



TÜRKİYE CUMHURİYETİ

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

DENEYSEL HAFİF KAFA TRAVMASI SONRASINDA JUVENİL

RATLARDA NÖROMOTOR FONKSİYON, KOGNİTİF

FONKSİYON VE İYİLEŞME SÜRECİ ÜZERİNE

VORTIOXETINE'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Seçkin Emre CANSAN

BOLU

2020

TÜRKİYE CUMHURİYETİ

BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

BEYİN VE SİNİR CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

**DENEYSEL HAFİF KAFA TRAVMASI SONRASINDA JUVENİL
RATLARDA NÖROMOTOR FONKSİYON, KOGNİTİF
FONKSİYON VE İYİLEŞME SÜRECİ ÜZERİNE
VORTIOXETINE'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Seçkin Emre CANSAN

DANIŞMAN

Prof. Dr. Ali Rıza Gezici

BOLU

2020

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

TEZ ONAY BELGESİ

Adayın Adı Soyadı : Seçkin Emre CANCAN

Anabilim Dalı/Bilim Dalı : Beyin ve Sinir Cerrahisi

Tezin Başlığı : Deneysel Hafif Kafa Travması Sonrasında Jüvenil
Ratlarda Nöromotor Fonksiyon, Kognitif Fonksiyon ve
İyileşme Süreci Üzerine Vortioxetine'in Etkilerinin
Araştırılması

Tezin Danışmanı : Prof. Dr. Ali Rıza Gezici

Tezin Savunma Tarihi :

Jüri Başkanı Prof. Dr.

Üye Doç. Dr.

Üye Dr. Öğr. Üyesi Dr.

DEKANLIK ONAYI

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Muhammet Güzel KURTOĞLU
DEKAN V

ÖZET

DENEYSEL HAFİF KAFA TRAVMASI SONRASINDA JUVENİL RATLARDA NÖROMOTOR FONKSİYON, KOGNİTİF FONKSİYON VE İYİLEŞME SÜRECİ ÜZERİNE VORTIOXETINE'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Kafa travması önemli sağlık sorunlarından birisidir. Literatürde kafa travmasına bağlı başvurular incelendiğinde vakaların %75-90'ını hafif kafa travmalarının oluşturduğu bildirilmektedir. Özellikle genç nüfus içinde kafa travmaları önemli bir engellilik ve ölüm nedenidir; tüm ölümlerin neredeyse %30'undan sorumludur. Hafif kafa travması sonrası ortaya çıkabilecek sekeller içinde baş ağrısı, uyku bozuklukları, kognitif fonksiyon bozuklukları, anksiyete ve duygu-durum değişiklikleri sayılabilir. Kafa travması hafif ve bulgular geçici olsa bile travmanın yarattığı hasar juvenil bireylerde kognitif fonksiyonları uzun dönemde de etkileyebilecek sorunlara neden olabilir.

Çalışmamızda vortioxetine etken maddesinin; juvenil ratların hipokampus ve frontal kortekslerindeki serotonin ve beyin kaynaklı nörotropik faktör seviyelerine etkisi, apoptoz miktarları, hücresel rejenerasyon ve nörogenез üzerine etkileri araştırılmıştır; eş zamanlı olarak klinik yansımaları incelemek için motor ve kognitif beceriler değerlendirilmiştir.

Çalışmamız jüvenil 36 ratla, 3 grupta (kontrol, sham, deney), oluşturulan hafif kafa travması modeli sonrasında Barnes Maze, Tapered Beam Walking verileri ve sakrifikasyon sonrasında elde edilen beyin dokusu örneklerinde ELISA, immünohistokimyasal boyamalar ve histolojik değerlendirmelerin neticeleri üzerinden yapılmıştır. Deney grubu ratlara uygun dozda vortioxetine, sham grubuna salin uygulanmıştır, kontrol grubuna herhangi bir girişim yapılmamıştır.

Vortioxetine'in deney grubunda hipokampal beyin kaynaklı nörotropik faktörü artırdığı ($p=0.014$); hipokampus ve kortekste apoptozu azalttığı ($p=0.002$; $p=0.014$); ödem, kanama ve enflamasyonu azalttığı ($p<0.001$; $p<0.001$; $p=0.025$); erken dönemde ve çalışma boyunca deney grubundaki arka ayaklarda kayma sayısını azalttığı ($p=0.047$; $p=0.016$); süre ($p=0.010$), erken dönem ortalama hız ($p=0.021$), geçilen kadran sayısı ($p=0.045$), yol verimliliği ($p=0.024$) gibi parametrelerde olumlu sonuçları olduğu görülmüştür.

Vortioxetine hafif kafa travması sonrasında jüvenil ratlarda motor koordinasyon ve fonksiyonun daha hızlı geri kazanımında, kognitif becerilerin korunmasında etkili bulunmuştur.

Anahtar Kelimeler: apoptoz, enflamasyon, serotonin, travma, vortioxetine

ABSTRACT

INVESTIGATING THE EFFECTS OF VORTIOXETINE AFTER EXPERIMENTAL MILD HEAD INJURY; ON NEUROMOTOR FUNCTIONS, COGNITIVE FUNCTIONS AND HEALING PROCESS IN JUVENILE RATS

Head trauma is one of the major health problems. When the hospital admissions related to head traumas are analyzed in the literature, it is reported that mild head trauma cases constitute 75-90% of the admissions. Head injuries are an important cause of disability and mortality, especially in the young population; responsible for almost 30% of all deaths. Headache, sleep disorders, cognitive dysfunction, anxiety and mood-state changes can be listed among the sequelae that may occur after mild head trauma. Even if the head trauma is mild and the findings are temporary, the damage caused by the trauma can cause problems in juvenile individuals that may affect cognitive functions in the long term.

Vortioxetine's -as an active substance- effects on the levels of serotonin and brain-derived neurotropic factors in the hippocampus and frontal cortex of the juvenile rats, the effects on apoptosis amounts, cellular regeneration and neurogenesis were studied in our research; also motor and cognitive skills were evaluated simultaneously to examine clinical reflections.

Our study was performed with 36 juvenile rats, in 3 groups (control, sham, experiment), after a mild head trauma model; the data from Barnes Maze and Tapered Beam Walking tests were analyzed together with the results obtained from ELISA, immunohistochemical staining and histological evaluations in brain tissue samples which were collected after sacrifice. Rats in the experiment group were administered appropriate doses of vortioxetine whereas saline was applied to rats in the sham group; and no intervention was made to the control group.

Vortioxetine increased the hippocampal brain-induced neurotrophic factor in the experiment group ($p = 0.014$); reduced apoptosis in the hippocampus and cortex ($p = 0.002$; $p = 0.014$); reduced edema, bleeding and inflammation ($p < 0.001$; $p < 0.001$; $p = 0.025$); reduced the number of slippage in hind legs of the experiment group in the early period and throughout the study ($p = 0.047$; $p = 0.016$); duration ($p = 0.010$), early period mean speed ($p = 0.021$), number of lines crossed ($p = 0.045$) and path efficiency ($p = 0.024$) results were in favor.

Vortioxetine was found to be effective in the early recovery of motor coordination and functions in juvenile rats which exposed to mild head trauma, and in preserving their cognitive skills.

Keywords: apoptosis, inflammation, serotonin, trauma, vortioxetine

Teşekkür ederim...

Öncelikle bu vatanın bağımsız ve modern bir ülke olmasını sağlayan yegâne kişi; rahmetli, ulu önder **Mustafa Kemal Atatürk** ve beraber yürüdüğü silah ve fikir arkadaşlarına... Böylesi bir hayatı yaşayabildiğim için...

Geçmişte hayat bulmuş tüm devletlerimizi kuran kutlu Türk büyüklerine ve tarih boyunca tip bilimine katkılar sunan Türk hekimlerine...

Tarih öncesi dönemlerden bugüne ve zamanda buradan öteye, insanlara sağlık dağıtabilmek için yeri geldiğinde kendi yaşamlarını unutan, dünyanın dört köşesindeki sayın meslektaşlarıma...

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam boyunca kıymetleri bilgilerini ve emeğini esirgemeyen sayın hocam **Prof. Dr. Ali Rıza Gezici**'ye, yine uzmanlık eğitimi sürecimde bilgi ve becerimin gelişiminde çok büyük emekleri olan sayın hocalarım **Doç. Dr. Yaşar Dağistan**'a ve **Dr. Öğr. Üyesi Özgür Şenol**'a, az bir müddet de olsa birlikte çalışma şansını yakaladığım sayın hocam **Prof. Dr. Nezh Özkan**'a...

Tüm hayatım boyunca desteklerini her aşama ve zorlukta eksik etmeyen, çok özel insanlar annem **Fatma Nur Cancan** hanımefendi ve babam **Ali Cancan** beyefendiye...

Eşsiz bir arkadaş, şahane bir eş, şefkat dolu bir anne, başarılı bir cerrah ve vazgeçilmez bir dost olan ruhumun yarısı **Op. Dr. Gülden Cancan**'a...

Her tökezlediğimde elimden tutan canım kardeşim **Elif Damla Görmüş**'e ve ablam **Didem Ale**'ye; eşlerinin desteğinde büyük payları olan sevgili kardeşlerim **Necmettin Alper Görmüş**'e ve **İsmail Ale**'ye; büyük destek ve yardımlarından ötürü sayın kayınvalidem **Elmas Korkmaz** hanımefendiye...

“Asistanlık” denilen uzun yolda birlikte yürüdüğüm, kahrımı çeken ve hep birlikte keyifli anlar geçirdiğimiz sayın ağabeylerim **Dr. Öğr. Üyesi Güven Kılıç**'a ve **Dr. Öğr. Üyesi Semih Akar**'a; sevgili arkadaşlarım **Op. Dr. Kutlu Sarı**'ya, **Dr. Berkay Bozkurt**'a, **Dr. Burcu Ece Bozkurt**'a, **Dr. Caner Çiçek**'e, **Dr. Şit Karataş**'a...

Cennet mekân, fikir dünyamı zenginleştirmiş ve bana hekim olma aşkını aşılamış rahmetli anneannem **Sevim Yücesoy** hanımefendiye...

Ve en önemlisi, hayatıma anlam katan yaşama sevincim ve bir tanem **ÜLKEM**'e...

Dr. Seçkin Emre CANSAN

İçindekiler

TEZ ONAY BELGESİ	iii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR EDERİM.....	vii
TABLolar:	x
GRAFİKLER:	xi
RESİMLER.....	xii
KISALTMALAR VE TERİMLER	15
1. GİRİŞ:	17
2. GEREÇ VE YÖNTEM:.....	22
2.1- Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu Onayı:	24
2.2- Çıkar Çatışması ve Finansal Destek:.....	24
2.3- Çalışma Grupları:.....	24
2.3.1- Çalışmada kullanılan ratlar ve özellikleri:	24
2.3.2- Hayvan refahı:	25
2.3.3- Çalışma grupları:.....	25
2.3.4- Travma Öncesi Ratların Gaz Anestezisine Alınması:	27
2.3.5- Sakrifikasyon Yöntemi ve Örneklerin Toplanması:	29
2.3.6- Hafif Kafa Travması Ağırlık Düşürme Modeli:.....	39
2.3.7- Travma Sonrasında Righting Sürelerinin Ölçülmesi:	46
2.3.8- İntraperitoneal Yoldan Vortioxetine ve SF Uygulanması ile Ağırlık Takiplerinin Kayıt Altına Alınması:	47
2.3.9- Barnes Maze testinin gerçekleştirilmesi:	47
2.3.10- Tapered Beam Walking Testi:.....	53
2.3.11- İlacın Hazırlanması:.....	57
2.3.12- ELISA Çalışmaları için Test Prosedürleri:	57
2.3.12.1- Rat BDNF Ölçümü için ELISA Protokolü:.....	58
2.3.12.2- Rat Serotonin Ölçümü için ELISA Protokolü:	58

2.3.12.3- Hemotoksilen-Eozin Boyama Prosedürü.....	59
2.3.12.4- İmmün İşaretleme Çalışmalarının Protokolleri (BDNF/5-HT/Caspase 9) ve İmmünohistokimyasal Çalışmalar ve İncelemelerinde kullanılan skorlama.....	59
2.4- İstatistiksel Analiz:	61
3. BULGULAR:.....	62
3.1- Ayağa Kalkma Süresi (sn).....	62
3.2- Ağırlık (gr)	63
3.4- Hipokampuslarda ve Frontal Kortekslerde BDNF ile Serotonin Miktarlarının Ölçümleri (ELISA)	67
3.5- Histolojik Verilerin Analizi	69
3.6- Tapered-Beam Walking Testi Bitirme Süresi (sn)	74
3.7- Tapered-Beam Walking Testinde Arka Ayaklardaki Kayma Sayısı.....	76
3.8- BARNES MAZE DEĞERLENDİRMESİ	79
3.8.1- DURATION.....	79
3.8.2- DISTANCE	83
3.8.3- MEAN SPEED	86
3.8.4- LINE CROSSING	89
3.8.5- PATH EFFICIENCY	92
4. TARTIŞMA:	95
4.1- Hafif Kafa Travması Modeli:	95
4.2- Kilo alımı üzerine vortioxetine'in etkileri:.....	95
4.3- Serotonin (5-HT), BDNF ve antiinflamatuvar yanıt:.....	96
4.4- Vortioxetine'in motor fonksiyonlar üzerine etkisi:	102
4.5- Vortioxetine'in kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi:	108
5. SONUÇ VE ÖNERİLER:	113
REFERANSLAR:	115
EKLER.....	123
ÖZGEÇMİŞ.....	125

TABLolar:

Tablo 1: Travma sonrası grupların ayağa kalkma sürelerinin karşılaştırılması	62
Tablo 2: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında ağırlıkların karşılaştırılması	63
Tablo 3: Grupların travma sonrası dönemlere göre ağırlıklarının (gr.) karşılaştırılması.	65
Tablo 4: Grupların hipokampus ve frontal kortekslerindeki BDNF ve serotonin miktarlarının ölçümlerinin karşılaştırılması	67
Tablo 5: Grupların histolojik ölçümlerinin karşılaştırılması	69
Tablo 6: Kortekslerin H&E ile ödem, kanama ve enflamasyon değerlendirilmesi	72
Tablo 7: Gruplara ve ölçüm zamanlarına göre Tapered-Beam Walking platformunu bitirme sürelerinin karşılaştırılması	74
Tablo 8: Grupların travma sonrası dönemlere göre Tapered-Beam Walking platformunu bitirme sürelerinin karşılaştırılması	75
Tablo 9: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında arka ayaklardaki kayma sayısının karşılaştırılması	76
Tablo 10: Grupların travma sonrası dönemlere göre Tapered-Beam Walking platformunda arka ayaklardaki kayma sayılarının karşılaştırılması	77
Tablo 11: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında duration (hedefe varıncaya kadar masada geçirdikleri sürelerin) karşılaştırılması	79
Tablo 12: Grupların travma sonrası dönemlere göre duration karşılaştırılması	81
Tablo 13: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında distance (hedefe varana kadar kat edilen mesafe) karşılaştırılması	83
Tablo 14: Grupların travma sonrası dönemlere göre distance karşılaştırılması	85
Tablo 15: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında mean speed (hedefe giden yolda gösterdikleri ortalama hız değeri) karşılaştırılması	86
Tablo 16: Grupların travma sonrası dönemlere göre mean speed karşılaştırılması	88
Tablo 17: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında line crossing (hedefe varana kadar geçtikleri kadrın çizgisi sayısı) karşılaştırılması	89
Tablo 18: Grupların travma sonrası dönemlere göre line crossing karşılaştırılması	91
Tablo 19: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında path efficiency (hedefe varmak için kullandıkları yolun verimliliği) karşılaştırılması	92
Tablo 20: Grupların travma sonrası dönemlere göre path efficiency karşılaştırılması	94
Tablo 21: Serotonin reseptörleri ve tanımlandıkları immün hücreler*	97

GRAFİKLER:

Grafik 1. Çalışma gruplarının travma sonrası ayağa kalkma sürelerinin karşılaştırılması.	62
Grafik 2. Çalışma gruplarının ağırlık (kg) ortalamalarının zamanla değişimi.	64
Grafik 3. Çalışma gruplarının ağırlık (kg) ortalamalarının travma dönemlerine göre karşılaştırılması.	66
Grafik 4. Çalışma gruplarının ağırlık (kg) ortalamalarının travma dönemine göre değişimi.	66
Grafik 5. Çalışma gruplarının hipokampus ve frontal kortekslerinde BDNF ve Serotonin miktarlarının ölçümleri	68
Grafik 6. Çalışma gruplarının Tapered-Beam Walking düzeneğindeki arka ayaklardaki kayma sayılarının karşılaştırılması	78
Grafik 7. Çalışma gruplarının travma dönemlerine göre Tapered-Beam Walking düzeneğindeki arka ayaklardaki kayma sayılarının karşılaştırılması	78
Grafik 8. Çalışma gruplarının Duration (hedefe varıncaya kadar masada geçirdikleri süreler) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması	80
Grafik 9. Çalışma gruplarının Duration (hedefe varıncaya kadar masada geçirdikleri süreler) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması	81
Grafik 10. Çalışma gruplarının masada geçirdikleri zaman (Duration) sürelerinin travma dönemlerine göre değerlendirilmesi	82
Grafik 11. Çalışma gruplarının Distance (hedefe varana kadar kat edilen mesafe) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması	84
Grafik 12. Çalışma gruplarının Distance (hedefe varana kadar kat edilen mesafe) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması	84
Grafik 13. Grupların Travma sonrası dönemlere göre Distance karşılaştırılması.	85
Grafik 14. Çalışma gruplarının Mean Speed (hedefe giden yolda gösterdikleri ortalama hız değeri) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması.	87
Grafik 15. Çalışma gruplarının Mean Speed (hedefe giden yolda gösterdikleri ortalama hız değeri) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması.	87
Grafik 16. Grupların Travma sonrası dönemlere göre Mean Speed karşılaştırılması.	88
Grafik 17. Çalışma gruplarının Line Crossing (hedefe varana kadar geçtikleri kadrans çizgisi sayısı) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması	90
Grafik 18. Çalışma gruplarının Line Crossing (hedefe varana kadar geçtikleri kadrans çizgisi sayısı) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması	90
Grafik 19. Çalışma gruplarının Line Crossing (hedefe varana kadar geçtikleri kadrans çizgisi sayısı) verilerinin travma sonrası dönemlere göre kıyaslanması	91
Grafik 20. Çalışma gruplarının Path Efficiency (hedefe varmak için kullandıkları yolun verimliliği) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması.	93
Grafik 21. Çalışma gruplarının Path Efficiency (hedefe varmak için kullandıkları yolun verimliliği) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması.	93
Grafik 22. Grupların Travma sonrası dönemlere göre Path Efficiency karşılaştırılması.	94

RESİMLER

Resim 1: Şeffaf anestezi bölmesinde ratın isofluran gaz anestezisine alınması.....	27
Resim 2: İsofluran sonrası anesteziye alınmış rat: toe-pinch ve righting olmaması ile anestezi derinliğinin tespiti edilmiştir.....	28
Resim 3: Çalışmada kullanılan gaz anestetigi: İsofluran	28
Resim 4: Gaz anestezisi sonrası kontrol grubuna, ağırlığın düşeceği verteks bölgesine, pamuklu çubuk “swab” ile lokal anestetik ajan sürülmesi.....	29
Resim 5: Ketamin/Ksilazin (i.m.) derin anestezisi sonrasında ratın torakotomi öncesi antiseptik (povidoniodür) ile boyanması.....	30
Resim 6: Povidoniodür ile boyanan ratın steril girişim örtüsü ile örtülmesi	31
Resim 7: Orta hat insizyonunun yapılması	31
Resim 8: Üst abdomen ve toraksboşluğunun ortaya konulması.....	32
Resim 9: Toraks boşluğunun açılması sonrası sol ventrikülden enjektör ile kardiyak eksanguinasyon yapılması.....	32
Resim 10: Eksanguinasyon sonrası dekapitasyon işleminin gerçekleştirilmesi.....	33
Resim 11: Dekapitasyonu takiben foramen magnum tarafından yaklaşılarak kraniektomiye başlanması.....	33
Resim 12: Kraniektomi sonrası beyin dokusunun ortaya konulması	34
Resim 13: Elevatör yardımıyla beyin dokusunun kraniumdan çıkartılması	34
Resim 14: Serebrum, serebellum ve medullanın bütün olarak ortaya konulması	35
Resim 15: Buz bataryası üzerine alınan doku örneğinden serebellum ve medullanın uzaklaştırılması.....	35
Resim 16: İnterhemisferik olarak hipokampus dokusunun görülmesi	36
Resim 17: İnterhemisferik şekilde sağ ve sol hemisferlerin ayrılması	36
Resim 18: Bir hemisferin bütün olarak, -20°C’de saklanmak üzere formaldehit dolu kaba alınması (histolojik ve histokimyasal çalışmalar için).....	37
Resim 19: Diğer hemisfere ait hipokampus dokusunun çıkartılması	37
Resim 20: ELISA çalışması için, -80°C’de saklanmak üzere hipokampus dokusunun eppendorf tüpe alınması	38
Resim 21: Hipokampus alındıktan sonra frontal korteksin uzaklaştırılması	38
Resim 22: ELISA çalışması için, -80°C’de saklanmak üzere frontal beyin dokusunun eppendorf tüpe alınması	39
Resim 23: Kelepçeler ile metal ayaklara sabitlenmiş, 150cm uzunluğunda, 2,2cm çapında, 50cm yükseklikte olacak şekilde açılan bir delikten Allen anahtarı geçmesine izin veren, şeffaf plastik tüp; tüp içinde görülebilen net 150gr ağırlığında tepesinde misina bağlı bağlanması için kulp bulunan metal ağırlık; düzenek altına yerleştirilmiş “U” şeklinde, önü ve üstü açık, şeffaf plastikten yapılmış, 38x27x27cm boyutlarında, içine 38x25x15cm ebatlarında sünger yerleştirilmiş kutu ve kutunun açık olan üst kısmına bantlarla gergin şekilde yerleştirilmiş, orta hattı ince şekilde bir çizgi ile yayıflatılmış alüminyum folyo düzeneği.....	41
Resim 24: Her defasında değiştirilen ve serbest bırakıldığında alüminyum folyoya 2,5cm yüksekte tespit edilecek şekilde hazırlanmış misina rulusunun da görülebileceği şekilde, travma modelinin uzak görünümü.....	42

Resim 25: Yönlendirici (guide) tüp içinde, 50cm yüksekliğe, Allen pimi ile tespit edilmiş, 150gr ağırlığında, silindirik, kulplu, metal ağırlığın tüp içindeki yakın görüntüsü	42
Resim 26: Düzeneğin alt kısmını oluşturan, “U” şeklinde şeffaf kutu, içerisindeki sünger ve ratın yerleştirileceği, ortası yüzeyel şekilde çizilmiş alüminyum folyo	43
Resim 27: İsofluran gaz anestezisi sonrası travma modeli için ratın düzeneğe yerleştirilmesi	43
Resim 28: Pim çekilerek serbest bırakılan ağırlığın tüp içinde ilerleyerek arzu edildiği şekilde ratın verteksine çarpması ile travmanın oluşturulması	44
Resim 29: Ağırlığın düşmesi sonucunda ratın 180° dönüş yapıp, alüminyum folyoyu yırtarak sünger zemin üzerine düşmesi (Not: Ağırlık, modelde anlatıldığı gibi impakt anında, tüp çıkışında, vertekse temas ettiği noktada, tüp çıkışında 2,5cm’de sabit tutulmuştur. Resimde travma sonrası düzenekte kullanılan misinin aynı gerginlikte olması amacıyla değiştirilmesi için ağırlık serbest bırakıldığından ağırlık aşağı sarkmış gibi görünmektedir.)	45
Resim 30: Ratların anestezisi ve travma sonrasında (kontrol grubu için sadece anestezisi ve lokal anestetik sürülmesi) righting (ayağa kalkma) sürelerinin ölçülmesi için kullanılan temiz, şeffaf, plastik kutu	46
Resim 31: Şeffaf kutu içinde, righting refleksi sürelerinin ölçülmesi	46
Resim 32: Barnes Maze masası etrafına ratların navigasyon sağlamaları için yerleştirilmiş perdelerin ve üzerlerine çizilen uygun yükseklik ve boyutlardaki şekillerin panoramik görüntüsü	51
Resim 33-a-b-c: Barnes Maze masası etrafına navigasyon amacıyla yerleştirilen şekillerin görüntüsü (masanın etrafına kare şeklinde yerleştirilen perdelerin sağdan görüntüsü:b, karşıdan görüntüsü:c, soldan görüntüsü:d olarak isimlendirilmiştir, dördüncü perde tamamen siyahtır.....)	51
Resim 34: Barnes Maze masası ve navigasyon işaretlerinin oranı ve yüksekliği şeklinde görülebileceği gibi ratlar tarafından rahatlıkla algılanabilecek büyüklük ve yükseklikte tasarlanmıştır	52
Resim 35-a ve 35-b: Resimde Barnes Maze testinde masa üzerindeki juvenil sıçanın hedefe yönelmesi görülmektedir	52
Resim 36: Tapered-Beam Walking yürüme düzeneği, düzeneğin sonundaki zenginleştirilmiş, şeffaf kafes, kayıt için gereken açı ve yükseklikte konumlandırılmış kamera, düşme durumunda travmayı engellemek için yere konulmuş süngerler	56
Resim 37: Başlangıcından sonunda doğru giderek daralan, üzerinde mesafe işaretleri bulunan Tapered-Beam Walking yürüme düzeneğinin yakından görünümü.....	56
Resim 38 : Caspase 9 boyamalarından örnekler: Üstteki şekiller kortekse (x400), alttaki şekiller hipokampus bölgesine ait görüntülerdir (x100). Caspase immün işaretleme ile boyanma yoğunluğunun sham grubunda kortekste arttığı, deney grubunda kontrole yakın olduğu, sham grubunda hipokampustaki caspase pozitif hücre sayılarının arttığı görülmektedir.	70
Resim 39: Serotonin immün işaretleme örnekleri: Üstteki şekiller kortekse ait olup sham grubunda boyanma yoğunluğunun artmış olduğu göze çarpmaktadır. Altındaki şekiller hipokampus bölgesine ait beyin dokusu görüntüleridir. Serotonin pozitif hücre sayısının sham grubunda artmış olduğu görülmektedir. Serotonin immün işaretleme, x400.....	70

Resim 40: BDNF immün işaretleme örnekleri: Üstteki şekiller kortekse ait olup sham grubunda pozitif boyanan fibril yapıları göze çarpmaktadır. Altteki şekiller hipokampus bölgesine ait beyin dokusu görüntüleridir. BDNF pozitif hücre sayısının sham grubunda artmış olduğu görülmektedir. Deney grubunda boyanma yoğunluğu ve pozitif hücre sayıları azalmıştır. BDNF immün işaretleme, x400. 71

Resim 41: H&E boyama örnekleri: Kontrol: normal beyin korteks dokusu,x40, Deney grubunda vasküler yapıların etrafında hafif ödem, x40, Sham grubunda kanama alanı (→) görülmektedir. x40, Hematoksilen Eozin boyaması..... 73



KISALTMALAR VE TERİMLER

A

ABD..... Amerika Birleşik Devletleri
AchAcetylcholine; Asetilkolin

B

BDNFBrain-Derived Neurotrophic Factor; Beyin Kaynaklı Nörotropik Faktör
BT.....Bilgisayarlı tomografi

C

CASPASE Kaspaz

D

DAB.....Diaminobenzidin
DGDentat girus
Distance..... Kaçış kafesine ulaşmak için geçilen mesafe
Duration Kaçış kafesine varış süresi

E

EGF.....Epidermal Growth Factor; Epidermal Büyüme Faktörü
ELISA Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

F

FDA Food and Drug Administration; ABD Gıda ve İlaç İdaresi

G

GABA Gamma aminobutyric acid; Gama aminobütirik asit
GISGastrointestinal Sistem
GKS..... Glasgow Koma Skalası

H

H&E Hemotoksilen&Eozin
HRP..... Avidin-Horseradish Peroxidase; Avidin-Siyahıturp Peroksidaz

I

IFN..... İnterferon
ILİnterlökin

i

i.m. İntramüsküler
i.p.İntraperitoneal

K

KVS Kardiyovasküler Sistem

L

Line Crossing..... Hedefe varmak için geçilen kadran sayısı; kadran çizgileri

M

MDD Major Depressive Disorder; Majör Depresif Bozukluk

Mean Speed Barnes Maze masasındaki ortalama hız
mg/kg..... miligram/kilogram

N

NGF.....Neuron Growth Factor; Nöron Büyüme Faktörü

NK..... Natural Killer Cells, Doğal Katil Hücreler

NT..... Nötrotropin

O

OD..... Optik yoğunluk

OPC Oligodendrocyte precursor cells; Oligodendrosit prekürsör hücreler

P

Path Efficiency..... Kullanılan yolun verimliliği

PROBE günü Eğitimin tamamlandığı son gün

PSS Periferik Sinir Sistemi

R

Righting Refleks Dört ayak üzerine kalkma refleksi

S

°C.....Santigrat derece

SCI Spinal Cord Injury; Spinal Kord Hasarı

5-HT Serotonin

SERT Serotonin Transporter/5-HTT; Serotonin Taşıyıcısı

SF.....Serum Fizyolojik, Salın

SSSSantral Sinir Sistemi

SVZ..... Subventriküler zon

Swab Ucu pamuklu çubuk

T

TGF..... Transforming Groth Factor; Dönüştürücü Büyüme Faktörü

Toe-pinch..... Ayak ucunun sıkılması

Tukey HSD..... Tukey Honestly Significant Difference

V

Vortex Tüp karıştırıcı

W

W..... Vat

White noise Parazit sesi

DENEYSEL HAFİF KAFA TRAVMASI SONRASINDA JUVENİL RATLARDA NÖROMOTOR FONKSİYON, KOGNİTİF FONKSİYON VE İYİLEŞME SÜRECİ ÜZERİNE VORTIOXETINE'İN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

1. GİRİŞ:

Kafa travması toplumumuzda ve diğer dünya ülkelerinde önemli sağlık sorunları arasında yer almaktadır. Muhtelif yayınlara göre bir yıllık dönemde ABD' (Amerika Birleşik Devletleri) de 2,5 milyondan fazla insan kafa travması nedeniyle tedavi almak için sağlık kuruluşlarına başvurmaktadır.^{1,2} Literatürde yer alan yine çoğu ABD kaynaklı yayın, kafa travmasına bağlı başvurular incelendiğinde bu hasta popülasyonunun çoğunluğunu (%75-90 oranında) hafif kafa travması vakalarının oluşturduğunu bildirmektedir.¹⁻³ Özellikle genç nüfus içinde kafa travmaları önemli bir engellilik ve ölüm nedenini teşkil etmektedir ve tüm ölümlerin neredeyse %30'undan sorumludur.⁴ Yıldan yıla kafa travmalarına bağlı ölüm sıklığı artış gösterdiği gibi çocuklar ve adolosanlar arasında spor ile ilişkili hafif kafa travması görülmesi sıklığı da benzer şekilde artarak daha da önem kazanmaktadır.^{1,4} Lumba-Brown ve arkadaşlarının bildirdiğine göre 2013 yılında ABD'de 15 yaşından küçük çocuklarda kafa travmaları 1500 ölüm, 18 000 hastane yatışı ve 640 000 acil servis başvurusundan sorumludur.³

Kafa travmaları olay sonrası hastanın bilinç durumu, Glasgow Koma Skalası (GKS) puanı, posttravmatik amnezi süresi, eşlik eden fokal nörolojik bulgularının varlığına dayanılarak sınıflandırılır.⁴ Bu açıdan bakıldığında hafif kafa travması hastanın GKS puanınının 12'ten büyük olması (≥ 13), 30 dakikadan kısa süren bilinç kaybı yaşamış olması, 24 saatten uzun olmayan travma sonrası amnezisi bulunması ve bazen de eşlik edebilecek geri dönüşlü veya kalıcı fokal nörolojik defisitlerinin bulunması olarak tanımlanır.⁴⁻⁸

Bilgisayarlı tomografi (BT) görüntülemelerinde hafif kafa travması geçirmiş olguların çoğunda geçirdikleri olaya dair bir pozitif bulgu saptanmaz. Yine de hafif kafa travması olguları incelendiğinde hafif kafa travması sonrası pozitif BT bulgularının varlığına göre bu vakalar komplike olan ve komplike olmayan olarak iki grupta incelenirler. Komplike hafif kafa travması olguları bu başvuruların yaklaşık %5-10'unu oluşturmaktadırlar. Komplike olguların BT'lerinde subaraknoid kanama, intrakranyal kontüzyonlar, küçük intra-aksiyel veya ekstra-aksiyel hematomlar görülebilmektedir. Çocuk yaş grubundaki hafif kafa travmalı hastalarda ise pozitif görüntüleme bulgularını ortaya koymak çok daha güçtür ve genellikle çocuk hastalarda gereksiz BT çekilmesinden kaçınmak istemektedir.⁷

Hafif kafa travması sonrası ortaya çıkabilecek sekeller içinde baş ağrısı, uyku bozuklukları, kognitif fonksiyon bozuklukları, epileptik nöbet, post-travmatik migren, vestibüler bozukluklar, oküler bozukluklar, anksiyete ve duygu-durum değişiklikleri (depresyon) sayılabilir.^{1,2,9} Bu sekeller çoğunlukla kısa vadede geçicidir.² Fakat kafa travması hafif ve bulgular geçici olsa bile travmanın yarattığı hasar henüz gelişim aşamasında olan juvenil bireylerin beyinlerinde kognitif fonksiyonları uzun dönemde de etkileyebilecek gelişimsel sorunlara neden olabilir.¹⁰ Örneğin beynin çeşitli bölümlerindeki kortikal kalınlıklarda travma sonrası farklılıklar görülebilir ve bu farklılıkların hafif kafa travmasını takip eden bulguların belirginliği ile ilişkili olması muhtemeldir; kognitif hasarı ise inter-nöronal bağlantıların hasar görmesine bağlamak mümkün olabilir.^{11,12} Hafif kafa travması yaşayan genç bireylerin uzun dönem izlemleri bu bireylerin ilerleyen yaşlarda beklenen davranışsal inhibisyon ve kognitif beceriyi sağlayamadığını ortaya koymakta ve hafif kafa travmasına ciddi yaklaşım gerektiğini desteklemektedir.¹³

Genç yaş bireylerde günlük hayat ve öğrenmeyi bu denli etkileyebilecek olan hafif kafa travmasının yarattığı sekeller üç fazda ele alınır: travma sonrası ilk 72 saati içeren akut dönem; dördüncü günden üçüncü ayın sonuna dek uzaya bilen subakut dönem; üç aydan uzun süren yada kalıcı travma sonrası bulguları içeren kronik dönem.^{1,14-16} Yeni bir çalışma çocukluk döneminde geçirilmiş kafa travmasının, tam iyileşme ile takip edilmesine rağmen, ilerleyen yaşlarda olası nörokognitif bozukluklara neden olabileceğinden bahsetmektedir.¹⁷

Travmayı takip eden dönemdeki bir iki günlük sıkı dinlenme artık tedavi açısından yetersiz bir yaklaşım olarak görülmektedir.¹ Travma sonrası dönemde sadece istirahat ile takip edilen adolesanlarda konküzyona bağlı semptomların, nörokognitif ve denge sorunlarının düzelmediği görülmüştür. Hatta sıkı istirahat önerilen adolesanlarda takip döneminde daha fazla semptom raporlanmıştır.¹⁸ Bu haliyle normal günlük fiziksel ve mental aktivite bile tek başına yatak istirahatından daha başarılı görünmektedir. Erken travma sonrası dönemdeki uyku bozukluğu, denge bozukluğu, kognitif bozulmaların toparlanmasında ve bu sonuçların uzayan etkilerini azaltarak bireylerin normal fonksiyonlarını kazanmasında plastisite ve nöronal iyileşme üzerine etkileri olabilecek yeni tedavilerin bulunması önem kazanmaktadır.

Bilinç düzeyi travma sonrası görüntülemeler ile ortaya konulamayan hücresel ve yolaklar üzerine hasarlarla da ilişkilidir. Kognitif fonksiyonu etkileyen bu durum ile ilişkili iyileşme süreçleri hala tam anlaşılammıştır.¹⁹ Subventriküler zondaki (SVZ) nöral kök hücrelerinin juvenil ve yetişkin beyinlerinde de bulunduğu ve bu hücrelerin rostral migratuvar sistemle göç ederek yeni nöronal hücrelerin yerini aldıkları bilinmektedir.²⁰⁻³⁰ Ayrıca Merkle ve ark. 2004 yılındaki çalışmaları ile neonatal dönemdeki radial glial hücrelerin yetişkin çağlarda da devam eden nörogenez aşamalarına kaynak olan SVZ astrositlerine dönüşerek kök hücre kaynağı yarattıklarını ortaya koymuştur.²⁰ Nörogenez ve oligodendrogenez için gerekli büyüme faktörlerine epidermal büyüme faktörü (EGF) iyi bir örnektir. İnfantil dönem ve yetişkinlikte SVZ bölgesinden üretilen EGFR ailesinden proteinler nöral kök hücrelerin devamlılığının sağlanmasında önemli rol oynamaktadırlar. EGF aynı zamanda oligodendrosit prekürsör hücrelerin (OPC) genç fare beyinlerindeki proliferasyon ve migrasyonunu stimüle etmektedir.^{31,32} Sadece SVZ kök hücreleri değil aynı zamanda hipokampal dentat girus (DG) hücreleri de nörogenezde yer almaktadırlar ve tüm bu süreçler üzerine serotonin (5-HT) reseptörlerinin etkili olduğu bilinmektedir.³³

Bazı antidepresan moleküllerin 5-HT_{1A}, 5-HT_{2B}, 5-HT₄ reseptörleri gibi serotonerjik reseptörler üzerindeki agonist etkilerinin nörogenez üzerine etkileri daha önce çalışılmıştır.^{29,34-36} Bu reseptörlerin sadece serotonerjik nöronlarda değil DG

nöral progenitörlerinde ve internöronlarında da bulunuyor olması bu etkinin nörogenez üzerinde direkt veya indirekt sonuçlarını düşündürmektedir.³⁰ Rodentlerde yapılmış bazı çalışmalar uzun dönem ve kısa süreli anti-depresan kullanımının beyin kaynaklı nörotropik faktör (BDNF, Beyin Kaybıklı Nörotropik Faktör, Brain-Derived Neurotrophic Factor) miktarlarında artış ile sonuçlandığını göstermiştir.³⁷⁻⁴⁴ Yetişkinlerdeki nörogenez, serotonerjik sistem ve BDNF sinyalleri arasındaki bağlantı daha önceki çalışmalarda izah edilmiştir.^{33,45,46} Travmatik beyin hasarı sonrası BDNF ve serotonin seviyelerindeki değişiklikler açıklanmış olan bağlantıları üzerinden nörogenez ve kognitif fonksiyonların korunması ya da geri kazanımında etkililerdir.⁴⁷⁻⁴⁹

Hafıza, öğrenme ve hücresele düzeyde yenilenme üzerine BDNF'in etkileri artık bilinmektedir.^{47,50} Tüm direkt ve indirekt etkileşimlerinden de anlaşılacağı gibi BDNF ve serotonin kafa travmaları sonrasındaki hücresele yenilenme, kognitif fonksiyonların geri kazanım ya da korunmasında birbirlerinden ayrı düşünülemez. Bu noktada antidepresan olarak kullanılan ajanların serotonine etkileri ve BDNF'nin bu etkilerden öte tutulmaması travma sonrası dönemde antidepresan ajanlarla tedavinin sadece uyku bozuklukları, anksiyete gibi bulgulara değil aynı zamanda iyileşme süreci üzerine de etkileri olabileceğini düşündürmektedir.^{45,47-55}

Yeni nesil bir antidepresan olan vortioxetine, majör depresif bozukluğun tedavisinde ilk olarak 2013 yılında FDA (ABD Gıda ve İlaç İdaresi, Food and Drug Administration) tarafından kullanım onayı almıştır.⁵⁶ Vortioxetine multimodal etkileri olan bir serotonin transport inhibitörüdür; ve 5-HT_{1A} reseptörleri üzerine agonist, 5-HT_{1B} reseptörleri üzerine parsiyel-antagonist, 5-HT_{1D}, 5-HT₃, 5-HT₇ reseptörlerine ise antagonist etkisi bulunmaktadır.^{57,58} 5-20 mg/gün dozunda vortioxetine antidepresan etkisine ek olarak kognitif fonksiyonlar üzerine de faydalı etkiler göstermektedir. Depresyon durumundan etkilenen hafıza, yönetimsel fonksiyon yürütme becerisi ve öğrenmeyle ilgili alanlarla da etkileşime girdiği gösterilmiştir.⁵⁷ Chen ve ark. 2018 tarihli yayınlarında vortioxetine etken maddesinin BDNF seviyelerini artırdığını ve mitokondri ile BDNF artışının sinaptik plastisite üzerine olumlu etkisini göstermişlerdir.⁵⁸ Lu ve ark. ise yine 2018 yılında yayınlanan

çalışmalarında vortioxetine tedavisinin hipokampal BDNF seviyelerini artırdığını ortaya koymuşlardır.⁵⁹

Literatürde vortioxetine etken maddesinin 5-20 mg/gün dozlarında, 18 yaş altı hasta gruplarında kullanım güvenliğini ve etkinliğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.⁶⁰⁻⁶²

Tüm bu bilgiler ışığında vortioxetine etken maddesinin hafif kafa travması sonrasında juvenil popülasyonun posttravmatik iyileşme süreci, hasar sonrası plastisite ve fonksiyonların geri kazanımı üzerine olası faydalı etkilerinin araştırılması kıymet kazanmaktadır.

Tasarlanan bu çalışma ile daha önce literatürde güvenli şekilde 18 yaş altı hasta gruplarında kullanılmış olan Vortioxetine'in; ratların hipokampus ve frontal kortekslerinde serotonin, BDNF seviyelerilerine etkisi ve apoptoz miktarları, hücrel rejenerasyon ile nörogenez üzerine etkileri araştırılmıştır; eş zamanlı olarak juvenil ratlarda hücrel düzeydeki değişikliklerin klinik yansımalarını incelemek için de bu juvenil ratların motor ve kognitif becerileri değerlendirilmiştir.

Hipotezimiz, vortioxetine etken maddesinin hücrel düzeyde serotonin ve BDNF seviyelerini artırması temelinde; nekroz, apoptoz oranlarında pozitif sonuç sağlayarak plastisite ve neuroproteksiyon üzerine olumlu etki göstermesi üzerine kurulmuştur. Ve bu etkinin klinik yansımaları içinse deney grubunda denge, koordinasyon, öğrenme ve hafıza becerilerinin daha erken geri kazanımı olup olmadığı değerlendirilmiştir.

2. GEREÇ VE YÖNTEM:

3 grup (Grup 1: Kontrol, Grup 2: Sham, Grup 3: Deney) ile gerçekleştirilen çalışmada aşağıda tarif edilecek olan kafa travması modeli öncesinde tüm gruplardaki juvenil ratlara 5 gün süresince “Tapered Beam Walking” testi ve “Barnes Maze” testi eğitimleri verilmiştir; travma öncesi skorları ve tamamlama süreleri kayıt altına alınmıştır. Tapered Beam Walking testleri kamera ile kayıt altına alınarak çalışmacı tarafından skorlanmış ve bitirme süreleri tespit edilmiştir. Barnes Maze testi ise “ANY-maze Video Tracking System 0.5.1.1” bilgisayar yazılımı ile değerlendirilmiş ve skorlanmıştır.⁶³⁻⁶⁵

Travma sonrası tüm gruplardaki ratların “Righting Reflex” (sırt üzeri pozisyondan dört ayak üzerine dönme) süreleri kayıt altına alınmıştır. Bu süreler ölçülüp kontrol grubu ile kıyaslanarak oluşturulan travma modelinin başarısı değerlendirilmiştir.

Çalışmada tasarlanan hafif kafa travması modeli daha önce literatürde Mychasiuk ve ark. tarafından 2014 yılında tanımlanmıştır. Bu modelde uygun düzenek sonrasında 150g ağırlık standart koşullarda serbest düşme ile ratın verteksi üzerine 50cm yükseklikten bırakılarak modelde tarif edildiği gibi hafif kafa travması yaratılmıştır.⁶³ Bu model ile Ucar ve ark. yayınlarında da ifade ettiği gibi travma modelinin diğer etmenlerden arındırılmasının önemi de göz önünde tutulmuştur.⁶⁶ Bu modelin seçilme nedeni diğer tanımlanmış modellerden görece daha düşük mortalite ile sonuçlanması ve çalışmanın hipotezine uygun şekilde juvenil yaş aralığında sık karşılaşılan hafif kafa travması olaylarını yansıtmasıdır.^{63,66-71}

“Tapered Beam Walking” testleri ile ratlardaki travma sonrası motor koordinasyon ve denge kayıpları üzerine vortioxetine’nin etkisinin araştırılması; “Barnes Maze” testi ile travma sonrası öğrenme ve hafıza fonksiyonlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada deney grubu ratlara daha önceki literatürlerde etkinliği gösterildiği şekilde, 18 yaş altı kullanım dozuna uygun şekilde 10mg/kg-10 gün i.p. yoldan, SF (Serum Fizyolojik, Salin) ile dilüe edilmiş vortioxetine verilmiştir.^{60,61} Deney grubundaki ratların günlük kilo alımları kayıt altına alınarak ratlara her uygulamada “mg/kg” (miligram/kilogram)olarak gereken miktarda ilaç verilmiştir. Buna paralel şekilde SHAM grubundaki ratlara da eş hacimde SF i.p. (intraperitoneal) yoldan ağırlıklarına oranlı şekilde verilmiştir. Kontrol grubunun da ağırlık artışı kayıt altına alınmıştır ve böylece travma (veya travmaya bağlı depresyon durumunun) veya i.p. yoldan uygulanan vortioxetine etken maddesinin kilo alımına etkisi incelenmiştir.

Klinik yansıma ve hücresele parametrelerin birbirini karşılıklı olarak desteklediğini ortaya koymak için deney sonunda tüm gruplar uygun şekilde anestezi altında sakrifiye edilerek beyin dokusu örnekleri alınmıştır. Beyin dokusunda ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) ile ve immünhistokimyasal olarak serotonin ve BDNF seviyeleri çalışılmıştır. Ek olarak beyin dokularında mikrotravmaya bağlı ödem ve nekroz düzeyinin saptanması için Hemotoksilen&Eozin (H&E) boyama, apoptoz oranını tespit etmek için CASPASE (Kaspaz) boyama yapılmıştır. ELISA ile hipokampal ve kortikal dokularda çalışılan serotonin ve BDNF düzeylerine ek olarak reseptör sayılarını değerlendirmek için reseptör işaretleyici boyama ile de çalışılmıştır. Böylece ELISA ile tespit edilen total serotonin ve BDNF miktarlarının reseptör sayılarına ve hücrelerin rejenerasyon kapasitelerine yansımış olup olmadığının görülmesi hedeflenmiştir.

Deney üniversitemiz deney hayvanları laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. Doku boyamaları ve immünhistokimyasal değerlendirmeler üniversitemiz histoloji laboratuvarında gerçekleştirilmiştir ve Dr. Öğr. Üyesi Tülin Fırat tarafından çalışılmıştır. ELISA çalışmaları için dış hizmet alımı (Mega Tıp San. Tic. Ltd. Şti. – Mücahitler Mah. 52012 Cad. No: 10/1, Gaziantep) yapılmıştır.

2.1- Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu Onayı:

Çalışmamız, Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulunun 08.05.2019 tarihli 2019/23 sayılı onayı ile gerçekleştirilmiştir (Bkz. EK-1, EK-2).

2.2- Çıkar Çatışması ve Finansal Destek:

Deneyin finansmanı bütünüyle çalışmacı tarafından karşılanmış olup herhangi bir çıkar atışması yoktur.

2.3- Çalışma Grupları:

2.3.1- Çalışmada kullanılan ratlar ve özellikleri:

Çalışmada 4 haftalık 70-134gr ağırlığında, erkek, Wistar Albino ratlar kullanılmıştır. 4. haftanın sonunda annelerinden ayrılan toplam 36 adet rat randomizasyon ile üç gruba ayrılmışlardır. Beşinci hafta gruplara randomize edilmiş ratlara 5 gün boyunca Beam Walking, Barnes Maze eğitimleri verilmiştir. İleride ayrı başlıklar ile detaylı şekilde anlatılacak olan eğitimlerin son gün değerlendirmeleri travma sonrası günlerdeki ölçümler ile kıyaslanmıştır.

Yukarıda da belirtildiği gibi çalışma 3 grup ile gerçekleştirilmiştir: 1-Deney 2- Sham 3- Kontrol. Her bir grup 12'şer rattan oluşmuştur. Gruplar istatistiksel açıdan kabul edilebilir en az hayvan sayısı ve daha önce yapılmış benzer çalışmalar dikkate alınarak oluşturulmuştur. Literatürdeki ağırlık düşürme modelleri sonrası rat ölüm oranı dikkate alınarak ($>0\%30$)^{31,34-39} her grup için 10+2; toplamda 36 rat sayısına ulaşılmıştır.

2.3.2- Hayvan refahı:

Ratlara tüm süreç zarfında standart pellet yem ve içme suyu ad libitum sağlanmıştır. Ratlar 12 saat/12 saat gece-gündüz döngüsünde, 18-26°C (Santigrat derece) ortam sıcaklığında, %30-70 nem oranında altışar hayvanlık kafeslerde tutulmuşlardır.

2.3.3- Çalışma grupları:

1. KONTROL Grubu (n=12): 5 gün boyunca gruptaki ratlara Beam Walking ve Barnes Maze testlerinin eğitimi verilmiştir. Travma günü bu grubun ratları da Isofluran ile anesteziye alınmıştır. Anestezi derinliği toe-pinch, fizyolojik yanıtın izlenmesi ve ratlarda righting olmaması ile tespit edilmiştir. Bu gruptaki ratlara travma uygulanmamış sadece vertekslerine lokal anestetik (lidokain) sürülmüştür. Lokal anestetik uygulaması sonrasında ratların (righting refleksi) supin pozisyondan dört ekstremiteleri üzerinde ayağa kalktıkları ana kadar olan zaman ölçülmüş ve kayıt altına alınmıştır. Travma günü sonrasında ratların 10 gün boyunca ağırlık artışları izlenmiştir. Bu 10 gün boyunca Beam Walking ile Barnes Maze uygulanarak performansları kayıt altına alınmıştır. 11. gün Ketamin/Ksilazin anestezisi altında ratlara torakotomi yapılmış ve kardiyak eksanguinasyon yöntemiyle kurban edilmiştir.
2. SHAM Grubu (n=12): 5 gün boyunca gruptaki ratlara Beam Walking ve Barnes Maze testlerinin eğitimi verilmiştir. Travma günü ratlar Isofluran ile anesteziye alınmıştır. Anestezi derinliği toe-pinch, fizyolojik yanıtın izlenmesi ve ratlarda righting olmaması ile tespit edilmiştir. Travma sonrasında ratların (righting refleksi) supin pozisyondan dört ekstremiteleri üzerinde ayağa kalktıkları

ana kadar olan zaman ölçülmüş ve kayıt altına alınmıştır. Travma sonrasında ratların 10 gün boyunca ağırlık artışları izlenmiştir. Bu 10 gün boyunca Beam Walking ile Barnes Maze uygulanarak performansları kayıt altına alınmıştır. Sham grubu ratlara travma gününden itibaren; 10 gün boyunca, her gün günde bir defa, dilüe edildiğinde 10mg/kg dozunda vortioxetine miktarına karşılık gelen uygun hacimde SF intraperitoneal (i.p.) olarak uygulanmıştır. 11. gün Ketamin/Ksilazin anestezisi altında ratlara torakotomi yapılmış ve kardiyak eksanguinasyon yöntemiyle sakrifiye edilmiştir.

3. DENEY Grubu (n=12): 5 gün boyunca gruptaki ratlara Beam Walking ve Barnes Maze testlerinin eğitimi verilmiştir. Travma günü ratlar Isofluran ile anestezide alınmıştır. Anestezi derinliği toe-pinch, fizyolojik yanıtın izlenmesi ve ratlarda righting olmaması ile tespit edilmiştir. Travma sonrasında ratların (righting refleksi) supin pozisyondan dört ekstremiteleri üzerinde ayağa kalktıkları ana kadar olan zaman ölçülmüş ve kayıt altına alınmıştır. Travma sonrasında ratların 10 gün boyunca ağırlık artışları izlenmiştir. Bu 10 gün boyunca Beam Walking ile Barnes Maze uygulanarak performansları kayıt altına alınmıştır. Travma günü başlanarak ratlara 10 gün boyunca, her gün günde bir defa, intraperitoneal yoldan SF ile dilüe edilmiş Vortioxetine etken maddesi 10mg/kg dozunda uygulanmıştır. 11. gün Ketamin/Ksilazin anestezisi altında ratlara torakotomi yapılmış ve kardiyak eksanguinasyon yöntemiyle sakrifiye edilmiştir.

2.3.4- Travma Öncesi Ratların Gaz Anestezisine Alınması:

Travma öncesinde tüm ratlar sırayla şeffaf bir anestezi haznesi içerisinde gözlemlenerek isofluran gaz anestezisine alınmışlardır (Resim 1-2-3). Ratlarda anestezinin etkinliği Righting Refleks (Dört ayak üzerine kalkma refleksi) olmaması ve Toe-pinch (Ayak ucunun sıkılması) ile kontrol edilmiştir. Gereken anestezi derinliği sağlandıktan sonra ratlar travma düzeneğine alınmışlardır. Kontrol grubundaki ratlar da aynı şekilde gaz anestezisine alınmıştır. Kontrol grubu ratlara anestezi sonrasında travma uygulanmamıştır; sadece vertekslerine ağırlığın düşmesi muhtemel alan boyutlarında bir bölgeye, ucu pamuklu bir çubukla (swab) lokal anestezik madde (lidokain) sürüldükten sonra (Resim 4) düzeneğe yerleştirilmişler ve standart ağırlık düşürme süresi kadar bekletilmişlerdir.

Resim 1:



Resim 1: Şeffaf anestezi bölgesinde ratın isofluran gaz anestezisine alınması

Resim 2:



Resim 2: İsofluran sonrası anesteziye alınmış rat: toe-pinch ve righting olmaması ile anestezi derinliğinin tespiti edilmiştir

Resim 3:



Resim 3: Çalışmada kullanılan gaz anestetiği: İsofluran

Resim 4:



Resim 4: Gaz anestezisi sonrası kontrol grubuna, ağırlığın düşeceği verteks bölgesine, pamuklu çubuk “swab” ile lokal anestetik ajan sürülmesi

2.3.5- Sakrifikasyon Yöntemi ve Örneklerin Toplanması:

Ketamin + Ksilazin (90 + 10mg/kg dozunda) intramüsküler (i.m.) anestezisi sonrasında, anestezi derinliği toe-pinch ile kontrol edilip ratlar gruplar halinde sırayla operasyon masasına alınmıştır (Resim 5-6-7-8). Torakotomi sonrasında kardiyak eksanguinasyon yapılmıştır (Resim 9). Takiben uygun teknikte dekapite edilerek skalp sıyrılıp bilateral foramen magnum yani medulla spinalis tarafından erişim sağlanarak kranium tek parça halinde disektör ile yapışıklıkları açıldıktan sonra frontale devrilip uzaklaştırılmıştır (Resim 10-11-12). Daha sonra uygun elevatör kullanılarak beyin dokusu çıkartılıp (Resim 13) tek parça halinde buz bataryası üzerine konulmuştur (Resim 14); önce bistüri ile serebellum ve medulla uzaklaştırılmıştır (Resim 15) ve interhemisferik şekilde beyin dokusu bistüri ile ikiye ayrılmıştır (Resim 16-17). Ayrılan hemisferlerden bir tanesi bütün

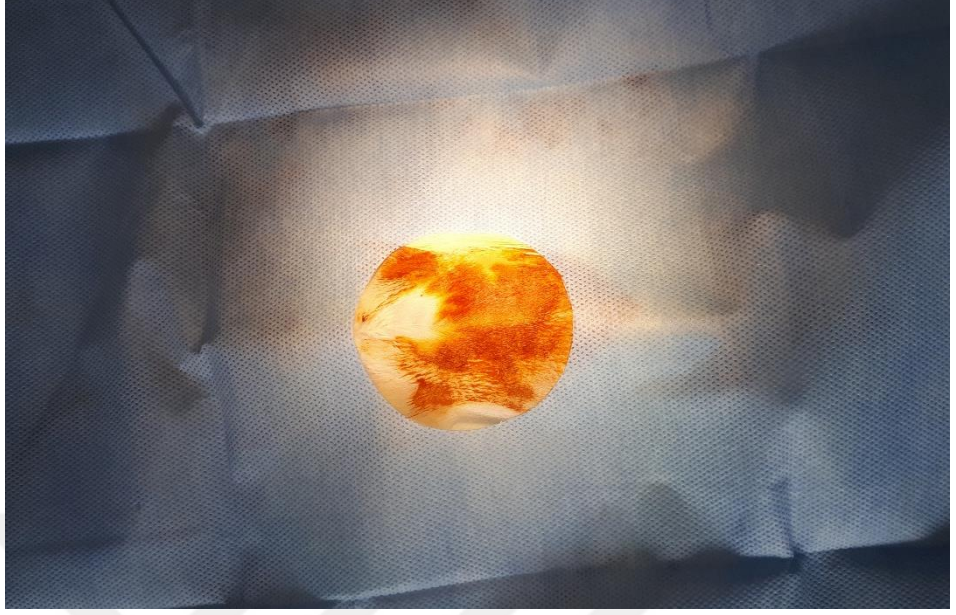
halinde %10'luk tamponlanmış Formalin çözeltisine -20°C sıcaklıkta saklanmak üzere korunmuştur (Resim 18). Formalinde fikse edilen bu dokular daha sonra laboratuvar ortamında serotonin, BDNF reseptör boyamaları, CAPASE ve Hemotoksilen Eozin boyamaları için kullanılmıştır. Diğer hemisferin frontal korteksi ve hipokampusu ayrı ayrı olacak şekilde eppendorf tüplerde kuru buz içine yerleştirilerek ELISA doku çalışması için -80°C sıcaklıkta saklanmak üzere etiketlenerek korunmuştur (Resim 19-20-11-22).

Resim 5:



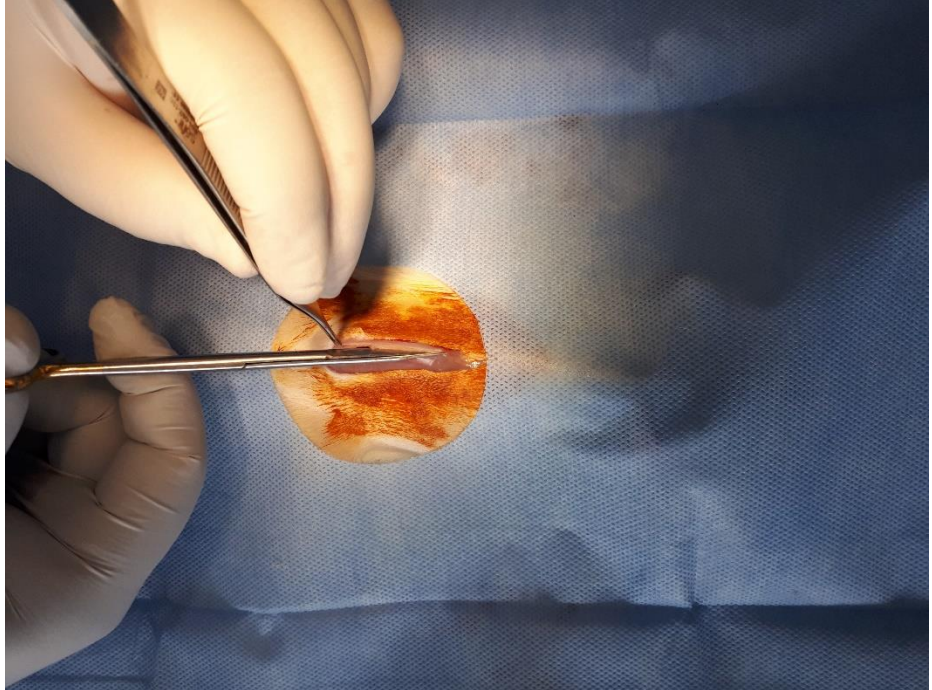
Resim 5: Ketamin/Ksilazin (i.m.) derin anestezisi sonrasında ratın torakotomi öncesi antiseptik (povidoniodür) ile boyanması

Resim 6:



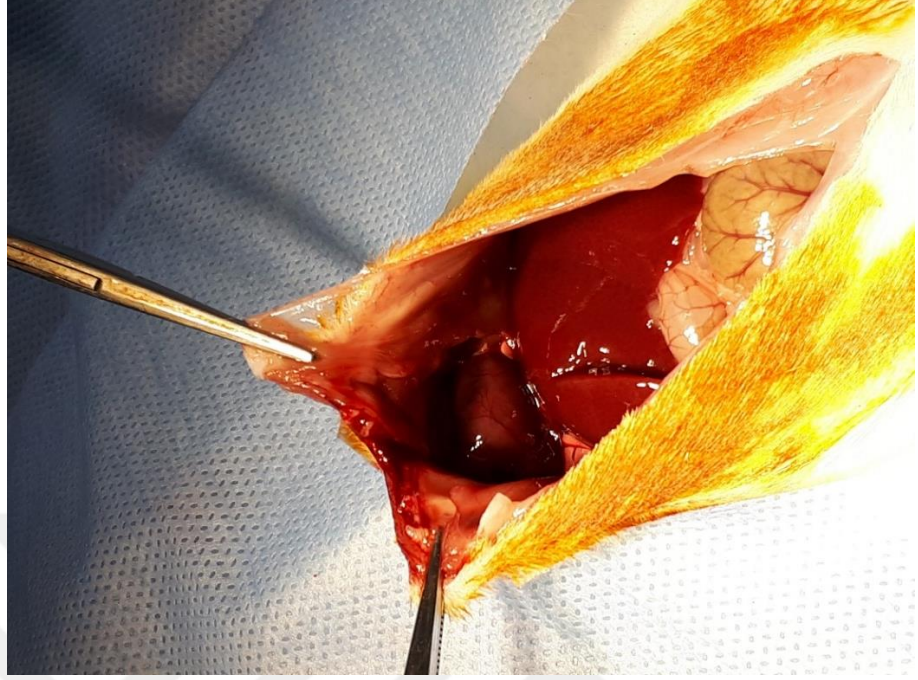
Resim 6: Povidoniodür ile boyanan ratın steril girişim örtüsü ile örtülmesi

Resim 7:



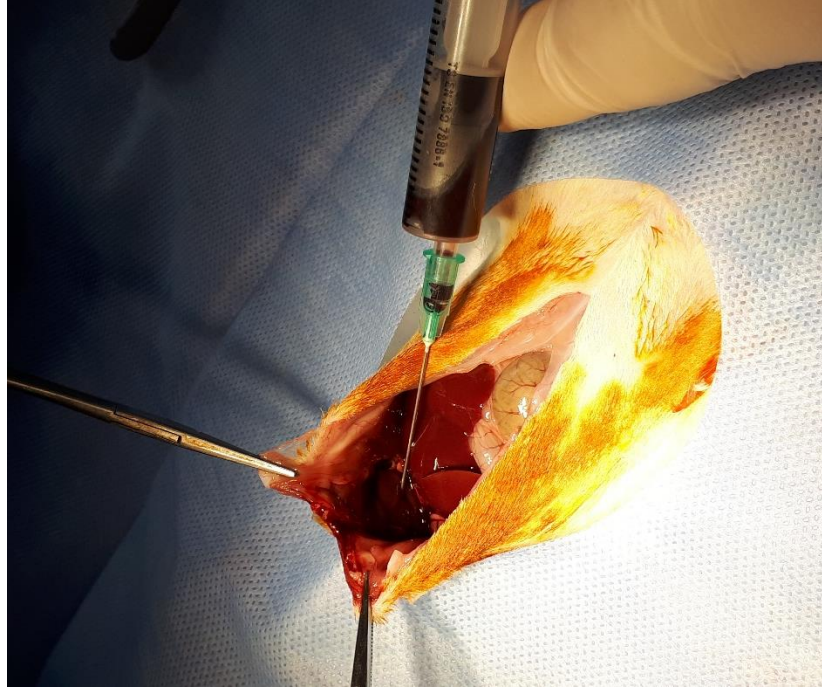
Resim 7: Orta hat insizyonunun yapılması

Resim 8:



Resim 8: Üst abdomen ve toraksboşluğunun ortaya konulması

Resim 9:



Resim 9: Toraks boşluğunun açılması sonrası sol ventrikülden enjektör ile kardiak eksanguinasyon yapılması

Resim 10:



Resim 10: Eksanguinasyon sonrası dekapitasyon işleminin gerçekleştirilmesi

Resim 11:



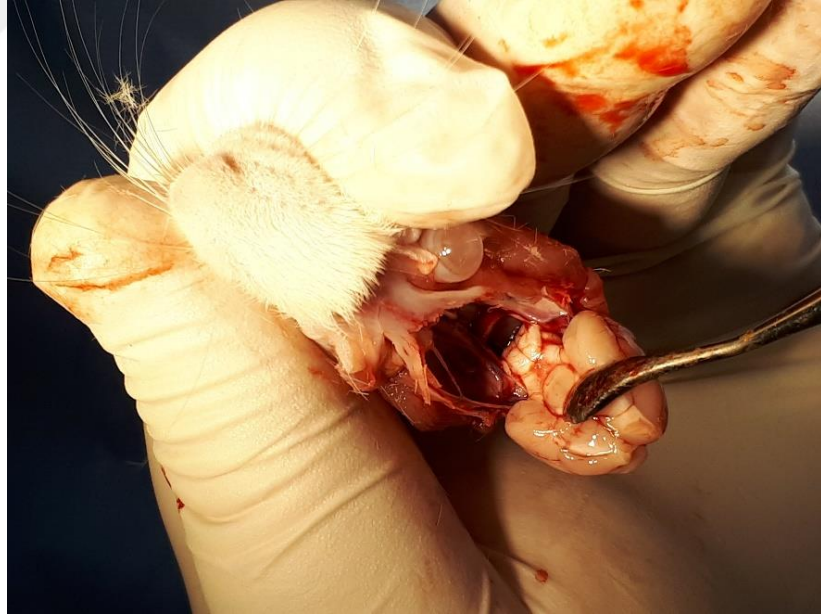
Resim 11: Dekapitasyonu takiben foramen magnum tarafından yaklaşılarak kraniektomiye başlanması

Resim 12:



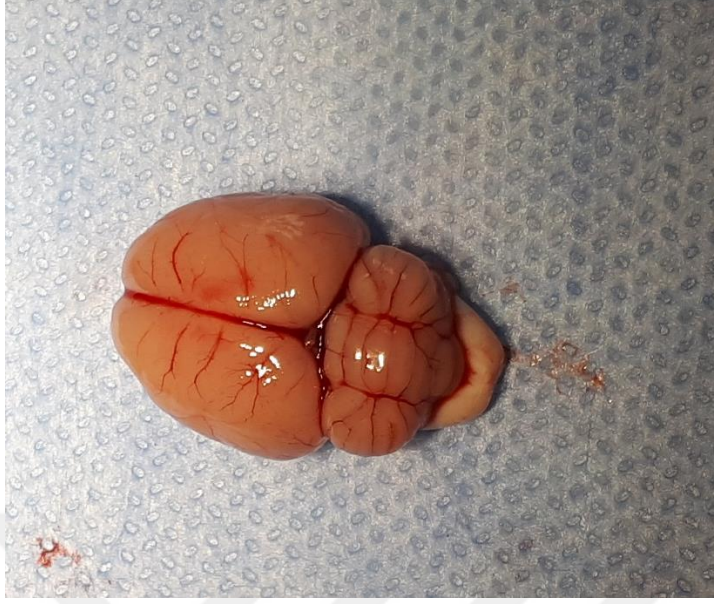
Resim 12: Kraniektomi sonrası beyin dokusunun ortaya konulması

Resim 13:



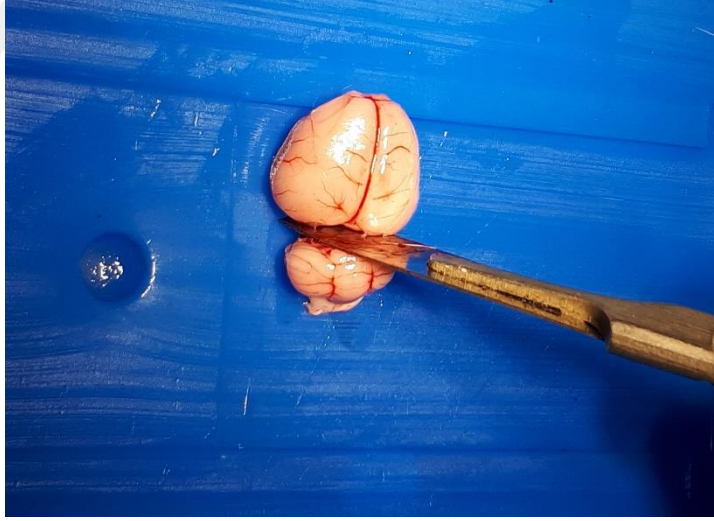
Resim 13: Elevatör yardımıyla beyin dokusunun kraniumdan çıkartılması

Resim 14:



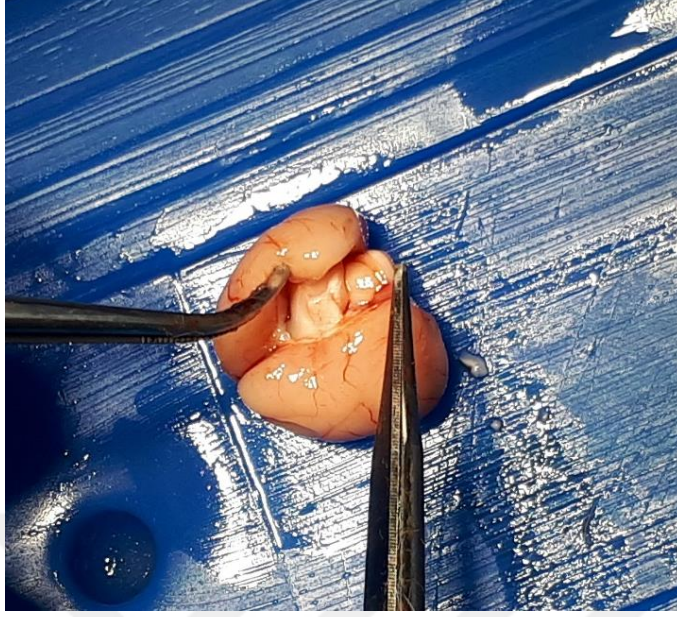
Resim 14: Serebrum, serebellum ve medullanın bütün olarak ortaya konulması

Resim 15:



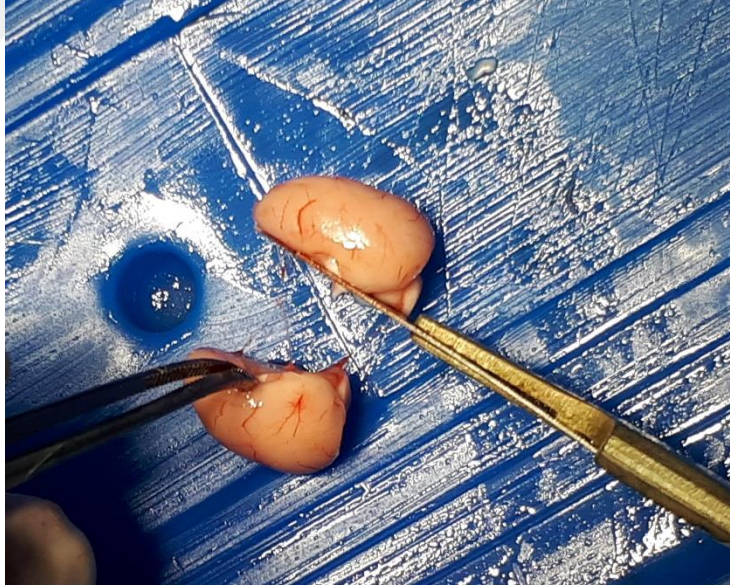
Resim 15: Buz bataryası üzerine alınan doku örneğinden serebellum ve medullanın uzaklaştırılması

Resim 16:



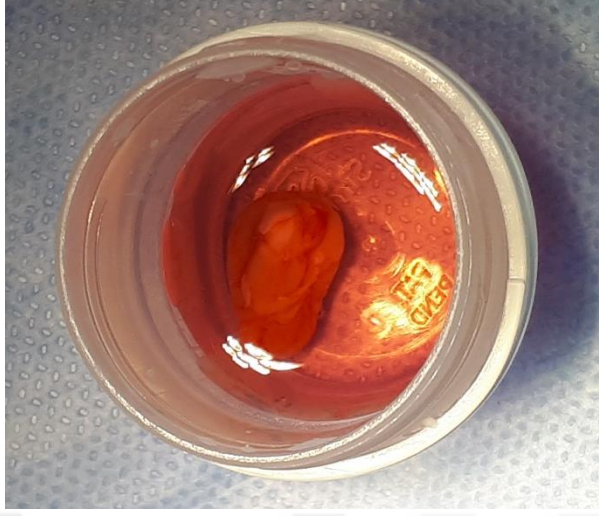
Resim 16: İnterhemisferik olarak hipokampus dokusunun görülmesi

Resim 17:



Resim 17: İnterhemisferik şekilde sağ ve sol hemisferlerin ayrılması

Resim 18:



Resim 18: Bir hemisferin bütün olarak, -20°C 'de saklanmak üzere formaldehit dolu kaba alınması (histolojik ve histokimyasal çalışmalar için)

Resim 19:



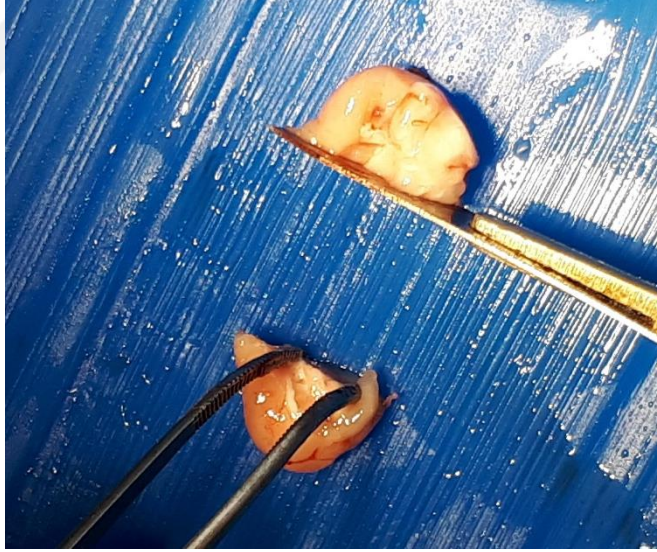
Resim 19: Diğer hemisfere ait hipokampus dokusunun çıkartılması

Resim 20:



Resim 20: ELISA çalışması için, -80°C’de saklanmak üzere hipokampus dokusunun eppendorf tüpe alınması

Resim 21:



Resim 21: Hipokampus alındıktan sonra frontal korteksin uzaklaştırılması

Resim 22:



Resim 22: ELISA çalışması için, -80°C’de saklanmak üzere frontal beyin dokusunun eppendorf tüpe alınması

2.3.6- Hafif Kafa Travması Ağırlık Düşürme Modeli:

Bu model Mychasiuk R ve arkadaşlarının 2014 yılında yayımladıkları juvenil ratlarda hafif kafa travması oluşturmak için tasarlanmış düzeneğin aynısı yönergeler ve yayındaki açıklamalar takip edilerek birebir şekilde hayata geçirilmiştir. 150g ağırlığında, üst ucunda misina ile yükseklik tespiti sağlayan bir halka bulunan, silindirik tek parça metal ağırlık 1,5 metre yüksekliğe ve 2,2cm çapta, şeffaf tüp içinden, 50cm yükseklikten ratın verteksi üzerine düşürülmüştür. Rat “U” şeklinde tasarlanmış, şeffaf plastikten, ön ve üst yüzeyi açık, 38x27x27cm boyutlarında bir kutu üzerine konulmuştur (Resim 23-24). Üstteki açık yüzeyinin ön kısmına (ratın yerleştirileceği kısma) bir jilet yardımıyla yüzeyel şekilde, orta hatta kalan, folyo boyunca uzanan ve materyalin dayanıklılığını azaltarak darbe anında yırtılmasını kolaylaştıracak bir çizgi çekilmiştir (Resim

26). Alüminyum folyo, bantlar ile yan yüzeylere gergin şekilde tespit edilerek yerleştirilmiştir (Resim 26). Rat bu çizgi üzerinde ve verteksi tam olarak ağırlığın altında kalacak şekilde folyoya yerleştirilmiştir (Resim 27). Her rat sonrasında alüminyum folyo özdeş olacak şekilde yeniden hazırlanmıştır. Ağırlığın, içinden serbest düşüşe bırakılacağı tüp bu folyoya 2,5cm yükseklikte duracak şekilde konumlandırılmış ve böylece ağırlığın tüp bitiminde ratın verteksine 2,5cm’de vurması sağlanmıştır (Resim 27-28). Her travma uygulaması sonrasında misina gerginliğini sabit tutmak için ağırlık yeniden misinayla tespit edilerek tekrar konumlandırılmıştır. Şeffaf tüp stabil şekilde metal ayak düzeneklerine halka kelepçeler ile sabitlenmiştir. Ağırlık bir misina ile 50cm yükseklikten bırakıldığında, yapılan ölçümlere uygun şekilde duracak boyda, metal aksam üzerine sabitlenmiştir. Ağırlık şeffaf tüp üzerinde işaretlenen yükseklikten serbest düşebilmesi için bir “Allen anahtarı” ile tüpe açılan iki delikten geçecek şekilde yukarda tutulmuş ve ağırlık bu pimin çekilmesi ile düşürülmüştür (Resim 25). Ölçülen misina uzunluğu ile istenilen yerde durması sağlanmıştır ve tekrarlayan vurmaların önüne geçilmiştir. Alüminyum folyo üzerine yerleştirilen rat verteksine 150g ağırlığın, 50cm yüksekten vurması ile folyoyu yırtarak 180 derece bir dönüş yapıp üstü açık şekilde tasarlanan kutu içine yerleştirilmiş sünger (38x25x15cm ebatlarında) üzerine düşmüştür (Resim 29). Her bir rat için travma öncesinde düzenek kontrol edilmiş ve gereken materyallerin yerleşimi tekrarlanmıştır.

Resim 23:



Resim 23: Kelepçeler ile metal ayaklara sabitlenmiş, 150cm uzunluğunda, 2,2cm çapında, 50cm yükseklikte olacak şekilde açılan bir delikten Allen anahtarı geçmesine izin veren, şeffaf plastik tüp; tüp içinde görülebilen net 150gr ağırlığında tepesinde misina bağl bağlanması için kulp bulunan metal ağırlık; düzenek altına yerleştirilmiş “U” şeklinde, önü ve üstü açık, şeffaf plastikten yapılmış, 38x27x27cm boyutlarında, içine 38x25x15cm ebatlarında sünger yerleştirilmiş kutu ve kutunun açık olan üst kısmına bantlarla gergin şekilde yerleştirilmiş, orta hattı ince şekilde bir çizgi ile zayıflatılmış alüminyum folyo düzeneği

Resim 24:



Resim 24: Her defasında değiştirilen ve serbest bırakıldığında alüminyum folyoya 2,5cm yüksekte tespit edilecek şekilde hazırlanmış misina rulusunun da görülebileceği şekilde, travma modelinin uzak görünümü

Resim 25:



Resim 25: Yönlendirici (guide) tüp içinde, 50cm yüksekliğe, Allen pimi ile tespit edilmiş, 150gr ağırlığında, silindirik, kulplu, metal ağırlığın tüp içindeki yakın görüntüsü

Resim 26:



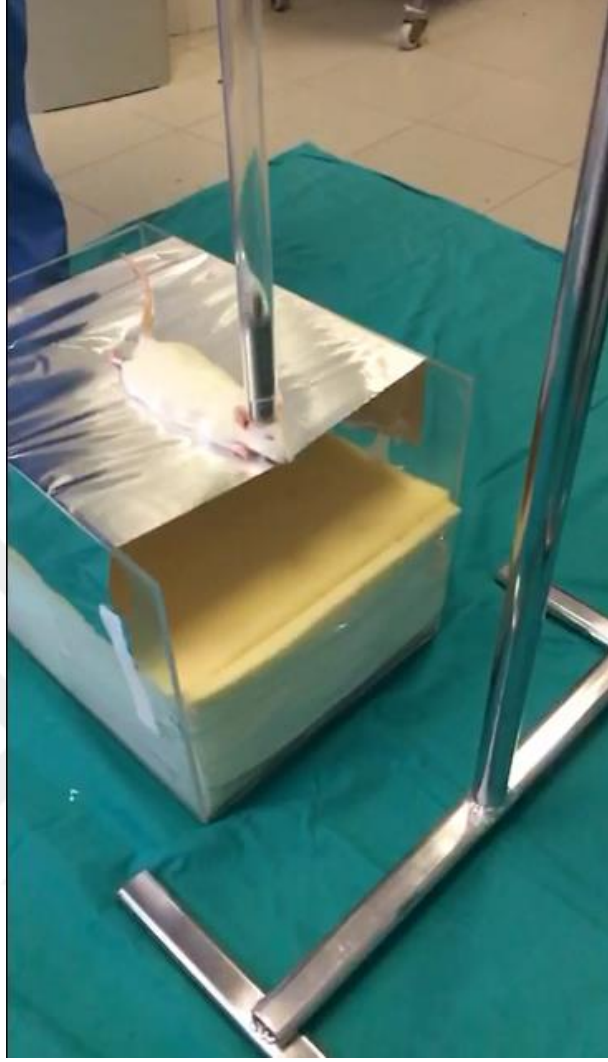
Resim 26: Düzeneğin alt kısmını oluşturan, "U" şeklinde şeffaf kutu, içerisindeki sünger ve ratın yerleştirileceği, ortası yüzeyel şekilde çizilmiş alüminyum folyo

Resim 27:



Resim 27: İsofluran gaz anestezisi sonrası travma modeli için ratın düzeneğe yerleştirilmesi

Resim 28:



Resim 28: Pim çekilerek serbest bırakılan ağırlığın tüp içinde ilerleyerek arzu edildiği şekilde ratın verteksine çarpması ile travmanın oluşturulması

Resim 29:



Resim 29: Ağırlığın düşmesi sonucunda ratın 180° dönüş yapıp, alüminyum folyoyu yırtarak sünger zemin üzerine düşmesi (Not: Ağırlık, modelde anlatıldığı gibi impakt anında, tüp çıkışında, vertekse temas ettiği noktada, tüp çıkışında 2,5cm’de sabit tutulmuştur. Resimde travma sonrası düzenekte kullanılan misinanın aynı gerginlikte olması amacıyla değiştirilmesi için ağırlık serbest bırakıldığından ağırlık aşağı sarkmış gibi görünmektedir.)

2.3.7- Travma Sonrasında Righting Sürelerinin Ölçülmesi:

Travma düzeneğine yerleştirildikten sonra (Deney ve Sham grupları için travma sonrasında, Kontrol grubu içinse lokal anestetik tatbiki ve takiben düzenekte yeterince bekletildikten süre sonrasında) ratlar şeffaf ve temiz ayrı bir kutuya alınarak (Resim 30), supin pozisyonda yerleştirilmişlerdir ve dört ayakları üzerine döndükleri ana kadar geçen süre bir kronometre ile tespit edilerek kayıt altına alınmıştır (Resim 31).

Resim 30:



Resim 30: Ratların anestezi ve travma sonrasında (kontrol grubu için sadece anestezi ve lokal anestetik sürülmesi) righting (ayağa kalkma) sürelerinin ölçülmesi için kullanılan temiz, şeffaf, plastik kutu

Resim 31:



Resim 31: Şeffaf kutu içinde, righting refleksi sürelerinin ölçülmesi

2.3.8- İnteraperitoneal Yoldan Vortioxetine ve SF Uygulanması ile Ağrılık Takiplerinin Kayıt Altına Alınması:

Travma günü başlanarak deney grubundaki ratlara 10 gün boyunca, her gün günde bir defa, intraperitoneal yoldan SF ile dilüe edilmiş Vortioxetine etken maddesi 10mg/kg dozundan verilmiştir. Yine travma günü başlanarak Sham grubundaki ratlara 10mg/kg dozunda vortioxetine uygulamasının hacmine denk olacak şekilde i.p. SF enjekte edilmiştir. Kontrol grubu ratlara ise herhangi bir uygulama yapılmamıştır.

Tüm grupların ağırlıkları randomizasyon gününün başlanarak hassas tartı ile günlük olarak deney boyunca kayıt altına alınmıştır.

11. günde, son Barnes Maze ve Tapered-Beam Walking testlerini takiben, tüm gruplar Ketamin/Ksilazin anestezisi sonrasında sakrifiye edilmişlerdir.

2.3.9- Barnes Maze testinin gerçekleştirilmesi:

Valibeigi ve arkadaşlarının 2018 yılında tanımladıkları gibi jüvenil ratlara uygun şekilde adapte edilmiş Barnes Maze düzeneği hazırlanmıştır. Barnes Maze, Morris su tankı testinde olduğu gibi ratların hafıza, öğrenme becerilerini değerlendirmek için kullanılmıştır. Morris su tankı testinde olduğu gibi bu yöntemde de ratların dış vizüel ipuçları sayesinde hedefe giden yolu bulmaları ve öğrenmeleri gerekmektedir.

1.2m çapında, yerden 75cm yükseklikte, tam merkeze bakacak şekilde yerleştirilmiş kameranın izleminde hata yaratmaması için mat siyah kokusuz boya ile boyanmış, bir tanesinde kaçış için çekmece şeklinde yerleştirilebilen üzeri açık kafes bulunan 8 adet delik bulunmaktadır (Resim 34). Bu deliklerin her birinin çapı 10cm olup masa kenarına 5cm uzaklıktadır ve delikler masa merkezine eşit uzaklıkta yerleştirilerek her bir kadranda 2 adet yer almaktadır (Resim 33). Uygulamada her bir rat ile gerçekleştirilen ölçüm sonrasında

masa yüzeyi anlatıldığı gibi %70'lik alkol ile silinmiştir. Masa etrafına olası bir düşme durumunda ek travma oluşmasını engellemek için 15cm kalınlığında süngerler yerleştirilmiştir. Ratların gereken navigasyon ipuçlarına sahip olmaları için masanın dört tarafında vizüel işaretler bulunmaktadır (bir taraf tamamen siyah ışık geçirmeyen perde iken diğer üç tarafta, masa etrafında bir kare oluşturacak şekilde, üstlerinde siyah renkte, belirgin yön bulmaya yardımcı işaretler olan üç beyaz perde kullanılmıştır ve perdeler etek kısımları içine yerleştirilen ağırlıklar ile sabitlenmişlerdir) (Resim 32, Resim 33 a,b,c). Test ortamı yukarıdan 45W.lik (W= Vat) bir ampul ile indirekt olarak hafif şekilde aydınlatılmıştır. Test boyunca kaçış kafesinin yeri, perdeler, işaretler ve aydınlatma sabit tutulmuştur. Masa dört eşit kadrana bölünmüştür ve saat yönünde her bir delik için bir numara verilmiştir, bu numaralama ve kadrانların isimleri eğitim ve testler süresince değiştirilmemiştir. Tüm eğitim ve testler öncesinde ratlar test odasına en az 45 dakika önce alınarak ortama uyumları sağlanmıştır. Tüm eğitim ve testlere her gün aynı saatte başlanmıştır. Barnes Maze eğitim ve testleri masanın tam merkezine denk gelecek şekilde, tavana sabitlenmiş bir kamera yardımıyla “ANY-maze Video Tracking System 0.5.1.1” bilgisayar yazılımı ile kayıt altına alınmış ve veriler yine bu yazılım üzerinden elde edilmiştir. Bu yazılım sayesinde ratların karşı kadrana bırakıldıktan sonra hedef olarak işaretlenen kaçış kafesine varış süreleri (Duration), bu esnada aldıkları yol (Distance), ortalama hızları (Mean Speed), hedefe varmak için geçtikleri kadrان sayısı (Line Crossing) ve tercih ettikleri yolun verimliliği (Path Efficiency) ölçülerek veri haline getirilmiştir. “Path Efficiency” yani kullanılan yolun verimliliği Morris-Water Maze’de olduğu gibi hedefe varmak için kullanılan aktüel yolun optimal yola oranı ile hesaplanarak, ratın hedefe varma stratejisinin etkinliği değerlendirilmiştir. Aktüel yol mesafesinin direkt yol uzunluğuna bölünmesi (hayvanın bırakılma noktası ile hedef nokta arasındaki direkt uzunluğun, kat ettiği toplam yol uzunluğuna oranı) ile

bulunmaktadır. “1” mükemmel verimlilik anlamına gelirken “<1” değerler verimlilikten uzaklaşmaktadır.^{72,73}

Ratlar travma öncesindeki beş gün içinde eğitime alınmışlardır. Gruplar halinde sırayla gerçekleştirilen eğitimlerde gruplar arasında en az 45 dakika bekleme süresi olmasına özen gösterilmiştir.

Birinci gün eğitiminde tüm ratlar üç defa eğitim almışlardır. İlk eğitimde ratlar tüm delikleri kapalı olan masada az aydınlatılmış ortamda 5 dakika boyunca keşif yapmaları için serbest bırakılmışlardır. Tüm gruplardaki ratlar rahatça masa üzerinde gezerek görsel ipuçlarını deneyimlemişlerdir. Birinci günün ikinci eğitiminde (grupların sırası gözetilerek) ratlar 3 dakika boyunca, kaçış kafesi yerleştirilmiş masa üzerinde serbestçe keşifte bulunmuşlardır ve süre sonunda kaçış kafesini bulamayan ratlar kibarca önce kaçış kafesinin bulunduğu kadrana tekrar bırakılmıştır. Bu yeniden yerleştirmeye rağmen kaçış kafesine girmeyen ratlar kibarca kaçış kafesine yönlendirilerek kafese girmeleri sağlanmıştır. Kaçış kafesine giren ratların kafes içinde iki dakika geçirmeleri ve burunlarını ve kafalarını çıkartarak etrafı gözlemlmelerine izin verilmiştir. Birinci eğitim gününün üçüncü denemesinde ratlar yine az aydınlatılmış ortamda masa üzerine bırakılarak iki dakika boyunca kaçış kafesini aramalarına izin verilmiştir. İki dakikalık süre sonunda hedefe gidemeyen ratlar önce ilgili kadrana bırakılmıştır. Ek ikinci dakika sonunda kaçış kafesine girmeyen ratlar kibarca kaçış kafesine yönlendirilerek girmeleri sağlanmıştır. Kaçış kafesi içinde bir dakika geçirmelerine izin verilerek ilk gün eğitimleri tamamlanmıştır.

İkinci gün Barnes Maze eğitimlerinde kaçış kafesi sabit tutulmuştur ve ortam aydınlatması maksimuma çıkartılmıştır. Ratlar hedef deliğin tam karşısındaki kadrana kullanılarak ratlar grup sırasıyla test masasına yerleştirilmişlerdir. 60 saniye boyunca izlenen ratlar hedefi bulamamaları durumunda hedefe doğru yönlendirilmiştir ve kafese giren her ratın içeride en az 30 saniye geçirmesine izin verilmiştir. Her bir rat sonrasında düzenek %70 alkol ile silinerek

masa yüzeyi yine temizlenmiştir. İkinci gün eğitimi toplamda üç sette oluşmuştur. Son iki sette de ilk kısımdaki gibi davranılmıştır ve ratlar kaçış kafesine bulmak konusunda başarısız oldukları takdirde 60 saniyelik süre sonunda teşvik edilmişlerdir.

Üçüncü gün eğitimleri tepe aydınlatması altında, navigasyon işaretleri net şekilde görülecek şekilde, günün aynı saatinde, ratlar uygulamadan 45 dakika önce test odasına alınarak gerçekleştirilmiştir. Hedefin tam karşı kadrana ratlar grup sırası gözetilerek yerleştirilmiştir. Her bir ratın hedefe varması için 60 saniyelik zaman verilmiştir. 60 saniye sonunda kaçış kafesine girmeyen ratlar kibarca kafese yönlendirilmiş ve her ratın kafes içinde en az 30 saniye geçirmesine izin verilmiştir. Üçüncü gün eğitimlerinin ikinci setinde ratlar 60 saniye süre sonunda kaçış kafesine girdikten sonra kafesten çıkartılarak beklenmeksizin tekrar masa üzerinde başka bir kadrana bırakılmış ve kaçış kafesini bulmalarına izin verilmiştir. Üçüncü günün üçüncü setinde ratlar 60 saniyelik süre içerisinde zıt kadrana bırakılarak hedef varmaları istenmiştir. Üçüncü günün son seti neticesinde tüm gruplardaki bütün ratların beklenen süre içerisinde kaçış kafesine girdiği ve navigasyonu etkin şekilde kullandıkları görüldü.

Dördüncü gün ratların öğrenme ve uzun dönem hafıza sonrası hatırlama becerilerini kazanmaları için boş bırakılmıştır.

Beşinci gün eğitimi PROBE günü, yani eğitimin son günü olarak kabul edilmiştir. Ratlar navigasyon şekillerinin açıkça görüleceği şekilde tepe aydınlatması ve oda ışığı altında, yeri değiştirilmemiş olan kaçış kafesinin karşısındaki kadranda masaya bırakılmışlardır. 60 saniye içinde hedefe varmaları beklenmiştir. Tüm ratların süre içinde hedefe vararak kaçış kafesine girdiği görülmüştür (Resim 35a-35b).

Eğitimin ve tekrarların tamamlandığı Probe günü verileri travma sonrasındaki testlerin verileri ile karşılaştırılmıştır. Bu sayede

travma sonrasındaki yön bulma ve hafıza becerileri üzerine vortioxetine'in etkisinin değerlendirilmesi sağlanmıştır.

Travma günü motor koordinasyon ve hafıza-öğrenme testleri (Tapered Beam Walking ve Barnes Maze testleri) uygulanmamıştır.

Travma sonrasında on gün boyunca, son eğitimlerdeki aydınlatma oranında ışık altında, kaçış kafesi ve navigasyon işaretleri sabit tutularak, günün aynı saatinde, grup sırası takip edilerek ve her defasında ratlar test odasına en az 45 dakika önce alınarak Barnes Maze testi tekrar edilmiştir. Bilgisayar yazılımı ile ("ANY-maze Video Tracking System 0.5.1.1" bilgisayar yazılımı) veriler kayıt altına alınıp Probe günü değerleri ile kıyaslanmıştır.

Resim 32:



Resim 32: Barnes Maze masası etrafına ratların navigasyon sağlamaları için yerleştirilmiş perdelerin ve üzerlerine çizilen uygun yükseklik ve boyutlardaki şekillerin panoramik görüntüsü



Resim 33-a:



Resim 33-b:



Resim 33-c:

Resim 33-a-b-c: Barnes Maze masası etrafına navigasyon amacıyla yerleştirilen şekillerin görüntüsü (masanın etrafına kare şeklinde yerleştirilen perdelerin sağdan görüntüsü:b, karşıdan görüntüsü:c, soldan görüntüsü:d olarak isimlendirilmiştir, dördüncü perde tamamen siyahtır

Resim 34:



Resim 34: Barnes Maze masası ve navigasyon işaretlerinin oranı ve yüksekliği şekilde görülebileceği gibi ratlar tarafından rahatlıkla algılanabilecek büyüklük ve yükseklikte tasarlanmıştır



Resim 35-a:

Resim 35-b:

Resim 35-a ve 35-b: Resimde Barnes Maze testinde masa üzerindeki juvenil sıçanın hedefe yönelmesi görülmektedir

2.3.10- Tapered Beam Walking Testi:

Mychasiuk R ve arkadaşlarının 2014 yılında yayımladıkları jüvenil ratlarda hafif kafa travması oluşturmak için tasarlanmış düzeneğin anlatıldığı yayınlarında ifade edildiği gibi jüvenil ratlara uygun şekilde, yayında belirtilen ile birebir özelliklerde ahşap materyalden hazırlanan Tapered Beam yürüyüş düzeneği ile ratların motor koordinasyon becerileri değerlendirilmiştir.

Mat siyah boya ile boyanan tek parça ahşaptan yapılmış olan düzeneğin bir uçtan diğerine uzunluğu 165cm olup başlangıç tarafında yürüyüş platformunun genişliği 6cm olup oranlı şekilde daralarak sonlanım ucunda 1,75cm'ye düşmektedir. Yürüme bandının her iki tarafında sabit şekilde 2cm genişliğinde ve platformun üst kısmından 2cm aşağıda yerleşmiş, bir basmak şeklinde uzanan ve ratın ayağının kayması durumunda düşmesini engelleyen güvenlik şeritleri yer almaktadır (Resim 36-37).

Bu yürüyüş platformu sabit şekilde kendi başına stabil duracak şekilde aynı materyalden ahşap ile ayakta durmaktadır ve yerden yüksekliği 75cm'dir (Resim 36). Platformdan olası düşmelerde ek travmayı engellemek için platform boyunca zemine 15cm kalınlığında süngerler yerleştirilmiştir (Resim 36-37).

Platformun başlangıç kısmının 75cm gerisine, tripod üzerine sabitlenmiş video kamera konumlandırılmıştır (Resim 36). Platformun bitiş ucunda ise üzerine talaş ve plastik bir tüp ile zenginleştirilmiş şeffaf plastikten bir kafesin yerleştirildiği 30x45cm boyutlarında düz bir alan tespit edilmiştir (Resim 37). Çalışmacı eğitimin son günü (probe günü) verilerini ve travma sonrası günlerdeki verileri bahsi geçen kamera kayıtlarını inceleyerek arka ayaklardaki kayma sayıları ve ratların platformu bitirme sürelerini kayıt altına alarak gerçekleştirmiştir.

Tıpkı Barnes Maze eğitimlerinde olduğu gibi jüvenil ratlar bu platform için gerçekleştirilen tüm eğitim ve testlerden en az 15 dakika önce uygulama odasına alınmıştır, tüm testler günün aynı saatinde ve

aydınlık ortamda gerçekleştirilmiştir. Her ratın platformu tamamlaması sonrasında düzenek %70 alkol çözeltisi ile temizlenmiştir. Ratlar eğitim ve travma sonrası test uygulamalarına grup sırası gözetilerek yerleştirilmişlerdir.

Ratlar juvenil olduklarından travma öncesinde bu platforma alışmaları ve stres etkeninden arındırılmaları için 5 günlük bir eğitime tabi tutulmuşlardır. Bu eğitimler Barnes Maze eğitimleri ile paralel gerçekleştirilmiştir.

Eğitimin ilk gününde, birinci sette ratlar platformun geniş olan ucundan bırakılmış ve süre sınırı olmaksızın daralan uçtaki hedef kafese ulaşmaları için beklenilmiştir. Başarısız olan ratlar kibarca teşvik edilerek kaçış kafesine varmaları sağlanmış ve bu kafes içerisinde herhangi bir uyarın olmaksızın bir dakika kalmalarına izin verilmiştir. İlk günün ikinci set eğitiminde ise ratlar aynı şekilde platformu geniş kısmına yerleştirilmiş fakat 120 saniye bekleme sonrasında kaçış kafesine ulaşmayan ratlar önce tekrar platformun başına yerleştirilerek 60 saniye beklenmiş başarısızlık durumunda kibarca teşvik edilmişlerdir. Israrcı şekilde platformda ilerlemeyen ratlar başarısız kabul edilip (deney grubunda bir, sham grubunda iki rat) işaretlenerek kendi kafeslerine geri bırakılmışlardır.

Eğitimin ikinci gününde ratlar aynı şekilde ön hazırlık ve uygulamalar sonrasında grup sırasıyla platforma yerleştirilmişlerdir. Birinci gün eğitime ek olarak bugünden sonraki eğitimlerde ve travma sonrası günlerdeki testlerde motivasyon sağlayıcı olarak platformun başlangıç kısmının yaklaşık 150cm gerisinde kalacak şekilde parazit “White noise” sesi verilmiştir. “White noise” parazit sesi rat platforma yerleştirildiğinde başlatılmıştır, rat platformu tamamlayarak kaçış kafesine girdiğinde ise uyarın sonlandırılarak motivatör faktör sonlandırılmıştır. 60 saniye süre içinde deneklerin platformu tamamlaması beklenmiştir. Kafese giren ratların kafes içinde 30 saniye geçirmelerine izin verilmiştir. 60 saniye içinde parkuru tamamlayamayan ratlar kibarca teşvik edilmiştir, ikinci kez

60 saniye içinde parkuru tamamlayamadıklarında ise başarısız kabul edilerek işaretlenerek kendi kafeslerine alınmıştır. Bir setten oluşan ikinci gün eğitiminde deney grubunda bir, sham grubunda ise bir rat başarısız kabul edilmiştir.

Standartlaşan şartlar altında, “white noise” (parazit sesi) eşliğinde üçüncü eğitimleri tamamlanmıştır. 60 saniye süre verilen ratların parkuru tamamlamaları beklenmiştir. Süre zarfında parkuru tamamlayamayan rat yine aynı şekilde iki defa teşvik edilmiştir. Son deneme ardından platformu tamamlayamayan rat işaretlenerek başarısız kabul edilmiş ve kendi kafesine bırakılmıştır. Üçüncü gün eğitiminde daha önce başarısız olan deney grubu ratlarının başarılı olduğu sadece sham grubundaki bir ratın başarısız olduğu görülmüştür.

Üçüncü gün ile beşinci gün arasında Barnes Maze’de olduğu gibi 24 saatlik boşluk bırakılmıştır. Böylece ratların uzun dönem hafıza ve öğrenme becerilerinde olduğu gibi motor koordinasyon göstermeleri beklenen bu platformda da benzer şekilde öğrenme sürecine tabi tutulmaları sağlanmıştır.

Travma öncesi beşinci günde gerçekleştirilen dördüncü eğitimde de (Probe günü) aynı şartlar sağlanarak gruplar sıra ile Tapered Beam Walking aparatına alınmışlardır. 60 saniye içinde platformu bitirmeleri beklenen ratlardan sadece daha önceki eğitimlerde de “başarısız” olarak işaretlenen sham grubuna ait deneğin ek motivasyon ihtiyacı olmuştur. Bu rat ikinci denemeye rağmen platformu tamamlayamayarak kendi kafesine alınmıştır.

Travma günü motor koordinasyon ve hafıza-öğrenme testleri (Tapered Beam Walking ve Barnes Maze testleri) uygulanmamıştır.

Travma sonrası on gün boyunca her gün, günün aynı saatinde ve eğitimlerle özdeş şartlar altında tüm gruplar sırayla yürüyüş parkuruna alınarak günlük performansları kamera kaydına alınmıştır. Travma sonrası testlerde daha önce başarısız olan sham grubundaki

işaretli ratın da parkuru sorunsuz şekilde tamamladığı izlenmiştir ve bu rat da çalışmaya dâhil edilmiştir.

Eğitimin ve tekrarların tamamlandığı Probe günü verileri travma sonrasındaki testlerin verileri ile karşılaştırılmıştır. Bu sayede travma sonrasındaki motor koordinasyon becerileri üzerine vortioxetine'in etkisinin değerlendirilmesi sağlanmıştır.

Resim 36:



Resim 36: Tapered-Beam Walking yürüme düzeneği, düzenek sonundaki zenginleştirilmiş, şeffaf kafes, kayıt için gereken aı ve yükseklikte konumlandırılmış kamera, düşme durumunda travmayı engellemek için yere konulmuş süngerler

Resim 37:



Resim 37: Başlangıcından sonunda doğru giderek daralan, üzerinde mesafe işaretleri bulunan Tapered-Beam Walking yürüme düzeneğinin yakından görünümü

2.3.11- İlacın Hazırlanması:

Tablet formunda temin edilen vortioxetine etken maddesi mermer ecza havanında tamamen toz haline gelene kadar iyice ezildikten sonra SF ile sulandırılarak “Vortex” (tüp karıştırıcı) cihazında tamamen homojen hal alana kadar karıştırılmıştır. 40mg etken madde 10cc %0,9 NaCl (SF) içinde dilüe edilmiştir. Böylece 0,25cc içinde 1mg etken madde bulunması sağlanmıştır ve juvenil olan ratlara intraperitoneal yoldan uygulamak için makul hacme erişilmiştir. Ardından hassas tartı ile yapılan günlük ölçümlere göre, deney grubundaki ratlara 10mg/kg dozuna en yakın hacim intraperitoneal yoldan uygulanmıştır. Sham grubuna ise yine intraperitoneal yoldan, ağırlıklarına uygun dozda etken madde almalarını sağlayacak hacime denk miktarda SF verilmiştir. Her gün uygulama öncesi ilaç yeniden hazırlanmıştır. Her bir rata ilaç uygulaması için enjektöre ilaç çekilmeden önce “Vortex” ile mai tekrar homojenize edilmiştir.

2.3.12- ELISA Çalışmaları için Test Prosedürleri:

Çalışmanın ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ile gerçekleştirilen, ratların sakrifikasyonu sonrası elde edilen ve -80°C’de muhafaza edilen hipokampal dokular ve frontal korteks dokularında BDNF ve Serotonin (5-HT) miktarlarının ölçülmesi aşaması Mega Tıp San. Tic. Ltd. Şti’den (Mücahitler Mah. 52012 Cad. No: 10/1, Gaziantep) hizmet alımı yoluyla gerçekleştirilmiştir.

ELISA çalışmalarında kullanılan kitler ilgili firma tarafından temin edilmiş ve firmanın laboratuvarlarında çalışılmıştır. ELISA çalışmaları Elabscience® marka kitler ile gerçekleştirilmiş olup ilgili protokoller aşağıda anlatılmıştır.

2.3.12.1- Rat BDNF Ölçümü İçin ELISA Protokolü:

Bu ELISA kiti, Sandwich-ELISA ilkesini kullanmaktadır. Bu kit içinde sağlanan mikro ELISA plakası, Rat BDNF'ye özgü bir antikora önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, mikro ELISA plaka oyuklarına ilave edilir ve spesifik antikora birleştirilir. Daha sonra Sıçan BDNF ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü bir biyotinlenmiş tespit antikoru, her bir mikro plakaya art arda eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her oyuğa eklenir. Sadece Rat BDNF, biyotiniyle edilmiş tespit antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyular mavi renkte görünmektedir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk sarıya döner. Optik yoğunluk (OD), 450 nm \pm 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri, Rat BDNF'nin konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğriyle karşılaştırarak numunelerde Rat BDNF konsantrasyonunu hesaplanır.

2.3.12.2- Rat Serotonin Ölçümü İçin ELISA Protokolü:

Bu ELISA kiti, Sandwich-ELISA ilkesini kullanır. Bu kit içinde sağlanan mikro ELISA plakası, Rat Serotonin'ine (Rat ST) özgü bir antikora önceden kaplanmıştır. Standartlar veya numuneler, mikro ELISA plaka oyuklarına ilave edilir ve spesifik antikora birleştirilir. Daha sonra Sıçan ST ve Avidin-Horseradish Peroxidase (HRP) konjugatına özgü bir biyotinlenmiş tespit antikoru, her bir mikro plakaya art arda eklenir ve inkübe edilir. Serbest bileşenler yıkanır. Substrat çözeltisi her oyuğa eklenir. Yalnızca Rat ST, biyotinlenmiş saptama antikoru ve Avidin-HRP konjugatı içeren kuyular mavi renkte görünmektedir. Enzim-substrat reaksiyonu, durdurma çözeltisi ilave edilerek sonlandırılır ve renk sarıya döner. Optik yoğunluk (OD), 450 nm \pm 2 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülür. OD değeri, Rat ST

konsantrasyonu ile orantılıdır. Numunelerin OD'sini standart eğriyle karşılaştırarak numunelerdeki Rat ST konsantrasyonunu hesaplanır.

2.3.12.3- Hemotoksilen-Eozin Boyama Prosedürü

Parafin kesitler 60-65°C'lik etüvde 30 dakika bekletildikten sonra önce Ksilol I'de 2 dakika, ardından Ksilol II'de 2 dakika bekletildi. Takiben iki defa %100'lük alkolde 1'er dakika bekletilip peşinden iki defa %96'lık alkolde 1'er dakika bekletildi. Akan suda yıkandı ve sonra Hematoksilen boyasında 5 dakika bekletildi. Tekrar akan suda yıkandı. Sonra asit alkole bir kere daldırıldı ve yine akan suda yıkandı. Ardından amonyaklı suda 10 saniye bekletildi ve akan suda yıkandı. Daha sonra %80'lik alkolde 1 dakika bekletildi. Takiben Eozin boyasında 1 dakika bekletildi. İki defa %96'lık alkolde 2'şer dakika bekletildi. İki defa %100'lük alkolde 2'şer dakika bekletildi. Ve son olarak Ksilolde 10 dakika bekletildi, çıkarılıp entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

Hemotoksilen-Eozin boyamalarla değerlendirilen dokular (ödem, kanama, enflamasyon bulguları açısından) "0- Yok, 1- Hafif, 2- Orta, 3- Şiddetli" şeklinde derecelendirilerek bir skorlama kullanıldı.

2.3.12.4- İmmün İşaretleme Çalışmalarının Protokolleri (BDNF/5-HT/Caspase 9) ve İmmünohistokimyasal Çalışmalar ve İncelemelerinde kullanılan skorlama

Her bir rat için korteks ve hipokampus dokularında ayrı ayrı kesitlere BDNF, Serotonin ve Caspase 9 immün işaretleme yapıldı. Örnekler, iki kere 5'er dakika Ksilol'de bekletildikten sonra %100'lük alkolde 5 dakika, %96'lık alkolde 3 dakika, %70'lik alkolde 3 dakika, %50'lik alkolde 3 dakika bekletildi. Sonra distile suda 3 dakika bekletildi. Kesitler sonra PBS' ye alındı. Taze hazırlanan Citrate Buffer (x10) solüsyonuna alınan kesitler 360°C'de 10 dakika

kaynatıldı. Soğuduktan sonra dokuların etrafı pap-pen ile çizildi ve PBS ile yıkandı. Hidrojen peroksit damlatılarak 15 dakika bekletildi. Takiben iki kere PBS ile yıkandı. Serum block (Ultra V Block) damlatılarak 10 dakika bekletildi.

Çalışılacak olan işaretlemeye uygun şekilde BDNF (Santa Cruz; Cat No: SC-546, rabbit polyclonal) antikoru (1:1000 dilüsyon) veya Caspase 9 (Thermo Scientific™; Cat No:Rb-1205-P0, rabbit polyclonal) antikoru (1:100 dilüsyon) veya Serotonin (Sigma-Aldrich; Cat No: S5545 rabbit polyclonal) antikoru (1:5000 dilüsyon) taze olarak hazırlandı ve her bir kesite 100 µl damlatıldı. Kesitler +4°C’de bir gece inkübasyona bırakıldı. Ertesi gün iki kere PBS ile yıkandı. Biotinylated antikor (sekonder) ile 30 dakika inkübe edildi. PBS ile yıkanarak Streptavidin solüsyonunda 15 dakika bekletildi. PBS ile yıkandı. Taze hazırlanan Diaminobenzidin (DAB) solüsyonu damlatılarak 5dk. bekletildi. Distile su ile yıkandı. Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. Distile su ile yıkanan kesitler alkol serilerinden geçirildi. Ksilol ile 5 dakika şeffaflaştırıldıktan sonra lamel ile kapatıldı.

Örnekler 40X büyütme ile on alanda immün pozitif hücreler ve boyanma yoğunlukları açısından değerlendirildi. Korteks örneklerinin immünohistokimyasal incelemesinde boyanma yoğunlukları “0= yok, 1= %0 – 25, 2= %25 – 50, 3= %50 – 75, 4= %75 – 100” olarak skorlandı. Hipokampus incelemelerinde ise immünpozitif boyanan hücre sayıları karşılaştırıldı.

2.4- İstatistiksel Analiz:

Sayısal ölçümler ortalama \pm standart sapma ve medyan (min-max) ile özetlendi. Bu ölçümlerin normal dağılıma uyumu Shapiro Wilk testleri ve histogram grafikleri ile incelendi. Normal dağılıma uyum sağlayan değişkenler öncelikle tek-yönlü ANOVA testi ile karşılaştırıldı. Ardından varyans homojenliği varsayımı kontrol edilerek Tukey HSD veya Tamhane's T2 post-hoc testleri ise ikili grup karşılaştırmaları yapıldı. Normal dağılıma sahip olmayan değişkenler için Kruskal Wallis ve ardından ikili karşılaştırmalar için post-hoc Dunn's testi uygulandı. Sayısal değişkenler arası ikili ilişkiler Pearson'ın korelasyon analizi ile incelendi. Veri analizi için SPSS 25.0 programı (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) kullanılmıştır, istatistiksel testler $p=0.05$ anlamlılık düzeyinde yorumlandı.

3. BULGULAR:

3.1- Ayağa Kalkma Süresi (sn)

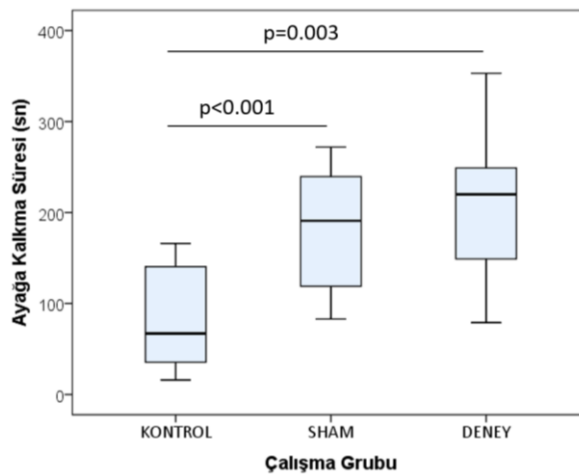
Travma sonrasında yapılan ölçümlerle ratların travmayı takiben (kontrol grubu için sadece anestezi ve lokal anestetik uygulaması sonrasında) dört ayakları üzerine kalkma (righting reflex) süreleri incelenerek hafif kafa travması modelinin başarısı değerlendirilmiştir.

Tablo 1: Travma sonrası grupların ayağa kalkma sürelerinin karşılaştırılması

	Kontrol (n=12)	SHAM (n=12)	Deney (n=12)	p^a
Ayağa Kalkma Süresi (sn)	83.00±55.39	179.83±67.76	209.50±75.01	<0.001

Veriler ortalama±s.sapma ile özetlenmiştir. ^aTek yönlü ANOVA

Travma sonrası ayağa kalkma süresi bakımından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p<0.001$). Sonrasında Post hoc Tukey HSD testi ile ikili grup karşılaştırmaları yapılmıştır. SHAM ve Deney gruplarının ayağa kalkma süresi Kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha uzundur (SHAM-Kontrol: $p<0.001$, Deney-Kontrol: $p=0.003$) (Tablo 1, Grafik 1).



Grafik 1. Çalışma gruplarının travma sonrası ayağa kalkma sürelerinin karşılaştırılması.

3.2- Ağırlık (gr)

Randomizasyon gününden itibaren ratların ağırlıkları ölçülerek kayıt altına alınmıştır. Böylelikle tedavinin ve travmanın juvenil ratlarda kilo alımı üzerine yansması değerlendirilmiştir.

Tablo 2: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında ağırlıkların karşılaştırılması

Ölçüm Zamanı	Kontrol (n=12)	SHAM (n=12)	Deney (n=12)	p ^a
	Ort±ss	Ort±ss	Ort±ss	
Randomizasyon günü	106.00±15.33	105.08±11.38	97.50±14.24	0.265
Travma günü	120.33±16.97	121.42±10.42	111.00±16.46	0.186
Birinci Gün	126.92±17.52	124.42±10.82	111.83±16.07	0.044
İkinci gün	129.83±18.77	129.25±11.09	115.33±16.27	0.032
Üçüncü gün	129.42±17.87	131.00±11.22	115.50±17.25	0.023
Dördüncü Gün	137.58±19.00	137.50±12.60	122.08±17.64	0.032
Beşinci gün	141.92±19.69	141.33±13.97	125.67±18.54	0.046
Altıncı gün	143.00±19.71	144.67±15.12	129.00±19.32	0.073
Yedinci Gün	148.83±20.17	148.58±14.74	131.00±20.07	0.035
Sekizinci gün	152.42±22.45	151.92±17.45	134.25±21.73	0.052
Dokuzuncu gün	154.92±22.31	155.42±18.22	138.08±21.34	0.078
Onuncu Gün	156.75±23.08	156.00±19.41	142.08±21.43	0.136
p^a	<0.001	<0.001	<0.001	

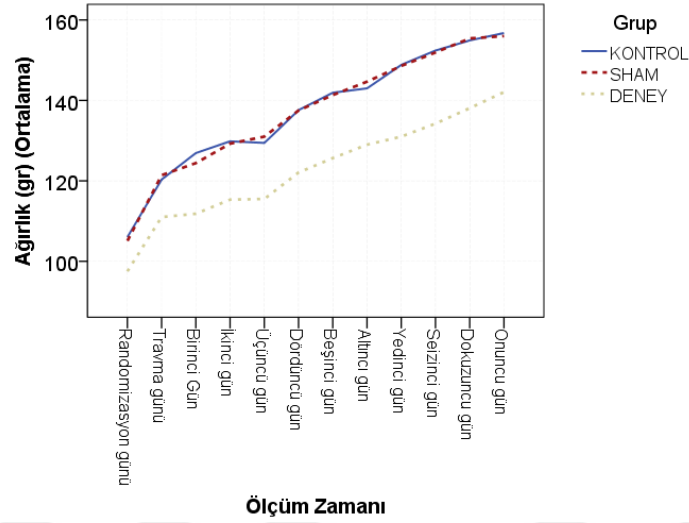
^a Tek yönlü ANOVA

Gruplar arasında randomizasyon ve travma gününde ağırlık bakımından anlamlı fark yoktur. Ancak, birinci gün (p=0.044), ikinci gün (p=0.032), üçüncü gün (p=0.023), dördüncü gün (p=0.032), beşinci gün (p=0.049) ve yedinci günlerde (p=0.037) ağırlık bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur. 8. günden sonra gruplar arasında ağırlık bakımından anlamlı fark bulunmamıştır.

Post-hoc Tukey HSD ikili karşılaştırma testlerine göre ağırlık bakımından fark olan gruplar şu şekildedir:

Birinci günde, kontrol grubunun ağırlığı, deney grubuna göre daha yüksek bulunmuştur (p=0.049). İkinci günde, kontrol ve SHAM gruplarındaki ağırlık, deney

grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0.045$, $p=0.035$). Üçüncü günde, SHAM grubunun ağırlığı, deney grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0.030$). Dördüncü, beşinci ve yedinci günde, SHAM grubunun ağırlığı, deney grubuna göre daha yüksek bulunmuştur ($p=0.041$, $p=0.049$, $p=0.045$). Randomizasyon gününde Kontrol ve SHAM grupları ile Deney grupları arasındaki ağırlık ortalamalarının farkı, deneyin ilerleyen günlerinde gittikçe açılmaktadır (Grafik 2).



Grafik 2. Çalışma gruplarının ağırlık (kg) ortalamalarının zamanla değişimi.

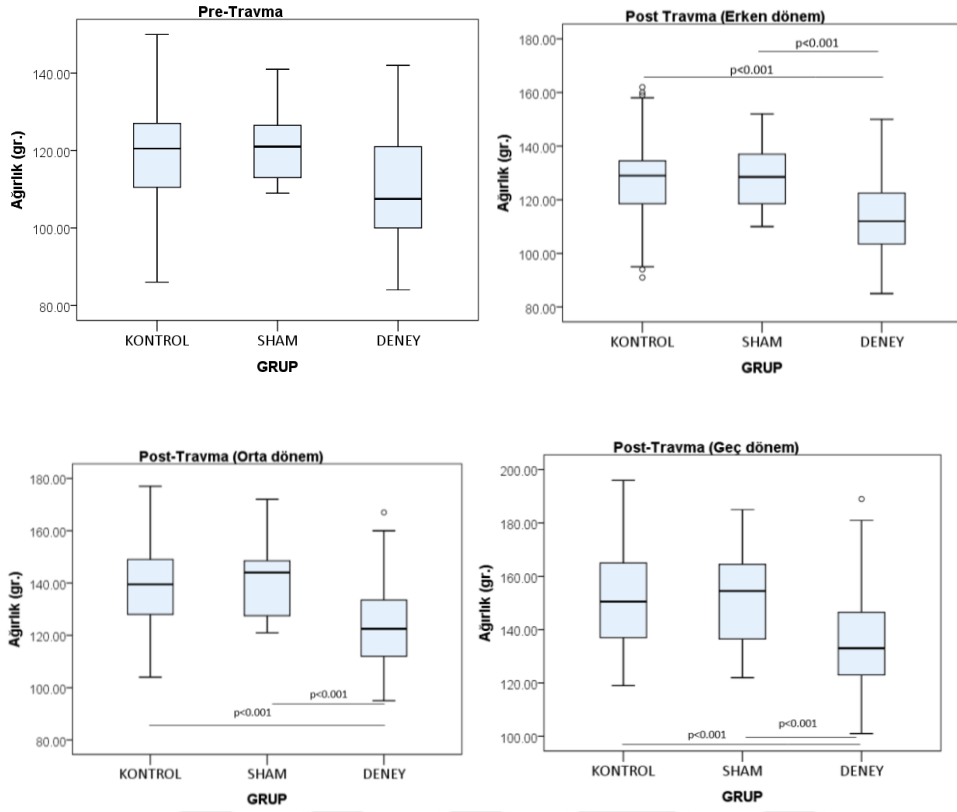
Gruplar arasında ağırlıklar arasındaki fark, travma dönemleri için ayrı ayrı karşılaştırılmıştır (Tablo 3). Pre-travma döneminde gruplar arasında ağırlık bakımından anlamlı fark bulunmazken, post travma dönemlerinde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur. Deney grubundaki ratların ağırlığı post travma dönemlerinde Sham ve Kontrol gruplarına göre anlamlı şekilde düşüktür ($p<0.001$) (Grafik 3, Grafik 4).

Tablo 3: Grupların travma sonrası dönemlere göre ağırlıklarının (gr.) karşılaştırılması

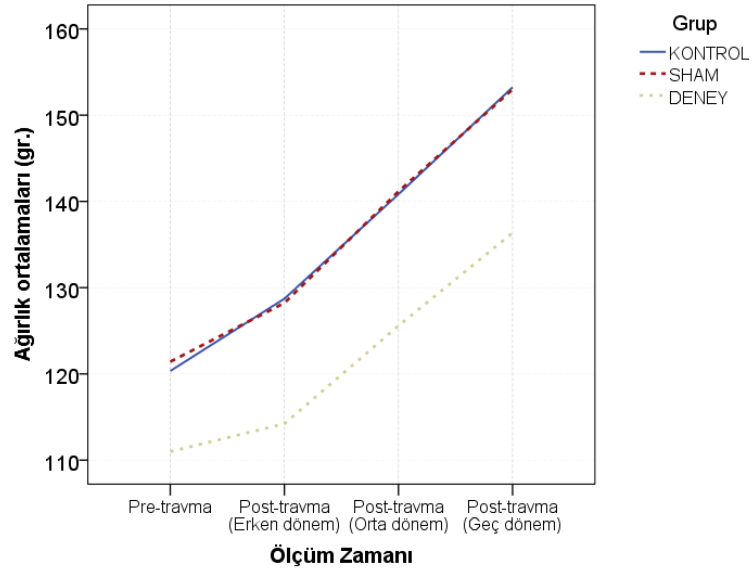
Travma dönemi	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	120.3±16.9	120(86-150)	121.4±10.4	121(109-141)	111.0±16.4	107(84-142)	0.143
POST-TRAVMA (Erken dönem)	128.7±17.5	129(91-162)	128.2±11.0	128(110-152)	114.2±16.1	112(85-150)	<0.001
POST-TRAVMA 2 (Orta dönem)	140.8±19.0	139(104-177)	141.1±13.8	144(121-172)	125.5±18.2	122(95-167)	<0.001
POST-TRAVMA 3 (Geç dönem)	153.2±21.5	150(119-196)	152.9±17.2	154(122-185)	136.3±20.8	133(101-189)	<0.001
p^a	<0.001		<0.001		<0.001		

^aKruskal-Wallis testi

Her üç grupta da farklı travma dönemlerindeki ağırlık bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0.001). Kontrol grubunda post travma geç dönemdeki ağırlık, pre-travma (p<0.001) ve post travma erken döneme (p=0.016) kıyasla anlamlı derecede fazladır. SHAM grubunda post travma orta dönemdeki ağırlık, pre-travma (p=0.002) ve post travma erken döneme (p=0.005) kıyasla anlamlı derecede fazladır. Yine SHAM grubunda post travma geç dönemdeki ağırlık, pre-travma (p<0.001) ve post travma erken döneme (p<0.001) kıyasla anlamlı derecede fazladır. Deney grubunda post travma geç dönemdeki ağırlık, pre-travma (p=0.001) ve post travma erken döneme (p<0.001) kıyasla anlamlı derecede fazladır.



Grafik 3. Çalışma gruplarının ağırlık (kg) ortalamalarının travma dönemlerine göre karşılaştırılması



Grafik 4. Çalışma gruplarının ağırlık (kg) ortalamalarının travma dönemine göre değişimi.

3.4- Hipokampuslarda ve Frontal Kortekslerde BDNF ile Serotonin Miktarlarının Ölçümleri (ELISA)

Vortioxetine kullanımının hipokampal ve prefrontal korteks bölgelerindeki serotonin ve BDNF miktarlarına yansımaları ELISA yöntemiyle değerlendirilmiştir.

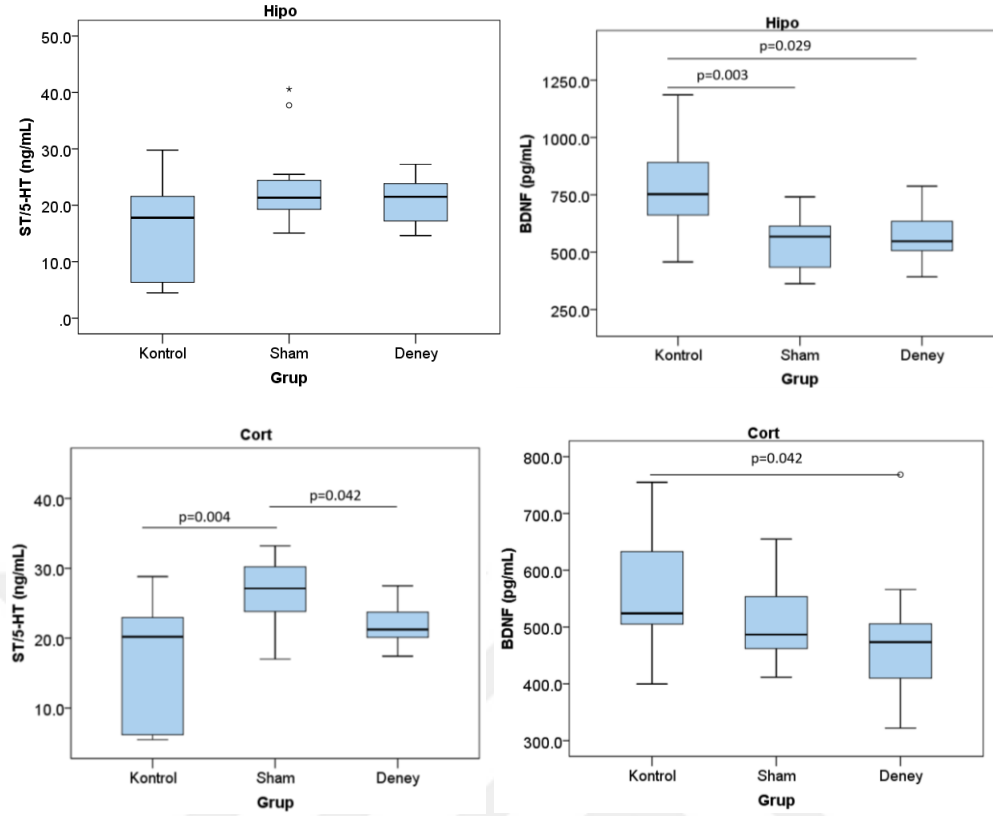
Tablo 4: Grupların hipokampus ve frontal kortekslerindeki BDNF ve serotonin miktarlarının ölçümlerinin karşılaştırılması

Grup		ELISA					
		ST/5-HT (ng/mL)		p ^b	BDNF (pg/mL)		p ^b
		Hipokampus	Korteks		Hipokampus	Korteks	
Kontrol (n=12)	<i>Ort±ss</i>	15.9±8.3	17.0±8.7	0.590	776.8±198.8	561.9±103.6	0.005
	<i>Medyan (Min-Max)</i>	17.8(4.5-29.8)	20.2(5.5-28.8)		753(457.7-1186)	524(399.7-754.8)	
SHAM (n=12)	<i>Ort±ss</i>	23.8±7.7	27.3±5.9	0.068	538.1±112.3	504.4±71.6	0.443
	<i>Medyan (Min-Max)</i>	21.4(15.1-40.6)	27.1(17-40.2)		567.9(362.7-741)	486.8(411.5-654.9)	
Deney (n=12)	<i>Ort±ss</i>	20.8±4.1	21.7±2.9	0.713	573.7±103.4	478.6±111.7	0.014
	<i>Medyan (Min-Max)</i>	21.5(14.6-27.3)	21.3(17.4-27.5)		548(392.7-787.9)	473.4(322-768.4)	
p^a		0.102	0.003		0.002	0.046	

^aKruskal-Wallis testi ^b Mann Whitney U testi

Tablo 4' de hipokampus ölçümleri gruplar arası karşılaştırılmıştır.

Hipokampus bölgesinde, 3 grupta BDNF (pg/mL) ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p=0.002). Post hoc Dunn's ikili karşılaştırma testlerine göre, Kontrol grubundaki BDNF ölçümleri Sham grubuna (p=0.003) ve Deney grubuna (p=0.029) göre anlamlı ölçüde daha yüksek bulundu (Grafik 5). Korteks bölgesinde, 3 grupta ST/5-HT (ng/mL) ve BDNF (pg/mL) ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu (p=0.003, p=0.046). Post hoc testler, korteks bölgesinde Sham grubundaki ST/5-HT (ng/mL) ölçümlerinin Kontrol grubuna (p=0.004) ve Deney grubuna (p=0.042) göre anlamlı ölçüde yüksek olduğunu gösterdi (Grafik 5). Korteks bölgesinin BDNF ölçümleri incelendiğinde Kontrol grubu ölçümlerinin, Deney grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlemlendi (p=0.042) (Grafik 5).



Grafik 5. Çalışma gruplarının hipokampus ve frontal kortekslerinde BDNF ve Serotonin miktarlarının ölçümleri

Her grupta Hipokampus ve frontal kortekslerde ST/5-HT (ng/mL) ve BDNF (ng/mL) ölçümleri arasındaki farklar incelendi. ST/5-HT (ng/mL) ölçümleri için Hipokampal ve Korteks bölgesinde herhangi bir anlamlı fark bulunmadı.

BDNF ölçümleri incelendiğinde Kontrol grubunda ve Deney grubunda, Hipokampus bölgesindeki ölçümlerin, korteks bölgesine göre anlamlı derecede yüksek olduğu gözlemlendi ($p=0.005$, $p=0.014$).

3.5- Histolojik Verilerin Analizi

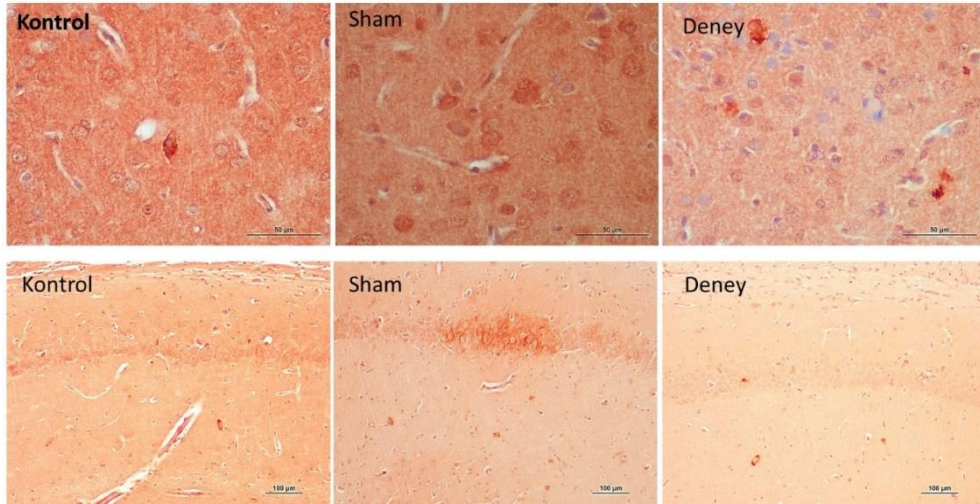
Ratların beyin dokularında (korteks ve hipokampus) travma sonrası immün boyamalar ile serotonin ve BDNF boyanma miktarları, CASPASE9 boyaması ile de apoptoz miktarları incelenmiştir

Tablo 5: Grupların histolojik ölçümlerinin karşılaştırılması

Histolojik Ölçümler	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
Caspase 9							
Hipokampus	12.1±9.7	8.5(2-32)	29.7±15.3	25(17-73)	21.1±6.9	19(14-35)	0.002
Korteks	6.2±5.3	4(2-20)	16.5±6.13	17(7-27)	7.6±4.2	6(3-17)	<0.001
Serotonin 5HT							
Hipokampus	4.9±7.9	0.5(0-24)	37.2±15.5	36(16-61)	6.4±8.2	4.5(0-27)	0.338
Korteks	1.1±0.9	1(0-3)	1.8±1.2	1.5(0-4)	1.3±0.9	1(0-3)	<0.001
BDNF							
Hipokampus	7.2±7.3	6.5(0-19)	26.2±25.6	18(0-70)	2.6±4.4	0(0-15)	0.002
Korteks	1.2±0.8	1(0-3)	2.1±1.0	2(1-4)	1.5±1.0	1(1-4)	0.087

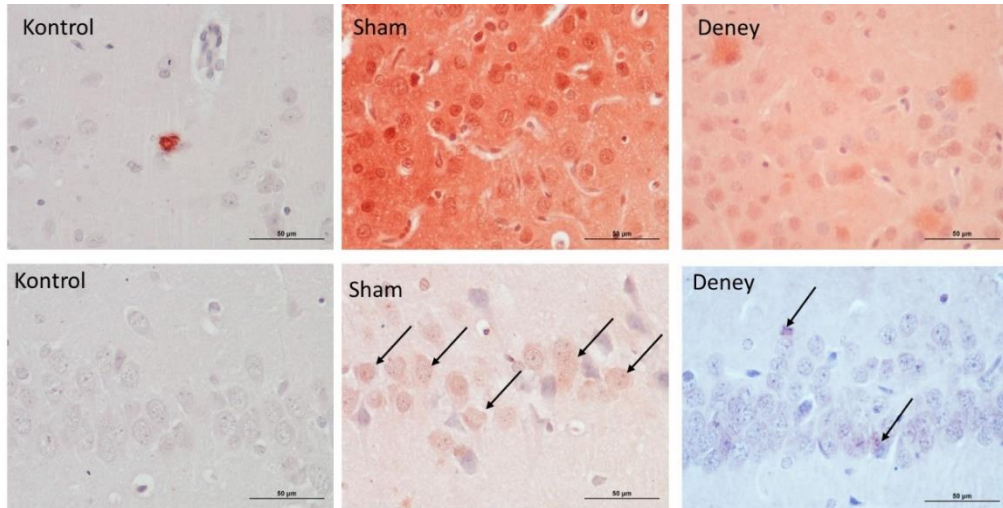
^aKruskal-Wallis testi

Tablo 5’te histolojik ölçümler gruplar arası karşılaştırılmıştır. Hipokampus bölgesinde, 3 grupta Caspase 9 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.002$). Post hoc Dunn’s ikili karşılaştırma testlerine göre, Hipokampus bölgesinde Sham grubundaki Caspase 9 ölçümleri Deney grubuna göre anlamlı derecede yüksekti ($p=0.002$). Korteks bölgesinde, 3 grupta Caspase 9 ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.001$). Korteks bölgesinde Sham grubundaki Caspase 9 ölçümleri Kontrol grubuna ($p<0.001$) ve Deney grubuna ($p=0.014$) göre anlamlı ölçüde daha yüksek bulundu (Resim 38).



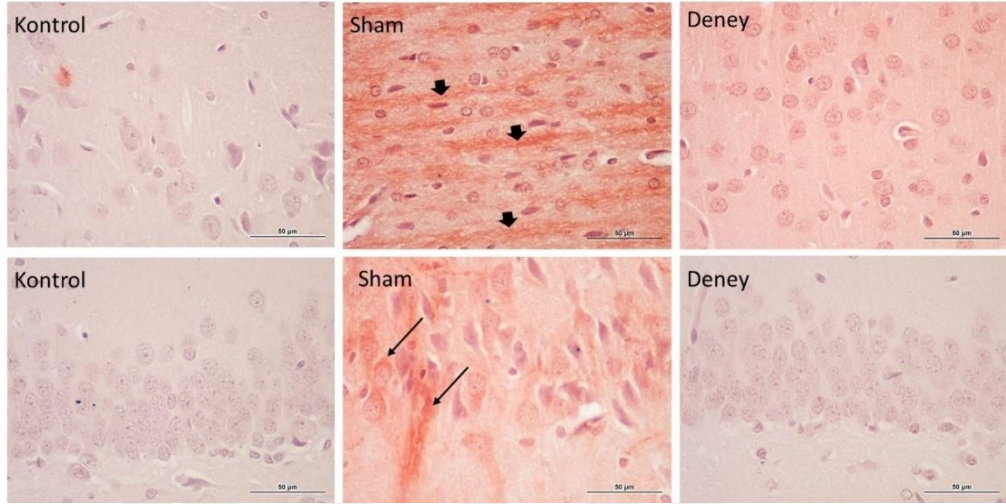
Resim 38 : Caspase 9 boyamalarından örnekler: Üstteki şekiller kortekse (x400), alttaki şekiller hipokampus bölgesine ait görüntülerdir (x100). Caspase immün işaretleme ile boyanma yoğunluğunun sham grubunda kortekste arttığı, deney grubunda kontrole yakın olduğu, sham grubunda hipokampustaki caspase pozitif hücre sayılarının arttığı görülmektedir.

Korteks bölgesinde, 3 grupta Serotonin 5HT ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p < 0.001$). Sham grubu Korteks bölgesinde Serotonin 5HT ölçümleri kontrol grubuna ($p < 0.001$) ve deney grubuna ($p < 0.001$) göre anlamlı ölçüde yüksekti. Hipokampus bölgede 3 grupta Serotonin 5HT ölçümleri arasındaki fark anlamlı bulunmadı (Resim 39).



Resim 39: Serotonin immün işaretleme örnekleri: Üstteki şekiller kortekse ait olup sham grubunda boyanma yoğunluğunun artmış olduğu göze çarpmaktadır. Altta şekiller hipokampus bölgesine ait beyin dokusu görüntüleridir. Serotonin pozitif hücre sayısının sham grubunda artmış olduğu görülmektedir. Serotonin immün işaretleme, x400.

Hipokampus bölgesinde, 3 grupta BDNF ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.002$). Sham grubu Hipokampus bölgesinde BDNF ölçümleri kontrol grubuna ($p=0.001$) anlamlı ölçüde yüksekti. Kortekste 3 grupta BDNF ölçümleri arasındaki fark anlamlı bulunmadı (Resim 40).



Resim 40: BDNF immün işaretleme örnekleri: Üstteki şekiller kortekse ait olup sham grubunda pozitif boyanan fibril yapıları göze çarpmaktadır. Altındaki şekiller hipokampus bölgesine ait beyin dokusu görüntüleridir. BDNF pozitif hücre sayısının sham grubunda artmış olduğu görülmektedir. Deney grubunda boyanma yoğunluğu ve pozitif hücre sayıları azalmıştır. BDNF immün işaretleme, x400.

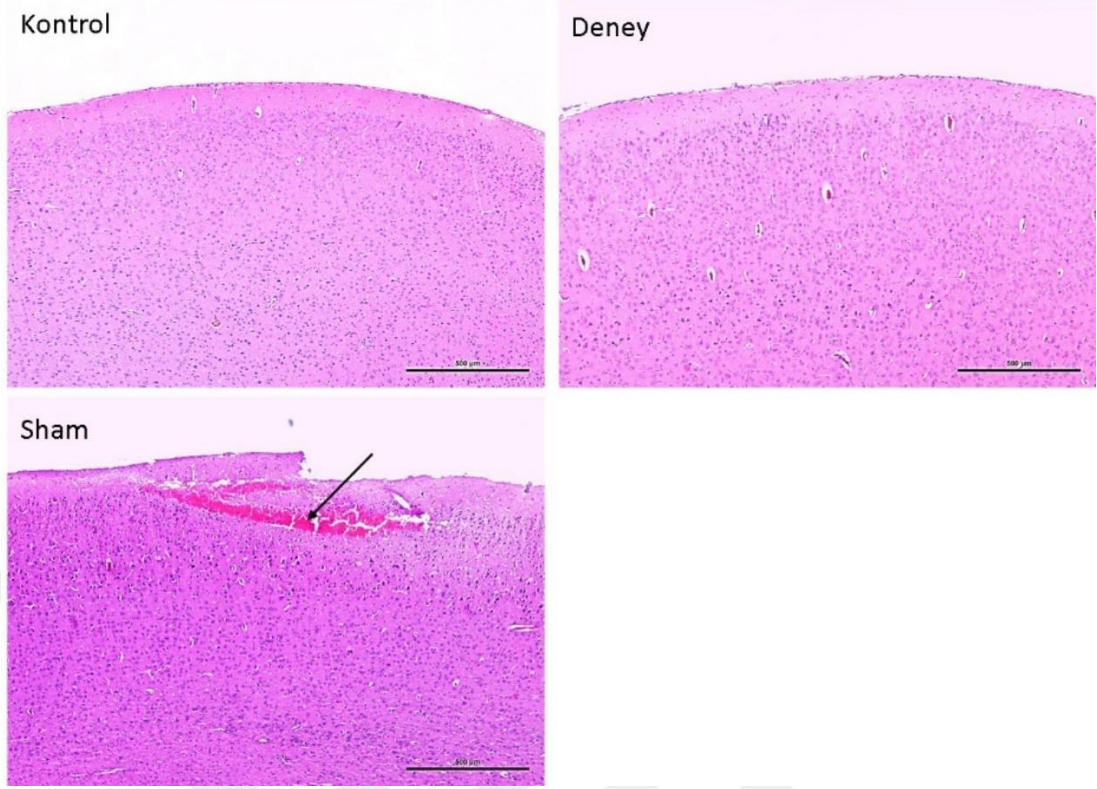
Vortioxetine kullanımının korteks bölgelerindeki ödem, kanama ve enflamasyon üzerine etkileri H&E boyama ile değerlendirilmiştir.

Tablo 6: Kortekslerin H&E ile ödem, kanama ve enflamasyon değerlendirilmesi

Histolojik Ölçümler	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		P ^a
	n	%	n	%	n	%	
<i>Ödem</i>							
Yok	12	100	0	0.0	4	33.3	<0.001
Hafif	0	0.0	11	91.7	8	66.7	
Orta	0	0.0	1	8.3	0	0.0	
Şiddetli	0	0.0	0	0	0	0.0	
<i>Kanama</i>							
Yok	12	100	3	25.0	10	83.3	<0.001
Hafif	0	0.0	5	41.7	2	16.7	
Orta	0	0.0	3	25.0	0	0	
Şiddetli	0	0.0	1	8.3	0	0	
<i>Enflamasyon</i>							
Yok	12	100	8	66.7	12	100	0.025
Hafif	0	0.0	2	16.7	0	0	
Orta	0	0.0	2	16.7	0	0	
Şiddetli	0	0.0	0	0.0	0	0	

^a Fisher's exact test

Üç grupta ödem (p<0.001), kanama (p<0.001) ve enflamasyon (p=0.025) şiddetleri arasında anlamlı fark bulundu. SHAM grubunda farelerin 11'inde (%91,7) hafif derecede ödem gözlemlendi. Deney grubunda ise farelerin 4'ünde (%33,3) ödem gözlenmezken, 8'inde (%66,7) hafif düzeyde ödem gözlemlendi. Sham grubunda ratların %16,7'sinde hafif, %16,7'sinde orta düzeyde enflamasyon bulguları izlenirken kontrol ve deney grubunda bu oranlar sıfırdır. Kontrol grubu ratlarda kanama hiç izlenmezken deney grubunun %83,3'ünde de kanama görülmemiştir, Sham grubunda ise ratların %75'inde değişen ciddiyetlerde kanamaya rastlanmıştır (p<0.001) (Tablo 6) (Resim41).



Resim 41: H&E boyama örnekleri: Kontrol: normal beyin korteks dokusu,x40, Deneş grubunda vasküler yapıların etrafında hafif ödem, x40, Sham grubunda kanama alanı (→) görülmektedir. x40, Hematoksilen Eozin boyaması

3.6- Tapered-Beam Walking Testi Bitirme Süresi (sn)

Tapered-Beam walking testi ile ratların travma öncesi performansları ile çalışma boyunca gösterdikleri performanslar kıyaslanarak vortioxetine'in motor fonksiyonlar üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu bağlamda ratların platformu bitirme süreleri ve platform üzerindeki arka ayaklarındaki kayma sayıları dikkate alınmıştır.

Tablo 7: Gruplara ve ölçüm zamanlarına göre Tapered-Beam Walking platformunu bitirme sürelerinin karşılaştırılması

Ölçüm Zamanı	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort+ss	Medyan (Min-Max)	Ort+ss	Medyan (Min-Max)	Ort+ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	9.17±5.02	8.5(3-19)	8.18±5.76	5(2-21)	6.67±4.03	5(3-17)	0.405
POST-TRAVMA 1	7.58±4.46	5.5(3-16)	8.92±4.54	9(4-16)	6.25±4.22	5(3-19)	0.375
POST-TRAVMA 2	5.17±2.66	4(3-11)	8.67±8.21	5(3-30)	6.92±4.46	5(3-16)	0.480
POST-TRAVMA 3	8.08±7.55	5(3-27)	7.25±5.74	5(2-22)	7.42±5.00	6.5(2-17)	0.982
POST-TRAVMA 4	5.67±4.75	3.5(2-18)	7.58±7.17	4(3-26)	6.33±5.05	5(2-20)	0.654
POST-TRAVMA 5	6.25±4.69	4.5(2-17)	7.67±5.45	4.5(3-17)	6.50±6.69	4(2-26)	0.658
POST-TRAVMA 6	9.17±7.41	6(2-23)	6.92±5.05	5.5(2-20)	8.75±7.88	6(3-26)	0.888
POST-TRAVMA 7	6.00±4.67	3(3-16)	5.25±3.67	3(2-14)	7.17±6.18	4(2-23)	0.837
POST-TRAVMA 8	7.58±6.33	4(2-18)	6.75±4.47	4.5(2-14)	8.00±7.64	5(2-24)	0.949
POST-TRAVMA 9	5.58±3.34	6(2-11)	8.08±8.40	6(2-32)	6.42±5.21	4(2-18)	0.891
POST-TRAVMA 10	7.58±4.81	7(2-14)	6.42±4.10	4.5(2-13)	7.50±5.66	5(3-23)	0.786
p ^a		0.461		0.756		0.980	

^a Kruskal-Wallis testi

Herhangi bir zaman diliminde, 3 grup arasında bitirme süresi arasında fark bulunmamıştır (p>0.05).

3 grupta da farklı zamanlarda yapılan bitirme süresi ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p>0.05).

Tablo 8: Grupların travma sonrası dönemlere göre Tapered-Beam Walking platformunu bitirme sürelerinin karşılaştırılması

Travma dönemi	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	9.17±5.02	8.5(3-19)	8.18±5.76	5(2-21)	6.67±4.03	5(3-17)	0.405
POST-TRAVMA (Erken dönem)	6.94±5.30	5(3-27)	8.28±6.21	5(2-30)	6.86±4.47	5.5(2-19)	0.497
POST-TRAVMA 2 (Orta dönem)	7.03±5.80	4.5(2-23)	7.39±5.80	5(2-26)	7.19±6.55	5(2-26)	0.893
POST-TRAVMA 3 (Geç dönem)	6.69±4.83	4(2-18)	6.63±5.42	4.5(2-32)	7.27±6.07	4(2-24)	0.872
p^a		0.197		0.270		0.857	

^aKruskal-Wallis testi

Tablo 8’de üç grup için bitirme süreleri travma dönemine göre karşılaştırılmıştır. Herhangi bir travma döneminde, üç grup arasında bitirme süresi arasında fark bulunmamıştır (p>0.05).

Üç grupta da farklı travma dönemlerinde yapılan bitirme süresi ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır (p>0.05).

3.7- Tapered-Beam Walking Testinde Arka Ayaklardaki Kayma Sayısı

Tapered-Beam walking testi ile ratların travma öncesi performansları ile çalışma boyunca gösterdikleri performanslar kıyaslanarak vortioxetine'in motor fonksiyonlar üzerine etkisi araştırılmıştır. Bu bağlamda ratların platformu bitirme süreleri ve platform üzerindeyken arka ayaklarındaki kayma sayıları dikkate alınmıştır.

Tablo 9: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında arka ayaklardaki kayma sayısının karşılaştırılması

Ölçüm Zamanı	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	2.08±1.16	2(0-4)	1.82±1.47	2(0-4)	1.92±1.00	2(0-3)	0.901
POST-TRAVMA 1	1.92±1.51	1.5(0-5)	2.75±2.99	2(0-10)	1.08±1.56	0.5(0-5)	0.155
POST-TRAVMA 2	1.50±1.73	1(0-6)	2.67±1.56	2.5(1-6)	1.83±2.55	1(0-9)	0.112
POST-TRAVMA 3	1.00±0.95	1(0-3)	0.75±0.87	1(0-3)	1.50±1.57	1.5(0-4)	0.497
POST-TRAVMA 4	1.33±1.44	1(0-3)	2.00±2.37	1(0-7)	1.25±1.22	1(0-3)	0.778
POST-TRAVMA 5	2.58±2.27	2(0-6)	1.50±1.68	1(0-5)	0.67±0.89	0.5(0-3)	0.087
POST-TRAVMA 6	2.00±2.13	1.5(0-5)	0.75±0.97	0.5(0-3)	0.67±1.15	0(0-4)	0.264
POST-TRAVMA 7	1.08±1.24	1(0-4)	0.92±1.24	0.5(0-4)	0.92±1.08	1(0-3)	0.903
POST-TRAVMA 8	0.75±1.06	0(0-3)	1.50±1.38	1(0-3)	0.83±0.72	1(0-2)	0.307
POST-TRAVMA 9	0.50±1.00	0(0-3)	1.92±2.39	1(0-7)	0.75±0.97	0.5(0-3)	0.134
POST-TRAVMA 10	0.67±0.89	0(0-2)	0.83±1.11	0.5(0-3)	1.00±1.35	0.5(0-4)	0.886
p ^a	0.001		0.552		0.152		

^a Kruskal-Wallis testi

Arka ayaklardaki kayma sayısı bakımından gruplar arasındaki farklar ve grup içi karşılaştırmalar Tablo 9'da verilmiştir. Herhangi bir zaman diliminde, 3 grup arasında arka ayaklardaki kayma sayısı arasında fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Gruplar kendi içinde zaman yönünden karşılaştırıldığında, SHAM ve Deney gruplarında arka ayaklardaki kayma sayısı ve ölçüm zamanı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır ($p>0.05$).

Kontrol grubunda farklı zamanlarda yapılan arka ayaklardaki kayma sayısı ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.001$). Hangi ölçüm zamanları arasında fark olduğunu tespit etmek için Bonferroni düzeltmesi ile

post-hoc Dunn's testi uygulanmıştır. Çıkan sonuçlara göre Kontrol grubunda Post-Travma 2 döneminde ayak kayma sayısı, Post-Travma 9. (p=0.025) ve Post-Travma 10. (p=0.044) güne göre istatistiksel olarak anlamlı olarak daha fazladır.

Tablo 10: Grupların travma sonrası dönemlere göre Tapered-Beam Walking platformunda arka ayaklardaki kayma sayılarının karşılaştırılması

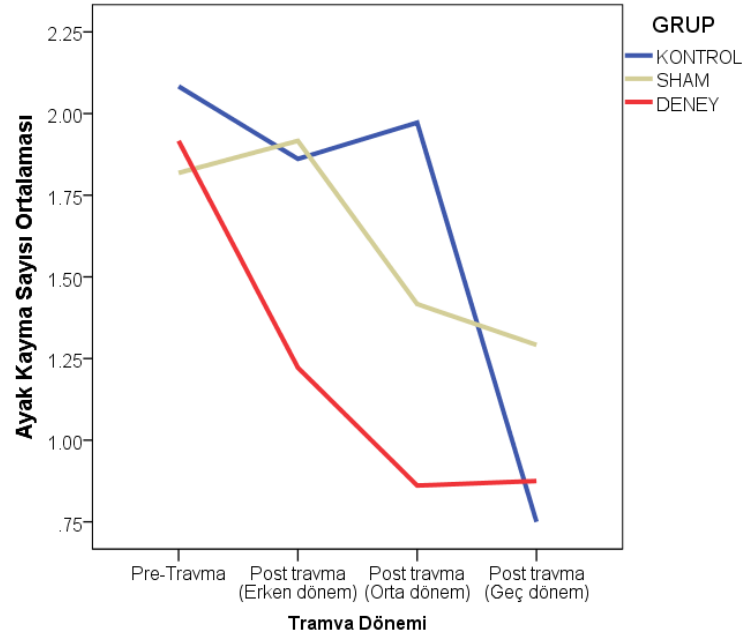
Travma dönemi	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	2.08±1.16	2(0-4)	1.82±1.47	2(0-4)	1.92±1.00	2(0-3)	0.901
POST-TRAVMA (Erken dönem)	1.86±1.50	1.5(0-6)	1.92±2.21	2(0-10)	1.22±1.81	1(0-9)	0.047
POST-TRAVMA 2 (Orta dönem)	1.97±1.99	2(0-6)	1.42±1.79	1(0-7)	0.86±1.10	1(0-4)	0.105
POST-TRAVMA 3 (Geç dönem)	0.75±1.04	0(0-4)	1.29±1.62	1(0-7)	0.88±1.02	1(0-4)	0.242
p^a	<0.001		0.394		0.016		

^aKruskal-Wallis testi

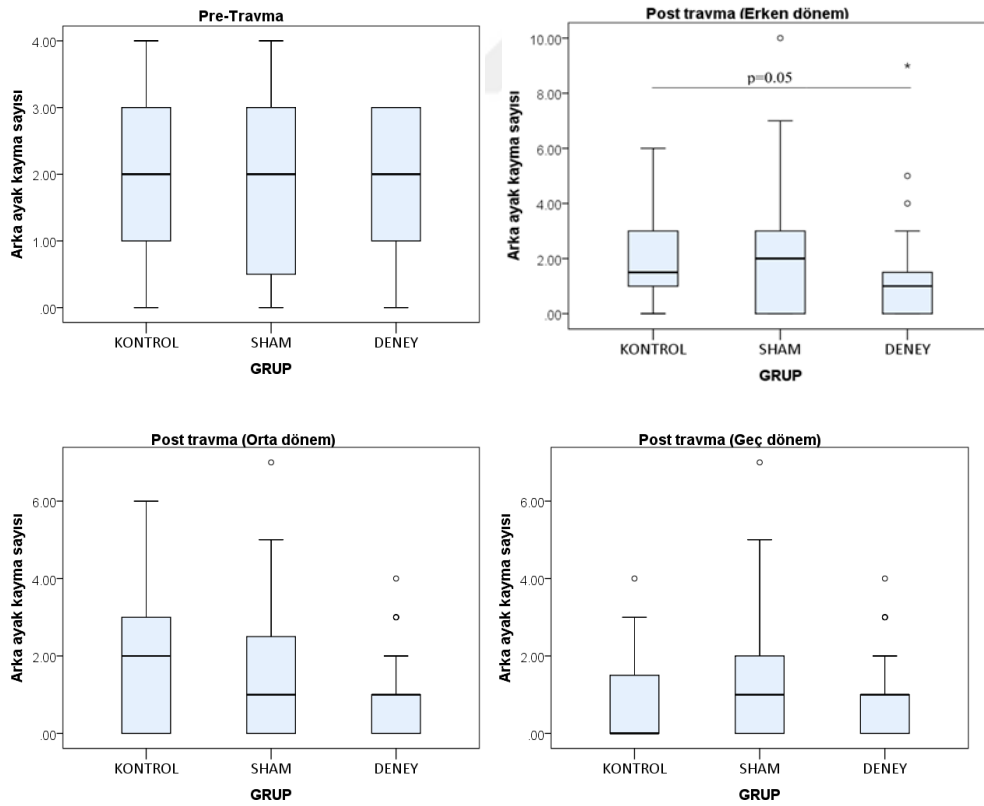
Gruplar arasında arka ayaklardaki kayma sayıları arasındaki fark, travma dönemleri için ayrı ayrı karşılaştırılmıştır (Tablo 10). Post travma erken dönemde (post travma 1, 2 ve 3. günler) gruplar arasındaki ayak kayma sayısı arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.047). Post-hoc ikili karşılaştırma testine göre, Post travma erken dönemde Deney grubundaki arka ayaklardaki kayma sayısı Kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur (1.22±1.81 vs. 1.86±1.50, p=0.05) (Grafik 7).

Kontrol ve deney gruplarında farklı travma dönemlerindeki arka ayaklardaki kayma sayısı bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur (p<0.001, p=0.016). Pre travma, Post travma orta dönem ve post travma geç dönemde, arka ayaklardaki kayma sayısı bakımından üç grupta anlamlı fark bulunmamıştır.

Deney grubunda post-travma geç ve orta dönemlerdeki ayak kayma sayısı, pre-travma dönemine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktür (p=0.017, p=0.014). Kontrol grubunda ise post-travma geç dönemdeki ayak kayma sayısı, pre-travma, post-travma erken dönem ve post-travma orta dönemden anlamlı derecede düşüktür (p=0.010, p=0.012, p=0.013) (Grafik 6, Grafik 7).



Grafik 6. Çalışma gruplarının Tapered-Beam Walking düzeneğindeki arka ayaklardaki kayma sayılarının karşılaştırılması



Grafik 7. Çalışma gruplarının travma dönemlerine göre Tapered-Beam Walking düzeneğindeki arka ayaklardaki kayma sayılarının karşılaştırılması

3.8- BARNES MAZE DEĞERLENDİRMESİ

Barnes Maze testi ile ratların öğrenme, hafıza, uzaysal yön bulma gibi kognitif fonksiyonları ve masa üzerindeki hızları ile de motor fonksiyonları değerlendirilmiştir.

Her bir inceleme için sonuçlar aşağıda sırasıyla sunulmuştur. (3.8.1- Duration, 3.8.2- Distance, 3.8.3- Mean Speed, 3.8.4- Line Crossing, 3.8.5- Path Efficiency)

3.8.1- DURATION

Tablo 11: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında duration (hedefe varıncaya kadar masada geçirdikleri sürelerin) karşılaştırılması

Ölçüm Zamanı	Kontrol (n=12)	SHAM (n=12)	Deney (n=12)	p ^a
	Ort±ss	Ort±ss	Ort±ss	
PRE-TRAVMA	23.91±19.65	16.29±11.78	16.43±11.54	0.660
POST-TRAVMA 1	14.93±6.88	29.17±19.36	10.60±6.39	0.005
POST-TRAVMA 2	19.48±20.85	12.81±8.93	14.22±6.66	0.677
POST-TRAVMA 3	19.48±20.85	12.81±8.93	13.27±10.53	0.662
POST-TRAVMA 4	16.40±28.67	10.13±6.88	10.89±6.99	0.786
POST-TRAVMA 5	10.46±9.04	12.26±6.53	12.98±11.10	0.384
POST-TRAVMA 6	10.24±7.87	11.51±6.51	9.72±8.21	0.513
POST-TRAVMA 7	9.06±8.45	13.34±12.24	13.87±13.30	0.387
POST-TRAVMA 8	9.98±6.84	6.58±5.32	10.44±14.94	0.177
POST-TRAVMA 9	8.06±4.01	9.00±5.60	7.94±4.55	0.844
POST-TRAVMA 10	7.58±8.86	8.79±5.50	5.81±2.74	0.203
p^a	0.001	0.052	0.010	

^a Kruskal Wallis testi

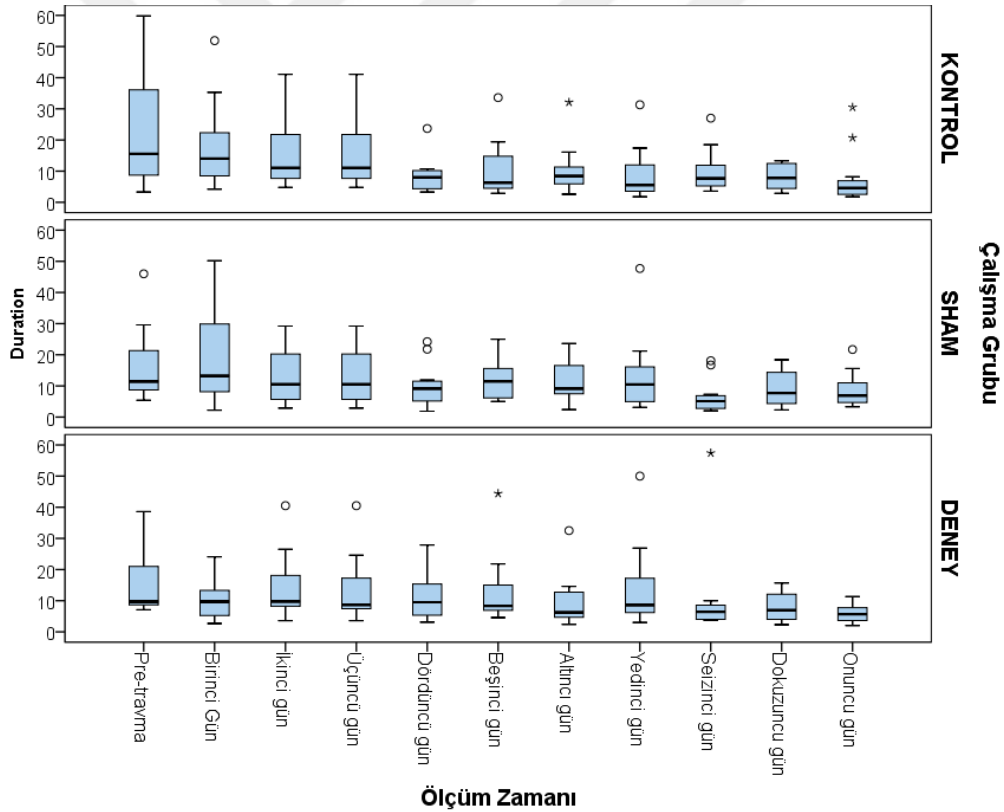
Tablo 11’de gruplar arası ve grup içi ölçüm zamanları Duration (hedefe varıncaya kadar masada geçirdikleri sürelerin) bakımından karşılaştırılmıştır.

Post-travma birinci günde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.005). Post-hoc testlere göre Deney grubunun Duration ölçümü, SHAM grubuna göre anlamlı şekilde küçüktür (p=0.004). Diğer ölçüm zamanlarında gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

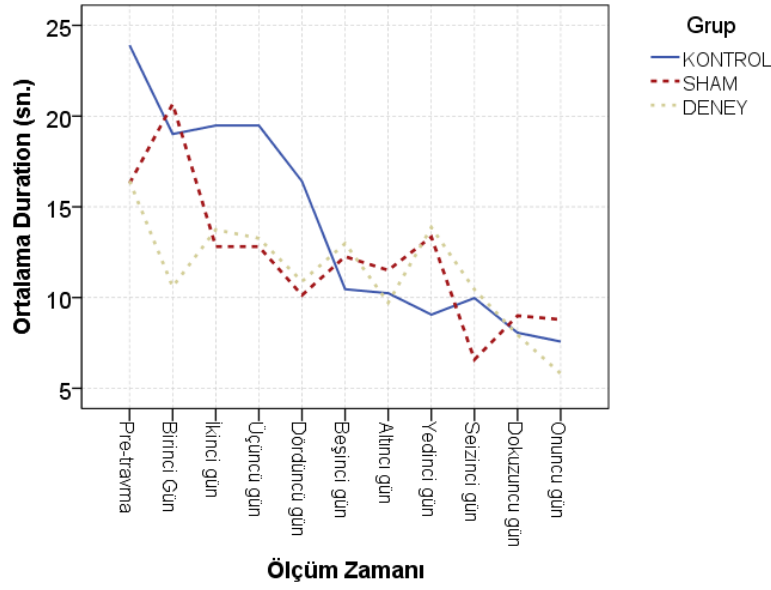
Kontrol grubunda ve deney grubunda ölçüm günleri arasında istatistiksel fark bulunmuştur ($p=0.001$, $p=0.010$). SHAM grubunda ölçüm zamanları arasında anlamlı fark bulunmamıştır ($p=0.052$).

İkili karşılaştırma testi sonuçlarına göre, Kontrol grubunda 10. günde duration pre-travma gününe ($p=0.006$) ve travma sonrası 1. gün'e ($p=0.022$) kıyasla anlamlı olarak düşmüştür. Deney grubunda 10. günde duration pre-travma gününe ($p=0.030$) ve travma sonrası 2. gün'e ($p=0.032$) kıyasla anlamlı olarak düşmüştür.

Grafik 8'de duration ölçümlerinin özellikle Kontrol ve Deney grubunda zamanla azaldığı görülmektedir (Grafik 8, Grafik 9). En düşük ortalama, Deney grubunda 10. günde elde edilmiştir.



Grafik 8. Çalışma gruplarının Duration (hedefe varıncaya kadar masada geçirdikleri süreler) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması



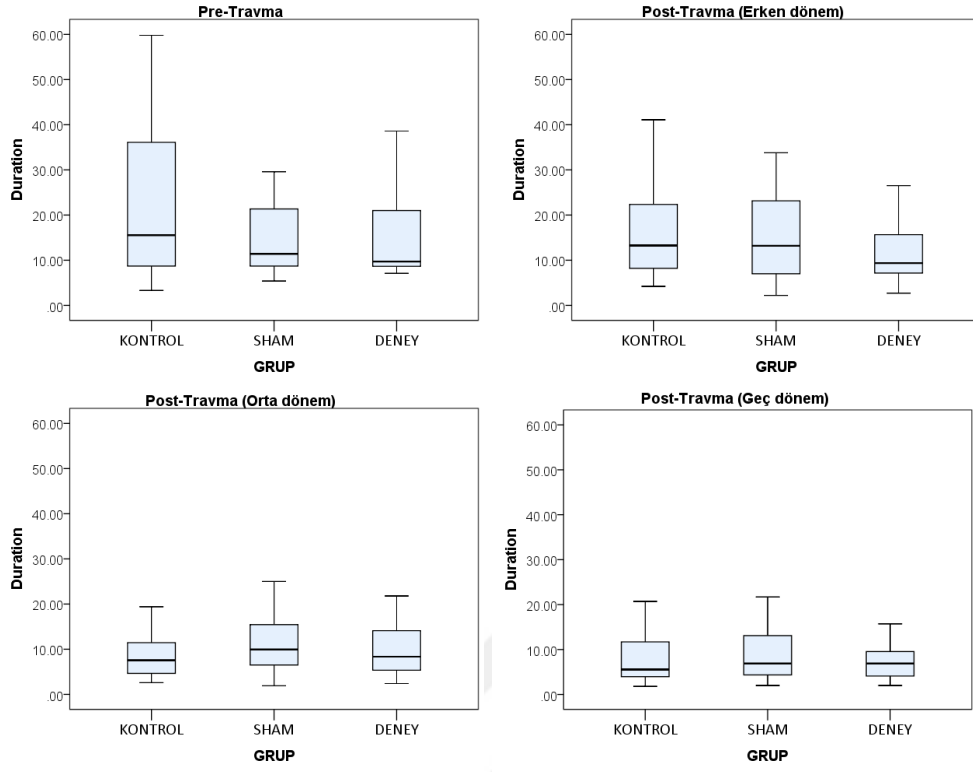
Grafik 9. Çalışma gruplarının Duration (hedefe varıncaya kadar masada geçirdikleri süreler) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması

Tablo 12: Grupların travma sonrası dönemlere göre duration karşılaştırılması

Travma dönemi	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	23.91±19.65	15.6(3.3-59.8)	16.29±11.78	11.4(5.4-46)	16.43±11.54	9.7(7.1-38.6)	0.660
POST-TRAVMA (Erken dönem)	17.97±17.11	12.6(4.8-77.2)	17.95±14.87	14(2.9-74.5)	12.69±8	9.8(2.7-40.5)	0.371
POST-TRAVMA 2 (Orta dönem)	12.37±17.66	7.6(2.6-105.8)	11.3±6.51	10(1.9-25)	11.2±8.78	8.4(2.4-44.4)	0.385
POST-TRAVMA 3 (Geç dönem)	8.67±7.12	5.6(1.8-31.3)	9.43±7.89	6.9(2-47.7)	9.51±10.46	6.9(2-57.4)	0.827
p^a	<0.001		0.003		0.002		

^aKruskal-Wallis testi

Duration ölçümleri travma dönemlerine göre gruplanarak karşılaştırıldığında, her grupta grup içi travma dönemleri arasında anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 12). Ancak gruplar, travma dönemleri için ayrı ayrı karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır (Grafik 10).



Grafik 10. Çalışma gruplarının masada geçirdikleri zaman (Duration) sürelerinin travma dönemlerine göre değerlendirilmesi

3.8.2- DISTANCE

Tablo 13: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında distance (hedefe varana kadar kat edilen mesafe) karşılaştırılması

Ölçüm Zamanı	Kontrol (n=12)	SHAM (n=12)	Deney (n=12)	p ^a
	Ort±ss	Ort±ss	Ort±ss	
PRE-TRAVMA	2.76±1.84	1.87±1.18	2.09±1.7	0.229
POST-TRAVMA 1	1.40±0.40	2.23±1.26	1.27±0.38	0.046
POST-TRAVMA 2	1.92±1.31	1.5±0.67	1.69±0.99	0.888
POST-TRAVMA 3	1.92±1.31	1.5±0.67	1.74±1.14	0.816
POST-TRAVMA 4	2.05±2.6	1.4±0.58	1.71±1.02	0.573
POST-TRAVMA 5	1.33±0.59	1.38±0.26	1.43±0.42	0.327
POST-TRAVMA 6	1.67±0.79	1.82±1.01	1.69±0.83	0.812
POST-TRAVMA 7	1.27±0.7	2.08±2	1.95±1.89	0.129
POST-TRAVMA 8	1.19±0.15	1.14±0.15	1.64±1.48	0.866
POST-TRAVMA 9	1.38±0.39	1.59±0.92	1.4±0.55	0.964
POST-TRAVMA 10	1.53±1.13	1.26±0.48	1.05±0.18	0.547
p ^a	0.064	0.445	0.152	

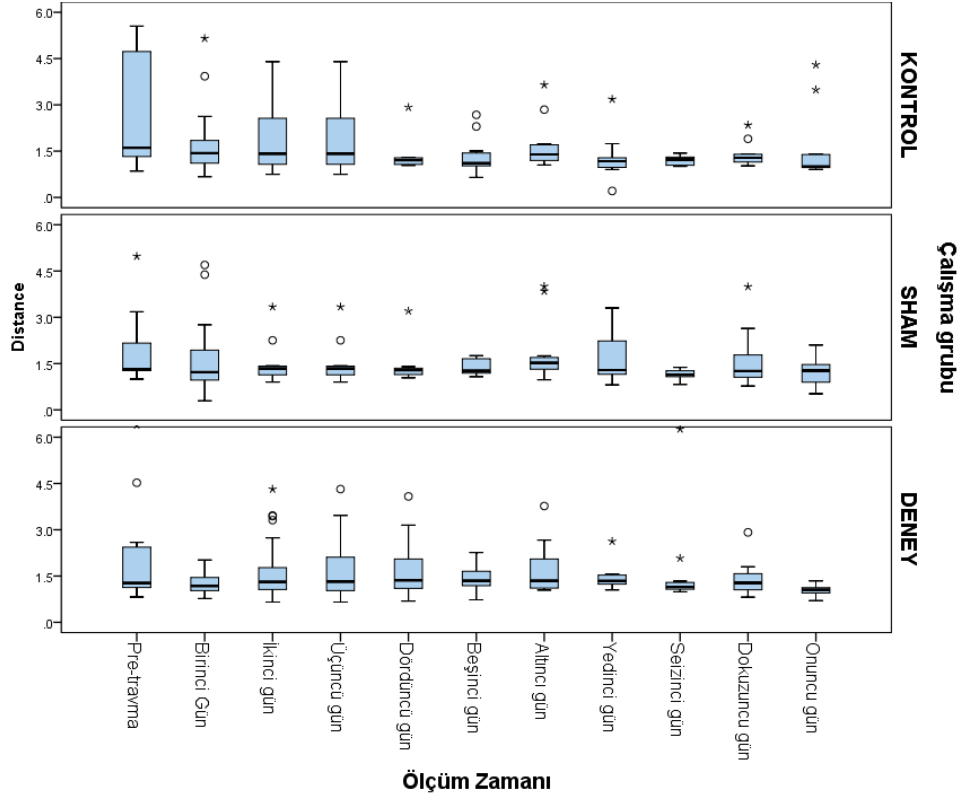
^a Kruskal Wallis testi

Tablo 13'te gruplar arası ve grup içi ölçüm zamanları Distance (hedefe varana kadar kat edilen mesafe) bakımından karşılaştırılmıştır.

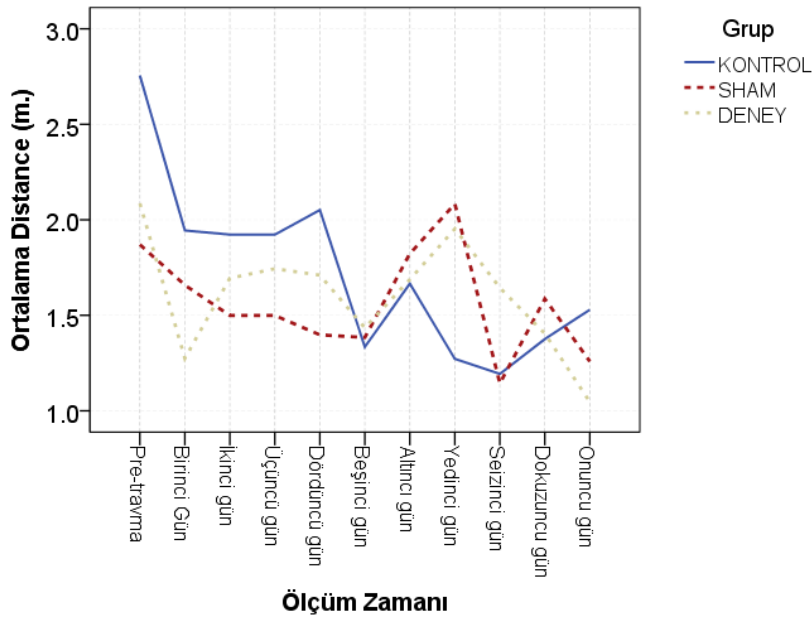
Post-travma birinci günde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.046). Post-hoc testlere göre Deney grubunun Distance ölçümü, SHAM grubuna göre anlamlı şekilde küçüktür (p=0.049). Diğer ölçüm zamanlarında gruplar arasında anlamlı fark bulunmamıştır.

Hiçbir grupta ölçüm zamanları arasında anlamlı bir farklılık yoktur.

Grafik 11'da Distance (hedefe varana kadar kat edilen mesafe) ölçümlerinin zamanla farklı gruplar için değişimi gösterilmiştir. Deney grubunda 10. gündeki distance değerleri incelendiğinde, bu gruptaki farelerin diğer ölçüm günlerine ve gruplarına göre daha kısa mesafe kat ettiği görülmektedir (Grafik 12).



Grafik 11. Çalışma gruplarının Distance (hedefe varana kadar kat edilen mesafe) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması



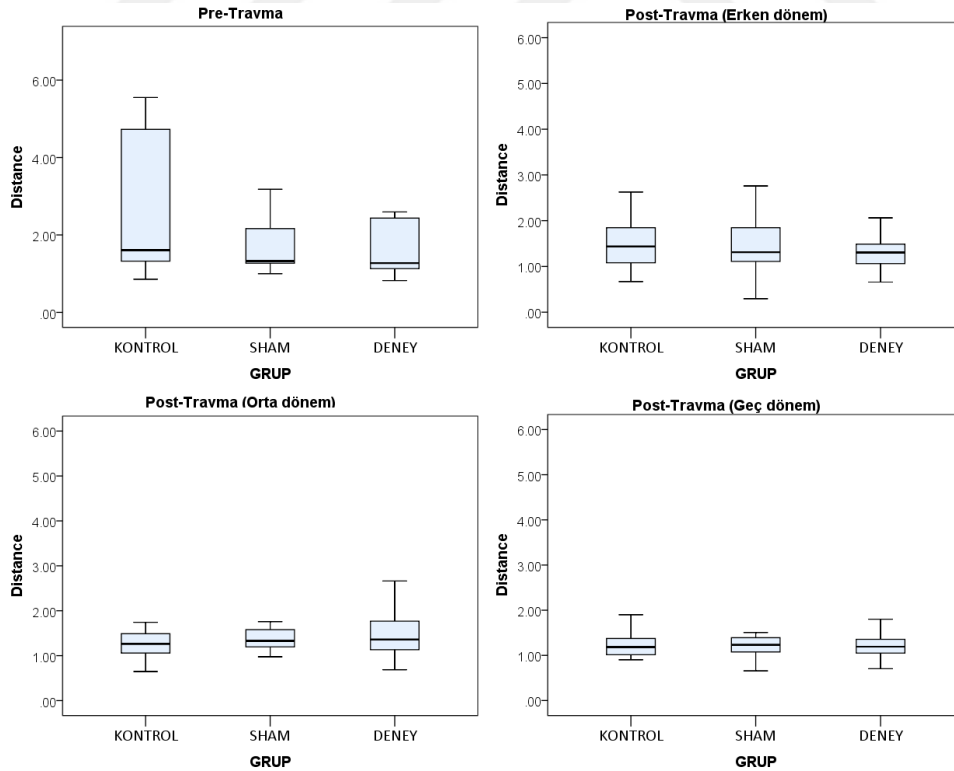
Grafik 12. Çalışma gruplarının Distance (hedefe varana kadar kat edilen mesafe) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması

Tablo 14: Grupların travma sonrası dönemlere göre distance karşılaştırılması

Travma dönemi	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	2.76±1.84	1.6(0.9-5.6)	1.87±1.18	1.3(1-5)	2.09±1.7	1.3(0.8-6.4)	0.229
POST-TRAVMA (Erken dönem)	1.75±1.09	1.4(0.7-4.4)	1.73±0.94	1.4(0.9-4.7)	1.55±0.85	1.3(0.7-4.3)	0.404
POST-TRAVMA 2 (Orta dönem)	1.68±1.59	1.3(0.7-10.2)	1.53±0.7	1.3(1-4)	1.61±0.79	1.4(0.7-4.1)	0.381
POST-TRAVMA 3 (Geç dönem)	1.34±0.68	1.2(0.2-4.3)	1.52±1.15	1.2(0.5-7.9)	1.51±1.24	1.2(0.7-7.8)	0.776
p^a	0.008		0.098		0.235		

^aKruskal-Wallis testi

Distance ölçümleri travma dönemlerine göre gruplanarak karşılaştırıldığında, Kontrol grubunda grup içi travma dönemleri arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.008) (Grafik 13) (Tablo 14). Diğer gruplarda distance ölçümlerinde travma dönemleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamaktadır. Ayrıca gruplar, travma dönemleri için ayrı ayrı karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır.



Grafik 13. Grupların Travma sonrası dönemlere göre Distance karşılaştırılması.

3.8.3- MEAN SPEED

Tablo 15: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında mean speed (hedefe giden yolda gösterdikleri ortalama hız değeri) karşılaştırılması

Ölçüm Zamanı	Kontrol (n=12)	SHAM (n=12)	Deney (n=12)	p ^a
	Ort±ss	Ort±ss	Ort±ss	
PRE-TRAVMA	0.14±0.05	0.13±0.04	0.13±0.03	0.784
POST-TRAVMA 1	0.11±0.04	0.09±0.03	0.15±0.06	0.021
POST-TRAVMA 2	0.12±0.03	0.17±0.1	0.14±0.04	0.654
POST-TRAVMA 3	0.12±0.03	0.17±0.1	0.15±0.04	0.494
POST-TRAVMA 4	0.18±0.08	0.2±0.15	0.18±0.07	0.998
POST-TRAVMA 5	0.18±0.08	0.14±0.06	0.15±0.07	0.520
POST-TRAVMA 6	0.21±0.1	0.19±0.09	0.22±0.08	0.369
POST-TRAVMA 7	0.19±0.1	0.18±0.08	0.18±0.08	0.973
POST-TRAVMA 8	0.16±0.08	0.25±0.13	0.21±0.06	0.102
POST-TRAVMA 9	0.21±0.11	0.21±0.1	0.21±0.07	0.939
POST-TRAVMA 10	0.29±0.13	0.17±0.06	0.21±0.08	0.033
p^a	<0.001	0.007	0.001	

^a Kruskal Wallis testi

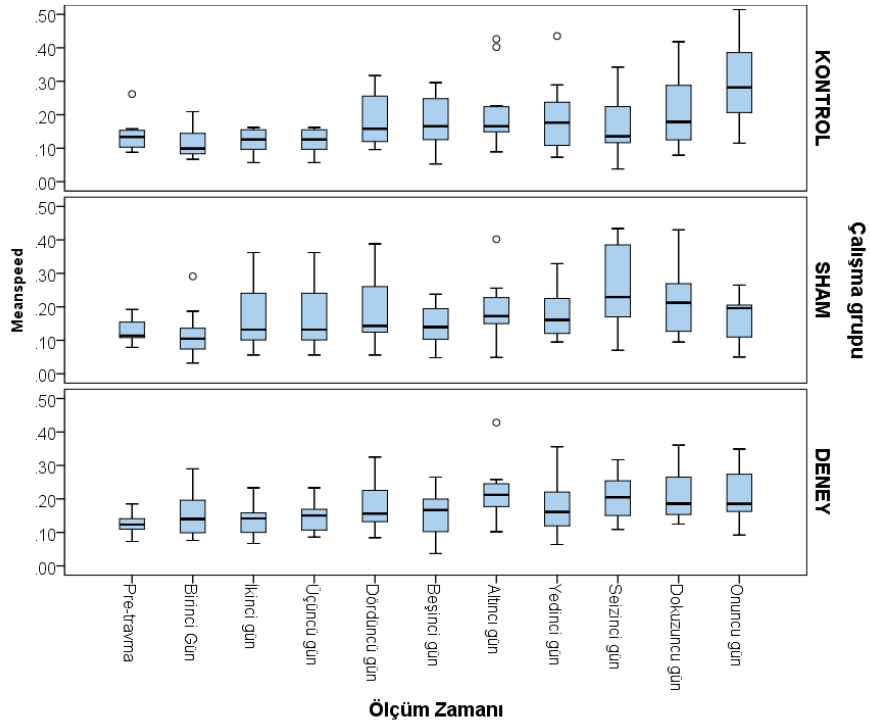
Tablo 15’te gruplar arası ve grup içi ölçüm zamanları Mean Speed (hedefe giden yolda gösterdikleri ortalama hız değeri) bakımından karşılaştırılmıştır.

Kontrol grubunda 10. günde Mean Speed, 1. gün ($p<0.001$), 2. gün ($p=0.019$) ve 3. gün’e kıyasla anlamlı olarak yüksektir.

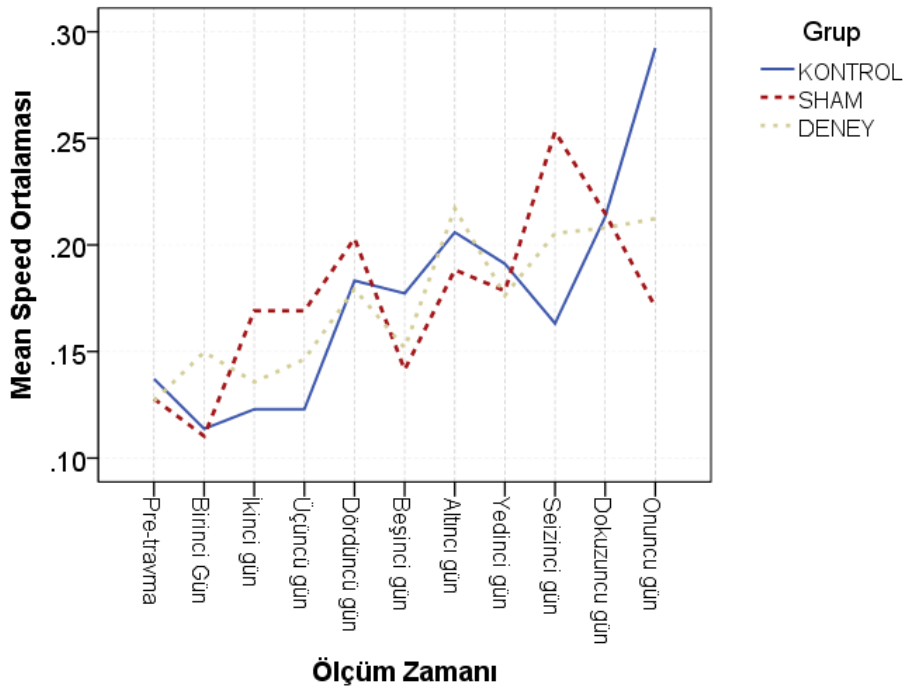
SHAM grubunda 8. günde Mean Speed, 1. gün’e kıyasla anlamlı olarak yüksektir ($p=0.005$).

Post-travma birinci günde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.021$). Post-hoc testlere göre Deney grubunun Mean Speed ölçümü, SHAM grubuna göre anlamlı şekilde yüksektir ($p=0.020$). Ayrıca 10. günde 3 grup arası Mean Speed ölçümleri arasında istatistiksel anlamlı fark bulunmuştur ($p=0.033$). İkili karşılaştırma testine göre 10. günde, Kontrol grubunun Mean Speed’i SHAM grubundan anlamlı şekilde yüksektir ($p=0.032$)

Grafik 14 ve 15 incelendiğinde Kontrol ve Deney gruplarında Mean Speed değerlerinin zamanla artış eğiliminde olduğu gözlenmektedir.



Grafik 14. Çalışma gruplarının Mean Speed (hedefe giden yolda gösterdikleri ortalama hız değeri) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması



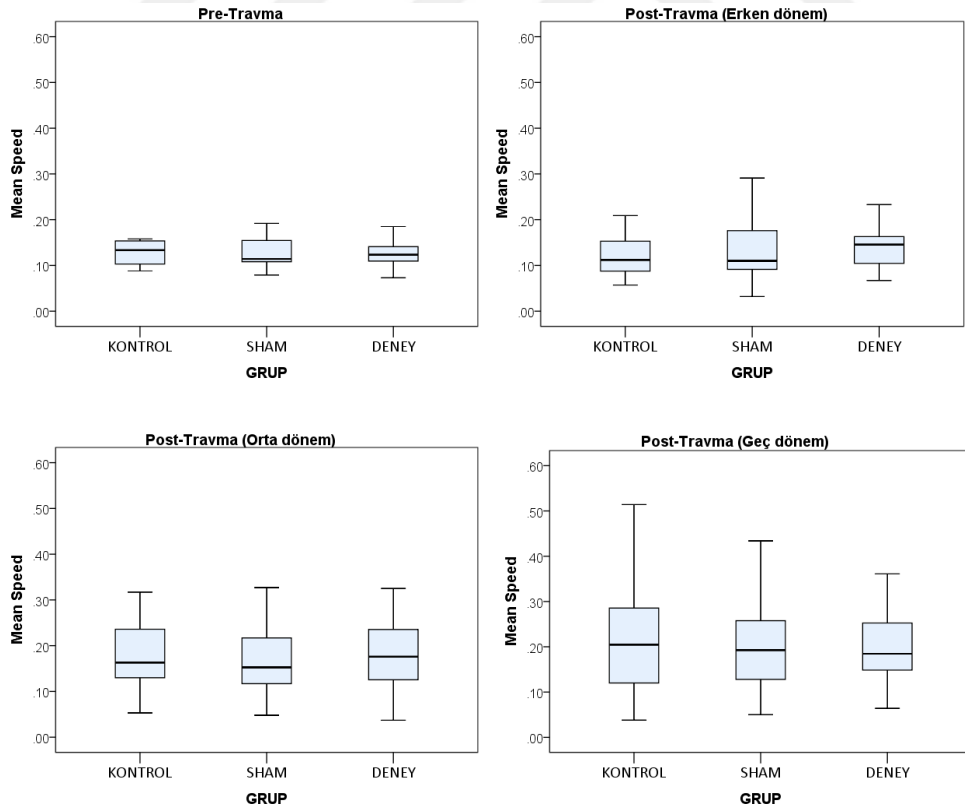
Grafik 15. Çalışma gruplarının Mean Speed (hedefe giden yolda gösterdikleri ortalama hız değeri) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması

Tablo 16: Grupların travma sonrası dönemlere göre mean speed karşılaştırılması

Travma dönemi	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	0.14±0.05	0.1(0.1-0.3)	0.13±0.04	0.1(0.1-0.2)	0.13±0.03	0.1(0.1-0.2)	0.787
POST-TRAVMA (Erken dönem)	0.12±0.04	0.1(0.1-0.2)	0.14±0.09	0.1(0-0.4)	0.14±0.05	0.1(0.1-0.3)	0.220
POST-TRAVMA 2 (Orta dönem)	0.19±0.09	0.2(0.1-0.4)	0.18±0.11	0.2(0.1-0.6)	0.18±0.08	0.2(0-0.4)	0.505
POST-TRAVMA 3 (Geç dönem)	0.21±0.11	0.2(0-0.5)	0.2±0.1	0.2(0.1-0.4)	0.2±0.07	0.2(0.1-0.4)	0.968
p^a	<0.001		0.003		<0.001		

^aKruskal-Wallis testi

Mean Speed ölçümleri travma dönemlerine göre gruplanarak karşılaştırıldığında, tüm grupların grup içi travma dönemleri arasında anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 16). Ancak gruplar, travma dönemleri için ayrı ayrı karşılaştırıldığında anlamlı fark bulunmamıştır (Grafik 16).



Grafik 16. Grupların Travma sonrası dönemlere göre Mean Speed karşılaştırılması.

3.8.4- LINE CROSSING

Tablo 17: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında line crossing (hedefe varana kadar geçtikleri kadran çizgisi sayısı) karşılaştırılması

Ölçüm Zamanı	Kontrol (n=12)	SHAM (n=12)	Deney (n=12)	p ^a
	Ort±ss	Ort±ss	Ort±ss	
PRE-TRAVMA	12.08±9.9	8±5.86	7.25±4.75	0.614
POST-TRAVMA 1	8.08±3.75	11.45±6.71	5.92±3.73	0.037
POST-TRAVMA 2	9±6.92	7.33±4.31	9.0±5.33	0.781
POST-TRAVMA 3	9±6.92	7.33±4.31	6.92±5.04	0.825
POST-TRAVMA 4	9.17±15.83	7.67±2.71	6.08±4.12	0.104
POST-TRAVMA 5	5.83±3.64	7.58±3.37	5±2.41	0.111
POST-TRAVMA 6	6.67±3.58	7.92±6.32	6±3.54	0.756
POST-TRAVMA 7	5.08±4.81	8.08±6.73	8.92±8.76	0.167
POST-TRAVMA 8	4.58±2.47	3.67±1.5	6.92±8.99	0.408
POST-TRAVMA 9	4.75±2.22	6.75±4.59	5.42±3.29	0.632
POST-TRAVMA 10	5.33±3.52	5.58±2.75	3.42±1.73	0.063
p^a	0.037	0.087	0.045	

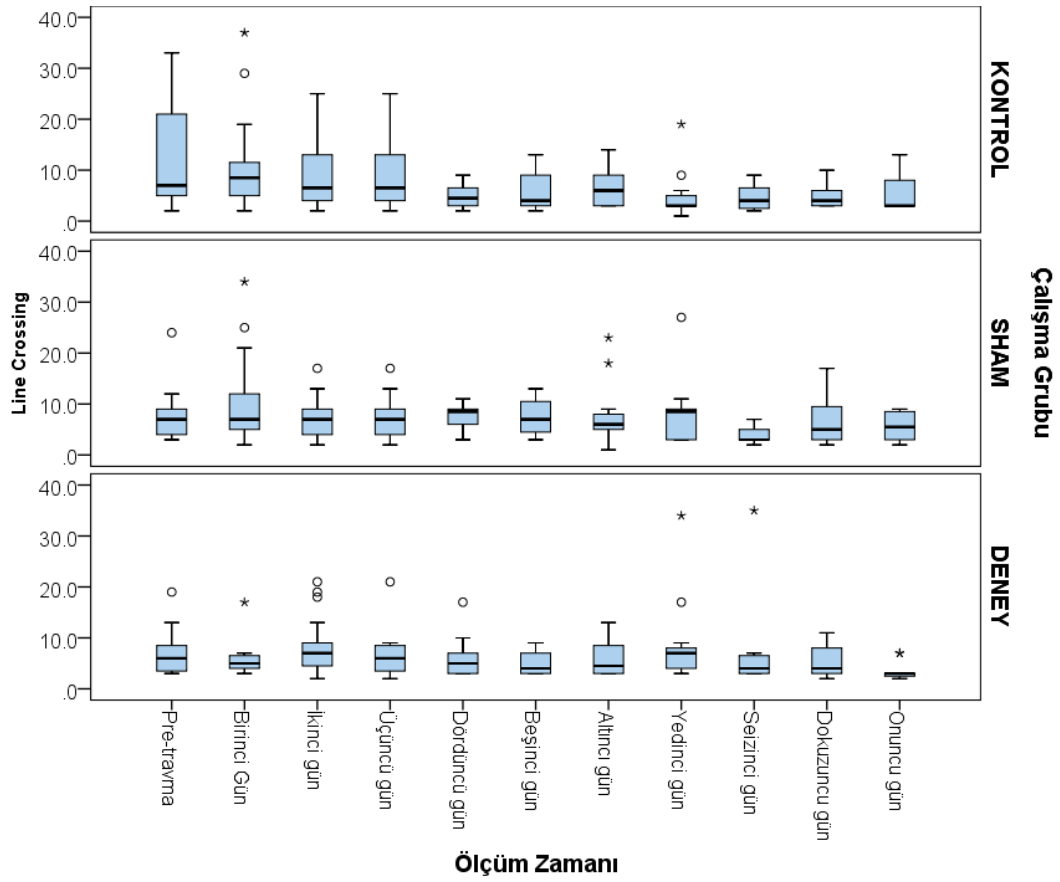
^a Kruskal Wallis testi

Tablo 17’de gruplar arası ve grup içi ölçüm zamanları line crossing (hedefe varana kadar geçtikleri kadran çizgisi sayısı) bakımından karşılaştırılmıştır.

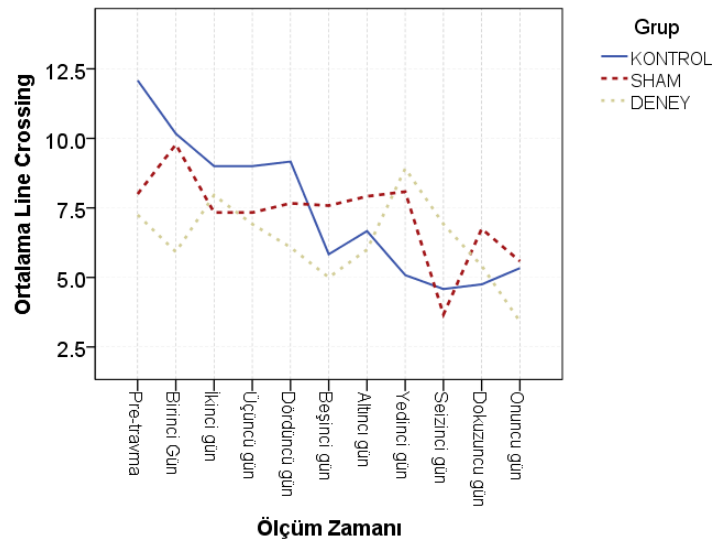
Post-travma birinci günde gruplar arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.031). Post-hoc testlere göre Deney grubunun line crossing ölçümü, SHAM grubuna göre anlamlı şekilde düşüktür (p=0.033). Diğer ölçüm zamanlarında gruplar arası herhangi bir fark bulunmamıştır.

Deney grubunda 10. günde Line Crossing, travma sonrası 2. gün’e kıyasla anlamlı olarak düşüktür (p=0.005).

Grafik 17 ve 18’de Line Crossing ölçümlerinin zamanla farklı gruplar için değişimi gösterilmiştir. Deney grubunda 10. gündeki line-crossing değerleri incelendiğinde, bu gruptaki farelerin diğer ölçüm günlerine ve gruplarına göre düşük line crossing (hedefe varana kadar geçtikleri kadran çizgisi sayısı) değerlerine sahip olduğu görülmektedir.



Grafik 17. Çalışma gruplarının Line Crossing (hedeye varana kadar geçtikleri kadran çizgisi sayısı) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması



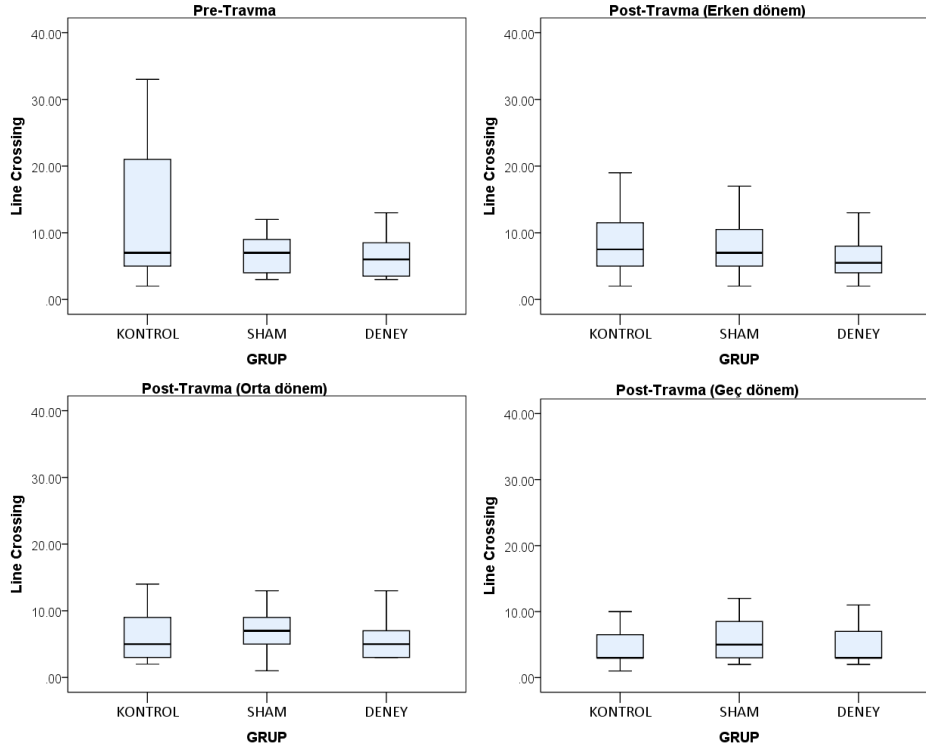
Grafik 18. Çalışma gruplarının Line Crossing (hedeye varana kadar geçtikleri kadran çizgisi sayısı) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması

Tablo 18: Grupların travma sonrası dönemlere göre line crossing karşılaştırılması

Travma dönemi	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deney (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	12.08±9.9	7(2-33)	8±5.86	7(3-24)	7.25±4.75	6(3-19)	0.614
POST-TRAVMA (Erken dönem)	8.69±5.89	7(2-25)	8.63±5.39	7(2-25)	7.28±4.79	5.5(2-21)	0.398
POST-TRAVMA 2 (Orta dönem)	7.22±9.43	5(2-59)	7.72±4.29	7(1-23)	5.69±3.37	5(3-17)	0.031
POST-TRAVMA 3 (Geç dönem)	4.94±3.32	3(1-19)	6.02±4.53	5(2-27)	6.17±6.65	3(2-35)	0.535
p^a	0.001		0.027		0.061		

^aKruskal-Wallis testi

Line Crossing ölçümleri travma dönemlerine göre gruplanarak karşılaştırıldığından, Kontrol ve SHAM gruplarında grup içi travma dönemleri arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.001, p=0.027) (Grafik 19) (Tablo 18). Ayrıca gruplar, travma dönemleri için ayrı ayrı karşılaştırıldığında post travma orta dönemde üç grup arasında anlamlı fark bulunmuştur (p=0.031). Buna göre post travma orta dönemde, Deney grubunda Line Crossing SHAM grubuna göre anlamlı şekilde düşüktür (p=0.042).



Grafik 19. Çalışma gruplarının Line Crossing (hedefe varana kadar geçtikleri kadrın çizgisi sayısı) verilerinin travma sonrası dönemlere göre kıyaslanması

3.8.5- PATH EFFICIENCY

Tablo 19: Ölçüm zamanlarına göre 3 grup arasında path efficiency (hedefe varmak için kullandıkları yolun verimliliği) karşılaştırılması

Ölçüm Zamanı	Kontrol (n=12)	SHAM (n=12)	Deney (n=12)	p ^a
	Ort±ss	Ort±ss	Ort±ss	
PRE-TRAVMA	0.49±0.27	0.61±0.22	0.57±0.27	0.443
POST-TRAVMA 1	0.68±0.14	0.54±0.28	0.75±0.15	0.067
POST-TRAVMA 2	0.65±0.27	0.69±0.17	0.63±0.23	0.743
POST-TRAVMA 3	0.65±0.27	0.69±0.17	0.65±0.24	0.930
POST-TRAVMA 4	0.71±0.28	0.74±0.19	0.65±0.24	0.559
POST-TRAVMA 5	0.77±0.21	0.71±0.11	0.7±0.16	0.337
POST-TRAVMA 6	0.69±0.21	0.63±0.21	0.66±0.22	0.574
POST-TRAVMA 7	0.8±0.19	0.65±0.27	0.67±0.22	0.072
POST-TRAVMA 8	0.82±0.08	0.82±0.09	0.74±0.22	0.794
POST-TRAVMA 9	0.75±0.14	0.72±0.24	0.74±0.21	0.965
POST-TRAVMA 10	0.8±0.27	0.76±0.17	0.87±0.1	0.360
p^a	0.006	0.137	0.024	

^a Kruskal Wallis testi

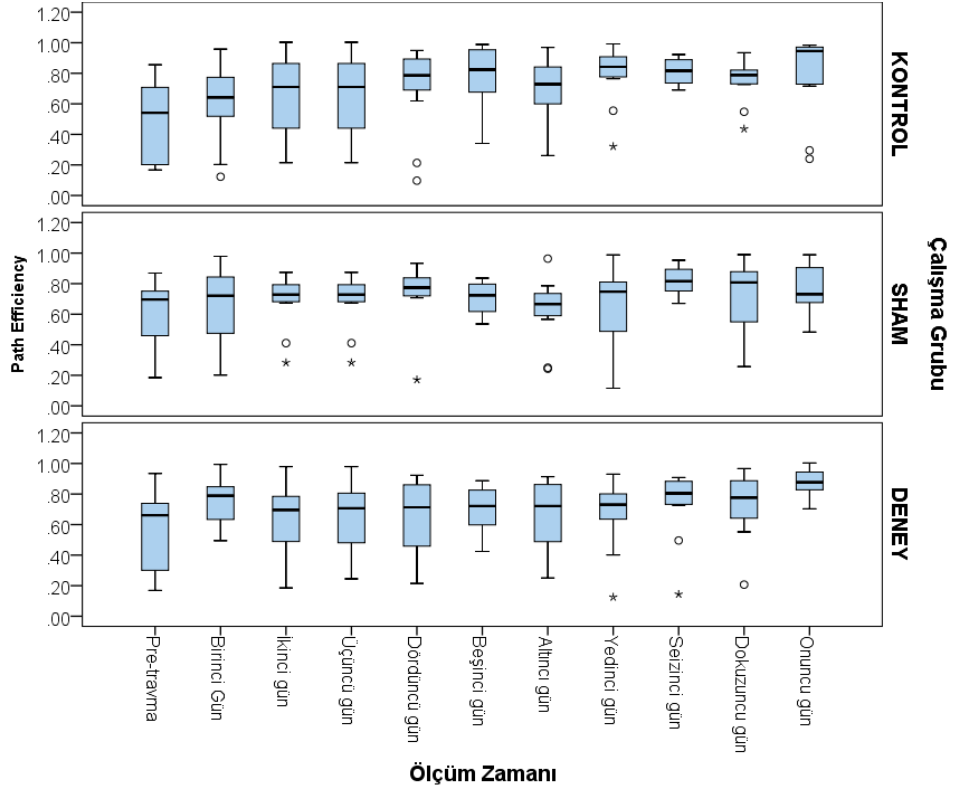
Tablo 19’da gruplar arası ve grup içi ölçüm zamanları path efficiency (hedefe varmak için kullandıkları yolun verimliliği) bakımından karşılaştırılmıştır.

Kontrol grubunda ve deney grubunda ölçüm günleri arasında istatistiksel fark bulunmuştur (p=0.006, p=0.024). SHAM grubunda ölçüm zamanları arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p=0.137).

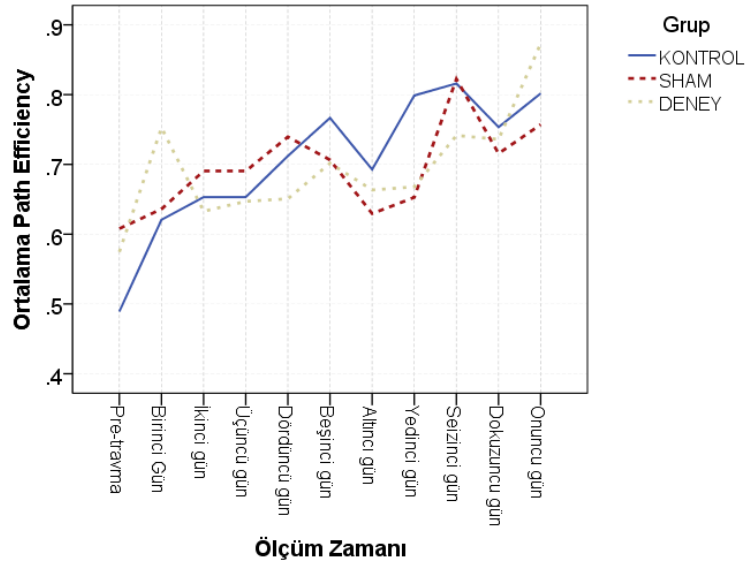
Kontrol grubunda 10. günde Path efficiency (hedefe varmak için kullandıkları yolun verimliliği), Pre travma gününe göre anlamlı şekilde daha yüksektir (p=0.015). Deney grubunda 10. günde Path efficiency, Pre travma gününe (p=0.016) ve travma sonrası 2. güne (p=0.013) göre anlamlı şekilde daha yüksektir (p=0.015).

3 grup arasında herhangi bir zaman diliminde line crossing bakımından anlamlı fark saptanmamıştır.

Grafik 20 ve 21’de özellikle Deney ve Kontrol gruplarında path efficiency’nin zamanla arttığı görülmektedir.



Grafik 20. Çalışma gruplarının Path Efficiency (hedefe varmak için kullandıkları yolun verimliliği) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması



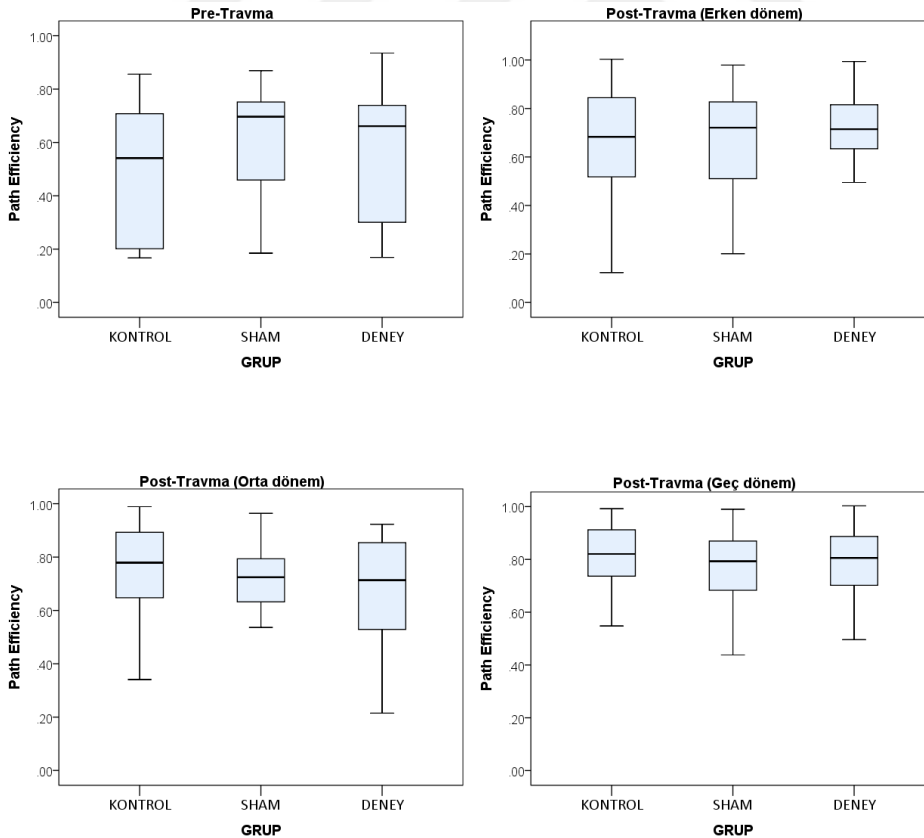
Grafik 21. Çalışma gruplarının Path Efficiency (hedefe varmak için kullandıkları yolun verimliliği) verilerinin ölçüm zamanına göre kıyaslanması

Tablo 20: Grupların travma sonrası dönemlere göre path efficiency karşılaştırılması

Travma dönemi	Kontrol (n=12)		SHAM (n=12)		Deneş (n=12)		p ^a
	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	Ort±ss	Medyan (Min-Max)	
PRE-TRAVMA	0.49±0.27	0.5(0.2-0.9)	0.61±0.22	0.7(0.2-0.9)	0.57±0.27	0.7(0.2-0.9)	0.443
POST-TRAVMA (Erken dönem)	0.66±0.23	0.7(0.2-1)	0.64±0.22	0.7(0.2-1)	0.67±0.21	0.7(0.2-1)	0.896
POST-TRAVMA 2 (Orta dönem)	0.72±0.23	0.8(0.1-1)	0.69±0.17	0.7(0.2-1)	0.67±0.2	0.7(0.2-0.9)	0.240
POST-TRAVMA 3 (Geç dönem)	0.79±0.18	0.8(0.2-1)	0.74±0.21	0.8(0.1-1)	0.75±0.2	0.8(0.1-1)	0.284
p^a	<0.001		0.047		0.020		

^aKruskal-Wallis testi

Path efficiency ölçümleri travma dönemlerine göre gruplanarak karşılaştırıldığında, her üç grupta da grup içi travma dönemleri arasında anlamlı fark bulunmuştur (p<0.001, p=0.047, p=0.020) (Tablo 20). Ayrıca gruplar, travma dönemleri için ayrı ayrı karşılaştırıldığında 3 grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır (p=0.042).



Grafik 22. Grupların Travma sonrası dönemlere göre Path Efficiency karşılaştırılması.

4. TARTIŞMA:

4.1- Hafif Kafa Travması Modeli:

Çalışmamızda, Mychasiuk ve ark.'nın 2014 yılındaki yayınlarında olduğu gibi travma modelinin başarısı ratların prosedür sonrası dört ayakları üzerine kalktıkları sürenin ölçümü ile değerlendirilmiştir.⁶³ Travma sonrasında deney ve sham gruplarının dört ayakları üzerine kalkmaları (righting reflex) için geçen süre anlamlı şekilde hiç travmaya maruz kalmamış olan kontrol grubundan uzundur ($p<0.001$) (Tablo 1, Grafik 1). Bu da hayata geçirilen deneysel hafif kafa travması modelinin başarılı olduğunu ortaya koymaktadır.

Bu başarılı travma modelini gerçekleştirmek bize sık karşılaşılan bir sorun olan genç yaş bireylerdeki hafif kafa travmaları sonrasında görülebilen; kliniğe kognitif ve motor fonksiyonlarda bozukluklar ile yansıyan hadiseyi takiben, vortioxetine etken maddesinin nöromotor fonksiyon, kognitif fonksiyon ve iyileşme süreci üzerine etkilerini araştırma imkanını sunmuştur.

4.2- Kilo alımı üzerine vortioxetine'in etkileri:

Anti-depresan ilaçların genel olarak yan etkilerine bakıldığında kilo alımının bu liste içinde yer aldığı ve anti-depresanlar ile kilo almından birçok yayında bahsedildiği görülebilir.⁷⁴⁻⁷⁶ Vortioxetine etken maddesi ile yapılan çalışmalarda ise bu etken maddenin diğer anti-depresanlardan ayrıştığı bir ek nokta ise yayınlarda kilo alımına ya “çok az” ya da “neredeyse hiç” etki etmediğinden bahsedilmesidir.⁷⁷⁻⁸¹

Çalışmamızdaki ratların ağırlıkları incelendiğinde randomizasyon gününde gruplar arasında anlamlı fark olmadığı fakat travma sonrası tedavi verilmeye başlanması ile deney grubunun kilo alım hızının, kontrol ve sham gruplarına göre anlamlı şekilde yavaşladığı görülmüştür (Tablo 2, Grafik 2). Ağırlık ölçümleri arasındaki deney grubu aleyhine olan bu fark, travma sonrası izlem dönemlere bölündüğünde de devam etmektedir ($p<0.001$) (Tablo 3, Grafik 3, Grafik 4).

Çalışmamızda başlangıçta gruplar arasında kilo değerleri bakımından fark gözlenmezken deneyin ilerleyen günlerinde intraperitoneal (i.p) vortioxetine tedavisi uygulanan deney grubunda kilo alımının kontrol ve sham gruplarına göre geri kaldığının gözlemlenmesi, juvenil yaş grubunda henüz kullanım onayı bulunmayan vortioxetine'in yetişkin olmayan bireylerde fiziksel gelişim ve kilo alımı üzerine olası bir yan etkisini düşündürmektedir.

Findling ve ark. 2018 yılı çalışmasında juvenil yaş grubunda kullanılan vortioxetine için yan etkilere baktıklarında kilo alımından bahsederken sadece iki hastada kilo kaybı gördüklerin ifade etmişlerdir. Bahsi geçen iki vakada ise kilo kaybının diyet ve kullanılan diğer ajanlara bağlı geliştiği değerlendirilmiştir.⁶²

Çalışmamızın kilo artış hızındaki azalma ile vortioxetine tedavisi arasındaki ilişkiyi tartışmaya açan sonuçları, gelecekte yapılması muhtemel pediyatrik çalışmalarda bir parametre olarak "büyüme değerlerinin izlenmesi" hususunun önemini göstermektedir.

4.3- Serotonin (5-HT), BDNF ve antiinflamatuvar yanıt:

Son yıllarda vücuttaki serotonin seviyelerini düzenleyerek antidepresanların oluşturdukları anti-enflamatuvar etkiden bahsedilmeye başlanmıştır.⁸² Çalışmamızda da, multi-modal etkinlik gösteren bir antidepresan olan vortioxetine'in anti-enflamatuvar etkisini destekleyen sonuçlara ulaşılmıştır.

Serotonin santral sinir sistemi (SSS) dışında gastrointestinal sistem (GIS) enterokromaffin hücrelerinden de salgılanır. Periferik olarak salgılanan 5-HT potent immünmodülatör etki gösterir. Sadece sindirim sistemine sınırlı olmayan bu 5-HT ilişkili immün yanıt alerjik havayolu enflamasyonu ve romatoid artrit gibi durumlarda da rol oynayabilmektedir.⁸³

Mast hücreleri, monositler, makrofajlar, doğal katil hücreler (natural killer cells, NK), T hücreleri, B hücreleri, özinofiller, nötrofiller ve dendritik hücreler üzerlerinde serotonin reseptör ailesinden çeşitli reseptör tipleri barındırırlar ve bu

immün yanıt hücreleri SSS, periferik sinir sistemi (PSS), plateletler, gastrointestinal sistem, kardiyovasküler sistem (KVS) gibi insan vücudunun çok çeşitli bölgelerinde rol oynarlar.^{82,83}

Shajib ve ark.larının 2015 yılındaki yayımlarında detaylı şekilde listelediği gibi 5-HT reseptör ailesi birden fazla vücut sisteminde rol oynayan birçok immün hücre üzerinde tanımlanmıştır (Tablo 21).⁸³

Tablo 21: Serotonin reseptörleri ve tanımlandıkları immün hücreler*

<i>Reseptör Ailesi</i>	<i>Dağılımı</i>	<i>Subtipi</i>	<i>Üzerinde eksprese olduğu immün hücre</i>
5-HTR1	SSS ve KVS	A	Mast hücreleri, monositler, M, NK hücreleri, T hücreleri, B hücreleri
		B	Dendritik hücreler (DH), T hücreleri
		D	Bilinmiyor
		E	Monositler, DH
		F	Bilinmiyor
5-HTR2	SSS, PSS, GIS, plateletler, KVS	A	Monositler, makrofajlar, DH, özinofiller, T hücreleri, B hücreleri
		B	Monositler, makrofajlar, DH
		C	Makrofajlar
5-HTR3	SSS, PSS, GIS		Monositler, DH, T hücreleri, B hücreleri
5-HTR4	SSS, PSS, GIS, KVS		Monositler, makrofajlar, DH
5-HTR5	SSS		Bilinmiyor
5-HTR6	SSS		Bilinmiyor
5-HTR7	SSS, PSS, GIS, KVS		Nötrofiller, monositler, makrofajlar, DH, T hücreleri, B hücreleri

*Tablo 21 "Shajib M, Khan WJAp. The role of serotonin and its receptors in activation of immune responses and inflammation. 2015;213(3):561-574." yayınından alınarak Türkçeye çevrilmiştir.⁸³

Beyin içinde sitokinler çoğunlukla astrositler ve mikroglialardan salınıyor olsa bile, özel durumlarda nöronların da sitokin üretebildikleri gösterilmiştir.⁸⁴

IL-1ra, IL-4, IL-6, IL-10, IL-11, IL-13, TGF- β (IL: İnterlökin; TGF: Transforming Growth Factor; IFN: İnterferon) antiinflamatuvar özellikleri bilinen sitokinlerdir.⁸⁵ IL-1, hipokampus ve bazı hipotalamik yapılarda (paraventriküler nükleus, arkuat nükleus) bulunan enflamatuvar bir sitokindir. Anti-depresanların IFN- γ /IL-10 oranını düşürdüğü, IL-12 seviyesini baskıladıkları gösterilmiştir.⁸⁴

Mikroglia hücrelerinde tanımlanan 5-HT4 reseptörleri serotonin seviyesi ile mikroglial hücreler arasındaki bağı göstermektedir.⁸⁶ Travmaya yanıt olarak gelişen mikroglial aktivasyonlar hem pro-enflamatuvar (IL-1, TNF- α , IL-6, IFN- γ) hem de anti-enflamatuvar/protektif sitokinler (IL-4, IL-10) salgılamaktadır. Aynı zamanda mikroglialardan sinir büyüme faktörü (nerve growth factor – NGF) ve BDNF ile nörotropin-4/5 salgılanmaktadır. Mikroglialardan salınan pro-enflamatuvar sitokinler nöron apoptozundan sorumludurlar.⁸⁷

Bilindiği gibi vortioxetine 5-HT3, 5-HT1D ve 5-HT7 için antagonist; 5-HT1A için agonist ve 5-HT1B için parsiyel agonist bir ajandır ve SERT (Serotonin Transporter/5-HTT) inhibitörüdür.^{57,58,88}

Tümü SSS içerisinde tanımlanan 5-HT reseptör ailesi üzerine bu kadar geniş etkiye sahip bir anti-depresan ilaç olan vortioxetine'in immün yanıtta sorumlu bu hücrelere ve enflamasyon süreçleri üzerine etkileri olması kaçınılmazdır.

Vortioxetine'in 5-HT üzerine etkisi mikroglialardan hem BDNF salınımı artırması hem de anti-enflamatuvar sitokinlerin salınımıyla nöroproteksiyon, nörogenez ve differansiyasyon üzerine etkilerini açıklayabilir.

Mikroglialardan ve astrositlerden salınan BDNF, nöroenflamasyona karşı koruyucu etki gösterdiği gibi, BDNF ve pro-BDNF seviyelerindeki değişikliklerle Alzheimer Hastalığı'ndaki hafıza performansındaki düşüklük arasındaki bağlantı dikkat çekicidir.⁸⁹

Vortioxetine'in BDNF seviyelerini artırıcı etkisi bu etken maddenin hafıza, öğrenme becerisi ve nöroproteksiyon üzerine olumlu sonuçlarını açıklayan bağlantı olabilir. Ve bu durum nöroproteksiyona ek olarak nöroplastisiteye BDNF etkisini de göz önünde tutmayı gerektirir.

Çalışmamızda ELISA ile yapılan BDNF ölçümlerinde kontrol grubunda hipokampal BDNF miktarının anlamlı şekilde yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 4, Grafik 5). Bu durum travma sonrası juvenil ratlarda BDNF miktarının azaldığını

düşündürmektedir. Bu travmaya sekonder BDNF azalmasına karşı vortioxetine verildiği grupta anlamlı bir yükselişe neden olmamıştır.

Beyin-bağırsak mikrobiyom aksı üzerinde serotonin en önemli anahtar rolü oynayan nörotransmitterdir. Enterik sinir sistemi içerisinde 5-HT4 enflamasyonu inhibe etmekte ve nörogenesi artırmaktadır. Ayrıca 5-HT2 ailesinde enterik nöronlarda differansiyasyona etkisi gösterilmiştir.⁹⁰ Alzheimer çalışmalarında mikroglyal hücrelerde 5-HT4 reseptör varlığı gösterilmiştir.⁸⁶ Serotonin sadece bağırsaklardaki nöroenterik sistemde değil şüphesiz ki beyin-bağırsak aksı ve trombositler sayesinde tüm sistemik immünite ile ilişkilidir.⁸³

Serotonin, 5-HT4 ve 5-HT2 üzerine etkileri ile nöroenterik sistemde hücre yenilenmesi ve apoptoz üzerine etkileri gibi SSS'de de nörogenez, enflamasyon ve differansiyasyon üzerine etkilidir.^{52,90,91} Monosit ve makrofajlar SSS'deki mikroglyal hücreleriyle birlikte bakıldığında enflamasyon ve depresyon arasındaki bağlantıya ışık tutmaktadır.⁹¹

Dolaşımda trombositlerde taşınan ve olay yerine ulaşmış olan periferik 5-HT normal şartlarda beyin-kan bariyerini geçemese dahi travma sonrasında yaralanma mekanizmalarıyla beyin dokusunda sadece nöronal hücrelerin ürettiği miktarlarda kalmayarak SSS içinde bu vesile ile daha fazla varlık göstermektedir.^{92,93}

Çalışmamızın sonuçlarına dönecek olursak; korteks bölgesindeki ELISA ile bakılan serotonin ölçümlerinin sham grubunda anlamlı şekilde yüksek bulunması ve bu durumun deney grubu lehine olmaması, deney grubundaki kanama ve enflamasyon miktarlarındaki azlık ile açıklanabilir (Tablo 6). Zira plâtelere ile olay yerine taşınan 5HT sham grubunda bu ölçümün yüksek çıkmasını izah edebilir.

Kontrol grubunun korteks BDNF ölçümleri, yine hipokampal BDNF ölçümleri gibi, daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4). Aynı şekilde, sağlıklı ratlarla travmaya maruz kalan ratlardaki bu BDNF farkı beynin gelişimi ve maturasyonunda önemli yer tutan BDNF'nin hafif kafa travmasıyla bile düşüş gösterdiği fikrini doğrulamaktadır.

Deney grubunda BDNF miktarlarında ELISA ile anlamlı bir fark gösterilememiş olması çalışmamızın süresinin bu sonlanım noktasına yansımaları için yetersiz kaldığını düşündürmektedir (Grafik 7). Öte yandan kontrol ve deney grubunda hipokampuslardaki BDNF miktarları anlamlı şekilde yüksektir ($p=0.005$, $p=0.014$). Hipokampal bölgedeki bu fark vortioxetine grubunun motor ve kognitif becerilerindeki farkı da izah edebilir. Çünkü travma sonrası korteks ve hipokampus BDNF miktarları azalmış olsa bile vortioxetine tıpkı travmaya maruz kalmayan grupta olduğu gibi hipokampal BDNF'nin görece artışını desteklemiş görünmektedir (Tablo 4, Grafik 5).

Gupta ve ark.larının 2016 yayınında ve Talmon ve ark.'nın 2018 yılındaki yayınında bahsettikleri gibi vortioxetine'in oksidatif stresse karşı nöroprotektif etkisi 5-HT₃ aracılığıyla gerçekleşiyor olabilir.^{91,94} Vortioxetin serotonerjik bir mekanizma ile PPAR γ sinyalinin artırarak anti-enflamatuvar etki gösteriyor olabilir.⁹¹ Çalışmamızdaki enflamasyon değerlerine baktığımızda bu bağlantılar üzerinden vortioxetine'in anti-enflamatuvar etkisi bir kez daha aşikar şekilde açığa çıkmaktadır (Tablo 6).

Monosit, makrofaq, mikroglia düzeyleri üzerine ileri çalışmalar yapılarak bu etkinin derinlemesine araştırılması sonrasında vortioxetine'in travma sonrası iyileşme ve beyin dokusundaki enflamasyona etkisini anlamak ancak mümkün olacaktır.

Nöronların proliferasyon, diferansiyasyon ve hayatta kalmasında sorumlu bir polipeptit büyüme faktörleri ailesine dahil olan BDNF; nörotropin-3 (NT-3), nörotropin-4 (NT-4), nörotropin-6 (NT-6), nöron büyüme faktörü (NGF) ile birlikte omurgalıların sinir sisteminde yer alır. Bahsettiğimiz bu nörotrop ailesi birçok farklı görevden sorumlu olmakla birlikte sinaptik plastisiteyi de sağlar. Bath ve ark.'larının 2006 yılındaki yayınlarında derledikleri gibi, BDNF beyin içinde birçok farklı alan üzerinden hipokampal öğrenme, lökomotor aktivite üzerine etkilidir.⁹⁵

Çalışmamızda Caspase 9 boyaması ile hipokampus ve kortekste apoptoz oranlarına bakıldığında sham ve deney grubu arasında anlamlı fark bulunması (hipokampus için $p=0.002$, korteks için $p=0.014$) vortioxetine'in apoptoz oranını

düşürdüğünü ve hücrelerin hayatta kalmasını serotonerjik bir mekanizma ile arttırdığını göstermektedir (Tablo 5). Enflamasyon, ödem ve gözlemlenen kanama miktarında olduğu gibi vortioxetine apoptotik hücre sayısını azaltmada da olumlu sonuçlar vermiştir.

Antikor boyaması ile 5HT seviyeleri değerlendirildiğinde ELISA 5HT sonuçlarına uygun şekilde sham grubunun korteksinde daha yoğun boyanma izlenmiştir ($p < 0.001$). Bu durum da yine plâtelâterlerden salınan serotonin miktarının kanama görülmeyen deney ve kontrol gruplarına kıyasla değerlerin yüksek çıkmasına neden olması ile açıklanabilir.

Vortioxetine grubundaki kognitif ve motor becerilerdeki iyileşmeler de şunu düşündürmektedir: daha önemli olan, bölgede salt serotonin miktarındaki artıştan ziyade reseptör düzeyindeki etkilerle doğru biçimde uyarılan serotonerjik yolların aktivasyonu mudur?

İmmünohistokimya ile ELISA sonuçlarındaki hipokampal BDNF düzeyleri arasında görülen tutarsızlık ise antikor boyamalarının sübjektif olarak insan gözü ile değerlendirilmesinden kaynaklanıyor olabilir.

Hemotoksilen-Eozin boyamaları ile hücresel düzeydeki doku değişikliklerine bakıldığında vortioxetine'in açık şekilde kanama, ödem ve enflamasyon parametrelerinde olumlu etki yarattığı görülmüştür (Tablo 6). Anti-enflamatuvar etkisinin yanı sıra dokudaki kan elemanlarını ve ödem bulgularını belirgin şekilde azaltmıştır. Bu haliyle beyin dokusunun iyileşme sürecine olumlu etkisini açık biçimde ortaya koymuştur.

Çalışmamızın sonucu Talmon ve ark.'larının çalışmasında olduğu gibi vortioxetine'in anti-enflamatuvar etkisini desteklemektedir.⁹¹ Serotonin reseptörlerinin immün sistem üzerinden etkisi vortioxetine özelinde daha derin araştırmalara ihtiyaç duymaktadır. Bu gözle görülür bağlantı travma sonrası oluşan beyin hasarının iyileşme süreci üzerine yeni çalışmalar yapılmasına olan ihtiyacın da altını çizmektedir.

Serotonini artırarak; mikroglialar, astrositler üzerinden ve hipokampal bölgeden BDNF seviyesini artıran vortioxetine'in nöroproteksiyon ve anti-enflamatuvar etkilerini izah mümkün olduğu gibi eş zamanlı olarak travma sonrası hafıza, öğrenme becerisi ve lökomotor fonksiyonlarda gördüğümüz iyileşme de bu etkileşim zincirinin bir parçasıdır.

4.4- Vortioxetine'in motor fonksiyonlar üzerine etkisi:

Guan ve ark. 2018 derlemesinde de değinildiği şekliyle, yapılan çalışmalarda vortioxetine'in kognitif becerileri iyileştirirken psikomotor fonksiyonlar üzerine kötüleştirici bir etkisi görülmemiştir.⁹⁶

Bir başka pre-klinik çalışmada Guillox ve ark. fareler üzerinde yaptıkları araştırmada vortioxetine'in lökomotor fonksiyon üzerine etkisi olduğunu göstermişlerdir.⁹⁷

Jacobs ve ark.'nın 1992 yayınında 5-HT ve reseptörlerinin lökomotor fonksiyon üzerine etkileri ve bağlantıları detaylı şekilde anlatılmıştır. 5-HT ailesinin nöronlar üzerindeki modüler etkileri organizmanın davranış durumu ve motor aktivitesiyle ilişkilidir.⁹⁸

5-HT üzerine multi-modal etkinliği olan vortioxetine'in lökomotor fonksiyonlar üzerine etkili olması bu durumda kaçınılmaz görünmektedir.

Gabbot ve ark. 2005 yılındaki yayınlarında prefrontal korteksten köken alan ve subkortikal hedef nukleuslara projeksiyonları olan nöron popülasyonundan bahsetmektedirler. Bu nöronlar kognitif, limbik, motor ve otonomik fonksiyonlara katılmaktadır. Medial prefrontal kortekste asendan serotonerjik ve dopaminerjik inervasyon inferior limbik korteks ve prelimbik korteks ile ilişki halindedir.⁹⁹

Bu da serotonin etkisinin limbik sistem ve motor fonksiyon ile ilişkisini gösteren bir başka bilgidir.

Ratlarda yapılmış olan ve medial prefrontal korteks, entorinal korteks, oksipital korteks gibi spesifik alanlarda serotonin miktarını düşürerek Pum ve ark.'nın 2009 yılında oluşturdukları model sonucunda vardıkları kanı, bazal lökomotor aktiviteye 5-HT katılımının beyinde her bölgede aynı olmadığı, bunun yerine muhtemelen bazı kesin subkortikal bölgelerle sınırlı olduğudur.¹⁰⁰

Cabaj ve ark. gelişimsel süreçte serotoninin 5-HT7 üzerinden spinal lökomotor aktiviteye etkisinin yetişkin ratlarda (ve rodent türlerinde) farklı olabileceğini gösterdiği gibi 5-HT7 üzerinden etkinin karmaşıklığına da vurgu yaparak daha fazla çalışma yapılmasına olan ihtiyacı ortaya koymuştur.¹⁰¹

Corriera ve ark. serotonin üzerine etki gösteren anti-depresan ilaçların etkilerinin ve yarattıkları kimyasal sinyalin beyinde oluşturduğu yanıtın hala tümüyle anlaşılamadığının altını çizmişlerdir. Mental hastalıkların tedavisinde kullanılan bu ilaçların hareket kabiliyetine etkisini hangi beyin bölgeleri üzerinden gerçekleştirdiğini araştırmak istemişlerdir. Dorsal raphe nukleustaki 5-HT nöronlarını hedef alan çalışmalarında optogonik aktivasyonla iki farklı sonuç elde etmişlerdir: I- Kısa dönem etki = açık-alan testinde hızda azalma, II- Uzun dönem etki = açık-alan testinde hızda artma.¹⁰² Serotonin ilişkili bu etki paterni 5-HT reseptöleri üzerinden etki eden tedavilerin motor sonuçlara yansımalarının ilaca maruziyet süresiyle değişik sonuçlar verebileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda ratların motor fonksiyonları ve motor koordinasyonları öncelikle Tapered Beam Walking testi ile değerlendirilmiştir. Ek olarak Barnes Maze masası üzerindeki hızları, hedefe varırken geçirdikleri süreler ve kullandıkları yolun verimliliği de bu motor fonksiyonların bir yansıması olarak kabul edilmiştir.

Tapered Beam Walking testi sonuçlarına baktığımızda, yapılan analize göre ratların çalışma boyunca parkuru bitirme süreleri arasında (pre-travma günü sonuçları ile gün gün çalışma içindeki sonuçları kıyaslandığında) anlamlı bir fark görülmemiştir ($p>0.05$) (Tablo 7). Travma sonrası dönem “erken-orta-geç” olarak dönemlere ayrıldığında da aynı şekilde anlamlı bir fark yoktur ($p>0.05$).

Tapered Beam Walking testinin diğer değerlendirme parametresi olan arka ayaklardaki kayma sayılarına bakıldığında bitirme süresinde olduğu gibi gruplar arasında anlamlı fark gözlenmezken grupların kendi içinde değerlendirmesi kontrol grubundaki ratlarda erken dönemde arka ayaklardaki kayma sayısının geç dönem değerlerinden büyük olduğunu göstermiştir (Tablo 9). Tramvaya maruz kalmayan kontrol grubundaki juvenil ratlar normal gelişimlerinin doğası gereği parkur üzerinde motor koordinasyonlarında gelişme göstermişlerdir.

Bu noktaya dek vortioxetine etken maddesinin motor fonksiyon ve koordinasyon etkisi açığa çıkmamıştır.

Fakat arka ayaklardaki kayma sayıları travma sonrası periyot dönemlere ayrılarak incelendiğinde post travma erken dönemde (birinci, ikinci ve üçüncü post travma günleri) deney grubu kontrol grubuna kıyasla daha başarılı bulunmuştur ($p=0.047$). Standart sapma değerleri ve örneklem sayısının yetersizliği nedeniyle bahsi geçen dönemde deney ve sham grupları arasında medyan ve ortalama farkı bulunmasına rağmen bu fark istatistiksel olarak ortaya konulamamıştır.

Ayrıca dönemsel olarak post travma zamanlar incelendiğinde deney ve kontrol gruplarında zaman içinde anlamlı şekilde arka ayaklardaki kayma sayıları azalırken sham grubunda bu iyileşme görülmemiştir (deney grubu $p=0.016$, kontrol grubu $p<0.001$). Bu da vortioxetine'in erken dönemde motor koordinasyon üzerine anlamlı şekilde fayda sağladığını düşündürmüştür. Pre travma dönemine göre orta ve geç post travma dönemlerde deney grubu, hiç travmaya uğramayan kontrol grubu gibi arka ayak koordinasyonu bakımından iyileşme gösterirken sham grubunun geri kaldığı izlenmiştir (Grafik 6, Grafik 7). Travma sonrası motor koordinasyon becerisi üzerine vortioxetine, travmaya uğramayan juvenil ratlardaki doğal süreç içindeki beceri kazanma ve motor fonksiyon/koordinasyon gelişimine benzer pozitif etki doğurmuştur.

2010 Yılında Dunbar ve ark. ise bir başka anti-depresan ajanın (sitolopram) 5-HT üzerine etkisini çalışarak ekstraselüler serotonin konsantrasyonlarının manipülasyonu ile spinal ağların beyin sapı aktivasyonu ile ilişkisini göstermişlerdir. Spinal kortta bu etki için 5-HT1A/B, 5-HT7, 5-HT2A'nın öneminden bahsetmiş ve

endojen serotoninin sinaptik yarıktaki (synaptic cleft) konsantrasyonuna göre değişen fonksiyonel etkileri olabileceğine değinmişlerdir.¹⁰³

Beyin sapından çıkan multipl desendan traktlar lökomosyonun başlatılmasından ve düzenlenmesinden sorumludur. Bu fonksiyonlar glutamat, noradrenalin, dopamin ve serotonin yolaklarını içerirler. Serotoninin lökomosyondaki görevi hala tüm derinliğiyle anlaşılammıştır.¹⁰⁴

Vortioxetine'in multi-modal aktivitesi muhtemelen motor nöronların membranında yer alan 5-HT reseptör ailesi üyeleri üzerine de etki ederek, sadece motor korteks veya motor aktivitenin planlamasının başladığı hücrelerde değil hem beyin sapı hem de spinal kord üzerinde bir etki doğmasına neden olmaktadır.

Spinal kord hasarı olmaksızın, hafif kafa travması sonrasında gözlemlenebilen denge, yürüyüş ve hareket bozuklukları üzerine 5-HT seviyesini multi-modal etkileşimle değiştiren vortioxetine'in, çalışmamızda oluşturulan hafif kafa travması modeli sonrasında, ratların arka ayaklarındaki kayma sayısı ve dolaylı yoldan, hafıza ile ilişkili değerlendirmede de kullandığımız, Barnes Maze testini tamamlama hızları değerlendirilerek motor fonksiyon üzerine etken maddenin iyileştirici etkileri araştırılmıştır.

Barnes Maze testi sonuçlarına bakacak olursak post travma birinci günde deney grubunun "Duration" (masa üzerinde geçirilen süre) ölçümleri sham grubundan anlamlı şekilde daha kısa ($p=0.004$) olduğu gibi kontrol ve deney grubu değerleri çalışma boyunca anlamlı şekilde kısalmıştır ($p=0.001$; $p=0.01$) ve en düşük ortalama değer deney grubunda izlenmiştir (Tablo 11). Bu sonuç vortioxetine'in hem hafıza hem uzaysal yön bulma hem de travma sonrası motor becerilerin geri kazanımı üzerine olumlu etkisi olarak yorumlanabilir (Grafik 8, Grafik 9).

Travma sonrası günler dönemselleştirilerek incelendiğinde her üç grupta da grup içi değerlerin kısaldığı fakat gruplar arasında fark oluşmadığı görülmüştür (Tablo 12). Bu sonuç ise travma sonrası doğal iyileşme süreçlerinin klinik yansıması olarak değerlendirilebilir. Zira dönemselleştirildiği zaman post travma erken dönemdeki uzamış süre post travma orta ve geç dönemlerle kıyaslandığı için sham

grubunun orta ve geç dönem sonuçlarıyla kıyaslanması anlamlı fark doğurmuştur. Fakat gözden kaçmamalıdır ki post travma erken dönemde post travma birinci gün sham değerleri ortalama 29,17sn ile incelemenin en yüksek bulgusudur (Tablo 11). Bu haliyle vortioxetine hipotez aşamasındaki sorumuza yanıt olacak şekilde hafıza, uzaysal yön bulma ve motor fonksiyonların hızlı geri kazanımını sağlamış görünmektedir.

1999 yılındaki, ratlarda fetal spinal kord transplantı uygulaması ile gerçekleştirilen spinal çalışma modelinde 5-HT reseptör agonistlerinin kullanımının motor kompedansı artırdığı gösterilmiştir.¹⁰⁵ Slawinska ve ark. ise 2014 yılındaki çalışmalarında 5-HT7 ve 5-HT1A antagonizmasıyla lökomosyonun bloke edilebildiğinden bahsetmişlerdir.¹⁰⁶ Lökomosyonun etkinliğinde önemli yer tutan 5-HT7 ve 5-HT1A üzerine etkileri olan vortioxetine (5-HT1A agonisti, 5-HT7 antagonisti), santral sinir sistemi ve spinal kord üzerinde 5-HT1A için 5-HT7 antagonizmasından daha fazla agonizma göstererek motor fonksiyonları iyileştiriyor olabilir.

Diğer yandan 5-HT7 antagonizması mezensefalik lökomotor bölgeden (Mesencephalic Locomotor Region – MLR) uyarılan lökomotor yanıtı bloke edebilir.^{106,107} Bu durum şu soruyu akla getirmektedir: tıpkı Buspiron’da olduğu gibi (5-HT1A, 5-HT2, 5-HT7 agonisti) vortioxetine de hem 5-HT1A hem 5-HT7 üzerine etkileri ile karmaşık yanıtların doğmasına ve tam anlaşılmayan bir etkiye sahip olabilir mi? Zira, spinal kord hasarı (spinal cord injury – SCI) sonrası gelişen plastisitede 5-HT7 reseptörleri, 5-HT1A reseptörlerinin post-transkripsiyonel regülasyonunda etkindir.¹⁰⁷

2011 yılında Gualda ve ark. çalışması dorsal raphe nukleustaki (DRN) nöronlarda 5-HT1A üzerinden nitrik oksit (NO) etkisi ile artmış lökomotor aktiviteyi göstermişlerdir.¹⁰⁸ Bu da vortioxetine’in 5-HT1A agonistliği ile DRN’de NO artımı ile uyarıcı etki ile artmış lökomotor fonksiyon sonucunu açıklayabilir.

Barnes Maze masası üzerinde kat edilen mesafe incelendiğinde “Duration” verilerine paralel bir sonuç elde edilmiştir (Tablo 13). Anlamlı fark erken dönem içinde değerlendirilirken post travma birinci günde açığa çıkmıştır, deney grubu

“Distance” ölçümü sham grubuna göre anlamlı şekilde küçüktür ($p=0.049$). 10. Gün verilerine bakıldığında deney grubunun diğer gruplara göre en kısa mesafeyi tercih ettikleri görülmüştür. Travma sonrası günler dönemselleştirildiğinde ise anlamlı fark hiç travmaya uğramayan kontrol grubunda görülmüştür. Fizyolojik büyüme ve olgunlaşma neticesinde bir müdahaleye uğramayan bu grubun diğer travma sonrası gruplara farkı doğaldır. Vortioxetine ‘in kat edilen mesafeyi azaltan sonucu kognitif beceriler (hafıza, öğrenme, yön bulma gibi) üzerine etkinliği gösterdiği gibi kontrol grubunun dönemselleştirilen zaman izleminde öne çıkması bir kez daha juvenil yaş grubunda hafif kafa travmasının klinik önemini vurgulamaktadır.

Barnes Maze testinin bir diğer sonucu olan ortalama hız (mean speed) değerlerine bakıldığında, yine post travma birinci günde deney grubunun anlamlı şekilde sham grubundan hızlı olduğu görülebilir ($p=0.021$); ve yine post travma onuncu gün değerleri de anlamlı şekilde yüksektir ($p=0.032$) (Tablo 15). Kontrol ve deney gruplarının ortalama hız değerleri paralel şekilde zaman içinde artış eğilimi göstermiştir (Grafik 15). Bu da vortioxetine’in olumlu neticesini destekleyen bir diğer bulgumuzdur. Çalışma günleri boyunca her üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı şekilde ortalama hız değerleri artış göstermiştir.

Dönemselleştirilen zaman takibinde ise örneklem sayısının yetersizliği bir defa daha aynı farkın gözlenmesini imkânsız kılmıştır (Tablo 16). Her üç grupta da anlamlı şekilde ortalama hız değerlerinin arttığı izlenmiştir, gruplar arasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Örneklem sayısının yetersizliğinin yanı sıra bir diğer kısıtlılığımız ise ratları birey bazında takip edememiş olmamızdır; bu durum grup içi standart sapma değerlerini inceleme dışı bırakarak analize daha uygun veriler elde etmemizin önüne geçmiştir.

Bu kısıtlılıklara rağmen çalışmamızın Tapered Beam Walking testindeki ilgili sonuçları ve Barnes Maze testinin alakalı sonuçları vortioxetine’in hafif kafa travması modeli sonrasında juvenil ratlarda motor becerinin hızlı geri kazanımı noktasında olumlu etkilerinden bahsetmeye yeterlidir.

4.5- Vortioxetine'in kognitif fonksiyonlar üzerine etkisi:

Çalışmamızda majör depresif bozukluk (MDD) tedavisinde endikasyonu olan ve daha önce yapılan hayvan ve insan çalışmalarında hafıza, öğrenme becerisi, kognitif beceriler üzerine olumlu etkileri defalarca gösterilmiş vortioxetine'in hafif kafa travması modeli sonrasında juvenil ratlardaki beyin hasarını takiben öğrenme, hafıza ve kognitif beceriler (uzaysal yer tanımlama, yön bulma) üzerine etkileri de incelenmiştir.^{58,77,78,96,109-116}

Çalışmamızda bu beceriler, temelde travma öncesinde eğitimleri tamamlanmış olan, Barnes Maze testinden elde edilen ölçümlerle değerlendirilmiştir. Barnes Maze testi tıpkı Morris su tankı testi gibi uzaysal yer-yön bulma, öğrenme ve hafızayı değerlendirmek için kullanılan bir düzendir ve juvenil ratlarda ve diğer rodentlerdeki çalışmalarda da kullanılmıştır.^{65,72}

Barnes Maze testinin yukarıdaki kısımlarda bahsettiğimiz sonuçlarına ek olarak bu kısımda kognitif fonksiyona yansımayı değerlendirmek için masa üzerinde hedefe varan a kadar geçilen kadrans sayısını ifade eden "line crossing" ve masa üzerinde ratların hedefe varmaktaki verimliliğini gösteren "path efficiency" değerlerinden bahsedilecektir.

Betry ve ark. çalışmalarında ratlardaki hipokampal plastisite ile öğrenme ve hafıza oluşturma becerileri üzerine vortioxetine'in olumlu etkilerini göstermişlerdir.¹¹⁷

Dale ise 2014 yılında vortioxetine'in piramidal hücreler üzerinden hipokampustaki sinaptik plastisiteyi artırdığını göstermiştir. Bu sayede kognitif fonksiyonların düzenlenmesinde anahtar rolü olan hipokampusta sağladığı değişiklikler ile vortioxetine'in klinik ve deneysel olarak gösterilen kognitif fonksiyonlar üzerine olumlu sonuçları için hücresel düzeyde bir açıklama sağlanmıştır.¹¹⁴

2016 yılında Chen ve ark. yaptıkları çalışmayla bu bulguları desteklemiş ve bir haftalık tedavi ile vortioxetine'in hipokampal dendritik çıkıntılarının (dendritic spines) sayısını, yoğunluğunu, uzunluğunu ve dallanma sayısını artırdığını; dört haftalık tedavi sonrasında ise bu yapıların matüre olduğunu göstermişlerdir. Ve vortioxetine'in etkilerinin serotonin geri-alım (reuptake) inhibisyonunun ötesine geçtiğini ispatlamışlardır.¹¹³

Felice ve ark. ise 2018 yılında yetişkin hipokampal nörogenezi üzerine etkiye gerek olmaksızın vortioxetine'in "içeriği ayırma" (context discrimination) yetisi üzerine etkisini göstermişlerdir. Bu çalışma ile vortioxetine'in epizodik kısa-dönem ve uzaysal hafızayı (spatial memory) artırdığını, öğrenmeyi ve kognitif fonksiyonları düzelttiğini ortaya koymuşlardır.¹¹²

Yine 2018 yılında Guan ve ark. bir mini-derleme ile birden fazla çalışmada vortioxetine'in kognitif fonksiyon sonuçlarını incelemişlerdir ve vortioxetine'in kognitif bozuklukta fonksiyonların geri kazanımı ve iyileştirilmesi üzerine pozitif etkisinden bahsetmişlerdir.⁹⁶

Çalışmamızda travma sonrası birinci gün sonuçlarında deney grubunun performansı bir kez daha göze çarpmaktadır. Post travma birinci günde deney grubundaki ratların hedefe varmak için geçtikleri kadran sayısını (line crossing) incelediğimizde sham grubuna kıyasla anlamlı fark dikkati çekmekte ve önceki ölçümlerin sonuçlarını desteklemektedir ($p=0.031$) (Tablo 17). Deney grubundaki ratlar travma sonrası kognitif fonksiyon açısından daha az etkilenmiş görünmektedirler. Onuncu gün verileri bu grubun hem diğer gruplardan hem de grup içindeki önceki değerlerinden daha başarılı bir performans sergilediklerini açığa çıkarmıştır (Tablo 17). Ek olarak line crossing verileri dönemlere ayrılarak incelendiğinde post travma orta dönemde deney grubu sham grubuna göre anlamlı olarak daha başarılı bulunmuştur ($p=0.042$) (Tablo 18).

Ratların travma sonrasında hedefi hatırlamak ve doğru kadrana ulaşmak için masa üzerinde daha az gezdiklerini söylemek mümkündür ve bu da vortioxetine'in uzaysal yer-yön bulma becerisi, hafıza ve bilgiyi işleme kapasitesi üzerine olumlu etkisini ortaya koymaktadır.

Motor fonksiyonlar üzerine etkiyi tartıştığımız kısımda altını çizdiğimiz gibi line crossing, distance, duration gibi verileri kognitif fonksiyon ve hafızadan ayrı değerlendirmemek gerekir. Çünkü ratların seçtikleri yol, gezdikleri kadrans sayıları ve dış görsel ipuçlarından hedefin yerini hatırlamaları hafıza ve kognitif fonksiyonun göstergesi olduğu gibi bu doğru yönelim esnasındaki hızları ve masa üzerinde geçirdikleri süre de motor fonksiyondan bağımsız değildir.

Özellikle 5-HT₇ üzerine yapılan çalışmalarında Westrich ve ark. vortioxetine'in sirkadyan ritim ve hafıza iyileştirici etkisine odaklanarak pozitif sonuçlar elde etmişlerdir. Ve kompleks etki mekanizmasına vurgu yaparak 5-HT reseptörleri üzerine çeşitli etkilerin sirkadyan ritim ve hafıza performansını net olarak nasıl etkilediğini göstermenin zorluğunu belirtmişlerdir.¹¹⁸

Dale ve Chen'e ek olarak 2017 yılında Riga ve ark. ratlarda yaptıkları çalışma ile vortioxetine'in prefrontal korteks piramidal hücreleri üzerinden etki ile (dozdan bağımsız şekilde) nöral etkiyi ve dolayısıyla kognitif fonksiyon iyileşmesini artırdığını desteklemiştir.⁷⁸

Tüm bahsettiğimiz diğer çalışmalarda olduğu gibi Bennabi ve ark.'nın 2019 derlemesi de hafıza ve öğrenme gibi kognitif fonksiyonlar üzerine çalışmamızın sonuçlarıyla uyumlu bulgulara erişmişlerdir. Ek olarak bu hafıza ve kognitif bulguların 5-HT₃ reseptör antagonist etkisine bağlı olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca bu derlemede vortioxetine'in etkilerinin dopaminerjik, noradrenerjik, histaminerjik, kolinerjik, GABAerjik (GABA: Gamma aminobutyric acid; Gama aminobütrik asit) ve glutamerjik indirekt modülasyondan ayrı tutulamayacağı ifade edilerek ilacın etki mekanizmasının karmaşıklığı vurgulanmıştır.¹¹⁹

Pehrson ve ark.'nın yaptığı çalışma ile vortioxetine'in kognitif fonksiyonlara dair etkisinin asetilkolin (Ach) üzerinden olabileceğini ve bu etkinin akut dozlarda gerçekleşiyor olduğunu savunmuşlardır.¹¹⁵

Benzer şekilde Mørk ve ark. da vortioxetine'in kognitif beceriyi artırdığını ve bunu yaparken ekstraselüler Ach ve histamin miktarlarında artış gördüklerini belirtmişlerdir.¹¹⁶

Öte yandan du Jardin ve ark. ise vortioxetine'in bu etkisini 5-HT1A reseptör agonizmasına ve 5-HT3 antagonizmasına dayandırmışlardır.¹²⁰

Ratlarda oluşturdukları serotonin eksikliği ile yaratılan depresyon modelinde, depresyondaki serotonin azalmasına bağlı geliştiği kabul edilen hafıza performansındaki düşüşü vortioxetine ile düzelten Jensen ve ark. da vortioxetine'in bu etkisini 5-HT reseptörleri aracılığıyla gerçekleştirdiği görüşündedirler.¹²¹

2016 yılındaki bir çalışmada ise majör depresif bozukluk tanısı ile izlenen, 18-65 yaş arası, 602 hastada vortioxetine'in işlemsel fonksiyon (executive function), dikkat ve bilgiyi işleme hızı ile hafıza üzerine etkileri çalışılmıştır.¹⁰⁹ Geniş bir hasta sayısı ile gerçekleştirilen bu çalışmada da daha önceki insan çalışmalarında olduğu gibi vortioxetine'in hayvan modellerindeki kognitif fonksiyonlar ve hafıza üzerine olumlu etkisi bir kez daha gösterilmiştir.^{77,109-111}

Dış görsel öğelerden gelen verileri işleyerek daha önce eğitim döneminde yerini bulmayı öğrendikleri hedefe gitmek için hafızalarını ve bedensel yetilerini kullanan ratların tüm bu fonksiyonlarını bir arada değerlendirebilmek için en uygun veri, hedefe varmak için kullanılan aktüel yolun optimal yola oranı ile hesaplanan ratın masa üzerinde izlediği güzergahın verimliliğidir (path efficiency). Bu değerde "1"e yaklaşan değerlerin verimliliği yüksek iken "0" a doğru azalan değerler yolun verimliliğinin azaldığını ifade eder (Tablo 19). En verimli güzergahı izleyen ratlar hem daha hızlı hem daha az kadran geçen hem de masada daha az zaman geçiren ratlardır.

Kontrol ve deney grupları verimlilik açısından (path efficiency) sham grubundan öndedirler. Travma sonrası gün gün incelendiğinde kontrol ve deney gruplarında verimliliğin anlamlı şekilde arttığı ($p=0.006$; $p=0.024$) görülürken sham grubunda bu sonucun istatistiksel olarak anlamsız olduğu ($p=0.137$) görülmüştür (Tablo 19, Grafik 20). Grafik 21 yakından incelenecek olursa post travma onuncu günde verimlilik değerlerindeki ayrışma eğilimi görülebilir. Deney sonlandırıldığı için bu eğilimin devamlılığı konusunda yorum yapmak mümkün değildir. Verimlilik sonuçları travma sonrası zaman diliminde dönemsel olarak incelendiğinde her üç grupta da zamanla verimliliğin anlamlı şekilde arttığı fark edilebilir. En belirgin

anlam kontrol grubunda ($p<0.001$) izlenirken ikinci olarak deney grubu ($p=0.020$), üçüncü olarak ise sham grubu ($p=0.047$) yer almaktadır.

Verimlilik değerlerinin analizi de bir defa daha vortioxetine'in hafif kafa travması sonrası juvenil ratların kognitif performanslarında iyileşme yarattığını göstermektedir.



5. SONUÇ VE ÖNERİLER:

Sonuçlarımız literatürdeki hayvan çalışmaları ile uyum göstermektedir. Bu paralelliği hem kognitif beceriler üzerine değerlendirdiğimiz Barnes Maze testi sonuçlarımız, hem motor fonksiyonları değerlendirdiğimiz Tapered Beam Walking testi sonuçlarımız, hem de hücrel verilerimiz ile ortaya koymaktayız.

Barnes Maze sonuçlarımız ile öğrenme, hafıza, uzaysal yer bulma becerileri üzerine kognitif yansımayı ortaya koyarken, Tapered Beam Walking testi ve Barnes Maze testi (ortalama hız, distance gibi) sonuçlarıyla motor fonksiyona yansımayı gösterebilmekteyiz.

Ayrıca hücrel düzeydeki değerlendirmelerimiz ile deney grubunda enflamasyon olmadığını, kanamanın neredeyse hiç dikkat çekmediğini ve ödemin çok az izlendiğini göstererek vortioxetine'in serotonin ve BDNF üzerinden nöroprotektif etkinliğini histolojik olarak da göstermiş olduk.

Bu sayede daha önce yetişkin olmayan yaş gruplarında sınırlı çalışmada kullanılmış olan ve hafif kafa travmasını takiben iyileşme süreçleri üzerine hiç çalışılmamış bu etken maddenin; travma sonrası genç bireylerdeki travmaya bağlı öğrenme güçlüğü, hafıza bozuklukları, motor fonksiyonlardaki olası kısmi kayıplar, dikkat eksikliği, beyin dokusundaki mikro kanamaların emilmesi, enflamasyonun ortadan kalkması ve muhtemel hücrel yenilenme veya plastisiteye katkısı gibi parametrelerde iyileştirici etkileri ile literatüre yeni ve değerli bir veri kazandırmaktayız.

Tapered Beam Walking testindeki arka ayaklardaki kayma sayıları ve Barnes Maze testi sonuçlarımız ortaya koymaktadır ki vortioxetine hafif kafa travması sonrası motor ve kognitif becerilerin daha hızlı geri kazanımı üzerine etkili olabilir.

Konu vortioxetine olunca multi-modal etki mekanizmasının ilacın doğurduğu sonuçları nasıl etkilediğini öngörmek ve izole neticelere varmak hayli zor bir durum olmaktadır. Bu nedenle vortioxetine'in kilo alımı, enflamasyon, nöroenez, kognitif

fonksiyon ve motor fonksiyon üzerine etkilerini ve bu etkilerin birbirleriyle olası bağlantılılarını ancak daha detaylı çalışmalarla izah etmek mümkün olacaktır.

Literatürdeki kimi çalışmalarda ortaya konulduğu gibi vortioxetine'in etkileri kullanım süresine göre değişebilmektedir.^{102,113} Bu nedenle ileride planlanacak çalışmaların etken maddenin olası diğer etkilerini ve tüm etkileri arasındaki bağlantılarını açıklayabilecek yeterli süre uzunluğunda tasarlanması yararlı olacaktır.

Bir diğer konu ise literatürde bu etken madde ile gerçekleştirilmiş pediyatrik çalışmaların yok denecek kadar az olması ve travma çalışmalarında (periferik sinir yaralanmaları, spinal kord yaralanmaları, kraniyal yaralanmalar) etken maddeye dair hiç veri bulunmamasıdır. Serotonin diğer bölümlerde bahsettiğimiz etkilerini ve vortioxetine'in serotonin reseptörleri üzerine etkilerini düşünecek olursak bu etken maddenin majör depresyon dışındaki alanlarda kullanım imkânı hakkında daha fazla pre-klinik ve klinik çalışmaya olan ihtiyaç ortadadır.

Pediyatrik çalışmalarda göz ardı edilmemesi gereken parametrelerden bir tanesi de çalışmamızda gördüğümüz kilo alımındaki azalmadır. Yetişkin olmayan yaş gruplarındaki muhtemel kullanım için tasarlanacak çalışmalarda dikkatli şekilde bu veriyi takip etmek gereklidir.

Ek olarak kilo alım hızını yavaşlattığını düşündüğümüz bu anti-depresan ilaç, endikasyonu dahilinde vücut-kitle indeksi yüksek hastalarda tercih edilebilen bir ajan olarak klinik kullanımda öne çıkabilir. Elbette bu konuda geniş popülasyonlu klinik çalışmalar yapılması veri detayını artıracaktır.

Sonuç olarak sunduğumuz veriler ışığında; juvenil ratlarda gerçekleştirdiğimiz deneysel hafif kafa travması sonrası vortioxetine kullanımı, sık karşılaşılan bir sağlık sorununda, tedavi seçeneklerinin etkinliğini ve verimini artırabilecek yeni bir ek yaklaşım için umut vaat etmektedir.

REFERANSLAR:

1. Sandel N, Collins MW. Diagnosis and Management of Mild Traumatic Brain Injury. *Current Trauma Reports*. 2018:1-11.
2. Wickwire EM, Schnyer DM, Germain A, et al. Sleep, sleep disorders, and circadian health following mild traumatic brain injury in adults: review and research agenda. *J Neurotrauma*. 2018;35(22):2615-2631.
3. Lumba-Brown A, Yeates KO, Sarmiento K, et al. Diagnosis and management of mild traumatic brain injury in children: a systematic review. *JAMA pediatrics*. 2018;172(11):e182847-e182847.
4. Pervez M, Kitagawa RS, Chang TR. Definition of traumatic brain injury, neurosurgery, trauma orthopedics, neuroimaging, psychology, and psychiatry in mild traumatic brain injury. *Neuroimaging Clinics*. 2018;28(1):1-13.
5. Head J. Definition of mild traumatic brain injury. *J Head Trauma Rehabil*. 1993;8(3):86-87.
6. Prince C, Bruhns M. Evaluation and treatment of mild traumatic brain injury: The role of neuropsychology. *Brain sciences*. 2017;7(8):105.
7. Polinder S, Cnossen MC, Real RG, et al. A multidimensional approach to post-concussion symptoms in mild traumatic brain injury: A focused review. *Front Neurol*. 2018;9:1113.
8. Isokuorti H, Iverson GL, Silverberg ND, et al. Characterizing the type and location of intracranial abnormalities in mild traumatic brain injury. *J Neurosurg*. 2018;129(6):1588-1597.
9. Zhang Z, Rasmussen L, Saraswati M, Koehler RC, Robertson C, Kannan S. Traumatic injury leads to inflammation and altered tryptophan metabolism in the juvenile rabbit brain. *J Neurotrauma*. 2018;36(1):74-86.
10. Juliano SL, Perez-Polo R. Reflections on traumatic brain injury research in 2018. *J Neurosci Res*. 2018;96(4):485-486.
11. Bigler ED, Finuf C, Abildskov TJ, et al. Cortical thickness in pediatric mild traumatic brain injury including sports-related concussion. *Int J Psychophysiol*. 2018;132:99-104.
12. Goodrich-Hunsaker NJ, Abildskov TJ, Black G, et al. Age-and sex-related effects in children with mild traumatic brain injury on diffusion magnetic resonance imaging properties: A comparison of voxelwise and tractography methods. *J Neurosci Res*. 2018;96(4):626-641.
13. Yu K, Seal ML, Reyes J, et al. Brain volumetric correlates of inhibition and cognitive flexibility 16 years following childhood traumatic brain injury. *J Neurosci Res*. 2018;96(4):642-651.
14. Katz DI, Cohen SI, Alexander MP. Mild traumatic brain injury. In: *Handbook of clinical neurology*. Vol 127. Elsevier; 2015:131-156.
15. Mott TF, McCONNOR ML, Rieger BJAfp. Subacute to chronic mild traumatic brain injury. 2012;86(11).

16. National Academies of Sciences E, Medicine. *Evaluation of the Disability Determination Process for Traumatic Brain Injury in Veterans*. National Academies Press; 2019.
17. Van Horn JD, Irimia A, Torgerson CM, Bhattra A, Jacokes Z, Vespa PM. Mild cognitive impairment and structural brain abnormalities in a sexagenarian with a history of childhood traumatic brain injury. *J Neurosci Res*. 2018;96(4):652-660.
18. Thomas DG, Apps JN, Hoffmann RG, McCrea M, Hammeke T. Benefits of strict rest after acute concussion: a randomized controlled trial. *Pediatrics*. 2015;135(2):213-223.
19. Crone JS, Bio BJ, Vespa PM, Lutkenhoff ES, Monti MM. Restoration of thalamo-cortical connectivity after brain injury: recovery of consciousness, complex behavior, or passage of time? *J Neurosci Res*. 2018;96(4):671-687.
20. Merkle FT, Tramontin AD, García-Verdugo JM, Alvarez-Buylla A. Radial glia give rise to adult neural stem cells in the subventricular zone. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2004;101(50):17528-17532.
21. Lois C, Alvarez-Buylla AJPotNAoS. Proliferating subventricular zone cells in the adult mammalian forebrain can differentiate into neurons and glia. 1993;90(5):2074-2077.
22. Morshead CM, Reynolds BA, Craig CG, et al. Neural stem cells in the adult mammalian forebrain: a relatively quiescent subpopulation of subependymal cells. 1994;13(5):1071-1082.
23. Gage FHJS. Mammalian neural stem cells. 2000;287(5457):1433-1438.
24. Temple SJN. The development of neural stem cells. 2001;414(6859):112.
25. Luskin MBJon. Neuroblasts of the postnatal mammalian forebrain: their phenotype and fate. 1998;36(2):221-233.
26. Alvarez-Buylla A, Garcia-Verdugo JMJJON. Neurogenesis in adult subventricular zone. 2002;22(3):629-634.
27. Gaborieau E, Hurtado-Chong A, Fernández M, Azim K, Raineteau OJSr. A dual role for the transcription factor Sp8 in postnatal neurogenesis. 2018;8(1):14560.
28. Matsumoto M, Sawada M, García-González D, et al. Dynamic changes in ultrastructure of the primary cilium in migrating neuroblasts in the postnatal brain. 2019.
29. Djavadian RLJAnE. Serotonin and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of adult mammals. 2004;64(2):189-202.
30. Patro N, Sinha S, Singh K, Chaudhary J, Patro IJPotNAoS, India Section B: Biological Sciences. Enhanced adult neural stem cell population following bacterial infection during early postnatal life. 2019;89(3):1101-1108.
31. Takase H, Washida K, Hayakawa K, et al. Oligodendrogenesis after traumatic brain injury. *Behav Brain Res*. 2018;340:205-211.
32. Rusznák Z, Henskens W, Schofield E, Kim WS, Fu Y. Adult neurogenesis and gliogenesis: possible mechanisms for neurorestoration. *Exp Neurobiol*. 2016;25(3):103-112.
33. Foltran RB, Diaz SL. BDNF isoforms: a round trip ticket between neurogenesis and serotonin? *J Neurochem*. 2016;138(2):204-221.

34. Segi-Nishida EJFicn. The effect of serotonin-targeting antidepressants on neurogenesis and neuronal maturation of the hippocampus mediated via 5-HT_{1A} and 5-HT₄ receptors. 2017;11:142.
35. Alenina N, Klempin FJBbr. The role of serotonin in adult hippocampal neurogenesis. 2015;277:49-57.
36. Paizanis E, Hamon M, Lanfumey LJNp. Hippocampal neurogenesis, depressive disorders, and antidepressant therapy. 2007;2007.
37. Balu DT, Hoshaw BA, Malberg JE, Rosenzweig-Lipson S, Schechter LE, Lucki IJBr. Differential regulation of central BDNF protein levels by antidepressant and non-antidepressant drug treatments. 2008;1211:37-43.
38. Kozisek ME, Middlemas D, Bylund DBJN. The differential regulation of BDNF and TrkB levels in juvenile rats after four days of escitalopram and desipramine treatment. 2008;54(2):251-257.
39. Musazzi L, Cattaneo A, Tardito D, et al. Early raise of BDNF in hippocampus suggests induction of posttranscriptional mechanisms by antidepressants. 2009;10(1):48.
40. Alme MN, Wibrand K, Dagestad G, Bramham CRJNp. Chronic fluoxetine treatment induces brain region-specific upregulation of genes associated with BDNF-induced long-term potentiation. 2007;2007.
41. Lee B-H, Kim Y-KJPi. The roles of BDNF in the pathophysiology of major depression and in antidepressant treatment. 2010;7(4):231.
42. Alboni S, Benatti C, Capone G, et al. Time-dependent effects of escitalopram on brain derived neurotrophic factor (BDNF) and neuroplasticity related targets in the central nervous system of rats. 2010;643(2-3):180-187.
43. Castren EJCoip. Neurotrophic effects of antidepressant drugs. 2004;4(1):58-64.
44. Young LTJJoP, Neuroscience. Neuroprotective effects of antidepressant and mood stabilizing drugs. 2002;27(1):8.
45. Mattson MP, Maudsley S, Martin B. BDNF and 5-HT: a dynamic duo in age-related neuronal plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends Neurosci.* 2004;27(10):589-594.
46. Wang Y, Li W-Y, Li Z-G, Guan L-X, Deng L-XJNb. Transcriptional and epigenetic regulation in injury-mediated neuronal dendritic plasticity. 2017;33(1):85-94.
47. Kaplan GB, Vasterling JJ, Vedak PC. Brain-derived neurotrophic factor in traumatic brain injury, post-traumatic stress disorder, and their comorbid conditions: role in pathogenesis and treatment. *Behav Pharmacol.* 2010;21(5-6):427-437.
48. Werner JK, Stevens RD. Traumatic brain injury: recent advances in plasticity and regeneration. *Curr Opin Neurol.* 2015;28(6):565-573.
49. Royo NC, Schouten JW, Fulp CT, et al. From cell death to neuronal regeneration: building a new brain after traumatic brain injury. 2003;62(8):801-811.
50. Wurzelmann M, Romeika J, Sun D. Therapeutic potential of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and a small molecular mimics of BDNF for traumatic brain injury. *Neural regeneration research.* 2017;12(1):7.
51. Kozorovitskiy Y, Gould EJJoc, neuropsychology e. Adult neurogenesis: a mechanism for brain repair? 2003;25(5):721-732.

52. Gould E, JN. Serotonin and hippocampal neurogenesis. 1999;21(S1):46S.
53. Failla MD, Conley YP, Wagner AK. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) in traumatic brain injury–related mortality: interrelationships between genetics and acute systemic and central nervous system BDNF profiles. *Neurorehabilitation neural repair*. 2016;30(1):83-93.
54. McAllister TW. Genetic factors in traumatic brain injury. In: *Handbook of clinical neurology*. Vol 128. Elsevier; 2015:723-739.
55. Yue JK, Burke JF, Upadhyayula PS, et al. Selective serotonin reuptake inhibitors for treating neurocognitive and neuropsychiatric disorders following traumatic brain injury: an evaluation of current evidence. 2017;7(8):93.
56. Gibb A, Deeks ED. Vortioxetine: first global approval. *Drugs*. 2014;74(1):135-145.
57. Dale E, Grunnet M, Pehrson AL, et al. The multimodal antidepressant vortioxetine may facilitate pyramidal cell firing by inhibition of 5-HT₃ receptor expressing interneurons: an in vitro study in rat hippocampus slices. *Brain Res*. 2018;1689:1-11.
58. Chen F, Danladi J, Ardalan M, et al. A critical role of mitochondria in BDNF-associated synaptic plasticity after one-week vortioxetine treatment. *Int J Neuropsychopharmacol*. 2018;21(6):603-615.
59. Lu Y, Ho CS, McIntyre RS, Wang W, Ho RC. Effects of vortioxetine and fluoxetine on the level of Brain Derived Neurotrophic Factors (BDNF) in the hippocampus of chronic unpredictable mild stress-induced depressive rats. *Brain Res Bull*. 2018;142:1-7.
60. Strawn JR, Geraciotti L, Rajdev N, Clemenza K, Levine A. Pharmacotherapy for generalized anxiety disorder in adult and pediatric patients: an evidence-based treatment review. *Expert Opin Pharmacother*. 2018;19(10):1057-1070.
61. Naguy A, Alamiri B. Successful Add-on Vortioxetine for an Adolescent With Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder. *J Clin Psychopharmacol*. 2018;38(4):407-409.
62. Findling RL, Robb AS, DelBello MP, et al. A 6-month open-label extension study of vortioxetine in pediatric patients with depressive or anxiety disorders. 2018;28(1):47-54.
63. Mychasiuk R, Farran A, Esser MJ. Assessment of an experimental rodent model of pediatric mild traumatic brain injury. *J Neurotrauma*. 2014;31(8):749-757.
64. Mychasiuk R, Farran A, Angoa-Perez M, Briggs D, Kuhn D, Esser M. A novel model of mild traumatic brain injury for juvenile rats. *Journal of visualized experiments: JoVE*. 2014(94).
65. Valibeigi N, McHail DG, Kimball CL, Dumas TC. A Modified Barnes Maze for Juvenile Rats. *Bio-protocol*. 2018;8(22).
66. Ucar T, Tanriover G, Gurer I, Onal MZ, Kazan S. Modified experimental mild traumatic brain injury model. *Journal of Trauma Acute Care Surgery*. 2006;60(3):558-565.
67. Kobeissy FH, Dixon CE, Hayes RL, Mondello S. *Injury Models of the Central Nervous System: Methods and Protocols*. Springer; 2016.

68. Adelson PD, Robichaud P, Hamilton RL, Kochanek PM. A model of diffuse traumatic brain injury in the immature rat. *Journal of neurosurgery*. 1996;85(5):877-884.
69. Cernak I. Animal models of head trauma. *NeuroRx*. 2005;2(3):410-422.
70. Hallam TM, Floyd CL, Folkerts MM, et al. Comparison of behavioral deficits and acute neuronal degeneration in rat lateral fluid percussion and weight-drop brain injury models. *J Neurotrauma*. 2004;21(5):521-539.
71. Kalish BT, Whalen MJ. Weight drop models in traumatic brain injury. In: *Injury Models of the Central Nervous System*. Springer; 2016:193-209.
72. Illouz T, Madar R, Clague C, Griffioen KJ, Louzoun Y, Okun EJB. Unbiased classification of spatial strategies in the Barnes maze. 2016;32(21):3314-3320.
73. ANY-maze Behavioural tracking software. A detailed description of the ANY-maze measures. 2019; <http://www.anymaze.co.uk/a-detailed-description-of-the-any-maze-measures.pdf>. Accessed 12.9., 2019.
74. Cartwright C, Gibson K, Read J, Cowan O, Dehar TJPr, adherence. Long-term antidepressant use: patient perspectives of benefits and adverse effects. 2016;10:1401.
75. Hughes S, Lacasse J, Fuller RR, Spaulding-Givens JJPr. Adverse effects and treatment satisfaction among online users of four antidepressants. 2017;255:78-86.
76. Wang S-M, Han C, Bahk W-M, et al. Addressing the side effects of contemporary antidepressant drugs: a comprehensive review. 2018;54(2):101-112.
77. Frampton JEJD. Vortioxetine: a review in cognitive dysfunction in depression. 2016;76(17):1675-1682.
78. Riga MS, Teruel-Martí V, Sánchez C, Celada P, Artigas FJN. Subchronic vortioxetine treatment—but not escitalopram—enhances pyramidal neuron activity in the rat prefrontal cortex. 2017;113:148-155.
79. Santarsieri D, Schwartz TLJDic. Antidepressant efficacy and side-effect burden: a quick guide for clinicians. 2015;4.
80. Alvarez E, Perez V, Artigas FJNd, treatment. Pharmacology and clinical potential of vortioxetine in the treatment of major depressive disorder. 2014;10:1297.
81. Schatzberg AF, Blier P, Culpepper L, Jain R, Papakostas GI, Thase MEJTJocp. An overview of vortioxetine. 2014;75(12):1411-1418.
82. Herr N, Bode C, Duerschmied DJFicm. The effects of serotonin in immune cells. 2017;4:48.
83. Shajib M, Khan WJAp. The role of serotonin and its receptors in activation of immune responses and inflammation. 2015;213(3):561-574.
84. Myint AM, Kim YKJMh. Cytokine-serotonin interaction throughIDO: a neurodegeneration hypothesis of depression. 2003;61(5-6):519-525.
85. Opal SM, DePalo VAJC. Anti-inflammatory cytokines. 2000;117(4):1162-1172.
86. Arreola R, Becerril-Villanueva E, Cruz-Fuentes C, et al. Immunomodulatory effects mediated by serotonin. 2015;2015.

87. Smith JA, Das A, Ray SK, Banik NLJBrb. Role of pro-inflammatory cytokines released from microglia in neurodegenerative diseases. 2012;87(1):10-20.
88. D'Agostino A, English CD, Rey JAJp, Therapeutics. Vortioxetine (brintellix): a new serotonergic antidepressant. 2015;40(1):36.
89. Miranda M, Morici JF, Zanoni MB, Bekinschtein PJFicn. Brain-derived neurotrophic factor: a key molecule for memory in the healthy and the pathological brain. 2019;13:363.
90. O'Mahony SM, Clarke G, Borre Y, Dinan T, Cryan JJBbr. Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. 2015;277:32-48.
91. Talmon M, Rossi S, Pastore A, Cattaneo CI, Brunelleschi S, Fresu LGJBjop. Vortioxetine exerts anti-inflammatory and immunomodulatory effects on human monocytes/macrophages. 2018;175(1):113-124.
92. Segawa H, Patterson RH, Gilder HJAon. Role of Platelets in Vasogenic Brain Edema: II. Contribution of Platelet Serotonin in Brain Edema. 1981;38(6):345-349.
93. Leiter O, Walker TLJPin. Platelets: The missing link between the blood and brain? 2019;183:101695.
94. Gupta D, Prabhakar V, Radhakrishnan MJN, Reviews B. 5HT₃ receptors: target for new antidepressant drugs. 2016;64:311-325.
95. Bath KG, Lee FSJC, Affective, Neuroscience B. Variant BDNF (Val66Met) impact on brain structure and function. 2006;6(1):79-85.
96. Guan NC, Jie HW, Fei SH, Shin TKJP. Vortioxetine for cognitive dysfunction in depression: A narrative review. 2018;22.
97. Guilloux J-P, Mendez-David I, Pehrson A, et al. Antidepressant and anxiolytic potential of the multimodal antidepressant vortioxetine (Lu AA21004) assessed by behavioural and neurogenesis outcomes in mice. 2013;73:147-159.
98. Jacobs BL, Azmitia ECJPr. Structure and function of the brain serotonin system. 1992;72(1):165-229.
99. Gabbott PL, Warner TA, Jays PR, Salway P, Busby SJJJoCN. Prefrontal cortex in the rat: projections to subcortical autonomic, motor, and limbic centers. 2005;492(2):145-177.
100. Pum M, Huston J, Müller CJBn. The role of cortical serotonin in anxiety and locomotor activity in Wistar rats. 2009;123(2):449.
101. Cabaj AM, Majczyński H, Couto E, et al. Serotonin controls initiation of locomotion and afferent modulation of coordination via 5-HT₇ receptors in adult rats. 2017;595(1):301-320.
102. Correia PA, Lottem E, Banerjee D, Machado AS, Carey MR, Mainen ZFJE. Transient inhibition and long-term facilitation of locomotion by phasic optogenetic activation of serotonin neurons. 2017;6:e20975.
103. Dunbar MJ, Tran MA, Whelan PJJTJop. Endogenous extracellular serotonin modulates the spinal locomotor network of the neonatal mouse. 2010;588(1):139-156.
104. Ghosh M, Pearse DDJFinc. The role of the serotonergic system in locomotor recovery after spinal cord injury. 2015;8:151.

105. Kim D, Adipudi V, Shibayama M, et al. Direct agonists for serotonin receptors enhance locomotor function in rats that received neural transplants after neonatal spinal transection. 1999;19(14):6213-6224.
106. Sławińska U, Miazga K, Jordan LMJANE. The role of serotonin in the control of locomotor movements and strategies for restoring locomotion after spinal cord injury. 2014;74:172-187.
107. Sławińska U, Jordan LMJCOiP. Serotonergic influences on locomotor circuits. 2019.
108. Gualda L, Martins G, Müller B, Guimarães F, Oliveira RJBJoM, Research B. 5-HT1A autoreceptor modulation of locomotor activity induced by nitric oxide in the rat dorsal raphe nucleus. 2011;44(4):332-336.
109. Harrison JE, Lophaven S, Olsen CKJIJoN. Which cognitive domains are improved by treatment with vortioxetine? 2016;19(10):pyw054.
110. Katona C, Hansen T, Olsen CKJIcp. A randomized, double-blind, placebo-controlled, duloxetine-referenced, fixed-dose study comparing the efficacy and safety of Lu AA21004 in elderly patients with major depressive disorder. 2012;27(4):215-223.
111. Mahableshwarkar AR, Zajecka J, Jacobson W, Chen Y, Keefe RSJN. A randomized, placebo-controlled, active-reference, double-blind, flexible-dose study of the efficacy of vortioxetine on cognitive function in major depressive disorder. 2015;40(8):2025.
112. Felice D, Guilloux J-P, Pehrson A, et al. Vortioxetine improves context discrimination in mice through a neurogenesis independent mechanism. 2018;9:204.
113. Chen F, du Jardin KG, Waller JA, Sanchez C, Nyengaard JR, Wegener GJEN. Vortioxetine promotes early changes in dendritic morphology compared to fluoxetine in rat hippocampus. 2016;26(2):234-245.
114. Dale E, Zhang H, Leiser SC, et al. Vortioxetine disinhibits pyramidal cell function and enhances synaptic plasticity in the rat hippocampus. 2014;28(10):891-902.
115. Pehrson AL, Hillhouse TM, Haddjeri N, et al. Task-and Treatment Length-Dependent Effects of Vortioxetine on Scopolamine-Induced Cognitive Dysfunction and Hippocampal Extracellular Acetylcholine in Rats. 2016;358(3):472-482.
116. Mørk A, Montezinho LP, Miller S, et al. Vortioxetine (Lu AA21004), a novel multimodal antidepressant, enhances memory in rats. 2013;105:41-50.
117. Bétry C, Etiévant A, Pehrson A, Sánchez C, Haddjeri NJPiN-P, Psychiatry B. Effect of the multimodal acting antidepressant vortioxetine on rat hippocampal plasticity and recognition memory. 2015;58:38-46.
118. Westrich L, Haddjeri N, Dkhissi-Benyahya O, Sánchez CJN. Involvement of 5-HT7 receptors in vortioxetine's modulation of circadian rhythms and episodic memory in rodents. 2015;89:382-390.
119. Bennabi D, Haffen E, Van Waes VJFip. Vortioxetine for Cognitive Enhancement in Major Depression: From Animal Models to Clinical Research. 2019;10.
120. du Jardin KG, Jensen JB, Sanchez C, Pehrson ALJEN. Vortioxetine dose-dependently reverses 5-HT depletion-induced deficits in spatial working and

object recognition memory: a potential role for 5-HT1A receptor agonism and 5-HT3 receptor antagonism. 2014;24(1):160-171.

121. Jensen JB, du Jardin KG, Song D, et al. Vortioxetine, but not escitalopram or duloxetine, reverses memory impairment induced by central 5-HT depletion in rats: evidence for direct 5-HT receptor modulation. 2014;24(1):148-159.



EKLER

EK-1

Çalışmacının “Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası”



Hayvan Deneyleri Etik Kurulu
hadimek

A KATEGORİSİ

Ders Adı	Ders Saati	
	Theoretik	Uygulama
Mevzuat, Etik, Hayvan Davranışları ve 3R*	3	
Deney hayvanlarının anatomisi, fizyolojisi, histolojisi ve biyokimyası	5	4
Kan ve örnek alma teknikleri	1	4
Tutuş teknikleri	1	4
İlaç verme ve enjeksiyon teknikleri	1	4
Anestezi ve otenazi teknikleri	2	4
Ağrı, ıstırap, sıkıntı ve insani sonlandırma noktalarının belirlenmesi	2	
Laboratuvar işleyişi (temizlik, güvenlik, çalışma sağlığı)*	2	4
Deney hayvanlarının beslenmesi	2	
Hayvan hastalıkları a) mikrobiyolojik, virolojik, parazitolojik, mikolojik b) klinik dışı durumlar c) sağlık tarama programları	4	4
Biyostatistik (mümkün olan en düşük hayvan sayısının belirlenmesi)*	2	
Standardizasyon a) Genetik standardizasyon b) Mikrobiyolojik standardizasyon c) Bakım-burundurma d) Araştırma	3	
Spesifik deney modelleri	4	4
Hayvan deneylerinin tasarlanması*	2	4
Temel Cerrahi	2	4
Deney hayvanlarının yetiştirilmesi	2	4
Alternatif Yöntemler*	2	
TOPLAM	40	40

Başarı Puanı : 80

Sertifikanın geçerli olduğu hayvan türleri: Fare (Mus musculus), Sığır (Bos taurus), Koyun (Capra ovina), Hamster (Mesocricetus), Diğer kemirgenler (diğer Rodentia), Tavşan (Caprolagus cuniculus)

Bu Sertifikayı Orman ve Su İşleri Bakanlığı'nın 20.11.2017 tarih ve 2017/7 sayılı Genelgesiyle yaygın olarak düzenlenmiştir.

EK-2

Çalışmanın etik onay örneği

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu

Sayı : 36
Konu: Kararlar

22.05.2019

BASVURU BİLGİLERİ (APPLICATION INFORMATION)	ARASTIRMANNIN ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Deneysel Hafif Kafı Travması Sonrasında Juvenil Ratlarda Nöromotor Fonksiyon, Kognitif Fonksiyon ve İyileşme Süreci Üzerine Vortioxetine'in Etkilerinin Araştırılması.
	ARASTIRMANNIN İNGİLİZCE ADI (TITLE OF THE PROJECT)	Research About Vortioxetine's Effects on Neuromotor Functions, Cognitive Functions and Healing Process in Juvenile Rats After Experimental Mild Head Injury.
	SORUMLU ARASTIRMACI (PRINCIPAL INVESTIGATOR)	Prof.Dr.Ali Rıza GEZİCİ
	DiĞER ARASTIRMACILAR (OTHER INVESTIGATORS)	Arş.Gör.Dr.Şeşkin Emre CANGAN
	ARASTIRMA MERKEZİ (RESEARCH CENTER)	Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi

KARAR (DECISION)	Karar no (Decision No): 2019/23	Tarih (Date): 08.05.2019
	Prof.Dr.Ali Rıza GEZİCİ'nin sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası ve ilgili belgelerin incelenmesi sonucunda araştırmanın 36 adet sıçan ile gerçekleştirilmesinde etik yönden sakınca olmadığına mevcudun oy birliğiyle çoğunluğu ile karar verilmiştir.	

Üyeler	Uzmanlık alanı	Kurumu	İmzası
Prof.Dr.Tufan MERT (Başkan)	Biyofizik AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof. Dr. Hamit COŞKUN (Üye)	Psikoloji Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi	
Doç. Dr. Mustafa ŞİT (Üye)	Genel Cerrahi AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Yeşim YENER (Üye)	Temel Eğitim Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Eğitim Fakültesi	
Doç.Dr.Üğür ÜYETÜRK (Üye)	Üroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr.Mustafa DİLEK (Üye)	Çocuk Hastalıkları AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi Serdar GÖZÜTOK (Üye)	Yaban Hayatı ve Ekolojisi Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Hayriye ORALLAR (Üye)	Kanatsız Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA (Üye)	Fizyoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi Canan TÜREL (Üye)	Nöroloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi ÖZGÜR Mehmet YİS (Üye)	Biyokimya AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	Katılmadı
Dr.Öğr.Üyesi Şevki GÜLER (Üye)	Periodontoloji AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Diş Hekimliği Fakültesi	
Vet. Hek. Enes EĞİLMEZ (Sorumlu Veteriner Hekim)	Veteriner Hekim	BAİBÜ Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi	
Vet. Hek. Orhan BULUT (TC Üyesi)	Veteriner Hekim	BOLU BEYPİLİÇ AŞ.	
Av. Cihan YAVUZ (TC Üyesi)	Avukat	Aşağı Soku Mah. Şair Şinasi Sok. Ayşe Hanım Apt.24/6 BOLU	



Sayı : 36
Konu: Etik kurul hak.

T.C.
BOLU ABANT İZZET BAYSAL ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Araştırmaları Yerel Etik Kurulu

Sayın Prof.Dr.Ali Rıza GEZİCİ
BAİBÜ Tıp Fakültesi Beyin ve Sinir Cerrahisi Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

Daha önce kurulumuzdan etik onay almış olan 2019/23 nolu "Deneysel Hafif Kafı Travması Sonrasında Juvenil Ratlarda Nöromotor Fonksiyon, Kognitif Fonksiyon ve İyileşme Süreci Üzerine Vortioxetine'in Etkilerinin Araştırılması" başlıklı çalışmada, Beyin dokusu immünohistokimyasal boyamaları ve dokü boyamaları Üniversitemiz Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvarında gerçekleştirilecek olup, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Tulin Fırat'ın yardımcı araştırmacı olarak eklenmesi talebinde etik olarak uygun olduğuna mevcudun oy birliğiyle çoğunluğu ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Tufan MERT
Hayvan Araştırmaları
Yerel Etik Kurul Başkanı

Üyeler	Uzmanlık Alanı	Kurumu	İmza
Prof.Dr.Tufan MERT (Başkan)	Biyofizik AD, Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Prof. Dr. Hamit COŞKUN (Üye)	Psikoloji Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Fen Edebiyat Fakültesi	
Doç. Dr. Mustafa ŞİT (Üye)	Genel Cerrahi AD, Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç. Dr. Yeşim YENER (Üye)	Temel Eğitim Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Eğitim Fakültesi	
Doç.Dr.Üğür ÜYETÜRK (Üye)	Üroloji AD, Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Doç.Dr.Mustafa DİLEK (Üye)	Çocuk Hastalıkları AD Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi Serdar GÖZÜTOK (Üye)	Yaban Hayatı ve Ekolojisi Bölümü Öğretim Üyesi	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Hayriye ORALLAR (Üye)	Kanatsız Hayvan Yetiştiriciliği Bölümü	BAİBÜ Ziraat ve Doğa Bilimleri Fakültesi	
Dr. Öğr. Üyesi Ayhan ÇETİNKAYA (Üye)	Fizyoloji AD, Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi Canan AKÜNAL TÜREL (Üye)	Nöroloji AD, Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi ÖZGÜR Mehmet YİS (Üye)	Biyokimya AD, Öğretim Üyesi	BAİBÜ Tıp Fakültesi	
Dr.Öğr.Üyesi Şevki GÜLER (Üye)	Periodontoloji AD, Öğretim Üyesi	BAİBÜ Diş Hekimliği Fakültesi	
Vet. Hek. Enes EĞİLMEZ (Sorumlu Veteriner Hekim)	Veteriner Hekim	BAİBÜ Deneysel Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi	
Vet. Hek. Orhan BULUT (TC Üyesi)	Veteriner Hekim	BOLU BEYPİLİÇ AŞ.	
Av. Cihan YAVUZ (TC Üyesi)	Avukat	Aşağı Soku Mah. Şair Şinasi Sok. Ayşe Hanım Apt.24/6-BOLU	

ÖZGEÇMİŞ

Seçkin Emre Cancan, 1981 yılında Adana’da doğmuştur. İlköğretimini Düzce Namık Kemal İlkokulunda tamamlamıştır ve 1999 yılında Düzce Arsal Anadolu Lisesi’nden mezun olmuştur. Tıp eğitimini 2000-2006 yılları arasında Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi’nde alarak tıp doktoru unvanını taşımaya hak kazanmıştır. 2008-2009 yıllarında Hakkâri-Yüksekova’da jandarma tabip asteğmen olarak askerlik hizmetini yerine getirdikten sonra ilaç sektöründe faaliyet gösteren çok uluslu şirketlerde 2013 yılına dek medikal müdür olarak çalışmıştır. 2014 yılında beyin ve sinir cerrahisi uzmanlık eğitimine başladığı Bolu Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesindeki görevine halen devam etmektedir.