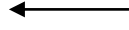


SELD A ÖZAKMAN

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.

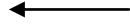
DOKTORA TEZİ

İSTANBUL-2020



Adınızı soyadınızı giriniz

Tez kabul edildikten sonra yapılan **sabit ciltte sırt yazısı** bu şablona göre yazılacak. Yazılar tek satır olacak
Cilt sırtı yazıların yönü yukarıdan aşağıya
(sol yandaki gibi) olacak .



Tez, Yüksek Lisans'sa, YÜKSEK LİSANS TEZİ;
Doktora ise DOKTORA TEZİ ifadesi kalacak



Tez Sınavının yapılacağı yılı yazınız

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

(DOKTORA TEZİ)

**FARELERDE UYKU YOKSUNLUĞU MANİ MODELİNDE
TAMOKSİFENİN ETKİLERİNİN VE BEYİN
BÖLGELERİNDE GLUTAMAT VE GLUTAMİN
DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

SELDA ÖZAKMAN

**DANIŞMAN
PROF. DR. NURHAN ENGİNAR**

**TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI
TIBBİ FARMAKOLOJİ VE KLİNİK FARMAKOLOJİ
PROGRAMI**

İSTANBUL-2020

DOKTORA TEZİ ONAYI

İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü İstanbul Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Tıbbi Farmakoloji ve Klinik Farmakoloji Programında Doktora öğrencisi Selda ÖZAKMAN tarafından Prof. Dr. Nurhan ENGİNAR'ın danışmanlığında hazırlanan "Farelerde Uyku Yoksunluğu Mani Modelinde Tamoksifenin Etkilerinin ve Beyin Bölgelerinde Glutamat ve Glutamin Düzeylerinin Araştırılması" başlıklı tez aşağıdaki jüri üyeleri tarafından 03/01/2020 tarihinde yapılan Tez Savunma Sınavında başarılı bulunmuş ve Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.


Jüri Başkanı

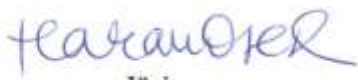
Prof. Dr. A. Yagiz ÜRESİN
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı


Jüri-Danışman

Prof. Dr. Nurhan ENGİNAR
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı


Jüri

Prof. Dr. M. Zafer GÖREN
Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı


Jüri

Prof. Dr. S. Hakan ORER
Koç Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı


Jüri

Prof. Dr. A. Pinar YAMANTÜRK ÇELİK
İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

BEYAN

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

Selda ÖZAKMAN



İTHAF

Bu tez çalışmamı babama ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici ve destek olan değerli danışman hocam sayın Prof.Dr. Nurhan Enginar'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Bu çalışmaya özverili katkılarından dolayı Prof.Dr. Asiye Nurten (İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı), Prof.Dr. Zafer Gören ve Dr. Nurdan Tekin (Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı) ve Doç.Dr. Rivaze Kalaycı'ya (İ. Ü. Aziz Sancar DETAE, Laboratuvar Hayvanları Anabilim Dalı), yakın ilgi ve desteklerinden ötürü hocalarım Prof.Dr. İclal Hatipoğlu, Anabilim Dalı Başkanı Prof.Dr. Ali Yağız Üresin ve Prof.Dr. Pınar Yamantürk Çelik'e, çok teşekkür ederim.

Ayrıca tezimde yardımlarını esirgemeyen Vet. Hekim Evrim Zeren Birer'e teşekkürü borç bilirim.

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31202

İÇİNDEKİLER

TEZ ONAYI	İİ
BEYAN.....	İİİ
İTHAF.....	İV
TEŞEKKÜR.....	V
İÇİNDEKİLER	VI
TABLolar LİSTESİ.....	Vİİİ
ŞEKİLLER LİSTESİ	İX
ÖZET	X
ABSTRACT.....	Xİ
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bipolar Bozukluk.....	3
2.1.1. Bipolar Bozuklukta Nörobiyoloji.....	4
2.1.2. Bipolar Bozuklukta Nöroanatomi, Histopatoloji ve Genetik.....	4
2.1.3. Bipolar Bozuklukta Hücresel ve Moleküler Değişiklikler.....	5
2.1.3.1. Bipolar Bozuklukta Monoaminerjik Sistem Değişiklikleri.....	5
2.1.3.2. Bipolar Bozuklukta Protein Kinaz C Sinyal Değişiklikleri	5
2.1.3.3. Bipolar Bozuklukta Glutamaterjik Sistem Değişiklikleri	8
2.1.3.4. Bipolar Bozuklukta Diğer Değişiklikler	8
2.2. Glutamat ve Glutamin.....	9
2.3. Uyku.....	9
2.3.1. REM Uyku Yoksunluğu.....	12
2.4. Deney Hayvanlarında Mani Modelleri	12
2.4.1. Farmakolojik Modeller	13
2.4.2. Genetik Modeller	13
2.4.3. Çevresel Modeller	14
2.4.3.1. REM Uyku Yoksunluğu Mani Modeli.....	14
2.5. Yeni Nesne Tanıma Testi.....	15
2.6. Tamoksifen	16
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	17

3.1. Deney Hayvanları	17
3.2. Droglar ve Uygulamalar	17
3.3. REM Uyku Yoksunluğu Oluşturma.....	17
3.4. Lokomotor Aktivite	18
3.5. Yeni Nesne Tanıma Testi.....	18
3.6. Merdiven Testi	19
3.7. Beyin Dokusunda Glutamat ve Glutamin Miktar Tayini.....	20
3.8. Deneylerin Yürütülmesi.....	21
3.9. İstatistiksel Değerlendirme	21
4. BULGULAR.....	22
4.1. Tamoksifenin farelerde REM uyku yoksunluğunda lokomotor aktiviteye etkisi ..	22
4.2. Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin yeni nesne tanıma testinde belleğe etkisi	24
4.3. Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin merdiven testinde risk alma davranışına etkisi	25
4.4. Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin beyin bölgelerinde glutamat ve glutamin miktarlarına etkisi	26
5. TARTIŞMA	28
5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları.....	33
5.2. Sonuç.....	33
KAYNAKLAR	34
ETİK KURUL KARARI	51
İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI.....	52
ÖZGEÇMİŞ	53

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 4-1: Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin beyin bölgelerinde glutamat ve glutamin miktarlarına ve glutamat/glutamin oranına etkileri	27
--	----



ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2-1: Protein kinaz C sinyal sisteminin duygudurum bozukluklarının fizyopatolojisine ve tedavisine katkısı-Abrial ve ark. (2011)'dan.....	7
Şekil 3-1: REM uyku yoksunluğu kafesindeki fareler.....	18
Şekil 3-2: Yeni nesne tanıma testinde öğrenme eğitimindeki fare	19
Şekil 3-3: Merdiven testinde fare.....	20
Şekil 4-1: REM uyku yoksunluğu oluşturulan farelerde tamoksifenin lokomotor aktiviteye etkisi	23
Şekil 4-2: Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin yeni nesne tanıma testinde tanıma indeksine etkisi	24
Şekil 4-3: Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin merdiven testinde çıkılan basamak sayısına etkisi	25

ÖZET

Özakman, S. (2020). Farelerde uyku yoksunluğu mani modelinde tamoksifenin etkilerinin ve beyin bölgelerinde glutamat ve glutamin düzeylerinin araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı. Doktora Tezi. İstanbul.

Protein kinaz C inhibitörü tamoksifen bipolar hastalarda antimanik etki göstermekte, deney hayvanlarında mani benzeri davranışları azaltmaktadır. Manide beyin bölgelerinde protein kinaz C aktivitesinin, glutamat düzeyinin ve glutamat/glutamin oranının arttığı ve tedaviye yanıt olarak düştükleri gösterilmiştir. Glutamatın öğrenme ve bellek oluşumunun düzenlenmesinde önemli rolü bulunmaktadır. Tamoksifen glutamat salıverilmesini azaltabildiğinden, bu etkinin antimanik etkinliğe katkı sağlarken, manie eşlik eden öğrenme ve bellek bozukluğunu değiştirebileceği öne sürülebilir. Bu çalışmada; 8 gün günde 2 kez 1 mg/kg tamoksifen uygulanan farelerde 2 gün ara ile 3 kez REM uyku yoksunluğu oluşturuldu. İkinci yoksunluktan 24 saat sonra lokomotor aktivite ölçüldü. Son yoksunluğun hemen ardından lokomotor aktivite, merdiven testi ile risk alma davranışı ve yeni nesne tanıma testi ile bellek değerlendirildi ve ardından frontal kortekste ve hipokampüste glutamat ve glutamin miktarları ölçüldü. İkinci uyku yoksunluğunda kare geçiş arttı. Son uyku yoksunluğunda kare geçiş ve çıkılan basamak sayısı arttı ve frontal kortekste glutamat azaldı. Tanıma indeksi, frontal kortekste glutamin, hipokampüste glutamat ve glutamin ve iki bölgede glutamat/glutamin değerlerinde bir değişiklik ortaya çıkmadı. REM uyku yoksunluğuna bağlı lokomotor aktivite ve risk alma davranışı artışı ve frontal kortekste glutamat düzeyindeki azalma tamoksifen ile önlendi. Bulgular mani, tamoksifen ve glutamat arasındaki ilişki ile ilgili iddialara karşıt niteliğinde olsa da tamoksifenin antimanik etkisinde glutamatın rolünün olabileceğini göstermekte ve tekrarlayan uyku yoksunluğunda hastalığın gelişim sürecinin daha iyi taklit edilebileceğini işaret etmektedir. Bu sonuçlar desteklenmeleri için ileri çalışmaları gerektirmektedir.

Anahtar Kelimeler: tamoksifen, mani, uyku yoksunluğu, glutamat, öğrenme, bellek

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: 31202

ABSTRACT

Özakman, S. (2020). Investigation of the effects of tamoxifen and glutamate and glutamine levels in brain regions in sleep deprivation-induced mania model in mice. Istanbul University, Institute of Health Science, Department of Medical Pharmacology. Doctoral Thesis. İstanbul.

Protein kinase C inhibitor tamoxifen exerts antimanic effect in bipolar patients and reduces mania-like behavior in animals. In mania, it has been shown that protein kinase C activity, glutamate levels and glutamate/glutamine ratio increase in brain regions and decrease in response to treatment. Glutamate has an important role in the modulation of learning and memory formation. Since tamoxifen can reduce glutamate release, it can be suggested that this effect while contributing to the antimanic activity may alter the memory and learning impairment accompanying to mania. In the present study, mice treated with 1 mg/kg tamoxifen twice daily for 8 days were administered REM sleep deprivation 3 times with an interval of 2 days. Locomotor activity was measured 24 hours after the second sleep deprivation. Locomotor activity, risk taking behavior in the staircase test and memory in the novel object recognition test were assessed immediately after the last sleep deprivation and then glutamate and glutamine levels were determined in the frontal cortex and hippocampus. After the second sleep deprivation, the number of squares crossed increased. The number of squares crossed and the number of steps climbed increased, and glutamate decreased in the frontal cortex after the last sleep deprivation. There were no changes in the recognition index value, the amount of glutamine in the frontal cortex, the amount of glutamate and glutamine in the hippocampus and glutamate/glutamine ratio in both regions. REM sleep deprivation-induced increase in locomotor activity and risk-taking behavior and decrease in glutamate level in the frontal cortex were prevented by tamoxifen. Although the findings are contrary to the claims about the relationship between mania, tamoxifen and glutamate, they indicate that glutamate may play a role in the antimanic effect of tamoxifen and suggest that repeated sleep deprivation may better mimic the development of the disorder. These results require further studies to be supported.

Key Words: tamoxifen, mania, sleep deprivation, glutamate, learning, memory

The present work was supported by the Research Fund of Istanbul University. Project No: 31202

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Bipolar bozukluk, tekrarlayan mani ve depresyon dönemleri ile seyreden, aralarda ruhsal durumun normal olduğu karmaşık bir hastalıktır. Mani dönemleri aşırı hareketlilik (hiperaktivite), yüksek duygu durum (mood), ajitasyon, yarışan düşünceler, artmış risk alma davranışı, uyku gereksiniminin azalması ve bazen psikoz belirtileri ile kendini gösterir. Depresyon dönemi ise sürekli üzüntü, yorgunluk, yeme ve uyku bozuklukları, suçluluk düşüncesi ve soysal çekilme gibi belirtilerden oluşur (Logan ve McClung 2016). Hastalarda bellek bozuklukları sık görülür (Tsitsipa ve Fountoulakis 2015). Tedavide lityum ve yanı sıra valproat ve karbamazepin gibi antiepileptikler veya antipsikotikler kullanılarak ruhsal durumun dengede tutulması hedeflenir. İstenmeyen etkilerin ve tedaviye dirençli hastaların varlığı nedeni ile yeni ve daha etkin molekülleri bulabilmek ve hastalığın nörobiyolojisini anlayabilmek için yoğun araştırmalar yapılmaktadır. Monoaminerjik ve glutamaterjik sistemlerdeki bozuklukların, protein kinaz C yolağındaki aktivite artışının, oksidatif hasarın, sirkadiyen (günlük) ritim bozukluğu gibi değişikliklerin ve genetik faktörlerin hastalığa katkısının olabileceği öne sürülmüştür (Hahn ve Friedman 1999; Dubovsky 2015; Kato 2017; Harrison ve ark. 2018).

Meme kanseri tedavisinde yarar sağlayan östrojen reseptör modülatörü tamoksifenin antimanik etkisi bulunmaktadır. Bipolar bozukluğu olan hastalarda tamoksifen tek başına manik semptomları düzeltirken (Yildiz ve ark. 2008), lityum alan hastalarda semptomların daha hızlı azalmasını sağlayarak ek yarar oluşturmuştur (Amrollahi ve ark. 2011). Tamoksifenin protein kinaz C inhibitörü etkisinin olduğu (O'Brian ve ark. 1985) ve glutamat salıverilmesini azalttığı (Kuo ve ark. 2012) gösterilmiş, çeşitli mani modellerinde mani benzeri davranışı azaltması protein kinaz C inhibisyonuna bağlanmıştır (Einat ve ark. 2007; Pereira ve ark. 2011; Armani ve ark. 2012). Bipolar hastaların trombositlerinde ve postmortem beyin örneklerinde protein kinaz C aktivitesinde artış olduğu (Wang ve Friedman 1996), akut manide protein kinaz C aracılı sinyal iletilisinin arttığı (Wang ve ark. 1999) ve tedavi ile azalma gösterdiği (Hahn ve ark. 2005) bildirilmiştir. Öte yandan, postmortem incelemelerde, beyinde glutamat düzeyinde (Hashimoto ve ark. 2007; Lan ve ark. 2009) ve glutamaterjik aşırımda (Eastwood ve Harrison 2010) artış olması, tedavinin sonlandığı hastalarda

görüntüleme yöntemlerinde beyinde glutamat/glutamin oranının düşük bulunması (Lan ve ark. 2009), bipolar bozuklukta glutamaterjik sistemde de işlev bozukluğu olduğuna, bu durumun yeni tedavi yaklaşımlarına yol açabileceği görüşüne yol açmıştır (Sanacora ve ark. 2008). Protein kinaz C'nin glutamaterjik agonistlerin reseptöre bağlanma bölgelerinde fosforilasyon yaparak reseptör işlevini düzenleyebilmesi, maniye eşlik eden davranışlarda glutamaterjik modülasyonun rolünü işaret etmektedir (Szabo ve ark. 2009). Mani benzeri davranış değişikliği oluşturulan deney hayvanlarında da beyinde korteks ve hipokampüste glutamat (Bettendorff ve ark. 1996; Mohammed ve ark. 2011) ve glutamin (Mohammed ve ark. 2011) düzeylerinde artış gösterilmiştir. Lityumun hipokampus hücre kültürlerinde glutamat ile ilgili işlevsel sinaps sayısını artırması (Kim ve Thayer 2009) ve frontal kortekste glutamaterjik reseptörlerdeki değişiklikleri protein kinaz C inhibisyonu ile geriye çevirmesi (Szabo ve ark. 2009) de glutamaterjik sistem ile etkileşerek antimanik etki gösterdiğinin bulguları olarak değerlendirilmiştir. Glutamat öğrenme ve bellek oluşumunun düzenlenmesinde önemli rol oynamakta (Tapiero ve ark. 2002), bellek oluşumuna ön beyinde glutamat/glutamin havuzundaki artış eşlik etmektedir (Hertz ve ark. 2003).

Deneysel çalışmalarda amfetamin modeli gibi farmakolojik, uyku yoksunluğu gibi çevresel veya genetik yaklaşımlar ile pek çok mani modeli oluşturulmuştur (Young ve ark. 2011a; Sharma ve ark. 2016; Beyer ve Freund 2017). Hayvanlarda lokomotor aktivite artışı, agresyon ve risk alma davranışı ile mani dönemi taklit edilebilmekte (Gessa ve ark. 1995; Benedetti ve ark. 2008; Sabioni ve ark. 2008; Abrial ve ark. 2013, 2015), hastalığa eşlik eden bellek bozukluğu gösterilebilmektedir (Fries ve ark. 2015; Amodeo ve ark. 2017).

Yukarıdaki bilgilerin ışığında, tamoksifenin glutamat salıverilmesi üzerine olan etkisinin antimanik etkinliğine katkı sağlarken, maniye eşlik eden öğrenme ve bellek bozukluğunu değiştirebileceği öne sürülebilir. Bu nedenle; tekrarlayan uyku yoksunluğu ile mani oluşturulan farelerde, lokomotor aktivite, risk alma davranışı, bellek ve frontal korteks ve hipokampüste glutamat ve glutamin miktarları ölçümleri ile tamoksifenin mani gelişimine etkisi araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bipolar Bozukluk

Bipolar (iki uçlu) bozukluk, yineleyebilen mani ve depresyon dönemi (epizodu) döngüleri veya her iki dönemi de kapsayan karma dönemler ile kendini gösteren, dönemler arasında düzelme (ötimi) bulunan bir duygudurum bozukluğudur. Depresyon döneminde zevk kaybı (anhedoni), suçluluk duygusu, yorgunluk, uyku bozuklukları, sosyal geri çekilme ortaya çıkar, intihar eğilimi artar. Mani döneminde yüksek enerjili, coşkulu ve kolay öfkelenir duygudurum hali (öfori) ortaya çıkar, büyüklenmecilik, azalmış uyku gereksinimi, artmış konuşma ve cinsel istek, dikkat dağılması, uçuşan fikirler ya da yarışan düşünceler, artmış amaca yönelik davranışlar, psikomotor ajitasyon ve risk alma davranışı gibi belirtiler ve bazen psikoz vardır (Goodwin ve Jamison 2007). Ruhsal Bozuklukların Tanısal ve İstatistiksel El Kitabı-5 (DSM-5)'te mani ve hipomani olarak 2 manik sendrom tanımlanmıştır. Hipomani maniyeye göre daha az şiddetlidir ve daha kısa sürer (Dubovsky 2015). Mani dönemlerinin olduğu hastalar bipolar I ve mani yerine hipomani dönemleri olan hastalar bipolar II olarak da sınıflandırılmıştır (Dunner ve ark. 1976). Mani akut bir durum olarak kabul edilir. Fakat çoğu hasta kronik olarak manik veya hipomaniktir. Hastalığın tedavisi akut dengeleme (stabilize etme) ve nüksün (relapsın) önlenmesinden oluşur. Akut dengelemede, depresyon veya mani döneminin düzelme evresine dönüştürülmesi, nüksün önlenmesinde düzelme durumunun sürdürülmesi amaçlanır (Kim ve ark. 2017).

Nörolojik bozuklukların tedavisinde kullanılan bazı ilaçlar mani veya hipomaniye yol açabilir. Parkinson hastalarında yapılan bir çalışmada dopaminerjik etkinliği artıran tedavi alanlarda mani değerlendirme skorları daha yüksek bulunmuş, hipomani ve mani durumları doz azaltılması veya tedavinin kesilmesi ile ortadan kalkmıştır (Maier ve ark. 2014). Kortikosteroidler ve anabolik steroidler de maniyeye ve yanı sıra depresyona yol açabilirler (Bhangle ve ark. 2013). Akut tedavide mani daha yaygın olarak ortaya çıkabilmekte ve tedavi kesildiğinde sonlanmaktadır.

Bipolar hastalarda gerek mani gerek depresyon dönemlerinde bilişsel bozukluklar yaygın görülür. Hastalığın akut dönemlerinde dikkat, öğrenme, bellek ve psikomotor hız gibi çoğu bilişsel işlevde bozukluk olduğu, bunların iyileşme döneminde

de devam ettiği, dolayısı ile süregen (kronik) olduğu ileri sürölmüşür (Vrabie ve ark. 2015; Solé ve ark. 2017).

2.1.1. Bipolar Bozuklukta Nörobiyoloji

Bipolar bozukluk nörobiyolojik açıdan ele alındığında kabaca benzer ancak ayrıntıda farklı patolojik koşulların bipolarite durumuna yol açıyor oluşu ile heterojendir. Bu heterojenite bipolar bozukluk üzerine bütöncöl bir yaklaşım oluşturmayı zorlaştırsa da nöronal görüntöleme çalışmaları, histolojik, genetik ve biyokimyasal çalışmalar farklı bir bakış açısı sağlar (Maletic 2014).

2.1.2. Bipolar Bozuklukta Nöroanatomî, Histopatoloji ve Genetik

Yapısal ve işlevsel görüntöleme çalışmaları, subkortikal beyaz madde, bazal gangliyonlar, hipokampus, amigdala, frontal ve temporal lop ve serebellum gibi beyinde pek çok alanın bipolar bozukluğun nöroanatomisinde yer alabileceğini göstermiştir (Maletic 2014). Histopatolojik araştırmalarda duyulanım ile ilgili nöron ve glialarda ve prefrontal-subkortikal alanları bağlayan yollarda değışiklikler saptanmıştır (Mahon ve ark. 2010). Duyulanımın düzenlenmesinde rol oynayan nöronal aktivitedeki kayıpların hücre içi sinyal yolları ve gen ekspresyonundaki değışikliklerden kaynaklanabileceği öne sürölmüşür (Dubovsky 2015). Mani başlangıcında otonom ve istemli duyulanımın düzenlenmesinde rol oynayan ventromedial ve ventrolateral prefrontal korteksin limbik bağlantı ağlarında, özellikle amigdalada, bozukluğunun olabileceği ve zamanla değışikliklerin artabileceği düşünölmektedir (Calhoun ve ark. 2011; Strakowski ve ark. 2012).

Bipolar bozukluğa genetik yatkınlıkta yer alan yollar arasında hormonal düzenleme, kalsiyum kanalları, ikinci ulak sistemleri ve glutamat sinyal yollarının bulunduğu öne sürölmektedir. Tek-nökleotid polimorfizmlerinin, kortikotropin salıverici, fosfolipaz C, kardiyak beta adrenerejik, glutamat ve kardiyak hipertrofi sinyal yollarında yoğunlaştığına ilişkin kanıt oluşmuştur (Nurnberger ve ark. 2014). Ayrıca, sirkadiyen düzenleme bozukluğu ile uyumlu olan Clock genlerindeki mutasyonların hastalığın etyolojisindeki olası katkısına ilişkin veriler literatürde yer almaktadır (Kim ve ark. 2017).

2.1.3. Bipolar Bozuklukta Hücresel ve Moleküler Değişiklikler

Genetik yatkınlık ile ilgili verilerin ve yaygın araştırmaların olmasına karşın bipolar bozukluğa yatkınlığın altta yatan mekanizmaları ve fizyopatolojisi henüz açık değildir. Başlangıçtaki nörotransmitterler, özellikle monoaminler ile ilgili biyolojik açıklamalar, daha sonraları reseptör sonrası olaylarda yer alan moleküller ile ilgili görüşlere kaymıştır (Manji ve ark. 2003). Bu görüşlerin bazıları hastalığın gidişi ile de ilişkilendirilmiştir (Berk ve ark. 2011).

2.1.3.1. Bipolar Bozuklukta Monoaminerjik Sistem Değişiklikleri

Klasik monoaminerjik nörotransmitter sistemi ile ilgili görüşlere göre bipolar bozuklukta rolü bulunan biyojenik aminler, uyku, iştah, uyarılma, cinsel ve endokrin işlev, öfke ve korku gibi duygulanım durumları ile ilgili limbik sistemde yaygın dağılım gösteren dopamin, noradrenalin ve serotoninidir. Artmış monoaminerjik etkinliğin maninin fizyopatolojik temelini oluşturduğu ifade edilmiştir (Tissot 1975). Dopamin varsayımına göre aşırı dopaminerjik etkinlik mani belirtilerinin oluşmasında yer alır (Ashok ve ark. 2017). Dopaminden, monoamin oksidaz ile iki metabolik yıkım yolağında oluşan metabolitler, hücre işlevlerini bozucu özellikte olup çeşitli mekanizmalar ile apoptoza yol açarak nöronal toksisiteye neden olur (Barzilai ve ark. 2000; Rees ve ark. 2007). Noradrenalinin yapım-yıkım ve reseptör duyarlılığı gibi özelliklerindeki değişiklikler ile bipolar bozukluğa katkıda bulunduğu inanılmaktadır (Young ve ark. 1994; Goodwin ve Jamison 2007). Beyin omurilik sıvısında noradrenalin ve metaboliti 3-metoksi-4-hidroksifeniletillenglikol (MHPG) miktarlarının, depresyon dönemine göre mani döneminde arttığı bildirilmiştir (Goodwin ve Jamison, 2007). Bipolar bozuklukta serotonerjik sistemin değişikliğe uğradığına ilişkin çeşitli bulgulardan biri akut manide kortikal alanlarda 5-HT₂ serotonerjik reseptörlerdeki azalmadır (Yatham ve ark. 2010). Öte yandan, beyin omurilik sıvısında serotonininin metaboliti 5-hidroksiindolasetik asit miktarında mani döneminde sağlıklı kontrol grubuna göre bir değişiklik saptanamamıştır (Gemer ve ark. 1984).

2.1.3.2. Bipolar Bozuklukta Protein Kinaz C Sinyal Değişiklikleri

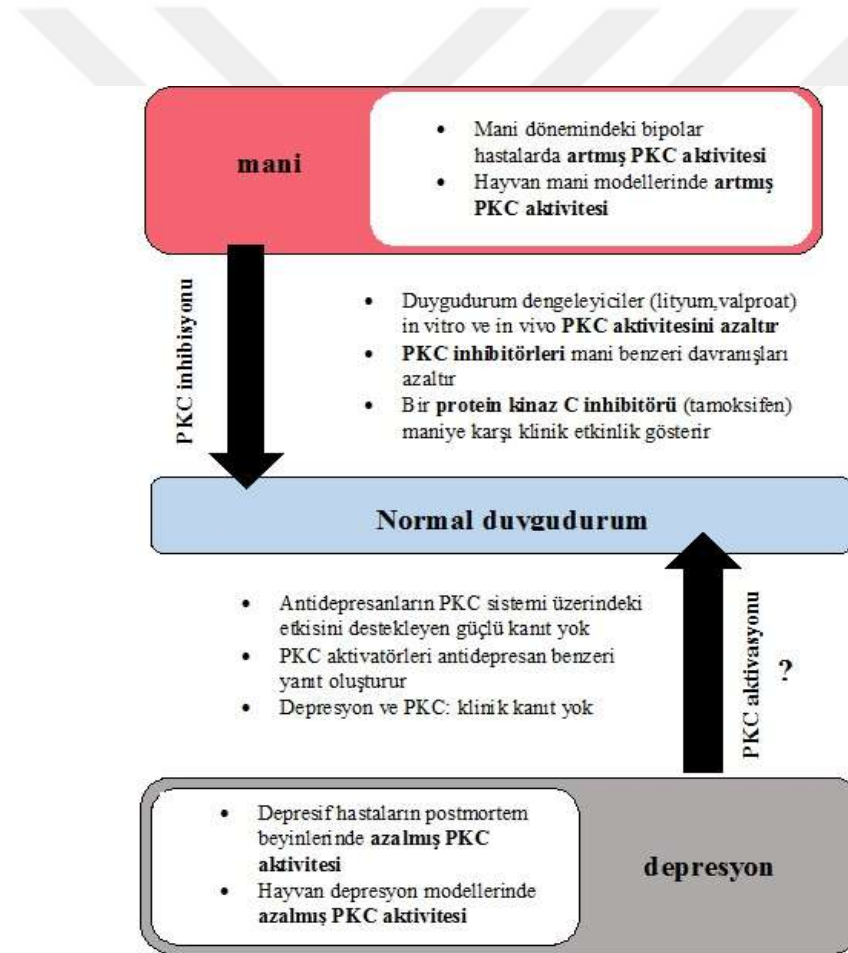
Protein kinaz C (PKC) hücre membranında G proteini ve miyoinozitol sistemi aracılığı ile aralarında alfa-1 adrenerjik, M₁ kolinerjik ve 5HT_{2A} serotonerjik olmak üzere çeşitli reseptörlerin etkilerinin oluşmasında aracılık eder. Reseptörün uyarılması fosfolipaz C'nin etkinleşmesine ve membrandaki fosfolipidlerden inozitol trifosfat (IP₃)

ve diaçilgliserol (DAG) olmak üzere sinaptik plastisitenin ve nöronal iletinin düzenlenmesinde rol oynayan iki ikinci habercinin oluşumuna yol açar. İnozitol trifosfat inozitol monofosfatazlar tarafından miyoinozitole dönüştürülür veya endoplazmik retikulumdaki reseptörünü uyararak kalsiyum salıverilmesine yol açar, diaçilgliserol ise protein kinaz C'yi aktive eder (Katzung 2018).

Protein kinaz C ailesi yapısal olarak yakın benzerlik gösterir, ancak enzimatik özellikleri farklıdır. Serin/treonin kinaz içeren aile, hedef proteinlerde serin, treonin ve tirozin kalıntıları geriye dönüşümlü olarak fosfatlar. Memeli dokusunda farklı ekspresyonu olan ve hücre içi yerleşimi değişiklik gösteren 12 alt tip tanımlanmıştır (Coussens ve ark. 1986; Nishizuka 1988). Diaçilgliserol protein kinaz C'nin pek çok izoformunu uyarır (Hahn ve Friedman 1999; Kayaalp 2012). Beyin dokusunda PKC α , PKC β ve PKC γ yüksek miktarda bulunur (Turner ve ark. 1984). Presinaptik ve postsinaptik yerleşim gösteren protein kinaz C kalsiyuma ve fosfolipide bağımlı olup nöron uyarılabilirliğinin düzenlenmesinde, nörotransmitter salıverilmesinde ve plastisite ve gen ekspresyonunda uzun süreli değişikliklerde, hücre sinyal sisteminde temel rol oynar (Huang 1989; MacDonald ve ark. 2001).

Bipolar bozukluğun fizyopatolojisi ile protein kinaz C aktivitesi arasında güçlü ilişki olduğuna ilişkin pek çok delil bulunmaktadır. Görüntüleme çalışmalarında mani döneminde olan hastaların beyinlerinde miyoinozitol sinyali daha yüksek saptanmıştır (Davano ve ark. 2001). Postmortem incelemelere göre frontal kortekste protein kinaz C aktivitesi ve sitoplazmadan membrana yerleşim artmıştır (Wang ve Friedman 1996; Hahn ve Friedman 1999). Lityum, inozitol monofosfataz ve protein kinaz C inhibitörüdür (Katzung 2018). Mani dönemindeki hastaların trombositlerinde artan protein kinaz C aktivitesi 2 haftalık lityum ve valproat tedavisi ile azalmıştır (Hahn ve ark. 2005). Protein kinaz C inhibitörü tamoksifen (O'Brian ve ark. 1985) ve etkin metaboliti endoksifen (Ali ve ark. 2010) lityum benzeri antimanik etki göstermektedir. Preklinik çalışmalar da klinik bulguları destekler niteliktedir. Sıçanlara kronik lityum uygulanması duygudurum düzenlenmesinde önemli rol oynayan hipokampus, hipotalamus ve korteks bölgelerinden elde edilmiş hücre kesitlerinde forbol esterleri ile uyarılmış protein kinaz C aktivitesini azaltmıştır (Wang ve Friedman 1989). Uvabain (Valvassori ve ark. 2017b), amfetamin (Einat ve ark. 2007) ve uyku yoksunluğu (Abrial ve ark. 2015) mani modellerinde protein kinaz C aktivitesinde artışa işaret eden veri

elde edilmiştir. Amfetamin mani modelinde tamoksifen, protein kinaz C'nin substratı olan GAP-43'ün fosforilasyonundaki artışı azaltmıştır (Einat ve ark. 2007). Lityum ve tamoksifenin protein kinaz C inhibisyonu ile hücresel plastisite kaskadlarını düzenlemelerinin antimanik etkilerinde önemli rol oynadığı gösterilmiştir (Cechinel-Recco ve ark. 2012). Öte yandan, çeşitli depresyon modellerinde ve kronik strese protein kinaz C aktivitesinde azalma bulunmuş (Abrial ve ark. 2015), aktivitenin artırılması antidepresan etki göstermiştir (Sun ve Alkon 2005). Protein kinaz C yolağının manide aşırı çalıştığı, depresyonda ise zayıfladığı görüşünü ileri süren Abrial ve ark. (2011), prelinik ve klinik verilere dayanarak protein kinaz C'nin hastalığın fizyopatolojisindeki ve tedavisindeki rolünü Şekil 2-1'de özetlemiştir.



Şekil 2- 1: Protein kinaz C sinyal sisteminin duygudurum bozukluklarının fizyopatolojisine ve tedavisine katkısı-Abrial ve ark. (2011)'dan

2.1.3.3. Bipolar Bozuklukta Glutamaterjik Sistem Değişiklikleri

Bipolar bozukluğun oluşumunda glutamaterjik işlev bozukluğunun rolüne ilişkin bazı kanıtlar vardır. Görüntüleme bulgularına göre hastalarda tüm ruhsal durumlarda (mani, depresyon, ötimi) anterior singulat korteks ve prefrontal kortekste glutamat, glutamin düzeyi artmıştır (Yildiz-Yesiloglu ve Ankerst 2006). Akut manide sol dorsolateral prefrontal kortekste yükselmiş glutamat/glutamin düzeyleri saptanmıştır (Michael ve ark. 2003). Postmortem beyin örneklerinde de glutamaterjik nöronal ileti değişikliğine ilişkin bulgular elde edilmiştir (Hashimoto ve ark. 2007). Ayrıca glutamaterjik N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörleri ve sinyal yolağının diğer öğelerinde değişiklik bildirilmiştir (Ng ve ark. 2009). Lityum ve valproat tedavisinin beyinde glutamat ve glutamin düzeylerini azaltması da bozukluk ile glutamaterjik sistem ilişkisini güçlendirmiştir (Friedman ve ark. 2004). Artmış glutamat düzeylerinde, hücre içine kalsiyum girişinin artmasına bağlı olarak reaktif ürünlerin oluşumu ile eksitotoksikite ortaya çıkabilir. Öte yandan glutamat ana antioksidan olan glutatyon yapımında rol oynadığından, glutamaterjik etkinlikteki azalmanın da oksidatif strese yol açabileceği düşünüldüğünde çelişkili bir durum ortaya çıkmaktadır (Berk ve ark. 2011).

2.1.3.4. Bipolar Bozuklukta Diğer Değişiklikler

Hücre içi kalsiyum düzeyi ve kalsiyum kanalları ile ilgili değişikliklerin bipolar bozuklukta rollerine ilişkin pek çok kanıt bulunmaktadır (Dubovsky 2015; D'Onofrio ve ark. 2017). Hastaların trombositlerinde mani ve depresyon dönemlerinde kalsiyum düzeyi yüksek bulunmuştur (Dubovsky ve ark. 1989). Protein kinaz C düzeyindeki artışın kalsiyum düzeyinin yükselmesinde rolü olabileceği öne sürülmüştür (Akimoto ve ark. 2007). İkinci haberci yollarında bozuklukların olduğuna ilişkin görüşler glikojen sentaz kinaz-3 β (GSK-3 β) kinaz yolağını da içermektedir (Klein ve Melton 1996). Tedavide yeni bir hedef molekül olarak tanımlanan bu yolağın işlevleri arasında nöron ölümü bulunur (Mishra ve ark. 2007). Uvabain mani modelinde lityum ve valproatın GSK-3 β yolağı üzerine etki yaparak mani benzeri davranışı geriye döndürdükleri gösterilmiştir (Valvassori ve ark. 2017a). İnflamasyon, mitokondri işlev bozukluğu, oksidatif stres ve endoplazmik retikulum stres yanıtı değişikliği gibi patolojik süreçlerin bipolar bozukluğun nörobiyolojisine katkıda bulunabileceklerine

ilişkin pek çok araştırma ve hasta verileri de literatürde yer almıştır (Kato 2017; Harrison ve ark. 2018).

2.2. Glutamat ve Glutamin

Glutamat ve glutamin 5 karbonlu aminoasitler olup hücre işlevlerinin sürdürülmesi ve geliştirilmesinde teşvik edici rol oynarlar. Glutamin esansiyel olmayan amino asid olarak tanımlanmıştır. Ancak, büyük travmalarda, cerrahi girişimlerde, sepsis, kemik iliği nakli gibi durumlarda üretiminin daha çok tüketilir. Barsak ve böbreklerde amonyak yapımının önemli bir ögesidir ve asit baz homeostazının sürdürülmesinde önemli rol oynar. Hücrelerde karbonhidrat ve protein metabolizmasında rol alır. Glutaminaz enziminin etkisi ile amid grubunu kaybederek glutamata dönüşür. L-glutamat beyinde en fazla bulunan amino asittir, gama-aminobütirik asidin (GABA) ön maddesidir ve omurgalıların santral sinir sisteminde ana eksitatör nörotransmitterdir. Beyinde serbest L-glutamik asit L-glutamattan yerel olarak yapılır. Hızlandırılmış kalsiyum taşınması aracılığı ile beyin gelişimi sırasında nöronların farklılaşmasında, göçünde ve yaşamasında önemli rol oynar. Glutamat da sinapsların sürdürülmesi ve plastisitesinde kritik önem taşır, öğrenme ve bellek oluşumunda ve hücre iskeletinin oluşumu ve işlevinde görev alır (Tapiero ve ark. 2002). Santral sinir sisteminde ATP bağımlı bir glutamat/glutamin döngüsünün varlığı gösterilmiştir. Nöronlarda oluşan ve sinaptik aralığa salıverilen glutamat astrositler tarafından alınarak glutamine dönüştürülür (Newsholme ve ark. 2003). Glutamat reseptörleri iyonotropik ve metabotropik olmak üzere iki sınıfa ayrılır. İyonotropik reseptörleri NMDA ve NMDA olmayan reseptörler oluşturur. Nöron içine kalsiyum ve sodyum girişinde bekçilik görevi olan NMDA reseptörleri NR1 ve NR2 alt tiplerine ayrılır. NMDA olmayan reseptörler ise α -amino-3-hidroksi-5-metil-4-isoksazol propionat (AMPA) ve kainat reseptörleridir. Hücre içine sodyum girişini sağlayarak hızlı eksitatör sinaptik aşırımda rol oynarlar (Tapiero ve ark. 2002; Kayaalp 2012).

2.3. Uyku

Yaşam için gerekli olan uykunun ana işlevi hala çok belirgin değildir. İmmün işlevi güçlendirdiği, kalori kullanımını azalttığı, beyin enerji depolarını yenilediği ve nöron/glia bağlantısallığını sağladığı gösterilmiştir (Krueger ve ark. 2016). Çocuklarda yeterli uyku normal büyüme ve gelişme için gereklidir. Hayvan yaşamı için de uyku beslenme kadar önemlidir (Bathory ve Tomopoulos 2017).

Uyku sirkadiyen sistem ve uyku/uyanıklık homeostazı ile düzenlenir (Borbély ve Achermann 1999). Sirkadiyen sistem endojen olarak uyku dahil biyolojik ritmi 24 saat içinde döngüsel olarak senkronize eder. Bu düzenleme dış etkenlerin etkisi altında ayarlanır. En güçlü dış uyaran ışıktır. Işık retinadaki ışığa duyarlı hücreleri uyatarak pineal bezden uyku teşvik eden hormon melatoninin salgılanmasını baskılar (Bathory ve Tomopoulos 2017). Uyku/uyanıklık homeostazı ise vücudun iç nörofizyolojik dürtüsünü, yani uzun süreli uyanıklık sonrası uyuma ve uzun süreli uyku sonrası uyanma dürtüsünü, uykuya veya uyanıklığa yönlendirir. Sirkadiyen işleyiş ventral hipotalamusun suprakiasmatik çekirdeğinde bulunan sirkadiyen saat tarafından sürdürülür. Uyku/uyanıklık döngüsü, vücut ısısı döngüsü, günlük hormonal salgılanma döngüsü ve kan basıncı düzenlenmesi gibi 24 saatte periyodik olarak tekrarlanan bir biyolojik ritimdir (Daan ve ark. 1984; Borb ve Achermann 1999).

Uyku bir zamanlar pasif bir olay olarak kabul edilmiş, periferden beyne giden duyuşal uyarıların azalması veya beyinde günlük etkinlik sonucu oluşan bazı endojen maddelerin birikmesi ile oluştuğı öne sürülmüştür. Gerçekte uykunun aktif nörofizyolojik bir süreç olduğu düşünülmektedir. Bu görüşü, beyinde adenosin gibi uykuyu teşvik eden maddelerin (somnojenlerin) varlığı desteklemiştir (Basheer ve ark. 2004). Nöroanatomik ve nörofizyolojik bilgilere göre uyanıklık beyin sapı ve hipotalamustan serebral kortekse uzanan çıkıcı bir nöron sistemi ile düzenlenir. Bu sistem ilk dalını talamusa, ikinci dalını hipotalamus ve ön beyne verir. Talamustaki dal pedinkülopontin ve laterodorsal tegmental çekirdekten kaynaklanan kolinerjik nöronlar aracılığı ile talamokortikal uyarılmayı sağlar. Hipotalamus-ön beyin dalı ise beyin sapından ve arka hipotalamustan kaynaklanır. Lokus seruleus, dorsal rafe çekirdeğı ve tüberomamillar çekirdeğı içeren bu dal kortikal ve subkortikal uyarılmaya neden olur. Noradrenalin, serotonin, histamin ve oreksin/hipokretin sistemin işleyişinde rol alır (Saper ve ark. 2005; España ve Scammell 2011; Bathory ve Tomopoulos 2017). Uyku, uykuyu teşvik eden yolağın uyarılması veya uyanıklık yolağının baskılanması ile ortaya çıkar. Uykuyu teşvik eden sistem, ventrolateral ve medyan preoptik alandan oluşur. Bu alanlar çıkıcı uyanıklık sistemi ve oreksin/hipokretin nöronları ile sinaps yapar ve gama-amino bütirik asit (GABA) ve galanin gibi inhibitör nörotransmitter/nöropeptidlerin aracılığı ile uyanıklığı baskılar (España ve Scammell 2011; Scammell ve ark. 2017).

Uyku durumunun kendi içinde döngüsel veya ritmik bir düzenlenmesi vardır. Uyuyan gönüllülerde elektroensefalografi (EEG) ile beynin elektriksel durumunun, elektrookülografi (EOG) ile göz hareketlerinin ve elektromyografi (EMG) ile kas tonusunun incelenmesi uyku sırasında tekrarlayan biçimde REM (hızlı göz hareketi) ve NREM (hızlı göz hareketi olmayan) olmak üzere iki dönemin ortaya çıktığını göstermiştir. Bu dönemler REM uykusu ve NREM uykusu olarak da adlandırılır. REM uykusuna paradoksik veya aktif uyku da denilir (Jones 2004). Bir gece boyunca 5-6 kez tekrarlayan NREM ve REM dönemleri erişkinlerde 90-110 dakika sürerken, sıçanlarda 12 dakika kadar bulunmuştur (McCarley 2007). Paradoksik uyku dönemi de denen REM döneminde; EEG’de uyanıklık ritmine uyan düşük voltajlı, karma frekanslı elektriksel aktivite, EOG’de hızlı göz hareketleri ve EMG’de göz kasları dışında özellikle boyun kasları olmak üzere tüm çizgili kaslarda gevşeme, solunum hızı ve kan basıncında değişiklik ve genellikle hızlı nabız vardır. Plazmada ön ve arka hipofiz hormonları, katekolaminler ve 17-hidroksikortikosteroidler yükselir. Rüyaların %75 kadarı bu dönemde görülür (Kayaalp 2012). NREM döneminde ise beyinde elektriksel etkinliğin senkronize olmasına (azalmasına) bağlı olarak yüksek amplitüdlü yavaş dalgalar ve içcikler vardır. Göz küreleri hareketsizdir, kas tonusu biraz azalmış, beyin kan akımı artmış, nabız ve solunum yavaşlamıştır. Bu dönem EEG ile uyumlu 4 basamaktan oluşur. Elektriksel aktivitenin en düşük olduğu 3. ve 4. basamaklara yavaş dalgalı veya delta dalgalı uyku adı verilir. Dördüncü basamak en derin uyku dönemini oluşturur. Uyku NREM dönemi ile başlar. Dördüncü basamaktan sonra uykunun derinliği azalır ve ilk REM dönemine girilir. Ardından NREM ve onu izleyen REM dönemleri ile uyku sürdürülür. Uykunun toplam süresinin %25-30 kadarı REM döneminden, kalanı NREM döneminden oluşur. NREM döneminde toplam sürenin %5-10’unu 1. basamak, %50’sini 2. basamak ve %20’sini 3. ve 4. basamaklar oluşturur (Kayaalp 2012; Bathory ve Tomopoulus 2017). REM uykusunun başlatılmasında ve eşgüdümünde kolinerjik mekanizmalar önemlidir (McCarley 2007). REM’i sonlandıran nöronlar ise rafe çekirdeğinde serotonerjik ve lokus seruleusta noradrenerjik nöronlardır (Scammell ve ark. 2017).

Uyku dönemlerinin fizyolojik işlevi tam bilinmemektedir. NREM uykusunun büyüme hormonu salgılanmasında, sinaptik plastisite oluşumunda, belleğin pekiştirilmesinde ve beyinde metabolitlerin uzaklaştırılmasında rol oynadığı bilinmektedir (Rasch ve Born 2013). REM uykusunun işlevinin araştırıldığı

çalışmalarda çoğunlukla REM uykusuna giriş sırasında zorunlu uyandırma yapıldığından, fiziksel uyarının aşırı stres oluşturmaları ve toplam uyku süresinin de etkilenmesi veri güvenliğini etkiler. Yavaş dalga aktivitesinin öğrenme ve bellek pekiştirilmesindeki rolü nedeni ile REM uykusunun yavaş aktiviteyi artırarak dolaylı olarak kortekste bellek işlenmesinde rol oynayabileceği öne sürülmüştür (Rasch ve Born 2013).

2.3.1. REM Uyku Yoksunluğu

İnsan ve hayvanlarda davranışsal sonuçları yoğun biçimde araştırılan REM uyku yoksunluğuna paradoksik uyku yoksunluğu da denmektedir. Yaşam süreleri 2-3 yıl olan hayvanların REM uykusundan yoksun bırakılmalarının süreyi 5 haftaya düşürdüğü bildirilmiştir (Bathory ve Tomopoulos 2017). Hayvanlarda uyku yoksunluğuna bağlı çeşitli davranışsal değişiklikler gösterilmiştir (Morden ve ark. 1968; Albert ve ark. 1970; Hicks ve ark. 1979). REM uykusundan yoksun bırakılan gönüllülerden elde edilen verilere göre bu dönemin duygusal tepkilerin düzenlenmesinde önemli olduğu öne sürülmüştür (Rosales-Lagarde ve ark. 2012). Antidepresanların REM yoksunluğu yapıcı özelliklerinin olduğu gösterilmiştir (Vogel 1975). REM yoksunluğu dopaminerjik reseptörlerde ve adrenerjik reseptör alt tiplerinde duyarlılık artışına (Asakura ve ark. 1993, 1994; Tuffik ve ark. 2009) ve postsinaptik asetilkolin ve presinaptik dopamin reseptörlerinde duyarlılık azalmasına, serotonerjik aşırımın güçlenmesine ve metabolik işlevlerde, nöral plastisitede ve stres yanıtında yer alan genlerde ekspresyona (Tuffik ve ark. 2009) neden olmaktadır.

2.4. Deney Hayvanlarında Mani Modelleri

Mental bozuklukların hayvan modelleri yaygın biçimde kullanılır. Modeller ilaç geliştirilmesinde ve psikiyatrik bozukluğun nörobiyolojik öğelerinin araştırılmasında önemli rol oynar. Mani ile ilgili modeller farmakolojik, genetik ve çevresel olarak sınıflandırılır (Logan ve McClung 2016; Sharma ve ark. 2016). Modellerde özellikle lokomotor aktivite artışı (Benedetti ve ark. 2008; Sabioni ve ark. 2008; Abrial ve ark. 2013) ile agresyon (Gessa ve ark. 1995) ve risk alma (Abrial ve ark. 2013) davranışı mani benzeri davranış olarak nitelendirilir. Modeller üç geçerlilik ölçütü olan görünüş (face) geçerliliği, yapısal geçerlilik ve öngörüselle (predictive) geçerlilik ile değerlendirilir. Görünüş geçerliliği modelin karşılığı olduğu klinik fenomenin semptomlarını taklit edebilmesidir. Yapısal geçerlilik modelin hastalığın patolojik

özellikleri ile benzerlik göstermesidir. Öngörüşel geçerlilik ise modelde klinikte başarılı olan tedavilere yanıt alınabilmesidir (Willner 1984). Duygudurum bozukluklarının mevcut hayvan modellerinin çoğu Geyer ve Markou (1995) tarafından önerilen insandaki bozukluğa etyolojik, davranışsal ve nörobiyolojik karşılık oluşturma ve hastada etkin tedavilere duyarlılık gösterme ölçütlerini karşılar.

2.4.1. Farmakolojik Modeller

Farmakolojik modeller arasında amfetamin (Sabioni ve ark. 2008) ve uvabain (Amodeo ve ark. 2017) mani modelleri, kronik antidepresan modeli (Demontis ve ark. 2017) bulunur. Diğer modellere göre daha yaygın olarak kullanılan amfetamin modeli, psikostimülan amfetaminin dopaminin geri alınımını veya yıkımını inhibe etmesi veya dopamin salıvermesi sonucunda sinaptik aralıkta dopamin miktarının artmasına dayanır. Bu artış, psikomotor aktivite artışına, psikomotor ajitasyona ve bilişsel işlevde azalmaya neden olarak modelin temelini oluşturur (Sharma ve ark. 2016). Psikostimülanlar normal bireylerde manie benzer davranış oluştururken, bipolar hastalarda manik semptomları artırır veya mani dönemini tetiklerler (Jacobs ve Silversone 1986; Niitsu ve ark. 2015). Bu nedenle, amfetamin ile indüklenen mani modeli altın standart haline gelmiştir (Logan ve McClung 2016). Modelde oluşan lokomotor aktivite artışı ve biyokimyasal değişiklikleri lityumun önlemesi veya geri çevirmesi üç geçerlilik ölçütünü de karşılar (Cechinel-Recco ve ark. 2012). Deney hayvanlarında Na^+, K^+ -ATPaz inhibitörü uvabain ile oluşan hiperaktivite, bipolar hastalarda görülen Na^+, K^+ -ATPaz aktivitesindeki değişiklikler ile özdeşleştirilmiştir (Sharma ve ark. 2016). Bu model de tedavide kullanılan droglara yanıt vardır. Lityum ve valproat hiperaktiviteyi ve bipolar bozukluğun nörobiyolojisine katkısı olan oksidatif stresi önlerken nöron hasarını azaltmıştır (Valvassori ve ark. 2015). Demontis ve ark. (2017) bipolar hastalarda kronik antidepresan tedavisinin mani benzeri davranışa ve deney hayvanlarında imipraminin mezolimbik sistemde D_2 reseptör duyarlılaşmasına yol açmasına dayanarak kronik antidepresan uygulanmasını bir mani modeli olarak ileri sürmüştür.

2.4.2. Genetik Modeller

Genetik modellerin başlıcaları clock Δ 19 mutant fare, DAT knock-down fare, GSK-3 aşırı eksprese eden fare modelleri ve Black Swiss fare soyudur. İnsanda clock geni polimorfizminin bipolar bozukluk fizyopatolojisinde rol oynayabileceği

bildirilmiştir (Mansour 2005). Clock Δ 19 mutant fare modelinde hiperaktivite, azalmış uyku, azalmış depresyon benzeri davranış, azalmış kaygı ve sükrözün tercihinde artma gösterilmiştir (Roybal 2007). DAT knock-down fare modelinin temeli bipolar hastalıkta DAT (dopamin taşıyıcı protein) gen ekspresyonunun azalmış olmasına dayanır (Horschitz ve ark. 2005). Modelde artmış risk alma ve hiperaktivite vardır (Young ve ark. 2011b; van Enkhuizen 2013), kronik valproik asit hiperaktiviteyi azaltır (van Enkhuizen 2013). Fizyopatolojideki olası rolü nedeni ile GSK-3 aşırı eksprese eden fare mani modeli olarak denenmiş, hayvanlarda değişmiş plastisite süreçleri, hiperaktivite ve açık alan testinde azalmış alışma gösterilmiştir (Prickaerts ve ark. 2006). Black Swiss fare soyunda ise manidekine benzer şekilde hiperaktivite, artmış amfetamin duyarlılığı, agresif davranış, azalmış depresyon davranışı ve artmış ödül arama davranışı gözlenmiştir (Flaisher-Grinberg ve Einat 2010).

2.4.3. Çevresel Modeller

Çevresel modeller arasında uyku yoksunluğu modeli ve ‘ev sahibi-davetsiz misafir’ (resident-intruder) testi bulunur. Uyku yoksunluğu modeli sık kullanılır. Ev sahibi-davetsiz misafir testi, bir kafes içinde bulunan sıçan veya farenin yanına konulan yabancı bir sıçan veya fareyi ısırması, kuyruk şaklatması (rattle) gibi agresif davranışlarının kaydedilmesini temel alır (Miczek 2001).

2.4.3.1. REM Uyku Yoksunluğu Mani Modeli

Uyku bozuklukları maniyi tetikleyebildiğinden deney hayvanlarında REM uyku yoksunluğu oluşturma mani modeli olarak geliştirilmiştir (Logan ve McClung 2016). İlk kez Gessa ve ark. (1995) sıçanlarda kullandıkları platform yönteminin olası bir mani modeli olabileceğini öne sürmüşlerdir. İçinde 1 cm yüksekliğinde su bulunan bir kabın tabanındaki 7 cm çapındaki bir platform üzerine tek başlarına 72 saat süre ile konulan sıçanlar REM döneminde kas gevşemesine bağlı olarak suya düşerek uyanmış ve REM uykuyu sürdürememiştir. Uyku yoksunluğu sonrası kafeslerine alınan hayvanların 30 dakika kadar uyumadıkları ve idiyopatik manide bulunan bir grup semptomla benzer davranış gösterdikleri gözlemlenmiştir. Uykusuzluk, hiperaktivite, huzursuzluk, agresiflik, hiperseksüalite ve stereotipi sergileyen hayvanlara haloperidol verilmesi uykuya geçişi çabuklaştırmış, lityum verilmesi uykuya geçişi kısaltıp, lokomotor aktiviteyi azaltmıştır. REM uykunun %96 oranında azaldığını göstermişlerdir (Silva ve ark. 2004). Model, uyku yoksunluğunda aynı süreyi kullanan veya süre değişikliği

yapan pek çok araştırmacı tarafından kullanılmıştır (Silva ve ark. 2004; Lima ve ark. 2014; Yin ve ark. 2017). Fare ve sıçanlar alacakaranlık ve gece (nokturnal) hayvanlar oldukları için bazı araştırmacılar uyku yoksunluğunu gündüz yapmıştır (Siddique ve ark. 2018). Öte yandan, tekli platform yönteminin yalnız kalma (izolasyon), hareketsiz kalma (immobilizasyon) ve suya düşme gibi stres faktörlerinin de içermesi nedeni ile bazı araştırmacılar çoklu platform yöntemine geçmişlerdir (Patti ve ark. 2010; Armani ve ark. 2012). Fareler için 3 veya 3,5 cm çapında 10-12 adet platform içeren kaplar kullanılmaktadır (Armani ve ark. 2012; Valvassori ve ark. 2017b). Ortada iletişimi sağlayan deliklerin olduğu sabit bir bölme ile ayrılmış otomatik olarak dönen iki silindirik kaba (tambura) konulan sıçanların yalnız kalma stresleri azaltılmıştır (Leenaars ve ark. 2011). Modelin, beyinde oksidatif DNA hasarı, antioksidan enzim değişiklikleri ve sitokin düzeylerinde artış ve benzeri mani nörobiyolojisi ile ilgili değişikliklere yol açtığı, lityum ve diğer antimanik droglara yanıt verdiği pek çok araştırmacı tarafından ortaya konulmuştur (Valvassori ve ark. 2017c). Bulgular modelinin görünüş, yapısal ve öngörüşel geçerliliğini desteklemektedir. Öte yandan REM uyku yoksunluğunun mani benzeri davranış yanı sıra bilişsel işlevlerde de değişikliğe yol açtığı bildirilmiştir. Farelerde 24 saat, 2, 3 veya 7 gün uyku yoksunluğu sonrasında bellek bozukluğu gözlenmiştir (Silva ve ark. 2004; Patti ve ark. 2010; Lima ve ark. 2014; Yin ve ark. 2017).

2.5. Yeni Nesne Tanıma Testi

Yeni nesne tanıma testi fare ve sıçanlarda öğrenme ve belleğin değerlendirilmesinde kullanılan testlerden biridir. İlk olarak Ennaceur ve Delacour (1988) tarafından geliştirilmiştir. Test, herhangi bir dış uyaran ve zorlama olmaksızın hayvanların doğal araştırma davranışına dayanır. Basit, kolay ve güvenilir olan test, öğrenme ve bellek oluşumu mekanizmalarını araştırmak, beyin hasarının veya drogların öğrenme ve belleğe etkilerini değerlendirmek gibi amaçlar için yaygın olarak kullanılır (Silvers ve ark 2007; Goulart ve ark. 2010; Enginar ve ark. 2017). Testte hayvanın yeni nesneyi eski nesneden ayırt edebilmesi (tanıması) değerlendirilir, görsel bellek ölçülür. Test, alışma, aşinalık-tanıma (familiarization) ve test olmak üzere 3 evreden (celseden) oluşur. Alışma evresinde hayvanın içinde nesne bulunmayan açık alanda serbestçe dolaşması sağlanır. Aşinalık-tanıma evresinde hayvan içinde iki adet aynı nesne bulunan açık alana tekrar bırakılır. Test evresinde hayvan biri eski (aşına) nesne, diğeri

farklı olan iki nesneye maruz bırakılır. Normal (kontrol) hayvanlar yeni nesneyi daha uzun süre incelerler. Tanıma performansı testin amacına göre ayırım, tanıma veya tercih indeksi kullanılarak değerlendirilir (Ennaceur ve Delacour 1988; Hammond ve ark. 2004; Gaskin ve ark. 2010). Tanıma ile alışma arasındaki süre ve tanıma evresindeki nesnenin araştırma süresi değişiklik gösterebilir (Antunes ve Biala 2012). Ayrıca nesnelerin şekil, sayı, boyut ve yerleşimlerinde de bazı değişiklikler yapılmaktadır (Ennaceur ve Delacour 1988; Ennaceur 2010; Antunes ve Biala 2012).

2.6. Tamoksifen

Tamoksifen ilk bulunan seçici östrojen reseptör modülatörü bileşiktir. Östrojen reseptörü ile agonist/antagonist ilişki gösterir. Meme kanserinin tedavisinde ve yüksek riskli hastalarda önlenmesinde kullanılır. Östrojen reseptör-pozitif metastatik meme kanserinde, primer tümörün çıkartılmasından sonra adjuvan (yardımcı-destekleyici) tedavi olarak tek başına veya adjuvan kemoterapinin ardından verilir. Östrojen reseptörlerinde dokuya özgü agonist-antagonist etki gösterir. Örneğin meme kanserinde büyümeyi östrojen antagonisti olarak inhibe ederken uterusu endometrial hiperplaziyi, kemik kaybını ve düşük serum kolesterol düzeylerini östrojen agonisti olarak uyarır (Littleton-Kearney ve ark. 2002). Mekanizması tam anlaşılmamış olmakla birlikte nöron koruyucu etkisinin de olduğu gösterilmiştir (Benvenuti ve ark. 2005). Ağız yolundan alındığında kolay emilir, doruk konsantrasyona 3-7 saat sonra, kararlı durum konsantrasyonuna 4-6 haftada ulaşır. Karaciğerde büyük oranda N-desmetiltamoksifene ve daha aktif bir metabolit olan 4-hidroksitamoksifene metabolize edilir. Her iki metabolit endoksifene, 4-hidroksi-N-desmetiltamoksifene, dönüştürülür. Metabolitler de östrojen reseptörlerine afinite gösterir. Yarılanma ömrü 7 saattir. Metabolitlerinin yarılanma ömrü daha uzundur, yaklaşık 14 gün sürer. Başlıca atılım organı karaciğerdir. Enterohepatik döngüye uğrar. Ateş basması, bulantı ve kusma yapabilir (Kayaalp 2012; Katzung 2018).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmada, İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırma Enstitüsü, Laboratuvar Hayvanları Bilimi Anabilim Dalında üretilen 26-31 g ağırlığında 32 adet erişkin Balb C erişkin erkek fare kullanıldı. Hayvanlar, 3-4 tanesi birarada olmak üzere, uygun büyüklükteki şeffaf plastik kafeslerde, sıcaklığı 22-23°C olan ve 12 saat aydınlık-karanlık (07.00-19.00) ritminin uygulandığı bir ortamda barındırıldı. Su ve yem alımı serbest bırakıldı. Hayvanlar gınaşırı ele alınarak deney koşullarına alıştırdı. Deneyler standart laboratuvar koşullarında yürütüldü. Çalışmanın etik kurul ilkelerine uygun olduğu İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulunun 29.03.2018 tarihli 2018/29 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

3.2. Droglar ve Uygulamalar

Tamoksifen sitrat (Sigma, St. Louis, MO) %10 propilen glikol içinde çözüldü. Kontrol grubuna %10 propilen glikol verildi. Uygulamalar periton içi 4 ml/kg olarak yapıldı. Çözeltiler uygulama günleri taze hazırlandı.

3.3. REM Uyku Yoksunluğu Oluşturma

Mani modeli olarak Benedetti ve ark. (2008)'nın kullandığı tekrarlayan REM uyku yoksunluğu modeli seçildi. Tekli platform yerine Armani ve ark. (2012)'nin çalışmalarında yer alan hayvanların bir platformdan diğerine atlayarak kafes içinde hareket edebildikleri çoklu platform yöntemi kullanıldı. İçinde 3,5 cm çapında ve 5 cm yüksekliğinde 9 platform bulunan, platformların yüzeyinden 1 cm aşağıda oda sıcaklığında su içeren 40x30x16 cm boyutlarında Pleksiglas kafesler kullanıldı. Her kafese 3-4 fare konuldu. Kafeslerin üzerinde bulunan ızgaralı kapaktan platformların üstüne gelecek biçimde 2-3 yere su ve yem kabı yerleştirildi (Şekil 3-1). Uyku yoksunluğu sabah 08.30'da başlatıldı ve 24 saat sürdürüldü. Kontrol grubundaki fareler zemininde su yerine talaş bulunan ve 6 cm çapında, 5 cm yüksekliğinde 4 platform içeren aynı boyutlardaki Pleksiglas kafeslere her bir kafeste 3-4 hayvan olacak şekilde konuldu.

Bu yöntem ile farelerin uykunun REM döneminin başlangıcında kas gevşemesi ile suya düşerek uyanmaları amaçlandı. Çoklu platform yöntemi ile 72 saat uyku

yoksunluğu oluşturulan farelerde REM uyku süresinde %96 kayıp olduğu gösterilmiştir (Silva ve ark. 2004).



Şekil 3-1: REM uyku yoksunluğu kafesindeki fareler

3.4. Lokomotor Aktivite

Lokomotor aktivite ölçümü için yeni nesne tanıma testinin tabanı 12 eşit kareye ayrılmış, 40x40x40 cm boyutlarındaki Pleksiglas kutusu kullanıldı. Bir dakika bekleme süresinden sonra 5 dakika izlenen farede kare geçiş ve şahlanma (arka ayakları üzerinde dikilme) sayıldı.

3.5. Yeni Nesne Tanıma Testi

Test için Antunes ve Biala (2012)'nın kullandığı yöntem seçildi. Alıştırma, eğitim ve test uygulamalarından oluşan test için üstü açık saydam Pleksiglas bir kutu kullanıldı. Yöntemde küçük değişiklikler yapıldı. Alıştırma uygulamasında fareler yeni ortama alışmaları, serbestçe incelemeleri için tek başlarına birincisi 5 dakika ve ikincisi 10 dakika olmak üzere 2 kez kutuya konuldu. Eğitim uygulaması da 5 dakika olmak üzere 1 kez yapıldı. Bu uygulamada kutunun tabanına 2 köşeye, köşelerden 10 cm uzaklıkta olmak üzere çapraz olarak 2 adet beyaz renkli plastik şişe yerleştirildi (Şekil 3-2). Test uygulamasında kutudaki şişelerden biri yaklaşık aynı boyutlarda lego parçalarından yapılmış bir nesne ile değiştirildi. Hayvanın 5 dakika süre içinde eski (aşına) ve yeni nesneyi inceleme (bakma, koklama veya dokunma sırasında nesnelere burnunu 2 cm'ye kadar yaklaştırma) ile geçirdiği süre kaydedildi. Nesnenin üzerine oturma, yaslanma gibi inceleme ile ilgili olmayan davranışlar değerlendirmeye

alınmadı. Test uygulamasında elde edilen eski (E) ve yeni (Y) nesneyi inceleme süreleri kullanılarak her hayvan için tanıma (öğrenme) indeksi $[Y/(Y+E) \times 100]$ hesaplandı (Dodart ve ark. 1997).



Şekil 3-2: Yeni nesne tanıma testinde öğrenme eğitimindeki fare

3.6. Merdiven Testi

Bu test için tahtadan yapılmış, dört tarafı kapalı ve üstü açık olan ve 2,5 cm yüksekliğinde, 10 cm boyunda ve 7,5 cm derinliğinde (eninde) 5 basamağı bulunan bir merdiven kullanıldı (Smiaand ve ark. 1984). Tek başlarına basamaklara sırtıdönük olarak konulan farenin 5 dakika izleme süresi içinde çıktığı basamak sayıldı. Test, hayvanda risk alma davranışını değerlendirmek amacı ile kullanıldı (Şekil 3-3).

Testler sabahları 08.30-14.30 saatleri arasında yapıldı. İzleme yapan araştırmacıların gruplara kör olması sağlandı. Lokomotor aktivite kutusu (yeni nesne tanıma testi kutusu), merdiven ve nesneler her ölçüm sonrası %50 alkol çözeltisi ve ardından su ile silinerek kokudan arındırıldı.



Şekil 3-3: Merdiven testinde fare

3.7. Beyin Dokusunda Glutamat ve Glutamin Miktar Tayini

Dekapitasyondan sonra, fare beyinleri önce -80°C 'de saklandı. Dondurulmuş beyinlerden fare beyin atlasındaki koordinatlara (The Mouse Brain Library; Mouse Brain Atlas: C57BL/6J) göre frontal korteks ve hipokampus bölgeleri çıkartıldı. Dokular (20 ml/mg doku) 0,1 M perklorik asit içinde doku homojenizatörü ile homojenize edildi. Homojenatlar 4°C 'de 18,000 rpm/dakika hızında 20 dakika santrifüj edildi ve ardından analizlere kadar -80°C 'de saklandı (Terzioğlu ve ark. 2013).

Analizler için yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) [Model 1100; Agilent, Almanya] kullanıldı. Mobil faz 250 mM sodyum asetat, HPLC-kalite deiyonize su ve metanolden oluştu. Tüm çözeltilere %0,5 tetrahidrofuran eklendi (Sigma, St. Louis, MO). Harici (eksternal) standart olarak 2,5 mM, 1 mM ve 0,5 mM 3 amino asit (glutamat, glutamin ve GABA) çözeltisi kullanıldı. Mobil faz kromatogram boyunca 0,5 ml/dakika hızında akıtıldı. Kolon sıcaklığı 25°C oldu. On dakika dengeleme döneminden sonra gradyen akış uygulandı. Dengelenme dönemi %47 sodyum asetat tamponu (250 mM, pH 6,9), %2 metanol ve %50 "HPLC kalite Millipore MilliQ" deiyonize su olarak uygulandı. Metanol oranı 28 dakikada %100'e çıkarıldı, 2 dakika bu oranda kaldı, ardından tekrar dengelenme oranına döndürüldü. Ön kolon türevlendirme işlemi için o-fitaldialdehit ve 3-merkaptopropionik asit kullanıldı. Otomatik örnekleyici ile enjeksiyonlar $+4^{\circ}\text{C}$ 'de, 12 μl hacim içinde (10 ml örnek veya standart + 2 μl türevlendirme çözeltisi) verildi (Küçükibrahimoğlu ve ark. 2009). Kromatografik analiz software programı yardımı ile yapıldı (Chemstation, Almanya). Glutamat ve glutamin

için sırası ile retansiyon zamanları $8,28 \pm 0,07$ ve $17,76 \pm 0,02$ dakika ve kolon üzerinde minimum ölçülebilir düzeyler (limit of quantification/LOQ) 0,77 ve 2,07 ng/mg doku oldu.

3.8. Deneylerin Yürütülmesi

Deneyler toplam 10 gün sürdü. Birinci gün fareler kontrol-sıvağ, kontrol-tamoksifen, uyku yoksunluğu-sıvağ ve uyku yoksunluğu-tamoksifen gruplarına ayrıldı. Hayvan sayısı kontrol gruplarında 7 ve uyku yoksunluğu gruplarında 9 oldu. İkinci gün başlamak üzere hayvanlara 8 gün boyunca her gün saat 08.30 ve 16.30'da periton içi uygulama ile sıvağ (propilen glikol) veya 1 mg/kg tamoksifen verildi. İki gün ara ile 3 kez uyku yoksunluğu oluşturuldu. Bunun için hayvanlar 3. gün, 6. gün ve 9. gün barınma kafeslerinden alınarak uyku yoksunluğu veya kontrol kafeslerine 24 saat süre ile konuldu. Diğer günlerde (4.-5. ve 7.-8. günlerde) barınma kafeslerinde tutuldu.

Benzer çalışmalarda olduğu gibi birinci gün bazal lokomotor aktivite ölçüldü (Armani ve ark. 2012). İkinci uyku yoksunluğundan 24 saat sonra (8. gün) ve son (üçüncü) uyku yoksunluğunun hemen ardından (10. gün) lokomotor aktivite ölçümleri tekrarlandı. Yeni nesne tanıma testinin alıştırmaya uygulamaları 1. gün ve 8. gün lokomotor aktivite ölçümü sırasında, eğitim uygulamaları 8. gün ikinci alıştırmaya ve 10. gün lokomotor aktivite ölçümünün hemen ardından yapıldı. Beş dakika sonra test uygulamasına geçildi. Test uygulamasından 5 dakika sonra merdiven testi yapıldı. Hemen ardından hayvanlar servikal dislokasyon ile dekapite edildi.

3.9. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmede, verilerin dağılımına uygun olarak kare geçiş, şahlanma, tanıma indeksi, çıkılan basamak sayısı, glutamat ve glutamin miktarları ve glutamat/glutamin oranı için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) veya Kruskal-Wallis testi kullanıldı. Grup karşılaştırmaları için Tukey testinden yararlanıldı. Anlamlılık değeri olarak $p < 0,05$ kabul edildi.

4. BULGULAR

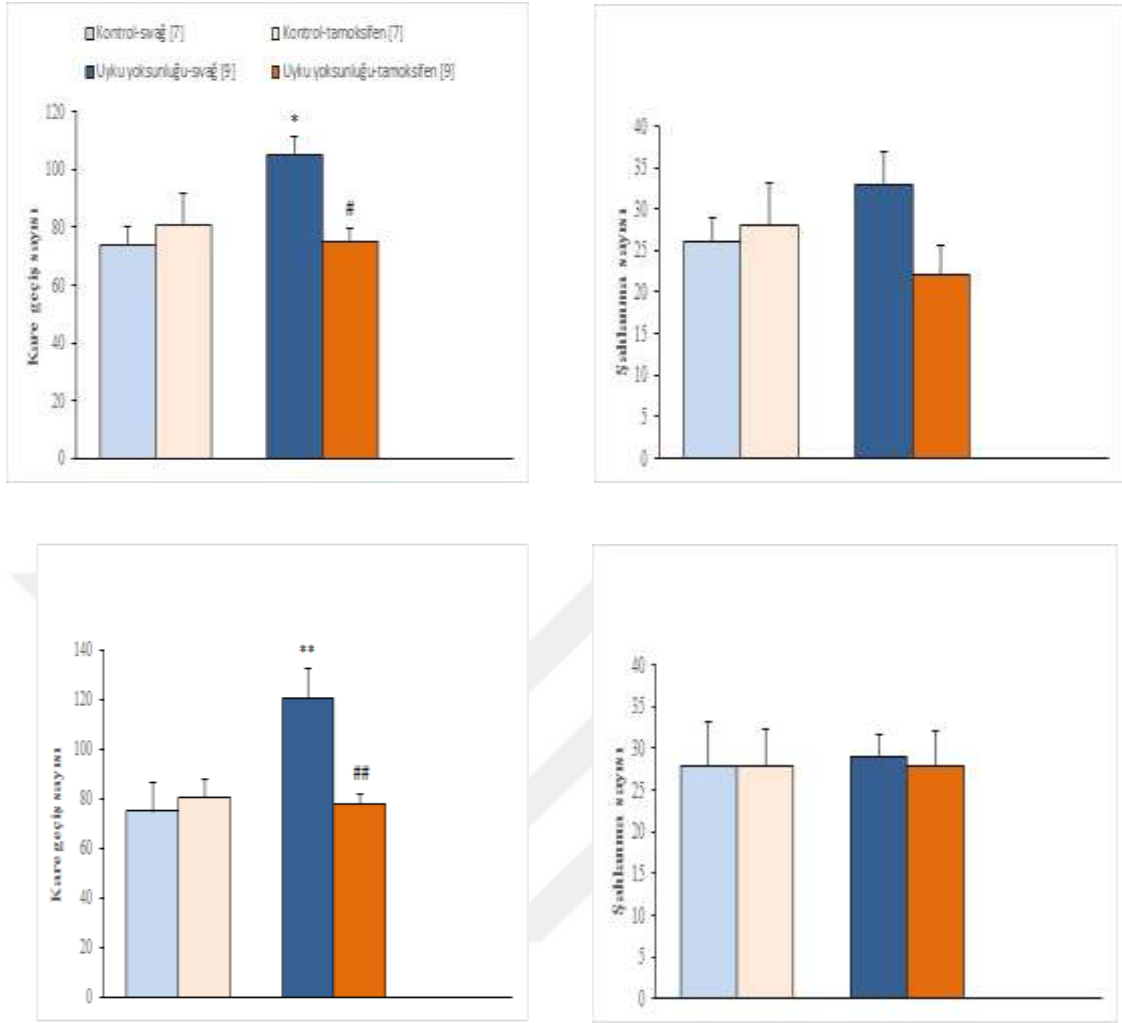
4.1. Tamoksifenin farelerde REM uyku yoksunluğunda lokomotor aktiviteye etkisi

Birinci gün bazal lokomotor aktivite ölçümünde; kontrol-sıvağ (96 ± 11 ; $39 \pm 5,9$), kontrol-tamoksifen (10 ± 12 ; 37 ± 5), uyku yoksunluğu-sıvağ ($121 \pm 9,7$; $40 \pm 2,7$) ve uyku yoksunluğu-tamoksifen ($102 \pm 6,5$; $44 \pm 2,4$) gruplarında, tek yönlü varyans analizi kare geçiş ($F(3,29)=1,5$; $p=0,2361$) ve şahlanma ($F(3,29)=0,6$; $p=0,6207$) sayılarında gruplar arasında bir fark göstermedi.

Kontrol-sıvağ, kontrol-tamoksifen, uyku yoksunluğu-sıvağ ve uyku yoksunluğu-tamoksifen gruplarındaki hayvanlarda ikinci uyku yoksunluğundan bir gün sonra ve son uyku yoksunluğunun hemen ardından ölçülen kare geçiş ve şahlanma Şekil 4-1’de gösterildi.

Tek yönlü varyans analizine göre ikinci uyku yoksunluğundan bir gün sonra yapılan ölçümlerde kare geçişte uygulamaya bağlı etki etki ortaya çıktı ($F(3,29)=5$; $p=0,0062$), şahlanmada ise bir değişiklik saptanmadı ($F(3,29)=1,8$; $p=0,1704$). Uyku yoksunluğu-sıvağ grubunda, kontrol-sıvağ grubuna göre kare geçiş sayısı daha fazla oldu ($p<0,05$). Uyku yoksunluğu-tamoksifen grubunda, uyku yoksunluğu-sıvağ grubuna göre kare geçiş sayısında azalma saptandı ($p<0,05$). Kontrol-sıvağ grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-tamoksifen grubunda kare geçiş sayısında bir fark ortaya çıkmadı.

Tek yönlü varyans analizine göre son uyku yoksunluğunun hemen ardından yapılan ölçümlerde kare geçişte uygulamaya bağlı etki ortaya çıktı ($F(3,29)=6,3$; $p=0,0031$), şahlanmada ise bir değişiklik saptanmadı ($F(3,29)=0,041$; $p=0,9887$). Uyku yoksunluğu-sıvağ grubunda, kontrol-sıvağ grubuna göre kare geçiş sayısı daha fazla oldu ($p<0,01$). Uyku yoksunluğu-tamoksifen grubunda, uyku yoksunluğu-sıvağ grubuna göre kare geçiş sayısında azalma saptandı ($p<0,01$). Kontrol-sıvağ grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-tamoksifen grubunda kare geçiş sayısında bir fark ortaya çıkmadı.



Şekil 4-1: REM uyku yoksunluğu oluşturulan farelerde tamoksifenin lokomotor aktiviteye etkisi

Sekiz gün sıvı (propilen glikol) veya 1 mg/kg tamoksifen verilen farelerde ikinci uyku yoksunluğundan 24 saat sonra (üstte) ve son uyku yoksunluğunun hemen ardından (altta) yeni nesne kutusunda 5 dakika kare geçiş ve şahlanma sayıldı. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi.

[] gruplardaki hayvan sayısı

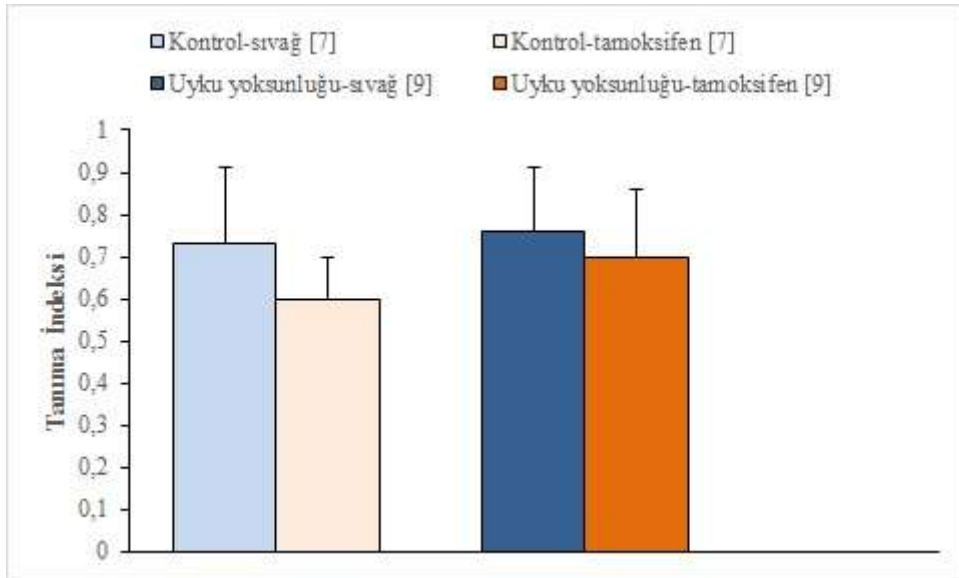
*p<0,05, **p<0,01 kontrol-sıvı grubuna göre (Tukey testi)

#p<0,05, ##p<0,01 uyku yoksunluğu-sıvı grubuna göre (Tukey testi)

4.2. Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin yeni nesne tanıma testinde belleğe etkisi

Kontrol-sıvağ, kontrol-tamoksifen, uyku yoksunluğu-sıvağ ve uyku yoksunluğu-tamoksifen gruplarındaki hayvanlarda son uyku yoksunluğundan sonra tanıma indeksi Şekil 4-2’de gösterildi.

Kruskal-Wallis analizine göre son uyku yoksunluğunun hemen ardından yapılan ölçümlerde tanıma indeksinde uygulamaya bağlı etki ortaya çıkmadı ($\chi^2=6,586$; $p=0,0863$). Kontrol ve uyku yoksunluğu gruplarında yeni ve eski nesnelerin incelenme süreleri fark göstermedi.



Şekil 4-2: Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin yeni nesne tanıma testinde tanıma indeksine etkisi

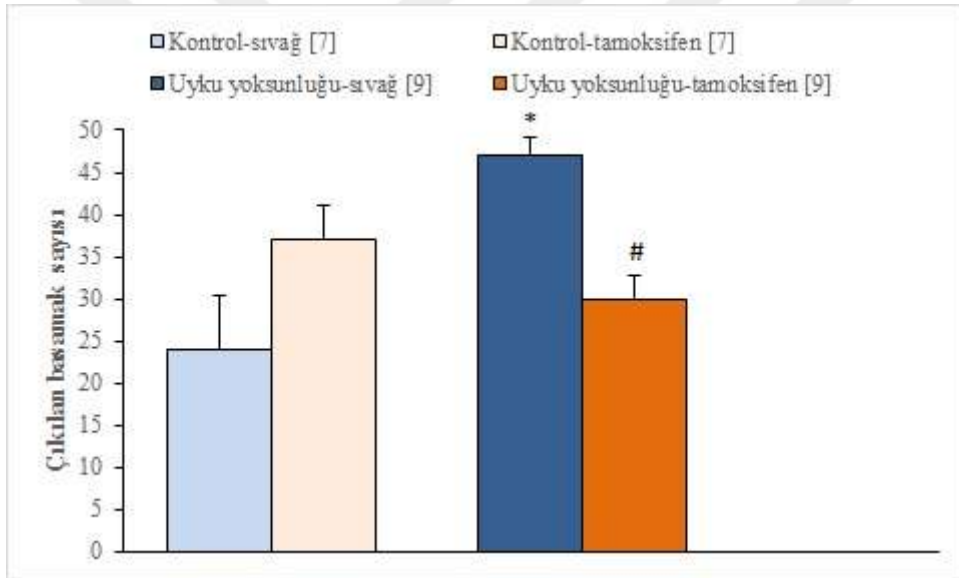
Sekiz gün sıvağ (propilen glikol) veya 1 mg/kg tamoksifen verilen ve son uyku yoksunluğunun hemen ardından lokomotor aktivite ölçümünden sonra teste alınan fareler 5 dakika süre ile izlenerek yeni ve eski nesneleri inceleme süreleri ile tanıma indeksi hesaplandı. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi.

[] gruplardaki hayvan sayısı

4.3. Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin merdiven testinde risk alma davranışına etkisi

Kontrol-sıvağ, kontrol-tamoksifen, uyku yoksunluğu-sıvağ ve uyku yoksunluğu-tamoksifen gruplarındaki hayvanlarda son uyku yoksunluğundan sonra merdiven testinde çıkılan basamak sayısı Şekil 4-4'te gösterildi.

Tek yönlü varyans analizine göre basamak çıkmada uygulamaya bağlı etki ortaya çıktı ($F(3,29)=6$; $p=0,0037$). Uyku yoksunluğu-sıvağ grubunda, kontrol-sıvağ grubuna göre çıkılan basamak sayısı daha fazla oldu ($p<0,01$). Uyku yoksunluğu-tamoksifen grubunda, kontrol-tamoksifen grubuna göre çıkılan basamak sayısında azalma saptandı ($p<0,05$). Kontrol-sıvağ grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-tamoksifen grubunda çıkılan basamak sayısında bir fark ortaya çıkmadı.



Şekil 4-3: Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin merdiven testinde çıkılan basamak sayısına etkisi

Sekiz gün sıvağ (propilen glikol) veya 1 mg/kg tamoksifen verilen ve son uyku yoksunluğunun hemen ardından yeni nesne tanıma testinden sonra teste alınan fareler 5 dakika izlendi ve çıktıkları basamak sayıldı. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi.

[] gruplardaki hayvan sayısı

* $p<0,01$ kontrol-sıvağ grubuna göre (Tukey testi)

$p<0,05$ uyku yoksunluğu-sıvağ grubuna göre (Tukey testi)

4.4. Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin beyin bölgelerinde glutamat ve glutamin miktarlarına etkisi

Kontrol-sıvağ, kontrol-tamoksifen, uyku yoksunluğu-sıvağ ve uyku yoksunluğu-tamoksifen gruplarındaki hayvanlarda son uyku yoksunluğundan sonra frontal kortekste glutamat ve glutamin miktarları Tablo 4-1’de gösterildi.

Tek yönlü varyans analizine göre frontal kortekste glutamat miktarında uygulamaya bağlı etki ortaya çıktı ($F(3,23)=8,9$; $p=0,0004$), glutamin miktarında ($F(3,23)=3,9$; $p=0,0025$) ve glutamat/glutamin oranında ($F(3,23)=0,78$; $p=0,5156$) değişiklik saptanmadı. Uyku yoksunluğu-sıvağ grubunda, kontrol-sıvağ grubuna göre glutamat miktarı azaldı ($p<0,05$). Uyku yoksunluğu-tamoksifen grubunda glutamat miktarı, uyku yoksunluğu-sıvağ grubuna göre daha fazla oldu ($p<0,001$). Kontrol-sıvağ grubu ile karşılaştırıldığında, kontrol-tamoksifen grubunda glutamat miktarı bir fark göstermedi.

Tek yönlü varyans analizine göre hipokampüste glutamat ($F(3,23)=2,5$; $p=0,0893$) ve glutamin ($F(3,23)=0,88$; $p=0,4665$) miktarlarında ve glutamin/glutamat oranında ($F(3,23)=1,1$; $p=0,3789$) uygulamaya bağlı bir etki saptanmadı.

Tablo 4- 1: Farelerde REM uyku yoksunluğunun ve tamoksifenin beyin bölgelerinde glutamat ve glutamin miktarlarına ve glutamat/glutamin oranına etkileri

	Frontal Korteks			Hipokampus		
	Glutamat	Glutamin	Glutamat/Glutamin	Glutamat	Glutamin	Glutamat/Glutamin
Kontrol-sıvağ	46,63±11,84	17,64±5,06	3,56±0,63	47,31±23,09	47,01±16,89	1,60±0,48
Kontrol-tamoksifen	61,49±4,95	38,57±10,20	2,20±0,58	69,46±5,71	77,48±6,32	0,90±0,03
Uyku yoksunluğu-sıvağ	18,04±2,33*	10,80±3,74	3,06±0,70	85,5±19,23	74,3±19,17	1,55±0,28
Uyku yoksunluğu-tamoksifen	66,03±5,72 [#]	25,57±4,61	3,06±0,41	115,4±17,17	72,20±6,43	1,67±0,33

Sekiz gün sıvağ (propilen glikol) veya 1 mg/kg tamoksifen verilen fareler son uyku yoksunluğunun hemen ardından yapılan davranış testlerinden sonra dekapite edildi. Beyin bölgelerinde glutamat ve glutamin düzeyleri (μmol/mg) HPLC ile ölçüldü. Değerler ortalama±standart hata olarak verildi. Gruplarda hayvan sayısı 5-7 oldu.

*p<0,05 kontrol-sıvağ grubuna göre (Tukey testi)

[#]p<0,001 uyku yoksunluğu-sıvağ grubuna göre (Tukey testi)

5. TARTIŞMA

Bu çalışmada; üç kez 24 saat REM uyku yoksunluğu oluşturulan farelerde tamoksifenin lokomotor aktiviteye, belleğe, risk alma davranışına ve beyin bölgelerinde glutamat ve glutamin düzeylerine etkileri ölçüldü. Bulgular, tekrarlayan uyku yoksunluğunun mani modeli oluşturması, tamoksifenin antimanik etkileri ve manide glutamaterjik sistemdeki değişiklikler ile ilgili veri ve görüşler kapsamında tartışıldı.

Çalışmada, Benedetti ve ark. (2008)'nın lokomotor aktivite artışına duyarlılığın arttığını gösterdikleri tekrarlayan REM uyku yoksunluğu modeli seçildi. Modelde, hayvanlar 4 ayrı bölmeye ayrılmış ve her bir bölmede tek bir platformun bulunduğu bir kafeste yoksunluğa bırakılırlar. Bu durum yoksunluk süresince hareketsizlik stresine yol açabildiğinden (Coenen ve van Lujtelaar 1985), izolasyonu ortadan kaldıran, bölmesiz ve bir platformdan diğerine geçişe olanak sağlayan çoklu platform yöntemine uygun bir değişiklik yapıldı (Tufik ve ark. 2009). Uyku yoksunluğu üç kez tekrarlandı. Locomotor aktivite ikinci ve son (üçüncü) uyku yoksunluğundan sonra olmak üzere iki kez değerlendirildi. Son uyku yoksunluğundan sonra art arda yeni nesne tanıma ve merdiven testleri yapıldı. Benedetti ve ark. (2008)'ın bulgularına göre uyku yoksunluğundan sonra lokomotor aktivite artışı 12 saat kadar sürmektedir. Ancak bu sürenin 30 dakika kadar sürdüğünü bildiren araştırmacılar da bulunduğu (Gessa ve ark. 1995), testler 30 dakika içinde tamamlandı.

İkinci uyku yoksunluğundan 24 saat sonra yapılan ölçümlerde uyku yoksunluğu, şahlanma sayısını değiştirmede, ancak kare geçişte, gezinmede, artışa yol açtı. Mani modellerinde lokomotor aktivite artışı yatay ve dikey hareketler olarak otomatik motor aktivite ölçüm cihazları (Abrial ve ark. 2013; Sabioni ve ark. 2008) veya açık alan (Armani ve ark. 2012; Pereira ve ark. 2011) kullanılarak ölçülmüştür. Açık alanda sadece gezinmenin değerlendirildiği çalışmalar (Cechinel-Recco ve ark. 2012; Pereira ve ark. 2011; Valvassori ve ark. 2010) yanı sıra gezinme ile birlikte şahlanma sayısının da değerlendirildiği çalışmalar (Moretti ve ark. 2011) bulunmaktadır. Şahlanmada değişiklik olmayıp sadece kare geçişteki artış ile hiperaktivitenin değerlendirildiği çalışmalar (Armani ve ark. 2012) da bulunduğu kare geçiş artışı lokomotor aktivite artışı göstergesi olarak yeterli kabul edilebilir.

Son (üçüncü) uyku yoksunluğunun hemen ardından yapılan ölçümlerde de uyku yoksunluğu şahlanma sayısında değişiklik oluşturmazken kare geçişi artırdı. Mani benzeri davranış olarak nitelendirilen bu lokomotor hiperaktivite bulgusu ile Benedetti ve ark. (2008)'nin verileri yanı sıra örneğin 36 saat uyku yoksunluğu oluşturulmuş farelerde (Valvassori ve ark. 2017b) ve 72 saat uyku yoksunluğu oluşturulmuş sıçanlarda (Abrial ve ark. 2015) elde edilen bulgular da desteklendi. Benedetti ve ark. (2008) farelerde 3 kez 6, 12 veya 24 saat süren uyku yoksunluğu oluşturdıkları ve uyku yoksunluklarının hemen ardından 12 saat süren lokomotor aktivite ölçümü yaptıkları çalışmalarında, uyku yoksunluğu süresinin ve tekrarının lokomotor aktivite artışına duyarlılığı etkilediğini göstermişlerdir. Bulgularına göre 24 saat uyku yoksunluğunda üçüncü uygulamada lokomotor aktivite artışı ikinci uygulamaya göre daha fazla olmamış, ancak ikinci uygulamada lokomotor aktivite hızla kontrol değerlerine düşerken üçüncü uygulamada 12 saat boyunca anlamlılığını sürdürmüştür. Öte yandan, Armani ve ark. (2012) benzer biçimde 3 kez 24 saat uyku yoksunluğu oluşturdıkları farelerde, lokomotor aktivitenin üç uygulamada da arttığını, ancak ikinci ve üçüncü uygulamada birinci uygulamaya göre artışın daha az olduğunu saptamış ve bu durumu Benedetti ve ark. (2008)'ndan farklı olarak tekli yerine çoklu platform yöntemi kullanmaları, aydınlık-karanlık döngünün karanlık fazında değil de aydınlık fazında ölçüm yapmaları ve farklı fare ırkında çalışmış olmaları ile yorumlamaya çalışmışlardır. Bu veriler ile karşılaştırıldığında, ikinci uyku yoksunluğundan sonra lokomotor aktivite artışının olması ve ikinci ve son uyku yoksunluğunda lokomotor aktivite artışları arasında farkın ortaya çıkmaması uyum göstermektedir. Ancak lokomotor aktivite artışının yoksunluktan 24 saat sonra saptanabilmesi, hem Benedetti ve ark. (2008)'nin hem de bu etkinin 1 saatten kısa sürdüğünü bildiren (Albert ve ark. 1970; Gessa ve ark. 1995) veya uyku yoksunluğunun hemen ardından ölçümleri tamamlayan (Patti ve ark. 2010; Valvassori ve ark. 2017c) araştırmacıların bulguları ile bir fark oluşturmakta, uyku yoksunluğundan 9-11 saat sonra lokomotor aktivite ölçen araştırmacılar ile kısmen uyum göstermektedir (Siddique ve ark. 2018). Öte yandan, tek kez uyku yoksunluğundan sonra ortaya çıkan akut mani modeli ile karşılaştırıldığında, ikinci yoksunluktan bir gün sonra lokomotor aktivite artışı olması tekrarlayan yoksunlukta hastalığın gelişim sürecinin daha iyi taklit edilebileceğini düşündürmektedir.

Tamoksifen kontrol grubundaki farelerde kare geçiş ve şahlanmada literatür ile uyumlu olarak etki oluşturmadı (Sabioni ve ark. 2008). Uyku yoksunluğu oluşturulan

farelerde ise hem ikinci hem de son uyku yoksunluğunda kare geçiş artışını, lokomotor hiperaktiviteyi, önledi. Tamoksifenin uyku yoksunluğu (Armani ve ark. 2012; Abrial ve ark. 2015), amfetamin (Einat ve ark. 2007; Sabioni ve ark. 2008; Moretti ve ark. 2011; Abrial ve ark. 2013, 2015) ve uvabain (Valvassori ve ark. 2017b) modellerinde mani benzeri davranışa akut ve kronik etkisi açıkça ortaya konulmuştur. Bulgular, bu sonuçları ve 8 gün boyunca günde iki kez 1 veya 2 mg/kg tamoksifen verilen ve tekrarlayan uyku yoksunluğu oluşturan farelerde son yoksunluğun hemen ardından lokomotor aktivite artışını ve tamoksifen ile önlendiğini gösteren araştırmayı (Armani ve ark. 2012) da desteklemiştir. Ayrıca, uyku yoksunluğundan 24 saat sonra lokomotor aktivite artışına tamoksifenin etkinliğinin eşlik ettiğini göstermesi açısından da bulgular değer taşımaktadır.

Son uyku yoksunluğunun ardından yapılan merdiven testinde, uyku yoksunluğu çıkılan basamak sayısında artışa yol açtı. Çalışmada risk alma davranışını değerlendirmek amacı ile kullanılan bu test, gerçekte sıçanlarda kaygı giderici etkinliğin taranmasında bir yöntem olarak önerilmiş (Thiébot ve ark. 1973), pek çok araştırmacı tarafından bu amaca uygun olarak kullanılmıştır (Smiaand ve ark. 1984; Pollard ve Howard 1986; Emmanouil ve Quock 1990; Magaji ve ark. 2017). Testte şahlanma davranışının kaygı indeksi olabileceği, merdiven tırmanmanın ise daha çok araştırma veya lokomotor aktivite ile ilişkili olduğu öne sürülmüştür (Thiébot ve ark. 1973). Testi farelere uyarlayan Smiaand ve ark. (1984)'na göre ise şahlanma davranışının artması ve çıkılan basamak sayısının azalması kaygıyı göstermektedir. Yeni bir ortama alınan fare ve sıçanlarda korku/kaygı ve araştırma davranışı arasında bir çelişki ortaya çıkmakta ve bu durum kendini artmış uyanıklık ve davranışsal aktivite ile göstermektedir (Parle ve ark. 2010). Bu görüşe dayanılarak ilk kez kapalı bir merdivene konulduğunda hayvanın çıktığı basamak sayısının çelişkiye bağlı bir risk alma davranışı olabileceği öne sürülebilir. Yükseltilmiş artı labirentte açık kollara karşı yüksek düzeylerde risk değerlendirmesi gösteren fare ve sıçanlar, bu alanları labirentin diğer bölgelerine göre daha az gezer (Rodgers ve ark. 1999; Sorregotti ve ark. 2013; Tillmann ve Wegener 2019) ve açık alan testinde merkeze daha az giderler. Amfetamin (Abrial ve ark. 2013; Einat ve ark. 2007; Steckert ve ark. 2012) veya uvabain (Lopes-Borges ve ark. 2015) ile indüklenen mani modellerinde de risk alma davranışının arttığının göstergesi olarak yükseltilmiş artı labirent ve/veya açık alan testlerinde kaygı oluşturan açık kollara ve merkeze giriş sayıları ve kalış süreleri artmıştır. Amfetamin ile indüklenen mani

modelinde yem ödülüne esnek bir köprü ile ulaşılan ‘tel-kiriş köprü’ (wire-beam bridge) (Zhou ve ark. 2015) ve presinaptik uca dopamin taşınmasından sorumlu proteinin inhibitörü ile indüklenen mani modelinde ödül yüksekliği ile paralel ceza süresinin yükseldiği Iowa Kumar (van Enkhuizen ve ark. 2013) testlerinde de mani benzeri davranış olarak risk alma davranışı artışı gösterilmiştir. Tüm bu veriler tekrarlayan uyku yoksunluğu sonrası çıkılan basamak sayısındaki artışın risk alma davranışı artışını yansıttığını işaret etmektedir. Tamoksifenin bu etkiyi önlemesi de antimanik etkisi ile tutarlık göstererek iddiayı güçlendirmekte ve çeşitli mani modellerinde artmış risk alma davranışını azalttığını gösteren çalışmalara destek sağlamaktadır (Einat ve ark. 2007; Steckert ve ark. 2012; Abrial ve ark. 2013).

Son uyku yoksunluğunun ardından yapılan yeni nesne tanıma testinde, uyku yoksunluğu yeni nesneyi inceleme süresi ile eski nesnede geçirilen süre arasında bir farka neden olmadı, bir diğer deyiş ile tanıma indeksi değişmediği için belleğe etkisiz bulundu. Testin öğrenme eğitimleri uyku yoksunluğu sonrası yapıldığı için öğrenmeyi de etkilemediği söylenebilir. Uyku yoksunluğunun öğrenme ve belleği etkilediği çeşitli testlerde gösterilmiştir. Örneğin, 48 ve 72 saat uyku yoksunluğu sıçanlarda Y-labirent testinde çalışma belleğini ve 48 veya 72 saat yoksunluk koşullu ve pasif sakınma testlerinde sakınma belleğini (Silva ve ark. 2004; Lima ve ark. 2014) ve 12 saat uyku yoksunluğu farelerde Y-labirent testinde uzaysal çalışma belleğini (Hagewoud ve ark. 2010) bozmuştur. Uyku yoksunluğunun yeni nesne tanıma testinde de belleği bozduğu gösterilmiştir (Palchykova ve ark. 2006; Cordeira ve ark. 2018). Amfetamin ve mani modellerinde çeşitli testlerde (Fries ve ark. 2015; de Souza Gomez ve ark. 2015; Amodeo ve ark. 2017) öğrenme ve belleğin bozulduğu gösterilmiştir. REM uyku yoksunluğunun mani modeli olarak kullanıldığı belleğe etkinin araştırıldığı tek bir çalışmada ise 72 saat uyku yoksunluğu artmış lokomotor aktivite, uykusuzluk ve artmış agresyon ile mani benzeri davranışlara yol açarken Y-labirent testinde belleği etkilememiştir (Abrial ve ark. 2015). Bu verilere göre tekrarlayan uyku yoksunluğunda lokomotor aktivitenin ve risk alma davranışının artmış olmasına karşın bellek etkilenmemiş görünmektedir. Ancak, çoğu çalışmada 24 saat olan eğitim uygulaması ile test uygulaması arasındaki sürenin zorunlu yöntemsel nedenlere bağlı olarak çok kısa tutulmuş olması değerlendirmeyi etkilemiş olabilir (Antunes ve Biala 2012).

Bu çalışmanın ana amaçlarından biri REM uyku yoksunluğu mani modelinde glutamaterjik sistemde olası değişiklikleri ve tamoksifenin etkinliğini değerlendirmektir. Bulgulara göre uyku yoksunluğu frontal kortekste glutamat miktarını azalttı, hipokampüste glutamat miktarını ve frontal korteks ve hipokampüste glutamin miktarını ve glutamat/glutamin oranını değiştirmedir. Tamoksifen frontal kortekste glutamat miktarındaki azalmayı geri döndürdü. Sıçanlarda 12 ve 24 saat uyku yoksunluğunda serebral kortekste glutamat ve glutamin (Bettendorff ve ark. 1996), 72 saat uyku yoksunluğunda kortekste glutamat ve hipokampüste glutamat ve glutamin (Mohammed ve ark. 2011) düzeylerinin ve 24 saat uyku yoksunluğunda hipokampüste glutamat salıverilmesinin (Xie ve ark. 2015) arttığı gösterilmiştir. Sıçanlarda 24 saat uyku yoksunluğunda sıçanlarda frontoparyetal korteks ve lokus seruleusta glutamin sentetaz enzim proteininin arttığı (Sallanon-Moulin ve ark. 1994) gösterilmiştir. Manide frontal korteks, hipokampus ve striatum gibi beyin bölgelerinde nöronal eksitator/inhibitör sinaptik dengede bozukluk olduğu bir varsayım olarak giderek önem kazanmaktadır (Lee ve ark. 2018). Klinik çalışmalarda manide glutamatın (Ongür ve ark. 2008) ve dorsolateral prefrontal kortekste glutamat/glutamin oranının (Michael ve ark. 2003) arttığı gösterilmiştir. Uyku yoksunluğunun mani modeli olarak kullanıldığı çalışmalarda mani benzeri davranışların protein kinaz C yolağını modüle eden glutamaterjik sistemdeki bozukluğa bağlı olabileceği öne sürülmüştür (Szabo ve ark. 2009). Uyku yoksunluğunda ve manide glutamatın arttığına ilişkin bu verilere göre frontal kortekste glutamat düzeyindeki azalma uyumlu değildir. Buna karşılık, manide anterior singulat kortekste glutamat/glutamin oranını düşük bulan ve tedaviye yanıt olarak yükseldiğini gösteren Moore ve ark. (2007)'nin bulguları desteklenmiştir. Öte yandan, uyku yoksunluğunun mani modeli olarak kullanıldığı çalışmalarda glutamat reseptörlerinin ekspresyonundaki azalmaya ilişkin bir çalışma (Pannaccione ve ark. 2017) dışında mani modellerinde doğrudan glutamat düzeylerinin ölçüldüğü bir çalışmaya rastlanılamamıştır. Sıçan serebral korteks sinir uçlarında endojen glutamat salıverilmesini ve olası mekanizmayı araştıran bir çalışmada; potasyum kanal blokeri 4-aminopiridin ile kısıktırılmış glutamat salıverilmesine tamoksifenin inhibitör etki gösterdiği, bu etkinin östrojen reseptörleri ile etkileşmesine bağlı olmadığı, presinaptik uçta voltaja bağımlı kalsiyum girişinin ve protein kinaz C aktivitesinin baskılanması aracılığı ile oluştuğu gösterilmiştir (Kuo ve ark. 2012). Tamoksifenin protein kinaz C

inhibitörü etkisi göz önüne alındığında glutamat miktarındaki azalmayı nasıl tersine çevirdiği, bir diğer deyişle artırdığı, yorumlanamamaktadır.

5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları

Çalışma, tamoksifen ile birlikte protein kinaz C inhibitörü (Noh ve ark. 2000) ve glutamat modülatörü riluzolün uyku yoksunluğuna bağlı mani benzeri davranışlara ve beyinde glutamaterjik etkinliğe etkisini değerlendirmek üzere planlanmıştı. Ancak riluzolün temin edilememesi çalışmanın varsayımının daha iyi sınanmasını kısıtladı.

5.2. Sonuç

Farelerde 3 kez tekrarlayan REM uyku yoksunluğu, ikinci yoksunluktan 24 saat sonra lokomotor aktivite artışına ve son yoksunluktan hemen sonra lokomotor aktivite ve risk alma davranışı artışına yol açtı. Mani benzeri davranış olarak nitelendirilen bu değişikliklere bellek bozukluğunun eşlik ettiği gösterilemedi. Manide beyinde glutamat düzeyinde artış olduğu bulgularına karşıt olarak frontal kortekste glutamat düzeyinde azalma ortaya çıktı, hipokampüste bir değişiklik oluşmadı. Tamoksifen uyku yoksunluğuna bağlı davranışsal değişiklikleri ve glutamat düzeyindeki azalmayı önledi. Bulgular, tamoksifenin antimanik etkisinde glutamaterjik sistemin rolünü ve tekrarlayan REM uyku yoksunluğunda hastalığın gelişim sürecinin daha iyi taklit edilebileceği görüşünü destekleyecek ileri çalışmalar için veri oluşturdu.

KAYNAKLAR

- Abrial, E., Lucas, G., Scarna, H., Haddjeri N. ve Lámbas-Señas L. (2011). A role for the PKC signalling system in the pathophysiology and treatment of mood disorders: involvement of a functional imbalance? *Molecular Neurobiology*, **44**, 407-419.
- Abrial, E., Etievant, A., Bétry, C., Scarna, H., Lucas, G., Haddjeri, N. ve ark. (2013). Protein kinase C regulates mood-related behaviors and adult hippocampal cell proliferation in rats. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **43**, 40-48.
- Abrial, E., Bétourné, A., Etiévant, A., Lucas, G., Scarna, H., Lambás-Señas, L. ve ark. (2015). Protein kinase C inhibition rescues manic-like behaviors and hippocampal cell proliferation deficits in the sleep deprivation model of mania. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, **18**, 1-11.
- Akimoto, T., Kusumi, I., Suzuki, K. ve Koyama, T. (2007). Effects of calmodulin and protein kinase C modulators on transient Ca²⁺ increase and capacitative Ca²⁺ entry in human platelets: relevant to pathophysiology of bipolar disorder. *Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry*, **31**, 136-141.
- Albert, I., Cicala, G.A. ve Siegel, J. (1970). The behavioral effects of REM sleep deprivation in rats. *Psychophysiology*, **6**, 550-560.
- Ali, S.M., Ahmad, A., Shahabuddin, S., Ahmad, M.U., Sheikh, S. ve Ahmad, I. (2010). Endoxifen is a new potent inhibitor of PKC: a potential therapeutic agent for bipolar disorder. *Bioorganic & Biomedical Chemistry Letters*, **20**, 2665-2667.
- Amodeo, D.A., Grospe, G., Zang, H., Dwivedi, Y. ve Ragozzino, M. (2017). Cognitive flexibility impairment and reduced frontal cortex BDNF expression in the oubain model of mania. *Neuroscience*, **345**, 229-242.
- Amrollahi, Z., Rezaei, F., Salehi, B., Modabbernia, A., Maroufi, A., Esfandiari, G. ve ark. (2011). Double-blind, randomized, placebo-controlled 6-week study on the efficacy and safety of the tamoxifen adjunctive to lithium in acute bipolar mania. *Journal of Affective Disorders*, **129**, 327-331.

- Antunes, M. ve Biala, G. (2012). The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. *Cognitive Processing*, **13**, 93-110.
- Armani, F., Andersen M.L., Andreatini, M., Frusha-Filho, R., Tufik, S., Galduroz, J.C.F. (2012). Successful combined therapy with tamoxifen and lithium in a paradoxical sleep deprivation-induced mania model. *CNS Neurosciences & Therapeutics*, **18**, 119-125.
- Asakura, W., Matsumoto, K., Ohta, H. ve Watanabe, H. (1993). REM sleep deprivation potentiates the effects of imipramine and desipramine not that of clomipramine in the forced swimming test. *Japanese Journal of Pharmacology*, **63**, 455-460.
- Asakura, W., Matsumoto, K., Ohta, H. ve Watanabe, H. (1994). Involvement of dopamine D2 receptor mechanism in the REM sleep deprivation-induced increase in swimming activity in the forced swimming test. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **48**, 43-46.
- Ashok, A.H., Marques, T.R., Jauhar, S., Nour, M.M., Goodwin, G.M., Young, A.H. ve ark. (2017). The dopamine hypothesis of bipolar affective disorder: the state of the art and implications for treatment. *Molecular Psychiatry*, **22**, 666-679.
- Barzilai, A., Zilkha-Falb, R., Daily, D., Stern, N., Offen, D., Ziv, I. ve ark. (2000). The molecular metabolism of dopamine-induced apoptosis: identification and characterization of genes that mediate dopamine toxicity. *Journal of Neural Transmission*, **60(Suppl)**, 59-76.
- Basheer, R., Strecker, R.E., Thakkar, M.M. ve McCarley, R.W. (2004). Adenosine and sleep-wake regulation. *Progress in Neurobiology*, **73**, 379-396.
- Bathory, E. ve Tomopoulos, S. (2017). Sleep regulation, physiology and development, sleep duration and patterns, and sleep hygiene in infants toddlers, and preschool-age children. *Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care*, **47**, 29-42.
- Benedetti, F., Fresi, R., Maccioni, P. ve Smeraldi, E. (2008). Behavioural sensitization to repeated sleep deprivation in a mice model of mania. *Behavioural Brain Research*, **187**, 221-227.
- Benvenuti, S., Luciani, P., Vannelli, G.B., Gelmini, S., Franceschi, E., Serio, M. ve ark. (2005). Estrogen and selective estrogen receptor modulators exert neuroprotective

effects and stimulate the expression of selective Alzheimer's disease indicator-1, a recently discovered antiapoptotic gene, in human, neuroblast long-term cell cultures. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **90**, 1775-1782.

Berk, M., Plein, H. ve Belsham, B. (2000). The specificity of platelet glutamate receptor supersensitivity in psychiatric disorders. *Life Science*, **66**, 2427-2432.

Berk, M., Kapczinski, F., Andreazza, A.C., Deana, O.M., Giorlando, F., Maes, M. ve ark. (2011). Pathways underlying neuroprogression in bipolar disorder: focus on inflammation, oxidative stress and neurotrophic factors. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **35**, 804-817.

Bettendorff, L., Sallanon-Moulin, M., Touret, M., Wins, P., Margineanu, I. ve Schoffeniels, E. (1996). Paradoxical sleep deprivation increases the content of glutamate and glutamine in rat cerebral cortex. *Sleep*, **19**, 65-71.

Beyer, D.K. ve Freund, N. (2017). Animal models for bipolar disorder: from bedside to cage. *International Journal of Bipolar Disorders*, **5**, 35.

Bhangle, S.D., Kramer, N. ve Rosenstein, E.D. (2013). Corticosteroid-induced neuropsychiatric disorders: review and contrast with neuropsychiatric lupus. *Rheumatology International*, **33**, 1923-1932.

Borbély, A.A. ve Achermann, P. (1999). Sleep homeostasis and models of regulation. *Journal of Biological Rhythms*, **14**, 557-568.

Calhoun, V.D., Sui, J., Kiehl, K., Turner, J., Allen, E. ve Pearlson, G. (2011). Exploring the psychosis functional connectome: aberrant intrinsic networks in schizophrenia and bipolar disorder. *Frontiers in Psychiatry*, **2**, 75.

Cechinel-Recco, K., Valvassori, S.S., Varela, R.B., Resende, W.R., Arent, C.O., Vitto, M.F. ve ark. (2012). Lithium and tamoxifen modulate cellular plasticity cascades in animal model of mania. *Journal of Psychopharmacology*, **26**, 1594-604.

Coenen, A.M. ve van Lujitelaar, E.L. (1985). Stress induced by three procedures of deprivation of paradoxical sleep. *Physiology & Sleep*, **35**, 501-504.

Cordeira, J., Kolluru, S.S., Rosenblatt, H., Kry, J., Strecker, R.E. ve McCarley, R.W. (2018). Learning and memory are impaired in the object recognition task during

- metestrus/diestrus and after sleep deprivation. *Behavioural Brain Research*, **339**, 124-129.
- Coussens, L., Parker, P.J., Rhee, L., Yang-Feng, T.L., Chen, E., Waterfield, M.D. ve ark. (1986). Multiple, distinct forms of bovine and human protein kinase C suggest diversity in cellular signaling pathways. *Science*, **233**, 859-866.
- Daan, S., Beersma, D. ve Borbély, A.A. (1984). Timing of human sleep: recovery process gated by a circadian pacemaker. *The American Journal of Physiology*, **246**, R161-R183.
- Davanzo, P., Thomas, M.A., Yue, K., Oshiro, T., Belin, T., Strober, M. ve ark. (2001). Decreased anterior cingulate myo-inositol/creatine spectroscopy resonance with lithium treatment in children with bipolar disorder. *Neuropsychopharmacology*, **24**, 359-369.
- Demontis, F., Serra, F. ve Serra, G. (2017). Antidepressant-induced dopamine receptor dysregulation: a valid animal model of manic-depressive illness. *Current Neuropsychopharmacology*, **15**, 417-423.
- de Souza, G.C., Gomes, J.A., de Góis Queiroz, A.I., de Araújo, M.M., Cavalcante, L.M., Machado Mde, J. ve ark. (2015). Preclinical evidences for an antimanic effect of carvedilol. *Neural Plasticity*, **2015**:692541.
- D'Onofrio, S., Mahaffey, S. ve Garcia-Rill, E. (2017). Role of calcium channels in bipolar disorder. *Current Psychopharmacology*, **6**, 122-135.
- Dodart, J.C., Mathis, C. ve Ungerer, A. (1997). Scopolamine-induced deficits in a two-trial object recognition task in mice. *Neuroreport*, **8**, 1173-1178.
- Dubovsky, S.L., Christiano, J., Daniell, L.C., Franks, R.D., Murphy, J., Adler, L. ve ark. (1989). Increased platelet intracellular calcium concentration in patients with bipolar affective disorders. *Archives of General Psychiatry*, **46**, 632-638.
- Dubovsky, S.L. (2015). Mania. *Continuum (Minneapolis, Minn)*, **21**, 737-755.
- Dunner, D.L., Stallone, F. ve Fieve, R.R. (1976). Lithium carbonate and affective disorders. V: a double-blind study of prophylaxis of depression in bipolar illness. *Archives of General Psychiatry*, **33**, 117-120.

- Eastwood, S.L. ve Harrison, P.J. (2010). Markers of glutamate synaptic transmission and plasticity are increased in the anterior cingulate cortex in bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, **67**, 1010-1016.
- Einat, H., Yuan, P., Szabo, S.T., Dogra, S. ve Manji, H.K. (2007). Protein kinase C inhibition by tamoxifen antagonizes manic-like behavior in rats: implications for the development of novel therapeutics for bipolar disorder. *Neuropsychobiology*, **55**, 123-131.
- Emmanouil, D.E. ve Quock R.M. (1990). Effects of benzodiazepine agonist, inverse agonist and antagonist drugs in the mouse staircase test. *Psychopharmacology*, **102**, 95-97.
- Enginar, N., Nurten, A., Zengin Türkmen, A., Gündoğan, G.İ., Özünal, Z.G. (2017). Antimuscarinic-induced convulsions in fasted mice after food intake: no evidence of spontaneous seizures, behavioral changes or neuronal damage. *Acta Neurobiologiae Experimentalis*, **77**, 373-381.
- Ennaceur, A. ve Delacour, J. (1988). A new one-trial test for neurobiological studies of memory in rats. 1: Behavioral data. *Behavioural Brain Research*, **31**, 47-59.
- Ennaceur, A. (2010). One-trial object recognition in rats and mice: methodological and theoretical issues. *Behavioural Brain Research*, **215**, 244-254.
- España, R.A. ve Scammell, T.E. (2011). Sleep neurobiology from a clinical perspective. *Sleep*, **34**, 845-858.
- Flaisher-Grinberg, S. ve Einat H. (2010) Strain-specific battery of tests for domains of mania: effects of valproate, lithium and imipramine. *Frontiers in Psychiatry*, **1**:10.
- Friedman, S.D., Dager, S.R., Parow, A., Hirashima, F., Demopulos, C., Stoll, A.L. ve ark. (2004). Lithium and valproic acid treatment effects on brain chemistry in bipolar disorder. *Biological Psychiatry*, **56**, 340-348.
- Fries, G.R., Valvassori, S.S., Bock, H., Stertz, L., Magalhães, P.V., Mariot, E. ve ark. (2015). Memory and brain-derived neutrophic factor after subchronic or chronic amphetamine treatment in an animal model of mania. *Journal of Psychiatric Research*, **68**, 329-336.

- Gaskin, S., Tardif, M., Cole, E., Piterkin, P., Kayello, L. ve Mumby D.G. (2010). Object familiarization and novel-object preference in rats. *Behavioural Processes*, **83**, 61-71.
- Gemer, R.H., Fairbanks, L., Anderson, G.M., Young, J.G., Scheinin, M., Linnoila, M. ve ark. (1984). CSF neurochemistry in depressed, manic, and schizophrenic patients compared with that of normal controls. *The American Journal of Psychiatry*, **141**, 1533-1540.
- Gessa, G.L., Pani, L., Fadda, P. ve Fratta, W. (1995). Sleep deprivation in the rat: an animal model of mania. *European Neuropsychopharmacology*, **5 (Suppl 1)**, 89-93.
- Geyer, M. ve Markou, A. (1995). Animal models of psychiatric disorders. *Psychopharmacology: Fourth Generation of Progress*. F.E. Bloom ve D. Kupfer (Ed). New York: Raven Press.
- Goodwin, F.K. ve Jamison, K.R. (2007). *Manic-Depressive Illness*. (2nd ed). New York: Oxford University Press.
- Goulart B.K., de Lima, M.N., de Farias, C.B., Reolon, G.K., Almeida, V.R. ve Quevedo, J. (2010). Ketamine impairs recognition memory consolidation and prevents learning-induced increase in hippocampal brain-derived neurotrophic factor levels. *Neuroscience*, **167**, 969-973.
- Hagewoud, R., Havekes, R., Novati, A., Keijser, J.N., Van der Zee, E.A. ve Meerlo, P. (2010). Sleep deprivation impairs spatial working memory and reduces hippocampal AMPA receptor phosphorylation. *Journal of Sleep Research*, **19**, 280-288.
- Hahn, C.G. ve Friedman, E. (1999). Abnormalities in protein kinase C signaling and the pathophysiology of bipolar disorder. *Bipolar Disorders*, **2**, 81-86.
- Hahn, C.G., Umapathy, Wang H.Y., Koneru, R., Levinson, D.F. ve Friedman, E. (2005). Lithium and valproic acid treatments reduce PKC activation and receptor-G protein coupling in platelets of bipolar manic patients. *Journal of Psychiatric Research*, **39**, 355-363.
- Hammond, R.S., Tull, L.E. ve Stackman R.W. (2004). On the delay-dependent involvement of the hippocampus in object recognition memory. *Neurobiology of Learning and Memory*, **82**, 26-34.

- Harrison, P.J., Geddes, J.R. ve Tunbridge, E.M. (2018). The emerging neurobiology of bipolar disorder. *Trends in Neurosciences*, **41**, 1.
- Hashimoto, K., Sawa, A. ve Iyo, M. (2007). Increased levels of glutamate in brains from patients with mood disorders. *Biological Psychiatry*, **62**, 1310-1316.
- Hertz, L., O'Dowd, B.S., Ng, K.T. ve Gibbs, M.E. (2003). Reciprocal changes in forebrain contents of glycogen and glutamate/glutamine during early memory consolidation in the day-old chick. *Brain Research*, **994**, 226-233.
- Hicks, R.A., Moore J.D., Hayes, C., Philips, N. ve Hawkins, J. (1979). REM sleep deprivation increases aggressiveness in male rats. *Physiology and Behavior*, **22**, 1097-1100.
- Horschitz, S., Hummerich, R., Lau, T., Rietschel, M. ve Schloss, P. (2005). A dopamine transporter mutation associated with bipolar affective disorder causes inhibition of transporter cell surface expression. *Molecular Psychiatry*, **10**, 1104-1109.
- Huang, K.P. (1989). The mechanism of protein kinase C activity. *Trends in Neurosciences*, **12**, 425-432.
- Jacobs, D. ve Silverstone, T. (1986). Dextroamphetamine-induced arousal in human subjects as a model for mania. *Psychological Medicine*, **16**, 323-329.
- Jones, B.E. (2004). Paradoxical REM sleep promoting and permitting neural networks. *Archives Italiennes de Biologie*, **142**, 379-396.
- Kato, T. (2017). Neurobiological basis of bipolar disorder: mitochondrial dysfunction hypothesis and beyond. *Schizophrenia Research*, **187**, 62-66.
- Katzung, B.G. (2018). *Basic & Clinical Pharmacology*. (15th ed). New York: McGraw-Hill Education.
- Kayaalp, S.O. (2012). *Tıbbi Farmakoloji*. (13th ed). Ankara: Pelikan Yayıncılık.
- Kim, H.J. ve Thayer, S.A. (2009). Lithium increases synapse formation between hippocampal neurons by depleting phosphoinositides. *Molecular Pharmacology*, **75**, 1021-1030.

- Kim, Y., Santos, R., Fred, G. ve Marchetto, M.G. (2017). Molecular mechanisms of bipolar disorder: progress made and future challenges. *Frontiers in Cellular Neuroscience*, **11**, 30.
- Klein, P.S. ve Melton, D.A. (1996). A molecular mechanism for the effect of lithium on development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **93**, 8455-8459.
- Krueger, J.M., Frank, M.G., Wisor, J.P. ve Roy S. (2016). Sleep function: toward elucidating an enigma. *Sleep Medicine Reviews*, **28**, 46-54.
- Kuo, J.R., Wang, C.C., Huang, S.K. ve Wang S.J. (2012). Tamoxifen depresses glutamate release through inhibition of voltage-dependent Ca²⁺ entry and PKC α in rat cerebral cortex nerve terminals. *Neurochemistry International*, **60**, 105-114.
- Küçükibrahimoğlu, E., Saygin, M.Z., Caliskan, M., Kaplan, O.K., Unsal. C. ve Gören, M.Z. (2009). The change in plasma GABA, glutamine and glutamate levels in fluoxetine- or S-citalopram-treated female patients with major depression. *European Journal of Clinical Pharmacology*, **6**, 571-577.
- Lan, M.J., McLoughlin, G.A., Griffin, J.L., Tsang, T.M., Huang, J.T., Yuan, P. ve ark. (2009). Metabonomic analysis identifies molecular changes associated with the pathophysiology and drug treatment of bipolar disorder. *Molecular Psychiatry*, **14**, 269-179.
- Lee, Y., Zhang, Y., Kim, S. ve Han, K. (2018). Excitatory and inhibitory synaptic dysfunction in mania: an emerging hypothesis from animal model studies. *Experimental & Molecular Medicine*, **50**:12.
- Leenaars, C.H., Dematteis, M., Joosten, R.N., Eggels, L., Sandberg, H., Schirris, M. ve ark. (2019). A new automated method for rat sleep deprivation with minimal confounding effects on corticosterone and locomotor activity. *Journal of Neuroscience Methods*, **17**, 7.
- Lima, A.M., de Bruin, V.M., Rios, E. ve de Bruin, P.M. (2014). Differential effects of paradoxical sleep deprivation on memory and oxidative stress. *Naunyn Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, **387**, 399-406.

- Littleton-Kearney, M.T., Ostrowski, N.L., Cox, D.A., Rossberg, M.I. ve Hum, P.D. (2002). Selective estrogen receptor modulators: tissue actions and potential for CNS protection. *CNS Drug Reviews*, **8**, 309-330.
- Logan, R.W. ve McClung, A. (2016). Animal models of mania: the past, present and future. *Neuroscience*, **164**, 1263-1284.
- Lopes-Borges, J., Valvassori, S.S., Varela, R.B., Tonin, H.T., Vieira, J.S., Gonçalves, C.L. ve ark. (2015). Histone deacetylase inhibitors reverse manic-like behaviors and protect the rat brain from energetic metabolic alterations induced by ouabain. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **128**, 89-95.
- MacDonald, J.F., Kotecha, S.A., Lu, W.Y. ve Jackson, M.F. (2001). Convergence of PKC-dependent protein kinase signal cascades on NMDA receptors. *Current Drug Targets*, **2**, 299-312.
- Magaji, M.G., Iniaghe, L.O., Abolarin, M., Abdullahi, O.I. ve Magaji, R.A. (2017). Neurobehavioural evaluation of resveratrol in murine models of anxiety and schizophrenia. *Metabolic Brain Disease*, **32**, 437-442.
- Mahon, K., Burdick, K.E. ve Szeszko, P.R. (2010). A role for white matter abnormalities in the pathophysiology of bipolar disorder. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, **34**, 533-554.
- Maier, F., Merkl, J., Ellereit, A.R., Lewis, C.J., Eggers, C., Pedrosa, D.J. ve ark. (2014). Hypomania and mania related to dopamine replacement therapy in Parkinson's disease. *Parkinsonism & Related Disorders*, **20**, 421-427.
- Maletic, V. ve Raison, C. (2014). Integrated neurobiology of bipolar disorder. *Frontiers in Psychiatry*, **5**, 98.
- Manji, H.K., Quiroz, J.A., Payne, J.L., Singh, A., Lopes, B.P., Viegas, J.L. ve Zarate, C.A. (2003). The underlying neurobiology of bipolar disorder. *World Psychiatry*, **2**, 136-146.
- Mansour, H.A., Monk T.H. ve Nimgaonkar V.L. (2005). Circadian genes and bipolar disorder. *Annals of Medicine*, **37**, 196-205.
- McCarley, R.W. (2007). Neurobiology of REM and NREM sleep. *Sleep Medicine*, **8**, 302-330.

- Michael, N., Erfurth, A., Ohrmann, P., Gössling, M., Arolt, V., Heindel, W. ve ark. (2003). Acute mania is accompanied by elevated glutamate/glutamine levels within the left dorsolateral prefrontal cortex. *Psychopharmacology*, **168**, 344-346.
- Miczek, K.A., Maxson, S.C., Fish, E.W. ve Faccidorno, S. (2001). Aggressive behavioral phenotypes in mice. *Behavioral Brain Research*, **125**, 167-181.
- Mishra, R., Barthwal, M.K., Sondarva, G., Rana, B., Wong, L., Chatterjee, M. ve ark. (2007). Glycogen synthase kinase-3 β induces neuronal cell death via direct phosphorylation of mixed lineage kinase 3. *The Journal of Biological Chemistry*, **282**, 30393-30405.
- Mohammed, H.S., Aboul Ezz, H.S., Khadrawy, Y.A. ve Noor, N.A. (2011). Neurochemical and electrophysiological changes induced by paradoxical sleep deprivation in rats. *Behavioural Brain Research*, **225**, 39-46.
- Moore, C.M., Biederman, J., Wozniak, J., Mick, E., Aleardi, M., Wadrop, M. ve ark. (2007). Mania, glutamate/glutamine and risperidone in pediatric bipolar disorder: a proton magnetic resonance spectroscopy study of the anterior cingulate cortex. *Journal of Affective Disorders*, **99**, 19-25.
- Moretti, M., Valvassori, S.S., Steckert, A.V., Rochi, N., Benedet, J., Scaini, G. ve ark. (2011). Tamoxifen effects on respiratory chain complexes and creatine kinase activities in an animal model of mania. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, **98**, 304-310.
- Newsholme, P., Procopio, J., Lima, M.M.R., Pithon-Curi, T.C. ve Curi, R. (2003). Glutamine and glutamate: their central role in cell metabolism and function. *Cell Biochemistry and Function*, **21**, 1-9.
- Ng, W.X., Lau, I.Y., Graham, S. ve Sim, K. (2009). Neurobiological evidence for thalamic, hippocampal and related glutamatergic abnormalities in bipolar disorder: a review and synthesis. *Neuroscience and Biobehavioural Reviews*, **33**, 336-354.
- Niitsu, T., Fabbri, C. ve Serretti, A. (2015). Predictors of switch from depression to mania in bipolar disorder. *Journal of Psychiatric Research*, **66-67**, 45-53.
- Nishizuka, Y. (1988). The molecular heterogeneity of protein kinase C and its implications for cellular regulation. *Nature*, **334**, 661-665.

- Noh, K.M., Hwang, J.Y., Shin, H.C. ve Koh, J.Y. (2000). A novel neuroprotective mechanism of riluzole: direct inhibition of protein kinase C. *Neurobiology of Disease*, **7**, 375-383.
- Nurnberger, J.I., Koller, D.L., Jung, J., Edenberg, H.J., Foroud, T., Guella, I. ve ark. (2014). Identification of pathways for bipolar disorder: a meta-analysis. *JAMA Psychiatry*, **71**, 657-664.
- O'Brian, C.A., Liskamp, R.M., Solomon, D.H. ve Weinstein, I.B. (1985). Inhibition of protein kinase C by tamoxifen. *Cancer Research*, **45**, 2462-2465.
- Ongür, D., Jensen, E.R., Prescott, A.P., Stork, C., Lundy, M., Cohen, B.M. ve ark. (2008). Abnormal glutamatergic neurotransmission and neuronal-glial interactions in acute mania. *Biological Psychiatry*, **64**, 718-726.
- Palchykova, S., Winsky-Sommerer R., Meerlo, P., Dürr, R. ve Tobler, I. (2006). Sleep deprivation impairs object recognition in mice. *Neurobiology of Learning and Memory*, **85**, 263-271.
- Pannaccione, I., Iacovelli, L., di Nuzzo, L., Nardecchia, F., Mauro, G., Janiri, D. ve ark. (2017). Paradoxical sleep deprivation causes a selective reduction in the expression of type-2 metabotropic glutamate receptors in the hippocampus. *Pharmacological Research*, **117**, 46-53.
- Parle, M., Devi, S ve Kumar, S. (2010). Animal models for screening anxiolytic agents. *Annals of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **1**, 116-128.
- Patti, C.L., Zanin, K.A., Sanday, L., Kamede, S.R., Fernandes-Santos, L., Fernandes, H.A. ve ark. (2010). Effects of sleep deprivation on memory in mice: role of state-dependent learning. *Sleep*, **33**, 1669-1679.
- Pereira, M., Martynhak, B.J., Baretta, I.P., Correia, D., Siba, I.P. ve Andreatini, R. (2011). Antimanic-like effect of tamoxifen is not reproduced by acute or chronic administration of medroxyprogesterone or clomiphene. *Neuroscience Letters*, **500**, 95-98.
- Pollard, G.T. ve Howard, J.L. (1986). The staircase test: some evidence of nonspecificity for anxiolytics. *Psychopharmacology*, **89**, 14-19.

- Prickaerts, J., Moechars, D., Cryns, K., Lenaerts, I., van Craenendonck, H., Goris, I. ve ark. (2006). Transgenic mice over expressing glycogen synthase kinase 3 β : a putative model of hyperactivity and mania. *The Journal of Neuroscience*, **26**, 9022-9029.
- Rasch, B ve Born, J. (2013). About sleep's role on memory. *Physiological Reviews*, **93**, 681-766.
- Rees, J.N., Vlorang, V.R., Anderson, D.G. ve Doorn, J.A. (2007). Lipid peroxidation products inhibit dopamine catabolism yielding aberrant levels of a reactive intermediate. *Chemical Research in Toxicology*, **20**, 1536-1542.
- Rodgers, R.J., Haller, J., Holmes, A., Halasz, J., Walton, T.J. ve Brain, P.F. (1999). Corticosterone response to the plus-maze: high correlation with risk assessment in rats and mice. *Physiology & Behavior*, **68**, 47-53.
- Rosales-Lagarde, A., Armony, J.L., Del-Río Portilla, Y., Trejo-Martínez, Conde, R. ve Corsi-Cabrera, M. (2012). Enhanced emotional reactivity after selective REM sleep deprivation in humans: an fMRI study. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, **6**, 25.
- Roybal, K., Theobald, D., Graham, A., DiNieri, J.A., Russo, S.J., Khrisnan, V. ve ark. (2007). Mania-like behavior induced by disruption of CLOCK. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A*, **104**, 6406-6411.
- Sabioni, P., Baretta, I.P., Ninomiya, E.M., Gustafson, L., Rodrigues, A.L.S. ve Andreatini, R. (2008). The antimanic-like effect of tamoxifen: behavioural comparison with other PKC-inhibiting and antiestrogenic drugs. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, **32**, 1927-1931.
- Sallanon-Moulin, M., Touret, M., Didier-Bazes, M., Roudier, V., Fages, C., Tardy, M. ve ark. (1994). Glutamine synthetase modulation in the brain of rats subjected to deprivation of paradoxical sleep. *Brain Research. Molecular Brain Research*, **22**, 113-120.
- Sanacora, G., Zarate, C.A., Krystal, J.H. ve Manji, H.K. (2008). Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders. *Nature Reviews. Drug Discovery*, **7**, 426-437.

- Saper, C.B., Scammell, T.E. ve Lu, J. (2005). Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature*, **437**, 1257-1263.
- Scammell, T.E., Arrigoni, E. ve Lipton, J. (2017). Neuronal circuitry of wakefulness and sleep. *Neuron*, **93**, 747-765.
- Sharma, A.N., Fries, G.R., Galvez, J.F., Valvassori, S.S., Soares, J.C., Carvalho, A.F. ve ark. (2016). Modeling mania in preclinical settings: a comprehensive review. *Progress in Neuro-psychopharmacology & Biological Psychiatry*, **66**, 22-34.
- Siddique, S.A., Tamilselvan, T., Vishnupriya, M. ve Balamurugan, E. (2018). Evaluation of neurotransmitter alterations in four distinct brain regions after rapid eye movement sleep deprivation (REMSD) induced mania-like behaviour in Swiss albino mice. *Neurochemical Research*, **43**, 1171-1181.
- Silva, R.H., Abilio, V.C., Takatsu, A.L., Kameda, S.R., Grassl, C., Chehin, A.B. ve ark. (2004). Role of hippocampal oxidative stress in memory deficit induced by sleep deprivation in mice. *Neuropharmacology*, **46**, 895-903.
- Silvers, J.M., Harrod, S.B., Mactutus, C.F. ve Booze, R.M. (2007). Automation of the novel object recognition task for use in adolescent rats. *Journal of Neuroscience Methods*, **166**, 99-103.
- Smiaand, J., Keane, P.E. ve Morre, M. (1984). The staircase test in mice: a simple and efficient procedure for primary screening of anxiolytic agents. *Psychopharmacology*, **84**, 48-53.
- Solé, B., Jiménez, E., Torrent, C., Reinares, N., del Mar Bonnin, C., Torres, I. ve ark. (2017). Cognitive impairment in bipolar disorder: treatment and prevention strategies. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, **20**, 670-680.
- Sorregotti, T., Mendes-Gomes, J., Rico, J.L., Rodgers, R.J. ve Nunes-de-Souza, R.L. (2013) Ethnopharmacological analysis of the open elevated plus-maze in mice. *Behavioural Brain Research*, **246**, 76-85.
- Steckert, A.V., Valvassori, S.S., Mina, F., Lopes-Borges, J., Varela, R.B., Kapczinski, F. ve ark. (2012). Protein kinase C and oxidative stress in an animal model of mania. *Current Neurovascular Research*, **9**, 47-57.

- Strakowski, S.M., Adler, C.M., Almeida, J., Altshuler, L.L., Blumberg, H.P., Chang, K.D. ve ark. (2012). The functional neuroanatomy of bipolar disorder: a consensus model. *Bipolar Disorders*, **14**, 313-325.
- Sun, M.K. ve Alkon, D.L. (2005). Dual effects of bryostatin-1 on spatial memory and depression. *European Journal of Pharmacology*, **512**, 43-51.
- Szabo, S.T., Machado-Vieira, R., Yuan, P., Wang, Y., Wei, Y., Falke, C. ve ark. (2009). Glutamate receptors as targets of protein kinase C in the pathophysiology and treatment of animal models of mania. *Neuropharmacology*, **56**, 47–55.
- Tapiero, H., Mathé, G., Couvreur, P. ve Tew, K.D. (2002). II. Glutamine and glutamate. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, **56**, 446-447.
- Terzioğlu, B., Kaleli, M., Aydın, B., Ketenci, S., Cabadak, H. ve Gören, M.Z. (2013). Increased noradrenaline levels in the rostral pons can be reversed by M1 antagonist in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Neurochemistry Research*, **38**, 1726-1733.
- The Mouse Brain Library. *Mouse Brain Atlas: C57BL/6J Coronal*. Erişim 04.12.2019, http://www.mbl.org/atlas170/atlas170_frame.html.
- Thiébot, M.H., Soubrié, P., Simon, P. ve Boissier, J.R. (1973). Dissociation de deux composantes du comportement chez le rat sous l'effet de psychotropes. Application à l'étude des anxiolytiques. *Psychopharmacologia*, **31**, 77-90.
- Tillmann, S. ve Wegener, G. (2019). Probiotics reduce risk-taking behavior in the elevated plus maze in the flinders sensitive linerat model of depression. *Behavioural Brain Research*, **359**, 755-762.
- Tissot, R. (1975). The common pathophysiology of monoaminergic psychoses: a new hypothesis. *Neuropsychobiology*, **1**, 243-260.
- Tsitsipa, E. ve Fountoulakis, K.N. (2015). The neurocognitive functioning in bipolar disorder: a systematic review of data. *Annals of General Psychiatry*, **14**, 42.
- Tufik, S., Andersen, M. L., Bittencourt, L.R.A. ve de Mello, M.T. (2009). Paradoxical sleep deprivation: neurochemical, hormonal and behavioral alterations. Evidence from 30 years of research. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, **81**, 521-538.

- Turner, R.S., Taylor, R.L., Mazzei, G.J., Girard, P.R. ve Kuo, J.F. (1984). Developmental studies of phospholipid sensitive Ca²⁺-dependent protein kinase and its substrates and of phosphoprotein phosphatases in rat brain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **81**, 3143-3147.
- Valvassori, S.S., Rezin, G.T., Ferreira, C.L., Moretti, M., Gonçalves, C.L., Cardoso, M.R. ve ark. (2010). Effects of mood-stabilizers on mitochondrial respiratory chain activity in brains of rats treated with d-amphetamine. *Journal of Psychiatry Research*, **44**, 903-909.
- Valvassori, S.S., Resende, W.R., Lopes-Borges, J., Mariot, E., Dal-Pont, G.C., Vitto, M.F. ve ark. (2015). Effects of mood stabilizers on oxidative stress-induced cell death signalling pathways in the brains of rats subjected to the ouabain-induced animal model of mania. Mood stabilizers exert protective effects against ouabain-induced activation of the cell death pathway. *Journal of Psychiatry Research*, **65**, 63-70.
- Valvassori, S.S., Dal-Pont, G.C., Resende, W.R., Jornada, L.K., Peterle, B.R., Machado, A.G. ve ark. (2017a). Lithium and valproate act on GSK-3 β signalling pathway to reverse manic-like behavior in an animal model of mania induced by ouabain. *Neuropharmacology*, **117**, 447-459.
- Valvassori, S.S., Dal-Pont, G.C., Resende, W.R., Varela, R.B., Peterle, B.R., Gava, F.F. ve ark. (2017b). Lithium and tamoxifen modulate behavior and protein kinase C activity in the animal model of mania induced by ouabain. *The International Journal of Neuropsychopharmacology*, **20**, 877-885.
- Valvassori, S.S., Resende, W.R., Dal-Pont, G.C., Sangaletti-Pereira, H., Gava, F.F., Peterle, B.R. ve ark. (2017c). Lithium ameliorates sleep deprivation induced mania-like behavior, hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis alterations, oxidative stress and elevations of cytokine concentrations in the brain and serum of mice. *Bipolar Disorders*, **19**, 246-258.
- van Enkhuizen, J., Geyer, M.A., Kooistra, K. ve Young, J. (2013). Chronic valproate attenuates some, but not all, facets of mania-like behavior in mice. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, **16**, 1021-1031

- Vogel, G.W. (1975). A review of REM sleep deprivation. *Archives of General Psychiatry*, **32**, 749-761.
- Vrabie, M., Marinescu, V., Talaşman, A., Tăutu, O., Drima, E. ve Miclutia, I. (2015). Cognitive impairment in manic bipolar patients: important, understated, significant aspects. *Annals of General Psychiatry*, **14**, 41.
- Wang, H.Y. ve Friedman, E. (1989). Effect of age on brain cortical protein kinase C and its mediation of 5-hydroxytryptamine release. *Journal of Neurochemistry*, **52**, 187-192.
- Wang, H.Y. ve Friedman, E. (1996). Enhanced protein kinase C activity and translocation in bipolar affective disorder brains. *Biological Psychiatry*, **40**, 568-575.
- Wang, H.Y., Markowitz, P., Levinson, D., Undie, A.S., Friedman, E. (1999). Increased membrane-associated protein kinase C activity and translocation in blood platelets from bipolar affective disorder patients. *Journal of Psychiatric Research*, **13**, 171-179.
- Willner, P. (1984). The validity of animal models of depression. *Psychopharmacology*, **83**, 1-16.
- Xie, F., Li, X., Bao, M., Shi, R., Yeu, Y., Guan, Y. ve ark. (2015). Anesthetic propofol normalized the increased release of glutamate and γ -amino butyric acid in hippocampus after paradoxical sleep deprivation in rats. *Neurological Research*, **37**, 1102-1107.
- Yatham, L.N., Liddle, P.F., Erez, J., Kauer-Sant'Anna, M., Lam, R.W., Imperial, M. ve ark. (2010). Brain serotonin-2 receptors in acute mania. *The British Journal of Psychiatry*, **196**, 47-51.
- Yildiz-Yesiloglu, A. ve Ankerst, D.P. (2006). Neurochemical alterations of the brain in bipolar disorder and their implications for pathophysiology: a systematic review of the in vivo protein magnetic resonance spectroscopy findings. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, **30**, 969-995.
- Yildiz, A., Guleryuz, S., Ankerst, D.P., Ongür, D. ve Renshaw, P.F. (2008). Protein kinase C inhibition in the treatment of mania: a double-blind, placebo-controlled trial of tamoxifen. *Archives of General Psychiatry*, **65**, 255-263.

- Yildiz, A., Ruiz, P. ve Nemeroff, C. (2015). *The Bipolar Book: History, Neurobiology, and Treatment*. (1st ed). New York: Oxford University Press.
- Yin, M., Chen, Y., Zheng, H., Pu, T., Marshall, C., Wu, T. ve ark. (2017). Assessment of mouse cognitive and anxiety-like behaviors and hippocampal inflammation following a repeated intermittent paradoxical sleep deprivation procedure. *Behavioural Brain Research*, **321**, 69-78.
- Young, L.T., Warsh, J.J., Kish, S.J., Shannak, K. ve Homykeiwicz, O. (1994). Reduced brain 5-HT and elevated NE turnover and metabolites in bipolar affective disorder. *Biological Psychiatry*, **35**, 121-127.
- Young, J.W., Henry, B.L. ve Geyer, M.A. (2011a). Predictive animal models of mania. hits, misses and future directions. *British Journal of Pharmacology*, **164**, 1263-1284.
- Young, J.W., van Enkhuizen, J., Winstanley, C.A. ve Geyer, M.A. (2011b). Increased risk taking behavior in dopamine transporter knockdown mice: further support for a mouse model of mania. *The Journal of Psychopharmacology*, **25**, 934-943.
- Zhou, Z., Wang, Y., Tan, H., Bharti, V., Che, Y. ve Wang J.F. (2015). Chronic treatment with lithium inhibits amphetamine-induced risk-taking manic-like behaviors. *Neuroscience Letters*, **603**, 84-88.

ETİK KURUL KARARI



T.C
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU



Sayın Prof. Dr. Nurhan ENGİNAR
İstanbul Üniversitesi
İstanbul Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Karar No:2019/ 07

Başvuru : 09.10.2019/ 71322

Toplantı Tarihi : 11.10.2019

Sorumluluğunu üstlendiğiniz, aşağıda çalışma materyali belirtilen "Farelerde Uyku Yoksunluğu Mani Modelinde Tamoksifenin Etkilerinin ve Beyin Bölgelerinde Glutamat ve Glutamin Düzeylerinin Araştırılması" isimli projeniz Kurulumuz tarafından incelenmiş ve Etik Kurul ilkelerine uygun bulunmuştur.

Çalışılacak Hayvanın	Türü	Fare
	Cinsiyeti	Erkek
	Sayısı	32
Proje Başlangıç/Bitiş Tarihi	15.10.2019/31.12.2019	

Prof. Dr. Ufuk KOLAK
Başkan

Prof. Dr. Alper OKYAR
Başkan Yardımcısı

Prof. Dr. Mustafa Oral ÖNCÜL
Üye

Prof. Dr. Bülent AYBAR
Üye

Prof. Dr. Hatice Bilge BECERİR
Üye

Prof. Dr. Uğur AKSU
Üye

Doç. Dr. Aygöl EKİCİ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Aydın ÇEVİK
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Fatma TEKELİ
Üye

Mak. Yük. Müh. Dr. Burak
OLGUN Üye

Av. Selma DEMİR
Üye

İstanbul Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı İstanbul Üniversitesi Merkez Kampüsü, 34452 Beyazıt/Fatih-İstanbul
Tel: 0 212 440 20 89 / 106889
e-posta: hadyek@istanbul.edu.tr Elektronik Ağ: www.istanbul.edu.tr

İNTİHAL RAPORU İLK SAYFASI

FARELERDE UYKU YOKSUNLUĞU MANİ MODELİNDE
TAMOKSİFENİN ETKİLERİNİN VE BEYİN BÖLGELERİNDE
GLUTAMAT VE GLUTAMİN DÜZEYLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ORJİNALLIK RAPORU

% 4	% 2	% 2	% 3
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Istanbul University Öğrenci Ödevi	% 1
2	www.webzi.net İnternet Kaynağı	<% 1
3	Submitted to Ege Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
4	dergipark.ulakbim.gov.tr İnternet Kaynağı	<% 1
5	Submitted to Akdeniz University Öğrenci Ödevi	<% 1
6	bmccomplementalternmed.biomedcentral.com İnternet Kaynağı	<% 1
7	orca.cf.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1
8	sualti.org İnternet Kaynağı	<% 1

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Selda	Soyadı	Özakman
Doğ.Yeri	Bolu	Doğ.Tar.	1977
Email	seldaozakman@yahoo.co.uk	Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mez. Yılı
Doktora		
Yük.Lis.	Hacettepe Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji AbD.	2003
Lisans	Hacettepe Ü. Eczacılık Fakültesi	1999
Lise	Bolu Atatürk Lisesi	1995

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

	Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
1.	Eczacı	Tuzla Devlet Hastanesi	1 yıl
2.	Eczacı	Kartal Yavuz Selim Hastanesi	5 yıl
3.	Farmakovijilans Sorumlusu	Avicenna Farma	1 yıl

Yabancı Dilleri	Okuduğunu Anlama*	Konuşma*	Yazma*	KPDS/ÜDS Puanı	(Diğer) Puanı
İngilizce	İyi	Orta	Orta	80	
Fransızca	Az	Az	Az		

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendirin

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
LES Puanı			
(Diğer) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	Kullanma becerisi
Word	İyi
Excel	Orta
Powerpoint	İyi

Yayınları/Tebliğleri Sertifikaları/Ödülleri

Ozakman S. ve Uma S. (2005). The effects of superoxide anion generators on responses to exogenous nitric oxide and non-adrenergic, non-cholinergic nerve stimulation in rat isolated penile bulb. Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology, 97, 179-184.

Özel İlgi Alanları (Hobileri): Kitap okumak, müzik, sinema