

An Investigation of the Role of Sex Difference in the Effect of Fluoxetine on Behavioral and Biochemical Changes in Male and Female Rats Exposed to Stress

Moslem Mohammadi¹,
Zahra Hosseini-Khah²,
Zhoobin Kalantari³,
Mehdi Jahandar³,
Forouzan Sadeghimahalli⁴,
Sakineh Shafia⁵

¹ Associate Professor, Department of Physiology, Molecular and Cell Biology Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

² Assistant Professor, Diabetes Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

³ Medical Student, Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁴ Assistant Professor, Department of Physiology, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

⁵ Associate Professor, Immunogenetic Research Center, Department of Physiology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received November 25, 2023; Accepted March 6, 2024)

Abstract

Background and purpose: Unpredictable stressors cause changes in behavioral parameters such as motor and exploratory behaviors, feeding, and sexual and anxiety behaviors. Stress leads to the release of corticosteroids and, as a result, causes dysfunction in different parts of the nervous system. A decrease in the synaptic levels of serotonin or norepinephrine in different parts of the brain such as the prefrontal cortex and a decrease in BDNF production in the hippocampus may also contribute to stress-related complications. Posttraumatic stress disorder occurs in some people after facing a severe stressful event. In PTSD, the activity and function of many physiological systems are disturbed. Fluoxetine, or Prozac, is used to treat neurological disorders such as depression and anxiety and inhibits the reuptake of serotonin by the serotonin transporter (SERT) in neurons. Some studies have shown that females respond better to SSRI antidepressants than males, which may be due to the interaction between estrogenic and serotonergic pathways. BDNF is a member of the neurotrophin family and is expressed in several tissues and cells such as the brain and blood. Its role in several mental disorders, such as depression, anxiety, eating disorders, and PTSD, has been identified. SPS (single prolonged stress) as an animal model of PTSD decreases the mRNA expression of BDNF in hippocampus rats and causes anxiety-like behaviors. The role of gender differences in the effect of antidepressants and clinical interventions in psychotic diseases is also discussed. Sex hormones in women affect the pharmacokinetics and efficacy of antidepressants. Women respond better to fluoxetine than men during reproductive years. Considering the different results regarding the effectiveness of effective drugs in the treatment of psychotic diseases in both sexes, in this study, we aim to investigate the response of male and female rats exposed to stress to the trial of fluoxetine.

Materials and methods: In this experimental study, Wistar male and female rats with an average weight of 200-250 grams were used (56 animals, 8 groups of 7). The selection of the number of animals was based on previous studies in this field. After the drug intervention period, and fear and anxiety suppression test, the animals were killed under deep anesthesia, and a blood sample was collected to prepare serum to measure BDNF and corticosterone levels (using the Eliza kit of Germany Zelbio Company and according to the kit protocol). All experiments were performed according to the laboratory animal protocol of Mazandaran University of Medical Sciences.

The work steps are as follows: 1. Creation of PTSD through SPS was done in three stages, 2. Drug intervention: the drug dose for all groups is 10 mg/kg/day for 4 weeks dissolved in drinking water, 3. Evaluation of anxiety-like behaviors with the light-dark box (L/D BOX), 4. Evaluation of the ability to forget painful memories with the fear silence test, 5. Measurement of BDNF and corticosterone in serum by Eliza method.

Results: In this study, it was observed that male and female rats that were exposed to single prolonged stress showed a decrease in fear extinction an increase in anxiety-like behaviors in the dark-light box test, and an increase in serum corticosterone. Fluoxetine led to an increase in the percentage of fear extinction, a decrease in the Entrance Latency in the light area, the Time in the Light Compartment, the number of rearing, and a decrease in serum corticosterone significantly in both sexes ($P < 0.05$). The change in serum BDNF levels in both sexes before and after stress was not significant.

Conclusion: The results of the study showed that exposure to stress leads to behavioral and biochemical damage in male and female rats. The use of fluoxetine 10 mg/kg for 4 weeks improved the damage caused by stress, but there was a significant difference in Response of both genders to the above treatment was not observed.

Keywords: PTSD, Fluoxetine, Fear Extinction, Anxiety, Corticosterone, BDNF

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (232): 25-37 (Persian).

Corresponding Author: Sakineh Shafia - School of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran. (E-mail: srshafia@yahoo.com)

بررسی نقش اختلاف جنس در تاثیر فلوکستین بر تغییرات رفتاری و بیوشیمیایی در رت‌های نر و ماده در معرض استرس

مسلم محمدی^۱
زهرا حسینی خواه^۲
ژوبین کلانتری^۳
مهدی جهاندار^۳
فرروزان صادقی محلی^۴
سکینه شفیعا^۵

چکیده

سابقه و هدف: استرسورهای غیرقابل پیش‌بینی، تغییراتی را در پارامترهای رفتاری مانند رفتارهای حرکتی و اکتشافی، تغذیه و رفتارهای جنسی و اضطرابی ایجاد می‌کنند. استرس منجر به آزادسازی کورتیکوستروئیدها شده و در نتیجه، موجب اختلال در عملکرد بخش‌های مختلف سیستم عصبی می‌گردد. کاهش در سطوح سیناپسی سروتونین و یا نوراپینفرین در بخش‌های مختلف مغز مانند قشر پره‌فرونتال و کاهش تولید BDNF در هیپوکامپ نیز ممکن است به عوارض ناشی از استرس کمک کند. PTSD (Posttraumatic stress disorder) در برخی از افراد پس از مواجهه با یک واقعه استرس‌زای شدید بروز می‌کند. در PTSD فعالیت و عملکرد بسیاری از سیستم‌های فیزیولوژیک دچار اختلال می‌شوند. فلوکستین با نام تجاری پروزاک، برای درمان اختلالات عصبی مانند افسردگی و اضطراب مورد استفاده قرار می‌گیرد و بازجذب سروتونین را از طریق مهار عملکرد ترانسپورتر سروتونین (SERT) در نورون‌ها مهار می‌کند. برخی مطالعات نشان داده‌اند جنس مؤثر به داروهای ضد افسردگی گروه SSRIs بهتر از جنس مذکر پاسخ می‌دهد که می‌تواند ناشی از تعامل بین مسیرهای استروژنی و سروتونرژیک باشد. BDNF یک عضو از خانواده نوروتروفین‌ها است و در تعدادی از بافت‌ها و سلول‌ها مانند مغز و خون بیان می‌شود، نقش آن در تعدادی از اختلالات روانی، مانند دپرسیون، اضطراب، اختلال در خوردن و PTSD مشخص شده است. SPS (single prolonged stress) به عنوان یک مدل حیوانی PTSD، باعث کاهش بیان mRNA مربوط به BDNF در هیپوکامپ رت‌ها شده و رفتارهای شبه اضطراب را ایجاد می‌کند. نقش اختلاف جنس در تاثیر ضدافسردگی‌ها و مداخلات کلینیکی در بیماری‌های روان‌پریشی نیز مطرح می‌باشد. هورمون‌های جنسی در زنان بر فارماکوکینتیک و اثر بخشی داروهای ضد افسردگی تاثیر می‌گذارند. زنان نسبت به مردان در سال‌های تولید مثلی پاسخ بهتری به داروی فلوکستین می‌دهند. با توجه به نتایج متفاوت در مورد اثر بخشی داروهای مؤثر در درمان بیماری‌های روان‌پریشی در دو جنس، این مطالعه با هدف بررسی پاسخگویی رت‌های نر و ماده مواجه شده با استرس به داوری فلوکستین، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، رت‌های نر و ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت (به تعداد ۵۶ حیوان، ۸ گروه ۷ تایی). انتخاب تعداد حیوانات بر اساس مطالعات قبلی در این زمینه بوده است. پس از دوره مداخله دارویی، و انجام تست خاموشی ترس و اضطراب، حیوانات تحت بیهوشی عمیق کشته و نمونه خون جهت تهیه سرم برای اندازه‌گیری میزان BDNF و کورتیکوسترون (به وسیله کیت الایزا شرکت zelabo آلمان و طبق پروتکل کیت) جمع‌آوری گردید. کلیه آزمایشات طبق پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد. ایجاد PTSD از طریق SPS در سه مرحله انجام شد و مداخله دارویی، دوز دارو برای کلیه گروه‌ها 10mg/kg/day به مدت ۴ هفته حل شده در آب آشامیدنی می‌باشد. ارزیابی رفتارهای شبه اضطراب با جعبه تاریک-روشن (Light-dark box/L/D BOX)، ارزیابی توانایی فراموشی خاطرات آزاردهنده با آزمون خاموشی ترس و اندازه‌گیری BDNF و کورتیکوسترون در سرم به روش الایزا، انجام شد.

یافته‌ها: در این مطالعه مشاهده شد که رت‌های نر و ماده‌ای که در معرض single prolonged stress قرار گرفته بودند، کاهش خاموشی ترس و افزایش رفتارهای شبه اضطراب در تست جعبه تاریک-روشن و افزایش کورتیکوسترون سرم را نشان دادند. داروی فلوکستین منجر به افزایش درصد خاموشی ترس و کاهش تأخیر ورود به ناحیه روشن، مدت زمان حضور در ناحیه روشن و تعداد rearing و همچنین کاهش کورتیکوسترون سرم به صورت معنی‌داری در هر دو جنس شد ($P < 0.05$). تغییر میزان BDNF در دو جنس قبل و پس از استرس معنادار نبود. **استنتاج:** مطالعه ما نشان داد که قرار گرفتن در معرض استرس منجر به آسیب‌های رفتاری و بیوشیمیایی در رت‌های نر و ماده می‌گردد. استفاده از داروی فلوکستین ۱۰ mg/kg به مدت ۴ هفته باعث بهبود آسیب‌های ناشی از استرس شد اما اختلاف معنی‌داری در پاسخگویی دو جنس به درمان فوق مشاهده نشد.

واژه‌های کلیدی: سندرم استرس پس از سانحه، فلوکستین، خاموشی ترس، اضطراب، کورتیکوسترون، فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز

E-mail: srshafia@yahoo.com

مؤلف مسئول: سکینه شفیعا- ساری: میدان خزر، کیلومتر ۱۷ جاده خزر آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم (ص)، دانشکده پزشکی

۱. دانشیار، گروه فیزیولوژی، مرکز تحقیقات بیولوژی سولی و مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. استادیار، مرکز تحقیقات دیابت، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. دانشجوی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۴. استادیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. دانشیار، مرکز تحقیقات ایمونونیتیک، گروه فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۹/۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۲/۱۱/۴ تاریخ تصویب: ۱۴۰۲/۱۲/۱۶

مقدمه

در جهان مدرن امروز، استرس پدیده‌ای اجتناب‌ناپذیر است. در حیوانات نیز استرسورهای غیرقابل پیش‌بینی، تغییراتی را در پارامترهای رفتاری مانند رفتارهای حرکتی و اکتشافی، تغذیه و رفتارهای جنسی ایجاد می‌کنند. استرس منجر به آزادسازی کورتیکوسترئوئیدها از قشر آدرنال شده و در نتیجه، موجب اختلال در عملکرد بخش‌های مختلف سیستم عصبی می‌گردد. از طرفی، کاهش در سطوح سیناپسی سروتونین و یا نوراپینفرین در بخش‌های مختلف مغز مانند قشر پره فرونتال و کاهش تولید فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز در هیپوکامپ نیز ممکن است به عوارض ناشی از استرس کمک کند (۱). سندرم استرس پس از سانحه (Posttraumatic stress disorder: PTSD) در برخی از افراد پس از مواجهه با یک واقعه استرس‌زای شدید بروز می‌کند. در PTSD فعالیت و عملکرد بسیاری از سیستم‌های فیزیولوژیک مانند سیستم‌های نور آدرنژیک، اوپیوئید داخلی، سروتونرژیک و محور HPA دچار اختلال می‌شوند (۲). در این بیماری تغییرات نورودژنراتیو شدیدی در بخش‌های مختلف سیستم عصبی اتفاق می‌افتد که یکی از اثرات نامطلوب آن اختلال فعالیت‌های شناختی و اختلال فراموشی حافظه تروماتیک می‌باشد. درمان مزمن با فلوکستین، پاک شدن حافظه ترس را تسهیل می‌کند (۳). مهارکننده‌های انتخابی برداشت سروتونین (SSRIs) پیشرفت واضحی را در بهبود علائم این بیماری نشان می‌دهند، که نشان دهنده نقش مهم سیستم سروتونرژیک در ایجاد این بیماری می‌باشد (۴). فلوکستین با نام تجاری پروزاک، برای درمان اختلالات عصبی مانند افسردگی و اضطراب مورد استفاده قرار می‌گیرد و با فرمول ساختاری H18F3NO، اولین بار در سال ۱۹۸۶ تولید شد. فلوکستین، بازجذب سروتونین را از طریق مهار عملکرد ترانسپورتر سروتونین (SERT) در نورون‌ها مهار می‌کند (۱). برخی مطالعات نشان داده‌اند جنس مؤنث به داروهای ضد افسردگی گروه SSRIs

بهرتر از جنس مذکر پاسخ می‌دهد که می‌تواند ناشی از تعامل بین مسیرهای استروژنی و سروتونرژیک باشد (۵). BDNF یک عضو از خانواده نوروتروفین‌ها است. نوروتروفین‌ها فاکتورهای رشد عصبی هستند که نقش مهمی در فیزیولوژی، پیشرفت و پاتولوژی بیماری‌های روانپریشی دارند. BDNF در تعدادی از بافت‌ها و سلول‌ها مانند مغز و خون بیان می‌شود، نقش آن در تعدادی از اختلالات روانی، مانند دپرسیون، اضطراب، اختلال در خوردن و بیماری استرس پس از سانحه، مورد بررسی قرار گرفته است (۶). پروسه‌های کنترل شده توسط BDNF عموماً پاسخ استرس را کنترل می‌کنند (۷). SPS (single prolonged stress) به عنوان یک مدل حیوانی PTSD، باعث کاهش بیان mRNA مربوط به BDNF در هیپوکامپ رت‌ها شده و رفتارهای شبه اضطراب را ایجاد می‌کند (۸). شیوع بیماری‌های روانپریشی مرتبط با استرس و اضطراب در زنان تقریباً دو برابر مردان می‌باشد (۹).

مطالعات انجام گرفته بر روی اختلاف جنس در پاسخ به استرس، اختلافاتی را در مدارهای نورونی موثر در واکنش‌های هیجانی در دو جنس نشان داده است. مطالعات اپیدمیولوژیکی پیشنهاد می‌کند که زنان ریسک بیشتری برای ابتلا به بیماری‌های مرتبط با اضطراب داشته و همچنین نشانه‌های این بیماری‌ها در فازهای مختلف سیکل تولید مثلی در آن‌ها متفاوت می‌باشد (۵). نقش اختلاف جنس در تاثیر ضدافسردگی‌ها و مداخلات کلینیکی در بیماری‌های روان پریشی نیز مطرح می‌باشد. هورمون‌های جنسی در زنان بر فارماکوکینتیک و اثر بخشی داروهای ضد افسردگی تاثیر می‌گذارند (۱۰). زنان نسبت به مردان در سال‌های تولید مثلی پاسخ بهتری به داروی فلوکستین می‌دهند (۱۱). با توجه به نتایج متفاوت در مورد اثر بخشی داروهای موثر در درمان بیماری‌های روانپریشی در دو جنس، این مطالعه با هدف بررسی پاسخ‌گویی رت‌های نر و ماده مواجه شده با استرس به دآوری فلوکستین، انجام گرفت.

مواد و روش ها

حیوانات

در این مطالعه تجربی، با کدهای اخلاق IR.MAZUMS.REC.1399.7873 و IR.MAZUMS.4.REC.1400.10267، رت‌های نر و ماده نژاد ویستار با میانگین وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم مورد استفاده قرار گرفت (به تعداد ۵۶ حیوان، ۸ گروه ۷ تایی). انتخاب تعداد حیوانات بر اساس مطالعات قبلی در این زمینه بوده است. رت‌ها در درجه حرارت محیط حدود 1 ± 24 درجه سانتی گراد با دوره نوری طبیعی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) در حیوان خانه دانشگاه علوم پزشکی مازندران نگهداری می‌شوند. در طول دوره آزمایش نیز آب و غذای کافی در اختیار رت‌ها قرار خواهند گرفت. پس از دوره مداخله دارویی، و انجام تست خاموشی ترس و اضطراب، حیوانات تحت بیهوشی عمیق (به وسیله کتامین و زایلازین) و به روش خون گیری از قلب کشته و نمونه خون جهت تهیه سرم برای اندازه گیری میزان BDNF و کورتیکوسترون (به وسیله کیت الایزا شرکت zelibo آلمان و طبق پروتکل کیت) جمع‌آوری گردید. کلیه آزمایشات طبق پروتکل کار با حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران انجام شد. ایجاد PTSD از طریق SPS (single prolonged stress) در سه مرحله انجام شد. محدود نمودن حیوان به مدت ۲ ساعت در یک Forced swim restrainer به مدت ۲۰ دقیقه و بیهوشی با اتر و پس از ۱۰ روز مداخله دارویی شروع گردید (۱۲). مداخله دارویی، برای مطالعه اثرات داروی فلوکستین، کلیه حیوانات گروه‌های بیمار (SPS) و سالم (Sham) به گروه‌های دریافت کننده دارو (FLX) و دریافت کننده حلال (VEH) تقسیم شدند. دوز دارو برای کلیه گروه‌های دریافت کننده دارو 10mg/kg/day به مدت ۴ هفته به صورت حل شده در آب آشامیدنی می‌باشد. حیوانات گروه کنترل آب آشامیدنی معمولی دریافت کردند (۱۳).

ارزیابی رفتارهای شبه اضطراب با جعبه تاریک - روشن

Light-dark box (L/D BOX)

این سیستم از جنس پلکسی گلاس به ابعاد $30 \times 27 \times 46$ سانتی متر و دارای دو بخش تیره و روشن است که با یک درب گیوتینی با یکدیگر اتصال دارند. برای انجام تست در روز آزمایش، حیوان به مدت ۵ دقیقه در بخش روشن قرار داده شد. پس از ۵ دقیقه فاکتورهای، مدت زمان تاخیر برای ورود به ناحیه روشن، مدت زمان صرف شده در بخش روشن، تعداد رفت و آمد بین دو بخش و تعداد rearing در بخش روشن، اندازه گیری شد. حیواناتی که اضطراب کم‌تری دارند زمان تقریباً برابری را جهت جستجوی هردو بخش تاریک و روشن صرف می‌کنند (۱۴).

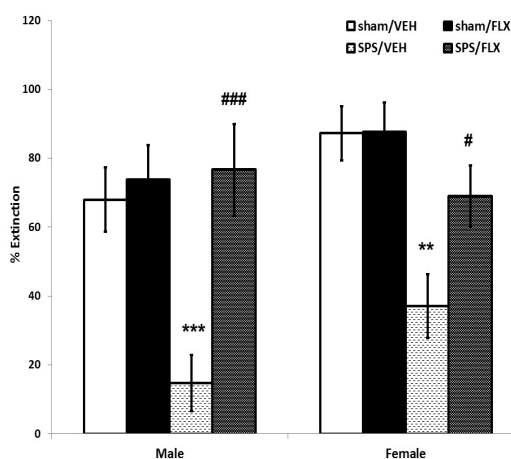
روش انجام آزمون خاموشی ترس

برای این آزمون از دستگاه شاتل باکس استفاده شد. دستگاه از ۲ اتاقک مجزا با ابعاد 30×20 سانتی متر و ارتفاع ۲۰ سانتی متر تشکیل می‌شود. دو اتاقک به وسیله یک دریچه گیوتینی از هم جدا می‌شوند. دیواره و کف یکی از اتاقک‌ها، سفید (اتاقک روشن) و دیگری سیاه (اتاقک تیره) می‌باشد. کف هر دو اتاقک میله‌های فلزی موازی دارد و از طریق کف قسمت تاریک می‌توان شوک الکتریکی (با فرکانس، شدت و مدت مشخص) به پای حیوان وارد نمود. مراحل آزمون شامل مرحله شرطی شدن (Conditioning) و تست خاموشی (Extinction) می‌باشد.

مرحله شرطی شدن (Conditioning)، حیوان در اتاقک روشن قرار می‌گیرد. هنگامی که به‌طور غریزی وارد اتاقک تاریک شد، دریچه گیوتینی بسته شده و پس از ۲۰ ثانیه شوک الکتریکی با فرکانس ۵۰ هرتز و شدت ۱ میلی آمپر به مدت ۳ ثانیه به کف پای حیوان اعمال می‌شود، لذا به‌طور شرطی حیوان یاد می‌گیرد که وارد اتاقک تاریک نشود. حیوان به مدت ۶۰ ثانیه در قسمت تاریک باقی می‌ماند و سپس به قفس منتقل

اثر داروی فلوکستین بر % Extinction در رت های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل

در رت های نر و ماده بیمار نسبت به گروه سالم در صد خاموشی ترس کاهش معنی دار داشته است ($P=0/001$ و $P=0/001$). فلوکستین در رت های نر و ماده باعث افزایش معنی دار خاموشی ترس در دو گروه شد ($P=0/001$ و $P=0/01$) و تفاوت معنی داری در کاهش درصد extinction بین دو جنس مشاهده نشد (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: اثر داروی فلوکستین بر % Extinction در رت های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل در رت های نر و ماده بیمار، $P=0/01$ #, $P=0/001$ ###, $P=0/001$ **, $P=0/001$ ***

اثر داروی فلوکستین بر رفتارهای شبه اضطراب در تست Light/Dark box در رت های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل

- تاخیر ورود به ناحیه روشن (Entrance Latency) EL در رت های نر و ماده بیمار نسبت به گروه سالم تاخیر ورود به ناحیه روشن افزایش معنی دار داشته است ($P=0/008$ و $P=0/001$). در گروه رت های ماده بیمار فلوکستین باعث کاهش معنی دار مدت زمان تاخیر ورود به ناحیه روشن شد ($P=0/001$) (تصویر شماره ۲).

می شود. تست خاموشی (Extinction)، ۲۴ ساعت بعد حیوان به دستگاه، منتقل و مدت زمان تأخیر در ورود به قسمت تاریک اندازه گیری می شود. در صورتی که حیوان پس از مدت ۱۸۰ ثانیه وارد قسمت تاریک نشود، به قسمت تاریک رانده می شود. در این مرحله شوکی به حیوان وارد نمی شود و به مدت ۱۸۰ ثانیه در قسمت تاریک باقی می ماند. این فرایند به مدت چهار روز متوالی تکرار می شود (Extinction 1-4) و در نهایت % Extinction طبق فرمول زیر محاسبه گردید (۱۵).

$$\% \text{Extinction} = \frac{\text{Extinction 4} - \text{Extinction 1}}{\text{Extinction 1}} \times 100$$

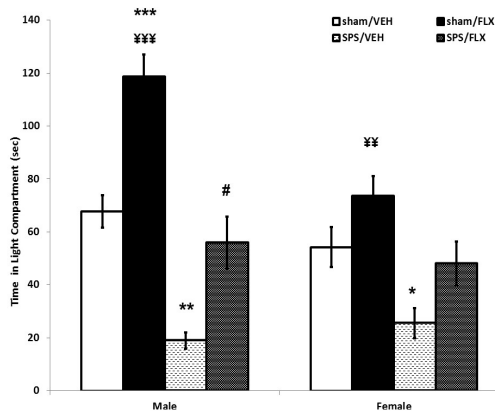
گروه های آزمایش

ابتدا رت های نر و ماده به دو گروه سالم (sham) و بیمار (SPS) تقسیم شدند. سپس هر یک از دو گروه Sham و SPS به گروه های دریافت کننده حامل Vehicle (VEH) و دریافت کننده دارو Fluoxetine (FLX) تقسیم شدند.

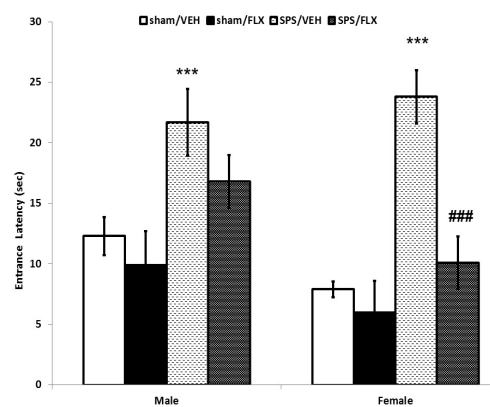
- 1-Male/ Sham-Vehicle (VEH),
- 2- Male/ Sham- Fluoxetine (FLX),
- 3- Male/ SPS- Vehicle (VEH),
- 4- Male/ SPS- Fluoxetine (FLX),
- 5- Female/Sham-Vehicle (VEH),
- 6- Female/Sham- Fluoxetine (FLX),
- 7- Female/ SPS- Vehicle (VEH),
- 8- Female/ SPS- Fluoxetine (FLX).

یافته ها

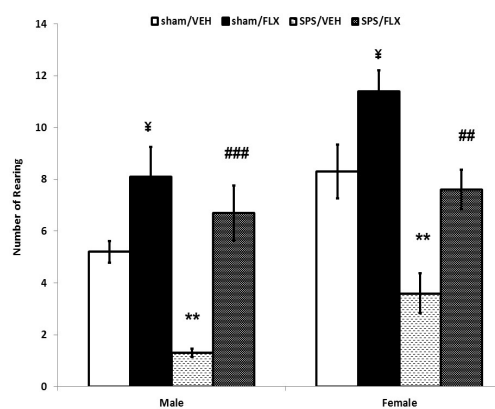
در تجزیه و تحلیل داده ها به دلیل نرمالیتی (با آزمون کولموگروف-اسمیروف) از آزمون های آنالیز واریانس سه طرفه ($SPS \times FLX \times SEX$) و آزمون posthoc مناسب استفاده شد. اطلاعات به صورت Mean $\pm$ SEM برای هر گروه ارائه شده و سطح معنی دار $P < 0/05$ در نظر گرفته شد.



تصویر شماره ۳: اثر داروی فلوکستین بر مدت زمان حضور در ناحیه روشن TLC در رت‌های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل،
 $P=0/002$ *** $\Delta\Delta$ ، $P=0/001$ *** $\Delta\Delta\Delta$ ، $P=0/01$ * Δ ، $P=0/01$ **: $P=0/001$ *** Δ ، $P=0/024$ #



تصویر شماره ۲: اثر داروی فلوکستین تاخیر ورود به ناحیه روشن EL در رت‌های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل،
 $P=0/001$ ###، $P=0/001$ *** Δ و $P=0/008$ *** Δ



تصویر شماره ۴: اثر داروی فلوکستین بر Number of Rearing در رت‌های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل،
 $P=0/005$ **: $P=0/04$ و $P=0/02$ * Δ ، $P=0/003$ ##، $P=0/004$ ###، $P=0/001$ *** Δ

– مدت زمان حضور در ناحیه روشن TLC
 (Time in Light Compartment)

در رت‌های نر و ماده بیمار نسبت به گروه سالم مدت زمان حضور در ناحیه روشن کاهش معنی‌دار داشته است ($P=0/01$ و $P=0/001$). در رت‌های نر و ماده سالم فلوکستین باعث افزایش معنی‌دار TLC شد ($P=0/002$ و $P=0/001$). در رت‌های نر بیمار فلوکستین باعث افزایش معنی‌دار TLC شد ($P=0/024$). فلوکستین باعث اختلاف معنی‌دار در TLC بین رت‌های نر و ماده سالم شد ($P=0/001$) و تفاوت معنی‌داری در مدت زمان حضور در ناحیه روشن بین دو جنس مشاهده نشد (تصویر شماره ۳).

اثر داروی فلوکستین بر Number of Crossing

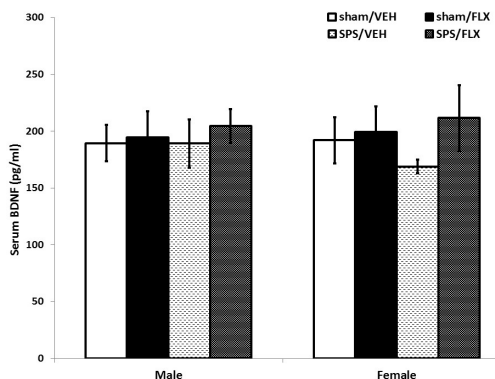
در رت‌های نر و ماده بیمار نسبت به گروه سالم بر تعداد Crossing (تعداد عبور بین دو ناحیه روشن و تاریک) کاهش معنی‌دار داشته است ($P=0/001$ و $P=0/007$). در گروه‌های بیمار فلوکستین باعث افزایش معنی‌دار تعداد Crossing شد ($P=0/001$ و $P=0/004$). در رت‌های ماده سالم فلوکستین باعث افزایش معنی‌دار تعداد Crossing شد ($P=0/002$). تفاوت معنی‌داری در تعداد Crossing بین دو جنس مشاهده نشد (تصویر شماره ۵).

اثر داروی فلوکستین بر Number of Rearing

در رت‌های نر و ماده بیمار نسبت به گروه سالم تعداد rearing کاهش معنی‌دار داشته است ($P=0/005$ و $P=0/001$). در گروه‌های بیمار فلوکستین باعث افزایش معنی‌دار تعداد rearing شد ($P=0/004$ و $P=0/003$). در رت‌های نر و ماده سالم نیز فلوکستین باعث افزایش معنی‌دار تعداد rearing شد ($P=0/02$ و $P=0/04$). تفاوت معنی‌داری در تعداد rearing بین دو جنس مشاهده نشد (تصویر شماره ۴).

اثر داروی فلوکستین بر میزان BDNF سرم در رت های
نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل

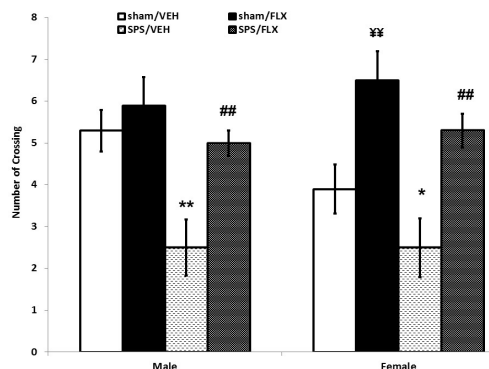
در رت های نر و ماده بیمار نسبت به گروه سالم میزان
BDNF سرم تغییر معنی دار نداشته است. مقایسه بین دو
جنس نیز نشان داد که کاهش میزان کورتیکوسترون
سرم تفاوت معنی داری ندارد (تصویر شماره ۷).



تصویر شماره ۷: اثر داروی فلوکستین بر میزان BDNF سرم در
رت های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل

بحث

در این مطالعه تاثیر داروی فلوکستین به میزان
۱۰mg/kg بر خاموشی ترس و رفتارهای شبه اضطراب و
میزان کورتیکوسترون و BDNF پلاسما در رت های نر
و ماده مواجه شده با SPS به عنوان یک مدل حیوانی از
PTSD بررسی شد. در این مطالعه، رت های مواجه شده با
استرس، کاهش توانایی در فراموشی خاطرات آزاردهنده
(در تست خاموشی ترس) و افزایش رفتارهای شبه
اضطراب (در تست Light/Dark Box) و افزایش میزان
کورتیکوسترون پلاسما را نشان دادند و داروی فلوکستین
باعث بهبود آسیب های ناشی از استرس شد. اختلاف
معنی داری در پاسخ گویی دو جنس به درمان مشاهده نشد.
اختلالات روانپریشی با اختلال در تنظیم هورمون
استرس همراه بود و در مردان و زنان شیوع متفاوتی
دارد. علاوه بر این، امروزه شواهد پیش بالینی و بالینی
نشان می دهد که جنسیت می تواند منجر به تفاوت در

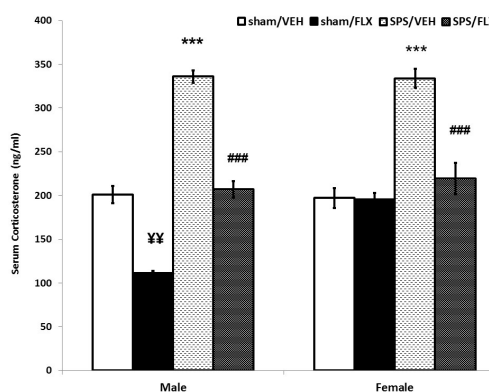


تصویر شماره ۵: اثر داروی فلوکستین بر Number of Crossing در
رت های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل،

$P=0/002$ ¥, $P=0/001$ و $P=0/004$ ##, $P=0/001$ و $P=0/007$ **

اثر داروی فلوکستین بر میزان کورتیکوسترون سرم در
رت های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل

در رت های نر و ماده بیمار نسبت به گروه سالم بر
میزان کورتیکوسترون سرم افزایش معنی دار داشته است
($P=0/0001$). در هر دو گروه رت های بیمار فلوکستین
باعث کاهش معنی دار میزان کورتیکوسترون سرم شد
($P=0/0008$ و $P=0/0001$). در رت های نر سالم نیز
فلوکستین تاثیر معنی دار بر کاهش میزان کورتیکوسترون
سرم داشت ($P=0/001$). تفاوت معنی داری بر میزان
کورتیکوسترون سرم بین دو جنس مشاهده نشد (تصویر
شماره ۶).



تصویر شماره ۶: اثر داروی فلوکستین بر میزان کورتیکوسترون سرم
در رت های نر و ماده مبتلا به PTSD و کنترل،

$P=0/001$ ¥¥, $P=0/0008$ و $P=0/0001$ ###, $P=0/0001$ ***

پاسخ به محرک‌های استرس‌زا و خلق و خو شود (۱۶) مطالعات نشان داده است که پس از یک تروما، شیوع و شدت PTSD در زنان بیش‌تر از مردان می‌باشد و نوسانات ترشح این هورمون‌ها با تغییر نوروشیمی مغز در کنترل آشفتگی‌های رفتاری و خلقی موثر می‌باشند (۱۷). مطالعات مختلف اثر افتلاف جنس در پاسخ‌گویی به داروهای ضد افسردگی در درمان بسیاری از بیماری‌های روان‌پریشی را گزارش نموده‌اند. در مطالعه Sakhaie و همکاران، درمان رت‌های استرس دیده با فلوکستین، اثرات وابسته به جنس در تست حافظه، میزان BDNF هیپوکمپ و اجتناب غیرفعال مشاهده شده است، اما تست مطالعه آستانه درد اثرات وابسته به جنس نداشته است (۱۸). در مطالعه حاضر افتلاف معنی‌داری در پاسخ‌گویی گروه‌های نر و ماده بیمار درمان شده با فلوکستین مشاهده نشد.

هم راستا با مطالعه Keller در این مطالعه مشاهده گردید که SPS منجر به کاهش %Extinction به‌عنوان معیاری برای توانایی فراموشی خاطرات آزاردهنده می‌شود (۱۹). استرس‌های با منشأ روانی یا جسمی از طریق آسیب پایدار در مدارهای نورویولوژیک مرتبط با یادگیری و حافظه منجر به ناتوانی در فراموشی خاطرات مرتبط با ترس می‌شوند (۲۰). هم‌چنین مشاهده گردید که داروی فلوکستین، باعث کاهش آسیب وارد شده به خاموشی ترس در رت‌های نر و ماده SPS می‌گردد. خاموشی شکلی از یادگیری است که به‌وسیله تکرار یک موقعیت بدون شوک طراحی می‌شود. یادگیری خاموشی سبب حذف یا برگشت حافظه ترس اولیه نمی‌شود، بلکه منجر به تشکیل یک حافظه مهارتی جدید می‌گردد. پزشکان نیز در درمان PTSD از این روش استفاده می‌کنند (Exposure therapy).

در تایید مطالعه حاضر، اثر داروهای SSRIs مانند فلوکستین بر تسهیل فراموشی خاطرات ترس اثبات شده است هم‌چنین مشخص شده است که این گروه دارویی از نظر عملکردی با سیستم اندوکائینوئیدی تعامل داشته

و اثر آن بر خاموشی ترس از طریق سیستم اندوکائینوئیدی اعمال می‌گردد (۲۱). در تضاد با مطالعه حاضر، در مطالعه‌ای گزارش داده شد که زنان بهتر از مردان به داروهای SSRIs پاسخ می‌دهند و احتمالاً تعاملی بین سیستم‌های استروژنی و سروتونرژیک وجود دارد (۲۲). در مقایسه پاسخ‌گویی دو جنس به درمان، برخی مطالعات انسانی نشان داده‌اند که مردان پاسخ بهتری به داروهای ضد افسردگی سه حلقه‌ای می‌دهند (۲۳). در مورد تأثیر هورمون‌های تخمدانی بر خاموشی ترس نتایج متناقضی عنوان شده است، برخی گزارش کرده‌اند که این هورمون‌ها باعث تقویت خاموشی می‌شوند و برخی دیگر بر این اعتقادند که این هورمون‌ها خاموشی ترس را تضعیف می‌کنند و یا هیچ اثری بر آن ندارند (۲۴، ۲۵). احتمالاً جنس مونث در فازهایی که سطح استروژن خون بالاست از نظر خاموشی ترس شبیه جنس مذکر می‌باشد و در فازهای کم استروژنی خاموشی در جنس مونث کم‌تر می‌باشد (۲۶).

در مطالعه حاضر سیکل جنسی در جنس مؤنث در نظر گرفته نشد و در مطالعه‌ای مشابه نشان داده شد که بدون در نظر گرفتن فازهای سیکل جنسی در جنس مؤنث، افتلافی در خاموشی ترس بین جنس مؤنث و مذکر مشاهده نمی‌گردد (۲۷).

براساس مطالعات انجام شده، قرار گرفتن در معرض استرس منجر به کاهش توانایی برای خاموشی ترس شده، باعث افزایش بیان GR در هیپوکمپ و کورتکس پره فرونتال می‌گردد. تغییرات القا شده توسط SPS بیان GR می‌تواند منجر به آسیب در حفظ خاموشی شود. افزایش سنتز کورتیکوسترون یادگیری ترس و تثبیت حافظه ترس را تقویت می‌کند. SPS بیان رسیپتورهای GR و سنتز کورتیکوسترون را در طی تشکیل حافظه ترس افزایش می‌دهد، بنابراین موجب تقویت حافظه ترس می‌شود که در نهایت کاهش خاموشی در حیوانات تحت استرس را سبب می‌گردد (۱۹). پاسخ‌های فیزیولوژیک اساسی به محرک‌های استرس‌زا به‌وسیله سیستم

سمپاتوآدرنال و HPA وساطت می‌شود. فعالیت HPA همراه با افزایش مشخص در سطح کورتیکوسترون پلازما است. در تایید مطالعه حاضر، افزایش کورتیکوسترون در بیماران PTSD و مدل حیوانی SPS مشاهده شده است که موجب تغییرات رفتاری با علائم شبه اضطراب می‌گردد (۲۸، ۱۲). مطالعه موجود نشان داد که فلوکستین باعث کاهش میزان کورتیکوسترون پلازما می‌شود. مشخص شده است که فعالیت محور HPA به وسیله برخی از نواحی مغزی تعدیل می‌گردد. مطالعات آناتومیک و عملکردی از نقش کنترل کننده سروتونین بر فعالیت القا شده محور HPA بر اثر استرس حمایت می‌کند. با توجه به این که فعالیت سیستم لوکوس سروتوس - نور آدرنالین به وسیله سروتونین آزاد شده از هسته رافه متوقف می‌شود، نقش سیستم سروتونینی در کنترل سیستم‌های مرتبط با استرس و عملکرد محور HPA مورد توجه است (۲۹). در این مطالعه هر دو جنس پس از مواجهه با استرس افزایش میزان کورتیکوسترون پلازما را نشان دادند و داروی فلوکستین موجب بهبود عملکرد محور HPA شد و تفاوت معنی‌داری بین دو جنس مشاهده نشد. هم‌سو با مطالعه حاضر، نشان داده شد که بدون در نظر گرفتن سیکل استروس، بعد از استرس سطح کورتیکوسترون سرم در هر دو جنس افزایش می‌یابد و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بین دو جنس مشاهده نشد؛ اما با در نظر گرفتن سیکل استروس، حیوانات ماده در فاز پرواستروس سطح سرمی کورتیکوسترون بالاتری را نسبت به نرها در صورت مواجهه با استرس نشان می‌دهند. هورمون‌های تخمدانی می‌توانند مستقیماً اعمال گلوکوکورتیکوئیدها را بلوک کنند (۳۰). کورتیکوسترون به دلیل ایجاد اثرات نوروتوکسیک بر سطوح مغزی درگیر در اضطراب و دپرسیون مانند نواحی هیپوکمپ و آمیگدال می‌تواند منجر به افزایش رفتارهای شبه اضطراب شبیه آشفتگی‌های رفتاری و پاتوفیزیولوژیکی در بیماران PTSD شود (۳۱). برخی مطالعات نیز احتمال داده‌اند که استرس‌های

اکسیداتیو در ایجاد رفتارهای شبه اضطراب دخیل می‌باشند. مشخص شده است که تولید رادیکال‌های آزاد (ROS) به روش‌های فارماکولوژیک و غیرفارماکولوژیک باعث ایجاد رفتارهای شبه اضطراب در رت‌ها می‌شود. استرس باعث تجمع این ترکیبات در نواحی هیپوکمپ و کورتکس پرفرونتال می‌شود (۳۲). در تست L/D box فلوکستین قادر به کاهش اضطراب در رت‌های نر و ماده SPS شده و بین دو جنس اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

با توجه به نقش مهم BDNF در پاسخ استرس و رفتارهای مرتبط با آن، مطالعات فراوانی بر روی تغییر میزان آن در بیماری‌های مرتبط با استرس انجام شده است. برخی مطالعات نشان داده‌اند که میزان BDNF در افراد مبتلا به PTSD نسبت به افراد سالم به طور معناداری کم‌تر است، در حالی که مطالعات دیگری بیان کرده‌اند که بین میزان BDNF سرم بیماران PTSD و کنترل‌های سالم، تفاوتی وجود ندارد. این نتایج متناقض می‌تواند به دلایل مختلفی از جمله، درمان هم‌زمان فرد با داروهای مربوط به بیماری‌های روان‌پریشی، و یا فاصله زمانی پس از وقوع تروما، همچنین روش‌های استفاده شده مختلف در مطالعات و یا جمع‌آوری نمونه‌ها از جمعیت‌های غیر مشابه باشد (۳۳). با وجود این که غلظت BDNF در بافت مغزی بالاتر است، اما در گردش خون نیز قابل اندازه‌گیری است و از منابع مختلفی مانند پلاکت‌ها و مغز وارد جریان خون می‌شود. BDNF می‌تواند از سد بین خون و مغز عبور کند. هورمون‌هایی مانند استرادیول، تستوسترون و گلوکوکورتیکوئیدها نقش مهمی در بیان و عملکرد BDNF دارند. برخی اثرات مزمن گلوکوکورتیکوئیدها ناشی از کاهش میزان BDNF می‌باشد (۳۴). مطالعات قبلی نشان داده است که ارتباط معنی‌داری بین سطوح سرمی و مغزی BDNF وجود دارد و BDNF محیطی ممکن است به عنوان یک نمایشگر غلظت‌های مغزی این پروتئین مطرح شود، اما در مطالعه حاضر، این ارتباط مشاهده نشد (۳۵). مشخص شده است که حذف ژن BDNF خاص هیپوکامپ

ضد افسردگی، هنوز نتیجه قطعی در این زمینه به دست نیامده است. داده‌های جدید که به اختلاف جنس در پاسخ‌گویی به درمان اشاره می‌کنند، اختلاف در متابولیسم، جذب، توزیع و حذف داروهای ضد افسردگی از گردش خون در دو جنس را مطرح می‌نمایند که وابسته به سیکل جنسی زنان و سطح ترشح هورمون‌های جنسی می‌باشد (۳۹).

مطالعه حاضر نشان داد که مواجهه با استرس منجر به کاهش فراموشی خاطرات آزار دهنده و افزایش رفتارهای شبه اضطراب و افزایش کورتیکوسترون در دو جنس می‌گردد، استفاده از داروی فلوکستین به مدت ۴ هفته قادر به بهبود آسیب‌های ناشی از استرس بود. اختلاف معناداری در پاسخ‌گویی به درمان در بهبود آسیب‌های ناشی از استرس در دو جنس مشاهده نشد.

سپاسگزاری

بدین وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی مازندران که امکانات و بودجه این پروژه‌های تحقیقاتی را فراهم نمودند اعلام می‌داریم.

می‌تواند به‌طور قابل توجهی یادگیری را مختل کند و خاموشی ترس شرطی را در موش کاهش دهد. سطح BDNF ممکن است بر اثر بخشی خاموشی ترس اثر بگذارد. در موش‌هایی که قادر به فراموشی خاطره ترس نیستند، سطح BDNF در ورودی‌های هیپوکامپ به قشر پیشانی میانی میانی اینفرالمیک (IL mPFC) کم است، در حالی که افزایش BDNF در این مسیر به شدت فراموشی خاطره ترس جلوگیری می‌کند (۳۶). در انسان‌ها BDNF پلاسما در طی سیکل قاعدگی نوسان داشته و زنانی که سیکل‌های تخمک‌گذاری نرمالی را تجربه می‌کنند نسبت به زنان آمنوره یا پس از منوپوز BDNF پلاسمایی بیش‌تری دارند (۳۷).

تفاوت‌های جنسی در تمام سطوح پاسخ استرس از درک اولیه استرس گرفته تا پاسخ‌های رفتاری، شناختی و عاطفی و پیامدهای طولانی‌مدت بیماری، به وجود می‌آیند. این تفاوت‌های اساسی شامل تعامل بین عوامل تعیین‌کننده کروموزومی و غدد جنسی، تعدیل اپی‌ژنتیکی و تأثیرات بیرونی عوامل اجتماعی-فرهنگی، اقتصادی و محیطی است (۳۸). با وجود مطالعات متعدد انسانی بر روی اختلاف جنس در اثر بخشی داروهای

References

1. Bayramlou R, Mohammadzadeh M, Balderlou FB. A comparative survey of the effects of fluoxetine and imipramine on depression-like behavior and serum levels of corticosterone and glucose in male rats under immobilization stress. Qom University of Medical Sciences Journal 2018; 12(2): 1-10.
2. Yoon S, Kim YK. Neuroendocrinological treatment targets for posttraumatic stress disorder. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 2019; 90: 212-222.
3. Gunduz-Cinar O, Flynn S, Brockway E, Kaugars K, Baldi R, Ramikie TS, et al. Fluoxetine facilitates fear extinction through amygdala endocannabinoids. Neuropsychopharmacology 2016; 41(6): 1598-1609.
4. Hoskins M, Pearce J, Bethell A, Dankova L, Barbui C, Tol WA, et al. Pharmacotherapy for post-traumatic stress disorder: Systematic review and meta-analysis. Br J Psychiatry 2015; 206(2): 93-100.
5. Maeng LY, Milad MR. Sex differences in anxiety disorders: interactions between fear, stress, and gonadal hormones. Horm Behav 2015; 76: 106-117.
6. Angelucci F, Ricci V, Gelfo F, Martinotti G, Brunetti M, Sepede G, et al. BDNF serum levels in subjects developing or not post-

- traumatic stress disorder after trauma exposure. *Brain Cogn* 2014; 84(1): 118-122.
7. Daskalakis NP, McGill MA, Lehrner A, Yehuda R. Endocrine aspects of PTSD: Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis and beyond. *Comprehensive Guide to Post-Traumatic Stress Disorders* 2016: 245-260.
 8. Lee B, Sur B, Cho S-G, Yeom M, Shim I, Lee H, et al. Ginsenoside Rb1 rescues anxiety-like responses in a rat model of post-traumatic stress disorder. *J Nat Med* 2016; 70(2): 133-144.
 9. Nahvi RJ, Nwokafor C, Sabban E. Single Prolonged Stress Provokes Depressive-like Behavior, Anxiety and Impaired Social Interaction in Females with Potential for Early Intervention with Neuropeptide Y. *The FASEB Journal* 2020; 34(S1): 1-1.
 10. Spoletini I, Vitale C, Malorni W, Rosano GM. Sex differences in drug effects: interaction with sex hormones in adult life. *Handb Exp Pharmacol* 2012; (214): 91-105.
 11. Bigos KL, Pollock BG, Stankevich BA, Bies RR. Sex differences in the pharmacokinetics and pharmacodynamics of antidepressants: an updated review. *Gend Med* 2009; 6(4): 522-543.
 12. Patki G, Li L, Allam F, Solanki N, Dao AT, Alkadhi K, et al. Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Physiol Behav* 2014; 130: 47-53.
 13. Schmidt U, Herrmann L, Hagl K, Novak B, Huber C, Holsboer F, et al. Therapeutic action of fluoxetine is associated with a reduction in prefrontal cortical miR-1971 expression levels in a mouse model of posttraumatic stress disorder. *Front Psychiatry* 2013; 4: 66.
 14. Belovicova K, Bogi E, Csatoslova K, Dubovicky M. Animal tests for anxiety-like and depression-like behavior in rats. *Interdiscip Toxicol* 2017; 10(1): 40-43.
 15. Shafia S, Vafaei AA, Samaei SA, Bandegi AR, Rafiei A, Valadan R, et al. Effects of moderate treadmill exercise and fluoxetine on behavioural and cognitive deficits, hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction and alternations in hippocampal BDNF and mRNA expression of apoptosis-related proteins in a rat model of post-traumatic stress disorder. *Neurobiol Learn Mem* 2017; 139: 165-178.
 16. Hodes GE, Bangasser D, Sotiropoulos I, Kokras N, Dalla C. Sex Differences in Stress Response: Classical Mechanisms and Beyond. *Curr Neuropharmacol* 2024; 22(3): 475-494.
 17. Pestana-Oliveira N, Kalil B, Leite CM, Carolino ROG, Debarba LK, Elias LLK, et al. Effects of estrogen therapy on the serotonergic system in an animal model of perimenopause induced by 4-vinylcyclohexen diepoxide (VCD). *Eneuro* 2018; 5(1).
 18. Sakhaie N, Sadegzadeh F, Dehghany R, Adak O, Hakimeh S. Sex-dependent effects of chronic fluoxetine exposure during adolescence on passive avoidance memory, nociception, and prefrontal brain-derived neurotrophic factor mRNA expression. *Brain Res Bull* 2020; 162: 231-236.
 19. Keller SM, Schreiber WB, Stanfield BR, Knox D. Inhibiting corticosterone synthesis during fear memory formation exacerbates cued fear extinction memory deficits within the single prolonged stress model. *Behav Brain Res* 2015; 287: 182-186.
 20. Kurilova E, Sidorova M, Tuchina O. Single Prolonged Stress Decreases the Level of Adult Hippocampal Neurogenesis in C57BL/6, but Not in House Mice. *Curr Issues Mol Biol* 2023; 45(1): 524-537.

21. Gunduz-Cinar O, Flynn S, Brockway E, Kaugars K, Baldi R, Ramikie TS, et al. Fluoxetine Facilitates Fear Extinction Through Amygdala Endocannabinoids. *Neuropsychopharmacology* 2016; 41(6): 1598-1609.
22. Dalla C, Pitychoutis PM, Kokras N, Papadopoulou-Daifoti Z. Sex differences in animal models of depression and antidepressant response. *Basic Clin Pharmacology & Toxicology* 2010; 106(3): 226-233.
23. LeGates TA, Kvarta MD, Thompson SM. Sex differences in antidepressant efficacy. *Neuropsychopharmacology* 2019; 44(1): 140-154.
24. Rey CD, Lipps J, Shansky RM. Dopamine d1 receptor activation rescues extinction impairments in low-estrogen female rats and induces cortical layer-specific activation changes in prefrontal-amygdala circuits. *Neuropsychopharmacology* 2014; 39(5): 1282-1289.
25. Shansky RM. Sex differences in PTSD resilience and susceptibility: Challenges for animal models of fear learning. *Neurobiol Stress* 2015; 1: 60-65.
26. Glover EM, Jovanovic T, Norrholm SD. Estrogen and extinction of fear memories: implications for posttraumatic stress disorder treatment. *Biol Psychiatry* 2015; 78(3): 178-185.
27. Lebron-Milad K, Milad MR. Sex differences, gonadal hormones and the fear extinction network: implications for anxiety disorders. *Biol Mood Anxiety Disorders* 2012; 2(1): 3.
28. Lee B, Sur B, Cho S-G, Yeom M, Shim I, Lee H, et al. Ginsenoside Rb1 rescues anxiety-like responses in a rat model of post-traumatic stress disorder. *J Nat Med* 2016; 70(2): 133-144.
29. Hendriksen H, Olivier B, Oosting RS. From non-pharmacological treatments for post-traumatic stress disorder to novel therapeutic targets. *Eur J Pharm* 2014; 732: 139-158.
30. Bangasser DA. Sex differences in stress-related receptors: "micro" differences with "macro" implications for mood and anxiety disorders. *Biol Sex Differ* 2013; 4(1): 2.
31. Wang W, Liu Y, Zheng H, Wang HN, Jin X, Chen YC, et al. A modified single-prolonged stress model for post-traumatic stress disorder. *Neurosci Lett* 2008; 441(2): 237-241.
32. Miller MW, Sadeh N. Traumatic stress, oxidative stress and post-traumatic stress disorder: neurodegeneration and the accelerated-aging hypothesis. *Mol Psychiatry* 2014; 19(11): 1156-1162.
33. Zhang L, Li XX, Hu XZ. Post-traumatic stress disorder risk and brain-derived neurotrophic factor Val66Met. *World J Psychiatry* 2016; 6(1): 1-6.
34. Leal G, Bramham C, Duarte C. BDNF and hippocampal synaptic plasticity. *Vitam Horm* 2017; 104: 153-195.
35. Maass A, Düzel S, Brigadski T, Goerke M, Becke A, Sobieray U, et al. Relationships of peripheral IGF-1, VEGF and BDNF levels to exercise-related changes in memory, hippocampal perfusion and volumes in older adults. *Neuroimage* 2016; 131: 142-154.
36. Rahimi-Danesh M, Samizadeh M-A, Sajadi A-E, Rezvankhah T, Vaseghi S. Sex difference affects fear extinction but not lithium efficacy in rats following fear-conditioning with respect to the hippocampal level of BDNF. *Pharmacol Biochem Behav* 2024; 234: 173675.
37. Venezia AC, Guth LM, Sapp RM, Spangenburg EE, Roth SM. Sex-dependent and independent effects of long-term voluntary wheel running on Bdnf mRNA and protein expression. *Physiol Behav* 2016; 156: 8-15.

38. Helman TJ, Headrick JP, Stapelberg NJ, Braidy N. The sex-dependent response to psychosocial stress and ischaemic heart disease. *Front Cardiovasc Med* 2023; 10: 1072042.
39. Sramek JJ, Murphy MF, Cutler NR. Sex differences in the psychopharmacological treatment of depression. *Dialogues Clin Neurosci* 2016; 18(4): 447-457.