

T.C.  
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ANKSİYETE VE DEPRESYONDA NİTRİK OKSİD'İN  
ROLÜ**

**Arş. Gör. Ecz. Fûruzan YILDIZ**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Farmakoloji Programı İçin Öngördüğü  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
olarak hazırlanmıştır.

**Danışman: Prof. Dr. Güner ULAK**

79797

Bu çalışma, KOÜ. Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir. (Proje No: 98/47)

KOCAELİ  
1998

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

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

**TE VE DEPRESYONDA NİTRİK OKSİD'İN**  
**ROLÜ**

**Arş. Gör. Ecz. Fûruzan YILDIZ**

Kocaeli Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetmeliğinin  
Farmakoloji Programı İçin Öngördüğü  
**YÜKSEK LİSANS TEZİ**  
olarak hazırlanmıştır.

79797

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU**  
**DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

**KOCAELİ**  
**1998**

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne**

İşbu çalışma, jürimiz tarafından FARMAKOLOJİ Anabilim Dalında BİLİM UZMANLIĞI (YÜKSEK LİSANS) TEZİ olarak kabul edilmiştir.

BAŞKAN

Prof. Dr. Sezer Ş. KOMSUOĞLU

İmza

DANIŞMAN

Prof. Dr. Güner ULAK

İmza

ÜYE

Doç. Dr. M. Nejat GACAR

İmza

ÜYE

Doç. Dr. Tijen UTKAN

İmza

ÜYE

Yrd. Doç. Dr. B. Faruk ERDEN

İmza

ONAY

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylıyorum.

2..11/0/1998

Prof. Dr. Ali SAZCI  
Enstitü Müdürü

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

## ÖZET

### Anksiyete Ve Depresyonda Nitrik Oksid'in Rolü

Son dönemin önemli araştırma konularından birini Nitrik oksid (NO) oluşturmaktadır. SSS'de varlığı gösterilen NO'nin sentezi için başlıca uyarı NMDA reseptörlerinin aktivasyonudur. Sentezlenen NO'nin SSS'de önemli işlevleri vardır. Bunlardan başlıcası, nörotransmitter salınım ve geri alınımını etkilemesidir.

Kaygı ve depresyon, etyopatogenezinde nörotransmitter dengesinde farklılaşmalar olduğu öne sürülen iki patolojidir. SSS'de NO sentezi için başlıca uyarıyı sağlayan NMDA reseptörlerinin kaygı ve depresyonda rol aldığı ve NMDA reseptör antagonistlerinin, hayvan modellerinde kaygı giderici ve antidepresan etki oluşturduğu gösterilmiştir. Buradan yola çıkılarak, NO'nin de bu olaylarda rolünün olabileceği düşünülmüş ve NO'nin biyolojik rolünün belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda kullanılan maddelerden biri olan NOS enzim inhibitörü 7-Nitro indazol kullanılmıştır.

7-NI'ün sıçanlarda kaygı üzerine olan etkisi (+) Labirent Testinde, depresyon üzerine olan etkisi Zorunlu Yüzme Testinde araştırılmıştır. 15-120 mg/kg doz aralığında 7-NI'ün hem anksiyolitik benzeri etkiler hem de antidepresan etkiler gösterdiği saptanmıştır.

Kaygı giderici ve antidepresan etki belirlenirken, lokomotor aktivite değişikliklerinin neden olabileceği yalancı negatif ve yalancı pozitif hataların ortadan kaldırılması amacıyla, 7-NI'ün lokomotor aktivite üzerine olan etkisi open-field aletinde incelenmiştir. 7-NI'ün 15-90 mg/kg dozlarda lokomasyonda değişiklik oluşturmadığı, ancak 120 mg/kg dozda toplam lokomotor aktiviteyi baskıladığı gözlenmiştir.

7-NI'ün kaygı ve depresyon üzerine olan etkisinin mekanizması, NOS enzimini inhibe etmesine bağlı olabilir.

**Anahtar Kelimeler:** Anksiyete, Depresyon, Nitrik oksid, 7-Nitro indazol, (+) Labirent Testi, Zorunlu Yüzme Testi, Sıçan

## **ABSTRACT**

### **The Role of Nitric Oxide in Anxiety and Depression**

Nitric Oxide (NO) has become one of the most popular research areas in recent years. It is generated by NMDA receptor activation which is the major stimulus in brain. Nitric oxide has multiple functions in the central nervous system (CNS) and one of them is influencing neurotransmitter release and uptake.

Depression and anxiety are two pathological conditions shown neurotransmitter abnormalities. In CNS the major stimulus for NO synthesis is NMDA receptor activation. Since NMDA receptor antagonists have been shown to possess antidepressant and anxiolytic activity in animal models, one would expect that NO may have a crucial role in the modulation of affection beyond other actions. Because of this we used 7-Nitro indazole (7-NI) which is one of the NOS inhibitor.

The effects of 7-NI were investigated on elevated plus-maze test for anxiety and forced swimming test for depression in rats. 7-NI was both anxiolytic and antidepressant at 15 to 120 mg/kg doses.

Since compounds enhancing or decreasing motor activity may give false positive or false negative effects in both elevated plus maze test and forced swimming test, the effect of 7-NI on locomotor activity was examined in open-field. 7-NI in doses of ranging from 15 to 90 mg/kg did not significantly alter the locomotor activity but it decreased the locomotor activity in dose of 120 mg/kg.

The mechanism of 7-NI induced anxiolytic and antidepressant action seems to be related to its inhibitory effect on endogenous NO production.

**Key Words:** Anxiety, Depression, Nitric oxide, 7-Nitro Indazole, Plus-Maze Test, Forced Swimming Test, Rat.

## **TEŞEKKÜR**

Yüksek Lisans eğitimim süresince bana yön veren ve yakın ilgi gösteren Sn. Prof. Dr. Güner ULAK, Sn. Doç. Dr. Nejat GACAR, Sn. Doç. Dr. Tijen UTKAN, Sn. Yrd. Doç. Dr. Faruk ERDEN'e, yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Dr. Gökalg YILDIRAN ve Dr. Sıtkı ÖZDEMİRCİ'ye ve gösterdikleri anlayıştan ötürü aileme içtenlikle teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER	1
1.1. Anksiyete	1
1.1.1. Anksiyete ve Noradrenerjik Sistem	5
1.1.2. Anksiyete ve Serotonerjik Sistem	7
1.1.3. Anksiyete ve GABAerjik Sistem	9
1.2. Depresyon	12
1.2.1. Depresyon ve Noradrenalin	15
1.2.2. Depresyon ve Dopamin	15
1.2.3. Depresyon ve Serotonin	16
1.2.4. Depresyon ve Asetilkolin	18
1.2.5. Depresyon ve GABA	19
1.3. Anksiyete- Depresyon İlişkisi	20
1.4. Deneysel Anksiyete ve Depresyon Modelleri	22
1.4.1. Deneysel anksiyete modelleri	22
1.4.2. Deneysel depresyon modelleri	24
1.5. Nitrik Oksid	26
1.6. 7-Nitro İndazol	41
2. AMAÇ VE KAPSAM	45
3. GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1. Kaygı Düzeyinin Ölçümü	46
3.2. Antidepresan Etkinin Ölçümü	47
3.3. Lokomotor Aktivitenin Ölçümü	48
3.4. İstatistiksel Değerlendirme	51

<b>4. BULGULAR</b>	<b>52</b>
<b>4.1. Kaygı Düzeyi</b>	<b>52</b>
<b>4.2. Antidepresan Etki</b>	<b>59</b>
<b>4.3. Lokomotor Aktivite</b>	<b>63</b>
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>65</b>
<b>6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER</b>	<b>69</b>
<b>KAYNAKLAR DİZİNİ</b>	<b>70</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>80</b>





## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

SSS	: Santral Sinir Sistemi
NA	: Noradrenalin
5-HT	: Serotonin
DA	: Dopamin
Ach	: Asetilkolin
GABA	: Gama-amino butirik asit
BZ	: Benzodiazepin
MAOI	: Mono amin oksidaz inhibitörleri
EDRF	: Endotel kaynaklı gevşetici faktör
NO	: Nitrik oksid
NOS	: Nitrik oksid sentaz
nNOS	: Nöronal nitrik oksid sentaz
eNOS	: Endotelyal nitrik oksid sentaz
iNOS	: İndüklenebilir nitrik oksid sentaz
7-NI	: 7-Nitro indazol
L-NAME	: N <sup>G</sup> -nitro-L-arjinin-metil ester
L-NOARG	: N <sup>W</sup> -nitro-L-arjinin
L-NMMA	: N <sup>G</sup> -monometil-L-arjinin
L-NNA	: N <sup>G</sup> -amino-L-arjinin
BOS	: Beyin omurilik sıvısı
HVA	: Homo vanilik asit
5-HİAA	: 5-hidroksiindol asetik asit
5-HTP	: 5-hidroksi triptofan
VIP	: Vazoaktif intestinal peptid
ATP	: Adenozin trifosfat
ADP	: Adenozin difosfat
GS	: Guanilat siklaz
çGS	: Çözünmüş guanilat siklaz
ET-1	: Endotelin-1

<b>NANK</b>	<b>: Nonadrenerjik-nonkolinerjik</b>
<b>NMDA</b>	<b>: N-Metil-D-Aspartat</b>
<b>LTP</b>	<b>: Uzun süreli potansiyalizasyon</b>
<b>LTD</b>	<b>: Uzun süreli depresyon</b>
<b>LC</b>	<b>: Lokus seruleus</b>
<b>NADPH</b>	<b>: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat</b>
<b>BH<sub>4</sub></b>	<b>: Tetrahidrobiopterin</b>
<b>FMN</b>	<b>: Flavin adenin mononükleotid</b>
<b>FAD</b>	<b>: Flavin adenin dinükleotid</b>
<b>cAMP</b>	<b>: Siklik adenozin monofosfat</b>
<b>cGMP</b>	<b>: Siklik guanozin monofosfat</b>
<b>cGTP</b>	<b>: Siklik guanozin trifosfat</b>
<b>ip</b>	<b>: İntraperitoneal</b>
<b>SF</b>	<b>: Serum fizyolojik</b>
<b>SOD</b>	<b>: Süperoksid dismutaz</b>
<b>ZYT</b>	<b>: Zorunlu yüzme testi</b>
<b>Diaz.</b>	<b>: Diazepam</b>
<b>İmip.</b>	<b>: İmipramin</b>
<b>AO</b>	<b>: Arachis oil</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 4.1.1. Diazepam'ın (+) Labirent Testinde açık kolda kalış süresi üzerine etkisi.....	54
Şekil 4.1.2. Diazepam'ın (+) Labirent Testinde açık kola giriş sayısı üzerine etkisi.....	54
Şekil 4.1.3. 7-NI'ün açık kolda kalış süresi %'si üzerine etkisi.....	55
Şekil 4.1.4. 7-NI'ün açık kola giriş sayı %'si üzerine etkisi.....	56
Şekil 4.1.5. 7-NI'ün L-Arjinin ve D-Arjinin ile kombinasyonlarının açık kolda kalış süresi %'si üzerine etkisi.....	57
Şekil 4.1.6. 7-NI'ün L-Arjinin ve D-Arjinin ile kombinasyonlarının açık kola giriş sayı %'si üzerine etkisi.....	58
Şekil 4.2.1. İmipramin'in Zorunlu Yüzme Testinde saptanan immobilizasyon süresi üzerine etkisi.....	60
Şekil 4.2.2. 7-NI'ün immobilizasyon süresi üzerine etkisi.....	61
Şekil 4.2.3. 7-NI'ün L-Arjinin ve D-Arjinin ile kombinasyonlarının immobilizasyon süresi üzerine etkisi.....	62
Şekil 4.3.1. L-Arjinin, D-Arjinin ve 7-NI'ün lokomotor aktivite üzerine etkileri.....	64

## 1. GİRİŞ VE GENEL BİLGİLER

Psikofarmakolojik tedavinin psikiyatride kullanımı kırk yılı aşkın bir süre olmakla birlikte, son onbeş yıl içinde beyin yapısı, biyokimyasal ve işlevsel bozuklukları hakkındaki bilgi birikimleri ile psikofarmakoloji alanında belirgin ilerleme sağlanmıştır. Psikofarmakolojik tedavilerdeki gelişim, psikiyatrik hastalıkların tedavisinde daha az psikoterapi, daha çok farmakoterapi yolunda değişimler yaratmıştır. Psikiyatrik tedaviler içinde ilaç tedavisi etkinlik, kolaylık ve kabul edilebilirlik yönünden en iyi olanıdır.

Nörotransmitterlerin, incelenmeye başlaması ile psikiyatrinin moleküler boyutları genişlemeye başlamıştır. Özellikle beyin görüntüleme tekniklerinin gelişimi [Pozitron emisyon tomografisi (PET), bilgisayarlı tomografi, MR görüntüleme] ve psikofarmakoloji araştırma tekniklerinin gelişimi, beyindeki nöral iletim mekanizmalarını daha iyi tanıyabilmemizi sağlamıştır. Ayrıntılı teknolojik gelişmenin yarattığı olanaklarla, nörotransmitterler ile psikiyatrik hastalıkların biyolojik yönleri arasındaki ilişkiler aydınlatılmış ve psikiyatri daha biyolojik bir temele oturtulmuştur.

### 1.1. ANKSİYETE

Anksiyete; stres ve duygusal çatışmalar sonucu ortaya çıkan, rahatsız edici fiziksel ve psikolojik belirtilerle kendini gösteren yaygın bir bozukluktur. Belirtileri korkuya benzer, ancak korkuda, tehdit edici somut bir tehlike olmasına karşın, anksiyetede tehlike belirsiz ve çoğu kez bir çatışma sonucudur.

Anksiyete bozukluklarında önemli olan, normal anksiyete ile patolojik anksiyetenin ayrımının yapılabilmesidir. Normal anksiyete çoğu kez çevresel etkenlerden kaynaklanır, kişinin yeni koşullara uyumunu sağladığı gibi ruhsal gelişiminin de daha üst basamaklara çıkmasında itici bir işlev görür, başarıyı ve üretkenliği artırır. Buna karşılık, patolojik anksiyete kişinin verimini düşürür,

kişilerarası ilişkilerde kopukluklara neden olur, sıklıkla titreme, çarpıntı, ağız kuruluğu, kas gerginliği gibi fiziksel rahatsızlıklar yaratır.

Anksiyetede kognitif, duygusal, fiziksel ve davranışsal bozukluklar gözlenir. Kognitif bozukluklar, olayları olduğundan daha kötü ve olumsuz değerlendirme, endişe ve aşırı düşünce ile karakterizedir. Bellek, konsantrasyon, hatırlama ve öğrenme güçlükleri görülür. Duygusal olarak, kötü bir olay yaşanacak endişesi, nedensiz bir gerilim, sinirlilik, huzursuzluk gözlenir. Fiziksel olarak da, kardiyak (çarpıntı, taşikardi, göğüste sıkışma), solunum (hiperventilasyon, dispne, nefes darlığı), gastrointestinal (bulantı, diyare ve barsak krampları), nörolojik (baş dönmesi, uyuşma, titreme) ve otonomik (sıcak basmaları, ağız kuruluğu ve aşırı terleme) sistemlere ait bozukluklar gözlenir. Davranışlarda ise, kaçma, uzaklaşma, yardım arama ve başkalarına aşırı bağımlı olma gibi uyumsuz (maladaptif) davranış biçimleri gelişir. Anksiyete; algı, performans, öğrenme, bellek, ve tepkisellikle ilişkilidir.

**Anksiyete Bozukluklarının Etyolojisi:** Anksiyetenin nedenlerini açıklamak amacıyla;

- a) Psikodinamik
- b) Davranışçı (Behavioral) ve
- c) Biyolojik kuramlar ileri sürülmüştür.

**Psikodinamik Kuram:** Freud'un psiko-analitik modeli içinde anksiyete, alt-ben (İD) ve üst-ben (SÜPER EGO) arasındaki intrapsişik çatışmanın benlikde (EGO) ortaya çıkan belirtisi olarak tanımlanmıştır. Bu kurama göre, kabul edilmeyen bir dürtünün bilince çıkmak üzere baskı yapması, ego'yu olası bir tehlikenin yaklaşmakta olduğu konusunda uyarıp, harekete geçirir. Buna karşı EGO savunma düzeneklerini kullanma yoluyla, tedbirler oluşturur ve benliği daha büyük zarar ve tehditlere karşı korumuş olur. Psikanalitik kurama göre, psikonevrozların temelinde bu uyarıcı anksiyete ve anksiyeteyle başedebilmek amacıyla kullanılan savunma düzeneklerinin niteliği belirleyici rol oynar. Dürtü ya bastırma yoluyla bilinç dışına geri itilir ya da anksiyete semptomlarının görülmesine yol açar. Psikodinamik yaklaşıma göre, anksiyete tedavisinde uzun süreli içgörüyeye yönelik analitik psikoterapi yöntemleri kullanılmalıdır.

**Davranışçı (Behavioral) Kuram:** Anksiyetenin davranışçı kuram içinde açıklanmasında, gerçek yaşamda varolan erken çocukluk deneyimleri ve bunun güncel yaşam içinde ortaya çıkardığı belirtiler temel alınmıştır. Bu kurama göre, yanlış ve hatalı öğrenilmiş bilgi ve deneyimler daha sonra benzer kalıplar içinde uyumsuz davranışlar ve duygusal bozuklukların görülmesine yol açar. Örneğin, çocukluğunda bir hatası nedeniyle akranları ya da ebeveynleri tarafından toplum önünde eleştirilen ve aşağılanan bir çocukta, daha sonraları toplum önünde konuşamama ve sosyal olaylardan kaçma davranışı (Sosyal fobi) gelişebilir. Anksiyete bozukluklarında hastalar algılanan tehlikeyi çok fazla abartıp en kötü olasılığı düşünürler ve kendi güç ve savunmalarını çok yetersiz bulurlar. Bunun sonucunda ise, olası tehdit ve tehlikeler karşısında çok yetersiz ve çaresiz kalırlar. Bu kurama göre tedavi, anksiyete yaratan uyaranlarla tekrar karşılaşma ve başedebilme yeteneğinin kazanılması ve erken çocukluk dönemlerine ilişkin yanlış öğrenimlerin düzeltilmesi ilkesine göre düzenlenir.

**Biyolojik Kuram:** Anksiyete ile ilgili S.S.S. yapıları ve bunların anksiyete bozukluklarının oluşumundaki rolleri, önemli bir inceleme alanını oluşturmaktadır. Anksiyetede etkili olan nöroanatomik yapı ve sistemler; serebral korteks, limbik sistem, talamus, lokus seruleus, retiküler aktive edici sistem, median rafe ve orta beyin çekirdekleri ve bu sistemler arasındaki bağlantılardır.

Serebral korteksin uyanıklıkta rolü vardır. Anksiyete de bir uyanıklık durumudur. Limbik sistem, duygusal ve motivasyonel davranışın özellikle de, duygusal cevapların motor koordinasyonunun entegrasyonu ile ilgilidir (Watson et al.1986). Anksiyete ve korkuda talamusun etkisi, talamik çekirdeklerin normal insanlarda uyarılmasıyla ortaya çıkan durumun gözlemlendiği araştırmalara dayanmaktadır. Medial talamusun veya dorsolateral talamik çekirdeklerin uyarılması, tipik anksiyete duygularının uyarılması sonucunu doğurmaktadır. Lokus seruleus, anksiyetede etkili olan nöroanatomik bölgelerden biridir (Redmond and Huang, 1976; 1979). Lokus seruleusda noradrenerjik aktivitede yoğunlaşma vardır, bu da spinal kord ve kranial sinir çekirdeklerinde bulunan ağrı yollarında dağılır. Lokus serulesdan çıkan yollar, ağrı ve korkuya verilen fizyolojik tepkileri etkiler. Lokus seruleus, uyarı ve alarm için taşıyıcı bir merkez olarak görev yapar. Lokus seruleus sisteminin

aktivasyonu, uyarı yada alarm şiddetine bağlı olarak normal dikkatten paniğe kadar giden bir yanıt doğurur (Redmond and Huang, 1976). Beyin sapındaki noradrenalin içeren lokus seruleus ve serotonin içeren rafe çekirdeklerinin anksiyete oluşumundaki önemleri bugün artık iyi bilinmektedir.

Anksiyetenin etiolojisini biyolojik temellere oturtup, anksiyetenin nörokimyasını aydınlatabilmek için hayvan modelleri kullanılmaktadır. Anksiyetenin nörokimyası hakkındaki bilgilerimizin çoğu, psikoaktif ajanların kullanıldığı hayvan deneylerine dayanır. Deney hayvanlarında, bazı çevresel koşullarda insandaki anksiyeteye benzeyen bir durum (konflikt durumu) meydana getirilebilir ve ilaçların anksiyolitik etkileri bu deneysel modellerde incelenebilir. Bu durumu meydana getiren çevresel koşulların başlıcaları 3 tanedir: cezalandırma (punishment), ödüllendirmeme (nonreward) ve yeni bir çevre (novelty). Bu koşullar beyinde “behevyoral inhibisyon sistemi”ni aktive ederler, bu olay da hayvanların sürdürdüğü yeme, içme gibi davranışları baskılar ve dikkatte artma yapar. Anksiyolitik ilaçlar, behevyoral inhibisyon sisteminin konflikt (çatışma) yaratan koşullar tarafından aktive edilmesini engellerler ve bu sistemin baskıladığı davranış baskıdan kurtarırlar. Ayrıca, behevyoral inhibisyon sisteminin aktivasyonuna bağlı stresi ve onun neden olduğu endokrin ve otonomik değişiklikleri de azaltırlar ve önlerler.

**a) Yeni çevre modeli:** Hayvanları geniş, tavanı olmayan, parlak ışıklı bir kutuya koymak ve bu hayvanlarda araştırmacı davranışlarda (Crawley and Goodwin, 1980) ve sosyal etkileşimlerde (File, 1985) azalma şeklinde ortaya çıkan ve anksiyetenin göstergeleri olarak kabul edilen davranışları gözlemektir.

**b) Çatışma modeli:** Bu model Estes ve Skinner’in koşullandırılmış emosyonel cevap örneğine dayanır (Estes and Skinner, 1941). Hayvan, bir ödül kazanmak (genellikle yiyecek) amacıyla bir pedala basmaya koşullandırılır. Daha sonra ışık gibi bir sinyalle birlikte, her pedala basışında ceza (örneğin, elektrik şoku) uygulanır. Hayvan, ödülle cezalandırma arasında bir çatışma durumuyla karşı karşıya geldiğinden pedala basmalar azalır. Pedala basmanın davranışsal baskılanması diye anılan durum, anksiyetenin bir sonucu olarak değerlendirilir. Geller ve Seifter (1960) ile Vogel ve

ark. (1971) tarafından geliştirilen yaygın kullanımlı iki anksiyete modeli, bu temel modelin geliştirilmiş biçimleridir. Bu modellerin özelliği, davranışsal baskılamadan kurtulmanın anksiyetenin azalmasına bağlı olduğunun ve bu kurtulmanın nicelliğinin de anksiyete çözücü etkinin bir ölçütü olarak kabul edilmesidir. Benzodiazepinler, çatışma sonucu inhibe edilmiş davranışları serbestleştirir. (örneğin, sıçanlar ceza tehdidine karşın yeme-içmeye devam ederler.) Sıçanlarda benzodiazepine bağlı çatışma çözücü özellik, insanda benzodiazepine bağlı anksiyete çözülmesi için iyi bir model olarak düşünülebilir. Benzodiazepinlerin hayvanda çatışma çözücü olarak güçlülük sıralaması, insanda anksiyete çözücü etki sıralamasının aynısıdır. (Lorazepam>Diazepam>Oksazepam) Ayrıca hem hayvanlardaki çatışma çözücü etki, hem de insanlardaki anksiyete çözücü etkinin beyinde özgül benzodiazepin reseptörlere bağlanmadan kaynaklandığına inanılmaktadır. Çünkü etkinlik sıralaması, reseptörlere afinite sıralamasının aynısıdır.

c) X- **Labirent modeli:** Yeni çevre modelinin geliştirilmiş bir biçimi olan bu model, hem anksiyete giderici ve hem de anksiyete yapıcı ilaçların etkilerini ölçme olanağı sağlar. Model, açık ve kapalı kolları olan bir labirentten ibarettir. Genel motor inhibisyon, hem açık hem de kapalı kollara girişte azalma olarak ifade edilirken, anksiyete artışı sadece açık kollara girişin azalması ile sonuçlanmaktadır. Anksiyete çözücü etki, labirentin açık kollarına girişlerin artması ile ölçülebildiğinden, anksiyetenin hem artması hem de azalması değerlendirilebilmektedir (Montgomery, 1958).

Bu deneysel hayvan çalışmaları, noradrenerjik, serotonerjik, benzodiazepin ve kortikotropin salgılatıcı hormon reseptörleri gibi beyindeki çeşitli nörokimyasal ve nöropeptid sistemlerinin, anksiyetenin fizyopatolojisinden sorumlu olduğunu desteklemektedir.

**1.1.1. Anksiyete ve Noradrenerjik Sistem:** Noradrenerjik sistem, anksiyete bozukluklarından sorumlu sistem olarak üzerinde en çok çalışılan sistemdir. Noradrenerjik nöronların, anatomi, fizyoloji ve farmakolojisi hakkında bilinenler, bunların anksiyete oluşumu için uygun bir etyolojik aday olmasını sağlayacak



niteliktedir. Noradrenerjik nöronal sistemlerin hiperaktivasyonunun, insanda anksiyete ve korku oluşturduğu bilinmektedir (Charney and Redmond, 1983).

Beyindeki noradrenerjik yolların önemli bölümü lokus seruleusdan köken almaktadır. Mavimtrak renkli bu ufak çekirdek, beyin ve omuriliğe uzanan noradrenerjik innervasyonun santralini oluşturur. Lokus seruleusdaki nöronlarda yoğun şekilde opioid reseptörleri,  $\alpha_2$  adrenerjik ve GABAerjik reseptörler bulunur. Lokus seruleusun noradrenerjik etkinliğini azaltan ilaçlar anksiyolitik, arttıran ilaçlar anksiyojenik özelliktedir (Norman et al. 1990).

Anksiyetenin ortaya çıkışında, lokus seruleus-noradrenalin sisteminin önemli rol oynadığına ilişkin çok sayıda kanıt vardır (Charney et al. 1987; Norman et al. 1990). Yoğunluğu ve homojenitesinden dolayı, lokus seruleusun elektrofizyolojik ve farmakolojik incelenmesi mümkündür. Lokus seruleus nöronları, yeme, içme ve giyinme gibi işlevler sırasında sakindir. Ancak ağırlı çevresel uyaranlara karşı, düşük düzeylerinde bile aşırı duyarlıdırlar. Redmond, (1987) maymunlarda lezyon ve stimülasyon çalışmaları yapmıştır. Bilateral lokus seruleus lezyonları maymunlarda, tehditler karşısında cevapsızlık ve anksiyete benzeri davranışların azalmasına neden olmuştur. Unilateral lokus seruleus stimülasyonu ise; esneme, tırmıklama, irkilme, pupiller dilatasyon, piloereksiyon, kan basıncı ve kalp atım hızında artmaya yol açar.

Lokus seruleustan köken alan nöronal yollar, beynin anksiyeteden sorumlu olan amigdala, hipokampus ve korteks gibi alanlarına odaklanırlar. Santral noradrenerjik sistemin, beynin çeşitli işlevlerinden (öğrenme, bellek, uyku, kan basıncının regülasyonu ve yeme davranışı gibi) sorumlu olduğu öne sürülmektedir (Charney et al. 1990). Beyindeki noradrenerjik nöronlar, özellikle lokus seruleustan köken alanlar beynin çeşitli alanlarındaki bilgi işlem sistemlerinin bir parçası olarak işlev görürler. Bu nedenle insanlardaki patolojik anksiyetenin, beyindeki noradrenerjik sistemlerin işlevindeki artış ile ilgili olduğu varsayılmaktadır.

Anksiyojenik ve anksiyolitik özellikleri olan farmakolojik ajanlar ile anksiyeteye eşlik eden davranışlarla ilişkili nörotransmitterler, lokus seruleus aktivitesini etkilemektedirler. Noradrenerjik aktivitenin düzenlenmesinden sorumlu en önemli reseptörler,  $\alpha_2$ -adrenerjik otoresepörlerdir. Presinaptik veya somatodendritik yerleşimli bu reseptör, negatif feed-back aracılığıyla lokus seruleustan noradrenalin

salınımının düzenlenmesinde önemli rol oynar (Andrade,1982).  $\alpha_2$  reseptör agonisti klonidin, lokus seruleus ateşlenme hızını düşürürken,  $\alpha_2$ -adrenerjik antagonistleri yohimbin ve idazoksan bunu artırır ve böylece lokus seruleus nöronlarının inhibisyonundan kurtulması ile noradrenalin salınır. Maymunlarda yohimbin, lokus seruleusun uyarılmasına benzer davranışlara yol açarken, klonidin, diazepam ve morfin bu davranışları azaltır. diazepam ve morfin, lokus seruleus ateşlenmesini sırasıyla GABA<sub>A</sub> ve Mü-opiat reseptörleri aracılığıyla inhibe ederler. Bu bulgular, lokus seruleusun en fazla uyanıklık ve anksiyete / korkunun görünümüleri ile ilgili olabileceğini gösterir (Redmond, 1987).

Adrenalin, serotonin, GABA, glisin, methionin-enkefalin, morfin, benzodiazepinler, trisiklik antidepresifler ve klonidin gibi anksiyolitik ve antipanik ilaçlar, lokus seruleus aktivitesini azaltan ajanlara örnek olarak verilebilir (Sanghera et al. 1983).

Asetilkolin, P maddesi, glutamat, kortikotropin salgılatıcı faktör, yohimbin, piperoksan, lokus seruleus aktivitesini arttıran ajanlara örnek olarak verilebilir (Charney et al. 1990).

**1.1.2. Anksiyete ve Serotoninerjik Sistem:** Anksiyetenin patogenezinde, serotonin'in anormal fonksiyonunun rolü vardır. Özel olarak, obsesif kompulsif bozuklukların, panik bozukluklarının ve jeneralize anksiyete bozukluklarının patogenezinde serotoninin anormal fonksiyonunun olduğu üzerinde durulmuştur (Kahn et al. 1988). Serotonin reseptörlerinin S.S.S'de 7 tipinin varlığı gösterilmiştir. Bunlar 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>5</sub>, 5-HT<sub>6</sub> ve 5-HT<sub>7</sub> reseptörleridir. 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub> ve 5-HT<sub>5</sub> reseptörlerinin alttıpleri belirlenmiştir. Reseptörlerin her birinin ayrı lokalizasyon ve klinik özelliklere sahip oldukları bilinmektedir. 5-HT<sub>1A</sub> reseptörleri, insan beyninin frontal korteksinde ve hipokampusta bulunur. Bu reseptörler, presinaptik (otoreseptör olarak) ve postsinaptik lokalizasyonludurlar. Anksiyetenin patogenezinde daha çok, 5-HT<sub>1A</sub> reseptörlerinin rol oynadığına dair bulgular elde edilmiştir (Stephard et al. 1982; Engel et al. 1984; Critchley and Handley, 1987). Örneğin, anksiyolitik bir ilaç olan buspiron, primer etkisini 5-HT<sub>1A</sub> reseptörlerini aktive ederek göstermektedir. Bu reseptörlerin hipoaktivitesinin

katkıda bulunduğu sanılmaktadır. Ancak Buspiron'un anksiyolitik etkisini presinaptik somatodendritik 5-HT<sub>1A</sub> reseptörler üzerindeki agonist etkisiyle mi ve/veya postsinaptik 5-HT<sub>1A</sub> reseptörler üzerindeki agonist etkisiyle mi yaptığı halen bilinmemektedir.

#### **Serotonin ile ilgili hayvan deneyleri:**

\* Serotonin (5-HT) fonksiyonu azaltıldığında (özellikle p-klorofenilalanin ile sentezi bloke edildiğinde), kemirici hayvanlarda anksiyolitik bir etki görülür. Bu anksiyolitik etki, 5-HT' nin prekürsörü olan 5-HTP (5-Hidroksitriptofan) ya da 5-HT<sub>1A</sub> agonisti uygulanması ile kaybolur (Stephard et al. 1982; Engel et al. 1984).

\* Serotonin nöronlarının, 5,7-dihidroksitriptamin (DHT)'in ventral tegmentuma, intraserebroventriküler veya dorsal rafe'ye uygulanmak suretiyle tahribi, anksiyeteyi azaltmaktadır (Briley et al. 1990).

\* 5-HT<sub>1</sub> ve 5-HT<sub>2</sub> antagonistleri olan metiserjid, sinanserin, siproheptadin, metergolin, 5-HT<sub>1C</sub> ve 5-HT<sub>2</sub> antagonisti olan ritanserin ve 5-HT<sub>3</sub> antagonisti olan BRL 43694 ile yapılan deneylerde anksiyete giderici etki gözlenmiştir (Critchley and Handley, 1987).

\* Serotonin agonistleri (Fenfluramin,  $\alpha$ -metil triptamin, m-klorofenil piperazin) kullanılarak yapılan çalışmalarda, 5-HT işlevinin artmasına bağlı olarak, hayvanlarda davranışsal baskılanma ortaya çıkmıştır (Kilts et al. 1982). Serotonin fonksiyonu arttırıldığında, hayvanlarda anksiyojenik bir etki görülür (Engel et al. 1984), serotoninin anksiyojenik etkilerinin genel motor inhibisyonundan ayrılması amacıyla, X-Labirenti modelinin kullanılmasının yararlı olduğu bildirilmiştir (Montgomery, 1958). 5-HT<sub>1A</sub> agonisti olan 8-OH-DPAT kullanılarak, X-Labirenti modeli ile yapılan çalışmalarda, sıçanların açık kollara girişlerinin selektif olarak azaldığı gözlenmiştir (Critchley and Handley, 1987).

Hayvanlarda yapılan anksiyete çalışmaları, 5-HT<sub>1C</sub> , 5-HT<sub>2</sub> ve 5-HT<sub>3</sub> reseptörlerinin bloke edilmesinin, anksiyolitik etki oluşturduğunu göstermektedir. Ayrıca, 5-HT<sub>1C</sub> ve/veya 5-HT<sub>3</sub> reseptörlerindeki fonksiyon artışının, anksiyojenik etkiye sebep olduğu da bildirilmektedir (Benjamin et al.1990). Sonuç olarak, 5-HT<sub>1A</sub> , 5-HT<sub>1C</sub> , 5-HT<sub>2</sub> ve 5-HT<sub>3</sub> sistemlerinin hayvan anksiyetesinde rolü olduğu söylenebilir.

Bazı araştırmacılar, 5-HT'eriik ve NA'eriik sistemler arasında yakın etkileşim olduğunu öne sürmüşlerdir. Noradrenerjik nöronların yoğun olarak bulunduğu lokus seruleustan, serotonerjik innervasyonun yoğun olduğu dorsal rafe çekirdeğine noradrenerjik nöron ağı ve rafe çekirdeğinden lokus seruleusa serotonerjik nöron ağının olduğu bildirilmiştir (Ennis and Aston, 1988). Beyin kesitlerinde yapılan çalışmalarda ise, noradrenalinin serotonin salınımını ve serotonin reseptör dansitesini etkilediği ve inhibitör  $\alpha_2$ -adrenerjik reseptörlerin serotonerjik sonlanmalarda yer aldığı gösterilerek, NA'eriik ve 5-HT'eriik nöronların birbirinden etkilendiği öne sürülmüştür (Frankhyzen and Mulder, 1982).

**1.1.3. Anksiyete ve GABAeriik Sistem:** GABA, beyindeki majör inhibitör transmitterdir. GABA; postsinaptik nöron membranında kendine özgü reseptörleri (GABA<sub>A</sub>) aktive ederek, bu reseptörlere kenetlenmiş klorür kanalının açılmasına (hiperpolarizasyonuna) neden olur. Böylece GABA, nöronlarda postsinaptik ve duruma göre presinaptik inhibisyon yapar. GABA<sub>A</sub> reseptörünün üç işlevsel alanı vardır: a) GABA bağlanma alanı b) benzodiazepin bağlanma alanı ve c) barbitürat bağlanma alanı

GABA<sub>A</sub> reseptörü, benzodiazepin reseptörü ve klorür kanalı nöron membranlarında bir supramoleküler kompleksin özel bölümlerini teşkil ederler. Bu kompleks, GABA<sub>A</sub>/BZ reseptörü/klorür kanalı kompleksi diye adlandırılır (Wingard et al. 1991).

GABA<sub>A</sub> reseptörü, benzodiazepin reseptörü ve Cl<sup>-</sup> iyonoforu, tek bir büyük makromoleküler kompleks olarak görünmektedirler (Kandel and Schwartz, 1991; Wingard et al.1991). Transmitter kapılı iyon kanalı niteliğindeki GABA reseptörlerinin, ortalarında bir iyon kanalı ve membran dış yüzeyinde de reseptör bağlanma yerleri bulunur. GABA reseptör proteininin primer yapısı üzerine yapılan

çalışmalar, GABA reseptörünün en az üç ayrı fonksiyonel kısımdan ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ) oluştuğunu göstermektedir. Her reseptör,  $2\alpha$ ,  $2\beta$  olasılıkla bir veya daha fazla alt grup içeriyor gibi görünmektedir. GABA,  $\beta$  alt birimine bağlanır ve klor kanalının açılması için, 2 molekül GABA bağlanması gerekir. Benzodiazepinler  $\alpha$  alt birimine bağlanmalarına karşın, bir  $\gamma$  alt birimi yokluğunda GABA<sub>A</sub> reseptörleri, benzodiazepinlere duyarız olmaktadır.

Tallman ve Gallagher 1978'de benzodiazepinlerin etkilerini, GABA<sub>A</sub> reseptör aktivitesini arttırarak yaptıklarını göstermiştir (Tallman and Gallagher, 1978). Nöronlar üzerinde benzodiazepinlerin etkinlik gösterebilmesi için, ortamda GABA bulunmasının gerektiği ve ortamdaki GABA düzeyinin artmasına paralel olarak, benzodiazepinlerin etkinliğinin arttığı saptanmıştır. Biyokimyasal incelemelerde saptanan önemli bir nokta da, benzodiazepinlerin GABA salıverilmesini arttırmaları, GABA uptake'ini etkilememeleri veya GABA metabolizmasında başka türlü bir değişiklik yapmamalarıdır. Benzodiazepinler, GABA<sub>A</sub> reseptörünü aktive ederler ve böylece klorür kanallarının açılma frekansını arttırmaları; fakat açık kalma süresini değiştirmezler. Ortamda GABA yoksa, benzodiazepinler klorür kanallarını ve dolayısıyla klorür kondüktansını etkileyemezler, bu durumda nöronları inhibe edemezler. Barbitüratlar ise klorür kanallarını direkt olarak da açabilirler, bu nedenle etki yapmaları için ortamda mutlaka GABA bulunması gerekmez, bu ilaçlar kanalın açık kalma süresini uzatırlar. Barbitüratlar nöron düzeyindeki inhibitör etkilerini, kısmen benzodiazepinlerinkine benzer şekilde indirekt olarak yaptıklarından, ortamda GABA bulunmaması barbitürat etkisini azaltır, fakat tamamıyla ortadan kaldırmaz. Benzodiazepinler, GABA ve GABA agonistlerinin doz-cevap eğrisini sola kaydırırlar, fakat onların maksimum etkilerini, barbitüratların aksine arttırmazlar.

Radyoligand bağlama yöntemleri ile yapılan incelemeler, benzodiazepinlerin nöronlarda GABA reseptör noktalarına bağlanmadıklarını da ortaya koymuştur. 1977 yılından başlayarak yapılan incelemeler, nöronlarda benzodiazepinlere özgü reseptörlerin (BZ reseptörleri) bulunduğunu göstermiştir. İlk incelemelerde benzodiazepinlerin tek çeşit reseptörü olduğu sanılmıştır, daha sonra beyinde en az iki tür BZ reseptörünün (BZ<sub>1</sub> ve BZ<sub>2</sub>) bulunduğu ve bunların afinite sabitelerinin birbirine benzediği gösterilmiştir. Benzodiazepinlerin anksiyolitik (antikonflikt) ve

antikonvülsan etkilerinin BZ<sub>1</sub> reseptörü aracılığı ile oluştuğu ileri sürülmüştür. Benzodiazepin reseptörlerinin endojen ligandlarının olup olmadığı konusunda pek çok kuşku vardır. Gerçekte, böyle bir ligandın olması gerekli değildir. Benzodiazepin reseptörü gerçek bir nörotransmitter reseptörü olmaktan çok, bir “ilaç kabul edici alan”dır. Doğal ligandın varlığı ve niteliği gibi, benzodiazepinlerin BZ reseptörlerinin agonisti mi yoksa antagonisti mi oldukları da halen tartışma konusudur. Uzun süre benzodiazepin uygulanan hayvanların beyinde BZ reseptörü dansitesinin artmadığı, fakat azaldığı genellikle gözlenmiştir (Wingard et al. 1991). Bu ve diğer deneysel sonuçlar benzodiazepinlerin BZ reseptörlerinin antagonisti değil, agonisti olduklarını gösterir. Ancak BZ reseptörlerinin doğal ligandının, benzodiazepin türü bir agonisten ziyade ters agonist bir maddenin olması muhtemel görülmektedir.



## 1.2. DEPRESYON

1860'da tıp sözlüklerinde Depresyon; “ hastalık etkisi altında, acı çekmekte olan kişilerin ruhlarının düşkünlüğü ” olarak tanımlanmıştır. Depresyon sözcüğü, fizyolojik yönden heyecansal fonksiyonun bir düşüklüğü, bunun bir semptomu ya da bu durumu belirlemesinden dolayı yerleşik bir deyim haline gelmiştir. Elem, keder ve üzüntü duyguları, istenmeyen yaşam olaylarına karşı ortaya çıkan ve normal olarak kabul edilen duygusal değişimlerdir. Bu duygular kısa süreli olarak stres, düş kırıklığı, ayrılık, ölüm gibi olaylarla ve kişilik yapısına bağlı olarak oldukça sık görülür. Kısa süreli ve fazla yoğun olmadığından özel tedavi gerektirmez, kendiliğinden düzelir. Buna karşılık depresyon hastalığı, yaşam boyu devam edip, tekrarlayıcı bir gidiş gösteren, genetik yatkınlıkla ilişkili kendine özgü bulgu ve belirtiler taşıyan, tedavisi mümkün bir hastalıktır.

Depresyon, toplum sağlığı açısından en yaygın görülen ruh sağlığı sorunlarının başında gelir. Depresyona yaşam boyu yakalanma riski, çeşitli alan çalışmalarının sonuçlarına göre; erkeklerde %8-12, kadınlarda %20-26 arasında bulunmuştur. Kadınlarda daha sık görülmesinin nedeni, genetik, psikolojik ve sosyal nedenlerle açıklanmaya çalışılmıştır. Yaygın olarak bulunmasının yanı sıra, bir diğer önemli özelliği depresif nöbetlerin tekrarlayıcı niteliğidir. Majör depresyon geçiren bir kişide, 5 yıl içinde yeniden hastalanma olasılığı %70'dir. Tedavi edilmeyen hastalarda kronikleşme görülür ve bu da hastalığın tedavi şansını azaltır.

Depresif duygudurumu olan hastalar enerji ve ilgi kaybı, suçluluk duyguları, düşüncelerini belli bir konu üzerinde yoğunlaştıramama, iştah kaybı, ölüm ve intihar düşünceleri gibi belirtiler sergilerler (Kaplan and Sadock, 1991). Depresif duyguduruma, konuşma ve vejetatif işlevlerde (örneğin; uyku, iştah, cinsel etkinlik ve diğer biyolojik ritimler) değişiklikler sıklıkla eşlik eder. Bu bozukluklar hemen her zaman kişilerarası, toplumsal ve mesleki işlevsellikte bozulma ile sonuçlanır.

Depresyonun genel belirtileri şöyle sıralanabilir (Klerman, 1988):

\* Hiçbir şeyden zevk alamama

- \* Enerji kaybı, yorgunluk-bitkinlik, letarji, anerji
- \* Konuşmada, düşüncelerde ve davranışlarda retardasyon
- \* İştahta değişme (genellikle kilo kaybı)
- \* Uyku bozukluğu (genellikle insomnia)
- \* Somatik yakınmalar
- \* Ajitasyon
- \* Cinsel ilgi ve etkinlikte azalma
- \* İşe ya da yapılan diğer etkinliklere karşı ilgi kaybı
- \* Değersizlik, kendini küçük görme, suçluluk duyguları
- \* Düşünmede yavaşlama, belirli bir konu üzerinde yoğunlaşamama
- \* Anksiyete
- \* Benlik saygısında azalma
- \* Çaresizlik duyguları
- \* Karamsarlık ve umutsuzluk
- \* Ölüm düşünceleri ya da intihar girişimleri

**Depresyonun Etyolojisi:** Depresyonu açıklamaya yönelik çeşitli hipotezler ileri sürülmüştür. Bunları genel olarak 3 grupta toplayabiliriz.

- a) Psikolojik Model
- b) Bütünleştirici (İntegravite) Model
- c) Biyolojik Model

**Psikolojik Model:** Freud, depresyonda obje kaybının önemine değinip, gerçek ya da hayaldeki ambivalan (karşıt duygulu) sevgi objesinin kaybedilmesi ve buna karşı duyulan suçluluk duygularıyla, agresyonun kendine yönelmesinin yol açtığını ileri sürmüştür. Pek çok araştırmacı da, depresyonda erken yaşlarda anne ya da anne figürü yerine geçen sevgi objesinin kaybı ya da ayrılığı sonucu ortaya çıkan depresyonla, erişkinlik döneminde görülen depresyon arasındaki ilişkiye dikkat çekmiştir.

Seligman (1975) ise, öğrenilmiş çaresizlik (learned helplessness) kavramını ortaya atarak, depresif hastalarda istenmeyen ve kaçınılmaz uyarılar karşısında, pasivite ve çaresizlik şeklinde bir tepkinin ortaya çıktığını, çocuklukta gelişen bu



tepkinin ileride bir kişilik kalıbı haline gelerek artan stresler sonucu depresyonun oluşmasına yol açtığını belirtmiştir.

**Bütünleştirici (İntegravite Model):** Bu kurama göre depresyon; davranışsal, yaşantısal ve kimyasal süreçlerin kesiştiği bir “ortak son yol” olarak tanımlanmıştır. Çeşitli yaşam olayları sonucu duygulanım, motor aktivite, iştah, uyku, libido gibi işlevleri düzenleyen diensefalik merkezlerde, çeşitli düzeylerde ortaya çıkan fonksiyon bozuklukları sonucu depresyon olduğu savunulmuştur. Bu modele göre, biyolojik ve biyolojik olmayan (psikoterapiler) tedavi yaklaşımlarının birlikte kullanımı, en akılcı ve gerçek yol olmaktadır.

**Biyolojik Model:** Depresyon farmakoterapisi, depresyon etyolojisindeki biyokimyasal hipotez üzerine kurulmuştur. Yaklaşık 35 yıl önce MAO inhibitörlerinin ve trisiklik antidepressif ilaçların psikiyatride kullanılmaya başlanmasıyla birlikte afektif bozukluklar ve özellikle depresyonun biyokimyası ve nöroendokrin özellikleri konusunda sayısız araştırma yapılmıştır. Başlangıçta tek tek nörotransmitter sistemlerindeki kantitatif değişikliklerin, depresyonun etyopatogenezinden sorumlu olduğu düşünülürken, yeni çalışmalar reseptörlerin biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerindeki değişikliklerin de hem depresif bozuklukların fizyopatolojisinden, hem de antidepressif ilaç etkisinden sorumlu olduğunu düşündürmektedir.

Depresyonun biyolojisi ele alınırken, nörotransmitterlerden 5'i daha önem kazanmaktadır. Bunlar; noradrenalin, serotonin, dopamin, asetilkolin ve GABA'dır. Bu nörotransmitter sistemlerinin herbiri depresyonun açıklanması ile ilgili bir varsayımı adını vermiştir. S.S.S'de nörotransmitter düzeylerinin durumunun ve bunları salıveren sinir uçlarındaki etkinliğin anlaşılmasına yarayan başlıca göstergeler şunlardır:

- a) dokuda postmortem ölçülen nöromediyatör amin düzeyi
- b) amin metabolitlerinin beyinden BOS'a geçiş veya idrarla itrah hızı
- c) incelenen aminin turnover hızı

**1.2.1. Depresyon ve Noradrenalin:** 1965 yılında afektif hastalıkların oluşumunu açıklamak üzere, katekolamin hipotezi öne sürülmüştür. Bu hipoteze göre; depresyonların tümü olmasa bile en azından bir bölümü, beynin işlevsel olarak önemli reseptör alanlarında katekolaminlerin ve özellikle noradrenalin'in mutlak ya da göreceli bir eksikliği ile ilişkilidir. Aksine noradrenerjik aktivite artışı, duygudurumda yükselme, coşku ve efori ile karakterize olan manik durumların gelişimi ile sonuçlanmaktadır (Janowsky et al. 1988).

Bu hipoteze ilişkin kanıtların çoğu, duygudurumu etkileyen ilaçların etki düzeneklerine ilişkin çıkarsamalardan gelmektedir. Örneğin, rezerpin ve tetrabenazin beyinde noradrenalin depolarının tükenmesine yol açarak, depresyon oluşturabilmektedir. Diğer taraftan, etkin bir antidepresif olduğu ilk kanıtlanan ajanlardan biri olan iproniazid, MAO enzimini inhibe etmek suretiyle beyinde noradrenalin düzeylerini arttırmaktadır. Benzer şekilde trisiklik antidepresanlar, noradrenalinin presinaptik geri alınımını bloke etmek suretiyle, bu nörotransmitterin sinaptik aktivitesini uzatarak, noradrenerjik nöronal iletiyi potansiyalize ederler (Janowsky et al. 1988).

Ancak katekolamin hipotezine karşıt görüşlerde ortaya atılmıştır. Rezerpin'in herkeste depresyon yaratmaması, amfetamin ve kokainin noradrenerjik nöronal iletiyi potansiyalize etmesine karşın antidepresif etki göstermemesi, MAOI veya noradrenalin geri alım inhibitörü olmayan iprindol'un antidepresif etki göstermesi, depresyonun etyolojisini aydınlatmada noradrenalin hipotezinin yetersiz kaldığını göstermektedir. Ayrıca antidepresif ilaç kullanımında, klinik düzelmeye aracılık ettiği düşünülen kimyasal etkiler hemen oluşmakla birlikte, klinik yararın sağlanması genellikle 2-6 haftalık bir süreyi gerektirmektedir.

**1.2.2. Depresyon ve Dopamin:** Jimerson (1987) maninin, artmış dopaminerjik aktivite ile ilişkili olduğunu, dopaminerjik aktivitedeki azalmanın ise, depresyon gelişimi ile sonuçlandığını göstermiştir. Dopaminin majör metaboliti olan HVA'nın (Homo vanilik asitin) BOS'ta düzeylerinin ölçümü, santral dopaminerjik aktivitenin bir göstergesi olabilir. Depresyonda dopamin turnover'nın azalmış olduğu hipotezi ile

uyumlu olarak kontrol deneklerine göre, depresif hastalarda BOS-HVA deęerleri daha dūşüktür (Jimerson,1987).

Dopaminerjik sistemin nöroendokrin regülasyonu ile, depresyonda rol oynadığı bilinmektedir. Dopamin'in prolaktin üzerine inhibitör etkisi varken, Growth hormon üzerine uyarıcı bir etkisi vardır. Depresif hastalarda dopaminerjik hipoaktivite ve dopamin azlığına bağlı, postsinaptik reseptör duyarlılığında belirli bir artma görülmektedir. Bir dopamin agonisti olan apomorfinle yapılan çalışmalarda depresif grupta apomorfine karşı daha düşük prolaktin düzeyi, daha yüksek Growth hormon düzeyi bulunmaktadır.

Öğrenilmiş çaresizlik durumu oluşturulan hayvanların, yeni davranışları öğrenme yeteneğindeki azalma, bu hayvanların nukleus akkumbens ve kaudat nukleuslarında dopamin düzeylerindeki azalmaya eşlik etmektedir. Haloperidol gibi dopamin antagonistleri bu öğrenme yetersizliklerini ve dopamin düzeylerindeki azalmayı şiddetlendirirken, dopamin agonisti olan apomorfin bunları hafifletebilmektedir (Willner, 1985).

**1.2.3. Depresyon ve Serotonin:** İnsan ve hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalar, S.S.S'ndeki serotonerjik nöronların uyku, beden ısısı, ağrı duyarlılığı, iştah, lokomotor aktivite, nöroendokrin salgılar ve duygudurum gibi farklı işlevlerin düzenlenmesinde, önemli bir rol oynadığını göstermektedir (Janowsky et al. 1988). Serotonerjik varsayım, depresyonda serotonerjik işlev azalmasını öne sürmektedir. Depresyonda "Serotonerjik hipofonksiyon"u destekleyen belli başlı kanıtlar aşağıda sunulmuştur:

\* Doğal nedenlerle veya intihar sonucu ölmüş depresif hastaların postmortem beyin örneklerinde, median rafe nukleuslarında serotonin ve serotoninin majör metaboliti olan 5-HİAA (5-Hidroksiindol asetik asit) düzeyleri azalmıştır. Yeterli dozda probenesid ile 5-HİAA'in BOS'ndan kana geçişi hemen hemen tamamen inhibe edilir. Bu nedenle, probenesid uygulamasından sonra ölçülen BOS 5-HİAA düzeyi presinaptik serotonin işlevi hakkında bilgi vermektedir (Emanuelsson et al. 1987). Probenesid uygulamasından sonra, depresif hastaların BOS'nda 5-HİAA birikiminin azalması, serotonerjik hipofonksiyona işaret etmektedir.

\* Triptofan, S.S.S'ne taşınma için tirozin, fenilalanin, lösin, izolösin ve valin gibi diğer nötral aminoasitlerle yarışmak durumundadır. Depresif hastalarda plazma triptofan/nötral aminoasit oranının azalması, S.S.S'ne giren triptofan miktarı ile serotonin sentezinin azaldığını göstermektedir.

\* Depresif hastalar ile intihar sonucu ölen bireylerde, trombositlere <sup>3</sup>H-imipramin bağlanma alanları ile hippokampus ve oksipital kortekste presinaptik <sup>3</sup>H-imipramin bağlanma alanlarının sayısı azalmıştır (Roy et al. 1987).

\* Depresif hastalarda, yüksek dozda L-Triptofanın i.v olarak uygulanmasına tepki olarak, prolaktin salgısı körleşmiştir. Bu, postsinaptik 5-HT resptörlerinin daha duyarlı olduğunu düşündürmektedir (Heninger et al.1984).

\* Serotonin sentez ve işlevini arttıran 5-HT prekürsörleri ile selektif serotonin gerialım inhibitörleri antidepresif etkinlik göstermektedir (Van Praag et al. 1987).

\* Serotonerjik nöranal iletiyi ya presinaptik (triptofan veya 5-HTP'nin serotonerjik sinir ucuna geri alınışını ve sentezini arttırarak) veya postsinaptik (reseptör duyarlılığını arttırarak) etkileriyle arttırdığına inanılan lityum, antidepresif tedaviye yanıtı arttırmaktadır (Thompson and Thomas, 1986).

\* Paraklorofenilalanin (triptofan hidroksilaz inhibitörü) gibi ajanlar depresyon oluşturabilirler ve bir MAO inhibitörü olan tranilsiprominin terapötik etkilerini antagonize ederler (Brown et al. 1990).

Rafe nukleusundan köken alan serotonerjik nöronlar ile lokus seruleustaki noradrenerjik nöronlar arasında, ve dopaminerjik sistem ile serotonerjik sistem arasında hem anatomik hem de işlevsel bir etkileşim vardır. Giderek açıklığa kavuşan bu ilişkiler, bazı varsayımları yeniden gözden geçirmeyi gerektirmektedir. Önbeyinde dopaminerjik ve serotonerjik nöronal sistemler arasında kompleks anatomik ve işlevsel bir ilişki bulunduğu ve serotoninin bu dopaminerjik halkalar üzerinde inhibitör bir

modulator tonus oluşturduğu bilindiğine g3re; antidepresif ila4ların serotonerjik iletiyi arttırısının, dopaminerjik aktiviteyi daha ileri düzeyde azaltması ile oluşturduğu kabul edilmektedir.

**1.2.4. Depresyon ve Asetilkolin:** Asetilkolin motor tonus, koordinasyon, uyku, r3ya, analjezi, bellek ve hormonal d3zen gibi 3nemli ve farklı beyin işlevlerinde anahtar rol oynadığına inanılan bir n3rotransmitterdir. Ayrıca duygudurumun d3zenlenmesine ve affektif hastalıkların patogenezinde katkıda bulunduğu g3sterilmiştir (Janowsky and Risch, 1987).

Asetilkolin beyin in 4oğu alanında eksitator bir n3rotransmitter olarak etki g3stermekle birlikte, uyarılan beyin alanlarının doğası nedeniyle asetilkolin, genelde davranış inhibe edicidir veya depresif etkiler oluşturmaktadır. Affektif durumların reg3lasyonunda işlevsel olarak 3nemli olduğu d3ř3n3len limbik ve hipotalamik sistemler, yoğun bir kolinerjik innervasyon alırlar. Noradrenerjik n3ronlar topluluğu olan lokus seruleusun kolinerjik bağlantıları, affektif bozuklukların etyopatogenezinde sorumlu olduğu 3ne s3r3len kolinerjik/adrenerjik denge hipotezi nedeniyle işlevsel olarak 3nemlidir.

1972 yılında Janowsky ve 4alışma arkadaşları katekolamin hipotezini geliştirmişler ve affektif hastalıkta, “kolinerjik/adrenerjik denge” hipotezini 3ne s3rm3şlerdir. Bu hipoteze g3re; affekt, duygudurumu d3zenleyen beyin alanlarında kolinerjik-adrenerjik aktivite arasındaki bir dengeyi yansıtmakta olup, depresif hastalık kolinerjik aktivitenin, mani ise adrenerjik aktivitenin egemen oluşu ile karakterize hastalıklardır (Janowsky et al. 1972). Janowsky ve ark. depresyonlu hastaların merkezi kolinerjik n3rotransmitter aktivasyonunda artış olduğunu, 3ne s3ren bir varsayım geliştirmişlerdir.

Merkezi kolinerjik d3zey, hem katekolinerjik hem de serotonerjik n3rotransmisyon sistemine antagonist olarak işlemektedir. Bu durumda kolinerjik d3zey artışı, katekolinerjik ve serotonerjik n3rotransmisyon azalışı ile birlikte, depresyon patofizyolojisi i4inde değerlendirilebilir. Merkezi olarak aktif kolinerjik n3rofarmakolojik agonistlerin işe karışması, depresif semptomatolojiyi daha da k3t3leştirmektedir (Risch et al. 1981).

Birçok sempatotolitik-antihipertansif ilaç ( $\alpha$ -metil dopa, propranolol, klonidin ve rezerpin) depresyon oluşturabilir ve bu ilaçlar aynı zamanda, santral ve periferik kolinomimetik özelliklere de sahiptirler. Rezerpinin, insanlardaki psikolojik yan etkileri çarpıcı bir şekilde parasempatik ajanlarınkine benzemektedir. Bu yan etkiler arasında, letarji, anerji, aşırı uyuma sayılabilir. Santral dopaminerjik aktiviteyi bloke eden ve kolinerjik aktiviteyi arttıran antipsikotik ilaçlar da depresyona neden olabilirler. Akinetik depresyon da denilen bu tablo, santral etkili antikolinerjik ajanların uygulanması ile ortadan kalkmaktadır (Janowsky and Risch, 1987).

Asetilkolinin öncü maddelerini (kolin, lesitin, deanol) alan deneklerde, depresif duygudurum gelişmektedir. Yapılan başka bir çalışmada da, normal gönüllülere i.v fizostigmin ve arekolin uygulanmasından sonra, depresyon geliştiği gösterilmiştir (Risch et al. 1981). Özetle çok sayıdaki klinik ve prelinik çalışmadan elde edilen veriler, duygudurumun düzenlenmesinde kolinerjik/adrenerjik dengenin rolünü desteklemektedir.

**1.2.5. Depresyon ve GABA:** Unipolar depresyonda GABA düzeyinin düşük bulunması, bazı GABA agonistlerinin antidepresan özelliğe sahip olması, yine agonistlerinin hem noradrenerjik hem serotonerjik nöronlarda ateşlemeyi indüklemesi ve dopamin turnover'ını azaltması, GABA'yı da depresyonla ilgili nörotransmitterler arasına sokmuştur (Berrettini and Post, 1984).

**Sonuç:** "Bu teorilerden hangisi depresyonun etyopatogenezini en doğru ve kapsamlı bir şekilde açıklayabilmektedir" sorusuna vereceğimiz yanıt "hiçbiri" dir. Çünkü, nörotransmitter sistemleri birbirlerinden bağımsız bir biçimde etki göstermezler. Aksine, bu biyokimyasal sistemlerin karşılıklı olarak etkileştiklerine ve birbirlerini regüle edebildiklerine ilişkin veriler, giderek artmaktadır. Serotonerjik nöronlarla noradrenerjik nöronlar arasında, dopaminerjik sistemle serotonerjik sistem ve GABAerjik sistemler arasında, hem anatomik hem de işlevsel önemli etkileşimler vardır (Sulser, 1987).

### 1.3. ANKSİYETE- DEPRESYON İLİŞKİSİ

Anksiyete ve depresyon arasında, çeşitli yönlerden ilişkiler bulunduğu bilinmektedir. Konu ile ilgili en temel tartışma, her iki bozukluğun altında yatan neden/nedenlerin ayrı mı yoksa aynı mı olduğudur. Anksiyete ve depresyonun birlikte ortaya çıkışı, (komorbidite) bir çok yönüyle araştırma konusu olmuştur. Anksiyete ve depresyonun birlikteliğine, çok çeşitli alt modeller bulmak olasıdır. Ancak, bunlar 3 temel kavramsal modelde ele alınabilir (Stavrakaki and Vargo, 1986).

1) Anksiyete ve depresyon, nicel olarak farklılaşan durumlardır. Yani, aynı bozukluğun farklı şiddetlerde ortaya çıkmasıdır. (uniter model)

2) Anksiyete ve depresyon nitel olarak farklılaşan durumlardır. Yani, ayrı bozukluklardır. (pluralistik model)

3) Karma anksiyete ve depresyon sendromları saf anksiyete ve saf depresyondan hem nicel hem de nitel yönlerden farklılaşırlar. (anksiyöz depresif durum)

Konu ile ilgili literatür gözden geçirildiğinde, her 3 modele de uyan araştırmaların bulunduğu görülmektedir.

**Anksiyete ve Depresyonda ortak olan semptomlar:** (Alloy et al. 1990)

**Duygulanım alanında;** Disfori / olumsuz duygulanım, ağlama, irritabilite.

**Davranışsal alanda;** Azalmış aktivite, azalmış yanıt başlatma, azalmış enerji, davranışsal dezorganizasyon ve performans bozuklukları, artmış bağımlılık, zayıf sosyal beceriler.

**Bedensel alanda;** Huzursuz uyku, uykuya dalış güçlüğü, panik atakları.

**Bilişsel alanda;** Çaresizlik, obsesyonlar, endişe, düşük özgüven, olumsuz kendini değerlendirme, kendini eleştirme, kendi ile uğraşma, kararsızlık, zayıf konsantrasyon.

Buna karşın, kognitif yapılar yönünden anksiyete ve depresyon tabloları farklı görünmektedir. Anksiyöz tablolarda; gelecek tehlikelere gebedir, ölüm korkusu,

güvensizlik, çaresizlik vardır. Depresyonda ise, kendini değersizleştirme, geleceğin olmayışı, umutsuzluk ve intihar düşünceleri vardır (Ahiskal, 1990).

Anksiyete artmış olumsuz duygulanım, depresyon ise azalmış olumlu duygulanım olarak yaşanır. Hatta bazı araştırmacılara göre, depresyonla anksiyete arasındaki en ayırt edici faktör olumlu-olumsuz duygulanımdır. Azalmış olumlu duygulanımın klinikteki yansıması, ilgi-istek yitimi şeklindedir, depresyona özgüdür. Buna karşılık, artmış olumsuz duygulanım kliniğe korku, sıkıntı, sinirlilik, öfke, gerginlik, endişe, suçluluk, küçümseme, üzüntü, tiksinti, utanma gibi belirtilerle yansır. Olumsuz duygulanım, hem anksiyetede hem de depresyonda görülebilir, ayırt edici özellikleri yoktur (Watson and Kendall, 1989).

Anksiyete bozukluklarında yaşam olayları ile depresyonda yaşam olayları, literatürde büyük paralellik göstermektedir. Her iki tanı grubunda yakın zamandaki yaşam olaylarının hastalığı başlatıcı rolü öne çıkmaktadır (Monroe, 1990).

Biyolojik ve nöropsikolojik çalışmalar, majör depresyon ile panik bozukluğu arasında, farklılıklardan çok benzerlikler bulunduğunu göstermişlerdir. Anksiyete ve depresyonu birbirine bağlayan köprüye, nörofarmakolojik çalışmalardan da bazı katkılar olmuştur. 5-HT<sub>1</sub> reseptör ailesinin GABA sistemleri ile etkileşim içinde olduğu, benzodiazepinlerin rafe nöronal ateşlemesini belirgin olarak düşürdüğü ve serotonin turnover'ını azalttığı gösterilmiştir. Yapılan klinik ilaç çalışmalarında, depresyonda etkili olan bazı ilaçların anksiyete de etkili olduğunun gösterilmesi, bu ilişkiyi destekler niteliktedir. Prototip antidepresanlar, özellikle trisiklik antidepresanlar ve MAO inhibitörleri belirli koşullarda anksiyolitik etki de göstermektedirler. İmipramin'in aynı zamanda iyi bir anksiyolitik olduğu, hatta yaygın anksiyete bozukluğunda bile etkili olduğu bildirilmiştir. Yine panik bozukluğunda, klasik antidepresanlar denen trisiklik antidepresanlarla, MAO inhibitörlerine iyi yanıt elde edildiği bildirilmiştir (Heninger, 1990).

Anksiyete tablolarının daha erken başladığı ve süreleri uzadıkça depresif özelliklerin çıkışına yatkınlık yarattığı, değişik araştırmacıların vardıkları ortak bir sonuçtur (Lesse, 1982).



## 1.4. DENEYSEL ANKSİYETE VE DEPRESYON MODELLERİ

### 1.4.1. Deneysel Anksiyete Modelleri

Drogların kaygı üzerine olan etkileri 2 temel yöntem ile araştırılabilmektedir.

a) Koşullu kaygı modelleri b) Etiyolojik kaygı modelleri

Koşullu kaygı modelinin esası; bir koşula bağımlı olarak hayvanda kaygı oluşturmaktır. Bu yöntem ilk kez 1941 yılında Estes tarafından tanımlanmıştır (Estes and Skinner, 1941). Tanımlanan modelde bir dakika süresince ışık yanmakta, sonra hayvana elektrikli ayak şoku uygulanmaktadır. Bir eğitim süresinden sonra, hayvanın ışığı fark edince kaygı duyduğu ve daha az sayıda yere bastığı saptanmıştır. Benzodiazepin gibi kaygı giderici droglar kullanıldığında ise; ışık yanıp koşul yerine geldiğinde, hayvanın daha az korktuğu ve yere basma sayısındaki azalmanın ortadan kalktığı veya arttığı görülmüştür (Estes and Skinner, 1941). Bu model, koşullu kaygı modellerinin ilk tanımlanan şeklidir. Daha sonra bir koşula bağımlı olarak kaygının oluşturulduğu çeşitli yöntemler geliştirilmiştir (Dooley and Klamt, 1993).

Koşullu kaygı modellerinin avantajları; saptanan bazal değerlerin tutarlı olması ve laboratuvarlar arası fark görülmemesi, hayvanların tekrar tekrar kullanılabilmesi ve bu testte etkili kaygı giderici drogların insanda da aynı etkiyi oluşturmasıdır. Ancak, uzun eğitim döneminin olması, bazı yöntemlerde deney öncesinde yem ve suyun ortamdaki uzaklaştırılmasının gerekliliği, sadece benzodiazepinlerin bu testte pozitif sonuç vermesi ve sedatif veya kas gevşetici drogların hayvan davranışını etkilemesi ise modelin sakıncalarıdır.

(+) Labirent testini de içeren etiyolojik kaygı modellerinin temelinde ise, kaygı oluşturan nedenlerin sağlanması yatmaktadır. (+) Labirent testi ilk kez Montgomery (Montgomery, 1958) tarafından Y şeklinde tanımlanan modelin geliştirilmiş, zıt yönlü iki açık ve iki kapalı kolu bulunan dört kollu şeklidir (Handley and Mc Blane, 1993). Denek olarak sıçan ve farenin kullanıldığı bu yöntemde, ilaçların hem kaygı üzerine olan etkileri, hem de kaygının fizyolojik ve biyokimyasal temelleri araştırılabilmektedir (Dawson and Tricklebank, 1995).

(+) Labirent testinde aydınlık, yüksek, dar ve açık alan kaygı oluşturan etmenlerdir. Bu faktörler insanda da kaygı oluşturabildiğinden, etiyolojik nedenler geçerli kabul edilmektedir. (+) Labirent testinde açık alan korkusu kaygı oluşturan başlıca uyarıdır (Treit et al. 1993). Açık kollarn yükseltilmesi, test ortamının aydınlatılması veya testten önce hayvanın strese sokulmasının (hayvanı hareketsiz dar bir alanda tutmak veya elektrikli ayak şoku vb.) açık kollara giriş sayı / süresini azaltacağı düşünülmüştür. Ancak yapılan çalışmalar ile açık kollarn yükseltilmesinin, ortamın aydınlatılmasının veya testten önce stres uygulamasının hayvanın temel davranışını etkilemediği görülmüştür (Falter et al. 1993; Fernandez and File, 1993). Ancak uzun süre elleme ve test ortamının gürültülü olması açık kollara giriş sayı / süresini azaltmıştır (Fernandez and File, 1993). Bu nedenle, test ortamının sessiz olmasına özen gösterilmelidir. Bizim çalışmamızda da gerekli koşullar sağlanmış, sadece injeksiyon sırasında hayvanlar ele alınmış ve deney sessiz bir ortamda yürütülmüştür.

(+) Labirent testinde drogların kaygı duygusuna olan etkileri yalnızca 5 dakika süren ve sadece spontan aktiviteye dayanan bir yöntemle belirlenmektedir. Testin 5 dakika sürmesinin nedeni sakınma davranışının özellikle bu sürede belirgin olmasından ve 10 dakika sonuna doğru azalmaya başlamasındandır (Montgomery, 1958).

(+) Labirent testinin basit ve hızlı uygulanabilir olması, aletin maliyetinin düşük olması, testten önce eğitim döneminin gerekmemesi, deney öncesi yem ve suyun ortamdaki uzaklaştırılmasının istenmemesi, analjezi, iştah, susama, öğrenme ve hafızayı etkileyen faktörlerden etkilenmemesi, en önemlisi kaygı oluşumu için doğal uyarıların kullanılması testin avantajlarıdır. Motor aktivitede meydana gelen değişikliklerin yalancı negatif ve pozitif sonuçlara neden olması, ölçülen bazal değerlerin günden güne ve laboratuvarlar arasında farklılık gösterebilmesi, hayvanların tekrar tekrar kullanılmaması ise yöntemin sakıncalarıdır (Benjamin et al. 1990; Dawson and Tricklebank, 1995).

Kaygı giderici droglar, açık kola giriş sayısını ve/veya açık kolda kalış süresini arttırırken, kaygı arttırıcı droglar ise, tam tersi etki yaparlar (Pellow et al. 1985). Drogların (+) labirent testinde kaygı üzerine olan etkileri değerlendirilirken, bazı yayınlarda sayı ve süre oranını birlikte aynı yönde değiştirmesi gerekli kılınırken, bazı

yayınlarda ise tek göstergesi etkilemesi yeterli kabul edilmiştir (File, 1981; Handley and Mithanis, 1984; Pellow et al. 1985).

#### 1.4.2 Deneysel Depresyon Modelleri

İlaçların antidepresan etkilerinin araştırılması ve depresyon etyopatogenezinin saptanması amacıyla kullanılan deneysel depresyon modelleri:

a) Davranışsal , b) Farmakolojik ve c) Cerrahi Depresyon Modelleri olmak üzere 3 ana grup altında toplanabilir.

Davranışsal depresyon modelleri arasında; Zorunlu Yüzme Testi (öğrenilmiş çaresizlik testi), süreğen stres, sosyal izolasyon ve fare öldürme testleri yer almaktadır.

Farmakolojik depresyon modelleri ise, rezepin modeli, sempatomimetik sinerjizma, yohimbin ve klonidin modelleri gibi yöntemleri içermektedir.

Cerrahi girişim modelinde ise, hayvanlara bilateral bulbektomi uygulanmaktadır.

Zorunlu Yüzme Testi, Porsolt tarafından tanımlanmış bir mental depresyon modelidir. Sıçan, fare veya maymunlara uygulanabilen bu testte hayvanlar su dolu bir silindire konarak yüzmeye zorlanırlar. İçinde buldukları ortamdan kurtulamayacaklarını bir gün önce uygulanan 15 dakikalık alıştırma döneminde öğrenmiş olan hayvanlar, sadece başlarını su yüzeyinde tutacak şekilde tipik bir postür alırlar. Porsolt tarafından "İmmobilité" olarak tanımlanan bu vücut biçimi, öğrenilmiş çaresizlik testinde olduğu gibi, umudunu yitirmiş olan hayvanların baskılanmış ruh durumunu yansıtmaktadır (Porsolt et al. 1977-a; 1977-b; 1978-a; 1978-b; 1979; Porsolt, 1981).

Zorunlu Yüzme Testinin serotonerjik sistemden çok, katekolaminerjik sistem ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Porsolt, 1986; Henn and Mc Kinney, 1987; Borsini and Meli, 1988). Zorunlu yüzme testinin etki yeri olarak orta amigdeloid çekirdek gösterilmektedir. Bu çekirdeğe katekolaminerjik nöronları tahrip eden 6-OHDA uygulanması ile testin etkinliğinin ortadan kalktığı, serotonerjik nöronları tahrip eden 7-DHT'nin ise bir değişiklik oluşturmadığı öne sürülmüştür (Borsini and Meli, 1988).

Zorunlu yüzme testine en duyarlı drog grubu noradrenerjik etkinliği arttıran antidepresanlar olmakla birlikte, dopaminerjik agonistler ile de pozitif sonuç alınabilmektedir.

İlaçların antidepresan etkilerinin araştırılması amacıyla kullanılan Zorunlu yüzme testi, diğer depresyon modellerine göre geçerliliği daha fazla olan, basit ve hızlı uygulanabilen, duyarlılığı yüksek bir yöntemdir. Zorunlu yüzme testi ile alınan sonuçların laboratuvarlar arasında tutarlı olması testin bir diğer avantajıdır (Porsolt, 1985).

İmmobilite süresinin saptanmasının subjektif olması, yalancı negatif ve pozitif sonuçlar alınabilmesi, motor aktivite değişikliklerinin testi etkileyebilmesi, depresyonun psişik ve somatik semptomlarını tam olarak yansıtmaması, alıştıırma döneminden sonra saptanan motor aktivite azalmasının, fiziksel yorgunluğa mı, yoksa psikomotor yavaşlamaya mı bağlı olduğunun anlaşılabilmesi yöntemin sakıncalarıdır (Borsini and Meli, 1988). Bununla birlikte Zorunlu yüzme testi duyarlılığı yüksek bir yöntemdir. Bilinen birçok antidepresan madde; trisiklikantidepresanlar, MAOI'leri, atipik antidepresanlar ve elektrokonvülf terapi (EKT) ile pozitif sonuç alınabilmektedir (Porsolt et al. 1979; Ferris et al. 1982). Bu test ile alınan sonucun, diğer depresyon modellerinde olmayan şekilde droğun antidepresan etkinliğini ve klinik potansiyelini yansıttığı bildirilmektedir (Porsolt, 1981).

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU**  
**DOKÜMANTASYON MERKEZİ**

## 1.5. NİTRİK OKSİD

Kısa bir süre öncesine kadar yalnızca motorlu araçların eksozunda bulunan, asit yağmurlarına yol açan ve ozon tabakasını tahrip eden, zararlı bir gaz olduğu sanılan Nitrik Oksid'in (NO), memeli hücreleri tarafından üretildiğinin anlaşılması, bir çok düzenleyici mekanizmanın aydınlatılmasını sağlamıştır. Science dergisinde 1992 yılında 'yılın molekülü' şeklinde tanımlanan NO, halen en ilgi toplayan araştırma alanlarından biri olarak dikkati çekmektedir. NO, iki atom içeren, molekül ağırlığı 30 olan, gaz yapısında, biyolojik membranlardan çok kolay difüze olabilen, yarı ömrü 3-50 saniye gibi farklı süreler olarak bildirilen, dayanıksız küçük bir moleküldür (Moncada et al. 1991).

Furchgott ve Zawadski ilk kez 1980 yılında, EDRF'nin (endotel kaynaklı gevşetici faktör) vasküler tonus üzerine olan etkilerini gösterdiler. Bu araştırmacılar yaptıkları çalışmalarında, intakt perfüze tavşan aorta kesitlerinde, noradrenalin ile oluşturulan vazokonstrüksiyonun asetilkolin verilmesiyle düzeldiğini, ancak aorta kesitlerini döşeyen endotel tabakasının çıkartılmasıyla, vasküler düz kasın gevşeme kapasitesinin kaybolduğunu gözlemlədiler (Furchgott and Zawadski, 1980). Endotel varlığında asetilkolin bağımlı damar düz kas gevşemesi, prostasiklin yapımını bloke eden siklooksijenaz inhibitörlerinden etkilenmemekteydi. Sonuç olarak bu iki araştırmacı, EDRF olarak tanımladıkları nonprostanoid-vazodilatör bir maddenin varlığını gösterdiler. İlerleyen çalışmalarda, bu yeni tanımlanan faktörün uyarılmamış endotel tarafından bazal durumda salınımının olduğu ve bir çok vazodilatör farmakolojik veya nonfarmakolojik uyarılar tarafından, yapımının arttırıldığı gözlemlendi.

NO salınımına neden olan etkenlerden bazıları şöyle sıralanabilir: asetilkolin, histamin, adrenalin, serotonin, vazopressin, bradikinin, prostasiklin, VIP, P maddesi, kalsitonin geni ile ilişkin peptid, insülin,  $\alpha$ -adrenerjik reseptörler, kalsiyum iyonoforları, akıma bağılı sürtünme stresi, pıhtılaşma sırasında oluşan trombin,

trombosit agregasyonu sırasında aktive edilen trombositlerin salıverdikleri ATP ve ADP, oksitosin ve PAF.

NO, vasküler düz kasta vazodilatasyonu indükleyen ikincil mesajcı olarak rol oynar. Solübl guanilat siklaz enziminin hem parçasına bağlanarak, enzimi aktive eder. Guanilat siklaz enzimi, GTP'den GMP yapımını katalize eder. Bu kinaz, sarkoplazmik retikulumda  $Ca^{2+}$ -ATPaz için regülatör bir protein olan fosfolamban'ı fosforile eder.  $Ca^{2+}$ -ATPaz, intrasellüler kalsiyum konsantrasyonunu azaltır. Sonuçta, myozin hafif zincirlerinin de fosforilasyonuna ve bu olayı takiben düz kasta gevşemeye neden olur (Radomski et al. 1987-a).

EDRF'nin etkisinin, cGMP artışını stimüle eden nitrovazodilatörlere benzer olduğu ve benzer ajanlar tarafından inhibe edilebildiği saptanmış ve EDRF'nin NO olabileceği ileri sürülmüştür, 1988 yılında Ignarro bunu göstermiştir (Ignarro et al. 1988). Daha sonra Palmer ve arkadaşları da biyosentezin yanısıra özel bir kimyasal tayin yöntemi olan kemilüminesansı kullanarak, NO ile EDRF'nin aynı bileşik olduğunu söylediler (Palmer et al. 1988). Halen EDRF ve NO'nun aynı endojen nitrovazodilatatörler oldukları kabul edilmektedir.

NO, birbirinden bağımsız iki monooksijenizasyon reaksiyonu ile L-Arjinin aminoasidinden nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi aracılığıyla sentezlenir. NOS'lar, NO ve sitrullin yapımı için L-arjinin'in terminal guanidin nitrojenlerinin beş elektronunu, moleküler oksijen kullanarak okside ederler. Bu işlemde NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) ko-substrat olarak, FAD (Flavin adenin dinükleotid), FMN (Flavin adenin mononükleotid), hem, kalmodulin ve  $BH_4$  (Tetrahidrobiopterin) kofaktör olarak yer alır. Bütün NO Sentazlar, NO sentezi için stereoselektiftirler ve L-Arjinin kullanmaktadırlar. Bu aminoasit in vivo NO sentezi için yaşamsal bir substrattır (Moncada et al. 1991; Knowles and Moncada, 1994). L-Arjinin eksikliği, pulmoner arter kesitlerinde endotel bağımlı gevşemede zayıflamaya neden olmaktadır. Aortik kesitlerde preparatlara L-Arjinin ilavesi, endotel bağımlı ve endotelden bağımsız vasküler gevşemeyi stimüle etmektedir (Furchgott, 1988).

**Nitrik oksit sentazlar:** NOS'lar, in vivo L-Arjinin'den NO yapımını katalize ederler. İlk olarak 1989 yılında tanımlanmış (Knowles et al. 1989; Tayeh and Marletta, 1989),

1990 yılında izole edilmiş (Bredt and Snyder, 1990) ve 1991 yılında klonlanmıştır (Bredt et al. 1991). NOS enziminin NADPH diaforaz enzimi ile aynı enzim olduğu bildirilmiş ve NADPH diaforaz boyama tekniğiyle, NOS'un dokulardaki dağılımı gösterilmiştir. NOS, diğer adıyla NADPH diaforaz enziminin organizmada 3 değişik tipi tanımlanmıştır (Hecker et al. 1990; Knowles and Moncada, 1992).

**1) Nöronal NOS (nNOS):** 160 kDA molekül ağırlığındadır. Beyin hücrelerinde, periferik sinir sisteminde (miyenterik plesus vb.), medulla spinaliste (dorsal kök ganglionu) ve adrenerjik kolinerjik olmayan sinirlerin sitozollerinde bulunur (Bredt and Snyder, 1990). Kalsiyum ve kalmodulin'e bağımlı olarak çalışan nNOS enzimi, glukokortikoidlerle inhibe edilemez. Bu enzimin aktivitesi, asetilkolin ve bradikinin gibi bazı maddelerle arttırılabilir. Nöronal hücrenin özellikle glutamat gibi agonist bir madde ile uyarılması, hücre içi kalsiyumun artmasına ve nNOS enziminin aktivasyonuna neden olur. nNOS ile oluşturulan NO çok az miktarlarda (pmol düzeyinde) ve çabuk salıverilirler.

**2) İndüklenebilen NOS (iNOS):** Molekül ağırlığı 130 kDA'dur. Kalsiyum ve kalmodulin'e bağımlı değildir. iNOS ile sentez edilen NO, çok daha yüksek miktarlarda (nmol düzeyinde) ve yavaş salıverilirler. Makrofajların sitozolünde, düz kas hücrelerinde, hepatositlerde, kondrositlerde ve endotel hücrelerinde varlığı gösterilmiştir (Charles et al. 1993). iNOS içeren hücrenin, sitokin veya endotoksinlerle uyarılması, enzim sentezini indükler ve L-Arjinin'den NO ve L-sitrullin oluşur. Bu yolla sentez edilen NO, sitotoksik ve sitostatik etki gösterir. TNF- $\alpha$ , İL-1 $\beta$  ve interferon  $\gamma$  tarafından aktive edilirler. Glukokortikoidler, TGF- $\beta$ , İL-4, İL-10 tarafından inhibe edilirler.

**3) Hücresel NOS (hNOS):** Endotel hücrelerinde bulunan asıl enzim (constitutive endothelial cell NO synthase -ceNOS-) hücresel NOS olarak tanımlanmaktadır. Yapısal olarak nNOS'a çok yakın benzerlik gösteren izoenzimdir. Molekül ağırlığı, 135-155 kDA'dır. Endotel hücrelerinde ve trombositlerde bulunur. Kalsiyum ve kalmodulin'e bağımlı çalışır.

Asetilkolin, bradikinin, trombin, P maddesi gibi agonistlerin endotel hücresinde reseptörüne bağlanması ile ve/veya reseptör uyarılmadan, pulsatil akım, hipoksi, mekanik deformasyon gibi fiziksel uyarı ile hücre içi kalsiyumun artması, hNOS'ın aktivasyonuna ve NO sentezine neden olur (Moncada et al. 1991). Ayrıca NO pulsatil akım ve yırtılma basıncı olarak Türkçeye çevirebileceğimiz “shear stress” gibi sürekli fizyolojik uyarılar sonucu bazal koşullarda da sentezlenmekte ve salıverilmektedir (Pohl et al. 1986). Damarlarda NO'nun sürekli olarak salıverildiği ve bu şekilde dilatatör bir tonus sağlandığı kabul edilir (Palmer et al. 1988).

Endotel hücresi ve diğer hücrelerde NOS enzimi aracılığıyla sentezlenen NO, hedef hücrede çözünür guanilat siklaz enziminin hem grubuna bağlanarak veya düzenleyici sülfidril gruplarını s-nitrozilleyerek, enzimi aktive etmektedir. Çözünür guanilat siklaz, alfa ve beta alt ünitesi olan heterodimer yapısında bir maddedir. Enzim aktivitesinde etkili olan bu alt üniteler, 80 ve 70 kDA ağırlığındadır. Bu alt ünitelerin de alt tipleri vardır.  $\beta_1$  alt tipi, sıçan beyninde yaygın olarak bulunmuştur (Furuyama et al. 1993). Bu alt tipin henüz belirlenememiş çeşitli alfa alt tipleri ile birleştiği düşünülmektedir. NO ile çGS'in aktivasyonu cGMP düzeyinin yükselmesine neden olur. cGMP ise, doğrudan cGMP ile uyarılan kanalları, cGMP bağımlı protein kinazları veya siklik nükleotid fosfodiesterazları etkileyerek, NO etkilerinin oluşmasını sağlar.

**Nitrik oksit metabolizması:** Daha önce de belirtildiği gibi, son derece dayanıksız bir gaz molekülü olan NO, sentezlendikten çok kısa bir süre sonra ortamdaki oksijen ile reaksiyona girerek, nitrit veya nitratlara dönüşerek inaktive olur. NO, endotel hücrelerinden yarı ömrü sadece bir kaç saniye olan, kararsız bir kimyasal bileşik olarak salınır. NO'nun belirgin bir bölümünün damar düz kas tabakasına difüze olduğu ve az bir miktarının da, damar lümenine doğru serbestleştiği düşünülmektedir. Damar içerisine serbestleşen NO, lümene yakın olan trombositlerle etkileşir, ancak diğer yandan çözünmüş oksijen ve oksijen radikalleri ile hızla inaktive edilir.

NO, damar düz kas hücrelerinde ve trombositlerde çözünmüş guanilat siklazı aktive eder. Enzimden ayrılan NO, nitrite ( $\text{NO}_2$ ) dönüşür ve ilk önce plazmaya, sonra



da alyuvarlara geçer. Alyuvarlarda hemoglobin ile reaksiyona giren nitrit, nitrata ( $\text{NO}_3$ ) indirgenir. Kan akımı içine difüze olan NO'nun bir kısmı, direkt olarak alyuvarlar tarafından alınır ve oksijene-hemoglobin ( $\text{HbO}_2$ )'den gelen oksijen ilavesiyle nitrata dönüştürülür. Oluşan nitrat plazmaya verilerek, böbrekler yoluyla atılması sağlanır. NO venöz kan içine salındığında, non-oksijenize hemoglobinle birleşerek, nitrozohemoglobin ( $\text{HbNO}$ ) oluşur. Venöz kanın oksijenlenmesiyle, nitrozohemoglobin oksijenle reaksiyona girer ve nitrat açığa çıkar. (Knowles and Moncada, 1994).

NO sentezinde ve hedef hücrede etki oluşturmasında, iki önemli kilit noktayı NOS ve çGS enzimleri oluşturmaktadır. Hem grubu içeren bu iki enzim sistemini etkileyen agonist ve antagonist maddeler, NO'in biyolojik rolünü açıklamaya yönelik çalışmalarda kullanılmaktadır. S-nitroso-N-asetil-penisilamin (SNAP), sodyum nitroprussid (SNP), 3-morfolino-sidononimin (SIN 1), S-nitrozotioller → NO donörleri olarak kullanılırken,  $\text{N}^G$ -monometil-L-arginin (L-NMMA),  $\text{N}^G$ -nitro-L-arginin (L-NNA),  $\text{N}^G$ -nitro-L-arginin-metil ester (L-NAME),  $\text{N}^G$ -iminoetil-L-ornitin (L-NIO) ve  $\text{N}^G$ -amino-L-arginin (L-NAA) gibi L-Arginin deriveleri ise → NOS enziminin yarışmalı inhibitörü olarak kullanılmaktadır.

Nitrik oksit sentaz enzimi için özel olmayan, ancak enzim inhibitörü olarak kullanılabilen bir diğer madde, NADPH inhibitörü difenileniodinium'dur (Stuehr et al. 1991). Ayrıca trifluperazin, klorpromazin, kalmidazolium,  $\text{W}_7$ ,  $\text{W}_{13}$  gibi kalmodulin antagonistleri, kalsiyum kalmodulin bağımlı NOS alt tiplerinin inhibisyonunda kullanılabilir (Bredt and Snyder, 1990; Gross and Levi, 1992). NOS enziminin aktivasyonunu engellemenin bir yolu ise, tetrahidrobiopterin sentezini engellemektir (Gross and Levi, 1992). 2,4-diamino-6-hidroksipirimidin (DHAP), N-asetil-5-hidroksitriptamin, N-metoksiasetil-5-hidroksitriptamin, tetrahidrobiopterin sentezini engelleyerek, bloke eden maddelerdir (Smith et al. 1992). NO etkilerini arttıran nedenler şöyle sıralanabilir: Hipoksi, elektriksel uyarı, kan akımında artış, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi, sitokrom C, L-Arginin fazlalığı, cGMP fosfodiesteraz inhibitörleri. NO etkilerini azaltan nedenler ise, şu şekilde sıralanabilir: Hiperoksi, süperoksit anyonlarının fazlalığı, pirogallol, demir, hemoglobin, riboflavin, dithioreitol, hidrokinon ve L-Arginin analogları.

Ayrıca sentezlenen NO'nun, nNOS ve iNOS enzimlerinin hem gruplarına bağlanarak, "negatif feed back" yoluyla inhibisyon yaptığı bildirilmiştir (Rogers and Ignarro, 1992; Assreuy et al. 1993). NO sentezini inhibe eden bir diğer madde ise, metilen mavisidir. Hem grubu içeren enzimleri inhibe eden bu maddenin, çGS enzimini inhibe ettiği pek çok yayında bildirilmiştir (Pearce et al. 1990). Metilen mavisi, NO'nun çGS'in hem grubuna bağlanmasını engeller. Ayrıca metilen mavisinin, NO yıkımında rol alan süper oksid anyonu oluşumunu sağlayarak da NO yıkımını arttırdığı bildirilmektedir (Mayer et al. 1993). Metillenmiş arjininler, aslında doğal maddelerdir ve organizmada varlıkları saptanmıştır (Vallance et al. 1992). Bu durum, NO sentezinin düzenlenmesinde endojen mekanizmaların varlığını göstermektedir. L-NMMA ve dimetilarjinin türevleri (SDMA ve ADMA), L-arjinin/NO yolağının, endojen inhibitör maddeleridir. Bunlar, idrarla değişmeden atılırlar. İnsanda 24 saatlik idrar ile 10mg. kadar atıldığı saptanan ADMA'nın kronik böbrek yetersizliğinde birikerek, hipertansiyon ve immün fonksiyon bozukluğu gibi patolojilere neden olduğu ileri sürülmüştür (Granger et al. 1991).

### **Nitrik Oksid'in Etkileri**

Organizmada çeşitli hücre ve dokularda sentezlenen NO; kardiyovasküler sistem, immün sistem, nonadrenerjik-nonkolinerjik sistem ve santral sinir sisteminde etkili olmakta, çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol almaktadır.

**Kardiyovasküler sistem:** Kardiyovasküler sistemdeki en önemli rolü, kan akımının ve kan basıncının düzenlenmesi üzerindeki etkisidir. Bazal veya uyarı sonucu, endotelden sentezlenip salınan NO, cGMP aracılı vazodilatasyon oluşturur. Bazal salınan NO, damarlarda var olan dilatör tonustan sorumlu tutulmaktadır. Damar endotelinin en önemli fonksiyonu, damar tonusunu ayarlamaktır. Bunu başarmak için, NO gibi bir çok vazoaktif madde oluşturur. Endotel bir mekanoreseptör gibi, damar içindeki akım ve basıncı algılayarak, damar tonusunu ayarlar (Vanhoutte and Shimokawa, 1989).

Damar endotelinin bir diğere görevi de, non-adheziv damar iç yüzeyini sağlamaktır. Bu antikoagulan, fibrinolitik ve antitrombotik mekanizmalarla sağlanır. Endotelden kaynaklanan relaksasyon faktörü NO, trombosit adezyonu ve agregasyonunu inhibe eder (Azuma et al. 1986; Furlong et al. 1987). Hücresel NOS enzimi aracılığıyla sentezlenen NO, adezyonu cGMP aracılığıyla engellerken, agregasyonu ise, cAMP ve cGMP aracılığıyla engeller (Radomski et al. 1987-b; 1987-c). Endotel hücrelerinden kaynaklanan PGI<sub>2</sub> de, trombosit agregasyonunu inhibe eder (Radomski et al. 1987-c). Farklı etki mekanizmaları olmasına rağmen, NO ve PGI<sub>2</sub> trombosit agregasyonunu sinerjistik olarak inhibe ederler.

Damar endoteli; vücutta vazodilatör, prokoagulant ve fibrinolitik ajan üreten, en büyük ve en aktif parakrin organdır. Endotelin yapısında ve fonksiyonundaki anormalliklerin, bir çok vasküler hastalığın patogeneğinde rol oynadığı bilinmektedir. Esansiyel hipertansiyon, ateroskleroz, koroner kalp hastalığı, impotens, diyabet, reperfüzyon hasarı ve hiperkolesterolemi gibi patolojilerde, NO sentezi azalmış veya yıkımı artmıştır (Linder et al. 1990; Panza et al. 1990; Moncada et al. 1991). Nitrik oksit'in yetersizliği, damarlarda var olan dilatör tonusun azalmasına ve yerini konstrüktör tonusun almasına neden olur. Söz konusu patolojilerin ilaçlarla tedavisi sonucu, damarlarda azalmış olan NO yanıtının düzeldiğinin gözlenmesi (Harrison et al. 1987), tedavide kullanılan ilaçların NO üzerinden etki gösterdiklerini düşündürmüştür. Bu tip ilaçların başında, organik nitratlar gelmektedir. Organik nitratlar yaklaşık yüzyıldır tedavide kullanılmalarına karşın, düz kas gevşetici etkilerinin mekanizması, ancak son dönemlerde anlaşılabilmiştir. Bu ilaçların NO'e metabolize olarak, cGMP aracılığıyla gevşemeyi sağladığı düşünülmektedir (Furchgott, 1988).

Organik nitratlara karşı çeşitli patolojilerde gözlenen duyarlılık artışı, NO yetersizliğinin çGS miktarında oluşturduğu artış (up-regülasyon) ile açıklanabilmektedir (Moncada et al. 1991). Organik nitratlara karşı gelişen tolerans ise, NO etkisine karşı çGS enziminde gözlenen duyarlılık azalması (desensitizasyon) sonucudur. Eksojen nitratlara karşı gelişen toleransın bir diğere nedeni ise, NO' e metabolizasyonları sırasında gerekli olan, hücre içi sülfidril havuzunun zamanla yetersiz kalmasıdır. Bu mekanizma nedeniyle gelişen toleranstan, endojen nitrat da

diyebileceğimiz NO etkilenmez. Çünkü, NO'nun endojen biyosentezinde sülfidril grupları gerekmemektedir (Basenge, 1992).

Reperfüzyon hasarındaki hücre ölümünün mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, hücresel adezyon moleküllerinin, fagositoz kadar lökosit adezyonu ve infiltrasyonu ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Endotelden salgılanan NO, lökositlerin agregasyonunu inhibe eder. İskemik hastalıkların tedavisinde, azalmış olan NO sentezinin indüklenmesi, doku perfüzyonunu daha da baskılayabilir. Nedeni ise, iNOS enziminin patolojik vazodilatasyon ve doku hasarından sorumlu tutulmasıdır (Moncada et al. 1991).

Endotoksin ve sitokinler ile sentezi indüklenen iNOS enziminin, septik şok patogeneğinde etkili olduğu bildirilmektedir. iNOS tarafından sentez edilen NO'nun uzun süreli vazodilatasyona neden olduğu gösterilmiştir (Gibaldi, 1993). Yapılan çalışmalarda, sepsiste ortaya çıkan hipotansiyonun tedavisinde veya terapötik amaçla sitokinler kullanıldığında oluşabilecek yan etkilerin önlenmesinde, iNOS enzim inhibitörlerinin yardımcı olabileceği bildirilmektedir (Nava et al. 1991).

Pulmoner hipertansiyon, artmış pulmoner dirence bağlı, kötü prognoz taşıyan bir hastalıktır. Pulmoner damar fizyolojisinin önemli bir özelliği, kalp debisindeki büyük değişikliklere iyi uyum göstermesidir. Pulmoner hipertansiyonlu hastalarda bu uyum bozulmuştur. Bu, genellikle vasküler tonusta artışa bağlı (vazokonstrüksiyon) olarak gelişir. Pulmoner hipertansiyonun patogeneğinde, endotel disfonksiyonunun rolünden şüphelenilmiştir. Daha yeni olarak, pulmoner hipertansiyonda, pulmoner dolaşımında vazokonstrüktör ve vazodilatör prostanooidlerde bir dengesizlik bildirilmiştir. Pulmoner hipertansiyonda, kanda dolaşan ET-1 düzeyi yükselmiştir. (ET-1 pulmoner arterler ve venlerin kuvvetli bir vazokonstrüktörüdür.) Pulmoner hipertansiyon tedavisinde, inhalasyon yoluyla uygulanan NO'nun yararlı olabileceği ve sistemik etki oluşturmadan lokal etki sağlanabileceği bildirilmiştir (Frostel et al. 1991; Johns, 1991).

**İmmün sistem:** Son zamanlara kadar, endotel hücrelerinde kalsiyum/kalmodulin bağımlı çalışan NOS'ın varlığı biliniyordu. Ancak 1990 yılında, domuz endotel hücre kültüründe lipopolisakkarit ve  $\gamma$ -interferon ile uyarılan, kalsiyumdan bağımsız çalışan

indüklenebilir NOS varlığı gösterilmiştir. İmmünolojik uyarı ile makrofajlar, nötrofiller, hepatositler, endotel hücreleri, damar düz kas hücreleri, astrosit ve mikroglia hücrelerinde bulunan iNOS enzimi aktive olur (Radomski et al. 1990).

Makrofajların endotoksin ve sitokinlerle uyarılması sonucu sentezlenen NO, invaziv mikroorganizmalar, tümör hücreleri ve kısmen vücut hücreleri için sitotoksik ve sitostatik etki oluşturur (Hibbs et al. 1988). Vücut hücrelerinin de etkilenmesi, immünolojik olaylarda görülen lokal ve sistemik doku hasarını açıklamaktadır (Moncada et al. 1991). Nitrik oksit'in, hücre yaşamının sürdürülmesinde ve mitojenlere karşı normal hücre yanıtında görev aldığı bildirilmiştir (Weinstein et al. 1974). Hücre proliferasyonunun başlatılması ve kontrolünün, hücre cGMP düzeyindeki değişikliklerle birlikte olması bu varsayımı güçlendirmektedir.

İmmünolojik uyarı ile iNOS enzimi aracılığıyla sentezlenen NO'nun, T hücre çoğalmasını inhibe ettiği (Hoffman et al. 1990), makrofajlarda viral replikasyonu engellediği (Croen, 1993), hepatositlerde total protein sentezini baskıladığı (Kröncke et al. 1993), nöronlarda ve oligodendritlerde hücre lizisine neden olduğu bildirilmektedir (Merrill et al. 1993).

iNOS enzimi glukokortikoidler ile inhibe edilebilir, glukokortikoidlerin eritem ve ödem önleyici etkileri bu inhibisyona bağlanabilmektedir (Radomski et al. 1990). Ayrıca septik şok, romatoid artrit ve astma gibi patolojik vazodilatasyon ve doku hasarının görüldüğü ve bu durumlardan NO'nun sorumlu tutulduğu patolojilerin tedavisinde, glukokortikoidler yararlı olmaktadır. Bu da, glukokortikoidlerin etki mekanizmasında NO'nun olası rolünü düşündürmektedir (Schaffner and Schaffner, 1987).

**Nonadrenerjik-nonkolinerjik ileti:** Nitrik Oksitte olduğu gibi, nonadrenerjik-nonkolinerjik sinirlerin de çGS'ı uyarması, bazı dokularda L-Arginin analogları ile NANK iletinin bloke olması ve en önemlisi NOS enziminin bu otonomik sinirlerde gösterilmesi, NO'nun NANK sinirlerde nörotransmitter olarak görev yaptığını düşündürmüştür (Bredt et al. 1990; Nichols et al. 1992). Ancak henüz bu sinirlerin uyarılması ile salınan NO veya yıkım ürünleri olan nitrit ve nitratlar biyokimyasal olarak ölçülememiştir (Wiklund et al. 1993). NANK sinirler motor sinirlerdir ve NO,

ATP, VIP, GABA, kolesistokinin, P maddesi, nörokinin A ve B, nöropeptid Y, enkefalinler, somatostatin bu sistemde etkili haberci moleküllerdir.

Adrenerjik ve kolinerjik olmayan sinirlerin uyarılması ile eksitatör ve inhibitör yanıtlar oluşur. L-Arginin/NO yolağının inhibitör yanıtın oluşmasında rol aldığı öne sürülmektedir ve nitreerjik ileti olarak isimlendirilmektedir. Nitreerjik innervasyonun gastrointestinal sistem, genitoüriner sistem, solunum sistemi ve bazı kan damarlarında (penil ve serebral arterler vb.) bulunduğu bildirilmiştir (Kenton and Ward, 1992). Gastrointestinal sistemde oldukça geniş, karmaşık motor ve inhibitör fonksiyon içeren nöronlar mevcuttur (Taylor and Bywater, 1989). İnhibitör ileti, NANK innervasyon ile sağlanır. Bu inhibitör iletide ATP, VIP, GABA ve NO rol alır. Ancak son çalışmaların ışığında, NO'in tüm gastrointestinal sistemde inhibitör yanıt oluşturan primer nörotransmitter olduğu öne sürülmektedir. NOS enzimi içeren sinir lifleri sıçan ve kobayda GİS'in antrum, duodenum, ileum, çekum proksimal ve distal kolon ile anal sfinkter bölgelerinde saptanmıştır (Bredt and Snyder, 1990).

Nitreerjik ileti, gastrointestinal sistemde peristaltik aktivitenin bir parçası olan gevşemeden ve yutkunmadan sonra alt özefajial sfinkterin gevşemesi, yeme sırasında mide fundusunun gevşemesi gibi, bir çok fizyolojik refleksin oluşumundan sorumlu tutulmaktadır (Snyder, 1992; Kenton and Ward, 1992). Üriner sistemde, mesane ve üretrada NANK ileti saptanmıştır (Garcia-Pascual et al. 1991). Detrüssör kası sfinkter uyumsuzluğu, mesane işlev bozukluğu ve çeşitli inkontinens tiplerinde L-arginin/NO yolağının etkili olduğu düşünülmektedir (Garcia- Pascual et al. 1991).

Üretrada ise, kolinerjik, noradrenerjik ve NANK innervasyon mevcuttur. Kadınlarda daha sık rastlanan üretral gevşemenin artmış olmasından kaynaklanan inkontinens tipleri, NOS enzim inhibitörleri kullanılarak tedavi edilebilmiştir.

Genital sistemde ise, penil ereksiyon sırasında oluşan düz kas ve damar gevşemesi nitreerjik inhibitör ileti aracılığıyla olmaktadır (Moncada et al. 1991). Nitreerjik inhibitör ileti, ilk kez Ignarro tarafından sıçan korpus kavernozum bantlarında gösterilmiştir (Ignarro et al. 1990). Araştırmacılar, bir NO donörü olan SNAP (S-nitroso-asetil-penisilamin)'in korpus kavernozumda hızlı ve tam gevşemeye neden olduğunu bildirmişlerdir. İmpotans tedavisinde nitroprussid veya nitrogliserin gibi NO donörlerinin penise doğrudan enjeksiyonu yararlı olabilmektedir. Bu nedenle Ignarro,

impotans tedavisinde izlenmesi gereken yolun, yeni NO donörü olabilecek ilaç ve yöntemlerin geliştirilmesi olduğunu bildirmiştir (Ignarro et al. 1990).

İmpotent diabetik kişilerde, bozulmuş olan nörojenik ve endotel aracılı gevşemenin, NO donörleri ile düzelebileceği bildirilmiştir. Bu kişilerdeki artmış  $\alpha_1$  konstrüktör tonus ve penil elastikiyetinin bozulması, yetersiz NO sentezine bağlanmıştır. Adrenal bezde korteks ve medullada var olan NANK iletinin, hormon sentez ve salınımını kontrol ettiği ileri sürülmektedir (Palacios et al. 1989).

### **Santral Sinir Sistemi:**

**Sentezi ve dağılımı:** Santral Sinir Sisteminde (SSS) varlığı kanıtlanan NO, serebellumda en yüksek, medullada ise en düşük yoğunlukta bulunmaktadır. Hipotalamus, orta beyin, striatum, hipokampus ve kortekste de aktivite gösteren NO, SSS'nde serebral damar endotel hücreleri (Moncada et al. 1991; Prado et al. 1992), immünolojik olarak uyarılabilen mikrogliya ve astrositler, NANK sinirler ve glutamerjik nöronlar olmak üzere başlıca dört kaynaktan sağlanır.

NO, SSS'de yaygın olarak sentezlenmektedir (Vincent and Kimura, 1992). İlk olarak 1977 yılında Deguchi (1977), sıçan ön beyinde  $\text{cGS}'i$  uyarıcı ve hemoglobini inhibe edebilen, düşük molekül ağırlıklı bir maddenin varlığını tanımlamıştır. Aynı yıl maymun serebral korteksinde NO'nin  $\text{cGS}'i$  uyarıcı endojen bir madde olduğu bildirilmiştir (Miki et al. 1977). Garthwaite ve ark. ise, NMDA (N-Metil-D-Aspartat) reseptörlerinin uyarılması ile salınan, cGMP düzeyinde yükselmeye neden olan NO'nin SSS'nde etkili bir haberci molekül olduğunu ileri sürmüşlerdir (Garthwaite et al. 1988). Daha sonraları sıçan sinaptosomal hücre kültüründe yapılan çalışmalarda, ortamda NADPH varlığında L-arginin eklenmesi ile NO ve sitrullin oluşumunu sağlayan enzim, NOS enzimi tanımlanmış (Knowles et al. 1989), gösterilmiş (Bredt and Snyder, 1990) ve cDNA'sı klonlanmıştır (Bredt et al. 1991).

Normalde inaktif durumda olan NOS, presinaptik veya postsinaptik reseptörlerin uyarılması ile aktive olur. Aktivasyon için majör uyarıcı, kalsiyuma geçirgenliği fazla olan iyon kanalı ile birleşen NMDA reseptörlerinin uyarılmasıdır. İyon kanalı ile birleşen diğer glutamaterjik reseptörler AMPA ve kainat reseptörleridir.

(Okada, 1992). Postsinaptik reseptörlerin serotonin, bradikinin, endotelin, asetilkolin ve noradrenalin gibi nörotransmitter ve nöromodülatörlerle uyarılması ise, kalsiyumun hücre içine akımını (influx) veya intrasellüler depolardan serbestleşmesine neden olur. Artan hücre içi kalsiyumu ise nNOS'ı aktive eder. Sentezlenen NO için hedef madde, kan damarları düz kas hücresi ve diğer periferik dokularda olduğu gibi çGS'dir. Çözünür guanilat siklazın uyarılması, cGMP düzeyinde artışa neden olur. Düz kas hücresinde cGMP, cGMP bağımlı protein kinazları aktiflemektedir (Francis and Corbin, 1994). Bu mekanizma S.S.S.'nde sadece serebellar purkinje hücrelerinde bulunmaktadır. Retinal bipolar hücrelerde ise, cGMP, cGMP aracılı kanallar ile etki oluşturur. cGMP ayrıca sikliknükleotidfosfodiesteraz'ları etkileyerek, kendisinin ve cAMP'nin düzeyinde değişiklikler oluşturarak aktivite gösterir (Garthwaite and Boulton, 1995).

Serebellar granül hücreleri, NO için ana kaynağı oluştururlar. Bu hücrelerin primer kültürlerinde, glutamat reseptörlerinin quisqualat ile değil, NMDA veya kainat ile uyarılması, NO üretiminin artmasına ve buna paralel olarak cGMP oluşumuna yol açmaktadır. Reseptör aktivasyonundan sonra oluşan NO, yalnızca granül hücrelerinde cGMP oluşumunu arttırmaz, ayrıca NO sentez aktivitesi olmayan serebellar astrositlerde de difüze olarak guanilat siklaz aktivitesini artırır. İmmünohistokimyasal sonuçlar, serebellumda astrosit cGMP konsantrasyonlarının NMDA reseptör uyarılmasından sonra arttığını göstermektedirler.

Bir extrasellüler haberci olarak NO, sinaptik iletide yer alabilir. Serebellumda NO oluşumu, uzun dönem sinaptik depresyondan sorumlu tutulabilmektedir ve hipokampusta NO, cGMP oluşumu üzerinden NMDA reseptör aktivasyonu ile oluşan LTP gelişiminde yer alıyor, olabilir.

**Çeşitli enzim sistemlerine etkisi:** Nitrik Oksit'in, çGS dışında demir sülfür grubu içeren çeşitli enzimlere de bağlanarak, onların aktivitelerini engellediği bildirilmiştir (Nathan, 1992). Nitrik oksitin bu etkiyi gösterebilmesi için, ortamda uzun süreli ve yüksek yoğunlukta bulunması gerekmektedir. Bu enzimler arasında, sitrik asit döngüsünde yer alan cis-akonitaz, mitokondrial kompleks 1'deki NADH ubiokinon redüktaz, mitokondrial kompleks 2'deki süksinat ubiokinon redüktaz bulunmaktadır.



NO'in aktivitesini düzenlediği bir diğer önemli enzim, araşidonik asitten prostaglandin, tromboksan ve prostasiklin sentezinde hız kısıtlayıcı olan siklooksijenaz enzimidir. NO, cGMP'den bağımsız (Salvemini et al. 1993), enzimi doğrudan etkileyerek veya otoinaktivasyonunu engelleyerek, siklooksijenaz enzim aktivitesini artırır (Rettori et al. 1993).

**Nörotransmitter salınımı, geri alınımı ve reseptörlerine olan etkisi:** NO'in SSS'ndeki bir diğer önemli etkisi ise eksitator ve inhibitör aminoasitler, katekolaminler ve asetilkolin gibi çeşitli nörotransmitterlerin salınımını düzenlemesidir. Endojen bulunan (Prast and Philippu, 1992; Bugnon et al. 1994) veya NMDA reseptörlerinin uyarılması ile salınan NO'in presinaptik olarak etkiyip, sinaptik aktiviteyi değiştirerek nörotransmitter salınımının düzenlenmesinde rol aldığı bildirilmiştir (Hanbauer et al. 1992).

Prast ve Philippu yaptıkları çalışmalarda NOS ve asetilkolin transferaz enzimlerini birarada içeren nöronlarda, NO donörü SIN 1'in bazal asetilkolin salınımını iki kat arttırdığını bulmuşlardır. Bir NOS inhibitörü olan L-NOARG'ın ise, bazal asetilkolin salınımını %40 azaltması, bazal salınan NO'in asetilkolin salınımını düzenlediğini düşündürmüştür. Hipokampal kesitlerde yapılan çalışmalarda, NO donörü hidroksilamin (<sup>3</sup>H)NA ve (<sup>14</sup>C)Asetilkolin salınımını arttırmış ve bu artış Hb ile bloke olmuştur (Lonart et al. 1992).

Sıçan striatal kesitlerinde ise, NO'in bazal ve uyarılmış dopamin salınımını arttırdığı gösterilmiştir (Hanbauer et al. 1992; Zhu and Luo, 1992). Diğer yandan, NO donörü drogların hipokampusta sinaptik iletiyi bloke ettiklerinin gösterilmesi, NO'in nörotransmitter salınımına olan etkisinin artırma, azaltma veya değiştirmeme şeklinde olabileceğine işaret etmiştir (Schuman and Madison, 1994; Garthwaite and Boulton, 1995). Bu etki presinaptik etkinliğe, NO yoğunluğuna ve beyin bölgesine göre değişmektedir. Nitrik oksit, nörotransmitter salınımını presinaptik yüzde kalsiyumun hücre içine akımını ve sinaptik veziküllerin protein yapısını değiştirerek etkilemektedir (Schuman and Madison, 1994).

NO'in dopamin, serotonin ve glutamatın geri alınımı üzerine de, etkisinin olduğu düşünülmektedir (Pogun et al. 1994). NO/cGMP yolağının adenozin A<sub>3</sub>

reseptörlerinin uyarılması ile artan serotonin geri alınımında 2. haberci görevi yaptığı, NO donörleri ve cGMP analogları ile geri alınımın arttığı bildirilmiştir (Miller and Hoffman, 1994). Nitrik oksitin nörotransmitter salınım ve geri alınım dışında nörotransmitter reseptörlerini de etkilediği bildirilmektedir. Özellikle NMDA reseptörlerinin uyarılması sonucu sentezlenen NO, aynı zamanda NMDA reseptörlerini negatif yönde etkileyerek, NMDA reseptörleri için “negatif feed back” mekanizması oluşturur (Manzoni and Bockaert, 1993).

NO, çeşitli enzim aktivitelerini, nörotransmitter salınım ve geri alınımını etkilemesi dışında, SSS’de serebrovasküler sistemin düzenlenmesi, serebral iskemi, felç, öğrenme, hafıza, iştah, susama, koku alma, ağrı duyumsaması, alkolün neden olduğu beyin hasarı, AIDS-demans nöropatolojisi, Alzheimer ve Huntington hastalıklarındaki nörotoksisite gibi birçok fizyolojik ve patolojik olaylarda da rol almaktadır (Hecker et al. 1990).

**Serebrovasküler tonusun düzenlenmesi ve iskemi:** Nitrik oksit, SSS’de serebrovasküler tonusun düzenlenmesi ve ani vazodilatör yanıt oluşumunda rol almaktadır (Faraci and Brain, 1994). Serebral hipoksi ve iskemi durumunda ise, NO’in rolü tartışmalıdır. Bu durumlardaki hücre hasarından glutamat ve kalsiyum sorumlu tutulmaktadır. NMDA reseptörlerinin aktivasyonu ile sentezlenen NO’in hücre hasarından sorumlu olduğu öne sürülmüşse de (Loiacono and Beart, 1992; Buisson et al. 1993), etkili olmadığını (Lerner-Natoli et al. 1992) veya koruyucu etkisinin olduğunu bildiren (Lei et al. 1992; Yamamoto et al. 1992) çelişkili yayınlar vardır. Bu konuda varılan ortak görüş, NO aracılı sentezlenen cGMP’nin toksik olmadığıdır.

**Öğrenme ve hafıza:** Memeli SSS’de öğrenme ve hafızanın olası mekanizmalarından biri olan sinaptik plastisite, gereğinde sinaptik bağlantının şeklinin ve uzunluğunun değiştirilebilmesidir (Chapman et al. 1992). Nitrik oksitin, sinaptik plastisitenin iki modeli olan uzun süreli potansiyalizasyon (LTP) ve uzun süreli depresyonda (LTD) etkili olduğu bildirilmektedir. Hipokampusta LTP ve serebellumda LTD’un oluşmasında rol alır (Rosenbaum, 1992).

Hipokampusta eksitatör yolağın uyarılması ile sinaptik etkinliğin devamlı artması LTP olarak adlandırılır. Postsinaptik NMDA reseptörlerinin uyarılması, hücre içi kalsiyum düzeyinin artmasına (Bliss and Collingridge, 1993) ve NOS'ın aktivasyonuna neden olur (Southam and Garthwaite, 1993). Sentezlenen NO presinaptik yüze difüze olur, çGS veya ADP-riboziltransferaz enzimlerini etkiler. Oluşan cGMP, LTP oluşmasında görev alırken (Chetkovich et al. 1993), ADP ribozilat ise, GTP ve diğer enzimleri bağlayarak, iyon kanal aktivitesini ve nörotransmitter salınımına kalsiyum duyarlılığını arttırarak LTP sırasında daha fazla nörotransmitter salınmasını sağlar (Schuman and Madison, 1994).

Serebellar kortekste, purkinje hücreleri ile paralel çıkan lifler sinaps yaparlar. Uyarı sonucu çıkan ve paralel liflerde sentezlenen NO, purkinje hücrelerine diffüze olur (Daniel et. al. 1993). Purkinje hücrelerinde, cGMP aracılığı ile cGMP bağımlı protein kinazları aktive eden NO, AMPA reseptörlerinin fosforilasyonuna ve postsinaptik yanıtın azalmasına, motor öğrenmeden sorumlu tutulan LTD'un oluşmasına sebebiyet verir (Ito, 1989).

**Ağrı:** Ağrı duyumsamasının oluşmasında ise NO, SSS'nde ve medulla spinaliste görev alır (Babbedge et al. 1993-b; Moore et al. 1993-b). Lumbal arka kökteki NMDA reseptörlerinin uyarılması ile termal hiperaljezi ve ağrı oluştuğu bildirilmiştir (Meller et al. 1992). Nitrik oksitin oluşumunun engellenmesi veya çGS'in inaktivasyonu ile analjezik etki sağlandığı öne sürülmüştür (Babbedge et al. 1993-b; Moore et al. 1993-b). SSS'nde NMDA reseptörlerinin uyarılması NOS'ın aktivasyonuna, sonuçta NO sentezine neden olmaktadır. Son yıllarda yapılan araştırmalarda NMDA reseptör antagonistlerinin sıçanlarda (+) Labirent testinde kaygı giderici, Zorunlu yüzme testinde de antidepresan etkilerinin görülmesi, gerek kaygının gerek ise duygu durumunun düzenlenmesinde NO'in olası rolünü düşündürmektedir.

## 1.6. 7-NİTRO İNDAZOL

SSS'nde yeni bir nöronal haberci molekül olarak gösterilen NO, fizyolojik ve patolojik olaylarda önemli roller oynamaktadır. NO çok kısa yarı ömürlü, reaktif bir gaz molekülü olduğundan, in vivo ölçümü zor olmaktadır. NO'in biyolojik rolünün araştırıldığı çalışmalarda çoğunlukla, NO serbestleyen ya da NOS enzim aktivitesini baskılayan maddeler kullanılmaktadır. "Anksiyete ve Depresyonda Nitrik Oksid'in Rolü"nü araştırılması amacıyla, bu çalışmada NOS enzim inhibitörü olan 7-Nitro indazol kullanılmıştır.

7-Nitro indazol, beyin ve spinal kord'da NO fonksiyonlarını aydınlatmada kullanılan yararlı bir araç olmuştur (Moore et al. 1993-a). 7-Nitro indazol, sıçan serebellar NOS enziminde L-NAME ve L-NMMA'nın gücüne benzer şekilde etki gösterir. 10mg/kg 7-NI, serebellum, serebral korteks, hipokampus ve adrenal bezde NOS aktivitesini 60 dakika bariz şekilde inhibe etmiştir. Fakat, olfaktör bulbus ve mide fundusundaki NOS aktivitesini değiştirmemiştir (Babbedge et al. 1993-a).

7-Nitro indazol'un farede antinosiseptif etkisinin zamana göre değişimi, serebellumdaki NOS inhibisyonu ile eş zamanlıdır. Maksimum antinosiseptif aktivite ve NOS inhibisyonu, ip uygulamadan 18-30 dakika sonra gözlenmiştir (Moore et al. 1993-a). 7-NI, sadece analjezi için değil, nörodejeneratif hastalıklar gibi NO üretiminin fazla olduğu sanılan SSS bozukluklarında da yararlı olabilir.

7-NI, 10 ve 50mg/kg dozlarda, fareye ip uygulandığında doza bağımlı antinosiseptif etki göstermiştir. Yine bu dozlarda, ürethan anestezili farelerde ortalama arteriyel basıncı arttırmamıştır. 7-NI, kardiyovasküler yan etkileri olmayan santral NOS inhibitörlerinin iyi bir başlangıç noktası olabilir (Moore et al. 1993-b).

0-125mg/kg 7-NI'ün ip tek enjeksiyonları erkek sıçanlarda, hem nigral hem serebellar NOS aktivitesini doza bağımlı bir şekilde azaltmıştır. 20 ve 80mg/kg dozlarında sedatif etki gözlenmiş, lokomotor aktivitede azalma olmuştur. 7-NI'ün sedatif etkisi, beyin NOS inhibisyonundan en azından kısmen bağımsızdır (Connop et

al. 1994). 160mg/kg 7-NI, DBA/2 farelerde righting reflex kaybıyla birlikte, ciddi ataksiye sebep olmuştur. (Smith et al. 1996)

Dzoljic ve ark (1996) 2,5-50 mg/kg ip 7-NI'ün sıçanların uyku ve genel davranışları üzerindeki etkilerini incelemişler, 7-NI'ün; pitozis, righting reflex kaybı ve EEG amplitüdünde düşme yaptığını belirtmişlerdir. Derin uyku ve REM uykusunu azaltmıştır. İntraventriküler L-Arginin kullanılması ile bu etkiler, kısmen antagonize edilmiştir. 7-NI, motor bozukluklarla beraber, belirgin santral depresyona neden olur. 7-NI'ün yaptığı nNOS inhibisyonu, santral depresyonla birlikte, fakat somnojenik etkili değildir.

7-NI'ün oluşturduğu SSS depresyonu, yüksek dozlarda kullanılan narkotik, hipnotik ve sedatif ajanların etkilerine benzemektedir, ki bunlar uykuyu bozar ve lokomosyonu etkilerler. Halbuki bu ilaçların düşük dozları uykuya yardım eder. 7-NI de, düşük dozlarda uyku yapar, yüksek dozlarda uykuyu bozar (Dzoljic et al. 1996). İndirekt olarak söylenebilir ki, NO; bazı beyin bölgelerinde, santral nöronlarda eksitator bir etki meydana getirir. NO, lokomosyon ve vijilansın düzenlenmesinde eksitator bir etki üstlenir (Dzoljic et al. 1996).

Genetik olarak epilepsiye yatkın sıçanlarda, 20-80mg/kg ip 7-NI doza bağımlı bir şekilde, sese bağlı olarak indüklenen klonik nöbetlerin sıklığını azaltmıştır ve lokomotor aktivitede düşmeye neden olmuştur. 25-100mg/kg ip 7-NI, farelerde pilokarpin ile oluşturulan nöbetlere karşı da antikonvülsan etki göstermiştir. 7-NI antikonvülsan etkisini, iki endojen konvülzan ajanı bloklayarak göstermektedir. Bunlardan biri NO, diğeri L-sitrullin'dir (Smith et al. 1996).

Hem fare hem de sıçanda, harmalin ile indüklenen serebellar cGMP seviyelerinin artışı, 7-NI, L-NAME ve D-CPPene (kompetitif NMDA reseptör antagonisti) tarafından doza bağımlı bir şekilde ters çevrildi. NMDA ve NOS antagonistleri, harmalin tarafından indüklenen cGMP'nin yükselişine engel olurlar. Fare ve sıçanda harmalin ile indüklenen tremor, DCPPene tarafından suprese edildi, fakat 7-NI ve L-NAME tarafından inhibe edilemedi. 7-NI ve L-NAME, nöbetleri engelleme eğilimine neden oldu ve nöbetlerin başlama zamanını uzattı. NMDA reseptör stimülasyonu, nNOS enzimini aktive eder. Dolayısıyla NO, glutamatın fizyolojik etkilerinin bir aracısı olarak görev yapar (Eblen et al. 1996).

NMDA aktivasyonu, serebral arteriyollerde dilatasyon oluşturur. Bu, NO üretimine bağlıdır. 7-NI, beyindeki NOS'ı selektif olarak inhibe ederek, serebral arter dilatasyonunu inhibe eder (Faraci and Brian, 1995).

NMDA reseptörlerinin, öğrenmenin temelini oluşturduğuna inanılır. nNOS, LTP (Uzun Süreli Potansiyalizasyon) indüksiyonu esnasında NO üretmektedir. 7-NI, LTP'nin indüksiyonunu engeller. L-Arginin bu etkiyi ters çevirir. NMDA reseptör antagonistleri ve NOS inhibitörleri aracılığıyla LTP'nin bloklanması, öğrenme ve hafıza üzerinde etki yapabilir (Doyle et al. 1996).

NO, eksitator nörotransmitterlerin salınımını modüle eder. NO donörlerinin kullanılması striatum, hipokampus ve medulla oblongatada aspartat, glutamat ve GABA salınımını artırır. İskemi esnasında NMDA salınması, nöroprotektif olabilir. İskemi de aşırı dopamin salınımı, striatumdaki nöronal hasarın patojenezinde majör bir faktördür. Muhtemelen 7-Nitro indazol gibi nNOS inhibitörleri, iskemik dopamin salınımını azaltır, bu da nöronal hasar miktarını azaltabilir (Kahn et al. 1997).

SSS üzerindeki etkilerinin yanı sıra, periferik etkileri de gün geçtikçe daha iyi anlaşılabilir. Daha önce yapılan çalışmaların aksine, Zagvazdin ve ark. (1996) 7-NI'ün eNOS enzimini de inhibe edebildiğini söylemişlerdir. Ürethan anestezili sıçanlarda yaptıkları çalışmada 50 mg/kg ip 7-NI'ün, ortalama arteriyel kan basıncını arttırdığını fakat kalp atım hızını değiştirmediklerini göstermişlerdir. 7-NI, bazı fokal beyin iskemisi çalışmalarında 25 mg/kg dozda nöroprotektif bulunmuş, dozun 50 mg/kg'a çıkarılması ile nöroprotektif etki kaybolmuştur. Muhtemelen yüksek doz 7-NI, vasküler NOS üzerine zararlı etkiler oluşturmaktadır (Zagvazdin et al. 1996).

İn vivo olarak 7-NI, asetilkolin yanıtları üzerinde etkili değildir. 7-NI, NOS enziminin nisbeten nöronal izoformu için selektiftir. Ancak bazı koşullar altında, 7-NI'ün iNOS enzimini de inhibe edebildiği gösterilmiştir (Faraci and Brian, 1995). L-NAME'in insanda, sürekli vazopressör etkileri vardır. Halbuki, 7-NI'ün hem sıçan hem de fare beyindeki NOS'ı kan basıncını arttırmaksızın, inhibe edebilmesi klinik olarak önemini ortaya koymaktadır.

nNOS enziminin, penisi innerve eden nöronlarda lokalize olduğu ve ereksiyonun önemli bir mediatörü olduğuna inanılmaktadır. 7-NI'ün sıçanda 5-50mg/kg dozlarında ereksiyonun doza bağımlı bir inhibitörü olduğu gösterilmiştir.

Etkinin reversibl özelliğinden dolayı, priapism tedavisinde klinik kullanımı olabilir (Spiess et al. 1996).

Bazı deneysel anksiyete modellerinde de 7NI'ün, anksiyolitik benzeri etkiler gösterdiği bildirilmiştir. Sıçan (+) Labirent testinde, açık kolda harcanan süre ve açık kola giriş yüzdesini 7-NI (40-80-120mg/kg), belirgin bir şekilde arttırmıştır. Sosyal etkileşim testinde de (20mg/kg), sosyal etkileşim süresini arttırmıştır (Volke et al. 1997). L-Arginin sıçan plus-maze ve open field testinde, 600 mg/kg dozlara kadar herhangi bir etki göstermemiştir. NOS enzimi, anksiyolitik ilaçları geliştirmede yeni bir hedef olabilir (Volke et al. 1997).



## 2. AMAÇ VE KAPSAM

Anksiyete ve depresyon; etyopatogenezinde, nörotransmitter dengesinde farklılaşmalar olduğu öne sürülen iki patolojik durumdur. Anksiyete ve depresyonun birlikte ortaya çıkışı, bir çok yönüyle araştırmalara konu olmuştur. Anksiyete ve depresyonu birbirine bağlayan köprü, psikofarmakolojik çalışmalarla da desteklenmiştir. 5-HT<sub>1</sub> reseptör ailesinin GABA sistemleri ile etkileşim içinde olduğu, benzodiazepinlerin rafe nöronal ateşlemesini belirgin olarak düşürdüğü ve serotonin turnover'ını azalttığı gösterilmiştir.

Santral sinir sisteminde yeni bir nöronal haberci molekül olarak kabul edilen NO'nin, nörotransmitter salınım ve geri alınımını düzenlediği, çeşitli fizyolojik ve patolojik olaylarda rol oynadığı ileri sürülmektedir.

Santral sinir sisteminde NO sentezi için başlıca uyarıcı sağlayan NMDA reseptörleri, kaygı ve affektif hastalıklarda da rol oynarlar. NMDA reseptör antagonistlerinin hayvan modellerinde kaygı giderici ve antidepresan etki sağladığı bildirilmektedir. Buradan yola çıkılarak NO'nin de bu olaylarda rolünün olabileceği düşünülmüş ve NO'nin biyolojik rolünün belirlenmesi amacıyla yapılan çalışmalarda kullanılan maddelerden biri olan, NOS enzim inhibitörü 7-Nitro indazol kullanılmıştır.

Yapılan çalışmalarda NOS enzim inhibitörü olan L-NAME'in, 10-60mg/kg dozlarında anksiyolitik etki gösterdiği bulunmuştur (Faria et al. 1997). Bir başka NOS inhibitörü olan L-NOARG'ında akut uygulanması ile, kaygı giderici etki oluşturduğu gösterilmiştir (Oliveira et al. 1997). NO sentezinde ve etki oluşturmasında rol alan enzimleri (NOS ve çGS) etkileyen metilen mavisinin de anksiyolitik ve antidepresan etkisi bildirilmektedir (Eroğlu ve Çağlayan, 1997).

Bu çalışmada NOS inhibitörü olan 7-Nitro indazol'ün, sıçanlarda (+) Labirent testinde kaygı giderici, Zorunlu yüzme testinde antidepresan etkilerini araştırarak kaygı ve depresyonda NO'nin olası rolünün araştırılması amaçlanmıştır.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

**Deney Hayvanı:** Çalışmada, ağırlıkları 250-300g arasında değişen ve Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda üretilen Wistar Albino erkek sıçanlar kullanıldı. Deney öncesi beşerli olarak kafeslere yerleştirilen ve 22-23 °C oda sıcaklığında tutulan hayvanlara içecek olarak musluk suyu, yem olarak da standart yem verildi.

#### **Davranış Testleri**

**3.1. Kaygı Ölçümü:** Sıçanlarda ilaçların kaygı verici (anksiyojenik) ve kaygı giderici (anksiyolitik) etkilerinin sınılanması amacıyla (+) Labirent Testi (Plus-Maze Test) uygulandı (File, 1981). Bu labirent, tahtadan yapılmış 10 × 10 cm boyutlarında bir merkez etrafında , karşılıklı iki açık (50 × 10) ve iki kapalı (50 × 10 × 40) kolu bulunan, yerden 50cm yükseklikte bir alettir.

Bu test sırasında hayvanlar yüzleri açık kola bakacak şekilde merkeze yerleştirilir ve 5 dakika süreyle, labirentten 1m uzaklıkta bulunan gözlemci tarafından izlenir. Testler arasında labirent, suyla ıslatılmış pamuk ile defekasyon artıklarından temizlenir. İlaç uygulamalarından habersiz olan gözlemci, 5 dakika süreyle hayvanın açık ve kapalı kollara giriş sayıları ile kollarda kalış sürelerini saptar. Normalde hayvan kaygı göstererek kapalı kolları tercih etmektedir. Kaygı giderici bir ilaç kullanıldığında ise, hayvanın açık kola girme sayısı ve/veya açık kolda kalma süresi artmaktadır (File, 1981; Handley and Mithanis, 1984; Pellow et al. 1985). Testin değerlendirilmesinde, hayvanın 5 dakikalık süre içerisinde açık kola giriş sayısının, toplam (açık+kapalı kollara) giriş sayısına oranının yüzdesi ve açık kolda kalma süresinin toplam süreye (300") oranının yüzdesi kullanılır.

Deney hayvanları normalde kapalı kolları tercih ettiklerinden, kaygı düzeyi azaldıkça oran büyüyecektir. Bir diğer deyişle kaygı düzeyi ile bu oran ters orantılıdır (File, 1981).

$$\text{Kaygı Düzeyi} = \frac{\text{Açık kolda kalış süresi}}{\text{Toplam süre}} \times 100 \quad (\%SÜRE)$$

$$\text{Kaygı Düzeyi} = \frac{\text{Açık kola giriş sayısı}}{\text{Açık ve kapalı kollara (toplam) giriş sayısı}} \times 100 \quad (\%SAYI)$$

İlaçların (+) labirent testinde kaygı üzerine olan etkileri değerlendirilirken; bazı yayınlarda sayı ve süre oranını birlikte aynı yönde değiştirmesi gerekli kılınırken, bazı yayınlarda ise tek göstergeli etkilemesi yeterli kabul edilmiştir (File, 1981; Handley and Mithanis, 1984; Pellow et al. 1985).

**3.2. Antidepresan Etkinin Ölçümü:** Sıçanlarda ilaçların antidepresan etkilerinin belirlenmesi amacıyla, Zorunlu Yüzme Testi uygulandı (Porsolt et al. 1978-a; Porsolt, 1981). İki aşamalı olan Zorunlu Yüzme Testinin ilk aşamasında, hayvanlar 15 dakika süre ile 40cm yükseklik ve 18cm çapındaki plexiglas'dan yapılmış silindir içindeki 15cm yükseklik ve 25°C sıcaklıktaki suda yüzdürülürler (Borsini and Meli, 1988). Bu 15 dakika sonunda sıçan, 32°C sıcaklıktaki kapalı bir ortamda kurutulur. Testin bu aşamasında amaç, hayvanlara içi su dolu silindirden kurtulamayacaklarını öğretmektir. Bu çalışmadan 24 saat sonra uygulanan testin 2. aşamasında ise, hayvanlar aynı koşullarda suya bırakılarak, 5 dakika süreyle yüzdürüldüler. Bir gün öncesinden çaresiz olduklarını ve ortam koşullarını değiştiremeyeceklerini öğrenmiş olan hayvanlar kurtulmak için çabalamayıp, hareketsiz kalırlar ve başları su üzerinde kalacak şekilde, kamburlarını çıkarıp, ön ayaklarını birleştirerek tipik bir postür alırlar. Bu vücut biçimi, Porsolt tarafından "İmmobil" olarak tanımlanmıştır (Porsolt et al.

1977-a). 5 dakika içinde hayvanların hareketsiz oldukları süre, “İmmobilizasyon Süresi” ilaç uygulamalarından habersiz bir gözlemci tarafından kronometre ile saptanır (Porsolt et al. 1979).

İlaçların antidepresan etkilerinin sınanması amacıyla uygulanan bu testte, antidepresan etki gösteren ilaçların immobilité süresini azalttıkları ve hayvanların ortandan çıkmak için, daha çok çabaladıkları gözlemlenmektedir (Porsolt et al. 1977-b; 1978-b)

**3.3. Lokomotor Aktivite Ölçümü:** Lokomotor aktiviteyi değiştiren ilaçlar, (+) Labirent Testinde ve Zorunlu Yüzme Testinde yalancı negatif ve yalancı pozitif sonuçlara neden olabilmektedir (Dawson and Tricklebank, 1995). Bu nedenle, ilaçların (+) Labirent Testinde saptanan kaygı giderici etkilerinin ve Zorunlu Yüzme Testinde saptanan antidepresan etkilerinin, hayvanlarda oluşabilecek lokomotor aktivite değişikliklerine bağlı olup olmadığını anlamak amacıyla hayvanların motor aktiviteleri değerlendirildi. Lokomotor aktivite ölçümü, 100×100×30 cm boyutlarındaki open-field aletinde yapıldı. Open-field içinde 10 dakika süreyle tutulan hayvanların yürüdükleri her kare sayısı sayılarak, toplam aktivite sayısı bulundu (Mc Namara et al. 1995).

#### **Deneyin Yürütülmesi:**

#### **Kaygı Ölçümü:**

**Ön Çalışma:** Kaygı giderici etkinin ölçüldüğü (+) Labirent Testi, referans ilaç diazepam kullanılarak sınıandı. Bunun için 15'er sıçandan oluşan iki grup oluşturuldu. Deney grubuna 2 mg/kg diazepam, kontrol grubuna ise 0.5 ml serum fizyolojik (SF) intraperitoneal olarak uygulandı. Bu uygulamadan 30 dakika sonra kaygı ölçümü yapıldı.

**Deney:** 7-Nitro indazol (Sigma), Arachis Oil (Sigma) içinde (Faraci and Brian, 1995; Spiess et al. 1996; Shi and Heavner, 1997) sonifikatör yardımıyla çözündürüldü. 7-Nitro indazol'un kaygı üzerine olan etkisinin sınanması amacıyla, deney gruplarına beş farklı dozu (Volke et al. 1997) intraperitoneal (Moore et al. 1993-b; Smith et al. 1996; Shi and Heavner, 1997) olarak verildi. Enjeksiyondan 30 dakika sonra hayvanlar deneye alındı (Moore et al. 1993-a; Mac Kenzie et al. 1994). Teste alınan hayvanların, 5 dakika süre içinde açık ve kapalı kollara giriş sayıları ile bu kollarda kalma süreleri tespit edildi. (+) Labirent testinden hemen sonra, hayvanlar lokomotor aktivitelerinin ölçülmesi amacıyla Open-field aletine kondu (Cabo et al. 1995). 7-Nitro indazol'un spontan lokomotor aktivite üzerine olan etkileri araştırıldı. Hayvanların Open-field içinde 10 dakika boyunca gösterdikleri aktivite sayıları, toplam spontan lokomotor aktivite olarak yorumlandı.

**Deney Grupları:**

- 1) Serum Fizyolojik
- 2) 2mg/kg Diazepam
- 3) Arachis Oil (Yer fıstığı yağı)
- 4) 15mg/kg 7-NI
- 5) 30mg/kg 7-NI
- 6) 60mg/kg 7-NI
- 7) 90mg/kg 7-NI
- 8) 120mg/kg 7-NI
- 9) 100mg/kg L-Arginin (Sigma)
- 10) 100mg/kg D-Arginin (Sigma)
- 11) 100mg/kg L-Arginin + 30mg/kg 7-NI
- 12) 100mg/kg D-Arginin + 30mg/kg 7-NI
- 13) 100mg/kg L-Arginin + 60mg/kg 7-NI
- 14) 100mg/kg D-Arginin+ 60mg/kg 7-NI

## **Antidepresan Etki Ölçümü**

**Ön çalışma:** Zorunlu Yüzme Testinde İmipramin, immobilité süresini azaltan referans ilaç olarak kullanılmıştır. Bu amaçla, 15'er hayvandan oluşan deney grubuna 30mg/kg İmipramin (Sigma), kontrol grubuna ise 0.5 ml SF intraperitoneal olarak verilmiştir. Enjeksiyondan bir saat sonra hayvanlar deneye alınıp, immobilizasyon süreleri kronometre ile tespit edilmiştir.

**Deney:** 7-Nitro indazol'un antidepresan etkisinin araştırılması amacıyla, deney gruplarına 5 farklı dozu ip olarak verilmiştir. İki aşamalı olan ZYT'nin ilk aşaması olan 15 dakikalık yüzdürme, deneyden bir gün önce (24 saat) gerçekleştirilmiştir. Ertesi gün, kontrol ve ilaç grupları oluşturulmuş ve enjeksiyonlar yapılmıştır. Enjeksiyondan 30 dakika sonra, sıçanlar lokomotor aktivitelerinin ölçülmesi amacıyla, open-field aletine konmuş ve 10 dakika süresince gösterdikleri aktivite sayıları saptanmıştır. Locomotor aktiviteleri belirlenen sıçanlar, içi su dolu silindir içine bırakılmış ve immobil kaldıkları süre kronometre ile saptanmıştır. Bir gün öncesinden içinde buldukları ortamdaki kurtulamayacaklarını ve çaresiz olduklarını öğrenen sıçanlar, Porsolt tarafından immobil postür olarak tanımlanan vücut biçimini alırlar. Bu vücut şekli, depresyonun bir ifadesi olarak yorumlanmaktadır.

### **Deney Grupları:**

- 1) Serum Fizyolojik
- 2) 30mg/kg İmipramin
- 3) Arachis Oil (Yer fıstığı yağı)
- 4) 15mg/kg 7-NI
- 5) 30mg/kg 7-NI
- 6) 60mg/kg 7-NI
- 7) 90mg/kg 7-NI
- 8) 120mg/kg 7-NI
- 9) 100mg/kg L-Arginin (Sigma)

- 10) 100mg/kg D-Arginin (Sigma)
- 11) 100mg/kg L-Arginin + 30mg/kg 7-NI
- 12) 100mg/kg D-Arginin + 30mg/kg 7-NI
- 13) 100mg/kg L-Arginin + 60mg/kg 7-NI
- 14) 100mg/kg D-Arginin+ 60mg/kg 7-NI

#### 3.4. İstatistiksel Değerlendirme:

Kaygı derecesinin saptandığı '(+) Labirent Testi' ve antidepresan etkinin sınıandığı 'Zorunlu Yüzme Testi'nin sonuçları, ANOVA Post-hoc Tukey's Testi kullanılarak değerlendirildi.

Lokomotor aktivite sonuçları ise, Student's T Testi kullanılarak değerlendirildi.

$p < 0.05$  ve  $\alpha < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

4.1. **Kaygı Ölçümü:** İlaçların kaygı üzerine olan etkilerinin gösterilmesi amacıyla kullanılan (+) Labirent Testi değerlendirilirken, daha önce de belirtildiği gibi, iki gösterge kullanılmaktadır.

\* İlk gösterge; deney hayvanının 5 dakikalık test süresince (+) Labirent Testinde açık kola giriş sayısının, toplam sayıya (açık + kapalı kollara giriş sayısına) oranının yüzdesidir.

$$\text{Kaygı Düzeyi} = \frac{\text{Açık kola giriş sayısı}}{\text{Açık ve kapalı kollara (toplam) giriş sayısı}} \times 100 \quad (\% \text{SAYI})$$

\* İkinci gösterge; açık kollarda kalış süresinin, toplam deney süresine (5 dakika) oranının yüzdesidir.

$$\text{Kaygı Düzeyi} = \frac{\text{Açık kolda kalış süresi}}{\text{Toplam süre}} \times 100 \quad (\% \text{SÜRE})$$

Değerlendirmede; bu iki göstergenin aynı yönde olmaları ve bunlardan birinin veya ikisinin istatistiksel olarak anlamlı oluşu yeterli kabul edilmektedir. Bu testin kullanıldığı yayınlarda bu iki göstergeden herhangi biri ile elde edilen, istatistiksel olarak anlamlı bulgunun kaygı şiddetini yeterli ölçüde yansıtabileceği bildirilmektedir (File, 1981; Handley and Mithanis, 1984; Pellow et al. 1985).

Sunulan çalışmanın bulgularında, her iki göstergeden elde edilen değerler aynı yöndedir.

\* Kaygı şiddetinin ölçüldüğü (+) Labirent Testi, referans ilaç diazepam kullanılarak sınanmıştır. Diazepam uygulanmış sıçanlarda kaygı şiddetinin kontrol grubuna göre, anlamlı biçimde düşük olduğu saptanmıştır (Şekil: 4.1.1 - 4.1.2). Bu bulgu, (+) Labirent Testinin kaygı düzeyini saptamada güvenilir bir yöntem olduğunu kanıtlamaktadır.

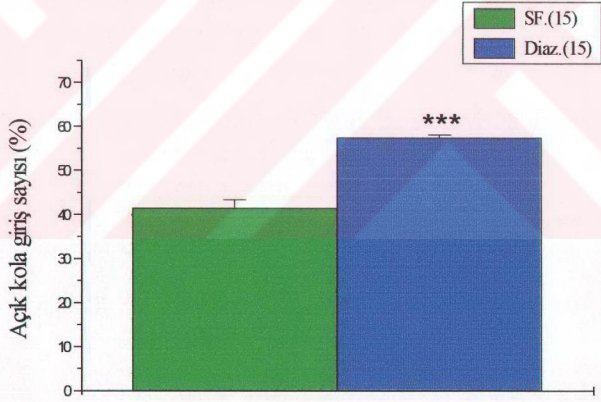
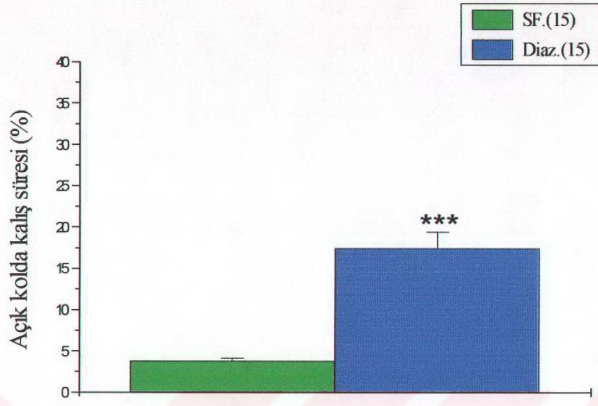
\* Sıçanların (+) Labirentin açık kollarında kalış süreleri incelendiğinde, 7-NI'ün açık kolda kalış süresini 90mg/kg dozda maksimum olmak üzere, uygulanan tüm dozlarda kontrol grubuna (AO) göre arttırdığı görülmüştür (Şekil: 4.1.3). Ancak 120mg/kg dozda uygulanan 7-NI'ün açık kolda kalış süresi %'si üzerine etkisi, diğer dozlardan daha düşük bulunmuştur. Bunun nedeni, 120mg/kg dozda lokomotor aktivitenin azalmasına bağlı olabilir.

\* Açık kola giriş sayısının, toplam (açık+kapalı) kollara giriş sayısına oranının %'si değerlendirildiğinde de, 7-NI'ün açık kola giriş %'sini kontrollere göre arttırdığı görülmüştür (Şekil: 4.1.4). 120mg/kg dozda etki, diğer dozlara göre daha düşük bulunmuştur.

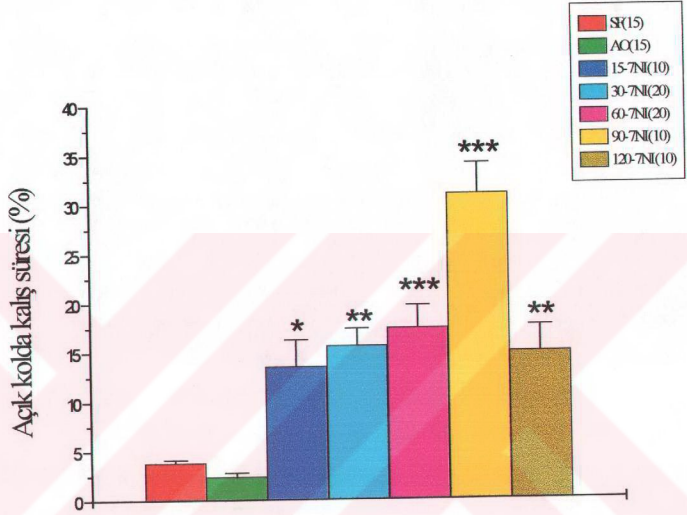
\* Yalnız başına 100mg/kg L-Arjinin'in açık kolda kalış süresi %'si üzerine etkisi görülmemiştir. Ancak 7-NI uygulamasından 10 dakika önce verilen L-Arjinin, 7-NI'ün neden olduğu açık kolda kalış süresindeki artışı engellemiştir. D-Arjinin ise, 7-NI'ün etkilerinde bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil: 4.1.5).

\* 100mg/kg L-Arjinin ve D-arjinin'in (+) Labirent Testinde açık kollara giriş sayısı üzerinde etkili olmadığı saptanmıştır. 7-NI açık kollara giriş sayısını arttırırken, 7-NI'den 10 dakika önce verilen L-Arjinin, 7-NI'ün etkilerini ortadan kaldırmıştır. D-Arjinin ise, 7-NI'ün etkilerinde bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil: 4.1.6).

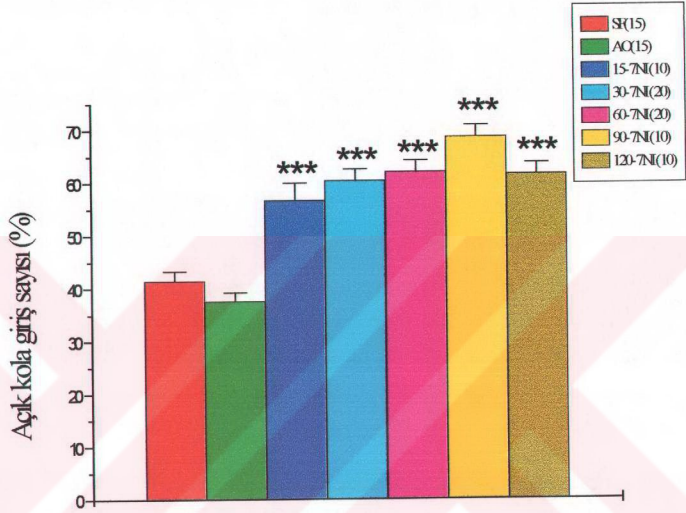




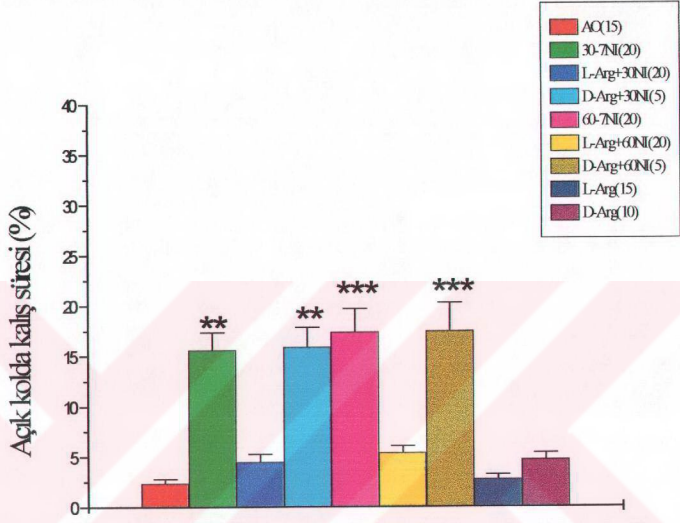
**Şekil 4.1.1 - 4.1.2:** Diazepam'ın (+) Labirent Testinde açık kollara giriş sayı ve süresi üzerine etkisi. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir.)  
\*\*\*p<0.001



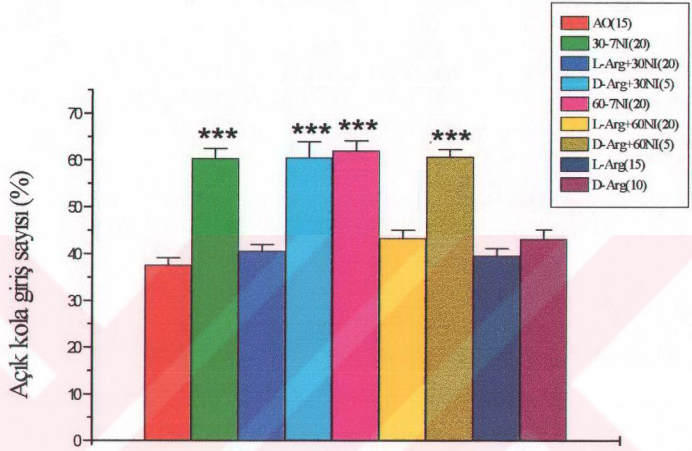
**Şekil 4.1.3:** 7-NI'nin (15, 30, 60, 90, 120mg/kg) (+) Labirent Testinde açık kolda kalış süresi %'si üzerine etkisi. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir.) \* $p < 0.05$  \*\* $p < 0.01$  \*\*\* $p < 0.001$



**Şekil 4.1.4:** 7-NI'nin (15, 30, 60, 90, 120mg/kg) (+) Labirent Testinde açık kollara giriş sayısı %'si üzerine etkisi. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir.) \*\*\*p<0.001



**Şekil 4.1.5:** 7-NI'ün L-Arjinin ve D-Arjinin ile kombinasyonlarının (+) Labirent Testinde açık kolda kalış süresi %'si üzerine etkisi. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir.) \*\*p<0.01 \*\*\*p<0.001



**Şekil 4.1.6:** 7-NI'ün L-Arjinin ve D-Arjinin ile kombinasyonlarının (+) Labirent Testinde açık kola giriş sayısı %'si üzerine etkisi. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir.) \*\*\*p<0.001

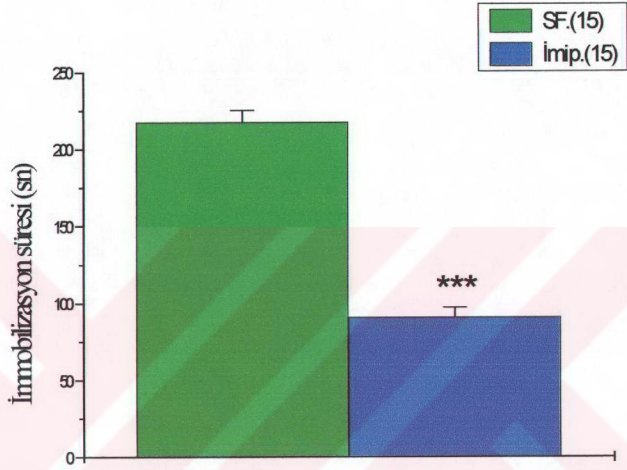
#### 4.2. Antidepresan Etkinin Ölçümü:

7-NI'ün antidepresan etkisinin araştırıldığı Zorunlu Yüzme Testi'nde, hayvanların 5 dakikalık test süresinde 'immobil' olarak kaldıkları süreler saptanmıştır. Hayvanın almış olduğu vücut şekli (immobil postür), depresyonun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (Porsolt, 1985).

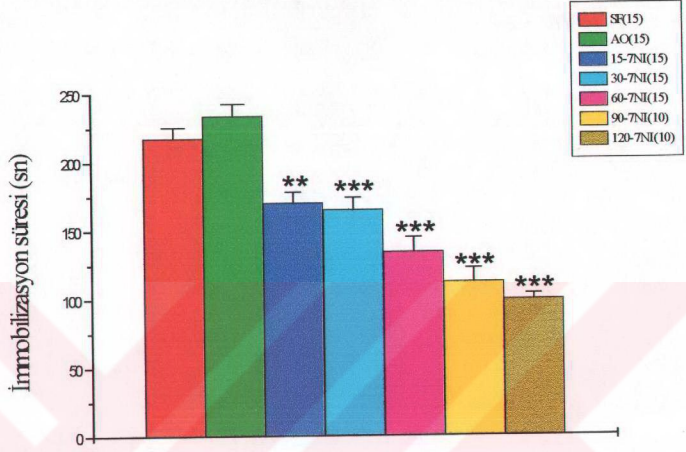
\* Sıçanlarda, ilaçların antidepresan etkilerinin gösterilmesi amacıyla kullanılan Zorunlu Yüzme Testi'nin sınanması için uygulanan referans ilaç İmipramin immobilizasyon süresini kontrol grubuna göre anlamlı olarak kısaltmıştır (Şekil: 4.2.1). Bu bulgu, kullandığımız yöntemin antidepresan aktiviteyi değerlendirmede güvenilir bir yöntem olduğunu kanıtlamaktadır.

\* 15, 30, 60, 90 ve 120 mg/kg dozlarda uygulanan 7-Nitro indazol, doza bağımlı bir şekilde immobilizasyon süresini, kontrollere (AO) göre kısaltmıştır (Şekil: 4.2.2).

\* 100 mg/kg L-Arjinin veya D-Arjinin'in immobilizasyon süresi üzerine etkisi görülmemiştir. 7-Nitro indazol uygulamasından 10 dakika önce verilen L-Arjinin, 7-NI'ün immobilizasyon süresi üzerindeki etkisini ortadan kaldırmıştır. D-Arjinin ise 7-NI'ün etkilerinde bir değişikliğe neden olmamıştır (Şekil: 4.2.3).

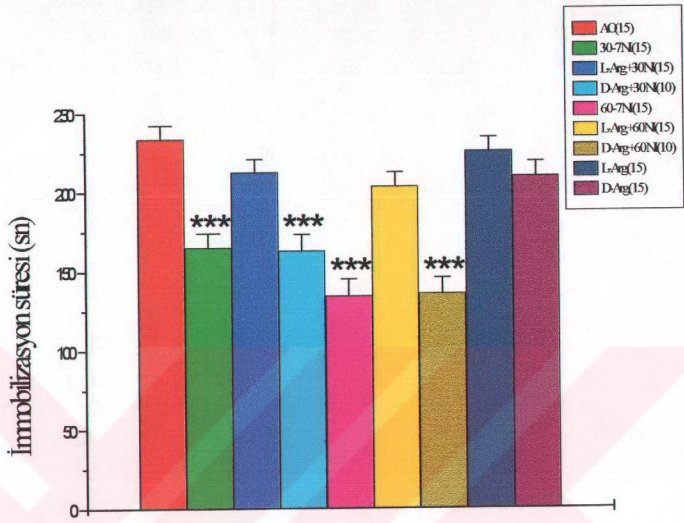


**Şekil 4.2.1:** İmipramin'in Zorunlu Yüzme Testinde saptanan immobilizasyon süresi üzerine etkisi. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir.)  
\*\*\*p<0.001



**Şekil 4.2.2:** 7-NI'nin (15, 30, 60, 90, 120mg/kg) immobilizasyon süresi üzerine etkisi. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir.) \*\* $p < 0.01$   
\*\*\* $p < 0.001$





**Şekil 4.2.3:** 7-NI'ün L-Arjinin ve D-Arjinin ile kombinasyonlarının immobilizasyon süresi üzerine etkisi. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir.) \*\*\* $p < 0.001$

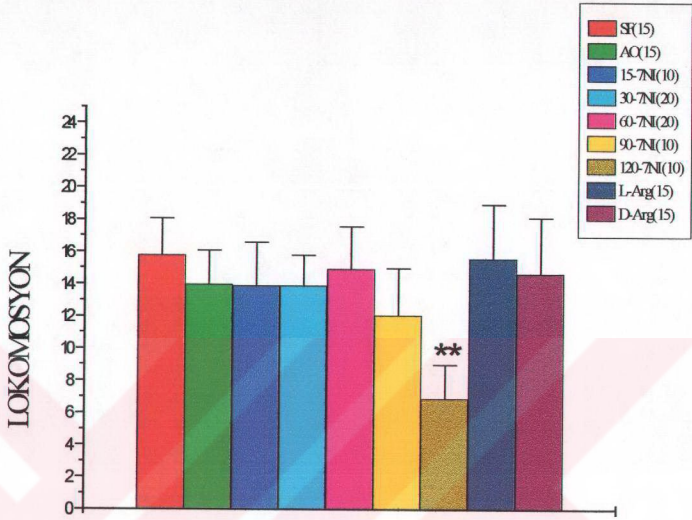
### 4.3. Lokomotor Aktivite Ölçümü:

(+) Labirent Testi ve Zorunlu Yüzme Testinde, lokomotor aktivite değişikliklerinden kaynaklanabilecek yalancı negatif ve pozitif sonuçları sınamak amacıyla, 7-Nitro indazol'un bu testleri etkileyen tüm dozlarında, spontan lokomotor aktivite üzerine olan etkileri araştırılmıştır.

Sıçanlar, (+) Labirent Testinden sonra ve Zorunlu Yüzme Testinden önce olmak koşuluyla, open-field aletine konmuştur. 10 dakika süresince, sıçanın open-field içinde gösterdiği aktivite sayısı toplamı, spontan lokomotor aktivite olarak yorumlanmıştır.

7-NI'ün saptanan kaygı giderici ve antidepresan etkilerinin, lokomotor aktivitede oluşan değişikliklere bağlı olup olmadığını anlamak için, 7-Nitro indazol'un beş farklı dozu (15, 30, 60, 90, 120mg/kg) ile elde edilen toplam motor aktivite değerleri ve L-Arginin, D-Arginin ile elde edilen lokomasyon değerleri saptanmıştır.

\* 15, 30, 60, 90 ve 120 mg/kg dozlarda uygulanan 7-NI ile elde edilen lokomotor aktivite değerleri ile kontrollerin aktivite değerleri arasında fark görülmemiştir (Şekil: 4.3.1). Yalnızca 120mg/kg 7-NI'ün lokomasyon üzerinde etkisi olmuştur. Bu dozda açık kola giriş sayı ve süresinin düşmesi, lokomasyonun düşüşüne bağlı olabilir. Bu bulgulara dayanarak, 7-NI'ün 15, 30, 60 ve 90mg/kg dozlarında saptanan kaygı giderici ve antidepresan etkilerinin, lokomotor aktivite değişikliklerine bağlı olmadığını söyleyebiliriz.



**Şekil 4.3.1:** 7-NI, L-Arjinin ve D-Arjinin'in lokomotor aktivite üzerine etkileri. (Parantez içindeki rakamlar 'n' sayısını göstermektedir.) \*\*p<0.01

## 5. TARTIŞMA

Nitrik Oksid çok kısa yarı ömürlü, reaktif bir gaz molekülü olduğundan, nitrik oksidin biyolojik rolünün araştırıldığı çalışmalarda NO serbestleyen veya NOS enziminin aktivitesini baskılayan maddeler kullanılmaktadır. Sunulan çalışmada, NOS enziminin nöronal izoformu için selektif bir blokör olan 7-NI kullanılmış olup, anksiyete ve depresyonda NO'nin rolü aydınlatılmaya çalışılmıştır. Kaygı giderici etkinin saptanması amacıyla (+) Labirent Testi, antidepresan etkinin saptanması amacıyla da Zorunlu Yüzme Testi kullanılmıştır. Sıçanların, bu deneysel modellerde gösterdikleri davranış biçimleri incelenerek, ilaçların anksiyete ve depresyon üzerindeki etkileri ortaya konulmaya çalışılmıştır.

(+) **Labirent testinde;** 7-Nitro indazol, açık kola giriş sayı %'sini ve açık kolda kalış süre %'sini, uygulanan tüm dozlarda (15, 30, 60, 90, 120mg/kg) arttırmıştır. Bu bulgu, deneysel olarak 7-NI'ün anksiyolitik etki profili gösterdiği anlamına gelmektedir. Maksimum etki 90 mg/kg dozda görülmüş olup, 120 mg/kg dozda etki, diğer dozlara oranla daha az saptanmıştır. Bunun nedeni, bu dozdaki lokomotor aktivitenin azalmasına bağlı olabilir. Volke ve ark. (1997)'da 40, 80 ve 120 mg/kg dozlarında 7-Nitro indazol'ün açık kola giriş sayısını ve açık kolda kalış süresini arttırdığını bildirmişlerdir.

100 mg/kg dozda L-Arjinin uygulanması ile, sıçanların (+) labirentteki davranışlarında (açık kola giriş sayı ve süresi) kontrol grubuna göre, fark saptanmamıştır. Yapılan çalışmalarda da L-Arjinin'in plus maze testinde 600mg/kg dozlara kadar herhangi bir etki göstermediği bildirilmiştir (Volke et al. 1997).

7-Nitro indazol uygulamasından 10 dakika önce verilen L-Arjinin, 7-NI ile görülen anksiyolitik benzeri etkilerin ortadan kalkmasına neden olmuştur. L-Arjinin yerine D-Arjinin verildiğinde ise, 7-NI'ün etkilerinde geriye dönüş olmamıştır.

7-Nitro indazol'un (+) labirent testinde gösterilen kaygı giderici etkisinin mekanizması, NO sentezini engellemesi ile açıklanabilir. NOS enzim inhibitörlerinin, anksiyolitik benzeri etkiler gösterdiği bir çok yayında bildirilmiştir (Volke et al. 1995). Yapılan çalışmalarda, L-NAME'in 10-60 mg/kg dozlarda, açık kollarda harcanan süreyi uzattığı gösterilmiştir (Faria et al. 1997). Oliveira ve ark. da (1997), L-NOARG'ın (+) Labirent testinde açık kola giriş sayısını ve açık kolda kalış süresini arttırdığını bildirmişlerdir. Beyinde, anksiyete ile ilgili bölgeler olan amigdala ve dorsolateral santral gri bölgeler gibi yerlerde NOS enziminin lokalize olduğu gösterilmiştir (Faria et al. 1997).

Normalde inaktif durumda bulunan nNOS enzimi, presinaptik veya postsinaptik reseptörlerin uyarılması ile aktive olur. Aktivasyon için majör uyarı, kalsiyuma geçirgenliği fazla olan iyon kanalı ile birleşen NMDA reseptörlerinin uyarılmasıdır (Garthwaite et al. 1988). Postsinaptik reseptörlerin serotonin, bradikinin, endotelin, asetilkolin ve noradrenalin gibi nörotransmitter ve nöromodülatörlerle uyarılması ise, kalsiyumun hücre içine akımına veya intrasellüler depolardan serbestleşmesine neden olur. Artan hücre içi kalsiyum ise, nNOS'ı aktive eder. L-Arjinin'den NOS enzimi aracılığıyla sentezlenen NO için hedef madde, çGS'dir. çGS'in uyarılması, cGMP düzeyinde artışa neden olur (Southam and Garthwaite, 1993).

SSS'de NO sentezi için başlıca uyarıyı sağlayan NMDA reseptörlerinin duyugudurum bozukluklarında rol aldığı ve NMDA reseptör antagonistleri ile hayvan modellerinde kaygı giderici etki sağlandığı bildirilmiştir (Dunn et al. 1989).

NMDA reseptörlerinin uyarılması NO sentezinin yanı sıra, serotonin, noradrenalin, dopamin, asetilkolin gibi nörotransmitterlerin salınımına da neden olmakta ve bu salınımın düzenlenmesinde NO aracılık etmektedir (Garthwaite and Boulton, 1995).

Endojen bulunan veya NMDA reseptörlerinin uyarılması ile salınan NO'nin presinaptik olarak etkileyip, sinaptik aktiviteyi değiştirerek nörotransmitter salınımının düzenlenmesinde de rol aldığı bildirilmiştir (Montague et al. 1994).

Kaygının oluşmasında önemli ölçüde yer alan serotonin ve noradrenalinin, salınımını arttıran NMDA reseptörlerinin baskılanması veya NO sentezinin inhibisyonu

sonucunda, kaygı giderici etkinin olduğu bir çok araştırmacı tarafından varılan ortak görüştür (Dunn et al. 1989; Volke et al. 1995; Faria et al. 1997; Oliveira et al. 1997).

**Zorunlu yüzmeye testinde;** 7-NI'ün antidepresan etkinliğinin olup olmadığı, araştırılmıştır. 15, 30, 60, 90 ve 120 mg/kg dozlarda uygulanan 7-Nitro indazol, immobilizasyon süresini doza bağımlı olarak kısaltmıştır.

100 mg/kg L-Arjinin'in immobilizasyon süresi üzerine etkisi görülmemiştir. 7-NI uygulamasından 10 dakika önce verilen L-Arjinin, 7-Nitro indazol'un immobilizasyon süresini kısaltıcı etkisini ortadan kaldırmıştır. L-Arjinin yerine D-Arjinin verildiğinde ise, 7-NI'ün etkilerinde bir değişiklik görülmemiştir.

7-NI'ün ZYT'de saptanan antidepresan etkinliği, NOS enziminin inhibisyonu ile ilgili olabilir. Yoğun araştırmalara rağmen, depresyonun altında yatan neden/nedenler halen aydınlatılamamıştır. Bugün kullanılan antidepresif ilaçların çoğu, nörotransmitter yıkımını önleyerek veya geri alınımını engelleyerek etki oluşturmaktadır.

NO'in nörotransmitterlerin salıverilmesinde ve geri alınımında rol oynaması (Schuman and Madison, 1994), depresyonda da NO'in rolü olabileceğini düşündürmektedir. NO'in, SSS'de serotonin, glutamat ve dopamin geri alınımında etkili olduğu, noradrenalin geri alınımında etkili olmadığı bildirilmiştir (Pogun et al. 1994). NO; sinaptik yoğunluğuna, presinaptik aktivitenin durumuna ve beyin bölgesine göre, sinaptik veziküllerden nörotransmitter salıverilmesini arttırmakta, azaltmakta ya da değiştirmemektedir (Garthwaite and Boulton, 1995).

Öte yandan ZYT ve kuyruktan asma testinde, NMDA reseptör antagonistlerinin, antidepresan etki gösterdikleri bildirilmiştir (Trullas and Skolnick, 1990). SSS'de NMDA reseptörlerinin aktivasyonu sonucu NO salındığı düşünüldüğünde, ZYT'de NMDA reseptör antagonistlerinin ve bir NOS inhibitörü olan 7-NI'ün aynı yönde etki göstermesi doğal görünmektedir.

**Open-field testi;** 7-NI'ün kaygı giderici ve antidepresan etkilerinin araştırılmasında kullanılan (+) Labirent Testi ve ZYT, lokomotor aktivite değişikliklerine göre yalancı negatif ve yalancı pozitif sonuç verebileceklerinden, 7-NI'ün sıçanların lokomotor aktiviteleri üzerine olan etkilerinin araştırılması amacıyla

kullanılmıştır. 120 mg/kg 7-Nitro indazol ile lokomotor aktivitenin düştüğü saptanmıştır. Bu bulgu, 120 mg/kg dozda 7-NI'ün anksiyolitik benzeri etkilerindeki düşmeyi açıklamaktadır.

Spontan lokomotor aktivite davranışının sürdürülmesinden genellikle dopamin sorumlu tutulmaktadır (Ljungberg and Ungerstedt, 1976). Bazı çalışmalarda da, noradrenalin'in bu aktiviteyi arttırdığı veya ayarladığı, ileri sürülmüştür (Anden et al. 1973). NO'in striatal dopamin salınımını arttırdığı göz önüne alındığında, 120 mg/kg 7-NI'ün lokomotor aktiviteyi baskılaması, NOS enziminin inhibisyonu ile kısmen de olsa açıklanabilir.

Yeni NOS inhibitörlerinin depresyon ve kaygıda kullanılmaları açısından değerlendirilmeleri ve nitrik oksit'in kaygı ve depresyondaki rolünün daha ileri çalışmalar ile aydınlığa kavuşturulmasıyla psikofarmakolojik tedavide yeni ufuklar açabileceği düşünülmektedir.

## 6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Son dönemin önemli araştırma alanlarından birini oluşturan, NO'nin kardiyovasküler sistem, immün sistem, NANK ileti ve SSS gibi çeşitli sistemlerde varlığı kanıtlanmış olup, bir çok fizyolojik ve patolojik olayda rol aldığı saptanmıştır. Öğrenme, hafıza, iştah, susama, ağrı duyumsaması, serebrovasküler tonusun düzenlenmesi, iskemi, felç, AIDS-demans nöropatolojisi, alzheimer ve huntington hastalıklarındaki nörotoksisiteden en azından kısmen, NO sorumlu tutulmaktadır. NO'nin SSS'deki önemli bir etkisi de, eksitatör ve inhibitör aminoasitler, katekolaminler ve asetilkolin gibi çeşitli nörotransmitterlerin salınımını düzenlemesidir.

Kaygı ve depresyon, etyopatogenezinde nörotransmitter dengesinde farklılaşmalar olduğu bildirilen iki patolojidir. SSS'de NO sentezi için başlıca uyarıcı sağlayan NMDA reseptörlerinin kaygı ve affektif hastalıklarda rol aldığı ve NMDA reseptör antagonistlerinin hayvan modellerinde kaygı giderici ve antidepresan etki gösterdiği bildirilmiştir. Buradan yola çıkılarak, nitrik oksid'in de bu olaylarda rolünün olabileceği düşünülmüş ve nitrik oksid'in biyolojik rolünün belirlenmesi amacıyla, NOS inhibitörlerinden biri olan 7-NI kullanılmıştır. Sıçanlarda kaygı giderici etkinin saptanması amacıyla (+) Labirent Testi, antidepresan etkinin saptanması amacıyla da, Zorunlu Yüzme Testi uygulanmıştır.

Yapılan bir çok araştırmada, NOS inhibitörlerinin anksiyolitik etki gösterdiği bildirilmiştir. Ancak NOS inhibitörlerinin, depresyon üzerindeki etkileri hakkında henüz yapılmış bir yayın göze çarpmamaktadır. NMDA reseptör antagonistleri antidepresan etkil gösterdiğine göre, NMDA uyarılması ile salınan NO'nin inhibisyonu da antidepresan etki oluşturabilir, düşüncesiyle başladığımız çalışmamızda, elde ettiğimiz sonuçlar oldukça tatminkardır.

7-NI 15- 120 mg/kg doz aralığında hem anksiyolitik benzeri etkiler, hem de antidepresan etkiler göstermiştir. Yaptığımız araştırmalar ve literatür bilgisi ışığında, yeni NOS inhibitörlerinin anksiyete ve depresyondaki rolünün, daha ileri çalışmalar ile aydınlığa kavuşturulmasıyla, psikofarmakolojik tedavide yeni ufuklar açılacağı düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- AHISKAL, H.S., (1990). Toward a clinical understanding of the relationship of anxiety and depressive disorders. Maser JD, Cloninger CR. (eds.): *Comorbidity of Mood and Anxiety Disorders*. American Psychiatric Press Inc., Washington DC. p: 597-607.
- ALLOY, L.B., KELLY, K.A., MINEKA, S., CLEMENTS, C.M., (1990). Comorbidity of anxiety and depressive disorders: a helplessness-hopelessness perspective. Maser JD, Cloninger CR. (eds.) *Comorbidity of Mood and Anxiety Disorders*. American Psychiatric Press, Inc., Washington DC. p: 499-543
- ANDEN, N.E., STROMBORM, U., SVENSON, T.H., (1973). Dopamine and noradrenaline receptor stimulation: reversal of reserpine induced suppression of motor activity. *Psychopharmacology*. 29: 289-298.
- ANDRADE, R., AGHAJANIAN, G.K., (1982). Single cell activity in the noradrenergic A-5 region, response to drugs and peripheral manipulations of blood pressure. *Brain Research* 242: 125-135.
- ASSREUY, J., CUNHA, F.Q., LIEW, F.Y., MONCADA, S., (1993). *Brith. J. Pharmacol.* 108: 833-837
- AZUMA, H., ISHIKAWA, M., SEKIZAKI, S., (1986). Endothelium dependent inhibition of platelet aggregation. *Brit. J. Pharmacol.* 88: 411-415.
- BABBEDGE, R.C., BLAND-WARD, S.L., HART, S.L., MOORE, P.K., (1993a). Inhibition of rat cerebellar nitric oxide synthase by 7- nitro indazole and related substituted indazoles. *Brith. J. Pharmacol.* 110: 225-228.
- BABBEDGE, R.C., HART, S.L., MOORE, P.K., (1993b). Antinociceptive activity of nitric oxide synthase inhibitors in the mouse: Dissociation between the effect of L-NAME and L-NMMA. *J. Pharm. Pharmacol.* 45: 77-79.
- BASENGE, E., (1992). Clinical relevance of endothelium derived relaxing factor (EDRF). *Brit.J. Pharmacol.* 34: 375.
- BENJAMIN, D., HARBANS, L., MEYERSON, L.R., (1990). The effects of 5-HT<sub>1B</sub> characterizing agents in the mouse elevated plus-maze. *Life Science*. 47: 195-203.
- BERRETTINI, W.H., POST, R.M., (1984). GABA in affective illness. In: RM Post, Ballenger JC. (eds). *Neurobiology of Mood Disorders*. Baltimore, London p: 31-36.
- BLISS, T.V.P., COLLINGRIDGE, G.L., (1993). A synaptic model of memory: Long term potentiation in the hippocampus. *Nature*. 361: 31-39.
- BORSINI, F., MELL, A., (1988). Is the forced swimming test a suitable model for revealing antidepressant activity? *Psychopharmacology*. 94: 147-160.
- BREDT, D.S., HWANG, P.M., GLATT, C.E., LOWENSTEIN, C., REED, R.R., SNYDER, S.H., (1991). Cloned and expressed nitric oxide synthase structurally resembles cytochrome P-450 reductase. *Nature*. 351: 714-718.
- BREDT, D.S., HWANG, P.M., SNYDER, S.H., (1990). Localization of nitric oxide synthase indicating a neural role for nitric oxide. *Nature*. 347: 768.
- BREDT, D.S., SNYDER, S.H., (1990). Isolation of nitric oxide synthase, a calmoduline requiring enzyme. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 87: 682-685.
- BRILEY, M., CHOPIN, P., MORET, C., (1990). Effect of serotonergic lesion on "anxious" behaviour measured in the elevated plus-maze test in the rat. *Psychopharmacology* 101: 187-189.
- BROWN, S.L., BLEICH, A., VAN PRAAG, M., (1990). The monoamine hypothesis of depression: the case for serotonin. In: the role of serotonin in *Psychiatric Disorders*. (eds) Brown S.L., Van Praag H.M., Brunner M. New York. p: 91-128.
- BUGNON, O., SCHAAD, N.C., SCHORDENET, M., (1994). Nitric oxide modulates endogenous dopamine release in bovine retina. *Neuroreport*. 5: 401-404.

- BUISSON, A., MARGAIL, I., CALLEBERT, J., PLOTKINE, M., BOULU, R.G., (1993). Mechanisms involved in the neuroprotective activity of a nitric oxide synthase inhibitor during focal cerebral ischemia. *J. Neurochem.* 61: 690-696.
- CABO, DE.C., VEGA, DE.L., PUJOL, A., VIVEROS, M.P., (1995). Neonatally administered naltrexone affects several behavioral responses in adult rats of both genders. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* Vol:50. No: 2. P: 277-286.
- CHAPMAN, P.F., ATKINS, C.M., ALLEN, M.T., HALEY, J.E., STEINMETZ, J.E., (1992). Inhibition of nitric oxide synthesis impairs two different form of learning. *Neuroreport.* 3: 567-570.
- CHARLES, I.G., PALMER, R.M.J., HICKERY, M.S., BAYLISS, M.T., CHUBB, A.P., HALL, V.S., MOSS, D.W., MONCADA, S., (1993). *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90: 11419-11423.
- CHARNEY, D.S., REDMOND, D.E., (1983). Neurobiological mechanisms in human anxiety: evidence for noradrenergic hyperactivity. *Neuropharmacology.* 22: 1531-1536.
- CHARNEY, D.S., WOODS, S.W., GOODMAN, W.K., (1987). Neurobiological mechanisms of panic anxiety: biochemical and behavioral correlates of yohimbine-induced panic attacks. *Am. J. Psychiatry.* 144: 1030-1036.
- CHARNEY, D.S., WOODS, S.W., NAGY, L.M., (1990). Noradrenergic function in panic disorders. *J. Clin. Psychiatry.* 51: 5-11.
- CHETKOVICH, D.M., KLANN, E., SWEATT, J.D., (1993). Nitric oxide synthase independent long term potentiation in area CA<sub>1</sub> of hippocampus. *Neuroreport.* 4: 919-922.
- CONNOP, B.P., ROLFE, N.G., BOEGMAN, R.J., JHAMANDAS, K., BENINGER, R.J., (1994). Potentiation of NMDA- mediated toxicity on nigrostriatal neurons by a low dose of 7-nitro indazole. *Neuropharmacology.* Vol: 33 No: 11 p: 1439-1445.
- CRAWLEY, J., GOODWIN, F.K., (1980). Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Psychopharmacology.* 93: 502-506.
- CRITCHLEY, M.A.E., HANDLEY, S.L., (1987). Effects in the x-maze anxiety model of agents acting at the 5-HT<sub>1</sub> and 5-HT<sub>2</sub> receptors. *Psychopharmacology.* 106:484-490.
- CROEN, K.D., (1993). Evidence for an antiviral effect of nitric oxide. Inhibition of herpes simplex virus typel replication. *J. Clin Invest.* 91: 2446-2452.
- DANIEL, H., HEMART, N., JAILLARD, D., CREPEL, F., (1993). Long term depression requires nitric oxide and guanosine 3'-5' cyclic monophosphate production in rat cerebellar purkinje cells. *Eur. J. Neurosci.* 5: 1079-1082.
- DAWSON, R.G., TRICKLEBANK, M.D., (1995). Use of the elevated plus-maze in the search for novel anxiolytic agents. *TIPS* February. 16: 33-36.
- DEGUCHI, T., (1977). Endogenous activating factor for guanylate cyclase in synaptosomal soluble fraction of rat brain. *J. Biol. Chem.* 252: 7617-7619.
- DOOLEY, D.J.S., KLAMT, I., (1993). *Psychopharmacology.* 112: 452-454.
- DOYLE, C., HÖLSCHER, C., ROWAN, M.J., ANWYL, R., (1996). The selective neuronal NO synthase inhibitor 7-nitro indazole blocks both long-term potentiation and depotentiation of field EPSPs in rat hippocampal CA<sub>1</sub> in vivo. *The Journal of Neuroscience.* 16(1): 418-424.
- DUNN, R.W., CORBERT, R., FIELDING, S., (1989). Effects of 5-HT<sub>1A</sub> receptor agonists and NMDA receptor antagonists in the social interactions test and the elevated plus-maze. *Eur. J. Pharmacol.* 169: 1-10.
- DZOLJIC, M.R., VRIES, R.de., LEEUVEN, R. van., (1996). Sleep and nitric oxide: effects of 7-nitro indazole, inhibitor of brain nitric oxide synthase. *Brain Research.* 718: 145-150.
- EBLEN, F., LÖSCHMANN, P.A., WULLNER, U., TURSKI, L., KLOCKGETHER, T., (1996). Effects of 7-nitro indazole, NG-nitro-L-arginine and D-CPPene on harmaline induced postural tremor, NMDA-induced seizures and lisuride induced rotations in rats with nigral 6-hydroxy dopamine lesions. *European Journal of Pharmacology.* 299: 9-16.

- EMANUELSSON, B.M., WIDERLOW, E., WALLEUS, H., (1987). Determinations of 5-HIAA and HVA in human CSF with monitoring of probenecid levels in CSF and plasma. *Psychopharmacology*. 92: 144-149.
- ENGEL, J.A., HJORT, S., SVENSSON, K., (1984). Anticonflict effect of the putative serotonin receptor agonist 8-hydroxy-2-(di-n-propylamino) tetralin (8-OH-DPAT). *Eur. J. Pharmacol.* 105: 365-368.
- ENNIS, M., ASTON, J.G., (1988). Activation of locus coeruleus from nucleus paragigantocellularis: A new excitatory amino acid pathway in brain. *J. Neurosci.* 8: 36-44.
- EROĞLU, L., ÇAĞLAYAN, B., (1997). Anxiolytic and antidepressant properties of methylene blue in animal models. *Pharmacol. Res.* Nov.36(5): 381-385.
- ESTES, W.K., SKINNER, B.F., (1941). Some quantitative properties of anxiety. *J. Exp. Psychol.* 29: 390-400.
- FALTER, V., GOWER, A.J., GOBERT, J., (1993). *J. Behav. Pharmacol.* 3: 123-128.
- FARACI, F.M., BRIAN, J.E., (1994). Nitric oxide and the cerebral circulation. *Stroke*. 25: 692-703.
- FARACI, F.M., BRIAN, J.E., (1995). 7-Nitro indazole inhibits brain nitric oxide synthase and cerebral vasodilatation in response to N-Methyl-D-Aspartate. *Stroke*. Vol: 26 No: 11
- FARIA, M.S., MUSCARA, M.N., MORENO, J.H., TEIXEIRA, S.A., DIAS, H.B., OLIVEIRA, D.B., GRAEFF, F.G., NUCCI, D.G., (1997). Acute inhibition of nitric oxide synthesis induces anxiolysis in the plus-maze test. *Eur. J. Pharmacol.* March 26: 323(1): 37-43.
- FERNANDEZ, C., FILE, S.E., (1993). *Neuropharmacology*. 32: 1333-1336.
- FERRIS, R.M., MAXWELL, R.A., COOPER, B.R., SOROKO, F.E., (1982). Neurochemical and neuropharmacological investigations into the mechanisms of action of bupropion Hcl a new atypical antidepressant agent. Ed: Costa E., Racagni G., *Typical and atypical antidepressants*. Raven press New York. p: 277-286.
- FILE, S.E., (1981). Animal tests of anxiety. Ed: Angrist et al. *Recent advances in neuropsychopharmacology* Oxford pergamon press. p: 241-251.
- FILE, S.E., (1985). Animal models for predicting clinical efficacy of anxiolytic drugs: social behaviour. *Neuropsychobiology*. 13: 55-62.
- FRANCIS, S.H., CORBIN, J.D., (1994). Structure and function of cyclic nucleotide dependent protein kinases. *Annu. Rev. Physiol.* 56: 237-272.
- FRANKHYZEN, A.L., MULDER, A.H., (1982). Pharmacological characterization of presynaptic  $\alpha$ -adrenoceptor modulating [ $^3$ H] NA and [ $^3$ H] 5-HT release from slices of the hippocampus of the rat. *Eur. J. Pharmacol.* 81: 97-106.
- FROSTEL, C., FRATACCI, M.D., WAIN, J.C., JONES, R., ZAPOL, W.M., (1991). Inhaled nitric oxide: A selective pulmonary vasodilator reversing hypoxic pulmonary vasoconstriction. *Circulation*. 83: 2038-2047.
- FURCHGOTT, R.F., (1988). Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite: The basis for the proposal that the acid-activatable inhibitory factor from bovine refractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. Ed: P.M VANHOUTTE. *Vasodilatation: Vascular smooth muscle, peptides autonomic nerves and endothelium*. Raven Press New York. p: 401-414.
- FURCHGOTT, R.F., ZAWADSKI, J.V., (1980). The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature*. 288: 373.
- FURLONG, B., HENDERSON, A.H., LEWIS, M.J., SMITH, J.A., (1987). Endothelium derived relaxing factor inhibits in vitro platelet aggregation. *Brit. J. Pharmacol.* 90: 687-692.
- FURUYAMA, T., INAGAKI, S., TAKAGI, H., (1993). Localization of  $\alpha_1$  and  $\beta_1$  subunits of soluble guanylate cyclase in the rat brain. *Mol. Brain Res.* 20: 335-344.
- GARCIA-PASCUAL, A., COSTA, G., GARCIA-SACRISTAN, A., ANDERSON, K.A., (1991). Relaxation of sheep urethral muscle induced by electrical stimulation of nerves: Involvement of nitric oxide. *Acta Physiol. Scandinavia*. 141: 531-539.

- GARTHWAITE, J., BOULTON, C.L., (1995). Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev. Physiol.* 57: 683-706.
- GARTHWAITE, J., CHARLES, S.L., CHESS-WILLIAMS, R., (1988). Endothelium derived relaxing factor release an activation of NMDA receptors suggests role as intercellular messenger in the brain. *Nature.* 336: 385-388.
- GELLER, I., SEIFTER, J., (1960). The effects of meprobamate, d-amphetamine and promazine on experimentally-induced conflict in the rat. *Psychopharmacologia.* 1: 482-492.
- GIBALDI, M., (1993). What is nitric oxide and why are so many people studying it? *J. Clin. Pharmacol.* 33: 488-496.
- GRANGER, D.L., HIBBS, J.B., BRODNIX, L.M., (1991). Urinary nitrite excretion in relaxation to murine macrophage activation. *J. Immunol.* 146: 1294-1302.
- GROSS, S.S., LEVI, R., (1992). *J. Biol. Chem.* 267: 25722-25729.
- HANBAUER, I., WINK, D., OSAWA, Y., (1992). Role of nitric oxide in NMDA evoked release from [<sup>3</sup>H]-dopamine striatal slices. *Neuroreport.* 3: 409-412.
- HANDLEY, S.L., Mc. BLANE, J.W., (1993). Serotonin mechanisms in animal models of anxiety. *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 26: 1-13.
- HANDLEY, S., L., MITHANIS, S., (1984). Effect of  $\alpha_2$ -adrenoceptor agonists and antagonists in a maze exploration model of fear motivated behavior. *Naun. Schm. Arch. Pharmacol.* 327: 1-5.
- HARRISON, D.G., ARMSTRONG, M.L., FEIMAN, P.C., HEISTED, D.D., (1987). Restoration of endothelium dependent relaxation by dietary treatment of atherosclerosis. *J. Clin. Invest.* 80: 1808-1811.
- HECKER, M., SESSA, W.C., MITCHELL, J.A., ANGGARD, E.F., VANE, J.R., (1990). The metabolism of L-arginine and its significance for the biosynthesis endothelium derived relaxing factor: Cultured endothelial cells recycle to L-arginine. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 87: 8612.
- HENINGER, G., (1990). A biologic perspective on comorbidity of major depressive disorder and panic disorder. Maser JD, Cloninger CR. (Eds): *Comorbidity of mood and anxiety disorders.* American Psychiatric Press Washington D.C. p: 381-401.
- HENINGER, G.R., CHARNEY, D.S., STERNBERG, D.E., (1984). Serotonergic function in depression. *Arch. Gen. Psychiatry.* 41: 398-402.
- HENN, F.A., Mc KINNEY, W.T., (1987). *Psychopharmacology.* The third generation of progress. (Ed): H.Y. Meltzer. Raven Press. New York. p: 687.
- HIBBS, J.B., TAINOR, R.R., VAVRIN, Z., RACHLIN, E.M., (1988). Nitric oxide: A cytotoxic activated macrophage effector molecule. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 157: 87-94.
- HOFFMAN, R.A., LANGREHR, J.M., BILLIAR, T.R., CURRON, R.D., SIMMONS, R.L., (1990). Alloantigen-induced activation of rat splenocytes is regulated by the oxidative metabolism of L-arginine. *J. Immunol.* 145: 2220-2226.
- IGNARRO, L.J., BUSH, P.A., BUGA, G.M., WOOD, K.S., FUKOTO, J.M., RAJFER, J.M., (1990). Nitric oxide and cyclic GMP formation upon electrical field stimulation cause relaxation of corpus cavernosum smooth muscle. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 170: 843.
- IGNARRO, L.J., BYRNS, R.E., WOOD, K.S., (1988). Biochemical and pharmacological properties of endothelium derived relaxing factor and its similarity to nitric oxide radical. (Ed): P.M. Vanhoutte. *Vasodilation: Vascular smooth muscle.* Raven Press. New York. p: 427-436.
- ITO, M., (1989). Long term depression. *Annu Rev. Neurosci.* 12: 85-102.
- JANOWSKY, D.S., EL-YOUSEF, M.K., DAVIS, J.M., (1972). A cholinergic adrenergic hypothesis of mania and depression. *Lancet.* 2: 623-635.
- JANOWSKY, D.S., GOLDEN, R.N., RAPAPORT, M., (1988). Neurochemistry of depression and mania. In: *Depression and Mania* (Eds): Georgotas A, Cancro R. New York. p: 244-264.

- JANOWSKY, D.S., RISCH, S.C., (1987). Role of acetylcholine mechanisms in the affective disorders. In: *Psychopharmacology. The third generation. Progress* (Ed): Meltzer HY. Raven Press, New York.
- JIMERSON, D.C., (1987). Role of dopamin mechanisms in the affective disorders. In: *Psychopharmacology. The third generation progress* (Ed): Meltzer HY. Raven Press. New York.
- JOHNS, R.A., (1991). EDRF/Nitric oxide: The endogenous nitrovasodilator and a new cellular messenger. *Anesthesiology*. 75: 927-931.
- KAHN, R.A., PANAH, M., WEINBERGER, J., (1997). Modulation of ischemic excitatory neurotransmitter and  $\gamma$ -aminobutyric acid release during global temporary cerebral ischemia by selective neuronal nitric oxide synthase inhibition. *Anesth. Analg.* 84: 997-1003.
- KAHN, R.S., VAN PRAAG, H.M., WETZLER, S., (1988). Serotonin and anxiety revisited. *Biol. Psychiatry*. 23: 189-208.
- KANDEL, E.R., SCHWARTZ, J.H., (1991). Directly gated transmission at central synapses. *Principles of Natural Science* New York. p:153-173.
- KAPLAN, H.I., SADOCK, B.J., (1991). *Synopsis of Psychiatry*, the 6. generation of progress.(Eds): Williams and Wilkins. Baltimore. p: 366-375.
- KENTON, M., WARD, S.M., (1992). Nitric oxide as a mediator of a nonadrenergic and noncholinergic neurotransmission. *Amer. Physiol. Soc. G*: 379-391.
- KILTZ, C.D., COMMISSARIS, R.L., CORDON, J.J., (1982). Lack of central 5-hydroxytryptamine influence on the anticonflict activity of diazepam. *Psychopharmacology*. 78: 156-164.
- KLERMAN, G.L., (1988). Depression and related disorders of mood. (Ed): Nicholi A.M. *The New Harward Guide to Psychiatry*. Harward University Press. p: 310-311.
- KNOWLES, R.G., MONCADA, S., (1992). Nitric oxide as a signal in blood vessels. Second messenger generation and destruction. *TIPS*. 17: 399-402.
- KNOWLES, R.G., MONCADA, S., (1994). Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem. J.* 298: 249-258.
- KNOWLES, R.G., PALACIOS, M., PALMER, R.M., MONCADA, S., (1989). Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: A transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proc. Nat. Acad. Sci.* 86: 5159-5162.
- KRÖNCKE, K.D., BRENNER, H.H., RODRIGUEZ, M.L., ETZKORN, K., NOACK, E.A., KOLB, H., KOLB-BACHOFEN, V., (1993). Pancreatic islet cells are highly susceptible towards the cytotoxic effects of chemically generated nitric oxide. *Biochem. Biophys. Acta.* 1182: 221-229.
- LEI, S.Z., PAN, Z.H., AGGARWAL, S.K., (1992). Effect of nitric oxide production on the redox modulatory side of the NMDA receptor channel complex. *Neuron*. 8: 1087-1099.
- LERNER-NATOLI, M., RONDOUIN, G., BACK, F., BOCKERT, J., (1992). Chronic nitric oxide synthase inhibition fails to protect hippocampal neurons against NMDA toxicity. *Neuroreport*. 3: 1109-1112.
- LINDER, L., KIOWSKI, W., BUHLER, F.R., LUSCHER, T.F., (1990). Indirect evidence for release of endothelium derived relaxing factor in human forearm circulation in vivo: Blunted response in essential hypertension. *Circulation*. 81: 1762-1767.
- LJUNGBERG, T., UNDERSTEDT, U., (1976). Automatic registration of behavior related to dopamine and noradrenaline transmission. *Eur. J. Pharmacol.* 36: 181-188.
- LOIACONO, R.E., BEART, P.M., (1992). Hippocampal lesions induced by micro injection of the nitric oxide donor nitroprusside. *Eur. J. Pharmacol.* 216: 331-333.
- LONART, G., WANG, J., JOHNSON, K.M., (1992). Nitric oxide induces neurotransmitter release from hippocampal slices. *Eur. J. Pharmacol.* 220: 271-272.
- LESSE, S., (1982). The relationship of anxiety to depression. *Am. J. Psychotherapy*. 36: 332-348.

- MAC KENZIE, G.M., ROSE, S., BLAND-WARD, P.A., MOORE, P.K., JENNER, P., MARSDEN, C.D., (1994). Time course of inhibition brain nitric oxide synthase by 7-nitro indazole. *Neuroreport*. 5: 1993-1996.
- MANZONI, O., BOCKAERT, J., (1993). Nitric oxide synthase activity endogenously modulates NMDA receptors. *J. Neurochem.* 61: 368-370.
- MAYER, B., BRUNNER, F., SCHIMIDT, K., (1993). Inhibition of nitric oxide synthesis by methylene blue. *Biochem. Pharmacol.* 45(2): 367-374.
- Mc NAMARA, M.G., KELLY, J.P., LEONARD, B.F., (1995). Some behavioural and neurochemical aspects of subacute ( $\pm$ ) 3,4-methylene -dioxymethamphetamine administration in rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior.* 52(3): 479-484.
- MELLER, S.T., PECHMAN, P.S., GEBHART, G.F., MAYES, T.J., (1992). Nitric oxide mediates the thermal hyperalgesia produced in a model of neuropathic pain in the rat. *Neuroscience.* 50: 7-10.
- MERRILL, J.E., IGNARRO, L.J., SHERMAN, M.P., MELINEK, J., LANE, T.E., (1993). Microglial cell cytotoxicity of oligodendrocytes is mediated through nitric oxide. *J Immunol.* 151: 2132-2141.
- MILLER, K.J., HOFFMAN, B.J., (1994). Adenosine A<sub>3</sub> receptors regulate serotonin transport via nitric oxide and cGMP. *J. Biol. Chem.* 269(44): 27351-27356.
- MIKI, N., KAWABE, Y., KURIYAMA, K., (1977). Activation of cerebral guanylate cyclase by nitric oxide. *Biochem. Res. Commun.* 75: 851-856.
- MONCADA, S., PALMER, R.M., HIGGS E.A., (1991). Nitric oxide: Physiology, pathophysiology and pharmacology. *Pharmacol. Rev.* 43: 109-142.
- MONROE, S.M., (1990). Psychosocial factors in anxiety and depression. Maser JD, Cloninger CR. (Eds): *Comorbidity of Mood and Anxiety Disorders*. American Psychiatric Press. Washington DC. p: 463-497.
- MONTAGUE, P.R., GANCAICO, C.D., WINN, M.J., MARCHASE, R.B., FRIEDLANDER, M.J., (1994). Role of NO production in NMDA receptor mediated neurotransmitter release in cerebral cortex. *Science.* 263: 973-977.
- MONTGOMERY, K.C., (1958). The relation between fear induced by novel stimulation and exploratory behavior. *J.Comp. Psychol.* 48: 254-260.
- MOORE, P.K., BABBEDGE, R.C., WALLACE, P., GAFFEN, Z.A., HART, S.L., (1993b). 7-Nitro indazole, an inhibitor of nitric oxide synthase, exhibits antinociceptive activity in the mouse without increasing blood pressure. *Brith. J. Pharmacol.* 108: 296-297.
- MOORE, P.K., WALLACE, P., GAFFEN, Z., HART, S.L., BABBEDGE, R.C., (1993a). Characterization of the novel nitric oxide synthase inhibitor 7-nitro indazole and related indazoles: antinociceptive and cardiovascular effects. *Brith. J. Pharmacol.* 110: 219-224.
- NATHAN, C., (1992). Nitric oxide as a secretory product of mammalian cells. *FASEB. J.* 6: 3051-3064.
- NAVA, E., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1991). Inhibition of nitric oxide synthesis in septic shock: how much is beneficial? *Lancet.* 338: 1155-1157.
- NICHOLS, K., KRANTIS, A., STAINES, W., (1992). Histochemical localization of nitric oxide synthesizing neurons and vascular sites in the guinea pig intestine. *Neurosci.* 51: 791.
- NORMAN, T.R., JUDD, F.K., BURROWS, G.D., (1990). Catecholamines and anxiety. *Handbook of Anxiety.* (Eds): Burrows GD, Roth M, Noyes RJ. Elsevier Science Publishers, Amsterdam p: 223-241.
- OKADA, D., (1992). Two pathways of cGMP production through glutamate receptor mediated nitric oxide synthesis. *J. Neurochem.* 59: 1203-1210.
- OLIVEIRA, C.L., DEL BEL, E.A., GUIMARAES, F.S., (1997). Effects of L-NOARG on plus-maze performance in rats. *Pharmacol. Biochem. Behav.* Jan. 56(1): 55-59.

- PALACIOS, M., KNOWLES, R.G., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1989). Nitric oxide from L-arginine stimulates the soluble guanylate cyclase in adrenal glands. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 163: 802-809.
- PALMER, R.M.J., REES, D.D., ASHTON, D.S., MONCADA, S., (1988). L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in endothelium dependent relaxation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 153: 1251
- PANZA, J.A., QMYUMI, A.A., BRUSH, J.E., EBSTEIN, S.E., (1990). Abnormal endothelium dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N. Engl. J. Med.* 323: 22-27.
- PEARCE, W.J., REBUFFEL, A.M.R., LEE, J., AUBINEAV, P., IGNARRO, L., SEYLAZ, J., (1990). Effects of methylene blue on hypoxic cerebral vasodilatation in the rabbit. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 254(2): 616-655.
- PELLOW, S., CHOPIN, P., FILE, S.E., BRILEY, M., (1985). Validation of open-closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J. Neurosci. Meth.* 14: 149-167.
- POGUN, S.K., BAUMANN, M.H., KUCHAR, M.J., (1994). Nitric oxide inhibits (<sup>3</sup>H) dopamine uptake. *Brain. Research.* 641: 83-91.
- POHL, U., BUSSE, R., KUON, E., BASSENGE, E., (1986). Pulsatile perfusion stimulates the release of endothelial autocooids. *J. Appl. Cardiol.* 1:215.
- PORSOLT, R.D., (1981). Behavioral despair. (Eds): Enna SJ, Malick JB, Richelson E. *Neurochemical, behavioral and clinical perspectives.* Raven Press. New York. p: 121-139.
- PORSOLT, R.D., (1985). Animal models of affective disorders. (Eds): Dewhurst WG, Baker GB. *Pharmacotherapy of affective disorders.* p: 108-150.
- PORSOLT, R.D., (1986). Pharmacotherapy of affective disorders. (Eds): Dewhurst WG, Baker GB. *Theory and Practice.* p: 108.
- PORSOLT, R.D., ANTON, G., BLAVET, N., JALFRE, M., (1978a). Behavioral despair in rats a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol.* 47: 379-391.
- PORSOLT, R.D., BERTIN, A., BLAVET, N., DENIEL, M., JALFRE, M., (1979). Immobility induced by forced swimming in rats. Effect of agents which modify central catecholamine and serotonin activity. *Eur. J. Pharmacol.* 57: 201-210.
- PORSOLT, R.D., BERTIN, A., JALFRE, M., (1977a). Behavioral despair in mice: a primary screening test for antidepressants. *Arch. Int. Pharmacol. Ther.* 229: 327-336.
- PORSOLT, R.D., BERTIN, A., JALFRE, M., (1978b). Behavioral despair in rats and mice: strain differences and the effects of imipramine. *Eur. J. Pharmacol.* 51: 291-294.
- PORSOLT, R.D., LE PICHON, M., JALFRE, M., (1977b). Depression a new animal model sensitive to antidepressant treatment. *Nature.* 266: 730-732.
- PRADO, R., WATSON, B.D., KULUZ, J., DIETRICH, W.B., (1992). Endothelium derived nitric oxide synthase inhibition effects on cerebral blood flow, pial artery diameter and vascular morphology in rats. *Stroke.* 23: 1118-1124.
- PRAST, H., PHILIPPU, A., (1992). Nitric oxide releases acetylcholine in the basal forebrain. *Eur. J. Pharmacol.* 216: 139-140.
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1987a). The role of nitric oxide and cGMP in platelet inhibition to vascular endothelium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 148: 1482-1489.
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1987b). The antiaggregating properties of vascular endothelium interactions between prostacyclin and NO. *Brith. J. Pharmacol.* 92: 639-646.
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1987c). Comparative pharmacology of endothelium derived relaxing factor, nitric oxide and prostacyclin in platelets. *Brith. J. Pharmacol.* 92: 181-187.

- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M.J., MONCADA, S., (1990). Glucocorticoids inhibit the expression of an inducible, but not the constitutive, nitric oxide synthase in vascular endothelial cells. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 87: 10043-10047.
- REDMOND, D.E., (1987). Studies of the nucleus locus coeruleus in monkeys and hypotheses for neuropsychopharmacology. (Ed): Meltzer HY. *Psychopharmacology.* The third generation of progress de Rawen, New York. p: 967-975.
- REDMOND, D.E., HUANG, Y.H., (1976). Behavioral effects of stimulation of nucleus locus coeruleus in the stump-tailed monkey. *Brain Research.* 116: 502-510.
- REDMOND, D.E., HUANG, Y.H., (1979). New evidence for a locus coeruleus-norepinephrine connection with anxiety. *Life Science.* 25: 2149-2162.
- RETTORI, V., BELOVA, N., DEES, W.L., NYBERG, C.L., GIMENO, M., Mc CANN, S.M., (1993). Role of nitric oxide in the control of luteinizing hormone releasing in vivo and in vitro. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 90: 10130-10134.
- RISCH, S.C., KALIN, N.H., JANOWSKY, D.S., (1981). Cholinergic challenges in the affective illness. *Clin. Psychopharmacol.* 1: 186-192.
- ROGERS, N.E., IGNARRO, L.J., (1992). *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 189: 242-249.
- ROSENBAUM, W.I., (1992). Endothelium derived relaxing factor in brain blood vessels is not nitric oxide. *Stroke.* 23: 1527-1532.
- ROY, A., EVERETT, D., PICKAR, D., (1987). Platelet tritiated imipramine binding and serotonin uptake in depressed patients and controls: Relationship to plasma cortisol levels before and after dexamethasone administration. *Arch. Gen. Psychiatry.* 44: 320-327.
- SALVEMINI, D., MISKO, T.P., MASFERRER, J.L., SEIBERT, K., CURRIE, M.G., NEEDLEMAN, P., (1993). Nitric oxide activates cyclooxygenase enzymes. *Pro. Nat. Acad. Sci. USA.* 90: 7240-7244.
- SANGHERA, M.K., Mc MILLEN, B.A., GERMAN, D.C., (1983). Buspirone, a nonbenzodiazepine anxiolytic increases locus coeruleus noradrenergic neuronal activity. *Eur. J. Pharmacol.* 86: 107-110.
- SELIGMAN, M.E.P., (1975). *Helplessness.* Freeman, San Fransisco.
- SCHAFFNER, A., SCHAFFNER, T., (1987). Glucocorticoid induced impairment macrophage antimicrobial activity mechanisms. *Rev. Infect. Dis.* 9(5): 620-629.
- SCHUMAN, E.M., MADISON, D.V., (1994). Nitric oxide and synaptic function. *Annu. Rev. Neurosci.* 17: 153-183.
- SHI, B., HEAVNER, J.E., (1997). Modification of bupivacaine toxicity by nonselective versus neuronal nitric oxide synthesis inhibition. *Anesth. Analg.* 84: 804-809.
- SMITH, G.K., DUCH, D.S., EDELSTEIN, M.P., BIGHAM, E.C., (1992). *J. Biol. Chem.* 267: 55599-55607.
- SMITH, S.E., MAN, C.M., YIP, P.K., TANG, E., CHAPMAN, A.G., MELDRUM, B.S., (1996). Anticonvulsant effects of 7-nitro indazole in rodents, with reflex epilepsy may result from L-arginine accumulation or a reduction in nitric oxide or L-citrulline formation. *Brith. J. of Pharmacology.* 119: 165-173.
- SNYDER, S.H., (1992). Nitric oxide: First in a new class of neurotransmitter? *Science.* 257: 494-496.
- SOUTHAM, E., GARTHWAITE, J., (1993). The nitric oxide cGMP signaling pathway in the brain. *Neuropharmacology.* 32: 1267-1277.
- SPIESS, P.E., DION, S.B., ZVARA, P., MERLIN, S.C., CHAN, P.T.K., BROCK, G.B., (1996). 7-Nitro indazole: A selective inhibitor of penile erection: an in vivo study in a rat animal model. *Urology.* 47: 93-96.
- STEPHARD, R.A., BUXTON, D.A., BROADHURST, P.L., (1982). Drug interactions do not support reduction in serotonin turnover as the mechanisms of action of benzodiazepines. *Neuropharmacology.* 21: 1027-1032.



- STAVRAKAKI, C., VARGO, B., (1986). The relationship of anxiety and depression: a review of the literature. *Bith. J. Psychiatry*. 149: 7-16.
- STUEHR, D.J., FASEHUN, O.A., KWON, N.S., GROSS, S.S., GONZALES, J.A., LEVI, R., NATHAN, C.F., (1991). *FASEB. J.* 5: 98-103.
- SULSER, F., (1987). Serotonin-norepinephrine receptor interactions in the brain: Implications for the pharmacology and pathophysiology of affective disorders. *J. Clin. Psychiatry*. 48: 12-18.
- TALLMAN, J.F., GALLAGHER, D.W., (1978). The GABA-ergic system: A locus of benzodiazepine action. *Ann. Rev. Neurosci.* 8: 21.
- TAYEH, M.A., MARLETTA, M.A., (1989). *J. Biol. Chem.* 264: 19654-19658.
- TAYLOR, G.S., BYWATER, R.A.R., (1989). Novel autonomic neurotransmitter and intestinal function. *Pharmacology and Therapeutic*. 40: 401.
- THOMPSON, T.L., THOMAS, M.R., (1986). Depression medical interface with psychiatry and treatment advances. *J. Clin. Psychiatry*. 47: 31-36.
- TREIT, D., MENARD, J., ROYAN, C., (1993). *Pharmacol. Biochem. Behav.* 44: 463-469.
- TRULLAS, R., SKOLNICK, P., (1990). Functional antagonists at the NMDA receptor complex exhibit antidepressant actions. *Eur. J. Pharmacol.* 185: 1-10.
- VALLANCE, P., LEONE, A., CALVER, A., COLLIER, J., MONCADA, S., (1992). *Lancet*. 339: 572-575.
- VANHOUTTE, P.M., SHIMOKAWA, H., (1989). Endothelium-derived relaxing factor and coronary vasospasm. *Circulation*. 80: 1-9.
- VAN PRAAG, H.M., KAHN, R., ASNIS, G.M., (1987). Denosologization of biological psychiatry or the specificity of 5-HT disturbances in psychiatric disorders. *J. Affect. Disorders*. 13: 1-8.
- VINCENT, S.R., KIMURA, H., (1992). Histochemical mapping of nitric oxide synthase in the rat brain. *Neuroscience*. 46: 744-784.
- VOLKE, V., KOKS, S., VASAR, E., BOURIN, M., BRADWEJN, J., MANNISTO, P.T., (1995). Inhibition of nitric oxide synthase causes anxiolytic-like behaviour in an elevated plus-maze. *Neuroreport*. Jul. 10, 6(10): 1413-1416.
- VOLKE, V., SOOSAAR, A., KOKS, S., BOURIN, M., MANNISTO, P.T., VASAR, E., (1997). 7-Nitro indazole, a nitric oxide synthase inhibitor, has anxiolytic-like properties in exploratory models of anxiety. *Psychopharmacology*. (Berl.) Jun. 131(4): 399-405.
- VOGEL, J.R., BEER, B., CLODY, D.E., (1971). A simple and reliable conflict procedure for testing antianxiety agents. *Psychopharmacology*. 21: 1-7.
- WATSON, D., KENDALL, P.C., (1989). Understanding anxiety and depression: Their relation to negative and positive affective states. *Anxiety and Depression: Distinctive and Overlapping Features*. Academic Press Inc. San Diego CA. p: 3-26.
- WATSON, S.J., KHACHATURIAN, H., LEWIS, M.E., (1986). Chemical neuroanatomy as a basis for biological psychiatry. (Eds): Berger PA, Brodie HK. *American Handbook of Psychiatry*. New York.
- WEINSTEIN, Y., CHAMBERS, D.A., BOURNE, H.R., MELMON, K.L., (1974). cGMP stimulates lymphocyte nucleic acid synthesis. *Nature*. 251: 352-353.
- WIKLUND, N.P., LEONE, A.M., GUSTAFSONN, L.E., MONCADA, S., (1993). Release of nitric oxide evoked by nerve stimulation in guinea pig intestine. *Neuroscience*. 53B: 607.
- WILLNER, P., (1985). Dopamin and depression: A review of recent evidence. I. Empirical studies. *Brain Research Rev.* 6: 211.
- WINGARD, L.B., BRODY, T.M., LAMER, J., SCHWARTZ, A., (1991). A human pharmacology, molecular to clinical. *Wolfe London*. 353-359.

- YAMAMATO, S., GOLANOV, E.V., BERGER, S.B., REIS, D.J., (1992). Inhibition of nitric oxide synthesis increases focal ischemic infarction in rat. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 12: 717-726.
- ZAGVAZDIN, Y., SANCESARIO, G., WANG, Y-X., SHARE, L., FITZGERALD, M.E.C., REINER, A., (1996). Evidence from its cardiovascular effects that 7-nitro indazole may inhibit endothelial nitric oxide synthase in vivo. *European Journal of Pharmacology.* 303: 61-69.
- ZHU, XZ., LUO, L.G., (1992). Effect of nitroprusside (nitric oxide) on endogenous dopamine release from rat striatal slices. *J. Neurochem.* 59: 932-935.



## ÖZGEÇMİŞ

- 1972 İzmit'te doğdu.
- 1978-1983 İlkokulu Fevzi Çakmak İlkokulunda 1. olarak bitirdi.
- 1983-1986 Ortaokulu İzmit Ortaokulunda okudu.
- 1986-1989 Lise öğrenimini İzmit Lisesinde tamamladı.
- 1990-1994 Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesini 6. olarak bitirdi.
- 1995 KOÜ. Tıp Fak. Farmakoloji A.B.D.'da Yüksek Lisans programına başladı.
- 1998 Halen KOÜ. Tıp Fak. Farmakoloji A.B.D.'da Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktadır.

**T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ**