

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

***SALVIA HELDREICHIANA*'NIN (AYAKLI ŞALBA ADA ÇAYI)
TEK VE TEKRARLAYAN DOZDA
SIÇANLAR ÜZERİNDEKİ ANKSİYOLİTİK ETKİSİ**

Arş. Gör. Dr. Ahmet Onur DAŞTAN

UZMANLIK TEZİ
Olarak hazırlanmıştır.

ANKARA

2023

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANA BİLİM DALI

***SALVIA HELDREICHIANA*'NİN (AYAKLI ŞALBA ADA ÇAYI)
TEK VE TEKRARLAYAN DOZDA
SIÇANLAR ÜZERİNDEKİ ANKSİYOLİTİK ETKİSİ**

Arş. Gör. Dr. Ahmet Onur DAŞTAN

UZMANLIK TEZİ
Olarak hazırlanmıştır.

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. Ayşen ERDEM

ANKARA
2023

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim süresince aktardığı bilgi ve deneyimlerinin yanı sıra hoşgörüsü ile yolumu aydınlatan, öğrencisi olmaktan gurur ve mutluluk duyduğum tez danışmanım ve Ana Bilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Ayşen ERDEM'e,

Tez sürecimin başından sonuna kadar her aşamasında destek veren, hem yol gösterip hem yoldaşlık eden, bilimselliği ve çok yönlü kişiliği ile örnek aldığım değerli hocam Sayın Doç. Dr. Okan ARIHAN'a,

Değerli görüşleri, farklı bakış açısı ve eşsiz el becerisi ile deney sürecini kolaylaştıran kıymetli hocam Sayın Öğr. Gör. Dr. Aslı Şan DAĞLI GÜL'e,

Salvia heldreichiana bitkisinin toplanması ve uçucu yağının elde edilmesinde değerli vakit ve emeklerini esirgemeyen Sayın Doç. Dr. Gülderen YILMAZ'a ve Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi çalışanlarına,

Çalışmalarımda yardımcı olan bütün değerli arkadaşlarıma,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgilerinden ve tecrübelerinden istifade ettiğim Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalındaki tüm değerli hocalarıma, birlikte çalışmaktan keyif aldığım kıymetli araştırma görevlisi arkadaşlarıma ve idari personele,

Değerli eleştiri ve önerileri ile tez içeriğinin düzenlenmesi ve zenginleşmesinde büyük katkıları olan saygıdeğer tez jürisi üyelerinden Sayın Prof. Dr. Neslihan Hacer DİKMENOĞLU FALKMARKEN ve Sayın Doç. Dr. Meltem TUNCER'e,

Kaygılı anlarımda beni sakinleştiren, cesaret ve güç veren annem Ayşe DAŞTAN ile desteğini ve dualarını eksik etmeyen babam Yusuf DAŞTAN'a sonsuz minnet ve şükranlarımı sunarım.

Bu tez, Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TTU-2021-19696 proje numarası ile desteklenmiştir.

ÖZET

Daştan, A.O., *Salvia heldreichiana*'nın (Ayaklı Şalba Ada Çayı) Tek ve Tekrarlayan Dozda Sıçanlar Üzerindeki Anksiyolitik Etkisi, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Fizyoloji Uzmanlık Tezi, Ankara, 2023. Anksiyete bozukluklarının akut tedavisinde kullanılabilecek etki başlangıcı hızlı, yan etkisi az tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır. Bu ihtiyaca cevap verebilmek adına, çalışmamızda Türkiye'de endemik olan *Salvia heldreichiana*'nın anksiyolitik benzeri etkisi araştırılmıştır. Bitkinin uçucu yağının, kısa uygulama sürelerinde, sıçanlardaki anksiyete benzeri davranışlar üzerindeki etkisi incelenmiştir. Uçucu yağ, anksiyolitik etkisi bilinen diazepamla karşılaştırılmıştır. Toplamda 48 adet *Wistar* albino erkek sıçan kullanılmıştır. Deney 1'de *Salvia heldreichiana* uçucu yağı 200 mg/kg/gün dozda, oral gavajla bir kez uygulanmıştır (tek doz). Deney 2'de ise aynı doz, ardışık 5 gün uygulanmıştır (tekrarlayan doz). Sonrasında hayvanların anksiyete benzeri davranışları açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi ile değerlendirilmiştir. *Rotarod* testi ile uçucu yağın olası sedatif etkisi ve motor aktivite üzerindeki etkisi incelenmiştir. Hipokampal noradrenalin, serotonin, gama amino bütirik asit düzeyleri ile serum kortizol düzeylerine bakılarak olası anksiyolitik benzeri etkinin altta yatan mekanizması araştırılmıştır. Son olarak bazı karaciğer ve böbrek fonksiyon testi parametreleriyle uçucu yağın hepatotoksik ve nefrotoksik etkileri değerlendirilmiştir. *Salvia heldreichiana* uçucu yağı, açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyete benzeri davranışları azaltmamıştır. Ancak diazepam da anksiyete benzeri davranışlarda belirgin bir etki göstermemiştir. Hem *Salvia heldreichiana* uçucu yağı hem de diazepam serum kortizol düzeylerini azaltmıştır. Çalışmamız, *Salvia heldreichiana*'nın anksiyolitik benzeri etkisini araştıran bildiğimiz kadarıyla ilk çalışmadır. *Salvia heldreichiana* uçucu yağının, diazepamla benzer şekilde serum kortizol düzeylerini düşürmesi anksiyolitik benzeri etkisi açısından önemli bir göstergedir. Bununla birlikte *Salvia heldreichiana* uçucu yağının hipokampal serotonin düzeylerini artırma eğiliminde olduğu izlenmiştir. *Salvia heldreichiana* uçucu yağının anksiyolitik benzeri etkisinin, farklı dozlarla ve koşullu anksiyete modelleri ile değerlendirilmesi daha net sonuçlar verebilir. 200 mg/kg/gün dozundaki *Salvia heldreichiana* uçucu yağı, incelenen parametrelerde nefrotoksik ve hepatotoksik etki göstermemiştir.

Anahtar Kelimeler: Anksiyete, *Salvia*, Kortizol, Açık alan testi, Yükseltilmiş artı labirent testi

Destekleyen Kuruluşlar: Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri TTU-2021-19696

ABSTRACT

Daştan, A.O., Anxiolytic Effect of Single and Repeated Doses *Salvia heldreichiana* on Rats, Hacettepe University Faculty of Medicine, Thesis in Physiology, Ankara, 2023. There is a need for treatment options with a rapid onset of action and fewer side effects that can be used in the acute treatment of anxiety disorders. To meet this need, the anxiolytic-like effect of *Salvia heldreichiana*, which is endemic in Turkey, was investigated in our study. The plant's essential oil on anxiety-like behavior in rats at short exposure times was studied. The essential oil was compared with diazepam, whose anxiolytic effect is well known. A total of 48 *Wistar* albino male rats were used. In Study 1, *Salvia heldreichiana* essential oil was applied once by oral gavage at a dose of 200 mg/kg/day (single dose). In Study 2, the same dose was administered for five consecutive days (repeated doses). Then anxiety-like behaviors of the animals were evaluated with the open field test and the elevated plus maze test. The possible sedative effect of essential oil and the effect of essential oil on motor activity were investigated with the rotarod test. The underlying mechanism of the possible anxiolytic-like effect was investigated by examining the hippocampal noradrenaline, serotonin, gamma amino butyric acid levels, and serum cortisol levels. Finally, essential oil's hepatotoxic and nephrotoxic effects were evaluated with some liver and kidney function test parameters. *Salvia heldreichiana* essential oil did not reduce anxiety-like behavior in open field and elevated plus maze tests. However, diazepam also did not show a significant effect on anxiety-like behaviors. Both *Salvia heldreichiana* essential oil and diazepam reduced serum cortisol levels. To the best of our knowledge, this study is the first to investigate the anxiolytic-like effect of *Salvia heldreichiana*. *Salvia heldreichiana* essential oil reduced serum cortisol levels, similar to diazepam, which indicates its anxiolytic-like effect. In addition, a tendency to increase hippocampal serotonin levels was observed. Evaluation of the anxiolytic-like effect of *Salvia heldreichiana* essential oil with different doses and conditional anxiety models may yield more precise results. *Salvia heldreichiana* essential oil at a 200 mg/kg/day dose did not show nephrotoxic and hepatotoxic effects in the investigated parameters.

Keywords: Anxiety, *Salvia*, Cortisol, Open field test, Elevated plus maze test

Supported by: Hacettepe University Scientific Research Projects TTU-2021-19696

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
SİMGELER ve KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER	x
TABLolar	xi
1. GİRİŞ	1
1.1. Çalışmanın Amaçları	2
1.2. Çalışmanın Hipotezleri	2
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Anksiyete Bozuklukları ve Anksiyetenin Akut Tedavisi	4
2.2. Anksiyetenin Nörobiyolojisi	6
2.2.1. Anksiyete ile ilişkili Nöroanatomik Yapılar	7
2.2.2. Anksiyete ile ilişkili Nörokimyasallar	10
2.3. Anksiyete Araştırmalarında Hayvan Modeli Kullanımı	17
2.4. Deney Hayvanlarında Sıklıkla Kullanılan Anksiyete Modelleri	19
2.4.1. Koşulsuz Anksiyete Modelleri	19
2.4.2. Koşullu Anksiyete Modelleri	22
2.5. <i>Salvia</i> (Ada çayı) Türlerinin Anksiyolitik Etkisi ve <i>Salvia heldreichiana</i>	23

3. GEREÇ VE YÖNTEM	27
3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları	27
3.2. <i>Salvia heldreichiana</i> Uçucu Yağının Elde Edilmesi	27
3.3. Kullanılan İlaç ve Kimyasallar	28
3.4. Deneyler	28
3.4.1. Deney 1: Tek Doz	28
3.4.2. Deney 2: Tekrarlayan Doz	38
3.5. İstatistiksel Analiz	39
4. BULGULAR	40
4.1. Davranış Deneylerine İlişkin Veriler	40
4.1.1 Açık Alan Testi Bulguları	40
4.1.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Bulguları	42
4.1.3. <i>Rotarod</i> Testi Bulguları	44
4.2. Hipokampüs Dokusuna Ait Bulgular	44
4.3. Serum Parametreleri	47
5. TARTIŞMA	51
5.1. Davranış Testi Bulgularının Tartışması	51
5.2. Hipokampüs Bulgularının Tartışması	54
5.2.1. Hipokampal Noradrenalin Miktarı	55
5.2.2. Hipokampal GABA Miktarı	56
5.2.3. Hipokampal 5-HT Miktarı	56

5.3. Serum Bulgularının Tartışması	57
------------------------------------	----

6. SONUÇ VE ÖNERİLER	59
-----------------------------	----

7. KAYNAKLAR	61
---------------------	----

8. EKLER

EK 1: T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğünün 20.10.2020 Tarihli Yazısı

EK 2: *Salvia heldreichiana* Bitkisinin Toplanabilmesine Dair T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünden Alınan Onay



SİMGELER VE KISALTMALAR

5-HT	Serotonin
5-HTT	Serotonin Taşıyıcısı
ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
AKGY	Açık Kollara Giriş Yüzdesi
AKGSY	Açık Kollarda Geçirilen Süre Yüzdesi
ALT	Alanin Amino Transferaz
AMPA	Amino-3-hidroksi-5-Metilizoksazol-4-Propiyonik Asit
APA	Amerikan Psikiyatri Birliği
AST	Aspartat Transaminaz
AŞ	Anonim Şirketi
BCA	Bikinkoninik Asit
BDT	Bilişsel Davranışçı Terapi
BNST	Stria Terminalis Yatak Çekirdeği
BSA	Sığır Serum Albümini
BUN	Kan Üre Azotu
CCK-4	Kolesistokinin Tetrapeptit
CRH	Kortikotropin Serbestleştirici Hormon
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GABA	Gama-Amino Bütirik Asit
HHA	Hipotalamus Hipofiz Adrenal Aksı
HRP	Horseradish Peroksidaz
HTT	Serotonin Taşıyıcısı
NMDA	N-Metil-D-Aspartat
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
S.	<i>Salvia</i>
SERT	Serotonin Taşıyıcısı
SNRI	Serotonin Noradrenalin Geri Alım İnhibitörleri
SSRI	Selektif Serotonin Geri Alım İnhibitörleri
T.C.	Türkiye Cumhuriyeti
Tmax	Maksimum konsantrasyona ulaşma süresi

ŞEKİLLER

Şekil	Sayfa
2.1. GABA _A reseptörünün şematik gösterimi	12
2.2. Açık alan testi	20
2.3. Yükseltilmiş artı labirent	21
2.4. Aydınlık/karanlık kutu testi	22
2.5. <i>Salvia heldreichiana</i> Boiss. ex Benth	25
3.1. Deney protokolündeki istasyonlar ve 5 dakikalık sürelerle sıçanların sonraki istasyona geçmesi	29
3.2. Oral gavaj uygulaması	30
3.3. Açık alan testinin tabanı	31
3.4. Yükseltilmiş artı labirent testi	32
3.5. <i>Rotarod</i> testi	33
3.6. Hipokampüsün çıkarılması	34
4.1. Deney 1, açık alan testi tımarlanma sayıları	42
4.2. Deney 2, açık alan testi şahlanma sayıları ve tımarlanma süresi	42
4.3. Deney 1, hipokampüs dokusu noradrenalin düzeyleri	46
4.4. Deney 1, hipokampüs dokusu GABA düzeyleri	46
4.5. Deney 1 ve Deney 2, hipokampüs dokusu 5-HT düzeyleri	46
4.6. Deney 1, serum kortizol düzeyleri	49
4.7. Deney 2, serum kortizol düzeyleri	49
4.8. Deney 2, serum kreatinin düzeyleri	50
5.1. Farklı anksiyete modelleri arasındaki ilişkiyi gösteren bir model	52

TABLOLAR

Tablo	Sayfa
2.1. Çeşitli <i>Salvia</i> türlerinin anksiyolitik özelliğini araştıran çalışmalar	24
3.1. Deney 2'nin uygulanma şeması	38
4.1. Sıçanların deney öncesi vücut ağırlıklarına dair veriler	40
4.2. Açık alan testine ait veriler (Deney 1)	41
4.3. Açık alan testine ait veriler (Deney 2)	41
4.4. Yükseltilmiş artı labirent testine ait veriler (Deney 1)	43
4.5. Yükseltilmiş artı labirent testine ait veriler (Deney 2)	43
4.6. <i>Rotarod</i> testine ait veriler (Deney 1)	44
4.7. <i>Rotarod</i> testine ait veriler (Deney 2)	44
4.8. Hipokampus dokusu noradrenalin, GABA ve 5-HT düzeyleri (Deney 1)	45
4.9. Hipokampus dokusu noradrenalin, GABA ve 5-HT düzeyleri (Deney 2)	45
4.10. Serum kortizol, ALT,AST, kreatinin, üre ve BUN düzeyleri (Deney 1)	47
4.11. Serum kortizol, ALT,AST, kreatinin, üre ve BUN düzeyleri (Deney 2)	48

1. GİRİŞ

Anksiyete bozuklukları tüm dünyada ve tüm yaş gruplarında en sık görülen psikolojik bozukluktur (1). Tedavisinde sıklıkla antidepresanlara başvurulmaktadır. Ancak antidepresanlar, anksiyolitik etkilerinin geç başlaması nedeniyle anksiyete bozukluklarının akut tedavisinde kullanılamamaktadır. Anksiyete bozukluklarının akut tedavisinde kullanılabilecek az sayıda farmakolojik ajan bulunmaktadır. Bu ajanların neden olabildiği istenmeyen etkiler kullanımlarını sınırlamaktadır. Bu nedenle akut tedavide kullanılabilecek, yan etki profili dar, yeni tedavi seçeneklerine ihtiyaç duyulmaktadır.

Anksiyete bozukluğundan muzdarip hastaların çeşitli nedenlerle tamamlayıcı tedavi seçeneklerine yönelimi giderek artmaktadır (2). Tamamlayıcı tedaviler arasında sıklıkla bitkisel kökenli ürünler tercih edilmektedir. T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü'nün 20.10.2020 tarihli yazısında (Bkz. EK-1) belirtildiği üzere ülkemiz Tıbbi ve Aromatik Bitkiler açısından büyük bir potansiyele sahiptir. Çalışmada Türkiye'nin endemik türlerinden olan *Salvia heldreichiana* (*S. heldreichiana*) Boiss. ex Bentham uçucu yağının anksiyolitik benzeri etkisi araştırıldı. Bu türün seçilmesinde etkili olan nedenler:

- *S. heldreichiana* uçucu yağındaki monoterpenlerin anksiyolitik benzeri etkisini gösteren çalışmalar (3-6),
- Başka *Salvia* (Adaçayı) türlerinin anksiyolitik benzeri etkisini ortaya koyan çalışmaların (7-16) olması ve *S. heldreichiana* uçucu yağı içeriğinin bu türlerin içeriğine benzemesi,
- Ön çalışmada (17) elde ettiğimiz *S. heldreichiana* uçucu yağının anksiyolitik benzeri etki gösterebileceğine dair veriler,
- Türün endemik oluşu,
- Literatürde bu türün anksiyolitik benzeri etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmaya rastlanmaması.

1.1. Çalışmanın Amaçları

S. heldreichiana uçucu yağının sıçanlar üzerindeki akut anksiyolitik benzeri etkisini araştırmak ve fizyolojik parametrelerle bu etkinin olası mekanizmalarını ortaya koymak çalışmanın esas amacıdır. Bu amaçla *S. heldreichiana* uçucu yağı tek doz (200 mg/kg) ve tekrarlayan dozda (200 mg/kg/gün, 5 gün), oral yolla uygulandı. Sıçanların anksiyete benzeri davranışlarının, koşulsuz anksiyete testleri olan yükseltilmiş artı labirent ve açık alan testleri ile incelendi. Ayrıca *rotarod* testi kullanılarak *S. heldreichiana* uçucu yağının olası sedatif etkisi ve lokomotor aktivite üzerine etkisi değerlendirildi. Muhtemel anksiyolitik benzeri etkinin hangi mekanizmalar üzerinden gerçekleştiğini saptamak amacıyla hipokampal serotonin, noradrenalin, gama-amino bütirik asit (GABA) düzeyleri ve serum kortizol düzeyi incelendi. Karaciğer fonksiyon testleri (serum alanin amino transferaz - ALT, serum aspartat transaminaz - AST) ve böbrek fonksiyon testleri (serum üre, serum kreatinin ve kan üre azotu -BUN) ile *S. heldreichiana* uçucu yağının karaciğer ve böbrek üzerindeki olası istenmeyen etkileri değerlendirildi.

1.2. Çalışmanın Hipotezleri

- *S. heldreichiana* uçucu yağının tek doz, 200 mg/kg, oral yolla uygulanması; açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testinde kontrole kıyasla sıçanların anksiyete benzeri davranışlarını azaltır.
- *S. heldreichiana* uçucu yağının tek doz, 200 mg/kg, oral yolla uygulanması; *rotarod* testinde pozitif kontrole (diazepam) kıyasla sıçanların lokomotor aktivitelerini etkilemez, sedatif bir etki göstermez.
- *S. heldreichiana* uçucu yağının tek doz, 200 mg/kg, oral yolla uygulanması; kontrole kıyasla hipokampus dokusu serotonin, noradrenalin ve GABA düzeyleri ile serum kortizol düzeyinde değişikliklere sebep olur.

- *S. heldreichiana* uçucu yağının tek doz, 200 mg/kg, oral yolla uygulanması; kontrole kıyasla karaciğer ve böbrek fonksiyon testlerinde değişikliğe neden olmaz.
- Aynı hipotezler *S. heldreichiana* uçucu yağının tekrarlayan dozda (5 gün), 200 mg/kg/gün, oral yolla uygulandığı 2. deney için de geçerlidir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Anksiyete Bozuklukları ve Anksiyetenin Akut Tedavisi

Anksiyete herkesin zaman zaman hissettiği, bizi gelebilecek tehditlere karşı uyarıcı, nahoş ancak normal bir duygudur (18). Anksiyetenin önemli sorunlara yol açacak derecede aşırı veya uzun süreli hissedilmesi ise patolojik olup anksiyete bozukluğu olarak tanımlanır (19).

Dünya genelinde yapılan çalışmalar anksiyete bozukluklarının bütün yaş gruplarında en sık görülen zihinsel bozukluk olduğunu ortaya koymaktadır (1, 18-20). Yaygın görülmesi, uzun süreli tedavi gereksinimi, tekrarlayabilmesi ve başka psikolojik rahatsızlıklarla birlikte görülmesi nedeniyle anksiyete bozuklukları önemli bir sosyoekonomik yük oluşturmaktadır (2, 19, 21). Son zamanlarda yapılan küresel hastalık yükü çalışmaları, hastalıkların sebep olduğu yeti yitimi ve mortaliteyi açıklamak için Yeti Yitimine Ayarlanmış Yaşam Yılları¹ kavramını kullanmaktadır. Bu kavram, yeti yitimi ile geçirilen yıllar² ile erken ölümler nedeniyle kaybedilen yılların³ toplamını ifade eder (1). Anksiyete bozuklukları tüm zihinsel, nörolojik ve madde kullanım bozukluklarının sebep olduğu Yeti Yitimine Ayarlanmış Yaşam Yılları'nın yüzde 10'unu açıklamaktadır (18, 22).

Anksiyete bozuklukları başlığı altında birbirinden farklı hastalıklar yer almaktadır. Amerikan Psikiyatri Birliği (APA) anksiyete bozukluklarını birkaç ana alt grupta toplamaktadır: Özgül fobi, ayrılma kaygısı bozukluğu, seçici konuşmazlık, sosyal anksiyete bozukluğu, panik bozukluğu, agorafobi, yaygın anksiyete bozukluğu, maddenin/ilacın neden olduğu anksiyete bozukluğu, başka bir sağlık durumuna bağlı anksiyete bozukluğu, tanımlanmış diğer bir anksiyete bozukluğu, tanımlanmamış kaygı bozukluğu. Obsesif kompulsif bozukluk ve travma sonrası stres bozukluğu artık anksiyete bozuklukları arasında sınıflandırılmamaktadır (23).

¹ Disability Adjusted Life Years

² Years Lived with Disability

³ Years of Lost Life

Anksiyete bozukluklarının tedavisinde, alt gruplar arasında farklılıklar olmakla birlikte, farmakolojik ajanlardan, psikolojik tedavi yöntemlerinden veya ikisinin kombinasyonundan faydalanılır (2, 20).

Bilişsel davranışçı terapi (BDT) psikolojik tedavi yöntemlerinden en etkin olanıdır (20). Ancak BDT ile tedavi uzun bir zaman (12-20 hafta) gerektirmektedir. Son zamanlarda ortaya çıkan yoğun BDT ile daha hızlı sonuçlar almak hedeflenmiştir. Ancak anksiyete bozukluklarının akut tedavisindeki etkinliği bilinmemektedir (24).

Anksiyete bozukluklarının farmakolojik tedavisinde benzodiazepinler, antidepresanlar, antikonvülsanlar, antipsikotikler, buspiron, agomelatin, ketiapin ve propranolol gibi birçok sınıftan ilaçlar kullanılmaktadır. Selektif serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI'lar) ve serotonin noradrenalin geri alım inhibitörleri (SNRI'lar) genellikle ilk tedavi seçeneği olarak kullanılmaktadır (2, 18, 25, 26). SSRI'lar ve SNRI'lar ile tedaviye başlandıktan en erken 2-4 hafta sonra tedavi edici etki izlenebilmektedir (2, 25). Kronik anksiyetenin uzun süreli kontrolünde etkili olmalarına karşın tedavi edici etkilerinin geç başlaması nedeniyle bu ajanlar akut anksiyolitik tedavide kullanılamamaktadır (27). Hatta tedavi başlangıcında bazı hastalarda anksiyete semptomlarını daha da kötüleştirebilirler (25, 27).

Benzodiazepinlerin anksiyolitik etki başlangıcı hızlıdır. Panik atak ve performans anksiyetesi gibi akut durumlarda hızlı anksiyolitik etkisi nedeniyle tercih edilirler (2). Akut prosedürel anksiyete tedavisinde de ilk tedavi seçeneği olarak önerilmektedir (28). Ayrıca benzodiazepinler tedavi başlangıcında 3-4 hafta kadar antidepresanlara ek olarak kullanılabilirler. Bunun iki amacı vardır: Birincisi antidepresanların tedavi edici etkisi ortaya çıkana kadar anksiyete semptomlarını azaltmak, ikincisi antidepresanların tedavi başındaki olumsuz etkilerinin tolere edilmesini sağlamaktır. Benzodiazepinlerin en sık görülen yan etkileri baş dönmesi ve sedasyondur (2). Diğer potansiyel yan etkileri arasında uyuşukluk, sersemlik, bilişsel bozukluk, motor koordinasyon bozukluğu ve amnezi sayılabilir (28). Benzodiazepin kullanan hastalar araç ve tehlikeli ekipman kullanmamaları konusunda uyarılmalıdır.

(2, 28). Sözü edilen yan etkiler, benzodiazepinlerin akut anksiyete tedavisinde kullanımını sınırlandırmaktadır.

Buspiron yaygın anksiyete bozukluğunda etkilidir. Ancak tedavi yanıtının ortaya çıkması için birkaç hafta gerekmektedir (2, 25). Bu nedenle anksiyete bozukluklarının akut tedavisinde tercih edilmezler. Antikonvülsan etkisi bilinen pregabalin hem akut tedavide hem de profilaktik olarak, tek başına veya ek tedavi şeklinde kullanılabilir. Ancak akut tedavi sırasında baş dönmesi ve uykululuk hali sık görülen yan etkileridir. Agomelatin; melatonin MT1 ve MT2 reseptörlerine agonist, serotonin 5HT_{2C} reseptörlerine antagonist etki gösterir. Yaygın anksiyete bozukluğunun akut tedavisinde ve profilaksisinde etkili olduğuna dair çalışmalar mevcuttur. Sedasyon yapıcı etkisi vardır (2, 26). Antipsikotik ajanlardan ketiapin, yaygın anksiyete bozukluğunun hem akut hem de idame tedavisinde kullanılabilir. Baş dönmesi ve uykululuk hali yaygın görülen yan etkilerindendir (2, 26, 29). Propranolol ve atenolol gibi beta blokörler taşikardi, tremor gibi fiziksel semptomları azaltırlar. Özellikle performans anksiyetesi için önerilmektedirler (2, 18, 25, 26). Ancak beta blokörlerin etkinliğine dair kanıtlar çelişkilidir (2, 18).

Özellikle performans anksiyetesi tedavisinde, akut prosedürel anksiyete tedavisinde ve antidepresanların anksiyolitik etkisinin ortaya çıkmasına kadar geçen sürede daha az yan etki profiline sahip, bilişsel ve motor işlev bozukluğuna neden olmayacak yeni tedavi seçeneklerine gereksinim duyulmaktadır.

2.2. Anksiyetenin Nörobiyolojisi

Anksiyetenin ortaya çıkmasında görev alan nöroanatomik yapılar ve nörokimyasal maddeler hakkındaki bilgi birikimi her geçen gün artmaktadır. Anksiyetenin altında yatan mekanizmaların bilinmesi, anksiyete bozukluklarının farmakolojik tedavisi için yeni hedefler ortaya çıkaracaktır (30). Anksiyetenin nörobiyolojisinin anlaşılmasında hayvan çalışmaları oldukça önemlidir. Bunun yanında görüntüleme teknolojisindeki gelişmeler, anksiyete ile ilişkili mekanizmaların insan çalışmalarında da gösterilmesini sağlamıştır (31, 32).

2.2.1. Anksiyete ile İlişkili Nöroanatomik Yapılar

Hayvan Çalışmalarında Öne Çıkan Nöroanatomik Yapılar

Hayvanlar özellikle de kemirgenler üzerinde yapılan çalışmalar anksiyetenin ortaya çıkmasında görev alan beyin bölümlerini anlamamızı sağlamıştır (32, 33) . Bu çalışmalarda sıklıkla korku koşullandırması (*fear conditioning*) modeli ve avcıya (kendisi veya kokusuna) maruz bırakma modeli uygulanır (33).

Korku koşullandırması modelinde hayvana zararsız bir uyarıdan (ses gibi) hemen sonra caydırıcı bir uyarı (elektrik şoku gibi) verilir. Bu durum tekrarlandığında hayvan, zararsız uyarıyı caydırıcı uyarı için bir işaret olarak öğrenir. Bu durumda zararsız uyarı *koşullu uyarı*, caydırıcı uyarı ise *koşulsuz uyarı* olarak adlandırılır. Bu öğrenmeden sonra tek başına koşullu uyarı verilmesi durumunda bile hayvan, koşulsuz uyarıya maruz kalacağını öngörüp korku ve anksiyete belirtileri gösterir (32). Bu modelde **amigdala** merkezi bir rol oynar. Tehdit edici görsel, işitsel ve somatik uyarılar talamus ve korteksten sonra **amigdalanın lateral çekirdeğine** gelir. Koşullu ve koşulsuz uyarı hakkındaki bilgi bu çekirdekte birleştirilir. Koşullu korku öğrenmesi muhtemelen bu çekirdekte gerçekleşir. Buradan çıkan uyarılar direkt **amigdalanın merkezi çekirdeğine** projekte olabilir veya önce **bazolateral çekirdeğe** oradan merkezi çekirdeğe projekte olabilirler. Bazolateral çekirdeğin işlevi tartışmalıdır; korku koşullandırmasının uzun süreli belleğe işlenmesinde görevi olduğu düşünülmektedir. Merkezi çekirdekten çıkan nöronlar hipotalamus ve beyin sapına projekte olup korku ve anksiyete cevabını oluşturur (32, 33). **Peririnal korteks** görsel uyarıların kullanıldığı korku koşullandırmasında bilgilerin amigdalaya iletilmesinde görev alır (32).

Avcıya maruz bırakma, doğuştan gelen bir korku tepkisine neden olur. Korku koşullandırmasında olduğu gibi sonradan öğrenilmez. Bu modelde görev alan anatomik yapılar farklılıklar gösterir. Bu modelde koku duyusu önemlidir. Avcının kokusu önce **aksesuar koku soğanında** (*olfactory bulb*) işlenir. Aksesuar koku soğanı **amigdala medial çekirdeğine** projekte olur. Medial çekirdeği hasarlı ancak merkezi çekirdeği sağlam sıçanların kedi kokusuna maruz bırakıldıklarında korku tepkilerinde

azalma olduğu gösterilmiştir. Avcının kendisi ile karşılaşan hayvanlarda ise amigdala medial çekirdeği ile birlikte **posterior bazomedial çekirdek** ve **lateral çekirdeğin kaudal kısmının** aktivasyonu gözlenmiştir. Amigdaladan çıkan uyarılar direkt olarak veya *stria terminalis* yatak çekirdeği (BNST) üzerinden hipotalamus ventromedial çekirdeğine projekte olur (33).

Hipokampüsün her iki modelde de tehdit edici uyarıları çevreyle ilişkilendirme görevi vardır (33). Bağlamsal korku koşullandırmasında, hayvan yeni bir ortama konulup burada caydırıcı uyarana (elektrik şoku) maruz bırakılır. Sonra bu yeni ortamdaki uzaklaştırılır. Hayvan yeni ortama tekrar konulur ve yine caydırıcı uyarana maruz bırakılır. Bu işlemin tekrarlanması sonrasında hayvan yeni ortama konulmasını caydırıcı uyarının bir işareti olarak öğrenir. Yeni ortama konulduğunda caydırıcı uyarı verilmesinde dahi anksiyete benzeri davranışlar sergiler (34). Hipokampüsten forniks aracılığıyla amigdalaya projekte olan nöronlarda hasar gelişmesi bağlamsal korku koşullandırmasını engeller (32). Hipokampus ve septal bölge arasındaki bağlantılar (**septo-hipokampal sistem**) bir ikilem varlığında başlamış olan motor aktiviteyi durdurabilir. Örneğin bir yaklaşma-kaçınma ikilemi ortaya çıktığında septo-hipokampal sistem devreye girip önceden başlamış olan davranışı durdurur. Bilgi toplamak adına uyarılabilirliği, dikkati ve anksiyeteyi artırır. Hipokampus veya septal alan lezyonlarında davranış inhibisyonunda azalma gözlenmektedir (33).

Avcının kendisine veya kokusuna maruz kalma **medial hipotalamustaki** bazı çekirdeklerin aktivasyonuna neden olur. Bunlardan **dorsal premamiller çekirdek** avcı tehdidine en duyarlı olanıdır. Buranın lezyonlarında savunma cevapları azalır (33).

Medial hipotalamustan çıkan uyarılar beyin sapında **periakvduktal gri maddeyi** uyarır. Bu bölge her iki modelde de savunma tepkisinin oluşturulmasında önemlidir. Avcıya maruz kalma modelinde bölgenin *dorsolateral* kısmı aktive olurken korku koşullandırmasında *ventrolateral* kısmı aktive olmaktadır (33).

Korku koşullandırması modeli ile bir hayvana zararsız bir uyarının, ardından gelecek caydırıcı uyarı için bir belirti olduğu öğretilir. Bu aşamadan sonra hayvana zararsız uyarı verilmeye devam edilip ardından caydırıcı uyarı verilmezse hayvanın

zararsız uyarana verdiği tepkiler azalır. Bu durum **sönme öğrenmesi** (*extinction learning*) olarak adlandırılır (32, 35). **Medial prefrontal korteks**, korku koşullandırmasının söndürülmesinde görev alan beyin bölgesidir. Bu alan **infralimbik korteks**, **prelimbik korteks** ve **anterior singulat korteksi** içermektedir. Sönme öğrenmesi medial prefrontal korteksten amigdalaya projekte olan nöronlar aracılığıyla gerçekleşir (32, 33).

İnsan Çalışmalarında Öne Çıkan Nöroanatomik Yapılar

Nörogörüntüleme yöntemlerinde yaşanan gelişmeler, anksiyete gelişiminde görev alan nöroanatomik yapıların daha iyi anlaşılmasına olanak sağlamıştır (36). İnsanlar üzerinde yapılan nörogörüntüleme çalışmaları iki farklı yöntem kullanılır. Birincisinde sağlıklı insanlarda deneysel olarak anksiyete oluşturulurken ikinci yöntemde anksiyete bozukluğu tanısı olan insanlar çalışmaya alınır (32, 36).

Sağlıklı insanlarda anksiyeteyi oluşturma yöntemlerinden birisi korku koşullandırmasıdır (32, 36). Burada zararsız uyarın olarak görsel uyarınlar (fotoğraf) tercih edilebilir. Caydırıcı uyarın olarak yine elektrik şoku kullanılabilir. Korkmuş bir yüz ifadesi kendisinden sonra verilecek elektrik şokunun habercisi olabilirken nötral bir yüz ifadesi kendisinden sonra elektrik şoku verilmeyeceğinin habercisi olabilir. Bu durumda korkmuş yüz ifadesi, *tehlike belirten koşullu uyarın (CS+)*; nötral yüz ifadesi ise *güvenlik belirten koşullu uyarın (CS-)* şeklinde isimlendirilebilir. Caydırıcı elektrik şoku ise yine *koşulsuz uyarındır* (37). İnsanlarda yapılan görüntüleme çalışmaları, korku koşullandırması modelinde hayvan deneylerine benzer şekilde **amigdalanın** aktive olduğunu göstermiştir. Korku koşullandırılmasının sönmesinde (*extinction*) ise yine **ventromedial prefrontal korteks** aktivasyonu izlenmiştir. **Hipokampus**, hayvan deneylerinde gösterildiği gibi bağlamsal öğrenmede önemlidir. Tehlike belirten koşullu uyarın varlığında hipokampus ve amigdala arasındaki bağlantılar aktive olurken, güvenlik belirten koşullu uyarın varlığında hipokampus ile ventromedial prefrontal korteks arasındaki bağlar aktive olur (32, 36).

Sağlıklı insanlarda deneysel olarak anksiyete oluşturulmasının bir diğer yolu da panikojenik madde kullanımıdır. Bunun için en sık kullanılan ajan kolesistokinin-tetrapeptittir (CCK-4). CCK-4 ile indüklenen panik durumunda yapılan görüntüleme çalışmalarında **anterior singulat korteks, klastrum - insula - amigdala bölgesi ve serebellar vermiste** aktivasyon artışı izlenmiştir (36).

Anksiyete bozukluğu tanısı almış hastalarda yapılan görüntüleme çalışmaları farklı anksiyete tiplerinin gelişiminden sorumlu nöroanatomik yapıların incelenmesini sağlamıştır. **Panik bozukluğun** dinlenim döneminde hipokampal ve parahipokampal aktivitede anormallikler izlenirken akut panik döneminde striatum ve insulada artmış aktivasyon, prefrontal kortekste azalmış aktivasyon gözlenmiştir (32). **Özgül fobide** duyuşal asosiyasyon alanları ve ön paralimbik bölgelerin aktivasyonu ön plandadır. Özgül fobide amigdalanın belli bir tehdide aşırı duyarlılığı söz konusudur (32, 36). Örümcek fobisi olan hastalar, örümcek resmine maruz kaldıklarında çok kuvvetli amigdala aktivasyonu gözlenmiştir (36). **Sosyal anksiyete bozukluğunda** sosyal uyaranlara karşı medial temporal lob ve amigdalada abartılı yanıt izlenmiştir (32). Diğer bozukluklardan farklı olarak **yaygın anksiyete bozukluğunda** bariz bir amigdala hiperaktivitesi izlenmez. Uzun süreli anksiyetede BNST sorumlu tutulmaktadır (32). Medial prefrontal korteks ve amigdala arasındaki bağlantıların farklı olması yaygın anksiyete bozukluğunda görülen duyuşal düzensizliğin nedenini açıklamaktadır (32, 36).

2.2.2. Anksiyete ile ilişkili Nörokimyasallar

Noradrenalin

Santral sinir sistemindeki birincil kaynağı ponstaki lokus seruleustur (25, 31). Lokus seruleus ile kortikal ve limbik alanlar arasındaki bağlantılar akut ve kronik stres yanıtının düzenlenmesinde görev alır (31). Hayvanlar çeşitli stresörlere maruz bırakıldığında lokus seruleus, hipotalamus, hipokampus, amigdala ve serebral kortekste noradrenalin miktarı artmıştır (32). Maymunlarda lokus seruleusun

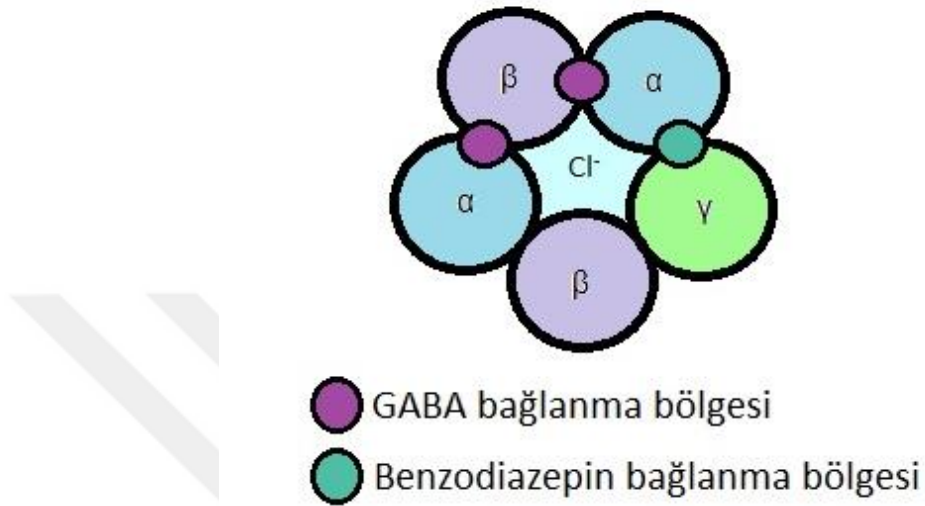
uyarılması korku davranışlarına sebep olurken bu bölgenin hasarlanması durumunda tehdiye karşı bir kayıtsızlık gözlenmiştir (25).

Noradrenalin, G-protein kenetli $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ adrenerjik reseptörleri üzerinden etki gösterir (31). $\alpha 2$ adrenerjik reseptörler presinaptiktir ve negatif geri bildirimde görevlidir. Sinaptik aralıkta noradrenalin arttığında presinaptik $\alpha 2$ adrenerjik reseptörleri uyarılır ve noradrenalin salınımı azaltılır (31, 38). Hayvan çalışmaları stres durumunda hipokampus ve amigdaladaki $\alpha 2$ adrenerjik reseptör yoğunluğunun azaldığını göstermiştir. Yohimbin ve idazoksan, $\alpha 2$ adrenerjik reseptör antagonistidir, sinaptik aralığa noradrenalin salınımını artırır. Yohimbin, panik bozukluğu olan hastalarda panik atak gelişimini uyarırken sağlıklı insanlar üzerinde böyle bir etki yapmaz. İdazoksanın $\alpha 2$ adrenerjik reseptörlerine selektivitesi daha yüksektir ve sağlıklı insanlarda da panik ataklara sebep olduğu gösterilmiştir. Yaygın anksiyete bozukluğu tanısı olan hastaların plazma noradrenalin düzeyleri daha yüksektir. (31).

Gama (γ) - Amino Bütirik Asit (GABA) ve Benzodiazepin Sistemi

Beynin ana inhibitör nörotransmitteri olan GABA, iyonotropik GABA_A ve metabotropik GABA_B reseptörleri üzerinden etki gösterir. Endojen GABA, benzodiazepinler, barbitüratlar, alkol, nörosteroidler ve anestezikler GABA_A reseptörlerine bağlanarak anksiyolitik etki oluştururlar. GABA_A reseptörlerinin protein yapılı beş alt birimi vardır (30, 31). Bu alt birimlerde yer alabilecek 19 farklı alt birim tanımlanmıştır ($\alpha 1-6$; $\beta 1-3$; $\gamma 1-3$; δ , ϵ , θ , π ve $\rho 1-3$) (39). GABA_A reseptörleri sıklıkla 2α , 2β ve 1γ alt biriminden oluşmaktadır. Endojen GABA bağlanma bölgesi α ve β alt birimleri arasındayken, benzodiazepinlerin bağlanma bölgesi α ve γ alt birimleri arasındadır (Şekil 2.1). Endojen GABA'nın reseptöre bağlanması klor iyonlarının nöron içine hareket etmesine neden olur. Klor iyonlarının hücre içine hareketi hücre membranında hiperpolarizasyona ve nöronal uyarılmanın inhibisyonuna neden olur. Tek başına benzodiazepinin reseptöre bağlanması klor kanalının açılmasını sağlamaz. Kanalı açan GABA bağlanma bölgesinin aktivasyonudur. Benzodiazepinler, benzodiazepin bağlanma bölgesine bağlanarak

kanalın açılma frekans ve zamanını modüle ederler. Benzodiazepin bölgesine bağlanarak etki gösteren ligandlara bu nedenle allosterik modölatörler denilmektedir (30, 39).



Şekil 2.1. GABA_A reseptörünün şematik gösterimi (30)

Benzodiazepinlerin anksiyolitik etkilerinin yanında sedatif, kas gevşetici ve antikonvülsan etkileri vardır. Benzodiazepinlerin sebep olduğu bu farklı etkiler, GABA_A reseptörlerinde aktive ettiği α alt birimi ile ilişkili olabilir. Klasik benzodiazepinler altı farklı α alt biriminden $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ ve $\alpha 5$ 'e bağlanabilirken $\alpha 4$ ve $\alpha 6$ alt birimlerine bağlanamamaktadır. γ alt birimlerinden tipik olarak $\gamma 2$ alt birimine bağlanırlar. Fareler üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda $\alpha 1$ alt biriminin sedatif, anterograd amnezik ve kısmen antikonvülsan etkilerin ortaya çıkmasında rolü olduğu anlaşılmıştır. Ayrıca bağımlılık yapan etkiden de sorumlu olabilir. Anksiyolitik ve kas gevşetici etkilere $\alpha 2$ alt birimi aracılık etmektedir. $\alpha 3$ ve $\alpha 5$ alt birimlerinin yine kas gevşetici etkide rolü olduğu gözlenmiştir. Bu bilgiler ışığında sedatif etkisi olmayan anksiyolitik bir ajan $\alpha 2$ içeren reseptörlere afinite gösterirken $\alpha 1$ içeren reseptörlere etki etmemelidir. Bu amaca yönelik geliştirilen moleküllerden L-838,417, olumsuz farmakokinetik özellikleri nedeniyle ileri çalışmalara alınamamıştır. TPA023 çalışmaları molekülün katarakta sebep olması nedeniyle sonlandırılmıştır. Osinaplon (*ocinaplon*) ise faz III çalışmalarında izlenen hepatotoksik etkisi nedeniyle sonraki faz çalışmalarına alınamamıştır (30, 39).

Serotonin (5-HT)

Merkezi sinir sisteminde dorsal rafe (*raphe*) çekirdekleri tarafından salınımı kontrol edilir. 5-HT reseptörlerinin pek çok çeşidi bulunmaktadır. Bunlar arasında 5-HT_{1A} ve 5-HT_{2A} anksiyete ile ilişkilendirilmiştir. 5-HT_{1A} reseptörleri korteks, hipokampus, amigdala, periaküaduktal gri madde ve dorsal rafe çekirdeklerinde çok miktarda bulunur (31).

Çalışmalar, çeşitli stres faktörlerine maruz bırakılan deney hayvanlarının medial prefrontal korteks, nükleus akumbens, amigdala ve lateral hipotalamuslarında 5-HT döngüsünün arttığını göstermiştir. Stres, uyandırdığı 5-HT reseptörü tipine bağlı olarak hem anksiyojenik hem de anksiyolitik 5-HT döngülerini aktive edebilir. Amigdalaya 5-HT enjekte edilmesi anksiyojenik etki yaratırken periaküaduktal gri maddeye 5-HT enjeksiyonu anksiyolitik etki göstermektedir. Ayrıca hipokampüsteki 5-HT_{2A} reseptörlerinin uyarılmasının anksiyojenik, 5-HT_{1A} reseptörlerinin uyarılmasının anksiyolitik etkili olduğu öne sürülmüştür (40).

Yapılan çalışmalarda 5-HT_{1A} reseptörü olmayan kemirgenlerin kaygı düzeyinin daha yüksek olduğu izlenmiştir. Tam tersine 5-HT_{1A} reseptör ekspresyonu daha fazla olan farelerde anksiyete seviyesinin düşük olduğu görülmüştür. Panik bozukluğu ve sosyal anksiyete bozukluğu olan hastalarla yapılan nörogörüntüleme çalışmalarında 5-HT_{1A} reseptör yoğunluğunun azaldığı rapor edilmiştir. Farklı anksiyete bozukluklarında farklı beyin bölgelerindeki, farklı 5-HT reseptörlerinin görevli olduğu düşünülmektedir (31).

5-HT_{1A} reseptörleri G-protein kenetli inhibitör reseptörlerdir. Presinaptik (otoreseptör) veya postsinaptik yerleşebilirler. Presinaptik otoreseptörler temel olarak dorsal rafe çekirdeğinde bulunur. Otoreseptörler negatif geri bildirim yoluyla 5-HT salınmasını kontrol eder. Salınan 5-HT'nin presinaptik nörona geri alınmasında görevli 5-HT taşıyıcısı (5-HTT / SERT) da presinaptik membranda bulunmaktadır (30). 5-HTT ile yapılan genetik çalışmalarda 5-HTT polimorfizminin iki kısa alelinin varlığı utangaçlık, anksiyete ve depresyonla ilişkilendirilmiştir (30, 31).

Hipotalamus - Hipofiz - Adrenal (HHA) Aksı

Stresli bir uyarının algılanmasından hemen sonra HHA aksı aktive olur. Hipotalamustan salınan kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH), ön hipofizden adrenokortikotropik hormon (ACTH) salgılanmasını uyarır. ACTH da adrenal korteksten kortizol salınımını uyarır (41). Kortizol; dikkatin artmasına, bellek oluşumuna, uyarılma ve uyanıklıkta artışa neden olur. Hipokampüs, amigdala ve prefrontal korteks aktivitesini düzenler (31). Kortizol, glukokortikoid ve mineralokortikoid reseptörleri üzerinden etki eder. Bu reseptörler limbik sistemde özellikle hipokampüste yoğun miktarda bulunur. Hipokampüs, HHA aksının negatif geri bildiriminde görevlidir (31, 41). Kortizol düzeyinin uzun süreli yüksek seyretmesinin birçok zararlı etkisi vardır. Hipokampüs bu zararlı etkilere özellikle hassastır. Uzun süre yüksek seyreden kortizol hipokampüste hücrel hasara dolayısıyla da biliş ve bellekte bozukluğa neden olur. Yani kortizol akut streste hafıza oluşumunu desteklerken uzun süreli streste tam tersine, hafıza ve bilişte bozulmalara neden olur (31).

Anksiyete bozukluğu olan hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda kortizol düzeyinin panik bozukluğun şiddetiyle orantılı olabileceği belirtilmiştir. Yaygın anksiyete bozukluğunda tükürük ve plazmadaki kortizol düzeyleri daha yüksek bulunmuştur. Örümcek fobisi olan hastalara uygulanan oral kortizol tedavisi ise maruz bırakmaya dayalı grup terapisinin başarısını artırmıştır (31).

Kortikotropin Serbestleştirici Hormon (CRH)

CRH hipotalamus dışında; prefrontal korteks, singulat korteks, amigdala, BNST, periakvaduktal gri madde ve nükleus akumbens gibi birçok anatomik bölgeden salgılanabilir (31). Bu kısımda HHA aksının dışındaki etkileri ele alınmıştır.

Erken yaşlarda stres yaşayan primatlarda beyin omurilik sıvısındaki CRH miktarı daha yüksek izlenmiştir. Yaşamın erken döneminde aşırı CRH'ye maruz kalmak ileri yaşta hipokampal hasara neden olabilmektedir (31).

CRH'nin G-protein kenetli iki farklı reseptörü tanımlanmıştır. CRH-1 reseptörünün uyarılması anksiyeteyi artırıcı etki gösterirken CRH-2 reseptörünün uyarılması anksiyolitik etki göstermektedir. CRH-1 ve CRH-2 reseptörlerinin baskın olduğu santral sinir sistemi bölgeleri farklılık göstermektedir (31, 41). CRH-1 reseptörünün anksiyojenik etkisine binaen CRH-1 antagonistleri geliştirilmiş ancak klinik deneylerde etkinlik gösterememişlerdir (31).

Diğer Nörokimyasallar

Dopamin strese yanıt olarak salınan bir katekolamindir. Amigdala, nükleus akumbens ve medial prefrontal korteks gibi birçok beyin bölgesinden salınır (31). Kısa süreli ve düşük şiddetli stresler ilk önce medial prefrontal kortekste dopamin salınımını ve döngüsünü artırır. Stresin süresi ve şiddeti arttığında sırasıyla mezolimbik ve nigrostriatal sistemde dopamin aktivasyonu izlenir. İnsan anksiyete bozukluklarının patofizyolojisinde dopaminin rolünü araştıran az sayıda çalışma vardır. Anksiyete şiddeti yüksek ve sık panik atak geçiren panik bozukluk hastalarının plazmalarında, dopamin metaboliti olan homovanilik asit düzeyleri yüksek bulunmuştur (31, 40). Sosyal anksiyete bozukluklarında dopamin taşıyıcısı ve D₂ reseptör yoğunluğunda azalma bildirilmiştir (31).

Glutamat santral sinir sisteminin temel eksitator nörotransmitteridir (31, 42). GABA'nın inhibitör etkisi ile glutamatın eksitator etkisi arasındaki dengenin glutamat lehine kayması anksiyeteye neden olabilir (31). Glutamat etkisini iyonotropik ve metabotropik reseptörleri üzerinden göstermektedir. N-metil-D-aspartat (NMDA), α -amino-3-hidroksi-5-metilizoksazol-4-propiyonik asit (AMPA) ve kainat reseptörleri glutamatın iyonotropik reseptörleridir. Panik eğilimli sıçanların hipotalamusuna enjekte edilen NMDA antagonisti MK-801, panik benzeri davranışları engellemiştir. Bir başka NMDA antagonisti ketaminin ise anksiyete bozuklukları üzerine etkisini değerlendiren yeterli çalışma bulunmamaktadır. NMDA reseptörünün parsiyel agonisti D-sikloserin, sağlıklı gönüllülerde stresi azaltıp öğrenmeyi kolaylaştırmıştır (31).

Metabotropik glutamat reseptörleri G-protein kenetlidir (31, 42). Bu reseptörlerin sekiz alt çeşidi vardır ve üç grup altında toplanır. Grup I'de, genelde postsinaptik yerleşimli mGlu1 ve mGlu5 bulunur. Grup II'de, genelde presinaptik yerleşimli mGlu2 ve mGlu3 yer almaktadır. Grup III'te ise genelde presinaptik yerleşimli mGlu4, mGlu6, mGlu7 ve mGlu8 bulunmaktadır. Presinaptik yerleşimli grup II reseptörleri negatif geri besleme yoluyla glutamatın salınımı azaltırlar. mGlu2/3 reseptör agonistlerinin bu yolla anksiyolitik etki gösterebileceği düşünülmüştür (42). Bu amaçla geliştirilen eglumetad (LY354740) ve onun ön ilacı talaglumetad (LY544344), yaygın anksiyete bozukluğu olan hastalarda plasebodan daha etkili bulunmuştur. Ancak prelinik çalışmalarda molekülün konvülsiyona sebep olduğu anlaşıncaya çalışmalar durdurulmuştur (43).

Kolesistokin (CCK) anksiyojenik özellik gösteren bir nöropeptittir. Sahip olduğu amino asit sayısına göre çeşitli formlarda bulunur. CCK tetrapeptit (CCK-4) anksiyojenik özelliği nedeniyle özellikle önemlidir. Beyinde yoğun olarak bulunduğu bölgeler arasında serebral korteks, amigdala, hipokampus, kaudat çekirdek, putamen, periaquaduktal gri madde, substantia nigra ve rafe çekirdekleri bulunur. Kolesistokin reseptörlerinin CCK-A ve CCK-B olmak üzere iki alt tipi vardır. CCK-4, CCK-B reseptör agonistidir. Hem hayvan hem de insan çalışmalarında anksiyojenik/panikojenik etkisi gösterilmiştir. Bu da anksiyolitik ilaç geliştirilmesinde CCK-B reseptör antagonistlerinin araştırılmasının önünü açmıştır (31, 40). Klinik çalışmalarda CCK-B antagonisti olan CI-988, plasebodan daha üstün bir anksiyolitik etki gösterememiştir (31, 40, 44).

Oksitosin hipotalamusun paraventriküler ve supraoptik çekirdeklerinde sentezlenir. Nöronlardan salınabildiği gibi arka hipofiz aracılığıyla kan dolaşımına da salınır. Anksiyolitik etkileri ilk olarak kemirgenler üzerinde gösterilmiştir. İnsanlarda gerçekleştirilen çalışmalar, intranazal oksitosin uygulamasının olumlu sosyal davranışlarda artış sağladığını göstermiştir (31). Sağlıklı gönüllülere intranazal oksitosin uygulandığında amigdalanın korkulu yüzlere karşı aktivasyonunda azalma

gözenmiştir (31, 44). İntranazal oksitosinin sosyal anksiyete bozukluğu olan hastalarda sosyal kaygıyı azalttığı yönünde kanıtlar bulunmaktadır (31).

Nöropeptit Y beyinde lokus seruleus, hipotalamus, periaquaduktal gri maddede yoğun; hipokampus, amigdala ve beyin sapında orta miktarda bulunur. Kemirgenlerde yapılan çalışmalarla nöropeptit Y'nin anksiyolitik etkisine dair çokça kanıt elde edilmiştir (31, 40). Askeri tatbikatlarda, nöropeptit Y düzeyi yüksek olanların stres dirençlerinin de yüksek olduğu tespit edilmiştir (40). Nöropeptit Y'nin anksiyete bozukluğu olan hastalar üzerindeki tedavi edici etkisi hakkında yeterli çalışma bulunmamaktadır (31).

Yukarıda bahsedilenler dışında **vazopressin, galanin, endokannabinoid sistem** ve **nörosteroidlerin** de anksiyete fizyopatolojisinde rol aldığını gösteren çalışmalar mevcuttur (31).

2.3. Anksiyete Araştırmalarında Hayvan Modeli Kullanımı

Hayvan modellerinin insan psikolojisini ne kadar iyi yansıtabildiği tartışmalıdır. Bulguların türler arası tercümesi yapılmalıdır. Bu tercüme ne kadar doğruysa hayvan modellerinin insan psikolojisini yansıtmaları da o denli başarılı olacaktır (45).

Hayvan modellerinde kemirgenler ve insan olmayan primatlar sıklıkla kullanılır. Hem kemirgenlerde hem de insan olmayan primatlarda, türe özgü davranışlarla ifade edilen korku, panik, anksiyete, motivasyon, dürtüsellik, öğrenme, dikkat etme ve hatırlama gibi insanlarla ortak psikolojik süreçler gözlemlenebilir. Bu fonksiyonel benzerliklere ek olarak önemli biyolojik benzerlikler de vardır. Özellikle subkortikal yapılar olmak üzere beyin anatomik, fizyolojik ve biyokimyasal dizaynı insanlarla bu türler arasında oldukça benzerlik göstermektedir (45).

Benzerliklerine rağmen insanları bahsi geçen türlerden ayıran önemli farklılıklar vardır. İnsanlar soyut düşünme yeteneğine sahiptir. Ayrıca öz yansıtma (*self-reflection*) olarak adlandırılan kendi davranış ve düşünceleri üzerinde düşünme ve değerlendirme yetisi vardır. Yine dil yetisinin gelişmiş olması insanların kompleks iletişim kurmasına olanak sağlar. Bu işlevsel farklılıkların yanında yapısal farklılıklar da

önemlidir. İnsanlar daha gelişmiş bir beyin korteksine sahiptir. Özellikle daha gelişmiş bir prefrontal kortekse sahip olmaları psikolojik açıdan önemli bir fark yaratmaktadır. Birçok ortak gene sahip bu türlerin farklı olmalarına neden olan bir başka önemli faktör de gen ekspresyonu düzeyindeki farklılıklardır (45).

Bu farklılıklar göz önünde bulundurulduğunda hayvanların bütün bir insan psikiyatrik bozukluğunu modelleyemeyeceği, hayvan modellerinin ancak belirli bazı semptomları temsil edebileceği öne sürülmüştür (45, 46). Anksiyete; insanda bilişsel, fizyolojik ve davranışsal tepkilere neden olur. Hayvanlar fizyolojik (kalp atımının hızı, kan basıncı, vücut sıcaklığı vb.) ve davranışsal tepkilerin modellenmesinde kullanılabilirken bilişsel tepkilerin modellenmesinde yetersiz kalacaklardır. Bilişsel tepkiler (örneğin; panik bozukluktaki “kontrolü kaybetme ve delirme korkusu”, sosyal fobideki “reddedilme, utanç verici şekilde davranma korkusu”) çoğunlukla öz bildirim (*self-report*) ile ifade edilir; bu nedenle hayvanlarda ölçülmesi ve modellenmesi şu an için imkansız görünmektedir (46, 47).

Hayvan modelleri, insan psikiyatrik bozukluklarının çeşitli özelliklerini hayvanlar üzerinde gösterebilmeyi amaçlar. Bu özellikler hayvan modelinin geçerliliğini değerlendirmek için kullanılan kriterleri oluştururlar (41, 45, 46):

- **Görünüş geçerliliği (*Face validity*):** Hayvanlarda gözlenen davranışsal ve fizyolojik değişikliklerin, modellenmesi amaçlanan insan davranış ve fizyolojik değişikliklerine ne derece benzediğini ifade eder.
- **Yapı geçerliliği (*Construct validity*):** Hayvan modelinin, altta yatan biyoloji (etioloji) açısından insan psikiyatrik bozukluğu etiolojisine benzerliğini ifade eder.
- **Tahmin edici geçerlilik (*Predictive validity*):** Klinik olarak etkili terapötiklere hayvan modelinde de cevap alınması veya klinik olarak semptoma yol açan ajanların hayvan modelinde de semptom oluşturmalarını ifade eder.

Hayvan modeli seçiminde bu geçerlilik unsurlarının göz önünde bulundurulması gerekir.

2.4. Deney Hayvanlarında Sıklıkla Kullanılan Anksiyete Modelleri

Hayvanlarda anksiyete benzeri davranışları değerlendirmek için birçok farklı model geliştirilmiştir. Pek çok model, yaklaşma ve kaçınma ikilemini kullanarak hayvanlardaki anksiyete benzeri davranışları değerlendirir. Girişimde bulunma ve keşfetme davranışlarındaki azalma veya kaçınma davranışlarındaki artış anksiyete ile ilişkilendirilir. Hayvanlardaki kaçınma davranışı koşulsuz tetiklenebileceği gibi bir koşula (ödül veya ceza uygulamalarıyla) bağlı da tetiklenebilir. Anksiyete modelleri, tercih edilen tetikleyiciye göre koşulsuz ve koşullu anksiyete modelleri olarak sınıflandırılır (45, 48, 49).

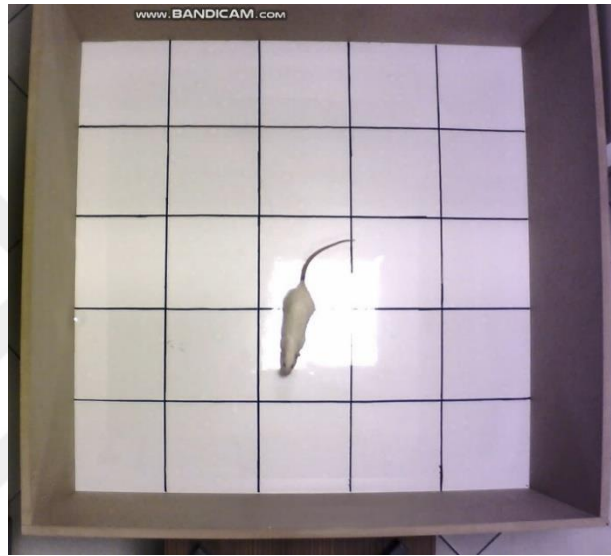
2.4.1. Koşulsuz Anksiyete Modelleri

Kemirgenler, avcılardan saklanabilecekleri karanlık ve kapalı ortamları tercih ederler. Avcılar tarafından fark edilme riskinin arttığı açık, aydınlık ve yüksek yerlerden kaçınırlar. Ayrıca kemirgenlerde yeni nesneleri ve yeni yerleri keşfetme içgüdüğü vardır. Açık, yüksek ve aydınlık ortamlardan faydalanarak hayvanların keşfetme ve kaçınma davranışlarını değerlendirmeye çalışan anksiyete modelleri koşulsuz anksiyete modellerini oluşturur. Bu sınıfta açık alan testi, yükseltilmiş artı labirent testi ve aydınlık/karanlık kutu testi gibi sıkça kullanılan modeller bulunur. Bunlar dışında delikli levha testi, sosyal etkileşim testi, hiponeofaji ve merdiven testi gibi daha az bilinen modeller de vardır (48, 49).

Açık Alan Testi

Kaçmanın mümkün olmayacağı yüksek duvarlarla çevrelenmiş, üstü açık, aydınlık bir ortamda hayvanın davranışları değerlendirilir (Şekil 2.2.). Değişik versiyonları olmakla birlikte genelde tabanı kare şeklinde olan modeller kullanılır. Kemirgenler böyle bir ortamda tehlikeden kaçınma ve yeni ortamı keşfetme ikileminde kalacaklardır. Açık ve aydınlık alandan sakınan kemirgenler, vücutlarını yan yüzeylere yakın tutmak isteyeceklerdir. Bu davranış *tigmotaksis* olarak adlandırılır.

Buna karşılık keşfetme içgüdüğü ile hayvanlar, alanın merkezini de incelemek isteyecektir. Anksiyete seviyesi düşük hayvanlar alanın merkezinde daha fazla vakit geçireceklerdir. Tam tersine anksiyete seviyesi yüksek hayvanlarda *tigmotaksis* süresi artacaktır (48, 49). Merkez alanı belirlemek için taban 25 eşit kareye bölünür. Ortadaki 9 kare alanın merkezini oluşturur. Hayvanın kenardaki 16 kare içinde bulunması *tigmotaksis* olarak kaydedilir (50, 51).



Şekil 2.2. Açık alan testi

Tigmotaksis ve merkezde geçirilen süre dışında defekasyon sayısı, tımarlanma aktivitesi (kendini temizlemesi, kendine bakım yapması) ve şahlanma (arka ayakları üzerinde durma) sayısı da hayvanın anksiyete seviyesi hakkında bilgiler vermektedir (48, 49, 52). Defekasyon sayısının artışı, artmış anksiyete durumu ile ilişkilidir (52, 53). Tımarlanma davranışının sayı ve süresindeki artış, anksiyete seviyesinin yüksek olduğunu gösterir (54). Keşif davranışlarından olan şahlanma davranışındaki artış, azalmış anksiyetenin göstergesidir (48, 53, 55). Açık alan testi lokomotor aktiviteyi değerlendirmek için de kullanılabilir. Bu durumda daha küçük ebattaki modeller kullanılabilirken anksiyete benzeri davranışların değerlendirilmesi için daha geniş alana sahip aparatlar kullanılmalıdır. Testin süresi lokomotor aktivitenin değerlendirilmesi için 30 dakikaya uzatılabilir. Ancak anksiyete benzeri davranışları değerlendirmek için testin süresi 5 dakika ile sınırlıdır (56).

Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Birbirleri ile dik kesişen dört koldan oluşan aparatın karşılıklı duran iki kolu açık, diğer iki kolu ise üç taraftan yüksek duvarlarla kapalıdır (Şekil 2.3.). Düzenek yerden belirli bir yükseklikte bulunur. Hayvan, yüzü açık kollardan birisine bakacak şekilde kesişme noktasına konulur. Hayvanın açık ve kapalı kollara giriş sayısı ile bu kollarda geçirdiği süre hesaplanır. Kemirgenler tehlikeden sakınmak için kapalı kolları tercih ederken, yeni alanları keşfetme içgüdüğü hayvanları açık kollara yönlendirecektir. Anksiyete seviyesi düşük hayvanların açık kola giriş sayısı ve açık kolda geçirdikleri süre daha yüksek olacaktır. Test 5 dakika süreyle uygulanır (48, 49, 52).



Şekil 2.3. Yükseltilmiş artı labirent

Aydınlık/Karanlık Kutu Testi

Aparat, bir geçiş kapısıyla birbirine bağlanan aydınlık ve karanlık iki bölmeden oluşur (Şekil 2.4.). Bölmelerin ve geçiş kapısının boyutları değişiklik gösterebilir. Kemirgenler daha korunaklı olan karanlık alan ile keşfetmek istedikleri aydınlık alan arasında ikilemde kalırlar. Aydınlık alana geçiş sayısının ve aydınlık alanda geçirdikleri sürenin artışı, düşük anksiyete seviyesi ile ilişkilidir. Testin süresi 5 dakikadır (48, 49).



Şekil 2.4. Aydınlık/karanlık kutu testi

2.4.2. Koşullu Anksiyete Modelleri

Koşullu anksiyete modellerinde de yaklaşma-kaçınma ikilemi kullanılır. Ancak burada kaçınma davranışı doğal yollarla değil elektrik şoku gibi ceza uygulamaları ile tetiklenir. *Vogel* zıtlasma testi, *Geller-Seifter* zıtlasma testi ve şok probu gömme testleri bu grupta sıklıkla kullanılan modellerdir (45, 48, 49).

Vogel Zıtlasma Testi

Susuz bırakılan hayvanlara su içtikleri sırada elektrik şoku uygulanır. Hayvanın su içme davranışı ile şoktan kaçınma davranışı 5 dakika boyunca değerlendirilir. Anksiyete düzeyi düşük hayvanlarda; şoka rağmen su içme davranışı daha çok tekrarlanır, uygulanan şok sayısı artar (48, 49).

Geller-Seifter Zıtlasma Testi

Alıştırma aşamasında bir süre aç bırakılan hayvanlar, pedala bastıklarında besinle ödüllendirilir. Bu protokol tekrar tekrar uygulanarak hayvana öğretilir. Test aşamasında sırasıyla cezasız dönem ve cezalandırma dönemi olmak üzere iki dönem vardır. Cezasız dönemde hayvan pedala bastığında elektrik şoku verilmeden sadece ödül verilir. Cezalandırma döneminde hayvanlar pedala bastıklarında ödülle birlikte elektrik şoku verilir. Anksiyete seviyesi düşük hayvanlarda cezalandırma döneminde pedala basış sayısında artış izlenmektedir (48, 49).

Şok Probu Gömme Testi (Savunma Amaçlı Gömme Testi)

Kemirgenler tehdit olarak gördükleri nesneleri altlık malzemeleri ile gömme davranışında bulunur. Bu testte hayvanın bulunduğu kafesin duvarına elektrik şoku veren bir prob yerleştirilir. Proba temas sonrası elektrik şokuna maruz kalan hayvan probu altlık malzemesiyle gömmeye çalışır. Hayvanın proba temas sayısı, gömme davranışının süresi, şok sonrası sergilenen donma davranışları kaydedilir. Anksiyete düzeyi yüksek hayvanlarda gömme davranışının süresi daha uzundur. Test süresi proba ilk temas sonrası 15 dakikadır (49, 57).

2.5. *Salvia* (Ada çayı) Türlerinin Anksiyolitik Etkisi ve *Salvia heldreichiana*

Salvia cinsi, *Lamiaceae* ailesinin en geniş üyesidir. Dünyada *Salvia* cinsine ait yaklaşık 980 tür tanımlanmıştır (58, 59). Bu türlerden bazılarının anksiyolitik etkili olabileceğini gösteren çalışmalar Tablo 2.1.'de özetlenmiştir.

Ülkemizde 100'den fazla *Salvia* türü vardır ve bunların yarısı endemiktir (60). *Salvia heldreichiana* Boiss. ex Bentham Türkiye için endemik bir türdür (61-63). Kısa boylu, çalı şeklinde dallanmış, çok yıllık bir bitkidir. Ortalama 25-50 cm olan bitki boyu 1.5 m'yi bulabilir. Genç sürgünler dik, yapraklı, saplı ve sapsız salgı tüylüdür. Yaprakları oval-eliptik olup çok sayıda saplı ve sapsız salgı tüyleri vardır. Çiçekleri mavi mor renklidir (Şekil 2.5.). Haziran ve temmuz ve ağustos aylarında çiçek açar. Doğu ve Orta

Akdeniz bölgesinde yayılış göstermektedir. Özellikle Isparta, Konya, Karaman, Adana ve Niğde çevresinde görülebilmektedir (64, 65). Zarar görebilir (*Vulnerable - VU*) tehlike kategorisinde yer almaktadır (65, 66).

Tablo 2.1. Çeşitli *Salvia* türlerinin anksiyolitik özelliğini araştıran çalışmalar

<i>Salvia</i> türü	Özüt	Tür / Cinsiyet	Doz / Uygulama yolu	Sonuç	Kaynak
<i>S. miltiorrhiza</i>	UY	SD sıçan, E	100/200 mg/kg, p.o.	ABD'de azalma	(11)
<i>S. miltiorrhiza</i>	EEks	ICR fare, E	100 mg/kg, p.o.	ABD'de azalma	(15)
<i>S. miltiorrhiza</i>	EEks	W sıçan, E	100 mg/kg, p.o.	ABD'de azalma	(12)
<i>S. officinalis</i>	MEks	SD sıçan, E	50 mg/kg, i.p.	ABD'de azalma	(13)
<i>S. officinalis</i>	Eks	İnsan, K PostM	100 mg tablet, p.o. 3x1, 3 ay	Anks.'de azalma	(14)
<i>S. officinalis</i>	KY	İnsan, K+E Sağlıklı	300 mg kapsül, p.o.	Anks.'de azalma	(8)
<i>S. elegans</i>	HAEks	SD sıçan, E	12,5 mg/kg, i.p.	ABD'de azalma	(10)
<i>S. elegans</i>	HAEks	ICR fare, E	125, 250, 500, 1000 ve 2000 mg/kg, p.o.	ABD'de azalma	(9)
<i>S. reuterana</i>	HAEks	Fare, E	50, 100, 250 mg/kg, i.p.	ABD'de azalma	(7)
<i>S. limbata</i>	SuEks HAEks MEks	NMRI fare, E	SuEks 400 mg/kg i.p. HAEks 25 mg/kg i.p. MEks 50 mg/kg i.p.	ABD'de azalma	(16)

UY: Uçucu yağ, **EEks:** Etanolü ekstre **MEks:** Metanolü ekstre **SuEks:** Sulu ekstre, **HAEks:** Hidroalkolik ekstre **KY:** Kurutulmuş yaprak **SD:** Sprague Dawley, **ICR:** Institute for Cancer Research, **NMRI:** Naval Medical Research Institute, **W:** Wistar, **E:** Erkek, **K:** Kadın, **PostM:** Postmenapozal, **p.o.:** Per oral **i.p.:** İntraperitoneal, **ABD:** Anksiyete benzeri davranış, **Anks.:** Anksiyete

S. heldreichiana uçucu yağının bileşenlerini inceleyen Başalma ve ark. (61) bu türde en fazla bulunan bileşenlerin sırasıyla α -pinen (% 13.35), spatulenol (% 4.17), karyofilen oksit (% 4.14), α -kadinol (% 3.94), linalol (% 3.57) ve α -terpineol (% 3.56) olduğunu tespit etmiştir. Akın ve ark. (62) 2010 yılında yayımlanan çalışmalarında ise *S. heldreichiana* uçucu yağında en fazla bulunan içerikleri linalol (% 9.4), α -pinen (%5.6), 1,8-sineol (% 5.6), borneol (% 5.6), kripton (% 5.3), linalil asetat (% 4.9) ve α -

terpineol (% 4.4) olarak sıralamışlardır . Son olarak, Erdoğan (67), yaptığı doktora tez çalışmasında *S. heldreichiana* uçucu yağında en fazla β -pinen (% 33.73), kamfor (% 7.9), α -pinen (% 6.26), spatulenol (% 5.23) ve borneol (% 4.11) maddelerinin bulunduğunu belirtmiştir.



Şekil 2.5. *Salvia heldreichiana* Boiss. ex Benth

Çalışmalara göre *S. heldreichiana* uçucu yağında en fazla miktarda bulunduğu belirtilen α -pinen, β -pinen ve linalolün anksiyolitik ve antidepresan benzeri etkisine dair kanıtlar bulunmaktadır (3-6). Kasuya ve ark. (4) farelerle yaptıkları çalışmada α -pinen inhalasyonundan 90 dakika sonra yükseltilmiş artı labirent testinde açık kola giriş sayısı ve açık kolda geçirilen sürede artış olduğunu bildirmişlerdir. Linck ve ark.nın (3) yaptıkları çalışmaya göre % 3'lük linalol inhalasyonu sonrasında farelerin aydınlık/karanlık kutu testinde aydınlık alanda kalma süreleri artmıştır. Aynı çalışmada % 1 linalol inhalasyonu sonrasında farelerin sosyal etkileşim testinde sosyal etkileşim sürelerinin arttığı tespit edilmiştir. Guzmán-Gutiérrez ve ark. (5) yaptıkları çalışmada farelere linalol (100 mg/kg, i.p.) ve β -pinen (100 mg/kg, i.p.) uygulamış, her

ikisinin de zorunlu yüzme testinde hareketsiz kalınan süreyi azaltarak antidepresan benzeri etki gösterdiği belirtilmiştir. Weston-Green ve ark. (6) yayımladıkları derlemede pinen, linalol ve bu monoterpenlerden zengin uçucu yağların anksiyolitik özelliklerini gösteren çalışmaları özetlemiştir.

S. heldreichiana uçucu yağı içerdiği α -pinen, β -pinen, 1,8-sineol, kamfor, karyofilen oksit, linalol ve borneol açısından *S. officinalis*'e (68), *S. elegans*'a (69), *S. reuterana* ve *S. limbata*'ya (70) benzerlik göstermektedir. Bu *Salvia* türlerinin anksiyolitik benzeri etki gösterdiğine dair çalışmalara önceki sayfalarda (Bkz. Tablo 2.1.) değinilmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Barınma Koşulları

Çalışmada, Kobay Deney Hayvanları Laboratuvarı Sanayi ve Ticaret AŞ'den temin edilen, toplam 48 adet, 6-7 haftalık, 200-300 gram ağırlığındaki *Wistar* albino erkek sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar 35x56x19 cm (en, boy, yükseklik) boyutlarındaki kafeslerde, her kafeste 4 sıçan olacak şekilde yerleştirildi. Kafeslerde TAPVEI® marka, titrete kavaktan (*aspen*) üretilmiş, 5x5x1 mm boyutlarındaki altlık malzeme kullanıldı. Sıçanlar 12 saatlik aydınlık ve karanlık döngüsünde, $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta, % 40-45 nem oranı olan odada tutuldu. Beslenmelerinde standart sıçan yemi (Bil-Yem) kullanıldı. Yem ve su (musluk suyu) kısıtlaması yapılmadı. Çalışma için Hacettepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan 22.01.2021 tarihli ve 2021/05-04 karar numaralı etik kurul onayı alındı.

3.2. *Salvia heldreichiana* Uçucu Yağının Elde Edilmesi

Salvia heldreichiana bitkisi; T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün izniyle (Bkz. EK 2), Karaman iline bağlı Yeşildere Köyü'nün 1300 m yükseklikteki yamaçlarında, çiçeklenme döneminde (Temmuz 2021) toplandı. Bitki numunelerinden hazırlanan herbaryum örnekleri, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'na kaydedilip (AEF: 30892) dolaplara yerleştirildi.

Uçucu yağın elde edilmesi için bitkinin toprak üstü kısımlarından örnekler alınıp gölgede kurutuldu. Kuruyan bitki örnekleri toz haline getirilip tartıldı. *Clavenger* cihazı ile 150 gram bitki numunesinin 3 saat boyunca distilasyonu yapıldı. Uçucu yağ verimi % 0,33 olarak hesaplandı. Elde edilen uçucu yağlar deney gününe kadar, ağzı kapalı bir şekilde, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de saklandı.

3.3. Kullanılan İlaç ve Kimyasallar

Çalışmada pozitif kontrol grubuna anksiyolitik ve sedatif etkileri bilinen diazepam (Diazem 5 mg kapsül, Deva Holding AŞ) uygulandı. Çözücü olarak ise *Tween* 20 (Fisher BioReagents) kullanıldı.

3.4. Deneyler

Çalışma, *S. heldreichiana* uçucu yağının tek doz uygulanmasının etkilerini inceleyen Deney 1 ve tekrarlayan dozda uygulanmasının etkilerini inceleyen Deney 2'den oluşmaktadır.

3.4.1. Deney 1: Tek Doz

Temin edilen 24 adet sıçan, ortalama ağırlıkları benzer olacak şekilde, her grupta 8 hayvanın bulunduğu üç gruba ayrılıp kafeslere yerleştirildi.

- 1. Grup (Kontrol Grubu):** Distile su ile hazırlanmış 0,85 µl/ml *Tween* 20 çözeltisi; 1 kez, 10 ml/kg, oral gavajla
- 2. Grup (Diazepam Grubu - Pozitif Kontrol):** 1,5 mg/kg diazepam; 0,85 µl/ml *Tween* 20 çözeltisi içinde, 1 kez, 10 ml/kg, oral gavajla
- 3. Grup (*Salvia* Grubu):** 200 mg/kg *S. heldreichiana* uçucu yağı; 0,85 µl/ml *Tween* 20 çözeltisi içinde, 1 kez, 10 ml/kg, oral gavajla

* *Tween*, salin ve suyun davranışsal fark oluşturmadağını belirten çalışmalar baz alınarak kontrol grubunun *Tween* çözeltisi olması kararlaştırılmıştır (71-73).

Deney Protokolü

Hayvanlar temin edildikten sonra adaptasyon sağlamaları için yedi gün beklenildi. Her gün bir grup deneye alındı. Ardışık 3 deney gününde çalışma tamamlandı.

Deney günü sabah 08.00'de belirlenen gruptaki 8 sıçan tartıldı. Ağırlıklarına göre gerekli solüsyon miktarı hesaplanıp hazırlandı. Saat 09.00 civarında oral gavaj

uygulanmaya başlandı. Gavaj uygulaması 5 dk. arayla gerçekleştirildi. Birinci sıçan gavaj uygulanmasından 1 saat sonra açık alan testine sokuldu. Test 5 dk. sürdü. Sonrasında birinci sıçan yükseltilmiş artı labirent testine alınırken ikinci sıçan açık alan testine girdi. 5 dk. süren testlerden sonra birinci sıçan *rotarod* testine, ikinci sıçan yükseltilmiş artı labirent testine, üçüncü sıçan açık alan testine alındı. Bu şekilde birbirini izleyen 5 dakikalık periyotlarla istasyon değişimi sağlandı (Şekil 3.1). Böylelikle *S. heldreichiana* uçucu yağının etkisi her hayvan için benzer zamanlarda test edilebildi. Testlerden sonra son istasyona gelen sıçana anestezi (ketamin-ksilazin) uygulandı. Anestezi altında intrakardiyak kan alınarak sakrifiye edildi. Alınan kan santrifüj edilip serum elde edildi. Beyin dokusu çıkarıldı. Sonrasında bilateral hipokampus izole edildi. Serum ve hipokampus dokusu daha sonra incelenmek üzere -80°C buzdolabına kaldırıldı. İlk hayvanın anestezisi ile sekizinci hayvanın dokularının -80°C buzdolabına kaldırılması yaklaşık bir saat (11.00 - 12.00) sürdü.



Şekil 3.1. Deney protokolündeki istasyonlar ve 5 dakikalık sürelerle sıçanların sonraki istasyona geçmesi

(AAT: Açık alan testi, YALT: Yükseltilmiş artı labirent testi, RT: *Rotarod* testi, Anest.: Anestezi)

Gavaj Uygulaması

Gavaj uygulaması için 16 gauge'lik, eğri uçlu, paslanmaz metal kanül kullanıldı. Deneye alınacak gruptaki sıçanlara 5 dk. ara ile gavaj uygulandı (Şekil 3.2). Gavaj sonrasında hayvanların solunumu, ağrı benzeri davranış sergileyip sergilemedikleri takip edildi; hiçbir hayvanda komplikasyon izlenmedi.



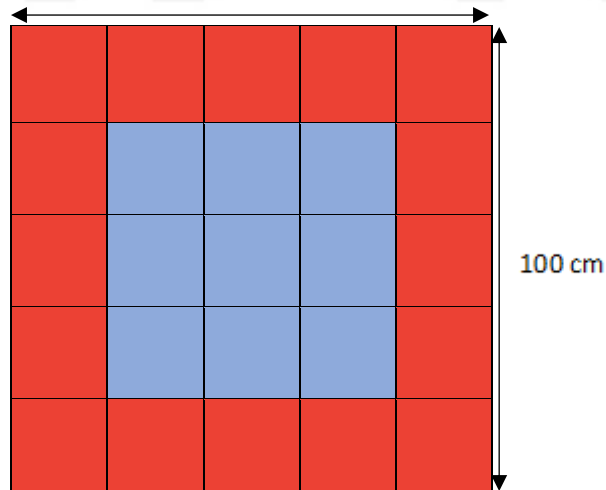
Şekil 3.2. Gavaj uygulaması

Literatürde *S. heldreichiana* uçucu yağının sıçanlardaki farmakokinetik özelliklerini gösteren bir çalışmaya rastlanmadı. Bu nedenle *S. heldreichiana* uçucu yağında en fazla bulunduğu belirtilen linalol, α -pinen ve β -pinen ile yapılmış farmakokinetik çalışmalara başvuruldu. Shi ve ark. (74) yaptıkları çalışmada oral uygulanan linalolün sıçan plazmasında maksimum konsantrasyona ulaşma süresini (Tmax) 40 dk. olarak bulmuştur. Başka bir çalışmada oral uygulama sonrası α -pinen için Tmax 2.33 saat (yaklaşık 140 dk.) bulunmuştur. Yine aynı çalışmada borneol için Tmax 1.33 saat (yaklaşık 80 dk.), 1,8-sineol için Tmax 0.67 saat (yaklaşık 40 dk.)

hesaplanmıştır (75). Bu veriler ışığında gavajdan 60 dk. sonra davranış testlerine başlanması planlandı.

Açık Alan Testinin Uygulanması

Deney 100 x 100 x 50 cm (en, boy, yükseklik) boyutlarındaki düzenekte gerçekleştirildi. Düzeneğin tabanı ~ 400 lüksle aydınlatıldı. Sessiz bir ortam sağlandı. Kare şeklindeki taban 20 x 20 cm'lik 25 küçük kareye bölündü. Alanın ortasındaki 9 kare merkez kabul edildi. Sıçanın kenardaki 16 karede bulunması ise *tigmotaksis* kabul edildi. Sıçanlar tam ortadaki kareye yerleştirildi (Şekil 3.3). Hayvanların alanda 5 dakika serbestçe hareket etmelerine izin verildi. Alanı yukarıdan gören bir kamera ile hareketleri kayıt altına alındı. Deneğin göremeyeceği uzaklıkta bulunan gözlemci, test sürecini bilgisayar üzerinden eş zamanlı takip etti. Her testten sonra düzeneğe %70 etanol ile temizlendi. Test sonrası sıçan tekli kafesle yükseltilmiş artı labirent testi istasyonuna alındı.

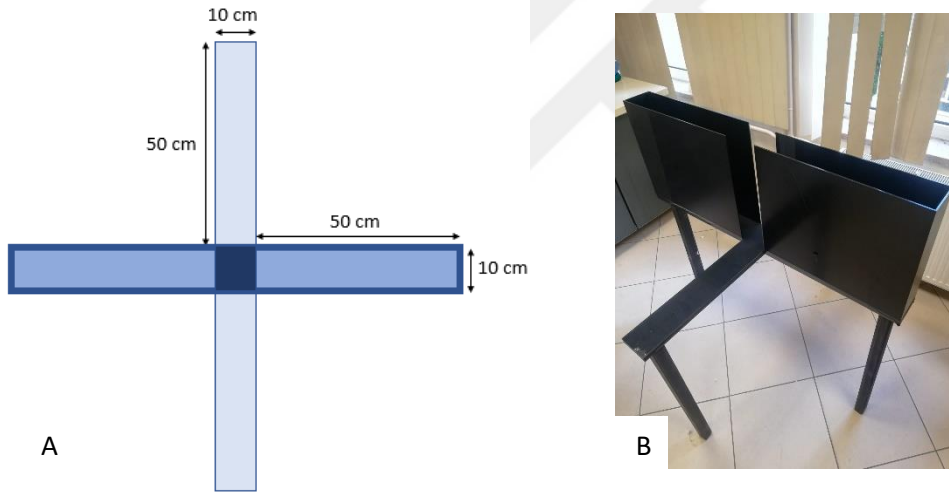


Şekil 3.3. Açık alan testinin tabanı. Mavi alan merkez, kırmızı alan kenar bölge (50).

Test manuel değerlendirildi. Sıçanın 4 ayağının da merkezde veya kenarda olması gözlemlendi. Merkezde geçirilen süre, merkeze giriş sayısı, *tigmotaksis* süresi, *tigmotaksis* sayısı, şahlanma sayısı, tımarlanma sayısı, tımarlanma süresi ve defekasyon sayısı değerlendirildi.

Yükseltilmiş Artı Labirent Testinin Uygulanması

Pleksiglastan yapılmış, yerden 70 cm yüksekte, birbirleriyle dik kesişen, 50 cm uzunluk, 10 cm genişlik ve 40 cm yükseklikteki (kapalı kollarda) dört koldan oluşan düzenek kullanıldı (Şekil 3.4). Düzenek koyu renkli, kalın bir perdeyle odanın kalanından izole edildi. Sessiz bir ortam sağlandı. Sıçanlar kolların birleşim noktasına yüzleri açık kola bakacak şekilde yerleştirildi. Hayvanların labirentte 5 dk. serbestçe hareket etmelerine izin verildi. Labirenti yukarıdan gören bir kamera ile hareketleri kayıt altına alındı. Perdenin öteki tarafındaki gözlemci test sürecini bilgisayarla eş zamanlı takip etti. Labirent her testten sonra %70 etanol ile temizlendi. Test sonrası sıçan tekli kafesle *rotarod* testi istasyonuna alındı.



Şekil 3.4. A: Yükseltilmiş artı labirentin üstten görünüşü
B: Çalışmada kullanılan yükseltilmiş artı labirent

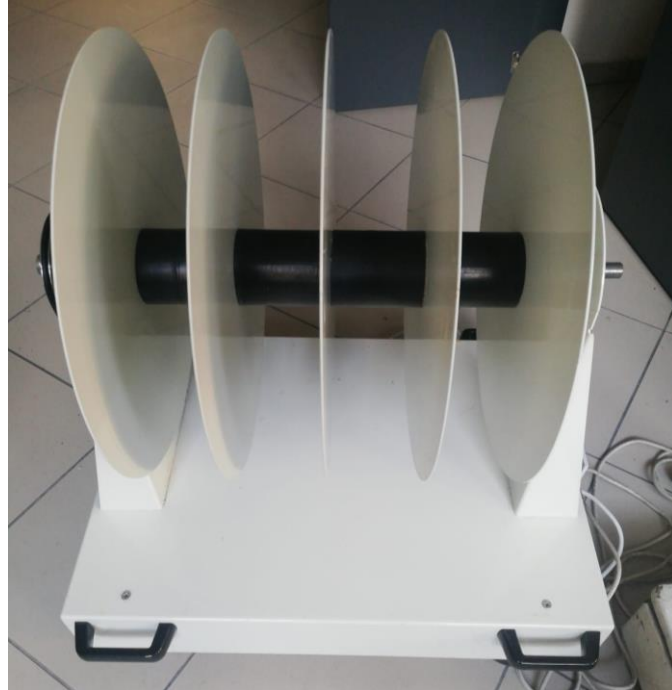
Kapalı kollara giriş sayısı, açık kollara giriş sayısı, açık kollara giriş yüzdesi*, kapalı kollarda geçirilen süre, açık kollarda geçirilen süre, açık kollarda geçirilen süre yüzdesi** manuel değerlendirildi. Sıçanın 4 ayağının da kolların içinde olması kola giriş olarak sayıldı.

$$* AKGY = \frac{\text{Açık kollara giriş sayısı}}{\text{Açık kollara giriş sayısı} + \text{Kapalı kollara giriş sayısı}} \times 100$$

$$** AKGSY = \frac{\text{Açık kollarda geçirilen süre}}{\text{Açık kollarda geçirilen süre} + \text{Kapalı kollarda geçirilen süre}} \times 100$$

Rotarod Testinin Uygulanması

Deneyde 10 cm genişliğinde 4 bölme içeren (aynı anda 4 denek teste alınabilir), kendi etrafında dakikada 16 kez dönebilen, 8 cm çapındaki silindirik çubuk kullanılmıştır (Şekil 3.5). Hayvanlar yükseltilmiş artı labirent testinden *rotarod* testi istasyonuna geldiklerinde dinlenmeleri için 1 dk. beklendi. Sonrasında kuyruklarından tutularak dönme yönünün tersi yönde çubuğun üzerinde tutuldu. Ayakları dönen çubuğa uyum sağladığında sıçanların kuyrukları bırakıldı. Kronometre başlatıldı. Hayvan düşene kadar ya da düşmezse 60 saniye boyunca çubuk üzerinde kaldı. Düşen ya da 60 saniyeyi tamamlayan hayvan tekrar kafesine alınıp 1 dk. dinlendirildi. Bir sıçan, 1 dakikalık dinlenme araları ile toplamda 5 kez çubuk üzerine konuldu. İlk 2'si alıştırmadır, son 3'ü test aşaması olarak kabul edildi. Çubuk üzerinde düşmeden test aşamalarını tamamlayan hayvan, en yüksek skor olan 180 puanı (3 x 60 saniye) aldı. Düzenekte kalma süresinin azalması motor koordinasyonda bozulmanın ve sedasyonun göstergesi kabul edildi. Test sırasında düzeneği karşıdan gören cep telefonu kamerasıyla kayıt alındı. Değerlendirme manuel gerçekleştirildi.

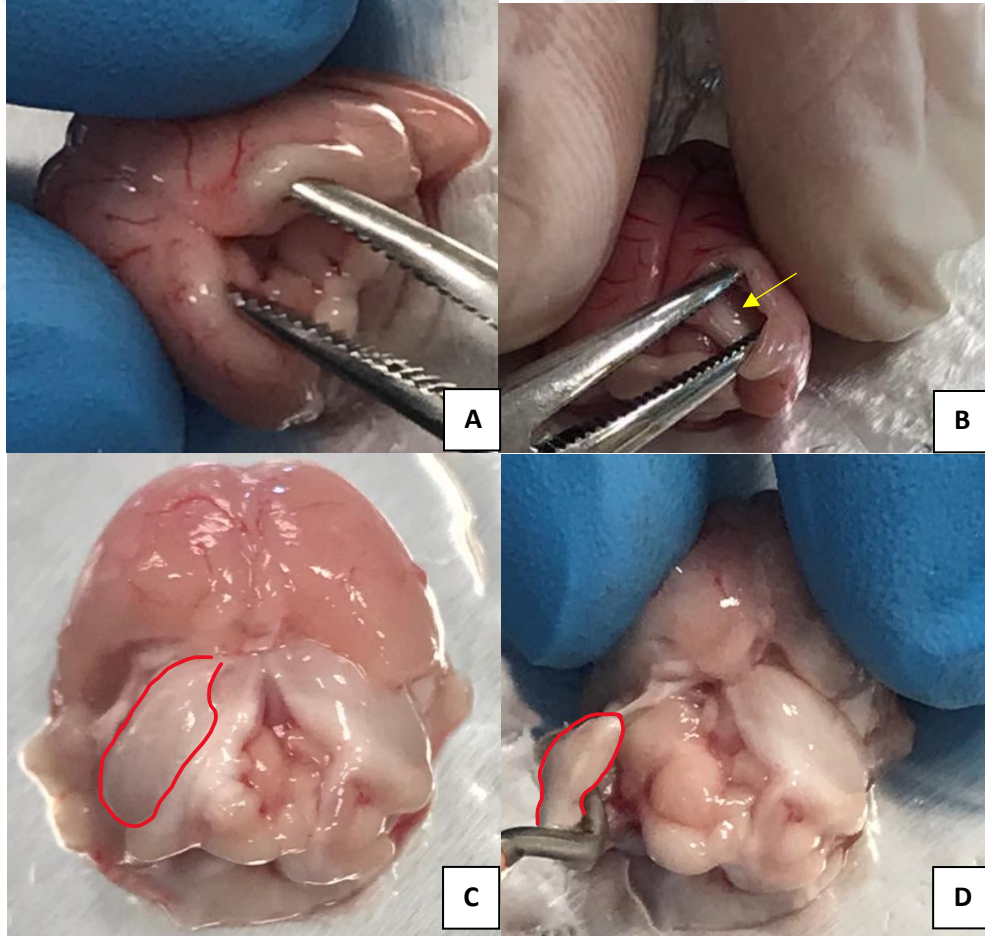


Şekil 3.5. *Rotarod* testi

Anestezi, Sakrifikasyon ve Dokuların Toplanması

Rotarod testi sonrasında hayvanlara 90 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin anestezi intraperitoneal uygulandı. Anestezi derinliği parmak kısırtma yanıtı ile değerlendirildi. Anestezi altındaki hayvandan intrakardiyak kan alındı, pıhtı aktivatörlü tüplere konulup 5000 rpm ile 10 dk. santrifüj edildi. Serum kısmı mikro santrifüj tüplerine aktarılıp -80°C 'de muhafaza edildi.

Sakrifikasyon sonrasında hayvan dekapite edildi, kafatası açılarak beyin dokusu çıkarıldı. Bilateral hipokampus dokusu Spijker (76)'in uyguladığı yöntemle eksise edilip (Şekil 3.6.) mikro santrifüj tüpleri içinde, -80°C 'de muhafaza edildi.



Şekil 3.6. Hipokampusün çıkarılması **A:** Serebellumu uzaklaştırılmış beynin iki hemisferi posteriordan ayrılır. **B:** Sağ hemisfere posteriordan girince hipokampus daha açık renkte, anteromedialde izlenir (sarı ok) . **C:** Hipokampus üzerindeki korteks bilateral çıkarılır. **D:** Hipokampus arka-çaprazla sıyrılarak eksise edilir.

Hipokampus Parametrelerinin Ölçümü

Homojenizasyon: Homojenizasyon işlemi, üretici firmanın *enzyme linked immunosorbent assay* (ELISA) kitlerindeki talimatlar doğrultusunda yapıldı. Öncelikle hipokampus dokuları tartıldı (Mettler Toledo, AB204-S/FACT). Üzerine soğuk fosfat tamponlu salin (PBS-Phosphate Buffered Saline, pH:7.4) 1:9 oranında (Doku ağırlığı (g) : PBS (ml)) eklendi. Buz dolu bir kaba yerleştirilen test tüpü içerisinde homojenizatör (PRO Scientific Inc., PRO 200) ile homojenize edildi. İleri hücre yıkımı için ultrasonik homojenizatör (OMNI International Inc., Omni-Ruptor 4000) kullanıldı. Homojenat daha sonra santrifüj cihazında (Kubota Corporation, Table Top Refrigerated Centrifuge 5500) -4°C'de, 15000 x g'de 10 dk. santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant kısmı pipetle alınıp çalışılacak her bir kitin gerektirdiği miktarda mikro santrifüj tüplerine ayrıldı.

Total Protein Tayini: Total protein miktarının ölçümünde BCA test kiti (ABP Biosciences) kullanıldı. Kit, bikinkoninik asit (BCA) bazlı olup total protein miktarını kolorimetrik olarak belirler. Alkali ortamda proteinin, Cu^{+2} iyonunu Cu^{+1} iyonuna indirgemesi prensibine dayanır. İki BCA bir Cu^{+1} iyonu ile reaksiyona girer ve mor renkli reaksiyon ürünü oluşur. Bu reaksiyon ürünü 562 nm dalga boyunda güçlü bir absorbans sergiler. Protein konsantrasyonları, standart proteine (BSA - Sığır serum albümini) göre hesaplanır.

Deney sürecinde üretici firmanın talimatlarına uyuldu. Steril, 96 kuyucuklu, tabanı düz mikrolaka (Greiner Bio-One, Cellstar, 655180) kullanıldı. İlk kuyucuklara konsantrasyonları bilinen standart proteinler konuldu. Diğer kuyucuklara numuneler yerleştirildi. A ve B reaktifleri uygun oranda karıştırılarak çalışma reaktifi elde edildi. Kuyucuklara çalışma reaktifi eklenip 37°C'de 30 dk. inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında mikrolaka okuyucuda (Allsheng, AMR-100) 570 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü.

Noradrenalin Miktarının Belirlenmesi: Hipokampusdaki noradrenalin miktarı, sıçan noradrenalin ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory, EA0041Ra, kompetitif) ile ölçüldü. Üretici firmanın talimatlarına uyuldu. Antikorla kaplanmış mikrolakada

önceden belirlenen kuyucuklara 50 µl standart ve numune eklendi. Sonrasında üzerine 50 µL biyotinlenmiş antijen eklendi. Kitin çalışma prensibi, numunedeki antijenler ile biyotinlenmiş antijenlerin antikora bağlanmak için rekabet etmesine dayanmaktadır. 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrasında bağlanmamış antijenler yıkanarak uzaklaştırıldı. Kuyucuklara 50 µl avidin-HRP (*horseradish peroksidaz*) eklendi. İkinci kez inkübe edildi (37°C'de 60 dakika). Yıkama işlemi ile bağlanmamış avidin-HRP uzaklaştırıldı. Kuyucuklara 50'şer µl A ve B solüsyonu konuldu. Karanlıkta, 37°C'de, 10 dk. inkübe edildi. Son olarak kuyucuklara 50 µl durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Bu aşamada kuyucuktaki rengin maviden sarıya döndüğü gözlemlendi. Absorbans değerleri mikroparka okuyucu (Allsheng, AMR-100) ile 450 nm'de ölçüldü. Renk yoğunluğu örnekteki noradrenalin miktarı ile ters orantılıdır. Sonuçlar total protein normalizasyonu yapılarak ng/g (noradrenalin/total protein) şeklinde verilmiştir.

Serotonin Miktarının Belirlenmesi: Hipokampüsteki 5-HT miktarı, sıçan serotonin ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory, E0866Ra, sandviç) ile ölçüldü. Üretici firmanın talimatlarına uyuldu. 5-HT antikoru ile kaplanmış mikroparkada önceden belirlenen kuyucuklara 50 µl standart ve 40 µl numune eklendi. Numunelerin üzerine 10 µl 5-HT antikoru konuldu. 50 µl streptavidin-HRP eklenip 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra bağlanmamış streptavidin-HRP yıkama işlemi ile uzaklaştırıldı. Kuyucuklara 50'şer µl A ve B solüsyonu konuldu. Karanlıkta, 37°C'de, 10 dk. inkübe edildi. Son olarak kuyucuklara 50 µl durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Bu aşamada kuyucuktaki rengin maviden sarıya döndüğü gözlemlendi. Absorbans değerleri mikroparka okuyucu (Allsheng, AMR-100) ile 450 nm'de ölçüldü. Absorbans değerleri 5-HT miktarı ile doğru orantılıdır. Sonuçlar, total protein normalizasyonu yapılarak ng/mg (5-HT/total protein) şeklinde verilmiştir.

GABA Miktarının Belirlenmesi: Hipokampüsteki GABA miktarı, sıçan GABA ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory, E0102Ra, sandviç) ile ölçüldü. Üretici firmanın talimatlarına uyuldu. GABA antikoru ile kaplanmış mikroparkada önceden

belirlenen kuyucuklara 50 µl standart ve 40 µl numune eklendi. Numunelerin üzerine 10 µl GABA antikoru konuldu. 50 µl streptavidin-HRP eklenip 37°C'de 60 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra bağlanmamış streptavidin-HRP yıkama işlemi ile uzaklaştırıldı. Kuyucuklara 50'şer µl A ve B solüsyonu konuldu. Karanlıkta, 37°C'de, 10 dk. inkübe edildi. Son olarak kuyucuklara 50 µl durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Bu aşamada kuyucuktaki rengin maviden sarıya döndüğü gözlemlendi. Absorbans değerleri mikrolaka okuyucu (Allsheng, AMR-100) ile 450 nm'de ölçüldü. Absorbans değerleri GABA miktarı ile doğru orantılıdır. Sonuçlar, total protein normalizasyonu yapılarak nmol/g (GABA/total protein) şeklinde verilmiştir.

Serum Parametrelerinin Ölçümü

Kortizol düzeyleri sıçan ELISA kitiyle; ALT, AST, kreatinin, üre ve BUN düzeyleri ise biyokimya analizörü (Mindray, BS-400) ile kolorimetrik yöntemle ölçüldü. Serum parametreleri, hizmet alımı kapsamında, CE ve ISO kalite belgelerine sahip özel bir laboratuvar tarafından çalışıldı.

Kortizol düzeyinin ölçümünde sıçan kortizol ELISA kiti (Bioassay Technology Laboratory, E0828Ra) kullanıldı. Ölçüm sürecinde üretici firmanın protokolü izlendi. Kitin içinden çıkan mikrolaka, kortizol antikoru ile önceden kaplanmıştı. Üzerine serum eklendiğinde serumdaki kortizol kuyucuklardaki kaplanmış antikorlara bağlandı. Sonrasında eklenen biotinlenmiş kortizol antikoru da serumdaki kortizole bağlandı (sandviç). Daha sonra streptavidin-HRP eklendi. Streptavidin-HRP, biotinlenmiş kortizol antikoruna bağlandı. İnkübasyon sonrasında bağlanmamış streptavidin-HRP, otomatik mikrolaka yıkayıcı (BioTek, ELx50) ile yıkanarak uzaklaştırıldı. Substrat solüsyonu eklendi. Substrat solüsyonunun eklenmesi kortizol miktarıyla orantılı olarak renk oluşmasını sağladı. Asidik durdurma solüsyonu eklenip reaksiyon durduruldu. Mikrolaka okuyucu (BioTek, ELx800) ile 450 nm dalga boyunda absorbans değerleri ölçüldü.

3.4.2. Deney 2: Tekrarlayan Doz

Deney 2 için de 24 adet sıçan temin edildi. Ortalama ağırlıkları benzer olacak şekilde, her grupta 8 hayvanın bulunduğu üç gruba ayrılıp kafeslere yerleştirildi.

4. Grup (Kontrol): Distile su ile hazırlanmış 0,85 µl/ml *Tween* 20 çözeltisi; ardışık 5 gün, günde 1 kez, 10 ml/kg

5. Grup (Diazepam Grubu – Pozitif Kontrol): 1,5 mg/kg diazepam; 0,85 µl/ml *Tween* 20 çözeltisi içinde, ardışık 5 gün, günde 1 kez, 10 ml/kg

6. Grup (*Salvia* Grubu): 200 mg/kg *S. heldreichiana* uçucu yağı; 0,85 µl/ml *Tween* 20 çözeltisi içinde, ardışık 5 gün, günde 1 kez, 10 ml/kg

* *Tween*, salin ve suyun davranışsal fark oluşturmadağını belirten çalışmalar baz alınarak kontrol grubunun *Tween* çözeltisi olması kararlaştırılmıştır (71-73).

Deney Protokolü

Hayvanlar temin edildikten sonra uyum sağlamaları için yedi gün beklenildi. Adaptasyon sürecinden sonra 5 gün boyunca, sabah 09.00-10.00 saatleri arasında gavaj işlemi uygulandı. Literatürde *Salvia* uçucu yağlarının tekrarlayan dozdaki anksiyolitik etkisini araştıran bir çalışmaya rastlanmadı. Perry ve ark. (77) yaptıkları çalışma ile *Salvia lavandulaefolia* uçucu yağının 5 gün, günde 1 kez, oral yolla verilmesinin bazı beyin bölgelerine etki ettiğini göstermesi üzerine 5 günlük gavaj uygulanmasına karar verildi. 5. gün gavaj işleminden 60 dk. sonra davranış deneylerine geçildi (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Deney 2'nin uygulanma şeması

	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	7. gün
Diazepam	G	G	G	G	G+D+S		
<i>Salvia</i>	A	G	G	G	G	G+D+S	
Kontrol	A	A	G	G	G	G	G+D+S

(A: Adaptasyon, G: Gavaj, D: Davranış deneyleri, S: Sakrifikasyon)

Hayvanlar gavaj öncesinde tartıldı. Solüsyonlar Deney 1’de açıklandığı şekilde hayvanların ağırlıklarına göre günlük hazırlandı. Eğri uçlu, paslanmaz metal kanül (16 gauge) kullanıldı. Her sıçandan sonra 5 dk. ara verilerek sıradaki sıçana geçildi. Sıçanlar gavajdan 60 dk. sonra davranış testlerine alındı. Yaklaşık 5 dk. aralıklarla istasyon değiştirdiler (Bkz. Şekil 3.1). Anestezi uygulanmasında, sakrifikasyonda, dokuların toplanmasında, hipokampus ve serum parametrelerinin ölçülmesinde Deney 1’de açıklanan yöntem, malzeme ve aletler kullanıldı.

3.5. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde IBM SPSS 25 programı kullanıldı. Deney 1 ve Deney 2’deki gruplar kendi içinde karşılaştırıldı. İki deneyden fazla sayısal grup içeren verilerin dağılımı, normal dağılıma uygun olmadığı için gruplar arasındaki farklılık *Kruskal-Wallis* testi ile analiz edildi. Fark bulunan değişkenlerde farklılığın kaynaklandığı grup ya da grupları belirlemek için *Bonferroni* düzeltmeli *Dunn’s* testi yapıldı. Anlamlılık düzeyi $P < 0,05$ olarak kabul edildi. Bulgular bölümünde değişkenlere ait istatistikler kutu-çizgi grafikleri ve tablolar yardımıyla gösterildi. İstatistiksel değerlendirme süreci Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Ana Bilim Dalı’na kontrol ettirildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızın en önemli bulgusu *S. heldreichiana* uçucu yağının hem tek hem de tekrarlayan dozda diazepam benzer şekilde serum kortizol düzeylerini düşürmesidir.

4.1. Davranış Deneylerine İlişkin Veriler

Deney öncesi grupların vücut ağırlıkları ölçülmüş sonuçlar Tablo 4.1.de verilmiştir.

Tablo 4.1. Sıçanların deney öncesi vücut ağırlıklarına dair veriler

		DENEY 1	DENEY 2
		Vücut Ağırlığı (g, $P > 0,05$)	Vücut Ağırlığı (g, $P > 0,05$)
Kontrol	Ortanca	243,5	242
	(Min-Maks)	220-283	214-260
Diazepam	Ortanca	251	238
	(Min-Maks)	241-265	222-248
Salvia	Ortanca	256,5	243
	(Min-Maks)	230-275	230-251

4.1.1 Açık Alan Testi Bulguları

Açık alan testinde sıçanların merkeze giriş sayısı, merkezde geçirdikleri süre, *tigmotaksis* sayısı, *tigmotaksis* süresi, şahlanma sayısı, tımarlanma sayısı, tımarlanma süresi ve defekasyon sayısı değerlendirildi. Deney 1 ve Deney 2'ye ait tanımlayıcı istatistikler ve P değerleri sırasıyla Tablo 4.2. ve Tablo 4.3.de özetlenmiştir.

Deney 1'de diazepam grubunun tımarlanma sayısında, kontrol grubuna göre azalış izlendi ($P = 0,018$) (Şekil 4.1.). *Salvia* grubunda kontrol grubuna göre anksiyete benzeri davranışlarda anlamlı bir azalma izlenmedi.

Deney 2'de diazepam grubunun şahlanma sayısı, kontrol grubundan yüksek saptandı ($P = 0,017$) (Şekil 4.2.A). Ayrıca diazepam grubunun tımarlanma süresi, kontrol grubuna göre kısaydı ($P = 0,013$) (Şekil 4.2.B). *Salvia* grubunda kontrol grubuna göre anksiyete benzeri davranışlarda anlamlı bir azalma izlenmedi.

Tablo 4.2. Açık alan testine ait veriler (Deney 1)

		DENEY 1			p
		Kontrol (n=8)	Diazepam (n=8)	Salvia (n=8)	
Merkeze Giriş Sayısı	Ortanca	3,50	2,50	2	> 0,5
	(Min-Maks)	1-10	1-8	1-12	
Merkezde Geçirdiği Süre (sn)	Ortanca	12,50	7,50	5	> 0,5
	(Min-Maks)	1-27	2-30	2-29	
Tigmotaksis Sayısı	Ortanca	5	3	3	> 0,5
	(Min-Maks)	1-11	1-7	2-12	
Tigmotaksis Süresi (sn)	Ortanca	280	287	291,50	> 0,5
	(Min-Maks)	265-299	257-297	254-294	
Şahlanma Sayısı	Ortanca	33	22,50	20	> 0,5
	(Min-Maks)	17-41	8-40	12-32	
Tımarlanma Sayısı	Ortanca	4	1,50 *	2	< 0,5
	(Min-Maks)	1-7	0-3	1-3	
Tımarlanma Süresi	Ortanca	19	4,50	20,50	> 0,5
	(Min-Maks)	5-41	0-31	7-62	
Defekasyon Sayısı	Ortanca	1,50	2	1,50	> 0,5
	(Min-Maks)	0-3	0-8	0-4	

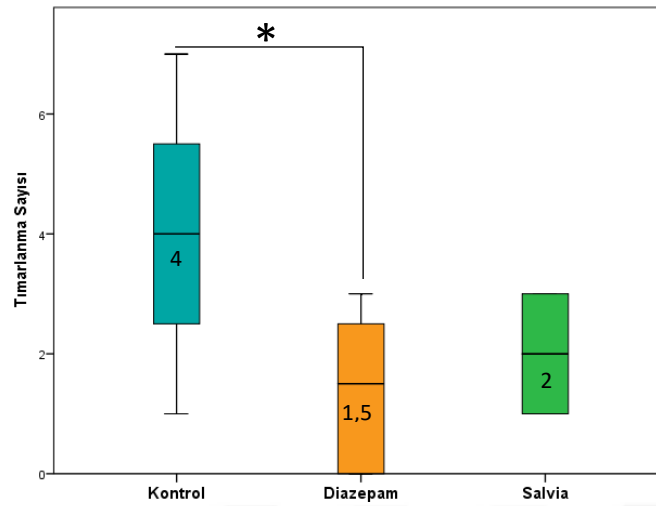
* Tımarlanma sayısı diazepam grubunda kontrol grubundan düşük izlendi ($P = 0,018$).

Tablo 4.3. Açık alan testine ait veriler (Deney 2)

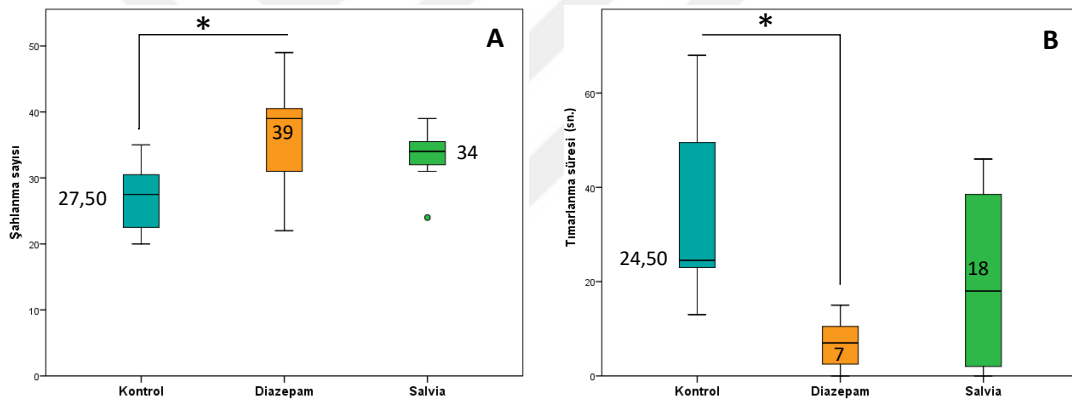
		DENEY 2			p
		Kontrol (n=8)	Diazepam (n=8)	Salvia (n=8)	
Merkeze Giriş Sayısı	Ortanca	4	7	4	> 0,5
	(Min-Maks)	2-13	3-13	1-11	
Merkezde Geçirdiği Süre (sn)	Ortanca	15,50	15,50	14,50	> 0,5
	(Min-Maks)	7-28	6-33	2-24	
Tigmotaksis Sayısı	Ortanca	5	9,50	4,50	> 0,5
	(Min-Maks)	2-14	4-15	1-13	
Tigmotaksis Süresi (sn)	Ortanca	279,50	274,50	278	> 0,5
	(Min-Maks)	243-291	246-292	253-297	
Şahlanma Sayısı	Ortanca	27,50	39 *	34	< 0,5
	(Min-Maks)	20-35	22-49	24-39	
Tımarlanma Sayısı	Ortanca	3	1,50	3	> 0,5
	(Min-Maks)	2-5	1-5	0-4	
Tımarlanma Süresi	Ortanca	24,50	7 **	18	< 0,5
	(Min-Maks)	13-68	0-15	0-46	
Defekasyon Sayısı	Ortanca	1,50	0,50	2	> 0,5
	(Min-Maks)	0-2	0-5	0-5	

* Şahlanma sayısı diazepam grubunda kontrol grubundan yüksek izlendi ($P=0,017$).

** Tımarlanma süresi diazepam grubunda kontrol grubundan düşük izlendi ($P = 0,013$).



Şekil 4.1. Deney 1, açık alan testi tımarlanma sayıları (* $P < 0,05$)



Şekil 4.2. A: Deney 2, açık alan testi şahlanma sayıları (* $P < 0,05$)

B: Deney 2, açık alan testi tımarlanma süresi (* $P < 0,05$)

4.1.2. Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Bulguları

Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kollara giriş sayısı, kapalı kollara giriş sayısı, açık kollara giriş yüzdesi, açık kollarda geçirilen süre, kapalı kollarda geçirilen süre ve açık kollarda geçirilen süre yüzdesi değerlendirildi. Deney 1'deki ve Deney 2'deki gruplar arasında, bu parametrelerde fark izlenmedi ($P > 0,05$). Bu teste ait veriler Tablo 4.4. ve Tablo 4.5.te gösterilmiştir.

Deney 1'de 4, Deney 2'de ise 5 hayvan düzeneğin açık kollarından düştü. Düzenekten düşen toplam 9 hayvanın verileri değerlendirmeye alınmamıştır.

Tablo 4.4. Yükseltilmiş artı labirent testine ait veriler (Deney 1)

		DENEY 1			p
		Kontrol (n=6)	Diazepam (n=7)	Salvia (n=7)	
Açık Kollara Giriş Sayısı	Ortanca	4	4	2	> 0,5
	(Min-Maks)	0-7	1-6	0-6	
Kapalı Kollara Giriş Sayısı	Ortanca	7	7	7	> 0,5
	(Min-Maks)	3-12	3-9	4-11	
Açık Kollara Giriş Yüzdesi (%)	Ortanca	31,73	36,36	33,33	> 0,5
	(Min-Maks)	0-44,44	14,29-50	0-60	
Açık Kollarda Geçirilen Süre (sn)	Ortanca	43	51	34	> 0,5
	(Min-Maks)	0-69	5-73	0-89	
Kapalı Kollarda Geçirilen Süre (sn)	Ortanca	168,50	170	213	> 0,5
	(Min-Maks)	128-289	143-238	127-243	
Açık Kollarda Geçirilen Süre Yüzdesi (%)	Ortanca	23,07	23,07	13,63	> 0,5
	(Min-Maks)	0-32,39	2,06-33,8	0-41,20	

Tablo 4.5. Yükseltilmiş artı labirent testine ait veriler (Deney 2)

		DENEY 2			p
		Kontrol (n=5)	Diazepam (n=8)	Salvia (n=6)	
Açık Kollara Giriş Sayısı	Ortanca	6	4	4	> 0,5
	(Min-Maks)	1-7	3-7	0-12	
Kapalı Kollara Giriş Sayısı	Ortanca	7	8	8,50	> 0,5
	(Min-Maks)	5-9	4-13	6-11	
Açık Kollara Giriş Yüzdesi (%)	Ortanca	44,44	33,33	30	> 0,5
	(Min-Maks)	12,5-58,3	27,27-60	0-57,14	
Açık Kollarda Geçirilen Süre (sn)	Ortanca	36	43,50	32,50	> 0,5
	(Min-Maks)	1-65	20-72	0-151	
Kapalı Kollarda Geçirilen Süre (sn)	Ortanca	237	208	207,50	> 0,5
	(Min-Maks)	172-247	132-235	106-261	
Açık Kollarda Geçirilen Süre Yüzdesi (%)	Ortanca	14,51	17,14	13,39	> 0,5
	(Min-Maks)	0,42-27,4	8,40-35,2	0-58,75	

4.1.3. Rotarod Testi Bulguları

Rotarod testinde sıçanların düzener üzerinde kalma süreleri değerlendirildi. Deney 1 ve Deney 2’de gruplar arasında fark saptanmadı ($P > 0,05$). Veriler sırasıyla Tablo 4.6. ve 4.7.da gösterilmiştir.

Tablo 4.6. *Rotarod* testine ait veriler (Deney 1)

DENEY 1					
		Kontrol (n=8)	Diazepam (n=8)	Salvia (n=8)	P
Düzener üzerinde Kalma Süresi (sn)	Ortanca (Min-Maks)	63 0-111	98,50 0-139	80 0-142	> 0,5

Tablo 4.7. *Rotarod* testine ait veriler (Deney 2)

DENEY 2					
		N. kontrol (n=8)	Diazepam (n=8)	Salvia (n=8)	P
Düzener üzerinde Kalma Süresi (sn)	Ortanca (Min-Maks)	117,50 21-180	63,50 0-161	99,50 0-179	> 0,5

4.2. Hipokampus Dokusuna Ait Bulgular

Hipokampus dokusunda noradrenalin, GABA ve 5-HT miktarları ölçüldü. Deney 1 ve Deney 2’ye ait veriler sırasıyla Tablo 4.8. ve 4.9.de gösterilmiştir. Deney 2’de diazepam grubundan 5, kontrol grubundan 3 adet hayvanın noradrenalin düzeyi, standart eğri aralığının altında kalmaları (ölçülemeyecek kadar düşük olmaları) nedeniyle ölçülemedi. Yine Deney 2’de teknik bir sorun nedeniyle (ELISA mikropıakasının 8. sütununda beklenen renk değişimi gözlenmedi) kontrol grubundan 1, diazepam grubundan 2 adet hayvanın 5-HT düzeyleri ölçülemedi.

Deney 1’de diazepam grubunun noradrenalin miktarı, *Salvia* grubuna göre yüksek bulundu ($P = 0,016$) (Şekil 4.3.). Ayrıca GABA miktarı diazepam grubunda,

kontrole göre yüksek izlendi ($P = 0,014$) (Şekil 4.4.). Deney 1’de 5-HT miktarı yönünden gruplar arasında fark izlenmedi ($P > 0,5$). Ancak her iki deneydeki 5-HT grafikleri birbiri ile uyumluydu (Şekil 4.5.).

Deney 2’de noradrenalin ve GABA miktarları, gruplar arasında fark göstermedi ($P > 0,5$). *Salvia* grubunun 5-HT miktarı, diazepam grubuna göre yüksek izlendi ($P = 0,003$).

Tablo 4.8. Hipokampus dokusu noradrenalin, GABA ve 5-HT düzeyleri (Deney 1)

DENEY 1					
		Kontrol (n=8)	Diazepam (n=8)	Salvia (n=8)	p
Noradrenalin (ng/g) (R ² =0,985)	Ortanca	61	126*	57	< 0,5
	(Min-Maks)	39-78	50-146	33-102	
GABA (nmol/g) (R ² =0,996)	Ortanca	199	319**	209	< 0,5
	(Min-Maks)	175-239	211-375	131-334	
5-HT (ng/mg) (R ² =0,994)	Ortanca	22	21	31	> 0,5
	(Min-Maks)	11-32	16-27	16-41	

* Noradrenalin miktarı diazepam grubunda *Salvia* grubuna göre yüksek izlendi ($P = 0,016$).

** GABA miktarı diazepam grubunda kontrol grubuna göre yüksek izlendi ($P = 0,014$).

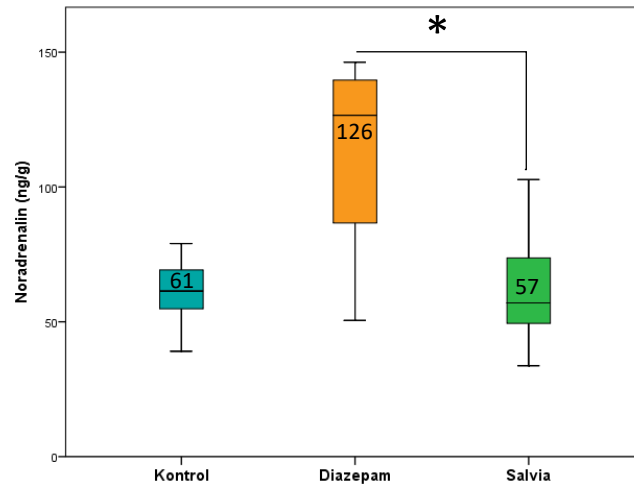
R^2 : Determinasyon katsayısı, verilerin standart eğriye uyumunun göstergesi

Tablo 4.9. Hipokampus dokusu noradrenalin, GABA ve 5-HT düzeyleri (Deney 2)

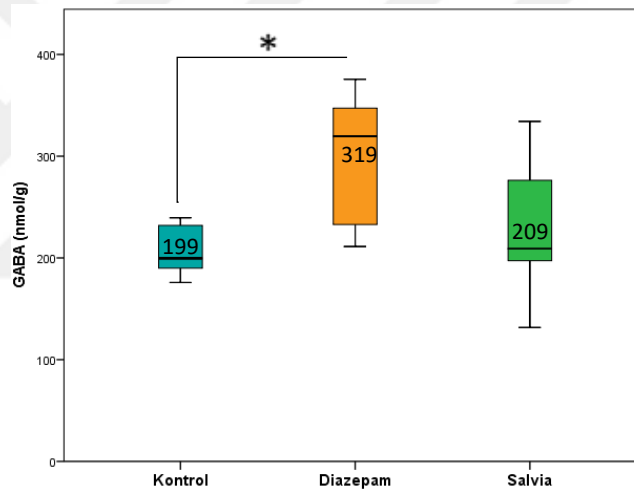
DENEY 2					
		Kontrol (n=5)	Diazepam (n=3)	Salvia (n=8)	p
Noradrenalin (ng/g) (R ² =0,997)	Ortanca	74	39	127	> 0,5
	(Min-Maks)	25-140	17-62	2-188	
		Kontrol (n=8)	Diazepam (n=8)	Salvia (n=8)	p
GABA (nmol/g) (R ² =0,957)	Ortanca	207	227	250	> 0,5
	(Min-Maks)	148-342	180-289	119-358	
		Kontrol (n=7)	Diazepam (n=6)	Salvia (n=8)	p
5-HT (ng/mg) (R ² =0,994)	Ortanca	17	8	33*	< 0,5
	(Min-Maks)	10-23	5-20	12-49	

* 5-HT miktarı *Salvia* grubunda diazepam grubuna göre yüksek izlendi ($P = 0,003$).

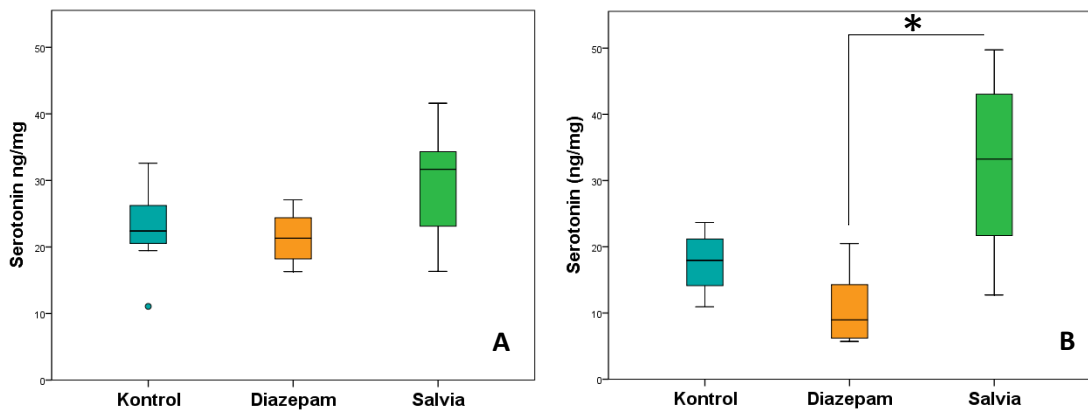
R^2 : Determinasyon katsayısı, verilerin standart eğriye uyumunun göstergesi



Şekil 4.3. Deney 1, hipokampus dokusu noradrenalin düzeyleri (* $P < 0,05$)



Şekil 4.4. Deney 1, hipokampus dokusu GABA düzeyleri (* $P < 0,05$)



Şekil 4.5. A: Deney 1, hipokampus dokusu 5-HT düzeyleri

B: Deney 2, hipokampus dokusu 5-HT düzeyleri (* $P < 0,05$)

4.3. Serum Parametreleri

Serum kortizol, ALT, AST, kreatinin, üre ve BUN değerlerine bakıldı. Deney 1 ve Deney 2'ye ait veriler sırasıyla Tablo 4.10. ve 4.11.da gösterilmiştir.

Deney 1'de diazepam ve *Salvia* grubunun kortizol düzeyi, kontrol grubundan düşük izlendi ($P < 0,05$) (Şekil 4.6.). ALT, AST, kreatinin, üre ve BUN düzeyleri gruplar arasında farklılık göstermedi ($P > 0,05$).

Deney 2'de de diazepam ve *Salvia* grubunun kortizol düzeyi, kontrol grubundan düşük izlendi ($P < 0,05$; kontrol grubundaki 7. hayvana ait aşırı uç değer çıkarılmıştır) (Şekil 4.7.). Kreatinin düzeyi ise diazepam grubunda diğer iki gruptan düşük gözlemlendi ($P < 0,05$) (Şekil 4.8.).

Tablo 4.10. Serum kortizol, ALT, AST, kreatinin, üre ve BUN düzeyleri (Deney 1)

DENEY 1					
		Kontrol (n=8)	Diazepam (n=8)	<i>Salvia</i> (n=8)	P
Kortizol (ng/ml) ($R^2=0,999$)	Ortanca	52,22	30,12*	36,53*	< 0,5
	(Min-Maks)	42-61	22-46	32-49	
ALT (U/L)	Ortanca	48,70	54,50	51,90	> 0,5
	(Min-Maks)	42-78	40-58	42-60	
AST (U/L)	Ortanca	104,15	117,15	128,25	> 0,5
	(Min-Maks)	91-273	107-139	99-177	
Kreatinin (mg/dl)	Ortanca	0,52	0,54	0,56	> 0,5
	(Min-Maks)	0,48-0,59	0,54-0,57	0,54-0,60	
Üre (mg/dl)	Ortanca	41,35	47,70	42,20	> 0,5
	(Min-Maks)	34-55	38-53	25-48	
BUN (mg/dl)	Ortanca	19,32	22,29	19,72	> 0,5
	(Min-Maks)	16-26	17-24	11-22	

* Kortizol düzeyi diazepam ($P = 0,000$) ve *Salvia* ($P = 0,040$) gruplarında kontrol grubuna göre düşük izlendi.

R^2 : Determinasyon katsayısı, verilerin standart eğriye uyumunun göstergesi

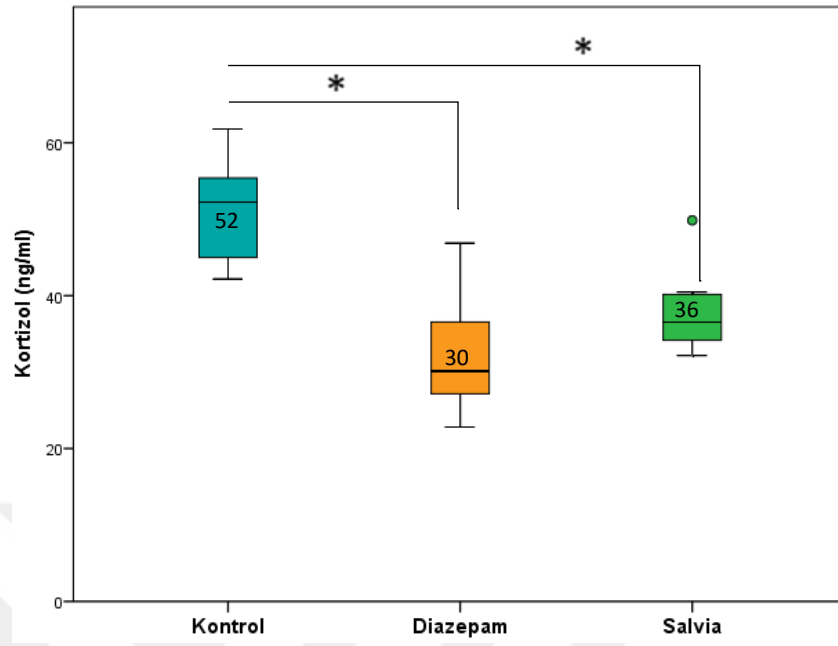
Tablo 4.11. Serum kortizol, ALT, AST, kreatinin, üre ve BUN düzeyleri (Deney 2)

DENEY 2					
		Kontrol (n=7)	Diazepam (n=8)	Salvia (n=8)	P
Kortizol (ng/ml) (R ² =0,999)	Ortanca	50,17	34,69*	37,15*	< 0,5
	(Min-Maks)	46-53	20-50	31-49	
		Kontrol (n=8)	Diazepam (n=8)	Salvia (n=8)	P
ALT (U/L)	Ortanca	42,55	42,40	43,80	> 0,5
	(Min-Maks)	36-50	38-53	36-58	
AST (U/L)	Ortanca	118,85	106,55	116,55	> 0,5
	(Min-Maks)	95-131	86-145	96-131	
Kreatinin (mg/dl)	Ortanca	0,53	0,51**	0,54	< 0,5
	(Min-Maks)	0,51-0,57	0,47-0,53	0,51-0,57	
Üre (mg/dl)	Ortanca	28,70	28,30	25,85	> 0,5
	(Min-Maks)	22-34	23-32	17-36	
BUN (mg/dl)	Ortanca	13,41	13,22	12,08	> 0,5
	(Min-Maks)	10-16	11-15	8-16	

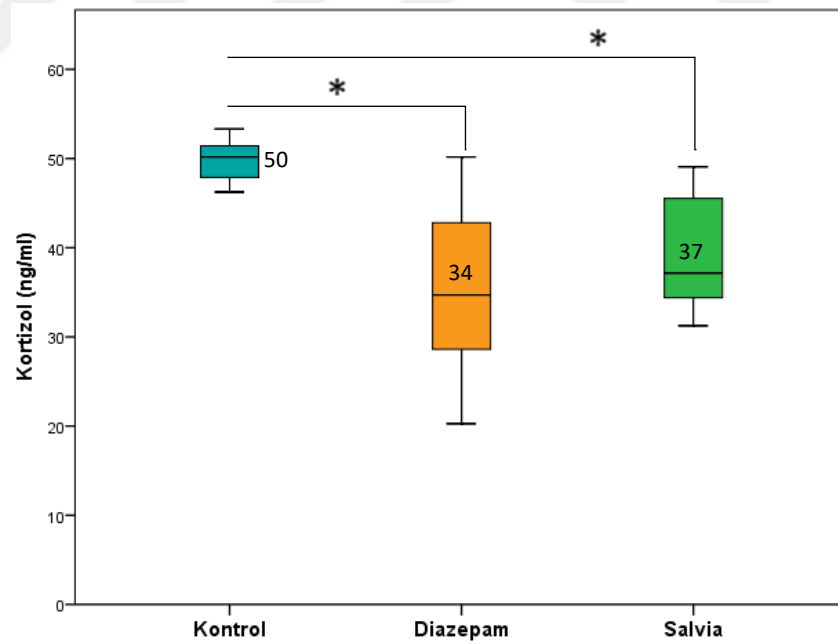
* Kortizol düzeyi diazepam ($P = 0,004$) ve *Salvia* ($P = 0,031$) gruplarında kontrol grubuna göre düşük izlendi.

** Kreatinin düzeyi diazepam grubunda kontrol grubuna ($P = 0,047$) ve *Salvia* grubuna ($P = 0,008$) göre düşük izlendi.

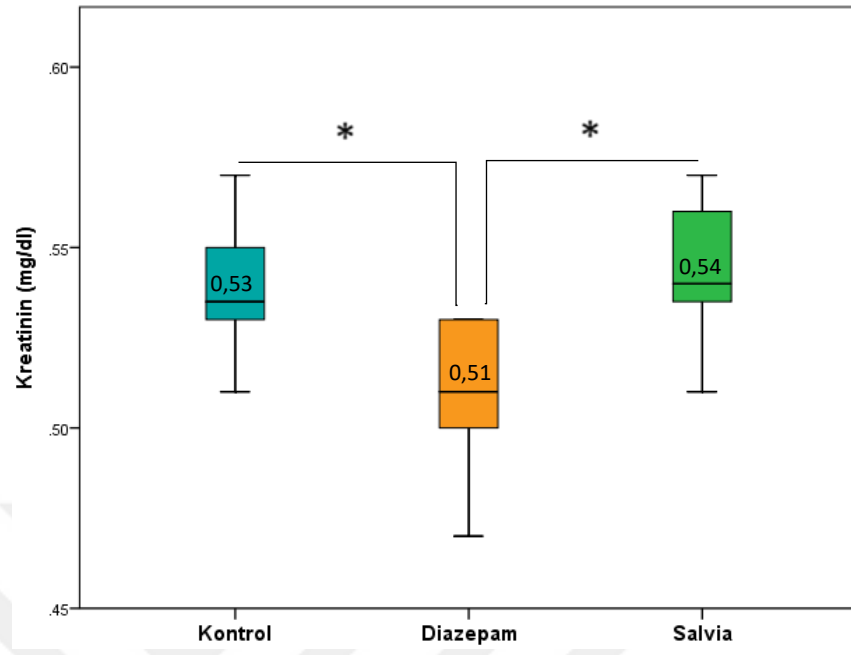
R²: Determinasyon katsayısı, verilerin standart eğriye uyumunun göstergesi



Şekil 4.6. Deney 1, serum kortizol düzeyleri (* $P < 0,05$)



Şekil 4.7. Deney 2, serum kortizol düzeyleri (* $P < 0,05$)



Şekil 4.8. Deney 2, serum kreatinin düzeyleri (* $P < 0,05$)

5. TARTIŞMA

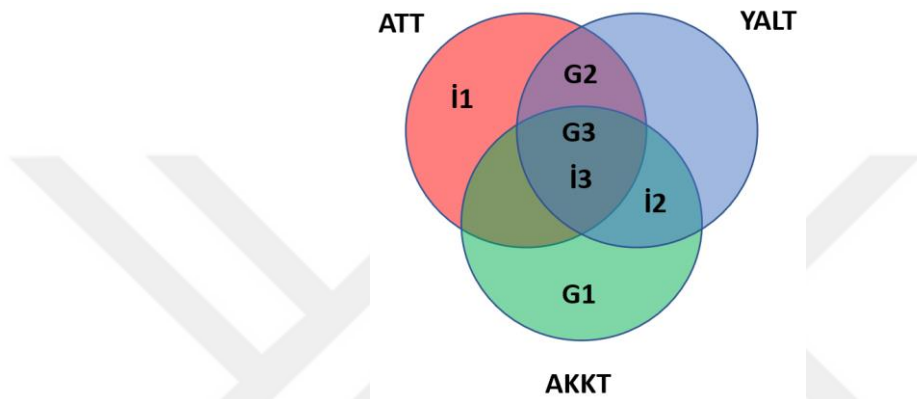
Hayvan çalışmaları ve insanlarda yapılan görüntüleme çalışmaları anksiyetenin fizyolojik ve patofizyolojik özelliklerini anlamak adına çok önemli bilgiler sağlamaktadır. Bu alandaki bilgi birikiminin artışı, anksiyete bozukluklarının daha iyi anlaşılmasını ve yeni tedavi seçeneklerinin geliştirilmesini sağlayabilir. Anksiyete bozukluklarının akut tedavisine yönelik ilaçların tolere edilmesi zor yan etkileri nedeniyle hızlı etki gösteren ve yan etki açısından güvenli ideal bir anksiyolitik ihtiyacı duyulmaktadır. Araştırmacılar bu zor hedefe yönelik çalışmalarını devam ettirirken tedaviye ulaşamayan, yan etki nedeniyle tedaviye devam edemeyen veya tedaviden yarar görmeyen hastalar tamamlayıcı tedavi seçeneklerine başvurmaktadır. Tamamlayıcı tedavi seçenekleri arasında bitkisel ilaçlar sıklıkla tercih edilmektedir. İnsanların bitkisel ilaç denemesinin yaygın sebeplerinden birisi de anksiyete bozukluklarıdır (78).

Günümüze kadar bazı *Salvia* türleri dahil birçok bitkinin anksiyolitik etki gösterdiği bildirilmiştir. Literatürde, ülkemiz için endemik olan *S. heldreichiana*'nın anksiyolitik etkisinin araştırıldığı başka bir çalışmaya rastlanmamıştır, çalışmamız bildiğimiz kadarıyla bu konuda yapılan ilk çalışmadır.

5.1. Davranış Testi Bulgularının Tartışması

Sıçanların anksiyete benzeri davranışlarının değerlendirilmesi için açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi kullanılmıştır. Her iki koşulsuz anksiyete testi de sıçanlarda yeni alanları keşfetmek ile güvenli bölgede kalmak arasında bir ikilem yaratmakta ve bu çatışmaya verilen davranışsal cevabı incelemektedir. Ancak bu iki test her zaman tutarlı sonuçlar vermeyebilir. Açık alan testinde anksiyete düzeyi düşük izlenen hayvanların, yükseltilmiş artı labirent testinde anksiyete düzeyleri yüksek saptanabilir. Bu durum açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testinin anksiyetenin farklı yönlerini ölçtüğünün göstergesidir (79). Duygusal durumlar çok yönlüdür. Anksiyetenin farklı yönlerinin değerlendirilmesi adına farklı streslerin (yeni

ortam, parlak ışık, yükseklik, açık alan) uygulandığı bir dizi test kullanılmasında fayda vardır. Bu nedenle çalışmamızda da iki farklı anksiyete testi kullanılmıştır. Ancak bu testleri birbirinden bağımsız, anksiyetenin tamamen farklı yönlerini ele alan testler olarak görmek yerine anksiyetenin farklı yönlerini irdeleyen ancak kesişen özellikler de barındıran testler olarak görmek daha doğru bir yaklaşım olacaktır (Şekil 5.1.) (80).



Şekil 5.1. Farklı anksiyete modelleri arasındaki ilişkiyi gösteren bir model.

Bir gen (G1) veya ilaç (İ1) tek bir testte davranışları etkilerken başka genler ve ilaçlar iki (G2 ve İ2) veya daha fazla (G3 ve İ3) testte etki gösterebilir (Ramos (80)'tan değiştirilerek alınmıştır.).

AAT: Açık alan testi **YALT:** Yükseltilmiş artı labirent testi **AKKT:** Aydınlık/karanlık kutu testi

Açık alan testinde anksiyete benzeri davranışların değerlendirilmesi için kullanılan ana parametreler merkeze giriş sayısı, merkezde geçirilen süre, *tigmotaxis* sayısı, *tigmotaxis* süresi ve defekasyon sayısıdır. Tımarlanma ve şahlanma aktiviteleri ise destekleyici parametrelerdir (81). Tımarlanma davranışı, stresli bir durumun göstergesi olarak düşünülmektedir. Yeni bir ortama konulan; sıcaklık değişimine, parlak ışığa ve şiddetli gürültüye maruz kalan hayvanlarda gözlemlenebilir (82). Kemirgenlerin stresle başa çıkmasını ve strese davranışsal uyum göstermesini sağlar (83). Şahlanma ise bir keşif davranışıdır ve tehlikeli bir durumla karşılaşan hayvanlarda keşif davranışları azalır (84, 85). Diazepam, çalışmamızın Deney 1 kısmında tımarlanma sayısını azaltarak; Deney 2 kısmında tımarlanma süresini azaltıp şahlanma sayısını artırarak anksiyolitik benzeri etkisini göstermiştir. Benzer şekilde

S. heldreichina uçucu yağı da tımarlanma aktivitesini azaltma, şahlanma sayısını artırma eğilimi göstermiştir (Bkz. Şekil 4.1. ve Şekil 4.2.). Dikkat çekici olan, diazepamın anksiyolitik benzeri etkisinin sadece destekleyici parametrelerde gözlenebilmesi; ana parametrelerde izlenmemesidir.

Yükseltilmiş artı labirent testinde bakılan parametrelerin hiçbirinde, Deney 1 ve Deney 2'deki gruplar arasında istatistiksel olarak fark izlenmemiştir. Özellikle diazepamın anksiyolitik etkisinin gözlenmemesi dikkat çekicidir.

Davranış deneylerinde diazepamı ait aşikâr bir anksiyolitik benzeri etkinin izlenmemiş olması dozun yetersiz gelmesi ile açıklanabilir. Ancak literatürde, benzer veya daha düşük dozlarda uygulanan diazepamın, anksiyete benzeri davranışları azalttığı belirtilmesi (11, 86-89) bu açıklamayı yetersiz kılmaktadır. Başka bir açıklama diazepam uygulaması ile testlerin başlaması arasında geçen sürenin (60dk.) uzunluğu olabilir. Ancak literatürde diazepam uygulanmasından 60 dk. sonra da anksiyolitik benzeri davranışların azaldığı belirtilmiştir (11, 88). İlaç uygulamaları, deney düzeneklerinin kurulumu ve testlerin uygulanması esnasında literatürle çelişen bir hataya rastlanmadığı da göz önüne alındığında hayvanların bireysel özellikleri bu durumun bir başka açıklaması olabilir. Çalışılan grubun anksiyete düzeyinin yüksek olması veya diazepam etkilerine karşı dirençli olması bu sonuca neden olmuş olabilir. Yükseltilmiş artı labirent testi esnasında düşen hayvanların oranının yüksek (9/48, ~ % 19) olması da bireysel farklılıklarla açıklanabilir. Son olarak bu testlerin hayvanların anksiyete durumlarını ne derecede yansıtabildiğini sorgulamak da yararlı olacaktır. Koşulsuz anksiyete testleri ikilem yaratmakta yetersiz kalabilmektedir. İkilemin ortaya çıkması için her iki seçenekte de hem olumlu hem olumsuz yönler olmalıdır. Örneğin aç/susuz bir hayvan, korunaklı-karanlık bölgede güvende olmakla korunaksız-aydınlık bölgede yeme/suya ulaşmak arasında gerçek bir çatışma yaşayabilir. Korunaksız bölgede keşfedecekleri bir şey, ulaşacakları bir fayda olmadıktan sonra hayvanlar anksiyete düzeylerinden bağımsız olarak korunaklı bölgede kalmayı tercih edebilmektedir. Bu testlerde gözlenen tımarlanma ve şahlanma davranışları da çelişkili sonuçlar verebilmektedir. Ayrıca tımarlanma davranışındaki artış her zaman

anksiyete ile ilişkili olmayabilir. Anksiyete durumunda dikkati tehlikeden uzaklaştıracak için tımarlanma davranışının azalması beklenebilir. Benzer bir şekilde anksiyete durumunda etrafı kontrol etmek ya da sığınacak güvenli bir yer aramak amacıyla şahlanma davranışında artış izlenebilir (90).

Hayvanların anksiyete durumlarını tahmin etmek için kullandığımız davranış testleri hayvanların aktivitesine bağlıdır. Şimdilik motor aktiviteden bağımsız, sadece hayvanların duygusal durumlarını ölçmeye yönelik bir yöntem bulunmamaktadır (80). Çalışmamızda motor aktivite düzeyi ile anksiyete durumunu kısmen de olsa ayırt edebilmek için *rotarod* testi kullanılmıştır. Böylece anksiyete testlerinde izlendiğinde yüksek anksiyete düzeyi ile ilişkilendirilebilecek motor aktivite düşüklüğünün (91), motor koordinasyon bozukluğu veya sedasyon gibi yan etkilerden kaynaklanmadığını göstermek amaçlanmıştır (92, 93). Çalışmamızın hem Deney 1 hem de Deney 2 safhasında *rotarod* üzerinde kalma süresi tüm gruplarda benzerdir. Bu bulgu *S. heldreichina* uçucu yağının sedasyon yapmadığının ve motor koordinasyonu bozmadığının bir işareti olabilir. Ayrıca diazepamın 1,5 mg/kg dozunda uygulanması söz konusu istenmeyen yan etkilerin oluşmasına neden olmamıştır. Benzer şekilde Liu ve ark.nın (11) *S. miltiorrhiza* uçucu yağı ile yaptıkları çalışmada 1,5 mg/kg dozunda uygulanan diazepam motor koordinasyon bozukluğuna yol açmamıştır.

5.2. Hipokampus Bulgularının Tartışması

Kemirgenlerle insanlar arasındaki anatomik benzerlikler subkortikal yapılarda daha barizdir. Kortikal bir yapı olması nedeniyle, anksiyete fizyolojisinde önemli bir rol oynamasına karşın, prefrontal korteks çalışmaya dahil edilmemiştir. Anksiyete fizyolojisindeki rolü, hem prefrontal korteks hem de amigdala ile bağlantılı oluşu ve bağlamsal bilginin işlenmesinde görev alması dikkate alınarak çalışmamızda hipokampus dokusu araştırılmıştır. Literatürde koşulsuz anksiyete testleri sonrasında hipokampal 5-HT, GABA ve noradrenalin miktarını araştıran başka çalışmalar bulunmaktadır (94-96).

5.2.1. Hipokampal Noradrenalin Miktarı

Stres varlığında, hipokampal presinaptik α_2 adrenerjik reseptör yoğunluğu azalır (31), bunun sonucunda negatif geri bildirimin etkisi azalır ve sinaptik aralıkta noradrenalin miktarı artar (38). Bu bilgi bağlamında diazepamın, birtakım ara yollar aracılığıyla hipokampal noradrenalin miktarında azalmaya sebep olması ya da bir değişiklik gerçekleştirmemesi öngörülmüştür. Ancak beklenilenin aksine, diazepam Deney 1’de hipokampus noradrenalin miktarını artırmıştır. Literatürde diazepamın hipokampal noradrenalin miktarını araştıran az sayıda çalışmaya rastlanmıştır. Broderick’in (86) yaptığı çalışmada diazepam, hipokampal noradrenalin salınımını azaltmıştır. Andrews ve ark. (97) tarafından gerçekleştirilen başka bir çalışmada ise diazepam çekilmesi (diazepam *withdrawal*) modellenmiştir. 21 günlük diazepam uygulaması kesildikten 24 saat sonra hipokampal noradrenalin miktarının azaldığı belirtilmiştir. Ancak 21. gün sonundaki noradrenalin miktarının ölçülmemesi nedeniyle diazepamın noradrenalin miktarına etkisi net değildir. Noradrenalin miktarındaki düşüşün kronik diazepam uygulamasına mı yoksa diazepam çekilmesine mi bağlı olduğu net değildir. Mevcut çalışmalar diazepamın, hipokampal noradrenalin düzeyi üzerindeki etkisini açıklamak için yeterli değildir.

Diazepamın hafıza gibi hipokampal noradrenerjik süreçlere etkisini incelemek, hipokampal noradrenalin miktarına etkisi hakkında fikir verebilir. Genel olarak noradrenalin, β adrenerjik reseptörler üzerinden hafıza üzerinde olumlu etki göstermektedir (98). Benzodiazepinlerin ise duygusal anılara erişimi artırdığı, hatta bir dönem psikiyatrik görüşmelerde, olayın yeniden deneyimlenmesine yardımcı olmak için kullanıldığı bilinmektedir (99). Benzodiazepinlerin duygusal anıların hatırlanmasına yönelik etkisi, hipokampal noradrenalin miktarındaki artış ile gerçekleşiyor olabilir. İkisi arasındaki ilişkiyi irdelenecek çalışmalar bu konudaki bilgimizi artıracaktır. Son olarak Deney 1’de izlenen noradrenalin yüksekliğinin Deney 2’de izlenmediğini belirtmek gerekir. Ancak Deney 2 ‘de diazepam grubunda yalnızca 3 hayvanın noradrenalin düzeyinin ölçülebildiği göz önünde tutulmalıdır.

5.2.2. Hipokampal GABA Miktarı

Diazepam, Deney 1’de GABA miktarını artırmıştır. Ancak benzodiazepinlerin GABA miktarına etki ederek değil, GABA reseptörlerine bağlanarak etki gösterdiği bilinmektedir. GABA ve benzodiazepinlerin bağlanma bölgeleri farklıdır (30). Bu nedenle birinin reseptöre bağlanmasının, diğerinin sinaptik aralıkta artışına neden olması beklenmemektedir. Nitekim Carton ve ark.nın (100) yaptıkları çalışmada diazepam uygulaması hipokampal GABA miktarlarını değiştirmemiştir. Deney 1’de aynı grupta noradrenalin artışı olduğu da göz önüne alındığında, mevcut tablonun açıklanması adına GABA ve noradrenalinin hipokampüsteki etkileşimini araştıran çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ancak diazepamın Deney 2’de (tekrarlayan dozda) GABA miktarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığı da dikkate alınmalıdır.

S. heldreichina uçucu yağı hem Deney 1 hem de Deney 2’de GABA düzeylerinde anlamlı bir farklılık oluşturmamıştır. Bu bulguya göre *S. heldreichina* uçucu yağının GABA miktarı üzerinden etki göstermediği söylenebilir. Çalışmadaki hayvanların ek stres faktörüne maruz bırakılmaması da bu durumu açıklayabilir. Yapılan iki çalışmada anksiyolitik özelliği araştırılan madde, kontrol grubuna göre GABA düzeylerinde fark oluşturmazken ek stres faktörünün sebep olduğu GABA düşüşünü hafifletmiştir (96, 101). *S. heldreichina* uçucu yağının, ek stresin sebep olduğu GABA miktarındaki azalmayı önleyip önlemediğine dair ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

5.2.3. Hipokampal Serotonin Miktarı

S. heldreichina uçucu yağı, Deney 2’de 5-HT düzeyini diazepam grubuna göre artırmıştır. *Salvia* grubunun 5-HT düzeyi, istatistiksel olarak anlamlı olmamakla birlikte kontrol grubundan da yüksek izlenmiştir. Ayrıca Deney 2’deki 5-HT düzeyi grafiği ile Deney 1’deki grafiğin tutarlılığı dikkat çekicidir (Bkz. Şekil 4.6). Çalışmalar hipokampus 5-HT düzeyindeki azalmanın anksiyete benzeri davranışlarda artışa yol açtığını (102), kronik stresin hipokampal 5-HT düzeyini azalttığını (103), hipokampal

5-HT_{2C} ve 5-HT₄ reseptörlerinin anksiyete ile ilişkisini (103, 104) göstermiştir. *S. heldreichina* uçucu yağı hipokampüste 5-HT düzeyini artırıp ilgili 5-HT reseptörleri aracılığıyla anksiyete seviyesini düşürüyor olabilir. Ayrıca diazepam hipokampal 5-HT düzeyini bir miktar azaltmıştır. Bu bulgu ile uyumlu olarak Broderick (105) de diazepamın hipokampüste 5-HT miktarını düşürdüğünü belirtmiştir. 5 gün süre ile uygulanan *S. heldreichina* uçucu yağının hipokampal 5-HT düzeyini artırırken diazepamın düşürmesi anlamlı bir fark izlenmesini sağlamıştır. Daha uzun süre uygulanan *S. heldreichina* uçucu yağı kontrol grubuna kıyasla da anlamlı sonuçlar verebileceği öngörülebilir.

Anestezik olarak ketamin kullanılmış olması hipokampal noradrenalin, GABA ve serotonin düzeylerini etkileyebilir. Literatürde ketaminin subanestezik dozda (10 mg/kg) hipokampal 5-HT miktarında artışa (106), GABA miktarında azalışa (107) yol açtığı görülmüştür. Ancak ketamin 100 mg/kg dozda bile hipokampal noradrenalin miktarında önemli bir değişikliğe sebep olmamıştır (108). Çalışmamızda tüm gruplara eşit dozda (90 mg/kg) ketamin uygulanmış ve ketaminin etkisi minimize edilmiştir.

5.3. Serum Bulgularının Tartışması

Stresin HHA aksını aktive ederek kanda kortizol düzeyini artırdığı bilinmektedir (41). Diazepamın ise serum kortizol düzeylerini düşürdüğü belirtilmiştir (109). Literatürle uyumlu olarak diazepam hem Deney 1’de hem de Deney 2’de serum kortizol düzeylerini azaltmıştır. Diazepam benzer şekilde *S. heldreichina* uçucu yağı da her iki deneyde serum kortizol düzeylerini anlamlı ölçüde azaltmıştır. Bu veriler *S. heldreichina* uçucu yağının anksiyolitik etkisinin bir göstergesi sayılabilir.

Son olarak uygulanan uçucu yağ ve diazepamın hepatotoksik ve nefrotoksik etkilerinin araştırılması için ALT, AST, kreatinin, üre ve BUN düzeylerine bakılmıştır. *S. heldreichina* uçucu yağı hem tek doz hem de tekrarlayan dozlarda karaciğer ve böbrek fonksiyon testlerinde bir bozukluğa yol açmamıştır. Bu bulgular doğrultusunda oral yolla uygulanan, 200 mg/kg/gün dozundaki *S. heldreichina* uçucu yağının, nefrotoksik ve hepatotoksik etki göstermediği söylenebilir. Yan etkileri arasında üriner

retansiyon, sarılık, ALT ve AST yüksekliği bulunan (110) diazepam; 1,5 mg/kg/gün dozunda nefrotoksik ve hepatotoksik etki göstermemiştir. Ancak Deney 2’de, kontrol ve *Salvia* grubuna kıyasla, serum kreatinin seviyelerini düşürmüştür. Benzer şekilde Nzor ve ark. (111) da diazepamın serum kreatinin seviyesinde düşüşe neden olduğunu belirtmiştir. Serum kreatinin düzeyinin azalmasının nedenleri arasında kas hacminde azalma, fazla hidrasyon, karaciğer hastalığı ve yetersiz beslenme gibi durumlar bulunmaktadır (112). Ancak gruplar arasında kilo farkı bulunmayıp (Bkz. Tablo 4.1.) karaciğer hastalığına dair bir bulgu da izlenmemiştir.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

S. heldreichina uçucu yağı, diazepamla benzer şekilde her iki deneyde de serum kortizol seviyelerini düşürmüştür. Bu bulgu, *S. heldreichina* uçucu yağının anksiyolitik benzeri etkiye sahip olabileceğinin önemli bir göstergesidir. Ayrıca hipokampal 5-HT düzeyini yükseltme eğilimi göstermesi de bunun başka bir işareti olabilir. Çalışmada sıçanların anksiyete benzeri davranışlarını değerlendirmek için açık alan testi ve yükseltilmiş artı labirent testi kullanılmıştır. Bu testlerde *S. heldreichina* uçucu yağının anksiyete benzeri davranışları azalttığına dair bir veri elde edilmemiştir. Ancak anksiyolitik özelliği bilinen diazepam da bu testlerde aşikâr bir etki gösterememiştir. Dolayısıyla çalışmamızın davranış testlerinin sonucuna bakarak *S. heldreichina* uçucu yağının anksiyolitik benzeri etkisinin olmadığını söylemek yanıltıcı olabilir.

Serum kortizol düzeyinde ve hipokampus 5-HT düzeyinde izlenen değişikliklerin davranış deneylerine yansımamasının çeşitli nedenleri olabilir. Öncelikle belirtmek gerekir ki davranış testi düzeneklerinin kurulmasında ve uygulanmasında literatürle çelişen, bariz bir hataya rastlanmamıştır. Ancak yükseltilmiş artı labirent testinde, hayvanların düzeneğe düşmelerini azaltmak adına mevcut düzeneğin gözden geçirilmesi gerekmektedir. Ayrıca sıçanların bireysel özelliklerinin etkisini bertaraf etmek için aynı düzeneğe başka sıçan gruplarıyla yapılan deneyler değerlendirilmelidir. Bir başka konu da uygulanan koşulsuz anksiyete testlerinin, insan anksiyetesini ne derece iyi modelleyebildiğidir. *S. heldreichina* uçucu yağının anksiyolitik benzeri etkisinin değerlendirilmesi açısından, diazepam gibi anksiyolitik özelliği bilinen ilaçların da etkisinin izlenebileceği, tahmin edici geçerliği (*predictive validity*) daha yüksek, koşullu anksiyete testleri ile de sınanması önemlidir. Ayrıca uçucu yağın farklı doz ve sürelerde anksiyolitik benzeri etkisi daha belirgin gözlenebilir. Deney hayvanlarının soğuk, kısıtlama, sarsma gibi ek anksiyojenik faktörlere maruz bırakılması da anksiyolitik benzeri etkinin görünürlüğünü artırabilir.

Bildiğimiz kadarıyla, çalışmamız *S. heldreichina*'nın anksiyolitik etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır. Dahası literatürde *S. heldreichina*'nın tıbbi potansiyelini araştıran başka bir çalışmaya da rastlanmamıştır. Ülkemiz için endemik olan *S. heldreichina*'nın anksiyolitik etki yanında antimelanogenik etki göstermesi de beklenmektedir (67). Bu değerli bitkinin tıbbi potansiyelinin belirlenmesi bilimsel faydalarının yanında ülke ekonomisine de katkı sağlayacaktır.



KAYNAKLAR

1. Merikangas KR, Eun JD. Epidemiology of Anxiety Disorders. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook Of Psychiatry. 1. Tenth ed: Wolters Kluwer; 2017.
2. Ravindran L, Stein MB. Somatic Therapies for Anxiety Disorders. In: Benjamin James Sadock VAS, Pedro Ruiz, editor. Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook Of Psychiatry. 1. Tenth ed: Wolters Kluwer; 2017.
3. Linck VM, da Silva AL, Figueiró M, Caramão EB, Moreno PR, Elisabetsky E. Effects of inhaled Linalool in anxiety, social interaction and aggressive behavior in mice. *Phytomedicine*. 2010;17(8-9):679-83.
4. Kasuya H, Okada N, Kubohara M, Satou T, Masuo Y, Koike K. Expression of BDNF and TH mRNA in the brain following inhaled administration of α -pinene. *Phytother Res*. 2015;29(1):43-7.
5. Guzmán-Gutiérrez SL, Bonilla-Jaime H, Gómez-Cansino R, Reyes-Chilpa R. Linalool and β -pinene exert their antidepressant-like activity through the monoaminergic pathway. *Life Sciences*. 2015;128:24-9.
6. Weston-Green K, Clunas H, Jimenez Naranjo C. A Review of the Potential Use of Pinene and Linalool as Terpene-Based Medicines for Brain Health: Discovering Novel Therapeutics in the Flavours and Fragrances of Cannabis. *Front Psychiatry*. 2021;12:583211.
7. Rabbani M, Sajjadi SE, Jafarian A, Vaseghi G. Anxiolytic effects of *Salvia reuterana* Boiss. on the elevated plus-maze model of anxiety in mice. *J Ethnopharmacol*. 2005;101(1-3):100-3.
8. Kennedy DO, Pace S, Haskell C, Okello EJ, Milne A, Scholey AB. Effects of cholinesterase inhibiting sage (*Salvia officinalis*) on mood, anxiety and performance on a psychological stressor battery. *Neuropsychopharmacology*. 2006;31(4):845-52.
9. Herrera-Ruiz M, García-Beltrán Y, Mora S, Díaz-Véliz G, Viana GS, Tortoriello J, et al. Antidepressant and anxiolytic effects of hydroalcoholic extract from *Salvia elegans*. *J Ethnopharmacol*. 2006;107(1):53-8.
10. Mora S, Millán R, Lungenstrass H, Díaz-Véliz G, Morán JA, Herrera-Ruiz M, et al. The hydroalcoholic extract of *Salvia elegans* induces anxiolytic- and antidepressant-like effects in rats. *J Ethnopharmacol*. 2006;106(1):76-81.
11. Liu AD, Cai GH, Wei YY, Yu JP, Chen J, Yang J, et al. Anxiolytic effect of essential oils of *Salvia miltiorrhiza* in rats. *Int J Clin Exp Med*. 2015;8(8):12756-64.
12. Lobina C, Colombo G, Gessa GL, Carai MAM, Allegrini P, Morazzoni P, et al. Anxiolytic effect of an extract of *Salvia miltiorrhiza* roots in rats. *J Chin Med Assoc*. 2018;81(5):390-7.
13. Choukairi Z, Hazzaz T, Lkhider M, Ferrandez JM, Fechtali T. Effect of *Salvia officinalis* L. and *Rosmarinus officinalis* L. leaves extracts on anxiety and neural activity. *Bioinformation*. 2019;15(3):172-8.
14. Zeidabadi A, Yazdanpanahi Z, Dabbaghmanesh MH, Sasani MR, Emamghoreishi M, Akbarzadeh M. The effect of *Salvia officinalis* extract on symptoms of flushing, night sweat, sleep disorders, and score of forgetfulness in postmenopausal women. *J Family Med Prim Care*. 2020;9(2):1086-92.
15. Lin YS, Peng WH, Shih MF, Cherng JY. Anxiolytic effect of an extract of *Salvia miltiorrhiza* Bunge (Danshen) in mice. *J Ethnopharmacol*. 2021;264:113285.
16. Jahani R, Behzad S, Saffariha M, Toufan Tabrizi N, Faizi M. Sedative-hypnotic, anxiolytic and possible side effects of *Salvia limbata* C. A. Mey. Extracts and the effects of

phenological stage and altitude on the rosmarinic acid content. *J Ethnopharmacol.* 2022;282:114630.

17. Daştan AO, Arihan O, Gül AŞD, Yılmaz G, Erdem A. Poster Communications: Acute Anxiolytic Effect of *Salvia Heldreichiana* Essential Oil in Rats [PC-51]. *Acta Physiologica.* 2022;234(S724):e13754 (81).

18. Anxiety Disorders. In: Boland RJ, Verduin ML, editors. *Kaplan & Sadock's Synopsis Of Psychiatry*. Twelfth ed: Wolters Kluwer; 2022.

19. Wittchen H-U, Baum KB-. Anxiety disorders: Epidemiology of anxiety disorders. In: Geddes JR, Andreasen NC, Goodwin GM, editors. *New Oxford Textbook Of Psychiatry*. Third ed: Oxford University Press; 2020.

20. Stein MB, Sareen J. Anxiety Disorders. In: Roberts LW, editor. *The American Psychiatric Association Publishing TEXTBOOK OF PSYCHIATRY*. Seventh Edition ed: American Psychiatric Association Publishing; 2019.

21. Huppert JD, Foa EB. Anxiety Disorders: Cognitive-Behavioral Therapy. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. *Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook Of Psychiatry*. 1. Tenth ed: Wolters Kluwer; 2017.

22. Merikangas KR. Anxiety Disorders: Introduction and Overview. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. *Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook Of Psychiatry*. 1. Tenth ed: Wolters Kluwer; 2017.

23. Anxiety Disorders. *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. Fifth ed. Arlington, VA: American Psychiatric Association; 2013.

24. Youn SJ, Marques L. Intensive CBT: How fast can I get better? 2018 [Available from: <https://www.health.harvard.edu/blog/intensive-cbt-how-fast-can-i-get-better-2018102315110>].

25. Glass SP, Pollack MH, Otto MW, Wittmann CW, Rosenbaum JF. Anxious Patients. In: Stern TA, Freudenreich O, Smith FA, Fricchione GL, Rosenbaum JF, editors. *Massachusetts General Hospital Handbook of General Hospital Psychiatry*. Seventh ed: Elsevier; 2018.

26. Baldwin DS, Huneke NTM. Treatment of anxiety disorders. In: Geddes JR, Andreasen NC, Goodwin GM, editors. *New Oxford Textbook Of Psychiatry*. Third ed: Oxford University Press; 2020.

27. Sartori SB, Singewald N. Novel pharmacological targets in drug development for the treatment of anxiety and anxiety-related disorders. *Pharmacol Ther.* 2019;204:107402.

28. Choy Y. Treatment of acute procedural anxiety in adults. In: Post TW, editor. *UpToDate*. Waltham, MA: UpToDate; 2021.

29. Lexicomp. Quetiapine: Drug information. UpToDate.n.d.

30. Kas MJ, Olivier B. Basic mechanisms, genetics, targets, and animal models for anxiety disorders. In: Geddes JR, Andreasen NC, Goodwin GM, editors. *New Oxford Textbook Of Psychiatry*. Third ed: Oxford University Press; 2020.

31. Feder A, Costi S, Iacoviello BM, Murrough JW, Charney DS. Anxiety Disorders: Neurobiology and Neuroscience. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. *Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook Of Psychiatry*. 1. Tenth ed: Wolters Kluwer; 2017.

32. Gee DG, Casey BJ. Neuroimaging and the Neuroanatomical Circuits Implicated in Anxiety, Fear, and Stress-Related Disorders. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. *Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook Of Psychiatry*. 1. Tenth ed: Wolters Kluwer; 2017.

33. Canteras NS, Resstel LB, Bertoglio LJ, Carobrez AdPd, Guimarães FS. Neuroanatomy of Anxiety. In: Stein MB, Steckler T, editors. *Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment* 2010.

34. Curzon P, Rustay NR, Browman KE. Cued and Contextual Fear Conditioning for Rodents. In: Buccafusco JJ, editor. *Methods of Behavior Analysis in Neuroscience*. Second ed: CRC Press / Taylor & Francis; 2009.
35. Dural S, Gür E, Çetinkaya H. Öğrenilmiş Korkunun Söndürülmesinde Yeni Bir Yaklaşım : Belleğin Yeniden Bütünleştirme Sürecine Müdahale. *Türk Psikoloji Yazıları*. 2015;18(35):67-82.
36. Leicht G, Mulert C. Neuroimaging of anxiety disorders. In: Geddes JR, Andreasen NC, Goodwin GM, editors. *New Oxford Textbook Of Psychiatry*. Third ed: Oxford University Press; 2020.
37. Dunsmoor JE, Prince SE, Murty VP, Kragel PA, LaBar KS. Neurobehavioral mechanisms of human fear generalization. *NeuroImage*. 2011;55(4):1878-88.
38. Özpoğraz N, Tamam L, Ozerdem A. Antidepresanların Etki Düzenekleri ve Önemi [Mechanisms of Actions of Antidepressants and their Significance]. *Depresyon Sağaltım Kılavuzu Kaynak Kitabı: Türkiye Psikiyatri Derneği*; 2008. p. 325-35.
39. Rudolph U, Knoflach F. Beyond classical benzodiazepines: novel therapeutic potential of GABAA receptor subtypes. *Nat Rev Drug Discov*. 2011;10(9):685-97.
40. Charney DS, Drevets WC. Neurobiological basis of anxiety disorders. In: Davis KL, Charney D, Coyle JT, Nemeroff C, editors. *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*. Philadelphia, Pennsylvania: Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
41. J.M P, J.C S, OFX A, N S. Stress and the Neuroendocrinology of Anxiety Disorders. In: Stein MB, Steckler T, editors. *Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment*2010.
42. Spooren W, Lesage A, Lavreysen H, Gasparini F, Steckler T. Metabotropic Glutamate Receptors: Their Therapeutic Potential in Anxiety. In: Stein MB, Steckler T, editors. *Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment*2010.
43. Dunayevich E, Erickson J, Levine L, Landbloom R, Schoepp DD, Tollefson GD. Efficacy and tolerability of an mGlu2/3 agonist in the treatment of generalized anxiety disorder. *Neuropsychopharmacology*. 2008;33(7):1603-10.
44. Steckler T. Developing Small Molecule Nonpeptidergic Drugs for the Treatment of Anxiety Disorders: Is the Challenge Still Ahead? In: Stein MB, Steckler T, editors. *Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment*2010.
45. Jonkman S, Kenny PJ. Animal Models in Psychiatry. In: Sadock BJ, Sadock VA, Ruiz P, editors. *Kaplan & Sadock's Comprehensive Textbook Of Psychiatry*. 1. Tenth ed: Wolters Kluwer; 2017.
46. Jacobson LH, Cryan JF. Genetic Approaches to Modeling Anxiety in Animals. In: Stein MB, Steckler T, editors. *Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment*2010.
47. Risbrough V. Behavioral Correlates of Anxiety. In: Stein MB, Steckler T, editors. *Behavioral Neurobiology of Anxiety and Its Treatment*2010.
48. Koç A, Görmüş ZİS. Deney Hayvanlarında Anksiyete Çalışmaları. *Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi*. 2019;11(2):51-7.
49. Güvendi G. Deney Hayvanlarında Anksiyete Modelleri. In: BORA ES, ÖZLÜ C, editors. *Klinik Bilimlerde Deney Hayvanı Modelleri: Akademisyen Kitabevi A.Ş.*; n.d.
50. Seibenhener ML, Wooten MC. Use of the Open Field Maze to Measure Locomotor and Anxiety-like Behavior in Mice. *JoVE*. 2015(96):e52434.
51. Machado N. What is the appropriate measurement for the inside zone of a open field box? 27th May, 2016 [Available from: https://www.researchgate.net/post/What_is_the_appropriate_measurement_for_the_inside_zone_of_a_open_field_box/574858ec96b7e41eca1e7d64/citation/download.

52. Çakır ÖK, Koyuncuoğlu T. Anksiyete Benzeri Davranış Değerlendirme Testleri. In: Özbeyli D, Gülhan R, editors. Deneysel Araştırma Modelleri Uygulama El Kitabı. 1 ed. Ankara: Ankara Nobel Tıp Kitabevleri; 2021.
53. Gould TD, Dao DT, Kovacsics C. The open field test. In: Gould TD, editor. Mood and Anxiety Related Phenotypes in Mice: Characterization Using Behavioral Tests: Humana Press; 2009.
54. Kalueff AV, Stewart AM, Song C, Berridge KC, Graybiel AM, Fentress JC. Neurobiology of rodent self-grooming and its value for translational neuroscience. *Nature Reviews Neuroscience*. 2016;17(1):45-59.
55. Çalışkan H. Darbepoetin Alfa'nın Nöroinflamasyon Oluşturulmuş Sıçan Modelinde Anksiyete Üzerine Etkisi [Doktora tezi]. Ankara: Ankara Üniversitesi; 2021.
56. Riebe CJ, Wotjak CT. A Practical Guide to Evaluating Anxiety-Related Behavior in Rodents. In: Szallasi A, Bíró T, editors. TRP Channels in Drug Discovery: Volume II. Totowa, NJ: Humana Press; 2012. p. 167-85.
57. Gogas KR, Lechner SM, Markison S, Williams JP, McCarthy W, Grigoriadis DE, et al. Animal Models of Anxiety. In: Taylor JB, Triggle DJ, editors. Comprehensive Medicinal Chemistry II Volume 6 : Therapeutic Areas I: Central Nervous System, Pain, Metabolic Syndrome, Urology, Gastrointestinal and Cardiovascular: Elsevier; 2006.
58. Will M, Claßen-Bockhoff R. Time to split *Salvia* s.l. (Lamiaceae) – New insights from Old World *Salvia* phylogeny. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2017;109:33-58.
59. Hu G-X, Takano A, Drew BT, Liu E-D, Soltis DE, Soltis PS, et al. Phylogeny and staminal evolution of *Salvia* (Lamiaceae, Nepetoideae) in East Asia. *Annals of Botany*. 2018;122(4):649-68.
60. Atalay Z, Celep F, Bara F, Doğan M. Systematic significance of anatomy and trichome morphology in *Lamium* (Lamioideae; Lamiaceae). *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*. 2016;225:60-75.
61. Basalma D, Gurbuz B, Sarihan E, Ipek A, Arslan N, Duran A, et al. Essential oil composition of *Salvia heldreichiana* Boiss. ex Benth described endemic species from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*. 2007;19(3):2130-4.
62. Akin M, Demirci B, Bağcı Y, Baser KHC. Antibacterial activity and composition of the essential oils of two endemic *Salvia* sp. from Turkey. *African Journal of Biotechnology*. 2010;9(15):2322-7.
63. Bardakci H, Celep E, Gözet T, Kurt-Celep I, Deniz I, Şen-Utsukarci B, et al. A comparative investigation on phenolic composition, antioxidant and antimicrobial potentials of *Salvia heldreichiana* Boiss. ex Benth extracts. *South African Journal of Botany*. 2019;125:72-80.
64. Hedge IC. *Salvia* L. In: Davis PH, editor. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. 7. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1982.
65. Doğan M, Pehlivan S, Akaydin G, Bağcı E, Uysal İ, Doğan HM. Türkiye’de yayılış gösteren *Salvia* L. (Labiatae) cinsinin taxonomik revizyonu Tübitak Proje No: 104T450. 2008.
66. İpek A, Gürbüz B. Türkiye Florasında Bulunan *Salvia* Türleri ve Tehlike Durumları. *Tarla Bitkileri Merkez Araştırma Enstitüsü Dergisi*. 2010;19 (1-2):30-5.
67. Erdoğan EA. Lamiaceae familyasına ait bazı bitkilerin uçucu yağ içeriklerinin belirlenmesi, antimikrobiyal ve antimutajenik aktivitelerinin araştırılması. *Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin*. 2014.
68. Raal A, Orav A, Arak E. Composition of the essential oil of *Salvia officinalis* L. from various European countries. *Natural Product Research*. 2007;21(5):406-11.

69. Ali A, Tabanca N, Demirci B, Blythe EK, Ali Z, Baser KHC, et al. Chemical Composition and Biological Activity of Four *Salvia* Essential Oils and Individual Compounds against Two Species of Mosquitoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2015;63(2):447-56.
70. Rajabi Z, Ebrahimi M, Farajpour M, Mirza M, Ramshini H. Compositions and yield variation of essential oils among and within nine *Salvia* species from various areas of Iran. *Industrial Crops and Products*. 2014;61:233-9.
71. de Moraes Pultrini A, Almeida Galindo L, Costa M. Effects of the essential oil from *Citrus aurantium* L. in experimental anxiety models in mice. *Life Sciences*. 2006;78(15):1720-5.
72. Costa CA, Kohn DO, de Lima VM, Gargano AC, Flório JC, Costa M. The GABAergic system contributes to the anxiolytic-like effect of essential oil from *Cymbopogon citratus* (lemongrass). *J Ethnopharmacol*. 2011;137(1):828-36.
73. Hazim AI, Ramanathan S, Parthasarathy S, Muzaimi M, Mansor SM. Anxiolytic-like effects of mitragynine in the open-field and elevated plus-maze tests in rats. *J Physiol Sci*. 2014;64(3):161-9.
74. Shi F, Zhao Y, Firempong CK, Xu X. Preparation, characterization and pharmacokinetic studies of linalool-loaded nanostructured lipid carriers. *Pharmaceutical Biology*. 2016;54(10):2320-8.
75. Li W, Hong B, Li Z, Li Q, Bi K. GC-MS method for determination and pharmacokinetic study of seven volatile constituents in rat plasma after oral administration of the essential oil of *Rhizoma Curcuma*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018;149:577-85.
76. Spijker S. Dissection of Rodent Brain Regions. 572011. p. 13-26.
77. Perry NS, Houghton PJ, Jenner P, Keith A, Perry EK. *Salvia lavandulaefolia* essential oil inhibits cholinesterase in vivo. *Phytomedicine*. 2002;9(1):48-51.
78. Ernst E. Herbal remedies for anxiety - a systematic review of controlled clinical trials. *Phytomedicine*. 2006;13(3):205-8.
79. Radhakrishnan A, Gulia KK. Categories of Wistar Rats Based on Anxiety Traits: A Study Using Factor and Cluster Method. *Ann Neurosci*. 2018;25(4):234-40.
80. Ramos A. Animal models of anxiety: do I need multiple tests? *Trends Pharmacol Sci*. 2008;29(10):493-8.
81. Roth KA, Katz RJ. Stress, behavioral arousal, and open field activity--a reexamination of emotionality in the rat. *Neurosci Biobehav Rev*. 1979;3(4):247-63.
82. Barros HM, Tannhauser SL, Tannhauser MA, Tannhauser M. The effects of GABAergic drugs on grooming behaviour in the open field. *Pharmacol Toxicol*. 1994;74(6):339-44.
83. Kalueff AV, Tuohimaa P. The grooming analysis algorithm discriminates between different levels of anxiety in rats: potential utility for neurobehavioural stress research. *Journal of Neuroscience Methods*. 2005;143(2):169-77.
84. Carli M, Prontera C, Samanin R. Effect of 5-HT_{1A} agonists on stress-induced deficit in open field locomotor activity of rats: Evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. *Neuropharmacology*. 1989;28(5):471-6.
85. Belzung C, Griebel G. Measuring normal and pathological anxiety-like behaviour in mice: a review. *Behavioural Brain Research*. 2001;125(1):141-9.
86. Kong WX, Chen SW, Li YL, Zhang YJ, Wang R, Min L, et al. Effects of taurine on rat behaviors in three anxiety models. *Pharmacol Biochem Behav*. 2006;83(2):271-6.
87. Garabadu D, Krishnamurthy S. *Asparagus racemosus* attenuates anxiety-like behavior in experimental animal models. *Cell Mol Neurobiol*. 2014;34(4):511-21.

88. Kuniishi H, Ichisaka S, Yamamoto M, Ikubo N, Matsuda S, Futora E, et al. Early deprivation increases high-leaning behavior, a novel anxiety-like behavior, in the open field test in rats. *Neurosci Res.* 2017;123:27-35.
89. Armah FA, Henneh IT, Amponsah IK, Biney RP, Malcolm F, Alake J, et al. Antidepressant and Anxiolytic Effects and Subacute Toxicity of the Aerial Parts of *Psychotria ankasensis* J.B.Hall (Rubiaceae) in Murine Models. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2021;2021:5543320.
90. Ennaceur A. Tests of unconditioned anxiety — Pitfalls and disappointments. *Physiology & Behavior.* 2014;135:55-71.
91. Rombolà L, Tridico L, Scuteri D, Sakurada T, Sakurada S, Mizoguchi H, et al. Bergamot Essential Oil Attenuates Anxiety-Like Behaviour in Rats. *Molecules.* 2017;22(4).
92. Lockridge A, Romero G, Harrington J, Newland B, Gong Z, Cameron A, et al. Timing-dependent reduction in ethanol sedation and drinking preference by NMDA receptor co-agonist d-serine. *Alcohol.* 2012;46(4):389-400.
93. Whitehead RA, Schwarz SKW, Asiri YI, Fung T, Puil E, MacLeod BA. The Efficacy and Safety of the Novel Peripheral Analgesic Isovaline as an Adjuvant to Propofol for General Anesthesia and Conscious Sedation: A Proof-of-Principle Study in Mice. *Anesthesia & Analgesia.* 2015;121(6):1481-7.
94. WU C, YANG L, LI Y, DONG Y, YANG B, TUCKER LD, et al. Effects of Exercise Training on Anxious–Depressive-like Behavior in Alzheimer Rat. *Medicine & Science in Sports & Exercise.* 2020;52(7):1456-69.
95. Feng GK, Ma XJ, Chen YY, Bian GR, Yang C, Gu BD. Effects of Chailong Jieyu Pill on Behavior, Monoamine Neurotransmitters, and Corticosteroid Receptors in a Rat Model of Anxiety Disorder. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2018;2018:5489215.
96. Zhang C, Kalueff AV, Song C. Minocycline ameliorates anxiety-related self-grooming behaviors and alters hippocampal neuroinflammation, GABA and serum cholesterol levels in female Sprague-Dawley rats subjected to chronic unpredictable mild stress. *Behav Brain Res.* 2019;363:109-17.
97. Andrews N, Barnes NM, Steward LJ, West KE, Cunningham J, Wu PY, et al. A comparison of rat brain amino acid and monoamine content in diazepam withdrawal and after exposure to a phobic stimulus. *Br J Pharmacol.* 1993;109(1):171-4.
98. Nguyen PV, Connor SA. Noradrenergic Regulation of Hippocampus-Dependent Memory. *Cent Nerv Syst Agents Med Chem.* 2019;19(3):187-96.
99. Zohar J, Juven-Wetzler A, Sonnino R, Cwikel-Hamzany S, Balaban E, Cohen H. New insights into secondary prevention in post-traumatic stress disorder. *Dialogues in Clinical Neuroscience.* 2011;13(3):301-9.
100. Carton L, Auger F, Laloux C, Durieux N, Kyheng M, Potey C, et al. Effects of acute ethanol and/or diazepam exposure on immediate and delayed hippocampal metabolite levels in rats anesthetized with isoflurane. *Fundam Clin Pharmacol.* 2022;36(4):687-98.
101. Cui Y, Che Y, Wang H. Bergamot essential oil attenuate aluminum-induced anxiety-like behavior through antioxidation, anti-inflammatory and GABA regulation in rats. *Food Chem Toxicol.* 2020;145:111766.
102. Tu W, Cook A, Scholl JL, Mears M, Watt MJ, Renner KJ, et al. Serotonin in the ventral hippocampus modulates anxiety-like behavior during amphetamine withdrawal. *Neuroscience.* 2014;281:35-43.
103. Wankhar W, Syiem D, Pakyntein CL, Thabah D, Sunn SE. Effect of 5-HT_{2C} receptor agonist and antagonist on chronic unpredictable stress (CUS) - Mediated anxiety and

- depression in adolescent Wistar albino rat: Implicating serotonin and mitochondrial ETC-I function in serotonergic neurotransmission. *Behavioural Brain Research*. 2020;393:112780.
104. Karayol R, Medrihan L, Warner-Schmidt JL, Fait BW, Rao MN, Holzner EB, et al. Serotonin receptor 4 in the hippocampus modulates mood and anxiety. *Mol Psychiatry*. 2021;26(6):2334-49.
 105. Broderick PA. Alprazolam, diazepam, yohimbine, clonidine: in vivo CA1 hippocampal norepinephrine and serotonin release profiles under chloral hydrate anesthesia. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*. 1997;21(7):1117-40.
 106. Rivera-García MT, López-Rubalcava C, Cruz SL. Preclinical characterization of toluene as a non-classical hallucinogen drug in rats: participation of 5-HT, dopamine and glutamate systems. *Psychopharmacology*. 2015;232(20):3797-808.
 107. Wang N, Zhang G-F, Liu X-Y, Sun H-L, Wang X-M, Qiu L-L, et al. Downregulation of Neuregulin 1-ErbB4 Signaling in Parvalbumin Interneurons in the Rat Brain May Contribute to the Antidepressant Properties of Ketamine. *Journal of Molecular Neuroscience*. 2014;54(2):211-8.
 108. Hirota K, Kushikata T, Takekawa D, Kudo M. Is neurotransmitter release involved in the mechanism of general anesthesia? *J Anesth*. 2020;34(1):153-5.
 109. Azarfarin M, Farajdokht F, Babri S, Salehpour F, Taghizadeh M, Mohaddes G. Effects of troxerutin on anxiety- and depressive-like behaviors induced by chronic mild stress in adult male rats. *Iran J Basic Med Sci*. 2018;21(8):781-6.
 110. Lexicomp. Diazepam: Drug information. UpToDate.d.
 111. Nzor J, Uwakwe A, Onuoha S. Impact of benzodiazepines administration on selected biochemical parameters of albino Wistar rats (*Rattus rattus*). *Egyptian Pharmaceutical Journal*. 2018;17(1):40-7.
 112. Ostermann M, Kashani K, Forni LG. The two sides of creatinine: both as bad as each other? *J Thorac Dis*. 2016;8(7):E628-30.



T.C.
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI
Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü

Sayı : E-43368836-604.02-2954554
Konu : Araştırma/Geliştirme Projeleri

20.10.2020

DAĞITIM YERLERİNE

Tüm dünyada gıda, baharat, boya, ilaç, kozmetik, parfüm gibi birçok alanda yaygın şekilde kullanılan Tıbbi ve Aromatik Bitkilere olan ilgi artarak devam etmektedir. Dünyada Tıbbi ve Aromatik Bitki pazarı hacmi yaklaşık 115 milyar dolar iken, milyon dolarlarla ifade edilen Türkiye pazarında 2023 yılı hedefi 5 milyar dolardır. Türkiye'de 12.000'in üzerinde bitki çeşidi bulunmakta ve bunların 3.600'ü de endemik bitkidir. Ülkemiz farklı iklim ve ekolojik koşullara sahip olması, floranın çok sayıda bitki türü ve çeşitliliği içermesi bakımından doğadan toplanan ve kültürü yapılan Tıbbi ve Aromatik Bitkiler açısından büyük bir ekonomik potansiyele sahiptir. Tıbbi ve Aromatik Bitkilerde sürdürülebilir üretim ve pazar potansiyelinin yeterince değerlendirilebilmesi için bu ürünlerin istenen miktar ve kalitede üretilmesi ve katma değeri yüksek ürünlere dönüştürülmesi gerekmektedir.

Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğüne bağlı olarak faaliyet gösteren Araştırma Enstitülerimizde, bugüne kadar 50 türde kültüre alma çalışmaları sonuçlandırılmış, bunlardan 16 tanesinin adaptasyon çalışmaları tamamlanmış ve 16 türde 33 çeşit tescil ettirilmiştir.

Genel Müdürlük olarak, Tıbbi bitkilerde bitki, hayvan ve insan sağlığına hitap edecek ve tüm paydaş ve sektörlerin ortak çalışması ile "Türkiye Tıbbi Bitki Potansiyellerinin Belirlenmesi, Üretimi ve Kullanımının Yaygınlaştırılması" adıyla "Ülkesel Büyük Proje" hazırlığı başlatıyoruz. Bu proje hazırlığı çalışmalarında ve sonrasında projenin uygulamaya aktarılmasında kurumunuzun görev alıp alamayacağı bizler için önem arz etmektedir.

Görev almayı uygun gördüğünüz taktirde ekte gönderilen tabloda yer alan bilgilerden kurumunuzu ilgilendiren veya görev alabileceğiniz başlıklara ait bilgilerin doldurularak 20.11.2020 tarihine kadar Genel Müdürlüğümüze gönderilmesi hususunda;

Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Dr. Nevzat BİRİŞİK
Bakan a.
Genel Müdür

Ek: Proje Çalışma Tablosu

Dağıtım:

Belge Doğrulama Kodu : GHYLYQOU

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Belge Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/tarim-ve-orman-bakanligi-ebys>

Üniversiteler Mah. Dumlupınar Bulvarı, Eskişehir Yolu 10. Km, 06800
Çankaya/Ankara

Tel: (0312) 307 60 00 Faks:

<http://www.tarim.gov.tr/TAGEM> Kep: tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr

Bilgi için: Arzu TOPKARA
Mühendis
Telefon No: (312) 307 62 38



Tablo1. Bilgi ve veriler					
Türkiye Tıbbi Bitki Potansiyellerinin Belirlenmesi, Üretimi ve Kullanımının Yaygınlaştırılması					
*KURUM	**KONU	İNSAN KAYNAĞI (Fiilen Çalışan Akademik Personel Sayısı)	ALT YAPI (Cihaz / Alet Ekipman ve Arazi)	***PROJE (Geçmişten 2020'ye Kadar Yürütülen Proje Çalışmaları)	
(Fakülte/ Yüksek Okul/ MYO vb.)					
	Toplama / Tanı / Teşhis				
	Koruma ve Muhafaza				
	Yetiştiricilik / İslah				
	İçerik ve Ekstraksiyon				
	Endikasyon ve Toksikoloji				
	Formülasyon ve Kapsülasyon				
	Seri Üretim				
	Pazarlama				
	Mevzuat				
	Diğer (Donanımlar)				

* Kurumun alt birim ismi (Örneğin; Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarla Bitkileri Bölümü gibi)

** Listede bulunan 10 adet konu başlığından hangi konularda dünden bugüne çalışma yapıldıysa onlara ait; insan kaynağı, alt yapı potansiyeli ve proje başlıkları

*** Çalışmalarda "Türkiye Tıbbi Bitki Potansiyellerinin Belirlenmesi, Üretimi ve Kullanımının Yaygınlaştırılması" başlığı çerçevesinde varsa çıktılar (Çeşit, patent, ürün vb.)



T.C.
TARIM VE ORMAN BAKANLIĞI
Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü

Sayı : E-21264211-288.04-1922262

03.07.2021

Konu : Araştırma İzinleri (Ayşen ERDEM)

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜNE

Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ayşen ERDEM tarafından yürütüleceği ifade edilen "*Salvia heldreichiana*'nın (Ayaklı Şalba Adaçayı) Tek ve Tekrarlayan Dozda Sıçanlar Üzerindeki Anksiyolitik Etkisi" başlıklı proje kapsamında yürütülecek olan arazi çalışmaları ile ilgili Bilimsel Araştırma İzin Başvurusu Genel Müdürlüğümüz yetki ve sorumlulukları çerçevesinde incelenmiş olup, buna göre;

- Çalışmaların sahada bulunan flora, fauna, doğal ve kültürel değerlerin yanı sıra ekosistem bütünlüğüne de zarar vermeyecek şekilde yapılması,
- Söz konusu alanların özelliklerinin kaybolmamasına özen gösterilerek yaban hayatının tahrip edilmemesi,
- Arazi çalışmalarının yapılacağı yerin il merkezlerinde Valiliğe, ilçelerde ise Kaymakamlığa bilgi verilmesi,
- Arazide yapılacak her türlü çalışma ile ilgili arazi çalışmalarından en az bir (1) gün önce Bakanlığımız Doğa Koruma ve Milli Parklar 8. Bölge Müdürlüğüne bağlı Karaman Şube Müdürlüğüne ve genel kolluk kuvvetlerine bilgi verilmesi
- Söz konusu çalışmaların 2873 sayılı Milli Parklar Kanunu, 4915 sayılı Kara Avcılığı Kanunu veya Sulak Alanların Korunması Yönetmeliği kapsamındaki korunan alan sınırları dahilinde kalması durumunda çalışmanın süreç ve sonucu hakkında mutlak suretle Karaman Şube Müdürlüğüne bilgi verilmesi ve Bakanlığımız Doğa Koruma ve Milli Parklar 8. Bölge Müdürlüğümüzden veya Karaman Şube Müdürlüğümüzden bir teknik personel eşliğinde araziye çıkılmasının sağlanması,
- Arazi çalışmalarının yapılacağı yerin il merkezlerinde Valiliğe, ilçelerde ise Kaymakamlığa bilgi verilmesi,
- Çalışma konusu türün endemik olması nedeniyle, tür devamlılığının sağlanabilmesi açısından popülasyona zarar vermeyecek şekilde örnek alınması ve popülasyonun % 5'inden fazla örnek toplanmaması,
- Araştırma ara ve sonuç raporlarının basılı ve dijital ortamda birer kopyasının Genel Müdürlüğümüze gönderilmesi,

şartıyla bahse konu çalışmaların yapılması Genel Müdürlüğümüzce uygun görülmüştür.
Bilgilerinizi ve gereğini rica ederim.

Hasan KANCA
Bakan a.
Genel Müdür Yardımcısı

Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu: 5A328FBB-B396-4952-8B9D-324292E95EF0

Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/tarim-ebys>

Beştepe Mah. Alparslan Türkeş Cad. No:71 Yenimahalle/ANKARA
Telefon: (0312) 207 50 00

KEP: tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr

Bilgi için: Serkan ÇAMALAN
Tarım ve Orman Uzmanı



Ek: Rapor Genel Tanım Bilgileri (3 Sayfa)

Dağıtım:

Gereği:

Hacettepe Üniversitesi Rektörlüğüne

Bilgi:

Tarım ve Orman Bakanlığı 8. Bölge Müdürlüğüne



Bu belge, güvenli elektronik imza ile imzalanmıştır.

Doğrulama Kodu: 5A328FBB-B396-4952-8B9D-324292E95EF0

Doğrulama Adresi: <https://www.turkiye.gov.tr/tarim-ebys>

Beştepe Mah. Alparslan Türkeş Cad. No:71 Yenimahalle/ANKARA

Telefon: (0312) 207 50 00

KEP: tarimveormanbakanligi@hs01.kep.tr

Bilgi için: Serkan ÇAMALAN
Tarım ve Orman Uzmanı

