

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



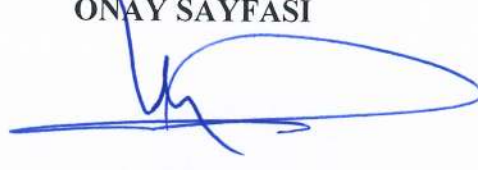
KRONİK HAFİF STRES İLE OLUŞTURULAN SIÇAN
DEPRESYON MODELİNDE İYON KANAL
İNHİBİTÖRLERİNİN TEDAVİ ETKİNLİĞİNİN
BELİRLENMESİ

DOKTORA TEZİ

İlay BURAN

2019

ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Ebru ÖNALAN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul

edilmiştir.

Doç. Dr. Ebru ÖNALAN

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Doç Dr. Ebru ÖNALAN

Prof. Dr İbrahim TEKEDERELİ

Doç. Dr. Emine KAÇAR

Doç Dr. Gülay Güleç CEYLAN

Dr. Öğr. Üyesi Deniz ŞEN





ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Arş Gör. İlay BURAN

Tarih: 06.01.2020

İmza:

Danışman

Doç. Dr. Ebru ÖNALAN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ

İTHAF SAYFASI



Sevgili Aileme...

TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimim boyunca bilgilerinden, fikirlerinden ve deneyimlerinden yararlandığım, akademik gelişimime önemli katkılarda bulunan değerli danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ebru ÖNALAN'a, engin birikimi ile her daim yol gösteren hocam Sayın Prof. Dr. Halit ELYAS'a tez çalışmaları sürecindeki yardım ve önerileri için tez izleme kurulu üyeleri Sayın Doç. Dr. Emine KAÇAR'a ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Deniz Şen'e teşekkürlerimi sunarım.

Tezimin deneysel kısmında desteğini esirgemeyen çalışma arkadaşım Arş. Gör. Dr. Ahmet TEKTEMUR'a, Anabilim Dalı'mız lisansüstü öğrencileri Şebnem Nur KEKE'ye, Gizem BİRCAN'a ve Biyomühendislik Bölümü lisansüstü öğrencisi, kardeşim Abayhan BURAN'a teşekkür ederim.

Deney hayvanları üzerinde yaptığımız çalışmalar sırasındaki yardımları için Sayın Dr. Öğr. Üyesi Özgür BULMUŞ'a, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi (FÜDAM) personeli Sayın Lütfi DEMİREL'e, Suat DOĞAN'a ve Veysel ÇAK'a teşekkür ederim.

Tez çalışmama sağladığı finansman desteğinden dolayı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (FÜBAP) birimine teşekkür ederim.

Son olarak hayatımın her anında destek ve sevgilerini yürekten hissettiğim annem Gülay BURAN'a ve babam Ahmet BURAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
ETİK BEYAN	iii
İTHAF SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR	xii
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Majör Depresif Bozukluğun Tanımı	5
3.1.1. DSM-V Major Depresif Bozukluk Tanı Kriterleri	5
3.2. Majör Depresif Bozukluğun Tarihçesi	6
3.3. Majör Depresif Bozukluğun Epidemiyolojisi	7
3.4. Majör Depresif Bozukluğun Etiyolojisi	9
3.4.1. Biyolojik Etkenler	9
3.4.2. Genetik Etkenler	14
3.4.3. Çevresel ve Psikososyal Nedenler	16
3.5. Majör Depresif Bozukluğun Nöroanatomisi	16
3.6. Majör Depresif Bozukluğun Tedavisi	17
3.6.1. Majör Depresif Bozukluğun Tedavisinde Kullanılan Antidepresanlar	17

3.7. Majör Depresif Bozukluk Çalışmalarında Kullanılan Hayvan Modelleri ve Davranış Testleri	19
3.7.1. Davranışsal Modeller ve Testler	19
3.7.2. Genetik modeller	23
3.7.3. Farmakolojik Modeller	23
3.7.4. Cerrahi Modeller	24
3.8. İyon Kanalları	24
3.8.1. Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalları	26
3.8.2. Potasyum Kanalları	27
3.8.3. Asit Duyarlı İyon Kanalları (ASICs)	33
3.8.4. Geçici Reseptör Potansiyel (TRP) Kanalları	34
3.8.5. Nikotinik Asetilkolin Reseptörü (nAChR) Kanalı	36
3.8.6. Sıklık Nükleotid Kapılı Kanallar	37
3.9. İyon Kanal İnhibitörleri	38
3.10. Majör Depresif Bozuklukta İyon Kanallarının Rolü	39
3.11. mikroRNA'lar	40
3.12. miRNA Biyogenezi ve Susturma Mekanizması	41
3.13. miRNA ve Depresyon İlişkisi	43
3.14. Majör Depresyonda İyon Kanalları ve miRNA İlişkileri	44
4. GEREÇ VE YÖNTEM	48
4.1. Deney Hayvanları	48
4.2. Deney Grupları	48
4.3. Çalışma Planı ve Metodu	49
4.4. İlaçların Hazırlanması ve Uygulanması	51
4.5. Kronik Hafif Stres ile Depresyon Modelinin Oluşturulması	52
4.6. Davranış Testleri	53

4.6.1. Sükroz Tercih Testi	54
4.6.2. Zorunlu Yüzme Testi	54
4.6.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	55
4.7. Hayvanların Dekapite Edilmesi ve Dokuların Alınması	56
4.8. Biyokimyasal Analizler	57
4.8.1. ELISA Analizleri	57
4.9. Moleküler Analizler	59
4.9.1. Beyin Örneklerinden Total RNA İzolasyonu	59
4.9.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi	60
4.9.3. Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR) ile cDNA Amplifikasyonu	62
4.10. İstatistiksel Analizler	70
5. BULGULAR	71
5.1. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlık Parametreleri	71
5.2. Davranış Testlerinin Sonuçları	72
5.2.1. Sükroz Tercih Testi Verilerinin Analizi	72
5.2.2. Zorunlu Yüzme Testi Verilerinin Analizi	73
5.2.3. Açık Alan Testi Verilerinin Analizi	75
5.2.4. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Verilerinin Analizi	76
5.3. ELISA Verilerinin Analizi	83
5.4. qRT-PCR Verilerinin Analizi	84
5.4.1. İyon Kanal İfadelerinin Analizi	84
5.4.2. miRNA İfadelerinin Analizi	90
6. TARTIŞMA	97
KAYNAKLAR	144
ÖZGEÇMİŞ	181

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Sıçan beyinde ifade edilen bazı voltaj kapılı kalsiyum kanalları ve bilinen fonksiyonları	27
Tablo 2: Sıçan beyinde ifade edilen bazı potasyum kanalları ve bilinen fonksiyonları	29
Tablo 3: Sıçan beyinde ifade edilen bazı asit duyarlı iyon kanalları ve bilinen fonksiyonları	34
Tablo 4: Sıçan beyinde ifade edilen bazı TRP kanalları ve bilinen fonksiyonları	35
Tablo 5: Sıçan beyinde ifade edilen bazı nikotinik asetilkolin reseptör kanalları ve bilinen fonksiyonları	37
Tablo 6: Sıçan beyinde ifade edilen bazı siklik nükleotid kapılı kanallar ve bilinen fonksiyonları	38
Tablo 7: Mevcut çalışmada kullanılan iyon kanal inhibitörleri	39
Tablo 8: Mevcut çalışmada ifadesi incelenen miRNA'lar ve hedefledikleri iyon kanalları	46
Tablo 9: Mevcut çalışmada kullanılan iyon kanal inhibitörleri	52
Tablo 10: Kronik hafif stres ile MDB modeli oluşturmak amacı ile sıçanlara uygulanan stres faktörleri	53
Tablo 11: cDNA sentezi için gerekli bileşikler ve miktarları	61
Tablo 12: cDNA sentezi için PCR programı	61
Tablo 13: Pre-cDNA için gerekli bileşiklerin miktarları ve karışımın bekletileceği sıcaklıklar	62
Tablo 14: qRT-PCR için kullanılan bileşikler ve miktarları	63
Tablo 15: qRT-PCR programı	63
Tablo 16: İyon kanal genlerinin ifadelerinin qRT-PCR'da analizi için kullanılan sıçan spesifik primerler	64

Tablo 17: miRNA ifadelerinin qRT-PCR ile değerlendirilmesi için kullanılan sıçan spesifik primerler	68
Tablo 18: 7 Haftalık KHS uygulamasının sıçanların vücut ağırlığına etkisi	71
Tablo 19: KHS uygulaması süresince grupların sükroz çözeltisi tüketim miktarları (ml)	73
Tablo 20: ZYT’de sıçanların hareketsizlik, tırmanma ve yüzme parametreleri (sn)	74
Tablo 21: Grupların açık alan testinde gösterdiği davranış parametreleri	79
Tablo 22: Grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki davranış parametreleri	81
Tablo 23: Grupların nörotransmitter seviyelerindeki değişimler (ng/ml)	84
Tablo 24: Kronik hafif stresin (KHS grubunun) iyon kanal ifadeleri üzerine etkisi	85
Tablo 25: Hipokampus dokusunda TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarını hedefleyen miRNA’ların ifade değişimleri	92
Tablo 26: Prefrontal korteks dokusunda TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarını hedefleyen miRNA’ların ifade değişimleri	95

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: miRNA Biyogenezi	43
Şekil 2: KHS uygulaması süresince kontrol ve KHS gruplarının vücut ağırlık değişimleri	72
Şekil 3: KHS uygulaması süresince Kontrol ve KHS gruplarının yüzde (%) sükkroz tercihi	73
Şekil 4: ZYT’de sıçanların hareketsizlik, tırmanma ve yüzme süreleri	74
Şekil 5: Grupların açık alan testinde gösterdiği davranış parametreleri	80
Şekil 6: Grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki davranış parametreleri	82
Şekil 7: Kontrol ve KHS grubunun hipokampus dokusunda, iyon kanal genlerinin ifadelerinin clustergram analizi ve ısı haritası grafiği	88
Şekil 8: Kontrol ve KHS grubunun prefrontal korteks dokusunda, iyon kanal genlerinin ifadelerinin clustergram analizi ve ısı haritası grafiği	89
Şekil 9: Hipokampus dokusunda TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarını hedefleyen miRNA’ların ifadelerinin clustergram analizi ve ısı haritası grafiği	94
Şekil 10: Prefrontal korteks dokusunda, TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarını hedefleyen miRNA'ların ifadelerinin clustergram analizi ve ısı haritası grafiği	96

KISALTMALAR

µl	: Mikrolitre
µM	: Mikromolar
3'-UTR	: 3'-Untranslated Region (3'- Çevrilmemiş Bölge)
4-AP	: 4-aminopyridine
5-HT	: Serotonin
5-http	: 5-Hidroksitriptofan
9-Phe	: 9-Phenanthrol
Å	: Angström
AANAT	: Aralkylamine N-Acetyltransferase
AAT	: Açık Alan Testi
ACh	: Asetilkolin
ACTB	: Beta Aktin
Ago-2	: Argonuate-2
ANK-3	: Ankyrin-3
ASIC2 (Accn2)	: Acide Sensitive Ion Channel 2
ASIC3 (Accn3)	: Acide Sensitive Ion Channel 3
ASICs	: Acide Sensitive Ion Channels (Asit duyarlı iyon kanalları)

BDNF	: Brain Derived Neurothropic Factor (Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör)
°C	: Santigrat Derece
Ca⁺²	: Kalsiyum İyonu
CACNA1A (Cav2.1)	: Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 A
CACNA1B (Cav2.2)	: Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 B
CACNA1C (Cav1.2)	: Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 C
CACNA1E (Cav2.3)	: Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 E
CACNA1H (Cav3.2)	: Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 H
cAMP	: Siklik Adenozin Mono Fosfat
Cav	: Voltaj kapılı kalsiyum kanalları
cDNA	: Komplementer DNA
CHRNA1	:Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 1
CHRNA2	:Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 2
CHRNA3	:Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 3
CHRNA4	:Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 4
CHRNA5	:Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 5
CHRNA6	:Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 6
CHRNA7	:Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 7

CHRNA9	:Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 9
CHRNA10	:Cholinergic Receptor Nicotinic Alpha 10
CHRNA1	:Cholinergic Receptor Nicotinic Beta 1
CHRNA2	:Cholinergic Receptor Nicotinic Beta 2
CHRNA3	:Cholinergic Receptor Nicotinic Beta 3
CHRNA4	:Cholinergic Receptor Nicotinic Beta 4
CHRE	:Cholinergic Receptor Nicotinic Epsilon
CHRG	:Cholinergic Receptor Nicotinic Gamma
Cl⁻	: Klor İyonu
CLOCK	: Circadian Locomotor Output Cycles Kaput
cm	: Santimetre
COMT	: Katekol-O-Metiltransferaz
CREB	: cAMP Response Element Binding Protein
DA	: Dopamin
DEG/ENaC	: Degenerin/Epitelyal Sodyum Kanalı
DGCR8	: DiGeorge Kritik Sendrom Bölgesi 8
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DNA	: Deoksiribokükleik Asit
DSM-V	: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders V

DPAG	: Dorsal Periakuaduktal Gri Bölge
DTX	: α -dendrotoxin
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay (Enzim-bağlı İmmünosorbent Deneyi)
FÜDAM	: Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi
GABA	: Gama Aminobutirik Asit
Gr	: Gram
HCN1	: Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 1
HCN2	: Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 2
HCN3	: Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 3
HCN4	: Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 4
HPA	: Hipotalamo-Pituiter-Adrenal Eksenı
HPG	: Hipotalamo - Pituiter - Growth Hormon Eksenı
HPT	: Hipotalamik-Pitüiter-Tiroid Eksenı
IL	: İnterlökin
K⁺	: Potasyum İyonu

K2P : İki gözenekli potasyum kanalları

KCNA1 (Kv1.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 1

KCNA2 (Kv 1.2) :Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 2

KCNA3 (Kv 1.3) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 3

KCNA6 (Kv 1.6) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 6

KCNA7 (Kv 1.7) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 7

KCNAB1 (Kvβ1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member
Regulatory Beta Subunit 1

KCNAB2 (Kvβ2) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member
Regulatory Beta Subunit 2

KCNAB3 (Kvβ3) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member
Regulatory Beta Subunit 3

KCNB1 (Kv 2.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily B Member 1

KCNB2 (Kv 2.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily B Member 2

KCNC1 (Kv 3.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily C Member 1

KCNC2 (Kv 3.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily C Member 2

KCNC3 (Kv 3.3) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily C Member 3

KCNC4 (Kv 3.4) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily C Member 4

KCND1 (Kv 4.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily D Member 1

KCND2 (Kv 4.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily D Member 2

KCND3 (Kv 4.3) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily D Member 3

KCNE2 : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily E Regulatory Subunit 2

KCNE3 : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily E Regulatory Subunit 3

KCNE4 : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily E Regulatory Subunit 4

KCNF1 (Kv 5.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily F Member 1

KCNG1 (Kv 6.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily G Member 1

KCNG2 (Kv 6.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily G Member 2

KCNG3 (Kv 6.3) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily G Member 3

KCNG4 (Kv 6.4) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily G Member 4

KCNH1 (Kv 10.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 1

KCNH2 (Kv 11.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 2

KCNH3 (Kv 12.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 3

KCNH4 (Kv 12.3) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 4

KCNH5 (Kv 10.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 5

KCNH6 (Kv 11.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 6

KCNH7 (Kv 11.3) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 7

KCNH8 (Kv 12.1): Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 8

KCNJ2 (Kir2.1)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 2
KCNJ3 (Kir3.1)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 3
KCNJ4 (Kir2.3)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 4
KCNJ5 (Kir3.4)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 5
KCNJ6 (Kir3.2)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 6
KCNJ8 (Kir6.1)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 8
KCNJ9 (Kir3.3)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 9
KCNJ10 (Kir4.1)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 10
KCNJ11 (Kir6.2)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 11
KCNJ12 (Kir2.2)	: Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 12

KCNJ13 (Kir7.1) : Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 13

KCNJ14 (Kir2.4) : Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 14

KCNJ16 (Kir5.1) : Potassium Inwardly-Rectifying Channel, Subfamily J, Member 16

KCNK1 (TWIK1) : Potassium Channel Subfamily K Member 1

KCNK10 (TREK2) : Potassium Channel Subfamily K Member 10

KCNK12 (THIK2) : Potassium Channel Subfamily K Member 12

KCNK13 (THIK1) : Potassium Channel Subfamily K Member 13

KCNK15 (TASK5) : Potassium Channel Subfamily K Member 15

KCNK18 (TRESK2) : Potassium Channel Subfamily K Member 18

KCNK2 (TREK1) : Potassium Channel Subfamily K Member 2

KCNK3 (TASK1) : Potassium Channel Subfamily K Member 3

KCNK4 (TRAAK1) : Potassium Channel Subfamily K Member 4

KCNK5 (TASK2) : Potassium Channel Subfamily K Member 5

KCNK6 (TWIK2) : Potassium Channel Subfamily K Member 6

KCNK9 (TASK3) : Potassium Channel Subfamily K Member 9

KCNQ1 (Kv 7.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 1

KCNQ2 (Kv 7.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 2

KCNQ3 (Kv 7.3) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 3

KCNQ4 (Kv 7.4) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 4

KCNQ5 (Kv 7.5) : Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 5

KCNS1 (Kv 9.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily S
Member 1

KCNS2 (Kv 9.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily S
Member 2

KCNS3 (Kv 9.3) : Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily S
Member 3

KCNV1 (Kv 8.1) : Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily V
Member 1

KCNV2 (Kv 8.2) : Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily V
Member 2

K.D : Kat değişimi

Kg : Kilogram

KHS : Kronik Hafif Stres

Kir : İeri Doğrultucu (Inwardly Rectifying) K⁺ Kanalları

Kv : Voltaj Kapılı K⁺ Kanalları

MAO : Monoamin Oksidaz

MDB : Majör Depresif Bozukluk

Mg	: Miligram
miRNA	: Mikro Ribonükleik Asit
ml	: Mililitre
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Asit
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NA	: Noradrenalin
Na⁺	: Sodyum İyonu
nAChR	: Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri
ncRNA	: Non Coding Ribonucleic Acid (Kodlamayan Ribonükleik Asit)
ng	: Nanogram
NGF	: Neuron Growth Factor (Nöron büyüme faktörü)
Nm	: Nanometre
NMDAR	: N-Metil-D-Aspartat Reseptörleri
NT	: Nörotrofin
OD	: Optik Dansite
P2X7	: Purinergic Receptor P2X, Ligand Gated Ion Channel 7
PBS	: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi; Phosphate Buffered Saline
PER3	: Human Period 3

pri-miRNA	: Primer mikroRNA
pre-miRNA	: Prekürsör (öncü) mikroRNA
qRT-PCR	: Quantitative Real Time Polymerase Chain Reaction (Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
RISC	: RNA-Induced Silencing Complex
RNA	: Ribonükleik Asit
SERT	: Sertonin transporter (serotonin taşıyıcısı)
SF	: Serum Fizyolojik
SLC6A2/4/6	: Solute Carrier Family 6 Member 2/4/6
SSRI	: Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri)
STT	: Sükroz Tercih Testi
TEA	: Tetraethylammonium
TH	: Tirozin Hidroksilaz
TNF	: Tumor Necrosis Factor (Tümör Nekroz Faktörü)
TRH	: Thyrotropin Releasing Hormone (Tirotropin Salgılatıcı Hormon)
TRP	: Geçici Reseptör Potansiyeli (Transient Receptor Potential)
TRPA1	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily A (Ankyrin) member 1

TRPC1	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily C (Canonical) member 1
TRPC2	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily C (Canonical) member 2
TRPC3	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily C (Canonical) member 3
TRPC4	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily C (Canonical) member 4
TRPC5	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily C (Canonical) member 5
TRPC6	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily C (Canonical) member 6
TRPC7	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily C (Canonical) member 7
TRPM1	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily M (Melastatin) member 1
TRPM2	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily M (Melastatin) member 2
TRPM3	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily M (Melastatin) member 3

TRPM4	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily M (Melastatin) member 4
TRPM5	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily M (Melastatin) member 5
TRPM6	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily M (Melastatin) member 6
TRPM7	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily M (Melastatin) member 7
TRPM8	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily M (Melastatin) member 8
TRPV1	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily V (Vanilloid) member 1
TRPV2	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily V (Vanilloid) member 2
TRPV3	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily V (Vanilloid) member 3
TRPV4	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily V (Vanilloid) member 4
TRPV5	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily V (Vanilloid) member 5

TRPV6	: Transient Receptor Potential Cation Channel, Subfamily V (Vanilloid) member 6
TSA	: Trisiklik Antidepresan
TSH	: Tyroid Stimulant Hormone (tiroid uyarıcı hormon)
YALT	: Yükseltilmiş Artı Labirent Testi
ZYT	: Zorunlu Yüzme Testi



1. ÖZET

Majör depresif bozukluk (MDB), yaygın bir ruh sağlığı problemidir. Hastalığın patofizyolojisinde iyon kanallarının ve miRNA'ların fonksiyonu olduğu bilinmektedir. Mevcut çalışmamızda, kronik hafif stres (KHS) MDB modelinde, beynin hipokampus ve prefrontal korteks dokularında sentezlenen 115 iyon kanalının ifadesinin değerlendirilmesi ve artış yönünde değişimi tespit edilen 3 iyon kanalına spesifik inhibitörlerin tedavi etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, Wistar albino erkek sıçanlar; Kontrol, KHS, Sham ve KHS+ inhibitör grupları şeklinde ayrıldı. MDB, 7 haftalık KHS uygulamasıyla oluşturuldu. Kontrol ve KHS gruplarında qRT-PCR ile iyon kanallarının ifadeleri belirlendi. İfadesi yüksek olan 3 iyon kanalına (TRPC1, CHRNA6, TRPM4) spesifik inhibitörlerle (Pico145, BpiDI, 9-Phenanthrol) deneklere tedavi uygulandı. Bu iyon kanallarını hedefleyen miRNA'ların ifadeleri değerlendirildi. KHS'nin ve tedavilerin etkisi, davranış deneyleriyle ve nörotransmitter düzeylerinin ölçülmesiyle belirlendi.

Sonuçlarımıza göre KHS, hipokampusta 13, prefrontal kortekste 16 iyon kanalının ifadesinde anlamlı artışa neden olmuştur. Zorunlu yüzme testinde ve yükseltilmiş artı labirent testinde Pico145, BpiDI ve 9-Phenanthrol'un, açık alan testinde Pico145'in antidepresan benzeri etkisinin olduğu belirlenmiştir. Tüm grupların beyinlerinin serotonin ve noradrenalin seviyelerinde değişim olmazken dopamin seviyelerinin arttığı, KHS ve KHS+Pico145 gruplarında ise asetilkolin seviyelerinin azaldığı görülmüştür. Değerlendirilen iki dokuda da miRNA'lardan

6'sının KHS'de ifadesinin anlamlı değiştiği belirlenmiştir. İnhibitörlerden BpiDl'nin miR-6334'ün ve Pico145'in de miR-875'in ifadesini değiştirdiği görölmüştür.

Bulgularımız, iyon kanallarının ve miRNA'ların depresyon patofizyolojisinde rol oynadığını, özellikle TRPC1/4/5 inhibitörü Pico145'in tedavi etkinliğinin yüksek olduğunu ayrıca asetilkolin ve dopaminin nörotransmitter ağdaki önemini ortaya koymuştur. Çalışmamızın, MDB patofizyolojisiyle ilişkili farklı mekanizmaların aydınlatılmasına ve hastalığın tedavisinde iyon kanallarının kullanımına ilişkin yapılacak farmasotik çalışmalara önemli katkılar sağlayacağı düşünölmektedir.

Anahtar Kelimeler: Kronik Hafif Stres; Majör Depresif Bozukluk; İyon Kanal İnhibitörü; mikroRNA.

2. ABSTRACT

The Determination of Therapeutic Effects of Ion Channel Inhibitors in Rat Depression Model of Induced with Chronic Mild Stress

Major depressive disorder (MDD) is a common mental health problem. It is known that ion channels and miRNAs have function in the pathophysiology of depression. In our study, we aimed to evaluate the expression of 115 ion channels synthesized in the prefrontal cortex and hippocampus tissues of the brain in the Chronic Mild Stress (CMS) MDD model and to use the specific inhibitors of upregulated 3 ion channels as treatment. It was also aimed to investigate the effect of these inhibitors on miRNAs targeting selected channels.

Wistar albino male rats were used in the study. The subjects were divided into: Control, CMS, Sham, and CMS+Inhibitor. 7 weeks of CMS was used to induce MDD. Expression of ion channels in Control and CMS groups was determined through qRT-PCR. The rats were treated with inhibitors (Pico145, BpiD1, 9-Phenanthrol) that are specific to the 3 upregulated ion channels (TRPC1, CHRNA6, TRPM4). The expressions of miRNAs targeting these 3 ion channels were evaluated. The effect of CMS and the treatments was determined by behavioral experiments and by measuring neurotransmitter levels.

We found that CMS lead to a significant increase in the expression of 13 ion channels in the hippocampus, and 16 ion channels in the prefrontal cortex. It was determined that Pico145, BpiD1 and 9-Phenanthrol had antidepressant-like effects in forced swimming test and elevated plus maze test and just Pico145 had antidepressant-like effects in open field test. In all groups, serotonin and

noradrenaline levels remained unchanged, whereas dopamine levels increased. Also, acetylcholine levels decreased in the CMS and the CMS+Pico145 groups. Significant changes in the expression of 6 miRNAs in CMS were determined in both tissues evaluated. It was observed that BpiD1 only increased the expression of miR-6334 and Pico145 altered the expression of miR-875.

Our findings showed that ion channels and miRNAs play a role in the pathophysiology of depression, especially the treatment efficacy of TRPC1/4/5 inhibitor Pico145 is high and acetylcholine and dopamine are important in neurotransmitter network. It is thought that our findings will contribute to the pharmacological studies related to the use of ion channels in the treatment of MDD and to elucidate the different mechanisms related to its pathophysiology.

Keywords: Chronic Mild Stress; Major Depressive Disorder; Ion Channel Inhibitor; microRNA.

3. GİRİŞ

3.1. Majör Depresif Bozukluğun Tanımı

Majör depresif bozukluk (MDB), yaygınlığı tüm dünyada hızla artan, çevresel ve genetik gibi farklı faktörlerin sebep olabildiği, beynin yapısal ve fonksiyonel bozuklukları ile ilişkilendirilen oldukça karmaşık bir duygudurum bozukluğudur. Latince “depressus” kelimesinden köken alan depresyon, kelime anlamı olarak alçakta olmak, bastırmak gibi anlamlara gelmektedir (1). Depresyon gündelik hayatta genellikle üzüntü, keyifsizlik, umutsuzluk, yetersizlik ve ilgi eksikliği gibi duygular ile tanımlanmaktadır. Her insanın yaşayabileceği bu üzüntülü ruh hali ancak yoğun ve uzun süreli olduğunda majör depresyon olarak tanımlanmakta ve ilerlediği takdirde kişiyi intihara sürükleyebilmektedir (2, 3). Bu nedenle MDB’nin erken teşhisi ve uygun şekilde tedavi edilmesi oldukça önemlidir. Günümüzde MDB tanısı klinik muayene ve çeşitli semptomların subjektif olarak değerlendirilmesi ile konulmaktadır. Bugünkü şartlarda MDB tanı kriteri olarak onaylanmış bir biyobelirteç (biyomarker) bulunmamaktadır (4). Majör depresyonun tanısı çoğunlukla DSM-V (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders-V) ölçeği baz alınarak konulmaktadır (5).

3.1.1. DSM-V Major Depresif Bozukluk Tanı Kriterleri

Ardışık iki haftalık dönem içinde, aşağıdaki maddeler halinde verilen belirtilerden en az 5’inin, kişide görülmesi durumunda MDB tanısı konulmaktadır. Bu belirtilerden birinin mutlaka depresif ruh hali, zevk almama

(anhedoni) veya ilgisizlik olması gerekmektedir. DSM-V'e göre MDB'nin semptomları şunlardır;

1. Neredeyse her gün, günün büyük bir bölümünde üzüntülü duygudurumu,
2. Neredeyse her gün, günün büyük bir bölümünde etkinliklere olan ilginin belirgin şekilde azalması veya hayattan zevk alamama,
3. Diyet yapmadığı halde aşırı kilo değişimi (örn: bir ay içinde ağırlığının %5'inden daha çok olan bir değişiklik),
4. Neredeyse her gün, uykusuzluk ya da aşırı uyuma,
5. Neredeyse her gün, psikomotor ajitasyon ya da retardasyon,
6. Neredeyse her gün, bitkinlik ya da içsel gücün kalmaması (enerji düşüklüğü),
7. Neredeyse her gün, değersizlik ve suçluluk duyguları,
8. Neredeyse her gün, düşünmekte ve odaklanmakta güçlük çekme ya da kararsızlık yaşama,
9. Yineleyici kendini öldürme (intihar) düşünceleri, kendini öldürme girişimi ya da kendini öldürmek için özel bir eylem tasarlama (5).

3.2. Majör Depresif Bozukluğun Tarihçesi

Duygudurum bozuklukları, insanlık tarihi boyunca çeşitli çağlarda, değişik toplumlar tarafından gözlenmiş ve nedenleri sorgulanmıştır. Önceleri kötü ruhların, olağanüstü güçlerin veya insanlara kızan tanrıların cezalandırması nedeniyle olduğu sanılan ruhsal bozuklukların zamanla tıbbi bir durum olduğu anlaşılmıştır (6). Eber papirüsünde, Eski Ahit'te, Hindu tıbbi metinlerinde, antik çağlarda geçen öykülerde, destanlarda, çeşitli mitoloji ve dinlerde izine rastlanan depresyon, bilinen en eski psikiyatrik bozukluklardan birisidir (6, 7, 8). Ancak tıp

literatüründe depresyonun ilk tanımı, modern tıbbın kurucusu olarak bilinen Hipokrat (M.Ö. 5. yy) tarafından yapılmıştır (9). Hipokrat, üzüntülü ruh halinin kara safranın beyin üzerindeki etkisiyle gerçekleştiğini iddia ederek ilk kez ruhsal hastalıklarla beyin biyokimyası arasında bir ilişki kurmuş ve bu hastalığı melankoli (melan: siyah, cholé: safra) ismi ile tanımlamıştır (9, 10). İbni Sina (M.S. 980-1037), melankolinin vücut sıvılarının değişik miktarlardaki karışımından kaynaklandığı düşüncesi ile günümüz nörotransmitter hipotezinin öncüsü olmuştur (6). Modern çağa gelindiğinde 20. yy'da Meyers, Freud, Adler, Abraham, Bowlby, Rado, Jacobsen'in katkılarıyla depresyonun biyolojik ve psikososyal nedenleri aydınlatılmış ve psikobiyoloji terimi şekillenmiştir (11, 12). 1950'li yıllarda tüberküloz tedavisi sırasında kullanılan iproniazidinin tesadüfen duygudurum yükseltici etkilerinin olduğunun keşfedilmesi ve bunun nedeninin merkezi sinir sisteminde monoaminoksidaz enzim inhibisyonu olduğunun fark edilmesi ile beyin depresyondaki rolü daha da önem kazanmış ve psikofarmakoloji çağı başlamıştır (13). Günümüzde gelişen genetik bilimi, elektrofizyolojik ve radyolojik yenilikler, ilerleyen teknoloji ve ilaç biliminin katkıları ile duygudurum bozukluklarının etiyojisini aydınlatmaya yönelik çalışmalar hızla devam etmektedir (8).

3.3. Majör Depresif Bozukluğun Epidemiyolojisi

Majör depresyon; dünya çapında 322 milyon kişiyi etkileyen oldukça yaygın bir psikiyatrik hastalıktır (14). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre MDB; fiziksel, duygusal, toplumsal ve ekonomik sorunlara neden olan hastalıklar arasında dördüncü sırada yer almakta olup 2020 yılında toplumu en çok etkileyen hastalıklar arasında ikinci sırada olacağı öngörülmektedir (14). Yine dünya sağlık

örgütü verilerine göre depresyon kadınlarda (% 5.1) erkeklerden (% 3.6) daha fazla görülmektedir (14). Türkiye’de, Sağlık Bakanlığının 2011 yılında yaptığı Ulusal Ruh Sağlığı Eylem Planına göre; hastalık yüklerinin dağılımına bakıldığında başta depresyon olmak üzere psikiyatrik hastalıkların kardiyovasküler hastalıklardan sonra %19 oranla ikinci sırada yer aldığı görülmektedir (15). Türkiye’de depresyonun epidemiyolojisi ile ilgili en son veriler, 1998 yılında Sağlık Bakanlığının 7479 kişi üzerinde yaptığı, "Türkiye Ruh Sağlığı Profili" araştırması ile elde edilmiştir. Bu araştırmanın verilerine göre depresyonun yaygınlık oranları tüm nüfusta %4 oranında görülürken bu oran, kadınlarda % 5.4, erkeklerde ise % 2.3’tür (16). MDB’nin kadınlarda erkeklerden daha fazla görülmesine gebelik, menstrasyon, hormonal değişimler, genetik gibi biyolojik etmenlerin yanında, şiddete maruz kalma, baskılanma, kadına verilen toplumsal roller, beklentiler ve eğitim gibi faktörler neden olmaktadır (1). Çeşitli çalışmalarda depresyonun yaklaşık %37 oranında kalıtılabildiği ve birinci derece yakınlarında depresyon olan kişilerde 1.5-3 kat daha fazla oranda görüldüğü bildirilmektedir (17, 18). Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Müdürlüğü tarafından 2004’te yapılan “Ulusal hastalık yükü ve maliyet etkililik” projesinde 15-59 yaş aralığında en fazla yeti yitimine neden olan hastalık olarak MDB ilk sırada yer almaktadır (19). Majör depresyon; toplumda yüksek oranlarda görülmesi, tanısının güç olması, tedaviye yanıt alınamaması veya geç yanıt alınması ve hastalığın yinelenmesi gibi nedenlerle yüksek hastalık yüküne sahiptir (20). Günümüzde depresyon tedavisine yönelik çeşitli türlerde antidepresan ilaçlar geliştirilmiş olsa da yapılan çalışmalarda depresyon hastalarının ancak %50’sinin tedaviye cevap verdiği, %10-15 oranında hastanın ise tedaviye hiç yanıt

vermediği ve hastalığın yüksek oranlarda tekrarladığı belirlenmiştir (20, 21). Tedavi edilmeyen depresyon, kronikleşerek alkol veya uyuşturucu madde kullanımına ve intihara eğilimi arttırabilmektedir (22). İntihar vakalarının yaklaşık % 50-70'i psikolojik rahatsızlıklar nedeni ile gerçekleşmekte olup bu vakaların % 80'ini MDB tanılı hastalar oluşturmaktadır (2). Etkili bir şekilde tedavi edilemeyen depresyon hastalarının % 15'inin intihar ederek öldüğü bilinmektedir (23). Yarattığı ağır kişisel, toplumsal ve ekonomik sonuçlar nedeniyle MDB ile ilgili araştırmaların önemi giderek artmaktadır (24).

3.4. Majör Depresif Bozukluğun Etiyolojisi

Majör depresif bozukluğun etiyolojisinde biyolojik, genetik, çevresel ve psikolojik faktörler tek başına veya birlikte rol oynayabilmektedir (1).

3.4.1. Biyolojik Etkenler

3.4.1.1. Biyojenik Aminler

Majör depresyonun biyolojik etiyolojisi hakkındaki kuram, MDB'nin başta serotonin (5-HT), noradrenalin (NA), dopamin (DA) olmak üzere monoamin nörotransmitterlerin eksikliğine bağlı olduğunu ileri süren "Monoamin Hipotezi" ne dayanmaktadır (1, 25, 26). Bu üç temel nörotransmitter sistem dışında gama aminobutirik asit (GABA), asetilkolin (ACh), glutamat gibi nörotransmitterlerin de majör depresyon oluşumuna katkısı olduğu bilinmektedir (25, 27). Günümüzde yapılan araştırmalar, MDB etiyolojisinin sadece nörotransmitter hipotezleriyle açıklanamayacağını göstermiş ve gen ekspresyonunu düzenleyen moleküler mekanizmalara yönelinmiştir (11).

a. Serotonin: Serotonin sistemi beyindeki en büyük nörotransmitter sistemi topluluğudur (1). Serotonerjik nöronlarda triptofan aminoasiti, triptofan hidroksilaz enzimi ile 5-hidroksitriptofana (5-HTP) daha sonra L-aminoasit dekarboksilaz enzimi aracılığı ile serotonine dönüştürülmektedir (28). Serotonin; uykunun, iştahın, nöroendokrin işlevlerin ve duygudurumunun düzenlenmesinde rol oynamaktadır (11, 29). 1970'lerden itibaren MDB'ye serotonin sistemindeki düzensizliklerin neden olduğu düşüncesi önem kazanmış ve serotoninin geri alımını engelleyerek serotonerjik aktivitenin artmasını sağlayan seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) tedavi aracı olarak kullanılmaya başlanmıştır (29).

b. Dopamin: Katekolaminlerin çoğunluğunu oluşturan DA, merkezi sinir sisteminin (MSS) önemli nörotransmitterlerinden biridir (30). Dopaminerjik nöronlarda L-tirozin aminoasidi, tirozin hidroksilaz enzimi aracılığı ile dopa'ya, dopa ise dopa dekarboksilaz enzimi vasıtasıyla dopamine dönüştürülmektedir (29). Majör depresyonda mezolimbik dopamin sistem fonksiyonunda bozulma olduğu bilinmektedir (31). Dopamin düzeylerinin azalması, lokomotor aktivite, davranışlar ve bazı endokrin fonksiyonları etkileyerek MDB'ye neden olmaktadır (26).

c. Norepinefrin (Noradrenalin): Noradrenerjik nöronlar beyinde temel olarak lokus seruleus bölgesinde yer almaktadır (32). Noradrenerjik alanların uyarılmasının haz verici duygular yaratması nedeniyle bu bölgenin işlevlerinin bozulması sonucu bilişsel bozukluklara ek olarak MDB, anksiyete gibi duygulanım belirtileri ortaya çıkmaktadır (29, 32). Dopaminin, beta hidroksilaz enzimi ile etkileşmesi sonucu noradrenerjik nöronlarda sentezlenen NA

seviyelerinin azalması; ilgi kaybı, zevk alamama, odaklanamama, ümitsizlik ve karamsarlık gibi semptomlar oluşturabilmektedir (29, 33, 34).

d. Asetilkolin: Asetilkolin sinir impulslarının sinapslardan geçişini kolaylaştıran bir nörotransmitterdir (26). Kolinerjik sinirlerde asetilkolin sentezi serbest kolinin, kolin asetiltransferaz enzimi aracılığı ile asetile edilmesiyle olmaktadır (35). Majör depresyonda kolinerjik/noradrenerjik dengenin kolinerjik etkinlik lehine bozulduğu bilinmektedir (36). Kolinerjik aktiviteyi arttıran bazı ilaçların depresif semptomlara benzer etkiler ortaya çıkarması ve trisiklik antidepresenlardaki antikolinerjik etki bu hipotezi desteklemektedir (26).

3.4.1.2. Monoamin Reseptörleri

Majör depresyonun etiyolojisinde sadece beyindeki monoamin düzeylerinin değil, bunun yanında reseptör sayısı, duyarlılığı, gen ekspresyonundaki değişikliklerin ve bu reseptörlerin tetiklediği ikincil moleküler olayların da önemi bulunmaktadır (37, 38). Nörotransmitter eksikliği postsinaptik nörotransmitter reseptörlerinin sayılarında artışa neden olmaktadır (38).

3.4.1.3. Nöroendokrin Sistem

Hormonların MDB etiyopatogenezi ile ilişkisi üç açıdan değerlendirilmektedir. Birincisi, bazı peptid hormonlar klasik nörotransmitterler gibi işlev görebilmektedirler. İkinci olarak, nöroendokrin eksen hormonları kan yoluyla beyne taşınarak, geri besleme (feedback) mekanizması oluşturup nöronal fonksiyonu etkileyebilmektedirler. Üçüncü olarak da, MDB bazı nöroendokrin eksenlerin hiperaktivitesi veya hipoaktivitesi ile seyredebilmektedirler (11).

Günümüzde yapılan araştırmalar stres durumunda endokrin reaksiyonların Hipotalamo-Pituiter-Adrenal (HPA) eksen aktivasyonu ile gösterildiği bildirilmektedir (39). Kronik stres sonucu HPA ekseninin aşırı aktivasyonunun özellikle glukokortikoid salınımında artışa ve başta hipokampus olmak üzere beyin bölgelerinde nöroanatomik değişikliklere neden olarak MDB oluşumuna yol açtığı düşünölmektedir (25).

Hipotalamik-Pitüiter-Tiroid Ekseni (HPT), hipotalamustaki tirotropin salgılatıcı hormon (Thyrotropin Releasing Hormone (TRH)) salgılayan nöronlardan başlayıp tiroid bezinin folliköler hücrelerinde sonlanmaktadır (40). Nöronal uyarılabilirlik (eksitabilite), davranış ve nörotransmitter düzenlenmesine direk etkisi bulunan TRH, kalsiyum fosfoinozitol'ü kullanarak tiroid uyarıcı hormon (Tyroid Stimulant Hormone (TSH)) sentezini başlatmaktadır (11, 40). Hipertiroidizmde genellikle anksiyete, yorgunluk, depresyon, değişken ruh hali ve ajitasyon gözlenmektedir (11). HPT eksenindeki işlev bozukluklarının antidepresan tedavisini kötü yönde etkilediği ve hastalığın yineme riskini arttırdığı bildirilmektedir (39).

Majör depresyonda önemli olduğu düşünölen diğer bir eksen Hipotalamo - Pituiter - Growth Hormon (HPG) eksenidir. Büyüme hormonu (Growth Hormone), hipotalamusun Kontrolü altında ön hipofizden salınan bir hormondur. Stres, hareket, hipoglisemi ve gonadal hormonlar GH salınmasını arttırmaktadır (11).

3.4.1.4. Nöroplastisite

Nöroplastisite; çeşitli iç ve dış uyarılara bağlı olarak beyindeki nöronların ve oluşturdıkları sinapsların yapısındaki ve işlevlerindeki değişiklikler

olarak tanımlanmaktadır (25). Bellekte bilginin depolanması, birleştirilmesi ve filtre edilmesi gibi mekanizmalar, sinaptik plastisitenin oluşumunu sağlamaktadır. Bu işlevlerdeki herhangi bir aksama, duygudurum bozukluklarının etyopatogenezinde yer alabilmektedir (41,42).

3.4.1.5. Nörotrofik faktörler

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (Brain derived neurothropic factor (BDNF)), nöron büyüme faktörü (Neuron Growth Factor (NGF)), nörotrofin-3/4 gibi nörotrofik faktörler, nöronal sağkalım, gelişme, fonksiyon ve plastisitenin düzenlenmesi süreçlerine dahil olan moleküllerdir (43, 44). Özellikle hipokampal sinaptik plastisitenin düzenlenmesinde kritik rol oynayan nörotrofik faktörlerde meydana gelen bozuklukların MDB patofizyolojisinde rol oynayabileceği düşünülmektedir (44).

3.4.1.6. İmmün Sistem

Bağışıklık sistemi hormonları olarak değerlendirilen sitokinlerin endokrinal, elektrofizyolojik ve davranışsal fonksiyonlarının olduğu bilinmektedir (45). Son yıllarda yapılan çalışmalarda IL-1 (İnterlökin-1), IL-2, IL-6 interlökinleri ve tümör nekroz faktör (Tumor necrosis factor (TNF)) sitokini gibi inflamatuvar aracılarda MDB hastalarında arttığı gösterilmiştir (25).

3.4.1.7. Lipitler

Son yıllarda yapılan çalışmalar, serum ve membran lipit düzeylerinin psikiyatrik bozuklukların etiyolojisinde rolü olduğunu göstermektedir (29,46). Depresif hastalarda düşük kolesterol düzeylerinin membran geçirgenliğini

değiştirerek serotonin bağlanma ve geri alımını etkilediği düşünülmektedir (29, 47). Omega-3 esansiyel yağ asidi eksikliğinin MDB oluşumuna zemin hazırladığı bilinmektedir (29).

3.4.1.8. Sirkadyen Ritim

Uyku döngüsü, vücut sıcaklığı, hormon seviyeleri, duygu durumu ve bazı bilişsel işlevler sirkadyen ritim ile düzenlenmektedir. Bu ritimde meydana gelen bozulmaların major depresyon gibi psikiyatrik hastalıklara neden olduğu bilinmektedir (48). Yapılan çalışmalarda CLOCK (Circadian locomotor output cycles kaput), AANAT (Aralkylamine N-acetyltransferase) ve PER3 (Human period 3) gibi sirkadiyen ritim genlerindeki düzensizliklerin de MDB oluşumunda rolü olduğu gösterilmiştir (49).

3.4.1.9 Gastrointestinal Sistem Mikrobiyotası

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, bağırsak mikrobiyotasının beyin ve bağırsak arasında karşılıklı bir ilişki oluşturarak MDB oluşumunda rol oynadığı saptanmıştır. Gastrointestinal sistemde yaşayan mikroorganizmalar bağırsak-beyin ekseninde rol oynayan gama-aminobutirik asit ve serotonin gibi nöroaktif maddeler üretmektedirler. Deney hayvanları üzerinde yapılan çeşitli prelinik deneylerde bazı probiyotik bakterilerin antidepresan benzeri etkisinin olduğu belirlenmiştir (50).

3.4.2. Genetik Etkenler

Evlat edinme, ikiz ve aile çalışmalarından elde edilen bulgular MDB'nin ailesel geçiş gösterdiğini ortaya koymaktadır. Yapılan çalışmalarda ebeveynlerin

birinde MDB olması durumunda çocuklarda MDB'nin ortaya çıkma riskinin 2 kat arttığı, her iki ebeveynde MDB olması durumunda ise çocuklarında riskin 4 kat arttığı bildirilmektedir. Tek yumurta ikizlerinde birlikte hastalanma oranı %76 (farklı ortamda yaşarlarsa bu oran %67'ye düşebilmektedir), çift yumurta ikizlerinde ise %19 olarak bildirilmiştir. Evlat edinilen çocukların, onları evlatlık alan ebeveynlerde bir mizaç bozukluğu olmasa bile, biyolojik ebeveynlerinde MDB varsa çocukta görülme riskinin fazla olduğu saptanmıştır (51, 26). Ancak bu geçişin nasıl olduğu tam olarak bilinmemektedir. Genel olarak MDB'de genetik geçişin tam olmayan bir penetrasyonla poligenik ve heterojen olduğu görüşü kabul edilmektedir (36).

Majör depresif bozukluğun % 32-42'sinin kalıtıldığıının anlaşılması ile sorumlu olabilecek genlere ilgi oldukça artmıştır. (52). Majör depresif bozuklukla ilişkili olduğu düşünülen yollarda (stres yanıtı, HPA eksenı gibi) depresif bozukluk için yatkınlık oluşturan genler “aday genler” olarak adlandırılmaktadır. Majör depresyonun kalıtımında rol oynayan aday genlerle ilişkili çalışmalarda genellikle serotonin taşıyıcı (SLC6A4), 5-HT reseptörü (5HTR2A), tirozin hidroksilaz (TH), katekol-O-metiltransferaz (COMT), triptofan hidroksilaz 1 (TPH1), monoamin oksidaz (MAO-A) ve BDNF gibi genlerin işlevindeki farklılıklara odaklanılmaktadır (51, 53). Bu genlerdeki polimorfizmlerden bazılarının MDB oluşumu ile ilişkili olduğu bilinmektedir (54). Ayrıca yapılan çalışmalarda nörojenezi ve plastisiteyi düzenleyen gen ekspresyonlarında meydana gelen değişimlerin MDB patogeneğinde rol oynadığı tespit edilmiştir (55).

3.4.3. Çevresel ve Psikososyal Nedenler

a. Yaşamsal Olaylar: Yetersiz sosyal çevre, herhangi bir yakının kaybı, düşük sosyoekonomik düzey gibi çevresel stresörler genetik yatkınlıkla da ilişkili olarak MDB'ye neden olabilmektedir (56, 25).

b. Psikanalitik Kuram: Bu kuramda depresif bozuklukların sevilen birinin veya nesnenin kaybı sonucu geliştiğinden söz edilmektedir (26).

c. Benlik Psikolojisi: Benliğin üç özsever amacı bulunmaktadır: değerli ve sevilen biri olmak; güçlü ve üstün olmak; iyi ve seven olmak. Kişinin yaşamında bu amaçların gerçekleşmemesi durumunda benlik saygısının azaldığı ve benliğin işlevlerini yerine getiremediği öne sürülmektedir (36).

d. Bilişsel Kuram: Çocuklukta yaşanan deneyimler bazı düşünce ve inanç sistemlerinin temelini oluşmasına neden olmaktadır. Oluşan bu şablonlar kişinin erişkin yaşamında bakış açısını ve davranışlarını biçimlendirmektedir. Değişime dirençli bu kalıplaşmış düşünce şemaları kişide karamsarlık, çaresizlik gibi duygular oluşturabilmektedir (26).

e. Davranışçı Kuram (Öğrenilmiş Çaresizlik): Bu görüşe göre erken yaşlardan itibaren olumsuz hayat şartlarıyla karşılaşan ve bu şartların üstesinden gelemeyen bireylerde öğrenilmiş çaresizlik sonucu MDB görülebilmektedir (57).

3.5. Majör Depresif Bozukluğun Nöroanatomi

Görüntüleme yöntemlerindeki teknolojik gelişmelerle birlikte, belirli beyin bölgelerinin depresif bozukluktaki rolü araştırmacıların ilgisini çeken bir alan haline gelmiştir. Bu ilginin nedeni, depresif bozukluklarda görülen semptomlardan

bazılarının nörobiyolojik süreçlerdeki işlev bozukluklarına benzerlik göstermesidir. Majör depresyonun en belirgin belirtilerinden olan gün içi duygudurum değişiklikleri, uyku, iştah ve cinsel işlev bozuklukları gibi semptomlar hipotalamus, nükleus akumbens ve talamusu da içeren zedelenmelerde de ortaya çıkmaktadır. Ağır deprese hastalardaki bellek bozuklukları, sorun çözmedeki güçlükler, konsantrasyon bozuklukları, olumsuz düşünceler, sanrılar gibi bulgular bazı özgül kortikal alanların işlevlerinin bozulduğu durumlarda da görülmektedir. Yine depresif hastalarda gözlenen psikomotor yavaşlama prefrontal korteks, talamus, striatum ve bazal gangliyon lezyonlarında da gözlenmektedir (58). Bu düşüncelerle yola çıkılarak yapılan çeşitli insan ve hayvan çalışmalarında MDB’de özellikle karmaşık motor işlevler ve bilişsel davranışın kontrolünden sorumlu medial prefrontal kortekste ve duyguların yorumlanmasında rolü olan beyin bölgelerinde (amigdala, hipokampus, insula, santral striatum, talamus ve önbeyin yapıları) fonksiyonel bozuklukların olduğu gösterilmiştir (59). Ayrıca frontal lob ve amigdalayı içine alan medial temporal lobda, özellikle de hipokampal hacimde küçülme olduğu bildirilmiştir (1).

3.6. Majör Depresif Bozukluğun Tedavisi

Majör depresyonun tedavisinde antidepresanlar gibi farmakolojik ajanların yanı sıra psikoterapi, ışık tedavisi, elektrokonvülsif tedavi ve derin beyin uyarımı gibi yöntemler kullanılmaktadır (60-63).

3.6.1. Majör Depresif Bozukluğun Tedavisinde Kullanılan Antidepresanlar

a. Monoamin Oksidaz İnhibitörleri: Serotonin, NA ve DA'nin yıkımını düzenleyen MAO enziminin inhibisyonu, sinaptik boşlukta nörotransmitter birikimine neden olarak NA, DA ve 5-HT düzeylerini arttırmaktadır (Örn: Moklobemid) (64).

b. Trisiklik Antidepresanlar (TSA): Serotonin, NA ve DA gerilim pompalarını bloke ederek bu nörotransmitter düzeylerini arttırmaktadır (Örn: Opipramol, İmipramin, Klomipramin, Amitriptilin) (65).

c. Seçici Serotonin Gerilim İnhibitörleri: Yan etkilerinin azlığı sebebiyle dünya çapında en çok kullanılan ve 5-HT geri alımını inhibe ederek etkisini gösteren SSRI'lar, 5-HT iletimini arttırıp, post sinaptik reseptörlerin sayı ve duyarlılığını azaltmaktadırlar (Örn: Sertralin, Paroksetin, Fluoksetin, Sitalopram, Fluvoksamin, Essitalopram) (64, 66, 67).

d. Alfa 2 Adrenoreseptör Antagonistleri: Serotonin ve NA düzeylerini monoaminleri veya monoamin geri alım pompalarını inhibe etmeden arttırmaktadırlar (Örn: Mianserin, Mirtazapin) (68)

e. Seçici Noradrenerjik Gerilim İnhibitörleri: Noradrenalin geri alımının inhibe ederek NA düzeyinin artmasını sağlarlar (Örn: Reboksetin, Maprotilin) (69).

f. Noradrenalin ve Dopamin Gerilim İnhibitörleri: Seçici olarak DA ve düşük oranda NA geri emilimini inhibe ederler (Örn: Bupropion) (64).

g. Serotonerjik ve Noradenerjik Gerilim İnhibitörleri: TSA'lardan farklı olarak diğer reseptör sistemlerini etkilememektedirler (Örn: Venlafaksin, Milnasipran, Duloksetin) (71).

h. Serotonin 2A Antagonistleri/ Serotonin Gerilim İnhibitörleri: Serotonin 2A reseptörlerini ve 5-HT gerilimini inhibe etmektedirler (Örn: Nefazodon, Tianeptin, Trazodon, Gepiron) (65).

3.7. Majör Depresif Bozukluk Çalışmalarında Kullanılan Hayvan Modelleri ve Davranış Testleri

Majör depresyonun nörobiyolojisini ve antidepresanların etki mekanizmalarını insanlar üzerinde çalışma teknikleri oldukça sınırlıdır. Hayvanlarda yürütülen deneysel çalışmalar sayesinde hem MDB'de nöronal işleyişin farklı boyutları incelenebilmekte hem de antidepresan tedavileri geliştirmede yeni hedefler saptanabilmektedir (70). Hayvanlarda bu amaçla çok sayıda model geliştirilmiştir. Kemirgenlerde MDB modelleri davranışsal, genetik, farmakolojik ve cerrahi modeller olmak üzere 4 ana başlık altında incelenebilmektedir (71). Ayrıca model oluşturulan hayvanlarda görülen anksiyete ve anhedoni gibi MDB semptomları çeşitli davranış testleri ile ölçülmektedir (72).

3.7.1. Davranışsal Modeller ve Testler

Davranışsal modeller, kemirgenlerde MDB modeli oluşturmak amacıyla, davranışsal testler ise oluşturulan modelin, bir etkenin ya da ilacın duygudurumu üzerine olan etkisinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (71).

3.7.1.1. Davranışsal Modeller

a. Kronik Hafif Stres (KHS) (Chronic Mild Stress): Kronik hafif stres modeli 1981 yılında Katz ve Hers tarafından geliştirilmiş ve daha sonra Willner tarafından yeniden tasarlanmıştır (73, 74). Bu model kemirgenlerde, hem insanlarda görülen MDB'nin ana semptomlarından olan umutsuzluk, anhedoni, uyku, yeme ve psikomotor bozukluklar, anksiyete ve sosyal geri çekilme ile hem de nörobiyolojik değişiklikler ile paralel değişimler göstermektedir (41, 75). Bu nedenle kemirgenler üzerinde yapılan MDB çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Kronik hafif stres oluşturmak amacı ile deney hayvanları, genellikle 4-7 hafta süre ile rastgele olarak günlük 2-3 stres faktörüne maruz bırakılırlar. Referans protokollerde genellikle susuz bırakma, boş su şişesi verme, aç bırakma, tüm gece aydınlıkta bırakma, gündüz karanlıkta bırakma, kafesi 45° eğik bırakma, sosyal izolasyon, kafese nemli talaş bırakma, kuyruktan asma, kafese yabancı bir cisim koyma, beyaz sese maruz bırakma, parlak ışık verme gibi stres faktörleri uygulanmaktadır (76-80).

b. Zorunlu Yüzme Testi (ZYT) (Forced Swimming Test): Kemirgenlerle yapılan MDB çalışmalarında en çok kullanılan, güvenilirliği yüksek bir hayvan modelidir (81, 82). Zorunlu yüzme testi ilk olarak Porsolt ve arkadaşları tarafından 1977'de uygulanmıştır (83). Zorunlu yüzme testi, kaçamayacağı bir strese maruz bırakılan hayvanın kaçma çabasının sona ererek öğrenilmiş çaresizliğe benzer bir davranış göstermesi temeline dayanmaktadır (71). Ayrıca ZYT'nin insanlarda görülen MDB semptomlarından yeme ve uyku düzeninin bozulması, anhedoni gibi belirtiler ile paralellik gösterdiği bilinmektedir. Test sonunda yüzme hareketi, tırmanma hareketi ve hareketsizlik

(immobilite) süreleri incelenmektedir (84). Hareketsiz kalma davranışı MDB'nin semptomlarından olan davranışsal umutsuzluk olarak yorumlanmaktadır (71).

c. Kuyruktan Asma Testi (Tail Suspension Test): Hayvanların sesten ve görsellikten yalıtılmış bir kabin içinde kuyruklarından havada asılı tutulup hareketsiz kalma süresinin ölçüldüğü bu test, davranışsal umutsuzluk üzerine kurulması bakımından ZYT'ye benzemektedir (71, 85).

d. Ultrasonik Radyasyona Maruz Bırakma: Morozova ve ekibi tarafından 2013 yılında geliştirilmiş yeni bir yöntemdir. Bu yöntemde göre, sıçan veya fareler 20-45 kHz frekansa sahip ultrasonik radyasyona 3 hafta süre ile maruz bırakıldığında depresyon benzeri davranışlar sergilemektedirler (86, 87).

3.7.1.2. Davranışsal Testler

a. Zorunlu Yüzme Testi: Majör depresyon modeli oluşturmak için kullanılmasının yanı sıra çeşitli etkenlerin (KHS vb.) veya ilaçların terapötik etkinliğinin davranışlar üzerinden test edilmesinde de kullanılmaktadır. Yukarıda belirtildiği gibi hareketsizlik, "davranışsal umutsuzluk" olarak yorumlanmaktadır (72, 88).

b. Kuyruktan Asma Testi: Zorunlu yüzme testine benzer şekilde, hem MDB modeli oluşturmada hem de ilaçların veya çeşitli etkenlerin duygu durumuna etkisinin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır.

c. Sükroz Tercih Testi (STT) (Sucrose Preference Test): Majör depresyonun önemli klinik belirtilerinden biri olan anhedoninin tespiti için MDB'nin hayvan modeli çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Test temel olarak deney hayvanının içme suyu veya şeker (sükroz) içeren çözeltiyi

tercih etmesi temeline dayanmaktadır. Sükroza olan ilginin azalması, anhedoni göstergesi olarak kabul edilmektedir (89).

d. Açık Alan Testi (AAT) (Open Field Test): Deney hayvanının duyu durumuna göre sergilediği farklı davranışların değerlendirilebildiği basit ve güvenilir bir düzendir (90). Hall ve arkadaşları tarafından 1934 yılında daire şeklinde geliştirilen düzendir daha sonra Soubrie tarafından 1971 yılında, kare şeklinde yeniden tasarlanmıştır (91, 92) Hayvanın alıştığı ortamından alınıp tek başına bilmediği bir ortama bırakılması ve açık alan korkusu anksiyete davranışının gelişmesine neden olmaktadır. Kurulan düzende hayvanın düzeneğin kenarında ve merkezinde geçirdiği süre, geçtiği kare sayısı, defekasyon sayısı, iki arka ayağı üzerine kalkarak etrafı inceleme hareketi (şahlanma; rearing) değerlendirilmektedir. Kenarda geçirilen sürenin, hareketsizliğin ve defekasyonun artması, havayı koklama sayısının azalması insanlarda görülen MDB semptomlarından biri olan anksiyetenin göstergesi olarak sayılmaktadır (93).

e. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (YALT) (Elevated Plus Maze Test): File ve arkadaşları tarafından 1985 yılında tanımlanan deney modeli, duygusal aktiviteyi test ederek ilaçların davranışsal, fizyolojik ve farmakolojik etkilerini araştırmak için kullanılmaktadır. Fare ve sıçanlar için farklı ebatlarda hazırlanabilen, yerden belirli bir yükseklikte iki açık ve iki kapalı kolu olan artı şeklinde bir deney düzeneğidir. (88, 94). Deney hayvanının kapalı kol üzerinde geçirdiği zamanın ve hareketsizlik süresinin artması, açık kola giriş sayısının, arka ekstremiteler üzerine kalkıp havayı koklama sayısının ve merkezi alanda gezinme

süresinin azalması, insanlarda MDB semptomlarından olan anksiyetenin göstergesi olarak değerlendirilmektedir (93).

3.7.2. Genetik modeller

Genetik biliminin gelişmesiyle çeşitli hastalıklarda rol oynayan genlerin bilinmesi mümkün hale gelmiştir. Genetik hayvan modellerinde hastalıkta rolü olduğu düşünülen genler hedef alınarak transgenik, hayvanlar elde edilmektedir. Bu kapsamda 5-HT1A reseptör nakavt, noradrenalin transporter nakavt, CRH reseptör-1 nakavt, BDNF nakavt fare modelleri gibi özellikle depresyon nörobiyolojisine ilişkin nörotrofik faktörler, HPA eksen aktivitesini veya monoamin teorilerini hedef alan genetik modeller oluşturulmaktadır (95).

Aşırı aktif kolinerjik sistemin majör depresyona neden olduğu bilgisine dayanarak oluşturulan Flinders-hassas seri (Flinders Sensitive Line (FSL)) rat modeli MDB çalışmalarında kullanılabilmektedir (96). Başka bir genetik model olan Fawn-Hood ratlarının, ZYT'de yüksek seviyede hareketsizlik davranışı gösterdiği bilinmektedir (97). Benzer şekilde Wistar Kyoto ratları da strese karşı aşırı hassas olup çeşitli davranış testlerinde depresyon benzeri davranışlar sergilemektedir (98).

3.7.3. Farmakolojik Modeller

a. Psikostimülan Yoksunluğu: Psikostimülan yoksunluğu durumunda kemirgenlerde, MDB semptomlarına benzer şekilde lokomotor aktivitede azalma, uyku ve yeme düzeninde bozulma gözlenmektedir (99).

b. Rezerpin Etkisi: Rezerpinin monoaminlerin presinaptik depolarını boşalttığı bilinmektedir. Antidepresan tedavisi ile durum tersine çevirilebilmektedir (99).

c. Apomorfin Etkisi: Bir dopamin agonisti olan apomorfinin yüksek dozlarda uygulanması, noradrenerjik sinir uçlarındaki presinaptik dopamin reseptörleri aracılığı ile norepinefrin salınımını baskılamaktadır. Antidepresanlar norepinefrin seviyelerini artırarak bu etkiyi geri çevirmektedir (99).

d. Sitokinle İndüklenmiş Hastalık Modeli: İmmun sistem bozukluğu görülen hastaların depresyona daha yatkın olması, interferon gibi sitokinlerle tedavi edilen hastalarda depresif semptomlar gelişmesi ve bu hastaların antidepresan tedavilerine cevap vermesi, MDB ve sitokin ilişkisine odaklanılmasına neden olmuştur. Sitokinlerin oluşturduğu davranış değişikliklerinin noradrenerjik, dopaminerjik ve serotonerjik metabolizmayla ilişkili olduğu bilinmektedir (99).

3.7.4. Cerrahi Modeller

Olfakter bulbektomi: Kemirgenlerin olfakter bulbuslarının bilateral alınması, hayvanlarda koku duyusunun kaybının neden olduğu duyusal yoksunluğa bağlı olarak depresyona benzer davranışsal, nörokimyasal, nöroendokrinal ve nöroimmun değişikliklere sebep olmaktadır (99, 100).

3.8. İyon Kanalları

Tüm canlı hücreler, hücre içeriğini hücre dışı ortamdan ayıran bir plazma zarı ile çevrilidir. Plazma zarı, O₂ ve CO₂ gibi küçük yüklenmemiş moleküllerin kolayca geçebildiği amfipatik fosfolipidlerden ve amino asitler, iyonlar, nükleik

asitler ve karbonhidratlar gibi diğer büyük moleküllerin geçebildiği proteinlerden oluşmaktadır (101). Bu protein komplekslerinden biri olan iyon kanalları, hücre membranının çift lipid tabaksını geçen 3-5Å (Angström) çapta porlar oluşturarak sodyum (Na^+), potasyum (K^+), klor (Cl^-) ve kalsiyum (Ca^{+2}) gibi inorganik iyonların membranın bir tarafından diğer tarafına geçişini sağlamaktadır (75). Nöronlar, kas hücreleri, dokunma reseptör hücreleri gibi çeşitli uyarılabilir hücreler, kimyasal veya mekanik mesajları elektrik sinyallerine dönüştürebilmek için iyon kanallarını kullanmaktadırlar (102). Bu nedenle iyon kanalları, membran potansiyelinin düzenlenmesi, kalp uyarılabilirliğinin kontrolü, hormon salgılanması, hücre hacminin düzenlenmesi, hücre çoğalması, hücre içi sinyalizasyon ve diğer birçok hücre fonksiyon için fizyolojik öneme sahiptir (103). Büyük fizyolojik rolleri ve çeşitli dokulara spesifik ifadelerinden dolayı iyon kanalları birçok patofizyolojik durumda da rol oynamaktadır. İyon kanallarında meydana gelen fonksiyon bozukluklarına bağlı gelişen hastalıklar “kanalopatiler” olarak adlandırılmaktadır. Günümüzde epilepsi, kistik fibrozis, aritmi ve çeşitli nöropsikiyatrik hastalıkların etiyopatogenezinde iyon kanal bozukluklarının rolü olduğu bilinmektedir (101).

İyon kanalları, kapılı ve kapısız olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Kapısız olanlar iyon geçişine devamlı açıkken kapılı olanlar ise kendi aralarında üç gruba ayrılmaktadır. Bunlar;

1. Ligand kapılı iyon kanalları: Bir ligandın iyon kanalı üzerindeki bir reseptöre bağlanması ile (direkt) ya da ayrı bir reseptöre bağlanmasıyla (indirekt) kapılanma göstermektedirler.

2. Mekanik kapılı iyon kanalları: Gerilim ve basınç gibi mekanik uyaranlara duyarlıdırlar.

3. Voltaj kapılı iyon kanalları: Hücre membran potansiyelinde meydana gelen voltaj değişimlerine bağlı olarak kapanma göstermektedirler (104).

3.8.1. Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanalları

Kalsiyum; kas kontraksiyonu, transmitterlerin salınımı, nöronal iletim, gen ekspresyonu, hormon sekresyonu, hücre bölünmesi, farklılaşması, ölümü ve sinyalizasyonu gibi önemli hücresel süreçlerde işlevsel rolü olan bir sekonder habercidir. Bu nedenle hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonu, kalsiyum kanalları ile kontrollü bir şekilde düzenlenmektedir (105). Voltaj kapılı Ca^{+2} kanalları (Cav) moleküler olarak $\alpha 1$ ana alt birimi ve yardımcı $\alpha 2$, β , γ ve δ alt birimlerinden oluşmaktadır. $\alpha 1$ alt birimi birbirine benzer 4 alandan oluşmuştur ve her biri 6 transmembran segment içermektedir. β alt birimi intrasellülerdir. γ alt biriminin 4, δ alt biriminin ise 1 transmembran segmenti bulunmaktadır (106, 107). Yardımcı alt birimler ($\alpha 2$, β , γ ve δ), Ca^{+2} kanal kompleksinin işlevsel özelliklerini etkilemesine rağmen, Ca^{+2} kanallarının farmakolojik ve fizyolojik çeşitliliği temel olarak çoklu $\alpha 1$ alt birimlerinin varlığından kaynaklanmaktadır (108). Moleküler olarak on üyesi olan Cav, yüksek voltaj ve düşük voltaj ile aktive olan olmak üzere iki geniş grubu ayrılmaktadır. Düşük voltaj ile aktive Cav üç α -üniteden oluşan T-tipi kanallardır (CACNA1G, CACNA1H ve CACNA1I). Diğer yedi Cav üyeleri ise yüksek voltaj ile aktive olan L-tipi (CACNA1S, CACNA1C, CACNA1D ve CACNA1F), P/Q-tipi (CACNA1A), N-tipi (CACNA1B), ve R-tipi (CACNA1E) kanallardır (107) (Tablo 1).

Tablo 1: Sıçan beyinde ifade edilen bazı voltaj kapılı kalsiyum kanalları ve bilinen fonksiyonları

Sembolü	Adı	Fonksiyonu
CACNA1A (Cav2.1)	Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 A	Kas kasılması, hormon veya nörotransmitter salınımı ve gen ifadesinin düzenlenmesinde rol oynar (109)
CACNA1B (Cav2.2)	Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 B	Nörotransmitter ve hormon salınımı ile ilişkilidir (110).
CACNA1C (Cav1.2)	Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 C	Nöroendokrin düzenlemede rolü vardır (111). Duygusal uyarıcılara yanıt olarak, amigdala ve hipokampal aktiviteyi artırır. Polimorfizmi veya delesyonu MDB ve şizofreni için risk faktörüdür (112, 113).
CACNA1E (Cav2.3)	Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 E	Dopamin salınımı, hızlı glutamerjik iletim, öğrenme, hafıza ve uyku düzenlenmesinde rolü vardır (114, 115). Patojenik varyantları nörogelişimsel bozukluklar ile ilişkilendirilmektedir (116).
CACNA1H (Cav3.2)	Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 H	Nöronal uyarılabilirliği etkiler (117). Mutasyonu çocukluk çağı epilepsisi ve otizm ile ilişkilendirilmektedir (118).

3.8.2. Potasyum Kanalları

Membran proteinlerinin en yaygın ve çeşitliliği fazla sınıfını oluşturan K^+ kanalları; apoptozun düzenlenmesi, hücre büyümesi ve farklılaşması, nörotransmitterlerin ve hormonların salınımı, kardiyak aktivitenin sürdürülmesi gibi önemli süreçlerde rol oynamaktadır (119, 120). Fonksiyonuna ve alt ünitelerinin yapısına göre K^+ kanalları İçeri doğrultucu (inwardly rectifying) potasyum kanalları (K_{ir}), Ca^{+2} ile aktive olan K^+ kanalları, iki por bölgesi (two-pore domain) potasyum kanalları (K_{2P}), voltaj kapılı potasyum kanalları (K_v) olmak üzere dört ana sınıfa ayrılmaktadır (121).

3.8.2.1. Voltaj Kapılı Potasyum Kanalları

Çeşitli hücresel süreçlerde önemli bir düzenleyici rol oynayan voltaj kapılı K^+ kanalları (K_v), merkezi bir poru çevreleyen, her biri 6 transmembran (S1-S6)

uzantıdan oluşan 4 polipeptidin organize olmuş halidir (122). Voltaj kapılı potasyum kanallarının biyofiziksel, fonksiyonel ve farmakolojik özelliklerine göre her biri kendi içinde alt tiplere ayrılan 12 farklı alt sınıfı bulunmaktadır (K_v 1.1-1.8, K_v 2.1-2.2, K_v 3.1-3.4, K_v 4.1-4.3, K_v 5.1, K_v 6.1-6.4, K_v 7.1-7.5, K_v 8.1-8.2, K_v 9.1-9.3, K_v 10.1-10.2, K_v 11.1-11.3, K_v 12.1,12.3) (119) (Tablo 2).

3.8.2.2. İki Gözenekli (Two-Pore Domain) Potasyum Kanalları

İki gözenekli potasyum kanalları (K_2P); fizyolojik membran koşullarında sürekli olarak açık şekilde bulunarak dinlenme anındaki membran potansiyelinin düzenlenmesine yardımcı olmaktadır. Beyin dışındaki dokularda düşük düzeylerde bulundukları bilinmektedir. Fizyolojik rolü henüz net olmamakla birlikte solunum, aldosteron salgılanması, nöronal aktivite ve nöron apoptozunda görev aldığı düşünülmektedir (123). Dört adet transmembran segment ve ardışık 2 gözenekten oluşan K^+ kanalının 18 alt sınıfı bulunmaktadır ($KCNK1-18$) (124, 125) (Tablo 2).

3.8.2.3. İçeri Doğrultucu (Inwardly-Rectifying) Potasyum Kanalları

Nöron ve kardiyak miyositler gibi uyarılabilir hücrelerde rol oynayan içeri doğrultucu (inwardly rectifying) K^+ kanalları (K_{ir}), membran hiperpolarize olduğunda aktive olup açılan, depolarize olduğunda ise kapanan kanallardır. Bu kanallar aksiyon potansiyelini membran dinlenme potansiyeline çevirerek hücre uyarılabilirliğinin düzenlenmesini sağlamaktadırlar. Tetramer yapıda olan ve iki transmembran alandan (domain) oluşan K_{ir} kanallarının yedi alt sınıfı (K_{ir1-7}) bulunmaktadır (126, 127) (Tablo 2).

Tablo 2: Sıçan beyinde ifade edilen bazı potasyum kanalları ve bilinen fonksiyonları

Voltaj kapılı potasyum kanalları		
Sembolü	Adı	Fonksiyonları
KCNA1 (K_v1.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 1	Akson repolarizasyonu ve demiyelinizasyonunda fonksiyonu vardır (128). Eksikliği nörolojik hastalılara neden olmakta ve öğrenmeyi olumsuz yönde etkilemektedir (129).
KCNA2 (K_v 1.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 2	Akson demiyelinizasyonunu (128). Hipokampal ağ olgunlaşmasını ve nörotransmitter salınımını düzenlemektedir (129).
KCNA3 (K_v 1.3)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 3	Akson demiyelinizasyonunu (128), nöroprogenitor hücre farklılaşmasını ve olgunlaşmasını düzenlemektedir (129).
KCNA4 (K_v 1.4)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 4	Nörotransmitter salınımını düzenler. Aşırı ifadesi Alzheimer ile ilişkilidir (129).
KCNA5 (K_v 1.5)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 5	Hücre döngüsünün düzenlenmesinde rol oynar (129).
KCNA6 (K_v 1.6)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 6	Viseral duyu nöronlarının uyarılabilirliğini etkiler. Endokrin hücrelerden sinaptik geçişi ve salgılanmayı kontrol etmektedir (129).
KCNA7 (K_v 1.7)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member 7	Atriyum ve ventrikülde aksiyon potansiyeli oluşturur. Kalıtsal kalp rahatsızlıkları için aday bir genidir (129).
KCNAB1 (K_vβ1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member Regulatory Beta Subunit 1	Hipokampal nöronların uyarılabilirliğini etkiler. Bozukluğunun öğrenme ve hafızayı etkilediği düşünülmektedir (130).
KCNAB2 (K_vβ2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member Regulatory Beta Subunit 2	Potasyum kanallarının biyosentezini ve fonksiyonunu modüle etmektedir (129).
KCNAB3 (K_vβ3)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily A Member Regulatory Beta Subunit 3	Kv1.5 fonksiyonunu etkilemektedir (131).
KCNB1 (K_v 2.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily B Member 1	Nöropeptid ve nörotrofinlerin salınımını etkilemektedir. Eksikliği nöronal ve davranışsal aşırı uyarılmaya neden olabilmektedir (129).
KCNB2 (K_v 2.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily B Member 2	Somatodendritik uyarılabilirliği ve uyku davranışında GABAerjik nöronların fonksiyonunu etkilemektedir (129).
KCNC1 (K_v 3.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily C Member 1	Eksikliği nörotransmitter salınımını değiştirmektedir. Şizofreni patofizyolojisinde rol oynamaktadır (129).
KCNC2 (K_v 3.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily C Member 2	Farmakolojik veya genetik bozukluğu inhibitör nöronlarda hızlı artışa ve nöbet duyarlılığının artmasına neden olmaktadır (129).
KCND1 (K_v 4.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily D	Beyinde yüksek seviyede ifade edilmektedir. Hücre proliferasyonunda

	Member 1	rol oynadığı düşünülmektedir. Alzheimer hastalığında değişimi gözlenmiştir (129).
KCND2 (K_v 4.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily D Member 2	Soma ve dendritlerde bol bulunmaktadır. Nörolojik hastalıkların patofizyolojisinde rol oynamaktadır (129).
KCND3 (K_v 4.3)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily D Member 3	Nöronal somatodendritik etkileşimlerde, ağrı plastisitesinde, düz ve kardiyak kasların kasılmasında rol oynamaktadır. İnme, alzheimer, aritmi ve kardiyak hipertrofi gibi hastalıklar için terapötik bir hedef olduğu düşünülmektedir (129).
KCNE2	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily E Regulatory Subunit 2	HCN1,2,4 kanallarının iletkenliğini modüle etmektedir (132).
KCNE3	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily E Regulatory Subunit 3	İç kulak ve beyinde eksprese olmaktadır. Duyma bozuklukları ile ilişkilendirilmiştir (133).
KCNE4	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily E Regulatory Subunit 4	KCNQ1 kanalını inhibe edici etkisi bulunmaktadır (134). İmmün tepkilerin kontrolünde rolü olduğu düşünülmektedir (135).
KCNF1 (K_v 5.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily F Member 1	Potasyum kanallarını modüle etmektedir (129).
KCNG1 (K_v 6.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily G Member 1	Ağırlıklı olarak beyin, plasenta ve iskelet kasında ifade edilmektedir. Kv2.2 kanallarının kinetiğini düzenlemektedir. (129).
KCNG2 (K_v 6.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily G Member 2	Kardiyak aksiyon potansiyel repolarizasyonuna katkıda bulunmaktadır (129).
KCNG3 (K_v 6.3)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily G Member 3	Kardiyak aksiyon potansiyel repolarizasyonuna katkıda bulunmaktadır (129).
KCNG4 (K_v 6.4)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily G Member 4	Beyinde yüksek seviyede ifade edilmektedir. Migrenle ilişkili olduğu düşünülmektedir (129).
KCNH1 (K_v 10.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 1	Çoğunlukla beyin dokusunda ifade edilir. Hücre uyarılabilirliği, hafıza süreçleri ve hücre çoğalması ile ilgilidir (129).
KCNH2 (K_v 11.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 2	Kortikal fizyoloji, biliş ve psikozda rol oynamaktadır. Şizofreni patofizyolojisinde etkisi olduğu düşünülmektedir (136).
KCNH3 (K_v 12.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 3	Hipokampal piramidal nöronların uyarılabilirliğini düzenlemektedir. Bilişsel fonksiyon ve epilepsi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (129).
KCNH4 (K_v 12.3)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 4	Hücre döngüsünün düzenlenmesinde rolü vardır. (129).
KCNH5 (K_v 10.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 5	Büyük ölçüde nöronlarda ifade olmaktadır. Öğrenme ve hafıza ile ilgili olduğu düşünülmektedir (129).
KCNH6 (K_v 11.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 6	Fotoreseptörlerde ve bipolar hücrelerde glutamatin sinaptik salınımını sağlamaktadır (129).

KCNH7 (K_v 11.3)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 7	Sinir sisteminde ifade edilmektedir. Mutasyonunun bipolar spektrum bozukluğu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (129).
KCNH8 (K_v 12.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily H Member 8	Büyük ölçüde MSS'de ifade edilmektedir (129). Hipokampal nöronların uyarılabilirliğini modüle etmektedir (137).
KCNQ1 (K_v 7.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 1	Nöronal uyarılmayı düzenlemektedir. Epilepsi patogenezinde rolü olduğu düşünülmektedir (129).
KCNQ2 (K_v 7.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 2	Özellikle hipokampal ve kortikal nöronlarda ifade edilmektedir. Yenidoğan epilepsisi ile ilişkilendirilmektedir (129).
KCNQ3 (K_v 7.3)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 3	Özellikle hipokampal ve kortikal nöronlarda ifade edilmektedir. Yenidoğan epilepsisi ile ilişkilendirilmektedir (129).
KCNQ4 (K_v 7.4)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 4	Nöron uyarılabilirliğinin düzenlenmesinde ve membran potansiyelinin dengelenmesinde kilit rol oynamaktadır. Duyuma bozukluklarında rolü bulunmaktadır (129).
KCNQ5 (K_v 7.5)	Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 5	Beyindeki fonksiyonu ve nörolojik hastalıklarla ilişkisi tam olarak bilinmemektedir (129).
KCNS1 (K_v 9.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily S Member 1	Sensör nöronların uyarılabilirliğini inhibe edici özelliği vardır. Mutasyonu sonucu sensör nöronlarda hiperaktivasyon gözlenmiştir. Nöropatik ağrıda rolü bulunmaktadır (129).
KCNS2 (K_v 9.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily S Member 2	Sadece beyinde ifade edildiği bilinmektedir (129). Hareket bozukluğu ile ilişkilidir (138).
KCNS3 (K_v 9.3)	Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily S Member 3	Beyinde ve akciğerde ifade edilmektedir. (129). Şizofreni hastalarının prefrontal kortekslerinde ifadesinin azaldığı tespit edilmiştir (139).
KCNV1 (K_v 8.1)	Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily V Member 1	Beyinde ifade edilmektedir. Epilepsi patofizyolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir (129).
KCNV2 (K_v 8.2)	Potassium Voltage-Gated Channel Modifier Subfamily V Member 2	Beyinde ifade edilmektedir. Epilepsi patofizyolojisinde rolü olduğu düşünülmektedir (129).
İçeri doğrultucu potasyum kanalları		
Sembolü	Adı	Fonksiyonu
KCNJ2 (Kir2.1)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 2	Kas hücrelerinin ve nöronların uyarılabilirliğini belirlemektedir (129). Fonksiyon bozuklukları otizm ve epilepsi fenotipini etkilemektedir (128).
KCNJ3 (Kir3.1)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 3	Kalp ve beyindeki uyarılabilirliğin düzenlenmesinde önemlidir. Şizofreni ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (140).
KCNJ4 (Kir2.3)	Potassium inwardly-rectifying	Kas hücrelerinin ve nöronların uyarılabilirliğini etkiler. Temporal lob

	channel, subfamily J, member 4	epilepsisi ile ilişkilidir (129).
KCNJ5 (Kir3.4)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 5	Nöronal iletim ve hücre içi sinyalizasyonda önemli rol oynamaktadır. Hiperaktivite ve tourette sendromu ile ilişkilidir (141).
KCNJ6 (Kir3.2)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 6	Opioid reseptörü fonksiyonu için önemlidir (129). Alkol bağımlılığının patofizyolojisinde rolü bulunmaktadır (142).
KCNJ8 (Kir6.1)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 8	ATP duyarlı potasyum kanalıdır. Hücrel metabolizma için önemlidir (129).
KCNJ9 (Kir3.3)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 9	Serotonerjik düzenlemede rolü vardır. Şizofreni ile ilişkilendirilmektedir (129).
KCNJ10 (Kir4.1)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 10	Glial fonksiyonun Kontrolü ve nöronal uyarılabilirlik için önemlidir (143). Mutasyonları, otozomal resesif epilepsi, ataksi, sağırılık ile ilişkilidir (144).
KCNJ11 (Kir6.2)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 11	ATP duyarlı potasyum kanalıdır. Hücrel metabolizma için önemlidir (129). Mutasyonu; gelişim bozukluğu, nörolojik özellikler, epilepsi ve yenidoğan diyabeti ile ilişkilidir (145).
KCNJ12 (Kir2.2)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 12	Yaygın olarak kardiyomiyosit ve nöronlarda ifade edilmektedir. Tümör tedavisi ve kas hareketi düzenlemesinde önemli rol oynamaktadır (146).
KCNJ13 (Kir7.1)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 13	Fotoreseptörler ve retina pigment epiteli arasındaki mikro ortamı Kontrol etmektedir. Ayrıca beyin ve uterus fonksiyonunda da etkilidir (147).
KCNJ14 (Kir2.4)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 14	Motor nöronların uyarılabilirliğini Kontrol eder (129). Striatumda dopaminerjik ve kolinerjik nörotransmisyonun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (148).
KCNJ16 (Kir5.1)	Potassium inwardly-rectifying channel, subfamily J, member 16	Ph değişimine duyarlı bir kanalıdır. Periferik kemoreseptörlerde bolca ifade edilmektedir (149).
İki porlu potasyum kanalları		
Sembölü	Adı	Fonksiyonu
KCNK1 (TWIK1)	Potassium channel subfamily K member 1	Nöronların içsel uyarılabilirliği, astrositik pasif iletkenlik ve astrositlerden glutamat salınımında fonksiyonu vardır. Nörolojik hastalıklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir (150).
KCNK2 (TREK1)	Potassium channel subfamily K member 2	Beyinde yüksek oranda ifade edilen mekanosensitif kanallardır. Majör depresyon ve çeşitli nörolojik hastalıklarla ilişkilendirilmektedir (151).
KCNK3 (TASK1)	Potassium channel	T hücrelerinde ve nöronlarda ifade

	subfamily K member 3	edilmektedir. Nöronal uyarılabilirliğin dengelenmesinde ve immün hücre aktivasyonunda rol oynamaktadır (152).
KCNK4 (TRAAK1)	Potassium channel subfamily K member 4	Fizyolojik ve patolojik koşullarda beyinde birçok fonksiyonda yer almaktadır. Beyin iskemisi ile ilişkilendirilmektedir (153).
KCNK5 (TASK2)	Potassium channel subfamily K member 5	Hücre dışı pH'daki değişikliklere karşı duyarlıdır. Nöronal hücre uyarılabilirliğini kontrol etmektedir. Serebral iskemi ile ilişkilendirilmiştir (154).
KCNK6 (TWIK2)	Potassium channel subfamily K member 6	İyon homeostazında, arter ve arteriyollerdeki membran potansiyelinin düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır (155).
KCNK9 (TASK3)	Potassium channel subfamily K member 9	Beyin uyarılabilirliğinde önemli rol oynamaktadır. Epilepsi ile ilişkilendirilmektedir (156).
KCNK10 (TREK2)	Potassium channel subfamily K member 10	MSS'de yaygın olarak bulunur. Nöropatik ağrı ve hafıza ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (157).
KCNK12 (THIK2)	Potassium channel subfamily K member 12	Özellikle beyinde bol ifade edilmektedir. Birçok fizyolojik ve patolojik durumlarda fonksiyonu olduğu düşünülmektedir (158).
KCNK13 (THIK1)	Potassium channel subfamily K member 13	Nörotransmitter salınımı, nöron uyarılabilirliği, insülin sekresyonu ve düz kas kasılmasında rol oynamaktadır (124).
KCNK15 (TASK5)	Potassium channel subfamily K member 15	Koku alma sisteminin parçası olan ampul mitral hücrelerinde ve Purkinje hücrelerinde bulunur. Merkezi işitsel yolla ilişkilidir (159).
KCNK18 (TRESK2)	Potassium channel subfamily K member 18	Dorsal kök ganglionunda ifade edilmektedir (Andres 2012). Mutasyonu migrenle ilişkilendirilmektedir (124).

3.8.3. Asit Duyarlı İyon Kanalları (ASICs)

Asit duyarlı iyon kanalları (Acide sensitive ion channels, ASICs), ligand (proton) kapılı degenerin/epitel sodyum kanalı (DEG/ENaC) süper ailesinin bir alt grubu olan asite duyarlı, Na⁺ geçirgen iyon kanallarıdır. ASIC1a, ASIC1b, ASIC2a, ASIC2b, ASIC3 ve ASIC4 olmak üzere bilinen 6 alt grubu vardır. ASIC alt birimleri, büyük bir ekstraselüler ilmek (loop) ve kısa intraselüler N- ve C- ucu gibi iki hidrofobik transmembran bölgeye (TM1 ve TM2) sahiptir. Merkezi sinir

sisteminde yaygın olarak bulunan, genel olarak ekstraselüler pH'nın azalmasıyla aktive olan ve amilorid ile bloklanan bu kanallar nöronal aktiviteyi düzenlemektedirler (160, 161) (Tablo 3).

Tablo 3: Sıçan beyinde ifade edilen bazı asit duyarlı iyon kanalları ve bilinen fonksiyonları

Sembolü	Adı	Fonksiyonu
ASIC1 (Accn2)	Acide sensitive ion channel 1	Sinaptik plastisite, öğrenme, hafıza, korku ile ilişkilidir (162).
ASIC3 (Accn3)	Acide sensitive ion channel 3	Ağrı modülasyonu ve korku tepkisinde rolü vardır (163, 164)

3.8.4. Geçici Reseptör Potansiyel (TRP) Kanalları

Geçici reseptör potansiyel (Transient Reseptor Potential (TRP)) kanalları; termal (sıcak/soğuk), mekanik (osmotik basınç, dokunma) veya kimyasal (mentol, sarımsak vb.) uyarılarla aktive olan, seçici olmayan katyon kanalı ailesidir (Nilius 2007). Bütün TRP kanallarında yapısal olarak 6 transmembran segment (S1-S6) bulunmaktadır (165). TRP kanallarının, canlı hücrelerin işlevlerini ve yapılarını sürdürebilmeleri için gerekli bir iyon olan Ca^{+2} 'a duyarlılığı oldukça yüksektir (166). TRP kanallarının kendi içinde alt gruplara ayrılan yedi alt ailesi bulunmaktadır. Bunlardan; TRP cononcial (TRPC)'nin 7 ayrı alt grubu, TRP vaniloid (TRPV)'nin 6 ayrı alt grubu, TRP polisistin (TRPP)'nin 3 ayrı alt grubu, TRP mukolipin (TRPML)'nin 3 ayrı alt grubu, TRP ankyrin (TRPA)'nın 1 alt grubu, TRP melastatin (TRPM)'nin ise 8 ayrı alt grubu bulunmaktadır. Ayrıca drosophila, zebra balığı ve solucanda TRP NOMP (No mechanopotential) (TRPN) alt ailesi bulunmaktadır (167) (Tablo 4).

Tablo 4: Sıçan beyinde ifade edilen bazı TRP kanalları ve bilinen fonksiyonları

Sembolü	Adı	Fonksiyonu
TRPA1	Transient receptor potential cation channel, subfamily A (Ankyrin) member 1	Mekanik ve kimyasal stres sensörüdür. Sinyal iletimi, büyüme Kontrolü (128), duyma, soğuk algılama ve ağrı iletiminde rolü bulunmaktadır (168).
TRPC1	Transient receptor potential cation channel subfamily C (Canonical) member 1	Nöronların korunması, çoğalma, farklılaşma (169), tiroid hormonuna bağımlı dopaminerjik nöron gelişimi ile ilişkilidir (170)
TRPC2	Transient receptor potential cation channel subfamily C (Canonical) member 2	Vomer nazal organda feromon algılayıcıdır (171)
TRPC3	Transient receptor potential cation channel subfamily C (Canonical) member 3	Nörotransmitter salınımı, çoğalma, farklılaşmada rolü vardır (169).
TRPC5	Transient receptor potential cation channel subfamily C (Canonical) member 5	Korku tepkisi, nörotransmitter salınımında fonksiyonu bulunmaktadır (169).
TRPC7	Transient receptor potential cation channel subfamily C (Canonical) member 7	İmmün cevabın verilmesinde rol oynamaktadır (167)
TRPM1	Transient receptor potential cation channel subfamily M (Melastatin) member 1	Tümör baskılama (167), retinal ON-bipolar hücrelerde ışık tepkisinin oluşmasında rol oynamaktadır (172)
TRPM2	Transient receptor potential cation channel subfamily M (Melastatin) member 2	Oksidatif stress sensörü, sinaptik plastisite, immün cevap, nörolojik hastalıklarla ilişkilidir (173)
TRPM3	Transient receptor potential cation channel subfamily M (Melastatin) member 3	Ağrı iletimi (174), oligodendrosit farklılaşması ve MSS miyelinasyonunu sağlamaktadır (175).
TRPM4	Transient receptor potential cation channel subfamily M (Melastatin) member 4	Hafıza (167) ve insülin salınımının kontrolünde (176) rol almaktadır.
TRPM5	Transient receptor potential cation channel subfamily M (Melastatin) member 5	Tatlı, acı ve sıcak-soğuk algılamayı sağlamaktadır (167)
TRPM6	Transient receptor potential cation channel subfamily M (Melastatin) member 6	Mg ⁺² homeostazisinde fonksiyonu bulunmaktadır (167).
TRPM7	Transient receptor potential cation channel subfamily M (Melastatin) member 7	Mg ⁺² homeostazisi, hücre döngüsünün kontrolü (167), Akson büyümesi, primer hipokampal nöronların olgunlaşmasında rolü vardır (177).
TRPM8	Transient receptor potential cation channel subfamily M (Melastatin) member 8	Soğuk algılama ve ağrı yolağı ile ilişkilidir (167).
TRPV1	Transient receptor potential cation channel subfamily V (Vanilloid) member 1	Plastisite, nörojeniz, hücre farklılaşması, göçü ve canlılığında fonksiyonu vardır (178).
TRPV2	Transient receptor potential cation channel subfamily V (Vanilloid) member 2	Zararlı derecede ısı için termosensördür. İmmün hücre fonksiyonunun düzenlenmesinde ve (179) akson büyümesinde rol almaktadır (180).
TRPV3	Transient receptor potential cation	Osmotik basınç sensörüdür (167). Cilt

	channel subfamily V (Vanilloid) member 3	bariyeri oluşumu, yara iyileşmesi, sıcaklık algılama, kaşıntı ve ağrı algısında rol oynamaktadır (181)
TRPV4	Transient receptor potential cation channel subfamily V (Vanilloid) member 4	Beyin ozmotik basıncının düzenlenmesi (182), sinaptik iletimi arttıran gliotransmitter salınımı (183) gibi fonksiyonları bulunmaktadır.
TRPV5	Transient receptor potential cation channel subfamily V (Vanilloid) member 5	Böbrekten Ca^{+2} geri emilimini sağlamaktadır (167).
TRPV6	Transient receptor potential cation channel subfamily V (Vanilloid) member 6	Duedonumdan Ca^{+2} emilimini sağlamaktadır (167).

3.8.5. Nikotinik Asetilkolin Reseptörü (nAChR) Kanalı

Nikotinik asetilkolin reseptörleri, Ca^{+2} , Na^{+} girişi ve K^{+} çıkışı ile yönetilen ligand kapılı iyon kanal ailesine dahil olan iyonotropik reseptörlerdir (184, 185). MSS’de, otonomik gangliyonlarda, postgangliyonik nöronlarda, adrenal medullada ve iskelet kasında bulunmaktadır (186, 187). Nikotinik reseptörler beş alt üiteden (α , β , γ , δ , ϵ) oluşmaktadır. Memelilerde $\alpha 1$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$ -10, $\beta 1$ - $\beta 4$, γ , δ , ϵ olmak üzere on altı nAChR alt birimi tanımlanmıştır (188). Bu alt birimlerden beyinde alfa ($\alpha 2$ – $\alpha 7$, $\alpha 9$ ve $\alpha 10$) ve beta ($\beta 2$ – $\beta 4$) alt birimleri bulunmaktadır (189). Nikotinik reseptör aktivasyonu ACh, NA, DA, 5-HT gibi nörotransmitterlerin salınımına neden olmaktadır (185). Bu reseptörde görülen bozuklukların çeşitli psikiyatrik hastalıklara neden olduğu bilinmektedir (Tablo 5).

Tablo 5: Sıçan beyinde ifade edilen bazı nikotinik asetilkolin reseptör kanalları ve bilinen fonksiyonları

Sembolü	Adı	Fonksiyonu
CHRNA1	Cholinergic receptor nicotinic alpha 1	Sinaps oluşumu (190) ve nöromusküler sinaptik iletimde görev almaktadır (191).
CHRNA2	Cholinergic receptor nicotinic alpha 2	Hızlı sinaptik iletimi sağlamaktadır. Epilepsi, nikotin bağımlılığı, şizofreni gibi hastalıkların patofizyolojisinde rolü bulunmaktadır (192).
CHRNA3	Cholinergic receptor nicotinic alpha 3	Nikotin bağımlılığı ile ilişkilidir (193).
CHRNA4	Cholinergic receptor nicotinic alpha 4	Nikotin bağımlılığı (194) ve nokturnal frontal lob epilepsisinde rolü bulunmaktadır (195).
CHRNA5	Cholinergic receptor nicotinic alpha 5	Nikotin bağımlılığı ile ilişkilidir (193).
CHRNA6	Cholinergic receptor nicotinic alpha 6	Nikotin ve alkol bağımlılığında ve (196, 197) nöropsikiyatrik hastalıkların patofizyolojisinde rol oynamaktadır (198).
CHRNA7	Cholinergic receptor nicotinic alpha 7	Şizofreni, epilepsi ve otizm ile ilişkili olduğu bilinmektedir (199).
CHRNA9	Cholinergic receptor nicotinic alpha 9	İç kulak fizyolojisi ve immün cevap oluşumunda rol oynamaktadır (200)
CHRNA10	Cholinergic receptor nicotinic alpha 10	İç kulak fizyolojisi ve immün cevabın oluşumunda rol oynamaktadır (200)
CHRNA1	Cholinergic receptor nicotinic beta 1	Nöromusküler kavşak hastalıkları ile ilişkilidir (201).
CHRNA2	Cholinergic receptor nicotinic beta 2	Hafıza oluşumunda rol oynar. Epilepsi (Bertrand 2009), alkol ve nikotin bağımlılığı ile ilişkilidir (Ehringer 2007).
CHRNA3	Cholinergic receptor nicotinic beta 3	Nikotin ve alkol bağımlılığında rol oynamaktadır (196, 197).
CHRNA4	Cholinergic receptor nicotinic beta 4	Nikotin bağımlılığında rol oynamaktadır (193).
CHRNAE	Cholinergic receptor nicotinic epsilon	Nöromusküler kavşak hastalıklarının patofizyolojisinde rol oynamaktadır (203)
CHRNA	Cholinergic receptor nicotinic gamma	MSS anomalileri (204) ve nöromusküler bozukluklar ile ilişkilidir (205).

3.8.6. Siklik Nükleotid Kapılı Kanallar

Hücre içinde bulunan C- sonlanmalarına cAMP'nin direkt olarak bağlanmasıyla oluşan hiperpolarizasyonla etkinleşen katyon kanallarıdır. Siklik nükleotid kapılı katyon kanalları beyinde (HCN1, 2, 3, 4) ve kalpte (HCN1, 2, 4) ifade olmaktadır (206) (Tablo 6).

Tablo 6: Sıçan beyinde ifade edilen bazı siklik nükleotid kapılı kanallar ve bilinen fonksiyonları

Sembolü	Adı	Fonksiyonu
HCN1	Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 1	Motor öğrenme, hafıza ve sinaps oluşumunda rolü bulunmaktadır (207).
HCN2	Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 2	Sinaptik plastisite (208), nöropatik ağrı ve inflamasyon ile ilişkilidir (209).
HCN3	Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 3	Beyindeki görevi henüz bilinmemektedir (210).
HCN4	Hyperpolarization Activated Cyclic Nucleotide Gated Potassium Channel 4	Dopaminerjik sistemi modüle etmektedir (211).

3.9. İyon Kanal İnhibitörleri

Birçok önemli fizyolojik süreçte merkezi rol oynayan iyon kanallarının yapısal veya işlevsel bozuklukları, özellikle uyarılabilme özelliği olan her türlü hücreyi, dokuyu ve organı etkileyen, "kanalopatiler" olarak adlandırılan çeşitli hastalıklara yol açmaktadır (212). Bu nedenle iyon kanalları, hastalıkların engellenmesi ve tedavisi için yüksek potansiyelli bir hedef olarak görülmektedirler (213). Bu amaçla peptidler, toksinler, ilaçlar, bitkisel alkaloidler gibi çeşitli ajanlar iyon kanallarının modülasyonunda kullanılmaktadır (214). Günümüzde hastalıkların tedavisinde en çok kullanılan ilaçların %15'i iyon kanallarını hedeflemektedir (215). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, iyon kanal inhibitörlerinin çeşitli nöropsikiyatrik ve kardiyovasküler hastalılarda iyileştirici etkilerinin görülmesi iyon kanal inhibitörlerinin tedavi etkinliğine odaklanılmasına neden olmuştur (216-219).

İyon kanal inhibitörlerinin inhibisyon mekanizmaları genel olarak iki ana kategoriye ayrılmaktadır: (1) por tıkama, (2) allosterik bağlanma. Por tıkama özelliğindeki inhibitörler, iyon kanalının por alanında herhangi bir yere bağlanarak fiziksel olarak poru iyon geçişine kapatmaktadırlar. Genellikle potasyum kanal inhibitörleri bu mekanizma ile inhibisyon gerçekleştirmektedir.

Allosterik bağlanmada ise porun ekstraselüler kısmında spesifik bir bağlanma bölgesinin bulunması gerekmektedir. Allosterik inhibitörlerin spesifik bölgeye bağlanması iyon kanalında konformasyonel bir değişikliğe neden olarak kanalın işlevine engel olmaktadır. L tipi kalsiyum kanal inhibitörleri ve çoğu doğal toksin bu mekanizma ile iyon kanallarını bloke etmektedir (214).

Tablo 7: Mevcut çalışmada kullanılan iyon kanal inhibitörleri

Adı	Formülü	Hedeflediği İyon Kanalı	Kaynak
Pico145	$C_{23}H_{20}ClF_3N_4O_5$	TRPC1/4/5	220
bPiDI hydrate	$C_{22}H_{34}I_2N_2 \cdot xH_2O$	CHRNA6	221, 222
9-Phenanthrol	$C_{14}H_{10}O$	TRPM4	223

3.10. Majör Depresif Bozuklukta İyon Kanallarının Rolü

Günümüzde oldukça yaygın olarak görülen MDB, teşhisi ve tedavisi zor olan yineleyici bir hastalıktır (20). Bu nedenle hastalıkla ilişkili mekanizmaların araştırılması MDB'nin teşhis ve tedavisinde oldukça önemlidir. Hücre içi sinyal iletimindeki düzensizliklerin başta MDB olmak üzere duygudurum bozukluklarının altında yatan önemli nedenlerden olduğu bilinmektedir (42). Nörotransmitterlerde, Na^+ , K^+ ve Ca^{+2} gibi iyonların aktivitesinde ve ikincil haberci sistemlerde meydana gelen düzensizliklerin MDB etiyolojisinde rolü olduğu öne sürülmektedir (224). Hayvan deneyleri ve genetik çalışmalar, Cav, Kv, 5-HT ve purinerjik (P2X7) reseptör kanalları dahil olmak üzere birçok kanal tipinin depresyon benzeri davranışı etkileyebileceğini göstermektedir (225, 226). Ayrıca beynin duygu düzenlenmesi ile ilgili kısımlarında bol miktarda bulunan Ankyrin-3 (ANK-3), CACNA1C, HCN4 gibi iyon kanallarındaki polimorfizmler MDB ile ilişkilendirilmektedir (211, 227). Bu bağlamda yapılan çok sayıda çalışmada, iyon kanalı aktivitesinin modülasyonunun hayvan modellerinde depresyon benzeri davranışı veya insanlarda depresif belirtileri azaltabildiği

gözlenmiştir (225). Beyinde Na^+ , K^+ ve Ca^{+2} kanal aktivitesinin inhibe edilmesinin anksiyete ve MDB tedavisinde iyileştirici etkiler gösterdiği bildirilmiştir (228, 229). Ayrıca prelinik çalışmalarda bazı antidepresan ilaçların iyon kanal inhibitörü özelliğine sahip olduğu gösterilmiştir (230, 231). Çeşitli MDB hayvan modeli çalışmalarında tetraethylammonium (TEA), apamin, charybdotoxin, gliquidone ve glibenclamide gibi bazı K^+ kanal inhibitörlerinin ve Ca^{+2} kanal inhibitörü nifedipinin ZYT’de antidepresan etkinliğinin olduğu görülmüştür (228, 232).

3.11. mikroRNA’lar

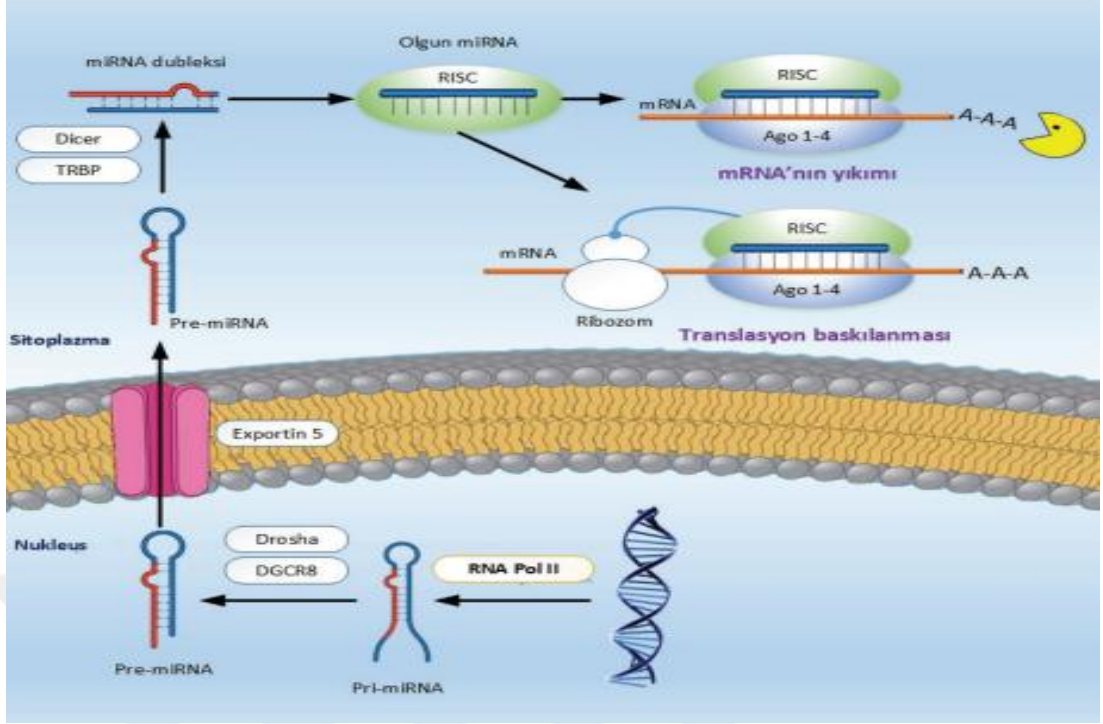
Genetik ifadenin doğru zaman ve miktarda, kusursuz şekilde yerine getirilebilmesi için insan vücudu var olduğu andan itibaren gen regülasyonuna ihtiyaç duymaktadır. Yapılan çalışmalarda çoğunlukla gen ifadesi ile ilişkili olduğu bilinen DNA metilasyonunun, histonlar ve transkripsiyon faktörleri gibi moleküllerin gen regülasyonu üzerindeki rolüne yoğunlaşmıştır. (233). Ancak son yıllarda, önceleri sadece DNA ile protein arasında bilgi taşıyıcısı olarak görülen RNA’ların, gen düzenlenmesinde de oldukça büyük rolü olan moleküller olduğu keşfedilmiştir (234). Yapılan tüm genom sekanslama çalışmalarında, genomun yaklaşık %1.5’luk kısmının protein kodlamadan sorumlu olduğu, çok büyük bir kısmının ise kodlama yapmayan (noncoding RNA (ncRNA)) olarak adlandırılan proteine dönüşmeyen düzenleyici RNA’ları oluşturduğu gösterilmiştir (234, 235). Günümüzde, hedef komplementer mRNA dizisinin parçalanmasına veya baskılanmasına neden olarak posttranskripsiyonel düzenlemede işlev gören birçok ncRNA bulunmaktadır (236). Bu ncRNA’lardan, yaklaşık 22 nükleotid uzunluğundaki mikroRNA’lar (miRNA), 1993’te Victor

Ambros ve ekibinin *Caenorhabditis elegans* 'ın hücrel gelişim mekanizmasını incelediği araştırma ile keşfedilmiştir (234). Ambros ve ekibi gelişimsel zamanlamayı kontrol eden lin-4 gen ürününün kısa saç tokası şeklinde, 22 nükleotid uzunluğunda, proteine dönüştürülmeyen bir RNA olduğunu keşfetmişlerdir (237). Lin-4'ün, lin-14 mRNA'sının 3'UTR alanında bulunan bölge ile komplementer bir RNA kodladığı ve bu ncRNA'nın bu bölgeye bağlanıp lin-14'ün translasyonunu engelleyerek larval gelişimin zamanlanmasını düzenlediği saptanmıştır (238). Daha sonraki yıllarda çeşitli araştırmacılar tarafından yapılan çalışmalarda birçok farklı miRNA, miRNA biyogenezinde ve mRNA susturumunda görev alan enzimler keşfedilerek mekanizmanın nasıl işlediği daha da aydınlatılmıştır (237). miRNA'ların, posttranskripsiyonel gen susturma mekanizması ile gen ifadesinin kontrolünde göstermiş oldukları etkilerin çoğalma, farklılaşma, savunma gibi birçok hücrel sürecin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı belirlenmiştir (239). Dolayısıyla miRNA'ların görevini yerine getirememesinin veya normal olmayan ifadelerinin birçok hastalığın patogeneğinde yer aldığı bilinmektedir (240).

3.12. miRNA Biyogenezi ve Susturma Mekanizması

MikroRNA biyogenezi, nükleus ve sitoplazmada bulunan farklı enzimler ve proteinler aracılığıyla gerçekleştirilen karmaşık bir süreçtir (239). Bu süreç, protein kodlayan genlerin intronlarında veya gen içi bölgelerde lokalize miRNA genlerinden, RNA polimeraz II/III enzimi aracılığıyla, birkaç kb uzunluğundaki primer miRNA (pri-miRNA) transkripsiyonu ile başlamaktadır (239, 241). Henüz olgun yapıda olmayan sap-ilmik yapısındaki bu pri-miRNA'ların 5' ucunda 7-metilguanozin başlık ve 3' ucunda poli-A kuyruğu bulunmaktadır (55). Sap-ilmik

yapısı, bir RNAaz III enzimi olan Drosha ve kofaktörü DiGeorge kritik sendrom bölgesi 8 (DGCR8)'den oluşan mikro işlemci tarafından nükleusta kesilerek 60-70 nükleotid uzunluğunda prekürsör miRNA (pre-miRNA) oluşmaktadır. Pre-miRNA şeklini alan miRNA çekirdekten sitoplazmaya çift iplikli RNA bağlama kapasitesine sahip RAN-GTPaz ile ilişkili taşıyıcı bir protein olan Exportin-5 aracılığı ile taşınmaktadır (237). Sitoplazmaya geçen pre-miRNA'nın sap ilmik yapısı, bir RNAaz III enzimi olan Dicer ve transaktif edici yanıt oluşturan çift zincir RNA bağlama proteini (Trans-activation response (TAR) RNA-binding protein (TRBP)) vasıtasıyla kesilerek yaklaşık 18-24 nükleotid uzunluğunda “olgun” ve “yolcu” iplikçiginden oluşan çift iplikli miRNA'ya dönüştürülür (240-243). Anti-kılavuz veya yolcu iplik olarak adlandırılan zincir yıkılırken olgun iplik ise Argonate-2 (Ago-2) bağlı RISC (RNA-induced silencing complex) enzim kompleksine bağlanır (244). Bu enzim kompleksine bağlanan iplik, sahip olduğu 6-8 nükleotitlik ‘tohum dizisi’ aracılığıyla, hedef mRNA'nın özellikle 3'UTR bölgesi olmak üzere, 5'UTR, ORF veya promotor bölgelerine bağlanarak post transkripsiyonel düzenlemeyi gerçekleştirmektedir (245, 246). Bu düzenleme miRNA'ların, hedef mRNA'ya olan komplementerlik derecelerine bağlılık göstermektedir. mikroRNA ve hedef mRNA bölgesi arasında tam ya da tama yakın baz eşleşmesi varsa RISC indüklenerek hedef mRNA'nın yıkımı gerçekleşmektedir. MikroRNA'lar hedef mRNA'ların deadenilasyonuna neden olarak mRNA yıkımını sağlayabilmektedirler. mikroRNA ile hedef mRNA arasında eksik veya tam olmayan baz eşleşmesi olması durumunda ise hedef mRNA baskılanarak translasyon engellenmektedir (239).



Şekil 1: miRNA Biyogenezi: 1. pri-miRNA transkripti oluşumu. 2. pri-miRNA'dan pre-miRNA oluşumu. 3. Pre-miRNA'nın sitoplazmaya taşınımı. 4. Pre-miRNA'ların Dicer enzimi ile olgun miRNA'lara dönüşümü 5. miRNA'nın AGO-RISC kompleksi ile birleşmesi. 6. mRNA'nın translasyonel olarak baskılanması veya yıkımı (239).

3.13. miRNA ve Majör Depresif Bozukluk İlişkisi

Sinir sistemi uyaranlara, fonksiyonel ve gelişimsel olarak çeşitli moleküler mekanizmalar yoluyla gen ifadesini değiştirerek yanıt vermektedir (237). Yapılan çalışmalar stres vb. nedenlerle sinir sistemi düzenleyen genlerin ekspresyonunda gelişen anormalliklerin, prefrontal kortekste nöronal yoğunluğun azalması, nöroplastisite kaybı, amigdalada hipertrofi ve hipokampus hacminde azalma gibi durumlara neden olarak MDB patogenezinde önemli rol oynadığını göstermiştir (52, 247). Beyinde bol miktarda bulunan miRNA'lar, nörona özgün genlerin %30–50'sinin ifadesini değiştirebilmektedir. miRNA'nın beyindeki işlevlerini inceleyen çeşitli çalışmalar bu moleküllerin beyinde önemli birçok hücresel süreci

etkileyerek nörogenez, nöral farklılaşma, akson ve dendrit gelişimi, sinaptogenez ve sinaptik plastisiteyi düzenlediğini göstermiştir (4, 237). Bu nedenle beyinde sayıca fazla olan ve çoğu beyine spesifik olarak bulunan miRNA'lardaki herhangi bir bozukluğun, sinir sistemini doğrudan etkileyerek MDB gibi çeşitli nöropsikiyatrik hastalıklara neden olması muhtemeldir (237). Majör depresyon etiyolojisinde yer alan en önemli etmenlerden stresin, nörotrofin seviyelerinde azalma, nörogenezde hasar, sinaptogenezde bozulma vb. gibi etkilerini miRNA ifadelerini değiştirmek suretiyle gösterdiğini bildiren, insanlarda ve rodentlerde yapılmış çalışmalar bulunmaktadır (4). Yapılan çalışmalarda miRNA'ların MDB üzerindeki etkisinin, bir nörotrofin olan ve nöral gelişim ve plastisitede önemli rolü olan BDNF ifadesini etkileyerek sinaptik plastisiteyi bozmak ya da serotonin taşıyıcı (SERT) ifadesini değiştirmek yolları ile de olabileceği öne sürülmektedir (4, 21). Beyin işlevlerinin neredeyse her sürecinde önemli roller üstlenen miRNA'ların oluşum mekanizmasında işlev gören Dicer, Drosha, RISC, DGRC8 moleküllerindeki kusurlar miRNA biyogenezini bozmakta ve MDB oluşumuna katkıda bulunmaktadır (248). Dicer nakavt farelerin nöron hacimlerinde ve akson dallanmalarında azalma görülürken, DGRC8 nakavt farelerle yapılan çalışmalarda sinaptik bağlantı sayısında ve dendrit dallanmalarında azalma olduğu gözlenmiştir (249).

3.14. Majör Depresyonda İyon Kanalları ve miRNA İlişkileri

Sinir ve kas dokularının uyarılabilirlik özelliği nedeniyle kanalopatilerin önemli bir kısmının nöropsikiyatrik hastalıklara yol açtığı bilinmektedir (212). Bu nedenle günümüzde duygudurum hastalıklarıyla ilgili yapılan genetik çalışmaların çoğu hastalıkla ilişkili olduğu düşünülen iyon kanalları ve bu kanalların

düzenlenmesinde rolü olan genler üzerine yapılmaktadır (250). Gen ifadesinin Kontrolünde oldukça önemli rolü olan mikroRNA'lar iyon kanal genlerinin ifadelerinin düzenlenmesi sürecine de dahil olmaktadır (251). İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan pek çok MDB çalışmasında miRNA olarak bilinen ve proteine çevrilmeyen RNA moleküllerinin ifadelerinde değişimler olduğu tespit edilmiştir (52, 249, 252, 253).

MikroRNA'lar çeşitli iyon kanal genlerini ve iyon kanalları ile ilişkili genleri hedef aldıkları gibi iyon kanallarının da miRNA'ların düzenlenmesinde etkisi olduğu bilinmektedir (254). Hücreler büyüme faktörleri, nörotransmitterler, inorganik iyonlar, pH, oksijen, sıcaklık ve osmoz gibi faktörlerin olduğu ekstraselüler bir mikro çevre içinde bulunmaktadır. Bu faktörler aynı zamanda önemli hücresel süreçlerde rolü olan çeşitli intraselüler sinyal yolları ile birleşmektedir. Bu mikro çevredeki değişimlerin miRNA ekspresyonlarının değişimine neden olduğu bilinmektedir (254). Ancak şu ana kadar MDB'de iyon kanal inhibitörlerinin, miRNA seviyeleri üzerine etkisinin araştırıldığı çalışmalara rastlanmamıştır. Mevcut antidepresan tedavilerinin sınırlılıkları, MDB'nin tedavisinde daha kapsamlı ve farklı yaklaşımlara ihtiyaç duyulduğunu göstermektedir (255). Bu nedenle MDB'de iyon kanal mRNA'larını hedefleyen miRNA ifadelerinin belirlenmesi ve miRNA-iyon kanal ilişkilerinin araştırılmasının, hastalığın etyopatogenezinde rol oynayan farklı mekanizmaları ortaya koyarak hastalığın tanı ve tedavisi için yeni yöntemlerin geliştirilmesine zemin hazırlayacağı düşünülmektedir.

Tablo 8: Mevcut çalışmada ifadesi incelenen miRNA’lar ve hedefledikleri iyon kanalları

miRNA	Hedeflediği İyon Kanalı
rno-miR-135a-5p	TRPC1, TRPM4
rno-miR-135b-5p	TRPC1, TRPM4
rno-miR-186-5p	TRPC1
rno-miR-875	TRPC1
rno-miR-702-3p	CHRNA6
rno-miR-6334	CHRNA6
rno-miR-344a-5p	CHRNA6
rno-miR-484	CHRNA6
rno-miR-500-3p	CHRNA6
rno-miR-501-3p	CHRNA6
rno-miR-3569	TRPM4
rno-miR-433-5p	TRPM4
rno-miR-6320	TRPM4
rno-miR-296-5p	TRPM4
rno-miR-361-3p	TRPM4
rno-miR-203a-5p	TRPM4

İyon kanallarını hedefleyen özellikle 7-8 mer’lik komplemlerliğe sahip olan miRNA’lar, TargetScan, miRDB ve miRTarBase gibi veri tabanlarından seçilmiştir (256-258).

Yaptığımız literatür taramalarında, MDB’de iyon kanal gen ifadelerinin geniş çaplı değerlendirildiği çalışma olmadığı ve iyon kanal inhibitörlerinin antidepresan etkinliği ile ilgili yapılan çalışmalarda çoğunlukla genel inhibitörler kullanıldığı, kanala spesifik inhibitörlerin terapötik etkinliğinin çalışıldığı çok fazla çalışma olmadığı görülmüştür. Bu nedenle mevcut çalışmamız, konu hakkında daha geniş kapsamlı ve ayrıntılı çalışmaların yapılması gerektiği düşüncesi ile planlanmıştır. Planlanan bu çalışmada, KHS ile oluşturulan sıçan MDB modelinde;

1. Majör depresyonda etkili olduğu düşünülen beyin bölgelerinden, prefrontal korteks ve hipokampus dokularında sentezlendiği tespit edilen 115 iyon kanalının ifadelerinin değerlendirilmesi ile iyon kanallarının MDB etyopatogenezindeki rolünün kısmen aydınlatılması,

2. İstatistiki olarak anlamlı düzeyde ifade değişimlerinin tespit edildiği iyon kanalları içerisinde, yüksek düzeyde arttığı tespit edilen iyon kanallarına (TRPC1, CHRNA6, TRPM4) spesifik inhibitörlerin (Pico145, BpiDI, 9-Phenanthrol), MDB’de tedavi amaçlı kullanılabilirliğinin ortaya konması,
3. Tedavi amaçlı iyon kanal inhibitörü kullanılan gruplarda, terapötik etkinliğin, zorunlu yüzme testi, açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi gibi davranış testlerine ilaveten beyin nörotransmitter düzeylerindeki değişimlerin tespitiyle desteklenmesi,
4. Kullanılan iyon kanal inhibitörlerinin, bloke edilen kanalları hedefleyen miRNA ifadeleri üzerine etkisinin belirlenmesiyle, MDB’de iyon kanal-miRNA ilişkilerinin ve hastalığın etyopatogenezinde rol oynayan farklı mekanizmaların ortaya konması ayrıca MDB’nin teşhis ve tedavi başarısının takibi için yeni biyobelirteçlerin tanımlanması amaçlanmıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanları

Çalışmada denek olarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden (FÜDAM) temin edilen 48 adet, 2 aylık Wistar albino erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanlığının 06.09.2017 tarihli, 181 karar no'lu onayı alındıktan sonra başlatıldı.

Kontrol grubundaki sıçanlar yaklaşık 23°C ortam sıcaklığında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ortamda, su ve yemleri ad libitum verilerek, üst kısmı ızgaralı polikarbonat (50cm×30cm×20cm) koloni kafeslerinde yaşatılırken, diğer gruplara kronik hafif stres (KHS) protokolü çerçevesinde çeşitli uygulamalar yapıldı.

4.2. Deney Grupları

Çalışmada 6 deney grubu oluşturuldu. Gruplara yapılan uygulamaların ayrıntıları ilgili bölümlerde anlatılmıştır.

1. Kontrol grubu (n=10): Kronik hafif stres ve herhangi bir ilaç uygulanmadı. Davranış testleri yaptırıldı.

2. KHS grubu (n=10): Kronik hafif stres ve davranış testleri uygulandı. İlaç uygulaması yapılmadı.

3. Sham grubu (n=7): Kronik hafif stres uygulanarak diğer ilaç gruplarıyla aynı saatlerde, 0,3 ml DMSO intraperitoneal olarak enjekte edildi. Daha sonra sıçanlar davranış testlerine tabi tutuldu.

4. KHS + Pico145 grubu (n=7): Kronik hafif stres uygulamasından sonra TRPC1'in inhibitörü olan Pico145 1 mg/kg dozda intraperitoneal olarak verildi. Daha sonra sıçanlar davranış testlerine tabi tutuldu.

5. KHS + bPiDl grubu (n=7): Kronik hafif stres uygulamasından sonra CHRNA6'nın spesifik inhibitörü olan bPiDl, 3 mg/kg dozda intraperitoneal olarak verildi. Daha sonra sıçanlara davranış deneyleri uygulandı.

6. KHS + 9-Phe grubu (n=7): Kronik hafif stres modeli oluşturulduktan sonra TRPM4'ün spesifik inhibitörü olan 9-Phenanthrol (9-Phe) 1 mg/kg dozda intraperitoneal olarak enjekte edildi. Daha sonra sıçanlar davranış testlerine tabi tutuldu.

Kontrol grubundaki ve KHS gruplarındaki tüm sıçanların vücut ağırlıkları KHS uygulamasının başında 3., 5. ve 7. haftasında darası alınmış hassas tartı ile ölçülmüş ve kaydedilmiştir.

4.3. Çalışma Planı ve Metodu

Çalışmanın daha iyi anlaşılması için uygulanacak yöntemler ve çalışma planı aşağıda basamaklar halinde özetlenmiştir. Yöntemlerin ayrıntıları ilgili bölümlerde verilmiştir.

1. Kontrol grubu ve KHS grubu sıçanların hipokampus ve prefrontal kortekslerinde ifade düzeyleri incelenen iyon kanalları “expression atlas” (259), “peptide atlas” (260) gibi veri tabanlarından ve Shcherbatyy ve ekibinin sıçan iyon kanal atlası çalışmasından faydalanılarak seçildi (261).

2. Kronik hafif stres modeli oluşturulan KHS grubuna ve Kontrol grubuna davranış testleri (Sükroz tercih testi, açık alan testi, zorunlu yüzme testi, yükseltilmiş artı labirent testi) yapıldı ve sıçanların beyinlerinin prefrontal korteks

ve hipokampus bölgelerinde seçilen iyon kanal ifadeleri qRT-PCR ile analiz edildi.

3. Özellikle artış yönünde değişimi tespit edilen iyon kanalları içerisinde en yüksek miktarda artış gösteren ve spesifik inhibitörü bulunanlardan 3 tanesi tedavi uygulamaları için seçildi (Bknz: Not 1).

4. Kontrol ve KHS gruplarına yapılan davranış testlerinin (Sükroz tercih testi hariç) Sham ve KHS + inhibitör (9-phenanthrol, BpID1 ve Pico145) gruplarına da yapılması ve tüm grupların nörotransmitter düzeylerinin belirlenmesi ile kullanılan inhibitörlerin antidepresan etkinliği değerlendirildi.

5. Tüm gruptaki sıçanların beyinlerinin prefrontal korteks ve hipokampus bölgelerinde, seçilen 3 iyon kanalının (TRPC1, TRPM4, CHRNA6) mRNA'larını hedefleyen ve özellikle 7-8 mer'lik komplementerliğe sahip olan miRNA'lar, TargetScan, miRDB ve miRTarBase veritabanlarından belirlenerek ifadeleri qRT-PCR ile analiz edildi (256-258).

NOT 1: Analizi yapılacak olan iyon kanallarından artışı en yüksek olan 3 adet iyon kanalının tedavi amaçlı seçiminde aşağıdaki kriterler göz önünde bulunduruldu.

1. Özellikle prefrontal korteks ve hipokampus beyin bölgelerinin her ikisinde de artışı tespit edilen iyon kanallarına spesifik inhibitörler seçildi.

2. Spesifik inhibitörü ticari olarak bulunan iyon kanalları tercih edildi.

3. Daha önce KHS sıçan modelinde tedavi amaçlı uygulanmamış olmasına özen gösterildi.

4.4. İlaçların Hazırlanması ve Uygulanması

Literatürdeki antidepresan etkinliği çalışmalarında ilaçlar genellikle akut, subakut veya kronik olarak uygulanmaktadır (262). Çalışmamızda, KHS ile oluşturulan MDB modelinde test ettiğimiz iyon kanal inhibitörleri, antidepresan etkinliğin belirlenmesi için uygun yöntemlerden biri olduğu bilinen subakut (davranış testlerinden önce, 24 saat içinde 3 doz) uygulama ile verildi (263). Çalışmada kullanılan iyon kanal inhibitörlerinin kan beyin bariyerini geçtiği bilinmektedir (220, 265-267) (Tablo 9). İlaç dozları her hayvana tek seferde 0,3 ml içinde verilecek şekilde hesaplanarak çözüldü.

Sıçanlarda KHS ile MDB modeli oluşturulduktan sonra, inhibitörler her grup için aşağıda belirtilen dozlarda, davranış deneylerinden 24 saat önce, 5 saat önce ve 1 saat önce olmak üzere 3 doz olarak verildi (263, 264).

TRPC1'in inhibitörü olan Pico145 (MedChemExpress, Kat No: HY-101507), 1mg/kg dozda olacak şekilde dimetil sülfoksit (DMSO) ile çözülerek, KHS + Pico145 grubundaki sıçanlara her hayvana intraperitoneal olarak 0,3 ml verildi (220, 265).

TRPM4'ün spesifik inhibitörü olan 9-Phenanthrol (Toronto Research Chemicals, kat. no: P295020), 1mg/kg dozda olacak şekilde DMSO'da çözülerek, KHS + 9-Phe grubundaki sıçanlara her hayvana 0,3 ml intraperitoneal olarak enjekte edildi (266).

CHRNA6'nın spesifik inhibitörü olan bPiDl hydrate (Sigma-Aldrich, Kat No: SML0182), 3 mg/kg dozda olacak şekilde SF'de çözülerek, her hayvana 0,3 ml intraperitoneal olarak enjekte edildi (267).

Sham grubuna diğer gruplarla aynı saatlerde, 0,3 ml % 100'lük DMSO intraperitoneal olarak verildi. Serum fizyolojinin sıçan beyinleri üzerine bir etkisinin olmadığı bilindiğinden ayrı bir Sham grubu oluşturulmamıştır.

Tablo 9: Mevcut çalışmada kullanılan iyon kanal inhibitörleri

Adı	Formülü	Hedefi	Çözücüsü	Doz ve Yöntem
Pico145	$C_{23}H_{20}ClF_3N_4O_5$	TRPC1	DMSO	1 mg/kg / intraperitoneal
9-Phenanthrol	$C_{14}H_{10}O$	TRPM4	DMSO	1 mg/kg / intraperitoneal
bPiDI hydrate	$C_{22}H_{34}I_2N_2 \cdot xH_2O$	CHRNA6	SF	3 mg/kg / intraperitoneal

4.5. Kronik Hafif Stres ile Majör Depresif Bozukluk Modelinin Oluşturulması

Kronik hafif stres, MDB hayvan modeli çalışmalarında en çok kullanılan ve güvenilirliği yüksek olan bir yöntemdir. Standart bir KHS protokolü bulunmayıp, yapılan çalışmalarda farklı şekillerde uygulanabilmektedir. Çalışmamızda Willner'in çalışmaları baz alınarak çeşitli modifikasyonlarla bir KHS protokolü oluşturuldu (74). Kronik hafif stres oluşturmak amacı ile ratlar, 7 hafta süre ile rastgele olarak günlük 2-5 farklı stres faktörüne maruz bırakıldı (268) (Tablo 10). Deney hayvanlarının uygulanan stresöre alışmaması ve öngörememesi için aynı stres faktörü iki gün üst üste uygulanmamıştır. Uygulama sonunda Kontrol grubu ve KHS grupları davranış testlerine (STT, ZYT, AAT, YALT) tabi tutularak depresif davranışlar değerlendirildi. Daha sonra Tablo 9'da belirtilen dozlarda inhibitor verilen gruplardaki sıçanlara da davranış testleri uygulanarak (STT hariç) inhibitörlerin antidepresan etkinlikleri değerlendirildi.

Tablo 10: Kronik hafif stres ile MDB modeli oluşturmak amacı ile sıçanlara uygulanan stres faktörleri

Faktör	Pzts	Salı	Çar	Perş	Cuma	Cmts	Paz
Gece aydınlıkta bırakma	19.00 →					19.00→	
Yabancı cisim				08.00 →			15.00 →
Yiyecek kısıtlama		08.00 →			08.00 →		
Su kısıtlama + 30 dk boş suluk	08.00 →		12.00 →				
Nemli talaş			08.00 →				
Talaşsız kafes				08.00 →		08.00 →	
İzolasyon		08.00 →				08.00 →	
Çakar ışık			11.00-14.00		12.00-16.00		08.00-11.00
Gündüz karanlıkta bırakma	12.00-15.00			09.00-12.00			
45° eğimli kafes		08.00-16.00			09.00-17.00		
90 dB beyaz ses	15.00-16.00			14.00-15.00			12.00-15.00

KHS ile MBD modeli oluşturmak için, Kontrol grubu dışındaki gruplara; 18-24 saat su kısıtlaması + 30 dk boş suluk verme (76), 12-24 saat yiyecek kısıtlaması (77, 78), 12 saat gece aydınlıkta bırakma (78), 3 saat gündüz karanlıkta bırakma (77), 8 saat kafesi 45° eğik bırakma (77), 24 saat nemli talaşlı veya talaşsız kafeste bırakma (Lulu 2016), 24 saat kafese yabancı bir cisim koyma (79), 24 saat izolasyon (tek başına ayrı kafese koyma) (78), 1 saat 90 db beyaz sese maruz bırakma (78) ve 4 saat çakar (strob) ışığa maruz bırakma (80) gibi stres faktörleri uygulandı. Pzts: Pazartesi, Çarş: Çarşamba, Perş: Perşembe, Cum: Cuma, Cmts: Cumartesi, Paz: Pazar

4.6. Davranış Testleri

Sıçanlarda KHS ile oluşturulan MDB modelinin davranışsal değerlendirmeleri için sükroz tercih testi, zorunlu yüzme testi, açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi uygulanmıştır. Çalışmada kullanılan iyon kanal inhibitörleri akut uygulandığından dolayı davranış testleri aynı gün içinde yapılmıştır.

4.6.1. Sükroz Tercih Testi

Kronik Hafif Stres protokolü uygulanan kemirgenlerde sükroz tercihinin azalması (% 65'in altına düşmesi) MDB'nin temel semptomlarından olan anhedonia olarak yorumlanmaktadır (269). Çalışmamızda MDB modelinin sağlıklı bir şekilde oluşturulması için, anhedoninin gelişip gelişmediğinin kontrolü, tüm gruplara STT uygulanarak yapılmıştır. Sükroz tercih testi, KHS'ye başlamadan önce (bazal), KHS'nin 3., 5. ve 7. haftasında olmak üzere toplam 4 kez uygulandı. KHS'ye başlamadan yapılan bazal STT ile grupların % sükroz tercihi değerinin sağlıklı düzeyde ($\geq$ %65) olduğundan emin olundu. Hesaplamalar ($\% \text{ sükroz tercihi} = (\text{sükroz tüketimi} / (\text{Su} + \text{Sükroz tüketimi}) \times 100$) formülüne göre yapıldı.

Test için % 1'lik sükroz (Sigma- Aldrich, Kat No: S8501) çözeltisi hazırlandı. Testten önce deney gruplarının sükroza alışması için alıştırma prosedürü uygulandı. Alıştırma için %1' lik sükroz çözeltisi içeren iki şişe, 24 saat süreyle her bir kafese verildi. Sonraki gün şişelerin birine içme suyu diğerine % 1'lik sükroz içeren sükroz çözeltisi konularak 24 saat sonra ölçüm yapıldı. Sulukların konumlarına karşı gelişebilecek olası bir tercih yanlılığını önlemek amacıyla 12 saat sonra şişelerin yerleri değiştirildi. Testten önce yiyecek veya su kısıtlaması yapılmadı. Sükroz çözeltisi ve su alımı miktarı, şişelerin son ağırlığının (24 saat sonra) başlangıç ağırlığından çıkarılmasıyla hesaplandı (269).

4.6.2. Zorunlu Yüzme Testi

Kemirgenlerle yapılan MDB çalışmalarında, özellikle antidepresan tedavi taramalarında en sık kullanılan ve güvenilirliği yüksek olan hayvan modeli

ZYT'dir. Mevcut çalışmamızda ZYT uygulaması, Porsolt ve arkadaşlarının çalışması baz alınarak yapıldı (83). Pleksiglastan yapılmış silindir şeklinde, 30 cm çapında ve 65 cm yüksekliğinde konteynerin içi 45 cm'ye kadar 25°C su ile dolduruldu (270). Denekler ilk gün 15 dk yüzdürüldü. Yüzdürmeden 15 dk sonra Sham ve KHS + inhibitör (Pico145, 9-Phe, BpiDI) gruplarına iyon kanal inhibitörleri belirtilen dozlarda verildi. 24 saat sonra, ZYT'den 5 saat önce ve 1 saat önce 2. ve 3. ilaç dozları uygulandı (263), (Tablo 9). Tüm gruplardaki sıçanlar 5 dk zorunlu yüzmeye bırakıldı. Toplam süre boyunca sıçanların hareketsizlik (başın su üstünde olduğu vücudun hareketsiz kaldığı dönemler), yüzmeye ve tırmanma (düzeneğin duvarlarına tırmanma) parametrelerini hesaplayabilmek için video kaydı yapıldı. İkinci günün yüzdürme kayıtları tarafsız bir gözlemci tarafından 5 saniyelik aralıklarla skorlama (yüzmeye, tırmanma ve hareketsizlik) yapılarak hesaplandı (263, 264).

4.6.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent testi, MDB'nin önemli semptomlarından biri olan anksiyetenin değerlendirilmesinde kullanılmaktadır (72). Pleksiglastan yapılan, yerden yüksekliği ve kol uzunluğu 50 cm, kol genişlikleri 10 cm ve kapalı kollarının yüksekliği 50 cm olan, yükseltilmiş karşılıklı iki kolu kapalı ve iki kolu açık, artı şeklinde bir düzenek kullanıldı. Sham grubu ve KHS + inhibitor (Pico145, 9-Phe, BpiDI) gruplarına testten 24 saat, 5 saat ve 1 saat önce ilaç verildi (Tablo 9). Tüm gruplardaki hayvanlar labirentin ortasına, başı açık kola doğru bakacak şekilde yerleştirilerek 5 dk süre ile video kaydı yapıldı (271). Deney hayvanının kapalı kol üzerinde geçirdiği zamanın uzaması, hareketsizlik süresinin artması ve açık kola giriş sayısının, merkezi alanda gezinme süresinin ve

arka ekstremite üzerine kalkıp havayı koklama sayısının azalması anksiyete göstergesi olarak değerlendirildi (72). Her bir sıçan yükseltilmiş artı labirent testinde değerlendirildikten sonra, diğer hayvanların etkilenmemesi için labirent % 70'lik alkol ile temizlendi (271).

4.6.4. Açık Alan Testi

Açık alan testi, araştırılmak istenen ilaç ya da deney öncesi ve sonrası duygusal durumda meydana gelebilecek değişiklikleri saptamak için en çok kullanılan testlerden biridir (272). Lokomotor aktivite, araştırma aktivitesi ve anksiyete seviyesi açık alan testinde değerlendirilebilmektedir. Açık alan; pleksiglastan yapılmış, 80 x 80 cm ebatlarında, 25 eşit kareye ayrılmış ve kenarları 40 cm yüksekliğinde yine plastik ile kapatılmış, üzeri açık bir düzenektir. Sham grubu ve KHS + inhibitor (Pico145, 9-Phe, BpiDI) gruplarına testten 24 saat, 5 saat ve 1 saat önce ilaç verildi (Tablo 9). Tüm gruplardaki sıçanlar açık alanın merkezine bırakılarak 5 dakika boyunca kamera kaydı alındı. Hayvanın kenarda ve merkezde geçirdiği süre, geçtiği kare sayısı (katettiği mesafe, horizontal aktivite), defekasyon sayısı, iki arka ekstremitesi üzerine kalkarak etrafı inceleme hareketi (şahlanma, vertikal aktivite) ölçüldü. Kenarda geçirilen sürenin, hareketsizliğin ve defekasyonun artması anksiyete göstergesi olarak değerlendirildi. Her bir sıçan kayıt altına alındıktan sonra, diğer hayvanların etkilenmemesi için labirent % 70'lik alkol ile temizlendi (93).

4.7. Hayvanların Dekapite Edilmesi ve Dokuların Alınması

Davranış deneylerinden sonra, deneklere anestezişiz ötenazi işlemi uygulanarak beyinleri hızlıca açıldı. Beyinin prefrontal korteks ve hipokampus

bölgeleri ayrıldı. Alınan dokular sıvı azot tankına alınarak hemen donduruldu ve daha sonra biyokimyasal ve moleküler analizlerde kullanılmak üzere -80 °C’de saklandı. Analizlerin tamamı Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarlarında yapıldı.

4.8. Biyokimyasal Analizler

Tüm grupların total beyinlerinde, asetilkolin (Fine Test, Kat No: ER1466), norepinefrin (Sunred Biotechnology Company, Kat No: 201-11-0515), serotonin (Sunred Biotechnology Company, Kat No: 201-11-1683) ve dopamin (Fine Test, Kat No: EU0392) düzeyleri sıçan spesifik ELISA kitleri kullanılarak analiz edildi.

4.8.1. ELISA Analizleri

ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) analizi için kullanılacak beyin örnekleri, 50 mg tartılarak 1.5 ml’lik mikrosantrifüj tüplerine alındı. Tüplere, içerisinde proteaz inhibitör kokteyli (Sigma-Aldrich, Kat No: P2714) (100 ml tampon için 1 ml) bulunan soğuk fosfat tamponlu tuz çözletisinden (Phosphate Buffer Saline; PBS, pH 7.4) (Sigma-Aldrich, Kat No: P4417) 450 µl ve 0,5 mm zirkonyum oksit homojenizasyon boncukları (Next Advance, Kat No: ZROB015) eklenerek homojenizatör (Next Advance, Kat No: BBY24M) ile homojenize edildi. Homojenize olan örnekler, 4°C’de 4000g’de 10 dk santrifüj (Beckman Coulter, Allegra X-30R Santrifuge, Kat No: B06322) edilerek, supernatant kısımları testte kullanılmak üzere ayrıldı. Analizler, Elisa kitlerinin içinde bulunan kullanma talimatlarına uyularak aşağıdaki gibi yapıldı;

1. Standart dilüsyonlar; kitte yer alan standart solüsyon ve standart dilüe edici solüsyonun kullanma talimatında belirtilen miktarlarda

ilave edilmesiyle hazırlandı.

2. **Kör (Blank) Kuyucuk:** 96 kuyucuk bulunan plakanın (plate) ilk kuyucuğu boş bırakıldı.

Standart Kuyucukları: 50 µl standart dilüsyonlardan ve 50 µl streptavidin-horseradish peroksidaz (horseradish peroxidase; HRP)'dan konuldu.

Test kuyucukları: Homojenize edilen beyin dokusu örneklerinden 40 µl, spesifik antikordan 10 µl ve streptavidin-HRP'den 50 µl konuldu.

3. Plaka üzeri kapatıcı ile kapatıldıktan sonra hafifçe çalkalanıp 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Süre bitiminde plaka üzerindeki kapatıcı çıkarılıp distile su ile 30 kat sulandırılan yıkama solüsyonu ile 1-2 dakika bekletilerek yıkandı ve solüsyon dökülerek plaka, kurutma kağıdında kurutuldu. Bu aşama 5 kez tekrar edildi.
4. Her kuyucuğa 50 µl kromojen A ve 50 µl kromojen B solüsyonları ilave edilip hafifçe çalkalandıktan sonra 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.
5. Sonrasında her kuyucuğa 50 µl Stop solüsyonu ilave edilerek mavi rengin sarı renge dönüşümü gözlemlendi. Mikroplaka okuyucuda (Thermo Fisher Scientific, MultiscanTM FC Microplate Photometer, Kat No: 51119000) 450 nanometre (nm) dalga boyunda optik dansite (OD) ölçüldü.

4.9. Moleküler Analizler

Hem iyon kanallarının hem de miRNA'ların ifadelerinin belirlenmesinde, qRT-PCR analizleri kullanıldı. Analiz için öncelikle hipokampus ve prefrontal korteks dokularından RNA izolasyonu ve cDNA sentezi yapıldı.

4.9.1. Beyin Örneklerinden Total RNA İzolasyonu

Beyinin hipokampus ve prefrontal korteks bölgelerinden RNA izolasyonu kit (Thermo Fisher Scientific, GeneJet RNA Purification Kit, Kat No: K0731) kullanılarak yapıldı. RNA izolasyonu için;

1. 1.5 ml'lik nükleaz içermeyen mikrosantrifüj tüplerine yaklaşık 30 mg doku alındı.
2. Üzerine Lysis solüsyonundan (1ml Lysis Buffer + 20 µl β- merkapt etanol) 300 µl eklendi.
3. Homojenizasyon cihazında homojenize edildi.
4. Üzerine 600 µl Proteinaz K solüsyonu (10 µl Proteinaz K + 590 µl TE Buffer) eklendi. Hafifçe 10-15 sn vorteks ile karıştırılarak 10 dk oda sıcaklığında bekletildi.
5. 12.000 g'de 5 dk santrifüj yapıldı.
6. Supernatant kısım başka bir nükleaz içermeyen mikrosantrifüj tüpüne alınarak üzerine 450 µl %100 etanol eklendi. Pipetaj yapılarak karıştırıldı.
7. Supernatant+etanol karışımından 700 µl alınarak kolonlu tüplere aktarıldı.
8. 12.000 g'de 1 dk santrifüj edildi. Kalan supernatant+etanol karışımı için bu aşama tekrar edildi.

9. Kolonlu tüpün alt kısmındaki toplama tüpünde biriken sıvı boşaltıldı.
10. 700 µl wash buffer 1 eklendi. 12.000 g'de 1 dk santrifüj edildi. Kolonlu tüpün alt kısmında biriken sıvı boşaltıldı.
11. 600 µl wash buffer 2 eklendi. 12.000 g'de 1 dk santrifüj edildi. Kolonlu tüpün alt kısmında biriken sıvı boşaltıldı.
12. 250 µl wash buffer 2 eklendi. 12.000 g'de 1 dk santrifüj edildi. Kolonlu tüpün alt kısmında biriken sıvı boşaltıldı.
13. Toplama tüpleri atılarak kolonlar nükleaz içermeyen mikrosantrifüj tüplerine yerleştirildi. Kolonlara 100 µl nükleaz içermeyen su eklenerek 12.000 g'de 1 dk santrifüj edildi.
14. Mikrosantrifüj tüpünde biriken RNA'lar -80 °C'de kullanılıncaya kadar saklandı.

Analizlerin sağlıklı bir şekilde yürütülebilmesi için örneklerin RNA konsantrasyonu spektrofotometriyle (Maestrogen, MaestroNano Spectrophotometer, Kat No: MN-913) 260 nm'de belirlenerek, en düşük RNA değeri standart olarak alındı ve her grup için ayrı bir RNA havuzu oluşturuldu.

4.9.2. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

4.9.2.1. mRNA Analizi için cDNA Sentezi

İyon kanal genlerinin mRNA düzeyindeki ifade farklılıklarının tespitinde kullanılacak cDNA'ların sentezi için, tüm grupların havuzu yapılan RNA örnekleri kullanıldı. cDNA sentezi için The High Capacity RNA-to-cDNA™ Kit (Applied Biosystems, Kat No: 4387406) kullanıldı (Tablo 11). Toplam 20 µl'lik hacimde gerçekleştirilen cDNA sentezi için hazırlanan örnekler termal döngü

cihazına (Applied Biosystems, Veriti Thermal Cycler, Kat No: 4375786) yerleştirildi (Tablo 12). Oluşan cDNA örnekleri kullanılıncaya kadar kısa bir süre -20 °C’de saklandı.

Tablo 11: cDNA sentezi için gerekli bileşikler ve miktarları

Bileşik	Hacim (µl) X Örnek Sayısı
10X RT tamponu	2,0
25X dNTP karışımı (100mM)	0,8
MultiScribe™ Revers Transkriptaz (50U/µl)	1,0
10XRT Random Primer	2,0
RNase Inhibitor	1,0
RNA örneği	10
Nükleaz içermeyen H ₂ O	3,2
Toplam hacim	20

Tablo 12: cDNA sentezi için PCR programı

PCR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	25°C	37°C	85°C	4°C
Zaman	10 dk	120 dk	5 dk	∞

4.9.2.2. miRNA Analizi için cDNA Sentezi

miRNA’dan cDNA sentezi iki aşamalı olarak gerçekleştirildi.

Birinci aşamada; mRNA için oluşturulan cDNA’da kullanılan “10×RT random primer” yerine, Tablo 16’da belirtilen miRNA’lara spesifik RT primerler kullanıldı (Sentegen, Sentebiolab). 10 mikromolarlık (µM)’ RT Primerlerden 10’ar µl alınarak, 1,5 ml’lik nükleaz içermeyen steril bir tüpe konuldu ve nükleaz içermeyen su ile 1000 µl’ye tamamlandı. Böylece 1 µM’lık RT Primer havuzu oluşturuldu. Bir örnek için, Tablo 13’te belirtilen miktarlarda, nükleaz içermeyen

steril bir tüp içinde karıştırılan RT primer, dNTP ve miRNA, 65°C’de 5 dakika bekletildikten hemen sonra 2 dk buz içerisine alınarak pre-cDNA oluşturuldu.

İkinci aşamada; Tablo 11’de içeriği ve miktarları verilmiş olan cDNA sentez kiti kullanılarak oluşturulan karışım ve birinci aşamada hazırlanan pre-cDNA, 0,1 ml’lik nükleaz içermeyen steril bir tüp içerisinde, her birinden 5’er µl alınarak (toplam hacim 10 µl) karıştırıldı. cDNA sentezi için hazırlanan örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi (Tablo 12). Elde edilen cDNA örnekleri kullanılıncaya kadar -20 °C’de saklandı.

Tablo 13: Pre-cDNA için gerekli bileşiklerin miktarları ve karışımın bekletileceği sıcaklıklar

Bileşik	Hacim (µl) X Örnek Sayısı
RT primer havuzu (10 µM)	5,0
dNTP (10 µM)	0,5
miRNA (100 ng/µl)	8,0
Toplam hacim	13,5
Sıcaklık	
Karışım 65°C’de 5 dk + 2 dk buzda bekletildi.	

4.9.3 Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR) ile cDNA Amplifikasyonu

Beynin hipokampus ve prefrontal korteks bölgelerinde, kontrol ve KHS gruplarında tablo 16’da verilen iyon kanal genlerinin ve tüm gruplarda tablo 17’de verilen miRNA’ların ifade düzeyleri qRT-PCR ile analiz edildi.

mRNA ve miRNA’dan elde edilen cDNA’lar, dizi spesifik primerlerin varlığında qRT-PCR aracılığıyla amplifiye edildi. Analiz için kullanılan SYBR Green temelli primerler SenteGen ve Qiagen’den temin edilirken, TaqMan temelli primerler ise Applied Biosystems’den satın alındı (Tablo 16, 17). İyon kanal

mRNA'larının ifade düzeylerinin analizinde referans gen (housekeeping) olarak β aktin (ACTB) kullanıldı. miRNA'ların ifade düzeyleri belirlenirken hipokampus dokusunda 5S, prefrontal kortekste ise U6 referans gen olarak kullanıldı. Çalışma 96 kuyucuklu 0,1 ml'lik plaka'larda (Applied Biosystems, Kat. No: 4346906) üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Gen ekspresyonunun analizi için hazırlanan karışımda SYBR Green primerler için Power SYBRTM Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Kat No: 4367659) ve TaqMan primerler için Golden qPCR TaqMan Probe Master Mix (2x) (TonkBio, Katalog No: TB20002A) kullanıldı. Analiz için, kuyucuklara 1 μ l cDNA ve 9 μ l tablo 14'de belirtilen miktarlarda hazırlanan karışım konularak, plakanın üzeri optik filmle (Applied Biosystems, Kat. No: 4311971) kapatıldı. Karışımların tamamen dibe çökmesi ve kabarcıkların yok edilmesi için "mini plate spin" cihazında (Labnet, Kat No: C1000) 30 saniye santrifüj edildi. Gen ifade seviyeleri, tablo 15'de belirtilen sıcaklık döngüleri kullanılarak, Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR sistemi ile ölçüldü. Grupların gen ekspresyonları arasındaki farklılıkların hesaplanmasında $2^{-\Delta\Delta CT}$ metodu kullanıldı.

Tablo 14: qRT-PCR için kullanılan bileşikler ve miktarları

Bileşikler	Hacim (μ l) X Örnek Sayısı
cDNA	1,0
Primer-prob	0,3
Master mix	5,0
Nükleaz içermeyen H ₂ O	3,7
Toplam	10,0

Tablo 15: qRT-PCR programı

RT-PCR	1. Adım	2. Adım	3. Adım
Sıcaklık	95°C	95°C	60°C
Zaman	10 dk	15 sn	1 dk

Tablo 16: İyon kanal genlerinin ifadelerinin qRT-PCR’da analizi için kullanılan sıçan spesifik primerler

Sembol	Marka	Dizi (5'-3') veya katalog numarası		Sembol	Marka	Dizi (5'-3') veya katalog no	
ACTB (Referans)	Sentegen	F	CCCATCTATGAGGGTTACGC	KCNQ1	Sentegen	F	CACGGGTTGGAAGTGTTCG
		R	TTTAATGTCACGCACGATTT			R	CCAGAGACGGACCACATACTC
CACNA1A	Applied Biosystems	Rn00563825_m1		KCNQ2	Sentegen	F	CTAACCTCTCACGCACCGAC
						R	ACCTTCTGACTTGGTGATGGC
CACNA1B	Applied Biosystems	Rn01643813_m1		KCNQ3	Sentegen	F	TTCAGGAACAGCACCGTCAG
						R	CGAACCCGATCCAAGAGACC
CACNA1C	Applied Biosystems	Rn00709287_m1		KCNQ4	Sentegen	F	GAACTGGGTCTACAACGTGC
						R	TAGCAGCAACAGCATCCAGC
CACNA1E	Applied Biosystems	Rn00494444_m1		KCNQ5	Sentegen	F	ACGGCAGAACACGAGACAAC
						R	AGCTCAACAGGTCTTTGCTC
CACNA1H	Applied Biosystems	Rn01460348_m1		KCNS1	Sentegen	F	CGGTGCTGCCTTCTATCTC
						R	AGAACACTGACACACCCACG
KCNA1	Sentegen	F	GTGCAGTGTACTTTGCGGAG	KCNS2	Sentegen	F	CCAGTGGCGTCTTCAGTGTC
		R	ACACAATGACAGGTACGGGC			R	CTCAGACAGGTCCCACAGG
KCNA2	Sentegen	F	TTCTGCCTGCCCTGTCTATC	KCNS3	Sentegen	F	GAGCCACTAAATGCCGATGC
		R	GCTTGGGTCTGAAGCCTTTG			R	TCATCTTGTCCAGGGCGATG
KCNA3	Sentegen	F	AGACACTACCCGAGTTTCGC	KCNV1	Sentegen	F	ACTCTTCTGGTGGAAGCCTG
		R	CAAAGAATCGCACCAGCAGC			R	GATTGTCATCCCAAGTGAGCG
KCNA6	Sentegen	F	TTATTGGGCAGGGTGTGTGG	KCNV2	Sentegen	F	TACCAACTTCACCAGCATCCTC
		R	TAATCTTTCCCGCGCTCTCC			R	GGCATCCCGTTGAGAATAATCC
KCNA7	Sentegen	F	TTTGTGGTGGAGACCCTGTG	KCNJ2	Sentegen	F	ATACAGACGGTGGTACTGGC
		R	ACGCACCAATCTGATGACCC			R	ATATGTGCCTTCGGGTCTCTC
KCNA1B	Sentegen	F	AATGGTGAGGACCGACTTCTG	KCNJ3	Sentegen	F	TGGAAGGCATCGTGGAACC
		R	CAAGACCAAGCACGAACTC			R	CTGTTGGTTATGGCTGGTGC
KCNA1C	Sentegen	F	TGGCAGAGCACCTAATGACC	KCNJ4	Sentegen	F	CAGACCCTCCTCGGACCTTG
		R	TGGTGGTGATGACAAGGCTG			R	GGTTGGCGAAGTACACGTTG
KCNA1E	Sentegen	F	GCACTGGCATGAAATACAGGAAC	KCNJ5	Sentegen	F	ACCGACATTAACGTGGGCTT
		R	CTCCAACTTTTGCTCTTGAGG			R	TGTAAGAGCTCCGTGCTTGG
KCNA1H	Sentegen	F	AGATGAACGAGGAGCTGAAGCG	KCNJ6	Sentegen	F	ACTGAATCTTGCTCCGTTCC
		R	GCGTGTTGAGTGACAGAGCG			R	TCTCGGCTGATGTGTCTTGG
KCNB2	Sentegen	F	ACATCATTGGCGAAAGGGACC	KCNJ8	Applied	Rn01492857_m1	

		R	TTCTGTTCAAGCCAGGAGGTG		Biosystems		
KCNC1	Sentegen	F	CCCTACTCATCCCGCTATGC	KCNJ9	Sentegen	F	TTAACACAGAGTGCTTCTCAGGG
		R	CGCAGACACCCTCGATGTAG			R	GTGAACAGGTGCGTCAGGTAG
KCNC2	Sentegen	F	CCCTATTCATCCAGAGCCGC	KCNJ10	Sentegen	F	GCCAGTCTCTTCATCTGTCCC
		R	ACACCACACACTCCTTCC			R	GACCCTCTCCGACGTATTC
KCNC3	Applied Biosystems	Rn00588870_m1		KCNJ11	Applied Biosystems	Rn01764077_s1	
KCNC4	Applied Biosystems	Rn01748431_m1		KCNJ12	Sentegen	F	CCACTGACCGAGAAGTGCCC
						R	CTTGCCATTGCCAAAACCGT
KCND1	Applied Biosystems	Rn01525167_m1		KCNJ13	Sentegen	F	CTTCCTTGGTAGGCTGATCCC
						R	AGACCTCTTTGAGCACCATCC
KCND2	Applied Biosystems	Rn00581941_m1		KCNJ14	Sentegen	F	AAGCCCAAGAAACGCAACG
						R	AACCAACATCCACATCCTGGTG
KCND3	Applied Biosystems	Rn04339183_m1		KCNJ16	Sentegen	F	TGAGACCCAAACCACCATCG
						R	GTGCGAAATAGCTGAAGCGG
KCNE2	Sentegen	F	ATCTTCGTCCAATCGTGCGTG	KCNK1	Sentegen	F	ATTATGGAGTGTGCGTGCTC
		R	AAGTTCTCGGCATCCACTCTG			R	GCCAATGACAGAGTAGATGATGC
KCNE3	Sentegen	F	CGAAGACAGATCGCAGAGTC	KCNK2	Sentegen	F	GGTTTTCTACTGGCTGGGGT
		R	TGTAGGAGTTGTCATTACGGC			R	GTGCTTGAATATGACGGCGG
KCNE4	Sentegen	F	AACTGTCAGCCTTTGATCCCCG	KCNK3	Sentegen	F	CACCGTCATCACCACAATCG
		R	CTCCCGCCTCTTGGATTTC			R	GCACGACACGAAACCGATG
KCNF1	Sentegen	F	AGCTCTCACACAGCGATACC	KCNK4	Sentegen	F	TGGAAGATGGCCGAGTCAG
		R	TGGAAGACACAAGCGACTCC			R	AGGTTCCAAGCTGATGAGTGG
KCNG1	Sentegen	F	TCGCTGACTAGGATAGAAGAGC	KCNK5	Sentegen	F	ATCTCCACCATTTGGCTTTGGG
		R	GGTGGAAGGAGGTGTCTGAG			R	CACAAACATGCTCACCTTCCAG
KCNG2	Sentegen	F	GCTTTCATGGAGCTTCTGGC	KCNK6	Sentegen	F	AGTGCTGGCCAACGCATC
		R	CGTTGATTATGACGTGGCG			R	TAGCATGGTGATAGGCACGC
KCNG3	Sentegen	F	AGTCTGGATGACGGAGCAG	KCNK9	Sentegen	F	TTAAAGCAGAAGAGGTCCGCC
		R	ATCAGCACGGAGATGTAATAGGG			R	GGGATACCCAGCACAGCATAG
KCNG4	Sentegen	F	TTTGATTTGGGACTTGGTTCCG	KCNK10	Sentegen	F	TCCGTCCATCGTCCCAAATTC
		R	GGCCAAAGTGATGATGTCCAG			R	GCCCGTTAGTGGCACTCTTG
KCNH1	Sentegen	F	ACGGTAGAGGTGAAGCATCG	KCNK12	Sentegen	F	CACCGTGGTGTCGACCATAG
		R	ACCTTGGGTGGGAAATGGTC			R	TGAAGGCCAGCAGCGAGATG
KCNH2	Applied Biosystems	Rn01442522_m1		KCNK13	Sentegen	F	CTTCGTGGGCACAGTGGTAAC
						R	TGACGTAGGCGATGACGGTG

KCNH3	Sentegen	F	ACTGTACCCTGAGTTTGCCC	KCNK15	Sentegen	F	CAGAAAGTACCGCTTCTCCGC
		R	AGATCGTGTGTCCTTGCTCC			R	AGAACATGCAGAACACTTTGCC
KCNH4	Sentegen	F	CCAGCAGGCATGAAATGGACC	KCNK18	Sentegen	F	TGTGTGAGCATCTACAGCAGC
		R	TGATGTTTGGAGGTGGGAATCTG			R	AGCCCTAGATAAGATGGCGG
KCNH5	Sentegen	F	TGGCAGTGGAGTTCCAAACC	ASIC1	Applied Biosystems	Rn01638093_g1	
		R	CATGAGCAAGGGTGGTTTCC				
KCNH6	Applied Biosystems	Rn00672436_m1		ASIC2	Applied Biosystems	Rn00563654_m1	
KCNH7	Applied Biosystems	Rn00590940_m1		ASIC3	Applied Biosystems	Rn00597579_m1	
KCNH8	Sentegen	F	ATCCACTACGTCACCACCTG	TRPM1	Sentegen	F	TCATAAACGAGTCCCTGCGG
		R	GTGCAAGGAGAGCAAACATGG			R	ATCTGGAGCTGACACGTTGG
TRPA1	Sentegen	F	GGTCCACCATCGTGTATCCG	TRPM2	Applied Biosystems	Rn01429410_m1	
		R	GAAGTGAGGTCCTTCAGCCG				
TRPC1	Applied Biosystems	Rn00585625_m1		TRPM3	Applied Biosystems	Rn01479074_m1	
TRPC2	Sentegen	F	ACGGAAGGAGCTGAGTTTAAG	TRPM4	Applied Biosystems	Rn00592373_m1	
		R	GCAGTCTTGCCAGGTTAGGG				
TRPC3	Applied Biosystems	Rn00572928_m1		TRPM5	Sentegen	F	CAGCAGAGGACAGGTTATGGG
TRPC4	Applied Biosystems	Rn00696282_m1		TRPM6	Sentegen	R	GCAGCGAGTACATCAGCAATG
						F	AATGAGACATCTTGCCCTCCG
TRPC5	Applied Biosystems	Rn00590142_m1		TRPM7	Applied Biosystems	R	TTTAGCAGCATGGATTGTGTCC
						Rn01328216_m1	
TRPC6	Applied Biosystems	Rn00677559_m1		TRPM8	Sentegen	F	ACATAGGTGAAGTGGTGAGGG
						R	ACAAGCAGCAGGTGGGTATG
TRPC7	Sentegen	F	GACTCCGCACAGGATTCAGG	TRPV1	Applied Biosystems	Rn00583117_m1	
		R	GCTGGTGCCCTTCTCATTG				
CHRNA1	Qiagen	PPR06809A		TRPV2	Applied Biosystems	Rn00567974_m1	
CHRNA2	Qiagen	PPR06846A		TRPV3	Applied Biosystems	Rn01460303_m1	

CHRNA3	Qiagen	PPR06782A	TRPV4	Applied Biosystems	Rn00576745_m1
CHRNA4	Qiagen	PPR06840A	TRPV5	Applied Biosystems	Rn00587268_m1
CHRNA5	Qiagen	PPR06798A	TRPV6	Applied Biosystems	Rn01452373_m1
CHRNA6	Qiagen	PPR06839E	CHRNA1	Qiagen	PPR06807A
CHRNA7	Qiagen	PPR06841C	CHRNA2	Qiagen	PPR06813A
CHRNA9	Qiagen	PPR06814A	CHRNA3	Qiagen	PPR06838C
CHRNA10	Qiagen	PPR50290A	CHRNA4	Qiagen	PPR44419A
CHRNE	Applied Biosystems	Rn00567899_m1	CHRNA5	Applied Biosystems	Rn00569614_m1
HCN1	Applied Biosystems	Rn00670384_m1	HCN3	Applied Biosystems	Rn00586666_m1
HCN2	Applied Biosystems	Rn01408572_mH	HCN4	Applied Biosystems	Rn00572232_m1

Analiz için kullanılan SYBR Green temelli primerler SenteGen ve Qiagen'den temin edilirken, TaqMan temelli primerler ise Applied Biosystems'den satın alındı. F: Forward, R: Reverse. İyon kanalları ile ilgili ayrıntılı bilgi için Tablo 1-6'ya bakınız.

Tablo 17: miRNA ifadelerinin qRT-PCR ile değerlendirilmesi için kullanılan sıçan spesifik primerler

Sembol	Hedef İyon Kanalı	Dizi (5'-3')	
rno-miR-135a-5p	TRPC1, TRPM4	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTCACAT
		F	GCGGCGGTATGGCTTTTTATTCT
rno-miR-135b-5p	TRPC1, TRPM4	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCCCATG
		F	GCGGCGGATGTAGGGCTAAAAGC
rno-miR-186-5p	TRPC1	RT	CTCAACTGGTGTCTGGAATCGGCAATTCAGTTGAGAGCCCCAA
		F	ACACTCCAGCTGGGCAAGAATTCTTCTT
		R	CTCAAGTGTCTGAGTTCGCAA
rno-miR-875	TRPC1	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCACCTG
		F	GCGGCGGTATACCTCAGTTTTAT
rno-miR-702-3p	CHRNA6	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTGGAGT
		F	GCGGCGGTGCCCCACCTTTACCCC
rno-miR-6334	CHRNA6	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACGCCGGC
		F	GCGGCGGCCAGGCTCTCCAGCT
rno-miR-344a-5p	CHRNA6	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACAATCTA
		F	GCGGCGGCCAGGCTCCTGGCT
rno-miR-484	CHRNA6	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACATCGGG
		F	GCGGCGGCCAGGCTCAGTCCCCT
rno-miR-500-3p	CHRNA6	RT	CTGTGAATGCTGCCGACTACGATTTTTTTTTTTTTTTTTT
		F	AATGCACCTGGGCAAGGGTTCA
		R	CTGTGAATGCTGCGACTACGAT
rno-miR-501-3p	CHRNA6	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCCAAAT
		F	GCGGCGGAATGCACCCGGGCAAGG
rno-miR-3569	TRPM4	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACGACCTG
		F	GCGGCGGGGAGGACAGCAGACT
rno-miR-433-5p	TRPM4	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACGAATAA
		F	GCGGCGGTACGGTGAGCCTGTCA
rno-miR-6320	TRPM4	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTCGCACCAGAGCCAACCTGCTGA
		F	GCGGCGGTGAACATGCTTGTAATC

rno-miR-296-5p	TRPM4	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACCAGAGCCAACACAGGA
		F	GCGGCGGAGGGCCCCCCTCAA
rno-miR-361-3p	TRPM4	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACCAGAGCCAACACGAAT
		F	GCGGCGGCCCCAGGTGTGATTCTG
rno-miR-203a-5p	TRPM4	RT	GTTGGCTCTGGTGCAGGGTCCGAGGTATTTCGCACCAGAGCCAACGTTGAA
		F	GCGGCGGAGTGGTTCTTAACA
U6	Referans Gen (Housekeeping)	RT	AACGCTTCACGAATTTGCGT
		F	CTCGCTTCGGCAGCACA
		R	AACGCTTCACGAATTTGCGT
5S	Referans Gen (Housekeeping)	RT	AGCCTACAGACCCGGTATT
		F	GCCCGATCTTGTCTGATCTC
		R	CCTGACCCTGCTTAGCTTCC
Universal Reverse (RT) Primer	-----	R	GTGCAGGGTCCGAGGT

Analiz için kullanılan SYBR Green temelli primerler Sentebiolab firmasından temin edilmiştir. F: Forward, R: Reverse.

4.10. İstatistiksel Analizler

Bu çalışmanın istatistiksel değerlendirmeleri, Fırat Üniversitesi Lisanslı (193.255.124.131) IBM SPSS 22.0 paket program kullanılarak yapıldı. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SS) olarak belirtildi. İstatistiksel farklar bağımsız gruplarda “one-way ANOVA” ve “independent student-t” testleri ile hesaplandı. Elde edilen sonuçların yorumlanmasında $p<0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



5. BULGULAR

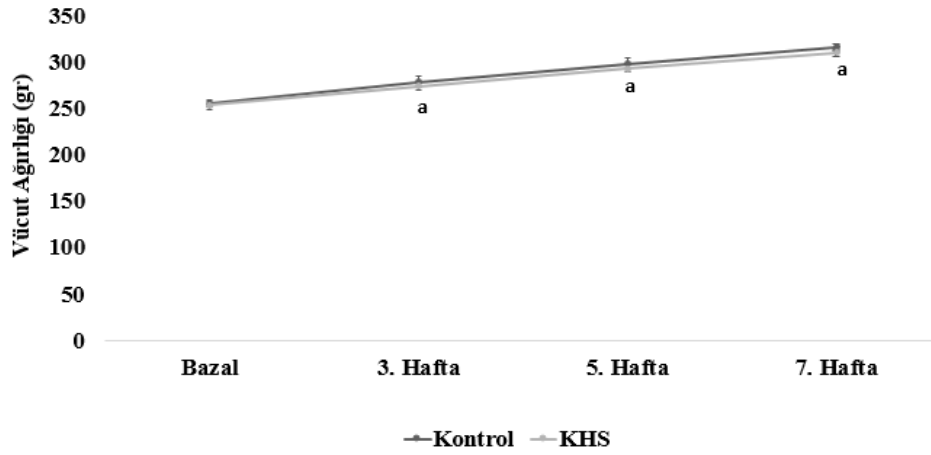
5.1. Deney Hayvanlarının Vücut Ağırlık Parametreleri

Kronik hafif stres modeli oluşturulan KHS grubu ve kontrol grubu sıçanların 7 haftalık süreçteki vücut ağırlıklarının (gr) değişimleri değerlendirildi. Kronik hafif stres protokolüne başlamadan hemen önce alınan bazal ölçümlere göre kontrol grubu ile KHS grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü ($p=0,435$). Deneyin eşit şartlarda başlaması sağlandı. Yedi haftalık KHS uygulamasının 3., 5 ve 7. haftalarının sonunda yapılan tartımlarda ise KHS grubundaki sıçanların ağırlıklarının, kontrol grubundakilere göre anlamlı derecede azaldığı belirlendi (Sırasıyla; $p=0,027$, $p=0,005$, $p=0,000$) (Tablo 18; Şekil 2). KHS sonrası tedavi amaçlı kullanılan iyon kanal inhibitörleri, KHS + inhibitör gruplarına 1 gün uygulandıktan sonra davranış testleri yapılması gerektiği için inhibitörlerin sükroz tüketimine olan etkisi değerlendirilmedi.

Tablo 18: 7 Haftalık KHS uygulamasının sıçanların vücut ağırlığına etkisi

Grup	KHS öncesi (Bazal)	3. Hafta	5. Hafta	KHS sonrası (7. Hafta)
Kontrol	255,000 ± 3,093	278,133 ± 6,197	298,200 ± 5,414	315,666 ± 3,792
KHS	253,733 ± 5,364	273,733 ± 3,863 ^a	292,933 ± 3,863 ^a	310,000 ± 3,565 ^a
p değerleri	$p=0,628$	$p=0,027$	$p=0,005$	$p=0,000$
F değerleri	$F= 0,435$	$F= 5,445$	$F= 9,405$	$F= 17,777$

Veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim.



Şekil 2: KHS uygulaması süresince kontrol ve KHS gruplarının vücut ağırlık değişimleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim.

5.2. Davranış Testlerinin Sonuçları

5.2.1. Sükroz Tercih Testi Verilerinin Analizi

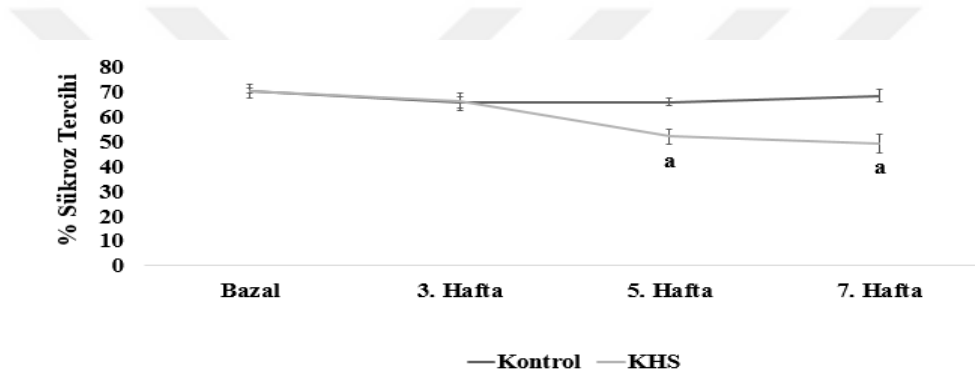
Kronik hafif stres uygulaması süresince grupların sükroz çözeltisi tüketim miktarlarına (ml) bakıldığında; Kontrol ve KHS gruplarının bazal tüketim (KHS öncesi) miktarları arasında anlamlı bir fark olmadığı yani çalışmanın eşit şartlarda başlatıldığı görülmektedir ($p>0,05$). Aynı zamanda Şekil 3’de gösterilen % sükroz tercihlerine bakıldığında, bazal dönemde sükroz tercihlerinin % 65’in üzerinde olduğu, yani grupların duygu durumu bakımından sağlıklı olduğu görülmektedir. KHS uygulaması başladıktan sonra yapılan ölçümlerde; 3. haftada gruplar arasında anlamlı bir değişim olmazken ($p>0,05$) 5. ve 7. haftalarda Kontrol grubuna kıyasla KHS grubunun sükroz tüketiminde anlamlı bir azalma olduğu (sırasıyla $p=0,021$, $p=0,001$) belirlenmiştir (Tablo 19; Şekil 3). KHS sonrası tedavi amaçlı kullanılan iyon kanal inhibitörleri, KHS + inhibitör gruplarına 1 gün

uygulandıktan sonra davranış testleri yapılması gerektiği için inhibitörlerin sükröz tüketimine olan etkisi değerlendirilmedi.

Tablo 19: KHS uygulaması süresince grupların sükröz çözeltisi tüketim miktarları (ml)

Grup	KHS öncesi (Bazal)	3. Hafta	5. Hafta	KHS Sonrası (7. Hafta)
Kontrol	33,19 ± 0,99	31,70 ± 1,39	30,01 ± 1,42	30,34 ± 0,53
KHS	32,5 ± 2,08	30,34 ± 0,79	25,74 ± 1,41 ^a	22,66 ± 1,45 ^a
p değerleri	p= 0,636	p= 0,216	p=0,021	p= 0,001
F değerleri	F= 0,261	F= 2,160	F= 13,549	F= 101,362

Veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim.



Şekil 3: KHS uygulaması süresince Kontrol ve KHS gruplarının yüzde (%) sükröz tercihi. Veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim.

5.2.2. Zorunlu Yüzme Testi Verilerinin Analizi

Kronik hafif stresin ve iyon kanal inhibitörü tedavi uygulamalarının sıçanların davranışı üzerine etkisi değerlendirildi. Sıçanların hareketsizlik sürelerine bakıldığında; Kontrol grubuna göre sadece KHS grubunda anlamlı bir artış olduğu (p=0,006) görülmektedir. KHS grubu ile kıyaslandığında KHS + Pico145 (p=0,019), KHS + 9-Phe (p= 0,002) ve KHS + BpiDI (p=0,003) gruplarının hareketsizlik sürelerinde anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir.

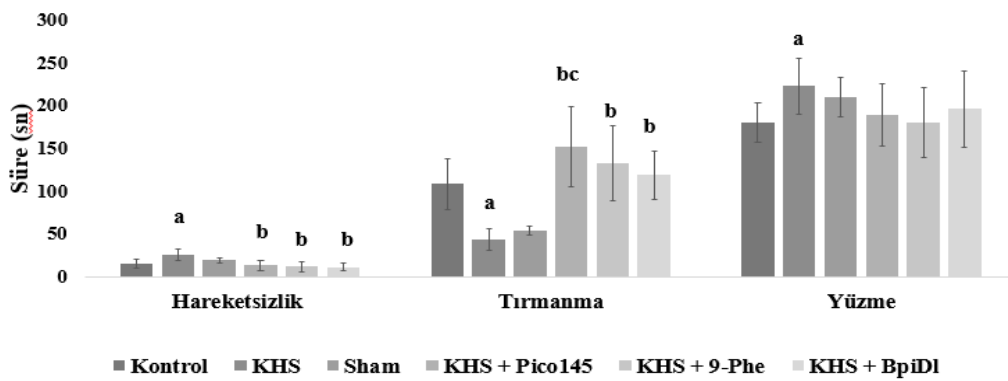
Grupların tırmanma verileri karşılaştırıldığında; Kontrol grubuna göre sadece KHS grubunda anlamlı bir azalma ($p=0,000$) olduğu belirlenmiştir. KHS grubu ile kıyaslandığında KHS + Pico145 ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,000$) ve KHS + BpiDI ($p=0,003$) anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur. Sham grubuna göre KHS + Pico145 ($p=0,002$) grubunda anlamlı artış olduğu saptanmıştır

Yüzme parametreleri değerlendirildiğinde; Kontrol grubuna göre KHS grubunda anlamlı bir artış olduğu görülmüştür ($p=0,022$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 20; Şekil 4).

Tablo 20: ZYT’de sıçanların hareketsizlik, tırmanma ve yüzme parametreleri (sn)

Grup	Hareketsizlik	Tırmanma	Yüzme
Kontrol	15,111 ± 5,109	108,333 ± 29,994	180,166 ± 23,264
KHS	25,500 ± 6,980 ^a	43,777 ± 12,070 ^a	222,733 ± 32,788 ^a
Sham	19,500 ± 3,109	54,000 ± 5,291	210,000 ± 22,594
KHS + Pico145	13,750 ± 5,737 ^b	152,250 ± 47,208 ^{bc}	189,250 ± 36,971
KHS + 9-Phe	12,000 ± 6,164 ^b	132,500 ± 43,926 ^b	180,500 ± 40,981
KHS + BpiDI	11,250 ± 4,645 ^b	118,750 ± 27,801 ^b	196,142 ± 44,752
p değerleri	$p=0,000$	$p=0,000$	$p=0,026$
F değerleri	F= 6,479	F= 11,625	F= 2,856

Veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^b KHS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^c Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim.



Şekil 4: ZYT’de sıçanların hareketsizlik, tırmanma ve yüzme süreleri (sn). Veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^b KHS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^c Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim.

5.2.3. Açık Alan Testi Verilerinin Analizi

Kronik hafif stresin ve iyon kanal inhibitörü tedavi uygulamalarının sıçanların davranışı üzerine etkisi değerlendirildi. Sıçanların açık alan testi düzeneğinin merkezinde geçirdiği süre değerlendirildiğinde; Kontrol grubuna kıyasla KHS ($p=0,000$), Sham ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,000$) ve KHS + BpiDl ($p=0,000$) gruplarında anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir. KHS ve Sham grupları ile kıyaslandığında sadece KHS + Pico145 grubunda sürenin anlamlı olarak arttığı ($p=0,005$) belirlenmiştir. KHS + Pico145 grubuna göre KHS + 9-Phe ($p=0,011$) ve KHS + BpiDl ($p=0,033$) gruplarında anlamlı azalma olduğu bulunmuştur.

Sıçanların düzeneğin çevre (kenar) kısmında geçirdiği süre değerlendirildiğinde; Kontrol grubuna göre KHS ($p=0,001$), Sham ($p=0,004$), KHS + 9-Phe ($p=0,002$) ve KHS + BpiDl ($p=0,004$) gruplarında sürenin anlamlı olarak arttığı KHS + Pico145 grubunda ise anlamlı bir değişim olmadığı ($p>0,05$) görülmüştür. Diğer gruplar arası kıyaslamalarda anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$).

Toplam geçilen kare sayısına bakıldığında; kontrol grubuna kıyasla sadece KHS grubunda anlamlı bir azalma ($p=0,003$) olduğu bulunmuştur. KHS ve Sham gruplarına göre KHS+Pico145 grubunda anlamlı bir artış (sırasıyla $p=0,000$, $p=0,001$) olduğu görülmüştür. KHS+Pico145 grubu ile kıyaslandığında KHS + 9-Phe ($p=0,007$) ve KHS + BpiDl ($p=0,001$) gruplarında anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir.

Sıçanlar hareketsiz kalma süreleri bakımından değerlendirildiğinde; kontrol grubuna göre KHS ($p=0,000$), Sham ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,022$)

ve KHS + BpiDl ($p=0,016$) gruplarında anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. KHS ve Sham gruplarına göre KHS + Pico145 grubunda anlamlı bir azalma (sırasıyla $p=0,000$, $p=0,005$) olduğu diğer gruplarda ise anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Diğer gruplar arası değerlendirmelerde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$).

Sıçanlar hareketsiz kalma süreleri bakımından değerlendirildiğinde; Kontrol grubuna göre KHS ($p=0,000$), Sham ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,022$) ve KHS + BpiDl ($p=0,016$) gruplarında anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. KHS ve Sham gruplarına göre KHS + Pico145 grubunda anlamlı bir azalma (sırasıyla $p=0,005$, $p=0,000$) olduğu diğer gruplarda ise anlamlı bir değişim olmadığı görülmüştür ($p>0,05$). Diğer gruplar arası değerlendirmelerde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$).

Şahlanma sayılarına bakıldığında; Kontrol grubuna göre KHS ($p=0,005$), Sham ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,000$) ve KHS + BpiDl ($p=0,000$) gruplarında anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir. KHS grubuna göre Sham grubunda anlamlı bir azalma ($p=0,018$) olduğu bulunmuştur. Sham grubu ile kıyaslandığında sadece KHS + Pico145 grubunda anlamlı bir artış olduğu ($p=0,031$) görülmüştür. Diğer gruplar arası değerlendirmelerde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$).

Defakasyon sayıları açısından gruplar arası değerlendirmelerde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 21; Şekil 5).

5.2.4. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Verilerinin Analizi

Kronik hafif stresin ve iyon kanal inhibitörü tedavi uygulamalarının sıçanların davranışı üzerine etkisi değerlendirildi. Sıçanların YALT düzeneğinin

açık kolunda geçirdiği zamana bakıldığında; Kontrol grubuna göre KHS grubunda anlamlı bir azalma olduğu ($p=0,011$), KHS + Pico145 ($p=0,004$) ve KHS + 9-Phe ($p=0,032$) gruplarında ise anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. KHS grubu ile kıyaslandığında KHS + Pico145 ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,000$) ve KHS + BpiDl ($p=0,000$) gruplarında anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir. Sham grubuna göre KHS + Pico145 ($p=0,005$) ve KHS + 9-Phe ($p=0,030$) gruplarında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. Diğer gruplar arası değerlendirmelerde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$).

Sıçanların kapalı kolda geçirdiği süre değerlendirildiğinde; Kontrol grubuna göre KHS grubunda anlamlı bir artış ($p=0,003$) olduğu, KHS + Pico145 grubunda ise anlamlı bir azalma ($p=0,043$) olduğu görülmüştür. KHS grubuna göre; KHS + Pico145 ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,000$) ve KHS + BpiDl ($p=0,036$) gruplarında anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir. Sham grubu ile kıyaslandığında; KHS + Pico145 ($p=0,003$), KHS + 9-Phe ($p=0,049$) gruplarında anlamlı azalma olduğu bulunmuştur. Diğer gruplar arası değerlendirmelerde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$).

Düzenegin merkezinde geçirilen süreye bakıldığında; Kontrol grubuna göre KHS ($p=0,000$) ve Sham ($p=0,014$) gruplarında anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. KHS grubuna göre; KHS + Pico145 ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,007$) gruplarında anlamlı artış olduğu belirlenmiştir. Sham grubu ile kıyaslandığında; KHS + Pico145 ($p=0,007$) grubunda anlamlı artış olduğu bulunmuştur. KHS + Pico145 grubu ile kıyaslandığında KHS + BpiDl grubunda ($p=0,022$) anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir.

Grupların hareketsiz kalma süreleri karşılaştırıldığında; Kontrol grubuna göre KHS ($p=0,000$) ve Sham ($p=0,000$) gruplarında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. KHS grubuna göre; KHS + Pico145 ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,014$) gruplarında anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir. Sham grubu ile kıyaslandığında; KHS + Pico145 ($p=0,001$) ve KHS + 9-Phe ($p=0,024$) gruplarında anlamlı artış olduğu bulunmuştur. Diğer gruplar arası değerlendirmelerde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$).

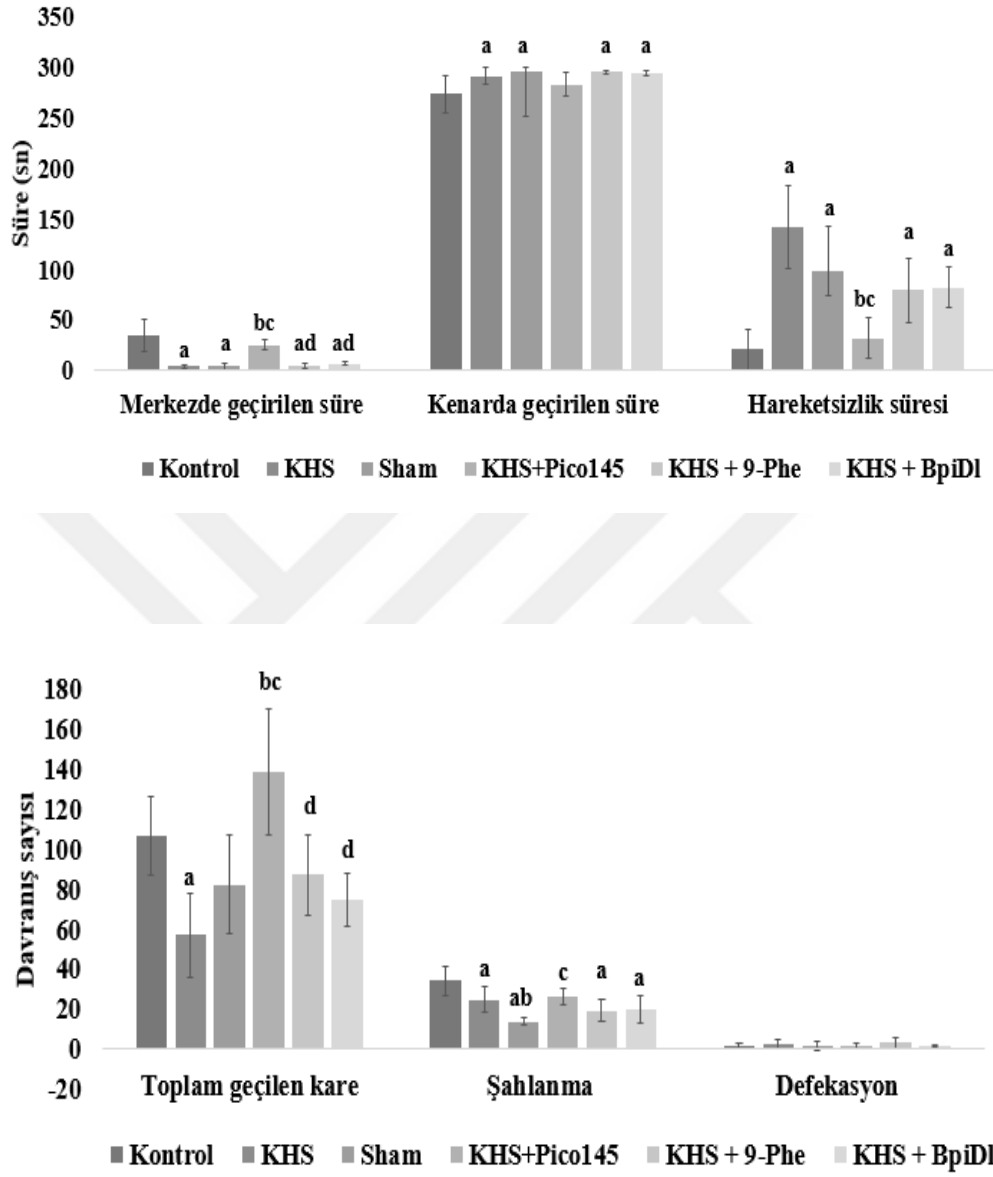
Grupların açık kola geçiş sayıları karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmemiştir ($p>0,05$).

Sıçanların şahlanma sayılarına bakıldığında; Kontrol grubuna göre KHS ($p=0,000$), Sham ($p=0,005$), KHS + 9-Phe ($p=0,010$) ve KHS + BpiDl ($p=0,003$) gruplarında anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. KHS grubuna göre; KHS + Pico145 grubunda anlamlı artış ($p=0,001$) olduğu belirlenmiştir. Sham grubu ile kıyaslandığında; KHS + Pico145 grubunda anlamlı artış ($p=0,025$) olduğu bulunmuştur. Diğer gruplar arası değerlendirmelerde anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 22; Şekil 6)

Tablo 21: Grupların açık alan testinde gösterdiği davranış parametreleri

Grup	Merkezde geçirilen süre (sn)	Kenarda geçirilen süre (sn)	Toplam geçirilen kare sayısı	Hareketsizlik süresi (sn)	Şahlanma sayısı	Defekasyon sayısı
Kontrol	35,333 ± 16,093	273,000 ± 18,587	107,000 ± 19,669	20,909 ± 20,221	34,083 ± 7,329	1,900 ± 1,370
KHS	4,700 ± 1,888 ^a	291,285 ± 7,620 ^a	57,000 ± 20,760 ^a	142,250 ± 41,015 ^a	24,615 ± 6,384 ^a	2,272 ± 2,149
Sham	4,200 ± 3,271 ^a	295,800 ± 3,271 ^a	82,272 ± 24,827	99,153 ± 44,115 ^a	13,600 ± 1,816 ^{ab}	1,600 ± 2,073
KHS+Pico145	25,666 ± 4,932 ^{bc}	282,800 ± 12,235	138,800 ± 31,932 ^{bc}	32,000 ± 20,285 ^{bc}	26,000 ± 4,000 ^c	1,600 ± 1,516
KHS + 9-Phe	5,285 ± 2,288 ^{ad}	294,714 ± 2,288 ^a	87,166 ± 19,793 ^d	80,000 ± 31,835 ^a	19,166 ± 5,419 ^a	3,000 ± 2,607
KHS + BpiDI	7,333 ± 1,632 ^{ad}	293,714 ± 3,147 ^a	74,800 ± 13,103 ^d	82,200 ± 19,677 ^a	19,857 ± 7,010 ^a	1,600 ± 1,516
p değerleri	p= 0,000	p= 0,000	p= 0,000	p= 0,000	p= 0,000	p= 0,774
F değerleri	F= 20,158	F= 6,411	F= 8,747	F= 12,448	F= 10,658	F= 0,500

Veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^b KHS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^c : Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^d : KHS+Pico145 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim.

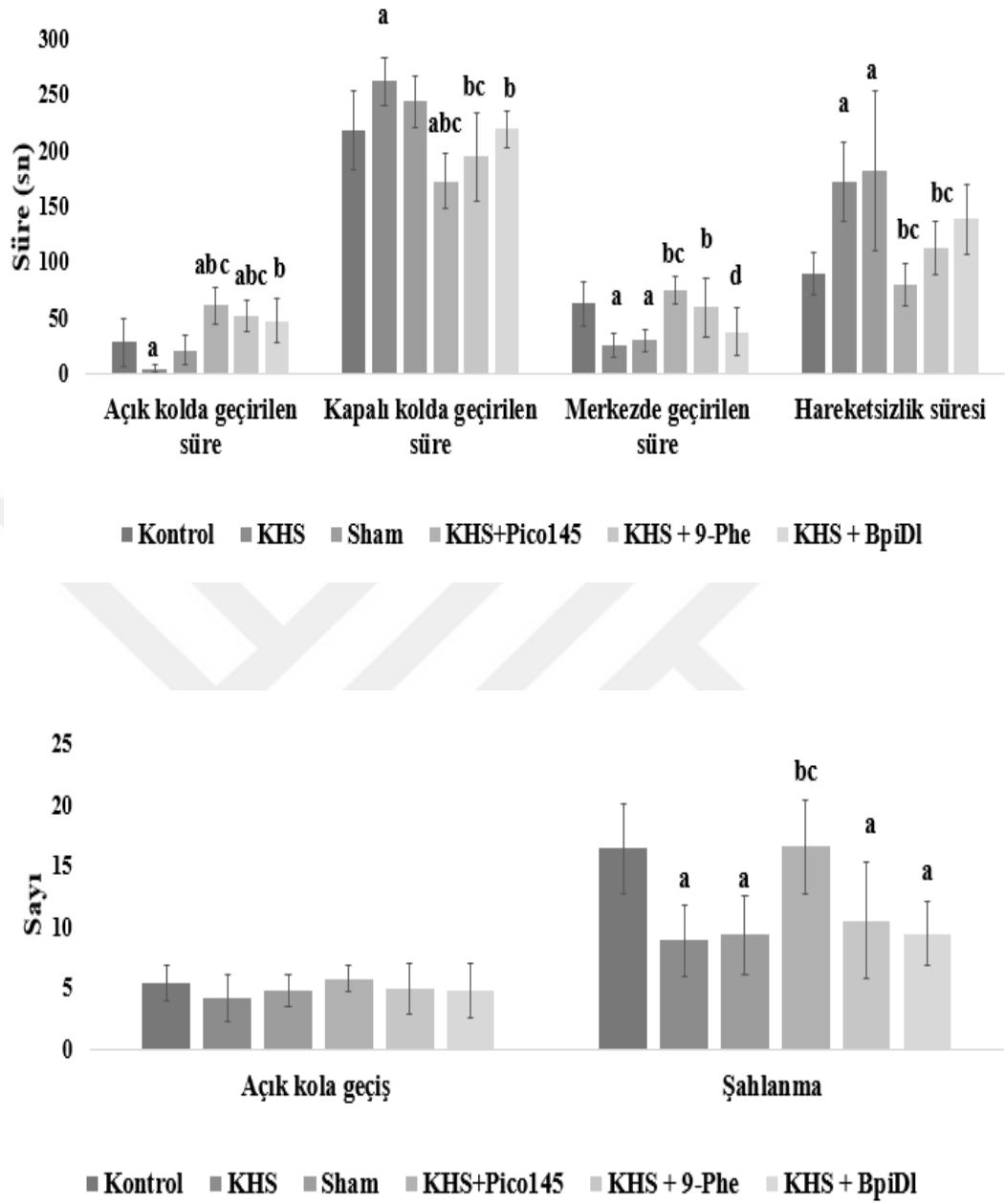


Şekil 5: Grupların açık alan testinde gösterdiği davranış parametreleri. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^b KHS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^c: Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^d: KHS+Pico145 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim

Tablo 22: Grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki davranış parametreleri

Grup	Açık kolda geçirilen süre (sn)	Kapalı kolda geçirilen süre (sn)	Merkezde geçirilen süre (sn)	Hareketsizlik süresi (sn)	Açık kola geçiş sayısı	Şahlanma sayısı
Kontrol	28,000 ± 20,629	218,461 ± 34,709	63,083 ± 19,992	89,363 ± 19,064	5,461 ± 1,450	16,461 ± 3,688
KHS	4,583 ± 3,502 ^a	262,133 ± 22,044 ^a	26,166 ± 10,650 ^a	172,571 ± 35,304 ^a	4,200 ± 1,859	8,933 ± 2,890 ^a
Sham	21,250 ± 13,598	244,600 ± 23,265	30,000 ± 9,823 ^a	182,600 ± 72,033 ^a	4,800 ± 1,303	9,400 ± 3,209 ^a
KHS+Pico145	61,000 ± 16,748 ^{abc}	173,000 ± 24,606 ^{abc}	74,800 ± 12,476 ^{bc}	80,000 ± 18,779 ^{bc}	5,800 ± 1,095	16,600 ± 3,911 ^{bc}
KHS + 9-Phe	52,000 ± 14,617 ^{abc}	194,857 ± 39,599 ^{bc}	59,666 ± 25,897 ^b	112,833 ± 23,327 ^{bc}	5,000 ± 2,081	10,571 ± 4,790 ^a
KHS + BpiDI	47,714 ± 19,206 ^b	219,333 ± 15,857 ^b	37,4286 ± 21,508 ^d	138,833 ± 31,511	4,857 ± 2,267	9,500 ± 2,588 ^a
p değerleri	p= 0,000	p= 0,000	p= 0,000	p= 0,000	p= 0,422	p= 0,000
F değerleri	F= 15,681	F= 10,635	F= 9,108	F= 11,194	F= 1,010	F= 9,606

Veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a : Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^b KHS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^c : Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^d : KHS+Pico145 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim.



Şekil 6: Grupların yükseltilmiş artı labirent testindeki davranış parametreleri Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^b: KHS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^c: Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^d: KHS + Pico145 grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim.

5.3. ELISA Verilerinin Analizi

Kronik hafif stresin ve iyon kanal inhibitörlerinin sıçan beyinlerinin nörotransmitter düzeyleri üzerine etkileri ELISA analizi ile belirlenmiştir.

Yapılan analizler sonucunda tüm grupların serotonin ve noradrenalin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim belirlenmemiştir ($p>0,05$).

Kontrol grubu ile kıyaslandığında; KHS ($p= 0,002$), Sham ($p=0,000$), KHS + Pico145 ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p= 0,000$) ve KHS + BpiDl ($p=0,000$) gruplarının dopamin seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. KHS grubu ile kıyaslandığında; Sham ($p=0,049$), KHS + Pico145 ($p=0,000$), KHS + 9-Phe ($p=0,000$) ve KHS + BpiDl ($p=0,000$) gruplarının dopamin seviyelerinde anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur. Sham grubu ile kıyaslandığında ise KHS + Pico145 ($p=0,011$) ve KHS + BpiDl ($p=0,007$) gruplarında anlamlı bir artış olduğu görülmüştür.

Kontrol grubuna göre; KHS ($p=0,028$) ve KHS + Pico145 ($p=0,017$) gruplarının asetilkolin seviyelerinde anlamlı bir azalma olduğu saptanırken diğer gruplarda anlamlı bir değişim belirlenmemiştir (Tablo 23).

Tablo 23: Grupların nörotransmitter seviyelerindeki değişimler (ng/ml)

Grup	5-HT	DA	NA	ACh
Kontrol	12,314 ± 0,957	1,893 ± 1,086 ^a	2,094 ± 0,160	10,509 ± 3,728
KHS	12,442 ± 1,379	6,674 ± 2,819 ^a	2,184 ± 0,243	5,825 ± 3,032 ^a
Sham	12,366 ± 0,199	11,039 ± 1,095 ^{ab}	2,058 ± 0,156	7,984 ± 4,570
KHS + Pico145	13,736 ± 0,911	17,360 ± 4,030 ^{abc}	2,102 ± 0,146	3,873 ± 0,388 ^a
KHS + 9-Phe	13,646 ± 2,075	15,213 ± 2,925 ^{ab}	1,967 ± 0,153	7,040 ± 2,571
KHS + BpiDI	11,983 ± 0,359	17,061 ± 2,149 ^{abc}	1,964 ± 0,240	9,485 ± 3,079
p değerleri	p= 0,094	p= 0,000	p= 0,234	p= 0,008
F değerleri	F= 2,063	F= 45,831	F= 1,440	F= 3,728

Veriler ortalama ± standart sapma olarak gösterilmiştir. ^a: Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^b KHS grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. ^c Sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı değişim. 5-HT: Serotonin, DA: Dopamin, NA: Norarenalin, ACh: Asetilkolin

5.4. qRT-PCR Verilerinin Analizi

5.4.1. İyon Kanal İfadelerinin Analizi

Kronik hafif stres ile MDB modeli oluşturulan KHS grubunda ve Kontrol grubunda 115 iyon kanal geninin ifadesi qRT-PCR ile değerlendirilmiştir.

KHS grubunun hipokampus dokusunda iyon kanallarının ifadeleri Kontrol grubu ile kıyaslandığında;

ACCN2 (p=0,005), ACCN3 (p=0,019), KCNA5 (p=0,009), KCNE4 (p=0,047), KCNG4 (p=0,010), KCNJ8 (p=0,037), KCNS1 (p=0,010), TRPC1 (p=0,039), TRPC2 (p=0,021), TRPM4 (0,018), TRPM8 (0,017), TRPV2 (p=0,012), TRPV4 (P=0,011) iyon kanal ifadelerinde anlamlı artış olduğu görülmüştür. CACNA1H (p=0,027), CHRNA9 (p=0,036), CHRNA10 (p=0,023), CHRNB1 (p=0,032), CHRNB4 (p=0,031), HCN1 (p=0,011), KCNAB2 (p=0,007), KCNG2 (p=0,037), KCNH6 (p=0,030), KCNK18 (p=0,021), KCNS2 (p=0,004), TRPM1 (p=0,011), TRPM2 (p=0,031), TRPM7 (p=0,015), TRPV1 (p=0,026) iyon kanallarının ifadesinde anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir.

Diğer iyon kanallarının ifadelerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 24; Şekil 7).

KHS grubunun prefrontal korteks dokusunda iyon kanallarının ifadeleri Kontrol grubu ile kıyaslandığında;

CACNA1C ($p=0,011$), CHRNA1 ($p=0,038$), CHRNA6 ($p=0,012$), HCN1 ($p=0,009$), HCN2 ($p=0,047$), HCN3 ($p=0,018$), HCN4 ($p=0,019$), KCNA6 ($p=0,043$), KCNA7 ($p=0,023$), KCND1 ($p=0,007$), KCNE3 ($p=0,023$), KCNH16 ($p=0,008$), KCNS2 ($p=0,030$), TRPC1 ($p=0,006$), TRPC3 ($p=0,013$), TRPM1 ($p=0,012$) iyon kanallarının ifadelerinde anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. KCNA5 ($p=0,009$), KCNG4 ($p=0,049$), KCNK15 ($p=0,047$), TRPV2 ($p=0,012$), TRPV4 ($p=0,047$) iyon kanallarının ifadesinde anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir. Diğer iyon kanallarının ifadelerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 24; Şekil 8).

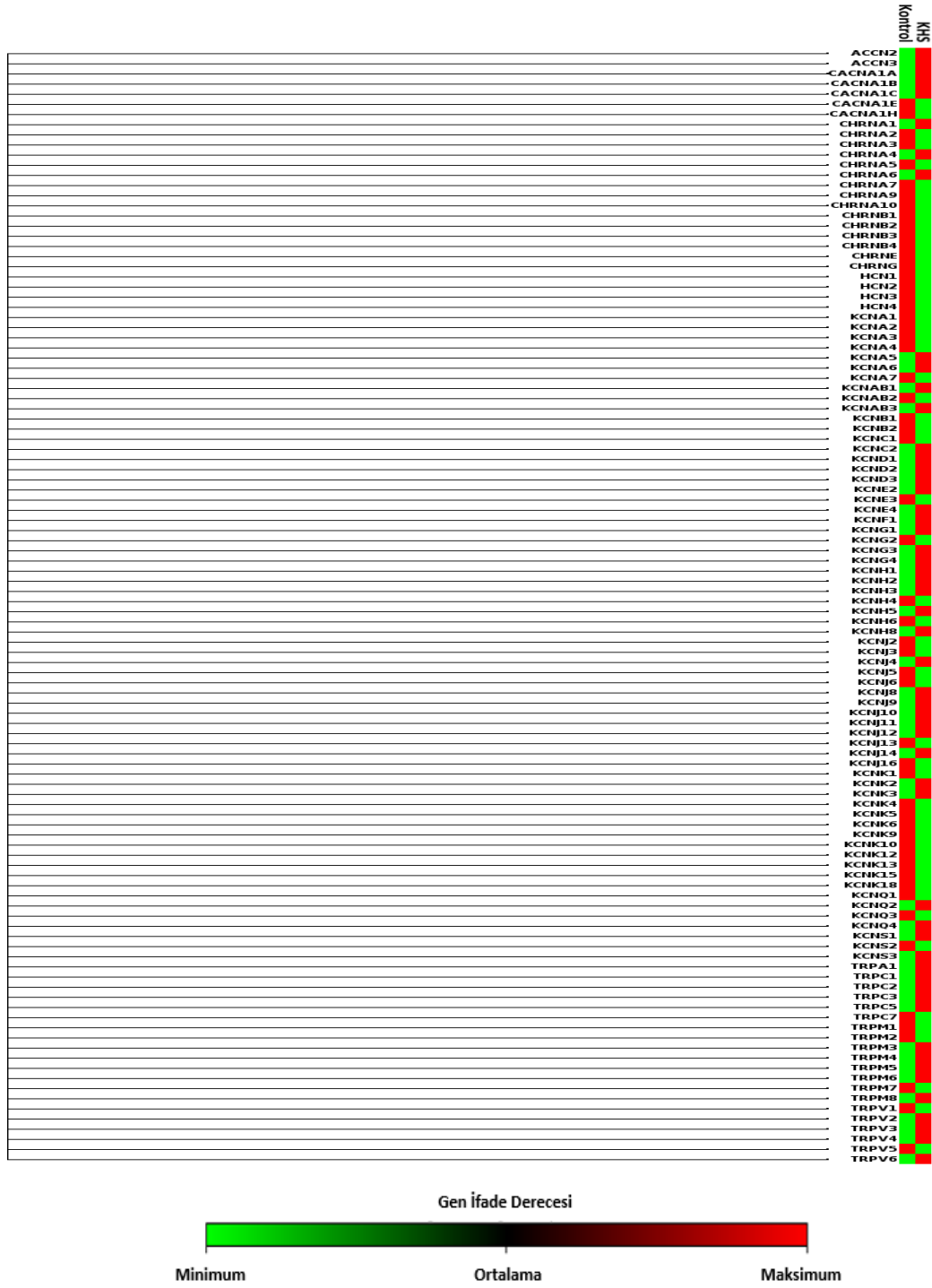
Tablo 24: Kronik hafif stresin (KHS grubunun) iyon kanal ifadeleri üzerine etkisi

Hipokampus			Prefrontal Korteks		
Sembol	Kat Değişimi	p Değeri	Sembol	Kat Değişimi	p Değeri
ACTB	1.00	0	ACTB	1.00	0
ACCN2	8.75	0.005175	ACCN2	1.75	0.092641
ACCN3	2.83	0.019566	ACCN3	Çalışmadı	
CACNA1A	1.35	0.272373	CACNA1A	1.53	0.170132
CACNA1B	1.17	0.532932	CACNA1B	1.78	0.087517
CACNA1C	1.08	0.764472	CACNA1C	3.84	0.011378
CACNA1E	0.75	0.289800	CACNA1E	1.39	0.268305
CACNA1H	0.40	0.027006	CACNA1H	1.18	0.559972
CHRNA1	1.33	0.291636	CHRNA1	2.24	0.038389
CHRNA2	0.73	0.245558	CHRNA2	1.48	0.193473
CHRNA3	0.67	0.166654	CHRNA3	1.75	0.092641
CHRNA4	1.24	0.409698	CHRNA4	0.95	0.822637
CHRNA5	0.77	0.331062	CHRNA5	0.64	0.163807
CHRNA6	1.48	0.170108	CHRNA6	3.61	0.012575
CHRNA7	0.96	0.857108	CHRNA7	0.99	0.945901
CHRNA9	0.44	0.036814	CHRNA9	0.92	0.725158
CHRNA10	0.37	0.023722	CHRNA10	0.95	0.802679
CHRNA1	0.42	0.032213	CHRNA1	1.03	0.948972
CHRNA2	0.75	0.289800	CHRNA2	0.91	0.687983
CHRNA3	0.42	0.032213	CHRNA3	1.04	0.906960
CHRNA4	0.42	0.031627	CHRNA4	0.85	0.536320
CHRNAE	0.54	0.068930	CHRNAE	1.60	0.136519

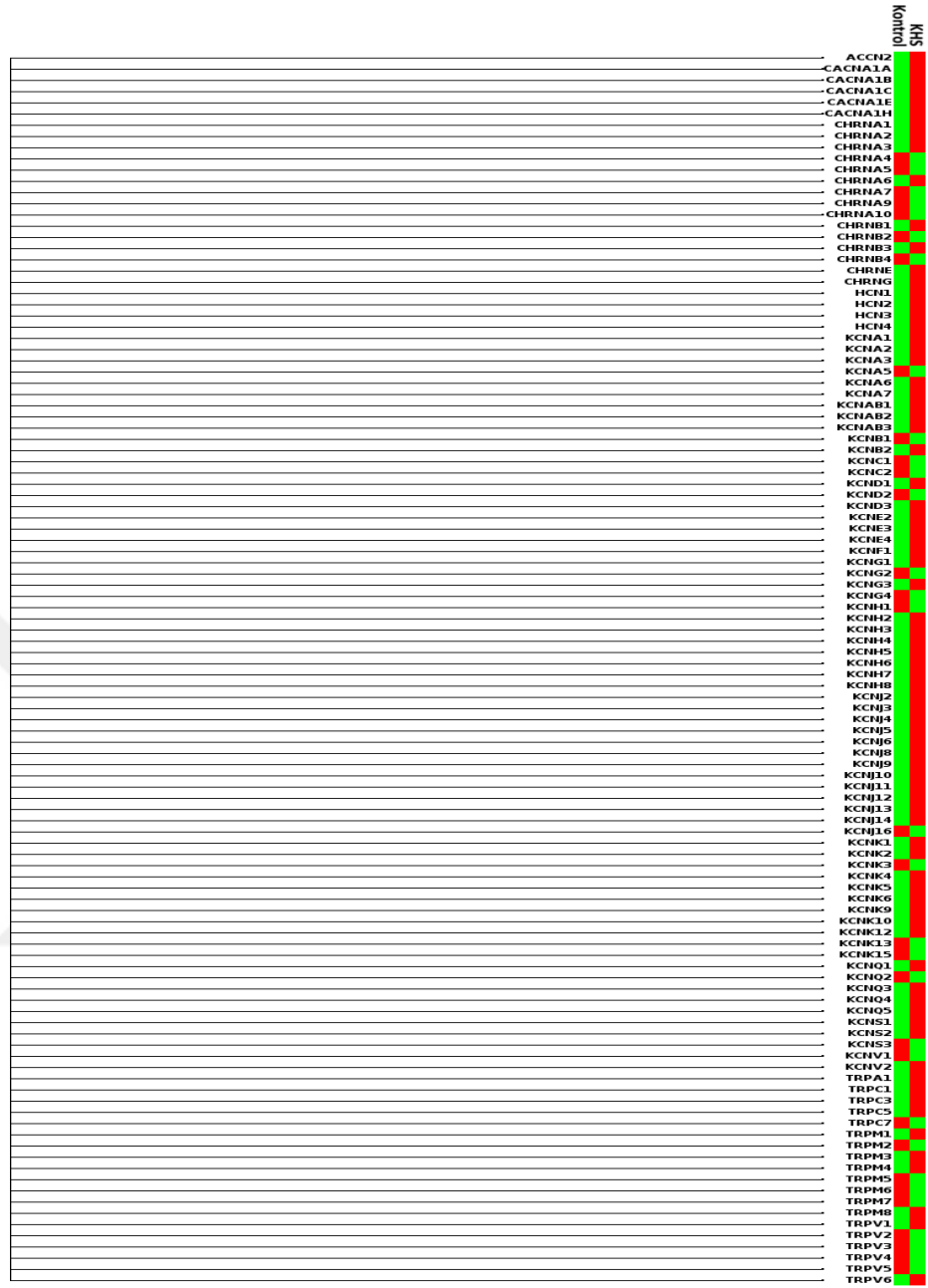
CHRNA1	0.54	0.070700	CHRNA1	1.32	0.339099
CHRNA2	0.25	0.011884	CHRNA2	4.44	0.009282
CHRNA3	0.91	0.688237	CHRNA3	2.10	0.047046
CHRNA4	0.90	0.668435	CHRNA4	2.93	0.018768
CHRNA5	0.93	0.770593	CHRNA5	2.87	0.019661
CHRNA6	0.97	0.901495	CHRNA6	1.25	0.437247
CHRNA7	0.56	0.078414	CHRNA7	1.34	0.316256
CHRNA8	0.52	0.059464	CHRNA8	1.14	0.647975
CHRNA9	0.98	0.923887	CHRNA9		Çalışmadı
CHRNA10	4.14	0.009786	CHRNA10	0.12	0.009618
CHRNA11	1.49	0.164628	CHRNA11	2.03	0.043783
CHRNA12	0.59	0.094768	CHRNA12	2.68	0.023178
CHRNA13	1.88	0.062175	CHRNA13	1.13	0.685346
CHRNA14	0.17	0.007819	CHRNA14	1.42	0.235260
CHRNA15	1.64	0.109250	CHRNA15	1.37	0.286558
CHRNA16	0.79	0.365768	CHRNA16	0.80	0.400595
CHRNA17	0.91	0.708370	CHRNA17	1.14	0.647975
CHRNA18	0.81	0.403904	CHRNA18	0.95	0.822637
CHRNA19	1.73	0.086302	CHRNA19	0.92	0.725158
CHRNA20	1.45	0.187831	CHRNA20	5.06	0.007960
CHRNA21	1.04	0.895708	CHRNA21	0.96	0.842793
CHRNA22	1.01	0.985835	CHRNA22	1.17	0.576913
CHRNA23	1.43	0.200792	CHRNA23	1.14	0.647975
CHRNA24	0.75	0.289800	CHRNA24	2.64	0.023998
CHRNA25	2.03	0.047309	CHRNA25	1.64	0.124509
CHRNA26	1.18	0.516081	CHRNA26	1.00	0.966850
CHRNA27	1.85	0.065525	CHRNA27	1.39	0.268305
CHRNA28	0.45	0.037550	CHRNA28	0.74	0.297883
CHRNA29	1.60	0.119756	CHRNA29	1.04	0.927942
CHRNA30	3.94	0.010455	CHRNA30	0.45	0.049559
CHRNA31	1.14	0.604347	CHRNA31	0.77	0.345407
CHRNA32	1.38	0.245896	CHRNA32	1.93	0.063247
CHRNA33	1.09	0.722544	CHRNA33	1.33	0.326801
CHRNA34	0.88	0.611145	CHRNA34	1.27	0.410207
CHRNA35	1.54	0.144645	CHRNA35	1.20	0.527132
CHRNA36	0.41	0.030501	CHRNA36	4.89	0.008268
CHRNA37		Çalışmadı	CHRNA37	1.78	1.78
CHRNA38	1.19	0.499641	CHRNA38	1.51	0.181388
CHRNA39	0.84	0.475463	CHRNA39	1.18	0.559972
CHRNA40	0.86	0.557253	CHRNA40	1.14	0.647975
CHRNA41	1.64	0.109250	CHRNA41	1.08	0.803545
CHRNA42	0.77	0.331062	CHRNA42	1.66	0.117193
CHRNA43	0.78	0.342260	CHRNA43	1.66	0.117193
CHRNA44	2.17	0.037719	CHRNA44	1.71	0.104043
CHRNA45	1.45	0.187831	CHRNA45	1.38	0.277282
CHRNA46	1.27	0.370249	CHRNA46	1.06	0.865232
CHRNA47	1.78	0.077098	CHRNA47	1.85	0.074132
CHRNA48	1.06	0.807427	CHRNA48	1.11	0.723813
CHRNA49	0.80	0.378090	CHRNA49	1.12	0.704450
CHRNA50	1.24	0.409698	CHRNA50	1.11	0.723813
CHRNA51	0.97	0.879227	CHRNA51	0.86	0.567667
CHRNA52	0.82	0.445618	CHRNA52	1.16	0.611802
CHRNA53	1.10	0.702013	CHRNA53	1.02	0.970031
CHRNA54	1.51	0.159348	CHRNA54	0.96	0.842793
CHRNA55	0.58	0.092179	CHRNA55	1.62	0.128369
CHRNA56	0.75	0.289800	CHRNA56	1.41	0.243107
CHRNA57	0.93	0.749565	CHRNA57	1.07	0.823960
CHRNA58	0.63	0.130287	CHRNA58	1.05	0.886050

KCNK10	0.93	0.749565	KCNK10	1.02	0.970031
KCNK12	0.98	0.923887	KCNK12	1.13	0.685346
KCNK13	0.51	0.056701	KCNK13	0.69	0.216349
KCNK15	0.89	0.629877	KCNK15	0.44	0.047452
KCNK18	0.36	0.021980	Kcnk18		Çalışmadı
KCNQ1	0.80	0.390801	KCNQ1	1.32	0.337677
KCNQ2	1.07	0.785832	KCNQ2	0.91	0.687983
KCNQ3	0.97	0.879227	KCNQ3	1.13	0.666517
KCNQ4	1.16	0.550190	KCNQ4	1.03	0.948972
KCNQ5		Çalışmadı	KCNQ5	1.06	1.06
KCNS1	4.00	0.010255	KCNS1	1.16	0.611802
KCNS2	0.02	0.004189	KCNS2	2.36	0.030851
KCNS3	1.84	0.067289	KCNS3	0.80	0.412613
KCNV1		Çalışmadı	KCNV1	0.85	0.85
KCNV2		Çalışmadı	KCNV2	1.11	1.11
TRPA1	1.21	0.452806	TRPA1	1.72	0.101039
TRPC1	2.14	0.039404	TRPC1	6.87	0.006076
TRPC2	2.69	0.021036	TRPC2		Çalışmadı
TRPC3	1.38	0.245896	TRPC3	3.41	0.013845
TRPC5	1.28	0.345923	TRPC5	1.88	0.070254
TRPC7	0.71	0.215375	TRPC7	0.93	0.744162
TRPM1	0.25	0.011884	TRPM1	3.56	0.012873
TRPM2	0.42	0.031627	TRPM2	0.83	0.477839
TRPM3	1.39	0.229756	TRPM3	1.65	0.120785
TRPM4	2.83	0.018843	TRPM4	1.39	0.268305
TRPM5	1.32	0.301777	TRPM5	0.90	0.651994
TRPM6	1.64	0.109250	TRPM6	0.60	0.129261
TRPM7	0.30	0.015580	TRPM7	0.57	0.103471
TRPM8	2.93	0.017493	TRPM8	1.01	0.991095
TRPV1	0.39	0.026558	TRPV1	1.48	0.193473
TRPV2	3.43	0.012951	TRPV2	0.18	0.012914
TRPV3	1.41	0.214745	TRPV3	0.51	0.073796
TRPV4	3.63	0.011832	TRPV4	0.44	0.047452
TRPV5	0.75	0.289800	TRPV5	0.51	0.073796
TRPV6	1.07	0.785832	TRPV6	1.88	0.070254

p<0,05 anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Mavi renk; anlamlı azalma. Kırmızı renk; anlamlı artış.



Şekil 7: Kontrol ve KHS grubunun hipokampus dokusunda, iyon kanal genlerinin ifadelerinin clustergram analizi ve ısı haritası grafiği. Renk, ölçek çubuğunda gösterildiği gibi, gen ifadesinin büyüklüğüne göre siyahtan yeşil veya kırmızıya kadar değişmektedir.



Şekil 8: Kontrol ve KHS grubunun prefrontal korteks dokusunda, iyon kanal genlerinin ifadelerinin clustergram analizi ve ısı haritası grafiği. Renk, ölçek çubuğunda gösterildiği gibi, gen ifadesinin büyüklüğüne göre siyahtan yeşil veya kırmızıya kadar değişmektedir.

5.4.2 miRNA İfadelerinin Analizi

İnhibitör uygulanan TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarının mRNA'larını hedefleyen miRNA'ların ifadeleri, ilgili grupların prefrontal korteks ve hipokampus bölgelerinde ayrı ayrı değerlendirildi.

Hipokampus dokusunda, TRPC1 iyon kanalını hedefleyen miRNA'ların ifadeleri kontrole göre değerlendirildiğinde;

KHS grubunda miR-135a-5p ve miR-135b-5p'nin ifadesinin anlamlı olarak arttığı (sırasıyla; $p=0,022$, $p=0,018$) görülmüştür. Sham ve KHS + Pico145 gruplarında; miR-135a-5p'nin ifadesinin anlamlı olarak azaldığı (sırasıyla $p=0,046$, $p=0,026$), KHS + Pico145 grubunda miR-135b-5p'nin ($p=0,021$) ve Sham grubunda miR-875'in anlamlı olarak arttığı ($p=0,030$) belirlenmiştir. Çalışmamızda TRPC1'i hedefleyen miR-186'nin tüm gruplardaki ifadesinde anlamlı bir kat değişimi görülmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 25; Şekil 9).

Prefrontal korteks dokusunda, TRPC1 iyon kanalını hedefleyen miRNA'ların ifadeleri kontrole göre değerlendirildiğinde;

KHS grubunda, miR-135a-5p ($p=0,031$) ve miR-135b-5p'nin ($p=0,026$) ifadesinde anlamlı artış olduğu belirlenmiştir. Sham grubunda miR-875'in ifadesinde anlamlı bir azalma ($p=0,019$) olduğu tespit edilmiştir. KHS + Pico145 grubunda miR-135b-5p'nin ($p= 0,006$) ve miR-875'in ($p=0,006$) ifadesinde anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. miR-186'nin tüm gruplardaki ifadesinde anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 26; Şekil 10).

Hipokampus dokusunda, CHRNA6 iyon kanalını hedefleyen miRNA'ların ifadeleri kontrol ile kıyaslandığında;

KHS, Sham ve KHS + bPiDI gruplarında miR-6334'ün ifadesinde anlamlı bir artış olduğu (sırasıyla; $p=0,004$, $p=0,004$, $p=0,017$) belirlenmiştir. Sham grubunda miR-484 ($p=0,023$) ve miR-702'nin ($p=0,027$) ifadesinde anlamlı azalma olduğu görülmüştür. KHS +bPiDI grubunda miR-344a-5p ($p=0,046$), miR-484 ($p=0,010$), miR-501-3p ($p=0,012$) ve miR-702-3p'nin ($p=0,005$) ifadesinde anlamlı azalma, miR-6334'ün ($p=0,017$) ifadesinde ise anlamlı bir artış olduğu belirlenmiştir. Çalışmamızda miR-500-3p'nin ifadesinde KHS, Sham ve KHS + 9-Phe gruplarında herhangi bir anlamlı değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 25; Şekil 9).

Prefrontal korteks dokusunda, CHRNA6 iyon kanalını hedefleyen miRNA'ların ifadeleri kontrol ile kıyaslandığında;

KHS grubunda, miR-484 ($p=0,042$) ve miR-501-3p'nin ($p=0,039$) ifadesinde anlamlı azalma olduğu görülmüştür. Sham ve KHS + BpiDI gruplarında miR-344 (sırasıyla; $p=0,013$, $p=0,012$), miR-484 (sırasıyla; $p=0,005$, $p=0,006$), miR-500-3p (sırasıyla; $p=0,027$, $p=0,013$), miR-501-3p (sırasıyla $p=0,006$, $p=0,005$), miR-702-3p (sırasıyla; $p=0,034$ $p=0,009$) ve miR-6334'ün (sırasıyla; $p=0,037$, $p=0,017$) ifadesinde anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir (Tablo 26; Şekil 10).

Hipokampus dokusunda, TRPM4 iyon kanalını hedefleyen miRNA'ların ifadeleri kontrole göre değerlendirildiğinde;

KHS grubunda; miR-203a-5p ($p=0,009$), miR-296-5p ($p=0,027$) ve miR-6320'nin ($p=0,016$) ifadelerinde anlamlı artış olduğu belirlenmiştir. Sham ve KHS + 9-Phe gruplarında, miR-203a-5p'nin (sırasıyla; $p=0,008$, $p=0,009$) ifadesinde ise anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. miR-3569, miR-361-3p, miR-433'ün

ifadelerinde KHS, Sham ve KHS + 9-Phe gruplarında herhangi bir anlamlı değişim gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 25; Şekil 9).

Prefrontal korteks dokusunda, TRPM4 iyon kanalını hedefleyen miRNA'ların ifadeleri kontrole göre değerlendirildiğinde;

KHS grubunda, miR-296-5p ($p=0,013$) ve miR-361-3p'nin ($p=0,010$) ifadelerinde anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir. Sham grubunda ise miR-296-5p ($p=0,036$), miR-203a-5p ($p=0,026$), miR-361-3p ($p=0,039$) ve miR-433-5p'nin ($p=0,031$) ifadelerinde anlamlı bir azalma olduğu tespit edilmiştir. KHS + 9-Phe grubunda miR-296-5p ($p=0,012$), miR-361-3p ($p=0,036$) ve miR-6320'nin ($p=0,029$) ifadesinde anlamlı bir azalma olduğu görülmüştür. Çalışmamızda miR-3569'un tüm gruplardaki ifadesinde anlamlı bir değişim görülmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 26; Şekil 10).

Tablo 25: Hipokampus dokusunda TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarını hedefleyen miRNA'ların ifade değişimleri

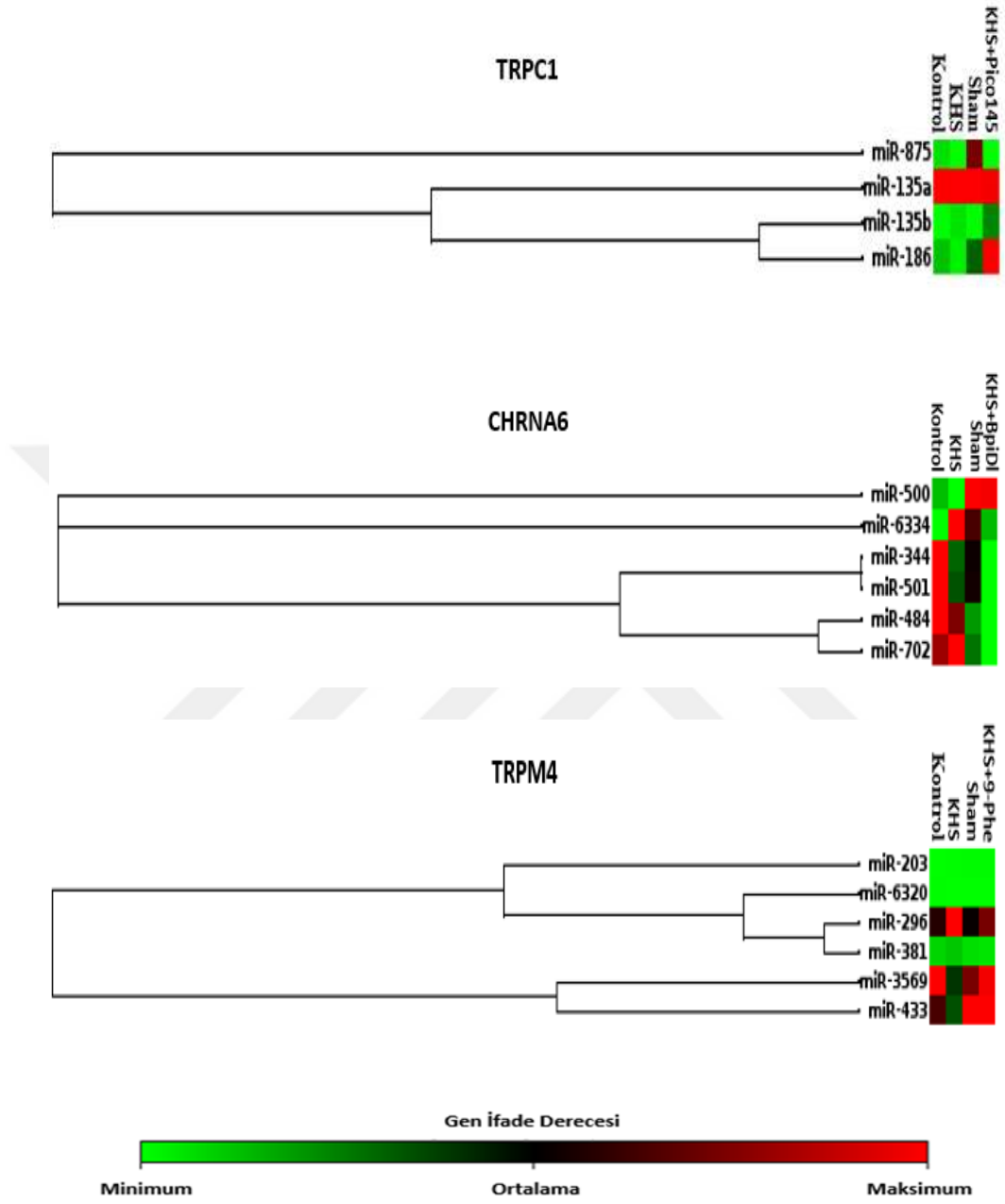
TRPC1						
Sembol	KHS		SHAM		KHS+Pico145	
	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri
U6	1.00	0	1.00	0	1.00	0
miR-135a-5p	2.64	0.022102	0.48	0.0046237	0.39	0.026121
miR-135b-5p	2.83	0.018843	1.69	0.094131	2.66	0.021738
miR-186-5p	1.20	0.483614	0.97	0.879227	1.82	0.071006
miR-875	1.24	0.409698	2.33	0.030668	1.66	0.102867

CHRNA6						
Sembol	KHS		SHAM		KHS + BpiDI	
	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri
U6	1.00	0	1.00	0	1.00	0
miR-344a-5p	0.64	0.134272	0.75	0.289800	0.48	0.046237
miR-484	0.80	0.390801	0.37	0.023722	0.22	0.010036
miR-500-3p	0.92	0.728818	1.57	0.131504	1.56	0.135721
miR-501-3p	0.51	0.056701	0.66	0.151755	0.26	0.012222
miR-702-3p	1.21	0.452806	0.40	0.027939	0.10	0.005640
miR-6334	15.67	0.004154	10.41	0.004770	2.91	0.017750

TRPM4						
Sembol	KHS		SHAM		KHS + 9-Phe	
	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri
U6	1.00	0	1.00	0	1.00	0
miR-203a-3p	4.26	0.009441	4.44	0.008967	4.29	0.009358
miR-296-5p	2.41	0.027846	0.93	0.749565	1.24	0.409698
miR-361-3p	1.95	0.054738	0.81	0.417405	0.67	0.166654
miR-433	0.74	0.271175	1.59	0.123527	1.51	0.159348
miR-3569	0.55	0.074426	0.75	0.289800	0.95	0.813412
miR-6320	3.01	0.016523	1.73	0.086302	1.95	0.054738

p<0,05 anlamlı olarak değerlendirilmiştir. K.D: Kat değişimi. Mavi renk; anlamlı azalma. Kırmızı renk; anlamlı artış.





Şekil 9: Hipokampus dokusunda TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarını hedefleyen miRNA'ların ifadelerinin clustergram analizi ve ısı haritası grafiği. Renk, ölçek çubuğunda gösterildiği gibi, gen ifadesinin büyüklüğüne göre siyahtan yeşil veya kırmızıya kadar değişmektedir. Genler, ifade düzenindeki benzerliklerine göre kümelenmiştir.

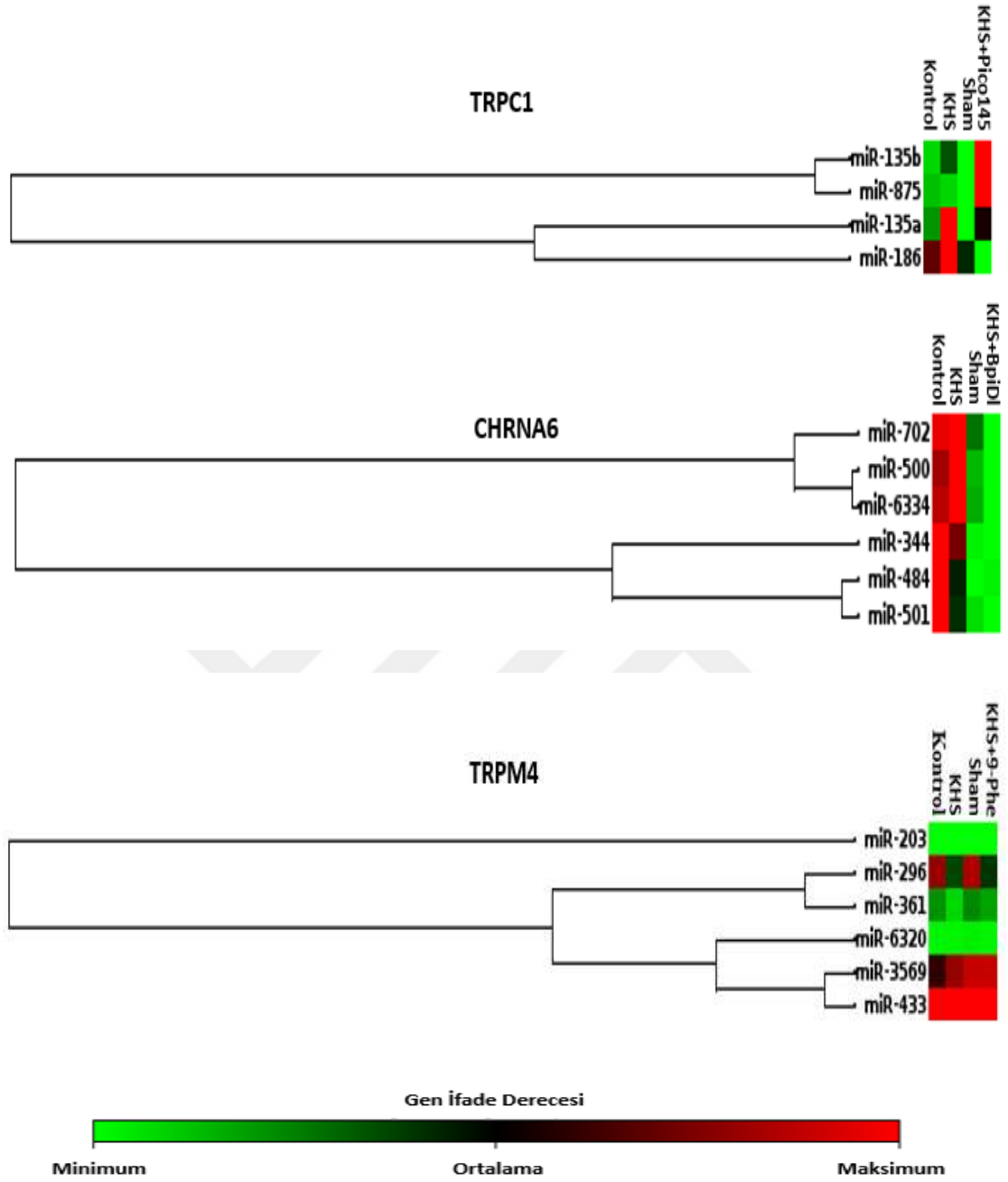
Tablo 26: Prefrontal korteks dokusunda TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarını hedefleyen miRNA'ların ifade değişimleri

TRPC1						
Sembol	KHS		SHAM		KHS + PICO145	
	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri
U6	1.00	0	1.00	0	1.00	0
miR-135a-5p	2.31	0.031283	0,66	0.156540	1.56	0.135721
miR-135b-5p	2.46	0.026334	0,57	0.082687	6.23	0.006433
miR-186-5p	1.18	0.516081	0.85	0.506953	0.60	0.106093
miR-875	0.75	0.289800	0.34	0.019595	5.86	0.006769

CHRNA6						
Sembol	KHS		SHAM		KHS + BpiDI	
	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri
U6	1.00	0	1.00	0	1.00	0
miR-344a-5p	0.80	0.390801	0.28	0.013784	0.26	0.012704
miR-484	0.48	0.042538	0.10	0.005774	0.12	0.006258
miR-500-3p	1.16	0.567849	0.40	0.027939	0.28	0.013932
miR-501-3p	0.46	0.039890	0.13	0.006693	0.08	0.005251
miR-702-3p	1.04	0.895708	0.44	0.034730	0.21	0.009664
miR-6334	1.10	0.702013	0.45	0.037550	0.32	0.017613

TRPM4						
Sembol	KHS		SHAM		KHS + 9-Phe	
	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri	K.D	p Değeri
U6	1.00	0	1.00	0	1.00	0
miR-203a-3p	1.39	0.237681	0.39	0.026121	0.61	0.109186
miR-296-5p	0.28	0.013498	0.44	0.036814	0.26	0.012704
miR-361-3p	0.22	0.010036	0.46	0.039890	0.44	0.036814
miR-433	0.60	0.103108	0.42	0.031627	0.53	0.063962
miR-3569	0.80	0.378090	0.62	0.122737	0.79	0.365768
miR-6320	0.70	0.201835	0.53	0.063962	0.41	0.029961

p<0,05 anlamlı olarak değerlendirilmiştir. K.D: Kat değişimi. Mavi renk; anlamlı azalma. Kırmızı renk; anlamlı artış.



Şekil 10: Prefrontal korteks dokusunda, TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarını hedefleyen miRNA'ların ifadelerinin clustergram analizi ve ısı haritası grafiği. Renk, ölçek çubuğunda gösterildiği gibi, gen ifadesinin büyüklüğüne göre siyahtan yeşil veya kırmızıya kadar değişmektedir. Genler, ifade düzenindeki benzerliklerine göre kümelenmiştir.

6. TARTIŞMA

Major depresif bozukluk; hayat kalitesi üzerine ciddi olumsuz etkilere sahip bir hastalık olup dünya çapında oldukça yaygın görülmektedir (273). Hastalığın patofizyolojisi ile ilgili artan bilgi birikimine ve geliştirilen antidepresan ilaçlara rağmen, MDB tedavisine yüksek oranda yanıt alınamaması, yanıtın gecikmesi ve hastalığın tekrar görülmesi gibi klinik sorunlar, araştırmacıların bu alana yönelmesine neden olmuştur. İnsanda denenmesi zor olan birçok çalışmada kullanılan hayvan modelleri, MDB'nin etiyopatogenezindeki farklı mekanizmaların anlaşılması ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesinde de önemli bir yere sahiptir (71).

Sıçanlarda depresyon modeli oluşturularak yapılan çalışmalarda KHS, uzun yıllardır sıkça kullanılan ve geçerliliği yüksek olan bir modeldir (73, 274). Kronik hafif stres yöntemi kemirgenlerde depresyonun üç ana kriterini karşılamaktadır. Bunlar; kemirgenlerin depresyon belirtilerine benzer davranışsal (anhedoni, öğrenilmiş çaresizlik) semptomlar göstermesi, depresyonlu hastalarda gözlenen patafizyolojik değişimlerin (HPA aksının bozulması, nörotransmitter seviyelerinin değişmesi, nörotrofik faktör düzeylerinin azalması vb.) gözlenmesi ve antidepresanlarla depresif davranışların iyileşmesi şeklindedir (73, 74, 275, 276, 277, 278).

Depresyon psikolojik, davranışsal ve fizyolojik düzeylerde belirtiler veren heterojen bir bozukluktur (71). Bu nedenle çalışmamızda KHS ile oluşturulan MDB modeline spesifik iyon kanal inhibitörlerinin antidepresan etkinliği, sıçanlarda meydana gelen davranışsal ve fizyolojik değişimler bir arada incelenerek değerlendirilmiştir.

Mevcut çalışmamızda deneyin sağlıklı bir şekilde yürütülebilmesi için sıçanların KHS öncesi bazal vücut ağırlıkları ölçülerek gruplar arasında ağırlık açısından fark olmaması sağlanmıştır. Yedi haftalık KHS uygulamasının vücut ağırlıklarına etkisi değerlendirildiğinde 3., 5. ve 7. haftanın sonunda yapılan tartımlarda KHS grubu sıçanların vücut ağırlıklarının kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı görülmüştür. Farklı araştırmacılar tarafından yapılan araştırmalarda da KHS'nin vücut ağırlığı üzerine etkisi, çalışmamızın sonuçlarına benzer şekilde gösterilmiştir (89, 279, 280). Araştırmacılar, KHS modelinde kilo kaybının nedenini uygulanan stres faktörlerinden birinin sıvı ve besin kısıtlaması olmasına bağlasa da bu stresörün kullanılmadığı protokollerde de kilo kaybının olduğu gösterilmiştir (71). Bu durum, yeme miktarındaki değişiklikten ziyade, uygulanan stres faktörlerinin kombinasyonunun, yemenin ödül etkisinin kaybolmasına neden olduğunu göstermekte, yani sıçanlarda anhedoninin geliştiğini kanıtlamaktadır (71). Yapılan çalışmalarda KHS sonrası uygulanan antidepresanların kilo alımını normale döndürdüğü görülmüştür (280, 281). Ancak çalışmamızda tedavi amaçlı kullandığımız iyon kanal inhibitörleri, KHS + inhibitör gruplarına 1 gün uygulandıktan hemen sonra davranış testleri yapılması gerektiği için inhibitörlerin sükroz tüketimine olan etkisi değerlendirilememiştir.

Sıçanlarda MDB modeli oluşturmak amacı ile KHS protokolü uyguladığımız KHS grubu sıçanlarda, benzer çalışmalar baz alınarak, modelin doğru bir şekilde oluşup oluşmadığı STT yapılarak değerlendirilmiştir (74, 87, 269, 282). Sükroz tercih testi, depresyonun önemli semptomlarından biri olan anhedoninin belirlenmesi amacıyla kullanılmaktadır. Kemirgenlerde sükroz tüketiminin kontrol grubuna ve başlangıç değerlerine göre azalması ve sükroz

tercihinin % 65'ten aşığı seviyelerde olması anhedoni belirtisi olarak kabul edilmektedir (269). Çalışmamızda KHS uygulamasına başlamadan hemen önce alınan bazal ölçümlerde kontrol gurubu ve KHS grubu arasında sükroz tüketimi bakımından anlamlı fark olmadığı belirlenerek araştırmanın eşit şartlarda başlatılması sağlanmıştır. Ayrıca grupların KHS öncesi, bazal yüzde sükroz tercihlerine bakıldığında hem kontrol hem de KHS grubunun sükroz tercihinin % 65'ten yukarıda olduğu yani sıçanların duygudurumu bakımından sağlıklı olduğu görülmüştür. Kronik hafif stres uygulamasına başladıktan sonra alınan ölçümlerde KHS'nin 3. haftasında gruplar arasında anlamlı bir fark görülmezken 5. ve 7. haftanın sonunda KHS grubunun, kontrol grubuna ve bazal değerlerine kıyasla sükroz tüketiminde ve % sükroz tercihinde anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir. Daha önce farklı araştırma grupları tarafından sıçanlar üzerinde yapılan pek çok depresyon çalışmasında da KHS'nin model oluşumunda etkili olup olmadığı STT ile belirlenmiş, sükroz tüketiminin ve tercihinin stres gruplarında azaldığı bulunmuştur. Ayrıca yapılan çalışmalarda antidepresan uygulamalarının sükroz tüketimini arttırarak normale döndürdüğü belirlenmiştir (74, 87, 269, 279, 282). Ancak mevcut çalışmamızda, KHS sonrası tedavi amaçlı kullandığımız iyon kanal inhibitörleri, KHS + inhibitör gruplarına 1 gün uygulandıktan hemen sonra davranış testleri yapılması gerektiği için inhibitörlerin sükroz tüketimine olan etkisi değerlendirilememiştir.

Majör depresif bozukluğun etiyolojisinde biyolojik, çevresel, psikolojik ve genetik gibi pek çok faktör tek başına veya birlikte rol oynayabilmektedir (1). Hastalığın günümüzde hızlı artışı göz önüne alındığında farklı mekanizmaların aydınlatılmasına ve yeni tedavi yöntemlerinin geliştirilmesine olan ihtiyaç gün

geçtikçe artmaktadır. Son yıllarda yapılan hayvan çalışmaları ve elektrofizyolojik çalışmalar ile MDB etiyopatogenzinde rolü olan faktörlerden birinin, hücre içi sinyal iletim mekanizmalarında görevli iyon kanallarının ifade ve aktivite değişimleri olduğu gösterilmiştir (41).

Canlı sistemde, özellikle beyinde hücreler arasında bilgi iletimi aksiyon potansiyeli adını verdiğimiz elektriksel sinyallerle sağlanmaktadır. Elektriksel sinyallerin oluşabilmesi için zarın iki tarafında bulunan iyonların büyük bölümünün, hücre zarına gömülü bulunan iyon kanallarından geçmesi gerekmektedir (283). Sinyal mekanizmasının önemli bir parçası olan iyon kanalları beyinde nörotransmisyon, nöral farklılaşma, plastisite gibi süreçlerde önemli görevler üstlenmektedir (169). İyon kanallarının yapı ve işlevlerinde oluşacak değişiklikler iyon kanal hastalıkları (kanalopati) olarak tanımlanan hastalıkların ortaya çıkmasına neden olmaktadır (284). Yapılan çalışmalarla hücre içi sinyal iletim mekanizmalarında görevli iyon kanallarının çeşitli psikiyatrik hastalıklarda ifade ve aktivite değişimlerinin olduğu gösterilmiştir (41). Ancak depresyonda iyon kanallarının nasıl bir değişim gösterdiği hakkında yeterli çalışma bulunmamaktadır.

Majör depresif bozukluk vakalarının postmortem beyin dokularında şu ana kadar yapılan en kapsamlı çalışma Smolin ve ekibi tarafından yapılmış ve beynin striatum ve serebellum bölgelerinde incelenen 72 iyon kanalından 15 iyon kanalının ifadelerinde anlamlı değişim olduğu belirlenmiştir (285). Bu iyon kanalları arasında ifadesinde en çok artış görülenler K^+ kanalları (KCNB1, KCNH2, KCNJ1, KCNJ4, KCNN2, KCNN3, KCNQ2) olmuştur. Ayrıca voltaj kapılı Ca^{+2} kanallarından CACNAB1, CACNAB3 ifadelerinde ve ASIC2'de

anlamli artiş olduğu tespit edilmiştir. Çalışma sonucunda striatumda ifadesi değişen iyon kanallarının, MDB'nin patofizyolojisi, semptomatolojisi hatta etiyolojisinde bile rol alabileceği bildirilmektedir (285). Ayrıca çeşitli çalışmalarda beynin duygu düzenlenmesi ile ilgili kısımlarında bol miktarda bulunan ANK-3, CACNA1C, KCNK2, P2RX7 ve HCN4 gibi iyon kanallarındaki polimorfizmler MDB ile ilişkilendirilmiştir (211, 226, 227, 286). Ancak insan postmortem beyin dokularında veya depresyonun kemirgen modellerinde geniş çapta iyon kanal gen mRNA ifadelerinin değerlendirildiği çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamızda sıçanlarda oluşturulan KHS depresyon modelinde beyinde sentezlendiği bilinen 115 iyon kanalının ifade değişimleri beynin prefrontal korteks ve hipokampus dokularında değerlendirilerek bu önemli bilimsel veri açığının kısmen doldurulması ve bu konuda bilgi birikiminin sağlanması amaçlanmıştır.

Beyindeki subkortikal yapılar içinde talamus, hipotalamus, hipokampus, hipofiz ve amigdala gibi önemli nöroanatomik oluşumları içeren limbik sistem, duygudurum değişikliklerinden sorumlu bir bölgedir. Limbik sistem anksiyete ve depresyonun patofizyolojisinde önemli bir role sahiptir. Depresyonla ilişkili son yıllarda yapılan çalışmalar çoğunlukla limbik sistemin en önemli parçalarından hippocampus üzerinde yoğunlaşmıştır. Strese bağlı hippocampal apoptoz ve nroenezde azalma görülmesi ve olumsuz değişikliklerin antidepresan tedavisi ile eski haline döndürülebilmesi, MDB oluşumunda hipokampal nöroplastisite veya nöroplastik değişikliklerin katkısı olabileceğine işaret etmektedir. Birçok postmortem ve nörolojik görüntüleme çalışmaları anksiyetesi ve depresyonu olan hastalarda prefrontal kortekste ve hipokampusta atrofi ve nöron kaybı olduğunu

göstermektedir (27). Prefrontal alan; striatum, globus pallidus ve substantia nigra, mediodorsal talamus ile olan bağlantıları temel beyin döngülerini oluşturmaktadır. Bu döngülerde oluşan aksaklıkların depresyon etyopatogenezinde rol oynadığı düşünülmektedir (287). Bu bilgiler doğrultusunda mevcut çalışmamızda, kapsamlı literatür taramalarıyla seçilen iyon kanallarının analizi depresyonla ilişkili olduğu bilinen beyin bölgelerinden hipokampus ve prefrontal korteks dokularında yapılmıştır.

Membran proteinlerinin en yaygın ve çeşitliliği fazla sınıfını oluşturan K^+ kanalları; apoptozun düzenlenmesi, hücre büyümesi ve farklılaşması, nörotransmitterlerin ve hormonların salınımı gibi MDB için önemli süreçlerde rol oynamaktadır (119, 120). Ayrıca Smolin ve ekibinin yaptığı çalışmada olduğu gibi başka çalışmalarda da bazı K^+ kanallarının depresyonla ilişkili olduğu gösterilmiştir (228, 229, 230, 231, 285). Bu nedenle MDB’de ifadesini incelediğimiz iyon kanallarının büyük bir kısmını K^+ kanalları oluşturmaktadır. Ayrıca çalışmamızda MSS’de yaygın olarak bulunan ve nöronal aktiviteyi düzenlediği bilinen ASIC kanallarının ve siklik nükleotid kapılı kanallarının ifadeleri; MDB’de düzeylerinde değişimlerin olduğu bilinen asetilkolin, norepinefrin, dopamin, serotonin gibi nörotransmitterlerin salınımı ile ilişkili nAChR kanallarının ifadeleri; hücre motilite, hormon sekresyonu, metabolizma, sinir sisteminin işleyişi, protein döngüsü, gen ekspresyonu, gelişim ve apoptoz gibi süreçler için gerekli bir sekonder haberci olan Ca^{+2} geçirgen Cav kanallarının ifadeleri ve Ca^{+2} ’a duyarlılığı oldukça yüksek olan TRP kanallarının ifadeleri değerlendirilmiştir (56, 105, 160, 161, 166, 184, 206). Çalışılan iyon kanallarının özellikleri ile ilgili ayrıntılı bilgiler bölüm 3.8’de verilmiştir.

Mevcut çalışmamızda Kontrol ve KHS gruplarının her iki beyin bölgesindeki iyon kanal ifadeleri qRT-PCR ile değerlendirilmiştir. Yukarıda bahsettiğimiz daha önce yapılan çalışmalarda olduğu gibi depresyon modeli oluşturduğumuz KHS grubu sıçanların iyon kanal ifadelerinde değişimlerin olduğu görülmüştür. Sonuçlarımıza göre; beynin hipokampus bölgesinde iyon kanallarının ifadeleri kontrol grubu ile kıyaslandığında; ACCN2, ACCN3, KCNA5, KCNE4, KCNG4, KCNJ8, KCNS1, TRPC1, TRPC2, TRPM4, TRPM8, TRPV2 ve TRPV4 iyon kanallarının ifadelerinde anlamlı artış olduğu görülmüştür. CACNA1H, CHRNA9, CHRNA10, CHRNB1, CHRNB4, HCN1, KCNAB2, KCNG2, KCNH6, KCNK18, KCNS2, TRPM1, TRPM2, TRPM7 ve TRPV1 iyon kanallarının ifadelerinde ise anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir. Diğer iyon kanallarının ifadelerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir.

KHS grubunun prefrontal korteks dokusunda iyon kanallarının ifadeleri kontrol grubu ile kıyaslandığında; CACNA1C, CHRNA1, CHRNA6, HCN1, HCN2, HCN3, HCN4, KCNA6, KCNA7, KCND1, KCNE3, KCNH16, KCNS2, TRPC1, TRPC3 ve TRPM1 iyon kanallarının ifadelerinde anlamlı bir artış olduğu görülmüştür. KCNA5, KCNG4, KCNK15, TRPV2 ve TRPV4 iyon kanallarının ifadesinde anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir. Diğer iyon kanallarının ifadelerinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Tespit ettiğimiz bu değişimler iyon kanallarının MDB patofizyolojisindeki rolünü desteklemektedir.

Araştırmacılar tarafından özellikle nöropsikiyatrik ve kardiyovasküler hastalıklarda meydana gelen iyon kanallarındaki değişimlerin keşfedilmesi, iyon kanallarını, hastalıkların engellenmesi ve tedavisi için yüksek potansiyelli bir hedef haline getirmiştir. Bu amaçla çeşitli ajanlar iyon kanallarının

modülasyonunda (inhibisyon veya aktivasyon) kullanılmaktadır (214). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, beyinde K^+ , Na ve Ca^{+2} kanal aktivitesinin özellikle inhibe edilmesinin anksiyete ve depresyon tedavisinde de iyileştirici etkiler gösterdiği bildirilmiştir (228, 229). Ayrıca çeşitli prelinik çalışmalarda antidepresan ilaçların iyon kanal inhibitörü özelliğine sahip olduğu gösterilmiştir (230, 231). Bu etkiler genellikle hayvanlarda yapılan davranış testleri ile belirlenmiştir (225).

Coryell ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada ASIC1A kanalının farmakolojik inhibisyonunun ZYT'de antidepresan benzeri etkileri olduğu gösterilmiştir (288). Takahashi ve ekibinin yapmış olduğu çalışmada glibenclamide, charybdotoxin ve apamin gibi K^+ kanal blokerleri kullanılmış ve ZYT'de bu inhibitörlerin antidepresif etkileri olduğu saptanmıştır (289). Ayrıca fluoxetine, desipramine, amitriptyline, nortriptyline, clomipramine, maprotiline, citalopram ve paroxetine gibi antidepresanların ve fenotiyazin, butirofenon gibi antipsikotik ilaçların terapötik etkilerini K^+ akımını inhibe ederek gösterdiği bilinmektedir (289, 290). Yapılan çalışmalarda agmatine, adenosine ve tramadol gibi antidepresan özelliğe sahip bileşiklerin, çeşitli K^+ kanal blokerleri ile kombine bir şekilde uygulandığında ZYT'de antidepresan benzeri etki yarattığı gözlenmiştir (228). Klinik çalışmalar ve hayvan deneylerinde lityum takviyesinin, özellikle serotonin sistemi üzerinde etkili olan antidepresan ilaçların etkilerini arttırdığı ileri sürülmüştür. Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda fluoksetin, sertralin ve sitolopram gibi seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin, lityumla güçlendirilmesinin tedaviye yanıt vermeyen hastalarda yaklaşık %50 oranında olumlu sonuç verdiği ve tedaviye cevabı hızlandırdığı bildirilmiştir (291). Bu

etkinin, potasyum kanallarının inhibisyonunun bir sonucu olduğu tespit edilmiştir (292). Lityum gibi quinine'in de potasyum kanallarını bloke ederek serotonerjik sistem üzerinden aynı etkileri gösterdiği bulunmuştur (293). Benzer şekilde farelere etkili dozlarda folik asit (antidepresan ajan) ve K^+ kanal blokerlerinin kombine uygulaması ZYT'de antidepresan benzeri etki yaratmıştır. Hipotezi güçlendirmek için bir K^+ kanal açıcısı olan cromakalim uygulanan farelerde ZYT'de hareketsizlik süresini arttırdığı belirlenmiş ve bu durumun imipramine, amitriptyline, desipramine ve paroxetine gibi antidepresanlarla tersine çevrildiği görölmüştür (289). Potasyum kanal inhibitörlerinin, Ca^{+2} akışını arttırarak aksiyon potansiyelinin uzamasına ve nörotransmitter salınımının artmasına neden olarak antidepresan etki gösterdiği bildirilmektedir (293). Bu çalışmalardan farklı olarak Friedman ve ekibi tarafından yapılan çalışmada, KCNQ kanal agonisti olan antikonvülsan ilaç retigabine'in antidepresan benzeri etki oluşturduğu belirtilmiştir. Özellikle KCNQ3'ün aşırı ifadesinin depresif semptomları iyileştirdiği gözlenmiştir. Beynin ventral tegmental bölgesindeki KCNQ aktivitesinin lokal retigabine uygulaması ile arttırılmasının ödöl sistemindeki DA nöronlarının patojenik hiperaktivitesini normalleştirdiği ve davranış düzeyinde antidepresan etkileri olduğu görölmüştür (294). Nifedipin gibi kalsiyum kanal blokerleri çeşitli kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Son zamanlarda kalsiyum kanal inhibitörlerinin duygudurum hastalıklarının tedavisinde de önemli rol oynayabileceği düşünölmüş ve Ca^{+2} kanalı antagonistlerinin kemirgenlerde stres önleyici etkilerinin olduğu tespit edilmiştir (232). Aburawi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bir kalsiyum kanal inhibitörü olan nifedipinin ZYT'de hareketsizlik süresini azalttığı ve bu antidepresif etkiyi 5-

HT1A aktivasyonu ve GABA aktivasyonu aracılı Na^+ salınımı ile gerçekleştirdiği belirlenmiştir (295). Aynı çalışmada yüzme testindeki hareketsizlik başlangıcının gecikmesine neden olan diğer bir kalsiyum kanal blokeri verapamilin de antidepresan benzeri etkisi olduğu gösterilmiştir. Hücre içi sinyal yolağındaki Ca^{+2} -kalmodulin-NOS-guanilil siklaz kesintisinin bu antidepresan benzeri etkilerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (295). Yapılan çalışmalarda alprazolam ve imipramine'in voltaj duyarlı Ca^{+2} kanallarını bloke ederek antidepresan etki yarattığı belirlenmiştir. Ayrıca verapamile ilave olarak kullanıldıklarında antidepresan etkiyi kuvvetlendirdikleri görülmüştür. Bu antidepresif etkinin, antidepresanların seçici geri alım inhibisyonu mekanizmasıyla benzer şekilde, biyojenik aminlerin, serotoninin ve Na^+ 'nın presinaptik alınınımının inhibe edilmesiyle gerçekleştiği tespit edilmiştir (295). Potasyum, Ca^{+2} veya Na^+ kanallarını güçlü bir şekilde inhibe edebilen carbamazepine, valproate, lamotrigine, iagabine, gabapentin, levetiracetam, topiramate, amotrigine ve phenytoin gibi antikonvülsan ilaçların duygu durumunu düzenleyici etkilerinin olduğu ve antidepresanların etkisini güçlendirdiği bilinmektedir (291, 296). Çeşitli çalışmalarda güçlü ve güvenilir bir anestezi ajan olan ketaminin N-Metil-D-aspartat (NMDA) reseptörlerini inhibe ederek antidepresan özellik gösterdiği farkedilmiştir. Kronik tedavide uzun zamandır kullanılan antidepresanlardan bazılarının NMDA reseptör aktivitesini etkilediği bulunmuştur. Son yıllarda yapılan klinik çalışmalarda ketaminin tedaviye dirençli depresyon hastalarında hızlı başlayan antidepresan etkilerinin olduğu ve intihar düşüncelerinde gerileme yarattığı gösterilmiştir. Bu bulgular sonucunda NMDA reseptör antagonizmasının depresyon tedavisi için geçerli bir tedavi seçeneği olabileceği düşünülmektedir

(297). Sigara bırakma tedavisinde kullanılan $\alpha 4\beta 2$ nikotinik reseptör agonisti vareniklin kullanımında; depresif duygudurum, uyku bozukluğu, intihar, ajitasyon, saldırganlık, psikotik ve manik bulgular tespit edilmiştir (298). Abdelhamid ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TRPV1 kanallarının inhibisyonunun ZYT’de antidepresif etki yarattığı belirtilmiştir (299). Ayrıca You ve ekibinin TRPV1 nakavt farelerde yapılan çalışmada da benzer etki gözlenmiştir. Bu etkinin 5-HT1A reseptör ifadesindeki artış nedeniyle gerçekleştiği bildirilmektedir (300). Shibasaki ve ekibinin TRPV4 nakavt farelerde yaptığı bir çalışmada da depresyon benzeri davranışların azaldığı tespit edilmiştir (301).

Mevcut çalışmamıza zemin hazırlayan, 2017 yılında yayınlamış olduğumuz araştırmamızda KHS ile oluşturulan fare depresyon modelinde tedavi amaçlı olarak kullandığımız TREK1 potasyum kanal inhibitörü olan anandamide ve TRPC3/6 iyon kanal inhibitörü olan norgestimatın ZYT’de antidepresan etki gösterdikleri belirlenmiştir (302). Tsai’nin farelerde yaptığı çalışmada, TREK1 inhibisyonunun stres durumunda kortikosteron seviyelerini azalttığı ve farelerin davranışlarının antidepresan uygulaması yapılan farelerle benzerlik gösterdiği belirlenmiştir (303). Bu bulgular TREK-1 kanal inhibitörlerinin potansiyel yeni bir antidepresan hedefi olabileceğini göstermiştir.

Yukarıda özetlediğimiz literatür taramalarımızda bazı iyon kanallarını bloke eden genel inhibitörlerin tedavi amaçlı kullanıldığı çalışmalar bulunmasına rağmen çalışmamızdaki gibi spesifik inhibitörlerin kemirgen KHS depresyon modelinde tedavi amaçlı kullanıldığı çalışma sayısının çok az olduğu görülmüştür. Bu doğrultuda mevcut çalışmamızda rastgele iyon kanal inhibitörleri kullanılarak

yapılan tedavi yaklaşımlarının daha spesifik hale getirilmesi üzerine yoğunlaşarak KHS ile oluşturulan depresyon modelinde beyinin hipokampus ve prefrontal korteks bölgelerinde artışı tespit edilen iyon kanallarına spesifik inhibitörlerin kullanımıyla tedavi uygulanması ve ZYT, AAT ve YALT gibi davranış deneyleri ile bu iyon kanal inhibitörlerinin antidepresan etkinliğinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Bu kapsamda, beyin hipokampus ve prefrontal korteks bölgelerinde ifadelerini analiz ettiğimiz 115 iyon kanalından 3 adet iyon kanalının tedavi amaçlı seçiminde şu kriterler göz önünde bulundurulmuştur; 1. Öncelikle ifadesinde istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek artış görülen iyon kanalları tespit edilmiştir. 2. Prefrontal korteks ve hipokampus dokularının her ikisinde de artış gösteren iyon kanallarına spesifik inhibitörler seçilmiştir. 3. Bu seçimde spesifik inhibitörü ticari olarak bulunan iyon kanalları tercih edilmiştir. 4. Daha önce KHS sıçan modelinde tedavi amaçlı uygulanmamış olmasına dikkat edilmiştir.

Yukarıda belirtilen kriterler göz önüne alındığında KHS depresyon modelinde ifadesinde artış görülen TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanalları uygun bulunarak, teröpatik hedef olarak seçilmiştir. TRPC1 kanalları heteromultimerik kanallar olduğu için TRPC1/TRPC4 veya TRPC1/TRPC5 şeklinde bulunabilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda her ne kadar TRPC1 spesifik inhibitörü olarak Pico145 kullansak da TRPC4 ve TRPC5 kanalları da bu inhibitörden etkilenmektedirler (304). Seçtiğimiz diğer iyon kanallarından CHRNA6'nın spesifik inhibitörü olarak BpiD1 ve TRPM4'ün spesifik inhibitörü olarak da 9-Phenanthrol kullanılmıştır. Çalışmamızda KHS + Pico145, KHS +

BpiDI ve KHS + 9-Phe gruplarındaki hayvanlara uygulanacak ilaç dozları ve yöntemi daha önce bu inhibitörlerin kullanıldığı farklı çalışmalar incelenerek belirlenmiş ve KHS depresyon modeli çalışmalarında kullanılan yöntemlere göre modifiye edilerek uygulanmıştır (305, 306, 307). Sham grubuna Pico145 ve 9-Phe inhibitörlerini çözdürdüğümüz bileşik olan DMSO uygulanmıştır. Literatürdeki antidepresan etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalarda ilaçlar genellikle akut, subakut veya kronik olarak uygulanmaktadır (262). Çalışmamızda, KHS ile oluşturulan depresyon modelinde antidepresan etkinliğini test ettiğimiz iyon kanal inhibitörleri, kronik uygulamanın etkilerinin bilinmemesinden dolayı literatürde sıkça kullanılan yöntemlerden biri olan ve akut tedaviden daha etkili olduğu belirtilen subakut (davranış testlerinden önce, 24 saat içinde 3 doz) uygulama ile verilmiştir (263). Çalışmamızda inhibitörlerin terapötik etkinliği ilk olarak, KHS sıçan modelinde depresyonun davranışsal semptomları incelenerek değerlendirilmiştir. Davranışlar ZYT, açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi yapılarak ölçülmüştür.

Zorunlu yüzme testi, kemirgenlerde yapılan antidepresan tarama çalışmalarında en çok kullanılan ve güvenilirliği yüksek olan yöntemlerdendir (83). Bu testte, depresyona neden olan faktörlerden biri olan strese maruz bırakılan hayvanların, stresli ortamdan kaçma çabaları değerlendirilmektedir. Bunun için hayvanların su dolu düzenekteki aktif (yüzme, tırmanma) ve pasif (hareketsiz kalma) davranış parametreleri değerlendirilmektedir (308). Bu teste göre hayvanların hareketsiz kalma sürelerindeki artış stresli ortamdan kaçma umudunun azalması (davranışsal umutsuzluk) olarak değerlendirilmekte ve depresyon belirtisi olarak kabul edilmektedir. Antidepresan uygulamaların

hareketsizlik süresini azaltması ve tırmanma ve yüzme süresini arttırması beklenmektedir (83). Literatür taramalarında KHS depresyon modeli oluşturularak çeşitli maddelerin ZYT’de antidepresan etkinliğinin araştırıldığı birçok çalışma bulunmaktadır (309, 310, 311). Ancak KHS ile oluşturulan depresyon modelinde iyon kanal inhibitörlerinin (özellikle kanal spesifik inhibitörlerin) antidepresan etkinliğinin ZYT’de değerlendirildiği çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Lu ve ekibi tarafından yapılan çalışmada ATP bağımlı K⁺ kanal açıcısı iptakalimin, ZYT’de antidepresan etkisinin olduğu bulunmuştur (312). Coryell ve arkadaşlarının KHS modeli çalışmasında, ASIC1a iyon kanal inhibisyonunun ZYT’de antidepresan benzeri etkisi değerlendirilmiştir (288). Zhong ve ekibinin yaptığı çalışmada ise, HCN2 iyon kanalının aşırı ifadesinin, KHS’nin indüklediği depresif davranışları iyileştirdiği, ZYT’de gösterilmiştir. Jiang ve ekibinin çalışmasında KHS depresyon modelinde NMDA reseptör kanalı inhibitörü olan ketamin’in ZYT’de depresif davranışları normale döndürdüğü belirtilmektedir (313). Potasyum kanallarını inhibe ederek etkisini gösterdiği düşünülen venlafaxine’in, Bortolatto ve ekibinin KHS modelinde yaptığı çalışmada, ZYT’de diğer genel potasyum kanal inhibitörlerine (TEA, glibenclamide, charybdotoxin, apamin) benzer şekilde antidepresan etki gösterdiği tespit edilmiştir (281). Yang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada TRPC4 ve TRPC5 kanallarını inhibe eden M084’ün ZYT’de hareketsizlik süresini azalttığı ve antidepresan benzeri etkisinin olduğu bildirilmektedir (314).

Mevcut çalışmamızın sonuçlarına baktığımızda, Kontrol grubuna kıyasla KHS grubunda hareketsizlik süresinin arttığı, tırmanma ve yüzme hareketinin ise azaldığı belirlenmiştir. Sham grubunda, KHS grubuna benzer sonuçlar alınmasına

rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır. Kronik hafif stresin oluşturmaya beklenen depresif etkilerin, KHS grubumuzda belirgin şekilde olduğu görülmektedir. KHS grubu ile inhibitör uyguladığımız grupları karşılaştırdığımızda, KHS + Pico145, KHS + BpiDI ve KHS + 9-Phe gruplarının hepsinde hareketsizlik süresinin azaldığı görülmüştür. Grupların tırmanma verileri KHS grubu ile karşılaştırıldığında; KHS + Pico145, KHS + 9-Phe ve KHS + BpiDI gruplarında anlamlı bir artış olduğu bulunmuştur. Zorunlu yüzme testi sonuçlarımıza göre Pico145, BpiDI ve 9-Phe'nin antidepresan benzeri etkilerinin olduğu belirlenmiştir.

Zorunlu yüzme testinin geçerliliği farklı kimyasal sınıflardan antidepresanlara yanıt vermesinden kaynaklanmakla birlikte testin duyarlılığı ile ilgili bazı sorunlar bulunmaktadır. Amfetamin gibi psikostimulanların veya skopolamin gibi hareketliliği arttıran ilaçların yalancı pozitif yanıtı neden olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle testin sonuçlarının başka bir hareketlilik testi ile doğrulanması gerekebilmektedir. Testin yordayıcı geçerliği yüksek olsa da, depresyon semptomatolojisi ile tek benzerliği, belli bir çabanın sürdürülmesi ile ilgili isteksizlik ya da kaybın görülmesidir (71). Bu nedenle çalışmamızın sağlıklı bir şekilde değerlendirilebilmesi açısından, çalışmamız ZYT'ye ek olarak davranışlarla ilgili farklı parametrelerin gözlenebileceği açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testleri ile desteklenmiştir.

Açık alan testi, deney hayvanının herhangi bir uygulama öncesi ve sonrasındaki duygusal durumunu saptamak için en çok kullanılan testlerden biridir. Bu testle depresyonun semptomlarından biri olan anksiyeteye bağlı gelişen duyguların tespiti yapılabilmektedir. Açık alana bırakılan hayvanda anksiyete

davranışı hayvanın kendi ortamından alınıp tek başına bilmediği bir ortama bırakılması ve geniş alan korkusu tarafından tetiklenmektedir. Deneyin yapıldığı süre içerisinde hayvanın horizontal düzlemdeki hareketleri (bir kareden diğerine geçiş), vertikal düzlemdeki hareketleri (arka ekstremiteleri üzerinde yükselme, şahlanma) hareketsiz geçirdiği süre, merkezde toplam hareket ettiği süre, periferde geçen süre ve defekasyon sayısı tespit edilmektedir (88, 315). Lokomotor aktivite hayvanın kayıt altına alınan süre içindeki çizgi geçme sayısı ile belirlenmektedir (89). İlaçların sedatif, kas gevşetici ve psikostimülan etkileri ve deneklerin anksiyete düzeyi ve lokomotor aktivite ölçümleri ile değerlendirilebilmektedir (316). Lokomotor aktivitenin azalması depresyon benzeri davranış olarak kabul edilmektedir (317). Çevreyi keşfetme davranışı ise arka ekstremiteleri üzerinde yükselme sayısı ile doğru orantılıdır (89). Açık alana bırakılan hayvanlarda yeni çevre hem merak uyandırmakta hem de anksiyeteyi tetiklemektedir. Anksiyetenin az olduğu hayvanlarda merak duygusu ağır bastığından hayvan yeni çevreyi araştırma davranışı olarak şahlanma davranışını yapmaktadır (315). Açık alan düzeneğindeki hayvanın kenarlarda mı yoksa merkezde mi daha fazla dolaştığı değerlendirmeler için oldukça önemlidir (89). Anksiyetenin azalmasına bağlı olarak merkez bölgeye girme sayısı ve merkez bölgede geçen süre artmakta, tam tersi anksiyete artışı ile periferik bölgede geçen süre artmaktadır. Açık alana konan hayvanlarda anksiyete artışına bağlı olarak testin duvar ve köşelerine kaçma, periferde vakit geçirme isteği (thigmotaksis) görülmektedir (315). Defekasyon sayısı otonom sinir sistemi aktivitesinin göstergesi sayılmakta ve anksiyete durumunda defekasyon sayısında artış görülmektedir (89). Depresyon

ve anksiyetenin birlikte görülme sıklığı nedeniyle çalışmalarda açık alan testi genellikle ZYT ile birlikte değerlendirilmektedir (315).

Mevcut çalışmamızda yaptığımız AAT sonuçlarına göre, kontrol grubu ile kıyaslandığında, KHS ve Sham grubundaki sıçanların açık alanın merkezinde geçirdiği sürenin ve şahlanma sayısının azaldığı, kenarda geçirdiği sürenin ve hareketsizliğin arttığı, defekasyon sayısında ise anlamlı bir değişim olmadığı belirlenmiştir. Toplam geçilen kare sayısı ise sadece Sham grubunda anlamlı olarak azalmıştır. Bu sonuçlar KHS depresyon modelimizin doğruluğunu desteklemektedir. Tedavi amaçlı inhibitör uygulanan gruplar, KHS ve Sham grubu ile kıyaslandığında, sadece KHS + Pico145 grubunda merkezde geçirilen sürenin ve toplam geçilen kare sayısının arttığı, hareketsiz kalma süresinin azaldığı belirlenmiştir. Düzenegin kenarında geçirdiği zamanda ise anlamlı bir değişim gözlenmemiştir. Sham grubu ile kıyaslandığında sadece KHS + Pico145 grubunun şahlanma sayısında artış olduğu görülmüştür. KHS + BpiDl ve KHS + 9-Phe gruplarında kontrole göre merkezde geçirilen sürenin ve şahlanma sayısının azaldığı, hareketsiz kalma sürelerinin arttığı tespit edilmiştir. Grupların defekasyon sayılarında anlamlı bir değişim belirlenmemiştir. Bu bulgular TRPC1 iyon kanalı inhibitörü Pico145'in sıçanlarda KHS ile oluşturulan depresyon benzeri davranışları normalleştirdiğini göstermektedir. Açık alan testi sonuçları aynı zamanda Pico145'in ZYT'de tespit edilen antidepresan benzeri etkisini destekler niteliktedir.

İyon kanal inhibitörlerinin KHS depresyon modelinde, AAT ile değerlendirildiği çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Chen ve ekibi tarafından yapılan bir çalışmada genel K⁺ kanal inhibitörü olduğu bilinen bir antidepresan

olan fluoxetine'in KHS depresyon modelindeki etkinliği AAT ile değerlendirilmiştir (318). Qi ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada, KHS depresyon modelinde TREK1 inhibitörleri spadin ve SID1900'ün terapötik etkinliğinin fluoxetine ile karşılaştırması AAT kullanılarak yapılmıştır (319). Çalışmanın sonuçlarına göre TREK1 inhibitörlerinin tedavi etkinliğinin klasik SSRI antidepresan olan fluoxetine'den daha etkili ve hızlı olduğu belirtilmektedir. Han ve arkadaşlarının çalışmasında, $\alpha\beta 2$ nikotik reseptör kanal agonisti olan cytisine'in, AAT'de lokomotor aktiviteyi arttırarak KHS'nin neden olduğu depresyon benzeri davranışları azalttığı belirtilmektedir (317).

Mevcut alışmamızda iyon kanal inhibitörlerinin antidepresan etkinliğini değerlendirdiğimiz bir diğer davranış testi yükseltilmiş artı labirenttir. Bu testle emosyonel aktivite test edilerek uygulanan ilacın veya herhangi bir etkenin davranışsal, fizyolojik ve farmakolojik etkileri araştırılabilmektedir (89). Testin temeli, yaşadığı ortamdaki alınan deney hayvanında yeni evre ve yüksekliğin anksiyeteyi tetiklenmesine dayanmaktadır. Bu teste değerlendirilen en önemli parametrelerden biri hayvanın kapalı kolda veya açık kolda geçirdiği süredir. Artan anksiteye bağlı olarak düzeneğin kapalı kolunda geçen süre, kapalı kola girme sayısı artış göstermektedir. Anksiyetenin azalmasına bağlı olarak da açık kolda geçen süre ve açık kola girme sayısı artmaktadır. Bunların dışında şahlanma ve defekasyon sayısı gibi parametrelere de bakılmaktadır. Açık alan testinde olduğu gibi lokomotor aktiviteninin değerlendirilmesinde araştırmacılar arasında bir görüş birliği yoktur. Bazı araştırmacılar toplam kola girme sayısını bazı araştırmacılar ise açık veya kapalı kola girme sayısını lokomotor aktivite olarak yorumlamaktadır. Yükseltilmiş artı labirent, açık alan testinde olduğu gibi sıklıkla

depresyon testi olan ZYT ile birlikte kullanılmaktadır. Depresyon ve anksiyetenin birlikte görülme sıklığı nedeniyle birlikte kullanılan bu iki testin parametreleri arasında korelasyon olup olmadığı yönünde çalışmalar mevcuttur (315) .

Çalışmamızın sonuçlarına bakıldığında, kontrol grubuna göre KHS grubunun açık kolda geçirdiği sürenin anlamlı olarak azaldığı, kapalı kolda geçirilen sürenin ise anlamlı olarak arttığı görülmektedir. Hareketsizlik süresi hem KHS hem de Sham gruplarında artış göstermiştir. Şahlanma sayısında ise yine KHS ve Sham gruplarında anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlar yorumlandığında KHS grubu hayvanların anksiyete düzeylerinin arttığı görülmektedir. Zorunlu yüzme testi ve açık alan testi sonuçlarımızla uyumlu olarak yükseltilmiş artı labirent testi sonuçlarımız da KHS depresyon modelimizin doğru bir şekilde oluşturulmuş olduğu göstermektedir. İnhibitör grupları KHS grubu ile karşılaştırıldığında, KHS + Pico145, KHS + BpiDI ve KHS + 9-Phe gruplarının açık kolda geçirdiği zamanın arttığı, kapalı kolda geçirilen zamanın azaldığı görülmektedir. Sham grubu ile karşılaştırıldığında KHS + Pico145 ve KHS + 9-Phe gruplarının açık kolda geçirdiği zamanın arttığı, kapalı kolda geçirilen zamanın azaldığı görülmektedir. Şahlanma sayılarında ise KHS ve Sham gruplarına kıyasla KHS + Pico145 grubunda anlamlı artış olduğu tespit edilmiştir. Test sonuçlarımız, Pico145 ve 9-Phe daha belirgin olmak üzere Pico145, BpiDI 9-Phe iyon kanal inhibitörlerinin, gruplarının anksiyete seviyelerini önemli ölçüde azalttığını göstermektedir. Yükseltilmiş artı labirent testi sonuçları ZYT ile uyumlu sonuçlar vermiştir. Ayrıca açık alan testinde belirlenen Pico145 iyon kanal inhibitörünün etkinliği ile örtüşmektedir. Literatür taramalarımızda KHS

depresyon modelinde YALT ile iyon kanal inhibitörlerinin terapötik etkinliğinin değerlendirildiği çalışmaya rastlamadık.

Davranış testi sonuçlarımızı genel olarak değerlendirdiğimizde, ZYT’de KHS grubunun hareketsizlik süresinde artış olduğu görülürken, aynı etkilerin görülmesinin beklendiği Sham (KHS + DMSO) grubumuzda anlamlı bir değişim olmadığı, sonuçların kontrol grubuna yakın olduğu belirlenmiştir. Aynı şekilde açık alan testinde toplam geçilen kare sayısına bakıldığında KHS grubunda kontrole göre anlamlı bir azalma varken Sham grubunda anlamlı bir değişim saptanmamıştır. Yükseltilmiş artı labirent testinde de KHS grubunun kapalı kolda geçirdiği sürenin arttığı görülürken, yine benzer sonuçlar alınması beklenen Sham grubunda kapalı kolda veya açık kolda geçirilen zaman bakımından anlamlı bir değişim görülme de sonuçların kontrol grubuna yakın olduğu belirlenmiştir. DMSO nörofizyolojik araştırmalarda, ilaçların hazırlanmasında oldukça sık kullanılan çözücü bir maddedir (320). DMSO’nun serbest radikallerin sitotoksik etkilerini nötralize eden bir antioksidan olduğu ve nöron koruyucu etkilerinin olduğu bilinmektedir (321, 322). Ancak DMSO’nun nöronal sinyal aktarma yolları üzerindeki olası etkileri genellikle yapılan çalışmalarda farkedilmemekte veya bildirilmemektedir. Mevcut çalışmamızda KHS ve Sham grupları arasındaki bu farklı sonuçların DMSO kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Dimetilsülfoksit, hücre füzyonunu ve hücre farklılaşmasını indüklemeye ve lipid membranların geçirgenliğini artırma yeteneğine sahiptir. Özellikle yüksek konsantrasyonlarda membranın moleküler taşınma bariyerinin azalmasına ve por oluşumuna katkısı bulunmaktadır (323). He ve ekibi çalışmasında, DMSO’nun membran geçirgenliğini arttırdığı ve iyonlar gibi hidrofilik moleküllerin membrandaki su

porlarından geçebildiği bildirilmektedir (324). Yang ve arkadaşlarının çalışmasında DMSO'nun membrandaki su geçişinin sağlandığı aquaporin-1 kanallarını inhibe ettiği belirtilmektedir (325). Matsumoto ve ekibinin çalışmasında DMSO'nun sinaptik iletimi kolaylaştırdığı bildirilmektedir. Ekstraselüler Ca^{+2} konsantrasyonunun düşük olduğu durumda gelişen sinaptik iletim hatalarını DMSO'nun presinaptik Ca^{+2} geçişini kolaylaştırarak kısmen azalttığı bildirilmiştir (326). Ayrıca DMSO'nun oksidatif ve metabolik stres durumunda glutamatla aktive olan AMPA ve NMDA reseptör kanallarını bloke ederek hipokampusta aşırı Ca^{+2} akışını baskıladığı bildirilmiştir (327, 328). Lu ve ekibin çalışmasında DMSO'nun L-tipi Ca^{+2} kanallarının ilaç aracılı inhibisyonunu kuvvetlendirdiği bildirilmiştir (327). Ayrıca kardiyak miyositlerde ve glutamerjik nöronlarda DMSO'nun Na^{+} ve K^{+} akışını azalttığı belirtilmektedir (328). Evans ve ekibinin yaptığı çalışmada DMSO'nun K^{+} kanallarını inhibe edebileceği belirtilmektedir. DMSO'nun K^{+} iyonunun hidrasyon durumunu değiştirerek iyon kanalından geçme yeteneğini etkilediği düşünülmektedir (329). Rosenblum ve ekibinin çalışmasında arteriollerin serebral yüzeyinde, oksidan maddelerin ATP bağımlı K^{+} kanallarını açmasını DMSO'nun engellediği bildirilmiştir. (321). Çalışmamızla ilişkili olarak DMSO'nun davranışlar üzerine etkisinin değerlendirildiği çok az çalışma bulunmaktadır. Cavas ve ekibinin çalışmasında depresyonla ilişkili olduğu bilinen uyku davranışını DMSO'nun etkilediği bildirilmiştir. Yüksek konsantrasyonlarda kullanılan DMSO'nun ratlarda lokomotor aktiviteyi düşürdüğü görülmüştür. Bu durumun DMSO'nun hücre içi Ca^{+2} konsantrasyonunu ve nörotransmisyonu etkilemesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (330). Authier ve ekibinin yaptığı çalışmada ise DMSO'nun

motor ve duyuşal davranışlar üzerine herhangi bir etkisi gözlenmemiştir (331). Matheus ve ekibinin çalışmasında dorsal periaquaduktal gri bölgeye (DPAG) mikroenjeksiyonla verilen DMSO'nun yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyolitik etkisi olduğu tespit edilmiştir. Sonuçlara göre % 10'luk DMSO'nun SF verilen grup ile karşılaştırıldığında yükseltilmiş artı labirentin açık veya kapalı kollarına giriş sayısını önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. Araştırmacılar, % 10 konsantrasyondaki intra-DPAG DMSO uygulamasının, artı labirentte keşif aktivitesini artırabildiğini bildirmişlerdir (332). Castro ve arkadaşlarının çalışmasında ise DMSO'nun farelerin lokomotor aktivitesi üzerine etkisi değerlendirilmiş ve % 32 ile % 64 konsantrasyonlarındaki DMSO'nun keşif aktivitesini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir (333). Transgenik alzheimer fare modelinde yapılan bir çalışmada yaşa bağlı anksiyete benzeri davranış artışının, kronik DMSO uygulamasıyla YALT'de azaldığı gösterilmiştir. Ancak vahşi tip yaşlı farelerde kronik DMSO uygulamasının anksiyojenik etkisinin olabileceği bildirilmiştir. Ayrıca % 1 konsantrasyonda DMSO uygulamasının yaşa bağlı uzamsal hafıza sorunlarını hafiflettiği tespit edilmiştir. Çalışmada DMSO'nun sinaptik plasititeyi etkileyebileceği bildirilmektedir (334). Çalışmamızda her ne kadar Sham grubunda DMSO'nun ZYT'de hareketsizlik süresini, YALT'de açık kolda ve kapalı kolda geçirilen süreleri ve AAT'de toplam geçilen kare sayısını normalize ettiği görülse de, DMSO'nun tek başına tedavi etkinliğinin oldukça sınırlı olduğu belirlenmiştir. Bununla beraber KHS depresyon modelinde DMSO'nun lokomotor aktiviteyi artırıcı ve anksiyolitik etkilerine aracılık eden moleküler mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir.

Çalışmamızın tedavi gruplarının davranış sonuçlarını genel olarak değerlendirecek olursak; ZYT’de Pico145, 9-Phe ve BpiDI’nin 3 davranıştan 3’ünü de normalize ettiği, Pico145’in AAT’de değerlendirilen 6 davranıştan 4’ünü ve BpDil’nin 1’ini normalize ettiği, 9-Phe’nin ise AAT’de değerlendirilen hiçbir davranışı normalize etmediği belirlenmiştir. Buna karşın Pico145’in, YALT’da değerlendirilen 6 davranıştan 5’ini normalize ettiği, 9-Phe’nin 4 davranışı ve BpiDI’nin ise 3 davranışı normalize ettiği belirlenmiştir. Bulgularımıza göre, ZYT’de Sham grubunun hareketsizlik, tırmanma ve yüzme sürelerinin, YALT’de; açık kolda ve kapalı kolda geçirdiği sürenin, AAT’de ise toplam geçilen kare sayısının DMSO etkisi ile normalleştiği görülmektedir. ZYT’de, KHS + Pico145, KHS + BpiDI ve KHS + 9-Phe gruplarında, Sham grubuna göre daha belirgin olarak gözlenen tırmanma süresindeki artışın ve hareketsizlik sürelerindeki azalmanın, antidepresan benzeri etkinin DMSO kaynaklı olmadığını, ilaçların kendi terapötik etkinliğinin olduğunu göstermektedir. AAT’de, KHS + Pico145 grubunda hareketsizlik süresinin azalmış, merkezde geçirilen sürenin, toplam geçilen kare sayısının ve şahlanma sayısının artmış olması yine bu antidepresan benzeri etkinin DMSO kaynaklı olmadığına işaret etmektedir. Benzer şekilde YALT’de KHS + Pico145, KHS + BpiDI ve KHS + 9-Phe gruplarının açık kolda geçirdiği sürenin artması ve kapalı kolda geçirdiği sürenin KHS’ye göre azalması, KHS + Pico145 ve KHS + 9-Phe gruplarının hareketsizlik süresinin azalması ve KHS + Pico145 grubunun şahlanma sayısının artması yine antidepresan benzeri etkinin DMSO kaynaklı olmadığını inhibitörlerin terapötik etkinliğinin olduğunu göstermektedir. Ayrıca YALT’de DMSO kullanılmayan grup olan KHS + BpiDI’nin hareketsiz kalma süresini inhibitörün etkisi ile normalleştirdiği

görülmüştür. Çalışmamızın sonuçları doğrultusunda yapılacak daha ileri çalışmalarla, bu kanalların MDB tedavisinde yeni terapötik hedefler olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda iyon kanal inhibitörlerinin etkinliğini ikinci olarak nörotransmitter seviyelerini ölçerek değerlendirdik. Majör depresif bozuklukta nörotransmitter değerlerinde değişimlerin olduğu bilinmektedir. Nörotransmitterlerin seviyelerindeki düzensizliklerin hücrede protein kinaz, cAMP (Cyclic adenosine monophosphate), CREB (cAMP responsive element binding protein) ve BDNF (Brain-derived neurotrophic factor) gibi moleküllerin mRNA ifadelerinin değişmesine neden olarak depresyona yol açtığı düşünülmektedir (335). Yapılan hayvan deneylerinde kronik stresin, CAMKII, IV (Ca^{+2} /calmodulin-dependent protein kinase II,IV), CREB ve N-Metil-D-Aspartat reseptörleri (NMDAR) gibi BDNF sentezinde yer alan çeşitli Ca^{+2} sinyalizasyonu ile ilgili bileşenlerin değişimlerine aracılık ettiği bildirilmiştir (336). Yapılan çalışmalarda tedavi amaçlı kullanılan iyon kanal inhibitörlerinin, depresyonda değiştiği bilinen serotonin, glutamat ve katekolaminler (adrenalin, noradrenalin, dopamin) gibi bazı nörotransmitterlerin miktarını etkilediği belirlenmiştir (337,338). Lambe ve ekibinin çalışmasında 4-aminopyridine (4-AP) veya α -dendrotoxin (DTX) ile K^{+} kanallarının inhibe edilmesinin rat frontal korteksinde serotonin aracılı glutamat salınımına neden olduğu görülmüştür (337). Klinik ve prelinik çalışmalarda NMDAR inhibitörü ketaminin, glutamat sinyallerini düzenleyerek hipokampal CREB ve BDNF seviyelerinde artışa neden olarak hızlı bir antidepresan etki yarattığı saptanmıştır (336). Momboisse ve ekibinin yaptığı bir çalışmada nöroendokrin dokularda bulunan ve sitosolik Ca^{+2} miktarının

düzenlenmesinde önemli rolü olan Panks-1 iyon kanalının bloke edilmesinin katekolaminlerin salınımını etkilediği belirlenmiştir (339). Yoshimura ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada etkisini voltaj-bağımlı Na⁺ kanallarını ve voltaj-bağımlı Ca⁺² kanallarını inhibe ederek gösteren bir antidepresan olan karbamazepinin terapötik konsantrasyonlarının adrenal medullada katekolamin salınımını inhibe ettiği belirlenmiştir (340). Benzer şekilde Yanagita ve ark'nın yaptığı çalışmada, bipolar bozukluk tedavisinde kullanılan Lityum'un voltaj bağımlı Na⁺ kanal fonksiyonunu inhibe ettiği ve katekolamin salınımını azalttığı saptanmıştır (341). Fan ve ekibi tarafından yapılan çalışmada ATP bağımlı K⁺ kanal açıcısı iptakalimin, KHS grubunda FST'deki hareketsizlik süresini azalttığı ve hipokampus serotonin seviyelerini arttırdığı bulunmuştur (342). Yukarıda özetlenen çalışmalarda, kalsiyum, potasyum ve sodyum kanallarının tümünü inhibe eden daha genel inhibitörlerin çeşitli psikiyatrik hastalıklarda tedavi edici etkilerinin olduğu gözlenmesine rağmen (228, 289, 339, 340), KHS depresyon modelinde spesifik iyon kanal inhibitörlerinin katekolamin ve nörotransmitter düzeyleri üzerine etkileri bilinmemektedir.

Bu nedenle çalışmamızda depresyon patofizyolojisinde rolü olduğu bilinen serotonin, asetilkolin, dopamin ve noradrenalinin KHS sıçan depresyon modelinde beyindeki seviyelerini ve terapötik amaçlı kullanılan spesifik iyon kanal inhibitörlerinin bu seviyelere etkisini değerlendirdik.

Serotonerjik nöronlar depresyon etiolojisinde rolü olduğu bilinen nöronlardır. Rapheden frontal kortekse olan serotonerjik projeksiyonların, duygudurumun düzenlenmesinde; hipotalamik projeksiyonların yeme davranışında; bazal gangliya olan projeksiyonların agitasyon, obsesyon ve

kompulsiyonda; limbik bölgeye olan projeksiyonların anksiyete ve panikte rolü olduğu bilinmektedir. Bu nedenle beyinde serotonin eksikliğinin depresyona zemin hazırladığı belirtilmektedir. Ayrıca yeni nesil SSRI antidepresanların tedavi edici etkisi bu veriyi desteklemektedir (11). Ancak çalışmamızda grupların serotonin seviyelerinde anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Bulgularımızla benzer şekilde Ai ve arkadaşlarının çalışmasında, KHS modelinde total beyin dokusunda 5-HT seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir (343). Grønli ve ekibinin yaptığı çalışmada KHS ile oluşturulan depresyon modelinde beynin hipokampus bölgesinin 5-HT seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığı belirtilmiştir (344). Bekris ve ekibin çalışmasında da aynı şekilde KHS'nin sıçanların prefrontal korteks bölgesinde 5-HT seviyelerini anlamlı olarak değiştirmedeği görülmüştür (345). Dang ve ekibinin çalışmasında da benzer şekilde hipokampus bölgesinin 5-HT seviyelerinde anlamlı fark görülmemiştir (310). Li ve ekibinin yaptığı çalışmada KHS modelinde beynin striatum bölgesinde 5-HT'nin seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığı, hipokampus ve prefrontal korteks bölgelerinde ise 5-HT'nin anlamlı olarak azaldığı tespit edilmiştir (346). Gamaro ve ekibinin yaptığı KHS çalışmasında beynin amigdala hipotalamus, hipokampus ve frontal korteks bölgelerinin 5-HT seviyelerinde anlamlı bir değişim saptanmamıştır (347). Li ve ekibi tarafından yapılan çalışmada KHS modelinde beynin korteks ve hipokampus bölgelerinin 5-HT seviyelerinde anlamlı azalma görülürken striatum bölgesinde anlamlı fark saptanmamıştır (348). Chandrasekhar ve ekibinin yaptığı çalışmada KHS'ye maruz kalan 5-HT seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (309). Antidepresan uygulamaları hipokampus ve prefrontal kortekste 5-HT seviyelerini anlamlı olarak yükseltmiştir (346). Willner ve

ekibinin çalışmasında da stresin limbik ön beyinde 5-HT seviyelerini arttırabileceği bildirilmektedir (349).

Beyindeki noradrenerjik yollardan; Locus coeruleus projeksiyonlarından frontal kortekse giden uyarılar, noradrenalinin duygudurum üzerindeki etkilerinden sorumludur. Prefrontal kortekse giden uyarılar ise dikkat, dürtü ve motivasyondan sorumludur. Hipokampusa giden uyarılar da öğrenme belleği ve depresyonda önem taşımaktadır. Depresyonda görülen semptomlardan ilgi azalması, konsantrasyon eksikliği, unutkanlık, deprese duygudurum, psikomotor retardasyon, yorgunluk ve halsizlik gibi semptomların norepinefrin eksikliğinden kaynaklandığı belirtilmektedir (11). KHS depresyon modelinde gerçekleştirdiğimiz çalışmamızda, sıçanların total beyinlerinin noradrenalin seviyelerinde gruplar arasında anlamlı bir fark tespit edilmemiştir. Çalışmamızla benzer şekilde Azpiroz ve ekibinin yaptığı çalışmada KHS uygulanan ve uygulanmayan grupların hipokampuslarının NA değerlerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (350). Yalcin ve ekibinin çalışmasında hipokampus dokusunda NA seviyelerinin stres grubunda anlamlı değişmediği ancak antidepresan uygulamalarının seviyesini arttırdığı belirtilmiştir (351). Li ve ekibinin yaptığı çalışmada KHS modelinde, kontrol grubuna göre stres grubunda beyin, striatum, hipokampus ve prefrontal korteks bölgelerinin NA seviyelerinde anlamlı bir fark olmadığı tespit edilmiştir (346). Naveen ve ekibinin yaptığı çalışmada da benzer şekilde kontrol grubuna göre KHS uygulanan grupta beyin dokularında NA düzeylerinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (352). Bhutani ve arkadaşlarının çalışmasında stres grubunun NA seviyelerinde anlamlı bir değişim görülmediği belirtilmiştir (353). Chandrasekhar ve ekibinin yaptığı çalışmada KHS'ye maruz

kalan hayvanların hipokampus dokularında NA seviyelerinin azaldığı bildirilmiştir (309). Ai ve arkadaşlarının çalışmasında, KHS modelinde total beyin dokusunda NA seviyelerinin azaldığı belirtilmiştir (343).

Dopaminerjik sistem depresyon etiyolojisinde rol oynayan önemli sistemlerden biridir. Depresyonda özellikle mezolimbik dopamin sistem fonksiyonunda bozulma olduğu bilinmektedir (345). Ventral striatum, hipokampus ve amigdala arasındaki mezolimbik dopaminerjik yolak haz duyuları, ödül ve istek ile ilişkilidir (30). Dopamin düzeylerinin azalmasının, lokomotor aktivite, davranışlar ve bazı endokrin fonksiyonları etkileyerek MDB'ye neden olduğu bilinmektedir (26). Dopaminerjik sistem fonksiyon bozukluklarının depresyonda önemli rolü olan sinaptik plastisiteyi etkilediği bilinmektedir. Depresyonda rol oynayan CREB molekülünün fosforilasyonu, DA'nın cAMP/PKA yolağını aktive etmesiyle gerçekleşmektedir. Ayrıca DA'nın membran iyon akımlarını modüle ettiği bilinmektedir (355). Ancak mevcut çalışmamızda, kontrol grubu ile karşılaştırıldığına, KHS grubu dahil tüm grupların total beyinlerinde dopamin seviyelerinin anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir. Literatüre bakıldığında; Stamford ve ekibinin çalışmasında, bulgularımıza benzer şekilde KHS ile DA salınımının arttığı bulunmuş ve mezolimbik bölgenin stres ile aşırı aktive olabildiği, dolayısıyla KHS'nin dopamin seviyelerinin artmasına neden olabileceği belirtilmiştir (356). Bekris ve ekibin çalışmasında da aynı şekilde KHS'nin sıçanların prefrontal korteks bölgesinde DA seviyelerini yükselttiği görülmüştür (345). Willner ve ekibinin çalışmasında da yine stresin limbik ön beyinde DA seviyelerini arttırdığı bildirilmektedir (282). Gamaro ve ekibinin yaptığı KHS çalışmasında beyin amigdala hipotalamus, hipokampus ve

frontal korteks bölgelerinin DA seviyelerinde anlamlı bir değişim saptanmamıştır (347). Bhutani ve arkadaşlarının çalışmasında stres grubunun DA seviyelerinde anlamlı bir azalma olduğu belirtilmiştir (353).

Çalışmamızda inhibitör verdiğimiz gruplar KHS grubu ile karşılaştırıldığında KHS + Pico145, KHS + BpiDI ve KHS + 9-Phe tedavi gruplarının DA seviyelerinin anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. Literatür taramalarımızda inhibitörlerle yapılan çalışmalara baktığımızda; nikotinik asetilkolin reseptör inhibitörü olan kokain ve amfetaminin çalışmamızda kullandığımız nikotinik asetil kolin reseptör kanalı CHRNA6'nın inhibitörü BpiDI'nin etkisiyle benzer şekilde DA salınımını artırdığı görülmüştür (357, 358). Mari ve ekibinin çalışmasında, yine mevcut çalışmamızda incelediğimiz Ca^{+2} 'a geçirgen kanallar olan TRPC1 ve TRPM4 kanallarının inhibitörleri Pico145 ve 9-Phe'ye benzer şekilde Ca^{+2} kanal blokeri verapamilin, DA salınımını stimüle ettiği belirtilmektedir (359). Reiriz ve ekibinin çalışmasında da Ca^{+2} kanal blokerlerinin (flunarizine, cinnarizine, verapamil, nifedipine and nicardipine) DA seviyeleri üzerine etkisine bakılmıştır. Çalışmada flunarizine ve nicardipine'nin akut uygulamasının ekstraselüler DA seviyesini arttırdığı, 18 günlük kronik uygulamadan sonra ise nikardipin, nifedipin, verapamilin yine DA seviyesini arttırdığı ancak flunarizin'in, dopamin veya metabolitlerin hücre dışı ve striatal seviyelerini azalttığı belirtilmiştir (360). Kalsiyuma geçirgen olan AMPA ve NMDA reseptörlerinin de dopamin salınımında rolleri olduğu gösterilmiştir. Çalışmalarda, AMPA reseptörlerinin eksojen ligandlar tarafından aktivasyonunun, DA salınımında azalmaya yol açtığı, artışın ise sadece NMDA reseptörü ligandlarının yüksek konsantrasyonlarda uygulanmasıyla ortaya çıktığı

belirlenmiştir. NMDA veya AMPA antagonistlerinin uygulanmasına duyarlı bir şekilde DA salınımının artması, her iki reseptör tipinin de bu yanıtı dahil olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, prefrontal korteksin elektriksel uyarılmasının ve kainat veya NMDA'nın lokal uygulanmasının da DA salımını arttırdığı belirtilmektedir. (361). Potasyum kanal inhibitörlerinin de DA üzerine etkisinin incelendiği çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Dawson ve ekibinin çalışmasında Seçici olmayan K^+ kanal inhibitörü TEA'nın ekstraselüler DA konsantrasyonunu artırdığı belirtilmiştir (362). Cass ve arkadaşları yine geniş spektrumlu K_v kanal blokerleri 4-AP ve TEA'nın elektrikle uyarılmış [3H] DA salınımını arttırdığını göstermiştir (363). Potasyum kanallarından Kv1.2, Kv1.3 ve Kv1.6'yı bloke ettiği bilinen α -DTX ve MgTX'in DA salınımını arttırdığı bildirilmiştir (364).

Kolinerjik sistem, santral ve periferik sinir sistemi hücreleri arasında uyarıların taşınmasında rol oynamaktadır. (365). Asetilkolin normalde dış uyaranlara karşı kortikal duyarlılığı arttırmakta ve odaklanmış dikkati artırarak kortiko-kortikal iletişimi azaltmaktadır. Ancak, ACh sinyalindeki aşırı artış kaygı ve depresyon ile ilgili semptomlara yol açabilmektedir. Strese bağlı ACh salınımı, çevresel uyaranlara uyarlanabilir tepkilere yol açarken, kolinerjik sinyallerdeki kronik yükselmeler, uyumsuz davranışlar üretebilmektedir. Stresin prefrontal korteks ve hipokampusta ACh seviyesini arttırdığını dair bulgular bulunmaktadır (366). Ancak bizim çalışmamızda, KHS grubunun ACh seviyelerinde azalma olduğu görülmüştür. Dayte ve arkadaşları akut stresin hipokampustaki ACh salınımını arttırabileceğini ancak kronik stres için bu durumun kesin olmadığını, kademeli bir kolinerjik fonksiyon azalmasının olabileceğini belirtmişleridir (367).

Tagliari ve ekibinin yaptığı çalışmada KHS'nin asetilkolinesteraz seviyelerini arttırdığı dolayısıyla ACh seviyelerinin azalabileceği belirtilmektedir (368). Srikumar ve ekibinin yaptığı çalışmada da stresin ACh seviyelerini prefrontal korteks ve hipokampusta azalttığı bildirilmiştir (369). Bhakta ve ekibinin çalışmasında da yine stresin ACh seviyelerini azalttığı belirtilmiştir (370). Çalışmamızda KHS + Pico145 grubunun ACh seviyesinin azaldığı tespit edilmiştir. Literatüre bakıldığında, ACh salınımının Ca^{+2} kanalları tarafından düzenlendiğini belirtmektedir (371). Hong ve ekibi, çalışmamızda incelediğimiz Ca^{+2} 'a geçirgen kanal olan TRPC1'in inhibitörü Pico145'in ACh üzerine etkisiyle uyumlu olarak P tipi Ca^{+2} kanal blokeri w-agatoxin IVA'nın motor sinir uçlarından ACh salınımını inhibe ettiğini bildirmişlerdir. (372). Benzer şekilde Tamura ve ekibinin çalışmasında P tipi Ca^{+2} kanal blokeri w-agatoxin IVA'nın ACh salınımını azalttığı, L tipi Ca^{+2} kanal blokeri isradipine'nin ACh salınımını arttırdığı bildirilmektedir (373). Ayrıca Lavretsky ve ekibinin çalışmasında 4-AP, amiridin gibi seçici olmayan K^{+} kanal inhibitörlerinin de ACh salınımını arttırdığı belirtilmiştir (374). Mallart ve ekibi fare motor sinir terminallerindeki kalsiyumla aktive edilen K^{+} kanallarının yüksek frekanslı stimülasyonla baskılanmasının, tetanik stimülasyon sırasında ACh salınımının kolaylaştırılmasına katkıda bulunabileceğini öne sürmüştür (375).

Çalışmamızda grupların nörotransmitter seviyelerine genel olarak bakıldığında davranış deneylerinde aldığımız sonuçlara benzer şekilde Sham grubunun, KHS'den farklı olduğu görülmektedir. KHS ile kıyaslandığında, Sham grubunun DA seviyesinin anlamlı olarak arttığı görülmektedir. Asetilkolin seviyelerinde ise KHS grubunda anlamlı bir azalma görülürken Sham grubunda

kontrole yakın bir değer belirlense de anlamlı bir değişim bulunmamaktadır. Bu sonucun yine DMSO'dan kaynaklandığı düşünölmektedir. Literatürde depresyonda DMSO'nun nörotransmitterler üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışma bulunmamaktadır. Geron ve ekibinin yaptığı çalışmada DMSO'nun motor sinir uçlarından nörotransmitter salınımını arttırdığı belirtilmiştir (376). Majdi ve ekibi çalışmasında da yine DMSO'nun katekolamin salınımını arttırdığını belirtmişlerdir (377). DMSO'nun bu etkisi membran geçirgenliğini değiştirmesinden kaynaklandığı düşünölmektedir. Smith ve ekibi mesanede DMSO'nun asetilkolin salınımını arttırdığını göstermişlerdir (378). Ayrıca DMSO'nun, ACh'ın hidrolizasyonunda görev alan asetilkolinesteraz enzimini inhibe ederek ACh seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (379). Yukarıda örnek verilen çalışmalarla birlikte sonuçlarımızı değerlendirdiğimizde DMSO'nun KHS depresyon modelinde asetilkolin ve dopamin seviyelerini arttırdığını söyleyebiliriz. Dopamin seviyelerinin Sham grubuna göre KHS + Pico145 ve KHS + BpiDI gruplarında artmış olması davranış deneylerine benzer şekilde, etkinin DMSO kaynaklı olmadığını, inhibitörlerin kendi terapötik etkinliklerinin bulunduğunu göstermektedir.

Mevcut çalışmamızda bir diğer değerlendirmemiz iyon kanalları ve miRNA ilişkileri üzerine yapılmıştır. Sıçan KHS modelinde beyin dokularında artışı tespit edilen iyon kanal mRNA'larını hedefleyen miRNA'ların düzeylerinin ölçölmesi, depresyonda iyon kanal-miRNA ilişkilerinin nasıl düzenlendiğinin ve hastalığın etyopatogenezinde rol oynayan farklı mekanizmaların ortaya konmasını sağlama potansiyeline sahiptir. Şu ana kadar iyon kanalları ve mikroRNA'lar arasındaki ilişkilerin araştırıldığı çalışmalar genellikle mikroRNA'ların iyon kanal

genlerinin ifadesini düzenleme mekanizmalarının ortaya koyulması amacına yönelik olarak kurgulanmıştır. Yang ve arkadaşlarının ratlarda yaptığı kardiyak aritmi çalışmasında miR-1'in aşırı ifadesinin KCNJ2'yi baskıladığı belirtilmiştir (380). Luo ve ekibinin yapmış olduğu çalışmada atrial fibrilasyon hastalarında miR-1 downregulasyonunun CACNB2 ifadesini arttırdığı belirlenmiştir. Luo ve arkadaşlarının başka bir çalışmasında ise kardiyak hipertrofi hastalarında miR-1 ve miR-133'ün HCN2 kanal ifadesini düzenlediği bildirilmiştir (381). Parthasarathy ve arkadaşlarının akut akciğer hasarı olan hastalarda yaptığı bir çalışmada miR-16'nın aşırı ekspresyonunun epitelyal sodyum kanalı (ENaC) ifadesinde azalmaya neden olduğu belirtilmiştir (382). Favereaux ve ekibinin nöropatik kronik ağrı modeli oluşturduğu ratlarda ise miR-103'ün CACNA1C'nin ekspresyonunu düzenlediği görülmüştür (383). Belirtilen çalışmalar gibi birçok çalışmada miRNA'ların iyon kanalları üzerindeki etkilerine odaklanmıştır. Ancak iyon kanallarının miRNA'lar üzerinde nasıl bir etki oluşturduğuna dair fazla çalışma bulunmamaktadır. MikroRNA'lar çeşitli iyon kanal genlerini ve iyon kanalları ile ilişkili genleri hedef aldıkları gibi iyon kanallarının da miRNA'ların düzenlenmesinde etkisi olduğu bilinmektedir (384). Hücrelerin doğal ortamlarında içinde bulundukları mikro çevredeki değişimler miRNA'ların değişimlerine neden olmaktadır. İyon akışındaki düzensizliklerin mikro çevre değişimine katkıda bulunduğu bilinmektedir. Bazı çalışmalarda iyon kanallarının ifadesinde veya fonksiyonunda gerçekleşen değişimlerin miRNA ifadelerini etkilediği bildirilmiştir (254). Ru ve ekibinin çalışmasında K⁺ kanal blokleri olan 4-AP'nin glioma hücrelerinde miR-10b-5p'nin ifadesinin azalmasına neden olduğu tespit edilmiştir (385). Yine aynı ekibin başka çalışmasında K⁺ kanal inhibisyonunun

miR-149-3p ve miR-424-5p ifadesini düzenlediği bildirilmiştir (386). Çeşitli patolojik kalp rahatsızlığı çalışmalarında iyon dinamiğindeki düzensizliklerin miR-195'te artışa neden olduğu, miR-1 ve miR-133'de ise azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (254). Ancak MDB'de iyon kanal inhibitörlerinin miRNA'lar üzerine etkisi bilinmemektedir. Bu konuda yapılan tek çalışma ekibimiz tarafından gerçekleştirilmiş olup mevcut çalışmamızın temelini oluşturmuştur. Yayınladığımız çalışmamızın bulgularına göre KHS fare depresyon modelinde miR-9-5p, miR-128-1-5p ve miR-382-5p'de anlamlı artış olduğu, miR-16-5p, miR-129-5p ve miR-219a-5p'de ise anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir. Ayrıca TREK1 iyon kanal inhibitörü anandamide'in ve TRPC3/6 inhibitörü norgestimate'in miR-16-5p, miR-30c-5p, miR-34a-5p, miR-128-1-5p, miR-132-3p, miR-139-5p, miR-219a-5p ve miR-497-5p miRNA seviyelerini arttırdığı tespit edilmiştir (302).

Mevcut çalışmamızda KHS depresyon modelinde, TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4 iyon kanallarını hedefleyen inhibitörlerin (Pico145, BpiDI, 9-Phe), yine bu kanalları hedefleyen miRNA'ların beynin prefrontal korteks ve hipokampus bölgelerindeki ifadeleri üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Değerlendirmelerde davranış testleri ve nörotransmitter seviyelerinde olduğu gibi KHS grubuyla benzer sonuçlar elde edilmesi beklenen Sham grubunun sonuçlarında DMSO uygulamasından kaynaklanan farklılıkların olduğu görülmüştür. Literatürde DMSO'nun gen ifadesini etkilediğine dair az da olsa çalışmalar mevcuttur. Nishimura ve ekibi % 0,5 ve daha yüksek konsantrasyonlardaki DMSO'nun, C2C12 miyoblast hücre hattında, ACTB, GAPDH gibi çeşitli housekeeping genlerin mRNA seviyelerini etkilediğini bildirmişlerdir (387). Ayrıca bazı ilaç

metabolizması sürecine dahil olan çeşitli enzim genlerinin ifadelerinin de değiştiği saptanmıştır (388-390). Sumida ve ekibinin çalışmasında, DMSO'nun insan hepatosit hücre hattında 728 prob setinden 161, rat hepatosit hücre hattında ise 409 prob setinden 57 ilaç metabolizması ilişkili enzim geninin ifadesini değiştirdiği belirlenmiştir (391). Literatürde DMSO'nun miRNA'lar üzerine etkisinin incelendiği tek çalışma görülebilmektedir. Verheijen ve arkadaşları tarafından 2019 yılında yapılan bu çalışmada, proteom, transkriptom ve DNA metilasyon profilleri analiz edilerek DMSO'nun hücre fizyolojisini nasıl etkilediği ile ilgili yeni bulgular ortaya konulmuştur. Araştırmacıların 3D mikro dokular (olgun kardiyak ve hepatik model) ile yaptıkları çalışmada örnekler in vitro % 0.1 DMSO'ya maruz bırakılarak yaklaşık 1100 miRNA'nın ifadesi değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda özellikle olgun kardiyak doku modelinde DMSO'nun miRNA ifadelerinde (704 miRNA) büyük değişimlere sebep olduğu saptanmıştır. Bu miRNA'lardan % 59,5'inin downregüle olduğu % 47,3'ünün de upregüle olduğu bildirilmektedir. Hepatik modelde ise çalışılan miRNA'ların % 18'inde (186 miRNA) anlamlı değişim belirlenmiştir. Ayrıca yapılan analizlerde miRNA biyogenezinde rolü olduğu bilinen Dicer1'in DMSO uygulaması yapılan kardiyak modelde downregüle olduğu hepatik modelde ise upregüle olduğu tespit edilmiştir. Aynı zamanda yine miRNA biyogenezinde rol alan Ago-2'nin DMSO uygulaması ile kardiyak modelde downregüle olduğu gösterilmiştir. DMSO uygulamasının, metilasyonda değişimlere neden olduğu ve bu durumun genomu dengesizleştirerek fenotipik ve patolojik sonuçların ortaya çıkmasına yol açabileceği belirtilmektedir (392).

Çalışmamızda hipokampus dokusunda ifadesini incelediğimiz miRNA'lerden;

TRPC1 iyon kanalını hedeflediği bilinen ve nörogenezde rolü olduğu düşünülen miR-135a-5p'nin çalışmamızda KHS grubunda anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. miR-135a-5p'nin TRPC1'e ilaveten KCNAB3, KCNJ6, KCNS3, KCNQ5, HCN2, CACNA1E, TRPM7 gibi iyon kanallarını hedeflediği bilinmektedir (393, 256, 257). Bu kanallardan çalışmamızda KHS grubunda HCN2'nin prefrontal kortekste ifadesinin arttığı, TRPM7'nin hipokampusta azaldığı saptanmıştır. Ayrıca, miR-135a-5p depresyon patofizyolojisinde rol oynadığı bilinen serotonin taşıyıcısı SERT'i (Serotonin transporter; solute carrier family 6, member 4; SLC6A4) hedeflediği belirtilmektedir (256, 257, 394). Çalışmamızda Sham grubunda ve TRPC1 inhibitörü Pico145'in uygulandığı KHS + Pico145 grubunda miR-135a-5p'nin ifadesinin azaldığı belirlenmiştir. İki grupta benzer olan bu azalmanın DMSO kaynaklı olduğu düşünülmektedir. İncelediğimiz diğer miRNA'lerden, TRPC1 iyon kanalını hedeflediği bilinen miR-135b-5p'nin travma sonrası stres bozukluklarında rol oynadığı (395) ayrıca depresyonda rolü olduğu bilinen serotonin taşıyıcısı SERT'i, depresyonla ilişkili sinyal yollarının düzenlenmesinde rol oynayan CREB5'i ve şizofreni, depresyon gibi nöropsikiyatrik hastalıklarla ilişkili DISC1 genini düzenlediği bilinmektedir (394, 396, 397, 398). Aynı zamanda KCNAB3, KCNJ6, KCNS3, KCNMB1, CACNA1D gibi başka iyon kanallarını da hedeflediği belirtilmektedir (256, 257). Çalışmamızda miR-135b-5p'nin KHS ve KHS + Pico145 grubunda anlamlı olarak arttığı, Sham grubunda ise DMSO'nun etkisi ile seviyenin normalleştiği görülmektedir. Çalışmamızda ifadesini incelediğimiz, yine TRPC1

iyon kanalını hedeflediği bilinen miR-875'in alzheimer hastalığında ve travma sonrası stres bozukluğunda seviyesinin değiştiği, ayrıca düzensizliğinin depresyon etiyojisinde rol oynadığı bilinen sirkadyen ritmin düzenlenmesinde görevli CLOCK geninin mRNA'sını hedeflediği bilinmektedir (256, 257, 399, 400, 401). Mevcut çalışmamızda bu miRNA'nın seviyelerinin Sham grubunda arttığı ve KHS + Pico145 grubunda normalleştiği görülmektedir. Sham grubundaki artışın DMSO kaynaklı olduğu ancak Pico145'in bu artışı normalleştirdiği düşünülmektedir. Çalışmamızda TRPC1'i hedefleyen miR-186'nın tüm gruplardaki ifadesinde anlamlı bir değişim görülmemiştir.

CHRNA6 iyon kanalını hedeflediği bilinen miR-6334'ün CHRNA6 iyon kanalına ilaveten KCNJ5 K⁺ kanalını ve sirkadyen ritmin düzenlenmesinde rol oynayan CLOCK geninin ve polimorfizmlerinin depresyon patofizyolojisi ile ilişkili olduğu bildirilen serotonin reseptörü HTR2C'nin mRNA'sını hedeflediği bilinmektedir (256, 257, 399, 402). Çalışmamızda miR-6334'ün KHS grubunda oldukça yüksek bir kat artışı gösterdiği belirlenmiştir. Sham ve KHS + BpiDI gruplarında da artış gözlenmiştir ancak özellikle KHS + BpiDI grubundaki artış diğer gruplara nazaran oldukça azdır. Yöntemlerde bahsedildiği üzere Sham grubuna DMSO uygulanmış ancak BpiDI inhibitörü SF'te çözülmüştür. Dolayısıyla miR-6334'ün Sham grubundaki artışının DMSO'dan, KHS + BpiDI grubunda ise CHRNA6 inhibitörü BpiDI'nin etkisinden kaynaklandığı düşünülmektedir. CHRNA6 iyon kanalını hedeflediği bilinen miR-702-3p'nin depresyonda rolü olan çeşitli sinyal yolları ile ilişkili olan genleri hedeflediği ve seviyesindeki artışın bu genlerin downregülasyonuna neden olarak sinaptik plastisite ve apoptoz gibi mekanizmaları etkilediği bilinmektedir (403). Ayrıca

yine depresyonla ilişkili olduğu bilinen serotonin reseptörü HTR6 (hydroxytryptamine receptor 6), dopamin reseptörü DRD2 (Dopamine receptor D2) mRNA'larını ve KCNJ4, KCNJ11 gibi iyon kanallarını da hedeflemektedir (256, 257, 404, 405). CHRNA6 iyon kanalını hedeflediği bilinen diğer bir miRNA miR-484'ün yaşlılık depresyonunda ve bipolar hastalıkta downregüle olduğu belirtilmektedir (206, 207). Ayrıca depresyonla ilişkili olduğu bilinen CLOCK, HTR2C mRNA'larını ve KCNJ5, KCNS1 gibi iyon kanallarını hedeflediği bilinmektedir (256, 257, 399, 402). İfade analizlerimizde bu hedeflerden KCNS1'in hipokampusta arttığı belirlenmiştir. Çalışmamızda, miR-702-3p ve miR-484'ün Sham grubunda ve CHRNA6 inhibitörü BpiDI'nin uygulandığı KHS + BpiDI grubunda ifadesinin azaldığı gözlenmiştir. Çalışmamızda miR-702-3p ve miR-484'ün KHS + BpiDI grubundaki azalma seviyelerinin Sham grubuna göre daha belirgin olduğu görülmektedir. Bu durum Sham grubunda görülen azalmanın DMSO kaynaklı olduğunu, KHS + BpiDI grubundaki azalmanın ise DMSO kullanılmadığı için inhibitör etkisiyle gerçekleştiğini göstermektedir. CHRNA6 iyon kanalını hedeflediği bilinen, alzheimer hastalığında downregüle olduğu belirtilen ve nöronal hücre döngüsü ile ilişkili olduğu düşünülen miR-501-3p'nin KCND3, CACNA1E ve KCNC3 gibi başka iyon kanal mRNA'larını da hedeflediği bilinmektedir (256, 257, 408, 409). miR-344a-3p'nin ise depresyonla ilişkili genlerden sirkadyen ritim geni CLOCK'un, serotonin reseptörü HTR2C'nin, MDB'de rolü olan GABA taşıyıcısı SLC6A1'in (solute carrier family 6, member 1), öğrenilmiş çaresizlikle ve MDB ile ilişkili olduğu belirtilen IL-3'ün (İnterlökin-3) ve MDD'de antidepresan cevabın verilmesinde rolü olan glutamat reseptörü GRIK4'ün mRNA'larını ve TRPV1, TRPV2, KCNA5,

KCNE2, KCNH8, KCNK2, KCNK13, KCNJ1, KCNJ5, CACNB1 gibi iyon kanal genlerini hedeflediği bilinmektedir (256, 257, 399, 402, 410-413). Bu hedeflerden bizim analizlerimizde sadece TRPV2'nin ifadesinin hipokampusta arttığı, prefrontal kortekste azaldığı belirlenmiştir. Çalışmamızda miR-501-3p'nin ve miR-344a-3p'nin kat değişimlerin sadece KHS + BpiDI grubunda azalması, BpiDI grubunda DMSO kullanılmadığı için bu gruplardaki azalmanın direkt inhibitör kaynaklı olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda, CHRNA6'ya ilaveten KCNA1 ve KCNC3 iyon kanallarını hedeflediği bilinen ve depresyonda seviyesinin değiştiği bildirilen miR-500-3p'nin ifadesinde KHS, Sham ve KHS + 9-Phe gruplarında herhangi bir anlamlı değişim gözlenmemiştir (256, 257, 414).

Çalışmada ifadesi incelenen, TRPM4 iyon kanalını hedefleyen ve MDB'de metabolik stresörlerle ilişkili hücresel süreçlerde rolü olduğu bildirilen miR-296-5p'nin aynı zamanda KCNJ1 iyon kanalını da hedeflediği belirtilmektedir (415). TRPM4 iyon kanalını hedefleyen miRNA'lardan miR-6320'nin, nöroplastik yolakta ve MDB ile ilişkili sinyal yollarında rolü olduğu bilinen CREB1/5'i, serotonin reseptörleri HTR2A/C'yi ve nörotransmitter taşıyıcıları SLC6A2/A4 mRNA'larını ayrıca KCNS3, KCNJ6 gibi iyon kanallarını hedeflediği bilinmektedir (256, 257, 394, 404). Çalışmamızda miR-296-5p ve miR-6320'nin ifadelerinin KHS grubunda artış gösterdiği, Sham ve TRPM4 inhibitörü uygulanan KHS + 9-Phe grubunda kat artışlarının normalleştiği görülmüştür. Bu normalleşmenin DMSO kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda TRPM4 kanalını hedefleyen miRNA'lardan miR-203a-5p'nin KHS, Sham ve KHS + 9-Phe gruplarında seviyesinin arttığı tespit edilmiştir. DMSO'nun ve inhibitörün KHS ile gerçekleşen bu artışa etkisinin olmadığı görülmüştür. Ayrıca yine

TRPM4 kanalını hedefleyen miR-3569, miR-361-3p, miR-433'ün ifadelerinde KHS, Sham ve KHS + 9-Phe gruplarında herhangi bir anlamlı değişim gözlenmemiştir.

Çalışmamızda aynı miRNA'ların ifadeleri prefrontal korteks dokusunda da incelenmiştir. Bu miRNA'lardan;

TRPC1 iyon kanalını hedeflediği bilinen miR-135a-5p ve miR-135b-5p'nin seviyelerinin KHS grubunda anlamlı olarak arttığı, Sham grubunda ise ifadeleri azalmış olmasına rağmen anlamlı bir değişim göstermediği belirlenmiştir. miR-135a-5p'nin, KHS + Pico145 grubunda seviyesinin normalleştiiği, miR-135b-5p'nin ise anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir. miR-135a-5p'nin KHS + Pico145 grubunda normalleşmesinin DMSO'nun etkisinden ve miR-135b-5p'nin KHS + Pico145 grubundaki artışın ise inhibitörden kaynakladığı düşünülmektedir. TRPC1'i hedefleyen diğer miRNA'lardan miR-875'in seviyesinin KHS grubunda anlamlı bir değişim belirlenmemiştir. Sham grubunda miR-875'in seviyesinin anlamlı olarak azaldığı, KHS + Pico145 grubunda ise anlamlı olarak belirgin şekilde arttığı görölmüştür. Sham grubundaki azalmanın DMSO kaynaklı olduğu, Pico145'in ise miR-875 seviyesini artış yönünde etkilediği belirlenmiştir. Çalışmamızda miR-186'nın tüm gruplardaki ifadesinde anlamlı bir değişim görölmemiştir.

CHRNA6 iyon kanalını hedeflediği bilinen miR-344a-5p, miR-702-3p, miR-6334 ve miR-500-3p seviyelerinin KHS ile değişmediği ancak Sham ve KHS + BpiDI gruplarında anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. KHS + BpiDI gurubunda DMSO kullanılmadığı için gruplardaki bu azalmaların birbirinden bağımsız olarak gerçekleştiği görölmektedir. miR-501-3p ve miR-484'ün

seviyelerinin KHS, Sham ve KHS + BpiDI gruplarında anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Sham ve KHS + BpiDI gruplarındaki azalma KHS grubuna göre daha belirgindir. Bu durumda yine Sham grubunda DMSO'nun etkisiyle, KHS + BpiDI grubunda ise inhibitörün etkisiyle miR-501-3p ve miR-484'ün seviyelerinin azaldığı görülmektedir.

Mevcut çalışmamızda TRPM4'ü hedeflediği bilinen ayrıca GABA-A reseptörünü, serotonerjik genlerden HTR2A/2C, SLC6A4'ü ve sinaptik plastisite ile ilişkili CREB genini hedeflediği belirtilen ve depresyonla ilişkisi olduğu düşünülen miR-203a-3p'nin (416, 417), seviyelerinin KHS uygulamasında değişmediği ancak Sham grubunda DMSO etkisi ile anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. KHS + 9-Phe grubunda miR-203a-3p'nin seviyelerinin ise Sham grubuna kıyasla inhibitör etkisi ile normalleştiği gözlenmiştir. Çalışmamızda KHS'nin miR-296-5p seviyesini anlamlı olarak azalttığı ve bu azalmanın Sham grubundaki DMSO uygulaması ve KHS + 9-Phe grubundaki inhibitör uygulaması ile değişmediği görülmüştür. İyon taşınımı ile ilişkili yolların düzenlenmesinde görev alan ve MDB'de ve antidepresan tedavisi ile ifadesinin değiştiği bildirilen miR-361-3p'nin çalışmamızda KHS uygulaması ile seviyesinin azaldığı belirlenmiştir (418, 419). Bu miRNA'daki azalma, KHS grubunda daha belirgin, Sham ve KHS + 9-Phe gruplarında DMSO'nun etkisiyle benzer seviyelerdedir. miR-361-3p'nin ayrıca serotonerjik genlerden SLC6A6 mRNA'sını, CREB1/5'i ve KCNG2, KCNK7, KCNJ4, KCNJ6, CACNB4, TRPV3 gibi iyon kanallarını da hedeflediği bilinmektedir (targetscan). İfade analizlerimizde bu hedeflerden sadece KCNG2'nin hipokampusta azaldığı tespit edilmiştir. Çeşitli çalışmalarda depresyonlu hastalarda ve antidepresan tedavisinde seviyesinin değiştiği bildirilen

miR-433'ün mevcut çalışmamızda KHS grubunda değişmediği, Sham grubunda DMSO etkisiyle azaldığı ve KHS + 9-Phe grubunda inhibitör etkisi ile normalize olduğu görülmüştür (420, 421). miR-433'ün MDB ile ilişkili olan serotonin reseptörü 5-HT5A, SLC6A4, CREB1 mRNA'larını ve KCNK15, HCN1 gibi iyon kanallarını hedeflediği bilinmektedir (256, 257, 422). miR-6320'nin seviyesinin ise sadece KHS + 9-Phe grubunda inhibitörün etkisiyle anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir. Çalışmamızda miR-3569'un tüm gruplardaki ifadesinde anlamlı bir değişim görülmemiştir.

Sonuç olarak KHS'de beynin hipokampus bölgesinde ACCN2, ACCN3, KCNA5, KCNE4, KCNG4, KCNJ8, KCNS1, TRPC1, TRPC2, TRPM4, TRPM8, TRPV2 ve TRPV4 iyon kanallarının ifadelerinde anlamlı artış olduğu, CACNA1H, CHRNA9, CHRNA10, CHRN1, CHRN4, HCN1, KCNAB2, KCNG2, KCNH6, KCNK18, KCNS2, TRPM1, TRPM2, TRPM7 ve TRPV1 iyon kanallarının ifadelerinde ise anlamlı azalma olduğu tespit edilmiştir. KHS grubunun prefrontal korteks dokusunda ise CACNA1C, CHRNA1, CHRNA6, HCN1, HCN2, HCN3, HCN4, KCNA6, KCNA7, KCND1, KCNE3, KCNH16, KCNS2, TRPC1, TRPC3 ve TRPM1 iyon kanallarının ifadelerinde anlamlı bir artış olduğu, KCNA5, KCNG4, KCNK15, TRPV2 ve TRPV4 iyon kanallarının ifadesinde anlamlı azalma olduğu belirlenmiştir. Yukarıda adı geçen iyon kanallarından özellikle Ca^{+2} ve K^{+} kanalları başta olmak üzere nikotinik, asit duyarlı ve siklik nükleotid kapılı iyon kanallarının ifadelerinde hem hipokampusta hem de prefrontal kortekste önemli değişimlerin tespit edilmiş olması iyon kanallarının KHS etyopatogenezinde oldukça önemli roller oynadıklarını göstermektedir. Bunun yanı sıra etyopatogenezde önemli rol oynayan bir diğer

önemli süreç nörotransmitter salınımları ve bağlantılı sinyal iletimleridir. Mevcut çalışmada seviyesi incelenen nörotransmitterlerden, 5-HT ve NA düzeylerinin değişmediği ancak DA düzeylerinin KHS’de arttığı bununla beraber inhibitörlerin DA düzeylerini KHS’ye göre daha fazla artırdıkları gözlenmiştir. Özellikle bu bulgumuz hem Ca^{+2} geçirgen kanalların (TRPC1, TRPM4) hem de nikotinik asetilkolin reseptörlerinin (CHRNA6) inhibisyonunun DA düzeylerini benzer şekilde arttırmış olması açısından oldukça ilginçtir. Asetilkolin düzeylerinin KHS ve Pico145 (TRPC1 inhibitörü) grubunda azalmış olması buna karşın 9-Phe (TRPM4 inhibitörü) grubunda normalize olması farklı Ca^{+2} kanal inhibitörlerinin de ACh salınımı üzerine farklı etkiler gösterdiklerini düşündürmektedir. 9-Phe ve BpiDI’nin tedavi edici etkilerinde ACh normalizasyonunun rol oynadığı ifade edilebilse de aynı genellemenin Pico145 için yapılması mümkün değildir. Pico145’in terapötik etkinliğinde farklı nörotransmitterlerin rol oynaması muhtemeldir. Asetilkolin düzeylerindeki bu farklılığı açıklayacak şekilde tedavi amaçlı kullanılan her bir iyon kanal inhibitörünün de farklı davranış deneylerinde olumlu etkiler gösterdikleri belirlenmiştir. Çalışmamızda ZYT’de Pico145, 9-Phe ve BpiDI’nin bozulan 3 davranıştan 3’ünü de normalize ettiği gösterilmiştir. Pico145’in, sıçanların lokomotor aktivite ve anksiyete üzerindeki etkilerinin belirlenmesinde kullanılan AAT’de değerlendirilen 6 davranıştan 4’ünü ve BpDil’nin 1’ini normalize ettiği, 9-Phe’nin ise AAT’de değerlendirilen hiçbir davranışı normalize etmediği belirlenmiştir. Buna karşın Pico145, YALT’da değerlendirilen 6 davranıştan 5’ini normalize ettiği, 9-Phe’nin 4 davranışı ve BpiDI’nin ise 3 davranışı normalize ettiği belirlenmiştir. Bu üç antagonist davranış deneyleri açısından karşılaştırıldığında, ZYT’de benzer sonuçlar elde

edilmesine rağmen Pico145'in özellikle AAT ve YALT'da iyileştirici etkilerinin en yüksek düzeyde olduğu diğer iki inhibitörün ise daha düşük düzeyde etkilere sahip olduğu gösterilmiştir. Bu veri her bir iyon kanal inhibitörünün tedavi edici etkilerini farklı şekillerde gösterdiklerini doğrulamaktadır. Bu nedenle özellikle iyon kanal inhibitörlerin tedavi edici etkilerinin değerlendirileceği çalışmalarda mutlaka farklı davranış testlerinin kullanılması gerekmektedir. Bu bağlamda farklı geçirgenliğe sahip Ca^{+2} ve nAChR kanallarının da ACh salınımı üzerine etkilerinin değerlendirileceği çalışmalara gereksinim vardır. İyon kanal inhibitörlerinin tedavi etkinliklerinin değerlendirildiği çalışmalarda, terapötik etkilere aracılık eden nörotransmitterlerin ve ayrıca her bir iyon kanalının hücre içinde aktive ettiği yolların kapsamlı olarak çalışılması mekanizmanın daha iyi anlaşılabilmesini sağlayacaktır.

Genel olarak KHS etyopatogenezinde miRNA ifadelerindeki değişimleri değerlendirdiğimizde; KHS depresyon modelinde beynin hipokampus bölgesinde miR-135a-5p, miR-135b-5p, miR-6334, miR-203a-3p, miR-296-5p, miR-6320'nin ifadelerinin artış yönünde değiştiği görülmüştür. Prefrontal korteks dokusunda ise miR-135a-5p, miR-135b-5p'nin ifadesinde artış, miR-484, miR-501-3p, miR-296-5p, miR-361-3p'nin seviyesinde azalma olduğu belirlenmiştir. Sonuçlarımıza göre KHS modelinde değişimi gözlenen bu miRNA'ların depresyon patofizyolojisinde yer alabileceğini göstermektedir. Ancak miRNA'lardaki ifade değişimlerinin Sham ve inhibitör uygulanan gruplarında benzer şekilde azalmış ve artmış olması bu değişimlerin hem Sham hem de tedavi gruplarına ortak olarak uygulanmış olan DMSO'dan kaynaklandığını düşündürmektedir. Bu miRNA'ların beynin depresyonla ilişkili diğer bölgelerindeki ifadelerine de bakılması önerilmektedir.

Hastalık etyopatogenezinde yer alan miRNA'ların tespit edilerek ifade profillerinin belirlenmesi depresyonun altında yatan genetik faktörlerin bulunması ve yeni ilaç hedeflerinin geliştirilebilmesi için önem teşkil etmektedir.

Çalışmamızın bulguları doğrultusunda aşağıda maddeler halinde belirtilen bazı öneriler verilmiştir;

1. KHS modelinin, davranışsal ve fizyolojik açıdan insanlardaki MDB semptomları ile paralellik göstermesi ve kolay uygulanabilir olması nedeniyle yapılacak çalışmalarda tercih edilmesi önerilmektedir.
2. KHS'de tedavi edici etkilerin değerlendirilmesinde her zaman en az 3 davranış deneyinin uygulanması doğru sonuçların elde edilmesi açısından gereklilik arz etmektedir. Özellikle KHS uygulamalarında modelin doğru oluşturulabilmesi açısından öncelikle STT yapılmalı daha sonra KHS ve tedavi ajanların etkilerinin belirlenmesinde ZYT, AAT ve YALT gibi geçerliliği yüksek davranış testleri uygulanmalıdır.
3. İyon kanal inhibitörlerinin terapötik etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalarda, KHS'nin ve tedavi amacıyla uygulanan inhibitörlerin nörotransmisyon üzerine etkilerinin net bir şekilde açığa kavuşturulması için mutlaka nörotransmitter düzeylerinin ve ilişkili reseptörlerin geniş çaplı değerlendirilmesi gerekmektedir.
4. Çalışmamızda sadece iyon kanal inhibitörlerinin subakut olarak uygulanmasının sonuçları değerlendirilebilmiştir. Eğer mümkünse akut, subakut ve kronik uygulamaların etkilerinin karşılaştırılması çalışmaların güvenilirliğini arttıracaktır.

5. Tedavi edici ajanlar genellikle SF, PBS, DMSO, alkol vb. çözücülerde iyi çözünmektedir. Çalışmamızda çözücü olarak kullanmak zorunda kaldığımız DMSO'nun (1 ml/kg) özellikle davranış deneylerinden ZYT'de hareketsizlik, tırmanma ve yüzmeye sürelerini, AAT'de geçilen kare sayısını, YALT'da açık kolda ve kapalı kolda geçirilen süreleri normalize ettiği gösterilmiştir. Özellikle DMSO gibi çözücüler kullanıldığında mutlaka DMSO'nun verildiği bir Sham grubunun ve hatta mümkünse DMSO kontrol grubunun oluşturulmasının uygun olacağı düşünülmektedir.
6. DMSO'un çözücü olarak kullanıldığı çalışmalarda eğer gen ifadesi değerlendirilecekse, gen ifade değişimlerinin DMSO'dan mı yoksa KHS veya tedavi edici ajanların etkisinden mi kaynaklandığının belirlenmesi için mutlaka Sham + DMSO ve Kontrol + DMSO gruplarının da değerlendirilmesi gerekmektedir. Çünkü pek çok çalışmada ve mevcut çalışmamızda DMSO'nun gen ifadeleri üzerine anlamlı etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Özellikle DMSO'nun miRNA ifadelerini anlamlı bir şekilde değiştirdiği gözlenmiştir.
7. Çalışmamızda sadece 3 iyon kanal inhibitörü değerlendirilebilmiş ve bunlardan özellikle TRPC1/TRPC4 ve TRPC1/TRPC5 spesifik iyon kanal inhibitörü olan Pico145'in tedavi edici etkinliğinin en yüksek düzeyde olduğu gösterilmiştir. Mevcut çalışmada bu inhibitörün MDB tedavisinde umut vadeden bir ajan olarak değerlendirilmesine karşın bu ajanın insanlarda kullanılabilirliğinin değerlendirileceği daha geniş çaplı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. MDB tedavisinde kullanılabilecek

potansiyel bir ajan olan Pico145'in veya bu iyon kanallarına spesifik farklı inhibitörlerin tedavi edici etkinliklerinin değerlendirilmesine gereksinim vardır.

8. Kronik hafif stres modelinde değerlendirilen 115 iyon kanalının, hipokampus ve prefrontal kortekste farklı seviyelerde ifade olduğunun gösterilmesi ve ayrıca TRPC1, CHRNA6 ve TRPM4'ü hedef alan miRNA'ların hipokampusta ifadelerinin arttığının gösterilmesine rağmen prefrontal kortekste CHRNA6 ve TRPM4'ü hedefleyen miRNA'ların azaldığının belirlenmesi, farklı beyin bölgelerinin depresyonda farklı şekilde düzenlendiğinin en önemli göstergelerindendir. Bu veri özellikle MDB çalışmalarında, depresyonda etkili olduğu düşünülen amigdala, prefrontal korteks, striatum ve hipokampus gibi beyin bölgelerin ayrı ayrı değerlendirilmesi gerektiğini göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Çelik FH, Hocaoglu Ç. Major depresif bozukluk'tanımı etyolojisi ve epidemiyolojisi: bir gözden geçirme. J Contemp Med 2016; 6(1): 51-66.
2. Pazvantoğlu O, Okay T, Dilbaz N, Şengül C, Bayam G. Major depresyon tanısı alan hastalarda somatik belirtilerin yoğunluğunun intihar düşüncesi, davranışı ve niyetine etkisi. J Clin Psy 2004; 7: 153-60.
3. Şahin C, Arıcıoğlu F. Depresyon ve sitokin hipotezinde yeni bir boyut: NLRP3 inflamazomu. MUSBED 2013; 3(2): 65-68.
4. Hacımusalar Y, Eşel E. Majör Depresif Bozukluk İçin Önerilen Biyobelirleyiciler. Arch Neuropsychiatry 2018; 55: 280-90.
5. Black DW, Grant JE. DSM-5 Guidebook: The Essential Companion to the Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders. 5th edition. USA: APA, 2014.
6. Yetgin S, Özgen F. Tarihsel bakış içinde depresyon. Türkiye Klinikleri J Int Med Sci 2007; 3(47): 1-5.
7. Yalvaç HD. Depresyonun Epidemiyolojisi. Türkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics 2012; 5(2): 7-13.
8. Gölceğiz GI, Karlıdağ R. Düünden Bugüne Depresyon. Türkiye Klinikleri J Psychiatry-Special Topics 2012; 5(2): 1-6.
9. Jackson SW. Melancholia and depression: From hippocratic times to modern times. Yale Univ Press, 1986; 94(4): 1063.
10. Jackson SW. A history of melancholia and depression. Depression and Stress 1995; 1(1): 3-42.
11. Albayrak EÖ, Ceylan ME. Depresyon etiyolojisinde nörobiyolojik etkenler. Düşünen Adam: J Psychiatr Neurol Sci 2004; 17(1): 27-33.
12. Oral T. Karasevda'dan Depresyon'a Hüznün Tarihi. Başka Psikiyatri ve Düşünce Derg 2009: 9-10
13. Tural Ü, Önder E. Geri dönüşümlü monoamin oksidaz-A inhibitörleri (RIMA) farmakolojisi. J Clin Psy 2001; 4(Supp: 3): 5-11.
14. World Health Organization. Depression: a global public health concern, 2012:6-8

15. Erkoç Y, Çom S, Torunoğlu MA. et al. TC Sağlık Bakanlığı Ulusal Ruh Sağlığı Eylem Planı (2011-2023). Ankara; TC Sağlık Bakanlığı Yayınları, 2011; 847: 33-4.
16. Erol N, Kılıç C, Ulusoy M, Keçeci M, Şimşek Z. Türkiye ruh sağlığı profili raporu. Birinci baskı, Ankara: 1998.
17. Flint J, Kendler KS. The genetics of major depression. *Neuron* 2014; 81(3): 484-503.
18. Aşık EA, Çöldür EÖ, Aydemir Ö. DSM-5 Düzey 2 Depresyon Erişkin Ölçeği Türkçe Formunun geçerliliği ve güvenilirliği. *Psychiatry* 2017; 18(2): 57-62.
19. Refik Saydam Hıfzısıhha Merkezi Müdürlüğü, Başkent Üniversitesi. Ulusal Hastalık Yüğü ve Maliyet-Etkililik Projesi. Hıfzısıhha Mektebi Müdürlüğü, Ankara, 2004: 267-305
20. Akkaya C, Eker S.S, Sarandöl A, Cangür Ş, Kırılı S. Majör depresif bozuklukta düzelmenin öngörücüleri. *Nöropsikiyatri Arşivi*, 2013; 50(2): 122-9.
21. Karamustafalıoğlu O, Göksan YB. Major depresif bozukluk tedavisinde yetersiz yanıtın yönetimi ve yeni tedavi seçenekleri. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 2011; 21: 20-5.
22. Savrun BM. Depresyonun tanımı ve epidemiyolojisi. İstanbul: Depresyon somatizasyon ve psikiyatrik aciller sempozyumu, 1999.
23. Gonda X, Fountoulakis KN, Kaprinis G, Rihmer Z. Prediction and prevention of suicide in patients with unipolar depression and anxiety. *Ann Gen Psychiatry* 2007; 6(1): 23-31.
24. Kaya B, Kaya M. 1960'lardan Günümüze Depresyonun Epidemiyolojisi Tarihsel Bir Bakış. *J Clin Psy* 2007; 10(Supp: 6): 3-10.
25. Kotan Z, Sarandöl A, Eker SS, Akkaya C. Depresyon nöroplastisite ve nörotrofik faktörler. *Psikiyatride Guncel Yaklasimler* 2009; 1(1): 36-44.
26. Yemez B, Alptekin K. Depresyon etiyojisi. *Psikiyatri Dünyası*, 1998; 1: 21-5.
27. Uzbay T. Anksiyete ve depresyonun nörobiyolojisi. *J Clin Psy* 2004; 4(3): 1-11.

28. Tamam L, Zeren T. Depresyonda serotonerjik düzenekler. J Clin Psy 2002; 5: 11-18
29. Işık E. Depresyon ve bipolar bozukluklar. Ankara: Görsel Sanatlar Matbaacılık, 2003.
30. Sayın A. Dopamin reseptörleri ve sinyal iletim özellikleri. J Clin Psy 2008; 11(3): 125-134.
31. Belujon P, Grace AA. Dopamine system dysregulation in major depressive disorders. Int J Neuropsychopharmacol 2017; 20(12): 1036-46.
32. Gülseren UDŞ. Depresyon ve Anksiyete. J Clin Psy 2004; 7(Supp: 1): 5-13.
33. Schatzberg AF, Garlow SJ, Nemeroff CB. Molecular and cellular mechanisms in depression. Chapter 72. Neuropsychopharmacology The fifth generation of progress 2002; 1039-50.
34. Uğuz Ş, Yurdagül E. Noradrenerjik sistem ve depresyon. J Clin Psy 2002; 5: 19-23
35. Ulus İH, Cansev M. Kolin'in Merkezi ve Periferik Kolinerjik Nöronlarda ve Kolinerjik İletimdeki İşlevi 2010; 1(2): 68-80.
36. Balcıoğlu İ. Depresyonun Etiyolojisi. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Depresyon Somatizasyon ve Psikiyatrik Aciller Sempozyumu kitapçığı, 1999: 19-28
37. Van Praag H. The significance of biological factors in the diagnosis of depressions: I biochemical variables. Compr Psychiatry 1982; 23(2): 124-35.
38. Stahl SM. Stahl'ın Temel Psikofarmakolojisi. Uzbay İT (Çeviren). 3 Baskı, İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi, 2017: 480-489.
39. Eşel E, Sofuoğlu S. Depresyonun nöroendokrinolojisi. Duygudurum Bozuklukları Dergisi 2001; (3): 132-44.
40. Bilici M. Depresif Bozukluklarda Hipotalamik-Pitüiter-Tiroid Eksen. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 1998; 8(2): 1-5.
41. Sevinçok L. Depresyonda hücre içi Bozukluklar. J Clin Psy 2002; 4: 57-67
42. Gürpınar D, Erol A, Mete L. Depresyon ve nöroplastisite. Klinik Psikofarmakoloji Bülteni 2007; 17(2): 100-10.

43. Gönül AS, Akdeniz F. Depresyon nöroplastisite nörogenesis ve nörotrofik faktörler. *J Clin Psy* 2002; 4: 51-6.
44. Gümrü S, Aricioglu F. Neurotrophic factors and depression: pathophysiology and beyond. *Clin Exp Health Sci* 2012; 2(2): 53-6.
45. Tuğlu C, Kara SH. Depresyon, sitokinler ve bağışıklık sistemi. *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni* 2003; 13: 142-50.
46. Selvi Y, İnci R, Kıran ÜK, Ağargün MY, Özer ÖA, Eryonucu B. Postpartum depresyon ve serum kolesterolü. *J Clin Psy* 2004; 7: 48-50.
47. Altınbaş K, Özer A, Çakmak C, Kurt E, Oral ET. İki uçlu duygudurum bozukluğu ve lipid döngüselliliği ilişkisi. *Düşünen Adam: J Psychiatr Neurol Sci* 2010; 23: 158-165.
48. Selvi Y, Beşiroğlu L, Aydın A. Kronobiyoloji ve duygudurum bozuklukları. *Psikiyatride Guncel Yaklasimler* 2011; 3(3): 368-86.
49. Akıncı E, Orhan F. Sirkadiyen ritim uyku bozuklukları *Psikiyatride Guncel Yaklasimler* 2016; 8(2): 178-89.
50. Evrensel A, Ceylan ME. Bağırsak Beyin Eksen: Psikiyatrik Bozukluklarda Bağırsak Mikrobiyotasının Rolü. *Psikiyatride Guncel Yaklasimler* 2015; 7(4): 461-72.
51. Aydın R, Baytunca MB, Erermiş S. Genetic characteristics of pediatric major depressive disorder. *J Pediatr Res* 2014; 1(4): 174-9.
52. Mouillet-Richard S, Baudry A, Launay JM, Kellermann O. MicroRNAs and depression. *Neurobiol Dis* 2012; 46: 272-278.
53. Üçel Uİ. Depresyon Etiyolojisi ve Sitokinlerin Rolü. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Derg* 2016; 6(1): 41-45.
54. Yüksel N. Agomelatinin klinik kullanımı: Major depresyon. *J Clin Psy* 2012; 15: 20-28
55. Saydam F, Değirmenci İ, Güneş HV. MikroRNA'lar ve kanser. *Dicle Tıp Dergisi* 2011; 38: 113-120.
56. Doğan M. Depresyonda bilişsel terapi yaklaşımı temel boyutlar ve açıklamalar. *Sosyal Bilimler Derg* 2001:61-103.
57. Eker E. Depresyon somatizasyon ve psikiyatrik aciller. *Sempozyum Dizisi Yayın No:17. 1999.*

58. Özpoyraz N. Depresyonda nöroanatomik bağlantılar. J Clin Psy 2002; 5(Supp: 4): 68-72.
59. Penner J, Ford KA, Taylor R, et al. Medial prefrontal and anterior insular connectivity in early schizophrenia and major depressive disorder: a resting functional MRI evaluation of large-scale brain network models. Front Hum Neurosci 2016; 10: 132-46.
60. Başoğlu C, Buldukoğlu K. Depresif bozukluklarda psikososyal girişimler Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar 2015; 7(1): 1-15.
61. Tomruk NB, Oral T. Elektrokonvulsif tedavinin klinik kullanımı: Bir gözden geçirme Anadolu Psikiyatri Dergisi 2007; 8(4): 302-9.
62. Güdücü F, Caliyurt O, Vardar E, Tuğlu C, Abay E. Majör depresyonda sertralin ile birlikte uygulanan uyku yoksunluğu ve ışık tedavisinin etkinliğinin sertralin tedavisi ile karşılaştırılması. Turk Psikiyatri Dergisi 2005; 16(4): 245-51.
63. Sachdev PS, Chen X. Neurosurgical treatment of mood disorders: traditional psychosurgery and the advent of deep brain stimulation. Curr Opin Psychiatry 2009; 22(1): 25-31.
64. Ceylan ME, Yazan B. Depresyonun Biyolojik Tedavileri. Psikiyatri Dünyası 1998; 2: 60-67
65. Örsel, S. Depresyonda tedavi: genel ilkeler ve kullanılan antidepresan ilaçlar. J Clin Psy 2004; 4: 17-24
66. <https://www.aydineczaciogasi.org.tr/haber-1848> 11.12.2019
67. Kirli S. Eski ve yeni antidepresanlar: Biz neredeyiz? Birinci Basamak İçin Psikiyatri 2002; 3(3): 112-113
68. Güneş ML, Yazıcı E, Yazıcı AB, Ferah I, Çadircı E. Antidepresan ilaçların gastrik ülser üzerine etkileri. Dicle Tıp Dergisi 2013; 40(4): 691-699.
69. http://www.bursapsikiyatri.com/kategori.php?ak_id=35&k_id=37 11.12.2019
70. O'Neil MF, Moore NA. Animal models of depression: are there any?. Hum Psychopharmacol 2003; 18(4): 239-54.

71. Başar K, Ertuğrul A. Depresyon araştırmalarında kullanılan hayvan modelleri. *J Clin Psy* 2005; 8(3): 123-34.
72. Aykaç A, Süer K, Taşkıran C. Anksiyete araştırmalarında kullanılan sıçan davranış modelleri. *Marmara Medical Journal* 2015; 28(1): 1-7.
73. Katz RJ. Animal models and human depressive disorders. *Neurosci Bio behav* 1981; 5(2): 5231-46
74. Willner P, Towell A, Sampson D, Sophokleous S, Muscat R. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology* 1987, 93(3), 358-364.
75. Akay A, Sümer-Turanlıgil NC, Uyanıkgil Y. İyon kanalları ve epilepsi patojenezindeki rolleri. *Arşiv*, 2010; 19: 72-84.
76. Melo I, Drews E, Zimmer A, Bilkei-Gorzo A. Enkephalin knockout male mice are resistant to chronic mild stress. *Genes Brain and Behav* 2014; 13(5): 1-9.
77. Cuadrado-Tejedor M, Ricobaraza A, Del Río J, et al. Chronic mild stress in mice promotes cognitive impairment and CDK5-dependent tau hyperphosphorylation. *Behav Brain Res* 2011; 220(2): 338-43
78. Hong M, Zheng J, Ding ZY, et al. Imbalance between Th17 and Treg cells may play an important role in the development of chronic unpredictable mild stress-induced depression in mice. *Neuroimmunomodulation* 2012; 20(1): 39-50.
79. Mao QQ, Huang Z, Zhong XM, et al. Brain-derived neurotrophic factor signalling mediates the antidepressant-like effect of piperine in chronically stressed mice. *Behav Brain Res* 2014; 261: 140-5.
80. Lewitus GM, Wilf-Yarkoni A, Ziv Y, et al. Vaccination as a novel approach for treating depressive behavior. *Biol Psychiatry* 2009; 65(4): 283-8.
81. Abdelhamid RE, Kovács KJ, Nunez MG, Larson AA. Depressive behavior in the forced swim test can be induced by TRPV1 receptor activity and is dependent on NMDA receptors. *Pharmacol Res* 2014; 79: 21-7.

82. Costa APR, Vieira C, Bohner LO, Silva CF, da Silva Santos, EC, De Lima, TCM, Lino-de-Oliveira C. A proposal for refining the forced swim test in Swiss mice. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2013; 45: 150-5.
83. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M. Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature* 1977; 266:730-2.
84. Uzunok B, Kahveci N, Güleç G. Sıçanlarda zorunlu yüzme testi ile oluşturulan depresyon modelinde nitrik oksitin rolü. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2010; 36(1): 23-7.
85. Chahardehi AM, Ibrahim D, Abolhassani F, Sulaiman SF. Antidepressant-like effects of *elatostema umbellatum* and *urtica dioica* in mice using forced swim test and tail suspension test. *Annu Res& Rev in Biol* 2014; 4(14): 2396-405.
86. Morozova A, Zubkov E, Strekalova T, et al. Ultrasound of alternating frequencies and variable emotional impact evokes depressive syndrome in mice and rats. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2016; 68: 52–63
87. Zorkina YA, Zubkov EA, Morozova AY, et al. The comparison of a new ultrasound-induced depression model to the chronic mild stress paradigm. *Frontiers in Behavioral Neuroscience* 2019; 13: 146-52.
88. Küçük A, Gölgeli A. Deney Hayvanlarında Anksiyete Modelleri Ve Anksiyetenin Değerlendirilmesi. *Sağlık Bilimleri Dergisi* 2005; 14(3): 209-17.
89. Wiborg O. Chronic mild stress for modeling anhedonia. *Cell Tissue Res* 2013; 354(1): 155-169
90. Küçük A, Gölgeli A, Arslan M. Depresyon Oluşturulan Sıçanlarda Yaşın Açık Alan Parametrelerine Etkisi. *Erciyes Tıp Dergisi* 2005; 27(3): 110-4.
91. Hall CS. Emotional behavior in the rat III The relationship between emotionality and ambulatory activity. *J Comp Physiol Psychol* 1936; 22: 345–52.
92. Soubrie P. Open field chez le rat: interrelations entre locomotion exploration et emotivite *J Pharmacol* 1971; 2: 457

93. Erdoğan F, Küçük A, Gölgeci A, et al. Ratlarda Pentilentetrazol ile Oluşturulan Kindlingin Davranış ve Emosyonel Öğrenme Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi. *Epilepsi* 2007; 13(2-3): 66-72.
94. Pellow S, Chopin P, File SE, et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* 1985; 14: 149-67.
95. Özkartal C. Sıçanlarda Oluşturulan Depresyon Modelinde Nod Benzeri Reseptör Proteini 3 İnflamazomu Aracılı İnflamatuvar Yolaklar Ve Nitriderjik Sistem Arasındaki İlişkinin Araştırılması. Doktora Tezi, İstanbul: Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2017.
96. Overstreet DH. The Flinders sensitive line rats: a genetic animal model of depression. *Neurosci & Biobehav Rev* 1993; 17(1): 51-68.
97. Rezvani AH, Parsian A, Overstreet DH. The Fawn-Hooded (FH/ Wjd) rat: a genetic animal model of comorbid depression and alcoholism. *Psychiatr Genet* 2002; 12: 1-16.
98. Solberg LC, Olson SL, Turek FW, Redei E. Altered hormone levels and circadian rhythm of activity in the WKY rat a putative animal model of depression. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 281: 786-94.
99. Günay H, Tütüncü R. Depresyon Hayvan Modelleri, İstanbul: Sage Yayıncılık, 2012
100. Leonard BE Tuite M. Anatomical physiological and behavioral aspects of olfactory bulbectomy in the rat. *Int Rev Neurobiol* 1981; 22: 251-86.
101. Hammami S. Mechanisms underlying KCNQ1 channel cell volume sensitivity. Phd Thesis, Copenhagen: The PhD School of Science Faculty of University of Copenhagen, 2010.
102. <https://www.nature.com/scitable/topicpage/ion-channel-14047658>
09.12.2019
103. Prevarskaya N, Skryma R, Bidaux G, Flourakis M, Shuba Y. Ion channels in death and differentiation of prostate cancer cells. *Cell death differ* 2007; 14(7): 1295-304.
104. Erdoğan MA, Erbaş O. İyon kanalları ve kanser. *FNG & Bilim Tıp Dergisi* 2018; 4(1): 49-62.

105. Emre M. Ağrı Patofizyolojisinde Voltaj Kapılı Kalsiyum Kanallarının Rolü. *Kafkas J Med Sci* 2018; 8(2):140–8.
106. Lisa Doan MD. Voltage-gated calcium channels and pain. *Tech Reg Anesth Pain Manag* 2010; 14: 42-7.
107. Catterall WA. Structure and regulation of voltage-gated Ca^{2+} channels. *Annu rev cell dev biol* 2000; 16: 521-55.
108. Catterall WA, Few AP. Calcium channel regulation and presynaptic plasticity. *Neuron*. 2008; 59(6): 882-901.
109. Diriong S, Lory P, Williams ME, et al. Chromosomal localization of the human genes for alpha-1A alpha-1B and alpha-1E voltage-dependent $\text{Ca}(2+)$ channel subunits. *Genomics* 1995; 30: 605-9.
110. Alexandra B, Brianna L Marie A, Arturo A. Tissue and cell-type specific expression of a splice variant in the II-III cytoplasmic loop of *Cacna1b*. *bioRxiv* 2019; 9(9):1603-16
111. Hofmann F, Flockerzi V, Kahl S, Wegener JW. L-type $\text{CaV}1.2$ calcium channels: from in vitro findings to in vivo function. *Physiological reviews*, 2014; 94(1): 303-26.
112. Bigos KL, Mattay VS, Callicott JH, et al. Genetic variation in *CACNA1C* affects brain circuitries related to mental illness. *Arch Gen Psychiatry* 2010; 67(9): 939-45.
113. Dedic N, Pöhlmann ML, Richter JS, et al. Cross-disorder risk gene *CACNA1C* differentially modulates susceptibility to psychiatric disorders during development and adulthood. *Mol psychiatry* 2018; 23(3): 533-43
114. Schneider T, Dibué M, Hescheler J. How “Pharmacoresistant” is $\text{Cav}2.3$ the major component of voltage-gated R-type Ca^{2+} channels? *Pharmaceuticals* 2013; 6(6): 759-76.
115. Gutzmann JJ, Lin L, Hoffman DA. Functional coupling of $\text{Cav}2.3$ and BK potassium channels regulates action potential repolarization and short-term plasticity in the mouse hippocampus. *Front Cell Neurosci* 2019; 13: 27-41.
116. Carvill GL. Calcium Channel Dysfunction in Epilepsy: Gain of *CACNA1E*. *Epilepsy Curr* 2019; 19(3). 199-201.

117. Eckle VS, Shcheglovitov A, Vitko I Dey D, et al. Mechanisms by which a CACNA1H mutation in epilepsy patients increases seizure susceptibility. *J Physiol* 2014; 592(4): 795-809.
118. Bidaud I, Mezghrani A, Swayne LA, et al. Voltage-gated calcium channels in genetic diseases. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2006; 1763(11): 1169-74
119. Gutman GA, Chandy KG, Grissmer S, et al. International Union of Pharmacology LIII Nomenclature and molecular relationships of voltage-gated potassium channels. *Pharmacol Rev* 2005; 57: 473–508.
120. Chen Gu, Joshua Barry Function and mechanism of axonal targeting of voltage-sensitive potassium channels. *Neurobiology* 2011; 94: 115-32.
121. Grizel AV, Glukhov GS, Sokolova OS. Mechanisms of activation of voltage-gated potassium channels. *Acta Naturae* 2014;6(4): 10-26.
122. Miller C. An overview of the potassium channel family. *Genome Biol* 2000; 1(4): 00041-5.
123. Sari S, Kiliç N, Kurt G, et al. Benign ve Malign Beyin Tümörlerinde İçeri Doğru Düzeltici ve İki Gözenekli Potasyum Kanalı Proteinlerinin Serum Düzeylerinin Araştırılması. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2016; 36(1): 7-13.
124. Dookeran KA, Paul A. The Emerging Role of Two-Pore Domain Potassium Channels in Breast Cancer. *J Glob Epidemiol Environ Health* 2017; 2017(1): 27-36.
125. Cui YL, Holt AG, Lomax CA, Altschuler RA. Deafness associated changes in two-pore domain potassium channels in the rat inferior colliculus *Neuroscience* 2007;149(2): 421-33.
126. Akyüz E, Tiber PM. İçeri Doğrultucu Potasyum Kanalları ve Epilepsi. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2017;14(2): 141-9.
127. Özcal EM, Şan M. Endoteldeki İyon Kanalları ve İşlevleri. *Erciyes Tıp Dergisi* 2004; 26(4): 186-93.
128. Kumar P, Kumar D, Jha SK, et al. Ion channels in neurological disorders. *Adv Protein Chem Struct Biol* 2016; 103: 97-136.
129. İon channels. <https://channelpedia.epfl.ch/> 09.12.2019

130. Need AC, Irvine EE, Giese KP. Learning and memory impairments in Kv β 1.1-null mutants are rescued by environmental enrichment or ageing. *European Journal of Neuroscience* 2003; 18(6): 1640-4.
131. Uebele VN, England SK, Gallagher DJ, et al. Distinct domains of the voltage-gated K⁺ channel Kv β 1.3 β -subunit affect voltage-dependent gating. *Am J Physiol Cell Physiol* 1998; 274(6): 1485-95.
132. Ying SW, Kanda VA, Hu Z, et al. Targeted deletion of Kcne2 impairs HCN channel function in mouse thalamocortical circuits. *PloS one* 2012; 7(8): e42756.
133. Sand PG, Langguth B, Kleinjung T. Deep resequencing of the voltage-gated potassium channel subunit KCNE3 gene in chronic tinnitus. *Behav Brain Func* 2011; 7(1): 39-44.
134. Grunnet M, Jespersen T, Rasmussen HB, et al. KCNE4 is an inhibitory subunit to the KCNQ1 channel. *J physiol* 2002; 542(1): 119-30.
135. Solé L Roura-Ferrer M, Pérez-Verdaguer M, Oliveras A Calvo M, et al. KCNE4 suppresses Kv1.3 currents by modulating trafficking surface expression and channel gating. *J cell sci* 2009; 122(20): 3738-48.
136. Huffaker SJ, Chen J, Nicodemus KK, et al. A primate-specific brain isoform of KCNH2 affects cortical physiology cognition neuronal repolarization and risk of schizophrenia. *Nature med* 2009; 15(5): 509-18.
137. Dierich M, Evers S, Wilke BU, Leitner MG. Inverse modulation of neuronal Kv12.1 and Kv11.1 channels by 4-aminopyridine and NS1643. *Front Mol Neurosci* 2018; 11(11): 1-13.
138. Thenganatt MA, Jankovic J. The relationship between essential tremor and Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2016; 22: 162-5.
139. Georgiev D, Arion D, Enwright JF, et al. Lower gene expression for KCNS3 potassium channel subunit in parvalbumin-containing neurons in the prefrontal cortex in schizophrenia. *Am J Psychiatry* 2014; 171(1): 62-71
140. Yamada K, Iwayama Y, Toyota T, et al. Association study of the KCNJ3 gene as a susceptibility candidate for schizophrenia in the Chinese population. *Hum genet* 2012; 131(3): 443-51.

141. Gomez L, Wigg K, Zhang K, et al. Association of the KCNJ5 gene with Tourette Syndrome and Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *Genes, Brain and Behav* 2014; 13(6): 535-42.
142. Clarke TK, Laucht M, Ridinger M, et al. KCNJ6 is associated with adult alcohol dependence and involved in gene× early life stress interactions in adolescent alcohol drinking. *Neuropsychopharmacology* 2011; 36(6): 1142-8.
143. Dai AI, Akcali A, Koska S, et al. Contribution of KCNJ10 gene polymorphisms in childhood epilepsy. *J child neurol* 2015; 30(3): 296-300.
144. Reichold M, Zdebik AA, Lieberer E, et al. KCNJ10 gene mutations causing EAST syndrome (epilepsy, ataxia, sensorineural deafness, and tubulopathy) disrupt channel function. *Proc Natl Acad Sci* 2010; 107(32): 14490-5.
145. Gloyn AL, Diatloff-Zito C, Edghill EL, et al. KCNJ11 activating mutations are associated with developmental delay epilepsy and neonatal diabetes syndrome and other neurological features. *Eur J Hum Genet* 2006; 14(7): 824-30.
146. Zheng L, Xu JW, Li JC, et al. Distribution and association study in copy number variation of KCNJ12 gene across four Chinese cattle populations. *Gene* 2019; 689: 90-6.
147. Pattnaik BR, Shahi PK, Marino MJ, et al. A novel KCNJ13 nonsense mutation and loss of Kir7.1 channel function causes Leber congenital amaurosis (LCA16). *Hum mutat* 2015; 36(7): 720-7.
148. Prüß H, Wenzel M, Eulitz D, et al. Kir2 potassium channels in rat striatum are strategically localized to control basal ganglia function. *Mol brain res* 2003; 110(2): 203-19.
149. Trapp S, Tucker SJ, Gourine AV. Respiratory responses to hypercapnia and hypoxia in mice with genetic ablation of Kir5.1 (Kcnj16). *Experimental physiology* 2011; 96(4): 451-9.
150. Cho CH, Hwang EM, Park JY. et al. Emerging Roles of TWIK-1 Heterodimerization in the Brain. *Int J Mol Sci* 2018; 19(1): 51-60.

151. Ou Maati HM, Peyronnet R, Devader C, et al. A human TREK-1/HEK cell line: a highly efficient screening tool for drug development in neurological diseases *PloS one* 2011; 6(10): e25602.
152. Bittner S, Meuth SG, Göbel K, et al. TASK1 modulates inflammation and neurodegeneration in autoimmune inflammation of the central nervous system. *Brain* 2009; 132(9): 2501-16.
153. Laigle C, Confort-Gouny S, Le Fur Y, et al. Deletion of TRAAK potassium channel affects brain metabolism and protects against ischemia. *PloS one* 2012; 7(12): e53266.
154. Göb E, Bittner S, Bobak N, et al. The two-pore domain potassium channel KCNK5 deteriorates outcome in ischemic neurodegeneration. *Pflugers Arch* 2015; 467(5): 973-87.
155. Lloyd EE, Marrelli SP, Namiranian K, et al. Characterization of TWIK-2 a two-pore domain K⁺ channel cloned from the rat middle cerebral artery. *Exp Biol Med* 2009; 234(12): 1493-502.
156. Kananura C, Sander T, Rajan S, et al. Tandem pore domain K⁺-channel TASK-3 (KCNK9) and idiopathic absence epilepsies *Am J Med Genet* 2002; 114(2): 227-9
157. Huang D, Yu B. Recent advance and possible future in TREK-2: a two-pore potassium channel may involved in the process of NPP brain ischemia and memory impairment. *Med hypotheses* 2008; 70(3): 618-24
158. Renigunta V, Zou X, Kling S, et al. Breaking the silence: functional expression of the two-pore-domain potassium channel THIK-2. *Pflugers Arch* 2014; 466(9): 1735-45.
159. Karschin C, Wischmeyer E, Preisig-Müller R, et al. Expression pattern in brain of TASK-1 TASK-3 and a tandem pore domain K⁺ channel subunit TASK-5 associated with the central auditory nervous system. *Mol Cell Neurosci* 2001; 18(6): 632-48.
160. Deval E, Gasull X, Noël J, et al. Acid-sensing ion channels (ASICs): pharmacology and implication in pain. *Pharmacol Ther* 2010; 128: 549-58.

161. Bässler EL, Ngo-Anh TJ, Geisler HS, et al. Molecular and functional characterization of acid-sensing ion channel (ASIC) 1b. *J Biol Chem* 2001; 276(36): 33782-7.
162. Babini E, Paukert M, Geisler HS, Grunder S. Alternative splicing and interaction with diand polyvalent cations control the dynamic range of acid-sensing ion channel 1 (ASIC1). *J Biol Chem* 2002; 277: 41597-603.
163. Bronstein-Sitton N. Acid-Sensing Ion Channels. *Alamone lab Modulator* 2004; 18: 1-3.
164. Vralsted VC, Price MP, Du J, et al. Expressing acid-sensing ion channel 3 in the brain alters acid-evoked currents and impairs fear conditioning. *Genes, Brain and Behav* 2011; 10(4): 444-50.
165. Yazğan B, Yazğan Y, Nazıroğlu M. Ağrı moleküler yollarında TRPV1 kation kanalının önemi. *Fırat Tıp Derg/Firat Med J* 2016; 21(1): 1-10.
166. Saygın M, Nazıroğlu M. Kalpteki moleküler Ca^{+2} sinyali üzerinde TRPM kation kanallarının rolleri. *J Exp Clin Med* 2012; 29(2): 83-90.
167. Nilius B, Owsianik G, Voets T, Peters JA. Transient Receptor Potential cation channels in disease. *Physiol Rev* 2007; 87: 165–217.
168. Liedtke WB. TRP ion channel function in sensory transduction and cellular signaling cascades. Chapter 11, *TRPA1: A Sensory Channel of Many Talents*. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis, 2007.
169. Selvaraj S, Sun Y, Singh BB. TRPC channels and their implications for neurological diseases. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2010; 9(1): 94-104.
170. Chen C, Ma Q, Deng P, et al. Critical role of TRPC1 in thyroid hormone-dependent dopaminergic neuron development. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res* 2017; 1864(10): 1900-12.
171. Lucas PK, Ukhanov T, Leinders-Zufall and F Zufall. A diacylglycerol-gated cation channel in vomeronasal neuron dendrites is impaired in TRPC2 mutant mice: mechanism of pheromone transduction. *Neuron* 2003; 40(3): 551-61

172. Križaj D, Huang W, Furukawa T, et al. Plasticity of TRPM1 expression and localization in the wild type and degenerating mouse retina. *Vision res* 2010; 50(23): 2460-5.
173. Belrose JC, Jackson MF. TRPM2: a candidate therapeutic target for treating neurological diseases. *Acta Pharmacol Sin* 2018; 39(5): 722
174. Vriens J, Owsianik G, Hofmann T, et al. TRPM3 is a nociceptor channel involved in the detection of noxious heat. *Neuron* 2011; 70(3): 482-94.
175. Hoffmann A, Grimm C, Kraft R, et al. TRPM3 is expressed in sphingosine-responsive myelinating oligodendrocytes. *J Neurochem* 2010; 114(3): 654-65.
176. Cheng H, Beck A, Launay P, et al. TRPM4 controls insulin secretion in pancreatic β -cells. *Cell calcium* 2007; 41(1): 51-61.
177. Turlova E, Bae CY, Deurloo M, et al. TRPM7 regulates axonal outgrowth and maturation of primary hippocampal neurons. *Mol neurobiol* 2016; 53(1): 595-610.
178. Ramírez-Barrantes R, Cordova C, Poblete H, et al. Perspectives of TRPV1 function on the neurogenesis and neural plasticity. *Neural Plast* 2016; 2016: 1-12.
179. Sulk M, Steinhoff M. Role of TRP channels in skin diseases. Chapter 17. Cambridge: Academic Press, 2015.
180. Shibasaki K, Murayama N, Ono K, et al. TRPV2 enhances axon outgrowth through its activation by membrane stretch in developing sensory and motor neurons. *J Neurosci* 2010; 30(13): 4601-12.
181. Yang P, Zhu MX. Trpv3 In Mammalian Transient Receptor Potential (TRP) Cation Channels. Berlin Heidelberg: Springer, 2014.
182. Gürel A, Aygen B, Kuloğlu T. Transient Reseptör Potansiyel Vanilloid 1 Kanalları ve Böbrek. *Firat Tip Derg* 2015; 20(4): 184-8.
183. Shibasaki K, Ikenaka K, Tamalu F, et al. A novel subtype of astrocytes expressing TRPV4 (transient receptor potential vanilloid 4) regulates neuronal excitability via release of gliotransmitters. *J Biol Chem* 2014; 289(21): 14470-80.

184. Kalayciyan UDA, Serdaroğlu S. Nikotin ve Deri. *Dermatose* 2005; 4(3): 127-33.
185. Doğan YH. Sigara içme davranışında cinsiyet farkı ve nikotin temel etki mekanizmaları. *Türkiye Aile Hekimliği Derg* 2007; 8(4): 177-82.
186. Harvey L, Berk A, Kaiser CA et al. *Moleküler Hücre Biyolojisi*. Palme Yayıncılık. 6. Baskıdan çeviri. 2011
187. Güneş HV. *Moleküler Hücre Biyolojisi*. İstanbul Tıp Kitabevi. 3. Baskı. 2013.
188. Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, Rogers SW. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. *Physiol Rev* 2009; 89(1): 73-120.
189. Dineley KT, Pandya AA, Yakel JL. Nicotinic ACh receptors as therapeutic targets in CNS disorders. *Trends pharmacol sci* 2015; 36(2): 96-108.
190. Roux I, Wu JS, McIntosh JM, Glowatzki E. Assessment of the expression and role of the $\alpha 1$ -nAChR subunit in efferent cholinergic function during the development of the mammalian cochlea. *J Neurophysiol* 2016; 116(2): 479-92.
191. Milone M, Wang HL, Ohno K, et al. Slow-channel myasthenic syndrome caused by enhanced activation desensitization and agonist binding affinity attributable to mutation in the M2 domain of the acetylcholine receptor α subunit. *J Neurosci* 1997; 17(15): 5651-65.
192. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=CHRNA2&keywords=chrna2> 11.12.2019
193. Haller G, Druley T, Vallania FL, et al. Rare missense variants in CHRNA4 are associated with reduced risk of nicotine dependence. *Hum mol genet* 2011; 21(3): 647-55.
194. Hutchison KE, Allen DL, Filbey FM, et al. CHRNA4 and tobacco dependence: from gene regulation to treatment outcome. *Arch Gen Psychiatry* 2007; 64(9): 1078-86.
195. Leniger T, Kananura C, Hufnagel A, et al. A new Chrna4 mutation with low penetrance in nocturnal frontal lobe epilepsy. *Epilepsia* 2003; 44(7): 981-5.

196. Hoft NR, Corley RP, McQueen MB, et al. SNPs in CHRNA6 and CHRNB3 are associated with alcohol consumption in a nationally representative sample. *Genes Brain and Behav* 2009; 8(6): 631-7.
197. Culverhouse RC, Johnson EO, Breslau N, et al. Multiple distinct CHRNB3-CHRNA6 variants are genetic risk factors for nicotine dependence in African Americans and European Americans. *Addiction* 2014; 109(5): 814-22.
198. Tabares-Seisdedos R, Rubenstein JLR. Chromosome 8p as a potential hub for developmental neuropsychiatric disorders: implications for schizophrenia autism and cancer. *Mol psychiatry* 2009; 14(6): 563-89.
199. Adams CE, Yonchek JC, Schulz KM, et al. Reduced Chrna7 expression in mice is associated with decreases in hippocampal markers of inhibitory function: implications for neuropsychiatric diseases. *Neuroscience* 2012; 207: 274-82.
200. Peng H, Ferris RL, Matthews T, et al. Characterization of the human nicotinic acetylcholine receptor subunit alpha (α) 9 (CHRNA9) and alpha (α) 10 (CHRNA10) in lymphocytes. *Life Sci* 2004; 76(3): 263-80.
201. Müller JS, Hoellen F, Schara U, et al. GP 3 08 Novel mutations in the CHRNB1 gene in three patients affected by a congenital myasthenic syndrome. *Neuromuscul Dis* 2006; 16(9): 661.
202. Ehringer MA, Clegg HV, Collins AC, et al. Association of the neuronal nicotinic receptor β 2 subunit gene (CHRNB2) with subjective responses to alcohol and nicotine. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet* 2007; 144(5): 596-604.
203. Richard P, Gaudon K, Fournier E, et al. A synonymous CHRNE mutation responsible for an aberrant splicing leading to congenital myasthenic syndrome. *Neuromuscul Dis* 2007; 17(5): 409-14
204. Vogt J, Morgan NV, Rehal P, Faivre L, et al. CHRNG genotype-phenotype correlations in the multiple pterygium syndromes. *J Med Genet* 2012; 49: 21-6.
205. Carrera-García L, Natera-de Benito D, Dieterich K, et al. CHRNG-related nonlethal multiple pterygium syndrome: Muscle imaging pattern and

- clinical histopathological and molecular genetic findings. *Am J Med Genet A* 2019; 179(6): 915-26.
206. Biel M, Wahl-Schott C, Michalakis S, Zong X. Hyperpolarization-Activated Cation Channels: From Genes to Function. *Physiol Rev* 2009; 89: 847-885
 207. Nolan MF, Malleret G, Lee KH, et al. The hyperpolarization-activated HCN1 channel is important for motor learning and neuronal integration by cerebellar Purkinje cells. *Cell* 2003; 115(5): 551-64.
 208. Matt L, Michalakis S, Hofmann F, et al. HCN2 channels in local inhibitory interneurons constrain LTP in the hippocampal direct perforant path. *Cell Mol Life Sci* 2011; 68(1): 125-37.
 209. Emery EC, Young GT, Berrocoso EM, et al. HCN2 ion channels play a central role in inflammatory and neuropathic pain. *Science* 2011; 333(6048): 1462-6.
 210. Cao-Ehlker X, Zong X, Hammelmann V, et al. Up-regulation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide-gated channel 3 (HCN3) by specific interaction with K⁺ channel tetramerization domain-containing protein 3 (KCTD3). *J Biol Chem* 2013; 288(11): 7580-9.
 211. Kelmendi B, Holsbach-Beltrame M, McIntosh AM, et al. Association of polymorphisms in HCN4 with mood disorders and obsessive compulsive disorder. *Neurosci Lett* 2011; 496(3): 195-9.
 212. Utine GE. Kanalopatiler. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci Special Topics* 2013; 9(4): 60-4.
 213. Cox B, Gosling M. *Ion Channel Drug Discovery* 2014.
 214. Miles H, William S, Messer Kenneth A. *Bachmann Pharmacology: Principles and Practice*. 1st edition, Cambridge: Academic Press, 2009.
 215. Falconer M, Smith F, Surah-Narwal S, et al. High-throughput screening for ion channel modulators. *J biomol screen* 2002; 7(5): 460-5.
 216. Zamponi GW. Targeting voltage-gated calcium channels in neurological and psychiatric diseases. *Nat Rev Drug Discov* 2016;15(1): 19-34.
 217. Clare JJ, Tate SN, Nobbs M, Romanos MA. Voltage-gated sodium channels as therapeutic targets. *Drug discov today* 2000; 5(11): 506-20.

218. Bain A. Use of calcium channel blockers in cardiovascular disease. *British Journal of Cardiac Nursing* 2019; 14(2): 64-70.
219. Godfraind T. Calcium channel blockers in cardiovascular pharmacotherapy. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2014; 19(6): 501-15.
220. <https://www.medchemexpress.com/Pico145.html> 11.12.2019
221. Srisontiyakul J, Kastman HE, Krstew EV, et al. The nicotinic $\alpha 6$ -subunit selective antagonist bPiDI reduces alcohol self-administration in alcohol-preferring rats *Neurochem res* 2016; 41(12): 3206-14
222. <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/sml0182?lang=en®ion=TR> 11.12.2019
223. <https://www.abcam.com/9-phenanthrol-trpm4-blocker-ab144826.html> 11.12.2019
224. Kesebir S, Güven S, Koç İ. Epilepsi ve duygudurum bozuklukları. *Psikiyatride Güncel Yaklaşımlar* 2012; 4(1): 51-68.
225. Lodge NJ, Li YW. Ion channels as potential targets for the treatment of depression. *Curr Opin Drug Discov Devel* 2008; 11(5): 633-41.
226. Lucae S, Salyakina D, Barden N, et al. P2RX7 a gene coding for a purinergic ligand-gated ion channel is associated with major depressive disorder. *Hum Mol Genet* 2006; 15: 2438-45.
227. Kloiber S, Czamara D, Karbalai N, et al. ANK3 and CACNA1C–Missing genetic link for bipolar disorder and major depressive disorder in two German case-control samples. *J psychiatric res* 2012; 46: 973-9.
228. Budni J, Freitas AE, Binfare RW, et al. Role of potassium channels in the antidepressant-like effect of folic acid in the forced swimming test in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2012; 101: 148–54.
229. Kaster MP, Ferreira PK, Santos AR, et al. Effects of potassium channel inhibitors in the forced swimming test: possible involvement of L-arginine-nitric oxide-soluble guanylate cyclase pathway. *Behav Brain Res* 2005; 165: 204-9.
230. Kennard LE, Chumbley JR, Ranatunga KM, et al. Inhibition of the human two-pore domain potassium channel TREK-1 by fluoxetine and its metabolite norfluoxetine. *Br J Pharmacol* 2015; 144: 821–9.

231. Liou YJ, Chen TJ, Tsai SJ, et al. Support for the involvement of the KCNK2 gene in major depressive disorder and response to antidepressant treatment. *Pharmacogen Genome* 2009; 19: 735–41.
232. Ashok KS, Anjan K, Navdeep D. Effects Of Calcium Channel Blocker Nifedipine On Antidepressant Activity Of Fluvoxamine Venlafaxine And Tianeptine In Mice. *Int J Basic Clin Pharmacol* 2015; 4: 82-8.
233. Erdal ME, Yılmaz ŞG. mikroRNA Çalışmaları ve Psikiyatriye Yansıması. *Türkiye Klinikleri J Psychiatry Special Topics* 2016; 9(1): 16-24.
234. Akkaya ZY, Dinçer P. Tedavi yaklaşımlarında yeni bir dönem: Kodlamayan RNA'lar ve hastalıklar. *Marmara Medical Journal* 2013; 26: 5-10.
235. Karaarslan ZÖ, Serin MS. Hastalıkların tanı ve tedavi stratejilerinde miRNA ve diğer non-protein-coding RNA'lar. *Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Derg* 2016; 9(3:) 159-72.
236. Gündoğdu R, Çelik V. Rna İnterferans (RNAi). *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Derg* 2009, 25(1-2): 34 – 47
237. mikroRNA ve Sinir Sistemi. Ankara: Türkiye Bilimler Akademisi Ders Kitapları, 2011
238. Yong Huang, Xing Jia Shen, Quan Zou, Sheng Peng Wang, Shun Ming Tang, Guo Zheng Zhang Biological functions of microRNAs: a review. *J Biochem Physiol* 2011; 67: 129-39.
239. Acar ÇA, Yeşilot Ş, Ersoy MA. Kanserde MikroRNA'lar ve İlaç Yanıtı. *Med J SDU/SDÜ Tıp Fak Derg* 2018; 25(4): 498-507.
240. Hitit M, Kurar E, Güzeloğlu A. MikroRNA Biyogenezi Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Derg 2015; 10(3): 211-8.
241. Can Ü. Obezitede Lipid Metabolizması İle İlgili Micro RNA'lar. *ACU Sağlık Bil Derg* 2016; (2): 69-74.
242. Tunalı NE, Tiryakioğlu NO. Kanserde MikroRNA'ların Rolü. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2010; 30: 1690-1700.
243. Bağcı Ö. mikroRNA'lar (miRNA) ve kanser. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Derg* 2014; 40 (2): 105-9

244. Zamani AG, Zamani A. MikroRNA'lar ve akciğer kanseri. *Tuberk Toraks* 2013; 61: 57-62.
245. Soyocak A. MikroRNA Polimorfizmleri ve Kanser. *İstanbul Aydın Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinikleri* 2018; 1(1): 1-18.
246. Güzelgöl F, Aksoy K. Bir Gen İfade Düzenleyicisi miRNA Arşiv Kaynak Tarama Derg 2015; 24(4): 472-93.
247. Serafini G, Pompili M, Hansen KF, et al. The involvement of microRNAs in major depression suicidal behavior and related disorders: a focus on miR-185 and miR-491-3p. *Cell Mol Neurobio* 2014; 34(1): 17-30.
248. Hansen K.F, Obrietan K. MicroRNA as therapeutic targets for treatment of depression. *Neuropsychiatr Dis Treat* 2013; 9: 1011-21.
249. Dwivedi Y. Evidence demonstrating role of microRNAs in the etiopathology of major depression. *J Chem Neuroanat* 2011; 42(2): 142-56.
250. Askland K, Read C, Moore J. Pathways-based analyses of whole-genome association study data in bipolar disorder reveal genes mediating ion channel activity and synaptic neurotransmission. *Hum Genet* 2009; 125(1), 63-79.
251. Luo X, Zhang H, Xiao J, Wang Z. Regulation of human cardiac ion channel genes by microRNAs: theoretical perspective and pathophysiological implications. *Cell Physiol Biochem Press* 2010; 25(6): 571-86.
252. Numakawa T, Yamamoto N, Chiba S, Richards M, Ooshima Y, Kishi S, Kunugi H. Growth factors stimulate expression of neuronal and glial miR-132. *Neurosci Lett* 2011; 505(3): 242-7.
253. Saus E, Soria V, Escaramís G, Vivarelli F, Crespo J.M, Kagerbauer B, Mencho'n J.M, Urretavizcaya M, Grataco's M, Estivill X. Genetic variants and abnormal processing of pre-miR-182, a circadian clock modulator, in major depression patients with late insomnia. *Hum Mol Genet* 2010; 19(20): 4017-25

254. Jiang X, Zhang JT, Chan HC. Ion channels/transporters as epigenetic regulators?—a microRNA perspective. *Science china Life Sci* 2012; 55(9): 753-60.
255. Lader M. Limitations of current medical treatments for depression: disturbed circadian rhythms as a possible therapeutic target. *Eur Neuropsychopharmacol* 2007; 17(12): 743-55.
256. <http://www.mirdb.org/cgi-bin/search.cgi> 11.12.2019
257. http://www.targetscan.org/vert_72/ 11.12.2019
258. <http://mirtarbase.mbc.nctu.edu.tw/php/search.php> 11.12.2019
259. www.ebi.ac.uk 11.12.2019
260. www.peptideatlas.org 11.12.2019
261. Shcherbatyy V, Carson J, Yaylaoglu M, et al. A digital atlas of ion channel expression patterns in the two-week-old rat brain. *Neuroinformatics* 2015; 13: 111-25.
262. Detke MJ, Johnson J, Lucki I. Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression. *Exp Clin Psychopharmacol* 1997; 5(2): 107-12.
263. Connor TJ, Kelliher P, Shen Y, et al. Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral neurochemical and endocrine changes in the forced-swim test. *Pharmacol Biochem Behav* 2000; 65(4): 591-7.
264. Butterweck V, Nishibe S, Sasaki T, Uchida M. Antidepressant effects of *Apocynum venetum* leaves in a forced swimming test. *Biol Pharm Bull* 2001; 24(7): 848-51.
265. Cheung SY, Henrot M, Al-Saad M, et al. TRPC4/TRPC5 channels mediate adverse reaction to the cancer cell cytotoxic agent (-)-Englerin A. *Oncotarget* 2018; 9(51): 29634-43.
266. Piao H, Takahashi K, Yamaguchi Y, et al. Transient receptor potential melastatin-4 is involved in hypoxia-reoxygenation injury in the cardiomyocytes. *PLoS One* 2015; 10(4): e0121703.
267. Srisontiyakul J, Kastman HE, Krstew EV, et al. The nicotinic $\alpha 6$ -subunit selective antagonist bPiDI reduces alcohol self-administration in alcohol-preferring rats. *Neurochem Res* 2016; 41(12): 3206-14.

268. Kioukia N, Bekris S, Antoniou K, et al. Effects of chronic mild stress (CMS) on thyroid hormone function in two rat strains. *Psychoneuroendocrinology* 2000; 25(3): 247-57.
269. Strekalova T, Spanagel R, Bartsch D, et al. Stress-induced anhedonia in mice is associated with deficits in forced swimming and exploration. *Neuropsychopharmacol* 2004; 29(11): 2007-17.
270. Li N, He X, Qi X, et al. The mood stabilizer lamotrigine produces antidepressant behavioral effects in rats: role of brain-derived neurotrophic factor. *J Psychopharmacol* 2010; 24(12): 1772-8.
271. Bacchi F, Mathé AA, Jiménez P, et al. Anxiolytic-like effect of the selective neuropeptide Y Y2 receptor antagonist BIIE0246 in the elevated plus-maze. *Peptides* 2006; 27(12): 3202-7.
272. Mermerci A, Özmerdivenli R, Orallar H, et al. Galanin ve Egzersizin Ratlarda Anksiyete Üzerine Etkisinin Açık Alan ve Yükseltilmiş Artı Labirent Testleri ile Değerlendirilmesi. *Düzce Tıp Fakültesi Derg* 2018; 20(3): 63-8.
273. Kupfer DJ, Frank E, Phillips ML. Major Depressive Disorder: New Clinical, Neurobiological, And Treatment Perspectives. *Lancet* 2012; 379:1045–55.
274. Willner P. The chronic mild stress (CMS) model of depression: history evaluation and usage. *Neurobiol stress* 2017; 6: 78-93.
275. Sanacora G, Treccani G, Popoli M. Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging frontier of neuropsychopharmacology for mood disorders. *Neuropharmacology* 2012; 62(1): 63-77.
276. Murrough JW, Abdallah CG, Mathew SJ. Targeting glutamate signalling in Towards a glutamate hypothesis of depression: an emerging depression: progress and prospects. *Nat Rev Drug Discov* 2017; 16: 472-86.
277. Aan Het Rot M, Mathew SJ, Charney DS. Neurobiological Mechanisms in Major Depressive Disorder. *CMAJ* 2009; 180: 305-13.
278. Özkartal C, Arıcıoğlu F. Deneysel Depresyon Modelleri: Geçerlilik ve Güvenirlilik Kriterleri Üzerine Bir İnceleme. *Türkiye Klinikleri Journal of Laboratory Animals* 2017; 1(2): 95-104.

279. Zhou M, Wang M, Wang X, et al. Abnormal expression of MicroRNAs induced by chronic unpredictable mild stress in rat hippocampal tissues. *Mol Neurobiol* 2018; 55(2): 917-35.
280. Wang D, An SC, Zhang X. Prevention of chronic stress-induced depression-like behavior by inducible nitric oxide inhibitor. *Neurosci Lett* 2008; 433(1): 59-64.
281. Bortolato M, Mangieri RA, Fu J, et al. Antidepressant-like activity of the fatty acid amide hydrolase inhibitor URB597 in a rat model of chronic mild stress. *Biol psychiatry* 2007; 62(10): 1103-10.
282. Papp M, Willner P, Muscat R. An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress. *Psychopharmacol* 1991; 104(2): 255-9.
283. Lampert A, Korngreen A. Markov modeling of ion channels: implications for understanding disease. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2014; 123: 1-21.
284. Kong T, Feulefack J, Shen F, et al. Ethnic Differences in Genetic Ion Channelopathies Associated with Sudden Cardiac Death: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Ann Clin Lab Sci* 2017; 47(4): 481-90.
285. Smolin B, Karry R, Gal-Ben-Ari S, et al. Differential expression of genes encoding neuronal ion-channel subunits in major depression bipolar disorder and schizophrenia: implications for pathophysiology. *International J Neuropsychopharmacol* 2012; 15 (7): 869-82.
286. Congiu C, Minelli A, Bonvicini C, et al. The role of the potassium channel gene KCNK2 in major depressive disorder. *Psychiatry Res* 2015; 225(3): 489-92.
287. Öztürk E, Aydın H. Depresyonla ilgili nöroanatomik çalışmalar. *Duygudurum Dizisi* 2001; 3: 126-31.
288. Coryell MW, Wunsch AM, Haenfler JM, et al. Acid-sensing ion channel-1a in the amygdala a novel therapeutic target in depression-related behavior. *J Neurosci* 2009; 29(17): 5381–5388.

289. Takahashi T, Kobayashi T, Ozaki M, et al. G protein-activated inwardly rectifying K⁺ channel inhibition and rescue of weaver mouse motor functions by antidepressants. *Neurosci Res* 2006; 54(2): 104-11
290. Calderone V, Testai L, Martinotti E, et al. Drug-induced block of cardiac HERG potassium channels and development of torsade de pointes arrhythmias: the case of antipsychotics. *J Pharm Pharmacol* 2005; 57(2): 151-61.
291. Türkçapar MH, Ervatan SÖ. Antidepresan güçlendirme tedavileri. *Klinik Psikiyatri Derg* 2001; 4(4): 261-7.
292. Nixon MK, Hascoet M, Bourin M, et al. Additive effects of lithium and antidepressants in the forced swimming test: further evidence for involvement of the serotonergic system. *Psychopharmacol* 1994; 115(1-2): 59-64
293. Guo WY, Todd KG, Bourin M, et al. The additive effects of quinine on antidepressant drugs in the forced swimming test in mice. *Psychopharmacol* 1995; 121(2): 173-9.
294. Friedman AK, Juarez B, Ku S, et al. KCNQ channel openers reverse depressive symptoms via an active resilience mechanism. *Nature Commun* 2016; 24(7): 11671-8.
295. Aburawi SM, Al-Tubuly RA, Alghzewi EA, et al. Effects of calcium channel blockers on antidepressant action of alprazolam and imipramine. *Libyan J Med* 2007; 2(4): 169-75.
296. Amann B, Grunze H. Neurochemical underpinnings in bipolar disorder and epilepsy. *Epilepsia* 2005; 46 (Suppl 4): 26-30.
297. Karacaer F. Ketamin: Yeni Bir Antidepresan. *Psikiyatri Güncel Yaklaşımlar* 2015; 7(1): 30-40.
298. Akpınar A, Ünal GÖ, İnci Meltem A, et al. Vareniklin Kullanımı Sonrası İleri Yaş Başlangıçlı Mani: Bir Olgu Sunumu. *Noropsikiyatri Arsivi* 2013; 50(4): 372-4.
299. Abdelhamid RE, Kovács KJ, Nunez MG, et al. Depressive behavior in the forced swim test can be induced by TRPV1 receptor activity and is dependent on NMDA receptors. *Pharmacolog res* 2014; 79: 21-27

300. You IJ, Jung YH, Kim MJ, et al. Alterations in the emotional and memory behavioral phenotypes of transient receptor potential vanilloid type 1-deficient mice are mediated by changes in expression of 5-HT. 2012; 62(2):1034-43.
301. Shibasaki K, Sugio S, Takao K, et al. TRPV4 activation at the physiological temperature is a critical determinant of neuronal excitability and behavior. *Pflügers Arch* 2015; 467(12): 2495–507.
302. Buran İ, Etem EÖ, Tektemur A, et al. Treatment with TREK1 and TRPC3/6 ion channel inhibitors upregulates microRNA expression in a mouse model of chronic mild stress. *Neurosci Lett* 2017; 656: 51-7.
303. Tsai SJ, Sipatrigine could have therapeutic potential for major depression and bipolar depression through antagonism of the two-pore-domain K⁺ channel TREK-1. *Med Hypotheses* 2008; 70(3): 548-50.
304. Bröker-Lai J, Kollwe A, Schindeldecker B, et al. Heteromeric channels formed by TRPC 1 TRPC 4 and TRPC 5 define hippocampal synaptic transmission and working memory. *EMBO J* 2017; 36(18): 2770-89.
305. Cheung SY, Henrot M, Al-Saad M, et al. TRPC4/TRPC5 channels mediate adverse reaction to the cancer cell cytotoxic agent (-)-Englerin A. *Oncotarget* 2018; 9(51): 29634-43.
306. Piao H, Takahashi K, Yamaguchi Y, et al. Transient receptor potential melastatin-4 is involved in hypoxia-reoxygenation injury in the cardiomyocytes. *PLoS One*, 2015; 10(4): e0121703.
307. Srisontiyakul J, Kastman HE, Krstew EV, et al. The nicotinic $\alpha 6$ -subunit selective antagonist bPiDI reduces alcohol self-administration in alcohol-preferring rats. *Neurochem Res* 2016; 41(12): 3206-14.
308. Lam VY, Rainecki C, Takeuchi LE, et al. Chronic stress alters behavior in the forced swim test and underlying neural activity in animals exposed to alcohol prenatally: sex-and time-dependent effects. *Front Behav Neurosci* 2018; 12(42): 1-19.
309. Chandrasekhar Y, Ramya EM, Navya K, et al. Antidepressant like effects of hydrolysable tannins of *Terminalia catappa* leaf extract via modulation of hippocampal plasticity and regulation of monoamine neurotransmitters

- subjected to chronic mild stress (CMS). *Biomed Pharmacother* 2017; 86: 414-25
310. Dang H, Chen Y, Liu X, et al. Antidepressant effects of ginseng total saponins in the forced swimming test and chronic mild stress models of depression. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33(8): 1417-24.
 311. Tianzhu Z, Shihai Y, Juan D. Antidepressant-like effects of cordycepin in a mice model of chronic unpredictable mild stress. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014; 2014: 1-9.
 312. Lu M, Yang JZ, Geng F, et al. Iptakalim confers an antidepressant effect in a chronic mild stress model of depression through regulating neuro-inflammation and neurogenesis. *Int J Neuropsychopharmacol* 2014; 17(9): 1501-10.
 313. Jiang Y, Wang Y, Sun X, et al. Short-and long-term antidepressant effects of ketamine in a rat chronic unpredictable stress model. *Brain behav* 2017; 7(8): e00749.
 314. Yang LP, Jiang FJ, Wu GS, et al. Acute treatment with a novel TRPC4/C5 channel inhibitor produces antidepressant and anxiolytic-like effects in mice. *PloS one* 2015; 10(8): e0136255.
 315. Çalışkan H, Fırat A, Zaloğlu N. Şartsız Hayvan Anksiyete Testleri. *Ankara Sağlık Hizmetleri Derg* 2017; 16(1): 35-40.
 316. Uzbay T. Madde bağımlılığı çalışmalarında kullanılan deneysel hayvan modelleri. *Meslek İçi Sürekli Eğitim Derg* 2009; 49-63
 317. Han J, Wang DS, Liu SB, et al. Cytisine a partial agonist of $\alpha 4\beta 2$ nicotinic acetylcholine receptors reduced unpredictable chronic mild Stress-Induced depression-like behaviors. *Biomol Ther* 2016; 24(3): 291-7.
 318. Chen C, Wang L, Rong X, et al. Effects of fluoxetine on protein expression of potassium ion channels in the brain of chronic mild stress rats. *Acta Pharm Sin B* 2015; 5(1): 55-61.
 319. Qi X, Xu H, Wang L, et al. Comparison of therapeutic effects of TREK1 blockers and fluoxetine on chronic unpredicted mild stress sensitive rats. *ACS chem neurosci* 2018; 9(11): 2824-31.

320. Tsvyetlynska NA, Hill RH, Grillner S. Role of AMPA receptor desensitization and the side effects of a DMSO vehicle on reticulospinal EPSPs and locomotor activity. *J Neurophysiol* 2005; 94(6): 3951-60.
321. Rosenblum WI, Wei EP, Kontos HA. Dimethylsulfoxide and ethanol commonly used diluents prevent dilation of pial arterioles by openers of KATP ion channels. *Eur J Pharmacol* 2001; 430(1): 101-6.
322. Colucci M, Maione F, Bonito MC, et al. New insights of dimethyl sulphoxide effects (DMSO) on experimental in vivo models of nociception and inflammation. *Pharmacol Res* 2008; 57(6): 419-25.
323. Notman R, Noro M, O'Malley B, et al. Molecular basis for dimethylsulfoxide (DMSO) action on lipid membranes. *J Am Chem Soc* 2006; 128(43): 13982-3.
324. He F, Liu W, Zheng S, et al. Ion transport through dimethyl sulfoxide (DMSO) induced transient water pores in cell membranes. *Mol Membr Biol* 2012; 29(3-4): 107-13.
325. Yang B, Kim JK, Verkman AS. Comparative efficacy of HgCl₂ with candidate aquaporin-1 inhibitors DMSO, gold, TEA⁺ and acetazolamide. *FEBS Lett* 2006; 580(28-29): 6679-84.
326. Matsumoto M, Riker WK, Takashima K, et al. DMSO effects on synaptic facilitation and calcium dependence in bullfrog sympathetic ganglion. *Eur J Pharmacol* 1985; 109(2): 213-8.
327. Lu C, Mattson MP. Dimethyl sulfoxide suppresses NMDA-and AMPA-induced ion currents and calcium influx and protects against excitotoxic death in hippocampal neurons. *Exp Neurol* 2001; 170(1): 180-5.
328. Jacob SW, Jack C. Dimethyl sulfoxide (DMSO) in trauma and disease. 1st Edition, London: CRC Press, 2015.
329. Evans MS, Reid KH, Sharp Jr JB. Dimethylsulfoxide (DMSO) blocks conduction in peripheral nerve C fibers: a possible mechanism of analgesia. *Neurosci Lett* 1993; 150(2): 145-8.
330. Cavas M, Beltrán D, Navarro JF. Behavioural effects of dimethyl sulfoxide (DMSO): changes in sleep architecture in rats. *Toxicol Lett* 2005; 157(3): 221-32.

331. Authier N, Dupuis E, Kwasiborski A, et al. Behavioural assessment of dimethylsulfoxide neurotoxicity in rats. *Toxicol Lett* 2002; 132(2): 117-21.
332. Matheus MG, De-Lacerda JC, Guimaraes FS. Behavioral effects of "vehicle" microinjected into the dorsal periaqueductal grey of rats tested in the elevated plus maze. *Braz J Med Biol Res* 1997; 30: 61-4.
333. Castro CA, Hogan JB, Benson KA, et al. Behavioral effects of vehicles: DMSO ethanol Tween-20 Tween-80 and emulphor620. *Pharmacol Biochem Behav* 1995; 50(4): 521-6.
334. Penazzi L, Lorengel J, Sündermann F, et al. DMSO modulates CNS function in a preclinical Alzheimer's disease model. *Neuropharmacol* 2017; 113: 434-44.
335. Çelik FH, Hocaoglu Ç. Major Depresif Bozukluk Tanımı Etyolojisi ve Epidemiyolojisi: Bir Gözden Geçirme. *Çağdaş Tıp Derg* 2016; 6: 51-66.
336. Vásquez CE, Riener R, Reynolds E, et al. NMDA receptor dysregulation in chronic state: a possible mechanism underlying depression with BDNF downregulation. *Neurochem Int* 2014; 79: 88-97.
337. Lambe EK, Aghajanian GK. The role of Kv1 2-containing potassium channels in serotonin-induced glutamate release from thalamocortical terminals in rat frontal cortex. *J Neurosci* 2001; 21(24): 9955-63.
338. Alés E, Gullo F, Arias, E et al. Blockade Of Ca²⁺-Activated K⁺ Channels By Galantamine Can Also Contribute To The Potentiation Of Catecholamine Secretion From Chromaffin Cells. *Eur J Pharmacol* 2006; 548: 45-52.
339. Momboise F, Olivares MJ, Báez-Matus X, et al. Pannexin 1 channels: new actors in the regulation of catecholamine release from adrenal chromaffin cells. *Front Cell Neurosci* 2014; 8: 270-82.
340. Yoshimura R, Yanagihara N, Terao T, et al. Inhibition by carbamazepine of various ion channels-mediated catecholamine secretion in cultured bovine adrenal medullary cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 1995; 352(3): 297-303.
341. Yanagita T, Maruta T, Uezono Y, et al. Lithium inhibits function of voltage-dependent sodium channels and catecholamine secretion

- independent of glycogen synthase kinase-3 in adrenal chromaffin cells. *Neuropharmacol* 2007; 53(3): 881-9.
342. Fan Y, Kong H, Ye X, et al. ATP-sensitive potassium channels: uncovering novel targets for treating depression. *Brain Struct Funct* 2016; 221(6): 3111-22.
 343. Ai Z, Cheng AF, Yu YT, et al. Antidepressant-like behavioral anatomical and biochemical effects of petroleum ether extract from maca (*Lepidium meyenii*) in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *J Med Food* 2014; 17(5): 535-42.
 344. Grønli J, Fiske E, Murison R, et al. Extracellular levels of serotonin and GABA in the hippocampus after chronic mild stress in rats A microdialysis study in an animal model of depression. *Behav Brain Res* 2007; 181(1): 42-51.
 345. Bekris S, Antoniou K, Daskas S, et al. Behavioural and neurochemical effects induced by chronic mild stress applied to two different rat strains. *Behav Brain Res* 2005; 161(1): 45-59.
 346. Li LF, Lu J, Li XM, et al. Antidepressant-like effects of the saponins extracted from Chaihu-jia-longgu-muli-tang in a rat unpredictable chronic mild stress model. *Fitoterapia* 2012; 83(1): 93-103.
 347. Gamaro GD, Manoli LP, Torres ILS, et al. Effects of chronic variate stress on feeding behavior and on monoamine levels in different rat brain structures. *Neurochem Int* 2003; 42(2): 107-14.
 348. Li JM, Kong LD, Wang YM, et al. Behavioral and biochemical studies on chronic mild stress models in rats treated with a Chinese traditional prescription. Banxia-houpu decoction. *Life Sci* 2003; 74(1): 55-73
 349. Willner P, Golembiowska K, Klimek V, et al. Changes in mesolimbic dopamine may explain stress-induced anhedonia. *Psychobiology* 1991; 19(1): 79-84.
 350. Azpiroz A, Fano E, Garmendia L, et al. Effects of chronic mild stress (CMS) and imipramine administration on spleen mononuclear cell proliferative response serum corticosterone level and brain norepinephrine content in male mice. *Psychoneuroendocrinology* 1999; 24(3): 345-61.

351. Yalcin I, Aksu F, Bodard S, et al. Antidepressant-like effect of tramadol in the unpredictable chronic mild stress procedure: possible involvement of the noradrenergic system. *Behav Pharmacol* 2007; 18(7): 623-31.
352. Naveen S, Siddalingaswamy M, Singait D, et al. Anti-depressive effect of polyphenols and omega-3 fatty acid from pomegranate peel and flax seed in mice exposed to chronic mild stress. *Psychiatry Clin Neurosci* 2013; 67(7): 501-8.
353. Bhutani MK, Bishnoi M, Kulkarni SK. Anti-depressant like effect of curcumin and its combination with piperine in unpredictable chronic stress-induced behavioral biochemical and neurochemical changes. *Pharmacol Biochem Behav* 2009; 92(1) 39-43.
354. Belujon P, Grace AA. Dopamine system dysregulation in major depressive disorders. *Int J Neuropsychopharmacol* 2017; 20(12): 1036-46.
355. Jay TM. Dopamine: a potential substrate for synaptic plasticity and memory mechanisms *Prog Neurobiol* 2003; 69(6): 375-90.
356. Stamford JA, Muscat R, O'Connor JJ, et al. Voltammetric evidence that subsensitivity to reward following chronic mild stress is associated with increased release of mesolimbic dopamine. *Psychopharmacology* 1991; 105(2): 275-82.
357. Venton BJ, Seipel AT, Phillips PE, et al. Cocaine increases dopamine release by mobilization of a synapsin-dependent reserve pool. *J Neurosci* 2006; 26(12): 3206-9.
358. Butcher SP, Fairbrother IS, Kelly JS, Arbuthnott GW. Amphetamine-induced dopamine release in the rat striatum: an in vivo microdialysis study. *J Neurochem* 1988; 50(2): 346-55.
359. Mari L, Ramo J. The effect of verapamil on GABA and dopamine release does not involve voltage-sensitive calcium channels. *Brain Res* 1990; 534(1-2): 51-9.
360. Reiriz J, Ambrosio S, Cobos A, et al. Dopaminergic function in rat brain after oral administration of calcium-channel blockers or haloperidol. A microdialysis study. *J Neural Transm Gen Sect* 1994; 95(3): 195-207.

361. Cachope R, Cheer JF. Local control of striatal dopamine release. *Frontiers in behavioral neuroscience* 2014; 8: 188-95.
362. Dawson LA, Routledge C. Differential effects of potassium channel blockers on extracellular concentrations of dopamine and 5-HT in the striatum of conscious rats. *Br J Pharmacol* 1995; 116(8): 3260-4.
363. Cass WA, Zahniser NR. Potassium Channel Blockers Inhibit D2 Dopamine but Not A1Adenosine Receptor-Mediated Inhibition of Striatal Dopamine Release. *J Neurochem* 1991; 57: 147–52.
364. Martel P, Leo D, Fulton S, et al. Role of Kv1 potassium channels in regulating dopamine release and presynaptic D2 receptor function. *PloS One* 2011; 6(5): e20402.
365. Sulak O, Malas MA. Kolinerjik sistemin morfogenetik olaylarda ve kanser oluşumundaki rolü. *SDÜ Tıp Fakültesi Derg* 2002; 9(3): 14-7.
366. Higley MJ, Picciotto MR. Neuromodulation by acetylcholine: examples from schizophrenia and depression. *Curr Opin Neurobiol* 2014; 29: 88-95.
367. Dagyte G, Den Boer JA, Trentani A. The cholinergic system and depression. *Behav Brain Res* 2011; 221(2): 574–82.
368. Tagliari B, Tagliari AP, Schmitz F, et al. Chronic variable stress alters inflammatory and cholinergic parameters in hippocampus of rats. *Neurochem Res* 2011; 36(3): 487-93.
369. Srikumar BN, Raju TR, Shankaranarayana Rao BS. The involvement of cholinergic and noradrenergic systems in behavioral recovery following oxotremorine treatment to chronically stressed rats. *Neuroscience* 2006; 143(3): 679–88.
370. Bhakta A, Gavini K, Yang E, et al. Chronic traumatic stress impairs memory in mice: potential roles of acetylcholine neuroinflammation and corticotropin releasing factor expression in the hippocampus. *Behav Brain Res* 2017; 335: 32-40.
371. Wessler I, Dooley DJ, Osswald H, Schlemmer F. Differential blockade by nifedipine and ω -Conotoxin GVIA of α 1- and β 1-adrenoceptor-controlled calcium channels on motor nerve terminals of the rat. *Neurosci Lett* 1990; 108(1-2): 173-8.

372. Hong SJ, Chang CC. Inhibition of acetylcholine release from mouse motor nerve by a P- type calcium channel blocker omega- agatoxin IVA. *J Physiol* 1995; 482(2): 283-90.
373. Tamura N, Yokotani K, Okuma Y, et al. Properties of the voltage-gated calcium channels mediating dopamine and acetylcholine release from the isolated rat retina *Brain Res* 1995; 676(2): 363-70.
374. Lavretsky EP, Jarvik LF. A group of potassium-channel blockers-acetylcholine releasers: New potentials for Alzheimer disease? A review. *J Clin Psychopharmacol* 1992; 12(2): 110-8.
375. Mallart A. A calcium-activated potassium current in motor nerve terminals of the mouse. *J Physiol* 1985; 368: 577-91.
376. Geron N, Meiri H. The fusogenic substance dimethyl sulfoxide enhances exocytosis in motor nerve endings. *Biochim Biophys Acta Biomembr* 1985; 819(2): 258-62.
377. Majdi S, Najafinobar N, Dunevall J, et al. DMSO chemically alters cell membranes to slow exocytosis and increase the fraction of partial transmitter released. *ChemBioChem* 2017; 18(19): 1898-1902.
378. Smith KJ, Chess-Williams R, McDermott C. Luminal DMSO: effects on detrusor and urothelial/lamina propria function. *BioMed Res Int* 2014; 2014: 1-8.
379. Kumar A, Darreh-Shori T. DMSO: a mixed-competitive inhibitor of human acetylcholinesterase. *ACS Chem Neurosci* 2017; 8(12): 2618-25.
380. Yang B, Lin H, Xiao J, et al. The muscle-specific microRNA miR-1 regulates cardiac arrhythmogenic potential by targeting GJA1 and KCNJ2. *Nature Med* 2007; 13(4): 486-491.
381. Luo X, Lin H, Pan Z, et al. Down-regulation of miR-1/miR-133 contributes to re-expression of pacemaker channel genes HCN2 and HCN4 in hypertrophic heart. *J Bio Chem* 2008; 283(29): 20045-52.
382. Parthasarathy PT, Galam L, Huynh B, et al. MicroRNA 16 modulates epithelial sodium channel in human alveolar epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 426(2): 203-8.

383. Favereaux A, Thoumine O, Bouali-Benazzouz R, et al. Bidirectional integrative regulation of Cav1.2 calcium channel by microRNA miR-103: role in pain. *J EMBO* 2011; 30(18): 3830-41.
384. Wang Z. miRNA in the regulation of ion channel/transporter expression. *Compr Physiol* 2013; 3(2): 599-653.
385. Ru Q, Li WL, Xiong Q, et al. Voltage-gated potassium channel blocker 4-aminopyridine induces glioma cell apoptosis by reducing expression of microRNA-10b-5p. *Mol Biol Cell* 2018; 29(9): 1125-36.
386. Ru Q, Tian X, Pi MS, et al. Voltage gated K⁺ channel blocker quinidine inhibits proliferation and induces apoptosis by regulating expression of microRNAs in human glioma U87MG cells. *Int J Oncol* 2015; 46(2): 833-40.
387. Nishimura M, Nikawa T, Kawano Y, et al. Effects of dimethyl sulfoxide and dexamethasone on mRNA expression of housekeeping genes in cultures of C2C12 myotubes. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 367(3): 603-8.
388. Choi S, Sainz B, Jr Corcoran P, et al. Characterization of increased drug metabolism activity in dimethyl sulfoxide (DMSO)-treated Huh7 hepatoma cells. *Xenobiotica* 2009; 39(3): 205-217
389. Wilkening S, Bader A. Differential regulation of CYP3A4 and CYP3A7 by dimethylsulfoxide in primary human hepatocytes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2004; 95(2): 92-93
390. Nishimura M, Ueda N, Naito S. Effects of dimethyl sulfoxide on the gene induction of cytochrome P450 isoforms UGT-dependent glucuronosyl transferase isoforms and ABCB1 in primary culture of human hepatocytes. *Biol Pharm Bull* 2003; 26(7): 1052-1056
391. Sumida K, Igarashi Y, Toritsuka N, et al. Effects of DMSO on gene expression in human and rat hepatocytes. *Hum Exp Toxicol* 2011; 30(10): 1701-9.
392. Verheijen M, Lienhard M, Schrooders Y, et al. DMSO induces drastic changes in human cellular processes and epigenetic landscape in vitro. *Sci Rep* 2019; 9(1): 4641-53.

393. Pons-Espinal M, Gasperini C, Marzi MJ, et al. MiR-135a-5p Is Critical for Exercise-Induced Adult Neurogenesis. *Stem Cell Rep* 2019; 12(6): 1298-312.
394. Dong C, Wong ML, Licinio J. Sequence variations of ABCB1 SLC6A2 SLC6A3 SLC6A4 CREB1 CRHR1 and NTRK2: association with major depression and antidepressant response in Mexican-Americans. *Mol Psychiatry* 2009; 14(12): 1105-18.
395. Sullivan SE, Jamieson S, de Nijs L, et al. microRNA regulation of persistent stress-enhanced memory. *Mol Psychiatry* 2019; 1-12.
396. Rossi M, Kilpinen H, Muona M, et al. Allele-specific regulation of DISC1 expression by miR-135b-5p. *Eur J Hum Genet* 2014; 22(6): 840-3.
397. Gass P, Riva MA. CREB neurogenesis and depression. *Bioassays* 2007; 29(10): 957-61.
398. Schosser A, Butler AW, Uher R, et al. Genome-wide association study of co-occurring anxiety in major depression. *World J Biol Psychiatry* 2013; 14(8): 611-21.
399. Bunney WE, Bunney BG. Molecular clock genes in man and lower animals: possible implications for circadian abnormalities in depression *Neuropsychopharmacol* 2000; 22(4): 335-45.
400. Shi R, Zhang S, Cheng G, et al. Ginsenoside Rg1 and Acori Graminei Rhizoma Attenuates Neuron Cell Apoptosis by Promoting the Expression of miR-873-5p in Alzheimer's Disease. *Neurochem Res* 2018; 43(8): 1529-38.
401. Balakathiresan NS, Chandran R, Bhomia M, et al. Serum and amygdala microRNA signatures of posttraumatic stress: fear correlation and biomarker potential. *J Psychiatric Res* 2014; 57: 65-73.
402. Brummett BH, Babyak MA, Williams RB, et al. A putatively functional polymorphism in the HTR2C gene is associated with depressive symptoms in white females reporting significant life stress *PloS One* 2014; 9(12): e114451.

403. Liu Y, Wang L, Lao J, et al. Changes in microRNA expression in the brachial plexus avulsion model of neuropathic pain. *Int J Mol Cell Med* 2018; 41(3): 1509-17.
404. Illi A, Setälä-Soikkeli E, Viikki M, et al. 5-HTR1A 5-HTR2A 5-HTR6 TPH1 and TPH2 polymorphisms and major depression. *Neuroreport* 2009; 20(12): 1125-8.
405. Elovainio M, Jokela M, Kivimäki M, et al. Genetic variants in the DRD2 gene moderate the relationship between stressful life events and depressive symptoms in adults: cardiovascular risk in young Finns study. *Psychosom Med* 2007; 69(5): 391-5.
406. Wingo TS, Yang J, Fan W, et al. Brain microRNAs associated with late-life depressive symptoms are also associated with cognitive trajectory and dementia. *bioRxiv*, 2019; 1-22.
407. Ceylan D, Tufekci KU, Keskinoglu P, et al. Circulating exosomal microRNAs in bipolar disorder. *J Affect Disord* 2020; 262: 99-107.
408. Hara N, Kikuchi M, Miyashita A, et al. Serum microRNA miR-501-3p as a potential biomarker related to the progression of Alzheimer's disease. *Acta Neuropathol Commun* 2017; 5(1): 10-9.
409. Hu Z, Li Z. miRNAs in synapse development and synaptic plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 2017; 4(5): 24-31.
410. Weizman R, Laor N, Podliszewski E, et al. Cytokine production in major depressed patients before and after clomipramine treatment. *Biol Psychiatry* 1994; 35(1): 42-7.
411. Hodes GE, Kana V, Menard C, et al. Neuroimmune mechanisms of depression. *Nature Neurosci* 2015; 18(10): 1386-93
412. Milanesi E, Bonvicini C, Congiu C, et al. The role of GRIK4 gene in treatment-resistant depression. *Genet Res* 2015; 97: e14.
413. Liu GX, Cai GQ, Cai YQ, et al. Reduced anxiety and depression-like behaviors in mice lacking GABA transporter subtype 1. *Neuropsychopharmacol* 2007; 32(7): 1531-9.

414. Dwivedi Y. *microRNA Function and Dysregulation in Depression and Suicide*. Phenomenology and Neurobiology. 1st Edition, USA: Springer, 2014.
415. Garbett KA, Vereczkei A, Kálmán S, et al. Fibroblasts from patients with major depressive disorder show distinct transcriptional response to metabolic stressors. *Transl Psychiatry* 2015; 5(3): e523.
416. Zhao C, Huang C, Weng T, et al. Computational prediction of MicroRNAs targeting GABA receptors and experimental verification of miR-181 miR-216 and miR-203 targets in GABA-A receptor. *BMC Res Notes* 2012; 5(1): 91-9.
417. Dwivedi Y, Roy B, Lugli G, et al. Chronic corticosterone-mediated dysregulation of microRNA network in prefrontal cortex of rats: relevance to depression pathophysiology. *Transl Psychiatry* 2015; 5(11): e682.
418. Mendes AP, Silva M, de Souza E, et al. Biological pathways found in common between alzheimer's disease and major depression: a study on microrna expression in a systematic review. *Alzheimers Dement* 2016; 12(7): 886-7.
419. Bocchio-Chiavetto L, Maffioletti E, Bettinsoli P, et al. Blood microRNA changes in depressed patients during antidepressant treatment. *Eur Neuropsychopharmacol* 2013; 23(7): 602-11.
420. Yuan H, Mischoulon D, Fava M, et al. Circulating microRNAs as biomarkers for depression: many candidates few finalists. *J Affect Disord* 2018; 233: 68-78.
421. Enatescu VR, Papava I, Enatescu I, et al. Circulating plasma micro RNAs in patients with major depressive disorder treated with antidepressants: a pilot study. *Psychiatry Investig* 2016; 13(5): 549.
422. Kassai F, Schlumberger C, Kedves R, et al. Effect of 5-HT5A antagonists in animal models of schizophrenia anxiety and depression. *Behav Pharmacol* 2012; 23(4): 397-406.

ÖZGEÇMİŞ

1. Kişisel Bilgiler

Doğum Tarihi: 22.08.1989

Doğum Yeri: Elazığ

Telefon: 0424 237 00 00 / 4646

e-mail: ilayburan@hotmail.com / iburan@firat.edu.tr

2. Öğrenim Bilgileri

Lise: Elazığ Merkez Anadolu Lisesi (2003-2007)

Lisans: Fırat Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü (2008-2012)

Yüksek Lisans: Mersin Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (2012-2015)

Tez Başlığı: Fare Depresyon Modelinde TREK1 ve TRPC3/6 İyon Kanal İnhibitörlerinin mikroRNA Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması.

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Halit ELYAS

Tez Eş Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Emin Erdal

Doktora: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı (2015-2020)

Tez Başlığı: Kronik Hafif Stres ile Oluşturulan Sıçan Depresyon Modelinde İyon Kanal İnhibitörlerinin Tedavi Etkinliğinin Belirlenmesi.

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Ebru Önalın

3. İşyeri Bilgileri

1. Araştırma Görevlisi, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 2013 – 2017.

2. Araştırma Görevlisi, Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 2017 – Devam Ediyor.

4. Yayınlar

1. akır Z, Yıldırım C, Buran İ, Önalın E, Bal R. Acid-sensing ion channels (ASICs) influence excitability of stellate neurons in the mouse cochlear nucleus. Journal of Comparative Physiology A 2019; 205(5): 769-81.

2. Yalcin E, Pala ř, Atilgan R, Kuloğlu T, nalın E, Artaş G, Buran I. Is there any difference between endometrial hyperplasia and endometrial carcinoma in terms of expression of TRPM2 and TRPM7 ion channels. Turkish journal of medical sciences 2019; 49(2): 653-60.

3. Buran İ, nalın E, Tektemur A, Elyas HM. Treatment with TREK1 and TRPC3/6 ion channel inhibitors upregulates microRNA expression in a mouse model of chronic mild stress. Neuroscience Letters 2017; 656: 51-57.

4. nalın E, Bal R, Akağaç AE, Kuloğlu T, Tuzcu M, Andrievsky GV, Buran İ, Nedzvetsky V, Baydas G. The effects of hydrated C(60) fullerene on gene expression profile of TRPM2 and TRPM7 in hyperhomocysteinemic mice. Journal of Receptors and Signal Transduction 2014; 34(4): 317-24.

4. Bildiriler

1. Önalın E, Tektemur A, Buran İ, Özaydın S. Administration Of Testosterone Propionate Changes Significantly The Expressions of ion Channel Genes İn The Mouse Prostate Tissues. Sözlü Sunum, 7th World Congress Of Oxidative Stress Calcium Signaling and TRP Channels. Journal of Cellular Neuroscience & Oxidative Stress 20-23 Nisan 2018; 10(2): 2149-7222, Antalya, Türkiye.

2. Önalın E, Buran İ, Tektemur A, Çalık İ, Kuloğlu T, Danış N, Erbay B. Investigating of Piezo 1 And Piezo 2 ion Channel expressions in Human Primary Malignantmesothelioma. Poster Sunumu, 7th World Congress of Oxidative Stress Calcium Signaling and TRP Channels. Journal of Cellular Neuroscience & Oxidative Stress 20-23 Nisan 2018; 10(2): 2140-7222, Antalya, Türkiye.

3. Erbay B, Önalın E, Buran İ, Tektemur A, Kuloğlu T, Seferoğulları S, Erol D, Özercan İH. Investigation of The Mitochondrial Biogenesis Pathways İn Premature Ovarian Failure Rat Models. Poster Sunumu, 7th World Congress of oxidative Stress Ccalcium Signaling and TRP Channels. Journal of Cellular Neuroscience & Oxidative Stress 20-23 Nisan 2018; 10(2): 2149-7222, Antalya, Türkiye.

4. Önalın E, Buran İ, Tektemur A, Çalık İ, Danış N. Sonic Hedgehog Signal Pathway has Changed in Testicular Cancer Poster. Sunumu 7th World Congress of Oxidative Stresscalcium Signaling and TRP Channels. Journal of Cellular Neuroscience & Oxidative Stress 20-23 Nisan 2018; 10(2): 2149-7222, Antalya, Türkiye.

5. Özcan MT, Yılmaz N, Coşkun YB, Yılmaz ŞN, Erdal ME, Buran İ, Orekici TG, Doğaner A. Expression of Trpv6 And Pmca1 in The Mid-Secretory Endometrium Of Infertile Patients With Endometriosis and Unexplained Infertility. Poster Sunumu, 19th World Congress on IVF in Conjunction With VI. Society Of Reproductive Medicine And Surgery Congress 04 Ekim-08 Ekim 2017, Antalya, Türkiye.

6. Önalın E, Buran İ, Tektemur A, Kuloğlu T, Özercan İH. Curative Effects Of Swimming Excercise In Obese Pcos Rat Model. Sözlü Sunum, 3rd International Conference On Science Ecology And Technology 14-16 Ağustos 2017, Rome, İtaly.

7. Buran İ, Ay E, Doğru G, Ay İÖ, Karakaş Ü, Çevik K, Yüksel D, Dilek TUK, Erdal ME. Aneuploidy Findings On Two Different Pregnancy Loss Materials From The Same Mother, Poster Sunumu, The European Human Genetics Conference 21-24 Mayıs 2016, Barcelona, Spain.

8. Yüksel D, Ay İÖ, Ay E, Tezol E, Doğru G, Çevik K, Karakaş Ü, Çayan F, Buran İ, Erdal ME. The Case Of Der 5 T 5 14 Mat Caused By Adjacent I Meiotic Segregation İn Prenatal Diagnosis. Poster Sunumu, The European Human Genetics Conferance 21-24 Mayıs 2016, Barcelona, Spain.

9. Buran İ, Önalın E, Tektemur A, Elyas HM. Fare Depresyon Modelinde Trek1 ve Trpc3 6 İyon Kanal İnhibitörlerinin mikroRNA Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin Araştırılması. Sözlü Sunum, XIV. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2015, Fethiye, Türkiye.

10. Önalın E, Bal R, Buran İ, Mori Yosio, İlhan N. Tranient Receptor Potential Melastatin 2 Ion Channel Can Modifies Mood-Related Behaviours. Sözlü Sunum, 13. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2013, Kuşadası, Türkiye.

11. Önalın E, Bal R, Akağaç A, Öz E, Özaydın S, Buran İ, Tektemur A, Elyas H. Comparisons Of Ion Channel Expression Patterns İn Brain And Heart İn Hyperhomosisteinemic Mice. Poster Sunumu, 5th Cellular Neuroscience Days, 01 Haziran 2013, Isparta, Türkiye.

12. Önalın E, Bal A, Akağaç A, Kuloğlu T, Tuzcu M, Buran İ, Tykhomyrov AA, Nedzvedsky VS, Baydaş G. Hydrated C(60) Fullerene Ameliorate Gene Expression Profile Of Trpm2 And Trpm7 Disturbed By Hyperhomocysteinemia. Poster Sunumu, 20th Ifcc-Eflm European Congress Of Clinical Chemistry And Laboratory Medicine (Euromedlab) 19 Mayıs 2013, Milano, İtaly.

6. Projeler

1. Çatak O, Dal A, Önalın E, Buran İ. Asetil L Karnitin'in Arpe-19 Hücrelerinin Hipoksi Modelinde Antioksidan Parametreler ve VEGF Üzerine Etkilerinin Araştırılması (29.07.2019 – Devam Ediyor).

2. Önalın E, Önalın E, Çavlı C, Buran İ. Obez Hastalarda Serum Subfatin Düzeyi ve İnsülin Direnci İlişkisi (24.12.2018 – Devam Ediyor).

3. Önalın E, Önalın E, Doğan Y, Buran İ. Hipertansiyonlu Hastalarda Serum Elabela Düzeyi ile Hipertansif Nefropati İlişkisi (24.12.18 – Devam Ediyor).

4. Önalın E, Önalın E, Buran İ. Tip 2 Diyabet ve Obezite Tanılı Hastaların Beyaz Kan Hücrelerinde m6A RNA Modifikasyonlarının Araştırılması (24.12.2018 – Devam Ediyor).

5. Kılıç M, Beyazıt E, Önalın E, Taşkın E, Buran İ. Besin alerjisi olan çocuklarda barsak mikrobiyotası ve Toll-like reseptör 2 ve 4 polimorfizminin değerlendirilmesi (23.07.2018 – Devam Ediyor).

6. Tartar T, Saraç M, Bakal Ü, Önalın E, Kırık S, Buran İ, Kazez A. İnvajinasyon Olgularında Ailevi Akdeniz Ateşi'nin Moleküler Genetik Yöntemler İle Araştırılması, (14.09.2018- Devam Ediyor).

7. Önalın E, Buran İ, Kaçar E, Kuluğlu T, Tektemur A. Kronik Hafif Stres ile Oluşturulan Sıçan Depresyon Modelinde İyon Kanal İnhibitörlerinin Tedavi Etkinliğinin Belirlenmesi (13.06.2018 – Devam Ediyor).

8. Şen D, Önalın E, Kuloğlu T, Buran İ, ERBAY B. Prematür Over Yetmezlik Sıçan Modellerinde Mitokondrial Biyogenez Yolaklarının Araştırılması (05.07.2017 – 05.07.2019).

9. Önalın E, Ozan B, Kuloğlu T, Buran İ. Sıçan obsesif kompulsif bozukluk modelinde beyin nikotinik reseptörlerin rolünün araştırılması (05.07.2017 – 07.10.2019).

10. Koca SS, Çelik Ç, Karataş A, Dağlı AF, Önalın E, Öz B, Akar ZA, Buran İ. Bleomisin ile uyarılmış deneysel skleroderma modelinde secukinumab ve metformin tedavilerinin etkinliği (20.03.2018 – 18.04.2019).

11. Pala Ş, Atılğan R, Artaş G, Önalın E, Kuloğlu T, Yalçın E, Buran İ. Basit Endometrial Hiperplaziden Endometrium Kanserine Doğru Gelişen Süreçte TRPM Katyon Kanallarının Rolü (26.05.2017-30.01.2018).

12. Önalın E, Buran İ, Seferoğuları S, Kaplan O. Caenorhabditis elegans'ta yaşam süresi üzerine TRPV iyon kanal ailesi agonist ve antagonistlerinin etkilerinin araştırılması (13.06.2018 – Devam Ediyor).

13. Önalın E, Danış N, Onat E, Kuloğlu T, Buran İ. Mezenşimal Kök Hücre Kaynaklı Eksozomların L-NAME Sıçan Preeklampsi Modelinde Tedavi Edici Etkilerinin Araştırılması, 05.07.2017- 30.05.2019).

14. Elyas H, Önalın E, Buran İ. Fare depresyon modelinde TREK1 ve TRPC3/6 iyon kanal inhibitörlerinin mikroRNA ekspresyonları üzerine etkilerinin araştırılması (30.12.2013 - 20.07.2015).

15. Balcı AE, Önalın E, Özyurtkan MO, Buran İ, Polatoğlu S, Özercan İH. İnsan akciğer kanserlerinde Transient Reseptor Potansiyel Melastatin (TRPM) ve Piezo iyon kanallarının ekspresyonlarının araştırılması (15.03.2013- 08.02.2017).