

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**TRAVMA SONRASI STRES BOZUKLUĞU MODELİNDE
KANABİDİOLLERİN DAVRANIŞSAL VE NÖROBİYOLOJİK
DEĞİŞKENLER ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Pelin AKÇA

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Tuğba ÇAVUŞOĞLU

Manisa 2022

T.C.
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

**TRAVMA SONRASI STRES BOZUKLUĞU MODELİNDE
KANABİDİOLLERİN DAVRANIŞSAL VE NÖROBİYOLOJİK
DEĞİŞKENLER ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Pelin AKÇA

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Tuğba ÇAVUŞOĞLU

Manisa 2022

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince öğrettikleri bilgiler, gösterdikleri yol ve yöntemler ve danışmak istediğimiz konularda yardımcı oldukları için başta tez hocam Prof. Dr. Tuğba ÇAVUŞOĞLU olmak üzere saygıdeğer hocalarım Prof. Dr. Ercüment ÖLMEZ, Prof. Dr. Kamil VURAL, Prof. Dr. Sedef GİDENER ve Dr. Öğr. Üyesi Ertan DARIVERENLİ'ye,

Tez sürecimdeki katkılarından dolayı Prof. Dr. Elgin Türköz ULUER, Prof. Dr. Funda KOSOVALI ve Dr. Mustafa BİRGÜL'e,

Tezimdeki destekleri için birlikte olduğumuz süre boyunca güleç yüzlerini görmekten mutluluk duyduğum güzel kalpli yol arkadaşlarım Uzm. Dr. Ömer Can ATAK, Dr. Dilek Gülce TATLI, Dr. Furkan Öztekin, Dr. Elvan Hasan YILMAZ, Dr. Yeşim Turhan ÖZCAN'a,

Hayat yolundaki destekçim aileme,

Ve aynı yolları yürümenin nasip olduğu bu yollarda kol kola yürüdüğümüz kardeşim, meslektaşım Dr. Memduha AKÇA' ya teşekkür ederim.

TABLO DİZİNİ

Tablo 4.1. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde ölçülen parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması.....	18
Tablo 4.2. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde ölçülen parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması	19
Tablo 4.3. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde yüksek artı labirent testinde ölçülen parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması	30



ŞEKİL DİZİNİ

Şekil 4.1. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası çizgi geçiş sayısı değerlerinin karşılaştırılması	20
Şekil 4.2. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası mobil zamanın saniye cinsinden değerlerinin karşılaştırılması	21
Şekil 4.3. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası immobil zamanın saniye cinsinden değerlerinin karşılaştırılması	22
Şekil 4.4. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kenar zona giriş sayısı değerlerinin karşılaştırılması	23
Şekil 4.5. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kenar zonda geçirilen zaman (s) değerlerinin karşılaştırılması	24
Şekil 4.6. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası merkez zona giriş değerlerinin karşılaştırılması.	25
Şekil 4.7. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası merkez zonda geçirilen zaman (s) değerlerinin karşılaştırılması	26
Şekil 4.8. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası donma zamanı değerlerinin (s) karşılaştırılması	27
Şekil 4.9. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası merkez zon mesafesi (m) değerlerinin karşılaştırılması	28
Şekil 4.10. Sıçanlarda posttravmatik stres modelinde açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kenar zon mesafesi (m) değerlerinin karşılaştırılması	29

Şekil 4.11. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde modelinde yükseltilmiş artı labirent testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası katedilen mesafe (m) değerlerinin karşılaştırılması	31
Şekil 4.12. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde modelinde yükseltilmiş artı labirent testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası mobil zaman (s) değerlerinin karşılaştırılması	32
Şekil 4.13. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde modelinde yükseltilmiş artı labirent testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası immobil zaman (s) değerlerinin karşılaştırılması	32
Şekil 4.14.. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde modelinde yükseltilmiş artı labirent testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kapalı kola giriş sayısı değerlerinin karşılaştırılması	33
Şekil 4.15. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde modelinde yükseltilmiş artı labirent testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kapalı kolda geçirilen zaman (s) değerlerinin karşılaştırılması	34
Şekil 4.16. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde modelinde yükseltilmiş artı labirent testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası açık kola giriş değerlerinin karşılaştırılması	35
Şekil 4.17. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde modelinde yükseltilmiş artı labirent testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası açık kolda geçen zaman (s) değerlerinin karşılaştırılması	36
Şekil 4.18. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde deney sonunda ELISA yöntemiyle çalışılan CRH'nin hipokampus bölgesindeki düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması	37
Şekil 4.19. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde deney sonunda ELISA yöntemiyle çalışılan BDNF'nin hipokampus bölgesindeki düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması	38
Şekil 4.20. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde deney sonunda ELISA yöntemiyle çalışılan pro BDNF'nin hipokampus bölgesindeki düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması	39

Şekil 4.21. Sıçanlarda travma sonrası stres modelinde deney sonunda ELISA yöntemiyle çalışılan NTRK'nın hipokampus bölgesindeki düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması	40
Şekil 4.22. Gruplara ait dentat gyrus, CA ve prefrontal korteks kesitlerinin CRH primer antikoruna ait immunohistokimya boyamasının H-skor analizi .	43
Şekil 4.23. Gruplara ait dentat gyrus, CA ve prefrontal korteks kesitlerinin proBDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyamasının H-skor analizi	47
Şekil 4.24. Gruplara ait dentat gyrus, CA ve prefrontal korteks kesitlerinin BDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyamasının H-skor analizi	51
Şekil 4.25. Gruplara ait dentat gyrus, CA ve prefrontal korteks kesitlerinin TRK- β primer antikoruna ait immunohistokimya boyamasının H-skor analizi.....	55

RESİM DİZİNİ

Resim 4.1. Gruplara ait hipokampus kesitlerinin HE boyaması	41
Resim 4.2. Gruplara ait prefrontal korteks kesitlerinin HE boyaması.....	42
Resim 4.3. Gruplara ait dentat gyrus kesitlerinin CRH primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	44
Resim 4.4. Gruplara ait CA bölgesinin kesitlerinin CRH primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	45
Resim 4.5. Gruplara ait prefrontal korteks kesitlerinin CRH primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	46
Resim 4.6. Gruplara ait dentat gyrus kesitlerinin proBDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	48
Resim 4.7. Gruplara ait CA bölgesinin kesitlerinin proBDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	49
Resim 4.8. Gruplara ait prefrontal korteks kesitlerinin proBDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	50
Resim 4.9. Gruplara ait dentat gyrus kesitlerinin BDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	52
Resim 4.10. Gruplara ait CA bölgesinin kesitlerinin BDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	53
Resim 4.11. Gruplara ait prefrontal korteks kesitlerinin BDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	54
Resim 4.12. Gruplara ait dentat gyrus kesitlerinin TRK- β primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	56
Resim 4.13. Gruplara ait CA bölgesinin kesitlerinin TRK- β primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	57
Resim 4.14. Gruplara ait prefrontal korteks kesitlerinin TRK- β primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması.....	58

KISALTMALAR DİZİNİ

CBD	Kanabidiol
TSSB	Travma Sonrası Stres Bozukluğu
DSM-5	Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders
PTO	Potansiyel Travmatik Olay
HPA	Hipotalamik-Hipofiz-Adrenal
SRS	Stres Re-Stres Modeli
YAL	Yükseltilmiş Artı Labirent
CRH	Kortikotropin Releasing Hormon
BDNF	Beyin Kaynaklı Nörotrofik Faktör
Pro BDNF	BDNF'nin Öncü Pronörotropin İzofomu
TrkB	Tropomiyozin Reseptör Kinaz B
LTD	Long Term Depression (Uzun Vadeli Depresyon)
BLA	Bazolateral Amigdala
mPFC	Medial Prefrontal Korteks
DEHAM	Deney Hayvanları Araştırma Merkezi
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
HE	Hemotoksilen Eozin
PBS	Posphate Buffer Solution (Fosfat Buffer Solüsyonu)
SH	Standart Hata
HPC	Hipokampüs
PFC	Prefrontal Korteks

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. TSSB Epidemiyoloji	2
2.2. TSSB Predispozan Faktörleri.....	2
2.3. TSSB Komorbidite.....	3
2.4. TSSB Patofizyoloji.....	3
2.5. TSSB Tedavi	4
2.6. Deney Hayvanlarında TSSB Modelleri.....	5
2.6.a. Öğrenilmiş Çaresizlik	5
2.6.b. Zamana Bağlı Duyarlılık	5
2.6.c. Sualtı Travması	6
2.6.d. Yırtıcı Hayvan Kaynaklı Stres.....	6
2.6.e. Sosyal Yenilgi	6
2.6.f. Sosyal İzolasyon	6
2.6.g. Erken Yaşam Stresi.....	6
2.6.h. Kuyruk Süspansiyonu.....	7
2.6.i. Stres Re-stres Modeli	7
2.7. Davranış Deneyleri.....	7
2.7.a. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	7
2.7.b. Açık Alan Testi	8
2.8. Beyin Bölgeleri	9
2.8.a Hipokampus	9
2.8.b Medial Prefrontal Korteks	9
2.9. Değerlendirilen parametreler	9
2.9.a. CRH	9
2.9.b. BDNF, Pro BDNF ve TRKB	10
2.10. Kanabidiol	11
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER.....	13
3.1. Hayvanların Alınması, Barındırılması.....	13
3.2. Deney Grupları.....	13

3.3. TSSB Oluşturma Protokolü	13
3.4.Davranış Deneyleri	14
3.4.a. Açık Alan Testi.....	14
3.4.b. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	14
3.5. Beyin rneklerinin Alınması	14
3.5.a Beyin rneklerinin Biyokimyasal İncelenmesi	15
3.5.b Beyin rneklerinin Histopatolojik Değerlendirilmesi	15
3.5.b.1. HE Boyaması	15
3.5.b.2. İndirekt İmmunohistokimya Boyaması.....	16
3.6.İstatistiksel Analizler	16
4. BULGULAR.....	18
4.1. Davranış Deneyleri.....	18
4.1.a. Açık Alan Testi.....	18
4.1.b. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi	29
4.2. Biyokimyasal Bulgular	36
4.2.a. ELISA Protein Düzeyleri	36
4.3. Histopatolojik Bulgular	40
4.3.a. Hematoksilen Eosin Boyama Bulguları ..	40
4.3.b. İmmunohistokimya Bulguları	42
5.TARTIşMA	59
6.SONUÇ VE ÖNERİLER	68
7.ÖZET	69
8.SUMMARY	70
9.KAYNAKLAR.....	71

1. GİRİŞ

Travma tanımlamalarında ortak olarak; bireyin psikolojik ve fiziksel varlığını birçok şekilde sarsan, inciten, yaralayan herhangi bir olayın varlığı söz konusudur (1, 2). DSM-5 (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders)'te travmanın tanımı "Gerçek bir ölüm veya ölüm tehdidi, ciddi yaralanma veya cinsel şiddete maruziyet" gibi durumları içermiştir (3). Travma sonrası stres bozukluğu (TSSB), gerçek veya algılanan travmatik bir olaya tepki olarak gelişen nöropsikiyatrik bir bozukluktur (4).

Stres etkeninin ortadan kaldırılmasından sonra, fizyolojik homeostatik mekanizmalar normal temel işlevleri geri yükler. Bununla birlikte, özellikle şiddetli bir travmatik stres etkenine tek bir maruziyet veya daha hafif stresörlere uzun süre maruz kalma, bu homeostatik mekanizmaları düzenleyen beyin sinir devrelerinde uyumsuz tepkilere yol açabilir (5, 6, 7, 8). Bu uyumsuz tepkiler, anksiyete bozuklukları, TSSB ve depresyon gibi stresle ilişkili çeşitli psikiyatrik hastalıkların patofizyolojisinde rol oynar (9).

Potansiyel olarak travmatik olaylara maruz kalma dünya genelinde sıklıkla meydana gelmektedir ve epidemiyolojik araştırmalar travmatik strese maruz kalma ile TSSB arasında açık bir bağlantı kurmuştur. Travmatik olaylar, yaşam boyunca yaygın olarak meydana gelir ve çoğu zaman zihinsel ve fiziksel sağlık için önemli sonuçlar doğurur (10). TSSB, hem tedavi maliyeti hem de verimlilik kaybı açısından çok maliyetlidir (11).

Son 20 yılda, TSSB tedavisi için yalnızca 2 ilaç (yani, paroksetin ve sertralin) onaylanmıştır ve bunların her ikisi de sınırlı etkinlik göstermiştir (12, 13). Bu nedenle, sadece yeni bileşikler değil, aynı zamanda TSSB tedavisi için yeni yaklaşımları keşfetmeye acil bir ihtiyaç vardır (14).

Bu çalışmamızda kanabidol etken maddesinin farmakolojik etkinliğinin sıçanlarda travma sonrası stres bozukluğu modeli oluşturularak araştırılması amaçlanmıştır. Bu çalışmamızla yeni bir tedavi seçeneği geliştirme çabalarına katkıda bulunmayı amaçlamaktayız.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.TSSB Epidemiyoloji

Dünya nüfusunun %70' inin travmaya maruz kaldığı ve travmaya maruz kalan bireylerin yaklaşık %6'sının TSSB geliştirdiği tahmin edilmektedir (15). Prevalans, yüksek travma maruziyeti olan seçilmiş popülasyonlarda daha da yüksektir. Örneğin, savaşa maruz kalan Gazilerde TSSB prevalansı %25' e yakındır (16).

Ortalama olarak, aşırı strese maruz kalan bireylerin %10'undan daha azı TSSB geliştirir. Ancak TSSB oranı, saldırı şiddeti sonrasında %20 ve tecavüz mağdurlarında %50'ye kadar çıkmaktadır (17).

2.2.TSSB Predispozan Faktörleri

Mevcut araştırmalar, TSSB riski ile ilişkili bir dizi faktör belirlemiştir. Sivillerde TSSB'yi öngören risk faktörlerinin bir meta-analizi, demografik özelliklerin (örn. cinsiyet, daha genç yaş, ırk/etnik köken) ve erken çevresel koşulların (ör. travma türü veya şiddeti) potansiyel travmatik olay (PTO) maruziyetinden sonra TSSB gelişimi için önemli risk faktörleri olarak hareket ederler (18).

Kadınların PTO' lere maruz kaldıklarında TSSB semptomları geliştirme riskinin daha yüksek olduğu, ancak erkeklerin PTO' ya maruz kalma riskinin kadınlardan daha yüksek olduğu, tutarlı cinsiyet farklılıkları tespit edilmiştir (19).Gerçekten de, TSSB geliştiren kadınların sayısı erkeklerinkinin yaklaşık iki katıdır (20, 21, 22).

Ayrıca, PTO' ya maruz kalma ve TSSB gelişimi riski üzerinde bir yaş etkisi var gibi görünmektedir; bu nedenle, geç ergenlik/erken yetişkinlikteki (yani, 16-25 yaşındakiler) bireyler, PTO' ya maruz kalma ve TSSB semptomlarının gelişimi açısından en büyük risk altındadır (19).

Son olarak, ırk ve etnik köken, risk ve gelişimini etkiliyor gibi görünmektedir; burada TSSB'nin yaşam boyu yaygınlığının kendini Afrikalı Amerikalı olarak tanımlayanlarda en yüksek, Beyaz veya Hispanik olarak

tanımlayanlarda orta ve Asyalı olarak tanımlayanlarda en düşük olduğu bildirilmektedir (23).

Psikososyal ve çevresel faktörler de TSSB olasılığı ile ilişkilendirilmiştir. Ruh sağlığı koşulları (örneğin, depresyon, anksiyete), ailede psikopatoloji öyküsü ve travma sırasında algılanan yaşam tehdidinin sürekli olarak TSSB riskini artırdığı gösterilmiştir (24).

Diğer bir önemli risk faktörü, önceden var olan anksiyete ve/veya depresif bozukluğu olan premorbid bir kişiliktir (25, 26).

Ek olarak, belirli travma türlerinin TSSB'nin koşullu olasılığı üzerinde daha büyük bir etkiye sahip olduğu, travma tipinin bozukluğun gelişimini etkilediği gösterilmiştir. Daha spesifik olarak, birçok çalışma kişilerarası travmaya maruz kalmanın (örn. cinsel saldırı, fiziksel saldırı vb.) TSSB riskini artırdığını bulmuştur (27, 28, 29).

2.3. TSSB Komorbidite

TSSB'nin yüksek düzeyde komorbiditeye sahip olduğu ve sıklıkla duygudurum, anksiyete veya madde kullanım bozuklukları ile birlikte ortaya çıktığı gösterilmiştir (30). Ciddi sakatlık, tıbbi hastalık ve erken ölüm ile ilişkilidir (31).

TSSB'nin diğer psikiyatrik tanılarla yaşam boyu komorbidite %79 ile %88 arasında tahmin edilmektedir (28, 32). Yaygın eş tanılar arasında majör depresif bozukluk, madde kullanım bozuklukları, yaygın anksiyete bozukluğu (33) ve borderline kişilik bozukluğu (34) yer alır.

TSSB hastalarında gözlenen diğer bozukluklar madde ve/veya alkol kötüye kullanımına karşı artan hassasiyet, yaygın anksiyete, hatta intihara teşebbüstür (35, 36, 37).

2.4. TSSB Patofizyoloji

Klinik araştırmalar, hipotalamik-hipofiz-adrenal (HPA) ekseninin işlev bozukluğunu ve serotonerjik sistemin düzensizliğini önemli patofizyolojik faktörler olarak bulmuştur. (38)

TSSB, endokrin sistemdeki ve onun düzenlenmesindeki bozukluklarla karakterize edilir, özellikle HPA ekseninin düzensizliği (39) hipokortizolemiye yol açar (40).

TSSB'nin temel nörokimyasal özellikleri, her biri stres ve korku tepkilerini düzenleyen/bütünleyen beyin devrelerinde bulunan katekolamin, serotonin, amino asit, peptit ve opioid nörotransmitterlerin anormal düzenlenmesini içerir (6).

2.5. TSSB Tedavi

TSSB için kanıta dayalı tedaviler, plasebo ile karşılaştırıldığında orta derecede iyi performans gösterdiği görülen farmakoterapileri ve/veya psikoterapileri içerir (13, 41).

TSSB'nin farmakoterapisi, seçici serotonin (5-HT) geri alım inhibitörleri, monoamin oksidaz inhibitörleri, antikonvülzanlar ve antipsikotikler dahil diğer ilaç sınıflarından oluşur (42).

Son 20 yılda, TSSB tedavisi için yalnızca 2 ilaç (yani, paroksetin ve sertralin) onaylanmıştır ve bunların her ikisi de sınırlı etkinlik göstermiştir (12, 13).

Kontrollü klinik deneyler, TSSB'nin farmakoterapisinin tatmin edici olmaktan uzak olduğunu göstermektedir (43, 44).

Farmakoterapötik müdahalelerin sınırlı etkinliği nedeniyle, TSSB tedavi kılavuzları (Gaziler İşleri ve Savunma Bakanlığı, 2017; Ulusal Sağlık ve Bakım Mükemmelliği Enstitüsü, 2018), TSSB için birinci basamak tedavi olarak maruziyete dayalı psikoterapiyi açık bir şekilde belirlemiştir (14).Yine de, birden fazla psikoterapi yönteminden sonra bile TSSB, yüksek psikiyatrik ve tıbbi komorbidite oranlarıyla sıklıkla kronik bir hastalık olarak kalır (45, 46, 47).Bu nedenle, sadece yeni bileşikler değil, aynı zamanda TSSB tedavisi için yeni yaklaşımları keşfetmeye acil bir ihtiyaç vardır (14).

Birkaç on yıllık aradan sonra, bir dizi psikiyatrik endikasyonun tedavisi için psikedelikler giderek daha fazla araştırılmaktadır (48, 49).

Etki ve etkinlik mekanizmaları hakkında birçok soru olmasına rağmen, psikedelik ilaçlar, depresyon tedavisinden madde kullanım bozukluklarına ve TSSB'ye kadar terapötik potansiyelleri üzerine araştırmalarda bir rönesans görmüştür (49, 50).

TSSB tedavisi için psikedelik ilaçlar giderek daha fazla çalışılıyor olsa da, iyi tasarlanmış klinik çalışmalar hala sınırlıdır (14).

2.6. Deney Hayvanlarında TSSB Modelleri

Hayvanlarda TSSB'yi modellemek genellikle ya tek uzun süreli stres paradigmaları gibi tek bir uzun süreli maruziyette (51) ya da kronik öngörülemez stres gibi birden fazla öngörülemez günlük maruziyet paradigmaları (52) gibi yoğun stresörlerin kullanımını içerir .

Genel olarak, hayvan modellerinin geçerliliği; görünüş, yapı ve öngörücü geçerlilikleri dahil olmak üzere bir kriter kombinasyonu kullanılarak değerlendirilir. Modelin görünüş geçerliliği, insan patolojisi ile ilişkili semptomların tekrarlanabilirliğinin kapsamıdır. Yapı geçerliliği, bir hayvan modelinde tekrarlanabilen insan hastalıklarının varsayılan nedenini ifade eder ve öngörücü geçerlilik, insan semptomlarını iyileştirebilen ve ayrıca hayvan modelindeki özellikleri tersine çevirmesi gereken spesifik ilaçların etkinliğini gösterir (53).

Yehuda ve Antelman , TSSB benzeri bir sendromun indüklenmesinin, hayvan depresyon modellerinde daha kronik ve hafif stresörlerin aksine, kısa ve çok yoğun bir stres etkeni içermesi gerektiğini öne sürdüler (54).

2.6.a. Öğrenilmiş Çaresizlik

Van der Kolk, öğrenilmiş çaresizliği TSSB 'nin kaçınılmaz şokla öğrenilmiş çaresizlik paradigması olarak yeniden tanıttı (55). Kaçınılmaz şoka maruz bırakılan fareler, ilgili bir katekolamin tükenmesi ve varsayılan olarak nörotransmitter konsantrasyonlarındaki değişikliklere bağlı olarak aktif motor yanıt performansında eksiklikler gösterdi (56). Fakat Özellikle Yehuda ve Antelman, kalıcı davranış değişikliklerine neden olamadığı için paradigmanın yararlılığını sorgulamışlardır (54).

2.6.b. Zamana Bağlı Duyarlılık

1988'de Antelman, çok kısa ve yoğun bir uyarıcı ve ardından farmakolojik ve farmakolojik olmayan stres faktörlerine karşı uzun süreli ve aşamalı olarak güçlendirilmiş bir yanıt içeren bu paradigmayı tanımladı.. Tehlikeli, potansiyel olarak yaşamı tehdit eden bir uyarıcı; çok daha sonra uygulansa bile, benzer veya daha zayıf bir uyarıcıya verilen sonraki tepkileri yoğunlaştırır (57).

Bu modelde, kutuya maruz kalma (58) veya hareketsizleştirme (59 ,60) gibi psikolojik stres etkenlerinin yanı sıra ayrıca kokain enjeksiyonu (59) gibi farmakolojik stres etkenleri sıçanlarda olmak üzere farklı stres etkeni türleri kullanılmıştır.

2.6.c. Sualtı Travması

Richter-Levin, su altı travmasını kullanarak bir TSSB modeli geliştirdi (61). Bu modelde fareler platformun çıkarıldığı bir Morris su labirentinde 1 dakika yüzmeye zorlanır (62). Daha sonra 30 saniye su altında tutulurlar ve daha sonra dinlenme kafesine geri dönerler.

2.6.d. Yırtıcı Hayvan Kaynaklı Stres

Tipik olarak, kemirgen çok kısa bir süre (5-10 dakika) yırtıcı hayvana (63, 64) veya yırtıcı koku maddelerine, örneğin kirli kedi kumu (65)'ya maruz kalır. Bir farenin 5 dakikalık bir kediye maruz kalması, farede yüksek artı labirentinde anksiyete benzeri davranışlarda artışa yol açar, ki bu 3 hafta sonra hala saptanabilir [64].

2.6.e.Sosyal Yenilgi

Fareler, bir 'kafes içinde kafese yerleşik saldırgan' protokolünde 5 veya 10 gün boyunca günde 6 saat özel eğitilmiş bir saldırgan maruz bırakılır. Sosyal yenilgiye maruz kalan hayvanların, artan donma, kuyruk sallama eksikliği (66), akustik irkilmelere karşı gelişmiş ve uzun süreli tepki (67) ve kilo kaybı (67) gibi kalıcı TSSB benzeri davranışlar sergiledikleri gösterilmiştir.

2.6.f. Sosyal İzolasyon

Uzun süreli sosyal izolasyon , laboratuvar hayvanlarında hiperlokomosyon, kaygı benzeri davranış, saldırganlık, bilişsel değişiklikler ve nöroendokrin değişiklikleri dahil ilgili davranışsal ve fizyolojik rahatsızlıklara neden olur (68, 69, 70). 3-4 haftalık sosyal izolasyona maruz kalan farelerde bağlamsal korku tepkileri ve bozulmuş korku sönmesinde artış görülür (71).

2.6.g. Erken Yaşam Stresi

Erken yaşam stresi (ör. çocuklukta istismar veya ihmal), insanlarda TSSB'ye karşı hassasiyeti önemli ölçüde artırır (72). Erken yaşam stresi çoğunlukla anne yoksunluğu kullanılarak modellenir. Sıçanlarda, yaşamın ilk

2 haftasında günde 3 saat annenin ayrılmasının, yetişkinlikte hafif handling stresine yanıt olarak akustik irkilme tepkisinde artışa, kaygı benzeri davranışlarda artışa ve aşırı kortikosteron salgılanmasına yol açtığı gösterilmiştir (73).

2.6.h. Kuyruk Süspansiyonu

Bazı kronik stres modelleri kuyruk süspansiyonunu içerir. Burada fareler kuyruk tarafından askıya alınır ve birkaç dakikaya kadar kısa bir süre havada asılı kalır. Bu, hayvanın boğuşma/tırmanma veya pasif asılı kalma şeklinde olabilen davranışsal tepkisinin bir değerlendirilmesiyle birleştirilebilir (74).

2.6.i. Stres Re-stres Modeli

Stres re-stres modeli (SRS), değişken travmatik stresler ve TSSB benzeri fenotiplerin ortaya çıkmasında rol oynayan kısa "hatırlatma" bölümleri olarak hareket eden bağlamsal tetikleyiciler içerir (75).

SRS, ilk travma olarak uzun süreli tek stresi vurgular ve bunu 1 hafta sonra daha incelikli bir yeniden stres prosedürü izler. Yeniden stresle birlikte tek bir uzun süreli stres, uzamsal bellek eksiklikleri ve kaygı (76, 77) hipokortizolemi (51, 76, 77) korteks ve hipokampusta farklı serotonin reseptörü ve monoamin tutulumu (76, 77) ve antidepresan tedaviye yanıt dahil (78) olmak üzere travma sonrası stres bozukluğu için dikkate değer yüz, yapı ve tahmin geçerliliği gösterir.

2.7.Davranış Deneyleri

2.7.a. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent (YAL) , Handley ve Mithani tarafından tanımlanan ve çevreye açık iki zıt koldan ki bu kollar açık kollar olarak isimlendirilir, ve duvarlarla donatılmış iki kapalı zıt koldan ki bu kollar da kapalı kollar olarak isimlendirilir; oluşan dört yükseltilmiş koldan oluşan artı şeklinde bir aparattır (79).

Kemirgenler üzerinde tek başına gerçekleştirilen EPM testi, farklı ilaçların anksiyolitik veya anksiyojenik etkisini araştırmak için de uygun bir yöntemdir (80).

Anksiyete benzeri davranış, hem insanlarda hem de TSSB'nin deneysel çalışmalarında gözlemlendi. Açık kol girişlerindeki azalma ve açık kollarda geçirilen süre, yükseltilmiş artı labirent testinde kaygı benzeri davranışın göstergeleridir (81).

Tedaviden sonra, YAL'da kontrol (tedavi edilmemiş) hayvanlara kıyasla açık kollarda daha fazla zaman harcanması ve/veya açık kol girişlerinin sayısının artması tespit edilirse, bu bir anksiyolitik etkiyi gösterir (82, 83).

EPM testlerinden hemen önce kemirgenlerin yeni bir test ortamına (açık alan testi gibi) önceden maruz bırakılması, hayvanların EPM üzerindeki davranışını değiştirebilir (84, 82).

Farklı stres faktörlerinin, ilaç uygulamalarının (örneğin enjeksiyonlar), nakliye stresinin ve handlingin, kemirgenlerin EPM üzerindeki davranışlarını ve davranışsal tepkilerini değiştirebileceği gösterilmiştir (85).

Farklı barınma koşullarının ve ışık döngüsü/sirkadiyen ritimlerin davranış üzerindeki ve EPM sonuçları üzerindeki etkileri, hayvanların hormonları ışık döngüsü tarafından düzenlendiğinden daha önce gösterilmiştir (86).

2.7.b. Açık Alan Testi

Hayvan psikolojisinde en yaygın olarak kullanılan davranış ölçülerinden biri olma statüsüne ulaşmıştır (87). Birçok davranışsal kaygı testi, söz konusu hayvanın vücut aktivitesine ve hareketine dayanır (88).

Bu veriler, araştırmacının genel lokomotor aktiviteden kaygıyla ilgili duygusal davranışlara kadar değişen davranışları ölçmesine olanak tanır (89).

Bu testte, hayvanların duvarlarla çevrili açık bir alanı özgürce keşfetmelerine izin verilir. Böyle bir durumda, kemirgenler, arenanın orta bölgesinden kaçınma ve arenanın çevresinde kalma eğilimi olan tigmotaksis gösterir.

Merkezi bölümde geçirilen sürenin yanı sıra merkezi/toplam hareket oranının artması veya orta bölüme girme gecikmesinin azalması anksiyolitik belirtilerdir.

Toplam hareket ve dikey keşifte değişiklik olmaksızın merkezi harekette veya cihazın orta kısmında geçirilen sürede bir artış, anksiyolitik

benzeri bir etki olarak yorumlanabilirken, aksine bu değişkenlerin azalması, anksiyojenik ile ilişkilidir (90).

2.8. Beyin Bölgeleri

TSSB için önemli olan nöral yapılar, hem insanlarda hem de hayvanlarda duygusal işleme için önemli bir bölge olan limbik sisteme aittir (91).

2.8.a Hipokampus

Hipokampus açık bellek süreçlerinde ve korku koşullandırması sırasında bağlamın kodlanmasında yer alır (92, 93, 94). Sıçan hipokampusundaki farmakolojik lezyonlar ve inaktivasyonun, bağlamsal korku belleği oluşumunu engellediği gösterilmiştir (95,96).

Hayvanlarda, hipokampal hücre hasarı ve hafıza bozukluğu, aşırı stres faktörlerinden ve stresle ilgili yüksek hormon düzeylerinden kaynaklanabilir (97, 98, 99). Hem hipokampal atrofi hem de fonksiyonel eksiklikler SSRI'lar ile tedaviden sonra önemli ölçüde düzelir (100) öyle ki SSRIların nörotrofik faktörleri ve nörojenezi arttırdığı bazı prelinik çalışmalarda gösterilirken (101), ancak diğerlerinde gösterilmemiştir (102).

2.8.b Medial Prefrontal Korteks

Medial prefrontal korteks, korku koşullandırmasının yok edilmesi ve sönme korunması sürecinde yer alır (103), (104), (105).

Frontal korteks ise sadece stresle ilişkili nöroendokrin fonksiyonun düzenlenmesine aracılık etmekle kalmaz (106), (107), aynı zamanda özellikle amigdalanın uygunsuz duygusal ve korku tepkilerini azaltarak (108) duygular ve hafıza oluşumu arasındaki etkileşime aracılık eder (109).

Frontal kortikal hipofonksiyon sadece korku davranışındaki eksiklikleri açıklamaya yardımcı olmakla kalmaz, aynı zamanda travma sonrası stres bozukluğunda anormal dikkat işleme ve açık hafıza işlevi için de yardımcı olur (110).

2.9 Değerlendirilen parametreler

2.9.a. CRH (Kortikotropin Releasing Hormon)

Travma sonrası stres bozukluğu (TSSB) olan hastalar, düşük kortizol seviyeleri (111), deksametazon uygulamasını takiben artan kortizol

baskılanması (112, 113, 114) ve lenfositlerde glukokortikoid reseptörlerinin artan sayısı ve reaktivitesi (113) dahil olmak üzere hipotalamus-hipofiz-adrenokortikal (HPA) sisteminde değişiklikler gösterir. Bu bulgular, merkezi negatif feedback fonksiyonunun azaldığı açıklanan depresyon hastalarındaki biyolojik durumun aksine, HPA sisteminin artan negatif feedback mekanizmasını yansıtacak şekilde yorumlanmıştır (115).

Bununla birlikte, örneğin CRH'ye körelmiş bir ACTH yanıtı (116) ve artan BOS CRH konsantrasyonları (117, 118) gibi bazı HPA sistemi değişiklikleri her iki bozuklukta da benzerdir.

Ancak son zamanlarda, TSSB'deki HPA sistem anormalliğinin düşük kortizol ve gelişmiş feedback hipotezi, kortizol konsantrasyonlarının değişmediğini veya hatta arttığını gösteren çalışmalarla sorgulanmıştır (119, 120, 121, 122).

TSSB tanısı konan hastaların ve önemli çocukluk çağı travma öyküsü olan bireylerin beyin omurilik sıvısında CRH yükselir (117, 123, 124). Kemirgen ve primat çalışmaları ayrıca, erken stresin beyin omurilik sıvısı ve limbik beyin bölgelerindeki CRH konsantrasyonunu arttırdığını göstermiştir (125, 126).

2.9.b. BDNF, Pro BDNF ve TrkB

Beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF), nöronal hayatta kalma, morfolojik değişiklikler ve sinaptik plastisite dahil olmak üzere birçok biyolojik rolü olan bir nörotrofindir (127).

Beyin kaynaklı nörotropik faktör (BDNF)- Tropomiyozin reseptör kinaz B (TrkB) yolu, sinaptik plastisitenin altında yatan ve ayrıca hem insanlarda hem de hayvan korku koşullandırma, yok olma ve önleyici öğrenme modellerinde TSSB'de yer alan bir ligand-reseptör sisteminin bir örneğini sağlar (128).

BDNF, sinaptik güç ve öğrenmede uzun süreli artışlarda önemli bir rol oynar (129). BDNF, reseptörü TrkB'nin fosforilasyonu yoluyla plastisiteyi başlatabilir (130).

TRKB, beyin kaynaklı nörotrofik faktör (BDNF) için bir reseptör ve beyinde iyi bilinen bir plastisite aktivatörüdür (131, 132, 133).

BDNF/TrkB sinyalinin nöronlar arası gelişim, bakım, plastisite ve engelleyici iletim üzerinde iyi bilinen etkileri vardır. Nöronal gelişimsel olgunlaşma, BDNF tarafından TrkB reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla trofik desteğe bağlıdır.(134, 135, 136).

proBDNF (BDNF'nin öncü pronörotropin izoformu), öğrenmeyi (137, 138) ve korku sönme hafızasını (137, 139) artıran sinaptik iletimi zayıflatan (uzun vadeli depresyon) LTD'nin uyarılmasını kolaylaştırarak sinirsel yeniden şekillenmeyi olumsuz şekilde düzenleyebilir (140).

Olgun beyin kaynaklı nörotrofik faktör (mBDNF) ve bunun öncüsü proBDNF, nörotrofin ailesinin (NT'ler) bir üyesi olarak merkezi sinir sisteminde (CNS) yaygın olarak dağıtılır. Mevcut görüş genellikle NT'lerin nöronlar üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğuna inanılmaktadır (141).

Son çalışmalar, proBDNF'nin uzun süreli depresyon ve hücrel apoptozu ortaya çıkardığını, mBDNF'nin ise uzun süreli güçlenmeyi ve hücre sağkalımını tetiklediğini bildirmiştir. Bu, hem mBDNF hem de proBDNF'nin aynı genden türetilmiş olmasına rağmen, zıt rollere sahip olduklarını kuvvetle önerir (142, 143, 144, 145).

2.10. Kanabidiol

Endokannabinoid sistemi, kannabinoid reseptörlerinden (CB1 ve CB2), bunların endojen lipid ligandlarından ve endokannabinoid sentezi ve yıkımı için enzimatik mekanizmadan oluşur (146). Yakın tarihli klinik ve klinik öncesi kanıtlar, bu sistemin TSSB gibi stres ve anksiyete ile ilgili bozuklukların tedavisi için terapötik bir hedef olduğunu göstermektedir (147, 148, 149, 150, 151, 152).

CB1 kanabinoid reseptörleri bazolateral amigdala (BLA) ve medial prefrontal korteks (mPFC)'de bol miktarda eksprese edilir ve korku ve kaygı sinyallemesinin önemli modülatörleridir (153). Önceki çalışmalar, TSSB'li deneklerde (154) ve ayrıca kemirgen TSSB modellerinde (155) CB1 reseptörlerinin düzensiz ekspresyonunu ve anormal seviyelerde endokannabinoidleri ortaya çıkarmıştır. Kemirgenlerde, CB1 reseptörlerinin genetik veya farmakolojik inhibisyonu sönmeyi bozar (147), CB1

agonistlerinin sönmeyi artırıcı etkileri vardır (156, 157). Bununla birlikte, CB1 agonistleri, klinik yararlarını tehlikeye atabilecek bifazik anksiyojenik ve anksiyolitik etkiler de üretebilir (158, 159). Son zamanlarda yapılan birkaç çalışma, tetrahidrokanabinol benzeri psikoaktif etkilerden yoksun olan bir esrar bileşeni olan kanabidiolün (160), hem insanda hem kemirgende de sönmeyi artırarak ve travma sonrası kaygıyı azaltarak TSSB semptomlarını hafifletmeye hizmet edebileceğini göstermiştir (161, 162).

İnsanlarda, sentetik kannabinoid nabilonun potansiyel faydaları TSSB hastalarında gösterilmiştir (148). Diğer çalışmalar, stresli olmayan sıçanlarda kannabinoid sistemik aktivasyonunun korkunun yok olmasını kolaylaştırdığını ileri sürmüştür (163).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvanların Alınması, Barındırılması

Çalışmamız Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 27.04.2021 tarihli ve 77.637.435/182 nolu onayıyla başlamıştır. Ayrıca çalışmamız Manisa Celal Bayar Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 2021-074 proje numarasıyla desteklenmiştir. Bu çalışmada Manisa Celal Bayar Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (MCBÜDEHAM) temin edilen, ilgili birimde görevli veteriner hekim tarafından kontrolden geçirilerek sağlıklı oldukları onaylanan 50 adet Wistar cinsi yaklaşık 8 haftalık olan ve ağırlıklarının medyan değeri 250 gr olan erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanların barınma, beslenme ve enjeksiyonları DEHAM'da gerçekleştirilmiş olup, stres prosedürleri, davranış deneyleri ve numune alım işlemleri ratlara uygun tıbbi farmakoloji laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Sıçanlar 12 saat aydınlık / 12 saat karanlık siklusa, nem oranı %50±5 ve sıcaklığı 22±2 C°'de tutulan odaya alınmıştır. Ratlar altışarlı kafeslerde ve kuyrukları boyanmak sureti ile işaretlenmiştir. Hayvanların beslenmesinde, standart sıçan yemi ve şehir suyu kullanılarak, yiyecek ve su alımlarına kısıtlama getirilmemiştir. Çalışmanın tüm aşamalarında Helsinki Bildirgesi'nde yazılı hayvan deneyleri için gerekli etik kurallara uyulmuştur.

3.2. Deney Grupları

Deney hayvanları rastgele dağılımla her grupta on hayvan olacak şekilde beş gruba ayrılmıştır. Gruplar şu şekildedir.

1. Grup: Kontrol grubu
2. Grup: Stres grubu
3. Grup: Stres+Kanabidiol 5 grubu
4. Grup: Stres+Kanabidiol 10 grubu
5. Grup: Stres+Essitalopram grubu

3.3. TSSB Oluşturma Protokolü

Hayvanlarda TSSB oluşturmak için SRS modeli uygulanmıştır. Bu modeli oluşturmak için 2 saat boyunca tüpte sıkıştırma, 20 dakika zorlu yüzdürme ve 15 dakika kurulanmadan sonra eter anestezisi sırasıyla ve ard arda olacak şekilde uygulanmıştır. 7. günde her bir sıçan yeniden zorlu yüzme işlemine tabi tutulmuştur. Stres prosedürü kontrol grubu hariç diğer tüm gruplara uygulanmıştır. Bu modele başlanan ilk günden başlayarak stres+kanabidiol 5 grubuna 5 mg/kg/ gün, stres+kanabidiol 10 grubuna 10 mg/kg/ gün ve stres+essitalopram grubuna 5 mg/kg/gün olacak şekilde ilaç tedavisine başlanmıştır ve ilaç tedavisi 14 gün boyunca uygulanmıştır.

3.4. Davranış Deneyleri

Hayvanlara çalışmanın başlangıcında ve sonunda davranış deneyleri yapılmıştır. Davranış deneyleri yüksek artı labirent ve açık alan testi şeklindedir.

3.4.a Yüksek Artı Labirent

YAL düzeneği yerden 60 cm yükseklikte kollarının ikisi açık, ikisi kapalı olmak üzere her kolu 42x14.5 cm olan ve kapalı kolların yanlarında 22,5 cm yüksekliğinde duvarlar bulunan artı biçiminde bir labirenttir. Labirentin tepesine deneyi kayıt için bir kamera monte edilmiştir.

Her bir sıçan merkezdeki kare biçimindeki alana, yüzleri açık kollardan birine bakacak şekilde bırakılmıştır ve labirenti serbestçe keşfetmelerine izin verilmiştir. Deneyin toplam süresi 5 dakikadan oluşmaktadır. Hayvanların bu süredeki davranışları otomatik yazılım (Any maze) tarafından kaydedildi ve analiz edildi.

3.4.b. Açık Alan Testi

Açık alan aygıtı 100x100x40 cm boyutlarındadır. Aygıtın tepesine deneyi kayıt için bir kamera monte edilmiştir. Alan, transvers çizgiler ile bilgisayar ortamında 25 eşit kareye bölünmüştür. Her bir hayvan açık alanın orta kısmına bırakılmıştır. Testin toplam süresi 5 dakikadır. Her iki arka ayak bir kareye girdiğinde, bir giriş/geçiş olarak kaydedilmiştir. Toplam kat edilen mesafe, merkezde geçirilen süre gibi parametreler kaydedilmiş ve analiz edilmiştir.

3.5. Beyin Örneklerinin Alınması

Beyin dokusu uygun yöntemle çıkarılmıştır. Beyin yarım kürelerinin bir yarısı daha sonra çalışılmak üzere formaldehit içeren tüplere konmuştur. Diğer yarısı da alüminyum folyo ile zedelenmeyecek şekilde kaplanıp azot sıvısıyla ani dondurma işlemine tabi tutulmuştur. Sonrasında aynı gün -80°C 'ye kaldırılmıştır.

3.5.a Beyin Örneklerinin Biyokimyasal İncelenmesi

Analiz edileceği zaman beyinler -80°C 'den çıkartılıp çalışma için uygun sıcaklığa gelmesi beklenmiştir. Beyin dokusu içinden hipokampuslar uygun yöntemle izole edilmiştir. Çıkarılan hipokampuslar hassas terazi ile tartılmış, üzerine tartılan ağırlığın 9 katı tampon çözelti eklenmiş ve homojenize edilmiştir. Elde edilen homojenat 3500 RPM'de 15 dk santrifüj edilmiştir ve elde edilen süpernatant ependorflara konulup çalışılacak güne kadar -80°C 'de muhafaza edilmiştir. Çalışma öncesi süpernatantlar oda sıcaklığına getirilmiştir ve proBDNF, BDNF, CRH, TrkB düzeyleri ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) yöntemi kullanılarak kit protokolüne uygun olarak çalışılmış ve mikroluka okuyucu cihaz ile analiz edilmiştir.

3.5.b Beyin Örneklerinin Histopatolojik Değerlendirilmesi

Formaldehit içeren tüplerdeki beyin dokularından bistüri yardımıyla prefrontal korteksi ve hipokampusu içeren bölgeler ayrı parçalar halinde kesildi. Etiketleme ve boğçalama (kasetleme) işlemlerinden sonra dokular gece boyunca akarsuya bırakıldı. Ardından % 60'tan % 96 ya kadar alkol serilerinden ve daha sonra Ksilen-Alkol, Ksilen, Ksilen-Parafin, Parafin serilerinden geçirildikten sonra metal kalıplar yardımıyla parafin gömme işlemi yapıldı. $+4^{\circ}\text{C}$ 'de soğutma işleminden sonra parafin bloklar kalıplardan çıkarıldı. Bloklardan Rotary mikrotom (RM 2135, Leica) yardımıyla 5 mikrotom kalınlığında kesitler alındı.

3.5.b.1. Hemotoksilen Eozin (HE) Boyaması

Rotary mikrotom (RM 2135, Leica) aracılığı ile alınan $5\ \mu\text{m}$ 'lik parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C 'lik etüvde bırakıldıktan sonra, 30'ar dakika iki değişim ksilene tabi tutuldu. Ardından rehidratasyon işlemi için %95'ten %60'a azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika akarsu altında yıkandı. Kesitler 2 dakika hemotoksilen ile boyamanın

ardından, fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması için 5 dakika akar suda yıkanan kesitler 30 saniye eozin ile boyandı. Aynı şekilde 5 dakika akar su altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilenle tutulduktan sonra entellan ile kapatıldı. Preparatlar ışık mikroskobunda incelenerek gruplar arasındaki farklılıklar değerlendirildi.

3.5.b.2. İndirekt İmmunohistokimya Boyaması

Alınan kesitler immunohistokimyasal boyama için bir gece 60 C°'lik etüvde tutulduktan sonra, 30'ar dakika iki saat değişim ksilen ile şeffaflaştırma işlemi gerçekleştirildi. Ardından %95'ten %60'a azalan derecede alkol serileri ile rehidratasyon sağlanarak distile suda 5 dakika bekletildi. Dakopen ile sınırlandırılan %0,5'lik tripsin solüsyonu içinde oda sıcaklığında 15 dakika tutulan kesitlere, doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dakika %3'lük H₂O₂ uygulandı. 3 defa 5'er dakika fosfat tampon solüsyonu PBS (Posphate buffer solution) ile yıkanan kesitlere bloklama amacıyla 1 saat bloklama solusyonu ile muamele edildi. Bloklama solusyonu dokudan uzaklaştırıldıktan sonra primer antikorlar anti-proBDNF, anti-BDNF, anti-CRH, anti-TrkB ile bir gece inkübe edildi. Ertesi gün tampon solüsyonu ile 3 defa yıkanan kesitler, anti-mouse biotin-streptavidin hidrojen peroksidaz ikincil antikor ile 30'ar dakika boyandı. Yine üç defa 5'er dakika tampon solüsyonu ile yıkanan kesitler, oluşturulan immunohistokimyasal reaksiyonun görünürlüğünü saptamak amacıyla DAB ile 5 dakika boyandı. Mayer's hematoksilen ile artalan boyaması sağlandıktan sonra distile su ile 10 dakika yıkanan kesitler kapatma medyumumu ile kapatıldı. İmmunohistokimyasal değerlendirme incelenerek zayıf [+], orta [++] ve şiddetli [+++] olarak değerlendirildi. Boyanan hücre miktarı H-skor yöntemiyle hesaplandı ve veriler istatistiksel olarak analiz edildi.

3.6. İstatistiksel Analizler

Bilgisayar ortamına dijital veri olarak aktarılan kayıt verileri, SPSS for Windows 23.0 istatistik programında analiz edilmiştir. Veriler ortalama $\pm$ standart hata (SH) olarak verilmiştir. İstatistiksel hesaplamalar, gruplar arası değerlendirmelerde one-way ANOVA ve her bir grup için kendi içinde deney

öncesi ve sonrası parametreleri paired-t testi kullanılarak hesaplanmıştır.
 $p < 0,05$ olduğunda istatistiksel olarak anlamlı farklılık kabul edilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Davranış Deneyleri

4.1.a. Açık Alan Testi

Açık alan testinde, gruplara ait veriler one-way anova kullanılarak değerlendirilmiş ve Tablo 4.1’de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Sıçanlarda TSSB modelinde deney sonrası açık alan testinde ölçülen parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması [one-way anova].
(Essitalopram: 5 mg/kg/gün , CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün.n=9-10 her bir grup için.)

GRUPLAR	Çizgi Geçiş Sayısı	Mobil Zaman(s)	İmmobil Zaman(s)	Kenar Zon Giriş Sayısı	Kenar Zon Zaman(s)
Kontrol	111,9± 35,3	68,3±19,8	231,7±19,8	1,6±0,4	297,4±0,9
Stres	93,9±19,2	66,9±11,8	233,1±11,8	1,6±0,3	295,9±1,3
Stres + Essitalopram	92,2±18,5	61,8±14,3	238,2±14,3	3±1,4	294,7±1,9
Stres + CBD5	67,2±12,2	30,3±6,5	269,7±6,5	1,1±0,1	295,5±2,6
Stres + CBD10	73±9,8	37,7±5,8	262,3±5,8	1,2±0,1	296,2±1,3

Deney gruplarının ortalamaları one-way anova ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında davranış parametrelerinde anlamlı bir değişiklik gösterilememiştir [Tablo 4.1].

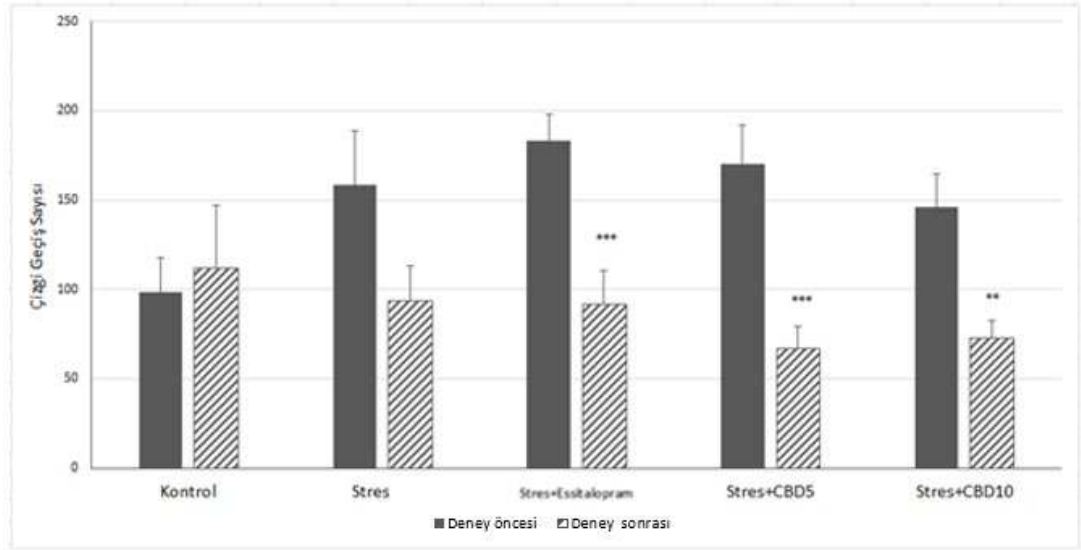
Tablo 4.2. Sıçanlarda TSSB modelinde deney sonrası açık alan testinde ölçülen parametrelerin gruplar arasında one-way anova kullanılarak

karşılaştırılması. (Essitalopram: 5 mg/kg/gün , CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün.n=9-10 her bir grup için.)

GRUPLAR	Merkez Zon Giriş Sayısı	Merkez Zon Zaman(s)	Donma Zamanı(s)	Merkez Zon Mesafesi(m)	Kenar Zon Mesafesi(m)
Kontrol	1,4±0,5	2,6± 0,9	185,7±23,5	0,6±0,3	9,7±3,8
Stres	1,4±0,2	4,1±1,3	158,5±15,5	1,2±0,5	7,1±1,9
Stres + Essitalopram	3,1±1,4	5,3±1,9	183,4±19,7	0,9±0,4	7,3±1,9
Stres + CBD5	0,9±0,1	4,9±2,6	219,9±9,1	0,5±0,1	3,3±1,2
Stres + CBD10	1,2±0,2	3,7±1,3	208,8±8,8	0,4±0,1	4,2±0,8

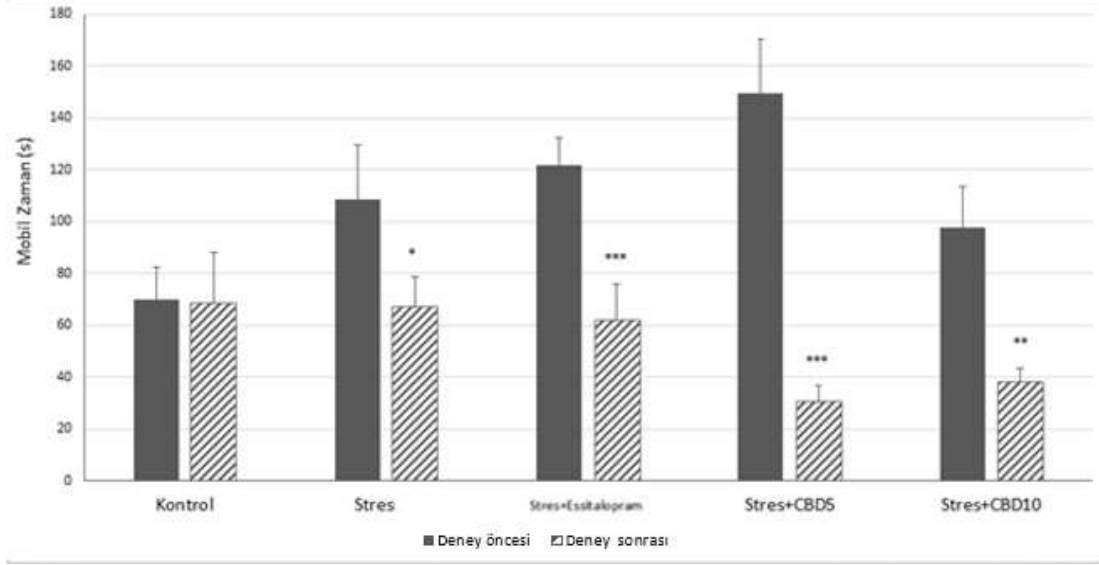
Deney gruplarının ortalamaları one-way anova ile karşılaştırıldığında, gruplar arasında davranış parametrelerinde anlamlı bir değişiklik gösterilememiştir. [Tablo 4.2]

Açık alan testinde, grupların deney öncesi ve sonrasına ait verileri her bir grup için paired t-test kullanılarak değerlendirilmiş ve Şekil 4.1-4.10'da gösterilmiştir.



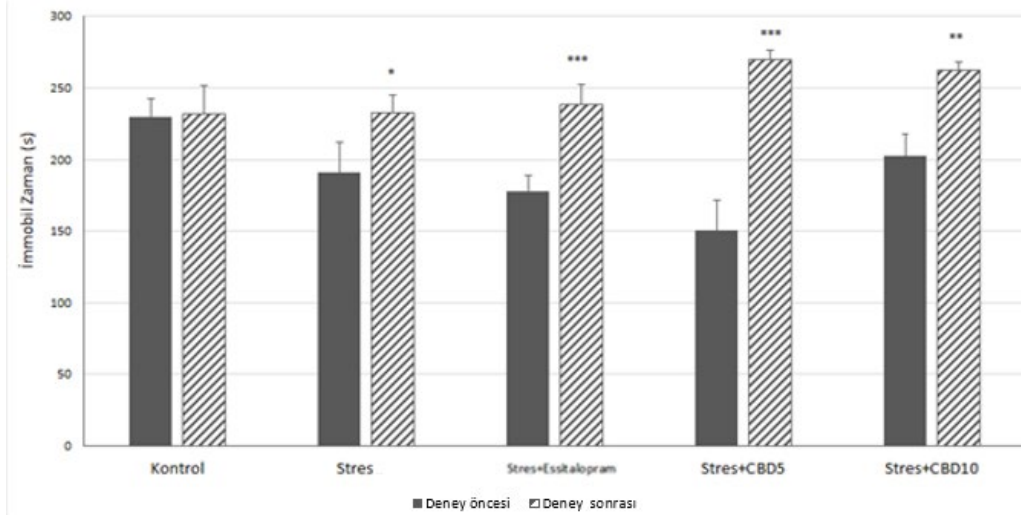
Şekil 4.1. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası çizgi geçiş sayısı değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram:5 mg/kg/gün , CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10:Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde çizgi geçiş sayısı, stres uygulanmış grupta, paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, strese bağlı olarak çizgi geçiş sayısının azaldığı, ancak anlamlı olmadığı gözlemlenmiştir. Stres+essitalopram ve Stres+kanabidiol gruplarında çizgi geçiş sayısının azaldığı gözlemlenmiştir. [Şekil 4.1].



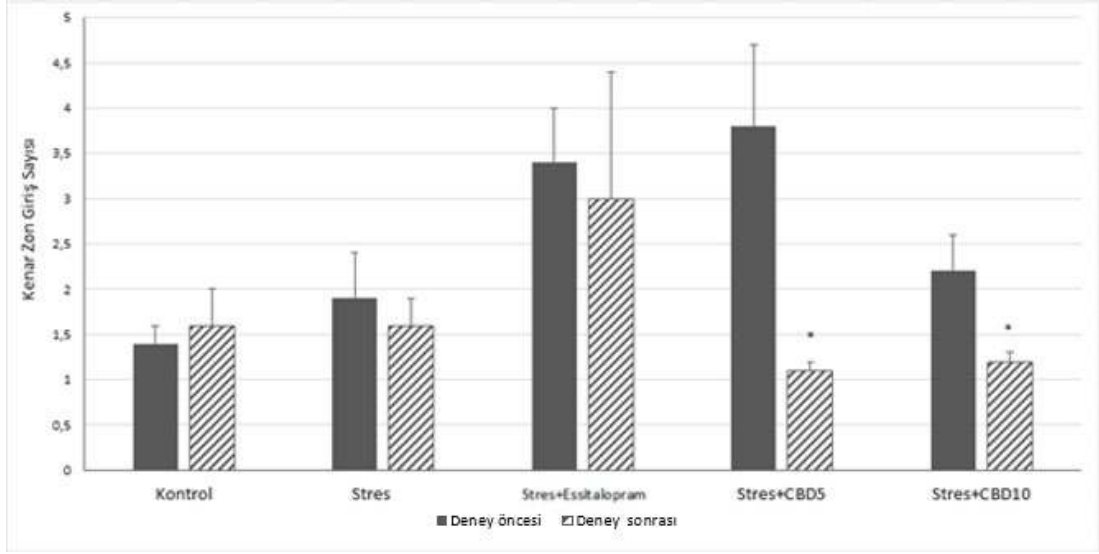
Şekil 4.2. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası mobil zamanın saniye cinsinden değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde mobil zaman, stres uygulanmış grupta, Stres+essitalopram ve Stres+kanabidiol gruplarında paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, mobil zamanın anlamlı olarak azaldığı gözlemlenmiştir. [Şekil 4.2].



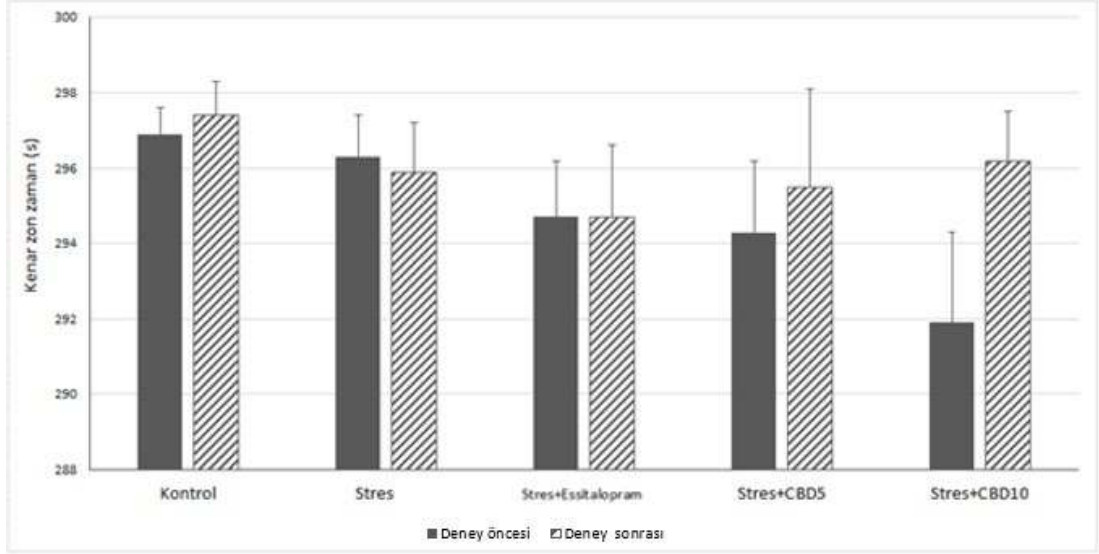
Şekil 4.3. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası immobil zamanın saniye cinsinden değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde immobil zaman, stres uygulanmış grupta, Stres+essitalopram ve Stres+kanabidiolün her iki dozunda paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, immobil zamanın anlamlı olarak arttığı gözlemlenmiştir. [Şekil 4.3].



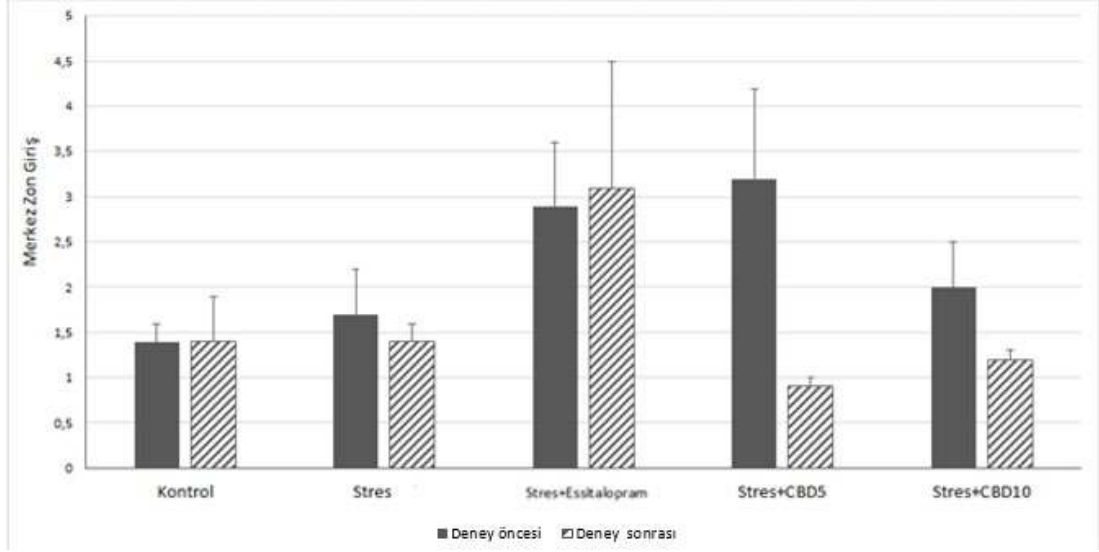
Şekil 4.4. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kenar zona giriş sayısı değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde kenar zon giriş sayısı paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, Stres+ essitalopram verilen grupta azalmıştır fakat anlamlı bir farklılık yoktur. Stres+kanabidiol 5ve stres+kanabidiol 10 gruplarında ise anlamlı olarak azalmıştır.[Şekil 4.4].



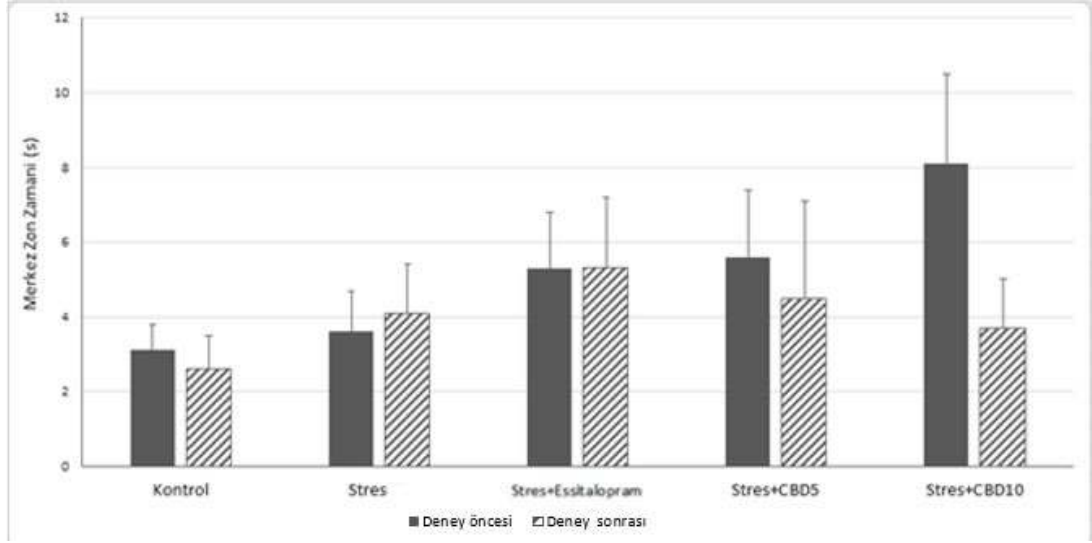
Şekil 4.5. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kenar zonda geçirilen zaman değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde kenar zonda geçirilen zaman, grupların her birinin kendi içinde deney öncesi ve sonrası parametreleri paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, anlamlı farklılık gözlenememiştir[Şekil 4.5].



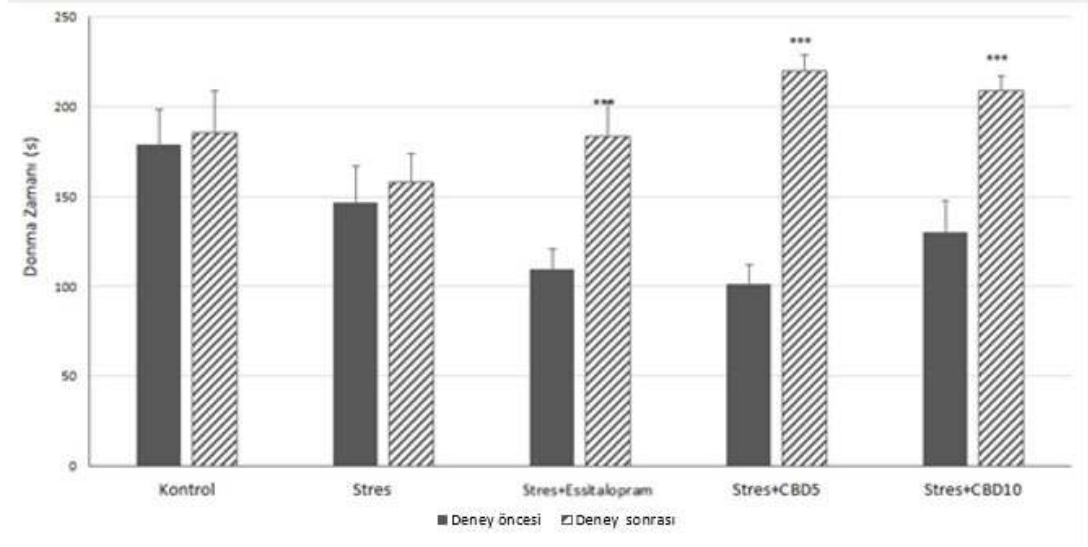
Şekil 4.6. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası merkez zona giriş değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde merkez zona girişlerde grupların her birinin kendi içinde deney öncesi ve sonrası parametreleri paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, anlamlı farklılık gözlenememiştir [Şekil 4.6].



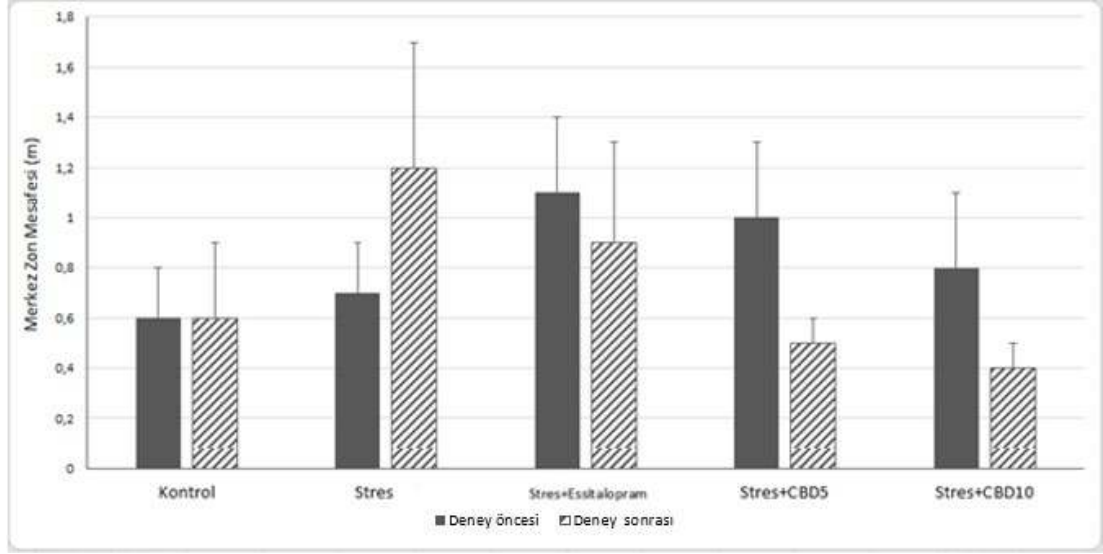
Şekil 4.7. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası merkez zonda geçirilen zaman değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde merkez zonda geçirilen zamanlarda grupların her birinin kendi içinde deney öncesi ve sonrası parametreleri, paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, anlamlı farklılık gözlenememiştir [Şekil 4.7].



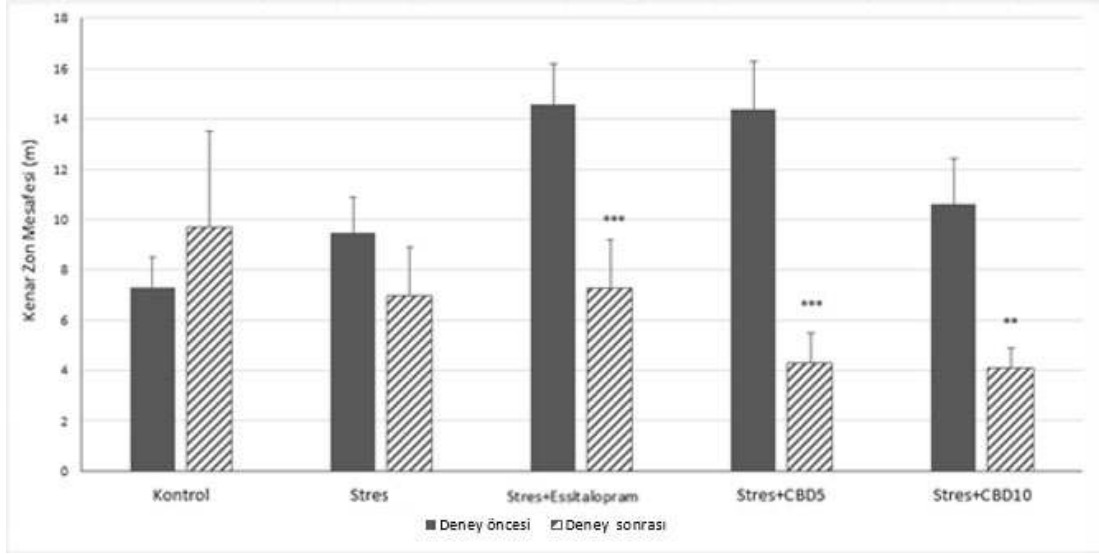
Şekil 4.8. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası donma zamanı değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde donma zamanı paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, stres grubunda donma zamanında artışa eğilim olmasına rağmen farklılık anlamlı değildir. Stres+essitalopram ve Stres+kanabidiol gruplarında ise donma zamanında anlamlı artış gözlemlenmiştir. [Şekil 4.8].



Şekil 4.9. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası merkez zon mesafesi değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde merkez zon mesafesi grupların her birinin kendi içinde deney öncesi ve sonrası parametreleri paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, anlamlı farklılık gözlenememiştir [Şekil 4.9].



Şekil 4.10. Sıçanlarda açık alan testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kenar zon mesafesi değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

Açık alan testinde kenar zon mesafesinde paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, stres grubunda kenar zon mesafesinde azalmaya eğilim olmasına rağmen farklılık anlamlı değildir. Stres+essitalopram ve stres+kanabidiol gruplarında ise kenar zon mesafesinde anlamlı azalma gözlemlenmiştir [Şekil 4.10].

4.1.b. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

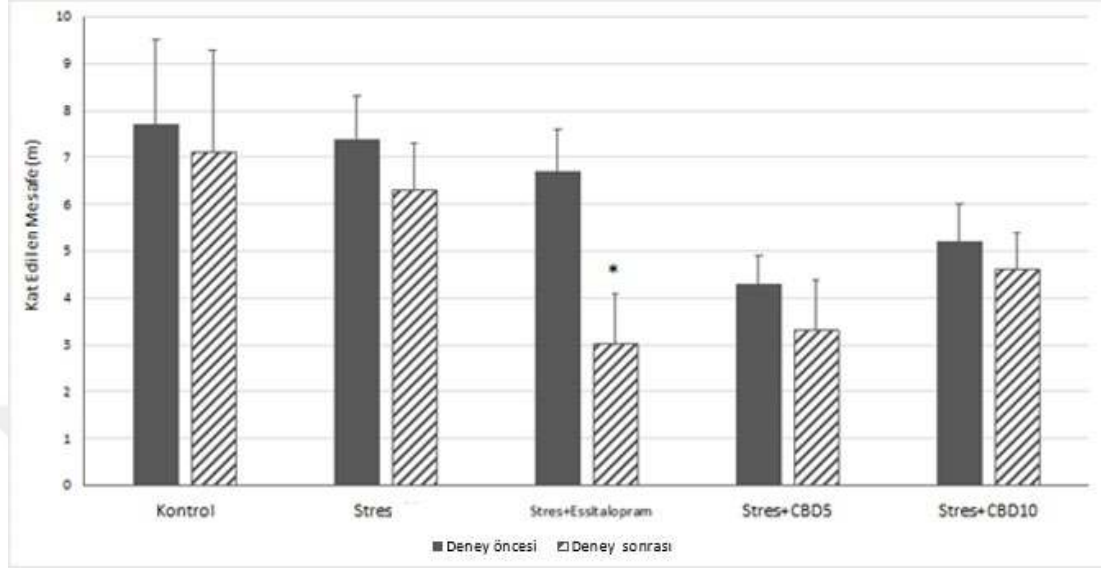
YAL testinde, gruplara ait veriler one-way anova kullanılarak değerlendirilmiş ve Tablo 4.3'de gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Sıçanlarda yükseltilmiş artı labirent testinde ölçülen parametrelerin gruplar arasında karşılaştırılması [one-way anova].(Essitalopram: 5 mg/kg/gün , CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün.n=9-10 her bir grup için.)

GRUPLAR	Kat Edilen Mesafe (m)	Mobil Zaman (s)	İmmobil Zaman (s)	Kapalı Kol Giriş sayısı	Kapalı Kol Zaman (s)	Açık Kol Giriş Sayısı	Açık Kol Zaman (s)
Kontrol	7,1± 2,2	80,4±17,5	219,6±17,5	4,7±0,8	243,8±26,9	4,4±2,1	42±26,5
Stres	6,3±1	94,2±10,5	205,8±10,5	8,2±2,1	209,3±31,4	5±1,4	41,2±16,5
Stres + Essitalopram	3±1,1	43,7±15	256,3±15	1,9±0,7	155,8±43,4	2,8±0,8	136,9±44,6
Stres + CBD5	3,3±1,1	73,2±28,2	226,8±28,2	3,2±1,1	177,7±39,6	10,8±9,0	97,2±39,8
Stres + CBD10	4,6±0,8	60,9±10,4	239,1±10,4	5±0,9	270,4±5,9	2,3±0,8	9,8±3,3

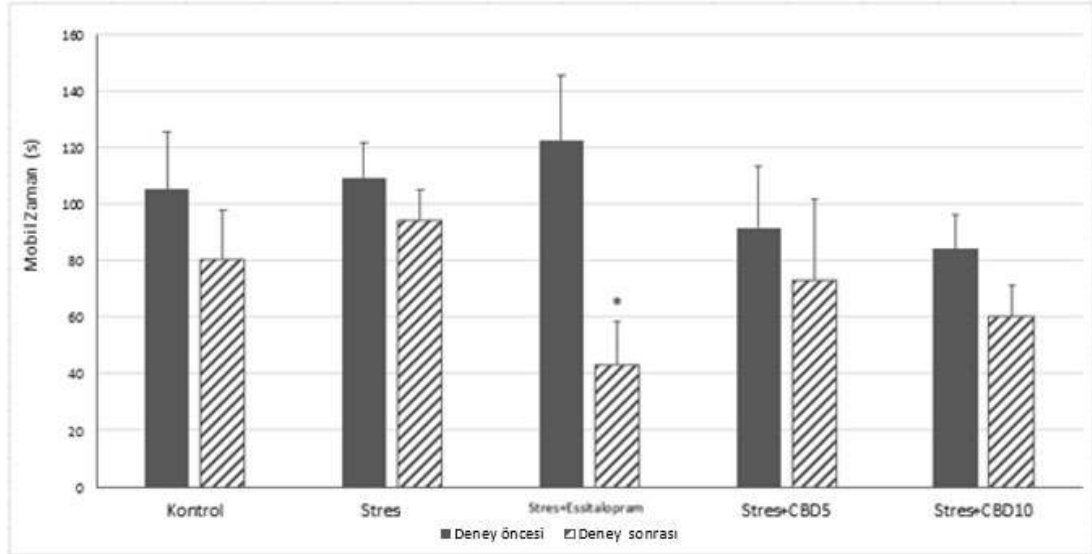
Deney gruplarının ortalamaları one-way anova ile karşılaştırıldığında, stres grubu, stres+essitalopramla tedavi edilen gruptan ve stres+kanabidiol 5 grubundan kapalı kol giriş sayısında anlamlı olarak artış bulunmuştur. Stres+essitalopram grubu , stres+kanabidiol 10 grubundan açık kolda geçirilen zamanda anlamlı olarak daha fazla zaman geçirmiş olarak gözlemlenmiştir.[Tablo 4.3]

YAL testinde, grupların deney öncesi ve sonrasına ait verileri her bir grup için paired t-test kullanılarak değerlendirilmiş ve Şekil 4.11-4.17’de gösterilmiştir.



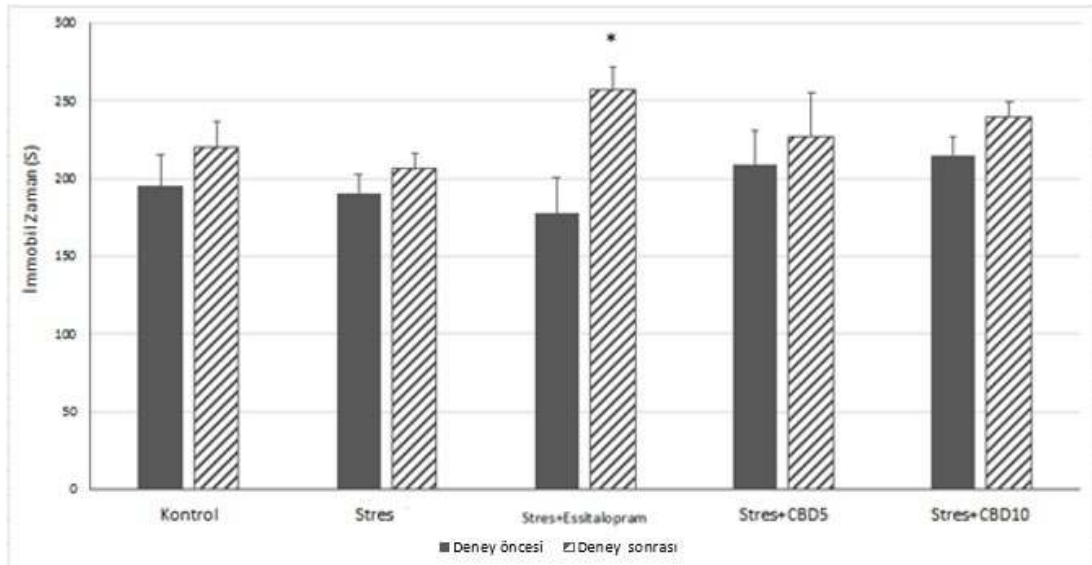
Şekil 4.11. Sıçanlarda YAL testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası katedilen mesafe değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

YAL testinde kat edilen mesafe paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, stres grubunda ve diğer gruplarda azalmaya eğilim olmasına rağmen farklılık anlamlı değildir. Stres+essitalopram grubunda ise kat edilen mesafede anlamlı azalma gözlemlenmiştir. [Şekil 4.11].



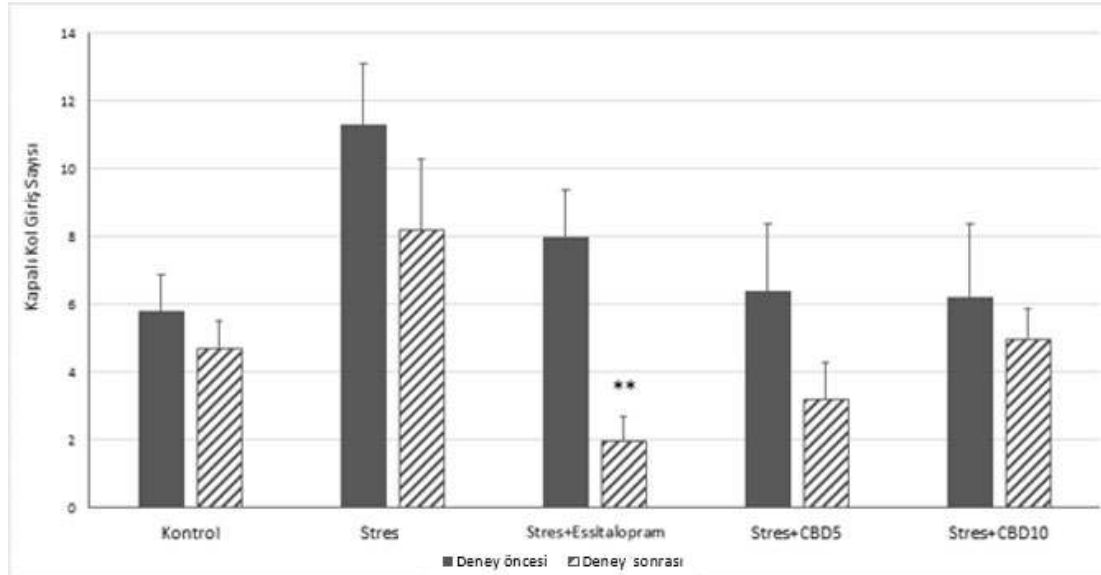
Şekil 4.12. Sıçanlarda YAL testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası mobil zaman değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

YAL testinde mobil zaman paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, stres grubunda ve diğer gruplarda azalmaya eğilim olmasına rağmen farklılık anlamlı değildir. Stres+essitalopram grubunda ise mobil zamanda anlamlı azalma gözlemlenmiştir. [Şekil 4.12].



Şekil 4.13. Sıçanlarda YAL testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası immobil zaman değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

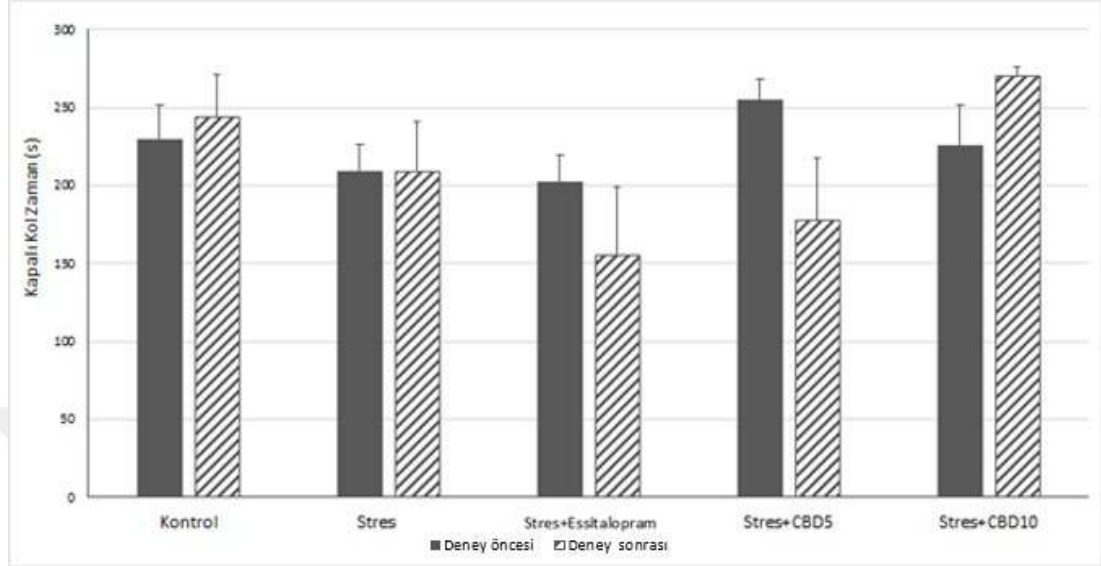
YAL testinde immobil zamanda paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, stres grubunda ve diğer gruplarda artmaya eğilim olmasına rağmen farklılık anlamlı değildir. Stres+essitalopram grubunda ise immobil zamanda anlamlı artma gözlemlenmiştir. [Şekil 4.13].



Şekil 4.14. Sıçanlarda YAL testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kapalı kola giriş sayısı değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

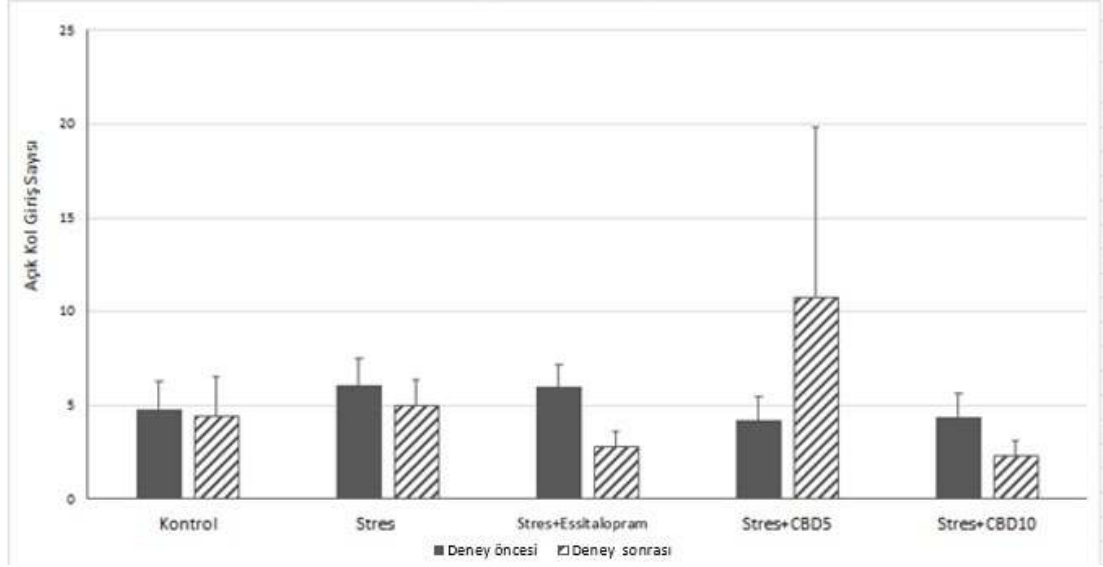
YAL testinde kapalı kol giriş sayısı paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, stres grubunda ve diğer gruplarda azalmaya eğilim

olmasına rağmen farklılık anlamlı değildir. Stres+essitalopram grubunda ise kapalı kol giriş sayısında anlamlı azalma gözlemlenmiştir. [Şekil 4.14].



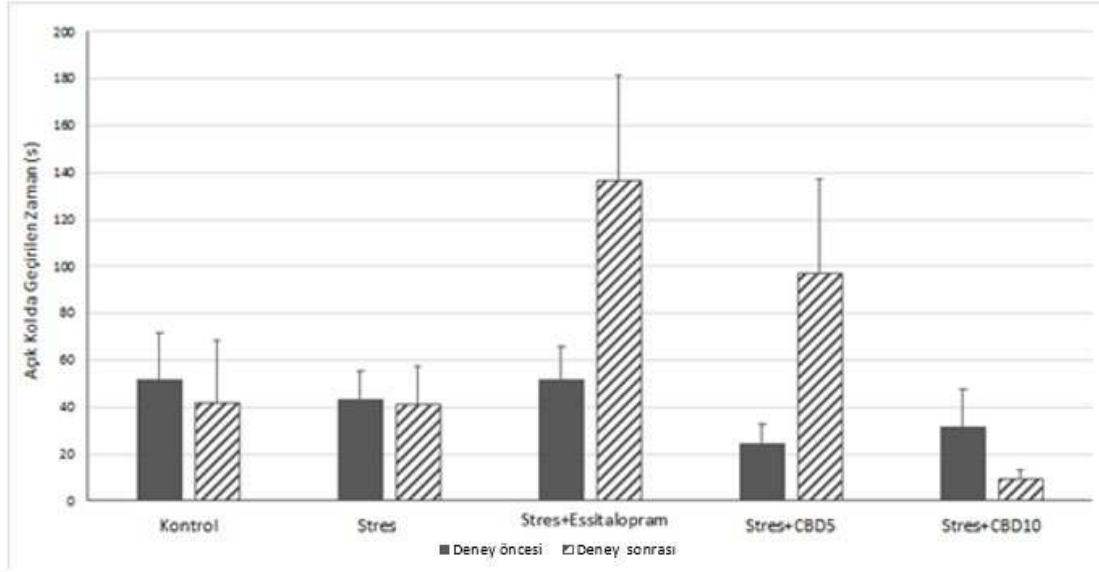
Şekil 4.15. Sıçanlarda YAL testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası kapalı kolda geçirilen zaman değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

YAL testinde kapalı kolda geçirilen zaman paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, grupların her birinin kendi içinde deney öncesi ve sonrası parametreleri arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. [Şekil 4.15].



Şekil 4.16. Sıçanlarda YAL testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası açık kola giriş sayısı değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

YAL testinde açık kola giriş sayısı paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, grupların her birinin kendi içinde deney öncesi ve sonrası parametreleri arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. [Şekil 4.16].



Şekil 4.17. Sıçanlarda YAL testinde her bir grup için deney öncesi ve deney sonrası açık kolda geçen zaman değerlerinin karşılaştırılması. Koyu renkli sütun deney öncesi, çizgili sütun ise deney sonrası ölçümleri göstermektedir. Essitalopram: 5 mg/kg/gün, CBD5: Kanabidiol 5 mg/kg/gün, CBD10: Kanabidiol 10 mg/kg/gün. İstatistiksel farklılıklar, her bir grubun deney öncesi ve sonrası farklılıkları [paired-t testi] olarak hesaplanmıştır. [*; $p < 0,05$, **; $p < 0,01$, ***; $p < 0,001$]

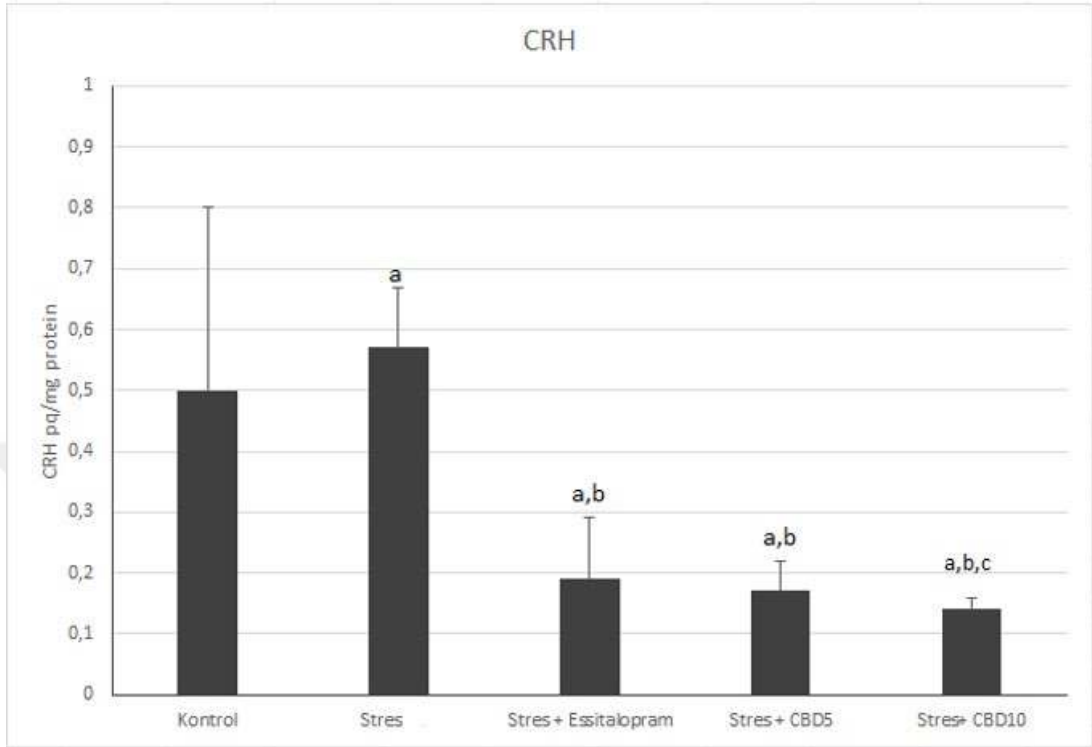
YAL testinde açık kolda geçirilen zaman paired t-test kullanılarak karşılaştırıldığında, grupların her birinin kendi içinde deney öncesi ve sonrası parametreleri arasında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. [Şekil 4.17].

4.2. Biyokimyasal Bulgular

4.2.a. ELISA Protein Düzeyleri

Beyin hipokampus bölgesinde, grupların deney sonrası protein düzeyleri birbirleri arasında one-way anova kullanılarak değerlendirilmiş ve Şekil 4.18-4.21’de gösterilmiştir.

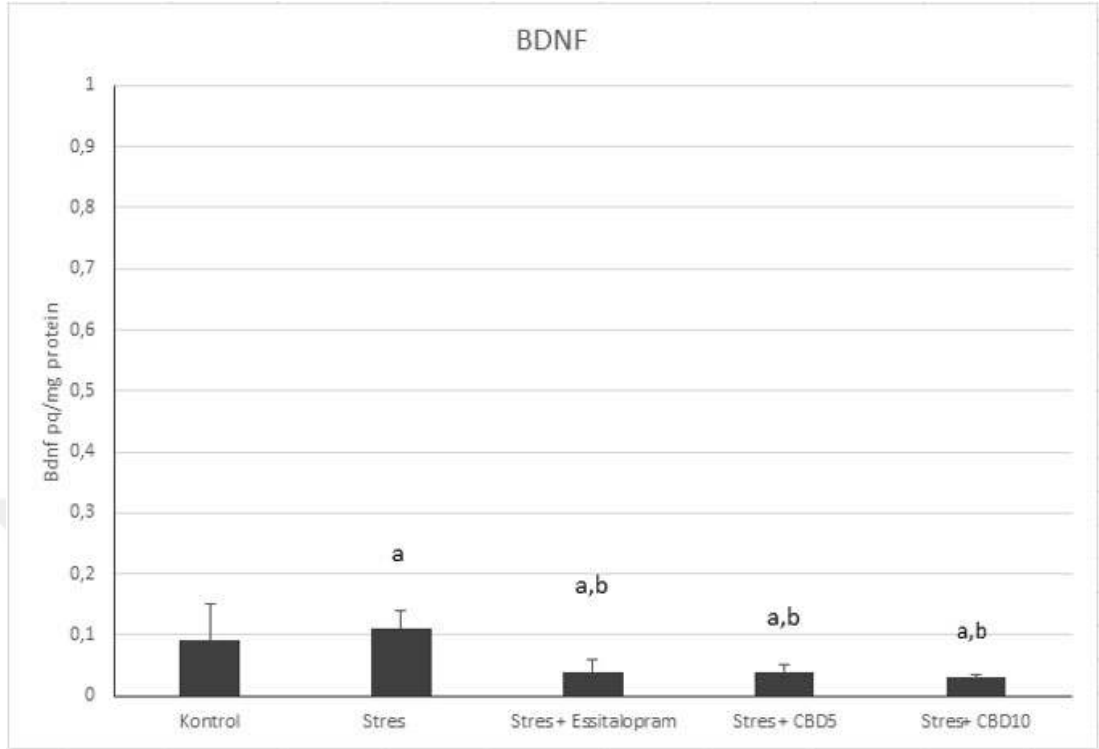
4.2.a.1. CRH Protein Düzeyleri



Şekil 4.18. Sıçanlarda deney sonunda ELISA yöntemiyle çalışılan CRH'nin hipokampus bölgesindeki düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması. Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10:Kanabidiol:10 mg/kg a: Kontrolden anlamlı olarak farklı, b: Stres grubuna göre anlamlı farklılık, c: Kanabidiol grubuna göre anlamlı farklılık, [$p<0,05$], $n=9-10$ her bir grup için.

Beyin hipokampus bölgesindeki CRH protein düzeylerinde, stres grubunda kontrolden anlamlı olarak artış bulunmuştur. Stres+essitalopram, Stres+kanabidiol 5 veya stres+kanabidiol 10 dozla tedavi edilen gruplarda ise kontrole ve stres grubuna göre CRH protein düzeylerinde anlamlı olarak azalma görülmüştür. Stres+kanabidiol 10 grubunda Stres+kanabidiol 5 grubuna göre CRH protein düzeylerinde anlamlı azalma gözlemlenmiştir.[Şekil 4.18].

4.2.a.2. BDNF Protein Düzeyleri

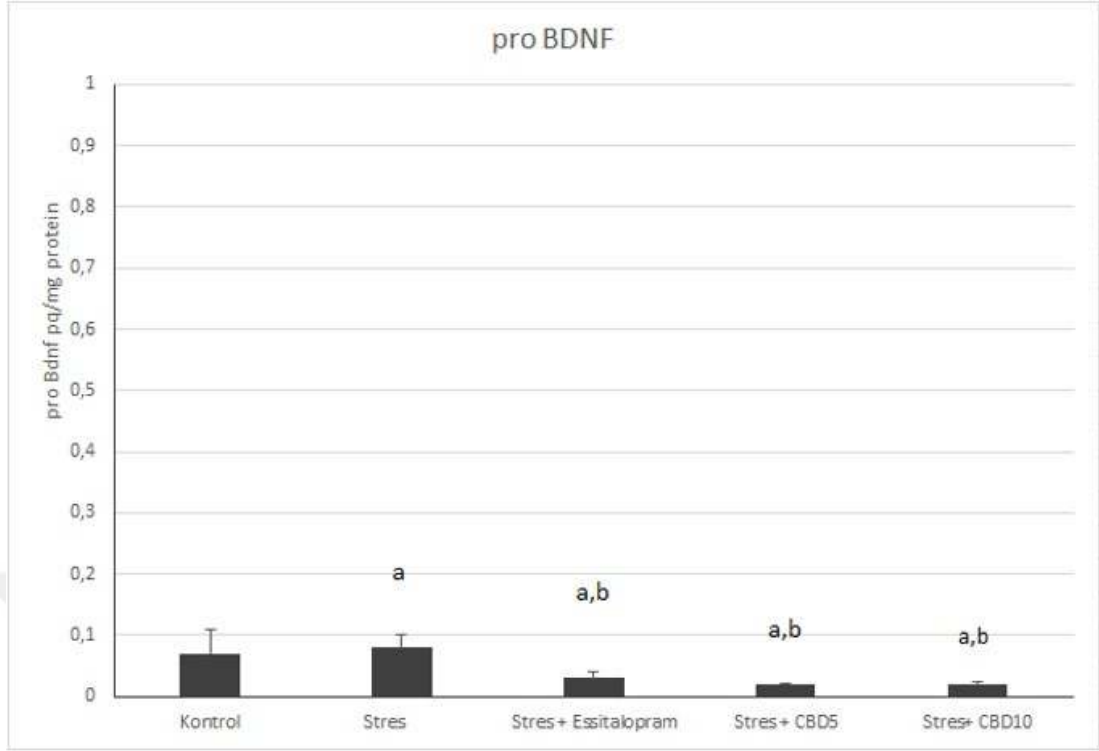


Şekil 4.19. Sıçanlarda deney sonunda ELISA yöntemiyle çalışılan BDNF'nin hipokampus bölgesindeki düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması.

Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg a: Kontrolden anlamlı olarak farklı, b: Stres grubuna göre anlamlı farklılık [$p<0,05$], $n=9-10$ her bir grup için.

Beyin hipokampus bölgesindeki BDNF protein düzeylerinde, stres grubunda kontrolden anlamlı olarak artış bulunmuştur. Stres+essitalopram, Stres+kanabidiol 5 ve Stres+kanabidiol 10 mg/kg/gün dozla tedavi edilen tedavi gruplarında ise hem kontrole hem de stres grubuna göre BDNF protein düzeylerinde anlamlı olarak azalma görülmüştür.[Şekil 4.19].

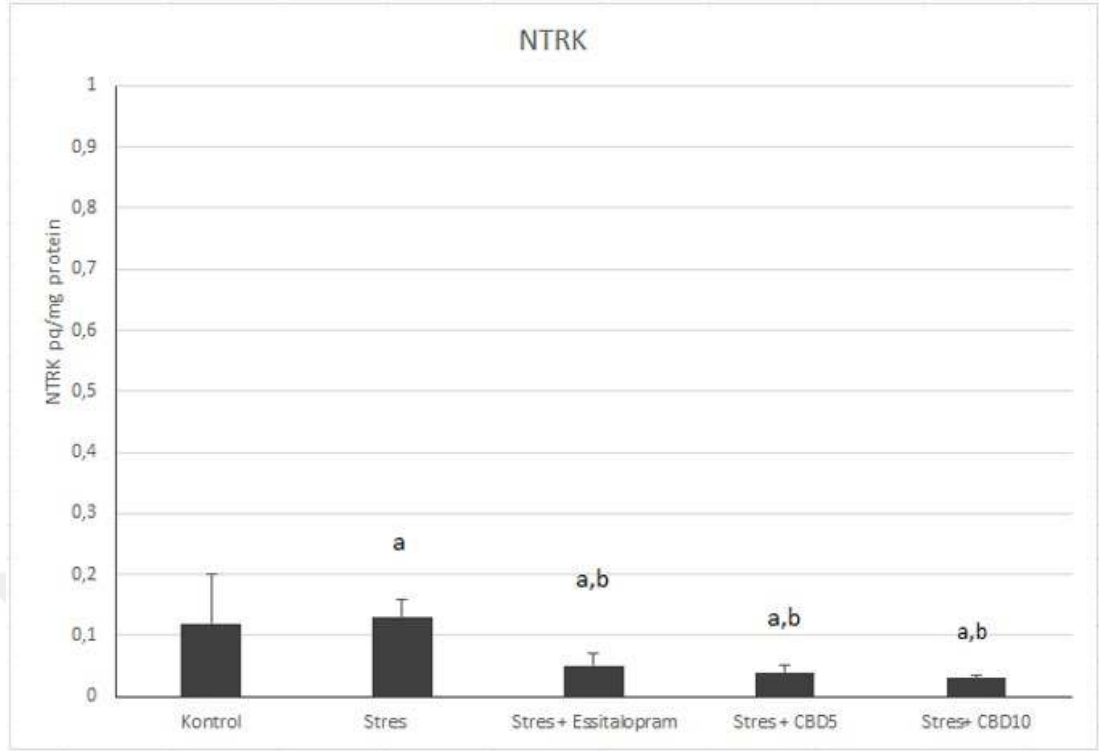
4.2.a.3. Pro BDNF Protein Düzeyleri



Şekil 4.20. Sıçanlarda deney sonunda ELISA yöntemiyle çalışılan pro BDNF'nin hipokampus bölgesindeki düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması. Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg a: Kontrolden anlamlı olarak farklı, b: Stres grubuna göre anlamlı farklılık [$p<0,05$], $n=9-10$ her bir grup için.

Beyin hipokampus bölgesindeki pro BDNF protein düzeylerinde, stres grubunda kontrolden anlamlı olarak artış bulunmuştur. Stres+essitalopram, Stres+kanabidiol 5 veya Stres+kanabidiol 10 gruplarında ise hem kontrole hem de stres grubuna göre pro BDNF protein düzeylerinde anlamlı olarak azalma görülmüştür.[Şekil 4.20].

4.2.a.4. NTRKB Protein Düzeyleri



Şekil 4.21. Sıçanlarda deney sonunda ELISA yöntemiyle çalışılan NTRK'nın hipokampus bölgesindeki düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması. Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg a: Kontrolden anlamlı olarak farklı, b: Stres grubuna göre anlamlı farklılık [$p<0,05$], $n=9-10$ her bir grup için

Beyin hipokampus bölgesindeki NTRK protein düzeylerinde, stres grubunda kontrolden anlamlı olarak artış bulunmuştur. Stres+essitalopram, Stres+kanabidiol 5 veya Stres+kanabidiol 10 gruplarında hem kontrole hem de stres grubuna göre NTRK protein düzeylerinde anlamlı olarak azalma görülmüştür.[Şekil 4.21].

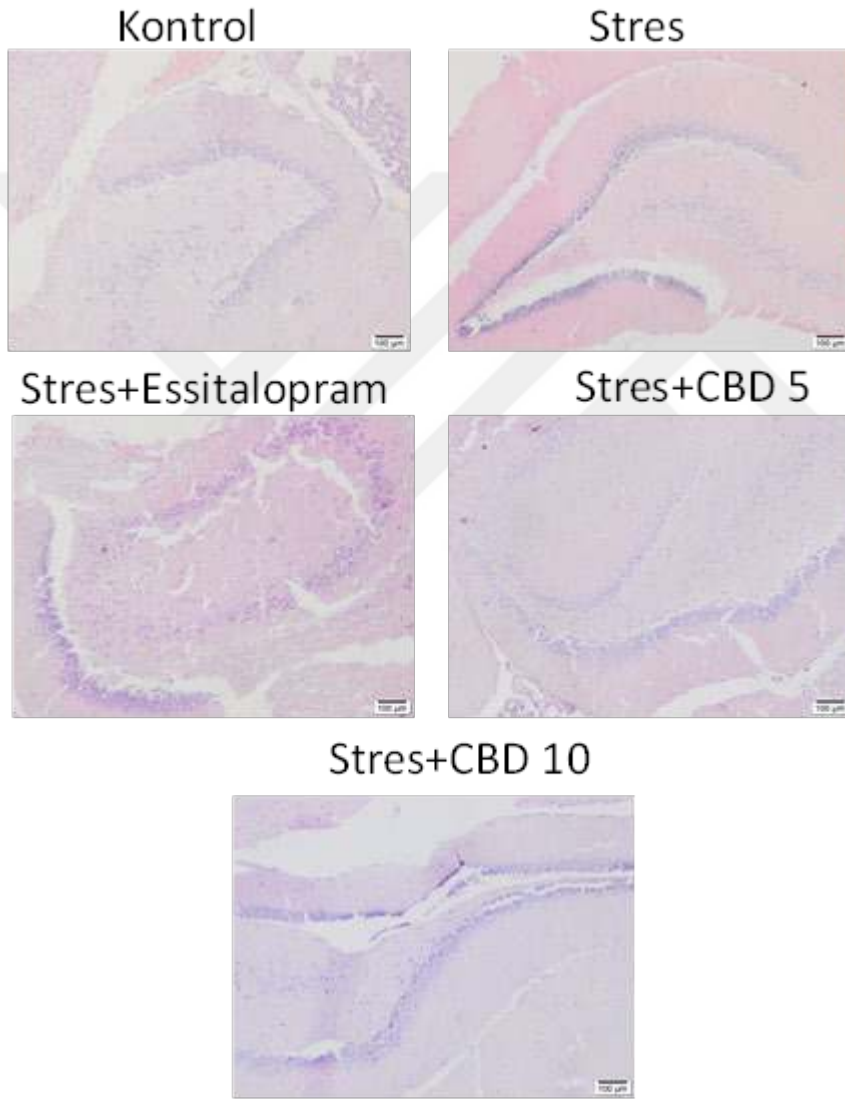
4.3. Histopatolojik Bulgular

4.3.a. Hematoksilen Eosin Boyama Bulguları

Kontrol grubunda prefrontal korteks ve hipokampus bölgelerindeki piramidal nöronlar, ökromatik nükleus ve normal hücre tabakaları ile yoğun ve düzgün bir şekilde düzenlenmiştir. Buna karşılık, Stres grubunda prefrontal korteks, hipokampal CA1 ve dentat gyrus bölgesindeki hücreler piknotik çekirdeğe sahip, birkaç hücre katmanı ve artan boşluklarla seyrek

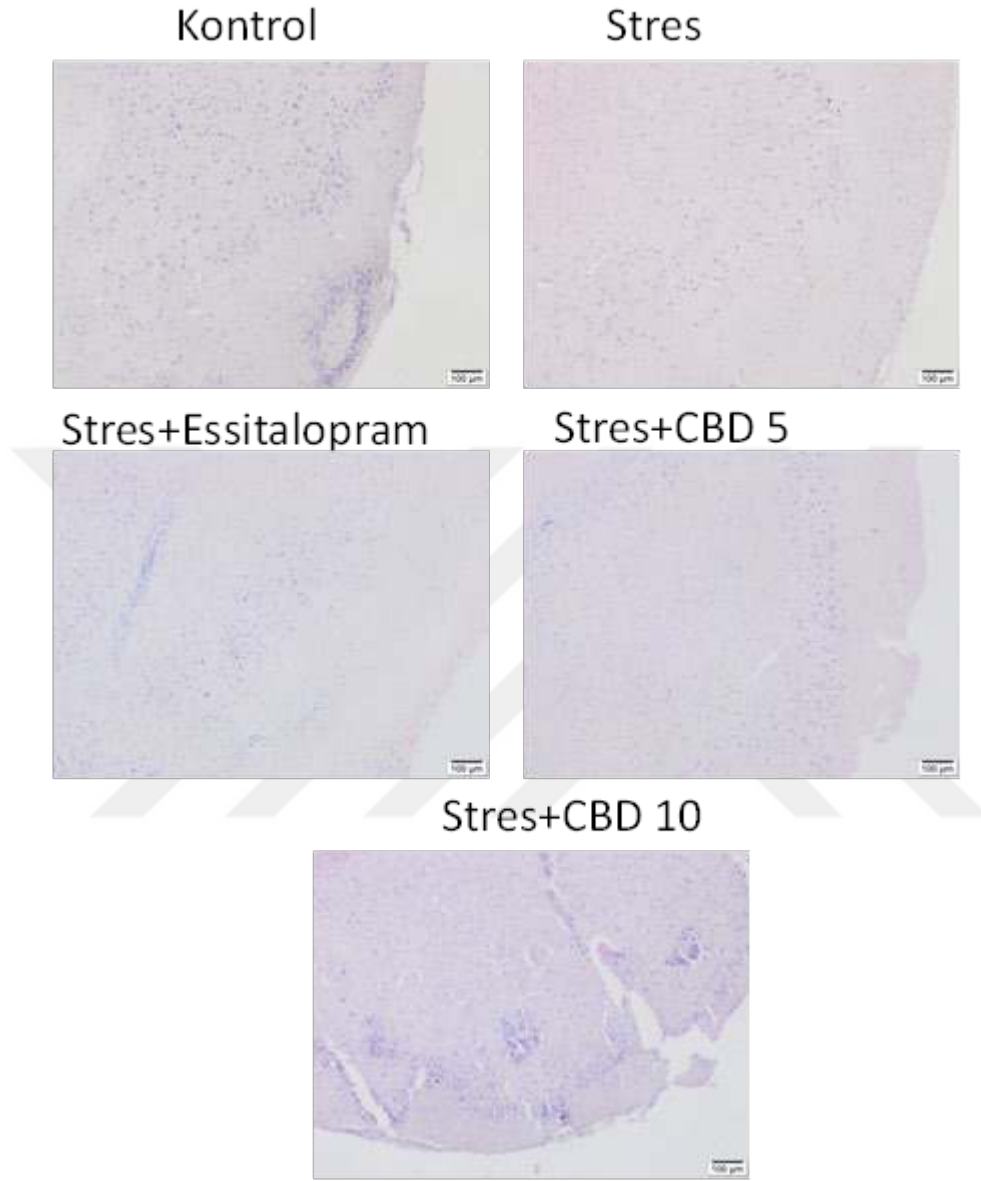
olarak düzenlenmiştir. Ek olarak, stres grubundaki nükleer büzülme ve koyu boyanma, bu hücrelerin nekroza gittiğini göstermektedir.

Stres grubundaki farelerden alınan kesitlerle karşılaştırıldığında, stres+kanabidiol 5 grubunun stres grubuna benzer histopatolojik özellikler sergilediği gözlenir iken stres+kanabidiol 5 ve stres+essitalopram gruplarında piknotik çekirdekli hücre sayısının azaldığı ve hücre sayısının ve tabakalarının arttığı ve daha düzenli olduğu saptanmıştır.



Resim 1. Kontrol, stres, stres+essitalopram, stres+CBD5 ve stres+CBD10 gruplarına ait Hipokampus kesitlerinin HE boyaması (scale

bar=100µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



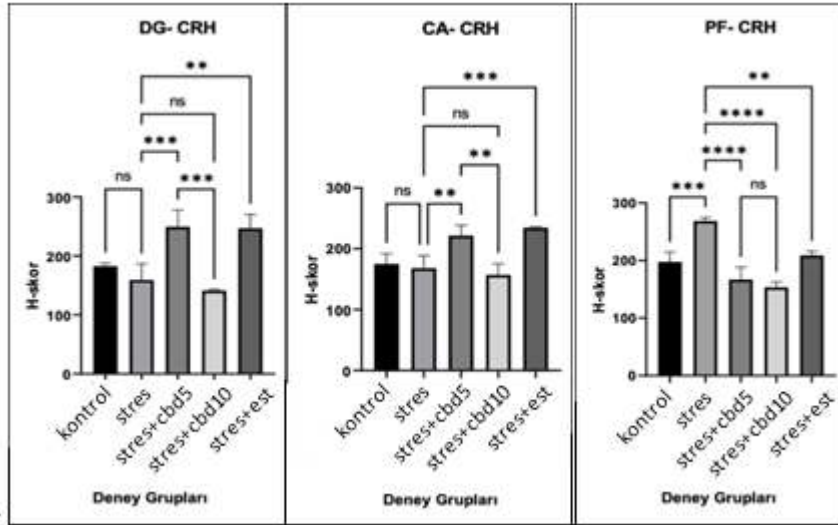
Resim 2. Kontrol, stres, stres+essitalopram, stres+CBD5 ve stres+CBD10 gruplarına ait prefrontal korteks kesitlerinin HE boyaması (scale bar=100µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg

4.3.b. İmmunohistokimya Bulguları

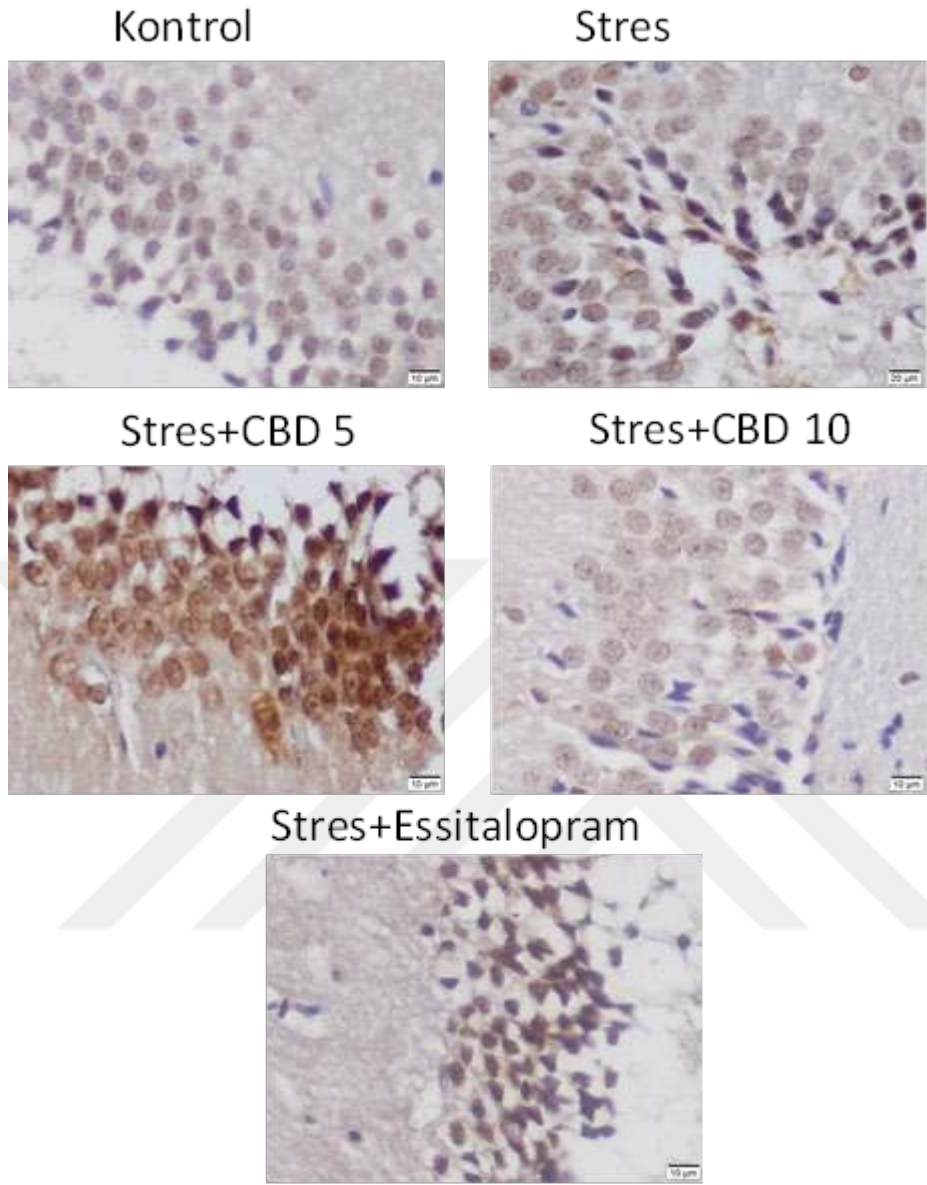
4.3.b.1. CRH primer antikorunun immunohistokimya bulguları

Hipokampusun dentat gyrus ve CA bölgelerinde CRH immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde kontrol grubuna göre stres grubunda CRH düzeyinin azaldığı ama istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, stres grubuna göre stres+kanabidiol 5 ve stres+essitalopram alan gruplarda CRH düzeyinin arttığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Stres+Kanabidiol 10 grubunda ise CRH düzeyinin diğer gruplara göre en düşük oranda olduğu gözlenmiş ve stres grubuna göre anlamlı olmadığı fakat stres+kanabidiol 5 grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu bulunmuştur (Şekil 4.22 ve Resim 3,4).

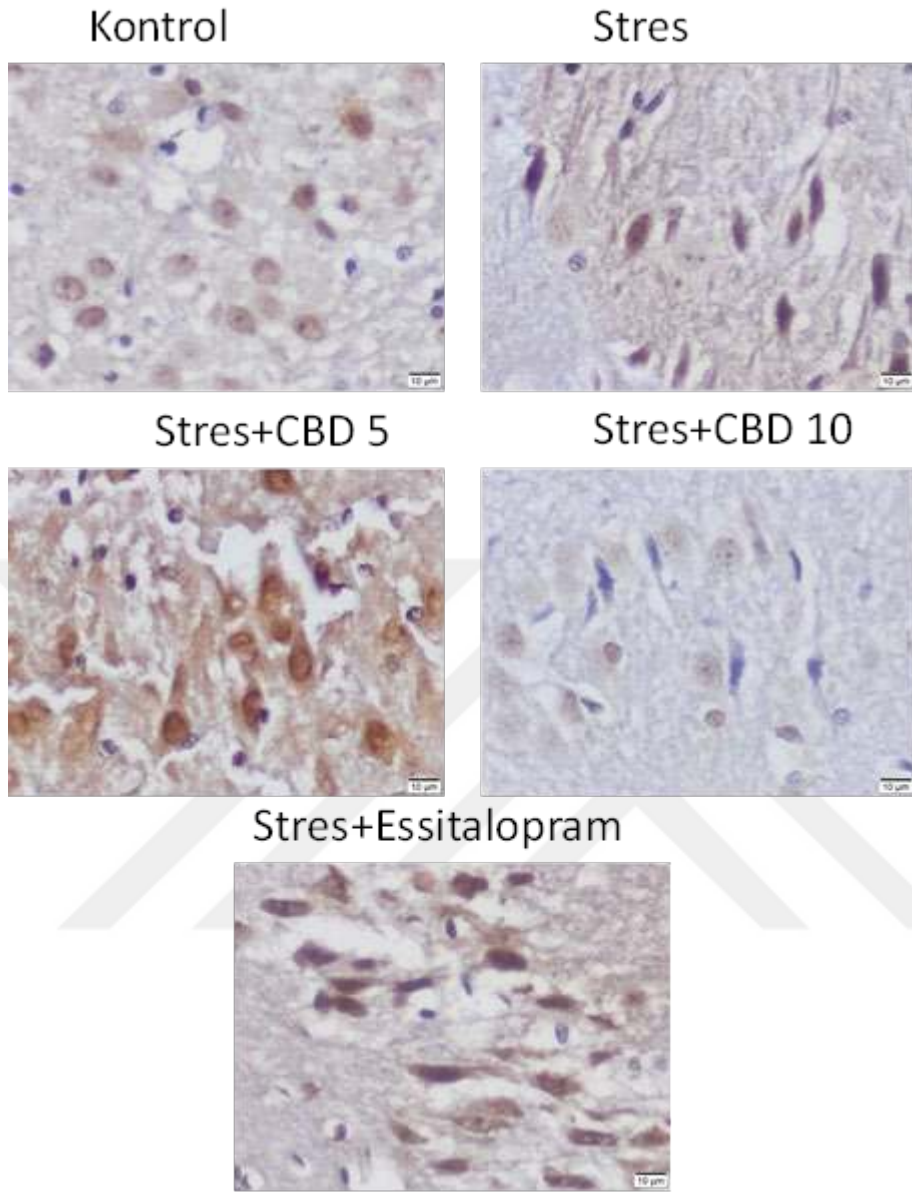
Prefrontal kortekste CRH immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde kontrol grubuna göre stres grubunda CRH düzeyinin arttığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Stres grubuna göre stres+kanabidiol 5, stres+kanabidiol 10 ve stres+essitalopram gruplarında CRH düzeyinin azaldığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.22 ve Resim 5).



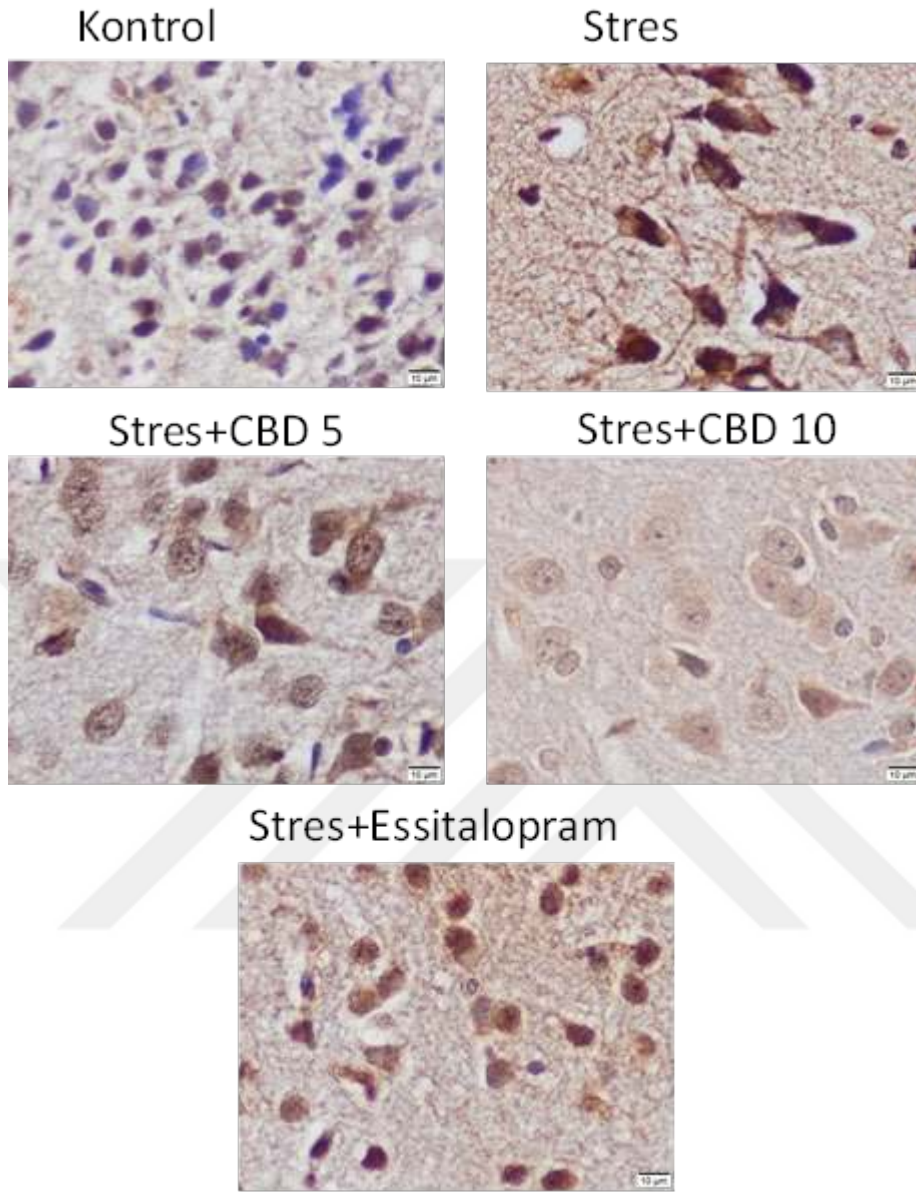
Şekil 4.22. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10, stres+essitalopram gruplarına ait dentat gyrus, CA ve prefrontal korteks kesitlerinin CRH primer antikoruna ait immunohistokimya boyamasının H-skor analizi. Essitalopram: 5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



Resim 3. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10 , stres+essitalopram gruplarına ait dentat gyrus kesitlerinin CRH primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



Resim 4. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10 , stres+essitalopram gruplarına ait CA bölgesinin kesitlerinin CRH primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



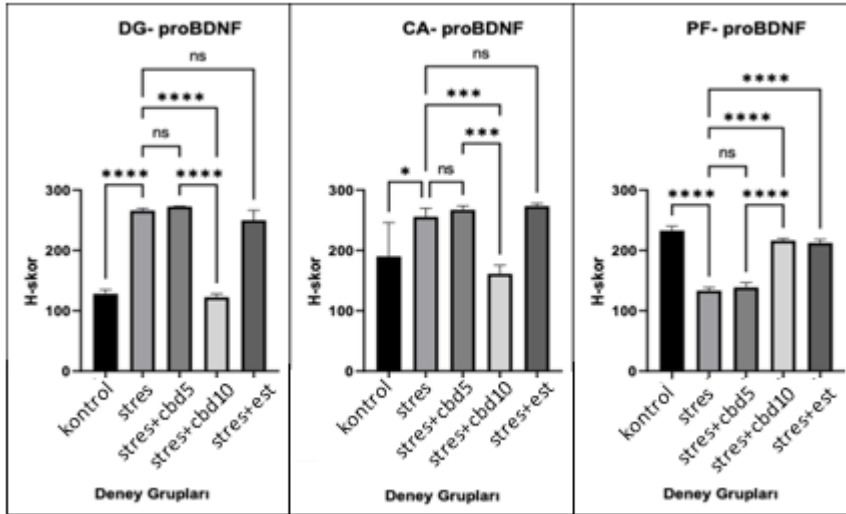
Resim 5. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10, stres+essitalopram gruplarına ait prefrontal korteks kesitlerinin CRH primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg

4.3.b.2. ProBDNF primer antikorunun immunohistokimya bulguları

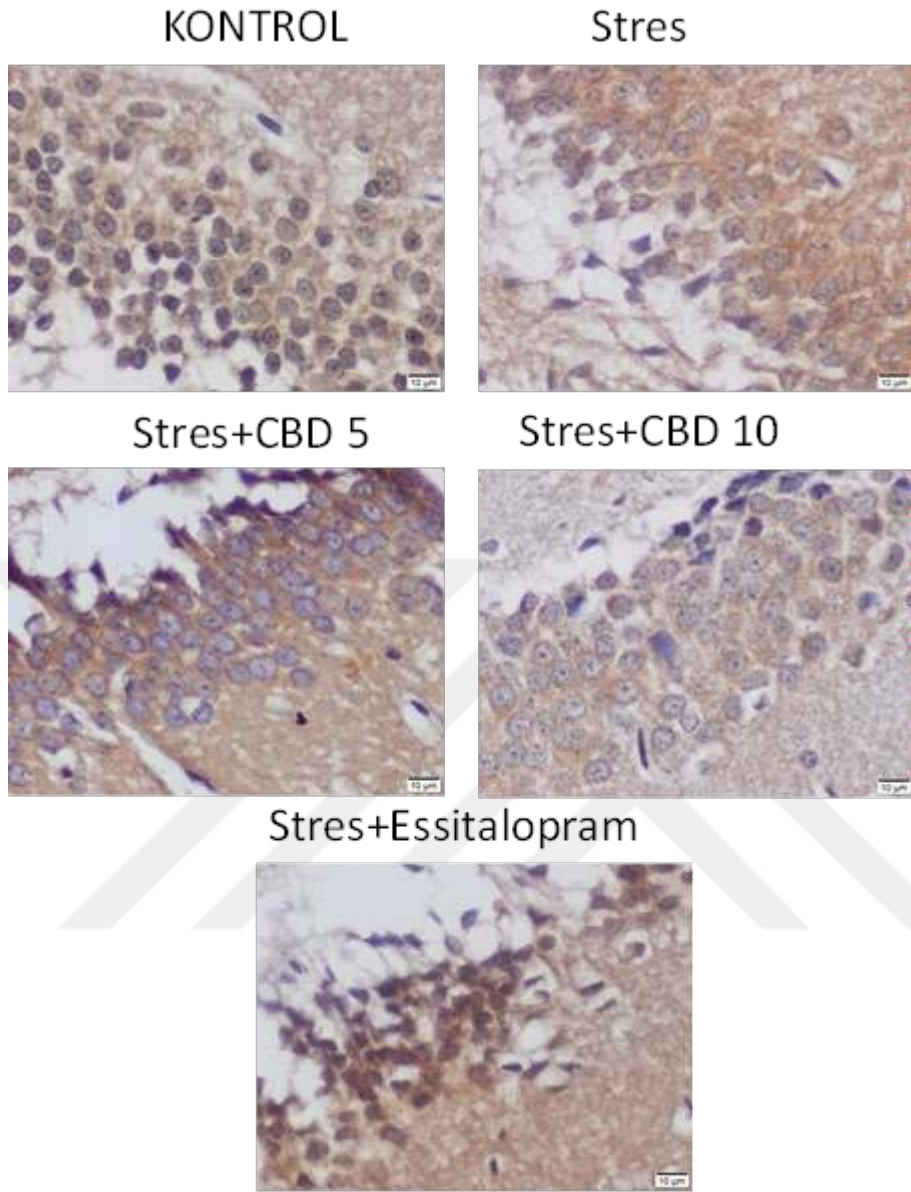
Hipokampusun dentat gyrus ve CA bölgelerinde proBDNF immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde stres grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış olduğu, stres+kanabidiol 5 ve

stres+essitalopram alan gruplarda ise stres grubuna göre anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Stres+kanabidiol 10 grubunda ise proBDNF düzeyi stres grubu ve stres+kanabidiol 5 gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (Şekil 4.23 ve Resim 6,7).

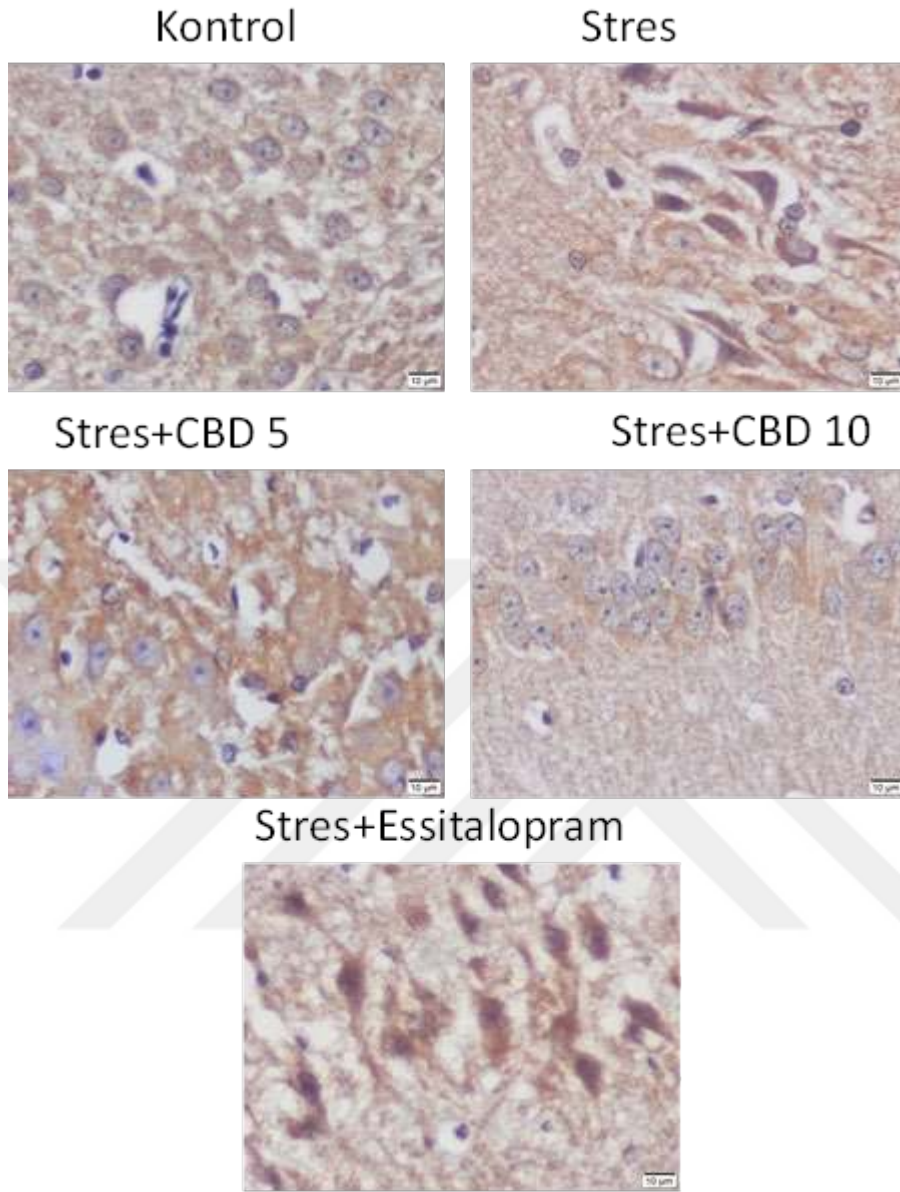
Prefrontal kortekste stres grubunda kontrol grubuna göre proBDNF düzeyi anlamlı derecede düşük olduğu gözlenir iken stres+kanabidiol 5 grubunda stres grubuna kıyasla bir miktar fazla olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Stres+kanabidiol 10 ve Stres+essitalopram ile tedavi edilen gruplarda stres grubuna göre proBDNF düzeyinin anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı. Stres+kanabidiol 5 ile Stres+kanabidiol 10 gruplar karşılaştırıldığında proBDNF düzeyinin stres+kanabidiol 10 grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü (Şekil 4.23 ve Resim 8).



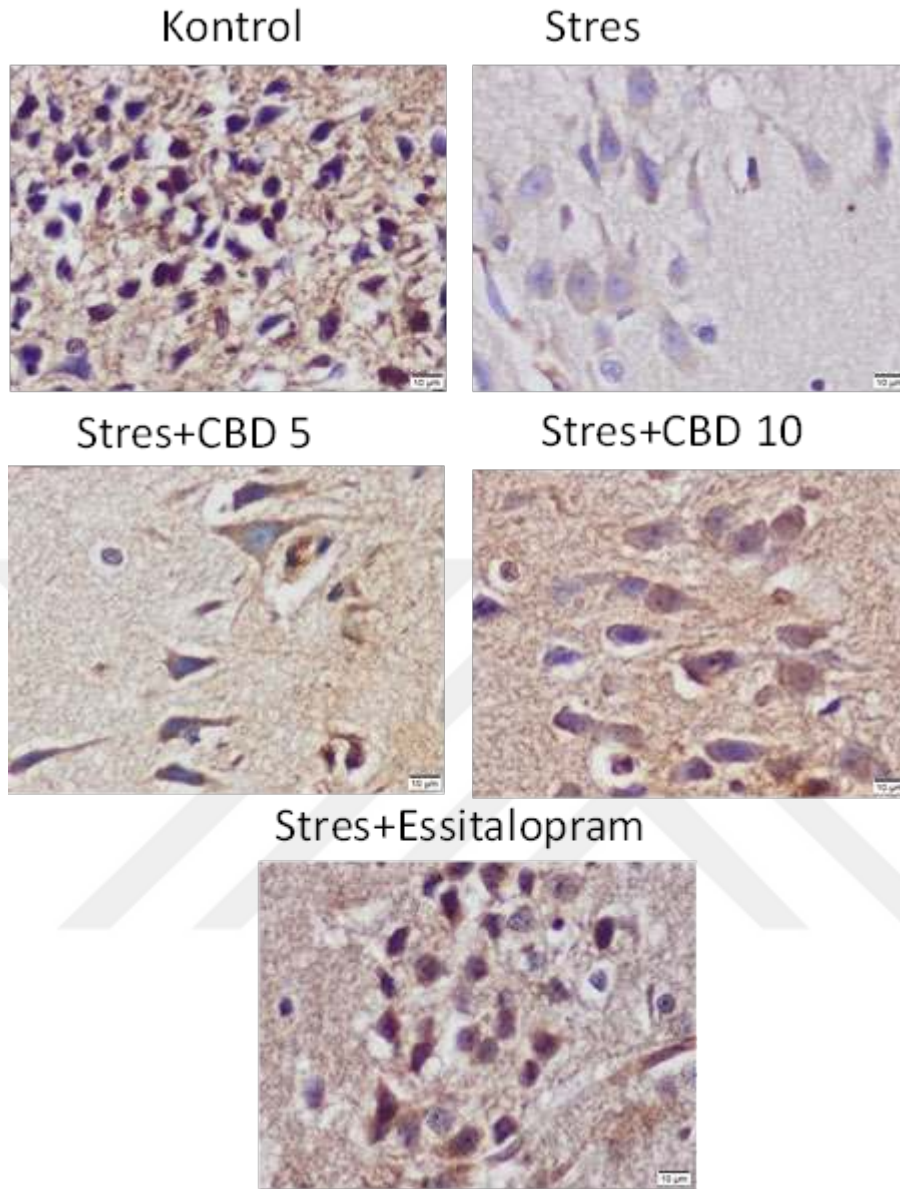
Şekil 4.23. Kontrol, stres, stres+ CBD5, stres+ CBD10, stres+essitalopram gruplarına ait dentat gyrus, CA ve prefrontal korteks kesitlerinin proBDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyamasının H-skor analizi. Essitalopram: 5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol: 5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol: 10 mg/kg



Resim 6. Kontrol, stres, stres+CBD5 , stres+CBD10 , stres+essitalopram gruplarına ait dentat gyrus kesitlerinin proBDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



Resim 7. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10, stres+essitalopram gruplarına ait CA bölgesinin kesitlerinin proBDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



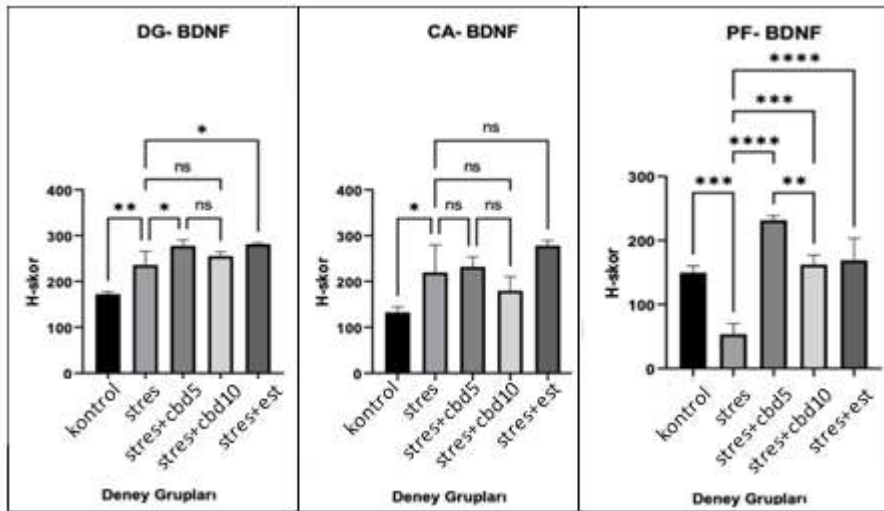
Resim 8. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10, stres+essitalopram gruplarına ait prefrontal korteks kesitlerinin proBDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg

4.3.b.3. BDNF primer antikorunun immunohistokimya bulguları

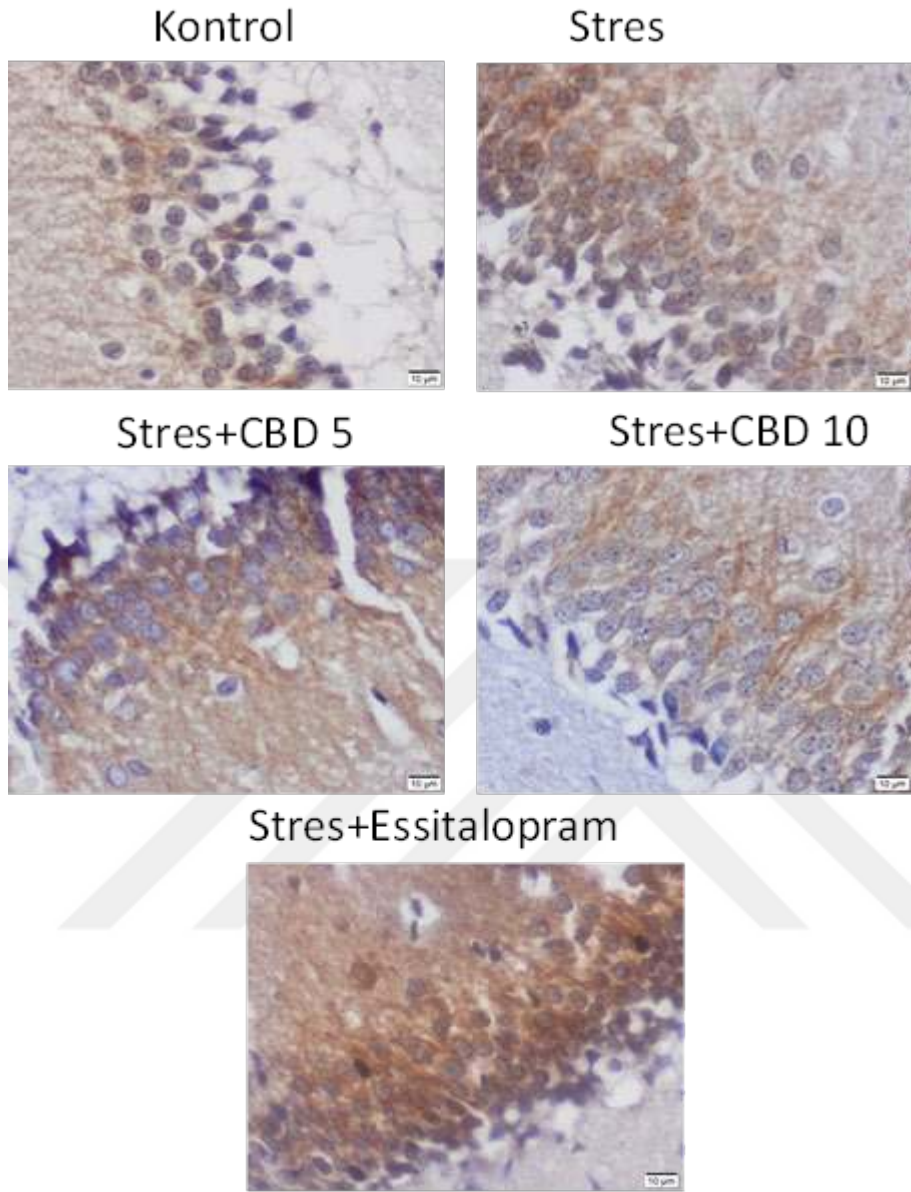
Hipokampusun dentat gyrus ve CA bölgelerinde BDNF immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde stres grubunda kontrol grubuna göre BDNF düzeyi anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir. Dentat gyrus bölgesinde stres+kanabidiol 5, stres+kanabidiol 10 ve stres+essitalopram ile tedavi edilen gruplarda stres grubuna göre BDNF

düzeylerinde artış olduğu fakat bunlardan yalnızca stres+kanabidiol 5 ile stres+essitalopram alan gruplardaki artışın istatiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. CA bölgesinde stres+kanabidiol 5 ve stres+essitalopram alan gruplarda stres grubuna göre BDNF düzeylerinin artmış olduğu fakat bu artışın istatiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.24. ve Resim 9,10).

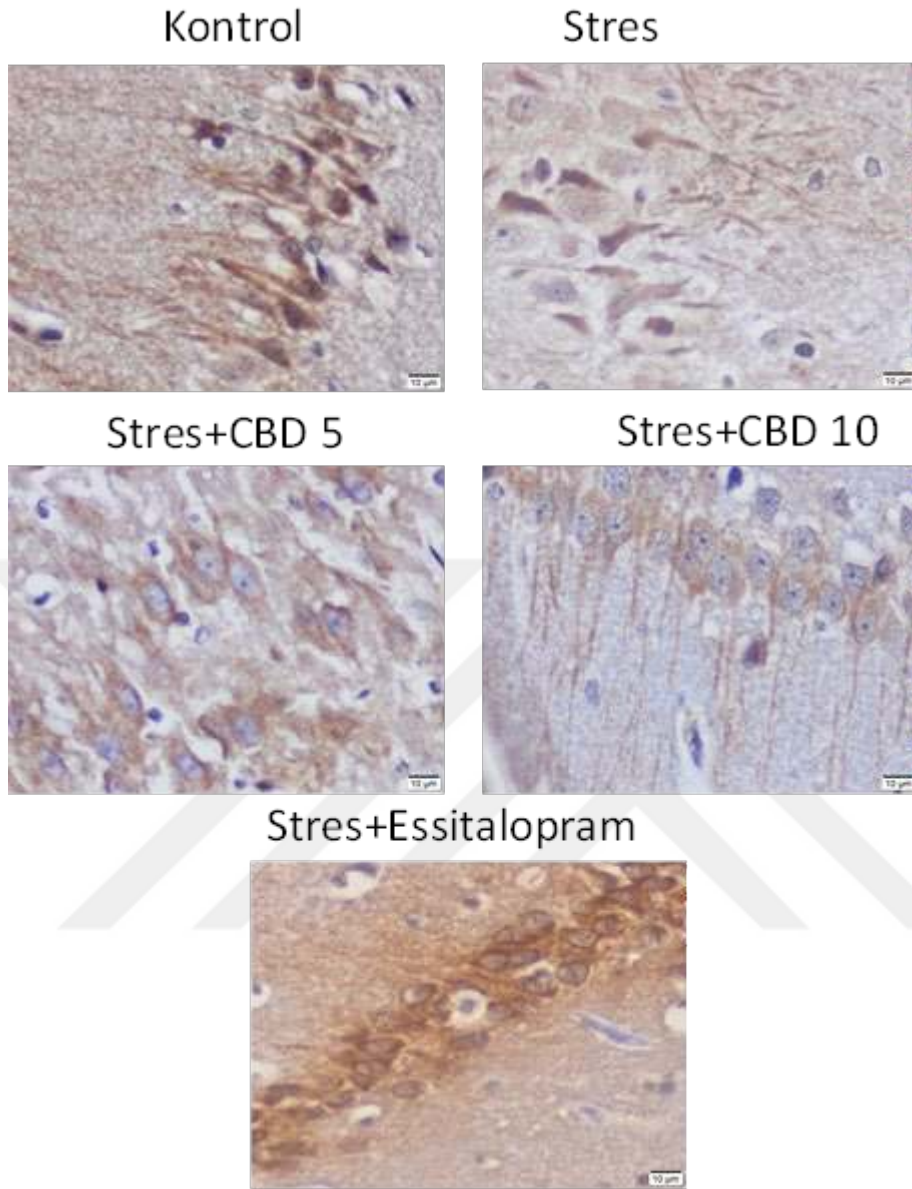
Prefrontal kortekste stres grubunda BDNF düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Stres+kanabidiol 5, Stres+kanabidiol 10 ve Stres+essitalopram ile tedavi edilen gruplarda BDNF düzeyinin stres grubuna göre arttığı ve istatiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Stres+kanabidiol 10 grubunda BDNF düzeyi stres+kanabidiol 5 grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.



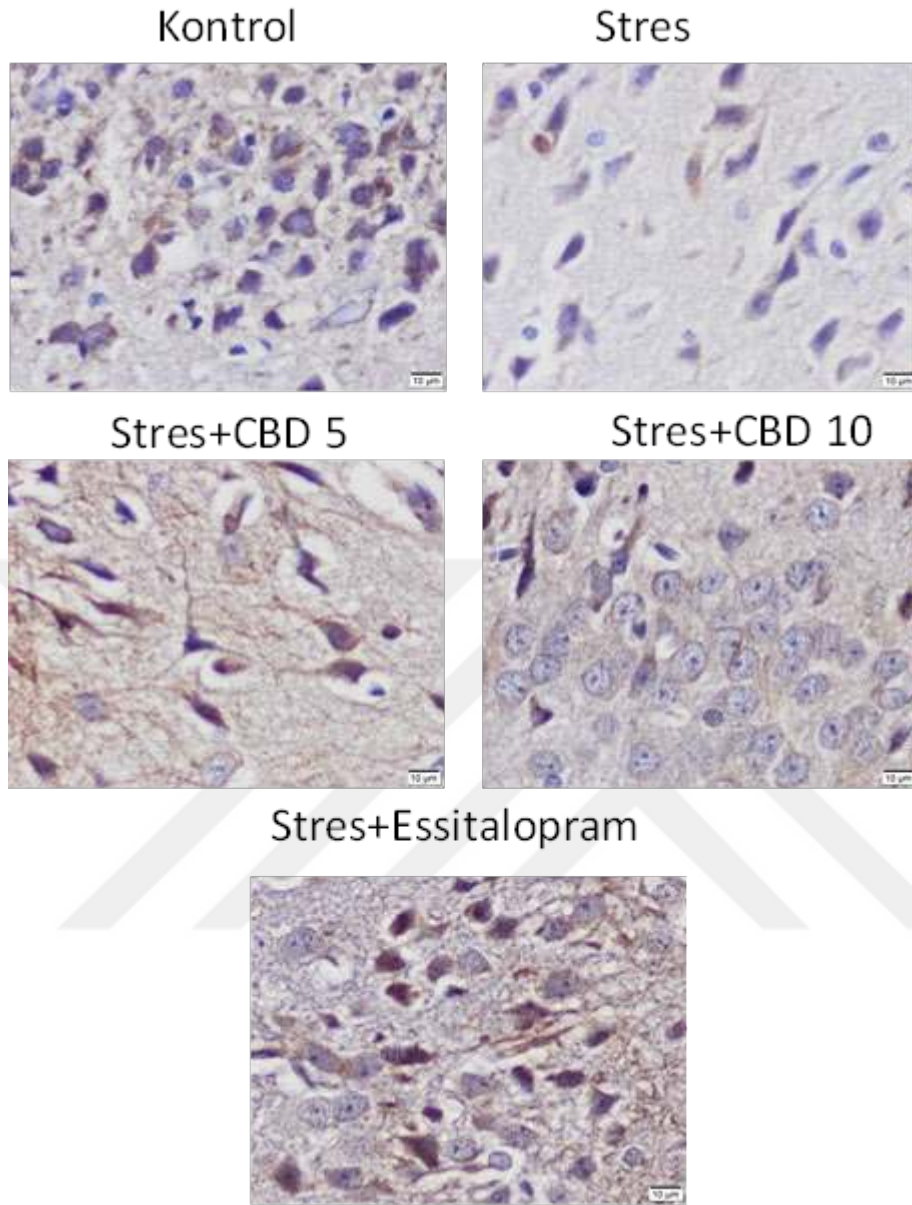
Şekil 4.24. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10 , stres+essitalopram gruplarına ait dentat gyrus, CA ve prefrontal korteks kesitlerinin BDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyamasının H-skor analizi. Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



Resim 9. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10, , stres+essitalopram gruplarına ait dentat gyrus kesitlerinin BDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



Resim 10. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10 , stres+essitalopram gruplarına ait CA bölgesinin kesitlerinin BDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



Resim 11. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10 , stres+essitalopram gruplarına ait prefrontal korteks kesitlerinin BDNF primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10µm).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg

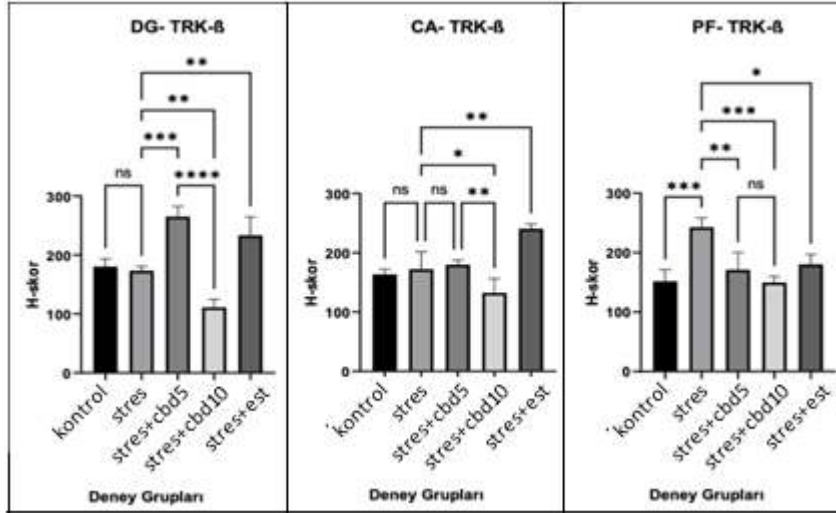
4.3.b.4. TRK- β primer antikorunun immunohistokimya bulguları

Hipokampusun dentat gyrus bölgesinde TRK- β primer antikorunun immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde stres grubunda kontrol grubuna göre TRK- β düzeyi azalmış olmakla beraber bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Stres+kanabidiol 5 ve

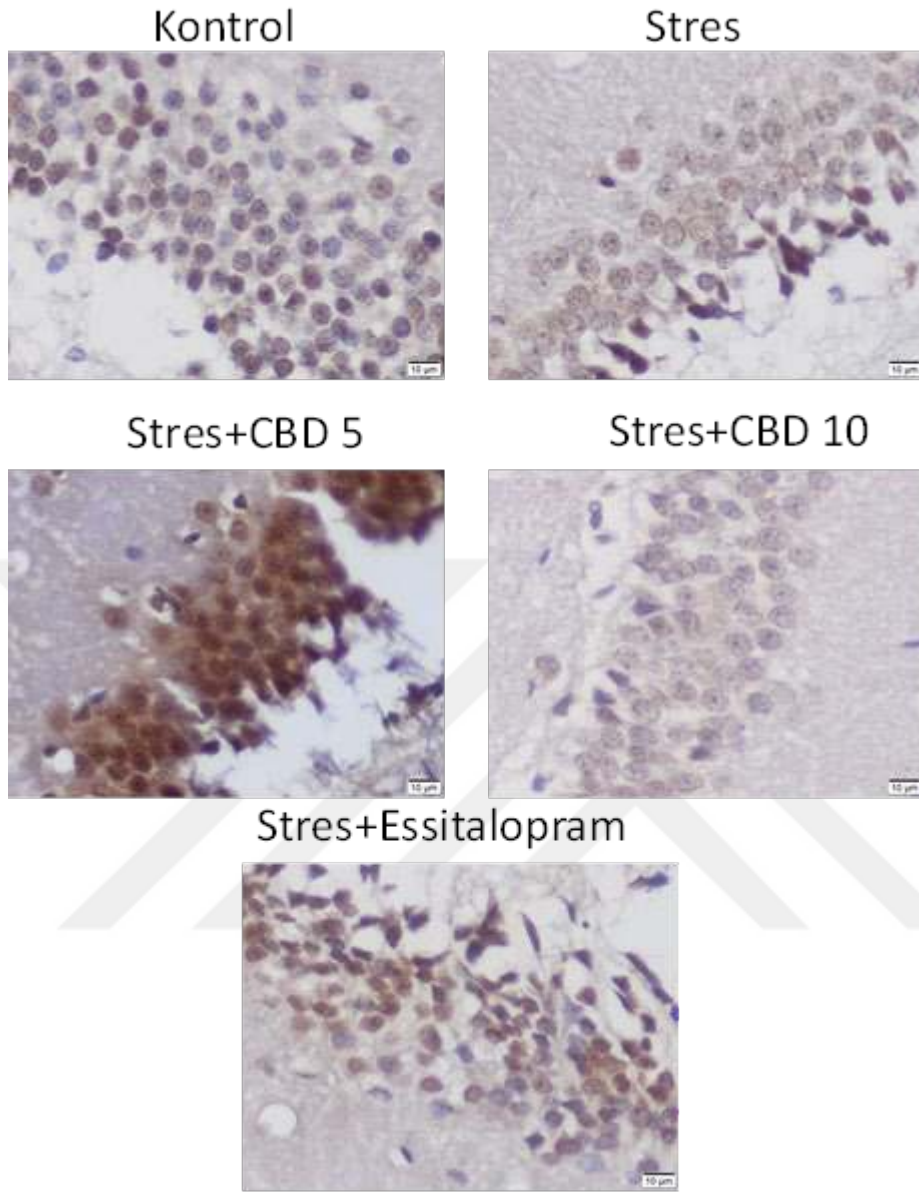
Stres+essitalopram alan gruplarda TRK- β düzeyi stres grubuna göre anlamlı derecede artmıştır. Stres+kanabidiol 10 grubunda ise TRK- β düzeyi stres grubu ve stres+kanabidiol 5 grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır (Şekil 4.25. ve Resim 12).

Hipokampusun CA bölgesinde TRK- β düzeyi stres grubunda, kontrol grubuna ve stres+kanabidiol 5 grubunda ise stres grubuna göre artmıştır fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Stres+kanabidiol 10 grubunda TRK- β düzeyi hem stres grubu hem de stres+kanabidiol 5 grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır. Stres+essitalopram grubunda ise stres grubuna göre anlamlı derecede artmıştır (Şekil 4.25. ve Resim 13).

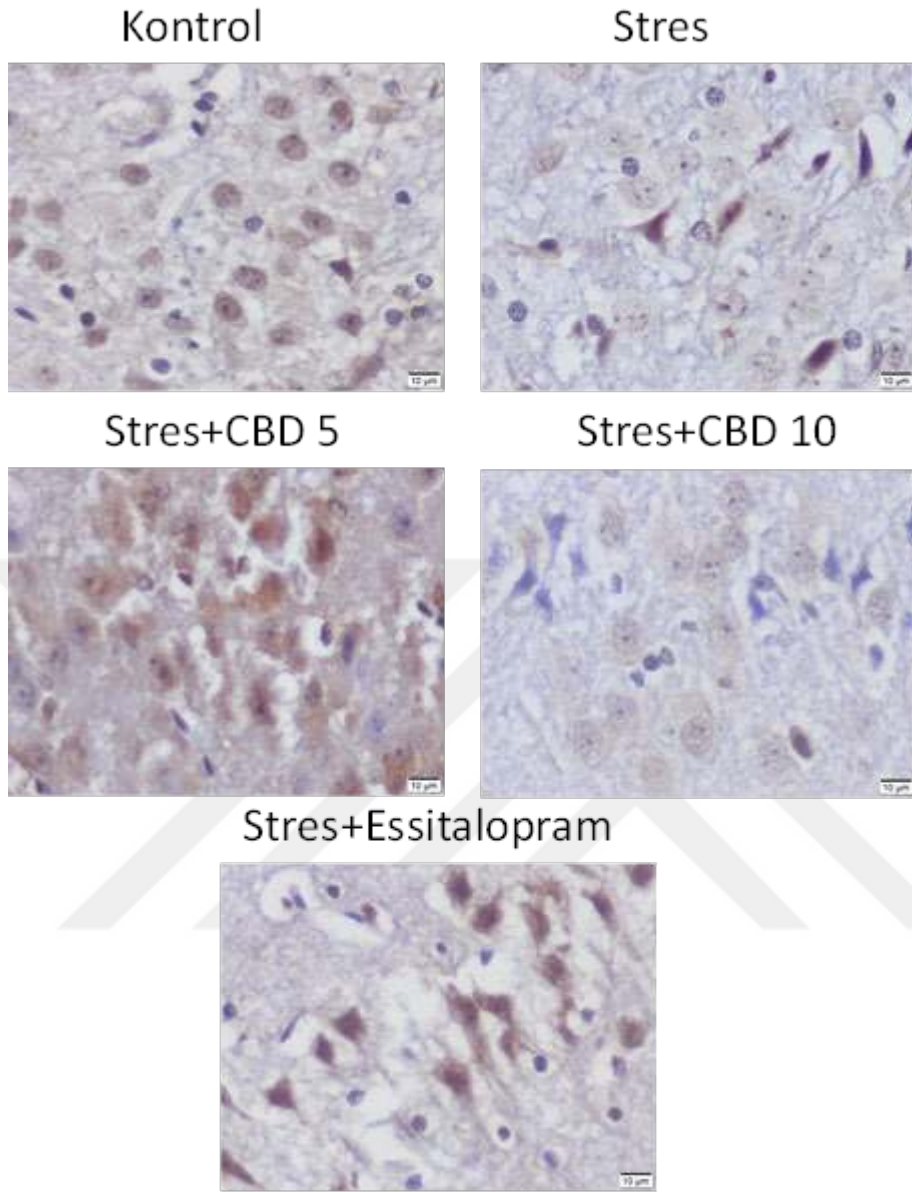
Prefrontal kortekste, TRK- β düzeyi stres grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır. Diğer tüm gruplarda stres grubuna göre TRK- β düzeyi anlamlı derecede azalmıştır. Stres+kanabidiol 10 grubunda stres+kanabidiol 5 grubuna göre azalmış fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (Şekil 4.25. ve Resim 14).



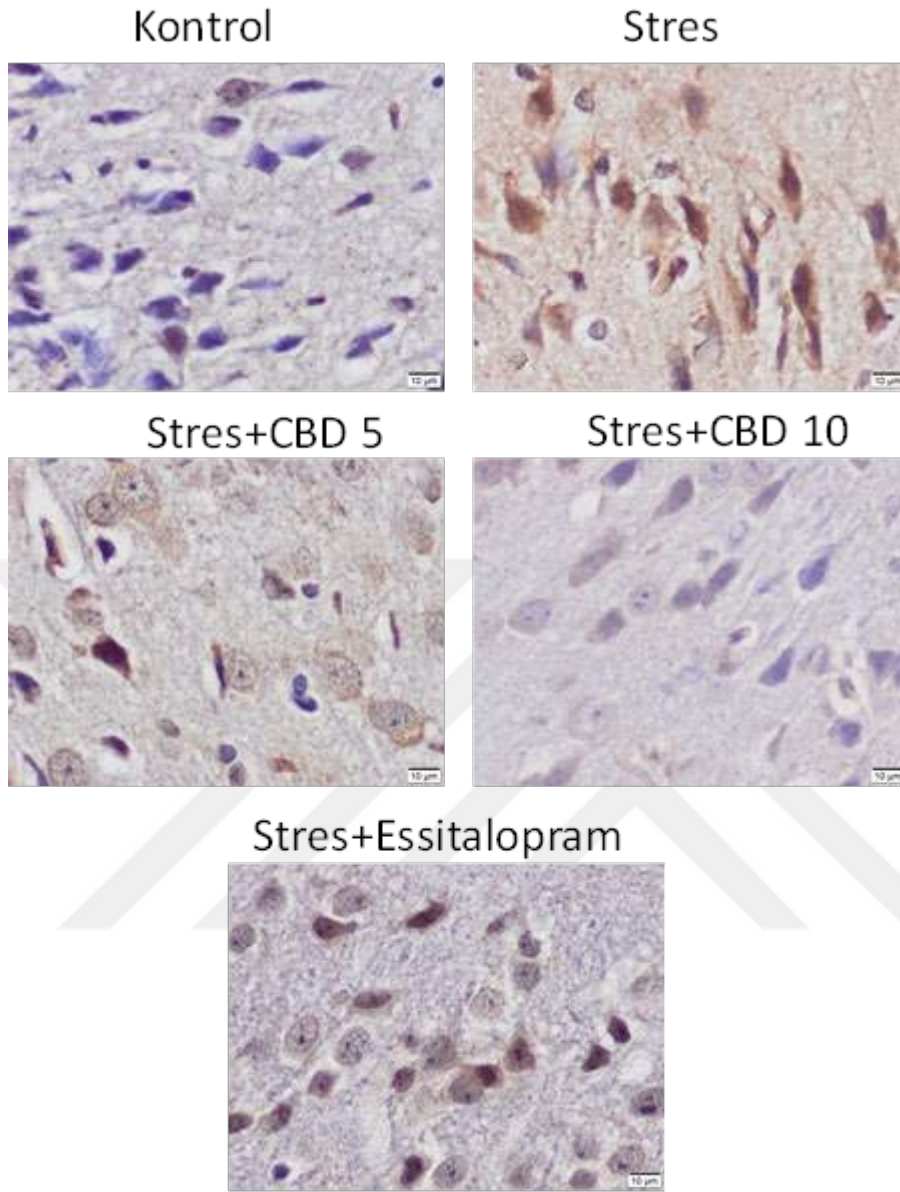
Şekil 4.25. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10 , stres+essitalopram gruplarına ait dentat gyrus, CA ve prefrontal korteks kesitlerinin TRK- β primer antikoruna ait immunohistokimya boyamasının H-skor analizi. Essitalopram: 5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol: 5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol: 10 mg/kg



Resim 12. Kontrol, stres, stres+CBD5, stres+CBD10 , stres+essitalopram gruplarına ait dentat gyrus kesitlerinin TRK- β primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10 μ m).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



Resim 13. Kontrol, stres, stres+CBD5 ve stres+CBD10 , stres+essitalopram gruplarına ait CA bölgesinin kesitlerinin TRK- β primer antikoruna ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10 μ m).Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg



Resim 14. Kontrol, stres, stres+CBD5 ve stres+CBD10, stres+essitalopram gruplarına ait prefrontal korteks kesitlerinin TRK- β primer antikoruyla ait immunohistokimya boyaması (scale bar=10 μ m). Essitalopram:5 mg/kg, CBD5: Kanabidiol:5 mg/kg, CBD10: Kanabidiol:10 mg/kg

5. TARTIŞMA

Stres çalışmalarında açık alan testi merkezi bölümde geçirilen sürenin yanı sıra merkezi/toplam hareket oranının artması veya orta bölüme girme gecikmesinin azalması anksiyoliz belirtileridir.

Toplam hareket ve dikey keşifte değişiklik olmaksızın merkezi harekette veya cihazın orta kısmında geçirilen sürede bir artış, anksiyetenin azalması benzeri bir etki olarak yorumlanabilirken, aksine bu değişkenlerin azalması, anksiyete artışı ile ilişkilidir (90).

Bizim çalışmamızda açık alan testinde deney gruplarının ortalamaları karşılaştırıldığında, stres grubu ve tedavi gruplarında mobil zamanda gruplar arasında anlamlı bir farklılık bulunmadı. Yine açık alan testinde her grubun deney öncesi ve sonrası merkez zonda geçirilen zamanları kendi içinde karşılaştırıldığında da, stres ve tedavi gruplarında anlamlı farklılık gözlenememiştir.

Bir TSSB modelinde kontrole kıyasla stres grubunda, açık alan testinde merkez karede geçirilen zaman azalmıştır (164).

Başka bir çalışmada da TSSB sıçanlarında, kontrole kıyasla merkezde geçirilen sürenin azaldığı gösterilmiştir (165).

Açık kol girişlerindeki azalma ve açık kollarda geçirilen sürenin azalması, yükseltilmiş artı labirent testinde kaygı benzeri davranışın göstergeleridir (81).

Tedaviden sonra, yükseltilmiş artı labirentte kontrol (tedavi edilmemiş) hayvanlara kıyasla açık kollarda daha fazla zaman harcanması ve/veya açık kol girişlerinin sayısının artması tespit edilirse, bu bir anksiyolitik etkiyi gösterir (82, 83).

Bizim çalışmamızda yükseltilmiş artı labirent testinde gruplar kendi arasında kıyaslandığında stres grubunda, stres+essitalopram ve stres+kanabidiol 5 gruplarına göre kapalı kol giriş sayısı açısından anlamlı olarak artış görülmüştür. Stres+essitalopram grubu, stres+kanabidiol 10 grubuna göre açık kolda geçirilen zaman açısından anlamlı olarak daha fazla

zaman geçirmiş olarak gözlemlenmiştir. Yüksek artı labirent testinde her grubun kendi içinde deney öncesi ve sonrası açık kola giriş sayısı ve açık kolda geçirilen zaman açısından karşılaştırıldığında ise, stres ve tedavi gruplarında anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir .

Yırtıcı koku stresi ile psikolojik stres veya fiziksel kısıtlama stresi ile TSSB modeli uygulanmış sıçanlarda bir çalışmada her iki stres grubu da kontrol farelerine kıyasla açık kolda geçirilen zaman azaldığı ve bu artan kaygıya bağlı bir etki olarak gösterilmiştir (166).

Başka bir çalışmada TSSB grubu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, açık kollara girişlerin önemli ölçüde azaltılmış seviyesinin yanı sıra açık kol girişlerinin daha düşük yüzdesini gösterdi. Ayrıca, TSSB grubu ile diğer deney grupları arasında kapalı kol girişlerinin yüzdesinde önemli bir fark gözlemlendi (167).

Birkaç farklı çalışmada da, yükseltilmiş artı labirentte tek uzun süreli strese maruz kalan hayvanların benzer tepkisini göstermiştir (168, 169).

Yine başka bir çalışmada açık alan testinde merkezde geçirilen süre ve merkezde kat edilen mesafe ayrıca yükseltilmiş artı labirentte açık kollardaki giriş sayısı , açık kollarda geçirilen süre açısından stres faktörü önemli farklılıkları ortaya çıkardı (170).

Daha önceki çalışmalarda, tek uzun süreli stres prosedürü ile TSSB modeli oluşturulan sıçanlar genellikle yükseltilmiş artı labirentin açık kolundan kaçınma eğilimindeydi ve zamanının çoğunu kapalı kollarda geçirdi. (168,169).

Bizim alışmamızda yüksek artı labirent testinde deney öncesi ve sonrası gruplar kendi içlerinde kapalı kola giriş sayısı açısından karşılaştırıldığında, stres grubunda ve kanabidiol ile tedavi edilen gruplarda azalmaya eğilim olmasına rağmen farklılık anlamlı değildir. Stres+essitalopram grubunda ise kapalı kol giriş sayısında anlamlı azalma gözlemlenmiştir. Bu da literatürdeki bulgularla uyumlu olup essitalopramın stres azaltıcı etkisine bağlı olduğu düşünülebilir.

BDNF/TrkB sinyalinin nöronlar arası gelişim, bakım, plastisite ve engelleyici iletim üzerinde iyi bilinen etkileri vardır. Nöronal gelişimsel olgunlaşma, BDNF tarafından TrkB reseptörlerinin aktivasyonu yoluyla trofik desteğe bağlıdır (134, 135, 136).

Bizim çalışmamızda beyin hipokampus bölgesindeki elisa yöntemiyle çalışılan BDNF protein düzeylerinde, stres grubu kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış göstermiştir. Tedavi gruplarında ise hem kontrole hem de stres grubuna göre BDNF protein düzeylerinde anlamlı olarak azalma görülmüştür.

BDNF primer antikorunun immunohistokimya bulgularında hipokampusun dentat gyrus ve CA bölgelerinde BDNF immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde stres grubunda kontrol grubuna göre BDNF düzeyi anlamlı derecede arttığı gözlenmiştir. Dentat gyrus bölgesinde tedavi gruplarında stres grubuna göre BDNF düzeylerinde artış olduğu fakat bunlardan yalnızca stres+kanabidiol 5 ile stres+essitalopram gruplarındaki artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. CA bölgesinde stres+kanabidiol 5 ve stres+essitalopram gruplarında stres grubuna göre BDNF düzeylerinin artmış olduğu fakat bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Prefrontal kortekste stres grubunda BDNF düzeyinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu gözlenmiştir. Tedavi gruplarında BDNF düzeyinin stres grubuna göre arttığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Stres+kanabidiol 10 grubunda BDNF düzeyi Stres+kanabidiol 5 grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur.

Bir çalışmada, tek uzamış stres sıçanlarının korku koşullandırmadan 2 saat sonra hipokampusta BDNF ekson I, IV ve IX mRNA seviyelerinde bir artış gösterdiği bulundu. BDNF ekson I, IV ve IX mRNA seviyeleri de, artan korku tepkileri ile iyi bir uyum içinde, korku koşullandırmadan 2 saat sonra kontrol sıçanlarında olduğundan daha fazla arttı (171).

Sosyal izolasyon stresinin hipokampus ve prefrontal korteksinde nöronal plastisitede yer alan farklı genlerin mRNA seviyelerini değerlendirildiği bir çalışmada BDNF ek varyantları 1, 2, 3, 4, 6, 7 ve 8'i ve

toplam BDNF'nin mRNA seviyelerini ölçüldü. Stres uygulanan farelerin hem HPC'sinde hem de PFC'sinde BDNF-7 transkriptinin seçici olarak azaldığı, total BDNF ve analiz edilen diğer tüm BDNF exonlarının değişmediği bulundu. Protein seviyeleri analizi, prefrontal kortekste olgun BDNF'nin azalması için bir eğilim ortaya koydu (172).

Tekrarlanan öngörülemez stres paradigması ile stres oluşturulan bir TSSB çalışmasında hipokampal lizatların immunblot analizinde BDNF seviyeleri downregüle edilmiştir (173).

Bir çalışmada SPS'ye maruz kalma, sıçanlarda olgun BDNF proteini seviyelerinin, korku koşullandırmasından 24 saat sonra hem medial prefrontal kortekste hem de hipokampusta önemli ölçüde azaldığını gösterdi. (174).

Bir çalışmada şok ve stres hatırlatıcılarına maruz kalma, sadece hatırlatıcılara maruz kalan gruba göre CA1 (hipokampusun alt bölgesi), infralimbik korteks ve prelimbik kortekste (medial prefrontal kortekse ait bölgeler) BDNF konsantrasyonlarını azalttı (175).

Klinik öncesi çalışmalar, ayak şokuna veya anneden ayrılmaya maruz kalmanın, hipokampal BDNF ekspresyonunu, mRNA seviyelerinin downregülasyonu yoluyla azalttığını göstermiştir (176, 177, 178).

Önceki çalışmalar, medial prefrontal korteks (mPFC), amigdala ve hipokampustaki BDNF ekspresyonunun muhtemelen stresle ilişkili olaylar ve TSSB semptomları ile ilişkili olduğunu bildirmiştir (179). Örneğin, erken süttan kesilmiş fareler, korku koşullandırmasının ardından artan donma davranışı gösterdi ve bu fareler, mPFC'de BDNF ekspresyonunda ve BDNF ekson III için mRNA transkriptlerinde düşüşler sergiledi (180). TSSB modelinin tek uzun süreli stres ayak şoku prosedürünü kullanmak, prefrontal korteksin daha düşük BDNF seviyelerine sahip olduğunu gösterdi (181). Uzun süreli kısıtlama stresi altında, bazolateral amigdala (BLA), BDNF proteini ve BDNF mRNA ekspresyonunda daha yüksek seviyeler sergiledi; dahası, hipokampusun CA3'ü daha düşük BDNF proteini ve BDNF mRNA ekspresyonuna sahiptir (182). Erken ayak şoku yaşayan ve ardından bir işaret korku koşullandırması alan hayvanlar olarak, ayak şoku TSSB hayvan

modelinde hipokampüsün dentat girusunda (DG) BDNF ekspresyonunu azalttı (177). Bununla birlikte, daha az çalışma, stres veya TSSB'de mPFC, amigdala ve hipokampusun BDNF tutulumları ile ilgili çatışma verileri sağlamıştır (183, 184). Örneğin, kronik stres tedavileri, BDNF mRNA ekspresyonu ile negatif olarak ilişkiliydi ve hipokampusun CA1'inde TrkB mRNA ekspresyonu ile pozitif olarak bağlantılıydı (183).

Kısıtlama stresi, sosyal yenilgi ve elektrik ayak şokları dahil olmak üzere çeşitli stresör türleri, hipokampustaki BDNF seviyelerinde bir azalmaya neden olur (185, 186).

BDNF ile stres arasındaki negatif korelasyona dair çok sayıda kanıta rağmen, sadece birkaç kontrollü çalışma ve bir vaka raporu, TSSB'li hastalarda sağlıklı deneklere göre daha düşük serum BDNF'si bildirmiştir (187). Angelucci et al. (2014), travmaya maruz kalan ve TSSB geliştirmeyen ve TSSB gelişen deneklerde BDNF serum düzeylerini karşılaştırmıştır. Travmatik deneyimin ardından TSSB geliştirmeyen bireylere kıyasla TSSB'si olan hastalarda daha düşük BDNF serum seviyeleri buldular. Tersine, diğer çalışmalar TSSB'li hastaların kontrollerden daha yüksek BDNF düzeylerine sahip olduğunu bulmuştur (188, 189, 190, 191, 192).

SSRI'ların nörotrofik faktörleri ve nörojenezi arttırdığı bazı prelinik çalışmalarda gösterilirken (101), ancak diğerlerinde gösterilmemiştir (102).

Literatürde BDNF'nin stresle azaldığı çalışmalar gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda ise elisa yöntemiyle bakılan hipokampal BDNF protein düzeyi stresle artmış olarak bulunmuştur. İmmunhistokimya boyamasının H-skor analizi ile prefrontal kortekste bakılan BDNF düzeyi ise stresle azalmış, essitalopram ve kanabidiol tedavileri ise bunu artırmış olarak bulunmuştur.

Bir çalışmadaki BDNF ekson mRNA türlerindeki artışın olmasıyla gösterildiği gibi (171) TSSB ilişkili spesifik BDNF mRNA formları bulunabilir. Bunların spesifik olarak TSSB'deki artışı total BDNF düzeylerini etkileyebilir. Bunların spesifik olarak düzeylerinin araştırılması gerekebilir.

Pro BDNF, öğrenmeyi (137, 138) ve korku sönme hafızasını (137, 139) artıran sinaptik iletimi zayıflatan LTD'nin uyarılmasını

kolaylaştırarak sinirsel yeniden şekillenmeyi olumsuz şekilde düzenleyebilir (140).

Bizim çalışmamızda hipokampusteki elisa yöntemiyle çalışılan proBDNF protein düzeylerinde, stres grubunda kontrolden anlamlı olarak artış bulunmuştur. Tedavi gruplarında ise hem kontrole hem de stres grubuna göre proBDNF protein düzeylerinde anlamlı olarak azalma görülmüştür.

ProBDNF primer antikorunun immunohistokimya bulgularında hipokampusun dentat gyrus ve CA bölgelerinde proBDNF immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde stres grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede artış olduğu, stres+kanabidiol 5 ve stres+essitalopram alan gruplarında ise stres grubuna göre anlamlı bir fark olmadığı saptanmıştır. Stres+kanabidiol 10 grubunda ise proBDNF düzeyi stres ve stres+kanabidiol 5 gruplarına göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Prefrontal kortekste stres grubunda kontrol grubuna göre proBDNF düzeyi anlamlı derecede düşük olduğu gözlenir iken stres+kanabidiol 5 grubu da stres grubuna kıyasla bir miktar fazla olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı. Stres+kanabidiol 10 ve stres+essitalopram alan gruplarda stres grubuna göre proBDNF düzeyi anlamlı derecede yüksek olduğu saptandı. Stres+kanabidiol 5 ile Stres+kanabidiol 10 mg/kg/gün alan gruplar karşılaştırıldığında proBDNF düzeyinin stres+kanabidiol 10 grubunda anlamlı derecede yüksek olduğu görüldü.

Sosyal izolasyon stresi uygulanan farelerle yapılan bir çalışmada protein seviyeleri analizi hipokampüste pro-BDNF'nin azaldığı yönünde bir eğilim ortaya koydu (172).

Tekrarlanan öngörülemez stres paradigması ile stres oluşturulan bir TSSB çalışmasında hipokampal lizatların immunblot analizinde pro BDNF değişmemiştir (173).

Literatürde pro-BDNF ile ilgili çalışmalar sınırlıdır. Daha önceki çalışmalarda pro-BDNF'nin stresle azaldığı ve değişmediği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda ise hipokampal pro-BDNF protein seviyelerinin stresle arttığı,

immunohistokimya boyamasının H-skor analizi ile bakılan prefrontal kortekste pro-BDNF'nin ise stresle azaldığı görülmüştür.

Bizim çalışmamızda hipokampus bölgesindeki elisa yöntemiyle bakılan NTRK protein düzeylerinde, stres grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artış bulunmuştur. Tedavi edilen gruplarda ise hem kontrole hem de stres grubuna göre NTRK protein düzeylerinde anlamlı olarak azalma görülmüştür.

TRK- β primer antikorunun immunohistokimya bulgularında hipokampusun dentat gyrus bölgesinde TRK- β primer antikorunun immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde stres grubunda kontrol grubuna göre TRK- β düzeyi azalmış olmakla beraber bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır. Stres+kanabidiol 5 ve stres+essitalopram gruplarında TRK- β düzeyi stres grubuna göre anlamlı derecede artmıştır. Stres+kanabidiol 10 grubunda ise TRK- β düzeyi stres ve stres+kanabidiol 5 gruplarına göre anlamlı derecede azalmıştır. Hipokampusun CA bölgesinde TRK- β düzeyi stres grubunda kontrol grubuna ve stres+kanabidiol 5 mg/kg/gün grubunda stres grubuna göre artmıştır fakat bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Stres+kanabidiol 10 grubunda TRK- β düzeyi hem stres hem de stres+kanabidiol 5 grubuna göre anlamlı derecede azalmıştır. Stres+essitalopram grubunda ise stres grubuna göre anlamlı derecede artmıştır. Prefrontal kortekte, TRK- β düzeyi stres grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştır. Diğer tüm gruplarda stres grubuna göre TRK- β düzeyi anlamlı derecede azalmıştır. Stres+kanabidiol 10 grubu stres+kanabidiol 5 grubuna göre azalmış fakat istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.

Tekrarlanan öngörülemez stres paradigması ile stres oluşturulan bir TSSB çalışmasında hipokampal lizatların immunblot analizinde TrkB değişmemiştir (173).

Bir çalışmada TSSB modeli uygulanmasının ardından ventral mPFC'deki fosfo-TrkB seviyelerinin azaldığı bulundu. Ventral mPFC'den farklı olarak, SPS sıçanlarında hipokampusta fosfo-TrkB seviyelerinde anlamlı bir azalma bulunmadı (174).

Bir TSSB çalışmasının sonuçları, iki farklı tekrarlanan stres paradigmasının katalitik TrkB mRNA'nın ifadesini arttırdığını, ancak hipokampusta kesilmiş TrkB transkriptlerinin ifadesini etkilemediğini göstermektedir. Buna karşılık, akut immobilizasyon stresi, katalitik veya kesik TrkB mRNA'nın ekspresyonunu etkilemez, bu da katalitik TrkB mRNA'nın yukarı regölasyonunun tekrarlanan strese bağlı olduğunu gösterir (193).

Bir çalışmada tek uzamış stres uygulanan sıçanlardaki TrkB mRNA seviyeleri, korku koşullandırmadan bağımsız olarak, stres uygulanmayan sıçanlardan önemli ölçüde daha yüksekti. Ayrıca, SPS sıanlarındaki tam uzunluktaki TrkB protein seviyeleri, stres uygulanmayan sıçanlardan önemli ölçüde daha yüksekti (171).

Stres etkeninin yoğunluğu, süresi ve paradigmasındaki farklılıklar nedeniyle (183), stresin TrkB ifadesi üzerindeki etkisi hala tartışmalıdır.

Bizim alışmamızda elisa yöntemiyle bakılan hipokampal NTRK protein düzeylerinde, strese bağlı artış bulunmuştur. İmmunohistokimya boyamasının H-skor analizinde hipokampusun dentat gyrus stres grubunda kontrol grubuna göre TRK-β düzeyi azalma eğilimi, hipokampusun CA bölgesinde ise artma eğilimi göstermiştir. Prefrontal kortekste, TRK-β düzeyi stres grubunda kontrol grubuna göre artmıştır.

Beyinde bol miktarda tam uzunlukta (trkB.tk+) ve kesik (trkB.t1) trkB olarak eksprese edilen iki trkB reseptör izoformunun olması (194) ve TrkB reseptör dağılımının, gelişim boyunca ve beynin nörodejeneratif ve psikiyatrik bozukluklardan etkilenen bölgelerinde değişmesi (195, 196, 197]) trkb reseptör düzeylerindeki bu bölgesel ve düzeyssel farklılıkların nedeni olabilir.

Kemirgen ve primat çalışmaları ayrıca, erken stresin beyin omurilik sıvısı ve limbik beyin bölgelerindeki CRH konsantrasyonunu arttırdığını göstermiştir (125, 126).

Bizim alışmamızda beyin hipokampus bölgesindeki elisa yöntemiyle bakılan CRH protein düzeylerinde, strese bağlı kontrolden anlamlı olarak artış bulunmuştur. Tedavi gruplarında kontrole ve stres grubuna göre CRH protein düzeylerinde anlamlı olarak azalma görölmüştür.

Stres+kanabidiol 10 grubunda Stres+kanabidiol 5 grubuna göre CRH protein düzeylerinde anlamlı azalma gözlemlenmiştir.

CRH primer antikorunun immunohistokimya bulgularında hipokampusun dentat gyrus ve CA bölgelerinde CRH immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde kontrole göre stres grubunda CRH düzeyinin azaldığı ama istatistiksel olarak anlamlı olmadığı, stres grubuna göre stres+kanabidiol 5 ve stres+essitalopram gruplarında CRH düzeyinin arttığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Stres+kanabidiol 10 grubunda ise CRH düzeyinin diğer gruplara göre en düşük oranda olduğu gözlenmiş ve stres grubuna göre anlamlı olmadığı fakat stres+kanabidiol 5 grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu bulunmuştur. Prefrontal korteksteki CRH immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde kontrol grubuna göre stres grubunda CRH düzeyinin arttığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır. Stres grubuna göre tedavi gruplarında CRH düzeyinin azaldığı ve istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlenmiştir.

Tekrarlanan öngörülemez stres paradigması ile stres oluşturulan bir TSSB çalışmasında Hipokampal lizatların strese maruz kalan hayvanlarda 6. ayda CRH seviyeleri yükselmiştir (173).

Elektrik şoku ile indüklenen fare TSSB modelindeki bir çalışmada CRH seviyeleri stres grubunda artmıştır, pozitif kontrol fluoksetin bu CRH artışını geri çevirememiştir (198).

Bizim çalışmamızdaki strese bağlı elisa yöntemiyle bakılan hipokampal CRH protein seviyesindeki artışla uyumludur. Yine bu yöntemle bakılarda tedavi grupları strese bağlı artan CRH seviyesini azaltmış görülmektedir. CRH düzeylerinin immunohistokimya boyamalarının H-skor analizinde prefrontal korteksteki seviyeleri de stres grubunda CRH'nın artması ve tedavi gruplarında bu artışın azaltılması da literatür ile uyumludur.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak bu araştırmada travma sonrası stres modelinde kanabidioillerin olumlu etkisini düşündüren bulgular elde edilmekle birlikte mekanizmanın aydınlatılması için daha ileri araştırmalarda gerek olduğu düşünölmektedir.



7.ÖZET

Travma Sonrası Stres Bozukluğu Modelinde Kanabidiollerin Davranışsal ve Nörobiyolojik Değişkenler Üzerindeki Etkisi

Bu çalışmamızda kanabidol (CBD) etken maddesinin farmakolojik etkinliğinin sıçanlarda travma sonrası stres bozukluğu (TSSB) modeli oluşturularak araştırılması amaçlanmıştır. Halen mevcut tedavi seçeneklerinin ve tedavi sonuçlarının beklenen düzeyde olmadığı gözlemlendiği için, farklı mekanizmaları içeren yeni bir tedavi seçeneği geliştirme çabalarına katkıda bulunulmasını amaçlamaktayız.

Deney hayvanları kontrol grubu, stres grubu, kanabidiolün iki farklı dozu ve essitalopram tedavi grupları olmak üzere beş gruba ayrılmıştır. Hayvanlarda stres yeniden stres modeli ile TSSB oluşturulmuştur. Hayvanlara çalışma öncesi ve sonrası yüksek artı labirent ve açık alan testi olmak üzere davranış deneyleri yapılmıştır. Çalışmanın sonunda beyin dokusu biyokimyasal ve histopatolojik olarak çalışılmak üzere çıkarılmıştır. Veriler istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Açık alan testinde deney grupları birbirleriyle karşılaştırıldığında, gruplarda, davranış parametrelerinde anlamlı bir değişiklik gösterilememiş, yüksek artı labirent testinde, hipokampüsteki ve prefrontal korteksteki biyokimyasal ve histopatolojik olarak bakılan protein düzeyi parametrelerinde ise gruplar arasında çeşitli parametrelerde farklılıklar görülmüştür. Açık alan ve yüksek artı labirent testlerinde grupların deney sonunda deney öncesine göre baktığımız parametreleri karşılaştırıldığında ise çeşitli parametrelerde farklılıklar görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Travma sonrası stres bozukluğu, sıçan, kanabidiol

8.SUMMARY

The Effect of Cannabidiols on Behavioral and Neurobiological Variables in the Model of Post-traumatic Stress Disorder

In this study, we aimed to investigate the pharmacological activity of the active ingredient cannabidiol (CBD) by creating a post-traumatic stress disorder (PTSD) model in rats. Since it is observed that the current treatment options and treatment results are not at the expected level, we aim to contribute to the efforts to develop a new treatment option that includes different mechanisms.

Experimental animals were divided into five groups as control group, stress group, two different doses of cannabidiol and escitalopram treatment groups. PTSD has been established in animals with the stress-re-stress model. Animals were subjected to behavioral experiments, including high plus maze and open field testing, before and after the study. At the end of the study, the brain tissue was removed for biochemical and histopathological study. The data were statistically analyzed.

When the experimental groups were compared with each other in the open field test, no significant change was observed in the behavioral parameters of the groups. In the elevated plus maze test, there were various differences between the groups in the biochemical and histopathologically analyzed protein level parameters in the hippocampus and prefrontal cortex. When the end-experimental parameters of the groups were compared with the pre-experimental parameters in the open field and elevated plus maze tests, various differences were observed.

Key words: Post Traumatic Stress Disorder, rat, cannabidiol

9. KAYNAKLAR

1. Hapke U, Schumann A, Rumpf H-J, John U, Meyer C. Post-traumatic stress disorder. European archives of psychiatry and Clinical Neuroscience 2006;256(5):299-306.
2. Keane TM, Silberbogen AK, Weierich MR. Post-traumatic stress disorder. A guide to assessments that work. 2008:293-315
3. Amerikan Psikiyatri Birliği A. DSM-5 tanı ölçütleri başvuru el kitabı. (E Köroğlu, Çev.).Ankara, Hekimler Yayın Birliği. 2013:158
4. M. Diana, The dopamine hypothesis of drug addiction and its potential therapeutic value. Front. Psychiatry, 2 (2011), p. 64
5. Bonne O., Grillon C., Vythilingam M., Neumeister A., Charney D. S. Adaptive and maladaptive psychobiological responses to severe psychological stress: implications for the discovery of novel pharmacotherapy. Neurosci. Biobehav. 2004. Rev. 28 65–94.
6. Sherin J. E., Nemeroff C. B. Post-traumatic stress disorder: the neurobiological impact of psychological trauma. Dialog. Clin. Neurosci. 2011.13 263–278.
7. Roth M. K., Bingham B., Shah A., Joshi A., et al. Effects of chronic plus acute prolonged stress on measures of coping style, anxiety, and evoked HPA-axis reactivity. Neuropharmacology (2012) 63 1118–1126.
8. Sambasivarao S. V. Animal models of post-traumatic stress disorder and recent neurobiological insights. Behav. Pharmacol. (2013). 18 1199–1216.
9. McEwen B. S. (2004). Protection and damage from acute and chronic stress: allostasis and allostatic overload and relevance to the pathophysiology of psychiatric disorders. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1032 1–7. 10.1196/annals.1314.001.
10. Vujanovic AA, Schnurr PP. Editorial overview: advances in science and practice in traumatic stress. Curr Opin Psychol. 2017;14:iv–viii.
11. Kessler RC, Posttraumatic stress disorder: the burden to the individual and to society. J. Clin. Psychiatry (2000).61, (Suppl. 5), 4–12;

discussion 13–14

12. Hoskins M, Pearce J, Bethell A, et al. Pharmacotherapy for post-traumatic stress disorder: systematic review and meta-analysis. *Br J Psychiatry* (2015) 206:93–100.
13. Cipriani A, Williams T, Nikolakopoulou A, et al. Comparative efficacy and acceptability of pharmacological treatments for post-traumatic stress disorder in adults: a network meta-analysis. *Psychol Med* (2018) 48:1975–1984.
14. Krediet E, Bostoen T, Breeksema J, et al. Reviewing the Potential of Psychedelics for the Treatment of PTSD. *International Journal of Neuropsychopharmacology*, 2020, Volume 23, Issue 6, Pages 385–400
15. Koenen KC, Ratanatharathorn A, Ng L, et al. Posttraumatic stress disorder in the World Mental Health Surveys. *Psychol Med*. 2017.47:2260–74
16. Fulton JJ, Calhoun PS, Wagner HR, et al. The prevalence of posttraumatic stress disorder in Operation Enduring Freedom/Operation Iraqi Freedom (OEF/OIF) Veterans: a meta-analysis. *J Anxiety Disord*. 2015. 31:98–107
17. Breslau N. Epidemiology of posttraumatic stress disorder in adults *The Oxford Handbook of Traumatic Stress Disorders*. 2012. Oxford University Press: New York:84–97
18. Brewin CR, Andrews B, Valentine JD. Meta-analysis of risk factors for posttraumatic stress disorder in trauma-exposed adults. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*. 2000;68(5):748–766.
19. Breslau N, Kessler RC, Chilcoat HD, et al. Andreski P. Trauma and posttraumatic stress disorder in the community: the 1996 Detroit Area Survey of Trauma. *Archives of general psychiatry*. 1998;55(7):626–632.
20. Shansky RM. Sex differences in PTSD resilience and susceptibility: Challenges for animal models of fear learning. *Neurobiol Stress* (2015). 1:60–65.

21. Yehuda R, Hoge CW, McFarlane AC, et al. Post-traumatic stress disorder. *Nat Rev Dis Primers*. (2015a). 1:15057.
22. Yehuda R, Lehrner A, Rosenbaum TY. PTSD and sexual dysfunction in men and women. *J Sex Med* (2015b). 12:1107–1119.
23. Roberts AL, Gilman SE, Breslau J, et al. Race/ethnic differences in exposure to traumatic events, development of post-traumatic stress disorder, and treatment-seeking for post-traumatic stress disorder in the United States. *Psychological medicine*. 2011;41(1):71–83.
24. Ozer EJ, Best SR, Lipsey TL, et al. Predictors of posttraumatic stress disorder and symptoms in adults: a meta-analysis. *Psychological bulletin*. 2003;129(1):52.
25. Lassemo E, Sandanger I, Nygard JF, et al. The epidemiology of post-traumatic stress disorder in Norway: trauma characteristics and preexisting psychiatric disorders. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* (2017). 52:11–19.
26. Gagne C, Dayan P, Bishop SJ. When planning to survive goes wrong: predicting the future and replaying the past in anxiety and PTSD. *Curr Opin Behav Sci*. (2018). 24:89–95.
27. Kilpatrick DG, Ruggiero KJ, Acierno R, et al. Violence and risk of PTSD, Major Depression, Substance Abuse/Dependence, and Comorbidity: Results from the National Survey of Adolescents. *Journal of Consulting and Clinical Psychology*. 2003;71:692–700.
28. Kessler RC, Sonnega A, Bromet E, et al. Posttraumatic stress disorder in the National Comorbidity Survey. *Archives of general psychiatry*. 1995;52(12):1048–1060.
29. Amstadter AB, Aggen SH, Knudsen GP, et al. Potentially traumatic event exposure posttraumatic stress disorder Axis I and II comorbidity in a population-based study of Norwegian young adults. *Social Psychiatry Psychiatric Epidemiology*. 2012;48(2):215–223.
30. Shalev A, Liberzon I, Marmar C. Post-Traumatic Stress Disorder. *New England Journal of Medicine*. 2017. 376(25):2459–2469.
31. Schlenger W E , Corry N H, Christianna S Williams C Set al. A

- prospective study of mortality and trauma-related risk factors among a nationally representative sample of Vietnam veterans. *Am J Epidemiol.* 2015 Dec 2;182(12):980–90.
32. Perkonigg A, Kessler R C, Storz S, et al., 2000. Traumatic events and post-traumatic stress disorder in the community: prevalence, risk factors and comorbidity. *Acta Psychiatr. Scand.*, 101 (1) (2000), pp. 46-59
 33. Galatzer-Levy IR1, Nickerson A, Litz BT, et al., 2013. Patterns of lifetime PTSD comorbidity: a latent class analysis. *Depression and Anxiety*, 30 (5) (2013), pp. 489-496
 34. Pagura J, Stein MB, Boltonet JM et al., 2010. Comorbidity of borderline personality disorder and posttraumatic stress disorder in the U.S. population. *J. Psychiatr. Res.*, 44 (16) (2010), pp. 1190-1198
 35. Spinhoven P, Penninx BW, van Hemert AM et al. Comorbidity of PTSD in anxiety and depressive disorders: prevalence and shared risk factors. *Child Abuse Negl.* 2014. 38:1320–1330.
 36. Gradus JL, Leatherman S, Curreri A et al. Gender differences in substance abuse, PTSD and intentional self-harm among veterans health administration patients. *Drug Alcohol Depend.* 2017. 171:66–69.
 37. Lento RM, Carson-Wong A, Greenet JD et al. Is suicidal behavior in mood disorders altered by comorbid PTSD? *Crisis.* 2019 Jan;40(1):62-66.
 38. L.L. Davis, A. Suris, M.T. Lambert, et al. Post-traumatic stress disorder and serotonin: new directions for research and treatment. *J. Psychiatry Neurosci.*, 22 (5) (1997), p. 318
 39. Olf M, Güzelcan Y, de Vries GJ, et al. HPA- and HPT-axis alterations in chronic posttraumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 31 (2006), pp. 1220-1230
 40. Yehuda R, McFarlane AC, Shalev AY et al. Predicting the development of posttraumatic stress disorder from the acute response to a traumatic event. *Biol. Psychiatry*, 44 (1998), pp. 1305-1313
 41. Lee DJ, Schnitzlein CW, Wolf JP et al., Psychotherapy versus

- pharmacotherapy for posttraumatic stress disorder: systemic review and meta-analyses to determine first-line treatments. *Depress Anxiety*. 2016;33:792–806.
42. D. Kozaric-Kovacic, 2008. Psychopharmacotherapy of posttraumatic stress disorder. *Croat. Med. J.*, 49 (2008), pp. 459-475
 43. L.N. Ravindran, M.B. Stein. Pharmacotherapy of PTSDs: premises, principles, and priorities. *Brain Res.*, 1293 (2009), pp. 24-39
 44. D.J. Stein, J. Ipser, N. McAnda. Pharmacotherapy of posttraumatic stress disorder: a review of meta-analyses and treatment guidelines. *CNS Spectr.*, 14 (2009), pp. 25-31
 45. Steenkamp MM, Litz BT, Hoge CW, et al. Psychotherapy for military-related PTSD: a review of randomized clinical trials. *JAMA* (2015) 314:489.
 46. Bryant RA, McFarlane AC, Silove D, et al. The lingering impact of resolved PTSD on subsequent functioning. *Clin Psychol Sci* (2016) 4:493–498.
 47. Kitchiner NJ, Lewis C, Roberts NP, et al. Active duty and ex-serving military personnel with post-traumatic stress disorder treated with psychological therapies: systematic review and meta-analysis. *Eur J Psychotraumatol* (2019) 10:1684226.
 48. Mithoefer MC, Grob CS, Brewerton TD Novel psychopharmacological therapies for psychiatric disorders: psilocybin and MDMA. *Lancet Psychiatry*. 2016. 3:481–488.
 49. Kyzar EJ, Nichols CD, Gainetdinov RR, et al. Psychedelic drugs in biomedicine. *Trends Pharmacol Sci* (2017) 38:992–1005.
 50. Curran HV, Nutt D, de Wit H. Psychedelics and related drugs: therapeutic possibilities, mechanisms and regulation. *Psychopharmacology* (2018). 235:373–375.
 51. Liberzon I., Krstov M., Young E. A. Stress-restress: effects on ACTH and fast feedback. *Psychoneuroendocrinology* (1997). 22 443–453.
10.1016/S0306-4530(97)00044-9
 52. Deslauriers J., Toth M., Der-Avakian A., et al. Current status of animal

- models of posttraumatic stress disorder: behavioral and biological phenotypes, and future challenges in improving translation. *Biol Psychiatry* (2018). 83 895–907
53. Belzung C, Lemoine M. Criteria of validity for animal models of psychiatric disorders: focus on anxiety disorders and depression. *Biol Mood Anxiety Disord*. 2011;1:9.
 54. Yehuda R, Antelman SM. Criteria for rationally evaluating animal models of posttraumatic stress disorder. *Biol Psychiatry*. 1993; 33: 479–86.
 55. van der Kolk B, Greenberg M, Boyd H, et al. Inescapable shock, neurotransmitters, and addiction to trauma: toward a psychobiology of post traumatic stress. *Biol Psychiatry*. 1985; 20: 314–25.
 56. Anisman H, Sklar LS. Catecholamine depletion in mice upon reexposure to stress: mediation of the escape deficits produced by inescapable shock. *J Comp Physiol Psychol*. 1979; 93: 610–25.
 57. Antelman SM. Time-Dependent Sensitization as the Cornerstone for a New Approach to Pharmacotherapy - Drugs as Foreign Stressful Stimuli. *Drug Develop Res*. 1988; 14: 1–30.
 58. Antelman SM, Kocan D, Knopf S, et al One brief exposure to a psychological stressor induces long-lasting, time-dependent sensitization of both the cataleptic and neurochemical responses to haloperidol. *Life Sci*. 1992; 51: 261–6.
 59. Antelman SM, Degiovanni LA, Kocan D. A single exposure to cocaine or immobilization stress provides extremely long-lasting, selective protection against sudden cardiac death from Tetracaine. *Life Sci*. 1989; 44: 201–7.
 60. Antelman SM, Cunnick JE, Lysle DT, et al. Immobilization 12 days (but Not One Hour) earlier enhanced 2-Deoxy-D-Glucose-induced immunosuppression - evidence for stressor-induced time-dependent sensitization of the immune-system. *Prog Neuro-Psychoph*. 1990; 14: 579–90.
 61. Richter-Levin G. Acute and long-term behavioral correlates of underwater trauma–potential relevance to stress and post-stress syndromes.

- Psychiatry Res. 1998; 79: 73–83.
62. Morris R. Developments of a Water-Maze procedure for studying spatial-learning in the rat. *J Neurosci Meth.* 1984; 11: 47–60.
63. Zoladz PR, Conrad CD, Fleshner M, et al. Acute episodes of predator exposure in conjunction with chronic social instability as an animal model of post-traumatic stress disorder. *Stress.* 2008; 11: 259–81.
64. Adamec RE, Shallow T. Lasting effects on rodent anxiety of a single exposure to a cat. *Physiol Behav.* 1993; 54: 101–9.
65. Cohen H, Zohar J, Matar MA, et al. Setting apart the affected: the use of behavioral criteria in animal models of post traumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology.* 2004; 29: 1962–70.
66. Hammamieh R, Chakraborty N, De Lima TC, et al. Murine model of repeated exposures to conspecific trained aggressors simulates features of post-traumatic stress disorder. *Behav Brain Res.* 2012; 235: 55–66.
67. Pulliam JV, Dawaghreh AM, Alema-Mensah E, et al. Social defeat stress produces prolonged alterations in acoustic startle and body weight gain in male Long Evans rats. *J Psychiatr Res.* 2010; 44: 106–11.
68. Brain P, Benton D. Interpretation of physiological correlates of differential housing in laboratory rats. *Life Sci.* 1979; 24: 99–115.
69. Kim JW, Kirkpatrick B. Social isolation in animal models of relevance to neuropsychiatric disorders. *Biol Psychiat.* 1996; 40: 918–22.
70. Hatch A, Balazs T, Wiberg GS, et al. Long-term isolation stress in rats. *Science.* 1963; 142: 507.
71. Pibiri F, Nelson M, Guidotti A, et al. Decreased corticolimbic allopregnanolone expression during social isolation enhances contextual fear: a model relevant for posttraumatic stress disorder. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2008; 105: 5567–72.
72. Heim C, Owens MJ, Plotsky PM, et al. Persistent changes in corticotropin-releasing factor systems due to early life stress: relationship to the pathophysiology of major depression and post-traumatic stress disorder. *Psychopharmacol Bull.* 1997; 33: 185–92.

73. Kalinichev M, Easterling KW, Plotsky PM, et al. Long-lasting changes in stress-induced corticosterone response and anxiety-like behaviors as a consequence of neonatal maternal separation in Long-Evans rats. *Pharmacol Biochem Behav.* 2002; 73: 131–40.
74. Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology.* 1985; 85: 367–70.
75. S. Krishnamurthy, D. Garabadu, K.P. Joy. Risperidone ameliorates post-traumatic stress disorder-like symptoms in modified stress re-stress model. *Neuropharmacology*, 75 (2013), pp. 62-77
76. Harvey BH, Naciti C, Brand L. Endocrine, cognitive and hippocampal/cortical 5HT1A/2A receptor changes evoked by a time-dependent sensitisation (TDS) stress model in rats. Harvey et al., 2003. *Brain Res.*, 983 (2003), pp. 97-107.
77. Harvey B.H., Brand L., Jeeva Z., et al., 2006.. Cortical/hippocampal monoamines, HPA-axis changes and aversive behavior following stress and restress in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Physiol. Behav.*, 87 (2006), pp. 881-890.
78. Harvey BH, Naciti C, Brand L, et al. Serotonin and stress: protective or malevolent actions in the biobehavioral response to repeated trauma. Harvey et al. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1032 (2004), pp. 267-272.
79. Handley, S. L., Mithani, S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'-motivated behaviour. *Naunyn Schmiedeberg's Archives. In Pharmacology.* (1984).327, (1), 1-5
80. Jain, N., Kemp, N., Adeyemo, O., et al. Anxiolytic activity of adenosine receptor activation in mice. *British Journal of Pharmacology.* (1995). 1116, (3), 2127-2133
81. Patki G, Li L, Allam F, et al. Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Physiol. Behav.*, 130 (2014), pp. 47-53.

82. Walf, A., Frye, C. The use of the elevated plus maze as an assay of anxiety-related behavior in rodents. *Nature Protocols*. (2007). 2, (2), 322-328
83. Barnett, S. A. *The rat: A study in behavior*. University of Chicago Press. Chicago, IL. (1975).
84. Pellow S., Chopin P., File SE., et al. Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *Journal of Neuroscience Methods*. 1985. 14, (3), 149-167
85. Korte SM, De Boer SF. A robust animal model of state anxiety: fear-potentiated behaviour in the elevated plus-maze. *European Journal of Pharmacology*. 2003.463, (1-3), 163-175
86. Carobrez AP, Bertoglio LJ. Ethological and temporal analyses of anxiety-like behavior: the elevated plus-maze model 20 years on. *Neuroscience & Biobehavioural Reviews*. 2005. 29, (8), 1193-1205
87. Walsh RN, Cummins RA. The open field test: a critical review. *Psychol. Bull.* 1976;83:482–504.
88. Ramos A. Animal Models of anxiety: do I need multiple tests. *TIPS*. 2008;29:493–498.
89. Carola V, D'Olimpio F, Brunamonti E, et al. Evaluation of the elevated plus-maze and open-field tests for the assessment of anxiety-related behavior in inbred mice. *Behav. Brain Res*. 2002;134:49–57.
90. L. Prut, C. Belzung. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur. J. Pharmacol.*, 463 (2003), pp. 3-33
91. Heimer L, Van Hoesen GW. The limbic lobe and its output channels: implications for emotional functions and adaptive behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 2006;30:126–147.
92. Corcoran, K.A. & S. Maren. Hippocampal inactivation disrupts contextual retrieval of fear memory after extinction. *J. Neurosci*. 2001. 21: 1720–1726.
93. Eichenbaum, H. A cortical-hippocampal system for declarative memory. *Nat. Rev. Neurosci*. 2000. 1: 41– 50.

94. Schacter, D.L. The cognitive neuroscience of memory: perspectives from neuroimaging research. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 1997.352: 1689– 1695.
95. Kim J.J., Fanselow M.S. Modality-specific retrograde amnesia of fear. *Science.* 1992;256:675–677.
96. Sanders M.J., Fanselow M.S. Pre-training prevents context fear conditioning deficits produced by hippocampal NMDA receptor blockade. *Neurobiol. Learn Mem.* 2003;80:123–129.
97. Uno H, Tarara R, Else J G, et al. Hippocampal damage associated with prolonged and fatal stress in primates. *J. Neurosci.* 1989. 9: 1705– 1711.
98. Watanabe Y, Gould E, McEwen BS. Stress induces atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3 pyramidal neurons. *Brain Res.* 1992. 588: 341– 345.
99. Layton B, Krikorian R. Memory mechanisms in posttraumatic stress disorder. *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.* 2002. 14: 254– 261.
100. Bremner JD., Vermetten E. Neuroanatomical changes associated with pharmacotherapy in posttraumatic stress disorder. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1032:15415715677402.
101. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ. Neurobiology of depression. *Neuron.* 2002 Mar 28;34(1):13-25
102. Hanson ND, Nemeroff CB, Owens MJ. Lithium, but not fluoxetine or the corticotropin-releasing factor receptor 1 receptor antagonist R121919, Increases cell proliferation in the adult dentate gyrus. *J Pharmacol Exp Ther.* 2011 Apr;337(1):180-6.
103. Milad MR, Quirk GJ. Neurons in medial prefrontal cortex signal memory for fear extinction. *Nature.* 2002. 420: 70– 74.
104. Morgan MA, Romanski LM, LeDoux JE. Extinction of emotional learning: contribution of medial prefrontal cortex. *Neurosci Lett.* 1993 Nov 26;163(1):109-13.
105. Quirk GJ, Russo GK, Barron JL, et al . The role of ventromedial prefrontal cortex in the recovery of extinguished fear. *J. Neurosci.*

2000.20: 6225– 6231.

106. Diorio D., Viau V., Meaney M.J. The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamo-pituitary-adrenal responses to stress. *J. Neurosci.*, 13 (1993), pp. 3839-3847
107. Herman J.P., Cullinan W.E. Neurocircuitry of stress: central control of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Trends Neurosci.*, 20 (1997), pp. 78-84
108. Morgan M.A., Ledoux J.E. Differential contribution of dorsal and ventral medial prefrontal cortex to the acquisition and extinction of conditioned fear in rats. *Behav. Neurosci.*, 109 (1995), pp. 681-688
109. Miller K.E., Cohen J.D. An integrative theory of prefrontal cortex function. *Annu. Rev. Neurosci.*, 24 (2001), pp. 167-202
110. Newport J.D., Nemeroff B.C. Neurobiology of posttraumatic stress disorder. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 10 (2000), pp. 211-218
111. Mason JW, Giller EL, Kosten TR, et al. Urinary free cortisol levels in posttraumatic stress disorder patients. *Journal of Nervous and Mental Disease*, 174 (1986), pp. 145-149
112. Yehuda R, Southwick SM, Krystal JH, et al. Enhanced suppression of cortisol following dexamethasone administration in posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry*, 150 (1993), pp. 83-86
113. Yehuda R, Boisneau D, Lowy MT, et al. Dose-response changes in plasma cortisol and lymphocyte glucocorticoid receptors following dexamethasone administration in combat veterans with and without posttraumatic stress disorder. *Archives of General Psychiatry*, 52 (1995), pp. 583-593
114. Goenjian AK, Yehuda R, Pynoos RS, et al. Basal cortisol, dexamethasone suppression of cortisol, and MHPG in adolescents after the 1988 earthquake in Armenia. *American Journal of Psychiatry*, 153 (1996), pp. 924-934
115. Ströhle A, Holsboer F. Stress responsive neurohormones in depression and anxiety. *Pharmacopsychiatry*, 36 (Suppl. 3) (2003), pp. 207-214
116. Smith MA, Davidson J, Ritchie JC, et al. The corticotropin releasing

- hormone test in patients with posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, 26 (1989), pp. 349-355
117. Bremner JD, Licinio J, Darnell A, et al. Elevated CSF corticotropin-releasing factor concentrations in posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry*, 154 (1997), pp. 624-629
118. Baker SG, West SA, Nicholson WE, et al. Serial CSF corticotropin-releasing hormone levels and adrenocortical activity in combat veterans with posttraumatic stress disorder. *American Journal of Psychiatry*, 156 (1999), pp. 585-588
119. Lindley SE, Carlson EB, Benoit M. Basal and dexamethasone suppressed salivary cortisol concentrations in a community sample of patients with posttraumatic stress disorder. *Biological Psychiatry*, 55 (2004), pp. 940-945.
120. Otte C, Lenoci M, Metzler T, et al. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis activity and sleep in posttraumatic stress disorder. *Neuropsychopharmacology*, 30 (2005), pp. 1173-1180
121. Inslicht SS, Marmar CR, Neylan TC, et al. Increased cortisol in women with intimate partner violence-related posttraumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology*, 31 (2006), pp. 825-838
122. Simeon D, Knutelska M, Yehuda R, et al. Hypothalamic–pituitary–adrenal axis function in dissociative disorders, posttraumatic stress disorder, and healthy volunteers. *Biological Psychiatry*, 61 (2007), pp. 966-973
123. Carpenter LL, Tyrka AR, McDougale CJ, et al. Cerebrospinal fluid corticotropin-releasing factor and perceived early-life stress in depressed patients and healthy control subjects. *Neuropsychopharmacology* (2004). 29: 777–784.
124. Lee R, Geraciotti TD Jr, Kasckow JW, et al. Childhood trauma and personality disorder: positive correlation with adult CSF corticotropin-releasing factor concentrations. *Am J Psychiatry*. (2005). 162: 995–997
125. Coplan JD, Andrews MW, Rosenblum LA, et al. Persistent elevations of cerebrospinal fluid concentrations of corticotropin-releasing factor in

- adult nonhuman primates exposed to early-life stressors: implications for the pathophysiology of mood and anxiety disorders. *Proc Natl Acad Sci USA* (1996). 93: 1619–1623.
126. Plotsky PM, Thrivikraman KV, Nemeroff CB, et al. Long-term consequences of neonatal rearing on central corticotropin-releasing factor systems in adult male rat offspring. *Neuropsychopharmacology* (2005). 30: 2192–2204.
 127. Fritsch B, Reis J, Martinowich K, et al. Direct current stimulation promotes BDNF-dependent synaptic plasticity: potential implications for motor learning. *Neuron*, 66 (2010), pp. 198-204.
 128. Mahan AL , Ressler KJ. Fear Conditioning, Synaptic Plasticity, and the Amygdala: Implications for Posttraumatic Stress Disorder. *Trends Neurosci.* 2012 Jan; 35(1): 24–35.
 129. Minichiello L. TrkB signalling pathways in LTP and learning. *Nat Rev Neurosci.* 2009;10:850–860.
 130. Paredes D, Knippenberg AR, Morilak DA. Infralimbic BDNF signaling is necessary for the beneficial effects of extinction on set shifting in stressed rats. *Neuropsychopharmacology.* . 2022. Volume 47, pages507–515.
 131. Minichiello L., Korte M., Wolfer D., et al. Essential role for TrkB receptors in hippocampus-mediated learning. *Neuron.* (1999). 24, 401–414.
 132. Castrén E., Antila H. Neuronal plasticity and neurotrophic factors in drug responses. *Mol. Psychiatry.* (2017). 22, 1085–1095.
 133. Umemori J., Winkel F., Didio G., et al. iPlasticity: induced juvenile-like plasticity in the adult brain as a mechanism of antidepressants. *Psychiatry Clin. Neurosci.* (2018). 72, 633–653.
 134. Marty S, Carroll P, Cellerino A, et al. Brain-derived neurotrophic factor promotes the differentiation of various hippocampal nonpyramidal neurons, including Cajal-Retzius cells, in organotypic slice cultures. *J. Neurosci.*, (1996), 16 (2), pp. 675-687.
 135. Marty S, Berzaghi MdaP, Berninger B. Neurotrophins and activity-

- dependent plasticity of cortical interneurons. *Trends Neurosci.*, 20 (5) (1997), pp. 198-202
136. McAllister AK, Katz LC, Lo DC. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu. Rev. Neurosci.*, 22 (1999), pp. 295-318
 137. Dalton GL, Wu DC, Wang YT, et al. NMDA GluN2A and GluN2B receptors play separate roles in the induction of LTP and LTD in the amygdala and in the acquisition and extinction of conditioned fear. *Neuropharmacology*. 2012. 62:797–806.
 138. Walker AG, Wenthur CJ, Xiang Z, et al. Metabotropic glutamate receptor 3 activation is required for long-term depression in medial prefrontal cortex and fear extinction. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015. 112:1196–1201.
 139. Li WG, Liu MG, Deng S, et al. ASIC1a regulates insular long-term depression and is required for the extinction of conditioned taste aversion. *Nat Commun*. 2016. 7:13770.
 140. Yang J, Harte-Hargrove LC, Siao CJ, Et al. proBDNF negatively regulates neuronal remodeling, synaptic transmission, and synaptic plasticity in hippocampus. *Cell Rep*. 2014. 7:796–806.
 141. Zhou XF, Song XY, Zhong JH, et al. Distribution and localization of pro-brain-derived neurotrophic factor-like immunoreactivity in the peripheral and central nervous system of the adult rat. *J Neurochem*. 2004;91:704–715.
 142. Lee R., Kermani P., Teng K. K., et al. Regulation of cell survival by secreted proneurotrophins. *Science* (2001). 294, 1945– 1948.
 143. Pang P. T. and Lu B. Regulation of late-phase LTP and long-term memory in normal and aging hippocampus: role of secreted proteins tPA and BDNF. *Ageing Res. Rev.* (2004). 3, 407– 430.
 144. Woo N. H., Teng H. K., Siao C. J., et al. Activation of p75NTR by proBDNF facilitates hippocampal long-term depression. *Nat. Neurosci.* (2005). 8, 1069– 1077.
 145. Sun Y., Lim Y., Li F., et al. ProBDNF collapses neurite outgrowth of primary neurons by activating RhoA. *2012;7(4):e35883..*

146. Kogan NM, Mechoulam R. The chemistry of endocannabinoids. *J Endocrinol Invest.* 2006;29:3.
147. Marsicano G, Wotjak CT, Azad SC, et al. The endogenous cannabinoid system controls extinction of aversive memories. *Nature.* 2002;418:530–534.
148. Fraser GA. The use of a synthetic cannabinoid in the management of treatment-Resistant nightmares in posttraumatic stress disorder (PTSD) *CNS Neurosci Ther.* 2009;15:84–88.
149. Ganon-Elazar E, Akirav I. Cannabinoid receptor activation in the basolateral amygdala blocks the effects of stress on the conditioning and extinction of inhibitory avoidance. *J Neurosci.* 2009;29:11078.
150. Ganon-Elazar E, Akirav I. Cannabinoids prevent the development of behavioral and endocrine alterations in a rat model of intense stress. *Neuropsychopharmacology.* (2012). 37: 456–466.
151. Ganon-Elazar E, Akirav I. Cannabinoids and traumatic stress modulation of contextual fear extinction and GR expression in the amygdala-hippocampal-prefrontal circuit. *Psychoneuroendocrinology* (2013). 38: 1675–1687.
152. Moreira FA, Wotjak CT. Cannabinoids and anxiety. *Curr Top Behav Neurosci.* 2010;2:429–450
153. Chhatwal J. P., Ressler K. J. Modulation of fear and anxiety by the endogenous cannabinoid system. *CNS Spectr.* 2007.12 211–220.
154. Neumeister A. Translational evidence for a role of endocannabinoids in the etiology and treatment of posttraumatic stress disorder. *Psychoneuroendocrinology.* 2015. 51 577–584.
155. Schwendt M, Shallcross J, Hadad NA, et al. A novel rat model of comorbid PTSD and addiction reveals intersections between stress susceptibility and enhanced cocaine seeking with a role for mGlu5 receptors. *Transl. Psychiatry.* 2018. 8:209.
156. Chhatwal JP, Davis M, Maguschak KA, et al., Enhancing cannabinoid neurotransmission augments the extinction of conditioned fear. *Neuropsychopharmacology.* 2005. 30 516–524.

157. Campolongo P, Roozendaal B, Trezza V et al. Endocannabinoids in the rat basolateral amygdala enhance memory consolidation and enable glucocorticoid modulation of memory. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2009. 106 4888–4893.
158. Haller J, Varga B, Ledent C, et al., CB1 cannabinoid receptors mediate anxiolytic effects: convergent genetic and pharmacological evidence with CB1-specific agents. *Behav. Pharmacol.* 2004. 15 299–304.
159. Sink KS, Segovia KN, Sink J, et al., Potential anxiogenic effects of cannabinoid CB1 receptor antagonists/inverse agonists in rats: comparisons between AM4113, AM251, and the benzodiazepine inverse agonist FG-7142. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2010. 20 112–122.
160. Campos AC, Moreira FA, Gomes FV, et al., Multiple mechanisms involved in the large-spectrum therapeutic potential of cannabidiol in psychiatric disorders. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 2012b. 367 3364–3378.
161. Bitencourt RM, Pamplona FA, Takahashi RN. Facilitation of contextual fear memory extinction and anti-anxiogenic effects of AM404 and cannabidiol in conditioned rats. *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2008. 18 849–859.
162. Das RK, Kamboj SK, Ramadas M., et al. Cannabidiol enhances consolidation of explicit fear extinction in humans. *Psychopharmacology.* 2013. 226 781–792.
163. Chhatwal JP, Myers KM, Ressler KJ, et al. Regulation of gephyrin and GABAA receptor binding within the amygdala after fear acquisition and extinction. *J Neurosci.* 2005;25:502–506
164. Hou Y, Chen M, Wang C, et al. Electroacupuncture Attenuates Anxiety-Like Behaviors in a Rat Model of Post-traumatic Stress Disorder: The Role of the Ventromedial Prefrontal Cortex. *Front Neurosci.* 2021. 15: 690159
165. Rahimi S, Ragerdikashani M, Beheshti F, et al. Alteration of the neurogenesis and long term potential of olfactory bulb in an animal

- model of PTSD. *Acta Neurobiol Exp* 2020, 80: 344–352.
166. Ghosh S, Mohammed Z, Singh I. Ghosh et al. Bruton's tyrosine kinase drives neuroinflammation and anxiogenic behavior in mouse models of stress. *Journal of Neuroinflammation*. 2021. 18: 289.
 167. Alzoubi KH, Al Subeh ZYA, Khabour OF, et al. Evaluating the protective effect of etazolate on memory impairment, anxiety- and depression-like behaviors induced by post traumatic stress disorder. *Brain Research Bulletin*. 2017. Pages 185-192.
 168. Miao YL, Guo WZ, Shi WZ, et al. Midazolam Ameliorates the Behavior Deficits of a Rat Posttraumatic Stress Disorder Model through Dual 18 kDa Translocator Protein and Central Benzodiazepine Receptor and Neurosteroidogenesis. 2014 Jul 2;9(7):e101450.
 169. Lee B, Sur B, Yeom M, et al. L-Tetrahydropalmatine Ameliorates Development of Anxiety and Depression-Related Symptoms Induced by Single Prolonged Stress in Rats. *Biomol Ther (Seoul)*. 2014. 22(3): 213–222.
 170. Xue F, Xue SS, Liu L, et al. Early intervention with electroacupuncture prevents PTSD-like behaviors in rats through enhancing hippocampal endocannabinoid signaling. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. 2019. 93, 171–181.
 171. Takei S, Morinobu S, Yamamoto S, et al. Enhanced hippocampal BDNF/TrkB signaling in response to fear conditioning in an animal model of posttraumatic stress disorder. *J. Psychiatr. Res*. 2011. 45, 460–468.
 172. Ieraci A, Mallei A, Popoli M. Social Isolation Stress Induces Anxious-Depressive-Like Behavior and Alterations of Neuroplasticity-Related Genes in Adult Male Mice. *Neural Plast* 2016: 6212983.
 173. Algamal M, Ojo JO, Lungmus CP, et al. Chronic Hippocampal Abnormalities and Blunted HPA Axis in an Animal Model of Repeated Unpredictable Stress. *Front Behav Neurosci*. 2018. Jul 20;12:150.
 174. Kataoka T, Fuchikami M, Nojima S, et al. Combined brain-derived neurotrophic factor with extinction training alleviate impaired fear

- extinction in an animal model of post-traumatic stress disorder. *Genes. Brain. Behav.* 2019. 18.
175. Burstein O, Shoshan N, Doron R, et al. Cannabinoids prevent depressive-like symptoms and alterations in BDNF expression in a rat model of PTSD. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 2018. 84, 129–139.
 176. Duman RS. Synaptic plasticity and mood disorders. *Molecular Psychiatry*, 2002. 7, pp. 29-34.
 177. Rasmusson AM, Shi L, Duman R., et al., Downregulation of BDNF mRNA in the hippocampal dentate gyrus after re-exposure to cues previously associated with footshock. *Neuropsychopharmacology*, 27 (2) (2002), pp. 133-142.
 178. Dell'Osso L, Carmassi C, Del Debbio A, et al., Brain-derived neurotrophic factor plasma levels in patients suffering from post-traumatic stress disorder. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 33 (2009), pp. 899-902.
 179. Autry A. E., Monteggia L. M. Brain-derived neurotrophic factor and neuropsychiatric disorders. *Pharmacological Reviews.* 2012;64(2):238–258.
 180. Mogi K., Ishida Y., Nagasawa M., et al. Early weaning impairs fear extinction and decreases brain-derived neurotrophic factor expression in the prefrontal cortex of adult male C57BL/6 mice. *Developmental Psychobiology.* 2016;58(8):1034–1042.
 181. Hou L., Qi Y., Sun H., et al. Applying ketamine to alleviate the PTSD-like effects by regulating the HCN1-related BDNF. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry.* 2018;86:313–321.
 182. Bennett M. R., Lagopoulos J. Stress and trauma: BDNF control of dendritic-spine formation and regression. *Progress in Neurobiology.* 2014;112:80–99.
 183. Kozlovsky N., Matar M. A., Kaplan Z., et al. Long-term down-regulation of BDNF mRNA in rat hippocampal CA1 subregion correlates with PTSD-like behavioural stress response. *The International Journal of*

- Neuropsychopharmacology. 2007;10(6):741–758.
184. Saur L., Neves L. T., Greggio S., et al. Ketamine promotes increased freezing behavior in rats with experimental PTSD without changing brain glucose metabolism or BDNF. *Neuroscience Letters*. 2017;658:6–11.
185. Lee B. H., Kim Y. K. (2010). The roles of BDNF in the pathophysiology of major depression and in antidepressant treatment. *Psychiatry Investig*. 2010 Dec;7(4):231-5.
186. Yu H., Chen Z. Y. (2011). The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry. *Acta Pharmacol. Sin.* 32 3–11. 10.1038/aps.2010.184
187. Angelucci F, Ricci V, Gelfo F, et al. BDNF serum levels in subjects developing or not post-traumatic stress disorder after trauma exposure. *Brain Cogn*. 2014; 84: 118–122.
188. Dotta-Panichi R M, Bins HD, Tramontina JF, et al. Serum concentrations of brain-derived neurotrophic factor and mental disorders in imprisoned women. *Rev Brasil Psiqu.* 2015; 37: 113–120.
189. Hauck S, Gomes F, de Moura Silveira E, et al. Serum levels of brain-derived neurotrophic factor in acute and posttraumatic stress disorder: A case report study. *Rev Brasil Psiqu.* 2009; 31: 48–51.
190. Hauck S, Kapczinski F, Roesler R, et al. Serum brain-derived neurotrophic factor in patients with trauma psychopathology. *Progress NeuroPsychopharmacol Biol Psych*. 2010; 34: 459–462.
191. Matsuoka Y, Nishi D, Noguchi H, et al. Longitudinal changes in serum brain-derived neurotrophic factor in accident survivors with posttraumatic stress disorder. *Neuropsychobiology*. 2013; 68: 44–50.
192. Lee SJ, Baek JH, Kim YH. Brain-derived Neurotrophic Factor Is Associated with Cognitive Impairment in Elderly Korean Individuals. *Clin Psychopharmacol Neurosci*. 2015; 13:283–287.
193. Nibuya M, Takahashi M, Russell DS, et al. Repeated stress increases catalytic TrkB mRNA in rat hippocampus. 1999, *Neurosci. Lett.* 267, 81–84.

194. Barbara M Fenner Truncated TrkB: beyond a dominant negative receptor. Cytokine & Growth Factor Reviews.2012.Volume 23, Issues 1–2, Pages 15-24
195. Ohira K, Shimizu K, Hayashi M. et al. Change of expression of full-length and truncated TrkB in the developing monkey central nervous system. Brain Res Dev Brain Res, 1999, pp. 21-29.
196. Ohira K, Hayashi M. Expression of TrkB subtypes in the adult monkey cerebellar cortex. J Chem Neuroanat. 2003. pp. 175-183.
197. Ohira K, Shimizu K, Yamashita A, et al. Differential expression of the truncated TrkB receptor, T1, in the primary motor and prefrontal cortices of the adult macaque monkey. Neurosci Lett, 385 (September (2)) (2005), pp. 105-109.
198. Wang Z, Zhu K, Chen L, et al. Preventive effects of ginsenoside Rg1 on post-traumatic stress disorder (PTSD)-like behavior in male C57/B6 mice. Neurosci. Lett. 2015. 605, 24–28 .