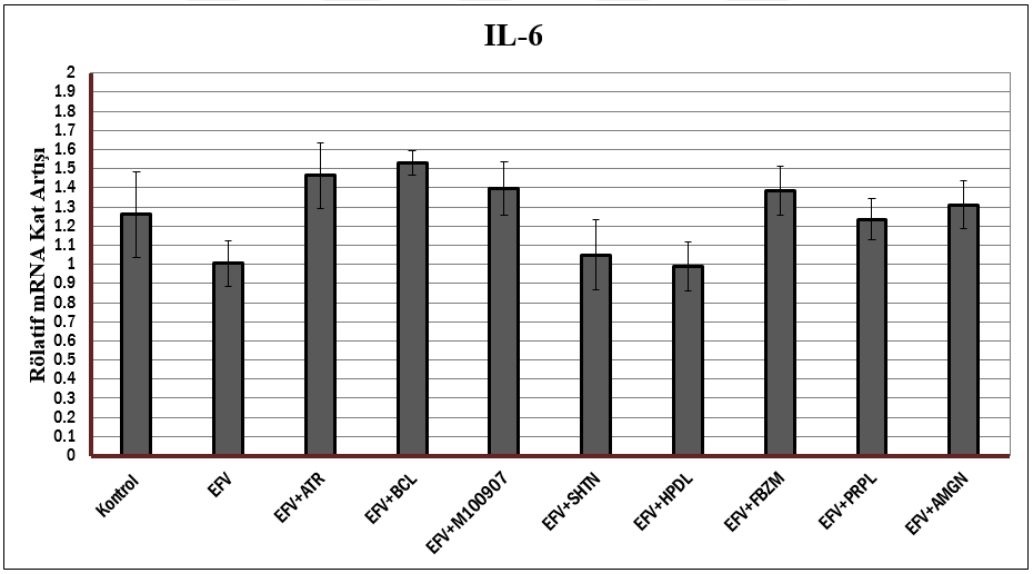
EFV ve reseptör blokörlerinin proinflamatuar etkilerinin araştırılması amacıyla PFK dokularında IL-6 geninin mRNA ekspresyonları belirlendi. IL-6 gen ekspresyonu ortalama değerleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 21, Şekil 19).

Tablo 21: Tüm gruplarda IL-6 gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	IL-6 (ortlama±SEM)
Kontrol	1,26±0,23
EFV	1,01±0,12
EFV+ATR	1,46±0,17
EFV+BCL	1,53±0,06
EFV+M100907	1,40±0,14
EFV+SHTN	1,05±0,18
EFV+HPDL	0,99±0,13
EFV+FBZM	1,38±0,13
EFV+PRPL	1,24±0,11
EFV+AMGN	1,31±0,13

p<0,05 Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 19: IL-6 rölatif mRNA kat artışı grafiği. p<0,05 Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Gruplar arasındaki farklılığın önemi tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post hoc Tukey kullanılmıştır.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, IL-6 rölatif mRNA kat artışı bakımından EFV, EFV+SHTN ve EFV+HPDL gruplarında düşüş olduğu; EFV+ATR, EFV+BCL, EFV+M100907, EFV+FBZM ve EFV+AMGN gruplarında ise artış olduğu görülmüştür. Fakat gruplar arasındaki bu değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (p<0,05). EFV grubu ile karşılaştırıldığında ise diğer gruplardaki IL-6 rölatif

mRNA kat artışı değişikliklerinin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p<0,05$, Şekil 19).

5.2.8. pFK dokularında TNF-α mRNA ekspresyon profili

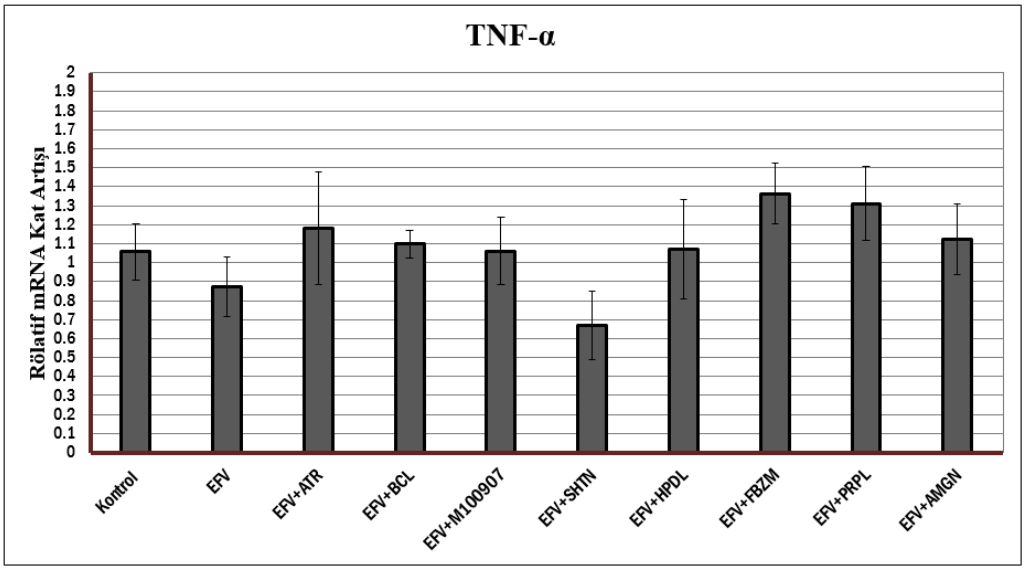
EFV ve reseptör blokörlerinin proinflamatuar etkilerinin araştırılması amacıyla pFK dokularında TNF-α geninin mRNA ekspresyonları belirlendi. TNF-α gen ekspresyonu ortalama değerleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 22, Şekil 20).

Tablo 22: Tüm gruplarda TNF-α gen ekspresyon düzeylerinin ortalama değerleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	TNF-α (ortlama±SEM)
Kontrol	1,06±0,15
EFV	0,87±0,16
EFV+ATR	1,18±0,30
EFV+BCL	1,10±0,07
EFV+M100907	1,06±0,18
EFV+SHTN	0,67±0,18
EFV+HPDL	1,07±0,26
EFV+FBZM	1,36±0,16
EFV+PRPL	1,31±0,19
EFV+AMGN	1,12±0,19

$p<0,05$ Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 20: TNF-α rölatif mRNA kat artışı grafiği. p<0,05 Kontrol ve EFV grubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Gruplar arasındaki farklılığın önemi tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post hoc Tukey kullanılmıştır.

Kontrol ve EFV grubu ile karşılaştırıldığında, TNF-α rölatif mRNA kat artışı bakımından EFV ve EFV+SHTN gruplarında düşüş olduğu; EFV+ATR, EFV+BCL, EFV+FBZM, EFV+PRPL ve EFV+AMGN gruplarında artış olduğu görülmüştür (p<0,05). Diğer gruplarda ise Kontrol ve EFV gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir (p<0,05, Şekil 20).

5.3. pFK dokularında Malondialdehit (MDA) Düzeyleri

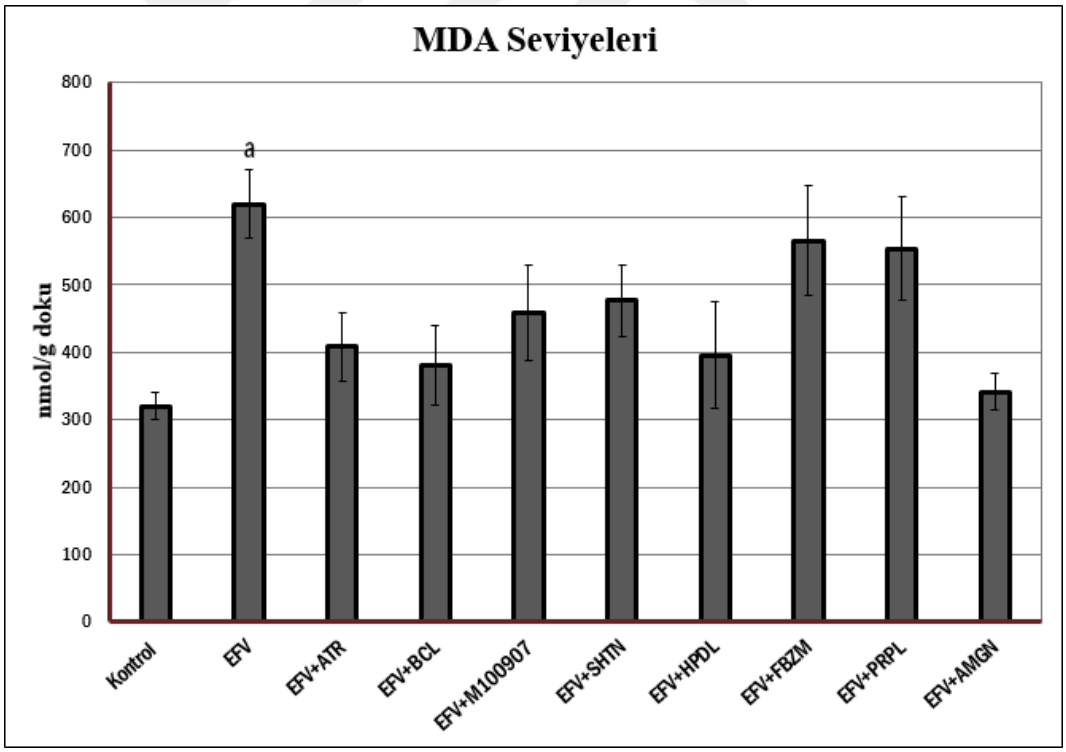
Grupların pFK dokularındaki malondialdehit (MDA) düzeyleri belirlendi. MDA ortalama değerleri standart hataları (SEM) ile birlikte gösterilmiştir (Tablo 23, Şekil 21).

Tablo 23: Tüm grupların PFK dokularında malondialdehit düzeyleri

EFV+ATR: Efavirenz + Atropin; EFV+BCL: Efavirenz + Bikukulin; EFV+M10907: Efavirenz + M10907; EFV+SHTN: Efavirenz + Siproheptadin; EFV+HPDL: Efavirenz + Haloperidol; EFV+FBZM: Efavirenz + Fenoksibenzamin; EFV+PPL: Efavirenz + Propranolol; EFV+AMGN: Efavirenz + Aminoguanidin.

Deney Grupları	Malondialdehit Düzeyleri (nmol/g) (ortlama±SEM)
Kontrol	320,57±19,24
EFV	**619,67±51,21[a]**
EFV+ATR	408,86±50,63
EFV+BCL	381,43±58,51
EFV+M100907	457,71±70,76
EFV+SHTN	476,57±52,55
EFV+HPDL	396,00±79,09
EFV+FBZM	566,00±80,79
EFV+PRPL	553,71±76,14
EFV+AMGN	341,14±26,91

p<0,05 Kontrol ve EFVgrubu ile karşılaştırıldığında. Hesaplamalarda tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı.



Şekil 21: Malondialdehit düzeyleri. [a]p<0,05 Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında. Gruplar arasındaki farklılığın önemi tek-yönlü varyans analizi (ANOVA) ile test edilmiştir. Grupların çoklu karşılaştırılmasında post hoc Tukey kullanılmıştır.

Kontrol ve EFV grubu ile karşılaştırıldığında, MDA düzeyleri bakımından EFV grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Diğer gruplarda ise Kontrol ve EFV gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemiştir ($p<0,05$, Şekil 21).

6. TARTIŞMA

Günümüzde kullanılan antiretroviral ilaçların birçok yan etkisi vardır. Antiretroviral ilaçların yan etkilerinin anlaşılması, HIV-1 ile enfekte hastaların hayat kalitelerini arttırmak ve uygun tedavi rejimleri tasarlamak için önemlidir. Antiretroviral tedavi rejimlerinde en çok kullanılan ilaçlardan biri olan EFV; hem eski hem de daha yeni olan diğer antiretroviral ilaçlara göre yüksek etkinlik gösteren bir profile sahiptir. Uzun süre kullanımı ile birikmiş geniş klinik deneyim, kolay ve ucuz erişim, günlük tek ve sabit dozlamaya uygun jenerik formlarının varlığı gibi birçok avantaja sahip olması nedeniyle HIV-1 tedavisinde yaygın şekilde kullanılır (350). İyi tolere edilmesine rağmen EFV, uykusuzluk, depresyon, amnezi, öfori, anksiyete bozuklukları ve halüsinasyonlar gibi önemli MSS yan etkilerine neden olur (22, 208, 258-260). Hasta uyuncunu engelleyen ve tedavinin kesilmesine neden olan bu MSS etkilerinin etiyolojisi anlaşılamamıştır. Klinik pratikte yaklaşık yirmi yıldır kullanılmasına rağmen, EFV içeren tedavi rejimlerinin güvenliği ile ilgili daha çok çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (202). Bununla birlikte, EFV'in neden olduğu MSS yan etkileri ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Bu çalışmalar sonucu ortaya çıkan veriler EFV bazlı antiretroviral tedavi rejimlerinin kullanımına daha çok katkıda bulunacaktır.

6.1. Davranış Deneyleri

Çalışmamızda, EFV'in anksiyete ve lokomotor aktiveteye olan etkilerinin değerlendirildiği açık alan testinden elde edilen sonuçlara bakıldığında, EFV'in veya EFV ve reseptör blokörleri ile kullanımının spontan lokomotor aktivite düzeylerini etkilemediği bulunmuştur (Şekil 5). Merkezde geçirilen sürelere bakıldığında, EFV'in deneklerin merkezde geçirdikleri süreleri önemli ölçüde azaltarak anksiyojenik etki gösterdiği görülmüştür. EFV'in neden olduğu anksiyetenin selektif iNOS ihibitörü olan aminoguanidin ile geri döndürüldüğü görülmüştür (Şekil 6). Aydınlık/karanlık kutusu testinde EFV'in denekler üzerinde anksiyojenik etki ile aydınlık alanda kalma süresini azalttığı görülmüştür (Şekil 10). Diğer taraftan, EFV'in anksiyojenik etkisinin nonselektif muskarinik asetilkolin reseptör antagonisti olan atropin ve aminoguanidin tarafından

bloke edildiği görülmüştür. Aynı testte, potent serotonin 5HT-2_A antagonisti M100907 ve 5-HT2 nonselektif serotonerjik reseptör antagonisti olan siproheptadin ile 5HT-2_A ve 5HT2 serotonerjik sinir iletiminin blokajı EFV'in denekler üzerinde anksiyojenik etkisini değiştirmemiştir (Şekil 10). İlaçların farelerdeki anksiyete düzeylerine etkilerinin araştırıldığı diğer bir davranış testi olan yükseltilmiş artı labirent testinde ise, EFV'nin açık kollarda harcanan zamanı ve açık kollara giriş sıklığını azalttığı görüldü. Fakat bu azalma istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 8, Şekil 9). Sonuç olarak, yükseltilmiş artı labirent testi bulgularını açık alan testi ve aydınlık/karanlık kutusu testi bulguları ile beraber yorumladığımızda, farelerde akut EFV tedavisinin anksiyojenik etkiler oluşturduğunu söyleyebiliriz. Yine aynı şekilde, EFV'in anksiyojenik etkilerinde muskarinik ve nitrerjik sistemin önemli rol oynadığı görülmüştür (Şekil 6, Şekil 10).

Yapılan bazı çalışmalarda, EFV'nin açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi gibi davranış testlerinde hayvanlar üzerinde önemli anksiyojenik değişiklikler meydana getirdiğini göstermiştir (21, 22). Bu çalışmalardan birinde, kronik EFV uygulamasının farelerde yükseltilmiş artı labirent testinde spontan lokomotor aktiviteyi etkilemeden güçlü bir anksiyojenik etki oluşturduğu gösterilmiştir (22). O'Mahony ve ark. yapmış olduğu bir çalışmada, EFV ile tedavi edilen sıçanların, Morris su labirentinde uzamsal bellek bozuklukları gösterdiğini bildirmişlerdir ve EFV ile tedavi edilen sıçanların, strese karşı kontrollerden daha duyarlı olduğu gösterilmiştir (23). Başka bir çalışmada, EFV'in açık alan testinde keşif davranışlarını (ambulasyon) azaltarak halüsinojenik benzeri etkilere sebep olduğu bildirilmiştir (21). 2017'de akut ve subkronik (2 hafta) EFV tedavisinin sıçanlarda anksiyete tablosuna olan etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada ise, yüksek dozlarda hem akut hemde subkronik EFV uygulamasının sıçanlarda anksiyojenik davranış kalıplarını indüklediğini göstermiştir (24). Çalışmamızda ulaştığımız sonuçlar, EFV'in ansiyete davranışlarına olan etkileri ile ilgili günümüze kadar yapılmış hayvan çalışmalarında ulaşılan sonuçlara benzer şekildedir.

EFV'in depresyon benzeri davranış değişikliklerine olan etkilerini araştırmak amacıyla gerçekleştirmiş olduğumuz kuyruktan asma testi ve zorunlu yüzme testi

sonuçlarına bakıldığında, her iki testte de EFV'in denekler üzerindeki hareketsiz kalma zamanını arttırdığı görülmüştür (Şekil 11, Şekil 12). Kuruktan asma testindeki hareketsiz kalma zamanının artmasının istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, zorunlu yüzme testindeki artışın ise istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür. Kuyruktan asma testinde, EFV'in deneklerde artmış olan depresyonun atropin ve aminoguanidin ile azaltıldığı görülmüştür (Şekil 11). Zorunlu yüzme testinde ise, deneklerde EFV ile artmış olan depresyon davranışlarının sadece aminoguanidin ile normale döndüğü görülmüştür (Şekil 12).

Zorunlu yüzme testi ve kuyruktan asma testi gibi davranışsal çaresizlik modelleri, depresif davranışları gözlemlemek ve yeni antidepresan ilaçları taramak için yaygın olarak kullanılmaktadır (342, 345). EFV'in depresyon benzeri etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kronik EFV uygulamasının zorunlu yüzme testinde farelerin keşif davranışlarını ve hareketsiz kalma süresini değiştirmediği gösterilmiştir (22). Başka bir çalışmada, kronik dozlarda EFV'in, akut stres etkeni sonrasında sıçanlarda strese duyarlılığı arttırarak depresyon benzeri davranışları tetiklediği bildirilmiştir (23). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada ise, zorunlu yüzme testinde akut EFV uygulamasının sıçanlarda hareketsiz kalma süresini etkilemediği, subkronik EFV uygulamasının ise hareketsiz kalma süresini arttırarak depresyona neden olduğu bildirilmiştir (24). Yapılan *in vivo* davranış çalışmalarına bakıldığında, EFV'in depresyon üzerine olan etkilerinin araştırıldığı çalışmaların yetersiz olduğu ve daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulduğu görülmüştür.

Açık alan testi bulgularımızda, EFV'in deneklerin merkez ve aydınlık alanda geçirdikleri süreleri önemli ölçüde azalttığı ve bu etkinin aminoguanidin ile geri döndürüldüğü görüldü (Şekil 6). Aynı şekilde aydınlık/karanlık kutusu testinde de aminoguanidinin EFV'in neden olduğu anksiyete davranışlarını düzelttiği görüldü (Şekil 10). Kuyruktan asma testi bulgularımızda benzer şekilde EFV'in denekler üzerinde kısmen artmış depresyon davranışlarının aminoguanidinin ile geri çevrildiği görüldü. Aynı şekilde, zorunlu yüzme testinde de EFV'in denekler üzerindeki depreyon benzeri

etkilerinin aminoguanidin ile tersine çevrildiği görüldü (Şekil 11, Şekil 12). Beyindeki hücreler arası bir haberci olan nitrik oksit (NO), çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerde önemli bir rol oynar (150, 351). NO, anksiyete ile ilgili davranışları ve anksiyete ile ilişkilendirilen nörokimyasalları düzenlenmesinde etkili olan bir nöromodülatördür (352). NO ile yapılan tedavinin anksiyojenik etkiler, NO inhibitörleri ile yapılan tedavinin anksiyolitik etki gösterdiği iyi bilinmektedir (353). Yapılan çalışmalarda, EFV'nin nörotoksik etkilerinin, bir nöromodülatör ve mitokondriyal fonksiyon regülatörü olan eksojen NO ile güçlendirildiği bildirilmiştir (354). EFV'nin nöronlar ve glial hücreler üzerindeki mitokondriyal etkilerinde endojen NO'nun rolünün değerlendirildiği *in vitro* bir çalışmada, EFV'nin kültürlenmiş glial hücrelerde indüklenebilir nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonunu arttırarak NO ürettiğini, iNOS'un inhibisyonunun kısmen bu etkiyi tersine çevirdiğini göstermiştir. Artan glial NO miktarının, mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna neden olarak EFV'in nöropsikiyatrik yan etkilerinin oluşumuna katkı sağladığı bildirilmiştir (15). Primer astrosit ve nöron hücre hattı, insan glioma ve nöroblast hücre hatları kullanılarak yapılmış başka bir çalışmada, EFV'in NO gibi glial hücrelerde ve nöronlarda mitokondriyal işlevi değiştirdiği ve NO'nun mitokondriyal enerji dengesi üzerine olan zararlı etkilerini arttırdığı bildirilmiştir (14). Yapılan *in vitro* çalışmalarla uyumlu olarak, çalışmamızda kullandığımız *in vivo* modelde aminoguanidin ile iNOS blokajının NO seviyelerini azaltarak EFV'in anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilerini önlediği gösterilmiştir. Yaptığımız bu çalışma, EFV'in anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilerine NO'nun aracılık ettiğini gösteren ilk davranış çalışmasıdır.

Kolinerjik sistem ve muskarinik asetilkolin reseptörleri; sinaptik plastisite, nörogenez, nöroproteksiyon, bilişsel ve davranışsal işlevlerin düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (355). Kolinerjik sistem, HPA ekseninin karmaşık düzenleme mekanizmasının bileşenlerinden biridir. CRH'ın CRH1 reseptörleri üzerindeki etkisinin anksiyete ve depresyon belirtileri ürettiği bilinmektedir (356). Aynı zamanda, hipokampüsteki ve pFK'deki asetilkolin (Ach) seviyeleri, strese bağlı davranışsal modülasyon ve anksiyete ile ilişkilidir (357). Benzer şekilde, mesolimbik DA sistemdeki kolinerjik mekanizmaların depresyon ve anksiyete ile ilgili davranışları düzenlediği bilinmektedir (358). Mevcut

kanıtlar, VTA veya NAc'deki kolinerjik aktivitenin arttırılmasının, depresyon benzeri yan etkileri arttırdığını ortaya koymaktadır (359). Yapılan çalışmalarda, EFV'in beyindeki muskarinik reseptörlere düşük afinite gösterdiği bildirmiştir (21). Daha sonraki çalışmalarda, HEK293 hücrelerinde EFV'in endojen muskarinik M3 reseptörlerini antagonize ettiği belirtilmiştir. Aynı zamanda, EFV'in atropin ve skopolamin gibi muskarinik M1 reseptörlerini bloke ederek halisünojenik davranışları arttırdığı bildirilmiştir (20). Yaptığımız çalışmada, aydınlık/karanlık kutusu testi sonuçlarına bakıldığında, EFV'in deneklerin aydınlık alanda geçiridikleri süreleri azalttığı, bunun atropin ile tersine çevrildiği görüldü (Şekil 10). Aynı zamanda, açık alan testinde deneklerin lokomotor aktivitesini arttırarak antidepresan etkiler gösterdiği söylenebilir. Fakat atropin ile artmış lokomotor aktivite istatistiksel olarak anlamlı değildi (Şekil 5). Kuyruktan asma testinde, kontrol grubuna kıyasla EFV'in neden olduğu depresyon birçok grupta arttığı görüldü. EFV'in bu kısmi etkisinin atropin ile geri döndürüldüğü gösterildi (Şekil 11). Fakat zorunlu yüzme testinde atropinin böyle bir etkisi görülmedi (Şekil 12). Elde ettiğimiz sonuçlar ve daha önce yapılan çalışmalar ile uyumlu olarak, muskarinik sinir iletiminin EFV'in anksiyojenik etkisinde rol oynayan mekanizmalarından birisi olduğunu fakat muskarinik M1 reseptörünün EFV'in ansiyojenik etkisinde rolü olmadığını göstermiştir. Sonuç olarak, EFV'in anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilerinin, farklı muskarinik reseptör alt tipleri üzerinden gerçekleştirildiği veya EFV'in ilgili reseptörler için farklı bir afiniteye sahip olduğu görülmüştür. EFV'in muskarinik reseptör alt tipleri ile olası etkileşimlerinin araştırılmasına yönelik daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalarda EFV'in hayvanlarda davranış değişikliklerine neden olabilecek potansiyel mekanizmalardan birinin serotonin 5-HT2_A reseptörünün uyarılması olarak görülmüştür. EFV'in suistimal edilmesine yönelik yapılan bir çalışmada, EFV'in serotonin 5-HT2_A reseptörüne bağlandığı ve LSD benzeri davranışsal değişiklikler (farelerde baş seğirmesinin artması vb.) meydana getirdiği bildirilmiştir (21, 360). Yapılan bir diğer çalışmada, 5-HT2_A nakavt farelerde frontal korteks aracılı baş seğirmesi tepkisinin görülmediği bildirilmiştir (361). Benzer şekilde M100907 ve ketanserin gibi 5-

$HT2_A$ antagonisti ilaçlar ile frontal korteks aracılı baş seğirmesi tepkilerinin bloke edildiği gösterilmiştir (362). EFV'in serotonerjik sistem üzerine etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada ise, EFV'in 5-$HT2_A$ reseptörü ile etkileşime girerek psikoaktif etkiler gösterdiği, fakat klasik halüsinojenlerden farklı özelliklere sahip olarak 5-$HT2_A$ reseptörünü uyardığı bildirilmiştir (20). Homozigot 5-$HT2_A$ nakavt farelerin, azalan 5-$HT2_A$ reseptör aracılı transmisyonu ile normal farelere kıyasla anksiyojenik-depresif benzeri bir fenotip sergilediği bildirilmiştir (363). Yaptığımız çalışmada ise M100907 ile 5-$HT2_A$ reseptörlerini bloke ettiğimizde EFV'in anksiyojenik etkisi üzerine herhangi bir etkisi olmamış (Şekil 6, Şekil 9, Şekil 10), fakat Kontrol grubuna göre deneklerin anksiyetelerini arttırdığı görülmüştür. Bu anksiyojenik etki de M100907'nin kendi anksiyojenik etkisinin (360) katkısı olduğu düşünülmektedir.

EFV'in nöropsikiyatrik yan etkilerini önleme adına, antiretroviral tedavi sürecinde siproheptadin kullanımı görülen bir olgudur (364). Siproheptadin non-selektif serotonin 5HT2 reseptör antagonisti bir ilaçtır (365). 2013'de randomize klinik bir çalışmada siproheptadinin anksiyete ve depresyonun da aralarında bulunduğu bir dizi nöropsikiyatrik yan etkilerin giderilmesinde başarılı sonuçlar verdiği bildirilmiştir (366). Çalışmamızda ise, siproheptadinin EFV'in neden olduğu anksiyete değişiklikleri üzerine herhangi bir etkisi olmadığı görülmüştür (Şekil 6, Şekil 9, Şekil 10).

GABAerjik sinir iletiminin –özellikle $GABA_A$ reseptörü üzerinden etki ile- depresyon patogenezinde ve anksiyetenin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı düşünülmektedir (367, 368). *In vitro* hücre kültüründe $\alpha1\beta2\gamma2$ $GABA_A$ reseptörünün EFV'in çeşitli MSS hedeflerinden biri olduğu ve EFV'in etkilerini pozitif olarak modüle ettiği bildirilmiştir (21). Aynı çalışmanın devamında ise, EFV'in GABAerjik yanıtlar üzerinde düşük dozlarda arttırıcı ($\alpha1\beta2\gamma2$) yüksek dozlarda inhibe edici ($\alpha3\beta2\gamma2$) etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu farklılığın da $GABA_A$ altbirimlerinin konfigürasyonlarına bağlı olduğu gösterilmiştir (319). Benzer şekilde, fenobartial gibi bazı $GABA_A$ reseptör modülatörü ilaçların da $GABA_A$ üzerinde ikili (dual) etkilerinin olduğu; EFV'in pikrotoksin ile aynı bağlanma bölgesine bağlanarak GABA transmisyonunu inhibe ettiği

bildirilmiştir (369). İnsan ve hayvan beyininde EFV birikimimin yüksek olduğunun bilinmesi, EFV'in rutin dozlarında $GABA_A$ reseptörü üzerinden gerçekleşen GABAerjik sinir iletimini bloke edici etkisini destekler (233). *In vivo* davranış çalışmalarında, yüksek dozlarda akut ve subkronik EFV uygulamasının, striatumda GABA seviyelerini düşürdüğü; EFV ile akut tedavi edilen hayvanların anksiyojenik benzeri davranış gösterirken, subkronik olarak tedavi edilenlerin hem anksiyojenik hem de depresif davranış değişiklikleri gösterdiği bildirilmiştir (24). Çalışmamımızda, bikukulin ile $GABA_A$ reseptör komleksini bloke ettiğimizde, EFV'in neden olduğu anksiyete üzerine çelişkili ve istatistiksel olarak anlamlı olmayan etkiler gözlemlendi. Yükseltilmiş artı labirent ve aydınlık/karanlık kutusu testinde, EFV'in Kontrol grubuna kıyasla anksiyete belirteci olan açık/aydınlık alanda kalma sürelerini arttırdığı görülmüştür. Fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 9, Şekil 10). Daha önceki çalışmalarda, EFV'in $GABA_A$ reseptörünü aktive veya inhibe edici etkileriyle açıkça ilişkili yeterli hayvan davranışı çalışmaları bildirilmemiştir. Benzer şekilde, yaptığımız bu çalışmada da, EFV'in $GABA_A$ reseptörü üzerine etkisi görülmemiştir.

Mesolimbik dopaminerjik sistemde oluşan işlev bozukluğu, insanlarda hem depresyon hem de yaygın anksiyete bozukluğu ile ilişkilendirilir (370). 2013 yılında yapılan bir çalışmada, dopamin taşıyıcılarını eksprese eden klonlanmış insan hücre kültürlerinde EFV'in dopamin reseptörlerini etkilemediği görülmüştür (21). Başka bir çalışmada ise, akut EFV uygulamasının, striatal dopamin ve noradrenalin seviyelerini arttırdığı, subkronik uygulama ile azalttığı gösterilmiştir (24). 2018'de yapılan bir çalışmada ise, subkronik EFV uygulamasının, sıçanlarda kortiko-striatal DA miktarını arttırdığı ve ödüllendirme davranışlarını geliştirdiği bildirilmiştir (328).

Adrenerjik sinir iletim sisteminin anksiyete ve depresyon patolojisinde önemli bir yeri olduğu bilinmektedir (371). Yapılan *in vitro* bir çalışmada, EFV'in HeLa hücrelerinde β-adrenerjik reseptörlerini etkilemediği gösterilmiştir (20). Çalışmamızda, dopaminerjik, α ve β-adrenerjik reseptörlerin EFV'in anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilerine olan muhtemel katkıları sırasıyla haloperidol, fenoksibenzamin ve propranolol kullanarak

incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında, davranış deneylerinde dopaminerjik ve adrenerjik sinir iletim sistemlerinin EFV'in anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilerine katkısı gözlenmemiştir.

6.2. Real-Time PZR Analizleri

Nörotrofinler, nöronların gelişimini ve hayatta kalmasını etkileyen önemli epigenetik faktörlerden olup; BDNF ve VEGF dahil olmak üzere duyusal ve motor nöronların hayatta kalmasını etkileyen çoklu nörotrofinler vardır. BDNF, nöronal devrelerin gelişiminde ve olgunlaşmasında merkezi bir rol oynar ve işlevindeki değişiklikler, davranış bozuklukları fizyopatolojisine katkıda bulunur (372). Çok sayıda çalışmada, bozulmuş BDNF aktivitesinin, duygudurum bozukluklarının fizyopatolojisinde rol oynadığı ve antidepresanların terapötik mekanizması için kritik öneme sahip olduğu bildirilmiştir (51, 373, 374). BDNF genindeki polimorfizmlerin insanlarda ve farelerde oluşan anksiyete ve depresyonu arttırdığı bildirilmiştir (375). Antiretroviral ilaçların BDNF ile ilişkisini inceleyen bazı çalışmalar bildirilmiştir. Yapılan bir çalışmada, zidovudinin (Nükleozid/Nükleotid Reverz Transkriptaz İnhibitörü, NRTI) yavru fare beyinlerinde BDNF seviyelerini düşürerek farelerin nörogelişimlerini etkilediği bildirilmiştir (376). 2007'de yapılan bir çalışmada, didanosinin (NRTI) HIV/AIDS hayvan modelinde mitokondriyal ve nörotrofik faktör dengesinin bozulması ile duyusal nöropatiye neden olduğu bildirilmiştir (377). Bazı çalışmalar, özellikle NRTI bazlı antiretroviral ilaç tedavisinin BDNF aracılığı ile nöropatik ağrıyı arttırdığını bildirmiştir (378, 379). 2018'de yapılan bir çalışmada ise, uzun süreli nevirapin (Non-nükleozid Reverz Transkriptaz inhibitörü, NNRTI) kullanımının fare hipokampüsünde BDNF ekspresyonunu azaltarak nöroprotektif süreçleri bozduğu bildirilmiştir (380). Önceki çalışmalara bakıldığında, EFV'in BDNF fonksiyonları üzerine yapılmış herhangi bir çalışmanın olmadığı görülmüştür. Çalışmamızda, EFV'in beyin pFK dokularındaki BDNF mRNA gen ekspresyonlarını önemli derecede düşürdüğü görülmüş (Şekil 13), bu da BDNF'nin EFV'in neden olduğu nöropsikiyatrik yan etkilerin moleküler mekanizmalarında önemli katkılarının olduğunu göstermiştir. Diğer taraftan, EFV'in

neden olduğu BDNF ekspresyon düzeylerindeki düşüşün selektif serotonin $5HT2_A$ reseptör antagonisti M100907 ile tersine çevrildiği görüldü. EFV'in serotonin $5HT2_A$ üzerinden LSD benzeri halüsinojenik davranışlar oluşturduğu bildirilmiştir (20, 21, 361). Nörotrofinlerin, özellikle de BDNF'nin beyin ve spinal ekspresyonunun serotonerjik sinir iletimini düzenlediği bildirilmiştir (381). Yaptığımız çalışmada, M100907 ile serotonin $5HT2_A$ sinir iletimini bloke ederek EFV'in bağlanmasını engellemenin, pFK dokularındaki BDNF mRNA ekspresyonlarını arttırdığı gözlendi ve bunu da EFV'in nörotoksiksik etkilerinin serotonin $5HT2_A$ aracılı BDNF ekspresyonlarını düşürmesinden dolayı gerçekleştiği görüldü. Oluşan bu nörotoksik etkinin, hayvanlarda depresyon ve anksiyete davranışlarını etkilemediği görülmüştür.

VEGF (VEGF-A olarak da bilinir) spesifik olarak, BDNF gibi nöronal fonksiyonları düzenleyen eden (382) ve beynin birçok bölgesinde nörogenezis ve damar oluşumunda (anjiyogenez) önemli görevler alan bir nötrofindir (383, 384). Başlangıçta VEGF, endotel hücreleri için bir büyüme faktörü olarak keşfedilmiştir. Daha sonraları nöral hücrelerde birçok etkisinin olduğu görülmüştür. Nörolojik hastalıklarda, VEGF stresli nöronları nöroprotektif etkisi ile korur, nörojenezi uyarır, nöronal farklılaşmayı uyarır ve sinaptik plastisiteyi teşvik eder (385). Yapılan bir çalışmada, özellikle NRTI tipi antiretroviral ilaçların VEGF baskılamasıyla anjiyogenezisi inhibe ettiği bildirilmiştir (386). Literatürde şimdiye kadar EFV'in VEGF aracılı nöronal fonksiyonlara olan etkisi ile ilgili herhangi bir çalışma rapor edilmemiştir. Yaptığımız bu çalışmada da, VEGF-A mRNA ekspresyon seviyelerinin tüm gruplarda birbirine yakın olduğu saptanmıştır (Şekil 14). Sonuç olarak, VEGF'nin EFV'in nöropskiyatrik ve nörotoksik yan etkilerinde herhangi bir katkısının olmadığı görülmüştür.

Yapılan *in vitro* çalışmalarda, EFV'in mitokondriyal enerji dengesini bozarak mitokondriyal toksisiteye neden olduğu bildirilmiştir (311). EFV, hepatik hücrelerde AMP ile aktive olan protein kinazın (AMPK) aktivasyonuna katkıda bulunan mitokondriyal fonksiyonları bozarak hücresel enerji üretimini azaltır (249). Benzer şekilde, EFV'in beyinde gerçekleşen enerji metabolizması ve enerji dengesini etkileyerek

glikoliz ve yağ metabolizmasını bozduğuna dair önemli çalışmalar vardır (13, 19, 252, 312, 313, 314). Sıçanlar üzerinde yapılan bir çalışmada, EFV'in MSS'de enerji üretiminde önemli roller oynayan kreatin kinaz (KK) ve sitokrom c'yi inhibe ettiği bildirilmiştir (13, 313). KK beyin dokularında, hücresel ATP düzeylerini tamponlar ve ATP'nin yeniden üretilmesinde rol oynar. Kronik EFV uygulamasının fare serebral korteks, striatum ve hipokampüsünde kompleks IV aktivitesini düşürerek ROS oluşumunu arttırdığı bildirilmiştir (13). EFV, nöronal ve glial hücre kültürlerinde ATP depolarını azaltır ve mitokondriyal membran potansiyelini bozar. Aynı zamanda, hem glial hemde nöronal hücrelerin mitokondriyal enerji üretimini bozarak ROS üretimini arttırdığını, bunun sonucunda hücre proliferasyonunun azaldığı gösterilmiştir (314, 316). Hem *in vitro* hemde *in vivo* çalışmalar EFV'in mitokondriyal enerji hemostazını etkilediğini, böylece enerji tüketiminin fazla olduğu beyin hücrelerinde dejenerasyona neden olabileceğini göstermektedir. Mitokondriyal fonksiyonlardaki bu bozukluklar nörodejenerasyon ile ilişkili önemli hücresel hasarlara neden olur (387).

Mitokondriyal biyogenez ve fonksiyonlar, ana transkripsiyonel koaktivatörler tarafından düzenlenir. Hem nükleer hem de mitokondriyal genomlarda çok sayıda koaktivatör ekspresyonu ile koordine edilir, böylece hücreler değişken enerji taleplerine daha hızlı uyum sağlar (388). Peroksizom proliferatör-aktive reseptör gama ko-aktivatörü 1-alfa (PGC-1α), mitokondriyal transkripsiyon faktör A (TFAM), ve mitokondriyal uncoupling protein 2 (UCP-2) önemli beyin mitokondriyal biyosentez faktörleridir. PGC-1α, mitokondriyal biyogenez yoluyla enerji metabolizmasında rol alan bazı genleri düzenleyen transkripsiyonel bir ko-aktivatördür (389). PGC-1α aynı zamanda güçlü bir mitokondriyal biyogenez indükleyicisidir (390). Yapılan bir çalışmada, PGC-1α'nın hücre enerjisine özellikle duyarlı olduğunu, bu nedenle metabolik stres veya oksidatif hasarın bir belirteci olarak gösterilmiştir (391). TFAM'ın aşırı ekspresyonu organ ve sistem düzeyindeki gelişmelerle birlikte hücre sağkalımını arttırır, böylece hücreleri ve strese maruz kalan organizmaları korumak için mitokondriyal fonksiyonları düzenler (392). TFAM, spesifik ve spesifik olmayan bağlama bölgeleri ile transkripsiyonu uyarır. Bu da TFAM'ın mitokondride artışı ile birlikte, mitokondriyal kromozomların ve solunum

kapasitesinin dengelenmesinde rol oynar (393). PGC-1α ve TFAM mitokondriyal biyogenez için nükleer düzenleyici olayları aktive ederek beynin bazı bölgelerinde adaptif mitokondriyal proteinleri uyarır (394). UCP-2 ise mitokondriyal ROS üretimini azaltarak oksidatif stresi azalttığı bilinmektedir (395). İnsanlarda, UCP-2'nin artmış ekspresyonunun nöroprotektif olduğu gösterilmiştir (396). MSS'de, stres koşullarında etkilenen hassas beyin bölgelerinde UCP-2 mRNA ve protein ekspresyonu yüksektir (397). UCP-2 fonksiyonuyla ilgili mitokondriyal mekanizmaların, nöronların sadece nöronal aktivitesini değil aynı zamanda sinaptik plastisiteyi arttırmak amacıyla uygun biyoenerjetik adaptasyonları için de gerekli olduğu gösterilmiştir (398). Çalışmamızda EFV'in, pFK dokusunda mitokondriyal biyogenezde yer alan genlerden olan ve enerji metabolizması ile ilişkili mitokondriyal gen TFAM'ın mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde düşürdüğü bildirilmiştir. Aynı zamanda, muhtemel mekanizmalar olan monoaminerjik, GABAerjik ve nitrerjik sistemin EFV'in TFAM aracılığı ile oluşan nörotoksik etkilerinde görev almadığı görüldü (Şekil 16). Buna karşılık, PGC-1α ve UCP-2 mRNA ekspresyonları üzerinde EFV'in herhangi bir etkisi olmamıştır (Şekil 15, Şekil 17). Mitokondriyal disfonksiyonun nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde temel bir rol oynadığı yaygın olarak bilinmektedir. Bu sonuçlar göstermektedir ki, EFV pFK'te mitokondriyal aktiviteyi tetikleyen bir transkripsiyon faktörü olan TFAM üzerinden enerji metabolizmasını bozarak nörotoksik etkiler göstermektedir.

Daha önce yapılan çalışmalar, nöroinflamatasyon ve oksidatif stresin nörodejeneratif hastalıkların patogenezinde önemli rol oynadığını göstermiştir (399, 400, 401). Fare beyninin frontal korteks ve hipokampüs dokularında azalmış proinflamatuar sitokin seviyelerinin (IL-1β, IL-6 ve TNF-α) birçok nöropsikiyatrik davranış bozukluklarına sebep olduğu bildirilmiştir (400). İnterlökin-1β (IL-1β), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekrozis faktör- α (TNF-α) gibi proinflamatuar sitokinlerin korteks, striatum ve hipokampus gibi farklı beyin bölgelerinde, sinaptik plastisiteyi fizyolojik olarak modüle ettiği gösterilmiştir (401). IL-1β, MSS'ine bağlı çeşitli fonksiyonlarının (uyku ve iştah gibi) düzenlenmesinde rol oynayan proinflamatuar bir sitokin olup, doku hasarı ve enfeksiyonlarına karşı nöral immün yanıtlarda rol oynar (402). Aynı şekilde IL-6,

inflamatuar bozuklukların patogenezinde, sinir dokusunun fizyolojik homeostazında, doku rejenerasyonu ve patojen savunmasında kritik rol oynar (403). TNF-α ise hücre ve doku düzeylerinde homeostazın korunmasında önemli proinflamatuar sitokindir. TNF-α üretimi, çeşitli MSS patolojilerinde artmaktadır (404). EFV adiposit hücre kültürlerinde proinflamatuar sitokinlerin (IL-8, IL-6) salınımında önemli bir artışa neden olur (405, 406). EFV'e maruz kalan insan koroner arter endotelyal hücre kültürlerinde (HCAEC) oksidatif stres, JNK ve nükleer faktör-κB (NF-κB) aracılı proinflamatuar sinyal yollarını uyarır (407). İnsan gliom ve nöroblastoma hücre kültürleri ile sıçan primer nöron ve astrosit kültürleri üzerine yapılan bir çalışmada, EFV'in MSS'deki oksidatif stres ve nöroinflamatuar süreçlerde rol oynadığı gösterilmektedir (14). Yapılan bir çalışmada, EFV'in oksidatif stresi tetikleyerek nöronal kök hücre kültürlerinde konsantrasyona bağlı olarak proliferasyonu düşürdüğü bildirilmiştir, bu etki *in vivo* hayvan çalışmasında da gösterilmiştir. Aynı çalışmada, EFV'in apoptotik süreçleri aktive ettiği gösterilmiştir (408). Nöroinflamasyonun önemli bir rol oynadığı psikiyatrik bozukluklar ve uyuşturucu bağımlılığı gibi durumlarda EFV'in proinflamatuar mekanizmaları arttırdığı bildirilmiştir (277, 409). Aynı şekilde klinik prospektif bir çalışmada, EFV alan hastalarda oluşan MSS yan etkilerinde oksidatif ve inflamatuar mekanizmaların önemli roller oynadığı belirtilmiştir (410). O'Mahony ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış olduğu bir çalışmada, EFV'in IL-1β ve TNF-α gibi proinflamatuar sitokinlerin seviyelerini arttırdığı, bu artışın antidepresan etkili paroksetin ile önlendiği belirtilmiştir (23). Bu bulgulara dayanarak, EFV'nin sıçan beyin bölgelerinde proinflamatuar sitokinlerin artmasından kaynaklı depresyon benzeri davranışlara neden olabileceği sonucuna varılmıştır (22). Fakat 2019 yılında yapılan bir çalışmada EFV'in nöroinflamatuar süreçleri engelleyerek Alzheimer semptomlarını azalttığı bildirilmiştir. Transgenik Alzheimer fare modelinde, EFV'in sinaptik düzeyde inflamasyon, otofaji, oksidatif stres gibi parametreleri düzelterek hayvan davranışlarını normale çevirdiği bildirilmiştir (411). Yaptığımız çalışmada, EFV'in pFK dokusunda proinflamatuar sitokinler arasından sadece IL-1β ekspresyonlarını arttırarak inflamatuar mekanizmaları tetiklediği (Şekil 18, Şekil 19, Şekil 20) ve EFV ile artan IL-1β ekspresyonlarının siproheptadin ve aminoguanidin ile tersine

döndürüldüğü gözlenmiştir. Böylece, EFV'in inflamatuar süreçleri tetiklediği ve bunu IL-1β üzerinden gerçekleştirdiği gösterilmiştir.

6.3. Malondialdehit Düzeyleri

EFV'in, ana metaboliti olan 8-OH-EFV üzerinden pro-oksidan değişiklikler meydana getirerek ve ROS'u arttırdığı bildirilmiştir (301, 328, 412). Yüksek doz EFV alan hastalarda bu etkinin daha belirgin olduğu görülmüştür (413). EFV'in ratlar üzerinde bağımlılık yapıcı etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, EFV'in beyin frontal korteks ve striatum dokularında lipid peroksidasyonun bir göstergesi olan MDA düzeyini arttırarak oksidatif stresi indüklediği bildirilmiştir (328). Başka bir çalışmada nöron ve mikroglia hücre kültürlerinde EFV'in amiloid-beta peptid miktarını arttırarak oksidatif stres ve inflamasyona neden olduğu gösterilmiştir (19). Çalışmamızda, EFV alan farelerde lipid peroksidasyonun son ürünü olan MDA düzeylerinde artış gözlenmiştir (Şekil 21). Elde ettiğimiz bu bulgular, EFV'in nörotoksik etkilerinde oksidatif stresin rolünü araştıran diğer çalışmalarla uyumludur (301, 328). Fakat, nöropsikiyatrik bozuklukluklarda oksidatif stresin artması, sinir iletim sistemlerinin aktivitesinin de değişmesine neden olur. Bu durum nöropsikiyatrik bozuklukluklarda görev alan sinir iletim sistemlerinin yorumlanmasını zorlaştırır (328). Benzer şekilde yaptığımız çalışmamızda da, EFV'in oksidatif stres süreçlerde rol oynayan PGC-1α ve UCP-2 gibi belirteçlerin ekspresyon düzeyleri üzerine anlamlı bir etkisinin olmadığı görülmüştür.

7. SONUÇ ve ÖNERİLER

Çalışmamızda ulaştığımız sonuçlar, akut EFV uygulamasının farelerde lokomotor aktiviteyi değiştirmeksizin anksiyete ve depresyon davranış değişikliklerini arttırdığını, gelişen anksiyete ve depresyon davranışlarında nitrerjik sinir iletim sisteminin önemli bir rolü olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, bazı davranış testlerinde kolinerjik sistemin de EFV'in anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilerinde rol oynadığı görüldü. Buna karşılık, serotonerjik, adrenerjik, dopaminerjik, GABAerjik sinir iletim sistemlerinin ise EFV'in neden olduğu anksiyete ve depresyon benzeri davranışlar üzerine etkileri gözlenmemiştir.

Ayrıca, prefrontal korteks dokularında nöronal fonksiyonların önemli bir göstergesi olan BDNF gen ekspresyon düzeylerinin EFV ile düştüğü, bu etkinin serotonin $5HT2_A$ reseptörü bloke edildiğinde tersine çevrildiği gözlenmiştir. Bu bulgular, EFV'in nörotoksik etkilerinde $5HT2_A$ aracılı BDNF ekspresyonlarındaki azalmanın önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Diğer taraftan, EFV pFK dokularında TFAM ekspresyonlarını önemli ölçüde düşürerek mitokondriyal enerji hemostazını bozduğu görülmüştür.

EFV'in inflamatuar ve oksidatif stres ile ilgili mekanizmalar üzerine olan etkilerine bakıldığında, IL-1β üzerinden inflamatuar mekanizmaları tetiklediği ve bu etkinin serotonerjik ve nitrerjik sistem üzerinden gerçekleştiği görülmüştür. Bunun yanı sıra, EFV'in malondialdehit düzeylerini önemli ölçüde yükselterek oksidatif stresi arttırdığı görülmüştür. Ancak EFV'in, oksidatif stres belirteçlerinden olan PGC-1α ve UCP-2 mRNA ekspresyonları üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Bu nedenle, EFV'in nöropsikiyatrik yan etkilerinde oksidatif stresin rolünün araştırılması ile ilgili daha fazla çalışmaya gerek duyulduğu görülmüştür.

Sonuç olarak, EFV'in anksiyojenik ve depresyon benzeri etkilerinde nitrerjik ve kolinerjik sinir iletim sistemlerinin önemli bir yeri olduğu; nöropsikiyatrik ve nörotoksik etkilerinde serotonin $5HT2_A$ aracılı sinyal iletiminin önemli rol oynayabileceği; nöronal fonksiyonları ve mitokondriyal enerji homeostazını bozduğu; inflamatuar ve oksidatif stres ile ilgili mekanizmaları tetikleyebileceği gösterilmiştir. Ulaşmış olduğumuz bu

sonuçlar, EFV'in nöropsikiyatrik ve nörotoksik yan etkilerinin araştırılacağı ileri çalışmalar için önemli bir literatür teşkil edecektir.

8. KAYNAKLAR

1. Hileman CO, Funderburg NT. Inflammation, Immune Activation, and Antiretroviral Therapy in HIV. Current HIV/AIDS reports. 2017;14(3):93-100.
2. AIDSinfo. Guidelines for the use of antiretroviral agents in HIV-1-infected adults and adolescents. In: Services. AsotUSDoHaH, editor. https://aidsinfo.nih.gov/guidelines2011.
3. d'Ettorre G, Ceccarelli G, Pavone P, Vittozzi P, De Girolamo G, Schietroma I, et al. What happens to cardiovascular system behind the undetectable level of HIV viremia? AIDS research and therapy. 2016;13:21.
4. Martin-iguacel R NE, Peck R, Friis-møller N. Hypertension Is a Key Feature of the Metabolic Syndrome in Subjects Aging with HIV. Curr Hypertens Rep 2016;18(6):1-14.
5. Bhatia NS, Chow FC. Neurologic Complications in Treated HIV-1 Infection. Current neurology and neuroscience reports. 2016;16(7):62.
6. Arribas JR. Efavirenz: enhancing the gold standard. International journal of STD & AIDS. 2003;14 Suppl 1:6-14.
7. Thompson MA, Aberg JA, Hoy JF, Telenti A, Benson C, Cahn P, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2012 recommendations of the International Antiviral Society-USA panel. Jama. 2012;308(4):387-402.
8. Gulick RM, Ribaudo HJ, Shikuma CM, Lustgarten S, Squires KE, Meyer WA, 3rd, et al. Triple-nucleoside regimens versus efavirenz-containing regimens for the initial treatment of HIV-1 infection. The New England journal of medicine. 2004;350(18):1850-61.
9. Hammer SM, Eron JJ, Jr., Reiss P, Schooley RT, Thompson MA, Walmsley S, et al. Antiretroviral treatment of adult HIV infection: 2008 recommendations of the International AIDS Society-USA panel. Jama. 2008;300(5):555-70.
10. Sluis-Cremer N, Tachedjian G. Mechanisms of inhibition of HIV replication by non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. Virus research. 2008;134(1-2):147-56.
11. Cavalcante GI, Capistrano VL, Cavalcante FS, Vasconcelos SM, Macedo DS, Sousa FC, et al. Implications of efavirenz for neuropsychiatry: a review. The International journal of neuroscience. 2010;120(12):739-45.
12. Mothapo KM, Schellekens A, van Crevel R, Keuter M, Grintjes-Huisman K, Koopmans P, et al. Improvement of Depression and Anxiety After Discontinuation of Long- Term Efavirenz Treatment. CNS & neurological disorders drug targets. 2015;14(6):811-8.
13. Streck EL, Ferreira GK, Scaini G, Rezin GT, Goncalves CL, Jeremias IC, et al. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors efavirenz and nevirapine inhibit cytochrome C oxidase in mouse brain regions. Neurochemical research. 2011;36(6):962-6.
14. Funes HA, Apostolova N, Alegre F, Blas-Garcia A, Alvarez A, Marti-Cabrera M, et al. Neuronal bioenergetics and acute mitochondrial dysfunction: a clue to understanding the central nervous system side effects of efavirenz. The Journal of infectious diseases. 2014;210(9):1385-95.
15. Apostolova N, Funes HA, Blas-Garcia A, Alegre F, Polo M, Esplugues JV. Involvement of nitric oxide in the mitochondrial action of efavirenz: a differential effect on neurons and glial cells. The Journal of infectious diseases. 2015;211(12):1953-8.
16. Bertrand L, Toborek M. Dysregulation of Endoplasmic Reticulum Stress and Autophagic Responses by the Antiretroviral Drug Efavirenz. Molecular pharmacology. 2015;88(2):304-15.
17. Bertrand L, Dygert L, Toborek M. Antiretroviral Treatment with Efavirenz Disrupts the Blood-Brain Barrier Integrity and Increases Stroke Severity. Scientific reports. 2016;6:39738.
18. Hecht M, Harrer T, Buttner M, Schwegler M, Erber S, Fietkau R, et al. Cytotoxic effect of efavirenz is selective against cancer cells and associated with the cannabinoid system. AIDS (London, England). 2013;27(13):2031-40.
19. Brown LA, Jin J, Ferrell D, Sadic E, Obregon D, Smith AJ, et al. Efavirenz promotes beta-secretase expression and increased Abeta1-40,42 via oxidative stress and reduced microglial phagocytosis: implications for HIV associated neurocognitive disorders (HAND). PloS one. 2014;9(4):e95500.

20. Dalwadi DA, Kim S, Amdani SM, Chen Z, Huang RQ, Schetz JA. Molecular mechanisms of serotonergic action of the HIV-1 antiretroviral efavirenz. Pharmacological research. 2016;110:10-24.
21. Gatch MB, Kozlenkov A, Huang RQ, Yang W, Nguyen JD, Gonzalez-Maeso J, et al. The HIV antiretroviral drug efavirenz has LSD-like properties. Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology. 2013;38(12):2373-84.
22. Romao PR, Lemos JC, Moreira J, de Chaves G, Moretti M, Castro AA, et al. Anti-HIV drugs nevirapine and efavirenz affect anxiety-related behavior and cognitive performance in mice. Neurotoxicity research. 2011;19(1):73-80.
23. O'Mahony SM, Myint AM, Steinbusch H, Leonard BE. Efavirenz induces depressive-like behaviour, increased stress response and changes in the immune response in rats. Neuroimmunomodulation. 2005;12(5):293-8.
24. Cavalcante GI, Chaves Filho AJ, Linhares MI, de Carvalho Lima CN, Venancio ET, Rios ER, et al. HIV antiretroviral drug Efavirenz induces anxiety-like and depression-like behavior in rats: evaluation of neurotransmitter alterations in the striatum. European journal of pharmacology. 2017;799:7-15.
25. Cihlar T, Fordyce M. Current status and prospects of HIV treatment. Current opinion in virology. 2016;18:50-6.
26. Weinberger AH, Gbedemah M, Martinez AM, Nash D, Galea S, Goodwin RD. Trends in depression prevalence in the USA from 2005 to 2015: widening disparities in vulnerable groups. Psychological medicine. 2018;48(8):1308-15.
27. Wittchen HU, Jacobi F, Rehm J, Gustavsson A, Svensson M, Jonsson B, et al. The size and burden of mental disorders and other disorders of the brain in Europe 2010. European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology. 2011;21(9):655-79.
28. M. Marcus MTY, M.C.D. van Ommeren. A Global Public Health Concern WHO: WHO; 2012.
29. WHO. Depression and other common mental disorders: global health estimates. Geneva: WHO. 2017.
30. Ferrari AJ, Charlson FJ, Norman RE, Patten SB, Freedman G, Murray CJ, et al. Burden of depressive disorders by country, sex, age, and year: findings from the global burden of disease study 2010. PLoS medicine. 2013;10(11):e1001547.
31. Villanueva R. Neurobiology of major depressive disorder. Neural plasticity. 2013;2013:873278.
32. Bromet E, Andrade LH, Hwang I, Sampson NA, Alonso J, de Girolamo G, et al. Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode. BMC medicine. 2011;9:90.
33. Karch DL, Dahlberg LL, Patel N, Davis TW, Logan JE, Hill HA, et al. Surveillance for violent deaths--national violent death reporting system, 16 States, 2006. Morbidity and mortality weekly report Surveillance summaries (Washington, DC : 2002). 2009;58(1):1-44.
34. Coplan JD, Aaronson CJ, Panthangi V, Kim Y. Treating comorbid anxiety and depression: Psychosocial and pharmacological approaches. World journal of psychiatry. 2015;5(4):366-78.
35. Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. The American journal of psychiatry. 2000;157(10):1552-62.
36. Lai CH. The neural markers of MRI to differentiate depression and panic disorder. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2019;91:72-8.
37. Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-5™, 5th ed. Arlington, VA, US: American Psychiatric Publishing, Inc.; 2013. xliv, 947-xliv, p.
38. Galts CPC, Bettio LEB, Jewett DC, Yang CC, Brocardo PS, Rodrigues ALS, et al. Depression in neurodegenerative diseases: Common mechanisms and current treatment options. Neuroscience and biobehavioral reviews. 2019;102:56-84.
39. Duman RS. Neurobiology of stress, depression, and rapid acting antidepressants: remodeling synaptic connections. Depression and anxiety. 2014;31(4):291-6.
40. Kupfer DJ, Frank E, Phillips ML. Major depressive disorder: new clinical, neurobiological, and treatment perspectives. Lancet (London, England). 2012;379(9820):1045-55.
41. Frank E, Thase ME. Natural history and preventative treatment of recurrent mood disorders. Annual review of medicine. 1999;50:453-68.

42. Stahl SM, Stahl SM, Muntner N. Stahl's Essential Psychopharmacology: Neuroscientific Basis and Practical Applications: Cambridge University Press; 2013.
43. Pandarakalam JP. Challenges of Treatment-resistant Depression. Psychiatria Danubina. 2018;30(3):273-84.
44. Krishnan V, Nestler EJ. The molecular neurobiology of depression. Nature. 2008;455(7215):894-902.
45. Rosenblat JD, Cha DS, Mansur RB, McIntyre RS. Inflamed moods: a review of the interactions between inflammation and mood disorders. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2014;53:23-34.
46. Berton O, Nestler EJ. New approaches to antidepressant drug discovery: beyond monoamines. Nature reviews Neuroscience. 2006;7(2):137-51.
47. Maletic V, Robinson M, Oakes T, Iyengar S, Ball SG, Russell J. Neurobiology of depression: an integrated view of key findings. International journal of clinical practice. 2007;61(12):2030-40.
48. Fitzgerald PB, Laird AR, Maller J, Daskalakis ZJ. A meta-analytic study of changes in brain activation in depression. Human brain mapping. 2008;29(6):683-95.
49. van Praag HM. Can stress cause depression? Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2004;28(5):891-907.
50. Kendell SF, Krystal JH, Sanacora G. GABA and glutamate systems as therapeutic targets in depression and mood disorders. Expert opinion on therapeutic targets. 2005;9(1):153-68.
51. Duman RS, Monteggia LM. A neurotrophic model for stress-related mood disorders. Biological psychiatry. 2006;59(12):1116-27.
52. Drevets WC. Neuroimaging studies of mood disorders. Biological psychiatry. 2000;48(8):813-29.
53. Berk M, Williams LJ, Jacka FN, O'Neil A, Pasco JA, Moylan S, et al. So depression is an inflammatory disease, but where does the inflammation come from? BMC medicine. 2013;11:200.
54. Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. Trends in neurosciences. 2008;31(9):464-8.
55. Kohler S, Cierpinsky K, Kronenberg G, Adli M. The serotonergic system in the neurobiology of depression: Relevance for novel antidepressants. Journal of psychopharmacology (Oxford, England). 2016;30(1):13-22.
56. Otte C, Gold SM, Penninx BW, Pariante CM, Etkin A, Fava M, et al. Major depressive disorder. Nature reviews Disease primers. 2016;2:16065.
57. Maas JW. Biogenic amines and depression. Biochemical and pharmacological separation of two types of depression. Archives of general psychiatry. 1975;32(11):1357-61.
58. Lane RM. Antidepressant drug development: Focus on triple monoamine reuptake inhibition. Journal of psychopharmacology (Oxford, England). 2015;29(5):526-44.
59. Bell C, Abrams J, Nutt D. Tryptophan depletion and its implications for psychiatry. The British journal of psychiatry : the journal of mental science. 2001;178:399-405.
60. Dunlop BW, Nemeroff CB. The role of dopamine in the pathophysiology of depression. Archives of general psychiatry. 2007;64(3):327-37.
61. Lopez Leon S, Croes EA, Sayed-Tabatabaei FA, Claes S, Van Broeckhoven C, van Duijn CM. The dopamine D4 receptor gene 48-base-pair-repeat polymorphism and mood disorders: a meta-analysis. Biological psychiatry. 2005;57(9):999-1003.
62. Szczypinski JJ, Gola M. Dopamine dysregulation hypothesis: the common basis for motivational anhedonia in major depressive disorder and schizophrenia? Reviews in the neurosciences. 2018;29(7):727-44.
63. Roy A, De Jong J, Linnoila M. Cerebrospinal fluid monoamine metabolites and suicidal behavior in depressed patients. A 5-year follow-up study. Archives of general psychiatry. 1989;46(7):609-12.
64. Northoff G, Sibille E. Why are cortical GABA neurons relevant to internal focus in depression? A cross-level model linking cellular, biochemical and neural network findings. Molecular psychiatry. 2014;19(9):966-77.
65. Sanacora G, Saricicek A. GABAergic contributions to the pathophysiology of depression and the mechanism of antidepressant action. CNS & neurological disorders drug targets. 2007;6(2):127-40.

66. Machado-Vieira R, Salvadore G, DiazGranados N, Ibrahim L, Latov D, Wheeler-Castillo C, et al. New therapeutic targets for mood disorders. TheScientificWorldJournal. 2010;10:713-26.
67. Schiepers OJ, Wichers MC, Maes M. Cytokines and major depression. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2005;29(2):201-17.
68. Kreutzberg GW. Microglia: a sensor for pathological events in the CNS. Trends in neurosciences. 1996;19(8):312-8.
69. Miller AH, Raison CL. The role of inflammation in depression: from evolutionary imperative to modern treatment target. Nature reviews Immunology. 2016;16(1):22-34.
70. Felger JC, Lotrich FE. Inflammatory cytokines in depression: neurobiological mechanisms and therapeutic implications. Neuroscience. 2013;246:199-229.
71. Song C, Wang H. Cytokines mediated inflammation and decreased neurogenesis in animal models of depression. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2011;35(3):760-8.
72. Sanacora G, Zarate CA, Krystal JH, Manji HK. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. Nature reviews Drug discovery. 2008;7(5):426-37.
73. Castren E, Voikar V, Rantamaki T. Role of neurotrophic factors in depression. Current opinion in pharmacology. 2007;7(1):18-21.
74. Palazidou E. The neurobiology of depression. British medical bulletin. 2012;101:127-45.
75. Finkbeiner S. CREB couples neurotrophin signals to survival messages. Neuron. 2000;25(1):11-4.
76. Schinder AF, Poo M. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. Trends in neurosciences. 2000;23(12):639-45.
77. Binder DK, Scharfman HE. Brain-derived neurotrophic factor. Growth factors (Chur, Switzerland). 2004;22(3):123-31.
78. Sen S, Duman R, Sanacora G. Serum brain-derived neurotrophic factor, depression, and antidepressant medications: meta-analyses and implications. Biological psychiatry. 2008;64(6):527-32.
79. Belmaker RH, Agam G. Major depressive disorder. The New England journal of medicine. 2008;358(1):55-68.
80. Lorenzetti V, Allen NB, Fornito A, Yucel M. Structural brain abnormalities in major depressive disorder: a selective review of recent MRI studies. Journal of affective disorders. 2009;117(1-2):1-17.
81. Duman RS. Neuronal damage and protection in the pathophysiology and treatment of psychiatric illness: stress and depression. Dialogues in clinical neuroscience. 2009;11(3):239-55.
82. Chen F, Zhou L, Bai Y, Zhou R, Chen L. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity accounts for anxiety- and depression-like behaviors in rats perinatally exposed to bisphenol A. Journal of biomedical research. 2015;29(3):250-8.
83. Frazer A. Pharmacology of antidepressants. Journal of clinical psychopharmacology. 1997;17 Suppl 1:2s-18s.
84. Vaswani M, Linda FK, Ramesh S. Role of selective serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders: a comprehensive review. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2003;27(1):85-102.
85. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. Neuron. 2002;34(1):13-25.
86. Shulman KI, Herrmann N, Walker SE. Current place of monoamine oxidase inhibitors in the treatment of depression. CNS drugs. 2013;27(10):789-97.
87. Tatsumi M, Groshan K, Blakely RD, Richelson E. Pharmacological profile of antidepressants and related compounds at human monoamine transporters. European journal of pharmacology. 1997;340(2-3):249-58.
88. Delini-Stula A, Mikkelsen H, Angst J. Therapeutic efficacy of antidepressants in agitated anxious depression--a meta-analysis of moclobemide studies. Journal of affective disorders. 1995;35(1-2):21-30.
89. Gillman PK. Tricyclic antidepressant pharmacology and therapeutic drug interactions updated. British journal of pharmacology. 2007;151(6):737-48.
90. Trivedi MH, Rush AJ, Wisniewski SR, Nierenberg AA, Warden D, Ritz L, et al. Evaluation of outcomes with citalopram for depression using measurement-based care in STAR*D: implications for clinical practice. The American journal of psychiatry. 2006;163(1):28-40.

91. Berken GH, Weinstein DO, Stern WC. Weight gain. A side-effect of tricyclic antidepressants. Journal of affective disorders. 1984;7(2):133-8.
92. Reimherr FW, Amsterdam JD, Quitkin FM, Rosenbaum JF, Fava M, Zajecka J, et al. Optimal length of continuation therapy in depression: a prospective assessment during long-term fluoxetine treatment. The American journal of psychiatry. 1998;155(9):1247-53.
93. Fakhoury M. New insights into the neurobiological mechanisms of major depressive disorders. General hospital psychiatry. 2015;37(2):172-7.
94. Anderson DJ, Adolphs R. A framework for studying emotions across species. Cell. 2014;157(1):187-200.
95. Craske MG, Stein MB. Anxiety. Lancet (London, England). 2016;388(10063):3048-59.
96. Horikawa M, Yagi A. The relationships among trait anxiety, state anxiety and the goal performance of penalty shoot-out by university soccer players. PloS one. 2012;7(4):e35727.
97. Desmedt A, Marighetto A, Piazza PV. Abnormal Fear Memory as a Model for Posttraumatic Stress Disorder. Biological psychiatry. 2015;78(5):290-7.
98. Davis M, Walker DL, Miles L, Grillon C. Phasic vs sustained fear in rats and humans: role of the extended amygdala in fear vs anxiety. Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology. 2010;35(1):105-35.
99. Craske MG, Rauch SL, Ursano R, Prenoveau J, Pine DS, Zinbarg RE. What is an anxiety disorder? Depression and anxiety. 2009;26(12):1066-85.
100. Bandelow B, Baldwin D, Abelli M, Altamura C, Dell'Osso B, Domschke K, et al. Biological markers for anxiety disorders, OCD and PTSD - a consensus statement. Part I: Neuroimaging and genetics. The world journal of biological psychiatry : the official journal of the World Federation of Societies of Biological Psychiatry. 2016;17(5):321-65.
101. Kessler RC, Petukhova M, Sampson NA, Zaslavsky AM, Wittchen HU. Twelve-month and lifetime prevalence and lifetime morbid risk of anxiety and mood disorders in the United States. International journal of methods in psychiatric research. 2012;21(3):169-84.
102. Stein DJ, Scott KM, de Jonge P, Kessler RC. Epidemiology of anxiety disorders: from surveys to nosology and back. Dialogues in clinical neuroscience. 2017;19(2):127-36.
103. Baxter AJ, Scott KM, Vos T, Whiteford HA. Global prevalence of anxiety disorders: a systematic review and meta-regression. Psychological medicine. 2013;43(5):897-910.
104. Haro JM, Ayuso-Mateos JL, Bitter I, Demotes-Mainard J, Leboyer M, Lewis SW, et al. ROAMER: roadmap for mental health research in Europe. International journal of methods in psychiatric research. 2014;23 Suppl 1:1-14.
105. Kessler RC, Berglund P, Demler O, Jin R, Merikangas KR, Walters EE. Lifetime prevalence and age-of-onset distributions of DSM-IV disorders in the National Comorbidity Survey Replication. Archives of general psychiatry. 2005;62(6):593-602.
106. Bandelow B, Michaelis S. Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. Dialogues in clinical neuroscience. 2015;17(3):327-35.
107. Calhoon GG, Tye KM. Resolving the neural circuits of anxiety. Nature neuroscience. 2015;18(10):1394-404.
108. Thibaut F. Anxiety disorders: a review of current literature. Dialogues in clinical neuroscience. 2017;19(2):87-8.
109. Goldberg D, Fawcett J. The importance of anxiety in both major depression and bipolar disorder. Depression and anxiety. 2012;29(6):471-8.
110. Babaev O, Piletti Chatain C, Krueger-Burg D. Inhibition in the amygdala anxiety circuitry. Experimental & molecular medicine. 2018;50(4):18.
111. Bandelow B, Michaelis S, Wedekind D. Treatment of anxiety disorders. Dialogues in clinical neuroscience. 2017;19(2):93-107.
112. Cryan JF, Holmes A. The ascent of mouse: advances in modelling human depression and anxiety. Nature reviews Drug discovery. 2005;4(9):775-90.
113. Duits P, Cath DC, Lissek S, Hox JJ, Hamm AO, Engelhard IM, et al. Updated meta-analysis of classical fear conditioning in the anxiety disorders. Depression and anxiety. 2015;32(4):239-53.

114. Craske MG, Stein MB, Eley TC, Milad MR, Holmes A, Rapee RM, et al. Anxiety disorders. Nature reviews Disease primers. 2017;3:17024.
115. Hilbert K, Lueken U, Beesdo-Baum K. Neural structures, functioning and connectivity in Generalized Anxiety Disorder and interaction with neuroendocrine systems: a systematic review. Journal of affective disorders. 2014;158:114-26.
116. Wager TD, Phan KL, Liberzon I, Taylor SF. Valence, gender, and lateralization of functional brain anatomy in emotion: a meta-analysis of findings from neuroimaging. NeuroImage. 2003;19(3):513-31.
117. Carlson JM, Greenberg T, Rubin D, Mujica-Parodi LR. Feeling anxious: anticipatory amygdalo-insular response predicts the feeling of anxious anticipation. Social cognitive and affective neuroscience. 2011;6(1):74-81.
118. Grupe DW, Nitschke JB. Uncertainty and anticipation in anxiety: an integrated neurobiological and psychological perspective. Nature reviews Neuroscience. 2013;14(7):488-501.
119. Wolff SB, Grundemann J, Tovote P, Krabbe S, Jacobson GA, Muller C, et al. Amygdala interneuron subtypes control fear learning through disinhibition. Nature. 2014;509(7501):453-8.
120. Carrion VG, Weems CF, Watson C, Eliez S, Menon V, Reiss AL. Converging evidence for abnormalities of the prefrontal cortex and evaluation of midsagittal structures in pediatric posttraumatic stress disorder: an MRI study. Psychiatry research. 2009;172(3):226-34.
121. Machado-de-Sousa JP, Osorio Fde L, Jackowski AP, Bressan RA, Chagas MH, Torro-Alves N, et al. Increased amygdalar and hippocampal volumes in young adults with social anxiety. PloS one. 2014;9(2):e88523.
122. Irle E, Ruhleder M, Lange C, Seidler-Brandler U, Salzer S, Dechent P, et al. Reduced amygdalar and hippocampal size in adults with generalized social phobia. Journal of psychiatry & neuroscience : JPN. 2010;35(2):126-31.
123. Adhikari A, Topiwala MA, Gordon JA. Single units in the medial prefrontal cortex with anxiety-related firing patterns are preferentially influenced by ventral hippocampal activity. Neuron. 2011;71(5):898-910.
124. Bannerman DM, Sprengel R, Sanderson DJ, McHugh SB, Rawlins JN, Monyer H, et al. Hippocampal synaptic plasticity, spatial memory and anxiety. Nature reviews Neuroscience. 2014;15(3):181-92.
125. Spindelegger C, Lanzenberger R, Wadsak W, Mien LK, Stein P, Mitterhauser M, et al. Influence of escitalopram treatment on 5-HT 1A receptor binding in limbic regions in patients with anxiety disorders. Molecular psychiatry. 2009;14(11):1040-50.
126. Pignatelli M, Umanah GKE, Ribeiro SP, Chen R, Karuppagounder SS, Yau HJ, et al. Synaptic Plasticity onto Dopamine Neurons Shapes Fear Learning. Neuron. 2017;93(2):425-40.
127. Moreno-Rius J. The cerebellum in fear and anxiety-related disorders. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2018;85:23-32.
128. Makkar SR, Zhang SQ, Cranney J. Behavioral and neural analysis of GABA in the acquisition, consolidation, reconsolidation, and extinction of fear memory. Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology. 2010;35(8):1625-52.
129. Courtin J, Bienvenu TC, Einarsson EO, Herry C. Medial prefrontal cortex neuronal circuits in fear behavior. Neuroscience. 2013;240:219-42.
130. Holmes NM, Parkes SL, Killcross AS, Westbrook RF. The basolateral amygdala is critical for learning about neutral stimuli in the presence of danger, and the perirhinal cortex is critical in the absence of danger. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2013;33(32):13112-25.
131. Rickels K, Rynn M. Pharmacotherapy of generalized anxiety disorder. The Journal of clinical psychiatry. 2002;63 Suppl 14:9-16.
132. Castren E. Is mood chemistry? Nature reviews Neuroscience. 2005;6(3):241-6.
133. Gunduz-Cinar O, Flynn S, Brockway E, Kaugars K, Baldi R, Ramikie TS, et al. Fluoxetine Facilitates Fear Extinction Through Amygdala Endocannabinoids. 2016;41(6):1598-609.
134. Millan MJ. Serotonin 5-HT2C receptors as a target for the treatment of depressive and anxious states: focus on novel therapeutic strategies. Therapie. 2005;60(5):441-60.

135. Critchley MA, Handley SL. Effects in the X-maze anxiety model of agents acting at 5-HT1 and 5-HT2 receptors. Psychopharmacology. 1987;93(4):502-6.
136. Griebel G, Perrault G, Sanger DJ. A comparative study of the effects of selective and non-selective 5-HT2 receptor subtype antagonists in rat and mouse models of anxiety. Neuropharmacology. 1997;36(6):793-802.
137. Quesseveur G, Nguyen HT, Gardier AM, Guiard BP. 5-HT2 ligands in the treatment of anxiety and depression. Expert opinion on investigational drugs. 2012;21(11):1701-25.
138. Liu Y, Zhao J, Guo W. Emotional Roles of Mono-Aminergic Neurotransmitters in Major Depressive Disorder and Anxiety Disorders. Frontiers in psychology. 2018;9:2201.
139. Pyke RE, Greenberg HS. Norepinephrine challenges in panic patients. Journal of clinical psychopharmacology. 1986;6(5):279-85.
140. Reader BF, Jarrett BL, McKim DB, Wohleb ES, Godbout JP, Sheridan JF. Peripheral and central effects of repeated social defeat stress: monocyte trafficking, microglial activation, and anxiety. Neuroscience. 2015;289:429-42.
141. Blier P, Briley M. The noradrenergic symptom cluster: clinical expression and neuropharmacology. Neuropsychiatric disease and treatment. 2011;7(Suppl 1):15-20.
142. Montoya A, Bruins R, Katzman MA, Blier P. The noradrenergic paradox: implications in the management of depression and anxiety. Neuropsychiatric disease and treatment. 2016;12:541-57.
143. Charney DS, Heninger GR, Redmond DE, Jr. Yohimbine induced anxiety and increased noradrenergic function in humans: effects of diazepam and clonidine. Life sciences. 1983;33(1):19-29.
144. Vicario CM, Rafal RD, Martino D, Avenanti A. Core, social and moral disgust are bounded: A review on behavioral and neural bases of repugnance in clinical disorders. Neuroscience and biobehavioral reviews. 2017;80:185-200.
145. Zarrindast MR, Nasehi M, Pournaghshband M, Yekta BG. Dopaminergic system in CA1 modulates MK-801 induced anxiolytic-like responses. Pharmacology, biochemistry, and behavior. 2012;103(1):102-10.
146. de la Mora MP, Gallegos-Cari A, Arizmendi-Garcia Y, Marcellino D, Fuxe K. Role of dopamine receptor mechanisms in the amygdaloid modulation of fear and anxiety: Structural and functional analysis. Progress in neurobiology. 2010;90(2):198-216.
147. Uzbay T. Anksiyete ve Depresyonun Nörobiyolojisi. Klinik Psikiyatri 2004;Ek 4:3-11.
148. Mineur YS, Obayemi A, Wigestrand MB, Fote GM, Calarco CA, Li AM, et al. Cholinergic signaling in the hippocampus regulates social stress resilience and anxiety- and depression-like behavior. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2013;110(9):3573-8.
149. Higley MJ, Picciotto MR. Neuromodulation by acetylcholine: examples from schizophrenia and depression. Current opinion in neurobiology. 2014;29:88-95.
150. Esplugues JV. NO as a signalling molecule in the nervous system. British journal of pharmacology. 2002;135(5):1079-95.
151. Anand P, Stamler JS. Enzymatic mechanisms regulating protein S-nitrosylation: implications in health and disease. Journal of molecular medicine (Berlin, Germany). 2012;90(3):233-44.
152. Pitsikas N. The role of nitric oxide (NO) donors in anxiety. Lights and shadows. Nitric oxide : biology and chemistry. 2018;77:6-11.
153. Alderton WK, Cooper CE, Knowles RG. Nitric oxide synthases: structure, function and inhibition. The Biochemical journal. 2001;357(Pt 3):593-615.
154. Tanaka M, Ikeda T, Hayashi S, Iijima N, Amaya F, Hisa Y, et al. Nitrergic neurons in the medial amygdala project to the hypothalamic paraventricular nucleus of the rat. Brain research. 1997;777(1-2):13-21.
155. Forestiero D, Manfrim CM, Guimaraes FS, de Oliveira RM. Anxiolytic-like effects induced by nitric oxide synthase inhibitors microinjected into the medial amygdala of rats. Psychopharmacology. 2006;184(2):166-72.
156. Nakashima MN, Ajiki K, Nakashima K, Takahashi M. Possible role of nitric oxide in anxiety following transient cerebral ischemia in mice. Journal of pharmacological sciences. 2003;91(1):47-52.

157. Kinch MS, Haynesworth A, Kinch SL, Hoyer D. An overview of FDA-approved new molecular entities: 1827-2013. Drug discovery today. 2014;19(8):1033-9.
158. Baldwin DS, den Boer JA, Lyndon G, Emir B, Schweizer E, Haswell H. Efficacy and safety of pregabalin in generalised anxiety disorder: A critical review of the literature. Journal of psychopharmacology (Oxford, England). 2015;29(10):1047-60.
159. Paulus MP, Feinstein JS, Castillo G, Simmons AN, Stein MB. Dose-dependent decrease of activation in bilateral amygdala and insula by lorazepam during emotion processing. Archives of general psychiatry. 2005;62(3):282-8.
160. Bourin M. Animal models of anxiety: are they suitable for predicting drug action in humans? Polish journal of pharmacology. 1997;49(2-3):79-84.
161. Stahl SM. Don't ask, don't tell, but benzodiazepines are still the leading treatments for anxiety disorder. The Journal of clinical psychiatry. 2002;63(9):756-7.
162. Katzman MA, Bleau P, Blier P, Chokka P, Kjernisted K, Van Ameringen M, et al. Canadian clinical practice guidelines for the management of anxiety, posttraumatic stress and obsessive-compulsive disorders. BMC psychiatry. 2014;14 Suppl 1:S1.
163. Pneumocystis pneumonia--Los Angeles. MMWR Morbidity and mortality weekly report. 1981;30(21):250-2.
164. du Bois RM, Branthwaite MA, Mikhail JR, Batten JC. Primary Pneumocystis carinii and cytomegalovirus infections. Lancet (London, England). 1981;2(8259):1339.
165. Barre-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science (New York, NY). 1983;220(4599):868-71.
166. Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, Shearer GM, Kaplan M, Haynes BF, et al. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. Science (New York, NY). 1984;224(4648):500-3.
167. Coffin J, Haase A, Levy JA, Montagnier L, Oroszlan S, Teich N, et al. Human immunodeficiency viruses. Science (New York, NY). 1986;232(4751):697.
168. Gallo RC. Historical essay. The early years of HIV/AIDS. Science (New York, NY). 2002;298(5599):1728-30.
169. Sepkowitz KA. AIDS--the first 20 years. The New England journal of medicine. 2001;344(23):1764-72.
170. Zhu T, Korber BT, Nahmias AJ, Hooper E, Sharp PM, Ho DD. An African HIV-1 sequence from 1959 and implications for the origin of the epidemic. Nature. 1998;391(6667):594-7.
171. UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics — 2019 fact sheet. JULY 2019.
172. UNAIDS. Global HIV & AIDS statistics — 2017 fact sheet. JULY 2017.
173. http://apps.who.int/gho/data/view.main.22100WHO?lang=en.
174. https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/Bulasici-hastaliklar-db/hastaliklar/HIV-ADS/Tani-Tedavi_Rehberi/HIV_AIDS_Kontrol_Programi.pdf
175. De Cock KM, Adjorlolo G, Ekpini E, Sibailly T, Kouadio J, Maran M, et al. Epidemiology and transmission of HIV-2. Why there is no HIV-2 pandemic. Jama. 1993;270(17):2083-6.
176. Bannister WP, Ruiz L, Loveday C, Vella S, Zilmer K, Kjaer J, et al. HIV-1 subtypes and response to combination antiretroviral therapy in Europe. Antiviral therapy. 2006;11(6):707-15.
177. Sharp PM, Bailes E, Robertson DL, Gao F, Hahn BH. Origins and evolution of AIDS viruses. The Biological bulletin. 1999;196(3):338-42.
178. Plantier JC, Leoz M, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, Lemee V, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. Nature medicine. 2009;15(8):871-2.
179. Fassati A, Goff SP. Characterization of intracellular reverse transcription complexes of Moloney murine leukemia virus. Journal of virology. 1999;73(11):8919-25.
180. Sundquist WI, Kräusslich HG. HIV-1 assembly, budding, and maturation. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012;2(7):a006924. .
181. Lifson JD, Engleman EG. Role of CD4 in normal immunity and HIV infection. Immunological reviews. 1989;109:93-117.

182. Deng H, Liu R, Ellmeier W, Choe S, Unutmaz D, Burkhart M, et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. Nature. 1996;381(6584):661-6.
183. Maddon PJ, Dalgleish AG, McDougal JS, Clapham PR, Weiss RA, Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. Cell. 1986;47(3):333-48.
184. Wilen CB, Tilton JC, Doms RW. HIV: cell binding and entry. Cold Spring Harbor perspectives in medicine. 2012;2(8).
185. Baltimore D. RNA-dependent DNA polymerase in virions of RNA tumour viruses. Nature. 1970;226(5252):1209-11.
186. Whitcomb JM, Kumar R, Hughes SH. Sequence of the circle junction of human immunodeficiency virus type 1: implications for reverse transcription and integration. Journal of virology. 1990;64(10):4903-6.
187. Forshey BM, von Schwedler U, Sundquist WI, Aiken C. Formation of a human immunodeficiency virus type 1 core of optimal stability is crucial for viral replication. Journal of virology. 2002;76(11):5667-77.
188. Dale BM, McNerney GP, Thompson DL, Hubner W, de Los Reyes K, Chuang FY, et al. Cell-to-cell transfer of HIV-1 via virological synapses leads to endosomal virion maturation that activates viral membrane fusion. Cell host & microbe. 2011;10(6):551-62.
189. Patel P, Borkowf CB, Brooks JT, Lasry A, Lansky A, Mermin J. Estimating per-act HIV transmission risk: a systematic review. AIDS (London, England). 2014;28(10):1509-19.
190. Levy JA. HIV pathogenesis: 25 years of progress and persistent challenges. AIDS (London, England). 2009;23(2):147-60.
191. Bofill M, Janossy G, Lee CA, MacDonald-Burns D, Phillips AN, Sabin C, et al. Laboratory control values for CD4 and CD8 T lymphocytes. Implications for HIV-1 diagnosis. Clinical and experimental immunology. 1992;88(2):243-52.
192. Gilks CF, Crowley S, Ekpini R, Gove S, Perriens J, Souteyrand Y, et al. The WHO public-health approach to antiretroviral treatment against HIV in resource-limited settings. Lancet (London, England). 2006;368(9534):505-10.
193. Chaves MM, Kallas EG. Cell cycle distribution of CD4+ lymphocytes in HIV-1-infected subjects. Cytometry Part B, Clinical cytometry. 2004;62(1):46-51.
194. UNAIDS. Fact sheet - Latest statistics on the status of the AIDS epidemic. 2017: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_en.pdf.
195. UNAIDS. 90–90-90: An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. Geneva, Switzerland: The Joint United Nations Programme on HIV/AIDS; 2014.
196. Concorde: MRC/ANRS randomised double-blind controlled trial of immediate and deferred zidovudine in symptom-free HIV infection. Concorde Coordinating Committee. Lancet (London, England). 1994;343(8902):871-81.
197. Hammer SM, Squires KE, Hughes MD, Grimes JM, Demeter LM, Currier JS, et al. A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team. The New England journal of medicine. 1997;337(11):725-33.
198. Deeks SG, Lewin SR, Havlir DV. The end of AIDS: HIV infection as a chronic disease. Lancet (London, England). 2013;382(9903):1525-33.
199. de Bethune MP. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs), their discovery, development, and use in the treatment of HIV-1 infection: a review of the last 20 years (1989-2009). Antiviral research. 2010;85(1):75-90.
200. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2018. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents Living with HIV. Department of Health and Human Services. https://aidsinfo.nih.gov/guidelines.
201. Ncube S, Madikizela LM, Chimuka L, Nindi MM. Environmental fate and ecotoxicological effects of antiretrovirals: A current global status and future perspectives. Water research. 2018;145:231-47.
202. WHO. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Recommendations for a public health approach (2016).

203. Woollard SM, Kanmogne GD. Maraviroc: a review of its use in HIV infection and beyond. Drug design, development and therapy. 2015;9:5447-68.
204. Kilby JM, Hopkins S, Venetta TM, DiMassimo B, Cloud GA, Lee JY, et al. Potent suppression of HIV-1 replication in humans by T-20, a peptide inhibitor of gp41-mediated virus entry. Nature medicine. 1998;4(11):1302-7.
205. Abdel-Magid AF. Treatment of HIV Infections with HIV Integrase Inhibitors. ACS medicinal chemistry letters. 2017;8(1):7-8.
206. Park TE, Mohamed A, Kalabalik J, Sharma R. Review of integrase strand transfer inhibitors for the treatment of human immunodeficiency virus infection. Expert review of anti-infective therapy. 2015;13(10):1195-212.
207. Hare S, Smith SJ, Metifiot M, Jaxa-Chamiec A, Pommier Y, Hughes SH, et al. Structural and functional analyses of the second-generation integrase strand transfer inhibitor dolutegravir (S/GSK1349572). Molecular pharmacology. 2011;80(4):565-72.
208. Abers MS, Shandera WX, Kass JS. Neurological and psychiatric adverse effects of antiretroviral drugs. CNS drugs. 2014;28(2):131-45.
209. Soontornniyomkij V, Umlauf A, Chung SA, Cochran ML, Soontornniyomkij B, Gouaux B, et al. HIV protease inhibitor exposure predicts cerebral small vessel disease. AIDS (London, England). 2014;28(9):1297-306.
210. Beach JW. Chemotherapeutic agents for human immunodeficiency virus infection: mechanism of action, pharmacokinetics, metabolism, and adverse reactions. Clinical therapeutics. 1998;20(1):2-25; discussion l.
211. Nolan D, Mallal S. Complications associated with NRTI therapy: update on clinical features and possible pathogenic mechanisms. Antiviral therapy. 2004;9(6):849-63.
212. Peletskaya EN, Kogon AA, Tuske S, Arnold E, Hughes SH. Nonnucleoside inhibitor binding affects the interactions of the fingers subdomain of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase with DNA. Journal of virology. 2004;78(7):3387-97.
213. Desai M, Iyer G, Dikshit RK. Antiretroviral drugs: critical issues and recent advances. Indian journal of pharmacology. 2012;44(3):288-98.
214. Vijayan RS AE, Das K. Molecular dynamics study of HIV-1 RT-DNA-nevirapine complexes explains NNRTI inhibition and resistance by connection mutations. Proteins. 2014;82(5):815-29.
215. Sobrino-Jimenez C, Jimenez-Nacher I, Moreno-Ramos F, Gonzalez-Fernandez MA, Freire-Gonzalez M, Gonzalez-Garcia J, et al. Analysis of antiretroviral therapy modification in routine clinical practice in the management of HIV infection. European journal of hospital pharmacy : science and practice. 2017;24(2):96-100.
216. Battini L, Bollini M. Challenges and approaches in the discovery of human immunodeficiency virus type-1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. 2019;39(4):1235-73.
217. Gallant JE, DeJesus E, Arribas JR, Pozniak AL, Gazzard B, Campo RE, et al. Tenofovir DF, emtricitabine, and efavirenz vs. zidovudine, lamivudine, and efavirenz for HIV. The New England journal of medicine. 2006;354(3):251-60.
218. De Clercq E. Antiviral drugs: current state of the art. Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology. 2001;22(1):73-89.
219. Usach I, Melis V, Peris JE. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: a review on pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability. Journal of the International AIDS Society. 2013;16:1-14.
220. Maurin MB, Rowe SM, Blom K, Pierce ME. Kinetics and mechanism of hydrolysis of efavirenz. Pharmaceutical research. 2002;19(4):517-21.
221. Gao J, Hussain MA, Motheram R, Gray DA, Benedek IH, Fiske WD, et al. Investigation of human pharmacoscintigraphic behavior of two tablets and a capsule formulation of a high dose, poorly water soluble/highly permeable drug (efavirenz). Journal of pharmaceutical sciences. 2007;96(11):2970-7.
222. da Costa MA SR, Rodrigues CR, Hoffmeister CR, Cabral LM, Rocha HV. Efavirenz dissolution enhancement I: co-micronization. Pharmaceutics. 2012;5(1):1-22.

223. Gunthard HF, Saag MS, Benson CA, del Rio C, Eron JJ, Gallant JE, et al. Antiretroviral Drugs for Treatment and Prevention of HIV Infection in Adults: 2016 Recommendations of the International Antiviral Society-USA Panel. Jama. 2016;316(2):191-210.
224. https://www.fda.gov/patients/hiv-timeline-and-history-approvals/hivaids-historical-time-line-2000-2010#2006.
225. Geretti AM, Tsakiroglou M. HIV: new drugs, new guidelines. Current opinion in infectious diseases. 2014;27(6):545-53.
226. The United Republic of Tanzania. National guidelines for the management of HIV and AIDS,2009; 3rd Edition: 131-76.
227. Almond LM, Hoggard PG, Edirisinghe D, Khoo SH, Back DJ. Intracellular and plasma pharmacokinetics of efavirenz in HIV-infected individuals. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2005;56(4):738-44.
228. Dellamonica P, Di Perri G, Garraffo R. NNRTIs: pharmacological data. Medecine et maladies infectieuses. 2012;42(7):287-95.
229. Sutterlin S, Vogele C, Gauggel S. Neuropsychiatric complications of efavirenz therapy: suggestions for a new research paradigm. The Journal of neuropsychiatry and clinical neurosciences. 2010;22(4):361-9.
230. Naidoo P, Chetty VV, Chetty M. Impact of CYP polymorphisms, ethnicity and sex differences in metabolism on dosing strategies: the case of efavirenz. European journal of clinical pharmacology. 2014;70(4):379-89.
231. Bristol-Myers Squibb Company. Sustiva® prescribing information. 2009 http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/archives/fdaDrugInfo.cfm?archiveid=10348#section-4.1.
232. Tashima KT, Caliendo AM, Ahmad M, Gormley JM, Fiske WD, Brennan JM, et al. Cerebrospinal fluid human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) suppression and efavirenz drug concentrations in HIV-1-infected patients receiving combination therapy. The Journal of infectious diseases. 1999;180(3):862-4.
233. Dirson G, Fernandez C, Hindlet P, Roux F, German-Fattal M, Gimenez F, et al. Efavirenz does not interact with the ABCB1 transporter at the blood-brain barrier. Pharmaceutical research. 2006;23(7):1525-32.
234. Food and Drug Administration [Accessed March 10, 2014];Sustiva (Product Label) 2013 at http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/020972s043,021360s031lbl.pdf.
235. Smith PF, DiCenzo R, Morse GD. Clinical pharmacokinetics of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. Clinical pharmacokinetics. 2001;40(12):893-905.
236. Adkins JC, Noble S. Efavirenz. Drugs. 1998;56(6):1055-64; discussion 65-6.
237. Robertson SM, Maldarelli F, Natarajan V, Formentini E, Alfaro RM, Penzak SR. Efavirenz induces CYP2B6-mediated hydroxylation of bupropion in healthy subjects. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2008;49(5):513-9.
238. Katzung, B.G (2004). Basic and Clinical Pharmacology (9th edition). USA: McGraw-Hill, 818.
239. Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA, Greub G, Biollaz J, Buclin T. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. AIDS (London, England). 2001;15(1):71-5.
240. Robertson SM, Penzak SR, Lane J, Pau AK, Mican JM. A potentially significant interaction between efavirenz and phenytoin: a case report and review of the literature. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2005;41(2):e15-8.
241. Piscitelli SC, Gallicano KD. Interactions among drugs for HIV and opportunistic infections. The New England journal of medicine. 2001;344(13):984-96.
242. Ngaimisi E, Mugusi S, Minzi O, Sasi P, Riedel KD, Suda A, et al. Effect of rifampicin and CYP2B6 genotype on long-term efavirenz autoinduction and plasma exposure in HIV patients with or without tuberculosis. Clinical pharmacology and therapeutics. 2011;90(3):406-13.
243. http://hivinsite.ucsf.edu/insite?page=ar-00-02&param=9&post=4.
244. Manfredi R, Calza L, Chiodo F. An extremely different dysmetabolic profile between the two available nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors: efavirenz and nevirapine. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2005;38(2):236-8.

245. Perez-Molina JA, Domingo P, Martinez E, Moreno S. The role of efavirenz compared with protease inhibitors in the body fat changes associated with highly active antiretroviral therapy. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2008;62(2):234-45.
246. Best BM, Goicoechea M. Efavirenz--still first-line king? Expert opinion on drug metabolism & toxicology. 2008;4(7):965-72.
247. Sulkowski MS, Thomas DL, Mehta SH, Chaisson RE, Moore RD. Hepatotoxicity associated with nevirapine or efavirenz-containing antiretroviral therapy: role of hepatitis C and B infections. Hepatology (Baltimore, Md). 2002;35(1):182-9.
248. Bruck S, Witte S, Brust J, Schuster D, Mosthaf F, Procaccianti M, et al. Hepatotoxicity in patients prescribed efavirenz or nevirapine. European journal of medical research. 2008;13(7):343-8.
249. Blas-Garcia A, Apostolova N, Ballesteros D, Monleon D, Morales JM, Rocha M, et al. Inhibition of mitochondrial function by efavirenz increases lipid content in hepatic cells. Hepatology (Baltimore, Md). 2010;52(1):115-25.
250. Maggiolo F. Efavirenz: a decade of clinical experience in the treatment of HIV. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2009;64(5):910-28.
251. Shikuma CM, Yang Y, Glesby MJ, Meyer WA, 3rd, Tashima KT, Ribaudo HJ, et al. Metabolic effects of protease inhibitor-sparing antiretroviral regimens given as initial treatment of HIV-1 Infection (AIDS Clinical Trials Group Study A5095). Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2007;44(5):540-50.
252. El Hadri K, Glorian M, Monsempes C, Dieudonne MN, Pecquery R, Giudicelli Y, et al. In vitro suppression of the lipogenic pathway by the nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz in 3T3 and human preadipocytes or adipocytes. The Journal of biological chemistry. 2004;279(15):15130-41.
253. Sato N. Central role of mitochondria in metabolic regulation of liver pathophysiology. Journal of gastroenterology and hepatology. 2007;22 Suppl 1:S1-6.
254. Pessayre D, Mansouri A, Haouzi D, Fromenty B. Hepatotoxicity due to mitochondrial dysfunction. Cell biology and toxicology. 1999;15(6):367-73.
255. De Santis M, Carducci B, De Santis L, Cavaliere AF, Straface G. Periconceptional exposure to efavirenz and neural tube defects. Archives of internal medicine. 2002;162(3):355.
256. Saitoh A, Hull AD, Franklin P, Spector SA. Myelomeningocele in an infant with intrauterine exposure to efavirenz. Journal of perinatology : official journal of the California Perinatal Association. 2005;25(8):555-6.
257. DuPont Pharmaceuticals. Product Information Sustiva. Efavirenz. Wilmington, DE: DuPont Pharmaceuticals, 1998.
258. Scourfield A, Zheng J, Chinthapalli S, Waters L, Martin T, Mandalia S, et al. Discontinuation of Atripla as first-line therapy in HIV-1 infected individuals. AIDS (London, England). 2012;26(11):1399-401.
259. Gazzard BG. Efavirenz in the management of HIV infection. International journal of clinical practice. 1999;53(1):60-4.
260. Kenedi CA, Goforth HW. A systematic review of the psychiatric side-effects of efavirenz. AIDS and behavior. 2011;15(8):1803-18.
261. Clifford DB, Evans S, Yang Y, Acosta EP, Goodkin K, Tashima K, et al. Impact of efavirenz on neuropsychological performance and symptoms in HIV-infected individuals. Annals of internal medicine. 2005;143(10):714-21.
262. Leutscher PD, Stecher C, Storgaard M, Larsen CS. Discontinuation of efavirenz therapy in HIV patients due to neuropsychiatric adverse effects. Scandinavian journal of infectious diseases. 2013;45(8):645-51.
263. Fumaz CR, Munoz-Moreno JA, Molto J, Negredo E, Ferrer MJ, Sirera G, et al. Long-term neuropsychiatric disorders on efavirenz-based approaches: quality of life, psychologic issues, and adherence. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2005;38(5):560-5.
264. Fumaz CR, Tuldra A, Ferrer MJ, Paredes R, Bonjoch A, Jou T, et al. Quality of life, emotional status, and adherence of HIV-1-infected patients treated with efavirenz versus protease inhibitor-containing regimens. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2002;29(3):244-53.

265. Gaida R, Truter I, Grobler C. Incidence of neuropsychiatric side effects of efavirenz in HIV-positive treatment-naive patients in public-sector clinics in the Eastern Cape. Southern African journal of HIV medicine. 2016;17(1):452.
266. Wyl V, Gianella S, Fischer M, Niederoest B, Kuster H, Battegay M, et al. Early antiretroviral therapy during primary HIV-1 infection results in a transient reduction of the viral setpoint upon treatment interruption. PloS one. 2011;6(11):e27463.
267. Bartlett JA, Johnson J, Herrera G, Sosa N, Rodriguez A, Liao Q, et al. Long-term results of initial therapy with abacavir and Lamivudine combined with Efavirenz, Amprenavir/Ritonavir, or Stavudine. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2006;43(3):284-92.
268. Squires K, Lazzarin A, Gatell JM, Powderly WG, Pokrovskiy V, Delfraissy JF, et al. Comparison of once-daily atazanavir with efavirenz, each in combination with fixed-dose zidovudine and lamivudine, as initial therapy for patients infected with HIV. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2004;36(5):1011-9.
269. Staszewski S, Morales-Ramirez J, Tashima KT, Rachlis A, Skiest D, Stanford J, et al. Efavirenz plus zidovudine and lamivudine, efavirenz plus indinavir, and indinavir plus zidovudine and lamivudine in the treatment of HIV-1 infection in adults. Study 006 Team. The New England journal of medicine. 1999;341(25):1865-73.
270. Hawkins T, Geist C, Young B, Giblin A, Mercier RC, Thornton K, et al. Comparison of neuropsychiatric side effects in an observational cohort of efavirenz- and protease inhibitor-treated patients. HIV clinical trials. 2005;6(4):187-96.
271. Rihs TA, Begley K, Smith DE, Sarangapany J, Callaghan A, Kelly M, et al. Efavirenz and chronic neuropsychiatric symptoms: a cross-sectional case control study. HIV medicine. 2006;7(8):544-8.
272. Spire B, Carrieri P, Garzot MA, L'Henaff M, Obadia Y. Factors associated with efavirenz discontinuation in a large community-based sample of patients. AIDS care. 2004;16(5):558-64.
273. Boly L, Cafaro V, Dyner T. Depressive symptoms predict increased incidence of neuropsychiatric side effects in patients treated with efavirenz. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2006;42(4):514-5.
274. Perez-Molina JA. Safety and tolerance of efavirenz in different antiretroviral regimens: results from a national multicenter prospective study in 1,033 HIV-infected patients. HIV clinical trials. 2002;3(4):279-86.
275. Gazzard B, Balkin A, Hill A. Analysis of neuropsychiatric adverse events during clinical trials of efavirenz in antiretroviral-naive patients: a systematic review. AIDS reviews. 2010;12(2):67-75.
276. Kryst J, Kawalec P, Pilc A. Efavirenz-Based Regimens in Antiretroviral-Naive HIV-Infected Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. PloS one. 2015;10(5):e0124279.
277. Lochet P, Peyriere H, Lotthe A, Mauboussin JM, Delmas B, Reynes J. Long-term assessment of neuropsychiatric adverse reactions associated with efavirenz. HIV medicine. 2003;4(1):62-6.
278. National Consolidated Guidelines for the Prevention of Mother-to-child Transmission of HIV (PMTCT) and the Management of HIV in Children, Adolescents and Adults. 2014. Pretoria: National Department of Health, 2014.
279. Clinical Guidelines for the Management of HIV and AIDS in Adults and Adolescents. Pretoria: National Department of Health, 2010.
280. Haas DW, Ribaudo HJ, Kim RB, Tierney C, Wilkinson GR, Gulick RM, et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects: an Adult AIDS Clinical Trials Group study. AIDS (London, England). 2004;18(18):2391-400.
281. Gutierrez F, Navarro A, Padilla S, Anton R, Masia M, Borras J, et al. Prediction of neuropsychiatric adverse events associated with long-term efavirenz therapy, using plasma drug level monitoring. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2005;41(11):1648-53.
282. van Luin M, Brouwer AM, van der Ven A, de Lange W, van Schaik RH, Burger DM. Efavirenz dose reduction to 200 mg once daily in a patient treated with rifampicin. AIDS (London, England). 2009;23(6):742-4.

283. Aouri M, Barcelo C, Ternon B, Cavassini M, Anagnostopoulos A, Yerly S, et al. In Vivo Profiling and Distribution of Known and Novel Phase I and Phase II Metabolites of Efavirenz in Plasma, Urine, and Cerebrospinal Fluid. Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals. 2016;44(1):151-61.
284. Apostolova N, Funes HA, Blas-Garcia A, Galindo MJ, Alvarez A, Esplugues JV. Efavirenz and the CNS: what we already know and questions that need to be answered. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2015;70(10):2693-708.
285. Tashima K, Staszewski S, Nelson M, Rachlis A, Skiest D, Stryker R, et al. Efficacy and tolerability of long-term efavirenz plus nucleoside reverse transcriptase inhibitors for HIV-1 infection. AIDS (London, England). 2008;22(2):275-9.
286. Gutierrez-Valencia A, Viciana P, Palacios R, Ruiz-Valderas R, Lozano F, Terron A, et al. Stepped-dose versus full-dose efavirenz for HIV infection and neuropsychiatric adverse events: a randomized trial. Annals of internal medicine. 2009;151(3):149-56.
287. Shah MD, Balderson K. A manic episode associated with efavirenz therapy for HIV infection. AIDS (London, England). 2003;17(11):1713-4.
288. Gutierrez F, Garcia L, Padilla S, Alvarez D, Moreno S, Navarro G, et al. Risk of clinically significant depression in HIV-infected patients: effect of antiretroviral drugs. HIV medicine. 2014;15(4):213-23.
289. European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. European Public Assessment Report: summary of product characteristics, SUSTIVA. 2009. Available at: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000249/WC500058311.pdf
290. Mollan KR, Smurzynski M, Eron JJ, Daar ES, Campbell TB, Sax PE, et al. Association between efavirenz as initial therapy for HIV-1 infection and increased risk for suicidal ideation or attempted or completed suicide: an analysis of trial data. Annals of internal medicine. 2014;161(1):1-10.
291. Marcellin F, Moh R, Carrieri MP, Danel C, Protopopescu C, Gabillard D, et al. Depressive symptoms and exposure to efavirenz in West African HIV-infected adults. HIV clinical trials. 2008;9(6):445-7.
292. Journot V, Chene G, De Castro N, Rancinan C, Cassuto JP, Allard C, et al. Use of efavirenz is not associated with a higher risk of depressive disorders: a substudy of the randomized clinical trial ALIZE-ANRS 099. Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. 2006;42(12):1790-9.
293. Ward DJ, Curtin JM. Switch from efavirenz to nevirapine associated with resolution of efavirenz-related neuropsychiatric adverse events and improvement in lipid profiles. AIDS patient care and STDs. 2006;20(8):542-8.
294. Welch KJ, Morse A. Association between efavirenz and selected psychiatric and neurological conditions. The Journal of infectious diseases. 2002;185(2):268-9.
295. Pedrol E, Llibre JM, Tasias M, Curran A, Guardiola JM, Deig E, et al. Outcome of neuropsychiatric symptoms related to an antiretroviral drug following its substitution by nevirapine: the RELAX study. HIV medicine. 2015;16(10):628-34.
296. Chang JL, Lee SA, Tsai AC, Musinguzi N, Muzoora C, Bwana B, et al. CYP2B6 Genetic Polymorphisms, Depression, and Viral Suppression in Adults Living with HIV Initiating Efavirenz-Containing Antiretroviral Therapy Regimens in Uganda: Pooled Analysis of Two Prospective Studies. AIDS research and human retroviruses. 2018;34(11):982-92.
297. Gounden V, van Niekerk C, Snyman T, George JA. Presence of the CYP2B6 516G> T polymorphism, increased plasma Efavirenz concentrations and early neuropsychiatric side effects in South African HIV-infected patients. AIDS research and therapy. 2010;7:32.
298. Mathiesen S, Justesen US, Von Luttichau HR, Hansen AB. Genotyping of CYP2B6 and therapeutic drug monitoring in an HIV-infected patient with high efavirenz plasma concentrations and severe CNS side-effects. Scandinavian journal of infectious diseases. 2006;38(8):733-5.
299. Swart M, Skelton M, Ren Y, Smith P, Takuva S, Dandara C. High predictive value of CYP2B6 SNPs for steady-state plasma efavirenz levels in South African HIV/AIDS patients. Pharmacogenetics and genomics. 2013;23(8):415-27.

300. Brandmann M, Nehls U, Dringen R. 8-Hydroxy-efavirenz, the primary metabolite of the antiretroviral drug Efavirenz, stimulates the glycolytic flux in cultured rat astrocytes. Neurochemical research. 2013;38(12):2524-34.
301. Tovar-y-Romo LB, Bumpus NN, Pomerantz D, Avery LB, Sacktor N, McArthur JC, et al. Dendritic spine injury induced by the 8-hydroxy metabolite of efavirenz. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 2012;343(3):696-703.
302. Grilo NM, Correia MJ, Sequeira C, Harjivan SG, Caixas U, Diogo LN, et al. Efavirenz biotransformation as an up-stream event of mood changes in HIV-infected patients. Toxicology letters. 2016;260:28-35.
303. Everall IP, Drummond S, Catalan J. Guidelines for the prescribing of medication for mental health disorders for people with HIV infection (Draft) (Council Report CR127). London: Royal College of Psychiatrists 2004.
304. Treisman GJ, Kaplin AI. Neurologic and psychiatric complications of antiretroviral agents. AIDS (London, England). 2002;16(9):1201-15.
305. Clifford DB, Evans S, Yang Y, Acosta EP, Ribaudo H, Gulick RM. Long-term impact of efavirenz on neuropsychological performance and symptoms in HIV-infected individuals (ACTG 5097s). HIV clinical trials. 2009;10(6):343-55.
306. Damsa C, Bandelier C, Maris S, Lazignac C, Vidailhet P, Andreoli A, et al. Recurrence of post-traumatic stress disorder and antiretrovirals. Scandinavian journal of infectious diseases. 2005;37(4):313-6.
307. Moreno A, Labelle C, Samet JH. Recurrence of post-traumatic stress disorder symptoms after initiation of antiretrovirals including efavirenz: a report of two cases. HIV medicine. 2003;4(3):302-4.
308. Steffens DC, Plassman BL, Helms MJ, Welsh-Bohmer KA, Saunders AM, Breitner JC. A twin study of late-onset depression and apolipoprotein E epsilon 4 as risk factors for Alzheimer's disease. Biological psychiatry. 1997;41(8):851-6.
309. Leonard BE, Myint A. Inflammation and depression: is there a causal connection with dementia? Neurotoxicity research. 2006;10(2):149-60.
310. Lee JA. Neuronal autophagy: a housekeeper or a fighter in neuronal cell survival? Experimental neurobiology. 2012;21(1):1-8.
311. Blas-Garcia A, Polo M, Alegre F, Funes HA, Martinez E, Apostolova N, et al. Lack of mitochondrial toxicity of darunavir, raltegravir and rilpivirine in neurons and hepatocytes: a comparison with efavirenz. The Journal of antimicrobial chemotherapy. 2014;69(11):2995-3000.
312. Blas-García A, Ballesteros D, Monleón D, Morales J, Rocha M, Víctor V, et al. Efavirenz induces alterations in lipid metabolism through AMPK activation. Journal of the International AIDS Society. 2008;11(1):P120.
313. Streck EL, Scaini G, Rezin GT, Moreira J, Fochesato CM, Romao PR. Effects of the HIV treatment drugs nevirapine and efavirenz on brain creatine kinase activity. Metabolic brain disease. 2008;23(4):485-92.
314. Sen T, Sen N, Jana S, Khan FH, Chatterjee U, Chakrabarti S. Depolarization and cardiolipin depletion in aged rat brain mitochondria: relationship with oxidative stress and electron transport chain activity. Neurochemistry international. 2007;50(5):719-25.
315. Wallimann T, Wyss M, Brdiczka D, Nicolay K, Eppenberger HM. Intracellular compartmentation, structure and function of creatine kinase isoenzymes in tissues with high and fluctuating energy demands: the 'phosphocreatine circuit' for cellular energy homeostasis. The Biochemical journal. 1992;281 (Pt 1):21-40.
316. Brandmann M, Tulpule K, Schmidt MM, Dringen R. The antiretroviral protease inhibitors indinavir and nelfinavir stimulate Mrp1-mediated GSH export from cultured brain astrocytes. Journal of neurochemistry. 2012;120(1):78-92.
317. de Oliveira HM, Damiani AP, Dias Rde O, Romao PR, Andrade VM. Effect of antiretroviral drugs on the DNA damage in mice. Environmental toxicology and pharmacology. 2014;37(1):390-5.
318. Bumpus NN. Efavirenz and 8-hydroxyefavirenz induce cell death via a JNK- and BimEL-dependent mechanism in primary human hepatocytes. Toxicology and applied pharmacology. 2011;257(2):227-34.

319. Huang R, Chen Z, Dolan S, Schetz JA, Dillon GH. The dual modulatory effects of efavirenz on GABAA receptors are mediated via two distinct sites. Neuropharmacology. 2017;121:167-78.
320. Purnell PR, Fox HS. Efavirenz induces neuronal autophagy and mitochondrial alterations. The Journal of pharmacology and experimental therapeutics. 2014;351(2):250-8.
321. Dong Q, Oh JE, Yi JK, Kim RH, Shin KH, Mitsuyasu R, et al. Efavirenz induces autophagy and aberrant differentiation in normal human keratinocytes. International journal of molecular medicine. 2013;31(6):1305-12.
322. Weiss M, Kost B, Renner-Muller I, Wolf E, Mylonas I, Bruning A. Efavirenz Causes Oxidative Stress, Endoplasmic Reticulum Stress, and Autophagy in Endothelial Cells. Cardiovascular toxicology. 2016;16(1):90-9.
323. Martinez-Arroyo O, Gruevska A, Victor VM, Gonzalez-Polo RA, Yakhine-Diop SMS, Fuentes JM, et al. Mitophagy in human astrocytes treated with the antiretroviral drug Efavirenz: Lack of evidence or evidence of the lack. Antiviral research. 2019;168:36-50.
324. Marwaha A (2008). Getting High on HIV drugs in S Africa, BBC News, 8 December 2008 Available at: http://news.bbc.co.uk/2/hi/africa/7768059.stm.
325. Mokwena KE. The Novel Psychoactive Substance 'Nyaope'Brings Unique Challenges to Mental Health Services in South Africa. Int J Emer Mental Health Human Resilience. 2015;17:251–2.
326. Inciardi JA, Surratt HL, Kurtz SP, Cicero TJ. Mechanisms of prescription drug diversion among drug-involved club- and street-based populations. Pain medicine (Malden, Mass). 2007;8(2):171-83.
327. Grelotti DJ, Closson EF, Smit JA, Mabude Z, Matthews LT, Safren SA, et al. Whoonga: potential recreational use of HIV antiretroviral medication in South Africa. AIDS and behavior. 2014;18(3):511-8.
328. Moller M, Fourie J. Efavirenz exposure, alone and in combination with known drugs of abuse, engenders addictive-like bio-behavioural changes in rats. 2018;8(1):12837.
329. Telegdy G, Tiricz H, Adamik A. Involvement of neurotransmitters in urocortin-induced passive avoidance learning in mice. Brain research bulletin. 2005;67(3):242-7.
330. Tanaka M, Csabafi K, Telegdy G. Neurotransmissions of antidepressant-like effects of kisspeptin-13. Regulatory peptides. 2013;180:1-4.
331. Shafaroodi H, Moezi L, Fakhrzad A, Hassanipour M, Rezayat M, Dehpour AR. The involvement of nitric oxide in the anti-seizure effect of acute atorvastatin treatment in mice. Neurological research. 2012;34(9):847-53.
332. Gilhotra N, Dhingra D. Possible involvement of GABAergic and nitriergic systems for antianxiety-like activity of piperine in unstressed and stressed mice. Pharmacological reports : PR. 2014;66(5):885-91.
333. Zarrindast MR, Homayoun H, Babaie A, Etminani A, Gharib B. Involvement of adrenergic and cholinergic systems in nicotine-induced anxiogenesis in mice. European journal of pharmacology. 2000;407(1-2):145-58.
334. Ishola IO, Chatterjee M, Tota S, Tadigopulla N, Adeyemi OO, Palit G, et al. Antidepressant and anxiolytic effects of amentoflavone isolated from Cnestis ferruginea in mice. Pharmacology, biochemistry, and behavior. 2012;103(2):322-31.
335. Bindra D, Thompson WR. An evaluation of defecation and urination as measures of fearfulness. Journal of Comparative and Physiological Psychology. 1953;46(1):43-5.
336. Britton DR, Britton KT. A sensitive open field measure of anxiolytic drug activity. Pharmacology, biochemistry, and behavior. 1981;15(4):577-82.
337. Crawley J, Goodwin FK. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. Pharmacology, biochemistry, and behavior. 1980;13(2):167-70.
338. Wahlsten D. Mouse Behavioral Testing- How to Use Mice in Behavioral Neuroscience. In: Academic Press. 1st ed. Nov 25, 2010 - Nature - 304 pages.
339. Bourin M, Hascoet M. The mouse light/dark box test. European journal of pharmacology. 2003;463(1-3):55-65.
340. Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. Pharmacology, biochemistry, and behavior. 1986;24(3):525-9.

341. Cryan JF, Mombereau C, Vassout A. The tail suspension test as a model for assessing antidepressant activity: review of pharmacological and genetic studies in mice. Neuroscience and biobehavioral reviews. 2005;29(4-5):571-625.
342. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. Psychopharmacology. 1985;85(3):367-70.
343. Dalvi A, Lucki I. Murine models of depression. Psychopharmacology. 1999;147(1):14-6.
344. Petit-Demouliere B, Chenu F, Bourin M. Forced swimming test in mice: a review of antidepressant activity. Psychopharmacology. 2005;177(3):245-55.
345. Porsolt RD, Bertin A, Jalfre M. Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. Archives internationales de pharmacodynamie et de therapie. 1977;229(2):327-36.
346. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. Methods (San Diego, Calif). 2001;25(4):402-8.
347. Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative stress and antioxidant defense. The World Allergy Organization journal. 2012;5(1):9-19.
348. Colado MI, O'Shea E, Granados R, Misra A, Murray TK, Green AR. A study of the neurotoxic effect of MDMA ('ecstasy') on 5-HT neurones in the brains of mothers and neonates following administration of the drug during pregnancy. British journal of pharmacology. 1997;121(4):827-33.
349. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. Analytical biochemistry. 2017;524:13-30.
350. http://gesida-seimc.org/wp-content/uploads/2017/02/gesida-guiasclinicas-2017-TAR.pdf.
351. Gow AJ, Farkouh CR, Munson DA, Posencheg MA, Ischiropoulos H. Biological significance of nitric oxide-mediated protein modifications. American journal of physiology Lung cellular and molecular physiology. 2004;287(2):L262-8.
352. Zanelli S, Naylor M, Kapur J. Nitric oxide alters GABAergic synaptic transmission in cultured hippocampal neurons. Brain research. 2009;1297:23-31.
353. Gilhotra N, Dhingra D. Involvement of NO-cGMP pathway in anti-anxiety effect of aminoguanidine in stressed mice. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2009;33(8):1502-7.
354. Lisi L, Tramutola A, Navarra P, Dello Russo C. Antiretroviral agents increase NO production in gp120/IFNgamma-stimulated cultures of rat microglia via an arginase-dependent mechanism. Journal of neuroimmunology. 2014;266(1-2):24-32.
355. Luchicchi A, Bloem B, Viana JN, Mansvelder HD, Role LW. Illuminating the role of cholinergic signaling in circuits of attention and emotionally salient behaviors. Frontiers in synaptic neuroscience. 2014;6:24.
356. Holsboer F, Ising M. Central CRH system in depression and anxiety--evidence from clinical studies with CRH1 receptor antagonists. European journal of pharmacology. 2008;583(2-3):350-7.
357. Pavlovsky L, Bitan Y, Shalev H, Serlin Y, Friedman A. Stress-induced altered cholinergic-glutamatergic interactions in the mouse hippocampus. Brain research. 2012;1472:99-106.
358. Warner-Schmidt JL, Schmidt EF, Marshall JJ, Rubin AJ, Arango-Lievano M, Kaplitt MG, et al. Cholinergic interneurons in the nucleus accumbens regulate depression-like behavior. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2012;109(28):11360-5.
359. Chau DT, Rada P, Kosloff RA, Taylor JL, Hoebel BG. Nucleus accumbens muscarinic receptors in the control of behavioral depression: antidepressant-like effects of local M1 antagonist in the Porsolt swim test. Neuroscience. 2001;104(3):791-8.
360. Winter JC. Hallucinogens as discriminative stimuli in animals: LSD, phenethylamines, and tryptamines. Psychopharmacology. 2009;203(2):251-63.
361. Gonzalez-Maeso J, Weisstaub NV, Zhou M, Chan P, Ivic L, Ang R, et al. Hallucinogens recruit specific cortical 5-HT(2A) receptor-mediated signaling pathways to affect behavior. Neuron. 2007;53(3):439-52.
362. Beique JC, Imad M, Mladenovic L, Gingrich JA, Andrade R. Mechanism of the 5-hydroxytryptamine 2A receptor-mediated facilitation of synaptic activity in prefrontal cortex. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2007;104(23):9870-5.

363. Petit AC, Quesseveur G, Gressier F, Colle R, David DJ, Gardier AM, et al. Converging translational evidence for the involvement of the serotonin 2A receptor gene in major depressive disorder. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. 2014;54:76-82.
364. Dabaghzadeh F, Khalili H, Ghaeli P, Dashti-Khavidaki S. Potential benefits of cyproheptadine in HIV-positive patients under treatment with antiretroviral drugs including efavirenz. Expert opinion on pharmacotherapy. 2012;13(18):2613-24.
365. Palotai M, Telegdy G, Tanaka M, Bagosi Z, Jaszberenyi M. Neuropeptide AF induces anxiety-like and antidepressant-like behavior in mice. Behavioural brain research. 2014;274:264-9.
366. Dabaghzadeh F, Ghaeli P, Khalili H, Alimadadi A, Jafari S, Akhondzadeh S, et al. Cyproheptadine for prevention of neuropsychiatric adverse effects of efavirenz: a randomized clinical trial. AIDS patient care and STDs. 2013;27(3):146-54.
367. Luscher B, Shen Q, Sahir N. The GABAergic deficit hypothesis of major depressive disorder. Molecular psychiatry. 2011;16(4):383-406.
368. Cameron OG, Huang GC, Nichols T, Koeppe RA, Minoshima S, Rose D, et al. Reduced gamma-aminobutyric acid(A)-benzodiazepine binding sites in insular cortex of individuals with panic disorder. Archives of general psychiatry. 2007;64(7):793-800.
369. Akk G, Bracamontes J, Steinbach JH. Activation of GABA(A) receptors containing the alpha4 subunit by GABA and pentobarbital. The Journal of physiology. 2004;556(Pt 2):387-99.
370. Treadway MT, Zald DH. Reconsidering anhedonia in depression: lessons from translational neuroscience. Neuroscience and biobehavioral reviews. 2011;35(3):537-55.
371. Pytka K, Podkowa K, Rapacz A, Podkowa A, Zmudzka E, Olczyk A, et al. The role of serotonergic, adrenergic and dopaminergic receptors in antidepressant-like effect. Pharmacological reports : PR. 2016;68(2):263-74.
372. Park H, Poo MM. Neurotrophin regulation of neural circuit development and function. Nature reviews Neuroscience. 2013;14(1):7-23.
373. Bjorkholm C, Monteggia LM. BDNF - a key transducer of antidepressant effects. Neuropharmacology. 2016;102:72-9.
374. Saarelainen T, Hendolin P, Lucas G, Koponen E, Sairanen M, MacDonald E, et al. Activation of the TrkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant-induced behavioral effects. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2003;23(1):349-57.
375. Duman CH, Schlesinger L, Russell DS, Duman RS. Voluntary exercise produces antidepressant and anxiolytic behavioral effects in mice. Brain research. 2008;1199:148-58.
376. Calamandrei G, Valanzano A, Puopolo M, Aloe L. Developmental exposure to the antiretroviral drug zidovudine increases brain levels of brain-derived neurotrophic factor in mice. Neuroscience letters. 2002;333(2):111-4.
377. Zhu Y, Antony JM, Martinez JA, Glerum DM, Brussee V, Hoke A, et al. Didanosine causes sensory neuropathy in an HIV/AIDS animal model: impaired mitochondrial and neurotrophic factor gene expression. Brain : a journal of neurology. 2007;130(Pt 8):2011-23.
378. Sanna MD, Ghelardini C, Galeotti N. Blockade of the spinal BDNF-activated JNK pathway prevents the development of antiretroviral-induced neuropathic pain. Neuropharmacology. 2016;105:543-52.
379. Sanna MD, Peroni D, Mello T, Ghelardini C, Quattrone A, Galeotti N. Increase of neurofilament-H protein in sensory neurons in antiretroviral neuropathy: Evidence for a neuroprotective response mediated by the RNA-binding protein HuD. Pharmacological research. 2016;111:23-33.
380. Zulu SS, Simola N, Mabandla MV, Daniels WMU. Effect of long-term administration of antiretroviral drugs (Tenofovir and Nevirapine) on neuroinflammation and neuroplasticity in mouse hippocampi. Journal of chemical neuroanatomy. 2018;94:86-92.
381. Lopez-Alvarez VM, Puigdomenech M, Navarro X, Cobianchi S. Monoaminergic descending pathways contribute to modulation of neuropathic pain by increasing-intensity treadmill exercise after peripheral nerve injury. Experimental neurology. 2018;299(Pt A):42-55.

382. Sondell M, Sundler F, Kanje M. Vascular endothelial growth factor is a neurotrophic factor which stimulates axonal outgrowth through the flk-1 receptor. The European journal of neuroscience. 2000;12(12):4243-54.
383. Carmeliet P, Ferreira V, Breier G, Pollefeyt S, Kieckens L, Gertsenstein M, et al. Abnormal blood vessel development and lethality in embryos lacking a single VEGF allele. Nature. 1996;380(6573):435-9.
384. Jin K, Zhu Y, Sun Y, Mao XO, Xie L, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimulates neurogenesis in vitro and in vivo. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2002;99(18):11946-50.
385. Ruiz de Almodovar C, Lambrechts D, Mazzone M, Carmeliet P. Role and therapeutic potential of VEGF in the nervous system. Physiological reviews. 2009;89(2):607-48.
386. Mizutani T, Fowler BJ, Kim Y, Yasuma R, Krueger LA, Gelfand BD, et al. Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors Suppress Laser-Induced Choroidal Neovascularization in Mice. Investigative ophthalmology & visual science. 2015;56(12):7122-9.
387. Mattson MP, Gleichmann M, Cheng A. Mitochondria in neuroplasticity and neurological disorders. Neuron. 2008;60(5):748-66.
388. Handschin C, Spiegelman BM. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1 coactivators, energy homeostasis, and metabolism. Endocrine reviews. 2006;27(7):728-35.
389. Jornayvaz FR, Shulman GI. Regulation of mitochondrial biogenesis. Essays in biochemistry. 2010;47:69-84.
390. Shen Y, Song SJ, Keum N. Olive leaf extract attenuates obesity in high-fat diet-fed mice by modulating the expression of molecules involved in adipogenesis and thermogenesis. 2014;2014:971890.
391. Fisher KW, Das B, Kortum RL, Chaika OV, Lewis RE. Kinase suppressor of ras 1 (KSR1) regulates PGC1alpha and estrogen-related receptor alpha to promote oncogenic Ras-dependent anchorage-independent growth. Molecular and cellular biology. 2011;31(12):2453-61.
392. Hayashi Y, Yoshida M, Yamato M, Ide T, Wu Z, Ochi-Shindou M, et al. Reverse of age-dependent memory impairment and mitochondrial DNA damage in microglia by an overexpression of human mitochondrial transcription factor a in mice. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2008;28(34):8624-34.
393. Scarpulla RC. Transcriptional paradigms in mammalian mitochondrial biogenesis and function. Physiological reviews. 2008;88(2):611-38.
394. Yenki P, Khodagholi F, Shaerzadeh F. Inhibition of phosphorylation of JNK suppresses Abeta-induced ER stress and upregulates prosurvival mitochondrial proteins in rat hippocampus. Journal of molecular neuroscience : MN. 2013;49(2):262-9.
395. Cadenas S. Mitochondrial uncoupling, ROS generation and cardioprotection. Biochimica et biophysica acta Bioenergetics. 2018;1859(9):940-50.
396. Diaz-Maroto Cicuendez I, Fernandez-Diaz E, Garcia-Garcia J, Jordan J, Fernandez-Cadenas I, Montaner J, et al. The UCP2-866G/A Polymorphism Could be Considered as a Genetic Marker of Different Functional Prognosis in Ischemic Stroke After Recanalization. Neuromolecular medicine. 2017;19(4):571-8.
397. Richard D, Rivest R, Huang Q, Bouillaud F, Sanchis D, Champigny O, et al. Distribution of the uncoupling protein 2 mRNA in the mouse brain. The Journal of comparative neurology. 1998;397(4):549-60.
398. Dietrich MO, Andrews ZB, Horvath TL. Exercise-induced synaptogenesis in the hippocampus is dependent on UCP2-regulated mitochondrial adaptation. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2008;28(42):10766-71.
399. Mello BS, Monte AS, McIntyre RS, Soczynska JK, Custodio CS, Cordeiro RC, et al. Effects of doxycycline on depressive-like behavior in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration. Journal of psychiatric research. 2013;47(10):1521-9.
400. Khan A, Shal B, Naveed M, Shah FA, Atiq A, Khan NU, et al. Matrine ameliorates anxiety and depression-like behaviour by targeting hyperammonemia-induced neuroinflammation and oxidative stress in CCl4 model of liver injury. Neurotoxicology. 2019;72:38-50.

401. Yirmiya R, Goshen I. Immune modulation of learning, memory, neural plasticity and neurogenesis. Brain, behavior, and immunity. 2011;25(2):181-213.
402. Krueger JM, Majde JA. Microbial Products and Cytokines in Sleep and Fever Regulation. Critical reviews in immunology. 2017;37(2-6):291-315.
403. Hirota H, Kiyama H, Kishimoto T, Taga T. Accelerated Nerve Regeneration in Mice by upregulated expression of interleukin (IL) 6 and IL-6 receptor after trauma. The Journal of experimental medicine. 1996;183(6):2627-34.
404. Probert L. TNF and its receptors in the CNS: The essential, the desirable and the deleterious effects. Neuroscience. 2015;302:2-22.
405. Diaz-Delfin J, del Mar Gutierrez M, Gallego-Escuredo JM, Domingo JC, Gracia Mateo M, Villarroya F, et al. Effects of nevirapine and efavirenz on human adipocyte differentiation, gene expression, and release of adipokines and cytokines. Antiviral research. 2011;91(2):112-9.
406. Diaz-Delfin J, Domingo P, Mateo MG, Gutierrez Mdel M, Domingo JC, Giralt M, et al. Effects of rilpivirine on human adipocyte differentiation, gene expression, and release of adipokines and cytokines. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2012;56(6):3369-75.
407. Jamaluddin MS, Lin PH, Yao Q, Chen C. Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor efavirenz increases monolayer permeability of human coronary artery endothelial cells. Atherosclerosis. 2010;208(1):104-11.
408. Jin J, Grimmig B, Izzo J, Brown LAM, Hudson C, Smith AJ, et al. HIV Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor Efavirenz Reduces Neural Stem Cell Proliferation in Vitro and in Vivo. Cell transplantation. 2016;25(11):1967-77.
409. Peyriere H, Mauboussin JM, Rouanet I, Fabre J, Reynes J, Hillaire-Buys D. Management of sudden psychiatric disorders related to efavirenz. AIDS (London, England). 2001;15(10):1323-4.
410. Asundi A, Robles Y, Starr T, Landay A, Kinslow J, Ladner J, et al. Immunological and Neurometabolite Changes Associated With Switch From Efavirenz to an Integrase Inhibitor. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2019;81(5):585-93.
411. Petrov AM, Mast N, Li Y, Pikuleva IA. The key genes, phosphoproteins, processes, and pathways affected by efavirenz-activated CYP46A1 in the amyloid-decreasing paradigm of efavirenz treatment. FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology. 2019;33(8):8782-98.
412. Harjivan SG, Wanke R, Ferreira da Silva JL, Marques MM, Antunes AM. The phenolic metabolites of the anti-HIV drug efavirenz: evidence for distinct reactivities upon oxidation with Fremy's salt. European journal of medicinal chemistry. 2014;74:7-11.
413. Dalwadi DA, Ozuna L, Harvey BH, Viljoen M, Schetz JA. Adverse Neuropsychiatric Events and Recreational Use of Efavirenz and Other HIV-1 Antiretroviral Drugs. Pharmacological reviews. 2018;70(3):684-711.

9. ÖZGEÇMİŞ

TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÖZGEÇMİŞ

Adı	Selim	**Soyadı**	KARAHAN
Doğum Yeri	ADIYAMAN	**Doğum Tarihi**	15.12.1984
Uyruğu	TC.	**Tel**	(+90) 544 415 68 62
E-posta	selim.karahan@gmail.com		

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Tezli Yüksek Lisans	Düzce Üniversitesi, Tıp Fak. Tıbbi Farmakoloji AbD. Düzce	2012
Lisans	Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fak., Biyoloji, Bolu	2009
Lise	Yenibosna Lisesi, İstanbul	2002

İŞ DENEYİMİ

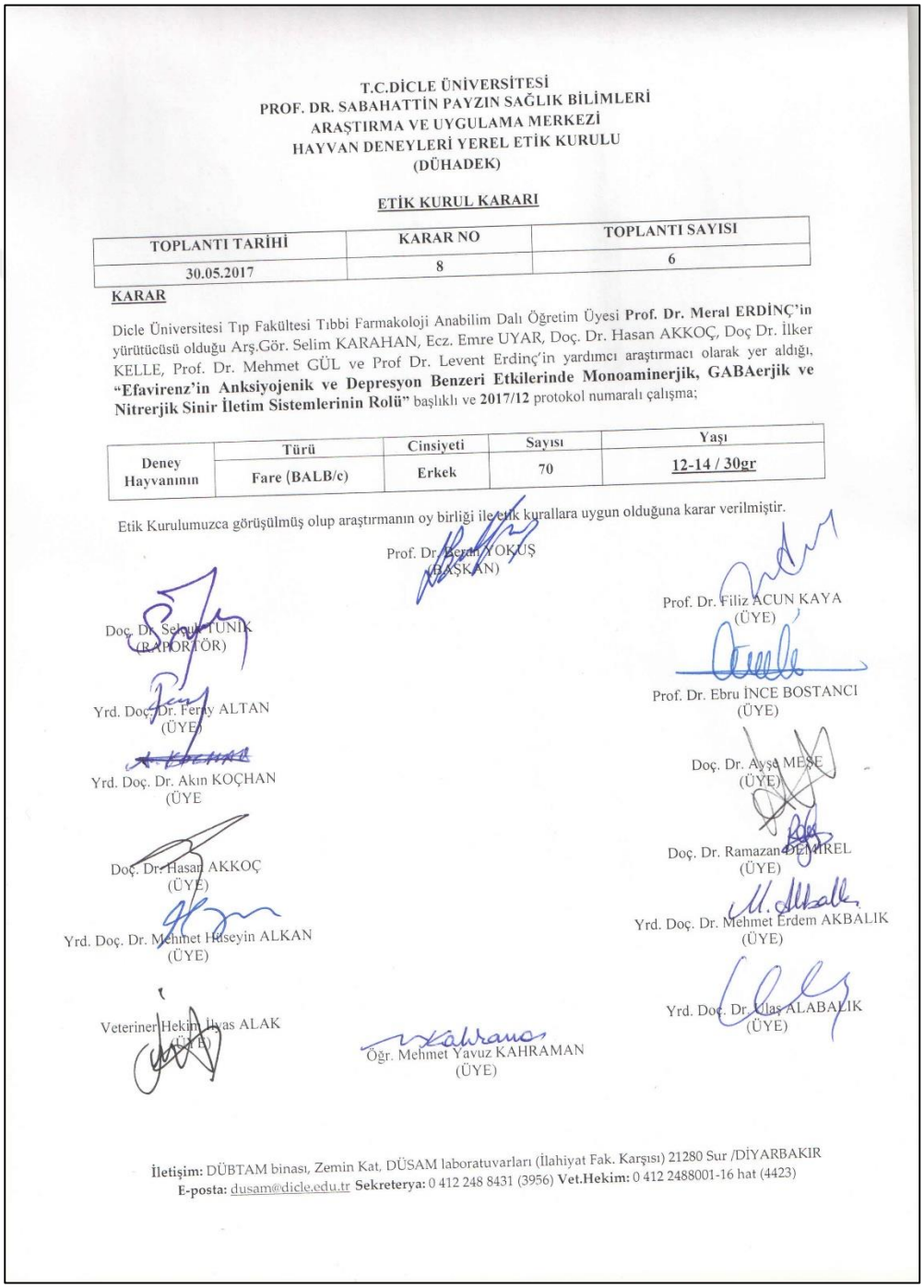
Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
Arş. Gör.	Dicle Üniversitesi	2012-…..

Yabancı Dil Sınav Notu								
ÜDS/YDS	YÖKDİL	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
62,3	78,5							

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	82,456	84,767	71,767

10. EKLER

10.1. ETİK KURUL KARARI



T.C.DİCLE ÜNİVERSİTESİ
PROF. DR. SABAHATTİN PAYZIN SAĞLIK BİLİMLERİ
ARAŞTIRMA VE UYGULAMA MERKEZİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(DÜHADEK)

ETİK KURUL KARARI

TOPLANTI TARİHİ	KARAR NO	TOPLANTI SAYISI
30.05.2017	8	6

KARAR

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi **Prof. Dr. Meral ERDİNÇ'in** yürütücüsü olduğu Arş.Gör. Selim KARAHAN, Ecz. Emre UYAR, Doç. Dr. Hasan AKKOÇ, Doç Dr. İlker KELLE, Prof. Dr. Mehmet GÜL ve Prof Dr. Levent Erdinç'in yardımcı araştırmacı olarak yer aldığı, **"Efavirenz'in Anksiyojenik ve Depresyon Benzeri Etkilerinde Monoaminerjik, GABAerjik ve Nitrerjik Sinir İletim Sistemlerinin Rolü"** başlıklı ve **2017/12** protokol numaralı çalışma;

	Türü	Cinsiyeti	Sayısı	Yaşı
Deney Hayvanının	Fare (BALB/c)	Erkek	70	12-14 / 30gr

Etik Kurulumuzca görüşülmüş olup araştırmanın oy birliği ile etik kurallara uygun olduğuna karar verilmiştir.

Prof. Dr. Kezban YOKUŞ (BAŞKAN)

Doç. Dr. Selçuk TUNİK (RAPORTÖR)

Prof. Dr. Filiz ACUN KAYA (ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Ferda ALTAN (ÜYE)

Prof. Dr. Ebru İNCE BOSTANCI (ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Akın KOÇHAN (ÜYE

Doç. Dr. Ayşe MEŞE (ÜYE)

Doç. Dr. Hasan AKKOÇ (ÜYE)

Doç. Dr. Ramazan DEMİREL (ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Hüseyin ALKAN (ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Mehmet Erdem AKBALIK (ÜYE)

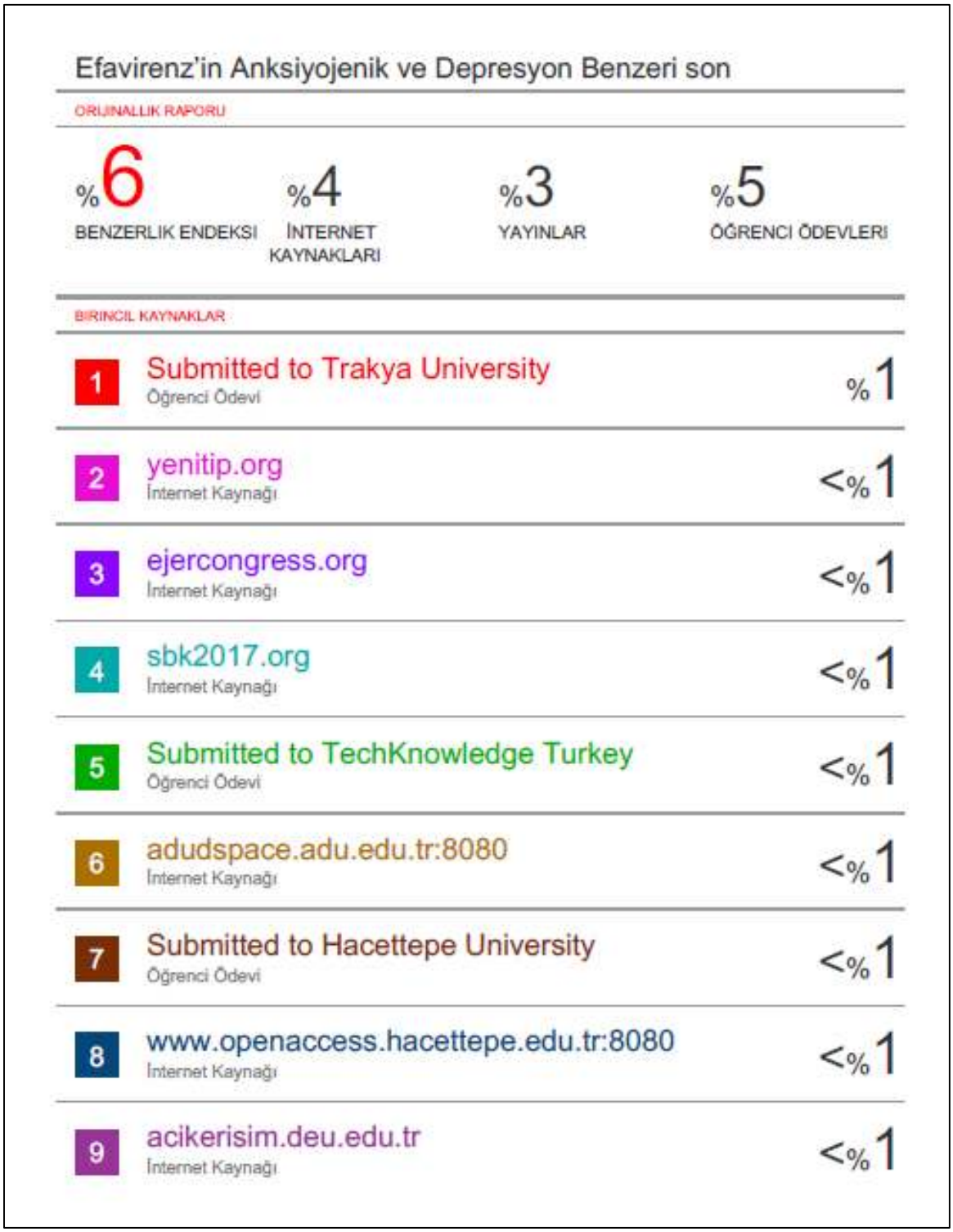
Veteriner Hekim İlyas ALAK (ÜYE)

Öğr. Mehmet Yavuz KAHRAMAN (ÜYE)

Yrd. Doç. Dr. Ulaş ALABALIK (ÜYE)

İletişim: DÜBTAM binası, Zemin Kat, DÜSAM laboratuvarları (İlahiyat Fak. Karşısı) 21280 Sur /DİYARBAKIR
E-posta: dusam@dicle.edu.tr Sekreterya: 0 412 248 8431 (3956) Vet.Hekim: 0 412 2488001-16 hat (4423)

11. ORJİNALLİK RAPORU



Efavirenz'in Anksiyojenik ve Depresyon Benzeri son

ORİJİNALLİK RAPORU

%6	%4	%3	%5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Trakya University Öğrenci Ödevi	%1
2	yenitip.org İnternet Kaynağı	<%1
3	ejercongress.org İnternet Kaynağı	<%1
4	sbk2017.org İnternet Kaynağı	<%1
5	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1
6	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
7	Submitted to Hacettepe University Öğrenci Ödevi	<%1
8	www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
9	acikerisim.deu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1