



**ELEKTROKONVÜLSİF TERAPİNİN SIÇAN DEPRESYON
MODELİNDE HİPOKAMPAL ENDOPLAZMİK
RETİKULUM STRESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Şükrü KARTALCI

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Halil DÜZÖVA**

Doktora Tezi – 2023

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

**ELEKTROKONVÜLSİF TERAPİNİN SIÇAN DEPRESYON MODELİNDE
HİPOKAMPAL ENDOPLAZMİK RETİKULUM STRESİ ÜZERİNE ETKİSİ**

Şükrü KARTALCI

**Fizyoloji Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Halil DÜZOVA**

Destekleyen Kuruluş: İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
(Proje No: TDK-2021-2722)

**MALATYA
2023**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak “Prof Dr Halil Düzova” danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Elektrokonvülsif Terapinin Sıçan Depresyon Modelinde Hipokampal Endoplazmik Retikulum Stresi Üzerine Etkisi” başlıklı Doktora tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. / / 20...

Şükrü KARTALCI
İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Depresyon	3
2.1.1. Tanımı ve Tarihi	3
2.1.2. Epidemiyolojisi	4
2.1.3. Klinik Görünümü ve Tanısı	4
2.1.4. Etyolojisi	6
2.1.5. Depresyon Tedavisi	10
2.2. Elektrokonsulsif Terapi (EKT).....	11
2.2.1. Tanım ve Genel Bilgiler	11
2.2.2. Depresyonda EKT Kullanımı	12
2.2.3. Uygulama Şekli.....	13
2.2.4. Etki Mekanizması	14
2.3. Endoplazmik Retikulum Stresi	15
2.3.1. Endoplazmik Retikulum ve Protein Katlanma İşlevi	15
2.3.2. ER Stres ve Katlanmamış Protein Cevabı (UPR).....	16
2.3.3. UPR sinyal yolları.....	18
2.4. Depresyonda ER Stresinin Rolü	22
2.4.1. Preklinik Hayvan Depresyon Modeli Çalışmaları	22
2.4.2. Depresyon Hastalarında Yapılan Klinik Çalışmalar.....	24
2.4.3. Antidepresan Tedavinin ER Stres Üzerine Etkisi.....	25
3. MATERYAL VE METOT	28
3.1. Hayvan Materyali	28
3.2. Kronik Öngörülemeyen Hafif Stres Modeli (CUMS)	29
3.3. Elektro Konsulsif Terapi	30
3.4. Zorlu Yüzme Testi(ZYT):	30

3.5. Beyin Dokularının Hazırlanması	30
3.5.1. Liziz tampon çözeltisinin hazırlanması (RİPA):	30
3.5.2. SDS PAGE Analizi	32
3.5.3. Western Blot protokoku.....	33
3.6. Etik Onay	33
3.7. İstatistiksel Analiz.....	33
4. BULGULAR.....	35
5. TARTIŞMA	44
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	52
KAYNAKLAR	53
EKLER.....	72
EK-1. Özgeçmiş.....	72
EK-2. Etik Kurul Onay Belgesi	84

TEŐEKKÖR

Bu tez çalışmasında, depresyon fizyopatolojisinde ER stresin rolünü araştırmak amacıyla depresyon ve onun tedavisinde yer alan EKT'nin ER stres yolağındaki bazı moleküller üzerine etkilerini incelemeye çalıştık.

Tez konumu belirlerken isteklerimi göz önünde bulundurup bana yardımcı olan tez danışmanım Prof. Dr. Halil Düzova'ya ve fizyoloji eğitimi hayatım boyunca bu alanda beni yetiştiren tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım. Tezimin yürütölmesi sırasında destek ve katkılarını esirgemeyen başta Prof. Dr. Ahmet Koç olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma ve her zaman yanımda olan sevgili aileme teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Şükrü Kartalcı

ÖZET

Elektrokonvülsif Terapinin Sıçan Depresyon Modelinde Hipokampal Endoplazmik Retikulum Stresi Üzerine Etkisi

Amaç: Depresyonun en etkili tedavilerden biri olan elektrokonvülsif tedavinin (EKT), etkinliğinin altında yatan mekanizmalar halen bilinmemektedir. Depresyonda artan ER stresi farmakolojik ajanlarla geriye çevirebilirken EKT'nin bu konudaki etkinliği henüz incelenmemiştir. Bu çalışmada, sıçan depresyon modelinde tekrarlanan EKT'den sonra hipokampal ER stres parametrelerinin nasıl değiştiğini test ettik.

Materyal ve metot: Sıçanlar 4 gruba ayrılmıştır. Deney grubunda yer alan 2 gruba 21 gün boyunca kronik öngörülemez hafif stresin modelini (CUMS) kullanılarak deneysel depresyon modeli oluşturulmaya çalışılmıştır. Daha sonra bir deney ve bir kontrol grubundan olmak üzere 2 gruba 21 gün boyunca deneysel EKT modeli uygulanmıştır. Kilo değişimleri ve Zorlu Yüzme Testine (ZYT) sonuçları 21. ve 42. günün sonunda değerlendirilmiştir. Son aşamada çıkarılan hipokampusta Western Blot ile ER stresi ile ilgili üç belirgin protein (Grp-78, Xbp1 ve Atf-4) ölçülmüştür.

Bulgular: CUMS uygulanan sıçanların, ZYT'de beklenen artmış hareketsizlik süresi tam olarak oluşmasa da kilo kaybı gibi depresyon benzeri davranış tepkileri sergilediğini bulduk. CUMS uygulanan sıçanlarda Grp-78 düzeyleri artarken, Atf-4 düzeyleri değişmedi, Xbp1 düzeyleri ise azaldı. EKT normal sıçanlarda Grp-78 düzeylerini artırırken, Atf-4 düzeyleri değiştirmede ve Xbp1 düzeylerini azalttı. Depresyon modeli uygulanan sıçanlarda ise EKT ile artan Grp-78 düzeyleri azalırken Atf-4 düzeyleri değişmedi, Xbp1 düzeylerini ise azaldı.

Sonuç: Bu bulgular artan ER stresin depresyon patofizyolojisinde rol oynayabileceğini ve bu artışın EKT tedavi ile tersine çevrilebileceğini göstermektedir. Bu bulguların insanlarda yapılacak klinik çalışmalarla doğrulanması gerekir.

Anahtar kelimeler: Depresyon, EKT, Endoplazmik Retikulum Stresi

ABSTRACT

Effect of Electroconvulsive Therapy on Hippocampal Endoplasmic Reticulum Stress in Rat Depression Model

Aim: The mechanisms underlying the effectiveness of electroconvulsive therapy (ECT), one of the most effective treatments for depression, are still unknown. While the increasing ER stress in depression can retrieve with pharmacological agents, ECT's effectiveness has not been examined yet. In this study, we tested how hippocampal ER stress parameters changed after the repeated ECT in the rats depression model.

Material and Method: Rats were divided into 4 groups. An experimental depression model was tried to be created for 2 groups in the experimental group using the chronic unpredictable mild stress model (CUMS) for 21 days. Then, the experimental ECT model was applied to two groups, one experimental and one control group, for 21 days. Weight changes and Forced Swimming Test (FST) results were evaluated at the end of the 21st and 42nd day. In the final step, three prominent ER stress-related proteins (Grp-78, Xbp1, and Atf-4) were measured by Western Blot in the removed hippocampus.

Results: We found that rats administered CUMS exhibited depression-like behavioral responses such as weight loss, although the increased immobility time expected in FST did not fully occur. In CUMS-treated rats, Grp-78 levels increased, Atf-4 levels did not change, and Xbp1 levels decreased. While ECT increased Grp-78 levels in normal rats, it did not change Atf-4 levels and reduced Xbp1 levels. In rats treated with depression model, Grp-78 levels, which increased with ECT, decreased, Atf-4 levels did not change, and Xbp1 levels decreased.

Conclusion: These findings show that increased ER stress may play a role in the pathophysiology of depression and that this increase can be reversed with ECT treatment. These findings need to be confirmed by clinical studies in humans.

Key words: Depression, ECT, Endoplasmic Reticulum Stress

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: Santigrat
5- HT	: 5-Hidroksitriptamin
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AMR	: Manyeto Direnç
APA	: American Psychiatric Association
APS	: Amonyum Persülfat
Atf-4	: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 4
ATF-6	: Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6
BCA	: Bikinkoninik Asit
Bcl2	: B-cell Lymphoma 2
BDNF	: Beyin-Kaynaklı Nörotrofik Faktör
BİM	: BCL-2 İlişkili Apoptotik Protein
Ca⁺²	: Kalsiyum
CHOP	: CCAAT / Güçlendirici Bağlayıcı Protein Homolog Protein
Cl⁻	: Klor
cm	: Santimetre
CUMS	: Kronik Öngörülemeyen Hafif Stres
DBS	: Derin Beyin Uyarımı
DER	: Düz Endoplazmik Retikulum
Dk	: Dakika
DNA	: Deoksi Ribonükleik Asit
DSM	: Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı
ECS	: Electroconvulsive Seizure, Elektrokonvülsif Nöbet
EDEM1	: ER Degradasyon Artırıcı- α - Mannosidaz Benzeri 1
EDTA	: Etilendiamin Tetraasetik Asit
EEG	: Elektroensefalografiatfrn
eIF2α	: Ökaryotik Çeviri Başlatma Faktörü 2 α
EKG	: Elektro Kardiyografi
EKT	: Elektrokonvülsif Terapi
ER	: Endoplazmik Retikulum
ERAD	: ER ile İlişkili Bozulma

GABA	: Gama Amino Butirik Asit
gDNA	: Genomik DNA
GER	: Granüllü Endoplasmik Retikulum
Gr	: Gram
Grp-78	: 78-kDa Glikoz ile Düzenlenen Protein
GRP94	: 94-kDa glikoz ile Düzenlenen Protein
H₂S	: Hidrojen Sülfür
HSPA5	: Isı Şok Protein Ailesi A Üye 5
ICD	: Uluslararası Hastalıkların Sınıflandırılma Sistemi
IRE1α	: İnositol Gerektiren Enzim 1 α
İL	: İnterlökin
JNK	: c-Jun N-terminal Kinaz
KHS	: Kronik Hafif Stres
L	: Litre
MAO	: Monoamin Oksidaz
MAOI	: Monoamin Oksidaz İnhibitörü
MDB	: Majör Depresif Bozukluk
Mg	: Mikrogram
ml	: Mikrolitre
ml	: Mililitre
MÖ	: Milattan Önce
MRN	: Medyan Rafe Nukleus
MS	: Milattan Sonra
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
Na⁺	: Sodyum
NMDA	: N-metil D-Aspartat
PERK	: Protein Kinaz R Benzeri ERKinaz
qPZR	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
RNA	: Ribonükleik Asit
RNAaz	: Ribonükleaz
RyR	: Ryanodin Reseptör
SDS	: Sodyum Dodesil Sülfat
Sig-1R	: Sigma 1 Reseptörü
Sn	: Saniye

SSRI	: Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörü
T4	: Tiroksin
TBS-T	: Tris Tamponlu Salin ve Polisorbitat 20
TEMED	: Tetramethylethylenediamine
TMS	: Transkraniyal Manyetik Stimulasyonds
UPR	: Katlanmamış Protein Yanıtı
V	: Volt
VSS	: Vagal Sinir Stimulasyonu
Xbp1	: X-box Bağlayıcı Protein-1
yy	: Yüzyıl
ZYT	: Zorlu Yüzme Testi

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Başlıca ER stres yolları ve mekanizması.....	18
Şekil 2.2. Kalıcı ya da Aşırı ER stres sonuçları.....	21
Şekil 2.3. ER stresi ve depresyon arasındaki ilişki.....	24
Şekil 4.1. Western Blot analizi	43



TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Deneyisel prosedürü zamanlaması.....	29
Tablo 3.2. Liziz tampon çözeltisi	31
Tablo 3.3. SDS jel hazırlanması.....	32
Tablo 3.4. Yükleme jelinin hazırlanması	32
Tablo 4.1. Sıçan gruplarında kilo karşılaştırması.....	35
Tablo 4.2. Sıçanların toplu değerlendirildiğindeki kilo değişimleri	36
Tablo 4.3. Sıçan gruplarının zamanla oluşan kilo değişimleri.....	37
Tablo 4.4. Toplu değerlendirmede zamanla oluşan ZYT değerlerindeki değişimleri ...	38
Tablo 4.5. Sıçan gruplarının zamanla oluşan ZYT değerlerindeki değişimler	39
Tablo 4.6. Sıçan gruplarının zamanla oluşan ZYT değerlerinin karşılaştırılması	40
Tablo 4.7. Sıçan gruplarının ER stres değerlerinin karşılaştırılması	42

1. GİRİŞ

Dünya çapında oldukça yaygın görülen depresyon, çökkünlük, ilgi kaybı, düşük benlik saygısı ve yüksek intihar davranışı eğilimi ile karakterize ciddi bir ruhsal bozukluktur. Depresyon uzun yıllardan beri çalışılmasına rağmen patogenezi tam olarak anlaşılamamıştır. Elektrokonvülsif tedavi (EKT), majör depresyon için en etkili tedavilerden biridir. Bununla birlikte, EKT'nin antidepresan etkilerinin altında yatan mekanizmalar da halen tam olarak bilinmemektedir.

Ortaya çıkan kanıtlar, endoplazmik retikulum (ER) stresinin depresyonun patogenezinde rol oynayabileceğini düşündürmektedir(1). Membransı bir yapıya sahip olan ER protein katlanması ve hücre içi kalsiyum dengesinde oldukça önemli işlevlere sahiptir. Oksidatif stres, kalsiyum dengesindeki bozulma ya da enerji yoksunluğu gibi herhangi bir nedenle ER işlev bozukluğu meydana gelecek olursa bu durumun bir sonucu olarak yanlış katlanan proteinler hücresel alanlarda birikebilir. Bu olay “ER stress” olarak bilinmektedir. Bu gibi durumlarda oluşan protein katlanmasının engellemek ya da tekrar düzenlemek için ER şaperonları görev alır. Bu şaperonlardan en çok bilinenler ısı şok protein ailesi A’nın 5. üyesi(HSPA5) olan Grp-78 ve kalretikulindir(2).

Eğer herhangi bir nedenle yanlış katlanmış proteinler oluşmuşsa bu durumu tersine çevirmek ve hücre sağ kalmasını sağlamak Katlanmamış Protein Cevabı (UPR) yolları devreye girer. Bu güne kadar üç büyük UPR yolağı tanımlanmıştır; PERK (PKR benzeri endoplazmik retikulum kinaz), IRE1 (inositol Gerektiren Enzim 1) ve ATF6 (Aktive Edici Transkripsiyon Faktörü 6)(3). Çeşitli nedenler hücrede ER stres tepkisine yol açabilir ve bunun sonucunda UPR gibi özel bir sinyal yolağı etkinleşir. Ancak aşırı ve uzun süreli ER stres ya da UPR’nin yetersiz kaldığı durumlarda apoptozise ve nihayetinde nekrotik hücre ölümü meydana gelir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar depresyon patofizyolojisinde ER stresinin rolü olduğunu düşündürmektedir. Hayvan depresyon modellerinde ER stresine ilişkili bazı proteinler hipokampus da dâhil olmak üzere bazı beyin alanlarında önemli ölçüde artmaktadır. Depresyon tedavisiyle meydana gelen iyileşmede de altta yatan mekanizmanın ER stresle ilgili olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır(4). Antidepresan ilaçların ER stres yolunun parametreleri üzerindeki etkileri çelişkili sonuçlar göstermiştir. Bildiğimiz kadarıyla, EKT'nin ER stresine üzerindeki etkilerini inceleyen hiçbir çalışma yoktur.

Bu alışma, EKT'nin deneysel bir hayvan modeli olan elektrokonvulsif nöbetin (electroconvulsive seizure-ECS) ER stres yolu üzerindeki etkilerini araştırmayı amaçlamaktadır. Burada, bir sıçan depresyon modelinde tekrarlanan ECS'den sonra hipokampal ER stres parametrelerinin nasıl değiştiğini test ettik.

Bu çalışmada hipotez olarak depresyonda oluşumunda ER stresin rolü olduğu ve EKT'nin antidepresan yanıtının da bu ER stres değişimleri ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür. Bunun için CUMS modeli ile depresyon oluşturulmuş sıçanlarda artan ER stres mediyatörlerinin strese en duyarlı bölgeler olan hipokampusda değişiminin ölçülmesi ve ECS tedavisinin bu olası mediyatör değişimlerini ne yönde etkilediğinin değerlendirilmesi planlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Depresyon

2.1.1. Tanımı ve Tarihi

Majör depresyon, psikososyal işlevselliği önemli derecede bozan ve yaşam kalitesini düşüren yaygın bir psikiyatrik hastalıktır. Dünya Sağlık Örgütü 2008'de majör depresyonun dünya çapında hastalık yükünün üçüncü nedeni olarak göstermiş ve bu hastalığın 2030'a kadar birinci sırayı alacağını öngörmüştür. Depresyon bu yaygınlığın yanı sıra oldukça karmaşık psikolojik ve fizyopatolojik öğelere sahip çoklu etkenlerin rol oynadığı bir psikiyatrik bozukluktur. Genel olarak depresyon, zevk alamama, isteksizlik, değersizlik ve umutsuzluk düşünceleriyle karakterizedir. Konsantrasyon güçlüğü, çökkün duygudurum, hafıza değişiklikleri, iştahsızlık ve uyku bozuklukları gibi diğer bilişsel ve nörovegetatif semptomlar da genel olarak tabloya eşlik eder(5,6).

Depresyonun tanımı milattan öncesine dayanmakta olup, Hipokrat (M.Ö) 'kara safra' anlamında melankoli terimini kullanmıştır. Bu hastalığı safra yollarındaki bozukluklardan kaynaklanan, isteksizlik, uykusuzluk, kaygı, yetersizlik ve intihar düşünceleriyle karakterize bir tablo olarak tanımlamıştır. Depresyon halen sınıflama sistemlerinde dahi değişikliklerin yapıldığı karmaşık doğasını korumaktadır. Depresyon günümüzde dahi bir taraftan tanımlayıcı yaklaşımlarla diğer psikiyatrik durumlardan ayrılmaya çalışılırken bir taraftan da fizyopatolojisi aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Galen (M.S) depresyonu; hayattan tat alamama hali olarak tanımlamış, ailesel ve çevresel faktörlerin etkisine vurgulamıştır. Milattan sonra 5.yy döneminde dahi depresyonun biyolojik temelde bir nedensellik ile ilişkisi vurgulanmıştır. Orta çağda bile Thomas Willis gibi araştırmacılar depresyonun vücut sıvılarındaki dengesizliğe bağlı olduğunu ileri sürmüşlerdir. Monoaminler hakkındaki bilgilerin giderek artmasıyla birlikte, 1960'lardan itibaren depresyon ile monoaminler arasındaki ilişkiyi vurgulayan ilk hipotezler ortaya atılmaya başlamıştır. Monoamin teorisiyle birlikte yürütülen nörofizyolojik çalışmalar depresyonu anlamak açısından çok önemli katkılar sağlamıştır. Günümüzde ise halen depresyonun fizyopatolojisindeki psikolojik ve biyolojik faktörler araştırılmaya devam etmektedir(7).

2.1.2. Epidemiyolojisi

Depresif bozukluklar toplumda yaklaşık %5-17 yaygınlığı ile en sık görülen psikiyatrik bozukluktur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda MDB için ortalama %12, distimik bozukluk ortalama %5, minor depresif bozukluk için %16, yineleyen kısa depresif bozukluk %16 yaşam boyu yaygınlıklarının olduğu gösterilmiştir(8). Küresel hastalık yükü çalışması depresyonu her yaştan ve sosyal statüden insanı etkileyen, hastalığa bağlı sakatlığın ikinci en yaygın nedeni olarak ortaya koydu. Depresyonun 2030 yılına kadar hastalık yükünün artarak devam edeceği ve dünya çapında bu konuda en önde gelen neden olacağı tahmin edilmektedir (6).

Depresyon genel olarak ömür boyu yaygınlığı kadınlarda (%21.3) erkeklerden (%12.7) daha sık görülmektedir. Hayatın her döneminde başlayabilmekle birlikte, genel olarak hastaların yarısında başlangıç yaşı 20 ila 50 arasındadır (8). Depresyon ataklar halinde seyreder ve hastalar genel olarak birden çok atak geçirirler. İlk ataktan sonra %50-60 oranında hastalığın tekrarladığı gözlenirken, iki atak geçirenlerde bu oran %70, üçüncü ataktan sonra ise %90'lara çıkabilmektedir (9).

Türkiye’de son yıllarda yapılan bir çalışmada depresyonun yaşam boyu yaygınlığı %23.6 olarak saptanmıştır(10).

2.1.3. Klinik Görünümü ve Tanısı

Depresyon hastalarında yetersizlik, suçluluk, umutsuzluk, karamsarlık düşünceleriyle birlikte en önde gelen bulgu depresif duygu durumudur. Muayene sırasında konuşmada yavaşlama, monoton ve gecikmeli cevap, sözcük akışında bloklar gözlenir. Hastaların çoğunda intihar düşünceleri de bulunabilir. Algı ve dikkat bozuklukları, hatırlamada güçlükleri ve unutkanlık yaygın olarak bulunan bilişsel bozukluklardır. Bu durum yaşlı hastalar da yanlışlıkla bunama olarak değerlendirilebilir (11). Gün içinde depresif duygudurum olsa da duygudurum dalgalanmaları gözlenebilir. Özellikle sabah erken saatlerde depresif ve sıkıntılı uyanma tipiktir. Akşama doğru nispeten daha iyi hissedebilirler. Uykuya dalmada güçlük, sık uyanmalar, sabahları erken saatlerde uyandıktan sonra yoğun anksiyete tipik bulgulardır. Davranışta psikomotor yavaşlık tablosu mevcuttur. Genel olarak görünümde bir çökkünlük hali, sıkıntılı ve mimiklerin kullanımının azaldığı bir yüz ifadesi, hareketlerde yavaşlama görülebilir(12,13). İştahta ve kilo değişiklikleri, kabızlık, cinsel istekte azalma gibi fizyolojik değişiklikler de sıklıkla görülmektedir(5).

Psikiyatrideki ana sınıflandırma sistemlerinde (Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı [DSM](14) ve Uluslararası Hastalıkların Sınıflandırılması [ICD]) depresyonun bir bozukluk olarak anahtar belirtiler tanımlanmıştır. Tanı için bir belirteç ortaya konamamış olup daha çok bir semptom kümesinin bir arada görülmesine dayanır (15).

Majör Depresif Bozukluk, en son güncelleme olan DSM-5'e göre depresyonun temel formudur. Hastalık genellikle tekrarlayan depresif ataklarla kendini gösterir. Tanı koymak için iki hafta veya daha uzun süren tek bir depresyon atağının olması gereklidir.(5). Majör depresyon tanısı koyulabilmesi için sınıflama sisteminde yazan haliyle, bireyin 2 haftalık bir süre boyunca, hemen her gün ve gün boyu süren aşağıdaki belirtilerden 5 veya daha fazlasına sahip olması ve bu 5 belirtiden en az birinin depresif ruh hali veya anhedoni olması gerekir(14);

- Gün boyu süren depresif duygu durum
- Hemen hemen tüm etkinliklere karşı ilgisizlik ya da zevk alamama (anhedoni)
- Uykusuzluk ya da aşırı uyku hali
- Kilo kaybı veya kilo alımına (örneğin, bir ay içinde yüzde 5) yol açan genel bir iştahsızlık ya da aşırı yeme
- Başkaları tarafından gözlemlenebilen psikomotor retardasyon ya da ajitasyon
- Yorgunluk ve enerjide azalma
- Dikkat ve konsantrasyon bozukluğu
- Düşünme ve karar verme yeteneğinde azalma
- Değersizlik veya aşırı suçluluk düşünceleri
- Tekrarlayan ölüm veya intihar düşüncesi veya intihar girişimi

Depresyon belirtileri genel olarak diğerk psikiyatrik hastalıklara benzer şekilde duygu düşünce davranış ve nörovegetatif alandaki belirtilerle kendini gösterir. Depresif bozukluklar sıklıkla psikiyatrik bir durum olabileceğigi gibi diğerk psikiyatrik durumlara ya da organik tıbbi hastalıklara da eşlik edebilir. Bu durumlarda ayırıcı tanı zor olabilir. Dikkat ve konsantrasyonun bozukluğu ve psikomotor ajitasyon gibi bazı depresif belirtiler demansiyel durumlar ya da mani durumlarında da gözlenebilmektedir(16). Depresyon tanısı tam olarak konması için diğerk psikiyatrik ve tıbbi durumlar dışlanmış olmalıdır. Anksiyete bozuklukları, şizofreni ya da ilacın yan etkileri de ayırıcı tanıda düşünölmeli ve depresyonla karıştırmamalıdır. Aşırı kaygı ve anksiyöz duygudurum

depresyona çoğunlukla eşlik eder ve özellikle majör depresif bozukluğu olan bireylerin neredeyse üçte ikisinde klinik olarak anksiyete mevcuttur(16).

2.1.4. Etiyolojisi

Depresyon etiyolojisi tam olarak anlaşılamamış psikiyatrik bir bozukluktur. Depresyona yol açan mekanizmalar tam olarak tanımlanmamış olmakla birlikte birbirleriyle etkileşim içinde olan genetik, biyolojik ve psikososyal etmenlerin rol oynadığı multifaktöriyel bir hastalık olduğu düşünülmektedir. Major depresyon araştırmaları yıllarca nörokimyasal hipotezler üzerinden yürütülse de yeni kanıtlar nörokimyasal değişikliklerin yanında nöronal fonksiyonlar ve morfolojide bozulmaya yol açan nöroplastik değişikliklerin duygudurum bozukluklarının etiyolojisinde önemli rol oynadığını göstermektedir. Ancak şu ana kadar yapılan çalışmalar sonucunda patofizyolojisi tam olarak ortaya konamamıştır.

Çevresel Stres Etkenleri

Stresli yaşam olaylarının depresyon gelişmesindeki etkisi uzun zamandır bilinmektedir (17). Çocukluk çağındaki ebeveyn kaybı gibi stresli olaylarının Hipotalamus-hipofiz-adrenal eksen ve glukokortikoid reseptör fonksiyonunu değiştirerek yetişkin dönemde depresyon gelişimine sebep olabileceği ileri sürülmüştür (18,19). Yetişkinler için bu stresli yaşam olayları ölümü çağrıştıran hayatı tehdit edici olaylar olabileceği gibi kronik ve ağır hastalıklar, maddi zorluklar, yas ve şiddete maruz kalma da olabilir. Ancak çevresel stres etkenlerinin depresyon gelişmesi için tek başına yeterli olmadığı genetik ve biyolojik yatkınlık etkenlerinin de gerekli olduğu vurgulanmıştır (20).

Genetik Faktörler

Bu gün kadar genetik faktörlerin duygudurum bozuklukları ve majör depresif bozukluk gelişimine yol açtığını gösteren güçlü kanıtlar elde edilmiştir. İkiz ve aile çalışmalarından elde edilen verilerin bir meta analizinde, hastaların birinci derece akrabalarında majör depresif bozukluk gelişme riskinin üç kat arttığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada majör depresif bozuklukta kalıtım oranının % 37 olduğu vurgulanmıştır(21). Genetik faktörlerin özellikle majör depresyon vakalarında rol oynadığı ileri sürülmüştür(22). Ancak aday gen çalışmaları ve genom çapında ilişki çalışmalarında depresyonla ilişkisi tam olarak ortaya konabilmiş bir gen ya da polimorfizm saptanmamıştır. Son yıllarda majör depresif bozukluk gelişiminde gen-çevre ilişkisini araştıran epigenetik düzenlemeler üzerinde durulmaktadır(23,24).

Psikolojik Kuramlar

Majör depresif bozukluğu ilk açıklayan psikolojik kuramlardan biri psikanalitik kuramdır. Fruda göre majör depresif bozukluk yas sürecine benzer şekilde sevilen bir nesnenin kaybına cevap olarak gelişmektedir. Depresyon bir ifadeyle kendini cezalandırma şeklinde kavramsallaştırılmaktadır(25).

Hayvan modellerinde de kullanılan davranışçı kurama göre ise ödül azlığı, umudun tükenmesi ve cezadan kaçamayacağının anlaşılması sonucu depresif belirtiler gelişmektedir. Kaçma ve kaçınma davranışlarıyla ödül ve olumlu diğer pekiştirmelerin azaltılması da burada süregelenleşmeyi sağlamaktadır. Yani davranışçı kurama göre depresyon, normal uyaranlardan kaçma veya uzak durma sonucu, olumlu pekiştirici davranışların sıklığının azalması sonucu gelişmektedir. Bir kısır döngüyle kaçınma ve geri çekilme oluşarak, depresif belirtiler daha da kötüleşir. Burada en önemli faktör kaçınmadır ve kaçınmayla depresyon arasında pozitif pekiştirmelerin azaltılmasının rol aldığı önemli bir ilişki vardır(26,27).

Martin Seligmanın öğrenilmiş çaresizlik modeline göre depresyon başa çıkılamayan yaşam olaylarının zamanla öğrenilmesi ve pekiştirilmesi sonucu meydana gelmektedir. Hayvan çalışmalarda da, elektrik şoku gibi hoş olmayan bir uyaran verilip bundan kaçmaları engellendiğinde, sıçanların daha sonraki bu tür cezalandırıcı uyarandan kaçmak için herhangi bir çaba göstermedikleri gözlenmiştir. Günümüzde yapılan yüzme testi ve CUMS gibi hayvan depresyon modelleri bu temele dayanmaktadır(28).

Biyolojik Etkenler

Monoamin Hipotezi: Depresyonun anlaşılması ve tedavisinde ileri sürülen en temel mekanizma “monoamin hipotezi”dir. Temel olarak bu hipotez, beyinde belli alanlarda monoaminlerjik aktivite azalmasının depresyona yol açtığı şeklindedir. Dopamin, norepinefrin (noradrenalin) ve serotonin (5-hidroksitriptamin, 5-HT) beyinde yer alan başlıca monoamin nörotransmitterlerdir. Tirozinden sentezlenen dopamin ve norepinefrin katekolaminler olarak sınıflandırılırken, serotonin triptofandan sentezlenmektedir. Nöroamin nörotransmitterler sinaptik alanda etkilerini gösterir. Monoaminler presinaptik alandaki sinir terminalinde sentezlendikten sonra, veziküler monoamin taşıyıcısı ile veziküllerine getirilir(29). Daha sonra bu veziküllerin yakınında bulunan presinaptik membrandan Ca^{2+} bağımlı ekzositoz yoluyla sinaptik aralığa salınır(30). Monoaminler etkilerini, iyon kanalları ya da G-proteinlerine bağlı presinaptik ve postsinaptik reseptörleri vasıtası ile gösterirler(31).

Depresyon etyolojisinde ilk ortaya atılan monoamin teorisi antidepresanların keşfiyle ortaya çıkmıştır. Bu teori ilk bulunan trisiklik antidepresanların sinaptik aralıkta monoaminleri artırdığı gözlemine dayanmaktadır. Trisiklik antidepresan ilaçlar, sinaptik aralıktan presinaptik alana nörotransmitterlerin geri alımını engelleyerek sinapstaki monoamin miktarını artırırken Monoamino Oksidan enzimini inhibe eden antidepresanlar monoamin yıkımını azaltarak monoaminlerin miktarını artırırlar. Dolayısı ile monoamin teorisi, monoaminleri artıran antidepresanların tersine depresyonda bazı beyin alanlardaki monoaminlerjik aktivitenin azalmasına dayandırılmıştır. Daha sonra yapılan ileri araştırmalar bu teorinin değişmesini sağlamıştır. Antidepresanlar verildikten sonra etkileri hemen değil 3-6 hafta sonra başlamaktadır. Bu gözleme dayanarak güncel monoamin depresyon teorisi ortaya atılmıştır. Bu yeni teoriye göre sinapstaki monoamin seviyelerindeki akut artış antidepresan etkinin gözlemlendiği karmaşık bir yolun sadece erken bir parçasıdır(32). Bu akut artış ile birlikte bazı beyin bölgelerindeki reseptörlerin duyarsızlaşması asıl antidepresan etkiyi sağlamaktadır. Dolayısı ile asıl antidepresan etkinlik, monoamin nörotransmitterlerinin seviyelerindeki değişikliklerden çok, bu monoaminlerin düzenleyicisi olan oto ve hetero-reseptörlerde uzun dönemdeki değişikliklerden kaynaklanmaktadır. Bu alanda yapılan kapsamlı araştırmalar, depresyonda merkezi norepinefrin salınımını inhibe eden α_2 otoreseptörlerin ve α_2 heteroreseptörlerde aşırı duyarlılık olduğunu ortaya koymuştur. Bu reseptörlerdeki aşırı duyarlılığın bir sonucu olarak monoamine salınımı azalmaktadır. Antidepresan ilaçların uzun süre kullanımı sonucu bu reseptörlerdeki duyarsızlaşma, sinaptik aralıkta tekrar serotonin ve norepinefrin düzeylerini artırır(33).

Serotonin geri alım inhibitörü ilaçların keşfiyle birlikte depresyonda serotonerjik sistem üzerine çalışmalar hızlanmıştır. Bu alanda yapılan çalışmalar da reseptör duyarlılığındaki değişimlerin asıl antidepresan etkiyi ortaya çıkardığını göstermektedir. Antidepresanlarla tedaviyi takiben serotonin salınımını inhibe eden presinaptik 5-HT_{1A} ve possinaptik 5-HT_{1B} otoreseptörlerinin duyarsızlaştığı gösterilmiştir. Bu duyarsızlaşmanın bir sonucu olarak serotonerjik etkinlik artmakta ve antidepresan etki ortaya çıkmaktadır. Bu duyarsızlaşmanın ortaya çıkması için 3 ila 6 haftalık bir süre gerekir ki bu da klinik düzelmenin başladığı klinik gözlemiyle uyumludur. Antidepresan tedaviyi takiben özellikle hipotalamusta gibi limbik alanlarda ve kortikal bölgelerde bulunan 5-HT_{1A} reseptörlerinin de duyarsızlaştığı gösterilmiştir(33–35).

Depresyon nörobiyolojisinde yer alan temel teoriler kullanılan antidepresanlardan yola çıkarak daha çok serotonin ve norepinefrin üzerine odaklansa da, son zamanlarda

dopaminin de en azından bazı depresif belirtilerin oluşumunda rolü olduğunu göstermektedir(36). Dopaminerjik etkiyi artıran maddelerin kullanılmasıyla bazı depresif semptomları azaldığı gösterilmiştir(37). Yine depresyonda beyindeki dopamin düzeylerinin azaldığı ortaya konmuştur(38).

Glutamat: Glutamat beyindeki nöronlarda başlıca uyarıcı nörotransmitter olarak rol oynar(39). Plastisite, öğrenme ve bellek oluşumunda önemli rol alan glutamatın nörotoksisite durumlarında da doğrudan nedensel bir rolü olduğu bilinmektedir(40). Depresyonda hipotalamik alandaki plastisite ve buna bağlı bellek değişimlerinin oluşumunda glutamat aktivitesindeki artış sorumlu tutulmuştur. Yine depresyonda, glutamat düzeylerinin düzenlenmesinde önemli rolü olan, kortikal glial hücre kaybının olduğu bildirilmiştir(41).

Glutamat NMDA reseptör antagonisti ketaminin depresyonda akut ve etkili bir iyileşmeye yol açması da depresyonda glutamat sisteminin etyolojik önemini göstermektedir(42). NMDA reseptör antagonistlerinin depresyondaki belirtileri hızlı bir şekilde düzeltilmesinin altında yatan mekanizma tam olarak bilinmese de, hayvan çalışmaları sinaptogenezi kolaylaştırarak bu işlevi yaptıklarını düşündürmektedir(43). Son yıllarda depresyon tedavisinde nazal ketamin uygulanması merkezi sinir sistemine yüksek oranda geçmesi ve uygulama kolaylığı nedeniyle kullanılmaya başlanmıştır(44).

Gama-aminobutirik asit (GABA): Glutamatın tersine GABA beyindeki ana inhibitör nörotransmitterdir. Gaba ve reseptörleri merkezi sinir sisteminde yaygın bir dağılım göstermektedir(45). GABA sistemini düzenleyen çeşitli ilaçların depresyonun tedavisinde etkili olduğu bildirilmiştir(46).

Sıçanlarda antidepresan ilaçların kronik kullanımıyla GABA-B reseptörü bağlanmasının artması GABA hipotezinin altında yatan mekanizma olarak gösterilmiştir(47). Postmortem çalışmalarla da kortikal GABA internöronlarının azaldığı gösterilmiştir. Ayrıca Glutamik Asit Dekarboksilazı kodlayan genlerdeki polimorfizmlerin depresyonla ilişkili olduğu bildirilmiştir(48).

Nöroplastisite ve Nörogenez: Depresyonun nöroanatomi hakkındaki veriler beyinde spesifik lezyonların varlığına işaret etmektedir. Son yıllardaki araştırmalar depresyonun patofizyolojisinde ve tedavisinde yer alan nöral plastisite mekanizmalarını anlamaya odaklanmıştır(49). Özellikle duyguların oluşumundan sorumlu beyin alanlarındaki gelişim bozukluklarının ve nöroplastisite değişimlerinin ileri dönemlerde depresif bozukluklara yatkınlık oluşturabileceği ileri sürülmektedir(50). Uygun ve yeterli sürede kullanılan antidepresan tedaviyle beyinde bazı alanlarda nöroplastisite değişimlerinin

olduğu gösterilmiştir. Antidepresanların nöroplastisitede rol alan sinyal ileti sistemi ve gen ekspresyonunu değiştirerek etkilerini gösterdikleri bildirilmiştir(51). Bu konudaki çalışmalar serotoninin üzerinden etki eden antidepresanların nörotrofik etkilerini ortaya koymuştur(52). Bu etkinin antidepresanlarla sınırlı olmadığı duygudurum düzenleyiciler ve EKT'nin de hücreler arası sinyal ileti sistemlerini aktive ederek sinaptik plastisite ve nörojenezi uyardıkları gösterilmiştir(53).

Nöroanatomik Değişiklikler: Anatomik açıdan bakıldığında depresyon, hipokampus başta olmak üzere bazı frontal korteks alanları, bazal gangliyonlar ve amigdalanın yer aldığı limbik-kortiko-striato-pallido-talamik yoldaki yapısal ve fonksiyonel anormalliklerle ilişkilidir(54).

Depresyonda yapılan çalışmalar beyinde bazı alanlarda yapısal değişimleri ortaya koymuştur. Bu konuda en önemli bulgu hipokampus, prefrontal korteks, ve bazal gangliyonda gözlenen atrofik değişikliklerdir(55,56). Özellikler gri maddede yer alan bu kaybın nedeni tam olarak ortaya konamamıştır. Ancak nöronal hücre ölümü ve nöroenezdeki azalma önde gelen nedenler olarak görülmektedir(51). Son çalışmalar ventromedial prefrontal kortekste, özellikle sol ön singulatta ve orbitofrontal kortekste volüm azalması olduğu ortaya koymaktadır(57). Hipokampal değişimler depresyonun süresiyle ilişkilendirilmiş, özellikle uzun süren depresif dönemlerin hipokampal atrofiye yol açtığı vurgulanmıştır. Daha sonraki depresyona yatkınlık ve tekrarlamaların da hipokampustaki bu yapısal değişimlerle meydana geldiği ileri sürülmüştür(58–60).

2.1.5. Depresyon Tedavisi

Depresyon tedavisi günümüzde psikoterapi, farmakoterapi ve somatik tedavileri içerir. Bu tedaviler çeşitli durumlarda kombine edilebilir(61).

Depresyonda Farmakoterapi

Depresyon durumlarında en sık tercih edilen tedavi farmakoterapidir ve kullanılan ilaçlar antidepresanlar temel olarak antidepresanlar olarak sınıflandırılır. Bu ilaçların farklı mekanizmaları kullansa da temel olarak depresyon fizyopatolojisinde yer alan monoamin düzeyleri üzerinden etkilerini gösterirler. Beyinde çeşitli yollarda monoaminerjik nörotransmisyonu güçlendirdikleri bilinmektedir(62). Ancak sadece monoamin nörotransmisyonunu artırmak etkilerini açıklamaz. Asıl etkinliğin hücre içi sinyal yollarında ve ikinci haberci sistemlerde oluşan değişimlerle gerçekleştiği bildirilmiştir(63).

Önceki yıllarda sıklıkla kullanılan Trisiklik antidepresanlar ve MAOI oldukça etkili ilaçlar olsa da, ağır yan etkileri nedeniyle günümüzde nadiren kullanılmaktadır(64). Seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'lar), günümüzde 1. sıra tedavi haline gelmiştir. Bu ilaçların en önemli üstünlüğü yan etkilerinin oldukça düşük ve tolere edilebilir olmasıdır(65).

Tedaviye yanıt olmaması halinde güçlendirme stratejisi gündeme gelebilir. Bu amaçla diğer antidepresanlar ya da duyudurum düzenleyiciler birlikte kullanılabilir. Somatik tedavilerde bu konuda en önemli seçeneklerden biridir(66). Depresyonda tedaviye, bulguların şiddeti, daha önceki tedavi yanıtları, komorbidite, yan etkiler ve varsa hastanın tercihinine göre karar verilir. Akut dönemin ardından sürdürüm tedavisi genellikle gerekir. Tekrarlama riskini azaltmak için kullanılan antidepresan ilacı aynı dozda 6 ila 9 ay daha devam ettirilir(12).

Somatik Tedaviler

Depresyonda kullanılan somatik tedaviler başlıca Elektrokonsülsif Terapi (EKT), Transkranyal Manyetik Stimölasyon (TMS), Derin Beyin Stimölasyonu (DBS) ve Vagal Sinir Stimölasyonu (VSS) tedavilerini içerir. Bu alandaki en eski ve en yaygın kullanım alanına sahip olan EKT, depresyonda en etkili tedavilerden biri olarak gösterilmektedir(67).

2.2. Elektrokonsülsif Terapi (EKT)

2.2.1. Tanım ve Genel Bilgiler

Beyin dokusunun elektrik akımıyla kontrollü bir şekilde uyarılarak jeneralize konsülsiyonlar oluşturulması esasına dayanan EKT 1930'lerden beri kullanılmaktadır. Depresyon gibi psikiyatrik hastalıklarda, özellikle farmakoterapinin çeşitli nedenlerle kullanılamadığı durumlarda, EKT en önemli alternatif tedavi olarak karşımıza çıkmaktadır. Etkinliğine rağmen önyargı gibi bazı nedenlerden dolayı genellikle başlangıç tedavisi olarak kullanılmaz. Bazı eleştirilere rağmen ağır ve hayatı tehdit eden psikiyatrik hastalıklarda etkin ve hızla düzelme sağlanması açısından yüz yıla yakın bir süredir önemli bir tedavi seçeneğı olarak kullanılmaya devam etmektedir. Genel olarak her yıl yaklaşık bir milyon kişiye EKT yapıldığı bildirilmiştir(68). Başlıca ilaç tedavisine cevap vermeyen ya da farmakoterapinin riskli olduğu gebelik depresyonu hastalarında önerilmekle birlikte, intihar düşüncesi gibi hayatı tehdit eden psikiyatrik hastalıklarda, katatoni, kontrol edilemeyen mani ve şizofrenik epizotlarda, hatta parkinson ve nöroleptik

malign sendrom gibi birçok hastalık durumunda kullanılmaktadır(69). Klinik depresyon çalışmalarında, plasebo, trisiklik antidepresan ve monoamin oksidaz inhibitörleriyle karşılaştırıldığında, EKT'nin anlamlı şekilde daha etkili olduğu gösterilmiştir(67).

İlk olarak 1930'lu yıllarda psikiyatrist Ladislas von Meduna, şizofreni ile epilepsi arasında ters bir ilişki olduğunu gözlemlemiş ve hipoglisemi gibi kimyasal yöntemlerle nöbet oluşturarak belirtilerin azaldığını göstermiştir(70,71). Ancak kimyasal nöbetlerin çok ağır ve kontrolsüz olması nedeniyle 1938 yılında İtalya'da elektrik akımı kullanarak ilk EKT gerçekleştirilmiştir. Ugo Cerletti ve Lucio Bini tarafından 39 yaşındaki bir şizofreni hastasında 11 seans EKT uygulanmasından sonra hastanın klinik belirtilerinde belirgin iyileşme izlenmiştir(72). Daha sonraki gözlemler sonucunda 1940'lı yıllardan itibaren EKT uygulaması klinik kullanıma girmiştir(70). Psikotrop ilaçların keşfedilmesi ve elektrik akımına olan önyargılar sonucu 1950'li yıllardan itibaren EKT'ye olan ilgi azalmış, hatta bazı ülkelerde yasaklanmıştır. Ancak psikotrop ilaçlara dirençli birçok hastanın EKT'den fayda gördüğünün izlenmesi klinisyenleri tekrar EKT kullanımına yönlendirmiştir(70).

2.2.2. Depresyonda EKT Kullanımı

İlk olarak şizofreni hastalarının tedavisinde etkinliği gösterilmiş olsa da depresyon tedavisindeki daha etkili olduğu sonraki yıllarda ortaya çıkmıştır. Klinikte EKT'nin en yaygın ve etkili olduğu psikiyatrik hastalık depresyondur. Farmakolojik tedaviye dirençli, psikotik-ağır depresif belirtileri olan veya yemeyen-içmeyen hastalarda EKT ilk seçenek tedavi olarak düşünülmelidir(73). Özellikle intihar girişimi olasılığı yüksek ya da katatonik özelliklerin varlığı, herhangi bir nedenle ağızdan beslenememe, fiziksel durumun hızla bozulması, farmakolojik tedavinin riskli ya da cevapsız olması ve hastanın tercihi gibi durumlarda EKT öncelikli olarak önerilmektedir(73).

Depresyondaki bütün farmakolojik tedavilere kısa süredeki etkinliği gibi bazı üstünlükleri olmasına rağmen, uygulama şekline önyargılardan dolayı kullanımı sınırlamaktadır. Uygulamadan hemen sonra görülen baş ağrısı, kaslarda yaygın ağrılar ve kas seğirmeleri, kardiyak aritmiler, kalpte hızlanma ya da yavaşlamalar, geçici sistemik hipertansiyon, EKG'de ST ve T dalga yükselmesi en sık gözlenen yan etkilere aittir. Ancak bu yan etkilere rağmen karşılaştırmalı çalışmalarda EKT ile ölüm oranı diğer yöntemlerden daha düşüktür. Bellek ve dikkat bozulmaları EKT'nin ciddi yan etkileri olarak bilinmektedir(74). Klinikte uygulanan teknik bazı güncellemelerle geliştirilmiş

(kas gevşeticilerin kullanılması, kısa süreli anestezi, cihaza ilişkin değişkenler) ve bu yan etkiler en aza indirilmiştir.

2.2.3. Uygulama Şekli

EKT uygulama sonrası oluşan tedavi edici etkinin elektrik uyarımının doğrudan etkisine bağlı olmadığı, elektrik akımıyla oluşturulan etkili bir epilepsi benzeri nöbetle oluştuğu düşünülmektedir. Bu tedavi özel tasarlanmış EKT cihazları ile yapılır. Bu cihaz dış kaynaktan aldığı elektriği uygun doz ve akıma çevirerek elektrotlar aracılığı ile hastanın kafatasına aktarmaktadır. Uygulama sonrası oluşan nöbetin en az 25 saniye devam etmesi önerilir. Nöbet süresi tek başına etkiyi değerlendirmek için yeterli değildir. Genel olarak 15 saniyeden kısa süren kasılmaların ya da elektroansefalogramda (EEG) 25 saniyeden kısa süren nöbet etkinliğinin tedavi açısından yetersiz olduğu bildirilmiştir. Uygun doz ve süreyi tespit etmek zordur. Sıklıkla kullanılan yöntem, ortalama bir doz ile başlayıp nöbet görülene kadar kademeli olarak dozun artırılmasıdır. Oluşan ilk etkili nöbet nöbet eşiği olarak kabul edilir ve daha sonraki dozlar için referans noktası olarak alınır. Uygulama sonrası nöbet eşiği bir miktar yükseldiğinden tedricen doz artırılması gerekebilir. Ancak genellikle nöbet eşiğindeki bu yükselme uygulaması sırasında haftalar içinde meydana geldiğinden her uygulamada dozları artırmak genellikle gerekmez. Uygulama sıklığı genellikle haftada 2 veya 3 gündür. Daha sık uygulama yapıldığında tedaviye cevabın daha hızlı olabilir, ancak bilişsel yan etkilerin artışı tedaviyi zorlaştırabilir. Yaygın olarak seans sayısı hastanın ve hastalığın durumuna göre belirlenir. Hastanın yaşı, hastalık şiddeti ve tedaviye verdiği cevaba göre değişebilmekle birlikte ortalama 7-12 seans olacak şekilde uygulanır (71,75).

İlk yıllarda anestezişiz uygulama yaygınken 1950'li yıllardan sonra EKT kısa süreli sedasyon ve kas gevşemesi ile uygulanmaktadır. İşlem öncesi kısa ve yüzeysel bir anestezi oluşturmak amacıyla propofol, tiyopental, etomidat, ketamin ya da sevofluran gibi bir anestetik ilaç kullanılır. Nöromusküler blokaj, oluşan nöbet sırasında kas-iskelet sistemi komplikasyonlarını önlemek için uygulanmaktadır(76).

Elektrotun yerleşimine göre EKT unilateral ya da bilateral olarak uygulanabilir. Hızlı yanıt oluşturan ve en yaygın uygulanma biçimi olan bilateral uygulamadır. Bu uygulamada her iki elektrot frontotemporal alanın her iki ön tarafına yerleştirilir. Ancak unilateral uygulamaya göre bu şekilde yapılan uygulamalarda unutkanlık gibi bilişsel yan etkiler daha fazladır. Genellikle klinik uygulamada kullanılan EKT cihazları kare dalga (square wave) ve çok kısa vurum (ultra- brief pulse) 0.25-1.0 ms uyarı vermektedir(75).

2.2.4. Etki Mekanizması

Yüz yıla yakın bir zamandır psikiyatrik hastalıkların tedavisinde kullanılmasına rağmen EKT'nin etki mekanizması halen bilinmemekte ve yoğun şekilde araştırılmaktadır.

EKT uygulamalarına başlanan ilk yıllarda o dönemde psikiyatrik paradigmalarına uygun olarak Amnezi Kuramına göre EKT'nin çatışmaları bilinçdışına iterek iyileşme sağladığı ileri sürülmüştür. Yakın zamanda benzer bir görüş olarak EKT tedavisi sırasında beynin unutmaya gibi bir mekanizmayla sıfırlandığı ve daha sonra yeniden başlatıldığı ileri sürülmüştür(70,72).

Elektrokonvülsif nöbet (Electroconvulsive seizure, ECS), EKT'nin deneysel bir hayvan modelidir ve terapötik mekanizmasını araştırmak için yaygın olarak kullanılmaktadır. ECS genel olarak beyin aktivitesini arttırdığı için, sinaptik proteinlerdeki aktiviteye bağlı değişikliklerin etkilerini incelemek için de kullanılmaktadır.

Genel olarak araştırma sonuçları, ECT'nin terapötik etkisi için çoklu nöro-biyolojik mekanizmalar ileri sürmektedir. EKT, beyin makro ve mikro ortamında çeşitli nöro-fizyolojik ve nörokimyasal değişikliklere neden olur. Gen ekspresyonunu etkilediği, fonksiyonel bağlantılarda düzenleme sağladığı, nörokimyasalların salınımını düzenlediği, kan-beyin-bariyerinin geçirgenliğini artırdığı, hatta bağışıklık sisteminde değişikliklere yol açtığı ve bu şekilde terapötik etkilerinin ortaya çıktığı öne sürülmüştür(71,77).

Bu konuda yapılan geçmiş çalışmaların çoğu depresyondaki Monoaminerjik Teoriye uygun olarak serotoninerjik ve noradrenerjik sistem üzerinde odaklanmıştır. Uygulama sırasında nöronal depolarize oluşarak aşırı nörotransmitter salındığı bildirilmiştir. Diğer yandan postsinaptik nöronlarda serotonin-1A reseptör duyarlılığında arttığı, lokus seruleustaki noradrenerjik oto reseptörlerde fonksiyonel azalmaya yol açarak noradrenalinin salınımını arttığı, böylece antidepresan etki sağladığı bildirilmiştir(78).

Kemirgenlerde, hem akut ECS hem de kronik ECS tedavisi, hipokampal alanda yetişkin nörojenezini teşvik eder ve bilişsel esneklikteki gelişmelere katkıda bulunması muhtemel sinir ağını yeniden düzenler(79,80). Ayrıca ECS tarafından beyin aktivitesinin global olarak yükselterek çoklu protein değişikliklerine yol açmaktadır(81). Genel olarak EKT nörotransmitterler ve reseptörlerini, nöropeptidler, hormonlar ve nörotrofik

faktörler gibi santral sinir sistemindeki birçok proteinik yapıyı etkilediği bildirilmiştir(82,83). Tedavi edici etkisinin de beyinin hipokampus başta olmak üzere, striatum, frontal korteks ve temporo-parietal korteks gibi birçok alanda yaptığı fizyolojik değişikliklerden kaynaklandığı ileri sürülmektedir(84).

Depresyonda meydana gelen hipokampal ve kortikal atrofinin EKT uygulaması sonrası kısmen geri döndüğü, gri cevher ve hipokampus hacminin arttığı gösterilmiştir(85,86). Bu gibi nöroplastik değişimleri beyinden kaynaklanan büyüme faktörü (brain-derived neurotrophic factor-BDNF) arttırarak gerçekleştirdiği düşünülmektedir(87).

Ayrıca EKT uygulanırken oluşan nöbet sırasında nörofizyolojik olarak beyin kan akımının, glukoz ve oksijen kullanımının ve kan-beyin bariyeri geçirgenliğinin arttığı gösterilmiştir. Nöbetten sonra özellikle frontal loblarda kan akımı ve glukoz metabolizmasındaki azalmanın da tedavi yanıtı ile bağlantısı olduğu düşünülmektedir(88,89).

2.3. Endoplazmik Retikulum Stresi

2.3.1. Endoplazmik Retikulum ve Protein Katlanma İşlevi

Ökaryot hücrelerde ER, proteinlerin sentezi, uygun şekilde katlanması, salgılanması ve kalsiyum homeostazında rol alan önemli bir hücre organelidir(90,91). Sentezlenmiş her yeni protein ER’da uygun düzenlemeler sonucu katlanır. Posttranslasyonel modifikasyon olarak da adlandırılan bu işlemlerin çoğu (N glikozilasyon, disülfid oluşumu, hidroksilasyon, oligomerizasyon) ER’de gerçekleşir (92,93). Hücrenin sitoplazmasında ER uzun tübülleri aracılığı ile önemli bir bölümü işgal eder ve bu sayede proteinlerin geniş alanlara taşınmasını sağlar(94). Genel olarak hücre içindeki ER’lar, işlevleri de farklı olan, ribozom içeren ER (granuler ER, GER) ve ribozom içermeyen ER (Düz ER,DER) olarak iki farklı şekilde bulunur(95). Yüksek miktarda protein salgılayan hücrelerde GER daha yoğunken, steroid sentezleyen hücrelerde ve kas hücrelerinde DER daha bol miktarda bulunur. Birçok hücrede, GER ve DER sitoplazmada karışık şekilde ve uzamsal olarak ayrışmamış şekilde bulunur. Ancak hepatositler ve nöronlar gibi bazı özel hücrelerde, GER ve DER hücre sitoplazmasının farklı alanlarına dağılmıştır(96). Morfolojik olarak daha karmaşık bir tübül sisteme sahip olan ve çok fazla sayıda dallanmalar içeren DER yabancı maddeleri metabolize eden enzimler açısından oldukça zengindir(97).

Hücrelerde ER'nin en önemli görevlerinden biri sentezlendikten sonra proteinlerin katlanmasından sorumludur. Proteinler burada uygun şekilde katlanır, katlanma oluşmamışsa ya da uygun katlanma olmadıysa düzenlenir. Yanlış katlanmış proteinlerin yıkımı yine ER içinde yer alan moleküller tarafından gerçekleştirilir(92,98). ER'de proteinlerin doğru katlanmasını düzenlemek amacıyla şaperon adı verilen moleküller yer almaktadır. Bu moleküller protein katlanma işlevlerinin yanı sıra kalsiyum tamponlama işlevlerine de sahiptir. Dahası bu proteinlerin aktiviteleri kalsiyumun varlığına bağlıdır(92,99).

Protein uygun katlanması için 78-kDa glikoz düzenlenmiş protein (Grp-78) ve 94-kDa glikoz düzenlenmiş protein (Grp94) gibi ER şaperonları başlatıcı rol oynar. ER içerisinde Grp-78 monomerik veya dimerik formda işlev görürken, oligomerik form depo şekli olarak yer alır. Asıl şaperon görevi monomerik form ile gerçekleşir. Hücre içinde nükleus ve mitokondri gibi organeller de Grp-78 içermektedir. Herhangi bir nedenle ER'deki kalsiyum miktarının azalması ya da glikozillenmemiş proteinlerin birikmesi gibi stres durumlarında hücrenin yaşamını sürdürebilmesi için Grp-78 hayati rol oynamaktadır(92,100,101). Bu noktada Grp-78 proteinlerin ER'ye translokasyonu, protein katlanması, kalsiyum bağlanması, apoptozis ve UPR cevabının düzenlenmesi gibi protein kalite kontrolü ve yıkımındaki bazı temel görevleri başlatır ve yürütür. Proteinlerin uygun katlanmasından sorumlu bir diğer molekül ER'de en fazla bulunan ve dimerik bir protein olan Grp94'dür(102). Protein katlanması ve katlanamayan proteinler yıkım için gönderilmesi Grp94'ün başlıca görevleridir. Grp94 ayrıca kalsiyum bağlanması, apoptozisin düzenlenmesi, antijen sunumu gibi hücre içi olaylarda da rol alır. Protein katlanmasında yer alan glikoproteinlerin kalite kontrolünden kalneksin ve kalretikulin sorumludur. Glikoproteine bağlanan kalneksin ve kalretikulin, disülfid izomeraz ve foldaz gibi enzimler için substrat sunmakla görevlidir. Sonuçta proteinin katlandığı tersiyer yapıları şekillenmiş olur. Son glukozun uzaklaştırılması ile şaperonların bağlandığı bölge ortadan kalkar ve uygun şekilde katlanmış olgun proteinler golgiye transfer edilir(92).

2.3.2. ER Stres ve Katlanmamış Protein Cevabı (UPR)

İç veya dış faktörlerce uyarılan hücrelerde ER'nin moleküler ve biyokimyasal fonksiyonlarında değişiklikler meydana gelmektedir. Normal şartlarda homeostatik mekanizmalarla bu değişiklikleri hücre için zararlı bir duruma yol açmaz. Ancak hücrede ER işlem kapasitesini aşan fizyolojik veya patolojik durumlar, homeostatik

mekanizmaların yetersiz kalmasıyla birlikte, lümende büyük miktarlarda katlanmamış ya da yanlış katlanmış proteinlerin birikmesiyle sonuçlanır. Proteinlerin işlenmesini ve taşınmasını bloke eden bu değişiklikler 'ER Stresi' olarak adlandırılmaktadır(103). Hipoksi, besin kıtlığı, stres, oksidatif stres, N-bağılı glikozilasyon inhibisyonu, Ca^{2+} seviyesindeki anormal değişimler, viral enfeksiyonlar, yüksek yağlı diyet ve katlanma işlevinin gerçekleştirilmesinde görevli proteinlerin mutasyonları ER stresine yol açabilen çeşitli patofizyolojik etkenler olarak gösterilmiştir(93,104,105).

Hücrelerin Oluşan ER stresinden kurtulmak ve ER homeostazını geri kazanmak için yaptığı uyumsal mekanizmalar ise 'ER Stres Yanıtı' olarak ortaya çıkar(106,107). Hücrenin hayatta kalması sürecin tersine çevrilerek, proteinlerin tekrar normal şekilde üretilmesi ve salınımıyla elde edilir(108). Önleyici homeostatik mekanizmaların da yetersiz kaldığı ve yanlış katlanmış proteinlerin yol açtığı patolojik durumlarda ER fonksiyonları ciddi şekilde hasar görür. Sonuçta sitoplazmaya büyük miktarda Ca^{2+} salınarak spesifik apoptotik yanıtlar oluşur(109,110).

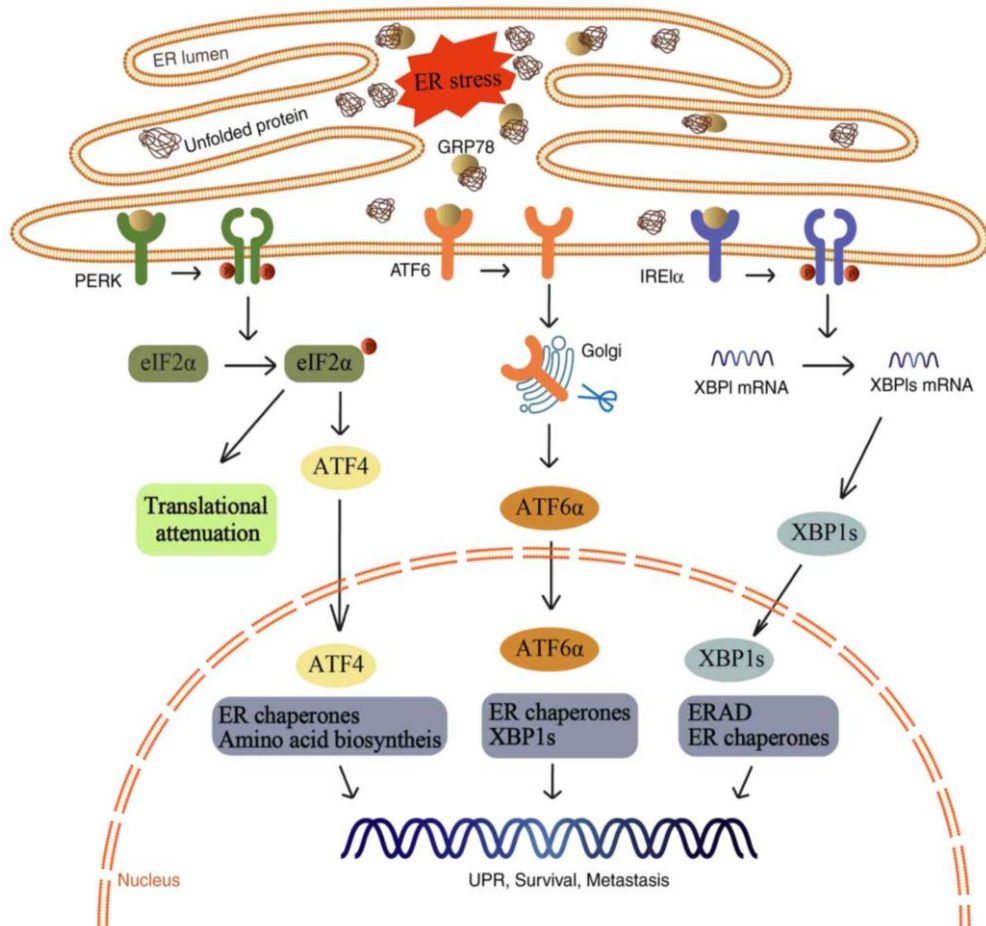
ER lümeninde gerçekleşen protein katlanma işlevleri, katlanmamış protein yanıtı (UPR) olarak bilinen ve evrimsel olarak korunan bir dizi sinyal yolağıyla sürekli olarak kontrol edilir(111,112). ER stresi olarak bilinen protein katlama kapasitesinin aşılması veya uygun şekilde katlanamayan işlevsiz proteinler birikmesi durumunda UPR aktive edilir. Sonuç olarak hücre homeostatik mekanizmalarla normal işlevlerini geri kazanmak için organelin katlanma kapasitesini tekrar düzenlemeye çalışır. Hücrelerin ER stresini engelleyebilmek ve tekrar ER homeostazisini oluşturmak için kullandığı genel mekanizmalar şunlardır;

1. Hücreler başlangıçta genel protein sentezini geçici olarak azaltarak ER'deki protein yükü azaltmaya çalışılır(Harding ve diğerleri, 2000).
2. Endomembran biyosentezi artırılarak daha fazla işlem alanı oluşturmak için ER hacmi genişletilmeye çalışılır(114,115).
3. Şaperonların ve foldazların artırılmasıyla ER protein katlama kapasitesi arttırılır(116,117).
4. ER ile ilişkili degradasyon (ERAD) ve ER-faji sisteminin harekete geçirilmesi ile ER protein işleme kapasitesini arttırılır. ER'de biriken yanlış katlanmış proteinler veya tüm organelin hasarlı kısımları ortadan kaldırılır(118,119).

5. Homeostaz ile protein katlanma işlevi tam olarak sağlanamazsa, son olarak UPR organizmanın yararına hatalı hücreleri ortadan kaldıran apoptoz mekanizmalarını başlatır(120).

2.3.3. UPR sinyal yolları

Hücredeki ER stress durumlarında UPR'nin aktive edilmesi temel olarak transmembranda yer alan 3 farklı ER stres sensörü tarafından başlatılmaktadır. Bunlar protein kinaz R-benzeri ER kinaz (PERK), aktive edici transkripsiyon faktörü 6 (ATF 6) ve inositol gerektiren enzim 1 α (Inositol-requiring enzyme1- IRE1 α) olarak gösterilmiştir(100,121). Normal durumlarda, strese maruz kalmayan hücrelerde, bu proteinler GRP-78'e bağlanarak inaktif bir durumda tutulurlar(122). Herhangi bir ER stresi tespit edildiğinde, GRP-78 bu üç molekülden ayrılarak katlanmamış proteinlere bağlanır ve böylece UPR sinyal yolu aktifleşmiş olur(123). Şekil 2.1.



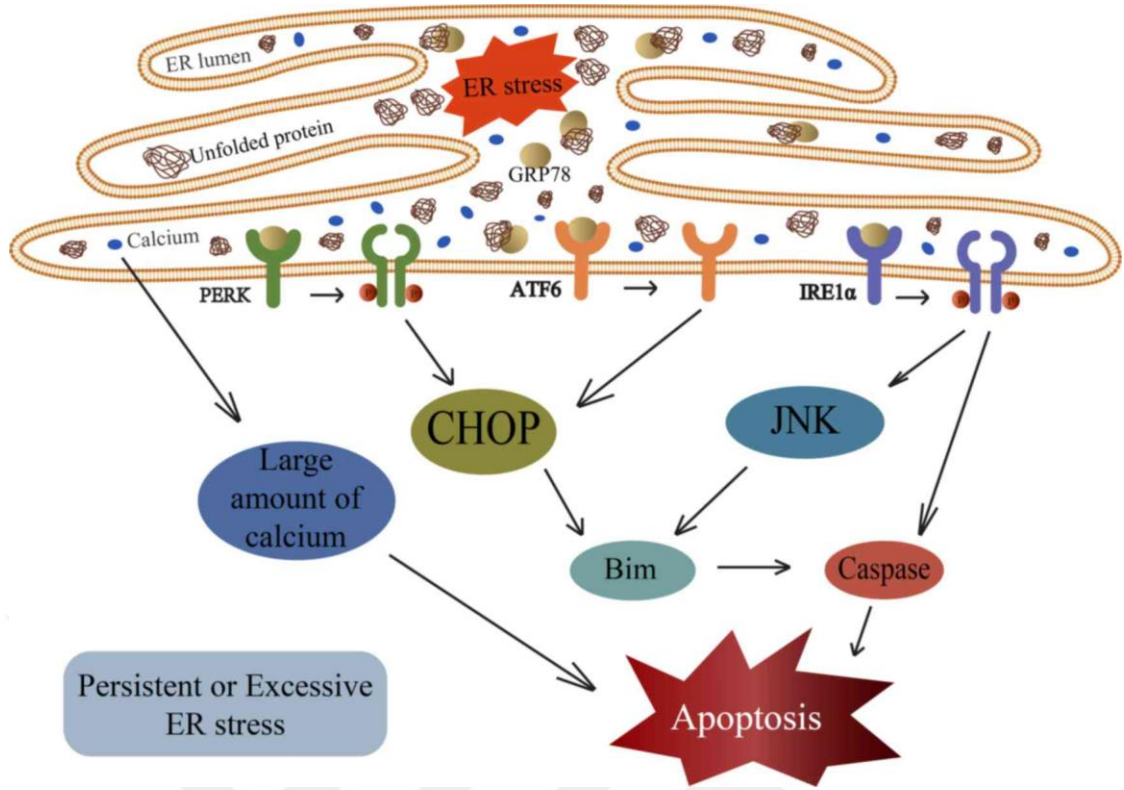
Şekil 2.1. Başlıca ER stres yolları ve mekanizması. ER ve Nukleusta gerçekleşen işlemler(124).

PERK: Asıl olarak ER membranına bağlı bulunan bir Tip I transmembran serin treonin kinazdır. Normal şartlar altında Grp-78 ile bağlı bir şekilde ve inaktif monomerik formda bulunur(107). ER kapasitesini aşan bir stresle karşılaşıldığı zaman beraberinde bulunan Grp-78 ayrılır ve lümene katlanmaya yardımcı olması için gönderilirken kendi aktivasyonunu başlatmak için PERK otofosforilasyonla homodimerize olur(113). Aktive olan PERK daha sonra ökaryotik translasyon başlama faktörü 2 α 'yı (eIF2 α) fosforile eder ve bu da daha sonra Atf-4 gibi çoklu transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu aktive eder(113). Fosforile olan eIF2 α aktivitesi stresin erken safhalarında hücredeki çoğu proteinin sentezi ve translasyonu hücre içinde durdurur. Böylece daha başlangıç aşamasında ER'deki katlanmış protein yükünü azaltmaya çalışır. Ancak buna rağmen bazı özel proteinlerin translasyonu ve miktarları artarak devam edebilir(107). Sonuçta büyük oranda translasyonun inhibe olan kısa ömürlü proteinlerin hücredeki yükü azalır. Buna ek olarak bu yolda yer alan Atf-4, amino asit metabolizmasını, indirgenme-yükseltgenme reaksiyonlarını ve protein salınımını değiştirerek koruyucu bir rol oynar(125). Oluşan stres etkeninin süresi ve yoğunluğu artarsa, aktifleşen Atf-4, daha da ileri bir reaksiyonla pro-apoptotik CCAAT / arttırıcı bağlayıcı protein-homolog proteinin ((CCAAT /enhancer binding protein homologous protein-CHOP) ekspresyonunu indükler. Aktive olan CHOP hücre büyümesinde duraklamaya ve apoptozise sebep olarak daha ileri bir zarardan organizmayı korumaya çalışır. Bu nedenle, CHOP, ER stresinde UPR cevabının yetersiz kaldığı durumlarda, hücrede apoptozisin aktive olmasında önemli bir rol oynamaktadır(126,127).

ATF6: Hücrede ER stresinin olmadığı normal durumlarda, ER membranında yer alan ATF6, Grp-78 ile birleşik ve inaktif bir şekilde zimojen olarak bulunur. Hücre herhangi bir ER stresi ile karşılaşacak olursa membranda yer alan Grp-78 ER lümeninin iç taraflarına doğru protein katlanmasını düzenlemek üzere hareket ederken ATF6 çeşitli değişiklikler geçirerek golgiye organeline taşınır. Normalde gelişmiş canlılarda ATF6 ER içinde ATF6p ve ATF6 α olmak üzere iki ayrı homolog protein olarak bulunur. Bu homolog proteinler ER stresi başlaması ile birlikte membrandan ayrılır. Her bir homolog temel olarak sitoplazmik transkripsiyon faktör alanına sahip olan tip 2 transmembran proteinleridir. Bunlardan ATF6 α transkripsiyon faktörü golgi aparatına ulaştığında, sırası ile site 1 ve site 2 proteazları tarafından kırılma işlemine uğrayarak lümeninde yer alan bölge ve transmembran bağlantı alanları kaldırılır ve daha sonrada nukleusa doğru yönlendirilir. Stres altındaki hücrelerde, PERK ve IRE1'den farklı olarak, ATF6 nukleusata ER içindeki proteinin daha fazla yüklenmesini önlemekten ziyade ER cevap

elemanlarına bağlanarak Grp-78 ve Grp94 gibi ER şaperonlarının ekspresyonunu artırır. Katlanmaya yardımcı bu proteinlerin sentezi arttığından dolayı ER katlama kapasitesi daha da yükselir. Sonuç olarak diğerlerinden farklı bir mekanizmayla strese karşı korunma sağlanmış olur(2,128–130). Ayrıca ATF6 ER hacmini ve ER'nin protein işleme kapasitesini artırmakta görev alır(114,130).

IRE1 α : Bir transmembran proteini olan IRE1 α , sitoplazmada yer alan bölümü içerisinde serin/treonin kinaz ve endonükleaz aktivitelerine sahiptir. İç yüzeydeki lümene bakan bölüm ise PERK aktivitesiyle benzer işlevlere sahiptir. Dimerizasyon gösteren IRE1 α 'nın genel olarak vücutta bulunan iki ayrı formu vardır. Asıl olarak tüm hücrelerde α bulunurken, β formu daha çok bağırsaklarda yer almaktadır(100,131). Diğer UPR yollarında olduğu gibi IRE1'de Grp-78 ile bağlı şekilde inaktiftir formda bulunur. Herhangi bir stres durumunda Grp-78'den ayrılan IRE1 α , sitoplazma kısmın homodimerizasyonu ve otofosforilasyonu ile kendi kendine aktive eder. Sonuçta çevresindeki endonükleaz kısmın allosterik aktivasyonu sağlanmış olur(125). Aktive olan IRE1 α , daha sonra ATF6 tarafından uyarılır. Böylece oluşan RNAaz aktivitesi ile X-box bağlayıcı protein 1'in (Xbp1) mRNA'sındaki 26 bazlık intron uzaklaştırılır. Sonuçta Xbp1 mRNA translasyona uğrayarak kararlı durum transkripsiyon faktörüne dönüşür(116). Transkripsiyon faktörü olarak Xbp1 daha sonra Grp-78 ve CHOP genlerinin transkripsiyonunu indükler. Dahası katlanmaya yardımcı olan enzimlerin de yukarı düzenlenmesine yardımcı olur. Ayrıca ER denge durumunu sağlamak için ER degradasyonunu artıran α mannosidaz benzeri 1 (EDE1) aracılığı ile ERAD mekanizması da aktive edilir(132,133). Buradan da anlaşılacağı gibi Xbp1 ER homeostazisini oluşturmada hayati bir rol oynamaktadır(124).



Şekil 2.2. Kalıcı ya da Aşırı ER stres sonuçları: ER'nin işlevi ciddi şekilde bozulduğunda, apoptozu indüklemek için büyük miktarda kalsiyum sitoplazmaya salınır. UPR ayrıca CHOP, JNK'ler, Bim ve kaspazlar aracılığıyla apoptotik sinyalleri tetikler. ER, endoplazmik retikulum; Grp-78, 78-kDa glikoz ile düzenlenen protein; PERK, protein kinaz R benzeri ER kinaz; ATF6, aktive edici transkripsiyon faktörü 6; IRE1 α , inositol gerektiren enzim 1 α ; CHOP, CCAAT / güçlendirici bağlayıcı protein homolog protein; Bim, Bcl-2 benzeri protein 11.(124)

Buradaki her bir transdüksiyon yolu, negatif geri besleme aracılığı ile ER stresine engel olmak için beraber çalışmaktadır. Sonuçta temel hedef olan katlanmamış proteinlerin miktarını azaltarak hücrelerin hayatta kalmasını sağlamaya çalışırlar(108). Ancak eğer bu mekanizmalar başarısız olursa devam eden UPR sinyalleri kalıcı ER stresini indükler. Burada son aşama olan apoptozu indüklemek için sitoplazmaya büyük miktarlarda kalsiyum salınır(109). Katlanmamış protein cevabı, CHOP, JNK'ler, proapoptotik Bcl-2 benzeri protein ve kaspazların aktivasyonu ile apoptoza ve sonuçta da hücre ölümüne neden olur(134).(Şekil 2.2.)

Katlanmamış protein cevap mekanizması, hücrelerin ve dokuların fizyolojik durumuna uyum sağlamak için o anki duruma ve hücre tipine özgü bir şekilde düzenlenmektedir. Burada UPR hem hayatta kalmayla ilgili hem de proapoptotik yolları aktive edebilir. Dolayısı ile UPR'nin kanser, diyabet, ateroskleroz ve enfeksiyonlar dahil

olmak üzere çok sayıda hastalığın fizyopatolojisinde etkili olan merkezi bir rolü vardır(98).

2.4. Depresyonda ER Stresinin Rolü

İnsan ve hayvan modellerinde ortaya çıkan kanıtlar, ER stresi ve depresyon arasında ilgi çekici bir bağlantı olduğunu düşündürmektedir. Son yıllardaki birçok çalışma ER stresinin depresyon patofizyolojisinde nasıl bir rolü olduğunu ve farklı ilaçların ER stresi yoluyla depresyonu nasıl etkilediğini araştırmaya odaklanmıştır(124).

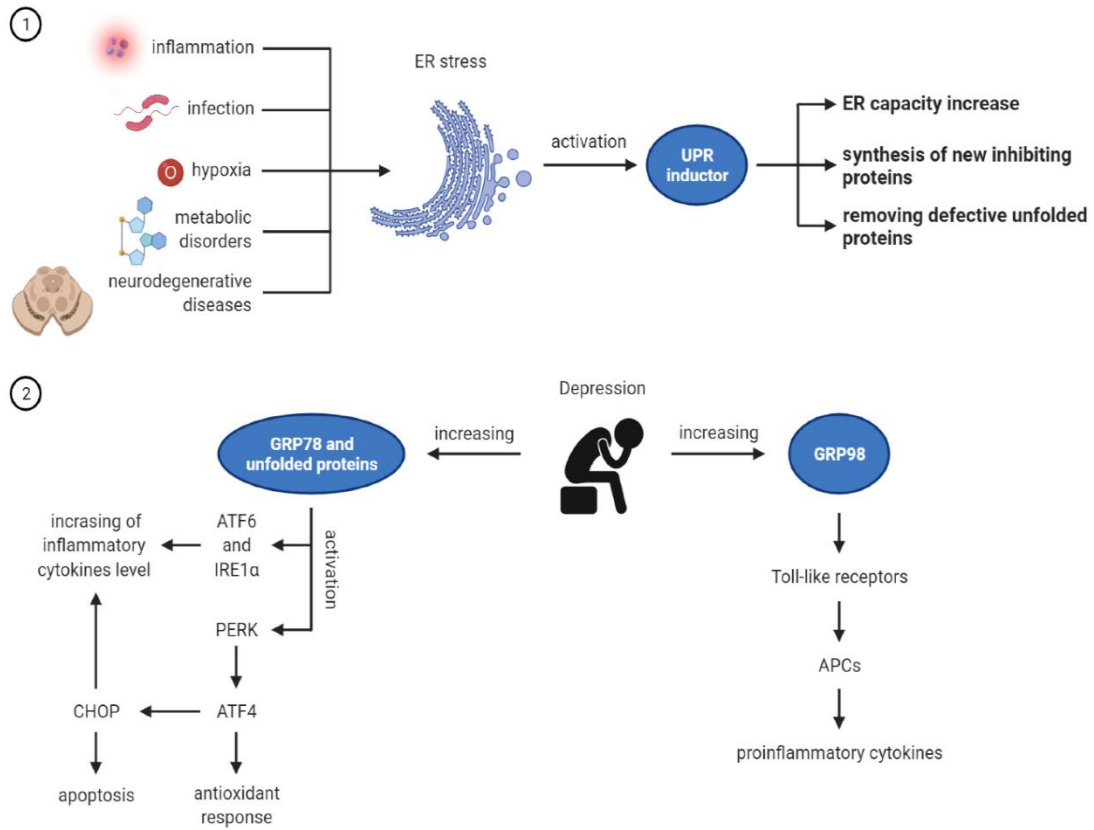
2.4.1. Preklinik Hayvan Depresyon Modeli Çalışmaları

Kronik öngörülemez/değişken hafif stres (CUMS) modeli, bir hayvan depresyon modeli olarak geliştirilmiştir. Bu modelin temeli, bir dizi hafif, ancak öngörülemez stres etkenine uzun süreli maruz kalmanın ardından, hayvanların, majör depresif bozuklukta gözlenen anhedoniye benzer bir durumu geliştirmektedir. Başlangıcından bu yana, bu model aynı zamanda depresyonla ilişkili nörobiyolojik değişkenleri inceleyen çeşitli çalışmalarda da kullanılmıştır(135). Yetişkin BALB/c fareleri, CUMS modeline maruz bırakıldığında kortikosteron seviyesinin sürekli yükselmesiyle birlikte anormal enerji mobilizasyonuna, reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretiminin ve ER stresinin eşlik ettiğini gözlemlendi. Bu çalışma ATP sentezi yetersizliğinin, aşırı ROS üretimi, ER stres ve bazı antioksidan proteinlerin ekspresyonundaki inhibisyon sonucu hücre iskeleti hasarı ve nihayetinde fonksiyonel nöronu apoptoza veya ölüme yol açtığını gösterdi(136). Bir başka çalışmada, sıçanlarda CUMS ile oluşan depresyon benzeri davranış tablosunun, hipokampal hidrojen sülfür (H₂S) üretiminin bozulmasından kaynaklandığı ve bunun sırasıyla Grp-78, CHOP ve kaspaz-12 ekspresyonunu artırarak hipokampal ER stresine yol açtığı ileri sürülmüştür(1). En yaygın endojen gaz-nörotransmitterlerden biri olan H₂S, önemli bir transkripsiyon faktörü olan hipokampal sessizlik sinyal düzenleyicisi 1'i yukarı regüle ederek hipokampal ER stresini inhibe ettiği ve böylece sıçanlarda depresif davranışları azalttığı öne sürülmüştür(1). Bu bulgularla H₂S gibi ER stresini engelleyen ajanların depresyon tedavisi için yeni bir hedef olabileceği ileri sürülmüştür(124).

Çin'de geleneksel bir tedavi olarak kullanılan honokiol'ün farelerin hipokampüslerinde Grp-78 ve CHOP artışını önleyerek kronik kısıtlama stresinin yol açtığı depresyon benzeri davranışları ve bilişsel bozukluğu ortadan kaldırdığı gösterilmiştir(4). Aynı grubun yaptığı bir diğer çalışmada da kronik kısıtlama stresi

uygulanan farelerde prefrontal kortekste CHOP ve hipokampal GRP-78 ve CHOP ekspresyon seviyeleri yükselmekteydi. Bu yüksekliğin, bir ER stres inhibitörü olan sodyum fenilbutirat ve bir serbest radikal temizleyici olan edaravone ile azalmasıyla birlikte depresyona benzer davranışların da düzeldiği görülmüştür(137). Yine kronik kısıtlama stresine maruz kalan sıçanların striatumunda Grp-78, ATF6, Xbp1 ve CHOP ekspresyon seviyeleri ve eIF2 α 'ya özgü fosfataz kompleksinin düzenleyici bir alt birimi olan DNA hasarı ile indüklenebilir protein artmaktadır. Bu da ER stresinin depresyon benzeri davranışların gelişiminde rol aldığını göstermektedir(138).

Anksiyete ve depresyon benzeri davranışlara neden olan lipopolisakkaritin kemirgenlerde verildiğinde, hipokampusta Grp-78 mRNA ekspresyonu belirgin şekilde artması da UPR'nin, depresyon gelişiminde rol oynadığını düşündürmektedir(139,140). Diğer bir depresyon modeli olan sosyal yenilgi stresi çalışmasında farelerde amigdala GRP-78, CHOP ve kolin asetiltransferaz ekspresyonunda önemli bir artış ile ilişkili olarak depresyon benzeri davranış görülmüştür (141). Liu ve arkadaşları da, sosyal yenilgi stresinden sonra farelerin hipokampüsünde Grp-78 ve Xbp1 ekspresyonunun önemli ölçüde arttığını bulmuşlardır(142). Ayrıca, kronik sosyal yenilgi stresinin farelerde, hipokampustaki PERK-eIF2 α sinyal yolunu aktive edip, BDNF ekspresyon seviyelerini azaltarak depresyon benzeri davranışlara ve bellek bozukluğuna yol açtığı gösterilmiştir(143). Farelerde PERK ekspresyonu engellendiğinde hipokampal bellek bozulmalarının geri çevirebildiğini göstermiştir(144). Bu sonuçlara bakarak hipokampal Cornu Ammon 1 bölgesindeki PERK ekspresyon seviyelerini düzenlendiğinde bilişsel işlevlerin iyileştirilebileceği ileri sürülmüştür. Depresyonun öğrenilmiş çaresizlik modeli sıçanlarında kortikosteronun plazma seviyeleri ile hipokampal Grp-78, GRP94, ATF6, Xbp1, Atf-4 ve CHOP'u kodlayan genlerin ekspresyonu artması da depresif davranışlarda ER stresin rolünü düşündürmektedir(145). Kemirgen omurilik yaralanması modellerinde de aynı şekilde depresif benzeri davranışlara ve uzamsal bellekte bozulmaya neden olmaktadır(146). Deneysel olarak oluşturulan omurilik hasarını takiben, beyinde ve hipokampal subgranüler olgunlaşmamış nöronlardaki ER stresin kronik aktivasyonun, bozulmuş bilişsel işlevler ve depresif nöronların onarımı engellediği bildirmiştir(147). Karboksipeptidaz E/NF- α 1'i kodlayan gende Alzheimer'la ilişkili bir mutasyonun aktarıldığı transgenik farelerde, ER stresinin arttığı ve pro-survival protein Bcl-2'nin ekspresyonunun azaldığı ve sonuçta depresyonu andıran belirtiler olduğu gözlenmiştir(148). Bütün bu prelinik hayvan çalışmaları ER stresini ile depresyon arasında nedensel bir bağlantı olabileceğini göstermektedir.



Şekil 2.3. ER stresi ve depresyon arasındaki ilişki: Stresörlerin etkisi altında UPR aktivasyonu ve ER homeostazisinin restorasyonundaki rolü; Depresyonda Grp-78 ve GRP94'ün düzeyi artar. Made in ©BioRender—biorender.com (accessed on 1 September 2021).

2.4.2. Depresyon Hastalarında Yapılan Klinik Çalışmalar

Depresyonlu hastalarda ER stresin rolünü araştıran bir çalışmada postmortem beyin dokularında Grp-78, GRP94 ve kalretikülinin ekspresyon düzeylerini incelenmiştir. Özellikle intihar nedeniyle ölen depresyon hastalarının temporal korteksinde, intihar dışı ölenlere ve diğer psikiyatrik hastalıklara göre Grp-78, GRP94 ve kalretikülin'in daha yüksek miktarda eksprese edildiği bulunmuştur(149). İntihar nedeniyle ölen bipolar bozukluk veya şizofreni hastalarının araştırıldığı başka bir çalışmada bu proteinlerin ekspresyon seviyelerinde bir farklılık saptanmamıştır(150). Lökosit türevli RNA örneklerinin analiz edildiği bir çalışmada, depresyonlu hastaların kontrollere kıyasla ER stres yanıtının ana göstergeleri olan Grp-78, EDEM1, CHOP ve Xbp1 ekspresyon seviyelerinin anlamlı olarak daha yüksek olduğu gösterilmiştir(151). Sonuçlar depresyon hastalarındaki ER stres yanıt yollarının sürekli olarak aktif olduğunu ve daha fazla araştırması gerektiğini göstermektedir.

2.4.3. Antidepresan Tedavinin ER Stres Üzerine Etkisi

Antidepresif özellikler gösteren bazı bitkisel ürünlerin ER stresi düzenleyici etkileri olduğu ileri sürülmüştür. Bunlardan biri olan luteolinin, Grp-78 ve GRP94'ü kodlayan genlerin ekspresyonunu artırarak ve kaspaz-3'ün parçalanmasını azaltmak suretiyle, hipokampal ER stresinin neden olduğu apoptozu inhibe ettiği ve bu şekilde antidepresan benzeri bir etki oluşturduğu gösterilmiştir(152). Buna karşılık, longistylone C, Grp-78, CHOP ve Xbp1 seviyelerini inhibe ederek ER stresini hafifletir ve antidepresif özellikler sergiler(153). Önceki bir çalışmada, Panax ginseng'in su ekstraksiyonunun, hem akut hem de kronik stres depresyon modellerinde antidepresan benzeri aktiviteye sahip olduğunu ve bunun altında yatan moleküler mekanizmanın CHOP, Grp-78, Xbp1 ve kaspaz-12 gibi ER stresi ile ilgili proteinlerin aşağı regülasyonuna bağlı olduğunu bildirilmiştir(154). Yakın tarihli bir çalışma, gastrosidinin ER stresini engelleyerek farelerde depresyon benzeri davranışı iyileştirebileceğini göstermiştir(155).

Depresyonun fizyopatolojisinde olduğu gibi tedavide kullanılan antidepresanların da ER stres üzerine etkileri araştırılmıştır. Antidepresan olarak klinikte kullanılan Fluvoksamin, Sig-1R için yüksek afiniteye sahip seçici bir serotonin geri alım inhibitörüdür(SSRI)(156). Hosoi ve arkadaşları, fluvoksaminin ER stresini azalttığını göstermişler ve bu durumun altında yatan mekanizmanın Sig-1R reseptörü aracılığıyla gerçekleştiğini öne sürmüşlerdir(157). Sig-1R, hücrede kalsiyum iyon düzenlenmesinde, hücrenin fonksiyonlarını devam ettirebilmesi amacıyla ER-mitokondri arayüzünde Grp-78 molekülüyle bir kompleks oluşturur(158). Benzer şekilde, fluvoksaminin Sig-1R ekspresyonu artırarak, ER stres aracılı apoptozu inhibe ettiği gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca fluvoksaminin Atf-4 translasyonunu da artırarak nöron koruyucu etkileri güçlendirdiği gösterilmiştir(159). Başka bir çalışmada Fluvoksaminin, beyin kaynaklı nörotrofik faktör, Xbp1, Sig-1R, 5-hidroksitriptamin 2A reseptör sinyal yolağını düzenleyerek, farelerde deksametazon infüzyonuyla gelişen depresyon benzeri davranışları iyileştirdiği de bildirmiştir(160).

Fluoksetin, serotonerjik etkiyi artıran, klinik uygulamada yaygın olarak kullanılan diğer bir SSRI'dır(161). Fluoksetinin, glioma hücrelerinde PERK, eIF2 α , Atf-4, CHOP ve ATF6-CHOP gibi ER stresıyla ilişkili yolları etkileyerek apoptozu engellediği gösterilmiştir(162). Desipramin, PERK, eIF2 α ve ATF6 sinyal yolları aracılığıyla otofajiyi indükleyerek gliomada antitümör aktivitesini uyarır(163). Hatta son yıllarda depresyon tedavisi için de kullanılmaya başlanan ketaminin hızlı antidepresan etkileri de

ER stresiyle ilişkili olabileceği bildirilmektedir(164). Önceki deneysel çalışmalarda, bazı ilaçların neden olduğu karaciğer hasarının da aşırı ER stres aktivasyonu ile ilişkili olduğu ileri sürülmüştür. Örneğin nefazodon, CHOP, Atf-4 ve fosforile eIF2 α seviyelerini önemli ölçüde artırmaktadır(165). Ek olarak, yakın zamanda yapılan bir çalışmada, bir SSRI olan essitalopramın ER stres belirteç proteinlerinin ekspresyon seviyesini önemli ölçüde azalttığı ve böylece antidepresan etkisini gösterdiği bildirilmiştir(166).

Depresyon yanı sıra anksiyete bozuklukları ve obsesif kompulsif bozukluk gibi diğer psikiyatrik bozuklukların tedavisinde de yaygın olarak kullanılan sertralinde bir SSRI'dır(167). Sertralinle yapılan bir çalışmada daha çok PERK, IRE1 α ve CHOP ekspresyon seviyelerinde artışa yol açarak karaciğer hasarına neden olduğu bildirilmiştir(3).

Mevcut araştırmalar, ER stresinin depresyonun patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. ER stresi ile ilişkili proteinler, hipokampus, prefrontal korteks, amigdala ve striatum dâhil olmak üzere hayvan depresyon modellerinde önemli ölçüde artar, bu da ER stresinin depresyon patogeneğinde rol oynadığını göstermektedir. Klinik çalışmalar nispeten sınırlıdır, ancak kanıtlar depresyonlu hastaların ER stres sisteminin kalıcı aktivasyonunu sergilediğini ortaya koymuştur. Bu, depresyonun tedavisi ve önlenmesinin ER stresi ile ilgili sinyal yollarına odaklanması gerektiğini göstermektedir. Antidepresan ilaçlarla yapılan çalışmalar çelişkilidir; bitkisel ilaçlar ve fluvoksamin ER stres sisteminin aşırı aktivasyonunu engellerken fluoksetin, desipramin, sertralin ve nefazodon ER stresini güçlendirir. Antidepresanlar ER stresini aktive ederek apoptozu teşvik ettiği ileri sürülse de, hiçbir çalışma, nöronal apoptoza neden olduklarını göstermemiştir. Antidepresan ilaçların etkileri kısmen bilinse de ECT ve diğer beyin uyarıcı tedavilerin ER stres üzerine etkilerini araştıran bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu nedenle, bu antidepresan tedavilerin farklı hücresel ER stres sistemleri üzerindeki etkileri derinlemesine araştırılmalıdır.

Bugüne kadar yapılan çalışmalara depresyonun fizyopatolojisini tam olarak ortaya koyamamıştır. Halen geçerli olan biyolojik kuram da tedavideki olumlu etkinin nedenini tam olarak açıklayamamaktadır. Kullanılan antidepresanlar henüz istenilen düzeyde ve sürede etkilerini göstermemektedir. Depresyon etiyolojisi ve tedavisine yönelik araştırmalar yoğun şekilde devam etmektedir. Bu çalışmada da, ER stresinin depresyon oluşumunda etyolojik bir faktör olup olmadığı ve eğer böyle bir rolü varsa, bu sürecin EKT tedavisinden sonra geri dönüşlü olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır.

Bu çalışmadaki hipotezlerimiz:

-Sıçan depresyon modeli bazı ER stres yolaklarında bozulmalara yol açar.

-Bozulan bu ER stres yolaklarında EKT tedavisi tekrar düzenleme yoluyla antidepresan etkinliğini göstermektedir.



3. MATERİYAL VE METOT

3.1. Hayvan Materyali

Bu çalışmada deney hayvanları ile ilgili işlemler, yerel etik kurul onayı alındıktan sonra İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirildi. Bu çalışmada sağlıklı erkek sıçanlar (Wistar Albino) kullanılmış olup, işlemler öncesi kafeslerin bulunduğu ortam, 20-22°C sıcaklık aralığında ve 12 saat ışık/karanlık periyodu olacak şekilde ayarlandı. Deney boyunca sıçanlar normal musluk suyu ve standart sıçan yemi ile ad libitum olarak beslendi.

Gruplarda yer alacak hayvan sayısı Power analizle hesaplandı. Grupların %95 güven düzeyinde ($\alpha = 0,05$) ve % 80 güç ($\beta = 0,20$) ile karşılaştırılması için EKT'nin ER stres parametreleri üzerinde yapacağı olası değişimlerin ölçülmesi esas alınarak belirlenen etki büyüklüğü 0.82 olarak öngörüldüğünde, grup başına alınması gereken en az deney hayvanı sayısı power analizle 6 olarak hesaplanmıştı. Olası kayıplar düşünülerek, grup başına 8 hayvan çalışmaya dâhil edildi. Gruplar oluşturulurken sıçanlar tartılarak ağırlık ortalamaları birbirlerine en yakın olacak şekilde ve rastgele 4 gruba ayrıldı. İşaretleme için toksik olmayan kalıcı siyah bir işaretleyici ile kuyruklarını işaretlendi.

Oluşturulan gruplar:

1. KONTROL+SHAM (Normal sıçanlara sham ECS uygulandı: Kontrol)
2. KONTROL+ECS (Normal sıçanlara gerçek ECS uygulandı)
3. DENEY + SHAM (CUMS depresyon modeli sonrası sham ECS uygulandı)
4. DENEY+ ECS (CUMS depresyon modeli sonrası gerçek ECS uygulandı)

DeneySEL süreç 2 aşamadan oluşmaktaydı. Birinci aşamada 21 gün süreyle 1. ve 2. gruptaki sıçanlar herhangi bir CUMS stresine maruz kalmadan normal kafeste tutulurken, 3. ve 4. gruptaki sıçanlar ise bu süre boyunca değişik aşamalardan oluşan CUMS prosedürüne tabi tutularak oluşacak stres ve depresyon sonucu hipokampal ER stresi oluşturulmaya çalışılmıştır. 21 günlük sürenin ardından ilk zorlu yüzme testi yapılmış ve ardından ikinci aşama olan ECS aşamasına geçilmiştir. Bu ikinci aşamada 1. ve 3. gruptaki sıçanlara 21 gün boyunca toplam 10 sahte (sham-ECS) tedavisi verilmiştir. Gerçek ECS grubu olan 2. ve 4. gruptaki sıçanlara ise 21 gün boyunca toplam 9 ECS uygulanmıştır. Deneyin 1. aşamasında CUMS prosedürü uygulanan 3. ve 4. gruptaki

sıçanlara 2. aşamada ECS uygulanırken CUMS prosedüründeki hafif stres uygulamalarına daha az aralıklarla devam ettirilmiştir. Sıçanlar deney başlamadan, 21. günde ve deneyin bitiminde tartılarak ağırlıkları kaydedilmiştir. Depresyon şiddetini ölçen zorlu yüzme testi testleri 21. günün sonrasında ve 2. aşamadaki son ECS'dan 48 saat sonra yapılmıştır. Davranış testlerinden 1 gün sonra, hafif sedasyon altında dekapite edilerek hipokampus bölgeleri disseke edilmiş ve sıvı azotta hemen dondurularak analiz için -80°C 'de saklanmıştır (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Deneysel prosedürü zamanlaması

Gurup	İlk 3 hafta	Zorlu yüzme testi ZYT	Son 3 hafta	Zorlu yüzme testi ZYT	Hipokampa 1 doku temini ve analizi
1.KONTROL+SHAM	-	+	Sham ECS	+	+
2.KONTROL+ECS	-	+	ECS	+	+
3.DENEY+SHAM	CUMS prosedürü	+	CUMS	+	+
4.DENEY+ECS	CUMS prosedürü	+	CUMS+ECS	+	+

3.2. Kronik Öngörülemez Hafif Stres Modeli (CUMS)

Ratlarda depresyon modeli-CUMS prosedürü küçük değişikliklerle önceki bir çalışmaya göre gerçekleştirilmiştir(135). Bu prosedür çeşitli hafif stres faktörlerini içerir: 1) bir gün boyunca yiyecek yoksunluğu, 2) bir gün boyunca su yoksunluğu, 3) bir dakika boyunca kuyruk kıştırma, 4) bir gün boyunca kafes başına 16 sıçanın olduğu 30° 'lik eğik kafes 5) bir gün boyunca zeminin 100 g talaş-200 ml su olan kirli kafes, 6) bir gün boyunca karanlık döngüsünü bozacak şekilde sürekli aydınlatılmış ortam, 7) 4°C 'de 5 dakika zorunlu soğuk suda yüzme, 8) 2 saatlik istenmeyen kısıtlama stresi. Tedaviden önce sıçanlar 1 hafta boyunca adaptif olarak beslendi. Gruplardaki her sıçan ayrı bir kafeste tutuldu. CUMS stres faktörlerinden her biri rastgele planlandı ve 6 haftalık deney boyunca tekrarlandı. Her bir stres faktörü en az bir kez ve en fazla 3 kez uygulandı. Tüm deneklerde, ECS gruplarında ilk 3 CUMS haftasını takiben son 3 hafta daha az dozlarda CUMS prosedürü ile beraber ECS uygulandı (Tablo 1).

3.3. Elektro Konvulsif Terapi

EKT'nin deneysel bir hayvan modeli olan ECS, daha önceki birçok çalışmadakine benzer şekilde kullanılmıştır(84,168). Sıçanlarda nöbet eşliğini (10 saniyeden uzun süren nöbetler) belirlemek için daha önceden sıçanlarla titrasyon deneyleri gerçekleştirildi. Bir jeneratör kullanılarak, iki taraflı kulak klipsi elektrotları yoluyla, Frekans 100 Hz, darbe genişliği 0.5 ms, toplam stimülasyon süresi 2s, akım 20 mA olacak şekilde ECS uygulandı. Tedavi klinikte depresyon hastalarında rutin kullanımına benzer olacak şekilde, 3 hafta boyunca her 3 günde bir verilen, toplam 9 ECS seansı olarak uygulandı. Sıçanlara ECS verilmesinden önce izofluran kullanılarak anestezi uygulandı.

3.4. Zorlu Yüzme Testi(ZYT):

Bazı değişiklikler yapılmış olmakla birlikte temelde kullanım şekline benzer olarak uygulanmıştır. Sıçanlar, ilk gün yüzmeye alışmalarını sağlamak amacıyla, 24 ± 1 ° C su ile doldurulmuş şeffaf bir plastik kaptaki (çap 18 cm, yükseklik 50 cm), ayrı ayrı 5 dakika yüzmeye zorlandıktan sonra havlu ile kurularak tekrar kafeslerine konulmuştur. Yirmi dört saat sonra, yüzme, tırmanma ve hareketsizlik davranışlarını belirlemek için morris tankında 5 dakikalık asıl yüzme testi uygulanarak video kamera kaydı alınmıştır. Hareketsizliğin tanımı, sıçanın kafasını suyun üstünde tutmak için gereken hareketler dışında tüm hareketlerin olmaması olarak belirlenmiştir. ZYT her bir sıçana 3. haftanın sonu (ECS tedavisi başlanmadan önceki) ve 6. haftanın sonunda (tedavi bittikten sonra) olmak üzere 2 kez uygulanmıştır.

3.5. Beyin Dokularının Hazırlanması

Deneyin bitimini takiben feda edilen sıçanların beyinleri çıkarılarak hipokampal dokular ayrılmış ve Western Blot tekniği ile çalışılacağı güne kadar -80 °C'de saklanmıştır.

Western blot analiz işlemleri İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.5.1. Lizis tampon çözeltisinin hazırlanması (RIPA):

Farelerden alınan beyin doku örnekleri (hipokampus) için Western blot işlemine hazırlık olarak aşağıdaki tabloda gösterilen lizis tamponu hazırlanarak bu tampon çözeltisi +4°C'de önceden soğutuldu. Dokulardaki protein miktarlarının belirlenmesinden önce, her 30 mg beyin dokusuna (hipokampus) 300 µl soğuk RIPA lizis tampon çözeltisi

ve %1 proteaz inhibitör karışımı (Proteaz-Inhibitor Mix M, SERVA, Heidelberg Almanya) eklendi.

Tablo 3.2. Liziz tampon çözeltisi

Stok	Hacim	Final
5 M NaCl Panreac applichem (Castellar del Vallès (Barcelona) Spain	3 mL	150 mM
0.5 M EDTA, pH 8.0 Panreac applichem (Castellar del Vallès (Barcelona) Spain	1 mL	5 mM
1 M Tris, pH 8.0 Panreac applichem (Castellar del Vallès (Barcelona) Spain	5 mL	50 mM
Triton X-100 Panreac applichem (Castellar del Vallès (Barcelona) Spain	1 mL	1.0%
10% sodium deoxycholate Panreac applichem (Castellar del Vallès (Barcelona) Spain	5 mL	0.5%
10% SDS Panreac applichem (Castellar del Vallès (Barcelona) Spain	1 mL	0.1%
dH2O	84 mL	

Beyin dokuları (hipokampus) 3 x 30 sn ile buz üzerinde sonikatörle (Hoefer Scientific, Kanada) parçalandı. Her sonikasyon işlemi sırasında belirli aralıklarla ependorf içindeki numune soğutuldu. Dokunun tamamen homojen hale gelmesi sağlandı. Elde edilen numune periyodik pipetleme ile 10-20 dakika buz üzerinde inkübe edildi. Elde edilen homojenat ayrı ayrı tüplere konularak – 80°C’de stoklama için kaldırıldı. Homojenat esnasında 5’er µl alınan örnekler 96’lık well’e BCA Protein Test Kiti (ABP biosciences) ile yüklendi. Kullanılan boya ışıktan etkilendiğinden dolayı üzeri alüminyum folyo ile kaplanıp hafifçe çalkalandıktan sonra 37 °C’de 30 dk inkübasyona bırakıldı ve sonrasında protein konsantrasyonu belirlemek için ölçüm alındı. (AMR-100, Allsheng) elde edilen ölçümlerin standartları ve veri grafikleri elde edildi. Ve bu hesaplamalar doğrultusunda elde edilen protein konsantrasyonları belirlendi.

3.5.2. SDS PAGE Analizi

SDS jel aşağıda ki tabloda verilen protokole uygun olarak hazırlandı. 5X'lik yükleme tamponu toplam hacimde 1X olacak şekilde ayarlandı ve örneklerin üzerine eklendi. Boya maddesi olarak laemmli sample buffer kullanıldı. Örnekler ısı bloğunda 95 °C'de 5 dk tutularak proteinlerin denatüre olması sağlandı. Bu sırada basınç nedeniyle ependorf tüplerin açılmasını önlemek amacıyla, kapaklar parafilmle sıkıca sarılarak kapatıldı. Her kuyuda 40 µg protein olacak şekilde yükleme yapıldı. Jel, 100 V'de 90-105 dk 1X jel yürütme tamponu içerisinde yürütüldü.

Tablo 3.3. SDS jel hazırlanması

Reaktif maddeler	Kullanılan miktar
1.5 M Tris HCl (pH 8.8)	1250 µl
ddH ₂ O	2000 µl
% 30'lık akrilamid/bis-akrilamid karışımı	1670 µl
% 20'lik SDS	25 µl
%10'luk APS (Taze hazırlanmalı)	25 µl
TEMED	2.5 µl

Tablo 3.4. Yükleme jelinin hazırlanması

Reaktif maddeler	Kullanılan miktar
1 M Tris HCl (pH 6.8)	375 µl
ddH ₂ O	2088 µl
% 30'lık akrilamid/bis-akrilamid karışımı	506 µl
% 20'lik SDS	15 µl
%10'luk APS (Taze hazırlanmalı)	15 µl
TEMED	1.5 µl

Not:

1. İlk jel döküldükten sonra üzerine izopropanol konularak diğer jelin (yürütme jeli) hava almasını engellemek için jelin üstüne hafifçe eklenir.
2. APS (Amonyum persulfat- Amonyum peroksidisulfat) ve TEMED (N,N,N',N'-Tetramethyl ethylenediamine) polimerleşmeyi sağladığı için en son eklenir.

Yürütme işlemi için jeller hazırlandıktan sonra gece boyunca commasie blue ile muamele yapıldı. (%1 Commasie brilliant blue R-250) sonrasında boya çıkarma işlemi

için ise destaining solüsyonu kullanıldı. Ve jelde elde edilen görüntüler protein durumunu ve western blot uygunluğu açısından incelendi.

3.5.3. Western Blot protokoku

Örneklerin transferi için wattman kâğıtları ve PVDF membranı hazırlandı. PVDF 5.5 cm x 8.5 cm, wattman kâğıtları 7 cm x 9 cm olarak kesildi. Jel yürütülmesi durduktan sonra membrana bir kaç damla methanol damlatıldı. Daha önce +4 °C’de bekleyen transfer tampon çözeltisi eklenerek wattman kâğıtları da aynı şekilde ısıtıldı. Transfer tampon çözeltisi (10X); tris 58 gr, glisin 29 gr, SDS, 3.7 gr methanol, 200 ml su ile 1 L’ye tamamlandı. Transfer işlemi transfer cihazında (Thermo Scientific, ABD) bulunan kayıtlı programlar kullanılarak 25V, 1.3A’da, 5-7 dk (protein büyüklüğüne göre) süreyle gerçekleştirildi. Daha sonra oda sıcaklığında membrana 2 saat %5 süt tozu ve %1 tween içeren TBS-T ortamında bloklama yapıldı (ya da +4 °C bir gece). Oda sıcaklığında 4 saat (tercihen +4°C de bir gece) primer antikor içeren bloklama tamponunda inkübe edildi. Primer antikor konsantrasyonu 1/1000 seyreltilerek hazırlanıp, uygulandı. Antikor inkübasyonu bitince, 3 kez 20’er dakika 1X TBS-T ile yıkama işlemi yapıldı. 1 saat oda sıcaklığında 1/1000 sekonder antikor ile inkübe edildi. Yine 3 kez 20 dk 1X TBS-T ile yıkama yapıldıktan sonra görüntü alındı (G.Box Chemi XRQ, Syngene, UK). Elde edilen görüntüler kullanılarak hedef protein yoğunlukları ile kontrol olarak da seçilen β -aktin protein yoğunlukları (GeneTools (version 4.03.05, Syngene, UK) yazılımı kullanılarak karşılaştırıldı ve Atf-4, Xbp1 ve Grp-78 (Santa Cruz, USA) rölatif ekspresyon seviyeleri belirlendi.

3.6. Etik Onay

Bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hayvan Deneyleri Etik Kurulu’nun (HAYDEK) **28.06.2021** tarih ve **12159** sayılı Etik Kurul onayı ile yapılmıştır.

3.7. İstatistiksel Analiz

Analize konu veri setindeki sayısal değişkenler ortanca (min. – maks.) şeklinde özetlenmiştir. İlgili sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ile kontrol edilmiştir. İki den fazla bağımsız grup karşılaştırmalarında Kruskal-Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal-Wallis testi sonrası bağımsız grupların ikili karşılaştırmalarında (post-hoc) Conover testi kullanılmıştır. İki den fazla bağımsız grupların karşılaştırmalarında Wilcoxon testi, iki den fazla bağımsız grubun karşılaştırılmasında ise

Friedman testi kullanılmıştır. Friedman testi sonrası bağımlı grupların ikili karşılaştırmalarında (post-hoc) Bonferroni düzeltmeli Wilcoxon testi kullanılmıştır. Analizlerde $p \leq 0.05$ istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiş, IBM SPSS Statistics 27 paket programı kullanılmıştır.



4. BULGULAR

Bu çalışmada grup başına alınması gereken en az deney hayvanı sayısı güç analizle 6 olarak hesaplanmıştı. Olası kayıplar düşünülerek, grup başına 8 hayvan çalışmaya dâhil edildi. Ancak beklendiği gibi KONTROL+ECS grubundan 2 ve DENEY+ECS grubundan 1 sıçan işlemler sırasında sakatlandığı için çalışmadan çıkarıldı. Dolayısı ile analizler 29 sıçan üzerinden yapıldı.

Gruplar oluşturulurken sıçanlar tartılarak ağırlık ortalamaları birbirlerine en yakın olacak şekilde ve rastgele 4 gruba ayrılmıştı. Bağımsız gruplar Kruskal-Wallis testiyle birbirleriyle karşılaştırıldığında başlangıç kiloları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu(Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Sıçan gruplarında kilo karşılaştırması

Değişken*	Grup**				p***
	KONTROL+SHAM (n=8)	KONTROL+ECS (n=6)	DENEY+SHAM (n=8)	DENEY+ECS (n=7)	
ilkkilo	420 (380-460)	397.5 (375-455)	417.5 (365-470)	408 (390-430)	0.90136
ortakilo	427 (372-449)	415 (390-472)	415.5 (365-460)	401 (388-412)	0.11062
sonkilo	453.5a (410-470)	415ab (401-460)	420ab (370-470)	410b (400-417)	0.04882

*: Değişkenler. 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : Aynı harfi içermeyen grup kategorilerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır.

***: Kruskal-Wallis testi

Grupların zamanla oluşan kilo değişimleri Friedman testiyle karşılaştırıldı. Tüm gruplardaki sıçanlar birlikte değerlendirildiğinde başlangıçta ölçülen kiloları deney aşaması olan 21. günde değişmezken tedavi aşamasının sonu olan 42. günde yükselmişti (p:0,001). Hayvanlar toplu değerlendirildiğindeki kilo değişimleri Tablo 4.2.'de gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Sıçanların toplu değerlendirildiğindeki kilo değişimleri

Değişken*	Bağımlı gruplar**			p***
	İlk (n=29)	Orta (n=29)	Son (n=29)	
Kilo	415a (365 - 470)	412a (365 - 472)	420b (370 - 470)	0.001

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : Aynı harfi içermeyen grup kategorilerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır.

***: Friedman testi

Kilodaki bu değişime grup olarak bakıldığında; ECS tedavisi uygulanmayan kontrol grubunda sıçanlar deney boyunca belirgin kilo artışı gösterdi. Bu grupta deney ortası olan 21. günde başlangıca göre anlamlı olmasa da kilo artışı vardı. Ancak deney sonu olan 42. günde başlangıç ve 21. güne göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde kilo artışı tespit edildi.

Normal sıçanlara ECS uygulanan 2. grupta ise 21. günde başlangıca göre anlamlı derecede kilo artışı olurken ECS sonrası 42. günde hem başlangıç hem de 21. günle karşılaştırıldığında anlamlı bir kilo artışı meydana gelmemiştir.

Depresyon modeli oluşturulan her 3. grupta ise depresyon oluşumu sonrası 21. günde kontrol gruplarının tersine anlamlı kilo kaybı gözlemlendi. Bu grupta SHAM+ECS sonrası 42. günde 21. günle karşılaştırıldığında anlamlı kilo artışı olmuştu. Yani SHAM+ECS sonrası depresyonla oluşan kilo kaybını tersine dönmüş ve tekrar başlangıç seviyesine dönecek şekilde kilo artışı meydana gelmişti.

Deney grubu olan 4. grupta da depresyon oluşumu sonrası 21. günde kontrol gruplarının tersine anlamlı kilo kaybı vardı. ECS sonrası 42. günde ise 21. günle karşılaştırıldığında kilo artışı olmakla birlikte bu istatistiksel olarak anlamlı değildi. Yani ECS sonrası depresyonla oluşan kilo kaybını tersine dönmüş ancak anlamlı bir kilo artışı oluşmamıştı (Tablo 4.3).

Bu sonuçlara bakıldığında genel olarak depresyon modeli uygulanmasının sıçanlarda kilo kaybına yol açtığı gözlemlenmiştir. Diğer yandan ECS uygulandığında sıçanlarda zamanla oluşan kilo alımının durduğu anlaşılmaktadır.

Tablo 4.3. Sıçan gruplarının zamanla oluşan kilo değişimleri

Bağımsız gruplar	Değişken*	Bağımlı gruplar**			p***
		İlk (n=29)	Orta (n=29)	Son (n=29)	
KONTROL+SHAM (n=8)	Kilo	420a (380 - 460)	427ab (372 - 449)	453.5b (410 - 470)	0.008
KONTROL+ECS (n=6)		397.5a (375 - 455)	415b (390 - 472)	415ab (401 - 460)	0.032
DENEY+SHAM (n=8)		417.5a (365 - 470)	415.5b (365 - 460)	420a (370 - 470)	0.002
DENEY+ECS (n=7)		408a (390 - 430)	401b (388 - 412)	410ab (400 - 417)	0.018

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : Aynı harfi içermeyen grup kategorilerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır.

***: Friedman testi

Bağımsız grupların ZYT verileri Kruskal-Wallis testiyle birbiriyle karşılaştırıldı. Sıçanların 21. günde hiçbir yüzme parametresi açısından gruplar aralarında anlamlı bir fark tespit edilemedi. 21. günde Normal Hareket Sıklığı, Normal Hareket Süresi ve Hareketsizlik Sıklığı depresyon modeli oluşturulan gruplarda kontrol gruplarına göre daha düşük olmakla birlikte anlamlı bir fark yoktu. Hareketsizlik Süresi ise anlamlı derecede olmasa da depresyon modeli uygulanan gruplarda daha fazlaydı (Tablo 4.4). Sonuç olarak depresyon modelinin yüzme parametrelerinde bizim gruplarımızda beklenen değişikliğe yol açmadığı gözlemlendi.

Gruplar arasında 42. gün yüzme testi sonuçları karşılaştırıldığında ise Normal Hareket Sıklığı ve Hareketsizlik Sıklığı DENEY+SHAM grubunda KONTROL+ECS ve DENEY+ECS gruplarından anlamlı derecede daha düşüktü. Normal Hareket Süresi de diğer gruplardan daha düşük olmakla birlikte anlamlı bir fark oluşturmuyordu. Hareketsizlik Süresi DENEY+SHAM grubunda yüksek olmakla birlikte diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (Tablo 4.4).

Grupların zamanla oluşan yüzme testi değerleri tüm sıçanlar birlikte Wilcoxon testiyle karşılaştırıldı (Tablo 4.4). Tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde 21. günle kıyaslandığında 42. günde Normal Hareket Sıklığı, Normal Hareket Süresi ve Hareketsizlik Sıklığı anlamlı derecede azalırken ve Hareketsizlik Süresi anlamlı derecede artmıştı.

Tablo 4.4. Toplu değerlendirmede zamanla oluşan ZYT değerlerindeki değişimleri

Değişkenler*	Bağımlı gruplar		p**
	21 (n=29)	42 (n=29)	
Mesafe	4813.51 (3421.51 - 6410.9)	4809.65 (3277.26 - 6847.6)	0.46
Hız	16.045 (11.4508 - 21.4039)	16.0322 (10.9242 - 22.8253)	0.52
YüzmeSüresi	297.44 (289.68 - 299.36)	297.84 (290.4 - 299.52)	0.38
YüzmediğiSüre	2.4 (0.64 - 8.32)	2.16 (0.48 - 9.6)	0.75
AşırıHareketSıklığı	1 (0 - 8)	1 (0 - 3)	0.05
AşırıHareketSüresi	0.16 (0 - 0.88)	0.08 (0 - 0.56)	0.14
NormalHareketSıklığı	185 (100 - 341)	119 (26 - 236)	<0.001
NormalHareketSüresi	36.08 (16.4 - 78.4)	20.8 (3.28 - 53.6)	<0.001
HareketsizlikSıklığı	183 (100 - 340)	119 (27 - 237)	<0.001
HareketsizlikSüresi	263.76 (221.6 - 283.2)	279.2 (246.4 - 296.72)	<0.001

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : Wilcoxon testi

Bağımsız grupların zamanla oluşan ZYT verileri Wilcoxon testiyle ayrı ayrı değerlendirildiğinde ise KONTROL+SHAM, KONTROL+ECS ve DENEY+SHAM gruplarında 21. günle kıyaslandığında 42. günde Normal Hareket Sıklığı, Normal Hareket Süreleri ve Hareketsizlik Sıklığı anlamlı derecede azalıırken, Hareketsizlik Süreleri anlamlı derecede artmıştı. DENEY+ECS grubunda ise 21. günle kıyaslandığında 42. günde bu parametrelerde anlamlı bir değişim yokken sadece Aşırı Hareket Sıklığı anlamlı derecede azalmıştı (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. Sıçan gruplarının zamanla oluşan ZYT değerlerindeki değişimler

Bağımsız gruplar	Değişkenler*	Bağımlı gruplar		p**
		21 (n=29)	42 (n=29)	
KONTROL+SHAM (n=8)	Mesafe	5005.29 (4391.53 - 6118.33)	4738.34 (4355.33 - 5734.63)	0.58
	Hız	16.7612 (14.6384 - 20.3944)	15.7945 (14.5178 - 19.1154)	0.48
	YüzmeSüresi	297.88 (292.48 - 298.56)	298.08 (294.16 - 299.52)	0.78
	YüzmediğiSüre	2.04 (1.44 - 4.56)	1.92 (0.48 - 5.36)	0.83
	AşırıHareketSıklığı	2 (0 - 4)	2 (0 - 3)	0.73
	AşırıHareketSüresi	0.16 (0 - 0.4)	0.12 (0 - 0.24)	0.55
	NormalHareketSıklığı	215.5 (147 - 289)	116 (77 - 185)	0.01
	NormalHareketSüresi	47.36 (17.68 - 52.88)	19 (16.32 - 36.4)	0.02
	HareketsizlikSıklığı	210 (148 - 287)	115.5 (75 - 185)	0.01
KONTROL+ECS (n=6)	HareketsizlikSüresi	249.88 (244.72 - 282.32)	280.96 (263.6 - 283.52)	0.02
	Mesafe	4958.07 (3421.51 - 6410.9)	5398.56 (3694.03 - 6097)	0.25
	Hız	16.5312 (11.4508 - 21.4039)	17.9952 (12.3134 - 20.3233)	0.25
	YüzmeSüresi	297.96 (291.28 - 299.28)	298.72 (292.08 - 299.2)	0.46
	YüzmediğiSüre	1.92 (0.72 - 8.32)	1.28 (0.56 - 7.92)	0.46
	AşırıHareketSıklığı	1 (0 - 8)	1 (0 - 1)	0.18
	AşırıHareketSüresi	0.16 (0 - 0.88)	0.12 (0 - 0.16)	0.13
	NormalHareketSıklığı	213 (171 - 341)	165 (91 - 195)	0.03
	NormalHareketSüresi	46.56 (29.2 - 78.4)	27.92 (16.64 - 33.36)	0.03
DENEY+SHAM (n=8)	HareketsizlikSıklığı	212.5 (163 - 340)	165.5 (90 - 195)	0.03
	HareketsizlikSüresi	253.28 (221.6 - 270)	271.96 (266.64 - 282.96)	0.03
	Mesafe	5082.76 (3633.13 - 5920.66)	4582.41 (4226.24 - 5967.8)	0.67
	Hız	16.9727 (12.2377 - 19.8042)	15.2747 (14.0875 - 19.9033)	0.58
	YüzmeSüresi	296.96 (289.68 - 299.36)	297.52 (295.44 - 299.28)	0.67
	YüzmediğiSüre	2.6 (0.64 - 8.16)	2.48 (0.72 - 4.56)	0.78
	AşırıHareketSıklığı	1 (0 - 3)	1 (0 - 2)	0.56
	AşırıHareketSüresi	0.04 (0 - 0.56)	0.04 (0 - 0.56)	0.79
	NormalHareketSıklığı	179 (116 - 237)	64 (26 - 165)	0.01
DENEY+ECS (n=7)	NormalHareketSüresi	31.8 (20.8 - 50.32)	9.96 (3.28 - 33.2)	0.01
	HareketsizlikSıklığı	177.5 (117 - 237)	64.5 (27 - 163)	0.01
	HareketsizlikSüresi	266.32 (249.12 - 279.2)	289.88 (266.64 - 296.72)	0.01
	Mesafe	4285.91 (3593.07 - 5688.33)	5200.37 (3277.26 - 6847.6)	0.13
	Hız	14.5384 (11.9993 - 18.9611)	17.3346 (10.9242 - 22.8253)	0.13
	YüzmeSüresi	295.84 (293.28 - 299.2)	297.28 (290.4 - 299.28)	1
	YüzmediğiSüre	2.64 (0.8 - 5.92)	2.72 (0.72 - 9.6)	0.8
	AşırıHareketSıklığı	2 (1 - 3)	0 (0 - 3)	0.02
	AşırıHareketSüresi	0.16 (0.08 - 0.48)	0 (0 - 0.32)	0.08
DENEY+SHAM (n=7)	NormalHareketSıklığı	166 (100 - 250)	134 (86 - 236)	0.5
	NormalHareketSüresi	30.56 (16.4 - 58.56)	20.96 (11.2 - 53.6)	0.06
	HareketsizlikSıklığı	161 (100 - 250)	135 (86 - 237)	0.5
	HareketsizlikSüresi	269.36 (237.68 - 283.2)	278.8 (246.4 - 288.8)	0.06

*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

**: Wilcoxon testi

Tablo 4.6. Sıçan gruplarının zamanla oluşan ZYT değerlerinin karşılaştırılması

Değişken*	Grup**				p***
	KONTROL+SHAM (n=8)	KONTROL+ECS (n=6)	DENEY+SHAM (n=8)	DENEY+ECS (n=7)	
mesafe21	5005.285 (4391.53-6118.33)	4958.07 (3421.51-6410.9)	5082.755 (3633.13-5920.66)	4285.91 (3593.07-5688.33)	0.48816
mesafe42	4738.345 (4355.33-5734.63)	5398.56 (3694.03-6097)	4582.41 (4226.24-5967.8)	5200.37 (3277.26-6847.6)	0.45163
hız21	16.761 (14.638-20.394)	16.531 (11.451-21.404)	16.973 (12.238-19.804)	14.538 (11.999-18.961)	0.4546
hız42	15.794 (14.518-19.115)	17.995 (12.313-20.323)	15.275 (14.088-19.903)	17.335 (10.924-22.825)	0.43629
yüzmesüresi21	297.88 (292.48-298.56)	297.96 (291.28-299.28)	296.96 (289.68-299.36)	295.84 (293.28-299.2)	0.87316
yüzmesüresi42	298.08 (294.16-299.52)	298.72 (292.08-299.2)	297.52 (295.44-299.28)	297.28 (290.4-299.28)	0.43271
yüzmediği süre21	2.04 (1.44-4.56)	1.92 (0.72-8.32)	2.6 (0.64-8.16)	2.64 (0.8-5.92)	0.8766
yüzmediği süre42	1.92 (0.48-5.36)	1.28 (0.56-7.92)	2.48 (0.72-4.56)	2.72 (0.72-9.6)	0.39018
aşırıhareketsıklığı21	2 (0-4)	1 (0-8)	0.5 (0-3)	2 (1-3)	0.49339
aşırıhareketsüresi21	0.16 (0-0.4)	0.16 (0-0.88)	0.04 (0-0.56)	0.16 (0.08-0.48)	0.57265
aşırıhareketsüresi42	0.12 (0-0.24)	0.12 (0-0.16)	0.04 (0-0.56)	0 (0-0.32)	0.76105
normalhareketsıklığı21	215.5 (147-289)	213 (171-341)	179 (116-237)	166 (100-250)	0.12184
normalhareketsıklığı42	116ab (77-185)	165a (91-195)	64b (26-165)	134a (86-236)	0.01606
normalhareketsüresi21	47.36 (17.68-52.88)	46.56 (29.2-78.4)	31.8 (20.8-50.32)	30.56 (16.4-58.56)	0.10125
normalhareketsüresi42	19 (16.32-36.4)	27.92 (16.64-33.36)	9.96 (3.28-33.2)	20.96 (11.2-53.6)	0.0566
hareketsizliksıklığı21	210 (148-287)	212.5 (163-340)	177.5 (117-237)	161 (100-250)	0.151
hareketsizliksıklığı42	115.5ab (75-185)	165.5a (90-195)	64.5b (27-163)	135a (86-237)	0.01289
hareketsizliksüresi21	249.88 (244.72-282.32)	253.28 (221.6-270)	266.32 (249.12-279.2)	269.36 (237.68-283.2)	0.10621
hareketsizliksüresi42	280.96 (263.6-283.52)	271.96 (266.64-282.96)	289.88 (266.64-296.72)	278.8 (246.4-288.8)	0.05873

** : Aynı harfi içermeyen grup kategorilerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır.

***:Kruskal-Wallis testi

Bağımsız grupların ER stresine ait verileri de Kruskal-Wallis testiyle karşılaştırıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark vardı ($p<0.001$). Depresyonun etkilerine bakmak amacıyla gruplar karşılaştırıldığında; Grp-78 düzeyleri DENEY+SHAM grubunda KONTROL+SHAM gruplarına göre anlamlı derecede yüksekti. Yani depresyon modeli uygulanması normale göre Grp-78 düzeylerini artırmıştı. Normal sıçanlarda ECS'nin etkisine bakıldığında ise KONTROL+ECS grubunda Grp-78 düzeyleri KONTROL+SHAM grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Buradan ECS'nin de normale göre Grp-78 düzeylerini artırdığı söylenebilir. Diğer yandan DENEY+ECS grubunda Grp-78 düzeyleri KONTROL+SHAM grubuna göre anlamlı derecede yüksek olmakla birlikte, KONTROL+ECS ve DENEY+SHAM grubundan anlamlı derecede daha düşüktü. Bu sonuçlara göre hem depresyon modeli uygulandığında hem de ECS uygulandığında Grp-78 düzeylerinin normale göre anlamlı

düzeyde arttığı söylenebilir. Ancak, önceden depresyon modeli oluşturulan sıçanlara ECS uygulandığında (yani Grp-78 düzeylerini artıran her iki etken birlikte verildiğinde), Grp-78 düzeyleri çok daha fazla artması beklenirken normal sıçanlara ECS uygulandığı gruptan ve depresyon grubundan anlamlı derecede daha düşüktü. Bu sonuçlardan hareketle, ECS'nin normal sıçanlarda Grp-78 düzeylerini artırırken depresyonlu sıçanlarda artıştan ziyade anlamlı derecede azalttığı söylenebilir.

Bir diğer parametre olan Atf-4 düzeylerine bakıldığında gruplar arasında anlamlı bir fark oluşmadığı gözlemlendi ($p < 0.12744$). Bu sonuca göre ne depresyon ne de ECS'nin Atf-4 düzeylerini etkilemediği söylenebilir.

Bu çalışmada yer alan son parametre Xbp1 düzeyleri de gruplar arasında anlamlı bir fark gösterdi ($p < 0.001$). Depresyon etkilerine bakmak amacıyla gruplar karşılaştırıldığında; DENEY+SHAM grubunda Xbp1 düzeyleri KONTROL+SHAM grubuna göre anlamlı derecede daha düşüktü. Bu sonuç depresyon modeli uygulanmasının Xbp1 düzeylerinin normal sıçanlara göre anlamlı derecede azalttığını göstermektedir. Normal sıçanlarda ECS'nin Xbp1 düzeyleri üzerine etkisine bakıldığında; KONTROL+ECS grubunda KONTROL+SHAM grubuna göre Xbp1 düzeyleri anlamlı derecede daha düşüktü. Yani normal sıçanlara ECS uygulandığında da depresyonda olduğu gibi Xbp1 düzeyleri anlamlı derecede azalmaktaydı. Diğer yandan DENEY+ECS grubunda Xbp1 düzeyleri hem KONTROL+SHAM hem de KONTROL+ECS grubundan anlamlı derecede daha düşüktü. Yani depresyon modeli uygulanan sıçanlara ECS yapıldığında Xbp1 çok daha fazla bir oranda düşmekteydi. Ancak DENEY+ECS grubunda Xbp1 düzeyleri DENEY+SHAM grubundan daha düşük olmakla birlikte aralarında anlamlı bir fark bulunamadı. Bu sonuçlara göre normal sıçanlarda hem depresyon modeli ve hem de ECS'nin ayrı ayrı Xbp1 düzeylerini anlamlı derecede azalttığı söylenebilir. Bu iki etken birlikte verildiğinde de (depresyon modeli +ECS) Xbp1 düzeyleri normallere göre çok daha anlamlı bir azalmaya yol açtığı söylenebilir. Ancak depresyon modeli uygulanmış sıçanlarda ECS Xbp1 düzeylerini azaltsa da anlamlı bir sonuç doğurmadığı gözlemlenmiştir (Tablo 4.7).

Tablo 4.7. Sıçan gruplarının ER stres değerlerinin karşılaştırılması

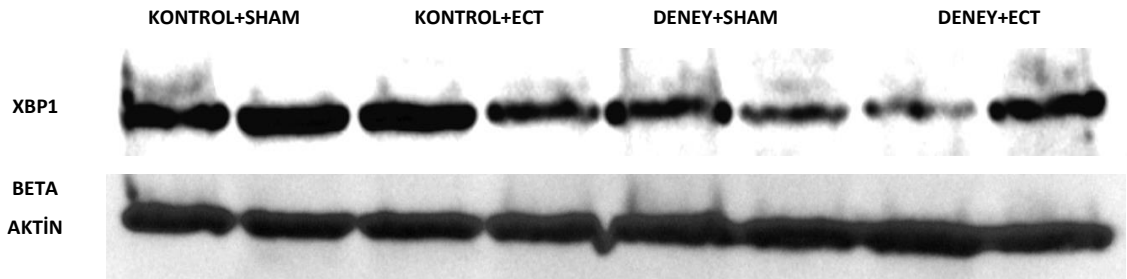
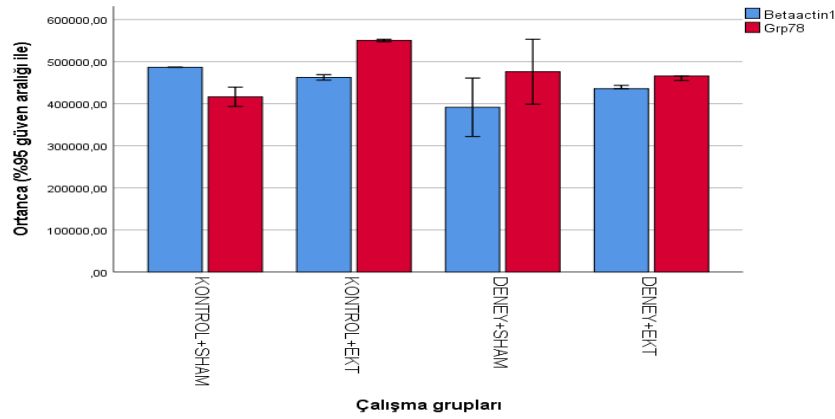
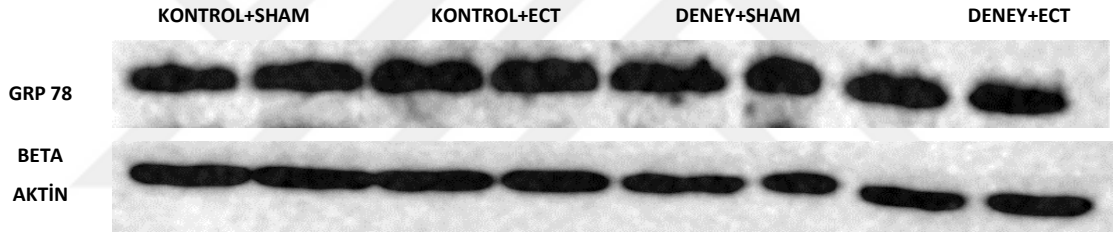
Değişken*	Grup**				p***
	KONTROL+SHAM M (n=8)	KONTROL+ECS (n=6)	DENEY+SHAM (n=8)	DENEY+ECS (n=7)	
Grp-78	0.856a (0.809-0.902)	1.19b (1.179-1.201)	1.219c (1.2-1.238)	1.069d (1.026-1.069)	<0.001
Xbp1	0.86a (0.851-0.869)	0.685b (0.537-0.832)	0.513bc (0.377-0.649)	0.266c (0.266-0.749)	<0.001
Atf-4	0.535 (0.484-0.586)	0.55 (0.497-0.603)	0.546 (0.514-0.578)	0.471 (0.471-0.578)	0.1274 4

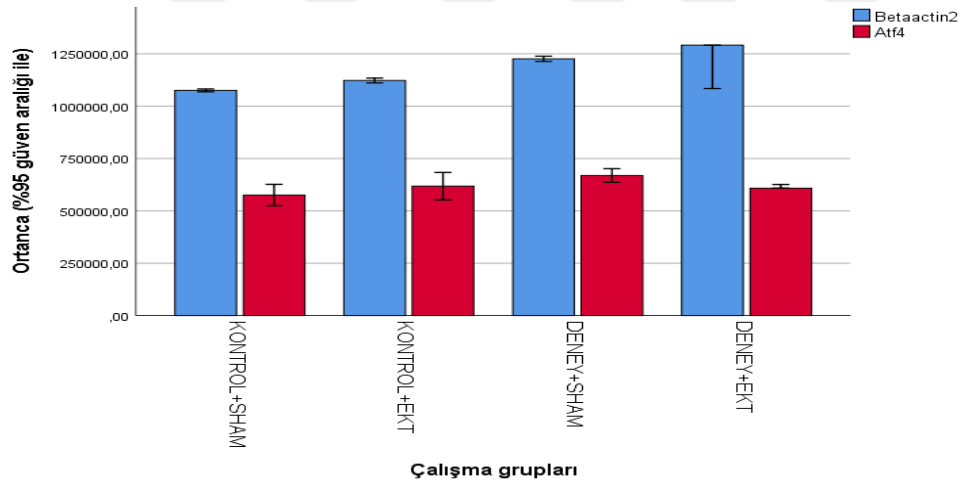
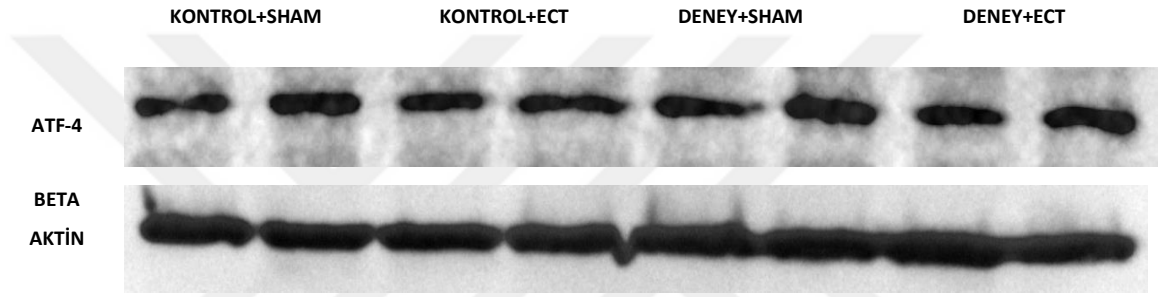
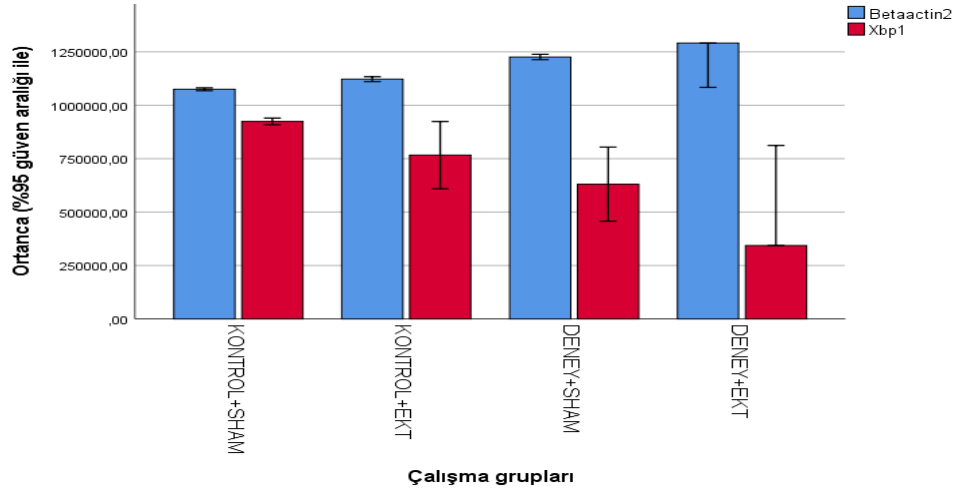
*: Değişkenler, 'ortanca (min.-maks.)' şeklinde özetlenmiştir.

** : Aynı harfi içermeyen grup kategorilerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmaktadır.

***: Kruskal-Wallis testi

Western Blot analizi sonucu elde edilen görüntüler kullanılarak hedef protein (Grp-78, Xbp1 ve Atf-4) yoğunlukları ile kontrol olarak seçilen β -aktin karşılaştırıldı ve bu hedef proteinlere ait rölatif ekspresyon seviyeleri belirlendi bu değişkenlerin bar grafiği oluşturuldu (Şekil 4.1).





Şekil 4.1. Western Blot analizi (ER stres değerlerinin kontrol β -aktinle karşılaştırılması)

5. TARTIŞMA

Dünya çapında önemli bir sağlık sorunu olan depresyon hastaların üçte biri antidepresan farmakoterapiye yeterince yanıt vermemektedir(169,170). Bu gibi dirençli durumlarda EKT etkin ve kullanışlı bir tedavi seçeneği olmakla birlikte EKT'nin etki mekanizması halen tam olarak anlaşılamamıştır. Bu çalışmanın amacı depresyonun patofizyolojisinde rol aldığı daha önce gösterilmiş olan ER stres üzerine EKT'nin etkisini araştırmaktır.

Literatüre bakıldığında depresyonda hastalarındaki bozulan ER stres parametrelerinin antidepresan tedaviyle geriye döndüğü kısmen bilinse de EKT'nin ER stres parametrelerini ne yönde etkilediği hakkında çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu çalışmada normal sıçanlarda ve depresyon modeli oluşturulan sıçanlarda ER stres parametreleri ölçülmüştür. Ayrıca normal sıçanlara ve depresyon modeli oluşturulan sıçanlara ECS uygulanarak bu ER stres parametrelerinde ne yönde bir değişiklik olduğu araştırılmıştır.

Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında; bağımsız gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında başlangıç kiloları açısından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu. Deney başlangıcında gruplar oluşturulurken kiloların eşit dağılımı uygun şekilde yapılmıştı. Sıçanlar toplu şekilde değerlendirildiğinde, 42 günlük deney boyunca, zamana bağlı olarak kilo aldıkları gözlemlendi. Ancak bu kilo artışı grup bazında depresyon ve tedavi etkisini yansıtacak şekilde farklılık göstermekteydi. Gruplara ayrıntılı olarak tek tek bakıldığında normal sıçanların zamanla kilo artışı gösterirken, normal sıçanlara ECS yapıldığında ECS öncesi 21. güne kadar kilo artışı olurken ECS sonrası 42. günde kilo artışı durmuştu. Yani ECS normal sıçanlarda gözlenen kilo artışını engellemiş gibi görünüyordu. Bu durum sıçanlarda ECS'nin yeme davranışlarını bozulmasıyla ya da normal sıçanlarda ECS'nin tedavi edici etkisinden bağımsız, bir stres etkeni gibi davranmasıyla açıklanabilir.

Depresyon modeli oluşturulan her iki grupta ise CUMS depresyon modeli uygulandıktan sonra 21. günde sıçanlar kilo almaktan ziyade istatistiksel olarak anlamlı derecede kilo kaybı yaşanmıştı. Depresyonun tanımında da yer aldığı gibi kilo kaybı stres ve depresyon oluşturulan sıçanlarda beklenebilecek bir durumdur(171). Depresyon modeli uygulanan 3. grupta 21. günde CUMS prosedürü sonlandırıldığında 42. günde sıçanların kiloları başlangıç seviyelerine geri dönmüştü. Bir diğer depresyon grubu olan

4. grup sıçanlar da benzer şekilde ve depresyonda beklendiği gibi 21. günde kilo kaybı oluşmuştu. Bu grupta ECS sonrası ise istatistiksel olarak anlamlı olmasa da kilo başlangıç seviyelerinin de üzerinde artmıştı. Yani ECS depresyon modeli uygulanan sıçanlarda kilo kaybını engellemekteydi.

Sonuç olarak bu çalışmada deney gruplarında depresyon modeli sonrası genel olarak ve beklendiği gibi kilo kaybı oluşmuştu. Normal sıçanlarda ECS kilo alımını durdururken, depresyon modeli oluşturulduğunda sıçanlarda depresyonla oluşan kilo kaybı ECS ile tersine dönmekteydi. Bu durum literatürdeki depresyonla oluşan kilo kaybı ve tedavi sonrası kilonun normale dönmesi bulguları ile uyumludur(172).

Depresyonun etkilerini anlamak amacıyla bağımsız grupların ZYT verileri karşılaştırıldığında 21. günde hiçbir yüzme parametresinde anlamlı bir değişim yoktu. Sadece Normal Hareket Sıklığı, Normal Hareket Süresi ve Hareketsizlik Sıklığı depresyon modeli oluşturulan gruplarda kontrol gruplarına göre daha düşük olmakla birlikte anlamlı bir fark oluşturmuyordu. Hareketsizlik Süresi ise anlamlı derecede olmasa da depresyon modeli uygulanan gruplarda daha fazlaydı. Ancak 21. günde beklenen anlamlılıkta bu hareketsizlik süresindeki uzama bizim çalışmamızda gerçekleşmemişti. Gruplar arasında 42. gün yüzme testi sonuçları karşılaştırıldığında ise Normal Hareket Sıklığı ve Hareketsizlik Sıklığı DENEY+SHAM yani depresyon oluşturulan grupta KONTROL+ECS ve DENEY+ECS gruplarından anlamlı derecede daha düşüktü. Normal Hareket Süresi de diğer gruplardan daha düşük olmakla birlikte anlamlı bir fark oluşturmuyordu. Hareketsizlik Süresi DENEY+SHAM grubunda yüksek olmakla birlikte diğer gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

Tedavini etkilerini değerlendirmek için tüm gruplar birlikte değerlendirildiğinde 21. günle kıyaslandığında 42. günde Normal Hareket Sıklığı, Normal Hareket Süresi ve Hareketsizlik Sıklığı anlamlı derecede azalırken ve Hareketsizlik Süresi anlamlı derecede artmıştı. Bağımsız gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında ise KONTROL+SHAM, KONTRO+ECS ve DENEY+SHAM gruplarında 21. günle kıyaslandığında 42. günde Normal Hareket Sıklığı, Normal Hareket Süreleri ve Hareketsizlik Sıklığı anlamlı derecede azalırken, Hareketsizlik Süreleri anlamlı derecede artmıştı. Yani normal sıçanlara yapılan ECS ve depresyon 42. günde geç bir etkiyle hareketsizlik sürelerini uzatmıştı. DENEY+ECS grubunda ise 21. günle kıyaslandığında 42. günde bu parametrelerde anlamlı bir değişim yokken sadece Aşırı Hareket Sıklığı anlamlı derecede azalmıştı. Sonuç olarak depresyon 21. gün değil ama 42. günde sıçanlarda beklenen

hareketsizlik süresinde uzamaya yol açmaktaydı. ECS ise bu durumu engelleyerek hareketsizlik sürelerinde bir uzamayı engelliyor gibi görünmekteydi.

Daha önceki çalışmalarda depresyon modeli oluşturulan hayvanlarda daha uzun hareketsizlik sürelerine yol açmıştır. Zorunlu yüzme testi, temel olarak bir kemirgenin kaçmanın mümkün olmadığı suyla dolu bir behere daldırıldığında gösterdiği ilerleyici hareketsizliği temel alır. Test başlangıçta ilaçların antidepresan potansiyelini belirlemek için tasarlanmış olsa da, son on yılda hızla artan sayıda yayın (2000'den fazla) bu hareketsizlik tepkisini antropomorfik olarak depresyon ve çaresizliğin bir göstergesi olarak sunmaktadır. Son yıllarda bu açıklamanın yanlış olabileceği de vurgulanmaktadır. Zorla yüzme stresine verilen yanıtın, aslında neyi gösterdiğine iyi bakılmalıdır. Bu durum sıçanlar için yüzme gibi akut stres etkeni karşısında aktif davranıştan pasif davranışa geçiş, davranışsal adaptasyon ve hayatta kalmanın altında yatan bilişsel işlevlerle de açıklanabilir(173). Sonuç olarak bizim çalışmamızda depresyonun etkileri erken evreden ziyade geç evrede ortaya çıkmış ve depresyon grubundan tedavi uygulanmayan sıçanlarda hareketsizlik sürelerinde beklenen uzamaya yol açmıştı. Normal sıçanlarda ECS kontrollere benzer değişikliklere yol açarken depresyon modeli uygulanan sıçanlarda ECS depresyonun yol açtığı hareketsizlik sürelerindeki uzamayı engellemekteydi.

Bu çalışmadaki temel amaç depresyonun ve depresyon tedavisinde yer alan ECS tedavisinin ER stres parametreleri üzerindeki etkilerini araştırmaktı. Özetle bu çalışmanın sonuçları gösterdi ki;

- Sıçanlarda depresyon modeli oluşturulduğunda Grp-78 düzeyleri normal sıçanlara göre anlamlı düzeyde artarken, Atf-4 düzeyleri değişmemekte, Xbp1 düzeyleri ise anlamlı derecede azalmaktadır.
- Normal sıçanlara ECS uygulandığında Grp-78 düzeyleri artmakta, Atf-4 düzeyleri değişmemekte, Xbp1 düzeyleri ise anlamlı derecede azalmaktadır.
- Depresyon modeli uygulanan sıçanlarda depresyonla artan Grp-78 düzeyleri ECS uygulanması anlamlı derecede azalırken, Atf-4 düzeyleri değişmemekte ve depresyonla azalan Xbp1 düzeyleri ise normale göre azalsa da depresyon grubuna göre değişmemektedir.

Beyinde Grp-78 ER'da sentezlenen proteinlerin katlanma işlevinin ve ER stresinin ana düzenleyicisi olarak rol almaktadır. Proteinlerin düzenli katlanmadığı ER stres durumlarında bu yolda yer alan sinyal yollarını tetikleyerek UPR sürecini başlatır. Endoplazmik retikulum içinde yer alan Grp-78 ER membranında yer alan PERK, ATF6 ve IRE1 aracılığı ile UPR sinyal yollarını aktive eder. Bu nedenle GRP-78 artışı, ER

stresinin göstergesi ve belirteci olarak kabul edilmektedir(174). Biz de bu çalışmada sıçanlarda CUMS depresyon modeli oluşturarak depresyonun normal sıçanlara kıyasla Grp-78 düzeylerinde ne derece bir değişime yol açacağını araştırdık. Ayrıca olası bu değişim üzerine ECS tedavisinin etkilerini değerlendirdik. Çalışmamızın sonuçları depresyon modeli oluşturulduğunda normal sıçanlara göre Grp-78 düzeylerinin anlamlı derecede arttığını ortaya koymaktadır. Dahası normal sıçanlara ECS uygulandığında da Grp-78 düzeylerinin artmaktaydı. Bu durum ECS'nin normal sıçanlarda depresyon modeline benzer şekilde olumsuz bir etkisinin olduğunu göstermektedir.

Anti-apoptotik bir ER şaperon proteini olan Grp-78 güvenilir bir ER stres belirteci ve UPR yollarının koruyucu etkisi olan ana düzenleyicisidir(107). Son yıllardaki literatür gözden geçirildiğinde depresyon ve Grp-78 ilişkisini araştıran farklı prosedürleri kullanan çalışmalar yer almaktadır. Hayvan stres çalışmaları bu konuda tutarlı sonuçlar ortaya koymuştur. Fare beynindeki Grp-78 ekspresyonu, uyku yoksunluğu(175), kısıtlama stresi(176), sosyal yenilgi stresi(141), CUMS(1) ve kortikosteron(177) veya lipopolisakkarit uygulaması(139) sonrasında artmıştır. Son yapılan bir çalışmada da kronik kısıtlama stresine maruz bırakılan sıçanlarda depresyonun davranışsal ve fizyolojik oluşumu gösterilmiş ve bu sıçanlarda depresyonla birlikte hipokampuslarında PERK ve CHOP yanı sıra Grp-78 sinyal proteininin de artarak hipokampal ER stresine yol açtığı gösterilmiştir(178). Başka bir çalışmada da kısa süreli stres uygulanması sonrası Xbp1 ile paralel bir şekilde Grp-78 mRNA seviyelerinde de artışla sonuçlanmıştır(179). Son bir çalışmada ise hipokampal alana ER stresini indükleyen tunikamisin enjeksiyonu sonrası depresyon benzeri davranışlar gösteren erkek sıçanlarda Grp-78, Atf-4, CHOP ve IL-6'nın mRNA ve protein seviyeleri önemli ölçüde artmıştır(180). Bizim çalışmamızda da bu çalışmalara benzer şekilde depresyon durumlarında Grp-78 düzeylerinin arttığı şeklindedir. Hayvan çalışmalarını destekler nitelikte klinik bir çalışmada da Neveall ve arkadaşlarının (151) majör depresyon geçiren hastalarda kontrol grubuna göre Grp-78 seviyelerinin anlamlı olarak arttığı bildirilmiştir. Daha doğrudan ölçümlerin yapıldığı başka bir klinik çalışmada ise depresyon nedeniyle intihar eden hastaların temporal kortekslerinde Grp-78 gen ifadesinin artmış olduğu(149) gösterilmiştir. Sonuç olarak bütün bu verilere benzer bir şekilde bizim çalışmamızın sonuçları da Grp-78 düzeylerinin depresyon modeli uygulanan sıçanlarda arttığını ortaya koymaktadır.

Ancak biz bu çalışmada depresyon modeli uygulandığında Atf-4 düzeylerinde Grp-78 düzeylerindeki artışa paralel bir yükselme gösteremedik. Atf-4 katlanmamış protein cevabının PERK yolağında yer almaktadır. Grp-78 ayrıldıktan sonra aktive olan

PERK daha sonra ökaryotik translasyon başlama faktörü 2 α 'yı (eIF2 α) fosforiller ve bu da Atf-4 gibi çoklu transkripsiyon faktörlerinin ekspresyonunu aktive etmektedir(113). Dolayısı ile artan Grp-78 ile paralel olarak Atf-4 düzeylerinin artmış olması beklenirdi. Nitekim Timberlake ve arkadaşlarının çalışmasında bahsedildiği üzere öğrenilmiş çaresizliği olan sıçanların hipokampus dokularında Atf-4 gen ifadesinin arttığı bildirilmiştir(145). Ayrıca daha önce Atf-4 mRNA'nın, depresyonu tetiklediği düşünülen psikolojik stres tarafından indüklendiği de rapor edilmişti(181). Artan Atf-4'ün daha sonra CHOP transkripsiyonunu indükleyerek(182) PERK/eIF2/Atf-4 UPR yollarını ve ER stres kaynaklı apoptozu aktive edebileceği bildirilmiştir(183). Ancak bizim çalışmamızda PERK ve CHOP değerlendirilmediğinden biz bu konuda daha ileri yorum yapamadık. İntihar eden majör depresyon hastalarının prefrontal korteksinde Grp-78 ile birlikte Atf-4'ün yükseldiği ve bu yolağın aktivasyonunun bağışıklık tepkisini ve apoptozu aktive edebileceği bildirilmiştir(184). Dolayısı ile Atf-4 artışının apoptozun gerçekleştiği ağır stres durumlarında artabileceği kronik hafif stres modelinde bu yolağın aktifleşmediği düşünülebilir.

Bu çalışmadaki ilginç bulgulardan biri Xbp1 düzeyinin depresyon modeli uygulanan sıçanlarda kontrollere göre anlamlı derecede daha düşük olmasıydı. Xbp1 geni, UPR stres yanıtında anahtar bir transkripsiyon faktörünü kodlar ve bu nedenle depresif bozuklukların patofizyolojisinde yer alabilir. Literatüre bakıldığında prelinik çalışmaların bu konuda çelişkili veriler ortaya koyduğu görülmektedir. Öğrenilmiş çaresizlik modeli uygulanan farelerde hipokampal Xbp1 gen ifadesinde artış olduğu bildirilmiştir(151). Yine öğrenilmiş çaresizliği olan sıçanların hipokampus dokularında Grp-78, ATF-6 ile birlikte Xbp1 düzeylerinin arttığı gösterilmiştir(145). Benzer şekilde sosyal yenilgi stresinden sonra farelerde hipokampal Xbp1 gen ifadesinde artış olduğu gösterilmiştir(138). Ancak bu verileri desteklemeyen çalışmalar da bulunmaktadır. Yoshino ve ark. yaptığı bir çalışmada özellikle intihar girişimi olan majör depresyon hastalarının prefrontal korteksinde Grp-78 ve Atf-4 mRNA ekspresyon düzeyleri artarken Xbp1 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik olmadığı bildirilmiştir(184). Bipolar bozukluk hastalarında yapılan bir çalışmada periferik kanda CHOP gen ifadesinde bir değişiklik olmazken kontrol grubuyla karşılaştırıldığında bipolar hastalarda toplam Xbp1 gen ifadesinin anlamlı derecede düştüğü gösterilmiştir(185). Bengesser ve ark. bu klinik çalışmada Xbp1 düzeylerinin düşük olmasını genetik yatkınlığa bağlasa da bizim çalışmamız bunun duygudurum bozukluklarındaki farklı nedenleri olabileceğini göstermektedir.

Katlanmamış protein cevabında Xbp1 ana düzenleyicidir ve hücrenin hayatta kalmasının birincil belirleyicisidir. Genel olarak Xbp1 işlenmesinin sinyal iletim yolunun aktivasyonundan dolayı Grp-78 mRNA seviyelerindeki artışla paralel olduğu bildirilmiştir. Ancak geri dönülemez şekilde hasar görmüş nöronlarda, işlenmiş Xbp1 mRNA seviyelerindeki artışın, Grp-78 mRNA seviyelerindeki bir artışla paralel olmadığı gösterilmiştir. Bu durum protein sentezinin iskemi kaynaklı baskılanmasının, işlenmiş Xbp1 mRNA'nın işlenmiş Xbp1 proteinine çevrilmesine izin vermeyecek kadar şiddetli olmasıyla açıklanmıştır(186). Bizim depresyon modelimizde de en azından hipokampal alanda bu tür bir geri dönüşsüz hasarın varlığı düşünülebilir. Yoshino ve Dwivedi'nin yaptığı çalışmada intihar eden depresyon hastalarında Grp-78 düzeyleri artarken Xbp1 düzeylerinin artmaması da geri dönüşsüz durumlarda bu sonucun oluşabileceğini akla getirmektedir(184). Ancak bu tartışmalar Xbp1 düzeylerinin depresyonda daha ayrıntılı araştırılmasıyla aydınlatılabilir.

Çalışmamızda ikinci ve asıl amacı ECS tedavisinin normal ve depresyon durumlarında ER stres parametreleri üzerine etkilerini araştırmaktır. Çalışmamızın sonuçlarına bu açıdan bakıldığında ECS'nin Grp-78 düzeyleri üzerine normal sıçanlarda ve depresyonlu sıçanlarda zıt etkilere yol açtığı görülmektedir. Bu çalışmada Grp-78 KONTROL+ECS grubunda KONTROL+SHAM grubuna göre anlamlı derecede yüksekti. Yani normal sıçanlara ECS yapıldığında Grp-78 düzeyleri anlamlı derecede yükselmişti. Dolayısı ile normal sıçanlara ECS uygulanmasının depresyon modeline benzer şekilde Grp-78 düzeylerini artırdığı söylenebilir. Diğer yandan her iki depresyon grubunda da kontrol grubuna göre Grp-78 düzeyleri artmış olmasına rağmen DENEY+ECS grubunda Grp-78 DENEY+SHAM grubuna göre anlamlı derecede daha düşüktü. Yani ECS önceden depresyon modeli oluşturulan sıçanlara uygulandığında normal sıçanlarda olduğu gibi bir artıştan ziyade bir azalmaya yol açmıştı. Hem normal sıçanlara ECS verildiğinde hem de depresyon uygulandığında her birinde Grp-78 düzeyleri artıyorsa her ikisi birlikte uygulandığında çok daha fazla artması beklenir. Ancak tam tersine depresyon modeli uygulanmış sıçanlara ECS uygulandığında Grp-78 düzeyleri daha da artmaktan ziyade azalmaktaydı. Bu durum ECS'nin depresyondaki tedavi edici etkisinin bir sonucu olarak düşünülebilir.

Literatüre bakıldığında da depresyon birlikte artan Grp-78 düzeylerinin depresyon tedavisi sonrası normal düzeylerine düştüğü görülmektedir. Jangra ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (137) sıçanlarda kronik kısıtlama stresi sonrası artan hipokampal Grp-78 gen ifadesinin antidepresan özellikleri olan Honicol tedavisinden sonrası azaldığı

gösterilmiştir. Farmakoterapötik ajanlardan Metoprolol, N-Asetilsistein ve Essitalopramın CUMS uygulanmasının neden olduğu depresyonu tedavi ederken ER stresini engellemiştir. Bu çalışmada depresyonla artan CHOP ve Grp-78 düzeyleri bu farmakolojik ajanlar verildiğinde anlamlı derecede azalmıştı(187). Nöroprotektif bir ajan olan magnezyum sülfat uygulamasının ER stresine ilişkili PERK/Grp-78/CHOP yolunu azaltarak depresyon benzeri davranışları önlediği gösterilmiştir(178). Bizim çalışmamız bu çalışmaları destekler nitelikte ECS gibi nonfarmakolojik bir tedavinin de depresyon modeli uygulanan sıçanlarda Grp-78 düzeylerini göreceli azalttığını göstermiştir. Bizim çalışmamızın sonuçlarına göre ECS'nin normal sıçanlarda Grp-78 düzeylerini artırırken depresyonlu sıçanlarda Grp-78 düzeylerini azaltması tedavide kullanılan EKT'nin etkilerini anlamak açısından önemlidir.

Sonuç olarak Grp-78 düzeyleri üzerine ECS'nin normal sıçanlarda ve depresyonlu sıçanlardaki fizyolojik etkilerinin çok farklı olduğu görülmektedir. Daha önceki çalışmalarda da ECS'nin normal hayvanlara göre depresyonlu hayvanlarda farklı bir etkiye sahip olduğu vurgulanmıştır(188). Bu farklı etkideki ara unsurlarından biri de ER stres olabilir. Normal sıçanlarda ER stres yolağı aktif değildir ve dolayısı ile Grp-78 düzeyleri normal sınırlardadır. Bu sıçanlarda ECS bir stres etkeni gibi davranarak Grp-78 düzeylerini artırıyor olabilir. Ama depresyon modeli uygulanan sıçanlarda ER stres yolağı zaten aktifleşmiştir ve artan Grp-78 UPR cevabını başlatmıştır. Depresyonlu bu sıçanlarda ECS fizyolojik olarak farklı bir mekanizma aracılığı ile Grp-78 düzeylerini düşürüyor olabilir.

Depresyon ve ECS'nin Grp-78 üzerindeki bu etkisine ryanodin reseptörleri (RyR) aracılık ediyor olabilir. Endoplazmik retikulumda Ca^{2+} homeostazisi protein biyosentezi, protein katlanması ve translasyon sonrası modifikasyon ve gen ekspresyonunun düzenlenmesi önemli bir işleve sahiptir(189). Hücrede Ca^{2+} homeostazisindeki hafif bozukluklar UPR gibi ER stresle başa çıkma yanıtlarının aktivasyonuna yol açar(190). ER'de membranla ilişkili Ca^{2+} kanalların düzenlenmesinde RyR önemli bir rol alır(189). Depresyondaki hastaların anormal hücresel Ca^{2+} düzenlenmesine sahip oldukları bildirilmiştir. Depresyonda, hücre içi Ca^{2+} sinyal yollarının erken aşamalarında, ER'dan Ca^{2+} salınmaktadır. Fare depresyon modelinde hipokampal RyR1 ve RyR3 protein ifadelerinin önemli ölçüde arttığı gösterilmiştir. Depresyonda artan RyR ekspresyon seviyelerinin ECS ile normale döndüğü ve ECT'nin RyR'ler yoluyla Ca^{2+} salınımını normalleştirdiği bildirilmiştir(188). Dolayısı ile bizim çalışmamızdaki

depresyon ve ECS'nin Grp-78 düzeylerine etkisi RyR ve buna bağılı Ca^{2+} akışındaki değişimlerden kaynaklanıyor olabilir.

Çalışmamızdaki bir diğer ER stres parametresi olan Atf-4 normal sıçanlara ECS uygulandığında da anlamlı düzeyde bir değişiklik göstermemiştir. Yani hem depresyon hem de ECS uygulanması Grp-78'den farklı olarak Atf-4 düzeylerinde herhangi bir etki göstermemiştir. Farmakolojik ajanlarla yapılan önceki çalışmalar bizim sonuçlarımızdan farklı şekilde tedaviyle Atf-4 düzeylerinin değiştüğünü ortaya koymuştur(183,191). Ancak bizim çalışmamızda genel olarak Grp-78 ve Atf-4 düzeylerinin paralel bir değişim göstermediğini ortaya koymaktadır. Bu durum EKT'nin farmakoterapiye göre daha erken dönemdeki etkileri ile açıklanabilir. Antidepresanların 6-8 hafta gibi bir dönemde etkilerini gösterirken EKT'nin çok daha erken aşamalarda etki ettiği bilinmektedir. Depresyonda ER stresin erken aşamalarında Grp-78 düzeyleri etkilenirken Atf-4 düzeyleri değişmiyor olabilir. Nitekim bizim çalışmamızda 3 haftalık depresyon modeli uygulaması ile Grp-78 artarken Atf-4 bu artışa paralel bir artış göstermemiştir. ECT de bu erken aşamalarda artan Grp-78 düzeylerini normale getirirken değişiklik oluşmamış Atf-4 düzeylerine herhangi bir etki göstermemiş olabilir.

Xbp1 düzeyleri üzerine ECS tedavisinin etkilerine bakıldığında her iki uygulama (ECS ve CUMS depresyon modeli) ayrı ayrı Xbp1 düzeylerini anlamlı düzeyde azaltmıştı. Normal sıçanlarda ECS tedavisi Xbp1 düzeylerini anlamlı derecede azaltırken depresyonlu sıçanlarda ECS Xbp1 düzeylerinde çok daha fazla bir azalmaya yol açmaktaydı. Benzer bir çalışmada Tunikamisine indüklenen beyin mikrovasküler endotel hücrelerinde bir antidepresan olan Essitalopram tedavisinden sonra PERK, Grp-78, Xbp1 ve CHOP gen ifadeleri azalmıştı(192). Ancak bizim çalışmamızdaki ECS ile oluşan bu azalma yine de depresyon modeli uygulanan sıçanlarla karşılaştırıldığında anlamlı değildi. Dolayısı ile depresyonlu sıçanlarda Xbp1 düzeyleri üzerine ECS'nin tam olarak bir etkisinin olduğundan söz edemeyiz. Sonuç olarak burada da EKT'nin normal ve depresyon durumlarındaki farklı etkileri gözlenmektedir. Normal sıçanlara ECS uygulandığında depresyona benzer şekilde bir stres faktörü gibi etkiler oluşuyor ve Xbp1 düzeyleri üzerine benzer etkiler gösteriyor olabilir. Depresyonlu sıçanlarda ise ECS uygulaması normal sıçanlardan farklı bir etkiyle bu sonucu doğurmuş olabilir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hipokampal ER stresinin depresyonun patofizyolojisinde rol oynadığına dair son araştırmalardan yola çıkarak güncel depresyon tedavilerinde yer alan EKT'nin ER stres üzerindeki etkilerini araştırmak amacıyla bu çalışmayı planladık. Hipotezlerimizi araştırmak için, sıçanlarda kontrol, depresyon modeli ve ECS tedavi grupları oluşturarak ER stres parametrelerini karşılaştırdık. Çalışmamızın, EKT tedavisinin ER stres belirteçleri üzerine etkisini araştıran ilk araştırma olması açısından özgün bir çalışma olduğunu düşünmekteyiz.

Bu çalışmanın sonuçları, literatürle uyumlu olarak, depresyonda hipokampal Grp-78 arttığını ortaya koymaktadır. Bu sonuçlardan yola çıkarak, hipokampal ER stresinin depresyon etiyolojisinde rol oynadığını söylenebilir. Ancak depresyon Atf-4 düzeylerinde paralel bir artışta yol açmamış Xbp1 düzeylerini ise anlamlı derecede azaltmıştır.

Ayrıca bu çalışma, EKT tedavisinin ER stres parametreleri üzerine normal ve depresyon durumlarında farklı etkiler ortaya koyduğunu göstermektedir. Normal sıçanlara ECS uygulandığında bir stres etkenine benzer şekilde Grp-78 düzeylerini artırmıştır. Ancak depresyon modeli uygulanan sıçanlarda depresyonla artan Grp-78 düzeyleri ECS uygulanması ile daha da artmaktan ziyade anlamlı olmasa da azaltmıştır. Depresyonla değişmeyen Atf-4 düzeylerinde ise ECS ile anlamlı bir etkiye yol açmamıştır. Bu çalışmadaki ilginç bir sonuç da hem depresyon hem de ECS'nin Xbp1 düzeylerini anlamlı derecede azaltmasıdır. ER stres yolağının sonraki aşamalarında yer alan Atf-4 ve Xbp1 düzeylerindeki bu değişimler Grp-78 düzeylerindeki artışla uyumsuzdur.

İlerde yapılacak çalışmalarla depresyon ve ECS ile oluşan bu gibi ER stres değişimlerinin hangi fizyolojik mekanizmalarla gerçekleştiğini ortaya koymalıdır. Bu amaçla ER strese yolağında yer alan moleküllerin bütüncül olarak değerlendirmesi önerilir. Ayrıca sıçanlar üzerinde yaptığımız bu çalışmaya ait verilerin klinik depresyon çalışmaları ile desteklenmesi gerekir.

KAYNAKLAR

1. Tan H, Zou W, Jiang J, Tian Y, Xiao Z, Bi L, Zeng H, Tang X. Disturbance of hippocampal H₂S generation contributes to CUMS-induced depression-like behavior: involvement in endoplasmic reticulum stress of hippocampus. *Acta biochimica et biophysica* 2015, 47(4): 285-91.
2. Yoshida H. ER stress and diseases. *The FEBS journal* 2007, 274(3): 630-58.
3. Chen S, Xuan J, Couch L, Iyer A, Wu Y, Li QZ, Guo L. Sertraline induces endoplasmic reticulum stress in hepatic cells. *Toxicology* 2014, 322: 78-88.
4. Jangra A, Dwivedi S, Sriram CS, Gurjar SS, Kwatra M, Sulakhiya K, Baruah CC, Lahkar M. Honokiol abrogates chronic restraint stress-induced cognitive impairment and depressive-like behaviour by blocking endoplasmic reticulum stress in the hippocampus of mice. *European Journal of Pharmacology* 2016, 770: 25-32.
5. Malhi GS, Mann JJ. Depression. *Lancet* 2018, 392(10161): 2299–312.
6. Ribeiro Â, Ribeiro JP, von Doellinger O. Depression and psychodynamic psychotherapy. *Revista brasileira de psiquiatria* 2018, 40(1): 105–9.
7. Davison K. Historical aspects of mood disorders. *Psychiatry* 2006, 5(4): 115-8.
8. Kessler RC. The epidemiology of major depressive disorder: results from the National Comorbidity Survey Replication (NCS-R). *Jama* 2003, 289(23): 3095-105.
9. Schulberg HC, Mulsant B, Schulz R, Rollman BL, Houck PR, Reynolds III, CF. Characteristics and course of major depression in older primary care patients. *The International Journal of Psychiatry in Medicine* 1998, 28(4): 421-36.
10. Helvacı Çelik F, Hocaoglu Ç. Major depresif bozukluk tanımı, etyolojisi ve epidemiyolojisi: bir gözden geçirme. *Çağdaş Tıp Dergisi* 2016, 6(1): 51-66.
11. Schmitt A, Malchow B, Hasan A, Falkai P. The impact of environmental factors in severe psychiatric disorders. *Frontiers in neuroscience* 2014,8:19.
12. Soleimani L, Lapidus KA, Iosifescu DV. Diagnosis and treatment of major depressive disorder. *Neurologic clinics* 2011, 29(1): 177-93.

13. McIntosh E, Gillanders D, Rodgers S. Rumination, goal linking, daily hassles and life events in major depression. *Clinical Psychology & Psychotherapy: An International Journal of Theory & Practice* 2010, 17(1): 33-43.
14. American Psychiatric Association. *Diagnostic and statistical manual of mental disorders: DSM-IV* 2013.
15. Malhi GS, Coulston CM, Fritz K, Lampe L, Bargh DM, Ablett M, Unlocking the diagnosis of depression in primary care: Which key symptoms are GPs using to determine diagnosis and severity? *Australian & New Zealand Journal of Psychiatry* 2014, 48(6): 542-7.
16. Fritz K. Is a delay in the diagnosis of bipolar disorder inevitable? *Bipolar disorders* 2017, 19(5): 396-400.
17. Kessler RC. The effects of stressful life events on depression. *Annual review of psychology* 1997, 48(1): 191-214.
18. Kendler KS, Karkowski LM, Prescott CA. Causal relationship between stressful life events and the onset of major depression. *American journal of psychiatry* 1999, 156(6): 837-41.
19. Stetler C, Miller GE. Depression and hypothalamic-pituitary-adrenal activation: a quantitative summary of four decades of research. *Psychosomatic medicine* 2011, 73(2): 114-126.
20. Li M, D'arcy C, Meng X. Maltreatment in childhood substantially increases the risk of adult depression and anxiety in prospective cohort studies: systematic review, meta-analysis, and proportional attributable fractions. *Psychological medicine* 2016, 46(4): 717-30.
21. Sullivan PF, Neale MC, Kendler KS. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *American journal of psychiatry* 2000, 157(10): 1552-62.
22. McGuffin P, Cohen S, Knight J. Homing in on depression genes. *American Journal of Psychiatry* 2007, 164(2): 195-7.
23. Kelsoe J. R. Mood disorders: genetics. *Kaplan & Sadock's comprehensive textbook of psychiatry*. Lippincott Williams & Wilkins 2005, 1582-93.

24. Goodwin, Reene D. Duygudurum bozukluklarının epidemiyolojisi. *Duygudurum Bozuklukları Temel Kitabı* 2007.
25. Brenner C. A psychoanalytic perspective on depression. *Journal of the American Psychoanalytic Association* 1991, 39(1): 25-43.
26. Ferster CB. A functional analysis of depression. *American psychologist* 1973, 28(10): 857.
27. Buyck D. Depression in context: strategies for guided action. *Primary care companion to the Journal of clinical psychiatry* 2002, 4(5): 201.
28. Armario A. The forced swim test: Historical, conceptual and methodological considerations and its relationship with individual behavioral traits. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2021, 128: 74-86.
29. Masson J. Neurotransmitter transporters in the central nervous system. *Pharmacological reviews* 1999, 51(3): 439-64.
30. Llinás RR. Depolarization-release coupling systems in neurons. *Neurosciences Research Program Bulletin* 1977, 15.4: 555-687.
31. Starke K, Taube HD, Borowski E. Pre-and postsynaptic receptors in catecholaminergic transmission. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology* 1977, 297(43)-4.
32. Piñeyro G, Blier P. Autoregulation of serotonin neurons: role in antidepressant drug action. *Pharmacological reviews* 1999, 51(3): 533
33. Elhwuegi AS. Central monoamines and their role in major depression. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2004, 28(3): 435-51.
34. Blier P, Ward NM. Is there a role for 5-HT_{1A} agonists in the treatment of depression? *Biological psychiatry* 2003, 53(3): 193-203.
35. Hensler JG. Regulation of 5-HT_{1A} receptor function in brain following agonist or antidepressant administration. *Life sciences* 2003, 72(15): 1665-82.
36. Nutt DJ, Baldwin DS, Clayton AH, Elgie R, Lecrubier Y, Montejo AL, et al. The role of dopamine and norepinephrine in depression and antidepressant treatment. *Journal of Clinical Psychiatry* 2006, 67.Suppl 6: 3-8.

37. Goldberg JF, Burdick KE, Endick CJ. Preliminary Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Pramipexole Added to Mood Stabilizers for Treatment-Resistant Bipolar Depression. *American Journal of Psychiatry* 2004, 161(3): 564-66.
38. Meyer JH, Krüger S, Wilson AA, Christensen BK, Goulding VS, Schaffer A, et al. Lower dopamine transporter binding potential in striatum during depression. *Neuroreport* 2001, 12(18): 4121-125.
39. Krystal JH, D'Souza DC, Petrakis IL, Belger A, Berman RM, Charney DS, et al. NMDA agonists and as probes of glutamatergic dysfunction and pharmacotherapies in neuropsychiatric disorders. *Harvard review of psychiatry* 1999, 7(3): 125-43.
40. Krystal JH, Sanacora G, Duman RS. Rapid-acting glutamatergic antidepressants: The path to ketamine and beyond. *Biological psychiatry* 2013, 73(12): 1133-41.
41. Öngür D, Drevets WC, Price JL. Glial reduction in the subgenual prefrontal cortex in mood disorders. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 1998, 95(22): 13290-95.
42. Zarate CA, Singh JB, Carlson PJ, Brutsche NE, Ameli R, Luckenbaugh DA. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression. *Archives of general psychiatry* 2006, 63(8): 856-64.
43. Li N, Lee B, Liu RJ, Banasr M, Dwyer JM, Iwata M. mTOR-dependent synapse formation underlies the rapid antidepressant effects of NMDA antagonists. *Science* 2010, 329(5994): 959-64.
44. Iadarola ND, Niciu MJ, Richards EM, Vande Voort JL, Ballard ED, Lundin NB. Ketamine and other N-methyl-D-aspartate receptor antagonists in the treatment of depression: A perspective review. *Therapeutic advances in chronic disease* 2015, 6(3): 97-114.
45. Watanabe M, Maemura K, Kanbara K, Tamayama T, Hayasaki H. GABA and GABA receptors in the central nervous system and other organs. *International review of cytology* 2002, 213: 1-47.
46. Sanacora G, Mason GF, Krystal JH. Impairment of GABAergic transmission in depression: New insights from neuroimaging studies. *Critical Reviews™ in Neurobiology* 2000, 14(1).

47. Lloyd KG, Thuret F, Pilc A. Upregulation of γ -aminobutyric acid (GABA) B binding sites in rat frontal cortex: A common action of repeated administration of different classes of antidepressants and electroshock. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics* 1985, 235(1): 191-99.
48. Sanacora G. Cortical Inhibition, Gamma-Aminobutyric Acid, and Major Depression: There Is Plenty of Smoke but Is There Fire? *Biological psychiatry* 2010, 67(5): 397-8.
49. Bourin M. Neurogenesis and Neuroplasticity in Major Depression: Its Therapeutic Implication. *Major Depressive Disorder: Rethinking and Understanding Recent Discoveries* 2021, 157-73.
50. Fuchs E, Czéh B, Korte MHP, Michaelis T, Lucassen PJ. Alterations of neuroplasticity in depression: the hippocampus and beyond. *European Neuropsychopharmacology* 2004, 14: S481-90.
51. Duman RS. Depression: A case of neuronal life and death? *Biological psychiatry* 2004, 56(3): 140-5.
52. Faure C, Mnie-Filali O, Haddjeri N. Long-term adaptive changes induced by serotonergic antidepressant drugs. *Expert review of neurotherapeutics* 2006, 6(2): 235-45.
53. Cereseto M, Ferrero A. New perspectives of the mechanism of action of antidepressants arising from genomic theory of depression. *Vertex (Buenos Aires, Argentina)* 2003, 14(51): 30-5.
54. Disabato B, Bauer IE, Soares JC, Sheline Y. Neural Structure and Organization of Mood Pathology 2015.
55. Bora E, Fornito A, Pantelis C, Yücel M. Gray matter abnormalities in Major Depressive Disorder: A meta-analysis of voxel based morphometry studies. *Journal of affective disorders* 2012, 138(1-2): 9-18.
56. Campbell S, Marriott M, Nahmias C, MacQueen GM. Lower Hippocampal Volume in Patients Suffering from depression: A Meta-Analysis. *American Journal of Psychiatry* 2004, 161(4): 598-607.

57. Koolschijn PCMP, Van Haren NEM, Lensvelt-Mulders GJLM, Hulshoff Pol HE, Kahn RS. Brain volume abnormalities in major depressive disorder: A meta-analysis of magnetic resonance imaging studies. *Human brain mapping* 2009, 30(11): 3719-35.
58. Sheline YI, Gado MH, Kraemer HC. Untreated depression and hippocampal volume loss. *American journal of psychiatry* 2003, 160(8): 1516-8.
59. Hasler G, Fromm S, Alvarez RP, Luckenbaugh DA, Drevets WC, Grillon C. Cerebral blood flow in immediate and sustained anxiety. *Journal of Neuroscience* 2007, 27.23: 6313-9.
60. Frodl TS, Koutsoucris N, Bottlender R, Born C, Jäger M, Scupin I, Depression-related variation in brain morphology over 3 years: Effects of stress? *Archives of general psychiatry* 2008, 65(10): 1156-65.
61. Gartlehner G, Wagner G, Matyas N, Titscher V, Greimel J, Lux L, Pharmacological and non-pharmacological treatments for major depressive disorder: Review of systematic reviews. *BMJ open* 2017, 7.6: e014912.
62. Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *American journal of Psychiatry* 1965, 122(5): 509-22.
63. Willner P, Scheel-Krüger J, Belzung C. The neurobiology of depression and antidepressant action. *Neuroscience & biobehavioral reviews* 2013, 37(10): 2331-71.
64. Undurraga J, Baldessarini RJ. Direct comparison of tricyclic and serotonin-reuptake inhibitor antidepressants in randomized head-to-head trials in acute major depression: Systematic review and meta-Analysis. *Journal of Psychopharmacology* 2017, 31(9): 1184-9.
65. Moret C, Isaac M, Briley M. Review: Problems associated with long-term treatment with selective serotonin reuptake inhibitors. *American Journal of Psychiatry* 1990, 147.2: 87-94.
66. Bauer M, Bschor T, Kunz D, Berghofer A, Strohle A, Muller-Oerlinghausen B. Double-blind, placebo-controlled trial of the use of lithium to augment antidepressant medication in continuation treatment of unipolar major depression. *American Journal of Psychiatry* 2000, 157.9: 1429-35.

67. Pagnin D, De Queiroz V, Pini S, Cassano GB. Efficacy of ECT in Depression: A Meta-Analytic Review. *The journal of ECT* 2004, 20.1: 13-20.
68. Payne NA, Prudic J. Electroconvulsive therapy: Part I. A perspective on the evolution and current practice of ECT. *Journal of psychiatric practice* 2009, 15.5: 346.
69. Challiner V, Griffiths L. Electroconvulsive therapy: A review o the literature. *Journal of psychiatric and mental health nursing* 2000, 7.3: 191-98.
70. Shorter E. The History of ECT: Unsolved Mysteries. *Psychiatric Times* 2004, 21.2: 93-93.
71. Tayfun Zeren U, Lut Tamam Y, Emre Evlıce Y. Elektrokonvülsif Terapi (EKT): Bir Genel Değerlendirme. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi* 2003, 12.4.
72. Cerletti U. Old And New Information About Electroshock. *American Journal of Psychiatry* 1950, 107.2: 87-94.
73. Gelenberg AJ, Freeman, MP, Markowitz JC, Rosenbaum JF, Thase ME, Trivedi MH. Practice guideline for the treatment of patients with major depressive disorder. *American Psychiatric Association. Am J Psychiatry* 2010, 167: 1.
74. Andrade C, Arumugham SS, Thirthalli J. Adverse Effects of Electroconvulsive Therapy. *Psychiatric Clinics* 2016, 39.3: 513-30.
75. Tomruk N. Elektrokonvülsif Tedavi Klinik Uygulama El Kitabı. Baskı, İstanbul, TC Sağlık Bakanlığı 2007. (Elektrokonvülsif Tedavi Klinik Uygulama El Kitabı).
76. Stripp TK, Jorgensen MB, Olsen NV. Anaesthesia for electroconvulsive therapy - new tricks for old drugs: a systematic review. *Acta neuropsychiatrica* 2018, 30.2: 61-69.
77. Singh A, Kar SK. How Electroconvulsive Therapy Works?: Understanding the Neurobiological Mechanisms. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience* 2017, 15.3: 210.
78. Ishihara K, Sasa M. Mechanism underlying the therapeutic effects of electroconvulsive therapy (ECT) on depression. *The Japanese Journal of Pharmacology* 1999, 80.3: 185-89.

79. Inta D, Lima-Ojeda JM, Lau T, Tang W, Dormann C, Sprengel R. Electroconvulsive Therapy Induces Neurogenesis in Frontal Rat Brain Areas. *PloS one* 2013, 8.7: e69869.
80. Segi-Nishida E, Warner-Schmidt JL, Duman RS. Electroconvulsive seizure and VEGF increase the proliferation of neural stem-like cells in rat hippocampus. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2008, 105.32: 11352-57.
81. Zetterström TSC, Pei Q, Grahame-Smith DG. Repeated electroconvulsive shock extends the duration of enhanced gene expression for BDNF in rat brain compared with a single administration. *Molecular brain research* 1998, 57.1: 106-10.
82. McCall WV, Andrade C, Sienaert P. Searching for the mechanism(s) of ECT's therapeutic effect. *Journal of ECT* 2014.
83. Bolwig TG. How does electroconvulsive therapy work? Theories on its mechanism. *Canadian Journal of Psychiatry* 2011.
84. Altar CA, Laeng P, Jurata LW, Brockman JA, Lemire A, Bullard J. Electroconvulsive seizures regulate gene expression of distinct neurotrophic signaling pathways. *Journal of Neuroscience* 2004, 24.11: 2667-77.
85. Cano M, Martínez-Zalacáin I, Bernabéu-Sanz, Contreras-Rodríguez O, Hernández-Ribas R, Via E, et al. Brain volumetric and metabolic correlates of electroconvulsive therapy for treatment-resistant depression: a longitudinal neuroimaging study. *Translational psychiatry* 2017, 7.2: 1023.
86. Nordanskog P, Dahlstrand U, Larsson MR, Larsson EM, Knutsson L, Johanson A. Increase in hippocampal volume after electroconvulsive therapy in patients with depression: a volumetric magnetic resonance imaging study. *The journal of ECT* 2010, 26.1: 62-67.
87. Chen ACH, Shin KH, Duman RS, Sanacora G. ECS-Induced mossy fiber sprouting and BDNF expression are attenuated by ketamine pretreatment. *The journal of ECT* 2001, 17.1: 27-32.
88. Nobler MS, Oquendo MA, Kegeles LS, Malone KM, Campbell C, Sackeim HA, Mann, JJ. Decreased regional brain metabolism after ECT. *American Journal of Psychiatry*, 2001, 158(2), 305-8.

89. Schmidt EZ, Reininghaus B, Enzinger C, Ebner C, Hofmann P, Kapfhammer HP. Changes in brain metabolism after ECT—Positron emission tomography in the assessment of changes in glucose metabolism subsequent to electroconvulsive therapy—Lessons, limitations and future applications. *Journal of affective disorders* 2008, 106.1-2: 203-8.
90. Zanotto TM, Quaresma PGF, Guadagnini D, Weissmann L, Santos AC, Vecina JF, et al. Blocking iNOS and endoplasmic reticulum stress synergistically improves insulin resistance in mice. *Molecular metabolism* 2017, 6.2: 206-18.
91. Imai T, Kosuge Y, Saito H, Uchiyama T, Wada T, Shimba S, et al. Neuroprotective effect of S-allyl-L-cysteine derivatives against endoplasmic reticulum stress-induced cytotoxicity is independent of calpain inhibition. *Journal of Pharmacological Sciences* 2016, 130.3: 185-88.
92. Düzgün A, Alaçam H, Okuyucu A. Endoplazmik retikulum stresi ve katlanmamış protein cevabı. *Journal of Experimental and Clinical Medicine* 2012, 29(2), 95-100.
93. Kapoor A, Sanyal AJ. Endoplasmic reticulum stress and the unfolded protein response. *Clinics in liver disease* 2009, 13.4: 581-90.
94. Palade GE, Porter KR. Studies on the endoplasmic reticulum: I. Its identification in cells in situ. *The Journal of experimental medicine* 1954, 100.6: 641.
95. English AR, Zurek N, Voeltz GK. Peripheral ER structure and function. *Current opinion in cell biology* 2009, 21.4: 596-602.
96. Borgese N, Francolini M, Snapp E. Endoplasmic reticulum architecture: structures in flux. *Current opinion in cell biology* 2006, 18.4: 358-64.
97. Orrenius S, Ericsson JL. Enzyme-membrane relationship in phenobarbital induction of synthesis of drug-metabolizing enzyme system and proliferation of endoplasmic membranes. *The Journal of cell biology* 1966, 28.2: 181-98.
98. Bi M, Naczki C, Koritzinsky M, Fels D, Blais J, Hu N, et al. ER stress-regulated translation increases tolerance to extreme hypoxia and promotes tumor growth. *The EMBO journal* 2005, 24.19: 3470-81.
99. Buck TM, Wright CM, Brodsky JL. The Activities and Function of Molecular Chaperones in the Endoplasmic Reticulum. In: *Seminars in cell & developmental biology*. Academic Press 2007. p. 751-61.

100. Ron D, Walter P. Signal integration in the endoplasmic reticulum unfolded protein response. *Nature reviews Molecular cell biology* 2007, 8.7: 519-29.
101. Lindholm D, Wootz H, Korhonen L. ER stress and neurodegenerative diseases. *Cell Death & Differentiation* 2006, 13.3: 385-92.
102. Argon Y, Simen BB. GRP94, an ER chaperone with protein and peptide binding properties. In: *Seminars in cell & developmental biology*. Academic Press 1999. p. 495-505.
103. Kadowaki H, Satrimafitrah P, Takami Y, Nishitoh H. Molecular mechanism of ER stress-induced pre-emptive quality control involving association of the translocon, Derlin-1, and HRD1. *Scientific reports* 2018, 8.1: 7317.
104. Zhao T, Huang GB, Muna SS, Bagalkot TR, Jin HM, Chae HJ, et al. Effects of chronic social defeat stress on behavior and choline acetyltransferase, 78-kDa glucose-regulated protein, and CCAAT/enhancer-binding protein (C/EBP) homologous protein in adult mice. *Psychopharmacology* 2013, 228: 217-30.
105. Lai E, Teodoro T, Volchuk A. Endoplasmic reticulum stress: signaling the unfolded protein response. *Physiology* 2007, 22.3: 193-201.
106. Hetz C. The unfolded protein response: Controlling cell fate decisions under ER stress and beyond. *Nature reviews Molecular cell biology* 2012, 13.2: 89-102.
107. Zhang K, Kaufman RJ. Signaling the unfolded protein response from the endoplasmic reticulum. *Journal of Biological Chemistry* 2004, 279.25: 25935-8.
108. Oakes SA, Papa FR. The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Human Pathology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease* 2015, 10: 173-94.
109. Shore GC, Papa FR, Oakes SA. Signaling cell death from the endoplasmic reticulum stress response. *Current opinion in cell biology* 2011, 23.2: 143-9.
110. Verfaillie T, Rubio N, Garg AD, Bultynck G, Rizzuto R, Decuypere JP, et al. PERK is required at the ER-mitochondrial contact sites to convey apoptosis after ROS-based ER stress. *Cell Death & Differentiation* 2012, 19.11: 1880-91.
111. Cox JS, Walter P. A novel mechanism for regulating activity of a transcription factor that controls the unfolded protein response. *Cell* 1996, 87.3: 391-404.

112. Sidrauski C, Walter P. The transmembrane kinase Ire1p is a site-specific endonuclease that initiates mRNA splicing in the unfolded protein response. Sidrauski C, Walter P. The transmembrane kinase Ire1p is a site-specific endonuclease that initiates mRNA splicing in the unfolded protein response. *Cell* 1997, 90.6: 1031-9.
113. Harding HP, Zhang Y, Bertolotti A, Zeng H, Ron D. Perk is essential for translational regulation and cell survival during the unfolded protein response. *Molecular cell* 2000, 5(5): 897-904.
114. Bommiasamy H, Back SH, Fagone P, Lee K, Meshinchi S, Vink E. ATF6 α induces XBP1-independent expansion of the endoplasmic reticulum. *Journal of cell science* 2009, 122(10): 1626-36.
115. Sriburi R, Jackowski S, Mori K, Brewer JW. XBP1: A link between the unfolded protein response, lipid biosynthesis, and biogenesis of the endoplasmic reticulum. *The Journal of cell biology* 2004, 167(1): 35-41.
116. Lee A-H, Iwakoshi NN, Glimcher LH. XBP-1 Regulates a Subset of Endoplasmic Reticulum Resident Chaperone Genes in the Unfolded Protein Response. *Molecular and cellular biology* 2003, 23(21): 7448-59.
117. Acosta-Alvear D, Zhou Y, Blais A, Tsikitis M, Lents NH, Arias C. XBP1 controls diverse cell type-and condition-specific transcriptional regulatory networks. *Molecular cell* 2007, 27(1): 53-66.
118. Bernales S, McDonald KL, Walter P. Autophagy counterbalances endoplasmic reticulum expansion during the unfolded protein response. *PLoS biology* 2006, 4(12): e423.
119. Travers KJ, Patil CK, Wodicka L, Lockhart DJ, Weissman JS, Walter P. Functional and genomic analyses reveal an essential coordination between the unfolded protein response and ER-associated degradation. *Cell* 2000 101(3): 249-58.
120. Lin JH, Li H, Yasumura D, Cohen HR, Zhang C, Panning B. IRE1 signaling affects cell fate during the unfolded protein response. *Science* 2007, 318(5852): 944-49.
121. Bettigole SE, Glimcher LH. Endoplasmic reticulum stress in immunity. Vol. 33, Annual Review of Immunology. *Annual review of immunology* 2015, 33: 107-38.

122. Korennykh A, Walter P. Structural Basis of the Unfolded Protein Response. *Annual review of cell and developmental biology* 2012, 28: 251-77.
123. Casas C. GRP78 at the centre of the stage in cancer and neuroprotection. *Frontiers in neuroscience* 2017, 11: 177.
124. Mao J, Hu Y, Ruan L, Ji Y, Lou Z. Role of endoplasmic reticulum stress in depression. *Molecular Medicine Reports* 2019, 20(6): 4774-80.
125. Carrara M, Prischi F, Nowak PR, Kopp MC, Ali MMU. Noncanonical binding of BiP ATPase domain to Ire1 and Perk is dissociated by unfolded protein CH1 to initiate ER stress signaling. *Elife* 2015, 4: e03522.
126. Han J, Back SH, Hur J, Lin YH, Gildersleeve R, Shan J. ER-stress-induced transcriptional regulation increases protein synthesis leading to cell death. *Nature cell biology* 2013, 15(5): 481-90.
127. Wu Y, Yue Y, Fu S, Li Y, Wu D, Lv J. Icariside II prevents hypertensive heart disease by alleviating endoplasmic reticulum stress via the PERK/ATF-4/CHOP signalling pathway in spontaneously hypertensive rats. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 2019, 71(3): 400-7.
128. Ye J, Rawson RB, Komuro R, Chen X, Davé UP, Prywes R. ER stress induces cleavage of membrane-bound ATF6 by the same proteases that process SREBPs. *Molecular cell* 2000, 6(6): 1355-64.
129. Haze K, Yoshida H, Yanagi H, Yura T, Mori K. Mammalian transcription factor ATF6 is synthesized as a transmembrane protein and activated by proteolysis in response to endoplasmic reticulum stress. *Molecular biology of the cell* 1999, 10(11): 3787-99.
130. Adachi Y, Yamamoto K, Okada T, Yoshida H, Harada A, Mori K. ATF6 is a transcription factor specializing in the regulation of quality control proteins in the endoplasmic reticulum. *Cell structure and function* 2008, 33(1): 75-89.
131. Yang J, Liu H, Li L, Liu H, Shi W, Yuan X, Structural Insights into IRE1 Functions in the Unfolded Protein Response. *Current medicinal chemistry* 2016, 23(41): 4706-16.

132. Wu R, Zhang QH, Lu YJ, Ren K, Yi GH. Involvement of the IRE1 α -XBP1 pathway and XBP1s-dependent transcriptional reprogramming in metabolic diseases. *DNA and cell biology* 2015, 34(1): 6-18.
133. Papaioannou A, Higa A, Jégou G, Jouan F, Pineau R, Saas L, Alterations of EDEM1 functions enhance ATF6 pro-survival signaling. *The FEBS Journal* 2018, 285(22): 4146-64.
134. Hiramatsu N, Chiang WC, Kurt TD, Sigurdson CJ, Lin JH. Multiple Mechanisms of Unfolded Protein Response-Induced Cell Death [Internet]. Vol. 185, American Journal of Pathology. *The American journal of pathology* 2015, 185(7): 1800-08.
135. Hill MN, Hellemans KGC, Verma P, Gorzalka BB, Weinberg J. Neurobiology of chronic mild stress: Parallels to major depression. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* 2012, 36(9): 2085-117.
136. Liu Y, Yang N, Hao W, Zhao Q, Ying T, Liu S, Dynamic proteomic analysis of protein expression profiles in whole brain of Balb/c mice subjected to unpredictable chronic mild stress: Implications for depressive disorders and future therapies. *Neurochemistry international* 2011, 58(8): 904-13.
137. Jangra A, Sriram CS, Dwivedi S, Gurjar SS, Hussain MI, Borah P, Sodium Phenylbutyrate and Edaravone Abrogate Chronic Restraint Stress-Induced Behavioral Deficits: Implication of Oxido-Nitrosative, Endoplasmic Reticulum Stress Cascade, and Neuroinflammation. *Cellular and molecular neurobiology* 2017,37: 65-81.
138. Pavlovsky AA, Boehning D, Li D, Zhang Y, Fan X, Green TA. Psychological stress, cocaine and natural reward each induce endoplasmic reticulum stress genes in rat brain. *Neuroscience* 2013, 246: 160-69.
139. Jangra A, Sriram CS, Lahkar M. Lipopolysaccharide-Induced Behavioral Alterations Are Alleviated by Sodium Phenylbutyrate via Attenuation of Oxidative Stress and Neuroinflammatory Cascade. *Inflammation* 2016,39: 1441-52.
140. Lawson MA, Parrott JM, McCusker RH, Dantzer R, Kelley KW, O'Connor JC. Intracerebroventricular administration of lipopolysaccharide induces indoleamine-2,3-dioxygenase-dependent depression-like behaviors. *Journal of neuroinflammation* 2013,10: 1-9.

141. Huang GB, Zhao T, Muna SS, Bagalkot TR, Jin HM, Chae HJ, Effects of chronic social defeat stress on behaviour, endoplasmic reticulum proteins and choline acetyltransferase in adolescent mice. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2013, 16(7): 1635-47.
142. Liu L, Zhao Z, Lu L, Liu J, Sun J, Wu X, et al. Icaritin and icaritin ameliorated hippocampus neuroinflammation via inhibiting HMGB1-related pro-inflammatory signals in lipopolysaccharide-induced inflammation model in C57BL/6 J mice. *International Immunopharmacology* 2019, 68: 95-105.
143. Li MX, Li Q, Sun XJ, Luo C, Li Y, Wang YN, Increased Homer1-mGluR5 mediates chronic stress-induced depressive-like behaviors and glutamatergic dysregulation via activation of PERK-eIF2 α . *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2019, 95: 109682.
144. Sharma V, Ounallah-Saad H, Chakraborty D, Hleihil M, Sood R, Barrera I, Local inhibition of PERK enhances memory and reverses age-related deterioration of cognitive and neuronal properties. *Journal of Neuroscience* 2018, 38(3): 648-58.
145. Timberlake MA, Dwivedi Y. Altered expression of associated genes in hippocampus of learned helpless rats: Relevance to depression pathophysiology. *Frontiers in pharmacology* 2016, 6: 319.
146. Luedtke K, Bouchard SM, Woller SA, Funk MK, Aceves M, Hook MA. Assessment of depression in a rodent model of spinal cord injury. *Journal of neurotrauma* 2014, 31.12: 1107-21.
147. Wu J, Zhao Z, Kumar A, Lipinski MM, Loane DJ, Stoica BA. Endoplasmic reticulum stress and disrupted neurogenesis in the brain are associated with cognitive impairment and depressive-like behavior after spinal cord injury. *Journal of Neurotrauma* 2016, 33.21: 1919-35.
148. Cheng Y, Cawley NX, Yanik T, Murthy SRK, Liu C, Kasikci F, et al. A human carboxypeptidase E/NF- α 1 gene mutation in an Alzheimer's disease patient leads to dementia and depression in mice. *Translational psychiatry* 2016, 6.12: e973-e973.
149. Behnke J, Mann MJ, Scruggs FL, Feige MJ, Hendershot LM. Members of the Hsp70 Family Recognize Distinct Types of Sequences to Execute ER Quality Control. *Molecular cell* 2016, 63.5: 739-52.

150. Bown C, Wang JF, MacQueen G, Young LT. Increased temporal cortex ER stress proteins in depressed subjects who died by suicide. *Neuropsychopharmacology* 2000, 22.3: 327-32.
151. Nevell L, Zhang K, Aiello AE, Koenen K, Galea S, Soliven R. Elevated systemic expression of ER stress related genes is associated with stress-related mental disorders in the Detroit Neighborhood Health Study. *Psychoneuroendocrinology* 2014, 43: 62-70
152. Ishisaka M, Kakefuda K, Yamauchi M, Tsuruma K, Shimazawa M, Tsuruta A. Luteolin shows an antidepressant-like effect via suppressing endoplasmic reticulum stress. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2011, 34.9: 1481-86.
153. Liu Y, Zhao N, Li C, Chang Q, Liu X, Liao Y.. Longistylone C acts antidepressant in vivo and neuroprotection in vitro against glutamate-induced cytotoxicity by regulating NMDAR/NR2B-ERK pathway in PC12 cells. *PLoS one* 2017, 12.9: e0183702.
154. Jiang Y, Li Z, Liu Y, Liu X, Chang Q, Liao Y. Neuroprotective effect of water extract of Panax ginseng on corticosterone-induced apoptosis in PC12 cells and its underlying molecule mechanisms. *Journal of ethnopharmacology* 2015, 159: 102-12.
155. Ye T, Meng X, Wang R, Zhang C, He S, Sun G. Gastrodin Alleviates Cognitive Dysfunction and Depressive-Like Behaviors by Inhibiting ER Stress and NLRP3 Inflammasome Activation in db/db Mice. *International Journal of Molecular Sciences* 2018, 19.12: 3977.
156. Narita N, Hashimoto K, Tomitaka SI, Minabe Y. Interactions of selective serotonin reuptake inhibitors with subtypes of σ receptors in rat brain. *European journal of pharmacology* 1996, 307.1: 117-9.
157. Hosoi T, Miyahara T, Kayano T, Yokoyama S, Ozawa K. Fluvoxamine attenuated endoplasmic reticulum stress-induced leptin resistance. *Frontiers in Endocrinology* 2012, 3: 12.
158. Hayashi T, Su TP. Sigma-1 Receptor Chaperones at the ER- Mitochondrion Interface Regulate Ca²⁺ Signaling and Cell Survival. *Cell* 2007, 131.3: 596-610.

159. Omi T, Tanimukai H, Kanayama D, Sakagami Y, Tagami S, Okochi M. Fluvoxamine alleviates ER stress via induction of Sigma-1 receptor. *Cell death & disease* 2014, 5.7: e1332-e1332.
160. Terada K, Izumo N, Suzuki B, Karube Y, Morikawa T, Ishibashi Y. Fluvoxamine moderates reduced voluntary activity following chronic dexamethasone infusion in mice via recovery of BDNF signal cascades. *Neurochemistry International* 2014, 69: 9-13.
161. Perez-Caballero L, Torres-Sanchez S, Bravo L, Mico JA, Berrocoso E. Fluoxetine: A case history of its discovery and preclinical development. *Expert opinion on drug discovery* 2014, 9.5: 567-78.
162. Ma J, Yang YR, Chen W, Chen MH, Wang H, Wang XD. Fluoxetine synergizes with temozolomide to induce the CHOP-dependent endoplasmic reticulum stress-related apoptosis pathway in glioma cells. *Oncology Reports* 2016, 36.2: 676-84.
163. Ma J, Hou L-N, Rong Z-X, Liang P, Fang C, Li H-F. Antidepressant Desipramine Leads to C6 Glioma Cell Autophagy: Implication for the Adjuvant Therapy of Cancer. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry (Formerly Current Medicinal Chemistry-Anti-Cancer Agents)* 2013, 13.2: 254-60.
164. Abelaira HM, Réus GZ, Ignácio ZM, dos Santos MAB, de Moura AB, Matos D. Effects of ketamine administration on mTOR and reticulum stress signaling pathways in the brain after the infusion of rapamycin into prefrontal cortex. *Journal of psychiatric research* 2017, 87: 81-87.
165. Ren Z, Chen S, Zhang J, Doshi U, Li AP, Guo L. Endoplasmic reticulum stress induction and ERK1/2 activation contribute to nefazodone-induced toxicity in hepatic cells. *Toxicological Sciences* 2016, 154.2: 368-80.
166. Yang L, Zheng L, Wan Y, Chen Z, Li P, Wang Y. Metoprolol, N-Acetylcysteine, and Escitalopram Prevents Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Depression by Inhibition of Endoplasmic Reticulum Stress. *Frontiers in Psychiatry* 2018, 9: 696.
167. Grimsley SR, Jann NW. Paroxetine, sertraline, and fluvoxamine: new selective serotonin reuptake inhibitors. *Clinical Pharmacy* 1992, 11(11): 930-57.

168. Jang SS, Jeong HG, Chung HJ. Electroconvulsive Seizures in Rats and Fractionation of Their Hippocampi to Examine Seizure-induced Changes in Postsynaptic Density Proteins. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)* 2017, 126: e56016.
169. Galecki P, Talarowska M. Inflammatory theory of depression. *Psychiatr Pol* 2018, 52(3): 437-47.
170. Kinoshita M, Hirayama Y, Fujishita K, Shibata K, Shinozaki Y, Shigetomi E. Anti-Depressant Fluoxetine Reveals its Therapeutic Effect Via Astrocytes. *EBioMedicine* 2018, 32: 72-83.
171. Weissenburger J, John Rush A, Giles DE, Stunkard AJ. Weight change in depression. *Psychiatry research* 1986, 17(4): 275-83.
172. Tayek JA, Bistrian BR, Blackburn GL. Improved food intake and weight gain in adult patients following electroconvulsive therapy for depression. *Journal of the American Dietetic Association* 1988, 88(1): 63-65.
173. Molendijk ML, de Kloet ER. Immobility in the forced swim test is adaptive and does not reflect depression. *Psychoneuroendocrinology* 2015, 62: 389-91.
174. Zhang LH, Zhang X. Roles of GRP78 in physiology and cancer. *Journal of cellular biochemistry* 2010, 110(6): 1299-305.
175. Naidoo N, Giang W, Galante RJ, Pack AI. Sleep deprivation induces the unfolded protein response in mouse cerebral cortex. *Journal of neurochemistry* 2005, 92(5): 1150-57.
176. Zhang Y, Liu W, Zhou Y, Ma C, Li S, Cong B. Endoplasmic reticulum stress is involved in restraint stress-induced hippocampal apoptosis and cognitive impairments in rats. *Physiology & behavior* 2014, 131: 41-48.
177. Ishisaka M, Kakefuda K, Yamauchi M, Tsuruma K, Shimazawa M, Tsuruta A. Luteolin shows an antidepressant-like effect via suppressing endoplasmic reticulum stress. *Biological and Pharmaceutical Bulletin* 2011, 34(9): 1481-86.
178. Arab HH, Khames A, Alsufyani SE, El-Sheikh AAK, Gad AM. Targeting the Endoplasmic Reticulum Stress-Linked PERK/GRP78/CHOP Pathway with Magnesium Sulfate Attenuates Chronic-Restraint-Stress-Induced Depression-like Neuropathology in Rats. *Pharmaceuticals* 2023, 16(2): 300.

179. Schneeloch E, Wenkel S, Mies G, Paschen W. Spreading depression activates unfolded protein response. *Neuroscience letters* 2004, 368(1): 37-40.
180. Yuan G, Xiao L, Xie Y, Si L, Xu H, Xu W. Tunicamycin induces depression-like behaviors in male rats, accompanied by initiated chaperon-mediated autophagy and decreased synaptic protein expression in the hippocampus. *Neuroscience Letters* 2023, 798: 137058.
181. Green TA, Alibhai IN, Unterberg S, Neve RL, Ghose S, Tamminga CA, et al. Induction of Activating Transcription Factors (ATFs) ATF2, ATF3, and ATF4 in the Nucleus Accumbens and Their Regulation of Emotional Behavior. *Journal of Neuroscience* 2008, 28(9): 2025-32.
182. Li Y, Guo Y, Tang J, Jiang J, Chen Z. New insights into the roles of CHOP-induced apoptosis in ER stress. *Acta Biochim Biophys Sin* 2014, 46(8): 629-40.
183. Tang M, Liu T, Shen Y, Wang L, Xue Y, Zhao T. Potential antidepressant-like effects of N-3 polyunsaturated fatty acids through inhibition of endoplasmic reticulum stress. *Psychopharmacology* 2023, 1-13.
184. Yoshino Y, Dwivedi Y. Elevated expression of unfolded protein response genes in the prefrontal cortex of depressed subjects: Effect of suicide. *Journal of Affective Disorders* 2020, 262: 229-36.
185. Bengesser SA, Reininghaus EZ, Dalkner N, Birner A, Hohenberger H, Queissner R. Endoplasmic reticulum stress in bipolar disorder? – BiP and CHOP gene expression- and XBP1 splicing analysis in peripheral blood *Psychoneuroendocrinology* 2018, 95: 113-19.
186. Paschen W, Aufenberg C, Hotop S, Mengesdorf T. Transient cerebral ischemia activates processing of xbp1 messenger RNA indicative of endoplasmic reticulum stress. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* 2003, 23(4): 449-61.
187. Yang L, Zheng L, Wan Y, Chen Z, Li P, Wang Y. Metoprolol, N-Acetylcysteine, and Escitalopram Prevents Chronic Unpredictable Mild Stress-Induced Depression by Inhibition of Endoplasmic Reticulum Stress. *Frontiers in Psychiatry* 2018, 9: 696
188. Nakamura-Maruyama E, Kai R, Himia N, Okabe N, Narita K, Miyazaki T. Ryanodine receptors are involved in the improvement of depression-like behaviors through electroconvulsive shock in stressed mice. *Brain Stimulation* 2021, 14(1): 36-47.

189. Groenendyk J, Agellon LB, Michalak M. Calcium signaling and endoplasmic reticulum stress. *International Review of Cell and Molecular Biology* 2021, 363: 1-20.
190. Krebs J, Agellon LB, Michalak M. Ca²⁺ homeostasis and endoplasmic reticulum (ER) stress: *Biochemical and biophysical research communications* 2015, 460(1): 114-21.
191. Yuan M, Yuan B. Antidepressant-like effects of Rehmannioside A on rats induced by chronic unpredictable mild stress through inhibition of endoplasmic reticulum stress and apoptosis of hippocampus. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 2022, 125: 102157.
192. Yang L, Chen Z, Li J, Ding P, Wang Y. Effects of Escitalopram on Endoplasmic Reticulum Stress and Oxidative Stress Induced by Tunicamycin. *Frontiers in Neuroscience* 2021, 15: 737509.

EKLER

EK-1. Özgeçmiş

























EK-2. Etik Kurul Onay Belgesi

