TÜRKİYE CUMHURİYETİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA MK-801 İLE OLUŞTURULMUŞ ŞİZOFRENİ MODELİNDE NİKOTİNİK ALFA-7 RESEPTÖRLERİNİN ŞİZOFRENİNİN POZİTİF, NEGATİF VE KOGNİTİF SEMPTOMLARI ÜZERİNE OLASI ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

GÖKHAN ÜNAL
DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu

2017 - İSTANBUL

TÜRKİYE CUMHURİYETİ

MARMARA ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SIÇANLARDA MK-801 İLE OLUŞTURULMUŞ ŞİZOFRENİ MODELİNDE NİKOTİNİK ALFA-7 RESEPTÖRLERİNİN ŞİZOFRENİNİN POZİTİF, NEGATİF VE KOGNİTİF SEMPTOMLARI ÜZERİNE OLASI ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

GÖKHAN ÜNAL
DOKTORA TEZİ

FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu

2017 - İSTANBUL

TEZ ONAYI

Kurum : Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Programın seviyesi : Doktora

Anabilim Dalı : Farmakoloji (Ecz)

Tez Sahibi : Gökhan Ünal

Tez Başlığı : Sıçanlarda MK-801 ile Oluşturulmuş Şizofreni Modelinde Nikotinik Alfa-7 Reseptörlerinin Şizofreninin Pozitif, Negatif ve Kognitif Semptomları Üzerine Olası Etkilerinin İncelenmesi

Sınav Yeri : M.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı

Sınav Tarihi : 02.11.2017

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

Danışman (Unvan, Adı, Soyadı)	**Kurumu**	**İmza**
Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU	M.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	F. Arcıoğlu.
Sınav Jüri Üyeleri (Unvan, Adı, Soyadı)		
Prof. Dr. Levent KABASAKAL	M.Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	
Doç. Dr. Ayhan ALGÜL	S.B.Ü. Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı	
Yrd.Doç. Dr. Mesut YILDIZ	M.Ü Tıp Fakültesi Psikiyatri Anabilim Dalı	
Yrd. Doç. Dr. Gaye HAFEZ	Altınbaş Ü. Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	

Yukarıdaki jüri kararı Enstitü Yönetim Kurulu'nun 09../.11../2017 tarih ve 29 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Göksel ŞENER
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

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

Gökhan Ünal

10.10.2017



TEŞEKKÜR

Akademik hayatımın her aşamasında tecrübe, bilgi ve becerisini benimle paylaşarak desteğini hiçbir zaman esirgemeyen, çalışkanlığı, azmi ve başarısı ile her daim örnek aldığım, üzerimde sayısız emeği olan doktora tez danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu'na,

Doktora ders dönemim süresince bilgilerini paylaşan Farmakoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Levent Kabasakal, Prof. Dr. Göksel Şener ve Doç. Dr. Hatice Kübra Elçioğlu'na,

Tez çalışmamın immünohistokimyasal analizlerindeki desteklerinden dolayı Prof. Dr. Serap Şirvancı ve Cansu Kandemir'e,

Tez çalışmamın çeşitli aşamalarındaki katkılarından dolayı Doç.Dr. M. Betül Aycan Yerer ve Doç.Dr. Ahmet Cumaoğlu'na,

Doktora döneminin her aşamasında yanında olan ve manevi desteğini her zaman hissettiğim kıymetli dostum ve çalışma arkadaşım Arş. Gör. Ceren Şahin Özkartal'a

Deneysel çalışmalarım sırasında yardımlarını esirgemeyen Arş. Gör. Ayşe Nur Hazar Yavuz ve Ecz. Hacer Zortul'a,

Doktora döneminde birçok evreyi beraber yaşadığımız ve manevi desteklerini esirgemeyen Arş. Gör. Dr. Muhammet Emin Çam ve Arş. Gör. Büşra Ertaş'a,

Hayatımın her aşamasında en büyük yardımcılarım olan, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen, fedakarlıkları ile yanımda bulunan, bana bu ülkeyi ve bayrağı sevmeyi ve bu uğurda fedakarca çalışmayı öğreten ilk eğitmenlerim babam Ferudun Ünal, annem Şengül Ünal ve kardeşim Gülçin Ünal'a,

Akademik yaşantımın öncesi ve sonrasında her zaman yanımda olan, doktora sürecinin en zor anlarında desteğini bir an esirgemeyen, birlikte geçireceğimiz zamanlarda bilgisayar başında tezime çalışırken bile büyük bir sabır ve fedakarlık örneği gösteren kıymetli hayat arkadaşım Handan Ünal'a ve tez döneminde dünyaya gelerek benim için büyük bir motivasyon kaynağı olan oğlum Doruk Feridun Ünal'a,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Gökhan Ünal

İÇİNDEKİLER

Tablolar Listesi v
Şekiller Listesi vi
Resimler Listesi viii
Kısaltmalar ve Simgeler Listesi ix
1. ÖZET 1
2. SUMMARY 2
3. GİRİŞ ve AMAÇ 3
4. GENEL BİLGİLER 8
4.1. Şizofreni Epidemiyoloji 8
4.2. Şizofreni Klinik Bulguları 10
4.2.1. Pozitif semptomlar 10
4.2.2. Negatif semptomlar 11
4.2.3. Bilişsel semptomlar 12
4.2.4. Diğer semptomlar 14
4.3. Şizofreninin Mevcut Farmakolojik Tedavisi 16
4.3.1. Tipik antipsikotikler 16
4.3.2. Atipik antipsikotikler 18
4.4. Şizofreni Etiyolojisi 20
4.5. Şizofreni Nörobiyolojisi 23
4.5.1. Nöroanatomik değişiklikler 23
4.5.2. İn vivo beyin fonksiyonlarındaki değişiklikler 24
4.5.3. Beyin fizyolojisindeki değişimler 24
4.5.4. Şizofreni nörobiyolojisinde nörokimyasal değişiklikler 27
4.5.4.1. Şizofreni nörobiyolojisinde dopaminerjik sistem 27
4.5.4.2. Dopaminerjik sistem ile ilgili tedavi yaklaşımları 30
4.5.4.2.1. Dopaminerjik D1 reseptör antagonistleri 30
4.5.4.2.2. Dopaminerjik D1 reseptör agonistleri 31
4.5.4.2.3. Dopaminerjik D3 reseptör antagonistleri ve kısmi agonistleri 31
4.5.4.3. Şizofreni nörobiyolojisinde glutamaterjik sistem 31

4.5.4.4. Glutamaterjik sistem ile ilgili tedavi yaklaşımları 36
4.5.4.4.1. NMDA reseptör PAM'ları 36
4.5.4.4.2. mGluR agonistleri 36
4.5.4.4.3. AMPA/kainat reseptör antagonistleri/Ampakinler 36
4.5.4.4.4. Glisin geri alım inhibitörleri 37
4.5.4.5. Şizofreni nörobiyolojisinde GABAerjik sistem 37
4.5.4.6. Şizofreni nörobiyolojiisinde serotonerjik sistem 40
4.5.4.7. Serotonerjik sistem ile ilgili tedavi yaklaşımları 40
4.5.4.7.1. Serotonerjik 5-HT2 reseptör antagonistleri/ters agonistleri 40
4.5.4.7.2. Serotonerjik 5-HT6 reseptör antagonistleri 41
4.5.4.8. Şizofreni nörobiyolojisinde kolinerjik sistem 41
4.5.4.8.1. α7 nAChR yapısı ve fonksiyonu 45
4.5.4.8.2. Heteromerik α7 nAChR 47
4.5.4.8.3. α7 nAChR beyindeki yerleşimi 48
4.5.4.8.4. Nöronal döngülerde α7 nAChR'nin rolü 49
4.5.4.8.5. α7 nAChR - NMDA reseptörleri ve şizofreni ilişkisi 53
4.5.4.9. Kolinerjik sistem ile ilgili tedavi yaklaşımları 54
4.5.4.9.1. α7 nAChR agonistleri 54
4.5.4.9.2. α7 nAChR allosterik modülasyonu 56
4.5.4.9.3. α7 nAChR agonist ve PAM'larının klinik çalışmalardaki durumu 58
4.5.4.9.4. Muskarinik M1 reseptör agonist ve PAM'ları 59
4.5.4.9.5. AChE inhibitörleri 60
4.6. Şizofreni Farmakoterapisinde Diğer Tedavi Yaklaşımları 65
4.6.1. Antiinflamatuvar ilaçlar 65
4.6.2. Glikojen sentaz kinaz-3 inhibitörleri 66
4.6.3. Fosfodiesteraz inhibitörleri 68
4.7. Deneysel Şizofreni Modelleri 69
4.7.1. Nörogelişimsel şizofreni modelleri 69
4.7.2. Farmakolojik şizofreni modelleri 72
4.7.3. Lezyon modelleri 74
4.7.4. Genetik modeller 75
5. GEREÇ ve YÖNTEMLER **77**

5.1. Kimyasal Maddeler 77
5.2. Deney Hayvanları 77
5.3. Deney Grupları 78
5.4. Davranış Deneyleri 79
5.4.1. Ön uyaran aracılı inhibisyon testi 79
5.4.2. Yeni nesne tanıma testi 82
5.4.3. Sosyal etkileşim testi 83
5.4.4. Morris'in su tankı testi 84
5.4.5. Dekapitasyon ve fiksasyon 85
5.5. Moleküler Analizler 86
5.5.1. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu 86
5.5.2. Western blot analizi 88
5.5.3. İmmünohistokimyal analizler 90
5.6. İstatistiksel Analizler 90
6. BULGULAR 91
6.1. Deney Hayvanlarının Ağırlıkları 91
6.2. Davranış Deneyleri ile İlgili Bulgular 91
6.2.1. Ön uyaran aracılı inhibisyon testi 91
6.2.2. Yeni nesne tanıma testi 93
6.2.3. Sosyal etkileşim testi 95
6.2.4. Morris'in su tankı testi 98
6.3. Moleküler Analiz Bulguları 105
6.3.1. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu 105
6.3.2. Western blot analizi 107
6.3.3. İmmünohistokimyasal analizler 108
7. TARTIŞMA ve SONUÇ 111
8. KAYNAKLAR 123
9. ÖZGEÇMİŞ 160
Ek 1: Etik kurul onay formu

Tablolar Listesi

Tablo 1. Tipik ve atipik antipsikotikler 17
Tablo 2. Şizofreni gelişim riski açısından etiyolojik faktörler 23
Tablo 3: Beyinde α7 nAChR dağılımı 50
Tablo 4. α7 nAChR ligandları 61
Tablo 5. Rt-PCR'de hedef genler için kullanılan primer dizileri 87
Tablo 6. Ayırıcı ve paketleyici jel karışımları 89
Tablo 7. Deney gruplarının ağırlıkları 91
Tablo 8. Çalışma bulgularının özeti 122

Şekiller Listesi

Şekil 1. DSM-5 klavuzuna göre şizofreni tanı kriterleri 15
Şekil 2. SSS'de dopaminerjik döngü 28
Şekil 3. SSS'de temel dopaminerjik yolaklar ve şizofrenideki rolleri 30
Şekil 4. SSS'de glutamt döngüsü ve glutamaterjik sinaps 33
Şekil 5. SSS'deki glutamaterjik yolaklar 34
Şekil 6. Hipokampal fonksiyon bozukluğu ve şizofreni ilişkisi 39
Şekil 7. Sinaptik aralıkta asetilkolinin döngüsü 42
Şekil 8. Kolinerjik reseptörlerin sınıflandırılması 43
Şekil 9. Homomerik ve heteromerik nAChR yapıları 44
Şekil 10. nAChR'nin SSS'de dağılımı 45
Şekil 11. α7 nAChR'nin hücre içinde etkilediği sinyal yolakları 47
Şekil 12. Heteromerik α7 nAChR yapısı 48
Şekil 13. SSS'de kolinerjik yolaklar 50
Şekil 14. α7 nAChR tip I ve tip II PAM'ların elektrofizyolojik etkileri 57
Şekil 15. A-582941'in kimyasal yapısı 62
Şekil 16. CCMI'nın kimyasal yapısı 63
Şekil 17. PNU-120596'nın kimyasal yapısı 64
Şekil 18. Deney akış şeması 79
Şekil 19. ÖUAİ testinde irkilme yanıtlarının incelenmesi 80
Şekil 20. MK-801'in ÖUAİ'de yaptığı bozukluk üzerine tedavilerin etkinliğinin değerlendirilmesi 92
Şekil 21. MK-801'in ortalama ÖUAİ'de yaptığı bozukluk üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 93
Şekil 22. Deney gruplarının YNTT'de eski ve yeni nesneler ile geçirdikleri süreler 94
Şekil 23. Ayırt edicilik katsayısında MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkilerinin incelenmesi 95
Şekil 24. Takip etme davranışında MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 96
Şekil 25. Tırmanma davranışı üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 96
Şekil 26. Koklama davranışı üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 97

Şekil 27. Kaçınma davranışında MK-801'in yaptığı artma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 97
Şekil 28. Kontrol, taşıyıcı ve MK-801 gruplarının MSTT'de platformu bulma süreleri 98
Şekil 29. Platformu bulma süresinde MK-801'in yaptığı artış üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 99
Şekil 30. Platformu bulma süresinde MK-801'in yaptığı artış üzerine kombine tadavilerin etkinliğinin incelenmesi 99
Şekil 31. MSTT'de deney gruplarının platform bulunan kadranda geçirdikleri süreler 100
Şekil 32. PVALB gen ekspresyonunda MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinkiğinin incelenmesi 105
Şekil 33. GAD1 gen ekspresyonunda MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 106
Şekil 34. CHRNA7 gen ekspresyonunda MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 107
Şekil 35. α7 nAChR protein ekspresyonunda MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 108

Resimler Listesi

Resim 1. ÖUAİ test düzeneği 80
Resim 2. YNTT'nin tanıma ve test evreleri 82
Resim 3. SET'de deney hayvanlarının davranışları 83
Resim 4: MSTT düzeneği ve yön belirteçleri 84
Resim 5. MSTT öğrenme ve bellek evrelerinde sağlıklı deney hayvanının yüzme haritaları 101
Resim 6. MSTT bellek evresinde kontrol, taşıyıcı ve MK-801 gruplarının yüzme haritaları 102
Resim 7. MSTT bellek evresinde MK-801+Klozapin, MK-801+A-582941 ve MK-801+CCMI gruplarının yüzme haritaları 103
Resim 8. MSTT bellek evresinde MK-801+PNU-120596, MK-801+A-582941+CCMI ve MK-801+A-582941+ONU-120596 gruplarının yüzme haritaları 104
Resim 9. Parvalbumin protein ekspresyonu üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 109
Resim 10. GAD67 protein ekspresyonu üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi 110

Kısaltmalar ve Simgeler Listesi

5-HT: 5-Hidroksitriptamin

α: Alfa

a/h: Ağırlık/Hacim

AMPA: A-Amino-3-Hidroksi-5-Metil-Izoksazol-4-Propiyonik Asit

AChE: Asetilkolinesteraz

$D_{1\text{-}5}$: Dopaminerjik reseptörler

DISC-1: Şizofrenide bozulan protein-1 (Disrupted in schizophrenia-1)

DSM: Ruh Hastalıkları İçin Tanı ve İstatistik Klavuzu

DMSO: Dimetil Sülfoksit

fMRI: Fonksiyonel Manyetik Rezonans Görüntüleme

GABA: Gamma Amino Bütirik Asit

GAD: Glutamik Asit Dekarboksilaz

GSK-3: Glikojen Sentaz Kinaz-3

GG: Gebelik günü

h/h: Hacim/Hacim

i.p. : İntraperitoneal

LPS: Lipopolisakkarit

mGluR: Metabotropik Glutamat Reseptörleri

MAM: Metilazoksimetanol Asetat

MLA: Metillikakonitin

MRI: Manyetik Rezonans Görüntüleme

MSTT: Morris'in Su Tankı Testi

nAChR: Nikotinik Asetilkolin Reseptörleri

NRG-1: Nöregulin-1

NMDA: N-Metil-D-Aspartat

ÖUAİ: Ön Uyaran Aracılı İnhibisyonu

FDE: Fosfodiesteraz

PET: Pozitron Emisyon Tomografisi

Poly I:C: Poliinosinik:Polisitidilik Asid

PCP: Fensiklidin

Rt-PCR: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (Real Time Polimerase Chain Reaction)

s.c. : Subkütan

SET: Sosyal Etkileşim Testi

SDS: Sodyum Dodesil Sülfat

SSS: Santral Sinir Sistemi

TEMED: Tetrametiletilendiamin

VTA: Ventral Tegmental Alan

YNTT: Yeni Nesne Tanıma Testi

Sıçanlarda MK-801 ile Oluşturulmuş Şizofreni Modelinde Nikotinik Alfa 7 Reseptörlerinin Şizofreninin Pozitif, Negatif ve Kognitif Semptomları Üzerine Olası Etkilerinin İncelenmesi

Öğrencinin Adı: Gökhan Ünal
Danışmanı: Prof. Dr. Feyza Arıcıoğlu
Anabilim Dalı: Farmakoloji (Ecz)

1. ÖZET

Amaç: Şizofreni hastalarının beyin dokularında α7 nikotinik asetilkolin reseptör (nAChR) ekspresyonunda azalma ve bu reseptörü kodlayan genlerde polimorfizm gösterilmesi üzerine bu reseptörler şizofreni tedavisi için hedef haline gelmiştir. Nörotransmisyonu direk artıran α7 nAChR agonist veya dolaylı olarak artıran tip I ve tip II pozitif allosterik modülatör (PAM) moleküller geliştirilmiştir. Çalışmamızda sıçanlarda MK-801 ile indüklenen şizofreni modelinde α7 nAChR agonist (A-582941), tip I (CCMI) ve tip II (PNU-120596) PAM'ların hem tek başlarına hem birlikte verildiklerinde meydana getirdikleri davranışsal ve moleküler değişikliklerin karşılaştırmalı olarak incelenmesi hedeflendi.

Gereç ve Yöntem: Erkek Wistar Hannover sıçanlarda MK-801 ile şizofreni modeli oluşturuldu ve ön uyaran aracılı inhibisyon (ÖUAİ) testi uygulandı. Bu hayvanlarda bir hafta arınma sürecinin ardından 10 gün süreyle tüm tedaviler uygulandı. Davranışsal olarak yeni nesne tanıma testi (YNTT), sosyal etkileşim testi (SET) ve Morris'in su tankı testi (MSTT) yürütüldü. Davranış deneylerinden sonra hayvanlar dekapite edildi, beyin dokularında moleküler ve histolojik analizler yapıldı.

Bulgular: Çalışmamızda MK-801'in sıçanlarda ÖUAİ'yi, sosyal etkileşimi, YNTT ve MSTT'de bilişsel performansı azalttığı görüldü. Uygulanan tedavilerden hiçbiri ÖUAİ testinde etkili bulunamazken, A-582941 ve PNU-120596'nın YNTT'de kognitif bozulmayı baskıladı. Tüm maddeler SET ve MSTT'de etkili bulundu.

Sonuçlar: α7 nAChR agonist ve PAM'lar davranışsal ve moleküler analizlerde birbirlerine göre farklı üstünlükler sağlamışlardır. Bu sonuçlar α7 nAChR agonist ve PAM'larının şizofreninin farklı semptomları için ümit vadettiklerini göstermektedir.

Anahtar Sözcükler: A-582941, CCMI, PNU-120596, MK-801, Şizofreni

Investigating The Effect of Alpha 7 Nicotinic Receptors on Positive, Negative and Cognitive Symptoms of Schizophrenia in MK-801 Induced Schizophrenia Model in Rats

Candidate: Gokhan Unal
Supervisor: Prof. Dr. Feyza Aricioglu
Department: Pharmacology (Pharmacy)

2. SUMMARY

Aim: α7 nicotinic acetylcholine receptors (nAChR) has become an important target for schizophrenia after demontrating deficits of α7 nAChR in postmortem brains and polymorphisms on encoding gene of these receptors. α7 nAChR agonists, type I and type II possitive allosteric modulators (PAMs) were developed either to directly stimulate or indirectly facilitate neurotransmission. The aim of the present study was to comparatively investigate the effects of partial agonist (A-582941), type I (CCMI) and type II (PNU-120596) PAMs and their combinations in subchronic MK-801 models of schizophrenia in rats.

Material and Methods: Male Wistar Hannover rats were used to induce MK-801 schizophrenia model and prepulse inhibition (PPI) test was applied. After a week washout period, all treatments were administered for 10 days. Novel object recognition (NOR), social interaction (SI) and Morris's water maze (MWM) tests were conducted as behavioral tests. After behavioural tests all animals were decapitated, molecular and histological analyses were performed in the brain tissues.

Results: In this study it has been demonstrated that MK-801 disrupted PPI and decreased cognitive performance in SI, NOR and MWM tests. While any treatment could improve PPI, A-582941 and PNU-120596 are attenuated cognitive deficits in NOR test. All treatments were found to be effective in SI and MWM tests.

Conclusion: α7 nAChR agonist and PAMs had provided different adventages in behavioural and molecular analyses. These results indicates that α7 nAChR agonist and PAMs might be promising for different symptoms of schizophrenia.

Keywords: A-582941, CCMI, PNU-120596, MK-801, Schizophrenia

3. GİRİŞ VE AMAÇ

Şizofreni Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre prevalansı yaklaşık %1 olan ve psikiyatrik hastalıklar arasında önemli yer tutan kompleks ve yıkıcı bir hastalıktır. Bu hastalığı oluşturan semptomlar pozitif, negatif ve bilişsel (kognitif) olmak üzere üç grupta toplanmaktadır. Pozitif semptomlar şizofreni hastalarına özgü olarak ortaya çıkan halüsinasyon, delüzyon, hezeyan ve dezorganize konuşma iken, negatif semptomlar duygudurumda küntlük, konuşmada fakirlik, motivasyon kaybı, anhedoni ve sosyal etkileşimde azalmadır. Bunların yanı sıra bu hastalarda bilişsel semptomlar olarak öğrenme bellek ve dikkat gibi fonksiyonlarda azalmalar görülmektedir. Bu hastalığın tedavisinde kullanılan ilaçlardan tipik antipsikotikler temel olarak güçlü dopaminerjik reseptör blokajına bağlı etki gösterirken, nispeten daha yeni ilaçlar olan atipik antipsikotikler ise dopaminerjik reseptör blokajının yanında diğer reseptörler üzerinden de (özellikle serotonerjik) etki göstermektedirler. Şizofreninin tedavisinde kullanılan mevcut ilaçlar hastalığın pozitif semptomlarında belirgin bir düzelme sağlasalar bile negatif ve bilişsel semptomlarda yeterince etki gösterememektedirler. Bunun yanında tipik antipsikotiklerin kullanımı ile akatizi, tardif diskinezi gibi ekstrapiramidal yan etkiler ve atipik antipsikotiklerin kullanımı ile de agranülositoz, metabolik sendrom gibi önemli yan etkiler ortaya çıkmaktadır. Şizofrenide mevcut durumda yeterli tedavi sağlanamaması nedeni ile bu alan yeni ilaç geliştirme açısından önemli bir hedef haline gelmiştir.

Şizofreni patolojisinin açıklanması için ortaya atılan en eski ve en fazla kabul gören hipotez dopaminerjik hipotezdir. Bu hipoteze göre beyinde mezensefalondan köken alarak limbik bölgeyi uyaran mezolimbik dopaminerjik yolakta dopamin 2 (D_2) reseptör aktivitesinin artması şizofreninin pozitif semptomlarına neden olmaktadır. Yine mezensefalondan köken alan fakat kortikal bölgeyi uyaran mezokortikal yolaktaki dopamin 1 (D_1) reseptörlerinin aktivitelerinin azalması ise şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarından sorumlu tutulmaktadır. Günümüzde şizofreni tedavisinde kullanılan tipik antipsikotiklerin tamamen, atipik antipsikotiklerin ise büyük ölçüde etkilerini D_2 reseptör blokajı ile göstermeleri bu hipotezi destekleyen en önemli bulgulardandır (Carlsson ve Carlsson, 2006).

Şizofreni patolojisinde yaygın olarak kabul gören hipotezlerden birisi de temel eksitatör nörotransmitter olan glutamatın hipofonksiyonudur. Bu hipoteze göre sağlıklı bireylerde kortikal-beyin sapı yolağı adı verilen glutamaterjik yolak ile frontal korteksten köken alan birinci sıra glutamaterjik nöronlar gamma aminobütirik asit (GABA) ara nöronlarını uyarmaktadır. Uyarılan GABAerjik aranöronlar Ventral Tegmental Alan (VTA)'daki dopaminerjik nöronları uyaran bir başka glutamaterjik nöron üzerinde inhibitör etki oluşturur ve dolayısıyla VTA'daki aktiviteyi baskılayarak sürekli denge halinde kalmasını sağlar. Şizofreni hastalarında glutamaterjik aktivitenin azalması sonucu VTA'daki inhibitör tonusun ortadan kalktığı ve dolayısıyla mezolimbik dopaminerjik yolağının aktivitesinin arttığı düşünülmektedir. Aynı glutamaterjik yolağın mezokortikal yolağı uyarmadan önce bir kez daha GABAerjik ara nöronlarla sinaps yaptığı ve dolayısıyla glutamaterjik hipoaktivitenin mezokortikal yolakta aktivite azalmasına neden olduğu, böylelikle de şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarına neden olduğu düşünülmektedir (Schwartz ve ark., 2012). Farklı bir hipoteze göre ise mezokortikal yolakta dopaminerjik nöronlar üzerinde bulunan 5-hidroksitriptamin 2 ($5HT_2$) reseptörleri aracılığı ile bu yolak inhibitör dengede tutulmaktadır. Büyük ölçüde $5HT_2$ blokajı yapan atipik antipsikotik ilaçların negatif ve bilişsel semptomlar açısından bazı çalışmalarda tipik olanlara üstünlük sağlaması bu hipotezi destekleyen önemli bulgulardandır (Abi‐Dargham, 2007). Bunlarla birlikte MK-801, fensiklidin (PCP) ve ketamin gibi glutamaterjik N-metil D-aspartat (NMDA) reseptör antagonistlerinin akut uygulanmalarının kemirgenlerde şizofreninin pozitif semptomlarına benzer etkilere, kronik uygulanmasının ise şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarına benzer etkilere ve ayrıca şizofreniye benzer nörobiyolojik değişikliklere neden olması bu hipotezi destekleyen en önemli bulgulardandır (Neill ve ark., 2014). Günümüzde bu etkilerinden dolayı MK-801 gibi NMDA reseptör antagonistleri deney hayvanlarında şizofreni modeli oluşturmak için yaygın olarak kullanılmaktadır.

SSS'de kolinerjik sistem ile dopaminerjik sistem arasındaki dengenin bozulmasının şizofreni oluşumuna katkıda bulunduğu bilinmektedir. Özellikle bu dengenin bozulmasına bağlı olarak pedinkülopontin-lateraldorsal tegmental çekirdeğin aşırı aktivitesinin şizofreni semptomlarına yol açtığı tahmin edilmektedir. Son yıllarda

asetilkolinesteraz (AChE) inhibitörlerinin şizofrenide işitsel halüsinasyonları azalttığını gösteren bazı çalışmalar pozitif semptomların altında yatan mekanizmanın kolinerjik aktivitede azalmaya bağlı olduğunu düşündürmüş olmakla birlikte çok sayıda çalışma da asetilkoliesteraz inhibitörlerini etkisiz bulmuştur (Scarr ve ark., 2013). Bu bulgular şizofrenide kolinerjik sistemdeki değişikliklerin sadece asetilkolin miktarındaki azalmaya indirgenemeyecek kadar karmaşık olduğunu göstermektedir. Kolinerjik sistem ile şizofreni bağlantısını inceleyen çalışmalar bu ilişkiyi 3 temel bulgu ile özetlemektedir: i) Şizofreni hastalarının postmortem dokularında muskarinik reseptör yoğunluğunda azalma meydana geldiği, ii) α4β2 nAChR'ye bağlanan epibatidinin bağlanmasının şizofreni hastalarında arttığı, iii) Şizofreni hastalarının postmortem beyin dokularında α7 nAChR bağlanmasının, ekspresyonunun azaldığı ve α7 nAChR kodlayan gende polimorfizm olması durumunda sensörimotor kapılama fonksiyonunda bozukluk olduğudur (Scarr ve ark., 2013). Bunun yanında şizofreni hastalarında sigara içme alışkanlığının diğer insanlara göre daha yüksek olması bu hastaların kendi kendini tedavi etme arzuları ile ilişkilendirilmiştir. Bu doğrultuda yeni hedeflerden biri de bilişsel fonksiyonların düzenlenmesinde önemli rol oynayan kolinerjik sisteme ait α7 nikotinik asetilkolin reseptörlerinin (nAChR) modülasyonudur. α7 nAChR'nin agonist ve/veya modülatörleri ile uyarılması sonucu başta bilişsel bozukluklar olmak üzere şizofreni semptomlarında düzelmenin sağlanması hedeflenmektedir (Agid ve ark., 2008).

nAChR iyonotropik reseptörler ailesinde yer alırlar ve başta endojen agonisti asetilkolin olmak üzere çeşitli agonistler tarafından uyarıldıklarında yapılarındaki katyon kanalı açılarak hücre içine pozitif iyon girişi sayesinde sinir hücresinin uyarılmasını sağlamaktadırlar (Novere ve Changeux, 1995). nAChR'nin çok sayıda alt tipi olmakla birlikte santral sinir sistemi (SSS)'de en yaygın bulunan ve şizofreni ile bağlantısı gösterilen alt tiplerden biri α7 nAChR'dir. Korteks ve hipokampus gibi şizofrenide disfonksiyonları sonucunda belli semptomların oluşmasına katkı sağlayan beyin bölgelerinde α7 nAChR'nin yoğun bulundukları görülmektedir (Clementi, 1995). α7 nAChR kolinerjik sistemde nöronal iletimden, glutamaterjik ve GABAerjik nöronlar üzerinde bulunması durumunda ise nöromodülasyonlarından sorumludur. Dolayısıyla α7 nAChR etkisi kolinerjik sistem ile sınırlı olmayıp glutamaterjik ve GABAerjik sistemi de kapsamaktadır.

α7 nAChR açısından şizofreni tedavisine yönelik ilk girişim seçici tam veya kısmi agonistlerinin geliştirilmesi olmuştur. Preklinik çalışmalarda A-582941 gibi α7 nAChR agonistlerinin şizofreninin bilişsel semptomları başta olmak üzere çeşitli semptomları üzerine faydalı etkileri gösterilmiştir. Ayrıca bu agonistlerin şizofreninin tekrarlanabilir bulguları arasında yer alan ve GABAerjik disfonksiyonu yansıtan parvalbumin ve Glutamik Asid Dekarboksilaz 67 (GAD67) içeriğindeki azalmayı geri çevirdikleri gösterilmiştir (Callahan ve ark., 2014; Tietje ve ark., 2008). α7 nAChR agonistlerinin asetilkolin salımını artırdıkları da gösterilmiştir. α7 nAChR'nin agonistlerin düşük dozlarında yeterince uyarılamaması, yüksek dozlarında ise çok hızlı bir şekilde duyarsızlaşması agonistlerinin "ters U" şeklinde bir doz yanıt eğrisi oluşturmalarına neden olmaktadır. Ayrıca klasik farmakoloji ile çelişkili olarak tekrarlanan α7 nAChR agonist uygulamasının beklenenin aksine reseptör sayı ve duyarlılığında azalma yerine artış meydana getirdiği ve bu etkinin α7 nAChR antagonist veya modülatörleriyle oluşmayıp sadece agonistlere özgü olduğu bildirilmiştir. (Tietje ve ark., 2008). Dolayısıyla α7 nAChR agonistlerinin yapmış oldukları etkide yukarıda bahsedilen faktörlerin rol oynadığı düşünülmektedir.

Şizofreni tedavisinde α7 nAChR agonistlerine alternatif bir yaklaşım olarak pozitif allosterik modülatör (PAM) moleküller geliştirilmiştir. Bu maddeler α7 nAChR'ye bağlandıklarında tek başlarına etki oluşturmayan fakat agonist varlığında agonistin etkisini güçlendiren moleküllerdir. α7 nAChR agonistleri etkilerini ortosterik bağlanma bölgeleri aracılığı ile yaparken PAM'lar allosterik bağlanma bölgeleri aracılığı ile yapmaktadır. PAM'lar in vitro ortamda endojen agonist varlığında meydana getirdikleri farmakolojik profile göre tip I ve tip II olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Tip I PAM'lar iyon kanalının açık kalma süresini değiştirmeksizin iyon geçirgenliğini ve dolayısıyla aksiyon potansiyelinin ulaşacağı maksimum değeri artırırlar. Tip II PAM'lar ise tip I'den farklı olarak reseptör yapısındaki iyon kanalının hem geçirgenliğini hem de açık kalma süresini artırırlar, dolayısıyla hem hücre içerisinde aksiyon potansiyelinin ulaşacağı maksimum değere ulaşmasını hem de bu aksiyon potansiyelinin daha uzun süre korunmasını sağlarlar. İki sınıf arasındaki önemli bir diğer fark da tip I PAM'ların reseptörün doğal duyarsızlaşma kinetiğini değiştirmemesi tip II PAM'ların ise reseptörlerin duyarsızlaşmasını yavaşlatması ve tekrar duyarlı hale getirmeleridir (Williams ve ark., 2011).

α7 nAChR tip I PAM'ı olan CCMI tek doz kullanıldığında sağlıklı hayvanlarda prokognitif etki, şizofreni modeli oluşturulmuş hayvanlarda antipsikotik benzeri etki oluşturduğu gösterilmiştir (Nikiforuk ve ark., 2015; 2016). Şizofreni modelinde kronik kullanımına ilişkin ise bilgi bulunmamaktadır.

α7 nAChR tip II PAM olan PNU-120596'nın da tek doz uygulandığında tip I PAM'lara benzer şekilde hem prokognif etki oluşturduğu hem şizofreni benzeri davranışları geri çevirdikleri rapor edilmiştir (McLean ve ark., 2012; Nikiforuk ve ark., 2016b; Stevens ve ark., 2015). Gerek tip I gerekse tip II PAM'ların şizofreninin temel moleküler bulguları kabul edilen parvalbumin ve GAD67 ekspresyonları üzerine etkisi ise henüz bilinmemektedir.

Yukarıda verilen bilgiler ışığında çalışmamızda subkronik MK-801 ile şizofreni modeli oluşturulmuş sıçanlarda α7 nAChR kısmi agonisti (A-582941), tip I PAM (CCMI), tip II PAM (PNU-120596) ve bu maddelerin düşük dozlarda kombinasyonlarının (A-582941+CCMI ve A-582941+PNU-120596) hem davranış hem moleküler parametreler üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlandı. Dolayısıyla çalışmamızda MK-801 ile şizofreni modeli oluşturulmuş sıçanlarda;

i) α7 nAChR agonist, tip I ve tip II PAM'larının tek başına etkinliklerinin mevcut antipsikotik tedavi (klozapin) ile karşılaştırması,

ii) α7 nAChR agonistinin tip I ve tip II PAM ile birlikte kullanılması durumunda etkinliklerinin mevcut antipsikotik tedavi ile karşılaştırılması,

iii) Tedavi için kullandığımız maddelerin olası etkilerinin mekanizmasının moleküler ve immünohistokimyasal yöntemler ile aydınlatılması hedeflendi.

4. GENEL BİLGİLER

4.1. Şizofreni Epidemiyoloji

Bir hastalığın dağılımı genel olarak insidans ve prevalans terimleri ile ifade edilmektedir. İnsidans oranı, bir popülasyonda belirli bir zaman periyodunda yeni tanı konulan hastaların oranını belirtmektedir (Yeni tanı konulan hasta sayısı/popülasyon sayısı/zaman dilimi). Bunun yanı sıra insidans belirlenen hastalığın belirli zaman diliminde bir kişide tanımlanması olasılığı olarak da ifade edilmektir. Prevalans ise bir toplumda belirli bir anda (nokta prevalans) veya belirli bir süre içerisinde (periyod prevalans) belirli bir hastalığa sahip tüm olguları (mevut durumda tanı konulmuş olan ve yeni tanı konulan tüm hastalar) ifade etmektedir. Direkt insidans verilerinden oluşturulan global ölçekli bir çalışmada geniş ölçekli tanı kriterleri referans alındığında yıllık insidans 16-40/100 000/yıl, dar ölçekli tanı kriterleri referans alındığında 14/100 000 olarak belirtilmiştir (Tandon ve ark., 2008). Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada şizofreni insidansı yaklaşık 10 kat fazla bulunmuştur, fakat bu çalışmanın toplum anketi şeklinde yapılmış olması ve anketi düzenleyenlerin çok az veya hiç klinik deneyimlerinin olmaması çalışma sonuçları hakkında akıllarda soru işaretleri bırakmıştır (Tandon ve ark., 2008; Tien ve Eaton, 1992). 1965 ile 2001 yılları arasındaki çalışmaların meta analizinde insidans oranlarının 8-43/100 000/yıl aralığında değiştiği ve ortalama insidansın 15,2/100 000/yıl olarak bulunduğu gösterilmiştir (McGrath ve ark., 2004). Bazı çalışmalarda şizofreni insidansının dünya genelinde bölgeler ve ekonomik durum ile ilişkisi gösterilemezken, bu meta analiz çalışmasında önceki bulgular ile zıt olarak şizofreni insidansında birçok değişkenin rol oynadığı, kentleşme, göç ve erkek cinsiyetin yüksek şizofreni insidansı için birer risk faktörü oldukları gösterilmiştir (McGrath ve ark., 2004; Saha ve ark., 2006). Kentleşme ile şizofreni arasındaki uzun süredir açıklanmaya çalışılan ilişki son yıllarda yapılan çalışmalar ile daha fazla aydınlatılabilmiştir. Bu ilişkinin varlığı konusunda çok fazla itilaf olmamasına rağmen, kentsel alanda ikamet etmenin mi şizofreni riskini artırdığı (yetişme hipotezi), yoksa şizofreni hastalarının mı hastalık öncesi çeşitli imkansızlıklar nedeni ile kentsel alanlara göç ettiği (tercih hipotezi) tartışmalıdır. Daha sonradan kentsel alana göç eden kişiler için sosyolojik değişimin insidansı artıran bir faktör olduğu savunulurken kentsel yerleşimde doğan ve büyüyen (en az 15 yaşına kadar) kişilerde

de şizofreni gelişim riskinin arttığı gösterilmiştir (Kirkbride ve ark., 2006; Janoutova ve ark., 2016). Bu çalışmalar şehir yaşantısının kendi iç dinamikleriyle de şizofreni riskini arttırdığını göstermektedir. Riski artıran faktörler tam olarak kanıtlanamamış olsa da kentsel ve kırsal yerleşimler arasında esrar gibi maddelerin kullanımları, prenatal ve perinatal sağlık, sosyal stres ve sosyal iletişimin derecesi, yoksulluk, çevresel toksinler, bazı hastalıklar ve D vitamini eksikliği gibi faktörlerin şizofreni gelişme riskini artırabilecek aday etkenler olabileceği düşünülmektedir (Janoutová ve ark., 2016). Ayrıca birçok çalışma göç ile şizofreni gelişim riski arasındaki ilişki olduğunu göstermiştir (Bhugra, 2004; Janoutova ve ark, 2016). 1977 ile 2003 yılları arasındaki çalışmaları kapsayan bir meta analizde kişisel veya ailesel göç hikayesinin şizofreni gelişmesinde bir risk faktörü olduğu tanımlanmış ve bu riskin ilk kuşak göçmenlerde 2,7 kat, ikinci kuşak göçmenlerde ise 4,5 kat olduğu belirtilmiştir (Cantor-Graae ve Selten, 2005). Sosyal zorlukların (sosyal izolasyon, ayrımcılık, ırkçılık gibi) şizofreni gelişimindeki risk artışı için major etkenler olarak kabul edilmesine karşın epigenetik mekanizmalar gibi biyolojik etkenlerin de bu artıştan sorumlu olabileceği belirtilmektedir (Boydell ve ark., 2001; Dealberto, 2007). Şizofreninin yaşam boyu gelişme riskinin araştırıldığı bir çalışmada bu riskin % 0,3 ile % 2 aralığında değiştiği ve ortalama olarak yaklaşık % 0,7 olduğu belirtilmiştir (Saha ve ark., 2005). Daha önceleri şizofreni gelişim riski açısından erkek ve kadınlar arasında bir fark olmadığı düşünülürken 21. yüzyılın başlarında yapılan iki farklı meta analiz erkeklerde şizofreni gelişme riskinin kadınlardan 1,4 kat daha fazla olduğunu göstermiştir (Aleman ve ark., 2003; McGrath ve ark., 2004).

Ortalama şizofreni insidansının 15,2/100 000/yıl ve ortalama hasta ömrünün 30 yıl olduğu kabul edilirse bu yaşam süresinden yola çıkılarak şizofreni prevalansı yaklaşık olarak 0,46/100 hesaplanabilir. Bu konuda yapılan çalışmaların bulguları değişkenlikler olmakla birlikte genel olarak bu tahmine oldukça yakındır. Çeşitli meta analizlerde şizofreni prevalansının 1,6 ile 12,1 arasında değiştiği ve ortalama prevalansın yaklaşık 4,6/1000 olduğu gösterilmiştir (Saha ve ark., 2005). İnsidansta görülen cinsiyet ve kırsal-kentsel yerleşim farklarının prevalansa yansımadığı ve bu gruplar arasında prevalans yönünden anlamlı farklılıkların bulunmadığı çeşitli çalışmalar ile belirtilmiştir. Erkeklerde insidansın kadınlara göre yüksek olmasına rağmen prevalansın aynı olması şizofreni açısından yüksek riskte olan erkeklerin

şizofreni ile ilişkili ölümler açısından da yüksek riskte olması veya erkeklerin daha yüksek tedavi oranlarına sahip olmaları ile ilişkilendirilmiştir (Tandon ve ark., 2008). Buna rağmen gelişmiş ülkelerde yaşayan ve düşük sosyo-ekonomik sınıfta yer alan insanlar arasında mevcut olan şizofreni insidansındaki yüksekliğin prevalansta da korunduğu belirtilmektedir (Tandon ve ark., 2008). Yukarıda verilen bilgiler şizofreninin toplumun yaklaşık % 1'ini etkilediğini ve bu prevalans ile psikiyatrik hastalıklar arasında önemli bir yer tuttuğu göstermektedir.

4.2. Şizofreni Klinik Bulguları

Şizofreni hastalarında görülen semptomlar genellike pozitif, negatif ve bilişsel semptomlar olmak üzere 3 fonksiyonel sınıfa ayrılmıştır. Pozitif semptomlar sağlıklı bireylerde görülmeyip sadece şizofreni hastalarında ortaya çıkan halüsainasyon, delüzyon gibi semptomlarken negatif semptomlar ise motivasyonda azalma, duygulanımda azalma gibi sağlıklı bireylere göre şizofreni hastalarında azalmış işlevleri tanımlamaktadır. Bunların yanında şizofreni hastalarında yürütücü işlevlerde bozulmalar, dikkat, öğrenme ve bellekte meydana gelen fonksiyon bozuklukları ise bu hastalığın bilişsel semptomlarını oluşturmaktadır (Tandon ve ark., 2009).

4.2.1. Pozitif semptomlar

Buradaki pozitif terimi normal kişilerde görülmeyen ve şizofreni hastalarına özgü olarak orta çıkan semptomları belirtmektedir. Bu semptomlar zihnin gerçeklik ile bağlantısının kesildiği halüsinasyonlar, delüzyonlar ve diğer durumları kapsamaktadır. Düşünce içeriğinde bozulmalar sonucu oluşan delüzyonlar genellikle farklı derecelerde kalıcılık ve sistematiğe sahip olup kişinin yaşamını farklı derecelerde etkiler yapıdadır. Delüzyonlar genellikle sistemsiz, acayip ve dağınıktır. Düşünce okunması, seksüel, izlenme ve somatik delüzyonlar bu delüzyonlardan bazılarını oluşturuken en sık karşılaşılan çeşitleri ise perseküsyon (kötülük görme) ve referans (alınma) delüzyonlarıdır. Bunun yanında kişinin yaşam tarzı ve sosyo kültürel altyapısı ile bağlantılı olarak farklı delüzyon çeşitleri de meydana gelebilmektedir (Tandon ve ark., 2009). Kişideki algısal bozulmalara bağlı olarak ortaya çıkan bir diğer pozitif semptom ise halüsinasyonlardır. Halüsinasyonlar işitsel, görsel, kokusal, tatsal ve dokunsal olmak üzere beş duyu üzerine de olabilirken, işitsel halüsinasyonlar bunlar arasında en sık karşılaşılan türdür. İşitsel halüsinasyonlar karmaşık sesler, müzik sesi gibi basit halüsinasyonlardan başlayarak

iki yada daha fazla sesin hastanın düşünceleri ile yüksek sesle tartışması gibi halüsinasyonlara kadar geniş bir yelpazede değişkenlik gösterebilir. Bu halüsinasyonlar arasında hastayı tehdit edici veya suçlayıcı işitsel halüsinasyonlar genellikle daha yaygındır ve hastanın hareketlerini kontrol edebilir niteliktedir. Patofizyolojik değişiklikler ve diğer semptomlar çoğunlukla hastalık başlangıcından daha önceye dayansalar bile pozitif semptomların ortaya çıkması genellikle hastalığın başlangıcı olarak kabul edilir. Bu semptomlar birçok hastada ergenlik ve erken yetişkinlik dönemlerinde ortaya çıkmaktadır. Pozitif semptomların altında yatan mekanizmanın mezolimbik dopamin yolağında meydana gelen aktivite artışı olduğu düşünülmektedir ve dopaminerjik D_2 blokajı yapan antipsikotik ilaçlar ile büyük oranda kontrol altına alınabilmektedir (Tandon ve ark., 2009).

4.2.2. Negatif semptomlar

Şizofreninin negatif semptomları olarak sınıflandırılan değişikliklerde negatif ifadesi pozitif semptomlarının aksine normal kişilere göre davranış, motivasyon, ilgi ve istekte meydana gelen azalmaları ifade etmektedir. Wagman'ın oluşturmuş olduğu orjinal sınıflandırma esaslarına göre negatif semptomlar primer ve sekonder olmak üzere iki alt gruba ayrılmaktadır. Primer negatif semptomlar hastalık seyrine bağlı olarak ortaya çıkan semptomları ifade ederken, sekonder negatif semptomlar sosyal dışlanma, çevresel uyaranların eksikliği, ilaç tedavilerine bağlı ekstrapiramidal etkiler ve depresyon ko-morbiditesi gibi hastalık haricindeki faktörlerin katkısı ile ortaya çıkan semptomları ifade etmektedir (Wagman, 1988). Bu alanda kabul görmüş klavuzlardan olan DSM-5'e göre negatif semptomlar, halüsinasyon, delüzyon, dezorganize davranışlar ve psikomotor bozukluklar ile birlikte şizofreni tanısı için gerekli olan 5 semptomdan birisi olarak tanımlanmıştır. Negatif semptomlarda ise duygusal küntleşme (duygu durumun ifadesinde eksiklik), aloji (konuşmada güçlük), amotivasyon (irade/istek kaybı), anhedoni (keyif veren şeylere karşı ilgisizlik) ve asosyallik (sosyal geriçekilme) olmak üzere 5 çekirdek semptom tanımlanmıştır. Bunlardan duygusal küntlük, duyguları ifade etmede kullanılan ses tonlaması, yüz ifadeleri, jest, mimikler ve vücut hareketleri gibi ifadelerin yoğunluk ve çeşitliliğindeki azalmaları belirtmektedir. Konuşmada güçlük ise konuşulan kelime sayısında azalma, spontan konuşmalarda azalma ve konuşmada akıcılığın bozulmasını ifade etmektedir. Amotivasyon semptomu, iş, ders, spor, kişisel hijyen

ve günlük ödevler gibi amaca yönelik davranışlara başlamada ve bunları sürdürmede meydana gelen bozuklukları tanımlamaktadır. Anhedoni, ödül, eğlence ve keyif verici eylemleri yapmak için gerekli olan istekte bir azalmayı ifade eder. Depresyonda var olan anhedoni daha çok bu tür eylemlerin yapılması sonucu sağlıklı duruma göre daha az keyif almayı anlatırken şizofreni semptomları arasında yer alan anhedoni bu tür eylemlere ulaşmak için istekte meydana gelen azalmaları belirtmektedir. Bu özelliklerinden dolayı depresyonda görülen anhedoni tamamlayıcı anhedoni (consummatory anhedonia), şizofrenide görülen anhedoni ise motivasyonel anhedoni (anticipatory anhodenia) olarak sınıflandırılmaktadır. Sosyal geri çekilme ise aile, arkadaşlar gibi diğer kişileri ile sosyal etkileşime girmede isteksizliği ifade etmektedir (Millan ve ark., 2014).

4.2.3. Bilişsel semptomlar

Şizofreni hastalarının yaklaşık % 98'i aynı ailenin sağlıklı bireylerine göre bilişsel testlerde daha zayıf performans göstermektedir. Bunların üçte ikilik kısmının göstermiş olduğu bilişsel performans bozulmuş bilişsel işlev olarak tanımlanırken yaklaşık %27'sinde zayıf bilişsel performans olmasına rağmen bu performans azalması bozukluk olarak tanımlanmamaktadır (Keefe ve Harvey, 2012). Tek yumurta ikiz çalışmalarında ise şizofreniden etkilenen bireylerin tamama yakınının bilişsel testlerde etkilenmemiş bireye göre daha kötü sonuç verdikleri gösterilmiştir (Goldberg ve ark., 1990). Bilişsel semptomların şizofreni patolojisi için giderek artan önemi DSM-5 tanı kriterlerine de yansımış ve bu kriterler değerlendirilmesi gereken ilave tanı kriterleri arasına alınmıştır (Keefe ve Harvey, 2012). Bunların yanında şizofreni hastalarında görülen bilişsel işlev bozukluklarının sanılanın aksine pozitif ya da diğer semptomların varlığından kaynaklanmadığı ve kendisinin başlıca bir semptom grubunu oluşturduğu gösterilmiştir (Keefe ve Harvey, 2008). Yapılan araştırmalar neticesinde şizofrenide en fazla çalışma belleği, dikkat/uyanıklık, sözel öğrenme ve bellek, görsel öğrenme ve bellek, problem çözme, işleme hızı ve sosyal bellek tiplerinde bozulmaların olduğunu bildirmektedir (Green ve ark., 2004). Bu alanlarda meydana gelen bilişsel işlev bozuklukları aşağıda kısaca açıklanmıştır.

Çalışma belleğinde meydana gelen bozulmalar birçok araştırmacı tarafından şizofreniye bağlı bilişsel bozuklukların çekirdek semptomlarından biri olarak

tanımlanmıştır. Bu bozukluğun klinikte hastanın iş hayatının sağlıksız yürütülmesi ve mesleki statüsü ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Keefe ve Harvey, 2012) Prefrontal kortikal bölgedeki nöronal döngünün bu bellek tipini kontrol ettiği ve şizofrenide bu bölgedeki döngünün bozulması sonucu çalışan bellek hatalarının ortaya çıktığı düşünülmektedir (Lett ve ark., 2014).

Şizofreni hastalarında bozukluk görülen bir diğer bilişsel fonksiyon ise uyanıklık ve dikkattir. Uyanıklık dikkatin bir süre boyunca sürdürülmesi anlamına gelmektedir. Uyanıklıktaki bozulmanın klinikte hastanın okuma ve televizyon izlemeyi takip etmede zorluklardan başlayarak sosyal iletişimi takip edememe gibi sorunlara kadar değişen boyutlarda etkilerden sorumlu olduğu bildirilmektedir (Green, 1996).

Sözel öğrenme ve bellek fonksiyonu genellikle bir kelime listesinin veya yazılı bir paragrafın öğrenilme yeteneği olarak ölçülür. Bu testler vasıtası ile yeni öğrenme, öğrenilen bilginin depolanması ve daha önce sunulan bilginin farkındalığı gibi yetenekler ölçülür. Şizofreni hastalarında genellikle yeni öğrenme yeteneğindeki bozulma var olan bilgiyi tutmadaki bozukluktan daha büyüktür (Keefe ve Harvey, 2012). Sözel öğrenme bellek bozukluğunu ile bu hastalarda görülen sosyal defektler arasında önemli bağlantıların olduğu düşünülmektedir (McClure ve ark., 2007).

Birçok nörobilişsel test şizofreni hastalarında işlemleme hızının normal bireylere göre yavaşladığını göstermektedir. İşlemleme hızında meydana gelen yavaşlamanın herhangi bir göreve spesifik olmadığı ve şizofreninin çeşitli klinik özellikleri ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Günlük aktiviteler, mesleki yetenekler, bağımsız yaşama gibi önemli fonksiyonların bu hastalarda işlemleme hızındaki yavaşlama sonucunda bozulduğu düşünülmektedir (Brekke ve ark., 1997; Evans ve ark., 2003; Gold ve ark., 2002).

Görsel bellek sözel bellek kadar rahat ifade edilemediği için bu bellek türüne özgü testler daha kısıtlıdır ve bazı çalışma sonuçları şizofreni hastalarında görsel belleğin sözel bellek kadar fazla bozulmadığını göstermektedir. Buna rağmen çalışmaların çoğu görsel belleğin bu hastalarda bozulmuş olduğunu ve bu bozukluğun hastaların mesleki yetenekleri, psikososyal rehebilitasyon başarısı, sosyal fonksiyonlar, yaşam kalitesi ve fonksiyonel kapasiteleri ile bağlantılı olduklarını göstermektedir (Dickerson ve ark., 1999; Gold ve ark., 2002).

Sosyal bellek de şizofreni hastalarında işlev bozukluklarının görüldüğü bellek tiplerinden biridir. Sosyal algılamanın belirlenebilmesi için en çok kullanılan teknikler yüz mimikleri tanıma ve sosyal ipucu algılamadır. Literatür çalışmaları şizofreni hastalarında özellikle negatif duygular ve korkuyu anlatan yüz ifadelerinin tanınmasında stabil bozuklukların olduğunu göstermektedir (Addington ve Addington, 1998; Edwards ve ark., 2001). Sosyal ipucu algılama testinde ise daha çok çoklu duyusal yaklaşımlar gerektiren dinamik uyaranlar verilerek hastanın bu uyarıları algılama seviyesi ölçülmektedir. Yapılan çalışmalar şizofreni hastalarının bu test için sağlıklı bireylere göre daha kötü sonuçlar verdiğini göstermektedir Bu bellek tipinin sosyal ilişkilerdeki bozulmalar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Green ve ark., 2015).

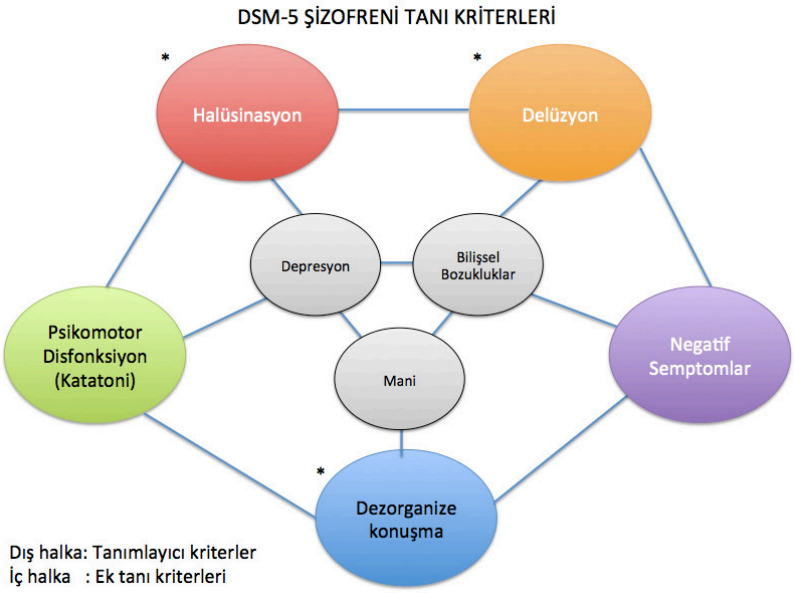
4.2.4. Diğer semptomlar

Şizofreni hastalarında en sık görülen semptomlardan birisi de dezorganize düşünce ve davranışlardır. Dezorganize düşünce bozuklukları, normal düşüncenin mantık, ilerleyiş ve hedefinde dağılmalar ile seyreden, çevresel ve teğetsel konuşma gibi orta derecelerden, kelime salatası gibi ciddi seviyede bozulmalara neden olan durumu tanımlamaktadır (Nestsiarovich ve ark., 2017). Bu bozukluk hem kelimelerde kayma ve yeni kelimeler türetme gibi pozitif düşünce bozukluklarını hem de konuşma içeriğinde fakirlik gibi negatif düşünce bozukluklarını kapsamaktadır (Tandon ve ark., 2009). Bu kişilerde konuşmayı takip etmek zordur. Soyut düşüncelerde bir azalma meydana gelirken somut düşünceler daha belirgin hale gelmektedir ve konuşma sırasında konudan konuya geçişler sıklıkla görülür

Şizofreni hastalarında genellikle katatoni şeklinde ortaya çıkan ve bununla birlikte psikomotor aktivitede hem artma hem de azalmaların meydana gelebildiği motor fonksiyon bozuklukları görülebilmektedir. Şizofreni hastalarında görülen psikomotor performansta azalma genellikle negatif semptomları işaret ederken, aniden ve amaçsız bir psikomotor aktivi artması pozitif semptomları düşündürmektedir (Lehoux ve ark., 2003; Ungvari ve ark., 2005). Bu tip hareket bozuklukları basit postür bozuklukları, maniyerizm (yüz ve göz hereketleri gibi genellikle bir uzvu kapsayan yineleyici hareketler) ve stereotipi (herhangi bir anlamı ve maksadı olmayan, yineleyen nitelikte basmakalıp) gibi davranışlardan başlayarak ciddi

katatonik bozukluklara kadar değişkenlik gösterebilir. Katatoni, bir hastanın bilincinin açık olmasına rağmen çevreden gelen uyaranlara yanıt vermediği, sessiz, hareketsiz ve kaskatı bir postüre sahip olduğu durumu tanımlamaktadır. Bununa birlikte katatonik fazdaki hastalar bazen birdenbire hızlı ve kontrolsüz bir motor aktivite ile bu katatonik davranışları sonlandırabilirler. Bu faza katatonik eksitasyon denilmektedir (Ungvari ve ark., 2017). Tam gelişmiş katotonik sendrom, stupor veya uyarılma şeklinde ve ekolali (anlamsız kelimelerin tekrarlanması), ekopraksi (başkaları tarafından telafuz edilen kelimelerin tekrarlanması), otomatik itaat ve aşırı süpheci davranışlar ile karakterizedir (Weder ve ark., 2008).

Psikiyatrik hastalıkların tanısında en sık başvurulan klavuzlardan biri olan Ruh Hastalıkları için Tanı ve İstatistik Klavuzu-5 (DSM-5)'e göre şizofreni tanısı için halüsinasyon, delüzyon, dezorganize konuşma, katatoni gibi psikomotor bozukluklar ve negatif semptomlar olmak üzere 5 temel tanı kriteri ve depresif ruh hali, mani, bilişsel bozukluklar olmak üzere 3 ek tanı kriteri belirlenmiştir (Şekil 1). Hastanın 5 tanı kriterinden en az 2'sine ve halüsinasyon, delüzyon, dezorganize konuşmadan en az 1'ine 30 gün süre ile sahip olması tanı için gerekli kriterlerdir. Bunun yanında ek tanı kriterlerinin de tanı konulurken göz önünde bulundurulması tavsiye edilmektedir (Millan ve ark., 2014).



Şekil 1. DSM-5 klavuzuna göre şizofreni tanı kriterleri. Şizofreni tanısı için hastanın dış halkada yer alan tanımlayıcı kriterlerden en az 2 tanesini, * işaterli kriterlerden en az birini 1 ay süre ile sağlaması gerekmektedir. Ayrıca iç halkada yer alan ek tanı kriterlerinin de tanı sırasında göz önünde bulundurulması önerilmektedir.

4.3. Şizofreninin Mevcut Farmakolojik Tedavisi

Şizofreni mevcut farmakolojik tedavisinde kullanılan ilaçlar etki mekanizmalarına göre tipik ve atipik antipsikotikler olmak üzere 2 sınıfa ayrılmıştır (Tablo 1).

4.3.1. Tipik antipsikotikler

1950'li yıllara kadar şizofreninin standart tedavisi uzun süre hastane yatışlarının gerçekleştiği, hastalığın semptomlarını azaltmak amacı ile hastaya güvenli ve destekleyici bir ortamın sağlandığı yaklaşımlardan oluşmaktaydı. Bunun yanında çok sık olmamakla birlikte bu hastalarda elektrokonvulsif terapi ile insülin koma terapisi ve prefrontal lökotomi gibi ugulamalar da gerçekleştirilmiştir (Tandon ve ark., 2010). 1950'li yılların başında şans eseri klorpromazinin antipsikotik etkinliğinin tespit edilmesi şizofreni tedavisi için devrim niteliğinde bir dönemi başlatmıştır. Klorpromazin şizofreni tedavisinde ilk etkili tedavi olmanın yanında hastalığın en azından bir kısmının biolojik temellere dayandığını da gösteren ilk ilaçtır (Carlsson, 1978). Sonraki on yılda yapılan çalışmalar klorpromazinin reseptörlere heterojen bağlanma profiline sahip olmasına rağmen antipsikotik etkisini dopaminerjik reseptörler, özellikle de dopaminerjik D_2 reseptörler aracılığı ile ortaya çıkardığını göstermiştir. Bunun üzerine şizofreni patolojisini açıklamak açısından bir mihenk taşı olarak kabul edilen ve bazı revizyonlarla birlikte günümüzde de hala en fazla kabul gören hiperdopaminerjik aktivite hipotezi ortaya atılmıştır (Davis ve Kahn, 1991; Seeman ve Lee, 1975). Bu gelişmeler üzerine yeni antipsikotiklerin geliştirilmesi için yapılan çalışmalar hız kazanmıştır. Klorpromazin ve tiyoridazin gibi ilk geliştirilen antipsikotikler D_2 reseptörlerine düşük afiniteli oldukları ve fazla sayıda reseptör ile etkileştikleri için terapötik etkiyi yüksek dozlarda ortaya çıkarmış, bu durumda da istenilmeyen yan etkilere neden olmuşlardır. Bu nedenlerden dolayı daha sonraları D_2 reseptörlerine karşı seçici, yüksek potensli olarak sınıflandırılan ve klinikte önemli oranda klorpromazin gibi düşük potensli antipsikotiklerin yerini alan haloperidol ve flufenazin gibi antipsikotikler geliştirilmiştir (Agid ve ark., 2008). Terapötik etkilerini temel olarak D_2 reseptör antagonizması üzerinden gösteren bu ilaçların günümüze kadar ellinin üzerinde türevi geliştirilmiş ve 1990'lı yıllarda yeni nesil atipik antipsikotiklerin keşfi ile bu ilaçlar tipik veya klasik antipsikotikler olarak isimlendirilmiştir. Ayrıca bu sınıfta yer alan klorpromazin, flufenazin ve haloperidol Dünya Sağlık Örgütü'nün temel tedaviler listesine alınmıştır

(http://www.who.int/medicines/publications/essentialmedicines/en/, Erişim tarihi: 05.10.2017).

Tablo 1. Tipik ve atipik antipsikotikler

Tipik Antipsikotikler
I. Fenotiyazinler
A) Alifatik yan zincir
Klorpromazin, Klorproetazin, Siyamemazin, Levomepromazin, Promazin, Triflopromazin
B) Piperidin yan zincir
Mesoridazin, Piperasetazin, Pipotiyazin, Properisiyazin, Sülforidazin, Tiyoridazin
C) Piperazin Yan Zincir
Flufenazin, Asetofenazin, Butaperazin, Diksirazin, Perazin, Perfenazin, Proklorperazin, Tiyopropazat, Tiyoproperazin, Trifluoperazin
II. Bütirofenonlar
Haloperidol, Benperidol, Bromperidol, Droperidol, Fluanison, Melperon, Moperon, Pipamperon, Timiperon, Trifluperidol
III. Tiyoksantinler
Tiyoksantin, Klorprotiksen, Klopentiksol, Flupentiksol, Zuklopentiksol
IV. Dihidroindolonlar
Molindon, Oksipertin
V. Dibenzoksapinler
Loksapin, Klotiyapin
VI. Difenilbütilpiperidinler
Pimozid, Fluspirilen, Penfluridol
VII. Benzamidler
Sulpirid, Nemonaprid, Sultopride, Tiyaaprid
VIII. İminodibenzil Türevleri
Klokapramin, Mosapramin
Atipik Antipsikotikler
I. Benzo (diyaze- veya tiyaze-) pinler
Asenapin, Clozapin, Olanzapin, Ketiyapin, Zotepin
II. İndolon ve dionlar
Aripiprazol, İloperidon, Paliperidon, Perospiron, Risperidon, Sertindol, Ziprasidon
III. Benzamidler
Amisülprid

1950'den 1990'lı yıllara kadar büyük ümitler ile hızlı bir gelişim süreci geçiren antipsikotikler maalesef klinik etkinlikte istenilen hedefe ulaşamamıştır. Bu ilaçlar

mezolimbik dopaminerjik yolakta artmış olan dopaminerjik aktiviteyi baskıladıkları için pozitif semptomları düzeltmede hatırı sayılır bir etkinlik gösterseler de şizofreninin diğer semptomları için yeterli etkiyi gösterememektedir. Bu ilaçlar D_2 reseptör blokajı yaptıklarından dolayı mezokortikal yolakta azalmış dopaminerjik aktivitenin sorumlu tutulduğu negatif semptomlar ve bilişsel bozukluklar üzerine fayda sağlayamayıp hatta kötüleştirebilmektedir. Bunun yanında antipsikotiklerin hastayı rahatsız eden önemli yan etkilere neden oldukları da bilinmektedir. Bu yan etkilerin başında kısa vadede ortaya çıkan parkinsonizm ve akatizi ile uzun süre antipsikotik kullanımı sonucu geri dönüşümsüz bir şekilde ortaya çıkan tardif diskinezi gibi hareket bozuklukları gelmektedir (Agid ve ark., 2008). Bu yan etkilerin altında yatan mekanizmanın nigrostriatal yolaktaki dopaminerjik aktivitenin antipsikotikler aracılığı ile engellenmesi olduğu düşünülmektedir.

Tipik antipsikotiklerin bir diğer önemli yan etkisi ise tuberoinfundibular yolakta dopaminerjik blokaj sonucu ortaya çıkan ve galaktore ve amenore gibi klinik durumlar ile sonuçlanan hiperprolaktinemidir. Bunun yanında ağız kuruluğu, kilo alımı, sersemlik, baş dönmesi, hipotansiyon da bu ilaçların meydana getirdikleri diğer yan etkilerdendir (Lally ve MacCabe, 2015).

4.3.2. Atipik antipsikotikler

Atipik antipsikotik ailesinin ilk üyesi klozapin 1960'lı yıllarda kullanıma girmiş ve on yıla yakın yaygın olarak kullanılmıştır. 1970'li yılların başında klozapin kullanan bazı hastalarda agranülositoza bağlı ani ölümlerin görülmesi üzerine kullanımı durdurulmuştur (Idänpään-Heikkilä ve ark., 1975). Kullanıldığı süre boyunca klozapin antipsikotiklere cevap vermeyen hastalarda fayda sağlaması, diğer antipsikotiklerin etkisiz kaldığı negatif semptomları düzeltmesi, çok daha az ekstrapiramidal yan etkiye neden olması ve hiperprolaktinemi yapmaması gibi özelliklerinden dolayı eşsiz bir antipsikotik konumuna yerleşmiştir (Agid ve ark., 2008). Yapılan çalışmalar klozapinin eşsiz etki profiline rağmen dopaminerjik D_2 reseptörlerine nispeten düşük afinite gösterdiğini ortaya koymuştur. Bu bulgular klozpinin ekstrapiramidal yan etkiler ve hiperprolaktinemi yapmamasını açıklayabilmiştir fakat negatif semptomlardaki ve dirençli vakalardaki faydasını açıklayamamıştır (Kapur ve Remington, 2001). Meltzer ve arkadaşları klozapinin

serotonerjik 5-HT_2 reseptörlerine olan afinitesinin dopaminerjik D_2 reseptörlerine afinitesinden daha fazla olduğunu göstermiş ve klozapinin eşsiz profilinin bundan kaynaklandığını ortaya atmışlardır (Meltzer ve ark., 1989). Bu fikir geniş çevrelerce çok hızlı bir şekilde kabul görmüştür. Bunun bir neticesi olarak ilaç firmaları "güvenli klozapin" e ulaşmak amacı ile serotonin-dopamin antagonisti etkiye sahip atipik antipsikotiklerin üretimine yoğunlaşmış ve neticesinde risperidon, olanzapin, ketiyapin gibi yeni atipik antipsikotikler üretilmiştir. Atipik antipsikotikler ile birlikte 5-HT_2 reseptörlerinin bu kadar önemli bir noktaya taşınması antipsikotik etki için D_2 reseptör antagonizmasının gerekliliğini tartışmalı hale getirmiştir. Hatta bundan yola çıkılarak ritanserin gibi seçici 5-HT_2 reseptör antagonistleri geliştirilmiş fakat bir umut ile geliştirilen bu maddelerin antipsikotik etki oluşturmadıkları gösterilmiştir (Den Boer ve ark., 2000).

2000'li yılların başlarına kadar yeni atipik antipsikotiklerin geliştirilmesinde 5-HT_2/D_2 antagonisti modeli tereddütsüz bir şekilde kabul görmüşken, sonraları geliştirilen amisülpirid, sülpirid ve remoksipiridin (aplastik anemi oluşturma riski taşıdığı için kısa süre içinde piyasadan çekilmiştir) atipik antipsikotik etki profiline sahipken 5-HT_2 reseptörlerine bağlanmadıkları ortaya çıkmıştır. Bu bulgular atipiklik için daha önce koşulsuz kabul edilen 5-HT_2/D_2 antagonisti modelini sorgulanabilir hale getirmiştir (Agid ve ark., 2008).

Atipiklik için 5-HT_2/D_2 antagonisti modeline alternatif olarak ortaya atılan bir diğer hipotezde ise D_2 reseptörlerine farklı derecelerde bağlanmaların atipik antipsikotik etki için anahtar rol oynadığını savunmaktadır. Bu hipoteze göre hızlı disosiasyon sabitine sahip ilaçlar D_2 reseptörlerine karşı düşük afinite göstermekte ve atipik etki profilini ortaya çıkarmaktadır (Kapur ve Seeman, 2001). Bu hipotez atipik antipsikotiklerin geneli için doğrulanmış olsa da özellikle risperidon gibi bazı ilaçların reseptör afinitelerini açıklayamamıştır (Seeman, 2002).

Atipik antipsikotiklerin etki mekanizmasının aydınlatılması için ortaya atılan "bölgesel seçicilik" hipotezinde ise bir antipsikotiğin beynin farklı bölgelerine farklı derecelerde bağlanmasının o ilacın tipik/atipik oluşunu belirlediğinden bahsedilmektedir. Bu hipoteze göre atipik antipsikotiklerin sahip oldukları klinik üstünlüğün altında yatan mekanizma beynin özellikle limbik bölgeleri olmak üzere

bazı bölgelerine daha fazla bağlanmalarıdır. Bu fikir bazı atipik antipsikotiklerin limbik bölgelerdeki D_2 reseptörlerine diğer bölgelerden daha fazla bağlandıklarını gösteren çalışmalar ile doğrulanmıştır fakat tüm atipik antipsikotiklerin bağlanma profilleri bu hipotezi desteklememektedir (Gründer ve ark., 2003; Olsson ve ark., 2004). Dolayısı ile antipsikotik ilaçlarda atipikliğin tam olarak hangi mekanizmalar ile sağlandığı konusundaki soru işaretleri hala tam olarak ortadan kaldırılamamıştır.

Yapılan birçok çalışma gerek tipik gerek atipik antipsikotik tedavilerin plaseboya üstünlük sağladığını ve özellikle hastalığın pozitif semptomlarını iyileştirmede faydalı olduklarını göstermiştir. Bazı meta analiz çalışmaları antipsikotik ilaçlar arasında efikasite yönünden büyük farklılıklar olmadığını gösterirken bunun aksine bazı çalışmalarda klozapin, olanzapin ve risperidon gibi atipik antipsikotiklerin haloperidolden daha etkili oldukları rapor edilmiştir (Agid ve ark., 2008). Atipik antipsikotiklerin düşük ve orta derecede potent antipsikotiklerle karşılaştırıldığı çalışmalarda ise klozapinin tedaviye dirençli vakalardaki klinik üstünlüğü haricinde ilaçların etkililiğinde herhangi bir fark görülmediği belirtilmiştir. Atipik antipsikotiklerin kendi içlerinde kıyaslandığı çalışmalardan çıkan en önemli sonuç da dirençli vakalarda klozapinin üstünlüğü olmuştur. Son zamanlarda gerçekleştirilen geniş ölçekli etkililik çalışmaları atipik antipsikotiklerin karşılaştırılması açısından önemli sonuçlar ortaya çıkarmıştır. Bu çalışmalarda atipik antipsikotiklerinde tipik antipsikotikler gibi pozitif semptomları önlemede etkili oldukları fakat diğer semptomları önlemede önemli bir başarı sağlayamadıklarını gösterilmiştir. Bu çalışmada ayrıca atipik antipsikotiklerin daha az ekstrapiramidal yan etkilere neden olduğu da gösterilmiştir. Atipik antipsikotiklerin ekstrapiramidal yan etkilerdeki üstünlüklerine karşın karmaşık reseptör profillerinden dolayı başta metabolik sendrom olmak üzere çeşitli yan etilere neden oldukları da bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Agid ve ark., 2008; Tandon ve ark., 2010).

4.4. Şizofreni Etiyolojisi

Şizofreni hastalarının bir kısmının kendisi gibi şizofreni hastası aile bireylerine sahip olduklarının gözlemlenmesi şizofreninin genetik/kalıtımsal temelinin araştırılması için araştırmacılara ilham vermiştir. Yapılan çalışmalarda şizofreni hastası aile üyesine sahip kişilerde genetik yakınlığın fazla olması nedeni ile şizofreni riskinin de

artmış olduğu gösterilmiştir (Janoutová ve ark., 2016). Yapılan ikiz çalışmalarına bakıldığında genetik materyellerinin %50'sini paylaşan çift yumurta ikizlerinde bir bireyin şizofreni hastası olması durumunda diğer bireyin de şizofreni hastası olma ihtimalinin %10-15 oranında arttığı belirtilmiştir. Genetik materyalin %100'ünü paylaşan tek yumurta ikizlerinde ise bir bireyin şizofreni hastası olması durumunda diğer bireyin şizofreni hastası olma ihtimalinin %40-50 oranında arttığı bildirilmiştir (Gottesman ve ark., 1987; Sullivan ve ark., 2003). Şizofreninin genetik etiyolojisi altında yatan mekanizmalar ve bu mekanizmalarda rol oynayabilecek genler birçok araştırmacı tarafından araştırılmıştır. Bu araştırmalar neticesinde Nöregulin-1 (NRG-1), Disbindin, D_1–D_4 reseptörleri, şizofrenide bozulan protein-1 (Disrupted in schizophrenia-1, DISC-1), katekol-o-metil-transferaz ve metabotropik glutamat reseptörleri (mGluR) gibi birçok genin ve/veya bu genler aracılığı ile üretilen proteinlerin şizofreni etiyopatogenezinde rol oynayabileceği gösterilmiştir (Chubb ve ark., 2008; Duan ve ark., 2007; Hänninen ve ark., 2007; Lewandowski, 2007; Li ve He, 2007; Nicodemus ve ark., 2007; Tan ve ark., 2007). Bununla birlikte bu faktörlerden her birinin belli oranlarda şizofreni patogenezine katkıda bulundukları düşünülürken hiçbir genin tek başına şizofreni gelişiminde major rol oynadığı gösterilememiştir (Tandon ve ark., 2008).

Genetik faktörlere ek olarak prenatal ve perinatal periyotlar, erken ve geç çocukluk, ergenlik ve erken yetişkinlik dönemlerinde biyolojik ve psikososyal çevresel risk faktörlerine maruziyetin şizofreni gelişmesi riskini artırdıkları çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Maki ve ark., 2005). Gebeliğin ilk ve ikinci trimesterleri boyunca yaşanan maternal enfeksiyonlar ve beslenme yetersizlikleri artmış şizofreni riski ile ilişkilendirilmiştir (Meyer ve ark., 2007; Penner ve Brown, 2007). Artmış şizofreni riski ile en sık ilişkilendirilen enfeksiyonların maternal dönemdeki influenza, rubella ve toksoplazma enfeksiyonlarıdır (Brown ve ark., 2001; Brown ve ark., 2005; Mednick ve ark., 1988). Bu enfeksiyonların şizofreni etiyopatogenezindeki rolü tam olarak aydınlatılamasa da artmış immün cevap ve oluşan sitokinlerin fetustaki normal beyin gelişimini olumsuz yönde etkiledikleri düşünülmeketedir (Aricioglu ve ark., 2016). Gebeliğin ilk trimesteri boyunca annenin maruz kaldığı ciddi beslenme yetersizlikleri ve olumsuz hayat şartları da şizofreni gelişim riskini artıran faktörler arasındadır. Bu olayın mekanizması ise "strese duyarlılık" ve sonrasında gelişen

hiperdopaminerjik nöropatolojiye yatkınlık olarak hipotize edilmiştir (Tandon ve ark., 2008). Prenatal ve perinatal periyod boyunca daha çok maternal kaynaklı risk faktörleri ön plana çıksa da yapılan çalışmalarda babanın ileri yaşta olmasının da şizofreni riskini yaklaşık 2 kat artırabildiği gösterilmiştir (Wohl ve Gorwood, 2007). Babanın yaşının bu risk artışındaki rolü tam olarak aydınlatılamamış olsa da bozulmuş spermatogenezin de novo mutasyonlarda artışa ve aşırı epigenetik düzenlenmeler ile şizofreni riskinde artışa sebep olduğu tahmin edilmektedir (Byrne ve ark., 2003; Perrin ve ark., 2007). Şizofreni gelişme riski ile mevsimler arasındaki ilişki incelendiğinde kış sonu veya bahar başlarında doğan kişilerde %5-10'luk bir risk artışı olduğu dikkat çekmektedir. Ayrıca kış mevsiminin süresi ve şiddeti ile şizofreni riskinin doğru orantılı olarak arttığı gösterilmiştir. Kış mevsiminin bu risk artışındaki rolü prenatal enfeksiyonlar, prenatal beslenme yetersizlikleri ve mutasyon riski olmak üzere bu üç faktöre bağlı olduğu düşünülmektedir (McGrath ve Welham, 1999; Torrey ve ark., 1997). Bazı kısıtlılıkları olmasına rağmen çalışmalar çocukluk çağı hikayesinin de şizofreni etiyojisinde etkili olabileceğini göstermektedir. Bu çalışmalarda çocukluk travması, kafa hasarı, aileden ayrılma, enfeksiyonlar gibi faktörlerin çocukluk çağında meydana gelebilecek risk artışından sorumlu olabilecekleri bildirilmiştir (Dalman ve ark., 2008; Morgan ve ark., 2007; Read ve ark., 2005). Ergenlik süresince esrar kullanımının şizofreni gelişim riski ile ilişkisi çeşitli çalışmalar ile gösterilmesine rağmen esrar kullanımının yatkınlığı olan kişilerde şizofreniye zemin mi hazırladığı yoksa şizofreni gelişim riskini artırmadan şizofreninin ifade şeklini mi değiştirdiği sorusunun cevabı henüz net değildir (Degenhardt ve Hall, 2006; Semple ve ark., 2005).

Bunların dışında hastalık öncesi dönemde spesifik öğrenme bozuklukları ve düşük akademik başarı, düşük fiziksel aktivite, hafif nörolojik bozukluklar, düşük sosyallik de şizofreni riskini artıran faktörler arasında sayılabilir (Tandon ve ark., 2008). Yukarıda bahsedilen şizofreni etiyopatogenizinde rol oynadığı düşünülen faktörler tablo 2'de özetlenmiştir. Tüm bu anlatılan çevresel faktörlerin şizofreni gelişme riskini artırabilecekleri gösterilirken eldeki veriler hiçbir faktörün tek başına veya kesin olarak şizofreni oluşumuna neden olduğu söylemek için yeterli değildir.

Tablo 2. Şizofreni gelişim riski açısından etiyolojik faktörler

Risk Faktörü	Şizofreni gelişim riskinde artış	Kaynak
Genetik Faktörler		
Her iki ebeveyn şizofren ise	%40-60	(Gottesman ve ark., 1987)
Şizofren çift yumurta ikizi	%10-15	(Sullivan ve ark., 2003)
Şizofren tek yumurta ikizi	%40-50	(Sullivan ve ark., 2003)
Babanın yaşı	2-3	(Wohl ve Gorwood, 2007)
Erkek cinsiyet	1,4	(Aleman ve ark., 2003)
Çevresel Faktörler		
Şehirleşme	2-3	(Pedersen ve Mortensen, 2001)
Göç İlk kuşak göçmenler İkinci kuşak göçmenler	2-4 2,7 4,5	(Cantor-Graae ve Selten, 2005)
Maternal enfeksiyon	2-3	(Penner ve Brown, 2007)
Kış doğumu	1,1	(McGrath ve ark., 2004)
Esrar kullanımı	2-3	(Semple ve ark., 2005)

4.5. Şizofreni Nörobiyolojisi

4.5.1. Nöroanatomik değişiklikler

Son yıllarda in vivo görüntüleme teknolojisilerinin gelişmesi ile manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi yöntemlerle beyindeki yapısal değişiklikler daha kolay tespit edilebilir hale gelmiştir. MRI çalışmaları şizofreni hastalarında tüm beyin hacminin ve gri maddenin azalırken ventrikül hacimlerinin arttığını göstermektedir. Bu azalmalar özellikle hipokampus, amigdala, superior temporal girus gibi temporal lob yapıları ile prefrontal korteks, talamus, anterior singulat korteks ve korpus kallosumda meydana gelmektedir (Keshavan ve ark., 2008). Farklı çalışmalarda ise medial temporal lob ve superior temporal girusta gri madde yoğunluklarının da azaldığı gösterilmiştir (Honea ve ark., 2005). Medial temporal lobdaki bu azalmanın pozitif semptomlar ile superior temporal girustaki azalmanın ise bellek bozuklukları ile ilişkili oldukları bildirilmiştir (Antonova ve ark., 2004; Keshavan ve ark., 2008). Şizofreni hastalarında hacmin azaldığı gösterilen yapılardan bir diğeri de beyaz maddedir. Beyaz maddede meydana gelen bu azalmanın şizofreni etiyopatogenezi

için anahtar bir faktör olduğu ve bu azalmanın hastalıkta görülen disosiytif düşünme ve bilişsel bozukluklar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Chang ve ark., 2007).

4.5.2. İn vivo beyin fonksiyonlarındaki değişiklikler

İn vivo bölgesel beyin fonksiyonlarının incelenmesi büyük ölçüde pozitron emisyon tomografisi (PET) ve fonksiyonel MRI (fMRI) gibi nörogörüntüleme tekniklerinden elde edilen verilere dayanır. Bu teknikler kullanılarak yapılan çeşitli çalışmalarda şizofreni hastalarında bilişsel görevlerde dorsolateral prefrontal korteksin olması gerekenden daha az aktive olduğu gösterilmiştir (Keshavan ve ark., 2008). Ayrıca bu hastalarda prefrontal kortikal aktivitede genel bir azalmanın gösterilmesi de önemli bulgular arasındadır (Davidson ve Heinrichs, 2003). Üstelik bu fonksiyon bozukluğu sadece kronik şizofreni hastalarını kapsamamakdır, prodromal dönemdeki kişilerde de psikoz hastalarındaki kadar ciddi olmasa da prefrontal fonksiyon bozuklukları gösterilmiştir. Bu sonuç fMRI'da görülen bu prefrontal bozukluğun erken fazda olan kişilerde hastalığın görülmesi açısından bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir (Fusar-Poli ve ark., 2007). Ayrıca yapılan fMRI incelemelerinde hipokampus gibi temporal lob bölgeleri ile prefrontal korteks arasında sürekli bir iletişimin olduğunu ve bu iletişimin şizofreni hastalarında karşılıklı olarak bozulmuş olduğunu göstermiştir (Meyer-Lindenberg ve ark., 2005). Özet olarak fonksiyonel görüntüleme yöntemleri şizofreni hastalarında başta prefrontal bölge olmak üzere hipokampus gibi temporal bölgelerde fonksiyonel bozulmaların olduğunu ve buna bağlı olarak da bu bölgeler arasındaki iletişimin bozulmuş olduğunu düşünülmektedir.

4.5.3. Beyin fizyolojisindeki değişimler

Nörofizyolojik incelemeler genellikle dinlenme halinde veya deneysel paradigmalara alındıklarında scalp elektrotları kullanılarak deneklerde beyin elektriksel aktivitesinin değerlendirilmesine dayanmaktadır. Şizofreni hastalarında sağlıklı bireylere göre uyumsuzluk negativitesi, ön uyaran aracılı inhibisyon, uyku bozuklukları, göz hareket anormallikleri, nöronal uyum bozuklukları gibi nörofizyolojilk parametrelerde bozukluklar olduğu bilinmektedir. Bu bozukluklardan öne çıkan bazıları aşağıda anlatılmıştır.

Uyumsuzluk negativitesi, tekrarlanan standart bir ses dizisinin ardından şiddet, süre ve frekans gibi bir özelliği ile bu seslerden farklı bir ses verildiğinde bu olaya ilişkin

oluşan yanıtı tanımlamaktadır. Kişinin farklı olan uyaranı seçmesi ve buna cevap vermesi için uygulanan teste dikkatini vermesi gerekmediği için bu paradigmanın işitsel bilgi işlemenin ön dikkat evresini temsil ettiği düşünülmektedir (Keshavan ve ark., 2008). Çeşitli meta analizlerde uyumsuzluk negativitesindeki azalmanın şizofreni için tekrarlanabilir bir bulgu olduğu gösterilmiştir (Umbricht ve Krljes, 2005). Uyumsuzluk negativitesinin duyusal bellek ile ilişkili olduğu ve bozukluğunun glutamaterjik NMDA reseptör hipofonksiyonu ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir. Primatlarda NMDA antagonistleri ile bu paradigmadaki azalmanın indüklenmesi de bu hipotezi desteklemektedir (Javitt ve ark., 2008). Uyumsuzluk negativitesinin beyinde önemli derecede birincil ve ikincil işitsel korteks ile dorsolateral prefrontal kortekste üretildiği gösterilmiştir (Näätänen ve Alho, 1995). Şizofreni hastalarında dorsolateral prefrontal kortekste meydana gelen fonksiyon kaybının bu parametrenin bozulmasına yol açtığı düşünülmektedir (Sato ve ark., 2003). Ayrıca bu paradigmanın şizofrenideki bozulmuş dil ve anlatımın nörofizyolojik temeli hakkında bilgi verebileceği bildirilmiştir (Pulvermüller ve Shtyrov, 2006).

Normal şartlar altında ani ve kuvvetli bir sesli uyarana verilen irkilme cevabı bu uyarandan kısa süre (60-120 ms) önce verilen bir ön uyaran ile azaltılmaktadır. Bu ön uyaranın yapmış olduğu inhibisyonun sensorimotor kapılama işlemini yansıttığı ve şizofreni hastalarında bu inhibisyon oranının azaldığı bilinmektedir (Braff and Light, 2005). Deneysel şizofreni modellerinden elde edilen veriler dopamin agonisti veya NMDA antagonisti gibi maddeler ile oluşturulan farmakolojik modellerde ÖUAİ'nin bozulduğunu göstermektedir (Mansbach ve ark, 1989). Şizofreni patofizyolojisinde ÖUAİ'yi düzenleyen nöronal mekanizmalar oldukça karmaşıktır. Huntington hastalığında görülen bazı ÖUAİ bozukluklarında büyük ölçüde striatumdan kaynaklandığı düşünülürken, fonksiyonel nörogörüntüleme çalışmaları şizofrenide görülen azalmış ÖUAİ'da striatum, hipokampus, talamus ile frontal ve pariyetal kortikal bölgelerin etkili olabileceğini göstermektedir (Kumari ve ark., 2003; Valls-Sole ve ark., 2004) ÖUAİ'da meydana gelen bozulmaların hastalığın ilk evrelerinde daha belirgin olduğu ve genellikle tipik antipsikotikler ile düzeltilemezken, klozapin gibi atipik antipsikotiklerin bu bozukluğu düzeltmede daha başarılı oldukları gösterilmiştir (Geyer, 2006; Kumari ve Sharma, 2002).

ÖUAİ'nin ketamin gibi NMDA reseptör antagonistleri ile azalması ve klozapin gibi atipik antipsikotikler ile düzeltilmesi bu parametrenin farmakolojik girişimlerde glutamaterjik aktivitenin değerlendirilmesi için bir biobelirteç olabileceğini göstermektedir (Geyer, 2006).

Şizofreni hastaları ve onların birinci derece akrabalarında okülomotor anormallikler olduğuna dair bazı kanıtlar bulunmaktadır. Bunlardan birincisi, bu hastalarda gözlerin hareket eden bir nesneyi düzgün bir biçimde takip edememesi ile kendini gösteren anormal göz seğirmeleridir (Holzman ve ark., 1988). Bu takip etme bozukluğunun ekstraretinal hareket işlem yolağında meydana gelen fonksiyon azalması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Hong ve ark., 2005). İkincisi ise şizofreni hastaları ve onların birinci derece yakınlarında görülen antisakkadik göz hareketlerinde bozulmalardır. Bu bozukluğun belirlendiği testte ekranda sabit noktaya bakan bir hastanın gözlerini bu noktanın sağında veya solunda ortaya çıkacak olan yeni görüntünün aksi yönüne çevirmesi istenir. Fakat şizofreni hastalarının otomatik refleks bakışlarını baskılayamayarak bakışlarını yeni görüntünün verildiği tarafa çevirdikleri gösterilmiştir (Turetsky ve ark., 2007). Bu göz hareketlerindeki başarı oranının işlem belleği kapasitesi ve o anki işlem bellek yükü ile ilişkili olduğu ve frontal aktivitedeki bozulmalar ile azaldığı belirtilmiştir (Calkins ve Iacono, 2000; Hutton ve Ettinger, 2006). Dopaminin geri alımını bloke ederek sinaptik aralıkta dopamin seviyesini artıran metilfenidat ve kolinomimetik etkili nikotinin bu hata oranını azalttığı bulunmuştur. Bunun yanında şizofreni ve Alzheimer hastalıklarında bu hata oranlarının arttığı da bulgular arasındadır. Tüm bu sonuçlar antisakkadik göz hareketlerinin kontrolünde kolinerjik ve dopaminerjik sistemlerin önemli rol oynadığını göstermektedir (Hutton ve Ettinger, 2006; Turetsky ve ark., 2007).

Yukarıda belirtilmiş olan tüm bu fizyolojik değişikliklerin nörokimyasal temeli her ne kadar kompleks olsa da glutamaterjik (ÖUAİ, uyumsuzluk negativitesi, göz hareket bozuklukları), serotonerjik (uyumsuzluk negativitesi), kolinerjik (göz hareket bozuklukları), dopaminerjik (ÖUAİ) ve GABAerjik (ÖUAİ) sistemlerin bu değişikliklerde rol oynadıkları tahmin edilmektedir (Javitt ve ark., 2008).

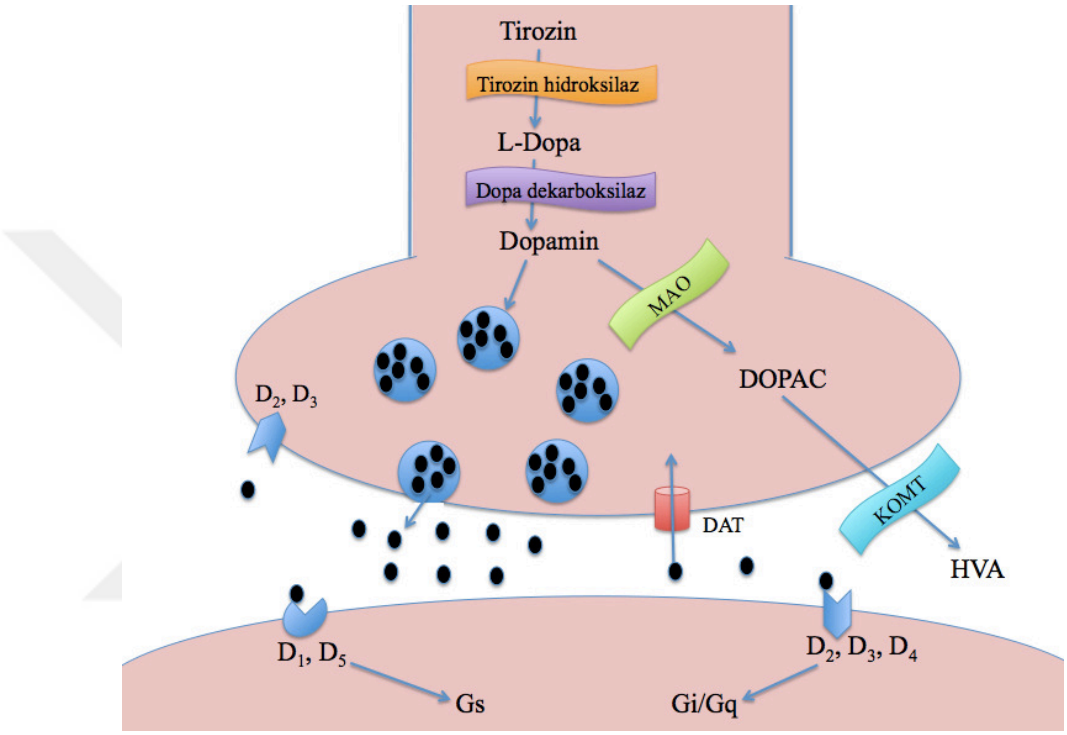
4.5.4. Şizofreni nörobiyolojisinde nörokimyasal değişiklikler

Şizofreni nörobiyolojisinde yukarıda bahsedilen anatomik ve fizyolojik değişikliklere ek olarak bazı nörotransmitterlerin de miktarlarında değişimler olmaktadır. Şizofreni nörobiyolojisi ile dopaminerjik sistemde meydana gelen değişimler özdeşleşmiş olsa da son zamanlarda yapılan çalışmalar başta glutamaterjik sistem olmak üzere GABAerjik, kolinerjik ve serotonerjik sistemlerdeki düzensizliklerin de şizofreni nörobiyolojisine katkıda bulunabileceğini göstermektedir. Bu nörotransmitterler ile şizofreni arasındaki ilişki aşağıda detaylı olarak verilmiştir.

4.5.4.1. Şizofreni nörobiyolojisinde dopaminerjik sistem

Dopamin ilk kez 1957 yılında Arvid Carlsson tarafından tanımlanmış katekolamin yapılı bir nörotransmitterdir. SSS'de yaygın olarak bulunan bu nörotransmitter beyindeki katekolamin miktarının yaklaşık %50'sini oluşturur. Nörotransmitter görevinin yanında SSS'de nörohormon olarak da görev yapmaktadır. Bu nörotransmitter dopaminerjik sinirler içerisinde tirozin aminoasidinden sentezlenmektedir. Tirozin tirozin hidroksilaz enzimi ile L-DOPA'ya L-DOPA da dopa dekarboksilaz enzimi ile dopamine dönüşmektedir. Hücre içerisinde sentezi tamamlanan dopamin presinaptik uçta özel veziküller içerisinde depolanmakta ve ATP bağımlı bir şekilde bu veziküllerden sinaptik aralığa salınmaktadır. Sinaptik aralığa salınan dopamin presinaptik veya postsinaptik uçta bulunan kendine ait reseptörlere bağlanarak etki göstermektedir. Dopaminerjik reseptörlerin tamamı metabotropik reseptör ailesine ait olup 5 alt tipe ayrılmıştır. Bunlardan D_1 ve D_5 reseptörleri G_s proteini ile kenetli olup aktivasyonları sonrasında bulundukları hücrede eksitatör bir etki yapmaktadır. Dopaminerjik D_2, D_3, D_4 reseptörleri G_i/G_0 proteini ile kenetli olup, aktivasyonları sonrasında bulundukları hücrede inhibitör etki yapmaktadır. Reseptörler arasındaki etki benzerliklerinden dolayı dopaminerjik reseptörler D_1 (D_1 ve D_5) tipi reseptörler ve D_2 (D_2, D_3, D_4) tipi reseptörler olarak sınıflandırılmaktadır. Ayrıca D_1 tipi reseptörler sinapsta sadece postsinaptik yerleşim gösterirken D_2 tipi reseptörler hem presinaptik hem postsinaptik yerleşim gösterenilmektedir. D_2 tipi reseptörler presinaptik konumda bulunduklarında inhibitör etkilerinden dolayı sinaptik aralığa dopamin salımını azaltarak otoreseptör görevi görmektedir. Sinaptik aralıkta reseptörlere bağlanıp ayrılan dopaminin etkisi

sinapsta iki biçimde sona ermektedir. Sinaptik aralıktaki dopamin molekülleri ya dopamin taşıyıcısı ile presinaptik uca geri alınmakta ya da enzimatik reaksiyon ile metabolitlerine dönüşmektedir. Dopamin monoamin oksidaz ve katekol-o-metil-transferaz enzimleri ile metabolize edilerek en önemli metaboliti homovanilik asit başta olmak üzere metabolitlerine çevirilmektedir (Elsworth ve Roth, 1997) (Şekil 2).



Şekil 2. SSS'de dopaminerjik döngü (DAT: Dopamin taşıyıcısı, HVA: Homovanilik asit, KOMT: Katekol-o-metil transferaz, MAO:Monoamin oksidaz)

Şizofreni patofizyolojisi açısından en eski ve en bilinen teori şüphesiz dopamin hipotezidir. Bu hipotez ilk ortaya atıldığında aşırı dopaminerjik aktivitenin bu patolojinin altında yatan mekanizma olduğunu savunulmuştur fakat bunun doğrudan kanıtları oldukça azdır. (Carlsson, 1977; Carlsson ve Carlsson, 2006; Keshavan ve ark., 2008). Laurelle ve arkadaşları amfetamin ile indüklenen akut psikozda striatal dopamin salımının arttığını göstermişlerdir (Laruelle ve ark., 1996). Buna rağmen dopaminerjik hipotezin kanıtlarından birçoğu dopaminerjik blokajın antipsikotik etkisi ve dopaminerjik agonistlerin psikotomimetik etkisi gibi dolaylı kanıtlardır (Guillin ve ark., 2007). Yapılan postmortem çalışmalar ve PET verileri şizofreni hastalarında beyinde D_2 reseptör bağlanmalarının arttığını göstermektedir fakat bu

etkide daha önce kullanılmış olan antipsikotiklerin katkısının olup olmadığı tartışmalıdır (Zakzanis ve ark., 2000). İlk ortaya atıldığı haliyle şizofreninin pozitif semptomlarını büyük oranda açıklayabilen dopamin hipotezi şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarını yeterince açıklamamıştır. Daha sonraları yapılan araştırmalar neticesinde şizofreni hastalarının beyinlerinde tamamında dopaminerjik aktivitenin artmadığı, D_1 reseptör aktivitelerinin azaldığı keşfedilmiştir. Şizofrenide görülen bilişsel fonksiyon bozukluklarının ise prefrontal D_1 reseptörlerindeki hipofonksiyona bağlı olduğu savunulmuştur (Weinberger ve McClure, 2002). Dolayısı ile dopamin hipotezinin son halinde dopaminerjik aktivitedeki artma veya azalmanın reseptöre ve aşağıda kısaca anlatılacak olan beyindeki dopminerjik yolaklara göre değişiklik gösterdiği sonucuna varılmıştır. Bu son hipotezine göre mezokortikal dopaminerjik yolakta bir hipoaktivite (bilişsel ve negatif semptomlar) ve mezolimbik dopaminerjik yolakta ise bir hiperaktivite (pozitif semptomlar) olduğu kabul edilmektedir (Weinberger ve McClure, 2002). Bir başka yaklaşımla ise tonik dopaminerjik aktivitenin azaldığı ve stres gibi çeşitli uyaranlara cevapta fazik dopaminerjik aktivitenin aşırı arttığı düşünülmektedir (Grace, 1991).

Dopaminin beyinde şizofreni ile ilişkili 4 ana nöronal yolağı bulunmaktadır. Bu yolakların temel fizyolojik görevleri ve şizofreni ile ilişkileri aşağıda kısaca verilmiştir.

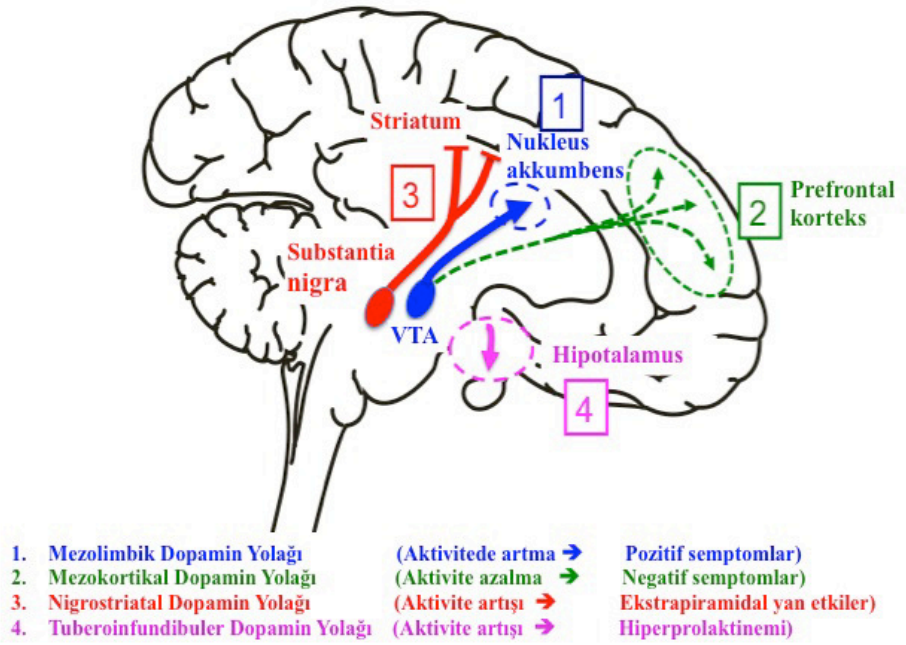
i) Nigrostriatal dopaimin yolağı: Bu yolaktaki nöronlar substantia nigradan başlayarak striatuma uzanmaktadır ve bu yolak fizyolojik olarak motor aktivitenin koordinasyonundan sorumludur. Bu yolaktaki dopaminerjik aktivitenin antipsikotik kullanımı sonucu baskılanmasının ekstrapiramidal yan etkilere neden olduğu düşünülmektedir.

ii) Mezolimbik dopamin yolağı: VTA'dan limbik gölgeye uzanan bu yolak ödüllendirme, uyanıklık, lokomotor hareketlerin başlatılması gibi fizyolojik rollerde görev alır. Bu yolaktaki aktivite artışının şizofreninin halüsinasyon, delüzyon gibi pozitif semptomlarına neden olduğu düşünülmektedir.

iii) Mezokortikal yolak: VTA'dan prefrontal kortekse uzanan bu yolak duygu durumun ve bilişsel fonksiyonların düzenlenmesine katkıda bulunur. Bu yolaktaki dopaminerjik aktivite azalmasının şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarına

neden olduğu düşünülmektedir.

iv) Tuberoinfundibular dopamin yolağı: Hipotalamustan hipofize uzanan bu yolakta dopamin daha çok nörohormon görevi görür ve prolaktin salımını baskılayarak plazma prolaktin seviyesini kontrol eder. Bu yolaktaki aktivitenin antipsikotik kullanımı sonucu baskılanmasının hiperprolaktinemiye neden olduğu düşünülmektedir (Brisch ve ark., 2014) (Şekil 3).



Şekil 3. SSS'de temel dopaminerjik yolaklar ve şizofrenideki rolleri (VTA: Ventral tegmental alan)

4.5.4.2. Dopaminerjik sistem ile ilgili tedavi yaklaşımları

4.5.4.2.1. Dopaminerjik D_1 reseptör antagonistleri

Sık kullanılan antipsikotiklerden flupentiksol ve zuklopentiksolün D_1 ve D_2 reseptörlerine eşit afinite göstermeleri ve klozapinin düşük D_2 reseptör afinitesinin yanında D_1 reseptörlerine hatırı sayılır derecede afite göstermeleri bu reseptörlerin seçici antagonistlerinin şizofreni için bir tedavi seçeneği olabileceğini düşündürmüştür. D_1 reseptörlerin antipsikotik aktivitede oynadığı rolü destekleyen çalışmalar olmasına rağmen yapılan klinik çalışmalarda D_1 seçici antagoinstlerin antipsikotik aktivite göstermedikleri tespit edilmiştir (Agid ve ark., 2008; Tauscher ve ark., 2004; Arnsten ve ark., 2017).

4.5.4.2.2. Dopaminerjik D_1 reseptör agonistleri

Dopaminerjik D_1 reseptörlerin prefrontal kortekste yüksek derecede eksprese edildiği ve bu bölgedeki D_1 reseptörlerin hipoaktivitelerinin şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarına neden olabileceği çeşitli çalışmalar ile gösterilmiştir (Okubo ve ark., 1997). D_1 reseptör seçici agonistlerinin şizofeninin bilişsel semptomları üzerine gösterdikleri etkiye dair çelişkili sonuçlar bulunmaktadır (Castner ve ark., 2000; George ve ark., 2007). Yakın tarihlerde yapılan bir çalışmada D_1 reseptör tam agonisti dihidreksidin (DAR-0100)'ün şizofreni hastalarına dikkat üzerine faydalı etkileri bulunmuştur (Girgis ve ark., 2016). Bu bulgular D_1 reseptör agonistlerinin özellikle negatif ve bilişsel semptomları için ümit vaad ettiğini göstermektedir.

4.5.4.2.3. Dopaminerjik D_3 reseptör antagonistleri ve kısmi agonistleri

Dopaminerjik D_3 reseptörlerin prefrontal korteks ve nükleus akumbensi de kapsayan ventral ön beyinde yerleşim gösterdikleri çeşitli çalışmlarda belirtilirken postmortem çalışmalarda tedavi edilmemiş şizofreni hastalarının bazal gangliyon ve ventral ön beyinlerinde D_3 reseptör ekspresyonlarının arttığı gösterilmiştir (Gurevich ve ark., 1997). Bunun yanında birçok antipsikotik ilacın da D_3 reseptörlerine nispeten yüksek afinite gösterdikleri bilinmektedir. D_3 reseptör antagonistlerinin (SB-277011 ve S33138) preklinik ve klinik çalışmalarda ÖUAİ, bilişsel ve sosyal bozukluklar üzerine olumlu etkilerinin bulunduğu rapor edilmiştir (Joyce ve Millan, 2005; Reavill ve ark., 2000; Gross ve ark., 2013).

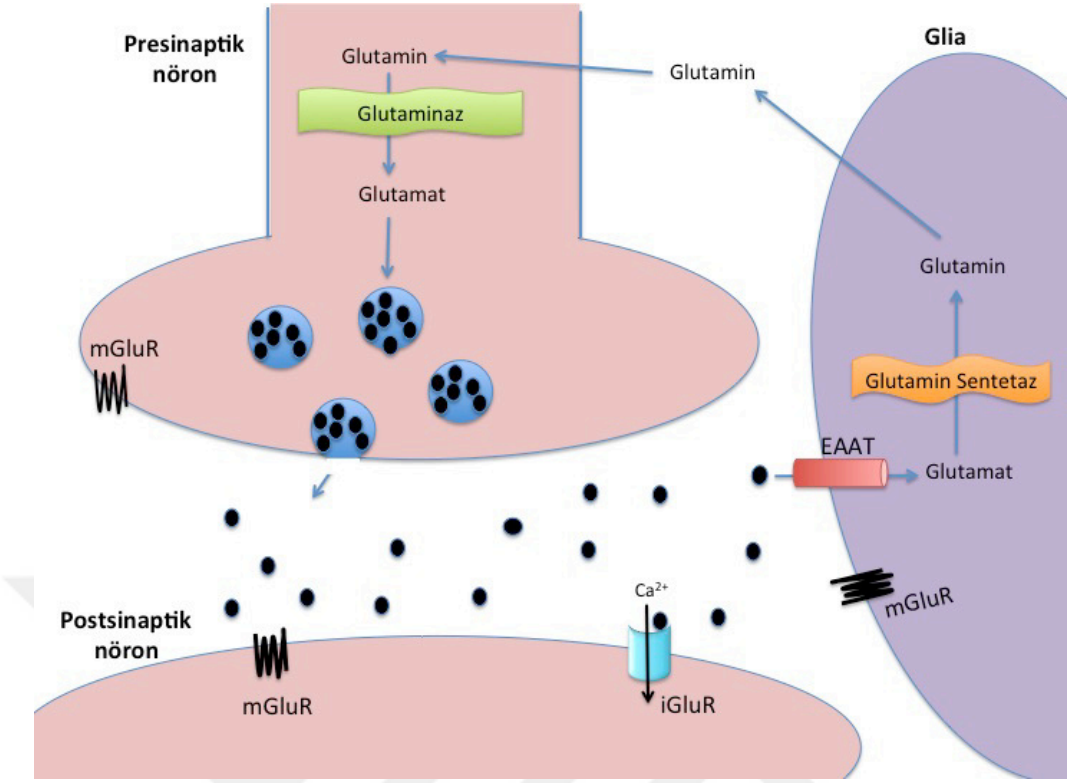
4.5.4.3. Şizofreni nörobiyolojisinde glutamaterjik sistem

Glutamatın memeli beyin ve omuriliğinde eksitatör bir rolünün olduğu ilk kez 1950'lerde keşfedilmiş olup 1970'lere gelindiğinde SSS'nin temel eksitatör nörotransmitteri olduğu ve bu etkilerini postsinaptik konumda bulunan iyonotropik reseptörleri vasıtası ile gerçekleştirdiği ilk kez dile getirilmiştir. Glutamatın etkisini iyonotropik reseptörlerinin yanında bir dizi metabotropik reseptörler ile de gösterdiğinin keşfedilmesi ise 1980'lerin sonuna dayanmaktadır.

Glutamat bir diğer ismi ile glutamik asit glutamaterjik sinirlerin presinaptik uçlarında büyük oranda glutaminden sentezlenmektedir. Bu reaksiyon glutaminaz enzimi tarafından katalizlenir. Presinaptik uçta sentezlenen glutamat enerji bağımlı bir şekilde özel veziküler içerisine alınır. Bu vezikillür hem glutamatın depolanmasını

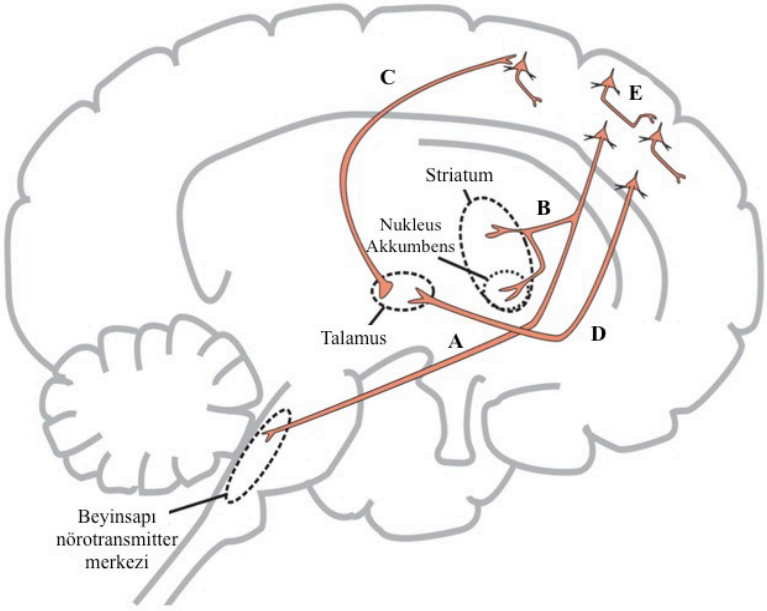
hem sinaptik aralığa salınmasını sağlar. Presinaptik aralığa salınan glutamat iyonotropik veya metabotropik glutamat reseptörlerine bağlanarak etki oluşturmaktadır. İyonotropik glutamat reseptörleri NMDA, α-amino-3-hidroksi-5-metil-izoksazol-4-propiyonik asit (AMPA) ve kainat olmak üzere 3 çeşittir. Bu reseptörler aktivasyonları durumunda hücre içine katyon (sodyum ve kalsiyum) girişi sağlayarak postsinaptik uçta eksitasyon meydana getirirler. Metabotropik glutamat reseptörleri ise 8'e ayrılıp (mGluR1-8) fonksiyon ve gösterdikleri homolojiye göre kendi içlerinde 3 grupta toplanmaktadır. Grup I metabotropik reseptörler (mGluR1, mGluR5) postsinaptik yerleşim gösterirler ve reseptör sonrası fosfolipaz C aktivasyonu ile postsinaptik uçta uyarıcı etki oluştururlar. Grup II (mGluR2, mGluR3) ve grup III (mGluR4, mGluR6, mGluR7, mGluR8) metabotropik reseptörler daha çok presinaptik konumda yerleşim gösterirler ve reseptör sonrası adenilat siklaz inhibisyonu yaparak presinaptik uçta inhibitör bir etki yaparlar. Bu etkilerinden dolayı otoreseptör olarak görev yaparlar ve sinaptik aralığa aşırı glutamat salımını engelleyerek bir sigorta fonksiyonu görürler. Sinaptik aralıkta fonksiyonunu tamamlayan glutamat glia tarafından eksitatör aminoasit taşıyıcısı ismi verilen bir pompa ile hücre içine alınır ve burada glutamin sentetaz enzimi ile glutamine sentezlenir. Bu hücrelerdeki glutamin daha sonra glutamat kaynağı olması için glutamaterjik nöronlara taşınmaktadır (Meldrum, 2000) (Şekil 4).

Şizofreni nörobiyolojisini açıklamaya yönelik ilk ortaya atılan ve yaygın olarak kabul edilen hipotez dopamin hipotezi olsa da son yıllarda glutamat hipotezi ön plana çıkmıştır. Özellikle dopaminerjik yolaklar üzerinde glutamatın düzenleyici rolü aydınlatıldıkça bu patolojinin glutamaterjik düzensizlikten ileri gelebileceği görüşü yaygın olarak kabul görmeye başlamıştır. Şizofreni hastalarının ilk olarak beyin omurilik sıvılarında azalmış glutamat seviyesinin ölçülmesi glutamat hipotezinin ortaya çıkmasına zemin hazırlamıştır (Kim ve ark., 1980). Daha sonra yapılan çalışmalarda ise NMDA reseptör aracılı glutamat iletiminde bir azalmanın şizofreni patolojisine yol açabileceği öne sürülmüştür (Moghaddam, 2003; Olney ve Farber, 1995). Bu teori klinikte PCP ve ketamin gibi NMDA reseptörü blokajı yapan maddelerin normal kişilerde psikoz benzeri davranışlara neden olduğu gözlemleri ile pekişmiştir (Javitt ve Zukin, 1991).



Şekil 4. SSS'de glutamat döngüsü ve glutamaterjik sinaps. Glutamaterjik sinapslar presinaptik ve postsinaptik nöron ile gliadan oluşan üçlü yapıya sahiptir (EAAT: Eksitatör amino asit taşıyıcısı, iGluR: iyonotropik glutamat reseptörleri, mGluR: Metabotropik glutamat reseptörleri)

Postmortem çalışmalar da bu teoriyi destekler nitelikte sonuçlar vermiş ve prefrontal korteks ve hipokampus gibi bazı beyin bölgelerinde özellikle NMDA reseptörleri olmak üzere glutamat reseptör ekspresyonlarında azalmalar olduğunu göstermişlerdir (Harrison ve ark., 2003). Bunlarla birlikte NMDA reseptör antagonistlerinin akut olarak uygulandığında deney hayvanlarında psikoz benzeri davranışlara, kronik olarak uygulandığında ise negatif semptom benzeri davranışlar ile bilişsel bozukluklara neden olması bu hipotezi destekleyen önemli bulgulardandır (Neill ve ark., 2014). Bu bulgular doğrultusunda şizofrenide bir NMDA reseptör hipofonksiyonu olduğu geniş çevrelerce kabul edilmektedir ve bu bulguların daha önceki dopamin hipotezini tamamladığı düşünülmektedir. Bu hipoteze göre korteksin çeşitli bölgelerden beynin orta ve dip bölümlerine projekte olan glutamaterjik yolaklar VTA'dan beynin çeşitli bölgelerine projekte olan dopaminerjik nöronların aktivitesini düzenlemektedir. Bu şekilde görev yapan toplam 5 glutamaterjik yolağın olduğu bilinmektedir (Şekil 5).



Şekil 5. SSS'deki glutamaterjik yolaklar (A: Korteks-beyin sapı yolağı, B: Kortikostriatal yolak, C: Talamokortikal yolak, D: Kortikotalamik yolak, E: Kortikokortikal yolak)

Bu yolaklar ve fizyolojik fonksiyonları aşağıda kısaca belirtilmiş olup olup şizofreni ile en fazla ilişkilendirilen kortikal beyinsapı yolağı detaylı olarak ele alınmıştır.

i) Korteks-beyin sapı yolağı: Bu yolaktaki glutamaterjik nöronlar beynin frontal korteks kısmından köken alarak lokus seruleus (noradrenalin), VTA (dopamin) ve substantia nigra (serotonin) gibi beynin nörotransmitter üretimleri açısından önemli bölgelerini kontrol altında tutar. Bu yolak bu bölgelerde üretilen nörotransmitterlerin olası aşırı aktivitesini baskılayarak bu sistemeler için sigorta görevi görmektir. Bilindiği gibi VTA beynin dopamin üretimi açısındn en önemli merkezlerindendir. Bu bölgeden köken alan nöronların beynin çeşitli bölgelerine projeksiyonları ve bunların fizyolojik fonksiyonları bir önceki bölümde anlatılmıştı. Korteks-beyin sapı yolağından VTA'ya projekte olan glutamaterjik nöronların bu bölgede beynin çeşitli bölgelerini uyaran dopaminerjik nöronları kontrol etmektedir. Kortikal bölgeden köken alan birinci sıra glutamaterjik nöronlar GABAerjik nöronlar ile sinaps yaptıktan sonra bu nöronların ikinci sıra glutamaerjik nöronlar ile bağlantı yaptığı ve ikinci sıra glutamaterjik nöronların VTA'daki dopaminerjik nöronları kontrol ettiği düşünülmektedir. Bu hipoteze göre birinci sıra glutamaterjik nöronların normalden

daha az ateşlenmesi GABAerjik nöronların daha az uyarılılmasına ve inhibitör bir nörotransmitter olan GABAnın daha az salınmasına neden olmaktadır. GABAerjik uyarının azalması ise dopaminerjik mezolimbik yolağı uyaran ikinci sıra glutamaterjik nöronlarda bir aktivite artışına neden olmakta ve dolayısı ile mezolimbik dopaminerjik yolağın hiperaktif duruma geçmesine imkan sağlamaktadır. Bu hipoteze göre şizofreninin pozitif semtomlarının altında yatan mekanizmanın Glutamat-GABA-Glutamat-Dopamin nöronal döngüsündeki düzensizlik olduğu düşünülmektedir. Şizofreninin negatif ve bilişsel semptomları için ise yine aynı glutamaterjik yolağın farklı dallanmaları sorumlu tutulmaktadır. Bu döngüde farklı olarak mezokortikal dopamin yolağının uyaran ikinci sıra glutamaterjik nöronların VTA'yı uyarmadan önce orta beyin bölgesinde ikinci bir GABAerjik nöronla daha sinaps yaptığı düşünülmektedir. Dolayısı ile mezokortikal bölgeyi kontrol eden nöronal döngünün glutamat-GABA-glutamat-GABA-Dopamin şeklinde olduğu ve ikinci sıra glutamaterjik nörondaki aktivite artışının mezokortikal bölgeyi baskılayan GABAerjik nöronda bir aktivite artışına neden olduğu savunulmaktadır. Aktivitesi artan GABAerjik nöronlar mezokortikal dopamin yolağını daha fazla baskılayarak bu yolağın dorsolateral ve ventrolateral prefrontal korteksi uyarmasını inhibe etmektedir. Bu inhibisyonun bir sonucu olarak da şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarının ortaya çıktığı düşünülmektedir (Schwartz ve ark., 2012).

ii) Kortikostriatal yolak: Korteksten köken alarak talamusu uyaran bu glutamaterjik yolak beynin yönetici işlevler, dikkat, motor aktivite gibi fonksiyonlarını kontrol etmektedir. Korteks-beyin sapı yolağının yanı sıra şizofreni hastalarında bu yolakta da düzensizlikler olduğu düşünülmektedir (Schwartz ve ark., 2012).

iii) Talamokortikal yolak: Bu bölgenin korteksten talamusa fazla bilgi gidişini önleyerek bir talamokortikal filtre görevi gördüğü düşünülmektedir.

iv) Kortikotalamik yolak: Korteksten köken alarak talamusu uzanan bu yolağın kortikal duyusal girdilerin talamusta filtre edilmesini sağlamaktadır.

v) Kortikokortikal yolak: Korteksten köken alarak yine aynı bölgeye uzanan bu yolak korteksin kendi içerisinde haberleşme ve koordinasyonundan sorrumlu olduğu düşünülmektedir (Coyle, 2006).

4.5.4.4. Glutamaterjik sistem ile ilgili tedavi yaklaşımları

4.5.4.4.1. NMDA reseptör PAM'ları

Gerçekleştirilen çeşitli çalışmalar NMDA reseptörlerinin glisin bağlanma bölgelerine bağlanan glisin, D-sikloserin ve D-serin gibi agonistlerinin şizofreni hastalarında mevcut antipsikotik tedaviye eklenmelerinin bilişsel ve negatif semptomları önlemede faydalı olabileceklerini göstermiştir (Goff ve Coyle, 2001). Buna rağmen bazı klinik çalışmalarda glisin ve D-sikloserin'in bilişsel ve negatif semptomlar açısından plaseboya herhangi bir üstünlük sağlayamadığını bildirilmiştir (Buchanan ve ark., 2007).

4.5.4.4.2. mGluR agonistleri

Bu reseptörlerden özellikle grup II reseptörler şizofreni tedavisi için hedef konuma yerleşmiştir. Grup II metabotropik reseptörlerin glutamaterjik sinir uçlarında presinaptik konumda bulundukları ve otoreseptör olarak görev yaptıkları bilinmektedir (Hu ve ark., 1999). Bu reseptörlerin mezolimbik dopaminerjik iletiyi dolaylı olarak module ettikleri ve mGlu2/3 reseptör agonistlerinin nükleus akumbenste glutamat salımını düzenleyerek antipsikotik benzeri etkiler oluştuduğu gösterilmiştir (Agid ve ark., 2008). Bir mGlu2/3 agonisti olan LY2040023'ün limbik bölgede presinaptik glutamat salımını azaltarak antipsikotik etki gösterdiği bildirilmiştir. LY2140023'ün etkisinin plasebo ve olanzapin ile karşılaştırıldığı çift körlü çalşmada ise 4 haftalık tedavinin ardından LY2140023'ün plaseboya göre pozitif ve negatif belirtileri anlamlı derecede iyileştirdiği gösterilmiştir (Patil ve ark., 2007). Bir diğer mGlu2/3 agonisti olan LY379268'in de deneysel şizofreni modellerinde bilişsel semptomlardaki bozukluğu düzelttiği gösterilmiştir (Wieronska ve ark., 2013). Bunun yanında hem mGlu2 hem mGlu5 PAM'ları preklinik çalışmalarda şizofrenini semptomları üzerine faydalı etkileri rapor edilmiştir (Ellaithy ve ark., 2015). Çalışmaların büyük bir çoğunluğu antipsikotik etki (özellikle pozitif semptomlar) için D_2 antagonizmasının gerekli ve yeterli olduğu gösterirken bu çalışma antipsikotik etki için direk olarak D_2 antagonizmasının gerekli olmadığını gösteren nadir çalışmalardandır.

4.5.4.4.3. AMPA/kainat reseptör antagonistleri/Ampakinler

Preklinik çalışmalarda LY-292558 ve GYK152466 gibi AMPA ve kainat reseptör antagonistlerinin NMDA reseptör antagonistleri ile indüklenen bilişsel bozulmalar

üzerine faydalı etkileri rapor edilmiştir. Bununla paradoksik olarak AMPA reseptörlerini pozitif olarak modüle eden ve glutamaterjik nörotransmisyonu kolaylaştıran ampakinlerin uzun süreli potensiyalizasyonu sağladığı, öğrenme ve bellek fonksiyonlarını geliştirdiği gösterilmiştir (Ward ve ark., 2015). Klinik çalışmalarda CX-516 ampakininin şizofreni hastalarında klozapine ek tedavi olarak uygulandığında negatif ve bilişsel semptomları geliştirdiği gösterilmiştir (Marenco ve Weinberger, 2006). Bununla birlikte bazı plasebo kontrollü çalışmalarda CX-516'nın klozapin, olanzapin ve risperidona ek tedavi olarak uygulandığında pozitif, negatif ve bilişsel semptomlarda antipsikotiklerin etkilerine ek olarak anlamlı düzelme sağlayamadığı da bildirilmiştir (Gopalakrishna ve ark., 2016).

4.5.4.4.4. Glisin geri alım inhibitörleri

Glisin taşıyıcısı tip I ve tip II glisinin sinaptik aralıktan geri alım vasıtası ile bu nörotransmitterin etkisini azaltan önemli geri alım pompalarıdır. Bu pompaların inhibisyonu ile glisinin sinaptik aralıkta daha yüksek konsantrasyonda bulunması ve böylece NMDA reseptörleri üzerindeki glisin bölgesine bağlanarak şizofrenideki NMDA hipofonksiyonunun düzeltilmesi hedeflenmektedir. Seçici ve potent glisin taşıyıcısı tip I geri alım inhibitörü olan sarkosinin şizofreni hastalarında mevcut antipsikotik tedaviye eklenmesinin hastalığın negatif ve bilişsel semptomlarında anlamlı düzelmeler yaptığı gösterilmiştir. Ayrıca akut alevlenmeli şizofreni hastalarında Sarkosin'in tek başına toplam şizofreni semptomlarında önemli azalmalar yaptığı, mevcut antipsikotiğe ek tedavi olarak uygulandığında ise pozitif semptomların önlenmesinde plaseboya üstünlük sağladığı bildirilmiştir (Gopalakrishna ve ark., 2016). Bunun yanında bir diğer glisin gerialım inhibitörü olan bitopertinin şizofreni hastalarıda negatif semptomlarını tedavide başarılı olduğu gösterilmiştir (Umbrict ve ark., 2014).

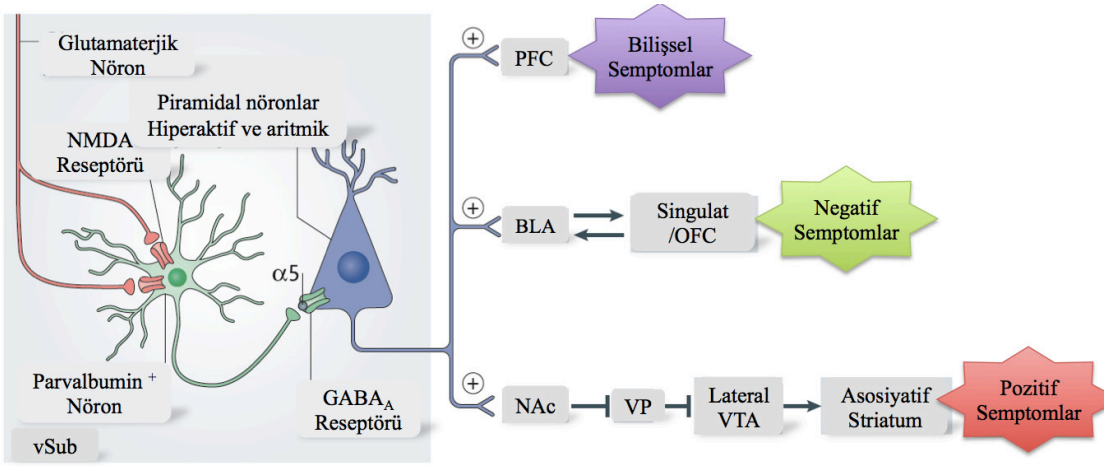
4.5.4.5. Şizofreni nörobiyolojisinde GABAerjik sistem

Postmortem şizofreni çalışmaları prefrontal kortekste GABA sentezinin major bileşeni olan glutamik asit dekarboksilazın (GAD) gen düzeyinde ekspresyonlarının azaldığını göstermektedir (Lewis ve ark., 2005). Buna ek olarak azalmış GABA sentezine karşılık muhtemel bir kompensatuar mekanizma ile $GABA_A$ reseptörlerinde bir artış meydana geldiği gösterilmiştir (Jarskog ve ark., 2007). Bunun yanında hem prefrontal kortekste hem de hipokampusta parvalbumin taşıyan

GABAerjik aranöronlarda bir azalma meydana geldiği çeşitli çalışmalar ile ifade edilmiştir (Heckers ve Konradi, 2015; Lewis ve ark., 2012). Şizofreni nöropatolojisinde görülen bu değişikliğin nöronal senkronizasyon bozukluklarına ve sonuç olarak çalışan bellekte oluşacak hatalara neden olabileceği düşünülmektedir (Lewis ve Gonzalez-Burgos, 2006).

Şizofreni hastalarında en fazla fonksiyonel bozulmanın meydana geldiği dokularıdan birisi hipokampustur. Yapılan çalışmalarda şizofreni hastalarında hipokampusun işlevlerinde anormalliklerin meydana geldiği tespit edilmiş ve bu anormallikler şizofreninin şizofreninin pozitif, negatif ve bilişsel semptomlarına neden olabileceği gösterilmiştir (Heckers ve Konradi, 2015). Hipokampusun büyük çoğunluğu (yaklaşık %90) glutamaterjik piramidal hücrelerden oluşmaktadır. Yüksek bazal ateşlenme oranına sahip olan bu glutamaterjik nöronlar gerek hipokampus iç bölgelerini gerek VTA gibi beynin diğer hedef bölgelerini uyararak normal fizyolojik fonksiyonların gerçekleşmesine katkıda bulunurlar. Hipokampusun %90'ının eksitatör glutamaterjik nöronlardan oluşmasına rağmen bu dokunun sadece %10'unu oluşturan ve inhibitör etkili olan GABAerjik aranöronlar glutamaterjik nöronlar ile eksitatör-inhibitör dengenin kurulmasını sağlarlar. Dolayısı ile bu ara nöronlar glutamaterjik nöronların fonksiyonlarını düzenleyerek glutamaterjik ateşlemenin belirli bir uyum içerisinde yapılmasını sağlarlar. Hipokampusun eksitatör ve inhibitör nöronlar vasıtası ile uyum içinde çalıştığı ritm gamma osilasyonları olarak isimlendirilir. Hipokampustaki nöronal ağın bu şekilde uyum içerisinde çalışması da yüksek zihinsel fonksiyonların sağlıklı bir şekilde yürütülmesine olanak vermektedir (Heckers ve Konradi, 2015).

Hipokampusta GABAerjik aranöronlarda meydana gelen hasar sonucu bu nöronların eksitatör piramidal nöronların aktivitesini baskılayamadığı düşünülmektedir. Eksitatör piramidal nöronların aktivitelerinin artması hipokampusun hiperaktif duruma geçmesine neden olmaktadır. Bu şekilde aktivitesi artan hipokampustan çıkan glutamaterjik nöronların ise gerek hipokampus içi gerek diğer dokuları fazla uyarması sonucu şizofreninin pozitif, negatif ve bilişsel semptomlarına neden olduğu düşünülmektedir (Grace, 2016) (Şekil 6).



Şekil 6. Hipokampal fonksiyon bozukluğu ve şizofreni ilişkisi. Hipokampusta yer alan parvalbumin içeren aranöronlar güçlü bir şekilde glutamaterjik NMDA nöronlar ile uyarılmaktadır. Parvalbumin içeren nöronlar ise $GABA_A$ reseptörlerinin α5 alt tipi vasıtasıyla inhibitör dengeyi kurarak hipokampusun belirli bir ritimde çalışmasını sağlamaktadır. Şizofrenide sayısı belirgin bir şekilde azalan parvalbumin içeren GABAerjik nöronlar piramidal hücrelerin aktivitesini baskılayamaz ve hipokampustan çıkan bu nöronların nükleus akumbens, bazolateral amigdala ve prefrontal korteks gibi dokuları fazla uyarması şizofreninin pozitif, negatif ve bilişsel semptomlarına neden olmaktadır (NAc: Nükleus akumbens, VP: Ventral pallidum, VTA: Ventral tegmental alan, BLA: Bazolateral amigdala, OFC: Orbitofrontal korteks, PFC: Prefrontal korteks)

Kalsiyum bağlayan bir protein olan parvalbumini içeren GABAerjik aranöronlar hipokampustaki tüm GABAerjik nöronların %20'sini oluşturur. Bu aranöronlar bilginin geçici şifrelenmesi ve yeniden elde edilmesinde önemli rol oynarlar. Yapılan çalışmalar şizofreni hastalarının hipokampuslarında toplam nöron sayısında bir değişiklik olmazken piramidal olmayan GABAerjik aranöronların yoğunluğunun azaldığını göstermektedir (Heckers ve Konradi, 2015). Bu hastaların hipokampuslarında ayrıca GABA sentezinden sorumlu olan GAD enziminin GAD65 ve GAD67 olmak üzere iki izoformunda da azalmalar gösterilmiştir (Heckers ve ark., 2002). Bazı çalışmalarda ise şizofreni hastalarının hipokampus dokularında seçici olarak parvalbumin içeren aranöronların yoğunluğunda azalma meydana geldiği gösterilmiştir (Konradi ve ark., 2011; Zhang ve Reynolds, 2002). Birçok çalışmada da kemirgenlerde akut veya kronik NMDA reseptör antagonisti uygulamasının hipokampusta parvalbumin içeren GABerjik nöron kayıplarına ve GAD65 ve GAD67 ekspresyonlarında azalmalara neden olduğu gösterilmiştir (Abdul-Monim ve ark., 2007; Braun ve ark., 2007; Jenkins ve ark., 2008; Jenkins ve ark., 2010). Tüm

bu bulgular GABAerjik sistemde meydana gelen hasarın şizofreni nörobiyolojisinde önemli yer tuttuğunu ve beyinde GABAerjik aktivitenin bir göstergesi olan GAD65, GAD67 ve özellikle de parvalbumin miktarındaki azalmanın şizofreninin tekrar edilebilir bulguları arasında yer aldığını göstermektedir (Heckers ve Kanradi, 2015).

4.5.4.6. Şizofreni nörobiyolojiisinde serotonerjik sistem

Atipik antipsikotiklerin büyük çoğunluğunun serotonerjik reseptörler üzerine antagonistik/kısmi agonistik etki göstermeleri şizofreni patofizyolojisinde serotoninin rolünü araştırmak için gösterilen çabaları artırmıştır. Serotonerjik sistem üzerine agonistik etki gösteren liserjik asit dietilamidin şizofrenideki psikoz benzeri davranışlara sebep olduğu fakat diğer çekirdek semptomları nadiren ortaya çıkardığı gösterilmiştir. Serotonerjik reseptörler üzerine agonistik etki gösteren m-Klorofenilpiperazin'in tek doz uygulamasında ise anksiyete, vücut sıcaklığında artış, plazma kortizol seviyesinde yükselme görülmesine rağmen psikotik belirtilerin ortaya çıkmadığı gösterilmiştir (Steeds ve ark.,, 2015). Postmortem çalışmalarda ise çelişkili veriler olmasına rağmen bazal gangliyonda serotonin ve metabolitlerinin seviyesinde artış ve prefrontal kortekste serotonerjik 5-HT_2 reseptör yoğunluğunda bir azalma olduğu görülmektedir. Bazı çalışmalarda ise beyin omurilik sıvısında serotonin ve major metaboliti olan 5-hidroksi indol asetik asit miktarı ölçülmüştür. Bu çalışmalarda serotonin ve 5-hidroksi indol asetik asit'e ait çelişkili bulguların elde edildiği rapor edilmiştir (Ashcroft ve ark., 1966; Persson ve ROOS, 1969). Serotonin hipotezi tüm bulgular ışığında özetlenecek olursa subkortikal bölgede serotonerjik fonksiyonun artması ve antagonizmasının sırası ile pozitif semptomların patofizyolojisi ve tedavisinde, prefrontal bölgede serotonerjik aktivitenin azalması ve agonizmasının ise negatif semptomların patofizyolojisi ve tedavisinde rol oynadığı düşünülmektedir (Quednow ve ark., 2009).

4.5.4.7. Serotonerjik sistem ile ilgili tedavi yaklaşımları

4.5.4.7.1. Serotonerjik 5-HT_2 reseptör antagonistleri/ters agonistleri

Tipik antipsikotiklerin dopaminerjik D_2 reseptörlerine yüksek afinite gösterirken atipik antipsikotiklerin bunlardan farklı olarak 5-HT_2 reseptörlerine D_2 reseptörlerinden daha fazla afinite gösterdikleri bilinmektedir. Atipik antipsikotik ilaçların bu reseptör profilinin ortaya çıkarılması tek başına 5-HT_2 reseptör

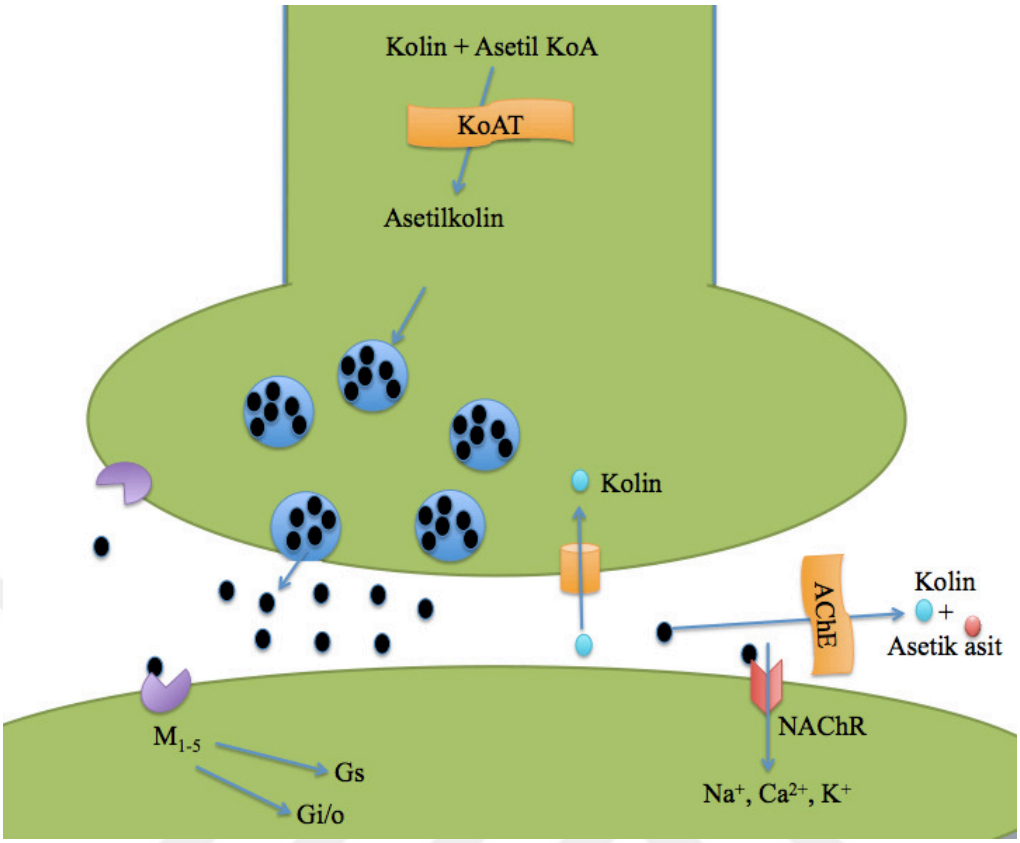
antagonizmasının antipsikotik etki potansiyelinin sorgulanmasına yol açmıştır. Bu bağlamda reseptörün yapısal aktivitesini de inhibe ederek negatif intrinsik aktiviteye sahip olan ters agonistlerin sadece agonist ile indüklenen cevabı inhibe eden antagonistlere göre daha avantajlı olabileceği düşünülmüş ve araştırmalar bu maddeler üzerinde yoğunlaşmıştır 5-HT_2 potent inhibitörü olan ve ITI-007 maddesinin klinik çalışmalarda şizofreni hastalarında plaseboya göre anlamlı düzelmeler sağladığı gösterilmiştir. Faz III çalışmalarında da akut ve kronik şizofreni üzerine etkili bulunan bu maddenin 2018 yılının ilk çeyreğinde ABD'de ruhsat alacağı tahmin edilmektedir (Davis ve ark., 2016; Fellner, 2017).

4.5.4.7.2. Serotonerjik 5-HT_6 reseptör antagonistleri

Hem şizofreni hem demans hastalarında serotonerjik 5-HT_6 reseptör polimorfizmlerinin bulunduğu ve bu reseptör tipinin glutamaterjik, dopaminerjik, GABAerjik ve adrenerjik sistemin modülasyonu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir. Bunun yanında klozapin, olanzapin ve zotepinin 5-HT_6 reseptör antagonisti etkiye sahip olmaları bu reseptörlerin şizofreninin bilişsel semptomları ve demans için tedavi hedefi olmasının önünü açmıştır. Seçici 5-HT_6 reseptör antagonistleri olan AVN-211 ve İdalopirdine'in preklinik çalışmalarında bilişsel semptomlarda düzelme sağladıkları bildirilmiştir (Fellner, 2017).

4.5.4.8. Şizofreni nörobiyolojisinde kolinerjik sistem

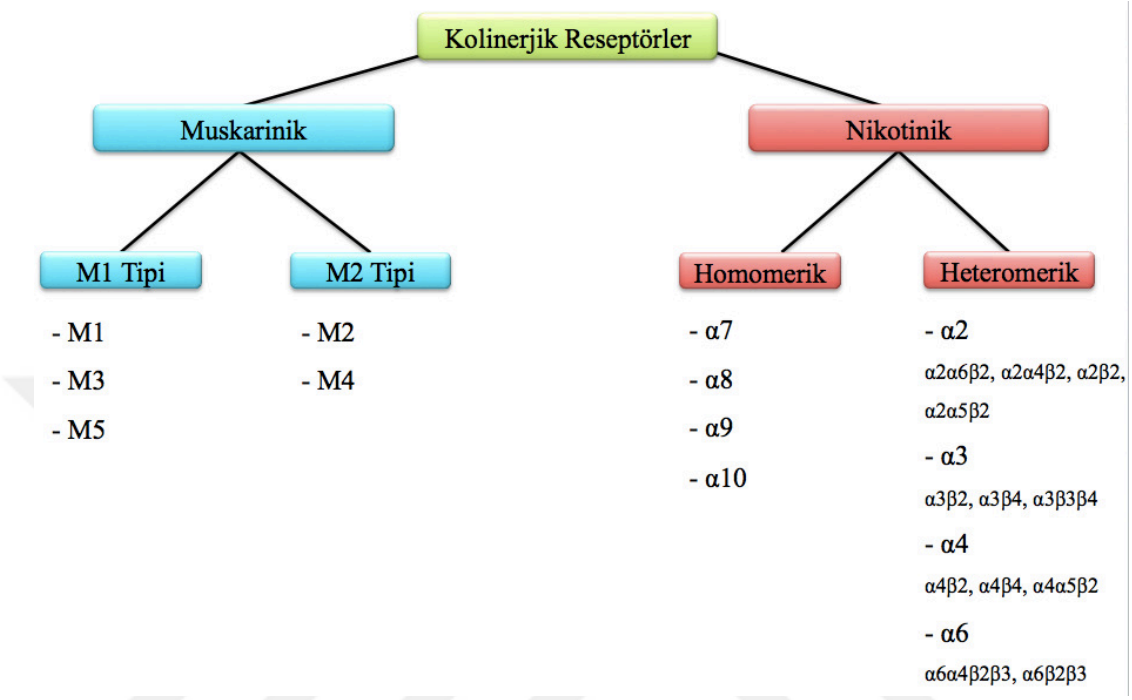
Asetilkolin 1921'de tanımlanmış, amin yapısında yaygın dağılım gösteren bir nörotransmitterdir. Bu nörotransmiter kolinerjik nöronlarda kolin ve asetilkoenzim A varlığında kolin asetiltransferaz enzimi ile sentezlenmektedir. Sonra ATP bağımlı bir şekilde özel veziküller içinde depolanmakta ve hücre içine kalsiyum girişi ile birlikte sinaptik aralığa salınmaktadır. Temel etkilerini presinaptik veya postsinaptik konumda bulunan reseptörlerine bağlanarak gösterir. Sinaptik aralıkta AChE enzimi ile kolin ve asetik asite yıkılır. Sinaptik aralıktan presinaptik uca özel pompalar aracılığı ile geri alınan kolin hücre içinde asetilkolinin en önemli kaynağını oluşturmaktadır (Şekil 7).



Şekil 7. Sinaptik aralıkta asetilkolinin döngüsü (AChE: Asetilkolinesteraz, Asetil KoA: Asetil Koenzim A, KoAT: Kolin asetil transferaz, $M_{1\text{-}5}$: Muskarinik asetilkolin reseptörleri, nAChR: Nikotinik asetilkolin reseptörleri)

Asetilkolinin sinaptik aralıkta bağlandığı reseptörler muskarinik ve nikotinik olmak üzere 2 gruba ayrılır. Bu reseptörlerden muskarinik olanlar G proteini ile kenetli metabotropik reseptörlerken nikotinik reseptörler yapısında katyon kanalı içeren iyonotropik reseptörlerdir. Muskarinik reseptörlerin $M_{1\text{-}5}$ olmak üzere 5 alt tipi vardır. Bu alt tiplerden M_1, M_3 ve M_5 reseptörleri Gq proteini ile kenetli olup uyarıldıklarında inozitol fosfatın hidrolizine yol açarlar. Dolayısıyla bu reseptör alt tiplerinin uyarılması hücrede eksitatör bir etki oluşturur. $M_{2\text{-}4}$ reseptörleri ise $G_{i/0}$ proteini ile kenetli olup uyarıldıklarında siklik adenozin monofosfat oluşumunu inhibe ederler. Dolayısıyla bu reseptörler de inhibitör etki yapmaktadır. nAChR ise 5 adet alt üniteden oluşan pentamerik iyon kanalı şeklindedir. Günümüzde reseptörü oluşturan alt üniteleri kodlayan 12 gen bilinmektedir: α (2-10) ve β (2-4). Bu reseptörler yapısında bulunan α ve β alt ünitelerin çeşitlerinin çeşit ve sayılarına göre

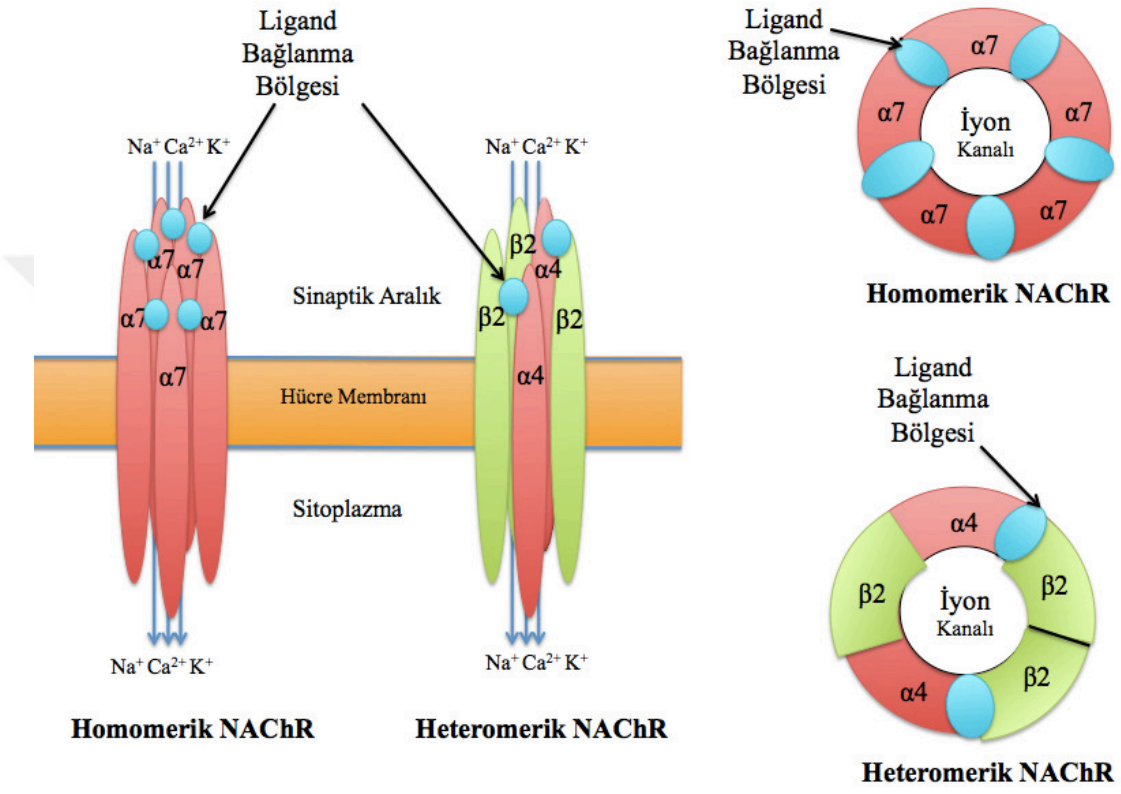
farklı tiplerde bulunabilir. nAChR temelde homomerik veya heteromerik olmak üzere 2 sınıfa ayrılırlar (Scarr ve ark., 2013)(Şekil 8).



Şekil 8. Kolinerjik reseptörlerin sınıflandırılması (α: nAChR α alt ünitesi, β: nAChR β alt ünitesi, M: muskarinik reseptörler)

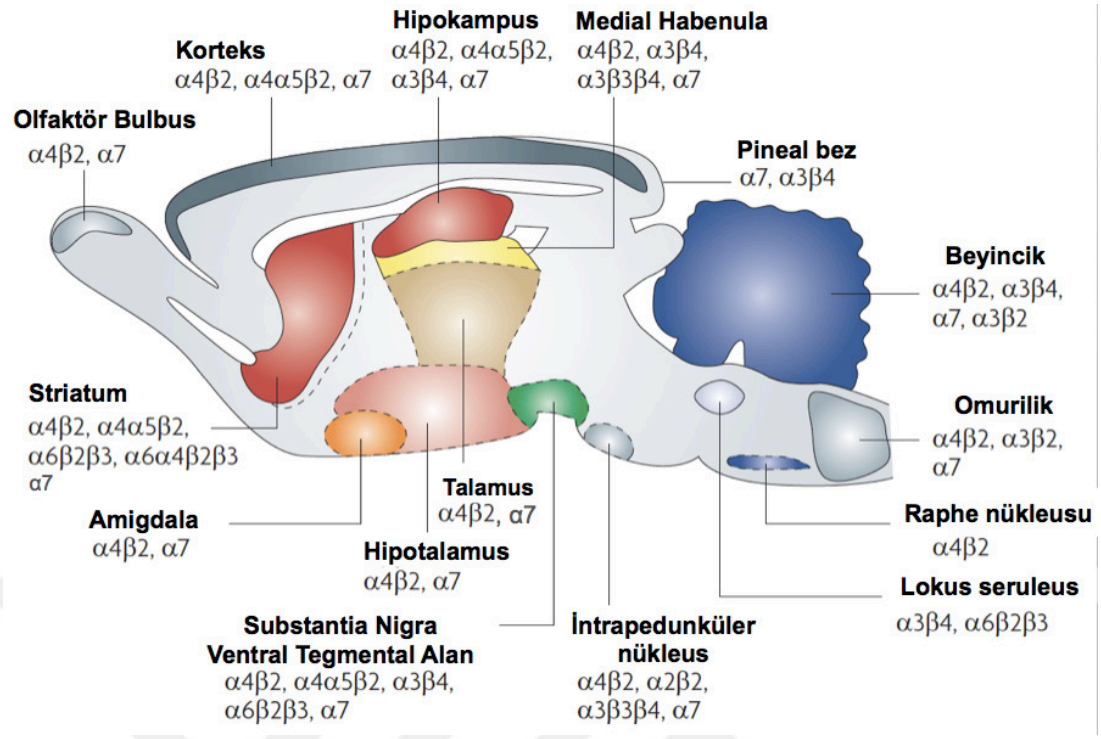
Homomerik nAChR'nin pentamerik yapısı sadece α alt ünitesinden oluşurken heteromerik olanlar hem α hem β alt ünitelerine sahiptir. Reseptöre ligandın bağlanabilmesi için α alt üniteleri temel bağlanma bölgelerine, β alt üniteleri ise tamamlayıcı bağlanma bölgelerine sahiptir. Bu duruma bir istisna olarak α_5 ve β_3 alt üniteler bağlanma bölgelerine sahip değildir ve reseptör fonksiyonunda önemli katkıları yoktur. Nikotinik reseptörün ligand bağlanabilmesi için α alt ünitelerinde en az birini bulundurması şarttır. Homomerik nAChR'nin tamamı α alt ünitelerinden oluştuğu için bu reseptörlerin her birinde 5, heteromerik nAChR'nin ise her birinde 2 tane ligand bağlanma bölgesi bulunmaktadır (Şekil 9). Dolayısı ile bir nAChR'nin homomerik veya heteromerik olması, içerdiği α ve β alt ünitelerin sayısı ve çeşitliliği o reseptörün fonksiyonunu belirleyen faktördendir. Genel olarak bir reseptörün α alt ünitesinin sayısı arttıkça bağlanma bölgesi sayısı ve bundan dolayı kalsiyum geçirgendiği artmaktadır. β alt ünitelerin sayısının artması ise reseptörün asetilkoline

karşı afinitesini artırmaktadır. Örneğin aynı alt ünitelerden oluşmasına rağmen $(\alpha_4)_2(\beta_2)_3$'ün kalsiyum geçirgenliği $(\alpha_4)_3(\beta_2)_2$'ye göre daha fazla, asetilkoline afinitesi ise daha azdır. Homomerik α7 nAChR'nin ise diğer alt tiplere göre kalsiyum geçirgenliği daha fazla, asetilkolin afinitesi ise daha düşüktür (Gotti ve ark., 2007).



Şekil 9. Homomerik ve heteromerik nAChR yapıları (α: nAChR α alt ünitesi, β: nAChR β alt ünitesi, nAChR: Nikotinik asetilkolin reseptörü)

nAChR SSS'de etkisini belirleyen bir diğer faktör de reseptör tiplerinin farklı beyin bölgelerindeki dağılımlarıdır. Yapılan çalışmalar α7 ve α4β2 reseptörlerin SSS'de diğer alt tiplere oranla daha fazla bulunduklarını ve bu reseptörlerin santral etkilerinden daha çok bu alt tiplerin sorumlu olabileceğini göstermektedir (Taly ve ark., 2009) (Şekil 10).



Şekil 10. nAChR'nin SSS'de dağılımı (α: nAChR α alt ünitesi, β: nAChR β alt ünitesi)

4.5.4.8.1. α7 nAChR yapısı ve fonksiyonu

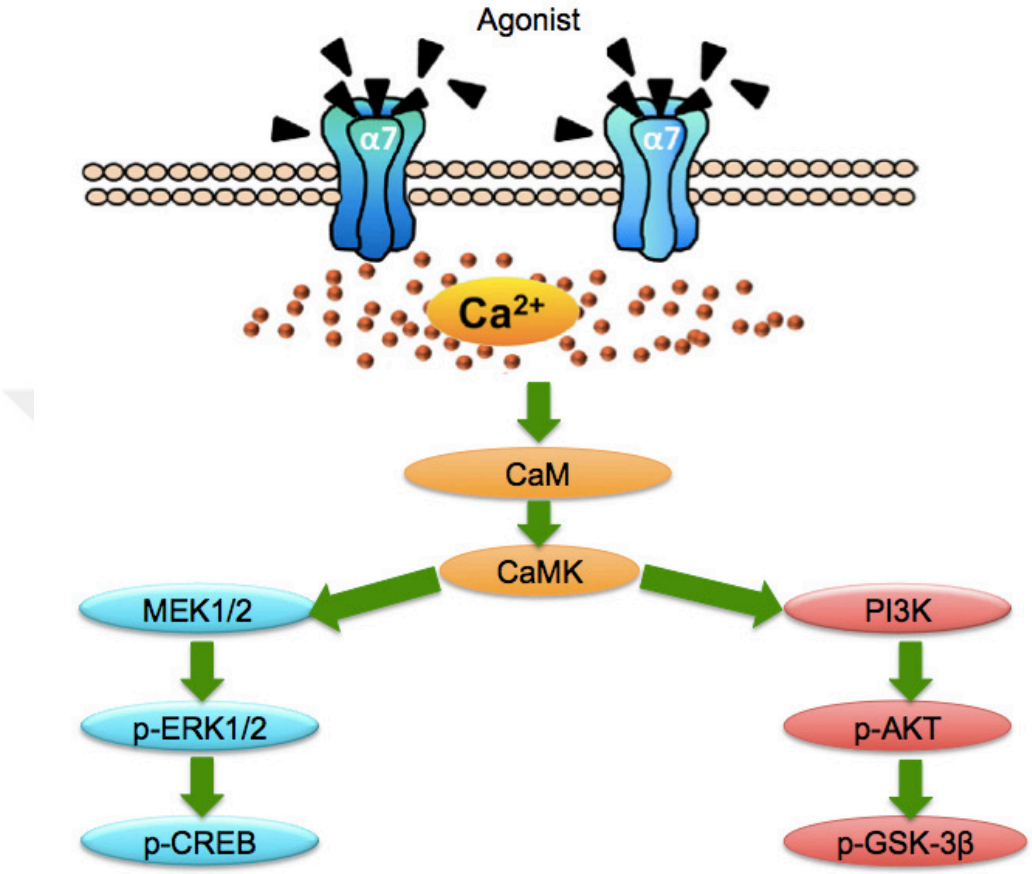
α7 nAChR bazı karakteristik özellikleri ile diğer nAChR alt tiplerinden ayrılmaktadır. Bu özellikler başlıcaları şunlardır: 1) hızlı duyarsızlaşma, 2) yüksek kalsiyum geçirgenliği, 3) yüksek voltaj bağımlılık 4) diğer alttiplerden farklı farmakolojik profil. α7 nAChR nikotinik reseptörler arasında en hızlı duyarsızlaştığı bilinen reseptör alt tipidir. Bu reseptörler endojen agonist ile aktivasyonu takiben fazik ve geçici bir fizyolojik cevap oluştururlar. Bu reseptörlerin aktivasyon ve duyarsızlaşma profilleri incelendiğinde sürekli aktivasyon durumunda önemli oranda duyarsızlaştıkları görülmektedir (Dani ve Bertrand, 2007). α7 nAChR bir ligand ile uyarıldığında pentamerik yapı ortasındaki iyon kanalı açılarak hücre içine katyon girişi olmakta ve postsinaptik membranda depolarizasyon meydana gelmektedir. Nikotinik reseptörler orjinalinde sodyum kanallı reseptörler olarak tarif edilmelerine rağmen α7 alt tipleri yüksek kalsiyum geçirgenliğine sahiptir (Jonge ve Ulloa, 2007). Dahası α7 nAChR iyon kanalından hücreye kalsiyum girişi tek başına diğer nörotransmitterlerin salımını tetikleyecek veya hücre içi ikinci ulak sistemleri aktive edecek büyüklüktedir (Wallace ve Bertrand, 2015). α7 nAChR uyarılması sonucu

oluşacak olan hücresel cevabın büyüklüğü önemli oranda hücrenin içi ve dışı arasındaki voltaj farkına bağlıdır. Bu reseptörlerin uyarılması sonrasında negatif potansiyele sahip hücrelerde hücre içine akım daha büyük miktarda olurken, -40 mV'un üzerindeki membran potansiyeline sahip hücrelerde bu reseptör uyarılmasının hücre içinde oluşturacağı cevap ihmal edilebilir düzeydedir. α7 nAChRlerin bu yüksek voltaj bağımlılığının fizyolojik sonucu, bu reseptörler ile oluşacak cevabın eksprese edildiği hücrenin dinlenme potansiyeline göre değişkenlik göstermesidir (Gopalakrishnan ve ark., 1995; Seguela ve ark., 1993). α7 nAChRlerin α-Bungarotoksin ve metillikakonitine (MLA) yüksek seçicilik göstermesi bu reseptör alt tipini farmakolojik profil açısından diğer nAChR alt tiplerinden ayıran en önemli özellikler biridir. Bunun yanında günümüze kadar çok küçük konsantrasyonlarda α7 nAChRe yüksek seçicilik gösteren diğer bazı bileşikler de keşfedilmiştir (Hurst ve ark., 2013; Wallace ve ark., 2011).

α7 nAChR hücre içerisindeki sinyal mekanizmaları ile etkileşimi incelendiğinde öğrenme ve bellek fonksiyonları açısından incelendiğinde hücrede özellikle MEK-ERK1/2, CREB ve GSK-3β proteinleri ile etkileştiği görülmektedir. Öğrenme ve bellek fonksiyonlarında en önemli yolaklardan birisi mitojen ile aktive protein (MAP) kinaz yolağı özellikle de fosforile ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz (pERK)'tir. Uzun süreli bellekte bulunan bilginin hatırlanmasında başta hipokampus olmak üzere beyinde ERK1/2 fosforilasyonunun arttığı ve bu enzimin farmakolojik inhibisyonunun kemirgenlerde uzun süreli belleği bozduğu bilinmektedir. α7 nAChR eksprese eden PC12 hücrelerinde bu reseptörün agonistlerin ERK1/2 enziminin fosforillenmesini ve dolayısı ile aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (Gubbins ve ark., 2010). Bunu destekler nitelikte in vivo çalışmada da α7 nAChR kısmi agonisti A-582941'in hipokampus ve singulat kortekste ERK1/2 ve CREB fosforilasyonunu artırdığı göstermiştir (Bitner ve ark., 2007).

Şizofreni ile yakından ilişkilendirilen hücre içi mekanizmalardan birisi de PI3K/Akt/GSK-3β sinyal yolağıdır. Şizofreni hastaları ve deneysel şizofreni modellerinde GSK-3β fosforilasyonunun azaldığı ve bu enzimin fosforillenmesinin antipsikotik benzeri etkiler meydana getirdiği gösterilmiştir. α7 nAChR ile GSK-3β arasındaki ilişki incelendiğinde bu reseptörlerin agonizmasının doza bağımlı bir şekilde farelerin singulat kortekslerinde GSK-3β fosforilasyonunu artırdığı tespit

edilmiştir (Bitner ve ark., 2007). α7 nAChR'nin etkisine SSS'de aksiyon potansiyeli vasıtası ile yaptığı nöromodülasyonun yanında yukarıda anılan hücre içi mekanizmaların da katkı sağladığı düşünülmektedir (Tietje ve ark., 2008) (Şekil 11).

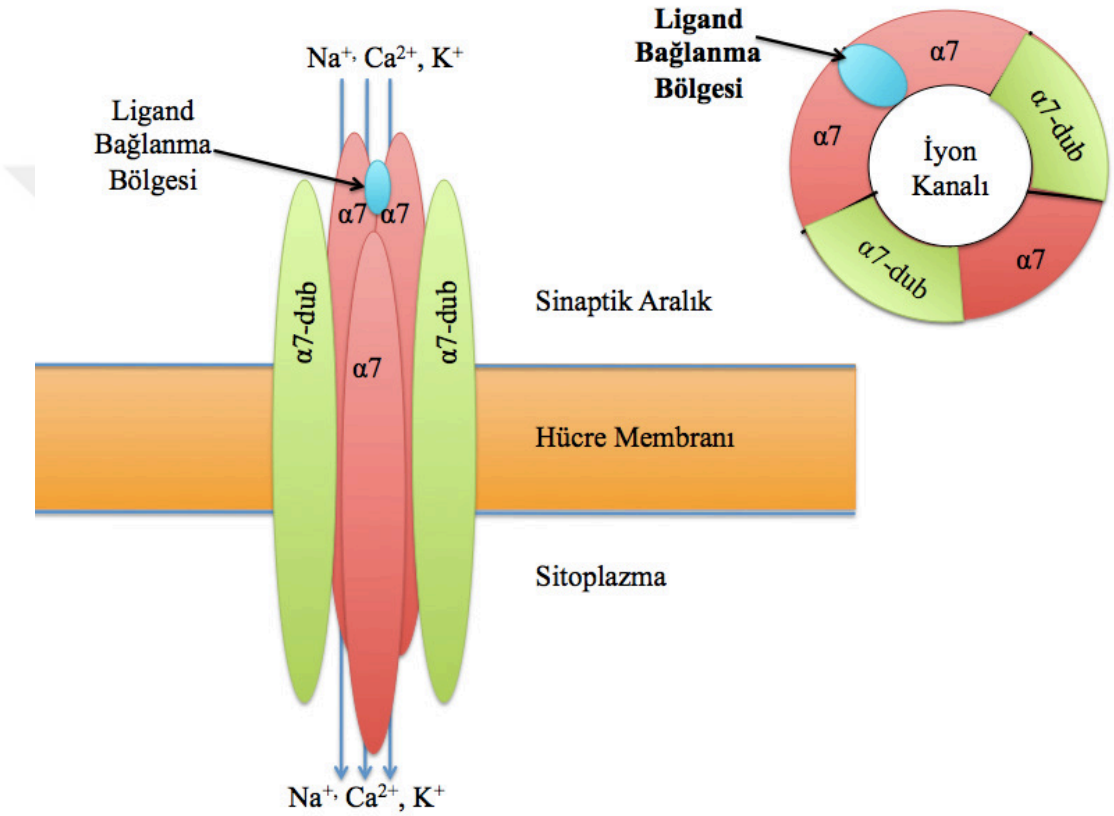


Şekil 11. α7 nAChR'nin hücre içinde etkilediği sinyal yolakları. (Cam: Kalmodulin, CaMK: Kalmodulin kinaz, MEK: Mitojen ile aktive protein kinaz kinaz, ERK: Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinaz, CREB: cAMP cevap bileşeni bağlayan protein, PI3K: Fosfoinisitid 3 kinaz, AKT: Protein kinaz B, GSK-3β: Glikojen sentaz kinaz-3beta)

4.5.4.8.2. Heteromerik α7 nAChR

Fonksiyonel α7 nAChR CHRNA7 geni tarafından kodlanarak işlevsel proteinlere dönüşen homomerik yapılı reseptörlerdir. Daha sonraları CHRNA7 ile aynı kromozom üzerinde, farklı exon bölgeleri tarafından kodlanan CHRFAM7A geninin de α7 nAChR'e benzer yapıda bir reseptör eksprese ettiği keşfedilmiştir. Bu gen tarafından kodlanan reseptörde homomerik α7 reseptörlerden farkı olarak 2 alt ünitesinin dublike formda olması homomerik yapıyı bozmaktadır (şekil 12).

CHRNA7 ve CHRFAM7A'nın iki farklı protein olarak tek bir reseptör kompleksi içerisinde eksprese edildiği, dublike formun reseptörün fonksiyonelliğini bozduğu ve negatif dominant görevi gördüğü düşünülmektedir. Tip II PAM'ların dublike form içeren reseptörlerin etkisini de potansiyelize ettiğinin gösterilmesi bu reseptör kompleksinin yalnızca özel koşullarda fonksiyonel olduğunu düşündürmektedir (Wallace ve Bertrand, 2015).



Şekil 12. Heteromerik α7 nAChR yapısı. Ligand bağlanma bölgeleri yalnızca α7 alt birimler arasında bulunmaktadır (dub: dublike).

4.5.4.8.3. α7 nAChR beyindeki yerleşimi

α7 nAChR beyindeki dağılımını gösteren ilk çalışmalar histolojik beyin kesitlerinde otoradyografik yöntemler ile α-Bungarotoksin bağlanma seviyelerinin ölçülmesine dayanmaktadır (Clarke ve ark., 1985; Court ve ark., 2000). Sıçan, maymun ve insan çalışmalarından elde edilen veriler α-Bungarotoksinin beyinde korteks, hipokampus ve substantia nigra ve serebelluma yüksek oranda bağlandığını göstermektedir (Court ve ark., 2000). Maymun beyinlerinden elde edilen otoradyografik sonuçlar α7

nAChR ekspresyonunun telensefalonun birinci katmanı ile prefrontal ve işitsel kortekste yüksek, telensefalonun beşinci ve altıncı katmanında düşük olduğunu göstermektedir (Han ve ark., 2003). Bu bulgular α7 reseptörlerin beyinde bazı özel bölgelerde yüksek yoğunlukta bulunabileceğini göstermektedir. α7 reseptörlerin hücre yüzeyindeki yerleşimi genel olarak hipokampus ve VTA'da gerçekleştirilen elektrom mikroskopisi çalışmalarına dayanmaktadır (Fabian-Fine ve ark., 2001; Jones ve Wonnacott, 2004). Bu çalışmalarda hipokampusta α7 reseptör yoğunluğunun VTA'dan daha fazla olduğu ve hipokampusun CA1 bölgesinde hemen hemen tüm sinanpslarda presinaptik veya postsinaptik α7 reseptörlerin bulunduğu gösterilmiştir. Bu bölgede postsinaptik reseptörler genelikle dentritik yapıda (dentritic spines) ve perisinaptik bölgede bulunurlar. Dahası, bu bölgede α7 reseptörler GABAerjik ve glutamaterjik sinirler üzerinde de birbirine yakın bir miktarlada eksprese edilirler (Fabian-Fine ve ark., 2001). Bunun aksine VTA'da ise α7 reseptörler hem somatodentritik hem postsinaptik olarak yerleşim gösterirler. Bu bölgede ise presinaptik reseptörlerin birçoğunun glutamaterjik akson terminallerinde extrasinaptik ve perisinaptik olarak yerleştiği gösterilmiştir. VTA'da kolinerjik sinapslarda α7 reseptörin bulunmaması bu bölgede daha çok parakrin fonksiyon gösterdiğini düşündürmektedir (Jones ve Wonnacott, 2004).

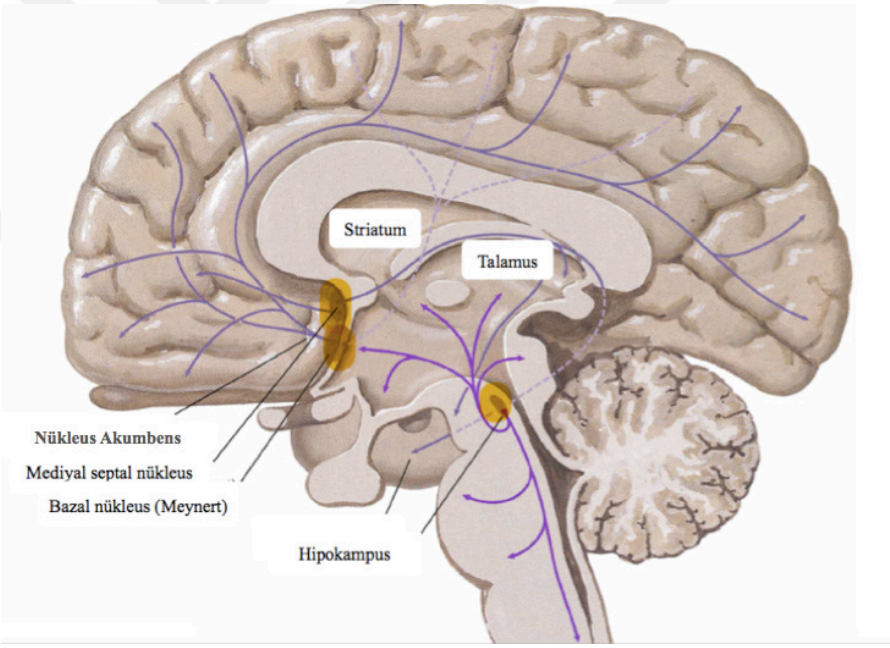
Tüm memeli türlerinde α7 nAChR dağılımları hemen hemen aynı olmakla birlikte türler arasında bazı önemli farklılıklar da bulunmaktadır. İnsan ve maymun postmortem dokularında α7 nAChR'lerin talamusun retiküler çekirdeğinde bulunurken, sıçanlarda ise talamik çekirdeğin lateral ve medial genikulat bölgelerinde bulunmaktadır. Talamusun retiküler çekirdeği korteks ve talamusun diğer çekirdeklerinden eksitatör projeksiyonlar almakta ve dorsal talamik çekirdeğe inhibitör projeksiyonlar göndermektedir. Talamus içindeki bu nöronal döngünün şizofrenide bozulduğu görülen dikkat ve sensöri kapılamada görev aldığı düşünülmektedir. İnsan ve maymunda bu bölgelerde α7 nAChR'nin tanımlanması bu reseptörlerin şizofrenide bozulduğu gösterilen bu prosesler üzerinde modülatör rolünün olabileceğini düşündürmektedir (Wallace ve Bertrand, 2015) (Tablo 3).

4.5.4.8.4. Nöronal döngülerde α7 nAChR'nin rolü

SSS'de kolinerjik sistemin nöronal döngülerde aldığı rol karmaşık olsa da başlıca 3 ana yolak üzerinden açıklanabilir (Şekil 13).

Tablo 3: Beyinde α7 nAChR dağılımı

Bölge	Ekspresyon	Kaynak
Striatum	+	(Court ve Clementi, 1995)
Hipokampus	+++	(Court ve Clementi, 1995)
Talamusun retiküler çekirdeği	+++	(Court ve Clementi, 1995)
Lateral ve medial genikulat	+++	(Breese ve ark., 1997)
Bazal pontin çekirdeği	+++	(Breese ve ark., 1997)
Broca'nın diagonal bandı	+++	(Breese ve ark., 1997)
Meynert'in bazal nükleusu	+++	(Breese ve ark., 1997)
Inferior olivary nükleus	+++	(Breese ve ark., 1997)
Substantia nigra	+	(Court ve Clementi, 1995)
Serebral korteks	+	(Court ve Clementi, 1995)



Şekil 13. SSS'de kolinerjik yolaklar (Sarı işaretli bölgeler kolinerjik nöronların köken aldıkları anatomik bölgeleri göstermektedir).

Bunlar;

i) Bazal ön beyinden başlayarak hipokampus, kortikal ve subkortikal bölgeleri uyaran kolinerjik yolak

ii) Pedikülopontin-lateral dorsal tegmental yolak: Beyin sapından köken alarak

talamus, orta beyin ve diğer beyin beyin bölgelerini uyaran yolak

iii) Striatum ve nükleus akumbens'te yeralan aranöronlar

Yukarıda verilen nöronal yolaklar ile SSS'de kompleks bir yapıya sahip olan kolinerjik sistem uyku, öğrenme ve bellek, motor koordinasyon ve sensöriyal düzenleme gibi kritik fonksiyonlarda görev alır.

İn vitro çalışmalardan elde edilen veriler α7 nAChR'in beyinde yaygın olarak dağıldıklarını ve bu reseptörlerin büyük bir kısmının çeşitli nöronal sistemler üzerinde modülatör etki gösterirken yalnızca küçük bir kısmının sinaptik iletimden sorumlu olduğunu göstermektedir (Albuquerque ve ark., 2009). Prefrontal korteksin farklı tabakalarında yapılan çalışmalarda katman I-III'de α7 nAChR'in aranöronlarda eksperese edilirken katman V'de hem aranöronlarda hem piramidal hücrelerin somalarında eksprese edildiği gösterilmiştir (Bloem ve ark., 2014). Bu çalışmalar α7 nAChR'in prefrontal kortekstеki ekspresyonları ve hücresel iletideki fonksiyonlarına ışık tutsalar da kolinerjik nörotransmisyonun bu bölgedeki fonksiyonunun çok daha karmaşık olduğu düşünülmektedir.

α7 nAChR'in beyindeki fonksiyonlarını daha iyi anlaşılabilmesi için farklı hücre tiplerinde ve farklı subsellüler yerleşimlerdeki fonksiyonları incelenmiştir. α7 nAChR hipokampustaki gibi kolinerjik sinapsların postsinaptik konumunda yer aldığı durumlarda eksitatör rol oynayarak nörotransmisyonu düzenlediği belirtilmektedir (Hefft ve ark., 1999). Buna rağmen α7 nAChR'in büyük bir çoğunluğu non-kolinerjik nöronlar üzerinde presinaptik veya perisinaptik olarak yerleşmiş durumdadır. Presinaptik uçta bulunan α7 nAChR sinaptik veziküllerden nörotransmitter salımını düzenlemektedir. Yüksek kalsiyum geçirgenliğine sahip olan bu reseptörlerin aktivasyonu hücre içine kalsiyum girişine ve dolayısı ile nörotranmitter salımında artışa sebep olmaktadır. Bunun aksine perisinaptik konumda bulunan α7 nAChR aksiyon potansiyelinin yayılmasını engellemekte ve dolayısı ile nöronal iletimi inhibe etmektedir. Farklı nörotranmitter sistemlerin üzerinde postsinaptik durumda bulunan α7 nAChR ise prefrontal kortekste olduğu gibi ana reseptörün aktivitesini değiştirerek nörotransmisyonu düzenlemektedir (Arnsten ve ark., 2012).

Yukarıdaki bilgiler α7 nAChR'in SSS'de yaygın olarak eksprese edildiğini ve olağandışı farmakolojik profili göz önünde bulundurulduğunda bu reseptörlerin beyindeki rolünün kolinerjik iletimi sağlamaktan çok ötede olduğu ve birçok nörotransmitter sistem üzerinde nöromodülatör görev üstlendiğini göstermektedir.

Kolinerjik sistemin SSS'de dopaminerjik sistem ile bir denge halinde bulunduğu ve bu dengenin bozulmasının şizofreni oluşumuna katkıda bulunduğu bilinmektedir. Özellikle pedinkülopontin-lateraldorsal tegmental çekirdeğin aşırı aktivitesinin şizofreni semptomlarına yol açtığı düşünülmektedir. Son yıllarda AChE inhibitörlerinin şizofrenide işitsel halüsinasyonları azalttığının gösterilmesi pozitif semptomların altında yatan mekanizmanın kolinerjik aktivitede azalma olduğunu düşündürmüş olmakla birlikte asetilkoliesteraz inhibitörlerinin etkisiz bulunduğu çok sayıda çalışma da vardır. Bu bulgular şizofrenide kolinerjik sistemdeki değişikliklerin sadece asetilkolin miktarındaki azalma ile açıklanamayacak kadar kompleks olduğunu göstermektedir.

Kolinerjik sistem ile şizofreni bağlantısını inceleyen çalışmalar bu ilişkiyi 3 temel bulgu ile özetlemektedir;

i) Birbirinden bağımsız birçok çalışmada şizofreni hastalarının postmortem dokularında muskarinik reseptör yoğunluklarında azalmalar meydana geldiği,

ii) Şizofreni hastalarında epibatidin'in α4β2 nAChR'e bağlanmasının arttığı,

iii) Şizofreni hastalarının postmortem beyin dokularında α7 nAChR bağlanmasının ve ekspresyonunun azaldığı, bu reseptörü kodlayan gende polimorfizm olması durumunda sensörimotor kapılamada bozukluk oluşması arasında bağlantı olduğu görülmüştür.

Yukarıdaki bulgulara ek olarak şizofreni hastalarının normal kişilere göre daha yüksek oranda sigara kullanıyor olması bu kişilerin kolinerjik sisteminde var olan bir bozukluğu kendi kendine tedavi etme çabası olarak yorumlanmış ve bu hasta grubunda nikotinik reseptörler başta olmak üzere kolinerjik sistemin incelenmesi için bir çıkış noktası oluşturmuştur. Tüm bu bulgular birleştirildiğinde SSS'de α7 nAChR agonistlerinin şizofreni tedavisi için ümit vaad eden terapötik yaklaşımlar olabileceği düşünülmüştür (Olincy ve Stevens, 2007; Scarr ve ark., 2013).

4.5.4.8.5. α7 nAChR - NMDA reseptörleri ve şizofreni ilişkisi

Şizofrenide görülen özellikle çalışma belleği ve yürütücü işlev bozuklukları başta olmak üzere bazı öğrenme ve bellek bozukluklarının SSS'deki α7 nAChR - NMDA reseptör etkileşiminin bozulmasından kaynaklanabileceğini çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Wallace ve Bertrand, 2015).

Vizyospasyal çalışma belleğini kontrol eden mekanizmanın prefrontal korteksin dorsalateral bölgesinin III. katmanında yer alan glutamaterjik piramidal nöronların (gecikmeli hücreler olarak da isimlendirilir) devamlı ateşlenmesinin olduğu düşünülmektedir. Gecikmeli hücrelerin etkinleştirilmesi, çevrede artık bulunmayan bilgileri korumak ve esnek bir şekilde manipüle etmek için bilgilerin sürekli olarak güncellenmesini sağlar. NMDA reseptörleri bu nöronlarda kalıcı ateşlemenin sürdürülmesi ve uyarı ile eylem arasındaki sürede soyut bilgilerin çevrimiçi tutulmasında rol alan önemli bir bileşendir (Wang ve ark., 2011). Şizofreni etiyolojisinde NMDA reseptörlerindeki hipofonksiyonunun önemli bir yer tuttuğu ve bununla birlikte NMDA reseptörler aktivitesinin farmakolojik veya genetik yollarla inhibe edilmesinin hem insan hem kemirgenlerde psikotomimetik etkilere ve bilişsel bozukluklara neden olduğu bilinmektedir. İlginç olarak nikotin ve hatta seçici α7 nAChR agonistlerinin kemirgenlerde NMDA reseptör antagonistleri ile indüklenen çalışma belleği bozukluklarını geri çevirebildikleri gösterilmiştir (Lewis ve ark., 2012; Pichat ve ark., 2007; Thomsen ve ark., 2009). Buna ilave olarak NMDA reseptör antagonizmasını takiben oluşan ve şizofreninin tekrarlanabilir bulguları arasında yer alan GAD67 ve parvalbumin içeriğindeki azalmanın da, α7 nAChR agonistlerinin uygulanması ile engellendiği kanıtlanmıştır (Lewis ve ark., 2012). Böylelikle α7 nAChR agonistlerinin NMDA reseptör antagonistleri ile meydana gelen hem yapısal hasarı hem davranışsal hasarı geri çevirebildiği gösterilmiştir. Bunların yanında iyontoforez yöntemi ile α7 nAChR agonistlerinin dorsolateral prefrontal kortikal nöronlara verilmesinin gecikmeli hücrelerde ateşlemeyi artırdığı ve α7 nAChR seçici antagonisti olan MLA ile bu etkinin engellendiği ispat edilmiştir (Yang ve ark., 2013). Dahası, α7 nAChR agonisti PHA543613'ün iyontoforezinin NMDA antagonisması ile meydana gelen gecikmeli hücre ateşlemesindeki bozukluğu geri çevirdiği bildirilmiştir (Yang ve ark., 2013). Tüm bu sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda NMDA reseptörler ile komşu yerleşim gösteren α7

nAChR'in aktive edildiğinde glutamaterjik nöronun depolarizasyonuna neden olduğu düşünülmektedir. Bu depolarizasyonun da NMDA reseptörünün endojen antagonisti olan Mg^{2+}'nın reseptör kompleksinden ayrılmasını kolaylaştırdığı ve böylece NMDA reseptörünün uyarılabilir konuma geçmesini sağladığı düşünülmektedir (Wallace ve Bertrand, 2015). Bunların yanında bazı genetik çalışmalar da α7 nAChR ile NMDA reseptörleri arasındaki etkileşime dair ek kanıtlar sunmaktadır. Bu çalışmalarda farelerde α7 nAChR kodlayan CHRNA7 geninin silinmesinin NMDA reseptörlerinin elektrofizyolojik cevabı, reseptör ekspresyonu ve glutamaterjik sinaps oluşumunda azalma ile sonuçlandığı bildirilmiştir (Lin ve ark., 2014). Yukarıda verilen bilgiler SSS'de α7 nAChR ile NMDA reseptörleri arasında büyük bir işbirliğinin olabileceğini ve şizofrenide mevcut NMDA hipofonksiyonunun düzeltilebilmesi için α7 nAChR'in iyi bir hedef olabileceğini göstermektedir.

4.5.4.9. Kolinerjik sistem ile ilgili tedavi yaklaşımları

4.5.4.9.1. α7 nAChR agonistleri

Yukarıda anlatılanlar ışığında α7 nAChR'nin SSS'deki etkinliğinin artırılması amacı ile seçici α7 nAChR agonistlerinin geliştirilmesi amaçlanmış ve ilk olarak GTS-21 sentezlenmiştir. α7 nAChR için kısmi agonist olan GTS-21'in şizofreni başta olmak üzere çeşitli psikiyatrik hastalıklarda öğrenme ve bellek fonksiyonlarını güçlendiğinin gösterilmesi araştırmacıların bu reseptörlere yoğunlaşmasına ve α7 nAChR için farklı seçici agonistlerin sentezlenmesine neden olmuştur (Cannon ve ark., 2013; Jones ve ark., 2014; Terry ve ark., 2015). Kemirgenlerde ve maymunlarda yapılan çalışmalar bu maddelerin öğrenme ve bellek fonksiyonlarını güçlendirdiğini açık bir şekilde göstermiştir. Maddelerden bazılarının α7 nAChR'e yapıca benzerliğinden dolayı serotonerjik 5-HT_3 reseptörlerini antagonize etmesi prokognitif etkinin ne derecede α7 nAChR agonizmasından kaynaklandığının sorgulanmasına neden olsa da meydana gelen etkinin α7 nAChR'nin seçici antagonisti MLA ile kaybolması etkinin tamamen α7 nAChR'e bağlı olduğunu kanıtlamıştır. Fakat bu maddelerin çoğunda bilişsel performanstaki iyileşmenin küçük bir doz aralığında meydana geldiği ve bu maddelerin "ters U" şeklinde bir doz-yanıt eğrisine sahip oldukları gösterilmiştir. Bunun muhtemel sebebinin düşük dozlarda α7 nAChR'in yeterince uyarılamaması, yüksek dozlarda ise reseptörlerde çok hızlı bir şekilde duyarsızlaşma meydana gelmesi olduğu düşünülmektedir

(Wallace ve Bertrand, 2015). Preklinik çalışmalardaki yüz güldüren sonuçlara karşın pek çok agonist klinik çalışmalarda beklenilen etkiyi yakalayamamıştır. Bazı agonistler ise yan etki (kardiyovasküler yan etkiler), yetersiz etkililik gibi sebeplerden dolayı klinik çalışmalardan çekilmiştir (Freedman ve ark., 2008). Bunun yanısıra birçok şizofreni hastasının ağır sigara kullanıcısı olduğu göz önünde bulundurulursa klinik denemelerde ortaya çıkan etkinin yalnızca verilen maddeye bağlı olmadığı, sigara içerisinde alınan nikotinin de bu etkide rol oynadığı düşünülmüştür. Bu görüşü destekleyen bir diğer bulgu α7 nAChR reseptör agonisti ABT-126 ile oluşan öğrenme ve bellek bozukluğunun sadece sigara kullanmayan şizofreni hastalarında düzeltildiğinin gösterilmesidir (Haig ve ark., 2016). Şu anki bilgilerimize göre ABT-126, Encenicline ve AQW051 olmak üzere üç α7 nAChR agonisti ile ilgili klinik faz çalışmaları devam ettirilmektedir.

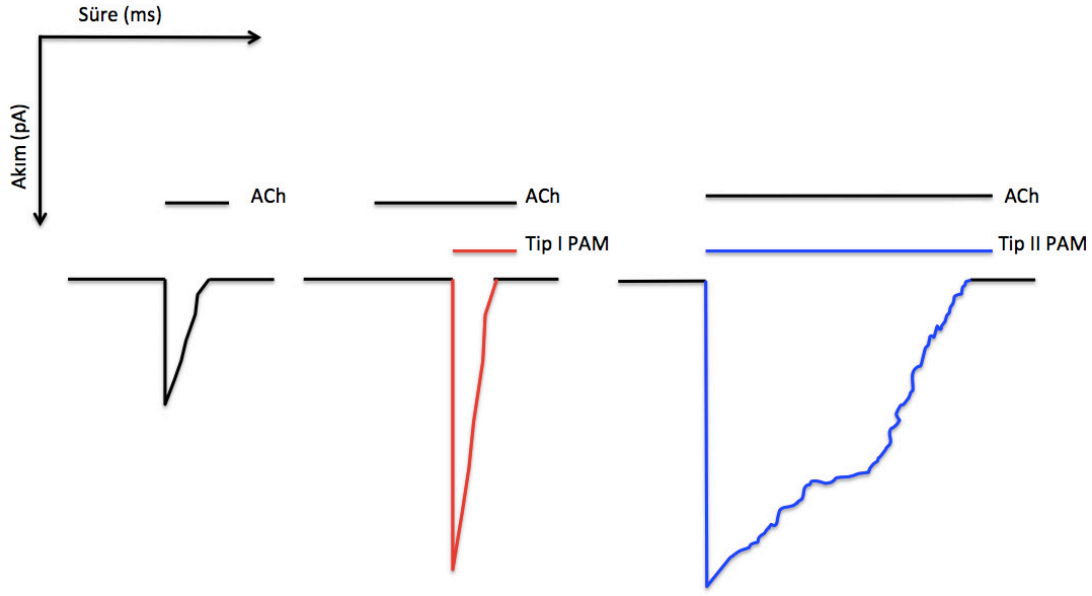
Bir diğer ilginç bulgu nikotin ve seçici α7 nAChR agonistlerinin tek doz uygulanmasından sonra reseptörlerde sayı/duyarlılık ve bağlanma kapasitesinde artmaya neden olması ve oluşturdukları prokognitif etkilerin uzun süre devam etmesidir. Tek doz nikotin uygulaması ile bu etkinin 10 güne kadar uzayabileceği gösterilmiştir (Thomsen ve Mikkelsen, 2012). Agonistlerin sayı/duyarlılıkta yaptığı artışın mekanizması tam olarak bilinmese de bu değişiklikte hücre membranındaki fonksiyonel yapıların dinamiğinde azalma, reseptör trafiğinde artma, reseptör alt ünitelerinin yıkımında azalma ve membrandaki konformasyonel değişiklikler nedeni ile liganda afinitenin artması gibi mekanizmaların etkili olabileceği düşünülmektedir (Lester ve ark., 2009)

Reseptörde meydana gelen bu değişikliğin agonistlere özgü olduğu, antagonist, tip I veya tip II PAM uygulamasının reseptör sayı ve bağlanma kapasitelerini değişitirmediği ve hatta tip II PAM'ların agonist ile birlikte uygulandıklarında agonistin meydana getirdiği reseptörün artmış bağlanma kapasitesini azalttığı gösterilmiştir (Thomsen ve Mikkelsen, 2012). α7 nAChR agonistlerinin gerek reseptör duyarsızlaşması gerek ise reseptör sayısında yapmış oldukları değişiklikler ile PAM'lara göre önemli farklarının bulunduğunu göstermektedir. Ayrıca α7 nAChR agonistlerinin bazı klinik çalışmalarda etkisiz bulunmasına rağmen preklinik çalışmaların birçoğunda ve bazı klinik çalışmalarda etkili bulunması bu maddelerin önemli bir tedavi hedefi haline gelmesini sağlamaktadır.

4.5.4.9.2. α7 nAChR allosterik modülasyonu

α7 nAChR'nin kapalı veya duyarsızlaşmış formdan açık forma geçmesi diğer proteinlerde olduğu gibi bu farklı formlar arasındaki eşik enerji aşılması ile meydana gelmektedir. Bu formlar arasında geçiş için gerekli olan eşik enerjinin düşürülmesi kapalı veya duyarsızlaşmış reseptör yapısının açık hale gelmesini kolaylaştırırken yükseltilmesi ise bu geçişi zorlaştırmaktadır. Bu bağlamda bir reseptörün ligand bağlanma bölgesi haricindeki bir bölgeye bağlanarak muhtemelen farklı formlara geçiş için gerekli olan eşik enerjiyi ve dolayısı ile reseptörün bulunduğu durumu değiştiren maddeler allosterik modülatörler olarak tanımlanmaktadır (Wallace ve Bertrand, 2015). Bu maddeler reseptörün ligand bağlanma bölgesine bağlanmadıkları için tek başlarına hücresel bir cevap oluşturmazlar fakat agonist madde varlığında oluşacak cevabı modüle ederler. Bu modülasyon pozitif (agoniste karşı hücresel cevabın pekiştirilmesi) veya negatif (agoniste karşı hücresel cevabın inhibe edilmesi) yönde olabilmektedir.

α7 nAChR'ndeki allosterik modülasyonu gösteren ilk çalışma antihelmintik bir ilaç olan ivermektin asetilkolinin α7 nAChR üzerindeki etkisini potansiyelize etmesine dayanmaktadır. Bu çalışmada ivermektinin α7 nAChR üzerinde tek başına cevap oluşturmazken reseptör duyarlılığını ve oluşan maksimum yanıtı artırdığı ve asetilkolin ile oluşan cevabı potansiyelize ettiği gösterilmiştir (Krause ve ark., 1998). Bu ilk bulgunun ardından α7 nAChR için birçok PAM tanımlanmış ve daha sonra bu PAM'lar tip I ve tip II olmak üzere 2 sınıfa ayrılmıştır. Bu iki tip allosterik modülatör arasındaki temek fark reseptör duyarsızlaşma kinetiği üzerine yaptıkları etkiden kaynaklanmaktadır. Tip I PAM'lar iyon kanalının açık kalma süresini değiştirmezler ancak iyon geçirgenliğini artırarak aksiyon potansiyelinin ulaşacağı maksimum değeri artırırlar dolayısı ile hücre uyarılabilirliğini artırılar. Tip I PAM'dan farklı olarak tip II PAM'lar reseptör yapısında bulunan iyon kanalının hem açık kalma süresini hem de geçirgenliğini artırırlar ve dolayısı ile hücre içerisinde aksiyon potansiyelinin ulaşacağı maksimum değeri artırılar hem de bu aksiyon potansiyelinin daha uzun süre korunmasını sağlarlar. Tip II PAM'ların diğer gruba göre bir diğer önemli avantajı da çok hızlı olarak duyarsızlaşabilen bu reseptörlerden duyarsızlaşmış olanları tekrar aktive edebilmeleridir (Hurst ve ark., 2013) (Şekil 14).



Şekil 14. α7 nAChR tip I ve tip II PAM'ların elektrofizyolojik etkileri. Tip I PAM'lar reseptörün açık kalma süresini değiştirmeden sadece iyon geçişini artırırken tip II PAM'lar hem hücre içine iyon girişini hem reseptörün açık kalma süresini artırmaktadır (ACh: Asetilkolin, PAM: Pozitif allosterik modülatör).

Memelilerde α-Bungarotoksin ile yüksek homolojiye sahip moleküllerin tanımlanması bu endojen kaynaklı moleküllerin α7 nAChR fonksiyonu üzerine yaptıkları etkinin araştırılmasına öncülük etmiştir. Membran glikozilfosfatidilinozitol kaynaklı Lynx-1'in α7 nAChR etkisini inhibe ederek bu reseptörler için muhtemel bir negatif allosterik modülatör, bunun aksine salgılanan memeli Ly6/u-PAR bağımlı protein 1'in ise α7 nAChR etkisini potansiyelize ederek muhtemel bir PAM oldukları gösterilmiştir (Levitin ve ark., 2008; Tsetlin, 2015).

α7 nAChR agonistlerinin klinik çalışmalardaki düşük verimi ve meydana gelen yan etkilerinin fazla olması nedeni ile agonistlere bir alternatif olarak α7 nAChR PAM'ları geliştirilmiştir. Bu maddeler reseptörler üzerinde bulunan allosterik bağlanma bölgelerine bağlanarak agonistin reseptörde oluşturacağı etkiyi pozitif yönde düzenler ve tek başlarına reseptörler üzerinde etki oluşturamazlar. Bu maddelerin önemli bir avantajı minimum veya sıfır intrinsik aktiviteleri sayesinde sadece agonist ile uyarılan reseptörlerde etkiyi artırmalarıdır. Bu sebepten dolayı bu maddeler daha düşük yan etki profiline sahiptir. Şizofreni hastalarının birçoğunun ağır sigara kullanıcıları olduğu varsayıldığında bu maddelerin bir diğer avantajı ise

reseptörün ortosterik bağlanma bölgesi için nikotin ile yarışmamaları ve dolayısı ile maksimum terapötik etkive imkan sağlamalarıdır. (Wallace ve Bertrand, 2015)

Preklinik çalışmaların birçoğunda α7 nAChR'nin hem tip I hem tip II PAM'larının gerek şizofreni modelinde geek ise sağlıklı hayvanlarda öğrenme ve bellek fonksiyonlarını geliştirdikleri rapor edilmiştir (McLean ve ark., 2012; Nikiforuk ve ark., 2016a; Thomsen ve ark., 2011; Thomsen ve Mikkelsen, 2012). Bununla birlikte PAM'ların agonistler ile birlikte uygulandıklarında aditif etkili bulundukları rapor edilmiştir. Bu çalışmada tek başlarına etkisiz oldukları dozlarda tip II PAM olan PNU-120596 ile kolinesteraz inhibitörü olan donepezilin kombinasyonlarının bilişsel performansı artırdığı ve bu etkinin MLA uygulaması ile kaybolduğu gösterilmiştir (Callahan ve ark., 2013). Bu bilgiler ışığında α7 nAChR PAM'ların agonistlerin dezavantajlarına (yan etki profili ve reseptör duyarsızlaşması) sahip olmamaları ve yüz güldürücü preklinik bulguları ile şizofreninin bilişsel semptomları için yeni bir ilaç hedefi olduğu söylenebilir.

4.5.4.9.3. α7 nAChR agonist ve PAM'larının klinik çalışmalardaki durumu

α7 nAChR'nin seçici olarak aktivasyonu şizofreni için yeni bir tedavi hedefi olarak her geçen gün güçlenirken bu alanda preklinik çalışmalarda yüz güldürücü sonuçlar veren birkaç madde klinik çalışmalar fazına ulaşmıştır. Bu maddelerden birisi olan ve α7 nAChR agonisti, 5-HT_3 antagonisti olan Enseniklin'in (EVP-6124) çift körlü plasebo kontrollü bir çalışmada sigara kullanan ve kullanmayan şizofreni hastalarında standart tedaviye ek olarak verildiğinde bilişsel bozuklukları anlamlı derecede düzelttiği gösterilmiştir (Keefe ve ark., 2015). Bu maddenin faz III çalışmalarında farklı dozlarının mevcut antipsikotik tedaviye eklenerek hastaların bilişsel semptomları incelenmiştir fakat çalışma sonuçları henüz açıklanmamıştır (www.clinicaltrials.gov, NCT0171466; Erişim tarihi: 05.09.2017). Buna ilave olarak antiemetik bir ilaç olan ve α7 nAChR agonisti, 5-HT_3 antagonisti profile sahip tropisetron ile yapılan randomize, çift körlü ve plasebo kontrollü çalışmada bu ilacın şizofreni hastalarındaki dikkat ve sensör kapılama bozukluklarını anlamlı derecede düzelttiği gösterilmiştir (Shiina ve ark., 2010). Buna rağmen α7 nAChR kısmi agonisti GTS-21'in de sağlıklı gönüllüler ve sigara kullanmayan şizofreni hastalarında bilişsel performansı artırdığı gösterilirken daha geniş ölçekli faz II

çalışmalarında şizofreni hastalarında aynı başarıyı gösteremediği rapor edilmiştir (Freedman, 2014; Kitagawa ve ark., 2003; Wallace ve Bertrand, 2015). Benzer şekilde α7 nAChR agonisti RG3487'nin de randomize, plasebo kontrollü klinik çalışmada şizofreni hastalarında bilişsel bozulmalarda iyileşme sağlayamadığı bildirilmiştir (Umbricht ve ark., 2014).

İlginç olarak yukarıda bahsedilen maddelerin (EVP-6124, GTS-21, RG3487 ve tropisetron) şizofreni hastalarında bilişsel semptomlar üzerine çelişkili sonuçlarına rağmen bu maddelerin şizofreni hastalarında bilişsel semptomlardan bağımsız olarak negatif semptomlarda iyileşme sağladıkları rapor edilmiştir (Wallace ve Bertrand, 2015).

4.5.4.9.4. Muskarinik M_1 reseptör agonist ve PAM'ları

Muskarinik kolinerjik sistemin şizofreni patofizyolo jisinde rol alabileceğine dair kanıtlar çeşitli postmortem ve nörogörünlüleme çalışmalarına dayanmaktadır. Bu çalışmalarda prefrontal korteks ve hipokampus gibi şizofreni ile yakından ilişkili olan bazı beyin bölgelerinde özellikle M_1 alt tipi olmak üzere muskarinik reseptör yoğunluğunun azaldığı gösterilmiştir (Dean ve ark., 2002). Seçici M_1 reseptör antagonistlerinin kemirgenlerde öğrenme ve belleği bozarken, M_1 reseptör agonistlerinin şizofreni modellerindeki davranışsal bozulmaları geri çevirebildiği bildirilmiştir (Agid ve ark., 2008). Potent bir M_1 reseptör agonisti olan xanomelin Alzheimer hastalarında bilişsel ve psikotik semptomların önlenmesinde etkili bulunmuştur (Yohn ve Conn, 2017). Klozapinin bir metaboliti olan ACP-104'ün (N-desmetilklozapin) klozapin ile temel farklarından birisinin M_1 reseptörlerine karşı yüksek afinitesinin olduğu ve klozapinin üstün klinik fayda sağladığı şizofreni hastalarında ACP-104/Klozapin plazma oranının diğer hastalara göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir (Lameh ve ark., 2007). Ayrıca M_1 ve M_4 reseptörlerine özgü PAM'ların da preklinik çalışmalarda başta öğrenme ve bellek fonksiyonları olmak üzere şizofreninin çeşitli semptomlarındaki bozuklukları geri çevirdikleri gösterilmiştir (Choy ve ark., 2016). Bu bulgular M_1 ve M_4 aktivitesinin agonist veya PAM ile artırılmasının şizofreninin özellikle bilişsel semptomları için ümit vaad edici bir yaklaşım olduğunu göstermektedir (Yohn ve Conn, 2017).

4.5.4.9.5. AChE inhibitörleri

Şizofreni hastalarının beyin dokularında kolinerjik sisteme ait muskarinik ve nikotinik reseptörlerde azalmalar olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Bunun yanında atropin ve skopolamin gibi bazı antimuskarinik ilaçların yüksek dozda kullanıldıklarında antikolinerjik sendrom veya antimuskarinik psikoz olarak isimlendirilen ve şizofreni endofenotipi ile benzerlik gösteren bir klinik tabloya neden oldukları bilinmektedir. Buna ilave olarak asetilkolinin öncü maddesi olan kolin ve asetilkolin sentezleyen enzim olan kolin asetiltransferaz miktarlarının şizofreni hastalarında beynin bazı dokularda değiştiği gösterilmiştir. Bu bulgular SSS'de asetilkolin miktarıda yapılabilecek bir düzenlemenin şizofreni hastaları için yeni bir tedavi yaklaşımı olup olmamayacağını düşündürmüştür. Bu amaç ile şizofreni hastalarında etkisi araştırılan ilaç gruplarından biri de Alzheimer hastalarında bilişsel işlevleri artırdığı bilinen, sinaptik aralıkta asetilkolinin yılımından sorumlu olan AChE enziminin inhibitörleridir. Bu ilaçlar AChE enzimini inhibe ederek sinaptik aralıkta asetilkolin miktarını artırırlar ve dolayısı ile kolinerjik iletimi kolaylaştırırlar. AChE inhibitrörleri ile şizofreni ilişkisi incelendiğinde AChE inhibitörlerinin tek başlarına ya da mevcut antipsikotik ilaca ekleme tedavisi olarak etkinliklerinin araştırıldığı görülmüştür. Çalışmaların bazılarında şizofreninin negatif ve bilişsel semptomlarında hafif-orta derecelerde düzelmeler sağladığı bildirilmiştir. Buna rağmen büyük ölçekli çalışmalar ve meta analizler AChE enzim inhibitörlerinin ister tek başlarına ister antipsikotik ilaçlarla birlikte kullanımlarında belirgin bir fayda sağlamadığını göstermektedir. Bazı muskarinik agonistler ve α7 nAChR agonist/modülatörlerinin ümit vaad eden bulgularına rağmen SSS'de asetilkolinin miktarını artıran bu ilaçların istenilen etkiyi göstermemesinin asetilkolinin tüm reseptörlerde seçici olmayan agonistik etki göstermesi ve bu reseptörlerden bazılarının diğer reseptörlerin etkisini baskılaması veya maskelemesi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca artan asetilkolin miktarının başta α7 nAChR gibi bazı kolinerjik reseptörlerin duyarsızlaşması sebebi ile de istenilen etkiyi gösteremediği düşünülmektedir (Singh, 2011; Stip ve ark., 2007; Terry Jr, 2008). α7 nAChR agonist ve PAM'larının beyinde AChE enzimi üzerine yaptığı etkiler şu an için bilinmese de tip II PAM olan PNU-120596'nın AChE inhibitörü donepezilin etkisini güçlendirdiği rapor edilmiştir (Callahan ve ark., 2013).

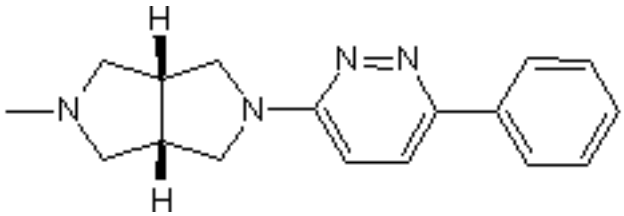
4.5.4.9.6. α7 nAChR ligandları ve çalışmada kullanılan maddeler

Günümüzde α7 nAChR için tanımlanmış çok sayıda agonist, antagonist ve PAM bulunmaktadır. Bu ligandların bazıları tablo 4'te verilmiştir.

Tablo 4. α7 nAChR ligandları

Madde ismi	**α7 nAChR üzerine etkisi**
Asetilkolin	Endojen agonist
Nikotin	Agonist
AQW051	Seçici agonist
EVP-6124	Seçici agonist
AR-R 17779	Seçici agonist
PHA 453613	Seçici agonist
PHA 568487	Seçici agonist
PNU 282987	Seçici agonist
TC 1698	Seçici agonist
ABT-126	Agonist
4BP-TQS	Agonist
SEN 12333	Agonist
3-Bromositizin	Agonist
A-582941	Seçici kısmi agonist
A-844606	Seçici kısmi agonist
GTS 21	Kısmi agonist
DMAB-anabasein	Kısmi agonist
S 24795	Kısmi agonist
SSR 180711	Kısmi agonist
Tropisetron	Kısmi agonist
CCMI	Tip I PAM
NS 1738	Tip I PAM
LY 2087101	Tip I PAM
İvermektin	Tip I PAM
Galantamin	Tip I PAM
Genistein	Tip I PAM
5-Hidroksiindol	Tip I PAM
SB-206553	Tip I/TipII PAM
JNJ-193092	Tip I/TipII PAM
PNU-120596	Tip II PAM
TQS	Tip II PAM
A 867744	Tip II PAM
α-Bungarotoksin	Seçici antagonist
Metillikakonitin	Seçici antagonist
MG 624	Seçici antagonist
α-Konotoksin	Antagonist
COG 133	Antagonist

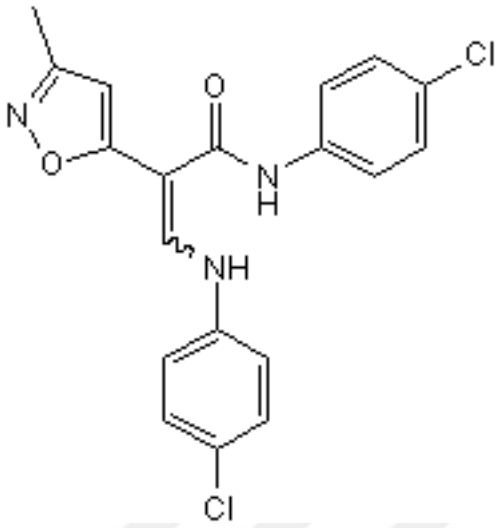
A-582941



Şekil 15. A-582941'in kimyasal yapısı (oktahidro-2-metil-5-[6-fenil-3-pridazinil] pirrol[3,4-c]pirrol; molekül ağırlığı: 280,37, EC_{50}=2,4 μM)

A-582941 α7 nAChR'ye seçici olarak bağlanan, küçük, yağda çözünen ve dolayısıyla kan beyin bariyerini geçerek santral etkiler oluşturabilen bir maddedir. Bu maddenin plazma proteinlerine bağlanma oranının türler arasında değişkenlik göstermekle birlikte sıçanlarda %72 insanlarda ise %73 olduğu bildirilmiştir. A-582941 ile yapılan reseptör afinite çalışmalarında α7 nAChR dışında iyonotropik bir reseptör olan serotonerjik 5-HT_3 reseptörüne bağlandığı rapor edilmiştir. Ancak A-582941'in 5-HT_3 reseptörüne olan afinitenin α7 nAChR'e oranla 15 kat daha düşük olduğu bulunmuştur. A-582941'in fonksiyonel aktivitesini inceleyen çalışmalarda maddenin α7 nAChR'lerde hızlı bir şekilde duyarsızlaşmaya neden olduğu ve bu etkinin antagonist uygulanması ile kaybolduğu gösterilmiştir. A-582941'in etkililik açısından ele alındığı çalışmalarda hücrede oluşturabildiği maksimum etkinin asetilkolinin yaklaşık %52'si kadar olduğu bildirilmiştir. Dolayısıyla A-582941 α7 nAChR üzerinde seçici ve kısmi agonist bir etkiye sahiptir. Buna rağmen A-582941'in α7 nAChR'lerinin PAM'ları ile birlikte uygulandığında asetilkolinin %207'si kadar etkililiğe çıkabildiği gösterilmiştir. Bu maddenin farmakokinetik profili incelendiğinde i.p. enjeksiyonu takiben 20 dakika içerisinde SSS'de maksimum konsantrasyona ulaştığı, bu konsantrasyonun plazmadakinin yaklaşık 10 katı olduğu ve 9 saat boyunca korunduğu saptanmıştır. A-582941'in plazma yarılanma ömrü yaklaşık 2 saattir, metabolizması büyük oranda karaciğer mikrozomal enzimlerinden CYP2D6 tarafından yapılmaktadır. A-582941 davranış çalışmaları açısından ele alındığında kemirgenlerde ve primatlarda çalışan bellek, kısa süreli tanıma belleği, uzun süreli bellek, sensöriyal kapılama fonksiyonlarını geliştirdiği rapor edilmiştir (Tietje ve ark., 2008).

CCMI

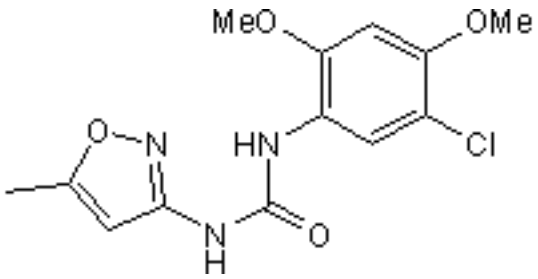


Şekil 16. CCMI'nın kimyasal yapısı (N-(4-klorofenil)-α-[[(4-klorofenil)amino] metilen]-3-metil-5-izoksazolasetamid; molekül ağırlığı: 388,25 g/mol, EC_{50}=0,7 μM)

CCMI (diğer isimleri ile AVL-3288, compound 6) seçici olarak α7 nAChR allosterik bağlanma bölgesine bağlanan bir liganddır. CCMI α7 nAChR'e bağlandığında tek başına reseptörde bir cevap oluşturmaz fakat ortosterik bölgeye bağlanan agonistin etkisini artırır. Bundan dolayı PAM'lar arasında yer alır. CCMI'nın α7 nAChR'in doğal reseptör kinetiğini bozmadan bir başka deyişle bu reseptörlerin hızlı duyarsızlaşma doğasını değiştirmeden duyarlılığını artırdığı gösterilmiştir. Bunu reseptör iyon kanalının katyonlara geçirgenliğini artırarak yaptığı rapor edilmiştir. CCMI bu özelliğinden dolayı tip I PAM sınıfında yer almaktadır ve tip II PAM'dan en önemli farkı reseptörün doğal kinetiğini bozmadan sadece duyarlılığını artırarak hücrede toksisiteye neden olmamasıdır. CCMI'nın sağlıklı bireylerde iyi tolere edilebildiği ve yarılanma ömrünün yaklaşık 3 saat olduğu gösterilmiştir (Gee ve ark., 2017).

CCMI'nın davranış üzerine etkileri incelendiğinde gerek sağlıklı gerekse şizofreni modeli oluşturulmuş sıçanlarda öğrenme ve bellek fonksiyonlarını güçlendirdiği rapor edilmiştir. Bunun yanında şizofreninin bir göstergesi sayılan sensörimotor kapılama fonksiyonundaki bozulmayı da geri çevirebildiği gösterilmiştir (Ng ve ark., 2007; Nikiforuk ve ark., 2015; Potasiewicz ve ark., 2017b).

PNU-120596



Şekil 17. PNU-120596'nın kimyasal yapısı **(**N-(5-kloro-2,4-dimetoksifenil)-N'-(5-metil-3-izoksazilil)-üre, Molekül ağırlığı: 311,72g/mol, EC_{50}= 216 nM)

PNU-120596 da α7 nAChR allosterik bölgesine seçici olarak bağlanan bir liganddır. Tıpkı CCMI gibi PNU-120596'da tek başına reseptörde bir etki oluşturmaz fakat agonistin yaptığı etkiyi modüle eder. PNU-120596 tip II PAM'ların prototipidir ve tip I PAM'dan farklı olarak reseptörün hızlı duyarsızlaşmasına neden olan kinetiğini değiştirir. PNU-120596 reseptör duyarsızlaşmasını önemli oranda yavaşlatır ve hatta duyarsızlaşmış reseptörleri tekrar duyarlı hale getirebilir. Tip I PAM'dan farklı olarak PNU-120596 hem iyon kanalından hücre içine katyon girişini artırır hem de bu kanalın açık kalma süresini uzatır. Dolayısıyla hücrenin uyarılma süresini önemli derecede artırır (Hurst ve ark., 2005). Tip II PAM'ların yaptığı bu etkiler bir arada değerlendirildiğinde avantaj gibi görünse de hücre içine kontrolsüz katyon girişine neden olarak toksik etki oluşturabilecekleri gösterilmiştir (Guerra‐Álvarez ve ark., 2015).

PNU-120596'nın in vivo etkilerini araştıran çalışmalar bu maddenin travmatik beyin hasarına bağlı kan beyin bariyeri geçirgenliğindeki artışı geri çevirdiği (Dash ve ark., 2016) ve etanol ile oluşan motor fonksiyon bozukluğunu düzelttiği gösterilmiştir (McDaid ve ark., 2016). Bunun yanında farklı çalışmalarda analjezik etkisinin tespit edildiği ve intratekal uygulandığında postoperatif hiperaljezi süresini kısalttığını gösterilmiştir (Freitas ve ark., 2013a; Freitas ve ark., 2013b; Gu ve ark., 2017).

PNU-120596'nın davranış üzerine etkileri incelendiğinde ise genetik ve kimyasal modellerde sensörimotor bozukluğu geri çevirdiği, akut ketamin ile oluşturulan bilişsel ve negatif semptomları iyileştirdiği gösterilmiştir (Potasiewicz ve ark.,

2017b). Çalışmamızda kullandığımız modele çok benzeyen subkronik PCP modelinde de PNU-120596'nın dikkat ve öğrenme üzerine faydalı etkileri tespit edilmiştir (McLean ve ark., 2012). Bunun yanında sadece bozulmuş bellek üzerinde değil aynı zamanda sağlıklı belleğin güçlendirilmesinde de etkili olduğu rapor edilmiştir (Nikiforuk ve ark., 2015).

4.6. Şizofreni Farmakoterapisinde Diğer Tedavi Yaklaşımları

4.6.1. Antiinflamatuvar ilaçlar

İnflamatuvar mekanizmaların nörogelişimsel süreçte rol oynayarak şizofreni patolojisine katkıda bulunduğuna dair bulgular giderek artmaktadır (Altamura ve ark., 2013; Feigenson ve ark., 2014). Çok sayıda çalışma, maternal dönemde influenza, toksoplazma gondii, rubella ve borna hastalık virüsü gibi viral/bakteriyel patojenlere maruziyetin yavruda şizofreni gelişme riskini arttırdığını göstermektedir. Ek olarak, perinatal dönemdeki infeksiyonlar ile hastalarda görülen sitokin düzeylerindeki değişikliklerin de şizofreni patolojisinde rol oynayabileceğini düşünülmüştür (Meyer, 2011). LPS ve poliinosinik:polisitidilik asid (Poly I:C) gibi immün sistem aktivatörlerinin gebe kemirgenlere uygulandıklarında yavru deney hayvanlarında hem şizofreni benzeri davranış değişikliklerine hem de proinflamatuvar sitokinlerde artışa neden olduğu göstermiştir (Dantzer, 2004; Feigenson ve ark., 2014).

Bu konudaki klinik çalışmalar incelendiğinde şizofreni hastalarının hem serumlarında hem de beynin şizofreni ile ilişkilendirilen bölgelerinde önemli sitokin değişiklikleri rapor edilmiştir. Bu çalışmalarda şizofreni hastalarında IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-12, IFN-α, TNF-α ve TGF-β değerlerinde değişikliklere rastlandığı ve genellikle proinflamatuvar sitokin üretiminin artarken antiinflamatuvar sitokin ürütiminde azalmalar rapor edilmiştir (Aricioglu ve ark., 2016; Kim ve ark., 2004; Potvin ve ark., 2008). Plazma sitokin seviyeleri ile şizofreni psikopatolojisi arasındaki ilişki inceleyen çalışmalarda artmış IL-2 seviyesinin pozitif ve negatif semptomlar, IL-1β, IL-6 ve IL-8 seviyesindeki artışın ise daha çok bilişsel semptomlar ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Misiak ve ark., 2017). Birbirini destekler nitelikteki bu sonuçlar inflamatuvar süreçlerin seçici olarak baskılanmasının bu hastalık için yeni bir tedavi hedefi olabileceğini göstermektedir.

Bu amaç ile başta seçici siklooksijenaz-2 enzim inhibitörü olan selekoksib olmak üzere asprin ve minosiklin gibi antiinflamatuvar etkili maddeler şizofreni hastalarında ekleme tedavisi olarak denenmiştir. Selokoksib ek tedavisi alan hastalarda semptomatik düzelmenin sadece antipsikotik tedavisi alan hastalara göre daha fazla olduğunu göstermiştir (Müller ve ark., 2002). Benzer şekilde tedaviye ek olarak aspirin verilen hastalarda da klinik düzelmenin sadece antipsikotik alan hastalara göre daha fazla olduğu bildirilmiştir (Girgis ve ark., 2014). Tüm bu bulgular antiinflamatuvar ajanların şizofreni tedavisi için ümit vaad ettiğini ve gelecekte mevcut antipsikotik tedaviye ek olarak kullanılma potansiyellerinin bulunduğunu göstermektedir (Aricioglu ve ark., 2016; Müller ve ark., 2015).

4.6.2. Glikojen sentaz kinaz-3 inhibitörleri

Serin/treonin protein kinaz ailesine ait olan Glikojen Sentaz Kinaz-3 (GSK-3) enzimi ilk kez 1980 yılında keşfedilmiştir (Embi ve ark., 1980). Memelilerde GSK-3α ve GSK-3β olmak üzere iki izoformu vardır. Her iki izoform da vücutta yaygın olarak bulunurken GSK-3β beyinde daha geniş bir dağılım göstermektedir. Hücrede yapısal olarak aktif halde olan bu enzimin aktivitesi hücre içerisinde büyük ölçüde Akt (Protein Kinaz B) enziminin GSK-3'ü fosforillemesi ile inhibe edilmektedir. Akt enziminin GSK-3 üzerindeki fosforilleme yeteneğinin çeşitli etkenlerle azalması ise enzimin aktivitesinde artışa neden olmaktadır. GSK-3β enzim aktivitesindeki artışın şizofreni, Alzheimer, depresyon, iki uçlu bozukluk ve çeşitli nörogelişimsel hastalıkların patogenezinde rol aldığını gösteren birçok çalışma mevcuttur. Bu çerçevede incelendiğinde artmış olan GSK-3β enzim aktivitesinin düşürülmesinin bu hastalıklar için yeni bir tedavi yaklaşımı olabileceğine ilişkin güncel yaklaşımlar söz konusudur (Şahin ve ark., 2014).

Şizofreni hastalarında yapılan postmortem incelenmelerde frontal kortekste GSK-3β'nın inaktif hali olan fosforile GSK-3β (p-GSK-3β)'nın azaldığı ve dolayısı ile GSK-3β aktivitesinde bir artış meydana geldiği bildirilmiştir (Emamian ve ark., 2004). Metamfetamin, amfetamin, apomorfin gibi psikoz benzeri davranışlar oluşturan psikostimülan maddelerin uygulanmaları sonucu farelerin beyin dokularında Akt aktivitesinin azaldığı ve buna eşlik eden GSK-3β aktivitesinin arttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Abi-Dargham ve Laruelle, 2005; Beaulieu

ve ark., 2009). Bu bilgiler şizofreni hastalarında/hayvan modellerinde GSK-3β aktivitesindeki artışı kanıtlamaktadır.

Şizofreni tedavisinde önemli yer tutan antipsikotiklerin GSK-3β enzim aktivitesi üzerine etkileri birçok çalışmada araştırılmıştır. Hücre kültürü ortamında atipik antipsikotikler olan aripiprazol, amisulipirid ve olanzapinin bazal GSK-3β aktivitesini azalttığı gösterilmiştir. Bu çalışmalarda amisulpiridin GSK-3β aktivitesini azaltıcı etkisine Akt'ın aktif formu olan fosforile Akt düzeyini yükselterek Akt aktivitesindeki artış eşlik etmiştir (Aubry ve ark., 2009; Park ve ark., 2009; Park ve ark., 2011). Fareler üzerinde yapılan çalışmalar da hücre kültürü çalışmalarını destekler nitelikte sonuçlar vermiştir. Çeşitli antipsikotiklerin farelerde bazal GSK-3β aktivitesi üzerine etkilerinin incelendiği çalışmada klozapin, ketiyapin ve risperidonun korteks, hipokampus, striatum ve serebellum gibi beyin bölgelerinde p-GSK-3β miktarını artırarak bu enzimin aktivitesini düşürdükleri belirtilmiştir (Li ve ark., 2007). Söz konusu çalışmalar klinikte şizofreni tedavisinde kullanılan antipsikotiklerin şizofreni patogenezinde artmış olan GSK-3β aktivitesini düşürdükleri kanıtlanmıştır.

Şizofreni patogenezinde GSK-3β aktivitesinde bir artış meydana geldiğinin kanıtlanması ve şizofreni hastalığının tedavisinde kullanılan bazı antipsikotiklerin artmış olan GSK-3β aktivitesini azalttığının gösterilmesi üzerine GSK-3β inhibitörlerinin şizofreni tedavisi için yeni bir yaklaşım olup olamayacağı sorusu ortaya çıkmıştır. Chen ve arkadaşları GSK-3β aktivitesini baskılayan Akt enzimini kodlayan genleri silinmiş fareler kullanarak yüksek GSK-3β aktiviteli psikoz modeli hayvanlar oluşturmuş ve bu hayvanlara uygulanan antipsikotiklerin davranışsal düzelme sağlayamazken spesifik GSK-3β inhibitörü olan SB216763 maddesinin davranışsal olarak anlamlı derecede düzelme sağladığını göstermişlerdir (Chen ve ark., 2011). Diğer bir çalışmada ise glutamaterjik NMDA reseptör antagonisti olan ketamin ile farelerde şizofreni benzeri davranışlar oluşturulmuş, SB216763 ve 1-azakenpaullone gibi spesifik GSK-3β inhibitörlerinin bu davranışları azalttığı gösterilmiştir (Chan ve ark., 2012). Elde edilen bu bulgular şizofreni tedavisi için yeni bir yaklaşım olan GSK-3β inhibitörlerinin bu anlanda ümit vaad ettiğini göstermektedir.

4.6.3. Fosfodiesteraz inhibitörleri

Fosfodiesteraz enzimi (FDE) hücre içinde birçok fonksiyonu bulunan cAMP ve cGMP proteinlerini hidroliz eden enzimdir. cAMP ve cGMP proteinleri ise hücre de nörotransmiter salımı, nöroplastisite ve nöronal koruma gibi birçok fonksiyonda görev alan hücre içi sinyal mekanizmalarının bir parçası olan ikincil habercilerdir. FDE'nin toplam 12 izoformu (FDE 1-12) olup bunların cAMP ve cGMP'ye afiniteleri birbirine göre farklılık göstermektedir. FDE5, 6 ve 9 daha çok cGMP'yi hidroliz etme eğilimindeyken diğerlerinde eğilim cAMP hidrolizi yönündedir. Bu enzimlerin beyindeki yerleşimleri incelendiğinde hipokampus, korteks, striatum ve talamus gibi şizofreni ile ilişkili bölgelerde eksprese edildikleri görülmektedir.

Daha önce ilaç tedavisi almayan şizofreni hastalarının beyin omurilik sıvılarında yapılan incelemeler sağlıklı bireylere kıyasla bu hastalarda cAMP ve cGMP miktarlarının azaldığını göstermektedir. Buna ilave olarak şizofreni tedavisinde kullanılan antipsikotiklerin de cAMP ve cGMP düzeylerini artırdığı gösterilmiştir. Bu bulgular ışığında FDE inhibisyonu yapan maddelerin şizofreni tedavisi için yeni bir yaklaşım olabileceği düşünülmektedir.

FDE inhibitörleri arasında etkileri en fazla incelenen alt tipler FDE4, FDE5, FDE9 ve FDE10 inhibitörleridir. FDE5 inhibitörü olan sildenafilin kemirgenlerde hipokampus, prefrontal korteks ve serebellumda cGMP miktarını önemli derecede artırdığı gösterilmiştir. Sildenafilin ekleme tedavisi olarak kullanıldığında antipsikotik kullanan şizofreni hastalarında şizofreninin pozitif ve negatif semptomlarını anlamlı derecede iyileştirdiği rapor edilmiştir. Buna rağmen literatürde zıt yönlü çalışmalar da bulunmaktadır. FDE9 inhibitörü olan PF-4447943'ün preklinik çalışmalarda çeşitli sensöriyal kapılama ve çalışan bellekteki bozulmaları geri çevirdiği rapor edilmiştir. FDE inhibitörleri bilişsel işlevler açısından incelendiğinde ise özellikle FDE4, FDE5, FDE9 ve FDE10 inhibitörlerinin etkili oldukları tespit edilmiştir (Heckman ve ark., 2015; Shim ve ark., 2016). Özet olarak FDE inhibitörlerinin şizofreninin özellikle bilişsel semptomları açısından ümit vaad ettiği düşünülmektedir.

4.7. Deneysel Şizofreni Modelleri

Deneysel hayvan çalışmaları kompleks psikiyatrik hastalıkların yapısının aydınlatılması, insanlarda denenme imkanı bulunmayan yeni tedavi yaklaşımlarının uygulanabilmesi ve insana göre daha kısa sürelerde hastalık modellerinin oluşması gibi çeşitli sebeplerden dolayı preklinik araştırmalarda büyük kolaylık sağlamaktadır. Deneysel hayvan çalışmalarında bir modelin klinikteki bir patolojiyi ne derecede yansıttığını gösteren 3 temel geçerlilik kriteri vardır. Bunlar görsel (semptomatik homoloji), yapısal (modelin hastalıktaki nörobiyolojik değişiklikleri ve patolojiyi taklit etmesi) ve öngörüsel (etkisi tahmin edilen bir ilacın etkisini ne derecede yansıttığı) geçerlilik kriterleridir. Deneysel hayvan modelleri şizofreni açısından ele alındığında bir modelin geçerliliği ergenlik sonrası başlangıca sahip olması, hipokampal ve kortikal bağlantının ve fonksiyonların bozulması, limbik dopamin disregülasyonu, kortikal glutamaterjik hipofonksiyon, strese karşı kırılganlık, ödüle anormal yanıt, sosyal geri çekilme ve bilişsel işlev bozuklukları gibi şizofreni özelliklerini ne derecede yansıttığı ile doğru orantılıdır. Ayrıca kliniğe paralel olarak tipik ve atipik antipsikotikler ile modelde oluşan değişikliklerin ne kadar geri çevirilebildiği de modelin geçerliliğini gösteren kriterlerdendir (Jones ve ark., 2011). Deneysel şizofreni modelleri i) nörogelişimsel, ii) farmakolojik, iii) cerrahi iv) genetik modeller olarak sınıflandırılmaktadır.

4.7.1. Nörogelişimsel şizofreni modelleri

Etiyoloji kısmında da bahsedildiği gibi insanlar üzerinde yapılan epidemiyolojik ve etiyolojik çalışmalar hem prenatal hem de postnatal dönemde annenin ve bebeğin maruz kaldığı çevresel faktörlerin şizofreni riskini artırdıkları göstermiştir. Maternal stres, maternal kötü beslenme, enfeksiyonlar, immun aktivasyon ve doğum sırasında gerçekleşen komplikasyonlar bu risk faktörlerinden bazılarıdır. Bu çerçevede şekillenen nörogelişimsel şizofreni hipotezi genetik yatkınlığı olan bireylerin erken dönemde bu tip çevresel faktörlere maruziyeti ile nöronal gelişim ve bağlantılarda kalıcı değişiklikler meydana geldiği ve bu değişikliklerin sonraki dönemlerde şizofreni fenotipini ortaya çıkardığını savunmaktadır (Ratajczak ve ark., 2013). Şizofrenide nörogelişimsel hipotez temel alınarak oluşturulan deneysel modeller genellikle prenatal ve erken postnatal dönemlerde çevresel manipülasyonlar veya bazı kimyasal madde uygulamaları ile SSS'de kalıcı hasar oluşumu ve postpubertal

dönemde bu hasar sonucu oluşan şizofreni fenotipinin incelenmesi esasına dayanır. Bu şekilde immün sistemi aktive edici ajanlar ile oluşturula nörogelişimsel şizofreni modellerinden başlıcaları i) Gestasyonel Metilazoksimetanol Asetat (MAM) ii) maternal immün aktivasyon ve iii) sütten kesilme sonrası sosyal izolasyon gibi modellerdir.

MAM, fetusta sadece SSS'deki nöroblast hücreler üzerinde antiproliferatif etkisi olan, glial hücreler ve periferal hayati organlar üzerinde etkisi olmayan bir bileşiktir (Cattabeni ve Di Luca, 1997). Gestasyonel MAM modelinde en kritik noktalardan biri gebelik günleri ile birlikte değişim gösteren çeşitli beyin bölgelerinin gelişim hız ve derecesidir. Bu nedenle MAM'ın gebe sıçana hangi günler uygulanacağı önem taşımaktadır. Kortikal nörojenez gebeliğin gününün (GG) 15'inde maksimum seviyede olduğu için bu dönemde MAM ile oluşturulacak bir hasar bu bölgede maksimum hücre kaybına neden olmaktadır (Jones ve ark., 2011). Yapılan çalışmalarda GG15 MAM modeli oluşturulan sıçanlarda serebellum ve hipokampus hacimlerinin azaldığı ve mikroensefali, yaygın kortikal displazi ve korteks kütlesinde azalma gibi morfolojik değişiklikler gözlendiği bildirilmiştir (Cattabeni ve ark., 1989). GG17 MAM modelinde de hipokampus, talamus ve bazı kortikal bölgelerin kalınlıklarında incelmeler, toplam beyin kütlesinde %11 azalma olduğu fakat bu değişikliklere rağmen striatal hücre kaybının meydana gelmediği gösterilmiştir (Flagstad ve ark., 2004). GG17 MAM modelinde ayrıca amfetamin ile indüklenen lokomotor aktivitenin arttığı, nükleus akumbenste dopamin salımının artarken prefrontal kortekste değişmediği ve hipokampusta parvalbumin içeren GABAerjik aranöronların azaldığı belirtilmiştir (Flagstad ve ark., 2004; Moore ve ark., 2006; Penschuck ve ark., 2006). Yapılan çalışmalar ayrıca ÖUAİ'nin GG17 MAM modeli oluşturulmuş sıçanlarda bozulurken GG15 MAM modelinde bozulmadığını göstermiştir (Hazane ve ark., 2009; Moore ve ark., 2006). Gestasyonel MAM modeli bilişsel açıdan ele alındığında GG15 modelinde uzamsal öğrenme ve belleğin bozulurken bozulurken GG17 MAM modelinde bu fonksiyonun bozulmadığı görülmektedir (Gourevitch ve ark., 2004). Farklı çalışmalarda GG15 MAM modelinin uzamsal öğrenmenin yeniden öğrenme performansı bozarken, GG17 MAM modelinin ilk öğrenme sürecinin bozduğu gösterilmiştir (Hazane ve ark., 2009; Jones ve ark., 2011). Gestasyonel MAM modellerinde genel kanı 15. gün ve

öncesinde MAM uygulamasının beyin morfolojisi ve davranış açısından faydalı bir model olabileceği fakat 17. gün uygulanan MAM modelinin optimal strateji olduğu yönündedir. Özet olarak gestasyonel MAM modelinin pozitif ve bilişsel semptomlar için kabul edilebilir bir görsel geçerliliğin yanında beyindeki yapısal ve dopaminerjik değişiklikler açısından da yapısal geçerlilik kriterleri taşıdığı düşünülmektedir. Bu modellerde antipsikotik kullanılan çalışmaların sınırlı olması ise öngörülebilir geçerlilik açısından akıllardaki soru işaretlerini gidememiştir (Jones ve ark., 2011).

Prenatal sürecin özellikle birinci ve ikinci trimesterlerinde meydana gelen enfeksiyonların maternal immün aktivasyona neden olarak şizofreni riskini artırdığı bilinmektedir. Prenatal dönemde kemirgenlere sentetik bir RNA virüsü olan Poly I:C uygulanmasının erişkinlik döneminde şizofreni benzeri davranışlara neden olduğu gösterilmiştir. Gebe sıçana Poly I:C uygulanmasının ardından maternal immün aktivasyonun başladığı ve plasenta, amniyotik sıve ve fetus beyin dokusunda proinflamatuvar sitokinlerde artış olduğu rapor edilmiştir. Bunun sonucunda fetal beyinde mikroglianın aktive olarak beyaz cevherde azalma ve nöronal apoptozu tetiklediği düşünülmektedir. Dolayısı ile bu sürecin kemirgenlerin erişkinlik dönemlerinde şizofreni patolojisini yansıtan davranışsal (ÖUAİ, sosyal etkileşim ve bilişsel fonksiyonlarda bozukluklar), moleküler (hipokampal ve prefrontal hacimde azalma) değişikliklere neden olmaktadır. Bunların yanında maternal immün aktivasyon modeli oluşturulan sıçanlarıda davranışsal ve moleküler değişikliklerden bazılarının antipsikotik uygulaması ile düzeldiği gösterilmiştir. Bu bulgular maternal immün aktivasyonun şizofreninin davranışsal, yapısal ve öngörüsel geçerlilik kriterlerini sağladığını göstermektedir (Osborne ve ark., 2017).

Sütten kesilme sonrası sosyal izolasyon deney hayvanlarında şizofreni modeli oluşturmak amacı ile kullanılan farmakolojik olmayan modellerden biridir. Bu model genellikle 21. günden sonra yeni sütten kesilen yavru sıçanların 8 hafta süre ile diğer sıçanlardan sosyal olarak izole yetiştirilmesi şeklinde uygulanır. Bu süre içinde diğer sıçanlar ile görsel, kokusal ve işitsel iletişim devam etse bile sıçanların fiziksel ve dokundal olarak izole yetişmesi normal gelişme ve olgunlaşmayı olumsuz etkilemektedir. Yapılan çalışmalar sosyal izolasyon modeli oluşturulmuş sıçanlarda erişkinlik döneminde stres ile indüklenen lokomotor aktivite artışı, ÖUAİ ve bilişsel fonksiyonlarda bozukluklar gibi şizofreni semptomlarının ortaya çıktığını

göstermektedir (Lim ve ark., 2012). Buna rağmen bazı çalışmalar bu sıçanlarda şizofreninin en önemli moleküler bulgularından biri olarak kabul edilen parvalbumin miktarındaki azalmanın oluşmadığını göstermiştir (Kaalund ve ark., 2013).

4.7.2. Farmakolojik şizofreni modelleri

Deneysel şizofreni modeli oluşturmak amacı ile kullanılan farmakolojik modellerin en önemli örnekleri i) dopaminerjik hiperaktivite ii) glutamaterjik hipoaktivite oluşum esasına dayanan modellerdir. Bu amaç ile dolaylı olarak dopaminerjik aktiviteyi artıran Amfetamin ve glutamaterjik NMDA reseptörlerini bloke eden MK-801, PCP ve Ketamin sıklıkla kullanılmaktadır.

Amfetamin ile indüklenen psikoz insanlarda ilk kez 1950'lerde tanımlanmıştır. Sıçanlarda ise kronik amfetamin uygulamasının akut psikostimulan ile indüklenen lokomotor aktivite artışına neden olduğu ve bu etkinin tek doz amfetamine göre daha belirgin olduğu gösterilmiştir (Featherstone ve ark., 2007). Düşük doz haloperidol ve klozapin ön uygulamasının ise amfetaminin indüklediği lokomotor aktivite duyarlılığını engellediği bildirilmiştir (Meng ve ark., 1998). Bunun yanında sıçanlarda kronik amfetamin uygulamasının insandaki ile paralel şekilde negatif semptomlara yol açmadığı gösterilmiştir (Sams-Dodd, 1996). Bilişsel işlevlerin değerlendirildiği çeşitli çalışmalarda öğrenme ve bellek fonksiyonlarının bazı testlerde bozulduğu gösterilse de genel kanı bu modelin şizofrenide görülen bilişsel bozulmaları taklit etmediği yönündedir (Featherstone ve ark., 2008; Fletcher ve ark., 2005; Russig ve ark., 2003; Stefani ve Moghaddam, 2002). Yukarıdaki bulgular amfetamin modelinin şizofreninin pozitif semptomlarını başarı ile taklit ederken negatif ve bilişsel semptomları modellemekten uzak olduğunu göstermektedir.

Son yıllarda yapılan çalışmalar glutamaterjik sistem disfonksiyonunun şizofreni patofizyolojisi için önemini giderek artırmaktadır (Coyle ve ark., 2003). Sağlıklı kişilerde ketamin ve PCP gibi NMDA reseptör antagonistlerinin halüsinasyon ve delüzyon gibi şizofreni benzeri davranışları indükledikleri çeşitli çalışmalar ile kanıtlanmıştır (Cohen ve ark., 1962; Krystal ve ark., 1994). Buna ilave olarak akut ve aralıklı kronik PCP kullanımının bilişsel semptomlarda bozulmalara neden olduğu da bilinmektedir (Cosgrove ve Newell, 1991; Javitt ve Zukin, 1991). İnsandaki sonuçlara benzer olarak akut PCP uygulamasının kemirgenlerde lokomotor

aktivitede artışa, sosyal çekilmeye, ÖUAİ'de ve bilişsel fonksiyonlarda bozulmalara neden oldukları gösterilmiştir (Egerton ve ark., 2005; Kalinichev ve ark., 2008; Mansbach ve Geyer, 1989; Sams-Dodd, 1996). Bir diğer NMDA reseptör antagonisti olan MK-801'in de PCP benzeri etkiler oluşturarak lokomotor aktivitede artış, ÖUAİ'de ve sosyal etkileşimde bozulmalara neden olduğu gösterilmiştir (Kaminska ve Rogoz, 2015; Mansbach ve Geyer, 1989; Neill ve ark., 2014). Akut uygulanan NMDA reseptör agonistleri şizofreninin pozitif belirtilerini taklit etmede başarılı olsalar da negatif ve bilişsel semptomları taklit etmede yeterince başarılı değillerdir. Bu yüzden deney hayvanlarında bu semptomlara benzer etkiler oluşturmak amacı ile genellikle 7 gün süre ile günde iki kez NMDA reseptör antagonisti (çoğunlukla PCP) uygulaması kullanılmaktadır. Buna ilave olarak deney hayvanlarının NMDA antagonistlerinin akut etkilerinden arınması ve psikotik durumdan bağımsız olarak bilişsel ve negatif semptomların değerlendirilmesi amacı ile genellikle subkronik uygulamayı takiben 7 gün arınma süresi protokole eklenmektedir (Neill ve ark., 2014). Subkronik olarak PCP uygulanan çalışmalarda çalışma belleği, dikkat, işlemleme hızı, görsel bellek ve problem çözme gibi şizofreni ile ilişkisi gösterilmiş bellek tiplerinin bozuldukları gösterilmiştir (Amitai ve Markou, 2009; Neill ve ark., 2014; Seillier ve Giuffrida, 2009). Bununla birlikte aynı modelin negatif semptom benzeri davranışları da indüklediği de farklı çalışmalar ile ispat edilmiştir (Neill ve ark., 2010; Neill ve ark., 2016). Kronik MK-801 modelinde elde edilen veriler de PCP modeli ile paralellik göstermektedir. Yapılan çalışmalarda çeşitli sürelerde değişen kronik MK-801 uygulamaların çeşitli tiplerdeki öğrenme ve bellek fonksiyonlarını bozduğu ve bunun yanında şizofreninin negatif benzeri davranışlara neden olduğunu göstermektedir (Li ve ark., 2011; Paine ve Carlezon, 2009). Hem MK-801 hem de PCP modellerinde meydana gelen davranışsal değişimlerin çeşitli atipik antipsikotikler ile geri çevrildiği kanıtlanmıştır (Neill ve ark., 2014). Ayrıca kronik PCP uygulamasının prefrontal kortekste hem bazal durumda hem de stres ile indüklenen durumda dopamin seviyesini düşürdükleri rapor edilmiştir (Jentsch ve ark., 1997; Jentsch ve ark., 1998). Bunun yanında şizofreninin tekrarlanabilir bulgularından olan parvalbumin içeren GABAerjik nöronlardaki azalmanın kronik PCP uygulaması ile sıçanlarda hem prefrontal kortekste hem hipokampusta sağlandığı gösterilmiştir (Abdul-Monim ve ark., 2007). Benzer şekilde kronik MK-

801 uygulamasının da hipokampusun dentat girus ve CA1 bölgelerinde parvalbumin pozitif nöronların kaybına neden oldukları fakat prefrontal bölgede bu nöronları etkilemedikleri gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada MK-801'in meydana getirdiği bu etkinin haloperidol uygulaması ile engellenebildiği belirtilmiştir (Braun ve ark., 2007). Buna ek olarak kronik PCP uygulamasının sıçanlarda GABA sentezinde görev alan GAD65 ve GAD67 enzimlerinin mRNA miktarlarını azalttığı kanıtlanmıştır (Bullock ve ark., 2009). Özet olarak eldeki bulgular glutamaterjik hipofonksiyon hipotezine dayanarak oluşturulan PCP, MK-801 ve Ketamin modellerinin çeşitli derecelerde görsel, yapısal ve öngörülebilir geçerlilik kriterlerine sahip olduklarını ve kemirgenlerde şizofreni modeli oluşturmak amacı ile yaygın olarak kullanıldıklarını göstermektedir.

4.7.3. Lezyon modelleri

Sıçanlarda neonatal ventral hipokampal lezyon modeli ilk olarak 1990'lı yıllarda Lipska-Weinberger grubu tarafından ilk atak şizofreni hastalarının nörogörüntüleme çalışmaları ile saptanan ventriküler genişleme ve hipokampal değişikliklerden yola çıkılarak geliştirilmiştir (Lipska ve ark., 1993). Sıçanlarda erken dönemde (doğumdan sonra 7. gün) eksitotoksin ve ibotenik asit gibi maddelerin ventral hipokampusa lokal enjeksiyonu sonucu puberte sonrasında davranışsal ve yapısal açıdan şizofreni benzeri tabloya neden oldukları ortaya konulmuştur (Tseng ve ark., 2009). Bu model ile oluşan anormallikler ventral hipokampusun gelişimi ile bağlantılı olup farklı zaman dilimlerinde ortaya çıkmaktadır. Bu anormalliklerden agresif davranışlarda artış ve sosyal etkileşimde bozulma doğumdan sonra 35. gün, çalışan ve uzamsal bellek bozukluklarının 25. gün, stres ve psikostimulana karşı lokomotor aktivite duyarlılığında artış, ÖUAİ'de bozulma ve ödüle karşı artmış cevap gibi davranışların ise 56. gün itibari ile ortaya çıktıkları gösterilmiştir (Chambers ve ark., 1996; Le Pen ve ark., 2003; Sams-Dodd ve ark., 1997; Tseng ve ark., 2009). Model ile oluşan davranış değişikliklerinden amfetamine aşırı duyarlılığın antipsikotikler ile engellendiği gösterilirken, agresif davranışlardaki artış ve sosyal bozuklukların antipsikotikler ile engellenemediği belirtilmiştir (Sams-Dodd ve ark., 1997). Ventral hipokampusunda lezyon oluşturulmuş sıçanların beyin dokuları erişkinlik dönemlerinde incelendiğinde GABAerjik disfonksiyonu düşündüren GAD67 mRNA düzeylerinin azalma ve $GABA_A$ reseptör düzeylerinde

artış gibi değişikliklerin görüldüğü belirtilmiştir (Endo ve ark., 2007; Lipska ve ark., 2003).

4.7.4. Genetik modeller

Şizofreniden sorumlu olduğu düşünülen genler insanlarda yapılan genetik çalışmalar sonucunda tanımlanmış ve deney hayvanlarında genetik düzenlemeler ile model oluşturmak için araştırmacılara ilham vermiştir. Söz konusu genlerde şizofreni hastalarında meydana gelen mutasyonlar açıkça gösterilmiş olsa da bu genlerden hiçbirinin şizofreni gelişimindeki rolü net olarak açıklanamamıştır. Genetik şizofreni modellerinden bazıları i) DISC-1, ii) NRG-1 iii) Disbindin genlerinin silinmesi veya susturulması ile oluşturulan modellerdir.

Yapılan çalışmalar DISC-1'in beyin gelişim süreci boyunca yüksek seviyede eksprese edildiğini ve hem embriyonik hem de postnatal sinir sistemi gelişimi ve olgunlaşması gibi görevlerden sorumlu olduğunu ortaya koymaktadır (Brandon ve ark., 2009; Schurov ve ark., 2004). DISC-1 gen ekspresyonu genetik olarak baskılanmış farelerde lateral ventriküller hacmin genişlediği, kortikal kalınlığın azaldığı, mediyal prefrontal korteks ve hipokampusta parvalbumin içeren GABAerjik nöronların azaldığı gibi şizofreniyi yansıtan değişiklikler meydana gelmiştir (Hikida ve ark., 2007; Shen ve ark., 2008). DISC-1 geni baskılanmış farelerde meydana gelen davranışsal değişiklikler incelendiğinde ÖUAİ'de bir bozulma meydana geldiği ve bu bozulmanın haloperidol ve klozapin gibi antipsikotikler ile engellenebildiği görülmektedir (Clapcote ve ark., 2007; Hikida ve ark., 2007). Bazı çalışmaların bu modelin sosyal etkileşimde bozulmaya neden olduğunu göstermesine rağmen negatif semptomlar açısından çelişkili sonuçların varlığı dikkat çekmektedir (Clapcote ve ark., 2007; Desbonnet ve ark., 2009).

Şizofreni ile ilişkisi ilk olarak gösterilen gen NRG-1'dir. Nöronal gelişim, nöronal göç ve glia proliferasyonu gibi gelişimsel süreçlerde görev aldığı ve şizofreni hastalarında NRG-1 mRNA miktarının artmış olduğu gösterilmiştir (Lu ve ark., 2011). Ayrıca yapılan çalışmalar NRG-1'in prefrontal korteksin pramidal hücrelerinde glutamerjik NMDA reseptör fonksiyonunu baskıladığı göstermiştir (Gu ve ark., 2005). Heterozigot NRG-1 geni silinmiş farelerde lokomotor aktivitede artış ve ÖUAİ'de bozulma gibi şizofreni benzeri davranışsal tablonun ve bunun yanında

NMDA reseptör ekspresyonunda azalmanın meydana geldiği belirtilmiştir (Stefansson ve ark., 2002). Ayrıca NRG-1'in bağlandığı reseptörlerden birisi olan ErbB2/4 reseptörünün susturulması ile de farelerde agresif davranışların arttığı ve ÖUAİ'nin bozulduğu gösterilmiştir (Lu ve ark., 2011).

Postmortem çalışmalar şizofreni hastalarının beyin dokularında Disbindin gen ve protein ekspresyonlarının azaldığını göstermektedir. Disbindin kodlayan gen olan DTNBP1 geni silinmiş olan farelerde nöroendokrin fonksiyonlarda bozulma ve hipokampal nöronlarda sinaptik morfolojide bozulmalar gibi yapısal değişiklikler ve bunun yanında sosyal geriçekilme ve bilişsel bozukluklar gibi şizofreni ile ilişkili davranışsal değişikliklerin meydana geldiği gösterilmiştir (Lu ve ark., 2011).

5. GEREÇ VE YÖNTEMLER

5.1. Kimyasal Maddeler

(+)-MK-801 hidrojen maleat (Cayman), Klozapin (Novartis), A-582941, CCMI (Santa Cruz), PNU-120596 (Selleckchem) ve çözücü olarak Dimetil sülfoksit (DMSO, Merck) kullanıldı. MK-801 (0,2 mg/kg), Klozapin (5 mg/kg), A-582941 (1 mg/kg), CCMI (1 mg/kg), PNU-120596 (3 mg/kg), A-582941+CCMI (0,33 mg/kg+0,33 mg/kg) ve A-582941+PNU-120596 (0,33 mg/kg+1 mg/kg) uygulandı. Tüm çözeltiler %50 DMSO (h/h) içerisinde günlük ve enjeksiyon hacmi 0,1 ml/100g olacak şekilde hazırlandı.

5.2. Deney Hayvanları

Çalışmamızda erkek Wistar Hannover 8-12 haftalık ve ağırlıkları 180-250 gram olan sıçanlar kullanıldı. Bağcılar Eğitim ve Araştırma Hastanesi Deneysel Araştırma ve Beceri Geliştirme Merkezi'nden temin edildi. Deneyler süresince 12 saat aydınlık/12 saat karanlık döngü içerisinde yem ve su kısıtlaması yapılmadan sabit laboratuar koşullarında (22±1 °C, nem oranının %55-60) her grupta 8-10 sıçan olacak şekilde randomize olarak gruplandırılarak ve standart kafeslerde her kafeste 5 sıçan olacak şekilde barındırıldı. Davranış deneyleri Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Psikofarmakoloji Araştırma Birimi laboratuvarında ve her gün aynı saatte gerçekleştirildi. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu (Real Time Polimerase Chain Reaction; Rt-PCR) ve western blot analizleri İstanbul Üniversitesi Aziz Sancar Deneysel Tıp Araştırmaları Merkezi'nde, immünohistokimyasal analizler ise Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalın'da gerçekleştirildi. Tüm deney hayvanları sadece bir tedavi grubu için kullanıldı. Yapılan tüm deneyler hayvan deneyleri etik kurallarına uygun olarak gerçekleştirilmiş olup bu çalışma Marmara Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 04.01.2016 tarihli toplantısında 017.2016.mar protokol kodu ile etik kurallar açısından uygun bulunmuştur.

5.3. Deney Grupları

Kontrol Grubu (n=10): Model oluşturulan gruba paralel olarak ve diğer gruplara tedavi uygulandığı tüm zaman dilimlerinde 0,1 ml/100 g olacak şekilde serum fizyolojik intraperitoneal (i.p) olarak uygulandı.

Taşıyıcı Grubu (n=10): Model oluşturulan gruba paralel olarak ve diğer gruplara tedavi uygulandığı tüm zaman dilimlerinde %50 (hacim/hacim) 0,1 ml/100 g olacak şekilde DMSO i.p olarak uygulandı.

MK-801 Grubu (n=10): Model oluşturmak üzere 0,2 mg/kg MK-801 7 gün süre ile günde 2 kez (07:00, 19:00) olarak üzere toplam 13 doz uygulandı. 14.doz ise ÖUAİ testinden 15 dakika önce subkutan (s.c) olarak uygulandı.

MK-801 + Klozapin Grubu (n=10): MK-801 ile model oluşumunun son günü (7.gün) Klozapin tek doz ve 7 günlük arınma sürecinden sonra (14. günden itibaren) 10 gün boyunca ve davranış testlerinden 30 dakika önce günde tez doz olacak şekilde 5 mg/kg i.p. uygulandı.

MK-801 + A-582941 Grubu (n=10): MK-801 ile model oluşumunun son günü (7.gün) A-582941 tek doz ve 7 günlük arınma sürecinden sonra (14. günden itibaren) 10 gün boyunca ve davranış testlerinden 45 dakika önce günde tez doz olacak şekilde 1 mg/kg i.p. uygulandı.

MK-801 + CCMI Grubu (n=10): MK-801 ile model oluşumunun son günü (7.gün) CCMI tek doz ve 7 günlük arınma sürecinden sonra (14. günden itibaren) 10 gün boyunca ve davranış testlerinden 30 dakika önce günde tez doz olacak şekilde 1 mg/kg i.p. uygulandı.

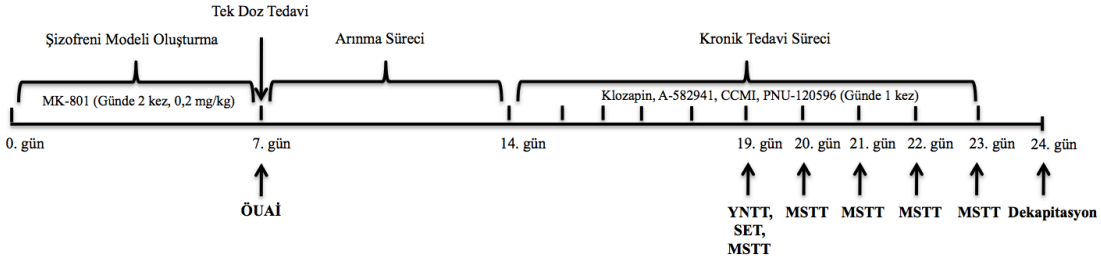
MK-801 + PNU-120596 Grubu (n=10): MK-801 ile model oluşumunun son günü (7.gün) PNU-120596 tek doz ve 7 günlük arınma sürecinden sonra (14. günden itibaren) 10 gün boyunca ve davranış testlerinden 30 dakika önce günde tez doz olacak şekilde 3 mg/kg i.p. uygulandı.

MK-801 + A-582941 + CCMI Grubu (n=10): MK-801 ile model oluşumunun son günü (7.gün) tek doz ve bunu izleyen 7 günlük arınma sürecinden sonra (14. günden itibaren) 10 gün boyunca ve günde tez doz olacak şekilde davranış testlerinden 45

dakika önce 0,33 mg/kg A-582941 ve 30 dakika önce 0,33 mg/kg CCMI i.p. uygulandı.

MK-801 + A-582941 + PNU-120596 Grubu (n=10): MK-801 ile model oluşumunun son günü (7.gün) tek doz ve bunu izleyen 7 günlük arınma sürecinden sonra (14. günden itibaren) 10 gün boyunca ve günde tez doz olacak şekilde davranış testlerinden 45 dakika önce 0,33 mg/kg A-582941 ve 30 dakika önce 0,33 mg/kg PNU-120596 i.p. uygulandı.

Çalışmamızın deney akış şeması şekil 18'de özetlendi.

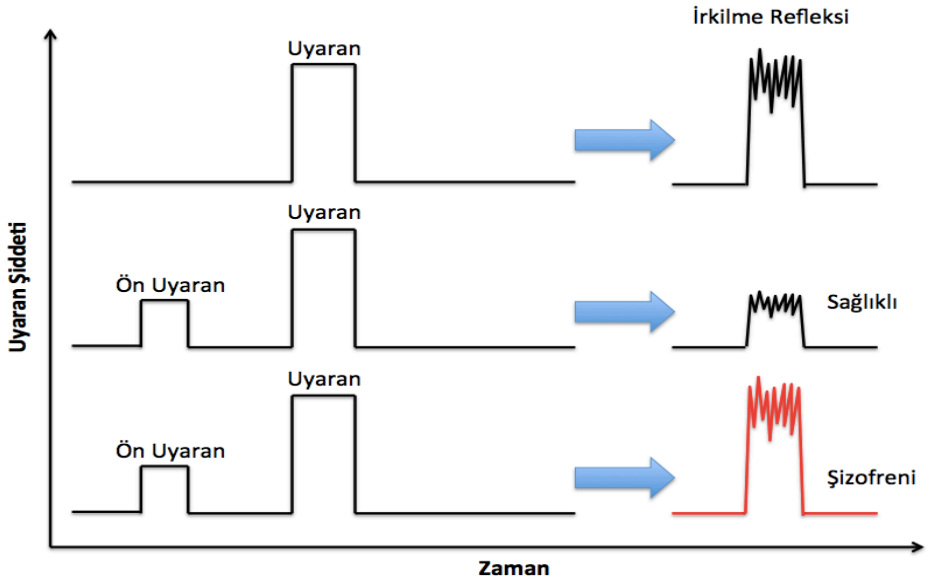


Şekil 18. Deney akış şeması (ÖUAİ: Ön uyaran aracılı inhibisyon, YNTT: Yeni nesne tanıma testi, SET: Sosyal etkileşim testi, MSTT: Morris'in su tankı testi)

5.4. Davranış Deneyleri

5.4.1. Ön uyaran aracılı inhibisyon testi

ÖUAİ testinde tek başına irkilme refleksi oluşturmayan düşük şiddette bir ses uyaranının tek başına irkilme refleksi oluşturabilen bir ses uyaranından önce verilerek oluşacak irkilme refleksinin baskılanması hedeflenmektedir. Gerek şizofreni hastalarında gerekse deneysel şizofreni modellerinde bu mekanizmanın bozulduğu ve verilen ön uyaranın uyaran aracılığı ile ortaya çıkan irkilme refleksini inhibe edemediği gösterilmiştir (Mansbach ve Geyer, 1989). ÖUAİ için yukarıda anlatılan bu mekanizma şekil 19'da gösterildi.



Şekil 19. ÖUAİ testinde irkilme yanıtlarının incelenmesi. (Sağlıklı ve şizofreni modeli oluşturulmuş sıçanlarda temsili olarak gösterildi)

Çalışmamızda sıçanlarda ÖUAİ'nin değerlendirilmesi amacı ile bilgisayar kontrollü test düzeneği (San Diego Instruments, ABD) kullanıldı. Bu test düzeneği temel olarak iki adet ses geçirmez kabin (39x38x58 cm), bir adet kontrol paneli ve özel bir yazılım programından oluşmaktadır. Kabinler içerisinde birer sıçanın hareketsiz kalmasını ve irkilme refleksinin sağlıklı aktarımını sağlayan pleksiglas kafes, deney hayvanının irkilmesini ölçen piezzoelektrik devre ve kabinin üst tarafına konumlandırılmış ses uyaranları üreten hoparlörlerden oluşmaktadır (Resim 1)

A B



Resim 1. ÖUAİ test düzeneği. Resimde ses geçirmez kabinler (A) ve kabin içerisinde sıçanın hareketsiz kalmasını sağlayan pleksiglas kafes (B) görülmektedir.

Bu test 3 günlük bir işlemdir. Birinci gün deney hayvanları bu düzeneğe alınarak hayvanların 5 dakika süre ile bazal ses (70 dB) varlığında test düzeneğine alışması sağlandı. İkinci gün, önceki gün olduğu gibi bazal ses varlığında deney hayvanları 5 dakika süre düzenekte tutuldu ve ardından 5 adet uyaran (120 dB) verilerek irkilme yanıtları kaydedildi. Bu test gününün temel amacı deney hayvanlarının işitme ve motor hareketlerinin test edilmesi dolayısıyla irkilme refleksi belirlenen eşik değerin (20 mV) altında olan hayvanların deney dışı bırakılmasıdır. Üçüncü gün ise asıl test günüdür ve deney hayvanları bazal gürültü varlığında 5 dakikalık bir alışma süresinin ardından aşağıda detayları belirtildiği gibi 3 aşama halinde gerçekleştirildi:

Aşama 1: 40 ms süreli 120 dB şiddetinde sesli uyaran (5 tekrar)

Aşama 2: 20 ms süreli 74 dB ön uyaranı takiben 100 ms sonra 40 ms süre ile 120 dB şiddetinde sesli uyaran (10 tekrar), 20 ms süreli 78 dB ön uyaranı takiben 100 ms sonra 40 ms süreli 120 dB şiddetinde sesli uyaran (10 tekrar), 20 ms süreli 86 dB ön uyaranı takiben 100 ms sonra 40 ms süreli 120 dB şiddetinde sesli uyaran (10 tekrar), 40 ms süreli 120 dB şiddetinde sesli uyaran (10 tekrar), herhangi bir sesli uyaran olmaksızın deney hayvanının bazal irkilmesinin değerlendirilmesi (10 tekrar)

Aşama 3: 40 ms süreli 120 dB şiddetinde sesli uyaran (5 tekrar)

Test birbirini takip edecek 3 aşama şekilde gerçekleştirildi. Her aşama içindeki denemeler 10-30 saniye arasında değişen (ortalama 20 saniye) aralıklar ile uygulandı. İrkilme yanıtları 120 dB şiddetindeki uyaranın başlangıcından itibaren 1 ms aralıklarla 100 ölçümün ortalaması olarak tanımlandı. Aşama 1 ve 3 deney hayvanının sesli uyarana alışma davranışının gözlemlenmesi amacı ile kullanıldı. ÖUAİ değerlerinin hesaplanmasında sadece aşama 2 hesaba katıldı. ÖUAİ (%) her bir ön uyaran şiddeti için aşağıdaki formüle göre ayrı ayrı hesaplandı:

$$\%\ \text{ÖUAİ} = \frac{\text{(Ön uyaran varlığında oluşan irkilme yanıtları ortalaması)}}{\text{(Sadece uyaran varlığında oluşan irkilme yanıtları ortalaması)}} \times 100$$

Ayrıca % ÖUAİ değerlerinin ortalaması da hesaplandı:

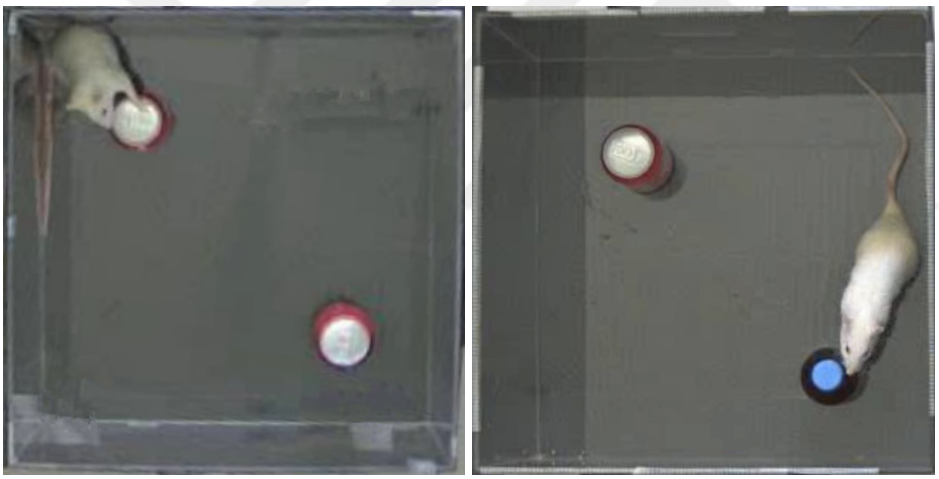
$$\text{Ortalama ÖUAİ} = \frac{\text{ÖUAİ (74 dB)} + \text{ÖUAİ (78 dB)} + \text{ÖUAİ (86 dB)}}{3}$$

5.4.2. Yeni nesne tanıma testi

YNTT siyah pleksiglastan yapılmış (50x50x30 cm) bir düzenekte ilk gün alıştırma ve ertesi gün test olmak üzere iki günlük bir süreçte gerçekleştirildi (Resim 2). Deney hayvanlarının değişiminde düzenek ve nesneler etanol (%70 a/h) ile silinerek temizlendi ve sıçanlar düzenek tamamen kuruduktan sonra deneye alındı. Tüm deney bilgisayar destekli kamera ile kaydedildi.

Birinci gün (Alıştırma günü): Aynı kafesteki tüm hayvanlar grup halinde düzeneğe konularak 60 dakika süre ile ortamda hiçbir nesne olmaksızın test düzeneğine alışmaları sağlandı. Bu süreç tüm gruplar için ayrı ayrı uygulandı.

A B



Resim 2. YNTT'nin tanıma ve test evreleri. Sıçanlar tanıma evresinde iki özdeş (A), test evresinde ise birbirinden farklı iki nesne (B) ile zaman geçirmektedir.

İkinci gün (Test günü): Test 3 dakikalık iki evreden oluşmaktadır. Hayvanlar iki değerlendirme arasında 60 dakika süre ile kafeslerinde bekletildi. Birinci 3 dakikada hayvanlar özdeş iki nesnenin çapraz köşelere yerleştirildiği düzeneğe alındı ve serbestçe gezinerek bu nesneleri tanıması sağlandı. Bu nedenle ilk 3 dakika tanıma evresi olarak değerlendirildi. 60 dakikalık aradan sonra nesnelerden biri değiştirildi ve tekrar aynı düzeneğe alınan hayvanın 3 dakika boyunca iki nesne ile de serbestçe vakit geçirmesi sağlanmış ve iki nesneye karşı ilgileri değerlendirildi (Test evresi) (Bevins ve Besheer, 2006). Sıçanların yeni nesneye karşı ilgilerinin eski nesneye

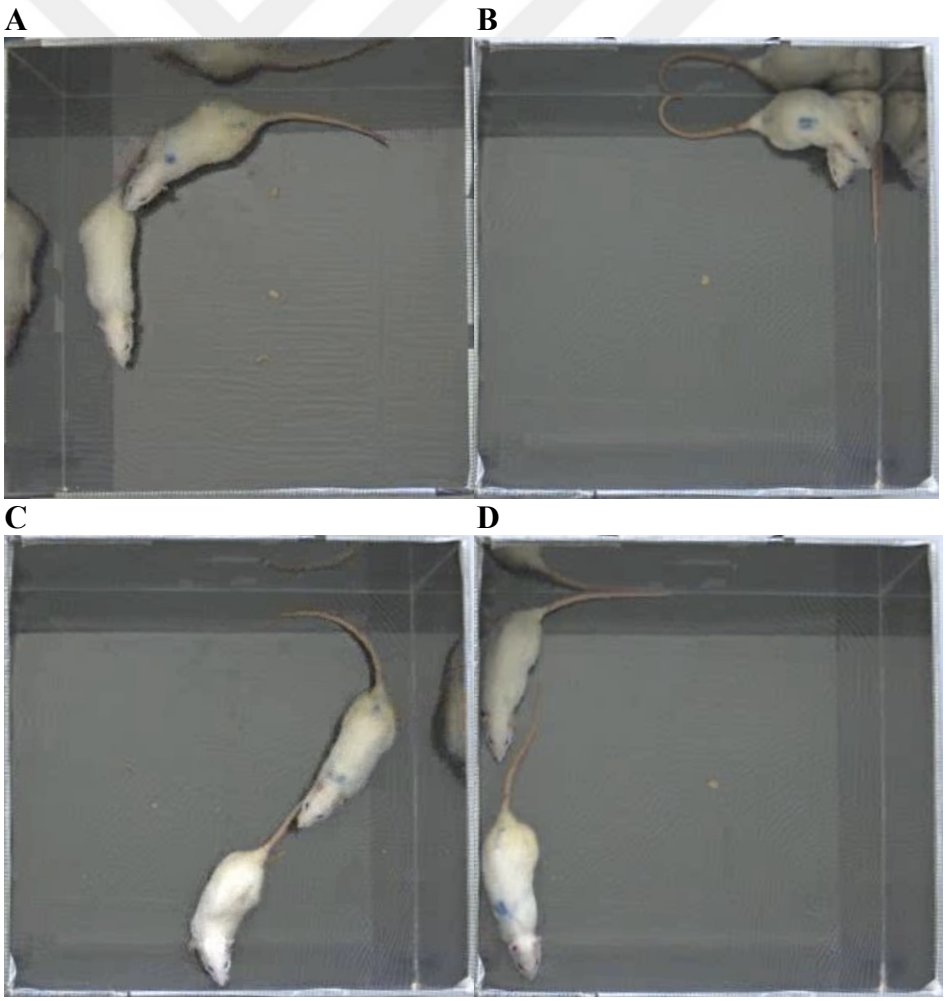
oranı öğrenme bellek fonksiyonunun bir ölçüsü olarak kabul edildi ve ayırt edicilik indeksi olarak isimlendirildi.

Ayırt edicilik indeksi aşağıdaki formül ile hesaplandı:

$$\text{Ayırt Edicilik İndeksi} = \frac{\text{(Yeni nesne ile geçirilen süre – Eski nesne ile geçirilen süre)}}{\text{(Yeni nesne ile geçirilen süre + Eski nesne ile geçirilen süre)}}$$

5.4.3. Sosyal etkileşim testi

SET siyah pleksiglastan yapılmış (50x50x30 cm) bir düzenekte gerçekleştirildi (Resim 3). Her testten sonra düzenek etanol (%70 a/h) ile silinerek temizlendi. Teste alınan sıçanların karışmaması için birisinin sırt kısmı renkli kalem ile işaretlendi (Neill ve ark., 2016).



Resim 3. SET'de deney hayvanlarının davranışları. Resimlerde işaretli sıçan için (A) koklama, (B) tırmanma, (C) takip etme, (D) kaçınma davranışları görülmektedir.

SET daha önce birbiri ile karşılaşmamış, aynı tedavi grubunda olan fakat farklı kafeslerde barındırılan iki sıçanın 10 dakika süre ile aynı sosyal etkileşim düzeneğine bırakılması ve davranışlarının gözlemlenmesini kapsamaktadır. Test süresince ilk kez karşılaşan deney hayvanlarının sosyalleşmeleri ile ilgili davranışlar bilgisayar destekli kamera ile kaydedildi. Aynı düzenekte bulunan iki sıçanın her birisi için birbirini koklama, tırmanma, takip etme ve kaçınma davranışları değerlendirildi. Koklama, tırmanma ve birbirini takip etme davranışları sosyal etkileşim, diğer deney hayvanından kaçınma davranışı ise sosyal geri çekilme olarak değerlendirildi.

5.4.4. Morris'in su tankı testi

MSTT düzeneği 160 cm çapında ve 50 cm yüksekliğinde siyah metal bir tanktan oluşmaktadır. Deneyden önce tank su ile dolduruldu ve sıcaklığı 25±1 ºC olacak şekilde ayarlandı. Hipotetik olarak 4 eşit kadrana bölünerek kullanılan tankta her kadran farklı bir yönü temsil etmektedir (doğu, batı, kuzey ve güney). Her bir yön için düzeneğin bulunduğu odanın duvarına, tanktan eşit mesafelerde olacak şekilde ve deney hayvanının görebileceği büyüklükte, farklı geometrik şekiller yapıştırıldı. Bu kadranlardan birinin ortasına 12 cm çapında ve suyun 1 cm altında kalacak şekilde bir platform yerleştirildi (Resim 4).



Resim 4: MSTT düzeneği ve yön belirteçleri. Hipotetik olarak 4 kadrana bölünen tankta temsili olarak belirlenen yönlere deney hayvanının görebileceği şekilde belirteçler yapıştırıldı.

Bu çalışma boyunca platform güney kadranında tutuldu. Deney hayvanının platformu görmesini engellemek için özel bir boya (Mixol®) kullanıldı.Tüm deney tankın merkez noktasına denk gelecek şekilde testin yapıldığı odanın tavanına sabitlenen bir kamera ve bu testin analizi için kullanılan Noldus Ethovision XT® programı ile kaydedildi. Her deney hayvanının düzeneğe alınmasından önce suyun temizliği ve sıcaklığı kontrol edildi.MSTT ardışık 4 gün öğrenme ve 5. gün bellek değerlendirilen iki temel süreçten oluşmaktadır (Morris, 1984). Bu sürecin detayları aşağıda özetlendi:

Öğrenme (1-4. gün): Deney hayvanları sırası ile birinci gün güney-kuzey-doğu-batı, ikinci gün batı-kuzey-doğu-güney, üçüncü gün kuzey-batı-güney-doğu, dördüncü gün doğu-güney-batı-kuzey yönlerinden nazikçe suya bırakıldı ve platformu bulmaları için 75 saniye süre verildi. Bu süre içerisinde platformu bulan sıçanlar 20 saniye süre ile platform üzerinde bekletilerek duvarlarda bulunan ipuçlarını dolayısıyla platformun uzamsal yerleşimini öğrenmeleri sağlandı. Platformu bulamayan sıçanlar ise platformun üzerine konuldu ve 20 saniye süre ile platform üzerinde bekletildi. Deneyi tamamlayan her hayvanın her bir yönden platformu bulması için geçen süre (sn) kaydedildi, bulamayanlar için deney sonlandırma süresi 75 sn olarak alındı. Her yön için tekrarlanan bu işlemden sonra düzenek dışına alınan hayvanlar bir havlu ve ısıtıcı yardımı ile kurutulup kafeslerine konuldu.

Bellek (5. gün): İlk 4 gün su tankının güney çeyreğinde sabit tutulan platform 5. gün su tankından kaldırıldı. İlk 4 günde sıçanlar her bir yönden ayrı ayrı olmak üzere toplamda günde 4 kez yüzdürülmüşken, beşinci gün sıçanlar yalnızca kuzey yönünden bırakıldı ve sadece bir kez yüzdürüldü. Bu yüzme denemesi için sıçanlara 60 saniye süre tanındı ve bu süre sonunda sıçanlar su tankından alınarak havlu yardımı ile nazikçe kurulandıktan sonra ısıtıcı altında bulunan kafeslere konuldu. Bellek testinde her bir sıçan deney için daha önce platform bulunan güney-doğu çeyreğinde geçirdikleri süre kaydedildi.

5.4.5. Dekapitasyon ve fiksasyon

Davranış deneyleri sonrasında deney hayvanlarının bir kısmında makroskobik diseksiyon bir kısmında ise paraform aldehid fiksasyonu uygulandı.

Deney hayvanları son tedavi uygulamasından 24 saat sonra dekapite edildi. Moleküler analizlerde kullanılacak olan beyin dokusu ivedilikle diseksiye edildi. Tam beyin dokusu buz üzerinde tutalan bir plaka üzerine konuldu ve makroskobik diseksiyon ile hipokampus ve prefrontal korteks dokuları çıkarıldı. Bu dokular sıvı azot içeren tanklarda şoklandı, 2 ml'lik ependorflara konuldu ve -80 °C derin dondurucuda muhafaza edildi.

Deney hayvanlarının beyin dokularında immünohistokimyasal analizlerin gerçekleştirilebilmesi için bu hayvanlara öncelikle perfüzyon fiksasyonu uygulandı. Bu işlem için ketamin (100 mg/kg) ve ksilazin hidroklorür (10 mg/kg) anestezisi altında sıçanların göğüs kafesleri açıldı ve perfüzyon pompası yardımıyla 50 ml/dakika olacak şekilde önce 6-7 ml heparin (1000 U/ml; 0,1 M fosfat tamponu; pH 7,3 içinde), ardından 300 ml fiksatif çözeltisi (0,1 M fosfat tamponu (pH 7,3) içinde %4 paraformaldehit) intraaortik olarak verildi. Fiksatif çözeltisinin tamamı intraortik verildikten sonra sıçanlar dekapite edilerek beyin dokuları çıkarıldı. Bu beyin dokuları gece boyunca +4°C'de aynı fiksatif çözeltisinde bekletildi. Fikse edilen beyin dokuları dorsal hipokampus seviyesinden kesildi ve doku takip cihazı (Leica TP1020) ile artan alkol serilerinden (%70, %90, %96, %100) geçirilerek dehidrate edildi. Ksilende şeffaflandırmanın ardından gece boyunca sıvı parafin içerisinde 60°C'lik etüvde bekletildi. Daha sonra doku gömme cihazında (Leica EG 1150 C) kasetlerle bloklama işlemi uygulandı.

5.5. Moleküler Analizler

5.5.1. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

Deney hayvanlarının hipokampus dokularında α7 nAChR proteinini kodlayan CHRNA7, GAD67 proteinini kodlayan GAD1 ve parvalbumin proteinini kodlayan PVALB genleri üzerine etkilerinin incelenmesi amacı ile Rt-PCR kullanıldı. Bu amaçla hipokampus dokularında sırası ile RNA izolasyonu, cDNA sentezi, cDNA reaksiyonu ve Rt-PCR işlemleri gerçekleştirildi. Dokular RNA izolasyonunun yapıldığı gün -80 °C'den çıkartılarak buz üzerine alındı.

100 mg doku üzerine 1 ml RNAzol RT solüsyonu (MRC, Kanada, RN190) konularak homojenize (TissueRuptor; Qiagen, ABD) edildi. Alınan lizat üzerine 400 µl su eklenerek 15 saniye çalkalandı, 15 dakika bekletildi ve 12 000 g'de 15 dakika

santrifüj edildi. Elde edilen süpernatanttan 1 ml alınarak üzerine 5 µl 4-bromoanizol eklendi, 15 saniye boyunca çalkalanıp 4 dakika bekletildi. Ardından 12 000 g'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatanttan 750 µl alınarak üzerine 750 µl izopropanol eklendi ve 15 dakika bekletildi. Ardından 12 000 g'de 15 dakika santrifüje edildi. Bu kez süpernatant değil çökelti alınıp üzerine 400 µl %75 etanol eklendi ve 4000 g'de 3 dakika santrifüj edildi. Bu işlem bir kez daha tekrarlandı. Alkol fazı atılarak kalan çökelti üzerine 50 µl RNAaz'sız su eklendi ve oda ısısında 2-3 dakika vortekslenerek iyice çözüldü. Bu şekilde RNA izolasyonu yapılan tüm örneklerin 1µl'sindeki RNA konsantrasyonları ve saflıkları Nanodrop 2000 (Thermo Scientific, ABD) ile 260/280 ve 260/230 dalga boylarında ölçüldü. cDNA sentezi öncesi tüm numunelerin RNA konsantrasyonları 100 ng/µl olacak şekilde eşitlendi. RNA eldesinden sonra hazır ticari script cDNA (Jena Bioscience, Almanya) kitleri kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi. Her bir örnek için toplam hacim 20 µl olacak şekilde şu karışım hazırlandı: RNAaz'sız su (10 µl), Script RT tampon (4 µl), dNTP karışım (1 µl), Oligo dT Primer (0,5 µl), DTT (1 µl), RNAaz inhibitörü (1 µl), cDNA sentaz (0,5 µl), RNA örneği (2 µl). Sonra tüpler termal döngüye (Bio-Rad, ABD) konularak 42 °C'de 10, 50 °C'de 60, 70 °C'de 10 dakikada cDNA sentezi gerçekleştirildi. Elde edilen cDNA'lar ticari kantitatif PCR GreenMaster-UNG/lowROX kiti (Jena Bioscience, Almanya) kullanılarak Rt-PCR işlemi gerçekleştirildi. Bu işlem için PCR saflıkta su (6,8 µl), Master karışımı (10 µl), Forward ve Reverse Primerler (0,6 µl, Tablo 4) ve cDNA numunesi (2 µl) toplam hacmi 20 µl olacak şekilde hazırlandı. Tüm bu işlemler buz üzerinde yapıldı. Daha sonra 96 kuyucuklu plaka içine konulan standart ve örnek karışımları Agilent Stratagene 3005P (Agilent, ABD) cihazında 50 °C'de 2, 95 °C'de 2 dakika, 95 °C 15, 55 °C'de 40 72 °C'de 40 saniye olmak üzere reaksiyonlar 40 döngü bekletildi.

Cihazda EVA yeşilini (master karışımda bulunduğu için) algılama modu seçildi ve algılama derecesi 50 °C olarak belirlendi.

Tablo 5. Rt-PCR'de hedef genler için kullanılan primer dizileri

Gen	Primer (Forward)	Primer (Reverse)
PVALB	5'd TGCGGATGATGTGAAGAAGGT 3'	5' d CAGCCATCAGCGTCTTTGTTT 3'
GAD1	5' d GGAAGCATCGCCACAAACTC 3'	5' d TGACCAGGATGGCAGAACAC 3'
CHRNA7	5' dTTTGATGCCACGTTCCACAC 3'	5'dGGAACCAGCGAACGTCAATG 3'
GAPDH	5' d GCCCCCGGTTTCTATAAATTG3'	5' d GTCGAACAGGAGGAGCAGAGA3'

Rt PCR sonrası elde edilen Ct değerleri 2^{-ddCt} metodu kullanılarak değerlendirildi. Bu metodun hesaplanması aşağıdaki şekilde yapıldı:

$$2^{-ddCT} = 2^{-(Ct\ hedef - Ct\ hedef\ referans)} / 2^{-(Ct\ kontrol - Ct\ kontrol\ referans)} \times 100$$

5.5.2. Western blot analizi

Western blot analizlerinin yapılabilmesi için önce dokularda Lowry metodu ile protein tayini yapıldı. Standart olarak kullanılmak üzere %10, 20, 30, 40 ve 50'lik (a/h) sığır serum albumini çözeltileri ve 1 N folin çözeltisi hazırlandı. Diğer yandan 5 ml %1 bakır (II) sülfat , 0,5 ml %2'lik sodyum tartarat ve 49 ml sodyum karbonat/sodyum hidroksit çözeltisi ilave edilerek Lowry çözeltisi hazırlandı. Analiz yapılıncaya kadar -80 °C'de saklanan dokular RİPA (Radyoimmünopresipitasyon) tamponu ile buz içerisinde homojenize edildi ve protein kısmının ayrıştırılması amacı ile +4 °C, 14 000 devirde 15 dakika satrifüj edildi. 96 kuyucuklu plakaların her birine 5 µl örnek veya standart çözeltisi, 95 µl su ve 2,4 ml Lowry çözeltisinden ilave edildi ve 10 dakika bekletilir. Ardından kuyucuklara 200 µl 1N folin çözeltisi ilave edilerek 10 dakika daha beklendi ve 650 nm'de absorbansları ölçüldü. Standart çözeltilerin absorbans ölçümleri ile oluşturulan doğru denklemi yardımı ile doku örneklerindeki protein miktarları tayin edildi.

Western blot analizlerinde kullanılmak üzere sodyum dodesilsülfat (SDS) poliakrilamid jel tablo 6'da belirtilen miktarlar ve konsntrasyonlarda hazırlandı. Lameller arasına önce ayırıcı jel dökülerek yüzeyi izopropanol ile kaplandı, jelin polimerize olması için 45-60 dakika beklendi ve jel yüzeyindeki izopropanol döküldü. Yukarıdaki tabloya uygun olarak hazırlanan paketleyici jel ayırıcı jelin üzerine döküldü ve polimerize hale gelmeden dikkatli bir biçimde bu karışım içine western blot tarakları takıldı. Polimerize hale gelmesi için 45-60 dakika beklendi. Bu sürenin sonunda jeller kullanıma hazır hale geldi. Analiz edilecek her bir örnek 1 µg/µl olacak şekilde en az 10-40 µl olarak SDS jele yüklendi, hemen sonra sistem kapatıldı ve elektrotlar bağlandı. Örnekler ayırıcı jele gelinceye kadar düşük gerilim (100 Volt) ve geldikten sonra ise daha yüksek gerilim (150-200 Volt) uygulandı. Brom fenol mavisi jelin alt ucuna ulaşınca akım kesildi ve jel tanktan çıkarıldı.

Tablo 6. Ayırıcı ve paketleyici jel karışımları

Ayırıcı (separating) Jel Hazırlanması: 0,375 M Tris (pH 8,8)					
	%5	%7	%10	%12	%15
Saf su	7,5	12,7 ml	10,7	4,65 ml	3,65 ml
Tris-HCl (3 M, pH 8,8)	1,25 ml	2,5 ml	2,5 ml	1,25 ml	1,25 ml
SDS (%20 a/h)	0,05 ml	0,1 ml	0,1 ml	0,05 ml	0,05 ml
Akrilamid/Bis-akrilamid (%29,2/%0,8 a/h)	1,15 ml	4,6 ml	6,6 ml	4,0 ml	5,0 ml
Amonyum persülfat (%10 a/h)	0,05 ml	0,2 ml	0,2 ml	0,05 ml	0,05 ml
TEMED	0,005 ml	0,02 ml	0,02 ml	0,005 ml	0,005 ml
Toplam monomer karışımı	10,005 ml	20,12ml	20,12 ml	10,005 ml	10,005 ml

Paketleyici (stacking) Jel Hazırlanması: %4,0 ve 0,125 M Tris (pH 6,8)	
Saf su	7,35 ml
Tris-HCl (1,5M, pH 6,8)	1,25 ml
SDS (%20 a/h)	0,05 ml
Akrilamid/Bis-akrilamid (%29,2/%0,8 a/h)	1,34 ml
Amonyum persülfat (%10 a/h)	0,04 ml
TEMED	0,1 ml
Toplam monomer karışımı	10,13 ml

Elektroforetik yürütme işlemi tamamlandıktan sonra protein membrana transfer edildi. Bu işlem için önce transferde kullanılacak membran metanol ile muamele edilerek metanole doyuruldu. Ardından 3MM filtre kağıtları Towbin transfer tamponu (30 g tris, 144 g glisin, 20 ml SDS (%10), 780 ml distile su, 200 ml etanol) ile ıslatıldı. Bunlardan 2 adet 3MM filtre kağıdı altta 2 adedi ise üstte ve ortada jel olacak şekilde plakalar hazırlandı. Bu plakada 50 dakika süreyle 15 Volt'ta transfer işlemi gerçekleştirildi. Sonra proteinleri içeren membran 1,5 saat bloklama çözeltisi (%5'lik süt tozu ve %0,1'lik Tween 20 içeren fosfat tamponu çözeltisi) ile muamele edildi. Bu sürenin sonunda membran %0,1'lik Tween 20 içeren fosfat tamponu ile 3 kez 5 dakika süre ile yıkandı. Membran bloklama çözeltisi içinde seyreltilmiş olan birincil antikor ile +4 °C'de 12 saat boyunca muamele edildi. Bu süre sonunda membran 3 kez %0,1'lik Tween 20 içeren fosfat tamponu ile 5 dakika süreyle yıkandı. Birincil antikor (α7 nAChR; Abcam, ab208641) ile inkübasyonun ardından membran bloklama çözeltisi içinde seyreltilmiş horseradish peroksidaz bağlı ikincil antikor ile 1 saat oda sıcaklığında muamele edildi. Bu sayede birincil antikora seçici olarak bağlanan ikincil antikor protein miktarı ölçülmek istenilen α7 nAChR'ye bağlandı. Bu süre sonunda membran 3 kez %0,1'lik Tween 20 içeren fosfat çözeltisi ile 5 dakika boyunca yıkandı. İkincil antikor ile doyurulan membran daha sonra üzeri

ECL (zenginleştirilmiş kemiluminesans) çözeltisi ile kapanacak şekilde muamele edildi. İkincil antikora bağlı olan horseradish peroksidaz enziminin ECL çözeltisinde bulunan Lumigen PS-3 substratını katalizlemesi sonucu membran üzerinde α7 nAChR bulunan bölgede ışıma meydana geldi. Bu ışıma western blot yöntemine özel tarayıcılar ile algılandı ve yoğunluğu kantitatif olarak ölçülerek α7 nAChR protein miktarı hesaplandı.

5.5.3. İmmünohistokimyal analizler

İmmünhistokimyasal çalışma için döner mikrotom (Leica RM2125RT) ile alınan parafin kesitler (5 mikron kalınlığında) ksilolde bekletilerek dokular parafinden arındırıldı. Ardından bu kesitler azalan alkol serilerinden (%100, %96, %90, %70) geçirilerek 10 dakika boyunca %3 hidrojen peroksit solüsyonu ile muamele edilip çeşme suyu ve distile su ile yıkandı. Bu kesitler mikrodalga fırında sodyum sitrat çözeltisi ile muamele edilerek antijen geri kazanımı sağlandı. Bu işlem sonrasında kesitlerin etrafı Pap pen ile çizildi ve bir süre bloklama solüsyonunda bekletildi. Kesitlerin üzerine parvalbumin (Abcam, ab94362) ve GAD67 (Abcam, ab80589) antikorları eklenerek 37 °C'de ve nemli ortamda 1 saat bekletildi. Ardından biyotinli sekonder antikor ile 20 dakika muamele edildi ve 20 dakika da horseradish peroksidaz streptavidinde bekletildi. Sonra kesitlere 3,3'-diaminobenzidin uygulandı. İşlem Mayer'in hematoksilen çözeltisi kullanılarak yapılan zıt boyama ile devam etti, kesitler çeşme suyunda yıkandı ve artan alkol serilerinden geçirildi. Kesitler kuruyunca entellan ile kaplandı. Mikroskobik inceleme ve fotoğraflama işlemi (40x) Olympus DP72 CCD kamera düzeneğine sahip Olympus BX51 ışık mikroskobu ile gerçekleştirildi.

5.6. İstatistiksel Analizler

Çalışmamızda kullandığımız tüm istatistiksel analizler İOS işletim sistemi tabanlı GraphPad Prism 6.0 programı ile gerçekleştirildi. ÖUAİ ve MSTT'nin öğrenme evresi için çift yönlü, ortalama ÖUAİ, YNTT, SET, MSTT bellek evresi ve moleküler analizlerde tek yönlü varyans analizi (ANOVA) kullanıldı. Tüm testlerde gruplar arası karşılaştırmalar için Dunnett'ın post hoc testi, YNTT'de ise grup içi karşılaştırmalar için eşleşmiş Student-t testi kullanıldı. Veriler ortalama ± standart hata olarak sunuldu. $p<0,05$ olduğu durumlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

6. BULGULAR

6.1. Deney Hayvanlarının Ağırlıkları

Sıçanların ağırlıkları deney başlangıcında (bazal ölçüm), MK-801 model oluşumunun ardından akut tedavilerden öncesi (7. gün), kronik tedavi dönemi öncesi (14. gün) ve davranış deneyleri sonunda dekapitasyon öncesi (24. gün) olmak üzere 4 farklı zaman diliminde kaydedildi (Tablo 7). Çalışma süresince deney gruplarının ortalama vücut ağırlığı verilerinde anlamlı bir değişikliğe rastlanmadı.

Tablo 7. Deney grupları ağırlıkları. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Karşılaştırmalar grup içerisinde tekrarlanan ölçümlerde tek yönlü, gruplar arasısında ise çift yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı.

Deney Grubu	Bazal (g)	7. gün (g)	14. gün (g)	24. gün (g)
Kontrol	229±4,8	233±6,3	237±5,2	244±3,3
Taşıyıcı	218±5,2	230±3,9	231±4,9	236±5,0
MK-801	226±3,1	229±3,5	234±2,5	233±4,2
MK-801+Klozapin	223±6,5	226±7,2	231±4,1	234±5,8
MK-801+A-582941	230±2,4	239±4,8	235±5,6	242±6,1
MK-801+CCMI	219±3,6	227±4,7	231±3,0	229±3,8
MK-801+PNU-120596	232±7,1	241±6,8	243±4,9	248±5,3
MK-801+A-582941+CCMI	237±5,3	244±6,4	247±4,3	243±4,9
MK-801+A-582941+PNU-120596	233±2,9	241±3,9	239±4,7	248±4,3

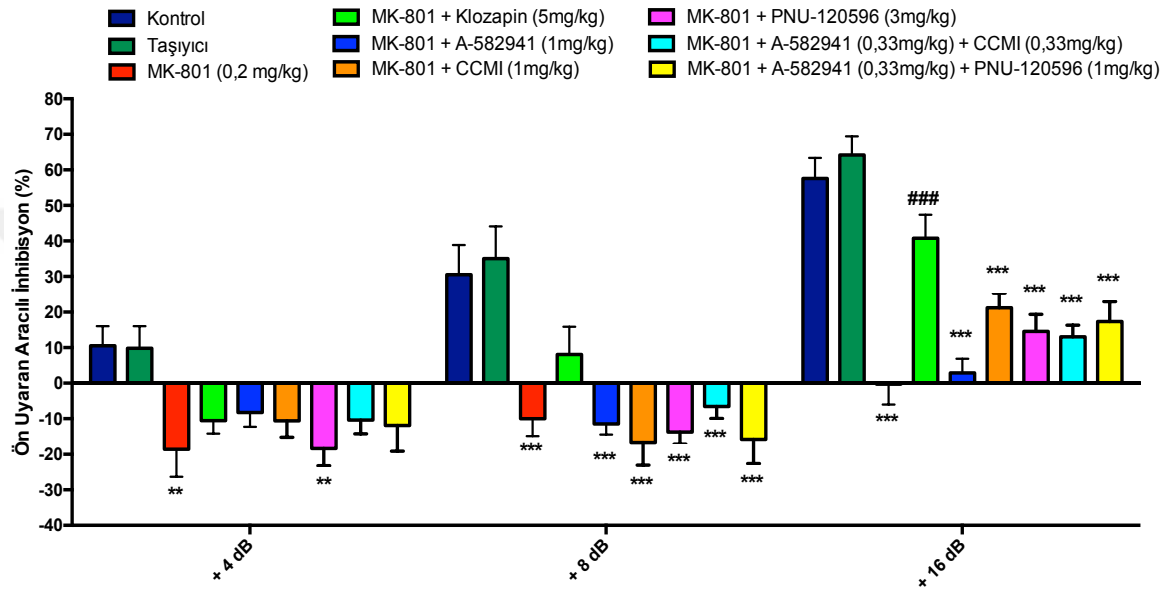
6.2. Davranış Deneyleri ile İlgili Bulgular

6.2.1. Ön uyaran aracılı inhibisyon testi

Çalışmamızda deney hayvanlarının sensörimotor kapılama fonksiyonlarının değerlendirilmesi amacı ile modelin 7. gününde 14. MK-801 enjeksiyonunu takiben tüm gruplara ÖUAİ testi uygulandı. Bu gruplara ÖUAİ testinden belirli süreler önce (bkz bölüm 3) tek doz tedavi uygulandı. ÖUAİ testinde bazal gürültünün 4, 8 ve 16 dB üstleri olan 74, 78 ve 86 dB ön uyaran şiddetlerinde deney hayvanlarının irkilme yanıtları ölçülerek bu ön uyaranların sadece uyaranın (120 dB) oluşturduğu yanıtı ne ölçüde inhibe ettikleri hesaplandı.

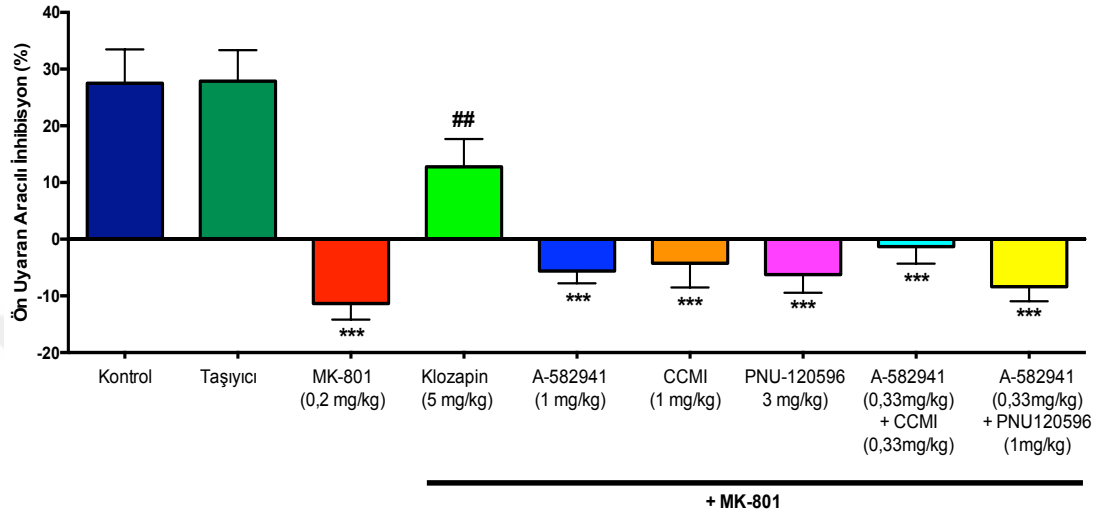
Çalışmamızda kontrol ve taşıyıcı gruplarının yaptıkları inhibisyonların hiçbir ön uyaran şiddetinde birbirinden farklı olmadığı saptandı. MK-801 uygulanan sıçanların kontrol grubuna kıyasla ön uyaran şiddetlerinde +4 dB ($p<0,01$), +8 dB ($p<0,001$) ve +16 dB ($p<0,001$) uyaranın oluşturduğu irkilmeyi daha az inhibe ettikleri tespit edildi. Uygulanan tedavilerden yalnızca klozapinin MK-801'in ÖUAİ'de yapmış

olduğu bozukluğu +16 dB ön uyaran şiddetinde geri çevirdiği görüldü ($F(2,136)=153,9$; $p<0,001$). Gerek A-582941, CCMI, PNU-120596 tedavilerinin tek başlarına gerekse A582941+CCMI ve A-582941+PNU120596 tedavilerinin kombine uygulanmasının ÖUAİ'de MK-801 uygulaması ile meydana gelen azalmayı değiştiremediği saptandı (Şekil 20).



Şekil 20. MK-801'in ÖUAİ'de yaptığı bozukluk üzerine tedavilerin etkinliğinin değerlendirilmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar çift yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında **: $p<0,01$, ***: $p<0,001$, MK-801 grubu ile kıyaslandığında ###: $p<0,001$'dir.

ÖUAİ testinde % inhibisyonların ortalamaları incelendiğinde kontrol ve taşıyıcı grupları arasında istatistiksel açıdan farkın bulunmadığı saptandı. MK-801 uygulanan deney hayvanlarının kontrol grubundakilere göre ÖUAİ'yi anlamlı derecede düşürdüğü ($p<0,001$) klozapin tedavisinin ise MK-801'in bu etkisini geri çevirdiği ($p<0,01$) görüldü ($F(2,134)=153,9$) (Şekil 21).

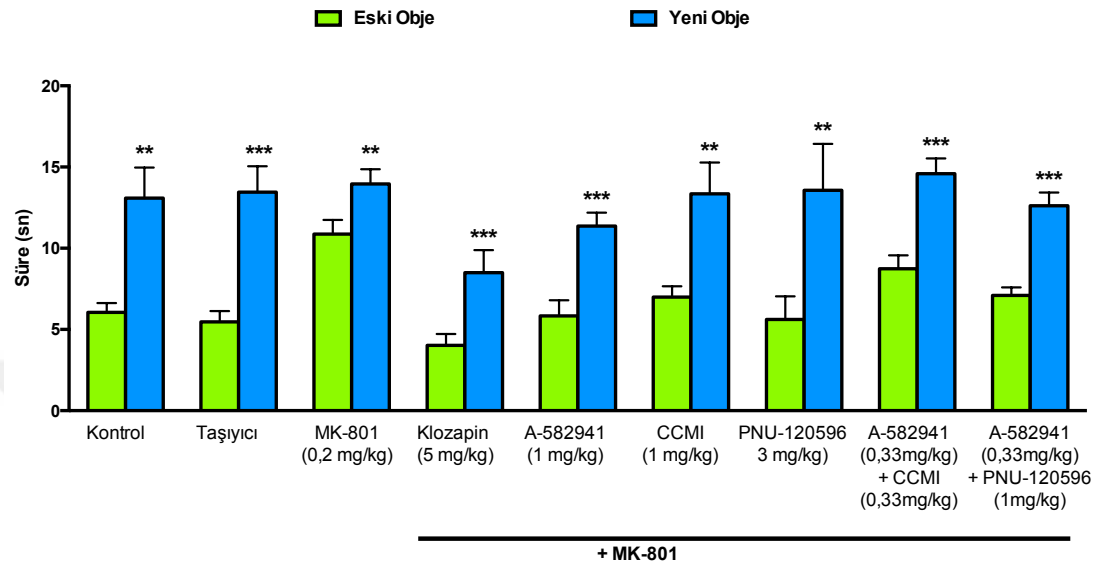


Şekil 21. MK-801'in ortalama ÖUAİ'de yaptığı bozukluk üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında *** : $p<0,001$, MK-801 grubu ile kıyaslandığında ##: $p<0,01$'dir.

ÖUAİ testinde % inhibisyonların ortalamaları A-582941, CCMI, PNU-120596 ile A-582941+CCMI ve A-582941+PNU-120596 tedavileri için incelendiğinde ise MK-801'in yapmış olduğu etkiyi değiştiremediği tespit edildi (Şekil 21).

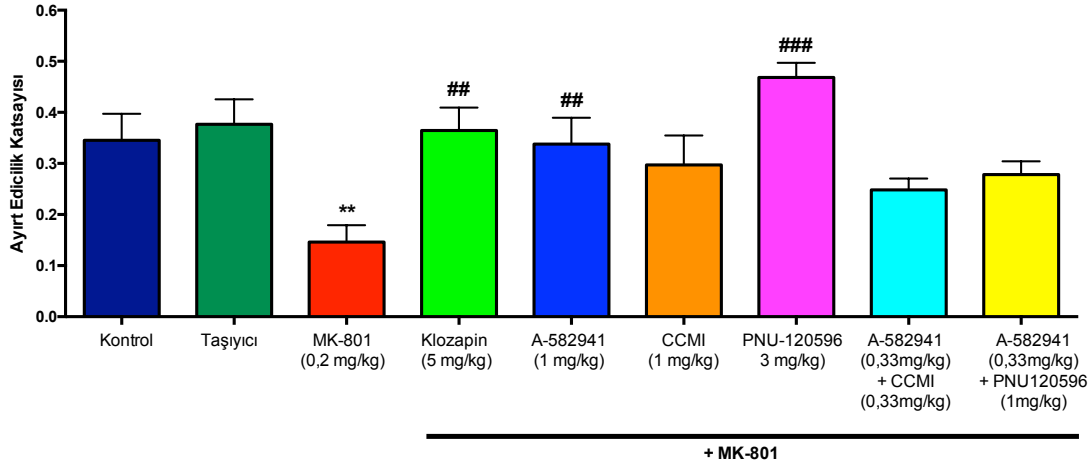
6.2.2. Yeni nesne tanıma testi

Deney gruplarının yeni ve eski nesne ile geçirdikleri süreler incelendiğinde tüm grupların yeni nesne ile anlamlı derecede daha fazla zaman geçirdikleri görüldü; kontrol ($p<0,01$), taşıyıcı ($p<0,001$), klozapin ($p<0,001$), A-582941 ($p<0,001$), CCMI ($p<0,01$), PNU-120596 ($p<0,01$), A-582941+CCMI ($p<0,001$) ve A-582941+PNU-120596 ($p<0,001$)(Şekil 22).



Şekil 22. Deney gruplarının YNTT'de eski ve yeni nesneler ile geçirdikleri süreler. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Eski ve yeni nesneler ile geçirilen süreler her grubun kendi içerisinde eşleştirilmiş Student's-t testi ile karşılaştırıldı. Eski nesneler ile karşılaştırıldığında **: $p<0,01$, ***: $p<0,001$'dir.

Çalışmamızda deney hayvanlarının eski nesneye göre yeni nesneyi ayırt etme dereceleri ise ayırt edicilik katsayısı ile hesaplandı. YNTT'de deney gruplarının ayırt edicilik katsayıları incelendiğinde kontrol ve taşıyıcı gruplarının istatistiksel olarak farklı olmadıkları, MK-801 verilen hayvanların ise kontrol grubuna kıyasla daha düşük ayırt edicilik katsayılarına sahip oldukları görüldü ($p<0,01$). MK-801'in bu etkisinin Klozapin ($p<0,01$), A-582941 ($p<0,01$) ve PNU-120596 ($p<0,001$) tedavileri ile geri çevrildiği tespit edildi ($F(8,58)=5,064$). CCMI, A-582941+CCMI ve A-582941+PNU-120596 tedavilerinin ise MK-801'in yaptığı bu etkiyi değiştiremedikleri saptandı (Şekil 23).



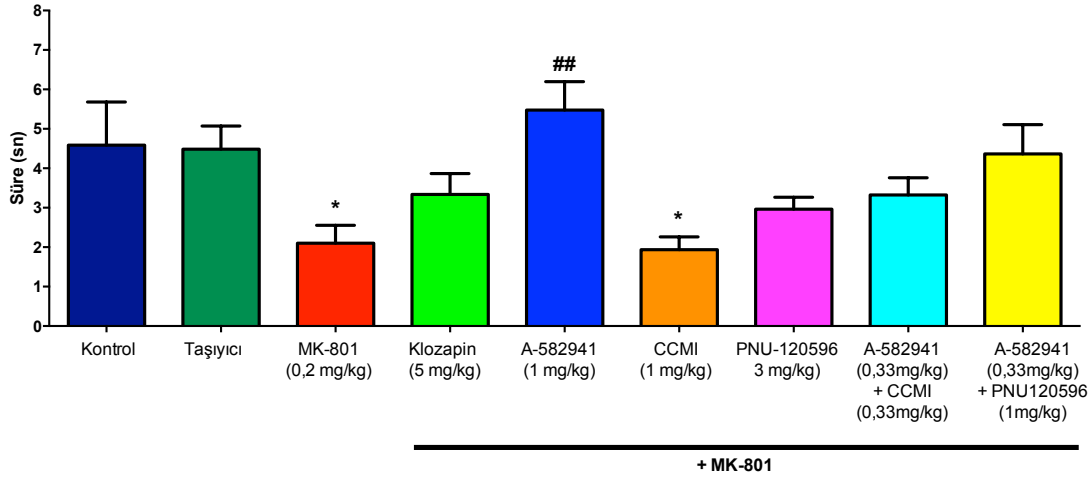
Şekil 23. Ayırt edicilik katsayısında MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkilerinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında **: $p<0,01$, MK-801 grubu ile kıyaslandığında ##: $p<0,01$ ve ###: $p<0,001$'dir.

6.2.3. Sosyal etkileşim testi

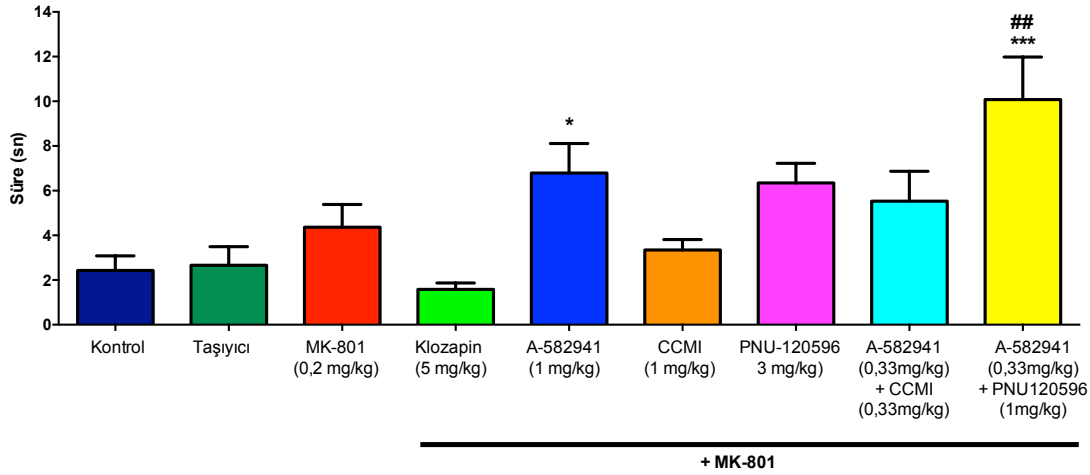
SET'de taşıyıcı uygulamasının kontrole kıyasla davranışlar üzerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı görüldü.

Sosyal davranışların önemli bir göstergesi olan diğer hayvanı takip etme davranışı incelendiğinde MK-801 grubunda yer alan hayvanların bu davranış için harcadıkları sürenin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı görüldü ($p<0,05$). MK-801'in bu davranışta yaptığı azalma Klozapin, CCMI, PNU-120596, A-582941+CCMI ve A-582941+PNU-120596 tedavileri ile geri çeviremezken bu azalmanın A-582941 uygulamasıyla geri çevrildiği tespit edildi ($p<0,01$, $F(8, 64)=3,611$)(Şekil 24).

Deney gruplarının tırmanma davranışı için harcadıkları süreler karşılaştırıldığında kontrol ve taşıyıcı grupları arasında anlamlı farkın olmadığı, MK-801 grubunda ise artış görülmesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. A-582941 grubundaki sıçanların kontrol grubuna göre daha fazla tırmanma davranışı gösterdikleri ($p<0,05$), A-582941+PNU-120596 tedavisi alan sıçanlarda ise bu davranışın hem kontrol ($p<0,001$) hem MK-801 ($p<0,01$) grubuna göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı ($F(8,64)=5,685$)(Şekil 25).

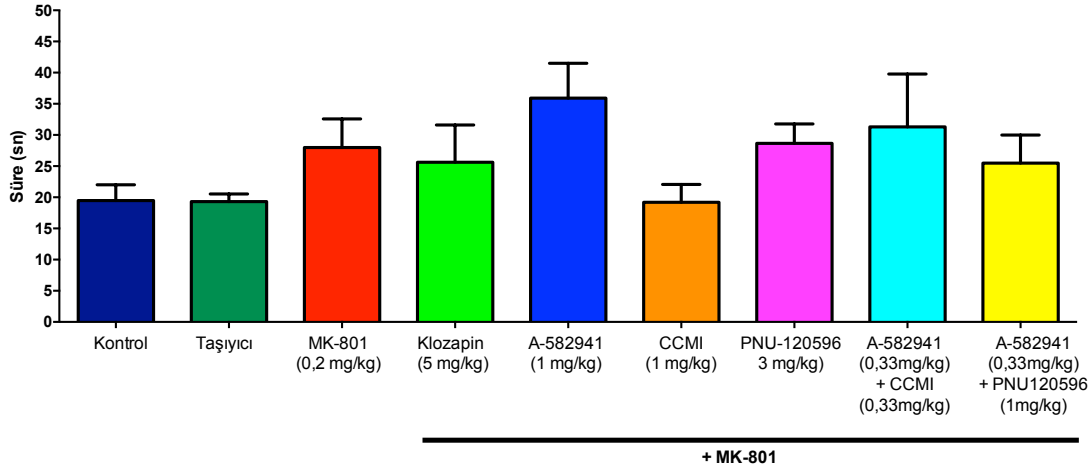


Şekil 24. Takip etme davranışında MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında * : p<0,05, MK-801 grubu ile kıyaslandığında ##: p<0,01'dir.



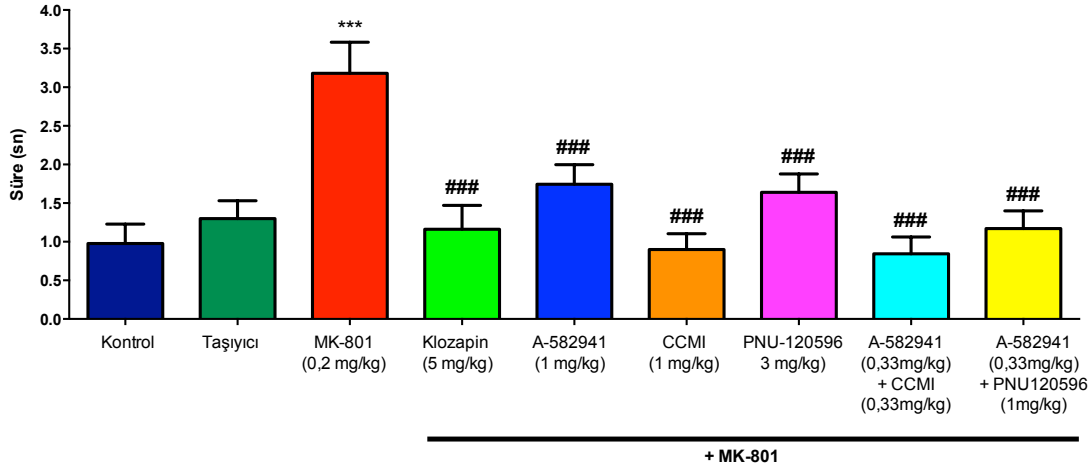
Şekil 25. Tırmanma davranışı üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında * : p<0,05, *** : p<0,001, MK-801 grubu ile kıyaslandığında ##: p<0,01'dir.

Sosyalliğin bir diğer göstergesi olan koklama davranışları incelendiğinde ise deney hayvanlarının bu davranış için harcadıkları sürelerin değişkenlik göstermesine rağmen istatistiksel anlamlılık taşımadığı görüldü (F(8,64)=1,102)(Şekil 26).



Şekil 26. Koklama davranışı üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı.

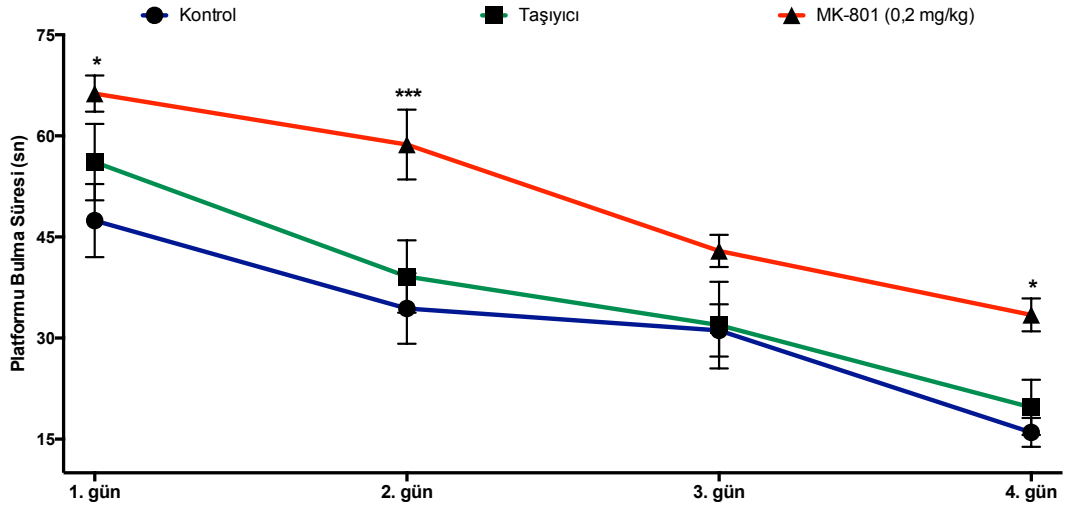
Deney hayvanlarında sosyal geri çekilmenin bir ölçüsü olarak kabul edilen kaçınma davranışlarına bakıldığında MK-801 grubundaki hayvanların kontrol grubuna kıyasla önemli derecede yüksek kaçınma davranışı gösterdikleri bulundu ($p<0,001$). Uygulanan tedavilerin tümünün MK-801'in yaptığı bu etkiyi geri çevirebildikleri (A-582941 hariç $p<0,001$, A-582941: $p<0,01$) tespit edildi ($F(8,64)=7,773$)(Şekil 27).



Şekil 27. Kaçınma davranışında MK-801'in yaptığı artma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında *** : $p<0,001$, MK-801 grubu ile kıyaslandığında ###: $p<0,001$'dir.

6.2.4. Morris'in su tankı testi

Kontrol ve taşıyıcı gruplarının platformu bulma süreleri kıyaslandığında hiçbir günde iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı saptandı. MK-801 grubunda yer alan hayvanların birinci ($p<0,05$), ikinci ($p<0,001$) ve dördüncü ($p<0,05$) günlerde platformu kontrol grubuna kıyasla daha uzun sürede bulduğu görüldü ($F(3,198)=219$)(Şekil 28).

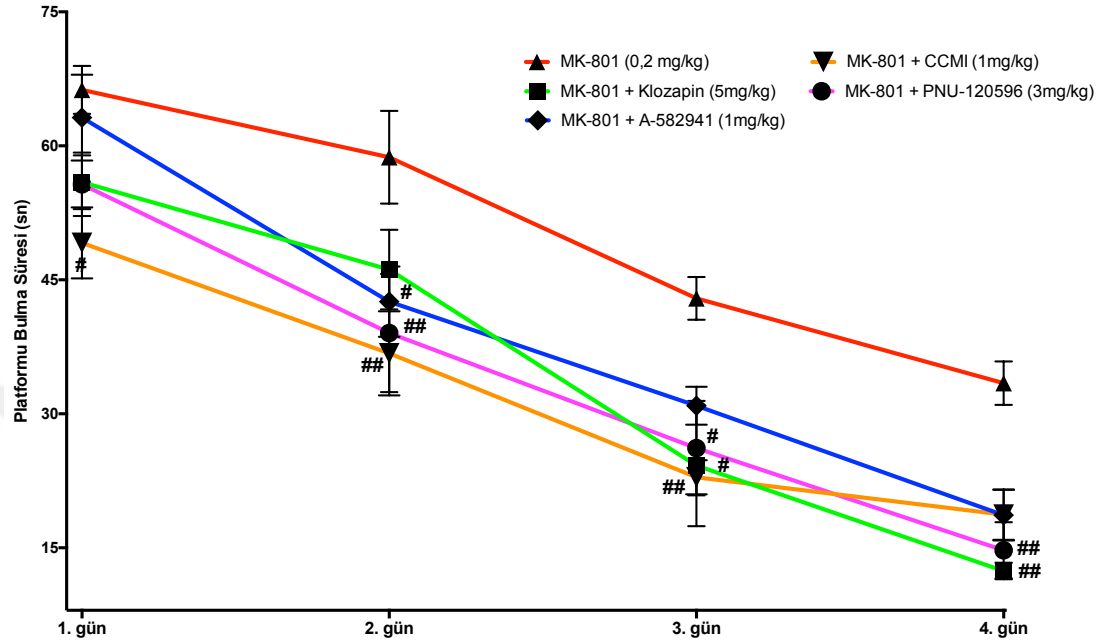


Şekil 28. Kontrol, taşıyıcı ve MK-801 gruplarının MSTT'de platformu bulma süreleri. Değerler ortalama ± standart hata olarak gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar çift yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. MK-801 grubu ile kıyaslandığında #: $p<0,05$, ###: $p<0,001$'dir.

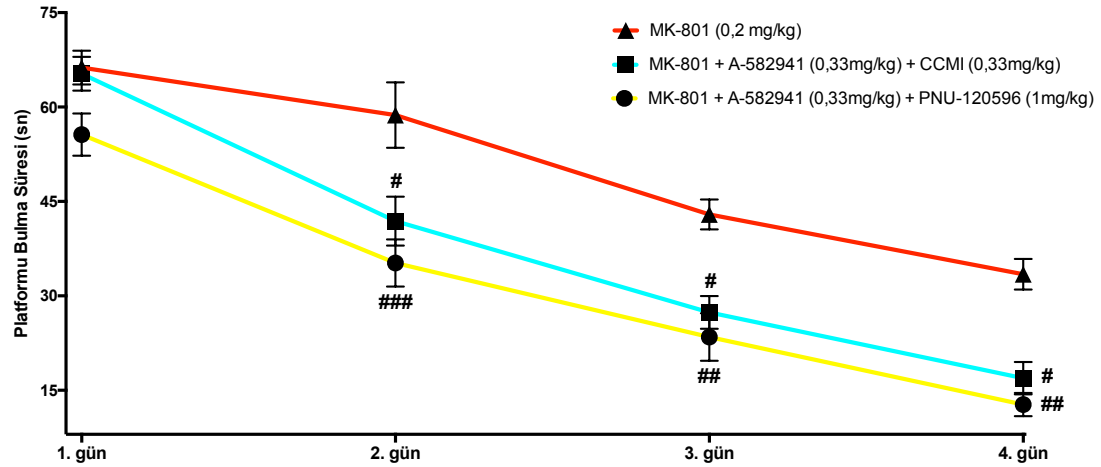
Tedavi gruplarının platformu bulma süreleri incelendiğinde klozapin tedavisi uygulanan hayvanların üçüncü ($p<0,05$) ve dördüncü ($p<0,01$), A-582941 tedavisi uygulananların ikinci ($p<0,05$), CCMI uygulanan hayvanların birinci ($p<0,05$), ikinci ($p<0,01$) ve üçüncü ($p<0,01$), PNU-120596 tedavisi uygulanan hayvanların ikinci ($p<0,01$), üçüncü ($p<0,05$) ve dördüncü ($p<0,01$) günlerde MK-801 uygulanan hayvanlara göre daha kısa sürede buldukları görüldü ($F(3,198)=219$)(Şekil 29).

Kombinasyon tedavilerinin platformu bulma süreleri üzerine etkileri incelendiğinde A-582941+CCMI grubundaki hayvanların MK-801 grubuna göre platformu ikinci ($p<0,05$), üçüncü ($p<0,05$) ve dördüncü ($p<0,05$) günlerde daha kısa sürede buldukları görüldü. Bunun yanında A-582941+PNU-120596 tedavileri uygulanan sıçanların da ikinci ($p<0,001$), üçüncü ($p<0,01$) ve dördüncü ($p<0,01$) günlerde MK-

801 grubundaki hayvanlara kıyasla platformu daha kısa sürede buldukları tespit edildi (F(3,198)=219)(Şekil 30).

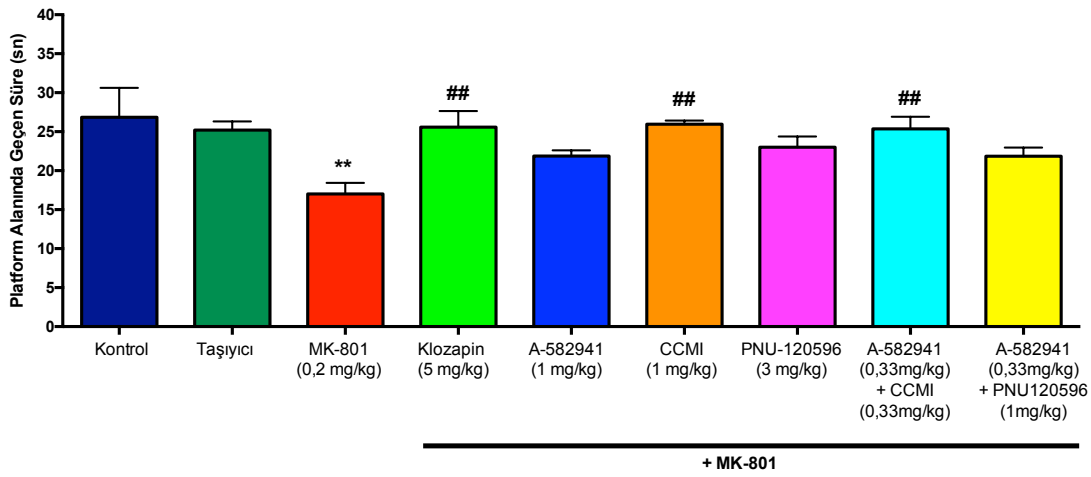


Şekil 29. Platformu bulma süresinde MK-801'in yaptığı artış üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata olarak gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar çift yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. MK-801 grubu ile kıyaslandığında #: p<0,05, ##: p<0,01'dir.



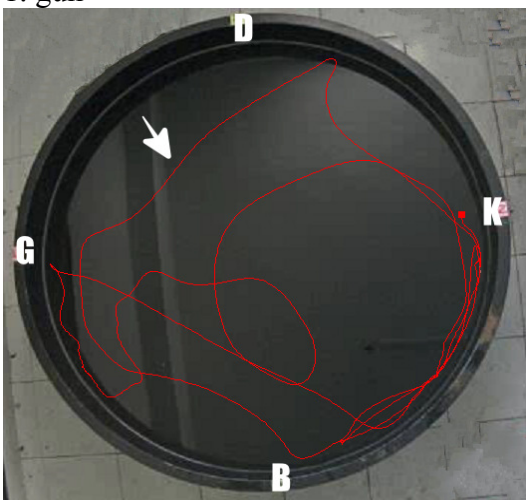
Şekil 30. Platformu bulma süresinde MK-801'in yaptığı artış üzerine kombine tadavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ± standart hata ortalama olarak gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar çift yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. MK-801 grubu ile kıyaslandığında #: p<0,05, ##: p<0,01 ve ###: p<0,001'dir.

MSTT'nin beşinci gün gerçekleştirilen bellek evresinde deney hayvanlarının platformun bulunduğu kadranda geçirdikleri süreler incelendiğinde kontrol ile taşıyıcı grupları arasında anlamlı bir farkın bulunmadığı, MK-801 grubundaki hayvanların ise kontrol grubuna kıyasla bu kadranda daha kısa zaman geçirdiği görüldü ($p<0,01$). Uygulanan tedavilerden klozapin ($p<0,01$), CCMI ($p<0,01$) ve A-582941+CCMI'nın ($p<0,01$) MK-801'in yapmış olduğu bu azalmayı geri çevirebildiği tespit edildi ($F(8,55)=3,385$). A-582941, PNU-120596 ve A-582941+PNU-120596 uygulanan hayvanların ise bu kadranda daha fazla zaman geçirme eğiliminde oldukları fakat bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü (Şekil 31, resim 5-8).

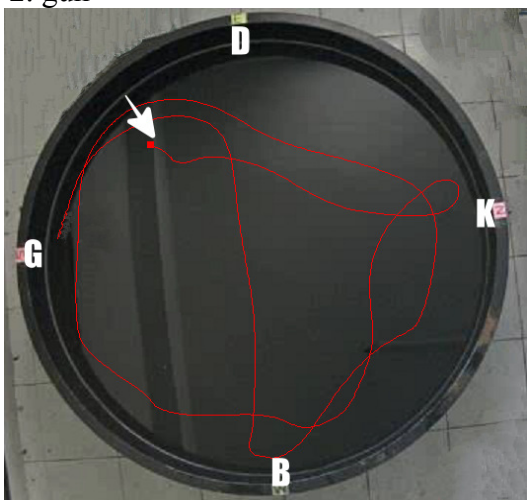


Şekil 31. MSTT'de deney gruplarının platform bulunan kadranda geçirdikleri süreler. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında ** : $p<0,01$ ve MK-801 grubu ile kıyaslandığında ##: $p<0,01$'dir.

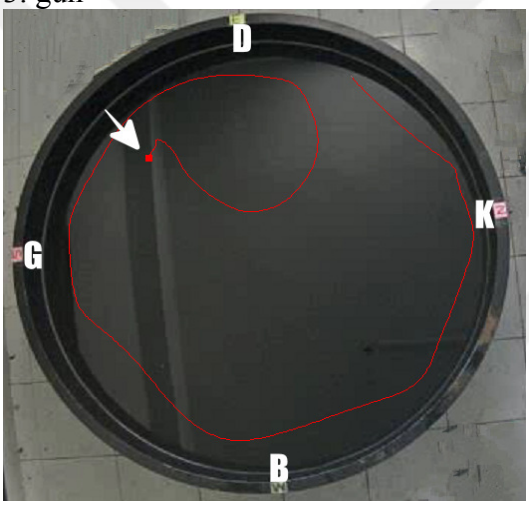
1. gün



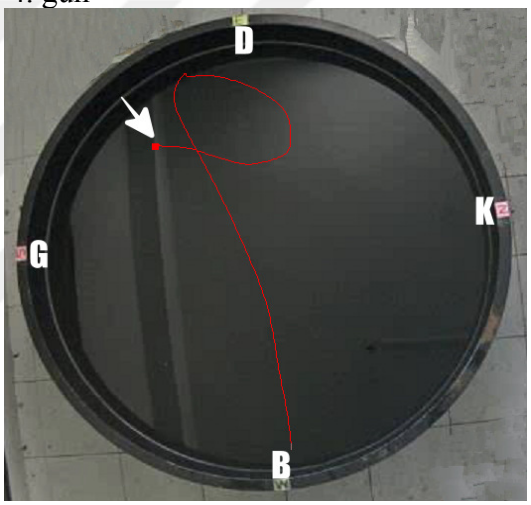
2. gün



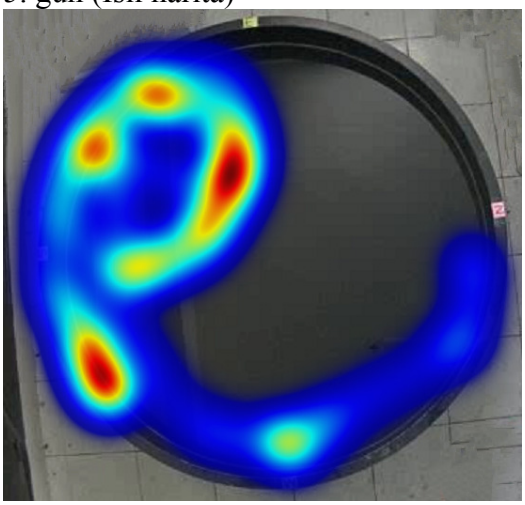
3. gün



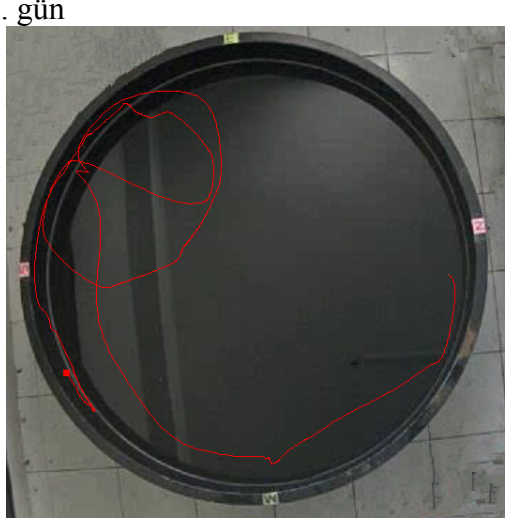
4. gün



5. gün (Isıl harita)

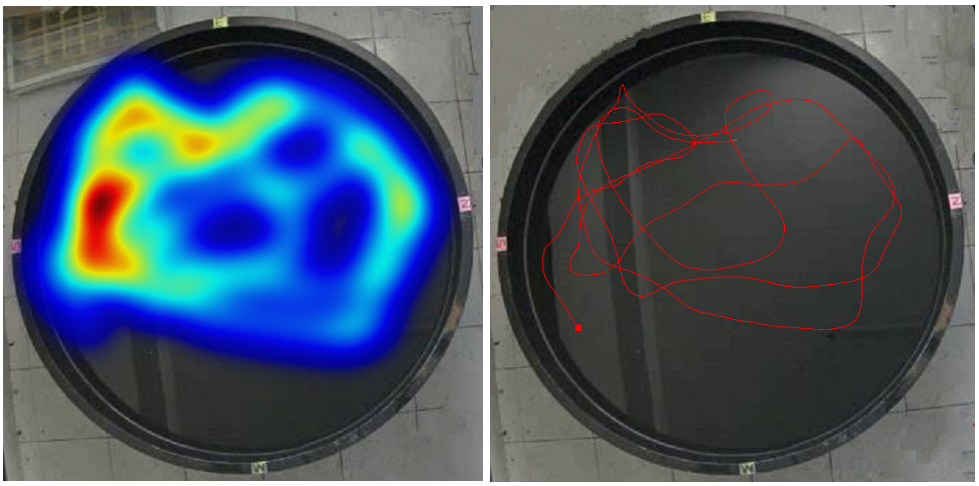


5. gün

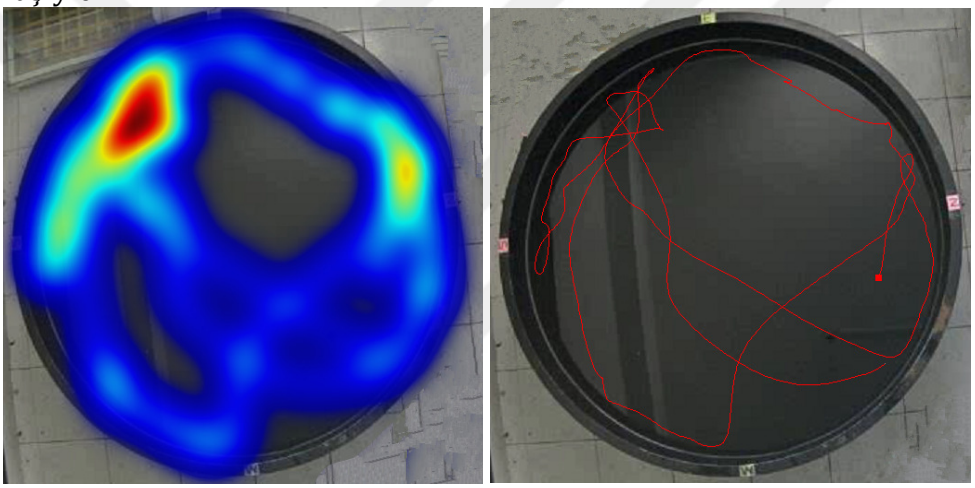


Resim 5. MSTT öğrenme ve bellek evrelerinde sağlıklı deney hayvanının yüzme haritaları. İlk 4 gün platformun bulunduğu nokta ➔ ile belirtildi. Isıl haritada bellek testinde deney hayvanlarının gezdiği yerler azdan çoğa doğru sırası ile mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ile gösterildi (B: Batı, D: Doğu, G: Güney, K: Kuzey)

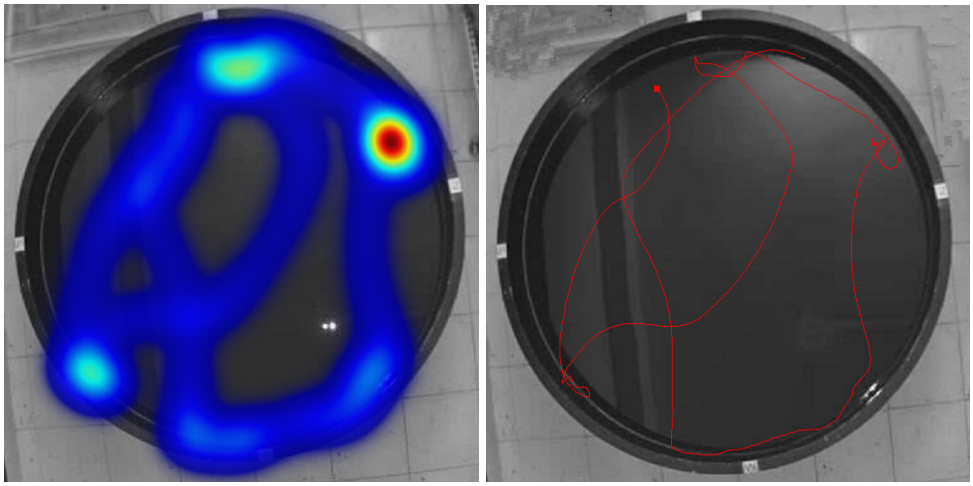
Kontrol



Taşıyıcı

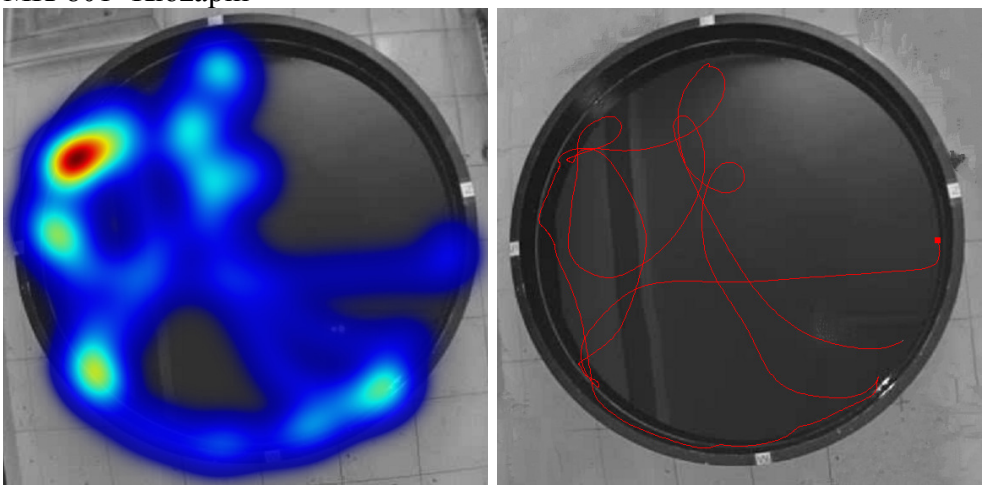


MK-801

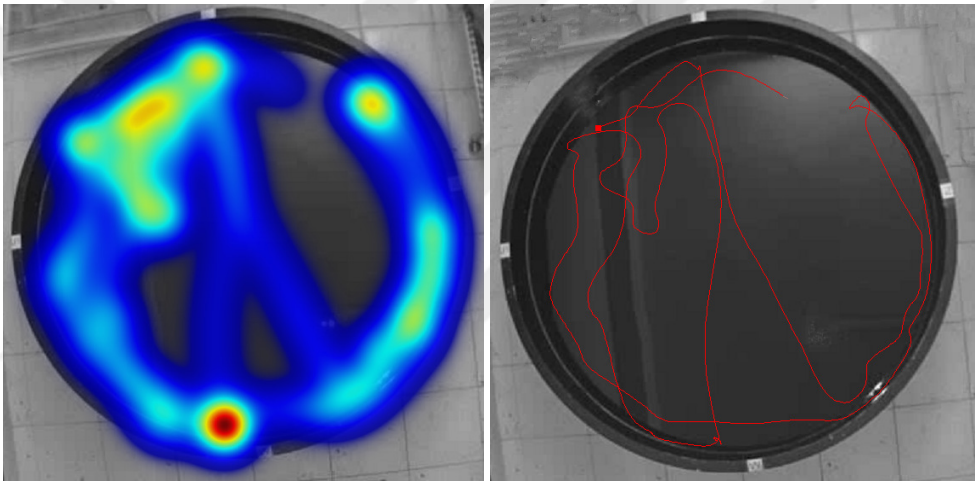


Resim 6. MSTT bellek evresinde kontrol, taşıyıcı ve MK-801 gruplarının yüzme haritaları. Isıl haritada bellek testinde deney hayvanlarının gezdiği yerler azdan çoğa doğru sırası ile mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ile gösterildi (B: Batı, D: Doğu, G: Güney, K: Kuzey)

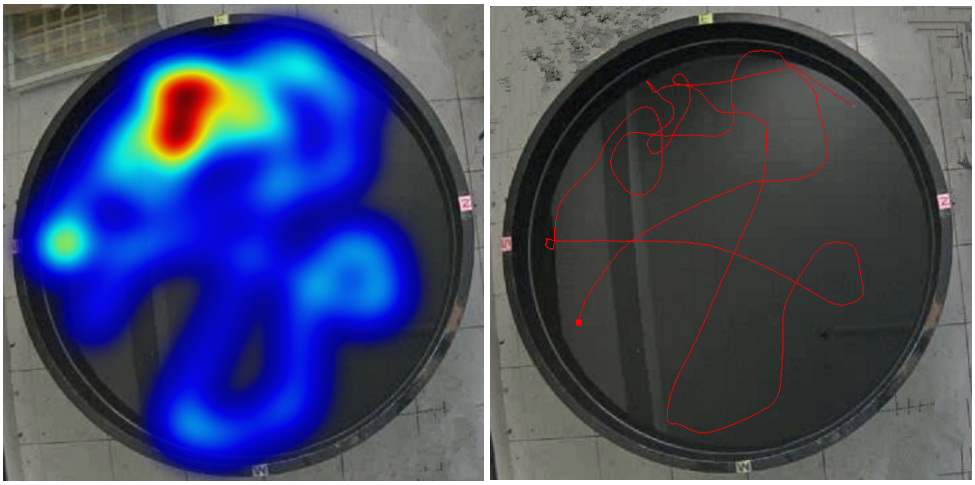
MK-801+Klozapin



MK-801+A-589241

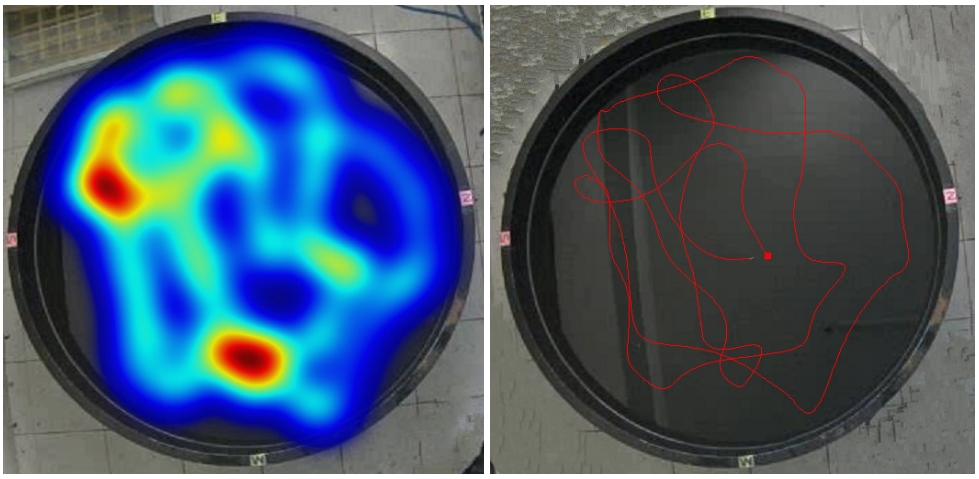


MK-801+CCMI

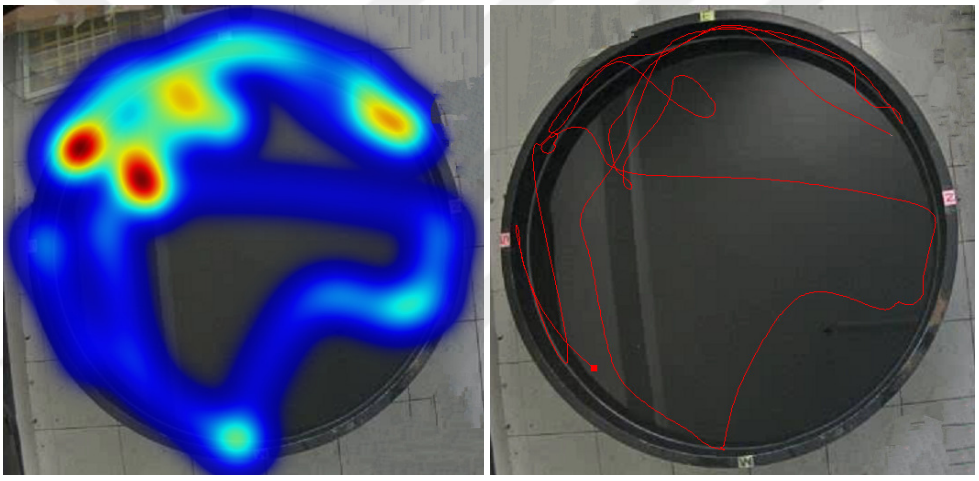


Resim 7. MSTT bellek evresinde MK-801+Klozapin, MK-801+A-582941 ve MK-801+CCMI gruplarının yüzme haritaları. Isıl haritada bellek testinde deney hayvanlarının gezdiği yerler azdan çoğa doğru sırası ile mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ile gösterildi (B: Batı, D: Doğu, G: Güney, K: Kuzey)

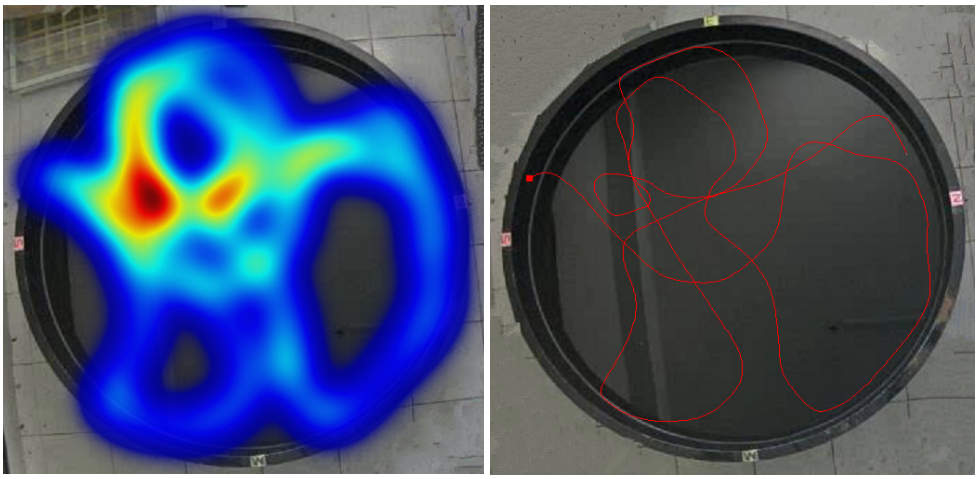
MK-801+PNU-120596



MK-801+A-582941+CCMI



MK-801+A-582941+PNU-120596



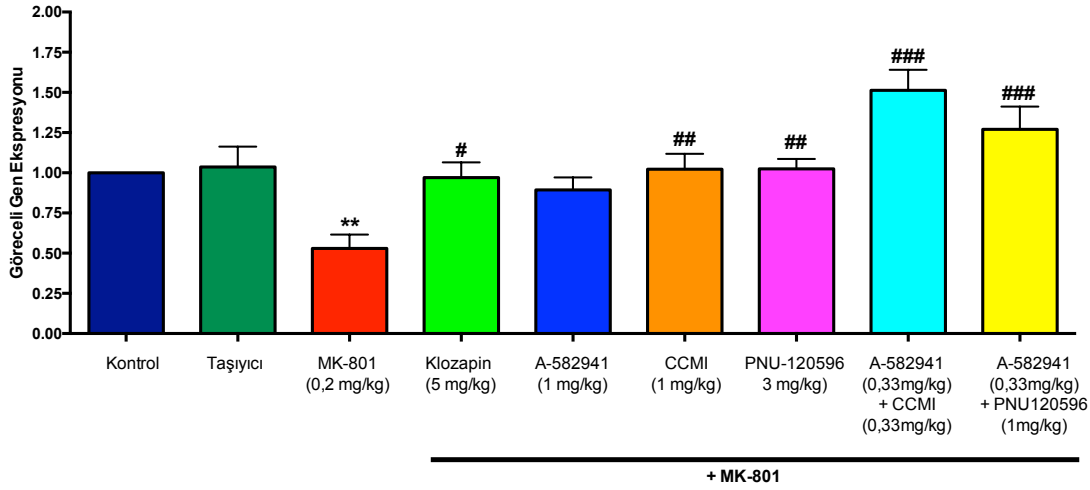
Resim 8. MSTT bellek evresinde MK-801+PNU-120596, MK-801+A-582941+CCMI ve MK-801+A-582941+PNU-120596 gruplarının yüzme haritaları. Isıl haritada bellek testinde deney hayvanlarının gezdiği yerler azdan çoğa doğru sırası ile mavi, yeşil, sarı ve kırmızı ile gösterildi (B: Batı, D: Doğu, G: Güney, K: Kuzey)

6.3. Moleküler Analiz Bulguları

6.3.1. Gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu

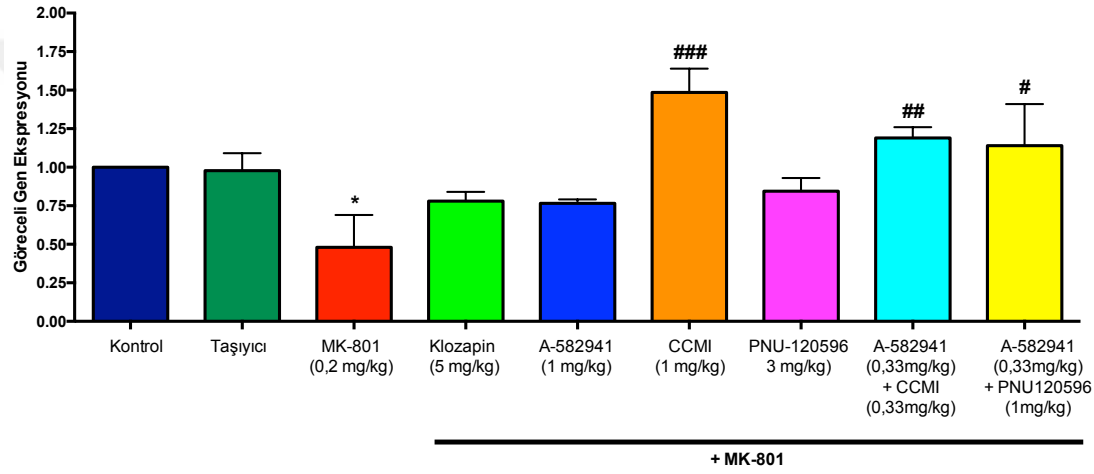
Çalışmamızda MK-801 ile oluşturulan şizofreni modelinde uygulanan tedavilerin beynin hipokampus bölgesinde PVALB (parvalbumin kodlayan gen), GAD1 (GAD67 kodlayan gen) ve CHRNA7 (α7 nAChR kodlayan gen) gen ekspresyonları üzerine etkileri Rt-PCR ile incelendi. Taşıyıcı uygulamasının PVALB, GAD1 ve CHRNA7 gen ekspresyonları üzerine etkileri incelendiğinde hiçbir gen için kontrolden istatistiksel olarak farklı ekspresyona neden olmadığı görüldü.

Parvalbumin gen ekspresyonunda meydana gelen değişimler incelendiğinde MK-801 uygulamasının kontrol grubuna kıyasla hipokampusta parvalbumin gen ekspresyonunu anlamlı derecede azalttığı görüldü ($p<0,01$). Uygulanan tedavilerden klozapin ($p<0,05$), CCMI ($p<0,01$), PNU-120596 ($p<0,01$), A-582941+CCMI ($p<0,001$) ve A-582941+PNU120596'nın ($p<0,001$) MK-801'in yapmış olduğu azalmayı geri çevirdikleri görüldü (Şekil 32). Buna rağmen A-582941 uygulamasının MK-801'in parvalbumin gen ekspresyonundaki etkisini geri çeviremediği tespit edildi ($F(8,24)=8,535$).



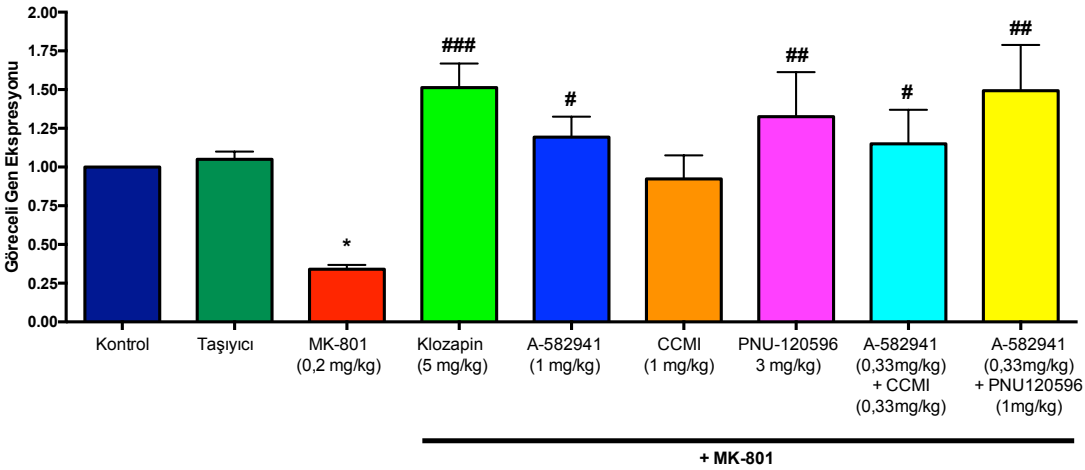
Şekil 32. PVALB gen ekspresyonunda MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında **: $p<0,01$ ve MK-801 grubu ile kıyaslandığında #: $p<0,05$, ##: $p<0,01$, ###: $p<0,001$'dir.

MK-801 grubunda yer alan sıçanların hipokampuslarında GAD1 gen ekspresyonları incelendiğinde, bu grubun kontrol grubuna göre GAD1 genini daha az eksprese ettiği bulundu ($p<0,05$). Uygulanan tedavilerden ise CCMI ($p<0,001$), A-582941+CCMI ($p<0,01$) ve A-582941+PNU-120596'nın ($p<0,05$) MK-801'in yapmış olduğu azalmayı geri çevirerek GAD1 gen ekspresyonu anlamlı derecede artırdıkları saptandı (Şekil 33). Bunun yanında Klozapin, A-582941 ve PNU-120596'nın da GAD1 gen ekspresyonunda artış eğilimi oluşturmalarına rağmen bu artışın istatistiksel anlamlılık taşımadığı tespit edildi ($F(8,18)=4,545$).



Şekil 33. GAD1 gen ekspresyonunda MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında *: $p<0,05$ ve MK-801 grubu ile kıyaslandığında #: $p<0,05$, ##: $p<0,01$, ###: $p<0,001$'dir.

Deney hayvanların hipokampus dokularında CHRNA7 gen ekspresyonları incelendiğinde MK-801 uygulanan hayvanların kontrol grubuna kıyasla CHRNA7 genini daha az eksprese ettikleri görüldü ($p<0,05$). Bunun yanında MK-801 modeli oluşturulduktan sonra uygulanan klozapin ($p<0,001$), A-582941 ($p<0,05$), PNU-120596 ($p<0,01$), A-582941+CCMI ($p<0,05$), A-582941+PNU-120596 ($p<0,01$) tedavilerinin MK-801'in gen ekspresyonunda yapmış olduğu azalmayı geri çevirdikleri tespit edildi ($F(8,23)=4,676$) (Şekil 34).

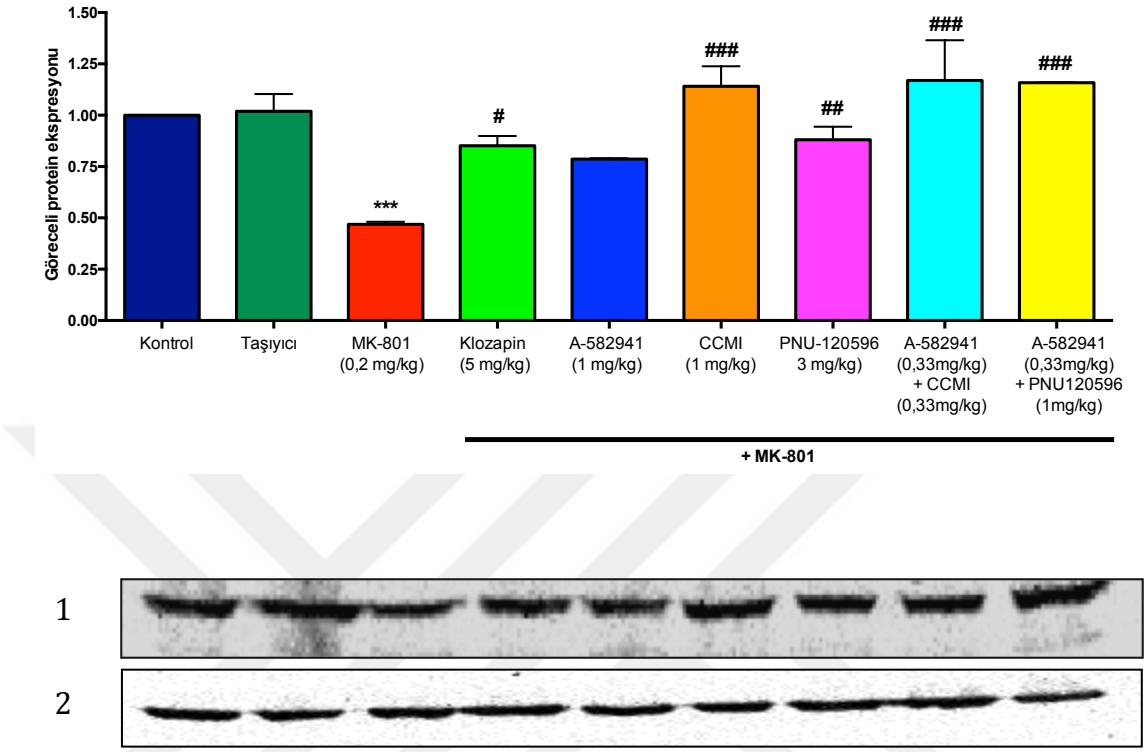


Şekil 34. CHRNA7 gen ekspresyonunda MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında * : $p<0,05$ ve MK-801 grubu ile kıyaslandığında #: $p<0,05$, ##: $p<0,01$, ###: $p<0,001$'dir.

6.3.2. Western blot analizi

Çalışmamızda MK-801 ile şizofreni modeli oluşturulan deney hayvanlarında uygulanan tedavilerin hipokampusta α7 nAChR protein ekspresyonu üzerine etkilerini incelemek amacı ile bu hayvanlardan elde edilen dokularda western blot yöntemi ile α7 nAChR protein miktarları tayin edidi.

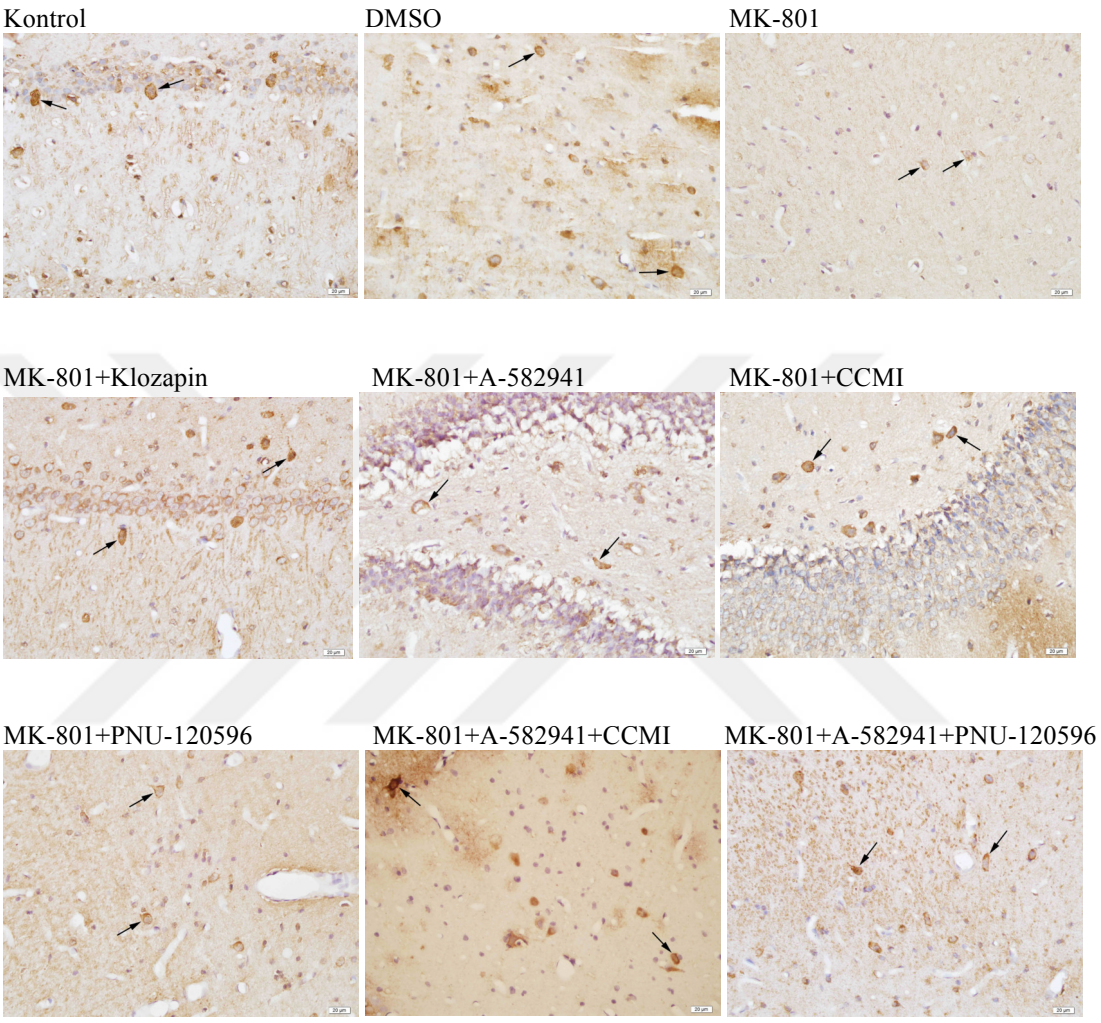
Deney hayvanlarının hipokampuslarında α7 nAChR protein ekspresyonları incelendiğinde MK-801 grubunda yer alan hayvanların kontrol grubuna kıyasla α7 nAChR proteini daha az eksprese ettiği tespit edildi ($p<0,001$). Bu azalmayı klozapin ($p<0,05$), CCMI ($p<0,001$), PNU-120596 ($p<0,01$), A-582941+CCMI ($p<0,001$) ve A-582941+PNU-120596 ($p<0,001$) tedavilerinin geri çevirirken, A-582941 uygulamasının geri çeviremediği saptandı ($F(8,18)=9,016$). Ayrıca taşıyıcı ve kontrol gruplarında yer alan hayvanların α7 nAChR protein ekspresyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (Şekil 35).



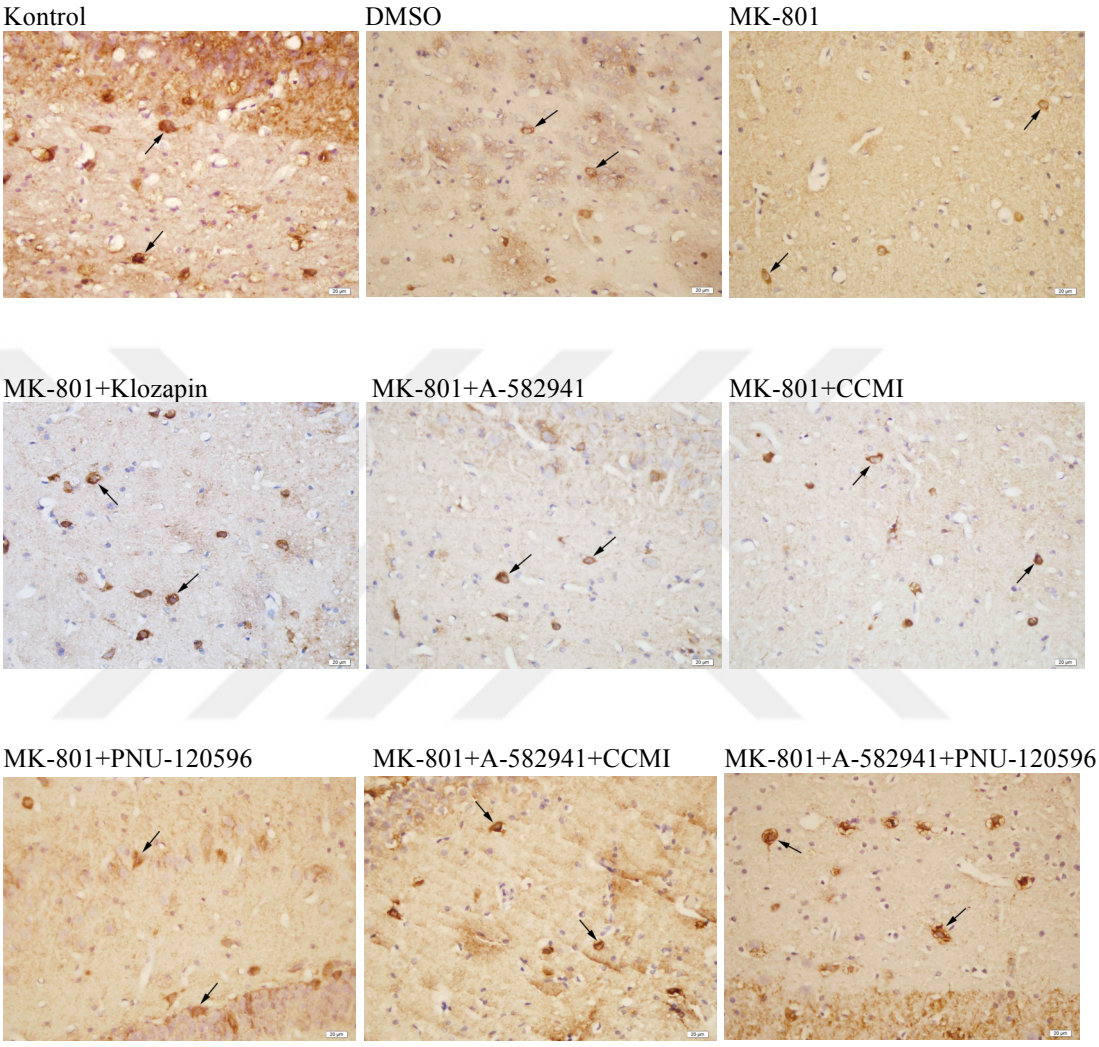
Şekil 35. α7 nAChR protein ekspresyonunda MK-801'in yaptığı azalma üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. Değerler ortalama ± standart hata şeklinde gösterildi. Gruplar arası karşılaştırmalar tek yönlü ANOVA ve post hoc Dunnett's testi kullanılarak yapıldı. Kontrol grubu ile kıyaslandığında ***: $p<0,001$ ve MK-801 grubu ile kıyaslandığında #: $p<0,05$, ##: $p<0,01$, ###: $p<0,001$'dir. (1: α7 nAChR antikor band görüntüsü, 2: β-aktin band görüntüsü)

6.3.3. İmmünohistokimyasal analizler

Çalışmamızda kullandığımız deney hayvanlarının hipokampus dokularında immünohistokimyasal yöntemler ile parvalbumin ve GAD67 protein ekspresyonları incelendi. Çalışma başlangıcında immünohistokimyasal analizlerin kantitatif olarak değerlendirilebilecek detayda planlanmasına karşı kısıtlılıklar nedeni ile bu analizler tüm hayvanlar için gerçekleştirilemedi. Bundan dolayı parvalbumin ve GAD67 ekspresyonları her gruptan rastgele birer hayvan şeçilerek incelendi. Parvalbumin (resim 9) ve GAD67 (resim 10) analizlerine ait resimler aşağıda verildi.



Resim 9. Parvalbumin protein ekspresyonu üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. İmmünohistokimyasal analizler 20 µm'lik hipokampal kesitlerde 40x büyütme oranında çalışılmış olup işaretlemeler parvalbumin antikorlarını göstermektedir.



Resim 10. GAD67 protein ekspresyonu üzerine tedavilerin etkinliğinin incelenmesi. İmmünohistokimyasal analizler 20 µm'lik hipokampal kesitlerde 40x büyütme oranında çalışılmış olup işaretlemeler GAD67 antikorlarını göstermektedir.

7. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bu çalışmada atipik antipsikotik olarak klinikte dirençli vakalarda dahi etkili bulunan klozapin ile yeni bir tedavi yaklaşımı olabileceği öngörülen α7 nAChR agonist ve PAM'larının tek başlarına ve birlikte kullanılması durumunda etkinliklerinin MK-801 modelinde karşılaştırmalı olarak incelenmesi amaçlandı. MK-801'in diğer NMDA antagonistleri gibi şizofreni benzeri davranışsal değişikliklere neden olduğu uzun yıllardır bilinmektedir (Mansbach ve Geyer, 1989; Neill ve ark., 2014). Çalışmamızda sıçanlara subkronik olarak uygulanan MK-801'in şizofreninin pozitif (ÖUAİ testi; sensörimotor kapılama), bilişsel (YNTT; görsel öğrenme ve bellek, MSTT; uzamsal öğrenme ve bellek) ve negatif (SET; sosyal geriçekilme) semptomlarına benzer davranışlar oluşturması nedeni ile kullandığımız model önceki literatür ile uyumluluk göstermektedir. Sensörimotor kapılama fonksiyonu açısından ele alındığında sadece klozapinin MK-801'in etkilerini geri çevirebildiği ve α7 nAChR agonist ve PAM'larının etkisiz kaldığı görüldü. MK-801'in meydana getirdiği bilişsel fonksiyon bozukluğu açısından değerlendirildiğinde klozapin, A-582941 ve PNU-120596'nın görsel, klozapin, CCMI ve A-582941+CCMI'nın uzamsal bellekteki bozulmaları, tüm tedavi maddelerinin ise uzamsal öğrenmedeki bozulmaları geri çevirdiği görüldü. Bulgularımız bir diğer temel kriter olan sosyal bozukluklar açısından değerlendirildiğinde uygulanan tüm tedavilerin MK-801 ile oluşan sosyal bozuklukları geri çevirdiği ve bu tedavilerden özellikle α7 nAChR agonisti olan A-582941'in öne çıktığı görüldü. Dolayısıyla tüm bulgular birlikte değerlendirildiğinde hedef moleküllerimiz bilişsel ve negatif semptomlar üzerine etkili bulunurken pozitif semptomlar üzerine etki sağlayamadığı görüldü.

Sağlıklı bireylerde sensörimotor kapılamanın dikkat, bilişsel fonksiyonlar ve günlük yaşantının sürdürülmesinde görev aldığı ve şizofreni hastalarında bu fonksiyonun bozulduğu bilinmektedir. ÖUAİ hem sensöriyel uyaranları hem de motor cevabı kapsayan dolayısı ile sensörimotor kapılama fonksiyonunu gösteren, insanda ve kemirgenlerde geçerliliği olan iyi valide edilmiş translasyonel bir modeldir (Callahan ve ark., 2014). ÖUAİ'nin beyinde kortiko-talamo-pallido-striatal nöronal döngüler ile ilişkili olduğu ve şizofrenide bu döngünün bozulduğu bilinmektedir. Buna paralel olarak kemirgenlerde apomorfin gibi dopaminerjik agonistlerin ve MK-801 gibi glutamaterjik NMDA reseptör antagonistlerin bu bozulmayı taklit ettiği gösterilmiştir

(Mansbach ve ark., 1988; Mansbach ve Geyer, 1989). NMDA reseptör antagonistlerinin akut, subkronik veya kronik uygulanması ile meydana gelen bu bozulmanın yaklaşık 6 saat sürdüğü bilinmektedir (Martinez ve ark., 1999). Bu nedenle çalışmamızda ÖUAİ testi son MK-801 dozunu takiben yapıldı. MK-801'in bu etkisinin atipik antipsikotikler ile geri çevirebildiği bilindiğinden, çalışmamızda kullanılan yeni moleküller atipik bir antipsikotik olan klozapin ile karşılaştırmalı olarak çalışıldı (Bakshi ve ark., 1994; Keith ve ark., 1991). Bu açıdan MK-801 ve klozapin bulgularımız literatür ile uyumluluk göstermektedir. Literatürde sensörimotor kapılama fonksiyonu üzerine α7 nAChR kısmi agonistlerinin etkilerine ilişkin çalışmaların bulguları ise çelişkilidir. Gerek MK-801 ile oluşturulan gerek genetik yapısı gereği psikotik özellikler gösteren DBA/2 farelerde α7 nAChR agonisti olan GTS-21'in sensöri kapılama anormalliklerini düzelttiği rapor edilirken bir diğer çalışmada GTS-21'in sağlıklı sıçanlarda ÖUAİ'yi bozduğu, DBA/2 farelerde ise var olan bozukluğu artırdığı gösterilmiştir (Callahan ve ark., 2014; Schreiber ve ark., 2002; Stevens ve ark., 1998). A-582941'in MK-801 ile oluşturulan ÖUAİ'deki bozukluğu düzeltebildiği ancak DBA/2 farelerde bu bozukluğu düzeltmede etkisiz kaldığı gösterilmiştir (Kohlhaas ve ark., 2012; Potasiewicz ve ark., 2017b). CCMI ve PNU-120596 başta olmak üzere α7 nAChR PAM'ları ile yapılan çalışmaların bulguları da benzer şekilde çelişkilidir. Bu modülatörleren CCMI, PNU-120596 ve JNJ-39393406'nın preklinik çalışmalarda sensörimotor bozukluğu düzelirken, PNU-120596'nın preklinik JNJ-39393406'nın ise klinik çalışmalarda sönsöriyal kapılama bozukluğunda etkisiz kaldığı gösterilmiştir (Hashimoto, 2015; Hurst ve ark., 2005; Potasiewicz ve ark., 2017b; Stevens ve ark., 2015). Çalışmamızda α7 nAChR agonisti ve PAM'ları MK-801 ile oluşturulan sensörimotor bozukluğu geri çevirmede yetersiz kaldığı görüldü. Bu bulgular sebep-sonuç ilişkisi içinde incelendiğinde literatürde kullanılan hayvan türü, suşu ve kullanılan maddelerin dozlarının değişkenlik gösterdiği görülmektedir. Çalışmamızda literatürde en sık kullanılan dozlar tercih edilmesine rağmen sensörimotor bozukluk ile ilgili olumlu sonuçların elde edilememesi literatürdeki bu değişkenlere bağlı olabilir.

Şizofreni hastalarının görsel tanıma belleklerinde meydana gelen bozukluklar şizofreninin temel bilişsel semptomları arasında yer almaktadır. Hem insan hem de kemirgenlerde görsel tanıma belleğinin kontrolünde rol alan en önemli beyin

bölgelerinin peririnal korteks ve hipokampus olduğu düşünülmektedir (Callahan ve ark., 2014). Şizofreninin bilişsel semptomlarının araştırılmasını amaçlayan kuruluşlar preklinik çalışmalarda translasyonel bir parametre olarak YNTT'yi önermektedir (Callahan ve ark., 2014). YNTT kemirgenlerin olağan keşifçi davranışlarını temel alan ve görsel tanıma belleğini değerlendiren dolayısıyla uzamsal olmayan bir bilişsel testtir. Akut veya kronik olarak uygulanan NMDA reseptör antagonistlerinin görsel tanıma belleğini bozduğu, bu bozulmanın atipik antipsikotikler ile geri çevirildiği gösterilmiştir ve bu nedenle modelin öngörüsel geçerliliği olduğu kabul edilmektedir (Neill ve ark., 2010). Bu noktada bulgularımız MK-801 ile oluşan görsel tanıma belleğindeki bozulma ve klozapinin bilişsel performansı düzeltmesi açısından literatür bulguları ile örtüşmektedir. Birçok çalışma α7 nAChR agonistlerinin ve PAM'larının şizofrenide YNTT'de bilişsel performansı artırdığını göstermiştir (Nikiforuk ve ark., 2016b; Potasiewicz ve ark., 2015). A-582941 ve PNU-120596'nın doğal olarak meydana gelen unutma sürecinde bilişsel performansı güçlendirdiği, A-582941, CCMI ve PNU-120596'nın ketamin ile oluşturulan psikoz modelinde görsel bellek bozuluğunu geri çevirdiği gösterilmiştir (Nikiforuk ve ark., 2015; Nikiforuk ve ark., 2016a; Nikiforuk ve ark., 2016b; Potasiewicz ve ark., 2015). Çalışmamızda A-582941 ve PNU-120596'nın uygulamasının MK-801 ile oluşan görsel bellek bozukluğunu geri çevirebildiği, CCMI tedavisinin ise bu bozukluğu istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düzeltemediği görüldü. Gerek tip I ve gerekse tip II α7 nAChR PAM'larının düşük dozlarda α7 nAChR kısmi agonisti ile kombinasyonlarının MK-801 ile meydana gelen görsel bellekteki etkisi ilk kez çalışmamız ile incelendi ve kombinasyon tedavisinin beklenenin aksine etkinliği artırmada yetersiz kaldığı görüldü. Görsel bellek açısından CCMI'nın kullanıldığı çalışmalar ile çalışmamız arasında testler arasında bırakılan süre ve kullanılan model gibi iki temel fark bulunmaktadır. Testler arasında bırakılan süre görsel bilginin peririnal korteks ve hipokampusa ne oranda aktarıldığını etkilediğinden bu test için büyük önem taşımaktadır. Literatürde testler arasında bırakılan süre 1 dakika ile 24 saat arasında değişkenlik göstermektedir (McLean ve ark., 2012; Potasiewicz ve ark., 2017b). Sürenin önemine ilişkin çalışmalar YNTT'de performansın kısa test aralığında daha çok peririnal korteks ile uzun test aralığında ise hipokampusla ilişkili olduğunu göstermektedir (Antunes ve Biala, 2012). Çalışmamızda α7 nAChR

agonisti ve PAM'larının farklı sürelerdeki bellek tipleri üzerine etkilerinin incelenmesi amaçlandığı için YNTT'de 60 dakikalık test arası süreler seçildi. Böylelikle deney hayvanlarında bellek kısa (MSTT öğrenme evresi; 30 sn), orta (YNTT; 60 dakika) ve uzun (MSTT bellek evresi; 24 saat) süreli olmak üzere tüm açılardan değerlendirildi.

Bilişsel performansın değerlendirilmesinde en sık kullanılan testlerden biri MSTT'dir. Bu test klinikte şizofreni hastaları için kullanılan kısa görsel bellek testinin preklinik çalışmalardaki karşılığı olarak kabul edilmektedir. Kemirgenlerin MSTT'deki performansının hipokampus, striatum, bazal önbeyin, serebral korteks ve serebellum gibi beyin bölgeleri ile ilişkili olduğu ve özellikle hipokampus kaynaklı uzamsal belleğin değerlendirilmesinde kullanılabileceği bildirilmiştir (D'Hooge ve De Deyn, 2001). Birçok çalışma glutamaterjik NMDA reseptörler antagonistlerinin akut, subkronik ve kronik uygulamasının kemirgenlerde uzamsal öğrenme ve bellek performansını bozduğunu göstermiştir (Didriksen ve ark., 2007; Janhunen ve ark., 2015; Wass ve ark., 2006). Çalışmamızda kullanılan subkronik MK-801 uygulamasının hem öğrenme hem bellek fonksiyonlarını bozduğu görüldü. Bulgularımız bu açıdan literatürle uyumludur. Bu kapsamda α7 nAChR seçici agonist ve PAM'larının uzamsal öğrenme ve bellek üzerine etkilerinin incelendiği çalışmaların sayısı oldukça kısıtlıdır (Callahan ve ark., 2013; Hegedüs ve ark., 2015; Ning ve ark., 2017; Sadigh-Eteghad ve ark., 2015; Srivareerat ve ark., 2011). Seçici olmayan nAChR agonisti nikotinin uzamsal öğrenme bellek bozukluğunu düzelttiği, α7 nAChR seçici agonisti olan PHA543613'ün sağlıklı farelerde belleği bozduğu, Alzheimer ve MK-801 ile oluşturulan şizofreni modellerinde ise öğrenme ve bellek bozukluğunu düzeltebildiği gösterilmiştir (Ning ve ark., 2017; Sadigh-Eteghad ve ark., 2015; Srivareerat ve ark., 2011). α7 nAChR tip II PAM olan PNU-120596'nın yaşlanmaya bağlı ve skopolamin ile bozulmuş uzamsal öğrenme ve bellek üzerine etkisinin olmadığı ancak AChE inhibitörü olan donepezilin etkisini güçlendirdiği rapor edilmiştir (Callahan ve ark., 2013; Hegedűs ve ark., 2015). Şu anki bilgilerimize göre literatürde A-582941 ve CCMI'nın ne doğal süreçte meydana gelen ne de kimyasallar ile oluşturulan uzamsal öğrenme ve bellek bozukluğu üzerine etkileri incelenmemiştir. Çalışmamızda MK-801'in oluşturduğu uzamsal öğrenme ve bellek bozukluğu üzerine α7 nAChR agonisti ile tip I ve tip II

PAM'larının etkinliği klozapin ile karşılaştırmalı olarak araştırıldı. Çalışmamızda α7 nAChR agonisti ve PAM'larının gerek tek başlarına gerekse birlikte uygulandıklarında MSTT'de ilk dört gün değerlendirilen öğrenme bozukluğunu geri çevirdiği gösterildi. Diğer gruplardan farklı olarak CCMI uygulanması ile öğrenmede meydana gelen iyileşme en erken başladı ve erken sonlandı. Bu testin beşinci gün değerlendirilen bellek bozukluğunu ise klozapin, CCMI ve CCMI+A-582941 tedavilerinin düzeltebildiği, A-582941, PNU-120596 ve A-582941+PNU-120596 tedavilerinin bu bozuklukta etkisiz kaldığı görüldü. PNU-120596 tedavisine ait sonuçlar literatürdeki az sayıda çalışma ile uyumluluk gösterirken A-582941, CCMI ve bunların düşük dozda kombinasyonlarının MSTT'de öğrenme ve bellek üzerine etkisi ilk kez çalışmamız ile araştırıldı. Bu veriler CCMI'nın hem tek başına hem A-582941 ile birlikte uygulandığında hipokampal kaynaklı uzamsal bellekte diğer gruplara (klozapin hariç) üstünlük sağladığını gösterdi. CCMI'nın bu etkisinde reseptörün doğal kinetiğini değiştirmeden aksiyon potansiyelini artırmasının etkili olabileceği düşünülmektedir. A-582941'in hızlı bir şekilde α7 nAChR reseptörlerinde duyarsızlaşmaya, PNU-120596'nın ise güçlü modülatör etkisinden dolayı hücrede eksitotoksisiteye neden olabileceği gösterilmiştir (Tietje ve ark., 2008). A-582941 ve PNU-120596'ya ait bu faktörlerin hipokampusta etkili olması sonucu uzun süreli bellek açısından etki gösterememiş olabileceği düşünülmektedir.

Sosyal geri çekilme ve motivasyon kaybı gibi semptomlar şizofreninin ana negatif semptomlarındandır (Tandon ve ark., 2009). Negatif semptomların oluşum mekanizması tam olarak bilinmese de bu semptomların oluşumunda frontal korteksin önemli rol oynadığı kabul edilmektedir (Semkovska ve ark., 2001). NMDA reseptör antagonistlerinin kemirgenlerde sosyal geri çekilmeyi de içine alan bozukluklara yol açtığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (Neill ve ark., 2010; Neill ve ark., 2016). Bu çalışmalarda özellikle subkronik NMDA reseptör antagonisti uygulanmasının sosyalliğin göstergeleri olan kemirgenlerin birbirini takip etme, koklama ve üzerine tırmanma davranışlarının azaldığı ve sosyal kaçınma davranışının ise arttığı bildirilmiştir (Kamińska ve Rogóż, 2015; Neill ve ark., 2010). Bu açıdan çalışmamızda subkronik MK-801 uygulanması ile takip etme davranışının azalması, kaçınma davranışının artması literatür ile örtüşmektedir ve oluşturduğumuz modelin negatif semptomlar açısından şizofreni patolojisini yansıtabildiğini de

doğrulamaktadır. Buna rağmen çalışmamızda koklama ve tırmanma davranışlarında literatürdeki bazı çalışmalarda görüldüğü kadar belirgin bir azalma gösterilemedi. α7 nAChR agonist ve PAM'larının şizofreninin negatif semptomları üzerine etkilerine ilişkin çalışma sayısı çok azdır (Pedersen ve ark., 2014; Nikiforuk ve ark., 2016a; Potasiewicz ve ark., 2017b). Bu çalışmalarda α7 nAChR seçici agonistleri olan EVP-6124, TC-5619, GTS-21 ve PAM'ı olan PAM-2'nin şizofreni modeli oluşturulmuş sıçanlarda sosyal semptomlardaki bozuklukları geri çevirdiği gösterilmiştir (Pedersen ve ark., 2014; Potasiewicz ve ark., 2017a). Bizim de bu çalışma kapsamında kullandığımız A-582941, CCMI ve PNU-120596'nın kullandığımız modele benzer bir model olan akut ketamin modelindeki sosyal fonksiyon bozukluklarını geri çevirdiği bildirilmiştir (Nikiforuk ve ark., 2016b). Bu çalışmanın bizim çalışmamızdan kullanılan model dışında en önemli farkı kullanılan maddelerin yalnızca toplam aktif sosyal davranış (takip etme, koklama, yalama, tırmanma) üzerine etkilerinin değerlendirilmiş, kaçınma davranışının ise incelenmemiş olmasıdır. Kaçınma davranışının klinikte görülen sosyal geriçekilme ile ilişkili olduğunun ve literatürde NMDA antagonistleri ile azaldığının gösterilmesinden dolayı bu davranış çalışmamıza dahil edilmiştir (Neill ve ark., 2016). Çalışmamızda uygulanan tüm tedaviler MK-801'in neden olduğu kaçınma davranışındaki artışı geri çevirirken, MK-801 ile azalan takip etme davranışını ise yalnızca A-582941'nın geri çevirebildiği tespit edildi. Şizofreninin negatif semptomlarının glutamaterjik ve GABAerjik ara nöronların aktivasyonlarındaki uyumsuzluğa bağlı olabileceği düşünülmektedir. Glutamaterjik ve GABAerjik nöronlarda eksprese edilen α7 nAChR'lerinin nöromodülatör etki göstererek bu sistemlerinin fonksiyonlarını düzenlediği, böylelikle MK-801 ile oluşturulmuş şizofreni modelinde sosyal bozuklukların geri çevirilmesini sağladıkları düşünülmektedir.

Şizofreni hastalarının hipokampuslarında yapılan çalışmalar toplam nöron sayısında bir değişiklik olmazken GABAerjik ara nöronların yoğunluğunda, GABA sentezinden sorumlu olan GAD enziminin iki izoformu olan GAD65 ve GAD67 ekspresyonlarında ve özellikle parvalbumin içeren ara nöronların yoğunluğunda azalma meydana geldiğini göstermiştir (Benes ve ark., 1998; Heckers ve ark., 2002; Konradi ve ark., 2011; Zhang ve Reynolds, 2002). Benzer şekilde kemirgenlerde akut veya kronik NMDA reseptör antagonisti uygulanmasının insandaki bulgularla

uyumlu olarak hipokampusta parvalbumin, GAD65 ve GAD67 ekspresyonlarında azalmalara neden olduğu gösterilmiştir (Abdul-Monim ve ark., 2007; Braun ve ark., 2007; Jenkins ve ark., 2008; Jenkins ve ark., 2010; Keilhoff ve ark., 2004). Tüm bu bulgular çalışmamızda subkronik MK-801 uygulaması ile hipokampusta meydana gelen parvalbumin ve GAD67 ekspresyonlarındaki azalmanın literatür ile uyumluluğunu göstermektedir. Şizofreninin tekrarlanabilir bulguları arasında kabul edilen parvalbumin ve GAD67 ekspresyonunda azalmanın tespit edilmesi kullandığımız modelin yapısal geçerlilik kriterlerini sağladığını göstermektedir. α7 nAChR kısmi agonistlerinin parvalbumin ve GAD67 üzerine etkileri konusunda literatürde bir fikir birliği bulunmamaktadır. α7 nAChR kısmi agonisti olan SSR180711'in PCP ile oluşturulan şizofreni modelinde bir çalışmada parvalbumin ekspresyonundaki azalmayı geri çevirirken diğer bir çalışmada ise parvalbumin ve GAD67 ekspresyonlarınındaki azalmayı geri çevirilemediği gösterilmiştir (Thomsen ve ark., 2009; Thomsen ve ark., 2010). Şizofreninin tekrarlanabilir bulguları arasında olan parvalbumin ve GAD67 ekspresyonunu üzerine α7 nAChR agonist ve PAM'ları olan A-582941, CCMI, PNU-120596'nın etkileri ise ilk kez çalışmamız ile incelendi. Çalışmamızda MK-801 uygulanması ile hipokampusta GAD67 ekspresyonunun azaldığı, klozapinin bu azalma üzerine etkisinin olmadığı, CCMI'nın ise MK-801'in etkisinin geri çevirilebildiği tespit edildi. Benzer şekilde MK-801 uygulanması ile parvalbumin ekspresyonunun azaldığı, klozapin, CCMI ve PNU-120596'nın ise bu azalmayı geri çevirilebildiği gösterildi. Bu parametreler üzerine kombinasyonların etkileri incelendiğinde ise MK-801'in hem parvalbumin hem GAD67 ekspresyonlarında yaptığı etkiyi A-582941+CCMI ve A-582941+PNU-120596 uygulamalarının geri çevirdiği tespit edildi. A-582941 ve PNU-120596'nın parvalbumin ve GAD67 ekspresyonunda tek başlarına geri çeviremedikleri etkiyi düşük doz kombinasyon şeklinde uygulanmalarında çevirmeleri bu maddelerin birbirlerinin etkilerini güçlendirdiğini düşündürmektedir. α7 nAChR kısmi agonisti A-582941'in MK-801 ile azalan α7 nAChR ekspresyonunu gen düzeyinde artırdığı fakat bunun protein ekspresyonuna yansımadığı görüldü. Gen düzeyindeki artışın proteine yansımamasında hücrede transkripsiyon sonrası faktörlerin etkili olabileceği düşünülmektedir. Bunun yanında tip I PAM olan CCMI'nın MK-801 ile azalan α7 nAChR gen ekspresyononunda artış eğilimi oluşturduğu, α7 nAChR protein

ekspresyonunda ise artış yaptığı tespit edildi. Bulgularımız tip II PAM olan PNU-120596'nın α7 nAChR ekspresyonunu hem gen ve hem de protein düzeyinde artırdığını saptandı. Kombinasyon tedavileri incelendiğinde her iki tedavi yaklaşımının da α7 nAChR'nin hem gen hem protein ekspresyonunu artırdığı tespit edildi. Bu bulgular ayrıca A-582941 ve CCMI'nın birlikte uygulandıklarında birbirlerinin etkisini güçlendirdiğini gösterdi.

Nörobiyolojiden davranışa çalışmamızın bulguları bütüncül bir yaklaşım ile ele alınırsa tip I PAM olan CCMI'nın tek başına veya A-582941 ile birlikte uygulandığında hipokampusta parvalbumin ve GAD67 gen ekspresyonlarını artırma üzerinde en etkili gruplardan biri olduğu görülmektedir. Tek başına uygulanan klozapin, A-582941 ve PNU-120596'nın ise GAD67 ekspresyonunu yeterince düzeltemediği tespit edildi. Bu moleküler bulgular MSTT'nin bellek evresindeki bulgular ile paralellik göstermektedir. MSTT'nin ilk 4 günlük sürecinde gerçekleştirilen öğrenme evresinde klozapin, A-582941, CCMI, PNU-120596 ile A-582941+CCMI ve A-582941+PNU120596 gruplarında düzelmeler sağladı. Buna rağmen sadece CCMI ve A-582941+CCMI grupları MK-801 uygulaması ile oluşan bellek bozukluğunu geri çevirdi. MSTT'nin nörobiyolojik altyapısı incelendiğinde ilk 4 günlük süreçte daha çok frontokortikal bölgenin düzenlemesinde rol oynadığı çalışan belleğin, 5. gün platformun yerini hatırlama değerlendirmesinin ise hipokampus tarafından düzenlenen uzun süreli belleği yansıttığı bilinmektedir (D'Hooge ve De Deyn, 2001). Dolayısı ile çalışmamızda hipokampusta parvalbumin ve GAD67 ekspresyonundaki azalmayı geri çeviren CCMI ve A-582941+CCMI'nın hipokampal düzenleme ile uzun süreli uzamsal bellekte iyileşme oluşturdukları düşünülmektedir. Bunun aksine A-582941+PNU-120596 kombinasyonunun ise GAD67 hasarını düzeltirken uzun süreli uzamsal belleği düzeltemediği görüldü. İlginç olarak klozapinin GAD67 hasarını düzeltememesine rağmen uzun süreli uzamsal bellekte MK-801'in yapmış olduğu bozukluğu geri çevirebildi. Klozapinin bu etkisinin SSS'de afinite gösterdiği reseptör sayısının fazla olması (başta D_2 ve $5HT_2$ olmak üzere) ve atipik etki mekanizması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda kullanılan bir diğer test olan YNTT'nin nörobiyolojik alt yapısı incelendiğinde görsel tanıma belleğinin değerlendirilmesinde kullanılan ve daha çok

beynin peririnal korteks ve hipokampus bölgeleri tarafından kontrol edildiği görülmektedir (Antunes ve Biala, 2012; Cohen ve Stackman Jr, 2015). Bu hipotez kısaca açıklanacak olursa YNTT boyunca nesne tanıma bilgilerinin peririnal kortekste tutulduğu ve test bitiminden itibaren bu bilgilerin belleğe kaydı ve gerektiğinde yeniden erişim için hipokampusa gönderildiği düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar YNTT uygulanan kemirgenlerde bilginin testten 24 saat sonra tamamen hipokampusa aktarıldığını göstermektedir (Antunes ve Biala, 2012). Dolayısıyla YNTT'de iki aynı nesnenin sunulduğu tanıma periyodu ile yeni ve eski nesnelerin sunulduğu test periyodu arasındaki süre peririnal korteks/hipokampus kullanım oranını belirlemesi dolayısıyla bilgiye ulaşım sürecini belirlemesi açısından oldukça önemlidir. Bulgularımız MK-801'in görsel tanıma belleğinde yaptığı bozulmayı klozapin, A-582941 ve PNU-120596'nın geri çevirdiğini, CCMI, A-582941+CCMI ve A-582941+PNU-120596 tedavilerinin ise etkisiz kaldığını göstermektedir. A-582941'in parvalbumin ve GAD67 ekspresyonlarını artıramazken görsel bellek performansındaki bozulmayı düzeltebilmesinin bu maddenin α7 nAChR üzerindeki direk agonistik etkisi, α7 nAChR reseptör ekspresyonunda yaptığı artış veya endojen asetilkolin salımı üzerindeki etkisi ile ilişkili olabileceği düşünülebilir. Seçici α7 nAChR agonisti SSR180711'in de subkronik PCP modelinde parvalbumin ve GAD67 ekspresyonundaki azalmayı düzeltemezken davranış deneylerinde öğrenme ve bellek performansını iyileştirdiği gösterilmiştir (Thomsen ve ark., 2010). Bunun yanında tekrarlanan A-582941 uygulamasının sıçanlarda mediyal prefrontal kortekste asetilkolin salımını artırdığı da gösterilmiştir (Tietje ve ark., 2008). Bu bulgular A-582941'in hipokampusta etkisiz olmasına karşın bilişsel performansta yaptığı etkiyi en azından kısmen açıklayabilmektedir. PNU-120596'nın ise MK-801'in oluşturduğu GAD67 ekspresyonundaki azalmayı geri çevirememesine rağmen görsel bellekteki bozulmayı düzeltmesinde bu maddenin CCMI'ya göre daha güçlü modülatör etkisinin rol oynayabileceği düşünülebilir. Tip I PAM olan CCMI α7 nAChR'de reseptör duyarsızlaşmasını etkilemeden sadece aksiyon potansiyelinin şiddetini değiştirmektedir. Tip II modülatör olan PNU-120596 ise reseptör duyarsızlaşmasını engellemenin yanında aksiyon potansiyelinin hem şiddetini hem süresini artırabilmektedir (Williams ve ark., 2011). Dolayısıyla hipokampustaki az sayıda ara nöronda dahi bu etkisi ile nöronal düzenlemeyi gerçekleştirerek bilişsel

performansı geliştirmiş olabileceği düşünülmektedir. Çalışmamızda MK-801 uygulanması ile parvalbumin ve GAD67 ekspresyonlarında oluşan azalma CCMI, A-582941+CCMI, A-582941+PNU-120596 tedavileri ile anlamlı derecede artırmalarına rağmen YNTT'de performansı yeterince iyileştiremediği görüldü. Moleküler düzeydeki düzelmeye rağmen bunun davranış testine yansımamasının YNTT'de kullandığımız testler arası bekleme süresi ile ilişkili olabileceği düşünülebilir. Çalışmamızda CCMI'yı görsel tanıma belleği üzerinde etkisiz bulmamıza rağmen MK-801 yerine akut ketamin ile oluşturulan önceki çalışmalarda testler arası sürenin 24 saat olması durumunda etkili bulunmuştur (Nikiforuk ve ark., 2016b). Dolayısıyla çalışmamızda testler arasında bırakılan 60 dakikalık sürede görsel bilginin tamamen hipokampusa aktarılamamış olabileceği düşünülebilir. Çalışmamızda çalışan bellek (MSTT öğrenme evresi), orta süreli bellek (YNTT) ve uzun süreli belleğin (MSTT bellek evresi) değerlendirilmesi amaçlandığı için YNTT'de testler arası süre 60 dakika olarak planlandı. Bu nedenle büyük olasılıkla hipokampusta GABAerjik sistem üzerinden bir düzenleme olmasına rağmen hipokampusun bu süreçte aktif olarak kullanılamamasına bağlı olarak MK-801'in görsel tanıma belleğindeki etkisinin geri çevrilemediği düşünülmektedir.

Yukarıda bulguları tartışılan çalışmamızın bazı kısıtlılıkları vardır. Bu kısıtlılıkların başında şizofreninin negatif semptomları için çok kritik olarak kabul edilen ve çalışan bellek başta olmak üzere bilişsel işlevlerin de yürütülmesine katkıda bulunan prefrontal korteksin moleküler analizler ile incelenmemiş olması yer almaktadır. Bu kısıtlılıkların bir sonucu olarak şizofreninin negatif semptomları yalnızca SET ile davranışsal olarak incelenmiş ve bu bölgedeki yapısal değişiklikler ve elde edilen olumlu sonuçların mekanizması hakkında yeterli yorum yapılamadı. Klinikte pozitif semptomları önlemede başarı ile kullanılan klozapinin etkisinin α7 nAChR agonist veya PAM'ları ile karşılaştırmalı olarak incelenmesine rağmen bu maddelerin kombinasyonlarının etkisi incelenmedi. Ayrıca kombinasyon grupları oluşturulurken ilaçların etkisiz olduğu dozlar tespit edilmedi. Kullanılan α7 nAChR agonist ve PAM'larının etkisiz olduğu dozlar literatür bilgileri temel alınarak belirlendi (Potasiewicz ve ark., 2017b).

Yukarıda belirtilen kısıtlılıklara rağmen çalışmamızın bazı sonuçları literatüre katkı sağlar niteliktedir. Bunlardan birincisi subkronik MK-801 modelinde A-582941,

CCMI ve PNU-120596'nın karşılaştırmalı olarak davranış üzerine etkilerinin ilk kez incelenmiş olmasıdır. Özellikle bu maddelerden A-582941 ve CCMI'nın uzamsal öğrenme ve bellek üzerine etkisi ilk kez araştırıldı. İkinci katkısı ise çalışmamızda kullanılan maddelerin şizofreninin tekrarlanabilir bulguları arasında yer alan parvalbumin ve GAD67 üzerine etkisinin ilk kez araştırılmış olmasıdır. Dolayısıyla çalışmamız şizofrenide α7 nAChR agonist ve PAM'larının gerek davranışsal gerekse moleküler açıdan karşılaştırmalı olarak incelenmesini sağladı. Ayrıca bulgularımız α7 nAChR agonist ve PAM'larının kombinasyonlarının tedavide etkinliğinin değerlendirilmesi açısından bundan sonra yapılacak çalışmalara yol gösterebilecek niteliktedir.

Sonuç olarak subkronik MK-801 uygulaması ile sıçanlarda hem davranış testlerinde hem de moleküler analizlerde şizofreni benzeri tablonun ortaya çıkması kullandığımız modelin görsel ve yapısal geçerliliğini göstermektedir. Klinikte antipsikotik tedaviye cevap vermeyen dirençli vakalarda bile etkili bulunan klozapin ile MK-801'in yaptığı etkilerin geri çevirilebilmesi ise modelin öngörüsel geçerliliğini göstermektedir. Dolayısı ile bulgularımız kullanmış olduğumuz MK-801 modelinin görsel, yapısal ve öngörüsel geçerlilik kriterlerini sağlayarak elde edildi. Bu modelde α7 nAChR agonist (A-582941), tip I (CCMI) ve tip II (PNU-120596) PAM'lar ortak olarak α7 nAChR aktivitesini atırmakla birlikte muhtemelen, en azından kısmen farmakolojik etki kalıplarındaki farklılıklara bağlı olarak davranışsal ve moleküler sonuçlarda değişkenliklere neden oldu. Dolayısıyla farklı farmakolojik etki kalıplarının araştırıldığı bu çalışmanın sonuçları şizofreninin tüm semptomlarını baskılayarak ön plana çıkan bir tedavi yaklaşımı öneremektedir. Bununla birlikte A-582941 ve PNU-120596 kısa süreli görsel bellek, CCMI ise uzun süreli uzamsal bellek bozukluklarını düzenlemede ümit vaad etmektedir. Negatif semptomların önlenmesinde ise A-582941 klozapin dahil olmak üzere tüm tedavi yaklaşımlarına üstünlük sağladı (Tablo 8). Bu çalışmanın bulguları α7 nAChR agonist ve PAM'larının ve bu maddelerin kombinasyonlarının şizofreninin negatif ve bilişsel semptomları için araştırılmaya değer olduğunu ve dolayısıyla mevcut tedavinin yetersiz kaldığı semptomlar açısından ümit vaad ettiğini göstermektedir.

Tablo 8. Çalışma bulgularının özeti

	MK-801	Klozapin	A-582941	CCMI	PNU-120596	A-582941+ CCMI	A-582941+ PNU-120596
ÖUAİ	↓	↑	–	–	–	–	–
YNTT	↓	↑	↑	–	↑	–	–
MSTT Öğrenme	↓	↑	↑	↑	↑	↑	↑
MSTT Bellek	↓	↑	–	↑	–	↑	–
SET	↓	↑	↑↑	↑	↑	↑	↑
Parvalbumin	↓	↑	–	↑	↑	↑	↑
GAD67	↓	–	–	↑	–	↑	↑
α7 nAChR (Gen/Protein)	↓/↓	↑/↑	↑/–	–/↑	↑/↑	↑/↑	↑/↑

8. KAYNAKLAR

Abdul-Monim Z, Neill JC, Reynolds GP. Sub-chronic psychotomimetic phencyclidine induces deficits in reversal learning and alterations in parvalbumin-immunoreactive expression in the rat. J Psychopharmacol. 2007;21:198-205.

Abi-Dargham A, Laruelle M. Mechanisms of action of second generation antipsychotic drugs in schizophrenia: insights from brain imaging studies. Eur Psychiatry. 2005;20:15-27.

Abi-Dargham A. Alterations of serotonin transmission in schizophrenia. Int Rev Neurobiol. 2007;78:133-164.

Addington J, Addington D. Facial affect recognition and information processing in schizophrenia and bipolar disorder. Schizophr Res. 1998;32:171-181.

Agid O, Kapur S, Remington G. Emerging drugs for schizophrenia. Expert Opin Emerg Drugs. 2008;13:479-495.

Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, Rogers SW. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. Physiol Rev. 2009;89:73-120.

Aleman A, Kahn RS, Selten J-P. Sex differences in the risk of schizophrenia: evidence from meta-analysis. Arch Gen Psychiatry. 2003;60:565-571.

Altamura AC, Pozzoli S, Fiorentini A, Dell'osso B. Neurodevelopment and inflammatory patterns in schizophrenia in relation to pathophysiology. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2013;42:63-70.

Amitai N, Markou A. Increased impulsivity and disrupted attention induced by repeated phencyclidine are not attenuated by chronic quetiapine treatment. Pharmacol Biochem Behav. 2009;93:248-257.

Antonova E, Sharma T, Morris R, Kumari V. The relationship between brain structure and neurocognition in schizophrenia: a selective review. Schizophr Res. 2004;70:117-145.

Antunes M, Biala G. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications. Cogn Process. 2012;13:93-110.

Aricioglu F, Ozkartal CS, Unal G, Dursun S, Cetin M, Muller N. Neuroinflammation in schizophrenia: a critical review and the future. Bull Clin Psychopharmacol. 2016;26:429-437.

Arnsten AF, Girgis RR, Gray DL, Mailman RB. Novel dopamine therapeutics for cognitive deficits in schizophrenia. Biol Psychiatry. 2017;81:67-77.

Arnsten AF, Wang MJ, Paspalas CD. Neuromodulation of thought: flexibilities and vulnerabilities in prefrontal cortical network synapses. Neuron. 2012;76:223-239.

Ashcroft G, Crawford T, Eccleston D, Sharman D, Macdougall E, Stanton J, Binns J. 5-Hydroxyindole compounds in the cerebrospinal fluid of patients with psychiatric or neurological diseases. The Lancet. 1966;288:1049-1052.

Aubry J-M, Schwald M, Ballmann E, Karege F. Early effects of mood stabilizers on the Akt/GSK-3β signaling pathway and on cell survival and proliferation. Psychopharmacol. 2009;205:419-429.

Bakshi VP, Swerdlow NR, Geyer MA. Clozapine antagonizes phencyclidine-induced deficits in sensorimotor gating of the startle response. J Pharmacol Exp Ther. 1994;271:787-794.

Balu DT, Li Y, Takagi S, Presti KT, Ramikie TS, Rook JM, Jones CK, Lindsley CW, Conn PJ, Bolshakov VY. An mGlu5-positive allosteric modulator rescues the neuroplasticity deficits in a genetic model of NMDA receptor hypofunction in schizophrenia. Neuropsychopharmacol. 2016;41:2052-2061.

Beaulieu JM, Gainetdinov RR, Caron MG. Akt/GSK3 signaling in the action of psychotropic drugs. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2009;49:327-347.

Benes FM, Kwok EW, Vincent SL, Todtenkopf MS. A reduction of nonpyramidal cells in sector CA2 of schizophrenics and manic depressives. Biol Psychiatry. 1998;44:88-97.

Bevins RA, Besheer J. Object recognition in rats and mice: a one-trial non-matching-to-sample learning task to study 'recognition memory'. Nat Protoc. 2006;1:1306-1311.

Bhugra D. Migration and mental health. Acta Psychiatr Scand. 2004;109:243-258.

Bitner RS, Bunnelle WH, Anderson DJ, Briggs CA, Buccafusco J, Curzon P, Decker MW, Frost JM, Gronlien JH, Gubbins E, Li J, Malysz J, Markosyan S, Marsh K, Meyer MD, Nikkel AL, Radek RJ, Robb HM, Timmermann D, Sullivan JP, Gopalakrishnan M. Broad-spectrum efficacy across cognitive domains by alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonism correlates with activation of ERK1/2 and CREB phosphorylation pathways. J Neurosci. 2007;27:10578-10587.

Bloem B, Poorthuis RB, Mansvelder HD. Cholinergic modulation of the medial prefrontal cortex: the role of nicotinic receptors in attention and regulation of neuronal activity. Front Neural circuits. 2014;8:1-16

Bodick NC, Offen WW, Levey AI, Cutler NR, Gauthier SG, Satlin A, Shannon HE, Tollefson GD, Rasmussen K, Bymaster FP. Effects of xanomeline, a selective muscarinic receptor agonist, on cognitive function and behavioral symptoms in Alzheimer disease. Arch Neurol. 1997;54:465-473.

Boydell J, van Os J, McKenzie K, Allardyce J, Goel R, McCreadie RG, Murray RM. Incidence of schizophrenia in ethnic minorities in London: ecological study into interactions with environment. BMJ. 2001;323:1336-1338.

Brandon NJ, Millar JK, Korth C, Sive H, Singh KK, Sawa A. Understanding the role of DISC1 in psychiatric disease and during normal development. J Neurosci. 2009;29:12768-12775.

Braun I, Genius J, Grunze H, Bender A, Moller HJ, Rujescu D. Alterations of hippocampal and prefrontal GABAergic interneurons in an animal model of psychosis induced by NMDA receptor antagonism. Schizophr Res. 2007;97:254-263.

Breese CR, Adams C, Logel J, Drebing C, Rollins Y, Barnhart M, Sullivan B, DeMasters BK, Freedman R, Leonard S. Comparison of the regional expression of

nicotinic acetylcholine receptor alpha7 mRNA and [125I]-alpha-bungarotoxin binding in human postmortem brain. J Comp Neurol. 1997;387:385-398.

Brekke JS, Long JD, Nesbitt N, Sobel E. The impact of service characteristics on functional outcomes from community support programs for persons with schizophrenia: A growth curve analysis. J Consul Clin Psychol. 1997;65:464-475.

Brisch R, Saniotis A, Wolf R, Bielau H, Bernstein H-G, Steiner J, Bogerts B, Braun K, Jankowski Z, Kumaratilake J. The role of dopamine in schizophrenia from a neurobiological and evolutionary perspective: old fashioned, but still in vogue. Front Psychiatry. 2014;5:1-11.

Brown AS, Cohen P, Harkavy-Friedman J, Babulas V, Malaspina D, Gorman JM, Susser ES. Prenatal rubella, premorbid abnormalities, and adult schizophrenia. Biol Psychiatry. 2001;49:473-486.

Brown AS, Schaefer CA, Quesenberry Jr CP, Liu L, Babulas VP, Susser ES. Maternal exposure to toxoplasmosis and risk of schizophrenia in adult offspring. Am J Psychiatry. 2005;162:767-773.

Bubser M, Keseberg U, Notz PK, Schmidt WJ. Differential behavioural and neurochemical effects of competitive and non-competitive NMDA receptor antagonists in rats. Eur J Pharmacol. 1992;229:75-82.

Buchanan RW, Javitt DC, Marder SR, Schooler NR, Gold JM, McMahon RP, Heresco-Levy U, Carpenter WT. The Cognitive and Negative Symptoms in Schizophrenia Trial (CONSIST): the efficacy of glutamatergic agents for negative symptoms and cognitive impairments. Am J Psychiatry. 2007;164:1593-1602.

Bullock WM, Bolognani F, Botta P, Valenzuela CF, Perrone-Bizzozero NI. Schizophrenia-like GABAergic gene expression deficits in cerebellar Golgi cells from rats chronically exposed to low-dose phencyclidine. Neurochem Int. 2009;55:775-782.

Calkins ME, Iacono WG. Eye movement dysfunction in schizophrenia: a heritable characteristic for enhancing phenotype definition. Am J Med Genet. 2000;97:72-76.

Callahan PM, Hutchings EJ, Kille NJ, Chapman JM, Terry AV, Jr. Positive allosteric modulator of alpha7 nicotinic-acetylcholine receptors, PNU-120596 augments the effects of donepezil on learning and memory in aged rodents and non-human primates. Neuropharmacol. 2013;67:201-212.

Callahan PM, Terry Jr AV, Tehim A. Effects of the nicotinic α7 receptor partial agonist GTS-21 on NMDA-glutamatergic receptor related deficits in sensorimotor gating and recognition memory in rats. Psychopharmacol. 2014;231:3695-3706.

Cannon CE, Puri V, Vivian JA, Egbertson MS, Eddins D, Uslaner JM. The nicotinic alpha7 receptor agonist GTS-21 improves cognitive performance in ketamine impaired rhesus monkeys. Neuropharmacol. 2013;64:191-196.

Cantor-Graae E, Selten JP. Schizophrenia and migration: a meta-analysis and review. Am J Psychiatry. 2005;162:12-24.

Carlsson A, Carlsson ML. A dopaminergic deficit hypothesis of schizophrenia: the path to discovery. Dialogues Clin Neurosci. 2006;8:137142.

Carlsson A. Antipsychotic drugs, neurotransmitters, and schizophrenia. Am J Psychiatry. 1978;135:164-173.

Carlsson A. Does dopamine play a role in schizophrenia? Psychol Med. 1977;7:583-597.

Castner SA, Williams GV, Goldman-Rakic PS. Reversal of antipsychotic-induced working memory deficits by short-term dopamine D1 receptor stimulation. Science. 2000;287:2020-2022.

Cattabeni F, Abbracchio MP, Cimino M, Cocchi D, Di Luca M, Mennuni L, Rosi F, Zaratin P. Methylazoxymethanol-induced microencephaly: persistent increase of cortical somatostatin-like immunoreactivity. Brain Res Dev Brain Res. 1989;47:156-159.

Cattabeni F, Di Luca M. Developmental models of brain dysfunctions induced by targeted cellular ablations with methylazoxymethanol. Physiol Rev. 1997;77:199-215.

Chambers RA, Moore J, McEvoy JP, Levin ED. Cognitive effects of neonatal hippocampal lesions in a rat model of schizophrenia. Neuropsychopharmacol. 1996;15:587-594.

Chan MH, Chiu PH, Lin CY, Chen HH. Inhibition of glycogen synthase kinase-3 attenuates psychotomimetic effects of ketamine. Schizophr Res. 2012;136:96-103.

Chang L, Friedman J, Ernst T, Zhong K, Tsopelas ND, Davis K. Brain metabolite abnormalities in the white matter of elderly schizophrenic subjects: implication for glial dysfunction. Biol Psychiatry. 2007;62:1396-1404.

Chen YW, Lai WS. Behavioral phenotyping of v-akt murine thymoma viral oncogene homolog 1-deficient mice reveals a sex-specific prepulse inhibition deficit in females that can be partially alleviated by glycogen synthase kinase-3 inhibitors but not by antipsychotics. Neurosci. 2011;174:178-189.

Choy KHC, Shackleford DM, Malone DT, Mistry SN, Patil RT, Scammells PJ, Langmead CJ, Pantelis C, Sexton PM, Lane JR, Christopoulos A. Positive allosteric modulation of the muscarinic M1 receptor improves efficacy of antipsychotics in mouse glutamatergic deficit models of behavior. J Pharmacol Exp Ther. 2016;359:354-365.

Chubb JE, Bradshaw NJ, Soares DC, Porteous DJ, Millar JK. The DISC locus in psychiatric illness. Mol Psychiatry. 2008;13:36-64.

Clapcote SJ, Lipina TV, Millar JK, Mackie S, Christie S, Ogawa F, Lerch JP, Trimble K, Uchiyama M, Sakuraba Y, Kaneda H, Shiroishi T, Houslay MD, Henkelman RM, Sled JG, Gondo Y, Porteous DJ, Roder JC. Behavioral phenotypes of Disc1 missense mutations in mice. Neuron. 2007;54:387-402.

Clarke P, Schwartz RD, Paul SM, Pert CB, Pert A. Nicotinic binding in rat brain: autoradiographic comparison of [3H] acetylcholine,[3H] nicotine, and [125I]-alpha-bungarotoxin. J Neurosci. 1985;5:1307-1315.

Court J, Clementi F. Distribution of nicotinic subtypes in human brain. Alzheimer Dis Assoc Disord 1995;9:6-14.

Cohen BD, Rosenbaum G, Luby ED, Gottlieb JS. Comparison of phencyclidine hydrochloride (Sernyl) with other drugs. Simulation of schizophrenic performance with phencyclidine hydrochloride (Sernyl), lysergic acid diethylamide (LSD-25), and amobarbital (Amytal) sodium; II. Symbolic and sequential thinking. Arch Gen Psychiatry. 1962;6:395-401.

Cohen SJ, Stackman Jr RW. Assessing rodent hippocampal involvement in the novel object recognition task. A review. Behav Brain Res. 2015;285:105-117.

Cosgrove J, Newell TG. Recovery of neuropsychological functions during reduction in use of phencyclidine. J Clin Psychol. 1991;47:159-169.

Court JA, Martin-Ruiz C, Graham A, Perry E. Nicotinic receptors in human brain: topography and pathology. J Chem Neuroanat. 2000;20:281-298.

Coyle JT, Tsai G, Goff D. Converging evidence of NMDA receptor hypofunction in the pathophysiology of schizophrenia. Ann N Y Acad Sci. 2003;1003:318-327.

Coyle JT. Glutamate and schizophrenia: beyond the dopamine hypothesis. Cell Mol Neurobiol. 2006;26:363-382.

D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. Brain Res Brain Res Rev. 2001;36:60-90.

Dalman C, Allebeck P, Gunnell D, Harrison G, Kristensson K, Lewis G, Lofving S, Rasmussen F, Wicks S, Karlsson H. Infections in the CNS during childhood and the risk of subsequent psychotic illness: a cohort study of more than one million Swedish subjects. Am J Psychiatry. 2008;165:59-65.

Dani JA, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors and nicotinic cholinergic mechanisms of the central nervous system. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2007;47:699-729.

Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: a neuroimmune response to activation of innate immunity. Eur J Pharmacol. 2004;500:399-411.

Dash PK, Zhao J, Kobori N, Redell JB, Hylin MJ, Hood KN, Moore AN. Activation of alpha 7 cholinergic nicotinic receptors reduce blood–brain barrier permeability following experimental traumatic brain injury. J Neurosci. 2016;36:2809-2818.

Davidson LL, Heinrichs RW. Quantification of frontal and temporal lobe brain-imaging findings in schizophrenia: a meta-analysis. Psychiatry Res. 2003;122:69-87.

Davis KL, Kahn RS. Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. Am J Psychiatry. 1991;148:1474-1486.

Davis RE, Correll CU. ITI-007 in the treatment of schizophrenia: from novel pharmacology to clinical outcomes. Expert Rev Neurother. 2016;16:601-614.

Dealberto M. Why are immigrants at increased risk for psychosis? Vitamin D insufficiency, epigenetic mechanisms, or both? Med Hypotheses. 2007;68:259-267.

Dean B, McLeod M, Keriakous D, McKenzie J, Scarr E. Decreased muscarinic1 receptors in the dorsolateral prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. Mol Psychiatry. 2002;7:1083.

Degenhardt L, Hall W. Is cannabis use a contributory cause of psychosis? The Can J Psychiatry. 2006;51:556-565.

Den Boer J, Vahlne JO, Post P, Heck A, Daubenton F, Olbrich R. Ritanserin as add-on medication to neuroleptic therapy for patients with chronic or subchronic schizophrenia. Hum Psychopharmacol. 2000;15:179-189.

Desbonnet L, Waddington JL, O'Tuathaigh CM. Mutant models for genes associated with schizophrenia. Biochem Soc Trans. 2009;37:308-312.

Dickerson F, Boronow JJ, Ringel N, Parente F. Social functioning and neurocognitive deficits in outpatients with schizophrenia: a 2-year follow-up. Schizophr Res. 1999;37:13-20.

Didriksen M, Skarsfeldt T, Arnt J. Reversal of PCP-induced learning and memory deficits in the Morris' water maze by sertindole and other antipsychotics. Psychopharmacol. 2007;193:225-233.

Duan J, Martinez M, Sanders AR, Hou C, Burrell GJ, Krasner AJ, Schwartz DB, Gejman PV. DTNBP1 (Dystrobrevin binding protein 1) and schizophrenia: association evidence in the 3' end of the gene. Hum Hered. 2007;64:97-106.

Edwards J, Pattison PE, Jackson HJ, Wales RJ. Facial affect and affective prosody recognition in first-episode schizophrenia. Schizophr Res. 2001;48:235-253.

Egerton A, Reid L, McKerchar CE, Morris BJ, Pratt JA. Impairment in perceptual attentional set-shifting following PCP administration: a rodent model of set-shifting deficits in schizophrenia. Psychopharmacol. 2005;179:77-84.

Emamian ES, Hall D, Birnbaum MJ, Karayiorgou M, Gogos JA. Convergent evidence for impaired AKT1-GSK3β signaling in schizophrenia. Nat Genet. 2004;36:131-137.

Embi N, Rylatt DB, Cohen P. Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle. Eur J Biochem. 1980;107:519-527.

Endo K, Hori T, Abe S, Asada T. Alterations in GABA(A) receptor expression in neonatal ventral hippocampal lesioned rats: comparison of prepubertal and postpubertal periods. Synapse. 2007;61:357-366.

Engel M, Snikeris P, Matosin N, Newell KA, Huang X-F, Frank E. mGluR2/3 agonist LY379268 rescues NMDA and GABAA receptor level deficits induced in a two-hit mouse model of schizophrenia. Psychopharmacol. 2016;233:1349-1359.

Evans JD, Heaton RK, Paulsen JS, Palmer BW, Patterson T, Jeste DV. The relationship of neuropsychological abilities to specific domains of functional capacity in older schizophrenia patients. Biol Psychiatry. 2003;53:422-430.

Fabian-Fine R, Skehel P, Errington ML, Davies HA, Sher E, Stewart MG, Fine A. Ultrastructural distribution of the α7 nicotinic acetylcholine receptor subunit in rat hippocampus. J Neurosci. 2001;21:7993-8003.

Featherstone R, Kapur S, Fletcher P. The amphetamine-induced sensitized state as a model of schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2007;31:1556-1571.

Featherstone RE, Rizos Z, Kapur S, Fletcher PJ. A sensitizing regimen of amphetamine that disrupts attentional set-shifting does not disrupt working or long-term memory. Behav Brain Res. 2008;189:170-179.

Feigenson KA, Kusnecov AW, Silverstein SM. Inflammation and the two-hit hypothesis of schizophrenia. Neurosci Biobehav Rev. 2014;38:72-93.

Fellner C. New schizophrenia treatments address unmet clinical needs. PT. 2017;42:130-134.

Flagstad P, Mork A, Glenthoj BY, van Beek J, Michael-Titus AT, Didriksen M. Disruption of neurogenesis on gestational day 17 in the rat causes behavioral changes relevant to positive and negative schizophrenia symptoms and alters amphetamine-induced dopamine release in nucleus accumbens. Neuropsychopharmacol. 2004;29:2052-2064.

Fletcher PJ, Tenn CC, Rizos Z, Lovic V, Kapur S. Sensitization to amphetamine, but not PCP, impairs attentional set shifting: reversal by a D1 receptor agonist injected into the medial prefrontal cortex. Psychopharmacol. 2005;183:190-200.

Freedman R, Olincy A, Buchanan RW, Harris JG, Gold JM, Johnson L, Allensworth D, Guzman-Bonilla A, Clement B, Ball MP. Initial phase 2 trial of a nicotinic agonist in schizophrenia. Am J Psychiatry. 2008;165:1040-1047.

Freedman R. α7-nicotinic acetylcholine receptor agonists for cognitive enhancement in schizophrenia. Annu Rev Med. 2014;65:245-261.

Freitas K, Carroll FI, Damaj MI. The antinociceptive effects of nicotinic receptors α7-positive allosteric modulators in murine acute and tonic pain models. J Pharmacol Exp Ther. 2013a;344:264-275.

Freitas K, Negus S, Carroll F, Damaj M. In vivo pharmacological interactions between a type II positive allosteric modulator of α7 nicotinic ACh receptors and nicotinic agonists in a murine tonic pain model. Br J Pharmacol. 2013b;169:567-579.

Fusar-Poli P, Perez J, Broome M, Borgwardt S, Placentino A, Caverzasi E, Cortesi M, Veggiotti P, Politi P, Barale F. Neurofunctional correlates of vulnerability to psychosis: a systematic review and meta-analysis. Neurosci Biobehav Rev. 2007;31:465-484.

Gaebel W, Wolwer W. Facial expression and emotional face recognition in schizophrenia and depression. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 1992;242:46-52.

Gee KW, Olincy A, Kanner R, Johnson L, Hogenkamp D, Harris J, Tran M, Edmonds SA, Sauer W, Yoshimura R. First in human trial of a type I positive allosteric modulator of alpha7-nicotinic acetylcholine receptors: Pharmacokinetics, safety, and evidence for neurocognitive effect of AVL-3288. J Psychopharmacol. 2017;31:434-441.

George MS, Molnar CE, Grenesko EL, Anderson B, Mu Q, Johnson K, Nahas Z, Knable M, Fernandes P, Juncos J. A single 20 mg dose of dihydrexidine (DAR-0100), a full dopamine D 1 agonist, is safe and tolerated in patients with schizophrenia. Schizophr Res. 2007;93:42-50.

Geyer MA. The family of sensorimotor gating disorders: comorbidities or diagnostic overlaps? Neurotox Res. 2006;10:211-220.

Girgis RR, Kumar SS, Brown AS. The cytokine model of schizophrenia: emerging therapeutic strategies. Biol Psychiatry. 2014;75:292-299.

Girgis RR, Van Snellenberg JX, Glass A, Kegeles LS, Thompson JL, Wall M, Cho RY, Carter CS, Slifstein M, Abi-Dargham A. A proof-of-concept, randomized controlled trial of DAR-0100A, a dopamine-1 receptor agonist, for cognitive enhancement in schizophrenia. J Psychopharmacol. 2016;30:428-435.

Goff DC, Coyle JT. The emerging role of glutamate in the pathophysiology and treatment of schizophrenia. Am J Psychiatry. 2001;158:1367-1377.

Goff DC, Lamberti S, Leon AC, Green MF, Miller AL, Patel J, Manschreck T, Freudenreich O, Johnson SA. A placebo-controlled add-on trial of the Ampakine, CX516, for cognitive deficits in schizophrenia. Neuropsychopharmacol. 2008;33:465-472.

Gold JM, Goldberg RW, McNary SW, Dixon LB, Lehman AF. Cognitive correlates of job tenure among patients with severe mental illness. Am J Psychiatry. 2002;159:1395-1402.

Goldberg TE, Ragland JD, Torrey EF, Gold JM, Bigelow LB, Weinberger DR. Neuropsychological assessment of monozygotic twins discordant for schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 1990;47:1066-1072.

Gopalakrishna G, Ithman MH, Lauriello J. Update on new and emerging treatments for schizophrenia. Psychiatric Clinics. 2016;39:217-238.

Gopalakrishnan M, Buisson B, Touma E, Giordano T, Campbell JE, Hu IC, Gopalakrishnan M, Buisson B, Touma E, Giordano T, Campbell JE, Hu IC, Donnelly-Roberts D, Arneric SP, Bertrand D, Sullivan JP. Stable expression and pharmacological properties of the human α7 nicotinic acetylcholine receptor. Eur J Pharmacol Mol Pharmacol. 1995;290:237-246.

Gottesman II, McGuffin P, Farmer AE. Clinical genetics as clues to the “real” genetics of schizophrenia (a decade of modest gains while playing for time). Schizophr Bull. 1987;13:23-48.

Gotti C, Moretti M, Gaimarri A, Zanardi A, Clementi F, Zoli M. Heterogeneity and complexity of native brain nicotinic receptors. Biochem Pharmacol. 2007;74:1102-1111.

Gourevitch R, Rocher C, Le Pen G, Krebs MO, Jay TM. Working memory deficits in adult rats after prenatal disruption of neurogenesis. Behav Pharmacol. 2004;15:287-292.

Grace A. Phasic versus tonic dopamine release and the modulation of dopamine system responsivity: a hypothesis for the etiology of schizophrenia. Neurosci. 1991;41:1-24.

Grace AA. Dysregulation of the dopamine system in the pathophysiology of schizophrenia and depression. Nat Rev Neurosci. 2016;17:524-532.

Green MF, Nuechterlein KH, Gold JM, Barch DM, Cohen J, Essock S, Fenton WS, Frese F, Goldberg TE, Heaton RK, Keefe RS, Kern RS, Kraemer H, Stover E, Weinberger DR, Zalcman S, Marder SR. Approaching a consensus cognitive battery for clinical trials in schizophrenia: the NIMH-MATRICS conference to select cognitive domains and test criteria. Biol Psychiatry. 2004;56:301-307.

Green MF. What are the functional consequences of neurocognitive deficits in schizophrenia? Am J Psychiatry. 1996;153:321.

Gross G, Wicke K, Drescher KU. Dopamine D3 receptor antagonism—still a therapeutic option for the treatment of schizophrenia. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. 2013;386:155-166.

Gründer G, Siessmeier T, Piel M, Vernaleken I, Buchholz H-G, Zhou Y, Hiemke C, Wong DF, Rösch F, Bartenstein P. Quantification of D2-like dopamine receptors in the human brain with 18F-desmethoxyfallypride. J Nucl Med. 2003;44:109-116.

Gu W, Zhang W, Lei Y, Cui Y, Chu S, Gu X, Ma Z. Activation of spinal alpha-7 nicotinic acetylcholine receptor shortens the duration of remifentanil-induced postoperative hyperalgesia by upregulating KCC2 in the spinal dorsal horn in rats. Mol Pain. 2017;13:1744806917704769.

Gu Z, Jiang Q, Fu AK, Ip NY, Yan Z. Regulation of NMDA receptors by neuregulin signaling in prefrontal cortex. J Neurosci. 2005;25:4974-4984.

Gubbins EJ, Gopalakrishnan M, Li J. α7 nAChR-mediated activation of MAP kinase pathways in PC12 cells. Brain Res. 2010;1328:1-11.

Guerra-Álvarez M, Moreno-Ortega AJ, Navarro E, Fernández-Morales JC, Egea J, López MG, Cano-Abad MF. Positive allosteric modulation of alpha-7 nicotinic receptors promotes cell death by inducing Ca2+ release from the endoplasmic reticulum. J Neurochem. 2015;133:309-319.

Guillin O, Abi-Dargham A, Laruelle M. Neurobiology of dopamine in schizophrenia. Int Rev Neurobiol. 2007;78:1-39.

Gurevich EV, Bordelon Y, Shapiro RM, Arnold SE, Gur RE, Joyce JN. Mesolimbic dopamine D3 receptors and use of antipsychotics in patients with schizophrenia: a postmortem study. Arch Gen Psychiatry. 1997;54:225-232.

Haig GM, Bain EE, Robieson WZ, Baker JD, Othman AA. A randomized trial to assess the efficacy and safety of ABT-126, a selective α7 nicotinic acetylcholine receptor agonist, in the treatment of cognitive impairment in schizophrenia. Am J Psychiatry. 2016;173:827-835.

Hampson RE, Rogers G, Lynch G, Deadwyler SA. Facilitative effects of the ampakine CX516 on short-term memory in rats: enhancement of delayed-nonmatch-to-sample performance. J Neurosci. 1998;18:2740-2747.

Han ZY, Zoli M, Cardona A, Bourgeois JP, Changeux JP, Le Novère N. Localization of [3H] nicotine,[3H] cytisine,[3H] epibatidine, and [125I] α-bungarotoxin binding sites in the brain of Macaca mulatta. J Comp Neurol. 2003;461:49-60.

Hänninen K, Katila H, Saarela M, Rontu R, Mattila KM, Fan M, Hurme M, Lehtimäki T. Interleukin-1 beta gene polymorphism and its interactions with neuregulin-1 gene polymorphism are associated with schizophrenia. Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci. 2007;258:10-15.

Harrison PJ, Law AJ, Eastwood SL. Glutamate receptors and transporters in the hippocampus in schizophrenia. Ann N Y Acad Sci. 2003;1003:94-101.

Hashimoto K. Targeting of α7 nicotinic acetylcholine receptors in the treatment of schizophrenia and the use of auditory sensory gating as a translational biomarker. Curr Pharm Des. 2015;21:3797-3806.

Hazane F, Krebs MO, Jay TM, Le Pen G. Behavioral perturbations after prenatal neurogenesis disturbance in female rat. Neurotox Res. 2009;15:311-320.

Heckers S, Konradi C. GABAergic mechanisms of hippocampal hyperactivity in schizophrenia. Schizophr Res. 2015;167:4-11.

Heckers S, Stone D, Walsh J, Shick J, Koul P, Benes FM. Differential hippocampal expression of glutamic acid decarboxylase 65 and 67 messenger RNA in bipolar disorder and schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2002;59:521-529.

Heckman P, Blokland A, Ramaekers J, Prickaerts J. PDE and cognitive processing: beyond the memory domain. Neurobiol Learn Mem. 2015;119:108-122.

Hefft S, Hulo S, Bertrand D, Muller D. Synaptic transmission at nicotinic acetylcholine receptors in rat hippocampal organotypic cultures and slices. J Physiol. 1999;515:769-776.

Hegedűs N, Laszy J, Gyertyán I, Kocsis P, Gajári D, Dávid S, Deli L, Pozsgay Z, Tihanyi K. Scopolamine provocation-based pharmacological MRI model for testing procognitive agents. J Psychopharmacol. 2015;29:447-455.

Hikida T, Jaaro-Peled H, Seshadri S, Oishi K, Hookway C, Kong S, Wu D, Xue R, Andradé M, Tankou S. Dominant-negative DISC1 transgenic mice display schizophrenia-associated phenotypes detected by measures translatable to humans. Proc Nat Acad Sci USA. 2007;104:14501-14506.

Holzman PS, Kringlen E, Matthysse S, Flanagan SD, Lipton RB, Cramer G, Levin S, Lange K, Levy DL. A single dominant gene can account for eye tracking

dysfunctions and schizophrenia in offspring of discordant twins. Arch Gen Psychiatry. 1988;45:641-647.

Honea R, Crow TJ, Passingham D, Mackay CE. Regional deficits in brain volume in schizophrenia: a meta-analysis of voxel-based morphometry studies. Am J Psychiatry. 2005;162:2233-2245.

Hong LE, Tagamets M, Avila M, Wonodi I, Holcomb H, Thaker GK. Specific motion processing pathway deficit during eye tracking in schizophrenia: a performance-matched functional magnetic resonance imaging study. Biol Psychiatry. 2005;57:726-732.

Hu G, Duffy P, Swanson C, Ghasemzadeh MB, Kalivas PW. The regulation of dopamine transmission by metabotropic glutamate receptors. J Pharm Exp Ther. 1999;289:412-416.

Hurst R, Rollema H, Bertrand D. Nicotinic acetylcholine receptors: from basic science to therapeutics. Pharmacol Ther. 2013;137:22-54.

Hurst RS, Hajos M, Raggenbass M, Wall TM, Higdon NR, Lawson JA, Rutherford-Root KL, Berkenpas MB, Hoffmann WE, Piotrowski DW, Groppi VE, Allaman G, Ogier R, Bertrand S, Bertrand D, Arneric SP. A novel positive allosteric modulator of the alpha7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor: in vitro and in vivo characterization. J Neurosci. 2005;25:4396-4405.

Hutton SB, Ettinger U. The antisaccade task as a research tool in psychopathology: a critical review. Psychophysiol. 2006;43:302-313.

Idänpään-Heikkilä J, Alhava E, Olkinuora M, Palva I. Clozapine and agranulocytosis. The Lancet. 1975;2:611.

Janhunen S, Svärd H, Talpos J, Kumar G, Steckler T, Plath N, Lerdrup L, Ruby T, Haman M, Wyler R. The subchronic phencyclidine rat model: relevance for the assessment of novel therapeutics for cognitive impairment associated with schizophrenia. Psychopharmacol. 2015;232:4059-4083.

Janoutová J, Janáčková P, Šerý O, Zeman T, Ambroz P, Kovalová M, Vařechová K, Hosák L, Jiřík V, Janout V. Epidemiology and risk factors of schizophrenia. Neuro Endocrinol Lett. 2016;37:1-8.

Jarskog LF, Miyamoto S, Lieberman JA. Schizophrenia: new pathological insights and therapies. Annu Rev Med. 2007;58:49-61.

Javitt DC, Spencer KM, Thaker GK, Winterer G, Hajós M. Neurophysiological biomarkers for drug development in schizophrenia. Nat Rev Drug Discov. 2008;7:68-83.

Javitt DC, Zukin SR. Recent advances in the phencyclidine model of schizophrenia. Am J Psychiatry. 1991;148:1301-1308.

Jenkins TA, Harte MK, McKibben CE, Elliott JJ, Reynolds GP. Disturbances in social interaction occur along with pathophysiological deficits following sub-chronic phencyclidine administration in the rat. Behav Brain Res. 2008;194:230-235.

Jenkins TA, Harte MK, Reynolds GP. Effect of subchronic phencyclidine administration on sucrose preference and hippocampal parvalbumin immunoreactivity in the rat. Neurosci Lett. 2010;471:144-147.

Jentsch JD, Taylor JR, Roth RH. Subchronic phencyclidine administration increases mesolimbic dopaminergic system responsivity and augments stress- and psychostimulant-induced hyperlocomotion. Neuropsychopharmacol. 1998;19:105-113.

Jentsch JD, Tran A, Le D, Youngren KD, Roth RH. Subchronic phencyclidine administration reduces mesoprefrontal dopamine utilization and impairs prefrontal cortical-dependent cognition in the rat. Neuropsychopharmacol. 1997;17:92-99.

Jones CA, Watson DJ, Fone KC. Animal models of schizophrenia. Br J Pharmacol. 2011;164:1162-1194.

Jones IW, Wonnacott S. Precise localization of α7 nicotinic acetylcholine receptors on glutamatergic axon terminals in the rat ventral tegmental area. J Neurosci. 2004;24:11244-11252.

Jones KM, McDonald IM, Bourin C, Olson RE, Bristow LJ, Easton A. Effect of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonists on attentional set-shifting impairment in rats. Psychopharmacol (Berl). 2014;231:673-683.

Jonge W, Ulloa L. The alpha7 nicotinic acetylcholine receptor as a pharmacological target for inflammation. Br J Pharmacol. 2007;151:915-929.

Joyce JN, Millan MJ. Dopamine D 3 receptor antagonists as therapeutic agents. Drug Discov Today. 2005;10:917-925.

Kalinichev M, Robbins MJ, Hartfield EM, Maycox PR, Moore SH, Savage KM, Austin NE, Jones DN. Comparison between intraperitoneal and subcutaneous phencyclidine administration in Sprague–Dawley rats: a locomotor activity and gene induction study. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2008;32:414-422.

Kaminska K, Rogoz Z. The effect of combined treatment with risperidone and antidepressants on the MK-801-induced deficits in the social interaction test in rats. Pharmacol Rep. 2015;67:1183-1187.

Kamińska K, Rogóż Z. The effect of combined treatment with risperidone and antidepressants on the MK-801-induced deficits in the social interaction test in rats. Pharmacol Rep. 2015;67:1183-1187.

Kapur S, Remington G. Dopamine D 2 receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. Biol Psychiatry. 2001;50:873-883.

Kapur S, Seeman P. Does fast dissociation from the dopamine D2 receptor explain the action of atypical antipsychotics?: A new hypothesis. Am J Psychiatry. 2001;158:360-369.

Keefe RS, Harvey PD. Cognitive impairment in schizophrenia. In: Geyer M., Gross G. (eds) Novel Antischizophrenia Treatments. Handbook of Experimental Pharmacology. Springer, Berlin;2012, p:11–37.

Keefe RS, Harvey PD. Implementation considerations for multisite clinical trials with cognitive neuroscience tasks. Schizophr Bull. 2008;34:656-663.

Keefe RS, Meltzer HA, Dgetluck N, Gawryl M, Koenig G, Moebius HJ, Lombardo I, Hilt DC. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of encenicline, an α7 nicotinic acetylcholine receptor agonist, as a treatment for cognitive impairment in schizophrenia. Neuropsychopharmacol. 2015;40:3053-3060.

Keith VA, Mansbach RS, Geyer MA. Failure of haloperidol to block the effects of phencyclidine and dizocilpine on prepulse inhibition of startle. Biol Psychiatry. 1991;30:557-566.

Kendler KS, McGuire M, Gruenberg AM, O'Hare A, Spellman M, Walsh D. The roscommon family study. I. Methods, diagnosis of probands, and risk of schizophrenia in relatives. Arch Gen Psychiatry. 1993;50:527-540.

Keshavan MS, Tandon R, Boutros NN, Nasrallah HA. Schizophrenia,"just the facts": What we know in 2008: Part 3: Neurobiology. Schizophr Res. 2008;106:89-107.

Kim J, Kornhuber H, Schmid-Burgk W, Holzmüller B. Low cerebrospinal fluid glutamate in schizophrenic patients and a new hypothesis on schizophrenia. Neurosci Lett. 1980;20:379-382.

Kim Y-K, Myint A-M, Lee B-H, Han C-S, Lee H-J, Kim D-J, Leonard BE. Th1, Th2 and Th3 cytokine alteration in schizophrenia. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2004;28:1129-1134.

Kirkbride JB, Fearon P, Morgan C, Dazzan P, Morgan K, Tarrant J, Lloyd T, Holloway J, Hutchinson G, Leff JP. Heterogeneity in incidence rates of schizophrenia and other psychotic syndromes: findings from the 3-center AeSOP study. Arch Gen Psychiatry. 2006;63:250-258.

Kitagawa H, Takenouchi T, Azuma R, Wesnes KA, Kramer WG, Clody DE, Burnett AL. Safety, pharmacokinetics, and effects on cognitive function of multiple doses of GTS-21 in healthy, male volunteers. Neuropsychopharmacol. 2003;28:542-551

Kohlhaas KL, Bitner RS, Gopalakrishnan M, Rueter LE. Effects of alpha7 nicotinic acetylcholine receptor agonists on antipsychotic efficacy in a preclinical mouse model of psychosis. Psychopharmacol (Berl). 2012;220:823-833.

Konradi C, Yang CK, Zimmerman EI, Lohmann KM, Gresch P, Pantazopoulos H, Berretta S, Heckers S. Hippocampal interneurons are abnormal in schizophrenia. Schizophr Res. 2011;131:165-173.

Krause RM, Buisson B, Bertrand S, Corringer P-J, Galzi J-L, Changeux J-P, Bertrand D. Ivermectin: a positive allosteric effector of the α7 neuronal nicotinic acetylcholine receptor. Mol Pharmacol. 1998;53:283-294.

Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB, Charney DS. Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans: psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. Arch Gen Psychiatry. 1994;51:199-214.

Krystal JH, Seibyl JP, Price LH, Woods SW, Heninger GR, Aghajanian GK, Charney DS. m-Chlorophenylpiperazine effects in neuroleptic-free schizophrenic patients: evidence implicating serotonergic systems in the positive symptoms of schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 1993;50:624-635.

Kumari V, Gray JA, Geyer MA, Soni W, Mitterschiffthaler MT, Vythelingum GN, Simmons A, Williams SC, Sharma T. Neural correlates of tactile prepulse inhibition: a functional MRI study in normal and schizophrenic subjects. Psychiatry Res. 2003;122:99-113.

Kumari V, Sharma T. Effects of typical and atypical antipsychotics on prepulse inhibition in schizophrenia: a critical evaluation of current evidence and directions for future research. Psychopharmacol. 2002;162:97-101.

Lahti A, Weiler M, Carlsson A, Tamminga C. Effects of the D 3 and autoreceptor-preferring dopamine antagonist (+)-UH232 in schizophrenia. J Neural Transm (Vienna). 1998;105:719-734.

Lally J, MacCabe JH. Antipsychotic medication in schizophrenia: a review. British medical bulletin. 2015;114:169-179.

Lameh J, Burstein ES, Taylor E, Weiner DM, Vanover KE, Bonhaus DW. Pharmacology of N-desmethylclozapine. Pharmacol Ther. 2007;115:223-231.

Lane H-Y, Chang Y-C, Liu Y-C, Chiu C-C, Tsai GE. Sarcosine or D-serine add-on treatment for acute exacerbation of schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. Arch Gen Psychiatry. 2005;62:1196-1204.

Laruelle M, Abi-Dargham A, Van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, McCance E, Rosenblatt W, Fingado C, Zoghbi SS. Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. Proc Nat Acad Sci USA. 1996;93:9235-9240.

Le Pen G, Kew J, Alberati D, Borroni E, Heitz M-P, Moreau J-L. Prepulse inhibition deficits of the startle reflex in neonatal ventral hippocampal–lesioned rats: reversal by glycine and a glycine transporter inhibitor. Biol Psychiatry. 2003;54:1162-1170.

Lehoux C, Everett J, Laplante L, Émond C, Trépanier J, Brassard A, René L, Cayer M, Mérette C, Maziade M. Fine motor dexterity is correlated to social functioning in schizophrenia. Schizophr Res. 2003;62:269-273.

Leite FB, Prediger RD, Silva MV, de Sousa JB, Carneiro FP, Gasbarri A, Tomaz C, Queiroz AJ, Martins NT, Ferreira VM. Role of nicotine on cognitive and behavioral deficits in sepsis-surviving rats. Brain Res. 2013;1507:74-82.

Lester HA, Xiao C, Srinivasan R, Son CD, Miwa J, Pantoja R, Banghart MR, Dougherty DA, Goate AM, Wang JC. Nicotine is a selective pharmacological chaperone of acetylcholine receptor number and stoichiometry. Implications for drug discovery. AAPS J. 2009;11:167-177.

Levitin F, Weiss M, Hahn Y, Stern O, Papke RL, Matusik R, Nandana SR, Ziv R, Pichinuk E, Salame S. PATE gene clusters code for multiple, secreted TFP/Ly-6/uPAR proteins that are expressed in reproductive and neuron-rich tissues and possess neuromodulatory activity. J Biol Chem. 2008;283:16928-16939.

Lewandowski KE. Relationship of catechol-O-methyltransferase to schizophrenia and its correlates: evidence for associations and complex interactions. Harv Rev Psychiatry. 2007;15:233-244.

Lewis DA, Curley AA, Glausier JR, Volk DW. Cortical parvalbumin interneurons and cognitive dysfunction in schizophrenia. Trends Neurosci. 2012;35:57-67.

Lewis DA, Gonzalez-Burgos G. Pathophysiologically based treatment interventions in schizophrenia. Nat Med. 2006;12:1016-1022.

Li D, He L. Association study between the dystrobrevin binding protein 1 gene (DTNBP1) and schizophrenia: a meta-analysis. Schizophr Res. 2007;96:112-118.

Li JT, Su YA, Guo CM, Feng Y, Yang Y, Huang RH, Si TM. Persisting cognitive deficits induced by low-dose, subchronic treatment with MK-801 in adolescent rats. Eur J Pharmacol. 2011;652:65-72.

Li X, Rosborough KM, Friedman AB, Zhu W, Roth KA. Regulation of mouse brain glycogen synthase kinase-3 by atypical antipsychotics. Int J Neuropsychopharmacol. 2007;10:7-19.

Lin H, Hsu F-C, Baumann BH, Coulter DA, Anderson SA, Lynch DR. Cortical parvalbumin GABAergic deficits with α7 nicotinic acetylcholine receptor deletion: implications for schizophrenia. Mol Cell Neurosci. 2014;61:163-175.

Lipska BK, Jaskiw GE, Weinberger DR. Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: a potential animal model of schizophrenia. Neuropsychopharmacol. 1993;9:67-75.

Lipska BK, Lerman DN, Khaing ZZ, Weickert CS, Weinberger DR. Gene expression in dopamine and GABA systems in an animal model of schizophrenia: effects of antipsychotic drugs. Eur J Neurosci. 2003;18:391-402.

Lu L, Mamiya T, Koseki T, Mouri A, Nabeshima T. Genetic animal models of schizophrenia related with the hypothesis of abnormal neurodevelopment. Biol Pharm Bull. 2011;34:1358-1363.

Macêdo DS, Araújo DP, Sampaio LRL, Vasconcelos SMM, Sales PMG, Sousa FCF, Hallak JE, Crippa JA, Carvalho AF. Animal models of prenatal immune challenge and their contribution to the study of schizophrenia: a systematic review. Braz J Med Biol Res. 2012;45:179-186.

Maki P, Veijola J, Jones PB, Murray GK, Koponen H, Tienari P, Miettunen J, Tanskanen P, Wahlberg K-E, Koskinen J. Predictors of schizophrenia-a review. Br Med Bull. 2005;73:1-15.

Mansbach RS, Geyer MA, Braff DL. Dopaminergic stimulation disrupts sensorimotor gating in the rat. Psychopharmacol. 1988;94:507-514.

Mansbach RS, Geyer MA. Effects of phencyclidine and phencyclidine biologs on sensorimotor gating in the rat. Neuropsychopharmacol. 1989;2:299-308.

Marenco S, Weinberger DR. Therapeutic potential of positive AMPA receptor modulators in the treatment of neuropsychiatric disorders. CNS drugs. 2006;20:173-185.

Martinez ZA, Ellison GD, Geyer MA, Swerdlow NR. Effects of sustained phencyclidine exposure on sensorimotor gating of startle in rats. Neuropsychopharmacol. 1999;21:28-39.

McClure MM, Bowie CR, Patterson TL, Heaton RK, Weaver C, Anderson H, Harvey PD. Correlations of functional capacity and neuropsychological performance in older patients with schizophrenia: evidence for specificity of relationships? Schizophr Res. 2007;89:330-338.

McDaid J, Abburi C, Wolfman SL, Gallagher K, McGehee DS. Ethanol-induced motor impairment mediated by inhibition of α7 nicotinic receptors. J Neurosci. 2016;36:7768-7778.

McGrath J, Saha S, Welham J, El Saadi O, MacCauley C, Chant D. A systematic review of the incidence of schizophrenia: the distribution of rates and the influence of sex, urbanicity, migrant status and methodology. BMC Med. 2004;2:13-35.

McGrath J, Welham J. Season of birth and schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of data from the Southern Hemisphere. Schizophr Res. 1999;35:237-242.

McLean SL, Idris NF, Grayson B, Gendle DF, Mackie C, Lesage AS, Pemberton DJ, Neill JC. PNU-120596, a positive allosteric modulator of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors, reverses a sub-chronic phencyclidine-induced cognitive deficit in the attentional set-shifting task in female rats. J Psychopharmacol. 2012;26:1265-1270.

Mednick SA, Machon RA, Huttunen MO, Bonett D. Adult schizophrenia following prenatal exposure to an influenza epidemic. Arch Gen Psychiatry. 1988;45:189-192.

Meldrum BS. Glutamate as a neurotransmitter in the brain: review of physiology and pathology. J Nutr. 2000;130:1007-1015.

Meltzer H, Matsubara S, Lee J. The ratios of serotonin2 and dopamine2 affinities differentiate atypical and typical antipsychotic drugs. Psychopharmacol Bull. 1989;25:390-392.

Meng ZH, Feldpaush DL, Merchant KM. Clozapine and haloperidol block the induction of behavioral sensitization to amphetamine and associated genomic responses in rats. Brain Res Mol Brain Res. 1998;61:39-50.

Meyer U, Yee BK, Feldon J. The neurodevelopmental impact of prenatal infections at different times of pregnancy: the earlier the worse? Neuroscientist. 2007;13:241-256.

Meyer U. Anti-inflammatory signaling in schizophrenia. Brain Behav Immun. 2011;25:1507-1518.

Meyer-Lindenberg AS, Olsen RK, Kohn PD, Brown T, Egan MF, Weinberger DR, Berman KF. Regionally specific disturbance of dorsolateral prefrontal–hippocampal functional connectivity in schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 2005;62:379-386.

Millan MJ, Fone K, Steckler T, Horan WP. Negative symptoms of schizophrenia: clinical characteristics, pathophysiological substrates, experimental models and prospects for improved treatment. Eur Neuropsychopharmacol. 2014;24:645-692.

Misiak B, Stańczykiewicz B, Kotowicz K, Rybakowski JK, Samochowiec J, Frydecka D. Cytokines and C-reactive protein alterations with respect to cognitive impairment in schizophrenia and bipolar disorder: a systematic review. Schizophr Res. 2016; http://dx.doi.org/10.1016/j.schres.2017.04.015

Moghaddam B. Bringing order to the glutamate chaos in schizophrenia. Neuron. 2003;40:881-884.

Moore H, Jentsch JD, Ghajarnia M, Geyer MA, Grace AA. A neurobehavioral systems analysis of adult rats exposed to methylazoxymethanol acetate on E17: implications for the neuropathology of schizophrenia. Biol Psychiatry. 2006;60:253-264.

Morgan C, Kirkbride J, Leff J, Craig T, Hutchinson G, McKenzie K, Morgan K, Dazzan P, Doody GA, Jones P. Parental separation, loss and psychosis in different ethnic groups: a case-control study. Psychol Med. 2007;37:495-503.

Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J Neurosci Methods. 1984;11:47-60.

Müller N, Riedel M, Scheppach C, Brandstätter B, Sokullu S, Krampe K, Ulmschneider M, Engel RR, Möller H-J, Schwarz MJ. Beneficial antipsychotic effects of celecoxib add-on therapy compared to risperidone alone in schizophrenia. Am J Psychiatry. 2002;159:1029-1034.

Müller N, Weidinger E, Leitner B, Schwarz MJ. The role of inflammation in schizophrenia. Front Neurosci. 2015;9:372.

Näätänen R, Alho K. Generators of electrical and magnetic mismatch responses in humans. Brain Topogr. 1995;7:315-320.

Neill JC, Barnes S, Cook S, Grayson B, Idris NF, McLean SL, Snigdha S, Rajagopal L, Harte MK. Animal models of cognitive dysfunction and negative symptoms of schizophrenia: focus on NMDA receptor antagonism. Pharmacol Ther. 2010;128:419-432.

Neill JC, Grayson B, Kiss B, Gyertyan I, Ferguson P, Adham N. Effects of cariprazine, a novel antipsychotic, on cognitive deficit and negative symptoms in a rodent model of schizophrenia symptomatology. Eur Neuropsychopharmacol. 2016;26:3-14.

Neill JC, Harte MK, Haddad PM, Lydall ES, Dwyer DM. Acute and chronic effects of NMDA receptor antagonists in rodents, relevance to negative symptoms of schizophrenia: a translational link to humans. Eur Neuropsychopharmacol. 2014;24:822-835.

Ng HJ, Whittemore ER, Tran MB, Hogenkamp DJ, Broide RS, Johnstone TB, Zheng L, Stevens KE, Gee KW. Nootropic α7 nicotinic receptor allosteric modulator derived from GABAA receptor modulators. Procc Nat Acad Sci USA. 2007;104:8059-8064.

Nicodemus KK, Kolachana BS, Vakkalanka R, Straub RE, Giegling I, Egan MF, Rujescu D, Weinberger DR. Evidence for statistical epistasis between catechol-O-methyltransferase (COMT) and polymorphisms in RGS4, G72 (DAOA), GRM3, and DISC1: influence on risk of schizophrenia. Hum Genet. 2007;120:889-906.

Nikiforuk A, Kos T, Holuj M, Potasiewicz A, Popik P. Positive allosteric modulators of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors reverse ketamine-induced schizophrenia-like deficits in rats. Neuropharmacol. 2016;101:389-400.

Nikiforuk A, Kos T, Potasiewicz A, Popik P. Positive allosteric modulation of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors enhances recognition memory and cognitive flexibility in rats. Eur Neuropsychopharmacol. 2015;25:1300-1313.

Nikiforuk A, Potasiewicz A, Kos T, Popik P. The combination of memantine and galantamine improves cognition in rats: The synergistic role of the α7 nicotinic acetylcholine and NMDA receptors. Behav Brain Res. 2016b;313:214-218.

Ning H, Cao D, Wang H, Kang B, Xie S, Meng Y. Effects of haloperidol, olanzapine, ziprasidone, and PHA-543613 on spatial learning and memory in the Morris water maze test in naive and MK-801-treated mice. Brain Behav. 2017;7:e00764.

Novere N, Changeux JP. Molecular evolution of the nicotinic acetylcholine receptor: an example of multigene family in excitable cells. J Mol Evol. 1995;40:155-172.

Okubo Y, Suhara T, Suzuki K, Kobayashi K, Inoue O, Terasaki O, Someya Y, Sassa T, Sudo Y, Matsushima E. Decreased prefrontal dopamine D1 receptors in schizophrenia revealed by PET. Nature. 1997;385:634.

Olincy A, Stevens KE. Treating schizophrenia symptoms with an α7 nicotinic agonist, from mice to men. Biochem Pharmacol. 2007;74:1192-1201.

Olney JW, Farber NB. Glutamate receptor dysfunction and schizophrenia. Arch Gen Psychiatry. 1995;52:998-1007.

Olsson H, Halldin C, Farde L. Differentiation of extrastriatal dopamine D2 receptor density and affinity in the human brain using PET. Neuroimage. 2004;22:794-803.

Paine TA, Carlezon WA, Jr. Effects of antipsychotic drugs on MK-801-induced attentional and motivational deficits in rats. Neuropharmacol. 2009;56:788-797.

Park SW, Lee JG, Ha EK, Choi SM, Cho HY, Seo MK, Kim YH. Differential effects of aripiprazole and haloperidol on BDNF-mediated signal changes in SH-SY5Y cells. Eur Neuropsychopharmacol. 2009;19:356-362.

Park SW, Seo MK, Cho HY, Lee JG, Lee BJ, Seol W, Kim YH. Differential effects of amisulpride and haloperidol on dopamine D 2 receptor-mediated signaling in SH-SY5Y cells. Neuropharmacol. 2011;61:761-769.

Patil ST, Zhang L, Martenyi F, Lowe SL, Jackson KA, Andreev BV, Avedisova AS, Bardenstein LM, Gurovich IY, Morozova MA. Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. Nat Med. 2007;13:1102-1107.

Pedersen CB, Mortensen PB. Evidence of a dose-response relationship between urbanicity during upbringing and schizophrenia risk. Arch Gen Psychiatry. 2001;58:1039-1046.

Pedersen CS, Sørensen DB, Parachikova AI, Plath N. PCP-induced deficits in murine nest building activity: employment of an ethological rodent behavior to mimic negative-like symptoms of schizophrenia. Behav Brain Res. 2014;273:63-72.

Penner JD, Brown AS. Prenatal infectious and nutritional factors and risk of adult schizophrenia. Expert Rev Neurother. 2007;7:797-805.

Penschuck S, Flagstad P, Didriksen M, Leist M, Michael-Titus AT. Decrease in parvalbumin-expressing neurons in the hippocampus and increased phencyclidine-induced locomotor activity in the rat methylazoxymethanol (MAM) model of schizophrenia. Eur J Neurosci. 2006;23:279-284.

Perrin MC, Brown AS, Malaspina D. Aberrant epigenetic regulation could explain the relationship of paternal age to schizophrenia. Schizophr Bull. 2007;33:1270-1273.

Persson T, Roos BE. Acid metabolites from monoamines in cerebrospinal fluid of chronic schizophrenics. Br J Psychiatry. 1969;115:95-98.

Pichat P, Bergis OE, Terranova J-P, Urani A, Duarte C, Santucci V, Gueudet C, Voltz C, Steinberg R, Stemmelin J. SSR180711, a novel selective [alpha] 7 nicotinic receptor partial agonist:(II) efficacy in experimental models predictive of activity

against cognitive symptoms of schizophrenia. Neuropsychopharmacol. 2007;32:17-34.

Potasiewicz A, Hołuj M, Kos T, Popik P, Arias HR, Nikiforuk A. 3-Furan-2-yl-N-p-tolyl-acrylamide, a positive allosteric modulator of the α7 nicotinic receptor, reverses schizophrenia-like cognitive and social deficits in rats. Neuropharmacol. 2017a;113:188-197.

Potasiewicz A, Kos T, Ravazzini F, Puia G, Arias H, Popik P, Nikiforuk A. Pro-cognitive activity in rats of 3-furan-2-yl-N-p-tolyl-acrylamide, a positive allosteric modulator of the α7 nicotinic acetylcholine receptor. Br J Pharmacol. 2015;172:5123-5135.

Potasiewicz A, Nikiforuk A, Hołuj M, Popik P. Stimulation of nicotinic acetylcholine alpha7 receptors rescue schizophrenia-like cognitive impairments in rats. J Psychopharmacol. 2017b;31:260-271.

Potvin S, Stip E, Sepehry AA, Gendron A, Bah R, Kouassi E. Inflammatory cytokine alterations in schizophrenia: a systematic quantitative review. Biol Psychiatry. 2008;63:801-808.

Pulvermüller F, Shtyrov Y. Language outside the focus of attention: the mismatch negativity as a tool for studying higher cognitive processes. Prog Neurobiol. 2006;79:49-71.

Quednow BB, Geyer MA, Halberstadt AL. Serotonin and schizophrenia. In:Muller CP, Jacobs B (Eds). Handbook of the Behavioral Neurobiology of Serotonin. Academic Press, London. 2010, p:585-620.

Ratajczak P, Wozniak A, Nowakowska E. Animal models of schizophrenia: developmental preparation in rats. Acta Neurobiol Exp (Wars). 2013;73:472-484.

Read J, Os Jv, Morrison A, Ross CA. Childhood trauma, psychosis and schizophrenia: a literature review with theoretical and clinical implications. Acta Psychiatr Scand. 2005;112:330-350.

Reavill C, Taylor SG, Wood MD, Ashmeade T, Austin NE, Avenell KY, Boyfield I, Branch CL, Cilia J, Coldwell MC. Pharmacological actions of a novel, high-affinity, and selective human dopamine D3 receptor antagonist, SB-277011-A. J Pharmacol Exp Ther. 2000;294:1154-1165.

Russig H, Durrer A, Yee BK, Murphy CA, Feldon J. The acquisition, retention and reversal of spatial learning in the morris water maze task following withdrawal from an escalating dosage schedule of amphetamine in wistar rats. Neurosci. 2003;119:167-179.

Sadigh-Eteghad S, Talebi M, Mahmoudi J, Babri S, Shanehbandi D. Selective activation of α 7 nicotinic acetylcholine receptor by PHA-543613 improves Aβ 25–35-mediated cognitive deficits in mice. Neurosci. 2015;298:81-93.

Saha S, Chant D, Welham J, McGrath J. A systematic review of the prevalence of schizophrenia. PLoS Med. 2005;2:e141.

Saha S, Welham J, Chant D, McGrath J. Incidence of schizophrenia does not vary with economic status of the country: evidence from a systematic review. Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol. 2006;41:338-340.

Şahin C, Ünal G, Arıcıoğlu F. Regulation of GSK-3 activity as a shared mechanism in psychiatric disorders. Bull Clin Psychopharmacol. 2014;24:97-108.

Sams-Dodd F, Lipska BK, Weinberger DR. Neonatal lesions of the rat ventral hippocampus result in hyperlocomotion and deficits in social behaviour in adulthood. Psychopharmacol. 1997;132:303-310.

Sams-Dodd F. Phencyclidine-induced stereotyped behaviour and social isolation in rats: a possible animal model of schizophrenia. Behav Pharmacol. 1996;7:3-23.

Sato Y, Yabe H, Todd J, Michie P, Shinozaki N, Sutoh T, Hiruma T, Nashida T, Matsuoka T, Kaneko S. Impairment in activation of a frontal attention-switch mechanism in schizophrenic patients. Biol Psychol. 2003;62:49-63.

Scarr E, Gibbons AS, Neo J, Udawela M, Dean B. Cholinergic connectivity: it's implications for psychiatric disorders. Front Cell Neurosci. 2013;7:55.

Schreiber R, Dalmus M, De Vry J. Effects of α 4/β 2-and α 7-nicotine acetylcholine receptor agonists on prepulse inhibition of the acoustic startle response in rats and mice. Psychopharmacol. 2002;159:248-257.

Schurov I, Handford E, Brandon N, Whiting P. Expression of disrupted in schizophrenia 1 (DISC1) protein in the adult and developing mouse brain indicates its role in neurodevelopment. Mol Psychiatry. 2004;9:1100-1110.

Schwartz TL, Sachdeva S, Stahl SM. Glutamate neurocircuitry: theoretical underpinnings in schizophrenia. Front Pharmacol. 2012;3:195.

Seeman P, Lee T. Antipsychotic drugs: direct correlation between clinical potency and presynaptic action on dopamine neurons. Science. 1975;188:1217-1219.

Seeman P. Atypical antipsychotics: mechanism of action. Canad J Psychiatry. 2002;47:27-38.

Seguela P, Wadiche J, Dineley-Miller K, Dani JA, Patrick JW. Molecular cloning, functional properties, and distribution of rat brain alpha 7: a nicotinic cation channel highly permeable to calcium. J Neurosci. 1993;13:596-604.

Seillier A, Giuffrida A. Evaluation of NMDA receptor models of schizophrenia: divergences in the behavioral effects of sub-chronic PCP and MK-801. Behav Brain Res. 2009;204:410-415.

Semkovska M, Bedard M, Stip E. Hypofrontality and negative symptoms in schizophrenia: synthesis of anatomic and neuropsychological knowledge and ecological perspectives. L'encephale. 2001;27:405-415.

Semple DM, McIntosh AM, Lawrie SM. Cannabis as a risk factor for psychosis: systematic review. J Psychopharmacol. 2005;19:187-194.

Shen S, Lang B, Nakamoto C, Zhang F, Pu J, Kuan S-L, Chatzi C, He S, Mackie I, Brandon NJ. Schizophrenia-related neural and behavioral phenotypes in transgenic mice expressing truncated Disc1. J Neurosci. 2008;28:10893-10904.

Shiina A, Shirayama Y, Niitsu T, Hashimoto T, Yoshida T, Hasegawa T, Haraguchi T, Kanahara N, Shiraishi T, Fujisaki M. A randomised, double-blind, placebo-controlled trial of tropisetron in patients with schizophrenia. Ann Gen Psychiatry. 2010;9:27.

Shim S, Shuman M, Duncan E. An emerging role of cGMP in the treatment of schizophrenia: a review. Schizophr Res. 2016;170:226-231.

Singh J. Acetylcholiesterase inhibitors for schizophrenia. Int Clin Psychopharmacol. 2011;26:144-145.

Srivareerat M, Tran TT, Salim S, Aleisa AM, Alkadhi KA. Chronic nicotine restores normal Aβ levels and prevents short-term memory and E-LTP impairment in Aβ rat model of Alzheimer's disease. Neurobiol Aging. 2011;32:834-844.

Steeds H, Carhart-Harris RL, Stone JM. Drug models of schizophrenia. Ther Adv Psychopharmacol. 2015;5:43-58.

Stefani MR, Moghaddam B. Effects of repeated treatment with amphetamine or phencyclidine on working memory in the rat. Behav Brain Res. 2002;134:267-274.

Stefansson H, Petursson H, Sigurdsson E, Steinthorsdottir V, Bjornsdottir S, Sigmundsson T, Ghosh S, Brynjolfsson J, Gunnarsdottir S, Ivarsson O. Neuregulin 1 and susceptibility to schizophrenia. Am J Hum Genet. 2002;71:877-892.

Stevens KE, Kem WR, Mahnir VM, Freedman R. Selective α7-nicotinic agonists normalize inhibition of auditory response in DBA mice. Psychopharmacol. 1998;136:320-327.

Stevens KE, Zheng L, Floyd KL, Stitzel JA. Maximizing the effect of an alpha7 nicotinic receptor PAM in a mouse model of schizophrenia-like sensory inhibition deficits. Brain Res. 2015;1611:8-17.

Stip E, Sepehry AA, Chouinard S. Add-on therapy with acetylcholinesterase inhibitors for memory dysfunction in schizophrenia: a systematic quantitative review, part 2. Clin Neuropharmacol. 2007;30:218-229.

Sullivan PF, Kendler KS, Neale MC. Schizophrenia as a complex trait: evidence from a meta-analysis of twin studies. Arch Gen Psychiatry. 2003;60:1187-1192.

Taly A, Corringer P-J, Guedin D, Lestage P, Changeux JP. Nicotinic receptors: allosteric transitions and therapeutic targets in the nervous system. Nat Rev Drug Discov. 2009;8:733-750.

Tan W, Wang Y, Gold B, Chen J, Dean M, Harrison PJ, Weinberger DR, Law AJ. Molecular cloning of a brain-specific, developmentally regulated neuregulin 1 (NRG1) isoform and identification of a functional promoter variant associated with schizophrenia. J Biol Chem. 2007;282:24343-24351.

Tandon R, Keshavan MS, Nasrallah HA. Schizophrenia, "Just the Facts" What we know in 2008. 2. Epidemiology and etiology. Schizophr Res. 2008;102:1-18.

Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS. Schizophrenia,“just the facts” 4. Clinical features and conceptualization. Schizophr Res. 2009;110:1-23.

Tandon R, Nasrallah HA, Keshavan MS. Schizophrenia,“Just the Facts” 5. Treatment and prevention Past, present, and future. Schizophr Res. 2010;122:1-23.

Tauscher J, Hussain T, Agid O, Verhoeff NPL, Wilson AA, Houle S, Remington G, Zipursky RB, Kapur S. Equivalent occupancy of dopamine D1 and D2 receptors with clozapine: differentiation from other atypical antipsychotics. Am J Psychiatry. 2004;161:1620-1625.

Terry AV, Jr., Callahan PM, Hernandez CM. Nicotinic ligands as multifunctional agents for the treatment of neuropsychiatric disorders. Biochem Pharmacol. 2015;97:388-398.

Terry Jr AV. Role of the central cholinergic system in the therapeutics of schizophrenia. Curr Neuropharmacol. 2008;6:286-292.

Thomsen MS, Christensen DZ, Hansen HH, Redrobe JP, Mikkelsen JD. α 7 Nicotinic acetylcholine receptor activation prevents behavioral and molecular changes induced by repeated phencyclidine treatment. Neuropharmacol. 2009;56:1001-1009.

Thomsen MS, El-Sayed M, Mikkelsen JD. Differential immediate and sustained memory enhancing effects of alpha7 nicotinic receptor agonists and allosteric modulators in rats. PLoS One. 2011;6:e27014.

Thomsen MS, Hansen HH, Mikkelsen JD. α7 nicotinic receptor agonism mitigates phencyclidine-induced changes in synaptophysin and Arc gene expression in the mouse prefrontal cortex. Neurochem Int. 2010;57:756-761.

Thomsen MS, Mikkelsen JD. Type I and II positive allosteric modulators differentially modulate agonist-induced up-regulation of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors. J Neurochem. 2012;123:73-83.

Tien AY, Eaton WW. Psychopathologic precursors and sociodemographic risk factors for the schizophrenia syndrome. Arch Gen Psychiatry. 1992;49:37-46.

Tietje KR, Anderson DJ, Bitner RS, Blomme EA, Brackemeyer PJ, Briggs CA, Browman KE, Bury D, Curzon P, Drescher KU, Frost JM, Fryer RM, Fox GB, Gronlien JH, Hakerud M, Gubbins EJ, Halm S, Harris R, Helfrich RJ, Kohlhaas KL, Law D, Malysz J, Marsh KC, Martin RL, Meyer MD, Molesky AL, Nikkel AL, Otte S, Pan L, Puttfarcken PS, Radek RJ, Robb HM, Spies E, Thorin-Hagene K, Waring JF, Ween H, Xu H, Gopalakrishnan M, Bunnelle WH. Preclinical characterization of A-582941: a novel alpha7 neuronal nicotinic receptor agonist with broad spectrum cognition-enhancing properties. CNS Neurosci Ther. 2008;14:65-82.

Torrey EF, Miller J, Rawlings R, Yolken RH. Seasonality of births in schizophrenia and bipolar disorder: a review of the literature. Schizophr Res. 1997;28:1-38.

Tsai G, Lane H-Y, Yang P, Chong M-Y, Lange N. Glycine transporter I inhibitor, N-methylglycine (sarcosine), added to antipsychotics for the treatment of schizophrenia. Biol Psychiatry. 2004;55:452-456.

Tseng KY, Chambers RA, Lipska BK. The neonatal ventral hippocampal lesion as a heuristic neurodevelopmental model of schizophrenia. Behav Brain Res. 2009;204:295-305.

Tsetlin VI. Three-finger snake neurotoxins and Ly6 proteins targeting nicotinic acetylcholine receptors: pharmacological tools and endogenous modulators. Trends Pharmacol Sci. 2015;36:109-123.

Turetsky BI, Calkins ME, Light GA, Olincy A, Radant AD, Swerdlow NR. Neurophysiological endophenotypes of schizophrenia: the viability of selected candidate measures. Schizophr Bull. 2007;33:69-94.

Umbricht D, Alberati D, Martin-Facklam M, Borroni E, Youssef EA, Ostland M, Wallace TL, Knoflach F, Dorflinger E, Wettstein JG. Effect of bitopertin, a glycine reuptake inhibitor, on negative symptoms of schizophrenia: a randomized, double-blind, proof-of-concept study. JAMA Psychiatry. 2014;71:637-646.

Umbricht D, Keefe RS, Murray S, Lowe DA, Porter R, Garibaldi G, Santarelli L. A randomized, placebo-controlled study investigating the nicotinic α7 agonist, RG3487, for cognitive deficits in schizophrenia. Neuropsychopharmacol. 2014;39:1568-1577.

Umbricht D, Krljes S. Mismatch negativity in schizophrenia: a meta-analysis. Schizophr Res. 2005;76:1-23.

Ungvari GS, Leung SK, Ng FS, Cheung H-K, Leung T. Schizophrenia with prominent catatonic features (‘catatonic schizophrenia’): I. Demographic and clinical correlates in the chronic phase. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2005;29:27-38.

Valls-Sole J, Munoz J, Valldeoriola F. Abnormalities of prepulse inhibition do not depend on blink reflex excitability: a study in Parkinson's disease and Huntington's disease. Clin Neurophysiol. 2004;115:1527-1536.

Wagman A. Deficit and nondeficit forms of schizophrenia: the concept. Am J Psychiatry. 1988;145:578-583.

Wallace TL, Bertrand D. Neuronal alpha7 Nicotinic Receptors as a Target for the Treatment of Schizophrenia. Int Rev Neurobiol. 2015;124:79-111.

Wallace TL, Callahan PM, Tehim A, Bertrand D, Tombaugh G, Wang S, Xie W, Rowe WB, Ong V, Graham E. RG3487, a novel nicotinic α7 receptor partial agonist, improves cognition and sensorimotor gating in rodents. J Pharmacol Exp Ther. 2011;336:242-253.

Wang M, Gamo NJ, Yang Y, Jin LE, Wang X-J, Laubach M, Mazer JA, Lee D, Arnsten AF. Neuronal basis of age-related working memory decline. Nature. 2011;476:210-213.

Ward SE, Pennicott LE, Beswick P. AMPA receptor-positive allosteric modulators for the treatment of schizophrenia: an overview of recent patent applications. Future. 2015;7:473-491.

Wass C, Archer T, Pålsson E, Fejgin K, Klamer D, Engel JA, Svensson L. Effects of phencyclidine on spatial learning and memory: nitric oxide-dependent mechanisms. Behav Brain Res. 2006;171:147-153.

Weder ND, Muralee S, Penland H, Tampi RR. Catatonia: a review. Ann Clin Psychiatry. 2008;20:97-107.

Weinberger DR, McClure RK. Neurotoxicity, neuroplasticity, and magnetic resonance imaging morphometry: what is happening in the schizophrenic brain? Arch Gen Psychiatry. 2002;59:553-558.

Weinberger DR. Schizophrenia drug says goodbye to dopamine. Nat Med. 2007;13:1018-1019.

Wierońska JM, Sławińska A, Stachowicz K, Łasoń-Tyburkiewicz M, Gruca P, Papp M, Pilc A. The reversal of cognitive, but not negative or positive symptoms of schizophrenia, by the mGlu 2/3 receptor agonist, LY379268, is 5-HT 1A dependent. Behav Brain Res. 2013;256:298-304.

Williams DK, Wang J, Papke RL. Positive allosteric modulators as an approach to nicotinic acetylcholine receptor-targeted therapeutics: advantages and limitations. Biochem Pharmacol. 2011;82:915-930.

Wohl M, Gorwood P. Paternal ages below or above 35 years old are associated with a different risk of schizophrenia in the offspring. Eur Psychiatry. 2007;22:22-26.

Yang Y, Paspalas CD, Jin LE, Picciotto MR, Arnsten AF, Wang M. Nicotinic α7 receptors enhance NMDA cognitive circuits in dorsolateral prefrontal cortex. Proc Nat Acad Sci USA. 2013;110:12078-12083.

Yohn SE, Conn PJ. Positive allosteric modulation of M1 and M4 muscarinic receptors as potential therapeutic treatments for schizophrenia. Neuropharmacol. 2017; doi: 10.1016/j.neuropharm.2017.09.012.

Zakzanis KK, Poulin P, Hansen K, Jolic D. Searching the schizophrenic brain for temporal lobe deficits: a systematic review and meta-analysis. Psychol Med. 2000;30:491-504.

Zhang ZJ, Reynolds GP. A selective decrease in the relative density of parvalbumin-immunoreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia. Schizophr Res. 2002;55:1-10.

9. ÖZGEÇMİŞ

Adı	Gökhan	**Soyadı**	Ünal
Doğum Yeri	Kartal/İstanbul	**Doğum Tarihi**	22.05.1989
Uyruğu	Türkiye Cumhuriyeti	**Tel**	+90 507 947 90 24
E-mail	ecz.gokhanunal@hotmail.com		

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	**Mezuniyet Yılı**
Doktora/Uzmanlık	Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	-
Yüksek Lisans	-	-
Lisans	Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2012
Lise	İstanbul Yakacık Lisesi	2007

İş Deneyimi

Görevi	**Kurum**	**Süre (Yıl - Yıl)**
Araştırma Görevlisi	Erciyes Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2012 - 2013
Araştırma Görevlisi	Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü	2013 -

Yabancı Dilleri	**Okuduğunu Anlama***	**Konuşma***	**Yazma***
İngilizce	İyi	İyi	İyi

Yabancı Dil Sınav Notu								
YDS	ÜDS	IELTS	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE
72,5		6						

	Sayısal	**Eşit Ağırlık**	**Sözel**
ALES Puanı	93.093	92.859	72.740
(Leite ve ark.) Puanı			

Bilgisayar Bilgisi

Program	**Kullanma becerisi**
İyi	İyi

*Çok iyi, iyi, orta, zayıf olarak değerlendiriniz.

Uluslararası Yayınlar

Sahin C, Unal G, Aricioglu F. The involvement of Akt and GSK-3: two pathways, two pathology. MÜSBED 2014;4:51-57.

Sahin C, Unal G, Aricioglu F. Regulation of GSK-3 activity as a shared mechanism in psychiatric disorders. Bull Clin Psychopharmacol. 2014;24:95-106.

Sahin C, Guden DS, Unal G, Aricioglu F. Acute P2X7 receptors blockade by Brilliant Blue G (BBG) does not result in antidepressant-like activity in mice. Bull Clin Pharmacol. 2014;24:136. 6th International Congress on Psychopharmacology and 2rd International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 16-20 Apr 2014, Antalya, Turkey.

Unal G, Terzioglu G, Sahin C, Yanikkaya Demirel G, Aricioglu Feyza. Acute administration of ketamine inhibited stress induced pro-inflammatory cytokines in hippocampus of rats. Bull Clin Pharmacol. 2015;25(Suppl 1):101. 7th International Congress on Psychopharmacology and 3rd International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 15-19 Apr 2015, Antalya, Turkey.

Unal G, Terzioglu G, Sahin C, Yanikkaya Demirel G, Aricioglu F. The effect of acute ketamine administration on NLRP3 inflammasome activation in a sub-chronic stress model of rats. Eur Neuropsychopharmacol. 2015;25(Suppl 2):226. 28th Congress European College of Neuropsychophamacology (ECNP) 29 Aug - 1 Sep 2015, Amsterdam, Netherlands.

Unal G, Dokumaci AH, Yerer Aycan MB, Sahin C, Aricioglu F. Agmatine treatment prevents MK-801 induced neurodegeneration in cell culture Bull Clin Psychopharmacol. 2016;26(Supp 1):186-187. 8th International Congress on Psychopharmacology and 4th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 20-24 Apr 2016, Antalya, Turkey.

Dokumacı AH, Unal G, Yerer Aycan MB, Sahin C, Aricioglu F. Possible neuroprotective effects of agmatine via GSK3β protein expression in SH SY5Y cell line. Bull Clin Psychopharmacol. 2016;26(Supp 1):186. 8th International Congress on

Psychopharmacology and 4th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 20-24 Apr 2016, Antalya, Turkey.

Aricioglu F, Sahin-Ozkartal C, Unal G, Dursun S, Cetin M, Müller N. Neuroinflammation in schizophrenia: a critical review and the future. Bull Clin Psychopharmacol. 2016;26:429-437.

Hazar AN, Unal G, Sahin C, Keles R, Kraus M, Aricioglu F. Famotidine reverses learning and memory deficits induced by acute ketamine model of schizophrenia in novel object recognition test in rats. Bull Clin Psychopharmacol. 2016;26(Suppl 1):185. 8th International Congress on Psychopharmacology and 4th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 20-24 Apr 2016, Antalya, Turkey.

Keles R, Hazar AN, Sahin C, Unal G, Aricioglu F. Agmatine potentiates the antidepressant effect of ketamine in forced swimming test of rats. Bull Clin Psychopharmacol. 2016;26(Suppl 1):184. 8th International Congress on Psychopharmacology and 4th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 20-24 Apr 2016, Antalya, Turkey.

Yerer-Aycan B, Dokumacı AH, Unal G, Sahin C, Aricioglu F. Possible protective effects of agmatine and famotidine on MK-801-induced cytotoxicity in SHSY 5Y cell line. Journal of Cellular Neuroscience and Oxidative Stress 2016;8:571. 6th World Congress of Oxidative Stress, Calcium Signaling and TRP Channels 24-27 May 2016, Isparta, Turkey.

Keles R, Hazar AN, Sahin C, Unal G, Aricioglu F. The combination of sub-effective doses of agmatine and ketamine reduces obsessive-compulsive-like behavior of mice in marble burying test. Int J Neuropsychopharmacol. 2016;19(suppl 1);24-25. 30th World International College of Neuropsychopharmacology (CINP) Congress 3-5 Jul 2016, Seoul, South Korea.

Hazar-Yavuz AN, Keles R, Unal G, Taskin T, Aricioglu F. Antidepressant like effect of hydro-alcoholic extract of nigella sativa in tail suspension test in mice. Eur Neuropsychopharmacol. 2016;26(Suppl 2):376. 29th Congress European College of Neuropsychophamacology (ECNP) 17-20 Sep 2016, Vienna, Austria.

Unal G, Dokumaci AH, Hazar-Yavuz AN, Aycan-Yerer MB, Sahin C, Keles R, Aricioglu F. Famotidine: Is it a potential new candidate for the treatment of schizophrenia by inhibiting GSK-3β? Eur Neuropsychopharmacol. 2016;26(suppl 2):526-527. 29th Congress European College of Neuropsychophamacology (ECNP) 17-20 Sep 2016, Vienna, Austria.

Unal G, Aricioglu F, Hazar Yavuz AN. Cholinergic alpha 7 nicotinic receptor agonism improved cognitive and negative symptoms of MK-801-induced schizophrenia in rats. Psychiatry and Clinical Psychopharmacology 2017;27(Suppl 1):4-5. 9th International Congress on Psychopharmacology and 5th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 26-30 Apr 2017, Antalya, Turkey.

Unal G, Dokumaci AH, Aycan Yerer MB, Ozkartal C, Aricioglu F. Olanzapine reversed MK-801 induced cell damage via Akt/GSK-3β/ β-catenine signaling pathway in SH SY5Y cell culture. Psychiatry and Clinical Psychopharmacology 2017; 27(Suppl 1):57. 9th International Congress on Psychopharmacology and 5th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 26-30 Apr 2017, Antalya, Turkey.

Unal G, Aricioglu F, Hazar Yavuz AN, Zortul H. Effect of nicotinic alpha 7 receptor agonist and possitive allosteric modulators on cognitive symptoms in subchronic MK-801 model of schizophrenia in rats. J Psychopharmacol. 2017;31(Supp l):105. British Association of Psychopharmacology (BAP) Summer Meeting 23-26 Jul 2017, Harrogate, United Kingdom.

Unal G, Aricioglu F. A-582941, cholinergic alpha 7 nicotinic receptor agonist, improved cognitive and negative symptoms of subchronic MK-801 model of schizophrenia in rats. Psychiatry and Clinical Psychopharmacology. 2017; DOI:10.1080/24750573.2017.1379716

Unal G, Dokumaci AH, Sahin Ozkartal C, Yerer MB, Aricioglu F. Famotidine has neuroprotective effect on MK-801 induced cell damage via Akt/GSK-3β/β-catenin signaling pathway in SH-SY5Y cell culture: relevance to schizophrenia. Pharmacol Rep. (Yayına gönderildi).

Uluslararası Kongre Bildirileri

Akdag K, Kocyigit-Kaymakcioglu B, Sahin C, Unal G, Aricioglu F (2014). Synthesis and antinociceptive activities of some hydrazide hydrazones of ethyl 4-chloro-2-methylthio-5-pyrimidine carboxylate. Joining Forces in Pharmaceutical Analysis and Medicinal Chemistry (MCB2014), 25-26 Aug 2014, Groningen, Netherlands. Congress book p:58

Aricioglu F, Unal G, Hazar AN, Sahin C, Keles R. Famotidine reverses social withdrawal but not fear conditioning deficits induced by acute ketamine model in rats. 7th European Congress of Pharmacology (EPHAR) 26-30 June 2016, Istanbul, Turkey. Congress Book; p:412.

Unal G, Keles R, Taskin T, Aricioglu F. Nigella sativa extract improved sensorimotor gating deficit on acute ketamine model of schizophrenia in rats. 30th Congress European College of Neuropsychophamacology (ECNP) 2-5 Sep 2017, Paris, France. Congress book p:59.

Unal G, Zortul H, Hazar-Yavuz AN, Aricioglu F. Nicotinic alpha7 receptor agonist and modulators improved social but not sensorimotor deficits on subchronic MK-801 model of scizophrenia in rats. 30th Congress European College of Neuropsychophamacology (ECNP) 2-5 Sep 2017, Paris, France. Congress book p:59.

Sözlü Sunumlar

Unal G, Aricioglu F, Hazar Yavuz AN. Cholinergic alpha 7 nicotinic receptor agonism improved cognitive and negative symptoms of MK-801-induced schizophrenia in rats. Psychiatry and Clinical Psychopharmacology 2017;27(suppl 1):4-5. 9th International Congress on Psychopharmacology and 5th International Symposium on Child and Adolescent Psychopharmacology 26-30 Apr 2017, Antalya, Turkey.

Görev Aldığı Projeler

Arıcıoğlu F (Yürütücü), Aycan Yerer MB (Araştırmacı), Şahin C (Araştırmacı), Ünal G (Bursiyer). Fensiklidin ve MK-801 Uygulanmış Sh Sy5y Hücrelerinde Famotidin'in Akt/Gsk-3ß/ß-Katenin Sinyal Yolağı Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. TÜBİTAK 1002, 01.07.2015 - 19.12.2016 (115S145). Onaylanan Bütçesi: 29.498 TL.

MARMARA ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

PROJE ONAY FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	**PROTOKOL KODU**	017.2016.mar	**ÇALIŞMA:** BİLİMSEL
	PROJE ADI	Sıçanlarda Mk-801 İle Oluşturulmuş Şizofreni Modelinde Nikotinik Alfa-7 Reseptörlerinin Şizofreninin Pozitif, Negatif Ve Kognitif Semptomları Üzerine Olası Etkilerinin İncelenmesi	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI/ ADI	Prof. Dr. Feyza ARICIOĞLU	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ	DEHAMER	
	DESTEKLEYİCİ		

KARAR BİLGİLERİ	**TARİH: 04.01.2016** Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her turlu proje değişiklikleri (katılımcılar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.
ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, sağlık hizmetleri uygulamaları ve eğitim-öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili etik standartları gözetmek, etik ilkeler doğrultusunda görüş bildirmek, araştırma önerilerini incelemek ve sertifikası olmayanların deney hayvanı kullanmalarını engellemektir.

ÜYELER

Ünvanı/ Adı/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu/ Ek Üyeliği	Onaylanan Proje ile İlişkisi	Toplantıya Katılım	İmza
Prof.Dr. Göksel ŞENER	Farmakoloji	M.Ü. Eczacılık Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Başkanı	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. İnci ALİCAN	Fizyoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul (Yürütücü Sekreter)	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Ayşen YARAT	Biyokimya	M.Ü. Diş Hekimliği Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Serap ŞİRVANCI	Histoloji Embriyoloji ABD	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Prof.Dr. Rezzan GÜLHAN	Farmakoloji	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Doç.Dr. Gürkan SERT	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Vet.Hek. Dilek ÖZBEYLİ	Veteriner Hekim	M.Ü. Tıp Fakültesi ve Hayvan Deneyleri Etik Kurul Üyesi	Var Yok	Evet Hayır	
Bio. Arif GÜMÜŞ	Biyoloji	Sivil Toplum Kuruluşu Üyesi ve Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	
Dilek KÖKTÜRK	Emekli Memur	Kurumla ilişkisi olmayan TC vatandaşı üye	Var Yok	Evet Hayır	