



T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ- CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI



YERLEŞİK- İŞGALCI PARADİGMASI UYGULANAN WİSTAR SIÇANLARINDA AMİLİNİN AGRESYONA ETKİLERİ

FİZYOLOJİ UZMANLIK TEZİ

Dr. GAFUR RAKICI

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. GÖNÜL ŞİMŞEK

İSTANBUL – 2024

T.C.
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ-CERRAHPAŞA
CERRAHPAŞA TIP FAKÜLTESİ
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

YERLEŞİK- İŞGALCI PARADİGMASI UYGULANAN WİSTAR
SIÇANLARINDA AMİLİNİN AGRESYONA ETKİLERİ

FİZYOLOJİ UZMANLIK TEZİ
Dr. GAFUR RAKICI

TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. GÖNÜL ŞİMŞEK
İSTANBUL – 2024

ÖNSÖZ

Asistanlık sürecimde bana desteğini esirgemeyen Fizyoloji Anabilim Dalı kıymetli öğretim üyeleri; başta çok değerli danışmanım ve anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Gönül ŞİMŞEK olmak üzere, Prof. Dr. Hakkı Oktay SEYMEN, Prof. Dr. Nuran DARIYERLİ, Prof. Dr. Nermin YELMEN, Prof. Dr. Sibel AKYOL, Prof. Dr. İbrahim GÜNER ve Prof. Dr. Gülderen ŞAHİN'e şükranlarımı sunarım.

Başım her sıkıştığında danıştığım, bilgisini ve tecrübesini benden hiç esirgememiş olan, bana her adımda yol gösteren, özellikle tez dönemimde bana çok yardımcı olan büyüklerim; başta Dr. Murat MENGİ olmak üzere, Dr. Muhittin Onur YAMAN, Uzm. Dr. Mehmet ALTAN, Uzm. Dr. Osman Fuat SÖNMEZ, Uzm. Dr. Aykut ORUÇ, Uzm. Dr. Sıla Hidayet BOZDOĞAN POLAT, Uzm. Dr. Mansur TÜZÜN, Uzm. Dr. Burhanettin GÖRGÜLÜ, Uzm. Dr. Cansu ERBOY DEMİR, Arş. Gör. Hakan ÇALIŞ, Arş. Gör. Oğuzhan EKİCİ ve çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Sıla GÜVENİR SEVEN, Arş. Gör. Mümin Berkay ŞEN, Arş. Gör. Talal İbrahim AMMAR, Arş. Gör. Agah Nurettin DEMİRAN, Arş. Gör. İlgin Cem Arslan ve Arş. Gör. Alara BİROL'a çok teşekkür ederim.

Çalışmamda çok emeği olan Prof. Dr. Gözde ERKANLI ŞENTÜRK ve Uzm. Dr. Duygu NECCAR' a çok teşekkür ederim.

Her sabah işe hevesle gelmemi sağlayan, birlikte çalışmaktan çok mutlu olduğum bütün asistan odası arkadaşlarıma, bütün işlerime koşturan Hikmet ÇORUH, Arzu GÜNAY, Filiz DEMİREZEN'e, bütün bu süreçte laboratuvardaki işlerimizi kolaylaştıran Kader İNCE'ye ve sadece temiz bir ortamda çalışmamızı değil temiz bir yürekle çalışmamızı da sağlayan Perihan KOÇ'a çok teşekkür ederim.

Son olarak aileme ve seçilmiş aileme sonsuz teşekkürle, siz olmasaydınız hiçbir şey olmazdı.

Saygılarımla,

Dr. Gafur RAKICI

İÇİNDEKİLER

SİMGE VE KISALTMALAR	I
RESİMLER DİZİNİ	IV
TABLolar DİZİNİ	VI
ETİK KURUL ONAYI	VII
TEZ FİNANSAL DESTEK	VIII
ÖZET	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Agresyon ve Etkileri.....	4
2.2. Agresyonun Diğer Patolojilerle İlişkileri	5
2.3. Agresyonun Sınıflandırılması	5
2.4. Agresyon Modeli	6
2.5. Amilin	7
3. GEREÇ ve YÖNTEM	13
3.1. Hayvanlar	13
3.2. Area Postrema' ya AC187 (Amilin Antagonisti) Enjeksiyonu.....	14
3.2.1. Kanülasyon	14
3.2.2. AP'ye ilaç infüzyonu	16
3.2.3. Kanülasyon Bölgesinin Doğrulanması	17
3.3. Davranış Testi	18

3.3.1. Davranışlar İçin Gruplama.....	21
3.5. Krezil Viyole	22
3.6. c-Fos İmmünohistokimyasal Analizi	23
3.7. İstatistiksel Analiz.....	23
4. BULGULAR.....	26
5. TARTIŞMA	47
6. SONUÇ.....	55
7. KAYNAKLAR	56
ÖZGEÇMİŞ	64
İNTİHAL TARAMA RAPORU	66

SİMGE VE KISALTMALAR

AgRp: Agouti ilişkili Peptid

AM: Adrenomedüllin

AMY: Amilin

AOB: Aksesuar Olfaktör Bulbus

AP: Area Postrema

APA: Amerikan Psikoloji Birliği

ARC: Arkuat Nükleus

BNST: Stria Terminalisin Yatak Nükleusu

CCK: Kolesistokinin

CeA: Santral Amigdala

CGRP: Kalsitonin Gen ilişkili Peptid

CLR: Kalsitonin Benzeri Reseptör

CRF: Kortikotropin Salgılatıcı Faktör

CRF: Kortikotropin Salgılatıcı Faktör

ÇSD: Çekirdek Saldırganlık Devresi

CTR: Kalsitonin Reseptörü

DAB: 3,3'-Diaminobenzidin

DMH: Dorsomedial Hipotalamus

GAM: Genel Agresyon Modeli

GiS: Gastrointestinal Sistem

GLP-1: Glukagon benzeri peptid

Hip: Hipokampus

Hyp: Hipotalamus

iP: İntraperitoneal

KoAp: Posterior Kortikal Amigdala Nükleusu

Lepr-b: Leptin Reseptörü b

LH: Lateral Hipotalamus

LHA: Lateral Hipotalamik Alan

LPBN: Lateral Parabrakial Nükleus

LS: Lateral Septum

MeA: Medial Amigdala

MeApd: Medial Amigdala' nın Posterodorsali

MOB: Ana Olfaktör Bulbus

MPA: Medial Preoptik Alan

mPFC: Medial Prefrontal Korteks

MPO: Medial Preoptik Nükleus

NAc: Nükleus Akumbens

NaCl: Sodyum Klorür

NHS: National Health Service

NPY: Nöropeptid Y

NTS: Nükleus Traktus Solitarius

PAG: Periakuaduktal Gri Cevher

PBS: Fosfat Tamponlu Salin

PFA: Perifornikal Alan

PMv: Premamiller Nükleusun Ventrali

POMC: Proopiomelanokortin

POMC: Proopiomelanokortin

PVN: Hipotalamik Paraventriküler Nükleus

RAMP: Reseptör Aktive Edici Modifiye Protein

SFO: Subfornikal Organ

Str: Striatum

Sub-AP: Subpostremal Alan (Area postremanın ventrali)

TBS: Tris Tamponlu Salin

VMH: Ventromedial Hipotalamus

VMHvl: Ventromedial Hipotalamusun Ventrolaterali

VMN: Ventromedial Nükleus

VTA: Ventral Tegmental Alan

RESİMLER DİZİNİ

Şekil 1. Farede agresyonun nöroanatomik yolları [2].	7
Şekil 2. Reseptör alt üniteleri [42].	8
Şekil 3. Amilin sentezi yapılan beyin bölümleri [12].	9
Şekil 4. Periferik ve santral amilinin etki yolları [15].	10
Şekil 5. Periferik ve santral doygunluk sinyalleri [72].	11
Şekil 6. VMH' de amilinle indüklenmiş leptin sensitizasyonu şeması [73].	12
Şekil 7. A. Sıçanların içinde bulunduğu iç ölçüleri 62x89x52 cm olan geniş kafesler. B. Sulukların tele takılabilmesi için telin üstüne eklendiği ve serbestçe gezebilmeleri için iki tarafından açıklık oluşturulan geniş kafeslerin içindeki küçük kafesler.	14
Şekil 8. Stereotaksi cihazı.	15
Şekil 9. Kanül alt birimleri [78].	15
Şekil 10. Sırasıyla kanülasyon aşamaları.	16
Şekil 11. İnfüzyon sırasında Wistar sıçanları küçük kafeslerde serbestçe gezinebilmektedir.	17
Şekil 12. Sakrifikasyon sonrası krezil viyole boyamaları ile AP doğrulanma alanı.	18
Şekil 13. Yerleşik İşgalci Testi sırasında sıçanlar.	19
Şekil 14. Perfüzyon pompası (sol) ve kardiyak olarak perfüze edilen sıçan (sağ).	22
Şekil 15. Power analizi.	24
Şekil 16. Grup 1 BNST çekirdeğinin (taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), IHC boyama (x2 büyütme) ve aktif hücrelerin (x40 büyütme) fotoğrafları.	35
Şekil 17. Grup 1 MeA çekirdeğinin (soldaki taralı alan) ve VMHvl çekirdeğinin (sağdaki taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), IHC boyama (x2 büyütme) ve aktif hücrelerin (x40 büyütme) yukarıdan aşağıya sırasıyla VMHvl ve MeA'dan çekilmiş fotoğrafları.	36
Şekil 18. Grup 2 BNST çekirdeğinin (taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), IHC boyama (x2 büyütme) ve aktif hücrelerin (x40 büyütme) fotoğrafları.	37

Şekil 19. Grup 2 MeA çekirdeğinin (soldaki taralı alan) ve VMHvl çekirdeğinin (sağdaki taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), IHC boyama (x2 büyütme) ve aktif hücrelerin (x40 büyütme) yukarıdan aşağıya sırasıyla VMHvl ve MeA'dan çekilmiş fotoğrafları.	38
Şekil 20. Grup 3 BNST çekirdeğinin (taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), IHC boyama (x2 büyütme) ve aktif hücrelerin (x40 büyütme) fotoğrafları.	41
Şekil 21. Grup 3 MeA çekirdeğinin (soldaki taralı alan) ve VMHvl çekirdeğinin (sağdaki taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), IHC boyama (x2 büyütme) ve aktif hücrelerin (x40 büyütme) yukarıdan aşağıya sırasıyla VMHvl ve MeA'dan çekilmiş fotoğrafları.	42
Şekil 22. Grup 4 BNST çekirdeğinin (taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), IHC boyama (x2 büyütme) ve aktif hücrelerin (x40 büyütme) fotoğrafları.	43
Şekil 23. Grup 4 MeA çekirdeğinin (soldaki taralı alan) ve VMHvl çekirdeğinin (sağdaki taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), IHC boyama (x2 büyütme) ve aktif hücrelerin (x40 büyütme) yukarıdan aşağıya sırasıyla VMHvl ve MeA'dan çekilmiş fotoğrafları.	44

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Deney düzeni özeti	20
Tablo 2. Grup 1 (n=8), 2 (n=8), 3 (n=6) ve 4 (n=6)'ün yerleşik-işgalci paradigması boyunca davranış süreleri tablosu.	27
Tablo 3. Grup 1-2 tüm davranışların zamansal dağılımı.	28
Tablo 4. Grup 1-2 toplam saldırı sayısı.	28
Tablo 5. Grup 3-4 tüm davranışların zamansal dağılımı.	29
Tablo 6. Grup 3-4 toplam saldırı sayısı.	29
Tablo 7. Grup 1-2 atak süresi karşılaştırması grafiği.	30
Tablo 8. Grup 1-2 ilk saldırı gecikme zamanı karşılaştırması grafiği.	30
Tablo 9. Grup 1-2 toplam saldırı sayısı karşılaştırması grafiği.	31
Tablo 10. Grup 1-2 sosyal keşif davranışları toplam süresi karşılaştırması grafiği. ...	31
Tablo 11. Grup 3-4 atak süresi karşılaştırması grafiği.	32
Tablo 12. Grup 3-4 ilk saldırı gecikme zamanı karşılaştırması grafiği.	32
Tablo 13. Grup 3-4 toplam saldırı sayısı karşılaştırması grafiği.	33
Tablo 14. Grup 3-4 sosyal keşif davranışları toplam süresi karşılaştırması grafiği. ...	33
Tablo 15. Grup 1-2 BNST' deki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.	39
Tablo 16. Grup 1-2 VMHvl' deki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.	39
Tablo 17. Grup 1-2 MeA' daki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.	40
Tablo 18. Grup 3-4 BNST' deki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.	45
Tablo 19. Grup 3-4 VMHvl'deki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.	45
Tablo 20. Grup 3-4 MeA'daki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.	46

ÖZET

RAKICI G. Yerleşik- İşgalci Paradigması Uygulanan Wistar Sıçanlarında Amilinin Agresyona Etkileri, 2024

Amaçlar: Agresyon; madde bağımlılığı, psikiyatrik hastalıklar ve diğer sağlık sorunlarıyla birlikte görülebilmekte ve şiddete dönüşebilmektedir. Çalışmamız amilinin santral sinir sistemindeki agresyon merkezlerine etkisini ve olası terapötik etkilerini araştırmak amacıyla yapılmıştır.

Gereç ve Yöntem: Araştırmamızda dört gruba ayrılan sıçanlarda iki deney gerçekleştirilmiştir. Deney 1’de sıçanların bir grubuna serum fizyolojik uygulanırken diğer gruba intraperitoneal amilin (50 µg/kg) uygulanmıştır. Deney 2’de ise her iki gruba intraperitoneal amilin verilmiştir. Deney 2’deki sıçanların bir grubuna Area Postrema’ya (AP) takılan kanül aracılığıyla serum fizyolojik, diğer grubuna amilin antagonisti uygulanmıştır. Tüm gruplardaki sıçanlar kafeslerde bir hafta overektomize dişilerle barındırıldıktan sonra kendilerinden daha genç ve zayıf başka bir erkek sıçanla 10 dakika Yerleşik İşgalci Paradigması’na maruz bırakılmış ve davranışlar kamera ile kaydedilmiştir. Süreç sonunda kurban edilen sıçanlarda amilinin agresyon merkezlerine etkileri immünohistokimyasal ve davranış testleriyle incelenmiştir.

Bulgular: Deney 1’de amilinin Medial Amigdala (MeA) aktivasyonunu ve agresyon davranışını anlamlı ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Deney 2’de AP’ye amilin antagonisti uygulanan sıçanların Stria Terminalisin Yatak Nükleusu’nda (BNST), Ventromedial Hipotalamusun Ventrolateralinde (VMHvl) ve MeA çekirdeklerinde immünreaktivitenin arttığı gözlenmiştir.

Sonuç: Bulgularımız amilinin antiagresif etki gösterdiğini ve antiagresif etkilerinin AP üzerinden gerçekleşebileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Sözcükler: Agresyon, Amilin, Sosyal Davranış, AC 187

ABSTRACT

RAKICI G. The Effects of Amylin on Aggression in Wistar Rats Exposed to the Resident-Intruder Paradigm, 2024

Aim: Aggression can be seen together with substance addiction, psychiatric diseases and other health problems and can turn into violence. Our study was conducted to investigate the effect of amylin on aggression centers in the central nervous system and its possible therapeutic effects.

Materials and Methods: In our research, two experiments were carried out on rats divided into four groups. In Experiment 1, physiological saline was applied to one group of rats, while intraperitoneal amylin (50 µg/kg) was administered to the other group. In Experiment 2, intraperitoneal amylin was administered to both groups. In Experiment 2, saline was administered to one group of rats through a cannula attached to the Area Postrema (AP), and amylin antagonist was administered to the other group. After rats in all groups were housed in cages with ovariectomized females for a week, they were exposed to the Resident Intruder Paradigm with another male rat that was younger and weaker than them for 10 minutes, and the behaviors were recorded with a camera. The effects of amylin on aggression centers in rats sacrificed at the end of the process were examined with immunohistochemical and behavioral tests.

Results: In Experiment 1, it was determined that amylin significantly reduced Medial Amygdala (MeA) activation and aggression behavior. In Experiment 2, it was observed that immunoreactivity increased in the Bed Nucleus of Stria Terminalis (BNST), Ventrolateral of the Ventromedial Hypothalamus (VMHVl) and MeA nuclei of rats administered amylin antagonist to the AP.

Conclusion: Our findings indicate that amylin has an antiaggressive effect and that its antiaggressive effects may occur through AP.

Keywords: Aggression, Islet Amyloid Polypeptide, Social Behavior, AC 187



1. GİRİŞ

Agresyon, zarar verme niyetiyle başka bir kişiye, hayvana veya nesneye saldırmayı içeren, sözlü olaylar da dahil tüm davranış biçimleridir. Her ne kadar agresyon ile şiddet günlük hayatta birbirleri yerine kullanılsalar da şiddet, birine veya bir şeye zarar vermek veya öldürmek için kasıtlı olarak fiziksel güç kullanmak olarak tanımlanmıştır. Agresyon toplumda negatif bir davranış olarak algılsa da doğada canlıların hayatta kalabilmeleri, besine ulaşabilmeleri, üreyebilmeleri gibi birçok durumda başvurdukları koruyucu bir davranıştır. Bununla birlikte modern hayatta insan ilişkilerinde daha olumsuz sonuçlara varan şiddete dönüşebilmektedir. Bazı psikiyatrik hastalıklar başta olmak üzere çeşitli durumlarda patolojik boyutlara ulaşabilen agresyon, sosyal davranışlarda önemli bir başlık olma niteliğini korumaktadır [1].

Genel olarak agresyon, insan dahil tüm canlılarda giriş, süreç ve çıkış bölümlerinden meydana gelmektedir. Süreç kısmı, Çekirdek Saldırganlık Devresi (ÇSD) olarak tanımlanmış olan bir devredir. ÇSD; Medial Amigdala (MeA), Stria Terminalisin Yatak Nükleusu (BNST), Ventromedial Hipotalamusun Ventrolaterali (VMHvl) ve Premamiller Nükleusun Ventralinden (PMv) oluşmaktadır. Bu devre hem ödül sistemine (mezolimbik yolağa) hem de Periaquaduktal gri cevher (PAG) üzerinden motor yanıtlara sebep olmaktadır [2].

Agresyon, canlının enerji durumundan etkilenmektedir. Enerji eksikliğine neden olan açlık durumunda saldırganlık düzeylerinin yüksek olduğu bilinmektedir [2]. ÇSD, enerji durumundan etkilenerek agresyon davranışlarının ortaya çıkmasına neden olduğu bilinmektedir [2]. Vücudun enerji dengesinde etkili olan, açlık durumunda salgılanan ghrelinin santral uygulanmasının erkekler arası saldırıyı teşvik ettiği bildirilmiştir [3]. Ghrelinin nöronlarda glukoz alımına neden olan GLUT3'ün hipotalamik seviyelerini azalttığı ileri sürülmüştür [4]. Ayrıca Chen ve arkadaşları ghrelinin Ventromedial hipotalamusu (VMH) inhibe ettiğini bildirmişlerdir [5]. Bilindiği gibi VMH tokluk merkezidir ve aktive olması tokluk duyumuna neden olur [6].

Tokluk merkezinin aktivitesi ise hücrelerin glukoz tüketimiyle yakından ilişkilidir. VMH'nin bir alt bölümü olan VMHvl ise glukozu yanıt veren agresyondan sorumlu hücrelerin bulunduğu bir bölge olarak belirtilmiştir [2,7,8]. Agresyonun hipoglisemide arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır [9–11]. Bu bilgiler kapsamında amilinin glukoz homeostatisindeki rolü ile VMH'yi aktive ederek tokluk duyumuna neden olabileceğini ve yine VMHvl'nin aktivasyonu durumunda agresyon tetiklendiğini bilgisine dayanarak amilinin agresyon merkezi olan VMHvl'yi inhibe ederek agresyonu azaltabileceğini düşünebiliriz.

Diğer taraftan amilinin doyumluk etkisinde Area Postrema' dan (AP), Nükleus Traktus Solitarius (NTS) ve Lateral Parabrakial Nükleus'a (LPBN) projekte olan nöradrenerjik AP nöronlarının etkili olduğu ortaya konmuştur [12]. Bipolar afektif bozukluklarda kullanılan lityumun agresyon davranışlarında da kullanıldığı bilinmektedir [13]. AP bölgesinde termal lezyon oluşturulan deney hayvanlarına uygulanan şok kaynaklı saldırganlık testinde lityumun antiagresif etkisinin ortadan kalktığı bildirilmiştir [14]. Ayrıca LPBN'den stres ve anksiyete yanıtlarında etkili alanlara projeksiyonlar mevcuttur [15]. Amilinin doyumluk etkisinde AP'den LPBN'ye olan projeksiyonların önemli rol oynaması ve LPBN'den stres ve anksiyete yanıtlarında etkili alanlara projeksiyonların bulunması amilinin AP-LPBN üzerinden antiagresif etkilerinin olabileceğini düşündürmüştür.

AP-LPBN aksı üzerinden alt beyin bölgelerine giden projeksiyonların stres hormonlarının salınımını tetiklediği ileri sürülmektedir [16]. Normal agresyon davranışlarında stres hormonlarının arttığı belirtilmiştir [17]. Stres hormonu kortikotropin salgılatıcı faktörün (CRF) Santral Amigdala'yı (CeA) aktive ettiği ve bu şekilde stres kaynaklı lezzetli gıda alımına neden olduğu ileri sürülmektedir. Bu nedenle aşırı yemek yeme (Binge eating) davranışı yüksek stresle bağlantılıdır. Amilinin, AP-LPBN-CeA yolağı üzerinden açlık merkezi olan Lateral Hipotalamus'un (LHA) aktivitesini azaltarak aşırı yeme davranışını ortadan kaldırıp besin alımını azalttığı ileri sürülmüştür [18–20]. Amilinin anksiyolitik benzeri etkilerini AP üzerinden gösterdiği düşünülmektedir [21]. Bu bilgilerden yola çıkarak amilinin antiagresif etkilerinin de AP-LPBN yolağı üzerinden gerçekleşebileceğini düşünebiliriz.

Daha önce de ifade edildiği gibi amilin etkilerini direkt hipotalamus ve AP-LPBN yolağı üzerinden göstermektedir. Amilinin etkili olduğu limbik sistem alt çekirdekleri (BNST, CeA, VMHvl) aynı zamanda ÇSD elemanlarının (BNST, MeA, PMv, VMHvl) önemli bir kısmını oluşturmaktadır. Amilinin; hipotalamustaki kan glukozunu düzenleyici ve enerji metabolizmasındaki etkileri, AP'nin agresyon için önemli bir alan olabileceğine dair verilerin olması ve agresyon yollarındaki çekirdeklerle amilinin etki gösterdiği çekirdeklerin aynı olması amilinin AP üzerinden agresyon merkezlerinde antiagresif etki gösterebileceği hipotezini öne sürmemize neden olmuştur. Bu kapsamda; bir agresyon modeli olan Yerleşik İşgalci Testi uygulanan sıçanlarda; periferik uygulanan amilinin agresyon merkezlerindeki immünohistokimyasal değişimlere etkisi incelenerek amilinin agresyon mekanizmalarındaki ve agresyon tedavisindeki olası rolünü araştırmak hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Agresyon ve Etkileri

Agresyon, diğer canlıya zarar verme, o canlı üzerinde hegemonya kurma amacıyla gerçekleştirilen davranış olarak bilinmektedir. Amerikan Psikoloji Birliği (APA), agresyonu: “Bireyin diğer bireye/bireylere yönelen fiziksel ya da psikolojik zarar verme davranışı” olarak tanımlamaktadır. Şiddeti ise “Bireylerin ya da grupların, psikolojik, sosyal ya da fiziksel iyi oluşlarına zarar gelmesiyle sonuçlanan, ani ya da kronik durumlar” şeklinde ifade etmektedir [22] Agresyon ve şiddet birbiri yerine kullanılan kavramlar olsa da şiddet, yaralanma veya ölüm gibi aşırı zararı olabilecek agresyon olarak nitelenebilir. Agresyon ve şiddet içsel ve dışsal faktörlerin bir kombinasyonu olarak ortaya çıkmakta, kişilik özellikleri, stres seviyesi, öfkeyle başa çıkma mekanizmaları, fiziksel ve sosyal ortam, algılanan tehlike vb. faktörlerden etkilenmektedir [23].

Şiddet önemli bir halk sağlığı sorunudur ve her yıl milyarlarca insanın hayatını etkilemektedir. Dünyada her yıl 1.6 milyondan fazla insan hayatını şiddet yüzünden kaybetmekte, daha büyük bir kısmı ise fiziksel, cinsel, psikolojik ve zihinsel sağlık problemleri nedeniyle zarar görmektedir [22]. Her gün on binlerce insan, şiddet nedeniyle tıbbi yetkililere başvurmaktadır. Şiddetin uluslara, toplamda dünyanın gayri safi yurtiçi hasılasının %11'i kadar ekonomik yük getirdiğine dair tahminler mevcuttur [24]. Şiddet sadece maruz kalanı değil seyirci olanı da etkileyebilen bir durumdur. Yayımlanan bir rapora göre Türkiye’de; evde şiddete tanık olan 12-21 yaş arası ergenlerin oranı %17 olarak bulunurken, aynı yaş grubunda okulda şiddete tanık olanların oranı %34, yaşadıkları çevrede şiddete tanık olanların oranı ise %28 olarak ifade edilmiştir [25].

Şiddet birçok ortamda sıklıkla karşılaştığımız bir sorun olsa da bazı ortamlarda daha sık karşımıza çıkmaktadır. İşyeri şiddetinin %25'ini sağlık hizmeti veren işyerleri oluşturur [26]. 2014 yılında, NHS (National Health Service) sağlık personelinin %14'ü bir yıl içinde hasta, hasta yakını ya da diğer kişilerden fiziksel şiddet gördüğünü bildirmiştir. Bu oran ambulanslarda (%31) ve ruh sağlığı merkezlerinde (%17) çalışan personelde diğer yerlerde çalışanlara nazaran daha yüksektir [27]. Bu bağlamda da özellikle psikiyatrik hastaların daha saldırgan olduğuna dair bir düşünce mevcuttur. Psikiyatrik hastalıkların agresyonun ortaya çıkmasını tetikleyen bir durum olduğu bildirilmişse de [28] psikiyatrik hastalıklarla birliktelik gösteren madde bağımlılığının agresyon oluşumunda daha etkili olduğu belirtilmiştir [23,29].

2.2. Agresyonun Diğer Patolojilerle İlişkileri

Agresyon toplumda sık görülen diyabet ve hipertansiyon gibi hastalıklarda da sıklıkla gözlenen bir durumdur [30]. Agresyonun kan şekeri değişiminden etkilendiği bilinmektedir. Hipoglisemide agresyonun arttığını belirten çalışmalar [9–11] günlük hayatta sıklıkla dile getirdiğimiz açlığın getirdiği sinirlilik durumunu destekler niteliktedir. Diyabet hastalarının tedavilerinde doz hataları sebebiyle sık görülen hipoglisemi atakları ve genel olarak kan glukoz seviyelerindeki dalgalanmalar hastalarda ruhsal değişimlere sebep olmaktadır [31]. Ayrıca demans [13], dikkat ve hiperaktivite bozukluğu [32], şizofreni, bipolar bozukluk, antisosyal kişilik bozukluğu ve borderline kişilik bozuklukları [33] da agresyonun komorbidite gösterdiği hastalıklardır.

2.3. Agresyonun Sınıflandırılması

Her ne kadar agresyon şiddete dönüşme potansiyeli ile sosyal hayatımızda istemediğimiz bir gerçek olsa da gelişimsel olarak baktığımızda hayvanlar aleminde agresyon, canlıların arzu edilen kaynaklara (yiyecek, yaşama alanı, partner) erişmesi, kendilerini ve yavrularını koruması ve hiyerarşik düzen içinde sosyal ilişkilerini devam ettirmesi için gerekli bir davranıştır. Agresyon aslında kaynakların ve sosyal çevrenin kontrolünde rol oynayan bir sosyal iletişim biçimidir. Agresyon ile insanların (ve hayvanların) stresörlerle başa çıkma biçimleri arasında yakın bir ilişki vardır.

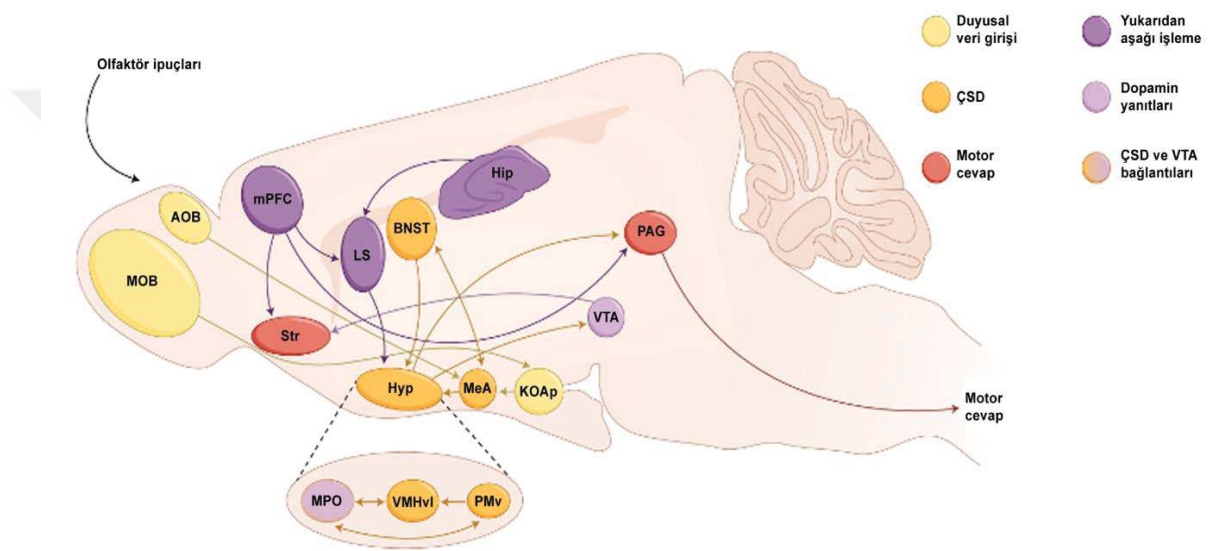
Agresyon, duygudurum bozukluğu olan (depresyon, travma sonrası stres bozukluğu, aralıklı patlayıcı bozukluk) hastalarda yüksek otonomik tepkiler, yüksek glukokortikoid seviyeleri ve yüksek afektif reaksiyonlarla giden aşırı uyarılmaya dayalı bir saldırganlık haliyken; kişilik bozuklukları (davranış, antisosyal ve sınırda kişilik bozuklukları) olan hastalarda düşük duygulanım, strese karşı düşük otonomik tepkiler ve düşük glukokortikoid seviyeleri ile giden az uyarılma odaklı bir tablodur. İlk durum reaktif agresyon olarak tanımlanırken ikincisi, proaktif agresyon alt tipi olarak tanımlanmıştır. Saldırganlığın bu farklı özellikleri, normal ile anormal agresyon davranışlarını ayırt etmede hayvan modellerinde de kullanılmaktadır. Proaktif agresyon davranışı sergileyen modellerde hayvan, karşısındakinin hayati organlarına saldırarak öldürmeye yönelik tepkiler gösterir. Araştırmamızda tüm deney gruplarındaki sıçanların yaşadığı alanı koruma sırasında (bölgesel agresyon) ve karşısındaki canlıya hayati risk teşkil etmeyecek şekilde saldırı göstermesi normal saldırganlık davranışı olarak nitelendirilmektedir. İfade edildiği gibi duygudurum bozuklukları semptomlarıyla paralellik gösterir [34].

İnsanda görülen antisosyal kişilik bozukluğu gibi psikiyatrik tablolarda karşımıza çıkan durumlar agresyonun patolojik formlarına işaret etmektedir. Agresyonun patolojik formlarının, normal formlarının ve sosyal davranışların çoğunlukla aynı merkezlerde aktivasyon gösterdiği bildirilmiştir [35,36]. Bu durumda normal agresyona aracılık eden nöronal devreleri ve/veya beyindeki nörokimyasal yolları araştırarak hem normal hem de anormal agresyon davranışlarının etki mekanizmaları hakkında fikir sahibi olabiliriz.

2.4. Agresyon Modeli

İnsanda agresyon sürecini anlamak için öne sürülen Genel Agresyon Modeli (GAM); giriş, süreç ve çıkış bölümleriyle diğer canlılara da uyarlanabilmektedir. Kemirgenler karşılaştıkları türdeşlerinin cinsiyetini, yaşını, daha önce karşılaşp karşılaşmadıklarını, baskınlık durumunu koku yoluyla algırlar. Olfaktör sistemlerce detekte edilen veriler bu aşamadan sonra Çekirdek Saldırganlık Devresi (ÇSD) olarak tanımlanmış olan bir devreye geçer. ÇSD agresif uyarılmayı belirleyen yapıdır ve Medial Amigdala (MeA), Stria Terminalisin Yatak Nükleusu (BNST), Ventromedial

Hipotalamusun Ventrolaterali (VMHvl; bu alan intermedier nükleusla birlikte sıçanlarda yapılan eski çalışmalarda atak alanı olarak tanımlanmıştır ve saldırganlığın temel indükleyicisi olarak görülmüştür [37,38]) ve Premamiller Nükleusun Ventralinden (PMv) oluşmaktadır. Olfaktör uyarılarla gelen sinyaller giriş devresini oluşturur ve bu uyarılar MeA ve BNST'ye yansiyarak ÇSD devresine girmiş olur. Bu devre hem ödül sistemi olarak bilinen mezolimbik yolağa hem de çıkış devresinin ana elemanı olarak bilinen Periaquaduktal gri cevhere (PAG) yansiyarak motor yanıtlara sebep olur [2] (Şekil 1).



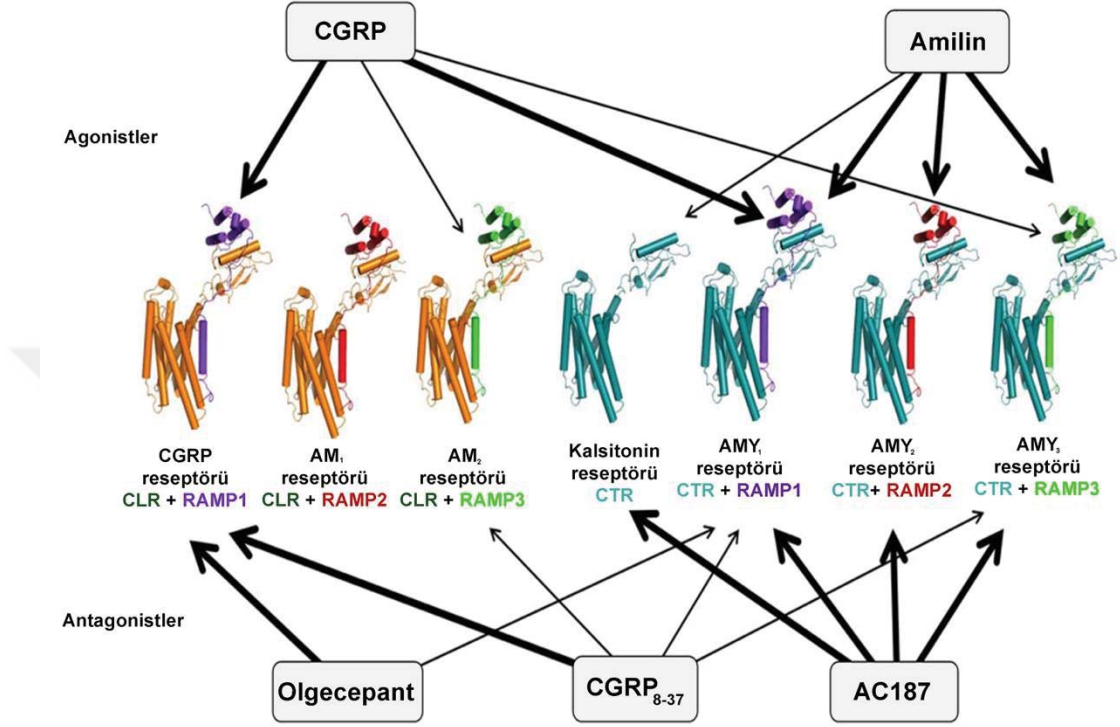
Şekil 1. Farede agresyonun nöroanatomik yolları [2].

(AOB: Aksesuar olfaktör bulbus; BNST: Stria terminalisin yatak çekirdeği; ÇSD: Çekirdek Saldırganlık devresi; Hip: Hipokampus; Hyp, hipotalamus; KoAp, Posterior kortikal amigdala nükleusu; LS: Lateral Septum) MeA: Medial amigdala; MOB: Ana olfaktör bulbus; mPFC: Medial Prefrontal Korteks, MPO: Medial preoptik Alan; PAG: Periaquaduktal gri cevher; PMv: Premamiller Nükleusun Ventrali, Str: Striatum; VTA: Ventral tegmental alan)

2.5. Amilin

Amilin vücutta temel olarak pankreasta üretilen 37 aminoasitlik bir peptid hormondur. Kalsitonin, adrenomedulin ve CGRP (Kalsitonin gen ilişkili peptid) ile moleküler benzerlik gösterir. Bu moleküllerle aynı G protein reseptör ailesine bağlanır [39]. Bu reseptör iki parçalı heterodimerik bir yapıdadır: Kalsitonin reseptörü + RAMP (Reseptör aktive edici modifiye protein). Bu şekilde bir reseptör çeşitliliği göstermesi yapısal olarak ona benzeyen CGRP, kalsitonin gibi yapıların aynı reseptörlerde etkinliğiyle de bir araya geldiğinde amilin-spesifik reseptör-ligand eşleşmesini

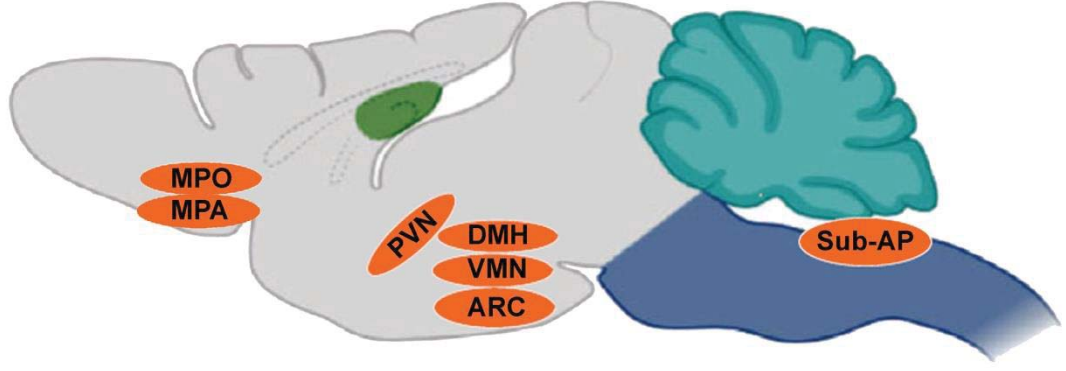
çalışabilmek zorlaşmaktadır (Şekil 2). Amilin, Gs, Gq proteinleri üzerinden etkisini gösterebilmektedir. Hücre içi sinyalizasyon yolları olarak Arkuat Nükleus'ta (ARC) ERK1 / 2 ve leptin yolağı olan STAT3 fosforilasyonunun indüklendiği [40,41], özellikle AP'de cAMP ve cGMP ikincil habercilerinin artış gösterdiği ortaya konmuştur [42].



Şekil 2. Reseptör alt üniteleri [42].

Kalın oklar daha etkili olunan reseptörleri ifade etmektedir. (AM: Adrenomedüllin, AMY: Amilin; CLR: Kalsitonin benzeri reseptör; CTR: Kalsitonin reseptörü)

Amilinin beyindeki bağlanma alanları kalsitonin reseptörünün dağılım alanları ile paralellikler göstermektedir: Nükleus akumbens (NAC), AP, hipotalamus, Subfornikal Organ (SFO), NTS, VTA [15,43,44]. Özellikle hipotalamusun birçok çekirdeğinde ve AP'de RAMP ekspresyonu gösterilmiştir [45]. Akciğer, mide fundusu, dalak ve beyinde reseptörleri bulunan amilin, pankreasın Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinden insülin ile birlikte (İnsülin: Amilin oranı 100:1 [46]) salınan bir anorektik ajandır. Düşük oranlarda olsa da beyin ve mideden ekstrapankreatik salınımı da mevcuttur. Memeli nöroendokrin hücrelerinde amilin gen ekspresyonu gösterilen yerler: dorsal kök gangliyonu, mide, gelişen böbrek, plasentadır [12]. Santral sinir sisteminde de birçok alanda üretimi gösterilmiştir (Şekil 3).



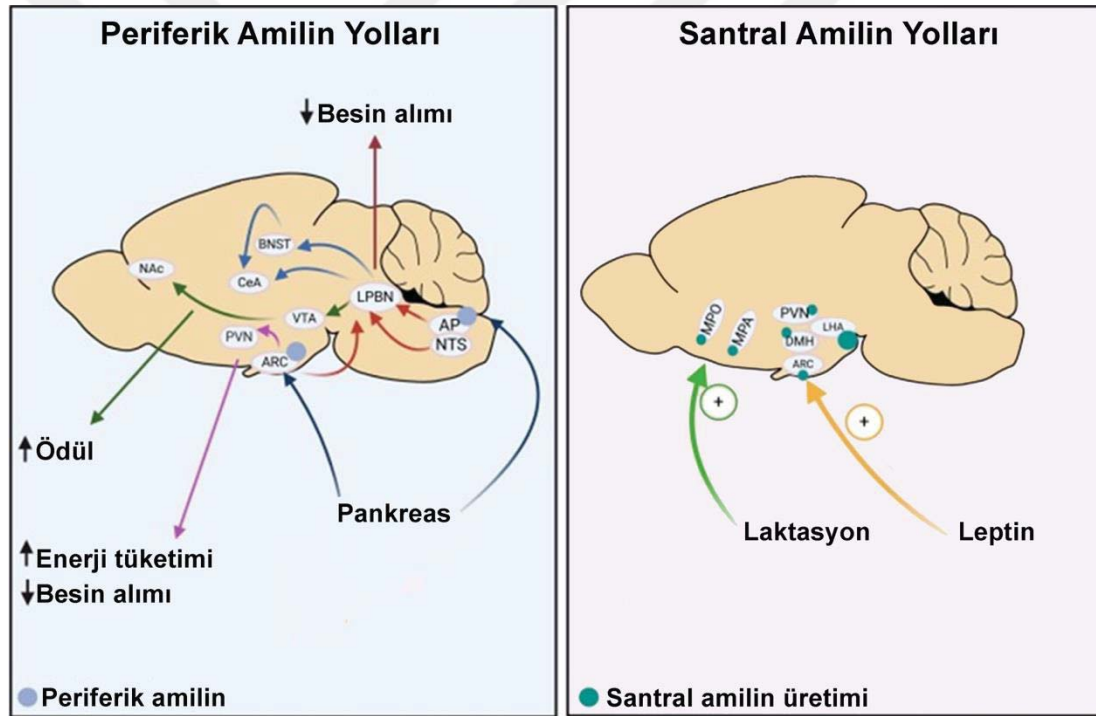
Şekil 3. Amilin sentezi yapılan beyin bölümleri [12].

(Sub-AP:Subpostremal alan (Area postremanın ventrali); MPA: Medial preoptik alan; MPO: Medial preoptik nükleus; PVN: Hipotalamik paraventriküler nükleus; ARC: Arkuat nükleus; DMH: Dorsomedial hipotalamus; VMN: Ventromedial nükleus)

Doygunluk hissi yaratır, enerji harcanmasını artırır, gastrik boşalmayı yavaşlatır, beslenmeyi ve kilo alımını azaltır, postprandial glukagon salımını baskılar. Ayrıca glukoneogenezi ve glikojenolizi stimüle ederek kan glukoz seviyesini korur [12,47]. Böylece glukoz homeostasisinde önemli rol oynar [48]. Salınımı glukoz ve yağ asitleri ile artar [39]. Peptid YY, Kolesistekinin (CCK), Glukagon benzeri peptid (GLP-1) (exenatid) ile sinerjistik etki gösterir [49,50]. Diyabet hastalarında insülin tedavisine ek olarak kullanılır ve glisemik kontrolü sağlar [15,51] Renin aktivitesini artırır, vazodilatasyon yapar, osteoklast aktivitesini azaltıp osteoblast aktivitesini artırır, insülin sekresyonuna etkisi yoktur/düşük seviyede azaltır [52]. Ayrıca amilinin nosisepsiyon, anelik davranışları, nörogenez, anksiyolitik olma ve adipozite gibi konularda da etkilerini gösteren çalışmalar mevcut olsa da bu konularda kesinleşmiş bilgilere mevcut değildir [47].

Bir sirkümventriküler organ olan ve kusma merkezi olarak da bilinen AP' nin nöronları bolca amilin reseptörü bulundurur [53]. Amilinle aktive olan hücreler bunlarla örtüşme göstermektedir. Bu da bize AP' nin amilin tarafından direkt uyarıldığını göstermektedir [18]. Amilin doygunlukla ilişkili bahsedilen fonksiyonlarını santral sinir sistemi üzerinden, özellikle doygunlukla ilişkisi gösterilen AP üzerinden gerçekleştirir. Amino asitler AP'nin amilin hassasiyetini baskılamaktadır [54]. Amilinin anorektik etkisinde AP'den NTS ve LPBN'ye projekte olan nöradrenerjik AP nöronlarının etkili olduğu ortaya konmuştur [12,55–57].

LPBN nöronları tatma isteksizliği, kardiyovasküler kontrol, tansiyon ve su ve tuz alımının düzenlenmesi gibi birçok durumun kontrolünde önemli bir merkez olarak gösterilmiştir [58–60]. LPBN'den; duygusal işlem, öğrenme, hafıza, stress, korku, ağrı gibi yanıtlarda görev alan Santral Amigdala'ya (CeA), Amigdala-Hipotalamus ilişkisini sağlayan anksiyete ve stres yanıtlarında etkili Stria Terminalisin Yatak Çekirdeği'ne (BNST), ödül sisteminde görev alan Ventral Tegmental Alan (VTA) ve oradan Nükleus Akumbens'e (NAc), hipotalamik nükleuslara ve çok sayıda ön beyin bölgesine projeksiyonlar mevcuttur [15,61] (Şekil 4). Amilin bilişsel performansı artırır [21], öğrenmeyi ve hafızayı iyileştirir [62], anksiyolitik ve antidepresan benzeri etkilere [63,64] ve analjezik özelliklere sahiptir [65]. Ancak bu etkilerin altında yatan mekanizma tam olarak anlaşılamamıştır [66].



Şekil 4. Periferik ve santral amilin etki yolları [15].

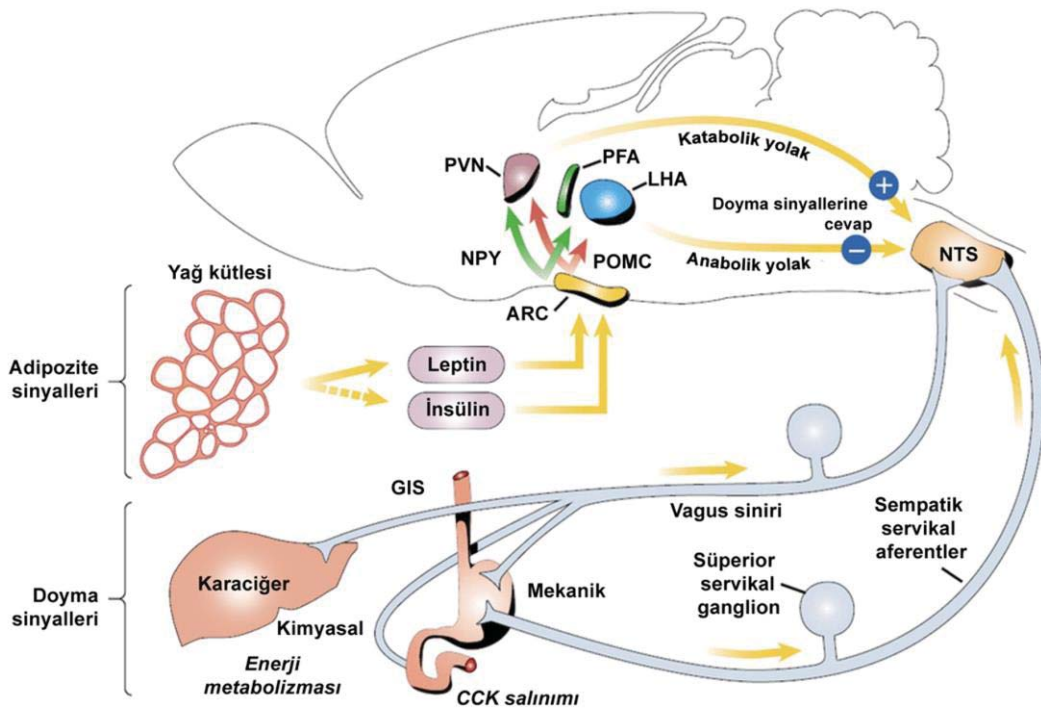
(AP: Area postrema, ARC: Arkuat nucleus, BNST: Stria terminalisin yatak çekirdeği, CeA: Santral amigdala, DMH: Dorsomedial hipotalamus, LHA: Lateral hipotalamik alan, LPBN: Lateral parabrakial nucleus, MPA: Medial preoptik alan, MPO: Medial preoptik nucleus, NAc: Nükleus akumbens, NTS: Nükleus tractus solitarius, PVN: Hipotalamik Paraventricüler Nükleus VTA: Ventral tegmental alan)

LPBN, dorsolateral poststaki bir nöron kompleksinden oluşur ve tat, solunum, merkezi kardiyovasküler kontrol ve uyku gibi çeşitli viseral fonksiyonlara aracılık etmede önemli bir rol oynar [67]. LPBN nöronlarının aktivasyonu gıda alımını

azaltırken, VTA nöronların ve dopamin sisteminin aktivasyonu amilinin ödüllendirici özelliklerine aracılık eder. VTA üzerinde direkt etkisi gösterilen amilinin yemek boyunca ödül değerini düşürerek yemek ölçüsünü azalttığı önerilmiştir [68].

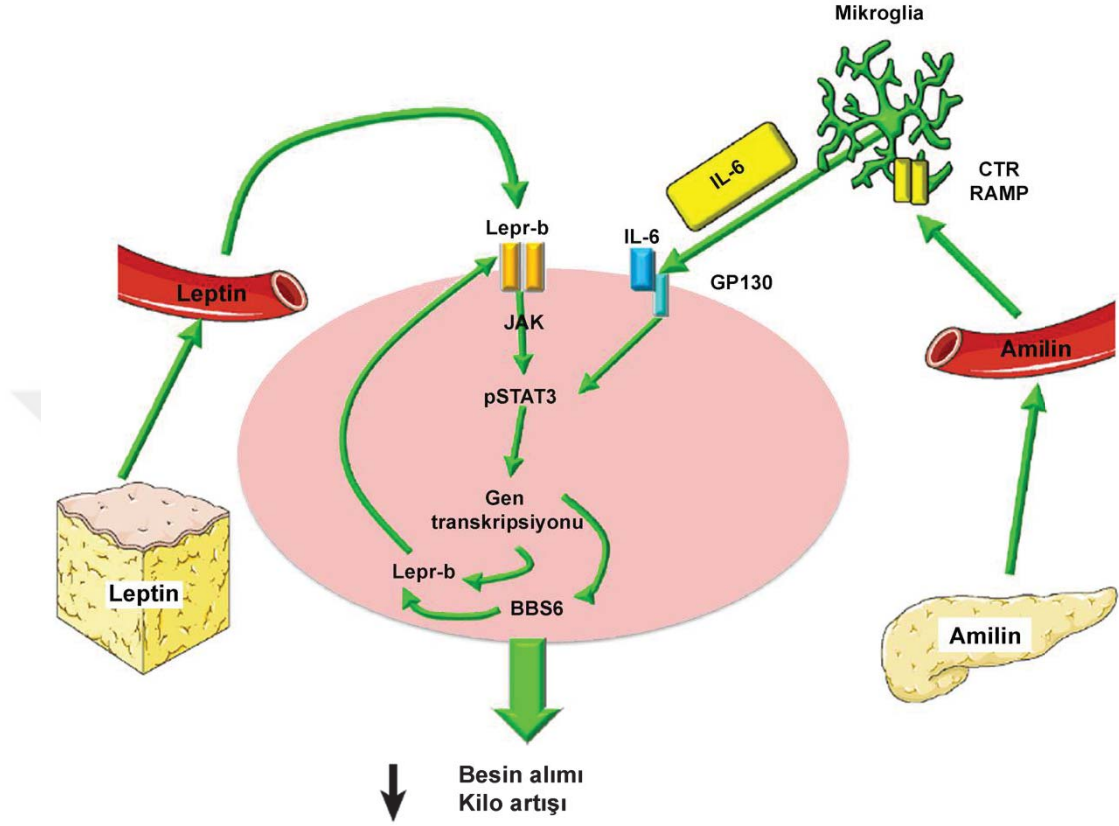
VMH, ARC ve VMN'yi kapsayan enerji metabolizmasında önemli bir alandır [69]. Periferik amilin gıda alımını azaltmak ve enerji harcamasını artırmak için direkt ARC nöronlarına da bağlanabilir. Burada AP'den bağımsız olarak Proopiomelanokortin (POMC) ve Nöropeptid Y (NPY) nöronlarını aktive eder. NPY nöronlarının amilin aktivasyonu LPBN nöronlarına etki ederek yemeyi, POMC sinyalleme enerji harcanmasını ve lokomotor aktiviteyi etkiler [15].

Salgılanması ve dolaşımdaki seviyeleri vücut yağıyla (leptin ve insülin) doğru orantılı olan hormonlara adipozite sinyalleri adı verilir ve ARC'yi uyarırlar. Doyma sinyalleri, yemek yeme sonrası gastrointestinal sistemde üretilir ve gıda hakkında NTS'ye bilgi verir (Şekil 5). Gelen bilgiler bütünleştirilerek enerji harcanması ve besin alımı düzenlenir [70]. Amilin de ARC'de STAT3 yolağını çalıştırarak leptinin etkisine aracılık eder ve bahsedilen diğer etkileriyle yemeyi azaltır ve enerji harcanmasını artırır [71] (Şekil 6).



Şekil 5. Periferik ve santral doygunluk sinyalleri [72].

(ARC: Arkuat nükleus, CCK: Kolesistokinin, GİS: Gastrointestinal sistem, LHA: Lateral hipotalamik alan, NPY: Nöropeptid Y, NTS: Nükleus traktus solitarius, PFA: Perifornikal alan, POMC: Proopiomelanokortin)



Şekil 6. VMH' de amilinle indüklenmiş leptin sensitizasyonu şeması [73].

(Lepr-b: Leptin reseptörü b)

3. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışmanın hayvan deneyi kısımları Bezm-i Alem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar laboratuvarında, histolojik analiz kısımları ise İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa, Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Histoloji Anabilim Dalı laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

3.1. Hayvanlar

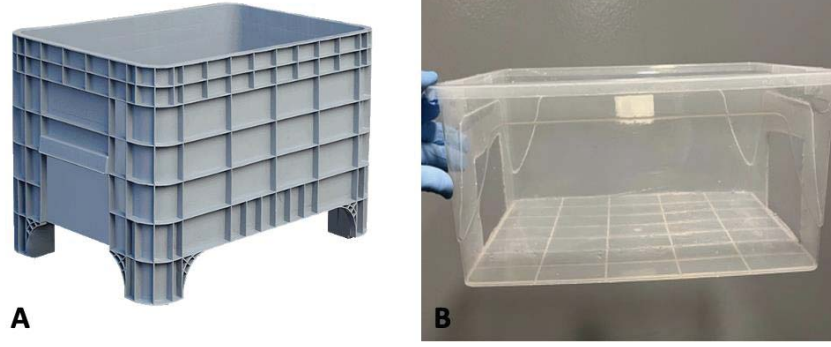
Çalışmada ağırlıkları ortalama 500 gr olan yerleşik ve her biri yaklaşık 400 gr ağırlığında işgalci yetişkin erkek Wistar Albino sıçanlar kullanıldı. İç ölçüleri 62x89x52 cm [74] olan geniş kafeslerde, yiyecek ve su ad libitum olarak sağlanıp, 21 ± 1 °C oda sıcaklığında, 12/12 saat aydınlık/karanlık döngüsü altında tutuldu (Şekil 7). Çalışmada ayrıca her bir yerleşik erkek sıçanla barındırılacak aynı cins sterilize dişi sıçanlar kullanıldı. Sterilizasyon dişinin gebe kalıp maternal agresyon göstermemesi için gereklidir [75].

Yerleşik erkek sıçanlar 4 gruba ayrıldı (Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4) ve iki ayrı deneyde agresyon prosedürü (Yerleşik İşgalci Paradigması) uygulandı:

Deney 1: Grup 1(n=8) İntraperitoneal (iP) serum fizyolojik; Grup 2 (n=8) iP amilin (50 µg/kg)

Deney 2: Grup 3 (n=6) iP amilin uygulaması (50 µg/kg)+ Area Postrema'ya (AP) serum fizyolojik uygulaması; Grup 4 (n=6) iP amilin uygulaması (50 µg/kg) + AP' ye amilin antagonisti (AC187) uygulaması

Deney 1 amilinin agresyon davranışı üzerindeki etkilerini incelemek ve serotonerjik etkilerini göstermek için tasarlanmıştır. Deney 2 ise amilin etkisinin AP üzerinden gerçekleşip gerçekleşmediğini gösterebilmek amacıyla tasarlanmıştır.



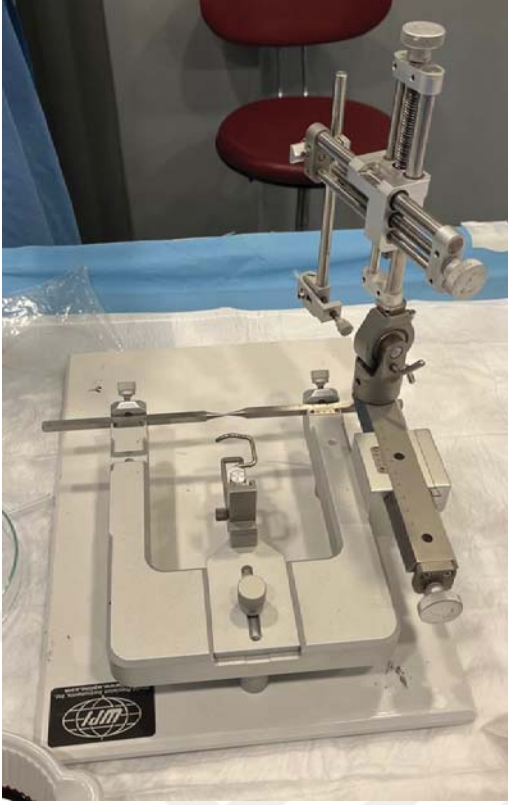
Şekil 7. A. Sıçanların içinde bulunduğu iç ölçüleri 62x89x52 cm olan geniş kafesler. B. Sulukların tele takılabilmesi için telin üstüne eklendiği ve serbestçe gezebilmeleri için iki tarafından açıklık oluşturulan geniş kafeslerin içindeki küçük kafesler.

3.2. Area Postrema' ya AC187 (Amilin Antagonisti) Enjeksiyonu

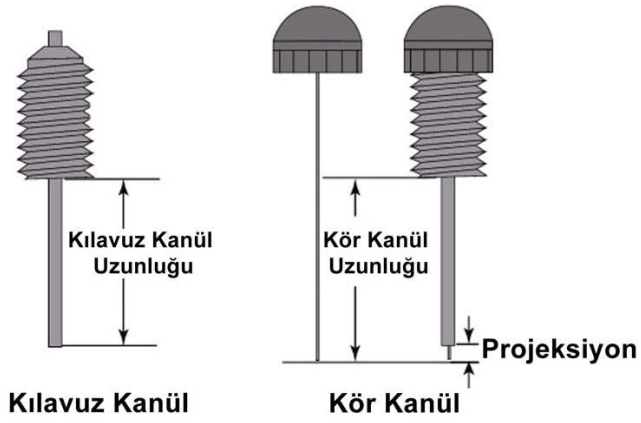
3.2.1. Kanülasyon

Çalışmamızda Grup 1, Grup 2, Grup 3, Grup 4 olacak şekilde dört grup sıçan bulunmaktadır. Grup 3 ve Grup 4 gruplarında beyin Area Postrema bölgesine [76] stereotaksik yöntemle kanül yerleştirildi ve postop tedavileri uygulandı (Şekil 8). Genel anestezi altında (Ksilazin 10 mg/kg, Ketamin 80 mg/kg), 26 gauge kılavuz kanül, ucu AP'nin 1 mm üzerinde, bregmanın 13.8 mm posterioru ve 7,1 mm ventralinde olacak şekilde yerleştirildi [77]. İmplant edilen kanül, vidalar ve plastik bir polimerizat yardımıyla sabitlenip çıkarılabilir tıplarla kapatıldı (

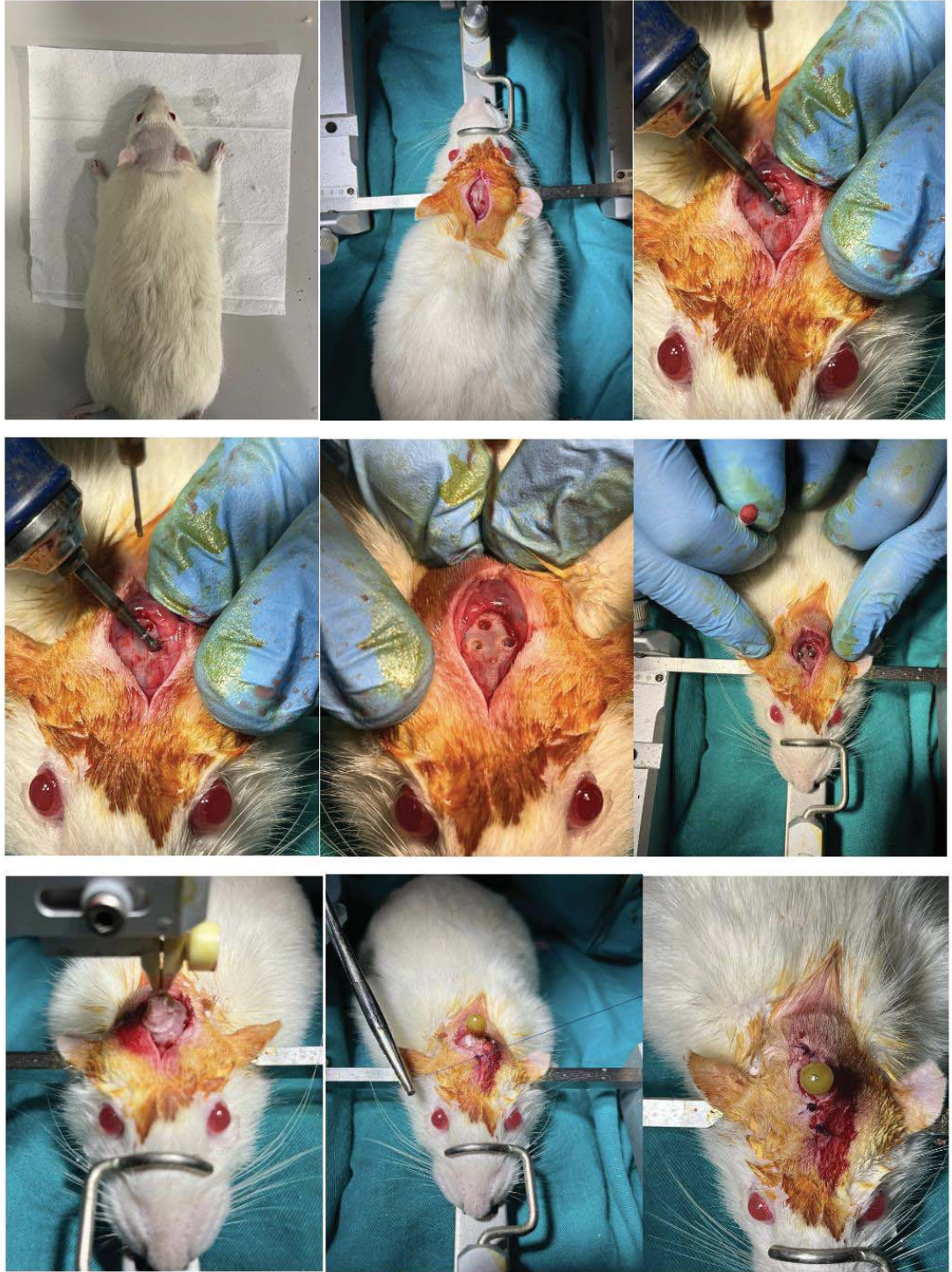
Şekil 9, Şekil 10). Cerrahi işlemin ardından yerleşik sıçanlar, ameliyattan sonra antibiyotik ve ağrı kesici (Amoksisilin + Klavulanik asit 5 mg/ kg, Meloksikam 1 – 2 mg/kg) Davranış deneyi ve sakrifikasyon öncesi bir haftalık iyileşme sürecine bırakıldılar.



Şekil 8. Stereotaksi cihazı.



Şekil 9. Kanül alt birimleri [78].

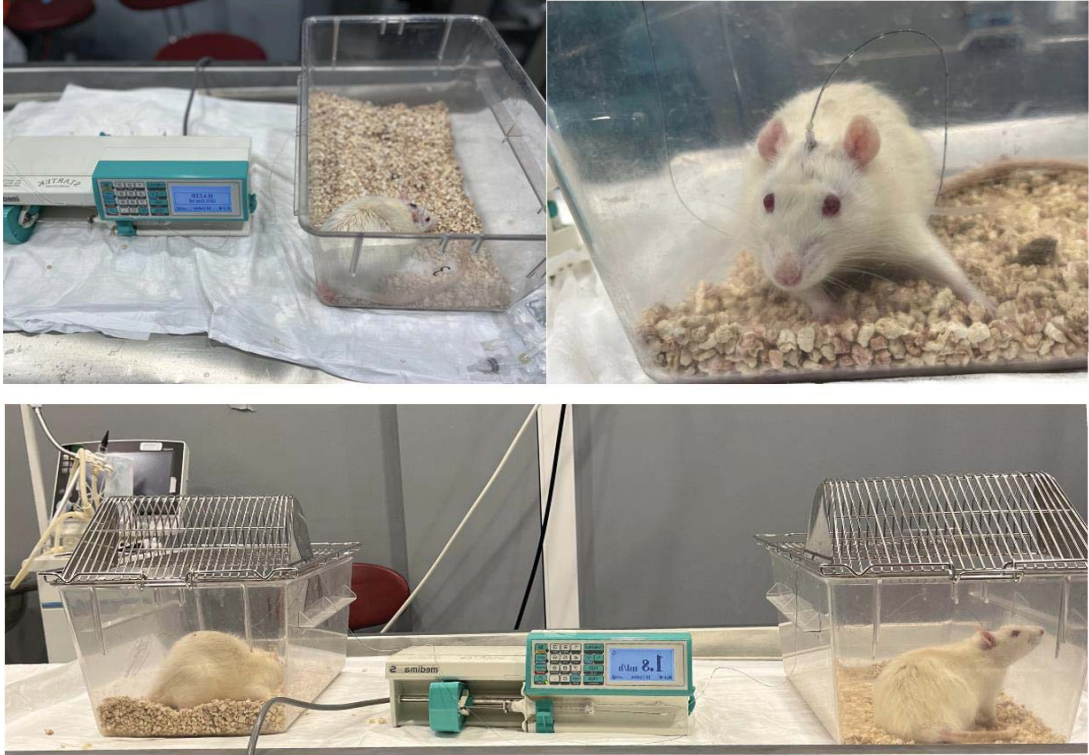


Şekil 10. Sırasıyla kanülasyon aşamaları.

3.2.2. AP'ye ilaç infüzyonu

Kanülasyon işleminden bir hafta sonra (iyileşme süresi) sıçanlara davranış deneylerinden hemen önce kanül yoluyla %0.9 sodyum klorür (NaCl) içinde çözülmüş olarak AC187 ya da sham grubu için sadece %0.9 NaCl verildi. İnfüzyon, Hamilton

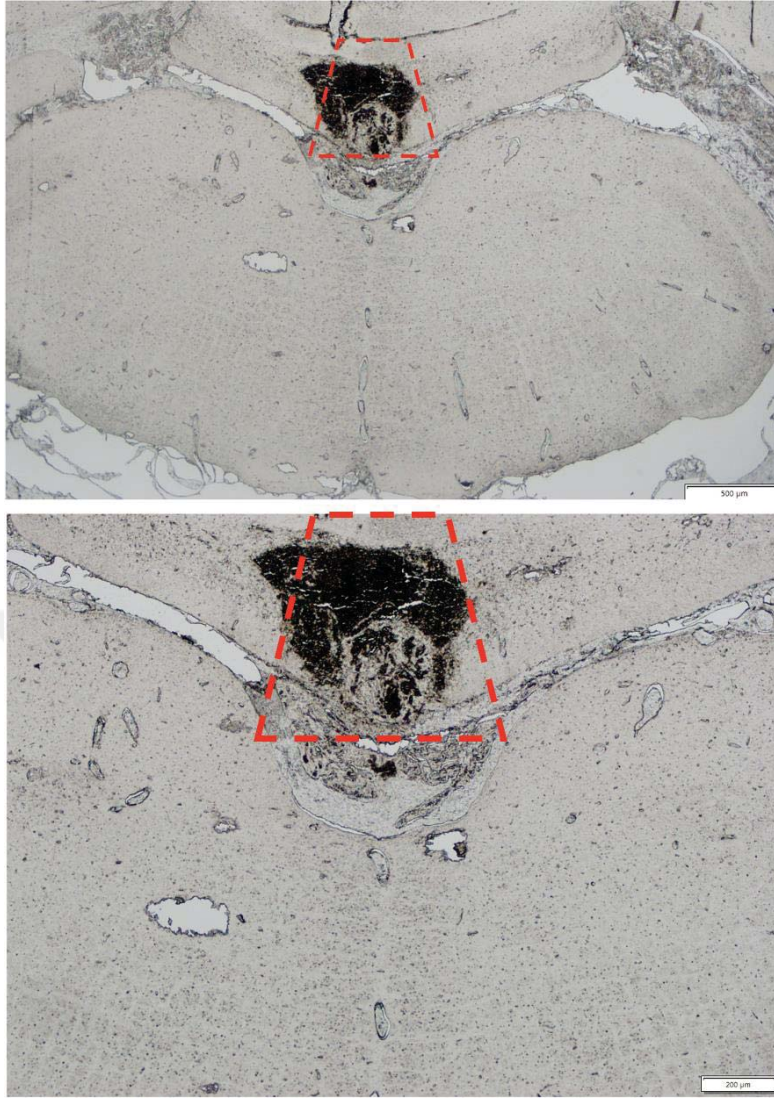
mikrolitre şırıngaları ve yüksek hassasiyetli infüzyon pompaları ile 15 - 33 gauge infüzyon kanülleri (1 mm çıkıntılı kılavuz kanüllere uyacak şekilde) ile gerçekleştirildi. AC 187 AP'ye 3 saatte 1 mikrolitre/saat dozda olacak şekilde infüze edildi. [76] (Şekil 11).



Şekil 11. İnfüzyon sırasında Wistar sıçanları küçük kafeslerde serbestçe gezinebilmektedir.

3.2.3. Kanülasyon Bölgesinin Doğrulanması

Davranış deneyleri de tamamlandıktan sonra, kanülasyon uygulanmış olan Grup 3 ve Grup 4 grubundaki sıçanların AP kanülüne kretil viyole uygulandı (15 dakika boyunca 0.5mikrolitre/sıçan). Kanül yerleşimi, beyin dilimlerinin histolojik incelemesi ile doğrulanacaktır. İstatistiksel değerlendirmeye yalnızca kanülün doğru şekilde yerleştirildiği hayvanlar dahil edildi. AP'de kanül izi olmayan hayvanlar (örn., dördüncü ventriküle kanül yerleştirilmesi) hariç tutuldu [76] (Şekil 12).



Şekil 12. Sakrifikasyon sonrası krezil viyole boyamaları ile AP doğrulanma alanı.

3.3. Davranış Testi

Yerleşik-İşgalci Testi: Saldırganlık, yerleşik-işgalci testi kullanılarak laboratuvardaki erkek sıçanlarda kolaylıkla gözlemlenebilen bir durumdur. Bu testte tek başına barınan bir 'yerleşik' erkek sıçanın ev kafesine yabancı bir 'işgalci' erkek sıçan bırakılır. İşgalciyi tespit eden, yerleşik sıçan saldırgan eylemlerine başlar [2].

Yerleşik erkek sıçanlar, toplam yedi gün boyunca bölgesel davranışların oluşmasına izin verecek şekilde, talaşlar değiştirilmeden ayrı ayrı sterilize edilmiş bir dişi ile birlikte barındırıldı. Yerleşik sıçanlara işgalci ile karşılaşmadan 20 dakika önce tek doz yüksek dozda amilin (50 µg/kg) i.p. enjeksiyonu ya da sham grubu ise salin enjeksiyonu [21] uygulandı. Sıçan amilininin yarılanma ömrü yaklaşık 13 dk'dır [79].

Bu yaklaşımla suprafizyolojik verilen bu dozajın plazma amilin düzeyini en az 2 saat için açlık düzeylerinin üzerine çıkarması beklenmektedir [80]. Beynin iç bölgelerine ulaşabilmesi de göz önüne alındığında amilinin direkt etkilerinin görülmesi için yüksek doz kullanılmasını uygun bulduk [21]. Amilin uygulamasından sonra dişi sıçanlar kafeslerden çıkarıldı ve dişi sıçanların yerine işgalci sıçanlar ev kafesine yerleştirildi. Hayvanların 10 dakika boyunca etkileşime girmesine izin verildi [75] (Şekil 13). Hayvanlara karşı kör olan bir gözlemci, saldırgan, sosyal ve sosyal olmayan davranışların süresini, sıklığını ve gecikmesini puanladı [3] (Tablo 1).



Şekil 13. Yerleşik İşgalci Testi sırasında sıçanlar.

Grup 1
Yerleşik sıçanların sterilize dişi ile 1 hafta ev kafesinde yaşaması
Yerleşik sıçana salin uygulanması ve 20 dakika sonra dişinin işgalci sıçan ile değiştirilip 10 dakika boyunca saldırganlığın kaydedilmesi
İşgalci sıçan çıkarıldıktan sonra yerleşik sıçanın ev kafesinde tek başına 1 saat dinlendirilmesi. Anesteziye alınıp perfüzyon ve doku toplama işlemlerinin tamamlanması.

Grup 2
Yerleşik sıçanların sterilize dişi ile 1 hafta ev kafesinde yaşaması
Yerleşik sıçana amilin uygulanması ve 20 dakika sonra dişinin işgalci sıçan ile değiştirilip 10 dakika boyunca saldırganlığın kaydedilmesi
İşgalci sıçan çıkarıldıktan sonra yerleşik sıçanın ev kafesinde tek başına 1 saat dinlendirilmesi. Anesteziye alınıp perfüzyon ve doku toplama işlemlerinin tamamlanması.

Grup 3
Yerleşik sıçanın AP'sine stereotaksi ile kanül yerleştirilmesi ve 1 hafta iyileşme süreci
Yerleşik sıçanların sterilize dişi ile 1 hafta ev kafesinde yaşaması
Yerleşik sıçana kanül vasıtasıyla 3 saatlik serum fizyolojik (1 µl/saat) infüzyonu yapılması
Yerleşik sıçana amilin uygulanması ve 20 dakika sonra dişinin işgalci sıçan ile değiştirilip 10 dakika boyunca saldırganlığın kaydedilmesi
İşgalci sıçan çıkarıldıktan sonra yerleşik sıçanın ev kafesinde tek başına 1 saat dinlendirilmesi. Anesteziye alınıp perfüzyon ve doku toplama işlemlerinin tamamlanması.

Grup 4
Yerleşik sıçanın AP'sine stereotaksi ile kanül yerleştirilmesi ve 1 hafta iyileşme süreci
Yerleşik sıçanların sterilize dişi ile 1 hafta ev kafesinde yaşaması
Yerleşik sıçana kanül vasıtasıyla 3 saatlik AC187 (1 µl/saat) infüzyonu yapılması
Yerleşik sıçana amilin uygulanması ve 20 dakika sonra dişinin işgalci sıçan ile değiştirilip 10 dakika boyunca saldırganlığın kaydedilmesi
İşgalci sıçan çıkarıldıktan sonra yerleşik sıçanın ev kafesinde tek başına 1 saat dinlendirilmesi. Anesteziye alınıp perfüzyon ve doku toplama işlemlerinin tamamlanması.

Tablo 1. Deney düzeni özeti

3.3.1. Davranışlar İçin Gruplama

Kamera ile kaydedilen sosyal davranışlar toplam 28 davranış ögesi üzerinden puanlandı. Verilerin net bir temsilini desteklemek için aşağıdaki davranış kategorilerinde işlem uygulandı: (1) Atak (yanal tehdit, perçinleme, aşağıda tutma, kovalama, dik duruş; (2) Sosyal keşif (ona doğru hareket etme, burnunu sokma, rakibi inceleme, anogenital koklama, emekleme, binmeye teşebbüs, sosyal tımar), (3) Sosyal olmayan keşif (ambulasyon, büyütme, koklama, tarama, kazma), (4) Hareketsizlik (oturma, yatma, hareketsiz, donma), (5) Tımarlama (yıkama, sallama, kaşıma). Ayrıca yerleşik tarafından ilk saldırıya kadar olan gecikme süresi saldırganlık ölçüsü olarak kullanıldı. Mevcut amaç için süre, farklı davranışsal unsurların yüzdesi belirlendi ve yüzleşmenin toplam süresinin yüzdesi olarak ifade edildi [81].

3.4. Dokuların Toplanması

Karşılaşma süresinin sonunda, işgalci kafesten çıkarıldı ve yerleşik erkek, altmış dakika boyunca kendi kafesinde rahatsız edilmeden kaldı. c-Fos ekspresyonunun nöronal aktivasyondan 60-90 dakika sonra zirve yaptığını göz önüne alarak 1 saatin sonunda yerleşik anestezi uygulandı. Sıçanlar intrakardiyak perfüzyon ile fikse edildi (75-100 ml distile su, ardından fosfat tamponlu distile su içinde 400 ml paraformaldehit (0,1 M PBS'de %4 paraformaldehit, pH 7.3) (Şekil 14). Beyinler çıkarılıp aynı fiksatif içinde +4°C'de fikse edildi. Fikse edilen beyin dokuları ertesi gün sırayla %70, %90, %96 ve %100 olan yükselen alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildi. Daha sonra toluol ile şeffaflaştırma yapıldı. Şeffaflaştırma işleminden sonra 56°C'deki etüvde önce 45 dk toluen+parafin karışımı içinde, daha sonra 2 saat saf sıvı parafin içinde bekletildi. Son aşamada ise dokular, parafin bloklara gömüldü ve mikrotom (Thermo Scientific: Microm hm430) ile bu bloklardan, pozitif şarjlı lamlara 4 µm kalınlıkta olacak şekilde kesitler alındı [82]. Alınan kesitlerdeki amigdala ve hipotalamustaki BNST, MEA ve VMHVL bölgelerinin lokalizasyonu için, krezil viyole ile boyama sonucu çekirdeklerin Paxinos atlası [83] yardımıyla tespit edilmesinden sonra eş kesitlere c-Fos immünohistokimyasal analiz yapıldı.



Şekil 14. Perfüzyon pompası (sol) ve kardiyak olarak perfüze edilen sıçan (sağ).

3.5. Krezil Viyole

Amigdala ve hipotalamus çekirdeklerinin mikroskopik olarak yerinin belirlenmesi için elde edilen kesitlere, öncelikle krezil viyole boyaması yapıldı. Bu doğrultuda kesitler, PBS ile yıkandıktan sonra 10 dk boyunca 37°C'de pH:3.0 olan %1'lik krezil viyolede bekletildi. Dokular, fazla boyaları PBS ile giderildikten sonra %96 etil alkol ile diferansiye edildi. İki kez saf etil alkolden geçirilip dehidrate edildikten sonra toluolle şeffaflaştırılıp entellan ile kapatıldı. Bu sayede BNST, MeA VE VMHvl bölgeleri için doğru kesit seviyeleri, krezil viyole ile boyanan kesitlerin Olympus BX61 ışık mikroskopu ile 2X büyütmede incelenerek elde edilen görsellerinin, Paxinos atlasındaki görseller ile kıyaslanmasıyla belirlendi.

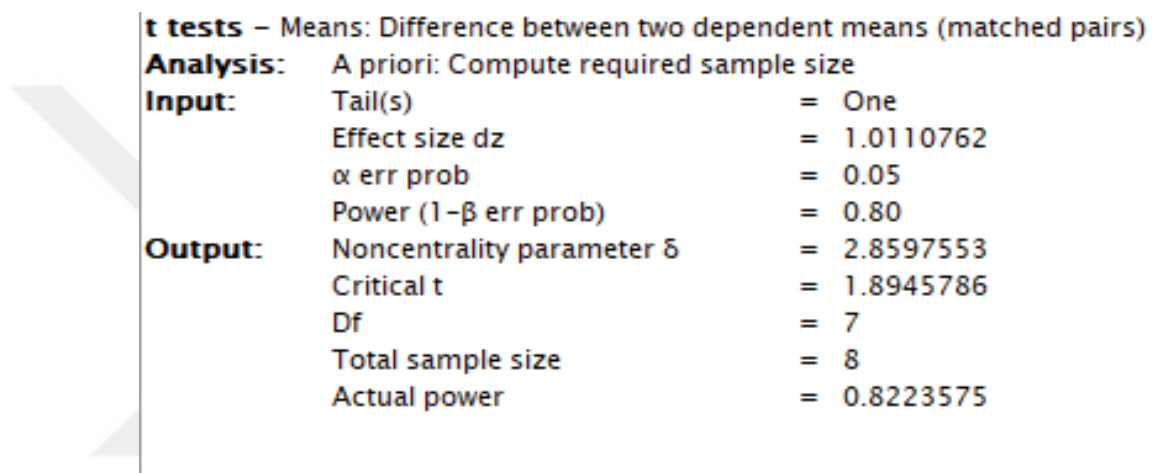
3.6. c-Fos İmmünohistokimyasal Analizi

56°C'lik etüvde parafinin giderilmesi için bekletilen kesitler, daha sonra sırayla %100, %96, %90 ve %70 olan inen alkol serisinden geçirilerek rehidrate edildi. Daha sonra, fiksasyon işlemiyle bozulan antijenik yapının eski halini geri alması için doku kesitlerine “antijen geri kazanımı” işlemi, kesitlerin mikrodalga fırında 95-98°C'ye ısıtılan sitrat tampon solüsyonunda (pH=6,0) bekletilmesiyle yapıldı. Tris tamponlu salin (TBS) ile yıkamanın ardından kesitler, endojen peroksidazın bloklanması amacıyla %3'lük H₂O₂ solüsyonunda bekletildi. Tekrar yıkama sonrası dokuların etrafı hidrofobik kalemle sınırlandırıldı ve ardından doku kesitlerine bloklama işlemi uygulandı. Bloklama sonrasında doku kesitleri, yıkama yapılmadan, primer antikor (c-Fos, ab208942, 1/1000) solüsyonu ile +4°C'de humidity chamber içinde 16-18 sa (overnight) inkübe edildi. Ertesi gün, doku kesitlerindeki primer antikor uzaklaştırıldıktan sonra yıkama yapıldı ve kesitlere oda sıcaklığında 20 dk sekonder antikor uygulandı. Tekrar yıkamanın ardından kesitler, streptavidin-biyotin-peroksidaz solüsyonu ile RT'de 20 dk inkübe edildi. Yıkama yapılan kesitlere DAB (3,3'-diaminobenzidine) kromojen solüsyonu uygulandı ve Mayer's hematoksilen ile zıt boyama yapıldı. Son olarak, sırasıyla %90, %95, %100 ve %100 yükselen alkol serilerinden geçirildikten sonra toluende bekletilip entellan ile kapatıldı [82]. Olympus BX61 ışık mikroskopu ile 2X ve 40X büyütmelede fotoğrafları çekilerek görüntüleme yapıldı. Doku örneklerinde c-Fos ekspresyonları, QuPath yazılımı kullanılarak değerlendirildi [84]. Skorlamalarda BNST için 40X büyütmede çekilen 5 farklı alan, MeA ve VMHvl için 40X büyütmede çekilen 2 farklı alan kullanıldı. Beyin dokularında boyanmanın şiddeti ve yoğunluğuna göre pozitif nöron hücreleri belirlendi ve bu hücreler seçilen alandaki tüm hücrelere oranla yüzde (%) olarak hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Analiz

Çalışma sonuçlarının (Grup 1 ve Grup 2, Grup 3 ve Grup 4 kıyaslaması) istatistiksel değerlendirilmesi aşamasının iki grup karşılaştırmasında sürekli değişkenler arasında farkı belirlemek için Student's t-test kullanıldı (t tests - Means: Difference between two dependent means) (Şekil 15). Deney sonucundaki davranış

ve immünohistokimyasal veri analizinde Mann-Whitney U testi ve bağımsız örneklem T testi kullanılmıştır.



t tests – Means: Difference between two dependent means (matched pairs)		
Analysis: A priori: Compute required sample size		
Input:	Tail(s)	= One
	Effect size dz	= 1.0110762
	α err prob	= 0.05
	Power (1- β err prob)	= 0.80
Output:	Noncentrality parameter δ	= 2.8597553
	Critical t	= 1.8945786
	Df	= 7
	Total sample size	= 8
	Actual power	= 0.8223575

Şekil 15. Power analizi.

Yapılan çalışmada her bir grup için örneklem sayısı %95 güven düzeyinde ($1-\alpha$), %80 test gücü ($1-\beta$) ile gruplar arasında öngörülen en geniş 1. Grup için ortalama değer: 4.65 ± 0.40 ve standart sapma 1.2, 2. Grup için ortalama değer: 3.23 ± 0.47 ve standart sapma 1.5 olarak atfedildiğinde her bir grupta alınması gereken örnek sayısı $n=8$ olarak belirlenmiştir. [85] Cerrahi işlem ve sonrasındaki bir haftalık iyileşme sürecinde kaybedilen sıçanlar nedeniyle 3 ve 4. gruplar $n=6$ olacak şekilde deneye devam edilmiştir.



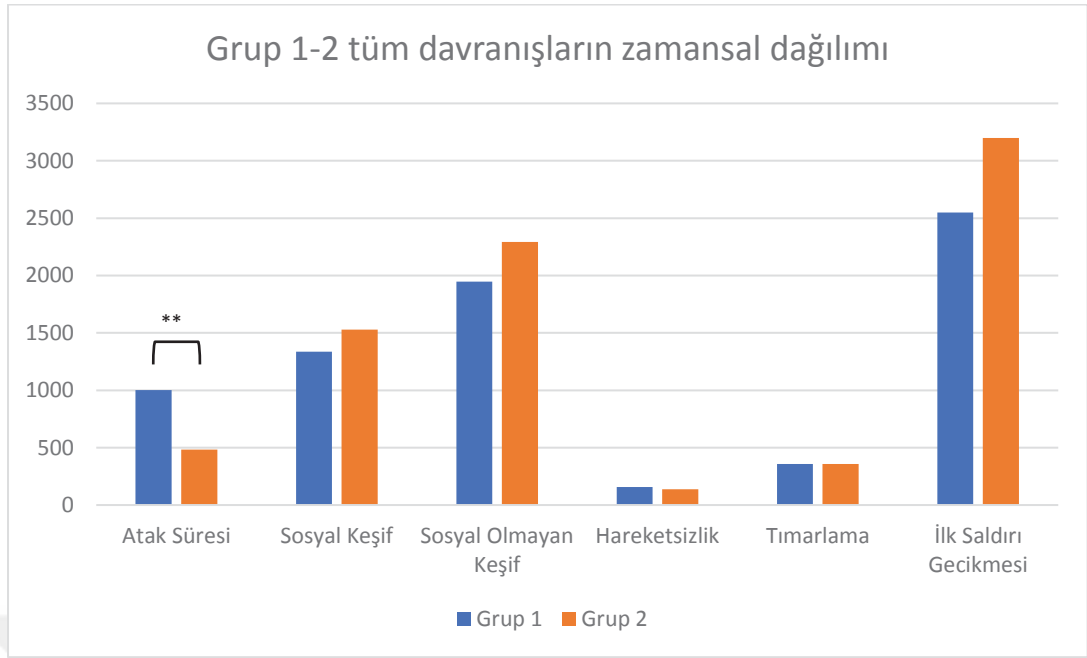
4. BULGULAR

4.1. Davranış Bulguları

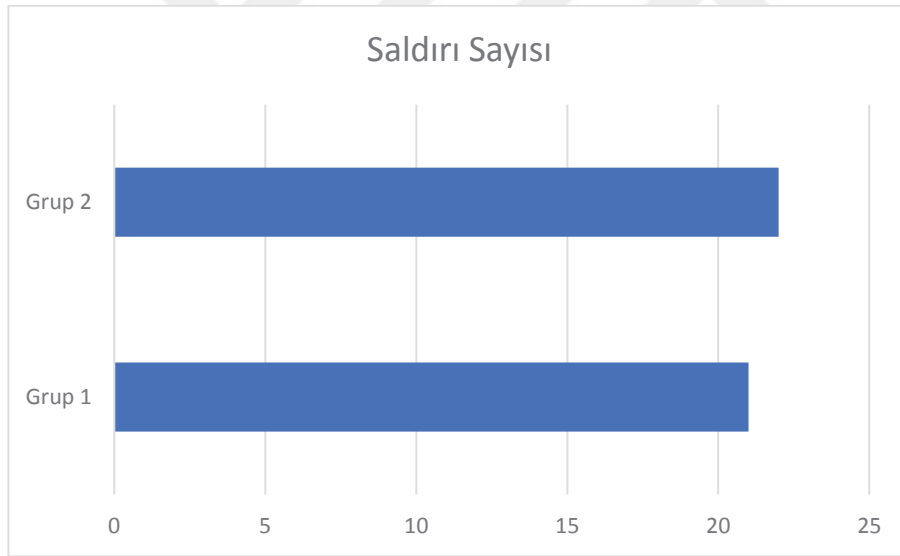
Yerleşik-işgalci paradigması sonucu 10 dakikalık videolar elde edilmiştir. Burada davranışlar 28 kategori üzerinden 10 dakikalık süre boyunca manuel olarak hesaplanarak veriler elde edildi. Bu davranışlar hücum/atak, sosyal keşif, sosyal olmayan keşif, hareketsizlik, tımarlama şeklinde beş ana başlıkta gruplandı. Her bir davranış saniye cinsinden hesaplanarak ilk saldırı zamanı gecikmesi ve toplamda kaç kez direkt saldırı meydana geldiği de saldırı sayısı olarak belirtildi. Elde edilen ham veriler tabloda toplam süre 600 saniye olacak şekilde her hayvan için yer almaktadır (Tablo 2). Grup 1-2 ve grup 3-4'ün tüm davranışlarının zamansal dağılım sütun grafikleri (Tablo 3, Tablo 5) ve grup 1-2 ve grup 3-4'ün toplam saldırı sayıları sütun grafikleri aşağıda verilmiştir (Tablo 4, Tablo 6).

Grup Numarası	Sıçan Numarası	Atak/Hücum süresi	Sosyal keşif	Sosyal olmayan keşif	Hareketsizlik	Tımarlama	İlk saldırı gecikme zamanı	Saldırı sayısı
1	11	118.53	188.81	258.04	20.98	13.64	107	3
1	12	106.35	109.36	225.75	13.04	145.48	201	2
1	13	118.53	188.81	258.04	20.98	13.64	491	2
1	14	253.85	181.47	152.10	12.59	.00	323	6
1	15	131.53	104.22	305.56	30.35	28.33	303	5
1	16	122.64	219.93	190.54	7.09	59.80	182	2
1	17	27.18	146.98	317.11	39.26	69.46	600	0
1	18	124.39	196.52	240.42	11.50	27.18	343	1
2	21	78.97	198.97	299.49	7.18	15.38	246	2
2	22	106.30	275.98	175.81	27.60	14.31	333	5
2	23	6.26	259.83	208.70	4.17	121.04	600	0
2	24	114.19	123.21	285.48	11.02	66.11	437	4
2	25	.00	161.66	421.76	6.22	10.36	600	0
2	26	.00	214.72	317.06	46.15	22.07	600	0
2	27	102.21	135.95	280.07	2.04	79.73	78	8
2	28	74.23	159.79	303.09	34.02	28.87	306	3
3	31	50.59	200.34	267.12	79.93	2.02	88	3
3	32	20.30	241.62	271.07	30.46	36.55	325	2
3	33	2.05	72.95	363.70	15.41	145.89	299	1
3	34	17.17	236.36	236.36	.00	110.10	600	0
3	35	91.22	229.05	252.36	15.20	12.16	224	2
3	36	.00	84.28	344.15	167.56	4.01	600	0
4	41	.00	191.96	227.14	.00	180.90	600	0
4	42	41.31	162.13	303.61	86.75	6.20	584	1
4	43	1.00	95.00	491.00	2.00	11.00	600	0
4	44	.00	111.22	277.55	72.45	138.78	600	0
4	45	83.25	60.91	405.08	10.15	40.61	362	2
4	46	23.00	132.00	352.00	62.00	31.00	438	1

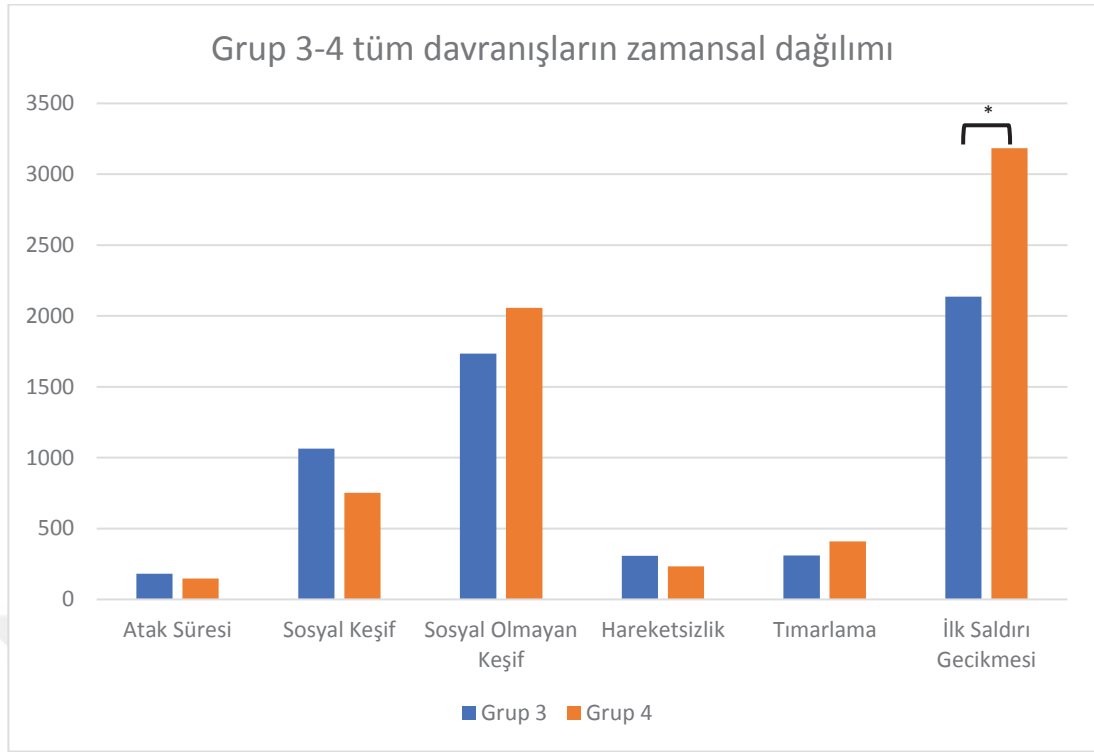
Tablo 2. Grup 1 (n=8), 2 (n=8), 3 (n=6) ve 4 (n=6)'ün yerleşik-işgalci paradigması boyunca davranış süreleri tablosu.



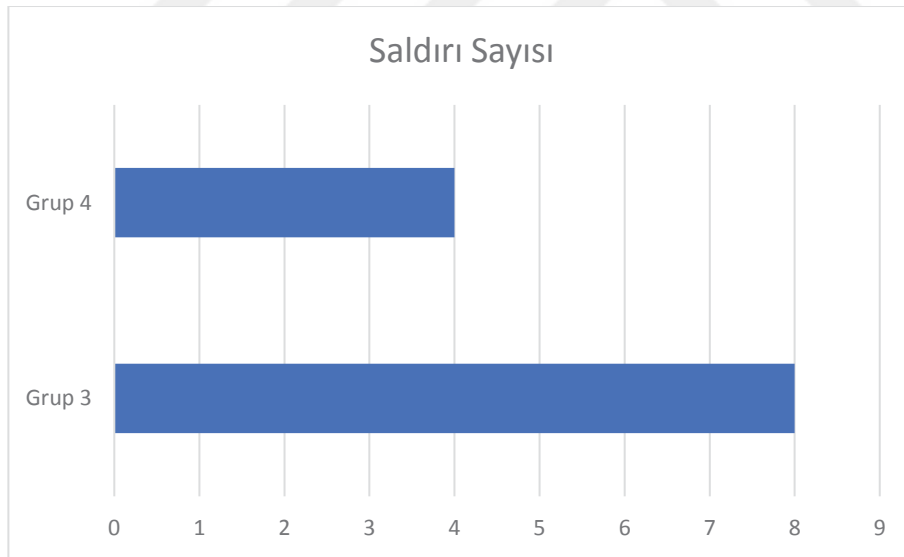
Tablo 3. Grup 1-2 tüm davranışların zamansal dağılımı.



Tablo 4. Grup 1-2 toplam saldırı sayısı.



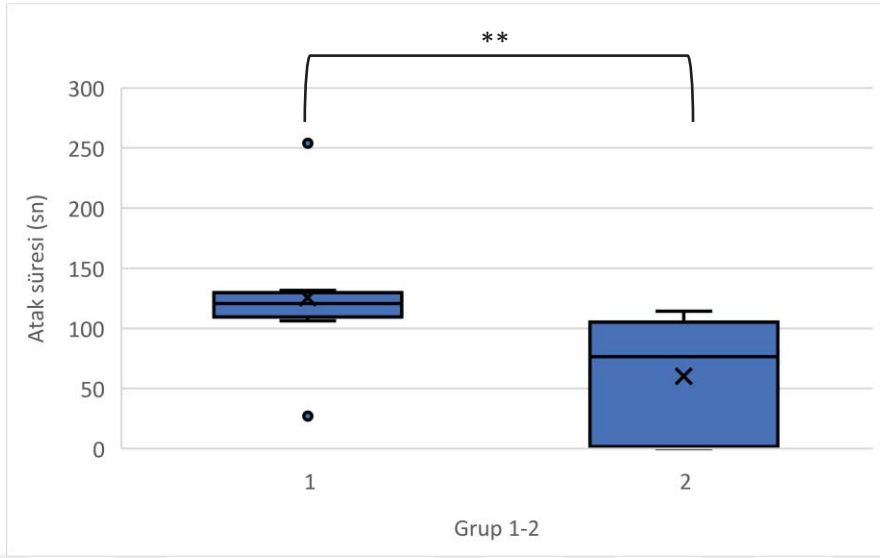
Tablo 5. Grup 3-4 tüm davranışların zamansal dağılımı.



Tablo 6. Grup 3-4 toplam saldırı sayısı.

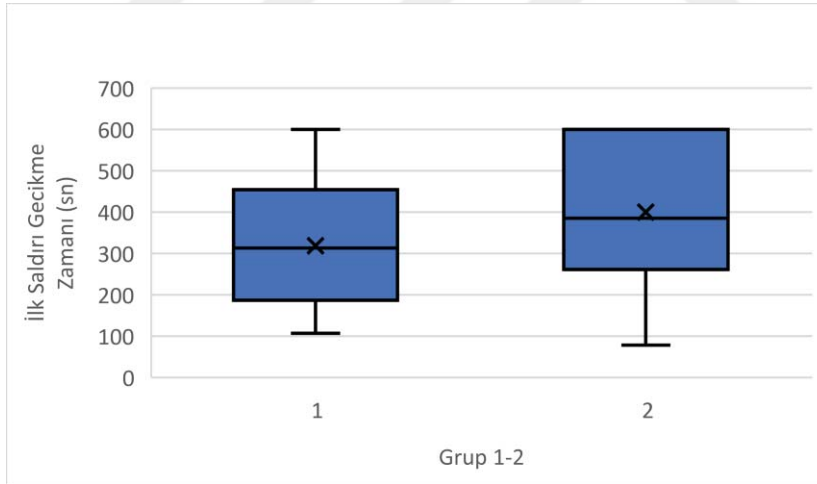
4.1. Deney 1 (Grup 1-2) Yerleşik İşgalci Paradigması Sonuçları

Deney 1'deki Grup1 ve 2'nin atak süreleri Mann-Whitney U testi ile kıyaslandığında toplam atak süresi amilin uygulaması yapılan Grup 2 sıçanlarında anlamlı olacak şekilde agresif davranışları azaltmıştır [$Z=6.00$, $p=.005$] (Tablo 7).



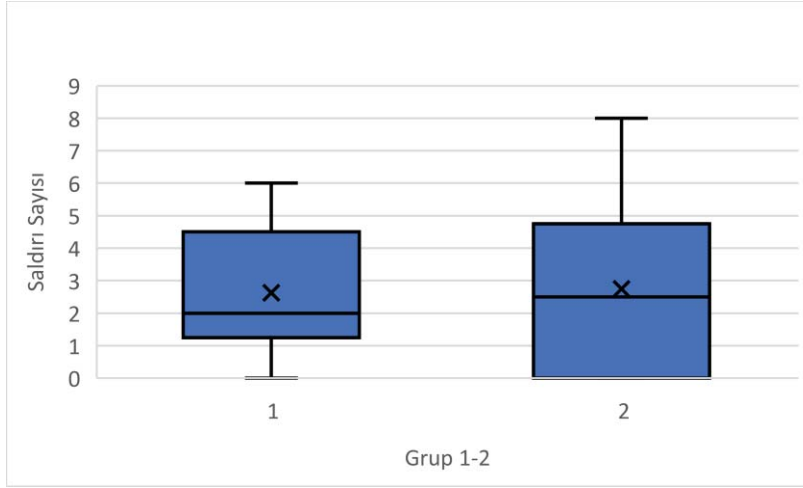
Tablo 7. Grup 1-2 atak süresi karşılaştırması grafiği.

Grup 1 ve 2'deki sıçanlar bağımsız örneklem T testi ile karşılaştırıldığında intraperitoneal amilin uygulamasının işgalciye ilk saldırılarının gecikme sürelerine etkisi anlamlı bulunmamıştır [$T(14)=-.90$, $p=.38$] (Tablo 8).



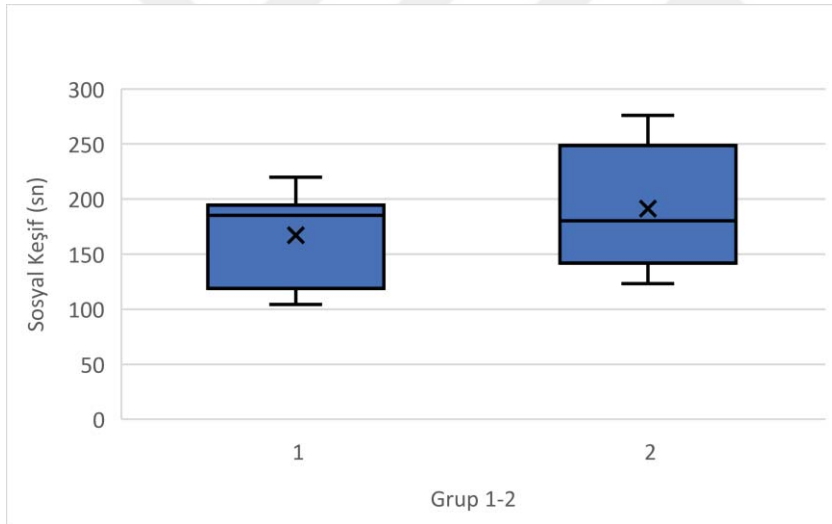
Tablo 8. Grup 1-2 ilk saldırı gecikme zamanı karşılaştırması grafiği.

Grup 1 ve 2'deki sıçanlar bağımsız örneklem T testi ile karşılaştırıldığında intraperitoneal amilin uygulaması sonrası 10 dakikalık süre zarfında toplam saldırı sayısındaki değişim anlamlı sonuçlanmamıştır [$T(10)=1.11$, $p=.29$] (Tablo 9).



Tablo 9. Grup 1-2 toplam saldırı sayısı karşılaştırması grafiği.

Grup 1 ve 2'deki sıçanlar bağımsız örneklem T testi ile karşılaştırıldığında intraperitoneal amilin uygulaması 10 dakikalık sürede sosyal keşif davranışları süresinde anlamlı bir değişim gözlenmemiştir [$T(14)=-.97$, $p=.34$] (Tablo 10).

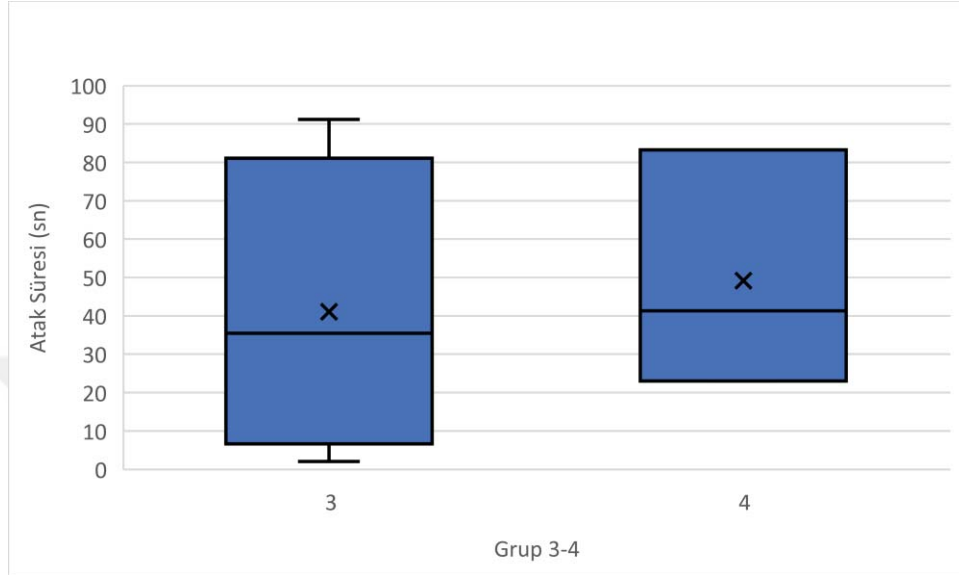


Tablo 10. Grup 1-2 sosyal keşif davranışları toplam süresi karşılaştırması grafiği.

4.2. Deney 2 (Grup 3-4) Yerleşik İşgalci Paradigması Sonuçları

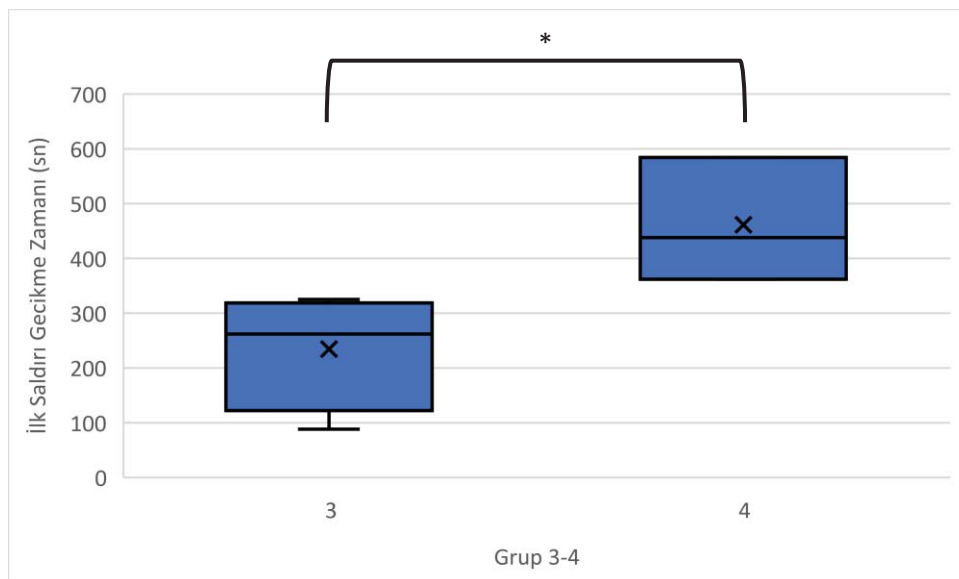
Deney 2'de kanülasyon ve sonrasındaki iyileşme sürecinde $n=8$ olan iki gruptan da ikişer sıçan kaybedilmiştir. Yerleşik İşgalci Paradigması sonucu elde edilen ham davranış veri tablosu ve grafikleri yukarıda verilmiştir. Taban etkisinden kaçınabilmek adına hiç saldırı göstermeyen sıçanlar istatistiksel değerlendirmeden dışlanmıştır (Grup 3, $n=4$; Grup 4, $n=3$).

Deney 2'deki Grup 3 ve 4'ün atak süreleri bağımsız örneklem T testi ile karşılaştırıldığında toplam atak süresinde, AP'ye amilin antagonisti (AC187) uygulanan sıçanlarda (Grup 4) uygulanmayanlara göre (Grup 3) anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir [$T(5)=-2.97$, $p=.77$] (Tablo 11).



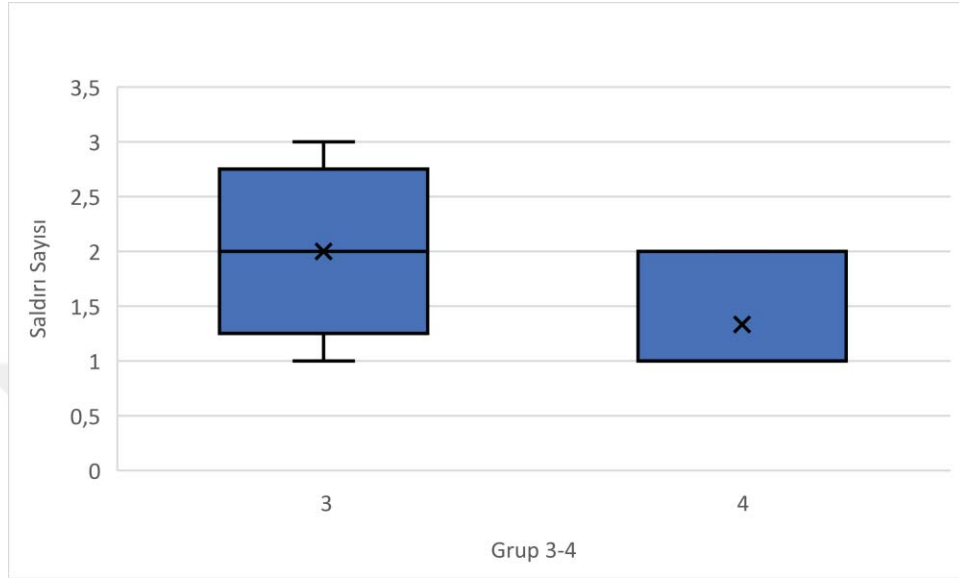
Tablo 11. Grup 3-4 atak süresi karşılaştırması grafiği.

İlk atak için gecikme zamanları bağımsız örneklem T testi ile kıyaslandığında toplam ilk saldırı gecikme zamanı AP'de amilin antagonisti uygulaması yapılan Grup 4 sıçanlarında anlamlı olacak şekilde artmıştır [$T(5)=-2.73$, $p=.041$] (Tablo 12).



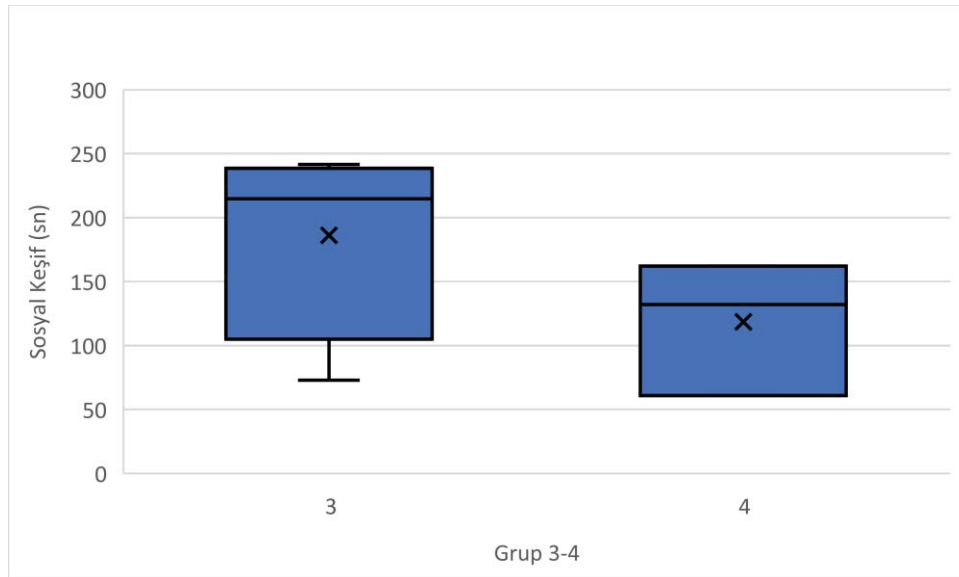
Tablo 12. Grup 3-4 ilk saldırı gecikme zamanı karşılaştırması grafiği.

Grup 3 ve 4' teki sıçanlar Mann-Whitney U testi ile karşılaştırıldığında AP' ye AC187 uygulaması sonrası 10 dakikalık süre zarfında toplam saldırı sayısındaki değişim anlamlı sonuçlanmamıştır [$Z=3.00$, $p=.29$] (Tablo 13).



Tablo 13. Grup 3-4 toplam saldırı sayısı karşılaştırması grafiği.

Sosyal keşif süreleri bağımsız örneklem T testi ile kıyaslandığında toplam sosyal keşif süresi AP'de amilin antagonisti uygulaması yapılan Grup 4 sıçanlarında anlamlı olacak şekilde değişim gözlenmemiştir [$T(5)= 1.29$, $p=.25$] (Tablo 14).



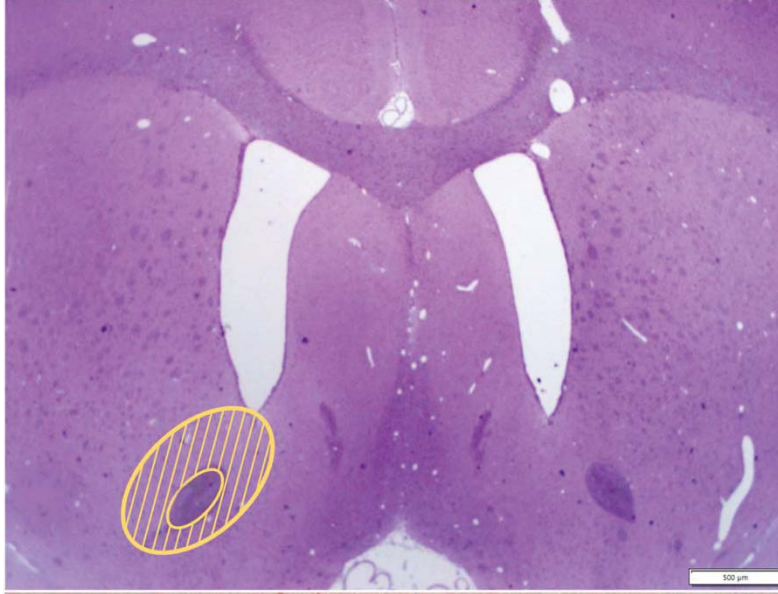
Tablo 14. Grup 3-4 sosyal keşif davranışları toplam süresi karşılaştırması grafiği.

4.2. Histolojik Veriler

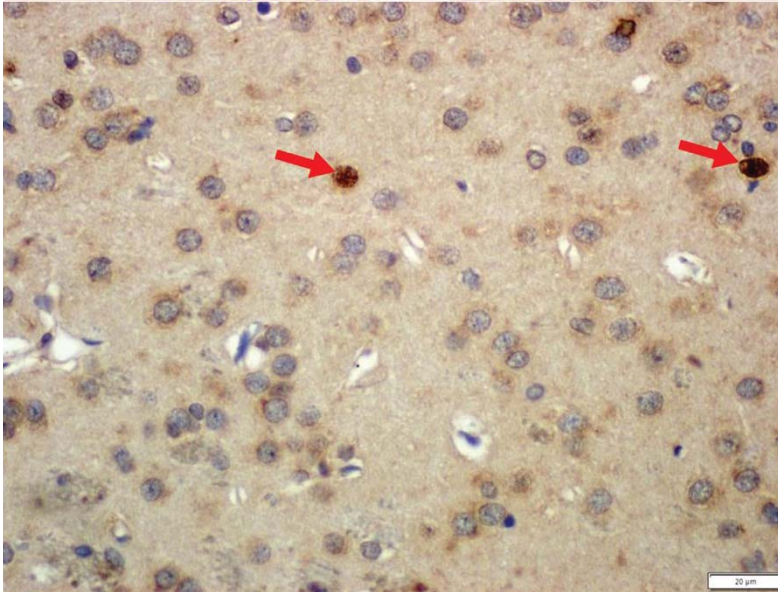
4.2.1. Deney 1

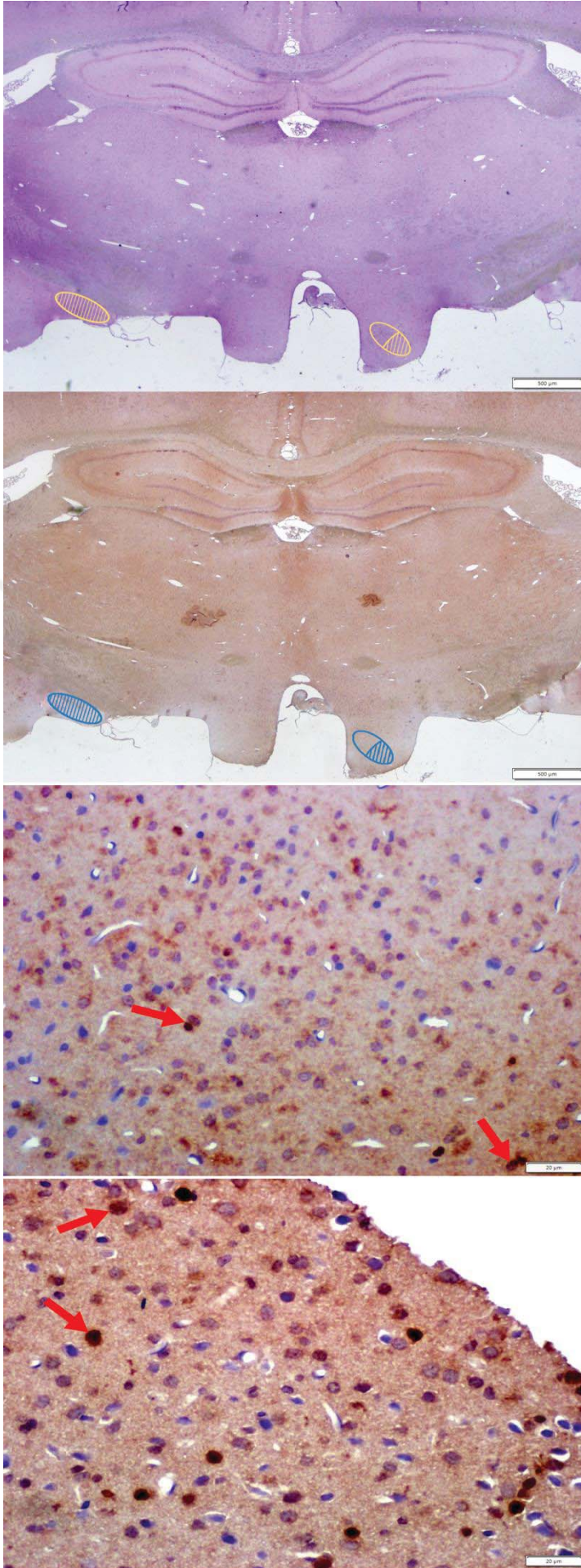
Aşağıda sırasıyla Grup 1 BNST nükleus boyamaları (Şekil 16), Grup 1 VMHvl ve MeA nükleus boyamaları (Şekil 17), Grup 2 BNST nükleus boyamaları (Şekil 18), Grup 2 VMHvl ve MeA nükleus boyamaları (Şekil 19) gösterilmiştir.



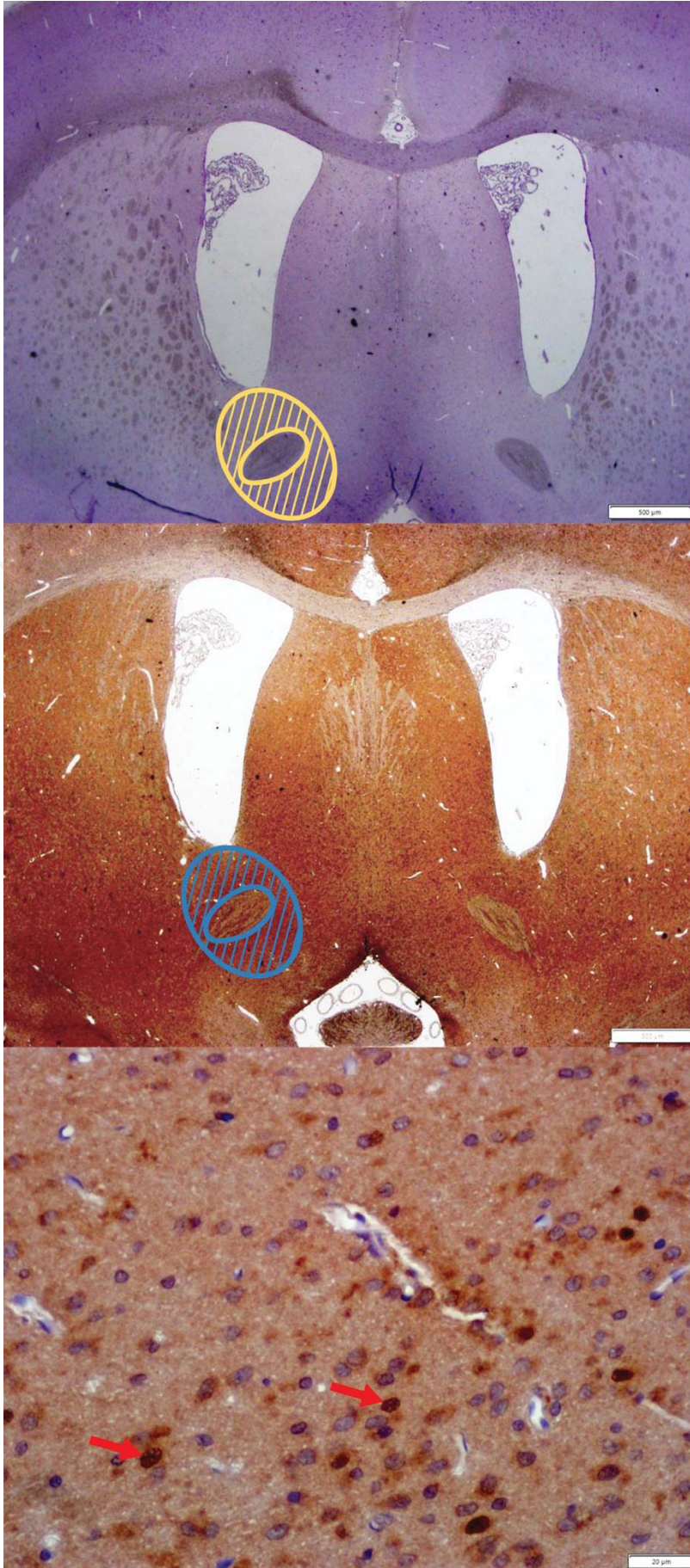


Şekil 16. Grup 1 BNST çekirdeğinin (taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), c-Fos immünohistokimyasal boyaması (x2 büyütme) ve c-Fos aktif hücrelerin (x40 büyütme) fotoğrafları.

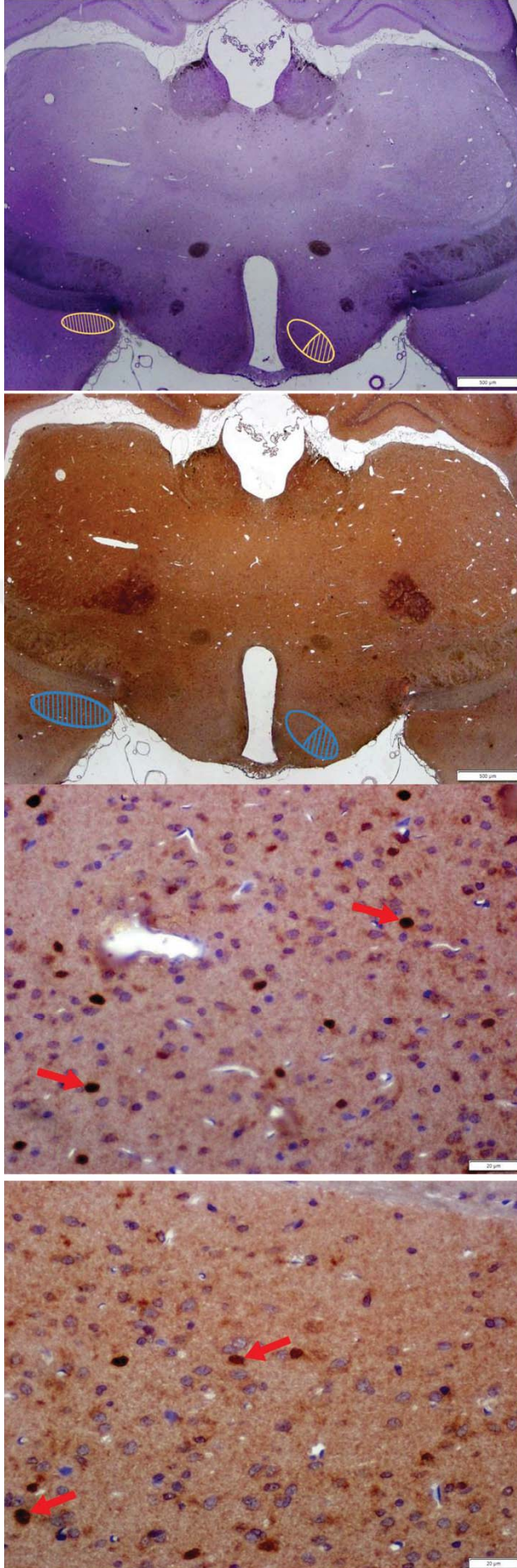




Şekil 17. Grup 1 MeA çekirdeğinin (soldaki taralı alan) ve VMHv çekirdeğinin (sağdaki taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), c-Fos immünohistokimyasal boyaması (x2 büyütme) ve c-Fos aktif hücrelerin (x40 büyütme) yukarıdan aşağıya sırasıyla VMHv ve MeA'dan çekilmiş fotoğrafları.

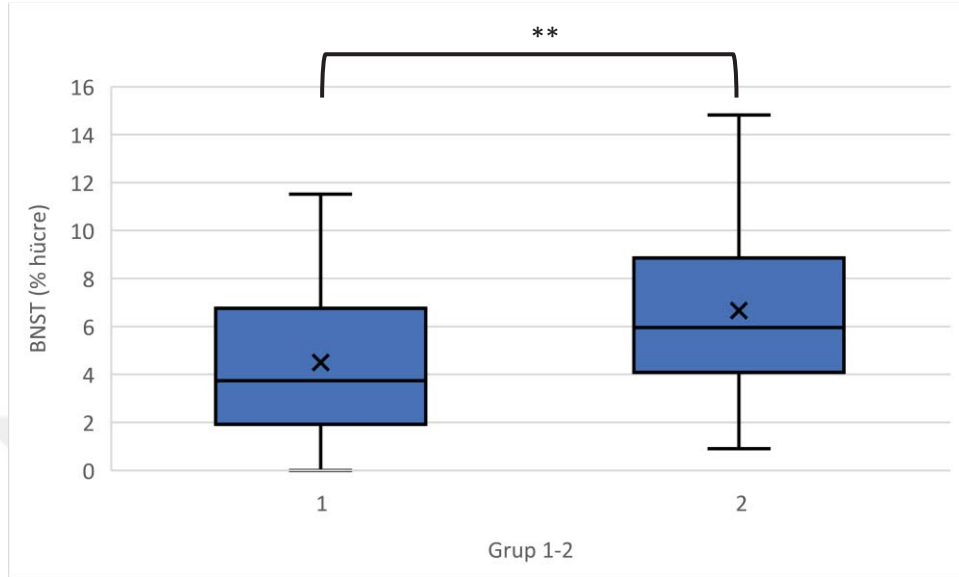


Şekil 18. Grup 2 BNST çekirdeğinin (taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), c-Fos immünohistokimyasal boyaması (x2 büyütme) ve c-Fos aktif hücrelerin (x40 büyütme) fotoğrafları.



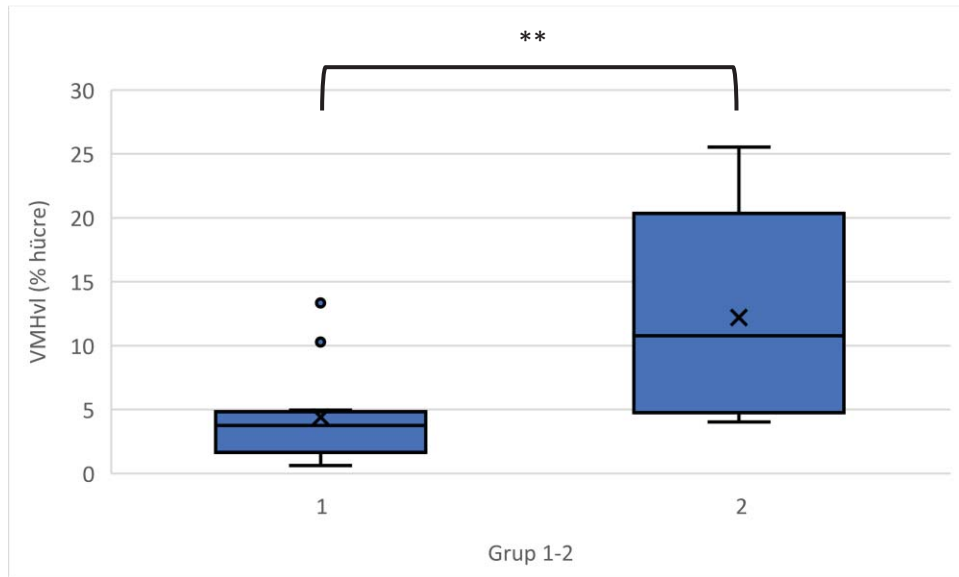
Şekil 19. Grup 2 MeA çekirdeğinin (soldaki taralı alan) ve VMHvl çekirdeğinin (sağdaki taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), c-Fos immünohistokimyasal boyaması (x2 büyütme) ve c-Fos aktif hücrelerin (x40 büyütme) yukarıdan aşağıya sırasıyla VMHvl ve MeA'dan çekilmiş fotoğrafları.

Bağımsız örneklem T testi ile kıyaslandığında Grup 2’de BNST’deki c-Fos aktivasyonu Grup 1’e göre çok anlamlı olarak artmıştır [$T(68)=-2.93$, $p=.005$] (Tablo 15).



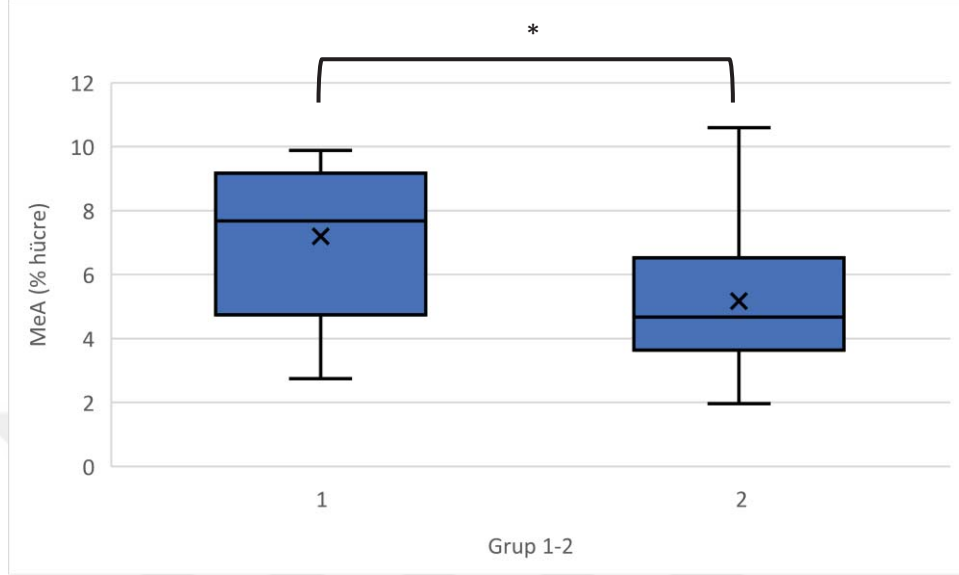
Tablo 15. Grup 1-2 BNST’ deki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.

Mann-Whitney U testi ile kıyaslandığında Grup 2’de VMHvl çekirdeği hücreleri Grup 1’e göre çok daha anlamlı olacak şekilde c-Fos aktivitesi göstermiştir [$Z=124.000$, $p=.003$] (Tablo 16).



Tablo 16. Grup 1-2 VMHvl’ deki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.

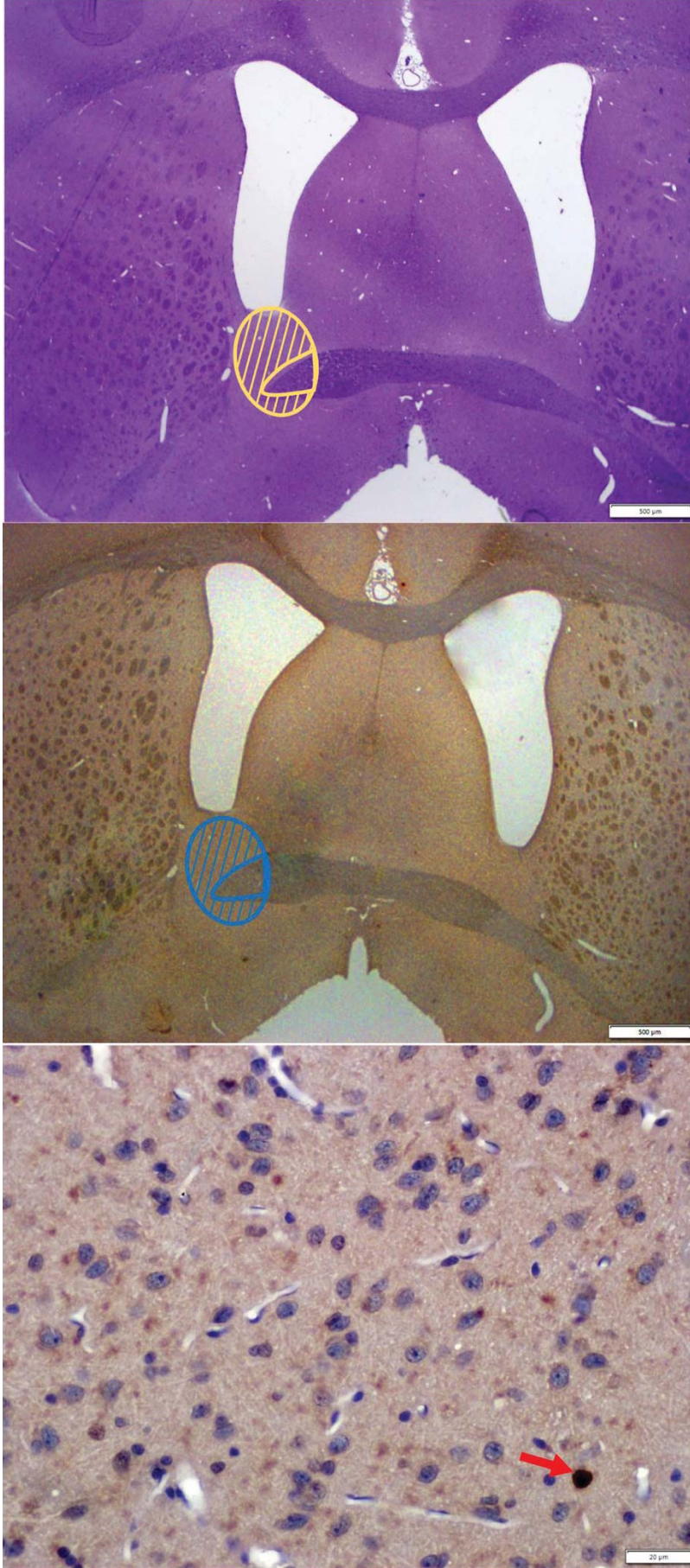
Mann-Whitney U testi ile kıyaslandığında Grup 2'deki MeA çekirdeği c-Fos aktivasyonu Grup 1'den anlamlı ölçüde düşük bulunmuştur [$Z=37.000$, $p=.043$] (Tablo 17).



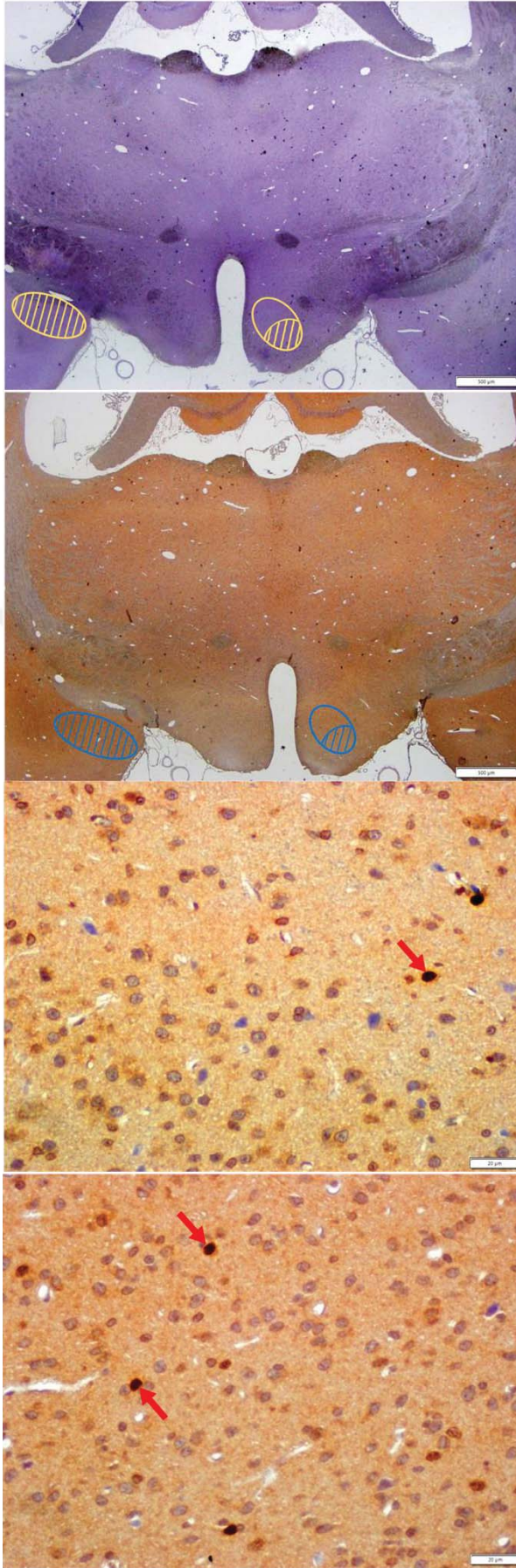
Tablo 17. Grup 1-2 MeA' daki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.

4.2.2. Deney 2

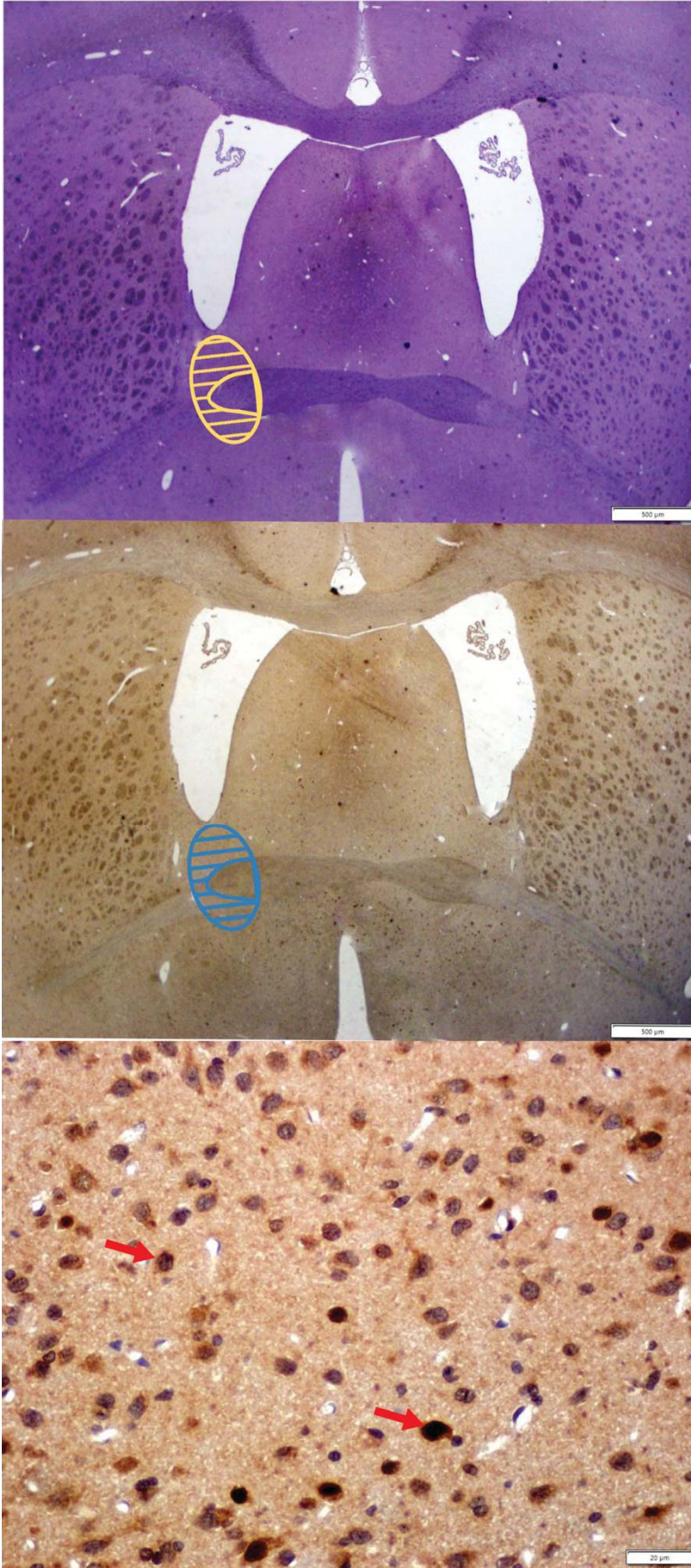
Aşağıda sırasıyla Grup 3 BNST nükleus boyamaları (Şekil 20), Grup 3 VMHvl ve MeA nükleus boyamaları (Şekil 21), Grup 4 BNST nükleus boyamaları (Şekil 22), Grup 4 VMHvl ve MeA nükleus boyamaları (Şekil 23) gösterilmiştir.



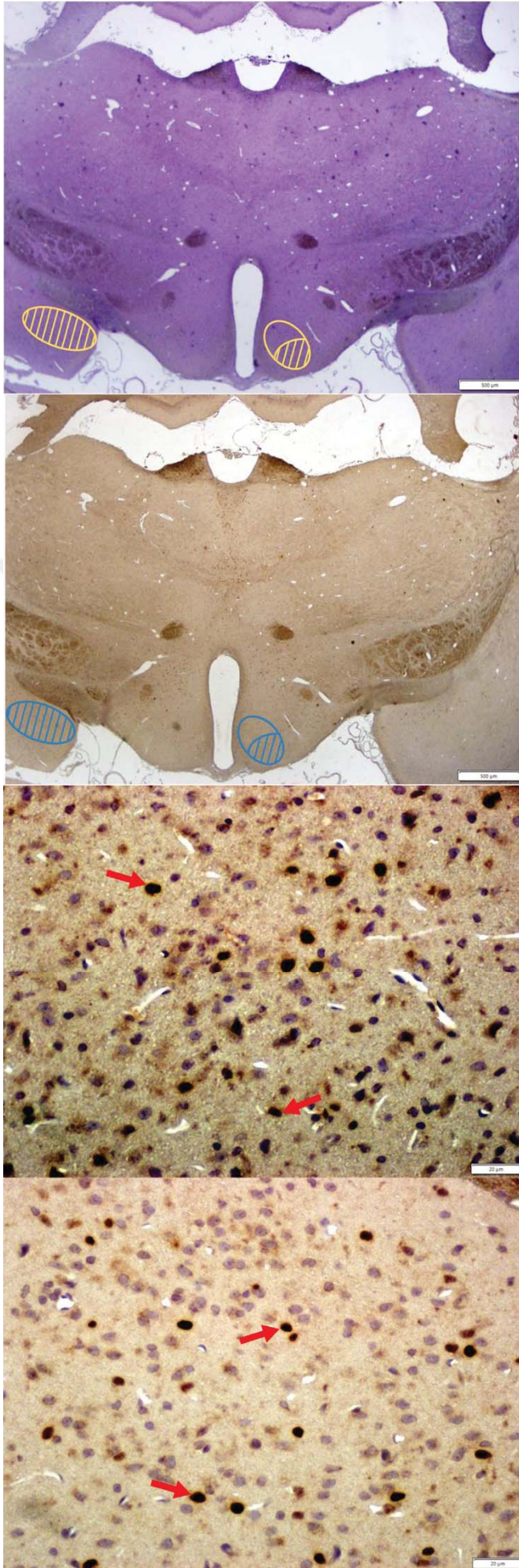
Şekil 20. Grup 3 BNST çekirdeğinin (taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), c-Fos immünohistokimyasal boyaması (x2 büyütme) ve c-Fos aktif hücrelerin (x40 büyütme) fotoğrafları.



Şekil 21. Grup 3 MeA çekirdeğinin (soldaki taralı alan) ve VMHvl çekirdeğinin (sağdaki taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), c-Fos immünohistokimyasal boyaması (x2 büyütme) ve c-Fos aktif hücrelerin (x40 büyütme) yukarıdan aşağıya sırasıyla VMHvl ve MeA'dan çekilmiş fotoğrafları.

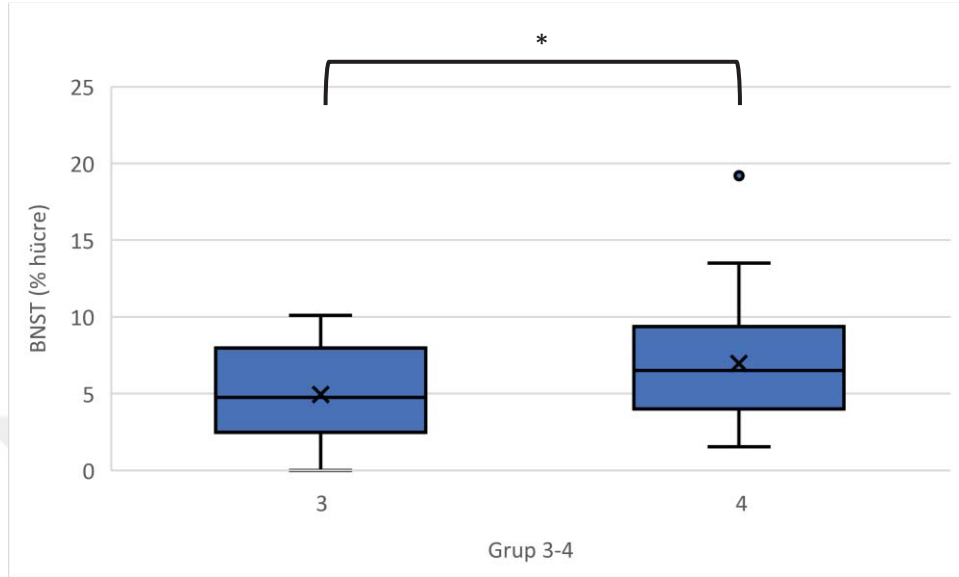


Şekil 22. Grup 4 BNST çekirdeğinin (taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), c-Fos immünohistokimyasal boyaması (x2 büyütme) ve c-Fos aktif hücrelerin (x40 büyütme) fotoğrafları.



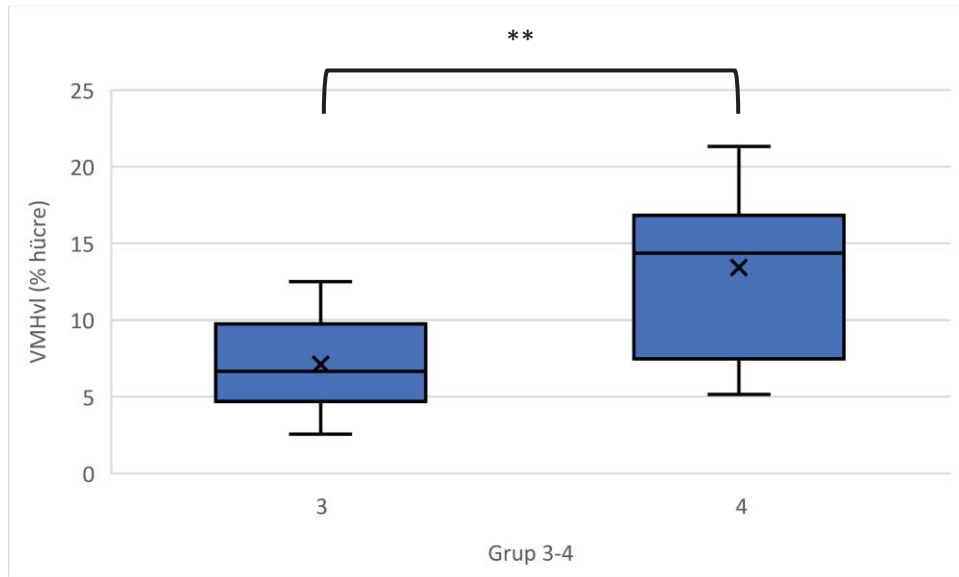
Şekil 23. Grup 4 MeA çekirdeğinin (soldaki taralı alan) ve VMHv çekirdeğinin (sağdaki taralı alan) krezil viyole (x2 büyütme), c-Fos immünohistokimyasal boyaması (x2 büyütme) ve c-Fos aktif hücrelerin (x40 büyütme) yukarıdan aşağıya sırasıyla VMHv ve MeA'dan çekilmiş fotoğrafları.

Mann-Whitney U testi ile kıyaslandığında Grup 4'te Grup 3'e göre BNST'de anlamlı oranda daha çok c-Fos aktivasyonu gözlenmiştir [$Z=584.000$, $p=.048$] (Tablo 18).



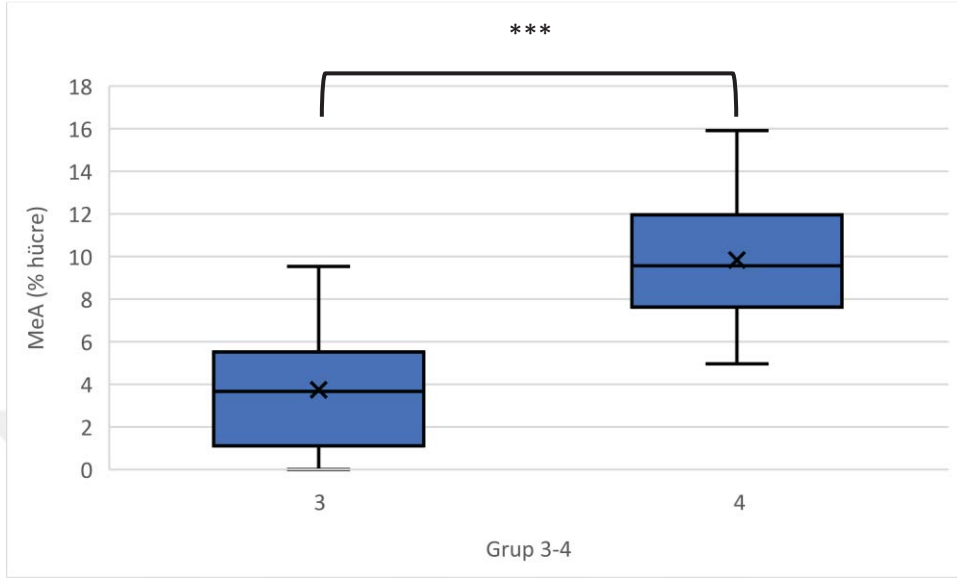
Tablo 18. Grup 3-4 BNST' deki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.

Bağımsız örneklem T testi ile kıyaslandığında Grup 4 VMHvl çekirdeğindeki c-Fos aktivitesi çok anlamlı olacak ölçüde Grup 3'ten fazladır [$T(18)=-3.30$, $p=.004$] (Tablo 19).



Tablo 19. Grup 3-4 VMHvl'deki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.

Bağımsız örneklem T testi ile kıyaslandığında Grup 4'ün MeA çekirdeğindeki hücresel c-Fos aktivasyonu. Grup 3'tekine göre çok anlamlı olacak ölçüde fazla bulunmuştur [$T(22)=-4.65$, $p<.001$] (Tablo 20).



Tablo 20. Grup 3-4 MeA'daki hücre aktivasyonu karşılaştırma istatistik tablosu.

5. TARTIŞMA

5.1. Yerleşik İşgalci Paradigması

Yerleşik İşgalci Paradigması literatürde agresif davranışların gösterilmesi için standardize olmuş bir metoddur [75]. Bu testle canlıda agresyon yaratarak ve bu süreci video altına alarak agresif davranışlar ölçülebilmektedir. Deney 1’de intraperitoneal olarak verilen serum fizyolojik ve amilin kıyaslamasında sıçanların agresyon davranış skorlaması yapılmıştır. Yerleşik ve işgalci sıçanın 10 dakikalık karşılaşma sürelerindeki 28 davranış; hücum/atak, sosyal keşif, sosyal olmayan keşif, hareketsizlik, tımarlama şeklinde beş kategoride toplanmıştır. Buradaki atak süresi canlının agresif davranışlarının belirleyicisi olarak değerlendirilmektedir. Bunun dışında literatürdeki çalışmalar ilk saldırıya kadar geçen süreyi de saldırganlıkla ters orantılı bir belirteç olarak kullanmışlardır [81]. Bu bağlamda çalışmamızda biz de atak süresi, ilk saldırı gecikme zamanı ve toplam direkt saldırı sayısı saldırganlığı değerlendirmek amacıyla kullanılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre serum fizyolojik uygulanan Grup 1, amilin uygulanan Grup 2’ ye göre anlamlı ölçüde daha fazla atak süresi göstermiştir ($p<.01$). Çalışmamızda Grup 2’de atak süresindeki azalma ile birlikte sosyal keşif davranışlarında anlamlı olmayan artış eğilimi gözlenmiştir ($p=.34$). Yapılan bir çalışmada da atak süresindeki artışların, sosyal keşif davranışlarında kısmi azalmayla birlikte olduğu bildirilmiştir[81]. İlk saldırının gecikme süresinin anlamlı bir fark oluşması da Grup 2’deki deney hayvanlarında daha yüksek olarak belirlenmiştir ($p=.38$). Saldırı sayılarının iki grupta anlamlı farklılık göstermediği saptanmıştır. Bulgularımız amilinin, Yerleşik İşgalci Paradigması’nda temel agresyon belirleyicisi olarak kabul edilen atak süresinde anlamlı azalmaya neden olmuştur.

Intraperitoneal amilin ve intraserebral kanülden serum fizyolojik uygulanan Deney 2’deki Grup 3 ile intraperitoneal amilin ve intraserebral olarak AP’ye amilin antagonisti uygulanan Grup 4 arasındaki karşılaştırma ile amilinin agresyona etkisinde AP’nin rolünün araştırılması amaçlanmıştır. Kanülasyon ve sonrasındaki iyileşme sürecinde Grup 3 ve Grup 4’ ten ikişer sıçan kaybedilmiştir. Çalışma bu gruplar $n=6$

olacak şekilde sürdürülmüştür. Yerleşik İşgalci Paradigması sonucu elde edilen ham davranış veri tablosu ve grafikleri yukarıda verilmiştir (Tablo 2, Tablo 5, Tablo 6). Taban etkisinden kaçınabilmek adına hiç saldırı göstermeyen sıçanlar istatistiksel değerlendirmeye alınmamıştır (Grup 3; n=4, Grup 4; n=3). Bu durum Deney 2 davranış verilerinde yüksek standart sapmaya ve düşük güvenilirliğe neden olmuştur. Buna rağmen elde edilen verilere göre Grup 4'ün atak süresi Grup 3'e göre artış eğilimi gösterdiği belirlenmiştir ($p=.77$). Bununla çelişecek şekilde Grup 4'ün ilk saldırı gecikme zamanı ise anlamlı ölçüde Grup 3'ten yüksek olduğu saptanmıştır ($p=.041$). Bu sonuç tek başına değerlendirildiğinde Grup 4'ün daha az agresyon gösterdiği düşünülebilir. Bununla birlikte Grup 4'teki deney hayvanlarının Grup 3'teki deney hayvanlarına göre atak süresinin artış eğiliminde olması, sosyal keşif sürelerinde ise azalma eğiliminde olması ($p=.25$) bulguları Deney 1 davranış bulgularıyla değerlendirildiğinde amilin antiagresif etkiler gösterdiğini düşündürmektedir.

Literatürde Yerleşik İşgalci Paradigması ile agresyon modeli oluşturmak için genellikle fareler [86] ve sıçanlar kullanılmıştır. Koolhaas ve arkadaşları [75] her cins sıçanda agresyon modeli olarak Yerleşik İşgalci Paradigması'nın uygulanabileceğini ancak sıçan türlerinin saldırganlık derecelerinin farklı olduğunu, Wistar cinsi sıçanların düşük saldırganlık gösterdiğini ve Yerleşik İşgalci Paradigması için yüksek saldırganlık gösteren sıçanların kullanılmasının daha uygun olacağını belirtmişlerdir. Bununla birlikte Wistar cinsinin Yerleşik İşgalci Testlerinde kullanıldığı çok sayıda çalışma bulunmaktadır [87–89]. Saldırganlığın şiddet olarak niteleyebileceğimiz hayati bir saldırganlık şekline dönüşebileceği bilinmektedir [90]. Birçok çalışmada agresyon normal ve anormal agresyon olarak gruplandırılmıştır [91–94]. Normal agresyon yüksek glukokortikoid seviyeleriyle ilişkiliyken anormal agresyonda glukokortikoid seviyelerinin azaldığı belirtilmiştir. Çalışmamızda amilinin normal agresyona etkileri araştırılacağından anormal agresyonda stres hormonlarının farklılık göstermesi amilinin normal agresyondaki etki mekanizmalarını tam olarak ortaya koymayabilir. Diğer taraftan anormal agresyon oluşturulan deney hayvanlarında hayati organlara saldırıların gerçekleşebileceği belirtilmiştir [95]. Bu durum tarafımızda etik kaygılara neden olmuştur. Bu nedenlerle çalışmamızda Wistar cinsi sıçanlar kullanılarak amilinin agresyon mekanizmalarına etkisi araştırılmıştır. Bulgularımız amilinin

agresyon davranışlarında azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Bu agresyon davranışlarının immünohistokimyasal bulguları desteklediği belirlenmiştir.

5.2. Histolojik İncelemeler

Yerleşik İşgalci Paradigması uygulanan tüm sıçanlarda BNST, VMHvl ve MeA çekirdeklerinde c-Fos aktivitesi immünohistokimya yöntemi ile incelenmiştir. Uyarana ilk yanıt veren c-Fos, hücre aktivitesinin artışında kullanılan önemli bir belirteçtir [96]. Doygunluk mekanizmalarına etkisinin araştırıldığı çalışmalarda intraperitoneal verilen amilinin, BNST ve CeA çekirdeklerindeki c-Fos immünreaktivitesini AP üzerinden [15], VMHvl çekirdeğindeki c-Fos immünreaktivitesini direkt yoldan [69] gösterdiği, MeA'da ise aktivite artışı göstermediği belirtilmektedir [97]. Öte yandan BNST, VMHvl ve MeA agresyon ile ilişkili ÇSD' nin temel çekirdekleridir (Şekil 1). Bu nedenle agresyonun da bu alanlarda c-Fos immünreaktivitesini arttırdığı belirtilmektedir [37]. Bu durumda MeA'da agresyon artışından, BNST ve VMHvl'de ise hem agresyon artışından hem de amilinin bu bölgelerdeki etkisinden kaynaklanan immünreaktivite artışı gözlenebilir.

Çalışmamız her biri iki grup içeren Deney 1 ve Deney 2 aşamalarından oluşmaktadır. Deney 1'de; Yerleşik İşgalci Testi'ne maruz bırakılan sıçanların bir grubuna serum fizyolojik uygulanırken (Grup 1), diğer gruba amilin uygulaması yapılmıştır (Grup 2). Grup 2'deki deney hayvanlarına amilin uygulaması Grup 1'deki deney hayvanlarına kıyasla BNST ve VMHvl çekirdeklerinde c-Fos immünreaktivitesinde anlamlı artışlara neden olurken [(p=.005), (p=.003)], MeA çekirdeğinde c-Fos immünreaktivitesini anlamlı olarak azalttığı (p=.043) saptanmıştır. BNST ve VMHvl çekirdeklerindeki immünreaktivite artışı agresyon artışından ya da amilinin etkilerinden kaynaklanabilir. Davranış testi bulgularımız Deney 1 Grup 2'deki deney hayvanlarında agresyonun azaldığını göstermiştir. Bu durumda Grup 2'deki deney hayvanlarında BNST immünreaktivitesindeki artışın amilinin etkilerin kaynaklandığını düşünebiliriz. Doygunluk mekanizmalarıyla ilgili olarak amilinin etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda amilinin MeA'da immünreaktif etki göstermediği ileri sürülmüştür [97]. Agresyonun immünreaktivite artışına neden olduğu bilgisinden yola çıkarak amilinin MeA'da c-Fos immünreaktivitesinde anlamlı azalma göstermesi amilinin antiagresif etkilerinden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Deney 2’de; Yerleşik İşgalci Testi’ne maruz bırakılan ve intraperitoneal amilin uygulanan sıçanların bir grubuna AP’ye takılan kanül aracılığıyla serum fizyolojik (Grup 3), diğer gruba ise amilin antagonisti (AC187) verilmiştir (Grup 4). Grup 4’te BNST, VMHvl ve MeA çekirdeklerinde Grup 3’e göre anlamlı immünreaktivite artışı gözlenmiştir [(p=.048), (p=.004), (p<.001)]. Grup 4’te antiagresif etkilerinin olabileceğini düşündüğümüz amilinin amilin antagonisti ile BNST çekirdeğindeki AP-LPBN-BNST yolağı üzerinden oluşan etkisi ortadan kaldırıldığı için bu gruptaki immünoreaktivite artışının sıçanların daha agresif olmalarından kaynaklanabileceğini düşünebiliriz. Amilin direkt olarak da BNST çekirdeğindeki reseptörleri [98] aracılığıyla aktivasyon oluşturabilir. Deney 2’deki iki gruba da intraperitoneal amilin uygulandığı için Grup 4’teki immünreaktivite artışı amilinin direkt etkilerinden kaynaklanmadığı amilinin agresyonu azaltıcı etkisinden kaynaklandığını göstermektedir. Deney 1 ve Deney 2’deki Yerleşik İşgalci Paradigması’ndan elde edilen davranış bulgularımız, BNST çekirdeği ile ilgili c-Fos immünoreaktivitesi bulgularımız ile uygunluk göstermektedir. Bulgularımız amilinin AP üzerinden antiagresif mekanizmalarda rol alabileceğine işaret etmektedir.

Anksiyete hafif ya da şiddetli olabilen endişe ya da korku gibi bir rahatsızlık hissiyken [99], agresyon başkalarına fiziksel ya da psikolojik olarak zarar verme davranışdır. Amilinin anksiyolitik etkileri bildirilmişse de [21] amilinin antiagresif etkilerini gösteren çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamız amilinin antiagresif etkisini gösteren ilk çalışmadır. Amilinin AP-LPBN aksı üzerinden projekte olduğu CeA, BNST gibi çekirdekler özellikle stres hormonu üretiminde etkili olan çekirdekler olarak da görev yapmaktadır [100,101]. Normal agresyon davranışlarında stres hormonlarının arttığı belirtilmiştir [17]. Bu veriler ve çalışmamızın bulguları amilinin anksiyolitik, antiagresif ve diğer davranışsal etkilerinin AP’deki etkilerinden ve onun limbik alt sisteme yayılan aksonlarından kaynaklandığını düşündürmektedir.

AP’nin korku koşullanması, sosyal geri çekilme, bilişsel fonksiyonlar gibi davranışlarla da ilişkili olabileceğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır [102,103]. AP’de lezyon oluşturulduğunda lityumun antiagresif etkisinin ortadan kalktığı bildirilmiştir [14]. Farklı bir çalışmada ise sıçanlarda AP lezyonunun, bir anksiyete testi olan açık alan testinde daha az kaygı benzeri davranışlar sergilediği bildirilmiştir [104].

Zebra balıklarında yapılan bir çalışma AP aktivasyonu ile agresif davranışlar arasında pozitif korelasyon olduğu gösterilmiştir. [105]. Çalışmamızın bulguları ise AP aktivasyonunun agresif davranışları azaltabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamız ve söz konusu diğer çalışmalar kapsamında AP'nin agresyon mekanizmalarında önemli bir merkez olduğunu düşündürmektedir. AP üzerinden yansıyan nöral yolların CeA'ya da ulaştığı ve CeA aktivasyonunun agresyonu azaltabileceği ileri sürülmüştür [95]. Yakın zamanlı bir çalışmada monosodyum glutamatın antiagresif etkilerinin olduğu ve bu etkide AP ile çok sıkı ilişki gösteren NTS'den CeA'ya uzanan yolağın etkili olabileceği ileri sürülmüştür [106]. Amilin de antiagresif etkilerini AP- LPBN- BNST- CeA yolağı (Şekil 4) üzerinden gösterebilir. Konuya açıklık getirebilecek ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Deney 1, Grup 2'deki deney hayvanlarına amilin uygulaması, serum fizyolojik uygulanan Grup 1 deney hayvanlarına göre VMHvl çekirdeğinde c-Fos immünoreaktivitesinde anlamlı artışa neden olmuştur ($p=.003$). Davranış testleri Grup 2'deki deney hayvanlarında Grup 1'e kıyasla agresyonun azaldığını göstermiştir ($p=.005$). Bu durumda Grup 2'deki deney hayvanlarında c-Fos immünoreaktivitesindeki artış, amilinin AP aksından bağımsız VMHvl'deki direkt etkisi olarak değerlendirilebilir. Grup 4'te VMHvl çekirdeğinde Grup 3'e göre c-Fos immünoreaktivitesinin anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p=.004$). Grup 4'te amilin antagonisti ile amilinin AP-LPBN-BNST yolağı üzerinden etkisi ortadan kaldırıldığı için bu gruptaki immünreaktivite artışının agresyondan kaynaklandığı düşünülmüştür. Bu grubun davranış testlerinde agresyon göstergesi olan atak süresinde anlamlı olmayan artış saptanmıştır ($p=.77$). Diğer agresyon göstergesi ilk saldırı zamanı gecikmesinde ise anlamlı artış saptanmıştır ($p=.041$). Bu çelişkiye rağmen davranış testlerinin tartışıldığı bölümde ifade edilen nedenlerden dolayı Grup 4'teki deney hayvanlarının agresif oldukları düşünülmüştür. Şöyle ki; Deney 1'in davranış testlerinin sonuçlarına dayanarak Grup 3'te amilinin antiagresif etkiler gösterebileceğini düşünebiliriz. Grup 4'te ise VMHvl'de immünreaktivite artışı agresyondan ve amilin direkt etkisinden kaynaklanabilir. Amilinin Grup 3 ve 4'te VMHvl çekirdeğine direkt etkilerinin aynı düzeyde olacağını göz önüne aldığımızda, Grup 4'teki immünreaktivitenin Grup 3'ten anlamlı olarak yüksek olması bu gruptaki deney hayvanlarının agresyonunun yüksek

olduğunu ve immünreaktivite artışının yüksek agresyondan kaynaklandığını düşündürmektedir.

Bilindiği gibi VMH tokluk merkezidir ve aktive olması tokluk duyumuna neden olur. Tokluk merkezinin aktivitesi ise hücrelerin glukoz tüketimiyle yakından ilişkilidir [6]. VMH'nin bir alt bölümü olan VMHvl enerji metabolizmasında rol almasının yanında, yapılan birçok çalışmada agresyonu indükleyen merkez olarak öne çıkmaktadır [37,38,107,108]. Ayrıca VMHvl'de glukozu yanıt veren agresyondan sorumlu hücrelerin bulunduğu belirtilmiştir [2,7,8]. Agresyonun hipoglisemide arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır [9–11]. Bu bilgiler kapsamında amilinin glukoz homeostatisindeki rolü ile VMH'yi aktive ederek tokluk duyumuna neden olabileceğini ve yine VMHvl'nin aktivasyonu durumunda agresyonun tetiklendiği bilgisine dayanarak amilinin agresyon merkezi olan VMHvl'yi inhibe ederek agresyonu azaltabileceğini düşünebiliriz. Ancak amilin sadece VMHvl'yi inhibe ederek agresyonda azaltıcı etki oluştursaydı Grup 3 ve Grup 4 arasında anlamlı farkın olmaması beklenirdi. Zira Grup 3'te de Grup 4'te de amilinin direkt etkileri mevcuttur. Grup 4'te Grup 3'e göre daha yüksek immünreaktivitenin saptanması, amilinin antiagresif etkilerinin VMHvl'yi inhibe edici etkisinden değil AP yolağı üzerinden gerçekleşebileceğini düşündürmektedir.

Agresyonun kan şekeri değişiminden etkilendiği bilinmektedir. Hipoglisemide agresyonun arttığını belirten çalışmalar [9–11] günlük hayatta sıklıkla dile getirdiğimiz açlığın getirdiği sinirlilik durumunu destekler niteliktedir. Diyabet hastalarının tedavilerinde doz hataları sebebiyle sık görülen hipoglisemi atakları ve genel olarak kan glukoz seviyelerindeki dalgalanmalar hastalarda ruhsal değişimlere sebep olmaktadır [31]. Bu nedenlerle amilin VMH üzerinden doyguluk hissine neden olurken aynı zamanda antiagresif etkilerini de VMH üzerinden gerçekleştirebileceği hipotezi geliştirilmiştir. Ancak bulgularımız amilinin antiagresif etkilerinin VMHvl'den bağımsız AP yolağı üzerinden gerçekleştiğini desteklemektedir.

Deney 1'de Grup 2'deki deney hayvanlarına amilin uygulaması serum fizyolojik uygulanan Grup 1 deney hayvanlarına göre MeA çekirdeğinde c-Fos immünoreaktivitesinde anlamlı azalmaya neden olmuştur ($p=.043$). Bu bulgu amilinin antiagresif etkileriyle MeA çekirdeğinin aktivasyonunu azalttığını ve antiagresif

etkilerinde MeA çekirdeğinin önemli rol oynayabileceğini düşündürmüştür. Amilinin santral sinir sistemindeki genel etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada amilin uygulamasının MeA'da immünreaktivite artışı göstermediği belirlenmiştir [97]. Yakın zamanda yapılan bir diğer çalışmada da MeA'nın posterodorsal kısmında (MeApd) amilin reseptörü içeren bir grup nöronun olduğu gösterilmiştir [109]. Çalışmamızda Deney 1, Grup 2'de amilin uygulaması ÇSD'nin önemli agresyon merkezlerinden biri olan MeA'da immünreaktiviteyi azaltması ve bu grupta agresif davranışların anlamlı azalma göstermesi amilinin antiagresif etkilerini teyit etmektedir. Deney 2, Grup 4'te MeA çekirdeğinde Grup 3'e göre c-Fos immünreaktivitesinin anlamlı olarak yüksek olduğu belirlenmiştir ($p < .001$). Grup 4'te amilin antagonisti ile amilinin AP-LPBN-BNST-CeA yolağı üzerinden etkileri ortadan kaldırıldığında Grup 4'teki immünoreaktivite artışı amilinin antiagresif etkilerini AP yolağı üzerinden gerçekleştirdiğini düşündürmektedir. Amilinin Deney 1, Grup 2'de Grup 1'e göre MeA çekirdeğinin aktivasyonunda anlamlı azalma oluşturmaması MeA'yı innerve eden inhibitör yolların olabileceğini ve bu inhibitör yolların agresyon mekanizmasında rol alabileceğini düşündürmektedir. Nitekim yapılan literatür incelemesinde doyumluk ve agresyon ilişkisinin araştırıldığı bir çalışmada VMH'deki Arkuat Nükleus'ta bulunan Agouti ilişkili peptid (AgRp) nöronlarının MeA'ya inhibitör sinyaller gönderdiği böylece MeA aktivasyonunu azaltarak agresyonda azalmaya neden olduğu; MeA'nın inhibe olmadığı durumlarda ise MeA'dan BNST'ye gelen sinyallerin BNST aktivasyonuna neden olarak agresyonu arttırdığı ileri sürülmüştür [110]. Amilinin doyumluk mekanizmalarındaki rolünün araştırıldığı bir çalışmada ise VMH'deki AgRP nöronlarının amilinle aktive olduğu gösterilmiştir [111]. Bu bilgiler kapsamında amilinin Deney 1, Grup 2'de MeA'da c-Fos immünreaktivitesini ve agresif davranışları azaltıcı etkisi AgRp nöronlarından MeA'ya yansıyan inhibitör yollara bağlı olabilir. Yukarıda belirtildiği gibi BNST aktivasyonunun MeA aktivasyonuna bağlı olabileceği düşünüldüğünde Grup 2'de MeA'ya paralel olarak BNST immünreaktivitesinde de azalma olması beklenirdi. Ancak böyle bir bulgunun saptanmaması BNST'deki immünreaktivite artışının amilinin AP aracılığıyla ve/veya direkt BNST'yi aktive edici etkisinden kaynaklandığını düşündürmektedir. Daha önce de ifade edildiği gibi çekirdek aktivasyonlarındaki artış çekirdeklerdeki immünreaktivitede artışını göstermektedir. Ayrıca Deney 2, Grup 4'te amilinin AP

yolağındaki etkisi ortadan kaldırıldığı için MeA çekirdeğinde anlamlı immünreaktivite artışının BNST çekirdeğine de yansıdığı görülmektedir. Bu bulgu MeA aktivasyonunun BNST'ye yansımından ve/ veya AP blokajından kaynaklanabileceğini düşündürmüŖse de mevcut bulgularımız BNST'nin MeA aktivasyonu ile ilişkisini doğrudan ortaya koyamamaktadır. Hipotalamusun MeA'yı etkilediğini gösteren çalışmaların yanısıra yakın zamanda yapılan bir çalışmada MeA'nın VMHvl'yi uyarak agresyon oluşturduğu gösterilmiştir [112]. Bulgularımız bu bilgi doğrultusunda değerlendirildiğinde MeA aktivasyonunun VMHvl aktivasyonuna neden olabileceğini kesin olarak söyleyememekteyiz.

Diğer taraftan MeA'daki immünreaktivite azalması, amilinin AP-LPBN-CeA yolağı üzerinden intraamigdalar yollar aracılığıyla ve/ veya extraamigdalar yollar aracılığıyla ile MeA' da oluşturduğu inhibitör etkilere bağılı olabilir. Konuya açıklık getirebilecek ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇ

Yerleşik İşgalci Testi'ne maruz bırakılan sıçanlara amilin uygulaması BNST ve VMHvl çekirdeklerinde c-Fos immünreaktivitesinde anlamlı artışlara neden olurken MeA çekirdeğinde c-Fos immünreaktivitesini anlamlı olarak azalttığı saptanmıştır. Davranış testi bulgularımız amilinin deney hayvanlarında agresyonu azalttığını göstermiştir. Amilinin BNST ve VMHvl çekirdeklerinde c-Fos immünreaktivitesinde anlamlı artış göstermesi amilinin BNST ve VMHvl çekirdeklerini etkilemesi ile ilişkili bulunurken, amilinin MeA'da c-Fos immünreaktivitesinde anlamlı azalma göstermesi amilinin antiagresif etkilerinden kaynaklandığını ve MeA'yı innerve eden inhibör yolların olabileceğini düşündürmüştür.

Yerleşik İşgalci Testi'ne maruz bırakılan ve intraperitoneal amilin uygulanan sıçanlara AP'ye takılan kanül aracılığıyla amilin antagonisti (AC187) verilmesi BNST, VMHvl ve MeA çekirdeklerinde anlamlı immünreaktivite artışına neden olmuştur. Amilin antagonisti ile amilinin AP-LPBN-BNST-CeA yolağı ile oluşan etkisi ortadan kaldırıldığı için bu gruptaki immünoreaktivite artışları sıçanların daha agresif olmalarından kaynaklanabileceği düşünülmüştür. Bulgularımız amilinin agresyonu azaltabileceğini ve antiagresif mekanizmalardaki etkisinin AP üzerinden gerçekleşebileceğine işaret etmektedir. Amilinin agresyon mekanizmalarına ve agresyon tedavisine etkisini araştıran daha ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

1. Cornaggia CM, Beghi M, Pavone F, Barale F. Aggression in psychiatry wards: a systematic review. *Psychiatry research*. 2011;189(1):10–20.
2. Lischinsky JE, Lin D. Neural mechanisms of aggression across species. *Nature Neuroscience*, 2020.
3. Vestlund J, Winsa-Jörnulf J, Hovey D, Lundström S, Lichtenstein P, Anckarsäter H, Studer E, Suchankova P, Westberg L, Jerlhag E. Ghrelin and aggressive behaviours—Evidence from preclinical and human genetic studies. *Psychoneuroendocrinology*. 2019;104:80–8.
4. Fuente-Martín E, García-Cáceres C, Argente-Arizona P, Díaz F, Granado M, Freire-Regatillo A, Castro-González D, Ceballos ML, Frago LM, Dickson SL, Argente J, Chowen JA. Ghrelin Regulates Glucose and Glutamate Transporters in Hypothalamic Astrocytes. *Scientific Reports*. 2016;6.
5. Chen X, Ge YL, Jiang ZY, Liu CQ, Depoortere I, Peeters TL. Effects of ghrelin on hypothalamic glucose responding neurons in rats. *Brain Research*. 2005;1055(1–2):131–6.
6. Hirschberg PR, Sarkar P, Teegala SB, Routh VH. Ventromedial hypothalamus glucose-inhibited neurones: A role in glucose and energy homeostasis? *Journal of neuroendocrinology*. 2020;32(1):e12773.
7. Ogunnowo-Bada EO, Heeley N, Brochard L, Evans ML. Brain glucose sensing, glucokinase and neural control of metabolism and islet function. *Diabetes, Obesity and Metabolism*, 2014.
8. He Y, Xu P, Wang C, Xia Y, Yu M, Yang Y, Yu K, Cai X, Qu N, Saito K, Wang J, Hyseni I, Robertson M, Piyarathna B, Gao M, Khan SA, Liu F, Chen R, Coarfa C, Zhao Z, Tong Q, Sun Z, Xu Y. Estrogen receptor- α expressing neurons in the ventrolateral VMH regulate glucose balance. *Nature Communications*. 2020;11(1).
9. Benton D. *Hypoglycemia and Aggression a Review*. *Int. Journal of Neurosci*. 1988.
10. Bushman BJ, DeWall CN, Pond RS, Hanus MD. Low glucose relates to greater aggression in married couples. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2014;111(17):6254–7.
11. DeWall CN, Deckman T, Gailliot MT, Bushman BJ. Sweetened Blood Cools Hot Tempers: Physiological Self-Control and Aggression. *Aggressive behavior*. 2011;37(1):73.
12. Le Foll C, Lutz TA. Systemic and central amylin, amylin receptor signaling, and their physiological and pathophysiological roles in metabolism. *Comprehensive Physiology*. 2020;10(3):811–37.
13. Lane SD, Kjome KL, Moeller FG. Neuropsychiatry of Aggression. *Neurologic Clinics*, 2011.

14. McGLONE JJ, Ritter S, Kelley KW, Ritter S, Kelley KW. *The Antiaggressive Effect of Lithium Is Abolished by Area Postrema Lesion I*. Pergamon Press and Brain Research Publ, 1980.
15. Boccia L, Gamakharia S, Coester B, Whiting L, Lutz TA, Le Foll C. Amylin brain circuitry. *Peptides*, 2020.
16. Myers B, Scheimann JR, Franco-Villanueva A, Herman JP. Ascending mechanisms of stress integration: Implications for brainstem regulation of neuroendocrine and behavioral stress responses. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2017;74:366–75.
17. Haller J, Kruk MR. Stress hormones and aggression. *Prevention and Control of Aggression and the Impact on its Victims*. 2001:51–60.
18. Potes CS, Lutz TA. Brainstem mechanisms of amylin-induced anorexia. *Physiology & behavior*. 2010;100(5):511–8.
19. Riediger T, Zuend D, Becskei C, Lutz TA. The anorectic hormone amylin contributes to feeding-related changes of neuronal activity in key structures of the gut-brain axis. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2004;286(1).
20. Becskei C, Grabler V, Edwards GL, Riediger T, Lutz TA. Lesion of the lateral parabrachial nucleus attenuates the anorectic effect of peripheral amylin and CCK. *Brain research*. 2007;1162(1):76–84.
21. Laugero KD, Tryon M, Mack C, Caldarone BJ, Hanania T, McGonigle P, Roland BL, Parkes DG. Peripherally administered amylin inhibits stress-like behaviors and enhances cognitive performance. *Physiology and Behavior*. 2022;244.
22. ÖZERK H. İnsanın Saldırgan ve Şiddet İçeren Davranışlarını Psikoterapi Kuramlarının Ele Alış Biçimlerinin Değerlendirilmesi. *OPUS Uluslararası Toplum Araştırmaları Dergisi*. 2021 Oct 13; doi 10.26466/opus.942149.
23. ncbi.nlm.nih.gov [Internet]. Violence and Aggression: Short-Term Management in Mental Health, Health and Community Settings: Updated edition [cited 2024 July 18] Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK356335/>
24. cdn.who.int [Internet]. Why Focus on Violence? [cited 2024 July 18] Available from: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/documents/social-determinants-of-health/who_2022_plv_strategy_2022-2026_finalfile.pdf?sfvrsn=c819ff54_3
25. Cuhadaroglu F, Öncü B. *Psychosocial Intervention after Disaster View Project An Implication of Wage Work for the Empowerment of Rural Women in Black Sea Region, Turkey View Project.*, 2004.
26. Measurement and monitoring of health care worker aggression exposure - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23452199/> (accessed October 19, 2022).
27. University Hospitals O. *Title 2014 National NHS Staff Survey.*, 2015.
28. Monahan J, Steadman HJ. Violence and mental disorder : developments in risk assessment. 1994:324.

29. Elbogen EB, Johnson SC. The Intricate Link Between Violence and Mental Disorder: Results From the National Epidemiologic Survey on Alcohol and Related Conditions. *Archives of General Psychiatry*. 2009;66(2):152–61.
30. Tilov B, Semerdzhieva M, Bakova D, Torniyova B, Stoyanov D. Study of the relationship between aggression and chronic diseases (diabetes and hypertension). *Journal of Evaluation in Clinical Practice*. 2016;22(3):421–4.
31. Strachan MWJ, Deary IJ, Ewing FME, Frier BM. Recovery of cognitive function and mood after severe hypoglycemia in adults with insulin-treated diabetes. *Diabetes care*. 2000;23(3):305–12.
32. Saylor KE, Amann BH. Impulsive Aggression as a Comorbidity of Attention-Deficit/Hyperactivity Disorder in Children and Adolescents. *Journal of Child and Adolescent Psychopharmacology*. 2016;26(1):19.
33. Volavka J. Comorbid personality disorders and violent behavior in psychotic patients. *The Psychiatric quarterly*. 2014;85(1):65–78.
34. Veenema AH, Neumann ID. Neurobiological mechanisms of aggression and stress coping: A comparative study in mouse and rat selection lines. *Brain, Behavior and Evolution*. 2007;70(4):274–85.
35. de Boer SF. Animal models of excessive aggression: implications for human aggression and violence. *Current Opinion in Psychology*, 2018.
36. Romero-Martínez Á, Sarrate-Costa C, Moya-Albiol L. Reactive vs proactive aggression: A differential psychobiological profile? Conclusions derived from a systematic review. *Neuroscience and biobehavioral reviews*. 2022;136.
37. Lin D, Boyle MP, Dollar P, Lee H, Lein ES, Perona P, Anderson DJ. Functional identification of an aggression locus in the mouse hypothalamus. *Nature*. 2011;470(7333):221.
38. Hashikawa Y, Hashikawa K, Falkner AL, Lin D. Ventromedial Hypothalamus and the Generation of Aggression. *Frontiers in Systems Neuroscience*. 2017;11:94.
39. Boyle CN, Rossier MM, Lutz TA. Influence of high-fat feeding, diet-induced obesity, and hyperamylinemia on the sensitivity to acute amylin. *Physiology and Behavior*. 2011;104(1):20–8.
40. Lutz TA, Coester B, Whiting L, Dunn-Meynell AA, Boyle CN, Bouret SG, Levin BE, Le Foll C. Amylin selectively signals onto POMC neurons in the arcuate nucleus of the hypothalamus. *Diabetes*. 2018;67(5):805–17.
41. Maniscalco JW, Rinaman L. Systemic leptin dose-dependently increases STAT3 phosphorylation within hypothalamic and hindbrain nuclei. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*. 2014;306(8):R576.
42. Hay DL. Amylin. *Headache*. 2017;57:89–96.
43. Bhimani R V., Rzepecki L, Park J, Miettlicki-Baase EG. Ventral Tegmental Area Amylin Receptor Activation Differentially Modulates Mesolimbic Dopamine Signaling in Response to Fat versus Sugar. *eNeuro*. 2024;11(6).

44. Dunn-Meynell AA, Foll C Le, Johnson MD, Lutz TA, Hayes MR, Levin BE. Endogenous VMH amylin signaling is required for full leptin signaling and protection from diet-induced obesity. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2016;310(4):R355–65.
45. Liberini CG, Boyle CN, Cifani C, Venniro M, Hope BT, Lutz TA. Amylin receptor components and the leptin receptor are co-expressed in single rat area postrema neurons. *The European journal of neuroscience*. 2016;43(5):653–61.
46. Susa AC, Wu C, Bernstein SL, Dupuis NF, Wang H, Raleigh DP, Shea JE, Bowers MT. Defining the molecular basis of amyloid inhibitors: Human islet amyloid polypeptide-insulin interactions. *Journal of the American Chemical Society*. 2014;136(37):12912–9.
47. Hay DL, Chen S, Lutz TA, Parkes DG, Roth JD. Amylin: Pharmacology, physiology, and clinical potential. *Pharmacological Reviews*, 2015.
48. Ciaraldi TP, Goldberg M, Odom R, Stolpe M. In vitro effects of amylin on carbohydrate metabolism in liver cells. *Diabetes*. 1992;41(8):975–81.
49. Hayes MR, Mietlicki-Baase EG, Kanoski SE, De Jonghe BC. Incretins and amylin: Neuroendocrine communication between the gut, pancreas, and brain in control of food intake and blood glucose. *Annual Review of Nutrition*, 2014.
50. Su Z, Alhadeff AL, Betley JN. Nutritive, Post-ingestive Signals Are the Primary Regulators of AgRP Neuron Activity. *Cell Reports*. 2017;21(10):2724–36.
51. Otto-Buczkowska E. *Role of Amylin in Glucose Homeostasis.*, 2019.
52. Press M, Jung T, König J, Grune T, Höhn A. Protein aggregates and proteostasis in aging: Amylin and β -cell function. *Mechanisms of Ageing and Development*. 2019;177:46–54.
53. Sexton PM, Paxinos G, Kenney MA, Wookey PJ, Beaumont K. In vitro autoradiographic localization of amylin binding sites in rat brain. *Neuroscience*. 1994;62(2):553–67.
54. Michel S, Becskei C, Erguven E, Lutz TA, Riediger T. Diet-derived nutrients modulate the effects of amylin on c-Fos expression in the area postrema and on food intake. *Neuroendocrinology*. 2007;86(2):124–35.
55. Potes CS, Turek VF, Cole RL, Vu C, Roland BL, Roth JD, Riediger T, Lutz TA. Noradrenergic neurons of the area postrema mediate amylin's hypophagic action. *American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology*. 2010;299(2).
56. Lutz TA, Senn M, Althaus J, Prete E Del, Ehrensperger F, Scharrer E, Lutz TA, Senn M, Althaus J, Prete E Del, Ehrensperger F, Lesion ES. *Lesion of the Area Postrema/Nucleus of the Solitary Tract (AP/NTS) Attenuates the Anorectic Effects of Amylin and Calcitonin Gene-Related Peptide (CGRP) in Rats.*, 1998.
57. Braegger FE, Asarian L, Dahl K, Lutz TA, Boyle CN. The role of the area postrema in the anorectic effects of amylin and salmon calcitonin: behavioral and neuronal phenotyping. *The European journal of neuroscience*. 2014;40(7):3055–66.
58. Carter ME, Han S, Palmiter RD. Parabrachial calcitonin gene-related peptide neurons mediate conditioned taste aversion. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2015;35(11):4582–6.

59. Campos CA, Bowen AJ, Han S, Wisse BE, Palmiter RD, Schwartz MW. Cancer-induced anorexia and malaise are mediated by CGRP neurons in the parabrachial nucleus. *Nature Neuroscience* 2017 20:7. 2017;20(7):934–42.
60. Davern PJ. A role for the lateral parabrachial nucleus in cardiovascular function and fluid homeostasis. *Frontiers in Physiology*. 2014;5(Nov).
61. Ricardo JA, Tongju Koh E. Anatomical evidence of direct projections from the nucleus of the solitary tract to the hypothalamus, amygdala, and other forebrain structures in the rat. *Brain research*. 1978;153(1):1–26.
62. Nassar SZ, Badae NM, Issa YA. Effect of amylin on memory and central insulin resistance in a rat model of Alzheimer's disease. *Archives of Physiology and Biochemistry*. 2020;126(4):326–34.
63. Mack CM, Diego S. S371. *Amylin antagonist foretreating Depression, Anxiety Disorder and Schizophrenia. United States patent US 7,671,023 B2. 2010 Mar. 2.*
64. Fathallah-Shaykh HM, Roth JD, Maier H, Chen ; Steve, Roland BL. *CLINICAL IMPLICATIONS OF BASIC NEUROSCIENCE RESEARCH Implications of Amylin Receptor Agonism Integrated Neurohormonal Mechanisms and Therapeutic Applications.*
65. Huang X, Yang J, Chang JK, Dun NJ. Amylin suppresses acetic acid-induced visceral pain and spinal c-fos expression in the mouse. *Neuroscience*. 2010;165(4):1429–38.
66. Adler BL, Yarchoan M, Hwang HM, Louneva N, Blair JA, Palm R, Smith MA, Lee H gon, Arnold SE, Casadesus G. Neuroprotective effects of the amylin analogue pramlintide on Alzheimer's disease pathogenesis and cognition. *Neurobiology of Aging*. 2014;35(4):793–801.
67. Scott TR, Small DM. The role of the parabrachial nucleus in taste processing and feeding. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2009;1170:372–7.
68. Berthoud HR. Homeostatic and Non-homeostatic Pathways Involved in the Control of Food Intake and Energy Balance. *Obesity*. 2006;14(S8):197S-200S.
69. Boyle CN, Zheng Y, Lutz TA. Mediators of Amylin Action in Metabolic Control. *Journal of Clinical Medicine*. 2022;11(8):2207.
70. Woods SC. Gastrointestinal Satiety Signals. I. An overview of gastrointestinal signals that influence food intake. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2004;286(1 49-1).
71. Moon HS, Chamberland JP, Diakopoulos KN, Fiorenza CG, Ziemke F, Schneider B, Mantzoros CS. Leptin and amylin act in an additive manner to activate overlapping signaling pathways in peripheral tissues: in vitro and ex vivo studies in humans. *Diabetes care*. 2011;34(1):132–8.
72. Tomé D, Schwarz J, Darcel N, Fromentin G. Protein, amino acids, vagus nerve signaling, and the brain. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2009;90(3).
73. Levin BE, Lutz TA. Amylin and Leptin: Co-Regulators of Energy Homeostasis and Neuronal Development. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 2017;28(2):153–64.

74. Veening JG, Coolen LM, de Jong TR, Joosten HW, de Boer SF, Koolhaas JM, Olivier B. Do similar neural systems subserve aggressive and sexual behaviour in male rats? Insights from c-Fos and pharmacological studies. *European Journal of Pharmacology*. Vol526. 2005: 226–39.
75. Koolhaas JM, Coppens CM, de Boer SF, Buwalda B, Meerlo P, Timmermans PJA. The resident-intruder paradigm: a standardized test for aggression, violence and social stress. *Journal of visualized experiments : JoVE*.2013; doi 10.3791/4367.
76. Mollet A, Gilg S, Riediger T, Lutz TA. Infusion of the amylin antagonist AC 187 into the area postrema increases food intake in rats. *Physiology and Behavior*. 2004;81(1):149–55.
77. Paxinos Neuroscience G. *In Vitro Autoradiographic Localization of Amylin Binding Sites in Rat Brain.*, 1994.
78. World Precision Instruments | Neuroscience Cannulas.<https://www.wpi-europe.com/products/animal-physiology/neuroscience-cannulas.aspx> (accessed June 23, 2024).
79. Young A (Andrew A). Amylin : Physiology and Pharmacology. :341.
80. Lutz TA, Mollet A, Rushing PA, Riediger T, Scharrer E. The anorectic effect of a chronic peripheral infusion of amylin is abolished in area postrema/nucleus of the solitary tract (AP/NTS) lesioned rats. *International journal of obesity and related metabolic disorders : journal of the International Association for the Study of Obesity*. 2001;25(7):1005–11.
81. De Boer SF, Koolhaas JM. 5-HT1A and 5-HT1B receptor agonists and aggression: A pharmacological challenge of the serotonin deficiency hypothesis. *European Journal of Pharmacology*. Vol526. 2005: 125–39.
82. Miner MWG, Liljenbäck H, Virta J, Kärnä S, Viitanen R, Elo P, Gardberg M, Teuho J, Saipa P, Rajander J, Mansour HMA, Cleveland NA, Low PS, Li XG, Roivainen A. High folate receptor expression in gliomas can be detected in vivo using folate-based positron emission tomography with high tumor-to-brain uptake ratio divulging potential future targeting possibilities. *Frontiers in immunology*. 2023;14.
83. George Paxinos, Charles Watson - *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, Sixth Edition-Academic Press (2007).
84. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD, McQuaid S, Gray RT, Murray LJ, Coleman HG, James JA, Salto-Tellez M, Hamilton PW. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Scientific Reports*. 2017;7(1).
85. Whiting L, McCutcheon JE, Boyle CN, Roitman MF, Lutz TA. The area postrema (AP) and the parabrachial nucleus (PBN) are important sites for salmon calcitonin (sCT) to decrease evoked phasic dopamine release in the nucleus accumbens (NAc). *Physiology and Behavior*. 2017;176:9–16.
86. Takahashi A, Quadros IM, De Almeida RMM, Miczek KA. Brain serotonin receptors and transporters: Initiation vs. termination of escalated aggression. *Psychopharmacology*. 2011;213(2–3):183–212.

87. Wei S, Ji XW, Wu CL, Li ZF, Sun P, Wang JQ, Zhao QT, Gao J, Guo YH, Sun SG, Qiao MQ. Resident intruder paradigm-induced aggression relieves depressive-like behaviors in male rats subjected to chronic mild stress. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2014;20:945.
88. Melchior LK, Ho HP, Olsson M, Annerbrink K, Hedner J, Eriksson E. Association between estrus cycle-related aggression and tidal volume variability in female Wistar rats. *Psychoneuroendocrinology*. 2004;29(8):1097–100.
89. Ho HP, Olsson M, Westberg L, Melke J, Eriksson E. The serotonin reuptake inhibitor fluoxetine reduces sex steroid-related aggression in female rats: an animal model of premenstrual irritability? *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2001;24(5):502–10.
90. Aggression and Violence | Noba.<https://nobaproject.com/modules/aggression-and-violence> (accessed July 18, 2024).
91. Fite PJ, Rathert JL, Stoppelbein L, Greening L. Social Problems as a Mediator of the Link Between Reactive Aggression and Withdrawn/Depressed Symptoms. *Journal of Child and Family Studies*. 2012;21(2):184–9.
92. Hoffer T, Hargreaves-Cormany H, Muirhead Y, Meloy JR. Meloy's Bimodal Theory of Affective (Reactive) and Predatory (Instrumental) Violence. 2018:21–3.
93. Pepler DJ (Debra J), Rubin KH, Earls court Child and Family Centre., Earls court Symposium on Childhood Aggression (1988 : Toronto Ont). The Structure and Function of Reactive and Proactive Aggression. 2013:201–18.
94. Ramírez JM. The usefulness of distinguishing types of aggression by function*. *International Social Science Journal*. 2010;61(200–201):263–72.
95. Haller J. The role of central and medial amygdala in normal and abnormal aggression: A review of classical approaches. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2018;85:34–43.
96. c-FOS: Molecular biology & detection for analysis of neuronal activity.<https://lifecanvastech.com/c-fos-molecular-biology-and-detection-for-analysis-of-neuronal-activity-throughout-the-brain/> (accessed July 13, 2024).
97. Skovbjerg G, Roostalu U, Hansen HH, Lutz TA, Le Foll C, Salinas CG, Skytte JL, Jelsing J, Vrang N, Hecksher-Sørensen J. Whole-brain mapping of amylin-induced neuronal activity in receptor activity-modifying protein 1/3 knockout mice. *European Journal of Neuroscience*. 2021;54(1):4154–66.
98. Becskei C, Riediger T, Zünd D, Wookey P, Lutz TA. Immunohistochemical mapping of calcitonin receptors in the adult rat brain. *Brain Research*. 2004;1030(2):221–33.
99. Overview - Generalised anxiety disorder in adults - NHS.<https://www.nhs.uk/mental-health/conditions/generalised-anxiety-disorder/overview/> (accessed July 18, 2024).
100. Partridge JG, Forcelli PA, Luo R, Cashdan JM, Schulkin J, Valentino RJ, Vicini S. Stress increases GABAergic neurotransmission in CRF neurons of the central amygdala and bed nucleus stria terminalis. *Neuropharmacology*. 2016;107:239.

101. Lebow MA, Chen A. Overshadowed by the amygdala: the bed nucleus of the stria terminalis emerges as key to psychiatric disorders. *Molecular Psychiatry* 2016 21:4. 2016;21(4):450–63.
102. Price CJ, Hoyda TD, Ferguson A V. The Area Postrema: A Brain Monitor and Integrator of Systemic Autonomic State. <http://dx.doi.org/10.1177/1073858407311100>. 2007;14(2):182–94.
103. Goehler LE, Erisir A, Gaykema RPA. Neural-immune interface in the rat area postrema. *Neuroscience*. 2006;140(4):1415–34.
104. Miller CC, Holmes P V, Edwards GL. *Area Postrema Lesions Elevate NPY Levels and Decrease Anxiety-Related Behavior in Rats*.
105. Reichmann F, Rimmer N, Tilley CA, Dalla Vecchia E, Pinion J, Al Oustah A, Carreño Gutiérrez H, Young AMJ, McDearmid JR, Winter MJ, Norton WHJ. The zebrafish histamine H3 receptor modulates aggression, neural activity and forebrain functional connectivity. *Acta Physiologica*. 2020;230(4):e13543.
106. Mustika D, Nishimura Y, Ueno S, Tominaga S, Shimizu T, Tajiri N, Jung CG, Hida H. Central amygdala is related to the reduction of aggressive behavior by monosodium glutamate ingestion during the period of development in an ADHD model rat. *Frontiers in Nutrition*. 2024;11.
107. Yates D. Attack organization. *Nature Reviews Neuroscience* 2020 21:5. 2020;21(5):243–243.
108. Yang T, Bayless DW, Wei Y, Luo L, Druckmann S, Shah NM. Hypothalamic neurons that mirror aggression VMHvl PR neurons in the hypothalamus mirror territorial aggression. *Cell*. 2023;186:1195-1211.e19.
109. Fukumitsu K, Huang AJ, McHugh TJ, Kuroda KO. Role of Calcr expressing neurons in the medial amygdala in social contact among females. *Molecular Brain*. 2023;16(1):1–8.
110. Padilla SL, Qiu J, Soden ME, Sanz E, Nestor CC, Barker FD, Quintana A, Zweifel LS, Rønnekleiv OK, Kelly MJ, Palmiter RD. Agouti-related peptide neural circuits mediate adaptive behaviors in the starved state. *Nature Neuroscience*. 2016;19(5):734–41.
111. Foll C Le, Johnson MD, Dunn-Meynell AA, Boyle CN, Lutz TA, Levin BE. Amylin-induced central IL-6 production enhances ventromedial hypothalamic leptin signaling. *Diabetes*. 2015;64(5):1621–31.
112. He ZX, Yue MH, Liu KJ, Wang Y, Qiao JY, Lv XY, Xi K, Zhang YX, Fan JN, Yu HL, He XX, Zhu XJ. Substance P in the medial amygdala regulates aggressive behaviors in male mice. *Neuropsychopharmacology* 2024. 2024:1–11.