T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

NİKOTİNİK ALFA-7 VE AMPA RESEPTÖRLERİNİN POZİTİF ALLOSTERİK MODÜLATÖRLERİNİN UYKUSUZLUK HAYVAN MODELİNDE BİLİŞSEL FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. MUHAMMED CİHAN GÜVEL

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. CANAN ULUOĞLU

ANKARA
EKİM 2023

T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI

NİKOTİNİK ALFA-7 VE AMPA RESEPTÖRLERİNİN POZİTİF ALLOSTERİK MODÜLATÖRLERİNİN UYKUSUZLUK HAYVAN MODELİNDE BİLİŞSEL FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

DR. MUHAMMED CİHAN GÜVEL

TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. CANAN ULUOĞLU

Bu tez TÜBİTAK ARDEB-1002 programı kapsamında 321S167 proje numarası ile desteklenmistir.

ANKARA
EKİM 2023

TEŞEKKÜR

Bütün uzmanlık eğitimi sürecimde ve tez çalışmamda maddi manevi her türlü desteği gördüğüm, projemizin baş mimarı olan değerli hocam Prof. Dr. Canan Uluoğlu'na,

Her birinden son derece kıymetli bilgiler ve tecrübeler edindiğim, iyi bir farmakolog hekim olma yolunda bana ufuk veren bütün anabilim dalı hocalarıma,

Bu projenin gerçekleşmesinde kayıtsız şartsız desteklerini, gerek sağladıkları laboratuvar imkanları gerekse yakın ilgileri ve teşviklerini esirgemeyen sayın rektörümüz Prof. Dr. Musa Yıldız ve sayın rektör yardımcımız Prof. Dr. Ramazan Bayındır'a,

Bu çalışmanın yapılmasını finansman desteği ve bilimsel katkıları ile mümkün kılan TÜBİTAK'a,

Çalışmamıza sağladığı destek ile bir parçası olmaktan onur duyduğumuz Nörobilim ve Nöroteknoloji Mükemmeliyet Ortak Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne,

Bütün uzmanlık sürecim ve çalışmalarım sırasında sadece bir arkadaş gibi değil, adeta kardeşçe bir destekle gece gündüz yanımda olan ekip arkadaşlarım Dr. Utku Aykan ve Dr. Gökçen Paykal'a,

Sonsuz merhameti ve iyimserliği ile her karamsarlığa düştüğümde beni yeniden ayağa kaldıran annem Av. Afitap Öndaş'a,

Cesareti ve azmiyle en küçük yaşlarından beri bana hep ilham olmuş can kardeşim Dr. Ahmed Şamil Güvel'e,

Proje yürütme sürecinde her soruma ve telefonuma sabırla cevap verip sürecimizi son derece kolaylaştıran Bilimsel Araştırma Projeleri TÜBİTAK Projeleri Birimi'nin değerli çalışanlarına,

Hayat mücadelesini olumlayabilmem ve daha iyiye, en iyiye azimle yürüyebilmem doğrultusunda bana sonsuz ilham kaynağı olmuş düşünce kahramanlarım C.G. Jung, Frank Herbert, Marcus Aurelius, Friedrich Nietzsche, Fyodor Dostoyevski, Masashi Kishimoto, Richard Feynman, James Watson, Stephen Hawking ve nicelerine,

Teşekkür ederim.

Dr. Muhammed Cihan GÜVEL

KABUL VE ONAY

T.C.

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan "Nikotinik Alfa-7 Ve Ampa Reseptörlerinin Pozitif Allosterik Modülatörlerinin Uykusuzluk Hayvan Modelinde Bilişsel Fonksiyonlar Üzerine Etkilerinin Araştırılması" isimli çalışma aşağıdaki jüri tarafından, Arş. Gör. Dr. Muhammed Cihan Güvel'in uzmanlık tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/11/2023

JÜRİ ÜYELERİ

BAŞKAN

Prof. Dr. Canan Uluoğlu
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

ÜYE

Prof. Dr. Şaban Remzi Erdem
Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

ÜYE

Doç. Dr. Gökçe Sevim Öztürk Fincan
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR i
KABUL VE ONAY ii
İÇİNDEKİLER iii
KISALTMALAR v
RESİMLER vi
TABLOLAR vi
ŞEKİLLER vii
1.GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 6
2.1. Uyku Yetersizliği 6
2.2. Uyku Yetersizliği Hayvan Modelleri 9
2.3 Nörodavranışsal Deney Düzenekleri 10
2.4. Kafein 14
2.5. Modafinil 16
2.6 AMPA Reseptörler ve Ampakinler 18
2.7. Santral Kolinerjik Sistem ve Nikotinik Alfa-7 Pozitif Allosterik Modülatörleri 21
3. GEREÇ VE YÖNTEM 26
3.1. Deney Hayvanları 26
3.2. Farmakolojik Ajanlar ve Kimyasallar 26
3.3. Video Kayıt Analizleri 27
3.4. Deney Grupları 27
3.5. Deney Tasarımı 28
3.5.1 Paradoksal Uyku Yetersizliği Modeli 30
3.5.2. Açık Alan Testi 30
3.5.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi 32
3.5.4. Sekiz Kollu Radyal Labirent Testi 34
3.5.5. Barnes Labirenti 37
3.5.6. Kuyruktan Ası Testi 39
3.6. İstatistiksel Analiz 40
4.BULGULAR 41
4.1. Açık Alan Testi 41

4.1.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grubu 41
4.1.2. Enjeksiyon Yapılan Gruplar 45
4.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi 54
4.2.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grupları 54
4.2.2. Enjeksiyon Yapılan Gruplar 56
4.3. Sekiz Kollu Radyal Labirent Testi 60
4.3.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grupları 61
4.3.2 Modafinil Dahil Enjeksiyon Yapılan Gruplar 64
4.3.2 Modafinil Hariç Enjeksiyon Yapılan Gruplar 65
4.4. Barnes Labirenti Testi 69
4.4.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grupları 69
4.4.2. Enjeksiyon Yapılan Gruplar 70
4.5 Kuyruktan Ası 76
4.6. PUY ve ÇÖZ Grupları Arasında Yapılan Ek Karşılaştırmalar 77
5.TARTIŞMA 79
5.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grupları 79
5.2. Kafein 82
5.3. Modafinil 90
5.4. CX516 95
5.5 AVL-3288 98
5.6. PUY ve ÇÖZ Grupları Arasındaki Karşılaştırmalar 102
6. SONUÇLAR 103
7. KISITLILIKLAR 106
8. KAYNAKLAR 109
9. ÖZET 133
10. SUMMARY 134
11. ÖZGEÇMİŞ 135

KISALTMALAR

ABD:	Amerika Birleşik Devletleri
AMPA:	α-amino-3-hidroksi-5-metil-4-izoksazolpropiyonik asit
FDA:	*Food and Drug Administration*
ACh:	Asetilkolin
AVL1:	AVL 1 mg/kg
AVL2:	AVL 2 mg/kg
BDNF:	*Brain Derived Neurotrophic Factor*
CX40:	CX516 40 mg/kg
CX80:	CX516 80 mg/kg
ÇÖZ:	Çözücü
DARPA:	*Defense Advanced Research Projects Agency*
iGluR:	İyonotropik Glutamat Reseptörleri
KAF:	Kafein
KTR:	Kontrol
mGluR:	Metabotropik Glutamat Reseptörleri
MOD:	Modafinil
MSS:	Merkezi Sinir Sistemi
nAChR:	Nikotinik Asetilkolin Reseptörü
NMDA:	N-metil-D-aspartat
NGF:	*Nerve Growth Factor*
PAM:	Pozitif Allosterik Modülatör
PUY:	Paradoksal Uyku Yetersizliği
REM:	*Rapid Eye Movements*

RESİMLER

Resim 1. Modifiye çoklu platform modeli kafesleri..... 30
Resim 2. Açık alan testinde dış bölge ve merkez bölgelerin Any-Maze yazılımı arayüzü kullanılarak belirlenmesi..... 32
Resim 3. Yükseltilmiş artı labirent düzeneğinin tepeden ve yandan görünümleri..... 33
Resim 4. Sekiz kollu radyal labirent testinin tepeden görünümü..... 36
Resim 5. Barnes labirenti düzeneğinin tepeden görünümü..... 38
Resim 6. Kuyruktan ası testi..... 39

TABLOLAR

Tablo 1. Araştırmada kullanılan hayvan grupları..... 28
Tablo 2. Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kendi içinde açık ve kapalı kollarda geçirdiği zamanlar..... 58
Tablo 3. Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kendi içinde açık ve kapalı kollarda kat ettiği mesafeler..... 60
Tablo 4. Modafinil dahil, enjeksiyon yapılan grupların yaptığı referans hata sayısı ve yemlerin etrafında geçirdikleri süreler..... 64

ŞEKİLLER

Şekil 1. Deney tasarımına ait iş-zaman çizelgesi 29
Şekil 2. Geciktirilmiş Uzaysal Kazan-Değiş Protokolü (*Delayed Spatial Win-Shift Protocol*) 36
Şekil 3. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında kat edilen toplam mesafe 41
Şekil 4. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında farelerin ortalama hareket hızı 42
Şekil 5. (A) Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında farelerin test boyunca toplam hareketli halde geçirdikleri zaman **(B)** Açık Alan Testi'nin 30 dakikası boyunca farelerin toplam hareketli halde geçirdikleri zaman.. 43
Şekil 6. (A) Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında dış ve orta bölgelerde kat edilen toplam mesafeler. **(B)** Açık Alan Testi'nin toplam 30 dakikası boyunca dış ve merkez bölgelerde kat edilen toplam mesafeler. 44
Şekil 7. (A) Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında enjeksiyon yapılan gruplarda toplam kat edilen mesafeler. **Şekil (B)** Açık Alan Testi'nin toplam 30 dakikası boyunca enjeksiyon yapılan gruplarda toplam kat edilen mesafe. 45
Şekil 8 .(A) Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında enjeksiyon yapılan gruplarda ortalama hareket hızları. **(B)** Açık Alan Testi'nin 30 dakikası boyunca, enjeksiyon yapılan gruplarda ortalama hızlar. 46
Şekil 9. (A) Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında enjeksiyon yapılan gruplarda toplam hareketli zamanlar. **(B)** Açık Alan Testi'nin 30 dakikası boyunca enjeksiyon yapılan gruplarda toplam hareketli zamanlar. 48
Şekil 10. (A) Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında enjeksiyon yapılan gruplarda dış ve merkez bölgelerdeki kat edilen toplam mesafeler. **(B)** Açık Alan Testi'nin 30 dakikası boyunca enjeksiyon yapılan gruplarda dış ve merkez bölgelerdeki kat edilen toplam mesafeler. 50
Şekil 11. (A) Açık Alan Testi'nin ilk 15 dk'sı boyunca, enjeksiyon yapılan gruplarda toplam süslenme süresi. (**B)** Açık Alan Testi'nin toplam 30dk'sı boyunca enjeksiyon yapılan gruplarda toplam süslenme süresi. 52
Şekil 12. (A) Açık Alan Testi'nin ilk 15 dk'sı boyunca, enjeksiyon yapılan gruplarda toplam şahlanma davranışı sayısı. **(B)** Açık Alan Testi'nin toplam 30 dk'sı boyunca, enjeksiyon yapılan gruplarda toplam şahlanma davranışı sayısı. 53
Şekil 13. Yükseltilmiş artı labirent testinde KTR ve PUY gruplarının açık kolda ve kapalı kolda geçirdiği süreler. 54
Şekil 14. Yükseltilmiş artı labirent testinde Kontrol (KTR) ve Paradoksal Uyku Yetersizliği (PUY) gruplarının açık kolda ve kapalı kolda geçirdiği sürelerin ısı haritası biçiminde gösterimi 55
Şekil 15. Yükseltilmiş artı labirent testinde KTR ve PUY gruplarının açık kolda geçirdiği sürenin kapalı kolda geçirdiği süreye oranı 55
Şekil 16. Yükseltilmiş artı labirent testinde KTR ve PUY gruplarının açık kolda kat ettiği mesafenin kapalı kolda kat ettiği mesafeye oranı. 56
Şekil 17. Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kendi içinde açık ve kapalı kollarda geçirdiği süreler. 57
Şekil 18. Yükseltilmiş artı labirent testinde enjeksiyon yapılan grupların açık kolda ve kapalı kolda geçirdiği sürelerin ısı haritası biçiminde gösterimi 58
Şekil 19. Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kendi içinde açık ve kapalı kollarda kat ettiği mesafeler.. 59
Şekil 20. Sekiz kollu radyal labirent düzeneğinde KTR ve PUY gruplarının yaptıkları referans hafıza hatası ve işleyen hafıza hatası sayıları 61

Şekil 21. Sekiz kollu radyal labirent düzeneğinde KTR ve PUY gruplarının yaptıkları işleyen hafıza hatası sayısının toplam hata sayısına olan oranı. 62
Şekil 22. Sekiz kollu radyal labirent düzeneğinde KTR ve PUY gruplarının yaptıkları referans hafıza hatası sayısının toplam hata sayısına oranı..... 63
Şekil 23. Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç enjeksiyon yapılan gruplar arasında, işleyen hafıza hatası sayıları. 65
Şekil 24. Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç enjeksiyon yapılan gruplar arasında, referans hafıza hatası sayıları.. 66
Şekil 25. Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç enjeksiyon yapılan gruplar arasında, işleyen hafıza hatası sayısının toplam yapılan hafıza hatası sayısına oranı..... 67
Şekil 26. Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç, enjeksiyon yapılan gruplar arasında, referans hafıza hatası sayısının toplam yapılan hafıza hatası sayısına oranı. 68
Şekil 27. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğini deneme sayıları ve diğer delikleri deneme çalışma sayıları..... 70
Şekil 28. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğinin bulunduğu çeyrek kadranda geçirilen süre ve diğer çeyrek kadranlarda geçirilen süreler.71
Şekil 29. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğine test boyunca olan ortalama mesafeler..... 72
Şekil 30. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğini deneme sayısının diğer delikleri deneme sayısına oranı.. 73
Şekil 31. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğini deneme süresinin diğer delikleri deneme süresine oranı. 74
Şekil 32. Barnes labirentinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğini ilk kez bulana kadar kat edilen mesafeler. 75
Şekil 33. Kuyruktan ası testinde KTR ve PUY gruplarındaki farelerin hareketsiz asılı kaldıkları toplam süreler. 76

1.GİRİŞ

Uyku bozuklukları toplumun önemli bir kısmını etkilemektedir. Tüm uyku bozukluklarının prevalansı Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) %56, Batı Avrupa'da %31 ve Japonya'da %23 olarak bildirilmiştir **(1).** Uyuyamama halinin oluşturduğu bilişsel fonksiyonlarda bozulma, önemli sosyoekonomik sonuçlara yol açmaktadır. Bunun nedeni, uyku yetersizliğinin fiziksel ve sosyal performansı negatif yönde etkilemesi, iş verimliliğini düşürmesi ve hayat kalitesinde bozulmalara neden olmasıdır **(2).**

Uyku yetersizliği tedavisine yönelik olarak günümüzde ilk sırada bilişsel davranışsal terapi gelmektedir **(3).** Bilişsel davranışsal terapiden sonra ise insomnianın farmakolojik tedavisi devreye girmektedir **(4).** Hipnotik-sedatif ilaçlar çoğu olguda klinisyen tarafından gerekli olarak değerlendirilmekte ve geniş bir popülasyonda kullanılmaktadır **(5).**

Önemli bir nüfusu etkileyen insomnia, uyuma isteği olmasına rağmen uykuyu başlatamama veya devam ettirememe hali olarak tanımlanmaktadır **(2).** Ancak uykusuzluk halinin tek nedeni uyumak isteyip de uyuyamamak değildir. Bireylerin önemli bir kısmı uzun süreler çalışmak ve dikkatlerini devam ettirmek zorunda kaldıkları durumlarla iç içedir. Nöbet ve gece çalışmanın zorunlu olduğu durumlar, askeriye, tıp, hemşirelik, pilotluk, uzun yol şoförlüğü gibi alanlarda uyku yetersizliğinin olumsuz etkilerine karşı direnç sağlanması bir zorunluluktur. 50 paramedik öğrencisi arasında yapılan bir çalışmada 13 saatlik gece nöbetinin bitiminde klinik karar alma becerilerinde belirgin gerileme tespit edilmiştir **(6).** Yine sağlık çalışanları örneğinde, hemşirelerin uzun süreler boyunca ve dönüşümlü

vardiyalar halinde çalışmalarının, önerilen ortalama yedi saatlik verimli gece uykusu alınmasını önlediği ve bunun da hasta bakımında hatalara ve eksikliklere neden olduğu bildirilmiştir **(7-9)**. Bu nedenle, uyku yetersizliği durumunu ve bunun sonucu olan bilişsel bozulmaları en aza indirecek yaklaşımlara ve/veya tedavileri gereksinim vardır. Bu bağlamda bilinen ilk uyanıklık sağlayıcı ajanlardan biri, 11. yüzyılda kahve içeceğinin icadıyla insanlar arasında yaygın olarak kullanılmaya başlanan kafein etkin maddesidir **(10)**. Kafeinin, santral sinir sisteminde inhibitör bir nöromediyatör olan adenozin için nonselektif reseptör antagonisti olarak işlev gösterdiği bilinmektedir **(11).** Bunun yanında, günümüzde dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu tedavisinde kullanılan metilfenidat gibi ajanlara öncülük etmiş olan amfetaminin ikinci dünya savaşında askeri personele uyanıklık sağlayıcı ve dikkat artırıcı etkileri nedeniyle verildiği bilinmektedir **(12).** Dopaminerjik sistem üzerinden uyarıcı ve uyanıklık sağlayıcı etkilerde bulunduğu düşünülen modafinil de ABD ordusu tarafından pilotlarda kullanım için askeri olarak onaylanmıştır **(13).** Gün içindeki uyku yetersizliğinden kaynaklı düşkün durumu engelleyecek ilaçların arayışı sadece performans artırıcı bir amaç gözetmekle kalmamış, narkolepsi gibi hastalıkların tedavisine de ışık tutmuştur. Pitolisant isimli histamin H_3 reseptör antagonisti, narkolepsi endikasyonu ile yakın zamanda FDA (*Food and Drug Administration*) tarafından onaylanmış ve piyasaya sürülmüştür **(14).** Kafein kullanımı günlük hayat içerisinde çok yaygın olmakla beraber hem yüksek dozlarda gözlenen kardiyovasküler advers etki profili hem de etkisinin kısa sürmesi nedeniyle, aşırı ve/veya uzun süreli performans gerektiren durumlarda yeterli etkililik gösterememektedir. Bu parametreler açısından daha olumlu bir profile sahip olan modafinilin ise, nucleus accumbens'te dopamin artışına neden olduğu ve bu doğrultuda bağımlılık yapabileceğine dair önemli veriler elde

edilmiştir **(15).** Bunun yanında, güncel literatürde belirtildiği gibi modafinilin neden olduğu aşırı özgüven halinin gereksiz ve hesapsız risk alma davranışına yol açacağına dair endişeler de vardır **(15, 16).** Buradan yola çıkarak, adenozinerjik yolak üzerinden etkili kafeinin advers etki profili ve etki süresi açısından yetersizliği, aynı zamanda dopaminerjik yolak üzerinden etki gösteren modafinilin bağımlılık yapıcı ve istismara yol açabilecek farmakodinamik potansiyeli, yeni nöro-güçlendirici ajanların araştırılmasını gerekli kılmaktadır. Bu nedenle, nörolojik fonksiyonları destekleyici, uyanıklığı artırıcı veya uyku ritmini düzenlemeye yönelik ilaçlar üzerindeki çalışmalar halen yoğun olarak sürmekte, konu güncelliğini korumakta ve yeni aday moleküllere gereksinim devam etmektedir **(11)**.

Bu gereksinim doğrultusunda, akut uyku yetersizliğinin yarattığı bilişsel fonksiyonlardaki değişiklikler üzerinde etkili olabileceğini öne sürdüğümüz mekanizmalardan biri nikotinik alfa-7 reseptör pozitif allosterik modülasyonudur. Bu hipotezimize ışık tutan bazı araştırmalar şu şekilde özetlenebilir: Nikotinik reseptörlerin beyindeki görsel dikkat ve uyanıklık ile ilgili bölgeleri aktive ettiği fonksiyonel manyetik rezonans görüntülemelerinde gösterilmiştir **(17)**. Görsel dikkat isteyen modellemelerde prefrontal kortekste asetilkolin (ACh) artışı gözlenmiştir **(18)**.Yine benzer şekilde yapılan davranışsal deneylerde medial frontal kortekste ACh salıverilmesinin engellenmesinin, dikkat eksikliğine neden olduğu belirtilmiştir **(19)**. Nikotinik alfa-7 reseptör agonizmasının hayvan şizofreni ve Alzheimer hastalığı modellerinde bilişsel fonksiyonlarda iyileşme sağladığı ve hipokampüs nöroplastisitesini artırdığı bildirilmiştir **(20-24)**. Bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörü olan AVL-3288 şizofreni ve dikkat eksikliği tanılarında klinik çalışmalarla denenmiştir **(25-**

27). Aynı zamanda bu ajanın travmatik beyin hasarı modelinde kognitif bozulmaları azaltabileceği de bildirilmiştir **(28)**.

Akut uyku yetersizliğinin yarattığı kognitif değişikliklerde etkili olabileceğini öne sürdüğümüz diğer mekanizmalardan biri AMPA reseptör pozitif allosterik modülasyonudur.

Glutamaterjik sistemin, beyindeki ana uyarıcı sistem olarak uyanıklık sağlayıcı rolü bilinmektedir **(29,30)**. Bir glutamat reseptör alt tipi olan AMPA reseptörünün pozitif allosterik modülatörleri olan ampakinlerin Alzheimer hayvan modellerinde kognitif iyileşme sağladığı gösterilmiştir **(31)**. Ampakinlerin yine beynin farklı bölgelerinde BDNF (*Brain Derived Neurotrophic Factor*) ve NGF (*Nerve Growth Factor*) artışına neden olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlar ışığında ampakinlerin kognitif iyileştirme ve güçlendirme (*cognitive enhancement*) etkisine sahip olduğuna ve bu ilaçların nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik hastalıklarda tedavi edici potansiyeli olduğuna işaret edilmiştir **(32)**. Davranışsal modellerde de Ampakinlerin kognitif fonksiyon güçlendirici etkileri gözlenmiştir **(33)**. Literatürde, bir ampakin türevi olan CX516'nın hafıza güçlendirici etkisi, medial prefrontal korteksteki optogenetik glutamat reseptörü uyarımı ile ilişkili olarak bulunmuş, diğer bir çalışmada ise CX516'nın beyindeki nörotrofin düzeylerinin artışına katkıda bulunduğu gösterilmiş ve bu doğrultuda potansiyel bir demans ilacı olabileceğine işaret edilmiştir **(32,34)**.

Bu tez çalışmasında literatür bilgileri doğrultusunda, dört farklı nörotransmiter mekanizma (adenozinerjik, dopaminerjik, asetilkolinerjik ve glutamaterjik) üzerinde etki gösteren dört ajanın akut paradoksal uyku yetersizliğindeki etkileri karşılaştırılmıştır. Akut uzun süreli uyku yetersizliği

durumunda bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörü olan AVL-3288 ve bir ampakin türevi olan CX 516'nın akut tek doz uygulamasının lokomotor aktivite, duygudurum, hafıza fonksiyonu üzerindeki etkileri ilk defa bu kadar kapsamlı bir test yöntemi (beş farklı davranışsal deney düzeneği) ile denenmiş ve güncel pratikte kullanılan modafinil ve kafein ile karşılaştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Uyku Yetersizliği

Uyku, karmaşık bir fizyolojik dinlenme sürecidir. İnsanlar zamanlarının üçte birini uyuyarak geçirirler ve bunu optimal şartlarda ve doğru miktarda almak, gıda ve su gibi hayatta kalmak için gereklidir **(35)**. Uyku yetersizliği fiziksel ve zihinsel hastalıklarla çok yakından ilişkilidir **(36, 37)**. Özellikle zihinsel hastalıklar açısından baktığımızda uyku problemlerinin depresyon, anksiyete, post-travmatik stres, yeme bozuklukları hatta psikotik rahatsızlıklarla ilişkisi ortaya konmuştur **(38-42)**.

Uyku bozuklukları ile sık karşılaşılmakta olup, geniş kapsamlı çalışmalar toplumun yaklaşık üçte birinin uyku ile ilgili sorunlar yaşadığını göstermektedir **(43, 44)**. Uyku eksikliği akut veya kronik olarak tecrübe edilebilir **(45)**. Akut uyku yetersizliği genelde **24-48 saat** içinde yetersiz veya hiç uyumamak olarak tarif edilmektedir **(46)**. Toplumda karşılaşılan akut uyku yetersizliğinin iş hayatı ve vardiyalı (nöbet usulü) çalışma ile yakından ilişkili olduğu bilinmektedir **(47)**. ABD'de maaşlı çalışanların %18-26'sı vardiyalı çalışmaktadır **(48)**. Akut uyku yetersizliğinin bilişsel fonksiyonlarda önemli olumsuz etkilerde bulunduğu da bilinmektedir. Bu etkiler sadece bilişsel ve duygudurumsal yönden sınırlı olmayıp, fizyolojik stres ve inflamasyon düzeylerinde de belirgin artışı beraberinde getirmektedir **(46)**.

Kronik ve akut uyku yetersizliği hayvan deneylerinde de sıkça çalışılan bir konudur. Uyku yetersizliğinin oluşturduğu etkiler farklı davranışsal testlerle araştırılmıştır. 6 saatlik total uyku yetersizliğinde lokomotor aktivitenin arttığı

gösterilmiştir **(49)**. 24 saatlik total uyku yetersizliğinde azalmış anksiyete ve artmış keşfetme davranışı gözlenmiştir **(50)**. Kronik paradoksal uyku yetersizliğinde lokomotor aktivitenin değişmediği ancak anksiyetenin belirgin olarak arttığı gözlenmiştir **(51)**. Akut paradoksal uyku yetmezliğinde ise lokomotor aktivitenin arttığı ve anksiyetenin azaldığı gösterilmiştir **(52-54)**.

Uyku yetersizliğinin hafızaya olan etkisini anlamak için yine çok sayıda farklı protokol ve test düzeneği kullanılmıştır **(55)**. Kronik total uyku yetmezliğinin uzaysal hafızayı bozduğu gösterilmiştir **(56)**. Benzer bir sonuca akut paradoksal uyku yetmezliğinde de ulaşılmıştır **(57)**. Kronik paradoksal uyku yetersizliğinin özellikle anterograd hafıza oluşumunda olumsuz etkide bulunabileceği gösterilmiştir **(58)**. 2008 yılında yayınlanan başka bir çalışmada da 120 saatlik paradoksal uyku yetersizliği sonrasında referans uzaysal hafızada "Morris Su Labirenti" testinde anlamlı değişiklik görülmediği ancak uykusuzluk modelinin, öğrenme süreci içerisinde uygulanması durumunda öğrenmenin azaldığı bildirilmiştir **(59)**. Bir başka çalışmada Morris Su Labirentinde hafıza edinimi ve geri çağırmasında dişi farelerde fark gözlenmişken erkeklerde gözlenmemiştir **(60)**.

Bu noktada, kronik ve akut uykusuzluk süreçleri içinde önemli bir farka dikkat çekmek gerekir. Akut uyku yetersizliği, iş hayatı ile yakından ilişkilidir ve kişiler kendilerini, iradeleri gereği uykudan yoksun bırakmaktadır. Ancak kronik uyku yetersizliğinde ve insomniada kişiler uyumak istemelerine rağmen uyuyamamaktadırlar **(61)**. Dolayısıyla uyuyamama halinde kişilerin uyku yetersizliğinin tedavisi için, uyuma davranışını destekleyici yaklaşımlar (bilişsel davranışçı tedavi, sedatif hipnotik ilaçlar v.b) kullanılmaktadır **(5, 62)**. Ancak irade gereği oluşan ve zorunluluktan kaynaklanan akut uyku yetersizliğinin olumsuz

etkilerine yönelik olarak, tam tersine, uyarıcı ve/veya performans arttırıcı yaklaşımlar ele alınmaktadır **(63, 64)**. Akut uyku yetersizliğinden ileri gelen değişiklikleri tersine çevirmek için denenen girişimler uyanıklık artırıcı farmakolojik ajanlarla sınırlı kalmayıp elektro-akupunktur, ışık ve aydınlık terapisi gibi farklı uygulamalarla da karşımıza çıkabilir **(65, 67)**.

Bu doğrultuda uyanıklık artırıcı olarak en sık önerilen farmakolojik ajanlar arasında kafein, modafinil ve amfetamin türevleri vardır **(68)**. Bu ajanlardan kafein, adenozin üzerinden, modafinil oreksin-dopamin yolağı üzerinden, amfetamin türevleri de monoamin yolağı üzerinden etki göstermektedir **(69-71)**. Bunların dışında otoreseptör görevi yapan H_3 reseptörleri için antagonistik etkisi bulunan ve histaminerjik nöron uyarımını artıran pitolisant isimli ilaç da son zamanlarda narkolepsi tedavisi için onay almış olan uyanıklık artırıcı bir ajandır **(72)**.

Bu ajanların dışında temel uyarıcı nörotransmiter olan glutamat yolağı üzerinden etkili ajanların da uyanıklığı artırabileceği düşünülmüştür. Bu doğrultuda hem metabotropik hem iyonotropik glutamat reseptörleri üzerinde çalışmalar vardır **(73-76)**. Glutamatın uyarıcı etkileri doğrultusunda yapılan çalışmalar sonucunda, ilk keşfedildiğinde demans ve şizofreniye yönelik etki potansiyeliyle gündeme gelmiş olan AMPA reseptör pozitif allosterik modülatörleri olan Ampakin sınıfında ajanların uyanıklığı ve dikkati artırabileceği gözlenmiştir **(77-80)**.

Diğer yandan asetilkolinin de uyku ve hafıza üzerinde önemli rolü olduğu bilinmektedir **(81-84)**. Bu doğrultuda, reseptörlere spesifik özelliklerin hedeflenebilmesi, reseptör uyarımının fizyolojik sınırları aşmaması ve reseptör desensitizasyonunun önüne geçilmesi amacıyla ön plana çıkmış olan nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörlerinin özellikle demans ve şizofreni üzerindeki etki

potansiyeli yakından incelenmektedir **(85-88)**. Bu ajanların dikkat artırıcı ve kognitif fonksiyonları destekleyici etkilerinden ve nikotinik asetilkolin reseptörlerinin uyku üzerindeki etkilerinden yola çıkılarak, uyku yetersizliğinin yarattığı olumsuz etkileri de geri çevirebileceği güncel yayınlarda öne sürülmüştür **(28, 89-91)**.

2.2. Uyku Yetersizliği Hayvan Modelleri

Zorunluluk nedeni ile oluşan uyku yetersizliğinin yarattığı etkileri incelemek için oluşturulan deneysel modellerde genellikle uyuma isteği ve ihtiyacı olan hayvanların dış şartlar nedeniyle bunu yerine getiremediği yaklaşımlar gözetilmektedir. Bu anlamda "**uyku yetersizliği**" ve "**insomnia**" modelleri birbirinden farklılık göstermekte olup, **insomnia hayvan modelleri bu çalışmanın kapsamı dışındadır**. İnsomnianın incelendiği modellerde uyku isteği ve ihtiyacı olan farelerin uyumaya çalışmalarına rağmen uyuyamadığı yaklaşımlar kullanılmaktadır **(92, 93)**.

Zoraki uyku yetersizliği oluşturulan modellerin başında, "**su üstü platform**" modelleri gelmektedir. Bu modelde hayvanlar, su ile dolu bir tankın su seviyesinin üzerinde yer alan ve hayvanın ancak ayakta durabildiği küçük platformlara yerleştirilmektedir. Hayvanlar REM uykusuna geçince kas atonisi nedeniyle suya düşüp uyanmakta ve böylece "**REM uykusuzluğu**" yani "**paradoksal uyku yetersizliği**" oluşmaktadır. Aynı zamanda uyku devamlı bölüneceğinden, uyku mimarisinde bozulma ve uyku bölünmelerinin de (fragmantasyon) görülmesi beklenmektedir. Dolayısıyla uyku sürecinde genel bir bozulma öngörülmektedir. Bu yöntem, sosyal izolasyon stresini ortadan kaldırmak için birden fazla hayvanın tek kafeste bulunmasını sağlayacak şekilde geliştirilmiş

ve "**modifiye çoklu uykusuzluk modeli**" ismini almıştır. Literatürde sıklıkla çalışılan ve klasik olarak kabul edilen uykusuzluk oluşturma yöntemlerinden biridir. Literatürde bu yöntemin 144 saate kadar uygulandığı bildirilmiştir **(94-96)**.

Paradoksal uyku yetersizliği yöntemine karşılık total uyku yetersizliği yöntemleri de geliştirilmiştir. "**Total uyku yetersizliği**" yöntemlerinde hayvanların uykuya dalmasına hiç izin verilmemektedir. Bu da genellikle hayvanların üzerinde durdukları devamlı dönen bir disk veya belli aralıklarla yapılan elektriksel stimülasyon ile sağlanmaktadır. Devamlı hafif uyarım şeklinde, farelere düzenli aralıklarla mekanik uyarım uygulanan manuel yöntemler de mevcuttur **(97-99)**. Ayrıca devamlı hareket eden disk platform modeli, su dolu bir tankın üzerine yerleştirilerek sudan kaçınma davranışının da uykuyu bozduğu modeller oluşturulmuştur **(100)**.

Literatürde paradoksal uyku yetersizliği sıklıkla kullanılmış olup, hem uygulamasının daha kolay olması hem de daha uzun yılların tecrübesi ile daha çok tercih edilmektedir. Diğer yandan yine literatüre bakıldığında paradoksal ve total uyku yetersizliğinin oluşturduğu nöro-davranışsal ve fizyolojik sonuçlar benzer görülmektedir **(101-104)**. Ancak paradoksal ve total uyku yetersizliği modellerinin aynı düzenekler ve deneysel şartlar içinde kontrollü olarak karşılaştırıldığı ileri çalışmalara gereksinim vardır.

2.3 Nörodavranışsal Deney Düzenekleri

Pavlov'un deneysel psikoloji çalışmalarından bu yana nörobiyolojik süreçlerin incelenmesi ve hastalıkların anlaşılması amacıyla deneysel çalışmalarda davranışsal hayvan modelleri sıklıkla kullanılmaktadır **(105, 106)**. Fizyopatolojik değişkenler hayvanlardaki davranışsal değişiklikleri açıklamada hala yetersizdir.

Bu nedenle hastalıkların patofizyolojisini anlamak ve tedavilerin gelişimini hızlandırmak için davranış modellerinin kullanımına gereksinim vardır. Bu doğrultuda çok sayıda deneysel yöntem geliştirilmekte ve modifiye edilmektedir. Bu deneysel yöntemlerin özellikli bir bölümü uzun yıllardan bu yana çalışılmış, denenmiş ve standardize edilmiştir. Bu başlık altında önde gelen davranışsal deney yöntemi örneklerinden kısaca söz edilecektir.

Açık alan testi: Deney hayvanlarının açık bir alandaki hareketlerinin, keşfetme davranışlarının ve "**lokomotor aktivite**"lerinin değerlendirildiği, sık kullanılan bir yöntemidir. Prensip olarak, anksiyetesi az olan ve keşfetmeye yatkın farelerin, açık bir alanın ortalarında daha uzun süre bulunacağı, anksiyetesi yüksek farelerin de köşeler ve kenarlarda daha çok bulunacağı öngörüsüne dayanır. Bugüne kadar, anksiyete üzerinde etkili olduğu düşünülen ajanların değerlendirildiği çok fazla sayıda çalışmada da kullanılmıştır **(107)**.

Yükseltilmiş artı labirent testi: Deney hayvanlarının keşfetme davranışının ve "**anksiyete**" benzeri davranışın başka bir açıdan değerlendirildiği davranışsal deney düzeneğidir. Artı şeklinde bir platformda bulunan karşılıklı iki kol yüksek perdelerle kapalı, iki kol da açık olarak bulunmaktadır. Prensip olarak, anksiyete benzeri davranış gösteren farelerin, kapalı ve korunaklı kollarda açık kollara göre daha fazla vakit geçirmesi öngörüsüne dayanır **(108)**.

Karanlık kutu-aydınlık kutu testi: Hayvanlarda "**anksiyete**" benzeri davranışın değerlendirildiği başka bir testtir. Bu test, yükseltilmiş artı labirente benzer şekilde, anksiyetesi yüksek hayvanların karanlık bir kutuda daha çok saklanması ve açık/aydınlık bir alandan kaçınması öngörüsüne dayanmaktadır.

Deney hayvanı kapalı kutu alanında ne kadar uzun süre kalıyorsa o kadar anksiyete benzeri davranış gösteriyor demektir **(109)**.

Bilye gömme testi: "**Anksiyete**" benzeri davranışı, "**obsesyon**" benzeri davranışla birlikte değerlendiren bir testtir. Bu testte, talaş dolu bir kafese düzenli aralıklarla yerleştirilen bilyelerin, belli bir süre sonra ne kadarının hayvan tarafından talaşa gömüldüğü değerlendirilmektedir. Fareler dürtüsel olarak, yuva olarak kabul ettikleri bölgelerdeki yabancı cisimleri gömmekte veya saklamaktadırlar. Daha çok bilyenin gömülmesi anksiyete ve obsesyon benzeri davranış olarak değerlendirilir **(110)**.

Sekiz kollu radyal labirent düzeneği: Farelerde "**uzaysal öğrenme ve hafızayı**" değerlendirmek için sık kullanılan yöntemlerden biridir. Bu test, bir ödül ve arama paradigmasına dayanmaktadır. Sekiz kollu dairesel bir labirentte farelerin görsel ipuçlarını kullanarak yem ödüllerini nasıl bir düzende bulduklarının değerlendirilmesi kuralına dayanır **(111)**. Bu düzeneğin modifiye bir şekli ise "sekiz kollu radyal su labirenti"dir. Bu durumda paradigma, bir ödül arayışından, labirentten kaçış yaklaşımına dönüşmektedir. Sekiz kollu radyal su labirentinde hayvanların sekiz kollu yolları olan bir havuzda ayakta durabilecek platformun yerini öğrenmeleri ve hatırlamaları beklenmektedir. Bu açıdan sekiz kollu radyal su labirenti Morris Su Labirenti'ne de benzemektedir **(112)**.

Morris su labirenti: Morris su labirentinde dairesel bir havuza bırakılan hayvanın ayakta durabileceği bir platformun yerini görsel ipuçları aracılığıyla bulması beklenmekte, "**öğrenme**" ve "**hafıza**" başarısı değerlendirilmektedir **(113)**.

Barnes labirenti: Yukarıda bahsedilen düzenekler gibi bir kaçış paradigmasına dayanan, "**uzaysal öğrenme**" ve "**hafızanın**" değerlendirildiği bir

testtir. Hayvan çok sayıda deliğin simetrik olarak sıralandığı dairesel bir platformdan, görsel ipuçlarını değerlendirerek kaçmaya çalışmaktadır. Bu düzenekte, hayvanın öğretilen kaçış deliğine ulaşmadaki başarısı değerlendirilir **(114)**. Barnes labirentinden kaçma davranışını güçlendirmek için, düzenek, sığ su dolu bir havuz şeklinde de modifiye edilebilir **(115)**.

Yeni obje tanıma testi: "**Öğrenme**" ve "**hafıza**", görsel ipuçlarının kullanıldığı uzaysal değerlendirmelerden başka yöntemlerle de analiz edilebilir. Bunlardan önde gelen ve sık kullanılanlarından biri, deney hayvanlarının karşılaştıkları yeni bir cismi eskisinden ayırt etme yeteneklerinin değerlendirildiği yeni obje tanıma testidir. Bu testte, öğrenme seansında kullanılan iki aynı cisimden biri, yeni bir cisimle yer değiştirir ve deney hayvanının cisimlere gösterdiği ilgi karşılaştırılır. Yeni cisme daha çok ilgi gösteren farelerin hafıza ve öğrenme başarısı daha yüksek kabul edilir **(116)**.

Pasif kaçınma testi: "**Öğrenme**" ve "**hafıza**"nın değerlendirildiği önde gelen testlerden biridir. Bu testte ise hayvanlara, belli bir alana girdiğinde elektrik stimülasyonu veya yüksek şiddette ses gibi rahatsız edici bir uyaran verilerek, bu alandan kaçınmaları sağlanır. Bu alandan kaçınmaları gerektiğini öğrenen deney hayvanların hafıza ve öğrenme fonksiyonları daha iyi olarak değerlendirilir **(117)**.

Kuyruktan ası testi: Sık kullanılan bir "**depresyon**" benzeri davranış testidir. Fareler kuyruklarından ters bir şekilde asıldıktan sonra, ne kadar süre çırpınma davranışında bulundukları değerlendirilir. Daha uzun süre çırpınma davranışı gösterenler daha az depresif olarak kabul edilir **(118)**.

Zorlu yüzme testi: "**Depresyon**" benzeri davranış testidir. Bu düzenekte hayvan küçük bir su havuzuna alınıp, ne kadar süre batmama çabası gösterdiği

değerlendirilir. Daha uzun süre yüzme çabası gösteren fareler daha az depresif kabul edilir **(119)**.

Sükroz tercih testi: Hayvanların sükroz içerikli tatlı suyu tercih etme durumu değerlendirilmektedir. Bu test yukarıda sözü edilen kuyruktan ası ve zorlu yüzme testinde ölçülen depresyon benzeri davranıştan önemli bir açıdan ayrışmaktadır. Depresyon benzeri davranışın değerlendirildiği kuyruktan ası ve zorlu yüzme testlerinde, kurtulma davranışından ne zaman vaz geçtiği bir kriter olarak alınırken, sükroz tercih testinde ise "**anhedoni**" durumu analiz edilmektedir **(118, 120)**.

2.4. Kafein

Kafein, metilksantin sınıfından doğal olarak oluşan bir santral sinir sistemi uyarıcısıdır. Primer olarak CYP1A2 ile metabolize edilir ve yarılanma ömrü yaklaşık beş saattir **(121)**. Lipofilik bir ajan olup kan beyin bariyerinden kolaylıkla geçmektedir **(122)**. Kafeinin birincil etki mekanizması beyindeki adenozin reseptörlerinin nonselektif antagonizmasıdır. Özellikle A_{2a} reseptörünün antagonizması, kafeinin uyanıklık oluşturucu ve uyarıcı etkilerinden sorumludur **(121, 123, 124)**.

Beyinde ifadelenen adenozin reseptörleri büyük ölçüde A_1 ve A_{2a}'dan oluşmaktadır. Bunların her ikisi de motor aktive edici ve psikostimülan etkilerinden sorumlu görünmekle beraber, A_1 reseptörü daha çok motor komponentle, A_{2a} reseptörü de psişik komponentle ilişkili görünmektedir **(124)**. A_{2a} reseptörleri preoptik ventrolateral bölgede lokalizedir ve bu reseptörlerin adenozin tarafından uyarımı tüberomamiller çekirdekteki histaminerjik nöronların baskılanmasına yol açar. Histamin baskılanmasına sekonder olarak da GABA salıverilmesi indüklenir

ve uyku hali oluşur **(125)**. Bunlar dışında bazı yayınlarda yüksek doz kafeinin A_1 reseptörü üzerinden motor fonksiyonlarda baskılama oluşturduğu da bildirilmiştir **(126)**.

Kafeinin oluşturduğu davranışsal etkilerde, adenozinerjik yolağın dopaminerjik nöronlar üzerindeki düzenleyici etkisi de vurgulanmalıdır. Hayvan deneylerinden elde edilen sonuçlar, kafeinin merkezi dopaminerjik sistemlerle güçlü bir şekilde etkileşime girdiğini göstermektedir. Adenozin yolağının antagonizması, dopaminerjik nöronlar üzerindeki inhibitör baskıyı ortadan kaldırıp dopamin reseptör agonistlerinin etkilerine benzer etki gösteriyor olabilir **(124, 127)**. Bu dopaminerjik uyarım artışı hem striatumda hem de nükleus accumbenste gözlenmektedir. Tekrarlayan madde alımı deneylerindeki davranışsal stimülasyon bulgularıyla beraber bu durum, kafeinin, alınan doza bağlı olarak bağımlılık yapıcı potansiyeline de işaret etmektedir **(127)**. Diğer yandan kafeinin uyarıcı etkilerine karşın geri çekilme bulgularına neden olduğu da bilinen bir olgudur **(128)**.

Kafeinin oluşturduğu davranışsal ve duygudurumsal etkiler uzun yıllardan beri çalışılmaktadır. Ancak bu çalışmaların bütünü bifazik ve multimodal etkileri düşündürten çelişkili sonuçlar ortaya koymuş gibi görülmektedir. Kafeinin oral ve kronik tüketiminin anksiyojenik etkide bulunduğu yerleşik bir bilgidir **(129)**. Ancak bu durumun aksini işaret eden yayınlar da artmaktadır. Literatürde kafeinin lokomotor aktivite üzerinde doza bağımlı bifazik etkide bulunabileceği gösterilmiştir **(126, 130)**. Deney hayvanlarında akut tek doz intraperitoneal kafeinin anksiyolitik etki gösterdiği ve insan çalışmalarında da kafein tüketiminin belli dozlarda duygudurum iyileştirici etkide bulunduğu bildirilmiştir **(131, 132)**.

Kafeinin kronik uygulamasının Alzheimer modellerinde görülen hafızadaki bozulmaya karşı koruyucu olduğu gösterilmiştir **(133)**. Sağlıklı sıçanlarda test öncesi akut tek doz uygulanan kafeinin uzaysal hafızada olumlu etkiye yol açtığı bildirilmiştir **(134)**. Ancak başka bir çalışmada kafeinin oral kronik kullanımının uyku yetersizliği olan farelerde hafıza ve öğrenme üzerinde olumsuz etkide bulunabileceği ifade edilmiştir **(135)**.

Başka bir çalışmada ise kafeinin kronik peroral uygulamasının uzaysal hafızada olumsuz etkiye neden olduğu görülmektedir **(136)**. Dolayısıyla literatüre bakıldığında, farklı deneysel tasarımlarda, farklı dozlarda, farklı yanıtlar görülebileceği anlaşılmaktadır.

2.5. Modafinil

Modafinil, uyanıklık artırıcı özelliklere sahip, amfetamin olmayan bir santral sinir sistemi uyarıcısıdır. Gündüz aşırı uykululuğa neden olan durumların tedavisinde kullanılır. FDA tarafından narkolepsi, uyku-iş vardiyası bozukluğu ve obstrüktif uyku apnesi hastalıklarında kullanım için onayı bulunmaktadır **(137)**. Maksimum plazma konsantrasyonuna ulaşma süresi, oral alımda 2-4 saat, eliminasyon yarılanma ömrü 15 saattir. Çoğunlukla karaciğerde hidrolize uğradıktan sonra böbreklerden atılır. Alınan dozun %10'u böbreklerden değişmeden atılmaktadır **(138)**.

Modafinil'in tam etki mekanizması bilinmemektedir. Hafif düzeyde dopamin geri alım inhibisyonuyla beraber oreksin yolağını uyardığı düşünülmektedir. Bunun dışında glutamaterjik uyarım yaptığı ve antioksidan etki gösterdiği de gösterilmiştir **(139-141)**. Ventrolateral preoptik çekirdekten

noradrenalin geri alım inhibisyonu oluşturduğu ve katekolaminerjik etkilerde bulunabileceği de bildirilmiştir **(142-143)**.

Kronik kullanımında etkilerine tolerans gelişebileceğine dair bulgular mevcuttur **(15)**. Hatta literatürde bağımlılık olgusu bildirilmiştir **(144)**. Tolerans ve bağımlılık yapıcı etkilerinin, özellikle eşlik eden madde kullanım bozukluğu olan bireylerde görüldüğü gözlenmiştir **(139)**. Hayvanlarda çapraz sensitizasyon gerçekleştiği, yani bağımlılık yapıcı bir ajanın kullanımının modafinil kullanımını güçlendirdiği ifade edilmiştir **(145)**. Bu doğrultuda modafinilin bağımlılık yapıcı potansiyeli güncel literatür konuları içinde yer etmektedir.

Duygudurum üzerine etkilerine bakıldığında, modafinilin 300 mg/kg dozunda sağlıklı hayvanlarda açık alan testinde ölçülen keşfetme/lokomotor aktivite davranışını artırdığı ve anksiyete düzeyini azalttığı bildirilmiştir **(146, 147).** Serebral iskemi modelinde ise modafinil, açık alan testinde orta alanda kalma süresini yani keşfetme davranışını azaltmıştır **(148)**.

Hafıza ve öğrenme üzerinde çoğunlukla olumlu etkide bulunduğu gözlenen modafinilin kronik uygulamasının pasif kaçınma testinde hafızadaki performansı artırdığı bildirilmiştir **(149)**. Hem yüksek doz akut hem de düşük doz kronik uygulamasının, demir yükleme ile hafıza kaybına uğratılan sıçanlarda, yeni obje tanıma ve pasif kaçınma testlerinde öğrenme ve hafızada performansı artırdığı gözlenmiştir **(150)**. Başka bir deneysel çalışmada anneden ayırma ve uyku yetersizliği senaryolarının beraber uygulamasında oluşan hafıza bozulmasını geri çevirdiği gözlenmiştir **(151)**. Modafinilin insanlarda da akut uykusuzluk senaryolarında kognitif güçlendirme sağladığına dair olumlu sonuç elde edilen klinik çalışmalar uzun yıllardan bu yana mevcuttur **(152-154)**. Ancak modafinilin

neden olduğu aşırı özgüven halinin, gereksiz ve hesapsız risk alma davranışına yol açacağına dair endişeler literatürde vurgulanmıştır **(15, 16)**.

Ayrıca modafinilin hem deney hayvanlarında hem de insanlarda gıda alımını ve iştahı azalttığı gözlenmiştir **(155)**. Bir çalışmada sıçanlarda bu etkinin yüksek dozlarda görüldüğü bildirilmiştir **(156)**. Obstrüktif uyku apnesi tanılı hastalarda yapılan bir çalışmada armodafinil kullananlarda obstrüktif uyku apnesinin doğrudan iyileşmediği ancak hastalarda kilo kaybı olduğu gözlenmiştir **(157)**. Bu doğrultuda modafinilin veya türevlerinin obezitede kullanım potansiyeli araştırmacılar tarafından değerlendirilmektedir.

2.6 AMPA Reseptörler ve Ampakinler

Glutamat, G proteini ile kenetli reseptörler olan metabotropik glutamat reseptörlerine (mGluR) ve ligand kapılı iyon kanalları olan iyonotropik glutamat reseptörlerine (iGluR) bağlanarak memeli merkezi sinir sisteminde (MSS) uyarıcı nörotransmisyona aracılık eder. Serebral kortekste nöronların yaklaşık %70-80'i glutamaterjik nöronlardır. Toplamda sekiz adet mGluR alt tipi mevcuttur ve bunlar sinaptik lokalizasyon ve aminoasit dizilim homolojisine göre üç gruba ayrılır. Beynin hemen her yerinde mevcut olan bu reseptörler tat alımından, duygudurum düzenlemesine kadar çok sayıda fonksiyon üzerinde görev yapar **(158, 159)**.

iGluR ailesi AMPA, NMDA, kainat ve yetim reseptörler olmak üzere dört alt gruptan oluşmaktadır. Bu alt tiplerin her biri, farklı farmakolojik profillere ve işlevlere sahiptir. Kainat ve yetim reseptörler henüz ayrıntılı olarak karakterize edilmemiştir **(160)**. Sinaptik hızlı eksitatör sinyal iletiminden büyük ölçüde AMPA reseptörleri sorumudur. Bununla birlikte, NMDA reseptörleri hızlı sinaptik iletime aktif olarak katılmazlar. Aksine, birincil rolleri sinaptik potansiyel için çok önemli

olan postsinaptik AMPA reseptör akımlarının büyüklüğünü modüle etmektir. Yetişkin beyninde NMDA reseptörleri sinaptik plastisitenin sürdürülmesinde ve böylece sinir ağı içindeki yeni bilgilerin sürekli entegrasyonu veya ortadan kaldırılmasında, kısaca hafıza süreçlerinde aktif rol oynar. **(160)**.

AMPA reseptörleri dört tip alt birimden (GluA1-GluA4) oluşan tetramerlerdir ve homo- ya da hetero-tetramerik olabilirler **(159)**. AMPA reseptörünün işlevi, alt birim bileşimine, modifikasyonlara, yardımcı alt birimlere ve etkileşime giren ajanlara bağlı olduğundan, nörondan nörona belirgin şekilde farklı olabilir **(161)**. Plazma membranındaki AMPA reseptör yoğunluğu dinamik olarak modüle edilir. Plastisiteyi tetikleyen uyaranların yokluğunda, iletim hızı daha az olan GluA2/GluA3 alt birimlerini içeren AMPA reseptörleri dominant olarak hücre zarında bulunmaktadır. Ancak sinaptik uyarım neticesinde bu reseptör profili NMDA reseptör-aracılı olarak, iletim hızı daha yüksek olan kompozisyonlar lehine değişime uğramaktadır **(162)**.

Görüldüğü üzere AMPA reseptör iletiminin hızlandırılması, glutamaterjik sinaptik uyarımın etkinliği ve fonksiyonları açısından önemli rol oynamaktadır. AMPA reseptörlerinin pozitif allosterik modülasyonunun farmakolojik olarak kullanımı fikri, bu noktadan ileri gelerek oluşturulmuştur **(163)**. Pirasetam türevi olan anirasetam üzerinde yapılan çalışmalar, bu ajanın AMPA reseptör desensitizasyonunu engellediği ve deaktivasyonunu yavaşlattığını göstermiştir. Bu gözlemlerin ışığında 1990'lı yılların başından itibaren Kaliforniya Üniversitesi'nden Gary Lynch ve ekibi tarafından ampakinler, anirasetam türevleri olarak sentezlenmeye başlamıştır **(164)**.

Ampakinler, reseptör biyofiziğinden sinaptik aşırıma, sinaptik plastisiteye, nöronal sağkalıma ve davranışsal etkilere kadar birçok açıdan sistematik olarak çalışılmıştır **(164)**. Ampakinlerin radyal labirentlerde yapılan denemelerde hafıza skorlarında iyileşme sağladığı, şartlandırılmış davranışların edinilmesini kolaylaştırdığı ve uzun süreli koku hafızası oluşturmak için gereken deneme sayısını azalttığı gösterilmiştir **(165-167)**.

Daha sonraki davranışsal çalışmalarda da ampakinlerin Alzheimer modellerinde kognitif iyileşmeye neden olduğu bildirilmektedir **(31).** Radin ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada da ampakinlerin beynin farklı bölgelerinde BDNF ve NGF artışına neden olduğu da gösterilmiştir. Bu sonuçlar ışığında ampakinlerin kognitif iyileştirme ve güçlendirme etkisine sahip olduğuna ve bu ilaçların nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik hastalıklarda tedavi edici potansiyeli olduğuna işaret edilmiştir **(32)**.

Lokomotor aktivite ve duygudurum açısından incelendiğinde, ampakinlerin en azından anksiyete ve lokomotor aktivite artışı yapmadığı düşünülebilir. Bir çalışmada ampakin CX516'nın lokomotor aktivitede değişiklik yapmadığı ve anksiyete benzeri davranışı azaltabileceği gösterilmiştir **(168)**. Diğer yandan yine bir ampakin türevi olan CX717'nin amfetamin ile indüklenmiş aktivite artışını baskıladığı gösterilmiştir **(169)**. Başka bir çalışmada ise, anksiyete doğrudan ölçülmemiş olsa da CX516'nın farelerde agresif davranışı azaltabileceği ifade edilmiştir **(170)**.

Ampakinlerin kronik uygulamasının hafıza oluşumunu güçlendirici etkisi uzun yıllardan bu yana bilinmektedir **(164, 167, 171)**. DARPA'nın (*Defense Advanced Research Projects Agency*) desteği ile gerçekleşen bir çalışmada, bir

ampakin türevi olan CX517'den primat türlerindeki akut uykusuzluğun oluşturduğu kognitif bozulmayı geriye çevirdiği gösterilmiştir **(79)**.

CX516, keşfedilen ilk deneysel ampakin türevlerinden biridir **(172)**. Klinik çalışmalarda Frajil X hastaları üzerinde denenmiştir **(173)**. Ampakin sınıfından bir ilaç günümüzde henüz onay almamış olup, bu sınıf ajanlar deneme ve geliştirme süreci içerisindedir.

2.7. Santral Kolinerjik Sistem ve Nikotinik Alfa-7 Pozitif Allosterik Modülatörleri

Asetilkolin tüm sinir sisteminde yaygın olarak bulunan ve çok sayıda fonksiyon gören bir nörotransmiterdir. Reseptörleri muskarinik ve nikotinik olmak üzere iki gruba ayrılır. Muskarinik reseptörler G-proteini ile kenetli reseptörlerdir, nikotinik reseptörler ise iyonotropik ligand kapılı reseptör sınıfındadır. Her iki reseptör türü de santral sinir sisteminde yaygın olarak ifadelenirler **(174)**.

Beyindeki muskarinik reseptörlerin aktivasyonu, nöronal uyarılabilirliğin, sinaptik plastisitenin ve ACh salıverilmesinin düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynar. Beyinde beş çeşit muskarinik reseptörün hepsi yer almaktadır. M_1 reseptörleri neokorteks, hipokampus ve neostriatumda daha yüksek bir dağılım gösterirken, M_2 ve M_4 reseptörlerinin dağılımı tüm beyni yaygın olarak kapsar. Buna karşılık, beyinde düşük oranda M_3 reseptörü bulunmaktadır. Ek olarak, M_5 reseptörleri substantia nigra, ventral tegmental bölge ve hipokampüs nöronlarında tanımlanmıştır. M_1 reseptörleri özellikle öğrenme ve hafıza fonksiyonları ile yakından ilişkilidir **(175)**.

Nöronal nikotinik AChR'ler (nAChR), homo veya heteropentamerik yapılar oluşturan iyonotropik transmembran proteinlerdir **(176)**. Bugüne kadar α2, α3, α4,

α5, α6, α7, α9 ve α10 olarak adlandırılan yedi α benzeri alt birim ve α olmayan 3 alt birim (β2, β3 ve β4) memeli nöronal dokularında gösterilmiştir **(177)**. Alt birimlerin farklı kombinasyonları, farklı işlevsel ve farmakolojik özelliklere sahip nAChR alt tiplerini oluşturmaktadır **(178)**. β2 alt birimi içeren nAChR'ler (β2*nAChR'ler) ve α7*nAChR'ler beyinde yaygın olarak ifade edilirken, diğer nAChR alt birimleri daha kısıtlı oranda bulunmaktadır **(179)**. β2 alt birimi içeren nAChR'ler daha çok α4 alt ünitesi ile heterodimer oluştururken, α7 alt birimleri çoğunlukla homopentamer olarak organize olurlar.

α7 alt birimi hem pre hem de postsinaptik yerleşimli bulunabilir. Bu alt birim Ca^{+2} 'ye karşı oldukça geçirgendir **(180)**. Alfa-7 alt birimi bulunduran reseptörlerinin uyarılmasının hafıza konsolidasyonu, dikkat, öğrenme gibi birçok bilişsel işlevi düzenlediği gösterilmiştir **(181)**.

Nikotinik alfa-7 reseptörlerinin bilişsel fonksiyon üzerindeki önemli rolü, bu alt birimi ilaç geliştirme çalışmalarının odağı haline getirmiştir. Bu doğrultuda öncelikle agonist ve antagonistler geliştirilmiş olup, ardından allosterik modülatör ajan geliştirmeye yönelik çalışmalar yapılmıştır. Pozitif allosterik modülatörlerin (PAM) ortosterik ligandlara göre en önemli avantajı, reseptör aktivasyonunun endojen nörotransmitter tarafından üretilen fizyolojik uyarı düzeyini aşmamasıdır. Bu durum reseptör desensitizasyonu veya eksitotoksisite kaynaklı istenmeyen etkilerin önüne geçilmesi konusunda oldukça kritik bir yaklaşımı oluşturmaktadır **(182)**. Diğer yandan farklı nikotinik reseptör alt ünitelerinin, doğrudan ligand bağlanma noktaları olan “ortosterik” bölgeleri arasındaki yakın benzerlik, reseptör alt tiplerini hedefleyen ajanların geliştirilmesine engel olmaktadır. Bu noktada,

“allosterik” bağlanma bölgeleri daha reseptör-spesifik ayrışmalar göstermektedir **(183)**.

PAM'lar geçici bir süre boyunca, reseptör açılma ortalama süresini ve aktivasyon frekansını artırarak asetilkolin aracılı sinyali güçlendirir ve mümkün olduğunca fizyolojik bir tonus oluşmasını sağlar. Nikotinik alfa-7 PAM’lerini Tip I ve Tip II olarak ayırmak mümkündür. Tip I PAM’lar agonist kaynaklı reseptör aktivasyonunu artırır ancak reseptör desensitizasyonuna etkide bulunmazlar. Tip II PAM’lar ise reseptör aktivasyonunu artırmakla birlikte reseptör desensitizasyonunu geciktirir ve desensitize reseptörleri yeniden aktive eder. Bu doğrultuda, Tip I PAM’ların tolerans oluşturma riski daha yüksekken, Tip II PAM’ların kalsiyum kaynaklı eksitotoksisite oluşturma riski daha yüksek olarak değerlendirilebilir. Tüm bu ajanlar deneysel olup, henüz düzenleyici kurumlardan onay alan yoktur. Tip I PAM’lara AVL-3288/ NS-1738 ve LY-2087101, Tip II PAM’lara PNU-120596, TBS-516 örnek olarak verilebilir **(182)**.

Bu tür ajanlar ve özellikle AVL-3288 ilk keşfedildiklerinde, özellikle şizofreni konusunda ümit vermiş ancak klinik çalışmalarda başarılı sonuçlara ulaşılamamıştır **(27)**. Ancak nikotinik reseptörlerin, beyinde yaygın olması ve önemli bilişsel fonksiyonlarda görev alması nedeniyle travmatik beyin hasarından, uyku bozukluklarına kadar çok sayıda alanda bu deneysel ajanlar çalışılmaya devam etmektedir. Bu çalışmalarda, nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörlerinin farklı model ve senaryolarda, bilişsel fonksiyonlarda iyileşme oluşturduğu gösterilmiştir **(28, 184-188)**.

Nikotinik reseptörlerin bilişsel ve duyusal fonksiyonları kuvvetlendirdiğine dair çalışmalar, derlemelere konu olacak kadar geniş çapta ele alınmıştır **(189)**.

Ancak nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörlerinin davranışsal etkileri ile ilgili literatür, özellikle uyku yetersizliği çerçevesinde, yakın zamanda göze çarpmaktadır.

Farklı nikotinik alfa-7 reseptör pozitif allosterik modülatörlerinin lokomotor aktivite üzerinde farklı etkilerde bulunabileceği bildirilmiştir **(190, 191)**. Bir çalışmada, bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörünün lipopolisakkarit ile indüklenmiş anksiyeteyi azaltabileceği gösterilmiştir **(192)**. Güncel bir çalışmada da başka bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörünün sağlıklı farelerde anksiyolitik etki yapabileceği belirtilmiştir **(193)**.

Nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörü olan PNU-120596'nun akut uygulamasının, kemirgen ve primat yaşlılık modelinde, uzaysal hafıza fonksiyonu üzerinde tek başına etki göstermeyip, donepezil ile birlikte sinerjistik olumlu etki gösterdiği bildirilmiştir **(194)**. AVL-3288'in bir çalışmada tekrarlayan doz uygulamasının sağlıklı hayvanlarda hafızayı güçlendirici etkide bulunduğu gösterilmiştir **(195).** Travmatik beyin hasarı modelinde kronik AVL-3288 uygulaması uzaysal hafızada iyileşme sağlamıştır **(28)**. Ayrıca başka bir nikotinik alfa-7 reseptör agonistinin kronik uykusuzluk modelinde akut uygulamasının Morris Su Labirenti ile değerlendirilen uzaysal hafızayı iyileştirdiği, ayrıca nörogelişimsel moleküler belirteçleri olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir **(89)**.

<u>Sonuç olarak</u>, bu tez çalışmasında, mevcut literatür doğrultusunda, nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörlerinin ve ampakinlerin uyku yetersizliğinden kaynaklanan nörobilişsel değişiklikler üzerine olumlu etkileri bulunabileceği düşünülmüştür. Bu araştırma ürünlerinin (AVL-3288 ve CX516), uyku yetersizliğinden kaynaklanan bilişsel değişiklikleri olumlu

yönde etkileme potansiyeli olduğu bilinen, modafinil ve kafein ile karşılaştırması da yapılarak, varsa aralarındaki farkların/üstünlüklerin ortaya konması hedeflenmiştir. Bu amaç doğrultusunda, dört farklı nörotransmiter sistemi üzerinde etkili ajanlar olan "Kafein, Modafinil, AVL-3288 ve CX516"nın akut uyku yetersizliği üzerindeki davranışsal etkileri, ardışık ve uzun süreli bir nörobilişsel deney düzeneği ile değerlendirilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmanın etik onayı, "Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu"nun 25.05.2021 tarihli ve **G.Ü.ET-21.038** kod numaralı kararıyla alınmıştır. Çalışma **TUBİTAK ARDEB-1002** Programı kapsamında, 321S167 proje koduyla onaylanmış ve maddi destek sağlanmıştır.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmalar için 10-12 haftalık ve yetişkin erkek C57BL/6 türünde fareler kullanıldı. Fareler 25 ± 2°C sıcaklıkta, 12 saat ışık ve karanlık döngüsünde, *ad libitum* yiyecek ve su tüktetimine izin verilerek veteriner gözetiminde barındırıldı. Deneyler gündüz vakti 08.00-17.00 saatleri arasında yapıldı. Farelerin deney sırasında gereksiz ağrı, acı ve strese maruz bırakılmaması için azami dikkat gösterildi.

3.2. Farmakolojik Ajanlar ve Kimyasallar

Deneylerde kullanılan kafein, Sigma-Aldrich'ten (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD), AVL-3288 ve CX516 ise Medhchemexpress'ten (Medchemexpress, Monmouth Junction, NJ, ABD) temin edildi. Modafinil, Genveon İlaç San. ve Tic. A.Ş. tarafından hediye edildi. Tüm ajanlar için kullanılan çözücü, %10 DMSO, %15 Tween-80, %75 Salin karışımı ile hazırlandı ve literatürde daha önce bildirilmişti **(196, 197)**. Her enjeksiyon için ajanlar 15 ml/kg çözücü içerisinde çözdürüldü ve gruplara intraperitoneal olarak uygulandı.

3.3. Video Kayıt Analizleri

Deney hayvanlarının davranışlarının kantitatif analizleri Any-Maze isimli yazılım aracılığı ile video kayıtlar değerlendirilerek yapıldı (Stoelting Co, Wood Dale, IL, USA). Yazılım aracılığıyla, farelerin yatay düzlemdeki hareketleri (ör. toplam kat edilen mesafe) tam otomatize bir şekilde analiz edildi. Dikey düzlemdeki hareketleri ise (ör. süslenme/grooming ve şahlanma/rearing) program arayüzünün yönlendirmelerinden yardım alınıp kullanıcı tarafından elle belirlenecek şekilde değerlendirildi.

3.4. Deney Grupları

Araştırma grupları Tablo 1'de açıklanmıştır.

Hayvan deneyleri etik kurulu başvurusu öncesinde güç analizi gerçekleştirilmiştir. Mann-Whitney U testi için güç analizi, alfa değeri 0,05, güç değeri 0,80, Cohen d değeri 1,6 ve güven aralığı 0,95 olmak üzere G*Power sürüm 3.1.9.7 kullanılarak yapılmıştır **(198)**. Bu güç analizi doğrultusunda etik kurul tarafından 9 grup için 63 fare verilmesi uygun görümüştür. 63 hayvanın karantina barındırması esnasında 3 fare kaybı olmuştur. Böylece deneyler, her grupta kullanılan fare sayısı 6 veya 7 olacak şekilde tamamlanmıştır.

Deneyimizin son aşaması olan olan "kuyruktan ası testinde" öngörülenden fazla fare kaybımız nedeniyle, çözücü grubunda n=5 olacak şekilde değerlendirmeler yapılmıştır. Grup 1 (Kontrol) ve Grup 2 (Paradoksal Uyku Yetersizliği) herhangi bir enjeksiyon uygulanmayan gruplar olarak, uyku yetersizliğinin etkilerini ortaya koyabilmek için birbiriyle karşılaştırılmıştır. Diğer yedi grup ise enjeksiyon uygulanan gruplar olarak yine birbiri ile karşılaştırılmıştır.

Son olarak da Grup 2 (Paradoksal Uyku Yetersizliği) ve Grup 3 (Çözücü) grupları arasında ek karşılaştırmalar gerçekleştirilmiştir.

Tablo 1. Araştırmada kullanılan deney grupları

GRUP NO	UYKUSUZLUK DURUMU	UYGULANAN AJAN (ENJEKSİYON DURUMU)	DOZ	GRUP ADI	GRUP ADININ KISALTMASI
1	Uykusuz bırakılmayan	YOK	-	KONTROL	**KTR**
2	Uykusuz	YOK	-	PARADOKSAL UYKU YETERSİZLİĞİ	**PUY**
3	Uykusuz	ÇÖZÜCÜ	15 ml/kg	ÇÖZÜCÜ	**ÇÖZ**
4	Uykusuz	MODAFİNİL	300 mg/kg	MODAFİNİL	**MOD**
5	Uykusuz	KAFEİN	10 mg/kg	KAFEİN	**KAF**
6	Uykusuz	AVL-3288	1 mg/kg	AVL 1 MG/KG	**AVL1**
7	Uykusuz	AVL-3288	2 mg/kg	AVL 2 MG/KG	**AVL2**
8	Uykusuz	CX516	40 mg/kg	CX516 40 MG/KG	**CX40**
9	Uykusuz	CX516	80 mg/kg	CX516 80 MG/KG	**CX80**

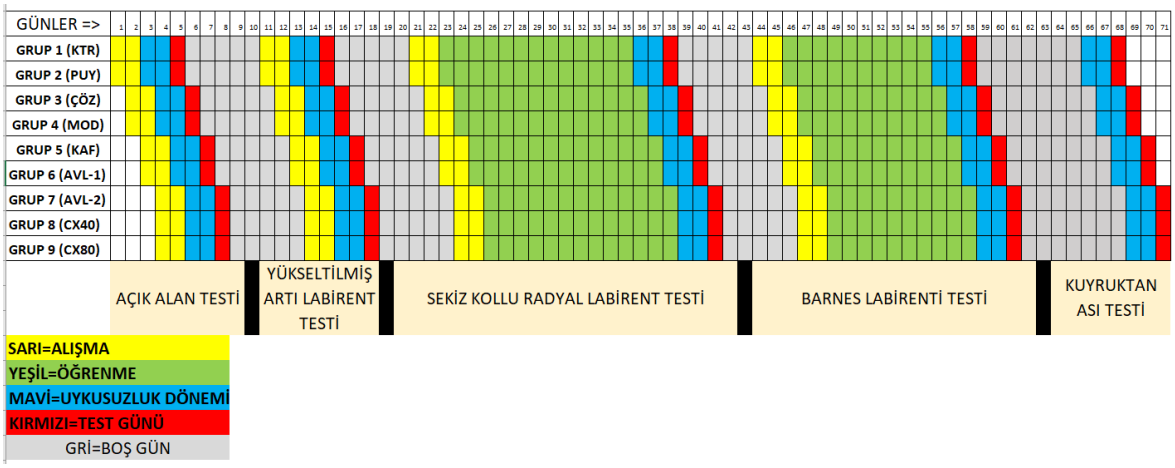
3.5. Deney Tasarımı

Bu tez kapsamında, dört farklı ajanın (Kafein, Modafinil, AVL-3288 ve CX516) akut uyku yetersizliği üzerindeki davranışsal etkilerinin değerlendirilmesi planlandığından öncelikle paradoksal uyku yetersizliği modeli oluşturulmuştur. Ardından deney hayvanları, araştırma gruplarına bölünerek deneyler yürütülmüştür.

Çalışma boyunca kullanılan davranışsal deney yöntemleri, aşağıda sunulduğu şekilde beş düzenekten oluşmaktadır.

1. Açık Alan Testi
2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi
3. Sekiz Kollu Radyal Labirent Testi
4. Barnes Labirenti Testi
5. Kuyruktan Ası Testi

Yukarıda yer alan her davranışsal deney yöntemi uygulamasının alışma ve öğrenme dönemlerinde video kaydı alınmamıştır. Testler sırasında video kaydı alınmıştır. **48 saatlik paradoksal uykusuzluk modeli**, bu testten hemen önceki **iki gün boyunca** uygulanmıştır. **Farmakolojik ajanlar test yapılmadan otuz dakika önce, akut tek doz intraperitoneal** olarak uygulanmıştır. Fareler her testten sonra birer hafta dinlendirilmiştir. Bir sonraki testteki iki günlük alışma süreci, dinlenme süresine dahil edilmiştir.



Şekil 1. Deney tasarımına ait iş-zaman çizelgesi

3.5.1 Paradoksal Uyku Yetersizliği Modeli

Uykusuzluk modeli olarak 48 saatlik "**çoklu modifiye platform modeli**" uygulanmıştır. Bu yöntemde fareler su dolu bir tankın içinde, su seviyesinin üzerinde yükselen, 2,5 cm çapındaki platformlar üzerine konulmaktadırlar. Bu sayede REM (*Rapid Eye Movements*) uykusu başladığında gelişen atoni nedeniyle suya düşüp tekrar uyanmakta ve böylece yetersiz REM uykusu (*REM-Sleep Deprivation*) gerçekleşmiş olmaktadır. Bu yöntem, akut uzun süreli uykusuzluk modellemelerinde literatürde sıkça kullanılan bir yöntemdir **(94, 101, 199, 200)**.



Resim 1. Modifiye çoklu platform modeli kafesleri

3.5.2. Açık Alan Testi

1. Fareler 50x50x50 cm boyutlarındaki açık alan testi düzeneğine iki gün boyunca günde 2 defa, 5'er dakika bulunduruldular.

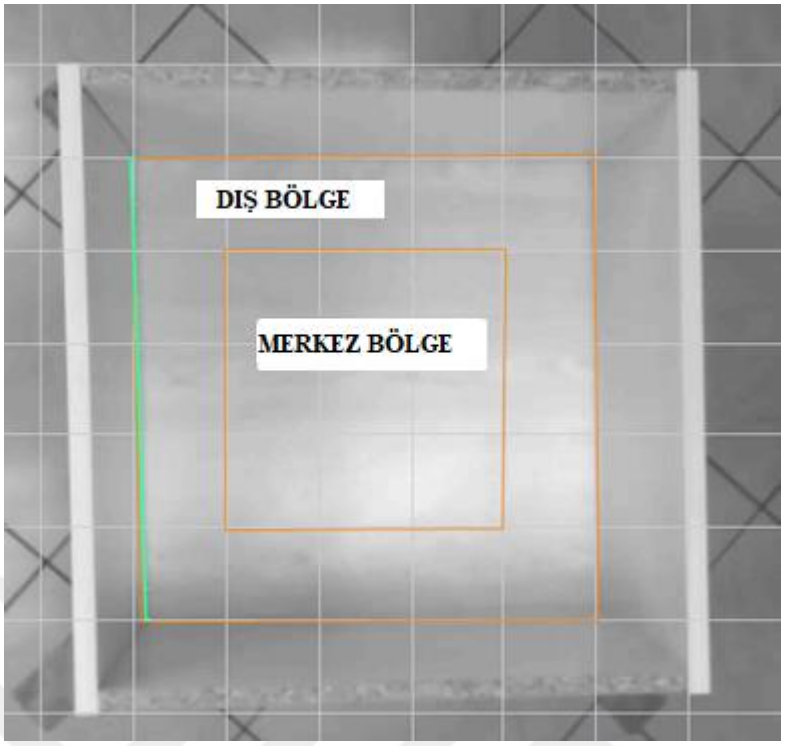
2. Üçüncü gün, kontrol grubu hariç, fareler modifiye çoklu platform kafeslerine alındı ve 48 saat boyunca REM uykusundan mahrum bırakıldılar.

3. Beşinci günün başında farelere ilaç uygulamasında bulunulduktan sonra deney hayvanları "açık alan testi" düzeneğine tekrar alındı ve hareketleri kamera ile tepeden kaydedildi.

4. Otuz dakika boyunca alanda dolaşmasına izin verilen fareler, sürenin sonunda açık alan düzeneğinden alınıp eski kafeslerine geri konuldu.

Video analiz programı aracılığıyla, test alanı 5X5 karelere ayrıldı. Bu kareler referans alınarak dış bölge ve merkez bölge olmak üzere ikiye ayrıldı. Analizlerde kat edilen toplam mesafe (metre), ortalama hız (metre/saniye), toplam hareketli zaman (saniye), dış ve merkez bölgelerde geçirilen süreler (saniye), dış ve merkez bölgelerde kat edilen mesafeler (metre), toplam süslenme (*grooming*) yapılan zaman (saniye), toplam şahlanma (*rearing*) sayısı parametreleri ölçüldü. Analizlerde testin ilk 15 dakikası ve tamamı (30 dakika) ayrı ayrı değerlendirildi. Güncel literatürde açık alan testinin sıklıkla 10-15 dakika olarak gerçekleştirildiği de görülmektedir **(201-205)**. Literatürde açık alan testinin zaman segmentlerine ayrılarak da değerlendirilebileceği belirtilmiştir **(206)**. Bu nedenle testin bütünü (30 dakika) ve ilk yarısı (15 dakika) arasında farklar oluşabileceğini düşünülerek, iki ayrı şekilde incelenmiştir.

Toplam mesafe, ortalama hız, toplam hareketli zaman parametreleri "**lokomotor aktivite göstergesi"** olarak değerlendirildi. Dış bölgede geçirilen süre, dış bölgede kat edilen mesafe, toplam süslenme yapılan zaman, toplam şahlanma sayısı "**anksiyete göstergesi"** olarak değerlendirildi. Merkez bölgede geçirilen süre ve merkez bölgede kat edilen mesafe değişkenleri "**keşfetme davranışı göstergesi"** olarak değerlendirildi **(204, 205)**.



Resim 2. Açık alan testinde dış bölge ve merkez bölgelerin Any-Maze yazılımı arayüzü kullanılarak belirlenmesi

3.5.3. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

1. Fareler yerden 100 cm yüksekte bulunan, 50 cm uzunluğunda ve 10 cm genişliğindeki iki açık kol ve iki perdeli kapalı koldan oluşan, yükseltilmiş artı labirent alanına iki gün boyunca, günde iki defa, beş dakika bulunduruldular.

2. Üçüncü gün, kontrol grubu hariç, fareler modifiye çoklu platform kafeslerine alındı ve 48 saat boyunca REM uykusundan mahrum bırakıldılar.

3. Beşinci günün başında ilk olarak farelere ilaç uygulamasında bulunuldu ve ardından deney hayvanları tek tek yükseltilmiş artı labirent alanının merkezine konuldu.

4. Beş dakika boyunca dolaşmasına izin verilerek hareketleri tepeden doksan derece açıyla kayıt altına alındı.

Analizlerde açık ve kapalı kollarda farelerin bulunma süresi (saniye), açık kolda bulunma süresinin (saniye) kapalı kolda bulunma süresine oranı, açık kollarda kat edilen mesafenin (metre) kapalı kollarda kat edilen mesafeye oranı, şahlanma davranışı sayılarından oluşan parametreler değerlendirildi. Açık kollarda bulunma süresinde artış, açık kollarda bulunma süresinin kapalı kollarda bulunma süresine oranında artış, açık kollarda kat edilen mesafenin kapalı kollarda kat edilen mesafeye oranında artış "**keşfetme davranışında artış**" ve "**anksiyetede azalma**" yönünde değerlendirildi. Kapalı kollarda bulunma süresinde artış "**anksiyetede artma**" yönünde değerlendirildi. Ayrıca her grubun kendi içinde açık kolda geçirdikleri süre ve kapalı kolda geçirdikleri ortalama süre arasındaki fark istatistiksel olarak karşılaştırılarak, farelerin kapalı kolları anlamlı olarak daha çok tercih edip etmedikleri yönünde değerlendirildi **(207)**.



Resim 3. Yükseltilmiş artı labirent düzeneğinin tepeden ve yandan görünümleri

3.5.4. Sekiz Kollu Radyal Labirent Testi

1. Sekiz kollu radyal labirent, 50 cm uzunluğunda ve 13 cm genişliğinde sekiz kolun, çapı 40 cm olan sekizgen bir merkez etrafına simetrik şekilde yerleştirilmesinden oluşuyordu. Deney düzeneğinin çevresine geometrik görsel ipuçları konuldu. Deney hayvanlarının sekiz kollu radyal labirent test alanına iki gün boyunca günde iki defa, 10'ar dakika konularak alışmaları sağlandı. Bu aşamada her kola yem konuldu ve her kol açık bırakıldı.

2. Öğrenme ve test dönemi boyunca farelerin yemlere olan yönelimlerini artırmak için besin alımları kısıtlandı ve veteriner hekimlere danışılarak fare başına 3,5 gr/kg yem yenilmesi sağlandı.

3. Farelere 13 gün boyunca öğrenme protokolü uygulandı. Bu periyotta fareler ilk seansta dört kolu kapalı olan ve diğer açık dört koluna 0,5-1 gram standart içerikli yem pelleti yerleştirilmiş olan labirente konuldu. Farenin beş dakika boyunca labirenti ve yemleri özgürce keşfetmesine izin verildi. İlk seanstan sonra fare eski kafesine beş dakika boyunca tekrar konuldu. Bu sırada labirentte bir önceki seansta kapalı olan kollar da açıldı (tüm kollar açık olacak) ve sadece daha önce kapalı olan kollara yem konuldu. Ancak önceki seansta yem olan kollara bu sefer yem konulmadı. Farelerin bu şartlar altında beş dakika daha labirenti özgürce keşfetmesine izin verildi. Deney hayvanı 5 dakika boyunca izlendi. Bu yöntem sekiz kollu radyal labirentin kullanıldığı bir protokol olup, "Geciktirilmiş Uzaysal Kazan-Değiş Protokolü - *Delayed Spatial Win-Shift Protocol*" olarak adlandırılmaktadır **(208)**.

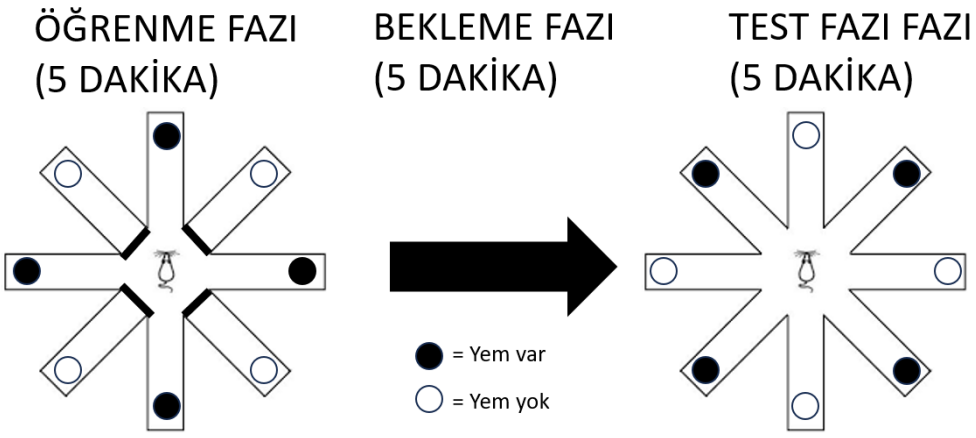
4. On altıncı gün, kontrol grubu hariç fareler modifiye çoklu platform kafeslerine alındı ve 48 saat boyunca REM uykusundan mahrum bırakıldılar.

5. On yedinci günün sonunda farelere ilaçlar uygulandı ve ardından dört kolun kapatılıp diğer dört kola yem konulduğu düzenekte beş dakika boyunca beklendi. Sonrasında fareler beş dakika boyunca eski kafeslerinde alındılar. Ardından öğrenme protokolündeki gibi, tüm kolların açıldığı ancak önceki seansta kapalı olan kollara yem konulduğu düzenekte beş dakika daha gezmelerine izin verildi. Bu ikinci seans boyunca farelerin davranışları tepeden kamera kaydına alındı **(Şekil 2)**.

6. Fareler eğer önceki seansta yem aldığı kola tekrar giriyorsa bu durum "**referans hafıza hatası**" olarak kaydedildi. Eğer mevcut seansta yem almış olduğu kola tekrar giriyorsa bu da "**işleyen hafıza hatası**" olarak kaydedildi. Ayrıca farelerin yemler etrafında geçirdikleri süreler kaydedildi. Farelerin yaptıkları referans hata sayısının toplam hata sayısına oranı "**referans hafıza hata indeksi**" olarak kaydedildi. İşleyen hafıza hatası sayısının, toplam yapılan hata sayısına oranı "**işleyen hafıza hata indeksi**" olarak kaydedildi. Hafıza hatası indekslerindeki artışlar "**hafıza fonksiyonunda kötüleşme**" olarak kabul edildi. Bunun dışında labirentte farelerin kat ettiği toplam mesafeler (metre) değerlendirildi. Yemler etrafında geçirilen süreler yeme duyulan ilgi göstergesi olarak değerlendirildi. Kat edilen toplam mesafe değişkeni de "**lokomotor aktivite göstergesi**" olarak değerlendirildi **(208-210)**.



Resim 4. Sekiz kollu radyal labirent testinin tepeden görünümü



Şekil 2. Geciktirilmiş Uzaysal Kazan-Değiş Protokolü (Delayed Spatial Win-Shift Protocol)

3.5.5. Barnes Labirenti

1. 100 cm çapında bir daire platformun kenarlarında, 15 derece açıyla simetrik olarak dizilmiş 24 adet, 6,5 cm çapında delikler bulunan bir düzenek olan Barnes Labirenti etrafına geometrik görsel ipuçları konuldu. Hedef kaçış deliğinin altında, kaçış kutusunun çekmece halinde yerleştirilip çıkarılabileceği bir bölme bulunuyordu. Kaçık kutusu 10x10x20cm boyutlarından oluşuyordu.

2. Fareler Barnes labirenti test alanına iki gün boyunca, günde iki defa 5 dakika konularak alışmaları sağlandı. Fareler sahaya yerleştirilmeden önce korunak dairesinin içine konuldu ve 15 saniye sonra çember kaldırılarak farenin özgürce ortamı keşfetmesine izin verildi.

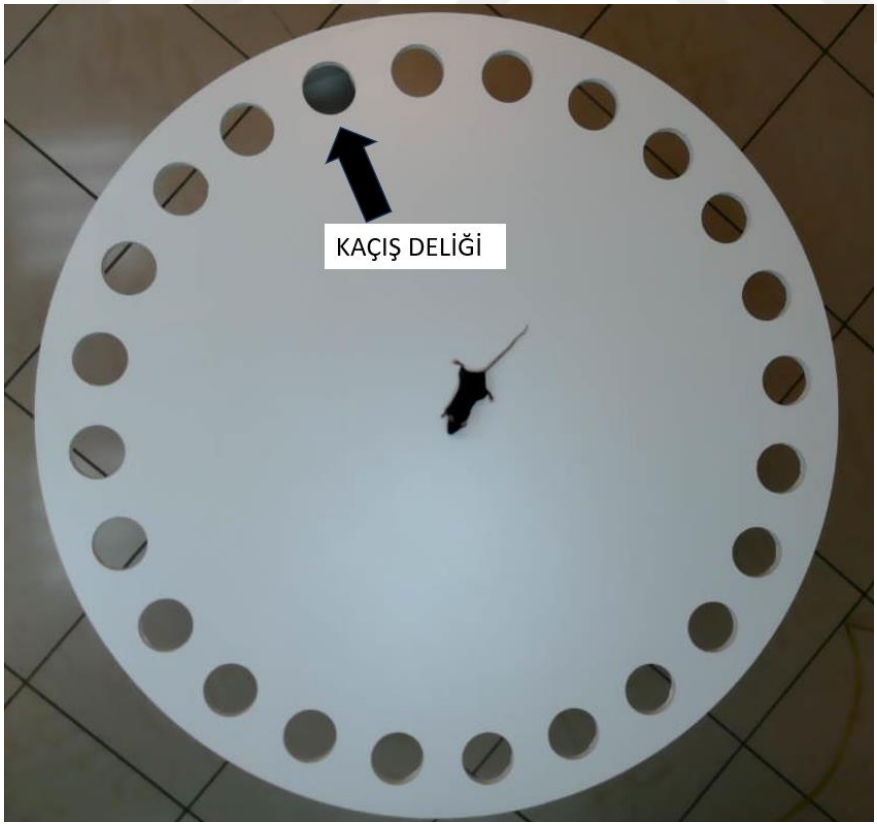
3. Ardından on gün sürecek olan öğrenme aşamasına geçildi. Fare, her defasında labirentin psödorandom olarak belirlenmiş bir çeyrek-kadranından başlatılmak üzere en fazla 3 dakika boyunca labirenti keşfetmesine izin verildi. Fare bu sürede kaçış kutusunu bulamazsa yerinden alınıp, hedef kaçış deliğinden geçirilerek kaçış kutusuna konuldu ve orada 15 saniye kalmasına izin verildi. Bu seans günde 2 kez tekrarlandı. Bu öğrenme aşaması 10 gün boyunca devam etti.

4. On üçüncü günde kontrol grubu hariç fareler modifiye çoklu platform kafeslerine alındı ve 48 saat boyunca REM uykusundan mahrum bırakıldılar.

5. On beşinci günde farelere ilaç uygulanıp ölçüm seansına geçildi. Kaçış kutusu, mevcut yerinden kaldırıldı. Fareler tek tek Barnes labirentine alındı ve 90 saniye boyunca davranışları kamera ile kayıt altına alındı.

Hedef kaçış deliği ve diğer delikleri deneme sayısı, hedef deliğin bulunduğu kadranda ve diğer kadranlarda bulunma süresi, hedef kaçış deliğine olan ortalama

mesafe (metre), hedef kaçış deliğini deneme sayısının diğer delikleri deneme sayısına oranı, hedef deliği deneme süresinin diğer delikleri deneme süresine oranı, kaçış deliğini ilk kez bulana kadar geçen süre (saniye), kaçış deliğini ilk kez bulana kadar kat edilen mesafe ve kaçış deliğini ilk kez bulana kadar denenen diğer delik sayısı parametreleri analizde değerlendirildi. Hedef kaçış deliğini deneme sayısındaki artış, hedef deliğin bulunduğu kadranda bulunma süresindeki artış, hedef kaçış deliğine olan ortalama mesafede azalma, hedef kaçış deliğini deneme sayısının diğer delikleri deneme sayısına oranında artış, hedef deliği deneme süresinin diğer delikleri deneme süresine oranında artış, kaçış deliğini ilk kez bulana kadar geçen sürede azalma, kaçış deliğini ilk kez bulana kadar kat edilen mesafede azalma "**uzaysal referans hafızada iyileşme**" olarak değerlendirildi **(114)**.



Resim 5. Barnes labirenti düzeneğinin tepeden görünümü

3.5.6. Kuyruktan Ası Testi

48 saatlik uyku yetersizliğinin ardından fareler kuyruklarına zarar vermeyecek şekilde test kutusuna baş aşağı olarak asıldılar. Farelerin davranışları 6 dakika boyunca kamera ile kayıt altına alındı. Farelerin çırpınma davranışını sonlandırdığı toplam süreler (saniye) yazılım aracılığı ile hesaplandı. Çırpınma yani kurtulma davranışı olmaksızın geçirilen toplam sürelerdeki artış, "**depresyon benzeri davranış**" olarak değerlendirildi **(118)**.



Resim 6. Kuyruktan ası testi

3.6. İstatistiksel Analiz

Tanımlayıcı veriler ortalama ± SEM olarak ifade edildi. Grup 1 (KTR) ve Grup 2 (PUY) ile Grup 2 (PUY) ve Grup 3 (ÇÖZ) arasındaki ikili karşılaştırmalar Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Enjeksiyon yapılan gruplar (toplam yedi grup) arasındaki karşılaştırmalar Kruskal Wallis testi ile yapıldı, ardından *post-hoc* analizler Dunn's Test ile gruplar arası ikili karşılaştırmalar halinde değerlendirildi. Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kendi içinde açık kol ve kapalı kolda geçirdikleri sürelerin karşılaştırılması Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Tüm istatistiksel analizler SPSS (IBM Corp. Version 23.0. Armonk, NY, ABD) paket programı kullanılarak yapıldı. $p< 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

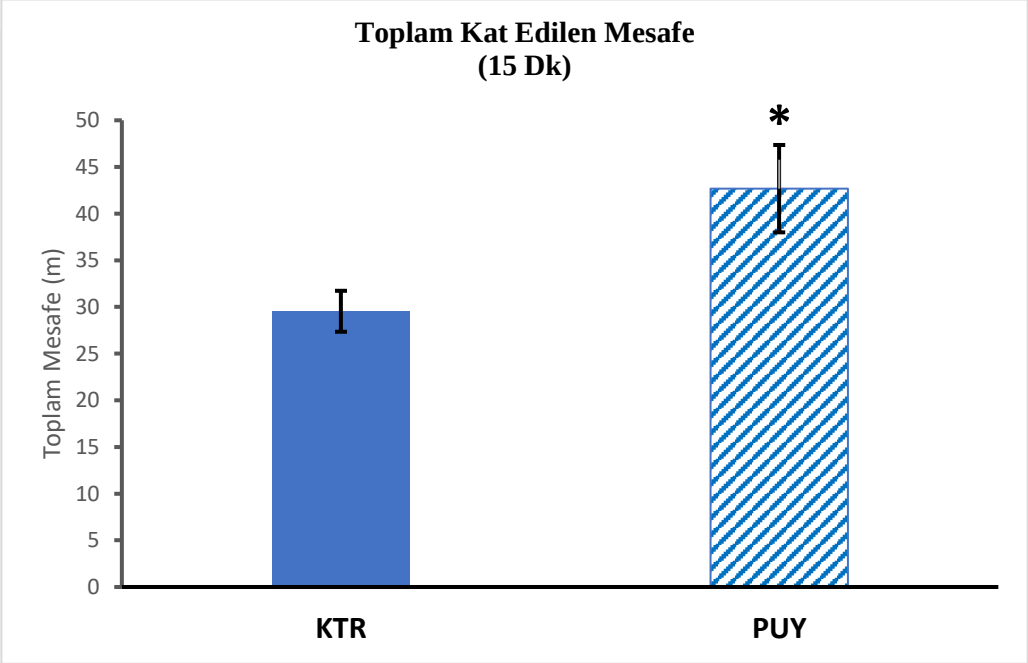
Grup başına düşen n sayısının 10'un altında olması nedeniyle Shapiro-Wilk testinin Tip 2 hata oranında belirgin artış olacağı mevcut literatür doğrultusunda öngörülmüş ve doğrudan nonparametrik testler uygulanmıştır **(211, 212)**.

4.BULGULAR

4.1. Açık Alan Testi

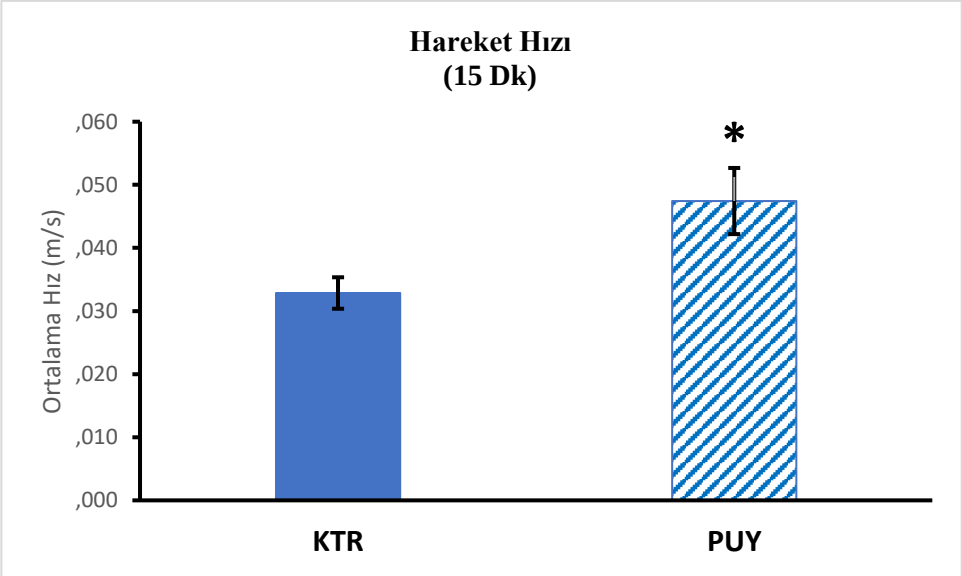
Deneylerde, farelerin 30 dakikalık sürenin ikinci yarısını belirgin olarak dış bölgede geçirmek istedikleri, hatta dış bölgedeki köşe bölgelerinden dışarı çıkmadıkları, zaman zaman alanın köşesinde hareketsiz durdukları gözlendi.

4.1.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grubu



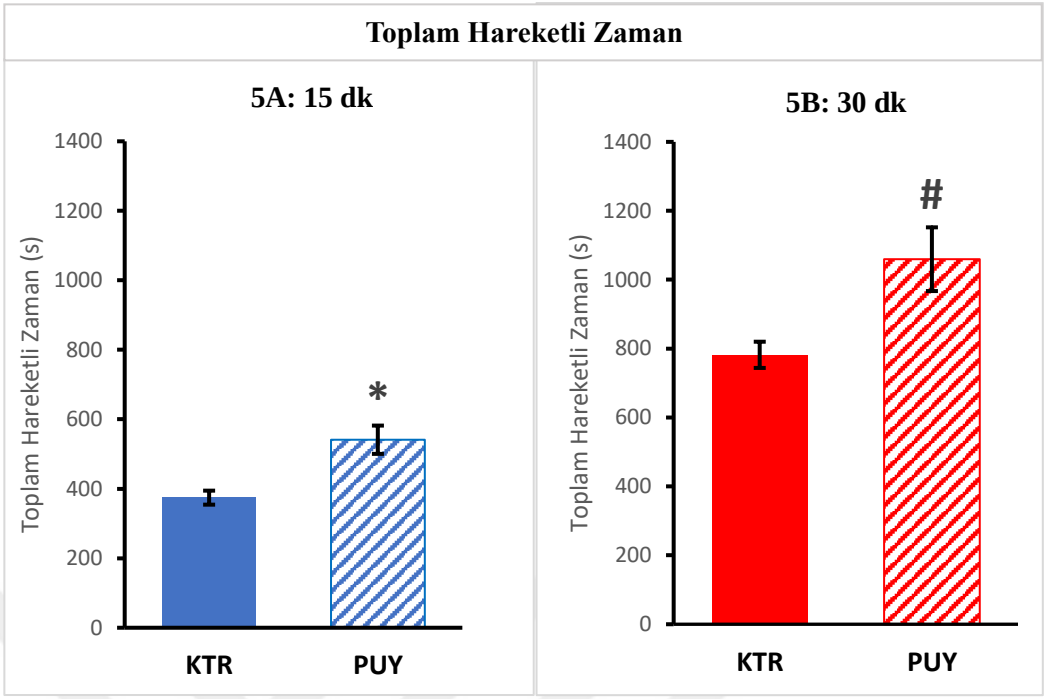
Şekil 3. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında kat edilen toplam mesafe (* p<0,05, KTR grubundan anlamlı olarak farklı, Mann-Whitney U testi)**.** KTR: Kontrol Grubu, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği Grubu, n=7.

Açık alan testinde, ilk 15 dakikada, PUY grubundaki farelerin kat ettiği toplam mesafe KTR grubundan anlamlı olarak daha yüksekti (KTR: 29,5±2,2 m; PUY: 42,7±4,7 m; p<0,05; **Şekil 3**). 30 dakikanın tamamının değerlendirmesinde ise artış eğilimi devam etti ancak anlamlı bir fark oluşmadı (KTR: 61,9±4,2 m; PUY: 82,8±9,6 m).



Şekil 4. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında farelerin ortalama hareket hızı (*p<0,05, KTR grubundan anlamlı olarak farklı, Mann-Whitney U testi)**.** KTR: Kontrol Grubu, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği Grubu, n=7.

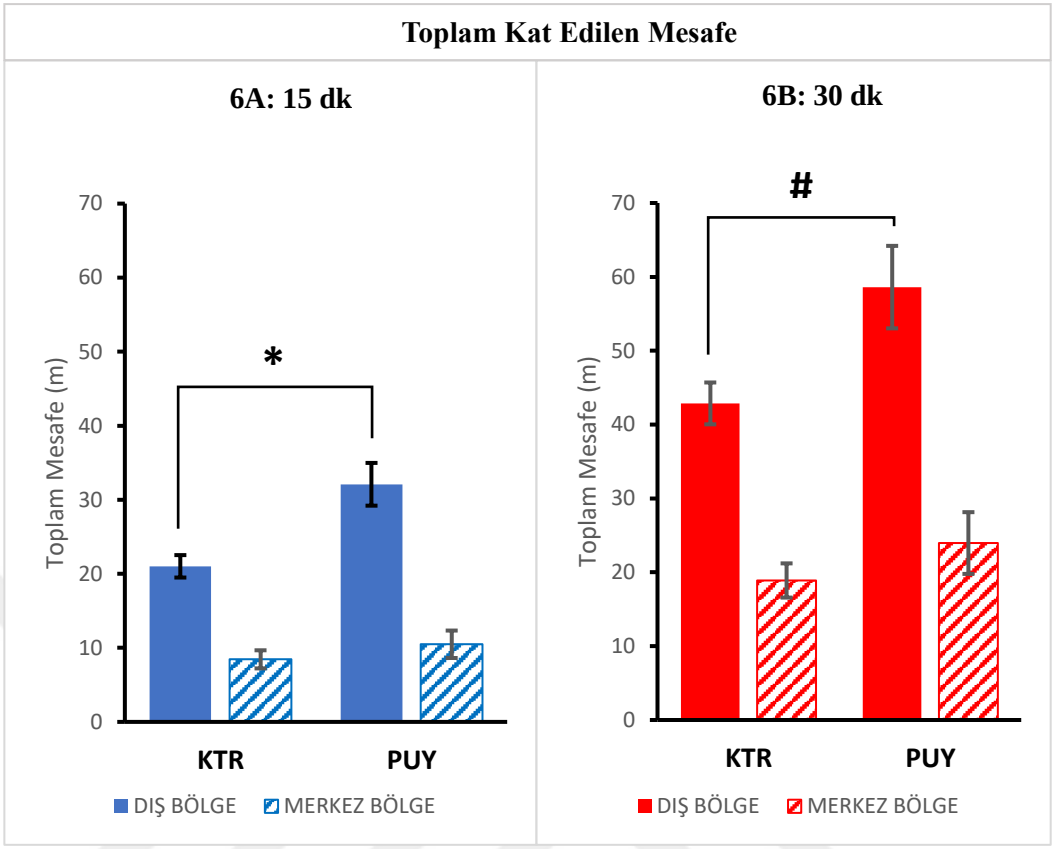
Açık alan testinde PUY grubundaki farelerin ortalama hareket hızları KTR grubundan, ilk 15 dakikada anlamlı olarak daha yüksekti (KTR: 0,033±0,002 m/s; PUY: 0,047±0,005 m/s; p<0,05; **Şekil 4**). 30 dakikanın tamamının değerlendirmesinde ise artış eğilimi devam etti ancak anlamlı fark oluşmadı (KTR: 0,034±0,002 m/s; PUY: 0,046±0,005 m/s).



Şekil 5A. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında farelerin test boyunca toplam hareketli halde geçirdikleri zaman (*p<0,05, KTR grubundan anlamlı olarak farklı, Mann-Whitney U testi). **Şekil 5B.** Açık Alan Testi'nin 30 dakikası boyunca farelerin toplam hareketli halde geçirdikleri zaman. KTR: Kontrol Grubu, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği Grubu, n=7 ($^{\#}$p<0,05, KTR grubundan anlamlı olarak farklı, Mann-Whitney U testi)**.** KTR: Kontrol Grubu, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği Grubu, n=7.

Açık alan testinde PUY grubundaki farelerin toplam hareketli oldukları zaman KTR grubundan, ilk 15 dakikada ve 30 dakika boyunca anlamlı olarak daha yüksekti (İlk 15 dk için KTR: 374,4±20,1 s; PUY: 541,1±40,7 s; p<0.05; Toplam 30 dk için KTR: 781,9±38,1 s; PUY: 1059,5±92,4 s; p<0,05; **Şekil 5**).

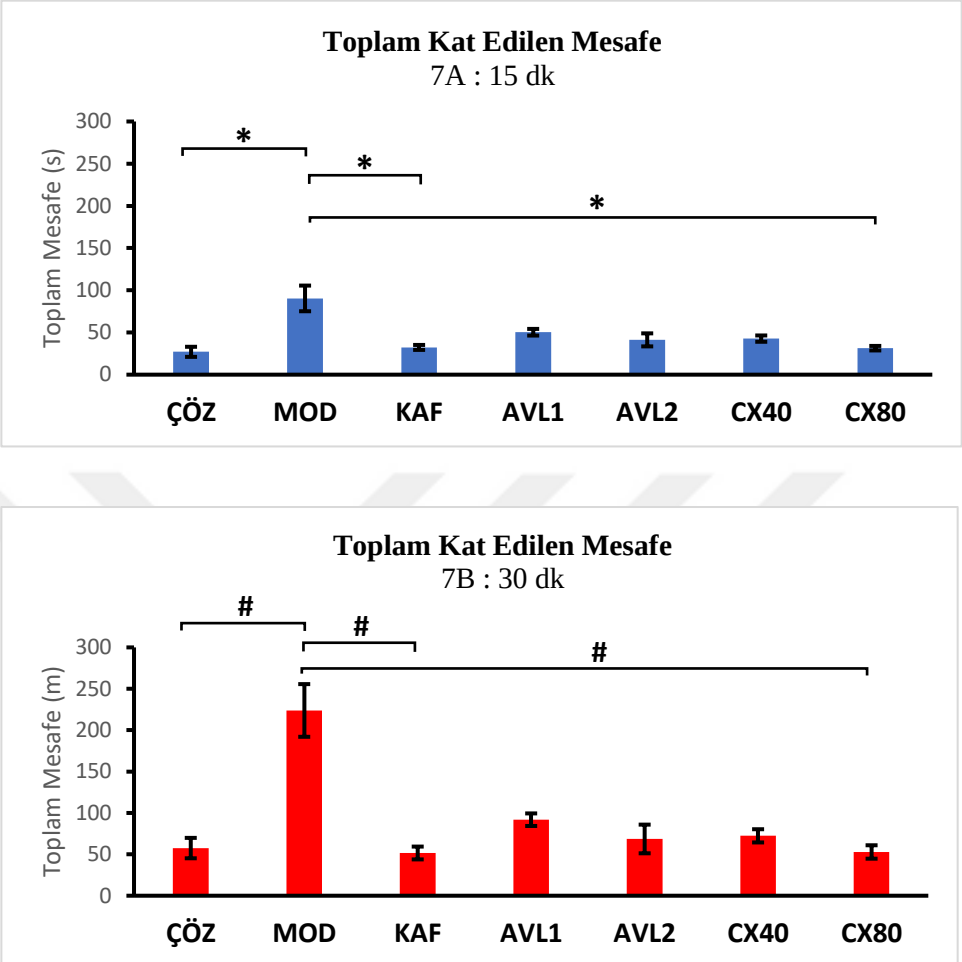
Açık alan testinde KTR ve PUY grubundaki farelerin dış bölgede ve orta bölgede geçirdikleri zamanlar arasında ilk 15 dakikada ve 30 dakika boyunca anlamlı fark oluşmadı.



Şekil 6A. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında dış ve orta bölgelerde kat edilen toplam mesafeler. (*p<0,05, KTR grubunun dış bölgede kat ettiği mesafeden anlamlı olarak farklı, Mann-Whitney U testi). **Şekil 6B.** Açık Alan Testi'nin toplam 30 dakikası boyunca dış ve merkez bölgelerde kat edilen toplam mesafeler ($^{\#}$p<0,05, KTR grubunun dış bölgede kat ettiği mesafeden anlamlı olarak farklı, Mann-Whitney U testi)**.** KTR: Kontrol Grubu, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği Grubu, n=7.

Açık alan testinde PUY grubundaki deney farelerin dış bölgede kat ettikleri toplam mesafe KTR grubundan, hem ilk 15 dakikada hem de 30 dakika boyunca anlamlı olarak daha yüksekti (İlk 15 dk için KTR: 21,0±1,5 m; PUY: 32,1±2,9 m; p<0,05; Toplam 30 dk için KTR: 42,9±2,8 m; PUY: 58,6±5,6 m; p<0,05). Merkez bölgede kat edilen mesafeler arasında ilk 15 dk'da ve 30 dk boyunca anlamlı fark yoktu **(Şekil 6)**.

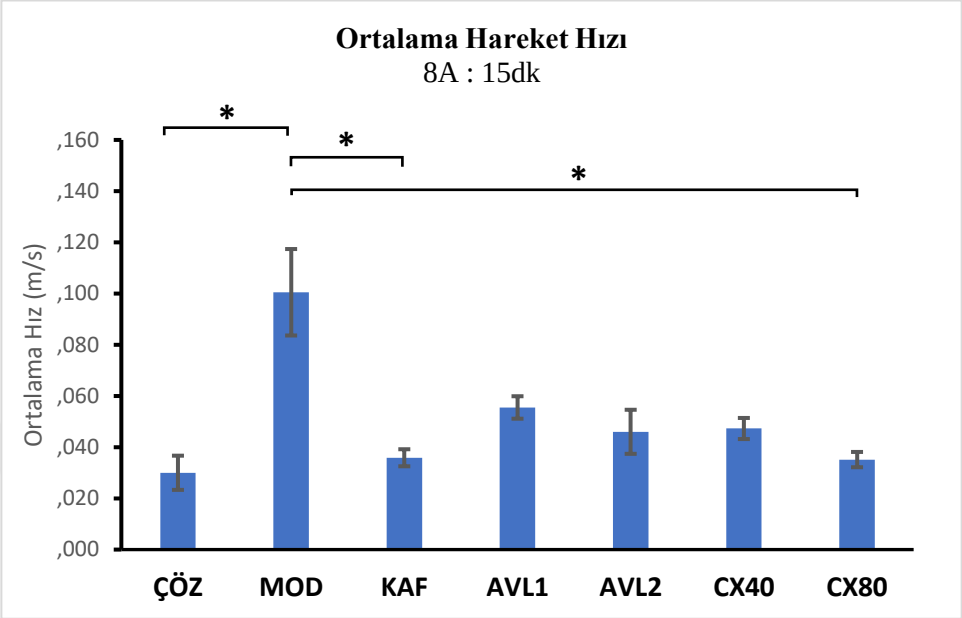
4.1.2. Enjeksiyon Yapılan Gruplar

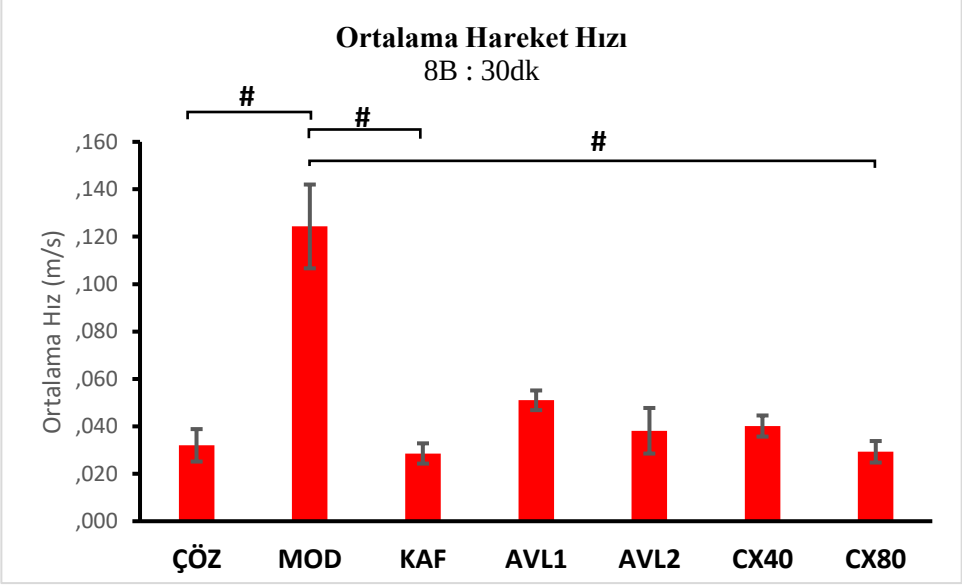


Şekil 7A. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında enjeksiyon yapılan gruplarda toplam kat edilen mesafeler. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (H(6)=22,495, p=0,001; *Post-hoc*: *p<0.05 MOD grubu ÇÖZ, KAF, CX80 gruplarından farklı, Dunn's Test) **Şekil 7B.** Açık Alan Testi'nin toplam 30 dakikası boyunca enjeksiyon yapılan gruplarda toplam kat edilen mesafe. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (H(6)=21,687, p=0.001; *Post-hoc*: #p<0,05 MOD grubu ÇÖZ, KAF, CX80 gruplarından farklı, Dunn's Test) ÇÖZ: Çözücü n=6; MOD: Modafinil, n=6; KAF: Kafein, n=7; AVL1: AVL-3288 1 mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2 mg/kg, n=7; CX40: CX516 40 mg/kg, n=7; CX80: CX516 80 mg/kg, n=7.

Açık alan testinde MOD grubundaki farelerin toplam kat ettikleri mesafe *post-hoc* analizlerde ÇÖZ, KAF ve CX80 gruplarından, hem ilk 15 dakikada hem de 30 dakika boyunca anlamlı olarak daha yüksekti (İlk 15 dk için MOD: 90,4±15,2 m vs. ÇÖZ: 27,1±6,0 m; KAF: 32,3±2,9 m; CX80: 31,4±2,7 m; p<0.05; Toplam 30

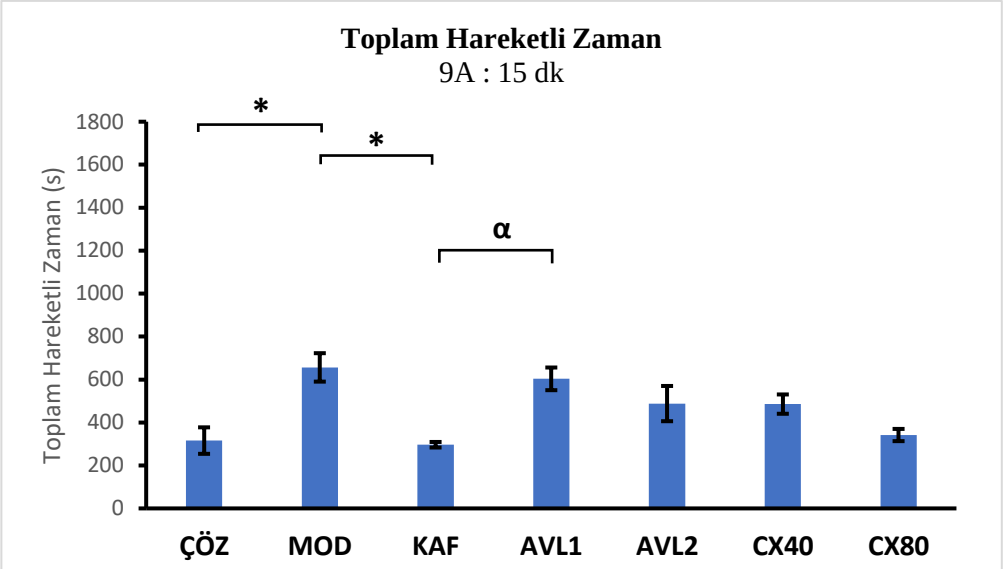
dk için MOD: 223,9±31,8 m vs. ÇÖZ: 57,5±12,3 m; KAF: 51,6±7,7 m; CX80: 52,8±8,1 m; p<0,05; **Şekil 7**).

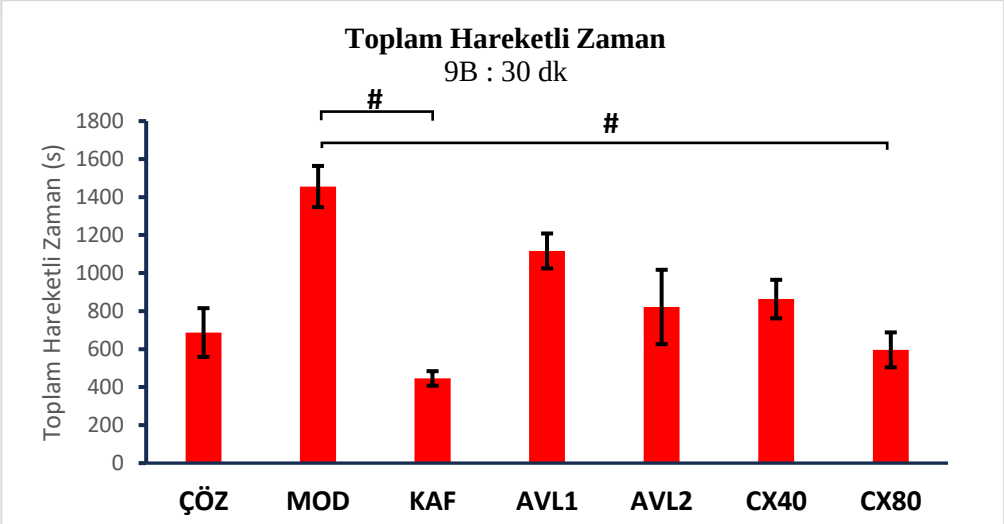




Şekil 8A. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında enjeksiyon yapılan gruplarda ortalama hareket hızları. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (H(6)=22,364, p=0,001; *Post-hoc*: *p<0,05 MOD vs. ÇÖZ, KAF, CX80 Dunn's Test ile) **Şekil 8B.** Açık Alan Testi'nin 30 dakikası boyunca, enjeksiyon yapılan gruplarda ortalama hızlar. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (H(6)=21,687, p=0,001; *Post-hoc*: #p<0,05 MOD vs. ÇÖZ, KAF, CX80 Dunn's Test ile). ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=6; KAF: Kafein, n=7; AVL1: AVL-3288 1 mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2 mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg, n=7.

Açık alan testinde MOD grubundaki deney farelerin ortalama hızları yapılan *post-hoc* analizlerde ÇÖZ, KAF ve CX80 gruplarından, hem ilk 15 dakikada hem de 30 dakika boyunca anlamlı olarak daha yüksekti (İlk 15 dk için MOD: 0,100±0,17 m/s; ÇÖZ: 0,030±0,007 m/s; KAF: 0,036±0,003 m/s; CX80: 0,035±0,003 m/s; Toplam 30 dk için MOD: 0,124±0,018 m/s vs. ÇÖZ: 0,032±0,007 m/s; KAF: 0,029±0,004 m/s; CX80: 0,029±0,004 m/s; $p<0,05$ **Şekil 8**).





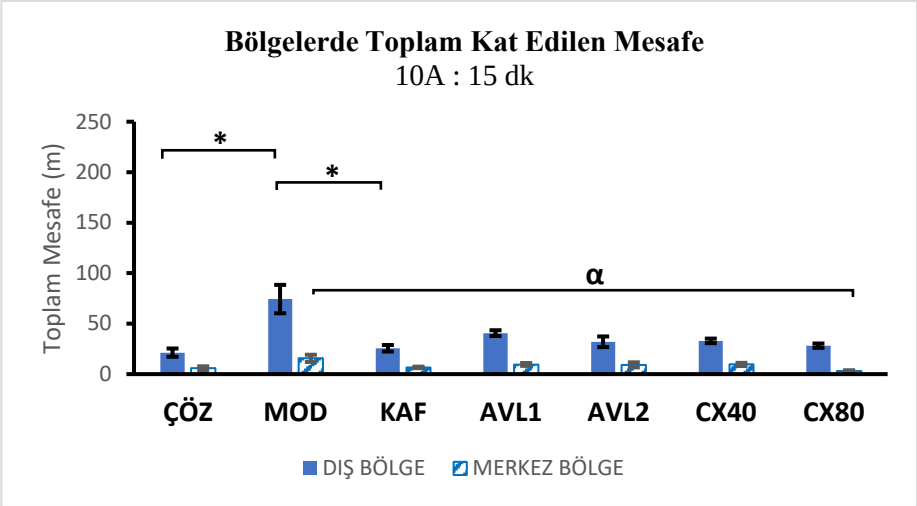
Şekil 9A. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında enjeksiyon yapılan gruplarda toplam hareketli zamanlar. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (H(6)=23,573, p=0,001; *Post-hoc:* *p<0,05 MOD vs. ÇÖZ, KAF; $^{\alpha}$p<0,05 AVL1 vs. KAF, Dunn's Test ile). **Şekil 9B.** Açık Alan Testi'nin 30 dakikası boyunca enjeksiyon yapılan gruplarda toplam hareketli zamanlar. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (H(6)=23,262, p=0,001; *Post-hoc*: $^{\#}$p<0.05 MOD vs. KAF, CX80) ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=6; KAF: Kafein, n=7; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg, n=7.

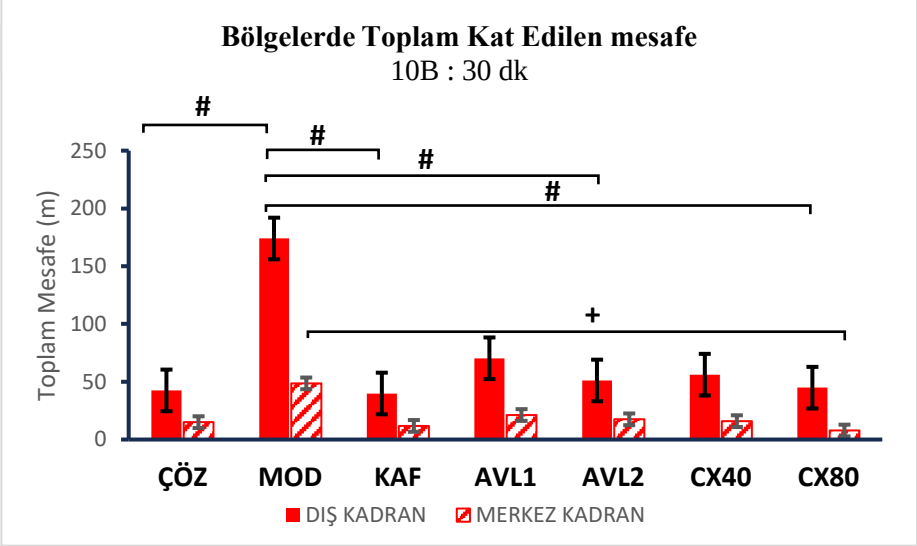
Açık alan testinde MOD grubundaki farelerin toplam hareketli geçirdikleri zaman, yapılan *post-hoc* analizlere göre ilk 15 dakikada ÇÖZ ve KAF gruplarından, 30 dakika boyunca ise KAF ve CX80 gruplarından anlamlı olarak daha yüksekti (İlk 15 dk için MOD: 656,4±66,2 s vs ÇÖZ: 315,7±61,7 s; KAF: 296,4±12,9 s;

P<0.05; Toplam 30 dk boyunca MOD: 1455,7±108,3 s vs. KAF: 445,5±38,3 s; CX80: 596,1±91,8 s; p<0.05; **Şekil 9**).

Açık alan testinde AVL1 grubundaki farelerin toplam hareketli geçirdikleri zaman yapılan *post-hoc* analizlerde ilk 15 dk'da KAF grubundan anlamlı olarak daha yüksekti (İlk 15 dk için AVL1: 603,1±52,8 s vs. KAF: 296,4±12,9 s; p<0.05). Toplam 30 dk değerlendirmede post-hoc analizde AVL1 grubu ile diğer gruplar arasında anlamlı bir fark görülmese de artış eğilimi devam ediyordu **(Şekil 9)**.

Açık alan testinde enjeksiyon yapılan gruplardaki farelerin dış ve orta bölgelerde geçirdikleri zaman ilk 15 dakikada ve 30 dakika boyunca anlamlı olarak değişmedi.



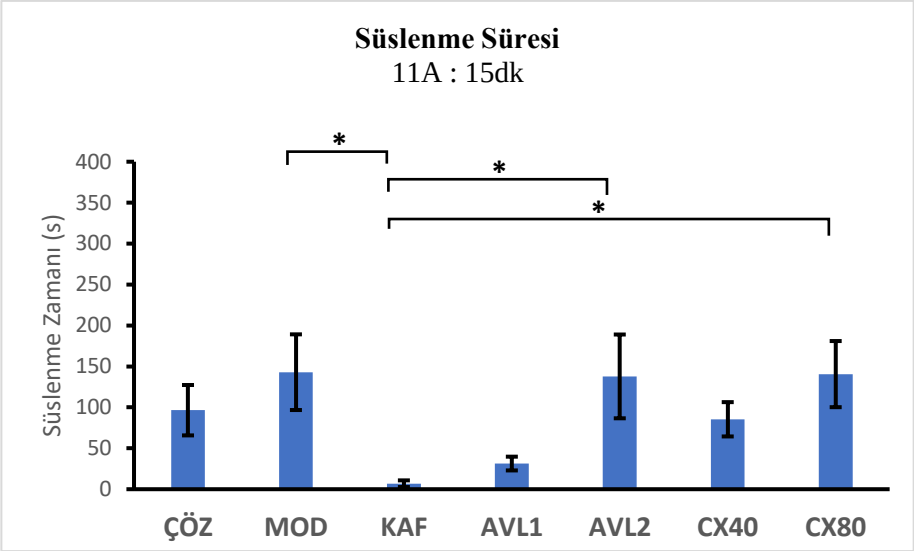


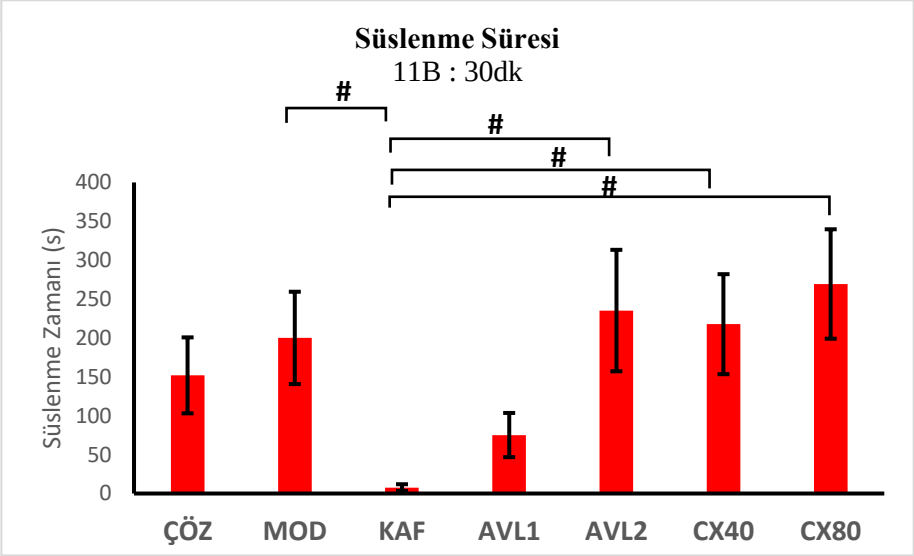
Şekil 10A. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında enjeksiyon yapılan gruplarda dış ve merkez bölgelerdeki kat edilen toplam mesafeler. Dış bölge ve merkez bölge değişkenlerinde gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (Dış Bölge için H(6)=21,044, p=0,002; *Post-hoc*: *p<0,05 MOD vs. ÇÖZ, KAF; Dunn's test ile; Merkez Bölge için: H(6)=15,723, p=0,015; *Post-hoc*: $^{\alpha}$p<0.05 MOD vs. CX80; Dunn's test ile) **Şekil 10B.** Açık Alan Testi'nin 30 dakikası boyunca enjeksiyon yapılan gruplarda dış ve merkez bölgelerdeki kat edilen toplam mesafeler. Dış bölge ve merkez bölge değişkenlerinde gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (Dış Bölge için H(6)=22,121, p=0,001; *Post-hoc*: $^{\#}$p<0,05 MOD vs. ÇÖZ, KAF, AVL2, CX80; Dunn's test ile; Merkez Bölge için: H(6)=13,649, p=0,034; *Post-hoc*: $^{+}$p<0,05 MOD vs. CX80; Dunn's test ile) ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=6; KAF: Kafein, n=7; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg, n=7.

Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında MOD grubunun dış bölgede kat ettiği toplam mesafe, ÇÖZ ve KAF gruplarından anlamlı olarak daha yüksekti (İlk 15 dk

için MOD: 74,3±14,1 m vs. ÇÖZ: 21,3±4,1 m; KAF: 25,6±3,2 m; $p<0,05$; **Şekil 10**). Toplam 30 dakika boyunca ise MOD grubunun dış bölgede kat ettiği toplam mesafe ÇÖZ, KAF, AVL2 ve CX80 gruplarından anlamlı olarak daha yüksekti (Toplam 30 dk dış bölge için MOD: 174,0±29,5 m vs. ÇÖZ:42,5±7,8 m; KAF: 39,8±6,6 m; AVL1: 51,1±12,1 m; CX80 :44,9±6,5 m; $p<0,05$; **Şekil 10**).

Açık Alan Testi'nin ilk 15 dakikasında ve toplam 30 dakika boyunca MOD grubunun merkez bölgede kat ettiği toplam mesafe CX80 grubundan anlamlı olarak daha yüksekti (İlk 15 dk merkez bölge için MOD: 15,6±3,6 m vs. CX80: 3,1±0,7 m; $p<0,05$; Toplam 30 dk orta bölge için MOD: 48,6±9,7 m vs. CX80: 7,8±2,1 m; $p<0,05$; **Şekil 10**)

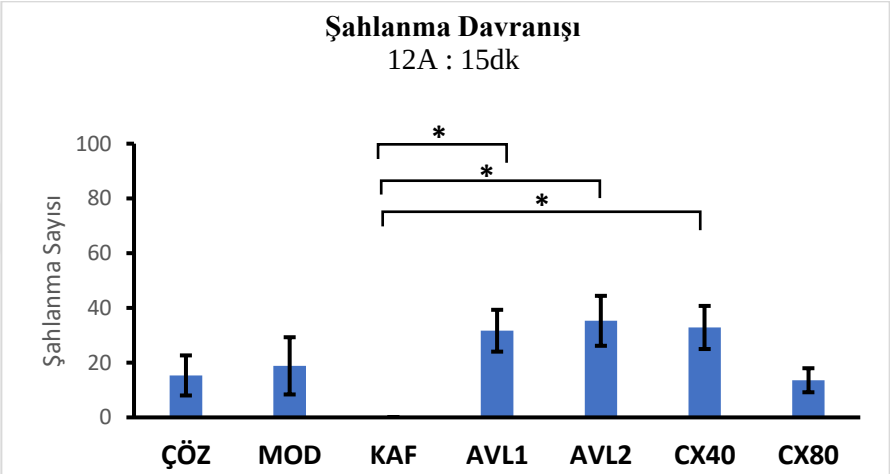


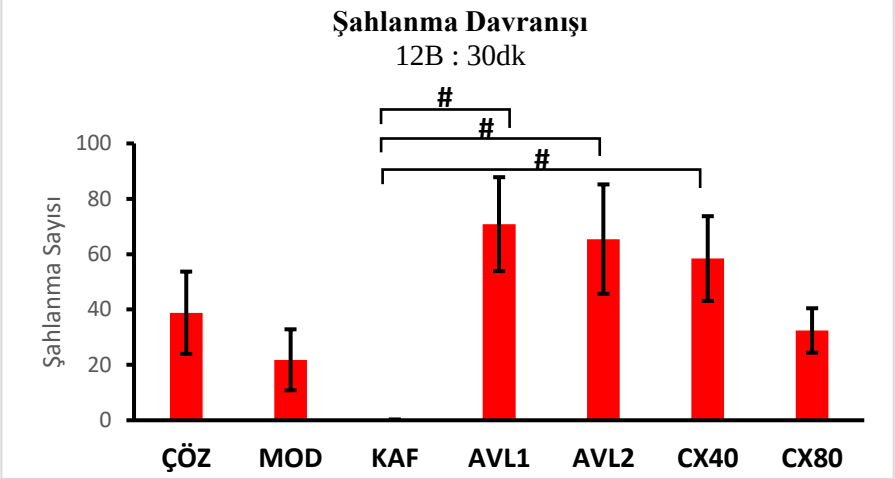


Şekil 11A. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dk'sı boyunca, enjeksiyon yapılan gruplarda toplam süslenme süresi. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur (H(6)=19,950, p=0,003; *Post-hoc*: *p<0,05 KAF vs. MOD, AVL2, CX80, Dunn's Test ile). **Şekil 11B.** Açık Alan Testi'nin toplam 30dk'sı boyunca enjeksiyon yapılan gruplarda toplam süslenme süresi. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur (H(6)=20,421, p=0,002; *Post-hoc:* #p<0,05 KAF vs. MOD, AVL2, CX40, CX80; Dunn's test ile). ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=6; KAF: Kafein, n=7; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg, n=7.

Açık alan testinin ilk 15 dk'sı boyunca, KAF grubunun süslenme yaptığı toplam süre, *post-hoc* analizlerde MOD, AVL2 ve CX80 gruplarına karşı anlamlı olarak daha düşük bulundu (İlk 15 dk için KAF: 6,7±4,1 s vs. MOD: 142,9±46,2 s;

AVL2: 137,8±51,2 s; CX80: 140,6±40,4 s; p<0,05; **Şekil 11**). Toplam 30 dk boyunca ise KAF grubunun süslenme yaptığı süre MOD, AVL2, CX40 ve CX80 gruplarına karşı anlamlı olarak daha düşük bulundu (Toplam 30 dk için KAF: 7,7±4,3 s vs. MOD: 200,1±59,4 s; AVL2: 235,2±78,1 s; CX40: 217,7±64,3 s; CX80: 269,4±70,3 s; p<0,05; **Şekil 11**)



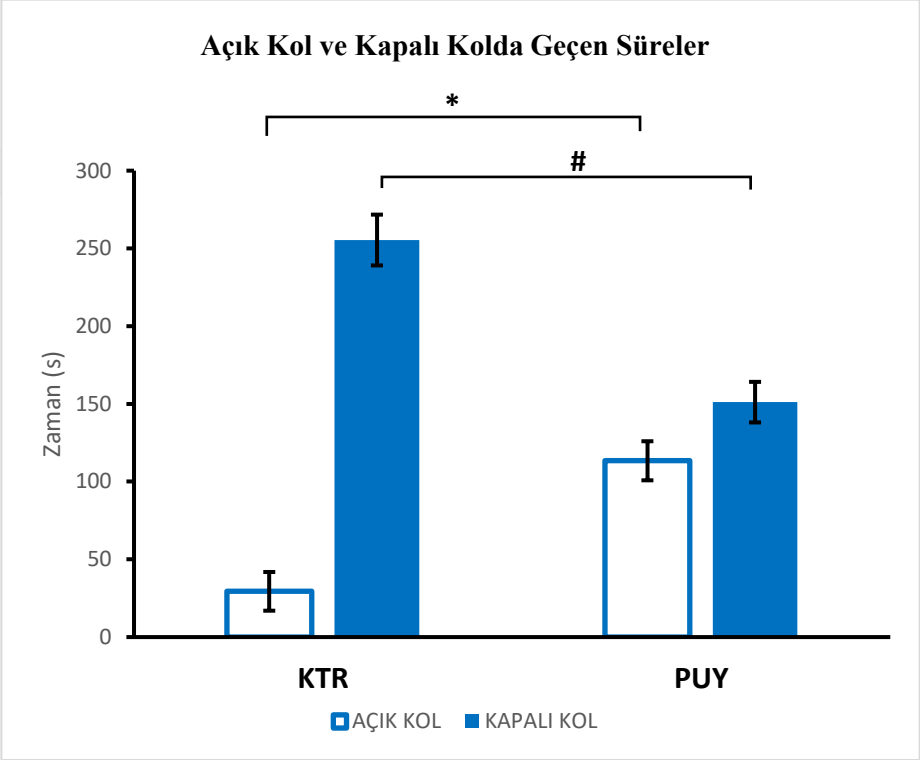


Şekil 12A. Açık Alan Testi'nin ilk 15 dk'sı boyunca, enjeksiyon yapılan gruplarda toplam şahlanma davranışı sayısı. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur (H(6)=22,364, p=0,001; *Post-hoc*: *p<0,05 KAF vs. AVL1, AVL2, CX40, Dunn's Test ile). **Şekil 12B.** Açık Alan Testi'nin toplam 30 dk'sı boyunca, enjeksiyon yapılan gruplarda toplam şahlanma davranışı sayısı. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur (H(6)=22,561, p=0,001; *Post-hoc*: #p<0,05 KAF vs. AVL1, AVL2, CX40, Post-hoc Dunn's Test ile). ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=6; KAF: Kafein, n=7; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg, n=7.

Açık alan testinin ilk 15 dk'sı boyunca ve toplam 30 dk boyunca KAF grubunun şahlanma davranışı sayısı, *post-hoc* analizlerde AVL1, AVL2 ve CX40 gruplarına karşı anlamlı olarak daha az bulunmuştur (**Şekil 12**).

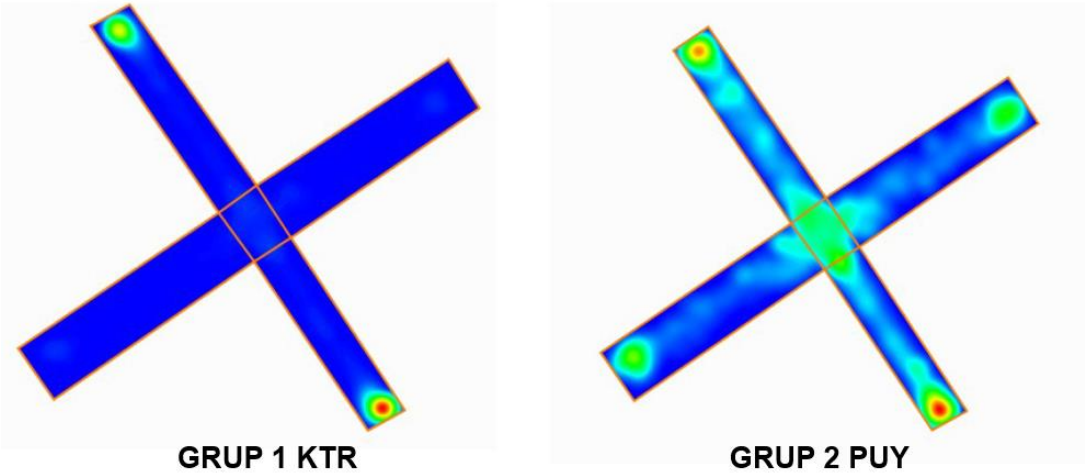
4.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

4.2.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grupları

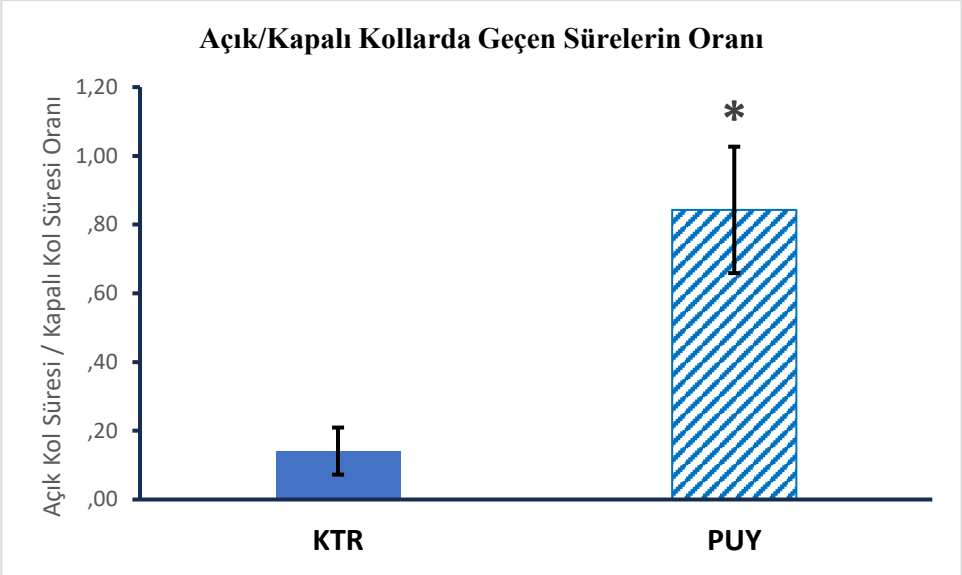


Şekil 13. Yükseltilmiş artı labirent testinde KTR ve PUY gruplarının açık kolda ve kapalı kolda geçirdiği süreler. (*p<0,05 KTR grubunun açık kolda kalma süresinden farklı; #p<0,05 KTR grubunun kapalı kolda kalma süresinden farklı, Mann-Whitney U Test). KTR: Kontrol, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği, n=7

Yükseltilmiş artı labirent testinde PUY grubunun açık kolda geçirdiği süre KTR grubuna göre anlamlı olarak daha fazla, kapalı kolda geçirdiği süre KTR grubuna göre anlamlı olarak daha azdı (Açık alan için KTR: 29,4±12,5 s; PUY: 113,4±12,6 s; p<0,05; **Şekil 13**).

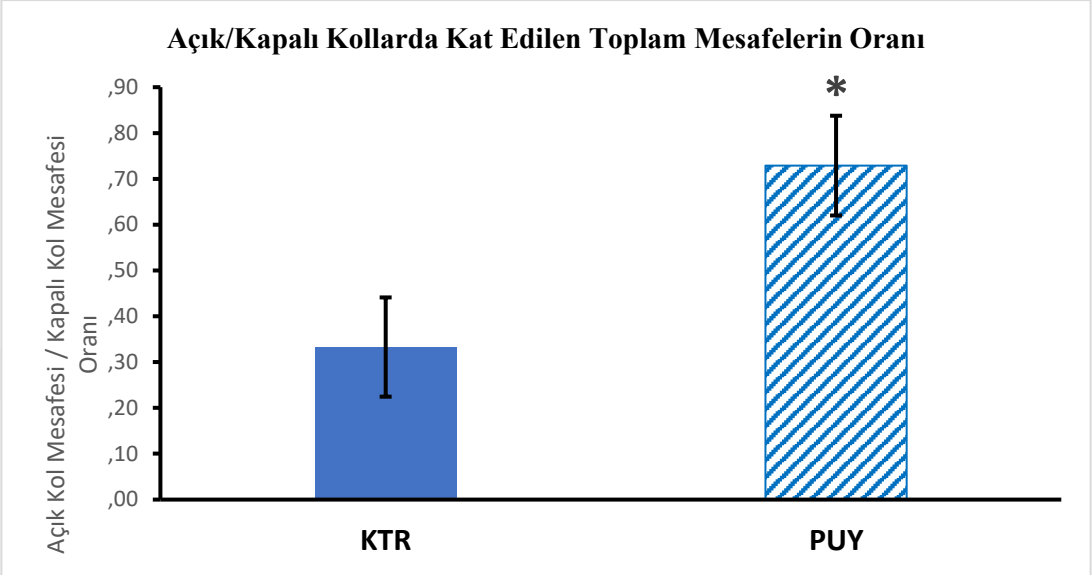


Şekil 14. Yükseltilmiş artı labirent testinde Kontrol (KTR) ve Paradoksal Uyku Yetersizliği (PUY) gruplarının açık kolda ve kapalı kolda geçirdiği sürelerin ısı haritası biçiminde gösterimi (Oransal olarak daha çok zaman geçirilen bölgeler yeşil, sarı ve kırmızı renkle işaretlenmiştir).



Şekil 15. Yükseltilmiş artı labirent testinde KTR ve PUY gruplarının açık kolda geçirdiği sürenin kapalı kolda geçirdiği süreye oranı (*p<0,05 KTR grubundan farklı, Mann-Whitney U Test). KTR: Kontrol, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği, n=7

Yükseltilmiş artı labirent testinde PUY grubunun açık kolda geçirdiği sürenin kapalı kolda geçirdiği süreye oranı KTR grubuna göre anlamlı olarak daha fazlaydı (KTR: 0,141±0,068; PUY: 0,843±0,184; p<0,05; **Şekil 15**).



Şekil 16. Yükseltilmiş artı labirent testinde KTR ve PUY gruplarının açık kolda kat ettiği mesafenin kapalı kolda kat ettiği mesafeye oranı. (*p<0,05 KTR grubundan farklı, Mann-Whitney U Test) KTR: Kontrol, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği, n=7

Yükseltilmiş artı labirent testinde PUY grubunun açık kolda kat ettiği mesafenin kapalı kolda kat ettiği mesafeye oranı KTR grubuna göre anlamlı olarak daha fazlaydı (KTR: 0,333±0,108; PUY: 0,729±0,109; p<0,05; **Şekil 16**).

Yükseltilmiş artı labirent testinde KTR ve PUY grupları arasında şahlanma sayıları arasında anlamlı fark yoktu (KTR: 2,9±1,7; PUY: 4,7±1,2).

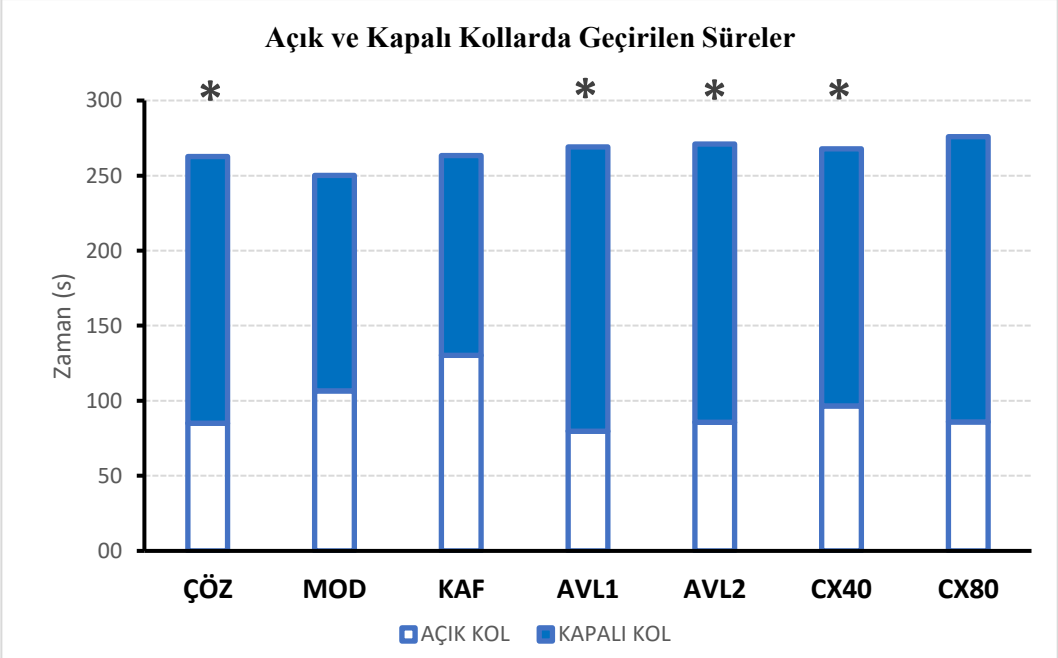
4.2.2. Enjeksiyon Yapılan Gruplar

Yükseltilmiş artı labirent testinde, enjeksiyon yapılan farelerde açık ve kapalı kolda bulunma zamanları arasında anlamlı fark yoktu (Açık Kolda Bulunma Zamanı: H(6)=6,775; p=0,342. Kapalı Kolda Bulunma Zamanı: H(6)=9,588; p=0,143).

Yükseltilmiş artı labirent testinde enjeksiyon yapılan farelerde açık kolda geçirdiği sürenin kapalı kolda geçirdiği süreye oranı değişkeninde gruplar arasında anlamlı fark yoktu (H(6)=7,161; p=0,306).

Yükseltilmiş artı labirent testinde enjeksiyon yapılan farelerde açık kolda kat ettiği mesafenin kapalı kolda kat ettiği mesafeye oranı değişkeninde gruplar arasında anlamlı fark yoktu (H(6)=10,418; p=0,108).

Yükseltilmiş artı labirent testinde enjeksiyon yapılan farelerde şahlanma davranışı sayıları arasında gruplar arasında anlamlı fark vardı (H(6)=18,666; p=0,005). *Post-hoc* analizde MOD ve ÇÖZ grubu arasında anlamlı fark mevcuttu (MOD=0,143±0,143; ÇÖZ:6,83±2,0; p<0,05).

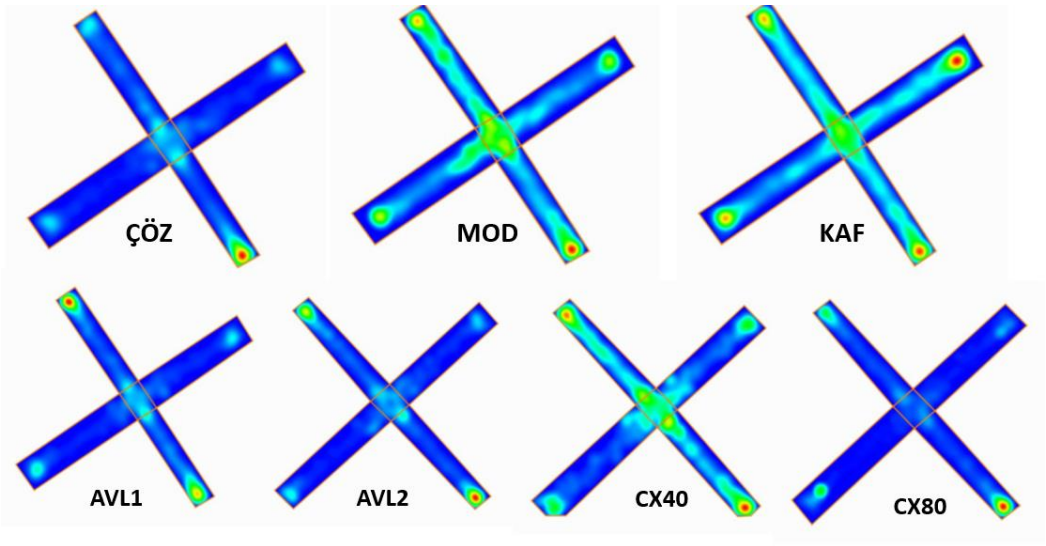


Şekil 17. Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kendi içinde açık ve kapalı kollarda geçirdiği süreler. (*p<0,05 Açık Kolda geçirilen zamandan farklı, Mann-Whitney U Testi). ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=7; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1 mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40 mg/kg, n=7; CX80: CX516 80 mg/kg, n=7.

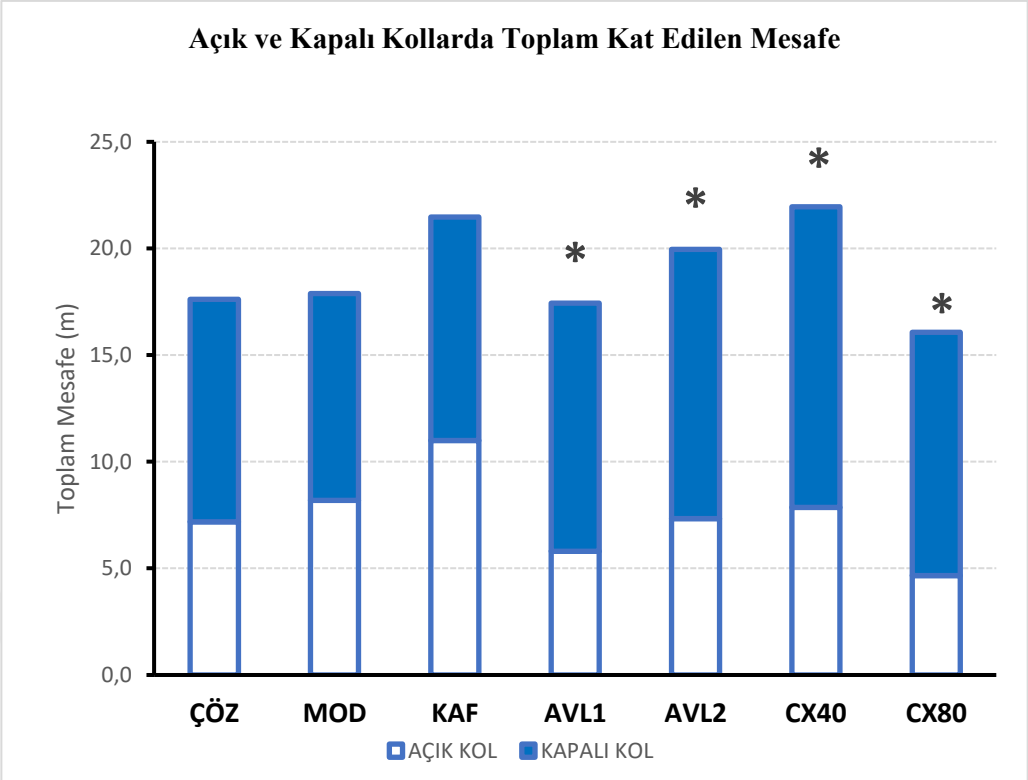
Gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kolda geçirilen zaman, açık kolda geçirilen zamana göre ÇÖZ, AVL1, AVL2, CX40 gruplarında anlamlı olarak farklıydı (**Şekil 17, Tablo 2**).

Tablo 2. Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kendi içinde açık ve kapalı kollarda geçirdiği zamanlar

	AÇIK KOLDA GEÇİRİLEN SÜRE (s)	KAPALI KOLDA GEÇİRİLEN SÜRE (s)	p-değeri
ÇÖZ*	**85,1±17,0**	**177,6±19,4**	**0,016**
MOD	106,7±22,8	143,4±20,7	0,225
KAF	130,4±15,3	133,0±13,6	0,873
AVL1*	**79,8±10,8**	**189,2±13,7**	**0,004**
AVL2	**85,6±11,2**	**185,5±13,6**	**0,002**
CX40*	**96,5±11,1**	**171,3±11,9**	**0,004**
CX80	86,0±28,6	189,9±30,4	0,064
*p<0,05, Açık alanda ve kapalı kolda geçirilen süreler anlamlı olarak farklı.			



Şekil 18. Yükseltilmiş artı labirent testinde enjeksiyon yapılan grupların açık kolda ve kapalı kolda geçirdiği sürelerin ısı haritası biçiminde gösterimi (Oransal olarak daha çok zaman geçirilen bölgeler yeşil, sarı ve kırmızı renkle işaretlenmiştir). MOD ve KAF gruplarında açık kollarda (sol alt ve sağ üst köşeler) kırmızı ve sarı bölgelerin görsel fazlalığına dikkat ediniz.



Şekil 19. Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kendi içinde açık ve kapalı kollarda kat ettiği mesafeler. (*p<0,05 Açık kolda geçirilen zamandan farklı, Mann-Whitney U Test). ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=7; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1 mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40 mg/kg, n=7; CX80: CX516 80 mg/kg, n=7.

Gruplar kendi içinde değerlendirildiğinde yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kolda kat edilen mesafe, açık kolda kat edilen mesafeye göre AVL1, AVL2, CX40, C80 gruplarında anlamlı olarak farklıydı (**Şekil 19, Tablo 3**).

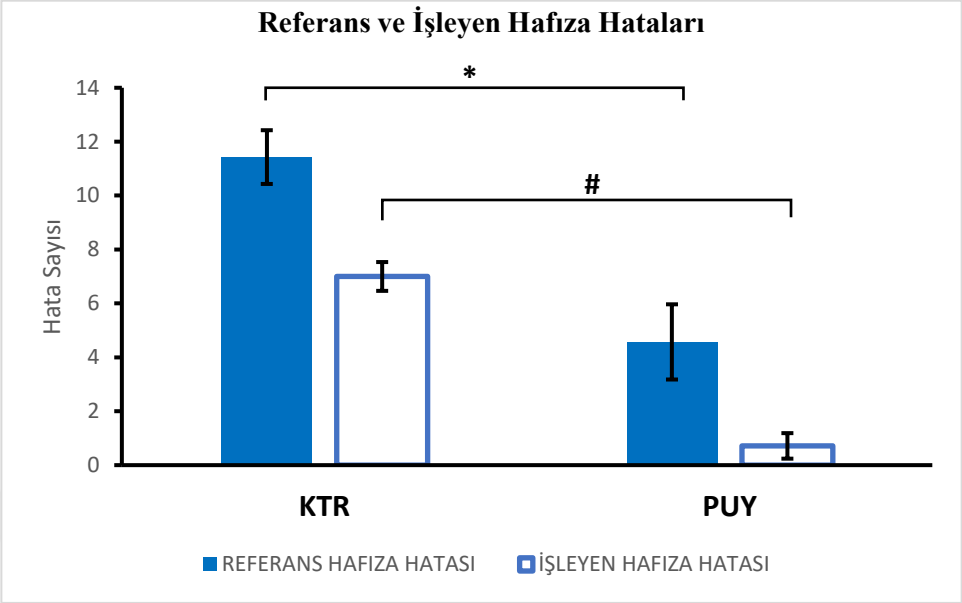
Tablo 3. Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kendi içinde açık ve kapalı kollarda kat ettiği mesafeler

	AÇIK KOLDA KAT EDİLEN MESAFE (m)	**KAPALI KOLDA KAT EDİLEN MESAFE (m)**	**p-değeri**
ÇÖZ	7,2±1,5	10,4±1,2	0,15
MOD	8,2±2,8	9,7±3,2	0,749
KAF	11,0±1,3	10,5±1,4	1
AVL-1*	**5,8±0,9**	**11,6±1,7**	**0,037**
AVL-2*	**7,3±0,7**	**12,6±1,6**	**0,018**
CX40*	**7,9±0,8**	**14,1±0,8**	**0,003**
CX80*	**4,7±1,1**	**11,4±2,3**	**0,048**
*p<0,05, Açık kolda ve Kapalı kolda kat edilen mesafeler anlamlı olarak farklı.			

4.3. Sekiz Kollu Radyal Labirent Testi

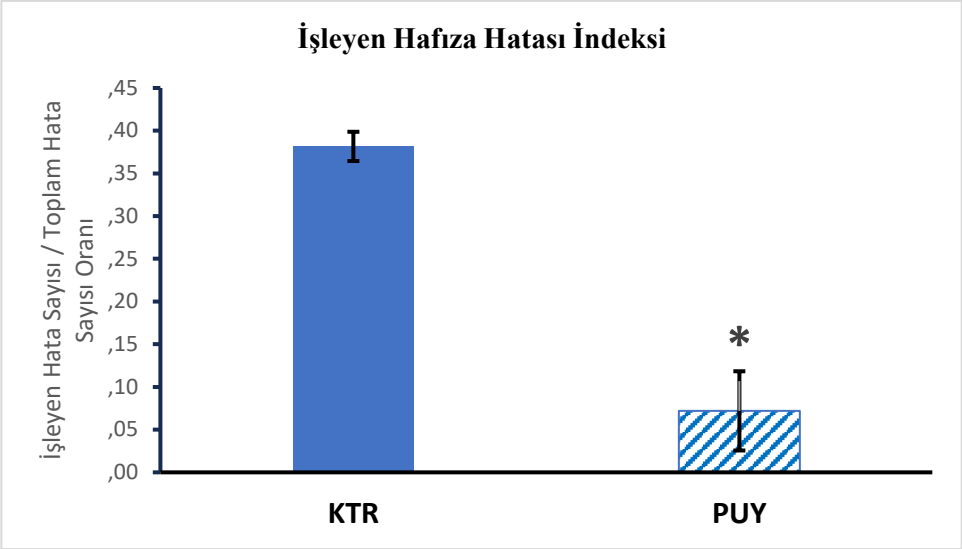
Çalışmamızda, referans hata ve işleyen hafıza hatası değişkenlerinin yanında, fareler hangi türden hatayı yapmaya daha çok eğimli sorusunun cevabını aramak için, bu hata sayıları, toplam hata sayılarına bölünerek referans hata indeksi (referans hata / toplam hata) ve işleyen hafıza hatası indeksi (işleyen hafıza hatası / toplam hata) değişkenleri ortaya konulmuştur.

4.3.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grupları



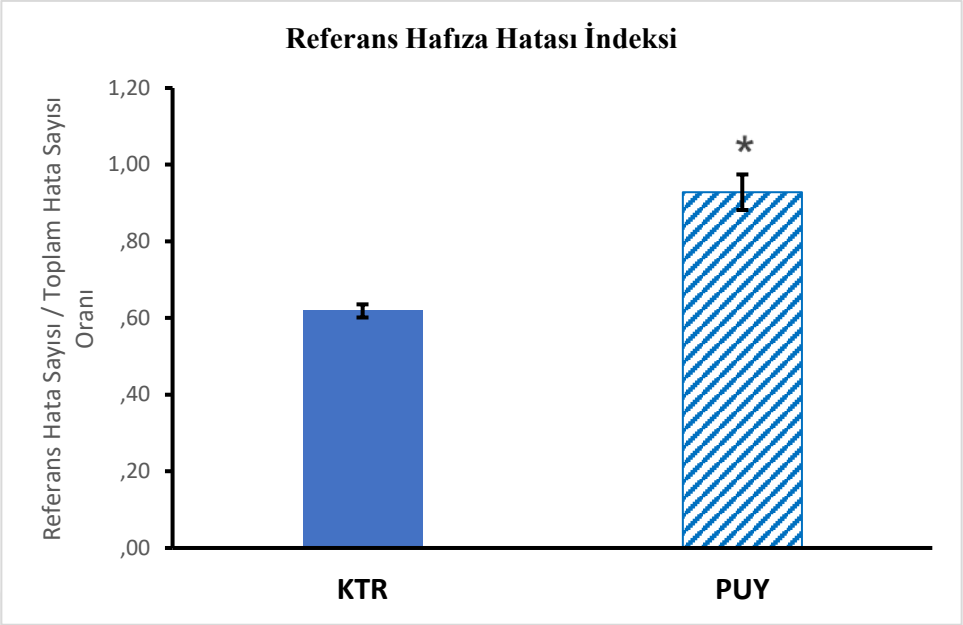
Şekil 20. Sekiz kollu radyal labirent düzeneğinde KTR ve PUY gruplarının yaptıkları referans hafıza hatası ve işleyen hafıza hatası sayıları (*p<0,05 KTR grubunun yaptığı referans hafıza hatasından farklı; #p<0,05 KTR grubunun yaptığı işleyen hafıza hatasından farklı, Mann Whitney U test). KTR: Kontrol, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği, n=7.

Sekiz kollu radyal labirent düzeneğinde PUY grubunun yaptığı referans hafıza hatası ve işleyen hafıza hatası, KTR grubuna göre anlamlı olarak daha azdı. (Referans hafıza hatası sayısı KTR: 11,4±1,0; PUY: 4,6±1,4; p<0,05; İşleyen hafıza hatası sayısı KTR: 7,0±0,5; PUY: 0,7±0,5; p<0,05; **Şekil 20**)



Şekil 21. Sekiz kollu radyal labirent düzeneğinde KTR ve PUY gruplarının yaptıkları işleyen hafıza hatası sayısının toplam hata sayısına olan oranı (*p<0,05, KTR grubunun yaptığı referans hafıza hatasından farklı, Mann Whitney U test). KTR: Kontrol, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği, n=7.

Sekiz kollu radyal labirent düzeneğinde PUY grubunun yaptığı referans hafıza hatasının toplam hata sayısına oranı, KTR grubundan anlamlı olarak daha azdı (KTR: 0,38±0,02; PUY: 0,07±0,05; p<0,05; **Şekil 21**).



Şekil 22. Sekiz kollu radyal labirent düzeneğinde KTR ve PUY gruplarının yaptıkları referans hafıza hatası sayısının toplam hata sayısına oranı (*p<0,05 KTR grubunun yaptığı referans hafıza hatasından farklı, Mann Whitney U test). KTR: Kontrol, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği, n=7.

Sekiz kollu radyal labirent düzeneğinde PUY grubunun yaptığı referans hafıza hatasının, toplam hata sayısına oranı KTR grubundan anlamlı olarak daha fazlaydı (KTR: 0,62±0,02; PUY: 0,93±0,05; p<0,05; **Şekil 22**).

Bu sonuçlar yorumlanırken, farelerin lokomotor aktivite düzeylerinin de göz önünde bulundurulması hedeflendiğinden toplam kat edilen mesafeler de hesaplanmıştır. KTR grubunun toplam kat ettiği mesafe PUY grubuna göre anlamlı olarak daha fazlaydı (KTR: 24,0±2,0; PUY: 9,0±2,6; p<0,05).

4.3.2 Modafinil Dahil Enjeksiyon Yapılan Gruplar

MOD grubunun referans hafıza hatası sayısı diğer gruplara göre çok belirgin bir artış gösterdi, ayrıca yine bu grubun yemler etrafında geçirdiği süre diğer gruplara göre çok belirgin olarak düşük çıktı **(Tablo 4)**. Bu nedenle modafinil grubunun yemlere ilgi göstermediği sonucuna ulaşıldı. Kalori kısıtlaması uygulamasına rağmen yemlere ilgi göstermemesinden dolayı, MOD grubu sekiz kollu radyal labirent testi değerlendirmesinden çıkarıldı. Karşılaşılan bu durum tartışma bölümünde ayrıca değerlendirilmiştir.

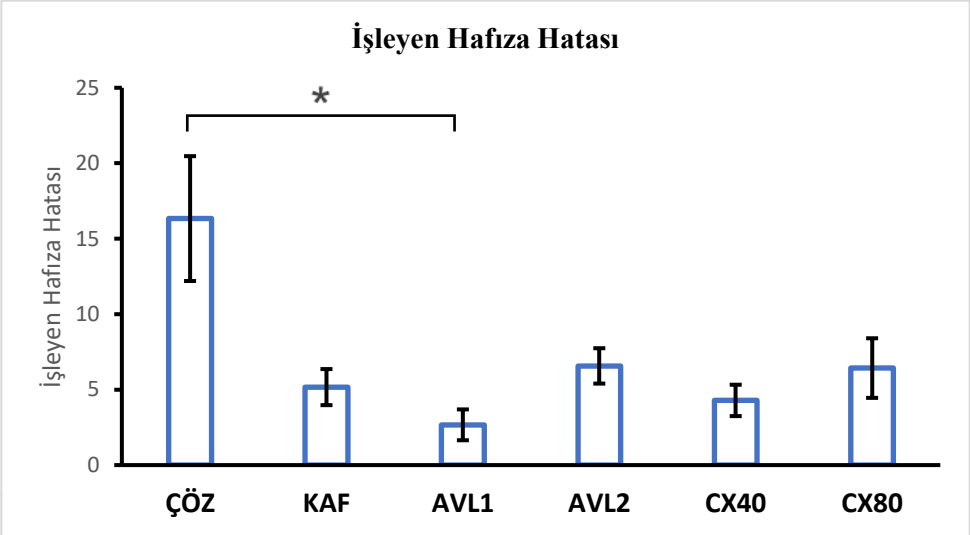
Tablo 4. Modafinil dahil, enjeksiyon yapılan grupların yaptığı referans hata sayısı ve yemlerin etrafında geçirdikleri süreler

	REFERANS HATA SAYISI	YEMLER ETRAFINDA GEÇİRİLEN SÜRE (s)
ÇÖZ	6,3±0,6	71,3±16,0
MOD	**26,6±1,8***	**13,0±1,4****
KAF	6,3±1,7	35,2±5,7
AVL1	6,0±0,9	90,9±15,5
AVL2	9,7±0,6	41,8±9,2
CX40	9,9±1,2	53,9±10,4
CX80	10,4±1,5	68,7±10,5

*Kruskal Wallis ile gruplar arasında anlamlı fark mevcut (H(6)=19,453, p=0,003). Yapılan *Post-hoc* Dunn's test ile MOD grubunun referans hafıza hatası ÇÖZ, KAF ve AVL1 gruplarına göre anlamlı olarak daha yüksek (p<0,05).

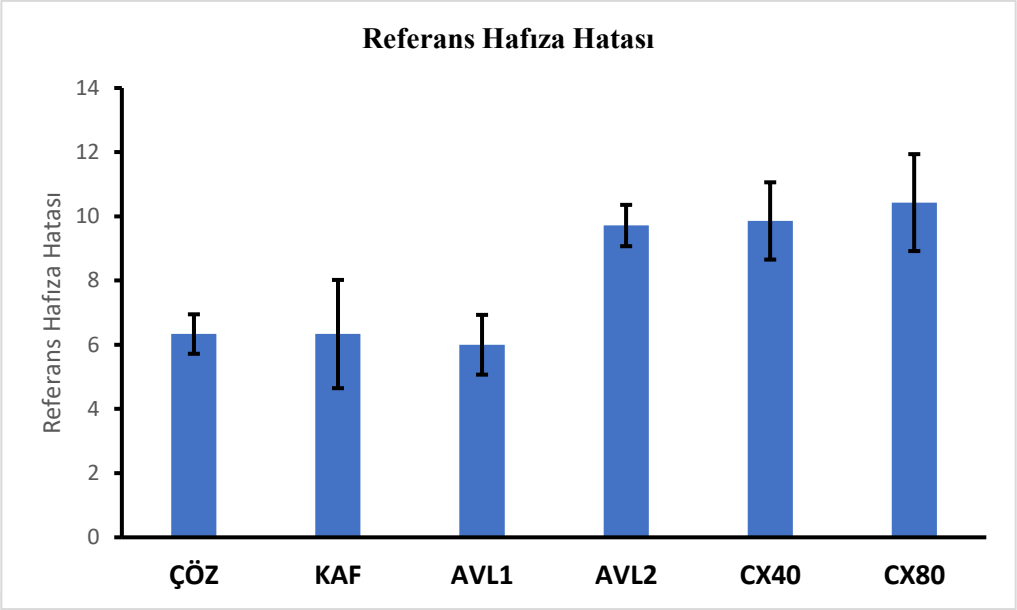
** Kruskal Wallis ile gruplar arasında anlamlı fark mevcut (H(6)=20,000, p=0,003). Yapılan *Post-hoc* Dunn's test ile MOD grubunun yemlerin etrafında geçirdiği süre ÇÖZ, AVL1 ve CX80 gruplarına göre anlamlı olarak daha düşük. (p<0,05) *ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=7; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1 mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2 mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.*

4.3.2 Modafinil Hariç Enjeksiyon Yapılan Gruplar



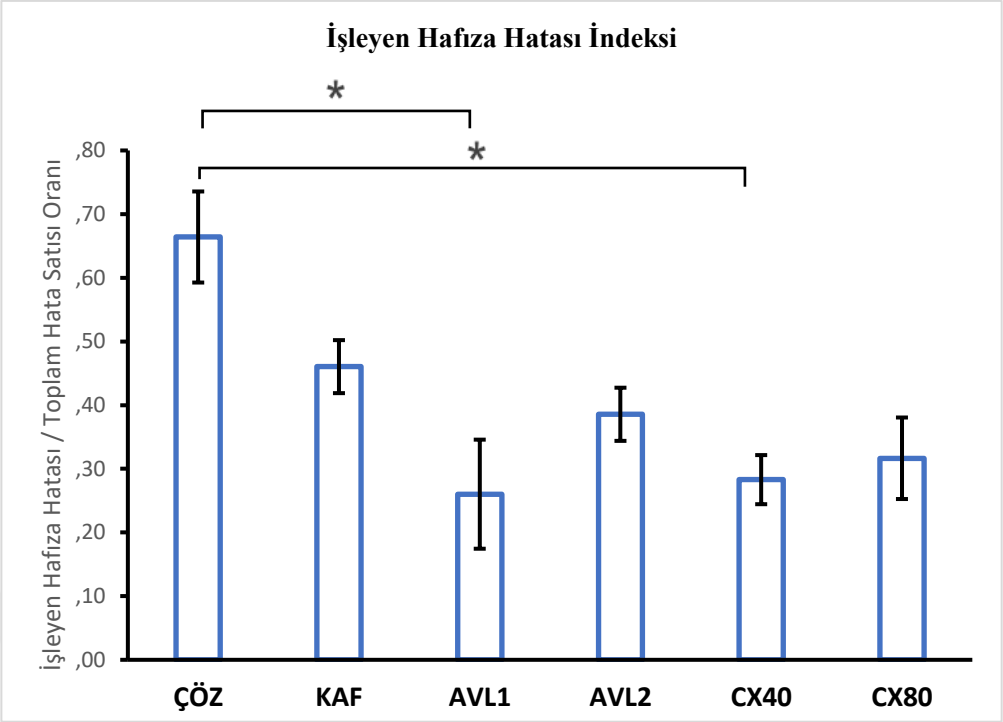
Şekil 23. Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç enjeksiyon yapılan gruplar arasında, işleyen hafıza hatası sayıları. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur (H(5)=12,644, p=0,027; *Post-hoc:* *p<0,05, ÇÖZ grubundan farklı, Dunn's test ile) ÇÖZ: Çözücü, n=6; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1 mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2 mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.

Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç enjeksiyon yapılan gruplar arasında, AVL1 grubunun yaptığı işleyen hafıza hatası ÇÖZ grubundan anlamlı olarak daha azdı **(Şekil 23)**.



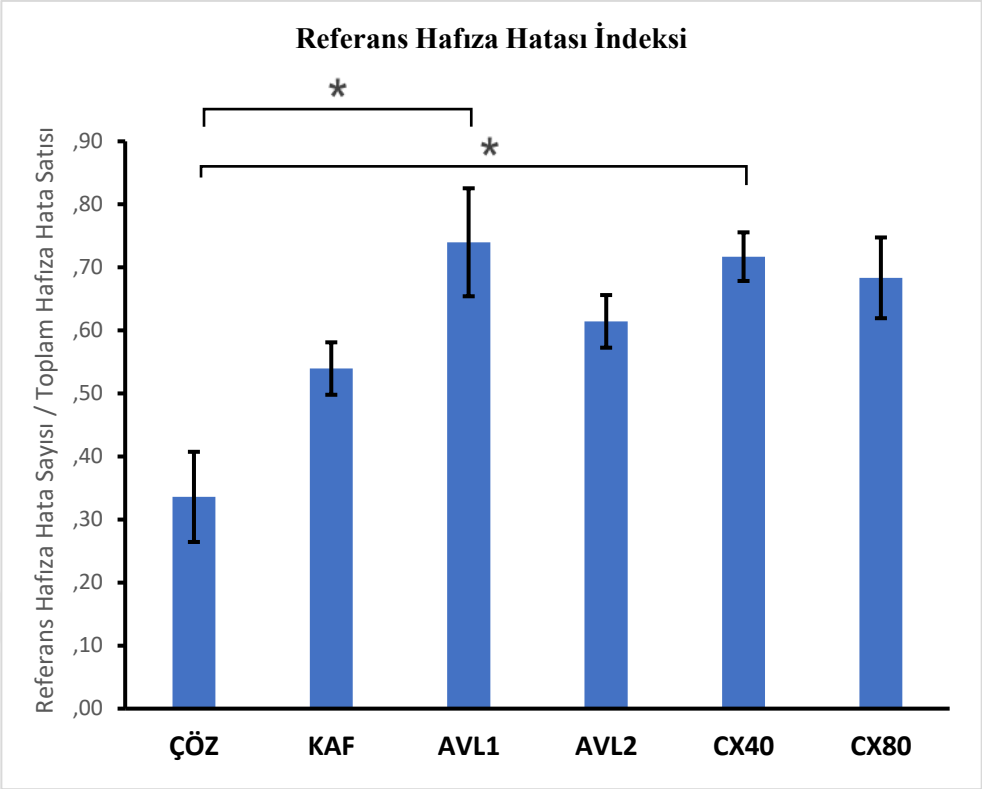
Şekil 24. Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç enjeksiyon yapılan gruplar arasında, referans hafıza hatası sayıları. (Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur, ancak *post-hoc* analizde fark izlenmemiştir, H(5)=13,266; p=0,021, Kruskal Wallis). Çözücü, n=6; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1 mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2 mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.

Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç enjeksiyon yapılan gruplar arasında, referans hafıza hatası sayısı değişkeninde gruplar arasında anlamlı fark vardı. Ancak *post-hoc* analizde anlamlı fark gözlenmedi (**Şekil 24)**.



Şekil 25. Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç enjeksiyon yapılan gruplar arasında, işleyen hafıza hatası sayısının toplam yapılan hafıza hatası sayısına oranı. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur (H(5)=16,181, p=0,006; *Post-hoc:* *p<0,05, ÇÖZ grubundan farklı, Dunn's test ile). Çözücü, n=6; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1 mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2 mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.

Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç enjeksiyon yapılan gruplar arasında işleyen hafıza hatası sayısının toplam yapılan hafıza hatası sayısına oranı, AVL1 ve CX40 gruplarında ÇÖZ grubuna göre anlamlı olarak daha azdır (AVL1: 0,26±0,09; CX40: 0,28±0,04 vs. ÇÖZ: 0,66±0,07; p<0,05; **Şekil 25**).



Şekil 26. Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç, enjeksiyon yapılan gruplar arasında, referans hafıza hatası sayısının toplam yapılan hafıza hatası sayısına oranı. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur (H(5)=16,181, p=0,006; *Post-hoc:* *p<0,05, ÇÖZ grubundan farklı, Dunn's test). Çözücü, n=6; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1 mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2 mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.

Sekiz kollu radyal labirent testinde MOD hariç, enjeksiyon yapılan gruplar arasında referans hafıza hatası sayısının toplam hafıza hatası sayısına oranı, AVL1 ve CX40 gruplarında ÇÖZ grubuna göre anlamlı olarak daha çoktu. (AVL1: 0,74±0,09; CX40: 0,72±0,04 vs. ÇÖZ: 0,34±0,07; p<0,05; **Şekil 26**)

4.4. Barnes Labirenti Testi

4.4.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grupları

KTR ve PUY arasında hedef kaçış deliğini deneme sayıları arasında anlamlı fark bulunmadı (KTR: 2,4±0,7 vs. PUY: 5±1,2).

PUY grubunun diğer delikleri deneme sayısı, KTR grubuna göre anlamlı olarak daha fazlaydı (KTR: 12,9±3,0 vs PUY: 25,2±2,3; $p<0,05$).

KTR grubu ve PUY grubu arasında hedef delik çeyrek kadranında ve diğer çeyrek kadranlarda geçirdikleri süreler arasında anlamlı fark bulunmadı (Hedef kadran KTR: 40,9±13,0 s; PUY: 51,2±6,0 s; Diğer kadranlar KTR: 49,1±13,0 s; PUY: 38,8±6,0 s).

KTR grubu ve PUY grubu arasında hedef kaçış deliğine test boyunca olan ortalama uzaklık değişkeninde anlamlı fark bulunmadı (KTR: 0,41±0,08 m; PUY: 0,34±0,04 m).

KTR grubu ve PUY grubu arasında hedef kaçış deliğini ilk kez deneyene kadar geçen süreler arasında anlamlı fark bulunmadı (KTR: 42,5±14,2 s; PUY: 29,6±8,4 s).

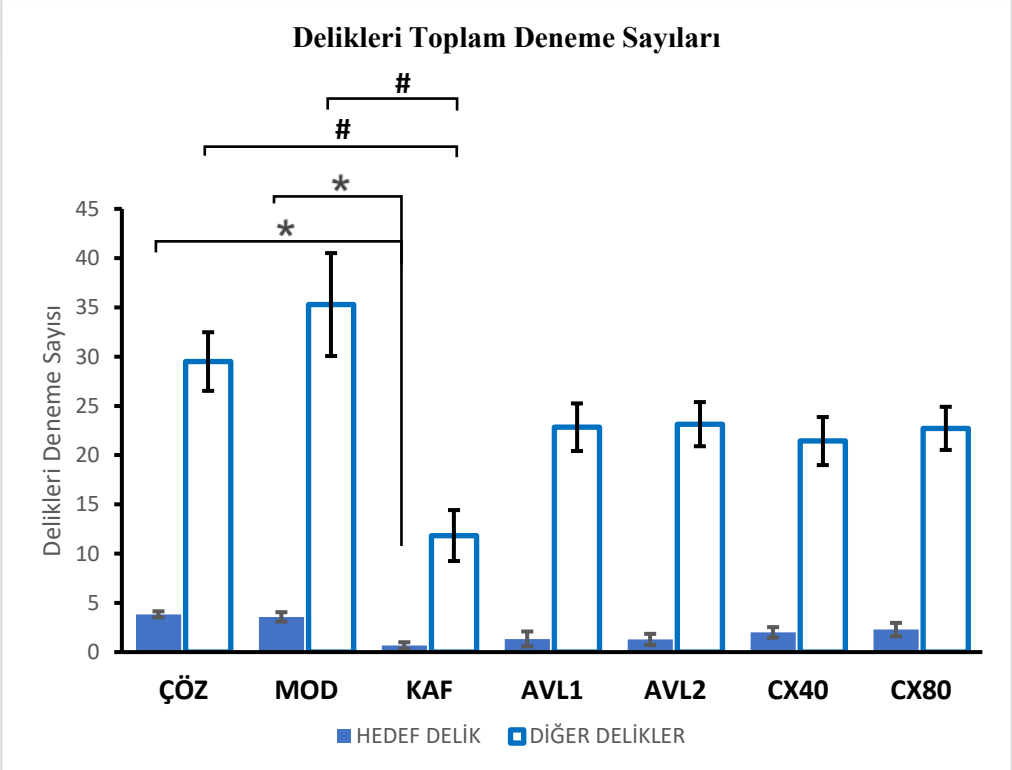
KTR grubu ve PUY grubu arasında hedef kaçış deliğini ilk kez deneyene kadar kat edilen mesafeler arasında anlamlı fark bulunmadı (KTR: 1,0±0,21 m; PUY: 1,7±0,4 m)

KTR grubu ve PUY grubu arasında hedef kaçış deliğini ilk kez denemeden önce diğer delikleri deneme sayıları arasında anlamlı fark bulunmadı (KTR: 8,4±3,2; PUY: 7,9±2,8).

KTR grubu ve PUY grubu arasında hedef kaçış deliğini deneme sayısının diğer delikleri deneme sayısına oranları arasında anlamlı fark bulunmadı (KTR: 0,23±0,10; PUY: 0,24±0,09).

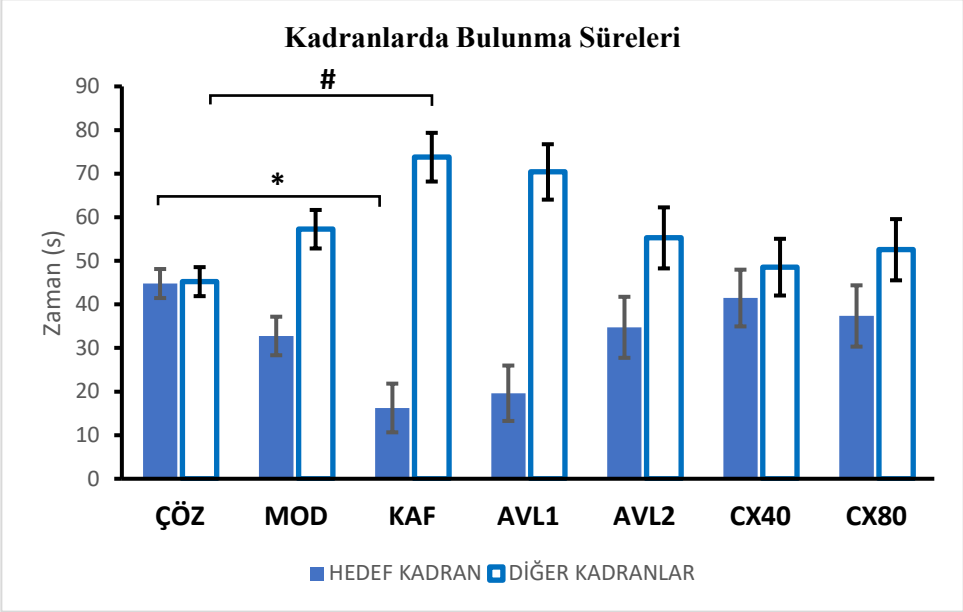
KTR grubu ve PUY grubu arasında hedef kaçış deliğini denerken geçirilen sürenin, diğer delikleri denerken geçirilen süreye oranları arasında anlamlı fark bulunmadı (KTR: 0,28±0,10; PUY: 0,33±0,16).

4.4.2. Enjeksiyon Yapılan Gruplar



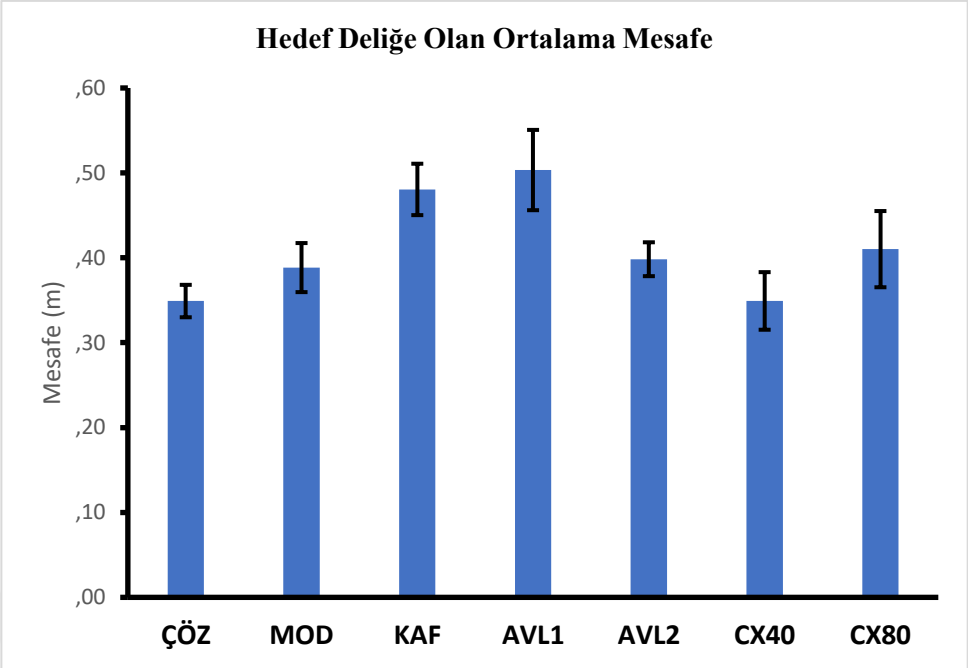
Şekil 27. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğini deneme sayıları ve diğer delikleri deneme çalışma sayıları. Hem hedef deliği deneme sayısı değişkeninde hem de diğer delikleri deneme sayısı değişkeninde gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (H(6)=19,359, p=0,004; *Post-hoc:* *p<0,05, ÇÖZ ve MOD gruplarının hedef kaçış deliği deneme sayısından farklı; H(6)=19,128p=0,004; *Post-hoc:* #p<0,05, ÇÖZ ve MOD gruplarının diğer delikleri deneme sayısından farklı, Dunn's test ile) ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=7; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.

Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda *post-hoc* analizde KAF grubunun hedef kaçış deliğini deneme sayısı ve diğer delikleri deneme sayısı ÇÖZ ve MOD gruplarından anlamlı olarak daha azdı (Hedef deliği deneme sayısı KAF: 0,7±0,3; ÇÖZ: 3,8±0,3; MOD: 3,6±0,5; $p<0,05$; Diğer delikleri deneme sayısı KAF: 11,8±2,6; ÇÖZ: 29,5±3,0; MOD: 32,8±4,4; $p<0;05$; **Şekil 27**).



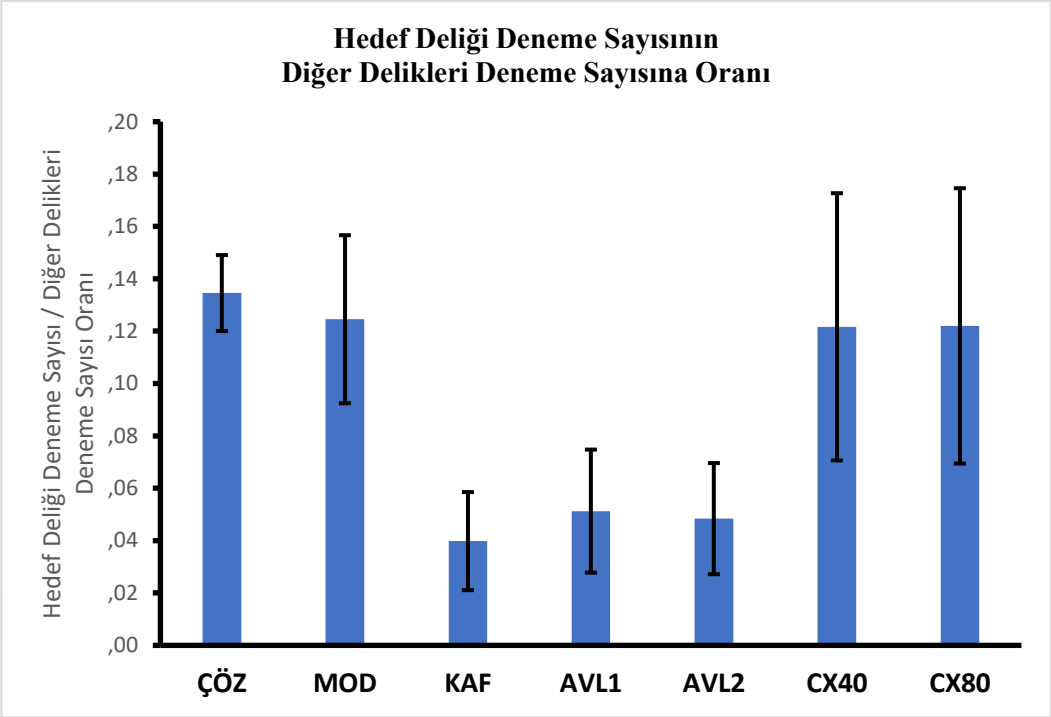
Şekil 28. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğinin bulunduğu çeyrek kadranda geçirilen süre ve diğer çeyrek kadranlarda geçirilen süreler. Gruplar arasında hem hedef çeyrek kadranda geçirilen zaman değişkeninde hem de diğer kadranlarda geçirilen zaman değişkeninde anlamlı değişiklik mevcuttur ($H(6)=15,249$, $p=0,018$; *Post-hoc:* *$p<0,05$, ÇÖZ grubunun hedef deliğin bulunduğu çeyrek kadranda geçirdiği süreden farklı; $H(6)=15,206$, $p=0,019$; *Post-hoc:* $^{\#}p<0,05$, ÇÖZ grubunun diğer çeyrek kadranlarda geçirdiği süreden farklı, Dunn's test) ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=7; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.

Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda yapılan *post-hoc* analizde, KAF grubunun hedef kaçış deliğinin bulunduğu çeyrek kadranda geçirdiği süre ÇÖZ grubundan anlamlı olarak daha az, diğer çeyrek kadranlarda geçirdiği süre anlamlı olarak daha fazlaydı. (Hedef çeyrek kadran KAF: 16,2±5,6 s; ÇÖZ: 44,8±3,3 s; $p<0,05$; Diğer çeyrek kadranlar: KAF: 73,7±5,6 s; ÇÖZ: 45,2±3,3 s; $p<0,05$; **Şekil 28**).



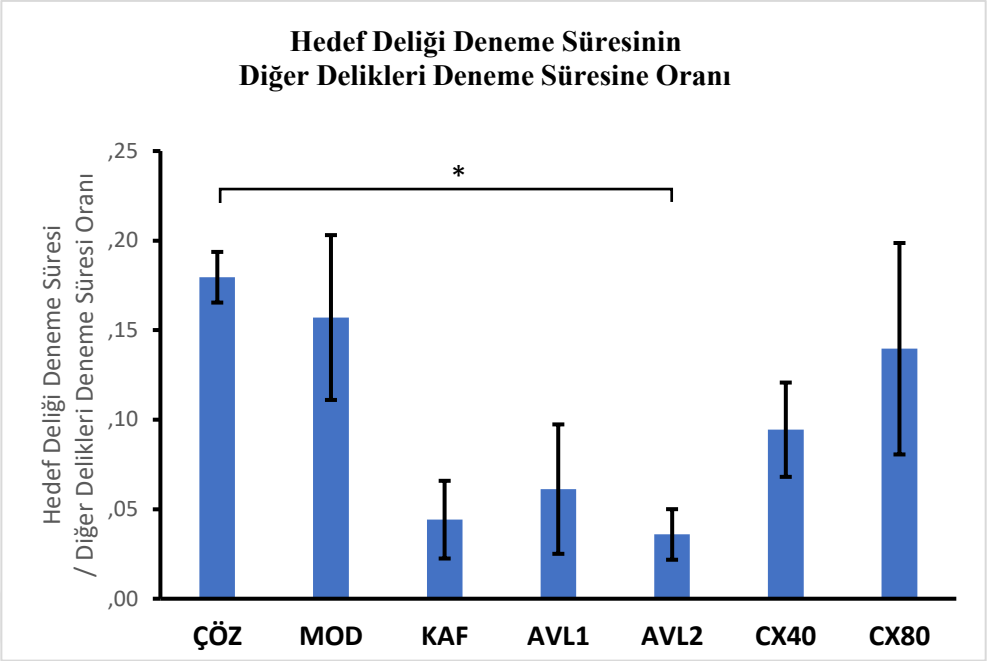
Şekil 29. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğine test boyunca olan ortalama mesafeler. (Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur, ancak *post-hoc* analizde anlamlı fark izlenmemiştir H(6)=13,985; p=0,03, Kruskal Wallis) ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=7; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.

Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğine test boyunca olan ortalama mesafeler değişkeninde gruplar arasında anlamlı fark mevcuttu ancak *post-hoc* analizlerde anlamlı fark bulunamadı. Ortalama değerlere bakıldığında KAF ve AVL-1 gruplarında artış eğilimi olduğu görülmekteydi. (ÇÖZ: 0,38±0,018 m; KAF: 0,51±0,029 m; AVL1: 0,54±0,047 m; **Şekil 29**)



Şekil 30. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğini deneme sayısının diğer delikleri deneme sayısına oranı. (Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur, ancak *post-hoc* analizlde anlamlı fark izlenmemiştir, H(6)=13,280; p=0,039; Kruskal Wallis) ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=7; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.

Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan farelerde hedef kaçış deliğini deneme sayısının diğer delikleri deneme sayısına oranı değişkeninde gruplar arasında anlamlı fark mevcuttu ancak *post-hoc* analizlerde anlamlı fark bulunamadı. Değerlere bakıldığında KAF, AVL1 ve AVL2 gruplarında azalma eğilimi görülmekteydi. (ÇÖZ: 0,13±0,015; KAF: 0,04±0,019; AVL1: 0,05±0,023; AVL2: 0,05±0,021; **Şekil 30**)

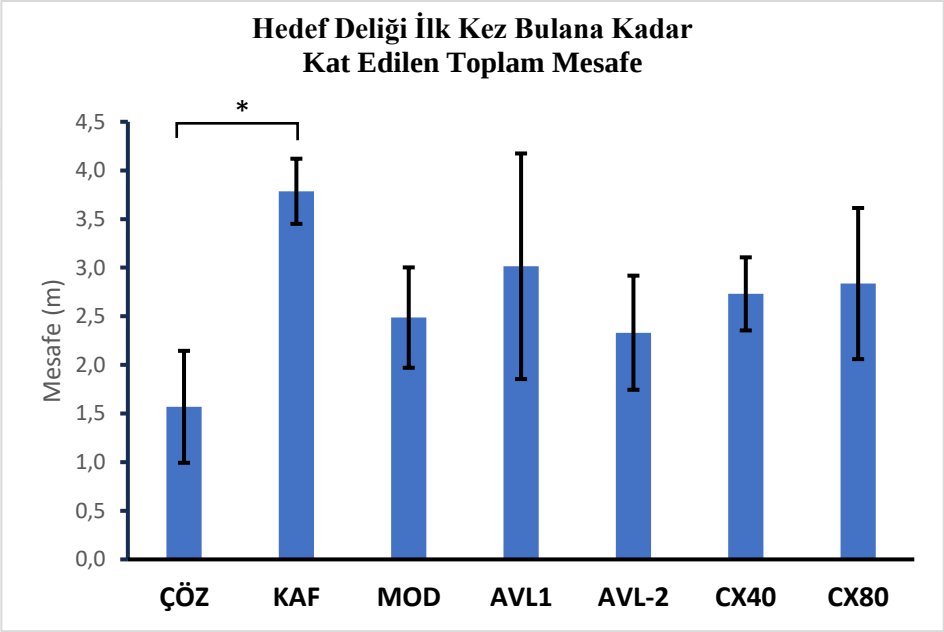


Şekil 31. Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğini deneme süresinin diğer delikleri deneme süresine oranı. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (H(6)=17,361, p=0,008; *Post-hoc:* *p<0,05*:* ÇÖZ grubundan farklı, Dunn's test). ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=7; KAF: Kafein, n=6; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=6; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=7; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=7.

Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda *post-hoc* analizlerde AVL2 grubunun hedef kaçış deliğini deneme süresinin diğer delikleri deneme süresine oranı ÇÖZ grubuna göre anlamlı olarak daha düşüktü (AVL2: 0,04±0,014; ÇÖZ: 0,18±0,014; p<0,05; **Şekil 31**)

KAF grubunda ve AVL2 grubunda, 90 saniye içinde önemli sayıda fare kaçış deliğine ulaşamamıştır. Kaçış deliğini ilk kez bulana kadar geçen süre ve kaçış deliğini ilk kez bulana kadar kat edilen mesafe değişkenleri değerlendirilirken deney hayvanı sayısı KAF için n=3'e, AVL1 için n=5'e AVL2 için n=4'e, CX80 için n=6'ya düşmüştür. Hedef deliği bulamayan farelerin kaçış deliğini ilk kez bulana kadar geçirdiği süre 90 saniye olarak varsayılarak ikinci kez bir değerlendirme daha yapılmıştır.

Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan gruplarda, sadece hedef deliği bulan fareler dahil edilerek yapılan ilk analizde hedef kaçış deliğini ilk kez bulana kadar geçen süreler arasında anlamlı fark bulunmadı (H(6)=5,973, p=0,426). Hedef deliği bulamayan farelerin kaçış deliğini ilk kez bulana kadar geçirdiği süre 90 saniye olarak hesaplanarak ikinci kez yapılan değerlendirmede de gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı (H(6)=14,009, p=0,82).

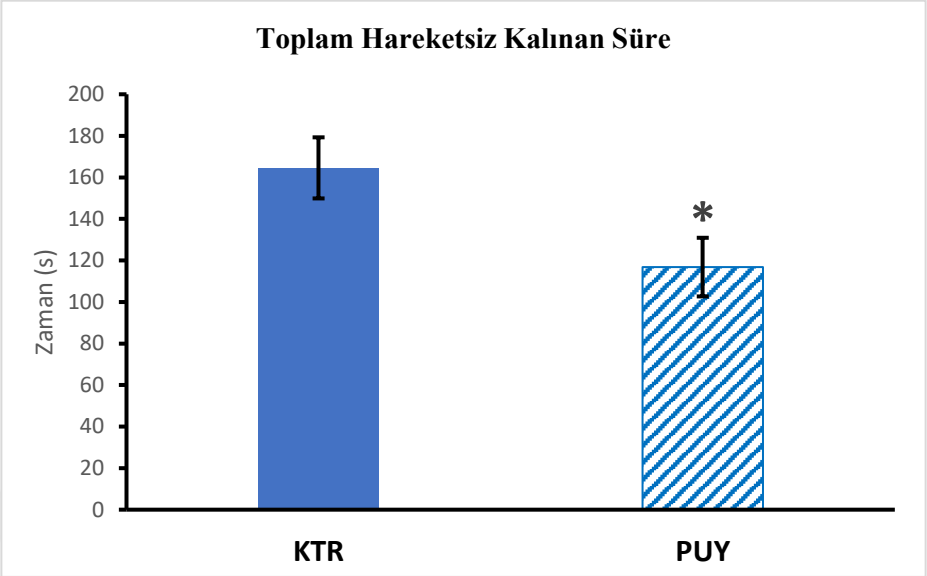


Şekil 32. Barnes labirentinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğini ilk kez bulana kadar kat edilen mesafeler. Gruplar arasında anlamlı fark mevcuttur. (H(6)=13,728, p=0,033; *Post-hoc:* *p<0,05, ÇÖZ grubundan farklı, Dunn's test) ÇÖZ: Çözücü, n=6; MOD: Modafinil, n=7; KAF: Kafein, n=3; AVL1: AVL-3288 1mg/kg, n=5; AVL2: AVL-3288 2mg/kg, n=4; CX40: CX516 40mg/kg, n=7; CX80: CX516 80mg/kg n=6.

Barnes labirenti testinde enjeksiyon yapılan farelerde *post-hoc* analizlerde KAF grubunda kaçış deliğini ilk kez bulana kadar kat edilen mesafe ÇÖZ grubuna göre anlamlı olarak daha fazladır (KAF: 4,2±0,6; VEH: 1,1±0,4; p<0,05; **Şekil 32**).

Barnes labirentinde enjeksiyon yapılan gruplarda hedef kaçış deliğini ilk kez bulana kadar denenen diğer delik sayıları arasında anlamlı fark bulunmadı (H(6)=4,167, p=0,654)

4.5 Kuyruktan Ası



Şekil 33. Kuyruktan ası testinde KTR ve PUY gruplarındaki farelerin hareketsiz asılı kaldıkları toplam süreler (*p<0,05, KTR grubundan farklı, Mann-Whitney U). KTR: Kontrol, n=7; PUY: Paradoksal Uyku Yetersizliği, n=7.

Kuyruktan ası testinde PUY grubundaki farelerin hareketsiz asılı kaldıkları süre, KTR grubundan anlamlı olarak daha azdır (KTR: 164,6±14,7 s; PUY: 116,8±14,1 s; **Şekil 33**).

Kuyruktan ası testinde enjeksiyon yapılan gruplardaki farelerin hareketsiz asılı kaldıkları süreler arasında anlamlı fark bulunmadı. (H(6)=10,060, p=0,122, Kruskal Wallis).

4.6. PUY ve ÇÖZ Grupları Arasında Yapılan Ek Karşılaştırmalar

Çalışmamızda, PUY ve ÇÖZ grupları arasında enjeksiyon ve çözücü uygulamasının olası etkilerini değerlendirmek amacıyla ek karşılaştırmalar gerçekleştirildi.

Açık alan testinde PUY ve ÇÖZ grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda ilk 15 dk'da lokomotor aktivitede azalma gözlendi. Toplam kat edilen mesafe değişkeninde ÇÖZ grubunda PUY grubuna göre anlamlı azalma vardı (PUY: 42,68±4,68 m; ÇÖZ: 27,06±5,97 m; $p<0,05$). Ortalama hız değişkeninde ÇÖZ grubunda PUY grubuna göre anlamlı azalma vardı (PUY: 0,05±0,005 m/s; ÇÖZ: 0,003±0,007 m/s; $p<0,05$). Hareketli zaman değişkeninde ÇÖZ grubunda PUY grubuna göre anlamlı azalma vardı (PUY: 758;3±49,6 s; ÇÖZ: 315,7±61,7 s; $p<0,05$). Toplam kat edilen mesafe, ortalama hız ve toplam hareketli zaman değişkenlerinde 30 dakikada anlamlı fark yoktu. Dış bölgede ve merkez bölgede geçirilen zaman değişkenlerinde ilk 15 dakika ve 30 dakikada anlamlı fark yoktu.

Yükseltilmiş artı labirent testinde PUY ve ÇÖZ grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda açık kol ve kapalı kolda geçirilen süreler arasında anlamlı fark gözlenmedi.

Sekiz kollu radyal labirent testinde PUY ve ÇÖZ grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda, ÇÖZ grubunun yaptığı işleyen hafıza hatası sayısı PUY grubuna göre anlamlı olarak daha fazlaydı (PUY: 0,71±0,47; ÇÖZ: 16,3±4,14; $p<0,05$). ÇÖZ grubunun referans hafıza hatası indeksi PUY grubundan anlamlı olarak daha düşüktü (PUY: 0,93±0,46; ÇÖZ: 0,34±0,07; $p<0,05$). ÇÖZ grubunun işleyen hafıza hatası indeksi PUY grubundan anlamlı olarak daha yüksekti (PUY: 0,07±0,046;

ÇÖZ:0,66±0,07, $p<0,05$). ÇÖZ ve PUY grupları arasında, yaptıkları referans hafıza hatası sayısı değişkeninde anlamlı fark yoktu.

Barnes labirenti testinde PUY ve ÇÖZ grupları arasında yapılan karşılaştırmalarda, hedef deliği deneme sayısı, hedef deliği deneme süresi, hedef deliğe ilk kez ulaşma süresi, diğer delikleri deneme sayısı, diğer delikleri deneme süresi, hedef kadranda geçirilen süre, diğer kadranlarda geçirilen süre ve hedef deliğe olan ortalama mesafe değişkenlerinde anlamlı fark gözlenmedi.

Kuyruktan ası testinde PUY ve ÇÖZ grupları arasında yapılan karşılaştırmada hareketsiz kalınan zaman değişkeninde anlamlı fark bulunmadı.

5.TARTIŞMA

5.1. Kontrol ve Uykusuzluk Grupları

Sonuçlarımızda, açık alan testinde PUY grubunda özellikle ilk 15 dakikada lokomotor aktivitenin belirgin şekilde arttığı gözlenmiştir (Şekil 3-6).

Literatürde 48 saat uyku yetersizliğine maruz kalan hayvanlarda, uyku yetersizliğinde olmayanlara göre otuz dakikalık ve beş dakikalık açık alan testinde artmış lokomotor aktivite bildirilmiştir **(52, 54)**. Bu lokomotor aktivite artışının açık alan testinin özellikle ilk 15 dakikasında belirgin olduğu literatürde bildirilmiştir **(199)**. Bir yayında, 72 saatlik paradoksal uyku yetersizliğine maruz bırakılan farelerin açık alan testinde, dış bölgede kat ettikleri mesafenin arttığı ancak orta bölgede kat ettikleri mesafenin değişmediği bildirilmiştir **(213)**. Uyku yetersizliğinin lokomotor aktivite üzerine etkileri ile ilgili sonuçlarımız literatürle uyum içerisindedir. Bu durum literatürde, paradoksal uyku yetersizliği sonrasında mezoakümbens dopamin sisteminde D_1 ve D_2 reseptörlerine olan artmış hassasiyet ile ilişkilendirilmiştir **(52, 214, 215)**.

Sonuçlarımızda, yükseltilmiş artı labirent testi bulgularımızda PUY grubunda, KTR grubuna göre belirgin bir anksiyete azalması görülmüştür (Şekil 13-16).

Literatüre bakıldığında 48 saat paradoksik uyku yetersizliği sonrası yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyete belirteçlerinde azalma bildirilmiştir **(53, 216)**. Sonuçlarımız literatürle uyumludur. Paradoksal uyku yetersizliğinin indüklediği anksiyolitik etkinin, lokomotor aktiviteye benzer şekilde dopaminerjik reseptör hassasiyetinde artış ile ilişkili olabileceğini bildiren yayınlar vardır **(217)**.

Sonuçlarımızda, sekiz kollu radyal labirent testinde incelenen değişkenlerden, hem işleyen hafıza hata sayısı hem de referans hafıza hata sayısı ilk bakışta KTR grubunda daha çok gibi görünmektedir. Ancak toplam hata sayıları da gruplar arasında farklı olduğu için bu durum yanıltıcı olabilir. Diğer yandan PUY grubunun işleyen hafıza hatası indeksi (işleyen hafıza hatası / toplam hata) anlamlı olarak daha düşüktür. Aynı zamanda PUY grubunun referans hafıza hatası indeksi (referans hatası/toplam hata) anlamlı olarak daha yüksektir. Bu da PUY grubunun, KTR grubuna göre referans hafıza hatası yapmaya daha yatkın olduğunu göstermektedir (Şekil 20-22).

Bir çalışmada 8 kollu radyal labirent düzeneğinde akut uyku yetersizliğinin uzun süreli referans hafızasında gerilemeye neden olduğu ancak işleyen hafızada gerilemeye yol açmadığı bildirilmiştir **(218)**. KTR grubunun kollara daha çok girip çıkması, toplam kat edilen mesafe parametresinden de görüleceği üzere lokomotor aktivite ile ilişkili olabilir. Bu noktada, açlık ve uykusuzluk stresine beraber maruz kalmayan hayvanların, labirentte hareket etmeye daha çok gücü olduğu düşünülebilir. Çünkü hem aç olup hem uykusuz olan hayvanlar, çift strese girmektedirler. İlginç olan noktalardan biri, sadece paradoksal uyku yetersizliği olan hayvanlarda açık alan testinde lokomotor aktivite artışının görülmesi, ancak bu hayvanlar aynı zamanda açlık stresine maruz kaldıklarında lokomotor aktivitede belirgin bir azalma olmasıdır. Bilgimiz dahilinde literatürde bu yönde bir bulgu henüz bildirilmemiştir.

Sonuçlarımızda, Barnes Labirenti testinin bulgularına göre PUY grubunda, KTR grubuna göre uzun süreli referans hafıza geri çağırmasında belirgin bir kötüleşme yoktur.

Barnes Labirentinde değerlendirilen değişkenlerden sadece “diğer delikleri deneme sayısı” uykusuz grupta daha fazla görülmüştür. Bu da hayvanlardaki lokomotor aktivite artışı ile ilişkilendirilebilir. Önemli bir gösterge olan “hedef deliği deneme sayısı”nın diğer delikleri deneme sayısına oranı hemen hemen aynıdır. Literatürde uykusuz hayvanlarda referans hafızayı değerlendiren çalışmalarda çok sayıda farklı protokol ve farklı uykusuzluk süreleri kullanılmıştır **(55)**. Özellikle, uykusuzluk protokolünün öğrenmeden sonra gerçekleşmesi ve akut bir uykusuzluk süreci içermesi, bizim çalışmamızın literatür kapsamında doğru ele alınabilmesi açısından önemlidir. Bizim deney protokolümüze, görece daha çok benzeyen çalışmalar incelendiğinde, hem öğrenme süreci sırasında hem de sonrasında gerçekleştirilen uykusuzluk modelinde Morris Su Labirenti’nde hafıza edinimi ve geri çağırmasında erkek farelerde fark gözlenmemişken dişi farelerde bozulma gözlenmiştir **(60)**. Bir başka çalışmada da Morris Su Labirenti ile ölçülen referans hafıza başarısının 6 saatlik tekrarlayan REM uykusuzluğuna karşı dirençli olduğu ifade edilmiştir **(219)**. Diğer bir yayında ise 72 saatlik uyku yetersizliği sonrası Morris Su Labirentinde uyku yetersizliğinin, platforma ulaşma sürelerini değiştirmediği ancak hedef kadranda kalma süresini azalttığı bildirilmiştir **(220)**. 120 saatlik paradoksal uyku yetersizliği sonrasında ise referans hafızada Morris Su Labirenti testinde anlamlı değişiklik görülmediği ancak, uykusuzluk modeli öğrenme sürecinde uygulanırsa öğrenmenin azaldığı ifade edilmiştir **(221)**. Tüm bu literatüre ve bizim bulgularımıza dayanarak, paradoksal uyku yetersizliğinin uzun süreli hafıza üzerindeki etkilerinin (Barnes Labirenti ile değerlendirilmesinde) anlamlı bir gerilemeye neden olmadığı yorumlanabilir. Sekiz kollu radyal labirent ve Barnes labirenti sonuçları bir araya getirildiğinde akut uykusuzluk durumunda referans hafızada işleyen hafızaya kıyasla bozulma eğiliminin daha fazla olduğu

söylenebilir. Ancak bu bozulma, referans hafızayı doğrudan değerlendiren değişkenlerde bir değişikliğe yol açacak etki boyutunda görünmemektedir.

Sonuçlarımızda, kuyruktan ası testi ile değerlendirilen hayvanlarda PUY grubunda, KTR grubuna göre depresyon benzeri davranışta anlamlı olarak azalma gözlenmiştir (Şekil 32).

Kronik uyku yetersizliğinin major depresyonla ilişkisi bilinmesine karşın, akut uyku yetersizliği paradoksik bir şekilde antidepresan etki göstermektedir **(222, 223)**. Bu durum beyindeki artmış adenozin birikimi ve A_1 reseptör sinyalizasyonu ile ilişkilendirilmiştir **(224)**. Dolayısıyla, çalışmamızdan elde ettiğimiz, akut uykusuzluğun depresif duyguduruma yönelik sonuçları mevcut literatür ile uyumlu görünmektedir.

5.2. Kafein

Sonuçlarımızda, kafein, açık alan testinde şahlanma sayısı ve süslenme zamanı parametrelerini belirgin olarak baskılamıştır (Şekil 11,12).

Literatürde kronik kafein tüketiminin anksiyete benzeri stereotipik davranışları farelerde artırabileceği gösterilmiştir **(49)**. Ancak akut yüksek dozda kafeinin süslenme davranışını ve anksiyete düzeyini azaltabileceği veya artırabileceği farklı yayınlarda belirtilmiştir **(49, 131, 225, 226)**. Literatürde 80'ler ve 90'larda yapılan çalışmalarda, adrenokortikotropik hormon enjeksiyonu sonrası veya stresli durumlardan sonra süslenme davranışının artış göstermesi, anksiyete artışı yönünde yorumlanmıştır **(227-229)**. Ancak her süslenme değişikliğinin anksiyete değişikliği anlamına gelip gelmediği veya süslenme davranışının deney mekanizmasından ne ölçüde etkilendiği günümüzde tartışma konusudur. Literatürde farklı test düzeneklerindeki süslenme davranışının, farklı anlamlar ifade

edebileceği tartışılmıştır. Dolayısıyla farklı test düzeneklerindeki süslenme cevabının ne anlama geldiğinin ileri çalışmalarla netleştirilmesi gerektiği ifade edilmiştir **(230)**. Hatta farklı sıçan türlerinde aynı davranışsal deney düzeneklerinde süslenme davranış süresinin zıt yönde etkilendiği de gösterilmiştir **(231)**. Yükseltilmiş artı labirent testinde ölçülen süslenme ve anksiyete arasında bir ilişki olmadığını ifade eden çalışma da vardır **(232).** Çalışmamızda açık alan testinde, kafein grubunda gözlenen belirgin süslenme ve şahlanma davranışı azalmasını da bu belirsizlik bağlamında ele almak mümkündür. Şahlanma ve süslenme zamanının bu kadar derin ve belirgin şekilde kaybolmasından yola çıkarak, doğrudan bir duygudurumsal çıkarım yapmak doğru olmayabilir. Ancak bu durumu kafeinin bifazik, doza bağımlı etkilerinden kaynaklı bir motor davranış anomalisi olarak da ele almak mümkündür **(226)**.

Literatürde süslenme davranışıyla birlikte şahlanma davranışının da ne anlama geldiği ve hangi durumlarda nasıl değiştiği ile ilgili tartışmalar devam etmektedir **(202)**. Akut uykusuzluk modelinde, açık alan testinde, ajan verilmeyen farelerde ölçülen şahlanma davranışının değişmediği, kafeinin düşük/orta dozlarda bu davranışı artırdığı, ancak hem uyku yetersizliği olan hem de kronik kafein uygulanan farelerde bu davranışın bifazik olarak etkilendiği, yani yüksek dozlarda azalma eğilimi gösterebileceği bildirilmiştir **(49)**. Bu çalışmada özellikle yüksek dozda kafeinin şahlanma davranışını baskıladığının görülmesi bizim çalışmamızın sonuçları açısından anlamlıdır. Diğer yandan bu çalışmanın bütününe bakıldığında süslenme ve şahlanma davranışının uykusuzluk durumu ve kafein uygulamasından, doza bağımlı ve cinsiyete bağımlı olarak son derece değişken şekilde etkilendiği gösterilmiştir **(49)**.

Bu sonuçlar ışığında, her ne kadar protokollerde değerlendirilmesi önerilse de, hem uykusuzlukta hem de kafeinde süslenme ve şahlanma davranışlarından kesin çıkarımlar yapmak mümkün değil gibi görünmektedir. Bilgimiz dahilinde hiçbir yayında, kafein grubunda, şahlanma ve süslenme davranışı, bizim sonuçlarımızda görüldüğü şekilde tama yakın ortadan kaybolmamıştır. Deneylerimizde, kafein verilen farelerin kurulanma ve süslenme davranışlarının görsel olarak da ortadan kaybolduğunu gözlemledik. Bu bulgularımızın ileri çalışmalarla ve farklı dozlarda kafein ile değerlendirilmesi yararlı olacaktır.

Sonuçlarımızda, kafein, açık alan testinde, kat edilen mesafe ve ortalama hız değişkenlerinde diğer ajanlardan farklı bir etkide bulunmamıştır. Ancak hareketli zaman değişkeninde AVL-1 grubuna göre ilk 15 dk'da anlamlı olarak geride kalmıştır (Şekil 7-9).

Literatürde kafeinin lokomotor aktivite üzerinde bifazik etkide bulunabileceği, bu doğrultuda hem oral uygulamada hem de intraperitoneal uygulamada ters-u şeklinde bir eğri ile doza bağımlı etki gösterdiği bildirilmiştir **(126, 130)**. Dolayısıyla kafeinin lokomotor etkisinin doz-değişken olduğu bilinmektedir ancak bu doz değişkenliğiyle ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. Bu çalışmalardan birinde ters-u yönündeki motor aktivitede azalma etkisi 100 mg/kg civarındaki dozlarda bildirilmiştir **(126)**. Bizim çalışmamız 10 mg/kg dozunda da bifazik bir motor yavaşlama etkisi görülebileceğini göstermiştir. Bu bifazik etki literatürde, kafeinin düşük dozlarda ve daha düşük biyoyararlanımda (örneğin oral alım) öncelikle adenozin A_{2a} reseptör blokajı yaparak lokomotor aktivitede artış ve keyif verici etki oluşturacağını, yüksek dozlarda ise A_1 reseptörlerini inhibe etmeye

başlayarak lokomotor aktiviteyi baskılayıcı etkileri tetikleyeceği yönünde tartışılmıştır **(126, 130)**.

Sonuçlarımızda, kafein verilen grupta açık alan testinde keşfetme/anksiyete değişkenlerinde fark görülmemiştir (Şekil 10).

Kafeinin akut yüksek doz uygulamasının açık alan testinde, merkez bölgede geçirilen zamanı ve merkez bölgeye giriş sayılarını artırdığı literatürde bildirilmiştir **(131, 225, 234)**. Ayrıca literatürde akut tek doz intraperitoneal kafeinin anksiyolitik etkide bulunabileceği de bildirilmiştir **(131, 225, 235)**. Dolayısıyla kafeinle ilgili literatüre bakarak, merkez bölgede geçirilen sürenin (keşfetme davranışının) anlamlı olarak artması öngörülürken, bizim çalışmamızdaki gruplar arasında anlamlı fark ortaya çıkmamıştır. Literatüre dayalı beklenen anksiyolitik etki, çalışmamızda kullanılan açık alan testi kapsamında tespit edilememiş de olabilir. Kafeinin anksiyete üzerine etkisinin yükseltilmiş artı labirent ile değerlendirmesinde ise anlamlı bir anksiyolitik etkiyle karşılaşılmıştır. Bu durum tartışmanın devamında daha kapsamlı şekilde ele alınmıştır.

Sonuçlarımızda, kafein grubunda, açık alan testinde görülen çok belirgin şahlanma davranışı baskılanması, yükseltilmiş artı labirent testinde görülmemiştir. Test beş dakika olmasına rağmen, 30 dakikalık açık alandan daha fazla şahlanma davranışı görülmüştür.

Açık alan testinde görülen şahlanma davranışı baskılanmasının, deneylerin devamında görülmemesi, tek doz kafeinin bile stereotipik davranışlara tolerans geliştirebileceğini gösteriyor olabilir. İnsan çalışmalarında kafeinin etkilerine tek dozda bile anlamlı tolerans gelişebileceği bildirilmiştir **(236)**.

Sonuçlarımızda, kafein grubunda açık ve kapalı kollarda geçirilen zaman ve kat edilen mesafe arasında anlamlı fark yoktur. Diğer gruplardaki hayvanlarda, kapalı kol tercihinin kaybolduğu görülmektedir. Dolayısıyla kafeinin akut uyku yetersizliğinde anksiyetede azalma yönünde bir eğilim oluşturduğu ifade edilebilir (Şekil 17, Şekil 18, Tablo 2).

Kafein kronik kullanımında genel olarak anksiyojenik bir molekül olarak bilinmektedir **(237)**. Ancak akut tek doz intraperitoneal kafeinin anksiyolitik etki gösterdiği literatürde bildirilmiştir **(131, 225, 235)**. Bu yayınlardan birinde 10 mg/kg dozda kafeinin korku ile güdülenen hafızanın hafifletilmesi yönünde etki oluşturduğu ifade edilmiştir **(235)**. İnsan çalışmalarında da kafeinin belli dozlarda duygudurum iyileştirici etkide bulunduğu bildirilmiştir **(132)**. Her ne kadar kafein genel olarak anksiyojenik olarak bilinse de, literatür ve kendi çalışmamızın sonuçları, akut paradoksal uyku yetersizliğinde kafeinin akut kullanımının anksiyolitik etkiyi ön plana çıkabileceği yönündedir.

Sonuçlarımızda, kafeinin akut uyku yetersizliğinde akut tek doz uygulanması, ödül paradigmalı bir davranış senaryosu olan Sekiz Kollu Radyal Labirent testinde, referans hafıza ve işleyen hafızayı anlamlı olarak etkilememiştir. Ancak işleyen hafızayı olumlu etkilediğine dair bir eğilimden söz edilebilir (Şekil 25, 26).

Sonuçlarımızda, kafein grubunun Barnes labirenti testinde hedef deliğe ulaşma, dolayısıyla referans hafıza başarısı konusunda diğer gruplardan anlamlı şekilde kötü olduğu görülmektedir. Ancak ilginç olan, kafeinin aynı zamanda delikleri deneme sayısında yani kaçış aktivitesine duyulan ilgi konusunda da geride kalmasıdır. Bu noktada, delikleri daha az denemenin, yani kaçış aktivitesine duyulan ilgisizliğin, akut tek doz intraperitoneal kafeinin yükseltilmiş artı

labirent bölümünde tartışılan anksiyolitik etkisiyle ilişkisi kurulabilir (Şekil 27-32).

Literatürde iki çalışmada, oral kronik kafein kullanımının akut uykusuzluk sonrası radyal kol su labirenti ile ölçülen kısa süreli işleyen hafızada iyileşme gerçekleştirdiği gösterilmiştir **(238, 239)**. Ancak burada hem kronik oral uygulama söz konusudur, hem de sadece kısa süreli hafıza değerlendirilmiştir, ayrıca ödül değil bir kaçış paradigması kullanılmıştır. Bilgimiz dahilinde akut intraperitoneal kafein uygulamasının akut uyku yetersizliğinde, ödül paradigmalı bir radyal kol labirentinde denendiği bir çalışma yoktur. Dolayısıyla **bulgularımız literatüre yenilik** getirmektedir. Diğer yandan Barnes Labirenti, kaçış senaryosu içeren bir uzaysal hafıza testidir, Radyal Labirent Testi ise ödül senaryosu içeren bir hafıza testidir. Çalışmamızda kafein, kaçış senaryosunda isteksizlik ve aynı zamanda başarısızlık oluşturmuştur. Bu durum kafeinin, akut uygulamasının oluşturduğu anksiyolitik etkisi ile beraber, paradoksal uykusuzlukta tek doz akut uygulamasının referans hafıza üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri ile de ilişkilendirilebilir. Kısacası, kafein etkisi altındaki hayvan kaçmaya meyilli değildir, çünkü kaçma arzusu azalmıştır. Ancak aynı zamanda kaçma konusunda da başarısızdır, çünkü referans hafızasında bozulma eğilimi mevcuttur.

Kafeinin uzun süreli hafıza üzerine olan etkisi literatür bağlamında daha kapsamlı şekilde değerlendirilecek olursa, kronik kafein tüketiminin beyin hasarı veya diyabet kaynaklı hafıza kaybında iyileşme yaptığı gösterilmiştir **(240-242)**. Tek doz kafeinin bile insanlarda hafızanın konsolidasyonunu artırdığı bildirilmiştir **(243).** Yine kafeinin sağlıklı hayvanlarda kronik uygulamasının uzaysal işleyen hafızayı iyileştirdiği bir çalışmada ifade edilmektedir **(244)**. Kronik uygulanan

kafeinin Alzheimer modellerindeki uzaysal hafıza ve işleyen hafızadaki bozulmaya karşı koruyucu olduğu da başka bir çalışmada gösterilmiştir **(133)**. Sağlıklı farelerde test öncesi tek doz uygulanan akut kafeinin Morris Su Labirentinde uzaysal hafızada iyileşme yapabileceği ifade edilmiştir **(134)**. Ayrıca sağlıklı farelerde 10 mg/kg kafeinin duloksetin ile birlikte sinerjistik uzaysal hafıza iyileşmesi yapabileceği gösterilmiştir **(245)**. Bir selektif adenozin A_1 reseptör antagonisti olan 8-CPT, 48 saatlik uyku yetmezliği modelinde, günde bir kez uygulandığında Morris Su Labirentinde uzaysal hafızayı iyileştirmiştir **(246)**. Ancak ilginç olarak, kafeinin prepubertal farelerde akut uygulamasının uzaysal hafıza ve uzaysal olmayan hafızada cinsiyetler arasında farklı etkilerde bulunduğu gösterilmiştir **(247)**. Bir başka araştırmada kafeinin oral kronik kullanımının uyku yetersizliği olan farelerde, yeni obje tanıma testiyle ölçülen hafıza ve öğrenme üzerinde olumsuz etkide bulunabileceği bildirilmiştir **(135)**. Benzer şekilde kafeinin kronik peroral uygulamasının Morris Su Labirenti ile ölçülen uzaysal hafızada olumsuz etkiye yol açtığı söylenmiştir **(136)**. Bizim çalışmamızda, test öncesi akut tek doz kafein uygulaması, 48 saat uyku yetersizliğinde, uzaysal hafıza geri çağırımını iyileştirmemiş, aksine anlamlı olarak kötüleştirme eğiliminde bulunmuştur. Gözlediğimiz bu paradoksik etki, günlerce süren bir uyku yetersizliği senaryosunda beyinde ortaya çıkan adenozin birikiminin oluşturduğu kronobiyolojik adaptasyon mekanizmalarına kafeinin müdahale etmesiyle ilişkili olabilir **(248)**. Kafeinin vücudun sirkadyen ritmini ve melatonin salıverilmesini modüle ettiği gösterilmiştir **(249)**. Melatonin uygulamasının akut uyku yetersizliği sonrasında bilişsel bozulmaları olumlu etkilediği ifade edilmiştir **(250)**. Akut uyku yetersizliğinin plazma melatonin düzeylerini artırdığı gösterilmiştir **(251)**. Adenozin uyarımının pineal bezden melatonin salıverilmesini indüklediği yönünde

literatür mevcuttur **(252)**. Çalışmamızın sonuçları literatürle beraber değerlendirildiğinde, **kafeinin uzun süreli akut uyku yetersizliği sonrası akut uygulamasının, melatonin salıverilmesini baskıladığı öne sürülebilir. Beyinde melatonin düzeylerinin baskılanmasının akut uyku yetersizliğinde olumsuz bilişsel etkilere neden olması beklenebilir**. Bu hipotezin ileri çalışmalarla değerlendirilmesi gerekmektedir. Uyku yetersizliğinde akut tek doz kafein uygulamasının uzaysal hafıza üzerindeki etkilerini değerlendiren çalışmalar oldukça az sayıdadır. Uyku yetersizliğinde akut tek doz kafein uygulamasının etkisinin Barnes labirenti ile değerlendirildiği başka bir yayın bilgimiz dahilinde yoktur. Dolayısıyla **çalışmamız kafeinle ilgili literatüre önemli bir katkıda** bulunmaktadır.

Sonuçlarımızda, kafeinin akut uykusuzluk modelinde kuyruktan ası testinde kurtulma davranışına yönelik ek bir antidepresan etkisi gözlenmemiştir.

Kronik kafein tüketiminin farelerde depresif duygudurumu değiştirmediği gösterilmiştir **(253)**. Başka bir çalışmada 5 mg/kg akut kafein uygulamasının, hem tek başına uygulamada hem de duloksetin ve bupropionun etkisini güçlendirerek antidepresan etki gösterdiği zorlu yüzme testi ve kuyruktan ası testinde bildirilmiştir **(245)**. Farelerde yapılan diğer bir araştırmada ise 5 mg/kg kafein uygulamasının agomelatin ve mianserinin antidepresan etkisini artırdığı ancak tek başına antidepresan etkide bulunmadığı söylenmektedir **(254)**. Liteartürde farklı sonuçlara ulaşılmış olup, kafeinin depresyon üzerine etkisinin netleştirilmesi için ileri çalışma ihtiyacı bulunmaktadır.

5.3. Modafinil

Sonuçlarımızda, modafinil grubunda çok belirgin lokomotor aktivite artışı görülmüştür. Ancak açık alan testinde merkez bölgede kalma süresi (keşfetme) ve dış bölgede kalma süresi (anksiyete) değişkenlerinde anlamlı fark görülmemiştir (Şekil 7-10)

Literatürde modafinilin sağlıklı hayvanlarda açık alan testinde ölçülen keşfetme ve lokomotor aktivite davranışını 300mg/kg dozda artırdığı (merkez bölgede kalma süresini artırdığı) bildirilmiştir **(146)**. Başka bir yayında da modafinil serebral iskemi modelinde lokomotor aktivite artışı yapmış ancak merkez bölgede kalma süresini azaltmıştır **(148)**. Bir diğer araştırmada yine modafinilin 48 saat total uyku yetersizliğinde anlamlı lokomotor aktivite artışı yaptığı bildirilmiştir. Yine bu çalışmada modafinil grubunda yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyolitik etki tespit edilmiş ancak açık alan testindeki anksiyete benzeri davranışlarda değişiklik bildirilmemiştir **(147)**. Bu bilgiler ışığında, bizim bulgumuz olan keşfetme davranışında artış gözlenmeksizin lokomotor aktivite artış literatürle uyumlu görünmektedir. Diğer yandan modafinilin açık alan testindeki, merkez bölgede kalma değişkeninde, farklı patolojilerde ve farklı deney tasarımlarında değişik sonuçlar oluşturduğu söylenebilir. Bizim çalışmamızda akut paradoksal uyku yetersizliğinde açık alan testinde keşfetme davranışında artış görülmemiştir. Akut uyku yetersizliğinde yüksek tek doz modafinilin açık alan testinde anksiyete üzerine etkisine yönelik ileri değerlendirmeler gerekmektedir.

Sonuçlarımızda, modafinil grubunda da, kafein grubundaki gibi açık ve kapalı kollarda geçirilen zaman ve kat edilen mesafe arasında anlamlı fark yoktur. Bu durumda hayvanlardaki kapalı kol tercihi kaybolmuş denebilir. Dolayısıyla modafinilin de kafein grubu gibi, yükseltilmiş artı labirent testinde akut paradoksal uyku yetersizliğinde anksiyetede azalma yönünde bir eğilim oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 17, Şekil 18, Tablo 2).

2011'de yayınlanan bir derlemede modafinille ilgili kanıtların çoğunlukla anksiyojenik etki yönünde olduğu ancak bunun aksi yönünde çalışmalar bulunduğu da belirtilmiştir **(255)**. 2017'de yapılan bir deneysel çalışmada modafinilin anksiyolitik etki oluşturabileceği gösterilmiştir **(256)**. 2019 yılında yapılan başka bir hayvan çalışmasında modafinilin "Travma Sonrası Stres Bozukluğu" modelinde yükseltilmiş artı labirent analizinde anlamlı etki oluşturmadığı bildirilmiştir **(257)**. Bir klinik çalışmada da modafinil kullanan hastalarda hafif anksiyolitik etki yönünde eğilim gözlenmiştir **(258)**. Dolayısıyla modafinilin anksiyete üzerindeki etkileriyle ilgili farklı tasarımlarda, farklı yanıtlar alınmaktadır. Bu konuda ileri çalışmalara gereksinim vardır. Biz de çalışmamızda modafinilin akut paradoksal uyku yetersizliğinde, yüksek tek doz uygulanmasının hafif anksiyolitik etki oluşturduğunu gösterdik. Bulgularımız bu yönden literatüre katkıda bulunmaktadır.

Sonuçlarımızda, açık alan testinde modafinil grubunda şahlanma davranışı anlamlı olarak az görülmüştür.

Açık alan testinin, stereotipik davranışları, farklı deney düzeneklerinde farklı dinamiklerle harekete geçirmiş olabileceğine dair tartışmalar literatürde mevcuttur **(202, 230)**. Çalışmamızın sonuçlarında açık alan testinde kafeinde süslenme ve şahlanma davranışlarında baskılanma görülmüş ancak yükseltilmiş artı

labirent testinde süslenme davranışında baskılanma olmamıştır. Modafinil grubu için ise yükseltilmiş artı labirentte şahlanma davranışında artış görülmüştür. Dolayısıyla bulgularımız, farklı düzeneklerin hayvan stereotipik davranışlarına, farklı etkilerde bulunabileceği tezini desteklemekte olup, bu tartışmalara katkıda bulunmaktadır.

Sonuçlarımızda, modafinil grubu, 13 günlük kalori kısıtlamasına maruz kalmasına rağmen sekiz kollu radyal labirent düzeneğindeki yemlere/ödüllere ilgi duymamıştır; yem bulunmayan kollarla sık sık ilgilenmiş ve yemlere ilgi göstermemiştir. Açlık ve uykusuzluğa rağmen lokomotor aktivite ön plana çıkmış ve hayvanlar yem aramayı bırakmıştır. Bu nedenle modafinil grubu, sekiz kollu radyal labirent testin analizinden çıkarılmıştır (Tablo 4).

Modafinilin iştah baskılayıcı etkiye sahip olduğu hem hayvan hem de insan çalışmalarında bildirilmiştir **(155, 156, 259)**. Modafinilinin, etkilerini, iştahla yakından ilişkili olduğu bilinen oreksinerjik sistem üzerinden gösterdiğine dair güçlü bulgular vardır **(260, 261)**. Bu bilgiler ışığında modafinilin, yüksek dozda iştahı belirgin şekilde baskılayarak, kronik açlığa rağmen hayvanlarda yemlere olan ilginin kaybolmasına yol açtığı söylenebilir. Yine de, uzun süreli belirgin açlığa rağmen modafinil grubunun yemlere ilgi göstermemesi ilginç bir sonuçtur. Bir başka yayında modafinilin insanlarda dürtüsel davranışı baskıladığı gösterilmiştir **(262)**. Dolayısıyla hem dürtüselliği hem de iştahı baskılayan bir ilaç, obezite tedavisinde umut vaat ediyor olabilir.

Bu tez çalışması kapsamında literatür incelendiğinde modafinilin yüksek tek doz uygulamada, paradoksal uyku yetersizliğinde, Barnes Labirenti'nde uzun süreli hafıza geri çağırımındaki başarıyı artıracağı öngörülebilir. Ancak sonuçlarımızda bu yönde bir etkiyi gözlemlemedik (Şekil 27-32).

Literatür bu doğrultuda incelendiğinde, modafinilin kronik uygulamasının sepsis modellerinde, pasif kaçınma testinde, hafızayı kuvvetlendirdiği gösterilmiştir **(149)**. Akut uygulamasının stres modellerinde retrograd hafızayı iyileştirdiği gösterilmiştir **(263)**. Subkronik modafinil uygulamasının ise metamfetamin ile indüklenmiş hafıza bozulmalarını nesne tanıma testinde geri çevirdiği bildirilmiştir **(264)**. Bunun dışında kronik uygulanmasının uzaysal hafızayı iyileştirdiğine dair, Morris Su Labirenti'nin kullanıldığı çalışmalar vardır **(265, 266)**. Modafinilin insanlarda akut uykusuzluk senaryolarında kognitif güçlendirme sağladığına dair yapılan ve olumlu sonuç elde edilen klinik çalışmalar uzun yıllardan bu yana mevcuttur **(152-154)**. Literatürde pozitif sonuç bildirilen bu çalışmalarda modafinil dozları 16-300 mg/kg'a kadar değişmektedir ve bizim kullandığımız doz da 300 mg/kg'dır. Modafinil insanlarda bilişsel fonksiyonları artırıcı bir ilaç olarak bilinmektedir **(267)**. Ancak uyku yetersizliği olan bireylerde modafinilin etkilerinin, subjektif bilişsel farkındalığı ve özgüveni artırmakla sınırlı olup olmadığı da tartışma konusudur. Bu doğrultuda modafinilin uykusuz bireylerde bir "iyi hissettirme" ilacı olup olmadığı konusunda görüşler de vardır **(268)**. Ancak bilgimiz dahilinde, bu tez kapsamında yapılan, akut tek doz modafinil verilen hayvanlarda, akut paradoksal uykusuzlukta Barnes Labirenti ile uzun süreli uzaysal hafızanın değerlendirildiği bir çalışma yoktur. Modafinilin akut – kronik uygulamasında etkileri farklılaşabileceği gibi, kullanılan hastalık modeli de ajanın etkisinde fark oluşturabilir. Eğer uykusuzluk modeli uygulandıysa, uykusuzluğun

total veya paradoksal olması ya da uykusuzluğun akut – kronik olması da fark yaratıyor olabilir. Bu doğrultuda, ilginç bir çalışmada, fare REM uykusuzluğu modellerinde modafinil verilen farelerin dikkat performanslarının düştüğü gözlenmiştir **(269)**. Dolayısıyla, modafinilin her senaryoda ve her dozda pozitif bilişsel etkide bulunmayacağı düşünülebilir. Bu tez çalışması, paradoksal uyku yetersizliği modelinde akut tek doz modafinil uygulamasının kognitif fonksiyonları nasıl değiştirdiği ile ilgili literatüre bir katkı sunmaktadır.

Sonuçlarımızda, kullanılan dozlarda modafinilin kuyruktan ası testinde depresif duygudurum üzerine anlamlı etkisi görülmemiştir.

Modafinil'in düşük-orta dozlarda antidepresan etkisi olduğuna dair çalışmalar mevcuttur **(270-272)**. Bu çalışmalardan birinde akut 75 mg/kg dozda uygulanan modafinilin farelerde antidepresan etkide bulunduğu kuyruktan ası testiyle gösterilmiştir **(272)**. Literatürde insanlarda modafinilin yüksek dozda negatif duygudurum oluşturabileceği bildirilmiştir **(273)**. Diğer yandan modafinilin insanlarda, antidepresan ilaçların etkisini sinerjistik olarak kuvvetlendirebileceği de ifade edilmiştir **(274)**. Çalışmamızda ise yüksek dozlarda modafinil verilmiş olup, bu dozlarda antidepresan etki oluşturması tarafımızca beklenmemiştir. Dolayısıyla çalışmamızın sonuçları modafinilin antidepresan etkilerinin gözlenebilmesi için düşük-orta dozların tercih edilmesi gerektiği tezini destekler niteliktedir.

5.4. CX516

Sonuçlarımızda, CX516 grubunda lokomotor aktivite ve keşfetme parametrelerinde anlamlı değişiklik görülmemiştir (Şekil 7-10).

CX516'nın lokomotor aktivite ve şahlanma parametrelerinde değişiklik yapmadığı ancak merkez bölgede geçirilen sürede hafif bir azalma gerçekleştirdiği literatürde bildirilmiştir **(168)**. Bir başka çalışmada CX516 30 mg/kg ve 75 mg/kg dozlarında akut tek sefer uygulamada lokomotor aktiviteyi değiştirmemiştir ancak 100mg/kg dozunda lokomotor aktiviteyi azaltmıştır. Yine bu çalışmada başka ampakin türevleri olan CX546, CX672 ve CX776'nın da motor yavaşlamaya yol açabileceği gözlenmiştir **(275)**. Bizim çalışmamızda CX516, 40 ve 80 mg/kg dozunda kullanılmış olup, lokomotor aktivite değişikliğinin, daha potent ampakin türevleri ile ve/veya daha yüksek dozlarda izlenebileceği düşünülmüştür.

Sonuçlarımızda, CX516 80 mg/kg grubunda yükseltilmiş artı labirentte açık ve kapalı kollarda geçirilen zaman arasında anlamlı fark yoktur. Bu durumda hayvanlardaki kapalı kol tercihi kaybolmuş denebilir. Dolayısıyla modafinilin ve kafein grubu gibi, yükseltilmiş artı labirent testinde CX516'nın akut paradoksal uyku yetersizliğinde anksiyetede azalma yönünde bir eğilim oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 17, Şekil 18, Tablo 2).

Literatürde bilgimiz dahilinde uyku yetersizliği modellerinde CX516'nın anksiyete üzerine etkisi bildirilmemiştir. Bir çalışmada, CX516'nın çözücü grubuna kıyasla ve SCN2a *knockout* farelere kıyasla anksiyete davranışını yükseltilmiş artı labirent testinde değiştirmediği gösterilmiştir **(168)**. Anksiyete doğrudan ölçülmemiş olsa da başka bir çalışmada CX516'nın farelerde agresif davranışı azaltabileceği gösterilmiştir **(170)**. Bir başka çalışmada ampakin türevi S47445'in

kronik hafif stres modelinde anksiyolitik etki oluşturduğu bildirilmiştir **(276)**. Ampakinlerin ve özellikle CX516'nın anksiyete üzerine etkisiyle ilgili sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Bizim çalışmamızın sonuçları CX516'nın anksiyolitik yönde bir etki eğiliminde bulunduğu şeklindedir ve bu sonuçlar kısıtlı literatür bilgisi ile uyum içindedir.

Sonuçlarımızda, 40 mg/kg dozunda CX516'nın ödül paradigmasında (sekiz kollu radyal labirent testinde) işleyen hafıza hata indeksini (işleyen hafıza hatası / toplam hata sayısı) anlamlı olarak düşürdüğü görülmüştür (Şekil 25).

Ampakin sınıfı ilaçlar 8 kollu radyal labirentte öğrenme döneminde denenmiş ve özellikle öğrenme dönemindeki kronik uygulamalarda olumlu sonuçlar elde edilmiştir **(277-279)**. Paradoksal uyku yetersizliğinde akut tek doz CX516 veya diğer ampakinlerin uygulandığı bir tasarımda radyal labirent ile referans ve işleyen hafızanın ödül paradigması üzerinden denendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Buradan işaretle çalışmamız, ampakinlerin akut uygulamasının işleyen hafızada olumlu bir etkide bulunabileceği hipotezimizi desteklemektedir.

Sonuçlarımıza göre, sekiz kollu radyal labirent ve Barnes labirentinde CX516'nın tek doz akut uygulanması, uzun süreli referans hafıza geri çağırımındaki başarıyı artırmamaktadır (Şekil 27-32).

AMPA reseptör pozitif allosterik modülatörleri olan ampakinlerin kronik uygulamasının hafıza oluşumunu güçlendirici etkisi uzun yıllardan bu yana bilinmektedir **(164, 167, 171)**. Ancak ampakinlerin hafıza geri çağırma üzerindeki olumlu etkileri çok daha güncel bir başlıktır **(280)**. Benzer şekilde ampakinlerin dikkat, sosyal davranış, duygudurum gibi etkileri üzerine akut etkileri de güncel olarak çalışılmaktadır **(168, 281)**. Hatta DARPA'nın (Defense Advanced Research

Projects Agency) desteği ile gerçekleşen bir çalışmada, bir ampakin türevi olan CX-717'den primat türlerindeki akut uykusuzluğun oluşturduğu kognitif bozulmayı geriye çevirdiği gösterilmiştir **(79)**. Tüm bu bilgiler ışığında CX516'nın akut uygulamasının farelerde uzaysal hafızayı iyileştirici sonuçlarını daha belirgin görmeyi beklerdik. Ancak çalışmamız sonuçlarında Barnes Labirenti ile test edilen uzaysal hafıza fonksiyonunda CX516 ile beklenen etki elde edilmiş değildir.

CX516 ilk üretilen ampakin türevlerinden biri olup, görece daha düşük potense sahiptir **(282)**. Biz, yüksek dozlarda uygulamış olmamıza rağmen anlamlı etki göremedik **(283)**. Belki daha potent ve daha uzun etkili ampakin türevlerinin kullanımında farklı etkiler gözlenebilir.

Sonuçlarımızda, CX516'nın akut uygulamada, akut paradoksal uyku yetmezliğinde depresif duygudurum üzerinde anlamlı etkide bulunmadığı gösterilmiştir.

İnsanlarda bir ampakin türevi olan CX717'nin dört gün, üst üste, tek doz alımının yetersiz uykuya bağlı kognitif ve duygudurum değişiklikleri üzerinde etkili olmadığı gösterilmiştir **(169)**. Başka bir hayvan çalışmasında CX516'nın kronik uygulamada, teslim olma davranışını azalttığı gözlenmiştir **(284)**. Bir diğer araştırmada CX614 sadece akut yüksek dozlarda, zorlu yüzme testinde antidepresan etki göstermiştir **(285)**. CX614'ün akut uygulamasının zorlu yüzme testinde reboksetin ve imipramin ile sinerjistik antidepresan etki gösterdiği ancak essitalopram ile göstermediği bir başka çalışmada bildirilmiştir **(286)**.Ampakinlerin depresif duygudurum üzerine etkileri literatürdeki güncelliğini korumaktadır. Bu konudaki yayınlarda farklı sonuçlar elde edilmiştir **(287, 288)**.

Çalışmamız, akut paradoksal uyku yetersizliğinde CX516'nın depresif duygudurum üzerine etkisini inceleyen ilk çalışmadır. CX516'nın paradoksal uykusuzluk modelinde, ek bir antidepresan etkisi gözlenmese de ileride farklı ampakinlerin farklı dozlarında ve dozlam şemalarında yapılacak çalışmaları bu konudaki bilgi eksiğini tamamlayacaktır.

5.5 AVL-3288

Sonuçlarımızda, AVL-3288 grubu, açık alan testinde lokomotor aktivitede 1 mg/kg dozunda hafif artış yapmıştır. Ancak keşfetme değişkenlerinde anlamlı farklılık görülmemiştir (Şekil 7-10).

Bilgimiz dahilinde çalışmamız, AVL-3288 ajanının paradoksal uykusuzluk modelinde akut uygulaması sonrasında lokomotor aktivitenin değerlendirildiği **ilk çalışma** niteliğindedir. Literatürdeki az sayıda makale arasından, 2013 yılında yayınlanan bir çalışmada nikotinik alfa-7 reseptör pozitif allosterik modülatörü PNU-282987'nin açık alan testinde merkez bölgede kalma süresini azalttığı ve anksiyete benzeri durumu artırabileceği gösterilmiştir. Ancak aynı etki, başka bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörü olan PNU-120596'da gözlenmemiştir **(191)**. Bir başka çalışmada da nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörü olan PNU-282987'nin lokomotor aktivitede hafif azalmaya neden olduğu ancak bölgelerde kalma süresini anlamlı değiştirmediği gösterilmiştir **(190)**. Buna göre, farklı nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörleri arasında değişik etkilerin gözlenebildiği söylenebilir. Ayrıca farklı patolojik modeller arasında da etki farkları izlenebilir.

Sonuçlarımızda, AVL-3288 uygulanan gruplarla diğer gruplar arasında yükseltilmiş artı labirent testinde açık ve kapalı kollarda geçirilen zaman ve kat edilen mesafe değişkenlerinde anlamlı fark yoktur.

Araştırmamız, AVL-3288 veya herhangi bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörünün akut uyku yetersizliğinde anksiyete üzerine akut etkisinin yükseltilmiş artı labirent testi ile değerlendirildiği **ilk çalışma** niteliğindedir. 2019 yılında yayınlanan bir çalışmada, bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörünün lipopolisakkarit ile indüklenmiş anksiyeteyi azaltabileceği gösterilmiştir **(192)**. Diğer bir güncel çalışmada, bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörünün sağlıklı farelerde zorlu yüzme testinde ve kuyruktan ası testinde antidepresan yönde etki yapabileceği belirtilmiştir **(193)**. Ayrıca diğer bir nikotinik alfa-7 negatif allosterik modülatörü olan BNC210 ile yapılan Faz-2 çalışmasında, sosyal anksiyete bozukluğu ve post travmatik stres bozukluğunda etkili olabileceği bildirilmiştir **(289, 290)**. Nikotinik alfa-7 reseptörleri üzerine pozitif ya da negatif yönde bir etkinin anksiyolitik etkide bulunup bulunmadığı konusu dahi literatürde tam netliğe kavuşmamıştır. Ancak bizim çalışmamızda AVL-3288'nin duygudurum üzerine bir etkisi tarafımızca gözlenmemiştir. Çalışmamızda AVL-3288'in anksiyete benzeri davranış üzerine bir etkisi gözlenmemiş olup literatüre bu konuyla ilgili güncel bir katkıda bulunulmaktadır. Bu başlıkla ilgili olarak farklı nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörlerinin, farklı uyku yetersizliği ve diğer hastalık modellerinde denenmesine gereksinim vardır.

Sonuçlarımızda, sekiz kollu radyal labirent testinde AVL-3288'in 1mg/kg dozunda, referans hatasının toplam hafıza hatası sayısına oranı anlamlı olarak daha yüksek, işleyen hafıza hatasının toplam hafıza hatası sayısına oranı anlamlı olarak daha düşük görülmüştür. Yani toplam yapılan hatalar içinde referans hataların miktarı daha fazladır (Şekil 25, 26). Ayrıca Barnes Labirenti ile elde edilen sonuçlarımız, AVL-3288'in tek doz uygulamasının, akut uykusuzlukta uzun süreli uzaysal hafızayı zayıflatacağı yönündedir (Şekil 29-31).

Sekiz kollu radyal labirent ve Barnes labirenti bulgularımız beraber değerlendirildiğinde akut AVL-3288 uygulamasının özellikle referans hafızada bozulma oluşturduğu görülmektedir. Literatüde bu konuda radyal labirent testiyle yapılan az sayıda çalışma mevcuttur. Bir çalışmada nikotinik alfa 7 agonizmasının kronik uygulamada radyal kol labirentinde uzun süreli hafıza performansını artırdığı gösterilmiştir **(186, 291)**. Bilgimiz dahilinde AVL-3288'in akut uygulamasının etkilerinin radyal kol labirenti ile denendiği bir çalışma yoktur ve bu düzenekte ileri çalışma ihtiyacı devam etmektedir. Diğer yandan Barnes Labirenti ile elde ettiğimiz sonuçlar, referans hafıza bozulmasını radyal labirente göre daha belirgin göstermektedir. Bu açıdan literatüre bakıldığında ise, bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörlerü olan PNU-120596'nun akut uygulamasının kemirgen ve primat yaşlılık modelinde uzaysal hafıza başarısında tek başına etki göstermeyip, donepezil ile birlikte sinerjistik olumlu etki gösterdiği bildirilmiştir **(194)**. Travmatik beyin hasarı modelinde kronik AVL-3288 uygulaması uzaysal hafızada iyileşme sağlamıştır **(28)**. Ayrıca başka bir nikotinik alfa-7 reseptör agonistinin kronik uykusuzluk modelinde, akut uygulamasının Morris Su Labirenti ile değerlendirilen uzaysal hafızayı iyileştirdiği, ayrıca hafızayla ilgili moleküler belirteçleri olumlu yönde etkilediği ifade edilmiştir **(89)**.

Farklı tasarımlardaki çalışmaların hemen tamamı etkisizlik veya olumlu etki sonuçlarını içermektedir. Ancak AVL-3288'in akut uygulamasının, akut paradoksal uykusuzluk modelinde uzaysal hafıza üzerine etkisini gösteren başka bir çalışma bilgimiz dahilinde yoktur. Sonuç olarak bizim çalışmamızın verileri, AVL-3288'in akut paradoksal uyku yetersizliğinde ve akut uygulamada referans uzaysal hafızada olumsuz yönde etki yapma eğilimi olduğu yönündedir. Bu sonuçlar **literatür için yeniliktir** ve üzerine ileri çalışmalar yapılmalıdır. Çünkü kronik uygulamada görülmeyen bir akut etki, insanlarda advers olay olarak karşımıza çıkabilir. Bu doğrultuda akut uygulamadaki etkinin, kronik uygulamadaki etkiden farkı ortaya konulmalıdır. Diğer yandan uyku yetersizliğinin, diğer hastalık modellerine kıyasla ilaç etkisini hangi yönlerden değiştirmiş olabileceğine dair nörofizyolojik çalışmalara gereksinim bulunmaktadır.

Sonuçlarımıza göre, AVL-3288'in akut uygulamada, akut paradoksal uyku yetmezliğinde depresif duygudurum üzerinde anlamlı bir etkisi olmamıştır.

Literatürde nikotinik alfa-7 reseptörlerinin antagonizmasının akut ve kronik uygulamasının antidepresan etki gösterebileceği hayvan çalışmalarında kuyruktan ası testi ve zorlu yüzme testi ile gösterilmiştir **(292, 293)**. Başka bir çalışmada da selektif nikotinik alfa-7 agonizmasının tek başına etkili olmayıp, diğer antidepresanların etkisini güçlendirdiği bildirilmiştir **(294)**. Bir araştırmada ise nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörleri kuyruktan ası ve zorlu yüzme testleri ile değerlendirilmiş ve antidepresan etkide bulunabileceği gözlenmiştir **(295)**. Nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörleri üzerindeki farmakolojik etkilere dair çalışmaların çoğunlukla antidepresan etki yönünde olduğu söylenebilir. Ancak yukarıda bahsedilen BNC210 örneği ışığında, nikotinik alfa-7 negatif allosterik modülatörlerinin duygudurum iyileştirici potansiyeli de

unutulmamalıdır **(289, 290)**. Diğer yandan mevcut çalışmalar farklı dozlarda, farklı ajanlarla ve farklı hayvan modellerinde gerçekleştirilmiştir. Bu nedenle ileri çalışmalara gereksinim vardır. Aynı zamanda literatürde, bizim çalışmamıza benzer şekilde AVL-3288'in akut paradoksal uykusuzlukta depresif duygududuruma olan etkisinin incelendiği bir çalışma bilgimiz dahilinde bulunmamakta olup, araştırmamız **bu konuda ilk veri** olarak görünmektedir.

5.6. PUY ve ÇÖZ Grupları Arasındaki Karşılaştırmalar

Sonuçlarımıza göre, uykusuz bırakılıp sadece çözücü verilen grupta uykusuz bırakılıp enjeksiyon yapılmayan gruba göre lokomotor aktivitede azalma ve işleyen hafızada gerileme görülmüştür.

İntraperitoneal müdahale işleminin etkisi veya çözücünün kendi etkisine bağlı olarak hayvanlarda lokomotor aktivitede azalma ve işleyen hafızada gerileme gerçekleşmiş olabilir. Bu nedenle farmakolojik ajanların etkilerini doğru gözleyebilme açısından, enjeksiyon işlemi uygulanmış ve aynı miktarda aynı nitelikte çözücü uygulanmış fareleri aynı zeminde birbiriyle karşılaştırmanın en doğru seçenek olduğu tarafımızca değerlendirilmiştir. Enjeksiyonun veya çözücünün birtakım etkilerinin gözlenmiş olması çalışmamızın bir kısıtlılığıdır. Bu durum kısıtlılıklar bölümünde detaylıca değerlendirilmiştir.

6. SONUÇLAR

Çalışmamızda, bir akut uyku yetersizliği hayvan modeli oluşturulmuş ve bu akut paradoksal uykusuzluğun oluşturduğu kognitif değişiklikler değerlendirilmiştir. Aynı zamanda akut uykusuzluk kaynaklı kognitif değişiklikler üzerinde dört farklı nörotransmitter sistemi üzerinden fonksiyon gösteren ajanların etkileri kapsamlı bir davranışsal test düzeneği ile araştırılmıştır.

- Bu kapsamda, **48 saatlik akut REM-uyku yetersizliği lokomotor aktivitede artışa yol açmış, anksiyeteyi azaltmış ve depresif bulguları hafifletmiştir**. İnsanlarda akut uykusuzluğun, depresyon tedavisinde iyileştirici bir etkiye sahip olabileceği ve nöropsikiyatrik hastalıkların tedavileri üzerinde olumlu etki potansiyeli değerlendirilmekte olan bir araştırma konusudur.
- **Akut paradoksal uykusuzluğun uzun süreli uzaysal referans hafızada hafif derecede olumsuz, işleyen hafızada ise olumlu değişiklik oluşturduğu gözlenmiş olup,** bu durumun nörokimyasal ve moleküler mekanizmaları ileri çalışmalarla değerlendirilebilir.
- **Akut tek doz kafein akut paradoksik uykusuzlukta süslenme ve şahlanma davranışlarını tamamen ortadan kaldırmıştır.** Literatürde bu yönde bir bilgi veya gözlem bilgimiz dahilinde henüz bulunmamaktadır. Literatürde bu davranışların farelerin bilişsel durumu için ne anlama geldiğine dair tartışmalar devam etmektedir. Bulgularımız bu yöndeki tartışmaların yeniden değerlendirilmesini sağlayabilir.
- **Kafeinin akut paradoksal uykusuzlukta anksiyetede azalma yapması** çalışmamızın beklenmeyen, ilginç bir bulgusudur. Çünkü, sağlıklı bireylerde veya kronik uygulamada yapılan çalışmalarda görüldüğü üzere, kafeinin anksiyeteyi

artırmasını beklerdik. Ancak akut paradoksal uykusuzluk gibi özel bazı şartlarda, kafein ile gerçekleşen adenozin reseptör blokajının sakinleştirici bir etkide bulunabileceği düşünülebilir.

- **Kafeinin** dünyada en çok kullanılan kognitif güçlendirici (nootropik) ajan olarak **farelerde uzun süreli uzaysal hafızada bozulma eğilimi oluşturması** şaşırtıcı olup, adenozin antagonizmasının beyindeki sirkadyen ritmi ve melatonin salıverilmesini düzenleyen mekanizmaları olumsuz yönde etkilemesiyle ilişkilendirilebilir.

- **Modafinil, yüksek dozlarda çok belirgin lokomotor aktivite artışına yol açmış, hafif anksiyolitik etki de göstermiş ancak hafıza üzerinde belirgin bir etkide bulunmamıştır**. Dolayısıyla modafinil çalışmalarında nootropik etkinin gözlenmesi adına ilerleyen çalışmalarda daha düşük dozların tercih edilmesi faydalı olabilir. Bu bulgular aynı zamanda, modafinil kullanımının her zaman ve her şartta bilişsel performans artışı oluşturmayacağını ortaya koymuştur. Diğer yandan, çalışmamızda gözlenen boyutta bir lokomotor aktivite artışı, fiziksel performans artırıcı potansiyel açısından modafinile dikkat edilmesi gerektiğini göz önüne koymuştur. Modafinil, "Dünya Dopingle Mücadele Ajansı"nın yasaklı maddeler listesinde yer almaktadır **(296)**. Son olarak da modafinilin, belirgin bir iştah baskılayıcı etkiye sahip olması, obezite tedavisi potansiyeli için klinik çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiğine işaret etmektedir.

- Bir ampakin türevi olan **CX516'nın duygudurumsal bir değişikliğe yol açmaksızın işleyen hafızada olumlu etkisi** bulunabileceğini gösterilmiştir. Ampakin türevlerinin akut uykusuzluktaki tek doz kullanımının etkisine dair literatür oldukça sınırlıdır. Dolayısıyla bu tez çalışmamız, var olan literatürün geliştirilmesi adına büyük önem taşımaktadır.

- Çalışmamızda bir nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörü olan **AVL-3288'in akut uykusuzlukta tek doz kullanımının duygudurumsal bir değişikliğe neden olmaksızın, uzun süreli uzaysal hafızayı olumsuz etkileyebileceği** ortaya konmuştur. Nikotinik alfa-7 pozitif allosterik modülatörleri, birçok nöropsikiyatrik hastalıkta ciddi kullanım potansiyeli taşımaktadır. Bu yönden, uyku yetersizliğinde oluşturabileceği akut etkilerin daha yakından incelenmesi önem taşımaktadır. Aynı zamanda, nikotinik sistemin uyarılmasının uykusuzluk durumunda hafızayı olumsuz etkilemesine yol açan mekanizmaların da açıklığa kavuşturulması gerekmektedir.

- Çalışmamız sonucunda **AVL-3288, modafinil ve kafein gibi anksiyolitik yönde bir etki eğiliminde bulunmamıştır**. **CX516'nın anksiyolitik etki yönünde oluşturduğu eğilim ise kafein ve modafinil ile karşılaştırılabilecek bir etki boyutunda değildir**.

- Çalışmamız sonucunda **AVL-3288 ve CX516'nın uyku yetersizliği sonrası uzun süreli hafızada kafein ve modafinile yönelik bir üstünlükleri tespit edilmemiştir**. Ancak **CX516, işleyen hafızanın iyileştirilmesiyle ilgili olarak kafeine kıyasla daha olumlu bir etkide bulunabilir**.

7. KISITLILIKLAR

Çalışmamız sadece davranışsal deneylerden oluşmaktadır. Hayvanların stres durumları hipotalamik-pitiüter-adrenal aks üzerinden veya nörokognitif plastisite yetenekleri nörotrofik faktörlerin ölçümü üzerinden de değerlendirilebilse daha kıymetli sonuçlar elde edilebilir. Diğer yandan dokularda, özellikle de spesifik beyin bölgelerinde nörotransmiter ölçümleri yapılabilse veya reseptör düzeyinde farmakodinami çalışmaları gerçekleştirilebilse yine önemli açıklamalar elde edilebilir. Ayrıca, hücre içi yolakların veya mRNA düzeylerinin ölçümleri üzerinden de değerlendirmeler yapılabilir.

Çalışmamız kapsamında farklı gruplara, farklı günler içinde deney prosedürleri uygulamak durumunda kalınmıştır. Her ne kadar tüm deneyler kontrollü ortamlarda gerçekleşse de tüm gruplara aynı günlerde deneylerin uygulanması tavsiye edilmektedir. Ancak bu kadar çok gruba ve hayvana aynı günün gündüz vakti içinde deney yapabilmek süre açısından mümkün değildir. Deneylerin, hayvanların uyku uyanıklık döngüleri içinde aynı faz içinde gerçekleştirilebilmesi için böyle bir yöntem izlenmek zorunda kalınmıştır.

Çalışmamızda çok sayıda deney ve yeni geliştirilmekte olan ajanlar için doz grubumuz bulunmaktadır. Dolayısıyla deneyimizde modafinil ve kafein çoklu dozlarda denenememiştir. Bu ajanların çoklu dozlarının denenebildiği çalışmalar olası bifazik etkileri daha net gözler önüne serebilir.

Çalışmamızda depresif duygudurum yalnız tek test (kuyruktan ası) ile değerlendirilmek zorunda kalınmış, testin zaman çizelgesi ve yapısından kaynaklı

kısıtlılıklar nedeniyle anhedoni durumu, sükroz tercih testi ile değerlendirilememiştir.

Yükseltilmiş artı labirent testinde ilk test tecrübesinin sonraki testlerde kapalı kollarda kalma süresini artırdığı bilgisi literatürde bulunmaktadır. Bu durum "tek deneme toleransı" etkisi olarak adlandırılmıştır. Ancak bu fenomende tarif edilen, ilk test durumunda açık kolları keşfetme davranışının "anksiyetede azalma" değil, panik ve kaçma davranışından kaynaklandığı yönünde yorumlar da vardır. **(297, 298)**. Özellikle 48 saat uyku yetersizliği modelinde ortaya çıkan hareket ve ortam kısıtlılığı sonrası farelerde gözlenen, ortamdan hızla kaçma isteğinin önüne geçmek ve daha doğru sonuçlar elde etmek için, öncesinde ortama alıştırılma yapılması uygun görülmüştür.

Deneyde kullandığımız çözücü literatürde daha önce yüksek etki faktörlü dergilerde yayınlanan davranışsal çalışmalarda bildirilmiştir **(196, 197)**. Modafinilin ve ampakinlerin suda zor çözünen maddeler olmasından dolayı kullandığımıza benzer çözücüler literatürde daha önce de davranışsal çalışmalarda kullanılmıştır **(150, 299, 300)**. Literatürde her ne kadar Tween-80'in ve DMSO'nun %32 oranında davranışsal değişikliklere yol açabileceği bildirilmiş olsa da bu oranlar deneyimizde kullanılmış olan %10 DMSO ve %15 Tween-80 çözücü yüzdelerinin çok altında kalmaktadır **(301)**. Dolayısıyla deneyimizde PUY ve ÇÖZ grupları arasında gözlenen değişiklikleri enjeksiyon işleminin kendisiyle ilişkilendirmek de mümkündür. Davranışsal çalışmalarda yine de ideal olan, çözücü olarak mümkün en etkisiz maddeyi kullanmaktır. Ancak çözdürülen maddelerin kimyasal özelliklerinden dolayı bu durum her zaman münkün olmayabilir. Özellikle

modafinil gibi zor çözünen ajanlarla çalışıldığında farklı çözüm arayışlarına gitmek gerekebilmektedir **(302)**.

Çalışmamızda asıl olarak KTR ve PUY grupları kendi içinde, kalan yedi adet enjeksiyon yapılan grup da yine kendi içlerinde karşılaştırılmıştır. Bu tercihin nedeni, intraperitoneal enjeksiyonun kendisinin literatürde de bildirildiği üzere, davranışsal değişikliklere yol açacak olmasıdır **(303, 304)**. Bu durumda PUY grubu ve ÇÖZ grubu arasında oluştuğu gözlenen farklılıklar enjeksiyon müdahalesinin kendisine de bağlı olabilecek olup bu noktadan anlamlı sonuçlar üretmek doğru olmayacaktır.

Diğer yandan çalışmamızda yukarıda da açıklandığı üzere, modafinile ait çözünürlük problemi nedeniyle karmaşık bir çözücü kullanılmıştır. Uygulanan farmakolojik ajanların etkisini en doğru gözlemleme yolu olarak da tüm karşılaştırılan gruplara aynı çözücünün aynı miktarda verilmesi tercih edilmiştir. Literatürde, çalışmamızda kullandığımız çözücünün aynısının kullanıldığı etki faktörü yüksek yayınlarda karşılaştırmaların çözücü grubu ile yapıldığı görülmektedir **(196,197)**. Dolayısıyla bu tercihimizin kabul görmüş bir yaklaşım olduğu anlaşılmaktadır. Ayrıca literatürde, özellikle modafinil ve türevlerinin kullanıldığı çalışmalarda, deney gruplarını çözücü grubu ile karşılaştırma yoluna gidildiği de sıklıkla karşılaşılan bir yaklaşımdır **(300, 305, 306)**.

8. KAYNAKLAR

1. Léger D, Poursain B, Neubauer D, Uchiyama M. An international survey of sleeping problems in the general population. Curr Med Res Opin. 2008;24(1):307-17.
2. Revel FG, Gottowik J, Gatti S, Wettstein JG, Moreau JL. Rodent models of insomnia: a review of experimental procedures that induce sleep disturbances. Neurosci Biobehav Rev. 2009;33(6):874-99.
3. Morgenthaler T, Kramer M, Alessi C, Friedman L, Boehlecke B, Brown T, et al. Practice parameters for the psychological and behavioral treatment of insomnia: an update. An american academy of sleep medicine report. Sleep. 2006;29(11):1415-9.
4. Mitchell LJ, Bisdounis L, Ballesio A, Omlin X, Kyle SD. The impact of cognitive behavioural therapy for insomnia on objective sleep parameters: A meta-analysis and systematic review. Sleep Med Rev. 2019;47:90-102.
5. Madari S, Golebiowski R, Mansukhani MP, Kolla BP. Pharmacological Management of Insomnia. Neurotherapeutics. 2021;18(1):44-52.
6. Bartlett D, Hansen S, Cruickshank T, Rankin T, Zaenker P, Mazzucchelli G, et al. Effects of sleepiness on clinical decision making among paramedic students: a simulated night shift study. Emerg Med J. 2022;39(1):45-51.
7. Bae SH, Fabry D. Assessing the relationships between nurse work hours/overtime and nurse and patient outcomes: systematic literature review. Nurs Outlook. 2014;62(2):138-56.
8. Caruso CC, Baldwin CM, Berger A, Chasens ER, Edmonson JC, Gobel BH, et al. Policy brief: Nurse fatigue, sleep, and health, and ensuring patient and public safety. Nurs Outlook. 2019;67(5):615-9.
9. Han K, Hwang H, Lim E, Jung M, Lee J, Lim E, et al. Scheduled Naps Improve Drowsiness and Quality of Nursing Care among 12-Hour Shift Nurses. Int J Environ Res Public Health. 2021;18(3).
10. Weinberg, B.A., & Bealer, B.K. The World of Caffeine: The Science and Culture of the World's Most Popular Drug (1st ed.). Routledge; 2000.
11. Daubner J, Arshaad MI, Henseler C, Hescheler J, Ehninger D, Broich K, et al. Pharmacological Neuroenhancement: Current Aspects of Categorization, Epidemiology, Pharmacology, Drug Development, Ethics, and Future Perspectives. Neural Plast. 2021;2021:8823383.
12. Rasmussen N. Amphetamine-Type Stimulants: The Early History of Their Medical and Non-Medical Uses. Int Rev Neurobiol. 2015;120:9-25.
13. Taylor, G., Keys, R. 2003. "Modafinil and Management of Aircrew Fatigue", Wayback Machine https://web.archive.org/web/20090612082936/http://www.hep.afrl.af.mil/HEPF/Policy/modafinil.pdf Son Erişim Tarihin: 13.10.2023.

14. Guevarra JT, Hiensch R, Varga AW, Rapoport DM. Pitolisant to Treat Excessive Daytime Sleepiness and Cataplexy in Adults with Narcolepsy: Rationale and Clinical Utility. Nat Sci Sleep. 2020;12:709-19.

15. Kim D. Practical use and risk of modafinil, a novel waking drug. Environ Health Toxicol. 2012;27:e2012007.

16. Van Puyvelde M, Van Cutsem J, Lacroix E, Pattyn N. A State-of-the-Art Review on the Use of Modafinil as A Performance-enhancing Drug in the Context of Military Operationality. Mil Med. 2022;187(1-2):52-64.

17. Lawrence NS, Ross TJ, Stein EA. Cognitive mechanisms of nicotine on visual attention. Neuron. 2002;36(3):539-48.

18. Passetti F, Dalley JW, O'Connell MT, Everitt BJ, Robbins TW. Increased acetylcholine release in the rat medial prefrontal cortex during performance of a visual attentional task. Eur J Neurosci. 2000;12(8):3051-8.

19. McGaughy J, Dalley JW, Morrison CH, Everitt BJ, Robbins TW. Selective behavioral and neurochemical effects of cholinergic lesions produced by intrabasalis infusions of 192 IgG-saporin on attentional performance in a five-choice serial reaction time task. J Neurosci. 2002;22(5):1905-13.

20. Wood C, Kohli S, Malcolm E, Allison C, Shoaib M. Subtype-selective nicotinic acetylcholine receptor agonists can improve cognitive flexibility in an attentional set shifting task. Neuropharmacology. 2016;105:106-13.

21. Bristow LJ, Easton AE, Li YW, Sivarao DV, Lidge R, Jones KM, et al. The Novel, Nicotinic Alpha7 Receptor Partial Agonist, BMS-933043, Improves Cognition and Sensory Processing in Preclinical Models of Schizophrenia. PLoS One. 2016;11(7):e0159996.

22. Potasiewicz A, Golebiowska J, Popik P, Nikiforuk A. Procognitive effects of varenicline in the animal model of schizophrenia depend on α4β2- and α 7-nicotinic acetylcholine receptors. J Psychopharmacol. 2018;33(1):269881118812097.

23. Takata K, Amamiya T, Mizoguchi H, Kawanishi S, Kuroda E, Kitamura R, et al. Alpha7 nicotinic acetylcholine receptor-specific agonist DMXBA (GTS-21) attenuates Aβ accumulation through suppression of neuronal γ-secretase activity and promotion of microglial amyloid-β phagocytosis and ameliorates cognitive impairment in a mouse model of Alzheimer's disease. Neurobiol Aging. 2018;62:197-209.

24. Townsend M, Whyment A, Walczak JS, Jeggo R, van den Top M, Flood DG, et al. α7-nAChR agonist enhances neural plasticity in the hippocampus via a GABAergic circuit. J Neurophysiol. 2016;116(6):2663-75.

25. U.S. National Librariy of Medicine, ClinicalTrials.gov, "Study Titles", https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=AVL-3288&cntry=&state=&city=&dist=, erişim tarihi Son Erişim Tarihi: 13/10/2023

26. Gee KW, Olincy A, Kanner R, Johnson L, Hogenkamp D, Harris J, et al. First in human trial of a type I positive allosteric modulator of alpha7-

nicotinic acetylcholine receptors: Pharmacokinetics, safety, and evidence for neurocognitive effect of AVL-3288. J Psychopharmacol. 2017;31(4):434-41.

27. Kantrowitz JT, Javitt DC, Freedman R, Sehatpour P, Kegeles LS, Carlson M, et al. Double blind, two dose, randomized, placebo-controlled, cross-over clinical trial of the positive allosteric modulator at the alpha7 nicotinic cholinergic receptor AVL-3288 in schizophrenia patients. Neuropsychopharmacology. 2020;45(8):1339-45.

28. Titus DJ, Johnstone T, Johnson NH, London SH, Chapalamadugu M, Hogenkamp D, et al. Positive allosteric modulation of the α7 nicotinic acetylcholine receptor as a treatment for cognitive deficits after traumatic brain injury. PLoS One. 2019;14(10):e0223180.

29. Lin JS, Anaclet C, Sergeeva OA, Haas HL. The waking brain: an update. Cell Mol Life Sci. 2011;68(15):2499-512.

30. Brown RE, Basheer R, McKenna JT, Strecker RE, McCarley RW. Control of sleep and wakefulness. Physiol Rev. 2012;92(3):1087-187.

31. Mozafari N, Shamsizadeh A, Fatemi I, Allahtavakoli M, Moghadam-Ahmadi A, Kaviani E, et al. CX691, as an AMPA receptor positive modulator, improves the learning and memory in a rat model of Alzheimer's disease. Iran J Basic Med Sci. 2018;21(7):724-30.

32. Radin DP, Johnson S, Purcell R, Lippa AS. Effects of chronic systemic low-impact ampakine treatment on neurotrophin expression in rat brain. Biomed Pharmacother. 2018;105:540-4.

33. Woolley ML, Waters KA, Gartlon JE, Lacroix LP, Jennings C, Shaughnessy F, et al. Evaluation of the pro-cognitive effects of the AMPA receptor positive modulator, 5-(1-piperidinylcarbonyl)-2,1,3-benzoxadiazole (CX691), in the rat. Psychopharmacology (Berl). 2009;202(1-3):343-54.

34. Benn A, Barker GR, Stuart SA, Roloff EV, Teschemacher AG, Warburton EC, et al. Optogenetic Stimulation of Prefrontal Glutamatergic Neurons Enhances Recognition Memory. J Neurosci. 2016;36(18):4930-9.

35. Jawabri KH, Raja A. Physiology, Sleep Patterns. [Updated 2023 May 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551680/

36. Irwin MR. Why sleep is important for health: a psychoneuroimmunology perspective. Annu Rev Psychol. 2015;66:143-72.

37. Scott AJ, Webb TL, Martyn-St James M, Rowse G, Weich S. Improving sleep quality leads to better mental health: A meta-analysis of randomised controlled trials. Sleep Med Rev. 2021;60:101556.

38. Taylor DJ, Lichstein KL, Durrence HH, Reidel BW, Bush AJ. Epidemiology of insomnia, depression, and anxiety. Sleep. 2005;28(11):1457-64.

39. Baglioni C, Battagliese G, Feige B, Spiegelhalder K, Nissen C, Voderholzer U, et al. Insomnia as a predictor of depression: a meta-analytic evaluation

of longitudinal epidemiological studies. J Affect Disord. 2011;135(1-3):10-9.

40. Harvey AG, Jones C, Schmidt DA. Sleep and posttraumatic stress disorder: a review. Clin Psychol Rev. 2003;23(3):377-407.

41. Lauer CJ, Krieg JC. Sleep in eating disorders. Sleep Med Rev. 2004;8(2):109-18.

42. Sharafkhaneh A, Giray N, Richardson P, Young T, Hirshkowitz M. Association of psychiatric disorders and sleep apnea in a large cohort. Sleep. 2005;28(11):1405-11.

43. Ohayon MM. Epidemiological Overview of sleep Disorders in the General Population. Sleep Med Res. 2011;2(1):1-9.

44. Kerkhof GA. Epidemiology of sleep and sleep disorders in The Netherlands. Sleep Med. 2017;30:229-39.

45. Philip P, Sagaspe P, Prague M, Tassi P, Capelli A, Bioulac B, et al. Acute versus chronic partial sleep deprivation in middle-aged people: differential effect on performance and sleepiness. Sleep. 2012;35(7):997-1002.

46. Thompson KI, Chau M, Lorenzetti MS, Hill LD, Fins AI, Tartar JL. Acute sleep deprivation disrupts emotion, cognition, inflammation, and cortisol in young healthy adults. Front Behav Neurosci. 2022;16:945661.

47. Yang DF, Huang WC, Wu CW, Huang CY, Yang YSH, Tung YT. Acute sleep deprivation exacerbates systemic inflammation and psychiatry disorders through gut microbiota dysbiosis and disruption of circadian rhythms. Microbiol Res. 2023;268:127292.

48. Drake CL, Wright KP. Chapter 71 - Shift Work, Shift-Work Disorder, and Jet Lag. In: Kryger MH, Roth T, Dement WC, editors. Principles and Practice of Sleep Medicine (Fifth Edition). Philadelphia: W.B. Saunders; 2011. p. 784-98.

49. Onaolapo JO, Onaolapo YA, Akanmu AM, Olayiwola G. Caffeine and sleep-deprivation mediated changes in open-field behaviours, stress response and antioxidant status in mice. Sleep Sci. 2016;9(3):236-43.

50. Tartar JL, Ward CP, Cordeira JW, Legare SL, Blanchette AJ, McCarley RW, et al. Experimental sleep fragmentation and sleep deprivation in rats increases exploration in an open field test of anxiety while increasing plasma corticosterone levels. Behav Brain Res. 2009;197(2):450-3.

51. Tai F, Wang C, Deng X, Li R, Guo Z, Quan H, et al. Treadmill exercise ameliorates chronic REM sleep deprivation-induced anxiety-like behavior and cognitive impairment in C57BL/6J mice. Brain Res Bull. 2020;164:198-207.

52. Frussa-Filho R, Gonçalves MT, Andersen ML, de Araujo NP, Chinen CC, Tufik S. Paradoxical sleep deprivation potentiates amphetamine-induced behavioural sensitization by increasing its conditioned component. Brain Res. 2004;1003(1-2):188-93.

53. Zager A, Andersen ML, Lima MM, Reksidler AB, Machado RB, Tufik S. Modulation of sickness behavior by sleep: the role of neurochemical and neuroinflammatory pathways in mice. Eur Neuropsychopharmacol. 2009;19(8):589-602.

54. Panaccione I, Iacovelli L, di Nuzzo L, Nardecchia F, Mauro G, Janiri D, et al. Paradoxical sleep deprivation in rats causes a selective reduction in the expression of type-2 metabotropic glutamate receptors in the hippocampus. Pharmacol Res. 2017;117:46-53.

55. Colavito V, Fabene PF, Grassi-Zucconi G, Pifferi F, Lamberty Y, Bentivoglio M, et al. Experimental sleep deprivation as a tool to test memory deficits in rodents. Front Syst Neurosci. 2013;7:106.

56. McCoy JG, Christie MA, Kim Y, Brennan R, Poeta DL, McCarley RW, et al. Chronic sleep restriction impairs spatial memory in rats. Neuroreport. 2013;24(2):91-5.

57. Aleisa AM, Alzoubi KH, Alkadhi KA. Post-learning REM sleep deprivation impairs long-term memory: reversal by acute nicotine treatment. Neurosci Lett. 2011;499(1):28-31.

58. Legault G, Delay S, Madore A. Identification of a rapid eye movement sleep window for learning of the win-shift radial arm maze task for male Sprague-Dawley rats. J Sleep Res. 2010;19(4):508-15.

59. Yang RH, Hu SJ, Wang Y, Zhang WB, Luo WJ, Chen JY. Paradoxical sleep deprivation impairs spatial learning and affects membrane excitability and mitochondrial protein in the hippocampus. Brain Res. 2008;1230:224-32.

60. Hajali V, Sheibani V, Esmaeili-Mahani S, Shabani M. Female rats are more susceptible to the deleterious effects of paradoxical sleep deprivation on cognitive performance. Behav Brain Res. 2012;228(2):311-8.

61. Kaur H, Spurling BC, Bollu PC. Chronic Insomnia. In: StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; July 10, 2023.

62. Lie JD, Tu KN, Shen DD, Wong BM. Pharmacological Treatment of Insomnia. P t. 2015;40(11):759-71.

63. van Vliet SA, Jongsma MJ, Vanwersch RA, Olivier B, Philippens IH. Efficacy of caffeine and modafinil in counteracting sleep deprivation in the marmoset monkey. Psychopharmacology (Berl). 2008;197(1):59-66.

64. Wingelaar-Jagt YQ, Bottenheft C, Riedel WJ, Ramaekers JG. Effects of modafinil and caffeine on night-time vigilance of air force crewmembers: A randomized controlled trial. J Psychopharmacol. 2023;37(2):172-80.

65. Li H, Wang M, Wu Y, Chen X, Xue C, Liu P, et al. Clinical Effect of Electroacupuncture on Acute Sleep Deprivation and Event-Related Potential Affecting the Inhibition Control of the Brain: Study Protocol for a Randomized Controlled Trial. Front Neurol. 2022;13:911668.

66. Boutrel B, Koob GF. What keeps us awake: the neuropharmacology of stimulants and wakefulness-promoting medications. Sleep. 2004;27(6):1181-94.

67. Comtet H, Geoffroy PA, Kobayashi Frisk M, Hubbard J, Robin-Choteau L, Calvel L, et al. Light therapy with boxes or glasses to counteract effects of acute sleep deprivation. Sci Rep. 2019;9(1):18073.

68. Rupp TL, Garbarino S, Guglielmi O, Lanteri P. Concepts of Fatigue, Sleepiness, and Alertness☆. Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology: Elsevier; 2017.

69. Rétey JV, Adam M, Gottselig JM, Khatami R, Dürr R, Achermann P, et al. Adenosinergic mechanisms contribute to individual differences in sleep deprivation-induced changes in neurobehavioral function and brain rhythmic activity. J Neurosci. 2006;26(41):10472-9.

70. Gerrard P, Malcolm R. Mechanisms of modafinil: A review of current research. Neuropsychiatr Dis Treat. 2007;3(3):349-64.

71. Faraone SV. The pharmacology of amphetamine and methylphenidate: Relevance to the neurobiology of attention-deficit/hyperactivity disorder and other psychiatric comorbidities. Neurosci Biobehav Rev. 2018;87:255-70.

72. Lamb YN. Pitolisant: A Review in Narcolepsy with or without Cataplexy. CNS Drugs. 2020;34(2):207-18.

73. Feinberg I, Schoepp DD, Hsieh KC, Darchia N, Campbell IG. The metabotropic glutamate (mGLU)2/3 receptor antagonist LY341495 [2S-2-amino-2-(1S,2S-2-carboxycyclopropyl-1-yl)-3-(xanth-9-yl)propanoic acid] stimulates waking and fast electroencephalogram power and blocks the effects of the mGLU2/3 receptor agonist ly379268 [(-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylate] in rats. J Pharmacol Exp Ther. 2005;312(2):826-33.

74. Zimmerman JE, Chan MT, Lenz OT, Keenan BT, Maislin G, Pack AI. Glutamate Is a Wake-Active Neurotransmitter in Drosophila melanogaster. Sleep. 2017;40(2).

75. Eyigor O, Minbay Z, Kafa IM. Glutamate and orexin neurons. Vitam Horm. 2012;89:209-22.

76. Ngomba RT, Lüttjohann A, Dexter A, Ray S, van Luijtelaar G. The Metabotropic Glutamate 5 Receptor in Sleep and Wakefulness: Focus on the Cortico-Thalamo-Cortical Oscillations. Cells. 2023;12(13).

77. Johnson SA, Simmon VF. Randomized, double-blind, placebo-controlled international clinical trial of the Ampakine CX516 in elderly participants with mild cognitive impairment: a progress report. J Mol Neurosci. 2002;19(1-2):197-200.

78. Boyle J, Stanley N, James LM, Wright N, Johnsen S, Arbon EL, et al. Acute sleep deprivation: the effects of the AMPAKINE compound CX717 on human cognitive performance, alertness and recovery sleep. J Psychopharmacol. 2012;26(8):1047-57.

79. Porrino LJ, Daunais JB, Rogers GA, Hampson RE, Deadwyler SA. Facilitation of task performance and removal of the effects of sleep

deprivation by an ampakine (CX717) in nonhuman primates. PLoS Biol. 2005;3(9):e299.

80. Dubiela FP, Queiroz CM, Moreira KD, Nobrega JN, Sita LV, Tufik S, et al. AMPA receptors mediate passive avoidance deficits induced by sleep deprivation. Behav Brain Res. 2013;257:189-96.

81. Inayat S, Qandeel, Nazariahangarkolaee M, Singh S, McNaughton BL, Whishaw IQ, et al. Low acetylcholine during early sleep is important for motor memory consolidation. Sleep. 2020;43(6).

82. Vazquez J, Baghdoyan HA. Basal forebrain acetylcholine release during REM sleep is significantly greater than during waking. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2001;280(2):R598-601.

83. Delorme J, Wang L, Kuhn FR, Kodoth V, Ma J, Martinez JD, et al. Sleep loss drives acetylcholine- and somatostatin interneuron-mediated gating of hippocampal activity to inhibit memory consolidation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021;118(32).

84. Dai X, Zhou E, Yang W, Mao R, Zhang W, Rao Y. Molecular resolution of a behavioral paradox: sleep and arousal are regulated by distinct acetylcholine receptors in different neuronal types in Drosophila. Sleep. 2021;44(7).

85. Manetti D, Dei S, Arias HR, Braconi L, Gabellini A, Teodori E, et al. Recent Advances in the Discovery of Nicotinic Acetylcholine Receptor Allosteric Modulators. Molecules. 2023;28(3).

86. Unal G, Bekci H, Cumaoglu A, Yerer MB, Aricioglu F. Alpha 7 nicotinic receptor agonist and positive allosteric modulators improved social and molecular deficits of MK-801 model of schizophrenia in rats. Pharmacol Biochem Behav. 2020;193:172916.

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

88. Uteshev VV. The therapeutic promise of positive allosteric modulation of nicotinic receptors. Eur J Pharmacol. 2014;727:181-5.

89. Xue R, Wan Y, Sun X, Zhang X, Gao W, Wu W. Nicotinic Mitigation of Neuroinflammation and Oxidative Stress After Chronic Sleep Deprivation. Front Immunol. 2019;10:2546.

90. Shen H, Meng Y, Liu D, Qin Z, Huang H, Pan L, et al. α7 Nicotinic Acetylcholine Receptor Agonist PNU-282987 Ameliorates Cognitive Impairment Induced by Chronic Intermittent Hypoxia. Nat Sci Sleep. 2021;13:579-90.

91. Hayward A, Adamson L, Neill JC. Partial agonism at the α7 nicotinic acetylcholine receptor improves attention, impulsive action and vigilance in low attentive rats. Eur Neuropsychopharmacol. 2017;27(4):325-35.

92. Mohmed Nor NS, Nawi A, Wan Ahmad WAN, Noordin L. Sleep Deprivation Models in Rodents. Jurnal Sains Kesihatan Malaysia. 2021;19(02):29-34.

93. Toth LA, Bhargava P. Animal models of sleep disorders. Comp Med. 2013;63(2):91-104.

94. Machado RB, Hipólide DC, Benedito-Silva AA, Tufik S. Sleep deprivation induced by the modified multiple platform technique: quantification of sleep loss and recovery. Brain Res. 2004;1004(1-2):45-51.

95. Han C, Li F, Ma J, Liu Y, Li W, Mao Y, et al. Distinct behavioral and brain changes after different durations of the modified multiple platform method on rats: An animal model of central fatigue. PLoS One. 2017;12(5):e0176850.

96. Andersen ML, Bignotto M, Tufik S. Cocaine-induced genital reflexes during paradoxical sleep deprivation and recovery. Physiol Behav. 2003;78(2):255-9.

97. Dispersyn G, Sauvet F, Drogou C, Ciret S, Gallopin T, Chennaoui M. Validation of total sleep deprivation model in mice. Sleep Medicine. 2013;14:e107.

98. Arvin P, Ghafouri S, Bavarsad K, Hajipour S, Khoshnam SE, Sarkaki A, et al. Therapeutic effects of growth hormone in a rat model of total sleep deprivation: Evaluating behavioral, hormonal, biochemical and electrophysiological parameters. Behav Brain Res. 2023;438:114190.

99. Patti CL, Zanin KA, Sanday L, Kameda SR, Fernandes-Santos L, Fernandes HA, et al. Effects of sleep deprivation on memory in mice: role of state-dependent learning. Sleep. 2010;33(12):1669-79.

100. Newman SM, Paletz EM, Rattenborg NC, Obermeyer WH, Benca RM. Sleep deprivation in the pigeon using the Disk-Over-Water method. Physiol Behav. 2008;93(1-2):50-8.

101. Machado RB, Suchecki D, Tufik S. Comparison of the sleep pattern throughout a protocol of chronic sleep restriction induced by two methods of paradoxical sleep deprivation. Brain Research Bulletin. 2006;70(3):213-20.

102. Bergmann BM, Everson CA, Kushida CA, Fang VS, Leitch CA, Schoeller DA, et al. Sleep deprivation in the rat: V. Energy use and mediation. Sleep. 1989;12(1):31-41.

103. Bueno OF, Lobo LL, Oliveira MG, Gugliano EB, Pomarico AC, Tufik S. Dissociated paradoxical sleep deprivation effects on inhibitory avoidance and conditioned fear. Physiol Behav. 1994;56(4):775-9.

104. Van Dongen HP, Maislin G, Mullington JM, Dinges DF. The cumulative cost of additional wakefulness: dose-response effects on neurobehavioral functions and sleep physiology from chronic sleep restriction and total sleep deprivation. Sleep. 2003;26(2):117-26.

105. Windholz G. Pavlov's conceptualization of learning. Am J Psychol. 1992;105(3):459-69.

106. Mehmet Ali YÖRÜK UO, Ayşenur BUDAK SAVAŞ, Cemil BAYRAM, Selma SEZEN, Muhammed Sait ERTUĞRUL, Ahmet HACIMÜFTÜOĞLU. Behavioral Tests Used in Experimental Animal Models. Anatolian Journal of Biology. 2022;3(2):14-22.

107. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. Eur J Pharmacol. 2003;463(1-3):3-33.

108. Kraeuter A-K, Guest PC, Sarnyai Z. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. In: Guest PC, editor. Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols. New York, NY: Springer New York; 2019. p. 69-74.

109. Bloch S, Belzung C. The Light–Dark Box Test in the Mouse. In: Harro J, editor. Psychiatric Vulnerability, Mood, and Anxiety Disorders: Tests and Models in Mice and Rats. New York, NY: Springer US; 2023. p. 31-41.

110. Deacon RM. Digging and marble burying in mice: simple methods for in vivo identification of biological impacts. Nat Protoc. 2006;1(1):122-4.

111. Pico RM, Davis JL. The radial maze performance of mice: assessing the dimensional requirements for serial order memory in animals. Behav Neural Biol. 1984;40(1):5-26.

112. Penley SC, Gaudet CM, Threlkeld SW. Use of an eight-arm radial water maze to assess working and reference memory following neonatal brain injury. J Vis Exp. 2013(82):50940.

113. Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. Nat Protoc. 2006;1(2):848-58.

114. Pitts MW. Barnes Maze Procedure for Spatial Learning and Memory in Mice. Bio Protoc. 2018;8(5).

115. Deacon RM. Shallow water (paddling) variants of water maze tests in mice. J Vis Exp. 2013(76).

116. Lueptow LM. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in Mice. J Vis Exp. 2017(126).

117. Olton DS. Shock-motivated avoidance and the analysis of behavior. Psychol Bull. 1973;79(4):243-51.

118. Can A, Dao DT, Terrillion CE, Piantadosi SC, Bhat S, Gould TD. The tail suspension test. J Vis Exp. 2012(59):e3769.

119. Can A, Dao DT, Arad M, Terrillion CE, Piantadosi SC, Gould TD. The mouse forced swim test. J Vis Exp. 2012(59):e3638.

120. Liu MY, Yin CY, Zhu LJ, Zhu XH, Xu C, Luo CX, et al. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. Nat Protoc. 2018;13(7):1686-98.

121. Evans J, Richards JR, Battisti AS. Caffeine. [Updated 2023 Jun 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK519490/

122. Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research. Caffeine for the Sustainment of Mental Task Performance: Formulations for Military Operations. Washington (DC): National Academies Press (US); 2001. 2, Pharmacology of Caffeine. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK223808/

123. Fisone G, Borgkvist A, Usiello A. Caffeine as a psychomotor stimulant: mechanism of action. Cell Mol Life Sci. 2004;61(7-8):857-72.

124. Ferré S. An update on the mechanisms of the psychostimulant effects of caffeine. J Neurochem. 2008;105(4):1067-79.

125. Huang ZL, Urade Y, Hayaishi O. Prostaglandins and adenosine in the regulation of sleep and wakefulness. Curr Opin Pharmacol. 2007;7(1):33-8.

126. El Yacoubi M, Ledent C, Ménard JF, Parmentier M, Costentin J, Vaugeois JM. The stimulant effects of caffeine on locomotor behaviour in mice are mediated through its blockade of adenosine A(2A) receptors. Br J Pharmacol. 2000;129(7):1465-73.

127. Cauli O, Morelli M. Caffeine and the dopaminergic system. Behav Pharmacol. 2005;16(2):63-77.

128. Juliano LM, Griffiths RR. A critical review of caffeine withdrawal: empirical validation of symptoms and signs, incidence, severity, and associated features. Psychopharmacology (Berl). 2004;176(1):1-29.

129. Nehlig A, Daval JL, Debry G. Caffeine and the central nervous system: mechanisms of action, biochemical, metabolic and psychostimulant effects. Brain Res Brain Res Rev. 1992;17(2):139-70.

130. Haleem DJ, Yasmeen A, Parveen T, Zafar A. Enhancement of hepatic tryptophan pyrrolase activity and decreases of open field locomotion following single and repeated administration of high doses of caffeine in rats. Life Sci. 1994;54(17):Pl297-304.

131. Hughes RN, Hancock NJ, Henwood GA, Rapley SA. Evidence for anxiolytic effects of acute caffeine on anxiety-related behavior in male and female rats tested with and without bright light. Behav Brain Res. 2014;271:7-15.

132. Quinlan PT, Lane J, Moore KL, Aspen J, Rycroft JA, O'Brien DC. The acute physiological and mood effects of tea and coffee: the role of caffeine level. Pharmacol Biochem Behav. 2000;66(1):19-28.

133. Arendash GW, Schleif W, Rezai-Zadeh K, Jackson EK, Zacharia LC, Cracchiolo JR, et al. Caffeine protects Alzheimer's mice against cognitive impairment and reduces brain beta-amyloid production. Neuroscience. 2006;142(4):941-52.

134. Angelucci ME, Cesário C, Hiroi RH, Rosalen PL, Da Cunha C. Effects of caffeine on learning and memory in rats tested in the Morris water maze. Braz J Med Biol Res. 2002;35(10):1201-8.

135. Onaolapo OJ, Onaolapo AY, Akanmu MA, Olayiwola G. Caffeine/sleep-deprivation interaction in mice produces complex memory effects. Ann Neurosci. 2015;22(3):139-49.

136. Han ME, Park KH, Baek SY, Kim BS, Kim JB, Kim HJ, et al. Inhibitory effects of caffeine on hippocampal neurogenesis and function. Biochem Biophys Res Commun. 2007;356(4):976-80.

137. Greenblatt K, Adams N. Modafinil. [Updated 2023 Feb 6]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531476/

138. Robertson P, Jr., Hellriegel ET. Clinical pharmacokinetic profile of modafinil. Clin Pharmacokinet. 2003;42(2):123-37.

139. Hashemian SM, Farhadi T. A review on modafinil: the characteristics, function, and use in critical care. J Drug Assess. 2020;9(1):82-6.

140. Tanda G, Hersey M, Hempel B, Xi ZX, Newman AH. Modafinil and its structural analogs as atypical dopamine uptake inhibitors and potential medications for psychostimulant use disorder. Curr Opin Pharmacol. 2021;56:13-21.

141. Salerno M, Villano I, Nicolosi D, Longhitano L, Loreto C, Lovino A, et al. Modafinil and orexin system: interactions and medico-legal considerations. Front Biosci (Landmark Ed). 2019;24(3):564-75.

142. Wisor J. Modafinil as a catecholaminergic agent: empirical evidence and unanswered questions. Front Neurol. 2013;4:139.

143. Gallopin T, Luppi PH, Rambert FA, Frydman A, Fort P. Effect of the wake-promoting agent modafinil on sleep-promoting neurons from the ventrolateral preoptic nucleus: an in vitro pharmacologic study. Sleep. 2004;27(1):19-25.

144. Krishnan R, Chary KV. A rare case modafinil dependence. J Pharmacol Pharmacother. 2015;6(1):49-50.

145. Wuo-Silva R, Fukushiro DF, Hollais AW, Santos-Baldaia R, Mári-Kawamoto E, Berro LF, et al. Modafinil Induces Rapid-Onset Behavioral Sensitization and Cross-Sensitization with Cocaine in Mice: Implications for the Addictive Potential of Modafinil. Front Pharmacol. 2016;7:420.

146. Ornell F, Valvassori SS, Steckert AV, Deroza PF, Resende WR, Varela RB, et al. Modafinil effects on behavior and oxidative damage parameters in brain of wistar rats. Behav Neurol. 2014;2014:917246.

147. Wadhwa M, Chauhan G, Roy K, Sahu S, Deep S, Jain V, et al. Caffeine and Modafinil Ameliorate the Neuroinflammation and Anxious Behavior in Rats during Sleep Deprivation by Inhibiting the Microglia Activation. Front Cell Neurosci. 2018;12:49.

148. Abbasi Y, Mousavizadeh K, Shabani R, Katebi M, Mehdizadeh M. Behavioral Changes in Combination Therapy of Ethanol and Modafinil on Rats Focal Cerebral Ischemia. Basic Clin Neurosci. 2020;11(3):269-78.

149. Garbossa L, Joaquim L, Danielski LG, Goldim MPS, Machado RS, Metzker K, et al. The effect of modafinil on passive avoidance memory, brain level of BDNF and oxidative stress markers in sepsis survivor rats. Int J Neurosci. 2022:1-9.

150. Garcia VA, Souza de Freitas B, Busato SB, D'Avila Portal BC, Piazza FC, Schröder N. Differential effects of modafinil on memory in naïve and memory-impaired rats. Neuropharmacology. 2013;75:304-11.

151. Garcia VA, Hirotsu C, Matos G, Alvarenga T, Pires GN, Kapczinski F, et al. Modafinil ameliorates cognitive deficits induced by maternal separation and sleep deprivation. Behav Brain Res. 2013;253:274-9.

152. Lagarde D, Batejat D, Van Beers P, Sarafian D, Pradella S. Interest of modafinil, a new psychostimulant, during a sixty-hour sleep deprivation experiment. Fundam Clin Pharmacol. 1995;9(3):271-9.

153. Brun J, Chamba G, Khalfallah Y, Girard P, Boissy I, Bastuji H, et al. Effect of modafinil on plasma melatonin, cortisol and growth hormone rhythms, rectal temperature and performance in healthy subjects during a 36 h sleep deprivation. J Sleep Res. 1998;7(2):105-14.

154. Caldwell JA, Jr., Caldwell JL, Smythe NK, 3rd, Hall KK. A double-blind, placebo-controlled investigation of the efficacy of modafinil for sustaining the alertness and performance of aviators: a helicopter simulator study. Psychopharmacology (Berl). 2000;150(3):272-82.

155. Perez GA, Haney M, Foltin RW, Hart CL. Modafinil decreases food intake in humans subjected to simulated shift work. Pharmacol Biochem Behav. 2008;90(4):717-22.

156. Nicolaidis S, De Saint Hilaire Z. Nonamphetamine awakening agent modafinil induces feeding changes in the rat. Brain Res Bull. 1993;32(2):87-90.

157. Chapman JL, Cayanan EA, Hoyos CM, Serinel Y, Comas M, Yee BJ, et al. Does Armodafinil Improve Driving Task Performance and Weight Loss in Sleep Apnea? A Randomized Trial. Am J Respir Crit Care Med. 2018;198(7):941-50.

158. Niswender CM, Conn PJ. Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2010;50:295-322.

159. Hanada T. Ionotropic Glutamate Receptors in Epilepsy: A Review Focusing on AMPA and NMDA Receptors. Biomolecules. 2020;10(3).

160. Sprengel R. Ionotropic Glutamate Receptors. In: Pfaff DW, editor. Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical. New York, NY: Springer New York; 2013. p. 59-80.

161. Sprengel R. Role of AMPA receptors in synaptic plasticity. Cell and Tissue Research. 2006;326(2):447-55.

162. Derkach VA, Oh MC, Guire ES, Soderling TR. Regulatory mechanisms of AMPA receptors in synaptic plasticity. Nat Rev Neurosci. 2007;8(2):101-13.

163. Jin R, Clark S, Weeks AM, Dudman JT, Gouaux E, Partin KM. Mechanism of positive allosteric modulators acting on AMPA receptors. J Neurosci. 2005;25(39):9027-36.

164. Arai AC, Kessler M. Pharmacology of ampakine modulators: from AMPA receptors to synapses and behavior. Curr Drug Targets. 2007;8(5):583-602.

165. Staubli U, Rogers G, Lynch G. Facilitation of glutamate receptors enhances memory. Proc Natl Acad Sci U S A. 1994;91(2):777-81.

166. Shors, T. J., Servatius, R. J., Thompson, R. F., Rogers, G., & Lynch, G. Facilitation of classical conditioning through enhanced glutamatergic transmission. Neurosci Lett. 1994;186, 1-4

167. Larson J, Lieu T, Petchpradub V, LeDuc B, Ngo H, Rogers GA, et al. Facilitation of olfactory learning by a modulator of AMPA receptors. J Neurosci. 1995;15(12):8023-30.

168. Tatsukawa T, Raveau M, Ogiwara I, Hattori S, Miyamoto H, Mazaki E, et al. Scn2a haploinsufficient mice display a spectrum of phenotypes affecting anxiety, sociability, memory flexibility and ampakine CX516 rescues their hyperactivity. Mol Autism. 2019;10:15.

169. Kara NZ, Flaisher-Grinberg S, Einat H. Partial effects of the AMPAkine CX717 in a strain specific battery of tests for manic-like behavior in black Swiss mice. Pharmacol Rep. 2015;67(5):928-33.

170. Miyamoto H, Shimohata A, Abe M, Abe T, Mazaki E, Amano K, et al. Potentiation of excitatory synaptic transmission ameliorates aggression in mice with Stxbp1 haploinsufficiency. Hum Mol Genet. 2017;26(24):4961-74.

171. Hampson RE, Rogers G, Lynch G, Deadwyler SA. Facilitative effects of the ampakine CX516 on short-term memory in rats: enhancement of delayed-nonmatch-to-sample performance. J Neurosci. 1998;18(7):2740-7.

172. Danysz W. CX-516 Cortex pharmaceuticals. Curr Opin Investig Drugs. 2002;3(7):1081-8.

173. Berry-Kravis E, Krause SE, Block SS, Guter S, Wuu J, Leurgans S, et al. Effect of CX516, an AMPA-modulating compound, on cognition and behavior in fragile X syndrome: a controlled trial. J Child Adolesc Psychopharmacol. 2006;16(5):525-40.

174. Kudlak M, Tadi P. Physiology, Muscarinic Receptor. [Updated 2023 Aug 8]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK555909/

175. Abrams P, Andersson KE, Buccafusco JJ, Chapple C, de Groat WC, Fryer AD, et al. Muscarinic receptors: their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder. Br J Pharmacol. 2006;148(5):565-78.

176. Improgo MR, Scofield MD, Tapper AR, Gardner PD. The nicotinic acetylcholine receptor CHRNA5/A3/B4 gene cluster: dual role in nicotine addiction and lung cancer. Prog Neurobiol. 2010;92(2):212-26.

177. Albuquerque EX, Pereira EF, Alkondon M, Rogers SW. Mammalian nicotinic acetylcholine receptors: from structure to function. Physiol Rev. 2009;89(1):73-120.

178. Graham A, Court JA, Martin-Ruiz CM, Jaros E, Perry R, Volsen SG, et al. Immunohistochemical localisation of nicotinic acetylcholine receptor subunits in human cerebellum. Neuroscience. 2002;113(3):493-507.

179. Changeux JP. Nicotine addiction and nicotinic receptors: lessons from genetically modified mice. Nat Rev Neurosci. 2010;11(6):389-401.

180. Tregellas JR, Wylie KP. Alpha7 Nicotinic Receptors as Therapeutic Targets in Schizophrenia. Nicotine Tob Res. 2019;21(3):349-56.

181. Bertrand D, Bertrand S, Cassar S, Gubbins E, Li J, Gopalakrishnan M. Positive allosteric modulation of the alpha7 nicotinic acetylcholine receptor: ligand interactions with distinct binding sites and evidence for a prominent role of the M2-M3 segment. Mol Pharmacol. 2008;74(5):1407-16.

182. Manetti D, Dei S, Arias HR, Braconi L, Gabellini A, Teodori E, et al. Recent Advances in the Discovery of Nicotinic Acetylcholine Receptor Allosteric Modulators. Molecules [Internet]. 2023; 28(3).

183. Wang J, Lindstrom J. Orthosteric and allosteric potentiation of heteromeric neuronal nicotinic acetylcholine receptors. Br J Pharmacol. 2018;175(11):1805-21.

184. Mazurov A, Hauser T, Miller CH. Selective alpha7 nicotinic acetylcholine receptor ligands. Curr Med Chem. 2006;13(13):1567-84.

185. Bettany JH, Levin ED. Ventral hippocampal alpha 7 nicotinic receptor blockade and chronic nicotine effects on memory performance in the radial-arm maze. Pharmacol Biochem Behav. 2001;70(4):467-74.

186. Levin ED, Bettegowda C, Blosser J, Gordon J. AR-R17779, and alpha7 nicotinic agonist, improves learning and memory in rats. Behav Pharmacol. 1999;10(6-7):675-80.

187. Kitagawa H, Takenouchi T, Azuma R, Wesnes KA, Kramer WG, Clody DE, et al. Safety, pharmacokinetics, and effects on cognitive function of multiple doses of GTS-21 in healthy, male volunteers. Neuropsychopharmacology. 2003;28(3):542-51.

188. Andreasen JT, Redrobe JP, Nielsen EØ. Combined α7 nicotinic acetylcholine receptor agonism and partial serotonin transporter inhibition produce antidepressant-like effects in the mouse forced swim and tail

suspension tests: A comparison of SSR180711 and PNU-282987. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 2012;100(3):624-9.

189. Gil SM, Metherate R. Enhanced Sensory-Cognitive Processing by Activation of Nicotinic Acetylcholine Receptors. Nicotine Tob Res. 2019;21(3):377-382. doi:10.1093/ntr/nty134

190. Vicens P, Ribes D, Torrente M, Domingo JL. Behavioral effects of PNU-282987, an alpha7 nicotinic receptor agonist, in mice. Behav Brain Res. 2011;216(1):341-8.

191. Pandya AA, Yakel JL. Activation of the α7 nicotinic ACh receptor induces anxiogenic effects in rats which is blocked by a 5-HT$_1$a receptor antagonist. Neuropharmacology. 2013;70:35-42.

192. Alzarea S, Rahman S. Alpha-7 nicotinic receptor allosteric modulator PNU120596 prevents lipopolysaccharide-induced anxiety, cognitive deficit and depression-like behaviors in mice. Behav Brain Res. 2019;366:19-28.

193. Targowska-Duda KM, Budzynska B, Michalak A, Jozwiak K, Biala G, Arias HR. 3-Furan-2-yl-N-p-tolyl-acrylamide, a highly selective positive allosteric modulator of α7 nicotinic receptors, produces anxiolytic-like activity in mice. J Psychopharmacol. 2019;33(5):558-67.

194. Callahan PM, Hutchings EJ, Kille NJ, Chapman JM, Terry AV, Jr. Positive allosteric modulator of α7 nicotinic-acetylcholine receptors, PNU-120596 augments the effects of donepezil on learning and memory in aged rodents and non-human primates. Neuropharmacology. 2013;67:201-12.

195. Thomsen MS, El-Sayed M, Mikkelsen JD. Differential immediate and sustained memory enhancing effects of alpha7 nicotinic receptor agonists and allosteric modulators in rats. PLoS One. 2011;6(11):e27014.

196. Mereu M, Chun LE, Prisinzano TE, Newman AH, Katz JL, Tanda G. The unique psychostimulant profile of (±)-modafinil: investigation of behavioral and neurochemical effects in mice. Eur J Neurosci. 2017;45(1):167-74.

197. Wang XF, Bi GH, He Y, Yang HJ, Gao JT, Okunola-Bakare OM, et al. R-modafinil attenuates nicotine-taking and nicotine-seeking behavior in alcohol-preferring rats. Neuropsychopharmacology. 2015;40(7):1762-71.

198. Faul, F., Erdfelder, E., Lang, A.-G., & Buchner, A. (2007). G*Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. Behavior Research Methods, 39(2), 175–191. https://doi.org/10.3758/BF03193146

199. van Hulzen ZJ, Coenen AM. Paradoxical sleep deprivation and locomotor activity in rats. Physiol Behav. 1981;27(4):741-4.

200. Suchecki D, Duarte Palma B, Tufik S. Sleep rebound in animals deprived of paradoxical sleep by the modified multiple platform method. Brain Res. 2000;875(1-2):14-22.

201. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the Open Field Maze to measure locomotor and anxiety-like behavior in mice. J Vis Exp. 2015(96):e52434.

202. Sturman O, Germain PL, Bohacek J. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test. Stress. 2018;21(5):443-52.

203. Feyissa DD, Aher YD, Engidawork E, Höger H, Lubec G, Korz V. Individual Differences in Male Rats in a Behavioral Test Battery: A Multivariate Statistical Approach. Front Behav Neurosci. 2017;11:26.

204. Choi, B and Jung, D. Open-field test. Bio-protocol Preprint. 2021. bio-protocol.org/prep1019.

205. Jung, D. H., Ahn, S. M., Pak, M. E., Lee, H. J., Jung, Y. J., Kim, K. B., Shin, Y., Shin, H. K. and Choi, B. T. Therapeutic effects of anodal transcranial direct current stimulation in a rat model of ADHD. eLIFE. 2020.

206. Belzung C. Open-Field Test. In: Stolerman IP, Price LH, editors. Encyclopedia of Psychopharmacology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2010. p. 1-5.

207. Komada M, Takao K, Miyakawa T. Elevated plus maze for mice. J Vis Exp. 2008(22).

208. De Luca SN, Sominsky L, Spencer SJ. Delayed Spatial Win-shift Test on Radial Arm Maze. Bio-protocol. 2016;6(23):e2053.

209. Seamans JK, Floresco SB, Phillips AG. Functional differences between the prelimbic and anterior cingulate regions of the rat prefrontal cortex. Behav Neurosci. 1995;109(6):1063-73.

210. Olton DS, Schlosberg P. Food-searching strategies in young rats: Win-shift predominates over win-stay. Journal of Comparative and Physiological Psychology. 1978;92(4):609-18.

211. Şimşek, A. S. . The power and type I error of Wilcoxon-Mann-Whitney, Welch's t, and student's t tests for Likert-type data . International Journal of Assessment Tools in Education. 2023;10(1):114-128.

212. Ghasemi A, Zahediasl S. Normality tests for statistical analysis: a guide for non-statisticians. Int J Endocrinol Metab. 2012;10(2):486-9.

213. Rajizadeh MA, Sheibani V, Bejeshk MA, Mohtashami Borzadaran F, Saghari H, Esmaeilpour K. The effects of high intensity exercise on learning and memory impairments followed by combination of sleep deprivation and demyelination induced by etidium bromide. Int J Neurosci. 2019;129(12):1166-78.

214. Demontis MG, Fadda P, Devoto P, Martellotta MC, Fratta W. Sleep deprivation increases dopamine D1 receptor antagonist [3H]SCH 23390 binding and dopamine-stimulated adenylate cyclase in the rat limbic system. Neurosci Lett. 1990;117(1-2):224-7.

215. Nunes Júnior GP, Tufik S, Nobrega JN. Autoradiographic analysis of D1 and D2 dopaminergic receptors in rat brain after paradoxical sleep deprivation. Brain Res Bull. 1994;34(5):453-6.

216. Suchecki D, Tiba PA, Tufik S. Hormonal and behavioural responses of paradoxical sleep-deprived rats to the elevated plus maze. J Neuroendocrinol. 2002;14(7):549-54.

217. Noseda AC, Targa AD, Rodrigues LS, Aurich MF, Lima MM. REM sleep deprivation promotes a dopaminergic influence in the striatal MT2 anxiolytic-like effects. Sleep Sci. 2016;9(1):47-54.

218. Smith CT, Conway JM, Rose GM. Brief paradoxical sleep deprivation impairs reference, but not working, memory in the radial arm maze task. Neurobiol Learn Mem. 1998;69(2):211-7.

219. Walsh CM, Booth V, Poe GR. Spatial and reversal learning in the Morris water maze are largely resistant to six hours of REM sleep deprivation following training. Learn Mem. 2011;18(7):422-34.

220. Wang GP, Huang LQ, Wu HJ, Zhang L, You ZD, Zhao ZX. Calcineurin contributes to spatial memory impairment induced by rapid eye movement sleep deprivation. Neuroreport. 2009;20(13):1172-6.

221. Yang RH, Hu SJ, Wang Y, Zhang WB, Luo WJ, Chen JY. Paradoxical sleep deprivation impairs spatial learning and affects membrane excitability and mitochondrial protein in the hippocampus. Brain Res. 2008;1230:224-32.

222. Voderholzer U. Sleep deprivation and antidepressant treatment. Dialogues Clin Neurosci. 2003;5(4):366-9.

223. Boland EM, Rao H, Dinges DF, Smith RV, Goel N, Detre JA, et al. Meta-Analysis of the Antidepressant Effects of Acute Sleep Deprivation. J Clin Psychiatry. 2017;78(8):e1020-e34.

224. Serchov T, Schwarz I, Theiss A, Sun L, Holz A, Döbrössy MD, et al. Enhanced adenosine A(1) receptor and Homer1a expression in hippocampus modulates the resilience to stress-induced depression-like behavior. Neuropharmacology. 2020;162:107834.

225. Hughes R. Modification by Environmental Enrichment of Acute Caffeine's Behavioral Effects on Male and Female Rats. Journal of Caffeine Research. 2013;3:156-62.

226. Almosawi S, Baksh H, Qareeballa A, Falamarzi F, Alsaleh B, Alrabaani M, et al. Acute Administration of Caffeine: The Effect on Motor Coordination, Higher Brain Cognitive Functions, and the Social Behavior of BLC57 Mice. Behav Sci (Basel). 2018;8(8).

227. Gispen WH, Wiegant VM, Greven HM, de Wied D. The induction of excessive grooming in the rat by intraventricular application of peptides derived from ACTH: structure-activity studies. Life Sci. 1975;17(4):645-52.

228. Spruijt BM, van Hooff JA, Gispen WH. Ethology and neurobiology of grooming behavior. Physiol Rev. 1992;72(3):825-52.

229. van Erp AM, Kruk MR, Meelis W, Willekens-Bramer DC. Effect of environmental stressors on time course, variability and form of self-grooming in the rat: handling, social contact, defeat, novelty, restraint and fur moistening. Behav Brain Res. 1994;65(1):47-55.

230. Estanislau C, Veloso AWN, Filgueiras GB, Maio TP, Dal-Cól MLC, Cunha DC, et al. Rat self-grooming and its relationships with anxiety, dearousal and perseveration: Evidence for a self-grooming trait. Physiol Behav. 2019;209:112585.

231. Estanislau C, Díaz-Morán S, Cañete T, Blázquez G, Tobeña A, Fernández-Teruel A. Context-dependent differences in grooming behavior among the NIH heterogeneous stock and the Roman high- and low-avoidance rats. Neurosci Res. 2013;77(4):187-201.

232. Reimer AE, de Oliveira AR, Diniz JB, Hoexter MQ, Chiavegatto S, Brandão ML. Rats with differential self-grooming expression in the elevated plus-maze do not differ in anxiety-related behaviors. Behav Brain Res. 2015;292:370-80.

233. Svenningsson P, Nomikos GG, Fredholm BB. Biphasic changes in locomotor behavior and in expression of mRNA for NGFI-A and NGFI-B in rat striatum following acute caffeine administration. J Neurosci. 1995;15(11):7612-24.

234. Mitra S, Santana Miranda V, McMillan C, Dykes D, Mucha M, Marth TE, et al. Trait specific modulatory effects of caffeine exposure on compulsive-like behaviors in a spontaneous mouse model of obsessive-compulsive disorder. Behav Pharmacol. 2020;31(7):622-32.

235. Pedraza LK, Sierra RO, Lotz FN, de Oliveira Alvares L. Periodical reactivation under the effect of caffeine attenuates fear memory expression in rats. Sci Rep. 2018;8(1):7260.

236. Robertson D, Wade D, Workman R, Woosley RL, Oates JA. Tolerance to the humoral and hemodynamic effects of caffeine in man. J Clin Invest. 1981;67(4):1111-7.

237. Klevebrant L, Frick A. Effects of caffeine on anxiety and panic attacks in patients with panic disorder: A systematic review and meta-analysis. Gen Hosp Psychiatry. 2022;74:22-31.

238. Alhaider IA, Aleisa AM, Tran TT, Alzoubi KH, Alkadhi KA. Chronic caffeine treatment prevents sleep deprivation-induced impairment of cognitive function and synaptic plasticity. Sleep. 2010;33(4):437-44.

239. Alhaider IA, Aleisa AM, Tran TT, Alkadhi KA. Sleep deprivation prevents stimulation-induced increases of levels of P-CREB and BDNF: protection by caffeine. Mol Cell Neurosci. 2011;46(4):742-51.

240. Duarte JM, Agostinho PM, Carvalho RA, Cunha RA. Caffeine consumption prevents diabetes-induced memory impairment and synaptotoxicity in the hippocampus of NONcZNO10/LTJ mice. PLoS One. 2012;7(4):e21899.

241. Ning YL, Yang N, Chen X, Zhao ZA, Zhang XZ, Chen XY, et al. Chronic caffeine exposure attenuates blast-induced memory deficit in mice. Chin J Traumatol. 2015;18(4):204-11.

242. Farokhi-Sisakht F, Farhoudi M, Mahmoudi J, Farajdokht F, Kahfi-Ghaneh R, Sadigh-Eteghad S. Effect of intranasal administration of caffeine on

mPFC ischemia-induced cognitive impairment in BALB/c mice. Acta Neurobiol Exp (Wars). 2022;82(3):295-303.

243. Borota D, Murray E, Keceli G, Chang A, Watabe JM, Ly M, et al. Post-study caffeine administration enhances memory consolidation in humans. Nat Neurosci. 2014;17(2):201-3.

244. Adeniyi PA, Omatsuli EP, Akinyemi AJ, Ishola AO. Caffeine plus nicotine improves motor function, spatial and non-spatial working memory and functional indices in BALB/c male mice. Pathophysiology. 2016;23(4):251-8.

245. Kale PP, Addepalli V. Augmentation of antidepressant effects of duloxetine and bupropion by caffeine in mice. Pharmacol Biochem Behav. 2014;124:238-44.

246. Chauhan G, Ray K, Sahu S, Roy K, Jain V, Wadhwa M, et al. Adenosine A1 receptor antagonist mitigates deleterious effects of sleep deprivation on adult neurogenesis and spatial reference memory in rats. Neuroscience. 2016;337:107-16.

247. Onaolapo AY, Onaolapo OJ. Caffeine's influence on object recognition and working-memory in prepubertal mice and its modulation by gender. Pathophysiology. 2015;22(4):223-30.

248. Jagannath A, Varga N, Dallmann R, Rando G, Gosselin P, Ebrahimjee F, et al. Adenosine integrates light and sleep signalling for the regulation of circadian timing in mice. Nat Commun. 2021;12(1):2113.

249. Burke TM, Markwald RR, McHill AW, Chinoy ED, Snider JA, Bessman SC, et al. Effects of caffeine on the human circadian clock in vivo and in vitro. Sci Transl Med. 2015;7(305):305ra146.

250. Wang X, Wang Z, Cao J, Dong Y, Chen Y. Melatonin Alleviates Acute Sleep Deprivation-Induced Memory Loss in Mice by Suppressing Hippocampal Ferroptosis. Front Pharmacol. 2021;12:708645.

251. Honma A, Revell VL, Gunn PJ, Davies SK, Middleton B, Raynaud FI, et al. Effect of acute total sleep deprivation on plasma melatonin, cortisol and metabolite rhythms in females. Eur J Neurosci. 2020;51(1):366-78.

252. Vacas MI, Sarmiento MI, Pereyra EN, Cardinali DP. Effect of adenosine on melatonin and norepinephrine release in rat pineal explants. Acta Physiol Pharmacol Latinoam. 1989;39(2):189-95.

253. Machado NJ, Simões AP, Silva HB, Ardais AP, Kaster MP, Garção P, et al. Caffeine Reverts Memory But Not Mood Impairment in a Depression-Prone Mouse Strain with Up-Regulated Adenosine A(2A) Receptor in Hippocampal Glutamate Synapses. Mol Neurobiol. 2017;54(2):1552-63.

254. Poleszak E, Szopa A, Wyska E, Kukuła-Koch W, Serefko A, Wośko S, et al. Caffeine augments the antidepressant-like activity of mianserin and agomelatine in forced swim and tail suspension tests in mice. Pharmacol Rep. 2016;68(1):56-61.

255. Hofmann SG, Smits JA, Asnaani A, Gutner CA, Otto MW. Cognitive enhancers for anxiety disorders. Pharmacol Biochem Behav. 2011;99(2):275-84.

256. Johnson A, Hamilton TJ. Modafinil decreases anxiety-like behaviour in zebrafish. PeerJ. 2017;5:e2994.

257. Malikowska-Racia N, Sałat K, Nowaczyk A, Fijałkowski Ł, Popik P. Dopamine D2/D3 receptor agonists attenuate PTSD-like symptoms in mice exposed to single prolonged stress. Neuropharmacology. 2019;155:1-9.

258. Rasetti R, Mattay VS, Stankevich B, Skjei K, Blasi G, Sambataro F, et al. Modulatory effects of modafinil on neural circuits regulating emotion and cognition. Neuropsychopharmacology. 2010;35(10):2101-9.

259. Makris AP, Rush CR, Frederich RC, Kelly TH. Wake-promoting agents with different mechanisms of action: comparison of effects of modafinil and amphetamine on food intake and cardiovascular activity. Appetite. 2004;42(2):185-95.

260. Minzenberg MJ, Carter CS. Modafinil: a review of neurochemical actions and effects on cognition. Neuropsychopharmacology. 2008;33(7):1477-502.

261. Ishizuka T, Murotani T, Yamatodani A. Action of modafinil through histaminergic and orexinergic neurons. Vitam Horm. 2012;89:259-78.

262. Kulendran M, Wingfield LR, Sugden C, Darzi A, Vlaev I. Pharmacological manipulation of impulsivity: A randomized controlled trial. Personality and Individual Differences. 2016;90:321-5.

263. Béracochéa D, Liscia P, Tronche C, Chauveau F, Jouanin JC, Piérard C. Stress modulation of the memory retrograde-enhancing effects of the awakening drug modafinil in mice. Psychopharmacology (Berl). 2008;196(1):1-13.

264. González B, Raineri M, Cadet JL, García-Rill E, Urbano FJ, Bisagno V. Modafinil improves methamphetamine-induced object recognition deficits and restores prefrontal cortex ERK signaling in mice. Neuropharmacology. 2014;87:188-97.

265. Murphy HM, Ekstrand D, Tarchick M, Wideman CH. Modafinil as a cognitive enhancer of spatial working memory in rats. Physiol Behav. 2015;142:126-30.

266. Yan YD, Chen YQ, Wang CY, Ye CB, Hu ZZ, Behnisch T, et al. Chronic modafinil therapy ameliorates depressive-like behavior, spatial memory and hippocampal plasticity impairments, and sleep-wake changes in a surgical mouse model of menopause. Transl Psychiatry. 2021;11(1):116.

267. Cope ZA, Minassian A, Kreitner D, MacQueen DA, Milienne-Petiot M, Geyer MA, et al. Modafinil improves attentional performance in healthy, non-sleep deprived humans at doses not inducing hyperarousal across species. Neuropharmacology. 2017;125:254-62.

268. Repantis D, Schlattmann P, Laisney O, Heuser I. Modafinil and methylphenidate for neuroenhancement in healthy individuals: A systematic review. Pharmacological Research. 2010;62(3):187-206.

269. Liu Y-P, Tung C-S, Lin Y-L, Chuang C-H. Wake-promoting agent modafinil worsened attentional performance following REM sleep deprivation in a young-adult rat model of 5-choice serial reaction time task. Psychopharmacology. 2011;213(1):155-66.

270. Menza MA, Kaufman KR, Castellanos A. Modafinil augmentation of antidepressant treatment in depression. J Clin Psychiatry. 2000;61(5):378-81.

271. Frye MA, Grunze H, Suppes T, McElroy SL, Keck PE, Jr., Walden J, et al. A placebo-controlled evaluation of adjunctive modafinil in the treatment of bipolar depression. Am J Psychiatry. 2007;164(8):1242-9.

272. Mahmoudi J, Farhoudi M, Talebi M, Sabermarouf B, Sadigh-Eteghad S. Antidepressant-like effect of modafinil in mice: Evidence for the involvement of the dopaminergic neurotransmission. Pharmacol Rep. 2015;67(3):478-84.

273. Schmidt A, Müller F, Dolder PC, Schmid Y, Zanchi D, Egloff L, et al. Acute Effects of Methylphenidate, Modafinil, and MDMA on Negative Emotion Processing. Int J Neuropsychopharmacol. 2018;21(4):345-54.

274. Nuñez NA, Joseph B, Pahwa M, Kumar R, Resendez MG, Prokop LJ, et al. Augmentation strategies for treatment resistant major depression: A systematic review and network meta-analysis. J Affect Disord. 2022;302:385-400.

275. Gainetdinov RR, Mohn AR, Bohn LM, Caron MG. Glutamatergic modulation of hyperactivity in mice lacking the dopamine transporter. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001;98(20):11047-54.

276. Mendez-David I, Guilloux JP, Papp M, Tritschler L, Mocaer E, Gardier AM, et al. S 47445 Produces Antidepressant- and Anxiolytic-Like Effects through Neurogenesis Dependent and Independent Mechanisms. Front Pharmacol. 2017;8:462.

277. Granger R, Staubli U, Davis M, Perez Y, Nilsson L, Rogers GA, et al. A drug that facilitates glutamatergic transmission reduces exploratory activity and improves performance in a learning-dependent task. Synapse. 1993;15(4):326-9.

278. Davis CM, Moskovitz B, Nguyen MA, Tran BB, Arai A, Lynch G, et al. A profile of the behavioral changes produced by facilitation of AMPA-type glutamate receptors. Psychopharmacology (Berl). 1997;133(2):161-7.

279. Bretin S, Krazem A, Henkous N, Froger-Colleaux C, Mocaer E, Louis C, et al. Synergistic enhancing-memory effect of donepezil and S 47445, an AMPA positive allosteric modulator, in middle-aged and aged mice. Psychopharmacology (Berl). 2018;235(3):771-87.

280. Pereyra M, Medina JH. AMPA Receptors: A Key Piece in the Puzzle of Memory Retrieval. Front Hum Neurosci. 2021;15:729051.

281. Broberg BV, Glenthøj BY, Dias R, Larsen DB, Olsen CK. Reversal of cognitive deficits by an ampakine (CX516) and sertindole in two animal models of schizophrenia--sub-chronic and early postnatal PCP treatment in attentional set-shifting. Psychopharmacology (Berl). 2009;206(4):631-40.

282. Goff DC, Lamberti JS, Leon AC, Green MF, Miller AL, Patel J, et al. A placebo-controlled add-on trial of the Ampakine, CX516, for cognitive deficits in schizophrenia. Neuropsychopharmacology. 2008;33(3):465-72.

283. Damgaard T, Larsen DB, Hansen SL, Grayson B, Neill JC, Plath N. Positive modulation of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptors reverses sub-chronic PCP-induced deficits in the novel object recognition task in rats. Behavioural Brain Research. 2010;207(1):144-50.

284. Knapp RJ, Goldenberg R, Shuck C, Cecil A, Watkins J, Miller C, et al. Antidepressant activity of memory-enhancing drugs in the reduction of submissive behavior model. Eur J Pharmacol. 2002;440(1):27-35.

285. Szewczyk B, Poleszak E, Sowa-Kućma M, Wróbel A, Słotwiński S, Listos J, et al. The involvement of NMDA and AMPA receptors in the mechanism of antidepressant-like action of zinc in the forced swim test. Amino Acids. 2010;39(1):205-17.

286. Wolak M, Siwek A, Szewczyk B, Poleszak E, Pilc A, Popik P, et al. Involvement of NMDA and AMPA receptors in the antidepressant-like activity of antidepressant drugs in the forced swim test. Pharmacol Rep. 2013;65(4):991-7.

287. Freudenberg F, Celikel T, Reif A. The role of α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptors in depression: central mediators of pathophysiology and antidepressant activity? Neurosci Biobehav Rev. 2015;52:193-206.

288. Kadriu B, Musazzi L, Johnston JN, Kalynchuk LE, Caruncho HJ, Popoli M, et al. Positive AMPA receptor modulation in the treatment of neuropsychiatric disorders: A long and winding road. Drug Discov Today. 2021;26(12):2816-38.

289. Hampsey E, Perkins A, Young AH. BNC210: an investigational α7-nicotinic acetylcholine receptor modulator for the treatment of anxiety disorders. Expert Opin Investig Drugs. 2023;32(4):277-82.

290. Marazziti D, Carmassi C, Cappellato G, Chiarantini I, Massoni L, Mucci F, et al. Novel Pharmacological Targets of Post-Traumatic Stress Disorders. Life (Basel). 2023;13(8).

291. Marighetto A, Valerio S, Desmedt A, Philippin JN, Trocmé-Thibierge C, Morain P. Comparative effects of the alpha7 nicotinic partial agonist, S 24795, and the cholinesterase inhibitor, donepezil, against aging-related deficits in declarative and working memory in mice. Psychopharmacology (Berl). 2008;197(3):499-508.

292. Andreasen JT, Olsen GM, Wiborg O, Redrobe JP. Antidepressant-like effects of nicotinic acetylcholine receptor antagonists, but not agonists, in the mouse forced swim and mouse tail suspension tests. J Psychopharmacol. 2009;23(7):797-804.

293. Rabenstein RL, Caldarone BJ, Picciotto MR. The nicotinic antagonist mecamylamine has antidepressant-like effects in wild-type but not beta2- or alpha7-nicotinic acetylcholine receptor subunit knockout mice. Psychopharmacology (Berl). 2006;189(3):395-401.

294. Andreasen JT, Nielsen E, Christensen JK, Olsen GM, Peters D, Mirza NR, et al. Subtype-selective nicotinic acetylcholine receptor agonists enhance the responsiveness to citalopram and reboxetine in the mouse forced swim test. J Psychopharmacol. 2011;25(10):1347-56.

295. Targowska-Duda KM, Budzynska B, Michalak A, Wnorowski A, Loland CJ, Maj M, et al. Type I and type II positive allosteric modulators of α7 nicotinic acetylcholine receptors induce antidepressant-like activity in mice by a mechanism involving receptor potentiation but not neurotransmitter reuptake inhibition. Correlation with mTOR intracellular pathway activation. Eur Neuropsychopharmacol. 2021;52:31-47.

296. WADA, International Standart Prohibited List, 2022, https://www.wada-ama.org/sites/default/files/resources/files/2022list_final_en.pdf, Son Erişim Tarihi: 13/10/2023

297. Shoji H, Miyakawa T. Effects of test experience, closed-arm wall color, and illumination level on behavior and plasma corticosterone response in an elevated plus maze in male C57BL/6J mice: a challenge against conventional interpretation of the test. Mol Brain. 2021;14(1):34.

298. Holmes A, Parmigiani S, Ferrari PF, Palanza P, Rodgers RJ. Behavioral profile of wild mice in the elevated plus-maze test for anxiety. Physiol Behav. 2000;71(5):509-16.

299. Le AM, Lee M, Su C, Zou A, Wang J. AMPAkines have novel analgesic properties in rat models of persistent neuropathic and inflammatory pain. Anesthesiology. 2014;121(5):1080-90.

300. Kristofova M, Aher YD, Ilic M, Radoman B, Kalaba P, Dragacevic V, et al. A daily single dose of a novel modafinil analogue CE-123 improves memory acquisition and memory retrieval. Behav Brain Res. 2018;343:83-94.

301. Castro CA, Hogan JB, Benson KA, Shehata CW, Landauer MR. Behavioral effects of vehicles: DMSO, ethanol, Tween-20, Tween-80, and emulphor-620. Pharmacology Biochemistry and Behavior. 1995;50(4):521-6.

302. Adibkia K, Selselehjonban S, Emami S, Osouli-Bostanabad K, Barzegar-Jalali M. Electrosprayed polymeric nanobeads and nanofibers of modafinil: preparation, characterization, and drug release studies. Bioimpacts. 2019;9(3):179-88.

303. Lapin IP. Only controls: effect of handling, sham injection, and intraperitoneal injection of saline on behavior of mice in an elevated plus-maze. J Pharmacol Toxicol Methods. 1995;34(2):73-7.

304. Saré RM, Lemons A, Smith CB. Behavior Testing in Rodents: Highlighting Potential Confounds Affecting Variability and Reproducibility. Brain Sci. 2021;11(4).

305. Ebner K, Sartori SB, Murau R, Kopel F, Kalaba P, Dragačević V, et al. The Novel Analogue of Modafinil CE-158 Protects Social Memory against Interference and Triggers the Release of Dopamine in the Nucleus Accumbens of Mice. Biomolecules. 2022;12(4):506.

306. Vas S, Casey JM, Schneider WT, Kalmar L, Morton AJ. Wake-Promoting and EEG Spectral Effects of Modafinil After Acute or Chronic Administration in the R6/2 Mouse Model of Huntington's Disease. Neurotherapeutics. 2020;17(3):1075-86.

9. ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Uyku yetersizliği, milyonlarca insanı etkileyen bir sağlık problemidir. Araştırmamızda uyku yetersizliğinden kaynaklanan bilişsel ve duygudurumsal değişiklikler üzerinde dört farklı nörotransmitter sistemine (adenozinerjik, dopaminerjik, glutamaterjik ve asetilkolinerjik) yönelik fonksiyon gösteren kafein, modafinil, CX516 ve AVL-3288'nin nörodavranışsal etkileri incelenmiştir.

GEREÇ VE YÖNTEM: Farelerde modifiye çoklu platform modeli ile 48 saatlik paradoksal uyku yetersizliği oluşturulmuştur. Ardından bu ilaçların lokomotor aktivite, anksiyete benzeri davranış, uzaysal uzun süreli hafıza, işleyen hafıza ve depresyon benzeri davranış üzerindeki etkileri, "açık alan, yükseltilmiş artı labirent, sekiz kollu radyal labirent, Barnes labirenti ve kuyruktan ası" testlerinden oluşan bir davranışsal yöntem düzeneği ile değerlendirilmiştir.

BULGULAR: REM uykusuzluğu anksiyolitik ve antidepresan etkide bulunmuştur. Kafein akut uykusuzluk sonrası anksiyetede azaltıcı iken hafızada olumsuz etki oluşturmuştur. Modafinil yüksek dozda belirgin lokomotor aktivite artışı yapıp iştahta baskılanmaya yol açmıştır. CX516 duygudurumsal bir değişikliğe neden olmadan işleyen hafızayı iyileştirmiştir. AVL-3288 akut kullanımda uzun süreli uzaysal hafızada kötüleşmeye yol açmıştır.

SONUÇ: CX516'nın kognitif güçlendirici etkileri akut uyku yetersizliğinde akut kullanımda da gözlenebilmekte ancak daha potent ampakin arayışlarına gidilmesi gerekmektedir. AVL-3288'in kognitif fonksiyonlarda akut kullanımda olumsuz etkileri bulunabilir. Bu tezde, bir kısmı ilk veri niteliğinde olan değerlendirmeler, akut uyku yetersizliğinde performans artışı sağlamaya yönelik yeni ilaçların geliştirilmesiyle ilgili çalışmalara ışık tutabilir.

Anahtar Kelimeler: Akut uyku yetersizliği, CX516, AVL-3288

10. SUMMARY

INTRODUCTION AND OBJECTIVE: Sleep deprivation is a health problem affecting millions of people. In our research, the neurobehavioral effects of caffeine, modafinil, CX516, and AVL-3288, which function on four different neurotransmitter systems (adenosinergic, dopaminergic, glutamatergic, and cholinergic), on cognitive and mood changes resulting from sleep insufficiency, have been investigated.

MATERIALS AND METHODS: A modified multiple platform model was used to induce 48 hours of paradoxical sleep insufficiency in mice. Subsequently, the effects of these drugs on locomotor activity, anxiety-like behavior, spatial long-term memory, working memory, and depression-like behavior were evaluated using a behavioral test serie consisting of the "open field, elevated plus maze, eight-arm radial maze, Barnes maze, and tail suspension" tests.

RESULTS: REM sleep deprivation exhibited anxiolytic and antidepressant effects. Caffeine has shown anxiolytic effect after acute sleep insufficiency but had a negative impact on memory. Modafinil at a high dose significantly increased locomotor activity and suppressed appetite. CX516 improved working memory without causing mood changes. AVL-3288 led to a deterioration in long term spatial memory after acute use.

CONCLUSION: The cognitive-enhancing effects of CX516 can be observed with acute use in acute sleep insufficiency, but further research is needed to explore more potent ampakines. AVL-3288 may have adverse effects on cognitive functions with acute use. The assesments done in this thesis, some of which are novel data to literature, may shed light on the development of new drugs to improve performance in acute sleep deprivation.

Keywords: Acute sleep deprivation, CX516, AVL-3288