

Rodentlerde antidepresan aktivitenin davranışsal değerlendirilmesinde deneysel depresyon modelleri

Experimental depression models in behavioral evaluation of antidepressant activity in rodents

Evren ŞAVLI

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Şanlıurfa/Türkiye

Yazışma adresi: Evren ŞAVLI Harran Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı, Yenişehir Yerleşkesi, 63000, Şanlıurfa, Tel: (0414) 3183027, Fax: (0414) 3183192, E-Mail: evsavli@yahoo.com

Özet

Depresyon heterojen patolojisi olan, umutsuzluk ve düşük benlik-saygısı gibi pek çok ana belirtisinin hayvanlarda oluşturulması zor, karmaşık bir hastalıktır. Günümüzde depresyon tedavisinde antidepresan ilaçlarla tedaviye yanıt alınamaması veya antidepresanların oluşturdukları istenmeyen yan etkiler gibi, hala klinik sorunlar vardır. Yeni antidepresanların geliştirilmesinde daha karmaşık preklinik testler öncesinde, basit rodent tarama testlerine ihtiyaç vardır. Bu yayında bahsedilen üç test, zorunlu yüzme, kuyruk çekme ve öğrenilmiş çaresizlik, antidepresanların değerlendirilmesinde en çok kullanılan testlerdir. Özellikle zorunlu yüzme testi yeni antidepresanların taramasında çok kullanışlı ve psikoaktif ajanların ilk değerlendirilmesinde, hala temel testlerdendir.

Anahtar kelimeler: Depresyon, rodent, modeller

Abstract

Depression is a complex disease with heterogeneous pathology and many of the core symptoms such as feelings of hopelessness and low self-esteem are not easily reproduced in animals. Current antidepressant drugs either fail to produce complete recovery or induce unwanted side effects, so there is still a large unmet clinical need in the treatments for depression. The development of antidepressants requires simple rodent behavioral tests for initial screening before undertaking more complex preclinical tests. Presented in this publish are three widely used screening tests used for antidepressants, the forced swim test, tail suspension test and learned helplessness test. Especially forced swim test, has become a useful test for screening novel antidepressants and continues to form the basis for primary screening of psychoactive compounds.

Key words: Depression, rodents, models

Çağımız hastalığı olarak tanımlanan depresyon, teşhisinde ve rasyonel tedavisinde hala problem olmaya devam etmektedir. Depresyon nörobiyolojisinde artan bilgi birikimlerimize ve tedavide kullanılan antidepresan ilaçların etki mekanizmalarının çeşitliliğine rağmen tedaviye yüksek oranda yanıt alınamaması veya yanıtın gecikme ile görülmesi gibi klinik sorunlar bu alanda yapılacak preklinik çalışmaların önemini korumasını sağlamaktadır. Depresyondaki hastalarda antidepresan etkili ilaçların, hayvanlarda da çeşitli nörokimyasal ve davranışsal etkiler açığa çıkardığının tespit edilmesi, bu konuda da deneysel hayvan modelleri geliştirilmesine önayak olmuştur.

Bu modellerin kullanılması, depresyon tedavisinde önemli gelişmeler sağlamıştır fakat günümüzde tedaviye yanıtındaki zorluklar preklinik çalışmalar ile yeni ve daha etkin antidepresan ilaçların geliştirilmesini zorunlu kılmaktadır. İlaç geliştirme süreçlerinin zorlukları düşünüldüğünde, potansiyel maddelerin ve mevcut ilaçların antidepresan etkilerinin test edilebilmesinde güvenilir, kolay uygulanabilen, hızlı sonuçlar elde

etmeye uygun, tekrarlanabilirliği ve gereklilikleri açısından ekonomik olan depresyon modellerinin kullanımına ihtiyaç vardır.

Depresif bir hayvan modelinin geçerli ve/veya yeterli olabilmesi için sağlaması gereken ölçütlerden biri: modelin, depresyonlu hastalarda gözlenen hafıza kaybı, motor retardasyon, bilişsel faaliyetlerde bozukluk, iritabilite, anoreksi, libido kaybı gibi semptomları, denek üzerinde değerlendirilebilmemizi sağlayıp sağlamadığıdır. Ayrıca kullanılan model ile, denekte değerlendirilen depresyona spesifik olarak belirlenmiş semptomların şiddeti, antidepresan ilaç tedavisi ile hafifletilebilmeli veya bu semptomların tamamen ortadan kalktığı gösterilebilmelidir (1-3) (Tablo 1). Depresyonun etkin kontrolü kronik ilaç tedavisi ile sağlanabildiğinden geçerli bir depresyon modelinde deney hayvanlarında da kronik ilaç tedavisine etkin yanıt alındığı ortaya konulabilmelidir (1).

Depresyon araştırmalarında yaygın kullanımı olan modeller içinde güvenilirliği, öngürücü geçerliği ve uygulama kolaylığı ile üç önemli model öne çıkmaktadır. Bunlar: Zorunlu yüzme, kuyruktan asma ve öğrenilmiş

Tablo 1. Hayvan depresyon modellerinin karşılaması gereken ölçütler (2)

1. İnsanda görülen bozukluğa görünüm ya da tekil belirtiler açısından benzemesi
2. Nesnel olarak değerlendirilip gözlenebilecek davranışsal değişiklikler olması
3. İnsanlarda etkili olan müdahalelerle davranışsal değişikliklerin geri döndürülebilir olması
4. Modelin farklı araştırmacılarca tekrarlanabilmesi

Günümüzde kullanılan hayvan modelleri depresif hastalarda görülen semptomlar bütününe deney hayvanlarında oluşturabilme açısından mükemmel olmamakla birlikte depresyonun belirtilerinin ve seyrinin de hem deney hayvanlarında hem de insanlarda bireysel farklılıklar gösterdiği unutulmamalıdır (Tablo 2) (4).

Tablo 2.

İnsanda semptom	Davranışsal belirti	Preklinik test (4)
Deprese ruh hali	Çekilme(teslimiyet)	Zorunlu yüzme-Forced swimming Kuyruk Asma- Tail suspension Öğrenilmiş çaresizlik-Learned helplessness
Haz alamama	Anhedoni	Sükroz tüketimi (sükroz tercih testi) İntrakranyal kendini uyarım Seksüel davranış Yenilik arayışı Kronik hafif stres modeli
İrritabilite	Agresivite	Murisidal davranış Sosyal davranış Olfaktör bulbektomi
Kilo değişimi	Vücut ağırlığı	Vücut ağırlığı Su ve besin alımı
Uyku bozukluğu	Uyku yapısı	EEG Sirkadyen ritimler
Psikomotor bozukluk	Lokomotor aktivite	Aktivite ölçümü
Suçluluk duygusu	Tanımlanır belirti yok	Uygulanabilirliği zor
Zayıf Konsantrasyon	Tanımlanır belirti yok	Uygulanabilirliği zor
İntihar düşüncesi	Tanımlanır belirti yok	Uygulanamaz
Ölüm düşüncesi	Tanımlanır belirti yok	Uygulanamaz

(Genetik değişiklikler ile oluşturulan modellere değinilmemiştir.)

çaresizlik testleridir.

Zorunlu Yüzme Testi

Porsolt, LePichon ve Jalfre'nin 1977'de geliştirdiği, zorunlu yüzme testi (ZYT); su tankı içerisinde platformu bulamayan sıçanların, bir süre sonra hareketsiz kaldıkları gözleminden yola çıkılarak geliştirilmiş bir testtir (5).

'Porsolt yüzme testi' veya umutsuzluk- despair testi olarak adlandırılır. Sıçanların kullanımı ile geliştirilen bu test daha sonra 1978 de Porsolt tarafından farelere adapte edilmiştir. Günümüzde sıçan ve farede antidepresan ilaçların ve potansiyel maddelerin etkilerini değerlendirmede kullanılan en yaygın testtir (5).

Deney hayvanı kaçamayacağı, istemediği bir duruma (forced swim-ZYT) maruz bırakılarak immobilite hali indüklenir ve bu immobilite çekilmenin, teslimiyetin belirtisi olarak kabul edilir.

Antidepresan etkili madde ve ilaçlarla yapılan

çalışmalarda, diğer modellere üstünlüklerinden biri kolay uygulanabilirliğidir çünkü denekte gözlenen immobilite, oluşturulan depresif durumun direkt bir belirtisidir. Bir diğer üstünlüğü ise hem ratlarda hem de farelerde kullanılabilir olmasıdır.

Klinikte kullanılan antidepresan ilaçların büyük çoğunluğu immobilite süresini kısaltmaktadır (1).

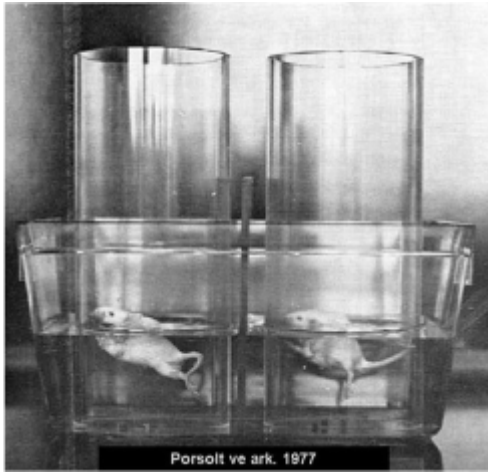
ZYT ile alınan sonuçların laboratuvarlar arasında tutarlı olması, hızlı ve ekonomik sonuç alınmasını sağlaması testin bir diğer avantajıdır (6, 7).

Bu testte, kaçamayacağı kadar yüksek ve dibe değemeyeceği kadar derin su dolu bir kaba konan rodent (en az 18 cm çapında ve 40 cm yüksekliğinde 15 cm' lik kısmı 25°C ± 20°C su ile dolu bir silindir), zorunlu olarak yüzer ve istemediği bu durumdan kaçış yolu bulmaya çalışır. Testin bu aşamasında amaç hayvanların ortam koşullarını değiştiremeyeceklerini ve oradan çıkamayacaklarını öğrenmelerini (öğrenilmiş çaresizlik) sağlamaktır(4). Bir süre sonra kaçamayacağını anlar ve umutsuzluğa (behavioral

despair) kapılır, yüzmeyi yada tırmanmayı bırakır. Kaçma teşebbüsünden vazgeçer ve sadece başını suyun üzerinde tutmak için gerekli hareketleri yapar (5, 7).

Modelde; immobilite su üzerinde asılı şekilde yüzme ya da başı yukarıda tutacak şekilde ekstremite hareketlerini içeren davranış olarak olarak tanımlanır. Sıçanın 'despaire giriş süresi' (hareketsiz kalıncaya kadar geçen süre) ve 'despaire kalış süreleri' (belli bir süre içinde ne kadar hareketsiz kaldığı) kaydedilir (1, 5).

Akut ya da kronik antidepresan tedaviler ile hareketsiz kalmaya kadar geçen süre uzarken, toplam hareketsiz geçen süre azalmaktadır (2, 5) (Şekil 1).



Şekil 1.

ZYT ile antidepresanların etki mekanizmasında rol oynayan nörotransmitter sistemler de incelenebilir. 1995 yılında Detke ve ark. bu testte antidepresan ilaçların sınıflarına duyarlı yüzme ve tırmanma gibi iki aktif hareket kaydettiklerini bildirmişlerdir (5). Seçici 5-HT geri alım inhibitörü ilaçların yüzmeyi artırdığı, seçici noradrenalin geri alım inhibitörü ilaçlar ise tırmanmayı artırdığı gösterilmiştir (7). Yüzme davranışındaki artış serotonerjik aktivite, tırmanma davranışındaki artış ise noradrenerjik aktivite artışı lehine değerlendirilebilir (5, 7).

Tırmanma; ön ayakları ile tankın duvarına kuvvetli tırmanma girişimleri ya da tankın dışına atlama hareketleri olarak tanımlanırken, yüzme ise tırmanma ve suda immobilite ile karakterize hareketlerin dışında, hayvanın aktif olarak su yüzeyinde yer değiştirmesidir.

Modelde akut tedavi ile yanıt alınması depresyonun patofizyolojisi ile paralellik göstermediği endişesi yaratabilir. Akut tedavi ile yanıt alınamayan bazı ilaçların kronik uygulaması ile antidepresan yanıtın alınabilmesi modelin geçerliliğine ortaya koyar (2).

Deneyisel hayvan modellerinin pek çoğunda soy farklılıkları görülebilmektedir. ZYT, kuyruktan asma ve öğrenilmiş çaresizlik modelleri için depresyona

yatkın soylar üretilmiştir.

ZYT 2 aşamada yapılır. Hayvanın ortama alışabilmesi için, hayvanlara deneyden 24 saat önce, 15 dakikalık bir ön test ve 5 dakikalık test olmak üzere iki yüzme periyodu uygulanır. Kronik çalışmalarda 2 uygulama arası 3-4 hafta süre geçebilir. Skorlamada yapılırken 3 farklı parametre değerlendirilir. Bunlar;

1) Hareketsizlik: Çırpınmadan suda süzülme ve sadece başını suyun üzerinde tutmasını sağlayacak zorunlu hareketleri yapma

2) Yüzme: Aktif yüzme hareketi

3) Tırmanma: Ön bacakları ile aktif hareketlerle suyun dışına çıkmaya çalışma, genellikle direkt silindirin duvarına tırmanmaya çalışma (5, 6).

Ancak immobilite süresinin değerlendirilmesinde ZYT' ye tabi tutulan hayvanların lokomotor hareketliliklerinin değerlendirilmesi çok önemlidir. Bu amaçla ZYT kullanılan çalışmalara lokomotor aktivite ölçüm testi de eklenerek, araştırılan ilaç ve maddenin, "Zorunlu yüzme" testi sonuçlarının lokomotor aktiviteden bağımsız geliştiği gösterilmelidir.

Kuyruktan asma testi

Bu modelde hayvanlar kuyruklarından havada asılı tutulurlar ve hayvanın hareketsiz kalmasına kadar geçen süre ölçülür. Ana prensibi davranışsal umutsuzluktur (behavioral despair). Kaçamayacağı bir duruma maruz bırakılan farenin immobilite süresi ölçülür. Bu modelin sıçanlarda kullanımı önerilmez. ZYT gibi uygulaması kolay bir model olması çok sayıda bileşiğin test edilmesini gerektiren ilaç geliştirme çalışmalarında sıklıkla kullanımını sağlamıştır. 1985 yılında Steru ve ark. tarafından tanımlanan test, 1987 yılında Porsolt'un otomatik kuyruk asma aparatını kullanması ile daha da yaygın hale gelmiştir (2, 4, 5).

Kuyruğundan asılan fare, çeşitli hareketler yaparak bu durumdan kurtulmaya çalışır fakat birkaç dakika sonra immobil hale gelir. Antidepresanlar ZYT' de olduğu gibi bu testte de immobilite süresini kısaltırlar. Bu testin, ZYT'ye göre bazı uygulama kolaylıkları vardır. Öncelikle hipotermi oluşmayacağından, deney bitince fare uzaklaştırılıp kafesine döndüğünde normal spontan hareketlerine devam eder (5).

Deney sonrası kurulanma, ılık bir ortam oluşturma gibi zorunluluklar yoktur. ZYT' den daha hızlı uygulanabildiğinden fare sayısı fazla çalışmalarda, verilerin daha hızlı sağlanmasına ve değerlendirilmesine olanak sağlar.

Öğrenilmiş Çaresizlik

Deney hayvanı tekrarlayan şekilde ve kaçamayacağı şoka maruz bırakılır. Aynı deney hayvanının kaçabileceği koşulda kaçmaması öğrenilmiş çaresizliğin göstergesidir. Depresyonda öğrenilmiş çaresizlik hipotezi; kontrol edilemeyen çevresel strese karşı depresyonun, öğrenilmiş yanıt olduğu fikrini ortaya

koyar (2). Bu modelde, iki bölmeli bir düzenek kullanılır. Bir bölmede hafif elektrik şoku uygulanırken diğer bölmede uygulanmaz, aynı modelin farklı bir uygulamasında ise tek bir bölmede mevcut bir pedalla hayvan, kendi müdahalesi ile şoku sona erdirir.

Yeni tedavilerin saptanması ve sınanmasında kullanılan deneysel hayvan modelleri önemli bir yere sahiptir. Bu modeller ile yapılan prelinik çalışmalar hem depresyonda nöron işleyişi mekanizmaları ile ilgili bilgilerimizi hem de depresyonun rasyonel tedavisinde yeni hedefler geliştirilmesini sağlayabilir. Yukarıda bahsedilen depresyon modelleri,

uygulamalarının kolaylığı yanında, literatürdeki yapılmış çok sayıdaki yayınları ile haklı bir güvenilirliğe sahip modellerdir. Bu modellere ait literatür bilgilerimiz, tanımlandıkları günden bugüne kadar sürekli kullanılıyor olmalarından ötürü her geçen gün artmaktadır. Bu modeller günümüzde genetik araştırmaların artışına paralel olarak, kompleks moleküler çalışmalar öncesi kullanımları ile potansiyel antidepresan maddelerin hızla belirlenebilmesine olanak sağlamalarının yanında, değerlendirilen moleküllerin rol alabilecekleri nörotransmitter sistemleri de anlamamıza katkı sağlamaktadırlar.

Yazarlarla ilgili bildirilmesi gereken konular (Conflict of interest statement) : Yok (None)

Kaynaklar

- 1) Uzbay T. Psikofarmakolojinin Temelleri ve Deneysel Araştırma Teknikleri. 1. Basım Ankara: Çizgi Tıp Yayınevi, 2004; s. 134.
- 2) Başar K, Ertuğrul A. Depresyon araştırmalarında kullanılan hayvan modelleri, Klinik Psikiyatri 2005; 8: 123-13.
- 3) Willner P, Mitchell PJ. The validity of animal models of predisposition to depression. Behav Pharmacol 2002; 13: 169-88

- 4) Castagné V, Moser P, Porsolt RD. Behavioral Assessment of Antidepressant Activity in Rodents. In: Buccafusco JJ, editor. Methods of Behavior Analysis in Neuroscience. 2nd edition. Boca Raton (FL): CRC Press; 2009. Chapter 6.
- 5) Castagné V, Moser P, Roux S, Porsolt RD. Rodent models of depression: forced swim and tail suspension behavioral despair tests in rats and mice. Curr Protoc Neurosci. 2011 Apr; Chapter 8:Unit 8.10A.

- 6) Porsolt RD. Animal models of affective disorders. Ed: Dewhurst WG, Baker GB. Pharmacotherapy of affective disorders, Croom Helm, New York 1985; 105-50
- 7) Cryan JF, Valentino RJ, Lucki I. Assessing substrates underlying the behavioral effects of antidepressants using the modified rat forced swimming test. Neurosci Biobehav Rev 2005; 29: 547-69.