

İmmatür sıçanlarda travmatik beyin hasarı ile ortaya çıkan anksiyetede serotonin ve serotonin 2A reseptörünün rolü*

Başak BAYKARA,¹ Burak BAYKARA,² Mehmet ATEŞ,³ İlkay AKSU,⁴
Müge KIRAY,⁵ Ayşegül TAŞ,⁶ Hikmet GÜMÜŞ,⁷ Caner ÇETİNKAYA,⁷
Ali Rıza ŞİŞMAN,⁸ Durgül YILMAZ,⁹ Mehmet Nuri ARDA,¹⁰ Nazan UYSAL⁵

Öz

Amaç: Bu çalışmanın amacı immatür ratlarda, travmatik beyin hasarında ortaya çıkan anksiyetenin, prefrontal kortekste serotonin (5-HT) ve 5-HT_{2A} reseptörü ile ilişkisini araştırmaktır. **Yöntem:** Yedi günlük yavru ratlara travmatik beyin hasarı modeli uygulandı ve beş gruba ayrıldı: 1-Sham; 2-Travmatik beyin hasarı (TBH) grubu; 3-Travma uygulanıp ardından 14 gün, 10 mg/kg essitalopram (seçici serotonin geri alım inhibitörü; SSRI) verilen grup (TBH+SSRI grubu); 4-Travma uygulanıp davranış deneylerinden 1 saat önce gastrik gavaj ile siproheptadin (non-spesifik serotonin reseptör antagonisti, A) 5 mg/kg verilen grup (TBH+A grubu); 5-Travma uygulanıp ardından 14 gün essitalopram ve davranış deneylerinden 1 saat önce gastrik gavaj ile siproheptadin verilen grup (TBH+SSRI+A grubu). Tüm gruplara yükseltilmiş +labirent testi ve açık alan testi uygulanmış, sonrasında kan kortikosteron, prefrontal korteks doku serotonin ve 5-HT_{2A} reseptör miktarları ölçülmüştür. Prefrontal korteks nöron yoğunluğu değerlendirilmiştir. **Bulgular:** TBH uygulanan grupta, açık alan testinde çevre hücrelerde geçirilen zaman ve yükseltilmiş +labirentin kapalı kollarında geçirilen zaman ve serum kortikosteron düzeyleri anksiyete ile doğru orantılı olarak artmış bulundu. Prefrontal kortekste nöron yoğunluğunda ise azalma gözlemlendi. SSRI tedavisi yükseltilmiş +labirent testinde kapalı kollarında geçirilen süreyi azalttı. Serum kortikosteron düzeylerini düşürdü ve nöron yoğunluğunu artırdı. Doku serotonin düzeyleri, TBH uygulanan tüm gruplarda, sham grubuna göre azalmış olarak saptandı. 5-HT_{2A} reseptör düzeyleri, TBH ve siproheptadin kullanan grupta yüksek bulundu. **Sonuç:** İmmatür ratlarda TBH'ye ikincil ortaya çıkan anksiyetede SSRI'lar antianksiyete etki göstermiştir. (Anadolu Psikiyatri Derg 2019; 20(4):368-376)

Anahtar sözcükler: İmmatür rat, travmatik beyin hasarı, prefrontal korteks, serotonin, serotonin 2A reseptörü, SSRI

The role of serotonin and serotonin 2A receptor in the anxiety due to traumatic brain injury in immature rats

ABSTRACT

Objective: The aim of this study is to investigate the relationship between anxiety due to traumatic brain injury (TBI) and prefrontal cortex serotonin (5-HT) and 5-HT_{2A} receptor in immature rats. **Methods:** Seven days old rats were subjected to traumatic brain injury model. They were divided into five groups. 1-Sham; 2-TBI group; 3-TBI followed by 14 days of administration of essitalopram (selective serotonin reuptake inhibitors; SSRI) (10 mg/kg) group (TBI+SSRI); 4-TBI and cyproheptadine (nonspecific serotonin receptor antagonist; A) (5 mg/kg) given by gastric gavage one hour prior to behavioral tests (TBI+A); 5-TBI followed by 14 days of essitalopram (SSRI) and cypro-

* Dokuz Eylül Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından 2012.KB. SAG.045 numarası ile desteklenmiştir.

¹ Doç. Dr., Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD; ² Doç. Dr., Çocuk ve Ergen Ruh Sağlığı ve Hastalıkları ABD; ⁴ Doç. Dr., Fizyoloji ABD; ⁵ Prof. Dr., ⁶ Uzm. Dr., Fizyoloji ABD; ⁸ Prof. Dr., Biyokimya ABD; ⁹ Prof. Dr., Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD, Çocuk Acil Bakım BD; ¹⁰ Prof. Dr., Nöroşirurji ABD, İzmir

³ Doç. Dr. Pharm, Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, İzmir

⁷ Öğr. Gör. Dokuz Eylül Üniversitesi, Spor Bilimleri ve Teknolojisi Yüksekokulu, İzmir

Yazışma adresi / Correspondence address:

Doç. Dr. Başak BAYKARA, Dokuz Eylül Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ABD, İzmir

E-mail: basakguzelbaykara@gmail.com

Geliş tarihi: 24.09.2018, Kabul tarihi: 12.10.2018, doi: 10.5455/apd.302643454

Anatolian Journal of Psychiatry 2019; 20(4):368-376

heptadine (A) given 1 hour prior to behavioral tests (TBI+SSRI+A). Elevated T-maze test and open field test applied to all groups and then blood corticosterone, prefrontal cortex tissue 5-HT and 5-HT_{2A} receptor quantities measured. Prefrontal cortex neuron density histologically evaluated. **Results:** In the TBI group, the time spent in the peripheral cells, the time spent in the elevated T-maze closed arms, and serum corticosterone levels found to increase as a result of anxiety. Neuronal density decreased in prefrontal cortex. SSRI treatment reduced the time spent on the closed arms in the elevated T-maze test. SSRI decreased serum corticosterone levels and increased neuronal density. Tissue serotonin levels decreased in all groups exposure to TBI compared to sham group. 5-HT_{2A} receptor levels were higher in the TBI and A group. **Conclusion:** SSRIs showed anxiolytic effect for anxiety, secondary to TBI in immature rats. (*Anatolian Journal of Psychiatry* 2019; 20(4):368-376)

Keywords: immature rats, traumatic brain injury, prefrontal cortex, serotonin, serotonin 2A receptor, SSRI

GİRİŞ

Travmatik beyin hasarı (TBH) çocukluk çağında hastalığa ve ölüme yol açan önemli bir sağlık sorunudur. Çocuklarda yaşamda kalma şansı erişkinlerden daha fazla olmasına rağmen, yaşamın ilerleyen dönemlerini de etkileyecek sekeller daha fazla görülmektedir.¹

TBH, birincil ve ikincil olarak sınıflandırılabilir. Tersinmez olan birincil olaylar hem fokal (kontüzyon, laserasyon), hem de diffüzdür (diffüz aksonal hasar). İkincil hasar ise birincil olaylarla tetiklenen, travmadan sonra, günler hatta haftalar süren bir seri biyokimyasal değişiklikleri içerir. Bu değişiklikler nöronlar için hasar verici olup kan-beyin engelini bozulması, ödem, iskemi, hipertansiyon, inflamasyon, eksitotoksikite ve oksidatif stres içerir.² Beyin, hızlı büyüme döneminde hasar görmeye daha açıktır. Hızlı büyüme dönemi, sıçanlarda doğumdan sonraki iki hafta, insanlarda ise doğumdan sonraki ilk iki yıldır.^{3,4} Kafa travması sonrası beyin korteksi ve hipokampusun en çok etkilenen bölgeler olduğu bilinmektedir.^{5,6}

TBH ile ilişkili morbiditeden, postkonküzyonel sendrom (PKS) sorumludur.⁷ PKS'de kalıcı fiziksel (baş ağrıları, bulantı, çift görme), bilişsel (dikkat ve konsantrasyon sorunları) ve duygudurum (irritabilite, depresyon, anksiyete) sorunları görülebilmektedir.^{7,8}

Anksiyete, içinde korku ve kaygı duygusunun bulunduğu, kaçınma, tehdit duygusu ve olumsuz bilişsel içeriklerin yer aldığı bir süreçtir.⁹ Anksiyete yanıtında, stres hormonları ve kan kortikosteron düzeyleri yükselmektedir. Birçok deneysel çalışmada, prefrontal korteksin (PFK) amigdala işlevlerini düzenleyerek stres ve duygusal yanıtları kontrol ettiği gösterilmiştir.¹⁰ İnsanlarda da ventromedial PFK aktivitesinin anksiyete ile ilişkili olduğu, uygun çalıştığında anksiyeteyi azalttığı gösterilmiştir.¹¹ PFK hasarlı bireyler hem günlük yaşantılarında, hem de anksiyete testlerinde duygusal düzenlemede sorunlar yaşamaktadır.¹²

TBH, noradrenalin, serotonin, dopamin ve asetilkolin gibi nörotransmitter sistemlerin çalışmasında aksaklıklara yol açar.^{13,14} Bu nörotransmitterlerden serotonin, noradrenalin ve dopamin özellikle anksiyete ve depresyon ile ilişkili beyin bölgelerinin çalışmasını düzenlerler. Serotonerjik (5HT) nörotransmitter sistemindeki değişikliklerin çok çeşitli psikiyatrik bozuklukla ilişkili olduğu görülmüştür.^{15,16} Seçici serotonin geri-alım inhibitörleri (SSRI) anksiyete bozukluklarının tedavisinde sık kullanılmaktadır. Essitalopram, en seçici olarak tanımlanmış olan SSRI'dır. Anksiyete bozukluklarında amigdala duyarlılığını azaltarak, amigdala aktivitesini azaltmakta ve PFK aktivitesini artırmaktadır.¹⁷ Siproheptadin, nonspesifik 5-HT_{1A}, 5-HT_{2A} ve histamin-1 reseptör antagonistidir.¹⁸ SSRI'ların serotonerjik etkilerini antagonize etmede etkili olduğu klinik ve deneysel hayvan çalışmalarında gösterilmiştir.¹⁹

Bu çalışmada, immatür ratlarda TBH ardından ortaya çıkan anksiyetede, SSRI tedavisinin PFK nöron yoğunluğu, PFK serotonin düzeyi, 5-HT_{2A} reseptör konsantrasyonu ve kan kortikosteron düzeyleri üzerine olan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmanın hipotezi, immatür sıçanlardaki TBH ardından uygulanan SSRI tedavisinin, PFK'deki bozulmuş olan serotonerjik işlevselliği düzelterek etki gösterdiği'dir. Çalışmanın diğer hipotezi, SSRI ile elde edilen klinik faydanın 5HT_{2A} reseptör blokleri sonucunda kaybolacağı veya azalacağıdır.

YÖNTEM

Araştırma Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 03/2012 protokol numarası ile onaylanmıştır. Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Laboratuvarı'ndan Wistar-Albino suşu ratlar sağlanmıştır. Beyin gelişiminin hızlı olduğu dönemde bulunduğu bilinen, yedi günlük yavru ratlar kullanılmıştır. Bu amaçla kesin doğum tarihinin belli olabilmesi için gebe ratlar alındı (toplam 50 yavru, 8 gebe rat). Tüm hayvanlar deney sonlanıncaya kadar 12/12 saat

karanlık/aydınlık periyodunda, 20-22°C oda sıcaklığında %50-60 göreceli nem bulunan standart hayvan oda ve kafeslerinde barındırıldı. Hayvanlar dinlendirilmiş musluk suyu ve standart pellet yem ile beslendi (ad libitum). Her grupta 10 yavru, cinsiyetleri gruplarda eşit olacak şekilde rastgele dağıtıldı. Gruplar şu şekilde oluşturuldu: Hafif anestezinin ardından serum fizyolojik verilen grup (sham grubu), travma uygulanıp serum fizyolojik verilen grup (TBH grubu), travma uygulanıp travma ardından 14 gün essitalopram verilen grup (TBH+SSRI grubu), travma uygulanıp gastrik gavaj ile siproheptadin (A) verilen grup (TBH+A grubu), travma uygulanıp travma ardından 14 gün essitalopram (SSRI) ve gastrik gavaj ile siproheptadin verilen grup (TBH+SSRI+A grubu).

Ratların anksiyete düzeyleri açık alan (open field), yükseltilmiş +labirent (elevated plus maze) düzenekleri ile ölçüldü. Davranış deneylerinin tamamlanmasının ardından tüm ratlar sakrifiye edildi. Tüm gruplardaki ratların yarısının beyinde histolojik araştırma, diğer yarısının beyinde ise biyokimyasal inceleme yapıldı. PFK nöron yoğunluğu ile serotonin ve serotonin reseptör düzeyleri değerlendirildi. Ayrıca serum kortikosteron düzeyleri ölçüldü.

Travmatik beyin zedelenmesi modeli

Kontüzyon travma modeli infant ve erken çocukluk döneminde sık kullanılmaktadır.^{5,20,21} Modelde 16 cm uzunluğunda ve 1 cm aralıklarla delinecek oluşturulmuş kontüzyon aleti eter anestezisi altındaki ratın parietal kemiği üzerine dayanmış 2 mm çapında yuvarlak footplate üzerinde dik tutuldu. Beyin kontüzyonu için deneğin ağırlığı kadar (10 g) ağırlığın düşürülmesi ile 160 g x cm bir güç oluşturuldu. Sağ parietal kemiğe ağırlığın düşürülme koordinatları sağda lambdanın 3 mm anterior x 2 mm laterisinde olacak şekilde gerçekleştirildi.

Essitalopram tedavisi

Essitalopram verilen gruplara travmadan hemen sonra 14 gün boyunca günde 10 mg/kg essitalopram (Citoles 10 mg, Abdi İbrahim İlaç Sanayi ve Ticaret A.Ş.) gastrik gavaj ile uygulandı.^{22,23}

Siproheptadin tedavisi

TBH+A ve TBH+SSRI+A grubuna davranış deneylerinden 1 saat önce 5 mg/kg siproheptadin (Sipraktin 2 mg/5 ml, İbrahim Etem Ulagay İlaç Sanayi Türk A.Ş.) gastrik gavaj ile verildi.²⁴

Açık alan testi

Deney hayvanının kendi ortamından farklı bir

ortama bırakıldığında huzursuzluğunun artması ile lokomotor hareketlerde artış gözlemlenebilmektedir. Bu nedenle açık alan testi anksiyete ve spontan lokomotor aktivitelerin değerlendirilmesinde kullanılır. Açık alan testi için 1 m x 1 m bir zemin 100 lükslük bir ışık kaynağı ile aydınlatıldı. Deney hayvanı alanın tam ortasına konup 5 dakikalık test süresince alan içindeki hareketleri kaydedilerek analiz edildi. Zemin 16 kareye bölündü (12'si kenarlarda, %75; 4'ü merkezde, %25). Sistem otomatik olarak alanın kenarlarında ve alanın ortasında geçirilen süreleri ve alanın ortasındaki merkezi hücrelere giriş sayısını kaydetti. Deneylerin kayıt ve analizinde Noldus ve HVS image video tracking sistemi kullanıldı.

Yükseltilmiş +labirent testi

Ratlar yabancı bir ortama bırakıldıklarında, zeminin yükseltilmiş olması anksiyeteyi artırabilir. Buna bağlı olarak test düzeneğinin kapalı kollarında geçirilen süre anksiyete düzeyinin artışı, açık kollarında geçirilen sürenin fazla olması ise anksiyete düzeyinin az olduğunu gösteren parametrelerdir. Labirent, iki açık iki de kapalı kolu olan + şeklinde bir düzeneştir. +nın tam ortasına konan deney hayvanı, beş dakikalık test süresince hareketleri kaydedilerek analiz edildi. Bu süre boyunca açık ve kapalı kollarda geçirdiği süre kaydedildi.

Sakrifikasyon

Eter anestezisinin ardından deneklerden kan örnekleri alındı. Kafatası açılarak, beyin dokusu çıkarıldı. Tüm gruplardaki deneklerin yarısının beyini histolojik değerlendirme için %10'luk formalin içine konuldu. Diğer yarısında biyokimyasal ölçümler için prefrontal korteksler çıkarıldı, ependorf içine konarak ölçüm anına kadar -80°C'de saklandı.

Nöron sayımı

Beyin dokusu rutin ışık mikroskopik doku takip işlemlerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Paxinos ve Watson rat beyin atlasına göre yaklaşık 9 ve 11 planlarından prefrontal korteks için alınan 5 µm kalınlığında kesitler cresyl violet ile boyandı. Elde edilen preparatlar ışık mikroskopunda incelendi. Prefrontal kortekste 40X büyütme ile yaklaşık 16800 µm² alanda toplam nöron sayımı yapıldı.^{21,25}

Serotonin ve 5-HT_{2A} reseptör düzeylerinin ölçümü

Prefrontal korteks dokuları tartıldıktan sonra homojenize edildi, ardından alikotlanarak analiz basamağına kadar -80°C'de saklandı. 5-HT_{2A}

reseptör düzeyleri CusaBio CSB-E14956r kiti, serotonin seviyeleri ise CusaBio CSB-E14951r kiti ile ELISA yöntemi kullanılarak ölçüldü. Homojenatlardan ayrıca protein de çalışılıp, protein başına düşen 5-HT_{2A} reseptör ve serotonin düzeyleri saptanarak ölçüm standardize edilmiş olundu.

Kortikosteron düzeyi ölçümü

Sakrifiye edilen deneklerden alınan kan örneklerinden, plazma kortikosteron düzeyleri radioimmunoassay yöntemle bir double antibody kit (ImmuChem, MP Biomedicals) kullanılarak ölçüldü.

İstatistik analiz

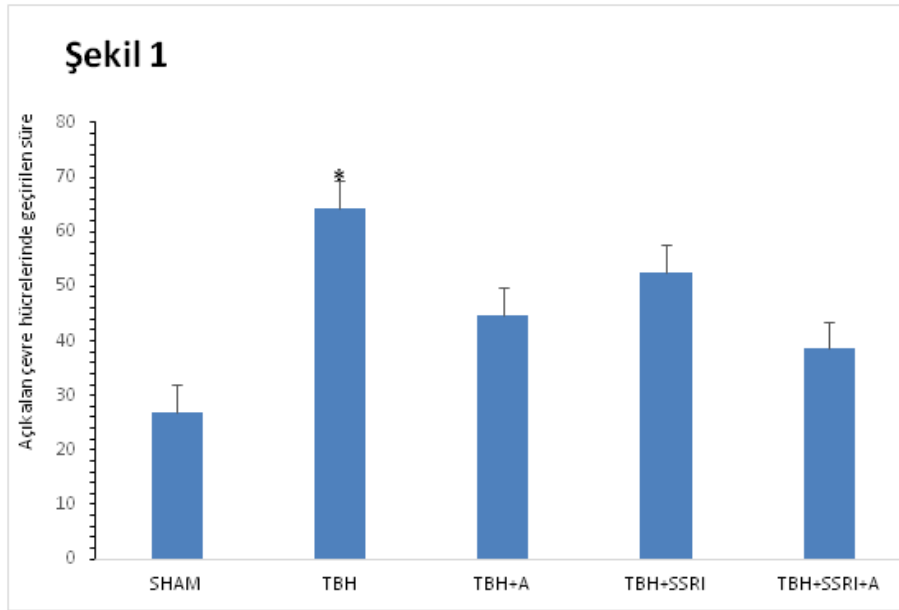
Sonuçlar ortalama±SH olarak ifade edildi. Elde edilen sonuçlar SSPS 22.0 ile gruplar arasındaki farkı araştırmak için one-way ANOVA post hoc LSD testi aracılığı ile değerlendirildi. $p<0.05$

anlamlılık düzeyi temel alındı.

BULGULAR

Açık alan testi

Deney gruplarına açık alan testi uygulanıp, açık alan hücrelerinde geçirilen süre değerlendirildiğinde TBH (64.28 ± 5.35) verilen grup sham grubuna (27.0 ± 5.85) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla süre geçirmiştir. TBH+SSRI grubu (52.57 ± 6.1) TBH grubuna göre daha az süre geçirmiştir fakat anlamlı farklılık bulunmamaktadır. TBH+A (44.75 ± 4.97) ve TBH+SSRI+A (38.55 ± 6.1) verilen gruplarda ise TBH grubuna göre anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Şekil1). Açık alandaki merkezi hücrelere giriş sayısı değerlendirildiğinde gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmamıştır.



Şekil 1. Açık alan çevre hücrelerinde geçirilen süre

*: $p<0.05$ Sham grubuna göre anlamlı olarak farklı. TBH: Travmatik beyin hasarı; A: Serotonin 2A reseptör antagonisti; SSRI; Selektif serotonin geri-alım inhibitörü

Yükseltilmiş +labirent testi

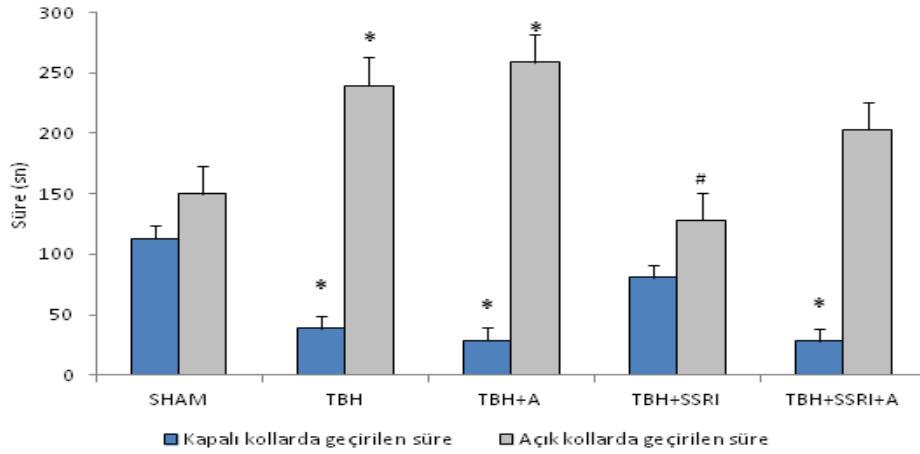
Yükseltilmiş +labirent testinde beş dakikalık test süresince açık kollarda geçirilen süre değerlendirildiğinde, TBH (38.96 ± 14.62), TBH+A (28.53 ± 10.44) ve TBH+SSRI+A (27.96 ± 4.86) grupları sham grubuna (113.0 ± 26.88) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha az zaman geçirmiştir. TBH+SSRI grubu (80.72 ± 11.51) TBH grubuna göre açık kollarda daha fazla zaman geçirmiştir, fakat aralarındaki fark anlamlı değil-

dir. Kapalı kollarda geçirilen süre değerlendirildiğinde TBH (239.55 ± 22.97) ve TBH+A (258.44 ± 17.70) grupları sham grubuna (150.04 ± 27.10) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde daha fazla zaman geçirmiştir. TBH+SSRI (127.96 ± 10.02) grubu TBH grubuna göre kapalı kollarda daha az zaman geçirmiştir (Şekil 2).

Serotonin ve 5-HT_{2A} reseptör düzeyleri

Prefrontal korteks dokularındaki serotonin

Şekil 2

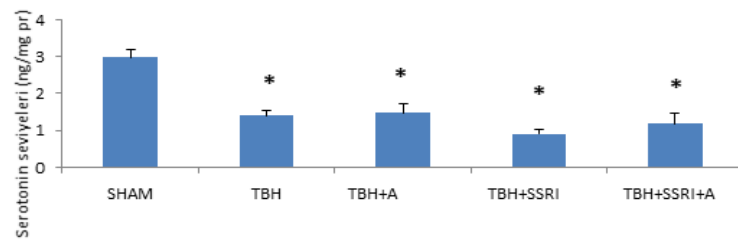


Şekil 2. Yükseltilmiş +labirent testi sonuçları

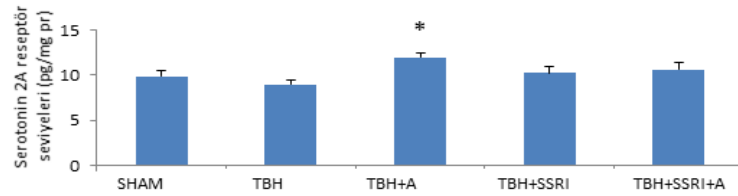
*: $p < 0.05$ Sham grubuna göre anlamlı olarak farklı. #: TBH grubuna göre anlamlı olarak farklı.

TBH: Travmatik beyin hasarı; A: Serotonin 2A reseptör antagonisti; SSRI: Selektif serotonin geri alım inhibitörü

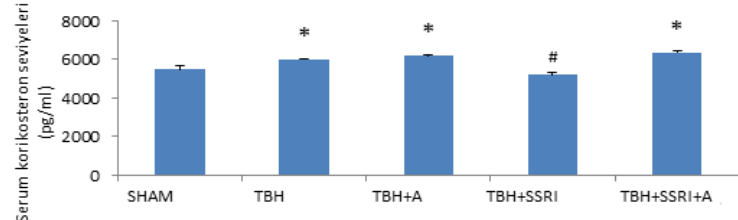
Şekil 3A



Şekil 3B



Şekil 3C



Şekil 3. Biyokimyasal ölçüm sonuçları

A: Prefrontal korteks serotonin düzeyleri; B: Prefrontal korteks serotonin 2A reseptör düzeyleri;

C: serum kortikosteron seviyeleri. *: $p < 0.05$ Sham grubuna göre anlamlı olarak farklı. #: TBH grubuna göre anlamlı olarak farklı. TBH; travmatik beyin hasarı, A; serotonin 2A reseptör antagonisti.

düzeyleri değerlendirildiğinde, sham grubunda (2.97 ± 0.21) en yüksek düzeyin bulunduğu, deney gruplarının sham grubuna göre anlamlı düzeyde azaldığı (TBH, 1.40 ± 0.12 ; TBH+A, 1.47 ± 0.25 ; TBH+SSRI, 0.90 ± 0.1 ; TBH+SSRI+A, 1.17 ± 0.27) gözlemlendi (Şekil 3A). Prefrontal korteks dokularındaki serotonin 2A reseptör düzeyleri değerlendirildiğinde; TBH+A grubu (11.94 ± 0.63) diğer tüm gruplara (sham, 9.83 ± 0.62 ; TBH, 8.98 ± 0.39 ; TBH+SSRI, 10.26 ± 0.78 ; TBH+SSRI+A, 10.61 ± 0.78) göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış göstermiştir (Şekil 3B).

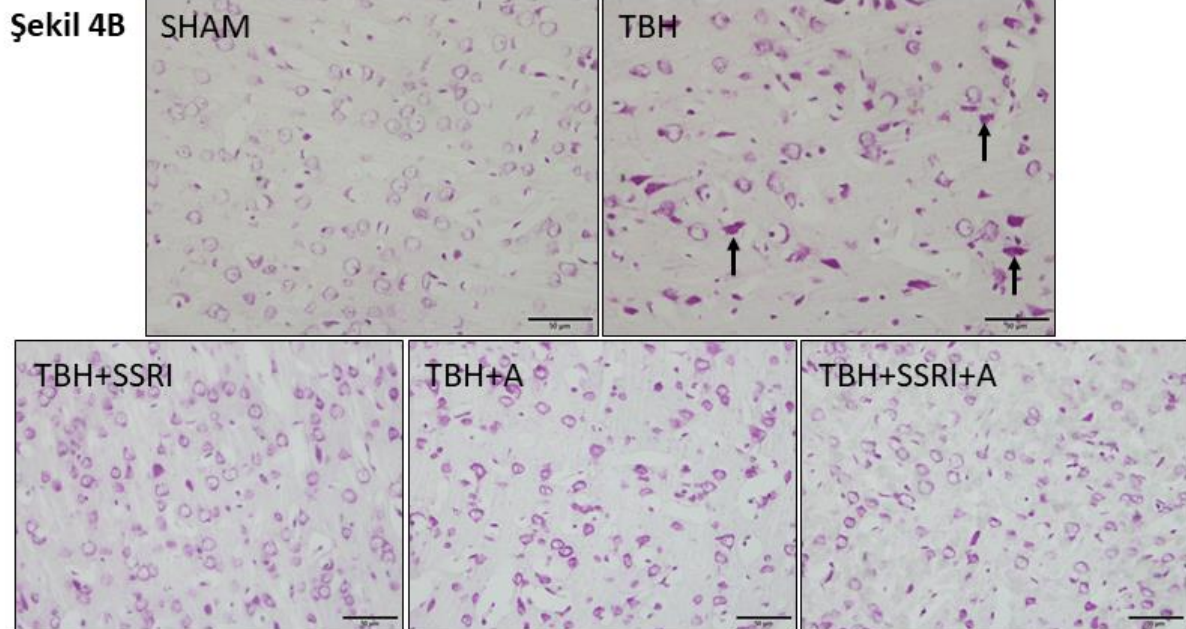
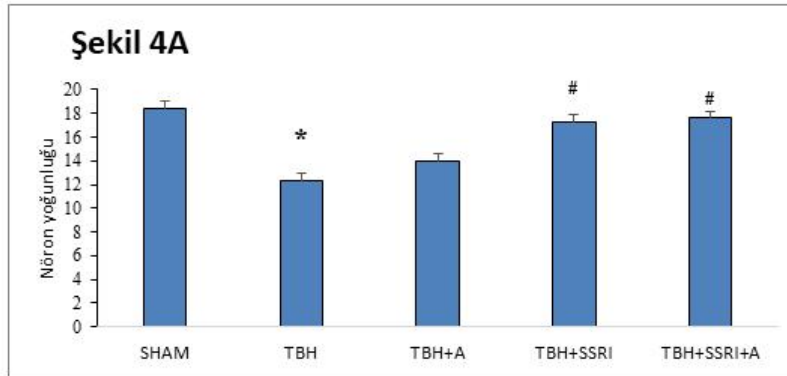
Bazal serum kortikosteron düzeyleri

Bazal serum kortikosteron düzeyi incelendiğin-

de, TBH (6009.14 ± 46.22), TBH+A (6204.56 ± 91.91) ve TBH+SSRI+A (6373.45 ± 92.36) gruplarında bazal kortikosteron düzeyleri sham grubu (5487.93 ± 184.43) ve TBH+SSRI (5213.83 ± 137.18) grubuna göre anlamlı yükselmiştir. Ayrıca TBH olan gruplar kendi aralarında değerlendirildiğinde, TBH+SSRI grubunda diğer TBH'ye uğrayan gruplara göre anlamlı bir azalma bulunmuştur (Şekil 3C).

Prefrontal korteks nöron yoğunluğu

PFK'deki nöron sayımında TBH grubunda (12.3 ± 0.59) sham grubuna (18.41 ± 2.20) göre nöron yoğunluğunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma bulundu (Şekil 4A). SSRI tedavisi gören



Şekil 4. Histolojik inceleme sonuçları

A: Prefrontal korteks nöron yoğunluğu; B: Prefrontal kortekse ait ışık mikroskopik görüntüler; *: $p < 0.05$ Sham grubuna göre anlamlı olarak farklı; #: TBH grubuna göre anlamlı olarak farklı; TBH: Travmatik beyin hasarı; A: Serotonin 2A reseptör antagonisti; SSRI: Selektif serotonin geri alım inhibitörü. Oklar dejeneratövar hücreleri göstermektedir.

TBH gruplarında ise TBH grubuna göre nöron yoğunluğunda anlamlı artış saptandı (TBH+SSRI; 17.26 ± 1.20 , TBH+SSRI+A; 17.59 ± 0.24). Gruplara ait cresyl violet boyalı histolojik görüntüler Şekil 4B'de gösterilmiştir.

TARTIŞMA

Çalışmamızın hipotezlerinden birincisi immatür sıçanlardaki TBH ardından uygulanan SSRI tedavisinin, PFK'deki bozulmuş olan serotonerjik işlevselliği düzelterek etki gösterdiğiydi. Elde ettiğimiz sonuçlarda; TBH uygulanan grupta, açık alan testinde çevre hücrelerde geçirilen zaman ve yükseltilmiş +labirentin kapalı kollarında geçirilen zaman, anksiyete ile doğru orantılı olarak daha fazla bulundu. Açık alan testinde tedavi gruplarının çevre hücrelerde geçirdiği süre azalmış olmakla birlikte, anlamlılık bulunmadı. Yükseltilmiş +labirent testinde tek başına SSRI tedavisi kapalı kolları geçiren süreyi azalttı. Doku serotonin düzeyleri TBH uygulanan tüm gruplarda, uygulanan tedaviden bağımsız olarak, sham grubuna göre azalmış olarak saptandı. TBH uygulanan gruplar arasında ise fark bulunmadı. Bu bulgular birincil hipotezimizi desteklemektedir. Diğer hipotezimiz, SSRI ile elde edilen klinik faydanın 5HT_{2A} reseptör blokleri sonucunda kaybolacağı veya azalacağı yönündeydi. Çalışmamızda yükseltilmiş +labirent testinde SSRI tedavisi ile açık kolları geçen süre artmışken 5-HT_{2A} reseptör blokleri bu durumu tersine çevirmiştir. Serum kortikosteron düzeyleri TBH uygulanan gruplarda, SSRI alan grup hariç, sham grubuna göre arttı. Yüksek kortikosteron düzeyleri, anksiyete ile doğrudan ilişkili olup TBH grubunda artış olması deney modelinde anksiyetenin oluştuğunu kanıtlamaktadır. SSRI verilen TBH grubunda ise serum kortikosteron düzeyleri TBH grubundan düşük bulundu. SSRI ile birlikte 5HT_{2A} blokleri verilen grupta ise yüksek bulundu. Bu bulgular SSRI ile elde edilen klinik faydanın 5HT_{2A} reseptör blokleri verilmesi ile azaldığını/kaybolduğunu göstermiştir.

TBH, çocukluk ve ergenlik döneminde, nörolojik ve psikiyatrik hastalığa yol açan önemli bir sağlık sorunudur. PKS, TBH ile ilişkili ölümden sorumludur.⁷ PKS ile ilişkili hasar riski erişkinlere göre, çocuk ve ergenlerde belirgin olarak daha fazladır.¹ Çocuklarda ortaya çıkan PKS'de depresyon, anksiyete ve travma ile ilişkili dikkat eksikliği ve hiperaktivite sorunu sık görülmektedir. Bu sorunlar olumsuz prognozla ilişkilidir.²⁶ PKS'nin nörolojik ve psikiyatrik tedavisi ile ilgili bilgiler sınırlıdır. Literatürde bu konuda yönlendirici klinik çalışmalara rastlanmamıştır. Ancak konu

ile ilgili deneysel hayvan çalışmaları vardır.^{20,21,27,28} TBH'ye ikincil ortaya çıkan PKS'de bilişsel ve duygudurum belirtilerinin tedavisinde serotonerjik ilaçların yararlı etkileri ratlarda gösterilmiştir.^{29,30} Erişkin ratlarda yapılan TBH ardından ortaya çıkan PKS tedavisinde essitalopram, venlafaksin ve fluoksetinin depresif ve anksiyojenik yakınmaları azalttığı gösterilmiştir.^{30,31}

Çalışmamızda uygulanan TBH modeli, günlük yaşamda motorlu taşıt kazaları ve yüksekten düşme gibi TBH'leri simüle etmede oldukça başarılıdır.³² Çalışmamız TBH ile ilişkili PKS'de serotonin ve 5HT_{2A} reseptör ve SSRI etkinliği açısından pediatrik grupta yapılmış olan ilk deney hayvanı çalışmasıdır. Çalışmamızda PKS ile ilişkili anksiyete modelinde, en seçici SSRI olan essitalopram kullanılmıştır. TBH insan yaşamı modellendiğinde infantil döneme denk gelen zaman diliminde uygulanmış (7 günlük rat), essitalopram tedavisi ise infantil dönemden itibaren yaklaşık insan yaşamında altı yaşa karşılık gelen döneme kadar (21 günlük rat) kullanılmıştır. TBH ardından davranış testlerinde ortaya çıkan anksiyete belirtilerinin essitalopram tedavisi ardından azaldığı bulunmuştur. Bununla birlikte essitalopram tedavisi, TBH ardından, PKS ile ilişkili yükselen stres hormon düzeylerini azaltmakta da yardımcı olmuştur.

Deney hayvanı çalışmaları immatür nöronların eksitotoksik hasarlanmaya matür nöronlardan daha açık olduğunu göstermektedir.¹⁰ TBH sonrası hasarlı beyinde hücre ölümüne neden olan kalsiyum birikiminin matür beyinde immatür beyine göre daha çok ve uzun sürdüğünü gösteren çalışmalar bulunmaktadır.³³ Ayrıca immatür beyindeki kafa travmasında, apoptotik mekanizmaların daha fazla aktive olduğu da gösterilmiştir.^{3,5,34} Çalışmamızda histomorfolojik değerlendirilmede, TBH ardından uygulanan essitalopram tedavisinin, prefrontal kortekste nöron yoğunluğunu ve prefrontal yapı bütünlüğünü korumaya yardımcı olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular siproheptadin ile birlikte essitalopram verilen TBH grubunda da benzer biçimde bulunmuştur. Siproheptadin verilmesi, essitalopramın histomorfolojik olarak gözlenen nöron koruyucu etkisinde azalmaya neden olmamıştır. Bu sonuç, hücresel düzeydeki değişikliklerin daha uzun sürede ortaya çıkması ile ilişkili olabilir.

Beyin görüntüleme çalışmalarında da PFK'nin strese karşı oluşan otonom ve endokrin yanıtları inhibe ettiği gösterilmiştir.¹⁹ PFK'nin uygun çalışabilmesinde serotonerjik sistem önemli bir rol oynar. Serotonerjik nöronlar orta beyinde raphe çekirdeklerinden köken alır, medulla spinalis de

dahil olmak üzere merkezi sinir sistemine ulaşır.³⁵ Çeşitli beyin bölgelerinde en az 14 farklı reseptör ile etkileşir.³⁶ Anksiyete ve duygudurum bozukluklarında, insan ve hayvan çalışmaları, 5-HT_{1A}, 5-HT_{1B} ve 5-HT_{2A} reseptörlerinin önemli rolü olduğu gösterilmiştir.³⁷⁻³⁹ 5-HT_{2A} reseptör altı tipi, özellikle PFK'de eksprese edilir. Antidepresanlar, antianksiyete ilaçlar ve atipik antipsikotikler dahil olmak üzere birçok psikotrop ilaç için hedefdir. 5-HT_{2A} reseptörlerinin uyarılması, PFK ağının aktivasyonu üzerine etkilidir.^{40,41} Çalışmamızda TBH uygulanan tüm gruplarda, PFK'deki serotonin miktarı, sham grubuna göre istatistiksel olarak azalmıştır. Bu durum, TBH'nin PFK'deki serotonerjik işlevselliği olumsuz etkilemesi olarak yorumlanmıştır. Çalışmamızda tüm doku serotonin miktarı ölçüldüğü için, essitalopramın, yalnız seçici olarak sinaptik

aralıktaki serotonin düzeyini artırma özelliği bu sonuca yansımamıştır.

Bu çalışmada, siproheptadin PFK'de 5-HT_{2A} reseptörlerini reaktif olarak artırmıştır. Bu artış, TBH ile ilişkili anksiyete yanıtını azaltmada etkili bulunmamıştır. Buna karşılık, siproheptadin essitalopramın antianksiyete etkisini azaltmıştır. Bu etki literatürle uyumludur. Non-selektif 5-HT_{2A} antagonisti olan siproheptadin, SSRI'ların tera-pötik etkisini antagonize etmesi nedeniyle serotonerjik sendrom tedavisinde kullanılmaktadır.¹⁹

SONUÇ

Önemli tıbbi hastalık ve ölüm nedeni olan TBH'ye ikincil ortaya çıkan PKS tedavisinde, SSRI'ların antianksiyete etkileri umut vermektedir; konu ile ilgili klinik çalışmalara gerek vardır.

Yazarların katkıları: Başak B.: Proje ve makale yazımı, histolojik değerlendirmeler; Burak B.: Verilerin değerlendirilmesi ve makale yazımı; M.A.: Farmakolojik danışmanlık, ilaç uygulamaları; İ.A.: Davranış testi verilerinin toplanması ve analizi; M.K.: Davranış testi verilerinin toplanması ve analizi; A.T.: Deney hayvanı bakım ve testlerin uygulanması; H.G.: Deney hayvanı bakım ve testlerin uygulanması; C.Ç.: Deney hayvanı bakım ve testlerin uygulanması; A.R.Ş.: Biyokimyasal analizler; D.Y.: Deney modelinin uygulanması; M.N.A.: Deney modelinin uygulanması; N.U.: Deney modelinin uygulanması.

KAYNAKLAR

1. Anderson V, Yeats KO. Pediatric Traumatic Brain Injury: New Frontiers in Clinical and Translational Research. First ed., Cambridge: Cambridge University Press, 2010, pp.118-144.
2. Kochanek PM, Wallisch JS, Bayir H, Clark RSB. Pre-clinical models in pediatric traumatic brain injury-challenges and lessons learned. Childs Nerv Syst 2017; 33(10):1693-1701.
3. Adelson PD, Fellows-Mayle W, Kochanek PM, Dixon CE. Morris water maze function and histologic characterization of two age-at-injury experimental models of controlled cortical impact in the immature rat. Childs Nerv Syst 2013; 29:43-53.
4. Stiles J. The Fundamentals of Brain Development: Integrating Nature and Nurture. Late Prenatal and Postnatal Changes in Human Brain Structure. First ed., Cambridge: Harvard University Press, 2008, pp.282-312.
5. Bittigau P, Siffringer M, Felderhoff-Mueser U, Ikonomidou C. Apoptotic neurodegeneration in the context of traumatic injury to the developing brain. Exp Toxicol Pathol 2004; 56:83-89.
6. Tong W, Igarashi T, Ferriero DM, Noble LJ. Traumatic brain injury in the immature mouse brain: characterization of regional vulnerability. Exp Neurol 2002; 176:105-116.
7. Taylor HG, Dietrich A, Nuss K. Post-concussive symptoms in children with mild traumatic brain injury. Neuropsychology 2010; 24:148-159.
8. Barlow KM, Crawford S, Stevenson A, Sandhu SS, Belanger F, Dewey D. Epidemiology of post-concussion syndrome in pediatric mild traumatic brain injury. Pediatrics 2010; 126:374-381.
9. Dulcan MK. Dulcan's Textbook of Child and Adolescent Psychiatry. Second ed., Virginia: American Psychiatric Association Publishing, 2016, pp.305-343.
10. Stahl SM, Stahl's Essential Psychopharmacology. Fourth ed., Cambridge: Cambridge University Press, 2013, pp.388-419.
11. Kim MJ, Whalen PJ. The structural integrity of an amygdala-prefrontal pathway predicts trait anxiety. Neurosci 2009; 29:11614-11618.
12. Anderson SW, Barrash J, Bechara A, Tranel D. Impairments of emotion and real-world complex behavior following childhood- or adult-onset damage to ventromedial prefrontal cortex. J Int Neuropsychol Soc 2006; 12(2):224-235.
13. Chen YH, Huang EY, Kuo TT, Miller J, Chiang YH, Hoffer BJ. Impact of traumatic brain injury on dopaminergic transmission. Cell Transplant 2017; 26(7):1156-1168.
14. Shin SS, Dixon CE. Alterations in cholinergic pathways and therapeutic strategies targeting cholinergic system after traumatic brain injury. J Neurotrauma 2015; 32(19):1429-1440.
15. Michelsen KA, Prickaerts J, Steinbusch HW. The dorsal raphe nucleus and serotonin: implications for neuroplasticity linked to major depression and Alzheimer's disease. Prog Brain Res 2008; 172:233-264.

16. Nestler EJ, Barrot M, DiLeone RJ, Eisch AJ, Gold SJ, Monteggia LM. Neurobiology of depression. *Neuron* 2002; 34:13-25.
17. Kasper S, Stein DJ, Loft H, Nil R Escitalopram in the treatment of social anxiety disorder: randomised, placebo-controlled, flexible-dosage study. *Br J Psychiatry* 2005; 186:222-226.
18. Goudie AJ, Cooper GD, Cole JC, Sumnall HR. Cyproheptadine resembles clozapine in vivo following both acute and chronic administration in rats. *J Psychopharmacol* 2007; 21(2):179-190.
19. Simon LV, Keenaghan M. Serotonin, Syndrome. StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2018.
20. Ozdemir D, Baykara B, Aksu I, Kiray M, Sisman AR, Cetin F, et al. Relationship between circulating IGF-1 levels and traumatic brain injury-induced hippocampal damage and cognitive dysfunction in immature rats. *Neurosci Lett* 2012; 507(1):84-89.
21. Baykara B, Aksu I, Buyuk E, Kiray M, Sisman AR, Baykara B, et al. Progesterone treatment decreases traumatic brain injury induced anxiety and is correlated with increased serum IGF-1 levels; prefrontal cortex, amygdala, hippocampus neuron density; and reduced serum corticosterone levels in immature rats. *Biotech Histochem* 2013; 88(5):250-257.
22. Eren I, Nazıroğlu M, Demirdaş A. Protective effects of lamotrigine, aripiprazole and escitalopram on depression-induced oxidative stress in rat brain. *Neurochem Res* 2007; 32(7):1188-1195.
23. Hui J, Zhang Z, Liu S, Xi G, Zhang X, Teng G, et al. Adolescent escitalopram administration modifies neurochemical alterations in the hippocampus of maternally separated rats. *Eur Neuropsychopharmacol* 2010; 20(12):875-883.
24. Ishikawa T, Takechi K, Rahman A, Ago J, Matsumoto N, Murakami A, et al. Influences of histamine H1 receptor antagonists on maximal electroshock seizure in infant rats. *Biol Pharm Bull* 2007; 30(3):477-480.
25. Aksu I, Ates M, Baykara B, Kiray M, Sisman AR, Buyuk E, et al. Anxiety correlates to decreased blood and prefrontal cortex IGF-1 levels in streptozotocin induced diabetes. *Neurosci Lett* 2012; 531(2):176-181.
26. Luis CA, Mittenberg W. Mood and anxiety disorders following pediatric traumatic brain injury: a prospective study. *J Clin Exp Neuropsychol* 2002; 24:270-279.
27. Ozdemir D, Tugyan K, Uysal N, Sonmez U, Sonmez A, Acikgoz O, et al. Protective effect of melatonin against head trauma-induced hippocampal damage and spatial memory deficits in immature rats. *Neurosci Lett* 2005; 385:234-239.
28. Baykara B, Cetin F, Baykara B, Aksu I, Dayi A, Kiray M, et al. Anxiety caused by traumatic brain injury correlates to decreased prefrontal cortex VEGF immunoreactivity and neuron density in immature rats. *Turk Neurosurg* 2012; 22(5):604-610.
29. Wheaton P, Mathias JL, Vink R. Impact of pharmacological treatments on outcome in adult rodents after traumatic brain injury: a meta-analysis. *J Psychopharmacol* 2011; 25(12):1581-1599.
30. Mahesh R, Pandey DK, Katiyar S, Kukade G, Viyogi S, Rudra A. Effect of anti-depressants on neuro-behavioural consequences following impact accelerated traumatic brain injury in rats. *Indian J Exp Biol* 2010; 48(5):466-473.
31. Kuo JR, Cheng YH, Chen YS, Chio CC, Gean PW. Involvement of extracellular signal regulated kinases in traumatic brain injury-induced depression in rodents. *J Neurotrauma* 2013; 30(14):1223-1231.
32. Shapira Y, Shohami E, Sidi A, Soffer D, Freeman S, Cotev S. Experimental closed head injury in rats: mechanical, pathophysiologic, and neurologic properties. *Crit Care Med* 1988; 16(3):258-265.
33. Osteen CL, Moore AH, Prins ML, Hovda DA. Age-dependency of 45 calcium accumulation following lateral fluid percussion: acute and delayed patterns. *J Neurotrauma* 2001; 18:141-162.
34. Baky NA, Fadda L, Al-Rasheed NM, Al-Rasheed NM, Mohamed A, Yacoub H. Neuroprotective effect of carnosine and cyclosporine-A against inflammation, apoptosis, and oxidative brain damage after closed head injury in immature rats. *Toxicol Mech Methods* 2016; 26(1):1-10.
35. Mahar I, Bambico FR, Mechawar N, Nobrega JN. Stress, serotonin, and hippocampal neurogenesis in relation to depression and antidepressant effects. *Neurosci Biobehav Rev* 2014; 38:173-192.
36. Żmudzka E, Sałaciak K, Sapa J, Pytka K. Serotonin receptors in depression and anxiety: Insights from animal studies. *Life Sci* 2018; 210:106-124.
37. Garcia-Garcia AL, Canetta S, Stujenske JM, Burghardt NS, Ansorge MS, Dranovsky A, et al. Serotonin inputs to the dorsal BNST modulate anxiety in a 5-HT(1A) receptor-dependent manner. *Mol Psychiatry* 2017 Aug 1. doi: 10.1038/mp.2017.165.
38. Sari Y. Serotonin1B receptors: from protein to physiological function and behavior. *Neurosci Biobehav Rev* 2004; 28(6):565-582.
39. Benekareddy M, Goodfellow NM, Lambe EK, Vaidya VA. Enhanced function of prefrontal serotonin 5-HT(2) receptors in a rat model of psychiatric vulnerability. *J Neurosci* 2010; 30(36):12138-12150.
40. Weisstaub NV, Zhou M, Lira A, Lambe E, González-Maeso J, Hornung JP et al. Cortical 5-HT2A receptor signaling modulates anxiety-like behaviors in mice. *Science*. 2006; 28; 313(5786):536-540.
41. Bécamel C, Berthoux C, Barre A, Marin P. Growing evidence for heterogeneous synaptic localization of 5-HT2A receptors. *ACS Chem Neurosci* 2017; 8(5):897-899.