

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
DİSİPLİNLERARASI SİNİR BİLİMLERİ ANABİLİM DALI



RATLARDA DENEYSEL OLUŞTURULMUŞ KRONİK STRES
ÜZERİNE CARVACROL'UN ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

ASİYE BİLGİN

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Şule Aydın Türkoğlu

İKİNCİ TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Ayhan Çetinkaya

BOLU, TEMMUZ - 2023

KABUL VE ONAY SAYFASI

Asiye **BİLGİN** tarafından hazırlanan “**Ratlarda Deneysel Oluşturulmuş Kronik Stres Üzerine Carvacrol’un Etkisi**” adlı tez çalışması jürimiz tarafından Disiplinlerarası Sinir Bilimleri Anabilim Dalı’nda Doktora Tezi olarak oy birliğiyle kabul edilmiştir. 18/07/2023

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman
Doç. Dr. Şule AYDIN TÜRKOĞLU
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Erol AYZAZ
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Şerif DEMİR
Düzce Üniversitesi

.....

Üye
Prof. Dr. Akif Hakan KURT
Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi

.....

Üye
Dr. Öğretim Üyesi Dursun CEYLAN
Karabük Üniversitesi

.....

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. İbrahim KÜRTÜL
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu bildirir,

aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Teze ilişkin 20/06/2023 tarihinde Turnitin adlı intihal tespit programından enstitü müdürlüğünce belirlenen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan benzerlik raporuna göre, tezin benzerlik oranı % 11 olarak tespit edilmiştir.

Bu çalışma için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Araştırmalar Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulundan 2021/07 sayısı ile etik izin alınmıştır.

.....

ASIYE BİLGİN

ÖZET

RATLARDA DENEYSEL OLUŞTURULMUŞ KRONİK STRES ÜZERİNE CARVACROL'UN ETKİSİ

DOKTORA TEZİ

ASİYE BİLGİN

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

DİSİPLİNLERARASI SİNİR BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

(TEZ DANIŞMANI: DOÇ. DR. ŞULE AYDIN TÜRKOĞLU)

(İKİNCİ DANIŞMAN: DOÇ. DR. AYHAN ÇETİNKAYA)

BOLU, TEMMUZ - 2023

XIV + 89

Karvakrol (CAR), nöroprotektif ve daha birçok faydalı özelliği ile insan ve hayvanlarda sıklıkla araştırılmaktadır. Bu çalışmada, Karvakrol'un kronik öngörülemez hafif stres (CUMS) modeli oluşturulmuş sıçanlarda davranışsal, anti-oksidan ve anti-inflamatuar etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Toplam 49 adet Wistar Albino erkek sıçan (250-350 gr) rastgele 7 gruba ayrıldı. Stres modeli, orta şiddette ve öngörülemez zamanlarda belirli bir takvime göre altı hafta (42 gün) süresince uygulanmıştır. Açık alan testi (OFT), yükseltilmiş artı labirent (EPM), zorunlu yüzme testi (FST), Barnes Maze testi (BMT), serum kortizol, tiyol-disülfid homeostazı, total antioksidan seviyesi (TAS), total oksidan seviyesi (TOS), oksidatif stres indeksi (OSI) ve IL1-beta seviyeleri değerlendirildi. CUMS ile indüklenen sıçanlarda serum kortizol, TOS, OSI seviyeleri arttı ve öğrenme hafıza bozuklukları tetiklendi. Tersine, CAR ve FLU verilmesi, anormal davranış değişikliklerini ve serum değerlerindeki değişiklikleri engelledi. CAR uygulanan sıçan grupları ile fluoksetin uygulanan sıçan grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. CAR ve FLU birlikte uygulanmaları, ayrı ayrı uygulanmalarına göre daha az etkiliydi. Elde edilen veriler, CAR'ın kronik stres üzerine terapötik potansiyelinin fluoksetininkiyle karşılaştırılabilir olduğu ve gelecekte yapılacak ilaç çalışmaları için CAR'ın potansiyel bir aday olduğunu düşündürmektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Karvakrol, Fluoksetin, Kronik stres modeli, Tiyol-disülfid homeostazı, Davranış bozuklukları, Oksidatif stres

ABSTRACT

EFFECT OF CARVACROL ON EXPERIMENTALLY GENERATED CHRONIC STRESS IN RATS

PHD THESIS

ASIYE BİLGİN

BOLU ABANT İZZET BAYSAL UNIVERSITY

INSTITUTE OF GRADUATE STUDIES

INTERDISCIPLINARY OF NEUROSCIENCE

(SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. SULE AYDIN TURKOGLU)

(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. AYHAN CETINKAYA)

BOLU, JUNE 2023

XIV + 89

Carvacrol (CAR) is frequently researched in humans and animals with its neuroprotective and many other beneficial properties. In this study, it was aimed to investigate the behavioral, anti-oxidant and anti-inflammatory effects of Carvacrol in rats with a chronic unpredictable mild stress (CUMS) model. A total of 49 Wistar Albino male rats (250-350 g) were randomly divided into 7 groups. The stress model was applied at moderate and unpredictable times for six weeks (42 days) according to a certain calendar. The open field test (OFT), elevated plus maze (EPM), forced swim test (FST), Barnes Maze test (BMT), serum cortisol, thiol-disulfide homeostasis, total antioxidant level (TAS), total oxidant level (TOS), oxidative stress index (OSI) and IL1-beta levels were evaluated. In rats with the CUMS model, serum cortisol, TOS, OSI levels increased and learning memory disorders were triggered. Conversely, administration of CAR and FLU prevented abnormal behavioral changes and changes in serum values. No significant difference difference was observed between the CAR treated rat groups and the FLU treated rat groups. Co-administration of CAR and FLU was less effective than their separate administration. The available data suggest that the therapeutic potential of CAR on chronic stress is comparable to that of FLU and that CAR is a potential candidate for future drug studies.

KEYWORDS: Carvacrol, Fluoxetine, Chronic stress model, Thiol-disulfide homeostasis, Behavioral disorders, Oxidative stress

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iii
ETİK BEYAN.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİL LİSTESİ.....	ix
TABLO LİSTESİ	x
FOTOĞRAF LİSTESİ	xi
KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ	xii
TEŞEKKÜR	xiv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Stres	3
2.2 Stres Yanıtı	4
2.2.1 Akut ve Kronik Stres Yanıtı	8
2.3 Kronik Stres ve Kortizol İlişkisi	9
2.4 Kronik Stres ve Davranış İlişkisi	10
2.5 Kronik Stresin Oksidatif Stres ve Nöroinflamasyon Üzerine Etkileri.....	15
2.6 Kronik Öngörülemez Hafif Stres (CUMS) Modeli	19
2.7 Karvakrol	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM	26
3.1 Deney Hayvanlarının Temini	26
3.2 Grupların Oluşturulması	26
3.3 Kronik Öngörülemez Hafif Stres Modelinin (CUMS) Oluşturulması	29
3.3.1 Kafes Eğitlendirme	31
3.3.2 Talaş İslatma.....	32
3.3.3 30-32 Derecelik Sıcak Suda Yüzdürme	32
3.3.4 Kafes Sallama	33
3.3.5 Kuyruk Kısıtma	34
3.3.6 Gece Gündüz Siklus Değişimi.....	34
3.3.7 Kafesler Arası Eş Değişimi	35
3.3.8 10-15 Derece Soğuk Suda Yüzdürme	36
3.3.9 Kısıtlama.....	37
3.4 Tedavi Uygulamaları	37
3.5 Davranış Testleri.....	37
3.5.1 Barnes Maze Testi	37
3.5.2 Açık Alan Testi (Open Field)	39
3.5.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi.....	40

3.5.4 Zorunlu Yüzme Testi.....	40
3.6 Plazma Kortisol, Tiýol-Disülfid Homeostazı ve IL-1 β düzeylerinin Belirlenmesi.....	41
3.6.1 Tiýol-Disülfid Homeostazı (μ mol/L)	42
3.6.2 Toplam Antioksidan Durumu (TAS) (Mmol/L).....	42
3.6.3 Toplam Antioksidan Durumu (TOS) (μ mol/L).....	42
3.6.4 Oksidatif Stres Endeksi (OSI)	43
3.6.5 IL-1 β Test Prensibi	43
3.7 İstatiksel Analiz	43
4. BULGULAR	44
4.1 Biyokimyasal Test Bulguları	44
4.1.1 Kortizol Seviyesi	44
4.1.2 Toplam Tiýol seviyesi (TTL)	46
4.1.3 Native Tiýol Seviyesi (NTL).....	47
4.1.4 Serum Disülfid	48
4.1.5 Toplam Antioksidan Durumu (TAS).....	49
4.1.6 Total Oksidan Durumu (TOS).....	50
4.1.7 Oksidatif Stres İndeksi (OSI)	51
4.1.8 Interlökin-1 Beta (IL-1 β) Seviyesi	52
4.2 Davranış Testlerinin Bulguları	53
4.2.1 Açık Alan Testi (OFT)	53
4.2.2 Yükseltiilmiş Artı Labirent Testi (EPM).....	56
4.2.3 Barnes Maze Testi	58
4.2.4 Porsolt Testi.....	60
4.3 Deneklerin Ağırlık Ortalamalarının Değişimi	61
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	73
7. KAYNAKLAR.....	75
8. EKLER.....	88

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 3.1. Kronik Öngörülme-yen Hafif Stres Modelinin Oluşturulma Prosedürü	30
Şekil 4.1. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Kortizol Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği	44
Şekil 4.2. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Total Ti-yol Seviyesi (TTL) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği.....	46
Şekil 4.3. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Native Ti-yol Seviyesi (NTL) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği.....	47
Şekil 4.4. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Disülfid Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği	48
Şekil 4.5. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Toplam Antioksidan Durumu (TAS) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği.....	49
Şekil 4.6. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Toplam Oksidan Durumu (TOS) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği.....	50
Şekil 4.7. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Oksidatif Stres İndeks (OSI) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği.....	51
Şekil 4.8. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum IL 1β Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği	52
Şekil 4.9. Tüm Gruplardaki Deneklerin Açık Alan Testinde ‘Merkeze Giriş Frekansı’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği	53
Şekil 4.10. Tüm Gruplardaki Deneklerin Açık Alan Testinde ‘Merkezde Geçirilen Süre’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği.....	55
Şekil 4.11. Tüm Gruplardaki Deneklerin Yükseltilmiş Artı Labirent Testi ‘Açık-kola Giriş Frekansı’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği	56
Şekil 4.12. Tüm Gruplardaki Deneklerin Yükseltilmiş Artı Labirent Testi ‘Açık Kolda Geçirilen Süre’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği	57
Şekil 4.13. Tüm Gruplardaki Deneklerin Barnes Maze Testinde ‘Gizli Bölme-yi Bulma Süresi’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği	58
Şekil 4.14. Tüm Gruplardaki Deneklerin Barnes Maze Testinde ‘Gizli Bölme-yi Bulmak için Katedilen Mesafe’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği	59
Şekil 4.15. Tüm Gruplardaki Deneklerin Porsolt Testinde ‘Hareketlilik Süresi’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği	60
Şekil 4.16. Stres Gruplarındaki Deneklerin Zamana Göre Ağırlık Ortalamalarının Değişimi Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği.....	62
Şekil 4.17. Kontrol Gruplarındaki Deneklerin Zamana Göre Ağırlık Ortalamalarının Değişimi Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği ..	63
Şekil 4.18. Tüm Deney Gruplarındaki Deneklerin Zamana Göre Ağırlık Ortalamalarının Kutu Grafiği.....	63

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Literatürde bulunan farklı stress modelleri (99,100).....	19
Tablo 3.1. Deney grupları ve gruplara uygulanan işlemler	27
Tablo 3.2. Stres prosedürü uygulama takvimi (6 hafta)	29
Tablo 4.1. Tüm gruplardaki deneklerin serum biyokimyasal değerlerinin tanımlayıcı istatistik verileri.....	45
Tablo 4.2. Tüm gruplardaki deneklerin davranış değerlerinin tanımlayıcı istatistik verileri	54
Tablo 4.3. Tüm grupların altı farklı zamanda tekrarlayan ağırlık ölçümlerlerini tanımlayıcı istatistik verileri.....	61

FOTOĞRAF LİSTESİ

Sayfa

Fotoğraf 3.1. Ratlara Kafes Eğitlendirme Prosedürünün Uygulanması.....	31
Fotoğraf 3.2. Ratlara Talaş Islatma Prosedürünün Uygulanması	32
Fotoğraf 3.3. Ratlara Kafes Sallama Prosedürünün Uygulanması.....	33
Fotoğraf 3.4. Ratlara Kuyruk Kısıtma Prosedürünün Uygulanması.....	34
Fotoğraf 3.5. Ratlara Kafesler Arası Eş Değiştirme Prosedürünün Uygulanması	35
Fotoğraf 3.6. Ratlara Soğuk Suda Yüzdürme Prosedürünün Uygulanması.....	36
Fotoğraf 3.7. Ratlara Kısıtlama Prosedürünün Uygulanması	37
Fotoğraf 3.8. Barnes Maze Test Aparatı (146)	38
Fotoğraf 3.9. Açık Alan Test Aparatı (151).....	39
Fotoğraf 3.10. Yükseltilmiş Artı Labirent Test Aparatı (152).....	40
Fotoğraf 3.11. Zorunlu Yüzme Test Aparatı (146).....	41

KISALTMA VE SEMBOLLER LİSTESİ

ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
AD	: Alzheimer Hastalığı
AVP	: Arjinin Vazopressin
BDNF	: Brain Derived Neurotrophic Factor
BMT	: Barnes Maze Testi
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
CAR	: Karvakrol
CAT	: Katalaz
CNS	: Kraniyal Sinir Sistemi
CRH	: Corticotropin Salgılatıcı Hormon
CUMS	: Kronik Öngörülemeyen Hafif Stres
DAT	: Dopamin Geri Alım Taşıyıcısı
DMSO	: Dimetil Sülfoksit
EP	: Epinefrin
EPM	: Yükseltilmiş Artı Labirent Testi
FLU	: Fluoksetin
FST	: Zorunlu Yüzme Testi
GAS	: Genel Adaptasyon Sendromu
GC	: Glukokortikoid
GPX	: Glutatyon Peroksidaz
GR	: Glukokortikoid Reseptörü
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HPA	: Hipotalamik Hipofiz Adrenal Aks
IFN γ	: Interferon γ
IL 1 β	: Interlökin 1 β
IL 6	: Interlökin 6
LPS	: Lipopolisakkarid
LTD	: Uzun Süreli Depresyon
MAO	: Monoamin Oksidaz
MDA	: Malondialdehit
MDB	: Major Depresif Bozukluk
MHC	: Majör Histo-Uyumluluk Kompleksi

MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
NAT	: Noradrenalin Geri Alım Taşıyıcısı
NE	: Nörepinefrin
NF $\kappa\beta$	: Nükleer Factor $\kappa\beta$
NK	: Naturel Killer
NO	: Nitrik Oksit
NSRI	: Nöradrenalin Serotonin Reuptake İnhibitörü
NTL	: Native Thiol Seviyesi
OFT	: Açık Alan Testi
OSS	: Otonom Sinir Sistemi
PD	: Parkinson Hastalığı
PVN	: Paraventriküler Çekirdek
RNS	: Reaktif Nitrojen Ürünleri
ROS	: Reaktif Oksijen Ürünleri
SAM	: Sempatik Adrenal Medüller Sistem
SERT	: Serotonin Geri Alım Taşıyıcısı
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SSRI	: Selektif Serotonin Reuptake İnhibitörü
TAS	: Total Antioksidan Seviyesi
TDH	: Thiol-Disulfid Homeostazisi
Th 1	: T helper 1
TOS	: Total Oksidan Seviyesi
TTL	: Total Thiol Seviyesi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

TEŞEKKÜR

Tez sürecimde desteklerini esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Şule AYDIN TÜRKOĞLU'na teşekkür ederim.

Lisans ve doktora sürecim boyunca madden ve manen her daim desteklerini gördüğüm çok kıymetli Prof. Dr. Erol AYAZ ve Doç. Dr. Ayhan ÇETİNKAYA hocalarıma, ve çok değerli ailelerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Doktora sürecinde tanıştığım ufkumu genişleten kıymetli hocam Prof. Dr. Şerif DEMİR'e, hoca olmanın, özverinin inceliklerini gördüğüm değerli hocam Prof. Dr. Seyit Ali KAYIŞ'a çok teşekkür ediyorum.

Tez çalışmamı yürüttüğüm BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi ekibine sıcaklık ve samimiyetlerinden dolayı teşekkür ederim. Tecrübeleri ile bana destek olan Mücahit ÇAKMAK, Enes EĞİLMEZ, Bihter Gökçe ÇELİK'e ayrı teşekkür ediyorum.

Proje desteği (2021.08.32.1506) için BAİBÜ, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne teşekkür ediyorum.

Yine bu süreçte bana destek olan kıymetli ailem ve Sultan PULAT kardeşime teşekkürlerimi sunarım. Sevgili babama ve eşim Ahmet'e gösterdikleri sabırdan dolayı çok teşekkür ederim.

Ve Ayhan ÇETİNKAYA hocama ben dahil tüm öğrencilere ve herkese kapısını sonuna kadar açtığı ve gönülleri incitmeden elinden geleni fazlasıyla yaptığı için yine, tekrar ve bir kere daha teşekkür ediyorum ve ömrüm boyunca teşekkür etmeye devam edeceğim. Kendisinin örnek aldığı hocaları gibi bizlerde kendisini örnek aldığımızı bilmesini isterim.

Her öğrencinin Erol AYAZ ve Ayhan ÇETİNKAYA hocalarım gibi hocalarla karşılaşması temennisiyle...

1. GİRİŞ

Stres canlıların fizyolojik ve psikolojik süreçlerini etkileyebilen, günlük genel bir deneyimdir. Modern yaşam tarzı, yaşam kalitesini ciddi bir şekilde etkileyen, ekonomik yükü artıran ve psikosomatik hastalıklara yol açabilen stres ile iç içedir (1). Stres, vücutta hücrel ve moleküler değişiklikler meydana getirerek hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilecek zararlı bir ortam oluşturur. Stres, organizmanın homeostazını değiştirerek etkisini gösterir (1). Strese karşı organizmada sempatik-adrenal-medüller (SAM) sistem ve hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) aks aktive olur, bu aktivasyon sonucunda spesifik hormonlar üretilir ve salınır. Bağışıklık sistemi, otonom sinir sistemi (OSS), hipotalamik ve hipofiz hormon seviyeleri, nöropeptitler ve sitokinler de stres faktöründen etkilenmektedir (2). Stres yanıtı, merkezi sinir sistemi (MSS) ile bağışıklık sistemi arasındaki çift yönlü bağlantıları içerir. Ayrıca strese uyum sağlamak, vücudun strese verdiği tepkide önemli bir yer tutmaktadır. Bu nedenle strese verilen tepkinin etkinliği stresin türüne, yoğunluğuna, süresine ve kişinin özelliklerine bağlıdır (2).

Stresin etkileri akut (kısa süreli) ve kronik (uzun süreli) olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Akut ve kronik stresi karşılaştırdığımızda, akut stres dakikalarca veya saatlerce süren stres tipi olarak tanımlanmakta iken, kronik stres haftalarca veya aylarca, günde birkaç saat devam eden stres tipi olarak tanımlanmaktadır (3). Kronik stres genellikle zararlı olsa da, akut stres organizmada savaş ya da kaç tepkisini oluşturduğu için koruyucu olarak düşünülmektedir. Her iki stres tipi de HPA aksını aktive ederek glukokortikoid (GC) salınımını uyarır. Akut stres, HPA aksın aracılık ettiği psikolojik ve sosyal faktörlerdeki değişiklikleri içeren karmaşık bir süreci içermektedir, kronik stres HPA aksını aktive ederek immünoşüpresif ve anti-inflamatuar etki gösteren glukokortikoid düzeylerinin yükselmesine neden olabilmektedir. Kendi kendine/zararsız antijenlere veya alerjenlere yanıt olarak immün aktivasyonu gerçekleşir. Bu durum akut stres meydana getirir. Böylece otoimmün bozukluklar oluşabilmektedir (3). Kronik stres ise bağışıklık yanıtını zayıflatabilir. Bu yolla aşılamanın ve yara iyileşmesinin etkinliğini azaltabilir, enfeksiyon ve kansere karşı direnci azaltabilir (3). Bunların yanı sıra kardiyovasküler, endokrin, gastrointestinal ve daha bunun gibi pek çok hastalığa katkıda bulunabilir. Kronik stres nedeniyle HPA aksının aşırı aktive olması ile nöropsikiyatrik bozukluklar meydana gelebilmektedir (4). Ayrıca kronik stres

oksidatif hasar, sistemik inflamasyon, tip 2 diyabet, bilişsel işlev bozuklukları, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, kanser gelişimi gibi çeşitli hastalıklara sebep olabilir ve bu hastalıkların patogeneğinde rol oynayabilir (5,6).

Stresörler öngörülemez ve öngörülebilir olmak üzere ikiye ayrılır. Öngörülemez stresörler öngörülebilir stresörlere göre daha fazla olumsuz etkiye sahiptirler (7). Öngörülemez stres modellerinden biri olan Kronik Hafif Stres (CUMS) insanlardaki kronik stres durumunu en iyi yansıtabilen deneysel modellerden biridir (8). CUMS, hem hipokampüste hem de prefrontal kortekste (PFC) mikroglial aktivasyona sebep olur ve hücre yoğunluğunu artırır. Bunun yanı sıra, hipokampal hacmi, hücre proliferasyonunu ve nöronal farklılaşmayı azaltır (6,9). CUMS'nin deneklerde davranış bozukluklarına sebep olduğu ve bu bozuklukların hipokampal nöronlardaki değişiklikler ile gerçekleştiği bildirilmiştir (10). Ayrıca, CUMS modelinde kronik stresin oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengeyi bozarak oksidatif stresi artırdığı da kanıtlanmıştır (5). Oksidatif stres belirteçlerinden biri olan tiyol disülfid homeostazı (TDH) yeni bir parametre olarak bilinmektedir. TDH apoptozis, detoksifikasyon, hücre bölünmesi, anti oksidan sistem gibi çeşitli hücresel aktivitelerde görev almaktadır (11). Bunlara ek olarak TDH'nin nörodejeneratif hastalıkların patofizyolojisinde yer alabildiği bildirilmiştir (12,13).

Literatürde CAR ile ilgili de pek çok çalışma yer almaktadır. CAR, Thymus vulgaris, Lepidium flavum ve Citrus aurantium Bergama gibi bazı bitkilerin uçucu yağlarında bulunan fenolik bir monoterpenoiddir (14). CAR, anti-mikrobiyal, antioksidan ve anti-kanser gibi bazı klinik uygulamalar için incelenmiştir (15,16). CAR kan beyin bariyerini geçebildiği için nöroprotektif çalışmalarda yer almaktadır (17). Çalışmalar, CAR'ın CNS üzerinde antioksidan, antidepresan, anksiyolitik, antikonvülsan ve nöroprotektif etkilere sahip olduğunu göstermiştir (17-20).

Yapılan literatür araştırmasında ülkemizde de sıklıkla kullanılan kekik bitkisinden elde edilen CAR'ın günlük hayatta karşılaştığımız strese en yakın hayvan modeli olarak görülen CUMS üzerinde etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlamadık.

Bu çalışmada, erkek ratlarda deneysel olarak oluşturulmuş CUMS modeli üzerine CAR'ın davranışsal, antioksidan ve anti-inflamatuar etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Stres

Tüm canlılar vücudun iç dengesi olarak bilinen homeostazı korumak zorundadır. Homeostazı bozan faktörlere stresörler denilmektedir. Stresörler fiziksel, kimyasal, psikolojik ve sosyal olabilmektedir. Vücudun stresörlere verdiği yanıt, stresörün doğasına, büyüklüğüne ve süresine bağlıdır. Canlı vücudu stresör karşısında çeşitli fizyolojik ve davranışsal uyum tepkileri ile homeostazını sürdürür. Aksine, homeostaz korunamazsa gelişme, büyüme ve vücut kompozisyonunu bozulabilir ve bir dizi davranışsal ve somatik patolojik durum söz konusu olabilir (21).

Stres terimi, tarihsel olarak basınç uygulamasıyla ilişkilendirilen Hint-Avrupa kökü 'str'den gelmektedir. Stres, 17. yüzyılda “zorluk, sıkıntı veya ızdırıp” anlamına gelmekteydi. 18.ve 19. yüzyılda bu kullanımın yerini, kişinin bir nesneye, veya bir kişiye, veya kişinin "organlarına veya zihinsel güçlerine" uygulanan "kuvvet, baskı, gerilim veya kuvvetli çaba" olarak ifade edilmekteydi. Daha sonraları bir nesnenin veya bir kişinin dışardan gelen kuvvetlerden etkilenmesi, bu kuvvetlere karşı koyarak durumunu korumaya çalıştığı anlamını beraberinde getirdi. Kelime bu anlamıyla bilime geçmiştir (1).

1910'da Sir William Osler konferanslarında, stresin sebep olduğu bu durumları özellikle iş dünyasında yaygın olarak gördüğünü belirterek, “İşine odaklanmış, kendini işine adanmış yoğun bir hayat yaşamak sinir enerjisini artırır ve sinir sistemi pek çok anjina pectoris vakasında temel bir faktör gibi görünen bu stres ve zorlanmaya maruz kalır” şeklinde ifade etmiş ve “stres ve gerginliği”, “sıkı çalışma ve endişe” ile eşitlemiştir (22). Osler'den sonra Walter Canon "savaş ya da kaç" tepkisi üzerine yaptığı çalışmalarında "stres" terimini kullanmaya başladı. Harold G. Wolff ve meslektaşları 1940-1950'li yıllarda çeşitli hastalıkların “yaşam stresinden” etkilendiğini tanımladılar (22).

Vücudun iç ortamının dengede tutulması homeostazis olarak adlandırılmakta ve homeostasisin devamlılığı için, canlının, iç/dış stresörlere uygun cevap vermesi gerekmektedir. Canon, 20. Yüzyılın başlarında “The Wisdom Of The Body” adlı kitabında homeostazisi tanımlamış ve adrenal medulladan salınan adrenalin/noradrenalinin stres cevabında etkili olduğunu söylemiştir. Canon, acil

durumlara sempatik adrenal medüler sistemin verdiği yanıtı araştıran çalışmalarıyla, Claude Bernard'ın milieu interieur (iç ortam) hakkındaki görüşlerini genişletmiştir. İnsan ve laboratuvar hayvanlarının soğuğa, oksijen eksikliğine, düşük kan şekere, kan kaybına veya heyecana maruz kaldıklarında adrenal medulla ve sempatik sinir sisteminin reaksiyon gösterdiğini gözlemleyen Cannon, deneklerini "stres altındaydı" diye belirtmiş ve stres derecesinin az ya da çok şeklinde ölçülebileceğini belirtmiştir (22).

1930'ların sonlarında Hans Selye, bir organizmanın hem Cannon'ın sempatik tepkileri (savaş veya kaç) yolu ile hem de hipofiz bezinden salgılanan hormonların etkileriyle vücudun ana organlarını dolaylı ama önemli bir şekilde etkilediğini belirtmiştir. Selye, organizmanın bütünlüğüne yönelik çok çeşitli tehditlere yanıt olarak ortaya çıkan genelleştirilmiş bir fizyolojik sendrom olan "Genel adaptasyon sendromu (GAS)" nu tanımlayıp bu sendromun "nonspesifik stres" tarafından üretildiğini öne sürmüştür. GAS'ın üç aşamadan oluştuğunu belirtmiştir. Alarm aşamasında, hipotalamik-hipofiz adrenal (HPA) aksının artan aktivitesi ile hipotalamusun bir bölgesi aktive olur ve kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH) üretmeye başlar. CRH, ön hipofizi aktive ederek adrenokortikotropin salgılatıcı hormon (ACTH) üretimini uyarır. Bu hormon adrenal korteksin kortikosteroid (kortizol) üretmesine neden olur. Kortikosteroidler ise vücudun enerji kaynaklarını harekete geçirmek için geniş ve nispeten yavaş hareket ederler. GAS'ın direnç aşamasında, organizmanın stres etkenine karşı biyolojik tepkileri sabit bir duruma ulaşır ve belirgin stres belirtileri sıklıkla azalır veya kaybolur. GAS'ın tükenme aşamasında ise bir stres etkeni devam ederse ve fizyolojik savunmalar tükenirse, organizmanın semptomları tükenme aşamasında yeniden ortaya çıkar (kronik stres hastalıkları) (22).

2.2 Stres Yanıtı

Stres seviyesi vücudun tolere edebildiği eşik değeri aştığında, homeostazın korunması için çeşitli stres tepkileri oluşturulur. Stres tepkisi uyarılma, uyanıklık ve dikkati artıran sinyallerin aktiflenmesini, yeme, büyüme ve üreme gibi işlevlere hizmet eden sinyallerin inhibisyonunu içerir. Ek olarak, stres tepkisi "savaş ya da kaç" tepkisinin verilebilmesi için beyin, kalp ve iskelet kaslarının beslenmesinin artmasına sebep olur (21).

Stres yanıtı nöral, nöroendokrin, endokrin ve metabolik sistemlerini harekete geçirerek gerçekleşir. Beyin, kandan gelen sinyalleri alır ve işler. Stres sırasında, sempatik ve parasempatik sinir sistemi öncelikli olarak rol almaktadırlar. Bunun yanı sıra, stres yanıtı merkezi ve periferik sinir sistemleri olarak iki şekilde incelenmektedir. Merkezi stres sisteminde, hipotalamik hormonlardan arjinin vazopressin (AVP), kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH), pro-opiomelanokortin türevi peptitler, α -melanosit uyarıcı hormon, β -endorfin ve beyin sapının locus ceruleus'unun A1/A2 merkezlerinde, merkezi ve otonom sinir sisteminde üretilen norepinefrin (NE) etkilenir. Orta beyinden (çekirdek raphe) kaynaklanan serotonerjik yollar ve arka hipotalamik histaminerjik sistemler gibi diğer yükselen aminerjik yollar, sırasıyla 5-hidroksitriptamin ve histamin salgılanması yoluyla locus ceruleus'tan üretilen NE merkezi stres tepkisine eşlik eder (21).

Periferik sinir sisteminde HPA aksı tarafından düzenlenen GC'ler (kortizol ve kortikosteron) ile otonom sinir sistemi elemanlarından sempatik sinir sistemi NE salınımını, sempoatoadrenomedüller sistem ise NE ve epinefrin (EP) salınımını uyarak stres tepkisinde rol oynar (23). Postgangliyonik sempatik sinir lifleri CRH salgılamak, EP ve NE β -adrenerjik reseptörleri aracılığıyla bağışıklık hücreleri ve diğer periferik hücreler tarafından interlökin-6 (IL-6) salınımını uyandır (21).

Epinefrin ve NE hormonları katekolaminler sınıfındadır. Katekolaminler, 6 karbonlu bir halka ve bir karbon yan zincirine sahip olan hormon sınıfıdır. Katekolaminlerin bu yan zincirleri onların tipini ve özgüllüklerini belirler. Katekolaminler, G-protein reseptörlerine bağlanarak görevlerini yerine getirirler. Katekolaminler G- proteinine bağlandığında hücre içi cAMP sinyal yolu uyarılır ve hücresel tepkiler hızla aktive olur. EP ve NE'nin hedef dokulardaki reseptörleri stres etkenini tespit ettikten sonra saniyeler içinde organizma düzeyinde tepkiler oluşturulur. Bunlar beyindeki kan akışının artması, kalp hızının artması, glikojenin parçalanması, viseral aktivite ve sindirimin azaltılması, kaslarda vazodilatasyonun indüklenmesi, görme keskinliğini artması, akciğerlerde artan gaz değişimi, periferde vazokonstriksiyonun uyarılması ve piloereksiyondur. Bu tepkiler klasik savaş ya da kaç yanıtıdır, insanların ve hayvanların tehlikelerden kurtulmasına yardımcı olurlar (24).

Bir stres etkenine yanıt olarak salınan birincil steroidler GC'lerdir. GC'ler, adrenal kortekste üretilen, sinir ve bağışıklık sistemleri için iyi bilinen araçlardır. Bir stresöre yanıt olarak GC salınımını uyaran birincil yol HPA aksıdır (24). Bir stressör algılandığında, amigdala ve hipokampus hipotalamusa (öncelikle paraventriküler çekirdek) nöronal sinyaller gönderir. Daha sonra hipotalamustaki hücreler, akson projeksiyonlarını ön hipofize bağlanan bir portal kan sisteminin kılcal damarları boyunca sonlandıkları median eminense gönderir. Buradan CRH ve arginin vazopressin (AVP) salınır. CRH ve AVP, ön hipofizi uyararak dolaşıma ACTH salınımını sağlarlar. ACTH reseptörlerine bağlandığı adrenal kortekse gider ve GC üretimini uyarır (25). Kortizol ve kortikosteron, tüm steroidler gibi, üretildikten sonra depolanmazlar, bu nedenle ACTH'nin indüklediği bu hormonların üretimi ile kan dolaşımına salınması arasında fonksiyonel bir fark yoktur (23). Hipotalamustan hipofiz yoluyla adrenale giden bu hormonal şelaleye HPA aksı denir. Gonadal steroidler, sitokinler ve splanknik sinir gibi faktörler de kortizol ve kortikosteron sekresyonunu doğrudan veya dolaylı olarak modüle edebilirler. GC'ler insanlarda sabahın erken saatlerinde zirveye ulaşır ve geceleri en düşük seviyeye ulaşır, nokturnal kemirgenlerde bu durum tam tersidir. GC'ler HPA aksını ve sempatik sinir sistemini etkileyerek stres yanıtının başlatılması, sürdürülmesi ve bitirilmesi (yani ACTH salınımının negatif geri beslemesi) için gerekli olan çok sayıda görevi üstlenmektedirler (23).

Bir stres etkenine yanıt olarak GC'lerin klasik etkisi dokudaki kan şekerini arttırmaktır. Aslında bu hormonlara bu önemli rolünden dolayı "GC" adı verilmiştir. İlk olarak, GC'ler proteini glikojene dönüştürerek EP ve NE tarafından glikojen parçalanmasını dolaylı olarak artırarak ve glukoneogenez adı verilen bir süreçte yeni glikoz oluşturmak için protein katabolizmasını uyararak kan şekerini arttırırlar. İkincisi, GC'ler hedef dokular tarafından kan şekeri alımını azaltır, bu da strese yanıt veren dokular için mevcut olan daha yüksek kan şekeri konsantrasyonları ile sonuçlanır. GC'ler bunu, hedef dokuların hücre yüzeyinden glikoz taşıma moleküllerinin internalizasyonunu uyararak yapar. Daha az glikoz taşıyıcısı, daha az glikoz kullanımı ile sonuçlanır, bunun toplamı birden fazla hedef dokuda daha yüksek kan glikoz konsantrasyonları ile sonuçlanır. Stres etkenine (örneğin kaslar) yanıt vermek için ekstra glikoza ihtiyaç duyan dokular, GC etkisini telafi eder ve esasen artan kan şekeri havuzuna tercihli erişime sahiptir. Bu etkilerin

toplamı, GC'lerin, uzun süreli stresörler sırasında veya stresörler sona erdikten sonra enerji depolarının tahsisini düzenlemesidir (24).

Epinefrin ve NE'nin aksine, GC'ler etkilerini göstermede çok daha yavaştır. HPA aksının çoklu adımları, bir stres etkeninin başlangıcı ile kan GC konsantrasyonlarındaki artış arasında bir zaman gecikmesi oluşturur. Genel olarak, GC konsantrasyonlarındaki artışlar 3-5 dakikanın altında (ve bazen bazı türler için daha uzun) tespit edilemez. GC'lerin gen transkripsiyon hızlarını değiştirmeye yönelik birincil etkisi ile birleştiğinde, GC'lerin fizyolojik etkisi, bir stres etkeninin başlangıcından yaklaşık 20-30 dakika sonra ortaya çıkmaya başlar. Stres etkeni devam etmezse, negatif geri besleme genellikle 30-60 dakika içinde GC konsantrasyonlarını düşürmeye başlar, ancak yeni üretilen proteinler çalışmaya devam edebildiğinden GC'lerin fizyolojik etkileri önemli ölçüde daha uzun sürebilir. Sonuç olarak, katekolaminler ve GC'ler, stres faktörlerine hem anında hem de daha uzun vadeli bir yanıt üretmek için bir araya gelirler (24).

Glukokortikoidlerin bağışıklık sistemi üzerinde geniş bir inhibitör etkisi vardır. Bu, GC'leri klinik olarak çok önemli hale getirdi ve yaygın bir şekilde ilaç olarak reçete ediliyorlar. GC'ler sitokinlerin (bağışıklık sistemi proteinleri) sentezini, salınımını ve etkinliğini inhibe ederler. GC'ler ve makrofajların, dentritik hücreleri ve epitel hücrelerinin aracılık ettiği antijenle uyarılan inflamasyonu T helper 1 (Th1), hücre yüzey antijeni-8 (CD-8) ve naturel killer (NK) hücrelerinin gelişimini inhibe ederek ve interferon gamma (IFN- γ) seviyesini downregüle ederek baskılar (25).

Majör histo-uyumluluk kompleksi (MHC) ekspresyonunu azaltarak antijen sunumunu inhibe eder. Dolaşımdaki lenfosit seviyelerini düşürür, lenfosit kemotaksisini ve inflamasyon bölgelerindeki fagositik hücrelerin sayısını azaltır. Bu etkilerin tümü, özellikle uzun süreli GC maruziyeti ile immünosupresyona yol açar. Bu bağışıklık önleyici etkiler, aşırı iltihaplanma ile ölümcüllüğü önler, ancak aynı zamanda enfeksiyon ve kansere yatkınlığı artırır (25).

Glukokortikoidler bağışıklık sistemini aktive de edebilir. GC sekresyonunun sirkadiyen döngüsü, T hücrelerinin dağılımının ve tepkisinin günlük salınımlarını kontrol eder, böylece enfeksiyona karşı etkili bağışıklık korumasını destekler. Ayrıca, birkaç rapor, GR'nin Th2, Th17 ve immünoglobulin üreten B hücrelerinin

aktivitelerini artırma potansiyeline sahip olduğunu göstermiştir. Stresin bağışıklık yanıtları üzerinde iki farklı etkisi vardır: enfeksiyon ve kanser nedeniyle ölüme neden olan bağışıklığın baskılanması ve kronik enflamasyon ve otoimmün hastalığa neden olan aşırı bağışıklık aktivasyonu. Tutarlı bir şekilde, stres kaynaklı GC'ler, hücre aracılı bağışıklığı güçlü bir şekilde baskılar ve viral enfeksiyona ve tümör gelişimine neden olur. Ayrıca patojenik yardımcı T hücrelerinin gelişimini artırabilir, nöral ve bağırsak iltihabı yoluyla doku hasarına neden olabilirler (25).

2.2.1 Akut ve Kronik Stres Yanıtı

Akut stres yanıtında bozulan homeostasis yeniden dengeye getirilmeye çalışılır. Stres algılandığında bu bilgi ilk olarak serebral korteksten beyin sapında bulunan lokus coeruleus/norepinefrin (LC/NA) ve pons çekirdeğine iletilir. Bu bölgelerden çıkan ileti adrenal medulladan katekolaminlerin dolaşıma salınmasına sebep olur. Böylece stres altındaki kişiyi daha uyanık ve temkinli hale getirerek, savunma mekanizmasını uyarır. Ayrıca, kardiyovasküler ve solunum sistemlerini uyarır ve gastrointestinal sistemi inhibe eder. Ek olarak, katekolamin seviyelerindeki artış, plazma glikoz ve yağ asitleri seviyelerinde de artışa neden olarak organizmanın hayatta kalması ve korunmasını sağlar (2).

Akut stres yanıtında GC'ler immünosupresif ve anti-inflamatuar özellik sergilerler. Akut streste GC seviyesi önce artar ve daha sonra azalır. Kronik stres yanıtında HPA aksının desensitizasyonunu destekleyen, GC salınımını yoğunlaştıran, GC salınımının sirkadiyen ritmini ortadan kaldıran tepkiler oluşur. Bu durum GC direncine sebep olur. GC'ler, büyüme hormonunun hipofizden salgılanmasını bloke ederek, hedef hücrelerin büyüme hormonuna duyarlılığını azaltarak ve protein sentezini inhibe ederek büyümeyi de engelleyebilmektedirler. Bu, akut stres tepkileri sırasındaki geçici bir etkidir ve büyüme uzun vadeli bir süreç olduğundan, hayvanın genel büyümesi üzerinde çok az etkisi olduğu görülmektedir. Bununla birlikte, GC'lere uzun süreli maruz kalma, gözlemlenebilir büyüme inhibisyonuna neden olabilir. Büyümenin engellenmesinin, kaynakları bir acil durumla başa çıkmak için kullanmak için kaynakları ertelenebilecek süreçlerden uzaklaştıran glukokortikoidlerin bir örneği olduğuna inanılıyor (24). Büyüme üzerindeki etkilere benzer şekilde, GC'lerin üreme üzerindeki etkileri kısa vadede çok az etkiye sahiptir, ancak uzun vadeli stres üremenin tamamen durmasına neden

olabilir. GC'lerin üreme üzerindeki etkilerinin, acil bir durumda kaynakları tercihli olarak tahsis etmenin başka bir örneği olduğu düşünülmektedir (24).

Akut stres hem doğuştan gelen hem de kazanılmış bağışıklık sistem yanıtlarını artırırken, kronik stres bu yanıtları baskılar veya düzenler. Stresörlere maruz kalma sonrasında bazı proinflatuar sitokin (tümör nekroz faktörü [TNF], IL-1, IL-6, IL-8 ve IL-12) seviyeleri artar. Artan bu seviyeyi glukokortikoidler ve katekolaminler baskılar. Her iki hormon ailesi de TH-1 yanıtından (hücre sel bağışıklık) TH-2 yanıtına (humoral bağışıklık) sistemik bir geçişi indükler (21). Bunun aksine, proinflatuar sitokinler, hipotalamus, merkezi noradrenerjik sistem, hipofiz ve adrenal bezler dahil olmak üzere hem MSS'de hem de PSS'de çoklu seviyelerde stres sistemini uyarır, bu da GC seviyelerini artırır ve sonuç olarak inflammatuar reaksiyonu baskılar (21).

Proinflatuar sitokinlerin akut uygulamasının CRH ve ACTH salınımını kontrol ederek kortizol salınımını düzenleyebildiği bilinmekte iken (26), kronik uygulamasının GC direncinin bir sonucu olarak, kortizol salınımının günlük eğrisini düzleştirebildiği bilinmektedir (27). Ayrıca proinflatuar sitokinlerin, GC'lerin çekirdeğe translokasyonunu inhibe ederek veya GC-DNA bağlanmasını bozarak işleyişini değiştirebildiği bilinmektedir (28). Stres yanıtının kronik aktivasyonunun bir diğer sonucu, GC hormonlarının kronik üretimi aracılığıyla mikrogliya ve astrosit hücrelerinin morfolojisini ve işlevini değiştirebilen, NFκB işleyişine müdahale edebilen bağışıklık sistemi işleyişini doğrudan etkileyebilmesidir (9,29).

Akut stres astım, egzama, ürtiker, migren, hipertansif veya hipotansif ataklar, baş ağrısı, karın, pelvik ve bel ağrısı, gastrointestinal semptomlar (ağrı, hazımsızlık, ishal, kabızlık), panik atak ve psikotik ataklara sebebiyet verebilir. Kronik stres ise kaygı, depresyon, bilişsel işlev bozukluğu, hipertansiyon, obezite, metabolik sendrom, tip 2 diabetes mellitus, aterosklerotik kardiyovasküler hastalık, nörovasküler dejeneratif hastalık, osteopeni, osteoporoz, uykusuzluk veya gündüz aşırı uyku hali gibi uyku bozukluklarına sebep olabilmektedir (21).

2.3 Kronik Stres ve Kortizol İlişkisi

Kortizol glukokortikoid sınıfına ait bir hormondur. Stres sonrası hipotalamustan CRH salgılır. CRH ön hipofiz lobunu uyararak ACTH salgılamasına

sebepler olur. ACTH salgısının hemen ardından adrenal korteksten kortizol salgınır (30). Kortizol salgısını suprakiazmatik çekirdekte bulunan pacemaker tarafından gerçekleştirilen sirkadiyen ritim kontrolü altındadır. Bu ritim kortizolü gece yarısı civarında en düşük seviyede tutar ve bu seviye sabah saatlerinde pik yapar (31). ACTH ve kortizol normal şartlarda az miktarda ve sürekli olarak salgınır. Az miktarda salgınmaları zararlı değildir. Herhangi bir stres durumunda bu miktar 10 kat artar (32). Artan kortizol miktarını azaltmak için CRH ve ACTH salgınmasını durdurur fakat stres devam ederse bu negatif feedback yetersiz kalır (33,34). Stresörlere karşı verilen kortizol seviyesindeki bu artış kişiden kişiye değişebilmektedir. Belirli bir strese karşı bazı kişiler az tepki gösterirken bazıları yüksek tepki gösterebilmektedir (35). Yaşa bağlı olarak stres yanıtı değişiklik gösterir. Akut stres yanıtında genç sıçanlarda kortikosteroidlerin hızlıca arttığı ve stres faktörü ortadan kaldırıldığında bu artışın hızlıca sonlandığı gösterilmiştir. Yaşlı sıçanlarda bu sonlanmanın daha yavaş gerçekleştiği görülmüştür. Kronik stres yanıtında ise genç hayvanların bir süre sonra strese uyum sağladıkları ve salgıladıkları maddelerin seviyelerinde azalma olduğu gözlenirken, yaşlı sıçanlarda bu salgınım daha uzun süre devam etmiştir (36).

Kortizol immün yanıtı baskıladığı için terapötik olarak kullanılmaktadır. Makrofajlardan IL-1beta salgınmasını, yardımcı T hücrelerinden IL-2 salgınmasını azalttığı bilinmektedir. T hücrelerinin azalması B hücrelerinin de azalmasına ve böylelikle antikor oluşumunun azalmasına sebep olur. Kortizolün immün yanıtı baskıladığı ve ayrıca konakçının inflamasyona karşı dayanıklılığını nasıl azalttığı araştırmacıların 30 yılı aşkın süredir çözemediği bir paradokstur (37).

2.4 Kronik Stres ve Davranış İlişkisi

İnsanlar, doğal evrimleri sırasında hayatta kalabilmek için sosyal davranışlar geliştirmiştir. Çoğu insan strese karşı etkili bir uyumsal tepkiye sahip olmasına rağmen, bazıları stresle başa çıkma konusunda sınırlı bir yeteneğe sahip olup stresle ilişkili hastalıklara yol açan uyumsuz tepkiler sunabilirler (38). Modern yaşam tarzı psikosomatik hastalıklarla ilerleyen yüksek düzey psikolojik stres ile ilişkilidir (39). Modern toplumlarda stresin etkisi, rekabet, sosyal bağların zayıflaması, çeşitli talepler ve bireysellik sistemin normal başlangıç adaptasyonundan patolojik durumlara kadar bozulmasına yol açmıştır (40).

Günümüzde kronik stresin sebep olduğu önemli patolojik durumlardan biri davranış bozukluklarıdır. Kronik stres, depresyon, anksiyete, öğrenme ve hafıza bozukluklarına yol açabilmektedir (41). Kronik stresin sebep olduğu davranış bozukluklarından en sık gözlenen depresyondur. Depresyondan etkilenen nüfus giderek genişlemektedir. WHO raporuna göre (2023) 280 milyon insan depresyondan etkilenmektedir (42). Depresyon; suçluluk duygusu, ruh halinde değişiklik, kognitif bozukluk, kilo kaybı, uyku bozukluğu, günlük aktivitelerde ilgi kaybı, sosyal işlev bozukluğu, hafıza kaybı ve yüksek intihar eğilimi gibi değişikliklerle karakterize kronik, ruhsal bir hastalıktır (43).

Depresyona, nörotransmitter veya reseptör seviyelerindeki dengesizlik, HPA aksın aktivasyonu, oksidatif stres, inflamatuvar sitokinlerin dengesizliği, sinaptik plastisitenin bozulması gibi merkezi sinir sistemindeki değişiklikler sebep olabilmektedir (43,44). Depresyon patofizyolojisinde nörotransmitterlerden monoaminlerin rolü yıllardır araştırılmaktadır. Monoamin nörotransmitterler serotonin, dopamin ve nöradrenalin. Serotonin triptofan amino asidinden, nöradrenalin ve dopamin tirozin amino asidinden sentezlenir. Bu nörotransmitterlerin sentez hızı, ilgili öncüllerin miktarına duyarlıdır. Serotonin, dopamin ve nöradrenalin, sentezlendikten sonra, postsinaptik reseptörüne etki etmesi için sinaptik aralığa salınır. Nörotransmitter etkisi, serotonin geri alım taşıyıcısı (SERT), dopamin geri alım taşıyıcısı (DAT), nöradrenalin geri alım taşıyıcısı (NAT) aktivitesi ile presinaptik nörona geri alım veya katekol- O-metiltransferaz (dopamin ve nöradrenalin için) tarafından enzimatik yıkım ile sonlanır. Monoamin nörotransmitterlerin aktivitesi MAO inhibisyonu ve/veya geri alım taşıyıcılarının inhibisyonu ile artırılabilir. Monoaminler, insanın fizyolojik ve davranışsal fonksiyonlarının çoğunda önemli rol oynar. Monoaminerjik yollardaki düzensizlik bu nedenle duygu durumu, iştah, uyku ve sirkadiyen ritim bozukluğu, cinsel işlev ve kognitif bozukluğa neden olur (45). “Monoaminerjik nörotransmitter imbalansı” uzun süredir depresyonun patofizyolojik mekanizması olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle, seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'lar), serotonin norepinefrin geri alım inhibitörleri (SNRI'ler) ve noradrenerjik ve spesifik serotonerjik antidepresanlar depresif semptomları tedavi etmek için reçete edilmektedir. Ancak bu ilaçlar tek hedeflidir ve bu nedenle depresyon gibi karmaşık bir bozukluğa karşı sınırlı etkinlik gösterirler (39).

Kronik stres nörotransmitter seviyelerindeki değişikliklerin yanı sıra HPA ekseninin kalıcı aktivasyonuna, glukokortikoidlerin sürekli artışına ve inflamatuvar yanıtın aktivasyonuna yol açarak depresyona sebep olduğu bilinmektedir (46). Yakın zamanda, Horowitz ve Zunszain, majör depresif bozukluk (MDB) hastalarının yaklaşık %85'inde glukokortikoidlere direnç ve inflamatuvar sinyallemede alevlenme olduğunu bildirmişlerdir (47). Stres ve yüksek glukokortikoid konsantrasyonları, artan reaktif oksijen ürünlerinin (ROS) üretimi ve oksidatif stres oluşumu ile ilişkilidir (48). Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz çalışmasında, artan lipid peroksidasyonunun ve DNA oksidasyonunun MDB'de stresle ilişkili belirteçler olduğunu göstermiştir. Ayrıca, antioksidan enzimlerden olan süperoksit dismutaz (SOD) ve katalazın (CAT) aktivitesinde değişiklikler olduğu gözlenmiş ve her iki enzimin artan aktivitelerinin akut depresif atakların göstergesi olduğu bildirilmiştir (38,49).

Nöroinflamasyon, depresyon dahil çeşitli nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik hastalıklarla ilişkili patolojik bir durumdur (50). Depresyon tanılı hastalarda hipokampal lezyonların ve nöronal hücre ölümünün, inflamatuvar reaksiyonların patlayıcı aktivasyonu ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (51). Yüksek proinflamatuvar sitokin seviyelerinin özellikle interlökin-1 β (IL-1 β), interlökin-6 (IL-6) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF- α)'nın, nöroendokrin fonksiyon ile etkileşime girebildiği ve depresyonda rapor edilen nöronal fonksiyonu etkileyebildiği belirtilmektedir (52). Depresyonda sitokin teorisine göre, aktive edilmiş makrofajlar tarafından proinflamatuvar sitokinler indüklenir veya kronik stres, glukokortikoidlerin aşırı salgılanmasıyla HPA aksın feedback döngüsünü bozabilir ve hipokampustaki glukokortikoid reseptörlerini downregüle edebilir, bu da nöron ölümü ve nörotransmitter işlev bozukluğu ile sonuçlanabilir (53). Majör depresyonu olan hastalar, proinflamatuvar sitokinlerde ve bunların periferik kan ve beyin omurilik sıvısındaki soluble reseptörlerinde yükselmeler sergiler (54)

Hem periferik inflamasyon hem de hiperkortizolizm mikrogliyal aktiviteyi indükleyerek proinflamatuvar sitokinlerin üretimini ve nöroinflamasyonu uyarabilir (55). Aynı değişiklikler depresif hastaların beyinde de bulunmuştur (56). Proinflamatuvar sitokinlerin monoaminlerin membran transportlarını aktive eden indoleamin 2,3-dioksijenaz ve mitogen-activated protein kinaz yoluyla inflamatuvar sinyal yollarını aktive ederek serotonin, dopamin ve norepinefrin gibi monoamin

nörotransmitterlerinin sentezini azaltabildiği gösterilmiştir (57,58). Nöroinflamatuvar yanıtın bir sonucu olarak, amigdala ve hipokampus gibi limbik sistemde artan ROS üretimi de nöronlara ve sinaptik iletimlere zarar verebilir ve sonunda mental bozuklukları indükleyebilir (58,59). Sitokin teorisi, stresle uyarılan veya aşırı aktive olan bağışıklık sisteminin inflamatuvar sitokinler ürettiğini, klinik ve hayvan deneyleri ile doğrulanmış olan depresyon patogenezinde önemli rol oynadığını öne sürer (51). Bu nedenle nöroinflamasyonu azaltmak ve fonksiyonları iyileştirmek için yeni anti-inflamatuvar bir tedavi ajanının geliştirilmesi ile stresin olumsuz etkileri azaltabilir ve depresyon önlenabilir.

Proinflamatuvar sitokinlerin bir diğer etkisi ise triptofan metabolizmasını modüle edebilmeleri ve triptofanın potansiyel nörotoksik metabolit (kinolinik asit ve kinurenin asit) düzeylerini artırabilirler (60). Triptofanın metabolik yolundaki bu sitokin kaynaklı değişikliklerin serotonin seviyesini azalttığına inanılmaktadır (61). İndoleamin 2-3-dioksijenaz enzimi, triptofanın metabolizmasını kinurenin'e katabolize eder. IL-2, IFN- γ ve TNF- α dahil olmak üzere proinflamatuvar sitokinler, İndoleamin 2-3-dioksijenaz enzimini aktive eder (62). Kinurenin, kinurenin monooksijenaz enzimi tarafından iki potansiyel nörotoksik metabolit olan kinolinik asit ve kinurenin aside metabolize edilir (63). Kinurenin monooksijenaz ayrıca proinflamatuvar sitokinler tarafından da aktive edilir. Artan proinflamatuvar sitokin seviyeleri böylece serotonin sentezi için mevcut olan triptofan miktarını azaltabilir ve böylece hastaları majör depresyon geliştirmeye karşı daha savunmasız hale getirebilir (62)

Antidepresanların, HPA aktivitesini ve inflamatuvar aracılığı düzenleyerek depresif benzeri davranışları hafiflettiği bildirilmiştir (64). Bunun yanı sıra, monoaminlerin sinaptik konsantrasyonunu artırmaya yönelik geleneksel antidepresan ilaçlar, hala birinci basamak tedavi olarak kabul edilmektedir (39,65). SSRI, depresyon tedavisinde en yaygın kullanılan ilaçlardır. Ancak bu ilaçlara verilen yanıt oranı sadece %60-70'dir. Bulantı, uykusuzluk, cinsel işlev bozukluğu gibi yan etkiler, terapötik etkinin geç başlaması ilaçların klinik kullanımı kısıtlamaktadır (66). Klasik bir SSRI olan fluoksetin, depresyon tedavisinde yaygın olarak psikoterapötik bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Serotonin üzerindeki etkilerinin yanı sıra, fluoksetinin anti-inflamatuvar, anti-tümör ve nöroprotektif etkilerde önemli bir rol oynadığı gösterilmiştir (67,68). Bununla birlikte,

fluoksetinin kronik stres sonrası nöroinflamasyonu inhibe etme kapasitesinin kesin mekanizmaları tam olarak anlaşılamamıştır (69). Monoamin nörotransmitter eksikliği hipotezine dayanarak, selektif NE geri alım inhibitörleri gibi mevcut terapötik antidepresanlar da yeterince etkisizdir. Hastaların üçte biri ilk tedaviye yanıt vermiyor ve depresif hastaların neredeyse yarısı sadece optimalin altında yanıt veriyor, ancak yan etkiler şiddetlidir (59). Bu nedenle, depresyonun nöropatolojik faktörlerini hedefleyen yeni tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır.

Klinik araştırmalar depresyon tanılı hastaların plazmasında proinflamatuvar sitokin düzeylerinin arttığını, anti-inflamatuvar sitokin düzeylerinin azaldığını göstermiştir (44,70). Yine depresif hayvanların beyinde proinflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokin seviyelerinde dengesizlik saptanmıştır (71). Yapılan bir çalışma, IFN- α gibi sitokin tedavisinin, kanserli veya viral enfeksiyonlu hastalarda yorgunluk ve ilgi kaybı gibi depresif semptomlardan sorumlu olduğunu göstermiştir (72). Anti-inflamatuvar tedavinin hastalarda depresif semptomları etkili bir şekilde azalttığı ileri sürülmüştür (73). Bu nedenle depresyon semptomlarının hafiflemesine, proinflamatuvar belirteç seviyelerinde azalma ve normalleşme eşlik ederken, depresyonun alevlenmesine proinflamatuvar belirteç seviyelerinde sürekli bir artış eşlik eder (73,74). IL-1 β depresyon patofizyolojisinde önemli rol oynayan sitokinlerden biridir (75). Özellikle, son meta-analizler, depresyonlu hastaların hem serumunda hem de plazmasında IL-1 β 'nin yanı sıra IL-6 ve TNF- α 'nın önemli ölçüde arttığını bildirmiştir (75). IL-1, IL-18 ve TNF- α sinaptik plastisitenin ve hafıza konsolidasyonunun inhibisyonuna katkıda bulunur. Bu sonuçlar, nöroinflamatuvar değişikliklerin MDB'nin yanı sıra PD ve AD'nin anahtar patolojik bileşenleri olduğu hipotezini desteklemekte ve sitokinlerin nörogenez üzerindeki etkilerinin potansiyel klinik önemini vurgulamaktadır (76).

Kronik stres depresyona sebep olabildiği gibi anksiyete ve öğrenme-hafıza bozukluklarına da sebep olabilmektedir. Anksiyete üzerine etkili olup olmadığını inceleyen bir çalışmada, sıçanların anksiyete seviyeleri yükseltilmiş artı labirent testi ile ölçülmüş ve herhangi bir etkinin olmadığı gözlenmiştir (77). Diğer bir çalışmada ise, kronik stresin anksiyete seviyesini artırdığı gösterilmiştir. Başka bir çalışmada ise kronik stresin aydınlık kolda geçirilen süreyi azalttığı gösterilmiştir (78). Diğer yandan, öğrenme ve hafıza üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada ise BDNF seviyesinde azalma olduğu gözlenmiştir (79). Kronik stres sonrası, öğrenme

sürecinde etkili olan uzun süreli potansiyasyonun bozulması (LTP) aracılığıyla sinaptik ateşlenmenin azaldığı ve dendritik uzantıların büzülmesine neden olur (80).

2.5 Kronik Stresin Oksidatif Stres ve Nöroinflamasyon Üzerine Etkileri

Oksijenli solunumun dezavantajlarından biri elektronların elektron taşıma zincirinin kompleks I, II ve III'ün flavin gruplarından veya demir-kükürt merkezlerinden kaçması ile oksijen molekülünün (O_2) tek değerlikli süperoksit anyonuna ($O_2^{\cdot-}$) indirgenmesidir. Süperoksit anyonları ve hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi ROS oluşmasıdır. Bazı enzimler süperoksit anyonlarını hidrojen peroksit (H_2O_2) veya hidroperoksitlere dönüştürürler. Bunlara ROS denilmektedir. Bu enzimler aktif makrofajlarda, nötrofillerde ve hatta fagositik olmayan hücre tiplerinde $O_2^{\cdot-}$ ve bazı durumlarda H_2O_2 üretilebilmektedir. Süperoksit anyonları oluşuktan sonra genellikle SOD tarafından hızla H_2O_2 'ye dönüştürülür. Ancak, aktive edilmiş nitrik oksit sentazları tarafından üretilen nitrik oksit varlığında, süperoksit anyonları oldukça reaktif bir nitrojen ürünü (RNS) olan peroksinitrit oluşturabilir. H_2O_2 , oldukça reaktif ve kısa ömürlü türler olan hidroksil radikallerini oluşturmak için serbest demir veya bakırla (yani Fenton reaksiyonu) kolayca reaksiyona girebilir (81).

Reaktif oksijen ve nitrojen türleri hücrelerdeki proteinlere, lipidlere ve hücre DNA'sına zarar vererek hücre ölümüne sebep olabilmektedir (81). Antioksidan sistem oksidanların oluşturduğu oksidasyon etkilerini azaltarak yok eder. Oksidan ve antioksidan seviyeleri arasındaki bu dengenin korunması biyolojik fonksiyonlar için oldukça önemlidir (82). Diğer bir yandan hidroksil radikalleri, süperoksit radikalleri, singlet oksijen ve hidrojen peroksit radikali gibi ROS'un aşırı artması, enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemini uyarır. Antioksidan savunma sistemi yetersiz kaldığında oksidatif stres oluşur (83). Özellikle mitokondrial metabolik süreçler sonucunda oluşan fazla miktarda ROS ve RNS, insan beyinde ciddi hücre hasara yol açabilmektedir. Beyin bölgesi oksijeni fazla tükettiği için oksidatif hasara oldukça hassastır (84). Ayrıca, düşük antioksidan kapasiteleri ve yüksek çoklu doymamış yağ asidi nedeniyle, nöronlar kronik stres sırasında üretilen ROS'a karşı oldukça savunmasızlardır. Oksidatif stres nöronların membran yapılarında bulunan bileşenleri değiştirebilir ve

anksiyete, depresyon, hiperaktivite, obsesif kompulsif bozukluk gibi nörodejeneratif ve nöropsikiyatrik birçok hastalıklıya sebep olabilir (85).

Enzimatik antioksidan savunma sistemi SOD, CAT ve glutatyon peroksidaz (GPX) gibi enzimatik aktivitelerden oluşmaktadır. Proteinlerin, lipidlerin ve DNA'nın kontrolsüz oksidatif modifikasyonunu önlemek ve hücreleri geri dönüşü olmayan ve toksik hasara karşı korumak için, hücreler bir dizi yüksek verimli ve spesifik antioksidan enzimler geliştirdiler. Süperoksit dismutaz, süperoksit anyonunun H_2O_2 ve O_2 'ye dönüşümünü katalize eder. Katalaz ise H_2O_2 'nin H_2O ve O_2 'ye ayrışmasını katalize eder. H_2O_2 ve/veya organik hidroperoksitlerin sırasıyla suya ve karşılık gelen alkollere indirgenmesini katalize eden glutatyon peroksidazlar ve peroksidazlar gibi tiyol peroksidazlar tarafından elimine edilir. Katalazların ve süperoksit dismutazların aksine, peroksidazlar, hidroperoksitleri detoksifiye etmek için tiyol bazlı bir reaksiyon mekanizması kullanır ve indirgenmiş durumlarının, Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) tüketimi altında glutatyon/glutatyon redüktaz (GSH/GR) veya thioeredoksin/thioeredoksin redüktaz (Trx/TrxR) sistemi tarafından geri yüklenmesi gerekir. Peroksidazların H_2O_2 için çok yüksek bir afinitesi vardır, bu da kesinlikle korunan aktif bölgelerine bağlıdır (81).

Enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemi elemanlarından biri ise tiyollerdir. Tiyoller, merkaptanlar olarak da bilinmekte ve antioksidan savunma sisteminde önemli düzenleyici rolleri bulunmaktadır (86). Tiyoller, oksijen türevleri ile reaksiyona girerek koruma sağlayan ve sülfidril grubu (-SH) içeren organik bileşiklerdir (83,86). Hem hücre içi hem de hücre dışında bulunabilirler. Plazmada bulunan ve proteinlere bağlı olan tiyoller ağır moleküler ağırlığa sahipken, proteinlere bağlı olmayan serbest dolaşan tiyoller hafif moleküler ağırlığa sahiptir. Plazmada bulunan tiyoller güçlü antioksidan özelliktedir ve serum tiyol seviyesi antioksidan sistem hakkında bilgi verebilir (82,87). Plazmadaki tiyol havuzunu, esas olarak albümin ve daha az oranda sistein ve glutatyon oluşturur (82).

Uzay-zamansal olarak üretilen H_2O_2 'nin, farklı hücresel sinyal yollarını indüklemek için redoks duyarlı tiyollerle proteinleri oksitleyen ikinci bir haberci olarak hizmet ettiği artık iyice anlaşılmıştır (81).

Tiyoller ve disülfidler arasında antioksidan ve oksidanların arasındaki ilişkiye benzer bir denge vardır. Bu denge, dinamik tiyol/disülfid homeostazı olarak adlandırılır (TDH) (82). TDH ilk olarak 1979'da yüksek performanslı sıvı kromatografisi ve biyoluminesans yöntemleri ile ölçülmüştür (88). Erel ve Neselioğlu tarafından geliştirilen tam otomatik yöntemler sayesinde tiyol ve disülfid seviyelerinin ölçülebilmesi ile, TDH'a olan ilginin arttığı ve TDH'ın enzimatik olmayan oksidatif stres belirteci olarak kullanılabileceği gösterilmiştir (11,12,88). Bu homeostazın belirteçleri, native tiyol, toplam tiyol, tiyol/disülfid, disülfid/native tiyol, native tiyol/toplam tiyol ve disülfid/toplam tiyol oranlarını içerir. Native tiyol (SH) ve disülfid bağlarının (SS) toplamı total tiyol (SH+SS) seviyesini verir. Ayrıca, oksidatif stres sonrası ilk harcanan antioksidanlar toplam tiyol gruplarıdır (82).

Tiyol disülfid homeostazisi, antioksidan koruma, detoksifikasyon, sinyal iletimi, apoptoz, hücrel sinyal mekanizmaları ve enzim aktivitelerinin düzenlenmesinde rol oynar (83,86). TDH korunamadığında hastalıklar ortaya çıkar (82).

Stres kaynaklı hücrel ve moleküler değişiklikler, depresyon ve diğer nöropsikiyatrik hastalıkların ortaya çıkmasına neden olabilecek zararlı bir ortam oluşturur. Kronik strese bağlı oluşan depresyon etiyolojisinde oksidatif stresin rol oynadığı bilinmektedir. Aşırı ROS seviyelerinin lipid, protein ve nükleik asitler gibi makromoleküllere oksidatif zarar vermesi, depresyon bozukluklarının gelişimi ile ilişkili nöronal disfonksiyona yol açar. CUMS'nin oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengeyi bozarak oksidatif stresi artırdığı gösterilmiştir (89).

Kronik stresin oksidatif stresle ilişkili olduğu bilinmektedir. Oksidatif stresin nöroinflamasyonla ilişkisi ise pro-inflamatuar sitokinlerin artışına neden olması ile açıklanmaktadır. Fizyolojik koşullar altında, sitokinler, konakçının immünolojik zorluklara verdiği yanıtta yer alan anahtar düzenleyici araçlardır ve endokrin, bağışıklık ve merkezi sinir sistemleri arasındaki iletişimde kritik bir rol oynarlar. Artan ROS seviyeleri, bağışıklık sisteminde ikincil haberci olarak işlev gördüklerinden, inflammatuar yanıtların hiperaktivasyonuna neden olabildiği bildirilmiştir (84). Bununla birlikte, proinflammatuar sitokinlerin aşırı üretimi ile inflammatuar yolların sürekli aktivasyonu, nöroendokrin süreçleri olumsuz yönde etkileyerek HPA ekseninin hiperaktivitesine neden olabilir ve sinir sisteminin dış

veya iç uyaranlara yanıt verme ve uyum sağlama yeteneğini bozabilir (90,91). Sonuç olarak, kronik strese bağlı olarak HPA ekseninin aşırı aktivasyonu, davranış bozukluklarına ve ruhsal bozukluklara neden olur (92)

Kronik olarak stresli olaylara maruz kalmanın mikrogliya hücrelerinin de aktive ettiği bilinmektedir. Sürekli mikrogliyal aktivasyon ve immün inflamasyon CNS hastalıklarının ana nedenleri olarak kabul edilir. Mikrogliya morfolojik olarak dinamikdir. Stres, mikrogliya'nın dallanmış bir durumdan hiper-dallanmış, reaktif veya fagositik dahil olmak üzere farklı fenotiplere morfolojik geçişini destekler (93). Mikrogliya, klasik (M1) ve alternatif (M2) olarak sınıflandırılır (94). M1 zararlı uyarıyı tanıyıp etki eder ve nöroinflamasyonu indükleyen TNF- α , IL-1 β , IL6 gibi inflamatuvar sitokinleri üretir (95). M2, inflamasyonun baskılanmasında ve homeostazın restorasyonuna katkıda bulunan IL4 ve IL10 gibi antiinflamatuvar sitokinleri salgılar (96,97). Mikrogliya hasarlara veya patojenlere yanıt verirken inflamasyonu düzenlemek için dinamik bir M1/M2 oranı gösterir ancak düzensiz veya kronik inflamasyon doku hasarına yol açabilir. Mikrogliyal M1/M2 dinamiği kronik nöroinflamasyon ile ayırt edilen hastalıkların patogeneğinde önemlidir (70,98).

Sitokinlerin depresyonda nöroendokrin fonksiyon üzerindeki etkileri, kısmen onların glukokortikoid reseptörü (GR) ve onun sinyal yolları üzerindeki etkileriyle ilişkili olabilir, bu da azalmış GC yanıtı olarak bilinen bir fenomen olan GC direncine yol açar. Hipotalamus, hipofiz ve hipokampusta, GR'ler stres tepkisi sırasında hormonal salınımın negatif geri bildiriminde hayati bir rol oynar. Bozulmuş GR fonksiyonunun, kronik stres ile ilişkili inflamatuvar sitokinlere kronik maruziyet ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (26). Pro-inflamatuvar sitokinler ve bunların sinyal yolları, GR translokasyonu ve GC'leri bağlama kapasitesi azaltılmış GR izoformlarının indüksiyonu dahil olmak üzere çoklu seviyelerde GR fonksiyonunu inhibe edebilir, bu da HPA ekseninin hiperaktivitesine ve sistemik GC seviyelerinin yükselmesine neden olur. Kronik stresle ilgili olayları kısaca özetlemek gerekirse, proinflamatuvar sitokinler GR ekspresyonunu downregüle eder ve GR'lerin işlevini bozarak GC'lerin negatif geri besleme etkisini azaltır, bu da HPA eksenini hiperaktivitesine katkıda bulunur, depresyonu şiddetlendirir (26,90).

2.6 Kronik Öngörülemeyen Hafif Stres (CUMS) Modeli

Literatürde çeşitli kronik stress modelleri yer almaktadır. Bunlardan bazıları Tablo 2.1.'de gösterilmektedir.

Tablo 2.1. Literatürde bulunan farklı stress modelleri (99,100)

Stres Modeli İsmi	Stres Modeli Hakkında Açıklama
Kronik Sosyal Yenilgi Stresi	Bu model ergen, yetişkin, erkek ve dişi kemirgenlerde kullanılabilir. Kemirgenler sosyal yenilginin ardından depresif benzeri davranış sergilerler. Bu modelle ilgili temel etik kaygılardan biri, saldırgan farenin saldırılarının bir sonucu olarak test faresinin sağlığını bozabilmesidir.
Sosyal İstikrarsızlık Stresi	Kemirgenlerin istikrarsız bir sosyal ortam için her seferinde yeniden hiyerarşi oluşan sosyal izolasyon ve aşırı kalabalık ortamların dönüşümlü olarak kullanıldığı modeldir.
Zenginleştirilmiş Çevre Kaybı Stresi	Sevilen bir kişinin kaybı, kemirgenlerde, çevresel zenginleşmenin ödüllendirici özellikleri ve ardından bunların ortadan kaldırılması ile modellenmektedir. 1 aylık çevresel zenginleştirmenin ardından, bu zenginleştirmenin ortadan kaldırılması kemirgenlerde depresyon benzeri davranışlara yol açmaktadır.
Stresin Sosyal Aktarımı Modeli	Bu modelde, stresli bir kemirgeni başka bir kemirgenle birlikte barındırmak veya diğer kemirgenin stres prosedürüne tanık olmasını sağlamaktır. Bu şekilde 2 sonuç elde edilebilir: sosyal tamponlama oluşması ile stresli kemirgende HPA aks aktivitesinde azalma veya izleyici kemirgenin strese bağlı caydırıcı bilginin doğrudan iletilmesine bağlı stresli kemirgendekine benzer bir davranış geliştirmesidir.

Öğrenilmiş Çaresizlik Modeli	Bireyin içinde bulunduğu stresli durumdan ne kaçabileceğini ne de onu kontrol edemeyeceklerini algılaması durumudur ve en eski stres modellerinden biridir.
Kronik Kısıtlama Stresi	Bu model, depresyon ve kaygı benzeri davranışlara neden olur. Uygulanması kolay olmakla birlikte, çeşitli stres faktörlerini içeren modeller daha çok tercih edilmektedir.
Sosyal İzolasyon Stresi	Sosyal izolasyon, depresyon için bilinen bir risk faktörüdür ve depresyon etiyolojisi ile ilgili bir stres modeli sağlar. Uzun süreli sosyal izolasyon, kaygı ve depresif benzeri davranışlara neden olur.
Kronik Öngörülemez Hafif Stres	Bu model depresif benzeri davranışları incelemek için yaygın olarak kullanılır. Birkaç hafta boyunca çeşitli stresörler rastgele olarak uygulanır. İnsanların günlük yaşamına en çok benzeyen stres modelidir.

Kronik öngörülemez hafif stress modelinde akut stresörler tekrarlı bir şekilde uygulanır. Fakat aynı stres etkenine tekrar tekrar maruz kalmak alışmaya sebep olabilir. Zamanla daha küçük stress yanıtlarına ve sonunda stresöre yanıt verilmemesine neden olabilir. Bu durumu önlemek için iki yaklaşım kullanılmıştır. Birincisi, alışmanın önlenmesi için ardışık günlerde farklı akut stresörlerin uygulanmasıdır. İkinci yaklaşım ise duyarlılaşma sağlanması için az bir süre çok yoğun bir stres etkenine maruz kalma kullanılır.

Stresörlerin değişkenliğinin ve tahmin edilemezliğinin davranışsal bozuklukların gelişiminde önemli bir rol oynadıkları bilinmektedir (101). Öngörülemez stresörler, bilinmeyen faktörler nedeniyle tahmin edilebilir stresörlere göre daha fazla olumsuz etkiye sahiptir (102). CUMS modeli, insanların günlük yaşantılarında maruz kaldığı kronik stres deneyimini taklit eden (9) ve kemirgenlere uygulanması ile depresyon, anksiyete gibi davranış bozuklukları ve öğrenme-hafıza bozukluklarına sebep olduğu bilinen deneysel bir modeldir (103). Bu modelde, kemirgenlere insanların maruz kaldığı günlük stress faktörlerinin benzerlerini birkaç hafta boyunca sıklıkla ve aralıklı olarak uygulanır. Bu

paradigma genellikle kronik stres sonucu oluşan depresyon davranışını modellemek için kullanılmaktadır (104). Bunun sebebi modelin, insanlarda gözlenen depresyona paralel davranışsal, nörokimyasal, nöroimmün ve nöroendokrin değişiklikler oluşturmaktadır (105).

Ayrıca, bu hayvan modeli insan depresyonunun etiyolojisine en yakın hayvan modeli olarak da kabul edilmektedir. Sağlam bir model olarak geçerliliği, depresyonla ilgili birçok davranışsal ve nörobiyolojik parametrede akut antidepresan tedaviyle değil, yalnızca kronik antidepresan tedavi tarafından tersine çevrilebilen uzun süreli değişikliklerle pekiştirilmiştir (106). Depresyon üzerinde yoğunlaşan çalışmalar sonucunda, CUMS'un depresyonda rol oynayan HPA aksı, bağışıklık sistemi ve nörojenez gibi üç önemli biyolojik sistemde değişikliklere sebep olduğu gösterilmiştir (76,107,108).

Kronik öngörülemeyen hafif stres HPA aksının, hipokampusün ventral subikulumu ve bazolateral amigdala gibi stres devreleri ile ilgili inhibitör ve uyarıcı sinyallerin hipotalamusun paraventriküler çekirdeğine (PVN) iletilmesi sonrası uyarıldığı bilinmektedir. HPA aksının uyarılmasıyla PVN tarafından CRH salgılanır ve ardından ön hipofiz tarafından ACTH salgılanması gelir (104,109)

Bu kaskad, kemirgenlerde kortikosteron gibi adrenal korteks tarafından GC salgılanmasına yol açar ve bu daha sonra HPA ekseninin negatif geri bildirimini başlatır. Kronik stres durumlarında dolaşımdaki yüksek GC seviyeleri, GR ekspresyonunu azaltabilir. Böylece CUMS, hiper veya hipokortizolemiye ve GR direncine neden olur. Bunun sonucunda hipokampüste dendritik atrofiyi artırabilir, böylece MDB'de gözlenen hipokampal hacmin azalmasına katkıda bulunabilir (104,109,110). Ayrıca CUMS, IL-1 β ve IL-6 protein ve gen ekspresyon seviyelerini hem sistemik hem de merkezi olarak artırır (111). CUMS'un depresyon modeli olarak kullanılmasının diğer bir sebebi, majör depresif bozukluğun (MDB) tanı kriterlerini yansıtan öğrenilmiş çaresizlik (örneğin, Porsolt zorunlu yüzme testinde artan hareketsizlik) ve anhedoni (yani, tatlandırılmış suya olan ilginin azalması) gibi pasif başa çıkma davranışlarına neden olmasıdır (104). Anhedoni durumunun da ancak kronik antidepresan tedavisi ile iyileştirilebildiği rapor edilmiştir (104). Bu paradigmanın kemirgenlerde stres hormonu olan kortikosteronun kronik artışına sebep olduğu ve bu durumun MDB hastalarındaki kortizol seviyesinin artışını yansıttığı bildirilmiştir (104).

Kronik öngörülemeyen hafif stres, oksidatif hasarın artmasına sebep olmaktadır. CUMS'un oksidan ve antioksidan savunma sistemleri arasındaki dengeyi bozarak oksidatif stresi artırdığı bildirilmiştir (112). CUMS tarafından indüklenen oksidatif hasarın depresyonun yanı sıra anksiyete ve bilişsel işlev bozukluklarının patogeneğinde rol oynadığı, immünoşüpresyon, diyabetes mellitus, peptik ülserasyon, hipertansiyon ve ülseratif kolit gibi çeşitli diğer bozukluklara sebep olduğu da bilinmektedir (103). CUMS'un, GSH seviyelerinde değişikliklere sebep olduğu gösterilmiştir (113). Başka bir çalışma, CUMS'un neden olduğu oksidatif stresin, süperoksit dismutaz (SOD) ile katalaz (CAT) aktiviteleri arasında, stresle ilişkili hastalıklara katkıda bulunan bir dengesizlik oluşturduğunu göstermiştir (114).

Anksiyete depresyon, öğrenme ve hafıza bozuklukları gibi hastalıkların tedavilerinde önemli ilerlemeler kaydedilmesine rağmen, tedaviye yanıt vermeyen hastalar mevcuttur. İlaçların sınırlı etkinlikleri muhtemelen hastalıkla ilgili biyolojik mekanizmalardaki heterojenlikten kaynaklanmaktadır (59). Ayrıca bu ilaçların yan etkileri oldukça fazladır. Bu durumda bitkisel kaynaklı tedaviler tercih edilmekte ve araştırılmaktadır. Özellikle hastalığa sebep olan inflamasyon ve oksidatif stres gibi nedenleri ortadan kaldırabilecek güçlü antioksidan ve antiinflatuar bitkisel kaynaklı etken maddelere ilgi günden güne artmaktadır. Stresle ilişkili nöropsikiyatrik bozuklukların tedavisinde bitkisel ilaçların olumlu etkilerine büyük önem verilmiştir (115,116). Daha fazla bitkilerden elde edilebilen terapötik etken madde araştırmaları ilaç sektöründe daha başarılı sonuçlar elde etme olasılığını artıracak olup, kronik stresin sebep olduğu bu olumsuzlukları ortadan kaldırabilecektir.

2.7 Karvakrol

Bitkisel ürünler, insanlık tarihi boyunca geleneksel tıp uygulamalarında kullanılmaktadır. Gelişen teknoloji ile bitkilerden izole edilen çok sayıda biyoaktif madde, hastalıkların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (117). Bitkilerden elde edilen uçucu yağlar, doğal olarak oluşan biyoaktif maddelerdir. Uçucu yağların aktif maddelerinden biri de fenolik bileşiklerdir. Bu bileşiklerin antioksidan, anti mikrobiyal, anti-inflatuar ve antidepresan etkileri de dahil olmak üzere birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (118). Bu etkilerin yanı sıra, fenolik bileşiklerin nöroinflamasyonun baskılanması, hafıza ile bilişsel işlevlerin

desteklenmesi gibi pek çok nöroprotektif etkileri de mevcuttur (84). Fenolik bileşikler gibi antioksidan özelliğe sahip ajanların, beyinde artmış oksidatif stresi modüle ettikleri ve antidepresan aktivite sergiledikleri bilinmektedir (112).

Uçucu yağlarda bulunan en önemli fenolik bileşiklerden biri CAR (5-isopropyl-2-methyl phenol))'dür. CAR *Origanum*, *Thymus*, *Satureja* ve *Corydorthymus* dahil olmak üzere Lamiaceae familyasına ait çeşitli aromatik bitki ve baharatların uçucu yağlarında bulunan bir monoterpen fenolik bileşiktir. CAR, gıda maddelerine eklenebilecek kimyasal aroma bileşenleri (119) ve gıda katkı maddesi olarak kabul edilmiştir (120,121)

Uçucu yağların farmakolojik etkileri, içeriğindeki aktif maddelerle ilişkilidir. Uçucu bir yağın ana bileşenlerini belirlemek ve etkilerini araştırmak yeni bir terapötik ajan geliştirebilmek için önemlidir. Ülkemizde Türk kekiği olarak bilinen *Origanum Onites L.*'den elde edilen uçucu yağların ana bileşenleri sıklıkla çalışılmaktadır (117,122,123). *Origanum onites* çok yıllık otsu bir bitkidir. Bu bitkiden elde edilen uçucu yağların anti-kanser, hepatoprotektif özellikleri olduğu; bunun yüksek biyolojik aktiviteye sahip olmasının nedeni yüksek miktarda CAR içeriğinden kaynaklandığı bildirilmektedir (117,124). Bunun haricinde timol, γ -terpinen ve p-simen gibi fenolik bileşenlerin de bu biyolojik aktiviteye katkı sağladıkları bilinmektedir (125).

Son yıllarda antioksidan içeriği yüksek olan yiyeceklerin tüketimi ile kanser ve oksidatif stresle ilişkili olan diğer hastalıkların riskinin azaldığına dair araştırmalar yapılmıştır. Bu araştırmalarla antioksidan içeriği yüksek olan fenolik bileşiklere ilgi artmıştır (117). CAR'nın da antioksidan ve antikanser özelliğe sahip olduğu bilinmektedir (15,126). Bunun yanı sıra CAR, kan-beyin bariyerini kolayca geçebilmekte, nörotransmitter ve nöromodülatörleri etkileyebilmektedir (127). Çalışmalar CAR'nın CNS üzerinde antioksidan, antidepresan, anksiyolitik (18), anti-nosiseptif, antikonvülsan, ve nöroprotektif etkilere sahip olduğunu göstermiştir (17–20). Ayrıca siklooksijenaz-2 gen ekspresyonunu inhibe ederek anti-inflamatuar etki gösterdiği bildirilmiştir (128). Yine deneysel çalışmalarla da CAR'ın sıçan beyni üzerinde anti-inflamatuar ve antioksidan etkileri olduğu gösterilmiştir (127,129). Anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri ile bilişsel fonksiyonları iyileştirdiği de bilinmektedir (130). Bir diğer çalışma da CAR'ın kaspaz3 seviyesini azalttığı gösterilerek, CAR'ın antiapoptotik özelliği vurgulanmıştır (131). Bir diğer

çalışmada CAR'ın antioksidan, anti-inflamatuar ve hipoglisemik etkileri ile diyabetin sebep olduğu bozuklukları önlediği gösterilmiştir (132). CAR'ın CAT enzim seviyesini artırarak, malondialdehit (MDA) ve nitrit seviyelerini azaltarak oksidatif stres ve lipid peroksidasyonuna karşı iyileştirici bir etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (133). Son yıllarda, Covid-19'a karşı koruyucu etkisi de bildirilmiştir (134). Ayrıca, CAR içeren bitkilerin kognitif yetenekleri geliştirdiği de rapor edilmiştir (135). CAR'ın hipokampal nöronların apoptozunu azalttığı (136) ve nöroprotektif etkilerinin altında yatan mekanizmanın protein kinaz C ekspresyon oranını artırarak gerçekleştirdiği kanıtlanmıştır (137). Histolojik boyamalarda da amyloid beta'nın hipokampal CA1 piramidal nöronlarının büzülmesine neden olduğunu ve CAR'ın amiloid- β peptitlerinin bu etkisini önleyebildiğini öne sürmüşlerdir (137). Hafıza ve öğrenmeyle ilgili olan bir başka çalışma da ise CAR takviyesinin lipopolisakkarite maruz kalmış sıçanlarda hipokampal TNF α düzeyini, oksidatif stresi ve öğrenme ve hafıza bozukluğunu azalttığı gösterilmiştir (138). Lipopolisakkarid (LPS) uygulamasına maruz bırakılan ratlarla yapılan bir başka deneysel çalışma da ise, LPS enjeksiyonu ile beyinde IL-6, MDA ve NO (nitrik oksit) metabolitleri artarken tiyol, SOD ve CAT seviyelerinin azaldığı, CAR'ın ise IL-6, NO metabolitlerini ve MDA'yı azalttığı, tiyol içeriğini, CAT ve SOD'u artırdığı, öğrenme ve hafıza bozukluğunu iyileştirdiği bildirilmiştir (14). Bir başka çalışmada yine LPS uygulanan ratlarda, CAR uygulamasının, beyindeki IL-1 β , TNF- α ve siklooksijenaz-2 dahil olmak üzere çeşitli inflamatuvar faktörlerin ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı bildirilmiştir (139). Ek olarak, BDNF mRNA'sının ifadesini önemli ölçüde artırdığı ve TLR4 mRNA'sının ifadesini azalttığı ve böylece CAR'ın nöroinflamasyonun neden olduğu hafıza bozukluğunu iyileştirebileceği gösterilmiştir (139).

Bu nedenle, CAR, nörodejeneratif hastalıklarda hafıza dejenerasyonunun bir inhibitörü olarak önemli bir potansiyele sahiptir. Nörotoksisite durumunda, CAR'nın TAS ve TOS seviyelerindeki değişiklikleri tersine çevirdiği rapor edilmiştir (140). Bununla birlikte, CAR ile nöroproteksiyon mekanizmaları halen belirsizliğini korumaktadır. Bir çalışmada CAR'ın nöroprotektif etkisi, nöral fonksiyonların iyileştirilmesi, oksidatif stres parametrelerinden SOD ve glutatyon peroksidaz enzim aktivitesinin artırılması ve DNA hasarının azaltılması şeklinde ortaya konulmuştur. Beynin yanı sıra sıçanların böbrek ve karaciğer dokularında da

kadmiyumun sebep olduğu alanin transferaz, alkalen fosfataz, aspartate transaminaz, üre, kreatinin seviyelerindeki artışı CAR tedavisinin modüle ettiği, azalan SOD, CAT, GPX ve GSH enzim aktivitelerini artırdığı gösterilmiştir. Bunun yanı sıra Nf-kB, B cell lenfoma gen3, map-kinaz 14, indüklenabilir nitrik oksit sentaz, siklooksijenaz 2, miyeloperoksidaz, prostaglandin E2, Bax, Bcell lenfoma gen2, P53, kaspaz-3,6 ve kaspaz 9 seviyelerindeki değışiklikleri tersine çevirdiği bildirilmiştir. Bu kapsamlı çalışmanın bir diğer bulguları ise CAR'ın azalan potasyum, kalsiyum, magnezyum, bakır seviyelerini artırdığı, artan kadmiyum, demir, sodyum ve çinko seviyelerini azalttığı rapor edilmiştir. Beyinde olduğu gibi karaciğer ve böbrek dokularında da CAR'ın oksidatif hasar, inflamatuvar ve apoptotik etkileri tersine çevirdiği sonucuna varılmıştır (141). In vitro bir çalışmada, gaz kromatografisi/kütle spektrometresi analizi sonucu *O. onites* esansiyel yağının ana bileşeni olarak %78.4 oranında karvakrol içeriği tespit edildi. Bu yağın 400 µg/ml konsantrasyonunda karvakrolün HCT116 ve HepG2 kanser hücrelerine karşı etkili olduğunu bulmuşlardır. Böylece, *O. onites* esansiyel yağında yüksek miktarda bulunan CAR'ın kanser tedavisinde yeni bir terapötik ajan olarak kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (117).

Tüm bu bilgiler doğrultusunda, bu çalışmada, ratlarda deneysel olarak oluşturduğumuz kronik stres modeli üzerine karvakrolün protektif etkilerinin olup olmadığının incelenmesi amaçlanmıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Deney Hayvanlarının Temini

Çalışmamız için Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'na başvuruldu ve 2021/06 nolu kararı ile etik onay alındı. Etik onay belgesi (ek 1) ve deney hayvanları kullanım sertifikası (ek 2) ekler bölümünde sunulmuştur. Çalışmamıza Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi olarak destek verilmiştir (proje no: 2021.08.32.1506). Çalışmada Wistar Albino cinsi 2-4 aylık erkek sıçanlar kullanıldı. Çalışmada kullanılan deney hayvanları Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi (BAİBÜ) Deney Hayvanları Uygulama Araştırma Merkezinden (DEHAM) temin edildi. Hayvanlar çalışma başlayıncaya kadar ve çalışma süresince DEHAM'da, 12 saat aydınlık/karanlık, nispi nemi % 60-70 olan ortamda tutuldular ve ad libitum olarak beslenildi.

3.2 Grupların Oluşturulması

Çalışmada kontrol+salin, kontrol+DMSO, stres+DMSO, kontrol+karvakrol, stres+karvakrol, stres+SSRI, stres+karvakrol+SSRI olmak üzere 7 grup oluşturuldu. Grupların açıklamaları tablo 3.1'de gösterilmektedir. Çalışmada kullanılan hayvan sayısı literatürdeki çalışmalar göz önünde bulundurularak belirlendi ve her grupta 7 (n=7) hayvan olacak şekilde toplamda 49 adet (N=49) rat kullanıldı.

Bazı gruplarda deney süreçlerinde ölümler gerçekleşmiştir. Gruplar arası birey sayı farklılıkları bu ölümlerden kaynaklanmaktadır.

Tablo 3.1. Deney grupları ve gruplara uygulanan işlemler

Grup No	Grup İsmi	Uygulanan işlemler
Grup 1 n=7	Kontrol+Salin (CSALIN)	Deneyin başlangıcından itibaren herhangi bir stres protokolü uygulanmayan deneklere, stres gruplarında stresörlerin uygulama sürelerinin 5. ve 6. haftalarına denk gelecek şekilde gavaj yolu ile salin verildi. Ardından davranış testleri uygulanarak, serum örnekleri alındıktan sonra dekapitasyon uygulandı.
Grup 2 n=7	Kontrol+DMSO (CDMSO)	Deneyin başlangıcından itibaren herhangi bir stres protokolü uygulanmayan deneklere, stres gruplarında stresörlerin uygulama sürelerinin 5. ve 6. haftalarına denk gelecek şekilde gavaj yolu ile DMSO verildi. Ardından davranış testleri uygulanarak, serum örnekleri alındıktan sonra dekapitasyon uygulandı.
Grup 3 n=6	Kontrol+Karvakrol (CCAR)	Deneyin başlangıcından itibaren herhangi bir stres protokolü uygulanmayan deneklere, stres gruplarında stresörlerin uygulama sürelerinin 5. ve 6. haftalarına denk gelecek şekilde gavaj yolu ile karvakrol verildi. Ardından davranış testleri uygulanarak, serum örnekleri alındıktan sonra dekapitasyon uygulandı.
Grup 4 n=7	Stres+DMSO (SDMSO)	CUMS modeli oluşturmak için 6 hafta boyunca belirlenen stresörler uygulandı. Stresörlerin uygulama sürelerinin 5. ve 6. haftalarına denk gelecek şekilde gavaj yolu ile DMSO verildi. Ardından davranış testleri uygulanarak, serum örnekleri alındıktan sonra dekapitasyon uygulandı.

Grup 5 n=3	Stres+Karvkr ol (SCAR)	CUMS modeli oluşturmak için 6 hafta boyunca belirlenen stresörler uygulandı. Bu stresör uygulamanın 5. ve 6. haftalarında gavaj yoluyla Karvakrol verildi. Ardından davranış testleri uygulanarak, serum örnekleri alındıktan sonra dekapitasyon uygulandı.
Grup 6 n=5	Stres+FLU (SFLU)	CUMS modeli oluşturmak için 6 hafta boyunca belirlenen stresörler uygulandı. Bu stresör uygulamanın 5. ve 6. haftalarında gavaj yoluyla fluoksetin verildi. Ardından davranış testleri uygulanarak, serum örnekleri alındıktan sonra dekapitasyon uygulandı.
Grup 7 n=5	Stres+Karvkr ol+FLU (SCARFLU)	CUMS modeli oluşturmak için 6 hafta boyunca belirlenen stresörler uygulandı. Bu stresör uygulamanın 5. ve 6. haftalarında gavaj yoluyla Karvakrol ve fluoksetin verildi. Ardından davranış testleri uygulanarak, serum örnekleri alındıktan sonra dekapitasyon uygulandı.

3.3 Kronik Öngörülemez Hafif Stres Modelinin (CUMS) Oluşturulması

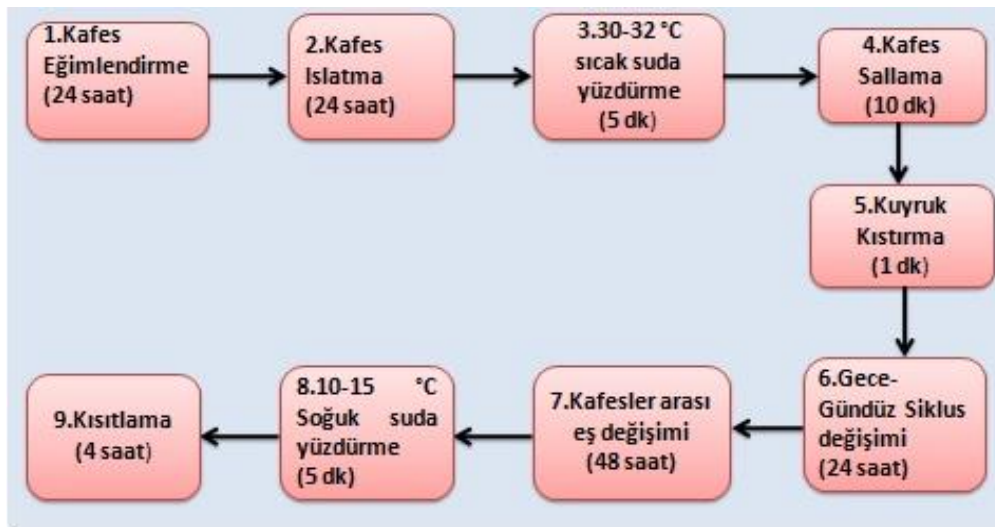
Kronik öngörülemez hafif stres modelinde stresörler orta şiddette ve öngörülemez zamanlarda belirli bir takvime göre altı hafta süresince uygulandı (Tablo 3.2).

Tablo 3.2. Stres prosedürü uygulama takvimi (6 hafta)

HAFTALAR	GÜNLER	STRES FAKTÖRLERİ	STRES SÜRESİ
1. Hafta (rastgele stres uygulama)	1	45° kafes eğimlendirme	24 saat
	2	Gece gündüz siklus değişimi	24 saat
	3		
	4	Kuyruk kısıtma	1 dakika
	5	10-15° soğuk suda yüzdürme	5 dakika
	6	Gece gündüz siklus değişimi	24 saat
	7	Talaş ıslatma	24 saat
2. Hafta (rastgele stres uygulama)	8	Kafes sallama	10 dakika
	9-10	Kafesler arası eş değişimi	48 saat
	11	Kuyruk kısıtma	1 dakika
	12-13	Kafesler arası eş değişimi	48 saat
	14	Kafes sallama	10 dakika
3. Hafta (rastgele stres uygulama)	15	Kısıtlama	4 saat
	16	Kuyruk kısıtma	1 dakika
	17	45° kafes eğimlendirme	24 saat
	18-19	Kafesler arası eş değişimi	48 saat
	20	Kuyruk kısıtma	1 dakika
	21	Kısıtlama	4 saat
4. Hafta (rastgele stres uygulama)	22		
	23	Talaş ıslatma	24 saat
	24	Kafes sallama	10 dakika
	25		
	26-27	Kafesler arası eş değişimi	48 saat
	28	Gece gündüz siklus değişimi	24 saat
5. Hafta (rastgele stres uygulaması ve ilaç uygulaması)	29	45° kafes eğimlendirme	24 saat
	30	10-15° soğuk suda yüzdürme	5 dakika
	31	Kısıtlama	4 saat
	32	Talaş ıslatma	24 saat
	33	Gece gündüz siklus değişimi	24 saat

	34	30-32° Sıcak Suda Yüzdürme	5 dakika
	35	Kafes sallama	10 dakika
6. Hafta (rastgele stres uygulaması ve ilaç uygulaması)	36	Kısıtlama	4 saat
	37	Gece gündüz siklus değişimi	24 saat
	38	45° kafes eğimlendirme	24 saat
	39	Talaş ıslatma	24 saat
	40	30-32° Sıcak Suda Yüzdürme	5 dakika
	41	Kısıtlama	4 saat
	42	45° kafes eğimlendirme	24 saat
	43	Açık alan testi	
7. Hafta (davranış testleri ve sonrası kan alımı)	44	Yükseltilmiş artı labirent testi	
	45	Porsolt testi	
	46-48	Barnes maze testi- alışma	
	49	Barnes maze testi-test uygulaması	
		Anestezi sonrası kan örneği alımı	

Öngörülebilirliğini en aza indirmek için bazı stres faktörlerinin kronolojisi ve uzunluğu her gün değiştirildi ve günün farklı saatlerinde yapıldı. Her hafta uygulanan prosedür sırası değiştirilerek yapıldı (Şekil 3.1.).



Şekil 3.1. Kronik Öngörülme Hafif Stres Modelinin Oluşturulma Prosedürü

3.3.1 Kafes Eğilendirme

Deney hayvanlarının kafeslerinin altına 45 derece açıyla eğim verecek şekilde takoz yerleştirildi ve 24 saat boyunca uygulandı (Fotoğraf 3.1).



Fotoğraf 3.1. Ratlara Kafes Eğilendirme Prosedürünün Uygulanması

3.3.2 Talaş Islatma

Deney hayvanlarının kafesinde bulunan talaşların 24 saat ıslak kalması sağlandı ve bu süre sonunda talaşlar yenileriyle değiştirildi (Fotoğraf 3.2).



Fotoğraf 3.2. Ratlara Talaş Islatma Prosedürünün Uygulanması

3.3.3 30-32 Derecelik Sıcak Suda Yüzdürme

Deney hayvanları, sıcaklığı derece ile sürekli kontrol edilen havuzlarda beş dakika süreyle ayrı ayrı yüzdürüldü. Hayvanlar yüzdürme sonrasında kurulanıp kafeslerine yerleştirildi.

3.3.4 Kafes Sallama

Deney hayvanları bulunduğu kafesleriyle birlikte transfer aracına alındı. Araç 10 dakika boyunca ileri geri sürülerek hayvanların bu süre zarfında sarsılmaları sağlandı (Fotoğraf 3.3.).



Fotoğraf 3.3. Ratlara Kafes Sallama Prosedürünün Uygulanması

3.3.5 Kuyruk Kıştırma

Deney hayvanlarının kuyrukları zarar görmeyecek şekilde bir dakika boyunca bant yardımıyla sabitlendirilerek kıştırıldı (Fotoğraf 3.4.).



Fotoğraf 3.4. Ratlara Kuyruk Kıştırma Prosedürünün Uygulanması

3.3.6 Gece Gündüz Siklus Değişimi

Gece gündüz döngüsü, deneklere günlük uygulanan ışık ve karanlık döngüsü tersine çevrilerek bozuldu ve 24 saat süre boyunca uygulandı.

3.3.7 Kafesler Arası Eş Değişimi

Deney hayvanları rastgele kafeslerden, rastgele alınarak yer değiştirildi. 48 saat sonunda eş değişimi sonlandırıldı (Fotoğraf 3.5.).



Fotoğraf 3.5. Ratlara Kafesler Arası Eş Değiştirme Prosedürünün Uygulanması

3.3.8 10-15 Derece Soğuk Suda Yüzdürme

Deney hayvanları sıcaklığı derece ile sürekli kontrol edilen havuzlarda beş dakika süreyle ayrı ayrı yüzdürüldü. Hayvanlar yüzdürme sonrasında kurulanıp kafeslerine yerleştirildi (Fotoğraf 3.6.).



Fotoğraf 3.6. Ratlara Soğuk Suda Yüzdürme Prosedürünün Uygulanması

3.3.9 Kısıtlama

Deney hayvanları hareket edemeyecekleri bireysel kafeslerde dört saat boyunca bekletildi (Fotoğraf 3.7).



Fotoğraf 3.7. Ratlara Kısıtlama Prosedürünün Uygulanması

3.4 Tedavi Uygulamaları

Stres gruplarında stresörlerin uygulandığı 5. ve 6. haftalarda, deney gruplarına bağlı olarak salin, DMSO, fluoksetin ve karvakrol uygulamaları yapıldı.

Salin (Fluoksetin ilacının çözücüsü, %0.9) ve DMSO (Karvakrol'ün çözücüsü, % 5'lik) günlük 0.2 ml hacimde, bir defa, gavaj yolu ile iki hafta boyunca uygulandı. Karvakrol, günlük 50 mg/kg dozda, %5'lik DMSO içerisinde çözülerek toplamda 0.2 ml hacimde olacak şekilde gavaj yolu ile iki hafta boyunca verildi (142). Fluoksetin, günlük 20 mg/kg dozda, salin içerisinde çözülerek toplamda 0.2 ml hacimde olacak şekilde gavaj yolu ile iki hafta boyunca verildi (84).

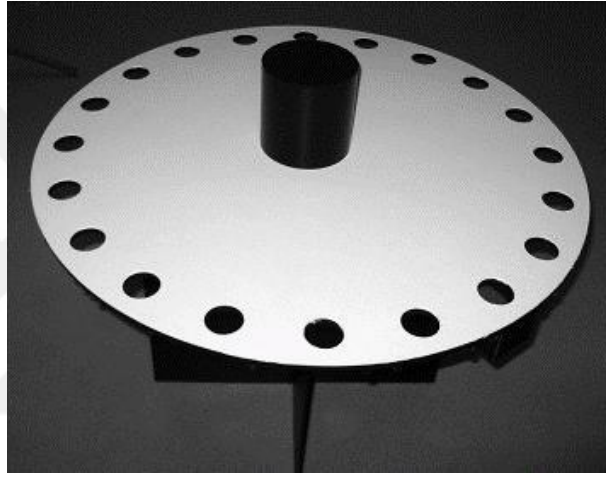
3.5 Davranış Testleri

Kronik öngörülemeyen hafif stres ve kontrol grubundaki sıçanların öğrenme, anksiyete, depresyon ile ilgili durumlarını belirlemek için aşağıda verilen davranış testleri yapıldı.

3.5.1 Barnes Maze Testi

Barnes labirenti, ilk olarak Carol Barnes tarafından geliştirilmiştir (143). Öncelikle sıçanlarda daha sonra geliştirilerek farelerde uzamsal hafızayı incelemek için uyarlanmıştır (144). Kuru araziye andıran bir davranış testidir. Morris su tankı testinde olduğu gibi deneklerin etrafındaki ipuçlarını kodlayarak kaçış yerini öğrendiği bir test planıdır (145)

Barnes labirent aparatı yerden yaklaşık 1 metre kadar yükseltilmiş dairesel bir platformdur. Dairenin çevresinde eşit aralıklarla yerleştirilmiş 40 delik mevcuttur. Bu deliklerden sadece bir tanesinin altında kaçış tüneli vardır. Diğer 39 delik içeriye doğru girintili fakat kapalıdır, içeriye geçiş yoktur. Kemirgenlerde parlak ışık ve açık alan kaygı ve stres oluşturur, karanlık ve kapalı alanları tercih ederler. Bu yüzden bu platformda hem parlak ışık hem de açık alanlar kaçış davranışını tetikler. Kaçış tüneli, testin eğitim süresi boyunca, deneklerde öğrenmeyi pekiştirmek için aynı yerde sabit tutulur. Kemirgenler, üç farklı arama stratejisine sahiptirler. Bunlardan ilki rastgele, ikincisi seri ve üçüncüsü ise uzamsal stratejileridir (Fotoğraf 3.8).



Fotoğraf 3.8. Barnes Maze Test Aparatı (146)

Morris su tankı testi, uzamsal öğrenmeyi değerlendirmek için baskın kullanılan model olmasına rağmen, Barnes labirenti önemli avantajlar sunduğu için tercih edilmeye başlanmıştır. En önemli avantajı, kemirgenlerde stres faktörü olabilecek yüzme eylemini içermiyor olmasıdır. Özellikle stres çalışmalarında morris su tankı testinin kullanılması yanıltıcı sonuçlar elde etmeye sebep olabilir. Çünkü, morris su tankı testinde uygulanan yüzme eyleminin, barnes maze testine göre deneklerin kortikosteron seviyelerini daha fazla artırdığı rapor edilmiştir (147). Ek olarak, uygulanan yüzme koşullarının çoğunda vücut sıcaklığında azalmalar ortaya çıkararak perfonmansı etkileyebildiği bildirilmiştir (148). Ayrıca, Porsolt testindeki yüzme eylemi gibi bu teste de bir umutsuzluk duygusu tetiklenebilir (149).

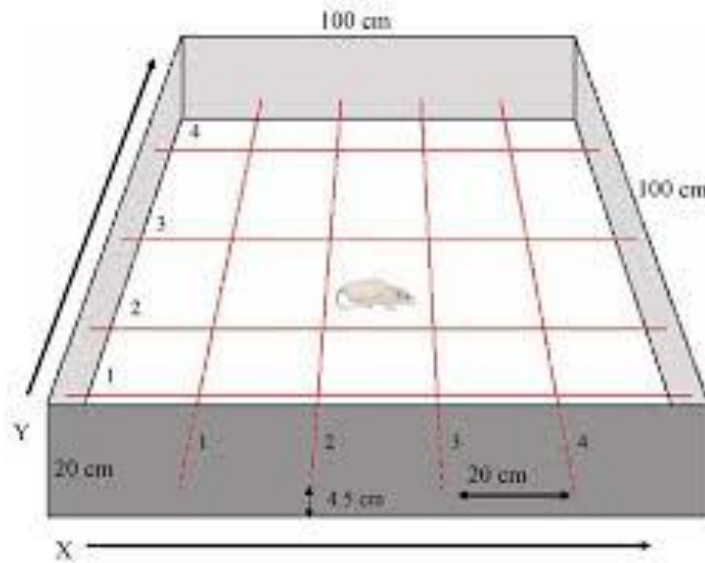
Alışma (1-3 Gün): Denek platformun merkezine nazikçe bırakılır, kaçış tüneline girene kadar veya 2 dakika geçene kadar keşfetmesine izin verilir.

Denekler günde aparatın 3 farklı bölgesinden nazikçe bırakılarak kaçış tünelini bulduktan sonra eğitim sonlandırılır. Bu denemeler sırasında denekler 2 dakikalık süre içinde kaçış tünelini bulamazsa, araştırmacı tarafından tünele yerleştirilir ve çıkarılmadan önce 15 saniye orada kalmasına izin verilir. Daha sonra platform ve kaçış tüneli %70 etanol ile temizlenerek bir sonraki tüm deneklere sırasıyla aynı işlemler uygulanır.

Test günü (4. Gün): Denekler sırasıyla kaçış platformunun tam karşısına denk gelen bölgeden aparata nazikçe bırakılır. Kaçış tünelini bulma süresi, toplamda kat ettiği yol ve hız gibi parametreler bir kamera yardımı ile kaydedilir. Bu çalışmada Any Maze davranış izleme programı kullanıldı.

3.5.2 Açık Alan Testi (Open Field)

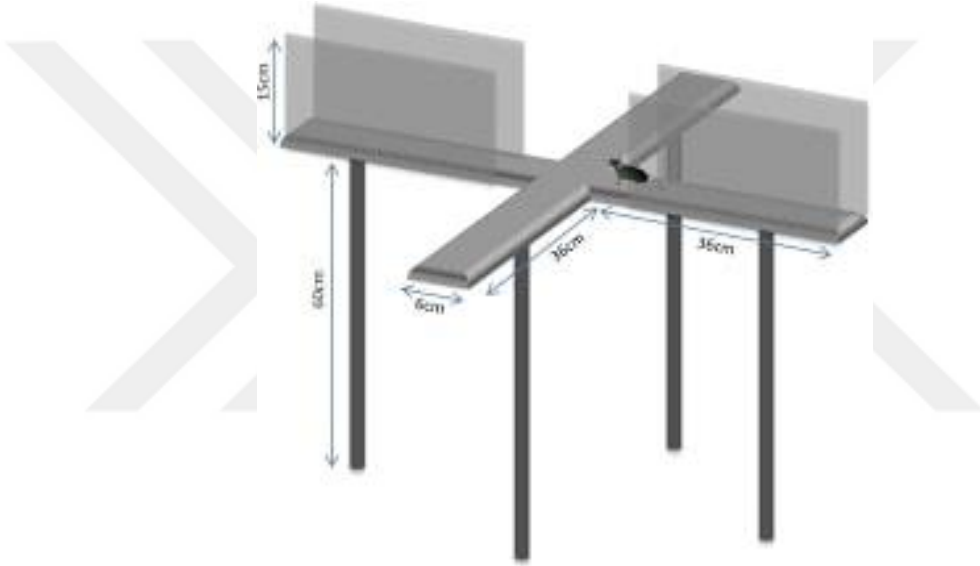
Deney aparatı 100x100x40 cm ebatlarında, zemini 16 eşit kareye ayrılmış pleksiglastan yapılmış, kare şeklinde bir düzeneştir. Düzeneğe deney hayvanı hep ortadan olacak şekilde yavaşça bırakılır. Beş dakikalık test süresince deneklerin merkezde ve kenarda geçirdikleri süre, merkeze giriş sıklığı, toplam katedilen mesafe, mobilite ve hız gibi parametreler davranış izleme programı ile kaydedilir. Bu çalışmada Any Maze davranış izleme programı kullanıldı. Kenarlara göre merkez alanda daha fazla vakit geçiren grup kaygısı en az olan grup olarak değerlendirilir (150) (Fotoğraf 3.9).



Fotoğraf 3.9. Açık Alan Test Aparatı (151)

3.5.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

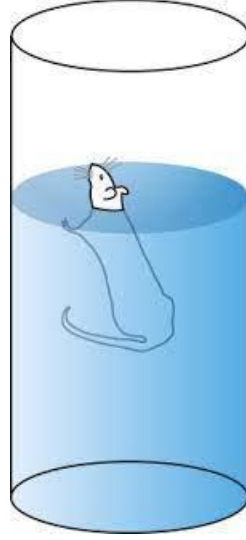
Anksiyete oluşturmak için yerden 50 cm yükseklikte, ikisi kapalı diğer ikisi açık olmak üzere 4 kolu olan bir düzenek kurulur. Kollardan ikisi 40 cm. yüksekliğinde bir duvar ile kapalı iken, açık kollar 1 cm yüksekliğinde plexiglas ile çevrilidir. Deney aletinin kolları arasındaki bölgeye bırakılan deneklerde beş dakika boyunca, açık ve kapalı kollarda geçirilen süre, açık ve kapalı kol giriş sayıları, mobilité, hız gibi parametreler hayvan davranış izleme programı ile kaydedilerek anksiyete verilen yanıt değerlendirilir. Bu çalışmada Any Maze davranış izleme programı kullanıldı. Kapalı kollara göre açık kollarda daha fazla vakit geçiren grup kaygısı en az olan grup olarak değerlendirilir (150) (Fotoğraf 3.10).



Fotoğraf 3.10. Yükseltilmiş Artı Labirent Test Aparatı (152)

3.5.4 Zorunlu Yüzme Testi

Depresyon benzeri davranışı değerlendirmek için, 30 cm çapında ve 50 cm yüksekliğindeki silindirik şeklindeki düzenek 28 derece su ile doldurulur. Denek düzeneğin ortasına bırakılır, 5 dk süresince denekin hareketli ve hareketsiz olduğu zamanlar ile toplam katedilen mesafe gibi parametreler hayvan davranış izleme programları ile kaydedilerek depresyon tepkileri ve hareketlilik süresi ölçülür. Bu çalışmada Any Maze davranış izleme programı kullanıldı. Hareketliliği ve yüzme davranışı en fazla olan grubun depresyonu en az olarak kabul edilir (153) (Fotoğraf 3.11.).



Fotoğraf 3.11. Zorunlu Yüzme Test Aparatı (146)

3.6 Plazma Kortizol, Tiyol-Disülfid Homeostazı ve IL-1 β düzeylerinin Belirlenmesi

Davranış deneyleri uygulandıktan sonra stresi değerlendirmek için plazma kortikosteron düzeyi, inflamasyonu değerlendirmek için ise IL-1 β seviyeleri enzyme-linked immunosorbent assay (ELİSA) yöntemi ile belirlendi. Oksidatif stresi değerlendirmek için ise plazma tiyol disülfid homeostazı kolorimetrik yöntemle ölçüldü.

Genel Kortizol Testi Prensibi:

Kortizol standartları veya numuneler, bir monoklonal antikor ile önceden kaplanmış kuyucuklara eklenir. Daha sonra kuyucuklara biotin-konjuge hedef antijen eklenir. Standartlardaki veya numunedeki antijenler, yakalama antikoruna bağlanmak ve inkübe etmek için biotin-konjuge antijen ile rekabet eder. Bir yıkama adımı sırasında bağlanmamış antijen yıkanarak uzaklaştırılır. Daha sonra bir avidin-HRP eklenir ve ardından inkübe edilir. Bağlanmamış avidin hrp, bir yıkama adımı sırasında yıkanarak uzaklaştırılır. Ardından TMB Substrate eklenir ve renk gelişir. Reaksiyon asidik durdurma solüsyonu eklenerek durdurulur ve renk 450 nm'de ölçülebilen sarıya dönüşür. Numunedeki kortizol konsantrasyonu daha sonra numunelerin OD'si standart eğriyle karşılaştırılarak belirlenir.

3.6.1 Tiyo-Disülfid Homeostazı (µmol/L)

Tiyo disülfid homeostazı, plazma toplam tiyo, natif tiyo ve disülfid seviyelerini ölçen yeni bir otomatik ve spektrofotometrik yöntem kullanılarak değeriendirildi (Rel Assay Diagnostics, Türkiye) (12).

Bu yöntemde, disülfid bağları indirgenerek serbest fonksiyonel tiyo grupları oluşturulur. Formaldehit ile sodyumborohidrat ve 5,5 dithiobis-2-nitrobenzoik asit (DTNB) ürünleri tiyo gruplarından uzaklaştırılır. DTNB ile reaksiyon sonrası natif tiyo (NT) ve toplam tiyo (TT) seviyeleri belirlendi ve son olarak seviyeleri ölçüldü. Toplam tiyo içeriğinden doğal tiyo miktarının çıkarılmasıyla elde edilen sonucun farkının yarısı disülfid (DS) seviyesini gösterdi. Son olarak disülfid/ natif tiyo, disülfid/ total tiyo, natif tiyo/ total tiyo yüzdeleri belirlenerek karşılaştırılır (Relassay, Türkiye) (11,12)

3.6.2 Toplam Antioksidan Durumu (TAS) (Mmol/L)

TAS seviyeleri piyasada bulunan kitler (Relassay, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Yeni otomatikleştirilmiş yöntem, antioksidanlar tarafından daha kararlı bir ABTS (2,2'-Azino-bis(3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonunun karakteristik renginin ağırtılmasına dayanmaktadır. Bu tahlil, %3'ten daha düşük olan mükemmel kesinlik değeriilerine sahiptir. Sonuçlar mmol Trolox eşdeğeri/L olarak ifade edildi (Relassay, Türkiye) (154).

3.6.3 Toplam Antioksidan Durumu (TOS) (µmol/L)

TOS seviyeleri ticari olarak temin edilebilen kitler kullanılarak ölçüldü (Relassay, Türkiye). Yeni yöntemde, numunede bulunan oksidanlar, demir iyon-oxidanisinin kompleksini demir iyonuna oksitledi. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri tarafından geliştirilmiştir. Ferrik iyon, asidik bir ortamda ksilenol turuncu ile renkli bir kompleks üretti. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Test kiti, hidrojen peroksit ile kalibre edildi ve sonuçlar, litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri (µmol H₂O₂ eşdeğeri/L) cinsinden ifade edildi (Relassay, Türkiye) (155).

3.6.4 Oksidatif Stres Endeksi (OSI)

TOS'un TAS'a oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kabul edildi. Hesaplama için, elde edilen TAS birimi $\mu\text{mol/L}$ 'ye dönüştürülmüş ve OSI değeri aşağıdaki Formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{OSI} = \text{TOS} (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri/L}) / \text{TAS} (\mu\text{mol Trolox eşdeğeri/L}) (154-156).$$

3.6.5 IL-1 β Test Prensibi

Bu ELISA kiti, Sandwich-ELISA prensibini kullanır. Bu kitle sağlanan mikro ELISA plakası, İnsan IL-1 β 'ye özgü bir antikorla önceden kaplanmıştır. Örnekler mikro ELISA plaka kuyularına eklenir ve spesifik antikor ile birleştirilir. Daha sonra, İnsan IL-1 β ve Avidin--Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü biyotinlenmiş bir saptama antikoru, her bir mikro plaka kuyusuna art arda eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her kuyuya eklenir. Yalnızca İnsan IL-1 β , biyotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren oyuklar mavi renkte görünür. Enzim-substrat reaksiyonu, stop solüsyonunun eklenmesiyle sonlandırılır ve renk sararır. Optik yoğunluk (OD), 450 nm $\pm$ 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri, İnsan IL-1 β konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğriyle karşılaştırarak, numunelerdeki İnsan IL-1 β konsantrasyonu hesaplanır.

3.7 İstatiksel Analiz

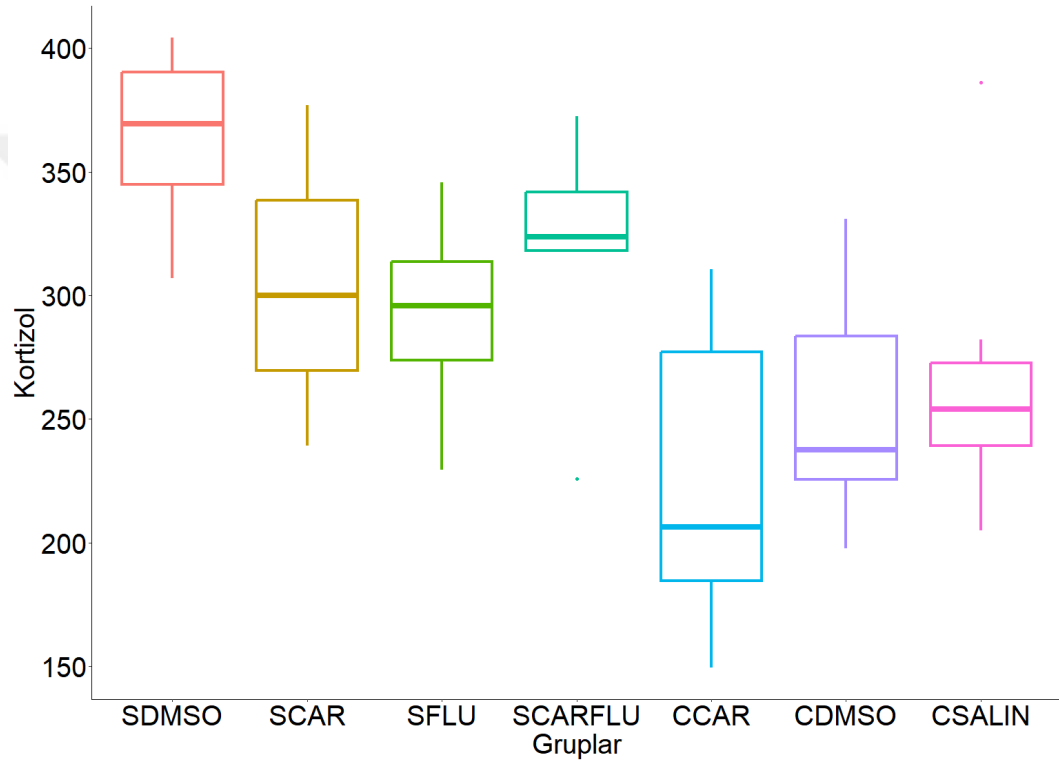
İstatistiksel analizler, R istatistik yazılımı (sürüm 4.1.2) kullanılarak yapılmıştır. Tanımlayıcı istatistikler normal dağılan veriler için ortalama $\pm$ standart sapma ($\bar{x} \pm ss$), normal dağılım göstermeyen veriler için ise medyan (M) ve Q1-Q3 değerleri olarak verildi. Verilerin dağılım özellikleri Shapiro-Wilk normal dağılım testi ile gerçekleştirilmiştir. Normal dağılıma uyan değişkenler için Tek yönlü Varyans analizi yapılmıştır. Posthoc test (çoklu grup karşılaştırma için) Tukey HSD çoklu grup karşılaştırması kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen değişkenler için Kruskal-Wallis H testi yapılmıştır. Çoklu grup karşılaştırması için de Mann-Whitney U testi yapıldı. Mann-Whitney U testi sonrası Bonferonni Düzeltmesi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Biyokimyasal Test Bulguları

4.1.1 Kortizol Seviyesi

Gruplardaki deneklerin serum kortizol seviyesi verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım gösterdi. (Şekil 4.1.).



Şekil 4.1. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Kortizol Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

One Way Anova-Tukey çoklu karşılaştırma ile grupları karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark vardı, $p < 0,001$. Stress uyguladığımız gruplardaki kortizol seviyesi kontrol gruplarına göre daha yüksekti. En yüksek kortizol seviyesi SDMSO grubunda gözlemlenirken, en düşük seviye CCAR grubunda gözlemlendi. SDMSO grubunun kortizol seviyesi CCAR, CDMSO, CSALIN gruplarından anlamlı bir şekilde daha yüksek seviyede gözlemlendi (Tablo 4.1.). İstatistiksel olarak anlamlı

olmamasına rağmen, stres uygulanan gruplar değerlendirildiğinde, SCAR ve SFLU gruplarının SDMSO grubuna göre kortizol seviyeleri daha düşük gözlemlendi.

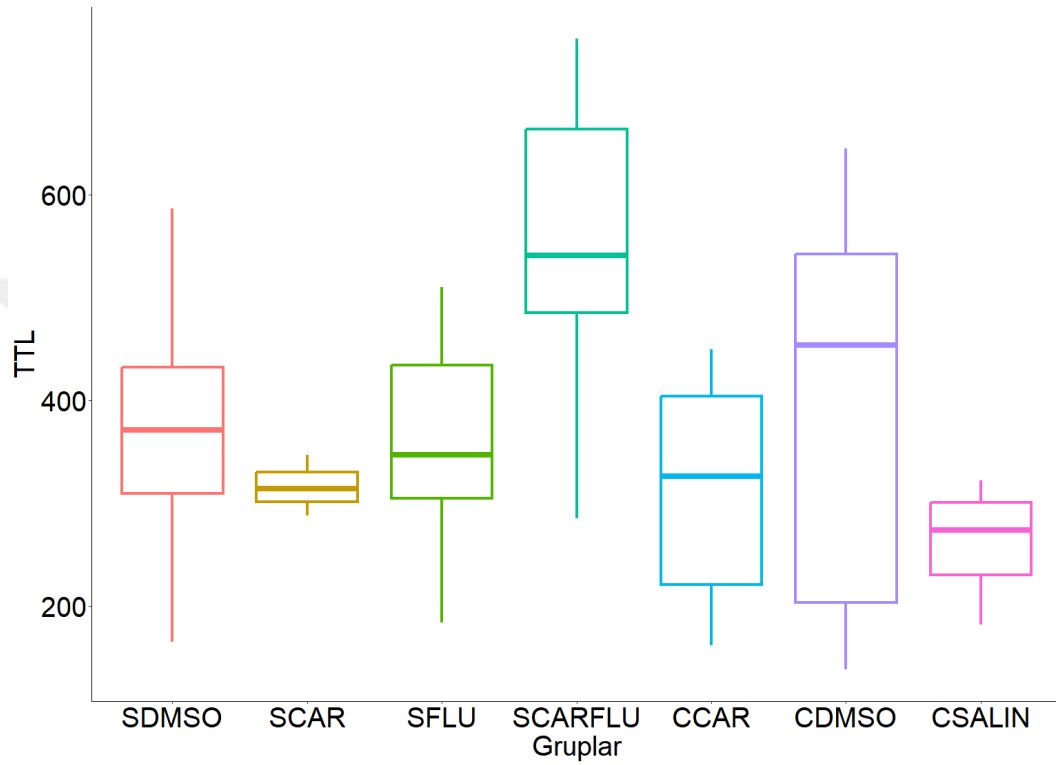
Tablo 4.1. Tüm gruplardaki deneklerin serum biyokimyasal değerlerinin tanımlayıcı istatistik verileri

GRUP	SDMSO	SCAR	SFLU	SCARFLU	CCAR	CDMSO	CSALIN	P
KORTİZOL^t	364,2 ±33,7 ^a	305,4 ±69 ^{ab}	291,7 ±48 ^{ab}	316,4 ±54,9 ^{ab}	225,1 ±65 ^b	254,9 ±46,8 ^b	267 ±58 ^b	<0,001
TTL^k	371,5 (263,3-480,5)	314 (288-347)	347 (244,5-472)	541 (385-708)	326,5 (187,5-427,5)	454 (150-561)	274 (205-302)	0,211
NTL^t	225,3 ±80,9	179,6 ±12,5	164,6 ±60,2	233,6 ±85,5	162,5 ±49,5	224,4 ±80,5	167,1 ±47,4	0,259
DISULFID^k	58,8 (38,3-121,6)	70 (47-88)	60 (49,5-159,8)	149 (94,3-221)	78,8 (31-115,1)	119,5 (12,5-140)	54 (37-63,5)	0,180
TAS^k	1,44 (1,39-1,58) ^a	1,04 (0,96-1,42) ^{ab}	0,93 (0,84-1,08) ^b	0,98 (0,88-1,06) ^b	0,97 (0,91-0,99) ^b	0,95 (0,93-1,07) ^b	1 (0,92-1,02) ^b	0,002
TOS^k	10,40 (7,08-17,98) ^a	1,59 (1,21-3,51) ^{bcd}	1,53 (1,23-2,10) ^{bc}	2,75 (1,73-10,22) ^{bd}	1,83 (1,42-2,85) ^{bcd}	3,32 (2,04-4,73) ^d	1,46 (1,08-1,75) ^c	<0,001
OSI^k	0,74 (0,45-1,20) ^a	0,16 (0,11-0,24) ^{bc}	0,16 (0,12-0,23) ^b	0,28 (0,16-1,17) ^{abc}	0,18 (0,14-0,29) ^{bc}	0,31 (0,21-0,42) ^c	0,14 (0,11-0,19) ^b	0,001
IL-1β^b	6,44 (4,08-6,69) ^a	8,40 (8,11-9,20) ^b	8,77 (8,03-9,95) ^b	8,76 (6,66-9,61) ^b	9,97 (8,51-26,63) ^b	8,98 (8,54-9,20) ^b	8,69 (8,40-9,20) ^b	0,012

^t: One Way Anova -Tukey HSD, Ortalama ± Standard sapma. ^k: Kruskal Wallis H-Mann Whitney U Testi, Median (Q1-Q3). a,b,c ve d harfleri gruplar arası farklılığı göstermektedir. SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

4.1.2 Toplam Tirol seviyesi (TTL)

Gruplardaki deneklerin serum TTL verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ve Varyans analizi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.2.).



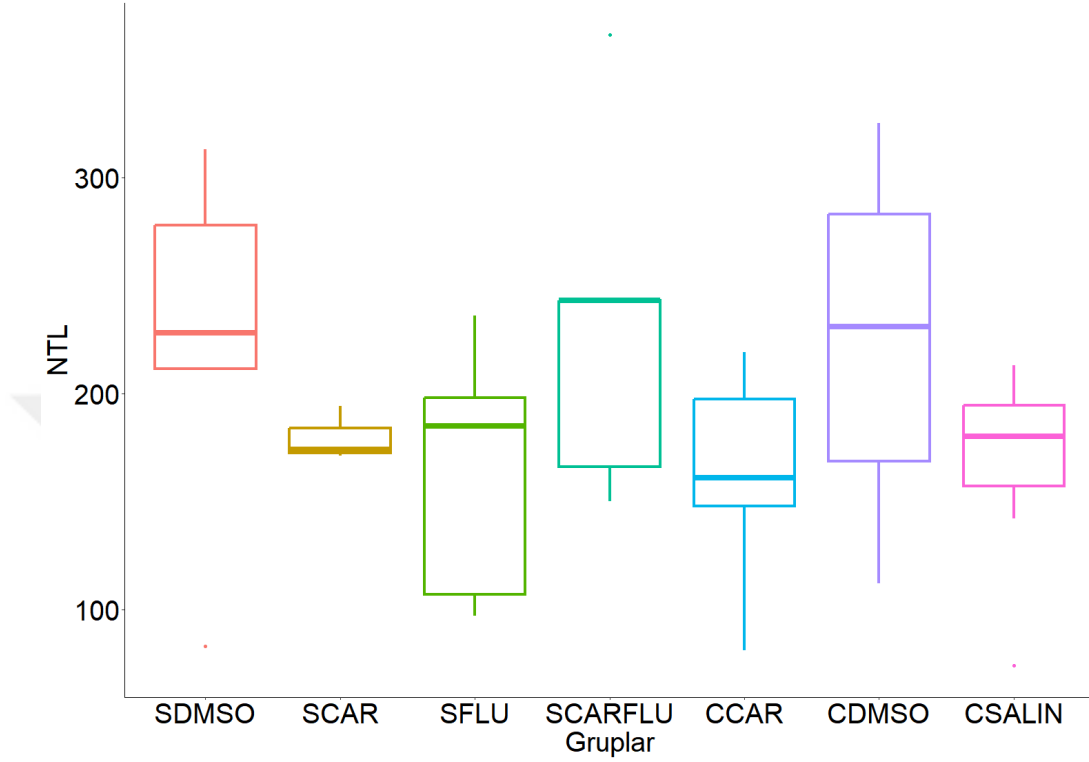
Şekil 4.2. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Total Tirol Seviyesi (TTL) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Kruskal Wallis H testi ile grupları karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark yoktu, $p = 0,211$. Anlamlı fark olmamasına rağmen, SDMSO grubunun serum TTL seviyesi CDMSO grubununkinden daha düşük gözlemlendi (Tablo 4.1.).

4.1.3 Native Tiylol Seviyesi (NTL)

Gruplardaki deneklerin serum NTL verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım gösterdi (Şekil 4.3.).



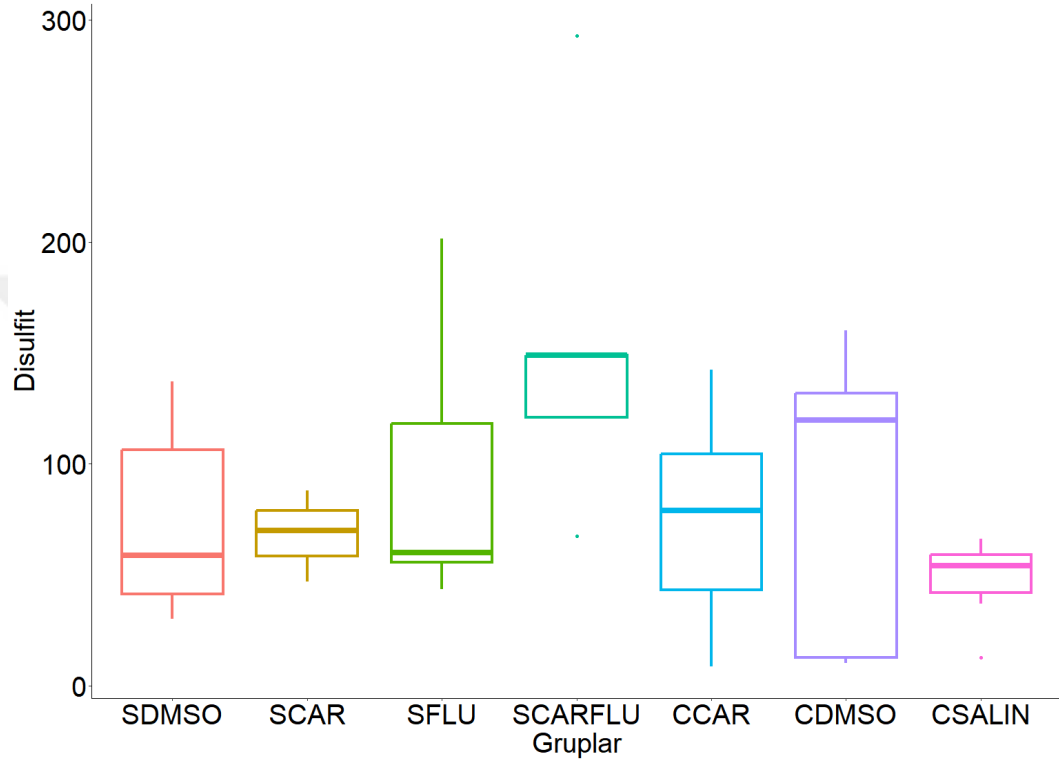
Şekil 4.3. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Native Tiylol Seviyesi (NTL) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine;
CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

One Way Anova testi ile grupları karşılaştırdığımızda anlamlı bir fark yoktu, $p = 0,259$ (Tablo 4.1.).

4.1.4 Serum Disülfıt

Gruplardaki deneklerin serum disülfıt verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ve Varyans analizi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.1.).



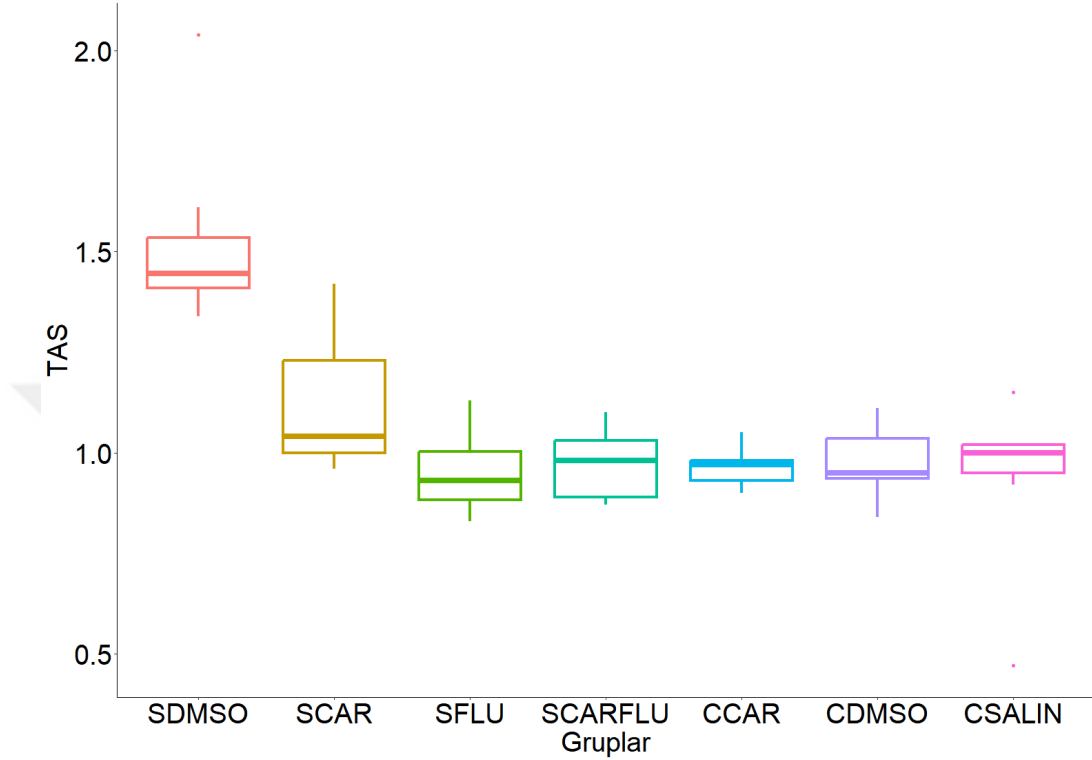
Şekil 4.4. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Disülfıt Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Normal dağılım göstermeyen bulgularımız Kruskal Wallis testi ile incelendiğinde anlamlı bir fark bulunmadı, $p = 0,180$. Anlamlı fark olmamasına rağmen, stress gruplarını incelediğimizde SCARFLU grubunun serum disülfıt seviyesi diğer stress gruplarından daha yüksekti (Tablo 4.1.).

4.1.5 Toplam Antioksidan Durumu (TAS)

Gruplardaki deneklerin TAS verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.5.).



Şekil 4.5. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Toplam Antioksidan Durumu (TAS) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği

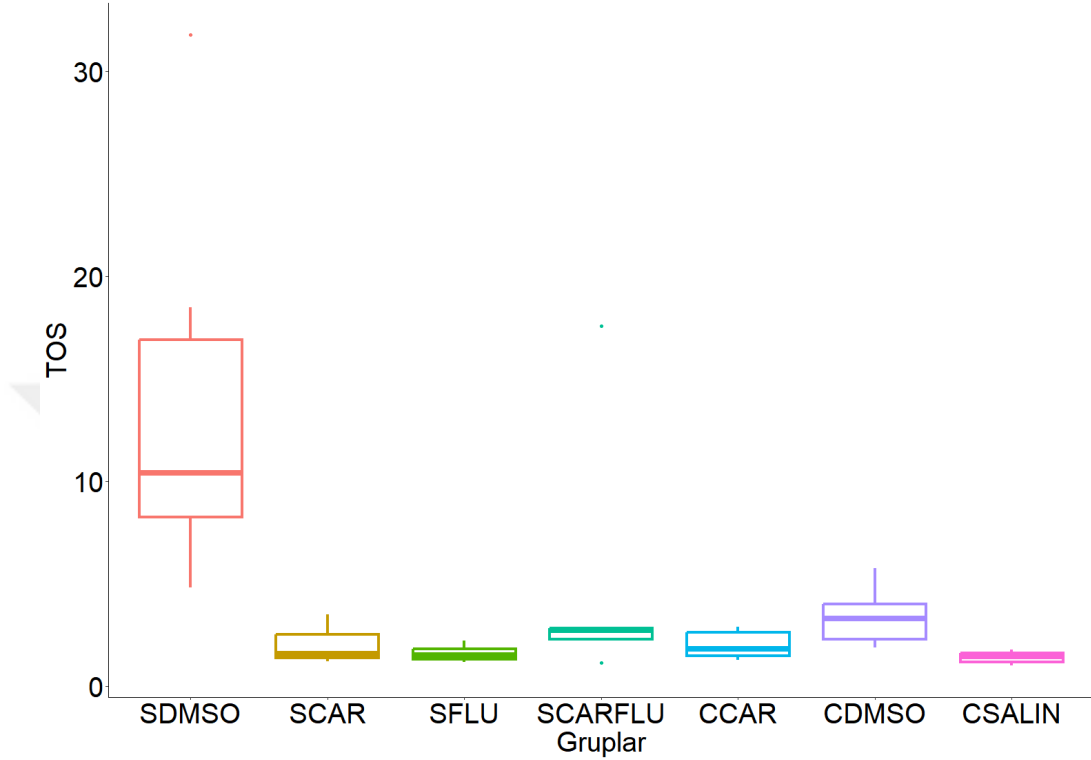
SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı Kruskal-Wallis-Mann Whitney-U testi ile inceledik, $p = 0,002$. Bu inceleme sonucunda, SDMSO grubunun SFLU, SCARFLU, CCAR, CDMSO ve CSALIN gruplarından daha fazla serum TAS seviyesine sahip olduğu gözlemlendi (Tablo 4.1).

Verilerimizi Bonferonni düzeltmesi ile incelediğimizde, Tablo 4.1’de verilen, çoğu anlamlı olan verilerin anlamsızla dönüştüğünü gözlemledik. Bu düzeltme sonucunda, SDMSO grubunda SCARFLU, CDMSO ve CSALIN gruplarına göre daha yüksek serum TAS seviyesi gözlemlendi.

4.1.6 Total Oksidan Durumu (TOS)

Gruplardaki deneklerin TOS verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.6.).



Şekil 4.6. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Toplam Oksidan Durumu (TOS) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği

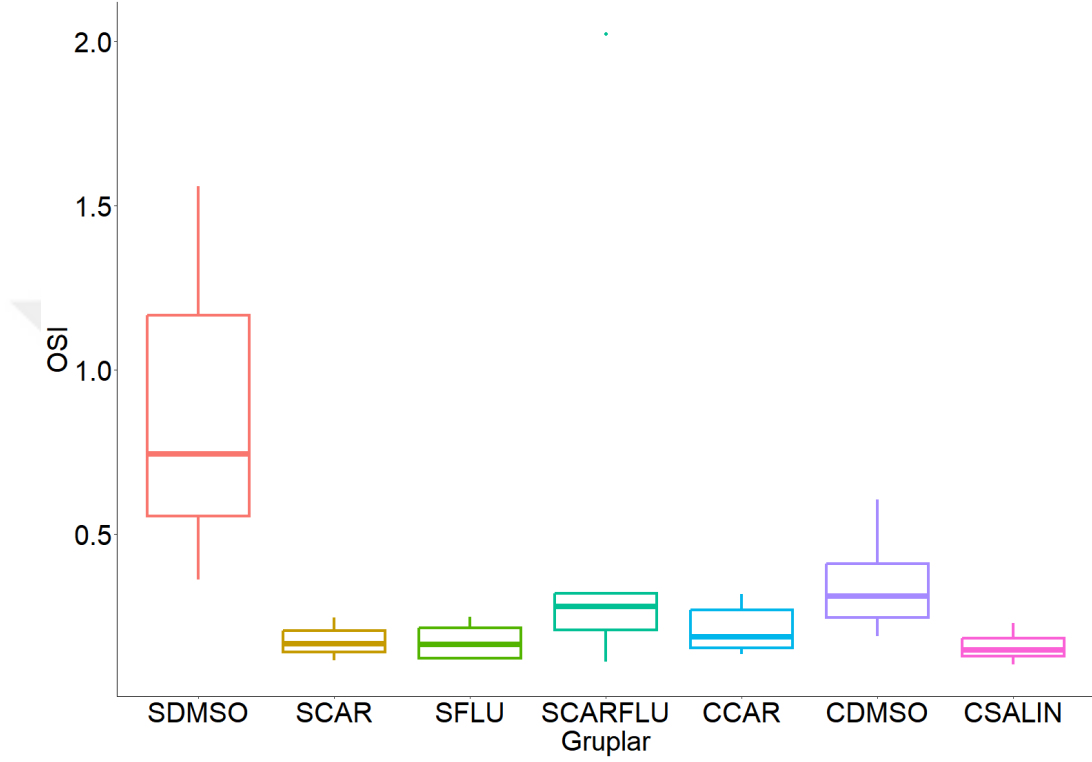
SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı Kruskal Wallis-Mann Whitney-U testi ile inceledik, $p < 0,001$. Bu inceleme sonucunda, SDMSO grubunun serum TOS seviyesi diğer gruplarınkinden daha yüksekti (Tablo 4.1).

Verilerimizi Bonferonni düzeltmesi ile incelediğimizde, SDMSO grubunun serum TOS seviyesi CCAR, CDMSO ve CSALIN gruplarındakinden daha yüksekti.

4.1.7 Oksidatif Stres İndeksi (OSI)

Gruplardaki deneklerin OSI verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.7.).



Şekil 4.7. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum Oksidatif Stres İndeks (OSI) Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği

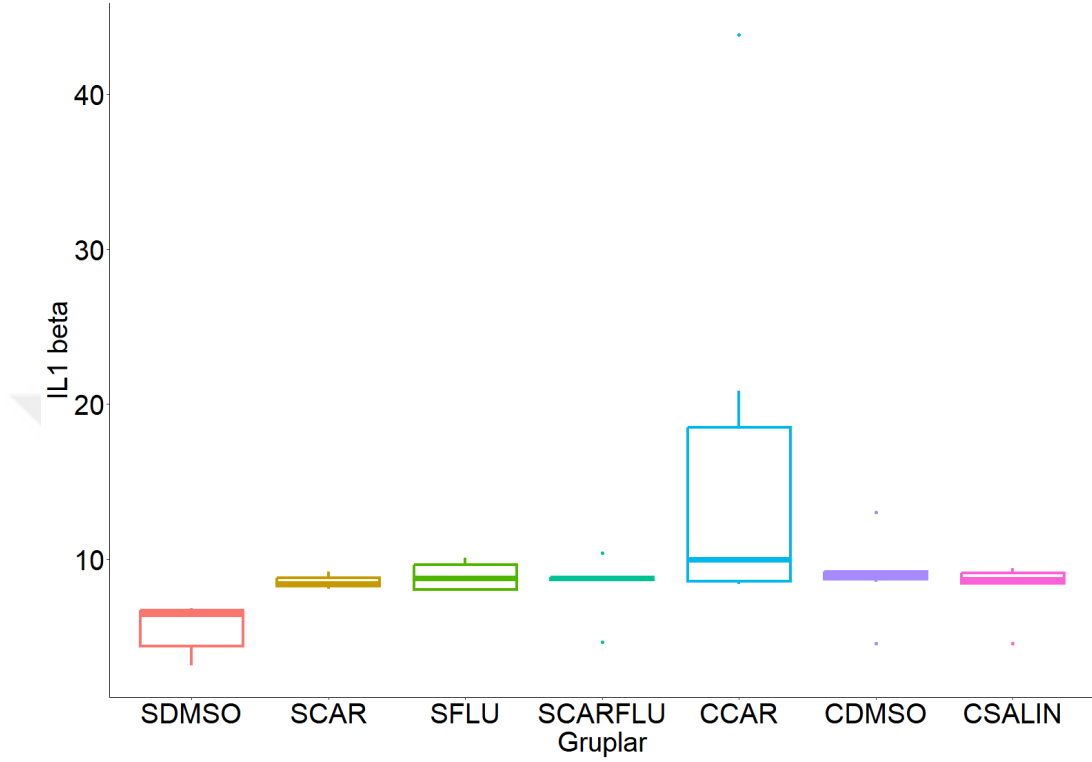
SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı Kruskal Wallis-Mann Whitney-U testi ile inceledik, $p = 0,001$. Bu inceleme sonucunda, SDMSO grubunun serum OSI seviyesi SCARFLU grubu hariç diğer tüm gruplarınkinden daha yüksekti (Tablo 4.1).

Verilerimizi Bonferonni düzeltmesi ile incelediğimizde, Tablo 4.1’da verilen ve çoğu anlamlı olan verilerin anlamsıza dönüştüğünü gözlemledik. Bu düzeltme sonucunda, SDMSO grubunda CCAR ve CSALIN gruplarına göre daha yüksek serum OSI seviyesi gözlemlendi.

4.1.8 Interlökin-1 Beta (IL-1 β) Seviyesi

Gruplardaki deneklerin IL-1 β verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.8.).



Şekil 4.8. Tüm Gruplardaki Deneklerin Serum IL 1 β Değerlerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı Kruskal Wallis-Mann Whitney-U testi ile inceledik, $p = 0,012$. Bu inceleme sonucunda, SDMSO grubunda diğer tüm gruplardan daha düşük serum IL-1 β seviyesi gözlemlendi (Tablo 4.1).

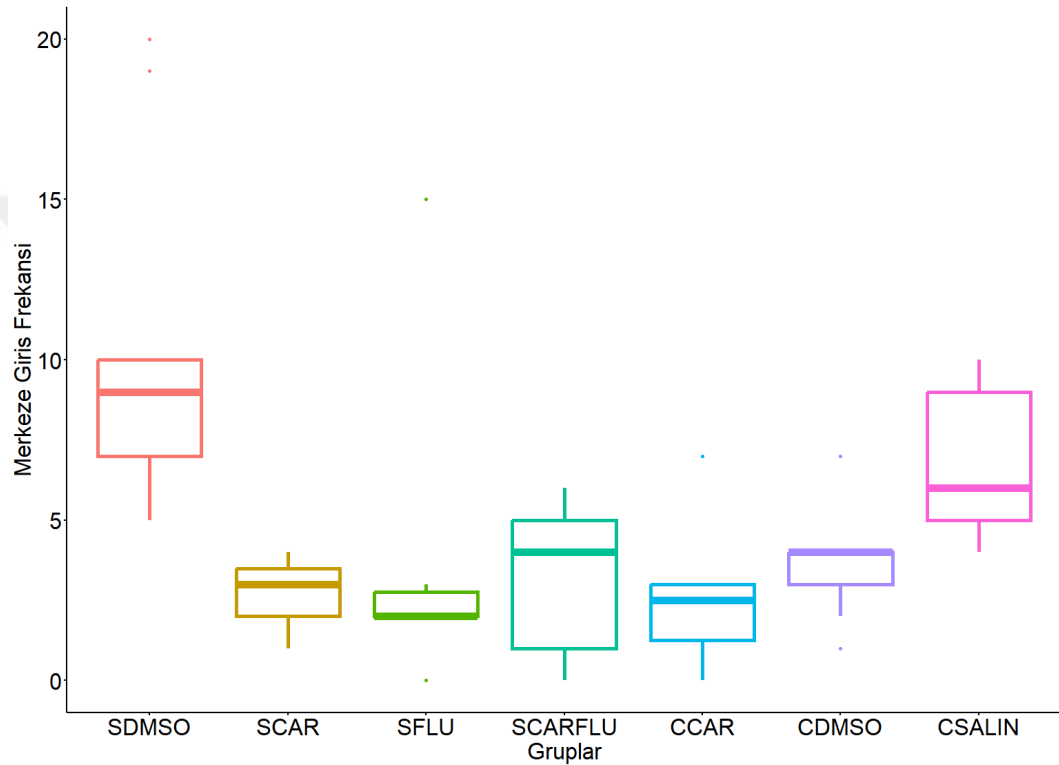
Verilerimizi Bonferonni düzeltmesi ile incelediğimizde, Tablo 4.1’de verilen ve anlamlı olan verilerin anlamsızla dönüştüğünü gözlemledik. Bu düzeltme sonucunda, gruplar arasında anlamlı farka rastlanmadı.

4.2 Davranış Testlerinin Bulguları

4.2.1 Açık Alan Testi (OFT)

Merkeze Giriş Frekansı:

Gruplardaki deneklerin ‘merkeze giriş frekansı’ verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.9.).



Şekil 4.9. Tüm Gruplardaki Deneklerin Açık Alan Testinde ‘Merkeze Giriş Frekansı’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı öncelikle Kruskal Wallis-Mann Whitney-U testi ile inceledik, $p = 0,002$. Bu inceleme sonucunda, SDMSO grubunun CSALIN hariç diğer tüm gruplardan merkez alana daha fazla giriş yaptığı kaydedilmiştir (Tablo 4.2).

Verilerimizi Bonferonni düzeltmesi ile incelediğimizde, Tablo 4.8’de verilen anlamlı olan verilerin anlamsızla dönüştüğünü gözlemledik. Bu düzeltme sonucunda, gruplar arasında anlamlı farka rastlanmadı.

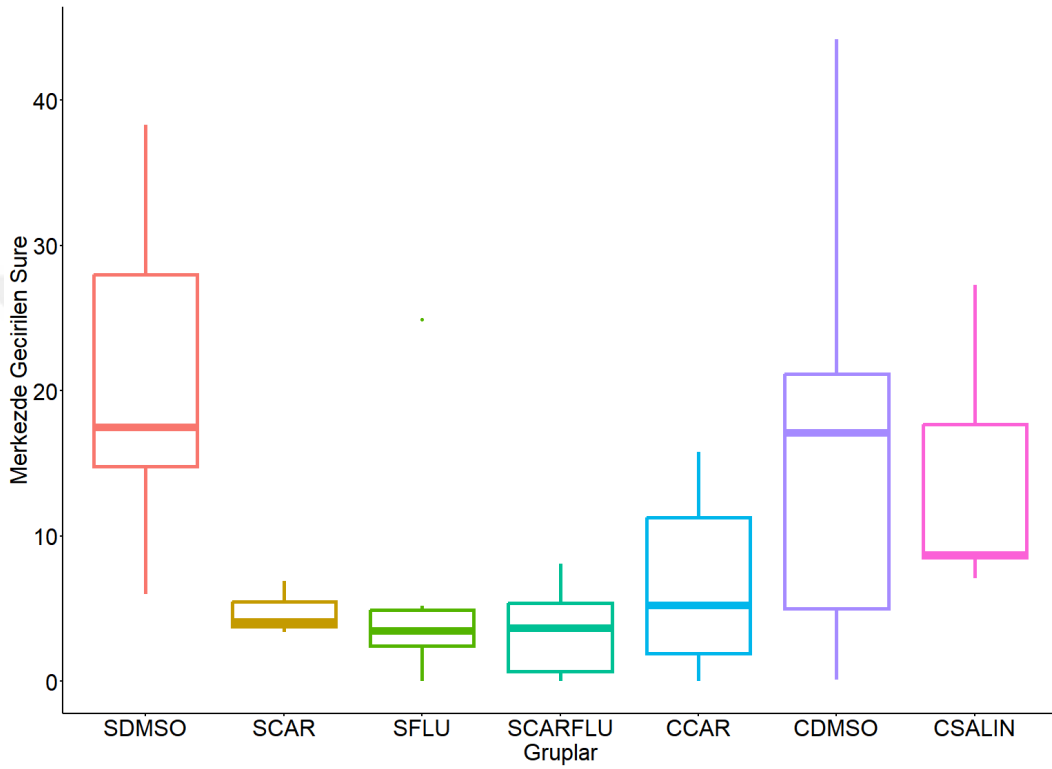
Tablo 4.2. Tüm gruplardaki deneklerin davranış değerlerinin tanımlayıcı istatistik verileri

GRUP	SDMSO	SCAR	SFLU	SCARFLU	CCAR	CDMSO	CSALIN	P
Merkeze giriş frekansı	9 (6-14,5) ^a	3 (1-4) ^b	2 (1,5-6) ^{bc}	4 (0,5-5,5) ^{bc}	2,5 (0,75-4) ^b	4 (2-4) ^b	6 (5-10) ^{ac}	0.002
Merkezde geçirilen süre	17,5 (14,25-30,2) ^a	4,1 (3,4-6,9) ^b	3,5 (1,72-10,13) ^b	3,7 (0,35-6,75) ^b	5,25 (0,75-13-77) ^{bc}	17,1 (3,6-25,1) ^{abc}	8,7 (8,5-25,7) ^{ac}	0.005
Açık kola giriş frekansı	12 (9-18)	3 (1-6)	3,5 (1,75-14,5)	3 (0-8)	3 (0,75-7,25)	4 (2-13)	9 (1-14)	0.071
Açık kolda geçirilen süre	79,7 (46,4-119,3) ^a	11,6 (6-25,7) ^{bc}	28,2 (9,13-50,95) ^{bc}	11,2 (0-19,4) ^b	11,1 (6,45-30,8) ^{bc}	30,3 (11,3-78,8) ^{bc}	72,6 (25,1-189,6) ^{ac}	0.004
Gizli bölmeyi bulma süresi	26,3 (16,1-53) ^a	8,1 (5,8-9,4) ^{bc}	9,4 (5,2-38) ^{abc}	17,5 (10,3-39,25) ^{ab}	6,3 (5,65-16,13) ^{bc}	8,5 (5,3-9,8) ^c	9,8 (8-23,6) ^{bc}	0.010
Gizli bölmeyi bulmak için katedilen mesafe	1,701 (1,21-2,193) ^a	1,11 (0,678-1,393) ^{abc}	0,781 (0,339-1,319) ^{bc}	1,14 (0,315-1,908) ^{abc}	0,404 (0-1,006) ^b	1,263 (0,961-1,622) ^{ac}	1,355 (1,205-2,792) ^{ac}	0.044
Hareketlilik süresi	254,7 (246,53-286,53)	274,9 (258,6-300)	233,4 (181,7-269,1)	245,9 (199,1-262,4)	272,45 (266,75-290,33)	248,8 (109,5-293,5)	259,6 (247-270)	0.229

Kruskal Wallis H-Mann Whitney U Testi, Median (Q1-Q3). a,b ve c harfleri gruplar arası farklılığı göstermektedir. SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Merkezde Geçirilen Süre:

Gruplardaki deneklerin ‘merkezde geçirilen süre’ verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.10).



Şekil 4.10. Tüm Gruplardaki Deneklerin Açık Alan Testinde ‘Merkezde Geçirilen Süre’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği

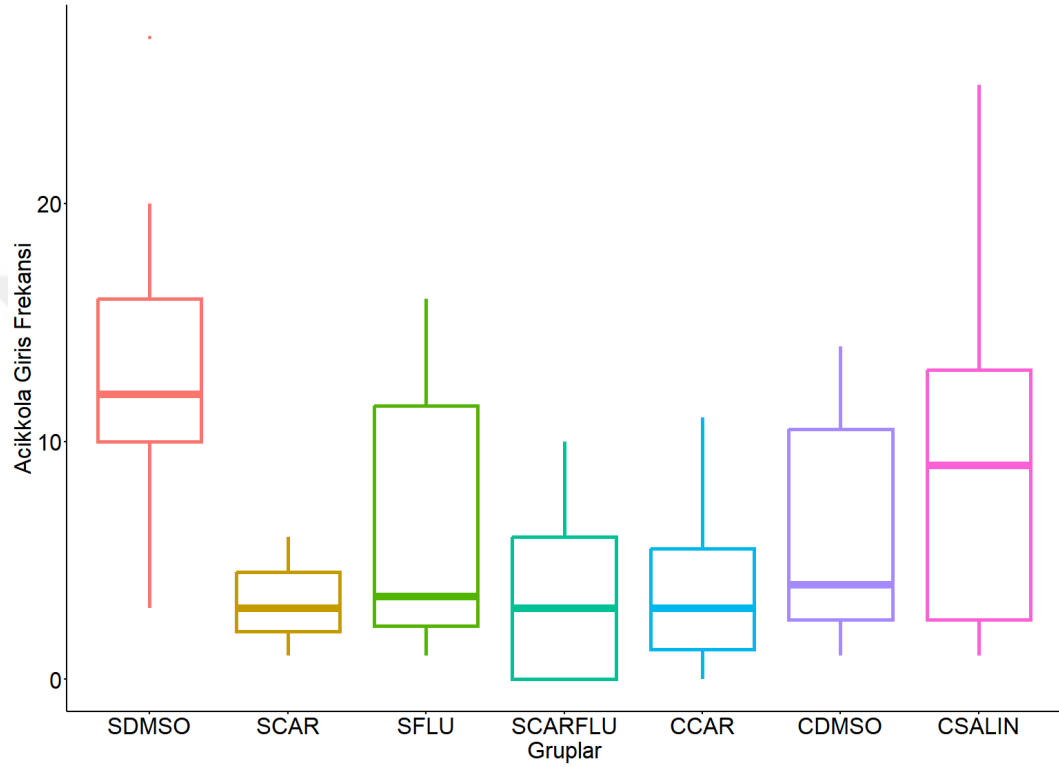
Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı Kruskal Wallis-Mann Whitney-U testi ile inceledik, $p = 0,005$. Bu inceleme sonucunda, SDMSO grubunun SCAR, SFLU, SCARFLU, CCAR gruplarından daha fazla merkezde zaman geçirdiğini kaydettik. Ayrıca, CSALIN grubunun SCAR, SFLU ve SCARFLU gruplarından daha fazla merkezde zaman geçirdiğini gözlemledik (Tablo 4.2).

Verilerimizi Bonferonni düzeltmesi ile incelediğimizde ise SDMSO’nun SCARFLU grubuna göre merkezde daha fazla vakit geçirdiğini kaydettik.

4.2.2 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi (EPM)

Açık Kola Giriş Frekansı:

Gruplardaki deneklerin ‘açık kola giriş frekansı’ verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ve Varyans analizi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.11.).



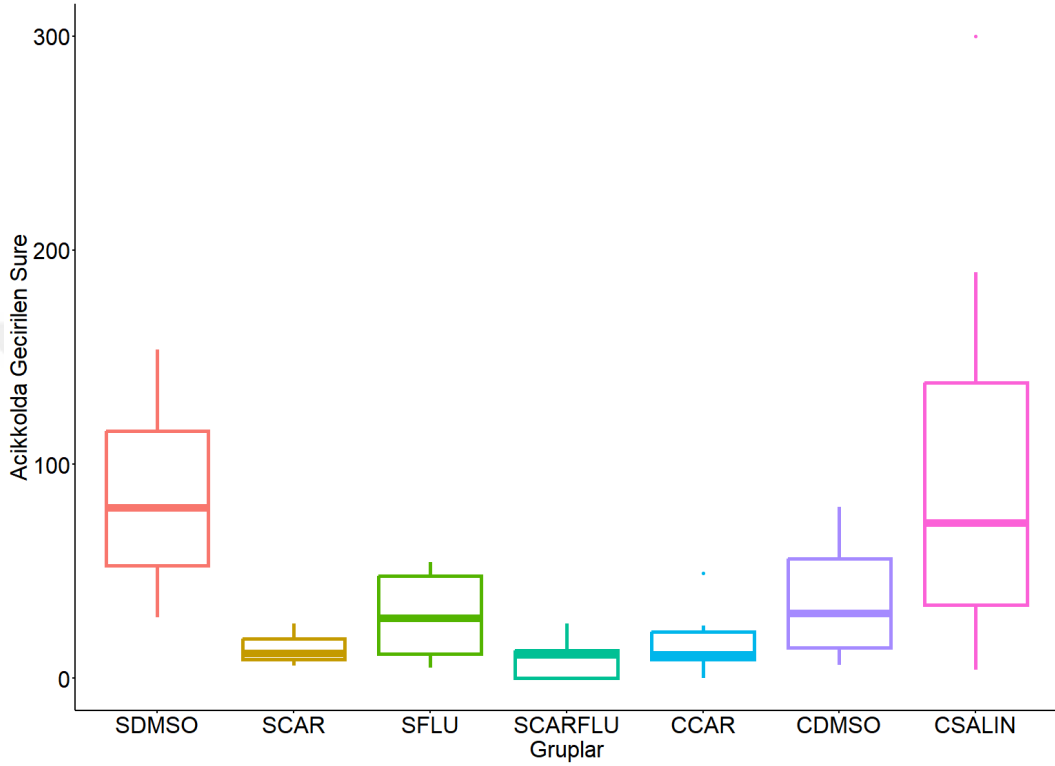
Şekil 4.11. Tüm Gruplardaki Deneklerin Yükseltilmiş Artı Labirent Testi ‘Açikkola Giriş Frekansı’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Normal dağılım gösteren bulgularımızı Kruskal Wallis H testi ile incelediğimizde, gruplar arasında anlamlı farka rastlanmadı, $p = 0.071$ (Tablo 4.2).

Açık Kolda Geçirilen Süre:

Gruplardaki deneklerin ‘açık kolda geçirilen süre’ verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.12).



Şekil 4.12. Tüm Gruplardaki Deneklerin Yükseltilmiş Artı Labirent Testi ‘Açık Kolda Geçirilen Süre’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

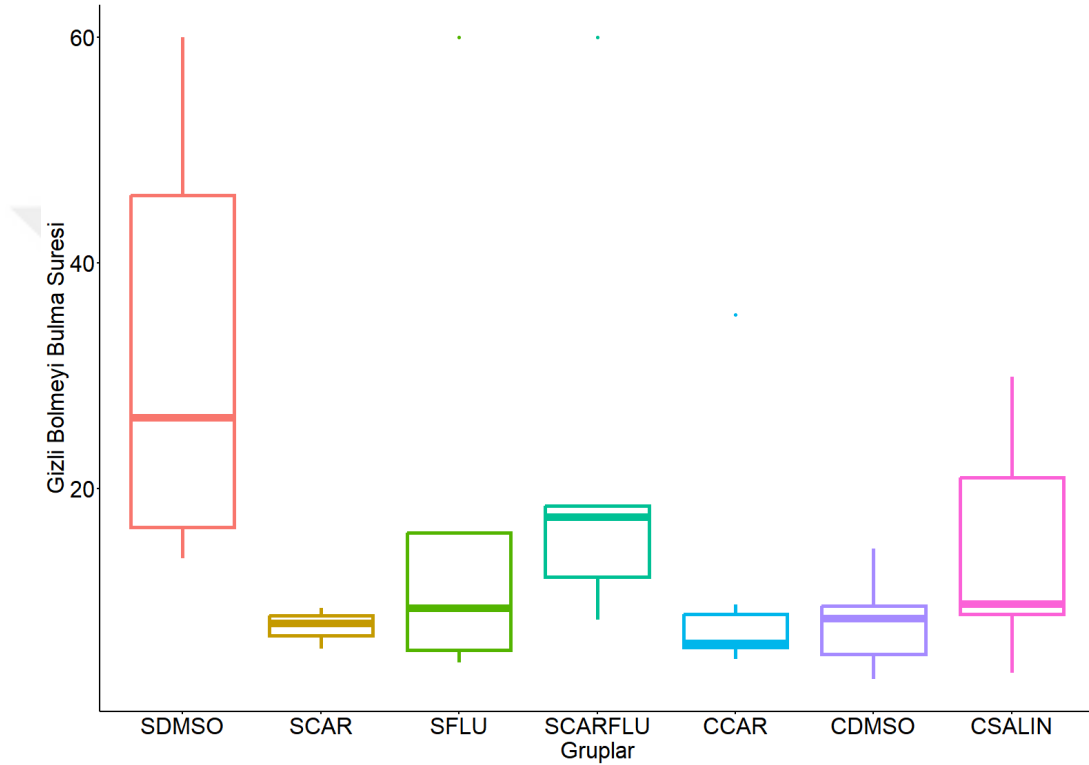
Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı Kruskal Wallis-Mann Whitney-U testi ile inceledik, $p = 0,004$. Bu inceleme sonucunda, SDMSO grubunun CSALIN hariç, diğer tüm gruplardan daha fazla açık kolda zaman geçirdiğini kaydettik. Ayrıca, SCARFLU grubu CSALIN grubundan daha az zaman geçirdi.

Verilerimizi Bonferonni düzeltmesi ile incelediğimizde ise SDMSO grubun CCAR grubundan daha fazla zaman geçirdi.

4.2.3 Barnes Maze Testi

Gizli Bölmeyi Bulma Süresi:

Gruplardaki deneklerin ‘gizli bölmeyi bulma süresi’ verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.13).



Şekil 4.13. Tüm Gruplardaki Deneklerin Barnes Maze Testinde ‘Gizli Bölmeyi Bulma Süresi’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği

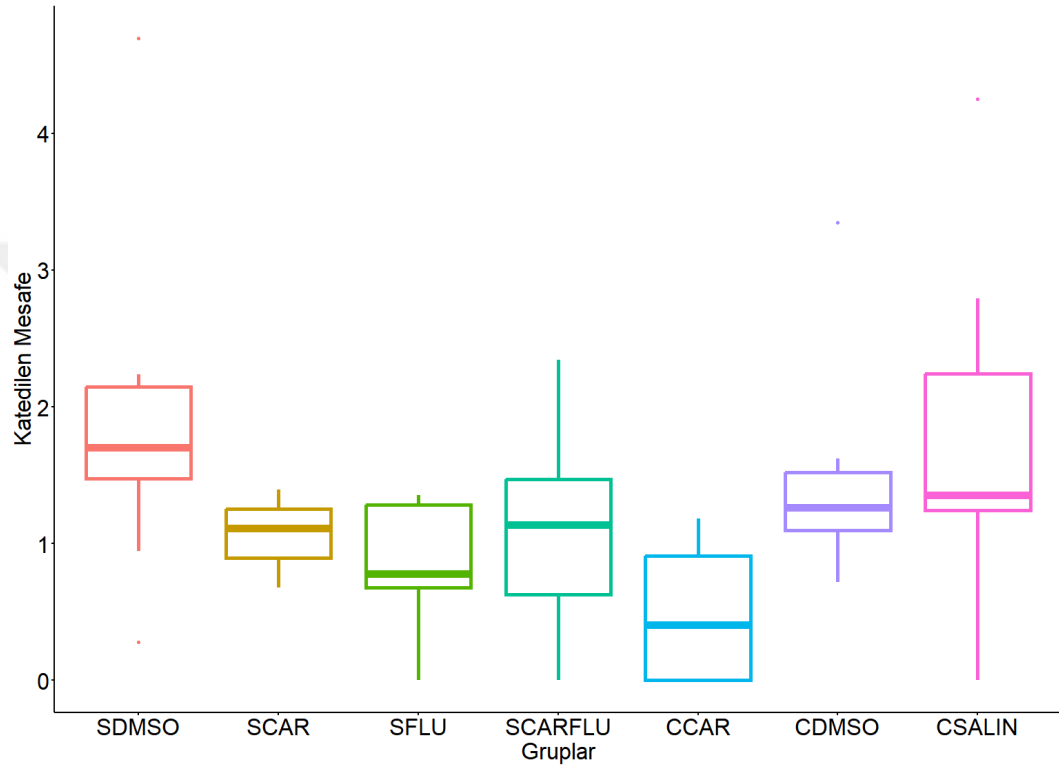
SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı Kruskal Wallis H testi ile inceledik, $p = 0,010$. Bu inceleme sonucunda, SDMSO grubu SCAR, CCAR, CDMSO ve CSALIN gruplarından daha fazla zaman harcadı. Ayrıca SCARFLU CDMSO dan daha fazla zaman harcadı (Tablo 4.2).

Verilerimizi Bonferonni düzeltmesi ile incelediğimizde ise SDMSO’nun CDMSO’dan daha fazla zaman geçirdiği kaydedildi.

Gizli Bölme'yi Bulmak için Katedilen Mesafe:

Gruplardaki deneklerin ‘gizli bölme'yi bulmak için katedilen mesafe’ verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.14.).



Şekil 4.14. Tüm Gruplardaki Deneklerin Barnes Maze Testinde ‘Gizli Bölme'yi Bulmak için Katedilen Mesafe’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

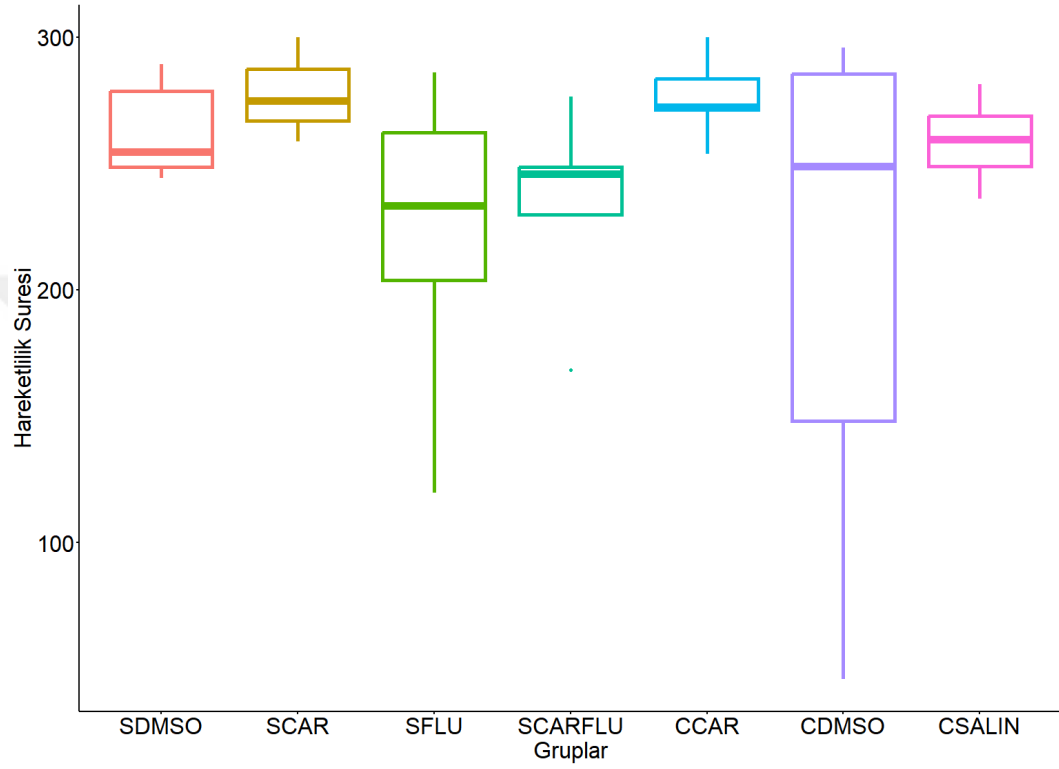
Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı Kruskal Wallis H testi ile inceledik, $p = 0,044$. Bu inceleme sonucunda, SDMSO SFLU ve CCAR dan daha fazla mesafe kattetti. Ayrıca CCAR, CDMSO ve CSALIN'den daha az mesafe katetti (Tablo 4.2).

Verilerimizi Bonferonni düzeltmesi ile incelediğimizde ise gruplar arasında anlamlı farka rastlanmadı.

4.2.4 Porsolt Testi

Hareketlilik Süresi:

Gruplardaki deneklerin ‘hareketlilik süresi’ verilerinin dağılımını Shapiro-Wilk normalite testi ile incelediğimizde, veriler normal dağılım göstermedi (Şekil 4.15.).



Şekil 4.15. Tüm Gruplardaki Deneklerin Porsolt Testinde ‘Hareketlilik Süresi’ Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine; CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin

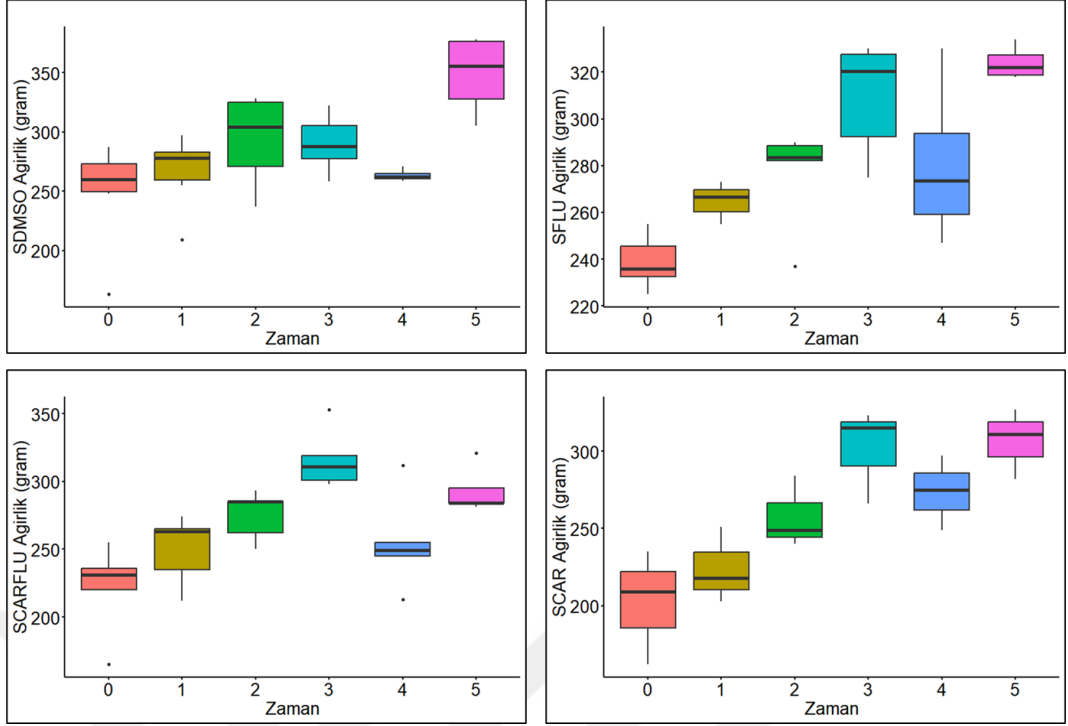
Normal dağılım göstermeyen bulgularımızı Kruskal Wallis ile incelediğimizde istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmedi, $p = 0,229$

4.3 Deneklerin Ağırlık Ortalamalarının Değişimi

Deney sürecinin ilk ve son günü dahil altı farklı zamanda alınan ağırlık ölçümleri ortalama ve standard sapma değerleri Tablo 4.3'te gösterildi. Grupların zaman göre ağırlık ortalamalarının değişimi de Şekil 4.16 ve 4.17'de gösterildi. Her bir grup için altı farklı zamanda ölçülen ağırlıklar Friedman chi-squared testi ile değerlendirildiğinde anlamlı bir fark olduğu gözlemlendi, $p < 0,05$. SDMSO ve CDMSO gruplarının ilk ve son ağırlık ölçüm kayıtlarını karşılaştırdığımızda SDMSO nun ağırlık artışının yavaşladığı görüldü. Bunun yanısıra CAR ve FLU tedavileri ağırlık artışını etkilemediği gözlemlendi. Ancak Bonferonni düzeltmesi yapıldığında bu anlamlılık kayboldu. Şekil 4.18'de tüm grupların ağırlık ortalamaları birlikte verildi.

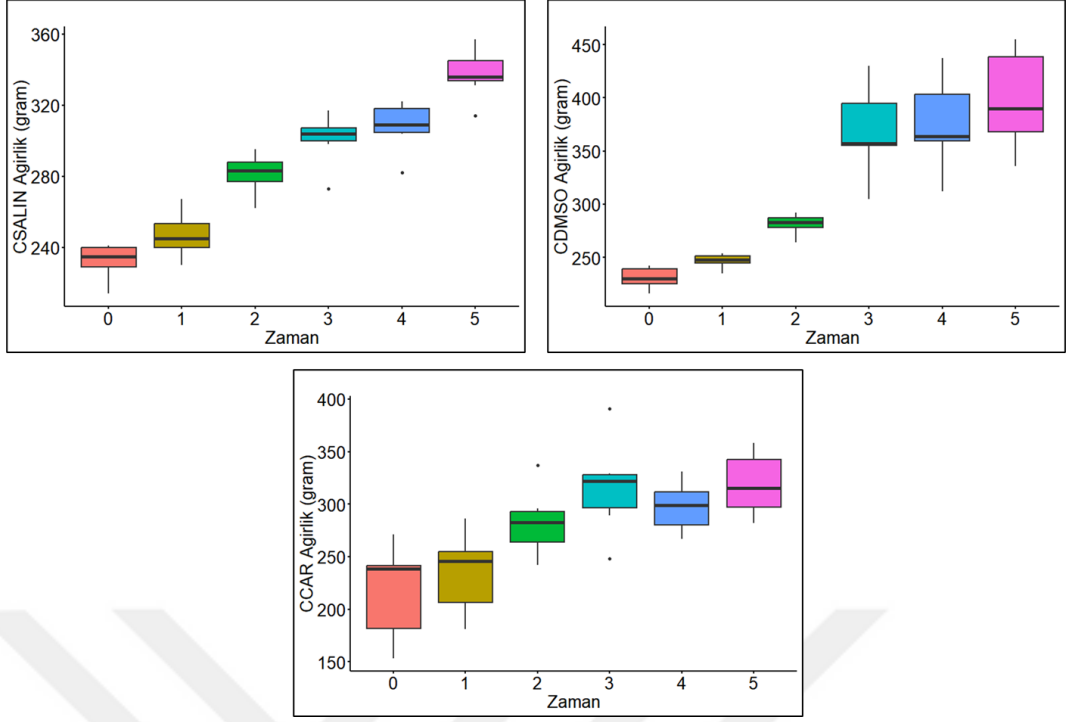
Tablo 4.3. Tüm grupların altı farklı zamanda tekrarlayan ağırlık ölçümlerlerini tanımlayıcı istatistik verileri

GRUPLAR	SDMSO Ortalama ($\pm$ SS)	SCAR Ortalama ($\pm$ SS)	SFLU Ortalama ($\pm$ SS)	SCARFLU Ortalama ($\pm$ SS)	CCAR Ortalama ($\pm$ SS)	CDMSO Ortalama ($\pm$ SS)	CSALIN Ortalama ($\pm$ SS)
1. gün	249 $\pm$ 44,4	202 $\pm$ 37	238,67 $\pm$ 11,02	221,4 $\pm$ 34	217,7 $\pm$ 47,9	230,86 $\pm$ 9,63	232,57 9,68
9. gün	266,7 $\pm$ 31,5	224 $\pm$ 24,6	265 $\pm$ 6,96	249,8 $\pm$ 25,7	235 $\pm$ 39,8	247 $\pm$ 6,48	247 $\pm$ 12,82
19. gün	294,2 $\pm$ 37,9	257,7 $\pm$ 23,2	277,67 $\pm$ 20,23	275 $\pm$ 18,15	283 $\pm$ 32,8	281,43 $\pm$ 9,47	281,43 $\pm$ 11,03
29. gün	290 $\pm$ 23,23	301,3 $\pm$ 30,9	309,83 $\pm$ 23,89	316,4 $\pm$ 22,09	316,8 $\pm$ 47,4	370,3 $\pm$ 40,3	301,14 $\pm$ 13,74
39.gün	263,5 $\pm$ 5,26	273,7 $\pm$ 24	279,8 $\pm$ 30,7	254,8 $\pm$ 35,9	297,67 $\pm$ 23,93	376,9 $\pm$ 41	308,29 $\pm$ 13,54
49. gün	348,5 $\pm$ 35,1	306,7 $\pm$ 22,8	324 $\pm$ 7,35	293 $\pm$ 16,54	318,8 $\pm$ 30,4	399,1 $\pm$ 45,2	337,71 $\pm$ 13,54
Tüm gruplarda Friedman chi-squared testi için p değeri $< 0,05$ tir. Ağırlıklar gram cinsinden ölçülmüştür.							

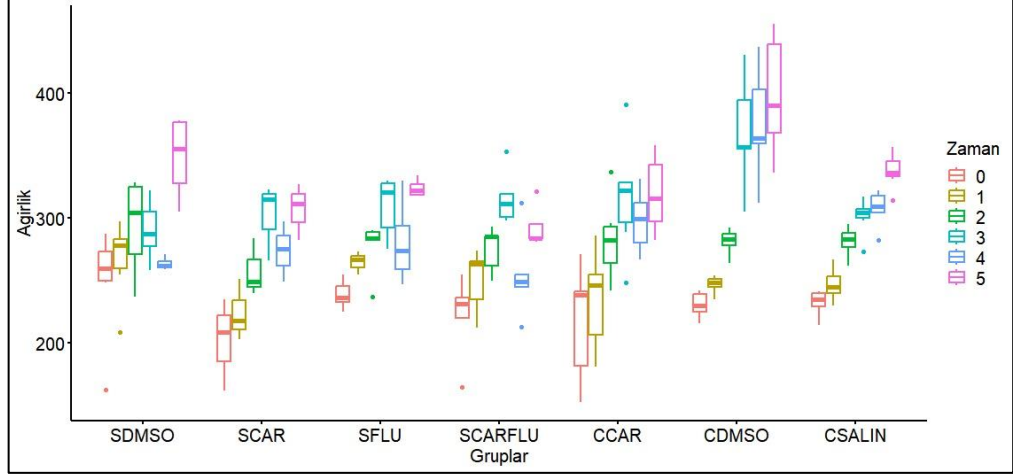


Şekil 4.16. Stres Gruplarındaki Deneklerin Zamana Göre Ağırlık Ortalamalarının Değişimi Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği

SDMSO: Stres+DMSO; SCAR: Stres+Carvacrol; SFLU: Stres+Fluoxetine;
CCAR: Kontrol+Carvacrol; CDMSO: Kontrol+DMSO; CSALIN: Kontrol+Salin



Şekil 4.17. Kontrol Gruplarındaki Deneklerin Zamana Göre Ağırlık Ortalamalarının Değişimi Verilerinin Dağılımının Kutu Grafiği



Şekil 4.18. Tüm Deney Gruplarındaki Deneklerin Zamana Göre Ağırlık Ortalamalarının Kutu Grafiği

5. TARTIŞMA

Modern toplumsal ekonominin, bilimin ve teknolojinin hızla gelişmesi insan yaşamına ve çalışmasına kolaylıklar getirmiş; fakat aynı zamanda yüksek basınçlı iş, artan mali yük, kişiler arası ilişkilerin sürdürülmesi gibi stresli olaylar nöropsikolojik bozukluğu olan hasta sayısında hızlı bir artışa neden olmuştur (157,158). Hem insanlarda hem de hayvanlarda stres ve stres faktörleri sıklıkla araştırılan bir konudur. Öngörülebilir stres faktörleri daha tolere edilebilirken, öngörülemeyen stres faktörlerinin daha fazla olumsuz etkiye sahip olduğu bilinmektedir. CUMS modeli, psikolojik stres için deneylerde ve araştırmalarda yaygın olarak kullanılmakta ve uzun süreli uygulanabiliyor olması, kronik uygulanan ilaç tedavi etkinliklerinin belirlenebilmesi için bir avantaj sağlamaktadır (157). Stresten kaynaklanan beyin hasarına karşı HPA aksın aktivasyonu ile kortizol salgılanır (158). CUMS modelinin de serum kortizol ve ACTH seviyelerinde artışa sebep olduğu, hatta stres öncesi ve sonrasında gerçekleşebilen oksidatif stres artışına, inflamasyon oluşumuna ve davranışsal bozukluklara da sebep olduğu bilinmektedir (157,159–161).

Günümüzde hastalıkların tedavisi için şifalı bitkilerin kullanımına artan bir ilgi vardır. Doğal ilaçların, depresif bozukluklar gibi stresle ilişkili nöropsikiyatrik bozuklukların hafifletilmesi üzerindeki olumlu etkilerine büyük ilgi gösterilmiştir (115). Kekik, sıklıkla tüketilen, doğal tıpta da yaygın olarak kullanılan bir bitkidir. Daha önce yapılan çalışmalarda kekik yağının ana bileşenler olarak timol, γ -terpinen, karvakrol, cis-terpinen, p-simene, linalool, terpinen-4-ol ve sabinen hidrat içerdiği gösterilmiştir (162,163). Anksiyolitik, antidepresan etkileri gösterilen kekikten, timol ve CAR gibi aktif bileşenlerin tanımlanması, bizi CAR'ın kronik stres sonucu oluşabilecek anksiyete, depresyon, öğrenme bozuklukları, oksidatif stres ve inflamasyon durumunu aydınlayabileceğimiz CUMS modeli üzerinde terapötik etkilerini araştırmaya sevk etti.

Bu amaç doğrultusunda bu çalışmada ülkemizde de sıklıkla tüketilen kekik bitkisinin etken maddesi olarak bilinen CAR'ın CUMS modeli oluşturulmuş erkek sıçanlarda stres yanıtı belirteci olarak bilinen serum kortizol, oksidatif stres biyobelirteçleri olan TTL, NTL, disülfid, TAS, TOS, OSI, inflamasyon biyobelirteci olan IL-1 β ve anksiyete, depresyon ve öğrenme benzeri davranışlar üzerine etkileri araştırıldı. CUMS modeli oluşturduğumuz gruplarda ve kontrol

gruplarında CAR ve pozitif kontrol gruplarına uyguladığımız FLU ilacının stres yanıtı, oksidatif stres ve davranış üzerine terapötik etkilerini inceledik. Bu iki tedavinin sinerjistik etkilerini de ayrıca araştırdık. Stres modelini oluşturmak için, stres gruplarına 42 gün (6 hafta) stres prosedürü uyguladık. Son iki haftasında CAR, FLU ve bunların çözücülerini uyguladık. Ardından davranış testleri uygulandı ve son olarak serum örnekleri toplandı.

Çalışma bulgularını incelediğimizde,

- ❖ Stres grubunda kortizol seviyesinin diğer tüm gruplara göre arttığını gözlemledik. Tedavi gruplarında (CAR ve FLU) ise artan kortizol miktarının azaldığını kaydettik. CAR ve FLU birlikte uygulanmasının, ayrı ayrı uygulanmalarına göre stres sonrası artan kortizol seviyesi üzerine daha az etkili olduğunu gördük.
- ❖ Oksidatif stres biyobelirteçlerini incelediğimizde stres ve kontrol gruplarının TTL seviyelerinde arasında anlamlı bir fark gözlemlenmedi. Anlamlı olmamasına rağmen, SDMSO grubunda CDMSO grubuna göre TTL seviyesinde azalma gözlemlenirken, SCARFLU grubunda diğer gruplara göre daha yüksek TTL seviyesi gözlemlendi. Serum NTL seviyelerinde de TTL'ye benzer sonuçlar elde ettik. Stres durumunda artmasını beklediğimiz disülfid seviyesinde ise anlamlı bir fark gözlemlenmedi.
- ❖ Stres grubunda oksidatif stres belirteçlerinden serum TOS ve OSI seviyelerinin arttığı, tedavi gruplarında ise kontrol gruplarınıninkine yakın seyrettiğini kaydettik. İlginç bir şekilde stres grubunda serum TAS değerinde bir artış vardı.
- ❖ İnflamasyon belirteci olan IL-1beta seviyesini incelediğimizde ise, stres grubunda en düşük, diğer gruplarda ise birbirine yakın değerde olduğunu gözlemledik.
- ❖ Davranış sonuçlarına baktığımızda, beklenmedik şekilde stres grubunun anksiyetesinin azaldığını gördük. Ayrıca stres sonrası öğrenme ve hafızanın bozulduğunu, CAR ve FLU uygulamaları ile bu bozulmanın kontrol seviyesine iyileştiğini gördük.
- ❖ Stres grubunu kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda, stres grubunda kilo artışının azaldığını gözlemledik. CAR ve FLU tedavileri bu etkiyi tersine çeviremediğini gördük.

Kronik stres hem insanlarda hem de hayvanlarda HPA aksının aktivasyonuna sebep olmaktadır. Stres kaynaklı depresif davranış HPA ekseninin aktivasyonu ile ilişkilidir. (164). Kısıtlama (restrain) stresi uygulanan kronik stres modelinde de kortizol seviyesinin stres grubunda kontrol grubuna göre arttığı gösterilmiştir (165). Bu tez çalışmasında, kronik stres modelinin oluşup oluşmadığını gözlemleyebilmek amacıyla stres yanıtı biyobelirteci olan serum kortizol seviyesi ölçüldü. Bulgulara göre istatistiksel olarak anlamlı olan SDMSO ve CDMSO grupları arasındaki fark, CUMS modelinde beklenen kortizol seviyesindeki artışın gerçekleştiğini yani modelin oluştuğunu göstermektedir.

Farklı bir kronik stres modelinde (kronik kısıtlama stresi) CAR'ın kortikosteron üzerine etkilerini araştıran bir çalışmada ise CAR'ın stres grubunda artan kortikosteron seviyesini doza bağlı olarak azalttığı bildirilmiştir (166). Bizim çalışmamız CUMS modelinde CAR etkilerini araştıran ilk çalışmadır. Çalışmamızda, modellediğimiz stres grubunda artan kortizol seviyesini CAR tedavisinin azalttığını gördük.

Çalışmamızda pozitif kontrol amacıyla uyguladığımız FLU'nun kortizol ile ilgili literatürde yer alan çalışmaları araştırdığımızda, insanlar üzerindeki bir araştırma, depresyonlu hastalarda yüksek kortizol konsantrasyonları ve FLU'nun artan kortizol konsantrasyonunu azalttığını göstermiştir (167). Bizim çalışmamızda, stres grubunda artan kortizolün CAR ve FLU uygulanan gruplarda azaldığını gördük. CAR ve FLU uygulamalarının stres modeli üzerine etkisine baktığımızda, kortizol seviyesi üzerine birbirine yakın etki gösterdiklerini gördük. Bunun yanı sıra CAR ve FLU tedavilerinin ayrı ayrı uygulanmasının birlikte uygulanmasına göre daha fazla etkili olduğunu kaydettik. Bu durumda kortizol seviyesi üzerine CAR ve FLU'nun birbirinin etkilerini negatif yönde etkilediğini söyleyebiliriz. Ayrıca kontrol gruplarını kendi aralarında karşılaştırdığımızda, CCAR grubunda kortizol değeri diğer kontrol gruplarına göre daha düşüktü. Böylelikle, CAR'ın günlük karşılaştığımız patolojik boyutta olmayan rutin strese karşı da destekleyici etkisi olabileceğini söyleyebiliriz.

Kronik stres sonrası kortizol artışının yanı sıra oksidatif stres seviyesinde de artış olduğu bilinmektedir (157). Son yıllarda tiyol-disülfid homeostazisi dikkat çekmektedir. Vücudun oksidan/antioksidan denge durumu hakkında fikir veren tiyol-disülfid dengesi birçok akut ve kronik hastalıkta çalışılmıştır. Son zamanlarda, çeşitli akut ve kronik hastalıkların patogeneğinde anormal bir tiyol/disülfid

homeostazının rol oynadığı bilinmektedir. (11). Oksidatif stres altında, tiyol seviyesi düştükçe disülfid seviyesinin artması beklenir (11). Anormal tiyol disülfid homeostazisi akut ve kronik birçok hastalığın patogeneğinde yer alabilmektedir (168). Bir çalışmada, *Zataria multiflora* (ZME) ve CAR, sepsis kaynaklı aortu iyileştirmedeki potansiyel faydalarını araştırmıştır. LPS 14 gün boyunca uygulanması ile model oluşturulmuş ve ZME, karvakrol tedavisi 3 gün önce başlanmıştır. Sonuç olarak, LPS grubunda tiyol düzeylerinde anlamlı bir azalma olduğunu, ZME ve karvakrolün bu durumu tersine çevirdiği bildirilmiştir (169). In vitro bir çalışmada, CAR, hidroksiklorokin, hidroksiklorokin+CAR grupları primer nöron kültürüne 24 ve 48 saat uygulanmıştır. Bu uygulama sonrasında tiyol analizleri yapılmıştır. CAR uygulamasının tiyol seviyelerini etkilemediği, ancak hidroksiklorokin ile kombinasyon halinde artırdığı bildirilmiştir (170). Bizim çalışmamızda da tedavilerin TTL, NTL ve disülfid seviyeleri üzerine bir etkisi gözlenmedi.

Çalışmamızda CAR'ın çözücüsü olarak DMSO kullanıldı. DMSO'nun antioksidan, analjezik ve antiinflamatuvar (171) etkilerinin yanı sıra oksidatif ve sitotoksik etkileri de (172) gözlenmiştir (173). Bir çalışmada astrosit kültürlerinin 24 saat boyunca %1 DMSO'ya maruz bırakılmasının hücre sağkalımını önemli ölçüde etkilemediğini, ancak hücre canlılığını, glial glutamat taşıyıcı ekspresyonunu azalttığını, mitokondriyal şişmeye, membran potansiyel bozukluğuna ve reaktif oksijen türleri üretimine ve ardından sitokrom c salınımı ve kaspaz-3 aktivasyonuna neden olduğunu gösterdi (172). Bizim çalışmamızda DMSO uyguladığımız kontrol grubunun serum TTL, NTL, disülfid ve anksiyete seviyeleri salin uygulanan kontrol grubuna göre daha yüksek gözlemlendi.

Tiyol disülfid harici diğer oksidatif stres biyobelirteçleri ile ilgili yapılan çalışmalara baktığımızda, CUMS modeli sonrası oksidatif stres belirteçlerinden GSH ve SOD aktivitelerinin azaldığı bildirilmiştir (157). Bir çalışmada, LPS yüklemeli sıçanlarda CAR'ın beyin dokusu oksidatif stres ile öğrenme ve hafıza üzerindeki etkisi değerlendirilmiş. LPS enjeksiyonu ile beyinde IL-6, MDA ve NO metabolitleri artmış, tiyol, SOD ve CAT azalmıştır (14). Diğer oksidatif stres belirteçlerinden TAS'a baktığımızda, bir çalışmada, CUMS modeli sonrasında beyin dokusunda TAS seviyesinin azaldığı bildirilmiştir (174). Bizim çalışmamızda ilginç bir şekilde stres grubunda TAS'ın arttığını gördük. TAS seviyesindeki bu

artış, OSI ve TOS seviyesindeki artışla ilişkili olabilir. Oksidanların artması ile antioksidan mekanizma uyarılmış ve böylece TAS seviyesi artmış olabilir.

Yapılan farklı bir kronik stres (kronik kısıtlama) modelinde de, CAR'ın oksidatif stres biyobelirteçlerinden MDA ve GSH seviyelerini tersine çevirdiği kaydedilmiştir (166). CAR'ın artan TOS (175) ve OSI (176) seviyesini azalttığını gösteren çalışmalar da mevcuttur. Siklofosfamid ile oksidatif stres indüklenen ratlarda, CAR'ın (10 mg/kg) antioksidatif etkisi serum MDA, TOS ve OSI seviyelerini azaltarak gösterdiği bildirilmiştir (177). Kronik stres modelinde, CAR'ın TAS, TOS ve OSI değerleri üzerine etkileri ilk defa bizim çalışmamızda araştırılmaktadır. Çalışma bulgularımızda stres sonrası artan TOS ve OSI değerlerini CAR tedavisinin tersine çevirdiğini kaydettik.

Akut depresif ataklar sırasında ve fluoksetin tedavisi sonrası remisyonda olan hastalarda lipid peroksidasyonu ve antioksidan korumanın araştırıldığı bir çalışmada, fluoksetin tedavisinin depresyon sonrası azalan TAS seviyesinde bir değişiklik gözlenmemiştir (178). FLU ve kronik stres ile ilgili çalışmalara baktığımızda, tedavinin kronik stres (izolasyon) ile azalan TAS seviyesini artırdığı gösterilmiştir (179). Diğer bir kronik stres (immobilizasyon) modelinde pozitif kontrol olarak kullanılan FLU, stres sonrası azalan TAS, artan TOS ve OSI değerlerinden sadece TAS seviyesinin iyileştirmiştir (180). Bizim çalışmamızda ise stres sonrası artan TOS ve OSI değerlerini FLU tedavisi tersine çevirdi.

Merkezi sinir sistemi inflamasyonu pek çok nörodejeneratif hastalığın sebebi olabilmektedir (14). İnflamasyona bradikinin, histamin, sitokinlerden özellikle tümör TNF- α , IL-6 ve IL-1 gibi bir dizi aracı maddenin salınması eşlik eder (181). Proinflamatuvar faktörler genel dolaşıma büyük miktarlarda salınır ve beyne ulaşır ve sitokin reseptörleri eksprese eden beyin omurilik sıvısının endotel hücrelerini aktive eder (14). CNS inflamasyonu ve depresyonun birbiriyle doğru orantılı olduğu ve depresif hastalıkların inflamatuvar sitokinlerin ve aracılardan aşırı üretiminden önemli ölçüde etkilendiği bilinmektedir. Bununla birlikte, CUMS beyinde önemli ölçüde üretilen proinflamatuvar sitokinlerin, nörotrofik faktörlerin salınımını ve nöronların onarımını sınırlar. TNF- α , IL-1 β ve IL-6 gibi sitokinlerin depresyonda aracı rol oynadığı bilinmektedir (182). Ayrıca, hipokampusta proinflamatuvar sitokinlerin ekspresyonundaki artışın sinaptik plastisiteyi, öğrenmeyi ve hafızayı bozduğu bilinmektedir (183). Bir çalışmada 10 mg/kg dozda FLU tedavisi uygulayarak CUMS sonrası artan IL-1 β seviyesinin azaldığını

kaydetmişlerdir (159). Bizim çalışmamızda ilginç olarak stres grubunda IL-1 β seviyesinin azaldığını gözlemledik. İnflamasyon belirtici olarak IL 1 β ile birlikte başka belirteçler bakılmadığı için sağlıklı yorum yapmamız mümkün değildir. Bu da çalışmamızın kısıtlılıklarından biridir.

Karvakrolün anti-inflamatuar etkilere sahip olduğu bilinmektedir (128). Geleneksel İran Tıbbında, CAR içeren bitkilerin bilişsel yetenekleri geliştirdiği bildirilmiştir (135). Güçlü bir antioksidan olan CAR'ın proinflatuar araçılardan IL-1 β seviyesini azalttığı bir çalışmada gösterilmiştir (184). Yine bir başka çalışmada, CAR'ın ratlarda oluşturulmuş hepatik fibroziste artan IL-1 β seviyesini azalttığı bildirilmiştir (185). Literatürde kronik stress modelinde CAR'ın IL-1 β seviyesi üzerine etkisini araştıran bir çalışmaya rastlamadık. Bizim çalışmamızda CAR'ın IL-1 β seviyesini kontrol gruplarınıninkine yakın tuttuğunu gözlemledik.

Fluoksetin ilacıyla ilgili çalışmalara baktığımızda, CUMS modeli ile indüklenen depresyonda IL-1 β seviyesinin arttığı ve bu artışın FLU ile azaldığı gösterilmiştir (186). Bizim çalışmamızda FLU'nun IL-1 β seviyesini kontrol gruplarına benzer seviyede tuttuğu gözlemlendi.

Karvakrol ve FLU tedavilerinin birlikte uygulandıklarında nasıl bir etki oluşturabileceğine baktığımızda, CAR ve FLU tedavilerinin ayrı ayrı uyguladığımız gruplarla arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını gözlemledik. Anlamlı olmamasına rağmen, CAR ve FLU tedavilerini birlikte uyguladığımız grupta kortizol, TTL, NTL ve disülfid seviyelerini daha yüksek gözlemledik. Literatüre baktığımızda, CAR ve FLU tedavilerinin birlikte uygulandığı az sayıda çalışma mevcuttur. Bir çalışmada, sıçan modelinde CAR içeren kekik esansiyel yağının beyin TLR4 ve TLR2 gen ekspresyonu ve depresif benzeri davranış üzerindeki etkileri incelenmiş, fakat kekik yağı ve FLU tedavileri bu çalışmada birlikte uygulanmamıştır. Ayrı ayrı uygulandıkları grupların olumlu etkileri gözlenmiştir (116). Bir başka çalışmada ise, östrus döngüsünün karvakrol ile tedavi edilen dişi sıçanların nörokimyasal ve nörodavranışsal profilini etkilediği gösterilmiştir. Bu çalışmada da yine CAR ve FLU ayrı ayrı uygulanmıştır. CAR ve FLU tedavilerinin birlikte etkisi ilk defa bizim çalışmamızda incelenmektedir. FLU ilacı klinikte sıklıkla kullanılan SSRI'dır. Benzer şekilde CAR içeren kekik esansiyel yağ özütünün de monoamin nörotransmitterlerin doza bağlı bir şekilde geri alımını ve bozulmasını engellediği gösterilmiştir (45). Bunun yanı sıra CAR güçlü bir antioksidandır. Benzer şekilde FLU ilacının da antioksidan özelliği

gösterilmiştir (179). Çalışmamızda, iki tedavinin birlikte uygulandığı grubun TTL, NTL ve disülfid seviyelerinin yüksek olması iki potansiyel antioksidan maddenin doz birliktelerinin yüksek olmasından kaynaklı bir negatif etki oluşturduğu düşünülebilir. CAR ve FLU'nun daha düşük dozları kullanılsa belki de daha olumlu bir etki gözlemlenebilir. Bununla birlikte, altta yatan mekanizma hala bilinmemektedir ve daha fazla araştırmaya ihtiyaç duymaktadır.

Kronik öngörülemeyen hafif stres modelinin depresyon oluşturmalarının altında yatan pek çok nedensel mekanizma yer almaktadır. Stres sonrası kortizol seviyesindeki artışın büyük ölçüde davranışsal performanslarının gelişimi ile bağlantılı olduğu bilinmektedir. Bununla birlikte, stres sonrası artan kortizol ve ACTH'nin beyni aşırı etkilemeleri, nörotransmitter sisteminde işlev bozukluğuna yol açabilmektedir (158,187). Çok sayıda dopaminerjik ve serotonerjik nöron sinir lifi, duygu, motivasyon ve hafızayı düzenlemek için dopamin ve serotonin salmak üzere serebral kortekse ve hipokampüse sinir uyarıları gönderir (188). Bu nedenle, serebral korteks ve hipokampüstaki değişen dopamin ve serotonin seviyeleri, anksiyete ve depresif bozukluğun patolojik bir özelliğini yansıtabilir (165). CUMS modelinin depresyonun yanı sıra anksiyete ve öğrenme davranışlarını da etkilediği bilinmektedir (160,161). CAR tedavisinin araştırıldığı bir çalışmada, CAR'ın amiloid β 1–42 kaynaklı hipokampal MDA ve H_2O_2 seviyelerindeki artışları iyileştirdiği, oksidatif stresi ve hafıza eksikliklerini önlediği gösterilmiştir (189). Ayrıca CAR'ın hafızayı geliştirmek için bir asetilkolinesteraz inhibitörü görevi gördüğü bildirilmiştir (189). Bir çalışmada, CAR'ın beyin dokusu iltihabı ve oksidatif stresin yanı sıra öğrenme ve hafıza üzerindeki etkisi, LPS'ye maruz bırakılan sıçanlarda incelenmiştir (14).

Bizim çalışmamızdaki gibi FLU ilacını pozitif kontrol olarak uygulayan bir çalışmada ise *Centella asiatica* (CA) isimli nöroprotektif potansiyele sahip eski bir tıbbi bitkinin CUMS ile indüklenen sıçanlar üzerindeki koruyucu rolünü değerlendirmiş ve CUMS ile indüklenen sıçanların, OFT ve EPM testlerinde anksiyete benzeri davranışlar, FST'de depresyon benzeri davranışlar ve T-labirent testinde bilişsel eksiklikler gösterdiğini kaydetmiş. Bu bitkinin ve FLU ilacının bu etkileri tersine çevirdiğini ve böylece CA'nın terapötik potansiyelinin FLU ile karşılaştırılabilir olduğunu belirtmişlerdir (190). Yine önceki çalışmalar, FLU tedavisinin, CUMS ile indüklenen sıçanlarda depresyonla ilişkili davranışları tersine çevirdiğini göstermiştir (159,191).

Bizim çalışmamızda ise ilginç bir şekilde, OFT testinde CUMS sonrası anksiyete benzeri davranışların azaldığını gözlemledik. Bu durum, çalışmamızda kullanılan anksiyete testlerinin yeni ortam ve yükseklik kaygısını değerlendiren testler olmasından kaynaklanıyor olabilir. CUMS modeli oluşturulurken denekler haftalarca birçok yeni ortamla karşılaştırılıyor. Kontrol gruplarına ise sadece gavaj uygulamaları yapılıyor. Bu sebeplerden dolayı stres grubundaki denekler kontrol grubundaki deneklere göre daha az kaygılı gözlemlenmiş olabilir.

Bizim çalışmamızda literatürden farklı olarak depresyon benzeri davranışı ölçen EPM testinde anlamlı fark gözlenmedi. Çaresizlik duygusunun ölçüldüğü EPM testi yaygın kullanılmasına rağmen, sonuçlarda fark görmememiz bizi deneklerimizde depresyon davranışının tetiklenmediği sonucuna kesin olarak ulaştırmayabilir. Çünkü EPM testinin de kendi içinde eksik yönleri bir makalede ayrıntılı bir şekilde tartışılmıştır (192). Farklı bir depresyon testinin kullanılmaması çalışmamızın kısıtlılıklarındandır. Bu konuyla ilgili diğer bir yorumumuz da, stres grubunda ilginç bir şekilde IL-1 β seviyesini düşük gözlemlemiştik. Depresyon sebeplerinden biri de CNS inflamasyonudur ve depresyonda IL-1 β arttığı gösterilmiştir (186). Bizim çalışmamızdaki zorunlu yüzme testinde anlamlı bir fark görmememiz stres grubunun IL-1 β 'nın azalmasından kaynaklı olabilir.

Bizim öğrenme testi sonucumuzda stres grubunun gizli bölmeyi diğer gruplardan daha geç bulduğunu kaydettik. Asetilkolinesteraz inhibitörü olarak görüldüğü bildirilen çalışma ile uyumlu olarak bizim çalışmamızda da CAR uygulanan gruptaki denekler gizli bölmeyi daha kısa sürede buldu. CAR tedavisi FLU ile benzer etkilere sahipti.

Son olarak Literatürde CUMS modelinin hedonik davranışı (şükroz tüketimi) azalttığı fakat bu davranışın ratların kilo vermesinde ikincil neden olmadığı bildirilmektedir (193). Bir başka çalışmada stresin yiyecek tüketimini azalttığı ve CUMS'un anoreksijenik etkiye sahip olduğunu gösterilmiştir (194). Yine bir başka çalışmada stres sonrası ratlarda kilo kaybı meydana geldiği ve melatonin tedavisi bu etkiyi tersine çevirdiği gösterilmiştir (195). Farklı bir stres modelinde (kronik kısıtlama stresi) deneklerin kilo artışı kontrol grubuna göre daha az olduğu bildirilmiştir (196). FLU ilacı ile tedavi edilen ratlarda, CUMS sonrası azalan kilonun arttığı gösterilmiştir (197). Bir başka çalışmada, anti stres özelliği ile bilinen *Rhodiola rosea* L. bitkisinden elde edilen bir özütün 6 haftalık kronik hafif stres modelinde azalan kilo artışını tersine çevirdiği bildirilmiştir (198). CAR

ile tedavinin kronik stres üzerinde kilo artışına etkisi ilk defa bizim çalışmamızda bakılmıştır. Bizim çalışmamızda tüm deneklerde, deney sürecinin altı farklı zamanın da alınan ağırlık ölçümlerinde, literatürle uyumlu olarak stres grubunun ilk ve son ölçümü kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kilo artışında azalma olduğunu gözlemledik. CAR ve FLU tedavilerinin bu azalan artışı tersine çeviremediğini gözlemledik.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda karvakrolün kronik öngörülemez hafif stres modeli üzerine biyokimyasal (kortizol, tiyol disülfid homeostazi, TAS, TOS, OSI, IL-1 β) ve davranışsal (anksiyete, depresyon ve öğrenme-hafıza) etkilerini araştırdık. Yaptığımız çalışmada karvakrolün etkilerini, klinikte kullanılan anti-depresan olan fluoxetine ilacının etkileri ile karşılaştırdık. Bir grupta da bu iki ilacın birlikte uygulamalarının etkisini araştırdık. Bulguları değerlendirdiğimizde elde ettiğimiz sonuçlar şu şekildeydi:

1. Bu çalışma ile CAR'ın kronik stres sonrası artan serum kortizolü düşürdüğü, FLU tedavisinin CAR'la benzer etkiler gösterdiğini gözlemledik. İkisinin birlikte uygulanması ayrı ayrı uygulamalarına göre daha az etkili olduğunu gördük. Bu, CAR'ın gelecekteki kronik stres çalışmalarında daha fazla araştırılması gerektiğini, özellikle anti-depresanların geliştirilmesi için potansiyel bir aday olabileceğini göstermektedir.
2. CUMS sonrası artan TOS ve OSI seviyesini CAR azalttı. Yine FLU ilacı CAR'a yakın etkiler göstermektedir. İkisinin birlikte uygulanması ayrı ayrı uygulamalarına göre daha az etkili olduğunu gördük. CAR'ın güçlü antioksidan özelliği bu çalışmayla bir kez daha kanıtlanmıştır ve klinikte kullanılan ilaca benzer etkiler göstermesi ileriki çalışmalarda dikkatleri daha fazla üzerine çekebilir.
3. CAR'ın CUMS kaynaklı öğrenme ve hafıza bozukluğunu önleyebileceğini gösterdik. FLU ilacı yine CAR ile benzer etkilere sahipti. Bu çalışma CAR'ın gelecekteki stres kaynaklı davranış çalışmalarında yeni bir terapötik ajan olabileceğini düşündürmektedir.
4. Çalışmamızın kısıtlılıklarından biri gruplardaki denek sayısının az olmasıydı. İleriki çalışmalarda daha fazla denek sayısı ile beklenmedik sonuçlar aldığımız tiyol-disülfid, IL-1 β , anksiyete testleri, zorunlu yüzme testi ve TAS seviyesi araştırılabilir.
5. Klinikte kullanılan ve yan etkilerinden şikayet ettiğimiz bir çok ilaç yerine kekik bitkisinin etken maddesi olan CAR, strese karşı geliştirilmeye çalışılan ileriki ilaç çalışmalarında araştırılabilir.

6. CAR ve FLU'nun benzer etkilere sahip olması, CAR'ın FLU ile benzer stres iyileştirici yolları takip ettiğini düşündürmektedir ve gelecek çalışmalarda bu yollar araştırılabilir.
7. DMSO sitotoksik bir etkisi olduğu için CAR çözücüsü olarak başka bir madde kullanılıp ileriki çalışmalarda yeniden değerlendirilebilir.



7. KAYNAKLAR

(Bu tez çalışmasında Vancouver atıf sistemi kullanılmıştır.)

1. Kaba İ. Stres, ruh sağlığı ve stres yönetimi: Güncel bir gözden geçirme. Akademik Bakış Uluslararası Hakemli Sosyal Bilimler Dergisi. 2009;73:63-81.
2. Špiljak B, Vilibić M, Glavina A, Crnković M, Šešerko A, Lugović-Mihić L. A review of psychological stress among students and its assessment using salivary biomarkers. Behav. Sci. 2022;12
3. Dhabhar FS. Effects of stress on immune function: The good, the bad, and the beautiful. Immunol Res. 2014;58:193–210.
4. Hinds JA, Sanchez ER. The role of the hypothalamus–pituitary–adrenal (HPA) axis in test-induced anxiety: assessments, physiological responses, and molecular details. Stresses. 2022;2(1):146–55.
5. López-López AL, Bonilla HJ, Escobar Villanueva M del C, Brianza MP, Vázquez GP, Alarcón FJA. Chronic unpredictable mild stress generates oxidative stress and systemic inflammation in rats. Physiol Behav. 2016;161:15–23.
6. Antoniuk S, Bijata M, Ponimaskin E, Włodarczyk J. Chronic unpredictable mild stress for modeling depression in rodents: Meta-analysis of model reliability. Neurosci and Biobehav Rev. 2019;99:101–16.
7. Bakhtiari-Dovvombaygi H, Izadi S, Zare Moghaddam M, Hashemzahi M, Hosseini M, Azhdari-Zarmehri H, et al. Beneficial effects of vitamin D on anxiety and depression-like behaviors induced by unpredictable chronic mild stress by suppression of brain oxidative stress and neuroinflammation in rats. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol. 2021;394(4):655–67.
8. Markov DD, Novosadova EV. Chronic unpredictable mild stress model of depression: Possible sources of poor reproducibility and latent variables. Biology. 2022;11(11):1621.
9. Du Preez A, Onorato D, Eiben I, Musaelyan K, Egeland M, Zunszain PA, et al. Chronic stress followed by social isolation promotes depressive-like behaviour, alters microglial and astrocyte biology and reduces hippocampal neurogenesis in male mice. Brain Behav Immun. 2021;91:24–47.
10. Xu DH, Du JK, Liu SY, Zhang H, Yang L, Zhu XY, et al. Upregulation of KLK8 contributes to CUMS-induced hippocampal neuronal apoptosis by cleaving NCAM1. Cell Death Dis. 2023;14(4):278.
11. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. Clin Biochem. 2014;47(18):326–32.
12. Çetinkaya A. Amiloid Beta 1-42 ile oluşturulan deneysel Alzheimer modelinde tiyol disülfid homeostazi. DÜ Sağlık Bil Enst Derg. 2020;10(3):343–347.
13. Gumusyayla S, Vural G, Bektas H, Deniz O, Neselioglu S, Erel O. A novel oxidative stress marker in patients with Alzheimer's disease: Dynamic thiol-disulphide homeostasis. Acta Neuropsychiatr. 2016;28(6):315–20.
14. Hakimi Z, Salmani H, Marefati N, Arab Z, Gholamnezhad Z, Beheshti F, et al. Protective effects of carvacrol on brain tissue inflammation and oxidative stress as well as learning and memory in lipopolysaccharide-challenged rats. Neurotox Res. 2020;37(4):965–76.

15. Sharifi-Rad M, Varoni EM, Iriti M, Martorell M, Setzer WN, del Mar Contreras M, et al. Carvacrol and human health: A comprehensive review. Vol. 32, *Phytotherapy Research*. John Wiley and Sons Ltd; 2018. p. 1675–87.
16. Karkabounas S, Kostoula OK, Daskalou T, Veltsistas P, Karamouzis M, Zelovitis I, et al. Anticarcinogenic and antiplatelet effects of carvacrol. *Exp Oncol*. 2006;28(2):121–5.
17. Lins LCRF, Souza MF, Bispo JMM, Gois AM, Melo TCS, Andrade RAS, et al. Carvacrol prevents impairments in motor and neurochemical parameters in a model of progressive parkinsonism induced by reserpine. *Brain Res Bull*. 2018;139:9–15.
18. Melo FHC, Moura BA, de Sousa DP, de Vasconcelos SMM, Macedo DS, Fonteles MM de F, et al. Antidepressant-like effect of carvacrol (5-Isopropyl-2-methylphenol) in mice: involvement of dopaminergic system. *Fundam Clin Pharmacol*. 2011;25(3):362–7.
19. Guimarães AG, Xavier MA, De Santana MT, Camargo EA, Santos CA, Brito FA, et al. Carvacrol attenuates mechanical hypernociception and inflammatory response. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2012;385(3):253–63.
20. Melo FHC, Venâncio ET, De Sousa DP, De França Fonteles MM, De Vasconcelos SMM, Viana GSB, et al. Anxiolytic-like effect of carvacrol (5-isopropyl-2-methylphenol) in mice: Involvement with GABAergic transmission. *Fundam Clin Pharmacol*. 2010;24(4):437–43.
21. Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol*. 2009;5(7):374–81.
22. Hinkle LE. The concept of “stress” in the biological and social sciences. *Psychiatry Med*. 1974;5(4):335–57.
23. Tsigos C, Kyrou I, Kassi E, Chrousos GP. Stress, Endocrine Physiology and Pathophysiology. 2020 Oct 17. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, Boyce A, Chrousos G, Corpas E, de Herder WW, Dhatariya K, Dungan K, Hofland J, Kalra S, Kaltsas G, Kapoor N, Koch C, Kopp P, Korbonits M, Kovacs CS, Kuohung W, Laferrère B, Levy M, McGee EA, McLachlan R, New M, Purnell J, Sahay R, Shah AS, Singer F, Sperling MA, Stratakis CA, Trencle DL, Wilson DP, editors. *South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc.; 2000*.
24. Romero ML, Butler LK. Endocrinology of Stress. *Int J Comp Psychol*. 2007;20(2):89–95.
25. Shimba A, Ikuta K. Control of immunity by glucocorticoids in health and disease. *Semin Immunopathol*. 2020;42(6):669–680
26. Pace TWW, Hu F, Miller AH. Cytokine-effects on glucocorticoid receptor function: Relevance to glucocorticoid resistance and the pathophysiology and treatment of major depression. *Brain Behav Immun*. 2007;21(1):9–19.
27. Raison CL, Borisov AS, Woolwine BJ, Massung B, Vogt G, Miller AH. Interferon- α effects on diurnal hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity: Relationship with proinflammatory cytokines and behavior. *Mol Psychiatry*. 2010;15(5):535–47.
28. Hapgood JP, Avenant C, Moliki JM. Glucocorticoid-independent modulation of GR activity: Implications for immunotherapy. *Pharmacol Ther*. 2016;165: 93–113.
29. Cain DW, Cidlowski JA. Immune regulation by glucocorticoids. *Nat Rev Immunol*. 2017;17:233–47.

30. Kageyama K, Iwasaki Y, Daimon M. Hypothalamic regulation of corticotropin-releasing factor under stress and stress resilience. *Int J Mol Sci.* 2021;22(22):122–42.
31. Debono M, Ghobadi C, Rostami-Hodjegan A, Huatan H, Campbell MJ, Newell-Price J, et al. Modified-release hydrocortisone to provide circadian cortisol profiles. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009;94(5):1548–54.
32. Civan A, Özdemir İ, Gökhan Gencer Y, Durmaz M. Egzersiz ve stres hormonları. *TUSBİD.* 2018;2(1):1–14.
33. Balcıoğlu İ, Savrun M. Stress and Hormones. *Türkiye Klinikleri J Psychiatry.* 2001;2(1):43–50.
34. Janssen JAMJL. New insights into the role of insulin and hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis in the metabolic syndrome. *Int J Mol Sci.* 2022;23(15):8178
35. Levine S. The Psychoendocrinology of Stress. *Ann N Y Acad Sci.* 1993;697:61–9.
36. Brodish A, Odio M. Age-Dependent Effects of Chronic Stress on ACTH and Corticosterone Responses to an Acute Novel Stress. *Neuroendocrinology.* 1989;49:496–501.
37. Qing H, Desrouleaux R, Israni-Winger K, Mineur YS, Fogelman N, Zhang C, et al. Origin and Function of Stress-Induced IL-6 in Murine Models. *Cell.* 2020;182(6):1660.
38. Scotton E, Colombo R, Reis JC, Possebon GMP, Hizo GH, Valiati FE, et al. BDNF prevents central oxidative damage in a chronic unpredictable mild stress model: The possible role of PRDX-1 in anhedonic behavior. *Behav Brain Res.* 2020;378:112245
39. Guo Y, Gan X, Zhou H, Zhou H, Pu S, Long X, et al. Fingolimod suppressed the chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors via affecting microglial and NLRP3 inflammasome activation. *Life Sci.* 2020;263:118582.
40. Keugong Wado E, Kubicki M, Ngatanko AHH, Léa Blondelle KD, Jorelle linda D, Roland RN, et al. Anxiolytic and antidepressant effects of Ziziphus mucronata hydromethanolic extract in male rats exposed to unpredictable chronic mild stress: Possible mechanisms of actions. *J Ethnopharmacol.* 2020;260:112987.
41. Marin MF, Lord C, Andrews J, Juster RP, Sindi S, Arsenault-Lapierre G, et al. Chronic stress, cognitive functioning and mental health. *Neurobiol Learn Mem.* 2011;96:583–95.
42. ‘World Health Organization’[Internet]. [cited 2023 Agu 08]. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/depression>
43. Jesulola E, Micalos P, Baguley IJ. Understanding the pathophysiology of depression: From monoamines to the neurogenesis hypothesis model - are we there yet? *Behav Brain Res.* 2018;341:79–90.
44. Song Z, Shen F, Zhang Z, Wu S, Zhu G. Calpain inhibition ameliorates depression-like behaviors by reducing inflammation and promoting synaptic protein expression in the hippocampus. *Neuropharmacology.* 2020 Sep 1;174:108175.
45. Mechan AO, Fowler A, Seifert N, Rieger H, Wöhrle T, Etheve S, et al. Monoamine reuptake inhibition and mood-enhancing potential of a specified oregano extract. *Br J Nutr.* 2011;105(8):1150–63.
46. Pariante CM. Why are depressed patients inflamed? A reflection on 20 years of research on depression, glucocorticoid resistance and inflammation. *Eur Neuropsychopharmacol.* 2017;27(6):554–9.

47. Horowitz MA, Zunszain PA. Neuroimmune and neuroendocrine abnormalities in depression: Two sides of the same coin. *Ann N Y Acad Sci.* 2015;1351(1):68–79.
48. Bjelaković G, Beninati S, Pavlović D, Kocić G, Jevtović T, Kamenov B, et al. Glucocorticoids and oxidative stress. *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2007;18(2):115–27.
49. Tsai MC, Huang TL. Increased activities of both superoxide dismutase and catalase were indicators of acute depressive episodes in patients with major depressive disorder. *Psychiatry Res.* 2015;235:38–42.
50. Setiawan E, Wilson AA, Mizrahi R, Rusjan PM, Miler L, Rajkowska G, et al. Role of translocator protein density, a marker of neuroinflammation, in the brain during major depressive episodes. *JAMA Psychiatry.* 2015;72(3):268–75.
51. Qu H, Liu R, Chen J, Zheng L, Chen R. Aerobic exercise inhibits CUMS-depressed mice hippocampal inflammatory response via activating hippocampal miR-223/TLR4/MyD88-NF- κ B pathway. *Int J Environ Res Public Health.* 2020;17(8):2676.
52. Raison CL, Capuron L, Miller AH. Cytokines sing the blues: Inflammation and the pathogenesis of depression. *Trends Immunol.* 2006;27:24–31.
53. Maes M, Yirmiya R, Noraberg J, Brene S, Hibbeln J, Perini G, et al. The inflammatory & neurodegenerative (I&ND) hypothesis of depression: Leads for future research and new drug developments in depression. *Metab Brain Dis.* 2009;24:27–53.
54. Zorrilla EP, Luborsky L, McKay JR, Rosenthal R, Houldin A, Tax A, et al. The relationship of depression and stressors to immunological assays: A meta-analytic review. *Brain Behav Immun.* 2001;15(3):199–226.
55. Silverman MN, Sternberg EM. Glucocorticoid regulation of inflammation and its functional correlates: From HPA axis to glucocorticoid receptor dysfunction. *Ann N Y Acad Sci.* 2012;1261:55–63.
56. Kato TA, Yamauchi Y, Horikawa H, Monji A, Mizoguchi Y, Seki Y, et al. Neurotransmitters, Psychotropic Drugs and Microglia: Clinical Implications for Psychiatry. *Curr Med Chem.* 2013;20(3):331–44.
57. Zhu C Bin, Blakely RD, Hewlett WA. The proinflammatory cytokines interleukin-1 β and tumor necrosis factor- α activate serotonin transporters. *Neuropsychopharmacology.* 2006 Oct 7;31(10):2121–31.
58. Miller AH, Maletic V, Raison CL. Inflammation and Its Discontents: The role of cytokines in the pathophysiology of major depression. *Biol Psychiatry.* 2009;65(9):732–41.
59. Li K, Yan L, Zhang Y, Yang Z, Zhang C, Li Y, et al. Seahorse treatment improves depression-like behavior in mice exposed to CUMS through reducing inflammation/oxidants and restoring neurotransmitter and neurotrophin function. *J Ethnopharmacol.* 2020;250:112487.
60. Raedler TJ. Inflammatory mechanisms in major depressive disorder. *Curr Opin Psychiatry.* 2011;24(6):519–25.
61. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: When the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci.* 2008;9:46–56.

62. Müller N, Schwarz MJ. The immune-mediated alteration of serotonin and glutamate: Towards an integrated view of depression. *Mol Psychiatry*. 2007;12:988–1000.
63. Müller N, Myint AM, Schwarz MJ. Inflammatory biomarkers and depression. *Neurotox Res*. 2011;19(2):308–18.
64. Wang M, Dong W, Wang R, Xu X, Wu Y, Sun G, et al. Gastrodiae Rhizoma Water extract ameliorates hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity and inflammation induced by chronic unpredictable mild stress in rats. *Biomed Res Int*. 2020;2020: 8374614.
65. Umukoro S, Adebesein A, Agu G, Omorogbe O, Asehinde SB. Antidepressant-like activity of methyl jasmonate involves modulation of monoaminergic pathways in mice. *Adv Med Sci*. 2018;63(1):36–42.
66. Tong Y, Fu H, Xia C, Song W, Li Y, Zhao J, et al. Astragaloside A exerted antidepressant-like action through SIRT1 signaling modulated NLRP3 inflammasome deactivation. *ACS Chem Neurosci*. 2020;11(10):1495–503.
67. Yang Z, Li Z, Guo Z, Ren Y, Zhou T, Xiao Z, et al. Antitumor effect of fluoxetine on chronic stress-promoted lung cancer growth via suppressing kynurenine pathway and enhancing cellular immunity. *Front Pharmacol*. 2021;12:685898.
68. Caiaffa V, Oliveira BDR, de Sá FB, Evêncio Neto J. Anti-inflammatory, antiapoptotic, and antioxidant activity of fluoxetine. *Pharmacol Res Perspect*. 2016;4(3):1–9.
69. Zhao Y, Shang P, Wang M, Xie M, Liu J. Neuroprotective effects of fluoxetine against chronic stress-induced neural inflammation and apoptosis: Involvement of the p38 activity. *Front Physiol*. 2020;11:351.
70. Qin X, Wang W, Wu H, Liu D, Wang R, Xu J, et al. PPAR γ -mediated microglial activation phenotype is involved in depressive-like behaviors and neuroinflammation in stressed C57BL/6J and ob/ob mice. *Psychoneuroendocrinology*. 2020;117:104674.
71. You Z, Luo C, Zhang W, Chen Y, He J, Zhao Q, et al. Pro- and anti-inflammatory cytokines expression in rat's brain and spleen exposed to chronic mild stress: Involvement in depression. *Behav Brain Res*. 2011;225(1):135–41.
72. Capuron L, Miller AH. Immune system to brain signaling: Neuropsychopharmacological implications. *Pharmacol and Ther*. 2011;130:226–38.
73. Jeon SW, Kim YK. Neuroinflammation and cytokine abnormality in major depression: Cause or consequence in that illness? *World J Psychiatry*. 2016;6(3):283.
74. Eller T, Vasar V, Shlik J, Maron E. Pro-inflammatory cytokines and treatment response to escitalopram in major depressive disorder. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2008;32(2):445–50.
75. Dowlati Y, Herrmann N, Swardfager W, Liu H, Sham L, Reim EK, et al. A meta-analysis of cytokines in major depression. *Biol Psychiatry*. 2010;67(5):446–57.
76. Borsini A, Zunszain PA, Thuret S, Pariante CM. The role of inflammatory cytokines as key modulators of neurogenesis. *Trends Neurosci*. 2015;38(3):145–57.
77. D'aquila PS, Braint P, Willner P. Pergamon Effects of Chronic Mild Stress on Performance in Behavioural Tests Relevant to Anxiety and Depression. *Physiol Behav*. 1994;56(5):861–7.

78. Jacinto LR, Mata R, Novais A, Marques F, Sousa N. The habenula as a critical node in chronic stress-related anxiety. *Exp Neurol*. 2017;289:46–54.
79. Hill MN, Hellemans KGC, Verma P, Gorzalka BB, Weinberg J. Neurobiology of chronic mild stress: Parallels to major depression. *Neurosci Biobehav Rev*. 2012;36(9):2085–117.
80. Krugers HJ, Lucassen PJ, Karst H, Joëls M. Chronic stress effects on hippocampal structure and synaptic function: Relevance for depression and normalization by anti-glucocorticoid treatment. *Front Synaptic Neurosci*. 2010;2:24
81. Ulrich K, Jakob U. The role of thiols in antioxidant systems. *Free Radic Biol Med*. 2019;140:14-27.
82. Akbas A, Kilinc F, Sener S, Aktaş A, Baran P, Ergin M. Investigation of thiol-disulphide balance in patients with acute urticaria and chronic spontaneous urticaria. *Cutan Ocul Toxicol*. 2017;36(3):205–10.
83. Söğüt I, Senat A, İlhan AO, Sezen A, Erel Ö. Evaluation of thiol/disulfide homeostasis and other oxidative stress markers in patients undergoing hemodialysis. *Turkish J Nephrol*. 2021;30:17–24.
84. Luduvico KP, Spohr L, Soares MSP, Teixeira FC, de Farias AS, Bona NP, et al. Antidepressant effect and modulation of the redox system mediated by tannic acid on lipopolysaccharide-induced depressive and inflammatory changes in Mice. *Neurochem Res*. 2020;45(9):2032–43.
85. Singh A, Kukreti R, Saso L, Kukreti S. Oxidative stress: A key modulator in neurodegenerative diseases. *Molecules*. 2019;24(8):1583.
86. Fidan F, Alkan BM, Uğurlu FG, Bozkurt S, Sezer N, Biçer C, et al. Dynamic thiol/disulphide homeostasis in patients with fibromyalgia. *Arch Rheumatol*. 2017;32(2):112–7.
87. Asoğlu M, Kiliçaslan F, Begoğlu Ö, Fedai Ü, Akil Ö, Çelik H, et al. Tedavi edilmemiş yaygın anksiyete bozukluğu olan hastalarda yeni bir oksidatif stres belirleyicisi olan tiyol/disülfid homeostazi. *Anadolu Psikiyatri Derg*. 2018;19(2):143–9.
88. Göker AE, Alagöz MH, Kumral TL, Karaketir S, Yilmazer AB, Tutar B, et al. An evaluation of oxidative stress with thiol/disulfide homeostasis in patients with persistent allergic rhinitis. *Ear Nose Throat J*. 2022;101(1):NP13–7.
89. Juszczak G, Mikulska J, Kasperek K, Pietrzak D, Mrozek W, Herbert M. Chronic stress and oxidative stress as common factors of the pathogenesis of depression and alzheimer's disease; the role of antioxidants in prevention and treatment. 2021;10(9):1439.
90. Zhuang F, Zhou X, Gao X, Lou D, Bi X, Qin S, et al. Cytokines and glucocorticoid receptors are associated with the antidepressant-like effect of alaric. *Peptides (NY)*. 2016;76:115–29.
91. Cai L, Mu Y rong, Liu M ming, Tang W jian, Li R. Antidepressant-like effects of penta-acetyl geniposide in chronic unpredictable mild stress-induced depression rat model: Involvement of inhibiting neuroinflammation in prefrontal cortex and regulating hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Int Immunopharmacol*. 2020;80:106182.
92. Xiao X, Shang X, Zhai B, Zhang H, Zhang T. Nicotine alleviates chronic stress-induced anxiety and depressive-like behavior and hippocampal neuropathology via regulating autophagy signaling. *Neurochem Int*. 2018;114:58–70.

93. Xie J, Bi B, Qin Y, Dong W, Zhong J, Li M, et al. Inhibition of phosphodiesterase-4 suppresses HMGB1/RAGE signaling pathway and NLRP3 inflammasome activation in mice exposed to chronic unpredictable mild stress. *Brain Behav Immun*. 2021;92:67–77.
94. Orihuela R, McPherson CA, Harry GJ. Microglial M1/M2 polarization and metabolic states. *British Journal of Pharmacology*. John Wiley and Sons Inc.; 2016;173(4):649–65.
95. Kobayashi K, Imagama S, Ohgomori T, Hirano K, Uchimura K, Sakamoto K, et al. Minocycline selectively inhibits M1 polarization of microglia. *Cell Death Dis*. 2013;4(3):e525.
96. Franco R, Fernández-Suárez D. Alternatively activated microglia and macrophages in the central nervous system. *Prog Neurobiol*. 2015;131:65–86.
97. Liu J, Nolte K, Brook G, Liebenstund L, Weinandy A, Höllig A, et al. Post-stroke treatment with argon attenuated brain injury, reduced brain inflammation and enhanced M2 microglia/macrophage polarization: A randomized controlled animal study. *Crit Care*. 2019;23(1):198.
98. Cherry JD, Olschowka JA, Kerry O'banion M. Neuroinflammation and M2 microglia: the good, the bad, and the inflamed. *J Neuroinflammation*. 2014;11:98
99. Lopez J, Bagot RC. Defining valid chronic stress models for depression with female rodents. *Biol Psychiatry*. 2021;90(4):226–35.
100. Gururajan A, Reif A, Cryan JF, Slaterry DA. The future of rodent models in depression research. *Nat Rev Neurosci*. 2019;20(11):686–701.
101. Fulcher N, Tran S, Shams S, Chatterjee D, Gerlai R. Neurochemical and behavioral responses to unpredictable chronic mild stress following developmental isolation: The zebrafish as a model for major depression. *Zebrafish*. 2017;14(1): 23–34.
102. Bondi CO, Rodriguez G, Gould GG, Frazer A, Morilak DA. Chronic unpredictable stress induces a cognitive deficit and anxiety-like behavior in rats that is prevented by chronic antidepressant drug treatment. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33(2):320–31.
103. Gawali NB, Bulani VD, Gursahani MS, Deshpande PS, Kothavade PS, Juvekar AR. Agmatine attenuates chronic unpredictable mild stress-induced anxiety, depression-like behaviours and cognitive impairment by modulating nitrgergic signalling pathway. *Brain Res*. 2017;1663:66–77.
104. Reuveni N, Carlson CA, Schwartz S, Meter D, Barrett TS, Freeman SM. The antidepressant and anxiolytic effects of cannabinoids in chronic unpredictable stress: a preclinical systematic review and meta-analysis. *Transl Psychiatry*. 2022;12(1):217.
105. Czéh B, Fuchs E, Wiborg O, Simon M. Animal models of major depression and their clinical implications. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2016;64:293–310.
106. Planchez B, Surget A, Belzung C. Animal models of major depression: drawbacks and challenges. *J Neural Transm (Vienna)*. 2019;126(11):1383–408.
107. Juruena MF, Bocharova M, Agustini B, Young AH. Atypical depression and non-atypical depression: Is HPA axis function a biomarker? A systematic review. *J Affect Disord*. 2018;233:45–67.
108. Miller AH, Raison CL. The role of inflammation in depression: From evolutionary imperative to modern treatment target. *Nat Rev Immunol*. 2016;16(1):22–34.

109. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci*. 2009;10(6):397–409.
110. Franklin TB, Saab BJ, Mansuy IM. Neural mechanisms of stress resilience and vulnerability. *Neuron*. 2012;75(5):747–61.
111. Jiang H, Wang Z, Wang Y, Xie K, Zhang Q, Luan Q, et al. Antidepressant-like effects of curcumin in chronic mild stress of rats: Involvement of its anti-inflammatory action. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 2013;47:33–9.
112. Liao D, Lv C, Cao L, Yao D, Wu Y, Long M, et al. Curcumin attenuates chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors via restoring changes in oxidative stress and the activation of Nrf2 signaling pathway in rats. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020:9268083.
113. Filho CB, Jesse CR, Donato F, Giacomeli R, Del Fabbro L, da Silva Antunes M, et al. Chronic unpredictable mild stress decreases BDNF and NGF levels and Na⁺,K⁺-ATPase activity in the hippocampus and prefrontal cortex of mice: Antidepressant effect of chrysin. *Neuroscience*. 2015;289:367–80.
114. Lucca G, Comim CM, Valvassori SS, Réus GZ, Vuolo F, Petronilho F, et al. Effects of chronic mild stress on the oxidative parameters in the rat brain. *Neurochem Int*. 2009;54(5–6):358–62.
115. Ross SM. Psychophytomedicine. *Holist Nurs Pract*. 2014;28(4):275–80.
116. Amiresmaeili A, Roohollahi S, Mostafavi A, Askari N. Effects of oregano essential oil on brain TLR4 and TLR2 gene expression and depressive-like behavior in a rat model. *Res Pharm Sci*. 2018;13(2):130–141.
117. Becer E, Mutlu Altundag E, Başer KHC, Vatansever HS. Cytotoxic activity and antioxidant effects of *Origanum onites* essential oil and its two major contents, carvacrol and p-cymene on human colorectal (HCT116) and hepatocellular carcinoma (HepG2) cell lines. *J Essent Oil Res*. 2022;34(6):514–23.
118. Santos EH, Kamimura JA, Hill LE, Gomes CL. Characterization of carvacrol beta-cyclodextrin inclusion complexes as delivery systems for antibacterial and antioxidant applications. *LWT - Food Science and Technology*. 2015;60(1):583–92.
119. De Vincenzi M, Stamatii A, De Vincenzi A, Silano M. Constituents of aromatic plants: Carvacrol. *Fitoterapia*. 2004;75(7–8):801–4.
120. Liu F, Jin P, Sun Z, Du L, Wang D, Zhao T, et al. Carvacrol oil inhibits biofilm formation and exopolysaccharide production of *Enterobacter cloacae*. *Food Control*. 2021;119:107473.
121. Marinelli L, Di Stefano A, Cacciatore I. Carvacrol and its derivatives as antibacterial agents. *Phytochem Rev*. 2018;17(4):903–21.
122. Tepe B, Cakir A, Sihoglu Tepe A. Medicinal uses, Phytochemistry, and pharmacology of *Origanum onites* (L.): A review. *Chem Biodivers*. 2016;13(5):504–20.
123. Bostancıoğlu RB, Kürkçüoğlu M, Başer KHC, Koparal AT. Assessment of anti-angiogenic and anti-tumoral potentials of *Origanum onites* L. essential oil. *Food and Chemical Toxicology*. 2012;50(6):2002–8.
124. Aykac A, Becer E, Özbeyli D, Şener G, Başer KHC. Protective effects of *Origanum onites* essential oil in the methotrexate-induced rat model: Role on apoptosis and hepatotoxicity. *Rec Nat Prod*. 2020;14(6):395–404.

125. Liolios CC, Gortzi O, Lalas S, Tsaknis J, Chinou I. Liposomal incorporation of carvacrol and thymol isolated from the essential oil of *Origanum dictamnus* L. and in vitro antimicrobial activity. *Food Chem.* 2009;112(1):77–83.
126. Can Baser KH. Biological and pharmacological activities of carvacrol and carvacrol bearing essential oils. *Curr Pharm Des.* 2008;14(29):3106-19.
127. Trabace L, Zotti M, Morgese MG, Tucci P, Colaianna M, Schiavone S, et al. Estrous cycle affects the neurochemical and neurobehavioral profile of carvacrol-treated female rats. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2011;255(2):169–75.
128. Landa P, Kokoska L, Pribylova M, Vanek T, Marsik P. In vitro anti-inflammatory activity of carvacrol: Inhibitory effect on COX-2 catalyzed prostaglandin E2 biosynthesis. *Arch Pharm Res.* 2009;32(1):75–8.
129. Li Z, Hua C, Pan X, Fu X, Wu W. Carvacrol exerts neuroprotective effects via suppression of the inflammatory response in middle cerebral artery occlusion rats. *Inflammation.* 2016;39(4):1566–72.
130. Azizi Z, Ebrahimi S, Saadatfar E, Kamalinejad M, Majlessi N. Cognitive-enhancing activity of thymol and carvacrol in two rat models of dementia. *Behav Pharmacol.* 2012;23(3):241–9.
131. Yu H, Zhang ZL, Chen J, Pei A, Hua F, Qian X, et al. Carvacrol, a food-additive, provides neuroprotection on focal cerebral ischemia/reperfusion injury in mice. *PLoS One.* 2012;7(3):e33584.
132. Deng W, Lu H, Teng J. Carvacrol attenuates diabetes-associated cognitive deficits in rats. *J Mol Neurosci.* 2013;51(3):813–9.
133. Baluchnejadmojarad T, Hassanshahi J, Roghani M, Mansouri M, Raoufi S. Protective effect of carvacrol in 6-hydroxydopamine hemi-parkinsonian rat model. 2014;2:29-34.
134. Javed H, Meeran MFN, Jha NK, Ojha S. Carvacrol, a plant metabolite targeting viral protease (Mpro) and ACE2 in host cells can be a possible candidate for COVID-19. *Front Plant Sci.* 2021;11:601335.
135. Khazdair MR, Anaeigoudari A, Hashemzahi M, Mohebbati R. Neuroprotective potency of some spice herbs, a literature review. *J Tradit Complement Med.* 2018;9(2):98–105.
136. Wang P, Luo Q, Qiao H, Ding H, Cao Y, Yu J, et al. The neuroprotective effects of carvacrol on ethanol-induced hippocampal neurons impairment via the antioxidative and antiapoptotic pathways. *Oxid Med Cell Longev.* 2017;2017:4079425.
137. Azizi Z, Choopani S, Salimi M, Majlessi N, Naghdi N. Protein kinase C involvement in neuroprotective effects of thymol and carvacrol against toxicity induced by amyloid- β in rat hippocampal neurons. *Basic Clin Neurosci.* 2022;13(3):295–304.
138. Amooheydari Z, Rajaei Z, Alaei H, Esmaeil N. Supplementation of carvacrol attenuates hippocampal tumor necrosis factor-alpha level, oxidative stress, and learning and memory dysfunction in lipopolysaccharide-exposed rats. *Adv Biomed Res.* 2022;11(1):33.
139. Lee B, Yeom M, Shim I, Lee H, Hahm DH. Inhibitory effect of carvacrol on lipopolysaccharide-induced memory impairment in rats. *Korean J Physiol Pharmacol.* 2020;24(1):27–37.

140. Babak F, Rajabi S, Sakhaie MH, Jalali-Mashayekhi F. Carvacrol ameliorating effects on trimethyltin chloride-induced neurotoxicity by modulating the interplay between Nrf2/Keap1/ARE pathway and Sirt1. *Res J Pharmacogn.* 2022;9(2):53–61.
141. Kandemir FM, Caglayan C, Darendelioğlu E, Küçükler S, İzol E, Kandemir Ö. Modulatory effects of carvacrol against cadmium-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity by molecular targeting regulation. *Life Sci.* 2021; 277:119610.
142. Başaran M, Öztanir MN, Çiftçi O, Başak Türkmen N, Akyuva Y, Önder A. Neuroprotective effect of carvacrol in an experimental cerebral ischemia and reperfusion rat model. *J Exp Clin Med (Turkey).* 2022;39(2):454–8.
143. Barnes CA. Memory deficits associated with senescence: A neurophysiological and behavioral study in the rat. *J Comp Physiol Psychol.* 1979;93(1):74–104.
144. Bach ME, Hawkins RD, Osman M, Kandel ER, Mayford M. Impairment of spatial but not contextual memory in CaMKII mutant mice with a selective loss of hippocampal LTP in the range of the theta frequency. *Cell.* 1995;81(6):905–15.
145. Morris R. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. *J Neurosci Methods.* 1984;11(1):47–60.
146. Carter M, Shieh J. Animal behavior. In: *Guide to research techniques in neuroscience.* Elsevier; 2015. p. 39–71.
147. Harrison FE, Hosseini AH, McDonald MP. Endogenous anxiety and stress responses in water maze and Barnes maze spatial memory tasks. *Behav Brain Res.* 2009;198(1):247–51.
148. Iivonen H, Nurminen L, Harri M, Tanila H, Puoliväli J. Hypothermia in mice tested in Morris water maze. *Behavioural Brain Research.* 2003;141(2):207-13.
149. Pitts M. Barnes maze procedure for spatial learning and memory in mice. *Bio Protoc.* 2018;8(5):e2744.
150. Pehlivan Karakaş F, Coşkun H, Soytürk H, Bozat BG. Anxiolytic, antioxidant, and neuroprotective effects of goji berry polysaccharides in ovariectomized rats: experimental evidence from behavioral, biochemical, and immunohistochemical analyses. *Turk J Biol.* 2020;44(5):238–51.
151. Koob AO, Cirillo J, Babbs CF. A novel open field activity detector to determine spatial and temporal movement of laboratory animals after injury and disease. *J Neurosci Methods.* 2006;157(2):330–6.
152. Kraeuter AK, Guest PC, Samyay Z. The Elevated plus maze test for measuring anxiety-like behavior in rodents. In: *Methods in molecular biology.* Humana Press Inc.; 2019. p. 69–74.
153. Pehlivan Karakaş F, Coşkun H, Sağlam K, Bozat BG. *Lycium barbarum* L. (goji berry) fruits improve anxiety, depression-like behaviors, and learning performance: the moderating role of sex. *Turk J Biol.* 2016;40:762–71.
154. Erel O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. *Clin Biochem.* 2004;37(4):277–85.
155. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005;38(12):1103–11.
156. Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. 2003;133(41-42):563-6.

157. Miao L, Huang F, Sun Y, Jiang W, Chen Y, Zhang M. Curcumin plays a local anti-inflammatory and antioxidant role via the HMGB1/TLR4/NF-KB pathway in rat masseter muscle under psychological stress. *J Oral Rehabil.* 2022;49(2):249–57.
158. Lee JS, Kang JY, Son CG. A comparison of isolation stress and unpredictable chronic mild stress for the establishment of mouse models of depressive disorder. *Front Behav Neurosci.* 2021;14:616389.
159. Fernandes J, Gupta GL. N-acetylcysteine attenuates neuroinflammation associated depressive behavior induced by chronic unpredictable mild stress in rat. *Behav Brain Res.* 2019;364:356–65.
160. Zhao Y, Wang Q, Jia M, Fu S, Pan J, Chu C, et al. (+)-Sesamin attenuates chronic unpredictable mild stress-induced depressive-like behaviors and memory deficits via suppression of neuroinflammation. *J Nutr Biochem.* 2019;64:61–71.
161. Luo Y, Kuang S, Li H, Ran D, Yang J. cAMP/PKA-CREB-BDNF signaling pathway in hippocampus mediates cyclooxygenase 2-induced learning/memory deficits of rats subjected to chronic unpredictable mild stress. *Oncotarget.* 2017;8(22):35558–35572.
162. Pirigharnaei M, Zare S, Heidary R, Khara J, Emamalisabzi R, Kheiry F. The essential oils compositions of Iranian Oregano (*Origanum vulgare*L.) populations in field and provenance from Piranshahr district, West Azarbaijan province, Iran. *AJP.* 2011;1(2):106–114.
163. Lukas B, Schmiderer C, Novak J. Essential oil diversity of European *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae). *Phytochemistry.* 2015;119:32–40.
164. Zhu LJ, Liu MY, Li H, Liu X, Chen C, Han Z, et al. The different roles of glucocorticoids in the hippocampus and hypothalamus in chronic stress-induced HPA axis hyperactivity. *PLoS One.* 2014;9(5): e97689.
165. Hawiset T, Sriraksa N, Kamsrijai U, Wanchai K, Inkaew P. Anxiolytic and antidepressant-like activities of aqueous extract of *Azadirachta indica* A. Juss. flower in the stressed rats. *Heliyon.* 2022;8(2):e08881.
166. Samarghandian S, Farkhondeh T, Samini F, Borji A. Protective effects of carvacrol against oxidative stress induced by chronic stress in rat's brain, liver, and kidney. *Biochem Res Int.* 2016;2016: 2645237.
167. Chau DT, Rada P V., Kim K, Kosloff RA, Hoebel BG. Fluoxetine alleviates behavioral depression while decreasing acetylcholine release in the nucleus accumbens shell. *Neuropsychopharmacology.* 2011;36(8):1729–37.
168. Ozyazici S, Karateke F, Turan U, Kuvvetli A, Kilavuz H, Karakaya B, et al. A novel oxidative stress mediator in acute appendicitis: Thiol/disulphide homeostasis. *Mediators Inflamm.* 2016;2016:6761050.
169. Hosseini M, Arab Z, Beheshti F, Anaeigoudari A, Shakeri F, Rajabian A. *Zataria multiflora* and its constituent, carvacrol, counteract sepsis-induced aortic and cardiac toxicity in rat: Involvement of nitric oxide and oxidative stress. *Animal Model Exp Med.* 2023;6(3):221–9.
170. Yilmaz A, Hacimuftuoglu A, Cicek B, Isik M, Necip A, Taghizadehghalehjoughi A. Carvacrol protect hippocampal neurons against hydroxychloroquine-induced damage: In vitro study. *Recent Trends in Pharmacology.* 2023;1(1):16–26.
171. Lu C, Mattson MP. Dimethyl sulfoxide suppresses NMDA- and AMPA-induced ion currents and calcium influx and protects against excitotoxic death in hippocampal neurons. *Exp Neurol.* 2001;170(1):180–5.

172. Yuan C, Gao J, Guo J, Bai L, Marshall C, Cai Z, et al. Dimethyl sulfoxide damages mitochondrial integrity and membrane potential in cultured astrocytes. *PLoS One*. 2014;9(9): e107447.
173. Akan T, Aydın Y, Korkmaz OT, Ulupınar E, Saydam F. The effects of carvacrol on transient receptor potential (TRP) channels in an animal model of Parkinson's Disease. *Neurotox Res*. 2023.
174. Biala G, Pekala K, Boguszewska-Czubara A, Michalak A, Kruk-Slomka M, Budzynska B. Behavioral and biochemical interaction between nicotine and chronic unpredictable mild stress in mice. *Mol Neurobiol*. 2017;54(2):904–21.
175. Gursul C, Ozcicek A, Ozkaraca M, Mendil AS, Coban TA, Arslan A, et al. Amelioration of oxidative damage parameters by carvacrol on methanol-induced liver injury in rats. *Exp Anim*. 2022;71(2):224–30.
176. Bozkurt M, Em S, Oktayoglu P, Turku G, Yuksel H, Sarıyıldız MA, et al. Carvacrol prevents methotrexate-induced renal oxidative injury and renal damage in rats. *Clin Invest Med*. 2014;37(1):19–25.
177. Gunes S, Ayhanci A, Sahinturk V, Altay DU, Uyar R. Carvacrol attenuates cyclophosphamide-induced oxidative stress in rat kidney. *Can. J. Physiol. Pharmacol*. 2017;95(7):844–849.
178. Gałecki P, Szemraj J, Bieńkiewicz M, Florkowski A, Gałecka E. Lipid peroxidation and antioxidant protection in patients during acute depressive episodes and in remission after fluoxetine treatment. *Pharmacol Rep*. 2009;61(3):436–47.
179. Djordjevic J, Djordjevic A, Adzic M, Elaković I, Matić G, Radojicic MB. Fluoxetine affects antioxidant system and promotes apoptotic signaling in Wistar rat liver. *Eur J Pharmacol*. 2011;659(1):61–6.
180. Toprak G, Akkoc H, Uyar E. Investigating the effects of trolox on behaviour and biochemical parameters in mice exposed to immobilization stress. *Int J Pharmacol*. 2019;15(8):900–6.
181. Abdulkhaleq LA, Assi MA, Abdullah R, Zamri-Saad M, Taufiq-Yap YH, Hezmee MNM. The crucial roles of inflammatory mediators in inflammation: A review. *Vet World*. 2018;11:627–35.
182. Sukoff Rizzo SJ, Neal SJ, Hughes ZA, Beyna M, Rosenzweig-Lipson S, Moss SJ, et al. Evidence for sustained elevation of IL-6 in the CNS as a key contributor of depressive-like phenotypes. *Transl Psychiatry*. 2012;2(12):e199.
183. Barrientos RM, Higgins EA, Biedenkapp JC, Sprunger DB, Wright-Hardesty KJ, Watkins LR, et al. Peripheral infection and aging interact to impair hippocampal memory consolidation. *Neurobiol Aging*. 2006;27(5):723–32.
184. Arigesavan K, Sudhandiran G. Carvacrol exhibits anti-oxidant and anti-inflammatory effects against 1, 2-dimethyl hydrazine plus dextran sodium sulfate induced inflammation associated carcinogenicity in the colon of Fischer 344 rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2015;461(2):314–20.
185. El-Gendy ZA, Ramadan A, El-Batran SA, Ahmed RF, El-Marasy SA, Abd El-Rahman SS, et al. Carvacrol hinders the progression of hepatic fibrosis via targeting autotaxin and thioredoxin in thioacetamide-induced liver fibrosis in rat. *Hum Exp Toxicol*. 2021 Dec 1;40(12):2188–201.
186. Pan Y, Chen XY, Zhang QY, Kong LD. Microglial NLRP3 inflammasome activation mediates IL-1 β -related inflammation in prefrontal cortex of depressive rats. *Brain Behav Immun*. 2014;41:90–100.

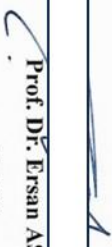
187. Lanfumey L, Mongeau R, Cohen-Salmon C, Hamon M. Corticosteroid-serotonin interactions in the neurobiological mechanisms of stress-related disorders. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(6):1174–84.
188. Liu Y, Zhao J, Guo W. Emotional roles of mono-aminergic neurotransmitters in major depressive disorder and anxiety disorders. *Front Psychol.* 2018;9:2201.
189. Celik Topkara K, Kilinc E, Cetinkaya A, Saylan A, Demir S. Therapeutic effects of carvacrol on beta-amyloid-induced impairments in in vitro and in vivo models of Alzheimer's disease. *Eur J Neurosci.* 2022;56(9):5714–26
190. Jagadeesan S, Musa Chiroma S, Baharuldin MTH, Taib CNM, Amom Z, Adenan MI, et al. Centella asiatica prevents chronic unpredictable mild stress-induced behavioral changes in rats. *Biomed Res Ther.* 2019;6(6):3233–43.
191. Mu RH, Fang XY, Wang SS, Li CF, Chen SM, Chen XM, et al. Antidepressant-like effects of standardized gypenosides: involvement of brain-derived neurotrophic factor signaling in hippocampus. *Psychopharmacology (Berl).* 2016;233(17):3211–21.
192. Armario A. The forced swim test: Historical, conceptual and methodological considerations and its relationship with individual behavioral traits. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;128:74–86.
193. Willner P, Moreau JL, Kurre Nielsen C, Papp M, Sluzewska A. Decreased hedonic responsiveness following chronic mild stress is not secondary to loss of body weight. *Physiol Behav.* 1996;60(1):129–34
194. Ortolani D, Garcia MC, Melo-Thomas L, Spadari-Bratfisch RC. Stress-induced endocrine response and anxiety: The effects of comfort food in rats. *Stress.* 2014;17(3):211–8.
195. Sun X, Wang M, Wang Y, Lian B, Sun H, Wang G, et al. Melatonin produces a rapid onset and prolonged efficacy in reducing depression-like behaviors in adult rats exposed to chronic unpredictable mild stress. *Neurosci Lett.* 2017;642:129–35.
196. Liu L, Zhou X, Zhang Y, Liu Y, Yang L, Pu J, et al. The identification of metabolic disturbances in the prefrontal cortex of the chronic restraint stress rat model of depression. *Behav Brain Res.* 2016;305:148–56.
197. Chen C, Wang L, Rong X, Wang W, Wang X. Effects of fluoxetine on protein expression of potassium ion channels in the brain of chronic mild stress rats. *Acta Pharm Sin B.* 2015;5(1):55–61.
198. Mattioli L, Funari C, Perfumi M. Effects of *Rhodiola rosea* L. extract on behavioural and physiological alterations induced by chronic mild stress in female rats. *J Psychopharmacol.* 2009;23(2):130–42. Villa V, Negrini S, Capodaglio P, Zaina F, Cimolin V, Vismara L, et al. Osteopathic manipulative treatment in obese patients with chronic low back pain: A pilot study. *Man Ther.* 2012;17(5):451–5.

8. EKLER

EK 1 BAİBÜ Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu Onay Belgesi

T.C. BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu			
Sayı: 07 Konu: Kararlar		14/01/2021	
BAŞVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	ARAŞTIRMANIN ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Ratlarda Deneyisel Oluşturulmuş Kronik Stres Üzeri Carvacrol'un Etkisi.	
	ARAŞTIRMANIN İNGİLİZCE ADI (TITLE OF THE PROJECT)	The Effect of Carvacrol on Experimentally Chronic Stress in Rats	
	SORUMLU ARAŞTIRMACI (PRINCIPAL INVESTIGATOR)	Doç.Dr.Şule AYDIN TURKOĞLU	
	DİĞER ARAŞTIRMACILAR (OTHER INVESTIGATORS)	Doktora Öğrencisi Asiye OK, Dr.Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ (RESEARCH CENTER)	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi	
KARAR (DECISION)	Karar no (Decision No): 2021/06	Tarih (Date): 13.01.2021	
	Doç.Dr.Şule AYDIN TURKOĞLU'nun sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgelerin incelenmesi sonucunda araştırmanın 42 adet sıçan ile gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliği/oy çokluğu ile karar verilmiştir.		
Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu	İmzası
Prof.Dr. İdris TÜREL (Başkan)	Farmakoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof.Dr. Seyit Ali KAYIŞ (Başkan Yardımcısı)	Biyostatistik ve Tıbbi Bilgim AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof. Dr. Hamit COŞKUN (Üye)	Psikoloji Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi	
Prof. Dr. Yeşim YENER (Üye)	Temel Eğitim Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Eğitim Fakültesi	
Doç. Dr. Mustafa ŞİT (Üye)	Genel Cerrahi AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr. Uğur UYETÜRK (Üye)	Üroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr. Mustafa DİLEK (Üye)	Çocuk Hastalıkları AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Sendar GÖZÜTOK (Üye)	Yaban Hayatı ve Ekolojisi Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Hayriye SOYTÜRK (Üye)	Kanatlı Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA (Üye)	Fizyoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Canan AKÜNAL TÜREL (Üye)	Nöroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi ÖZGÜR Mehmet YİS (Üye)	Biyo kimya AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Veteriner Hekim Enes EĞİLMEZ (Sorumlu Veteriner Hekim)	Veteriner Hekim	BAİBÜ Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi	
Veteriner Hekim Orhan BULUT (TC Üyesi)	Veteriner Hekim	BOLU BEYPİLİÇ AŞ.	
Av. Cihan YAVUZ (TC Üyesi)	Avukat	Aşağı Soku Mah. Şair Şinasi Sok. Ayşe Hanım Apt 24/6 BOLU	

EK 2 Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

	
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ	Hayvan Deneyleri
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU	Merkezi Etik Kurulu
DENEY HAYVANLARI KULLANIM SERTİFİKASI	
Sayın ASİYE OK	
14.10.2020 - 22.10.2020 tarihleri arasında Kırıkkale Üniversitesi HADYEK tarafından Kırıkkale İlinde düzenlenen “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası” eğitimini başarı ile tamamlayarak A kategorisi sertifikası almaya hak kazanmıştır.	
Prof. Dr.  HADYEK Başkanı	Prof. Dr.  Rektör
	