

Akut Fluoksetin Uygulamasının Kronik İmmobilizasyon Stresi Üzerine Etkileri

Mert AKSOY *, Ejder AKGÜN YILDIRIM **, Barış EKİCİ ***, Murat MENGİ ****, Ertan YURDAKOŞ ****

ÖZET

Çalışmamızda kronik immobilizasyon stres uygulanmış wistar türü albino erkek sıçanlar kullanarak akut fluoksetin uygulamasının olası anksiyolitik/anksiyojenik etkilerini araştırmaya planladık.

Deney hayvanları 3 gruba ayrıldı:

1. kontrol grup (n=8)
2. kronik immobilizasyon uygulanan grup: 15 gün süreyle günde 7'şer dakika immobilizasyon süresi uygulanan, deney öncesi intraperitoneal serum fizyolojik verilen grup (n=8).
3. akut fluoksetin uygulanan grup 15 gün süreyle günde 7'şer dakika immonobilizasyon stresi uygulanıp, deney öncesi intraperitoneal 5mg/kg fluoksetin verilen grup (n=9).

Çalışmamızda davranış testi olarak; öğrenilmiş çaresizlik ve emosyonel hafıza modeli olan Porsolt yüzme testi kullanıldı. Sonuçlar istatistiksel olarak student t testi kullanarak değerlendirildi. Kontrol grubunda beklendiği gibi, gelişen öğrenilmiş çaresizliği bağlı olarak ikinci Porsolt yüzme testinde ilk 5 dakika ve toplam immobilizasyon süreleri anlamlı olarak kıaldı. İkinci grup deney hayvanında kronik immobilizasyon stresi öğrenilmiş çaresizliğin gelişmesini bozdu; bu grupta bakılan parametrelerde birinci ve ikinci Porsolt yüzme testleri arasında anlamlı farklar bulunamadı. Üçüncü grupta kronik immobilizasyon stresi ile oluşan anksiyetenin engellendiği öğrenilmiş çaresizlik, akut fluoksetin uygulanması ile düzeldi. Bu bulgular akut fluoksetin uygulanmasının anksiyete ile bozulan emosyonel hafızayı koruduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Akut fluoksetin, anksiyete, kronik immobilizasyon

Düşünen Adam; 2002, 15(4): 205-209

SUMMARY

In this study, aimed to investigate the anxiolytic/anxiogenic effect of acute administration of fluoxetine by using chronically immobilized wistar-albino male rats. Animals were divided into three groups:

1. Control group (n=8)
2. Chronic immobilized group (8): In this group, rats were immobilized for 7 minutes in 15 days and intraperitoneal saline was administered before experiment.
3. Acute fluoxetine group (9): In this group, rats were immobilized for 7 minutes in 15 days, and intraperitoneal fluoxetine 5mg/kg was administered before experiment.

The experimental method used was Porsolt's swimming test. Results were statistically analyzed by using student's t test. In control group, as a result of learned helplessness, first 5 minutes time and total immobilization time were increased significantly during second Porsolt's swimming test. In the chronic immobilized group, chronic immobilization stress impaired learning in Porsolt's swimming test and this impairment was restored by the acute administration of fluoxetine in acute fluoxetine group. The results of these tests, taken as a whole, suggests that acute administration of fluoxetine prevents the emotional memory impaired by anxiety.

Key words: Acute fluoxetine, anxiety, chronic immobilization

* Bakırköy Ord. Prof. Dr. Mazhar Osman Ruh Sağ. ve Sınır Hast. Eğ. Araş. Hast. I. Nöroloji Kliniği, As. Dr., *** 10. Psikiyatri Kliniği, Uz. Dr., *** SSK Bakırköy Yenimahalle Kadın ve Çocuk Hastanesi, As. Dr., **** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Uz. Biolog, ***** İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı, Prof. Dr.

GİRİŞ

Fluoksetin yüksek derecede seçici bir serotonin geri alım inhibitörüdür. Bisiklik bir yapıya sahip olan bu molekül, günümüzde anksiyete bozuklukları, depresyon ile anksiyetenin eşlik ettiği depresyon tedavisinde kullanılmaktadır. Fluoksetinin akut ve kronik kullanımında anksiyete üzerinde değişik etkileri bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmalarda, kronik fluoksetin kullanımının anksiyolitik etkisi olduğu ileri sürülmüştür (1-3). Fluoksetinin akut kullanımında ise farklı görüşler ileri sürülmüş, bazı araştırma grupları akut fluoksetin kullanımının anksiyojenik etki gösterdiğini ileri sürmüşlerdir (3-4). Griebel ve ark.'larının Wistar-Kyoto sıçanlarında akut ve kronik fluoksetinin davranışsal etkilerinin araştırıldığı çalışmada akut fluoksetin uygulanması, ilaç enjeksiyonundan 24 saat sonra yükseltilmiş t testi uygulandığında anksiyolitik etki göstermiştir. Zorlu yüzme testinde ise akut fluoksetin etkisiz bulunmuştur (5). Skrebuhova ve ark.'larının yapılan çalışmada 10 ve 20 mg/kg fluoksetin uygulanması Porsolt yüzme testinde etkisiz bulunmuştur (6).

Bu çalışmamızdaki amacımız, kronik immobilizasyon stresi uygulanarak anksiyete indüklenmiş sıçanlar üzerinde (7,8) akut fluoksetin uygulanmasının olası anksiyolitik/anksiyojenik etkilerini araştırmaktır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızda ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen Wistar türü albino erkek sıçanlar kullanılmıştır. Erkek sıçanların seçilmesinin nedeni, dişi hayvanlarda hormonal siklik değişikliklerinin ve östrojenin öğrenme prosesleri üzerindeki etkileri ve davranışlarda gerginliğe yol açmasıdır. Sıçanlar standart laboratuvar koşullarında 12 saat karanlık 12 saat aydınlıkta, 20-22C sabit ısıda, % 45-% 55 nem oranında ve aynı ortamda tutuldular. Beslenmeleri, % 21 oranında protein içeren sıçan yemi ve musluk suyu ile sağlandı, laboratuvar bakım prosedürüne uyuldu (9).

Kullanılan erkek sıçanların aynı yaşlarda olmasına özen gösterilmiştir. Bunun nedeni ise, yaşlı sıçanlar ile genç sıçanlar arasındaki motor aktivite farklılıklarını ortadan kaldırmaktır. Sıçanlar genç erişkin dönemlerine kadar davranış testlerini uygulayacak

araştırmacının çıplak el temasına alıştırdı. Böylece sıçanlarda test esnasında temastan doğacak huzursuzluk en aza indirgenmesine olanak sağlamış oldu.

Deney hayvanları 3 gruba ayrıldı. Deney grupları ve her bir gruptaki hayvan sayısı aşağıdaki gibidir:

- 1. Kontrol grup (n=8):** Standart laboratuvar şartlarında tutulan grup.
- 2. Kronik immobil grup (n=8):** Bu gruptaki deney hayvanları, 15 gün boyunca Wistar türü sıçanlar için özel üretilmiş immobilizasyon kafesleri içerisinde her biri 7 dakika olmak üzere immobil tutulmuş ve enjeksiyon stresi uygulanmıştır.
- 3. Akut fluoksetin uygulanan grup (n=9):** Bu guruta, deney hayvanları 15 gün boyunca 7 dakika immobilizasyon ve enjeksiyon stres uygulanmış, deney günlerinde 5 mg/kg fluoksetin çözeltisi intraperitoneal olarak uygulanmıştır.

KRONİK İMMOBİLİZASYON ANKSİYETE MODELİ

Çalışmada 2. ve 3. hayvan grupları olan kronik immobil ve akut fluoksetin gruplarına anksiyete oluşturmak amacıyla kronik anksiyete modeli olan kronik immobilizasyon stresi uygulandı. Kronik immobilizasyon stresi, erişkin sıçanların içinde hareket etmelerine olanak vermeyecek boyutlarda olan tel, pleksiglas vb. maddelerden yapılmış kafeslerde hayvanların belirli periyotlarda, gün içinde belirli bir süre tutulmaları ile oluşturulur. Çalışmamızda 7 cm çapında 13 cm yüksekliğinde silindirik şekilde tel kafesler kullanıldı. Deney hayvanlarında 15 gün süresince, günde 7 dakika immobilizasyon stresi uygulandı. Daha önce el temasına alıştırdığımız hayvanların kafeslere yerleştirme sırasında ek bir stres yaşamalarına dikkat edildi.

PORSOLT YÜZME TESTİ

Porsolt yüzme testi, 30 cm çapında, 45 cm yüksekliğinde pleksiglas malzemeden yapılmış silindirik bir kaba 15 cm yüksekliğe kadar 25C ısıda su doldurularak gerçekleştirilir. Deney hayvanları 24 saat ara ile iki kez kaba konulup 10 dakika boyunca teste tabi tutulur. Öğrenilmiş çaresizlik ve depresyon modeli olarak kullanılan bu testte, ilk kez suya konulan deney hayvanı ortamdaki kurtulmak için çabalar ve

özellikle deney süresinin sonlarına doğru immobil kalmaya başlar. Test 24 saat sonra tekrar edilince öğrenilmiş çaresizliğe giren deney hayvanlarının çabalama süreleri kısalmışken, immobil kalam süreleri ise uzar (7,10-12). İmmobilizasyon süresi; sıçanın kulakları dahil su altında hareketsiz kalarak geçirdiği süredir. Çabalama süresi; sıçanın sıçrayarak kurtulmayı çalıştığı ve dalarak su altında çıkış aramakla geçirdiği zamandır. Testte ilk 5 dakika çabalama süresi ve total çabalama süresi kronometre aracılığı ile ölçüldü.

Testler 24 saat ara ile uygulanmıştır. Enjeksiyonlar testlere geçilmeden 15 dakika önce yapılmıştır. uygulanan testler video kamera ile kayıt edilip, daha sonra tekrar izlenerek değerlendirilmiştir.

İLAÇ UYGULAMASI

Serum fizyolojik çözeltisinde 1200 devir/dakika ile santrifüj edilen orjinal fluoksetin (PROZAC LİLY CO.) preparatı intraperitonel olarak 5 mg/kg dozda uygulandı.

PARAMETRELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Grup içi porsolt I ve porsolt II testleri arasındaki ilişkiyi değerlendirmede student t testi kullanıldı. Olasılık düzeyi olarak 0.05 istatistiksel anlamlılık değeri olarak kabul edildi.

BULGULAR

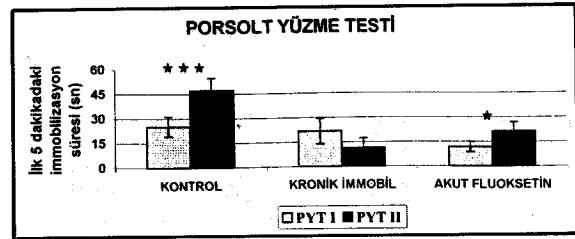
İLK 5 DAKİKADAKİ İMMOBİLİZASYON SÜRESİ

Kontrol grubundaki ilk gün Porsolt yüzme testi (PYT I) ve ikinci gün Porsolt yüzme testinden (PYT II) elde edilen ilk 5 dakikadaki immobilizasyon süreleri, PYT II'de PYT'e göre ileri derecede anlamlı olarak uzadığı görüldü.

Kronik immobil grupta PYT I ve PYT II'nin ilk 5 dakikada immobilizasyon süreleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı. Akut fluoksetin uygulanan grupta ise ilk 5 dakikadaki immobilizasyon süreleri, PYT ise ilk 5 dakikadaki immobilizasyon süreleri, PYT II'de PYT I'e göre anlamlı olarak uzadığı görüldü.

Tablo 1. Belirtilen deney gruplarında Porsolt Yüzme Testi I ve Porsolt Yüzme Testi II ilk 5 dakikadaki immobilizasyon süreleri ile farklarının mutlak değerleri.

Deney grupları	n	Porsolt Yüzme Testi I (sn)	Porsolt Yüzme Testi II (sn)	Fark
Kontrol	8	25.12±6	47.25±7.4	22.12±4.7***
Kronik immobil	8	21.62±7.8	11.25±6	-10.37±6.4
Akut fluoksetin	9	11.88±3.1	21.33±5.6	9.44±4.2



Şekil 1. Porsolt yüzme testinde, belirtilen her deney grubunun PYT I ve PYT II'den elde edilen ilk 5 dk immobilizasyon sürelerinin gruplar içindeki değişiminin istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalama (M)'nin standart hata (S.E.)'sini göstermektedir. *p<0.05, *** p<0.001

TOPLAM İMMOBİLİZASYON SÜRESİ

İlk 5 dakikadaki immobilizasyon süresindeki sonuçlara benzer şekilde kontrol grubunda PYT I ve PYT II'den elde edilen toplam immobilizasyon süreleri, PYT II'de PYT I'e göre ileri derecede anlamlı olarak uzarken, kronik immobil grupta PYT I ve PYT II'nin toplam immobilizasyon süreleri arasında anlamlı bir fark bulunamadı. akut fluoksetin uygulanan grupta ise toplam immobilizasyon süreleri, PYT II'de PYT I'e göre anlamlı olarak uzadığı görüldü.

İLK 5 DAKİKADAKİ ÇABALAMA SÜRESİ

İlk 5 dakikadaki çabalama sürelerinde sonuçlara benzer şekilde kontrol ve akut fluoksetin gruplarında PYT I ve PYT II'den elde edilen toplam çabalama süresi PYT III'de, PYT I'e göre ileri derecede anlamlı olarak kısaldığı görüldü. Kronik immobil grupta PYT I ve PYT II'nin toplam çabalama süresi arasında anlamlı bir fark bulunamadı.

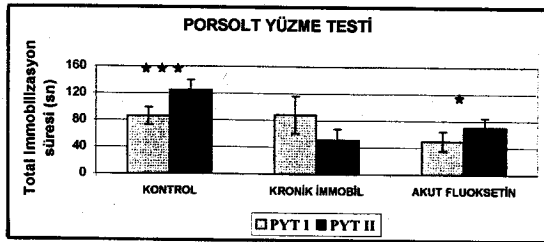
TARTIŞMA

Kontrol grubunda beklenildiği gibi gelişen öğrenilmiş çaresizliğe bağlı olarak ikinci porsolt testinde

Tablo 2. Belirtilen deney gruplarında Porsolt Yüzme Testi I ve Porsolt Yüzme Testi II total immobilizasyon süreleri ile farklarının, mutlak değerleri.

Deney grupları	n	Porsolt Yüzme Testi I (sn)	Porsolt Yüzme Testi II (sn)	Fark
Kontrol	8	85.75±13	124.62±14.9	38.8±6.7***
Kronik immobil	8	88.37±27.9	51±16.4	-37.3±25.85
Akut fluoksetin	9	49.44±14.5	70.55±13.9	21.11±10.73

n= deney hayvanı sayısı , M±SE değerleri verilmiştir.

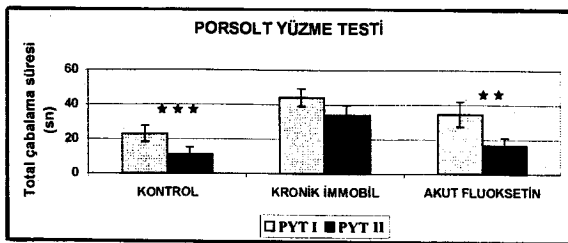


Şekil 2. Porsolt yüze testinde, belirtilen her deney grubunun PYT I ve PYT II'den elde edilen total immobilizasyon sürelerinin gruplar içindeki değişimin istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalama (M)'nin standart hata (S.E.)'sini göstermektedir. *p<0.02, ***p<0.001

Tablo 4. Belirtilen deney gruplarında Porsolt Yüzme Testi I ve Porsolt Yüzme Testi II toplam çabalama süreleri ile farklarının, mutlak değerleri.

Deney grupları	n	Porsolt Yüzme Testi I (sn)	Porsolt Yüzme Testi II (sn)	Fark
Kontrol	8	23±4.7	11.12±4.1	11.87±3.17***
Kronik immobil	8	44.25±5.1	34.1±5.6	9.9±6.8
Akut fluoksetin	9	34.66±7.3	16.55±4.4	18.11±4.3***

n= deney hayvanı sayısı , M±SE değerleri verilmiştir.



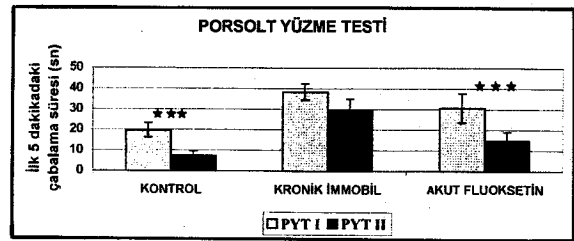
Şekil 4. Porsolt yüze testinde, belirtilen her deney grubunun PYT I ve PYT II'den elde edilen total çabalama sürelerinin gruplar içindeki değişimin istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalama (M)'nin standart hata (S.E.)'sini göstermektedir. *** p<0.001

immobilizasyon süresi uzamış, çabalama süresi ise kısalmıştır. Kronik immobilizasyon stresi uygulanan

Tablo 3. Belirtilen deney gruplarında Porsolt Yüzme Testi I ve Porsolt Yüzme Testi II ilk 5 dakikadaki çabalama süreleri ile farklarının, mutlak değerleri.

Deney grupları	n	Porsolt Yüzme Testi I (sn)	Porsolt Yüzme Testi II (sn)	Fark
Kontrol	8	19.62±3.5	7.37±2.2	12.25±2.2***
Kronik immobil	8	38.25±4	29.3±5.7	8.4±5.5
Akut fluoksetin	9	30.55±7	14.77±4.2	15.77±4.8***

n= deney hayvanı sayısı , M±SE değerleri verilmiştir.



Şekil 3. Porsolt yüze testinde, belirtilen her deney grubunun PYT I ve PYT II'den elde edilen ilk 5 dk çabalama sürelerinin gruplar içindeki değişimin istatistiksel olarak incelenmesi. Dikey çizgiler ortalama (M)'nin standart hata (S.E.)'sini göstermektedir. *** p<0.001

kronik immobil grubunda ise, öğrenilmiş çaresizliğin gelişmediği, birinci ve ikinci porsolt testleri arasında baktığımız parametreler açısından bir farklılığın oluşmadığını gözlemledik. Bilindiği gibi öğrenilmiş çaresizlik bir emosyonel öğrenme biçimidir (11,12). Anksiyete ise ister emosyonel ister deklaratif olsun öğrenme proseslerini bozmaktadır. Sonuç olarak kronik immobil grubunda uygulanan kronik immobilizasyona bağlı anksiyete gelişmiştir.

Akut fluoksetin grubunda ise bakılan değerler, kontrol grubu değerlerine yaklaşmış, ikinci porsolt testinde bu grupta immobilizasyon süresi uzarken, çabalama süresi ise anlamlı olarak kısalmıştır.

Literatürdeki çalışmalarda akut fluoksetin uygulamasının anksiyete üzerine etkisi ile ilgili çelişkili sonuçlar bildirilmiştir. Akut uygulamanın kronik uygulamanın tersine anksiyojenik olduğunu bildirir çalışmalar çoğunluktadır (1-4). Porsolt yüze testinde ise akut uygulamanın etkisiz olduğu yönünde bilgiler mevcuttur (5,6). Bu çalışmaların büyük bir kısmında normal sıçanlar kullanılmış, ilacın akut uygulamasının etkileri sağlıklı sıçanların davranış deneylerinde ve klinik deney modellerinde ki anksiyete pa-

rametreleri ölçülerek değerlendirilmiştir. Biz çalışmamızda anksiyete gelişmiş deney hayvanları kullandık ve akut fluoksetin uygulamasının anksiyolitik etkili olduğunu gözlemledik. Çalışmamızda kronik immobilizasyon stresinin kullanılmış olması, süregelen anksiyete üzerinde akut uygulamanın etkisini görme fırsatı vermiştir. Literatürdeki bulgulardan kısmen farklı sonuç elde edilmesi, muhtemelen kronik anksiyete işleyişi ve duyarlılığı değişmiş merkezi sinir sistemi yanıtına bağlıdır.

Bu sonuçlar akut 5 mg/kg fluoksetin i.p. uygulamasının kronik immobilizasyon stresi ile oluşturulmuş anksiyetenin emosyonel hafızayı koruduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

1. Carli M, Prontera C, Samanin R: Effect of 5-HT1A agonists on stress-induced deficit in the open-field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic activity. *Neuropharmacol* 28:471-476, 1989.
2. Bagdy G, Graf M, Anheuer ZE, Modos Ea, Kantor S: Anxietylike effects in induced by acute fluoxetine. sertraline, sertralineor m-CPP treatment are reserved by pretreatment with the 5-

- HT2C receptor antagonists SB-242084 but not the 5-HT1A receptor antagonists WAY-100635. *Int J Neuropsychopharmacol* 4:399-408, 2001.
3. Belzung C, Le Guisquet Am, Barreau S, Calatayud F: An investigation of the mechanisms responsible for acute fluoxetine induced anxiogenic-like effects in mice. *Behav Pharmacol* 12:151-62, 2001.
4. Kurt M, Arik AC, Çelik S: The effects of sertraline and fluoxetine on anxiety in the elevated plus-maze test in mice. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 11:173-180, 2000.
5. Griebel G, Cohen C, Perrault G, Sanger DJ: Behaviora effects of acute and chronic fluoxetine in Wistar-Kyoto rats. *Physiol Behav* 67:315-320, 1999.
6. Skrebuhova T, allikmets L, Matto V: Effects of anxiogenic durgs in rat forced swimming test. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 21:173-178, 1999.
7. Henke PG: The amygdala and forced immobilization of rats. *Behav Brain Res* 16:19-24, 1985.
8. Johnston AL, Baldwin HE, File SE: Measures of anxiety and stress in the rat following chronic treatment with yohimbine. *J Psychopharmacol* 2:33-38, 1988.
9. Bures J, Buresova O, Huston JP: Techniques and basic experiments for the study of brain and behavior. 1 st Edition, Elsevier Company, Amsterdam 1976.
10. Nishimura H, Tsuta A, Oguchi M, et al: Is immobility of rts in the forced swim test "behavioral despair?". *Physiol Beh* 42:93-95, 1988.
11. Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M: Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 47:379-391, 1993.
12. Porsolt RD, Le Pichon M, Jalfre M: Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. *Nature*: 266:730-732, 1997.