

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA KRONİK STRESİN
EMPATİYE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aysu ŞEN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ahmet KOYU

İZMİR,
MART 2020

T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

SIÇANLARDA KRONİK STRESİN
EMPATİYE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

UZMANLIK TEZİ

Dr. Aysu ŞEN

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Ahmet KOYU

Bu tez İzmir Kâtip Çelebi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2018-TDU-TIPF-0047 numaralı proje ile desteklenmiştir.

İZMİR,
MART 2020

TEZ ONAY SAYFASI

**T.C.
İZMİR KÂTİP ÇELEBİ ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

TEZ ADI

**SIÇANLARDA KRONİK STRESİN EMPATİYE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

TEZİ HAZIRLAYAN

Dr. Aysu ŞEN

Fizyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Programı çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma tarafımızca incelenerek her yönü ile "Tıpta Uzmanlık" tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Tez Danışmanı : Prof.Dr. Ahmet KOYU – İzmir Katip Çelebi Üni.

Üye : Prof.Dr. Ahmet KOYU – İzmir Katip Çelebi Üni.

Üye : Prof.Dr. Eser ÖZ OYAR – İzmir Katip Çelebi Üni.

Üye : Prof.Dr. Nazan UYSAL HARZADIN – Dokuz Eylül Üni.

Prof.Dr.Barış Önder PAMUK
Tıp Fakültesi Dekanı

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım ve tez döneminde de desteklerini esirgemeyen danışmanım Sayın Prof. Dr. Ahmet KOYU'ya ,

Eğitim sürecimde her zaman yol gösteren, bilgi birikimini, hoşgörü ve anlayışını esirgemeyen Anabilim Dalı başkanımız Sayın Prof. Dr. Eser ÖZ OYAR'a ,

Tez sürecimde bilgi ve deneyimlerini aktaran, her zaman öğreten ve destekleyen Sayın Prof.Dr. Nazan UYSAL HARZADIN'a ,

Tez çalışmamın tamamlanmasında katkılarını ve desteklerini esirgemeyen Sayın Dr.Öğr.Gör. Servet KIZILDAĞ ve Sayın Dr.Öğr.Üyesi Fatma ŞİMŞEK 'e ,

Eğitimim boyunca birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, tez dönemimdeki katkılarıyla Dr.Öğr.Üyesi Ali Yücel KARA ve Arş.Gör. Gülçin DURDAĞI başta olmak üzere tüm çalışma arkadaşlarıma,

Tıbbiye yolculuğuna birlikte başladığımız ve her zaman destekçim olan Uzm.Dr. Işıl Ezgi URGANCI TATLI, Dr. Ceren CANTÜRK, Dr. Roza UÇAR ve Dr. Elif ERTÜRK'e ,

Attığım her adımda yanımda olan, bana her zaman inanan canım anneme ve babama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

MART,2020

Dr.Aysu ŞEN

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kabul ve Onay.....	iii
Teşekkür	iv
İçindekiler	v
Simgeler ve Kısaltmalar	viii
Şekiller Dizini	xi
Tablolar Dizini	xii
Grafikler Dizini.....	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1 Empatinin Tanımı ve Tarihsel Gelişimi.....	3
2.2 Empatinin Önemi.....	4
2.3 Empati Türleri ve Kemirgenlerde Empati.....	5
2.4 Empati ile İlişkili Beyin Bölgeleri.....	8
2.5 Empati ile İlişkili Nörokimyasal Yolaklar.....	9
2.5.1 Oksitosin ve Vazopressin.....	9
2.5.2 Opioidler.....	13
2.5.3 Dopamin ve Serotonin.....	15
2.6 Stres Yanıtı.....	15
2.7 Stresör Tipleri ve Stresin Sınıflandırılması.....	16
2.8 Hipotalamo-Hipofizo-Adrenal (HPA) Sistem.....	17
2.9 Stres Mediatorleri.....	19
2.9.1 Monoaminler.....	19
2.9.2 Nöropeptidler.....	19
2.9.3 Kortikosteroidler.....	21
2.10 Stres-Empati İlişkisi ve Nörokimyasal Yolaklar.....	22

2.10.1 Stres ile Oksitosin ve Vazopressin.....	22
2.11 Stres ve Empati.....	24
2.12 Stres ile İlişkili Histolojik Değişiklikler.....	26
2.12.1 Beyinde Stres ile İlişkili Histolojik Değişiklikler.....	26
2.12.2 Adrenal Bezlerde Stres ile İlişkili Histolojik Değişiklikler.....	30
2.12.3 Timusta Stres ile İlişkili Histolojik Değişiklikler.....	32
3. GEREÇ VE YÖNTEM	34
3.1 Deney Planı.....	34
3.1.1 Kronik Stres Uygulaması ve Davranış Testleri.....	35
3.1.2 Sakrifikasyon ve Doku Ayrımı.....	40
3.1.3 Örneklerin Hazırlanması.....	40
3.1.4 Biyokimyasal Analizler.....	40
3.1.5 Histolojik İncelemeler.....	46
3.1.6 Etik kurul Değerlendirmesi.....	50
3.1.7 İstatistiksel Değerlendirme.....	50
4. BULGULAR.....	51
4.1 Davranış Testlerinin Bulguları.....	51
4.1.1 Empati Testi Bulguları.....	51
4.1.2 Açık Alan Testi Bulguları.....	53
4.1.3 Yükseltilmiş Artı Labirent Testi Bulguları.....	55
4.1.4 Zorunlu Yüzme Testi Bulguları.....	59
4.2 Biyokimyasal Analizlerin Bulguları.....	62
4.2.1 Serum Kortikosteron Düzeyi Bulguları.....	62
4.2.2 Beyin Dokusu Oksitosin ve Vazopressin Düzeyi Bulguları.....	63
4.3 Histolojik İncelemelerin Bulguları.....	65
4.3.1 Hematoksilen-Eozin Boyama Bulguları.....	67
4.3.2 TUNEL Boyama Bulguları.....	69

4.4.Korelasyon Analizlerinin Bulguları.....	70
5. TARTIŞMA.....	73
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	82
ÖZET.....	83
SUMMARY.....	85
KAYNAKLAR.....	87
EK 1-Etik kurul Onayı.....	109



SİMGELER VE KISALTMALAR

ACC: Anterior singulat korteks

ACTH: Adrenokortikotropik Hormon

ADH: Antidiüretik Hormon

APA: Amerikan Psikoloji Derneği

ASD: Otizm Spektrum Hastalıkları

AVP: Arjinin Vazopressin

AVPR: Arjinin Vazopressin Reseptörü

BOS: Beyin omurilik sıvısı

BLA: Bazolateral amigdala

BNST: Stria terminalisin bed nükleusu

°C: Santigrad derece

Ca²⁺ : Kalsiyum iyonu

CAT: Katalaz

cm/sn: Santimetre / saniye

CORT: Kortikosteron

COX-2: Siklooksijenaz-2

CPI: Hücre proliferasyon indeksi

CRH: Kortikotropin Serbestleştirici Hormon

CRHR: Kortikotropin Serbestleştirici Hormon Reseptörü

Cu⁺²: Bakır

Cu, Zn-SOD: Bakır-çinko Süperoksid Dismutaz

DA: Dopamin

dmPFC: dorsomedial prefrontal korteks

ETZ: Elektron transport zinciri

Fe⁺²: Demir

fMRI: Fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

GAS: Genel adaptasyon sendromu

GK: Glukokortikoid

GKR: Glukokortikoid Reseptörü

GLUT: Glukoz taşıyıcısı

GPx: Glutasyon peroksidaz

GRE: Glukokortikoid duyarlı elementler

GSH: Glutasyon

GSR: Glutasyon redüktaz

GSSG: Okside glutasyon

H₂O₂: Hidrojen peroksid

HPA: Hipotalamo-hipofizo-adrenal

IFG: İnfirior frontal gyrus

i-NOS: indüklenabilir nitrik oksit sentaz

IPL: İnfirior parietal lob

K⁺: Potasyum iyonu

LPO: Lipid peroksidasyonu

LTP: Uzun dönem potansiyalizasyonu

MAO: Monoamin Oksidaz

mg/dl: Miligram / desilitre

MK: Mineralokortikoid

MKR: Mineralokortikoid Reseptörü

Mn-SOD: Manganez süperoksid dismutaz

mPFC: Medial prefrontal korteks

MR: Mineralokortikoid Reseptörü

mRNA: Mesajcı Ribonükleik Asit

NADPH: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NFKB: Nüklear faktör kappa B

ng/ml: Nanogram / mililitre

NMDA: N-Metil D-Aspartat

O⁻²: Süperoksid radikali

OH⁻ : Hidroksil radikali

OXT: Oksitosin

OXTR: Oksitosin Reseptörü

PAM: Algılama-eylem modeli

PBS: Fosfat Tamponlu Tuz Çözeltisi

pg/ml: pikogram / mililitre

POMC: Pro-opiomelanokortin

PTSD: Posttravmatik Stres Bozukluğu

PVN: Paraventriküler Nükleus

SAS: Sempato-Adrenal Sistem

SON: Supraoptik Nükleus

SSS: Santral Sinir Sistemi

STS: Superior temporal sulcus

TACE: TNF- α konvertaz enzimi

TNF- α : Tümör nekroz faktör - α

TP: Temporal kutup (TP)

TPJ: Temporoparietal bileşke

UCN: Ürokortin

vmPFC: Ventromedial prefrontal korteks

YAL: Yükseltilmiş artı labirent testi

μ g: Mikrogram

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Farklı hayvan türlerinde gözlemlenen empati ilişkili davranışlar

Şekil 2: Emosyonel empati ve kognitif empati ile ilişkili beyin bölgeleri

Şekil 3: Oksitosin ve Vazopressin salınımı

Şekil 4: Stres yanıtı ve geribildirim sistemleri

Şekil 5: Empatik bilgi işleme sistemleri

Şekil 6: Nöronal redüksiyon-oksidasyon reaksiyonlarının oluşumu

Şekil 7: Empati test düzeneği

Şekil 8: Kronik kısıtlama stresi uygulaması

Şekil 9: Açık alan testi düzeneği

Şekil 10: Yükseltilmiş artı labirent (YAL) testi düzeneği

Şekil 11: Zorunlu yüzme testi düzeneği

Şekil 12: Kronik stres ve kontrol gruplarının beyin korteks dokusu H&E boyaması

Şekil 13: Kronik stres ve kontrol gruplarının adrenal bez H&E boyaması

Şekil 14: Kontrol grubunun timus H&E boyaması

Şekil 15: Kronik stres grubunun timus H&E boyaması

Şekil 16: Kontrol grubunun adrenal bez TUNEL boyaması

Şekil 17: Kronik stres grubunun adrenal bez TUNEL boyaması

Şekil 18: Kontrol ve kronik stres gruplarının timus TUNEL boyaması

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: Hematoksilen-eozin boyama protokolü

Tablo 2:TUNEL Boyama Protokolü

Tablo 3: 12 gün süren empati öğrenme sürecinde tüm sıçanların kapıyı açma süreleri (sn)

Tablo 4: Açık alan testi bulguları

Tablo 5: Yükseltilmiş artı labirent testi bulguları

Tablo 6: Zorunlu yüzme testi bulguları

Tablo 7: Biyokimyasal analiz bulguları

Tablo 8: Histopatolojik inceleme bulguları

GRAFİKLER DİZİNİ

Grafik 1A: 12 günlük empati öğrenme sürecinde tüm sıçanların günlere göre ortalama kapıyı açma sürelerinin karşılaştırılması

Grafik 1B: Kronik stres prosedürü sonrasında gruplar arası kapı açma sürelerinin karşılaştırılması

Grafik 2A: Açık alan testinde katedilen toplam mesafenin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 2B: Açık alan testinde orta alanda geçiren sürelerin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 2C: Açık alan testinin kenar zonlarında geçirilen sürelerin karşılaştırılması

Grafik 2D: Açık alan testinde grupların ortalama hızlarının karşılaştırılması

Grafik 3A: Yükseltilmiş artı labirent testinde (YAL) katedilen toplam mesafelerin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 3B: Yükseltilmiş artı labirent testinde gruplar arası ortalama hız değerlerinin karşılaştırılması

Grafik 3C: Yükseltilmiş artı labirent testinin açık kollarında geçirilen sürelerin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 3D: Yükseltilmiş artı labirent testinde açık kol frekanslarının gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 3E: Yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kollarda geçirilen sürelerin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 3F: Yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kol frekanslarının gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 3G: Yükseltilmiş artı labirent testinin ortak alanında geçirilen sürelerin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 3H: Yükseltilmiş artı labirent testinde ortak alan frekansının gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 4A: Zorunlu yüzme testinde toplam katedilen mesafenin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 4B: Zorunlu yüzme testinde hareketli geçirilen sürelerin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 4C: Zorunlu yüzme testinde hareketsiz geçirilen sürelerin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 4D: Zorunlu yüzme testinde ortalama hızların gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 5A: Serum kortikosteron düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 5B: Prefrontal korteks oksitosin düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 5C: Amigdala oksitosin düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 5D: Prefrontal korteks vazopressin düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 5E: Amigdala vazopressin düzeylerinin gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 6A: Adrenal bez rölatif ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 6B: Timus rölatif ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 6C: Adrenal bez apoptotik hücre oranlarının gruplar arasında karşılaştırılması

Grafik 7: Açık alan testinin kenar zonlarında geçirilen süreler ile timus rölatif ağırlıkları arası korelasyon grafiği

Grafik 8: Prefrontal korteks oksitosin düzeyleri ile prefrontal korteks vazopressin düzeyleri arası korelasyon grafiği

Grafik 9: Amigdala oksitosin düzeyleri ile amigdala vazopressin düzeyleri arası korelasyon grafiği

Grafik 10: Serum kortikosteron düzeyleri ile prefrontal korteks vazopressin düzeyleri arası korelasyon grafiği

Grafik 11: Adrenal bez apoptotik hücre oranları ile adrenal bez rölatif ağırlıkları arası korelasyon grafiği

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Empati; Köken olarak ‘empathia’ sözcüğünden türemekte, Yunancadan gelmektedir. Sözcük anlamı olarak içinde (em-) ve hissetme (pathia) kelimelerinden türemiştir. 1873 yılına gelindiğinde Alman Filozof Theodor Lipps tarafından Almanca “Einfühlung” sözcüğünün karşılığı olarak “Bir insanın kendisini karşısındaki bir nesneye yansıtması, kendisini onun içinde hissetmesi ve bu yolla o nesneyi içine alarak/özümseyerek anlaması sürecidir” ifadesiyle empati üzerine ilk tanımlamayı yapmıştır. Güncel tanımıyla Empati, kişinin duygularını, içinde bulunduğu durumu ve/veya davranışlarını anlamak ve özümsemek olarak tanımlanabilmektedir (1).

Empati, emosyonel ve kognitif olmak üzere iki alt başlıkta incelenmektedir. Emosyonel empatinin, bebeklerde bulaşıcı ağlama ve yetişkinde bulaşıcı esnemenin karşılığı olduğu bilinmektedir (2). Kognitif empatinin ise yardım etme davranışı, bakış açısı edinme gibi oldukça karmaşık bilişsel süreçlerin bir yansıması olarak ifade edilmesi mümkündür (3).

Kemirgenlerde empati ile ilişkisi bulunan davranışları gösteren pek çok bulgu mevcuttur. Ancak toplumda, insan ilişkilerinde varlığı ve gerekliliği yadsınamaz bir gerçek olan empatinin nörobiyolojik mekanizmalarının aydınlatılması henüz tam olarak gerçekleştirilememiştir (1). Oksitosin ve vazopressin hormon düzeylerinin ve reseptörlerinin empati ile ilişkisini gösteren çalışmalar literatürde yer almaktadır. Özellikle oksitosin ve empati ilişkisinin varlığını kanıtlayacak çalışmalar literatürde yoğunlukta olup, arjinin vazopressin ve empati ilişkisine dair çalışmaların daha sınırlı olduğu görülmektedir (4,5). Yakın zamanlı bir çalışmada sıçanlarda intraperitoneal oksitosin uygulamasının türdeşine yardım davranışını artırdığı gösterilmiştir (6). İnsanlarda intranazal olarak uygulanan OXT’nin bağlanma, güven, cömertlik ve duyguların tanınması gibi sosyal davranışlarda etkin bir aracı olduğu görülmüştür (5,7). OXT, HPA aksına; kortizol seviyelerini düşürmesiyle stres yanıtını zayıflatma özelliği bulunan anksiyolitik nöropeptid olarak etkisini göstermektedir. İnsan genomunda üçüncü kromozomda bulunan OXTR geninde ilgili bölgede gerçekleşen polimorfizm ile insanda otizmin ilişkisi tespit edilmiştir. Bu çalışmalar ile OXT’nin hem stres yanıtı hem de empati davranışı üzerine etkili olduğu ortaya konulmuştur (8).

Omurgalılar içinde, sosyal davranışa ilişkin çalışmaların çoğu nöropeptidlerden oksitosin /vazopressin ailesinin üyelerine odaklanmıştır. Oksitosin ve vazopressin homologlarının en az 700 milyon yıl önce mevcut olduğu bilinmektedir ve hidra, solucanlar, böcekler ve omurgalılar gibi çeşitli organizmalarda tanımlanmıştır (9).

Oksitosinin yanısıra arjinin vazopressin empatinin de dahil olduğu pek çok davranış kalıbı ile ilişkilendirilmiş bir diğer nöropeptittir. Erkeklerde babalık davranışı, eş seçimi ve diğer sosyal davranışlarda AVP'nin etkisinin bulunduğu çalışmalarda gösterilmiştir (9,10). Empati yeteneği ve yardım etme davranışının azlığı ya da yokluğunun da görüldüğü otizmde AVPR'de defisit saptanmıştır (11).

Stres, davranışsal ve fizyolojik etkileri ve pek çok hastalığa neden olması açısından insan ve hayvan nörobiyolojisi için son derece önemli bir faktördür (12). Strese yanıtın fizyolojik olarak uygun koşullarda düzenlenmesi homeostazın korunması açısından büyük önem arz etmektedir (13).

Hem insanlarda hem de kemirgenlerde yapılan çeşitli çalışmalarda strese yanıtın OXT ve AVP salgılanmasını arttırdığı gösterilmiştir (14,15). OXT ve AVP'nin aynı zamanda empati ile ilişkili davranışsal süreçlerin nöroendokrin düzenlenmesinde de rol oynadığı bilinmektedir. Buradan yapılacak çıkarım, stres ve empatinin etkilediği ortak nörokimyasal yolların bulunduğudur. Sıçanlarda yüksek kortikosteron düzeyleri ile yardım davranışı arasında pozitif bir ilişkinin bulunduğu yakın zamanlı bir çalışmada gösterilmiştir (16).

Bu çalışmada amaç, kronik kısıtlama stresinin kognitif empatinin bir komponenti olan yardım davranışına etkisi ile ilişkili nörokimyasal yollardan OXT ve AVP'nin prefrontal korteks ile amigdala beyin bölgelerindeki değişimlerini ve yine beyinle birlikte adrenal bezler ve timustaki histolojik değişimleri araştırmaktır.

2.GENEL BİLGİLER:

2.1.Empati Tanımı Ve Tarihsel Gelişimi

Empati; köken olarak ‘empathia’ sözcüğüyle Yunancadan gelmektedir. Sözcük anlamı olarak içinde anlamındaki ‘em-’ve paskhein fiilinin kökü olan duyma, acı, hissetme anlamındaki ‘pathia’ kelimelerinden türemiştir.

Tarihte ilk kez Aristo’nun ‘Rhetoric’ adlı eserinde değinilmiştir.“Empathy” olan kelimenin İngilizcesi İngiliz psikolog Edward Bradford Titchener tarafından “içinde hissetmek” anlamında kullanılmakta olan bir Almanca kelime olan ‘Einfühlung’ sözcüğünün tercüme edilmiş hali olarak 1909 yılında kullanıma sunulmuştur (17). ‘Einfühlung’ ilk kez 1873 yılında Alman filozof Robert Vischer tarafından estetik algıyla ilgili bir terim olarak türetilmiştir. 1898 yılında Alman Filozof Theodor Lipps Almanca “Einfühlung” sözcüğünün karşılığı olarak “Bir insanın kendisini karşısındaki bir nesneye yansıtması, kendini onun içinde hissetmesi ve bu yolla o nesneyi içine alarak/özümseyerek anlaması sürecidir” ifadesiyle tanımlamıştır. Bu şekilde önceden sanatçılara ait eserlerin estetik açıdan algılanması, gözlemleyen kişinin duygu ve düşünceleri üzerine etkisi ile ilişkilendirilmiş empati tanımlamasını yeniden düzenlemiştir. Böylece psikoloji literatürüne empati kavramı ilk kez Theodor Lipps tarafından kazandırılmıştır. Sigmund Freud da bu empati tanımını teknik bir terim olarak kabul etmiş ve psikanalizle ilgili çalışmalarında yer vermiştir (17). Güncel tanımıyla empati, kişinin duygularını, içinde bulunduğu durumu ve/veya davranışlarını anlamak ve özümsemek olarak ifade edilebilmektedir (1).

Empati ile ilgili ilk deneysel hayvan çalışmalarının kapısını açan makale “sıçanların başkalarının acısına duygusal tepkileri” başlığıyla Russell Church (1959) tarafından yayınlanmıştır. Yiyecek elde etmek için bir kolu bastırmayı öğrenen sıçanların, verdikleri cevabın komşu sıçanlara ayak şoku şeklinde ağırlı elektriksel uyarın olarak dönmesi, yapmayı durdurmalarını sağlamıştır. Böylece deneysel hayvan çalışmalarında ağrı empatisinden ilk kez bahsedilmiş olunur. Daha sonra uzun bir dönem yasaklanması nedeniyle çalışmalara ara verilmiştir. Bu yaklaşım, büyük ölçüde, hayvanların insani duygularla donatılmasının istenmediği tabu olduğu konusundaki geleneksel düşünceye dayandırılmıştır (18). Daha sonraları Frans de Waal isimli primatolog tarafından empati çalışmaları tekrar gündeme gelmiş ve primatlarda empati ile ilgili çalışmalarının sonuçları literatüre sunulmuştur. Burada empatinin yalnızca insanlara özgü olmadığı, insan dışı türlerde de görülebildiği ortaya konulmuştur. 2004 yılına gelindiğinde Singer ve arkadaşlarının ağrı empatisi ya da stres

empatisi ile ilgili çalışmaları, 2006 yılında ise Langford ve arkadaşları tarafından farelerde ağrı empatisi (daha ilkel bir empati formu olan emosyonel empatinin duygusal bulaşma bileşeni) ve sosyal yakınlık ile ilişkili davranışlar tespit edilmiştir. 2010 yılında Bartal ve arkadaşları tarafından sıçanların kısıtlama stresi uygulanan kafes arkadaşlarını serbestleştirmeyi ğrenebildiğine dair bulguların ortaya konması, kemirgenlerde yardım davranışının nörobiyolojik mekanizmalarının aydınlatılmasında öncü adımlardan biri olmuştur (18). 2014 yılında Li ve arkadaşları bu davranış ile ilişkili bir beyin bölgesi olarak sıçanlarda medial prefrontal korteksi (mPFC) tanımlamıştır. Böylece kemirgenlerde ağrı ya da stres empatisi çalışmalarının ilerlemesi hız kazanmıştır (18,19).

2.2.Empatinin Önemi

Empati insanlarda, karşısındakini anlamak için o kişinin değerlerini algılayıp özümseyerek, durumu diğer kişi ile birlikte hissedebilme halidir. Empati kuran kişi diğer kişiyi anlamaya ve diğer kişinin hislerini paylaşmaya başlar. Bazı durumlarda empati kuran kişi kendisinin deneyimlemiş olması ya da olmamasına bakılmaksızın kişinin acısını yatıştırmaktadır. Bu durum kişiler arası ilişkilerin güçlenmesini, güven duygusunun gelişmesini beraberinde getirir. İlişkilerin olumlu olması güven duygusunun kişilerde yaygın olması, toplumların refahı yönünden de son derece önemlidir. Empati becerisi gelişmiş topluluklarda çatışmanın daha az görülmesi, empatinin toplumsal yaşamdaki önemini göstermektedir (20).

Daha öncelerden etolojide, empatinin yalnızca insanlara özgü olup olmadığı ve duygusal (başkasının duygularını hissetme) veya bilişsel (başkasıyla ilgili bakış açısı edinme) yapısının bulunup bulunmadığına dair tartışmalar mevcuttur. Yakın zamanda insanlarla ve hayvanlarla yapılan beyin görüntüleme çalışmaları ve davranışsal deneyler, empatinin nörobiyolojik temellerinin belirlemesi hususunda epeyce yol katedilmesini ve böylece bu soruların yanıtlarına dair yeni görüşler meydana getirilmesini sağlamıştır (21). Depresyon, otizm, şizofreni ve diğer pek çok nöropsikiyatrik hastalığın empatinin azlığı veya yokluğu ile seyrettiği bilinmektedir. Bu bilgilerin ışığında empatinin nörobiyolojik mekanizmalarının açıklığa kavuşması, bu bilgilerin hastalıkların erken tanı ve tedavi süreçlerinde kullanılabilmesi yönüyle umut vericidir (22).

Makineleşmenin hayatın her alanında etkili olması, yapay zeka ile ilgili gelişmelerin gündemde olması, sosyal medyanın kullanımının yaygınlaşması, sanal sosyalleşmenin

gerçekte yalnızlaşmayı getirmesi; günümüzün yadsınamaz bir gerçeği halini almıştır. Bu durumda insanlar arası ilişkilerde verilen tepkide duygusal açıdan küntleşme halinin arttığı da söylenebilir (23). İnsanlığın gelişim sürecinde değişim ve gelişim şüphe götürmez bir gerçektir. Ancak insanlığı gerçekten insan yapan şey zihinlerimizin, özellikle sosyal becerilerimizin alt filogenetik sınıflara oranla çok daha karmaşık oluşudur. Bu karmaşık yapının göz ardı edilemez temel ihtiyacı iletişimdir. Bu iletişimin sağlanmasında empati, hem kişiler arası hem de toplumlar arasında karşılıklı olarak anlaşılmayı, paylaşmayı ve yardımlaşmayı güçlendiren yaşamın devamlılığı açısından yaşamsal bir köprü görevi görür (24).

2.3. Empati Türleri Ve Kemirgenlerde Empati

Empati, karşısındakini anlamayı, duygu ve davranışlarını özümsemeyi, paylaşmayı içerir (1). İnsan ilişkilerinin temelini oluşturan öğelerden empati, ilkel sosyal davranışları (örneğin, duygusal bulaşma ve taklit) içeren primitif düzey ve daha sonra bu davranışların karmaşıklığına katkıda bulunan bakış açısı edinme gibi daha ileri düzey davranışlarla tanımlanmıştır. Bu bağlamda empatinin, birbirinden farklı fakat birbiriyle keskin sınırlarla ayrılamayacak iki alt türünden bahsetmek mümkündür: emosyonel empati ve kognitif empati. Empatinin daha ilkel bir türü olan emosyonel empati ‘senin ne hissettiğini hissediyorum’ tanımlamasıyla ifade edilmektedir. Bu empati türünde davranış otomatizedir, empatinin farkındalık içermeyen türüdür (25). Bu otomatizasyon Preston ve de Waal tarafından tanımlanan algılama-eylem modeliyle (perception-action model; PAM); davranışın başkası tarafından algılanmasının, o davranışın kişinin beyinde davranış yanıtını oluşturacak motor bölgelere otomatik olarak ilerleyerek aktive olmasını sağladığı şeklinde açıklanmıştır. Bu otomatik yanıtın açıklaması olarak makak maymunlarının gözlemci denek olarak bulunduğu deneyde gözlenen eylemi esnasında aynı anda aktive olan hücrelerin bulunmasıyla ayna nöronların keşfi sonucu ortaya konan ayna nöron teorisi ile ilişkilendirilmiştir (26). Diğer bireylerin (insan veya maymun) benzer davranışlarını gözlemlemeleriyle duygu tanıma ve değerlendirmede de gerçekleştiği ortaya konulmuştur. İnsanda bir hareketin gözlemi esnasında gözlemcinin premotor alan ve posterior parietal korteks beyin bölgelerinde aktivasyon gösterilmiştir. Bu bölgeler ayna nöronların maymunların beyin bölgelerinde tanımlandığı alanların insandaki olası karşılığıdır. Yine inferior frontal kortekste bulunan ayna nöron sisteminin uyarımının hedefe yönelik motor aktivitelerin yanı sıra, empati ve diğer emosyonel süreçlerde de rol aldığı tespit edilmiştir (27).

Emosyonel empati ile ilişkili davranışlarda alt başlık olarak duygusal bulaşma ve taklit (mimik) incelenebilir (1). Taklit, başkasının duygusal tepkilerinin ve bunların yansımalarının senkronizasyonuna yönelik eğilimi ifade eder. Duygusal bulaşmaya verilebilecek örneklerden gülümseyen birini görünce gülümsemek ya da yetişkinlerde bulaşıcı esneme emosyonel empatinin taklit komponentinin başlığı altında değerlendirilmektedir (28). Başka bir bebeğin ağlamasını duyan ya da yanındaki stresli durumunu hisseden bebeğin ağlamaya başlaması duygusal bulaşmaya örnek olan primitif bir tepkidir (29). Bir başka çalışmada katılımcılara verilen çeşitli üzgün yüz fotoğraflarına bakan gözlemcilerin pupil çaplarında küçülme geliştiği tespit edilmiştir ve bu da duygusal bulaşmanın bir örneği olarak gösterilmiştir. Duygusal bulaşma ve taklit ayrı durumlarda görülebildiği gibi birlikte de görülebilmektedir (30).

Kognitif empati, empatinin daha karmaşık davranışları içeren gelişmiş bir türüdür. Bu gelişmiş davranışlara en tipik örnekler yardım davranışı ve bakış açısı edinmedir. 'Akıl teorisi'(theory of mind) başlığı altında da tanımlanabilen bu gelişmiş empati türü, mevcut durumun ayırımını yapabilme yeteneğini içeren farkındalığın üst düzeyde görüldüğü bir empati türünü tanımlar (29).

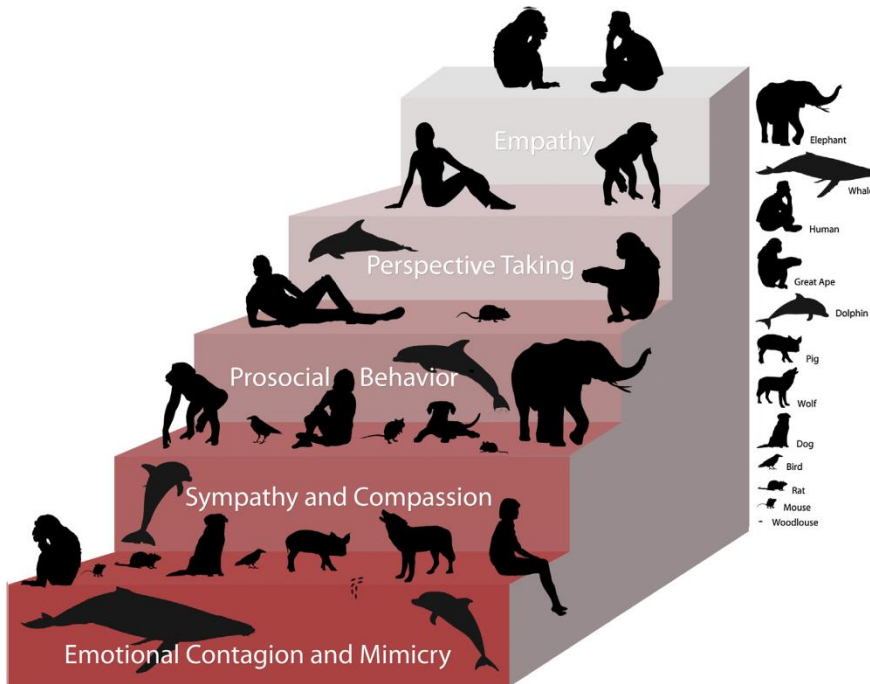
Başka birinin emosyonel veya fiziksel durumunu algılamak ve içselleştirmek, nitelikli etkileşim için çok önemlidir ve insanlar dışında birçok hayvan türünde bulunur. Karşısındaki durumunu anlayabilme, türlerin devamlılığının sağlanmasında önemli birincil gereksinimlerin sağlanabilmesinde anahtar görevi görmektedir (1).

Önceden empatinin, başkalarının duygusal durumunu hissetme, anlama ve paylaşma tanımıyla insanlara özgü benzersiz bir durum olduğu düşünülmekteydi. Bu görüşü değiştiren çalışmalardan ilki yiyeceğe ulaşma amaçlı kaldıraca basmayı öğrenmiş sıçanın, kaldıraca basmasıyla türdeşinde elektrik şoku maruziyetini gözdlediğinde, kaldıraca tekrar basmadığının görüldüğü Church'un deneyi olmuştur (31). Ardından türdeşine kuyruktan asma uygulaması yapıldığını gören sıçanın, türdeşini kurtarma yönündeki çabasına yönelik gözlemler empati davranışının insana özgü olduğu görüşünden uzaklaşılmasında destekleyici bir çalışma olarak kabul edilmiştir (32).

Yakın zamanlarda tespit edildiği ve bu görüşleri sağlamlaştırdığı üzere, primatların ve kemirgenlerin durumunu türdeşlerinin durum ve davranışlarına benzetme, hatta türdeşinin sıkıntısını gidermek için kendi kazanımlarından vazgeçme davranışı gösterebilmeleri empatinin bu türlerdeki kanıtı olmuştur. Bu davranışlar, hayvanların bireysel olarak hayatta kalması için çok önemli olan temel süreçleri içerir ve bize empati ile ilgili davranışları

yöneten nörobiyolojik mekanizmaların aydınlatılmasında yol göstericidir. Türler içinde biyolojik, psikososyal ve davranışsal kavramlar yönünden empati, kemirgen empati modellerinin doğrulanmasıyla, empati çalışmasının tarihsel, teorik ve metodolojik eşitsizliklerinin ürettiği empatinin karmaşıklığının yarattığı boşluğu, sinirbilim alanındaki temel araştırmalar ile doldurabilir (18).

Hayvan türlerinde emosyonel empati yeteneği yaygın olarak görülür. Kognitif empati ise insan ve primatlarda net biçimde gözlenebilmekte olup, kemirgenlerde yardım davranışı biçiminde araştırılmaktadır. Bununla ilgili bir çalışmada sıçanlar; hareketi kısıtlanmış veya stresli durumdaki kafes arkadaşına kapıyı açması için eğitilmiştir. Kapıyı açmayı öğrenen sıçanlarda zamanla kapıyı daha kısa sürelerde açabilme durumu gözlenmiştir. Sıçanların bu davranışı sadece kafes arkadaşlarının stresli olması halinde gerçekleştirdiği, bir obje varlığında ya da stres alanının boş olması durumunda kapıyı açmadıkları saptanmıştır. Bunun yanında dişi sıçanların kafes arkadaşını serbestleştirmede erkek sıçanlara kıyasla daha meyilli olduğu görülmüştür. Sıçanlar stresli olan türdeşini kurtarmak ya da ödül olarak konulan çikolataya ulaşmak için kapıyı açıp açmama arasında tercih yapması gerektiğinde çoğunlukla öncelikle türdeşine kapıyı açmış ve böylece çikolata ödülünü paylaşmıştır. Bu davranışın altında yatan yönlendirici isteğin, kemirgenlerde empati davranışının karşılığı olduğu düşünülmektedir (33).

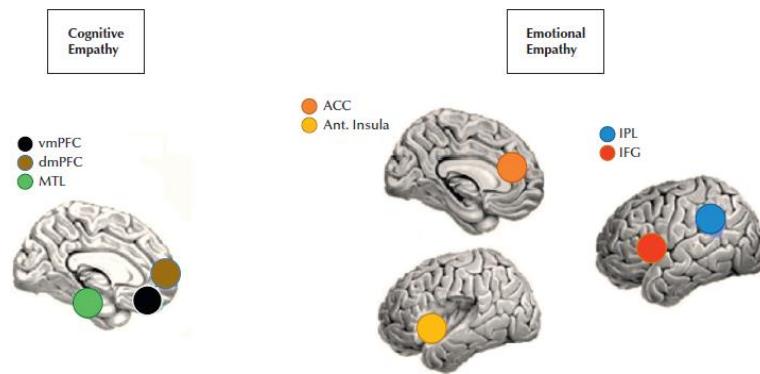


Şekil 1: Farklı hayvan türlerinde gözlemlenen empati ilişkili davranışlar(1)

2.4. Empati İle İlişkili Beyin Bölgeleri

Duygusal bulaşma ve taklit bileşenleri ile daha primitif süreçleri içerdiği bilinen emosyonel empatinin yönetildiği beyin bölgeleri “ayna nöron sistemi” olarak adlandırılmaktadır. Ayna nöron sisteminin bileşenleri; inferior parietal lob (IPL), inferior frontal gyrus (IFG), anterior ve posterior singulat korteks, temporoparietal bileşke, insula ve anterior amigdala’dır. Amigdala; beslenme, seksüel davranış ve korkunun düzenlenmesinden sorumlu bir beyin bölgesi olarak kabul görmüştür. Duygusal fonksiyonlar üzerindeki rolü bilinen amigdala ayrıca dikkat, algı ve bellek üzerinde fonksiyonel bilişsel etkilere sahiptir. Limbik sistemin bir parçası olan amigdala, duygusal tepkilerin oluşmasındaki, duygusal hafızanın oluşmasındaki ve stres yanıtının düzenlenmesindeki rolüyle de empati ve stres ilişkisinin incelenmesinde önemli bir beyin bölgesidir. Primatlarla yapılan lezyon çalışmalarında amigdala hasarında; agresyon ile sosyal izolasyon ve olumlu sosyal davranışlarda (tımarlama gibi) azalmanın olduğu gösterilmiştir (34). Amigdalada oluşan yapısal ve fonksiyonel değişiklikler insanlarda depresyon, şizofreni, post-travmatik stres bozukluğu (PTSD) ve otizm gibi nöropsikiyatrik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir. Bu hastalık gruplarında empati becerisinin de azlığı veya yokluğu tespit edilmiştir (35).

Bakış açısı edinme gibi daha ileri bilişsel süreçleri içeren kognitif empatinin yönetildiği beyin bölgeleri ise “bellek ağı” adıyla bilinmektedir. Bellek ağı ile ilişkili beyin bölgeleri; superior temporal sulcus (STS), medial prefrontal korteks (mPFC) [dorsomedial (dmPFC) ve ventromedial (vmPFC) prefrontal korteks], temporoparietal bileşke (TPJ) ve temporal kutup (TP)’tur(36). PFC, hareketlerin motor kontrolünü sağladığı bilinen bunun yanısıra davranışla ilişkisi pek çok çalışmada gösterilmiş olan beyin bölgesidir. PFC ile başta amigdala olmak üzere diğer beyin bölgeleri arasındaki geniş bağlantılar sayesinde duygu, düşünce, bellek, hareketler ve stres yanıtı düzenlenir (37).



Şekil 2: Emosyonel empati ve kognitif empati ile ilişkili beyin bölgeleri (36)

2.5. Empati İle İlişkili Nörokimyasal Yolaklar

Empati becerisini oluşturan mekanizmalara bakıldığında; gelişimsel, davranışsal ve nöroanatomik sistemlerin yanısıra nörokimyasal sistemin de araştırılması ve anlaşılmasının gerekliliği kaçınılmazdır. İnsanlarda empati-OXT/AVP reseptörleri ilişkisinin bulunduğunu gösteren çalışmalara literatürde sıkça rastlamak mümkündür. Bunun yanısıra opioid sistem ile dopamin-serotonin sistemlerinin de empati ve sosyal davranışla ilişkilendirilmiş diğer nörokimyasal sistemler olduğu bilinmektedir. Ancak bu nörokimyasal sistemlerin empatiyle ilişkisine yönelik çalışmalar sınırlıdır (4,5).

2.5.1. Oksitosin Ve Vazopressin

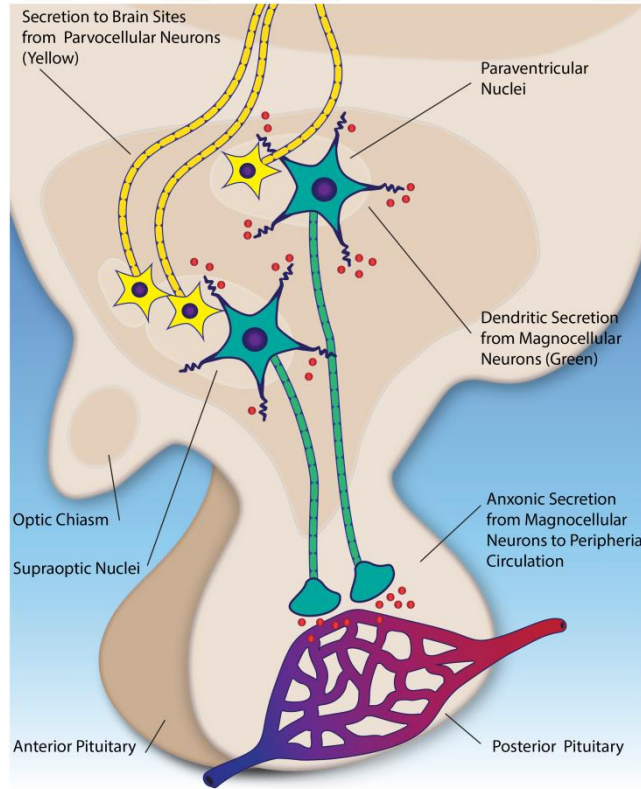
Oksitosin ve Vazopressinin Sentezi, Taşınması, Salgılanması ve Reseptörleri

OXT ve AVP, memelilerde paraventricüler (PVN) ve supraoptik (SON) olmak üzere nükleuslarındaki magnosellüler nöronlarda sentezlenen dokuz aminoasitli peptid yapıda nörohipofizyal hormonlardır. AVP'nin bir diğer ismi de antidiüretik hormondur (ADH). OXT'nin AVP ile 7 aminoasiti benzer yapıda olup, yapılarında mevcut sadece ikişer aminoasitle bu iki nöropeptid ayrılmaktadır. OXT lösin ve izölösün içermekteyken, AVP'nin yapısında ise arginin ve fenilalanin bulunmaktadır.

OXT esas olarak PVN'de, AVP ise SON'da üretilir. Nükleusların her biri, esas olarak ürettikleri hormonun yanısıra diğer hormonu da az miktarda üretebilmektedir. OXT prepro-oksifizin, AVP ise prepro-pressofizin olarak adlandırılan yapıca daha büyük öncül moleküllerden sentezlenmektedir. Bu prohormonların her biri OXT veya AVP ile ilgili nörofizine bölünmektedir. Bu bölünme bu maddelerin sentezlendiği nöronların içinde mevcut salgısal granüllerde gerçekleşmektedir. Prepro-oksifizin'den OXT ve nörofizin-1 oluşmaktadır. Prepro-pressofizin'den ise AVP, işaret peptidi, nörofizin-2 ve kopeptin oluşmaktadır.

AVP ve OXT arka hipofizde mevcut olan veziküllerde depolanmakta ve periferik dolaşıma salınmaktadır. Dinlenme halinde bazal düzeyde OXT ve AVP salınımı mevcuttur. Sekretuar nöronların uyarılmasıyla Ca^{2+} 'a bağımlı ekzositoz gerçekleşmekte, hormon ile nörofizin birlikte salgılanmaktadır (7,38,39).

Hedef organlarda tek çeşit OXT reseptörü (OXTR) ve üç çeşit AVP reseptörü (AVPR) mevcuttur. OXTR, esas olarak memeden sütün salgılanması ve uterin kontraksiyona öncülük etmektedir. Bu reseptörler beyin, hipofiz, meme, endometrium epiteli, myometrium, timus, böbrek, over ve testislerde gösterilmiştir. AVPR'nin alt tipleri; V1a, V1b ile V2'dir. V1a reseptörleri arter ve venlerin duvarlarında bulunmakta, AVP'nin vazokonstriktör etkisine aracılık etmektedir. SSS, adrenal korteks, uterus, trombosit ve karaciğerde de tespit edilmiştir. V2 reseptörleri ise renal distal tübül ve toplayıcı tübüllerde su emilimini sağlamaktadır. V1b reseptörü ise ön hipofizde bulunmakta ve ACTH salgılanmasına aracılık etmektedir (39,40). OXT'nin hedefleri hipokampus, hipotalamus, amigdala, beyin sapı, otonom sinir sisteminin özellikle parasempatik dallarıdır (8). Akson terminallerinden salınımına ilaveten OXT ve AVP'nin ekstrasellüler alana dendritlerden salınımı da mevcuttur. Bu nedenle OXTR ve AVPR'nin beyindeki dağılımlarının bilinmesi, bu nöropeptidlerin salınım yerlerinin bilinmesinden daha önemli olmuştur (4). Oksitosin reseptörlerinin (OXTR) ve vazopressin 1a reseptörlerinin (AVPR1a) yerlerinin türler arası varyasyon gösterdiği gibi bağlanmadan agresyona pek çok sosyal davranış türüyle ilişkili olarak da farklılıklar gösterdiği bilinmektedir (41).



Şekil 3: Oksitosin ve Vazopressin salınımı(42)

Oksitosin ve Vazopressinin Fizyolojik Etkileri

OXT'nin oldukça çeşitli etkileri bilinmektedir. Meme bezinin myoepitelyal hücreleri ile uterusun miyometrial hücreleri üzerindeki kontraktilite etkisinin yanında hipofizden prolaktin salınımı, endometrial prostaglandin üretimi, lüteolizis ve natriürez de uyarılır. Bunun yanında OXT; sosyal bağlanma, annelik davranışı ve seksüel davranışa aracılık etmektedir. Ayrıca anksiyolitik etkisi de mevcuttur. Aralarındaki yapısal benzerliğe karşın AVP'nin fizyolojik etkileri OXT'den farklıdır. AVP; suyun böbreklerden geri emilimini, vazokonstrüksiyonu, hipofizden kortikotropin salınımını, adrenal steroid sekresyonunu, hepatik glukojenolizi ve trombositlerin agregasyonunu uyarır. AVP'nin, vücut ısısının düzenlenmesi ile öğrenme ve bellek süreçlerinde, ayrıca stres yanıtının düzenlenmesinde etkili olduğu da bilinmektedir (43).

Oksitosin ile Empati İlişkisi

OXT'nin insanda duygulanım ve sosyal davranışlar üzerindeki rolüne yönelik literatürde çok sayıda insan çalışmasına rastlamak mümkündür (4). İnsanlarda temel gereksinimlerden güven duygusu ve güvenilirlik algısı OXT'den etkilenmektedir (44). Yine OXT'nin intranasal uygulamasının başkalarının duygulanımı ile ilgili fikir edinme yeteneğinin arttığı saptanmıştır (45). Ayrıca OXT'nin yalnızca mutlu yüz ifadelerini tanıyabilme yeteneğini arttırdığı da gösterilmiştir (46).

Öte yandan empati azlığı veya yoksunluğu gibi ciddi sosyal bozukluklarla seyreden otizm spektrum bozukluğu hastalıklarında (ASD) bozulmuş olan sosyal davranışların düzenlenmesinde OXT önem arz etmektedir (47,48). ASD'li çocukların plazma OXT düzeylerine bakıldığında sağlıklı kontrol grubuna kıyasla daha düşük olduğu çalışmayla gösterilmiştir (49). OXT fonksiyon bozukluğuyla seyrettiği gösterilmiş olan ciddi sosyal bozukluklarla karakterize bu tür nöropsikiyatrik hastalıkların oluşum mekanizmaları tam olarak aydınlatılamasa da, araştırmacılar bu tür hastalıkların nörobiyolojik süreçlerinin aydınlatılmasında OXT'yi önemli bir hedef olarak vurgulamaktadır (50).

OXT düzeyleri güvenilirlik ve güven duyma davranışıyla da ilişkilendirilmiştir. İnsanlarda intranasal OXT uygulamasının hem insan yüzüne yönelik güvenilirlik algısını hem de güven duygusunu arttırdığı gösterilmiştir (44). Bilinen yalnızca OXT'nin sosyal ilişkilerde güveni artırıcı etkisi değil, aynı zamanda güven duygusunun da OXT düzeyleri üzerine pozitif geribildirim etkisi gösterdiği (4). İnsanlarda plazma OXT düzeyi ölçümünün yapıldığı

diğer çalışmalarda OXT düzeyleri ile ebeveyn-çocuk bağlanma davranışı arasında ilişki tespit edilmiştir (51,52). OXT ve AVP V1a reseptör polimorfizmi ile hassas ebeveynliğin ilişkili olduğu da çalışmalarda gösterilmiştir (53,54). OXT insanda, çiftler arasında bağlanma ve yakın ilişkiler kurmada da son derece önemli rol oynar (55).

OXT, toplumsal davranışlarda etkili olduğu gibi empati davranışında da etkilidir (8). OXT ile HPA aksının etkileşim halinde olduğu ve OXT'nin stres yanıtını zayıflattığı bilinmektedir. OXT'nin, kortizol seviyelerini düşürmesiyle anksiyolitik etkileri mevcuttur. Yapılan çalışmalarda OXT'nin hem stres hem de empati davranışıyla ilişkisi tespit edilmiştir (8). Sıçanlarda intraperitoneal oksitosin uygulamasının türdeşine yardım davranışını artırdığı yakın zamanlı bir çalışmada gösterilmiştir (6). İntranasal OXT uygulanan erkeklerde emosyonel empati düzeyinde artışın gösterildiği bir çalışma da mevcuttur (56). OXT ile empati davranışıyla ilişkisi bilinen ayna nöronların aktivite düzeyi arasında pozitif korelasyon olduğu çeşitli EEG çalışmalarıyla ortaya konulmuştur (57,58). Negatif yaşam olaylarının (örneğin anneden ayrılma, çocuklukta ihmal) epigenetik düzenlemelerle, oksitosin ve vazopressin düzeylerinde ve nöronal yapılanmada kalıcı değişikliklere neden olduğu bir çalışmada gösterilmiştir (59). Yine bir diğer çalışmada empati benzeri davranışın, tek doz parasetamol uygulaması ve tekrarlayan düşük doz parasetamol uygulamaları sonrası azaldığı, bunun prefrontal korteks ile amigdalada oksitosin ve vazopressin düzeylerinde azalmayla birlikte görüldüğü ortaya konulmuştur (60).

Vazopressin ile Empati İlişkisi

Memelilerde empati ile ilişkili olduğu tespit edilen bir diğer nörotransmitter olan AVP'nin, memeli-dışı hayvanlardaki homoloğu olarak da arginin vazotosin (AVT) sisteminin vertebralı grubunda yer alan pek çok türün sosyal davranışının düzenlenmesinde etkili olduğu bilinmektedir (61).

İnsanda AVPR genlerinin empati davranışı üzerine etkilerini inceleyen çalışmalarda V1a reseptörü ile insanlarda olumlu sosyal davranışların ve V1b reseptörü ile emosyonel empati yeteneğinde artışın ilişkili olduğu gözlenmiştir (62). OXT'de olduğu gibi AVP'nin de güven, bağlanma, duyguların tanınması ve cömertlik gibi sosyal davranışlarda etkili olduğu gösterilmiştir (7). İntranasal uygulaması yapılan AVP'nin sosyal davranışlar üzerine etkisinin incelendiği bir çalışmada kadınlarda hemcinslerine yönelik olumlu yaklaşımın daha fazla olduğu, aksine erkeklerde ise saldırganlık davranışına neden olduğu bir başka çalışmada bildirilmiştir (61). OXT ve AVP V1a reseptör polimorfizmi ile ebeveynlik davranışının

ilişkili olduğu da çalışmalarla gösterilmiştir (53,54). Ayrıca çayır farelerinde (prairie vole) AVP eş tercihinde önemli rol oynamaktadır (63). Bunun yanı sıra deney hayvanı çalışmalarıyla agresyon ve ebeveynlik davranışı gibi emosyonel davranışlardaki etkilerini gösteren pek çok çalışma mevcuttur (44,64,65). AVP'nin insan, primat ve kemirgenlerde babalık davranışı üzerine olumlu etkilerinin bulunduğu gösterilmiştir (10,66,67). OXT ve AVP yapı olarak benzer olsa da, erkeklerde sosyal iletişimde AVP'nin OXT'den daha öncelikli rol oynadığı gösterilmiştir (9). Bu etkinin androjenlerin belirli beyin bölgelerinde AVP salınımını etkilemesi nedeniyle olduğu düşünülmektedir (68). Bir çalışmada kişilik bozukluklarına sahip bireylerde BOS AVP düzeyleri ile agresyon arasında pozitif ilişki bulunduğu tespit edilmiştir (69). Empati ve diğer sosyal davranışları gösterebilme yeteneğinde azalma/yokluk ile karakterize olan otizmde AVPR'de defisit saptanmıştır (11).

2.5.2. Opioidler

Tarih boyunca opioidlerin analjezik amaçlı kullanıldığı bilinmektedir. Geçmişte yapılan bilinen bir çalışmada başta periakvaduktal gri madde olmak üzere belirli beyin bölgelerinin uyarılmasıyla analjezik etkinin ortaya çıktığı tespit edilmiştir (70). Devam çalışmasında ise opioid antagonisti olan naloksonun mevcut analjezik etki üzerine blokajı ortaya konulmuştur (71). Bu gözlemler ile beyinde endojen opioidlerin varlığı dikkate değer hal almıştır. Günümüzde beyinde farklı yapıya sahip en az on adet endojen opioid varlığı ortaya konulmuştur.

Memelilerde opioid peptidleri üç farklı prekürsörden sentezlenir. Bunlar; pro-enkefalin (PENK) proopiomelanokortin (POMC), ve pro-dinorfin (PDYN)'dir. Pro-enkefalin beyinde leu-enkefalin ve met-enkefalin'in öncülüdür. Pro-opiomelanokortin hipofiz bezi ön ve orta lobları ile beyinde bulunur ve β -endorfin içermektedir. β -endorfinin dolaşıma salınımı hipofiz bezinden olmaktadır. Pro-dinorfin, neoendorfin ve dinorfin öncülüdür. Hipotalamus, arka hipofiz ve duodenumda bulunmaktadır (40).

Opioid bileşiklerinin etkilerini gerçekleştirmesi için spesifik opioid reseptörlerinin aktivasyonu gereklidir. Majör opioid reseptör ailesi; mü (μ), delta (δ), kappa (κ) ve opioid receptor-like orphan receptor (ORL)'den oluşur. Endorfinler sadece analjezik etkiye aracılık ettiği bilinen ana reseptör; μ reseptörüne bağlanmaktadır. Diğer opioidlere bakıldığında pek çok opioid reseptörüne bağlanabilmekte olduğu bilinmektedir (72).

Opioid reseptörleri sinir sisteminin dışında kalp, akciğer, gastrointestinal sistem, karaciğer ve üreme sisteminde de mevcuttur. Bu reseptörlerin ekspresyonunda ve dağılımlarında hayvan türleri arası farklılığın bulunmasının yanında organlar arası değişiklikler de tespit edilmiştir (72).

Opioid reseptörleri; hareket, diürez, ağrı modülasyonu, termoregülasyon, duygudurum ve stres gibi farklı pek çok fizyolojik işlevin sürdürülmesinde gereklidir. Ayrıca kardiyovasküler sistem, solunum sistemi ve gastrointestinal sistemde de düzenleyici role sahiptir. Öte yandan opioid bileşiklerin kontrolsüz kullanımının bağımlılığa yol açtığı da bilinmektedir (72).

Opioidler, nöropeptid çalışmalarının yanı sıra sosyal davranışlardaki rolleri nedeniyle son yıllarda dikkat çekmektedir (73). Opioid bağımlılarının madde yoksunluğunda ortaya çıkan arama davranışı ile bağlanma davranışının benzerliği nedeniyle opioidlerin bağlanmada görevli mekanizmalardan biri olabileceği düşünülmüştür (74). Yakın zamanda yapılan bir çalışmada eroin kullanımının sıçanlarda yardım davranışını azaltıcı etkisi tespit edilmiştir (75). Opioid bileşikleri bağlanma, empati gibi davranışlar ile ilişkilendirilmiş olsa da, bu kapsamda henüz yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır (73).

İnsanlarda senkronize davranışların bireyler arasında kooperasyon, uyum ve yardım davranışını arttırdığı araştırmalarla da gösterilmiştir (76). Literatüre bakıldığında, opioid agonistlerinin yaklaşım odaklı davranışları (bağlanma, haz, yardımseverlik, sinirlilik) artırdığı, kaçınma odaklı davranışları (üzüntü, korku) azalttığı yönünde bulgulara rastlanmaktadır (77). Çalışmalarla gösterildiği üzere β -endorfin nörotransmitteri ile ilişkili μ -opioid reseptörü kemirgenlerde ve insan-dışı primatlarda anne-yavru arası bağlanma, stres vokalizasyonu, sosyal tımarlama (grooming), anne-yavru arası bağlanma davranışında oldukça önemlidir (78–81).

Ekzojen opioid agonisti uygulamasının, yavruların anneden ayrılma stresini azalttığı, yetişkin tek eşli farelerin bağlanma davranışının μ reseptör aracılı gerçekleştiği ortaya konulmuştur (82,83). İnsanda opioid sisteminin empati davranışı üzerine önemini ortaya koyan araştırmalar da bulunmaktadır. fMRI (fonksiyonel manyetik rezonans görüntüleme) çalışmaları ile insanın duysal ağrı sisteminin opioidderjik yolağı incelendiğinde, ağrı deneyimini yaşadığı durum ya da başkalarının stresli durumuna tanıklık ettiği durum arasında benzerliğin bulunduğu gösterilmiştir (84). Opioid aracılı plasebo analjezi ile ağrıya tanık olma esnasında oluşan empatik kaygı azalmakta, naltrekson uygulaması ile de hem direkt olarak ağrı deneyimi hem de ağrıya tanık olma esnasında oluşan olumsuz duygulanım artmaktadır (85). Bunun yanısıra opioid reseptör antagonisti olan naltreksonun sağlıklı

insanlarda uygulanması ile duygu tanıma becerisinde azalmanın gerçekleştiğini ortaya koyan bir çalışma da bulunmaktadır (86).

2.5.3.Dopamin ve Serotonin

Empati ile ilişkisi araştırma konusu olan diğer nörotransmitterler Dopamin (DA) ve serotoninidir. Dopaminerjik-serotonerjik yolağın “akıl teorisi” (theory of mind) olarak da isimlendirilmiş kognitif empati becerisinde önem arz eden beyin bölgeleri olan temporoparietal bileşke PFC ve ACC’de mevcut olduğu bilinmekte ve bu yolağın “akıl teorisi”nde rol aldığı öne sürülmektedir (87). Bu hipotez, dopamin-serotonin sisteminde bozulmayla ilişkilendirilmiş olan şizofreni ve otizm gibi hastalıklarda akıl teorisi fonksiyonunun kaybolmasının sıkça görülmesine dayanmaktadır (88,89). Bir çalışmada sosyal bilişin özellikle bilinçli farkındalık gerektiren durumlarda DA düzeylerinden etkilenebileceği vurgulanmıştır (90). DA’nin bilişsel empati ile ilişkisi, emosyonel empati ile ilişkisine göre daha güçlü bulunmuştur (73). Dopamin ve serotoninin empati ile ilişkisine dair çalışmalar literatürde sınırlıdır.

2.6.Stres Yanıtı

Stres; fiziksel, davranışsal ve/veya nöropsikiyatrik bulguların ortaya çıkmasına yol açabilen hem insanların hem de hayvanların biyolojik yapısını etkileyen önemli bir çevresel faktördür (12). Strese karşı fizyolojik yanıt birbirinden farklı ancak ilişki halinde iki sistem olan hipotalamo-hipofizo-adrenal (HPA) aksın ve sempato-adrenal sistemin (SAS) aktivasyonu ile oluşur. Bunların sonucu olarak da plazma katekolamin ve glukokortikoid (GK) düzeylerinde yükselme gerçekleşir. ‘Savaş ya da kaç’ durumunda hayatta kalmada kortizol, adrenalin ve noradrenalin düzeyi artışı ile metabolizma, büyüme, üreme, immün sistem, kognisyon ve davranışta oluşan değişimler hayati önem taşır (91). Stres yanıtı akut stres maruziyetinde değişime uğrayan homeostazisin yeniden düzenlenmesini sağlayan doğal ve adaptif bir mekanizmadır. Allostazis; hipotalamo-hipofizo-adrenal (HPA) aksın etkinliği, otonom sinir sistemi, bağışıklık, kardiyovasküler sistem ve metabolizmanın içsel ve dışsal stres etmenleriyle etkilenmesine karşı vücudun denge durumunu koruma, uyum yeteneği olarak tanımlanabilmektedir. Stres yanıtının uygun olmayan, aşırı veya yetersiz olması halinde homeostazisin eski haline getirilmesinin yetersiz olduğu duruma ‘allostatik yük’

denilmektedir. Allostatik yük pek çok nöropsikiyatrik hastalık gelişiminde öncül kabul edilmektedir (92).

Sistemik stres teorisini ortaya koyan Selye'nin homeostazın korunmasındaki fizyolojik yanıtlar sendromu olarak tanımlanan genel adaptasyon sendromu (GAS) üç aşamadan oluşmaktadır:

1-Alarm dönemi, bireyin dış uyaranları stres olarak algıladığı ve fizyolojik yanıtların geliştiği durumdur.

2-Direnç dönemi, Stres verici koşulların devamlılığı halinde vücut direncinde artmaz. Adaptasyon dönemidir.

3-Tükenme dönemi, stres verici durumun uzun süre devam etmesi ve stres regülasyonuna yönelik mekanizmaların yetersiz kalması halinde gelişir ve hastalıklara zemin hazırlar (93). Lazarusun stres ve stresle baş etme konusunda oluşturmuş olduğu psikolojik stres teorisinde ise, stres organizmanın çevre ile ilişkisinde bir algısal değerlendirme ve mücadelenin sonucu olarak tanımlanabilmektedir (94). Buna göre öncelikle bir olay oluşur, birey tarafından olaydaki tehdidin anlaşılabilmesi için bir ön değerlendirme süreci geçirilir. Durumun stresli bir olay olarak algılanması halinde, stres yanıtı ortaya çıkar. Bunun devamında birey olayı ikincil bir değerlendirmeden geçirir ve algılanan strese yönelik mücadele stratejilerinin yeterliliğini anlamaya çalışır. İkincil değerlendirmenin ardından birey bu stres etkiyle bilişsel, davranışsal, duygusal ve fizyolojik olarak mücadele eder. Şiddetli ve süregelen strese karşı yanıtın düzenlenmesindeki yetersizlikler sonucu başta depresyon, anksiyete bozukluğu olmak üzere pek çok nöropsikiyatrik hastalığın gelişmesi muhtemeldir (12,95).

Stresin ortaya çıkışı ve bunu izleyen süreç; stresin yapısına, şiddetine, süresine (akut veya kronik), cinsiyete, yaşa, genetiğe, ortaya çıkış zamanına (erken dönem, adolesans, erişkin dönem ve yaşlılık), stresin algılandığı sirkadiyen ritm evresine ve bunun yanı sıra stresin birey tarafından algılanma derecesine, kontrol edilebilirliğine bağlı olarak farklılık gösterebilmektedir (96–99).

2.7.Stresör Tipleri Ve Stresin Sınıflandırılması

2.7.1.Stresör tipleri

Canlıda homeostazisi bozan herhangi bir durum olarak tanımlanan stresörler iki alt tipte incelenebilir:

1-Fiziksel stresörler: spesifik homeostatik mekanizmalarda değişikliğe yol açan fizyolojik yanıtları üreten uyaranlardır. Bunlara; hemoraji, enfeksiyon, cerrahi girişimler, egzersiz, sıcaklık, nem örnek verilebilir.

2-Psikolojik stresörler: Kişinin emosyonel durumunda değişikliklerle birlikte gelişen fizyolojik yanıtları üreten uyaranlardır. Bunlara; sosyal çatışma, izolasyon, caydırıcı çevresel uyaranlar örnek olarak verilebilir.

Tam iyilik halini tehdit eden faktörler karmaşık yapıdadır. Dolayısıyla bu iki sistem birbirinden tamamıyla bağımsız değildir. Fiziksel stresörlerde psikolojik bileşenler olduğu gibi psikolojik stresörlerde de fiziksel bileşenler bulunabilmektedir (100).

2.7.2. Stresin sınıflandırılması:

Amerikan Psikoloji Derneği'ne (APA-American Psychological Association) göre stres üç türde incelenir:

1-Akut stres

2-Epizodik akut stres

3-Kronik stres

Akut stres kısa süreli maruz kalınan ve etkisi kısa süreli olan stres tipidir. Epizodik akut stres kısa süreli stres maruziyetinin tekrarlayan özellik göstermesidir. Kronik stres ise etkisi hafif olsa dahi maruziyet süresi uzun, etkisi uzun süreli (tipik olarak bir hafta ya da daha uzun süren) stres tipi olarak tanımlanabilmektedir (100,101).

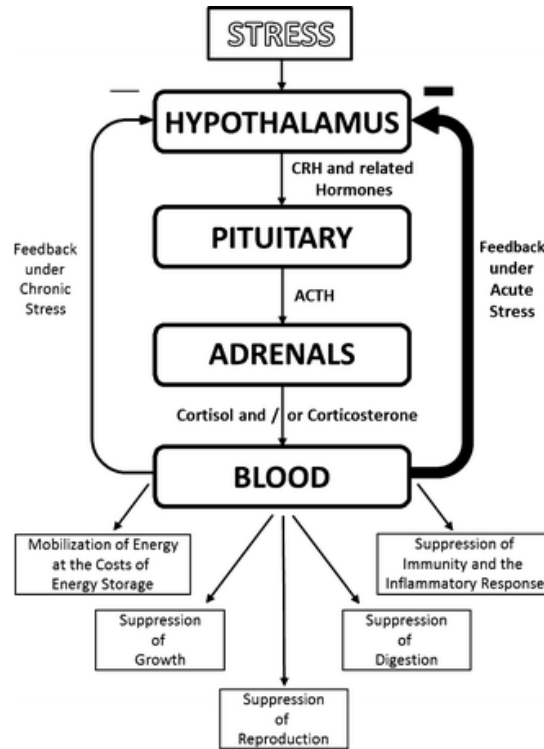
2.8. Hipotalamo-Hipofizo-Adrenal (HPA) Sistem

Stres yanıtı; nöroendokrinolojik olarak HPA aksı ile yönetilen seri olaylar bütününden oluşur. Stres fizyolojisi moleküler ve hücresele düzeyden organizmanın bütününe geniş çerçevede incelenen kompleks bir yapıya sahiptir. HPA aksını; hipotalamik PVN, hipofiz bezinin anterior kısmı ve adrenal korteks oluşturur. Hipokampusun normal koşullarda HPA aksına etkisi inhibisyonudur. GK düzeyi artışının sonucunda hormonal bir negatif feedback sinyali oluşur. Beyinde GK'lerin hem GK hem mineralokortikoid (MK) reseptörüne bağlandığı bilinirken, vücutta beyin dışı bölgelerde yalnızca GK reseptörüne bağlanmaktadır. Bu negatif feedback arkının gelişimi sayesinde GK salınımının normal sirkadiyen ritmi düzenlenmektedir (102). Stres yokluğunda, HPA aksı, sirkadiyen ritmin düzenlenmesinde görevli hipotalamus bölgesi olan suprakiazmatik nükleusun etkisindedir. Bundan dolayı kortizol düzeyleri sabah erken saatlerde en yüksek, gece yarısında ise en düşük düzeylerde olmakta, 24 saatlik sirkadiyen dalgalanmalar göstermektedir.

Canlıda homeostazisi bozan herhangi bir fiziksel veya psikolojik durum "stresör" olarak tanımlanır. Stresörle karşılaşılması sonucunda otonomik, metabolik, nöroendokrin ve immünolojik bileşenleri içeren fizyolojik yanıtın aktive olduğu görülmektedir. Stres yanıtında

esas rol oynayan sistem HPA sistemidir. Hipotalamusta PVN medial parvosellüler bölgesinin nöronlarından CRH ve AVP salgılanır. Bununla da ön hipofizde prekürsör molekül olduğu bilinen pro-opiomelanokortin'den (POMC) ACTH sentezi ve serbest dolaşıma salınımı tetiklenir. Adrenal korteksteki ACTH-reseptör etkileşimi sonucunda kana GK'nın salınımı gerçekleşir. Buna ilaveten adrenal medulladan katekolaminlerin (adrenalin ve noradrenalin) salınımı gerçekleşir (91).

Strese yanıtta HPA aksının GK'lerin, glukokortikoid reseptörü (GKR) ve mineralokortikoid reseptörüne (MKR) bağlanması sonucu CRH ve ACTH'nin sirkadiyen, pulsatil salınımını düzenlenir. Sistemin aktivasyonu ile birlikte HPA aksını homeostaz haline tekrar ulaştırmak için adrenal bez, hipotalamus, frontal korteks ve hipokampusun dahil olduğu feedback döngüleri aktive olur. HPA aksını ilk basamaktan suprese etmek için stresle salınımı uyarılan GK hormon düzeylerinin hipotalamus, hipokampus ve hipofizde bulunan GK reseptörleri (GKR) ile etkileşimi gereklidir. GK düzeyleri stresör maruziyetinden 15-30 dk sonra en üst düzeye ulaşır. 60-90 dk sonra ise bazal düzeylere geri döndüğü bilinmektedir (92). Akut strese maruziyette bu feedback mekanizması verimli çalışır ve de sistemi hızla normal durumuna döndürür. Kronik stres maruziyetinde ise feedback sinyallerinin zayıfladığı ve sistemin uzun süreli aktivasyon halinde kaldığı görülür (102).



Şekil 4: Stres yanıtı ve geribildirim sistemleri (102)

2.9. Stres Mediatorleri:

Stres esnasında salınan, stres uyarısını santral sinir sistemi (SSS)'ne ileten ve SSS'deki fonksiyonel değişikliklere katılmak suretiyle stres yanıtına aracılık etmekte olan moleküller "stres mediatorleri" olarak adlandırılmaktadır. Başta adrenalin ve noradrenalin olmak üzere monoaminler, CRH, OXT ve AVP gibi nöropeptidler ile kortikosteroidler stres mediatorleri başlığı altında incelenen moleküllerdir (100).

2.9.1. Monoaminler

Stresli bir olaydan kısa bir süre sonra, noradrenalin, dopamin ve serotonin de dahil olmak üzere monoamin salınımı, spesifik nöronal popülasyonlarda artmıştır. Bu salınım stresli olayın değerlendirilmesinde yer alan beyin bölgelerince veya dolaylı olarak sempatik sinir sistemince tetiklenmektedir. Monoaminerjik sistemlerin ne derece aktive olacağı; cinsiyet, günün hangi zamanında maruz kalındığı, stresörün tekrarlama ve kontrol edilebilirliği gibi pek çok faktöre bağlıdır. Monoaminlerin stres sonrası artmış salınımı başlıca hipokampus, amigdala, prefrontal korteks ve nükleus akkumbenste olmakla birlikte, diğer beyin bölgelerinde de olası salınımı söz konusudur. Bu salınımında etki sonuç olarak, monoamin reseptör alt tiplerinin dağılımı ve affinitesine bağlıdır. Stresle uyarılan monoamin salınımı ve etkisi hızlı gerçekleşmektedir. Salınım genellikle stresörün ortaya çıkmasından sonra dakikalar içinde gerçekleşir (bölgesel farklılıklar olabilir) ve nadiren stresör maruziyetinin süresinden uzun sürebilmektedir. Çünkü monoaminler genellikle etkisini G-proteini aracılı reseptörler ile gösterir ve bunların efektör üzerine etkileri hızlıdır, düzeylerinin hızlı artışı reseptörlerini eksprese eden nöronlarda hızlı bir değişimle sonuçlanır. Monoaminlerden her biri stresöre hızlı yanıtla birlikte spesifik davranışsal yanıtlar ortaya çıkarır (100). Noradrenalinin çevresel tarama ve çözüm üretme, dopaminin risk durumunun değerlendirilmesi ve karar verme stratejileri, serotoninin ise stres sonrası gelişen anksiyetenin azaltılmasına yönelik etkileri bulunmaktadır (103–105).

2.9.2. Nöropeptidler

Stresli durumun gelişmesi ile birlikte spesifik nöronal popülasyonlardan pek çok nöropeptid salınmakta ve strese yanıt olarak çok sayıda reseptörün aktivasyonuna katkıda bulunmaktadır (100). Substans P ve galanin gibi strese bağlı disforiyi ve anksiyeteyi düzenleyen, nöropeptid Y ve oksitosin gibi stres yanıtını baskılayabilen pek çok nöropeptid stres yanıtına

katılmaktadır (106). Standart olarak stresle aktiflenen nöropeptidler vazopressin ve CRH ailesini içerir (107).

Strese yanıt olarak CRH, hipotalamik median eminesteki akson terminallerinden salınır ve etkisini hipofizdeki reseptörlerinde gösterir (108). Bunun yanı sıra, amigdala, locus seruleus, hipokampus, paraventriküler nükleus (PVN) medial parvosellüler kısmında, , olfaktor bulbus, stria terminalisin bed nükleusu (BNST) ve medial preoptik alanda eksprese edilmektedir. Periferde ise adrenal bez, timus, plasenta, testis, gastrointestinal sistem ve deride bulunmaktadır (109,110).

Lokal olarak etki ederek, peptid nöromodulator etkilerini salınımının ardından saniyeler içinde hedef nöronlarda; CRHR1 ve CRHR2 olarak adlandırılan iki G protein aracılı reseptör üzerinde gösterir (111). CRH reseptörlerinin uyarımı; nöronal ateşleme paternlerine, gen ekspresyonlarına ve davranışa, CRH doz ve duruma bağlı olarak etki eder (111–115). Örneğin, CRH'ın akut stres esnasında amigdalanın santral nükleusundan salınımı hafızanın pekiştirilmesini artırır ve ılımlı strese bağlı hipokampusta bulunan ara nöronlardan CRH salınımı uzun dönem potansiyalizasyonu [Long term potentiation (LTP)] başlatır ve hafızayı güçlendirir (116–119). Buna karşın şiddetli strese bağlı yüksek miktarda CRH'ın hipokampal salınımı hipereksitabilite ile nöbetlere ve de CA3 piramidal hücrelerde dendritik dallanmaların hızla kaybına yol açmaktadır (119,120).

Ayrıca gelişimi süren ve erişkin beyinde kronik strese bağlı salınan CRH, hipokampal piramidal hücrelerde yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Ürokortinler de dahil olmak üzere (UCN1, UCN2 and UCN3) CRH, nöropeptid ailesinin diğer üyeleri de CRH reseptörlerine bağlanmakta ve farklı etkiler ortaya çıkarabilmektedir. Beyin sapı Edinger-Westphal nükleusundaki pregangliyonik olmayan UCN1 eksprese eden nöronlar stres adaptasyonuna katkıda bulunabilmektedir (121).

Hipotalamusta vazopressin CRH ile etkileşerek strese yanıt olarak hipofiz bezinde ACTH salgılatır (122). Beyinde bir bütün olarak, AVP geniş bir nöron dizisine etki etmektedir. Amigdalada, dendritlerden AVP'nin salınımının uyarıcı etkisi davranışsal stres yanıtına etki edebilmektedir (107). Ayrıca AVP emosyonel hafıza ve anksiyeteyi de düzenleyebilmektedir (106). Stresle uyarılan CRH salınımının aktive edici etkileri birincil olarak CRHR1'e bağlanmasıyla gerçekleşir ve tüm etkileri saniyeler ile dakikalar içinde gerçekleşir (115). Buna ek olarak, knockout farelerde yapılan çalışmayla CRHR2'ye bağlanmayla etkinin daha uzun zaman ölçütlerinde ortaya çıktığı ve stres yanıtını baskılayıcı etki gösterebildiği ortaya

konulmuştur (113,114). Bu iki farklı reseptör strese bağlı kortikosteroid salınımıyla erken ya da geç dönemde benzer etkiler göstermektedir (100).

2.9.3.Kortikosteroidler

Kortikosteroidler pulsatil ve sirkadiyen salınım gösterirler. Stres, bu salınım ek olarak büyük bir kortikosteroid patlamasının serbest bırakılmasını tetikler. Hem normal sirkadiyen ritimde salınan hem de stresle uyarılma durumundaki kortikosteroid düzeyi dalgalanmaları, stres yanıtının santral ve periferik etkilerinin entegrasyonunu sağlayacak biçimde beyinde hipokampus tarafından yönetilir (123). Kortikosteroidlerin beyne erişiminin p-glikoproteinleri ile gerçekleşmekte olduğu düşünülmektedir (124).

Monoaminlerden ve nöropeptidlerden farklı olarak glial hücreler de dahil olmak üzere beyin hücrelerinin tümü CORT'e maruz kalmaktadır. Bununla birlikte, CORT'un hangi beyin bölgesine etki edeceği reseptörlerinin konumuna bağlıdır.

Memeli beyinde, kortikosteroid hormonları birincil etkilerini mineralokortikoid ve glukokortikoid reseptörleri üzerinden gösterir. MKR'ler kortikosteroidlere karşı yüksek affiniteye sahiptir. Kortikosteroidlerin MKR'ye affinitesi GKR'yle kıyaslandığında 10 kat daha fazladır. Bu affinite farklılığı nedeniyle, glukokortikoidlerin dolaşımında bazal düzeylerinde daha çok MKR'lere bağlandığı görülmektedir (95). CORT düzeylerinde artış olduğunda ise GKR'ler devreye girmektedir. Bu reseptörlerin beyindeki dağılımları birbirinden farklıdır. MKRler'in hipokampal formasyon ve lateral septum nöronlarında yoğun ekspresyon göstermekte, daha az miktarda da amigdala subnükleusu, hipotalamik paraventricüler nükleus (PVN) ve lokus seruleus nöronlarında ekspresyonu görülmektedir. Bu bölgeler stres yanıtının duygusal, bilişsel ve nöroendokrin süreçlerini meydana getiren bir devrenin tanımı olarak ifade edilebilmektedir. MKR'lerin dağılımı CRHR1'lerin dağılımıyla örtüşmektedir (125). GKR'ler daha çok hipokampus, PVN ve lateral septumda eksprese edilmektedir. Hormonun bağlanması kortikosteroid reseptörlerinin, gen transkripsiyonunun düzenlendiği nükleusa doğru yer değiştirmesini sağlar (126). Bu nedenle steroidin nöronal fonksiyon üzerindeki etkilerinin gelişmesi genellikle en az bir saatte olur, saatler veya günler sonrasında son bulabilir.

Hipokampusta devam eden bilgi akışını sürdürmenin ön koşulu MKR aktivasyonudur, buna karşın örneğin stres sonrası GKR'nin aktivasyonu nöronal uyarılabilirliğin ve sinaptik plastisitenin baskılanması ile sonuçlanır (127). Bu durum stres yanıtında davranışsal yönden negatif geribildirim düzenlenmesine izin vermektedir. Hipokampusta GKR aktivasyonunun hücre ateşlenmesini baskılayıcı etkisinin aksine, bazolateral amigdala devamlı bir eksitatör

etki oluşturmaktadır. Bu da reseptör tipine etki eden mediatörün beyinde bulunduğu konuma bağlı olarak farklı etkilerinin olabileceğini göstermektedir (128).

2.10.Stres-Empati İlişkisi ve Nörokimyasal Yolaklar

2.10.1.Stres ile Oksitosin ve Vazopressin

OXT'nin stres yanıtını HPA aksı üzerinden baskılayarak canlı organizmanın strese dayanıklılık düzeyini arttırdığı bilinmektedir (8,129,130). Yüksek OXT düzeyleri ile strese maruziyet sonrası homeostazı tekrar sağlamak amaçlı stres yanıtının zayıfladığı görülmektedir (131). Stres yanıtının düzenlenmesinde OXT'nin önemli bir role sahip olduğunu gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (132–134). OXT düzeyinin beyinde arttırılmasına yönelik farmakolojik uygulamaların ya da endojen OXT sisteminin aktivasyonunda artışın sonucunda sıçanlarda strese yanıt olarak salınan kortikosteron miktarının azaldığı görülmektedir (135). Yine intranazal OXT uygulamasının strese maruz kalmış sıçanlarda anksiyolitik ve sosyal etkileşimi artırıcı etkilere neden olduğu gösterilmiştir. Bu inhibitör etkinin altında yatan nedenin alışkın olduğu türdeşinin varlığında stres yanıtında azalma durumu ile açıklanabilen 'sosyal tamponlama fenomeni' ile ilişkili olduğu ve laktasyon sırasında gelişen azalmış stres yanıtı ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (136–139). Yine bir çalışmada hipokampal OXT uygulaması sonucu düzeylerinde artışla birlikte yırtıcı kokusu stresine maruz kalan sıçanlarda anksiyete davranışında azalma görülmüştür (131). OXT'nin santral salınımı arttığında PVN aktivitesinin ve CRH salınımının azalarak HPA yanıtının düzenlediği ortaya konulmuştur (140,141).

OXT'nin, kortizol seviyelerini düşürdüğü, amigdalanın duygusal uyaranlara yanıtını zayıflattığı ve strese karşı kardiyovasküler yanıtı önlediği güçlü fizyolojik anksiyolitik etkileri indüklediği bildirilmiştir (142–144). OXT kemirgenlerde stresle indüklenen HPA aksı aktivasyonunu zayıflatmıştır (145). Sıçanlarda santral ve periferik OXT uygulaması ile açık alan ve yükseltilmiş artı labirent testlerinde anksiyetenin azaldığı gösterilmiştir (145,146). Ayrıca OXT uygulamasının, akut kısıtlama stresine yanıt olarak PVN'de CRH gen ekspresyonunda artışla sonuçlandığı ortaya konulmuştur (147). OXT knockout farelerle yapılan bir çalışmada bu farelerin kontrol grubuna göre daha anksiyöz olduğu ve bu durumun santral OXT uygulaması ile geri döndürülebildiği gösterilmiştir. Yine bu çalışmada kontrol grubuna OXTR antagonisti uygulanması bu grupta anksiyete düzeylerinin artmasına neden olmuştur (148). Doğumdan sonra anneden ayırma uygulanan erkek maymunlarda BOS'ta

OXT düzeylerinde düşüklük ile agonistik davranış arasında ilişki saptanmıştır (149).Yine insanlarla yapılan bir başka çalışmada plazma ve BOS OXT konsantrasyonlarıyla intihar davranışı ve agresyon arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir (150).

Empatinin yanısıra maternal, sosyal ve seksüel davranışlarda da önemi bilinen OXT, GKR ekspresyonunun gerçekleştiği başta hipokampus olmak üzere beyin bölgelerinde stres yanıtı ile karşılıklı olarak etkileşimdedir (151). ACTH salınımı ile buna bağlı adrenal GK (insanda kortizol, sıçanlarda kortikosteron) salınımını tetiklediği çok sayıda stresör de OXT sistemini uyarabilmektedir. Fakat bunun mekanizması henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (152). Sıçanlara akut ve sistemik olarak suprafizyolojik dozlarda kortizol uygulanmasının OXT sekresyonuna neden olduğu gösterilmiştir (131).

Adrenalektomi uygulanması sonrasında dolaşımda kortikosteron miktarında azalmanın ise, hipokampusta OXT–reseptör bağlanması down-regüle ettiği gözlenmiştir. Bu etkinin sorumlusu olarak CORT’un azalmasına bağlı santral OXTR sayısında azalmanın olduğu düşünülmüştür (153). Stres maruziyeti BOS’ta ve periferik dolaşımda OXT konsantrasyonunun artışı sağlayarak beyinde OXT salınımını arttırmaktadır (14,154). Kemirgenlerde, daha çok da sıçanlarda yapılan çalışmalarla ayak şoku, sarsma stresi, immobilizasyon, eter maruziyeti gibi farklı stres durumlarına yanıt olarak dolaşıma OXT’nin salınmakta olduğu gösterilmiştir (107,154–158). Sıçanlarda OXT’nin santral salınımının sosyal engel ve zorunlu yüzme stresine yanıt olarak gerçekleştiği de gösterilmiştir. İmmobilizasyon stresi ile SON ve PVN’deki oksitosinerjik nöronların aktive olduğu ortaya konulmuştur (159–161). Yine insanlarda da psikososyal stres, rahatsız edici gürültü stresi ve egzersiz sonrası periferik sıvılarda özellikle de plazma ile salgılarda OXT konsantrasyonlarında hızlı bir artış gözlenmiştir (15,162,163). Stres aynı zamanda hedonik kapasitede azalma ve ödül sisteminde disregülasyona neden olmaktadır (164–166).

Empati ve sosyal davranışlar ile OXT’nin ilişkisinin bulunmasının yanısıra AVP de stres yanıtının düzenlenmesinde önemlidir (167). AVP’nin sentezi, salınımı ve strese karşı endokrin, otonomik ve davranışsal yanıtların gelişmesine katkıda bulunmaktadır (168). İnsanda intranazal AVP uygulaması, seyirci varlığında sosyal stresi arttırmaktadır. Bu da AVP’nin sosyal iletişim becerilerindeki ve performans yönetimindeki rolü ve önemini açıkça göstermektedir (169). Bir başka bulgu da sıçanların zorunlu yüzme stresine yanıtı olarak plazma AVP düzeyinde herhangi bir değişiklik saptanmaması, bunun yanısıra hipotalamus PVN ve SON’da AVP düzeylerinin artmış olmasıdır (161). Sıçanlarda yapılan diğer çalışmalarla emosyonel strese yanıt olarak magnosellüler nöronlardan AVP salınımında artış

olduğu görülmüş ayrıca amigdala ve mediolateral septumda stresle salınımı uyarılan AVP'nin davranış yanıtını düzenlediği gösterilmiştir (168,170,171).

2.11.Stres ve Empati

Stresin empati ile ilişkili OXT, AVP ve opioid sistemi üzerine etkileri incelendiğinde stresin empati ve olumlu sosyal davranışları bahsedilen nörotransmitterler üzerinden etkileyebildiği düşünülmektedir. Bunun tespiti, empati azlığı/yokluğu ile seyreden depresyon, şizofreni, antisosyal kişilik bozukluğu ve otizm gibi hastalıkların tedavisine yönelik gelişmelerin yaşanması açısından umut vericidir. Yakın zamanda yapılan bir çalışmada düşük şiddette ayak şoku uygulanan sıçanlarda akut stresin empati davranışını olumlu yönde etkilediğini gösterilmiştir. Bunun yanısıra düşük şiddetli akut ayak şoku stresi grubunda vazopressin düzeyleri amigdala ve prefrontal kortekste, oksitosin düzeyleri ise prefrontal kortekste artmış olarak bulunmuştur (172).

Birçok çalışmada gösterildiği üzere stresin, OXT yolağı üzerinden olumlu sosyal davranışlar ve de empati üzerine etkileri bilinmektedir. Empati yeteneğinde bozulmayla seyreden PTSD hastalarına intranasal OXT uygulamasının erkeklerde duygu tanıma becerisini arttırdığı gösterilmiştir (173). Yine bir çalışmada akut immobilizasyon stresi uygulamasının sıçanlarda, üç saatlik immobilizasyon uygulamasının OXT sinyalizasyonunda artış sağlamakla birlikte erkek sıçanlar arasında sosyal etkileşimi, yakınlık gelişmesini ve sınırlı kaynakların paylaşımını arttırdığı, agresyonda azalma sağladığı, sosyal konumların düzenlenmesinde rol aldığı ortaya konulmuştur. Yırtıcı kokusu ile birlikte üç saatlik immobilizasyon uygulamasının ise bu olumlu etkileri tamamen azalttığı gösterilmiştir (174). Kronik immobilizasyon stresinin, yetişkin erkek sıçanlarda sosyal etkileşimi arttırdığı ve anksiyeteyi azalttığı tespit edilmiştir. Ayrıca PVN'deki OXT hücre sayısında da artma saptanmıştır (50).

Bilindiği üzere stres insanlarda “savaş ya da kaç” davranışını tetiklemektedir (16). Stresin empati ve olumlu sosyal davranışlar üzerine etkileri insanlarda araştırıldığında, bu etkinin çift yönlü olduğu gözlenmiştir. Maruz olunan stresörün çeşidine ve yaşamda maruz kalınan zamana bağlı olarak stres; agresyon, sosyal kopma ve saldırgan davranışla ilişkilendirilmiştir(175). İnsanlarda stresin fedakarlık davranışını önlediği ve bu sebeple başkası kaynaklı empati davranışını olumsuz etkilediği ortaya konulmuştur (176). Stres maruziyeti sonrası cömertlik davranışının azaldığı gözlenmiştir (177). Yakın zamanlı bir çalışmada, kronik travmaya maruz kalan savaş mağduru annelerin çocuklarına yönelik

empatik davranışlarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu gösterilmiştir (178). Stresin insanlarda olumlu sosyal davranışlar üzerine pozitif yönde etkileri olduğunu gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (179,180). Bireylerin arasında sosyal yakınlık olması ve stresin hemen ardından olması kaydıyla psikososyal stresin cömertlikte artışa neden olduğu tespit edilmiştir (181).

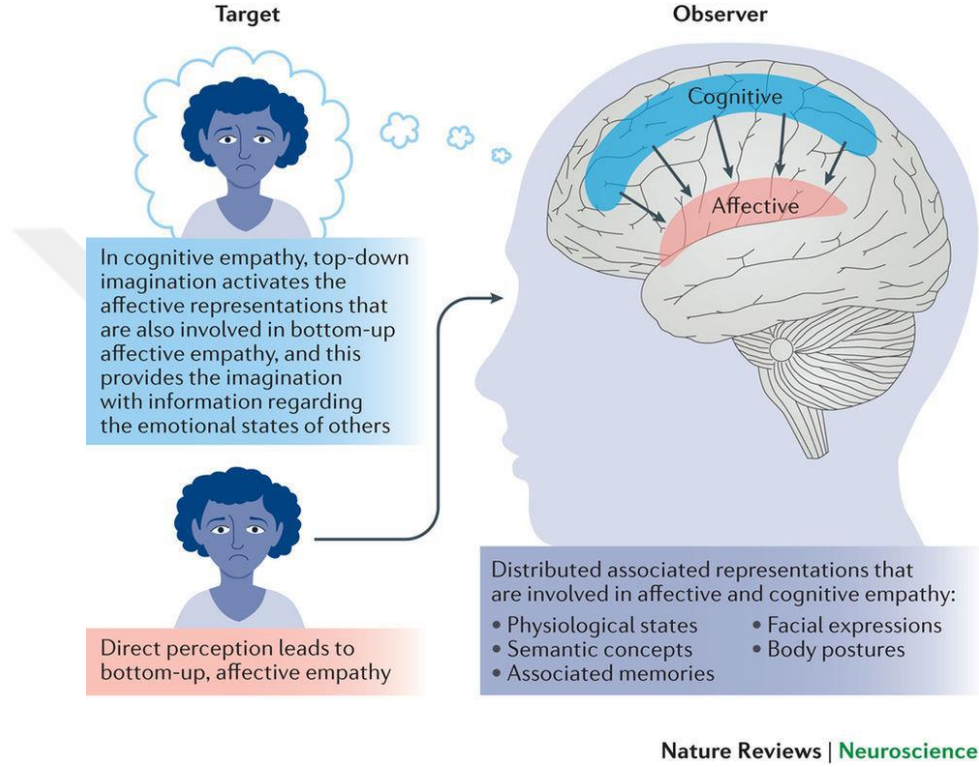
Bireyler arasında emosyonel empatinin duygusal bulaşma komponenti ile iletimi gösterilmiş olan stresin, ağrı empatisini düzenlediği bilinmektedir. Ağrının duygusal bulaşma ile iletimi bireylerin tanıdık olmasına bağlıdır (182). Bunun nedeni tanıdık olma durumunun stres yanıtını azaltması, ağrının emosyonel olarak iletimini sağlamasıdır. Stres ile tanıdık bireyler arasında gerçekleşmesi beklenen ağrının emosyonel geçişinin bozulduğu gözlenmektedir (183).

Empati, insanlarda, yukarıdan aşağıya (top-down) bilgi işleme ve aşağıdan yukarıya (bottom-up) bilgi işleme bileşenlerini içermektedir. Yukarıdan aşağıya bilgi işleme gerçekleşen deneyimin düzenlenmesi ve kontrolü ile ilişkilidir. Daha ileri empati formu olduğu bilinen bilişsel değerlendirme, bakış açısı edinme ve kendisi-başkası ayırımı yapabilme yeteneği bu bileşenin parçasıdır. Aşağıdan yukarı bilgi işlemenin ise otomatik yanıt olarak gerçekleştiği ve duyular tarafından yönetildiği bilinmektedir. Duygudurumun paylaşılması ve duygusal bulaşma bu bilgi-işleme sistemine dahildir (184,185). Stresli bir durumun sonucunda otomatik yanıtlar devreye girmekte, buna karşın kontrol mekanizmaları ise baskılanmaktadır (186). Böylece tepkiler daha hızlı verilebilir ancak kognitif beceriler daha zayıf kalır. Yine bir çalışma sonucu, stresin yardım davranışı ve sosyal etkileşimler açısından yararlı olup olmadığının tümüyle içinde bulunulan sosyal halin karmaşıklık düzeyi ile ilişkisinin bulunduğu düşünülmektedir. Strese otomatize yanıt gereken net bir durumsa yardım davranışının ortaya çıkması daha kolay olmaktadır, daha karmaşık sosyal durumlarda empatinin komponenti olan bakış açısı edinmenin azaldığı görülmektedir. Bu sonuç stresin farklı empati bileşenlerini farklı biçimde etkileyebildiği göstermektedir (185).

Stresin empati davranışına etkilerinin incelenmesinde hayvanının türüne göre farklı sonuçlar elde edilmesine neden olabilmektedir. Şempanzelerde oluşturulan stresin, teselli davranışını azalttığı gösterilmiştir (187). Sıçanlara bakıldığında ise stresin yardım davranışı üzerine etkisi Yerkes-Dodson kanunundaki ters U eğrisi çizimine uygundur (188). Ters U eğrisi, ileri derecede düşük ve ileri derecede yüksek uyarılma düzeylerinde performanstaki düşüşü ifade etmektedir. Yani Yerkes-Dodson yasasındaki ilişkide olduğu gibi optimal düzeye yaklaştıkça performans artar, optimal noktadan uzaklaşıldığında performans düşer. Bu

bağlamda kronik strese maruziyetin, empatinin nöral temellerini ve davranışsal yansımalarını hasara uğrattığını gösteren çalışmalar mevcuttur (189–192).

Stresin empatiyi cinsiyete göre farklı şekilde etkilediği bilinmektedir. Bilişsel empatinin bileşenlerinden kendisi-başkası ayırımı yapabilme yeteneğine stresin etkilerinin araştırıldığında, bu yeteneğin kadınlarda arttığı, erkeklerde ise azaldığı gösterilmiştir (59).



Şekil 5: Empatik bilgi işleme sistemleri (59)

2.12. Stres ile İlişkili Histolojik Değişiklikler

2.12.1. Beyinde Stres ile İlişkili Histolojik Değişiklikler

Başta beyin olmak üzere çok sayıda organ ve sistemin stresten etkilendiği, organizmanın doğal bütünlüğünün, homeostazisinin tehlikeye girmesine neden olduğu bilinmektedir. Eksternal stresörler nöroinflamasyonu, nörodejenerasyonu ve azalmış nörogenezi tetikleyebilmektedir.

Programlanmış hücre ölümü olarak bilinen apoptoz, hücre popülasyonlarının çoğalmasında ve farklılaşmasında ölen hücrelerin yok edilmesine hizmet eden bir hücre ölümü şeklidir (193). Gen ile düzenlenmiş bir hücre ölümü biçimi olan apoptozis normal gelişim ve doku homeostazi için oldukça kritiktir (194). Hücre dışı veya hücre içi olarak uyarılabilir (195).

Apoptotik süreçlerin gelişmesi Bcl-2 ve Bcl-xl proteinlerinin aktivasyonu ile kaspaz-3'ün supresyonu sonucu gerçekleşmektedir. Bcl-2 oksidatif ve nitrosatif strese bağlı olarak apoptoz ve hücre ölümünün gelişiminde antiapoptotik etkili bir endojen membran proteinidir. Kaspaz-3 ölü apoptotik hücrelerde ölü ligandlar ve mitokondrial yolaklarla aktive olan apoptozdaki yıkıcı mekanizmanın bir komponentidir. Kronik ılımlı stresi takiben artan kaspaz-3 düzeyinin artmış apoptozla birlikteliği tespit edilmiştir. Bunun yanısıra, kronik ılımlı stresin hipokampusta TUNEL-pozitif nöron, kaspaz-3 ve Bax oranında artışa neden olduğu gözlenmiştir. Bax, kaspaz aktivasyonunda sitokrom c'nin salınımının ve sonraki proteolizinin sonucu olarak apoptozu uyaran pro-apoptotik bir moleküldür.

Stres; hipokampus, prefrontal korteks, amigdala, anterior singulat korteks ve bazal ganglionlarda yapısal değişikliklerle sonuçlanmaktadır (196). Glukokortikoidlerin salınımının stres yanıtındaki yeri bilinmektedir. Salınan glukokortikoidler, aralarında glutamat gibi aminoasit yapıdaki moleküllerin ekstrasellüler alanda artışı ya da enerji metabolizmasında değişikliklerin de olduğu farklı mekanizmalarla nörotoksisite oluşturmaktadır. Hücre dışına salınan glutamatın nörotoksisiteyi indüklediği, özellikle hipotalamik PVN'deki etkisi bilinmektedir (197). Bu etkilere kısıtlama stresi uygulanan sıçanların beyinlerinde TNF- α konvertaz enzimi (TACE) aktivasyonu ve TNF- α salgılanması öncülük etmektedir. Sitokinlerin salınımı sonucu oluşan çoklu etkiler nöronal nükleusta transkripsiyon faktörü NFkB'nin translokasyonu ile başlamaktadır. NFkB aktivasyonu, iNOS ve COX-2 aktivasyonu ile sonuçlanır. Bunlar stres modelleri ile oluşan nörobiyolojik hasarlanmadan esas sorumlu olan enzimlerdir. Kronik stres sonucu glukokortikoidlerin salınımıyla indüklenen mekanizmaların sonucu olarak, hipokampal nöronların sayısı ve uzunluğunda azalma görülmüştür (198). Birçok çalışmada bozulmuş stres yanıtına ve yüksek doz glukokortikoid tedavisine bağlı olarak özellikle CA3 bölgesi olmak üzere hipokampal nöronlarda dejenerasyon tespit edilmiş, stresle indüklenen nöronal atrofiye glukokortikoidle birlikte glutamatın da katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Glutamat salınımı stres yanıtına iki farklı noktada eşlik etmektedir. Erken yanıt stresli uyarının ardından milisaniyeler içinde başlamakta ve ikincil yanıt dakikalar içinde beraberinde gelmektedir. Erken faz hızlı gerçekleşmesinden dolayı HPA aksının düzenlemesinden etkilenmezken, geç fazda gen ekspresyonunda değişiklikler ve protein sentezi gibi uzamış etkilerin HPA aksı ile düzenlendiği bilinmektedir. Medial PFC stresli uyarana bağlı glutamat düzeylerinde en fazla artışın görüldüğü beyin bölgesidir (199).

Glutamatın etkilerini göstermesinde etkin iyonotropik ve metabotropik reseptörler mevcuttur. N-Metil D-Aspartat (NMDA) subtipi hipokampusta stresle gelişen morfolojik

değişikliklerin oluşmasını önler (200). Bu da glutamatla etkileşim ve izleyen eksitotoksiste olarak da bilinen olaylar dizisi (intraseleller kalsiyumda artış, oksijen radikallerinin oluşumu, hatalı protein katlanmaları, hücre iskeletinde hasar) hipokampus hasarının olası mekanizmalarını göstermektedir (201,202).

Ekstraselleler glutamat yüksek düzeyde glukokortikoid maruziyetiyle birlikte nöronun bu nörotransmitterin geri alımının önlenmesi nedeniyle artar (203). Stres, glutamatın etkisini sinaptik geri alımı değiştirmek yoluyla destekler. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada kısıtlama uygulamasıyla stresli gruptaki sinapslarda glutamat düzeylerinin kontrole göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Bu da glutamatın daha yüksek ekstrasinaptik konsantrasyonlarıyla açıklanır (204). Bu nöronal hasardan sorumlu tutulan bir diğer mekanizma ise yüksek konsantrasyonlarda glukokortikoid maruziyetinin nöron ve glialarda esas olarak nöronal transporter GLUT 3 düzeylerini azaltmak yoluyla glukoz transportunu bozmasıdır. Bu etkinin GKR reseptörlerinin aracılığıyla, hem glukoz taşıyıcı moleküllerin hücre yüzeyinden hücre içine uzanan translokasyonuna hem de glukoz taşıyıcısı mRNA düzeylerinde azalmaya bağlı olduğu düşünülmektedir (205).

Stresin nöroenez üzerine etkisiyle ilgili farklı sonuçlara sahip çalışmalar mevcuttur. Stresin nöroenezini azalttığı insan ve hayvan çalışmalarıyla gösterilmiştir (206,207). Bunun yanı sıra adrenaletomi uygulamasının karşıt etkisi de bir başka çalışmada gösterilmiştir (13,200).

Kronik değişken stres paradigmasının sonunda kortikosteron düzeylerinde hafif bir yükselmeye birlikte, azalmış vücut ağırlığı, adrenal hipertrofi ve azalmış timus ağırlığı görülmektedir (208,209). Tüm stres paradigmasının sonunda etki tür ve cinsiyete bağlı olarak değişkenlik gösterebilir.

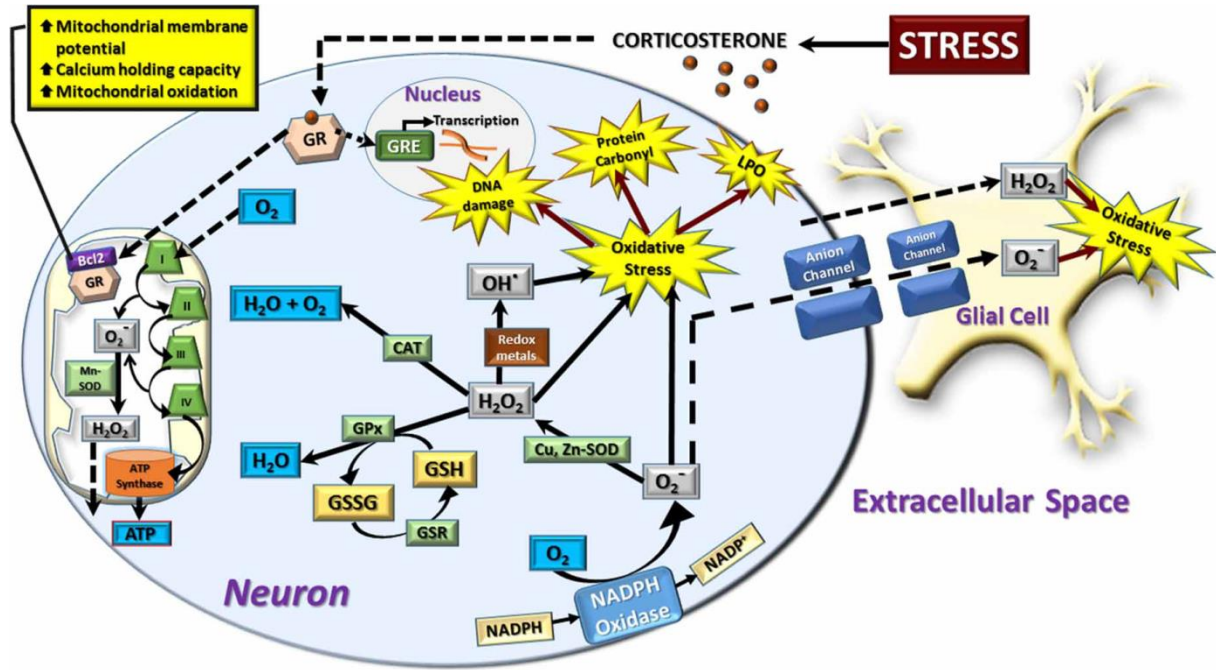
Kronik stresin beyin bölgelerine etkilerinin incelendiği çalışmalara bakıldığında, 3 haftalık GK uygulaması ya da kısıtlama stresi sonrası medial prefrontal kortekste (mPFC) II ve III. katmanda bulunan piramidal nöronlarda dendritik gerileme ve dallanmada azalma yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (210–214)(215). Kronik stresin amigdalaadaki yapısal plastisiteye etkisi BLA'daki ana nöronlara eksitatuvar sinaptik girdinin önemli artışıyla birlikte gözlenmiştir. Bu etkinin oluşumundaki temel etkenin plazma glukokortikoid düzeylerindeki artış olduğu düşünülmektedir. Ayrıca adrenal steroid uygulamasının BLA'da dendritik uç dansitesini artırdığı gösterilmiştir (196). Bir çalışmada 10 ile 21 gün boyunca uygulanan kısıtlama stresinin BLA'daki piramidal ve stellat hücrelerde (bipolar hücreler hariç) total dendritik uzunlukta ve spinogenezde artış sağladığı gösterilmiştir (216). Buna karşın öngörülemeyen strese 10 gün boyunca maruz kalma sonrası, BLA'daki piramidal ve stellat

hücrelerin morfolojisinde değişiklik saptanmamış ve bipolar hücrelerde dendritik uzunluk gerilemiştir (217). İmmobilizasyon stresinin etkilerinin amigdala bölgesel olarak farklılıklar gösterebildiği bilinmektedir. BLA nöronlarında artmış dendritik uzunluk ve spinogenezis görülürken, medial amigdalaadaki nöronlarda dallanma yoğunluğunda azalma gözlenmektedir (218). 10 günlük immobilizasyon stresi uygulaması, bir gün sonrasında BLA'da spinogenezisi görmek için yeterlidir. Tek seferlik immobilizasyon stresi uygulamasının bir gün sonrasında ise herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir (219). Prenatal deksametazon uygulaması yapılan sıçanlarda, her iki cinsiyette, amigdalanın özellikle medial ve bazomedial bölgelerinde apoptozun belirgin olarak arttığı bir çalışmayla gösterilmiştir (220).

Nöronal Oksidasyon-Redüksiyon Reaksiyonlarının Oluşumu

Stres, sitozolik glukokortikoid reseptörlerinin aktivasyonunu sağladığı bilinen kortikosteronu artırmaktadır. Bunlar glukokortikoid duyarlı elementler (GRE) aracılığıyla gen transkripsiyonunu modüle etmek üzere nükleusa transloke olurlar. Bu da mitokondrial membran potansiyelini, kalsiyum tutma kapasitesini ve mitokondrial oksidasyonu artırır. Hücre metabolik hızdaki artış ATP sentezine ek olarak elektron transport zinciri (ETZ)'deki kompleks I ve III üzerinden süperoksidin (O_2^-) spontan üretimini artırır. Bu da manganez süperoksid dismutaz (Mn-SOD) tarafından dismutasyona uğratarak hidrojen peroksit (H_2O_2) dönüşür ve ayrıca hidroksil radikali (OH^-) çevrilir ya da mitokondrial antioksidan yolak tarafından suya indirgenir. Sitozolde süperoksid üretiminin majör kaynağı NADPH'nin NADPH oksidaz tarafından oksidasyonundan sağlanmaktadır. Sitozolik süperoksid bakır-çinko süperoksid dismutaz (Cu, Zn-SOD) tarafından hidrojen peroksit dönüşür. Hidrojen peroksit katalaz (CAT) ya da glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) dönüşümünü sağlayan glutatyon peroksitaz (GPx) tarafından nötralize edilir. GSSG glutatyon redüktaz (GSR) enzim sistemi aracılığı ile GSH'a rejenere olur. Hidrojen peroksit ayrıca süperoksit radikalleri ve/veya Fe^{+2} veya Cu^{+2} gibi geçiş metalleri ile Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonuyla yüksek toksisiteye sahip hidroksil radikallerini üretmek üzere etkileşir. Süperoksid, hidrojen peroksit ve hidroksil radikallerinin üretimindeki artış, DNA'da oksidatif hasar, protein karbonil formasyonu ve membran lipid peroksidasyonuna (LPO) yol açan hücre oksidatif stres durumunun gelişimine öncülük eder (221–223). Hidrojen peroksit membrandan geçebilir ve mitokondriden sitozolik kompartmanlara serbestçe hareket edebilir. Buna ek olarak komşu nöron ve glial hücreleri etkilemek üzere ekstraselüler alanda bir uçtan diğerine doğru hareket eder. Süperoksid radikalleri de komşu hücrelerdeki oksidatif stresi membrana bağlı anyon kanallarından içeri diffüze olma yoluyla indükler ve hücrede zincir

biyokimyasal reaksiyonları indükler (224). Nöronal ve astrositik reaktif oksijen ürünleri mitokondrial oksidasyon ile üretilirken, mikroglia gibi diğer hücre tiplerinde istilacı patojenlere yanıt olarak solunumsal patlama oluşturmak için sitozolik NADPH-oksidad sistemine dayanmaktadır. Ancak, glial hücrelere zıt olarak nöronlar onları oksidatif strese karşı daha duyarlı yapan endojen antioksidanlara görece düşük ekspresyon gösterirler (223).



Şekil 6: Nöronal redüksiyon-oksidadyon reaksiyonlarının oluşumu(223)

2.12.2. Adrenal Bezlerde Stres ile İlişkili Histolojik Değişiklikler

Adrenal bezler ya da diğer adıyla sürrenal bezler böbreküstünde çift halde yerleşmiş endokrin organlardır. Büyüklüğü sıçanlarda ortalama 6x5x3 mm, ağırlığı 21-32 mg.'dır. Dişilerde adrenal bezlerin ağırlığı erkek sıçanlara oranla %25 daha fazladır. Kesitlerinde adrenal bezler iki tabakaya ayrılır: dışta fibröz bir adrenal kapsülün altında korteks tabakası ile içte daha koyu renkte medulla tabakası bulunmaktadır. Korteks mezoderm orijindir ve kortikosteroidleri, mineralokortikoidleri, glukokortikoidleri ile az miktarda seks hormonlarını salgılar. Kortikosteroid salınımı ön hipofiz bezinden salgılanan ACTH hormonuna yanıt olarak gerçekleşir. İnsanlarda majör glukokortikoid kortizol, sıçanlarda ise kortikosterondur. Adrenal medulla nöral krest orijindir. Sempatik sinir sistemi tarafından kontrol edilir ve epinefrin ile norepinefrin olmak üzere katekolaminleri sentezler.

Sıçan adrenal korteksi histolojik olarak üç tabakadan oluşmaktadır. Bunlar zona glomerulosa, zona fasciculata ve zona reticularis'tir. Mineralokortikoid üretiminden sorumlu olan zona glomerulosa ince belirsiz yapıda bir ark şeklinde yer almaktadır. Kortikosteroid üretiminden sorumlu zona fasikulata sıçanlarda korteksin en kalın tabakasını oluşturur. Buna karşın seks steroidlerinin üretiminden sorumlu zona retikularis belirsizdir ve sıçanlarda androjenlerin sentezi 17 α -hidroksilaz yokluğu nedeniyle yeteri kadar gerçekleşemez (225).

Strese maruziyetin adrenal bezlerde morfolojik ve fonksiyonel değişikliklere neden olduğu bilinmektedir (226). Adrenal bezde, strese yanıt veren bir organ olarak, hem proliferasyon hem de hücre ölümünün görüldüğü dinamik yapısal değişiklikler meydana gelebilmektedir (227). HPA aksının aktivasyonu ACTH, glukokortikoid salınımı ve bezde bununla gelişen vaskularizasyon, hücrel hipertrofi ve hiperplaziyle sonuçlanan fizyolojik ve morfolojik yanıtları uyarır (228). Kronik stres uygulamasının özellikle kortikal zondaki değişime dayalı olarak adrenal bezde büyümeyle sonuçlandığı bilinmektedir (229).

Adrenal korteksin farklı zonlarındaki hücrel yer değiştirmeleri açıklamada çok sayıda farklı teori öne sürülmüştür. Migrasyon teorisi korteksin dış kısmındaki hücre göçünü açıklamada kullanılmaktadır. Bu teoriye göre bu hücrelerin glomerüler zondan fasiküler zona ve oradan da hücrelerin sonunda dejenere olduğu bölge olan retiküler zona göç ettiği görülmektedir (230). Bu teoriye alternatif olarak transformasyon teorisinde, glomerüler ve fasiküler zonlar arasında veya fasiküler zon ile retiküler zon arasında transformasyonun gerçekleştiği ve bunun intermediate zondan gelen proliferatif hücrelerin zonal dokuyla yer değiştirmesiyle olduğu öne sürülmektedir. Intermediate zon, glomerüler zon ve fasiküler zon arasında bulunmaktadır ve burada hücre göçü medullaya doğru ve kapsüle doğru olmak üzere iki zıt yönde gerçekleşir (230). Zonal teoride ise, hücrel proliferasyon ve apoptozun her kortikal zonda bağımsız olarak gerçekleştiğini varsaymaktadır (231).

Bir çalışmada kronik aralıklı immobilizasyon stresi uygulanan gebe sıçanların adrenal kortekslerindeki başta retiküler zon olmak üzere tüm zonlarda kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde TUNEL pozitif hücrelere rastlanmıştır (228). Blanco ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yine başta retiküler zonda olmak üzere tüm adrenokortikal zonlarda hücrelerde apoptoz yönünde değişim gösterilmiştir (232). Carsia ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ise fasiküler ve retiküler zonlarda apoptoz görülmesine karşın glomerüler zonda apoptoza rastlanamamıştır (233). Wolkersdorfer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tüm zonlarda apoptoz görülse de, apoptoza en fazla glomerüler zonda, en az olarak da retiküler zonda rastlanmıştır (230). İntihar etmiş bireylerin adrenal bezlerinin incelendiği bir çalışmada adrenal korteksin retiküler zon ve fasiküler zonunda büyüme görülmüştür (234). Hücre

proliferasyon indeksinin (CPI) değerlendirildiği bir çalışmada ise retiküler zonda hücrelerin proliferasyonunun diğer zonlara kıyasla belirgin olarak azaldığı tespit edilmiştir (228). Bu verilerle adrenal kortekste apoptozun diğer zonlar içerisinde en fazla retiküler zonda gerçekleştiği görülmektedir. Bunun nedeninin ise hücresel adezyonu sağlayan ve apoptozu inhibe eden trombospondin-2' nin ACTH tarafından uyarılarak ekspresyonunun ve sekresyonunun, fasiküler ve glomerüler zonlarda gerçekleşirken, retiküler zonda bu ekspresyon ve salınımın olmaması olduğu düşünülmektedir (235).

2.12.3. Timusta Stres ile İlişkili Histolojik Değişiklikler

Sıçanlarda timus ventral olarak torasik kavitenin anteriorunda yer alan ve birbirine istmus denen bölge ile bağlı iki lobdan oluşan bir organdır. Sıçanlarda timus boyutları 3-6 haftada son boyutuna ulaşır (vücut ağırlığının %4-8 'i). Yaşa bağlı atrofi makroskopik ve mikroskopik olarak gözlenir. Atrofinin düzeyi ırk, cinsiyet gibi faktörlere bağlı olarak farklılıklar göstermektedir. Timus, korteks ve medulla olmak üzere iki temel bölgeden oluşmaktadır. Bu alanlarda, timik epitelyal bölgede T hücre gelişimi görülmektedir. Perivasküler doku, fonksiyonel timik epitelyal bölgeyi sarar ve timik kapsül içinde uzanır. Timik korteks kapsülün altındadır ve organın perifer alanıdır. İçeriği esas olarak timositler olarak bilinen lenfositlerden ve daha az miktarda epitelyal hücrelerden oluşmaktadır. Korteksin boyutları yaşa bağlı olarak azalma göstermektedir. Timik medullada ise epitel hücreleri baskındır. Yaşı ilerleyen sıçanlarda, meduller hiperplazi 6 aydan sonra görülmektedir. Sıçanlarda timik involüsyon histolojik olarak kortekste matür lenfositlerin azalması ve bazı meduller hücre tiplerinin artması ile karakterizedir (225).

Programlı hücre ölümü olarak bilinen apoptoz, hücrenin büzülmesi, kromatin kondansasyonu, apoptotik cisimcikler ve DNA'nın fragmentasyonu ile karakterizedir (236,237). Timositlerin apoptozunun timusta T-hücre seçiminde fizyolojik olarak önemli rol oynadığı bilinmektedir (238). Bunun yanısıra, apoptozu in vitro olarak radyasyon ya da glukokortikoidler ile ve in vivo olarak yanık, hipoglisemi ya da egzersiz ile uyarılabilmektedir (239-243). Ayrıca iyi bilinen ve sıkça kullanılan bir emosyonel stres modeli olan immobilizasyon stresinin sıçanlarda timus atrofisine neden olduğu gösterilmiştir. Çeşitli stres türlerinde hipotalamo-hipofizo-adrenal (HPA) aksına adaptif yanıtların geliştiği görülmektedir (244,245). Ancak aşırı stresin timusta atrofiye neden olduğu ve bu nedenle immun sistem depresyonuna yol açtığı bilinmektedir (246). Stresin sıçanların timusunda hem korteks hem medulla tabakasında volumün ve derin korteks ile medulladaki timositlerin sayısının

azalmasına, timosit subpopulasyonlarının kompozisyonunun değişmesine neden olduğu ve apoptotik hücrelerin sayısı ile kortikosteron düzeyleri arasında pozitif korelasyonun bulunduğu çalışmalarla gösterilmiştir (246–249).



3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Deney Planı

Çalışmamız Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Deney Hayvanları Laboratuvarı'nda yapılmıştır. Bu çalışmanın tüm aşamaları Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayına uygun olarak gerçekleştirilmiştir.

Çalışmada, Fizyoloji Anabilim Dalı Deneysel Araştırmalar Biriminden 16 adet 18 haftalık yetişkin erkek Sprague Dawley sıçanlar (Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi, Deney Hayvanları laboratuvarı, İzmir, Türkiye) temin edilip kullanılmıştır. Her kafeste suya ve standart yemlerine serbest erişim sağlayabilen ikişer adet sıçan bulundurulmuştur. Toplamda 8 adet ikişerli kafes mevcuttur. Sıçanlar sabit oda sıcaklığında (22 ± 1 ° C), nemde (% 60), 12 saat ışık / 12 saat karanlık döngüsünde tutulmuştur. Sıçanlarda kafes arkadaşlığının oluşması için aynı ortamda ikişerli olarak 28 gün boyunca barındırılmıştır. Davranış çalışması olması nedeniyle de barınmada diğer laboratuvar hayvanlarından ayrı bir odada tutulmasına özellikle dikkat edilmiştir. Bu dönemi takiben, tüm sıçanlar 12 gün süren kafes arkadaşını kurtarmak için empati düzeneği ile kapı açmayı öğrenmek üzere eğitilmiştir. Bu eğitim sürecinin sonucunda sıçanlar öncelikle randomize olarak iki gruba ayrılmıştır.

Gruplar :

- 1) Kronik kısıtlama stresi uygulanan grup (n=8)
- 2) Kontrol grubu (stres uygulanmayan grup) (n=8)

Kronik kısıtlama stresi prosedürüne başlanmadan önce her iki grubun ağırlıkları tekrar ölçülmüştür. Stres gruplarına 14 gün boyunca günde 1 saat kısıtlama düzeneğinde kronik kısıtlama stresi protokolüne uygun olarak stres uygulanmıştır ve böylece kronik stres oluşturulmuştur (250). Kronik stres oluşturma döneminde, 7 günlük uygulamadan 24 saat sonra (8.gün), empati düzeneğinde eğitilmiş olan sıçanlara kapı açma uygulamasının hatırlatılması ile eğitim pekiştirilmiştir.

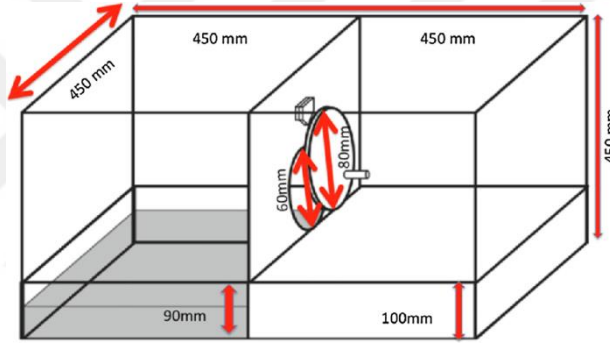
14 günlük kronik stres protokolünün bitiminin ertesi günü aşağıda belirtilen testler sakrifikasyon öncesi aşağıdaki sırayla uygulanmıştır:

- 1) Empati düzeneği
- 2) Açık alan testi
- 3) Yükseltilmiş artı labirent testi
- 4) Zorunlu yüzme testi

3.1.1.Kronik Stres Uygulaması Ve Davranış Testleri

Empati Düzeneği

Deneylem üzei Şeffaf, yanları siyah pleksiglas malzemeden üretilmiŐ, Şekilde ölçüleri ve yapısı belirtilen düzenek kullanılarak yapılmıştır (251) (**Şekil 7**).Kutunun tam ortasında, kutuyu iki eşit bölüme ayıran Şeffaf bölme bulunmaktadır. Alanlardan; kurtarıcı sıçanın bulunduğu bölümün zemini, havuz bölmesine göre 100 mm yüksekte yer almaktadır. Yan bölme ise içine su konmaya uygun Şekilde 90 mm aşağıda yer almaktadır. İki bölmeyi ayıran Şeffaf kısmın tam ortasında 60 mm çapında, iki bölme arası geçiŐin sağlanabildiği delik ve deliği kapatan 80 mm çapında bir de kapı mevcuttur. Kapının ortasında sıçanların kapıyı açabilmesine yarayan bir de kol mevcuttur. Sıçanlar kapıyı, kol ile yana doğru iterek ya da kaydırarak açabilmektedir.



Şekil 7: Empati test düzeneği (252)

Kapı Açmayı Öğretme Süreci

Öncelikle, kafeslerde ikili olarak barındırılan ve birbirine alışması sağlanan sıçanlardan, her kafesten rastgele bir tanesi seçilerek kuyruğu boyanmıŐtır. Şekil 7'deki platform kullanılarak, her bir kafesteki kuyruğu boyalı sıçan önce kurtarıcı bölmesine, kuyruğu boyalı olmayan sıçan ise havuz bölmesine konulmuştur. Kurtarma bölümündeki sıçanların beş dakika içerisinde düzeneğin ortasında yer alan kapıyı iterek havuz bölümündeki sıçanı kurtarması beklenmiŐtir. Kurtarma bölümü ve havuz bölümündeki sıçanlar, düzeneğe aynı anda bırakılmışlardır ve bırakıldıkları anda kronometre kaydı baŐlatılmıŐtır. Sıçan beş dakika içerisinde ya da beş dakikanın sonunda kapı açma davranışı gösterdiğinde, süre saniye cinsinden kaydedilmiştir ve kullanılan sıçan için o günkü deney kurtarıcı olarak sonlandırılmıştır. Havuz bölümünde kurtarılmayı bekleyen sıçanların sıçrayarak düzenekten

kurtulmalarını önlemek amacıyla, düzeneğin üzeri deney süresince şeffaf pleksiglas malzemedan kapak konularak kapatılmıştır. Deney bitiminde, hem havuz bölmesinde hem de kurtarma bölmesindeki hayvanlar kafeslerine geri bırakılmışlardır. Her bir deney bitiminde kurtarma bölmesi ve kapı kurulanmış, idrar ve dışkıdan arındırılmıştır. Daha sonra diğer kafese geçilmiştir.

Bir diğer kafesteki kuyruğu boyalı sıçan; düzenekteki kurtarma bölmesine, kuyruğu boyasız sıçan ise havuz bölmesine konulmuştur. Aynı deney protokolü tüm kafeslerdeki kuyruğu boyalı sıçanların kurtarma davranışları test edilinceye kadar sürdürülmüştür. Bu şekilde kuyruğu boyalı sıçanlar için o günkü test sona ermiştir. Bu defa da aynı kafeste yer alan sıçanların düzenekteki konumları değiştirilerek; kuyruğu boyasız sıçanlar kurtarma bölmesine, kuyruğu boyalı sıçanlar ise havuz bölmesine konulmuştur. Böylece kuyruğu boyasız sıçanların da yardım etme davranışları, aynı deney protokolüne uygun olacak şekilde kaydedilmiştir. Bu deneyler 12 gün boyunca kapı açmayı öğretme süreci kapsamında tekrarlı uygulanmıştır. Yineleyen dört günün üçünde 60 saniye içerisinde kapıyı açmaları öğrenme kriteri olarak kabul edilmiştir. Deney protokolü 9:00-13:00 saatleri arasında uygulanmıştır. 12 günlük süreçte, tekrarlayan dört günün üçünde 60 saniye içinde kapı açmayan hayvan bulunmadığından, tüm hayvanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Tüm hayvanlar empati deneylerinin deney protokolünü tamamlamışlardır. 12 günlük kapı açmayı öğretme sürecinin sonunda 16 sıçan rastgele; kontrol (n=8), kronik kısıtlama stresi uygulanan grup (n=8) olmak üzere iki gruba ayrılmıştır.

Kronik Stres Uygulaması

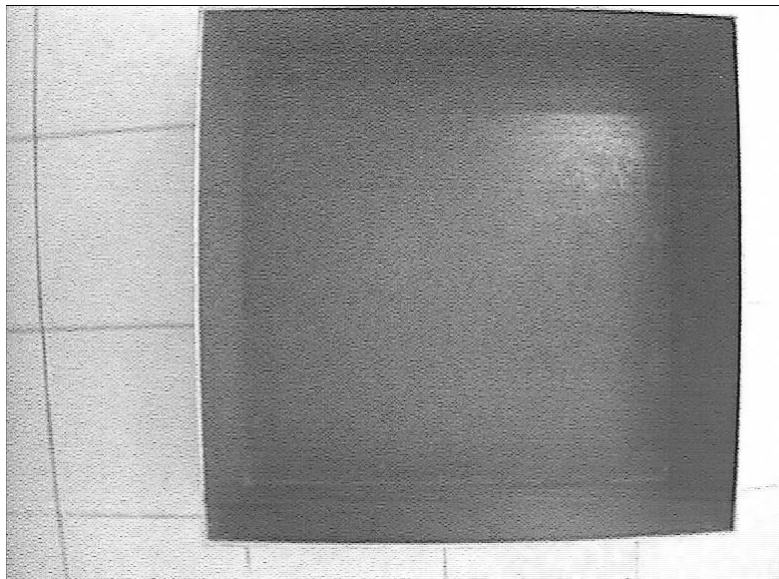
Kronik stres uygulanacak gruba çalıştığımız laboratuvarında bulunan kısıtlama düzeneği aracılığı ile kronik kısıtlama stresi uygulanmıştır. Pleksiglastan yapılmış silindir şeklindedir ve üzerinde hayvanın hava almasını sağlayacak delikler mevcuttur. İlgili düzenekte stres grubuna 14 gün boyunca her gün aynı saatte günde 1 saat kısıtlama düzeneğinde kronik kısıtlama prosedürüne uygun olarak kısıtlama stresi uygulanmıştır ve böylece kronik stres oluşturulmuştur (250) (Şekil 8). Her kısıtlama stresi uygulanması sonrasında kısıtlama düzenekleri% 70'lik alkol ile ardından da akar halde su ile temizlenmiş, bunun yanında gruptaki her hayvan için ayrı bir düzenek sadece o sıçanın kullanımına ayrılmıştır.



Şekil 8: Kronik kısıtlama stresi uygulaması

Açık Alan Testi

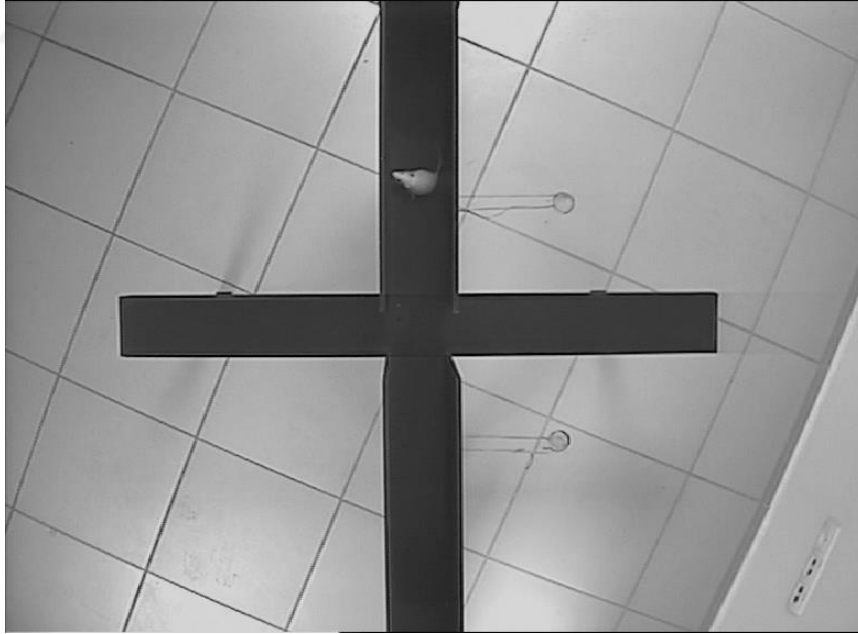
Açık alan testi 1932’de Calvin S. Hall tarafından kemirgenlerin hassasiyetini keşfetmek için geliştirilmiştir(253). Açık alan testi için 1×1 metre boyutlarında bir alan kullanılmış ve bu alan 35 lükslük bir ışık kaynağı ile aydınlatılmıştır.(Şekil 9) Açık alan testinde zemin 16 eşit kareye bölünmüştür (4’ü merkezde, %25, 12’si kenarlarda, %75). Deney hayvanı alanın tam ortasına konup beş dakika süren test boyunca alan içindeki hareketleri kamera ile kaydedilerek analiz edilmiştir. Her bir hayvanın testinin ardından tüm test alanları % 70’lik alkol ile temizlenmiştir. Sistem otomatik olarak alanın kenarlarında ve ortasında geçirdiği süreleri kaydederek vermektedir. Testin kayıtlarında ve analizinde deneyin uygulandığı laboratuvarında bulunan ‘Noldus Ethovision XT video tracking sistemi’ kullanılmıştır.



Şekil 9: Açık alan testi düzeneği

Yükseltilmiş Artı Labirent Testi

Yükseltilmiş artı labirent testi için zeminden 75 cm yükseklikte, merkezde 5×5 cm'lik bir merkez platform ile yanlarda 50 cm uzunluğunda, 10 cm genişliğinde, 0.5 cm yüksekliğinde duvarları bulunan iki açık ve 50 cm uzunluğunda, 10 cm genişliğinde, 40 cm yüksekliğinde duvarları bulunan iki kapalı koldan oluşan, deneyin yapıldığı laboratuvarında bulunan düzeneğe kullanılmıştır (Şekil 10). Deney hayvanı açık kollardan birine bakacak şekilde merkez platforma bırakılarak beş dakika boyunca kamera ile izlenmiş, açık ve kapalı kollara giriş sayısı ile merkez platformda ve kollarda geçirilen süre ölçülmüştür (254). Her bir hayvanın testinin ardından tüm test alanları % 70'lik alkol ile temizlenmiştir. Bu testin kayıtlarında ve analizinde deneyin yapıldığı laboratuvarında bulunan 'Noldus Ethovision XT video tracking sistemi' kullanılmıştır.



Şekil 10: Yükseltilmiş artı labirent (YAL) testi düzeneği

Zorunlu Yüzme Testi

Zorunlu yüzme testi; tekrarlanabilirliği yüksek, hızlı ve kolay bir test oluşu nedeni ile tercih görmektedir. Porsolt tarafından geliştirilmiş, modifiye Zorunlu yüzme testi Broom ve arkadaşları tarafından 2002’de tanımlanmıştır (255). Bu prosedür, potansiyel olarak öğrenmenin ve hayvanların maruziyet öncesi aparata adaptasyonunu önlemek için seçilmiştir. 30 cm derinliğinde 25° C (\pm 1° C) (45 cm boyunda x 20 cm çapında) dolu silindirik pleksiglas bir kaba suda 6 dakika yüzmek üzere yerleştirildi (Şekil 11). Her bir hayvan için uygulaması arasında silindirler temizlendi ve temiz su konuldu. 6 dakikalık yüzme periyodu ‘Noldus Ethovision XT video tracking sistemi’ ile kaydedildi ve davranışlar her 5 sn’de bir deney sürecini bilmeyen bir uygulayıcı tarafından kontrol edildi. Davranışlar; immobilitate, yüzme ve tırmanma olarak sınıflandırıldı (255).



Şekil 11: Zorunlu yüzme testi düzeneği

3.1.2.Sakrifikasyon ve Doku Ayrımı

Davranış testlerinin bitiminde, CO₂ gazı inhalasyonu ile oluşturulan anestezi altında kalp sol ventrikülünden deneğin tüm kanının alınmasıyla yaşamı sonlandırılmıştır.

Tüm grupların beyinleri çıkarılmış, biyokimyasal analizler için amigdala ve prefrontal korteks dokuları ayrılmıştır. Histolojik incelemeler için beyin, timus ve adrenal bezler çıkarılmıştır. Tüm dokular ölçümler yapılana kadar -80°C' de saklanmıştır.

3.1.3.Örneklerin Hazırlanması

Serumların hazırlanması

Sakrifikasyon esnasında kalbin sol ventrikülünden alınan kan örnekleri 1000xg'de 15 dakika +4°C'de santrifüje edilmek suretiyle serumları ayrılmıştır. Ayrıştırılan serumlar kortikosteron ELISA ölçümleri yapılana kadar -80°C' de saklanmıştır.

Doku homojenatlarının hazırlanması

Sakrifikasyon sonrası -80°C' de saklanan prefrontal korteks (PFC) ve amigdala dokuları ilk olarak hassas doku tartısı ile tartıldı. Ardından dokular, çelik boncuklar kullanılarak Doku ağırlığı (g) : PBS hacmi (ml) oranı 1:10 olacak şekilde PBS eklenerek Biospec Mini-Beadbeater-16 (BioSpec Products Inc., USA) ile homojenize edildi. pH:7.4 korunarak, homojenatlara 5000g'de 15 dakika süresince 4°C'de santrifüj işlemi uygulandı. Edinilen süpernatantlar tüm biyokimyasal analizlerde kullanıldı.

3.1.4.Biyokimyasal Analizler

PFC ve amigdala beyin bölgelerinde serum kortikosteron seviyesi, OXT ve AVP seviyeleri ve BCA protein ölçümü ELISA yöntemi ile kit protokolüne uygun olarak ölçülmüştür.

Kortikosteron Analizi

Serum kortikosteron analizleri Bioassay Technology Laboratory Rat CORT(corticosterone) ELISA kiti: (katalog no: E0496Ra, Shanghai, China) kullanılarak gerçekleştirildi. Kitin duyarlılığı 0.24 ng/ml, tespit edilebilir aralığı ise 0.5-100 ng/ml idi.

Elisa kit içeriği:

- 1- 96 kuyucuktan oluşan mikroküvet
- 2- Standart solüsyon (112ng/ml)
- 3-Streptavidin-HRP
- 4-Stop solüsyonu
- 5-Substrat solüsyonu A
- 6-Substrat solüsyonu B
- 7-Konsantre yıkama solüsyonu (x30)
- 8-Biyotinize rat CORT antikoru

Kit içeriğinin hazırlanması:

- 1-Kullanım öncesi kit ve örnekler 30 dakika bekletilerek oda ısısına (18-25°C) getirildi.
- 2-Yıkama solüsyonu: Konsantre yıkama solüsyonundan 20 ml alınarak 25:1 oranında distile su ile seyreltilerek hazırlandı.
- 3-Standart çalışma solüsyonu: 120 µl standart solüsyon (112 ng/ml) 120 µl standart dilüent ile 56ng/ml standart stok solüsyonu oluşacak şekilde sulandırıldı. Sonrasında seri dilüsyonlar yapıldı.

Dilüsyon metodu: standart stok solüsyon, standart diluent ile seri olarak seyrelterek 28ng/ml, 14 ng/ml, 7 ng/ml, 3.5 ng/ml lik solüsyonlar hazırlandı. Standart diluent de 0 standart olarak kabul edildi.

Analizin yapılışı:

- 1-ELISA plağındaki ilk sütuna 50 µl standartlar ve kör eklendi. Diğer kuyucuklara 40 µl olmak üzere örnekler konuldu. Ardından örneklerin olduğu kuyucukların her birine 10 µl anti-CORT antikoru eklendi. Daha sonra 50 µl streptavidin-HRP örnek ve standart kuyucuklarına

eklendi (blank kontrol kuyucuğu hariç). Karıştıktan sonra bir kapatıcı yardımıyla kapatıp 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.

2-İnkübasyon sonrası kuyucuklarda bulunan solüsyon dikkatlice döküldü. Yıkama işlemi için tüm kuyucuklara 0.35 ml yıkama solüsyonu eklenerek bu şekilde 1dk bekletildi ve sonrasında dikkatlice döküldü. Plağı temiz bir kurutma kağıdına vurmak suretiyle kuyucuklarda kalan solüsyon uzaklaştırıldı. Bu yıkama işlemi beş kez tekrarlandı.

3-Her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu A eklendi, ardından 50 µl de substrat solüsyonu B eklendi. Yeni bir kapatıcıyla kapatılarak 37°C’de 10 dakika karanlıkta bekletildi.

4-Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi rengin hızla sarıya döndüğü gözlemlendi.

5-Stop solüsyonu eklendikten 10 dakika sonra 450 nm’de microplate okuyucuda (ELx800, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) absorbans ölçümü yapıldı.

Oksitosin Analizi

PFC ve amigdala OXT analizleri Bioassay Technology Laboratory Rat oxytocin ELISA kiti (katalog no:E1216Ra, Shanghai, China) kullanılarak gerçekleştirildi. Kitin duyarlılığı 1.08ng/L, tespit edilebilir aralığı ise 2ng/L – 600ng/L idi.

Elisa kit içeriği:

- 1-Standart Solüsyon (640ng/L)
- 2- 96 kuyucuktan oluşan mikroküvet
- 3-Standart Diluent
- 4-Streptavidin-HRP
- 5-Stop Solüsyonu
- 6-Substrat Solüsyonu A
- 7-Substrat Solüsyonu B
- 8-Konsantre yıkama solüsyonu (25x)
- 9-Biotinize rat OXT Antikoru

Kit içeriğinin hazırlanması:

1-Kullanım öncesi kit ve örnekler 30 dakika bekletilerek oda ısısına (18-25°C) getirildi.

2- Yıkama solüsyonu: Konsantre yıkama solüsyonundan 20 ml alınarak 25:1 oranında distile su ile seyreltilerek hazırlandı.

3-Standart çalışma solüsyonu: 120 µl standart solüsyon (640 ng/ml) 120 µl standart dilüent ile 320 ng/ml standart stok solüsyonu oluşacak şekilde sulandırıldı. Sonrasında seri dilüsyonlar yapıldı.

Dilüsyon metodu: standart stok solüsyon, standart dilüent ile seri olarak seyrelterek 160ng/ml, 80 ng/ml, 40 ng/ml, 20 ng/ml lik solüsyonlar hazırlandı. Standart dilüent de 0 standart olarak kabul edildi.

Analizin yapılışı:

1-ELISA plağındaki ilk sütuna 50 µl standartlar ve kör eklendi. Diğer kuyucuklara 40 µl olmak üzere örnekler konuldu. Ardından örneklerin olduğu kuyucukların her birine 10 µl anti-OXT antikor eklendi. Daha sonra 50 µl streptavidin-HRP örnek ve standart kuyucuklarına eklendi (blank kontrol kuyucuğu hariç) Karıştıktan sonra bir kapatıcı yardımıyla kapatıp 37°C’de 60 dakika inkübe edildi.

2-İnkübasyon sonrası kuyucuklarda bulunan solüsyon dikkatlice döküldü. Yıkama işlemi için tüm kuyucuklara 0.35 ml yıkama solüsyonu eklenerek bu şekilde 1dk bekletildi ve sonrasında dikkatlice döküldü. Plağı temiz bir kurutma kağıdına vurmak suretiyle kuyucuklarda kalan solüsyon uzaklaştırıldı. Bu yıkama işlemi beş kez tekrarlandı.

3-Her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu A eklendi, ardından 50 µl de substrat solüsyonu B eklendi. Yeni bir kapatıcıyla kapatılarak 37°C’de 10 dakika karanlıkta bekletildi.

4-Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi rengin hızla sarıya döndüğü gözlemlendi.

5-Stop solüsyonu eklendikten 10 dakika sonra 450 nm’de microplate okuyucuda (ELx800, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) absorbans ölçümü yapıldı.

Vasopressin Analizi

PFC ve amigdala AVP analizleri Bioassay Technology Laboratory Rat ADH/VP/AVP (Antidiuretic Hormone) ELISA kiti (katalog no:E0385Ra, Shanghai, China) kullanılarak gerçekleştirildi. Kitin duyarlılığı 0.13ng/L, tespit edilebilir aralığı ise 0.2ng/L – 70ng/L idi.

Elisa kit içeriği:

- 1-Standart solüsyon (80ng/L)
- 2-96 kuyucuktan oluşan mikroküvet
- 3-Standart dilüent
- 4-Streptavidin-HRP
- 5-Stop Solüsyonu
- 6-Substrat Solüsyonu A
- 7-Substrat Solüsyonu B
- 8- Konsantre yıkama solüsyonu (25x)
- 9-Biotinize Rat ADH/VP/AVP Antikoru

Kit içeriğinin hazırlanması:

- 1-Kullanım öncesi kit ve örnekler 30 dakika bekletilerek oda ısısına (18-25°C) getirildi.
 - 2- Yıkama solüsyonu: Konsantre yıkama solüsyonundan 20 ml alınarak 25:1 oranında distile su ile seyreltilerek hazırlandı.
 - 3-Standart çalışma solüsyonu: 120 µl standart solüsyon (80 ng/ml) 120 µl standart dilüent ile 40 ng/ml standart stok solüsyonu oluşacak şekilde sulandırıldı. Sonrasında seri dilüsyonlar yapıldı.
- Dilüsyon metodu: standart stok solüsyon, standart diluent ile seri olarak seyrelterek 20ng/ml, 10 ng/ml, 5 ng/ml, 2.5 ng/ml lik solüsyonlar hazırlandı. Standart diluent de 0 standart olarak kabul edildi.

Analizin yapılışı:

1-ELISA plağındaki ilk sütuna 50 µl standartlar ve kör eklendi. Diğer kuyucuklara 40 µl olmak üzere örnekler konuldu. Ardından örneklerin olduğu kuyucukların her birine 10 µl anti-ADH/VP/AVP antikoru eklendi. Daha sonra 50 µl streptavidin-HRP örnek ve standart kuyucuklarına eklendi (blank kontrol kuyucuğu hariç) Karıştıktan sonra bir kapatıcı yardımıyla kapatıp 37°C'de 60 dakika inkübe edildi.

2-İnkübasyon sonrası kuyucuklarda bulunan solüsyon dikkatlice döküldü. Yıkama işlemi için tüm kuyucuklara 0.35 ml yıkama solüsyonu eklenerek bu şekilde 1dk bekletildi ve sonrasında dikkatlice döküldü. Plağı temiz bir kurutma kağıdına vurmak suretiyle kuyucuklarda kalan solüsyon uzaklaştırıldı. Bu yıkama işlemi beş kez tekrarlandı.

3-Her kuyucuğa 50 µl substrat solüsyonu A eklendi, ardından 50 µl de substrat solüsyonu B eklendi. Yeni bir kapaticıyla kapatılarak 37°C’de 10 dakika karanlıkta bekletildi.

4-Her kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklendi, mavi rengin hızla sarıya döndüğü gözlemlendi.

5-Stop solüsyonu eklendikten 10 dakika sonra 450 nm’de microplate okuyucuda (ELx800, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) absorbans ölçümü yapıldı

BCA Protein Analizi

PFC ve amigdala protein analizleri Thermo scientific Pierce™ BCA Protein Assay Kit (katalog no: 23227, Pierce™, USA) kullanılarak gerçekleştirildi. Tüm sonuçlar doku başına mg protein cinsinden ölçüldü. Absobans değışiklikleri mikroplate okuyucu (ELx800, BioTek Instruments, Inc.Winooski, VT, USA) ile ELISA kitleri için 450 nm’de ve protein analizleri için 560 nm’de ölçüldü.

Kit içeriği:

1-BCA Reaktifi A

2- BCA Reaktifi B

3- Protein standardı (Albumin)

4- Protein standart dilüenti

Analizin yapılışı:

1- Protein standardı 1 ml protein standart dilüenti ile karıştırdı. Böylece 10 mg/ml konsantrasyonunda stok solüsyonu elde edildi.

2- Stok solüsyonu 1 mg/ml konsantrasyonda dilüe edildi.

3- BCA çalışma solüsyonunun hazırlanması: reaktif A ve reaktif B 50:1 oranında karıştırdı.

4- Standart solüsyondan sırayla 0, 5, 25, 50, 125, ve 250 µl alınarak kuyucuklara konuldu. Her kuyucuğa standart diluent eklenerek hacim 250 µl’ye tamamlandı.

5- Örneklerden 25 µl alınarak mikroplaktaki diğer kuyucuklara eklendi.

6- Her bir kuyucuğa 200 µl BCA çalışma solüsyonu eklendi ve 37°C 'de 30 dk inkübasyona bırakıldı.

7- 562 nm'de microplate okuyucuda (ELx800, BioTek Instruments, Inc., Winooski, VT, USA) absorbans ölçümü yapıldı.

3.1.5.Histolojik İncelemeler

Beyin bölgelerinin, adrenal bezlerin ve timusun Hematoksilen-eozin boyamaları yapıldı ve Milipore Apoptag Plus Peroxidase in situ Apoptosis detection kit (S7101, lot no: 2739121, Temecula-CA, USA) kullanılarak TUNEL boyama ile adrenal bezlerde ve timusta apoptoz tayini yapıldı.

Hematoksilen-Eozin Boyaması

Tüm gruptaki doku örneklerinden H&E ve TUNEL boyamaları için Rotary mikrotom (Leica RM2125RT, Nussloch; Germany) aracılığı ile alınan 5µm'luk parafin kesitler deparafinizasyon işlemi için 1 gece 60°C'lik etüve bırakıldıktan sonra, 30'ar dakika iki değişim ksilene tabi tutuldu. Ardından rehidratasyon işlemi için 2'şer dakika %95'den %60'a azalan alkol serilerinden geçirilen kesitler 5 dakika akarsu altında yıkandı. 2 dakika hematoksilin (01562E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) ile boyamanın ardından, fazla boyanın dokudan uzaklaştırılması için 5 dakika akarsuda yıkanan kesitler asit alkola batırılıp çıkarıldıktan sonra tekrar 5 dakika akarsuda yıkandı ve 30 saniye eozin (01602E, Surgipath, Bretton, Peter Borough, Cambridgeshire) boyası ile boyandı. Aynı şekilde 5 dakika akarsu altında yıkama yapıldıktan sonra sırasıyla %80 ve %95'lik alkol serilerinden geçirilip havada kurutulan kesitler şeffaflaştırma amacıyla 30'ar dakika iki değişim ksilende tutulduktan sonra entellan (UN 1866, Merck, Darmstadt, Germany) ile kapatıldı (Tablo 1).

Tablo 1: Hematoksilen-eozin boyama protokolü

İŞLEM	MADDE	SÜRE
DEPARAFİNİZASYON		60°C ETÜVDE 1 GECE
	KSİLEN	30 DAKİKA
	KSİLEN	30 DAKİKA
REHİDRATASYON	% 95 ALKOL	2 DAKİKA
	% 80 ALKOL	2 DAKİKA
	% 70 ALKOL	2 DAKİKA
	% 60 ALKOL	2 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
BOYAMA	HEMATOKSİLEN	5 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
DİFERANSİYASYON	ASİT-ALKOL	1-2 SANİYE
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
BOYAMA	EOZİN	3 DAKİKA
YIKAMA	AKAR SU	5 DAKİKA
	% 80 ALKOL	1 DAKİKA
	% 90 ALKOL	1 DAKİKA
	KSİLEN	1 SAAT
KAPATMA	ENTELLAN	

TUNEL Boyaması

TUNEL yöntemi ile apoptotik hücre ölümünün belirlenmesinde TUNEL Chromogenic Apoptosis Detection kiti 5 µm kalınlığındaki parafin bloklardan alınmış kesitlere uygulandı. Kesitler 1 gece 60°C'lik etüvde ısı ile deparafinize edildi. Ardından 2x5 ksilen ile kimyasal deparafinize edildi. Azalan alkol serileri ile 5'şer dakika (%95, %80, %70, %60) rehidratasyon uygulandıktan sonra dokular 5 dakika PBS ile oda ısısında yıkandı. 1/500 oranında PBS ile dilüe edilen 20-µg/ml proteinase K 30 dakika doku kesitlerine uygulandı. 2x5 PBS ile yıkamayı takiben TdT-enzimi ile nemli atmosferik ortamda 37 °C de 120 dakika plastik cover slipler kesitleri kapatacak şekilde konarak tutuldu. 15 dakikalık SSC yıkamasının ardından 10 dakika PBS ile oda ısısında yıkandı. 3- 5 dakika hidrojen peroksit uygulanması sonrası 5 dakika PBS ile oda ısısında yıkandı ve 1/500 oranında PBS ile hazırlanan Streptavidin HRP solüsyonu ile 30 dakika oda ısısında inkübasyona tabi tutuldu. 5 dakika PBS ile oda ısısında yıkandıktan sonra DAB ile boyama yapıldı ve birkaç kere distile su ile yıkandı. Artalan boyaması Mayer's Hematoksileni ile yapıldı.

Kör yöntemle TUNEL pozitif hücreler saptandı. Negatif kontrol için Tdt enzimi yerine PBS kullanıldı. Ortalamalar istatistiksel olarak değerlendirildi. Sayım işlemi kesit üzerinde X 40 oküler merceğinde her dokuda nekroz alanları bulunmayan, homojen kahverengi boyanmış apoptotik hücreler sayıldı. TUNEL pozitif hücrelerin yoğunluğu, pozitif boyanmış hücrelerin yüzdesine dayanarak aşağıdaki şekilde skorlandı: negatif, <% 5; zayıf,% 5 ila% 35; orta,% 35 ila% 70; ve güçlü,>% 70.

Tablo 2:TUNEL Boyama Protokolü

İŞLEM	SÜRE
KSİLEN	10 DK
%95 ALKOL	5 DK
%80 ALKOL	5 DK
%70 ALKOL	5 DK
%60 ALKOL	5 DK
PBS İLE YIKAMA	5 DK
DOKUNUN ETRAFINI ÇİZME	
PROTEAZ K EKLENEREK, COVER SLİP İLE KAPATMA	30 DK
PBS İLE YIKAMA	10 DK
TdT SOLÜSYONU EKLENEREK COVER SLİP İLE KAPATILIR. 37°C'DE İNKÜBE EDİLİR	120 DK
SSC İLE YIKAMA	15 DK
STREPTAVİDİN HRP SOLÜSYONU	60 DK
DOKULARIN ÜZERİNE 50- 100 µL DAB SUBSTRAT EKLENİR.	GÖZ İLE TAKİP
PBS VE DİSTİLE SU İLE YIKAMA 3 KEZ	2 DK
MAYERS HEMATOKSİLEN İLE BOYAMA	1 DK
DİSTİLE SU İLE YIKAMA	2 DK
%80 ALKOL	DALDIR ÇIKAR
%95 ALKOL	DALDIR ÇIKAR
KAPAMA	

3.1.6. Etik Kurul Değerlendirmesi

Dokuz Eylöl Üniöersitesi Tıp Faköltesi Hayvan Deneöleri Yerel Etik Kurulu tarafından 23/11 /2017 tarih ve 22/2017 karar numarası ile araştırma etik kurul tarafından incelenmiş ve etik açıdan çalışmanın gerçekleştirilmesinin uygun olduğuna oy birliği ile karar verilmiştir (bkz: Ek 1).

3.1.7. İstatiksel Değerlendirme

Bulguların istatistiksel analizi için SPSS 25.0 (SPSS, Chicago, IL, USA) bilgisayar paket programı kullanıldı. Sayısal değişkenlerin normalliği Shapiro-Wilk normallik testi ve q-q grafikleri ile değerlendirildi. Kronik stresin empati davranışı üzerindeki etkisini incelemek üzere iki grubun karşılaştırılmasında bağımsız t testi kullanıldı. Kapıyı açma sölrelerinin 12 göl boyunca karşılaştırılması tekrarlı ölölmlerde tek yönlöl varyans analizi ile değerlendirildi. Gruplar arası korelasyon Pearson korelasyon analizi ile belirlendi. Sonuçlar “ortalama \pm standart sapma” şeklinde belirtildi. $p < 0,05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

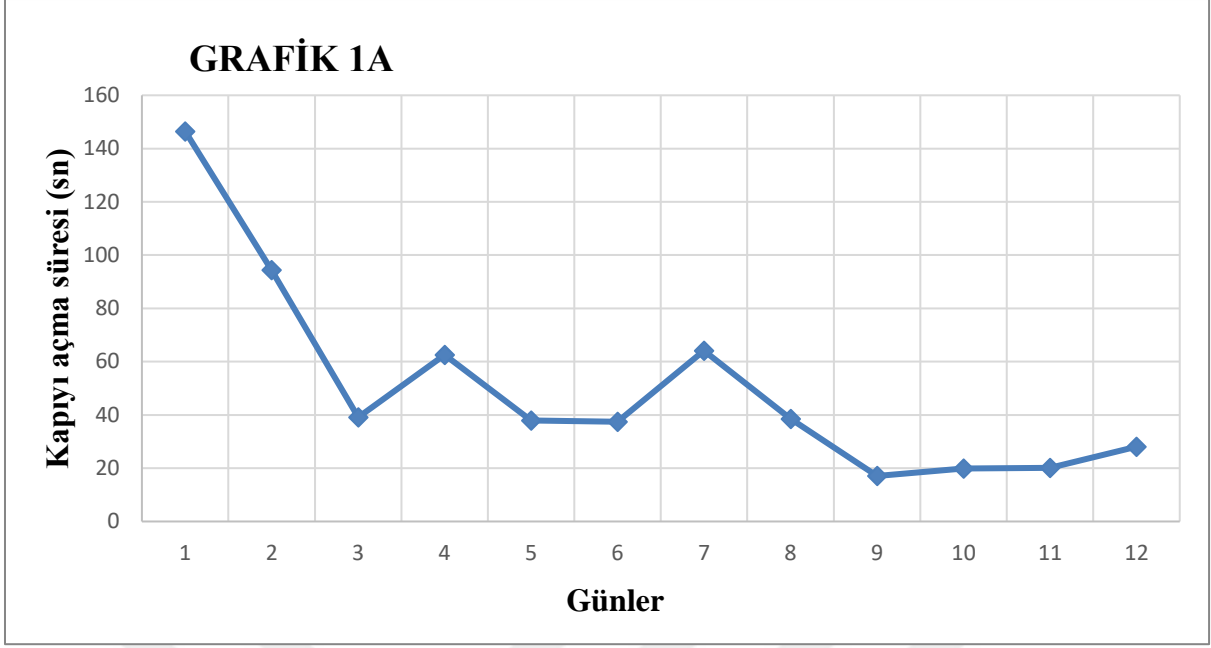
4.BULGULAR

4.1.Davranış Testlerinin Bulguları:

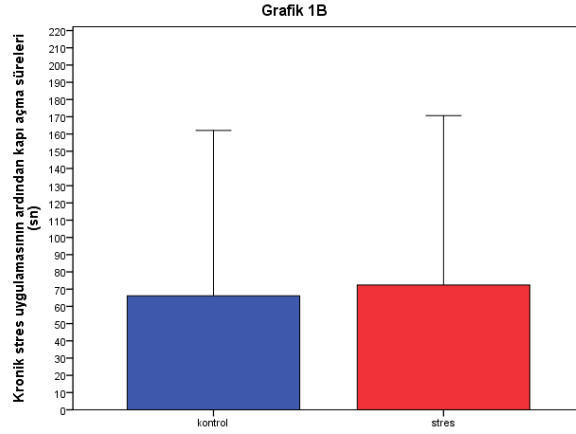
4.1.1.Empati Testi Bulguları:

TABLO 3: 12 gün süren empati öğrenme sürecinde tüm sıçanların kapıyı açma süreleri (sn)

Hayvan no	1.gün	2.gün	3.gün	4.gün	5.gün	6.gün	7.gün	8.gün	9.gün	10.gün	11.gün	12.gün
1	55	10	14	8	7	15	25	4	11	5	7	22
2	67	25	54	30	21	24	20	29	54	12	15	65
3	48	8	13	1	11	2	10	20	15	14	8	9
4	300	300	300	36	14	11	2	10	6	10	3	2
5	27	34	12	78	1	2	13	7	1	3	8	7
6	61	14	11	22	24	8	1	8	11	34	57	12
7	300	300	17	155	49	22	300	19	9	22	35	10
8	32	15	15	300	15	12	7	300	10	38	12	38
9	300	300	10	142	20	10	11	3	13	4	84	4
10	300	27	27	11	15	2	31	5	27	6	18	34
11	300	300	17	20	12	40	8	5	20	15	35	40
12	36	73	23	90	25	10	12	12	36	62	11	58
13	2	40	11	18	15	8	10	15	12	10	13	9
14	300	18	4	5	3	19	300	7	26	24	65	28
15	32	15	8	17	3	14	34	19	28	26	19	49
16	28	33	20	30	300	300	28	54	16	14	20	40



Empati testi düzeneğinde kapı açma sürelerinin ortalamaları tüm hayvanlarda progresif azalma göstermiştir ($F_{1, 16} = 16.435, p < 0.0001$) (Grafik 1A).



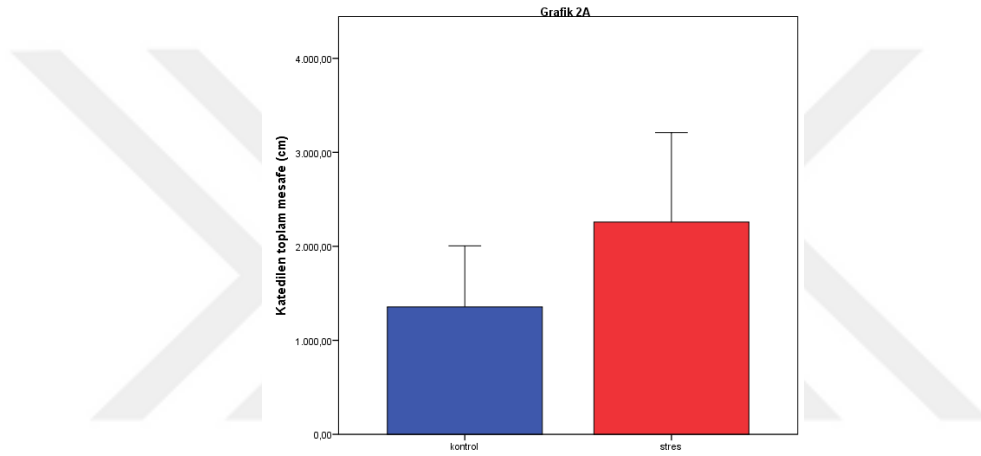
Kronik stres uygulamasının ardından elde edilen kapı açma süreleri kıyaslandığında gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p = 0.959$) (Grafik:1B).

4.1.2. Açık Alan Testi Bulguları:

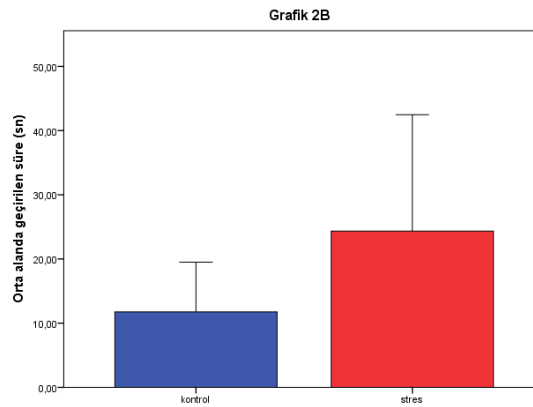
TABLO 4: Açık alan testi bulguları

GRUPLAR	Katedilen Toplam Mesafe (cm)	Orta Alanda Geçirilen Süre (sn)	Thigmo Alanında Geçirilen Süre (sn)	Ortalama Hız (cm/sn)
Kontrol	1356 ± 649,2	11,7 ± 7,7	249,4 ± 42,5	4,5 ± 2,1
Kronik stres	2258,2 ± 951,3	24,3 ± 18,1	183,4 ± 60,1	7,5 ± 3,1

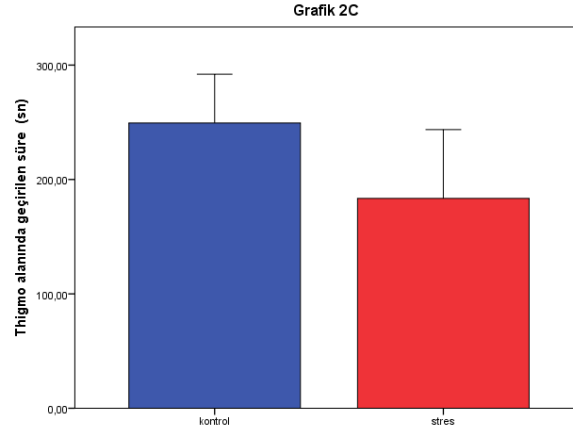
(Bulgular; ± standart sapma şeklinde verilmiştir.)



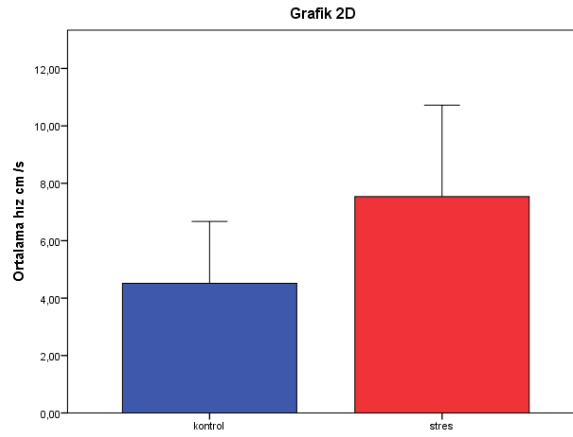
Açık alan testinde katedilen toplam mesafede gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır. ($p=0.065$) (Grafik 2A).



Açık alan testinde orta alanda geçiren sürede gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır. ($p=0.161$) (Grafik 2B).



Açık alan testinin kenar zonlarında geçirilen süreler kontrol grubunda kronik stres grubuna kıyasla anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0.028$) (Grafik: 2C).



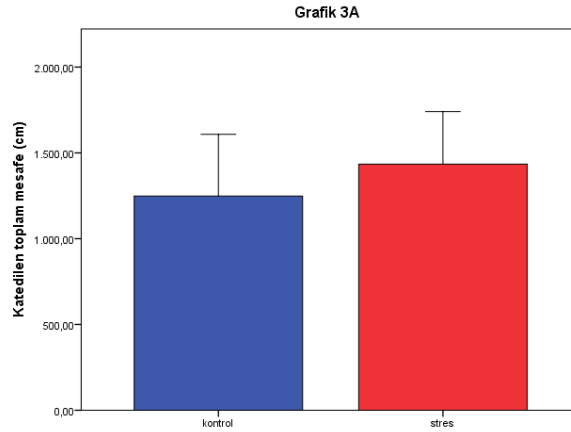
Açık alan testinde grupların ortalama hızları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.065$) (Grafik: 2D).

4.1.3. Yükseltmiş Artı Labirent Testi Bulguları

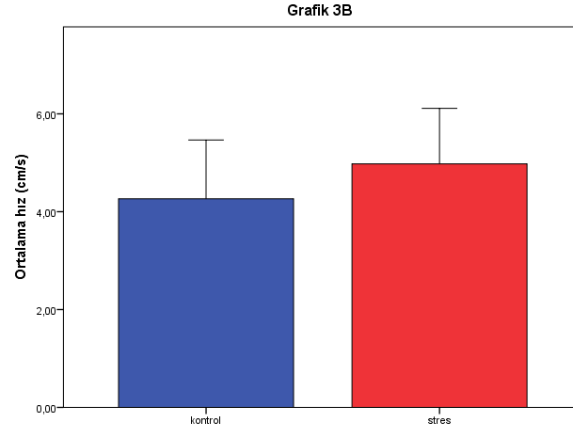
TABLO 5: Yükseltmiş artı labirent testi bulguları

GRUPLAR	katedilen toplam mesafe (cm)	ortalama hız (cm/sn)	açık kollarda geçirilen süre (sn)	açık kollar frekansı	kapalı kollarda geçirilen süre (sn)	kapalı kollar frekansı	ortak alanda geçirilen süre (sn)	ortak alan frekansı
Kontrol	1248,2±359,8	4,2 ± 1,1	16 ± 33,4	4,1 ±3,9	254,7±53,6	10,6±8,3	29,1±23,2	13,7±11,1
Kronik stres	1434,6±305,9	4,9 ± 1,1	18,4 ± 16,8	6 ± 5,8	248 ± 31,3	16,8±8,2	33,4±17,9	21,8±11,5

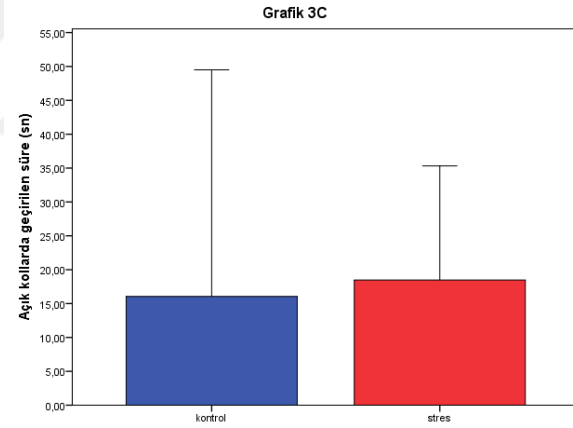
(Bulgular; ± standart sapma şeklinde verilmiştir.)



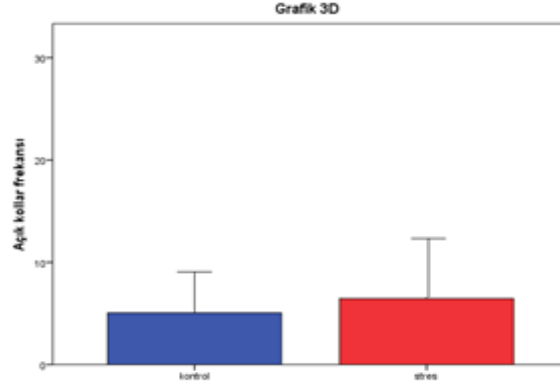
Yükseltmiş artı labirent testinde (YAL) katedilen toplam mesafelerde gruplar arası anlamlı farklılık bulunmamıştır ($p=0.279$) (Grafik: 3A).



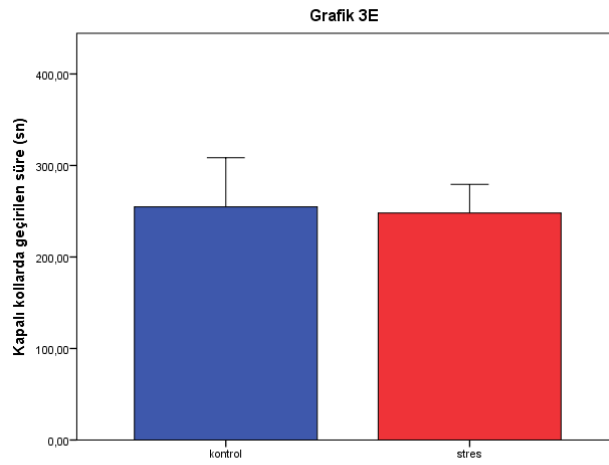
Yükseltilmiş artı labirent testinde gruplar arası ortalama hız değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.195$) (Grafik: 3B).



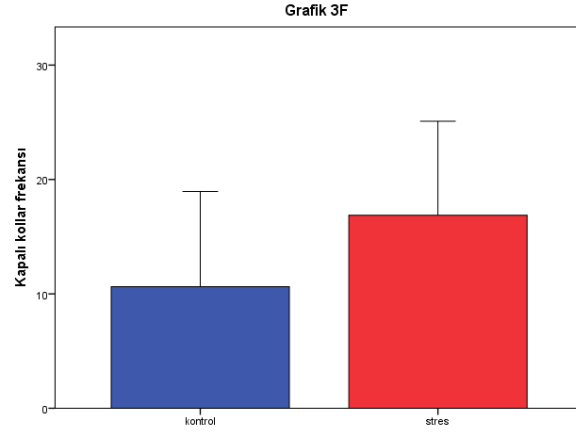
Yükseltilmiş artı labirent testinin açık kollarında geçirilen sürelerde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.195$) (Grafik 3C).



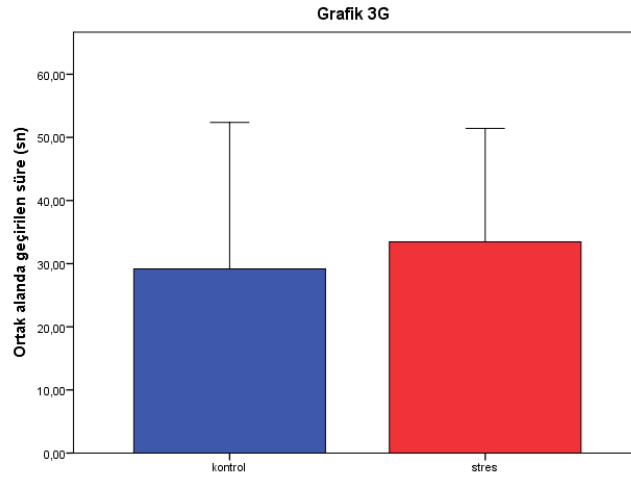
Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların açık kol frekansları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.645$) (Grafik: 3D).



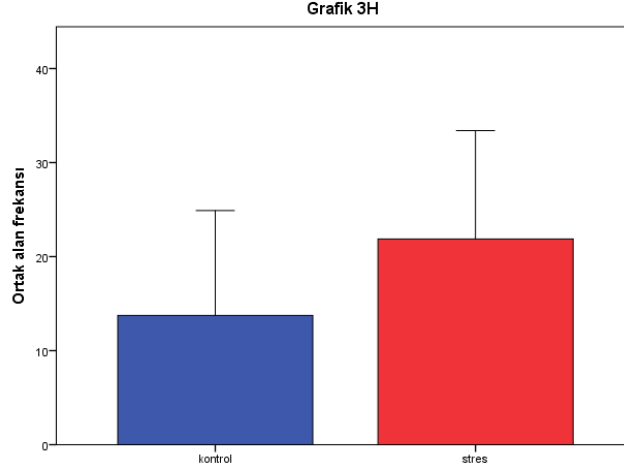
Yükseltilmiş artı labirent testinde kapalı kollarda geçirilen sürelerde gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.279$) (Grafik: 3E).



Yükseltilmiş artı labirent testinde grupların kapalı kol frekansları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.161$) (Grafik: 3F).



Yükseltilmiş artı labirent testinin ortak alanında geçirilen sürelerde gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.645$) (Grafik: 3G).



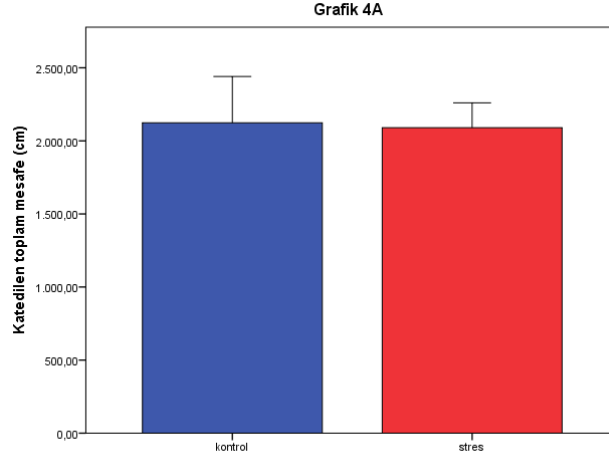
Yükseltilmiş artı labirent testinde ortak alan frekansında gruplar arası anlamlı fark saptanmamıştır ($p=0.130$) (Grafik: 3H) .

4.1.4.Zorunlu Yüzme Testi Bulguları

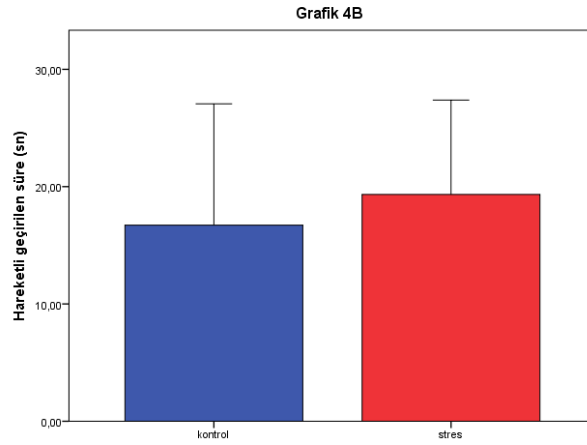
TABLO 6: Zorunlu yüzme testi bulguları

GRUPLAR	Toplam katedilen mesafe(cm)	Hareketli geçirilen süre (sn)	Hareketsiz geçirilen süre (sn)	Ortalama hız (cm/sn)
Kontrol	2124 ± 316,2	16,7 ± 10,3	343,1 ± 10,3	5,9 ± 0,8
Kronik stres	2090,1 ± 170,1	19,3 ± 8	340,5 ± 7,9	5,8 ± 0,4

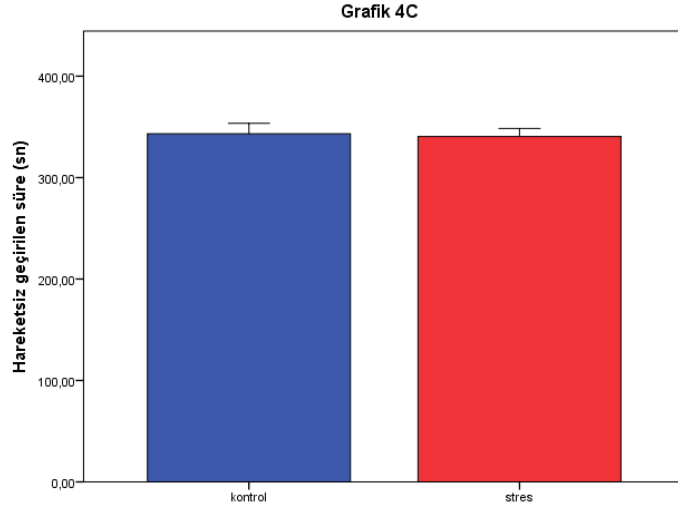
(Bulgular; ± standart sapma şeklinde verilmiştir.)



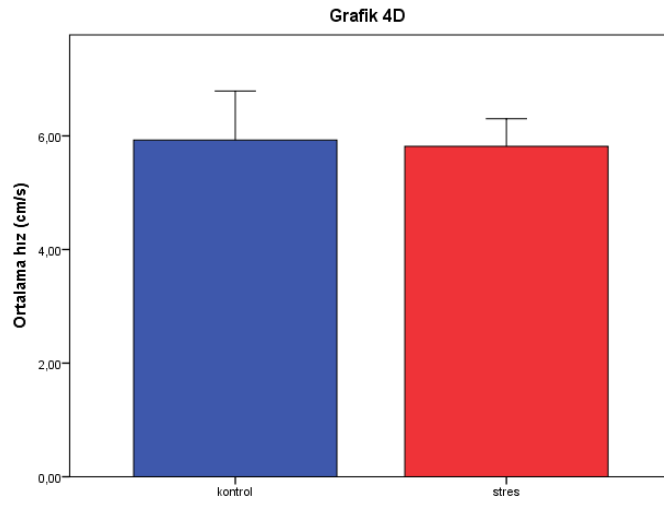
Zorunlu yüzme testinde toplam katedilen mesafede gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.959$) (Grafik: 4A).



Zorunlu yüzme testinde grupların hareketli geçirilen süreleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.442$) (Grafik: 4B).



Zorunlu yüzme testinde grupların hareketsiz geçirilen süreleri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.442$) (Grafik: 4C).



Zorunlu yüzme testinde grupların ortalama hızları arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.959$) (Grafik: 4D).

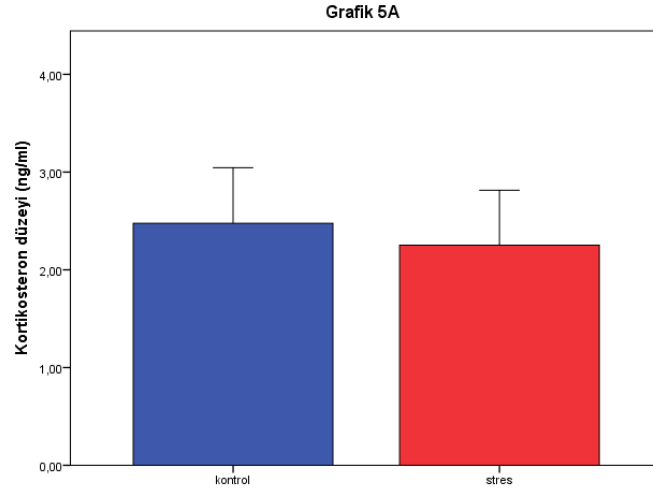
4.2.Biyokimyasal Analizlerin Bulguları

TABLO 7: Biyokimyasal analiz bulguları

GRUPLAR	Oksitosin Düzeyi (pg/mg protein)		Vazopressin Düzeyi (pg/mg protein)		Serum Kortikosteron Düzeyi (ng/ml)
	Prefrontal Korteks	Amigdala	Prefrontal Korteks	Amigdala	
Kontrol	2,4 ± 1	5,9 ± 0,9	0,2 ± 0,9	0,5 ± 0,04	2,4 ± 0,5
Kronik stres	2,4 ± 0,9	8,3 ± 2,1	0,2 ± 0,1	0,9 ± 0,2	2,2 ± 0,5

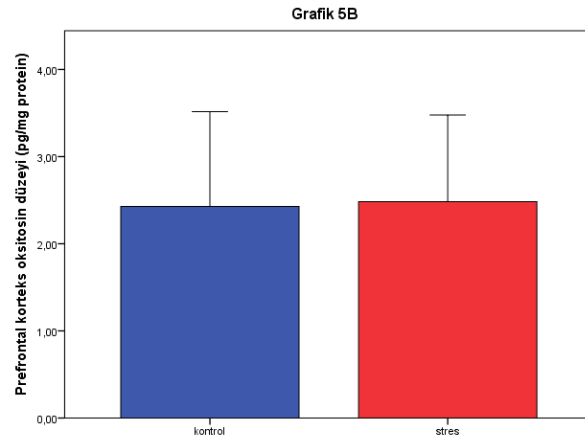
(Bulgular; ± standart sapma şeklinde verilmiştir.)

4.2.1.Serum Kortikosteron Düzeyi Bulguları

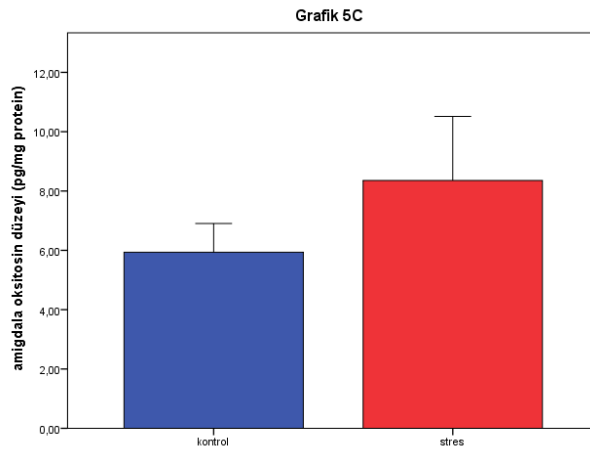


Serum kortikosteron düzeylerinde gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır (p=0.699) (Grafik: 5A).

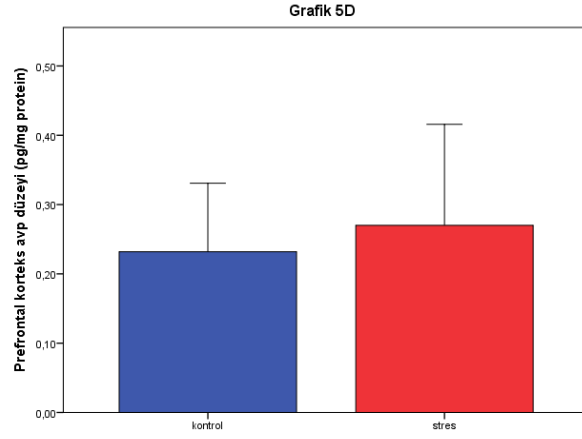
4.2.2.Beyin Dokusu Oksitosin Ve Vazopressin Düzeyi Bulguları



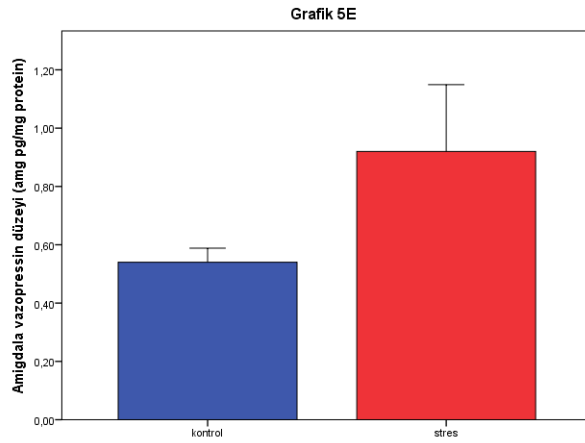
Prefrontal korteks oksitosin düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p=0.931$) (Grafik 5B).



Amigdala oksitosin düzeylerinde gruplar arası anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p=0.063$) (Grafik 5C).



Prefrontal korteks vazopressin düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p=0.662$) (Grafik 5D).



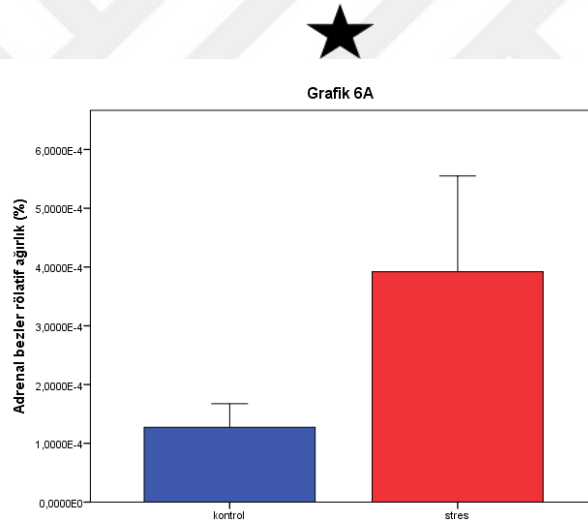
Amigdala vazopressin düzeyleri kronik stres grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı artış göstermiştir ($p=0.016$) (Grafik 5E).

4.3.Histolojik İncelemelerin Bulguları

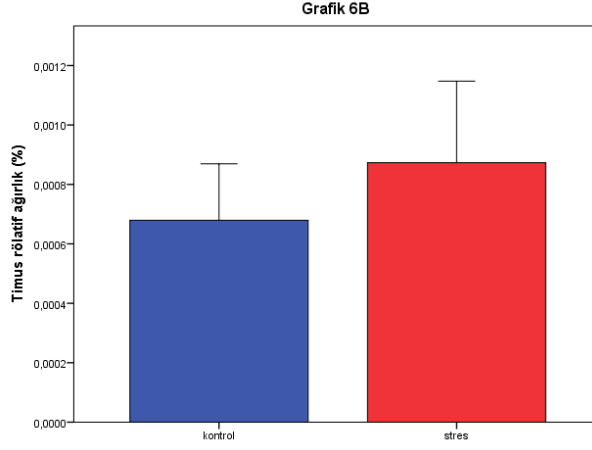
TABLO 8: Histolojik inceleme bulguları

GRUPLAR	Adrenal bez rölatif ağırlıkları (%)	Timus rölatif ağırlıkları (%)	Adrenal bez apoptotik hücre oranı (%)
Kontrol	0,001 ± 0,00004	0,006 ± 0,0001	36,4 ± 9,4
Kronik stres	0,003 ± 0,00016	0,008 ± 0,0002	67,1 ± 16,7

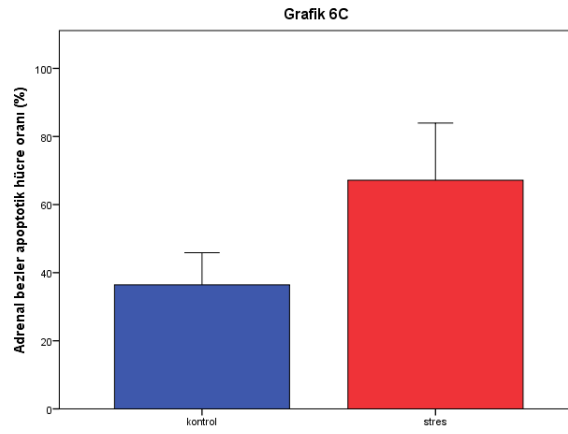
(Bulgular; ± standart sapma şeklinde verilmiştir.)



Adrenal bez rölatif ağırlıkları kronik stres grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı yüksek saptanmıştır ($p < 0.001$) (Grafik 6A).



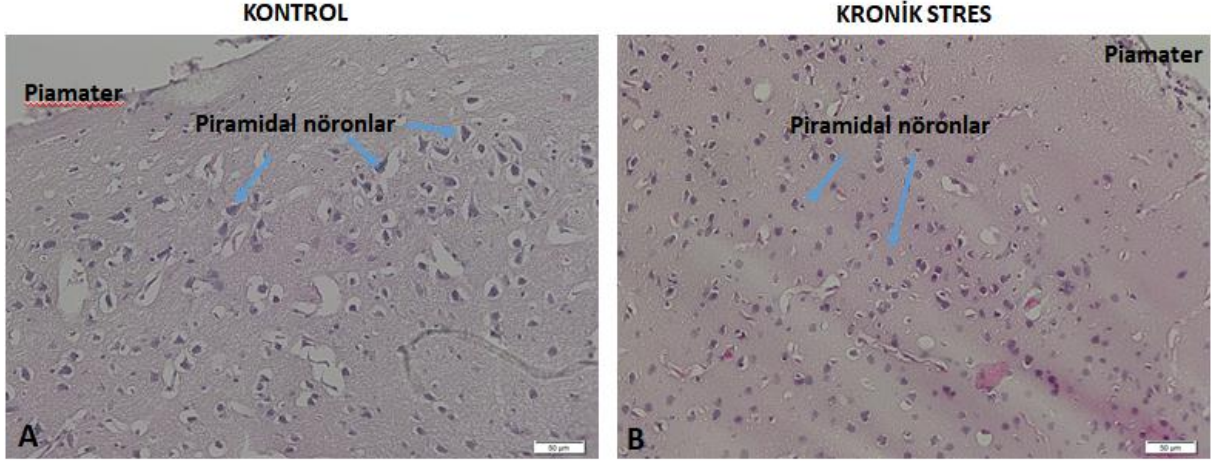
Timus rölatif ağırlıklarında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p=0.195$) (Grafik 6B).



Adrenal bez apoptotik hücre oranları kronik stres grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek saptanmıştır ($p=0.002$) (Grafik 6C).

4.3.1.Hematoksilen & Eozin Boyama Bulguları

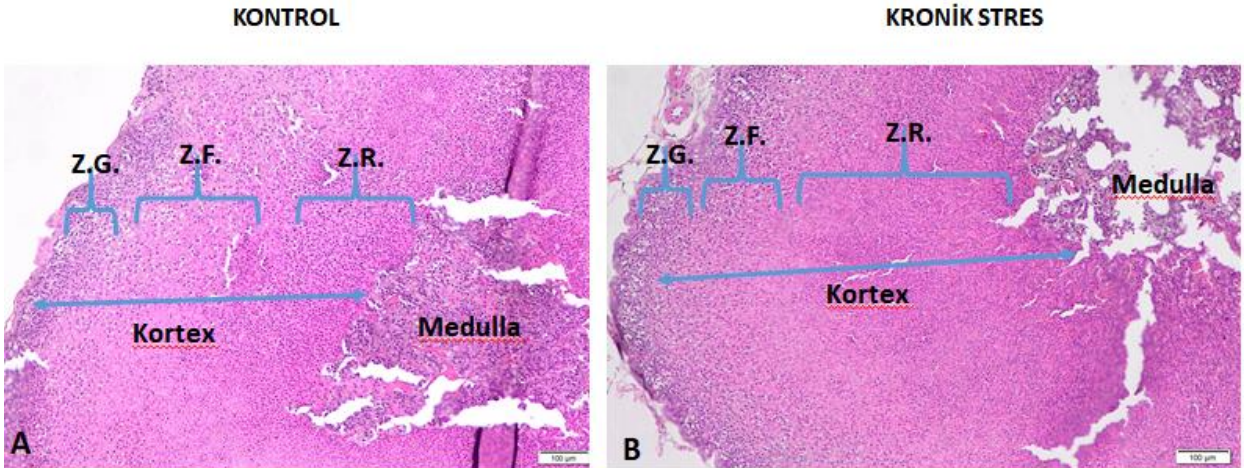
Beyin



Şekil 12: Kronik stres ve kontrol gruplarının beyin korteks dokusu H&E boyaması

Beyin korteks dokusunun kontrol ve kronik stres gruplarına ait Hematoksilen&Eozin ile boyanmış resimleri görülmektedir. Kontrol grubunda özellikle piramidal nöronların nöritik-akson uzantıları belirgin olarak görülmekle birlikte stres grubundaki piramidal nöronlarda bu uzantıların azalmış olduğu fark edilmektedir (A, B;X200).

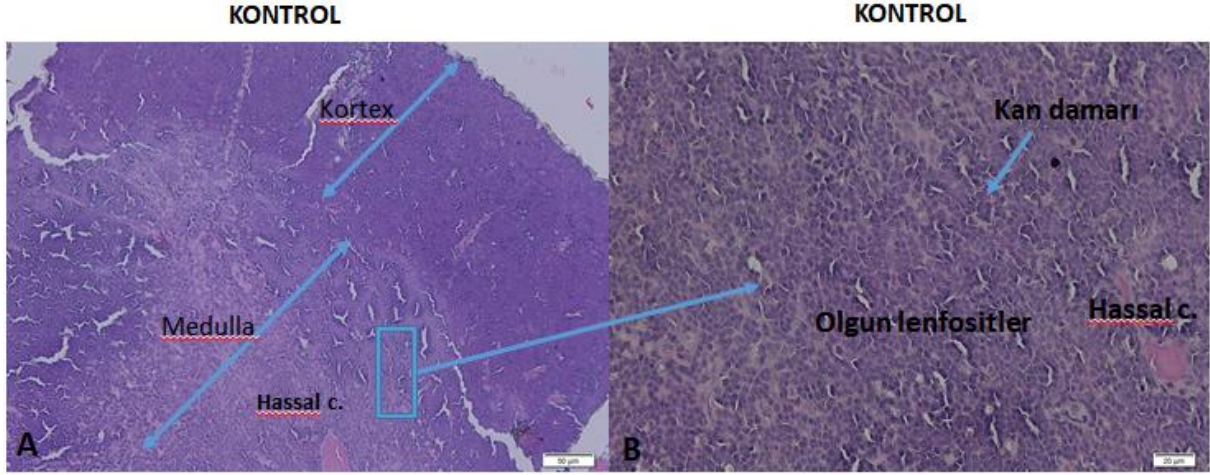
Adrenal Bez



Şekil 13: Kronik Stres Ve Kontrol Gruplarının Adrenal Bez H&E Boyaması

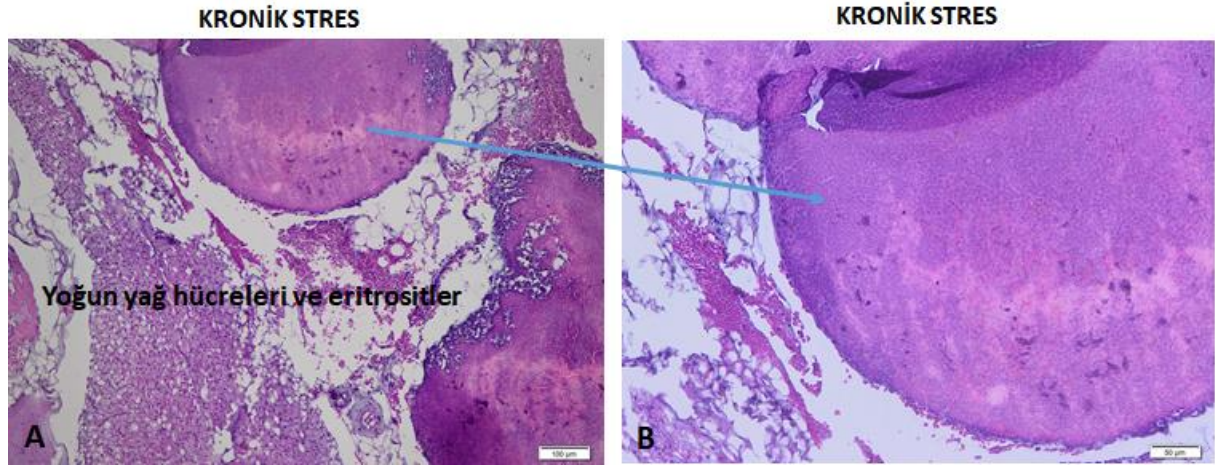
Adrenal bez kontrol ve kronik stres gruplarına ait Hematoksilen&Eozin ile boyanmış resimleri görülmektedir. Kronik strese bağlı kortikal zonda ve özellikle retiküler zonda büyüme görülmektedir. Zonlar arasındaki sınırların belirginliği azalmıştır. Z.G; Zona glomeruloza, Z.F; zona fasikülata, Z.R; Zona retikülaris.(A,B; x100).

Timus



Şekil 14: Kontrol grubunun timus H&E boyaması

Timusun kontrol grubuna ait Hematoksilen&Eozin boyanmış resimleri görülmektedir. Timus dokusunun tipik korteks ve medulla tabakaları ayırt edilmektedir. Korteks; henüz olgun olmayan yoğun lenfositlerden dolayı daha bazofilik görülmektedir. Medullada ise olgunlaşan matür lenfositler, kan damarları ve Tip 6 epitelyal retiküler hücre olan Hassal cisimciği gösterilmiştir (A;X200, B;X400).



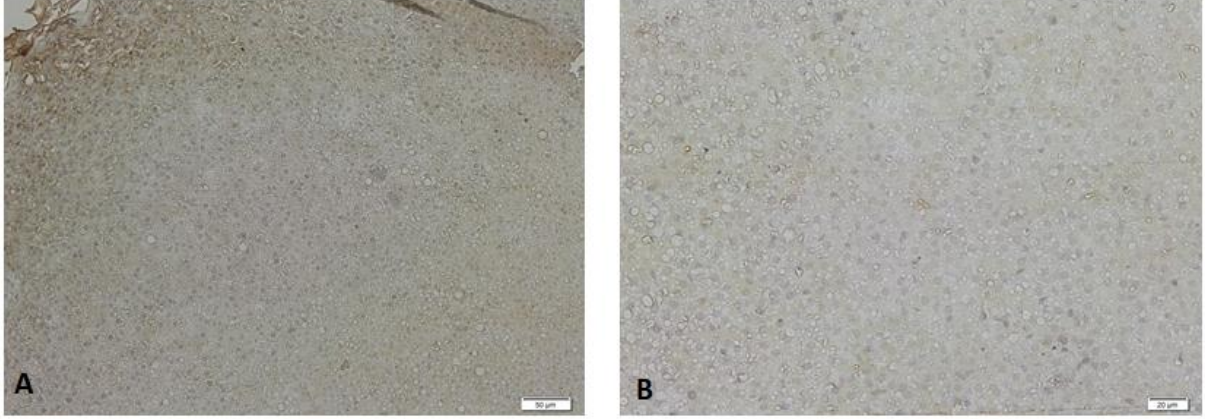
Şekil 15: Kronik stres grubunun timus H&E boyaması

Timusun kronik stres grubuna ait Hematoksilen&Eozin boyanmış resimleri görülmektedir. Korteks ve medulla ayırımı net yapılamamaktadır. Bu nedenle olgun lenfositler ayırt edilememektedir. Timus dokusu küçülmüş olup etrafında yoğun yağ hücreleri, artmış bağ doku ve eritrosit hücreleri görülmektedir (A;X100, B;X200).

4.3.2.Tunel Boyama Bulguları

Adrenal Bez

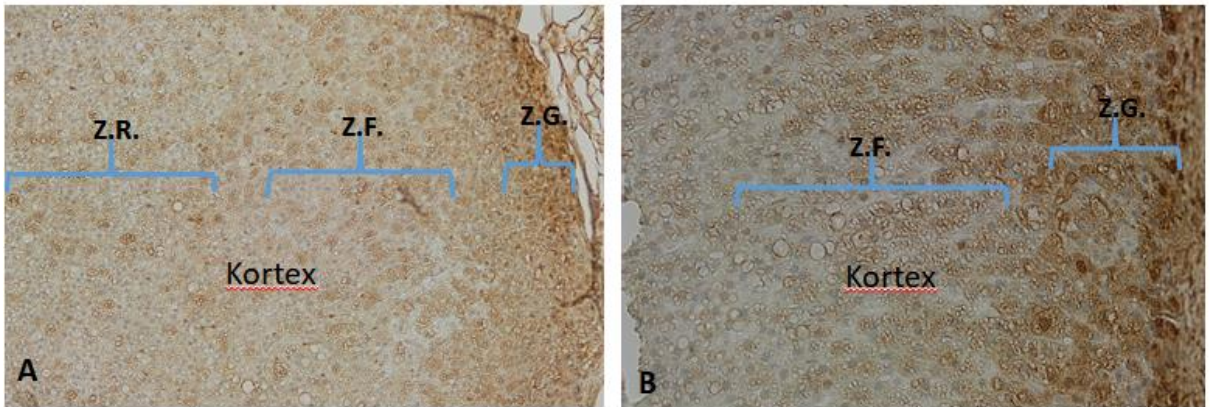
KONTROL GRUBU



Şekil 16: Kontrol grubunun adrenal bez TUNEL boyaması

Adrenal bez Kontrol grubuna ait resimler görülmektedir. TUNEL yöntemi uygulanmış adrenal bez resimlerinde tüm zonlardaki hücrelerde neredeyse hiç apoptotik hücre görülmemektedir (A;X20, B;X40).

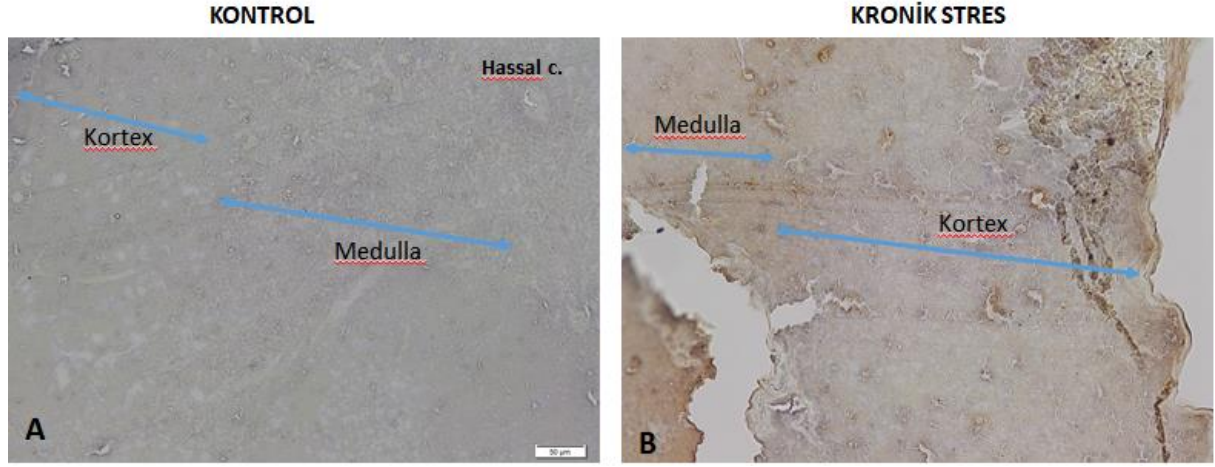
KRONİK STRES GRUBU



Şekil 17: Kronik stres grubunun adrenal bez TUNEL boyaması

Adrenal bez kronik stres grubuna ait resimler görülmektedir. TUNEL yöntemi uygulanmış adrenal bez resimlerinde tüm zonlarda apoptozun olduğu TUNEL(+) hücreler görülmektedir. Özellikle glomerüler zonda apoptotik hücre yoğunluğunun artmış olduğu görülmektedir (A;X20, B;X40).

Timus

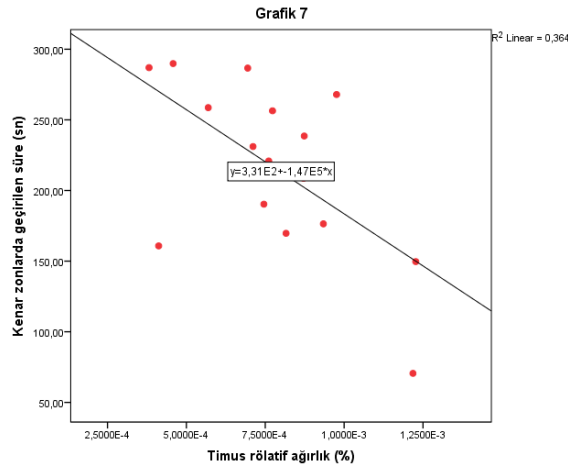


Şekil 18: Kontrol ve kronik stres gruplarının timus TUNEL boyaması

Timus Kontrol (A) ve Kronik stres (B) gruplarına ait resimler görülmektedir. TUNEL yöntemi uygulanmış timus dokularında Kontrol grubunda apoptotik hücre görülmezken, Kronik stres grubunda hem korteks hem medulla tabakalarında apoptotik hücreler görülmektedir (A;X20, B;X20).

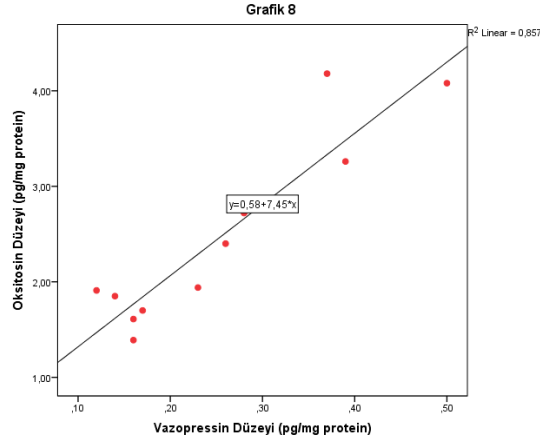
4.4.Korelasyon Analizlerinin Bulguları

Açık alan testinin kenar zonlarında geçirilen süreler ile timus rölatif ağırlıkları arasında negatif korelasyon saptanmıştır ($r = -0,613$ $p = 0,013$) (Grafik 7).



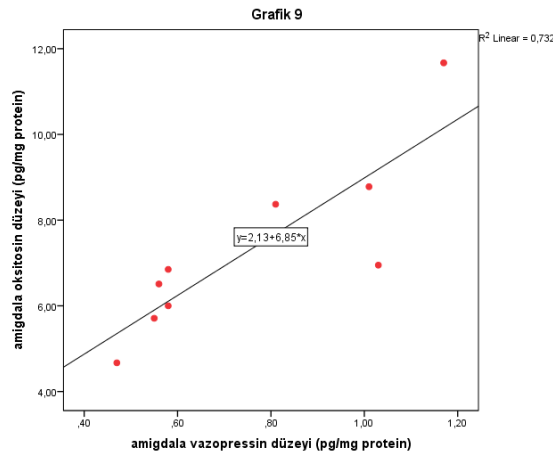
Grafik 7: Açık alan testinin kenar zonlarında geçirilen süreler ile timus rölatif ağırlıkları arası korelasyon grafiği

Prefrontal korteks oksitosin düzeyleri ile prefrontal korteks vazopressin düzeyleri arasında güçlü pozitif korelasyon saptanmıştır ($r=0,925$ $p<0001$) (Grafik 8).



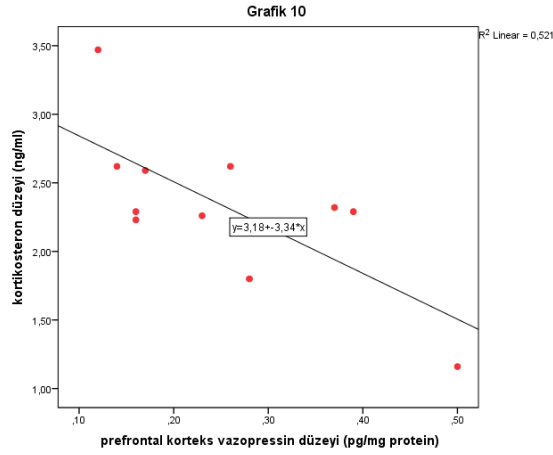
Grafik 8: Prefrontal korteks oksitosin düzeyleri ile prefrontal korteks vazopressin düzeyleri arası korelasyon grafiği

Amigdala oksitosin düzeyleri ile amigdala vazopressin düzeyleri arasında güçlü pozitif korelasyon saptanmıştır ($r=0,856$ $p=0,03$) (Grafik 9).



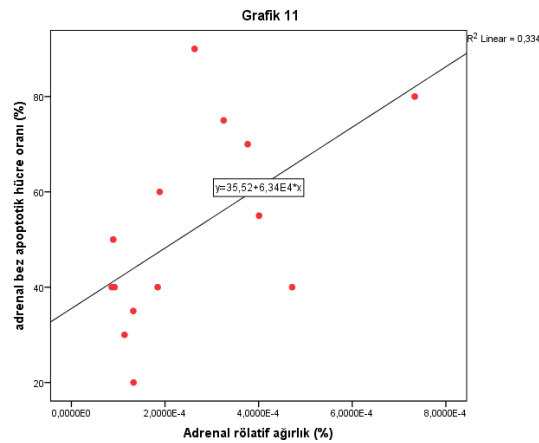
Grafik 9: Amigdala oksitosin düzeyleri ile amigdala vazopressin düzeyleri arası korelasyon grafiği

Serum kortikosteron düzeyleri ile prefrontal korteks vazopressin düzeyleri arasında güçlü negatif korelasyon saptanmıştır ($r = -0,722$ $p = 0,012$) (Grafik 10).



Grafik 10: Serum kortikosteron düzeyleri ile prefrontal korteks vazopressin düzeyleri arası korelasyon grafiği

Adrenal bez apoptotik hücre oranları ile adrenal bez rölatif ağırlıkları arasında pozitif korelasyon saptanmıştır ($r = 0,578$ $p = 0,031$) (Grafik 11).



Grafik 11: Adrenal bez apoptotik hücre oranları ile adrenal bez rölatif ağırlıkları arası korelasyon grafiği

5.TARTIŞMA

Stres; fiziksel, davranışsal ve/veya nöropsikiyatrik bulguların ortaya çıkmasına neden olabilen hem insanların hem de hayvanların biyolojik yapısını etkileme özelliğine sahip önemli bir çevresel faktördür (12). Strese karşı fizyolojik yanıt birbirinden farklı ancak ilişki halinde iki sistem olan hipotalamo-hipofizo-adrenal (HPA) aksın ve sempato-adrenal sistemin (SAS) aktivasyonu ile oluşur. Bu aktivasyonun sonucunda plazma katekolamin ve glukokortikoid (GK) düzeylerinde artış gerçekleşir. ‘Savaş ya da kaç’ durumunda hayatta kalmada kortizol, adrenalin ve noradrenalin düzeyi artışı ile metabolizma, büyüme, üreme, immün sistem, kognisyon ve davranışta oluşan değişimler hayati önem taşır (91,256). Stres yanıtı, akut stres maruziyetinde değişime uğrayan homeostazisin yeniden düzenlenmesini sağlayan doğal ve adaptif bir mekanizmadır. Allostazis, Hipotalamo-hipofizo-adrenal (HPA) eksenini, otonom sinir sistemi, bağışıklık, kardiyovasküler sistem ve metabolizmanın içsel ve dışsal stres etmenleriyle etkilenmesine karşı vücudun denge durumunu koruma, uyum yeteneği olarak tanımlanabilmektedir. Stres yanıtının uygun olmayan, aşırı veya yetersiz olması halinde homeostazisin eski haline getirilmesinin yetersiz olduğu duruma ‘allostatik yük’ denilmektedir. Allostatik yük pek çok nöropsikiyatrik hastalık gelişiminde öncül kabul edilmektedir (92,257,258). Stresin empati ve olumlu sosyal davranışlar üzerine etkileri insanlarda araştırıldığında, bu etkinin çift yönlü olduğu gözlenmiştir. Maruz kalınan stresörün çeşidine ve yaşamda maruz kalınan zamana bağlı olarak stres; agresyon, sosyal kopma ve saldırgan davranışla ilişkilendirilmiştir (175). İnsanlarda stresin egoistik motivasyonu arttırmak suretiyle fedakarca davranışı önlediği ve bu sebeple empati davranışını olumsuz etkilediği gösterilmiştir (176). Stres maruziyeti sonrası cömertlik davranışında azalma gözlenmiştir (177). Yakın zamanlı bir çalışmada, kronik travmaya maruz kalan savaş mağduru annelerin çocuklarına yönelik empatik davranışlarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma olduğu gösterilmiştir (178). Stresin insanlarda olumlu sosyal davranışlar üzerine pozitif etkileri olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur (179,180). Yalnızca aralarında sosyal yakınlık mevcut olan bireylerin arasında ve stresten hemen sonra olmak kaydıyla psikososyal stresin cömertliği arttırdığı tespit edilmiştir (181). Çalışmamızdaki bulgulara göre kronik kısıtlama stresi uygulanması kognitif empatinin bir komponenti olan yardım davranışını etkilememektedir. Literatüre bakıldığında stresin prefrontal kortekste hasarlanmaya neden olmasıyla karar verme mekanizmalarında ve bellekte bozulma, empati davranışında azalma olduğu gösterilmiştir (25,259,260). Literatür verilerinden ve çalışmamızdan da anlaşıldığı gibi stresin empati davranışına etkisiyle ilgili sonuçlar farklılık

göstermektedir. Bu nedenle stres ile empati ilişkisinin araştırıldığı çalışmaların artırılması, kognitif ve emosyonel empatinin farklı komponentlerinin de incelenmesinin uygun olduğunu düşünmekteyiz.

Empati, insanlarda, yukarıdan aşağıya (top-down) bilgi işleme ve aşağıdan yukarıya (bottom-up) bilgi işleme bileşenlerini içermektedir. Yukarıdan aşağıya bilgi işleme gerçekleşen deneyimin düzenlenmesi ve kontrolü ile ilişkilidir. Daha ileri empati formu olduğu bilinen bilişsel değerlendirme, bakış açısı edinme ve kendisi-başkası ayrımını yapabilme yeteneği bu bileşenin parçasıdır. Aşağıdan yukarı bilgi işlemenin ise otomatik yanıt olarak gerçekleştiği ve duyular tarafından yönetildiği bilinmektedir. Duygudurumun paylaşılması ve duygusal bulaşma bu bilgi-işleme sistemine dahildir (184,185). Stresli bir durumun sonucunda otomatik yanıtlar devreye girmekte, buna karşın kontrol mekanizmaları ise baskılanmaktadır (186). Böylece tepkiler daha hızlı verilebilir ancak kognitif beceriler daha zayıf kalır. Yine bir çalışma sonucu, stresin yardım davranışı ve sosyal etkileşimler açısından yararlı olup olmadığının tümüyle içinde bulunulan sosyal halin karmaşıklık düzeyi ile ilişkisinin bulunduğu düşünülmektedir. Strese otomatize yanıt gereken net bir durum varsa yardım davranışının ortaya çıkması daha kolay olmaktadır, daha karmaşık sosyal durumlarda empatinin komponenti olan bakış açısı edinmenin azaldığı görülmektedir (185). Bu sonuç stresin farklı empati bileşenlerini farklı biçimde etkileyebildiğini göstermektedir.(188).

Kronik strese maruziyetin, empatinin nöral temellerini ve davranışsal yansımalarını hasara uğrattığını gösteren çalışmalar mevcuttur (189–192,261). Bu çalışmalar insan çalışmaları olup, bizim çalışmamız kronik kısıtlama stresinin sıçanlarda empati yanıtına etkisini gösteren ilk deneysel çalışmadır. Çalışmamızda kronik kısıtlama stresi sıçanlarda empati davranışını etkilememektedir. Stresin empati davranışına etkilerinin incelenmesinde hayvanın türüne göre farklı sonuçlar elde edilebildiği görülmüştür. Şempanzelerde oluşturulan stresin, teselli davranışını azalttığı gösterilmiştir (187). Bizim çalışmamızda Sprague dawley sıçanlar kullanılmıştır. İnsan, primat ve farklı türlerdeki diğer deneklerde kronik stresin empati davranışına etkileri farklı olabilir.

Stresin empatiyi cinsiyete göre farklı şekilde etkilediği bilinmektedir. Kognitif empatinin bileşenlerinden olan kendisi ile başkasının ayrımını yapabilme yeteneğine stresin etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, bu yeteneğin kadınlarda arttığı, erkeklerde ise azaldığı gösterilmiştir (59). Bizim çalışmamızda erkek sıçanlar kullanılmıştır. Bunun yanısıra dişilerin östrus döngülerinin hangi evrelerinde olduğu da dikkate alınarak kronik strese empati yanıtlarının değerlendirilmesi cinsiyete bağlı farklılıkları görebilmeyi sağlayacaktır. Bunun

yanında farklı östrus döngüsü evrelerinde kronik kısıtlama stresine HPA aksı yanıt düzeylerinin de farklı olacağı göz önünde bulundurulmalıdır (262).

Maruz kalınan stresin türü, süresi ve sıklığının da empati yanıtında etkili olduğu bilinmektedir. Yakın zamanlı bir çalışmada akut düşük şiddette ayak şoku uygulanan sıçanlarda akut stresin empati davranışını olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir. Aynı çalışmada akut yüksek şiddette ayak şokunun ise empati davranışını etkilemediği görülmüştür (263). Bizim çalışmamızda da kronik kısıtlama stresi uygulaması empati davranışını etkilememiştir.

Sıçanlarda anksiyetenin koşulsuz olarak ölçülmesine dayalı testlerden açık alan testinde kenar zonlara yakın kalma eğilimi 'thigmotaksis' olarak adlandırılır. Sıçanlarda araştırma davranışının azalması ve güvenli bulduğu kenar zonlarda, anksiyojenik olan merkezi alanlara göre daha fazla zaman geçirmesi hayvanda anksiyete gelişimi yönünde yorumlanmaktadır (264). Bizim çalışmamızda yaptığımız testin bulgularına göre kenar zonlarda geçirilen süre her iki grupta da orta alanda geçirilen süreye göre fazla bulunmuştur. Bu bulgular, kronik stres grubunda anksiyetenin geliştiği şeklinde yorumlanabilir. Sıçanların yabancı oldukları çevreyi tanıma davranışları sırasında alanın yükseltilmiş olması anksiyojenik etki oluşturur (265). Yükseltilmiş labirent deneylerinde sıçanlar çoğunlukla yüzü açık olan kollardan birine bakacak şekilde alanın merkezine doğru bırakılırlar. Sıçanların bu şekilde labirent üzerine yerleştirilmesindeki neden, sıçanların içgüdüsel olarak açık ve yüksek yerlerden korkuyor olmalarıdır (266). Kapalı kollarda geçirilen zamanın uzaması ve açık kollarda geçirilen sürenin azalması sıçanlarda anksiyeteyi gösteren davranışlardır (267). Çalışmamızda yükseltilmiş artı labirentte ise hem açık kollarda hem de kapalı kollarda geçirilen süreler bakıldığında kronik stres grubu ile kontrol grubu verileri arasında anlamlı farklılık saptanmamıştır. Ancak her iki grupta kapalı kollarda geçirilen süre açık kollarda geçirilen süreye göre oldukça uzun olup, bu durum da açık alan testindeki anksiyete gelişimi bulgularını destekler niteliktedir. Zorunlu yüzme testi öğrenilmiş çaresizliğe benzer bir yanıt olarak deneğin kaçma çabasını sonlandırması, hareketsiz kalması üzerine kuruludur. Deneğin hareketsiz olarak geçirdiği sürenin uzaması depresyon gelişimi yönünde yorumlanabilmektedir (268). Bizim çalışmamızda zorunlu yüzme testinde hayvanların hareketlilik ve hareketsizlik sürelerine bakıldığında gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır. Bunun nedeni sıçanların yüzme stresine empati düzeneğinde adapte olmuş olması olarak düşünülebilir. Ayrıca kronik strese maruziyetin süresi ve sıklığı da depresyon belirteci olan zorunlu yüzme stresinde hareketsiz geçirilen sürenin artışı etkileyebileceği düşünülebilir.

Stresli durumlar hipotalamo-hipofizo-adrenal aksı aktive eder ve hipotalamik PVN'den CRH salınımını uyarır. Bu uyarım ön hipofiz bezinden ACTH salınımına neden olur ve bunun da adrenal korteksten glukokortikoidlerin salınımı ile sonuçlandığı bilinmektedir. Kronik strese yanıt olarak gelişen fizyolojik ve davranışsal değişikliklerin HPA aksının adaptasyonuna bağlı olabildiği düşünülmektedir. Aynı stresörün (homotipik) tekrarlayan uygulamalarıyla HPA yanıtı desensitize olabilmekte ya da stabil hale gelebilmektedir. Bununla beraber, alışık olunmayan stresörün (heterotipik) tekrarlayan uygulamaları, HPA aksında sensitizasyona neden olabilmektedir (269–271). Kronik kısıtlama stresi homotipik stresörlere örnektir. Çalışmamızda serum kortikosteron düzeylerinde gruplar arası anlamlı farklılık olmaması HPA aksının süreç içerisinde desensitize olmasına bağlı olabilir. HPA aksının adaptasyonu; stresörün tipine, uygulama sıklığına/süresine ve uygulanan protokolün etki gücüne bağlı olarak değişebilmektedir (97,271,272). Kronik stresörler, allostatik yük oluşturmakta, homeostazı bozmakta ve sonuç olarak adaptif süreçlerin gelişmesi ya da başta nöropsikiyatrik hastalıklar olmak üzere çeşitli hastalıkların görülmesiyle sonuçlanmaktadır (273). Bu süreçte stresin öngörülebilir ya da öngörülemez olması farklı davranışsal, biyokimyasal ve histopatolojik bulguların ortaya çıkmasıyla sonuçlanabilmektedir. Kronik kısıtlama stresi öngörülebilir stres türüne örnektir. Kısıtlama stresi hem fiziksel hem de psikolojik stresi beraberinde getirmekte, davranışsal ve biyokimyasal değişikliklerin görülmesine neden olabilmektedir. Thakur ve arkadaşlarının kronik stresin öngörülebilir ve öngörülemez olduğu durumlardaki anksiyete düzeylerini incelediği çalışmalarında erkek sıçanlarda öngörülebilir kronik kısıtlama stresi ile kronik öngörülemeyen stres maruziyeti sonrası yükseltilmiş artı labirent testinde açık alanda geçirdiği süreler karşılaştırılmıştır. Buna göre kronik öngörülemeyen stres grubunda anksiyetenin yükseltilmiş artı labirentteki belirteci olan kapalı kollarda geçirilen sürelerin uzadığı görülürken, öngörülebilir kronik kısıtlama stresinde anlamlı farklılık görülmemiştir (274). Bu veriler ışığında kronik öngörülebilir streste çeşitli adaptasyon mekanizmalarının devreye girdiği düşünülmektedir. Yine Boer ve arkadaşlarının çalışmasında kronik öngörülebilir gürültü stresi ile kronik öngörülemeyen gürültü stresi uygulamalarında kortikosteron düzeyleri karşılaştırılmış; öngörülemeyen stres grubunda kortikosteron düzeyleri anlamlı olarak artarken, öngörülebilir streste kortikosteron düzeylerinde anlamlı değişiklik bulunmamıştır (275). Bizim çalışmamızda kortikosteron düzeylerinde gruplar arası anlamlı farklılık bulunmamasının bir açıklaması da uyguladığımız kronik kısıtlama stresinin öngörülebilirliği ve bu nedenle strese adaptasyonla sonuçlanması olabilir.

1954 yılında Wolpe tarafından geliştirilen bir yöntem olan 'sistemik duyarsızlaştırma', 'klasik koşullanma' ilkesine dayanan anksiyete oluşturan uyarana aşamalı olarak maruz bırakmaya dayalı bir yaklaşımdır. Burada uyarana ile anksiyete yanıtı arasındaki ilişkinin zayıflatılması sağlanmaktadır. Bunun sonucu olarak zamanla karşılıklı koşullanma kullanılarak anksiyetenin zamanla zayıf bir yanıtla dönüşmesi, desensitize olması sağlanır(276). Bizim çalışmamızda da kronik kısıtlama stresi uygulanan grupta süreğen maruziyetin bu şekilde desensitizasyona yol açmış olması ve bu nedenle kortikosteron düzeylerinde anlamlı değişikliğin görülmemesi olasıdır.

Stres yanıtında tanıdıklık durumu da göz önünde bulundurulmalıdır. 'Sosyal tamponlama fenomeni', bir ortak varlığının veya eylemlerinin başka bir kişideki stres tepkisini azalttığı veya ortadan kaldırdığı bir durumdur (277,278). Bizim çalışmamızda kortikosteron düzeylerinde gruplar arasında anlamlı farklılık bulunmamasının sebebinin, birlikte bulunduğu türdeşi olan kafes arkadaşının stresini diğerinin azalttığı sosyal tamponlama fenomeni olduğu düşünülebilir.

OXT ve AVP'nin empati ile ilişkili davranışsal süreçlerin nöroendokrin düzenlenmesinde rol oynadığı bilinmektedir (14,15). Stresin empati ile ilişkili nörotransmitterler olan OXT, AVP ve opioid sistemi üzerine etkileri incelendiğinde stresin empati ve empati kökenli olumlu sosyal davranışları ilgili nörotransmitterler üzerinden etkileyebileceği söylenebilmektedir (188). Stresin OXT'nin etkilerini yok ettiği, empati ve stresin fizyolojik olarak zıt etkileşime sahip olduğu da bildirilmiştir (51). Bizim çalışmamızda prefrontal korteks ve amigdala OXT düzeylerinde gruplar arası anlamlı farklılık saptanmamıştır. Çalışmamızda erkek sıçanlar kullandığımız için OXT'nin anlamlı derecede yükselmemesi beklenebilen bir sonuçtur. AVP düzeylerine bakıldığında ise amigdala AVP düzeylerinde kronik stres grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı artış saptanmıştır. OXT'de olduğu gibi AVP'nin de güven, bağlanma, duyguların tanınması ve cömertlik gibi sosyal davranışlarda etkili olduğu bilinmektedir (7). OXT ve AVP yapı olarak benzer olsa da, erkeklerde sosyal iletişimde AVP OXT'den daha öncelikli rol oynamaktadır (9). Empati davranışına bakıldığında da dişilerde OXT etkisi baskınken, erkeklerde empati davranışında baskın rol oynayan nöropeptid AVP'dir. Empati ve diğer sosyal davranışları gösterebilme yeteneğinde azalma/yokluk ile karakterize olan otizmde AVPR'de defisit saptanmıştır (11).

Empati ve sosyal davranışların yanısıra AVP stres yanıtının düzenlenmesinde önemlidir (167). AVP'nin sentezi; strese karşı endokrin, otonomik ve davranışsal yanıtların gelişmesine katkıda bulunmaktadır (168). Sıçanlarda yapılan çalışmalarda amigdala ve mediolateral

septumda stresle salınımı uyarılan AVP'nin davranış yanıtını düzenlediği gösterilmiştir (170,171). Yine emosyonel stres ile zorunlu yüzme stresine santral AVP düzeylerinde yükselme yanıtının görüldüğü çalışmalar literatürde mevcuttur (161,168). Bu çalışmaların verileri ışığında bizim çalışmamızda kronik stres grubunda kontrole kıyasla artmış olan amigdala AVP düzeylerinin literatür ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Çalışmamızda empati davranışının etkilendiği nörokimyasal yolları incelemek üzere beyin bölgelerinden amigdala ve prefrontal korteks dokularına odaklandık. Bunun nedeni bu bölgelerin empati davranışı ile ilişkilendirilmiş başlıca beyin bölgeleri olmalarıdır ve literatüre bakıldığında empati davranışına yönelik incelenen beyin bölgelerinin bu bölgeler olduğu görülmektedir (34–36). Beslenme ve seksüel davranışın yanısıra dikkat, algı ve bellek üzerindeki fonksiyonel bilişsel etkileri ile amigdala, birçok memeli türünde sosyal davranışın yönetilmesinde birincil bölgelerdendir. Limbik sistemin bir parçası olan amigdala, duygusal tepkilerin oluşmasındaki, duygusal hafızanın oluşmasındaki ve stres yanıtının düzenlenmesindeki rolüyle de empati ve stres ilişkisinin incelenmesinde önemli bir beyin bölgesidir. Amigdala, stres yanıtı ve empati davranışıyla ilişkisi bilinen CRH, OXT, AVP ve opioid peptidler gibi çeşitli peptid yapıda hormonların reseptörlerini içerir. Primatlarla yapılan lezyon çalışmalarında amigdala hasarında; agresyon ile sosyal izolasyon ve olumlu sosyal davranışlarda (örneğin tımarlama) azalmanın olduğu gösterilmiştir (34). Amigdalada oluşan yapısal ve fonksiyonel değişiklikler insanlarda depresyon, şizofreni, post-travmatik stres bozukluğu (PTSD) ve otizm gibi nöropsikiyatrik hastalıklarla ilişkilendirilmiştir (35). Bu hastalık gruplarında empati becerisinin de azlığı veya yokluğu tespit edilmiştir.

Hareketlerin motor kontrolünü sağladığı bilinen PFC, motor kontrolün yanında davranışla olan ilişkisi de pek çok çalışmada gösterilmiş olan beyin bölgesidir. PFC ile başta amigdala olmak üzere diğer beyin bölgeleri arasındaki geniş bağlantılar sayesinde duygu, düşünce, bellek, hareketler ve stres yanıtının düzenlendiği bilinmektedir (37). Bunun yanısıra PFC, bakış açısı edinme gibi daha karmaşık bilişsel süreçleri içermekte olan kognitif empatinin yönetildiği ; “bellek ağı” adıyla bilinen beyin bölgelerindedir.

PFC ve amigdala ayrıca stres yanıtıyla da ilişkilidir. PFC'nin amigdalayı baskılamak yoluyla anksiyetenin gelişmesini engelleyici etkisi mevcuttur. Stresör maruziyeti bu etkinin azalarak amigdalanın aktive olması ve stres yanıtı gelişimiyle sonuçlanmaktadır (279,280). Aktifleşen amigdala azalan PFC etkisini daha da baskılamakta ve bu durum bir pozitif döngü halini almaktadır. Sonuç olarak anksiyete ve depresyon gelişebilmektedir (281,282). Bizim çalışmamızda yine stres yanıtıyla ilişkisi bulunan AVP'nin amigdaladaki düzeylerinin kronik

stres grubunda kontrol grubuna kıyasla artmış olmasında artmış amigdala aktivasyonunun da etkisinin bulunduğu yorumu yapılabilir.

Dopaminerjik yolağın “akıl teorisi” (theory of mind) olarak da isimlendirilmiş kognitif empati becerisinde önem arz eden beyin bölgeleri olan temporoparietal bileşke, PFC ve ACC’de mevcut olduğu bilinmekte ve bu yolağın “akıl teorisi”nde rol aldığı öne sürülmektedir(87). PFC, empati ve stres yanıtında rolü olan dopaminin salınımını düzenlemektedir. PFC'den dopamin salınımı, anksiyetenin düzenlenmesi ile de ilişkili olup nukleus akkumbensin amigdaladan ve kortikal yapılardan aldığı dopamin uyarılarının azalması anksiyete davranışının artmasına neden olmaktadır. Sıçanlarda anksiyete artışının PFC’de düşük dopamin düzeyleri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (276,283). Bizim çalışmamızda dopaminerjik yolağın süreçteki etkilerine bakılmamıştır. Stresle dopamin seviyelerinin azaldığı, bununla birlikte anksiyetede artış ve empati davranışında azalma gerçekleştiği düşünülebilir. Ancak bunu ortaya koymak için devam çalışmalarının planlanması uygun olabilir.

Bilindiği üzere strese maruziyet adrenal bezlerde fonksiyonel ve morfolojik değişikliklere neden olmaktadır (226,284). Strese yanıt veren bir organ olan adrenal bezde, hem proliferasyon hem de hücre ölümünün görüldüğü dinamik yapısal değişiklikler gelişebilmektedir (227). HPA aksının aktivasyonu ile birlikte ACTH, glukokortikoid salınımı ve bezlerde bununla gelişen vaskularizasyonda artış, hücresel hipertrofi ve hiperplaziye sonuçlanan fizyolojik ve morfolojik yanıtların gelişimini uyarır (228). Kronik stres uygulamasıyla özellikle kortikal zondaki değişime dayalı olarak adrenal bezde büyüme gerçekleşmektedir (229). Bizim çalışmamızın histolojik incelemelerinde de korteks tabakasının özellikle de retiküler zonun kalınlaştığı gösterilmiştir. Kronik strese bağlı adrenal bezlerdeki bu değişiklikler sonuçta ağırlığında artış olarak gözlenir (285,286). Çalışmamızda da adrenal bez rölatif ağırlıklarında kronik stres grubunda kontrole kıyasla artış saptanmıştır. Bu bulguların literatürle uyumlu olduğu görülmektedir.

Bilindiği üzere pek çok organ ve sistem stresten etkilenmekte, organizmanın doğal bütünlüğü, homeostazisi tehlikeye girmektedir. Programlanmış hücre ölümü olarak bilinen apoptoz, hücre popülasyonlarının çoğalmasında ve farklılaşmasında ölen hücrelerin yok edilmesine hizmet eden bir hücre ölümü şeklidir (193). Gen ile düzenlenmiş bir hücre ölümü biçimi olan apoptoz, gelişimsel süreçler ve doku homeostazı için kritik öneme sahiptir (194). Literatürde stresöre maruziyetin adrenal bezde apoptoz gelişimini uyardığını ve bunun farklı zonlarda daha belirgin olmak üzere tüm zonlarda görüldüğüne yönelik çalışmalar mevcuttur

(228,232,233). Wolkersdorfer ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada adrenal bezlerde tüm zonlarda apoptoz görülse de, apoptoza en fazla glomerüler zonda, en az olarak da retiküler zonda rastlanmıştır (230). Bizim çalışmamızda kronik stres grubu adrenal bez apoptotik hücre oranında kontrol grubuna kıyasla anlamlı artış görülmüştür. Kronik stres grubunda apoptotik hücreler ağırlıklı olarak glomerüler zonda olmak üzere korteksin tüm zonlarında görülmüştür. Kontrol grubunda ise neredeyse hiç apoptotik hücre görülmemiştir. Bu veriler ışığında bulgularımızın literatürle uyumlu olduğu sonucuna varılmaktadır. Ayrıca adrenal bez rölatif ağırlıkları ile adrenal bez apoptotik hücre oranları arasında güçlü pozitif korelasyon saptanmaktadır. Bu durumun strese maruziyeti arttıkça hem adrenal hipertrofi gelişiminin hem de apoptoz gelişiminin aynı oranda artması nedeniyle geliştiği düşünülmektedir.

Çeşitli stres türlerinde hipotalamo-hipofizo-adrenal (HPA) aksa adaptif yanıtların geliştiği görülmektedir (244,245). Ancak aşırı stresin timusta atrofiye neden olduğu ve bu nedenle immun sistem depresyonuna yol açtığı bilinmektedir (246,287,288). Stresin sıçanların timusunda hem korteks hem medulla tabakasında volumün ve derin korteks ile medulladaki timositlerin sayısının azalmasına, timosit altpopulasyonlarının bileşiminin değişmesine neden olduğu ve apoptotik hücrelerin sayısı ile kortikosteron düzeyleri arasında pozitif korelasyonun bulunduğu çalışmalarla gösterilmiştir. İyi bilinen ve sıkça kullanılan bir emosyonel ve fiziksel stres modeli olan immobilizasyon stresinin sıçanlarda timus atrofisine neden olduğu ortaya konulmuştur (246–249). Bizim çalışmamızda da histolojik incelemelerde kronik stres grubunda yaygın apoptotik hücelere rastlanırken, kontrol grubunda apoptotik hücreye rastlanmamıştır. Bu bulgular literatür verileriyle uyum göstermektedir.

Başta beyin olmak üzere çok sayıda organ ve sistemin stresten etkilendiği, organizmanın doğal bütünlüğünün, homeostazisinin tehlikeye girmesine neden olduğu bilinmektedir. Stresörler nöroinflamasyonu, nörodejenerasyonu ve azalmış nörogenezi tetikleyebilmektedir. Stres; hipokampus, prefrontal korteks, amigdala, anterior singulat korteks ve bazal ganglionlarda yapısal değişikliklerle sonuçlanmaktadır (196). Glukokortikoidlerin salınımının stres yanıtındaki yeri bilinmektedir. Gelişen nörotoksisitenin sebebi ise glutamat gibi aminoasit yapıdaki moleküllerin ekstrasellüler alanda artışı ya da enerji metabolizmasında değişikliklerin de olduğu farklı mekanizmaların oluşumunu tetikleyen glukokortikoidlerin salgılanmasıdır.

Çalışmalar stres yanıtının bozulmasına ve yüksek doz glukokortikoid tedavisine bağlı CA3 bölgesi başta olmak üzere hipokampal nöronlarda dejenerasyon geliştiğini tespit etmiş, stresle

uyarılan nöronal atrofiye glukokortikoidle birlikte glutamat salınımının da katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Glutamat salınımı stres yanıtına erken dönem ve geç dönem olmak üzere iki farklı noktada eşlik etmektedir. Erken yanıtın stresli uyarının ardından milisaniyeler içinde başladığı ve ikincil yanıtın dakikalar içinde geliştiği bilinmektedir. Erken fazın hızlı gerçekleşmesi nedeniyle HPA aksının düzenlemesinden etkilenmezken, geç fazda gen ekspresyonunda değişikliklerin oluşması ve protein sentezinin gerçekleşmesi gibi uzamış etkilerin HPA aksı ile düzenlendiği bilinmektedir. Medial prefrontal korteks stresli uyarana bağlı glutamat düzeylerinde en fazla artışın görüldüğü beyin bölgesidir (199).

Kronik stresin beyin bölgelerine etkilerinin incelendiği çalışmalara bakıldığında, 3 haftalık glukokortikoid uygulaması ya da kısıtlama stresi sonrası medial prefrontal kortekste (mPFC) de II ve III. katmanda bulunan piramidal nöronlarda dendritik gerileme ve dallanmada azalma yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (210–214)(215). Bizim çalışmamızda da kronik stres grubunun histolojik incelemesinde korteks piramidal nöronlarında nöritik uzantılarda gerileme, dallanmada azalma geliştiği görülmüştür. Bu veriler literatür ile uyum göstermektedir.

6.SONUÇ VE ÖNERİLER

Literatür incelendiğinde, sıçanlarda kronik stres uygulaması ile empati ilişkisinin incelendiği bir deneysel çalışmaya rastlanmamıştır. Bu yönüyle gelecekteki çalışmalara olası katkıları önemsenmektedir. Çalışmanın sonucunda kronik kısıtlama stresinin empati davranışını etkilemediği görülmüştür. Kronik kısıtlama stresi uygulamasının sonucunda açık alan testinde anksiyete gelişimi yönünde bulgulara rastlanırken, yine kronik stres grubunda görülmesi beklenen adrenal bez rölatif ağırlıklarında artış, hipertrofi ve apoptotik hücre oranlarında artış tespit edilmiştir. Bunun yanı sıra hem stres hem de empatide önemli role sahip beyin bölgesi olan amigdalada vazopressin düzeylerinde artış saptanmıştır. Vazopressin düzeylerindeki bu artış, vazopressinin gerek erkeklerde empatide baskın rol alan nöropeptid hormon olmasıyla gerekse stres yanıtındaki rolüyle ilişkilendirilebilmektedir. Bu etkiler erkek sıçanlarda kronik kısıtlama stresi uygulaması sonucu görülen etkiler olup; farklı sürede, sıklıkta ve tipte stres uygulamalarının etkileri, türe ve cinsiyete bağlı değişiklikler, stres ve empati ile ilişkili diğer nörokimyasal yolların incelenmesi amaçlı farklı devam çalışmalarının planlanması uygun olacaktır. Bu çalışmalar empati azlığı/yokluğu ile giden nöropsikiyatrik hastalıkların gelişim mekanizmalarının aydınlatılmasına ve tedavilerine yönelik bilimsel gelişmelere öncülük edebilecektir. Bizim çalışmamızda dopaminerjik yolağın süreçteki değişimine ve etkilerine bakılmamıştır. Bunu ortaya koymak için de devam çalışmalarının yapılmasının uygun olduğunu düşünmekteyiz.

SIÇANLARDA KRONİK STRESİN EMPATİYE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

ÖZET

Giriş ve Amaç

Psikolojik stresin, yarattığı etkilerle çağımız modern toplumlarında sağlığa yönelik önemli bir tehdit unsuru olduğu bilinmektedir. Yakın zamanlı çalışmalarla akut stresin empati davranışının komponentlerinden yardım davranışı, fedakarlık gibi olumlu sosyal davranışlarda artışa neden olduğu gösterilmektedir. Psikolojik stresin kronik hal alması ile kişide gelişen anksiyete ve depresyon gibi nöropsikiyatrik tablolar empati davranışını etkileyebilmektedir. Çalışmanın amacı kronik kısıtlama stresinin empati davranışına etkisi ve empati ile ilişkili nörokimyasal yollar olan oksitosin ve vasopressinin prefrontal korteks ile amigdaladaki değişimlerini ve yine aynı beyin bölgeleriyle birlikte adrenal bezler ve timustaki histopatolojik değişimleri araştırmaktır.

Yöntem

Bu çalışmada 16 adet 18 haftalık Sprague Dawley erkek sıçanlar kullanılmıştır. 28 günlük kafes arkadaşına alışma sürecinin devamında tüm sıçanlara 12 gün boyunca empati düzeneği kullanılarak kafes arkadaşını kurtarması öğretilmiştir. Bunun ardından tüm sıçanlar randomize iki gruba ayrılmıştır: 1) Kontrol grubu (stres uygulanmayacak grup) 2) kronik kısıtlama stresi uygulanacak grup. Kronik stres grubuna 14 gün boyunca 1 saat süreyle kısıtlama stresi uygulanmıştır. Bu sürecin sonunda bütün deneklerin önce empati düzeneğinde kafes arkadaşını kurtarmak üzere kapıyı açma süreleri kaydedilmiş, daha sonra anksiyete seviyeleri önce açık alan testi ardından yükseltilmiş artı labirent testi ve depresyon durumunu değerlendirmek için zorunlu yüzme testi uygulanmıştır. Testlerin hemen ardından denekler sakrifiye edilip amigdala ve prefrontal kortekste oksitosin ve vazopressin düzeyleri ile serum kortikosteron düzeyleri ölçülmüştür. Adrenal bezin ve timusun apoptoz durumunun tayini ile beyin bölgeleri, adrenal bezler ve timusta histopatolojik incelemeler yapılmıştır.

Bulgular

Açık alan testinin kenar zonlarında geçirilen süreler kronik stres grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,05$). Amigdala vazopressin düzeyleri kronik stres grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı artış gösterdiği tespit edilmiştir ($p=0,01$). Adrenal bez rölatif ağırlıkları kronik stres grubunda kontrol grubuna kıyasla anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,0001$). Adrenal bez apoptotik hücre oranları kronik stres grubunda kontrol grubuna göre anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır ($p=0,04$).

Sonuç

Bu çalışmanın sonucunda kronik kısıtlama stresinin empati davranışını etkilemediği gösterilmiştir. Ayrıca kronik stres grubunda amigdala vasopressin düzeyleri, adrenal bez rölatif ağırlıkları ve adrenal bez apoptotik hücre oranlarında artış bulunmuştur. Sonraki çalışmalarda farklı türlerde stres uygulamalarının etkileri, cinsiyete bağlı değişiklikler, stres ve empati ile ilişkili diğer nörokimyasal yolların incelenmesi uygun olur.

Anahtar sözcükler

Kronik stres, empati, amigdala, prefrontal korteks, oksitosin, vazopressin

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF CHRONIC STRESS ON EMPATHY IN RATS

ABSTRACT

Introduction and aim

It is known that psychological stress is an important threat to health in today's modern societies. Recent studies have shown that acute stress causes an increase in positive social behaviors such as helping behavior and devotion which are components of empathy behavior. Neuropsychiatric manifestations such as anxiety and depression may affect empathy behavior. The aim of this study was to investigate the effects of chronic restraint stress on empathy behavior and the changes in the amygdala of the prefrontal cortex and the histopathological changes in the adrenal glands and thymus, as well as the neurochemical pathways associated with empathy, oxytocin and vasopressin.

Method

Sixteen adult male Sprague Dawley rats were used in this study. In this study, after 28 days of habituation period, all subjects were trained to rescue its stressed cagemate using empathy test equipment. At the end of this period all subjects were randomly divided into two groups: 1) Control group, 2) chronic restraint stress group. The chronic stress group was subjected to restraint stress daily for 14 days and then door opening behaviours were recorded. After empathy experiments, the anxiety levels of all subjects were assessed using open field test and after then elevated plus maze test. At least, the depression parameters of all subjects were assessed using Porsolt's forced swimming test. Afterwards subjects were sacrificed, oxytocin and vasopressin levels in prefrontal cortex and amygdala and serum corticosterone levels were measured. Apoptosis of the adrenal gland, thymus and histopathological examination of brain regions, adrenal glands and thymus were performed.

Findings

The duration of the open field test in the thigmo zones was found to be significantly higher in the chronic stress group than in the control group ($p < 0.05$). Amygdala vasopressin levels were found to increase significantly in the chronic stress group compared to the control group ($p = 0.01$). The relative weights of adrenal glands were significantly higher in the chronic stress group than in the control group ($p < 0.0001$). Adrenal gland apoptotic cell ratios were significantly higher in the chronic stress group than the control group ($p = 0.04$).

Result

As a result of this study, it was shown that chronic restraint stress did not affect empathy behavior. Amygdala vasopressin levels, adrenal gland relative weights and adrenal gland apoptotic cell ratios were found to be high in chronic stress group. In subsequent studies, it is appropriate to examine the effects of different types of stress applications, gender-related changes, and other neurochemical pathways associated with stress and empathy.

Keywords

Chronic stress, empathy, amygdala, prefrontal cortex, oxytocin, vasopressin

KAYNAKLAR

1. Sivaselvachandran S, Acland EL, Abdallah S, Martin LJ. Behavioral and mechanistic insight into rodent empathy. *Neurosci Biobehav Rev* [Internet]. 2018;91:130–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neubiorev.2016.06.007>
2. Panksepp JB, Lahvis GP. Rodent empathy and affective neuroscience. *Neurosci Biobehav Rev* [Internet]. 2011 Oct 1 [cited 2018 Nov 30];35(9):1864–75. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763411001084>
3. Decety J, Svetlova M. Putting together phylogenetic and ontogenetic perspectives on empathy. *Dev Cogn Neurosci* [Internet]. 2012;2(1):1–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dcn.2011.05.003>
4. Bachner-Melman R, Ebstein RP. The role of oxytocin and vasopressin in emotional and social behaviors. *Handb Clin Neurol* [Internet]. 2014 Jan 1 [cited 2018 Aug 6];124:53–68. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444596024000046?via%3Dihub>
5. Feldman R, Monakhov M, Pratt M, Ebstein RP. Oxytocin Pathway Genes: Evolutionary Ancient System Impacting on Human Affiliation, Sociality, and Psychopathology. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2016;79(3):174–84. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2015.08.008>
6. Yamagishi A, Okada M, Masuda M, Sato N. Oxytocin administration modulates rats' helping behavior depending on social context. *Neurosci Res* [Internet]. 2019;1–6. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neures.2019.04.001>
7. Meyer-Lindenberg A, Domes G, Kirsch P, Heinrichs M. Oxytocin and vasopressin in the human brain: Social neuropeptides for translational medicine. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2011;12(9):524–38. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3044>
8. Rodrigues SM, Saslow LR, Garcia N, John OP, Keltner D. Oxytocin receptor genetic variation relates to empathy and stress reactivity in humans. 2009;106(50):21437–41.
9. Donaldson ZR, Young LJ. Oxytocin, Vasopressin, and the Neurogenetics of Sociality. *Science (80-)* [Internet]. 2008 Nov 7 [cited 2018 Jan 3];322(5903):900–4. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1158668>
10. Cohen-Bendahan CCC, Beijers R, van Doornen LJP, de Weerth C. Explicit and implicit caregiving interests in expectant fathers: Do endogenous and exogenous oxytocin and vasopressin matter? *Infant Behav Dev* [Internet]. 2015;41:26–37. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.infbeh.2015.06.007>
11. Carter CS. Sex differences in oxytocin and vasopressin: Implications for autism spectrum disorders? *Behav Brain Res*. 2007;176(1):170–86.
12. Uysal N, Sisman AR, Dayi A, Ozbal S, Cetin F, Baykara B, et al. Acute footshock-stress increases spatial learning-memory and correlates to increased hippocampal BDNF and VEGF and cell numbers in adolescent male and female rats. *Neurosci Lett* [Internet]. 2012;514(2):141–6. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neulet.2012.02.049>

13. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the Stress Response. *Annu Rev Physiol*. 2005;67(1):259–84.
14. Iványi T, Wiegant VM, de Wied D. Differential effects of emotional and physical stress on the central and peripheral secretion of neurohypophysial hormones in male rats. *Life Sci [Internet]*. 1991 Jan 1 [cited 2019 Nov 27];48(13):1309–16. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/002432059190527I?via%3Dihub>
15. Sanders G, Freilicher J, Lightman SL. Psychological stress of exposure to uncontrollable noise increases plasma oxytocin in high emotionality women. *Psychoneuroendocrinology*. 1990;15(1):47–58.
16. Steinbeis N, Engert V, Linz R, Singer T. The effects of stress and affiliation on social decision-making: Investigating the tend-and-befriend pattern. *Psychoneuroendocrinology [Internet]*. 2015;62:138–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.08.003>
17. Ersoy EG, Köşger F. Empati : Tanımı ve Önemi. *Osmangazi Tıp Derg*. 2016;38(2):9–17.
18. Chen J. Empathy for Distress in Humans and Rodents. *Neurosci Bull*. 2018;34(1):216–36.
19. Li Z, Lu YF, Li CL, Wang Y, Sun W, He T, et al. Social interaction with a cagemate in pain facilitates subsequent spinal nociception via activation of the medial prefrontal cortex in rats. *Pain [Internet]*. 2014;155(7):1253–61. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pain.2014.03.019>
20. ÖZBEK M. İnsan İlişkilerinde Empatinin Yeri ve Önemi. *Sos Siyaset Konf Derg [Internet]*. 2010 Oct 21 [cited 2019 Nov 27];(49). Available from: <https://dergipark.org.tr/tr/pub/iusskd/issue/897/10038>
21. Shamay-Tsoory SG. The neural bases for empathy. *Neuroscientist*. 2011;
22. Gerdes KE, Segal E. Importance of empathy for social work practice: Integrating new science. *Soc Work*. 2011;56(2):141–8.
23. Dehaene S, Lau H, Kouider S, Silver D, Huang A, Maddison CJ, et al. What is consciousness, and could machines have it? *Science (80-)*. 2017;358(6362):484–9.
24. Riess H. The Science of Empathy. *J Patient Exp*. 2017;4(2):74–7.
25. Shamay-Tsoory SG, Aharon-Peretz J, Perry D. Two systems for empathy: A double dissociation between emotional and cognitive empathy in inferior frontal gyrus versus ventromedial prefrontal lesions. *Brain*. 2009;132(3):617–27.
26. Gallese V. Before and below “theory of mind”: Embodied simulation and the neural correlates of social cognition. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2007;362(1480):659–69.
27. Schulte-Rüther M, Markowitsch HJ, Fink GR, Piefke M. Mirror Neuron and Theory of Mind Mechanisms Involved in Face-to-Face Interactions: A Functional Magnetic Resonance Imaging Approach to Empathy. *J Cogn Neurosci [Internet]*. 2007 Jul 25;19(8):1354–72. Available from: <https://doi.org/10.1162/jocn.2007.19.8.1354>

28. Singer T, Lamm C. The social neuroscience of empathy. *Ann N Y Acad Sci*. 2009;1156:81–96.
29. Decety J, Svetlova M. Putting together phylogenetic and ontogenetic perspectives on empathy. *Dev Cogn Neurosci* [Internet]. 2012;2(1):1–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.dcn.2011.05.003>
30. Harrison NA, Singer T, Rotshtein P, Dolan RJ, Critchley HD. Pupillary contagion: central mechanisms engaged in sadness processing. *Soc Cogn Affect Neurosci*. 2006;1(1):5–17.
31. Church RM. Emotional reactions of rats to the pain of others. *J Comp Physiol Psychol* [Internet]. 1959 [cited 2018 Aug 6];52(2):132–4. Available from: <http://doi.apa.org/getdoi.cfm?doi=10.1037/h0043531>
32. Rice GE, Gainer P. “Altruism” in the albino rat. *J Comp Physiol Psychol*. 1962;55(1):123–5.
33. Barta IB-A, Decety J, Mason P. Empathy and Pro-Social Behavior in Rats. *Science* (80-) [Internet]. 2011 Dec 9;334(6061):1427 LP – 1430. Available from: <http://science.sciencemag.org/content/334/6061/1427.abstract>
34. Amaral DG. The primate amygdala and the neurobiology of social behavior: implications for understanding social anxiety. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2002 Jan 1 [cited 2019 Nov 27];51(1):11–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322301013075?via%3Dihub>
35. LeDoux J. The amygdala. *Curr Biol* [Internet]. 2007 Oct 23 [cited 2019 Nov 27];17(20):R868–74. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960982207017794?via%3Dihub>
36. Shamay-Tsoory SG. The neuropsychology of empathy: Evidence from lesion studies. *Rev Neuropsychol* [Internet]. 2015;7(4):237–43. Available from: <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&PAGE=reference&D=psyc12&NEWS=N&AN=2016-07450-001>
37. Arnsten A (Yale). stress signalling pathways and PFC. *Mol Biol* [Internet]. 2009;26(2):148. Available from: <http://arxiv.org/abs/quant-ph/9609014>
38. Hall JE. textbook of medical physiology. 12 ed; 2011. Hall JE. textbook of medical physiology. 12 ed; 2011. 2011;
39. Koshimizu T aki, Nakamura K, Egashira N, Hiroyama M, Nonoguchi H, Tanoue A. Vasopressin V1a and V1b receptors: From molecules to physiological systems. *Physiol Rev*. 2012;92(4):1813–64.
40. Kim E. Barrett, Susan M. Barman, Heddwen L. Brooks JX-JY. *Ganong’s Review of Medical Physiology*, 24th ed. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 2009.
41. Young LJ. Oxytocin and Vasopressin Receptors and Species-Typical Social Behaviors. *Horm Behav* [Internet]. 1999;36(3):212–21. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0018506X99915489>
42. Baribeau DA, Anagnostou E. Oxytocin and vasopressin: Linking pituitary

- neuropeptides and their receptors to social neurocircuits. *Front Neurosci.* 2015;9(SEP).
43. 5 Vasopressin and oxytocin receptors. 1996;10:75–96.
 44. Kosfeld M, Heinrichs M, Zak PJ, Fischbacher U, Fehr E. Oxytocin increases trust in humans. *Nature.* 2005;435(7042):673–6.
 45. Domes G, Heinrichs M, Michel A, Berger C, Herpertz SC. Oxytocin Improves “Mind-Reading” in Humans. *Biol Psychiatry.* 2007;61(6):731–3.
 46. Marsh AA, Yu HH, Pine DS, Blair RJR. Oxytocin improves specific recognition of positive facial expressions. *Psychopharmacology (Berl).* 2010;209(3):225–32.
 47. Harony H, Wagner S. The contribution of oxytocin and vasopressin to mammalian social behavior: Potential role in autism spectrum disorder. *NeuroSignals.* 2011;18(2):82–97.
 48. Caronna EB, Milunsky JM, Tager-Flusberg H. Autism spectrum disorders: Clinical and research frontiers. *Arch Dis Child.* 2008;93(6):518–23.
 49. Modahl C, Green LA, Fein D, Morris M, Waterhouse L, Feinstein C, et al. Plasma oxytocin levels in autistic children. *Biol Psychiatry.* 1998;43(4):270–7.
 50. Li J, Li HX, Shou XJ, Xu XJ, Song TJ, Han SP, et al. Effects of chronic restraint stress on social behaviors and the number of hypothalamic oxytocin neurons in male rats. *Neuropeptides [Internet].* 2016;60:21–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.npep.2016.08.011>
 51. Barraza JA, Zak PJ. Empathy toward strangers triggers oxytocin release and subsequent generosity. *Ann N Y Acad Sci.* 2009;1167:182–9.
 52. Feldman R, Weller A, Zagoory-Sharon O, Levine A. Evidence for a Neuroendocrinological Foundation of Human Affiliation. *Psychol Sci.* 2007;18(11):965–70.
 53. Feldman R, Zagoory-Sharon O, Weisman O, Schneiderman I, Gordon I, Maoz R, et al. Sensitive parenting is associated with plasma oxytocin and polymorphisms in the OXTR and CD38 genes. *Biol Psychiatry [Internet].* 2012;72(3):175–81. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biopsych.2011.12.025>
 54. Bisceglia R, Jenkins JM, Wigg KG, O’Connor TG, Moran G, Barr CL. Arginine vasopressin 1a receptor gene and maternal behavior: Evidence of association and moderation. *Genes, Brain Behav.* 2012;11(3):262–8.
 55. Gonzaga GC, Turner RA, Keltner D, Campos B, Altemus M. Romantic love and sexual desire in close relationships. *Emotion.* 2006;6(2):163–79.
 56. Hurlemann R, Patin A, Onur OA, Cohen MX, Baumgartner T, Metzler S, et al. Oxytocin Enhances Amygdala-Dependent, Socially Reinforced Learning and Emotional Empathy in Humans. *J Neurosci [Internet].* 2010 Apr 7 [cited 2018 Jan 3];30(14):4999–5007. Available from: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.5538-09.2010>
 57. Perry A, Bentin S, Shalev I, Israel S, Uzefovsky F, Bar-On D, et al. Intranasal oxytocin

- modulates EEG mu/alpha and beta rhythms during perception of biological motion. *Psychoneuroendocrinology* [Internet]. 2010;35(10):1446–53. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2010.04.011>
58. Cheng Y, Lee PL, Yang CY, Lin CP, Hung D, Decety J. Gender differences in the mu rhythm of the human mirror-neuron system. *PLoS One*. 2008;3(5):1–7.
 59. De Waal FBM, Preston SD. Mammalian empathy: Behavioural manifestations and neural basis. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2017;18(8):498–509. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn.2017.72>
 60. Kandis S, Ates M, Kizildag S, Camsari GB, Yuce Z, Guvendi G, et al. Acetaminophen (paracetamol) affects empathy-like behavior in rats: Dose-response relationship. *Pharmacol Biochem Behav*. 2018;175(October):146–51.
 61. Thompson RR, George K, Walton JC, Orr SP, Benson J. Sex-specific influences of vasopressin on human social communication. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103(20):7889–94.
 62. Wu N, Shang S, Su Y. The arginine vasopressin V1b receptor gene and prosociality: Mediation role of emotional empathy. *PsyCh J*. 2015;4(3):160–5.
 63. Cho MM, DeVries AC, Williams JR, Carter CS. The effects of oxytocin and vasopressin on partner preferences in male and female prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Behav Neurosci*. 1999;113(5):1071–9.
 64. Zak PJ, Stanton AA, Ahmadi S. Oxytocin increases generosity in humans. *PLoS One*. 2007;2(11):1–5.
 65. Brunnelieb C, Münte TF, Tempelmann C, Heldmann M. Vasopressin modulates neural responses related to emotional stimuli in the right amygdala. *Brain Res*. 2013;1499:29–42.
 66. Wang Z, Ferris CF, De Vries GJ. Role of septal vasopressin innervation in paternal behavior in prairie voles (*Microtus ochrogaster*). *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91(1):400–4.
 67. Kozorovitskiy Y, Hughes M, Lee K, Gould E. Fatherhood affects dendritic spines and vasopressin V1a receptors in the primate prefrontal cortex. *Nat Neurosci*. 2006;9(9):1094–5.
 68. De Vries GJ, Wang Z, Bullock NA, Numan S. Sex differences in the effects of testosterone and its metabolites on vasopressin messenger RNA levels in the bed nucleus of the stria terminalis of rats. *J Neurosci*. 1994;14(3 II):1789–94.
 69. Coccaro EF, Kavoussi RJ, Hauger RL, Cooper TB, Ferris CF. Cerebrospinal Fluid Vasopressin Levels. *Arch Gen Psychiatry*. 1998;55(8):708.
 70. Mayer DJ, Liebeskind JC. Pain reduction by focal electrical stimulation of the brain: An anatomical and behavioral analysis. *Brain Res*. 1974;68(1):73–93.
 71. Akil H, Mayer DJ, Liebeskind JC. Antagonism of stimulation-produced analgesia by naloxone, a narcotic antagonist. *Science* (80-). 1976;191(4230):961–2.

72. Feng Y, He X, Yang Y, Chao D, H. Lazarus L, Xia Y. Current Research on Opioid Receptor Function. *Curr Drug Targets*. 2012;13(2):230–46.
73. Gonzalez-Liencre C, Shamay-Tsoory SG, Brüne M. Towards a neuroscience of empathy: Ontogeny, phylogeny, brain mechanisms, context and psychopathology. *Neurosci Biobehav Rev* [Internet]. 2013 Sep 1 [cited 2018 Aug 6];37(8):1537–48. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149763413001152?via%3Dihub>
74. Panksepp J, Herman BH, Vilberg T, Bishop P, DeEsquinazi FG. Endogenous opioids and social behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 1980;4(4):473–87.
75. Tomek SE, Stegmann GM, Olive MF. Effects of heroin on rat prosocial behavior. *Addict Biol*. 2019;24(4):676–84.
76. Lang M, Bahna V, Shaver JH, Reddish P, Xygalatas D. Sync to link: Endorphin-mediated synchrony effects on cooperation. *Biol Psychol*. 2017;127(March):191–7.
77. Nummenmaa L, Tuominen L. Opioid system and human emotions. *Br J Pharmacol*. 2018;175(14):2737–49.
78. Graves FC, Wallen K, Maestripieri D. Opioids and attachment in rhesus macaque (*Macaca mulatta*) abusive mothers. *Behav Neurosci*. 2002;116(3):489–93.
79. Kalin NH, Shelton SE, Lynn DE. Opiate systems in mother and infant primates coordinate intimate contact during reunion. *Psychoneuroendocrinology*. 1995;20(7):735–42.
80. Moles A, Kieffer BL, D'Amato FR. Deficit in attachment behavior in mice lacking the μ -opioid receptor gene. *Science* (80-). 2004;304(5679):1983–6.
81. Panksepp J, Nelson E, Siviy S. Brain opioids and mother—infant social motivation. *Acta Pædiatrica*. 1994;83(4):40–6.
82. Burkett JP, Spiegel LL, Inoue K, Murphy AZ, Young LJ. Activation of-opioid receptors in the dorsal striatum is necessary for adult social attachment in monogamous prairie voles. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2011;36(11):2200–10. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2011.117>
83. Resendez SL, Dome M, Gormley G, Franco D, Nevárez N, Hamid AA, et al. μ -Opioid receptors within subregions of the striatum mediate pair bond formation through parallel yet distinct reward mechanisms. *J Neurosci*. 2013;33(21):9140–9.
84. Singer T. Empathy for Pain Involves the Affective but not Sensory Components of Pain. *Science* (80-) [Internet]. 2004 Feb 20 [cited 2018 Aug 6];303(5661):1157–62. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1093535>
85. Rütgen M, Seidel E-M, Silani G, Riečanský I, Hummer A, Windischberger C, et al. Placebo analgesia and its opioidergic regulation suggest that empathy for pain is grounded in self pain. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2015;112(41):E5638–46. Available from: <http://www.pnas.org/lookup/doi/10.1073/pnas.1511269112>
86. Wardle MC, Bershad AK, de WH. Naltrexone alters the processing of social and emotional stimuli in healthy adults. *Soc Neurosci*. 2016;11(6):579–91.

87. Westby CE. Social neuroscience and theory of mind. *Folia Phoniatr Logop.* 2014;66(1–2):7–17.
88. Bosia M, Anselmetti S, Bechi M, Lorenzi C, Pirovano A, Cocchi F, et al. Effect of 5-HT1A-receptor functional polymorphism on Theory of Mind performances in schizophrenia. *Psychiatry Res* [Internet]. 2011;188(2):187–90. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psychres.2010.11.014>
89. Chugani DC. Neuroimaging and neurochemistry of autism. *Pediatr Clin North Am.* 2012;59(1):63–73.
90. Brunet-Gouet E, Decety J. Social brain dysfunctions in schizophrenia: A review of neuroimaging studies. *Psychiatry Res - Neuroimaging.* 2006;148(2–3):75–92.
91. Romero LM, Butler LK. Endocrinology of stress. *Int J Comp Psychol* [Internet]. 2007;20(2):89–95. Available from: <http://escholarship.org/uc/item/87d2k2xz.pdf>
92. McEwen BS. Mood disorders and allostatic load. *Biol Psychiatry.* 2003;54(3):200–7.
93. SELYE H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J Allergy.* 1946;17:231.
94. Bullard SE, Griss M, Greene S, Gekker A. *Encyclopedia of Clinical Neuropsychology.* *Arch Clin Neuropsychol.* 2013;28(1):92–92.
95. De Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci.* 2005;6(6):463–75.
96. Maier SF, Watkins LR. Stressor controllability and learned helplessness: The roles of the dorsal raphe nucleus, serotonin, and corticotropin-releasing factor. *Neurosci Biobehav Rev.* 2005;29(4–5):829–41.
97. Amat, J., Alekseev, R.M., Paul, E., Watkins, L.R., Maier SF. Behavioral control over shock blocks behavioral and neurochemical effects of later social defeat. *Neuroscience.* 2010;165:1031–8.
98. Lukas M, Toth I, Reber SO, Slattery DA, Veenema AH, Neumann ID. The neuropeptide oxytocin facilitates pro-social behavior and prevents social avoidance in rats and mice. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2011;36(11):2159–68. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2011.95>
99. Joëls M, Karst H, Krugers HJ, Lucassen PJ. Chronic stress: Implications for neuronal morphology, function and neurogenesis. *Front Neuroendocrinol.* 2007;28(2–3):72–96.
100. Joëls M, Baram TZ. The neuro-symphony of stress. *Aust Inst Heal Welf* [Internet]. 2009;10(6):48. Available from: <https://www.aihw.gov.au/reports/chronic-disease/chronic-disease-participation-work/contents/table-of-contents>
101. Lyle H Miller ADS. American Physiological Association, *The Different Kinds of Stress* (adapted from “The Stress Solution.” 2004;
102. Sheriff MJ, Dantzer B, Delehanty B, Palme R, Boonstra R. Measuring stress in wildlife: Techniques for quantifying glucocorticoids. *Oecologia.* 2011;166(4):869–87.
103. Aston-Jones G, Cohen JD. AN INTEGRATIVE THEORY OF LOCUS COERULEUS-

- NOREPINEPHRINE FUNCTION: Adaptive Gain and Optimal Performance. *Annu Rev Neurosci.* 2005;28(1):403–50.
104. Jiang J, Parker CE, Fuller JR, Kawula TH, H C. The Yin and Yang of Dopamine Release. *Neuropharmacology.* 2007;605(1):70–9.
 105. Adamec R, Holmes A, Blundell J. Vulnerability to lasting anxiogenic effects of brief exposure to predator stimuli: Sex, serotonin and other factors-Relevance to PTSD. *Neurosci Biobehav Rev.* 2008;32(7):1287–92.
 106. Koob GF. A Role for Brain Stress Systems in Addiction. *Neuron* [Internet]. 2008 Jul 10 [cited 2019 Nov 27];59(1):11–34. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627308005308?via%3Dihub>
 107. Landgraf R, Neumann ID. Vasopressin and oxytocin release within the brain: A dynamic concept of multiple and variable modes of neuropeptide communication. *Front Neuroendocrinol.* 2004;25(3–4):150–76.
 108. Swanson LW, Sawchenko PE, Rivier J, Vale WW. Organization of Ovine Corticotropin-Releasing Factor Immunoreactive Cells and Fibers in the Rat Brain: An Immunohistochemical Study. *Neuroendocrinology* [Internet]. 1983;36(3):165–86. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000123454>
 109. BRUHN TO, ENGELAND WC, ANTHONY ELP, GANN DS, JACKSON IMD. Corticotropin-releasing Factor in the Adrenal Medulla. *Ann N Y Acad Sci.* 1987;512(1):115–28.
 110. Audhya T, Hollander CS, Schlesinger DH, Hutchinson B. Structural characterization and localization of corticotropin-releasing factor in testis. *Biochim Biophys Acta (BBA)/Protein Struct Mol.* 1989;995(1):10–6.
 111. Gallagher JP, Orozco-Cabal LF, Liu J, Shinnick-Gallagher P. Synaptic physiology of central CRH system. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2008 Apr 7 [cited 2019 Nov 27];583(2–3):215–25. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001429990800023X?via%3Dihub>
 112. Chen Y, Fenoglio KA, Dubé CM, Grigoriadis DE, Baram TZ. Cellular and molecular mechanisms of hippocampal activation by acute stress are age-dependent. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2006;11(11):992–1002. Available from: <https://doi.org/10.1038/sj.mp.4001863>
 113. Coste SC, Kesterson RA, Heldwein KA, Stevens SL, Heard AD, Hollis JH, et al. Abnormal adaptations to stress and impaired cardiovascular function in mice lacking corticotropin-releasing hormone receptor-2. *Nat Genet.* 2000;24(4):403–9.
 114. Bale TL, Contarino A, Smith GW, Chan R, Gold LH, Sawchenko PE, et al. Mice deficient for corticotropin-releasing hormone receptor-2 display anxiety-like behaviour and are hypersensitive to stress. *Nat Genet.* 2000;24(4):410–4.
 115. Müller MB, Zimmermann S, Sillaber I, Hagemeyer TP, Deussing JM, Timpl P, et al. Limbic corticotropin-releasing hormone receptor 1 mediates anxiety-related behavior and hormonal adaptation to stress. *Nat Neurosci.* 2003;6(10):1100–7.
 116. Roozendaal B, Brunson KL, Holloway BL, McGaugh JL, Baram TZ. Involvement of

- stress-released corticotropin-releasing hormone in the basolateral amygdala in regulating memory consolidation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2002;99(21):13908–13.
117. Merali Z, Khan S, Michaud DS, Shippey SA, Anisman H. Does amygdaloid corticotropin-releasing hormone (CRH) mediate anxiety-like behaviors? Dissociation of anxiogenic effects and CRH release. *Eur J Neurosci*. 2004;20(1):229–39.
 118. Blank T, Nijholt I, Eckart K, Spiess J. Priming of Long-Term Potentiation in Mouse Hippocampus by Corticotropin-Releasing Factor and Acute Stress: Implications for Hippocampus-Dependent Learning. *J Neurosci*. 2002;22(9):3788–94.
 119. Ehlers CL, Henriksen SJ, Wang M, Rivier J, Vale W, Bloom FE. Corticotropin releasing factor produces increases in brain excitability and convulsive seizures in rats. *Brain Res*. 1983;278(1–2):332–6.
 120. Chen Y, Bender RA, Brunson KL, Pomper JK, Grigoriadis DE, Wurst W, et al. Modulation of dendritic differentiation by corticotropin-releasing factor in the developing hippocampus. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2004;101(44):15782–7.
 121. Kozicz T. On the role of urocortin 1 in the non-preganglionic Edinger-Westphal nucleus in stress adaptation. *Gen Comp Endocrinol*. 2007;153(1–3):235–40.
 122. Harbuz MS, Rees RG, Eckland D, Jessop DS, Brewerton D, Lightman SL. Paradoxical responses of hypothalamic corticotropin-releasing factor (CRF) messenger ribonucleic acid (mRNA) and CRF-41 peptide and adenohipophysial proopiomelanocortin mRNA during chronic inflammatory stress. *Endocrinology* [Internet]. 1992 Mar 1;130(3):1394–400. Available from: <https://doi.org/10.1210/endo.130.3.1537299>
 123. Droste SK, De Groote L, Atkinson HC, Lightman SL, Reul JM, Linthorst ACE. Corticosterone levels in the brain show a distinct ultradian rhythm but a delayed response to forced swim stress. *Endocrinology*. 2008;149(7):3244–53.
 124. Karssen AM, Meijer OC, Van Der Sandt ICJ, Lucassen PJ, De Lange ECM, De Boer AG, et al. Multidrug resistance P-glycoprotein hampers the access of cortisol but not of corticosterone to mouse and human brain. *Endocrinology*. 2001;142(6):2686–94.
 125. Chen Y, Brunson KL, Müller MB, Cariaga W, Baram TZ. Immunocytochemical distribution of corticotropin-releasing hormone receptor type-1 (CRF(1))-like immunoreactivity in the mouse brain: light microscopy analysis using an antibody directed against the C-terminus. *J Comp Neurol* [Internet]. 2000 May 8;420(3):305–23. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10754504>
 126. Lu NZ, Wardell SE, Burnstein KL, Defranco D, Fuller PJ, Giguere V, et al. International union of pharmacology. LXV. The pharmacology and classification of the nuclear receptor superfamily: Glucocorticoid, mineralocorticoid, progesterone, and androgen receptors. *Pharmacol Rev*. 2006;58(4):782–97.
 127. Kim JJ, Diamond DM. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nat Rev Neurosci*. 2002;3(6):453–62.
 128. Duvarci S, Paré D. Glucocorticoids enhance the excitability of principal basolateral amygdala neurons. *J Neurosci*. 2007;27(16):4482–91.
 129. Epel ES. Psychological and metabolic stress: A recipe for accelerated cellular aging?

- Hormones [Internet]. 2009;8(1):7–22. Available from: <https://doi.org/10.14310/horm.2002.1217>
130. Dayi A, Cetin F, Sisman AR, Aksu I, Tas A, Gönenc S, et al. The effects of oxytocin on cognitive defect caused by chronic restraint stress applied to adolescent rats and on hippocampal VEGF and BDNF levels. *Med Sci Monit.* 2015;21:69–75.
 131. Cohen H, Kaplan Z, Kozlovsky N, Gidron Y, Matar MA, Zohar J. Hippocampal microinfusion of oxytocin attenuates the behavioural response to stress by means of dynamic interplay with the glucocorticoid-catecholamine responses. *J Neuroendocrinol.* 2010;22(8):889–904.
 132. Nishitani S, Moriya T, Kondo Y, Sakuma Y, Shinohara K. Induction of Fos Immunoreactivity in Oxytocin Neurons in the Paraventricular Nucleus After Female Odor Exposure in Male Rats: Effects of Sexual Experience. *Cell Mol Neurobiol* [Internet]. 2004;24(2):283–91. Available from: <https://doi.org/10.1023/B:CEMN.0000018622.44317.14>
 133. Pirnik Z, Kiss A. Fos expression variances in mouse hypothalamus upon physical and osmotic stimuli: Co-staining with vasopressin, oxytocin, and tyrosine hydroxylase. *Brain Res Bull.* 2005;65(5):423–31.
 134. Pirnik Z, Mravec B, Kiss A. Fos protein expression in mouse hypothalamic paraventricular (PVN) and supraoptic (SON) nuclei upon osmotic stimulus: Colocalization with vasopressin, oxytocin, and tyrosine hydroxylase. *Neurochem Int.* 2004;45(5):597–607.
 135. Neumann, Wigger, Torner, Holsboer, Landgraf. Brain Oxytocin Inhibits Basal and Stress-Induced Activity of the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis in Male and Female Rats: Partial Action Within the Paraventricular Nucleus. *J Neuroendocrinol* [Internet]. 2000 Mar 1;12(3):235–43. Available from: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2826.2000.00442.x>
 136. Smith AS, Wang Z. Hypothalamic Oxytocin Mediates Social Buffering of the Stress Response. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2014 Aug 15 [cited 2019 Nov 27];76(4):281–8. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322313008585?via%3Dihub>
 137. Slattery DA, Neumann ID. No stress please! Mechanisms of stress hyporesponsiveness of the maternal brain. *J Physiol.* 2008;586(2):377–85.
 138. Sue C, And C, Altemus M. Integrative Functions of Lactational Hormones in Social Behavior and Stress Management" *BIOLOGICAL CORRELATES OF LACTATION.* (Hd 16679):164–74.
 139. De Oliveira DCG, Zuardi AW, Graeff FG, Queiroz RHC, Crippa JAS. Anxiolytic-like effect of oxytocin in the simulated public speaking test. *J Psychopharmacol.* 2012;26(4):497–505.
 140. Bülbül M, Babygirija R, Cerjak D, Yoshimoto S, Ludwig K, Takahashi T. Hypothalamic oxytocin attenuates CRF expression via GABAA receptors in rats. *Brain Res* [Internet]. 2011;1387:39–45. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.brainres.2011.02.091>

141. Zheng J, Babygirija R, Bülbül M, Cerjak D, Ludwig K, Takahashi T. Hypothalamic oxytocin mediates adaptation mechanism against chronic stress in rats. *Am J Physiol - Gastrointest Liver Physiol*. 2010;299(4):946–53.
142. Heinrichs M, Baumgartner T, Kirschbaum C, Ehlert U. Social support and oxytocin interact to suppress cortisol and subjective responses to psychosocial stress. *Biol Psychiatry*. 2003;54(12):1389–98.
143. Knox SS, Uvnäs-Moberg K. Social isolation and cardiovascular disease: An atherosclerotic pathway? *Psychoneuroendocrinology*. 1998;23(8):877–90.
144. Domes G, Heinrichs M, Gläscher J, Büchel C, Braus DF, Herpertz SC. Oxytocin Attenuates Amygdala Responses to Emotional Faces Regardless of Valence. *Biol Psychiatry*. 2007;62(10):1187–90.
145. Windle RJ, Shanks N, Lightman SL, Ingram CD, Sciences M. Central Oxytocin Administration Reduces Stress- Induced Corticosterone Release and Anxiety Behavior in Rats *. 1997;138(7):2829–34.
146. Svanidze MD, Bukiya NG, Butskhrikidze MP. Effect of oxytocin on the emotional state and behavior of rats under stress conditions. *Neurophysiology*. 2012;43(5):365–8.
147. Windle RJ. Oxytocin Attenuates Stress-Induced c-fos mRNA Expression in Specific Forebrain Regions Associated with Modulation of Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Activity. *J Neurosci* [Internet]. 2004;24(12):2974–82. Available from: <http://www.jneurosci.org/cgi/doi/10.1523/JNEUROSCI.3432-03.2004>
148. Mantella RC, Vollmer RR, Li X, Amico JA. Female oxytocin-deficient mice display enhanced anxiety-related behavior. *Endocrinology*. 2003;144(6):2291–6.
149. Winslow JT, Noble PL, Lyons CK, Sterk SM, Insel TR. Rearing effects on cerebrospinal fluid oxytocin concentration and social buffering in rhesus monkeys. *Neuropsychopharmacology*. 2003;28(5):910–8.
150. Lee R, Ferris C, Van de Kar LD, Coccaro EF. Cerebrospinal fluid oxytocin, life history of aggression, and personality disorder. *Psychoneuroendocrinology*. 2009;34(10):1567–73.
151. Liberzon I, Young EA. Effects of stress and glucocorticoids on CNS oxytocin receptor binding. *Psychoneuroendocrinology*. 1997;22(6):411–22.
152. Torner L, Plotsky PM, Neumann ID, de Jong TR. Forced swimming-induced oxytocin release into blood and brain: Effects of adrenalectomy and corticosterone treatment. *Psychoneuroendocrinology* [Internet]. 2017;77:165–74. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2016.12.006>
153. Liberzon I, Chalmers DT, Mansour A, Lopez JF, Watson SJ, Young EA. Glucocorticoid regulation of hippocampal oxytocin receptor binding. *Brain Res*. 1994;650(2):317–22.
154. Lang RE, Heil JWE, Ganten D, Hermann K, Unger T, Rascher W. Oxytocin Unlike Vasopressin Is a Stress Hormone in the Rat. *Neuroendocrinology* [Internet]. 1983;37(4):314–6. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000123566>

155. Engelmann M, Landgraf R, Wotjak CT. The hypothalamic–neurohypophysial system regulates the hypothalamic–pituitary–adrenal axis under stress: An old concept revisited. *Front Neuroendocrinol* [Internet]. 2004 Sep 1 [cited 2018 Dec 3];25(3–4):132–49. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091302204000202?via%3Dihub>
156. JEZOVA D, SKULTETYOVA I, TOKAREV DI, BAKOS P, VIGAS M. Vasopressin and Oxytocin in Stress. *Ann N Y Acad Sci*. 1995;771(1):192–203.
157. Van De Kar LD, Blair ML. Forebrain pathways mediating stress-induced hormone secretion. *Front Neuroendocrinol*. 1999;20(1):1–48.
158. Nishioka T, Anselmo-Franci JA, Li P, Callahan MF, Morris M. Stress increases oxytocin release within the hypothalamic paraventricular nucleus. *Brain Res*. 1998;781(1–2):57–61.
159. Miyata S, Itoh T, Lin SH, Ishiyama M, Nakashima T, Kiyohara T. Temporal changes of c-fos expression in oxytocinergic magnocellular neuroendocrine cells of the rat hypothalamus with restraint stress. *Brain Res Bull*. 1995;37(4):391–5.
160. Engelmann M, Ebner K, Landgraf R, Holsboer F, Wotjak CT. Emotional stress triggers intrahypothalamic but not peripheral release of oxytocin in male rats. *J Neuroendocrinol*. 1999;11(11):867–72.
161. Wotjak CT, Ganster J, Kohl G, Holsboer F, Landgraf R, Engelmann M. Dissociated central and peripheral release of vasopressin, but not oxytocin, in response to repeated swim stress: New insights into the secretory capacities of peptidergic neurons. *Neuroscience*. 1998;85(4):1209–22.
162. de Jong TR, Menon R, Bludau A, Grund T, Biermeier V, Klampfl SM, et al. Salivary oxytocin concentrations in response to running, sexual self-stimulation, breastfeeding and the TSST: The Regensburg Oxytocin Challenge (ROC) study. *Psychoneuroendocrinology* [Internet]. 2015;62:381–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.08.027>
163. Pierrehumbert B, Torrisi R, Laufer D, Halfon O, Ansermet F, Beck Popovic M. Oxytocin response to an experimental psychosocial challenge in adults exposed to traumatic experiences during childhood or adolescence. *Neuroscience* [Internet]. 2010;166(1):168–77. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.neuroscience.2009.12.016>
164. Bogdan R, Pizzagalli DA. Acute stress reduces reward responsiveness: implications for depression. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2006/06/27. 2006 Nov 15;60(10):1147–54. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16806107>
165. Scheele D, Wille A, Kendrick KM, Stoffel-Wagner B, Becker B, Güntürkün O, et al. Oxytocin enhances brain reward system responses in men viewing the face of their female partner. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(50):20308–13.
166. Striepens N, Matusch A, Kendrick KM, Mihov Y, Elmenhorst D, Becker B, et al. Oxytocin enhances attractiveness of unfamiliar female faces independent of the dopamine reward system. *Psychoneuroendocrinology*. 2014;39(1):74–87.
167. Goodson JL. Nonapeptides and the evolutionary patterning of sociality. *Prog Brain Res*

- [Internet]. 2008 Jan 1 [cited 2019 Nov 28];170:3–15. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0079612308004019?via%3Dihub>
168. Wotjak CT, Kubota M, Liebsch G, Montkowski A, Holsboer F, Neumann I, et al. Release of vasopressin within the rat paraventricular nucleus in response to emotional stress: A novel mechanism of regulating adrenocorticotrophic hormone secretion? *J Neurosci*. 1996;16(23):7725–32.
 169. Shalev I, Israel S, Uzefovsky F, Gritsenko I, Kaitz M, Ebstein RP. Vasopressin needs an audience: Neuropeptide elicited stress responses are contingent upon perceived social evaluative threats. *Horm Behav* [Internet]. 2011;60(1):121–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yhbeh.2011.04.005>
 170. Erigelmann M. Vasopressin released within the septal brain area during swim stress modulates the behavioural stress response in rats. *Eur J Neurosci*. 1999;11(3):997–1002.
 171. Ebner K, Wotjak CT, Landgraf R, Engelmann M. Forced swimming triggers vasopressin release within the amygdala to modulate stress-coping strategies in rats. *Eur J Neurosci*. 2002;15(2):384–8.
 172. Karakilic A, Kizildag S, Kandis S, Guvendi G, Koc B, Camsari GB, et al. The effects of acute foot shock stress on empathy levels in rats. *Behav Brain Res*. 2018;349(April):31–6.
 173. Palgi S, Klein E, Shamay-Tsoory S. The role of oxytocin in empathy in PTSD. *Psychol Trauma Theory, Res Pract Policy*. 2017;9(1):70–5.
 174. Muroy SE, Long KLP, Kaufer D, Kirby ED. Moderate Stress-Induced Social Bonding and Oxytocin Signaling are Disrupted by Predator Odor in Male Rats. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2016;41(8):2160–70. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2016.16>
 175. Sandi C, Haller J. Stress and the social brain: Behavioural effects and neurobiological mechanisms. *Nat Rev Neurosci* [Internet]. 2015;16(5):290–304. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrn3918>
 176. Batson CD, Fultz J, Schoenrade PA. Distress and Empathy: Two Qualitatively Distinct Vicarious Emotions with Different Motivational Consequences. *J Pers*. 1987;55(1):19–39.
 177. McEwen BS, Martin LJ, Hathaway G, Isbester K, Mirali S, Acland EL, et al. Time-dependent changes in altruistic punishment following stress. *Psychoneuroendocrinology* [Internet]. 2015;87(3):326–32. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.psyneuen.2015.08.003>
 178. Levy J, Yirmiya K, Goldstein A, Feldman R. The Neural Basis of Empathy and Empathic Behavior in the Context of Chronic Trauma. *Front Psychiatry*. 2019;10(August):1–9.
 179. von Dawans B, Fischbacher U, Kirschbaum C, Fehr E, Heinrichs M. The Social Dimension of Stress Reactivity: Acute Stress Increases Prosocial Behavior in Humans. *Psychol Sci*. 2012;23(6):651–60.

180. Buchanan TW, Preston SD. Stress leads to prosocial action in immediate need situations. *Front Behav Neurosci* [Internet]. 2014 Jan 22;8:5. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24478652>
181. Margittai Z, Strombach T, van Wingerden M, Joëls M, Schwabe L, Kalenscher T. A friend in need: Time-dependent effects of stress on social discounting in men. *Horm Behav* [Internet]. 2015;73:75–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yhbeh.2015.05.019>
182. Martin LJ, Hathaway G, Isbester K, Mirali S, Acland EL, Niederstrasser N, et al. Reducing social stress elicits emotional contagion of pain in mouse and human strangers. *Curr Biol*. 2015;
183. Gonzalez-Liencre C, Juckel G, Tas C, Friebe A, Brüne M. Emotional contagion in mice: The role of familiarity. *Behav Brain Res*. 2014;263.
184. Decety J, Lamm C. Human Empathy Through the Lens of Social Neuroscience. *Sci World J* [Internet]. 2006 [cited 2018 Aug 6];6:1146–63. Available from: <http://www.hindawi.com/journals/tswj/2006/280363/abs/>
185. Tomova L, Majdandžić J, Hummer A, Windischberger C, Heinrichs M, Lamm C. Increased neural responses to empathy for pain might explain how acute stress increases prosociality. *Soc Cogn Affect Neurosci* [Internet]. 2017 Mar 1;12(3):401–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1093/scan/nsw146>
186. Phelps EA, Lempert KM, Sokol-Hessner P. Emotion and Decision Making: Multiple Modulatory Neural Circuits. *Annu Rev Neurosci*. 2014;37(1):263–87.
187. Clay Z, De Waal FBM. Development of socio-emotional competence in bonobos. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(45):18121–6.
188. Barta IBA, Shan H, Molasky NMR, Murray TM, Williams JZ, Decety J, et al. Anxiolytic treatment impairs helping behavior in rats. *Front Psychol*. 2016;7(JUN).
189. Marusak HA, Martin KR, Etkin A, Thomason ME. Childhood Trauma Exposure Disrupts the Automatic Regulation of Emotional Processing. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2015;40(5):1250–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/npp.2014.311>
190. Gee DG, Gabard-Durnam LJ, Flannery J, Goff B, Humphreys KL, Telzer EH, et al. Early developmental emergence of human amygdala-prefrontal connectivity after maternal deprivation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013;110(39):15638–43.
191. Feldman R. Mother-infant synchrony and the development of moral orientation in childhood and adolescence: Direct and indirect mechanisms of developmental continuity. Vol. 77, *American Journal of Orthopsychiatry*. Feldman, Ruth: Department of Psychology, Gonda Brain Sciences Center, Bar-Ilan University, Ramat-Gan, Israel, 52900, feldman@mail.biu.ac.il; Educational Publishing Foundation; 2007. p. 582–97.
192. Feldman R, Greenbaum CW, Mayes LC, Erlich SH. Change in mother-infant interactive behavior: Relations to change in the mother, the infant, and the social context. *Infant Behav Dev*. 1997;20(2):151–63.
193. Uysal N, Tugyan K, Kayatekin BM, Acikgoz O, Bagriyanik HA, Gonenc S, et al. The

- effects of regular aerobic exercise in adolescent period on hippocampal neuron density, apoptosis and spatial memory. *Neurosci Lett*. 2005;383(3):241–5.
194. Saygin M, Caliskan S, Karahan N, Koyu A, Gumral N, Uguz A. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health*. 2011;27(5):455–63.
 195. Uysal N, Tugyan K, Aksu I, Ozbal S, Ozdemir D, Dayi A, et al. Age-related changes in apoptosis in rat hippocampus induced by oxidative stress. *Biotech Histochem*. 2012;87(2):98–104.
 196. Kubera M, Obuchowicz E, Goehler L, Brzeszcz J, Maes M. In animal models, psychosocial stress-induced (neuro)inflammation, apoptosis and reduced neurogenesis are associated to the onset of depression. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry* [Internet]. 2011;35(3):744–59. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2010.08.026>
 197. Zelena D, Mergl Z, Makara GB. Glutamate agonists activate the hypothalamic–pituitary–adrenal axis through hypothalamic paraventricular nucleus but not through vasopressinergic neurons. *Brain Res* [Internet]. 2005 Jan 21 [cited 2019 Dec 2];1031(2):185–93. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899304017615?via%3Dihub>
 198. Magariños AM, McEwen BS. Stress-induced atrophy of apical dendrites of hippocampal CA3c neurons: Involvement of glucocorticoid secretion and excitatory amino acid receptors. *Neuroscience* [Internet]. 1995 Nov 1 [cited 2019 Dec 2];69(1):89–98. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/030645229500259L?via%3Dihub>
 199. Moghaddam B, Adams B, Verma A, Daly D. Activation of Glutamatergic Neurotransmission by Ketamine: A Novel Step in the Pathway from NMDA Receptor Blockade to Dopaminergic and Cognitive Disruptions Associated with the Prefrontal Cortex. *J Neurosci* [Internet]. 1997 Apr 15;17(8):2921 LP – 2927. Available from: <http://www.jneurosci.org/content/17/8/2921.abstract>
 200. M. Madrigal J, Garcia-Bueno B, Caso J, Perez-Nievas B, Leza J. Stress-Induced Oxidative Changes in Brain. *CNS Neurol Disord - Drug Targets*. 2008;5(5):561–8.
 201. Lee AL, Ogle WO, Sapolsky RM. Stress and depression: possible links to neuron death in the hippocampus. *Bipolar Disord* [Internet]. 2002 Apr 1;4(2):117–28. Available from: <https://doi.org/10.1034/j.1399-5618.2002.01144.x>
 202. Lipton P. Ischemic Cell Death in Brain Neurons. *Physiol Rev* [Internet]. 1999 Jan 10;79(4):1431–568. Available from: <https://doi.org/10.1152/physrev.1999.79.4.1431>
 203. Madrigal JLM, Caso JR, de Cristóbal J, Cárdenas A, Leza JC, Lizasoain I, et al. Effect of subacute and chronic immobilisation stress on the outcome of permanent focal cerebral ischaemia in rats. *Brain Res* [Internet]. 2003 Jul 25 [cited 2019 Dec 2];979(1–2):137–45. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006899303028920?via%3Dihub>
 204. Madrigal JLM, Olivenza R, Moro MA, Lizasoain I, Lorenzo P, Rodrigo J, et al. Glutathione Depletion, Lipid Peroxidation and Mitochondrial Dysfunction Are Induced

- by Chronic Stress in Rat Brain. *Neuropsychopharmacology* [Internet]. 2001;24(4):420–9. Available from: [https://doi.org/10.1016/S0893-133X\(00\)00208-6](https://doi.org/10.1016/S0893-133X(00)00208-6)
205. Horner HC, Munck A, Lienhard GE. Dexamethasone causes translocation of glucose transporters from the plasma membrane to an intracellular site in human fibroblasts. *J Biol Chem* [Internet]. 1987 Dec 25;262(36):17696–702. Available from: <http://www.jbc.org/content/262/36/17696.abstract>
 206. Eriksson PS, Perfilieva E, Björk-Eriksson T, Alborn A-M, Nordborg C, Peterson DA, et al. Neurogenesis in the adult human hippocampus. *Nat Med* [Internet]. 1998;4(11):1313–7. Available from: <https://doi.org/10.1038/3305>
 207. Gould E, Tanapat P, McEwen BS, Flügge G, Fuchs E. Proliferation of granule cell precursors in the dentate gyrus of adult monkeys is diminished by stress. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 1998 Mar 17;95(6):3168 LP – 3171. Available from: <http://www.pnas.org/content/95/6/3168.abstract>
 208. Chappell PB, Smith MA, Kilts CD, Bissette G, Ritchie J, Anderson C, et al. Alterations in corticotropin-releasing factor-like immunoreactivity in discrete rat brain regions after acute and chronic stress. *J Neurosci*. 1986;6(10):2908–14.
 209. Karst H, Joëls M. Brief RU 38486 treatment normalizes the effects of chronic stress on calcium currents in rat hippocampal CA1 neurons. *Neuropsychopharmacology*. 2007;32(8):1830–9.
 210. Cook SC, Wellman CL. Chronic stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *J Neurobiol*. 2004;60(2):236–48.
 211. Radley JJ, Rocher AB, Miller M, Janssen WGM, Liston C, Hof PR, et al. Repeated stress induces dendritic spine loss in the rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2006;16(3):313–20.
 212. Radley JJ, Sisti HM, Hao J, Rocher AB, McCall T, Hof PR, et al. Chronic behavioral stress induces apical dendritic reorganization in pyramidal neurons of the medial prefrontal cortex. *Neuroscience*. 2004;125(1):1–6.
 213. Wellman CL. Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration Dendritic Reorganization in Pyramidal Neurons in Medial Prefrontal Cortex after Chronic Corticosterone Administration ABSTRACT : 2014;(November 2001):245–53.
 214. Brown SM, Henning S, Wellman CL. Mild, short-term stress alters dendritic morphology in rat medial prefrontal cortex. *Cereb Cortex*. 2005;15(11):1714–22.
 215. Wellman CL. Dendritic reorganization in pyramidal neurons in medial prefrontal cortex after chronic corticosterone administration. *J Neurobiol* [Internet]. 2001 Nov 15;49(3):245–53. Available from: <https://doi.org/10.1002/neu.1079>
 216. Vyas A, Jadhav S, Chattarji S. Prolonged behavioral stress enhances synaptic connectivity in the basolateral amygdala. *Neuroscience*. 2006;143(2):387–93.
 217. Vyas A, Mitra R, Shankaranarayana Rao BS, Chattarji S. Chronic stress induces contrasting patterns of dendritic remodeling in hippocampal and amygdaloid neurons. *J Neurosci*. 2002;22(15):6810–8.

218. Bennur S, Shankaranarayana Rao BS, Pawlak R, Strickland S, McEwen BS, Chattarji S. Stress-induced spine loss in the medial amygdala is mediated by tissue-plasminogen activator. *Neuroscience*. 2007;144(1):8–16.
219. Mitra R, Sundlass K, Parker KJ, Schatzberg AF, Lyons DM. Social stress-related behavior affects hippocampal cell proliferation in mice. *Physiol Behav*. 2006;89(2):123–7.
220. Zuloaga DG, Carbone DL, Hiroi R, Chong DL, Handa RJ. Dexamethasone induces apoptosis in the developing rat amygdala in an age-, region-, and sex-specific manner. *Neuroscience* [Internet]. 2011 Dec 29 [cited 2019 Dec 2];199:535–47. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452211011389?via%3Dihub>
221. Oyar EO, Korkmaz A, Omeroglu OK and S. Effects of Melatonin on Ischemic Spinal Cord Injury Caused by Aortic Cross Clamping in Rabbits [Internet]. Vol. 5, *Current Neurovascular Research*. 2008. p. 46–51. Available from: <http://www.eurekaselect.com/node/66415/article>
222. Koyu A, Ozguner F, Yilmaz HR, Uz E, Cesur G, Ozcelik N. The protective effect of caffeic acid phenethyl ester (CAPE) on oxidative stress in rat liver exposed to the 900 MHz electromagnetic field. *Toxicol Ind Health* [Internet]. 2009 Jul 1;25(6):429–34. Available from: <https://doi.org/10.1177/0748233709106821>
223. Spiers JG, Chen HJC, Sernia C, Lavidis NA. Activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal stress axis induces cellular oxidative stress. *Front Neurosci*. 2015;9(JAN):1–6.
224. Gücüyener K, Gür T, Öz E, Türkyilmaz C, Öztürk G, Erbaç D, et al. Biochemical alterations in neonatal hypoxic ischaemic brain damage. *Prostaglandins Leukot Essent Fat Acids*. 1997;
225. Piper M. Treuting, Suzanne M. Dintzis KSM. *COMPARATIVE ANATOMY AND HISTOLOGY A MOUSE, RAT, AND HUMAN ATLAS* 2nd ed. 2017.
226. Zaki SM, Abdelgawad FA, El-Shaarawy EAA, Radwan RAK, Aboul-Hoda BE. Stress-induced changes in the aged-rat adrenal cortex. *Histological and histomorphometric study*. *Folia Morphol*. 2018;77(4):629–41.
227. Bozzo A, Soñez CA, Mugnaini MT, Pastorino IC, Rolando AN, Romanini MC, et al. Chronic stress effects on the apoptotic index of the adrenal cortex of pregnant rats. *Biocell*. 2006;30(3):439–45.
228. Bozzo AA, Soñez CA, Monedero Cobeta I, Rolando A, Romanini MC, Cots D, et al. Chronic stress and its effects on adrenal cortex apoptosis in pregnant rats. *Biotech Histochem* [Internet]. 2014 May 1;89(4):296–303. Available from: <https://doi.org/10.3109/10520295.2013.846478>
229. Ulrich-Lai YM, Figueiredo HF, Ostrander MM, Choi DC, Engeland WC, Herman JP. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner. *Am J Physiol Metab* [Internet]. 2006 Nov 1;291(5):E965–73. Available from: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00070.2006>
230. Wolkersdörfer GW, Bornstein SR. Tissue Remodelling in the Adrenal Gland. *Biochem Pharmacol* [Internet]. 1998 Jul 15 [cited 2019 Dec 2];56(2):163–71. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006295298000677?via%3Dihub>

231. Vinson GP. Adrenocortical zonation and ACTH. *Microsc Res Tech* [Internet]. 2003 Jun 15;61(3):227–39. Available from: <https://doi.org/10.1002/jemt.10331>
232. Blanco A, Monterde JG, Méndez A, Artacho-Pérula E. Stereological Study of Normal and Apoptotic Cell Populations in the Adrenal Gland in Calves. *Cells Tissues Organs* [Internet]. 2001;169(1):73–80. Available from: <https://www.karger.com/DOI/10.1159/000047863>
233. Carsia R V., Nagele RG, Morita Y, Tilly KI, Tilly JL. Models to elucidate the regulation of adrenal cell death. *Endocr Res*. 1998;24(3–4):899–908.
234. Willenberg HS, Bornstein SR, Dumser T, Ehrhart-Bornstein M, Barocka A, Chrousos GP, et al. Morphological changes in adrenals from victims of suicide in relation to altered apoptosis. *Endocr Res* [Internet]. 1998;24(3–4):963—967. Available from: <https://doi.org/10.3109/07435809809032717>
235. Otis M, Campbell S, Payet MD, Gallo-Payet N. Expression of extracellular matrix proteins and integrins in rat adrenal gland: Importance for ACTH-associated functions. *J Endocrinol*. 2007;193(3):331–47.
236. Fadeel B, Orrenius S. Apoptosis: A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease. *J Intern Med*. 2005;258(6):479–517.
237. Peitsch MC, Polzar B, Stephan H, Crompton T, MacDonald HR, Mannherz HG, et al. Characterization of the endogenous deoxyribonuclease involved in nuclear DNA degradation during apoptosis (programmed cell death). *EMBO J*. 1993;12(1):371–7.
238. Surh CD, Sprent J. T-cell apoptosis detected in situ during positive and negative selection in the thymus. Vol. 372, *Nature*. 1994. p. 100–3.
239. Yamada T, Ohyama H. Radiation-induced interphase death of rat thymocytes is internally programmed (apoptosis). *Int J Radiat Biol*. 1988;53(1):65–75.
240. Wyllie AH. Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. Vol. 284, *Nature*. 1980. p. 555–6.
241. Fukuzuka K, Rosenberg JJ, Gaines GC, Edwards CK, Clare-Salzler M, MacKay SLD, et al. Caspase-3-dependent organ apoptosis early after burn injury. *Ann Surg*. 1999;229(6):851–9.
242. Morishita S, Sato EF, Takahashi K, Manabe M, Inoue M. Insulin-induced hypoglycemia elicits thymocyte apoptosis in the rat. *Diabetes Res Clin Pract*. 1998;40(1):1–7.
243. Hoffman-Goetz L, Zajchowski S, Aldred A. Impact of treadmill exercise on early apoptotic cells in mouse thymus and spleen. *Life Sci*. 1998;64(3):191–200.
244. Hatanaka K, Ikegaya H, Takase I, Kobayashi M, Iwase H, Yoshida KI. Immobilization stress-induced thymocyte apoptosis in rats. *Life Sci*. 2001;69(2):155–65.
245. Selye H. A Syndrome Produced by Diverse Nocuous Agents. *J Neuropsychiatry Clin Neurosci* [Internet]. 1998 May 1;10(2):230a – 231. Available from: <https://doi.org/10.1176/jnp.10.2.230a>

246. Tarcic N, Ovadia H, Weiss DW, Weidenfeld J. Restraint stress-induced thymic involution and cell apoptosis are dependent on endogenous glucocorticoids. *J Neuroimmunol.* 1998;82(1):40–6.
247. Živković I, Rakin A, Petrović-Djergović D, Miljković B, Mičić M. The effects of chronic stress on thymus innervation in the adult rat. *Acta Histochem.* 2005;106(6):449–58.
248. Živković IP, Rakin AK, Petrović-Djergović DM, Kosec DJ, Mičić M V. Exposure to forced swim stress alters morphofunctional characteristics of the rat thymus. *J Neuroimmunol.* 2005;
249. Sarjan HN, Yajurvedi HN. Duration dependent effect of chronic stress on primary and secondary lymphoid organs and their reversibility in rats. *Immunobiology.* 2019;
250. Lenz HJ, Raedler A, Greten H, Vale WW, Rivier JE. Stress-Induced Gastrointestinal Secretory and Motor Responses in Rats Are Mediated by Endogenous Corticotropin-Releasing Factor. *Gastroenterology [Internet].* 1988 Dec 1 [cited 2019 Dec 9];95(6):1510–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0016508588800702?via%3Dihub>
251. Sato N, Tan L, Tate K, Okada M. Rats demonstrate helping behavior toward a soaked conspecific. *Anim Cogn [Internet].* 2015;18(5):1039–47. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10071-015-0872-2>
252. Karakilic A, Kizildag S, Kandis S, Guvendi G, Koc B, Camsari GB, et al. The effects of acute foot shock stress on empathy levels in rats. *Behav Brain Res [Internet].* 2018 Sep 3 [cited 2018 Nov 26];349:31–6. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432818300093?via%3Dihub>
253. Rodgers RJ, Cao BJ, Dalvi A, Holmes A. Animal models of anxiety: An ethological perspective. *Brazilian J Med Biol Res.* 1997;30(3):289–304.
254. Matt C SJ. *Guide to research techniques in neuroscience.* Acad Press. 2010;
255. Broom DC, Jutkiewicz EM, Folk JE, Traynor JR, Rice KC, Woods JH. Nonpeptidic δ -opioid receptor agonists reduce immobility in the forced swim assay in rats. *Neuropsychopharmacology.* 2002;26(6):744–55.
256. Gunnar M, Quevedo K. The Neurobiology of Stress and Development. *Annu Rev Psychol.* 2007;58(1):145–73.
257. Stanić D, Plećaš-Solarović B, Mirković D, Jovanović P, Dronjak S, Marković B, et al. Oxytocin in corticosterone-induced chronic stress model: Focus on adrenal gland function. *Psychoneuroendocrinology.* 2017;80:137–46.
258. McEwen BS. Allostasis and allostatic load: Implications for neuropsychopharmacology. *Sci Ment Heal Stress Brain.* 2013;9(99):2–18.
259. Schneider B, Koenigs M. Human lesion studies of ventromedial prefrontal cortex. *Neuropsychologia [Internet].* 2017 Dec 1 [cited 2020 Jan 16];107:84–93. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0028393217303676?via%3Dihub>

260. Reber J, Feinstein JS, O'Doherty JP, Liljeholm M, Adolphs R, Tranel D. Selective impairment of goal-directed decision-making following lesions to the human ventromedial prefrontal cortex. *Brain* [Internet]. 2017 May 24;140(6):1743–56. Available from: <https://doi.org/10.1093/brain/awx105>
261. Feldman R, Greenbaum CW, Yirmiya N, Mayes LC. Relations between cyclicity and regulation in mother-infant interaction at 3 and 9 months and cognition at two years. *Infant Behav Dev*. 1996;19:449.
262. Baron S, Brush FR. Effects of acute and chronic restraint and estrus cycle on pituitary-adrenal function in the rat. *Horm Behav*. 1979;12(3):218–24.
263. Karakilic A, Kizildag S, Kandis S, Guvendi G, Koc B, Camsari GB, et al. The effects of acute foot shock stress on empathy levels in rats. *Behav Brain Res* [Internet]. 2018 Apr [cited 2018 May 2]; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0166432818300093>
264. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2003 Feb 28 [cited 2019 Dec 31];463(1–3):3–33. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S001429990301272X?via%3Dihub>
265. Wall PM, Messier C. Methodological and conceptual issues in the use of the elevated plus-maze as a psychological measurement instrument of animal anxiety-like behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 2001;25(3):275–86.
266. Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open : closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods* [Internet]. 1985 Aug 1 [cited 2020 Jan 16];14(3):149–67. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0165027085900317?via%3Dihub>
267. O'Neil MF, Moore NA. Animal models of depression: are there any? *Hum Psychopharmacol Clin Exp* [Internet]. 2003 Jun 1;18(4):239–54. Available from: <https://doi.org/10.1002/hup.496>
268. Porsolt RD, Anton G, Blavet N JM. BEHAVIOURAL DESPAIR IN RATS : A NEW MODEL SENSITIVE TO ANTIDEPRESSANT TREATMENTS 1 . Introduction A major problem in the search for new psy- chotropic drugs is the absence of specific animal models for the different mental disease states . This is parti. *Eur J Pharmacol*. 1978;47.
269. Aguilera G. Corticotropin Releasing Hormone, Receptor Regulation and the Stress Response. *Trends Endocrinol Metab* [Internet]. 1998 Oct 1 [cited 2019 Dec 27];9(8):329–36. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043276098000794?via%3Dihub>
270. Aguilera G. Regulation of Pituitary ACTH Secretion during Chronic Stress. *Front Neuroendocrinol* [Internet]. 1994 Dec 1 [cited 2019 Dec 27];15(4):321–50. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0091302284710132?via%3Dihub>
271. Dallman MF, Akana SF, Scribner KA, Bradbury MJ, Walker C-D, Strack AM, et al. Stress, Feedback and Facilitation in the Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis. *J*

- Neuroendocrinol [Internet]. 1992 Oct 1;4(5):517–26. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2826.1992.tb00200.x>
272. Lucas M, Ilin Y, Anunu R, Kehat O, Xu L, Desmedt A, et al. Long-term effects of controllability or the lack of it on coping abilities and stress resilience in the rat. *Stress* [Internet]. 2014 Sep 1;17(5):423–30. Available from: <https://doi.org/10.3109/10253890.2014.930430>
 273. Gleib DA, Goldman N, Chuang Y-L, Weinstein M. Do Chronic Stressors Lead to Physiological Dysregulation? Testing the Theory of Allostatic Load. *Psychosom Med* [Internet]. 2007;69(8). Available from: https://journals.lww.com/psychosomaticmedicine/Fulltext/2007/10000/Do_Chronic_Stressors_Lead_to_Physiological.10.aspx
 274. Thakur T, Anand R, Ray A, Gulati K. Differential effects of chronic predictable and unpredictable stress on neurobehavioral and biochemical responses in rats. *Ther Targets Neurol Dis*. 2015;(March).
 275. De Boer SF, Van Der Gugten J, Slangen JL. Plasma catecholamine and corticosterone responses to predictable and unpredictable noise stress in rats. *Physiol Behav* [Internet]. 1989 Apr 1 [cited 2019 Dec 30];45(4):789–95. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/0031938489902965?via%3Dihub>
 276. Wolpe J. Reciprocal inhibition as the main basis of psychotherapeutic effects. Vol. 72, A.M.A. *Archives of Neurology and Psychiatry*. US: American Medical Association; 1954. p. 205–26.
 277. Catherine Crockford, Tobias Deschner and RMW. The Role of Oxytocin in Social Buffering: What Do Primate Studies Add? *Curr Top Behav Neurosci* [Internet]. 2017; Available from: http://link.springer.com/chapter/10.1007/7854_2011_176
 278. Kikusui T, Winslow JT, Mori Y. Social buffering: Relief from stress and anxiety. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2006;361(1476):2215–28.
 279. Simpson Jr JR, Drevets WC, Snyder AZ, Gusnard DA, Raichle ME. Emotion-induced changes in human medial prefrontal cortex: II. During anticipatory anxiety. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001 Jan 16;98(2):688–93. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11209066>
 280. Likhtik E, Stujenske JM, A Topiwala M, Harris AZ, Gordon JA. Prefrontal entrainment of amygdala activity signals safety in learned fear and innate anxiety. *Nat Neurosci* [Internet]. 2014;17(1):106–13. Available from: <https://doi.org/10.1038/nn.3582>
 281. Gold AL, Morey RA, McCarthy G. Amygdala–Prefrontal Cortex Functional Connectivity During Threat-Induced Anxiety and Goal Distraction. *Biol Psychiatry* [Internet]. 2015 Feb 15 [cited 2019 Dec 30];77(4):394–403. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006322314002650?via%3Dihub>
 282. Gold PW. The organization of the stress system and its dysregulation in depressive illness. *Mol Psychiatry* [Internet]. 2015;20(1):32–47. Available from: <https://doi.org/10.1038/mp.2014.163>
 283. Pezze MA, Feldon J. Mesolimbic dopaminergic pathways in fear conditioning. *Prog Neurobiol* [Internet]. 2004 Dec 1 [cited 2020 Jan 20];74(5):301–20. Available from:

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301008204001637?via%3Dihub>
284. Bali A, Jaggi AS. Preclinical experimental stress studies: Protocols, assessment and comparison. *Eur J Pharmacol* [Internet]. 2015;746:282–92. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.10.017>
 285. Herzog CJ, Czéh B, Corbach S, Wuttke W, Schulte-Herbrüggen O, Hellweg R, et al. Chronic social instability stress in female rats: A potential animal model for female depression. *Neuroscience* [Internet]. 2009 Mar 31 [cited 2020 Jan 6];159(3):982–92. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0306452209001195?via%3Dihub>
 286. Rygula R, Abumaria N, Flügge G, Fuchs E, Rüter E, Havemann-Reinecke U. Anhedonia and motivational deficits in rats: Impact of chronic social stress. *Behav Brain Res* [Internet]. 2005 Jul 1 [cited 2020 Jan 6];162(1):127–34. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166432805001038?via%3Dihub>
 287. Riley V. Mouse mammary tumors: Alteration of incidence as apparent function of stress. *Science* (80-). 1975;189(4201):465–7.
 288. Kioukia-Fougia N, Antoniou K, Bekris S, Liapi C, Christofidis I, Papadopoulou-Daifoti Z. The effects of stress exposure on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, thymus, thyroid hormones and glucose levels. *Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry*. 2002;26(5):823–30.

EKLER

EK-1: Etik Kurul Onayı

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU (TF-HADYEK)
ETİK KURUL KARARI

Toplantı Tarihi	Karar No	Proje Yürütücüsü
23/11/2017	22/2017	Prof. Dr. Ahmet KOYU

“Sıçanlarda Kronik Stresin Empatiye Etkilerinin Aaştırılması” isimli proje başvurusu etik açıdan uygun bulunmuştur.

Etik Onay Geçerlilik Süresi: 5 yıl

GÖREVİ	ADI SOYADI	İMZA
Başkan	Prof. Dr. Nazan Uysal HARZADIN	Proje çalışması
Başkan Yardımcısı	Vet. Hek. Sevim KANDIŞ	
Üye	Prof. Dr. Lutfiye KANIT	
Üye	Prof. Dr. Ersin KOYLU	
Üye	Prof. Dr. Sevil Gönenç ARDA	
Üye	Prof. Dr. Mehmet Nuri ARDA	
Üye	Prof. Dr. Durgül YILMAZ	
Üye	Ayşe DAYI	