

Ergenlik Dönemi Stresi Sonrasında Hipokampal miR-34a/SIRT1 ve BDNF Yanıtı: Ketamin ve Fluoksetinin Farklı Etkileri



✉Feyza DÖNMEZ^{1*}, ✉Gülin ÖZDAMAR ÜNAL², ✉Kuyaş HEKİMLER ÖZTÜRK³,
✉Duygu KUMBUL⁴, ✉Eltaf DOĞAN⁵

ÖZET

Amaç: Erken yaşam stresi, yetişkinlikte psikiyatrik bozukluklar için iyi bilinen bir risk faktörüdür; ancak altta yatan moleküler mekanizmalar henüz tam olarak aydınlatılamamıştır. Bu çalışmada, ergenlik döneminde başlayan kronik öngörülemez hafif stresin (KÖHS), ketamin ve fluoksetin uygulanan sıçanlarda anksiyete ve depresyon benzeri davranışlar ile hipokampal miR-34a, SIRT1, BDNF ve NLRP3 düzeyleri üzerindeki etkileri araştırılmıştır.

Yöntem: Toplam 40 adet dört haftalık Wistar albino sıçan, kontrol, KÖHS, KÖHS+fluoksetin (FLU) ve KÖHS+ketamin (KETA) olmak üzere dört gruba ayrılmıştır. Kronik öngörülemez hafif stres altı hafta uygulanmış, fluoksetin (10 mg/kg, i. p.) ve ketamin (10 mg/kg, i. p.) son üç hafta verilmiştir. Davranış testleri 3. ve 6. haftalarda sükröz tercihi (SPT), açık alan (OFT) ve zorlu yüzmeye (FST) ile yapılmıştır. BDNF protein düzeyleri ELISA, miR-34a, SIRT1 ve NLRP3 gen ekspresyonu RT-PCR ile değerlendirilmiştir.

Bulgular: Fluoksetin ve ketamin, KÖHS'nin yol açtığı depresyon benzeri davranışları iyileştirmiştir. KÖHS, hipokampal BDNF düzeylerini düşürmüş ve miR-34a ekspresyonunu artırmıştır. Fluoksetin, miR-34a artışı tersine çevirirken SIRT1 ekspresyonunu ve BDNF düzeylerini artırmıştır. Ketamin davranışsal iyileşme sağlamasına rağmen BDNF, SIRT1 ve miR-34a üzerinde anlamlı değişiklik oluşturamamıştır. NLRP3 düzeyleri ise gruplar arasında farklılık göstermemiştir.

Sonuç: KÖHS, hipokampüste miR-34a/SIRT1/BDNF eksenini etkileyerek depresyon benzeri davranışlara yol açmaktadır. Fluoksetinin antidepresan etkileri bu eksenle ilişkiliyken, ketamin davranışsal etkilerini farklı ve muhtemelen hipokampus dışı mekanizmalar aracılığıyla gösteriyor olabilir. miR-34a, erken yaşam stresiyle ilişkili depresyon için potansiyel bir biyobelirteç olabilir.

Anahtar Sözcükler: Depresyon, erken yaşam stresi, fluoksetin, ketamin, miR-34a, SIRT1

ABSTRACT

Hippocampal miR-34a/SIRT1 and BDNF Responses Following Adolescent Stress: Differential Effects of Ketamine and Fluoxetine

Objective: Early life stress is a well-established risk factor for psychiatric disorders in adulthood; however, the underlying molecular mechanisms remain unclear. This study investigated the effects of chronic unpredictable mild stress (CUMS) starting in adolescence on anxiety- and depression-like behaviors, as well as on hippocampal miR-34a, SIRT1, BDNF, and NLRP3 levels in rats treated with ketamine or fluoxetine.

Methods: A total of 40 Wistar albino rats (4 weeks old) were divided into four groups: Control, CUMS, CUMS + fluoxetine (FLU), and CUMS + ketamine (KETA). Chronic unpredictable mild stress was applied for 6 weeks, while fluoxetine (10 mg/kg, i.p.) and ketamine (10 mg/kg, i.p.) were administered during the last 3 weeks. Behavioral assessments were performed at weeks 3 and 6 using the sucrose preference test (SPT), open field test (OFT), and forced swim test (FST). Hippocampal BDNF protein levels were measured by ELISA, and miR-34a, SIRT1, and NLRP3 gene expression levels were analyzed by RT-PCR.

Results: Both fluoxetine and ketamine improved CUMS-induced depression-like behaviors. Chronic unpredictable mild stress decreased hippocampal BDNF levels and increased miR-34a expression. Fluoxetine reversed the increase in miR-34a and elevated SIRT1 expression and BDNF levels. In contrast, although ketamine improved behavioral outcomes, it did not significantly alter hippocampal BDNF or SIRT1 levels and did not reduce miR-34a expression. No significant differences in NLRP3 expression were observed among the groups.

Conclusion: Adolescent CUMS induces depression-like behaviors by affecting the hippocampal miR-34a/SIRT1/BDNF axis. While the antidepressant effects of fluoxetine are associated with this axis, ketamine may exert its behavioral effects through different and possibly extra-hippocampal mechanisms. miR-34a may serve as a potential biomarker for depression related to early life stress.

Keywords: Depression, early life stress, fluoxetine, ketamine, miR-34a, SIRT1

Atf için: Dönmez F, Özdamar Ünal G, Hekimler Öztürk K et al. (2026) Hippocampal miR-34a/SIRT1 and BDNF Responses Following Adolescent Stress: Differential Effects of Ketamine and Fluoxetine. *Türk Psikiyatri Derg* 37:125–137. <https://doi.org/10.5080/u27776>

Geliş Tarihi: 22.06.2025, **Kabul Tarihi:** 01.04.2026, **Yayın Tarihi:** 20.07.2026

¹Dr. Öğr. Üyesi, Kütahya Sağlık Bilimleri Üniv. Tıp Fak., Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD, Kütahya; ²Doç., Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak., Ruh Sağlığı ve Hastalıkları AD, Isparta; ³Doç., Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak., Tıbbi Genetik AD, Isparta; ⁴Prof., Süleyman Demirel Üniv. Tıp Fak., Biyokimya AD, Isparta; ⁵Uzm., Artvin Devlet Hastanesi, Biyokimya, Artvin, Türkiye

Feyza Dönmez, e-posta: feyza.donmez@ksbu.edu.tr

GİRİŞ

Erken yaşam dönemi, nörogelişimsel sürecin henüz tamamlanmadığı ve çevresel etkilere duyarlılığın yüksek olduğu kritik bir dönemdir (Küçükkarapınar ve ark. 2021). Bu dönemde maruz kalınan kronik stres; yaşamın ilerleyen dönemlerinde depresyon, bipolar afektif bozukluk ve obsesif kompulsif bozukluk gibi birçok psikiyatrik bozukluğun etiyolojisinde önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Kilic ve ark. 2020, McKay ve ark. 2022). Ayrıca erken yaşam stresinin, psikiyatrik bozuklukların daha erken başlangıç göstermesi, daha olumsuz klinik seyir izlemesi, tedaviye yetersiz yanıt vermesi ve tekrarlayan ataklarla seyretmesi ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Tan ve ark. 2021).

Ergenlik döneminde sinaptik plastisite, miyelinasyon ve nörogenezde önemli değişiklikler meydana gelmektedir. Bu dönemde beyin maturasyonunun tamamlanmamış olması, ergen beynini yetişkin beynine kıyasla strese daha duyarlı hale getirmektedir (Steinberg ve ark. 2006).

Klinik ve klinik öncesi çalışmalarla kronik stresle ilişkili nörodevreler, hücre içi ve hücre dışı mekanizmalar giderek daha fazla araştırılmaktadır. Bununla birlikte, antidepresan etkisi olan ilaçların kronik strese bağlı nörobiyolojik değişiklikleri hangi mekanizmalar üzerinden önleyebileceği de önemli bir araştırma alanı oluşturmaktadır. Pek çok çalışmada kronik stresin hipokampüste beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) sentezini baskıladığı, ilaç kullanmamış olan depresyon hastalarının BDNF düzeylerinin düşük saptandığı ve antidepresan tedaviyle BDNF düzeylerinde artış olduğu gösterilmiştir (Chen ve ark. 2001, Karege ve ark. 2002, Hacımusalar ve Eşel 2018).

Nöroplastisitede BDNF gibi rolü olduğu bilinen sirtuinlerin (SIRT) depresyon patofizyolojisinde önemli yeri olduğu bilinmektedir. Kronik stresin SIRT1'de azalmaya neden olduğu, SIRT1 fonksiyonunun farmakolojik ve genetik inhibisyonunun depresyon benzeri davranışlara yol açtığı, SIRT1'in aktive edilmesiyle bu değişikliklerin düzeltildiği saptanmıştır (Abe-Higuchi ve ark. 2016, Liu ve ark. 2016, Shen ve ark. 2018). Buna ek olarak SIRT1'in oksidatif stres yanıtı ve mitokondriyal işlevlerin düzenlenmesinin yanı sıra sirkadiyen gen ekspresyonunu da etkilemesi, duygudurum regülasyonu ile bağlantılı olabileceğini düşündürmektedir (Uçak ve ark. 2025).

Son yıllarda mikroRNA'lar (miRNA) stres yanıtı, depresyon etiyolojisi ve antidepresan tedavi yanıtı açısından önemli düzenleyiciler olarak öne çıkmaktadır. miRNA-34a; şizofreni, bipolar bozukluk ve majör depresif bozuklukta farmakoepigénomik göstergelerin incelendiği geniş ölçekli bir çalışmada, üç bozuklukta da ortak olarak saptanan dört miRNA'dan biri olarak tanımlanmıştır (Tsermpini ve ark. 2022). Klinik öncesi çalışmalarda, miR-34a'nın hipokampus, medial prefrontal

korteks, bazolateral amigdala ve dorsal raphe çekirdeğinde eksprese edildiği gösterilmiştir (Ye ve ark. 2022). miR-34a'nın hücre döngüsü, apoptoz ve stres yanıtı gibi temel biyolojik süreçlerde rol aldığı; bu etkilerini sinaptik plastisite, enerji metabolizması ve nöral ağ aktivitesiyle ilişkili bazı mRNA'ları hedefleyerek gösterdiği düşünülmektedir (Iacono ve ark. 2020a, Ye ve ark. 2022). Kronik strese maruziyetin miR-34a'nın ekspresyonunu artırdığı, miR-34a'nın BDNF ve SIRT1'in ekspresyonlarını modüle ederek etki gösterdiği öne sürülmüştür (Gao ve ark. 2010, Cui ve ark. 2017, Iacono ve ark. 2020a, Iacono ve ark. 2020b).

NOD benzeri reseptör ailesi pyrin alanı içeren protein 3 enflamazomu NLRP3, ASC ve kaspaz-1'den oluşan çok bileşenli bir kompleks yapıdır. Enflamazomun aktivasyonu sonucunda kaspaz-1 aracılığıyla proenflamatuvar sitokinler olan IL-1 β ve IL-18 aktive edilmektedir. NLRP3'ün özellikle mikrogliyalarda yüksek oranda eksprese edildiği ve immün yanıtın düzenlenmesi, nöroenflamasyon, metabolik hastalıklar ile nörolojik bozukluklarda önemli rol oynadığı bilinmektedir. Subaraknoid kanamada, SIRT1 aracılı yolak üzerinden NLRP3 enflamazom aktivasyonunun baskılanmasının nöroprotektif etki sağladığı bildirilmiştir (Zhang ve ark. 2021). Ayrıca, SIRT1/NF- κ B/NLRP3 sinyal yolunun düzenlenmesiyle mikrogliyal M2 polarizasyonunun ve sinaptik plastisitenin desteklenebildiği, buna bağlı olarak iskemik inmeye bağlı nöronal hasarın kısmen iyileştirilebildiği gösterilmiştir (Ou ve ark. 2023).

Depresyonun patofizyolojisinde NLRP3 enflamazomunun aşırı aktivasyonunun yer aldığı ve NLRP3'ün stres, proenflamatuvar sitokinler ve depresyon arasındaki ilişkide aracılık rolü üstlendiği bildirilmiştir (Iwata ve ark. 2013, Şahin ve Arıcıoğlu 2014). Son yıllarda yapılan birçok çalışmada depresyonda NLRP3 enflamazomunun aktive olduğu ve bu aktivasyonun inhibe edilmesiyle antidepresan etkinin ortaya çıktığı gösterilmiştir (Pan ve ark. 2014, Zhang Y. ve ark. 2015). Önceki bir çalışmamızda, deneysel depresyon modelinde erken yaşam stresıyla ilişkili olarak prefrontal kortekste NLRP3 düzeylerinin arttığı ve vortiksetin tedavisiyle bu artışın geri döndüğü saptanmıştır (Özdamar Ünal ve ark. 2024).

Özellikle ağır depresyon ve yüksek intihar riski olan durumlarda mevcut antidepresanların kullanımında yanıtın geç başlaması ve hastaların tedavilerden yeterince fayda görmemesi hastaların klinik yönetiminde zorluklara yol açmaktadır. Tamamlanmış intiharların yaklaşık dörtte birinin antidepresan tedavi almakta olduğu (Karch ve ark. 2012), remisyon sonrası depresyonun yineleme oranlarının yüksek olması (yaklaşık %75) (Gold ve ark. 2015) ve remisyona rağmen uzun süreli koruyucu tedavi gereksinimi (Palazidou 2012), depresyonun etyopatogeneze ve tedavisine yönelik yeni biyolojik hedeflerin araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Bu bağlamda, hızlı etki başlangıcı ve antisüisidal etkileri nedeniyle NMDA reseptör antagonisti olan ketaminin antidepresan

etkilerine yönelik ilgi son yıllarda artmıştır (Anzolin ve ark. 2024, Pastre ve ark. 2025). Ancak ketaminin kronik kullanımındaki antidepresan etkinliğine aracılık eden mekanizma tam olarak ortaya konulamamıştır (Gibula-Tarłowska ve ark. 2025).

Stres ile limbik sistemin önemli bir bileşeni olan hipokampus arasındaki ilişkiyi destekleyen birçok kanıt vardır. Hipokampus, strese ilişkili olduğu bilinen prefrontal korteks ve amigdala gibi beyin bölgeleriyle yoğun bağlantılar içindedir. Kronik ve şiddetli stres hormonlarına maruziyet, hipokampüste nöroenezin baskılanmasına ve atrofiye yol açabilmektedir. Yapılan bir çalışmada erken yaşam stresi yaşayan ergen bireylerin daha küçük hipokampal hacme sahip oldukları ve yetişkin dönemde depresyon açısından daha kırılgan oldukları gösterilmiştir (Rao ve ark. 2010).

Kronik stresin BDNF, SIRT1, miR-34a ve NLRP3 gibi nöroplastisite, epigenetik düzenleme ve nöroenflamasyonla ilişkili moleküller üzerindeki etkileri erişkin hayvan modellerinde tanımlanmış olsa da ergenlik dönemi kendine özgü bir nörogelişimsel dönemi temsil etmektedir. Bu nedenle, stresin biyolojik etkileri ve antidepresan tedavilerine verilen yanıtlar bu dönemde farklılık gösterebilir. Bu çalışmada, ergenlik döneminde kronik öngörülemez hafif stresin hipokampal miR-34a/SIRT1/BDNF eksen ve NLRP3 enflamasyonu üzerindeki etkilerinin araştırılması; fluoksetin ve ketaminin strese ilişkili davranışsal ve moleküler değişiklikleri hangi biyolojik yollar üzerinden modüle ettiğinin karşılaştırmalı olarak ortaya konması amaçlanmıştır.

YÖNTEM

1. Deney Hayvanları: Wistar albino cinsi erkek sıçanlar (4 haftalık, 75±25 gr, Süleyman Demirel Üniversitesi Deney Hayvanları ve Tıp Araştırmaları Uygulama ve Araştırma Merkezi, Türkiye) her grupta 10 sıçan olmak üzere rastgele dört gruba ayrılmıştır: 1) Kontrol grubu; 2) KÖHS grubu; 3) KÖHS+FLU grubu; 4) KÖHS+KETA grubu. Sıçanlar bir haftalık adaptasyon süresinin sonunda her kafeste beş sıçan olacak şekilde barındırılmıştır. Deneyler aksi belirtilmedikçe 22±2 °C oda sıcaklığı, %65–70 nem ve 12 saat aydınlık/karanlık döngüsü sağlanarak gerçekleştirilmiştir. Sıçanların su ve yem erişimi aksi belirtilmedikçe ad libitum sağlanmıştır. Deneyin tüm aşamaları Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 03.09.2020 tarih ve 05/08-2020 karar no ile onaylanmıştır. Tüm deneyler, ARRIVE 2.0 (Animal Research: Reporting in Vivo Experiments) yönergelerine uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

2. Kronik Öngörülemez Hafif Stres (KÖHS) Modeli ve Deney Tasarımı: Literatürde yakın zamanda raporlanan bir metaanaliz çalışmasında depresyonun on hayvan modeli arasında en etkili modelin KÖHS modeli olduğu bildirilmiştir

(Ratajczak ve ark. 2024). Kronik öngörülemez hafif stres prosedürü çalışmalardan (Burstein ve Doron, 2018) uyarlanarak, önceki çalışmamızdaki (Özdamar Ünal ve ark. 2022, Özdamar Ünal ve ark. 2024) gibi uygulanmıştır. Deney tasarımı Şekil 1’de gösterilmektedir.

Stresörler; 24 saat su yoksunluğu, 24 saat yiyecek yoksunluğu, dört saat ıslak kafes, dört saat nemlendirilmiş talaş, dört saat 45° eğik kafes, dört saat boş kafes, dört saat sosyal stres, dört saat fiziksel kısıtlama ve 24 saat ışığa maruziyet ile aydınlık-karanlık döngüsünün bozulması şeklindedir. Stresörlerin zamanlaması sabit tutulmuş; dört saatlik stresörler 09:00–13:00 arasında, 24 saatlik stresörler ise her zaman 09:00’da başlatılacak şekilde uygulanmıştır. Uygulanan stresörlerin bir haftalık örneği şu şekildedir: 1. gün 45° eğik kafes (dört saat), 2. gün sosyal stres (dört saat), 3. gün nemlendirilmiş talaş (dört saat), 4. gün boş kafes (dört saat), 5. gün fiziksel kısıtlama (dört saat), 6. gün ışık-karanlık döngüsünün bozulması (24 saat) ve 7. gün su kısıtlaması (24 saat). Bu stresörler altı hafta boyunca her hafta stresörlerin sırası randomize edilerek tekrarlanmıştır.

3. Farmakolojik İlaç Uygulama: Ketamin (İnterhas Tıbbi ve Kimyevi Ürünler San. ve Tic. A. Ş., Ankara, Türkiye) ve pozitif kontrol olarak fluoksetin (Lilly İlaç Tic. Ltd. Şti., İstanbul, Türkiye) steril distile su ile hazırlanmış, her ikisi de 10 mg/kg dozda intraperitoneal olarak uygulanmıştır (Doboszewska ve ark. 2015, Michaëlsson ve ark. 2019). Enjeksiyonun stresör etkisi düşünülerek Kontrol ve KÖHS gruplarına %0,9 steril salin intraperitoneal olarak uygulanmıştır. Tüm solüsyonlar uygulamadan önce taze hazırlanmış ve deney prosedürüne göre deneyin 22–42. günleri arasında her gün aynı saatte (09:00–10:00 saatleri arasında) intraperitoneal olarak enjekte edilmiştir.

4. Davranışsal Testler: KÖHS modelinin başarısını değerlendirmek ve sıçanların ruhsal durumunu değerlendirmek amacıyla davranış testleri kullanıldı. Testler ilki adaptasyon süresinin sonunda, diğerleri deneyin 21. gününden ve 42. gününden itibaren başlayarak gündüz (09:00–15:00) ama loş ışıkta (15 lux) üç defa tekrarlanmıştır. Bir önceki testten etkilene olasığını ortadan kaldırmak için bir günlük aralıklarla uygulanmıştır. Testler noninvaziv testten invaziv teste doğru açık alan testi (OFT), zorlu yüzme testi (FST) ve sükröz tercih testi (SPT) şeklinde uygulanmıştır. Tüm davranış testleri, hayvanların hangi grupta olduğundan habersiz araştırmacılar tarafından yapılmıştır.

4.1. Sükröz Tercih Testi: SPT, majör depresyonun iki temel belirtisinden biri olan anhedoniye değerlendirmek için yapılmaktadır. İlk olarak 1987 yılında Willner ve arkadaşları (Willner ve ark. 1987) tarafından tasarlanmış olup daha önceki çalışmamızda (Özdamar Ünal ve ark. 2022) olduğu gibi uygulanmıştır. Sükröz tercih oranını hesaplamak için bu formül kullanılmıştır: sükröz tercih oranı (%) = $\frac{\text{sükröz tüketimi (g)}}{[\text{su tüketimi (g)} + \text{sükröz tüketimi (g)}]} \times 100$.

4.2. Açık Alan Testi: OFT, sıçanların lokomotor aktivite, keşifçi davranış ve anksiyete ile ilişkili davranışlarını değerlendirmek için kullanılan bir testtir (Doguc ve ark. 2021). Test daha önceki çalışmamızda açıklanan şartlarda uygulanmıştır (Özdamar Ünal ve ark. 2022). Test için tabanı beyaz çizgilerle 25×25 cm'lik 16 eşit kareye bölünmüş, duvar yüksekliği 40 cm ve zemini 100×100 cm olan siyah boyalı ahşap kare bir kutu kullanıldı. Test süreci Sony, SSC-DC398P model tepe kamerası ile Smart Version 2.5 programı kullanılarak kaydedilmiştir.

Görüntülenen zemin merkez kare, iç kadrın ve dış kadrın olmak üzere iç içe üç hayali kadrına ayrılmıştır. Sıçanlar sessiz bir ortamda platformun belirli bir köşesinden aparatın içine ayrı ayrı bırakılarak beş dakika boyunca serbest bırakılmıştır. Bu süre içerisinde not edilen en az üç ekstremitayla geçilen çizgi sayısı, şahlanma (rearing), tırmanma (walling), merkez karede geçirdikleri süre, iç zona ve merkeze girişi sayısı lokomotor aktiviteyi gösterir. Aynı zamanda keşif ve anksiyete ölçütleri olarak değerlendirilir. Bu davranışların artması artmış lokomotor aktivite, düşük anksiyete ve artmış keşif ile ilişkilendirilir. Aynı sürede dış zonda geçirdikleri sürenin daha yüksek olması ise azalmış keşifçi davranış ve yüksek anksiyete gösterir. Kaydedilen idrar ve dışkılama sayısının artışı ise yüksek anksiyete lehine yorumlanır (Mesembe ve ark. 2012).

4.3. Zorlu Yüzme Testi: FST, sıçanlarda depresyon açısından yordayıcı olan davranışsal umutsuzluğu (behavioral despair) değerlendirmek için kullanılan bir testtir, daha önceki çalışmamızda tanımlandığı şekilde uygulanmıştır (Özdamar Ünal ve ark. 2022). Sıçanlar içerisine 50 cm derinlikte oda sıcaklığında (23 °C) su bulunan 80 cm yüksekliğinde, 20 cm yarıçapında şeffaf silindirik bir tanka tek tek bırakılmıştır. Bir tepe kamerası (Sony SSC-DC398P) yardımıyla altı dakika boyunca aktiviteleri Smart Version 2.5 programı kullanılarak kaydedilmiştir. Hareketsizlik süresi, sıçanın sabit olduğu ve sadece su üstünde kalmak için gerekli minimum hareketleri yaptığı zaman olarak tanımlanmıştır. Hareketlilik ise aktif yüzme, atlama, şahlanma, koklama veya dalış gibi kaçışa yönelik davranışlar olarak kabul edilmiştir. Bu testte sıçanların hareket-siz kaldıkları sürenin artmış olması davranışsal umutsuzluğu gösterir ve depresif duygudurum ile ilişkilendirilir (Slattery ve Cryan, 2012).

5. Doku Diseksiyonu ve Hipokampusların Elde Edilmesi:

Son davranış testinden yaklaşık 24 saat sonra sıçanlar intraperitoneal ketamin (%10, 90 mg/kg) - ksilazin (%2, 10 mg/kg) anestezisi altında sakrifiye edilmiştir. Sıçanlar dekapite edilerek beyin dokusu ve beyin dokusundan da hipokampus dokusu özel aparatlarla çıkarılmıştır. Hemisferlerden birinden elde edilen hipokampus bekletilmeden içerisinde 1 ml soğuk fosfat tamponu olan ependorfa aktarılırken diğer hemisferden elde edilen hipokampus yıkama yapılarak 1,5 ml'lik RNAase içermeyen ependorfa yerleştirildi ve analizler yapılınca kadar dokular -80 °C'de saklanmıştır.

6. ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay)

Analizi: Analiz öncesinde yeterli protein miktarını sağlamak amacıyla aynı gruptaki iki hayvana ait hipokampus dokuları birleştirilmiş ve BDNF ölçümleri grup başına 5 havuzlanmış örnek (10 hayvan dokusunu temsil eden) üzerinde yapılmıştır. Proteaz inhibitörleri (leupeptin, aprotinin, etilen diamin tetraasetik asit-EDTA ve etilen glikol tetraasetik asit-EGTA) içeren özel olarak hazırlanmış homojenizasyon tamponu içinde homojenize edilmiştir. Hipokampus dokusu, BDNF E-Lab Science (Houston, Texas, USA) marka ticari kit kullanılarak ELISA yöntemiyle analiz edilmiştir. BDNF kiti içerisinde 31,25–2000 pg/ml arasında farklı konsantrasyonlarda yedi standart bulunmaktadır. Standartlar duplika pipetlenmiş ve elde edilen optik dansite değerleri esas alınarak standart optik dansite-konsantrasyon grafiği çizilmiş ve çalışma numunelerinin konsantrasyonları bu grafikten yararlanılarak hesaplanmıştır. BDNF düzeyleri mikrogram protein başına konsantrasyon olarak sonuçlar raporlanmıştır. BDNF için kitin duyarlılık sınırı 18,75 pg/ml olarak verilmiştir.

7. Gen Ekspresyon Analizi: Dondurulmuş hipokampus dokuları çözdürülerek üzerine 1 ml tripure isolation reagent (Roche Diagnostics) eklenmiştir ve homojenize edilmiştir. Total RNA, High Pure RNA Tissue Kit (Roche Diagnostics) kullanılarak izole edilmiştir. RNA konsantrasyonları spektrofotometrik yöntemlerle ölçülmüştür. Elde edilen RNA örneklerinin konsantrasyonu ve saflıkları 260 ve 280 nm dalga boylarındaki absorbanslarının ölçülmesiyle belirlenmiştir. Elde edilen total RNA örneklerinden komplementer DNA (cDNA) sentezi RevertAid RT Reverse Transcription Kit (Thermo Scientific™) kullanılarak üretici talimatına uygun olarak yapılmıştır. Sentezlenen cDNA'lar belirtilen gen bölgeleri için dizayn edilen primerler ile LightCycler® 480 SYBR Green I Master kullanılarak Roche LightCycler 480 II cihazı ile çalışılmıştır. Sirtuin-1 (NM_001372090), NLRP3 (NM_001191642.1) ve ACTB (NM_031144.3) için PCR primerlerinin dizileri Tablo 1'de verildiği gibidir. ACTB (β -actin) geni, internal kontrol olarak kullanılmıştır (housekeeping gene). Araştırılan genlerin eşik döngüsü (CT) belirlenmiştir ve ACTB housekeeping gene göre normalize edilmiştir. Relatif ekspresyon seviyeleri $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi ile hesaplanmıştır ve veriler kontrol grubuna göre kıyaslanmıştır.

Tablo 1. PCR primerlerinin sekansları

GENLER	
Sirtuin-1	5'-CCTCCTCATGTGTTATTTGGGTCT-3' (sense)
	5'-GAGGCAGAGGTTCCCTATTTATT-3' (antisense)
NLRP3	5'-TTTCCCAGACCTCATGTTG-3' (sense)
	5'-GGTGCTGAGACTTGAGAAGAG-3' (antisense)
ACTB	5'-ACCACCATGTACCCAGGCATT-3' (sense)
	5'-CCACACAGAGTACTTGCGCTCA-3' (antisense)

8. miRNA Ekspresyon Analizi: Elde edilen total RNA örneklerinden cDNA sentezi, universal cDNA synthesis kit (Exiqon, Qiagen miRCURY LNA RT Kit) kullanılarak üretici talimatına uygun olarak yapılmıştır. Sentezlenen cDNA kalıp olarak kullanarak özel LNA primerler ve SYBR Green boya eşliğinde seçilen miRNA'ların RT- qPCR analizi, Roche LightCycler 480 II cihazı ile gerçekleştirilmiştir. RNU6B geni, internal kontrol olarak kullanılmıştır (housekeeping gene). Araştırılan genlerin Ct belirlenmiştir ve RNU6B housekeeping gene göre normalize edilmiştir. Relatif ekspresyon seviyeleri $2^{-\Delta\Delta C_t}$ yöntemi ile hesaplanmıştır ve veriler kontrol grubuna göre kıyaslanmıştır.

9. İstatistiksel Analiz: İstatistiksel analizler IBM Sosyal Bilimlerde İstatistik Paket Programı (SPSS) sürüm 22 programı kullanılarak yapılmıştır. Analiz sonuçlarında anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir. Davranış testleri verileri 1. gün, 21. gün ve 42. gün tekrarlanarak elde edilmiştir. Veriler faktöriyel düzende tekrarlanan ölçümlü varyans analizi tekniği ile değerlendirilmiştir. Mauchly'nin küresellik varsayımının geçerliliği değerlendirilmiştir. Varyans analizinin ardından çoklu karşılaştırma analizi olarak Tukey testi kullanılmıştır. Varyans-Kovaryans matrisinin homojenliğinin kontrolü için Box M testi, Normallik testi için de Shapiro-Wilk testi kullanılmıştır. BDNF düzeylerinin değerlendirilmesinde ANOVA ile gruplar arası karşılaştırma yapılmıştır. Post-hoc test olarak Bonferroni testi kullanılmıştır. NLRP3 ve SIRT1 gen ekspresyonu ve miR-34a ekspresyonu farklılıkları $2^{-\Delta\Delta C_t}$ değeri kullanılarak kat değişimi (fold changes) olarak verilmiştir. Bu verilerin istatistiksel analizinde gruplar arasındaki farklılık gösterilirken ANOVA kullanılmıştır. Post-hoc test olarak Dunnett testi kullanılmıştır. Parametrik olmayan değişkenler arasındaki korelasyon analizi Spearman korelasyon aracılığıyla yapılmıştır. Davranışsal değişiklikler ile moleküler değişimler arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla çok değişkenli kovaryans analizi (MANCOVA) uygulanmıştır. Analizde davranışsal parametreler bağımlı değişken, deney grupları sabit faktör ve moleküler belirteçler (BDNF, miR-34a, SIRT1 ve NLRP3) kovaryant olarak modele dâhil edilmiştir.

Örneklem büyüklüğü, G*Power 3.1.9.2 yazılımı kullanılarak tek yönlü ANOVA (dört grup) için önceden yapılan güç analizi ile belirlenmiştir. Önceki KÖHS çalışmalarında bildirilen davranışsal ve moleküler farklılıklar göz önünde bulundurularak büyük bir etki büyüklüğü (Cohen'in $f = 0,45$) seçilmiştir (Willner ve ark. 1987, Bai ve ark. 2012). $\alpha = 0,05$ ve %80 güç düzeyinde, gerekli örneklem büyüklüğü grup başına 10 hayvan olarak hesaplanmıştır.

BULGULAR

Erken yaşam stresi (EYS) yetişkinlikte depresyon benzeri davranışlarla ilişkilendirilmektedir. Bu çalışmada ketamin ve

fluoksetin tedavilerinin EYS ile ilişkili depresyon benzeri davranışları iyileştirdiği gösterilmiştir.

Sükroz tercih testinde her grup kendi içinde değerlendirildiğinde, kontrol grubunda zaman içinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bununla birlikte, kronik strese maruz kalan gruplarda, sükroz tercihi 21. günde başlangıç değerine göre anlamlı derecede azalmıştır ($p < 0,05$). KÖHS+FLU ve KÖHS+KETA gruplarında 42. günde bu farkın ortadan kalktığı saptanmıştır ($p > 0,05$). Bu bulgulara dayanarak, fluoksetin ve ketamin tedavilerinin KÖHS ile indüklenen anhedoni benzeri davranışı iyileştirdiği sonucuna ulaşılabilir.

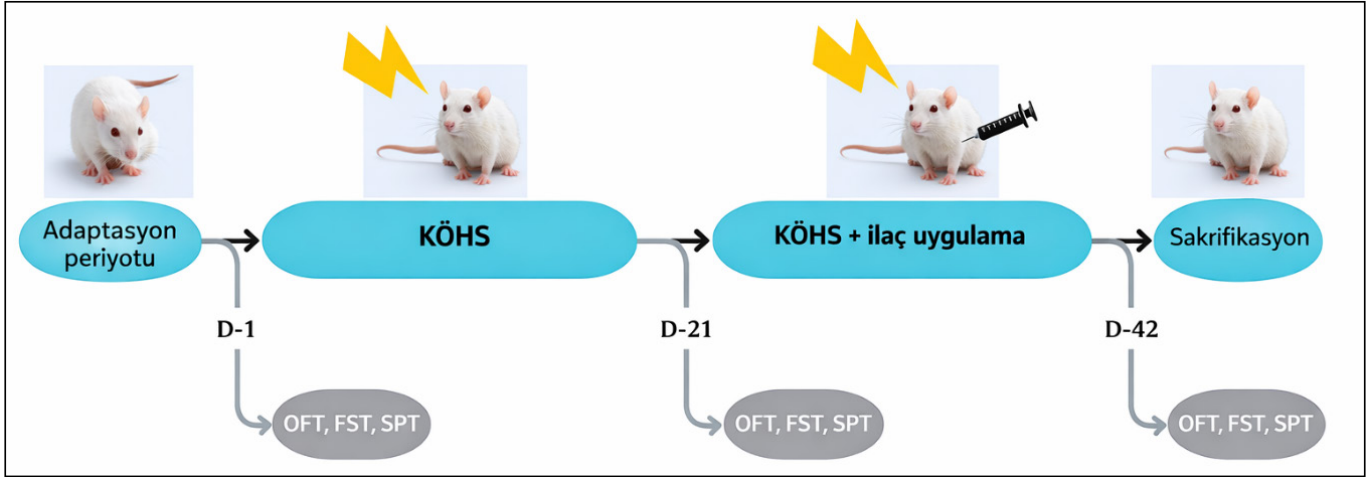
Her bir ölçüm için gruplar arası veriler karşılaştırıldığında ise; başlangıçta gruplar arası anlamlı bir fark yok iken ($p > 0,05$), 21. günde tüm stres gruplarında sükroz tercih oranları kontrol grubuna göre düşük ($p < 0,05$) bulunmuştur. Kronik öngörülemeden hafif stres grubunda sükroz tercih oranı kontrol grubuna göre 42. günde anlamlı düzeyde düşük iken ($p < 0,05$), KÖHS+KETA ve KÖHS+FLU gruplarının kontrol grubundan farklı olmadığı ($p > 0,05$) saptanmıştır (Şekil 2).

Zorlu yüzme testinde hareketlilik süresi verilerinin değerlendirilmesinde Mauchly'nin küresellik varsayımı geçerlidir (0,907; $df=2$, $p=0,180$). Günlere göre değişim ($p < 0,0001$, $F=122,20$, $df=2$) ve zaman grup etkileşimi ($p < 0,0001$, $F=5,357$, $df=6$) söz konusudur. Her bir grup kendi içinde günlere göre değerlendirildiğinde, hareketlilik süresi açısından kontrol grubunun 1. gün, 21. gün ve 42. gün verileri açısından anlamlı farklılık saptanmamıştır. Stres gruplarından KÖHS grubunda, kendi içinde başlangıça göre 21. ve 42. gün hareketlilik süresi anlamlı düzeyde düşüktür ($p < 0,05$). KÖHS+KETA ve KÖHS+FLU gruplarının her birinin başlangıça göre 21. günde anlamlı düzeyde hareketlilik sürelerinde azalma olurken ($p < 0,05$), tedavi sonrası 42. günde hareketlilik sürelerinin arttığı görülmüştür (Şekil 3).

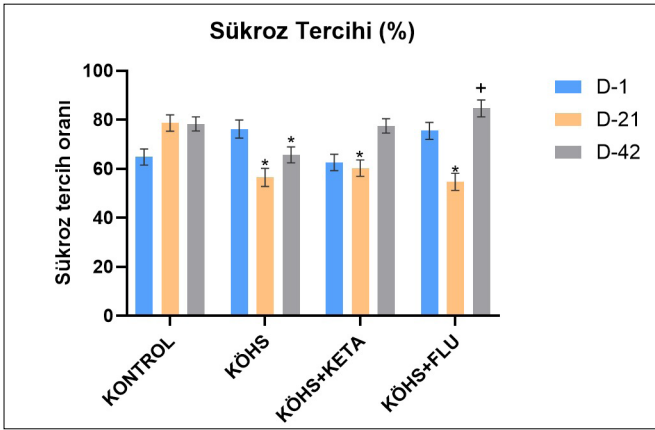
Hareketsizlik süresi verileri için de Mauchly'nin küresellik varsayımı geçerlidir (0,844; $df=2$, $p=0,051$). Günlere göre değişim ($p < 0,0001$, $F=83,096$, $df=2$) ve zaman grup etkileşimi ($p < 0,0001$, $F=5,707$, $df=6$) söz konusudur. Hareketsizlik süresi toplamda kayıt altına alınan altı dakikanın (360 saniye), hareketlilik süresi dışında kalan kısımdır. Dolayısıyla hareketlilik süresinde görülmüş olan değişiklikler aynı gruplarda aynı ölçümlerde Şekil 3'te de belirtildiği gibi tespit edilmiştir.

Tüm stres uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre 21. günde hareketlilik süresinde azalma ve hareketsizlik süresinde artma görülürken ($p < 0,05$) stresle beraber fluoksetin ve ketamin uygulanan gruplarda 42. günde bu azalmanın geriye döndüğü saptanmıştır ($p < 0,05$). Bu bulgular, fluoksetin ve ketaminin kronik stres kaynaklı hareketsizliği iyileştirdiğini düşündürmektedir (Şekil 3).

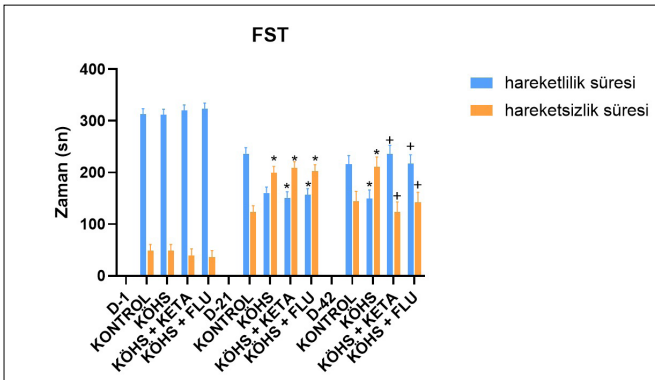
Açık alan testinde ise; alınan ölçümlerde hem haftalara göre hem gruplar arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$). Açık alan testinde belirli bir süre içerisinde



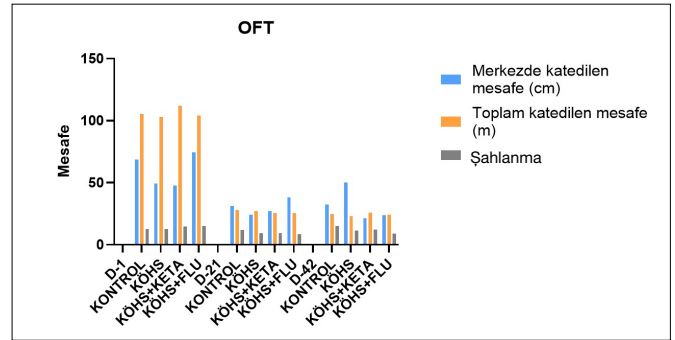
Şekil 1. Deneyel tasarım şeması. Wistar albino erkek sıçanlar (4 haftalık) dört gruba rastgele ayrıldı: Kontrol (n=10), KÖHS (n=10), KÖHS+KETA (n=10), KÖHS+FLU (n=10). KÖHS, KÖHS+KETA ve KÖHS+FLU grupları 42 gün boyunca günün farklı saatlerinde değişken stresörlere maruz bırakıldı. Kontrol ve KÖHS gruplarına salin, KÖHS+KETA grubuna ketamin ve KÖHS+FLU grubuna fluoksetin deneyin son 21 günü boyunca her gün uygulandı. OFT, FST ve SPT sırasıyla deneyin adaptasyon periyodunun sonunda, 21 günlük KÖHS uygulamasından sonra ve 42 günlük KÖHS uygulamasından sonra (21 günlük ilaç uygulaması) olmak üzere üç kez birer günlük aralıklarla uygulandı. KÖHS, kronik öngörülemez hafif stres; OFT, açık alan testi; FST, zorunlu yüzme testi; SPT, sükröz tercih testi, D-1, 1. gün; D-21, 21. gün; D-42, 42. gün.



Şekil 2. Grupların günlere göre (D-1, D-21, D-42) tekrarlanan sükröz tercih testi ölçüm sonuçları. Değerler her grup için ortalama $\pm$ SEM olarak alınmıştır. *: kontrol grubundan anlamlı farkı, +: KÖHS grubundan farkı gösterir ($p < 0,05$). KÖHS: kronik öngörülemez hafif stres; KETA: ketamin; FLU: fluoksetin.



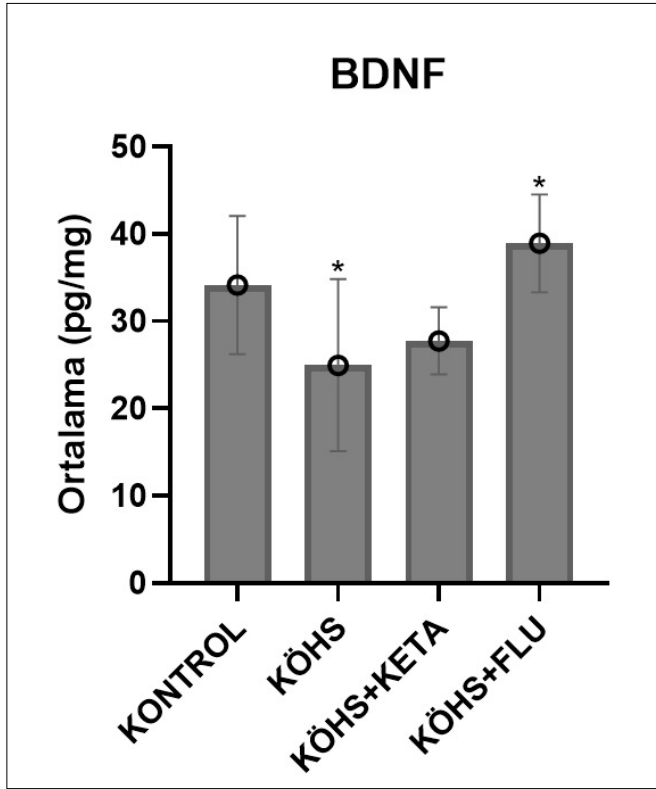
Şekil 3. Zorlu yüzme testinde grupların hareketlilik ve hareketsizlik sürelerinin ortalama değerlerinin günlere göre (D-1, D-21, D-42) grup içi ve gruplar arası karşılaştırılması. Değerler her grup için ortalama $\pm$ SEM olarak alınmıştır. *: kontrol grubundan anlamlı farkı, +: KÖHS grubundan farkı gösterir ($p < 0,05$). KÖHS: kronik öngörülemez hafif stres; KETA: ketamin; FLU: fluoksetin; FST: zorlu yüzme testi.



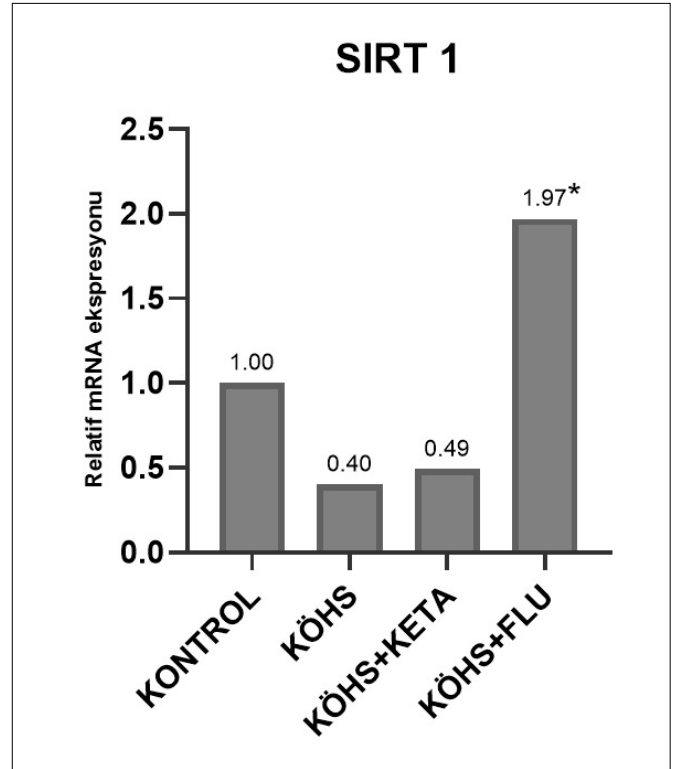
Şekil 4. Grupların günlere göre (D-1, D-21, D-42) tekrarlanan açık alan testi ölçüm sonuçları. Değerler her grup için ortalama $\pm$ SEM olarak alınmıştır. İstatistiksel olarak $p < 0,05$ anlamlı farkı gösterir. KÖHS: kronik öngörülemez hafif stres; KETA: ketamin; FLU: fluoksetin; OFT: açık alan testi.

sıçanların geçtikleri çizgi sayısı, dış zonda geçirdikleri süre, iç zonda geçirdikleri süre, merkez karede katettikleri mesafe, katettikleri toplam mesafe, iç kadrana giriş sayısı ve merkeze giriş sayısı istatistiksel olarak analiz edilmiştir (Şekil 4). Ayrıca tırmanma, şahlanma, idrar yapma ve dışkılama sayıları da analiz edilmiştir.

Sıçan hipokampusunda ölçülen BDNF protein konsantrasyon düzeyleri açısından gruplar arasındaki farklılık anlamlı bulunmuştur ($df=3$, $F=3,86$, $p=0,03$). Kronik öngörülemez hafif stres grubunda BDNF düzeyleri düşük olarak saptanmakla birlikte KÖHS ile KÖHS+FLU grubu arasındaki farklılığın anlamlı düzeyde olduğu saptanmıştır ($p=0,043$) (Şekil 5). Bu bulgular KÖHS'nin BDNF'yi azalttığını ve bu değişimin fluoksetin tedavisiyle geriye döndüğünü gösterebilir. Ayrıca kronik ketaminin EYS ilişkili depresyon benzeri davranışları iyileştirirken hipokampal BDNF üzerine belirgin bir etkisi olmadığı sonucuna varılabilir.



Şekil 5. HPC'deki BDNF protein konsantrasyonları. Veriler ortalama $\pm$ standart sapma olarak sunulmuştur. * istatistiksel olarak anlamlı farkı göstermektedir ($p<0,05$). BDNF: Beyin kaynaklı nörotrofik faktör; KÖHS: kronik öngörülemez hafif stres; KETA: ketamin; FLU: fluoksetin.

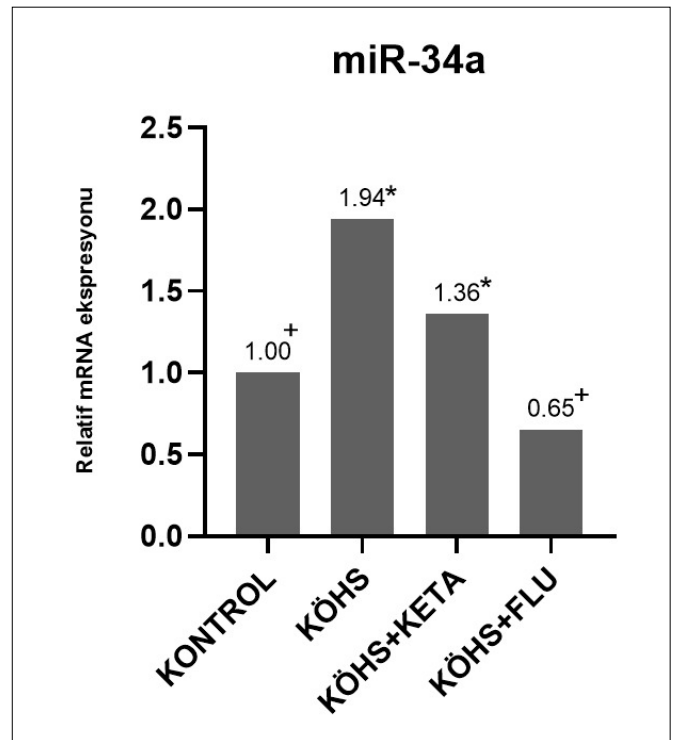


Şekil 6. Gruplara göre hipokampal SIRT1 gen ekspresyonları. Veriler $\log_2(2^{-\Delta\Delta CT})$ cinsinden normalize edilmiş mRNA ekspresyonu olarak sunulmuştur. *: kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farkı gösterir ($p<0,05$). KÖHS: kronik öngörülemez hafif stres; KETA: ketamin; FLU: fluoksetin.

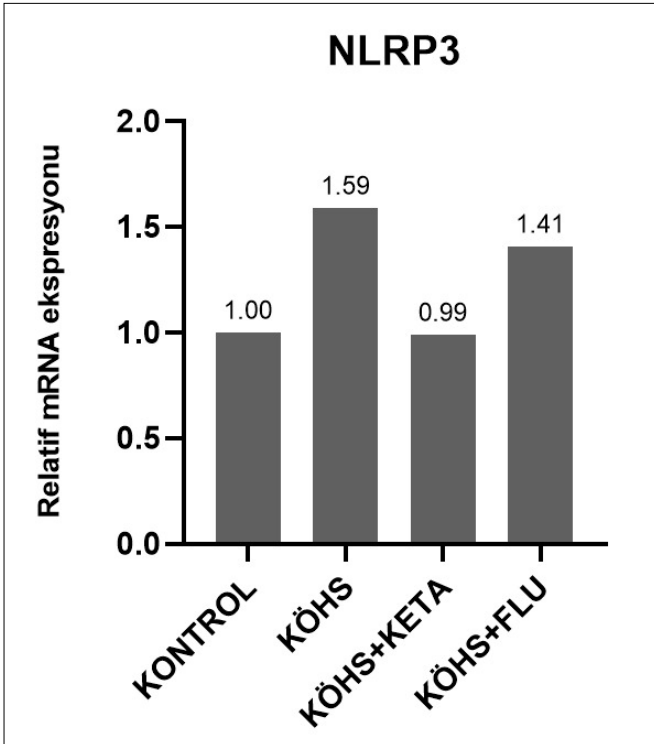
Erken yaşam stresinin, fluoksetin ve ketamin tedavilerinin sıçan hipokampusünde NLRP3, SIRT1, miR-34a ekspresyon düzeylerine etkileri incelenmiştir. SIRT1 geni ekspresyon değişimleri kontrol ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($df=3$, $F=3,886$, $p=0,018$). Kontrol grubuna kıyasla KÖHS+FLU grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlenmiştir ($FC=1,97$, $p=0,004$). Kronik öngörülemez hafif stres ve KÖHS+KETA gruplarındaki değişim ise istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (sırasıyla, $FC=0,40$, $p=0,530$; $FC=0,49$, $p=0,094$) (Şekil 6).

miR-34a'nın ekspresyon değişimleri kontrol ve diğer gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,004$). Kontrol grubuna kıyasla miR-34a ekspresyon katsayısı, KÖHS ve KÖHS+KETA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur (sırasıyla $FC=1,94$ $p=0,004$; $FC=1,36$ $p=0,047$). KÖHS+FLU grubuna göre ise; KÖHS ve KÖHS+KETA gruplarında anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır (sırasıyla $p=0,003$; $p=0,039$). Kronik öngörülemez hafif stres grubuna göre ise; kontrol ve KÖHS+FLU gruplarında anlamlı düzeyde düşük olduğu tespit edilmiştir (sırasıyla $p=0,015$; $p=0,013$) (Şekil 7).

NLRP3 gen ekspresyonu gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemiştir ($p=0,416$). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, KÖHS ($FC=1,59$, $p=0,245$), KÖHS+FLU ($FC=1,41$, $p=0,555$) ve KÖHS+KETA ($FC=0,99$, $p=0,882$)



Şekil 7. Gruplara göre hipokampal miR-34a ekspresyonları. Veriler $\log_2$ 'de ($2^{-\Delta\Delta CT}$) normalize edilmiş mRNA ekspresyonu olarak sunulmuştur. *: Kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farkı gösterir; +: KÖHS grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı farkı gösterir ($p<0,05$). KÖHS: kronik öngörülemez hafif stres; KETA: ketamin; FLU: fluoksetin.



Şekil 8. Gruplara göre hipokampal NLRP3 gen ekspresyonları. Veriler $\log_2(2^{-\Delta\Delta CT})$ cinsinden normalize edilmiş mRNA ekspresyonu olarak sunulmuştur. İstatistiksel olarak gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). KÖHS: kronik öngörülemeyen hafif stres; KETA:ketamin; FLU: fluoksetin.

gruplarında ekspresyon düzeylerinde anlamlı bir değişiklik saptanmamıştır (Şekil 8).

Hipokampüste NLRP3, SIRT1, miR-34a ekspresyonları ve BDNF protein konsantrasyon düzeyleri arasındaki korelasyon Spearman korelasyon analizi ile incelenmiştir. NLRP3 ve SIRT1 arasında anlamlı bir pozitif korelasyon saptanırken ($r=0,426$, $p=0,009$), NLRP3 ile miR-34a, BDNF arasında anlamlı korelasyon saptanmamıştır (sırasıyla $r=0,068$, $p=0,691$; $r=-0,044$, $p=0,855$).

Grup faktörünün davranışsal parametrelerin birleşimi üzerinde anlamlı bir etkiye sahip olduğu MANCOVA sonuçları ile gösterilmiştir [Pillai's Trace=1,212; $F(18,78)=2,937$; $p=0,001$]. Bu bulgu, uygulanan kronik stres modelinin davranışlar üzerinde belirgin farklılıklara yol açtığını ortaya koymaktadır. Moleküler değişkenler incelendiğinde ise, SIRT1 düzeylerinin davranışsal parametrelerle anlamlı düzeyde ilişkili olduğu saptanmıştır [Pillai's Trace=0,413; $F(6,24)=2,819$; $p=0,032$]. Buna karşılık BDNF ($p=0,797$), miR-34a ($p=0,704$) ve NLRP3 ($p=0,968$) değişkenlerinin davranışsal ölçümlerle çok değişkenli düzeyde anlamlı bir ilişkisi bulunmamıştır.

Tek değişkenli izleme analizlerinde, grup etkisinin özellikle FST'de belirgin olduğu görülmüştür. Üç haftalık KÖHS sonrasında ölçülen hareketlilik süresi [$F(3,29)=9,878$; $p<0,001$] ve hareketsizlik süresi [$F(3,29)=10,277$; $p<0,001$]

değişkenlerinde anlamlı grup farkları saptanmıştır. Ayrıca altı haftalık KÖHS ile üç haftalık tedavi uygulamalarının tamamlanması sonrası ölçülen hareketsizlik süresi de grup faktöründen anlamlı şekilde etkilenmiştir [$F(3,29)=3,943$; $p=0,018$]. Bu bulgular, kronik stres ve tedavi süreçlerinin davranışlar üzerinde belirgin ve ölçülebilir farklılıklara yol açtığını düşündürmektedir.

TARTIŞMA

Erken yaşam dönemi, stres yanıt sistemlerinin ve nöroplastik süreçlerin yeniden şekillendiği, psikopatoloji açısından yüksek kırılganlık taşıyan bir gelişim evresidir. Bu çalışmada, ergenlik döneminde başlayan kronik öngörülemeyen hafif stresin, erişkin dönemde depresyon benzeri davranışlara yol açtığı ve hipokampüste nöroplastisite, epigenetik düzenleme ve stres yanıtı ile ilişkili biyolojik yollarda belirgin değişiklikler oluşturduğu gösterilmiştir. Bulgularımız, fluoksetin ve ketaminin her ikisinin de anhedoni ve davranışsal umutsuzluk benzeri belirtileri azalttığını, ancak bu iyileşmenin altta yatan biyolojik mekanizmalarının farklılaştığını ortaya koymaktadır. Bu yönüyle çalışma, erken yaşam stresine bağlı depresyonun tedavisinde davranışsal iyileşmenin tek başına ortak bir moleküler yolak üzerinden gerçekleşmeyebileceğine işaret etmektedir.

Bu çalışmada depresyonun temel davranışsal bileşenlerinden biri olan anhedoni ve davranışsal umutsuzluk, SPT ve zorlu yüzme testi FST ile değerlendirilmiştir. Sükroz tercih testi sonuçları, ergenlik döneminde başlatılan kronik öngörülemeyen hafif stresin erişkin dönemde belirgin bir anhedoni benzeri davranışa yol açtığını; kontrol grubuna kıyasla anlamlı düzeyde sükroz tercihinde azalma ile karakterize olduğunu göstermektedir. Dikkat çekici biçimde, fluoksetin ve ketamin uygulanan gruplarda sükroz tercih oranlarında gözlenen azalmanın ortadan kalkması, her iki tedavinin de KÖHS ile indüklenen anhedoni benzeri davranışı etkili biçimde iyileştirdiğini düşündürmektedir. Literatürde de kronik stres modellerinin sükroz tercihinde belirgin azalmaya yol açtığı, bunun anhedoninin güvenilir bir prelinik göstergesi olduğu ve fluoksetin gibi klasik antidepresan tedaviler ile geri döndüğü bildirilmiştir (Grippio ve ark., 2006). Ayrıca, ketamin gibi hızlı etkili ajanların stres kaynaklı anhedoniyi tersine çevirdiği ve sükroz tercihinin normale yaklaştırdığı da gösterilmiştir (Kingir ve ark., 2023).

Benzer şekilde FST bulguları, kronik stresin hareketlilik süresinde azalma ve hareketsizlik süresinde artışla uyumlu davranışsal umutsuzluk benzeri değişikliklere yol açtığını düşündürmektedir. Stresle birlikte fluoksetin ve ketamin uygulanan gruplarda, 42. günde hareketlilik süresinin artması ve hareketsizlik süresinin azalması, her iki ilacın da stres kaynaklı davranışsal umutsuzluğu tersine çevirebildiğini göstermektedir. Bu bulgular, literatürde FST'de stresin hareketliliği azaltıp

hareketsizliği artırdığı ve antidepresan tedavilerle bu değişikliklerin düzelebildiğini bildiren çalışmalarla uyumludur (Réus ve ark. 2015, Fitzgerald ve ark. 2019).

Bu çalışmada KÖHS modeli ile OFT’de anlamlı anksiyete benzeri davranışlar saptanmamıştır. Yakın zamanda yayımlanan bir meta-analiz, OFT sonuçlarının yüksek düzeyde değişkenlik gösterdiğini ve çalışmalar arası farklılıkların yaş, cinsiyet, test ortamı, habitüasyon süreci, hayvan bakımı ve ölçülen parametrelerin seçimi gibi birçok metodolojik ve biyolojik faktörden güçlü biçimde etkilendiğini ortaya koymuştur. (Çevik ve ark. 2025). Ayrıca testin tekrarlı uygulanmasının stres yanıtlarını sönümleyebileceği ve adaptasyona yol açarak kontrol ve stres grupları arasındaki farkların ayırt edilmesini güçleştirebileceği belirtilmiştir (Bosch ve ark. 2022). Stresin türü ve süresi de davranışsal tepkileri belirgin biçimde etkilemekte olup kronik stresin anksiyete artışından çok depresyon benzeri davranışlarla ilişkili olduğu bildirilmiştir (Simões ve ark. 2025). Bunun yanı sıra, ergenlik dönemindeki sıçanların daha yüksek keşif davranışı ve daha değişken anksiyete yanıtları göstermesi (Sturman ve Moghaddam 2011), bu yaş grubunda OFT’nin anksiyete benzeri davranışları ortaya koyma duyarlılığını sınırlayabilmektedir. Bu nedenlerle, çalışmamızda OFT’de anlamlı bir farklılık saptanmaması, hem KÖHS modelinin anksiyete üzerindeki değişken etkileri hem de testin metodolojik sınırlılıklarıyla uyumludur.

Bu çalışmada erken yaşam stresinin hipokampüste BDNF düzeylerinde azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Erken yaşam stresine bağlı olarak ortaya çıkan bu azalmanın kalıcı olabileceği ve erişkin dönemde depresyona yatkınlığın biyolojik temelini oluşturabileceği daha önce bildirilmiştir. Nitekim KÖHS modelinin yetişkinlikteki etkisini ve anne yoksunluğu paradigması ile erken yaşam stresini karşılaştıran bir çalışmada, yalnızca erken yaşamda uygulanan stresin hipokampüste azalmış BDNF düzeylerine yol açtığı gösterilmiştir (Bai ve ark. 2012). Bu bulgular, erken dönemdeki BDNF değişikliklerinin erişkin dönemde ortaya çıkan depresyon benzeri davranışlarla ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Bulgularımızla uyumlu biçimde, fluoksetinin kronik uygulamasının hipokampal BDNF düzeylerini artırdığı daha önceki çalışmalarda da gösterilmiştir (Hodes ve ark. 2010). Buna karşılık, bu çalışmada kronik ketamin tedavisi davranışsal iyileşme sağlamasına rağmen hipokampal BDNF düzeylerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmamıştır. Literatürde kronik ketamin uygulamasının farklı dozlarda (5, 10 ve 15 mg/kg) hipokampal BDNF düzeyleri üzerinde sınırlı etkisi olduğu, buna karşın akut ve yüksek doz uygulamaların geçici artışlar oluşturabildiği bildirilmiştir (Garcia ve ark. 2008a, 2008b). Bu durum, ketaminin hızlı antidepresan etkisinin uzun dönemde hipokampal BDNF üzerinden sürdürülmeyebileceğini düşündürmektedir.

BDNF’de gözlenen değişiklikleri epigenetik düzeyde şekillendirebilecek aday düzenleyicilerden biri miR-34a’dır. Kronik

strese maruziyet ile yetişkin sıçanlarda hipokampüste miR-34a ekspresyonunun arttığı ve fluoksetin tedavisiyle gerilediği bildirilmiştir (Yi ve ark. 2020). Benzer şekilde depresyon hastalarında serum miR-34a-5p ekspresyonunun arttığı ve paroksetin tedavisi ile azaldığı gösterilmiştir (Kuang ve ark. 2018). Bu çalışmada da kronik strese miR-34a’nın artış gösterdiği ve fluoksetin tedavisiyle bu farklılığın ortadan kalktığı bulunmuştur. Buna karşın kronik ketamin tedavisinin miR-34a ekspresyonu üzerine belirgin etkisi olmadığı tespit edilmiştir. Önceki çalışmalarda miR-34a artışının BDNF ve SIRT1 ekspresyonlarını etkilediği (Cui ve ark. 2017, Kuang ve ark. 2018, Xu ve ark. 2020) ve özellikle erken yaşam stresi olan olgulara miR-34a/SIRT1 düzeylerinin majör depresyon semptomlarıyla ilişkilendirilebildiği bildirilmiştir (Iacono ve ark. 2020b). miR-34a’nın SIRT1’in 3’UTR bölgesine bağlanarak ekspresyonunu inhibe ettiği gösterilmiş olup (Yamakuchi ve ark. 2008, Fu ve ark. 2017), fluoksetinin miR-34a/SIRT1 eksenini üzerindeki dengeleyici etkisi bu çalışmada da izlenmiştir.

Klinik öncesi çalışmalarda hipokampal dokuda ketaminin miR-34a ekspresyonunu artırabildiği ve özellikle CA1 nöronlarında belirgin apoptoza yol açabildiği bildirilmiştir (Jiang ve ark. 2014, Ye ve ark. 2022). Buna karşılık ketaminin kısa dönemde medial prefrontal kortekste nöroplastisiteyi artırma, sinaptik bağlantıları güçlendirme ve nöroenflamasyonu modüle etme yoluyla antidepresan etki gösterdiği; ancak uzun dönemde moleküler düzeyde farklı ve bölgeye özgü etkiler ortaya koyabileceği öne sürülmüştür (Gass ve ark. 2019, Shinohara ve ark. 2021). Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde, ketaminin miR-34a üzerindeki etkilerinin hipokampüsten ziyade prefrontal korteks gibi farklı beyin bölgelerinde ve zamana duyarlı mekanizmalar üzerinden ortaya çıkabileceği düşünülmektedir.

Yetişkin dönemde kronik stres etkisiyle hipokampüste SIRT1 aktivitesinin azaldığı ve SIRT1 aktivasyonu ile antidepresan benzeri etkiler oluştuğu daha önce gösterilmiştir (Abe-Higuchi ve ark. 2016, Liu ve ark. 2016). Bu çalışmada ise KÖHS maruziyeti ile SIRT1 mRNA ekspresyonunda anlamlı farklılık saptanmamıştır. Benzer şekilde kronik stres sonrası hipokampüsün CA1, CA3 ve dentat girus bölgelerinde SIRT1 protein ekspresyonunun değişmediği, buna karşın aktivitenin CA3 ve dentat girusta artabildiği bildirilmiştir (Ferland ve Schrader 2011). Bu nedenle SIRT1 yanıtının hipokampal alt bölgelerde farklılık gösterebileceği ve tüm hipokampüsün tek örnek olarak analiz edilmesinin bölgesel değişimleri maskeleyebileceği düşünülmektedir. Bununla birlikte bu çalışmada SIRT1’in mRNA düzeyi ölçülmüş olup, mRNA-protein korelasyonunun her zaman güçlü olmadığı ve SIRT1’in fonksiyonel deasetilaz aktivitesinin protein miktarından bağımsız değişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Nitekim literatürde kronik stres koşullarında SIRT1’e ilişkin sonuçların model, süre ve ölçüm düzeyine göre değişkenlik gösterebildiği bildirilmiştir (Qiu ve ark. 2023).

Bu çalışmada fluoksetin tedavisi ile hipokampal SIRT1 düzeylerinde artış saptanması, SSRI'ların kronik uygulamada hipokampal plastisite ve epigenetik düzenleyici mekanizmalar üzerindeki etkilerini bildiren literatürle uyumludur (Li ve ark. 2020). Ketamin tedavisinin hipokampal SIRT1 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik oluşturmaması ise ketaminin antidepresan etkilerinin beyin bölgesine özgül mekanizmalar üzerinden gerçekleştiğini düşündürmektedir. Yakın zamanda yapılan bir araştırmada S-ketaminin antidepresan etkisinin medial prefrontal kortekste SIRT1 aracılı BDNF artışı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Hou ve ark. 2022). Bu bulgular, ketaminin SIRT1 üzerindeki etkisinin hipokampüsten ziyade medial prefrontal korteks gibi hızlı sinaptik plastisite ile ilişkili devrelerde ortaya çıkabileceğine işaret etmektedir. Ayrıca ketaminin hipokampal etkilerinin zamana duyarlı ve geçici olması nedeniyle mevcut deneysel zamanlamada saptanamamış olması da olasıdır.

Bu çalışmada temel fonksiyonu kaspaz-1'i aktive ederek proenflamatuvar sitokinler olan IL-1 β ve IL-18'i düzenlemek olan NLRP3'ün hipokampüsteki ekspresyonu incelenmiş ve gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır (Pan ve ark. 2014). Bununla birlikte daha önceki çalışmamızda prenatal stresin hem anne hem de yavru hipokampüsünde NLRP3 aktivasyonunu artırdığı gösterilmiştir (Özdamar Ünal ve ark. 2022). Bu farklılık, stresin uygulanma zamanı ve süresi ile ilişkili olabileceği gibi, NLRP3 yanıtının beyin bölgeleri arasında değişkenlik göstermesiyle de ilişkili olabilir. Nitekim kronik stresin prefrontal kortekste IL-1 β ilişkili enflamasyonu artırdığı ve bunun mikrogial NLRP3 enflamazom aktivasyonu ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (Pan ve ark. 2014, Zhang GF ve ark. 2015). Bu aktivasyonun fluoksetin uygulanmasıyla azalması (Pan ve ark. 2014, Wang ve ark. 2020), antidepresan etkinin hipokampüsten ziyade prefrontal kortekste mikrogial NLRP3 düzenlenmesi üzerinden ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir.

Kronik ketamin tedavisinin antidepresan etki mekanizmasında antienflamatuvar süreçlerin yer aldığı ve NLRP3'ün bu etkiye aracılık edebileceği öne sürülmektedir. Erken yaşam stresi ile serum ve beyin omurilik sıvısında proenflamatuvar sitokinlerin arttığı; ketaminin bu etkileri geri döndürerek antienflamatuvar bir yanıt oluşturabildiği ve NLRP3 enflamazomunu baskılayabildiği bildirilmiştir (Réus ve ark. 2015, Li ve ark. 2019). Bununla birlikte ketaminin NLRP3 ve enflamatuvar süreçler üzerindeki etkisine ilişkin bulguların sınırlı olması, doz-süre-beyin bölgesi özgüllüğünün netleşmemiş olması ve hipokampus dışı bölgelerde daha belirgin etkiler olabileceği, bulgularımızın yorumlanmasında dikkate alınmalıdır.

Bu çalışmada hipokampal NLRP3 ve SIRT1 düzeyleri arasında saptanan pozitif korelasyon, literatürde bildirilen SIRT1'in NLRP3 üzerindeki baskılayıcı rolüyle (Li ve ark. 2016) ilk bakışta çelişkili görünmekle birlikte enflamatuvar yük altında gelişen kompansatuvar düzenleyici yanıtlarla

açıklanabileceği düşünülmüştür. Kronik enflamasyon ve oksidatif stresin NLRP3 enflamazom aktivasyonunu tetiklediği, buna karşılık SIRT1 gibi hücrel stres yanıtı ve epigenetik düzenleyicilerin enflamasyonu sınırlamaya yönelik kompansatuvar mekanizmalar olarak devreye girdiği bildirilmektedir (Kauppinen ve ark. 2016). Ayrıca bu çalışmada ölçülen parametrelerin ekspresyon düzeylerini yansıttığı, SIRT1'in fonksiyonel aktivitesinin değerlendirilmediği göz önüne alındığında, artmış SIRT1 ekspresyonunun enflamatuvar baskılamının gerçekleştiği anlamına gelmeyebileceği düşünülmelidir.

Bu çalışmada, davranışsal değişiklikler ile moleküler değişimler arasındaki ilişki, yalnızca grup karşılaştırmalarıyla sınırlı kalınmayarak çok değişkenli bir istatistiksel yaklaşım ile değerlendirilmiştir. MANCOVA sonuçları, deney gruplarının davranışsal çıktılar üzerinde anlamlı etkiler oluşturduğunu doğrulamakla birlikte, bazı moleküler değişkenlerin bu davranışsal değişimleri yordayıcı nitelikte olabileceğini göstermiştir. Özellikle SIRT1'in davranışsal parametrelerle anlamlı ilişki göstermesi, bu molekülün stresle ilişkili davranışların düzenlenmesinde önemli bir rol oynayabileceğine işaret etmektedir. SIRT1'in nöroplastisite, mitokondriyal fonksiyon ve stres yanıtı üzerindeki bilinen düzenleyici etkileri göz önünde bulundurulduğunda, elde edilen bulgular SIRT1'in moleküler düzeydeki değişimlerle davranışsal fenotipler arasında potansiyel bir aracı olabileceğini düşündürmektedir. Buna karşılık, BDNF, miR-34a ve NLRP3 değişkenlerinin davranışsal ölçümlerle çok değişkenli anlamlı bir ilişki göstermemesi, bu belirteçlerin etkilerinin bağlama özgü veya doğrusal olmayan mekanizmalar aracılığıyla ortaya çıkabileceğini düşündürmektedir. Bu durum, söz konusu moleküler belirteçlerin davranışsal sonuçlar üzerindeki etkilerinin daha ayrıntılı ve farklı deneysel yaklaşımlar ile değerlendirilmesi gerektiğini ortaya koymaktadır. Bu çalışmada kullanılan çok değişkenli istatistiksel yaklaşım, davranışsal değişikliklerin yalnızca grup etkilerinin bir sonucu olmadığını, belirli moleküler değişimlerin, özellikle SIRT1'in, bu davranışsal sonuçlara anlamlı katkılar sunduğunu göstermektedir. Bu yönüyle çalışma davranışsal ve moleküler bulgular arasında bütüncül bir ilişki ortaya koyarak kronik stresin ve ilaçların etki mekanizmalarını yorumlama gücünü artırmaktadır.

Bu çalışmanın bazı metodolojik kısıtlılıkları bulunmaktadır. Öncelikle deneyler yalnızca erkek sıçanlarda gerçekleştirilmiş olup, elde edilen bulguların dişi hayvanlara genellenebilirliği sınırlıdır. Cinsiyet farklılıklarının stres yanıtı, nöroplastisite ve antidepresan tedaviye yanıt üzerindeki belirleyici rolü göz önünde bulundurulduğunda, gelecekteki çalışmalarda her iki cinsiyetin değerlendirilmesi önem taşımaktadır. İkinci olarak, moleküler analizler yalnızca hipokampal doku ile sınırlı tutulmuş; prefrontal korteks ve amigdala gibi stres yanıtı, duygu düzenleme ve özellikle ketaminin antidepresan etkisiyle ilişkili beyin bölgeleri incelenmemiştir. Bu durum,

ketaminin bölgeye özgü ve zamana duyarlı etkilerinin tam olarak ortaya konulamamış olmasına katkıda bulunmuş olabilir. Bunun yanı sıra, çalışmada elde edilen bulguların erişkin KÖHS modelleriyle tam olarak örtüşmemesi, ergenlik dönemine özgü nörogelişimsel özelliklerle ilişkili olabilir. Ergenlik, nöroplastisite, epigenetik düzenleme ve stres yanıt sistemlerinin yeniden yapılandığı kritik bir gelişim dönemidir ve bu dönemde stres maruziyetinin erişkinlere kıyasla farklı ve daha kalıcı moleküler yanıtlar oluşturabildiği bilinmektedir (Steinberg ve ark. 2006, Sturman ve Moghaddam 2011). Nitekim erken yaşam stresinin immün yanıtları ve miRNA-BDNF düzenlenmesini erişkin modellere göre daha uzun süreli biçimde etkileyebildiği bildirilmiştir (Bai ve ark. 2012, Tan ve ark. 2021). Bu bağlamda, erişkin çalışmalarda ketaminin hipokampal BDNF ve SIRT1 üzerinden anti-depresan etki gösterdiği rapor edilmiş olsa da (Abe-Higuchi ve ark. 2016, Hou ve ark. 2022), çalışmamızda gözlenen davranışsal iyileşmenin hipokampüsten ziyade farklı beyin bölgeleri veya özgül nöral devreler aracılığıyla ortaya çıkmış olması olasıdır. Ayrıca çalışmada moleküler belirteçler ağırlıklı olarak ekspresyon düzeyinde değerlendirilmiş; protein aktivitesi, post-translasyonel düzenlemeler ve fonksiyonel sonuçlar analiz edilmemiştir. Son olarak, örneklem büyüklüğünün sınırlı olması bazı biyolojik etkilerin istatistiksel olarak saptanamamış olmasına katkıda bulunmuş olabilir. Bu kısıtlılıklara rağmen, çalışmanın ergenlik döneminde başlatılan kronik stresin erişkin dönemdeki davranışsal ve biyolojik sonuçlarını bütüncül bir çerçevede ele alması literatüre anlamlı katkı sunmaktadır.

SONUÇ

Bu çalışma, ergenlik döneminde başlayan kronik öngörüle-meyen hafif stresin erişkin dönemde anhedoni ve davranışsal umutsuzluk benzeri belirtilere yol açtığını ve bu davranışsal değişimlerin hipokampüste nöroplastisite, epigenetik düzenleme ve stres yanıtı ile ilişkili biyolojik yollardaki değişimlerle birlikte seyrettiğini göstermektedir. Bulgularımız, fluoksetinin miR-34a/SIRT1/BDNF eksenini üzerinden daha belirgin ve bütüncül bir biyolojik etki profili sergilediğini, ketaminin ise davranışsal düzeyde etkili olmakla birlikte hipokampus merkezli klasik nöroplastisite belirteçleri üzerinden farklılaşan ve muhtemelen bölgeye ve zamana özgü mekanizmalarla etki gösteren bir ajan olduğunu düşündürmektedir. Bu sonuçlar, erken yaşam stresine bağlı depresyonun biyolojik altyapısının gelişimsel bağlamdan bağımsız değerlendirilemeyeceğini ve ergenlik dönemine özgü nörogelişimsel süreçlerin antidepresan etki mekanizmalarını şekillendirebileceğini ortaya koymaktadır. Erken yaşam stresinin zamanlamasını ve beynin gelişimsel durumunu dikkate alan bu bütüncül yaklaşımın, gelecekte daha hedeflenmiş ve bireyselleştirilmiş koruyucu ve tedavi edici stratejilerin geliştirilmesine katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

Etik Kurul Onayı: Çalışma, 03.09.2020 tarihinde Süleyman Demirel Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 05/08-2020 karar numarası ile onaylanmıştır.

Çıkar Çatışması Beyanı: Yazarların beyan edecek herhangi bir çıkar çatışması yoktur.

Finansman Bilgisi: Bu çalışma, Süleyman Demirel Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından finansal olarak desteklenmiştir (araştırma projesi no: TTU-2020-8149).

KAYNAKLAR

- Abe-Higuchi N, Uchida S, Yamagata H ve ark. (2016) Hippocampal sirtuin 1 signaling mediates depression-like behavior. *Biol Psychiatry* 80:815–26. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2016.01.009>
- Anzolin AP, Baldez DP, Montezano BB ve ark. (2024) Subcutaneous ketamine reduces suicide risk and improves functioning in depression: a proof-of-concept study. *Psychiatry Res* 337:115915. <https://doi.org/10.1016/j.psychres.2024.115915>
- Bai M, Zhu X, Zhang Y ve ark. (2012) Abnormal hippocampal BDNF and miR-16 expression is associated with depression-like behaviors induced by stress during early life. *PLoS One* 7:e46921. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046921>
- Bosch K, Sbrini G, Burattini I ve ark. (2022) Repeated testing modulates chronic unpredictable mild stress effects in male rats. *Behav Brain Res* 432:113960. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2022.113960>
- Burstein O ve Doron R (2018) The unpredictable chronic mild stress protocol for inducing anhedonia in mice. *J Vis Exp* 140:58184. <https://doi.org/10.3791/58184-v>
- Chen B, Dowlatshahi D, MacQueen GM ve ark. (2001) Increased hippocampal BDNF immunoreactivity in subjects treated with antidepressant medication. *Biol Psychiatry* 50:260–5. [https://doi.org/10.1016/S0006-3223\(01\)01083-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3223(01)01083-6)
- Cui M, Xiao H, Li Y ve ark. (2017) Total abdominal irradiation exposure impairs cognitive function involving miR-34a-5p/BDNF axis. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis* 1863:2333–41. <https://doi.org/10.1016/j.bbdis.2017.06.021>
- Çevik ÖS, Yıldırım DD, Uzun C ve ark. (2025) Contribution of distinctive outcome measures to the assessment of anxiety in the open field: a meta-analysis of factors mediating open-field test variability in rodent models of anxiety. *Behav Brain Res* 490:115612. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2025.115612>
- Doboszewska U, Szwedczyk B, Sowa-Kućma M ve ark. (2015) Antidepressant activity of fluoxetine in the zinc deficiency model in rats involves the NMDA receptor complex. *Behav Brain Res* 287:323–30. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2015.03.064>
- Doguc DK, Deniz F, İlhan İ ve ark. (2021) Prenatal exposure to artificial food colorings alters NMDA receptor subunit concentrations in rat hippocampus. *Nutr Neurosci* 24:784–94. <https://doi.org/10.1080/1028415X.2019.1681065>
- Ferland CL ve Schrader LA (2011) Regulation of histone acetylation in the hippocampus of chronically stressed rats: a potential role of sirtuins. *Neuroscience* 174:104–14. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2010.10.077>
- Fitzgerald PJ, Yen JY ve Watson BO (2019). Stress-sensitive antidepressant-like effects of ketamine in the mouse forced swim test. *PLoS One* 14:e0215554. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0215554>
- Fu BC, Lang JL, Zhang DY ve ark. (2017) Suppression of miR-34a expression in the myocardium protects against ischemia-reperfusion injury through SIRT1 protective pathway. *Stem Cells Dev* 26:1270–82. <https://doi.org/10.1089/scd.2017.0062>
- Gao J, Wang WY, Mao YW ve ark. (2010) A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nature* 466:1105–9. <https://doi.org/10.1038/nature09271>
- Garcia LSB, Comim CM, Valvassori SS ve ark. (2008a) Acute administration of ketamine induces antidepressant-like effects in the forced swimming test and increases BDNF levels in the rat hippocampus. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 32:140–4. <https://doi.org/10.1016/j.pnpbp.2007.07.027>

- Garcia LS, Comim CM, Valvassori SS ve ark. (2008b) Chronic administration of ketamine elicits antidepressant-like effects in rats without affecting hippocampal brain-derived neurotrophic factor protein levels. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 103:502–6. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2008.00210.x>
- Gass N, Becker R, Reinwald J ve ark. (2019) Differences between ketamine's short-term and long-term effects on brain circuitry in depression. *Transl Psychiatry* 9:172. <https://doi.org/10.1038/s41398-019-0506-6>
- Gibula-Tarlowska E, Wiszniewska A, Turyk M ve ark. (2025) Ketamine -from an anesthetic to a psychiatric drug: mechanisms of action, clinical applications and potential risk. *Molecules* 30:2824. <https://doi.org/10.3390/molecules30132824>
- Gold PW, Machado-Vieira R ve Pavlatou MG (2015) Clinical and biochemical manifestations of depression: relation to the neurobiology of stress. *Neural Plast* 2015:581976. <https://doi.org/10.1155/2015/581976>
- Grippio AJ, Beltz TG, Weiss RM ve ark. (2006) The effects of chronic fluoxetine treatment on chronic mild stress-induced cardiovascular changes and anhedonia. *Biol Psychiatry* 59:309–16. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2005.07.010>
- Hacimusalar Y ve Eşel E (2018) Suggested biomarkers for major depressive disorder. *Noro Psikiyatr Ars* 55:280–90. <https://doi.org/10.29399/npa.19482>
- Hodes GE, Hill-Smith TE ve Lucki I (2010) Fluoxetine treatment induces dose dependent alterations in depression associated behavior and neural plasticity in female mice. *Neurosci Lett* 484:12–16. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2010.07.084>
- Hou L, Miao J, Meng H ve ark. (2022) Sirtuin type 1 mediates the antidepressant effect of S-ketamine in a chronic unpredictable stress model. *Front Psychiatry* 13:855810. <https://doi.org/10.3389/fpsy.2022.855810>
- Iacono LL, Bussone S, Andolina D ve ark. (2020a) Dissecting major depression: the role of blood biomarkers and adverse childhood experiences in distinguishing clinical subgroups. *J Affect Disord* 276:351–60. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2020.07.034>
- Iacono LL, Ielpo D, Accoto A ve ark. (2020b) MicroRNA-34a regulates depression-like behavior in mice by modulating the expression of target genes in the dorsal raphe. *Mol Psychiatry* 25:823–36. <https://doi.org/10.1007/s12035-019-01750-2>
- Iwata M, Ota KT ve Duman RS (2013) The inflammasome: pathways linking psychological stress, depression, and systemic illnesses. *Brain Behav Immun* 31:105–14. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2012.12.008>
- Jiang XL, Du BX, Chen J ve ark. (2014) MicroRNA-34a negatively regulates anesthesia-induced hippocampal apoptosis and memory impairment through FGFR1. *Int J Clin Exp Pathol* 7:6760–7.
- Karch D, Logan J, McDaniel D ve ark. (2012) Surveillance for violent deaths -National Violent Death Reporting System, 16 states, 2009. *MMWR Surveill Summ* 61:1–43. <https://doi.org/10.1037/e587232010-001>
- Karege F, Perret G, Bondolfi G ve ark. (2002) Decreased serum brain-derived neurotrophic factor levels in major depressed patients. *Psychiatry Res* 109:143–8. [https://doi.org/10.1016/S0165-1781\(02\)00005-7](https://doi.org/10.1016/S0165-1781(02)00005-7)
- Kauppinen A, Paterno JJ, Blasiak J ve ark. (2016) Inflammation and its role in age-related macular degeneration. *Cell Mol Life Sci* 73:1765–86. <https://doi.org/10.1007/s00018-016-2147-8>
- Kilic F, Unlu Karakoc AA, Isik U ve ark. (2020) Childhood traumas and suicide probability in obsessive-compulsive disorder patients with and without suicide attempts. *Dusunen Adam* 33:402–9. <https://doi.org/10.14744/DAJPNS.2020.00108>
- Kingir E, Sevinc C ve Unal G (2023). Chronic oral ketamine prevents anhedonia and alters neuronal activation in the lateral habenula and nucleus accumbens in rats under chronic unpredictable mild stress. *Neuropharmacology* 228:109468. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2023.109468>
- Kuang W, Dong Z, Tian L ve ark. (2018) MicroRNA-451a, microRNA-34a-5p, and microRNA-221-3p as predictors of response to antidepressant treatment. *Braz J Med Biol Res* 51:e7212. <https://doi.org/10.1590/1414-431x20187212>
- Küçükkarapınar M, Dönmez A, Candansayar S ve ark. (2021) Behavioral and neurodevelopmental effects of early interventions in adult wistar rats. *Noro Psikiyatr Ars* 58:137–45. <https://doi.org/10.29399/npa.24943>
- Li Y, Wang P, Yang X ve ark. (2016) SIRT1 inhibits inflammatory response partly through regulation of NLRP3 inflammasome in vascular endothelial cells. *Mol Immunol* 77:148–56. <https://doi.org/10.1016/j.molimm.2016.07.018>
- Li JM, Liu LL, Su WJ ve ark. (2019) Ketamine may exert antidepressant effects via suppressing NLRP3 inflammasome to upregulate AMPA receptors. *Neuropharmacology* 146:149–53. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2018.11.022>
- Li Z, Zhao L, Chen J ve ark. (2020) Ginsenoside Rk1 alleviates LPS-induced depression-like behavior in mice by promoting BDNF and suppressing the neuroinflammatory response. *Biochem Biophys Res Commun* 530:658–64. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.07.098>
- Liu L, Zhang Q, Cai Y ve ark. (2016) Resveratrol counteracts lipopolysaccharide-induced depressive-like behaviors via enhanced hippocampal neurogenesis. *Oncotarget* 7:56045–59. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.11178>
- McKay MT, Kilmartin L, Meagher A ve ark. (2022) A revised and extended systematic review and meta-analysis of the relationship between childhood adversity and adult psychiatric disorder. *J Psychiatr Res* 156:268–83. <https://doi.org/10.1016/j.jpsychires.2022.10.015>
- Mesembe OE, Bisong SA, Ekong M ve ark. (2012) Neurobehavioural activity in albino Wistar rats in the open field maze following long term tobacco diet ingestion. *Internet J Neurol* 10:1–6.
- Michaëlsson H, Andersson M, Svensson J ve ark. (2019) The novel antidepressant ketamine enhances dentate gyrus proliferation with no effects on synaptic plasticity or hippocampal function in depressive-like rats. *Acta Physiol* 225:e13211. <https://doi.org/10.1111/apha.13211>
- Özdamar Ünal G, Kumbul D, Hekimler Öztürk K ve ark. (2024) The effect of vortioxetine on the NLRP3 pathway and microglial activity in the prefrontal cortex in an experimental model of depression. *Immunopharmacol Immunotoxicol* 46:264–75. <https://doi.org/10.1080/08923973.2024.2308268>
- Özdamar Ünal G, Hekimler Öztürk K, Erkinç G ve ark. (2022) Maternal prenatal stress and depression-like behavior associated with hippocampal and cortical neuroinflammation in the offspring. *Int J Dev Neurosci* 82:231–42. <https://doi.org/10.1002/jdn.10176>
- Palazidou E (2012) The neurobiology of depression. *Br Med Bull* 101:127–45. <https://doi.org/10.1093/bmb/ldso04>
- Pan Y, Chen XY, Zhang QY ve ark. (2014) Microglial NLRP3 inflammasome activation mediates IL-1 β -related inflammation in prefrontal cortex of depressive rats. *Brain Behav Immun* 41:90–100. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2014.04.007>
- Pastre M, Chancel R, Malestroit M ve ark. (2025) Early response to ketamine for suicidal crisis reduces suicidal events at 3 months. *J Clin Psychiatry* 86(3):25m15829 <https://doi.org/10.4088/JCP.25m15829>
- Qiu X, Lu P, Zeng X ve ark. (2023) Study on the mechanism for SIRT1 during the process of exercise improving depression. *Brain Sci* 13:719. <https://doi.org/10.3390/brainsci13050719>
- Ou Z, Zhao M, Xu Y ve ark. (2023) Huangqi Guizhi Wuwu decoction promotes M2 microglia polarization and synaptic plasticity via Sirt1/NF- κ B/NLRP3 pathway in MCAO rats. *Aging (Albany NY)* 15:10031–56. <https://doi.org/10.18632/aging.204989>
- Rao U, Chen LA, Bidesi AS ve ark. (2010) Hippocampal changes associated with early-life adversity and vulnerability to depression. *Biol Psychiatry* 67:357–64. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2009.10.017>
- Ratajczak P, Martyniński J, Zięba JK ve ark. (2024) Comparative efficacy of animal depression models and antidepressant treatment. *Pharmaceutics* 16:1144. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics16091144>
- Réus GZ, Nacif MP, Abelaira HM ve ark. (2015) Ketamine ameliorates depressive-like behaviors and immune alterations in adult rats following maternal deprivation. *Neurosci Lett* 584:83–7. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2014.10.022>
- Shen J, Xu L, Qu C ve ark. (2018) Resveratrol prevents cognitive deficits induced by chronic unpredictable mild stress: sirt1/miR-134 signalling pathway regulates CREB/BDNF expression in hippocampus. *Behav Brain Res* 349:1–7. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2018.04.050>
- Shinohara R, Aghajanian GK ve Abdallah CG (2021) Neurobiology of the rapid-acting antidepressant effects of ketamine: impact and opportunities. *Biol Psychiatry* 90(2):85–95. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2020.12.006>

- Simões DM, Carreira J, Henriques A ve ark. (2025) Distinct behavioural and neurovascular signatures induced by acute and chronic stress in rats. *Behav Brain Res* 493:115706. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2025.115706>
- Slaterry DA ve Cryan JF (2012) Using the rat forced swim test to assess antidepressant-like activity in rodents. *Nat Protoc* 7:1009–14. <https://doi.org/10.1038/nprot.2012.044>
- Steinberg L, Dahl R, Keating D ve ark. (2006) *The Study of Developmental Psychopathology in Adolescence: Integrating Affective Neuroscience with the Study of Context*. In *Developmental Psychopathology-Developmental Neuroscience* (2nd ed.) D Cicchetti and DJ Cohen (Eds), New Jersey, Wiley, pp. 710–41. <https://doi.org/10.1002/9780470939390.ch18>
- Sturman DA ve Moghaddam B (2011) The neurobiology of adolescence: changes in brain architecture, functional dynamics, and behavioral tendencies. *Neurosci Biobehav Rev* 35:1704–12. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2011.04.003>
- Şahin C ve Arıcıoğlu F (2014) Depresyon ve sitokin hipotezinde yeni bir boyut: 'NLRP3 inflamazomu'. *Clin Exp Health Sci* 3:65–8. <https://doi.org/10.5455/musbed.20130628030312>
- Tan X, Zhang L, Wang D ve ark. (2021) Influence of early life stress on depression: from the perspective of neuroendocrine to the participation of gut microbiota. *Aging (Albany NY)* 13:25588–601. <https://doi.org/10.18632/aging.203746>
- Tsermpini EE, Kalogirou CI, Kyriakopoulos GC ve ark. (2022) miRNAs as potential diagnostic biomarkers and pharmacogenomic indicators in psychiatric disorders. *Pharmacogenomics J* 22:211–22. <https://doi.org/10.1038/s41397-022-00283-7>
- Uçak EF, Aydın M ve Koçak N (2025) Association between sirtuin 1 (SIRT1) gene polymorphisms and suicide attempts in schizophrenia: an exploratory study. *Türk Psikiyatri Derg* 36:64–73. <https://doi.org/10.5080/u27771>
- Wang HM, Li C, Li XY ve ark. (2020) Effects of acupuncture on Nod-like receptor protein 3 inflammasome signal pathway in the prefrontal cortex of rat with depression. *Zhen Ci Yan Jiu* 45:806–11. <https://doi.org/10.13702/j.1000-0607.200063>
- Willner P, Towell A, Sampson D ve ark. (1987) Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant. *Psychopharmacology* 93:358–64. <https://doi.org/10.1007/BF00187257>
- Xu L, Zheng YL, Yin X ve ark. (2020) Excessive treadmill training enhances brain-specific microRNA-34a in the mouse hippocampus. *Front Mol Neurosci* 13:7. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.00007>
- Yamakuchi M, Ferlito M ve Lowenstein CJ (2008) miR-34a repression of SIRT1 regulates apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:13421–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801613105>
- Ye L, Xiao X, Xu Y ve ark. (2022) Prelimbic cortex miR-34a contributes to (2R,6R)-hydroxynorketamine-mediated antidepressant-relevant actions. *Neuropharmacology* 208:108984. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2022.108984>
- Yi LT, Zhu JX, Dong SQ ve ark. (2020) miR-34a induces spine damages via inhibiting synaptotagmin-1 in depression. *Neurobiol Stress* 13:100243. <https://doi.org/10.1016/j.ynstr.2020.100243>
- Zhang GF, Liu WX, Qiu LL ve ark. (2015) Repeated ketamine administration redeems the time lag for citalopram's antidepressant-like effects. *Eur Psychiatry* 30:504–10. <https://doi.org/10.1016/j.eurpsy.2014.11.007>
- Zhang Y, Liu L, Liu YZ ve ark. (2015) NLRP3 inflammasome mediates chronic mild stress-induced depression in mice via neuroinflammation. *Int J Neuropsychopharmacol* 18(8):pyv006. <https://doi.org/10.1093/ijnp/pyv006>
- Zhang XS, Lu Y, Li W ve ark. (2021) Cerebroprotection by dioscin after experimental subarachnoid haemorrhage via inhibiting NLRP3 inflammasome through SIRT1-dependent pathway. *Br J Pharmacol* 178:3648–66. <https://doi.org/10.1111/bph.15507>