

# AYDINLIK: KARANLIK DÖNGÜSÜNÜN MODÜLASYONUNUN PORSOLT YÜZME TESTİNDEKİ ANTİDEPRESAN ETKİLERİNİN ZAMANSAL SINIRLARI

T. Alper KARSLI\*

## Ö Z

*Bu çalışma kapsamındaki iki deneyde 24 saatlik aydınlık-karanlık döngüsünü aydınlık-aydınlık döngüsünü değiştirmenin antidepresan etkinliği incelenmiştir. Aydınlık-karanlık döngüsünün karanlık fazında bir gecelik olarak verilen 12 saatlik ışık pulsünün dişi Wistar sıçanların 24 saat aralıkla uygulanan yüzme testindeki (PST) performansı üzerine etkinliği ve bu etkinliğin zamansal sınırları araştırılmıştır. Bu deneyde 3 adet deney grubu, bu deney gruplarının herbirinin kendi kontrol grubu ve bir adet de herhangi bir manipülasyona maruz kalmamış olan temel kontrol grubu olmak üzere 7 gruba random olarak dağıtılmış olan 56 adet dişi Wistar sıçan kullanılmıştır. Deneysel manipülasyonun sona ermesinden, bağlı buldukları gruba göre, 24, 96 ya da 168 saat sonra yüzme testine tabi tutulmuşlardır. İstatistik analizler ışığın koruyucu antidepresan etkinliğinin ışık pulsünün sona ermesinden 168 saat sonra bile etkili olduğunu göstermiştir.\**

*Temporal limitations of the antidepressant-like effects of modulating light-dark cycle on Porsolt Swimming Test*

## ABSTRACT

*This study aimed to determine temporal extent of the antidepressant-like effect of modulating Light:Dark cycle in Light:Light direction for one session. Fifty-six female Wistar rats were randomly allocated either to one of 3 experimental or 4 control groups, which underwent to Porsolt Swimming Test sessions separated by 24 hours, after 24,96 or 168 hours following the offset of manipulation. Animals in the fourth control group, called as the no treatment group, were kept in vivarium and underwent only the PST trials without any manipulation. Antidepressant-like protective effects of light were observed to extend to 168 hours.*

\* Uzman Psikolog, İstanbul Üniversitesi

Işığın, özellikle mevsimsel depresyon hastaları üzerinde, terapötik bir ajan olarak kullanılması 20.yy'm başlarına kadar gitmektedir. Işığın terapötik etkinliği konusundaki eski çalışmalar ışık-terapisinin yalnızca mevsimsel depresyon vak'alarında etkin olduğunu söylemesine karşın yeni çalışmalar bu sonuçların önceki çalışmalardaki deney gruplarının sadece mevsimsel depresyon vak'alarından oluşmasına ve deneklere verilen ışığın günün yanlış bir zamanında verilmesinden kaynaklandığına işaret etmektedir (Kripke ve ark., 1978).

İnsan çalışmalarında ışığın maksimum antidepresan etkinlik elde edebilmek için günün hangi saatinde verilmesi gerektiği tartışmalı bir konudur; Mevsimsel depresyon hastalarının kullanıldığı çoğu çalışmada sabah saatlerinde tatbik edilen ışığın akşam saatlerindeki tatbikten daha yüksek bir antidepresan etkinlik gösterdiği belirtilmektedir (Lewy ve ark., 1987; Rosenthal, 1988). Sabah tatbik edilen ışığın neden daha etkin bir antidepresan olduğu sorusu "Fazın Değişimi Hipotezi" ile yanıtlanmaktadır. Bu hipoteze göre yapay parlak ışığın antidepresan etkinliği mevsimsel depresyon hastalarının sirkadyen ritmlerinin fazını değiştirmesinden ileri gelmektedir; sabah saatlerinde tatbik edilen ışık sirkadyen ritmlerin "ileri doğru kaymasını" sağlarken akşam saatlerinde verilen ışık ise faz gecikmelerine neden olmakta ve böylece zaten anormal faz gecikmeleri gösteren mevsimsel depresyon hastaları sirkadyen ritm fazlarının ileri doğru kaymasını sağlayan sabah saatlerindeki ışık tatbikinden yarar görmekteyirler (Lewy, 1987).

Öte yandan, diğer bazı çalışmalar ışığın tatbik zamanının antidepresan etkinlik göstermesi açısından bir farklılık yaratmadığına işaret etmektedir. Örneğin Wirz-Justice ve arkadaşlarının (1993) yaptığı bir çalışma bu yönde bulgular sağlamıştır; deneklere sabah 7:00 veya akşam 10:00'da 2500 lüks şiddetinde ışık tatbik edilmiştir ve sonuçlar antidepresan etkinlik ile ışık tatbikinin zamanlaması arasında bir bağlantı olmadığını göstermiştir. Meta-analiz çalışması ise Hamilton Depresyon Ölçeğinde 13'ten düşük puan alanlar için sabah saatlerinde tatbik edilen ışığın daha yüksek bir antidepresan etkiye sahip olmasına karşın 13'ten yüksek puan alan denekler açısından ışığın sabah ya da akşam saatlerinde tatbik edilmesinin antidepresan etkinlik düzeyi bakımından farketmediğini göstermiştir (Wirz-Justice, 1993).

İnsan çalışmalarında ışık terapisinin, ya da başka bir ifade ile deneklere çeşitli süreler için ışık tatbik edilmesinin, antidepresan etkinlik düzeyinin

ölçümü çeşitli depresyon ölçekleri ve kişisel raporlara dayanmaktadır. Bu tip kişisel rapor tekniklerinin güvenilirliği, sosyal etkileşim veya ışık terapisinin plasebo etkisine yol açması ihtimali gibi çeşitli kontrol dışı faktörler tarafından olumsuz yönde etkilenebilmektedir (Pittendrigh, 1988). Buna karşın hayvan çalışmaları ise ışık terapisinin antidepresan etkinlik seviyesini, insan çalışmalarında ortamda bulunan pek çok değişkeni elimine ederek, daha kontrollü şartlarda gözleme imkanını sunmakta ve bu sayede hayvan çalışmaları ışık terapisinin antidepresan etkinliğini davranış düzeyinde gözleme imkanına ek olarak gözlemlenen bu etkinliğin altında yatan nörofizyolojik ve nörokimyasal mekanizmalar hakkında çıkarım yapma olanağını da sunmaktadır (Willner, 1990).

Işık terapisinin-tatbikinin antidepresan etkinliğini araştıran hayvan araştırmalarında, depresyonu bütün temel bileşenleriyle pratik bir biçimde modellemesi dolayısıyla uygun bir depresyon modeli olan Porsolt Yüzme Testi (Porsolt Swimming Test-PST) yoğun olarak kullanılmaktadır. PST modelinde hayvanları yüzmek zorunda oldukları bir ortama sokmak depresyona özgü olan çeşitli davranışsal, sirkadyen ve fizyolojik değişimlere neden olur (Porsolt ve ark., 1978). PST'nin önemli bir avantajı ise hem depresyon oluşturmak hem de çeşitli antidepresan ajanların (ışık ve trisiklik antidepresanlar gibi) etkinliğini aynı model üzerinde gözlemleyebilmektir (Connor ve ark., 2000). Diğer bir önemli avantajı ise PST sonrasında deneklerin merkezi sinir sisteminde meydana gelen nörokimyasal değişimlerin depresif hastaların merkezi sinir sistemlerinde meydana gelmiş olan değişimlerle aynı olmasıdır; PST kortikal serotonin (5-HT) miktarını azaltırken amygdaloidal serotonin miktarını arttırmakta, hipotalamo-adrenal yolu aktive etmekte ve serum kortikosteron oranını yükseltirken serum glukoz ve adrenal askorbik asid oranını düşürmektedir (Connor, Kelly ve Leonard, 1997; Reneric, Bouvard ve Stinus, 2001).

PST iki basamaklı bir testtir (Porsolt ve arkadaşları, 1977). Organizma ilk aşamada (PST 1) şeffaf bir pleksiğlas silindir içersinde 15 dakika boyunca yüzdürülür ve bu durum organizmanın "davranışsal umutsuzluk-çökkünlük" (behavioral despair) olarak nitelendirilen hareketsiz bir postüre girmesine neden olur, organizmanın bu kez 5 dakika boyunca yüzdürüldüğü ikinci aşama (PST 2) ise birinci aşamanın bitiminden 24 saat sonra başlar (Willner, 1990). Literatürde, davranışsal umutsuzluk-çökkünlük hali olarak nitelendirilen

hareketsizlik (immobilisation) durumunun, hayvanın acı verici test ortamından kaçma ümidinin kaybolmasının bir sonucu olarak ortaya çıktığı kabul edilmektedir (Porsolt ve ark., 1978). PST'de değerlendirmeye alınan başlıca parametre deneğin 5 dakika boyunca yüzdüğü PST 2'deki hareketsiz geçirdiği süre ile PST 1'in ilk beş dakikasında hareketsiz geçirdiği süre arasındaki farktır (Abel, 1993). Herhangi bir antidepresan ajan (trisiklik antidepresanlardan biri ya da ışık tatbiki) verilmeden yüzme testine tabi tutulan bir deneğin PST 2'deki hareketsizlik süresi PST 1'in ilk 5 dakikalık kısmındaki hareketsiz süresinden daha uzundur ve aradaki bu fark davranışsal umutsuzluk olgusunun "alamet-i farikası" (sine qua non) olarak kabul edilmektedir (Porsolt ve ark., 1977; Willner, 1990).

Noradrenerjik (NA) ve serotonerjik sistemlere karşı duyarlı olduğu bilinen PST'de her iki sistemin etkinliği de farklı parametreler üzerinden gözlemlenebilir; 5-HT üretimindeki artış, dalma ve zıplama gibi, kaçmaya yönelik davranışların miktarını arttırırken NA üretimindeki artış ise hareketsizlik süresini (immobilisation time) azaltmaktadır (Detke, Rickles ve Lucki, 1995). 5-HT ve NA'nın geri alınımının ketlenmesi hareketsiz geçen süreyi azaltırken kaçmaya yönelik davranışlar ile kafa sallama davranışını arttırır, örneğin bir trisiklik antidepresan olan desipramine pre-sinaptik nörona NA geri alınımını ketleyerek PST'de hareketsiz geçen süreyi azaltmaktadır (Espejo ve Minano, 1999; Reneric, Bouvard ve Stinus, 2001).

Işık tatbikinin antidepresan etkinliğine dair hayvan çalışmalarından elde edilen bulgular insan çalışmalarından elde edilen bulgularla paralellik arz etmektedir; ışık tatbik edilen hayvanların PST 2'deki hareketsizlik süreleri PST 1'e göre anlamlı seviyede bir artış göstermemektedir. Örneğin Hernandez ve arkadaşları (1999) tarafından yapılan bir çalışmada wistar cinsi erkek sıçanlar iki hafta boyunca subjektif geceleri süresince (12 saat) hergün ışığa maruz bırakılmış ve daha sonra deney grubundaki bu hayvanların PST 2'deki hareketsizlik sürelerinin, kontrol gruplarının aksine, PST 1'deki hareketsizlik sürelerine göre anlamlı düzeyde daha yüksek olmadığı görülmüştür. Aynı çalışmada ışık tatbikinin antidepresan etkinliği iki adet trisiklik antidepresan ile (imipramine ve desipramine) karşılaştırılmış ve en az bu iki antidepresan kadar etkin olduğu gözlemlenmiştir. Fakat, bu çalışmada kullanılan PST bir silindir değil küp şeklinde olduğu için standartlara uygun değildir. Arushanian tarafından (1999) yapılan başka bir çalışmada da wistar cinsi erkek sıçanlarda

14 günlük ışık tatbikinin, PST'deki performans açısından değerlendirildiğinde, imipramine kadar güçlü bir antidepresan etkinlik gösterdiği bulunmuştur.

Yukarıda belirtilmiş olan bu çalışmalarda deneklere ışık iki hafta kadar bir süre boyunca tatbik edilmektedir. Halbuki, tek bir seferlik (yalnızca 24 saat boyunca) hayvanların aydınlık:karanlık döngüsünün karanlık fazı süresince ışık verilerek 24 saatlik bu döngünün aydınlık:aydınlığa dönüştürülmesinin wistar cinsi dişi sıçanları daha sonra uygulanacak olan PST'de depresyondan koruduğu gözlenmiştir. Yılmaz ve arkadaşlarının (1999) yaptığı çalışmada 24 saatlik aydınlık-karanlık döngülerinin (12 saat karanlık-12 saat aydınlık) karanlık fazı boyunca ışığa maruz bırakılan sıçanların ışığın kesilmesinden 36 saat sonra yapılan PST'de kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde daha az hareketsiz kaldıkları, kafa sallama, zıplama ve dalma gibi davranışları daha fazla sergiledikleri görülmüştür. Öte yandan, Yılmaz ve arkadaşlarının (1999) çalışması elde edilmiş olan antidepresan etkinin etkinlik süresinin 36 saatin ötesine uzanıp uzanmadığını bize söylememektedir. Bu çalışmanın amacı aydınlık-karanlık döngüsünü 24 saatlik bir zaman dilimi için aydınlık-aydınlık haline dönüştürmenin doğurduğu koruyucu antidepresan etkinliğin Yılmaz ve arkadaşlarının (1999) çalışmasında gözlemlenmiş olan 36 saatlik zamansal sınırın ötesine uzanıp uzanmadığını ve bu antidepresan etkinlik üzerindeki olası zamansal sınırlamaları belirlemektir.

## Yöntem

### Denekler

Ağırlıkları 185-210 gram arasında değişen toplam 56 adet wistar cinsi dişi sıçan kullanılmıştır. Denekler deney süreci boyunca vivaryumda her bir kafese sekiz hayvan düşecek biçimde farklı gruplar halinde plastik kafeslerde, 12 saat aydınlık:12 saat karanlık (ışıklar 7:00'de açılıyordu) olan bir aydınlık-karanlık döngüsünde tutulmuşlardır. Denekler bu süre boyunca yemek ve su ihtiyaçlarını serbestçe karşılayabilmekteydiler.

**Gruplar:** Çalışmada 3 adet deney (1 gün gecikmeli, 4 gün gecikmeli ve 7 gün gecikmeli deney grupları), her bir deney grubunun kendine ait bir kontrol grubu olacak şekilde 3 adet kontrol (1 gün gecikmeli, 4 gün gecikmeli ve 7 gün gecikmeli kontrol grupları) ve bir adet de temel kontrol grubu (deney boyunca hiçbir manipülasyona uğramadan vivaryumda olağan aydınlık-karanlık

döngüleri içerisinde yaşamaya devam eden deneklerden oluşmuş bir grup) olarak toplam 7 grup kullanılmıştır. Deney gruplarında yer alan deneklere aydınlık-karanlık döngülerinin 12 saatlik karanlık fazı (19:00-7:00) boyunca dış uyaranlardan izole olan ve havalandırılan ahşap bir kabinde ışık tatbik edilmiştir. Ahşap kabindeki havalandırma sistemi sayesinde kabin-içi sıcaklığın vivaryumla aynı düzeyde (20°C) kalması sağlanmıştır. Tüm deney grupları için tatbik edilen ışığın süresi ve miktarı aynı olmakla beraber kabinden ışığın kesildiği zamanla PST 1 uygulamasının başlangıcı arasında geçen zaman bakımından birbirlerinden farklılaşmaktadırlar; 1-gün gecikmeli deney grubundaki deneklere ışık kesilip vivaryuma döndükten 24 saat sonra PST 1 uygulanmıştır, bu süre 4 gün gecikmeli deney grubu için 96 saat iken 7 gün gecikmeli deney grubu için ise 168 saattir. Her bir deney grubunun kendi kontrol grubunda yer alan denekler de aynı ahşap kabine konularak kendi deney grubundaki deneklerin kaldığı süre boyunca orada tutulmuş fakat kontrol gruplarında yer alan bu deneklere aydınlık-karanlık döngülerinin karanlık fazında (19:00-07:00) ışık verilmemiş ve kabinde geçirdikleri süre boyunca, vivaryumda yaptıkları gibi, rutin 12 saat aydınlık:12 saat karanlık döngüde yaşamaya devam etmişlerdir. Kontrol gruplarındaki deneklerin kabinde çıkarılmalarıyla PST 1 uygulaması arasında geçen süre her bir kontrol grubu için kendi deney grubu ile aynıdır. Denekler veya gruplar arasında mevsimsel farklılığa bağlı olarak herhangi bir bir ritm değişikliği oluşması ihtimalini ortadan kaldırmak için çalışma eylül ayı boyunca yapılarak tüm deney bir ay içerisinde tamamlanmıştır.

### İşlemler

**İşık Tatbiki:** Deney ve kontrol gruplarındaki bütün denekler 12 saat aydınlık:12 saat karanlık döngüsünün karanlık fazının başlamasına 10 dakika kala (18:50) yiyecek ve suya serbestçe ulaşabilecekleri küçük plastik kafesler içinde ses-ışık geçirmeyen ve havalandırılan ahşap bir kabine (90x70x50cm) herbir kafeste ikişer denek olacak biçimde iki ayrı küçük plastik kafes içinde yerleştirilmişlerdir. Deney gruplarında yer alan deneklere 12 saat aydınlık:12 saat karanlık döngüsünün karanlık fazı boyunca (19:00-07:00) kabinin tavanına monte edilmiş olan 25 watt'lık bir ampul yoluyla ışık tatbik edilmiştir ve kafesten çıkarıldıkları saat 15:00'e kadar ışık açık kalmıştır. Deney gruplarının kendi kontrol gruplarında yer alan denekler de, her bir kafeste ikişer denek olacak biçimde, aydınlık-karanlık döngüsünün karanlık fazının başlamasına 10

1 dakika kala ahşap kabine yerleştirilmiş fakat deney gruplarındaki deneklerden farklı olarak bu deneklere 19:00-07:00 arasında ışık verilmemiştir. Ayrıca, kontrol gruplarındaki denekler için, vivaryumla eşgüdümlü olarak, kabindeki ışık 07:00'de açılmıştır. Temel kontrol grubundaki denekler kabine girmemiştir.

**PST İşlemi:** Tüm PST'ler 15 cm derinliğinde 25°C su doldurulmuş olan 45cm yüksekliğinde ve 30cm çapında standart bir şeffaf pleksiglas silindirik kullanılarak yapılmıştır. Bütün denekler uygulamanın başlamasına 10 dakika kala küçük plastik kafesler içinde, tek tek, test odasına getirilmişlerdir. Her bir denek, tek başına, iki ayrı yüzme testine tabi tutulmuştur (PST 1 ve PST 2). 15 dakika süren PST 1'i 24 saat sonra aynı deneysel koşullar altında yapılan ve 5 dakika süren PST 2 izlemiştir. Tüm PST'ler, denekler arasında günlük ritim farklılıklarına bağlı bir performans farkı oluşmasına engel olmak amacıyla, saat 10:00-15:00 saatleri arasında uygulanmıştır. Bu sayede PST uygulamalarında hem grup-içi hem de gruplar-arası bir zamansal dengelenme sağlanarak, yukarıda da belirtildiği üzere, deneklerin PST'de sergiledikleri performanslarının testin uygulandığı saatten etkilenmemesi sağlanmıştır. Wistar cinsi deney sıçanlarının günlük ritimlerinin günün bu saatleri arasında belirgin bir değişim göstermediği bilinmektedir. Diğer taraftan, PST uygulama yönergesi standart olan ve deneyci-hayvan interaksiyonuna dayalı bir test olmadığı için deneyciler açısından benzer bir risk, yani testin uygulandığı zaman ya da deneycinin yorgunluk yaşaması gibi faktörlerin deneklerin performansını olumlu ya da olumsuz yönde etkilemesi, sözkonusu değildir. PST uygulamaları sırasında deneklerin hareketsizlik süreleri ve kaçmaya yönelik davranışları deneyciler tarafından gözlemlenmiştir. Tüm test işlemleri videokamera ile kaydedilmiştir ve kaydedilen bu PST uygulamaları çalışmanın amacından habersiz, bağımsız iki gözlemci tarafından da izlenerek her bir denneğin hareketsizlik süresi, dalma, zıplama ve kafa sallama davranışları skorlanmıştır. Bağımsız gözlemcilerden biri hareketsizlik süresini, diğeri ise kaçmaya yönelik davranışlarını farklı zamanlarda (birbirini tanımayan bu iki bağımsız gözlem sırasında ya da dışında asla biraraya gelmemişlerdir) gözlemleyerek skorlamıştır. Deneyciler ve bağımsız gözlemciler tarafından her bir denek için gözlemlenen parametrelerden elde edilen skorlar karşılaştırılmış ve bu karşılaştırma neticesinde, PST'de gözlemlenen davranışsal parametrelerin operasyonel tarifleri net bir biçimde yapılmış standart parametreler olması bağlamında, elde edilen bu iki grup gözlem arasında fark olmadığı görülmüştür. Yine de, istatistiksel analizler için sadece gözlem yapmaya odaklanmış olan

bağımsız gözlemciler tarafından yapılan skorlandırmalar kullanılmıştır. Hareketsizlik süresi kronometre kullanılarak deneğin test süresi boyunca hareketsiz kaldığı toplam süre saptanarak saniye cinsinden hesaplanmıştır. Dalma, zıplama ve kafa sallama davranışları ise test süresi boyunca yapılan bu davranışların herbirinin ayrı ayrı sayılarak toplanması yoluyla hesaplanmıştır. Hareketsizlik suyun üzerinde kıpırdamadan sürüklenme, dalma davranışı bütün vücudun suya girmesi ve zıplama davranışı ise vücudun en azından üst yarısının tamamen suyun dışına çıkması olarak tarif edilmiştir. Bütün PST uygulamalarından sonra her bir deneğe bir lambanın altına yerleştirilmiş olan kağıt havlu ile kaplı bir kafeste kuruması için 30 dakika zaman tanınmıştır.

### Sonuçlar

Hareketsizlik süresi için tek yönlü ANOVA, post hoc analizler için ise LSD testi kullanılmıştır. Diğer davranışal ölçümler (daima, zıplama ve kafa sallama) eşlendirilmiş seriler için Wilcoxon testi ve parametrik olmayan Kruskal-Wallis tek yönlü ANOVA kullanılarak analiz edilmiştir. Her bir grubun PST 1'in ilk beş dakikasındaki dalma, zıplama ve kafa sallama davranış skorları eşlendirilmiş seriler için Wilcoxon testi kullanılarak aynı parametrelerde PST 2'de elde ettikleri kendi skorları ile, ayrı ayrı, karşılaştırılmıştır. Deneklerin PST 1'in ilk beş dakikasındaki hareketsizlik süreleri PST 2'deki hareketsizlik süreleri ile her grup için ayrı ayrı tek örneklemlili t-testi kullanılarak karşılaştırılmıştır. Hem PST1 ve hem de PST 2 için dalma, zıplama ve kafa sallama parametreleri üzerindeki olası gruplar arası farklılaşmaları saptamak üzere parametrik olmayan Kruskal-Wallis tek yönlü ANOVA kullanılmıştır.

#### PST1'in Sonuçları

Birinci yüzme testinde hareketsizlik süresi bakımından gruplar arasında herhangi bir anlamlı fark yoktur ( $F(6,49)=1.769$ ,  $p>0.05$ ) (bkz. Tablo-1). Parametrik olmayan Kruskal-Wallis tek yönlü ANOVA kullanılarak yapılan analizde PST 1'deki dalma, zıplama ve kafa sallama davranışı skorları bakımından anlamlı bir gruplar arası farklılık bulunamamıştır (dalma davranışı için  $ki-kare=4,82$   $df=6$   $sig.=0.612$ ,  $p>0.05$ , zıplama davranışı için  $ki-kare=11,295$   $df=6$   $sig.=0.800$ ,  $p>0.05$  ve kafa sallama davranışı için ise  $ki-kare=11.240$   $df=6$   $sig.=0.810$ ,  $p>0.05$ ) (bkz. Tablo 1).



Tablo 1: Deney ve Kontrol Gruplarının PST 1'deki Ortalamaları ve Standart Sapmaları

Gruplar	Hareketsizlik sür. (saniye olarak)	Dalma (adet olarak)	Zıplama (adet olarak)	Kafa sallama (adet olarak)
	Ort + Std	Ort.+ Std	Ort.+ Std	Ort.+ Std
1 gn.gec.den.	38,4 ± 26,6	6,4 ± 4,6	9,5 ± 6,7	27,5 ± 12,5
1 gn.gec.knt.	43,8 ± 39,4	5,0 ± 6,3	3,3 ± 1,5	21,2 ± 5,4
4 gn.gec.den.	52,3 ± 36,1	7,8 ± 4,6	2,7 ± 2,5	31,1 ± 8,3
4 gn.gec.knt.	52,0 ± 31,4	6,1 ± 4,9	5,9 ± 5,1	38,3 ± 14,3
7 gn.gec.den.	29,0 ± 21,9	6,5 ± 4,3	5,1 ± 4,2	26,8 ± 8,4
7 gn.gec.knt.	39,4 ± 15,3	8,4 ± 3,5	4,8 ± 3,6	23,4 ± 10,3
Tem.knt.	69,8 ± 34,7	6,0 ± 7,7	1,8 ± 2,2	30,5 ± 9,3

### PST 2'nin Analiz Sonuçları

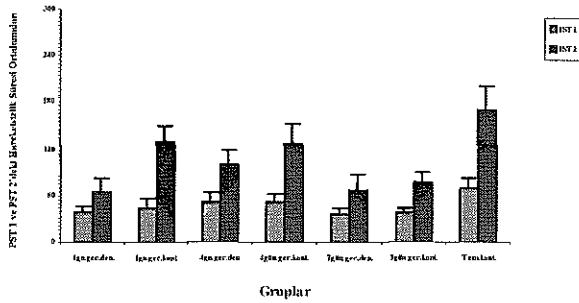
Tek yönlü ANOVA hareketsizlik süresi bakımından anlamlı bir gruplar arası farklılaşmaya işaret etmiştir ( $F(6,49)=3.421$ ,  $p<0.05$ ) (bkz.Tablo 2). *Post hoc* analiz ise 1 gün gecikmeli deney grubunun 1 gün gecikmeli kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşük bir hareketsizlik süresine sahip olduğunu göstermiştir (0.038). 1 gün gecikmeli deney grubu ayrıca, 4 gün gecikmeli kontrol ve temel kontrol gruplarına göre PST 2'de anlamlı düzeyde daha düşük bir süre hareketsiz kalmıştır (0.001). 4 gün gecikmeli deney grubu ise temel kontrol grubuna göre anlamlı derecede daha düşük bir hareketsizlik süresine sahiptir (0.030). 7 gün gecikmeli deney grubu ise 1 gün gecikmeli kontrol (0.046) ve temel kontrol grubuna 2'deki göre anlamlı düzeyde daha düşük bir hareketsizlik süresine sahiptir. Deney gruplarının hareketsizlik süreleri arasında ise anlamlılık düzeyde bir farklılık yoktur. Deney gruplarının kendi kontrol grupları arasında da hareketsizlik süresi bakımından herhangi bir anlamlı farklılık yoktur, öte yandan 7 gün gecikmeli kontrol grubu temel kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha uzun bir hareketsizlik süresine sahiptir (0.004). Parametrik olmayan Kruskal-Wallis tek yönlü ANOVA testi dalma, zıplama ve kafa sallama davranışları açısından herhangi bir anlamlı gruplar arası farklılığa işaret etmemiştir.

Her bir grup için ayrı ayrı tek örneklemlili t-testi kullanılarak, grupların PST 2'deki hareketsizlik süreleri PST 1'deki kendi hareketsizlik

süreleri ile karşılaştırılmıştır. 1 gün gecikmeli deney ( $t=1.296$ ,  $df=7$ ,  $p>0.05$ ) ve 7 gün gecikmeli deney ( $t=1.692$ ,  $df=7$ ,  $p>0.05$ ) gruplarının PST 2'deki hareketsizlik süreleri ile PST 1'deki hareketsizlik süreleri arasında anlamlı bir farklılık yoktur. Diğer tüm grupların PST 2'deki hareketsizlik süreleri PST 1'deki kendi hareketsizlik sürelerinden anlamlı düzeyde daha uzundur (1 gün gecikmeli kontrol grubu için;  $t=4.212$ ,  $df=7$ ,  $p<0.05$ , 4 gün gecikmeli deney grubu için;  $t=2.997$ ,  $df=7$ ,  $p<0.05$ , 4 gün gecikmeli kontrol grubu için;  $t=2.975$ ,  $df=7$ ,  $p<0.05$ , 7 gün gecikmeli kontrol grubu için;  $t=3.048$ ,  $df=7$ ,  $p<0.05$  ve temel kontrol grubu için ise;  $t=5.394$ ,  $df=7$ ,  $p<0.05$ ) (bkz. Grafik 1).

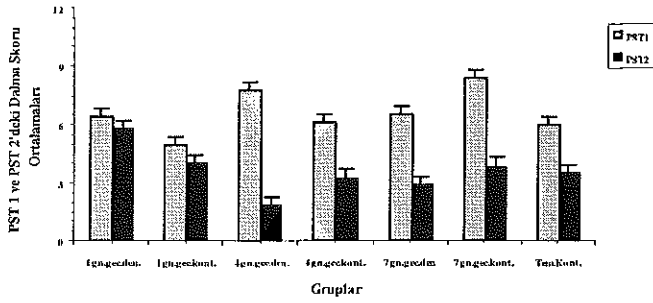
Tablo 2: Deney ve Kontrol Gruplarının PST 2'deki Ortalamaları ve Standart Sapmaları

Gruplar	Hareketsizlik Sür. (saniye olarak)	Dalma (adet olarak)	Zıplama (adet olarak)	Kafa sallama (adet olarak)
	Ort.+ Std	Ort.+ Std	Ort.+ Std	Ort.+ Std
1 gn.gec.den.	63,5 ± 54,9	5,8 ± 4,3	5,8 ± 7,5	22,5 ± 12,3
1 gn.gec.knt.	129,4± 57,5	4,0 ± 5,4	2,3 ± 4,1	15,9 ± 10,8
4 gn.gec.den.	102,0± 46,1	1,9 ± 2,1	3,5 ± 2,9	17,3 ± 12,9
4 gn.gec.knt.	127,1± 71,4	3,3 ± 3,4	3,0 ± 2,2	16,8 ± 11,2
7 gn.gec.den.	66,1 ± 62,0	2,9 ± 2,3	2,4 ± 1,8	15,0 ± 10,5
7 gn.gec.knt.	77,1 ± 34,7	3,9 ± 3,3	3,9 ± 1,6	23,3 ± 11,0
Tem.knt.	171,1± 89,7	3,5 ± 5,7	0,6 ± 1,2	16,8 ± 17,2

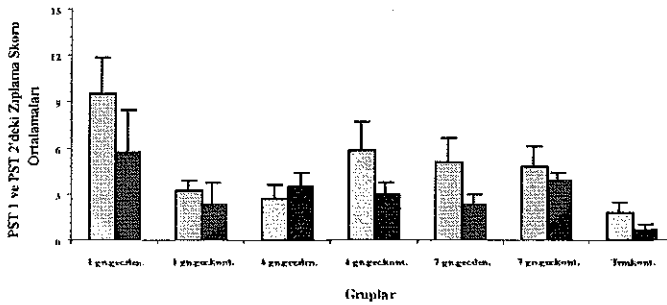


Grafik 1: Deney ve kontrol gruplarının PST 1 ve PST 2'deki ortalama hareketsizlik süresi karşılaştırmaları

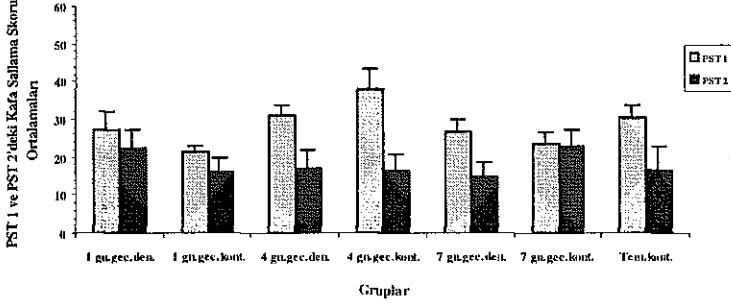
Her bir grubun PST 2'deki dalma, zıplama ve kafa sallama davranışı ortalama skorları PST 1'deki ortalama skorları ile eşlendirilmiş seriler için Wilcoxon testi kullanılarak ayrı ayrı karşılaştırılmıştır. 4 gün gecikmeli deney grubu dışında dalma ve zıplama davranışları bakımından hiçbir grubun PST 1 ve PST 2'deki skor ortalamaları arasında anlamlı bir farklılaşma yoktur. 4 gün gecikmeli deney grubu PST 2'de PST 1'e göre anlamlı düzeyde daha az dalma davranışı sergilemiştir ( $z=-2.3664$ ,  $p=0.018$ ,  $p<0.05$ ). 4 gün gecikmeli kontrol ve 7 gün gecikmeli deney grupları ise PST 2'de, PST 1'deki kendi performanslarıyla karşılaştırıldığında, anlamlı düzeyde daha az kafa sallama davranışı sergilemişlerdir (4 gün gecikmeli kontrol için;  $z=-2.5205$ ,  $p=0.0117$ ,  $p<0.05$  ve 7 gün gecikmeli deney grubu için;  $z=-2.0284$ ,  $p=0.0425$ ,  $p<0.05$ ) (bkz. Grafik 2-3-4).



**Grafik 2:** Deney ve kontrol gruplarının PST 1 ve PST 2'deki dalma davranışı ortalama skorlarının karşılaştırmaları.



**Grafik 3:** Deney ve kontrol gruplarının PST 1 ve PST 2'deki zıplama davranışı ortalama skorlarının karşılaştırmaları



**Grafik 4:** Deney ve kontrol gruplarının PST 1 ve PST 2'deki kafa sallama davranışı ortalama skorlarının karşılaştırmaları

### Tartışma

Çalışmanın sonuçları, aydınlık-karanlık döngüsünün karanlık fazında verilen 12 saatlik tek bir ışık pulsunun 7 gün sonra uygulanan yüzme testinde bile koruyucu bir antidepresan etkinlik gösterebildiğine işaret etmektedir. Hem 1 gün gecikmeli deney grubu hem de 7 gün gecikmeli deney grubunun PST 2 ve PST 1'deki kendi hareketsizlik süreleri arasında anlamlı bir fark yoktur. Ayrıca, 1 gün gecikmeli deney grubunun PST 2'deki hareketsizlik süresi 1 gün gecikmeli kontrol, 4 gün gecikmeli deney grubu ve temel kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde daha düşüktür. 7 gün gecikmeli deney grubu da PST 2'de 1 gün gecikmeli kontrol ve temel kontrol gruplarına göre anlamlı düzeyde daha az bir hareketsizlik sergilemiştir. Aynı zamanda, bu iki deney grubunun PST 1 ve PST 2'deki kaçmaya yönelik davranış (dalma ve zıplama davranışları) ortalama skorları karşılaştırdığında anlamlı düzeyde bir azalma söz konusu değildir. Buna rağmen, 4 gün gecikmeli deney grubu ikinci yüzme testinde birinceye göre anlamlı düzeyde daha fazla hareketsizlik sergilemiş ve PST 2'deki dalma davranışında da PST 1'e göre anlamlı düzeyde bir azalma göstermiştir.

PST 1'de tüm deney ve kontrol grupları arasında hiçbir parametre yönünden anlamlı bir farklılık olmadığı göz önüne alındığında PST 2'den elde edilen sonuçların kontrol gruplarında ya da 4 gün gecikmeli deney grubunda yer alan deneklerin herhangi bir motor problemine bağlı olarak ortaya çıkmadığı anlaşılmaktadır.

Daha önceki çalışmalarda (Yılmaz ve ark., 2000) aydınlık-karanlık döngüsünün 12 saatlik karanlık fazı boyunca verilen ışığın antidepresan

etkisinin 36 saat öteye uzandığı yönündeki bulgular da dikkate alınarak bu çalışmada elde edilmiş mevcut veriler değerlendirildiğinde, belirtilmiş olan şartlarda verilen 12 saatlik tek bir ışık pulsunun koruyucu antidepresan etkisinin 36 saatten çok daha öteye uzandığı, 196 saat sonra (7 gün gecikmeli deney grubumuzun ortaya koyduğu şekilde) dahi antidepresan etkinin devam etmekte olduğu söylenebilir.

Daha önce de ifade edilmiş olduğu üzere, PST özellikle trisiklik ajanlara karşı duyarlıdır ve trisiklik antidepresanlar antidepresan etkilerini hem NA ve hem de 5-HT sistemleri üzerinden çalışarak gerçekleştirmektedirler (Detke, Rickles ve Lui, 1995). Desipramine gibi trisiklik antidepresanlar pre-sinaptik nörona NA geri alımını ketleyerek denekleri PST uygulaması sonucu oluşan davranışsal depresyondan korumaktadır (Reneric, Bouvard ve Stinus, 2001). Artan 5-HT üretimi PST'de kendini kaçmaya yönelik davranışlarda meydana gelen artışla belli etmektedir, öte yandan artan NA üretimi ise hareketsizlik süresindeki düşüşle karakterize olmaktadır. Örneğin, Paroxetine gibi serotonin spesifik geri alım ketleyicilerinin denekleri PST'de, hareketsizlik süresinde düşüşe yol açmaması açısından, davranışsal depresyondan koruyamaması da hareketsizlik süresi ile ilgili spesifik nörokimyasal mekanizmanın NA sistemi olduğu yönünde bir göstergedir (Kennaway ve ark., 2001). Bu bağlamda, herhangi bir terapötik uygulamanın davranışsal depresyon üzerindeki etkinliği PST üzerinden değerlendirilirken ana parametre olarak hareketsizlik süresi esastır (Porsolt, Le Pichon ve Jalfre, 1977; Porsolt ve ark., 1978).

Farmakolojik veriler, özellikle antidepresan tedavi başarılı olduğunda, ışığın ve trisiklik antidepresanların memeli canlıların sirkadyen sistemlerinde benzer değişimlere ve sonucunda da antidepresan etkiye yol açtığına işaret etmektedir (Hill, 1992). PST paradigması üzerinden trisiklik ajanlar ile deneklere ışık tatbikinin antidepresan etkilerini karşılaştıran hayvan çalışmaları da ışık ve trisiklik ajanların antidepresan etkileri arasında paralellik olduğunu göstermektedir; Hernandez ve ark.(1999) ve Arushanian'ın (1999) çalışmalarında iki hafta boyunca tatbik edilen ışığın wistar cinsi erkek sıçanları PST'ye bağlı davranışsal ümitsizlik-çökkünlük halinden, imipramine gibi trisiklik antidepresanlar kadar iyi koruduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda da denekler PST 2'de PST 1'de olduklarından anlamlı düzeyde daha az hareketli değillerdi. PST 2'de PST 1'e göre yükselmemiş olan hareketsizlik süresi NA üretimindeki artışın bir fonksiyonu olarak kabul edildiğine göre bahsedilmiş

olan çalışmalarda iki haftalık ışık tatbikinin deneklerdeki NA üretimini arttırmış olması ve sonucunda da PST 2'deki hareketsizlik süresinin uzamasının engellenmiş olması muhtemeldir. Benzer bir olasılık 5-HT sistemine bağlı olan kaçmaya yönelik davranışlar için de geçerlidir (Arushanian, 1999). Nitekim, ışık tatbikinin nörokimyasal etkileri üzerine yapılan çalışmalar deneysel ya da tıbbi amaçlarla ışık tatbik edilen insan ve hayvanlarda yüksek oranda NA ve 5-HT metabolitine rastlandığına işaret etmektedirler (Arushanian, 1999; Madden ve ark., 1996; Wirz-Justice ve ark., 1993). Ayrıca, aydınlık-karanlık döngüsünün karanlık fazında verilen iki saniye kadar kısa süreli bir ışık pulsunun bile hem hayvan hem de insanlarda pineal melatonin salgısını baskıladığı da bilinmektedir (Kennaway ve ark., 2000; Wirz-Justice ve ark., 1993).

PST'deki çeşitli davranışsal parametrelerle ilgili yukarıda belirtilmiş olan spesifik nörokimyasal mekanizmalar göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızda elde edilmiş olan sonuçların altında yatan olası nörokimyasal dinamiklerle ilgili çeşitli açılımlarda bulunmak da mümkün olmaktadır. 1 gün ve 7 gün gecikmeli deney gruplarında yer alan deneklerde, ışık tatbiki sonucunda, NA ve 5-HT üretiminde artış meydana gelmiş olması muhtemeldir zira bu gruplarda yer alan deneklerin PST 2'de sergilemiş oldukları hareketsizlik süreleri PST 1 ile karşılaştırıldığında anlamlı düzeyde artmamıştır ve kaçmaya yönelik davranış skoru ortalamalarında ise PST 2 ile PST 1 arasında anlamlı düzeyde bir düşüş yaşanmamıştır. Dikkat edilmesi gereken bir diğer nokta ise PST 1'de gruplar arasında hiç bir davranışsal parametre açısından anlamlı düzeyde bir farklılık olmamasına karşın PST 2'de 1 gün gecikmeli kontrol grubunun 1 gün gecikmeli deney grubuna göre anlamlı düzeyde daha hareketsiz olmasıdır. Ayrıca, temel kontrol grubu hem 1 gün gecikmeli hem de 7 gün gecikmeli deney gruplarına göre anlamlı düzeyde daha uzun bir hareketsizlik süresi arz etmektedir. Mevcut çalışmada edilen bu davranışsal veriler, literatürdeki farmakolojik verilerin de ışığında, 1 gün gecikmeli ve 7 gün gecikmeli deney gruplarında ışık tatbikinin bir sonucu olarak NA ve 5-HT seviyelerindeki muhtemel artışlara işaret etmekle birlikte 4 gün gecikmeli deney grubu için aynı şeyleri söylemek mümkün değildir. Eğer deney gruplarında, ve tabii özellikle 4 gün gecikmeli deney grubunda, yer alan deneklerin bireysel nörokimyasal analizleri yapılabilsen ışık tatbikinin neden bu gruptaki deneklerde koruyucu bir etki yapmadığını anlama imkanı doğabilirdi.

Verilerimizin altında yatan süreçleri açıklamak bağlamında bu noktaya kadar ele aldığımız nörokimyasal mekanizmalara ek olarak dikkat edilmesi gereken bir diğer nokta da sirkadyen ritimlerde gözlenen çeşitli faz değişimleri (özellikle faz gecikmesi) ile uygulanmakta olan antidepresan tedavinin başarısı arasında pozitif bir korelasyon oluşudur (Detke, Rickes ve Lucki; Stewart ve ark., 1990b). Başka bir ifade ile, herhangi bir antidepresan uygulama (ışık terapisi ya da ilaçlar) olumlu sonuç vermeye başladığında bu olumlu sonuçlara paralel olarak sirkadyen ritimlerde de, genellikle faz gecikmesi yönünde, bazı değişimler gözlenir. Sirkadyen ritimlerde, gerek fazlarının gecikmesi ve gerekse de ileriye doğru kayması yönünde meydana gelen değişimlerin, stres ile bağlantılı hormonal mekanizmalar ile de birlikte, canlıların zor çevre koşullarına en iyi biçimde adapte olmasını sağlayan içsel bir antidepresan mekanizmanın parçaları olduğu yönünde bulgular ve görüşler mevcuttur. Nitekim, literatürdeki çeşitli çalışmalar bu görüşü destekler mahiyettedir. Örneğin, Stewart ve arkadaşlarının (Stewart ve ark., 1990a) yaptığı bir çalışmada değişik aydınlık-karanlık döngüsü programlarına sokulan hayvanların sirkadyen ritimlerindeki değişimler aktivite çarkları kullanılarak bireysel olarak ölçülmüş ve sonuçta ritm periyodlarının uzadığı hayvanların deneyin ikinci aşamasını teşkil eden aversif uyarandan kaçınma görevinde periyodlarında gecikme olmuş veya hiçbir değişiklik oluşmamış hayvanlara göre daha başarılı olduğu gözlemlenmiştir. Yine aynı grup tarafından yapılan bir başka çalışmada da elektrik şokları verilen ve günlük aktivite ritimleri ölçülmekte olan hayvanlarda günlük ritimlerinde değişim gözlenenlerin gözlenmeyenlere göre kaçınma davranışını öğrenmede daha başarılı olduğu bulunmuştur. Farmakolojik çalışmalar da bu yönde bulgular sunmakta ve pek çok antidepresan ajanın kronik kullanımının hem insan hem de hayvanlarda sirkadyen ritimlerin günlük dağılımlarında uzamaya yol açtığına işaret etmektedirler (Redrobe ve Bourin, 1999).

Kendi çalışmamız açısından ele alındığında, Stewart ve arkadaşlarının (1990a) yapmış olduğu biçimde aydınlık:karanlık döngüsünü aydınlık:aydınlık ya da karanlık:karanlık haline dönüştürmek, deneklerin sirkadyen ritimlerinin aydınlık:karanlık döngüsünü başlıca ipucu olarak kullanarak kendilerini ona göre "kurdukları" 24 saatlik zaman diliminden sapma süresini etkileyebilir (Pittendrigh, 1988). Diğer bir deyişle, kendi çalışmamızda deneklerimizin 12 saat aydınlık-12 saat karanlık döngüsünü subjektif geceleri boyunca (19:00-7:00) 12 saatlik bir ışık pulsu vererek 24 saatlik bir süre için aydınlık-aydınlık

haline dönüştürmemiz PST'nin deprese edici etkisinden korunmuş olan deneklerimizin sirkadyen ritimlerinde, ritm fazlarının ileriye doğru kayması ve/veya gecikmesi-kısalması tarzıdan bir değişime yol açmış olabilir. Böylesi bir koruyucu etkinliğin 4 gün gecikmeli deney grubunda gözlenmemesinin nedeni ise, Stewart ve arkadaşlarının (Stewart ve ark., 1990b) çalışmalarında sirkadyen ritimlerinde herhangi bir değişiklik göstermeyen deneklerin ritimlerinde değişiklik göstermiş olan deneklere kıyasla test aşamasında kötü bir performans sergilemesine benzer bir biçimde, bu grupta yer alan deneklerin tamamı ya da çoğunluğunun sirkadyen ritimlerinin yeni aydınlık-karanlık şartlarına bağlı olarak değişim gösterebilecek kadar esnek olmaması olabilir. Bu bağlamda diğer bir olasılık ise 4 gün gecikmeli deney grubunda yer alan deneklerin bir kısmının aydınlık-karanlık döngüsü yerine bazı başka ipuçları kullanarak sirkadyen ritimlerinde herhangi bir değişimin önüne geçmiş olmasıdır. Deneklerin her birinin sirkadyen ritimlerini (günlük aktivite ritimleri gibi) ve dolayısıyla da bu ritimlerde meydana gelecek muhtemel değişimleri gözlemleyen yeni bir çalışma bu çalışmada elde edilmiş olan verilerle korelasyon içinde ortaya çıkan sirkadyen ritmlere dair olası değişimleri ve, eğer herhangi bir değişim sözkonusu ise, bu değişimin genel paternini anlamamıza yardımcı olacaktır.

#### Kaynakça

- Arushanian, E.B. (1998). The circadian rhythm pacemaker: the hypothalamic suprachiasmatic nuclei as the possible target for action of psychotropic agents. *Experimental'Naia i Klinicheskaia Farmakologii*, 61, 67-73
- Connor, T.J., Kelliher P. & Leonard, B.E. (1997). Forced swim test-induced neurochemical, endocrine and immune changes in the rat. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 58, 961-967.
- Connor, T.J., Kelliher P., Shen, Y., Kelly, J.P. & Leonard B.E. (2000). Effect of subchronic antidepressant treatments on behavioral, neurochemical, and endocrine changes in the forced swim test. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*, 58, 961-967.
- Detke, M.J., Rickles, M., & Lucki I. (1995). Active behaviors in the rat swimming test differentially produced by serotonergic and noradrenergic antidepressants. *Psychopharmacology*, 121, 66-72.
- Hernandez-Molina, M. & Tellez-Alcantara, P. (1999). Long photoperiod regimen may produce antidepressant actions in the male rat. *Progress in Neuropsychopharmacology & Clinical Psychiatry*, 24, 105-116.



- Hill, M.A., (1992). Light, circadian rhythms and mood disorders: a review. *Annals of Clinical Psychiatry*, 131-136.
- Kennaway, D.J. & Moyer R.W. (1998). Serotonin 5-HT<sub>2c</sub> agonists mimic the effect of light pulses on circadian rhythms. *Brain Research*, 806, 257-270.
- Kripke, D.F., Mullaney D.J., Atkinson M., & Wolf S., (1998). Circadian rhythm disorders in manic depressives. *Biological Psychiatry*, 13, 335-351.
- Lewy, A.J., Sack, R.L., Miller S., & Hoban T. (1987). Antidepressant and circadian phase-shifting effects of light. *Science*, 235, 352-354.
- Madden, P.A.F, Heath, A.C., Rosenthal, N.E & Martin, N.G. (1996). Seasonal changes in mood and behavior. *Archives of General Psychiatry*, 53, 47-55.
- Pittendrigh, C.S (1988). The photoperiodic phenomena: seasonal modulation of the "day within". *Journal of the Biological Rhythms*, 3, 173-188.
- Porsolt, R.D., Anton, G., Blavet N. & Jalfre, M. (1978). Behavioral despair in rats: A new model based sensitive to antidepressant treatments. *European Journal of Pharmacology*, 47, 79-381.
- Porsolt, R.D., Le Pichon M. & Jalfre, M. (1977). Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*, 266, 730-732.
- Rosenthal, E.N., Sack, D.A., Skwerer, R.G., Jacobsen, F.M. & Wehr T. (1988). Phototherapy for seasonal affective disorder. *Journal of Biological Rhythms*, 3, 101-120.
- Redrobe, J.P. & Bourin, M. (1999). The effect of lithium administration in animal models of depression: A short review. *Fundamental and Clinical Pharmacology*, 13, 293-299.
- Stewart, K.T., Rosenwasser, A.M., Hauser, H., Volpicelli, J.R. & Adler, N.T. (1990). Circadian rhythmicity and behavioral depression I. *Physiology and Behavior*, 48, 149-155.
- Stewart, K.T., Rosenwasser, A.M., Levine, J.D., McEachorn, Volpicelli, J.R. & Adler, N.T. (1990). Circadian rhythmicity and behavioral depression II. *Physiology and Behavior*, 48, 157-164.
- Willner, P. (1990). Animal models of depression: an overview. *Pharmacological Therapeutics*, 45, 425-455.
- Wirz-Justice, A., Graw, P., Krauchi, K., Gisin, B., Jochum, A., Arendt, J., Fisch, H.U., Buddeberg C. & Pödingner, W. (1993). Light therapy in seasonal affective disorders is independent of time of day or circadian phase. *Archives of General Psychiatry*, 50, 929-937.
- Yılmaz, A., Inan, M., Pancaroğlu, R. & Canbeyli, R. (2001). Prolonged light exposure of an L:D cycle attenuates learned despair in female wistar rats. *Neuroscience abstracts*.

