

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

**SIÇAN OBSESİF KOMPULSİF BOZUKLUK
MODELİNDE BEYİN NİKOTİNİK REEPTÖRLERİNİN
ROLÜNÜN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Betül OZAN TÜRK

2019

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Doç. Dr. Ebru ÖNALAN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Ebru ÖNALAN

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Ebru ÖNALAN

Doç. Dr. İbrahim Tebedüloğlu

Dr. Öğr. Üyesi

Askeriye



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.

Betül OZAN TÜRK

Tarih: 16.08.2019

İmza: 13.08.19

Danışman

Doç. Dr. Ebru ÖNALAN

Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

İTHAF SAYFASI



Sevgili Eşime...

TEŞEKKÜR

Yüksek çalışmamın projelendirme aşamasından tamamlanmasına kadarki süreçte desteğini esirgemeyen, tecrübelerinden yararlandığım değerli tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Ebru ÖNALAN'a, lisansüstü eğitimim sürecinde bilgi ve birikiminden faydalandığım Sayın Prof. Dr. Halit ELYAS'a, doktora tezi çalışmalarım boyunca yardım ve önerilerini esirgemeyen tez izleme kurul üyeleri Sayın Dr. Öğr. Üyesi Deniz ŞEN ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Aşkın ŞEN'e

Tezimin deneysel kısmında bana destek olan değerli hocalarım Araş. Gör. İlay Buran'a ve Araş. Gör. Ahmet Türk'e , ve tüm bölüm asistan arkadaşlarıma,

Tezime sağladığı finansmandan dolayı Fırat Üniversitesi BilimselAraştırma Projeleri Birimi (FÜBAP)'ne,

Beni sabırla ve sevgiyle bu günlere getiren ve eğitim hayatım boyunca maddi manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayıp yakın ve kesintisiz ilgileriyle bana kendimi çok değerli hissettiren annem ve babama, varlıklarıyla beni hep mutlu eden canım kardeşlerim Yağmur, Selen, Şule OZAN'a ve yoğun çalışma temposu içerisinde yardımını eksik etmeyen kardeşim Bilal OZAN'a, bu süreçte bana en üst düzeyde destek olup her zaman yanımda olan sevgili eşim Ahmet TÜRK'e ve değerli ailemize,

Son olarak bu zorlu süreçte varlığının hissiyatıyla her anımda yanımda olan, en büyük hediyem ve en güzel moral kaynağım canım oğlum Eymen Emin'ime çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONAY SAYFASI	2
ETİK BEYAN	iii
İTHAF SAYFASI	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	x
KISALTMALAR LİSTESİ	xi
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3.GİRİŞ	5
3.1. Obsesif Kompulsif Bozukluk	5
3.1.1. Tanı Kriterleri	5
3.1.2. Klinik Özellikler	7
3.2. Obsesif Kompulsif Bozukluğun Epidemiyolojisi	8
3.3. Obsesif Kompulsif Bozukluğun Etyolojisi	9
3.3.1. Biyolojik Etkenler	9
3.3.1.1. Genetik	9
3.3.1.2. Nörotransmitterler	9
3.3.1.3. Beyin Görüntüleme Çalışmaları	10
3.3.2. Psikososyal Etkenler	11
3.3.2.1. Psikodinamik Etkenler	11
3.3.2.2. Kişilik Etkenleri	12
3.4. Obsesif Kompulsif Bozukluk ve Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri	12

3.4.1. Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri	14
3.4.2. Nikotinik Asetilkolin Alt Birimleri	15
3.5. Obsesif Kompulsif Bozukluğun Hayvan Modelleri	22
3.6. Transgenik Hayvan Modelleri	23
3.7. Farmakolojik Olarak İndüklenen Obsesif Kompulsif Bozukluk Hayvan Modelleri	24
3.7.1. Quinpirole İle İndüklenen Kompulsif Kontrol Modeli	25
3.7.2. Davranışsal Manipülasyona Dayalı OKB Hayvan Modelleri	27
4. GEREÇ VE YÖNTEM	29
4.1. Deney Hayvanları Üzerinde Yapılan Çalışmalar	29
4.2. Kullanılan Araçlar-Gereçler	29
4.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	30
4.3. Deney Hayvanları Gruplandırılması	30
4.3.1. Kontrol Grubu (K)	30
4.3.2. Quinpirole Grubu	31
4.3.3. Quinpirole + SİSTİSİN Agonist Grubu	31
4.3.4. Quinpirole + SİB-1508Y Agonist Grubu	31
4.3.5. Quinpirole + GTS-21 Agonist Grubu	31
4.3.6. Açık Alan Testi	31
4.4. Moleküler Analizler	32
4.4.1. Kantitatif Real-Time PCR Analizleri	33
4.4.1.1. RNA Ölçümü	34
4.4.1.2. Komplementer DNA Sentezi	34
4.4.1.3. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (qRT-PCR) ile cDNA Amplifikasyonu	35
4.4.2. ELİSA Analizleri	38

4.5.1. Dopamin ELİSA Kit Protokolü	38
4.6. İstatistiksel Değerlendirmeler	40
5. BULGULAR	41
5.1. RT-PCR bulgularının değerlendirilmesi	41
5.1.1. Beynin hipokampus bölgesinde nikotinik asetilkolin reseptör gen ifadelerin değerlendirilmesi	41
5.1.2. Beynin striatum bölgesinde nikotinik asetilkolin reseptör gen ifadelerin değerlendirilmesi	43
5.1.3. Beynin korteks bölgesinde nikotinik asetilkolin reseptör gen ifadelerin değerlendirilmesi	46
5.2. Davranış Deneyi Analizleri	49
5.3. Beyin nörotransmitter düzeylerinin değerlendirilmesi	52
7. ÖNERİLER	67
8. KAYNAKLAR	68
ÖZGEÇMİŞ	78

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. İn situ hibridizasyon tekniği ile elde edilen nAChRs'in bireysel veya gruplandırılmış alt ünitelerin anatomik lokalizasyonu (56).	22
Tablo 2. cDNA karışım miktarı (10µl'lik reaksiyon) (The High Capacity RNA-to-cDNA™ Kit, Applied Biosystems, Katalog No: 4387406).	35
Tablo 3. cDNA sentezi PCR programı	35
Tablo 4 qRT-PCR'da Kullanılan Primerler (Qiagen, Almanya).	36
Tablo 5. RT-PCR İçin Kullanılan Bileşikler	37
Tablo 6. RT-PCR Programı	38
Tablo 7: Beynin hipokampus dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin mRNA kat değişimleri	42
Tablo 8: Beynin sitriatum dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin mRNA kat değişimleri	45
Tablo 9: Beynin korteks dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin mRNA kat değişimleri	48
Tablo 10: Davranış Deneyi Analizleri.	51
Tablo 11: Beyin ST, DP ve ACh düzeyleri.	52

ŞEKİL LİSTESİ

- Şekil 1.** İnsan beyinde tanımlanan nAChR alt tiplerinin bölgesel dağılımı 11
- Şekil 2:** Por çevresinde pentamerler şeklinde düzenlenmiş nAChR alt birimlerinin didaktik gösterimi yukardaki şekilde gösterilmiştir. 14
- Şekil 3.** Açık alan testinin şematik gösterimi ve nesnelerin düzenlenmesi (53). 32
- Şekil 4.** Beynin hipokampus dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin clustergram haritalaması 43
- Şekil 5.** Beynin striatum dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin clustergram haritalaması 46
- Şekil 6.** Beynin korteks dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin clustergram haritalaması 49

KISALTMALAR LİSTESİ

OKB	: Obsesif Kompulsif Bozukluk
SRI	: Serotonin Geri Alım İnhibitörü
DP	: Dopamin
QNP	: Quinpirol
nAChR	: Nikotinik Asetil Kolin İnhibitörleri
K	: Kontrol
CYT	: Sistisin
ST	: Serotonin
ACH	: Asetilkolin
qRT-PCR	: Quantitative Real Time-Polymerase Chain Reaction (Kantitatif Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
mRNA	: Mesajcı RNA
PET	:Pozitron Emisyon Tomografisi
BT	: Bilgisayarlı Tomografi
MRI	:Manyetik Rezonans
NE	:Nörepinefrin
SPECT	:Tek Foton Emisyonlu CT

STPP : Kısa Vadeli Psikodinamik Tedavi

CCRT : Çekirdek Çatışmalı İlişki Tema

HVA : Homovanilik Asit

DMXBA : Dihydrochloride



1. ÖZET

Obsesif Kompulsif Bozukluk (OKB), insanları hayatları boyunca etkileyen, genellikle engelleyici semptomları olan, kronik psikiyatrik bir hastalıktır. Çalışmamızda sıçanlarda D2 dopamin (DP) reseptör agonisti olan quinpirole (QNP) kullanılarak oluşturulan OKB modelinde beyin nikotinik reseptör gen ifadelerinin incelenmesi ve spesifik nikotinik reseptör agonistleri olan sistisin (CYT), GTS-21 ve SİB-1508Y tedavi etkinliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

Her grupta 12 hayvan olacak şekilde toplam 60 adet Wistar Albino erkek sıçan kontrol (K) , QNP (0,2 mg/kg/dört günde bir), QNP+CYT ve QNP+GTS-21 ve QNP+SİB-1508Y olmak üzere 5 gruba ayrıldı. Hastalığın oluşumu için 45 gün boyunca QNP subkutan olarak uygulandı. 45 günün sonunda 12 gün boyunca nikotinik asetilkolin reseptör (nAChR) agonistleri olan CYT (3mg/kg/gün, sc), GTS-21(3mg/kg/gün, oral gavaj) ve SIB-1508Y (10mg/kg/gün;sc) uygulamaları yapıldı. Korteks, striatum ve hipokamüs dokularında nAChR ile ilişkili genlerin mRNA düzeyleri kantitatif gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (qRT-PCR) ile ve total beyinde DP, serotonin (ST) ve asetilkolin (ACH) düzeyleri ELİSA yöntemi ile değerlendirildi.

Değerlendirilen üç beyin bölgesinde QNP'nin nikotinik asetilkolin ifadelerini değiştirdiği ve tedavi gruplarında bu değişimlerin belirli oranda normalize edildiği gözlemlendi ($p<0,05$). Beyin DP düzeylerinin K ve QNP gruplarına göre SIB-1508Y grubunda ve QNP grubuna göre ise CYT grubunda da anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir ($p<0,05$). Beyin ACH düzeylerinin K ile

karşılaştırıldığında sadece QNP+SIB1508Y grubunda anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir ($p=0,008$). QNP'nin açık alan testinde değerlendirilen 13 farklı davranıştan 10'nunu bozduğu, tedavi amaçlı kullanılan GTS-21 ve SIB-1508Y'nin iki davranışı ve CYT'nin ise 7 davranışı düzelttiği belirlenmiştir.

Literatür verilerine göre mevcut çalışma QNP sıçan OKB modelinde nikotinik asetilkolin ifadeleri ve agonistlerinin tedavi edici etkinliğinin değerlendirildiği ilk çalışmadır. Tedavi etkinliği en yüksek düzeyde olan CYT'nin bu etkilerinde nikotinik asetilkolin gen ifade normalizasyonu ve DP düzeylerini normalize ederek gerçekleştirebileceği muhtemeldir.

Anahtar Kelimeler: Obsesif Kompulsif Bozukluk, Quinpirole, Beyin, Nikotinik Asetil Kolin Reseptörleri, Dopamin

2. ABSTRACT

In our study, obsessive-compulsive disorder (OCD) was induced by using quinpirole (QNP) , a D2 dopamine (DP) receptor agonist in rats. The aim of this study was to investigate brain nicotinic receptor gene expression in these rats and to investigate the treatment efficacy of specific nicotinic receptor agonists, cysticin (CYT), GTS-21 and SIB-1508Y.

A total of 60 Wistar Albino male rats were divided into five groups as control (K) , QNP (0.2 mg / kg / once every four days), QNP+CYT and QNP+GTS-21, QNP+SIB-1508Y. At the end of 45 days, CYT (3mg / kg / day, sc), GTS-21 (3mg / kg / day, oral gavage) and SIB-1508Y (10mg / kg / day; sc) which are nicotinic receptor agonists were administered for 12 days. mRNA levels of nicotinic receptor-related genes in cortex, striatum and hippocampus tissues were evaluated by Quantitative Real Time-Polymerase Chain Reaction (qRT-PCR) and DP, serotonin (ST) and acetylcholine (ACH) levels in total brain were evaluated by ELISA.

It was observed that QNP changed nicotinic acetylcholine reseptor (nAChR) expression in the three brain regions evaluated and these changes were normalized to a certain extent in the treatment groups ($p < 0.05$). It was determined that brain DP levels increased in SIB-1508Y group compared to K and QNP groups and significantly increased in CYT group compared to QNP group ($p < 0.05$). Brain ACH levels were significantly increased only in the QNP+SIB1508Y group compared to the K group ($p = 0.008$). It was determined

that QNP disrupted 10 of the 13 different behaviors evaluated in the open field test, GTS-21 and SIB-1508Y used for treatment corrected two behaviors and CYT corrected 7 behaviors.

According to the literature data, the present study was the first to evaluate the therapeutic efficacy of nAChR expressions and nAChR agonists in the "QNP rat OCD model". It is likely that CYT, which has the highest therapeutic efficacy, can achieve these effects by normalizing nAChR gene expression and DP levels.

Keywords: Obsessive Compulsive Disorder, Quinpirole, Brain, Nicotinic Acetyl Choline Receptors, Dopamine

3.GİRİŞ

3.1. Obsesif Kompulsif Bozukluk

OKB, insanları hayatları boyunca etkileyen, genellikle engelleyici semptomları olan, kronik psikiyatrik bir hastalıktır (1). Dünyadaki yaygınlığı % 2-3 olan OKB, tipik olarak saplantıları veya endişeleri takiben ortaya çıkan, tekrarlayan obstrüktif (takıntılı) davranışlar ve eylemler (kompulsiyonlar) ile karakterize edilir (2). Hastalar sıklıkla endişelerini gidermek için tekrarlayan, kalıplaşmış ve ritüelleştirilen davranışlar sergilerler (3). Obsesyon düşüncelerinin örnekleri genel olarak başkalarına zarar vermek, kapalı kapılar hakkında şüphe uyandırmak, ahlaki ve cinsel düşünceleri kapatmaktır (4). Kompulsif davranışlar çoğunlukla obsesyonlara tepki olarak ortaya çıkar. Genellikle cihazların düzenli olarak kontrol edilmesi gibi aşırı davranışlar ve fısıltı gibi zihinsel davranışları içerir. OKB de zorlamalar sıkıntıyı azaltmayı ve bazı korkunç olayları önlemeyi amaçlamaktadır (5).

3.1.1. Tanı Kriterleri

A. OKB'nin tanı kriterlerinde obsesyonlar ya da kompulsiyonlar vardır.

Obsesyonlar aşağıdaki 2 madde ile tanımlanır:

- (1) OKB sırasında kimi zaman istenmeden gelen, uygunsuz olarak yaşanan ve belirgin anksiyete ya da sıkıntıya neden olan, sürekli ve yineleyici düşünceler, dürtüler ya da düşlemler,
- (2) Düşünceler, dürtüler ya da düşlemler sadece gerçek yaşam sorunları hakkında duyulan aşırı üzüntüler değildir.

Kompulsiyonlar aşağıdaki maddelerle tanımlanır:

- (1) Kişinin, obsesyona bir tepki olarak kendini yapmaktan alıkoyamadığı yineleyici davranışlar (örn. El yıkama, düzene koyma, kontrol etme) ya da zihinsel eylemler (örn. Dua etme, sayı sayma, bir takım sözcükleri sessiz bir biçimde söyleyip durma)
- (2) Davranışlar ya da zihinsel eylemler, sıkıntıdan kurtulmaya ya da var olan sıkıntıyı azaltmaya ya da korku yaratan olay ya da durumdan korunmaya yöneliktir; ancak bu davranışlar ya da zihinsel eylemler ya etkisizleştirilmesi ya da korunulması tasarlanan şeylerle gerçekçi bir biçimde ilişkili değildir ya da çok aşırı bir düzeydedir.
- (3) Kişi, bu düşünceleri, dürtüleri ya da düşlemlerine önem vermemeye ya da bunları baskılamaya çalışır ya da başka bir düşünce ve eylemle bunları etkisizleştirmeye çalışır.
- (4) Kişi, obsesyonel düşüncelerini, dürtülerini ya da düşlemlerini kendi zihninin bir ürünü olarak görür.

B. Bu bozukluğun gidiş sırasında bir zaman sonra kişi obsesyon ya da kompulsiyonlarının aşırı ya da anlamsız olduğunu kabul eder. Bu durum çocuklar için geçerli değildir.

C. Obsesyon ya da kompulsiyonlar belirgin bir sıkıntıya neden olur, zamanın boşa harcanmasına yol açar (günde bir saatten daha uzun zaman alırlar) ya da kişinin olağan günlük işlerini, mesleki (ya da eğitimle ilgili) işlevselliğini ya da olağan toplumsal etkinliklerini önemli ölçüde bozarlar.

D. Bu bozukluk bir maddenin (örn. kötüye kullanılabilen bir ilaç) ya da genel tıbbi bir durumun doğrudan fizyolojik etkilerine bağlı değildir (6).

3.1.2. Klinik Özellikler

Obsesyon ve kompulsiyonların yaygın olarak gözüken bazı özellikleri şöyledir.

- 1) Düşünceler ve dürtüler kişinin bilinç altına tekrarlayıcı şekilde zorla girer.
- 2) Bu duruma endişe ya da korku hissi eşlik eder ve kişiyi düşünce ya da dürtüye karşı tedbir almaya zorlar.
- 3) Obsesyon ya da kompulsiyonlar egodan bağımsızdır.
- 4) Obsesyon ya da kompulsiyonları kişi acayip ve mantıksız olarak algılar.
- 5) Obsesyon ve kompulsiyonlardan yakınan kişi genellikle bu duygulara direnmek ister.

En sık görülen durum kontaminasyon obsesyonları (elinin veya vücudunun mikrop, pislik, kan, meni, idrar ile kirlendiği düşüncesi) ve bunu izleyen yıkama ve temizleme obsesyonları ve kontamine olunan nesneden kompulsif kaçınmadır. İkinci sıklıkta görülen durum ise şüphe obsesyonları ve bunu izleyen kontrol etme kompulsiyonlarıdır. Üçüncü sıklıkta görülen durum ise sadece obsesyonların olduğu kompulsiyonların görülmediği durumdur. Bu obsesyonlar genellikle cinsel ve saldırgan davranışların tekrarlayıcı düşünceleridir. Bunun dışında simetri obsesyonları, dinsel veya cinsel içerikli rahatsızlık ve suçluluk veren obsesyonlar, biriktirme kompulsiyonları da görülebilir (7).

3.2. Obsesif Kompulsif Bozukluğun Epidemiyolojisi

OKB 1980'lerin başına kadar nadir bir bozukluk olarak düşünülse de sonradan yapılan detaylı araştırmalarda psikiyatrik bozukluklar arasında 4. sıklıkta görüldüğü ortaya koyulmuştur (8). İstatiksel çalışmalara göre OKB'nin altı aylık prevelansı %1,5 (0.7- 2.1), yaşam boyu prevelansı ise %2,5 (1.9 – 3.3) olarak hesaplanmıştır (9). OKB'nin yaşam boyu prevelansı ülkeden ülkeye değişiklik gösterir. Çalışmaların bir kısmı erişkin popülasyonda cinsiyet farkı olmadığını göstermektedir. Buna karşılık bazı çalışmalara göre kadınlarda daha sık olduğu görülmektedir. Yedi ayrı ülkede yapılan epidemiyolojik çalışmaların analizinde, kadın-erkek oranı 1.2-1.8 olduğu saptanmıştır. Çocuk ve ergenlerde ise erkeklerde kızlara göre daha sık olduğu belirlenmiştir. OKB'nin ırk, etnik grup, eğitim, medeni durum, meslek, kültür ve ekonomik durum gibi sosyodemografik faktörlerle anlamlı ilişkisi bulunmamaktadır (10).

Cinsiyette ise; çocukluk ve ergenlikteki OKB'nin erkeklerde daha sık görüldüğü, erkek çocuklarında daha erken yaşta bulguların başladığı, erkeklerde psikotik bozukluk birlikteliğinin daha sık olduğu ve prognozun daha kötü seyrettiği saptanmıştır. Hastaların %25'inde bulgular çocuklukta, %29'unda ise ergenlik döneminde başlamaktadır. Ergenlerde yapılan çalışmalarda bulguların 9-18 yaş arasında görüldüğü belirtilmiştir. Ancak 2 yaşında OKB tanısı konan olgular bildirilmiştir (11). Erkeklerde OKB'nin erken yaşta simetri obsesyonu ve düzenleme kompulsiyonun sık görülmesiyle ortaya çıktığı saptanmıştır (12-13).

3.3. Obsesif Kompulsif Bozukluğun Etyolojisi

3.3.1. Biyolojik Etkenler

3.3.1.1. Genetik

Genetik faktörlerin OKB oluşumuna katkıda bulunduğuna dair çalışmalar ve bulgular giderek artmaktadır. Bu bulgular ikiz çalışmaları ve OKB hastalarının birinci derece akrabalarının araştırmalarından oluşmaktadır. OKB için ikiz çalışmalarında, monozigotik ikizlerde dizigotik ikizlere göre anlamlı olarak yüksek konkordans oranı saptanmıştır. Aile çalışmalarında, OKB hastalarının 1. derece akrabalarının % 35'inin bu bozuklukları etkilendiği bulunmuştur (7).

Son yirmi yılda larges ölçekleri genlerdeki ve gen ilaç etkileşimleri üzerine yapılan çalışmalarda OKB ile bağlantılı yüzlerce gen keşfedilmiştir. Bunlarla birlikte, OKB diğer zihinsel bozukluklar gibi komplekstir ve genetik temelini anlamak için kapsamlı ve entegre bir görüş gereklidir (14).

3.3.1.2. Nörotransmitterler

Monoaminerjik sistemlerin uzun zamandır depresyon ve anksiyete bozukluklarında önemli bir rol oynadığı öne sürülmüştür. “Ödül sistemi” endojen DP ve opioidlerle modüle edilirken (15-18) “ceza sistemi” esas olarak ST modüle edilmiştir (19). Hedefe yönelik davranışlar DP tarafından uyarılır ve DP nöronlarının intrakraniyal kendi kendine stimülasyon için bir substrat olduğu ileri sürülür (20). Nörepinefrin (nöradrenalin; NE) “duygusal hafıza” ve belirli davranışların neden olduğu duygusal uyarılmanın sağlamlaştırılması ve

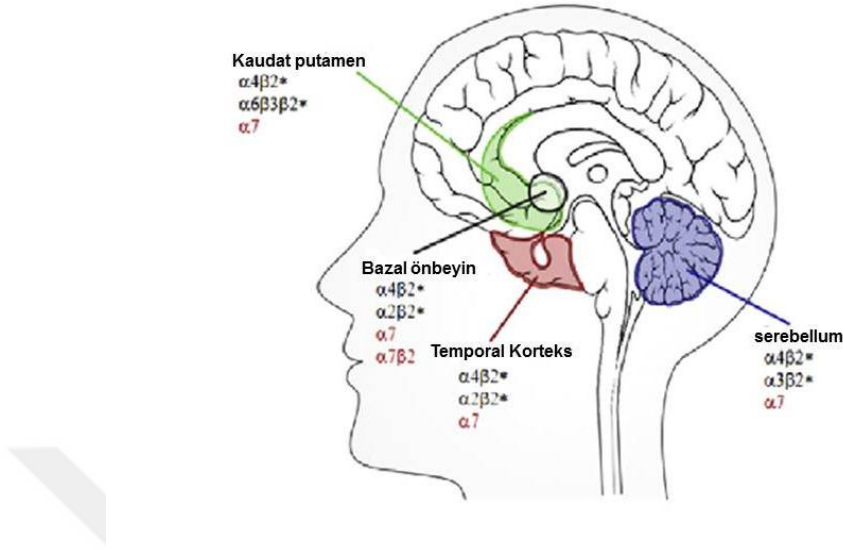
toplanması ile ilişkilendirilmiştir (21). NE nöronları, ventral tegmental alan DP nöronlarının inhibe kontrolü yoluyla sosyal yenilgiye karşı kırılganlığı düzenler (22).

3.3.1.3. Beyin Görüntüleme Çalışmaları

Fonksiyonel görüntüleme teknikleri, belirli beyin alanlarındaki aktivite seviyelerini dolaylı olarak ölçmektedir ve OKB'ye dahil olduğu düşünülen yapıların anormal şekilde aktif olup olmadığını belirlemek için kullanılmıştır (23). OKB patofizyolojisini bilmek için fonksiyonel nörogörüntüleme kullanılarak dört tip çalışma yapılmaktadır (24);

1. OKB hastalarının ve başlangıçtaki sağlıklı kontrollerin karşılaştırılması (25).
2. OKB hastalarının tedaviden önce ve sonra çalışılması ve beyin kontrolündeki değişiklikleri ölçmek için sağlıklı kontrollerle karşılaştırılması tedaviye tekabül edebilecek faaliyetler (26) hastaların semptomlarını provokasyon döneminde ve kontrol durumlarında taramak ve (27) bilişsel görev ve karşılaştırma koşulları sırasında hastaları taramaktır.

OKB'de ki fonksiyonel nörogörüntüleme çalışmaları, diğer psikiyatrik hastalıklardaki bulgularla karşılaştırıldığında tutarlıdır (28). OKB'nin ilk çalışmalarında tek foton emisyonlu CT (SPECT) ve pozitron emisyon tomografi (PET) taramaları kullanılmıştır. Bu çalışmaların yanı sıra fonksiyonel MRG kullanan son çalışmalar, normal sağlıklı kontrollere kıyasla OKB hastalarında bazal ganglionlar (ağırlıklı olarak kaudatın başı), anterior cingulate ve orbitofrontal korteks alanlarında artmış aktivasyon göstermiştir (29).



Şekil 1. İnsan beyinde tanımlanan nAChR alt tiplerinin bölgesel dağılımı (30).

3.3.2. Psikososyal Etkenler

3.3.2.1. Psikodinamik Etkenler

OKB'yi psikodinamik bir perspektiften tanımlama ve tedavi etmenin uzun klinik geleneğine rağmen, kanıta dayalı psikodinamik bir tedavi yoktur. Bununla birlikte, anksiyete bozuklukları üzerine yapılan son araştırmalar, manuel güdümlü kısa vadeli psikodinamik tedavinin (STPP) umut verici bir yaklaşım olabileceğini düşündürmektedir (31).

Anksiyete bozuklukları için STPP üzerine inşa edilen ve Luborsky'nin destekleyici eksprese edici terapisine dayanan bir STPP modeli geliştirilmiştir. Tedavi, hem destekleyici terapinin karakteristik öğelerini hem de

bu duruma özgü tedavi çekirdek çatışmalı ilişki tema (CCRT) öğelerini içeren on iki modülden oluşur (32).

Tedavi aşağıda kısaca tarif edilmiştir. Tedavinin başlangıcında, OKB semptomları ile ilişkili CCRT değerlendirilir. Bir CCRT üç bileşenden oluşur: bir dilek (W, örneğin saldırgan veya cinsel dürtü), diğerlerinden gelen bir cevap (RO, örneğin mahkum edilecek) ve benliğin tepkisi (RS, örneğin takıntı ve / veya zorunluluklar). CCRT'ye odaklanarak, terapist hastanın OKB semptomlarını (RS) kendi isteklerine (veya dürtülerini ve etkilerini, W) ve diğerlerinin (beklenen) cevaplarına (RO) ilişkilendirir. CCRT hastaya “OKB formülü” olarak sunulur. Bu formül hastaların kaygı paternlerini ve OKB reaksiyonlarını anlamalarını sağlar. Hastanın semptomlarını (iç ve dış) kişilerarası ilişkilere çevirir (32,33).

3.3.2.2. Kişilik Etkenleri

OKB hastalarının % 15-45 kadarında premorbid obsesif özellikler bulunmuştur. Ama kişilik özellikler OKB gelişimi için ne gerekli ne de yeterlidir (7).

3.4. Obsesif Kompulsif Bozukluk ve Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri

nAChR'ler, merkezi ve periferik sinir sisteminde nörotransmisyon düzenlenmesinde rol oynayan ligand kapılı iyon kanallarıdır (34). nAChR alt türleri, $\alpha 7$ ve $\alpha 9$ gibi homopentamerler veya $\alpha 2\beta 2$ ve $\alpha 3\beta 4$ alt tipleri gibi α ($\alpha 2$ - $\alpha 10$) ve β ($\beta 2$ - $\beta 4$) alt birimlerinin kombinasyonlarından oluşan heteropentamerlerdir (35). nAChR'lerin Alzheimer, Parkinson ve Şizofreni gibi hastalıklarda terapötik potansiyelinin olduğu ve farklı nöropsikiyatrik hastalık süreçlerinde alt tiplerinin rolününün olabileceği bildirilmiştir (36). Bu reseptörler

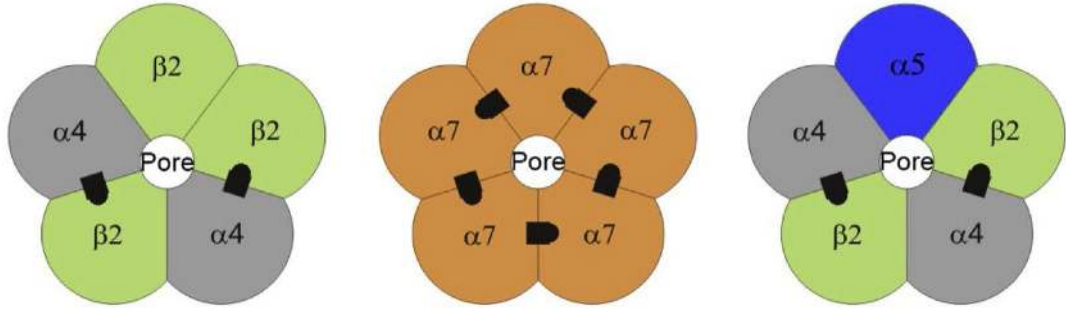
nöronal gelişim, öğrenme ve hafıza oluşumu ve ödül sistemi dahil çeşitli beyin fonksiyonlarında rol oynamaktadır. nAChR alt birimleri birçok beyin bölgesinde bulunmasına rağmen, nöronal fonksiyonlardaki kesin hücrel rolleri bilinmemektedir. Yakın zamana kadar, nAChR'lerin sinir terminallerinden nörotransmitter salınımını düzenleyerek beyinde esas olarak bir düzenleyici rol oynadığı ileri sürülmüştür. Bununla birlikte, yeni kanıtlar, nAChR'lerin hipokampusta ve duyu korteksinde hızlı ACh-aracılı sinaptik iletime aracılık ederek bir postsinaptik rolde işlev gördüğünü ve refleks sistemindeki sinir terminallerinde olduğu gibi somatodendritikte de bulunduğunu göstermiştir. Presinaptik ve postsinaptik nAChR'lerin bu beyin bölgelerindeki sinaptik etkinliklerde değişimlerde rolü olduğu düşünülmektedir (37).

İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan az sayıdaki çalışmada nAChR reseptörlerinin OKB ilişkisi vurgulanmıştır. İnsanlarda görülen ve OKB bulgularının eşlik ettiği Tourette sendromunda nAChR7'nin -86T polimorfizminin kontrollerle karşılaştırıldığında hastalarda yüksek olduğu gösterilmiştir. Gendeki bu polimorfizmin reseptör sentezinde azalmaya yol açtığı ifade edilmiştir (38). Sıçanlarda QNP ile oluşturulan OKB modelinde nikotinin OKB semptomları üzerinde iyileştirici etkileri olduğu belirlenmiştir (39). Ancak yapılan bu çalışma sonrasında sıçan OKB modellerinde beyindeki nAChR reseptör gen ifadelerinin nasıl değiştiği veya bu reseptör agonist veya antagonistlerinin hastalık üzerindeki tedavi edici etkilerinin değerlendirildiği çalışmalara rastlanmamıştır.

3.4.1. Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri

nAChRs, GABA, glisin ve ST (5-HT₃) reseptörlerini içeren ligand kapılı iyon kanalları, "Cys-loop" süper ailesine aittir. Memelilerde multigen ailesi tarafından kodlanmış 16 homolog nuklear alt birim vardır. Bu alt birimler, çeşitli ifade şekilleri, çeşitli fonksiyonel özellikler ve farklı farmakolojik özelliklere sahip birçok farklı nAChR alt tipi oluşturmak üzere bir araya getirilirler. Bu sebepten dolayı kolinerjik innervasyon oldukça yaygındır ve nAChR ifadesi son derece geniştir, beyindeki her alan neredeyse nikotinik mekanizmalar tarafından etkilenir (40).

Memeli nAChRs por etrafında düzenlenmiş beş alt birimden oluşur (Şekil 2).



Şekil 2: Por çevresinde pentamerler şeklinde düzenlenmiş nAChR alt birimlerinin

didaktik gösterimi yukardaki şekilde gösterilmiştir. Beyindeki en yaygın

nAChR'ler heterooligomerik $\alpha 4 \beta 2$ nAChR'ler ve homooligomerik $\alpha 7$

nAChR'lerdir. ACH bağlanma alanları, bitişik alt birimler arasında bulunan siyah

asimetrik bölgelerde gösterilmiştir (41).

Nöronal altbirimler, yalnızca α alt birimlerinin hücre dışı alanındaki komşu CYT gruplarının varlığına dayanan alfa ($\alpha 2$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$ ve $\alpha 10$) ve beta ($\beta 2$ - $\beta 4$) sınıflandırmalarına ayrılmıştır. $\alpha 8$ alt birimini kodlayan gen kanatlılarda bulunmasına rağmen memelilerde bulunmamaktadır (42). Nöronal nAChR'lerin yapısal ve işlevsel çeşitliliğinin büyük bir kısmı olası birçok alt birim kombinasyonundan kaynaklanmaktadır. Memeli beyinde en sık görülen iki nAChR alt tipi, $\alpha 4\beta 2$ heteromerik ve $\alpha 7$ homomerik alt birim kombinasyonudur. $\alpha 4\beta 2$, nikotin için yüksek afiniteye sahip bir alt birimdir ve $\alpha 7$ alt tipi, beyin α -bungarotoksin bağlama alanlarına katkıda bulunur. Her bir alt birim çok kenarlılığa sahip olduğundan ve tamamen simetrik olmadığından, pek çok alt birimin pentamerik kompleks içine yerleştirilmesi binlerce farklı nAChR üretebilir. Diğer nAChR alt türleri ise beyinde çok daha sınırlı bir dağılıma sahiptir, ancak fazlaca reseptör alt tipini oluşturabilirler. Örneğin, periferik sinir sisteminde yaygın olarak bulunan $\alpha 3\beta 4$ nAChRs, sadece medial habenula, interpedunkular nukleus ve lokus koeruleusunda yüksek seviyelerde eksprese edilir. $\alpha 3\beta 4$ nAChR'ler ise nikotin için düşük afiniteye sahiptirler ve $\alpha 4\beta 2$ nAChR'lere göre çok daha yavaş duyarsızlaşma kinetiklerine sahiptirler (40).

3.4.2. Nikotinik Asetilkolin Alt Birimleri

CHRNA1: Uzun isim: Nikotinik asetilkolin alt birimi alfa-1

Genin ifade edildiği dokular: Kas, kalp ve akciğerde yüksek beyinde düşük düzeyde ifade edilir.

Lokasyonu: 3q23

Ekson sayısı: 9

Chrna1 geninin homologları: Chrna1 geni insan, şempanze, Rhesus maymunu, köpek, inek, fare, tavuk, zebrafish ve kurbağada korunur (43).

CHRNA2: Uzun İsim: Nikotinik asetilkolin reseptör alt birimi alfa-2

Genin ifade edildiği dokular: Beyin, kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, dalak, testis, timus, uterus, böbreküstü bezinde bulunur.

Lokasyonu: 15p12

Ekson sayısı: 7

Chrna2 geninin homologları: Chrna2 geni insan, şempanze, Rhesus maymunu, köpek, inek, fare, tavuk, meyve sineği, sivrisinek ve kurbağada korunur.

Bu gendeki mutasyonlar, otozomal dominant nokturnal frontal lob epilepsisi tip 4'e neden olur. Bu genin tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) nikotin bağımlılığı ile ilişkilendirilmiştir (43).

CHRNA3: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi alfa-3

Genin ifade edildiği dokular: Beyin, kalp, böbrek üstü bezleri, karaciğer, akciğer, timus, kas, dalak bulunur.

Lokasyonu: 8q24

Ekson sayısı: 6

Chrna3 geninin homologları: Chrna3 geni insan, şempanze, köpek, inek, fare, tavuk, zebra balığı, meyve sineği, sivrisinek ve kurbağada korunur. Bu genin polimorfizmi, sigara içimi başlatma riski ve akciğer kanserine duyarlılık artışı ile ilişkilendirilmiştir. Alternatif olarak eklenmiş transkript varyantları bulunmaktadır.

CHRNA3 protein kodlayan bir gendir. CHRNA3 ile ilişkili hastalıklar Akciğer Kanseri Duyarlılığı 2 ve Visseral Myopati'dir. Bu genin önemli bir paraloğu ise CHRNA6 dır (43).

CHRNA4: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi alfa-4

Genin ifade edildiği dokular: Beyin, kalp, böbrek üstü bezleri, akciğer, kas, dalak, testis, timus, uterus

Lokasyonu: 3q43

Ekson sayısı: 6

Chrna4 geninin homologları: Chrna4 geni insan, şempanze, köpek, inek, fare, tavuk, zebra balığı, meyve sineği, sivrisinek ve kurbağada korunur.

Bu genin mutasyonları, nokturnal frontal lob epilepsisi tip 1'e neden olur. Bu genin nikotin bağımlılığına karşı koruyucu polimorfizmleri olduğu bildirilmiştir (43).

CHRNA5: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi alfa-5

Genin ifade edildiği dokular: Beyin, böbrek üstü bezleri, karaciğer, testis, timus, uterus

Lokasyonu: 8q24

Ekson sayısı: 6

Chrna5 geninin homologları: Chrna5 geni insan, şempanze, Rhesus maymunu, köpek, inek, fare, tavuk, zebrafish ve kurbağada korunur.

CHRNA5 protein kodlayan bir gendir. CHRNA5 ile ilişkili hastalıklar Akciğer Kanseri Duyarlılığı 2 ve madde bağımlılığını içerir (43).

CHRNA6: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi alfa-6

Genin ifade edildiği dokular: Beyin, böbrek, böbrek üstü bezleri, karaciğer, kas, dalak, testis, timus, uterus

Lokasyonu: 16q12.13

Ekson sayısı: 6

Chrna6 geninin homologları: Chrna6 geni insan, şempanze, köpek, inek, fare, tavuk, zebra balığı, meyve sineği, sivrisinek ve kurbağada korunur.

CHRNA6 protein kodlayan bir gendir. CHRNA6 ile ilişkili hastalıklar Otozomal Dominant Nokteral Frontal Lob Epilepsisi ve alkol bağımlılığını içerir . Hücre dışı ligand kapılı iyon kanalı aktivitesini ve ACh reseptör aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paraloğu ise CHRNA3'tür (43).

CHRNA7: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi alfa-7

Genin ifade edildiği dokular: Böbrek üstü, beyin, kalp, akciğer, testis, timus, uterus, kas

Lokasyonu: 1q22

Ekson sayısı: 11

Chrna7 geninin homologları: Chrna7 geni insan, şempanze, köpek, inek, fare, tavuk, zebra balığı, meyve sineği, sivrisinek ve kurbağada korunur.

Bu gen tarafından kodlanan protein homo-oligomerik bir kanal oluşturur, kalsiyum iyonlarına belirgin geçirgenlik gösterir ve alfa-bungarotoksin tarafından bloke edilen ve oldukça duyarlı olan beyin nikotinik reseptörlerinin önemli bir bileşenidir. CHRNA7 ile ilişkili hastalıklar arasında Chrna7 ile ilgili bozukluklar ve kromozom 15q13.3 mikro delesyon sendromu bulunur .

Alfa7, homologik reseptörler oluşturmak üzere birleşebilen nöronal nikotinik reseptörün bir altbirimidir. Alfa7 nAChR, striatumun GABA internöronlarında ve piramidal nöronlarda bulunan hipokampusta belirgindir (43).

CHRNA9: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi alfa-9

Genin ifade edildiği dokular: Kas, dalak, testis, timus, uterus

Lokasyonu: 14p11

Ekson sayısı: 5

Chrna9 geninin homologları: Chrna9 geni insan, şempanze, köpek, inek, fare, tavuk, zebra balığı, meyve sineği, sivrisinek ve kurbağada korunur.

CHRNA9 protein kodlayan bir genidir. CHRNA9 ile ilişkili hastalıklar sağırılık ve Otozomal Resesif 25'dir (43).

CHRNA10: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi alfa-10

Genin ifade edildiği dokular: Böbrek üstü, beyin, kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, kas, dalak, testis, timus, uterus

Lokasyonu: 1q32

Ekson sayısı: 6

Chrna10 geninin homologları: Chrna10 geni insan, şempanze, köpek, inek, fare, tavuk, zebra balığı, meyve sineği, sivrisinek ve kurbağada korunur.

CHRNA10 protein kodlayan bir genidir. İlgili yolları arasında Memeli ESC Pluripotansı ve Peptit ligand-bağlama reseptörlerinde Nanog vardır. Hücre dışı ligand kapılı iyon kanalı aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu CHRNA9'dur (43).

CHRNA1: Uzun İsim: Asetil kolin reseptör alt birim beta 1

Genin ifade edildiği dokular: Böbrek üstü bezi, beyin, kalp, kas, böbrek, akciğer, karaciğer, dalak, testis, uterus, timus

Lokasyonu: 10q24

Ekson sayısı: 11

Chrna1 geninin homologları: Chrna1 geni insan, şempanze, Rhesus maymunu, köpek, inek, fare ve zebra balığında korunur.

CHRNA1 protein kodlayan bir gendir. CHRNA1 ile ilişkili hastalıklar Asetilkolin Reseptör Eksikliği ile ilişkilidir (43).

CHRNA2: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi beta-2

Genin ifade edildiği dokular: Böbrek üstü bezi, beyin, kalp, kas, böbrek, akciğer, testis, timus

Lokasyonu: 2q34

Ekson sayısı: 6

Chrna2 geninin homologları: Chrna2 geni insan, şempanze, Rhesus maymunu, köpek, inek, fare, tavuk, zebra balığı, meyve sineği, sivrisinek ve kurbağada korunmaktadır.

CHRNA2 protein kodlayan bir gendir. CHRNA2 ile ilişkili hastalıklar arasında Epilepsi Otozomal Dominant olarak bulunur . Protein heterodimerizasyon aktivitesi ve hücre dışı ligand kapılı iyon kanalı aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paraloğu CHRNA4'tür (43).

CHRNA3: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi beta-3

Genin ifade edildiği dokular: Beyin, kalp, akciğer, kas, dalak, testis, timus, uterus

Lokasyonu: 16q12.3

Ekson sayısı: 6

Chrnb3 geninin homologları: Chrnb2 geni insan, şempanze, Rhesus maymunu, köpek, inek, tavuk, zebra balığı, ve kurbağada korunmaktadır.

CHRNA3 protein kodlayan bir gendir. CHRNA3 ile ilişkili hastalıklar arasında Duane Retraksiyon Sendromu ve Otozomal Dominant Nocturnal Frontal Lob Epilepsisi sayılabilir. Bu genin önemli bir paralogu CHRNA5'tir (43).

CHRNA4: Uzun İsim: Nöronal asetilkolin reseptör alt birimi beta-4

Genin ifade edildiği dokular: Beyin, kalp, akciğer, kas, dalak, testis, timus, böbrek üstü bezi, karaciğer

Lokasyonu: 8q24

Ekson sayısı: 6

Chrnb4 geninin homologları: Chrnb4 geni insan, şempanze, Rhesus maymunu, köpek, inek, tavuk, fare, zebra balığı, ve kurbağada korunmaktadır.

CHRNA4 protein kodlayan bir gendir. CHRNA4'le ilişkili hastalıklar madde bağımlılığı ve nikotin bağımlılığıyla ilgilidir. Hücre dışı ligand kapılı iyon kanalı aktivitesi ve ligand kapılı iyon kanalı aktivitesini içerir. Bu genin önemli bir paralogu CHRNA2'dir (43).

Tablo 1. İn situ hibridizasyon tekniği ile elde edilen nAChRs'in bireysel veya gruplandırılmış alt ünitelerin anatomik lokalizasyonu (44).

	Anatomik Lokalizasyon	Hayvan türleri
NAChR Altbirimi (leri)		
A2	Nükleus spiriformis spiral	Piliç
	İnterpedaks nükleus	Sıçan
A3β4	Otonomik gangliyonlar, retina, Sıçan habenular çekirdekler, boğa bezi, çekirdek traktüs solitarius	
A6β2β3	Striatal dopaminerjik nöronlar, Sıçan somatosensoriyel ganglionlar	
A5	Hipokampus, <i>substantia nigra</i> , Sıçan ventral tegmental bölge, interpedunkular nükleus, vagusun dorsal motor nükleusu	
A4	Hipokampus ve serebellum hariç Sıçan tüm beyin	
B2	Bütün beyin	Sıçan

3.5. Obsesif Kompulsif Bozukluğun Hayvan Modelleri

Son 30 yıl boyunca, diğer nöropsikiyatrik bozukluklarda olduğu gibi, bozukluğun genetik, nörokimyasal ve nöroanatomik substratlarını ayırmanın yanı sıra, bu bozukluğun genetik, nörokimyasal ve nöroanatomik substratlarını ayırmak için yararlı olabileceği hipotezi altında, yeni tedaviler geliştirmek ve bu tedavilerin yararlı etkilerini ortaya koyan mekanizmaları karakterize etmek amacıyla OKB hayvan modelleri geliştirmeye yönelik birçok girişim yapılmaktadır (45).

Kompulsif - benzeri davranışı başlatmak için kullanılan yöntemeye bağlı olarak, OKB hayvan modelleri: genetik, farmakolojik, davranışsal manipülasyon ve nörogelişimsel modeller olmak üzere dört sınıfta gruplandırılabilir (46).

3.6. Transgenik Hayvan Modelleri

İnsanlarda OKB ile doğrudan ilişkili açık bir gen mutasyonu saptanmamasından dolayı OKB’de ki genetik hayvan modelleri insanlarda OKB ile ilgili bilinen bir mutasyona sahip bir hayvanın geliştirilmesine dayanmamaktadır. Genetik olarak modifiye edilmiş farelerin davranışı, davranışsal benzerliğe dayanmaktadır. Bilinen bir genetik manipülasyondan sonra farelerde kompulsif benzeri davranışın ortaya çıktığı yedi fare OKB modeli bulunmaktadır (47).

1. DICT-7 transgenik fare
2. Homoboxb8 gibi mutant fare
3. 5-HT2c reseptörü KO fare

4. Dopamin taşıyıcı knockdown fare
5. Aromataz KO fare
6. Sapap3-mutant fare
7. Slitrk5 KO fare

3.7. Farmakolojik Olarak İndüklenen Obsesif Kompulsif Bozukluk Hayvan Modelleri

Farmakolojik modeller, insanlarda spesifik OKB semptomlarına benzer şekilde perseverasyon gibi uyuşturucu kaynaklı davranış değişikliklerine dayanmaktadır. Bu modellerin oluşturulma amacı, anormal davranışların, esas olarak ST ve DP yolları olmak üzere OKB ile ilişkili olduğu düşünülen nörotransmitter sistemlerin manipülasyonu ile uyarıldığına dayanmaktadır. Bu grupta en yaygın çalışılan OKB modellerinden ikisi, 8-OHDPAT ve QNP ile indüklenen kompulsif kontrol modeller olmak üzere toplam 5 model çalışılmıştır (48).

1. Spontan değişimde 8-OHDPAT kaynaklı azalma modeli
2. QNP ile indüklenen kompulsif kontrol modeli
3. QNP kaynaklı suyun etkisiz hale getirilmesiyle oluşan OKB modeli
4. Takviye edilmiş mekansal dönüşümde mCPP'nin indüklediği OKB modeli
5. 5-HT1bR agonisti tarafından indüklenen davranış modeli

3.7.1. Quinpirole İle İndüklenen Kompulsif Kontrol Modeli

D2 DP reseptör agonisti QNP, D2 reseptör aracılı etkilerin ortaya konması için yapılan in vivo ve in vitro çalışmalarda yaygın olarak kullanılan D2 agonistidir. Buna ek olarak, QNP D3 dopamin reseptörü için daha yüksek afiniteye sahiptir (49). Akut D2 agonisti QNP'nin lokomotor aktivite üzerinde etkisi olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte QNP uygulamasından sonra kognitif ve motor fonksiyonlar için iki önemli bölge olan anterior singulat korteks ve striatumun nöronal aktivitesindeki dinamik değişikliklere yönelik çok az sayıda çalışma yapılmıştır (50). Çalışmamızda QNP'nin bu önemli etkilerinden dolayı sıçan OKB modeli bu madde ile oluşturulacaktır. Kemirgenler üzerinde yapılan davranış kontrolüne ilişkin çalışmalarda hastalığın kontrolü için striatal DP fonksiyonunun önemli olduğu gösterilmiştir. Ayrıca DP D2/3-reseptör agonisti ile kronik tedavinin ardından sıçanların klasik stereotipik davranışa özgü sabit kalıplar olmadan genel hareketlerin aşırı arttığı bildirilmiştir.

QNP ile indüklenen sıçan OKB modellerinde frontal-bazal-gangliyonda meydana gelen olayların, hem serotonerjik hem de dopaminerjik uyaranlara duyarlı olmasından dolayı bu model OKB hayvan modeli olarak en geçerli modellerden biridir (51-52).

Szechtman ve arkadaşları tarafından geliştirilen bu model, D2 / D3 DP agonisti kinolin ile kronik tedaviden sonra sıçanlarda görülen davranış değişikliklerini belirtmektedir (53).

Dört küçük nesnenin sabit yerlerde bulunduğu büyük bir açık alana yerleştirilen ve 55 dakikalık video kaydına alınan sıçanlarda QNP enjekte edilen sıçanların kademeli olarak iki lokasyon için bir tercih geliştirdiklerini ve salin

enjekte edilen sıçanlardan daha sık durduklarını (20 kat daha fazla) görmüşlerdir (54). QNP grubunun tercih ettikleri lokasyonlara çok daha kısa dönüş süreleri sergiledikleri ve kontrol sıçanları ile karşılaştırıldığında geri dönüşler arasında daha az yerde durdukları görülmüştür. Buna ek olarak, QNP grubu sıçanların, bu tercih edilen yerlerde ve nesnelerde karakteristik "ritüel benzeri" bir motor eylem kümesi gerçekleştirdikleri ve bunun diğer konum ve nesnelere uygulanan eylemlerden farklı olduğunu ve ayrıca yerler ve objelerin çevresel özellikleri değiştirildiğinde bu etkinlik modelini değiştirdiklerini görmüşlerdir (55). Dolayısıyla, QNP grubu farelerin tercih edilen bazı konumlarla sınırlı olan kompülsiyon benzeri davranışlar sergilediği düşünülürken, tercih etmedikleri lokasyonlarda davranışlarının kontrol grubu farelerden farklı olmadığını saptamışlardır (56). Szechtman ve arkadaşlarına göre bu davranış, OKB'de kompulsif kontrol ile aşağıda özetlenen etyolojik kriterleri paylaşmaktadır;

A) ilgilenilen maddeyi ya da maddeleri terk etmede aşırı bir tereddüt ile meşgul olma,

B) ritüel benzeri bir motor aktivite paterni ve

C) davranışın çevresel bağlam üzerinde kontrol edilme bağımlılığı.

Bazı araştırmacılar, QNP grubunun ve OKB kontrol gruplarının her ikisinin de güvenlik ve güvenlik ile ilgili uyarıların normal kontrolünün abartılı bir biçimini temsil ettikleri görüşündedirler (57).

Kompulsif kontrolün yanı sıra, QNP uygulaması, ödülün bulunmadığı durumlarda zaman alıcı, aşırı ve sert davranışlar üretir (58). Intrastratial QNP enjeksiyonları, perseveratif olmayan ödüllendirilmiş enstrümantal yanıtları ortaya çıkarırken (59), ilacın intra akumbens enjeksiyonları, tersine çevirme öğrenme

görevinde genel bir esneklik zayıflamasına neden olmaktadır. QNP'nin, bu nedenle önerilen OKB modelleriyle uyumlu adaptif stratejileri abartarak çevresel uyaranlarla başa çıkmada davranış esnekliğini azalttığı görülmüştür (60).

3.7.2. Davranışsal Manipülasyona Dayalı OKB Hayvan Modelleri

Bu alt grup, OKB'nin "davranışsal" ve "bilişsel" hayvan modellerini içerir.

Bu davranış modelleri arasında ;

- 1) Doğal olarak meydana gelen, çiğneme ve dokuma gibi tekrarlayıcı veya stereotipik davranışlar,
- 2) Programa bağlı polidipsi ve hiperaktivitedir.

Davranışsal manipülasyona dayalı OKB hayvan modelinde incelenen en yaygın modeller; mermer gömme, sinyal zayıflatma modeli, geyik farelerinde spontan stereotipi modeli, programa bağlı polidipsi modelidir (46).

Çalışmamızın amacı;

Mevcut çalışmada literatür özetinde verildiği üzere QNP sıçan modelinde nAChR ifadelerinin nasıl değiştiği veya bu modelde nAChR agonistlerinin tedavi etkinliğinin değerlendirildiği çalışmalara rastlanmamıştır.

1. Mevcut çalışmada QNP ile oluşturulan sıçan OKB modelinde nAChR mRNA İfadelerinin beyin, korteks, striatum ve hipokampus bölgelerinde değerlendirilmesi,
2. beta2beta4 agonisti olan CYT'nin, alpha7 agonisti olan GTS-21'in ve alpha3beta4 agonisti olan SİB-1508Y'nin tedavi edici özelliklerinin davranış deneyleriyle gözlemlenmesi,

3. Kullanılan 3 agonistin tedavi edici etkilerinde aracılık eden nörotransmitter moleküller olan DP, ST, ACH düzeylerinin total beyin dokularında ölçülmesi amaçlanmıştır.



4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney Hayvanları Üzerinde Yapılan Çalışmalar

Hayvan çalışmasında denek olarak, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezinden (FÜDAM) temin edilen 200-250 gr ağırlığında Wistar albino cinsi erkek sıçanlar (n=60) kullanıldı. Sıçanlar standart şartlarda (12 saat günışığı, 12 saat karanlık, havalandırılmalı, sabit ısıli odalarda) barındırıldı. Deney sonunda ölçümü yapılacak biyokimyasal parametreler arasındaki farklılıkların en aza indirgenmesi amacıyla erkek ve ağırlık bakımından birbirine yakın ağırlıklara sahip sıçanlar kullanıldı. Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan 28.07.2016 tarihli, 14. toplantı ve 144.no ile çalışma onayı alındı.

4.2. Kullanılan Araçlar-Gereçler

- -20°C derin dondurucu: Arçelik, Türkiye
- -80°C derin dondurucu: Nuaire, Meksika
- Etüv: Gallenkamp, Economy Incubator Size, Ukranya
- ELISA cihazı: Biotek, ELX800, ABD
- Falkon Tüp: Corning® 430766, 15 mL Centrifüğe Tube, Meksika
- Homojenizatör: Next Advance, Averill Park NY, Bullet Blender Storm, Katalog No: BBY24M, ABD
- Homojenizatör Boncuğu: Next Advance, GB05-RNA 0.5mm Dia, RNase-Free Glass Beads, Katalog No: GB05, ABD
- Mini Plate Spin: Labnet C1000, ABD
- Otomatik Pipetler: Socorex, Acura 825, İsviçre

- Qubit tüpleri (0.6ml): Neptune, Katalog No: 3737.S.X, Biotix Laboratory Media, İngiltere
- Real Time-PCR cihazı: Applied Biosystems, ABI Prism 7500 Fast Real Time PCR Instrument, Foster City, CA
- Santrifüj: Sigma 3K30, Almanya
- Spin: Labnet International, Katalog No:C1031B-230V
- Vorteks: Elektro-Mag, Türkiye

4.2.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

- Mouse ST Sun Red Biotech Cat No: 201-11-1683, Shanghai Sunred Biological Technology Co., Ltd, Shanghai, China
- Moue DP ELİSA Kit : Fine Test Cat No: EU0392, Wuhan Fine Biotech Co. Ltd., China
- Mouse ACh ELİSA Kit: Fine Test Cat.No: ER1466, Wuhan Fine Biotech Co. Ltd., China

4.3. Deney Hayvanları Gruplandırılması

OKB deneyleri için her bir grupta 12 hayvan olacak şekilde 5 grup oluşturuldu.

4.3.1. Kontrol Grubu (K)

K grubu hayvanlara çalışma boyunca normal içme suyu verildi ve herhangi bir işlem uygulanmadı.

4.3.2. Quinpirole Grubu (QNP)

Her hayvana 45 gün boyunca 0,2 mg/kg dozunda haftada 2 kere Pazartesi ve Perşembe günlerinde enjeksiyonlar subkutan olarak uygulandı (39).

4.3.3. Quinpirole + SİSTİSİN Agonist Grubu (QNP+CYT)

45 günlük QNP uygulaması sonunda her hayvana 12 gün boyunca 3 mg/kg dozunda CYT (beta2/beta4 agonisti) enjeksiyonları intraperitonel olarak uygulandı (39).

4.3.4. Quinpirole + SIB-1508Y Agonist Grubu (QNP+SIB-1508Y)

45 günlük QNP uygulaması sonunda her hayvana 12 gün boyunca 10 mg/kg dozunda SIB-1508Y (alfa3-beta4) enjeksiyonları intraperitonel olarak uygulandı (39).

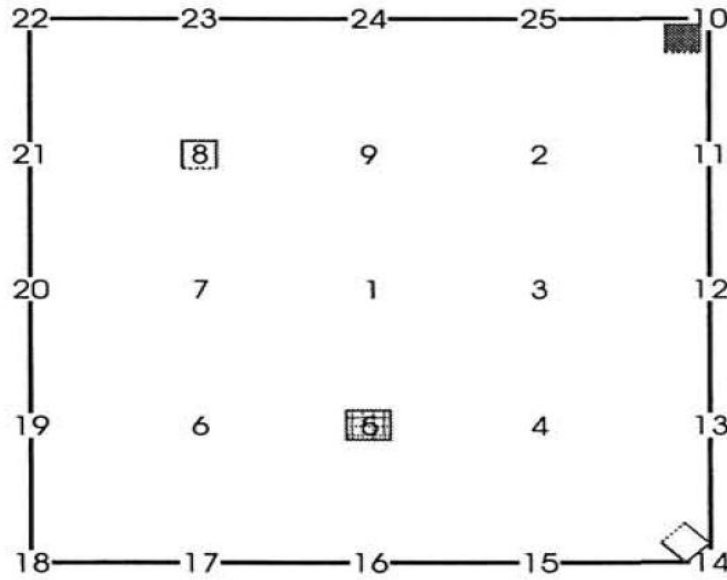
4.3.5. Quinpirole + GTS-21 Agonist Grubu (QNP+GTS-21)

45 günlük QNP uygulaması sonunda her hayvana 12 gün boyunca 3 mg/kg dozunda GTS-21 (alpha-7 agonisti) enjeksiyonları oral gavaj olarak uygulandı (39).

4.3.6. Açık Alan Testi

5 günlük agonist uygulamasını takiben 51. günden itibaren tüm gruplara 7 gün boyunca açık alan testi uygulandı. Açık alan testi süresince agonist uygulamalarına da devam edildi. Açık alan testi, OKB'de bozulmuş olan spontan motor aktivite (dönüşler gibi tekrarlayan davranışlar) ve anksiyete ile ilişkili davranışı değerlendirmek için kullanıldı. Hayvanlar, 5 dakika için kızıl ötesi ışığı

(850 nm) yayan bir ışık kutusu (TSE Sistemleri) açık alan bölgesinin (50X50X40 cm) ortasına yerleştirildi. Açık alan platformu 1 ile 25 arasında numaralandırılmış olan 25 yerel alana bölündü. 8 ve 14 numaralı alana beyaz ve temiz birer küp yerleştirildi. 10. alana siyah ve 5. alana telle örgülü birer küp yerleştirildi. Her bir hayvan 55 dk. boyunca kamera ile izlenip davranışlar kaydedildi. Her bir kamera kaydı izlendi ve belirli parametrelere bakılarak hayvanların kilit noktası olarak tercih ettikleri alanlar, tercih ettiği alanlarda kalma süreleri, tercih ettikleri alanlardan ayrı kalma süreleri, kat ettikleri toplam mesafeler, dönüş sayıları, dönüşler arasında durma zamanları, tımarlanma ve çömelmeleri dakika ve sayı olarak not edildi. İstatistiksel olarak değerlendirilmesi yapıldı (53).



Şekil 3. Açık alan testinin şematik gösterimi ve nesnelerin düzenlenmesi (53).

4.4. Moleküler Analizler

4.4.1. Kantitatif Real-Time PCR Analizleri

Trizol ile Hipokampüs, Korteks, Striatum Dokularından RNA İzolasyonu

1. 30-40 mg doku ependorf tüplere konularak üzerlerine 500 µl Trizol eklendi.
2. Homojenizasyon boncuklarından doku miktarı kadar eklendi.
3. Dokular homojenizatörde 8. hızda 5 dk homojenize edildi.
4. Örnekler 5 dk oda sıcaklığında bekletildi.
5. Tüpler içindeki homojenizatör boncukları ile birlikte 12.000 x g'de 2 dk santrifüj edildi.
6. Süpernatant kısım yeni tüplere alındı ve üzerine 100 µl kloroform eklenip yaklaşık 15 sn vortekslendi.
7. Tüpler oda sıcaklığında 2-3 dk bekletildi.
8. 12.000 x g'de 2-4°C'de 15 dk santrifüj edildi.
9. Santrifüj işleminden sonra 3 faza ayrılan sıvının en üst fazı yeni bir tüpe alındı.
10. 250 µl izopropil alkol eklendi.
11. 10 dk oda sıcaklığında bekletildi.
12. 12.000 x g'de 2-4°C'de 10 dk santrifüj edildi.
13. Süpernatant kısım uzaklaştırıldı.
14. Pellet üzerine 500 µl %75'lik etanol eklendi.
15. Vortekslendi ve 7500 x g'de 2-4°C'de 5 dk santrifüj edildi.

16. Süpernatant atıldı ve etanol yıkama işlemi tekrarlandı.
17. Süpernatant atıldı ve tüpler bir müddet oda sıcaklığında bekletilerek etanolün uçması sağlandı.
18. Kuruyan tüplerin üzerine dietilpirokarbonatlı (DEPC) su eklendi ve pipetaj yapıldı.
19. İzole edilen RNA'lar kullanılıncaya kadar -80°C'de saklandı.

4.4.1.1. RNA Ölçümü

RNA ölçümüne başlamadan önce distile suyun kör olarak okutulmasıyla cihaz kalibre edildi. BioSpec-Nano (Shimadzu) cihazının ölçüm alanına 2 µl RNA konularak RNA miktarı ng/µl olarak ölçüldü. Her örnek okumasının ardından cihaz temizlenerek 2 dakika bekletildi.

Komplementer DNA (cDNA) sentezinde eşit RNA miktarlarında çalışılabilmesi için okunan en düşük RNA değeri standart olarak alındı. Her bir grup için ayrı RNA havuzu oluşturuldu.

4.4.1.2. Komplementer DNA Sentezi

RT-PCR'ı için kullanılacak cDNA'ların hazırlanmasında havuz yapılan RNA örnekleri kullanıldı. Bunun için her örnekten 5 µl RNA alındı. cDNA sentezi toplam 10 µl hacimde gerçekleştirildi. Sentez için The High Capacity RNA-to-cDNA™ Kiti (Applied Biosystems, Katalog No: 4387406) kullanıldı (Tablo 2). Örnekler termal döngü cihazına yerleştirildi. 25°C'de 10 dk, 37°C'de 120 dk, 85°C'de 5 dk ve en son sıcaklık 4°C olacak şekilde cihazda bekletildi (Tablo 3). Oluşan cDNA örnekleri -20°C'de saklandı.

Tablo 2. cDNA karışım miktarı (10µl'lik reaksiyon) (The High Capacity RNA-to-cDNA™ Kit, Applied Biosystems, Katalog No: 4387406).

Bileşik	Hacim (µl)
10X RT tamponu	1,0
25X dNTP karışımı (100mM)	0,4
MultiScribe™Revers Transkriptaz (50U/µl)	0,5
10XRT Random Primer	1
Nükleaz içermeyen H ₂ O	2,1
RNA örneği	5
Reaksiyon toplamı	10

Tablo 3. cDNA sentezi PCR programı

PCR	1.Adım	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	25°C	37°C	85°C	4°C
Zaman	30 dk	120 dk	5 dk	∞

4.4.1.3. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile cDNA Amplifikasyonu

Revers transkripsiyon ile elde edilen cDNA'lar dizi spesifik primerlerin varlığında qRT-PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Sıçanların kalp ve kas dokularında tabloda belirtilen genlerin mRNA ifade düzeyleri incelendi. qRT-PCR analizleri sonucunda gen ifadelerindeki farklılıkların hesaplanmasında $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi kullanıldı. Tablo 4 de değerlendirilen genler ve katalog numaraları verilmiştir.

ependorflara bırakıldı ve vortekslendi. Pleyttteki cDNA örneklerinin üzerine hazırlanan karışımdan 4,5 µl pipet ile bırakılarak pleytin üzeri optik filmle kapatıldı (Tablo 5). Pleyt örneklerin tamamen dibe çökmesi ve oluşan kabarcıkların yok edilmesi amacıyla mini pleyt santrifüj cihazında 1 dakika santrifüj işlemine tabi tutuldu.

Tablo 5. RT-PCR İçin Kullanılan Bileşikler

Bileşikler	Hacim (µl)	X
Örnek Sayısı		
cDNA	0,5	
Primer	0,3	
Eva Green Master Mix	2,5	
Nükleaz içermeyen H ₂ O	1,7	
Toplam	5	

Gen ifade seviyeleri, Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR (Applied Biosystem, MA, USA) sistemi ile ölçüldü. Çalışmada GAPDH kontrol gen (housekeeping) olarak kullanıldı. Isı koşulları 95°C’de 10 dakika, 95°C’de 15 saniye ve 60°C’de 1 dakika olacak şekilde ayarlandı (Tablo 6).

Tablo 6. qRT-PCR Programı

RT-PCR	2. Adım	3. Adım	4. Adım
Sıcaklık	95°C	95°C	60°C
Zaman	10 dk	15 sn	1 dk

4.4.2. ELİSA Analizleri

Beyincik, striatum, korteks ve hipokampus alındıktan sonra geri kalan beyin dokularında ELİSA analizleri yapıldı.

ELİSA için doku örneklerinin hazırlanması:

4. Her bir hayvanın total beyin dokusundan 50 mg tartılarak ependorf tüplere kondu. Üzerine 450 ml PBS eklendi.
5. Ardından homojenizasyon işlemi yapılarak parçalara ayrıldı.
6. 4C°'de 4000 devirde 10 dk sanrifüj işlemi yapıldı.
7. Üstteki süpernatant kısım eliza için kullanıldı.

4.5.1. Dopamin ELİSA Kit Protokolü

Solüsyonların Hazırlanması

Yıkama Tamponu: Kitte bulunan konsantre yıkama solüsyonundan 30 ml alındı ve üzerine 750 ml deiyonize distile su koyuldu.

Standart Solüsyonu: Her kitin protokolüne bağlı kalınarak 6 farklı konsantrasyonda standart hazırlandı.

Biotin-Etiketli Antikor Çalışma Solüsyonu: Her bir numune için 1 µl Biotin-etiketli antikor üzerine 99 µl antikor seyreltme tamponu eklendi (Örn:

Numune sayısı*1 µl Biotin-etiketli antikor ve numune sayısı*99 µl antikor seyreltme tamponu).

HRP-Streptavidin Konjuge (SABC) Çalışma Solüsyonu: Her bir numune için 1 µl SABC üzerine 99 µl SABC seyreltme tamponu eklendi (Örn: Numune sayısı*1 µl SABC ve numune sayısı*99 µl SABC seyreltme tamponu).

Yöntem

1. Standartlardan ve numunelerden her bir kuyucuğa 50 µl koyuldu. Örneklerin kuyucuklardaki yerleri kaydedildi.
2. Kuyucuklardaki standart ve numunelerin üzerine 50 µl Biotin-Etiketli Antikor Çalışma Solüsyonu eklendi. Plate koruma membranı ile kapatılıp 37 °C'de 45 dk inkübasyona bırakıldı.
3. İnkübasyondan sonra plate koruma membranı çıkarıldı. Sıvı boşaltılarak her kuyucuk 350 µl yıkama tamponu ile yıkandı. Kuyucuklarda yıkama tamponu 1 dk bekletilip döküldü ve yeniden eklendi. Bu işlem 3 kez tekrarlandı.
4. Yıkama işleminin ardından her bir kuyucuğa 100 µl SABC çalışma solüsyonu eklendi. Plate koruma membranı ile kapatılıp 37 °C'de 30 dk inkübasyona bırakıldı.
5. İnkübasyondan sonra plate koruma membranı çıkarıldı. Sıvı boşaltılarak her kuyucuk 100 µl yıkama tamponu ile 5 kez yıkama yapıldı. Tampon kuyucuklarda her defasında 1-2 dk bekletildi. Beşinci yıkama yapıp kuyucuklardaki sıvı boşaltıldı.

6. Yıkamayı takiben her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat eklendi. Plate koruma membranı ile kapatılıp 37 °C’de 15-20 dk karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı. (Kuyucuklarda renk maviye dönüştü.)
7. İnkübasyondan sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi. (Mavi renk hemen sarı renge dönüştü.)
8. Referans olarak 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında okuma yapıldı.
9. Hesaplama işlemi gerçekleştirildi.

4.5.3. Serotonin ve Asetilkolin ELİSA Kit Protokolü

1. Tüm reaktifleri, örnekleri ve standartları hazırlandı;
2. Standartlar ve ELISA solüsyonu hazırlanmış örneklerin üzerine eklendi. 37°C 'da 60 dakika boyunca tepkime vermeleri için beklendi.
3. Beş kez yıkama işlemi yapıldı. Kromojen A ve B solüsyonları eklendi. 37 °C de 10 dakika inkübe edildi; (renk değişimi için).
4. Stop solüsyonu eklendi.
5. 10 dakika içinde optimum değeri okundu.

4.6. İstatistiksel Değerlendirmeler

Bu çalışmada istatistiksel değerlendirme; Fırat Üniversitesi Lisanslı (193.255.124.131) IBM SPSS 22.0 paket program kullanılarak yapıldı. Elde edilen veriler ortalama $\pm$ standart sapma (SS) veya standart hata (SH) olarak belirtildi. İstatistiksel farklar bağımsız gruplarda “one-way ANOVA” ve “independent student-t” testleri ile hesaplandı. Aynı grubun farklı zaman noktalarındaki değerleri arasındaki farkı değerlendirmek için “paired student-t test” kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. RT-PCR bulgularının değerlendirilmesi

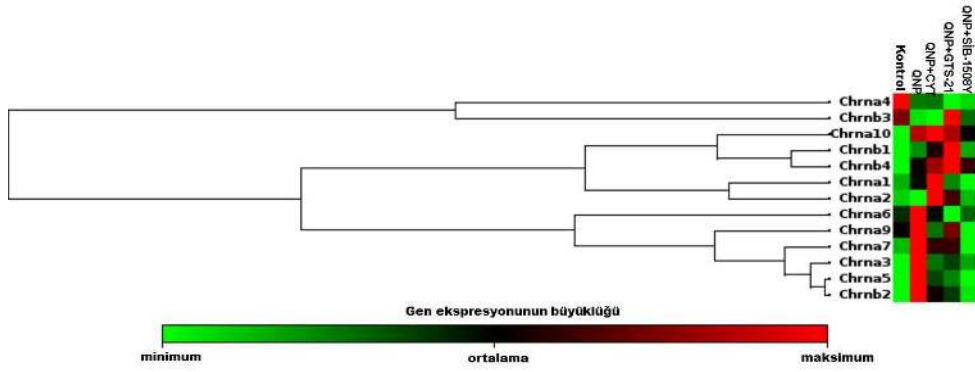
5.1.1. Beynin hipokampus bölgesinde nikotinik asetilkolin reseptör gen ifadelerin değerlendirilmesi

Beynin hipokampus bölgesinde Chrna1, 2,3,4,5,6,7,9,10 ve Chrnb1,2,3,4 nAChR reseptör gen mRNA ifadelerinin K grubu ile karşılaştırılması sonucunda, QNP grubunda Chrna3'ün arttığı ve Chrnb3'ün ise anlamlı olarak azaldığı ($p=0,024$ ve $p=0,049$, sırasıyla), QNP+CYT grubunda Chrna1, Chrna2, Chrna10'un arttığı ve Chrnb3'ün azaldığı gösterilmiştir ($p=0,049$, $p=0,049$, $p=0,049$ ve $p=0,041$, sırasıyla). QNP+GTS-21 ve QNP+SIB-1508Y gruplarının K ile karşılaştırılması sonucu gruplar arasında gen ifadeleri açısından anlamlı bir farklılık olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$).

Beynin hipokampus bölgesinde CYT'nin iyileştirici etkilerini Chrna1, Chrna2 ve Chrnb10 artışı ve Chrna3 normalizasyonu ile gösterebileceği muhtemeldir. Tablo 7 ve Şekil 3'de beynin hipokampus bölgesinde nAChRs'lerin mRNA ifade değişimleri gösterilmiştir.

Tablo 7: Beynin hipokampus dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin mRNA kat değişimleri

Position	Symbol	QNP		CYT		GTS-21		SIB-1508Y	
		mRNA Kat Değişimi	P değeri	mRNA Kat Değişimi	p değeri	mRNA Kat Değişimi	p değeri	Mrna Kat Değişimi	P değeri
1	Gapdh	1	0	1	0	1	0	1	0
2	Chrna1	1,4439	0,220136	2,1287	0,048614	1,1096	0,695625	0,8066	0,429692
3	Chrna2	0,9013	0,695114	2,042	0,04943	1,6245	0,12538	1,0497	0,855865
4	Chrna3	2,8879	0,023824	1,5157	0,173873	1,7053	0,10254	1,3287	0,315559
5	Chrna4	0,727	0,273379	0,732	0,277133	0,6329	0,143794	0,6598	0,174781
6	Chrna5	1,8277	0,084572	1,3013	0,347181	1,1975	0,502872	1	0,995771
7	Chrna6	1,5369	0,167837	1,057	0,835088	0,6242	0,135762	0,9013	0,688536
8	Chrna7	1,8404	0,082484	1,454	0,20917	1,4641	0,198421	0,8827	0,633259
9	Chrna9	1,4439	0,220136	0,7955	0,403828	1,2058	0,487516	0,5548	0,087376
10	Chrna10	1,9725	0,064924	2,114	0,049665	1,9319	0,063912	1,5476	0,158814
11	Chrnbl	1,057	0,832923	1,1487	0,603827	1,2658	0,390591	1,0425	0,87679
12	Chrnbl	1,9453	0,068003	1,5052	0,179255	1,366	0,273546	1,0425	0,87679
13	Chrnbl	0,473	0,049084	0,4383	0,041153	1,1892	0,518606	0,6552	0,169652
14	Chrnbl	1,454	0,2135	1,7053	0,106128	1,8661	0,072404	1,5263	0,168676



Şekil 4. Beynin hipokampus dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin clustergram haritalaması

5.1.2. Beynin striatum bölgesinde nikotinik asetilkolin reseptör gen ifadelerinin değerlendirilmesi

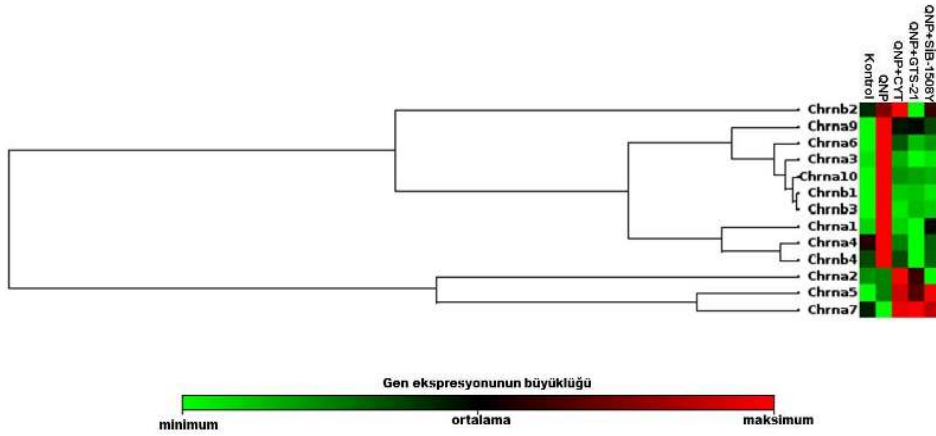
Beynin striatum bölgesinde Chrna1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 ve Chrnb1, 2, 3, 4 nAChR reseptör gen mRNA ifadelerinin K grubu ile karşılaştırılması sonucunda, QNP grubunda Chrna1, Chrna3, Chrna6, Chrna9, Chrna10, Chrnb1 ve Chrnb3 anlamlı olarak arttığı ($p=0,017$, $p=0,008$, $p=0,005$, $p=0,012$, $p=0,005$, $p=0,007$, $p=0,009$, sırasıyla) ve Chrna7’de ise anlamlı azalma olduğu gözlenmiştir ($p=0,022$). K grubuna göre QNP+CYT grubunda Chrna2, Chrna5, Chrna6, Chrna9 ve Chrna10’nun anlamlı artış gösterdiği belirlendi ($p=0,028$, $p=0,011$, $p=0,007$, $p=0,032$, $p=0,008$, sırasıyla). K grubuna göre QNP+GTS 21 grubunda Chrna5, Chrna6, Chrna9 ve Chrna10’nun anlamlı artış gösterdiği belirlendi ($p=0,015$, $p=0,013$, $p=0,0030$, $p=0,009$, sırasıyla). K grubuna göre QNP+SIB-1508Y grubunda Chrna5, Chrna6, Chrna9 ve

Chrna10'nun anlamlı artış gösterdiği belirlendi ($p=0,011$, $p=0,009$, $p=0,046$, $p=0,011$, sırasıyla).

Beynin striatum bölgesinde QNP grubunda artış gösteren Chrna1, Chrna3, Chrna7, Chrnb1, Chrna3'ün QNP+CYT, QNP+GTS-21 ve Chrna1 hariç QNP+SIB-1508Y gruplarında normalize olduğu gözlenmiştir. Buna karşın QNP grubunda artışı gösterilmiş olan Chrna6, Chrna9, Chrna10 artışının QNP+CYT, QNP+GTS21 ve QNP+SIB-1508Y gruplarında normalize olmasına rağmen QNP grubuna göre anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Buna karşın yine QNP grubunda anlamlı artışı gösterilen Chrna5'in QNP+CYT, QNP+GTS-21 ve QNP+SIB-1508Y gruplarında QNP'ye göre anlamlı arttığı belirlenmiştir. Tablo 8 ve Şekil 3'de beyin striatum bölgesinde nAChRs'lerin mRNA ifade değişimleri gösterilmiştir.

Tablo 8: Beynin sitriatum dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin mRNA kat değişimleri

Position	Symbol	QNP		CYT		GTS-21		SIB-1508Y	
		mRNA Kat Değişimi	p değeri	mRNA Kat Değişimi	p değeri	mRNA Kat Değişimi	p değeri	mRNA Kat Değişimi	p değeri
1	Gapdh	1	0	1	0	1	0	1	0
2	Chrna1	3,5064	0,016831	1,014	0,957793	0,7792	0,373575	2,0994	0,0532
3	Chrna2	1,0497	0,853429	2,6759	0,028036	1,8532	0,080463	0,5359	0,078506
4	Chrna3	6,8211	0,008335	1,6133	0,136998	0,717	0,256885	1,007	0,978886
5	Chrna4	1,366	0,282039	0,732	0,282039	0,5212	0,071283	0,79	0,397508
6	Chrna5	2,0139	0,060651	4,6913	0,011502	3,7064	0,015475	5,063	0,010635
7	Chrna6	26,3549	0,005249	9,2535	0,00701	4,2575	0,012857	6,021	0,009131
8	Chrna7	0,3368	0,022543	1,7901	0,091264	1,8404	0,082484	1,6358	0,12947
9	Chrna9	4,2871	0,012749	2,514	0,032441	2,5847	0,030359	2,1886	0,046974
10	Chrna10	28,2465	0,005197	6,6346	0,008495	5,7757	0,009444	4,9588	0,010857
11	Chrb1	7,7812	0,007675	1,6818	0,115876	1,7654	0,09611	1,3013	0,351
12	Chrb2	1,1567	0,587693	1,2746	0,38537	0,8011	0,422834	1,0867	0,752776
13	Chrb3	5,6569	0,00961	1,1892	0,522742	1,6133	0,136998	1,4743	0,200885
14	Chrb4	1,3287	0,319592	1	1	0,8179	0,463491	0,9727	0,915764



Şekil 5. Beynin striatum dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin clustergram haritalaması

5.1.3. Beynin korteks bölgesinde nikotinik asetilkolin reseptör gen ifadelerinin değerlendirilmesi

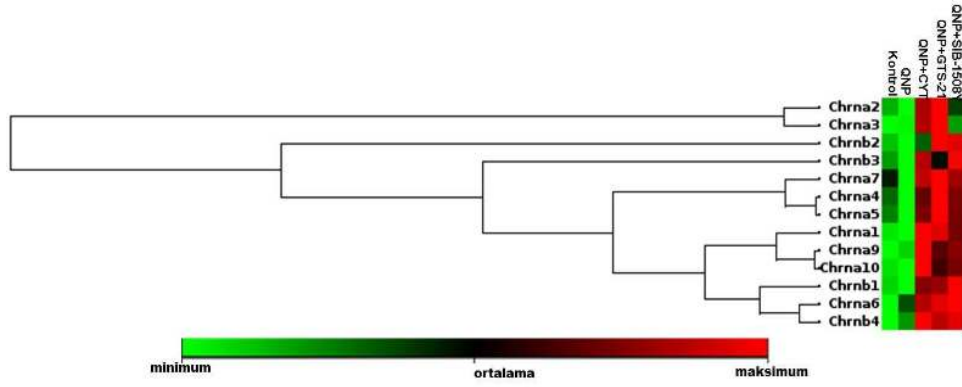
Beynin korteks bölgesinde Chrna 1, 2 ,3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 ve Chrnb 1,2,3,4 nAChr reseptör gen mRNA ifadelerinin K grubu ile karşılaştırılması sonucunda, QNP grubunda Chrna2, Chrna4, Chrna5, Chrna6, Chrna7 ve Chrnb3 anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ($p=0,029$, $p=0,018$, $p=0,032$, $p=0,010$, $p=0,026$ ve $p=0,043$, sırasıyla). K grubuna göre QNP+CYT grubunda Chrna1, Chrna2, Chrna3, Chrna5, Chrna6, Chrna9, Chrna10, Chrnb1, Chrnb3 ve Chrnb4'ün anlamlı artış gösterdiği belirlendi ($p=0,0008$, $p=0,014$, $p=0,006$, $p=0,043$, $p=0,006$, $p=0,011$, $p=0,007$, $p=0,029$, $p=0,022$, $P=0,011$, sırasıyla). K grubuna göre QNP+GTS-21 grubunda Chrna1, chrna2, Chrna3, chrna4, Chrna5, Chrna6, Chrna9, Chrna10, Chrnb1 ve Chrnb4'ün anlamlı artış gösterdiği belirlendi ($p=0,008$, $p=0,011$, $p=0,006$, $p=0,027$, $p=0,023$, $p=0,006$, $p=0,015$, $p=0,008$,

p=0,027, p=0,011, sırasıyla). K grubuna göre QNP+SIB-1508Y grubunda Chrna1, Chrna3, Chrna5, Chrna6, Chrna9,Chrna10, Chrnb1, Chrnb3 ve Chrnb4'ün anlamlı artış gösterdiği belirlendi (p=0,011, p=0,019, p=0,043, p=0,006, p=0,013, p=0,007, p=0,020, p=0,017 ve p=0,011, sırasıyla).

Beynin korteks bölgesinde QNP+CYT, QNP+GTS-21 ve QNP+SIB-1508Y gruplarında Chrna1, Chrna3, Chrna5, Chrna6, Chrna9, Chrna10, Chrna1 ve Chrnb4'ün anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. Tablo 9 ve Şekil 4'de beynin korteks bölgesinde nAChRs'lerin mRNA ifade değişimleri gösterilmiştir.

Tablo 9: Beynin korteks dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin mRNA kat değişimleri

Position	Symbol	QNP		CYT		GTS-21		SİB	
		mRNA Kat Değişimi	p değeri	Mrna Kat Değişimi	p değeri	Mrna Kat Değişimi	p değeri	mRNA Kat Değişimi	p değeri
1	Gapdh	1	0	1	0	1	0	1	0
2	Chrna1	0,7579	0,337495	6,6346	0,008542	6,3203	0,008851	5,063	0,010728
3	Chrna2	0,3728	0,029267	3,8816	0,014578	4,5842	0,011849	1,9543	0,067965
4	Chrna3	1,162	0,58262	10,753	0,006576	12,5244	0,00622	3,1969	0,019797
5	Chrna4	0,2905	0,018307	1,9954	0,063426	2,7258	0,027181	2,1092	0,053185
6	Chrna5	0,3887	0,032162	2,2605	0,043381	2,9214	0,023487	2,2605	0,043381
7	Chrna6	5,1575	0,010485	11,2096	0,006471	12,4379	0,006235	12,966	0,00615
8	Chrna7	0,3527	0,02601	1,632	0,13289	1,7983	0,091165	1,5333	0,172362
9	Chrna9	1,3074	0,348832	4,9474	0,010925	3,6723	0,015787	4,0465	0,013783
10	Chrna10	0,531	0,078549	10,3867	0,006669	6,7116	0,008447	7,7633	0,007699
11	Chrb1	0,816	0,46084	2,6147	0,029867	2,7069	0,027601	3,1748	0,020045
12	Chrb2	0,893	0,669922	1,1865	0,53401	1,8361	0,084493	1,7859	0,093539
13	Chrb3	0,4373	0,043272	3,0035	0,022235	1,8489	0,082411	3,4263	0,017588
14	Chrb4	1,8361	0,084493	5,1219	0,010556	4,5842	0,011849	4,9132	0,011002



Şekil 6. Beynin korteks dokusunda qRT-PCR ile analiz edilen genlerin clustergram haritalaması

5.2.Davranış Deneyi Analizleri

Gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında kilit noktada durma, şahlanma ve kilit noktadan ortalama ayrı kalma süreleri açısından anlamlı bir farklılık olmadığı gösterilmiştir. Buna karşın kilit noktayı ziyaret, tımarlanma, dönüş, beşinci nesneye ziyaret, sekizinci nesneye ziyaret, onuncu nesneye ziyaret, on dördüncü nesneye ziyaret, home base’de durma süresi, toplam durma süresi ve toplam hareket süresi açısından anlamlı farklılık gösterilmiştir. Kilit noktayı ziyaret açısından K grubu ile karşılaştırıldığında QNP, QNP+GTS-21 ve Q+SIB-1508Y gruplarında anlamlı azalma olduğu (sırasıyla $p=0,005$ ve $p=0,046$) gösterilmiştir. CYT uygulanmasının ise QNP grubundaki bu azalmayı kontrole yaklaştırarak normalleştirdiği ($p=0,892$ ve $p=0,178$) görülmüştür. Tımarlanma açısından kontrol grubuna göre QNP grubunda tımarlanmanın anlamlı olarak azaldığı ($p=0,009$) ancak CYT, GTS-21 ve SIB-1508Y ilaç uygulamalarının bu azalmayı normalleştirdiği (sırasıyla $p=0,980$ $p=0,998$ ve $p=0,809$) gözlemlenmiştir.

Dönüşler açısından K grubuna göre QNP, QNP+CYT, QNP+GTS-21 VE QNP+SIB-1508Y gruplarında dönüşlerin anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir (sırasıyla $p=0,000$ $p=0,031$ $p=0,000$ $p=0,002$). Beşinci nesneyi ziyaret açısından K grubu ile karşılaştırıldığında QNP, QNP+CYT, QNP+GTS-21 ve QNP+SIB-1508Y gruplarında ziyaretlerin anlamlı olarak azaldığı ($p=0,03$) görülmüştür. Sekizinci nesneyi ziyareti açısından K grubu ile karşılaştırıldığında ziyaretlerin QNP grubunda ve GTS-21 grubunda anlamlı olarak azaldığı gözlenmiştir ($p>0,05$). Onuncu nesneyi ziyaret açısından K grubuna göre QNP, QNP+GTS-21 ve Q+SIB-1508Y gruplarında ziyaretlerin anlamlı olarak azaldığı (sırasıyla $p=0,000$ $p=0,022$ ve $p=0,023$) ancak CYT uygulamasının bu ziyaretleri arttırarak normalleştirdiği gözlenmiştir. On dördüncü nesneyi ziyareti açısından göre QNP, QNP+GTS-21 ve Q+SIB-1508Y gruplarında ziyaretlerin anlamlı olarak azaldığı (sırasıyla $p=0,000$ $p=0,029$ ve $p=0,047$) ancak CYT uygulamasının bu azalmayı arttırarak normalleştirdiği gözlenmiştir ($p=0,383$).

Toplam Durma süresi açısından K grubuna göre QNP, QNP+GTS-21 ve QNP+SIB-1508Y gruplarında ortalama durma süresinin anlamlı olarak arttığı, CYT tedavisinin ise bu artışı normalleştirdiği gözlenmiştir. Toplam hareket süresi açısından K grubuna göre QNP, QNP+GTS-21 ve Q+SIB-1508Y gruplarında toplam hareket süresinin azaldığı, bu azalmayı CYT uygulamasının iyileştirdiği gözlenmiştir. Tablo 10'da açık alan testinde değerlendirilen davranışların dakika cinsinden gruptaki süreleri verilmiştir.

Tablo 10: Davranış Deneyi Analizleri.

Gruplar	K	QNP	QNP+CYT	QNP+GTS-21	QNP+SIB-1508	F	Sig.
Kilit nokta	19,5±2,50	20,50±2,07	20,40±2,19	17,0±6,0	20,40±2,19	0,76	0,56
Kilit noktayı ziyaret	14,45±3,77	3,88±2,29 ^a	11,40±4,03 ^b	5,50±2,08 ^a	7,80±3,19 ^a	14,505	0
Tımarlanma	22,36±8,89	7,87±2,23 ^a	25,0±5,83 ^b	28,50±6,45 ^b	16,20±4,30	10,258	0
Şahlanma	4,63±1,56	4,75±2,05	4,20±2,04	3,50±1,91	2,40±1,67	1,69	0,18
Dönme	13,63±3,77	5,75±2,18 ^a	8,40±2,60 ^a	3,75±1,50 ^a	6,60±0,89 ^a	15,042	0
5.nesne ziyaret	13,00±1,73	3,87±3,31 ^a	7,60±4,56 ^a	4,00±1,82 ^a	6,20±3,11 ^a	14,399	0
8.nesne ziyaret	14,90±5,33	4,87±2,64 ^a	13,00±4,06 ^b	5,75±2,36 ^a	12,00±1,87 ^b	9,741	0
10.nesne ziyaret	16,90±2,94	3,25±2,86 ^a	16,20±5,89 ^b	7,50±3,41 ^a	9,20±1,30 ^{a,b}	22,914	0
14.nesne ziyaret	14,90±3,80	3,75±3,01 ^a	9,20±2,48 ^a	6,50±4,35 ^a	9,00±1,20 ^a	14,743	0
Kilit noktada durma süresi	28,21±8,76	41,50±7,83 ^a	34,10±10,22	38,88±6,73	41,55±6,88 ^a	3,996	0,011
Toplam durma süresi	31,58±5,80	45,12±5,51 ^a	37,34±7,16	43,16±5,49 ^a	42,35±5,91 ^a	7,402	0
Toplam hareket süresi	23,63±5,91	9,37±6,02 ^a	18,44±6,11	12,11±5,54 ^a	14,23±4,00 ^a	8,366	0
Kilit noktadan ortalama ayrı durma süresi	4,63±1,56	4,75±2,05	4,20±2,04	3,50±1,91	2,40±1,67	1,69	0,18

^aK grubuna göre karşılaştırıldığında. ^bQNP grubuna göre karşılaştırıldığında.

^cQNP+CYT grubuna göre karşılaştırıldığında. ^dQNP+SIB-1508Y grubuna göre karşılaştırıldığında. Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. One-way anova testi kullanılmıştır. p<0.05 anlamlı olarak değerlendirilmiştir. Tabloda verilen süreler dakika olarak ifade edilmiştir.

5.3. Beyin nörotransmitter düzeylerinin değerlendirilmesi

Beyin ST düzeyleri açısından gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılığın olmadığı gözlenmiştir ($p>0,05$). Beyin DP düzeyleri açısından K ve QNP grubu arasında anlamlı bir farklılık olmamasına rağmen K ve QNP gruplarına göre SIB-1508Y grubunda DP düzeylerinin anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir ($p= 0,000$ ve $p=0,000$). QNP grubuyla karşılaştırıldığında CYT grubunda da DP düzeylerinin anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir ($p=0,013$). Beyin ACH düzeylerinin K ile karşılaştırıldığında sadece QNP+SIB-1508Y grubunda anlamlı olarak arttığı gösterilmiştir ($p=0,008$). Tablo 11’de total beyin dokusunda değerlendirilen nörotransmitterlerin düzeyleri verilmiştir.

Tablo 11: Beyin ST, DP ve ACH düzeyleri.

Gruplar	ST ng/ml	DP ng/ml	ACH ng/ml
K	749, 07±71,03	2,72±0,23	21,0097±1,55
QNP	942,82±54,52	2,98±0,49	22,5069±3,33
QNP+CYT	859,57±131,86	3,43±0,22 ^b	21,7737±3,18
QNP+GTS-21	936,42±143,25	2,79±0,19	21,0655±0,91
QNP+SIB-1508Y	701,88±45,79	6,63±0,18 ^{a,b}	38,10±3,18
P ve F değeri	P=0,558 F=0,765	P= 0,000 F=101,64	P=0,003 F=5,336

Değerler ortalama ve standart hata olarak verilmiştir.

6. TARTIŞMA

Çalışmamızda beyinde bulunan d2 DP reseptör agonisti olan QNP kullanarak sıçan OKB modeli oluşturuldu. Oluşturulan modelde beynin korteks, striatum ve hipokampus bölgelerindeki nAChR genlerinin mRNA ifadeleri analizi sonrası belirli beyin bölgelerinde artışı tespit edilen beta2beta4, alfa7 ve alfa2beta4 spesifik nikotinik reseptör agonistleri olan SIB-1508Y, GTS-21 ve CYT moleküllerinin sıçan OKB modelinde tedavi etkinlikleri değerlendirildi. QNP'nin açık alan testinde değerlendirilen 13 farklı davranıştan 10'nunu bozduğu, tedavi amaçlı kullanılan GTS-21 ve SIB-1508Y'nin iki davranışı ve CYT'nin ise 7 davranışı düzelttiği bulundu. Çalışma sonunda sıçan beyinde nAChR'lerden 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 alfa alt üniteleri ve 2, 3, 4 beta ünitelerinin mRNA ifadelerinin olduğu gözlemlendi. Real time PCR sonuçlarımıza göre K grubuna göre diğer tüm gruplarda nACHRs gen ifadelerinin anlamlı olarak değiştiği saptandı. Beyin DP düzeylerinin K ve QNP gruplarına göre SIB-1508Y grubunda ve QNP grubuna göre ise CYT grubunda da anlamlı olarak arttığı belirlenmiştir. Beyin asetilkolin düzeylerinin K ile karşılaştırıldığında sadece QNP+SIB-1508Y grubunda anlamlı olarak arttığı gösterildi.

Szechtman ve arkadaşları tarafından geliştirilen QNP modeli, D2 / D3 DP agonisti QNP (5 hafta boyunca haftada iki kez 0.5 mg / kg) ile kronik tedaviden sonra sıçanlarda OKB benzeri tekrarlayıcı davranış değişikliklerinin gözlemlendiği bir sıçan farmakolojik OKB modelidir. Sabit yerlere dört küçük objenin bulunduğu bir açık alan testinde 55 dakikalık bir süre boyunca videoya çekildiklerinde, QNP verilen sıçanların, izotonik verilen sıçanlardan 20 kat daha sık durdukları, iki konum açısından daha yavaş tercih yaptıkları gözlemlenmiştir. Bu

yerlere çok daha kısa geri dönüş süreleri sergiledikleri ve K fareleriyle karşılaştırıldığında geri dönüşler arasında daha az sayıda yerde durdukları gözlenmiştir (53-54). Bazı yazarlar, QNP modelinin OKB K grubunun motivasyonel temellerinin, güvenlik ve güvenlik ile ilgili uyarıcıların normal kontrol edilmesinin abartılı bir formunu temsil etmesiyle benzer görüldüğünü iddia etmektedir (56). Selektif D2 reseptörü agonisti QNP'nin kronik olarak uygulanmasının, FST (Forced Swim Test)'deki OVX (overectomize) sıçanlarının depresyon benzeri davranışını değiştirmede gösterilmiştir. Farmakolojik çalışmalar santral nöronal DP sisteminin fonksiyonel olarak depresyona benzer davranışlarda rol oynayabileceğini göstermiştir (61). Bazı veriler, seçici D2 reseptör agonistlerinin, hem öğrenilmiş çaresizlik prosedüründe hem de zorunlu yüzme testinde erkek sıçanlarda antidepresan etkilerinin olduğunu gösterirken, D2 reseptörlerinin blokajı, imipramin ve diğer ajanların antidepresan etkisini önler. Bununla birlikte, bazı çalışmalarda DP reseptörü antagonistleri olarak etki eden bazı dopaminerjik antipsikotik ilaçların da antidepresanlar olarak aktif olduğunu gösteren çalışmalar vardır (62). Daha önce yapılan çalışmalarda açık alan testinde QNP sıçan OKB modeli oluşturulan sıçanların diğer konumlarda bulunan nesnelere göre belirli bir veya iki nesneye daha sık gidip geldiği, bu tercih edilen yerlerdeki nesnelere geri dönme süresinin diğer yerlere ve nesnelere göre çok daha kısa süreli olduğu, tercih edilen nesnelerin bulunduğu yerler dışında diğer nesneleri çok az sayıda ziyaret ettiklerini, tercih edilen yerdeki nesnelere özel karakteristik eylemler gerçekleştirdikleri ve bu hareketlerin diğer yerlerde bulunan nesnelerde gerçekleştirilen eylemlerden farklı olduğu ve son olarak nesnelerin çevresel özellikleri değiştiğinde aktivitelerinin de değiştiği gözlemlenmiştir. QNP

ile muamele edilen farelerin daha az davranış şekli olduğu, bu davranışları daha az değişkenlikle yaptıkları ve kilit yerlere daha az ziyaret gerçekleştirdikleri gözlemlenmiştir. Davranış türlerinin azalması, QNP ile muamele edilen sıçanlarda tımar ve çömelme olmaması, yanal hareketlerin performansında belirgin bir azalma, baskın olarak bir yöne dönme, dönüş frekansında azalma belirgin özelliklerdendi. QNP sıçanları, bu konumdaki 100 ziyaretin sadece % 50'sinde nesneye temas kurarken, K grubu sıçanlar neredeyse her seferinde nesneye dokunmuştur (53). Mevcut çalışmada QNP sıçan OKB modelinde değerlendirilen 13 davranıştan 10'unun K grubuna göre değiştiği gösterilmiştir. Değişen davranışlar arasında home base durma süresi ve toplam durma sürelerinin arttığı, home base ziyaret sayısı, tımarlanma, şahlanma, dönme, 5, 8, 10 ve 14 nesneyi ziyaretin ise azaldığı belirlenmiştir. Bu bağlamda mevcut çalışmada sıçan QNP OKB modelinin düzgün olarak oluştuğu ortaya konmuştur.

DP merkezi sinir sisteminin farklı yerlerine etki etmektedir. Bu bölgeler, korteks, striatum, globus-pallidus, hipotalamustur. Yukarıda bahsedilen belirli davranışlardaki azalma dopaminin uyarıcı etkisi, talamus-korteks devresinin aktivasyonunu kolaylaşması; ancak, striatopallidal nöronlarda D2 reseptörlerinin aktivasyonunun, projeksiyonları engelleyerek motor aktivitenin azalmasıyla açıklanabilir.

ST OKB patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını açıkça gösterilen nörokimyasal çalışmalar olmasına rağmen, yapılan çoğu çalışmada, OKB'li hastalar ile K grupları arasındaki ST metabolitlerinin konsantrasyonunda anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir. Insel ve arkadaşları OKB hastaları ve normal K grupları arasındaki ST metabolitlerinin konsantrasyonunda anlamlı bir fark

olduğunu belirlemişlerdir(63). Ancak takip çalışmalarında bu fark bulunamamıştır (64). Daha önce sıçanlarda QNP OKB modelinde beyin ST düzeylerinin incelendiği çalışmalara rastlanmamıştır. Bu bağlamda bulgularımız ilk olma özelliğine sahiptir. Mevcut çalışmada da beyin ST düzeyleri arasında sadece QNP+SIB-1508Y grubunda anlamlı bir azalma olduğu gözlenmiştir.

Tedavi edilmemiş hastalarda ise DP ve DP metaboliti olan (homovanilik asit [HVA]) konsantrasyonu, OKB hastalarında DP'nin rolünün doğrudan kanıtı olarak değerlendirilmiştir. Thoren ve arkadaşları 3 haftalık bir klomipramin tedavisi öncesi ve sonrasında serebrospinal sıvı içindeki konsantrasyonunun anlamlı olarak değişmediğini bulmuşlardır (65). Swedo ve arkadaşları OKB'li 43 çocuğun beyin omurilik sıvısındaki HVA konsantrasyonunun K grubuna göre anlamlı olarak değişmediğini ifade etmişlerdir. Daha sonra ise yapılan analizlerde anlamlı farklılık olmadığını ifade etmişlerdir . Diğer bir çalışmada ise beş haftalık bir clomipramin tedavisinin ardından, semptomların iyileşmesi ve ilaçların konsantrasyonu arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır (66). Hollander ve arkadaşları 12 OKB hastasında serum HVA konsantrasyonunu ve fenfluramin ile tedavi edilen 10 normal K hastasında değerlendirdikleri OKB çalışmalarında hastalarında HVA konsantrasyonunda anlamlı bir azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (67). Zahn ve arkadaşları norepinefrin yerine DP ve ST metabolitlerinin OKB'li 43 pediatrik hastada “reaksiyon zamanı görevi” sürecinde görülen elektro fizyolojik yanıtlarla anlamlı bir korelasyon gösterdiğini belirtmişlerdir (68). Marazziti ve arkadaşları OKB'li 17 hastada ve 17 kontrolde trombositlerdeki sülfotansferaz aktivitesini ölçmüşlerdir (69). Çalışmalarında kontrol hastalarına kıyasla OKB hastalarında sulfotansferaz konsantrasyonunun

anlamli olarak daha yu'kse'k oldu'gu' go'zlemi'slerdir. DP gibi, su'lfotansferazda katekolamini co'zen, beyin ve trombositlerde benzer karakter o'zelliklerine sahip bir enzimdir (70). Bu sonu'clar, OKB hastalarinda DP'nin no'rotransmisyonunun artti'gini go'stermektedir. Bununla birlikte, bugu'ne kadar yapilan DP metabolitleri u'zerindeki no'rokimyasal co'lis'malarda, OKB hastalarinda DP'nin fonksiyonel yetersizli'gine dair bir kanit bulunamamistir.

QNP'nin beyin no'rotranmitter salinimi u'zerine etkilerinin incelendi'gi az sayida co'lis'ma vardir. DP resepto'r agonisti QNP'nin bazal ko'sullarda sican striatal dilimlerden ACH ve kolin co'kisi'na etkisizken, uyarilan dilimlerden ACH co'kisi'nin QNP ile baskilandi'gini go'stermistir. DP resepto'r agonisti QNP'nin striatal dilimlerde kolin co'kisi'ni, doku ACH, kolin ve fosfolipid du'zeylerine etkisi olmadigi'ni ifade etmistir. Co'lis'mamizda tedavi gruplarinda kullandi'gimiz CYT, GTS-21 ve SIB-1508Y molekullerin beyin no'rotranmitter salimnari u'zerine etkilerinin de'gerlendirildi'gi sınırlı sayıda co'lis'ma mevcuttur (71). Subkutan olarak uygulanan anabasein ve GTS-21 ACh ve birka'c biyogenik aminin beyin seviyeleri u'zerindeki etkileri serebral (frontoparietal yerlesim yeri) mikrodializ yontemleri kullanilarak arastirilmistir (72-73) ve di'ger $\alpha 4\beta 2$ agonistleri gibi anabazinin ACH seviyelerini yu'kseltti'gi go'sterilmistir. Bununla birlikte, es molar (3.6 $\mu\text{mol} / \text{kg}$) bir GTS-21 dozunun, bu kortikal bo'lgede veya hipokampus i'cinde ACH seviyelerini etkilemedi'gi belirlenmistir (74). Hem anabasein hem de GTS-21 DP ve norepinefrin du'zeylerini yu'kseltti'gi ancak ST du'zeylerini anlamlı se'kilde etkilemedi'gi ifade edilmiştir (75). SIB-1508Y'nin beyinde dopamin salinimi uyardi'gi belirlenmiştir (76). SIB-1508Y'nin (10 mg / kg) deri altına enjeksiyonu striatal DP salinimi arttırmıştır ve bu salım, rekabetçi olmayan

nAChR antagonisti, mecamilamin (Mec) tarafından bloke edilmektedir. Ayrıca SIB-1508Y'nin, striatal ACH salımını etkilemeden seçici olarak hipokampal ACH salımını arttırdığı gösterilmiştir. SIB-1508Y tarafından uyarılan hipokampal ACH salınımı, nAChR antagonistleri Mec ve Dihidro-beta-eritroidin (DHbetaE) ve ayrıca DP D1 reseptör antagonisti SCH-23390 tarafından azaltılmıştır. Bu sonuçlar, daha önce belirlenmiş hipokampal ACH salınımının nAChR düzenlemesinin farmakolojisi ile tutarlıdır. SIB-1508Y'nin 14 gün boyunca ardışık uygulanması striatal DP salımı veya hipokampal ACH salımında artışa neden olmamıştır (77).

Mevcut çalışmada kontrole göre QNP'nin beyin DP düzeylerini değiştirmede gösterilmiştir. Ancak SIB-1508Y grubunda daha belirgin olmakla beraber ve daha önce yapılan çalışmalarla benzer şekilde CYT gruplarında DP düzeylerinin anlamlı olarak arttığı gözlenmiştir. Ancak çalışmamızda daha önce yapılan çalışmalardan farklı olarak GTS-21 beyin DP düzeyleri üzerinde etkili olmadığı gösterilmiştir. Bu bulgunun ana nedenlerinden biri GTS-21'in tek başına değil bir DP reseptör agonisti olan QNP ile beraber uygulanmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda özellikle 3 nACHR agonisti karşılaştırıldığında açık olarak SIB-1508Y molekülünün DP düzeylerini çok ciddi bir şekilde artırdığı görülmüştür. nAChR'ler özellikle Nukleus accumbens gibi bol miktarda dopaminerjik uçlara sahip beyin bölgelerinde bulunmaktadır, Bu bölgelerde özellikle alfa 6 alt ünitesinin yoğunlukta olduğu gösterilmiştir (78). Mevcut çalışmada K grubu ile karşılaştırıldığında beyin asetilkolin düzeylerinin QNP grubunda değişmediği gösterilmiştir. Bu veri Ulus ve arkadaşlarının

çalışmasıyla tutarlıdır. Mevcut çalışmada elde edilen diğer bir önemli veri SIB-1508Y grubunda beyin asetilkolin düzeylerinde elde edilen artıştır.

Memeli nAChR'ler, suyla doldurulmuş bir gözenek etrafında düzenlenmiş beş alt birimden oluşur. Nöronal alt birimler, alfa ve beta alt birimlerinin hücre dışı alanındaki bitişik sistein gruplarının varlığına dayalı olarak alfa ($\alpha 2$ - $\alpha 7$, $\alpha 9$ ve $\alpha 10$) ve beta ($\beta 2$ – $\beta 4$) olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Nöronal alt birimlerden $\alpha 8$ alt birimi sadece kuşlarda bulunmaktadır ancak memelilerde bulunmamaktadır. Nöronal nAChR'lerin yapısal ve fonksiyonel çeşitliliği olası birçok alt birim kombinasyonundan kaynaklanmaktadır. Memeli beyinde en sık bulunan iki nAChR alt tipi, $\alpha 4\beta 2$ heteromerik ve $\alpha 7$ homomerik alt ünite kombinasyonlarıdır (79). Nikotin ödüllendirici etkilerinin kısmen $\alpha 4 / \alpha 6 / \beta 2$, $\alpha 3\beta 4$ ve $\alpha 7$ nAChR'leri aktive ederek gerçekleştirir (80-83). $\alpha 9\alpha 10$ reseptörü, nAChR ailesinin atipik bir üyesidir. Sadece α alt birimlerinden oluşan heteromerik bir reseptördür. Memeli 9 alt birimleri, heteromerik $\alpha 9\alpha 10$ reseptörüne benzer ACh için bir EC50 ile işlevsel homomerik $\alpha 9$ reseptörleri oluşturabilir. Dolayısıyla, $\alpha 9$ alt birimleri, işlevsel agonist bağlanma bölgelerine temel ve tamamlayıcı bileşenler sunma yeteneğine sahiptir. Buna karşılık, sıçan ve insan $\alpha 10$ alt birimleri, heterolog şekilde eksprese edildiklerinde fonksiyonel kanallar oluşturamazlar. Sonuç olarak, $\alpha 10$ 'un, agonist bağlama bölgesine sadece tamamlayıcı bileşenler sağladığı gibi, heteromerik reseptörlerin bir alt birimi gibi yapısal bir alt birim olarak hizmet edebileceği öne sürülmüştür. Bununla birlikte, her bir alt birimin, heteromerik $\alpha 9\alpha 10$ reseptörünün bağlanma ceplerine nispi katkısı bilinmemektedir (84).

Pek çok farklı hastalıkta nikotinik reseptörlerin gen ekspresyon düzeyleri değerlendirilmiştir. Nikotinin, nikotinik kolinerjik ve dopaminerjik reseptör genlerindeki mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkilerinin değerlendirildiği bir çalışmada yüksek düzeyde nikotin alımının düşük $\alpha 7$ ve $\beta 2$ gen ekspresyonu ile ilişkili olduğu gözlemlenmiştir. Aynı çalışmada 7 günlük nikotin alımının, nAChR $\alpha 4$ ve $\beta 2$ alt birim mRNA'ların ekspresyonunu arttırmadığı gösterilmiştir. Salas ve arkadaşları $\alpha 5$ nikotinik reseptörünün nikotin bağımlılığında kritik derecede önemli olduğunu, farelerdeki nikotin kaynaklı nöbetlere direnç gösterdikleri ve bu farelerin akut nikotine karşı davranışsal tepkiler göstermediklerini gözlemlemişlerdir (85). Loughhead ve arkadaşları, $\alpha 4\beta 2$ kısmi agonisti vareniklin'in, özellikle yüksek sigara kullananlar arasında bilişsel performansta ilişkili gelişmelere yol açan, 3 günlük nikotin yoksunluğundan sonra, bellekle ilişkili beyin aktivitesini arttırdığını gözlemlemişlerdir. Postmortem çalışmalarda, $\alpha 4\beta 2$ alt tipinin yüzde elliye kadar azalmasının alzaymıra sebep olduğu gözlenmiştir. Yapılan çalışmalar $\alpha 4$ ve $\alpha 7$ izoformlarının, alzaymır hastalarının kortekslerindeki protein miktarlarında önemli ölçüde azaldığını açıkça göstermiştir (86). Visanji ve arkadaşları nikotin (0.8 mg kg⁻¹) s.c sekiz gün ardışık olarak verilmesinin, substantia nigra pars compacta (SNc)'deki alfa6 (yaklaşık% 55) ve beta3 (yaklaşık% 43) nAChR alt ünite mRNA seviyelerini önemli ölçüde arttırdığını göstermiştir. Zoli ve arkadaşları ve Champtiaux ve arkadaşları, kronik nikotin ön işleminden sonra artmış striatal DP salımının altında yatan nAChR alt tiplerinin, $\alpha 4\alpha 6\beta 2$ veya $\alpha 6\beta 2$ 'nin olduğunu ileri sürmektedirler. Sıçanlarda kronik nikotin tatbikatını takiben $\alpha 4$, $\alpha 6$ ve $\beta 2$ nAChR alt birimlerinin artmış ifadeleri gösterilmiştir (87). Mevcut çalışmada nAChRs

gen ifadeleri beynin korteks, striatum ve hipokampus bölgelerinde ayrı ayrı olarak değerlendirilmiştir. Artan kanıtlar, OKB'nin patofizyolojisindeki kortikositriatal devrelerde anormalliklerin olduğunu göstermektedir (88). Çalışmamızda da bu bulguyu destekleyecek şekilde nACHRs gen ifadelerinin en fazla korteks ve striatum bölgelerinde değiştiği gözlenmiştir. QNP'nin Chrna3'ün arttırdığı ve Chrnb3'ü ise anlamlı olarak azalttığı, CYT tedavisinin Chrna1, Chrna2, chrna10'nin arttırdığı ve Chrnb3'üz azalttığı gösterilmiştir. GTS-21 ve SIB-1508Y tedavisinin nACHRs gen ifadelerini değiştirmedeği gözlenmiştir. Beynin hipokampus bölgesinde sistisinin iyileştirici etkilerini Chrna1, Chrna2 ve Chrnb10 artışı ve Chrnb3 normalizasyonu ile gösterebileceği muhtemeldir. Sis'in Chrnb3 ifadesini normalizasyonu Visanji ve arkadaşları çalışmalarıyla tutarlılık göstermektedir. Korteks ve striatum bölgelerinde gen ifade değişimlerinin yüksek düzeyde olduğu tedavi ajanlarının tedavi etkinliklerini bu gen ifadelerini belirli düzeyde normalize ederek gösterdikleri düşünülmektedir. Beynin bu iki bölgesinde görülen nACHRs ifadelerindeki değişimlerin OKB patofizyolojisinde ve tedavisinde rol oynayabileceği açıktır. Ancak diğer analiz edilen nACHRs ifadelerinin değerlendirildiği çalışmalara rastlanmadığından bu gen ifadelerinin literatürle karşılaştırılması mümkün olmamıştır (89). Çalışmamızda sıçan OKB modelimizde nAChR olan CYT, GTS-21 ve SIB-1508Y molekülleri tedavi amaçlı olarak kullanılmıştır. Literatür taramalarımızda bu moleküllerin sıçan QNP OKB modelinde tedavi amaçlı olarak kullanıldığı çalışmalara rastlanmamıştır. Bununla beraber farklı kemirgen hastalık modellerinde bu moleküllerin tedavi amaçlı olarak kullanıldığı yayınlar mevcuttur.

Doğal bir bitki alkaloidi olan CYT, Bulgaristan'da sigara bırakmanın klinik tedavisinde 40 yıldır kullanılmaktadır ve nikotin farmakolojik özelliklerine benzer olduğu gösterilmiştir. Alfa4beta2 nAChR'lerin rekabetçi bir antagonisti olan CYT, nikotinin varlığında bir antagonist olarak davranır ve bu nedenle insanlarda nikotin yoksunluğu semptomlarını azaltıp hafifletir (90). Sistemik nikotin enjeksiyonlarının lokomotif aktiviteyi kolaylaştırdığı gösterilmiştir (91). Ventral tegmentumda nikotinik bağlanma bölgeleri vardır ve sistemik nikotin enjeksiyonları, bu bölgedeki DP hücrelerinin ateşlenmesini artırır, ayrıca ventral tegmentumdan DP efferentleri alan bir bölge olan nukleus accumbensde DP salımını uyarır (92). Ek olarak, bu bölgedeki DP hücrelerini tahrip eden lezyonlar, sistemik nikotin enjeksiyonlarıyla ilişkili lokomotor-aktive edici etkileri de engellemektedir. Bu bulgular, ventral tegmentumdaki DP hücrelerinin - özellikle mesolimbik DP sistemini içerenlerin - nikotin ve CYT'nin ventral tegmental enjeksiyonlarına ve nikotinin sistemik enjeksiyonlarına lokomotor cevapta aracılık ettiği kanısıyla tutarlıdır (93). Nikotinik agonist CYT ventral tegmental enjeksiyonlarının sıçanlarda yer tercihlerini etkileyip etkilemeyeceğini test etmek için kurguladıkları deneyde 1, 3, 5 ve 7. günlerde, sıçanlara CYT (0.5 mikrolitre/10 nmol) enjekte ettikten sonra bir yer tercih aparatının iki ana bölümünden birine yerleştirmişlerdir. Tegmental CYT enjeksiyonları alan hayvanların, CYT eşleştirilmiş kompartımanda salın eşleştirilmiş kompartımandan çok daha fazla zaman harcamışlardır. CYT, sigarayı bırakmada etkili ve güvenli bir ilaç olarak kabul edilmesine rağmen hipertansiyon, diyabet veya OKB (94) gibi kronik hastalığı olan hastalarda tedavi etkinliği ile ilgili yeterli klinik deneyim mevcut değildir. Simeonova ve arkadaşlarının

kendiliğinden hipertansif sıçanlarda (SHR) CYT'nin bazı beyin ve hepatik biyokimyasal parametreler üzerindeki etkilerini araştırdıkları bir çalışmada multiplik CYT uygulamasının, etilmorfin-N-demetilaz (EMND) ve hidroksilaz aktivitesini ve sitokrom P 450'nin miktarını etkilemediği, ne WKY (Wistar Kyoto)'de ne de SHR (spontaneously hypertensive rats)'de sitokrom, MDA ve GSH seviyesini değiştirmedeği gösterilmiştir (95). CYT ile ilgili QNP sıçan OKB modelinde tedavi etkinliği değerlendirilmemiş olmasına rağmen nikotinik tedavi edici etkilerinin gösterildiği çalışmalar yapılmıştır. Tizabi ve arkadaşları nikotinik sıçanlarda, QNP'nin ontotojenetik uygulamasının neden olduğu kompulsif davranışları iyileştirdiğini, ancak, QNP uygulamasının ardından nikotinik reseptör ifadelerinin de değiştiğini göstermişlerdir. QNP'nin uygulanmasına bağlı olarak serebellum ve orta beyinde $\alpha 4$ - $\beta 2$ sübtipi ifadesinin yükseldiği alfa7 alt tipinin ise striatum ve hipokampüste yükseldiğini göstermişlerdir. Tizabi ve arkadaşları yine kronik QNP uygulaması yaptıkları sıçanlarda, nikotinik en az 3 zorunlu kontrol davranışından birini düzelttiğini ve QNP uygulamasının serebellar 4 ve 7 nikotinik reseptör yoğunluklarında artışa neden olduğunu ifade etmişlerdir. Mevcut çalışmada QNP sıçan OKB modelinde CYT'nin bozulmuş olan 10 davranıştan home base ziyaret, tımarlanma, 8. Nesneyi ziyaret, 10. Nesneyi ziyaret, home basede durma süresi, toplam durma süresi ve toplam hareket süresi olmak üzere 7 davranışı normalize ettiği gösterilmiştir. Bu bağlamda alfa4 beta2 agonisti olan CYT'nin değerlendirilen alfa 7 agonisti GTS-21 ve alfa3/beta4 agonisti SIB-1508 göre sıçan QNP OKB modelinde tedavi edici etkilerinin çok daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

GTS-21(3-[(2,4-dimethoxy)benzylidene]-anabaseine dihydrochloride (DMXBA; GTS-21) seçici bir alfa 7 nAChR agonistidir. Oral alımından sonra hızlı bir şekilde beyine geçerek kognitif davranışları artırır. Oral olarak verilen DMXBA'nın % 1'inden azı idrarda geri kazanılır. Metabolitlerinin, sıçan beyin alfa7 reseptörlerine benzer bağlanma afiniteleri ve kısmi agonist potansiyelleri sergiledikleri gösterilmiştir. Bununla birlikte, her biri sıçan ve insan alfa7 reseptörlerini uyarmak için DMXBA'dan daha yüksek bir etkinliğe sahiptir. DMXBA gibi, metabolitleri de alfa4beta2 reseptörlerinin zayıf antagonistleridir (97). Mazurovetal ve arkadaşları nAChRa7 agonisti olan GTS-21'in, nAChRa7'nin hızlı bir şekilde duyarsızlaştırılmasına neden olduğunu ifade etmişlerdir (98). Alzheimer hastalığının bir transgenik fare modelinde $\alpha 7$ nAChRs reseptörlerinin GTS-21 ile seçici olarak aktivasyonun mikrogial alfabeta fagositozunu uyardığını ve nöronal gama sekretaz aktivitesini baskıladığını göstermişlerdir (99). GTS-21 molekülünün beyin alfabeta parçalanmasında ve kognitif iyileşme üzerinde etkili olduğunu ve $\alpha 7$ nAChRs'nin AD tedavisi için bir hedef olabileceğini belirtmişlerdir . Nanri ve arkadaşları subkronik GTS-21 alımının nucleus basalis magnocellularis (nBM) lezyonlarında parietal kortekte Layer II ve III'de gerçekleşen hücre kaybını azalttığını göstermişlerdir. Kong ve arkadaşları yaşlanmış sıçanlarda isoflurane-ile uyarılan kognitif azalmada görülen nöronal apoptozis ve CA1 nöronal yoğunluk azalmasının GTS-21 tedavisi ile azadığını belirtmişlerdir (100). Nanri ve arkadaşları GTS21'in sıçan ve farelerde lokomotor aktivite ve DP düzeyleri üzerine herhangi bir etkiye sahip olmadığını ifade etmişlerdir . Arendash ve arkadaşları yaşlanmış sıçanlarda GTS-21'in İP (1 mg/kg), alımının 17 kollu radyal labirent testinde hem genel öğrenme hem de

referans (uzun süreli) belleği nikotin ile aynı ölçüde geliştirdiğini göstermişlerdir. Her ne kadar DMAB ön-muamelesi, nikotin ile aynı olan 17 kollu radyal labirent testinde referans hafızayı arttırsa da, bu karmaşık görevdeki genel öğrenmeyi etkilememiştir ve Lashley III labirent eğitiminde herhangi bir biliş arttırıcı etki göstermemiştir (101). Bu sonuçlar, GTS-21'in, yaşlı sıçanlarda nikotikle kıyaslanabilecek ölçüde bilişsel güçlenme kabiliyetine sahip olduğunu göstermektedir. Çalışmamızda ilk defa GTS-21 QNP sıçan OKB modelinde tedavi edici etkinliği değerlendirilmiş olup GTS-21'in QNP sıçan OKB modelinde bozulmuş olan 10 davranıştan tımarlanma ve homebasede durma süresi olmak üzere 2'sini normalleştirdiği gösterilmiştir. K grubuna göre genel olarak değerlendirilen bu 13 davranıştan toplam onunda değişim olduğu gözlenmiştir.

Yeni alfa4B2 agonisti olan agonisti SIB-1508Y'nin striatum ve frontal kortekste DP, hipokampusta talamus ve frontal kortekste norepinefrin, hipokampus ve kortekste ACH salınımını uyarır (102).

Schneider JS ve arkadaşları 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridin (MPTP) uygulamasıyla maymunlarda bilişsel ve motor açıkların tersine çevrilmesinde levodopa / benserazid ve nAChR agonisti SIB-1508Y'nin göreceli potansiyellerini değerlendirmişlerdir (103). Daha önce nesne alma görevi öğretilen maymunlar, kronik düşük doz MPTP maruziyetinden sonra önemli bilişsel eksiklikler geliştirmişlerdir. Tek başına SIB-1508Y (1 mg / kg) uygulamasının MPTP lezyonlu hayvanların biliş ve motor fonksiyonlarında istatistiksel olarak anlamlı bir iyileşme sağlamadığı ancak SIB-1508Y ve levodopa / benserazid kombinasyonunun, hem bilişsel hem de motor fonksiyonlarda önemli gelişmelere neden olduğunu göstermişlerdir. Ferguson ve arkadaşları farelerde depresyonun

Çaresizlik modelinde yüksek afiniteli nAChR'ler için yeni bir alt tip seçici ligand olan SIB-1508Y'nin etkilerini değerlendirmişlerdir (104). SIB-1508Y'nin öğrenilmiş çaresizlik üzerindeki etkisi, klinik olarak kullanılan antidepresanlar, imipramin ve fluoksetin ve selektif olmayan nAChR ligand, nikotin ile karşılaştırılmıştır. İmipramin ve fluoksetine benzer şekilde, SIB-1508Y ile subkronik tedavisinin (5 gün), öğrenilmiş çaresizlik modelinde kaçış açığını doza bağlı bir şekilde tersine çevirdiği gösterilmiştir. SIB-1508Y'nin öğrenilmiş çaresizlik üzerindeki etkisi, ilacın uygulanmasından 1 hafta sonra hala belirgin olarak devam etmiştir. Buna karşın, nikotin öğrenilmiş çaresizlik açığını hafifletebilirken, bu eğilim ancak kronik uygulamadan sonra istatistiksel olarak anlamlı olmuştur.

Mevcut alışmada SIB-1508Y'nin QNP sıçan modelinde değerlendirilen 13 parametreden tımarlanma ve 8. Nesneyi ziyaret olmak üzere 2 davranışı normalleştirdiği gözlenmiştir. GTS-21 ve SIB-1508Y'nin her ikiside tımarlanma hareketinde düzelme sağlamıştır.

7.ÖNERİLER

Yaptığımız çalışmada ilk kez d2 DP agonisti olan QNP'nin sıçan OKB modelinde nACHRs agonistlerinin ve ifadelerinin tedavi edici etkinliğinin rolü değerlendirilmiştir. QNP'nin açık alan testinde değerlendirilen 13 farklı davranıştan 10'nunu bozduğu gözlenmiş, tedavi amaçlı kullanılan GTS-21 ve SIB-1508Y'nin iki davranışı ve SİS ise 7 davranışı düzelttiği tespit edilmiştir. Ayrıca tedavi etkinliği en yüksek düzeyde olan CYT'nin bu etkilerinde nACHR gen ifade normalizasyonu ve DP düzeylerini normalize ederek gerçekleştirebileceği muhtemeldir. Bunun yanı sıra mevcut çalışmada kullanılan 3 adet nAChR agonistinin tedavi edici özelliklerinin tespit edilmesi, diğer nAChR'lere spesifik agonistlerinde tedavi amaçlı kullanabilirliğinin değerlendirileceği yeni çalışmalara gereksinimini ortaya koymaktadır. Ayrıca QNP sıçan modelinde tedavi edici ajanların tedavi etkinliğinin değerlendirilmesi için ST, DP ve ACH'a ek olarak diğer nörotransmitterlerin de değerlendirilmesi gerekmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Rintala H , Chudal R , Leppämäki S , et al. Register-based study of the incidence, comorbidities and demographics of obsessive-compulsive disorder in specialist healthcare. BMC psychiatry. 2017; 17:1- 64.
2. Milad MR, Rauch SL. Obsessive-compulsive disorder: beyond segregated cortico-striatal pathways. Trends in cognitive sciences. 2012 ;16:, 43-51
3. .Pauls DL, Abramovitch A , Rauch SL, et al . Obsessive-compulsive disorder: an integrative genetic and neurobiological perspective. Nature Reviews Neuroscience. 2014: 15; 410-424.
4. Abramowitz JS, Taylor S, McKay D. Obsessive-compulsive disorder. The Lancet. 2009: 374; 491-499.
5. Naklada S, Jastrebarsko C. American Psychiatric Association. Diagnostic and statistical manual of mental disorders. BMC Medicine. 2013;17;133-137.
6. Bradley KA, Kivlahan, DR . Bringing patient-centered care to patients with alcohol use disorders. Jama.2014: 311;1861-1862.
7. Bayar R , Yavuz, M. Obsesif kompulsif bozukluk. İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi. 2008: 62; 185-192
8. Stoll AL, Tohen M, Baldessarini RJ. Increasing frequency of the diagnosis of obsessive-compulsive disorder. Am J Psychiatry. 1992;149:638-640.
9. Robins LN, Helzer JE, Weissman MM, et al. Lifetime prevalence of specific psychiatric disorders in three sites. Arch Gen Psychiatry. 1984;41:949-958.
10. Nelson E, Rice J. Stability of diagnosis of obsessive-compulsive disorder in the Epidemiologic Catchment Area study. Am J Psychiatry. 1997;154:826-831.
11. Weissman MM, Bland RC, Canino G, et al. The cross national epidemiology of obsessive compulsive disorder. J Clin Psychiatry. 1994;55:5-10.
12. Karno M, Golding JM, Sorenson SB, Burnam MA. The epidemiology of obsessive-compulsive disorder in five US communities. Arch Gen Psychiatry. 1988;45:1094-1099.

13. Koog G, Skoog A, 40-year follow up of patients with obsessive compulsive disorder. *Arch Gen Psychiatry*. 1999;56:121- 127.
14. Bozorgmehr A, Ghadirivasfi M, Shahsavand Ananloo E. Obsessive–compulsive disorder, which genes? Which functions? Which pathways? An integrated holistic view regarding OCD and its complex genetic etiology. *Journal of neurogenetics*. 2017; 31;153-160.
15. Barbano MF, Cador M. Opioids for hedonic experience and dopamine to get ready for it.. *Psychopharmacology*. 2007;191:497-506.
16. Berridge KC, Aldridge JW. Decision utility, the brain, and pursuit of hedonic goals. *Soc Cogn*. 2008;26:621-646
17. Le Merrer J, Becker JA, Befort K, Kieffer BL. Reward processing by the opioid system in the brain. *Physiol Rev*. 2009;89:1379-1412.
18. Bandelow B, Michaelis S. Epidemiology of anxiety disorders in the 21st century. *Dialogues Clin Neurosci*. 2015;17:327- 335.
19. Daw ND, Kakade S, Dayan P. Opponent interactions between serotonin and dopamine. *Neural Netw*. 2002;15:603-616.
20. Aboitiz, F. (Dynamics of a Neuromodulator–I. The Role of Dopaminergic Signaling in Goal-Directed Behavior. In *From Attention to Goal-Directed Behavior*. 2009;66;. 187-204
21. Goddard AW, Sholomskas DE, Walton KE, et al. Effects of tryptophan depletion in panic disorder. *Biol Psychiatry*. 1994;36:775-777.
22. Isingrini E, Perret L, Rainer Q, et al. Resilience to chronic stress is mediated by noradrenergic regulation of dopamine neurons. *Nat Neurosci*. 2016;19:560-563.
23. Lázaro L, Caldú X, Junqué C, et al. Cerebral activation in children and adolescents with obsessive-compulsive disorder before and after treatment: A functional MRI study. *J Psychiatr Res*. 2008;42:1051-9
24. Valleni-Basile LA, Garrison CZ, Jackson KL , et al. Frequency of obsessive- compulsive disorder in a community sample of young adolescents. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*. 1994;33:782-91.

25. Murray CJ, Lopez AD, Jamison DT. The global burden of disease in 1990: Summary results, sensitivity analysis and future directions. *Bull World Health Organ.* 1994;72:495-509
26. Kroll M, Matschinger H, Angermeyer MC. Subjective quality of life of patients with obsessive-compulsive disorder. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol.* 2006;41:662-8.
27. Saxena S, Brody AL, Schwartz JM, Baxter LR. Neuroimaging and frontal-subcortical circuitry in obsessive-compulsive disorder. *Br J Psychiatry Suppl.* 1998;35:26-37.
28. Milad MR, Rauch SL. Obsessive-compulsive disorder: Beyond segregated cortico-striatal pathways. *Trends Cogn Sci.* 2012;16:43-51.
29. Saxena S, Rauch SL. Functional neuroimaging and the neuroanatomy of obsessive-compulsive disorder. *Psychiatr Clin North Am.* 2000;23:563-86.
30. Zoli M, Pistillo F, Gotti C. Diversity of native nicotinic receptor subtypes in mammalian brain. *Neuropharmacology.* 2015; 96: 302-311.
31. Luborsky L. The meaning of empirically supported treatment research for psychoanalytic and other long-term therapies. *Psychoanalytic Dialogues.* 2001; 11:583-604.
32. . McCarthy KS, Gibbons MC, Barber, JP. The relation of rigidity across relationships with symptoms and functioning: An investigation with the revised Central Relationship Questionnaire. *Journal of counseling psychology.* 2008;55: 343-351.
33. McCarthy KS, Kefe JR, Barber JP. Goldilocks on the couch: Moderate levels of psychodynamic and process-experiential technique predict outcome in psychodynamic therapy. *Psychotherapy Research,* 2016: 26: 307-317.
34. Paterson D, Nordberg A. Neuronal nicotinic receptors in the human brain. *Prog Neurobiol.* 2000; 61:75-111.
35. Gotti C, Clementi F. Neuronal nicotinic receptors: from structure to pathology. *Prog Neurobiol.* 2004;74: 363-396.
36. Sihver W, Nordberg A, Långström B, et al. Development of ligands for in vivo imaging of cerebral nicotinic receptors. *Behavioural brain research.* 2000: 113; 143-157.
37. Karamustafaloğlu KO, Akpınar A. Obsesif kompulsif bozukluk. *Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medical Sciences.* 2006;2:30-44.

38. Bertelsen B, Melchior L, Groth C, et al. Mikkelsen JD, Tümer Z. Association of the CHRNA7 promoter variant -86T with Tourette syndrome and comorbid obsessive-compulsive disorder. *Psychiatry Res.* 2014; 219:710-1.
39. Tizabi Y, Louis VA, Taylor CT, et al. Effect of nicotine on quinpirole-induced checking behavior in rats: implications for obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry.* 2002;51:164-71.
40. Varani AP, Pedron VT, Machado LM et al. Lack of GABAB receptors modifies behavioural and biochemical alterations induced by precipitated nicotine withdrawal. *Neuropharmacology.* 2015; 90: 90-101.
41. McKay BE, Placzek AN, Dani JA. Regulation of synaptic transmission and plasticity by neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Biochemical Pharmacology.* 2007; 74:;1120-1133.
42. Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, et al. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: From structure to function. *Physiological Reviews.* 2009; 89:73-120.
43. Home gene “<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene>01.05.2019/”
44. Mihailescu S, Drucker C. Nicotine, brain nicotinic receptors, and neuropsychiatric disorders. *Archives of medical research.* 2000;31, 131-144.
45. Abramowitz JS, Taylor S, McKay D, et al. Animal models of obsessive-compulsive disorder. *Biol Psychiatry.* 2011;69:29-30.
46. Alonso P, López C, Real E, et al. Animal models of obsessive-compulsive disorder: utility and limitations. *Neuropsychiatric disease and treatment.* 2015; 11; 1939.
47. Wang L, Simpson HB, Dulawa SC. Assessing the validity of current mouse genetic models of obsessive-compulsive disorder. *Behav Pharmacol.* 2009;20;119-133.
48. Götlich M, Krämer UM, Kordon A, et al. Decreased limbic and increased fronto-parietal connectivity in unmedicated patients with obsessive-compulsive disorder. *Hum Brain Mapp.* 2014;11;5617-5632.
49. Levant BETH, Grigoriadis DE, DeSouza EB. Characterization of [3H] quinpirole binding to D2-like dopamine receptors in rat brain. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* 1992; 262:929-935.

50. Huang JJ, Yen CT, Liu TL, et al. Effects of dopamine D2 agonist quinpirole on neuronal activity of anterior cingulate cortex and striatum in rats. *Psychopharmacology* 2013;3:459-466.
51. Lower C, Mundt A, Jalali R, et al. Lower frequency stimulation and transient inactivation of the subthalamic nucleus reduce quinopy-dependent compulsive control behavior in rats. *Exp Neurol* 2008;20:217-228.
52. Tucci MC, Dvorkin A, Graham D, et al. Effects of serotonergic agonist mCPP on male rats with quinpirole sensitization model of obsessive compulsive disorder (OCD). *Psychopharmacology*. 2013;2:277-285.
53. Szechtman H, Sulis W, Eilam D. Quinpirole induces compulsive checking behavior in rats: a potential animal model of obsessive-compulsive disorder (OCD). *Behavioral neuroscience*. 1998;112:1475-1485.
54. Szechtman H, Eckert MJ, Tse WS, et al. Compulsive checking behavior of quinpirole-sensitized rats as an animal model of obsessivecompulsive disorder (OCD): form and control. *BMC Neuroscience*. 2001;2:4.
55. Ben-Pazi A, Szechtman H, Eilam D. The morphogenesis of motor rituals in rats treated chronically with the dopamine agonist quinpirole. *Behav Neuroscience*. 2001;115:1301-1317.
56. Szechtman H, Woody E. Obsessive-compulsive disorder as a disturbance of security motivation. *Psychol Rev*. 2004;1:111-127.
57. Whishaw IQ, Gharbawie OA, Clark BJ, et al. The exploratory behavior of rats in an open environment optimizes security. *Behav Brain Research* . 2006;17:230-239.
58. Yadin E, Friedman E, Bridger WH. Spontaneous alternation behavior: an animal model for obsessive compulsive disorder? *Pharmacol Biochem Behav*. 1991;40:311-315.
59. Faure A, Leblanc-Veyrac P, El Massioui N. Dopamine agonists increase preservative instrumental responses but do not restore habit formation in a rat model of Parkinsonism. *Neuroscience*. 2010;168:477-486.
60. Haluk DM, Floresco SB. Ventral striatal dopamine modulation of different forms of behavioral flexibility. *Neuropsychopharmacology*. 2009;34:2041-2052.

61. Han M, H Bolanos C, A Green, T, et al. Role of cAMP response element-binding protein in the rat locus ceruleus: regulation of neuronal activity and opiate withdrawal behaviors. *Journal of Neuroscience*.2006: 26; 4624-4629.
62. Whishaw I. Q., Gharbawie, O. A., Clark, B. J., & Lehmann, H. (2006). The exploratory behavior of rats in an open environment optimizes security. *Behavioural brain research*, 2006:171; 230-239.
63. Insel TR, Mueller EA, Alterman I,et al . Obsessive-compulsive disorder and serotonin: is there a connection.*Biological Psychiatry*.1985;11; 1174-1188.
64. McDougle CJ, Goodman WK, Leckman JF et al. Haloperidol addition in fluvoxaminerefractory obsessive–compulsive disorder. A double-blind, placebo-controlled study in patients with and without tics. *Archives of general psychiatry* 1994;51; 302-308.
65. Thoren P, Asberg M, Cronholm B, et al. Clomipramine treatment of obsessive–compulsive disorder. I. A controlled clinical trial. *Archives of General Psychiatry*. 1980;37; 1281-1285.
66. Swedo SE, Leonard HL, Kruesi MJ, et al. Cerebrospinal fluid neurochemistry in children and adolescents with obsessive– compulsive disorder. *Archives of general psychiatry*. 1992;49; 29-36.
67. Hollander E, Stein DJ, Saoud JB et al. Effects of fenfluramine on plasma HVA in OCD. *Psychiatry research*.1992;42;185-188.
68. Zahn TP, Kruesi MJ, Swedo SE,et al. Autonomic activity in relation to cerebrospinal fluid neurochemistry in obsessive and disruptive children and adolescents. *Psychophysiology*.1996: 33;731-739.
69. Marazziti D, Rossi A, Gemignani A et al. Decreased platelet 3H-paroxetine binding in obsessive–compulsive patients. *Neuropsychobiology*.1996: 34; 184–187.
70. Marazziti D, Hollander E, Lensi P, et al. Peripheral markers of serotonin and dopamine function in obsessive–compulsive disorder. *Psychiatry research*.1992: 42; 41-51.

71. Wurtman RJ , Cansev M , Sakamoto T, et al. Nutritional modifiers of aging brain function: use of uridine and other phosphatide precursors to increase formation of brain synapses. *Nutrition reviews*.2010: 68; 88-101.
72. .Summers KL, Kem WR, Giacobini E. Nicotinic agonist modulation of neurotransmitter levels in the rat frontoparietal cortex. *The Japanese Journal of Pharmacology*. 1997: 74; 139-146.
73. Banks PB. Responses of Australian bush rats, *Rattus fuscipes*, to the odor of introduced *Vulpes vulpes*. *Journal of Mammalogy*.1998: 79;1260-1264.
74. McTigue D M, Tani M, Krivacic K, et al. Selective chemokine mRNA accumulation in the rat spinal cord after contusion injury. *Journal of neuroscience research*.1988: 53; 368-376.
75. Krivokapich SJ, Molina V, Bergagna H, et al. Epidemiological survey of *Trichinella* infection in domestic, synanthropic and sylvatic animals from Argentina. *Journal of helminthology*.2006;80; 267-269.
76. Cosford ND, Bleicher L, Herbaut A, et al. (S)-(-)-5- Ethynyl-3-(1-methyl-2-pyrroli-dinyl) pyridine Maleate (SIB-1508Y): A Novel Anti-Parkinsonian Agent with Selectivity for Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Journal of medicinal chemistry*.1996: 39; 3235-3237.
77. Ajila C, M Rao UP. Protection against hydrogen peroxide induced oxidative damage in rat erythrocytes by *Mangifera indica* L. peel extract. *Food and Chemical Toxicology*.2008: 46; 303-309.
78. Champtiaux N, Gotti C, Cordero M ,et al. (2003). Subunit composition of functional nicotinic receptors in dopaminergic neurons investigated with knock-out mice. *Journal of Neuroscience*.2003: 23; 7820-7829.
79. Dani C, Pasquali M A , Oliveira MR, et al. Umezu, Protective effects of purple grape juice on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in brains of adult Wistar rats. *Journal of medicinal food*.2008: 11; 55-61.
80. Kalinichev M, Easterling K, W Plotsky, et al. Long-lasting changes in stress-induced corticosterone response and anxiety-like behaviors as a consequence of neonatal maternal

- separation in Long–Evans rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*.2002: 73; 131-140.
81. .Picciotto MR, Kenny PJ.Molecular mechanisms underlying behaviors related to nicotine addiction. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 2013: 3; 101-112.
 82. Shigetomi E, Jackson O, Huckstepp R, et al. TRPA1 channels are regulators of astrocyte basal calcium levels and long-term potentiation via constitutive D-serine release. *Journal of Neuroscience*.2013: 33; 10143-10153.
 83. Markou A, Paterson E. The nicotinic antagonist methyllycaconitine has differential effects on nicotine self- administration and nicotine withdrawal in the rat. *Nicotine & tobacco research*.2001: 3; 361-373.
 84. Boffi JC, Marcovich I, Gill-Thind JK et al. Differential contribution of subunit interfaces to $\alpha 9\alpha 10$ nicotinic acetylcholine receptor function. *Molecular pharmacology*.2017;91; 250-262.
 85. Gozen O, Nesil T, Kanit L,et al. Nicotinic cholinergic and dopaminergic receptor mRNA expression in male and female rats with high or low preference for nicotine. *The American journal of drug and alcohol abuse*.2016. 42: 556-566.
 86. Wu J, Ishikawa M, Zhang J, et al. Brain imaging of nicotinic receptors in Alzheimer's disease. *International Journal of Alzheimer's Disease*. 2010;30;1-11.
 87. Parker SL, Fu Y, McAllen K, et al. Up-regulation of brain nicotinic acetylcholine receptors in the rat during long-term self-administration of nicotine: disproportionate increase of the $\alpha 6$ subunit. *Molecular pharmacology*.2004;65; 611-622.
 88. Zugaro MB , Arleo A, Déjean C, et al . Rat anterodorsal thalamic head direction neurons depend upon dynamic visual signals to select anchoring landmark cues. *European Journal of Neuroscience*.2004: 20; 530-536.
 89. Burguiere E, Monteiro P, Mallet L,et al. Striatal circuits, habits, and implications for obsessive–compulsive disorder. *Current opinion in neurobiology*.2015: 30; 59-65.
 90. Li J, Simeoni E, Fleury S, et al. Gene transfer of soluble interleukin-17 receptor prolongs cardiac allograft survival in a rat model. *European Journal of Cardio-thoracic surgery*.2006;29; 779-783.

91. Clarke PB, Kumar R. The effects of nicotine on locomotor activity in non-tolerant and tolerant rats. *British journal of pharmacology*.1983;78; 329-337.
92. Chintoh A, Fulton J, Koziel N, et al. Role of cholinergic receptors in locomotion induced by scopolamine and oxotremorine-M. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*.2003; 76; 53-61
93. Payne RB, Sorenson MD. Museum collections as sources of genetic data. *Bonner Zoologische Beiträge Band*.2002;51; 97-104.
94. Eter JF, Lukas RJ, Benowitz NL, et al. (2008). Cytisine for smoking cessation: a research agenda. *Drug and alcohol dependence*.2008; 92; 3-8.
95. Rintala H, Chudal R, Leppämäki S, et al. (2017). Register-based study of the incidence, comorbidities and demographics of obsessive-compulsive disorder in specialist healthcare. *BMC psychiatry*.2017;17;64-69
96. Tizabi Y, Louis VA, Taylor CT, et al. Effect of nicotine on quinpirole-induced checking behavior in rats: implications for obsessive-compulsive disorder. *Biological Psychiatry*.2002; 51; 164-171.
97. Barut O. Deneysel priapizm sıçan modelinde apoptozisin rolü ve epidermal büyüme faktörü (EGF)'nün pro-apoptotik BNIP-3 üzerine olan etkisi. Uzmanlık Tezi Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2012.
98. Dash P K, Zhao J, Kobori N, et al. Activation of alpha 7 cholinergic nicotinic receptors reduce blood–brain barrier permeability following experimental traumatic brain injury. *Journal of Neuroscience*.2016;36; 2809-2818.
99. Takata Y, Morris JS, King IB, et al. Correlation between selenium concentrations and glutathione peroxidase activity in serum and human prostate tissue. *The Prostate* .2009;69; 1635-1642.
- 100.Şahin L. The Effect of Long Term Moderate Exercise on Depressive/Anxiety-Like Behavior in Rats with Acute REM Sleep Deprivation. *Turkish Journal of Agriculture-Food Science and Technology*.2018;11; 1640-1646.

- 101.Thomsen MS, El-Sayed M, Mikkelsen JD. Differential immediate and sustained memory enhancing effects of alpha7 nicotinic receptor agonists and allosteric modulators in rats. PloS one.2011;11; 275-281.
- 102.Cosford, N. D., Bleicher, L., Herbaut, A,et al. (S)- (-)-5-Ethynyl-3-(1-methyl-2-pyrrolidinyl) pyridine Maleate (SIB-1508Y): A Novel Anti-Parkinsonian Agent with Selectivity for Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. Journal of medicinal chemistry.1996; 39; 3235-3237.
- 103.Uzbay T. Anksiyetenin nörobiyolojisi. Klinik Psikiyatri Dergisi, 2002; 5; 5-13.
- 104.Küçük A, Gölgeli A. Deney Hayvanlarında anksiyete modelleri ve anksiyetenin değerlendirilmesi. Sağlık Bilimleri Dergisi.2005;14; 209-217.

ÖZGEÇMİŞ

27.11.1992 tarihinde Batman'da doğdum. 2010 yılında Özel Mehmet Sıdık Tekin Anadolu Lisesinden mezun olup 2011 yılının Eylül ayında Fırat Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Biyomühendislik Bölümü'nde öğrenim hayatımı devam ettirdim. 2016 yılında lisans eğitimimi tamamlayıp 2016 yılı döneminde Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım.