**T.C.**
**FIRAT ÜNİVERSİTESİ**
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**
**FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI**

# İRİSİN HORMONUNUN PUBERTEYE GEÇİŞ VE ÜREME SİSTEMİ ÜZERİNDEKİ NÖROENDOKRİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

**DOKTORA TEZİ**

**Nazife ÜLKER**

**2021**

**ONAY SAYFASI**

Prof. Dr. Mesut AKSAKAL

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

_____

Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR

Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sinan CANPOLAT _____

Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR _____

Prof. Dr. Sinan CANPOLAT _____

Prof. Dr. Ahmet AYAR _____

Prof. Dr. Selim KUTLU _____

Doç. Dr. İhsan SERHATLIOĞLU _____

## ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, çalışmaların planlanmasından, bulgularının elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışım olmadığını, bu tezdeki tüm bilgileri ve verileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışması içinde yer alan ancak bu tez çalışmasının bulguları arasında yer almayan verilere, bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi beyan ederim.

Nazife ÜLKER

27/04/2021

Danışman

Prof. Dr. Sinan CANPOLAT

Fizyoloji Anabilim Dalı

ELAZIĞ

# TEŞEKKÜR

Çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, öğrencisi olmaktan ve kendisi ile çalışmaktan onur duyduğum danışmanım Sayın Prof. Dr. Sinan CANPOLAT'a minnet ve şükranlarımı sunarım.

Lisansüstü eğitimim boyunca, bilgi ve engin tecrübeleriyle bilimsel bakış açımın gelişmesinde önemli rol oynayan değerleri hocalarım Sayın Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR ve Sayın Prof. Dr. Mete ÖZCAN'a saygı ve teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarıma değerli katkılarından dolayı Sayın Prof. Dr. Gaffari TÜRK, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Özgür BULMUŞ ve Arş. Gör. Dr. Nalan KAYA TEKTEMUR'a teşekkür ederim.

Başta çok değerli arkadaşım Arş. Gör. Ahmet YARDIMCI olmak üzere, Fizyoloji ve Biyofizik Anabilim Dalı'nda bulunan tüm hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca her zaman yanımda olan aileme sonsuz sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

1001-Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Projelerini Destekleme Programı ile 118S519 numaralı "İrisin Hormonunun Puberteye Geçiş ve Üreme Sistemi Üzerindeki Nöroendokrin Etkilerinin *in vivo* ve *in vitro* Yöntemler ile Araştırılması" isimli proje kapsamında destekleyerek doktora tezimin gerçekleşmesini sağlayan TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

# İÇİNDEKİLER

**ONAY SAYFASI** ..... ii

**ETİK BEYAN** ..... iii

**TEŞEKKÜR** ..... iv

**İÇİNDEKİLER** ..... v

**TABLO LİSTESİ** ..... xii

**ŞEKİL LİSTESİ** ..... xiv

**KISALTMALAR LİSTESİ** ..... xvii

**1. ÖZET** ..... 1

**2. ABSTRACT** ..... 4

**3. GİRİŞ** ..... 7

3.1. Üreme Fizyolojisi ..... 7

3.1.1. Puberte Fizyolojisi ..... 7

3.1.1.1. Pubertenin Nöroendokrin Düzenlenmesi ..... 7

3.1.1.2. Pubertenin Metabolik Kontrolü ..... 9

3.1.1.3. Pubertal Gelişimde Rol Oynayan Önemli Nöroendokrin Faktörler ..... 11

3.1.1.3.1. Kisspeptin ..... 11

3.1.1.3.2. RF-amide Related Peptide-3 ..... 13

3.1.1.3.3. Leptin ..... 13

3.1.1.3.4. Nörotransmitterler ..... 14

3.1.1.4. Sıçanlarda Pubertal Gelişim ..... 15
3.1.2. Cinsel Davranış ..... 16
3.1.2.1. Sıçanlarda Cinsel Davranış ..... 18
3.1.2.1.1. Dişi Sıçanlarda Cinsel Davranış ..... 18
3.1.2.1.1.1. Appetitive (Uyarıcı) Davranış ..... 19
3.1.2.1.1.2. Proseptif (Proceptive) Davranışlar ..... 20
3.1.2.1.1.3. Lordozis ..... 20
3.1.2.1.2. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış ..... 22
3.1.2.1.2.1. Çiftleşme Öncesi Faz ..... 22
3.1.2.1.2.2. Çiftleşme Fazı ..... 23
3.1.2.1.2.3. Ejakülatör Faz ..... 24
3.1.2.2. Cinsel Davranışı Düzenleyen Beyin Bölgeleri ..... 26
3.1.2.3. Cinsel Fonksiyon Bozukluğu (Seksüel Disfonksiyon) ..... 27
3.1.2.3.1. Cinsel Fonksiyon Bozukluğunun Patofizyolojisi ..... 28
3.1.2.3.2. Antidepresan-etkili Cinsel Fonksiyon Bozukluğu ..... 30
3.1.2.3.2.1. Paroksetin ..... 31
3.1.2.3.3. SSRI-etkili Cinsel Fonksiyon Bozukluğu Tedavisi ..... 33
3.1.2.4. Egzersiz ve Cinsel Fonksiyon ..... 35
3.2. İrisin Hormonu ..... 38
3.2.1. İrisin Hormonunun Moleküler Yapısı, Sentezi ve Etkileri ..... 38
3.2.2. İrisin Hormonunun Kandaki Seviyesi ..... 40

3.2.3. İrisinin Dağılımı ..... 41

3.2.4. İrisin ile Üreme Sistemi İlişkisi ..... 41

3.3. Tez Çalışmasının Amacı ..... 43

**4. GEREÇ VE YÖNTEM** ..... 45

4.1. İrisinin Puberteye Geçiş ve Üreme Sistemi Üzerindeki Etkinliğinin Sorgulanması (**1. Deneysel Aşama**) ..... 47

4.1.1. Deney Hayvanları ..... 47

4.1.2. Deney Grupları ve İrisin Uygulaması ..... 47

4.1.3. Puberteye Geçiş Takibi ..... 48

4.1.4. Östrus Siklusunun Takibi ..... 49

4.1.5. Cinsel Fonksiyonun Değerlendirilmesi ..... 50

4.1.5.1. Dişi Sıçanlarda Seksüel İnsentif Motivasyon Testi ..... 52

4.1.5.2. Dişi Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi ..... 55

4.1.5.3. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi ..... 55

4.1.6. Deneyin Sonlandırılması ..... 57

4.1.7. Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi ..... 58

4.1.8. Hormon Analizleri ..... 59

4.1.9. Beyin Dokusunda Monoaminlerin Analizi ..... 61

4.1.9.1. Mikrodiseksiyon ve Mikropanç İşlemleri ..... 61

4.1.9.2. Beyin Ekstraktlarının Hazırlanması ..... 62

4.1.9.3. Total Protein Tayini ..... 63

4.1.9.4. HPLC-ECD Sistemi ve Kromatografik Koşullar ..... 64

4.1.9.4.1. İnternal ve Eksternal Standartlar ..... 64

4.1.9.4.2. Mobil Faz ..... 65

4.1.9.4.3. Numunelerin HPLC-ECD Sistemine Enjeksiyonu ..... 66

4.1.9.4.4. Monoamin ve Metabolitlerinin Analizi ..... 67

4.1.10. Histolojik Değerlendirmeler ..... 68

4.1.11. İstatistiksel Analizler ..... 70

4.2. İrisinin Cinsel Fonksiyon Bozukluğu Üzerindeki Etkinliğinin Sorgulanması (**2. Deneysel Aşama**) ..... 71

4.2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları ..... 71

4.2.2. Paroksetin-etkili Cinsel Fonksiyon Bozukluğu Modeli Oluşturma ..... 73

4.2.3. Subkutanöz İrisin Perfüzyonu ..... 74

4.2.4. Cinsel Fonksiyonun Değerlendirilmesi ..... 76

4.2.4.1. Dişi Sıçanlarda Seksüel İnsentif Motivasyon Testi ..... 76

4.2.4.2. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış Testleri ..... 77

4.2.5. Deneyin Sonlandırılması ..... 77

4.2.6. Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi ..... 78

4.2.7. Hormon Analizleri ..... 78

4.2.8. Histolojik Değerlendirmeler ..... 78

4.2.9. İstatistiksel Analizler ..... 79

**5. BULGULAR** ..... 80

5.1. (1. Deneysel Aşama) ..... 80

5.1.1. Dişi Sıçanlarda Puberteye Geçiş Parametreleri ..... 80
5.1.2. İlk Östrus Yaşı ve Östrus Döngüsü ..... 82
5.1.3. Dişi Sıçanlarda Seksüel İnsentif Motivasyon Testi Bulguları ..... 83
5.1.4. Dişi Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi Bulguları ..... 85
5.1.5. Dişi Sıçanlarda Serum Hormon Seviyeleri ..... 86
5.1.6. Dişi Sıçanların Beyin Dokusunda Monoamin Seviyeleri ..... 89
5.1.7. Ovaryum Histolojisi ..... 93
5.1.8. Erkek Sıçanlarda Puberteye Geçiş Parametreleri ..... 96
5.1.9. Erkek Sıçanlarda Cinsel Olgunlaşma Parametreleri ..... 98
5.1.10. Sperm Parametreleri ..... 99
5.1.11. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi Bulguları ..... 101
5.1.12. Erkek Sıçanlarda Serum Hormon Seviyeleri ..... 102
5.1.13. Erkek Sıçanların Beyin Dokusunda Monoamin Seviyeleri ..... 103
5.1.14. Testis Histolojisi ..... 106
5.2. (2. Deneysel Aşama) ..... 108
5.2.1. Dişi Sıçanlarda Seksüel İnsentif Motivasyon Testi Bulguları ..... 108
5.2.2. Dişi Sıçanlarda Serum Hormon Seviyeleri ..... 110
5.2.3. Ovaryum Histolojisi ..... 112
5.2.4. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi Bulguları ..... 116
5.2.5. Sperm Parametreleri ..... 119
5.2.6. Erkek Sıçanlarda Serum Hormon Seviyeleri ..... 121

5.2.7. Testis Histolojisi ..... 123

**6. TARTIŞMA** ..... 127

6.1. (1. Deneysel Aşama) ..... 127

6.1.1. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanlarda Pubertal Gelişim Üzerine Etkileri ..... 127

6.1.2. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanlarda Üreme Hormonları Üzerine Etkileri ..... 130

6.1.3. Kronik İrisin Uygulamasının Ovaryum Dokusu Üzerine Etkileri .... 133

6.1.4. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanlarda Beyin Monoamin Seviyeleri Üzerine Etkileri ..... 134

6.1.5. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanların Cinsel Motivasyonu Üzerine Etkileri ..... 137

6.1.6. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanların Cinsel Performansı Üzerine Etkileri ..... 140

6.1.7. Kronik İrisin Uygulamasının Erkek Sıçanlarda Pubertal Gelişim Üzerine Etkileri ..... 141

6.1.8. Kronik İrisin Uygulamasının Erkek Sıçanlarda Üreme Hormonları Üzerine Etkileri ..... 141

6.1.9. Kronik İrisin Uygulamasının Sperm Parametreleri ve Testis Histolojisi Üzerine Etkileri ..... 144

6.1.10. Kronik İrisin Uygulamasının Erkek Sıçanlarda Beyin Monoamin Seviyeleri Üzerine Etkileri ..... 146

6.1.11. Kronik İrisin Uygulamasının Erkek Sıçanların Cinsel Davranışı Üzerine Etkileri ..... 148

6.2. (2. Deneysel Aşama) ..... 152

6.2.1. Dişi Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Üreme Hormonları Üzerine Etkileri ..... 152

6.2.2. Dişi Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Ovaryum Dokusu Üzerine Etkileri ..... 154

6.2.3. Dişi Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Cinsel Motivasyon Üzerine Etkileri ..... 156

6.2.4. Erkek Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Üreme Hormonları Üzerine Etkileri ..... 158

6.2.5. Erkek Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Sperm Parametreleri Üzerine Etkileri ..... 162

6.2.6. Erkek Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Testis Histolojisi Üzerine Etkileri ..... 164

6.2.7. Erkek Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Cinsel Davranış Üzerine Etkileri ..... 166

**7. KAYNAKLAR** ..... 175

**8. ÖZGEÇMİŞ** ..... 190

# TABLO LİSTESİ

**Tablo 1.** Dişi ve erkek cinsel davranışını santral seviyelerde etkileyen nöropeptidler .....17

**Tablo 2.** Antidepresan-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu için tedavi stratejileri..33

**Tablo 3.** Sıçanlarda östrus siklusu .....50

**Tablo 4.** Histolojik takip işlem basamakları .....68

**Tablo 5.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda partner tercihi ve aktivite indeksi üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....83

**Tablo 6.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda aktif keşif üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....84

**Tablo 7.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanların cinsel performansı üzerine etkileri (1. deneysel aşama).....85

**Tablo 8.** İnternal standart ve eksternal standartların alınma zamanları (1. deneysel aşama) .....89

**Tablo 9.** Dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının nükleus akkumbensde monoamin seviyeleri üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....90

**Tablo 10.** Dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının medial preoptik alanda monoamin seviyeleri üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....91

**Tablo 11.** Dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının medial amigdalada monoamin seviyeleri üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....92

**Tablo 12.** Kontrol ve irisin gruplarının over dokularında ovaryan foliküllerin sayısı ile fibrozisin histopatolojik skoru (1. deneysel aşama).....95

**Tablo 13.** Kronik irisin uygulamasının erkek sıçanların cinsel davranışı üzerine etkileri (1. deneysel aşama).....101

**Tablo 14.** Erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasının nükleus akkumbensde monoamin seviyeleri üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....103

**Tablo 15.** Erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasının medial preoptik alanda monoamin seviyeleri üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....104

**Tablo 16.** Erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasının medial amigdalada monoamin seviyeleri üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....105

**Tablo 17.** Kontrol ve irisin gruplarının testis dokusunda semi-kantitatif histoloji temelli analizler (histolojik skor ve histometrik veriler) (1. deneysel aşama) .....107

**Tablo 18.** Dişi sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının partner tercihi, aktif keşif ve aktivite indeksi üzerindeki etkileri (2. deneysel aşama) .....109

**Tablo 19.** Kontrol, sham kontrol, irisin, paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarının over dokularında ovaryan foliküllerin sayısı ile fibrozisin histopatolojik skoru (2. deneysel aşama) .....115

**Tablo 20.** Erkek sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının cinsel davranış üzerindeki etkileri (2. deneysel aşama).....117

**Tablo 21.** Testis dokusuna ait histolojik skor tablosu (2. deneysel aşama).....125

**Tablo 22.** Testis dokusuna ait histomorfometrik ölçümler (2. deneysel aşama).126

# ŞEKİL LİSTESİ

**Şekil 1.** Puberte başlangıcının nörosekretuar kontrolü .....9

**Şekil 2.** Cinsel uyarılma ve cinsel inhibisyon mekanizmaları .....17

**Şekil 3.** Anogenital keşif.....18

**Şekil 4.** Dişi sıçanlarda 4-nokta skalasına göre lordozis cevabının yoğunluğu.....21

**Şekil 5.** Erkek sıçanlara ait cinsel davranış parametreleri .....23

**Şekil 6.** Dişi ve erkek sıçanların cinsel davranışları arasındaki benzerliklerle ilgili hipotez.....25

**Şekil 7.** Sıçanlarda cinsel davranışın şematik gösterimi.....25

**Şekil 8.** İrisin sentezi ve irisinin etki mekanizmasının sistematik diyagramı .....39

**Şekil 9.** 1. deneysel aşamada gerçekleştirilen çalışmaların şematik gösterimi.....46

**Şekil 10.** Sıçanlarda puberteye girişi belirleme .....49

**Şekil 11.** Savunmasız çiftleşme düzeneği.....51

**Şekil 12.** Seksüel insentif motivasyon testi aparatı.....53

**Şekil 13.** Sıçan beyin dokusunda mikropanç tekniği ile beyin bölgelerinin alınması .....62

**Şekil 14.** 2. deneysel aşamada gerçekleştirilen çalışmaların şematik gösterimi....72

**Şekil 15.** Mini-ozmotik pompanın yerleştirilmesi .....75

**Şekil 16.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda pubertal olgunlaşma parametreleri üzerindeki etkileri (1. deneysel aşama).....81

**Şekil 17.** Kronik irisin uygulamasının ilk östrus yaşı ve östrus döngüsü üzerine etkileri (1. deneysel aşama).....82

**Şekil 18.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda serum FSH ve LH seviyeleri üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....86

**Şekil 19.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda serum 17β-östradiol, progesteron, testosteron, AMH ve inhibin-B seviyeleri üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....88

**Şekil 20.** Kontrol ve irisin gruplarına ait over dokularının histolojik görünümü (1. deneysel aşama) .....94

**Şekil 21.** Kronik irisin uygulamasının erkek sıçanlarda pubertal olgunlaşma parametreleri üzerindeki etkileri (1. deneysel aşama).....97

**Şekil 22.** Kronik irisin uygulamasının postpubertal dönemde olan erkek sıçanlarda cinsel olgunlaşma parametreleri üzerindeki etkileri (1. deneysel aşama).....98

**Şekil 23.** Kronik irisin uygulamasının sperm parametreleri üzerine etkileri (1. deneysel aşama) .....100

**Şekil 24.** Kronik irisin uygulamasının erkek sıçanlarda üreme hormonları üzerine etkileri (1. deneysel aşama).....102

**Şekil 25.** Testis dokusu histolojik görünümü (1. deneysel aşama).....106

**Şekil 26.** Dişi sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının serum FSH ve LH seviyeleri üzerine etkileri (2. deneysel aşama) .....110

**Şekil 27.** Dişi sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının serum 17β-östradiol, progesteron, testosteron ve AMH seviyeleri üzerine etkileri (2. deneysel aşama) .....111

**Şekil 28.** Kontrol, sham kontrol, irisin, paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarına ait over dokularının histolojik görünümü (2. deneysel aşama).....113

**Şekil 29.** Erkek sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının cinsel aktivite indeksi üzerindeki etkileri (2. deneysel aşama) .....118

**Şekil 30.** Paroksetin ve/veya irisin uygulamasının sperm parametreleri üzerine etkileri (2. deneysel aşama).....120

**Şekil 31.** Erkek sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının serum FSH, LH ve testosteron seviyeleri üzerine etkileri (2. deneysel aşama) .....122

**Şekil 32.** Testis dokusu histolojik görünümü (2. deneysel aşama).....124

## KISALTMALAR LİSTESİ

| | |
|---|---|
| **5-HIAA:** | 5-hidroksiindol-3-asetik Asit |
| **5-HT:** | Serotonin |
| **AMH:** | Anti-müllerian Hormon |
| **AMPK:** | AMP ile Aktive Olan Protein Kinaz |
| **BNST:** | Stria Teminalisin Bed Nükleusu |
| **BNSTpm:** | Stria Teminalisin Bed Nükleusu'nun Posteromedial Kısmı |
| **BSA:** | Bovine Serum Albumin |
| **CAİ:** | Cinsel Aktivite İndeksi |
| **CDT:** | Cinsel Davranış Testi |
| **ÇO:** | Çiftleşme Oranı |
| **DA:** | Dopamin |
| **DAS:** | Dişiyi Araştırmak İçin Harcanan Süre |
| **DHBA:** | 3,4 Dihidroksibenzilamin Hidrobromid |
| **DHPG:** | 3,4-dihidroksifenil Glikol |
| **DHS:** | Dişi Hayvanın Yanında Harcanan Süre |
| **DOPAC:** | 3,4-dihidroksifenilasetik Asit |
| **EAS:** | Erkeği Araştırmak İçin Harcanan Süre |
| **EDTA:** | Etilendiamin Tetraasetikasit |
| **EF:** | Ejakülasyon Frekansı |
| **EHS:** | Erkek Hayvanın Yanında Harcanan Süre |
| **EL:** | Ejakülasyon Latensi |
| **ELISA:** | Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay |
| **FNDC5:** | Fibronektin Tip III Domain İçeren Protein 5 |
| **FSH:** | Folikül Uyarıcı Hormon |
| **FÜDAM:** | Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi |
| **GABA:** | Gamma-Aminobütirik Asit |
| **GnIH:** | Gonadotropin İnhibitör Hormon |
| **GnRH:** | Gonadotropin Salgılatıcı Hormon |
| **H&E:** | Hematoksilen-Eozin |
| **HCl:** | Hidroklorik Asit |

| | |
|---|---|
| **HHG:** | Hipotalamus-Hipofiz-Gonadal Eksen |
| **HHO:** | Hipotalamus-Hipofiz-Over Ekseni |
| **HHT:** | Hipotalamus-Hipofiz-Testiküler Eksen |
| **HPLC-ECD:** | Elektrokimyasal Dedektörlü Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi |
| **HSDD:** | Hipoaktif Cinsel İstek Bozukluğu |
| **IF:** | İntromisyon Frekansı |
| **IL:** | İntromisyon Latensi |
| **IO:** | İntromisyon Oranı |
| **İ.c.v:** | İntraserebroventriküler |
| **İ.p:** | İntraperitoneal |
| **L/M:** | Lordozis Cevap Sayısı/Mount Sayısı |
| **LH:** | Luteinizan Hormon |
| **MAO:** | Monoamin Oksidaz |
| **MAPK:** | Mitojen-Aktive Edici Protein Kinaz |
| **MeA:** | Medial Amigdala |
| **MeApd:** | Medial Amigdala'nın Posterodorsal Kısmı |
| **MF:** | Mount Frekansı |
| **ML:** | Mount Latensi |
| **MPOA:** | Medial Preoptik Alan |
| **MSH:** | Melanosit Stimüle Edici Hormon |
| **NAC:** | Nükleus Akkumbens |
| **NaOH:** | Sodyum Hidroksit |
| **NE-NA:** | Norepinefrin-Noradrenalin |
| **NPY:** | Nöropeptid Y |
| **PAG:** | Periakuaduktal Gray |
| **PCOS:** | Polikistik Over Sendromu |
| **PEI:** | Post Ejakülatör İnterval |
| **PGC-1α:** | Peroksizom Proliferatör-aktive Reseptör ɣ Koaktivatör-1-α |
| **PN:** | Postnatal |
| **RF:** | Respons Faktör |
| **RFRP:** | RF-amide Related Peptid |

| | |
|---|---|
| **SİMT:** | Seksüel İnsentif Motivasyon Testi |
| **SPFp:** | Parvoselüler Subparafiscular Nükleus |
| **SSRI:** | Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri |
| **TAS:** | Toplam Araştırma Süresi |
| **THS:** | Toplam Harcanan Süre |
| **UCP1:** | Uncoupling Protein 1 |
| **VİP:** | Vazoaktif İntestinal Peptid |
| **VMN:** | Ventromedial Hipotalamik Nükleus |

# 1. ÖZET

Egzersizin puberteye geçiş, endokrin sistem, üreme sistemi ve cinsel fonksiyon bozukluğu üzerinde etkili bir faktör olduğu bilinmektedir. Fakat egzersize cevap olarak dolaşıma salınan ve bir adipomiyokin olan irisin hormonunun rolü ise tam olarak bilinmemektedir. Bu tez çalışmasının başlıca amacı, irisin hormonunun pubertal olgunlaşma, üreme sistemi bileşenleri ve cinsel davranış üzerindeki fizyolojik rolünü ortaya çıkarmaktır. Ayrıca, bu çalışmanın bir diğer önemli amacı ise antidepresan kullanımına bağlı gelişen cinsel fonksiyon bozuklukları tedavisinde irisin hormonunun etkinliğinin açığa çıkarılmasıdır.

Bu tez çalışması 2 deneysel aşamadan oluşmaktadır. 1. deneysel aşamada, irisinin puberteye geçiş ve üreme sistemi üzerindeki etkinliği sorgulanmıştır. Buna bağlı olarak sütten kesilmiş dişi ve erkek sıçanlara ortalama 10 hafta boyunca intraperitoneal olarak irisin (100 ng/kg/gün) uygulanmıştır. Deneysel çalışmaların sonucunda, kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda pubertal olgunlaşmayı geciktirdiği ve erkek sıçanlarda ise puberteye geçişi etkilemediği belirlenmiştir. Kronik irisin uygulamasının spermatogenez üzerinde uyarıcı bir rol oynadığı, ovaryum ve testis dokularında ise histoyapısal değişikliklere neden olduğu bulunmuştur. Ayrıca, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak üreme hormonlarında ve üreme sistemi ile ilgili olan spesifik beyin bölgelerinde nörotransmitter seviyelerinde değişimler meydana gelmiştir. Tüm bu değişimler sonucunda, dişi sıçanlarda cinsel motivasyonun azaldığı ve erkek sıçanlarda ise cinsel motivasyon ve performansın artış gösterdiği ortaya koyulmuştur.

2. deneysel aşamada ise, irisinin cinsel fonksiyon bozukluğu üzerindeki etkinliği sorgulanmıştır. Buna bağlı olarak ortalama 8 hafta boyunca paroksetin uygulanarak cinsel fonksiyon bozukluğu modeli oluşturulmuş dişi ve erkek sıçanlarda, mini-ozmotik pompayla 4 haftalık subkutanöz irisin (100 ng/kg/gün) perfüzyonu gerçekleştirilmiştir. Deneysel çalışmaların sonucunda, kısa süreli irisin uygulamasının sıçanlarda üreme hormonları, sperm parametreleri ve ovaryum ve testis dokularını etkilemediği belirlenmiştir. Ancak, kısa süreli irisin uygulamasının dişi sıçanlarda cinsel motivasyonu etkilemediği fakat erkek sıçanlarda cinsel motivasyonu/performansı artırdığı da bulunmuştur. Bunun yanı sıra, paroksetine bağlı ovaryum ve testis dokularında meydana gelen histopatolojik değişikliklerin irisin uygulamasıyla beraber azaldığı görülmüştür. Erkek sıçanlarda, paroksetinin testosteron seviyesi ile sperm parametreleri üzerinde oluşturduğu olumsuz etkilerin ve cinsel davranış üzerindeki inhibitör etkisinin irisin uygulamasıyla birlikte ortadan kalktığı açığa çıkarılmıştır.

Sonuç olarak ilk kez bu tez çalışmasıyla birlikte, kronik irisinin uygulamasının dişi sıçanlarda pubertal olgunlaşmayı geciktirdiği ve cinsel motivasyonu azalttığı belirlenmiştir. Erkek sıçanlarda ise irisinin androjenik bir potansiyele sahip olduğu ve spermatogenezde ve cinsel davranışının kontrolünde uyarıcı bir rol oynadığı belirlenmiştir. Ayrıca, irisinin nörotransmitter sistemi etkilediği ve irisinin uygulama süresinin hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen üzerinde farklı etkiler oluşturduğu görülmüştür. Bunun yanı sıra, antidepresan-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu tedavisinde irisinin terapötik bir ajan olabileceği ortaya koyulmuştur.

Çalışmamızın sonuçları, egzersizin üreme sistemi üzerindeki etki mekanizmasında irisinin önemli bir rolü olabileceğini göstermektedir ve ayrıca irisin ile üreme sistemi arasındaki ilişkiyi anlamada büyük ölçüde katkı sağlayacaktır.

**Anahtar Kelimeler:** İrisin, pubertal olgunlaşma, üreme sistemi, cinsel davranış, paroksetin.

## 2. ABSTRACT


**Investigation of Neuroendocrine Effects of Irisin Hormone on Puberty Onset and Reproductive System**

It is known that exercise is an effective factor in puberty onset, endocrine system, reproductive system, and sexual dysfunction. However, the role of the irisin hormone, an adipomyokine that is released into the circulation in response to exercise, is not fully known. The main aim of this thesis study was to reveal the physiological role of the irisin hormone on pubertal maturation, components of the reproductive system, and sexual behavior. In addition, another important purpose of this study was to investigate the effectiveness of the irisin hormone in the treatment of antidepressant-induced sexual dysfunction.

This thesis study consisted of two experimental stages. At the first experimental stage, the effectiveness of the irisin on the puberty onset and reproductive system was examined. Accordingly, irisin (100 ng/kg/day) was administered intraperitoneally to weaned female and male rats for about 10 weeks. As a result of the experimental studies, it was found that chronic irisin exposure led to delayed onset of puberty in female rats and did not affect the timing of puberty onset in male rats. It was also found that chronic irisin exposure played a stimulating role in spermatogenesis and caused histostructural changes in the ovarian and testicular tissues. Moreover, changes in reproductive hormones and neurotransmitter levels in the specific brain areas associated with the reproductive system occurred due to chronic irisin administration. As a result of all these

changes, it was revealed that sexual motivation decreased in female rats and sexual motivation and performance increased in male rats.

In the second experimental stage, the effectiveness of the irisin on sexual dysfunction was examined. Therefore, irisin (100 ng/kg/day for 4 weeks) was subcutaneously administered with mini-osmotic pumps in the female and male rats with paroxetine-induced sexual dysfunction. As a result of the experimental studies, it was determined that short-time irisin administration did not affect reproductive hormones, sperm parameters, ovarian and testicular tissues in rats. On the other hand, it was found that short-time irisin administration did not affect sexual motivation in female rats, but increased sexual motivation/performance in male rats. Additionally, it was observed that the histopathological changes in the ovarian and testicular tissues due to paroxetine exposure decreased with irisin administration. In the male rats, it was revealed that the negative effects of paroxetine exposure on testosterone levels and sperm parameters and its inhibitory effects on sexual behavior were eliminated with irisin administration.

As a result, it was demonstrated, for the first time in this thesis study, that chronic irisin exposure delayed pubertal maturation and decreased sexual motivation in female rats. In male rats, on the other hand, it was determined that irisin had an androgenic potential and played a stimulating role in spermatogenesis and control of sexual behavior. In addition, it was revealed that irisin affected the neurotransmitter system and the application time of irisin had different effects on the hypothalamus-pituitary-gonadal axis. Furthermore, the results of this study showed that irisin can be a therapeutic agent in the treatment of antidepressant-induced sexual dysfunction.

The results of our study demonstrate that irisin may have an important role in the mechanism of action of exercise on the reproductive system, and may also greatly contribute to understanding the relationship between irisin and the reproductive system.

**Keywords:** İrisin, pubertal maturation, reproductive system, sexual behavior, paroxetine.

# 3. GİRİŞ

## 3.1. Üreme Fizyolojisi

Üreme, periferal organlar ile sinir sisteminin koordinasyonunu gerektiren bir olaydır (1). Canlıların çoğalması ve türlerinin sürdürülmesinde üreme vazgeçilmez bir işlev olup cinsel olarak çoğalan canlıların çoğunda, başarılı bir üreme için hem erkeğin (sperm ve seminal sıvılar) hem de dişinin (yumurta ve döllenme için dişi ortamı) katkıları kritik bir öneme sahiptir (2). Memelilerde, puberteye geçişle birlikte fizyolojik olarak üreme yeteneği kazanılır ve bir canlının üreme sağlığı yaşlanma, beslenme, vücut ağırlığı, yaşam tarzı, davranış, psikolojik stres ve egzersiz gibi birçok faktörden etkilenebilir. Tüm bu faktörler, üreme sağlığını belirlemede anahtar rol oynar ve fertiliteyi olumlu ya da olumsuz bir şekilde etkileyebilir (3, 4).

### 3.1.1. Puberte Fizyolojisi

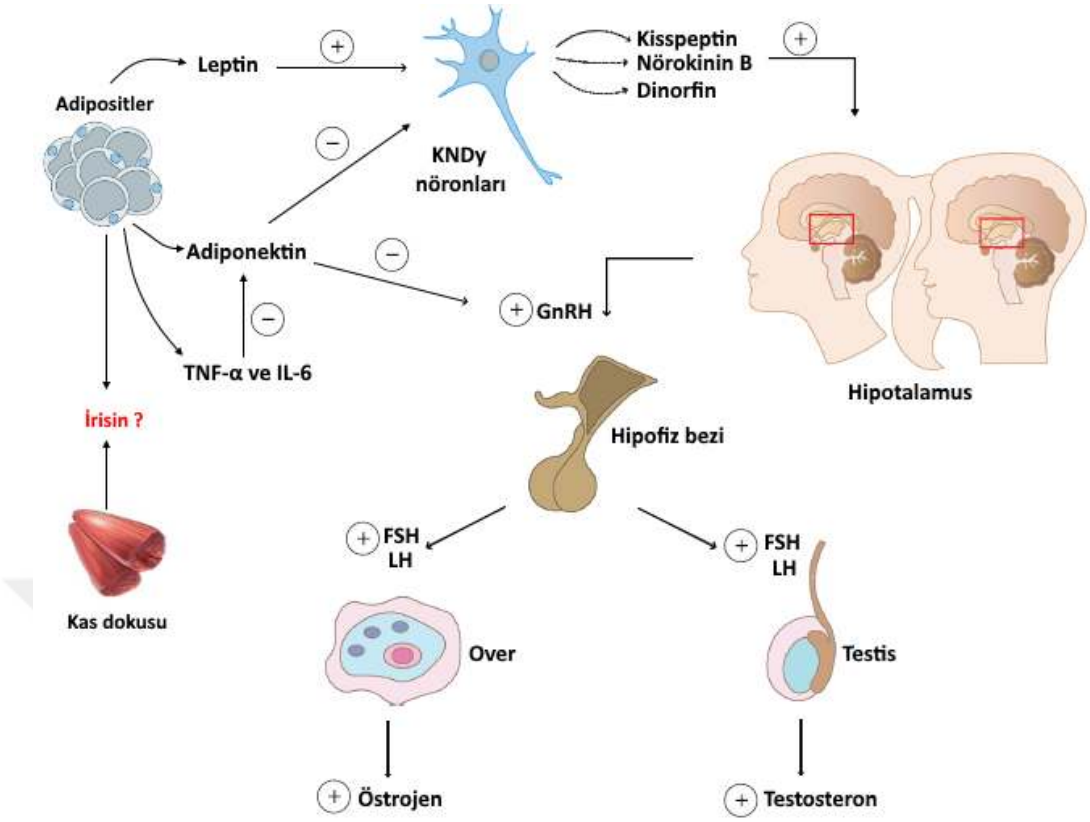
#### 3.1.1.1. Pubertenin Nöroendokrin Düzenlenmesi

Puberte, hipotalamus-hipofiz-gonadal (HHG) eksenin olgunlaşma süreci olarak tanımlanmaktadır (5). Bu süreçte bireyde morfolojik, fizyolojik ve davranışsal gelişimler söz konusu olup bireyin cinsel olgunluğu tamamlanarak üreme kapasitesi elde edilir (6). Pubertede, hipotalamik gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) hipofiz bezini uyarır ve buna bağlı olarak folikül uyarıcı hormon (FSH) ve luteinizan hormon (LH) salgısını artırır. Gonadotropin sekresyonundaki bu artış ise olgun gamet oluşumu (sperm veya oosit) ve gonadal steroid sekresyonu (östrojen ve testosteron) için gereklidir (3, 6). Ayrıca hipotalamus-hipofiz-over

(HHO) ekseninin nöroendokrin aktivasyonu ya da yeniden aktivasyonu pubertenin tamamlanması için gerekli olup bu aktivasyon hipotalamustaki glial nöronal etkileşimler, kompleks gen ağı ve nörotransmitterler tarafından düzenlenir (7).

Nörobiyolojik açıdan puberte, GnRH salgısını kontrol eden nöral sistemlerdeki değişimlerin bir fonksiyonu olarak tanımlanmaktadır. Pubertenin başlaması ve ilerlemesi bireyler arasında büyük değişkenlik göstermektedir. Puberte zamanı sadece kronolojik yaşla ilgili değildir ve özellikle metabolik kaynaklar, enerji kaynakları, egzersiz, somatik gelişimler ve birçok tür için geçerli olan mevsimsel ve sosyal çevre hakkında bilgi sağlayan nörotransmitter ve nöromodülatör sistemler de GnRH salgı ağı üzerinde etkilidir (6, 7).

Puberteye giriş mekanizması hala tam olarak açıklanamamış olup, literatürde GnRH salınımının düzenlenmesinde rol oynayan çeşitli sinyal molekülleri olduğu ifade edilmiştir (Şekil 1). Bu sinyal moleküllerinin HHG eksen üzerindeki eksitatör veya inhibitör rolü yapılan araştırmalarla ortaya çıkarılmıştır. Eksitatör ve inhibitör kontrol altında olan GnRH atım jeneratörü, puberte başlangıcında uyarıcı sinyallerin artması ve inhibe edici sinyallerin azalmasına bağlı olarak aktif hale gelir ve buna bağlı olarak GnRH sekresyonu artar (7, 8). Bu moleküller arasında; kisspeptin, gonadotropin inhibitör hormon (GnIH), leptin, gamma-aminobütirik asit (GABA), glutamat, nöropeptid Y (NPY), melatonin, vazoaktif intestinal peptid (VİP), nörokinin B, eksitatör amino asitler, katekolaminler, serotonin ve opioidler gibi çeşitli bileşenler yer almaktadır (3, 8-10).




**Şekil 1.** Puberte başlangıcının nörosekretuar kontrolü. GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon, FSH: Folikül uyarıcı hormon, LH: Luteinizan hormon, TNF-α: Tümör nekroz faktör-α ve IL-6: İnterlökin-6 (Nieuwenhuis et al., 2020'den değiştirilerek alınmıştır) (10).

### 3.1.1.2. Pubertenin Metabolik Kontrolü

Memelilerde, yukarıda bahsedilen tüm bu hücrelerarası sinyalleşme sistemlerinin bilinen rollerinin yanı sıra puberte başlangıcının düzenlenmesinde de rol oynadıkları bilinmekle birlikte, cevaplanamayan en önemli sorulardan birisi şudur: Puberte başlangıç zamanında hipotalamik nörohormonal ağın aktivasyonunu tetikleyen şey nedir? Bu noktada literatürde, hipotalamik nörohormonal ağın, vücut

enerji rezervlerini içeren birçok merkezi ve periferal etmene duyarlı olduğu önerilmektedir (9).

İnsanlarda ve hayvan modellerinde, pubertenin başlangıç mekanizması üzerine yapılan kapsamlı araştırmalarda *"kritik vücut yağ kütlesi hipotezi"* olarak ifade edilen kavram temel oluşturmuştur. Puberte başlangıcında, vücut (yağ/kas) ağırlığı belirli bir eşik değere ulaştığı zaman hipotalamik nöronal ağ aktive olur. Vücut bu kritik yağ ve/veya kas kütlesine ulaştığında, metabolik sinyal veya sinyaller puberte başlangıcını düzenleyen hipotalamik nöronal ağa bu bilgiyi iletir (11, 12). Fakat bu metabolik tetikleyicinin doğası hala net değildir. Önceki çalışmalarda, vücut ağırlığı/metabolik durumla ilgili bilgileri nöroendokrin üreme aksı ile ilişkilendirmede; leptin, insülin, ghrelin ve insülin benzeri büyüme faktörü gibi çeşitli metabolik sinyallerin rolü incelenmiştir. Puberte başlangıcında ve yetişkin üremesinin düzenlenmesinde bu faktörlerin inhibitör veya iyileştirici rolleri açığa çıkarılmıştır (8, 13, 14). Fakat bu etmenler tek başlarına puberte ve üremenin metabolik düzenleyicileri değildirler. Bu nedenle, puberte başlangıcını ve yetişkin üremesini düzenleyen hipotalamik nörohormonal ağ ile ilişkilendirilen vücut yağ/kas kütlesi ile ilişkili olabilecek olan diğer potansiyel metabolik sinyallerin araştırılması gereklidir.

Puberte başlangıcının belirlenmesinde belirli bir vücut ağırlığı ile yağ doku kütlesine erişmenin önemli etmenler olduğu bilinmektedir ve dolayısıyla pubertal gelişim üzerinde beslenmenin ve egzersizin kritik bir rol oynadığı açıktır (15, 16). Örneğin dişi sıçanlarda, artan vücut ağırlığı ve yağ kütlesine bağlı olarak vajinal açılmanın ve östrus döngüsünün daha erken meydana geldiği gösterilmiştir (17). Bunun yanı sıra insanlarda ve diğer memeli türlerinde yapılan çalışmalarda, gıda

yoksunluğunun puberteye geçişi geciktirdiği veya önlediği de bildirilmiştir (18). Ayrıca, sıçanlarda aşırı egzersize bağlı olarak meydana gelen negatif enerji dengesinin puberteyi geciktirdiği ve ayrıca GnRH salınımının inhibisyonuna neden olduğu da bilinmektedir (19).

Yapılan çalışmalarda, bir egzersiz hormonu olan ve esas olarak kas ve adipoz dokudan salınan irisin hormonunun vücut kitle indeksi ve kas kütlesi ile pozitif ilişkili olduğu gösterilmiştir (20). Bunun yanı sıra, irisin hormonunun sistemik seviyesinin pubertenin farklı aşamaları boyunca değiştiği de ifade edilmiştir (21). Fakat irisinin; vücudun periferinden metabolik rezervler ile ilgili bilgileri puberte başlangıcını izleyen hipotalamik nöronal ağa aktarmak için bir sinyal görevi görüp görmediği tam olarak bilinmemektedir (Şekil 1). Buna bağlı olarak bu tez çalışmasında, irisin hormonunun puberteye geçiş ve dolayısıyla HHG eksen üzerindeki potansiyel rolünün açığa çıkarılması amaçlanmıştır.

#### 3.1.1.3. Pubertal Gelişimde Rol Oynayan Önemli Nöroendokrin Faktörler

##### 3.1.1.3.1. Kisspeptin

Hipotalamik Kiss-1 geni tarafından kodlanan kisspeptin hormonu üreme aksının uyarıcısıdır ve üreme fonksiyonunda kritik bir rol oynar. Kisspeptin, nörokinin B ve dinorfin gibi diğer nöropeptitlerle etkileşime girerek GnRH atım jeneratörünü düzenler. Kisspeptin, reseptörü olan GPR54 aracılığıyla GnRH sekresyonunu uyararak gonadotropin salınımını meydana getirir (22). Yapılan çalışmalarda, kisspeptin/GPR54 sisteminin puberte başlangıcını tetiklediği ifade edilmektedir. Kisspeptin sinyalizasyonunun kaybı ise hem insanlarda hem de diğer memeli türlerinde hipogonadotropik hipogonadizm ile sonuçlanır (23).

Çeşitli türlerde, hipotalamusta kisspeptin nöronları GnRH nöronları ile yakın bir yerleşim gösterir ve GnRH nöronları kisspeptin reseptörünü eksprese eder. Kisspeptin nöronları, preoptik alanda ve median eminenste bulunan GnRH nöronlarının hücre gövdelerine projekte olur. Kisspeptinin GnRH nöronlarını uyarması ile birlikte hipotalamik-hipofizer portal dolaşıma salınan GnRH, ön hipofizden gonadotropinlerin salınımına neden olur (22, 24, 25).

Kisspeptin ekspresyonu ilk olarak plasentada gösterilmiş olup, testis, over, pankreas ve ince bağırsakta da ekspresyonu ortaya koyulmuştur. Kemirgenlerde, kisspeptinin merkezi ekspresyonu ise hipotalamusta iki önemli nöral popülasyon bölgeleri olan arkuat nükleus ve medial preoptik alanda (MPOA) mevcuttur (26-28).

Kiss-1/GPR54 sisteminin, üreme aksının düzenlenmesindeki kritik rolü insanlarda ve kemirgen modellerinde gerçekleştirilen çalışmalarla ortaya koyulmuştur. Örneğin, kisspeptin reseptör geninde ya da Kiss-1'de bir mutasyonun, hem dişi hem de erkek farelerde infertiliteye, zayıf gonadal büyümeye ve bozulmuş gametogenezise neden olduğu görülmüştür (29). Erkek çocuklarda ise kisspeptin öncül proteinindeki bir mutasyonun santral puberte prekoks'a neden olduğu belirtilmiştir (30). Benzer şekilde, GPR54 reseptöründeki mutasyonların yetersiz FSH ve LH salgısına neden olduğu ve bunun sonucunda bireyde infertilitenin geliştiği ifade edilmiştir (31).

#### 3.1.1.3.2. RF-amide Related Peptide-3

RF-amide related peptidler (RFRP), kuşlardaki GnIH'nın memeli ortoloğu olup üreme aksının inhibitörüdür ve gonadotropin salınımını ve sentezini inhibe eder. RFRP-3 ise memelilerde RFamid peptidlerin tanımlanmış olan aktif formlarından birisidir (32, 33). RFRP-3 nöron ağları, hipotalamusta GnRH, kisspeptin ve büyüme hormonu salgılatıcı hormon nöronlarıyla yakın yerleşimde bulunur ve dolayısıyla bu hormonlar arasında olası fonksiyonel ilişki olduğu önerilmektedir. Ayrıca, GnRH ve kisspeptin nöronlarının RFRP-3 reseptörü olan GPR147'yi ekspresse edebildiği de bilinmektedir (33, 34).

Memelilerde, RFRP-3 esas olarak dorsomedial hipotalamik nükleus ve/veya paraventriküler nükleus nöronlarında ekspresse edilir ve direkt ya da indirekt olarak gonadal fonksiyon üzerinde inhibe edici etkiye sahiptir (35). Kemirgenlerde yapılan çalışmalarda, RFRP-3'ün intraserebroventriküler (i.c.v.) veya intravenöz enjeksiyonunun LH sekresyonunu baskıladığı ve puberte zamanını geciktirdiği ortaya koyulmuştur (33).

#### 3.1.1.3.3. Leptin

Yağ türevli bir hormon olan leptin hormonu, enerji homeostazisinde rol oynayan önemli hormonlardan biridir. Pozitif enerji dengesine cevap olarak salınan leptinin dolaşımdaki seviyesi arttığı zaman beyinde özellikle hipotalamusta negatif geri bildirime neden olarak gıda alımı azalır, enerji tüketimi artar ve obeziteye karşı direnç gelişir (36).

Leptin hormonunun nöroendokrin aks üzerinde de önemli bir rolü vardır. Örneğin leptin eksikliği olan farelerde morbid obezite ve hiperfajinin yanı sıra

infertilitenin de görüldüğü ifade edilmiştir. Bu fare modellerinde kronik leptin uygulamasının hem gıda alımı ve vücut ağırlığını azalttığı hem de puberte ve fertiliteyi düzelttiği gösterilmiştir (37, 38).

Nöropeptid α-melanosit stimüle edici hormon (α-MSH), leptinin etkisine aracılık ederek enerji homeostazında kilit bir rol oynar. Yapılan çalışmalarda, pubertenin metabolik kontrolüne merkezi MSH sinyalizasyonunun potansiyel katkısı analiz edilmiş ve pubertal olgunlaşma üzerine leptinin uyarıcı rolü için; leptin → α-MSH → kisspeptin → GnRH nöronal sinyal yolağı önerilmiştir (39).

#### 3.1.1.3.4. Nörotransmitterler

Sıçanlarda hem puberteye geçişte hem de cinsel olgunlaşmada, katekolaminler (noradrenalin, adrenalin ve dopamin), serotonin ve GABA gibi önemli nörotransmitterler rol oynamaktadır. Hipotalamustaki GnRH nöronlarının aktivitesi bu nörotransmitterler tarafından kontrol edilerek, prepubertal dönemden yetişkinliğe geçen sıçanlarda GnRH nöronlarının aktivitesindeki değişime yol açar (40).

Katekolaminlerin pubertede uyarıcı rolü vardır. Örneğin, norepinefrin pubertal dönemde LH/GnRH salınımında artışa yol açan önemli bir katekolamindir (41, 42). Yapılan hayvan çalışmalarında, dopaminin puberteye geçiş ve GnRH salınımı üzerinde hem uyarıcı hem de inhibe edici etkisinin olabileceği gösterilmiştir (43). Benzer şekilde serotoninin de gonadotropin salınımı ve puberte üzerinde uyarıcı ya da inhibe edici etki gösterebileceği belirtilmiştir. Bu iki farklı etkinin serotonerjik sistemlerin anatomik farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir. Örneğin, dorsal raphe nükleusunda yer alan serotonerjik sistemler

uyarıcı rol oynarken, medial raphe nükleusunda rol oynayan sistemlerin ise inhibitör rol oynayabileceği ifade edilmektedir (44).

### 3.1.1.4. Sıçanlarda Pubertal Gelişim

Sıçanlarda pubertal gelişim süresince GnRH atım frekansı, amplitütü ve ortalama GnRH salınımında önemli bir artış meydana gelir (45, 46). Sıçanlarda pubertal gelişim sütten kesilme döneminden sonra başlar. Pubertenin başlaması, HHG eksenin aktivasyonuna bağlıdır ve özellikle dişi sıçanlarda pubertenin başlamasında, HHO ekseninin aktivasyonunu indükleyen fizyolojik olayların entegrasyonu ve koordinasyonu da önemli bir rol oynamaktadır (5, 6, 47).

***Dişi sıçanlarda***; klasik pubertal olgunlaşmanın belirteçleri arasında vajinal açılma, ilk östrus fazı ve östrus döngüsü yer almaktadır. Literatürde, dişi sıçanlarda puberte başlangıcının belirlenmesinde, östrojen salınımındaki artışa bağlı olarak vajinal açıklığın görülmesi sıklıkla kullanılan bir yöntemdir. Vajinal açılma (vajinanın tamamen kanalizasyonu olarak tanımlanır) ile birlikte puberte başlar ve ilk üreme döngüsü olan östrus evresinin görülmesiyle birlikte puberte tamamlanmış olur. Vajinal açılma ile ilk östrus fazı arasındaki bu süre oldukça kısadır ve ilk östrus evresinin görülme zamanı vajinal açılmayla aynı günde olabileceği gibi bir haftaya kadar da uzayabilmektedir (5, 48).

***Erkek sıçanlarda***; pubertal gelişimin dışsal markerleri androjen bağımlı olup glans penisten prepüsün ayrılması (prepüsyal ayrılma) ve kaput epididimiste olgun hareketli spermin varlığıdır. Fakat literatürde, pubertenin başlangıcını belirlemede daha kolay bir yöntem olduğu için genellikle prepüsyal ayrılma takibi

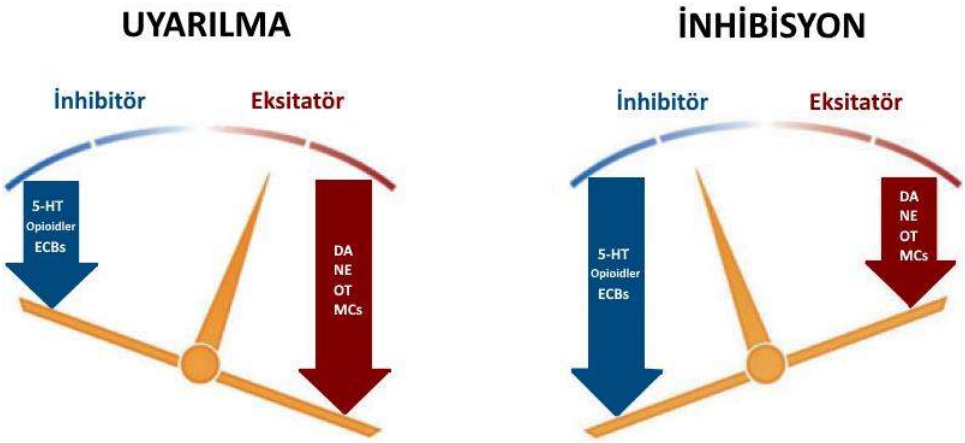
yapılmaktadır. Prepüsyal ayrılma, peripubertal androjen sekresyonundaki değişimin bir indeksi olarak da kullanılabilir (49).

### 3.1.2. Cinsel Davranış

İnsan dâhil tüm memeli türler cinsel isteği davranışsal olarak gösterir ve cinsel davranış, üremede temel bir rol oynamaktadır. Cinsel fonksiyon sadece üremeye izin vermekle kalmaz aynı zamanda doğal ödüllendirme de sağlar (50, 51).

Memelilerdeki cinsel davranış cinsiyetlere özgü oluşmaktadır ve dişiler ile erkekler arasındaki bu davranışsal değişikliklerin oluşumda; erkeklerde testosteron, dişilerde ise östradiol ve progesteron rol oynamaktadır. Sekrete edilen bu steroidlerin miktarı ise erkek ve dişilerde değişkenlik göstermektedir (52).

Bir bireyin cinsel isteğinin oluşmasında uyarıcı ve inhibe edici bileşenler arasındaki etkileşimin rol oynadığı düşünülmektedir. Genel olarak, uyarıcı bileşenleri norepinefrin ve oksitosin (cinsel uyarılmayı teşvik ederler) ile melanokortinler ve dopamin (cinsel ilgiyi ve arzuyu uyarırlar) oluştururken inhibe edici faktörler arasında serotonin (cinsel doyumu düzenler), opioidler (cinsel ödüllere aracılık eder) ve endokannabinoidler (sedasyona neden olur) yer almaktadır. Cinsel uyarılma esnasında eksitatör nörokimyasal sistemlerin aktivasyonu inhibitör mekanizmaların etkisini azaltır (53). Bir bireyin cinsel uyarılmasının ve cinsel inhibisyonunun mekanizmaları Şekil 2'de gösterilmiştir. Merkezi seviyelerde dişi ve erkek cinsel davranışını etkileyen nöropeptidler ise Tablo 1'de özetlenmiştir.




**Şekil 2.** Cinsel uyarılma ve cinsel inhibisyon mekanizmaları. 5-HT: Serotonin (5-hidroksitriptamin), ECBs: Endokannabinoidler, DA: Dopamin, NE: Norepinefrin, OT: Oksitosin ve MCs: Melanokortinler (53).

**Tablo 1.** Dişi ve erkek cinsel davranışını santral seviyelerde etkileyen nöropeptidler (51).

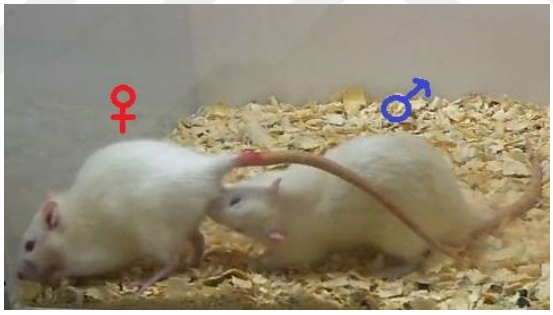
| **Nöropeptid** | **Dişi cinsel davranışı üzerindeki etkisi** | **Erkek cinsel davranışı üzerindeki etkisi** |
|---|---|---|
| Oksitosin | Kolaylaştırıcı | Kolaylaştırıcı |
| ACTH/MSH | Kolaylaştırıcı | Kolaylaştırıcı |
| Opioidler | İnhibitör | İnhibitör |
| Gonadotropin Serbestleştirici Peptidler | Kolaylaştırıcı | Kolaylaştırıcı, inhibitör, etkisiz |
| Kortikotropin Serbestleştirici Faktör | İnhibitör | İnhibitör |
| NPY | İnhibitör | İnhibitör |
| Galanin | Kolaylaştırıcı, inhibitör | Kolaylaştırıcı, inhibitör |
| Galanin-Benzeri Peptid | İnhibitör | Kolaylaştırıcı, inhibitör |
| Kolesistokinin | Kolaylaştırıcı | Etkisiz |
| P Maddesi | Kolaylaştırıcı | Kolaylaştırıcı |
| Nörokinin K | Bilinmiyor | İnhibitör |
| VİP | Kolaylaştırıcı | Kolaylaştırıcı |
| Arjinin-vazopressin | İnhibitör | Etkisiz |
| Anjiyotensin II | İnhibitör | İnhibitör |
| Oreksinler | Bilinmiyor | Kolaylaştırıcı, etkisiz |
| VGF-türevli Peptidler | - | Kolaylaştırıcı, etkisiz |

ACTH: Adrenokortikotropik hormon, MSH: Melanosit stimüle edici hormon, NPY: Nöropeptid Y, VİP: Vazoaktif intestinal peptid ve VGF: Vasküler büyüme faktörü.

### 3.1.2.1. Sıçanlarda Cinsel Davranış

Sıçanların hem kolay elde ediliyor olması hem de dişi ve erkek sıçanlarda cinsel davranışlar iyi bir şekilde karakterize edildiği için deney hayvanlarında cinsel davranış ile ilgili yapılan çalışmalar daha çok sıçanlarda yapılmaktadır (54).

Sıçanlar karşı cinsi etkilemek ve cinsel uyarılmaya erişmek için çeşitli davranışsal hareketler sergilemektedir. Sıçanlar arasındaki bu karşılıklı etkileşim anogenital bölgeyi koklama (anogenital keşif) ile başlar. Anogenital bölgeyi koklama, ya dişi ya da erkek sıçan tarafından başlatılan uyarıcı bir davranış olup cinsel uyarılmanın feromonal belirtilerini elde etmek için gerçekleştirilir (55). Anabilim Dalı laboratuvarlarımızda gerçekleştirilen cinsel davranış testlerinden elde edilmiş anogenital keşif görüntüsü Şekil 3'de verilmiştir.




**Şekil 3.** Anogenital keşif. Erkek sıçanın (♂) dişi sıçanın (♀) anogenital bölgesini koklaması.

#### 3.1.2.1.1. Dişi Sıçanlarda Cinsel Davranış

Dişi cinsel davranış, sperm tarafından dişinin döllenmesini sağlamak için gerekli ve yeterli olan karmaşık bir davranış serisidir (56). Dişi cinsel davranışı, başlıca cinsiyet steroid hormonlarının etkisi aracılığıyla ve ovaryan steroid hormonlarının (çoğunlukla östradiol) etkisine duyarlı olan çeşitli beyin

bölgelerindeki nöronlar tarafından düzenlenir (57). Bu beyin bölgeleri arasında preoptik alan ve ventromedial hipotalamik çekirdekler yer almaktadır. Ayrıca medial amigdala da östradiol reseptörleri açısından zengindir ve dişi cinsel davranışının düzenlenmesinde rol oynayabilecek başka bir beyin bölgesidir (58).

Dişi sıçanlarda cinsel davranış genel olarak 3 aşamadan meydana gelmektedir:

1. Uyarıcı (appetitive) davranışlar,
2. Çiftleşme öncesi davranışlar (precopulatory/proceptive/solicitation/paracopulatory; hayvanın cinsel motivasyonunu yansıtır) ve
3. Tamamlayıcı davranış (copulatory/receptivity/consummatory; hayvanın cinsel performansını yansıtır) (55, 59).

#### 3.1.2.1.1.1. Appetitive (Uyarıcı) Davranış

Appetitive davranışlar dişi sıçanın cinsel isteği ve cinsel uyarılması ile ilişkilendirilmektedir. Appetitive davranış erkek hayvanın keşfine yönelik bir davranış olup hayvanlar arasındaki temasın sağlanmasında önemlidir (55). Bazı çalışmalarda, appetitive davranışlar ayrı başlık altında değerlendirilmesine rağmen genel olarak bu davranışlar çiftleşme öncesi davranış kategorisinde (proseptif davranışlar) yer almaktadır. Örneğin, anogenital keşif (erkek hayvanın anogenital bölgesini koklama) veya hoplama/ileri atılma gibi davranışlar, dişi sıçanın cinsel dürtü olarak da ifade edilen appetitive davranışlarını oluşturmaktadır (60-62).

#### 3.1.2.1.1.2. Proseptif (Proceptive) Davranışlar

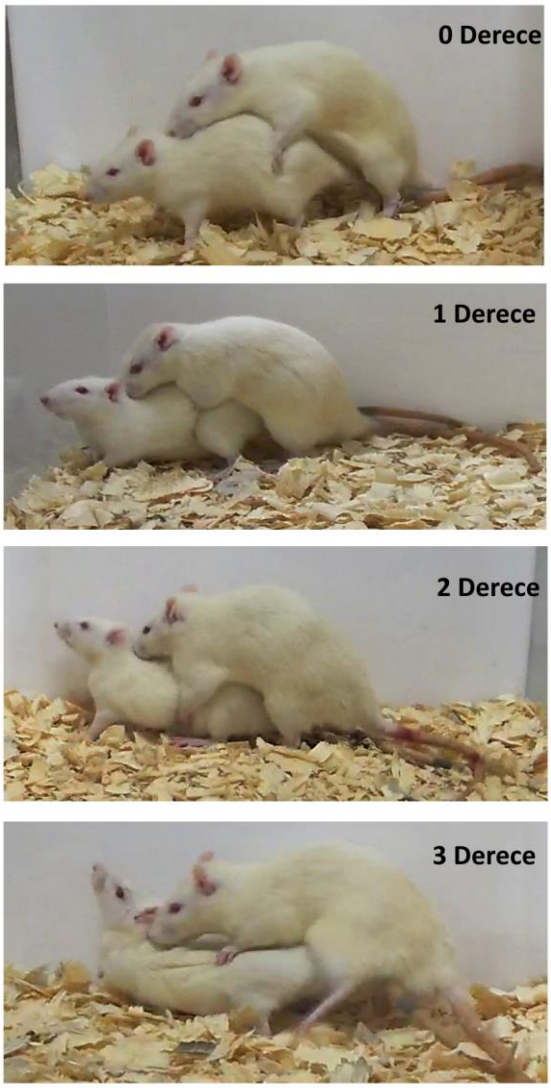
Dişi sıçanlarda proseptif davranışlar erkek hayvanın varlığında meydana gelmektedir. Proseptif davranışları temel olarak; kulak titretme, hopping/darting (hoplama/ileri atılma) ve alanda gezinme (pacing) davranışları oluşturmaktadır (63). ***Kulak titretme,*** başın yani kulakların görünür şekilde lateral olarak titremesi olup bu davranış çok düzenli ve hızlı meydana geldiği için skorlaması oldukça zordur. ***Hopping***, hayvanın 4 bacağı üzerindeki kısa sıçrayışıdır. ***Darting*** ise dişinin birkaç adımlık koşusundan sonra aniden durması ve çömelme postürü alması olarak tanımlanır. Dişi sıçan hop/dart hareketlerini ardışık olarak gösterir ve bu davranış bir seri şeklinde değerlendirilir. ***Pacing*** ise erkeği uyarıcı bir davranış olup dişi hayvanın test alanında gezinmesi olarak bilinir ve bu durumda dişi sıçan aralıklı olarak erkek hayvana yaklaşır veya ondan uzaklaşır. Bu davranış, dişinin erkek hayvandan cinsel uyarım alma zamanını belirlemesi açısından önemli bir parametredir. Ayrıca pacing, çiftleşme sırasında gerçekleşen servikal-vajinal uyarım tipinin ve frekansının belirlenmesinde de kritik bir rol oynar (62, 64, 65).

#### 3.1.2.1.1.3. Lordozis

Lordozis dişi sıçanların cinsel davranışının son aşaması olup hayvanın postürünün dorsifleksiyon refleksini oluşturmaktadır. Lordozis ile birlikte dişi hayvanın pelvisi yükselir ve vajinaya penisin girmesi gerçekleşir. Lordozis yalnızca dokunma refleksini, proseptif davranışlar ise hem dokunma hem de koklama refleksini ifade etmektedir (62, 66).

Hardy ve DeBold (1971) tarafından tanımlanmış olan ***lordozis derecesi (lordozis yoğunluğu)*** 4-nokta skalasına göre belirlenmektedir. Dört-nokta

skalasında; dişi sıçanın erkek hayvanın göstermiş olduğu mount (dişinin sırt kısmına tırmanması) hareketine karşı lordozis göstermediği durumlarda lordozis derecesi 0 olarak değerlendirilir. Marjinal lordozis olarak ifade edilen en düşük lordozis hareketi 1; normal lordozis 2 ve abartılı/aşırı lordozis davranışı ise 3 derece ile hesaplanmaktadır (67). Anabilim Dalı laboratuvarlarımızda, dişi sıçanlarda gerçekleştirilmiş cinsel davranış testleri sonucu 4-nokta skalasına göre belirlenmiş olan lordozis dereceleri Şekil 4'de gösterilmiştir.




**Şekil 4.** Dişi sıçanlarda 4-nokta skalasına göre lordozis cevabının yoğunluğu.

Dişi sıçanların cinsel davranış çalışmalarında, hayvanın tamamlayıcı davranışını yani cinsel performansını değerlendirmek için kullanılan lordozis derecesinin yanı sıra ***lordozis oranı (seksüel reseptivity)*** da bir diğer parametre olarak kullanılmaktadır. Erkek hayvanın mount hareketiyle beraber dişi hayvan lordozis postürünü alır ve bu lordozis oranı olarak ifade edilir. Lordozis oranı; lordozis cevap sayısı/mount sayısı x 100 (L/M x 100) olarak hesaplanır (68, 69). Lordozis oranındaki artışın uyarılmadaki artışın analoğu olduğu düşünülür (70).

#### 3.1.2.1.2. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış

Erkek sıçanların cinsel davranışını hem çizgili hem de düz kasları içeren çok düzenli bir motor hareketler dizisi oluşturur. Yetişkin bir erkek sıçan, cinsel olarak reseptif (istekli, östrus fazında) olan bir dişinin varlığında spontan olarak cinsel davranış sergiler (71).

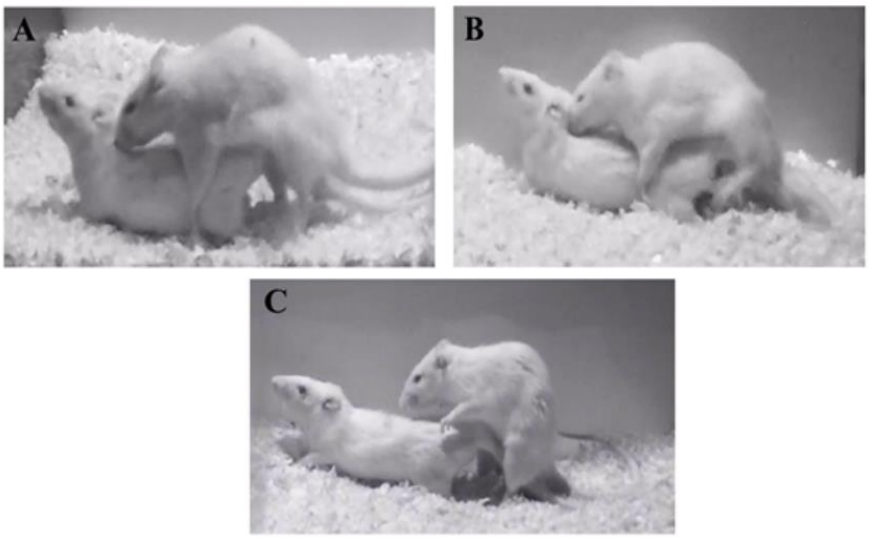
Erkek sıçanlardaki cinsel davranış serisi; çiftleşme öncesi faz (precopulatory veya introductory), çiftleşme fazı ve ejakülatör (executive) faz olmak üzere 3 aşamadan oluşmaktadır. Cinsel davranış serisin bu fazları birbirinden ayrılır fakat bağımsız değillerdir (72).

##### 3.1.2.1.2.1. Çiftleşme Öncesi Faz

Erkek sıçanlarda çiftleşme öncesi faz, dişi sıçana yaklaşmak ve cinsel uyarımın feromonal ipuçlarını elde etmek için dişi sıçanın anogenital bölgesini koklama (Şekil 3) veya dişi hayvanın yüzünü inceleme gibi hareketlerden meydana gelmektedir. Bu davranışlara bağlı olarak, erkek hayvanın limbik sistemindeki spesifik beyin bölgelerinde nöronal aktivite uyarılır (72, 73).

### 3.1.2.1.2.2. Çiftleşme Fazı

Erkek sıçanın çiftleşme fazını tekrarlı olarak sergilenen mount (tırmanma) ve intromisyon (birleşme) hareketleri oluşturur (72). ***Mount;*** erkek hayvanın dişi hayvanın arkasına yaklaşarak her iki ön bacağıyla dişinin sırt yan kısımlarını sıkıca kavraması olarak tanımlanmaktadır (Şekil 5A). Mountta erkek hayvan neredeyse her zaman pelvisini ittirmesiyle dişi hayvanın klitorisiyle doğrudan temas halindedir ve buna bağlı olarak dişi hayvanın klitoral uyarımı gerçekleşir. Mountlar 5-10 saniyelik kısa aralıklarla gerçekleştirilir (52, 71). ***İntromisyon (vajinal penetrasyon),*** mount gibi karakterize edilmekte fakat mounttan farklı olarak hayvanın pelvisini ileri doğru ittirerek penisin vajinaya girmesi söz konusudur (Şekil 5B). Vajinal intromisyondan hemen sonra erkek hayvan dişiden ayrılır ve penisin şişliğini indirmek için penisini yalar (71, 72, 74). Hem anogenital keşif hem de çiftleşme fazındaki tüm bu davranışlar erkek hayvanın cinsel motivasyonunu/istek (libido) yansıtan parametrelerdir (64).

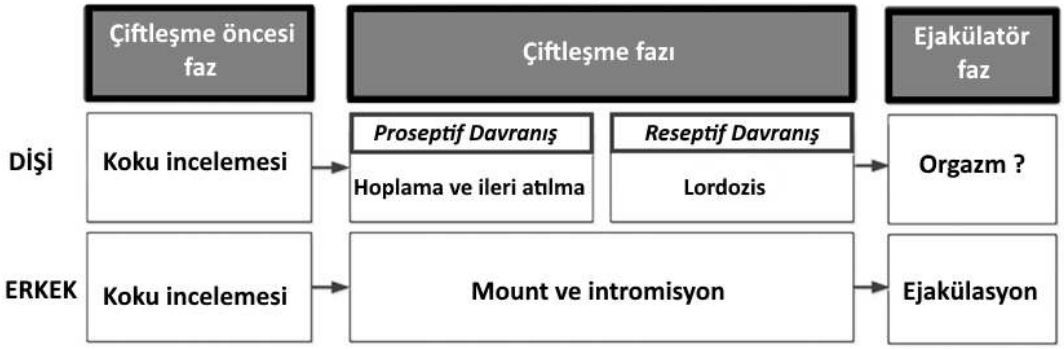



**Şekil 5.** Erkek sıçanlara ait cinsel davranış parametreleri. A) mount, B) intromisyon ve C) ejakülasyon (görüntüler, Anabilim Dalı laboratuvarlarımızda gerçekleştirilen cinsel davranış testlerinden elde edilmiştir).

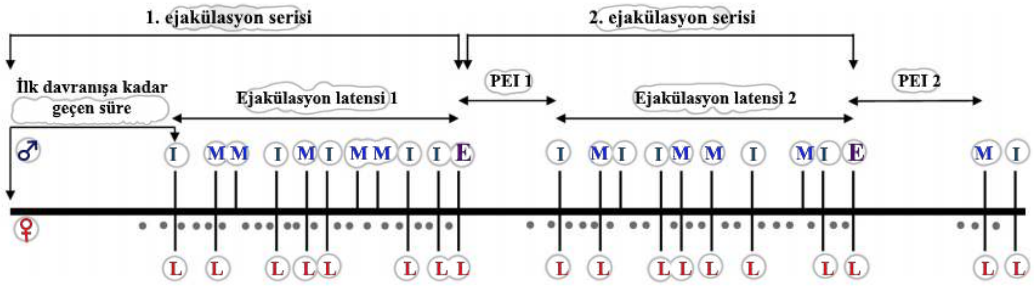
#### 3.1.2.1.2.3. Ejakülatör Faz

Mount ve intromisyon serilerinden sonra erkek hayvan ejakülasyona ulaşır. ***Ejakülasyon*** derin penetrasyon olup emisyon ve atılma olmak üzere 2 fazdan meydana gelmektedir (Şekil 5C). Emisyonda, seminal sıvının üretraya salgılanması ve hareketi söz konusu iken; atılma fazında üretral içeriğin güçlü ejeksiyonu gerçekleşmektedir. Bu iki faz son derece senkronize bir şekilde meydana gelmektedir (72, 74, 75). Erkek sıçanlarda ejakülasyona ulaşmak için genellikle 10-20 intromisyon gereklidir ve bu intromisyonlar ortalama 2-10 dakika sürmektedir. Bir ejakülasyondan sonra, erkek hayvan tekrar herhangi bir cinsel davranışa başlamadan önce ortalama 5 dakika dinlenir ki bu döneme *ejakülasyon sonrası aralık* denir (72, 75). Ejakülatör faz erkek hayvanın cinsel performansını (potency) yansıtır (71).

***Sonuç olarak***, dişi sıçanlarda ifade edilen appetitive davranış erkek sıçanlarda çiftleşme öncesi faza karşılık gelmektedir. Dişi sıçanlardaki proseptif ve lordozis davranışları ise erkek sıçanların çiftleşme fazını oluşturmaktadır. Erkek sıçanların cinsel davranışının son aşamasını ejakülatör faz; dişi sıçanlarınkini ise lordozis oluşturmaktadır (72, 76). Dişi ve erkek sıçanların cinsel davranış aşamalarına ait benzerlikler ve farklılıklar Şekil 6'da gösterilmiştir. Bir erkek ve bir dişi sıçan arasındaki cinsel cevap döngüsü ise Şekil 7'de özetlenmiştir (64).




**Şekil 6.** Dişi ve erkek sıçanların cinsel davranışları arasındaki benzerliklerle ilgili hipotez (76).




**Şekil 7.** Sıçanlarda cinsel davranışın şematik gösterimi. M: Mount, I: İntromisyon, E: Ejakülasyon, L: Lordozis, ●: Hopping/darting ve PEI: Post ejakülatör interval (64).

### 3.1.2.2. Cinsel Davranışı Düzenleyen Beyin Bölgeleri

Cinsel davranış çeşitli beyin bölgeleri tarafından düzenlenir. Özellikle, deney hayvanlarında yapılan lezyonlar, elektriksel uyarım, alan takibi ve Fos-immünoreaktivity çalışmalarına bağlı olarak cinsel davranışta fonksiyonel olan beyin bölgeleri açığa çıkarılmıştır (72, 76).

Dişi ve erkeklerdeki cinsel davranışların nöral kontrolünde, beyindeki farklı anatomik ve nörokimyasal sistemler rol oynar. Özellikle cinsel davranışın düzenlenmesinde hipotalamus önemli bir rol oynamaktadır (62).

***Dişi sıçanlarda*;** MPOA, stria terminalisin bed nükleusu (BNST), medial amigdala (MeA), central tegmental alan, ventromedial hipotalamik nükleus (VMN) ve periakuaduktal gray (PAG) bölgeleri çiftleşmeden sonra aktive olan beyin bölgeleridir. Özellikle, kemosensor keşfe bağlı olarak dişi sıçanlarda BNST'nin posteromedial kısmı (BNSTpm) ve MeA'nın posterodorsal kısmı (MeApd) aktive olan beyin bölgeleridir. Ventromedial hipotalamik nükleus lordozis davranışının düzenlenmesindeki esas bölge olup bu bölgenin lezyonuna bağlı olarak lordozisin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir. Yapılan çalışmalarda, mounta karşı oluşan lordozis cevabında VMN'nin ventrolateral kısmının aktive olduğu gösterilmiştir. Dişi hayvanın vajinoservikal uyarımına bağlı olarak MPOA, lateral septum, BNST, MeA, parvoselüler subparafiscular nükleus (SPFp) ve PAG aktive olur. Erkek hayvan ejakülasyona ulaştıktan sonra dişi sıçanlarda MPOA, BNSTpm, MeApd ve SPFp aktive olan bölgeler arasında yer almaktadır. Ayrıca, VMN'nin kaudaventral kısmı ve ventral premammillary nükleus da aktive olan diğer beyin bölgeleridir (76).

***Erkek sıçanlarda;*** çiftleşme öncesi fazda (dişinin anogenital bölgesini koklama davranışına bağlı olarak), BNSTpm, MeApd ve MPOA aktive olur. Çiftleşme fazında ise MPOA, medial MeApd ve BNSTpm'nin kaudodorsal kısmı yoğun olarak aktive olur. Ejakülasyonla alakalı olan beyin bölgeleri arasında kaudal talamusta yer alan SPFp, BNSTpm ve posteromedial amigdala yer almaktadır. Özellikle, ejakülasyonun düzenlenmesinde MPOA önemli bir rol oynamakta ve bunun yanı sıra SPFp'de bu düzenlemede önemli olan diğer bölgedir. Anterior lateral hipotalamik alan, lateral septum ve nükleus akkumbens (NAC) de erkek sıçanların cinsel davranışında rolü olan önemli beyin bölgeleridir (72).

### 3.1.2.3. Cinsel Fonksiyon Bozukluğu (Seksüel Disfonksiyon)

Genel sağlığın önemli bir parçası olan cinsel sağlık, nörolojik, endokrin ve vasküler sistemler tarafından koordine edilen kompleks ve çok yönlü bir süreçle karakterizedir (77). Cinsel fonksiyon bozukluğu ise cinsel fonksiyonda rol oynayan normal fizyolojik ve psikolojik süreçlerin bozulması olarak tanımlanmakta ve genel popülasyonda yaşam kalitesini olumsuz yönde etkilemektedir (78). Cinsel fonksiyon bozukluğu hem kadınlarda hem de erkeklerde oldukça yaygın olmakla birlikte kadınlarda daha sık görülmektedir. Kadınların % 33-60'ında ve erkeklerin ise % 8-52'sinde cinsel fonksiyon bozukluğunun görüldüğü rapor edilmiştir (79).

Kadın ve erkeklerin cinselliğini etkileyen faktörler arasında; obezite, kilo kaybı ve diyet faktörleri, fiziksel aktivite, sigara, alkol, madde (kokain, amfetamin, eroin ve ekstazi gibi) ve antidepresan ilaç kullanımı ile kronik stres yer almaktadır (80, 81). Örneğin, obezite erkeklerde düşük libidoya, kadınlarda ise uyarılma problemlerine yol açarken, kadınlarda düzenli egzersizin cinsel performansı

artırdığı ve cinsel fonksiyon bozukluğunu azalttığı fakat aşırı egzersizin kadın cinselliği üzerinde olumsuz etkileri olabileceği ifade edilmiştir (80, 82).

Cinsel cevap döngüsü, cinsel istek/ilgi, cinsel uyarılma, orgazm ve rezolüsyon olmak üzere 4 aşamadan oluşur ve bu aşamaların bir veya daha fazla evresinde değişiklik meydana gelmesine bağlı olarak cinsel işlev bozukluğu ortaya çıkar. Buna bağlı olarak cinsel işlev bozukluğu 4 kategoriye ayrılır;

1. Cinsel istek bozuklukları [hipoaktif cinsel istek bozukluğu (HSDD) ve cinsel isteksizlik bozukluğu],
2. Cinsel uyarılma bozuklukları (dişi cinsel uyarılma bozukluğu ve erkek erektil bozukluk ya da erektil disfonksiyon),
3. Orgazmik bozukluklar (dişi orgazmik bozukluğu, erkek orgazmik bozukluk ve prematüre ejakülasyon) ve
4. Cinsel ağrı bozuklukları [disparoni (cinsel ilişki sırasında oluşan ağrı) ve vajinusmus] (83).

Bu bozuklukların her biri kalıcı veya tekrarlayabilir nitelikte olabilir. Yapılan araştırmalara bağlı olarak, düşük cinsel istek/ilgi (HSDD) ve cinsel uyarılmadaki bozukluk en sık karşılaşılan sorunlar olarak tanımlanmaktadır (84).

#### 3.1.2.3.1. Cinsel Fonksiyon Bozukluğunun Patofizyolojisi

Cinsel fonksiyon bozukluğunda, nörolojik, hormonal, vasküler ve psikonejik faktörlerdeki değişimler rol oynar. Örneğin, nörolojik hastalıklar (epilepsi ve travmatik beyin hasarı gibi), endokrin bozukluklar (androjen eksikliği ve hiperprolaktinemi gibi), kardiyovasküler hastalıklar (hipertansiyon ve koroner

arter hastalığı gibi) ve depresyona bağlı olarak hem kadınlarda hem de erkeklerde cinsel fonksiyon bozuklukları görülmektedir (85, 86).

Cinsel cevaba çeşitli nörotransmitterler ve nöropeptidler dâhil edilmiş olup cinsel fonksiyon bozukluğu; *artmış serotonin*, *azalmış dopamin*, *kolinerjik ve α1-adrenerjik reseptörlerin blokajı*, *nitrik oksit sentaz inhibisyonu* ve *artmış prolaktin seviyesiyle* ilişkilendirilmiştir. Özellikle artan serotonin seviyesi, 5-$HT_2$ ve 5-$HT_3$ reseptör agonizmi yoluyla, cinsel isteği, ejakülasyonu ve orgazmı inhibe ederken, dopamin salınımı cinsel fonksiyonu artırır (81).

***Kadınlarda,*** vaskülojenik faktörlerdeki herhangi bir fizyolojik bozulma lubrikasyonda bozukluklara ve klitoral erektil yetmezliğe neden olabilir. Menopozda östrojen, progesteron ve androjen seviyelerindeki azalmaya bağlı olarak vajinal lubrikasyonda ve vajina duvarının kalınlığında azalma meydana gelir ve bu azalmalar ağrılı bir ilişkiye neden olabilir. Benzer şekilde, testosteron eksikliği kadınlarda düşük cinsel isteğe neden olurken, prolaktin seviyesinin kronik olarak artması libido ve cinsel aktivitede azalmaya neden olmaktadır (87).

***Erkeklerde;*** hormonal/endokrin bozukluklara bağlı olarak azalmış serum testosteron seviyesi düşük libidoya ve erektil disfonksiyona neden olabilir. Parkinson hastalığında L-DOPA ile tedavi edilen erkek hastalarda artan dopamin seviyesine bağlı olarak cinsel aktivitede bir artış olduğu bildirilmiştir. Benzer şekilde psikotik durumlar için kullanılan dopamin bloke edici ajanların cinsel aktivitede bir azalmaya neden olduğu da ifade edilmiştir (88).

### 3.1.2.3.2. Antidepresan-etkili Cinsel Fonksiyon Bozukluğu

Son zamanlarda, ilaçların potansiyel yan etkisi olarak cinsel fonksiyon bozukluğu dikkat çeken bir konu haline gelmiştir. Cinsel fonksiyon bozukluğu, antihipertansif ve antipsikotik kullanımının yanı sıra antidepresan tedavinin de olumsuz yan etkisi olarak kabul edilmektedir (89).

Yapılan araştırmalarda, antidepresan kullanan hastalarda; antidepresanla ilişkili cinsel fonksiyon bozukluğu insidansının oldukça yüksek olduğu ve bu sıklığın % 24-71 aralığında değiştiği raporlanmış olup, bu bozukluğun sıklığı ve şiddeti kadınlarda ve erkeklerde farklılık göstermemektedir. Özellikle, kullanılan antidepresanın tipi ve psikiyatrik bozukluğun şiddeti seksüel disfonksiyonun varlığı için önemli faktörlerdir (90).

Birçok psikiyatrik hastalığın tedavisinde etkin ve başarılı bir şekilde kullanılan serotonerjik antidepresanlar, özellikle seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI), yüksek cinsel fonksiyon bozukluğu ile ilişkilendirilirken, serotonerjik olmayan ilaçların en düşük cinsel işlev bozukluğuna neden olduğu ifade edilmektedir (88-90). Antidepresan ilaçlar çeşitli mekanizmalarla seksüel disfonksiyona neden olabilir (91). Örneğin, SSRI kullanımında sinaptik 5-HT konsantrasyonunun ve $5\text{-HT}_2$ reseptörlerinin uyarımının artması sonucu mezolimbik dopaminerjik aktivitenin azalmasına bağlı olarak cinsel yan etkiler ortaya çıkmaktadır (92).

Günümüzde SSRI kullanımı ile cinsel yan etki arasındaki ilişki netlik kazanmaya başlamıştır. SSRI kullanımına bağlı olarak gelişen cinsel işlev bozukluğunun varlığı; bozulmuş yaşam kalitesi, klinik belirtilerin kötüleşmesi ve

tedavi uyumunun bozulması gibi sorunlar oluşturabilir. Dolayısıyla, SSRI'ların neden olduğu cinsel işlev bozukluğu yaşayan hastalarda tedavinin kesilmesi sık görülür (90, 93).

Seçici serotonin geri alım inhibitörleri ile tedavi edilen hastaların % 30-50'sinde veya daha fazlasında cinsel istek, uyarılma (vajinal lubrikasyon ve ereksiyon), orgazm ve ejakülasyonda azalma olduğu rapor edilmiştir. Seçici serotonin geri alım inhibitörleri kullanan hastalar, bu cinsel bozuklukların birini veya tamamını yaşayabilir (94).

#### 3.1.2.3.2.1. Paroksetin

Seçici serotonin geri alım inhibitörleri grubunda yer alan antidepresanlar; fluoksetin, paroksetin, fluvoksamin, sitalopram, essitalopram ve sertralindir. Paroksetin ise bu grubun bilinen en güçlü serotonin geri alım inhibitörüdür (81, 95). Bu antidepresanlar arasında en yüksek cinsel yan etkilere neden olan ilaç paroksetin olup bunu sırasıyla fluoksetin, sitalopram, sertralin ve fluvoksamin izlemektedir (94).

Paroksetin, klinik kullanım için onaylanan ilk SSRI'lar arasında yer almakta olup 1990'lardan beri kullanımı mevcuttur (96). Paroksetin, potansiyel ve seçici serotonin geri alım inhibitörü olup depresyon, obsesif kompülsif bozukluk, panik bozukluk, sosyal fobi, anksiyete bozukluğu, post travmatik stres bozukluğu, premenstrual disforik bozukluk ve kronik baş ağrısı tedavisinde kullanılan bir antidepresandır (95).

Paroksetin, serotonin geri alımında presinaptik aktif membran taşıma mekanizmasını bloklayarak serotonerjik transmisyonu artırır, ayrıca sinaptik aralıkta endojen serotonin konsantrasyonu artar ve buna bağlı olarak postsinaptik reseptörlerde serotonerjik aktivite artar (97). Serotonerjik hücre gövdeleri raphe nükleusunda yer alır ve buradan beyin ve omuriliğin çeşitli bölgelerine projeksiyon yapar. Serotonerjik sistem; ruh hali, anksiyete, uyku, iştah, cinsel aktivite, motor aktivite ve gastrointestinal fonksiyon gibi çeşitli psikobiyolojik fonksiyonları modüle etmede rol oynar. SSRI kullanımına bağlı olarak artan serotonin seviyesi hem terapötik etkilere hem de yan etkilere neden olur (98). SSRI kullanımına bağlı olarak; mide bulantısı, uyku bozuklukları, cinsel fonksiyon bozukluğu, iştah değişiklikleri, baş ağrısı ve ağız kuruluğu gibi yan etkiler meydana gelmektedir (99).

Uzun dönem SSRI terapilerinde en sık karşılaşılan yan etkiler arasında cinsel fonksiyon bozukluğu, kilo alma ve uyku bozuklukları yer alır. Klinik araştırmalarda, paroksetin kullanımına bağlı olarak hem kadınlarda hem de erkeklerde libido azalması, erektil disfonksiyon ve vajinal lubrikasyon zorluklarının görüldüğü ortaya koyulmuştur. Özellikle kronik tedavilerde, orgazmik gecikme ve anorgazmi libido azalmasından daha yaygın olarak ortaya çıkar (98, 99).

Paroksetin, $D_2$ reseptör bloke edici özelliğe sahip olduğu için dopaminerjik mezolimbik ödül sistemini de etkiler. Aynı zamanda, paroksetinin hiperprolaktinemi riskini artırması ve nitrik oksidaz aktivitesini de azaltmasına bağlı olarak cinsel yan etkiler ortaya çıkmaktadır (100).

#### 3.1.2.3.3. SSRI-etkili Cinsel Fonksiyon Bozukluğu Tedavisi

Antidepresan-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu için mevcut olan çeşitli tedavi yaklaşımları Tablo 2'de verilmiştir (101). Seçici serotonin geri alım inhibitörleri reçete edilen hastalarda bu ilaçları uzun süre kullanma eğilimi olduğundan, cinsel işlev bozukluğuna yönelik tedavi stratejileri daha çok gündeme gelmektedir. Bu noktada kesin bir tedavi yaklaşımı bulunmasa da, mevcut araştırmalar bu soruna birkaç potansiyel yaklaşım önermektedir. SSRI-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu tedavisi için öngörülen 5 yaygın yaklaşım vardır. Bu yaklaşımlar: 1) bekle ve gör (wait and see), 2) dozu azaltma, 3) ilaç tatilleri (drug holidays), 4) antidepresanı değiştirme ve 5) takviyedir (augmentation) (94, 101).

**Tablo 2.** Antidepresan-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu için tedavi stratejileri (101).

| **Tedavi Tipi** | **Spesifik Terapi** |
|---|---|
| Davranışsal | Egzersiz<br>Cinsel aktivite planlaması<br>Titreşim uyarımı<br>Psikoterapi |
| Tamamlayıcı ve bütünleştirici | Akupunktur<br>Maca kökü<br>Safran<br>Rosa damascena yağı |
| Farmakolojik | Bekle ve göre (dikkatli bekleme)<br>Antidepresanın dozunun azaltılması veya kesilmesi<br>İlaç tatili<br>Antidepresanı değiştirme<br>Yardımcı tedavi (takviye) |

- ***Bekle ve gör*** yaklaşımında, bazı hastaların ilaçların yan etkilerine karşı tolerans geliştirebileceği ve buna bağlı olarak genellikle 4-6 haftalık bir tedavi süresinden sonra tatmin edici cinsel işlevlerin geri döneceği bildirilmiştir. Dolayısıyla tersine dönme durumu toleransla ilişkili olduğu için, bekle ve gör yaklaşımının sınırlı bir uygulaması vardır (89-91, 94, 101).
- ***Dozu azaltma*** olarak ifade edilen diğer yaklaşımda ise, ilacın dozu minimum etkili düzeye düşürülerek cinsel yan etkiler azaltılabilir veya ortadan kaldırılabilir. Fakat bu doz psikiyatrik tedavi için yeterli olmayabilir (85, 89, 91, 94, 101, 102).
- ***İlaç tatillerinde***, ilaç kullanımına 1-3 gün ara verilerek cinsel işlev etkili bir şekilde artırılabilir, fakat bu strateji yalnızca tedaviye uyumlu hastalar için işe yaramakla birlikte uyumsuz hastalarda yan etkileri daha da şiddetlendirebilir. Ayrıca ilaç tatilleri tedaviye uyumu da zayıflatabilir. İlaç tatilleri stratejisinde kullanılan antidepresanın yarılanma ömrü de hesaba katılmalıdır. Örneğin fluoksetinin yarılanma ömrü (2-4 gün) uzun olduğu için fluoksetin kullanan hastalar için bu yaklaşım uygun değildir (85, 89, 91, 94, 101).
- ***Antidepresanı değiştirmede***, SSRI'lar yerine özellikle dopamin artırıcı ajanlar (burpopion gibi) ve serotonin antagonistlerinin (nefazodon; 5-$HT_2$ reseptör antagonisti, mirtazapin; 5-$HT_2$ ve 5-$HT_3$ reseptör antagonisti ve agomelatin; 5-$HT_{2C}$ reseptör antagonisti) kullanımı söz konudur (81, 85, 89, 91, 94, 100-102).
- ***Takviyede*** ise dopamin artırıcılar (amantadin gibi), 5-$HT_2$ veya 5-$HT_3$ reseptör bloke edici ajanlar (periaktin ve granisetron gibi) ve sildenafil kullanımı SSRI kullanımına ilave olarak hastalarda uygulanabilir (91, 94, 101, 102).

Özellikle antidepresanı değiştirme ve takviye stratejileri SSRI-etkili cinsel fonksiyon bozukluklarının tedavisi için daha tercih edilen yöntemler arasındadır (94). Fakat bu stratejilerde, terapötik etkinlik değişmediği için kullanılan ilaca ilave olarak ya da ilacın değişimine bağlı olarak cinsel fonksiyon bozukluğunda meydana gelen düzelmeyle birlikte her ek ilacın kendi yan etki yükü de dikkate alınmalıdır. Dolayısıyla, tüm bu farmokolojik stratejilerin yanı sıra SSRI-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu tedavisi için egzersiz gibi farmakolojik olmayan yaklaşımlar da gündeme gelmiştir (101-103). Yapılan çalışmalarda, egzersizin antidepresan ilaç kullanımı nedeni ile cinsel sorunları olan bireylerde cinsel işlevi iyileştirdiği ortaya koyulmuştur (104).

#### 3.1.2.4. Egzersiz ve Cinsel Fonksiyon

Egzersizin fiziksel ve psikolojik faydalarının olduğu bilinmektedir. Düzenli fiziksel egzersizin hipertansiyon, koroner arter hastalığı, obezite ve diyabet gibi birçok kronik hastalığa karşı koruyucu bir faktör olduğu ve ayrıca osteopeni, osteoporoz ve sarkopeni riskini azaltmak için egzersizin önemli bir etmen olduğu ifade edilmektedir (105). Egzersizin bilinen bu rollerinin yanı sıra egzersiz ile cinsel fonksiyon arasındaki ilişki de dikkat çekmektedir (104).

Cinsel fonksiyon üzerinde; egzersiz frekansı, egzersiz yoğunluğu, egzersiz zamanı ve egzersiz tipini oluşturan *egzersiz değişkenleri* önemli bir rol oynamaktadır (106). Birçok çalışmada, akut ya da kronik egzersizin cinsel istek, cinsel tatmin ve cinsel işlev bozukluğu üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (80, 82, 104, 107). Sınırlı sayıdaki çalışmalarda ise, uzun süreli fiziksel egzersiz veya şiddetli egzersiz gibi aşırı egzersizin cinsellik üzerinde

olumsuz etkileri olduğu belirtilmiştir (82, 108). Egzersiz ile cinsel fonksiyon arasındaki bu farklı sonuçlar egzersiz değişkenleri ile ilişkilendirilmektedir.

Yapılan çalışmalarda, egzersizin cinsel fonksiyonu iyileştirebileceği ve sempatik sinir sistemini aktive edip genital bölgeye kan akışını artırarak antidepresan ilişkili genital uyarılma problemlerinin tedavisinde yardımcı olabileceği belirtilmiştir (103). Sedanter erkek bireylerde günde en az 200 kalori yakarak erektil disfonksiyon riskinin önemli ölçüde azaltılabileceği, kadınların ise 20 dakikalık yoğun egzersizden sonra cinsel olarak daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (105).

Kadın üreme sistemi özellikle yoğun fiziksel aktiviteden olumsuz yönde etkilenmektedir. Genç kızlarda yoğun egzersize bağlı olarak meydana gelen negatif enerji dengesi hormonal dengesizliklere neden olarak puberteye geçişte gecikmeye, gecikmiş menarşa ve azalmış cinsel isteğe neden olmaktadır (109). Dolayısıyla fiziksel egzersiz, her iki cinsiyette de üremeyle ilişkili endokrin faktörler üzerinde değişikliklere neden olarak cinsel fonksiyonu etkileyebilir (104). Bunun yanı sıra, orta şiddetli düzenli egzersizin fertiliteyi ve yardımcı üreme teknoloji sonuçlarını pozitif yönde etkilediği; yüksek yoğunluklu egzersizin ise fertiliteyi azalttığı gösterilmiştir (110).

İlgili literatür incelendiğinde, egzersiz ile cinsel fonksiyon arasındaki ilişkide; hormon seviyeleri (östrojen, testosteron ve progesteron gibi), nörotransmitter seviyeleri (noradrenalin, dopamin ve serotonin gibi), ruhsal durum ve otonom sinir sistemi aktivitesinin rolü olduğu bilinmektedir (111). Fakat bu noktada egzersizle birlikte aktive olan irisin hormonunun başta fertilite olmak üzere

cinsel fonksiyon ve cinsel fonksiyon bozuklukları üzerindeki rolünün tam olarak bilinmediği görülmüştür. Bu tez çalışmasında, bir egzersiz hormonu olan irisinin dişi ve erkek sıçanlarda; 1) cinsel motivasyon ve cinsel performansın kontrolündeki rolünün ve 2) antidepresan etkili cinsel fonksiyon bozukluğu üzerindeki etkilerinin açığa çıkarılması amaçlanmıştır.

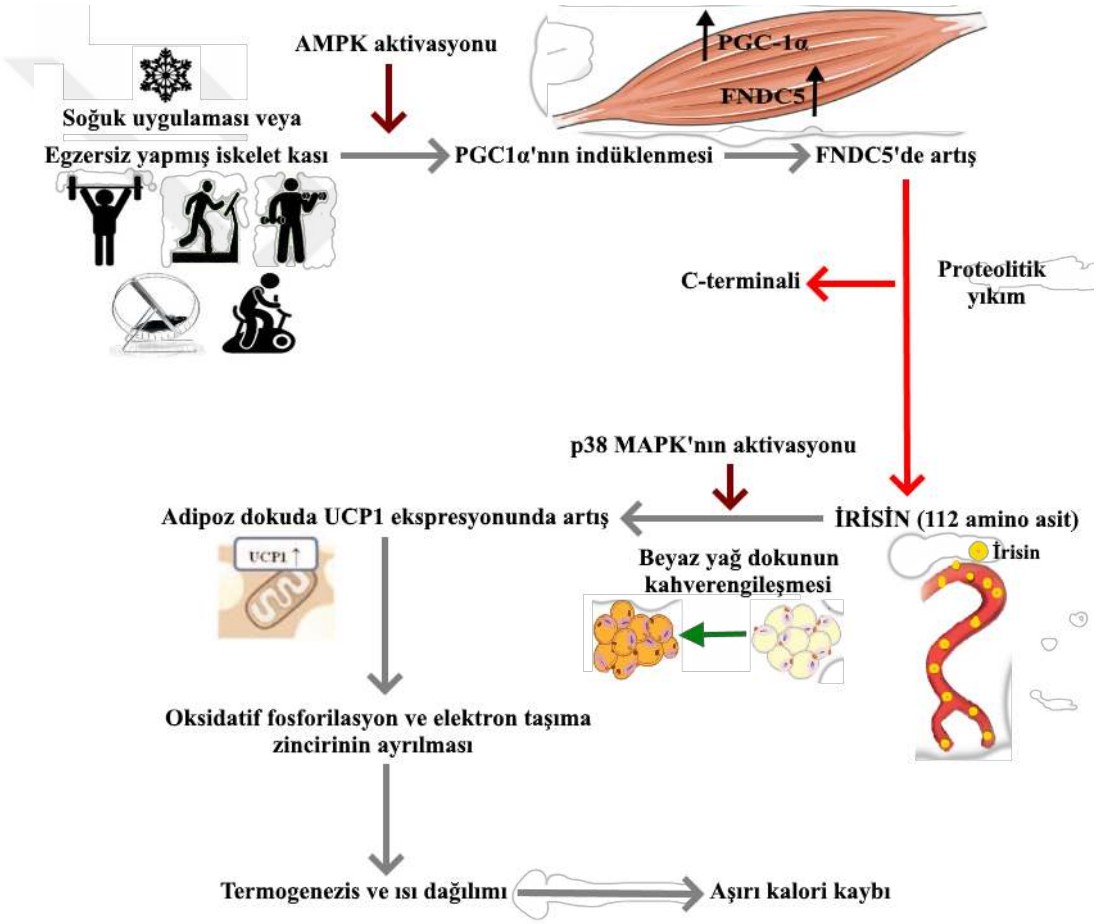
## 3.2. İrisin Hormonu

### 3.2.1. İrisin Hormonunun Moleküler Yapısı, Sentezi ve Etkileri

Egzersiz bütün organlar arasında direkt olarak iskelet kasını etkiler. İskelet kası bir endokrin organ olup, metabolik olarak aktif bir dokudur ve sekretuvar organ olarak tanımlanmaktadır. Egzersizle birlikte iskelet kasından sitokinler ve miyokinler salgılanır, irisin hormonu da bu miyokinlerden birisidir (112). İrisin 2012 yılında Boström ve arkadaşları tarafından, egzersizden hemen sonra kastan salınan kas-türevli bir faktör olarak tanımlanmış, 112 amino asitten oluşan polipeptid yapılı yeni bir hormondur (113). Yapılan çalışmalarda, insanlar ve kemirgenlerdeki irisinin amino asit sekansının % 100 benzer olduğu fakat, insanlardaki irisin sekansında farklı bir başlangıç kodonu olduğu belirtilmiştir (114). İrisin, eski Yunan tanrıçası olan ve Tanrılardan kötü haberleri ileten haberci olarak bilinen İris'ten adını almıştır (115).

Egzersiz, peroksizom proliferatör-aktive reseptör ɣ koaktivatör-1-α'nın (PGC-1α) ekspresyonunu AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK) yolağıyla indükler. PGC1α, enerji metabolizması ile ilişkili birçok biyolojik programa aracılık eden bir transkripsiyonel koaktivatördür (113, 116). Egzersiz veya soğuk uygulamasından sonra, kastaki PGC1α ekspresyonu membran proteini olan fibronektin tip III domain içeren protein 5'in [fibronectin type III domain containing 5 (FNDC5)] ekspresyonunu artırır. İrisin, bilinmeyen bir proteaz tarafından FNDC5'in C-terminalinin proteolitik yıkımından sonra oluşur ve dolaşıma salınır. Dolayısıyla, FNDC5 proteini irisinin prokörsürü olarak bilinir. İrisin, p38 mitojen-aktive edici protein kinazın (MAPK) aktivasyonu aracılığıyla, mitokondriyal bir protein olan ayırıcı protein 1 [uncoupling protein 1 (UCP1)]

ekspresyonunu artırmak için beyaz yağ dokuya etki eder. Sonuç olarak beyaz yağ doku hücreleri kahverengi yağ doku hücrelerine dönüşür (kahverengileşme). Artan UCP1 ekspresyonu kahverengi yağ dokunun biyomarkeri olup termogenezisde artışa neden olarak mitokondriyal ısı üretimi ve enerji harcanmasına neden olur (Şekil 8) (113-116).




**Şekil 8.** İrisin sentezi ve irisinin etki mekanizmasının sistematik diyagramı (Manish et al., 2016'den değiştirilerek alınmıştır) (116).

### 3.2.2. İrisin Hormonunun Kandaki Seviyesi

Yetişkinlerdeki irisin seviyesi; egzersiz, yaş, cinsiyet, kas kütlesi, obezite ve soğuğa maruziyet gibi faktörlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilmektedir. Buna bağlı olarak, irisin seviyesi; vücut ağırlığı, vücut kitle indeksi, bel çevresi ve yağ kütlesi gibi adiposite markerleri ile pozitif ilişkili olduğu için erkeklerdeki irisin seviyesi kadınlara göre daha yüksektir (116, 177).

Boström ve arkadaşları (2012), farelerde 3 haftalık serbest tekerlek koşusu ve insanlarda 10 haftalık dayanıklılık antrenmanından sonra irisin seviyelerinin arttığını göstermişlerdir (113). Buna paralel olarak, Norheim ve arkadaşları (2013) ise normoglisemik ve normal ağırlıkta olan erkeklerle karşılaştırıldığında; prediyabetik ve fazla kilolu olan erkek bireylerde 12 haftalık kombine kuvvet ve dayanıklılık antrenmanının ardından iskelet kasında FNDC5 mRNA ekspresyonunda önemli bir artış olduğunu ortaya koymuşlardır (118). Ayrıca, antrenmanlı olmayan bireylerde kısa süreli egzersizden sonra serum irisin konsantrasyonunda artış olduğu da belirtilmiştir (119). Bir başka çalışmada ise sedanter bireyler ile dayanıklılık ya da direnç egzersizi yapan bireyler arasında kasta FNDC5 mRNA ekspresyonunda bir farklılık olmadığı ifade edilmiştir (120). Benzer şekilde, 6 aylık aerobik ya da kuvvet egzersizi yapan insanlarda ya da 8 haftalık egzersiz yapan genç bireylerde serum irisin konsantrasyonunun değişmediği raporlanmıştır (119, 121). Sonuç olarak egzersize bağlı irisin/FNDC5 üretimindeki bu farklılıkların, olası bir ters düzenlenme/adaptasyon ile egzersizin akut ya da kronik oluşuna bağlı olabileceği önerilmiştir (114).

### 3.2.3. İrisinin Dağılımı

Literatürde, dolaşımdaki irisin ile adipoz dokudaki irisin seviyelerinin; adipoz dokudaki irisin hormonunu kodlayan FNDC5 gen ekspresyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Fakat FNDC5 geni, 200 katlık bir fark ile adipoz dokuya kıyasla iskelet kasında daha güçlü bir şekilde eksprese edilmektedir. Dolayısıyla irisin hormonu bir *adipomiyokin* olarak da bilinir (122). İrisin iskelet kası ve yağ dokunun yanı sıra; karaciğer, kardiyovasküler sistem, beyin, kemik, pankreas, pankreas adacıkları, overler, böbrek, dil, immün sistem, Leydig hücreleri, periferik miyelin kılıfı ve intestinal L hücreleri gibi çeşitli dokularda da bulunur (116, 123). Fakat irisinin bu organlar üzerindeki rolü tam olarak bilinmemektedir. Bugüne kadar yapılan araştırmalarda, irisin hormonunun reseptörü henüz tanımlanmamıştır. Dolayısıyla, bu durum irisinin farklı dokular üzerindeki etki mekanizmalarını ortaya çıkarmayı sınırlamaktadır (115).

### 3.2.4. İrisin ile Üreme Sistemi İlişkisi

Literatürde, insanlarda egzersizle düzeltilebilecek metabolik hastalıklar ve diğer bozukluklar için irisin hormonunun terapötik bir molekül olabileceği ileri sürülmüş olmakla birlikte (113, 116) yapılan sınırlı sayıda çalışmada irisinin üreme sistemi üzerinde etkileri olduğu da raporlanmıştır.

*In vitro* çalışmalarda, ekzojen irisin uygulamasının hipofiz bezinde ve overlerde üreme ekseni etkilerinin olabileceği (117) ve irisin hormonunun balık hipofizinde FSHβ ve LHβ gen ekspresyonunu düzenleyen bir endokrin uyarıcı görevi görebileceği ifade edilmiştir (124). Yapılan son bir çalışmada ise irisin

hormonunun fare hipotalamik nöronal GT1-7 hücrelerinde GnRH'nın salınımı ve sentezi üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olduğu belirtilmiştir (125).

*In vivo* çalışmalarda, irisin hormonunun üreme davranışının merkezi düzenlenmesinde bir rol oynayabileceği ve ayrıca irisinin FSH ve LH sekresyonunu baskılayarak testosteron seviyesini azalttığı ortaya koyulmuştur (126). Majeed ve arkadaşları (2019) ise obez farelerde irisin uygulamasının serum LH ve testosteron seviyelerini azalttığını belirtmişlerdir (127). Bunun yanı sıra, yapılan son bir çalışmada *in vitro* ve *in vivo* araştırmalarla birlikte irisinin, primatlarda spermatogonial aktivitelerin düzenlenmesinde rol oynayan yeni bir endokrin faktör olduğu ortaya koyulmuştur (128).

Klinik araştırmalarda ise, irisinin pubertenin aktivasyonunda rolü olduğu ve sağlıklı kız çocuklarına göre santral puberte prekoks tanısı olan kız çocuklarında serum irisin seviyesinin daha yüksek olduğu ifade edilmiştir (129). Kumsar ve arkadaşları (2021) ise, erektil disfonksiyonu olmayan Tip 2 diyabetli erkeklerdeki serum irisin düzeyinin erektil disfonksiyonu olan Tip 2 diyabetli erkeklere göre daha yüksek olduğunu belirlemişlerdir (130).

Görüldüğü üzere, yukarıda bahsedilen son literatür çalışmalarının ışığında irisin hormonunun üreme sistemi ve cinsel fonksiyon bozukluğu üzerinde bir etkisinin olabileceği ifade edilmekte fakat irisinin üreme sistemini düzenleyen nörohormonal ağ üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemektedir. Buna bağlı olarak, bu tez çalışması kapsamında irisin hormonunun merkezi ve periferal seviyelerde üreme sistemi ve cinsel fonksiyon bozukluğu üzerindeki fizyolojik rolünün ayrıntılı bir şekilde ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

### 3.3. Tez Çalışmasının Amacı

Bu tez çalışmasıyla dişi ve erkek sıçanlarda;

1) İrisin hormonunun pubertal olgunlaşma, üreme sistemi bileşenleri ve cinsel davranış üzerindeki etkilerinin açığa çıkarılması (*1. deneysel aşama*),
2) Paroksetin kullanımına bağlı gelişen cinsel fonksiyon bozukluklarının tedavisinde irisin hormonunun rolünün ortaya çıkarılması (*2. deneysel aşama*) amaçlanmıştır.

İrisin hormonunun puberteye geçiş ve üreme sistemi üzerindeki nöroendokrin etkilerinin araştırılmasını amaçlayan bu tezin hedefleri aşağıda detaylı olarak özetlenmiştir:

***1. deneysel aşamada:***

İrisin hormonunun;

- Dişi ve erkek sıçanlarda puberteye geçiş/pubertal olgunlaşma (puberteye giriş günü, pubertal ağırlık ve ilk östrus yaşı) üzerindeki rolünün belirlenmesi,
- Östrus siklusu üzerindeki etkilerinin belirlenmesi,
- Erkek sıçanlarda cinsel olgunlaşma parametreleri (ilk cinsel davranış gösterme zamanı ile ilk sperm oluşum zamanı) üzerindeki etkilerinin belirlenmesi,
- Dişi ve erkek sıçanlarda cinsel davranış (cinsel motivasyon ve cinsel performans) üzerindeki etkilerinin belirlenmesi,
- Sperm parametreleri (sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve anormal sperm oranı) üzerindeki etkilerinin belirlenmesi,

- Dişi ve erkek sıçanlarda üreme hormonları [FSH, LH, östradiol, progesteron, testosteron, anti-müllerian hormon (AMH) ve inhibin-B] üzerindeki etkilerinin belirlenmesi,
- Dişi ve erkek sıçanlarda üreme fonksiyonunda önemli rolleri olan beyin bölgelerinde (NAC, MPOA ve MeA) noradrenalin, dopamin ve serotonin seviyeleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi ve
- Üreme organları (ovaryum ve testis) üzerindeki histopatolojik etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

***2. deneysel aşamada:***

İrisin hormonunun;

- Dişi ve erkek sıçanlarda paroksetin-etkili cinsel fonksiyon bozukluklarının tedavisindeki rolünün belirlenmesi,
- Paroksetin-etkili sperm parametrelerindeki bozulma (sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve anormal sperm oranı) üzerine etkilerinin belirlenmesi,
- Dişi ve erkek sıçanlarda paroksetine bağlı üreme hormonlarında (FSH, LH, östradiol, progesteron, testosteron ve AMH) meydana gelen değişiklikler üzerine etkilerinin belirlenmesi ve
- Paroksetine bağlı ovaryum ve testis dokularında oluşan histopatolojik değişiklikler üzerindeki etkilerinin belirlenmesi hedeflenmiştir.

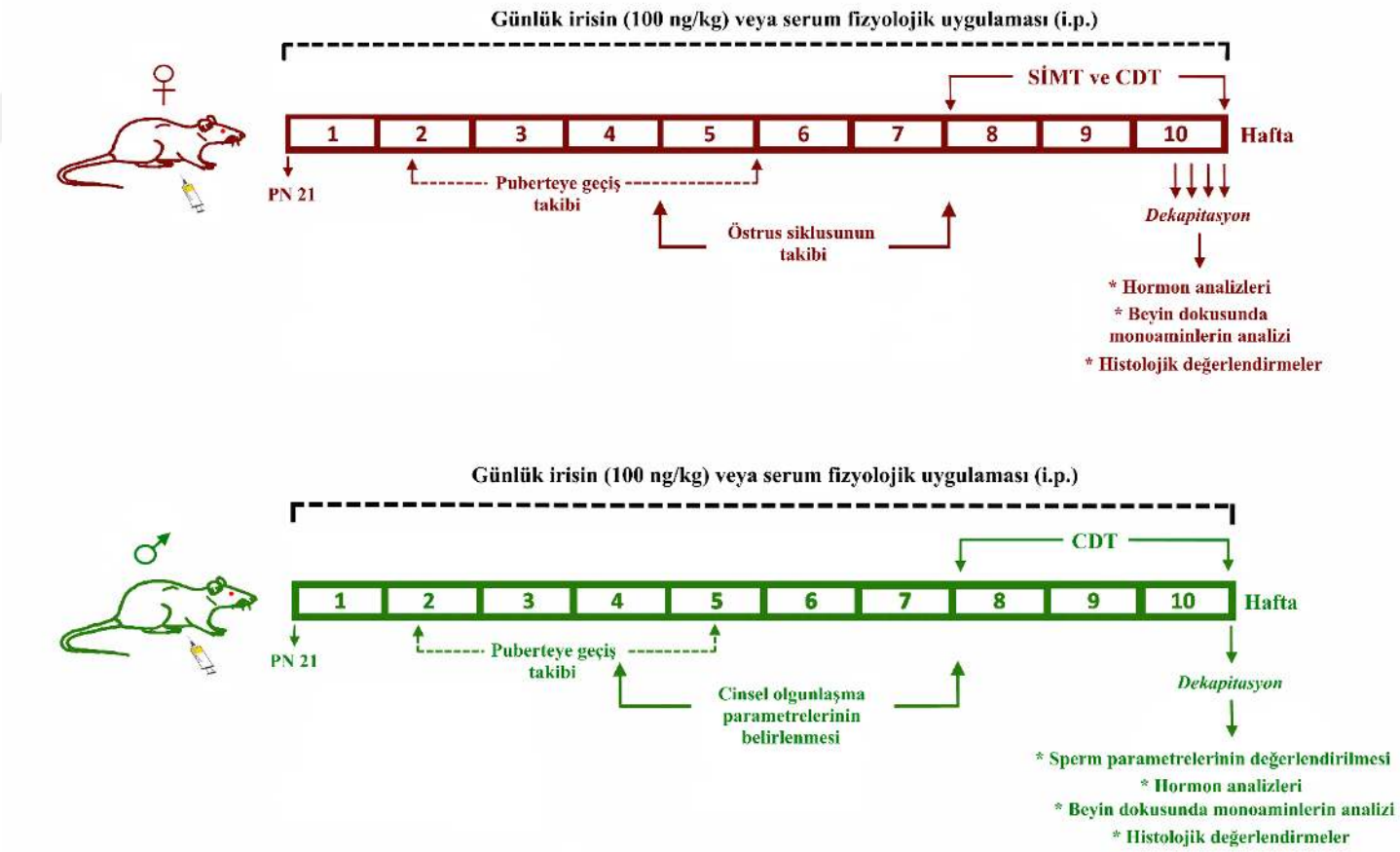
# 4. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 31.01.2018 tarih ve 19 Sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir.

Bu tez çalışması kapsamında, dişi ve erkek sıçanlarda gerçekleştirilen deneysel çalışmalar 2 aşamadan oluşmaktadır.

- *1. deneysel aşamada;* irisinin puberteye geçiş ve üreme sistemi üzerindeki etkinliği;
  - ✓ Puberteye geçiş ve östrus siklusu takibi,
  - ✓ Cinsel fonksiyon ve sperm parametrelerinin değerlendirilmesi,
  - ✓ Üreme hormonlarının seviyelerinin belirlenmesi,
  - ✓ Beyin dokusunda monoaminlerin analizi ve
  - ✓ Üreme organlarında histolojik değerlendirmeler ile sorgulanmıştır (Bu aşamada gerçekleştirilen deneysel çalışmalar Şekil 9'da özetlenmiştir).

- *2. deneysel aşamada ise;* irisinin cinsel fonksiyon bozukluğu üzerindeki etkinliği;
  - ✓ Cinsel fonksiyon ve sperm parametrelerinin değerlendirilmesi,
  - ✓ Üreme hormonlarının seviyelerinin belirlenmesi ve
  - ✓ Üreme organlarında histolojik değerlendirmeler ile sorgulanmıştır (Bu aşamada gerçekleştirilen deneysel çalışmalar ise Şekil 14'de özetlenmiştir).




**Şekil 9.** 1. deneysel aşamada gerçekleştirilen çalışmaların şematik gösterimi. PN: Postnatal, SİMT: Seksüel insentif motivasyon testi, CDT: Cinsel davranış testi ve i.p: intraperitoneal.

## 4.1. İrisinin Puberteye Geçiş ve Üreme Sistemi Üzerindeki Etkinliğinin Sorgulanması (1. Deneysel Aşama)

### 4.1.1. Deney Hayvanları

Çalışmada kullanılan Sprague-Dawley ırkı dişi ve erkek sıçanlar FÜDAM'dan temin edilmiştir. Toplam 24 adet dişi ve 24 adet erkek sıçan, postnatal (PN) 21. günde ve ortalama vücut ağırlıkları 35 ± 2 gram olacak şekilde rastgele seçilmiştir. Sıçanlar, sıcaklığı (22-25 $^{o}$C) ve bağıl nemi sabit tutulan (% 50-60) ve ışık düzeni 12 saat aydınlık/12 saat karanlık olan odalarda (07:00-19:00 zaman aralığında aydınlık faz) 3-4'erli gruplar halinde barındırılmışlardır. Deney süresince, sıçanlar pelet halindeki özel sıçan yemi ve çeşme suyu ile *ad libitum* olarak beslenmişlerdir.

### 4.1.2. Deney Grupları ve İrisin Uygulaması

Sıçanlar dişi ve erkek grubu olacak şekilde 2 ana gruba ve her iki grup ise kontrol ve irisin gruplarını içeren 2 alt gruba ayrılmıştır. Deney grupları:

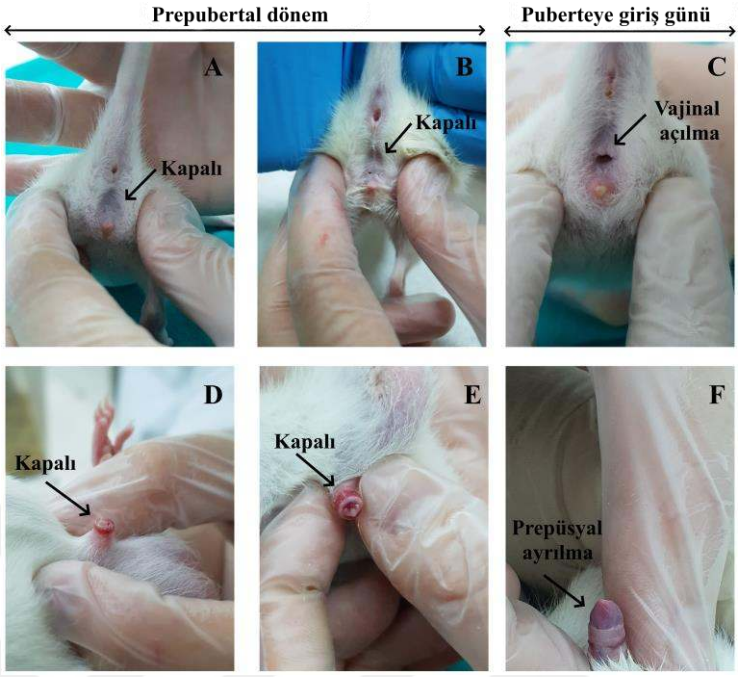
1) Dişi-kontrol grubu (n=12),
2) Dişi-irisin grubu (n=12),
3) Erkek-kontrol grubu (n=12) ve
4) Erkek-irisin grubu (n=12) olarak belirlenmiştir.

İrisin gruplarında yer alan hayvanlara PN 21. günden itibaren başlanarak ortalama 10 hafta süreyle her gün 100 ng/kg dozunda irisin (Sigma-Aldrich, ABD) verilmiştir. İrisin, deiyonize suda çözdürülmüş olup 1 mL/kg hacminde intraperitoneal (i.p.) olarak 13:00-15:00 saatleri arasında verilmiştir. Benzer

şekilde, kontrol grubunda yer alan hayvanlara ise ortalama 10 haftalık olan deney süresince aynı saat diliminde günlük olarak 1 mL/kg hacminde serum fizyolojik i.p. olarak verilmiştir.

### 4.1.3. Puberteye Geçiş Takibi

Dişi sıçanlarda ovaryan aktivitenin ilk dış belirteci olan vajinal açılma ve erkek sıçanlarda glans penisten prepisyumun ayrılması pubertenin başlangıcı olarak kabul edilmektedir (5, 49). Tüm gruplarda yer alan hayvanların PN 30. gününden itibaren, her gün vajinal açıklık ve prepisyum ayrımının takibi yapılarak irisinin puberteye giriş günü ve pubertal ağırlık üzerindeki etkileri belirlenmiştir. Tez çalışması kapsamında, pubertal olgunlaşma süresince; prepubertal dönemde kapalı olan vajina ve ayrılmamış prepisyum ile birlikte puberte başlangıcında vajinanın açılması ve prepisyumun ayrılmasına dair elde edilmiş görüntüler Şekil 10'da verilmiştir.




**Şekil 10.** Sıçanlarda puberteye girişi belirleme. A-C) dişi sıçanlarda vajinal açılmaya kadar geçen süre içerisinde vajinanın morfolojik görünümü. D-F) erkek sıçanlarda puberteye giriş gününe kadar penisin morfolojik görünümü.

### 4.1.4. Östrus Siklusunun Takibi

Dişi sıçanların vajinal açıklıklarının belirlendiği günden itibaren başlanarak 15 gün süreyle (ortalama 3 östrus döngüsü olacak şekilde) her gün 10:00-12:00 saatleri arasında vajinal smear yöntemiyle hayvanların östrus siklusu takibi yapılmıştır. Bununla birlikte hayvanların ilk östrus yaşı da belirlenmiştir. Sıçanlarda östrus döngüsü; ortalama 4-5 gün sürmekte ve metöstrus (diöstrus I), diöstrus (diöstrus II), proöstrus ve östrus olmak üzere toplamda 4 fazdan oluşmaktadır. Her bir fazın karakterizasyonu ise vajinal smearde görülen hücrelerin tipi (lökosit, çekirdekli epitel hücre ve kornifiye epitel hücre) ve miktarına göre yapılmaktadır (Tablo 3) (131, 132).

**Tablo 3.** Sıçanlarda östrus siklusu (131, 132).

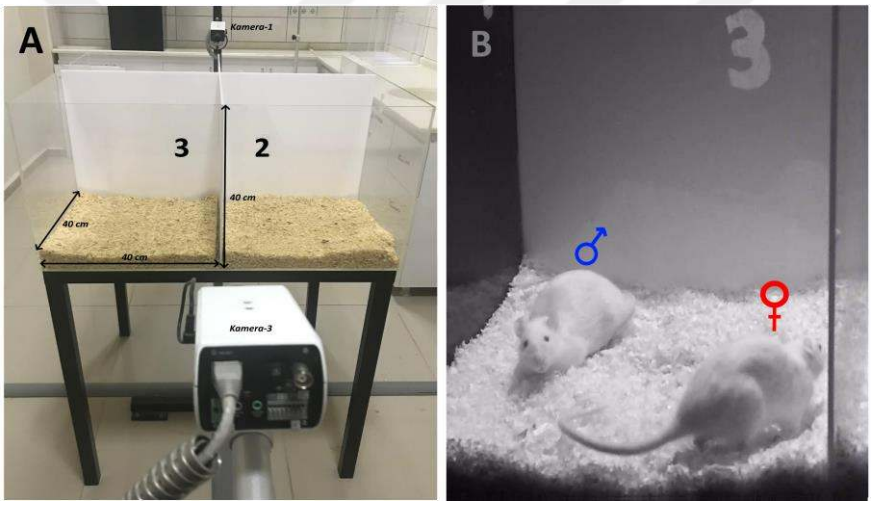
| Östrus fazı | Ortalama döngü uzunluğu (saat) | Vajinal smearda baskın olarak görülen hücre tipi |
|---|---|---|
| Metöstrus | 6-8 | Lökosit, çekirdekli epitel hücre ve kornifiye epitel hücre |
| Diöstrus | 48-72 | Lökosit |
| Proöstrus | 14 | Çekirdekli epitel hücre |
| Östrus | 24-48 | Kornifiye epitel hücre |

### 4.1.5. Cinsel Fonksiyonun Değerlendirilmesi

Tez çalışması kapsamında, dişi ve erkek sıçanların cinsel fonksiyonunu değerlendirmek için ***Cinsel Davranış Testi (CDT)*** ve ***Seksüel İnsentif Motivasyon Testi (SİMT)*** yapılmıştır. Cinsel davranış testi ile hayvanların cinsel motivasyonu ve cinsel performansı belirlenirken, seksüel insentif motivasyon testi ile cinsel motivasyon ölçülür. Deneysel çalışmaların ilk aşamasında, kronik irisin uygulamasının dişi ve erkek sıçanların cinsel davranışı üzerindeki etkilerini belirlemek için; erişkinliğe ulaşan dişi sıçanlarda SİMT ve CDT; erkek sıçanlarda ise CDT yapılmıştır.

Sıçanlarda ideal çiftleşme zamanı, hayvanların aktif olduğu yani karanlık periyotta oldukları zaman aralığıdır (75). Dolayısıyla tez çalışması kapsamında gerçekleştirilen tüm cinsel davranış testleri; cinsel davranış laboratuvarının aydınlık-karanlık döngüsü değiştirilerek, video kayıt sistemiyle (LimeLight system) karanlık fazda ve kırmızı ışık altında gerçekleştirilmiştir.

Cinsel davranış testlerinde savunmasız çiftleşme düzeneği (non-paced mating apparatus) (40 x 40 x 40 cm) kullanılmıştır (Şekil 11). Bu testte; dişi ve erkek sıçan birlikte test alanına/düzeneğine yerleştirilir ve bu düzenekte dişi hayvanın erkek hayvandan kaçabileceği bir alan yoktur. Dolayısıyla hayvanlar sürekli olarak birbiriyle temas halindedir (133, 134). Hayvanların CDT'lerini gerçekleştirmeden önce, test düzeneğine adaptasyonun sağlanması amacıyla sıçanlar bireysel olarak düzeneğe birkaç gün bırakılmışlardır (alanda cinsel uyaran olmadan).




**Şekil 11.** Savunmasız çiftleşme düzeneği. A) düzeneğin genel şekli ve B) karanlık fazda, 3 numaralı kafeste gerçekleştirilen cinsel davranış testi.

***Test Hayvanları:*** Dişi sıçanların seksüel insentif motivasyon ve cinsel davranış testlerinin yapılmasında cinsel olarak deneyimli ve ortalama 3-4 aylık olan Sprague-Dawley ırkı erkek sıçanlar kullanılmıştır. Ayrıca SİMT'de sosyal uyaran olarak ortalama 2-3 aylık, overektomi yapılmış ve hormon uygulanmamış (östradiol ve/veya progesteron) Sprague-Dawley ırkı dişi sıçanlar da çalışmaya dâhil edilmiştir.

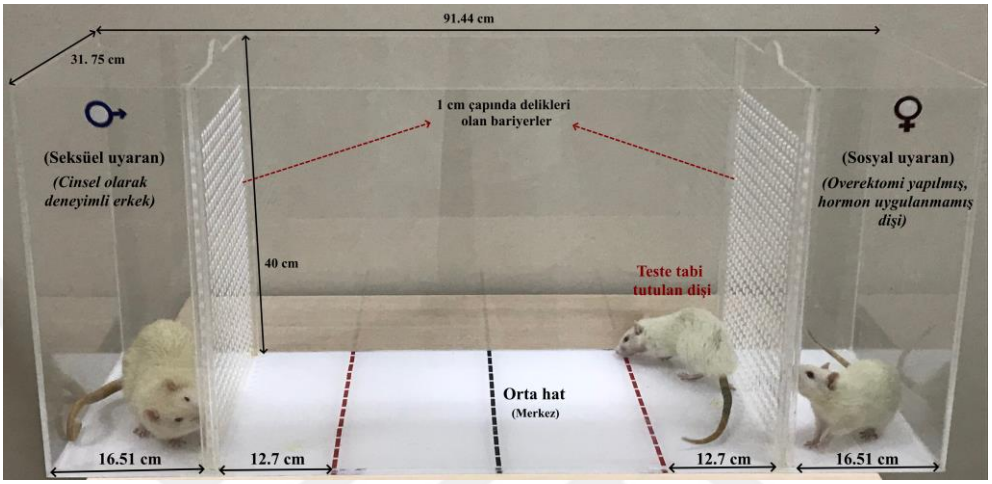
Erkek sıçanların cinsel davranış testlerinde kullanılan Sprague-Dawley ırkı dişi sıçanlar birden çok testte kullanılacağı için olası gebeliği önlemek adına hayvanlara overektomi yapılmıştır. Daha sonra bu hayvanlara, CDT'den 48 saat önce 10 µg östradiol (Sigma-Aldrich, ABD) ve 4 saat önce de 500 µg progesteron (Sigma-Aldrich, ABD) susam yağında çözdürülerek 0.1 mL hacminde subkutan olarak verilmiştir (135). Böylece hormon uygulamasına bağlı olarak östrus fazına alınan dişi sıçanlar ile erkek sıçanların cinsel davranış testleri gerçekleştirilmiştir.

Test hayvanı olarak belirtilen bu dişi ve erkek sıçanlar sadece SİMT ve CDT'lerde kullanılmış olup bu hayvanlara ait herhangi bir veri alınmamıştır.

#### 4.1.5.1. Dişi Sıçanlarda Seksüel İnsentif Motivasyon Testi

Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanların cinsel motivasyonu üzerindeki etkilerini belirlemek için sıçanlarda SİMT yapılmıştır. Bu testte, 3-bölmeli bir aparat (91.44 x 31.75 x 40 cm) kullanılmaktadır (Şekil 12). Deneye tabi tutulan dişi sıçan 3-bölmeli düzeneğin orta bölmesine yerleştirilir. Düzeneğin sağ ve sol bölmelerinde (16.51 cm uzunluğunda) ise seksüel ve sosyal uyaranlar yer alır. Seksüel uyaran olarak gonadal olarak intak ve cinsel olarak deneyimli erkek hayvan kullanılırken sosyal uyaran olarak nonöstrus olan overektomi yapılmış ve hormon uygulanmamış (östradiol ve/veya progesteron) dişi kullanılır. Bu testte deneye tabi tutulan dişi sıçan ile uyarıcı hayvanlar arasındaki fiziksel temas bir bariyer aracılığıyla engellenmiştir. Fakat bariyerler üzerindeki küçük delikler (1 cm çaplı) aracılığıyla hayvanların birbirini görmesi, koklaması ve işitmesine izin verilmiştir. Teste tabi tutulan dişi hayvanın 4 patisi, uyaranları ayıran bariyerin bitişiğinde yer alan 12.7 cm'lik bir alanın içinde olduğu sürece, bu hayvanın seksüel veya sosyal

uyaran yanında zaman harcadığı kabul edilir. Seksüel insentif motivasyon testinde, dişi hayvanın cinsel olarak aktif bir erkeğin yanında daha fazla zaman harcaması, dişi hayvanın cinsel motivasyonunun/uyarılmasının arttığını düşündürmektedir (134).




**Şekil 12.** Seksüel insentif motivasyon testi aparatı.

Seksüel insenif motivasyon testinde değerlendirilen parametreler;

- Erkek hayvanın yanında harcanan süre (EHS),
- Dişi hayvanın yanında harcanan süre (DHS),
- Toplam harcanan süre (EHS + DHS = THS),
- Erkek tercih oranı (EHS/THS) ve
- Aktivite indeksidir (merkezden geçme sayısı) (134).

Seksüel insentif motivasyon testinde değerlendirilen bir diğer parametre ise ***aktif keşiftir***. Hawcock ve arkadaşları (2010) tarafından tanımlanmış olan aktif keşif, dişi hayvanın, hayvanları birbirinden ayıran bariyeri koklama, yalama,

çiğneme ve tırmanma ile birlikte dişinin bu bariyerler aracılığıyla seksüel veya sosyal uyarana ulaşmasını içeren bir kavramdır (70).

Aktif keşifte değerlendirin parametreler şunlardır:

- Erkeği araştırmak için harcanan süre (EAS),
- Dişiyi araştırmak için harcanan süre (DAS),
- Toplam araştırma süresi (EAS + DAS = TAS) ve
- Erkek araştırma oranı (EAS/TAS) (70).

İrisin/serum fizyolojik uygulamasının ortalama 8 haftasından itibaren hayvanlara düzenli olarak vajinal smear yapılmış ve östrus fazında (cinsel olarak dişi hayvanın erkek hayvanı kabul ettiği dönem) olduğu belirlenen hayvanlara SİMT yapılmıştır. Dişi sıçanlara SİMT yapılmadan önce, deney düzeneğine adaptasyonun sağlanması amacıyla, hayvanlar alanda sosyal veya seksüel uyaranlar olmadan günde 30 dakika boyunca 2 gün süreyle alana bırakılmışlardır. Deney günü ise test alanında 5 dakika daha bırakılarak hayvanların adaptasyonları sağlanmıştır. İrisin uygulamasından 2 saat sonra (15:00-17:00 saatleri arasında), 10 dakikalık bir SİMT yapılmış ve videolar kayıt altına alınarak sonrasında analiz edilmiştir. Seksüel insentif motivasyon testine başlamadan önce ve her bir hayvanın SİMT'si tamamlandıktan sonra test aparatı % 70'lik etanol ile temizlenmiş ve böylece her bir testten sonra kalan dışkı, idrar ve koku uzaklaştırılmıştır. Tüm dişi sıçanların SİMT'si deney süresinin 8-9. haftaları arasında tamamlanmıştır.

#### 4.1.5.2. Dişi Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi

Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanların cinsel performansı yani reseptif davranışı üzerindeki etkilerini belirlemek için sıçanlarda CDT yapılmıştır. Buna bağlı olarak, seksüel insentif motivasyon testi tamamlanan tüm dişi sıçanlara vajinal smear yapılmaya devam edilmiş ve östrus fazında olduğu belirlenen hayvana CDT yapılmıştır. İrisin/serum fizyolojik uygulamasından 2 saat sonra (15:00-17:00 saatleri arasında) östrus fazında olan dişi ile cinsel olarak aktif olan erkek hayvan savunmasız çiftleşme düzeneğine birlikte yerleştirilmiş ve dişi hayvan 10 mount alana kadar veya maksimum 10 dakika boyunca testler kayıt altına alınmış (136) ve sonrasında analiz edilmiştir. Bu testte dişi sıçanların, lordozis oranı (L/M x 100) ve 4-nokta skalasına göre lordozis derecesi belirlenmiştir. Tüm dişi sıçanların CDT'si deney süresinin 9-10. haftaları arasında tamamlanmıştır.

#### 4.1.5.3. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi

Erkek sıçanların puberteye girişleri tamamlandıktan sonra, günlük olarak cinsel davranış testleri yapılarak hayvanların ilk kez cinsel davranış gösterdikleri zaman belirlenmiştir. Bunun yanı sıra cinsel davranış testlerinde ejakülasyona ulaşan hayvanlar için dişi sıçanlarda vajinal smear yapılarak ilk sperm oluşum zamanı belirlenmiştir.

Cinsel olgunluk tamamlandıktan sonra, irisin/serum fizyolojik uygulamasının ortalama 8. haftasından itibaren hayvanlara CDT yapılarak kronik irisin uygulamasının erkek sıçanların hem cinsel motivasyonu hem de cinsel performansı üzerindeki etkileri belirlenmiştir. İrisin/serum fizyolojik uygulamasından 2 saat sonra (15:00-17:00 saatleri arasında) erkek sıçan ile dişi

sıçan savunmasız çiftleşme düzeneğine yerleştirilmiş ve 30 dakika boyunca kayıt alınmıştır. Her bir hayvana 3-4 gün aralıklarla toplamda 2 kez CDT yapılmış olup tüm erkek sıçanların CDT'si deney süresinin 10. haftasında tamamlanmıştır. Daha sonra kayıtlar analiz edilmiş ve elde edilen her bir parametre için ortalama değer alınmıştır. Cinsel davranış testinde değerlendirilen parametreler aşağıda özetlenmiştir:

- ***Mount latensi (ML);*** hayvanların ilk bir araya gelmesinden sonra ilk mounta kadar geçen süredir.
- ***İntromisyon latensi (IL);*** hayvanların ilk bir araya gelmesinden sonra ilk intromisyona kadar geçen süredir.
- ***Ejakülasyon latensi (EL);*** ilk intromisyondan ilk ejakülasyona kadar geçen süredir (Test süresince, ejakülasyon göstermeyen hayvanlar için ejakülasyon latensi 30 dakika olarak kabul edilmiştir).
- ***Mount frekansı (MF);*** 30 dakika içerisindeki toplam mount sayısıdır.
- ***İntromisyon frekansı (IF);*** 30 dakika içerisindeki toplam intromisyon sayısıdır.
- ***Ejakülasyon frekansı (EF);*** 30 dakika içerisindeki toplam ejakülasyon sayısıdır.
- ***Post ejakülatör interval (ejakülasyon sonrası aralık) (PEI);*** ilk ejakülasyondan sonra hayvanın göstermiş olduğu ilk harekete (mount ya da intromisyon) kadar geçen süredir.
- ***İntromisyon oranı (IO);*** toplam intromisyon sayısının toplam mount ve intromisyon sayısına bölünmesiyle elde edilen bir parametredir (IF/MF+IF).

- ***Çiftleşme oranı (ÇO);*** toplam mount ve intromisyon sayısının ilk mount/intromisyondan ejakülasyona kadar geçen süreye bölünmesiyle elde edilen bir parametredir (64, 137).

Tüm bu parametreler ile birlikte, cinsel davranış yoğunluğunun genel bir ölçüsü olarak ***cinsel aktivite indeksi*** de (CAİ) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$CAİ = \log (1/ML \times t) + \log (1/IL \times t) + \log (1/EL \times t) \sqrt{(MF + IF)} + Y$$

Bu formülde "*t*" cinsel davranış testinin süresini saniye olarak ifade etmekte olup 1800 olarak kullanılmıştır. "*Y*" ise hayvan ejakülasyon gösterdiğinde 4 ve göstermediğinde ise 0 olarak alınmıştır. Mount, intromisyon ve ejakülasyon latensleri ise saniye olarak kullanılmıştır (138).

### 4.1.6. Deneyin Sonlandırılması

Cinsel davranış testinin tamamlandığı günde yani dişi sıçanlar östrus fazındayken deney sonlandırılmıştır. Benzer şekilde, erkek sıçanlarda da deneyin sonlandırılması için cinsel davranış testlerinin tamamlanmış olması esas alınmıştır. Deneyin son gününde hayvanlar anesteziye alınmadan dekapite edilmiştir. Ardından sıçanların kafatası açılarak beyinleri çıkarılıp kuru buz üzerinde dondurularak analiz yapılıncaya kadar -80 $^{o}$C'de muhafaza edilmiştir. Dekapitasyonu takiben hayvanlardan alınan kan numuneleri 4500 rpm hızda 5 dakika santrifüj edilmiş (Hettich, Almanya) ve elde edilen serum örnekleri analiz

yapılıncaya kadar -20 ºC'de saklanmıştır. Ayrıca histolojik analizler için ovaryum dokuları % 10'luk formaldehit solüsyonuna (Tekkim, Türkiye), testis dokuları ise bouin solüsyonuna (MOSLAB, Türkiye) alınmıştır. Sıçanların epididimisleri ise sperm parametrelerinin değerlendirilmesi amacıyla kullanılmıştır.

### 4.1.7. Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Kronik irisin uygulamasının sperm parametreleri üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, deney sonunda sıçanların sol epididimislerinden sperm motilitesi ve anormal sperm oranları, sağ epididimislerinden ise sperm yoğunluğu belirlenmiştir.

Öncelikli olarak sıcaklığı 37 ºC'ye ayarlanmış mikroskobun ısıtma tablasına bir lam yerleştirilerek ısıtılmıştır. Ardından bu lama 200 µL Tris buffer solüsyonu [3.63 g Tris (hidroksimetil)aminometan (Merck-Millipore, Almanya), 0.5 g glukoz (Merck-Millipore, Almanya), 1.99 g sitrik asit (Merck-Millipore, Almanya) ve 100 mL distile su] damlatılmıştır. Daha sonra her bir hayvanın sol kauda epididimisinden kesi yapılarak alınan ve spermatozoon içeren bir damla süspansiyon (yaklaşık 5-10 µL) 37 ºC'deki Tris buffer solüsyonu üzerine damlatılmış ve bir lamel yardımıyla karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Hemen ardından ışık mikroskobunun 400'lük büyütmesinde motilite tayini yapılmıştır. Değerlendirmede, her bir hayvana ait örnek için 3 farklı mikroskop sahası incelenmiş ve incelenen bu sahaların ortalama değerleri % motilite oranı olarak hesaplanmıştır.

Morfolojik olarak anormal olan spermlerin oranını belirlemek için, motilite tayininde kullanılan 37 ºC'deki Tris buffer-sperm karışımından 10 µl alınarak bir

lam üzerine bırakılmış ve daha sonra üzerine 30 µl eozin-nigrosin boyası [% 1.67 eozin, % 10 nigrosin (Merck-Millipore, Almanya) ve 0.1 M sodyum sitrat (Merck, Almanya)] eklenip karıştırıldıktan sonra sürme froti (periferik yayma) hazırlanmıştır. Her bir hayvana ait frotilerde ışık mikroskobuyla 200 sperm incelenmiş ve bunun sonucunda spermlerdeki baş, kuyruk ve toplam anomali oranları yüzde olarak hesaplanmıştır.

Sperm konsantrasyonunun tayini için hemositometrik yöntem kullanılmıştır. Deney sonunda her bir hayvandan alınan sağ kauda epididimis, petri kutusu içerisinde yer alan 1 mL serum fizyolojikte bir bistüri yardımıyla iyice parçalanmıştır. Ardından epididimal dokudaki tüm spermatozoonların sıvıya geçmesi için bu karışım oda sıcaklığında 4 saat inkübasyona bırakılmıştır. Bekleme süresi tamamlandıktan sonra, spermatozoon içeren süpernatant eritrosit pipetinin 0.5 çizgisine kadar ve %1'lik eozin solüsyonu (Merck-Millipore, Almanya) ise 101 çizgisine kadar çekilmiş ve homojenizasyonun sağlanması için pipet kısa bir süre baş ve işaret parmağı arasında çalkalanmıştır. Daha sonra pipetteki karışımdan yaklaşık 10 µl Improved Neubauer sayım lamına alınmış ve 400 küçük kareye düşen spermler sayıldıktan sonra hesaplama yapılarak sağ kauda epididimal dokudaki sperm sayısı belirlenmiştir (139).

### 4.1.8. Hormon Analizleri

Tez çalışmasının bu aşamasında, kronik irisin uygulamasının dişi ve erkek sıçanların üreme hormonları üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, deney sonunda alınan serum numunelerinden ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay) yöntemiyle FSH, LH, östradiol, progesteron, testosteron, inhibin-B ve AMH

seviyeleri ölçülmüştür. Ölçülen hormonlara ait kitler ve kitlerin hassasiyeti ile ölçüm aralıkları aşağıda verilmiştir:

- Rat spesifik **FSH** ELISA kitinin (E-EL-R0391; Elabscience, ABD) hassasiyeti 1.88 ng/mL olup ölçüm aralığı 3.13-200 ng/mL'dir. Deney sonunda standartlar ve serum numunelerinden elde edilen optik dansiteler otomatik ELISA plate okuyucuda (Thermo Scientific, ABD) 450 nm dalga boyunda ölçülmüştür.
- Rat spesifik **LH** ELISA kitinin (ENZ-KIT107; Enzo Life Sciences, İsviçre) hassasiyeti 5.2 mIU/mL olup ölçüm aralığı 1.2-280 mIU/mL'dir. LH plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.
- Rat spesifik **östradiol** ELISA kitinin (ADI-900-008; Enzo Life Sciences, İsviçre) hassasiyeti 28.5 pg/mL olup ölçüm aralığı 29.3-30000 pg/mL'dir. Deney sonunda elde edilen optik dansiteler 405 nm dalga boyunda okutulmuştur.
- Rat spesifik **progesteron** ELISA kitinin (ADI-900-011; Enzo Life Sciences, İsviçre) hassasiyeti 8.57 pg/mL olup ölçüm aralığı 15.62-500 pg/mL'dir. Progesteron plate'i için elde edilen optik dansiteler 405 nm dalga boyunda okutulmuştur.
- Rat spesifik **testosteron** ELISA kitinin (CSB-E05100r; Cusabio, Çin) hassasiyeti 0.06 ng/mL olup ölçüm aralığı 0.13-25.6 ng/mL'dir. Deney sonunda elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.
- Rat spesifik **inhibin-B** ELISA kitinin (E-EL-R1027; Elabscience, ABD) hassasiyeti 9.38 pg/mL olup ölçüm aralığı 15.63-1000 pg/mL'dir. İnhibin-B plate'i için elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

- Rat spesifik **AMH** ELISA kitinin (E-EL-R0640; Elabscience, ABD) hassasiyeti 0.1 ng/mL olup ölçüm aralığı 0.16-10 ng/mL'dir. Deney sonunda elde edilen optik dansiteler 450 nm dalga boyunda okutulmuştur.

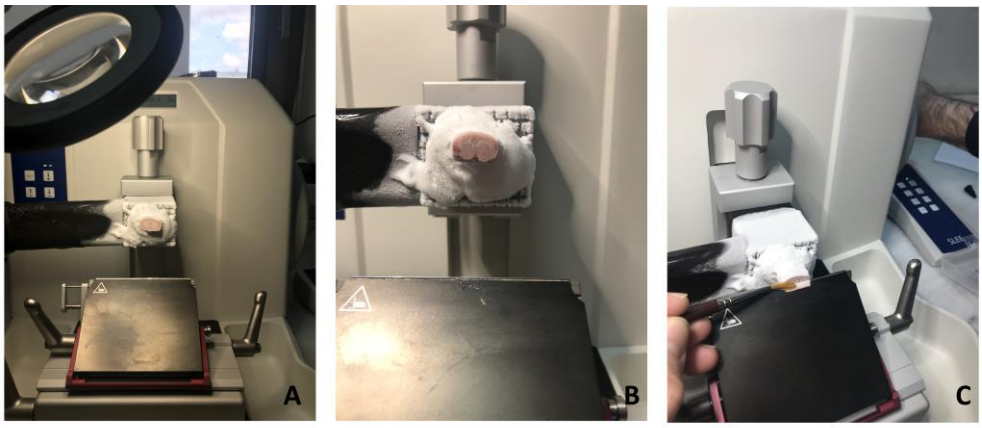
### 4.1.9. Beyin Dokusunda Monoaminlerin Analizi

Kronik irisin uygulamasının cinsel aktivitede önemli rolleri olan; nükleus akkumbens, medial preoptik alan ve medial amigdalada monoamin seviyeleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi amacıyla her gruptan 6 adet beyin dokusunda elektrokimyasal dedektörlü yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC-ECD) yöntemiyle monoamin tayini yapılmıştır.

#### 4.1.9.1. Mikrodiseksiyon ve Mikropanç İşlemleri

Deney sonunda alınmış ve -80 $^{o}$C'de muhafaza edilmiş olan beyin dokularının prefrontal korteks bölgesi ve serebellumun distal bölgesi bistüri yardımıyla düzgün bir şekilde kesilmiştir. Daha sonra beyin dokusu, ventral yüzeyi alta ve frontal yüzeyi üste gelecek şekilde -25 $^{o}$C'ye ayarlanmış soğutmalı mikrotomun (Slee Cut 5062, Almanya) platformuna dondurucu jel (Slee Medical, Almanya) yardımıyla yapıştırılmıştır. Ardından sıçan beyin atlasından elde edilen sterotaksik koordinatların rehberliğinde, NAC, MPOA ve MeA'nın yer aldığı beyin dokusu kesitlerinden; mikropanç işleminde kullanılan 0.3 ve/veya 0.7 mm iç çapa sahip olan panç iğneleriyle ilgili doku numuneleri ayrı ayrı ependorflara alınarak -80 $^{o}$C'de saklanmıştır. Özellikle beyin dokularının platforma yerleştirilmesinde, doku kesitlerinin alınmasında ve panç işlemleri boyunca dokuların kuru buz ile

temasına özen gösterilerek protein yapının bozulmamasına dikkat edilmiştir (Şekil 13).




**Şekil 13.** Sıçan beyin dokusunda mikropanç tekniği ile beyin bölgelerinin alınması. A, B) beyin dokusu yerleştirilmiş soğutmalı mikrotomun genel görüntüsü, C) beyin dokusundan kesit alınması, D) kuru buz üzerinde lama alınmış beyin kesitinin görüntüsü ve E) beyin kesitinden nükleus akkumbens bölgesinin mikropanç ile alındıktan sonra elde edilmiş olan görüntüsü.

#### 4.1.9.2. Beyin Ekstraktlarının Hazırlanması

Tüm beyin bölgeleri için mikropanç işlemleri tamamlandıktan sonra, epondorflara alınmış olan beyin dokularına 50 µL 3,4 Dihidroksibenzilamin hidrobromid (DHBA, Sigma-Aldrich, ABD) ve 0.1 M'lık 100 µL Hidroklorik Asit (HCl, Riedel-de Haën, ABD) solüsyonu eklenmiştir. Daha sonra bu numuneler,

homojenize oluncaya kadar vorteks yardımıyla yaklaşık 5-6 dakika boyunca karıştırılıp santrifüj cihazına yerleştirilmiştir. Numuneler +4 ºC'de 4000 rpm'de 10 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra, ependorfların üst kısmında kalan berrak sıvı (süpernatant) 0.5 mL'lik ependorflara alınmıştır. Bu sıvı kısımlar daha sonra HPLC-ECD sisteminde analiz edilmek üzere -20 ºC'de muhafaza edilmiştir. Ependorfun alt kısmında kalan doku numuneleri ise tekrar kuru buzda dondurularak total protein tayini yapılıncaya kadar -80 ºC'de saklanmıştır.

#### 4.1.9.3. Total Protein Tayini

Lowry ve arkadaşlarının (140) modifiye edilmiş metodu ile santrifüjden sonra ependorfta kalan doku numunelerinden protein miktarı belirlenmiştir.

Öncelikli olarak, protein konsantrasyonları için Bovine Serum Albumin (BSA, Sigma-Aldrich, ABD) kullanılarak standart bir eğri oluşturulmuştur. Bunun için bilinen miktarlarda BSA tartılmış (40, 80, 120, 160, 200, 240 ve 280 µg olmak üzere) ve tartılan her bir BSA örneği 210 µL 0.1 M'lık Sodyum Hidroksit (NaOH, Merck, Almanya) ile bir gece boyunca +4 ºC'de inkübe edilmiştir. Ertesi sabah her bir BSA örneği vorteks ile 1 dakika boyunca karıştırıldıktan sonra, iki spektrofotometre küvetine 100'er µL olarak koyulmuştur. Ardından her bir küvete 900 µl distile su ve 1 mL Coomassie Blue (Thermo Scientific, ABD) eklenmiş ve hemen spektrofotometrede (Jasco V-530, Tokyo, Japonya) 595 nm dalga boyunda okutularak her bir BSA'nın absorbans değeri elde edilmiştir. Blank solüsyonu ise 200 µL 0.1 M'lık NaOH ve 1800 µL distile sudan oluşturulmuştur. Blank ve tüm BSA örnekleri duplike olarak çalışılmış ve elde edilen her bir örnek için ortalama

değer alınmıştır. Bunun sonucunda, elde edilen standart eğride "y = 0.0045x + 0.1659" formülü elde edilmiştir.

Ardından, beyin numunelerinin bulunduğu her bir ependorfa 210 µL 0.1 M'lık NaOH çözeltisi eklenmiş ve bir gece boyunca +4 ºC'de inkübe edilmiştir. Ertesi sabah ependorflar bir dakika boyunca vorteksle karıştırıldıktan sonra, iki spektrofotometre küvetine her bir numuneden 100'er µL olarak koyulmuştur. Daha sonra her bir küvete 900 µL distile su ve 1 mL Coomassie Blue eklenmiş ve hemen spektrofotometrede 595 nm dalga boyunda okutma yapılarak absorbans değerleri elde edilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri, BSA kullanılarak elde edilmiş formülde "y" yerine konularak protein değeri µg olarak elde edilmiştir. Böylece, her bir numune için elde edilen iki değerin toplamı alınarak bir beyin bölgesine ait total protein miktarı belirlenmiştir.

#### 4.1.9.4. HPLC-ECD Sistemi ve Kromatografik Koşullar

##### 4.1.9.4.1. İnternal ve Eksternal Standartlar

Çalışmada **DHBA**, numunelerdeki biyojenik aminlerin hiçbiri ile reaksiyona girmediği ve çok kararlı olduğu için internal standart olarak kullanılmıştır. External standartlar olarak; noradrenalin (**NA**, Sigma-Aldrich, ABD), 3,4-dihidroksifenil glikol (**DHPG**; NA metaboliti, Sigma-Aldrich, ABD), dopamin (**DA**, Sigma-Aldrich, ABD), 3,4-dihidroksifenilasetik asit (**DOPAC**; DA metaboliti, Sigma-Aldrich, ABD), serotonin (**5-HT**, Sigma-Aldrich, ABD) ve 5-hidroksiindol-3-asetik asit (**5-HIAA**; 5-HT metaboliti, Sigma-Aldrich, ABD) kullanılmıştır. Her bir standart için oluşturulan stok solüsyonları 0.1 M'lık HCl ile hazırlanmış olup final konsantrasyonu 2 ng/20 µL olarak belirlenmiştir.

#### 4.1.9.4.2. Mobil Faz

Tez çalışması kapsamında, numuneyi kolon boyunca taşıyan iki farklı mobil faz kullanılmıştır. İlk kullanılan mobil faz ile beyin dokularında NA, DHPG, DA ve DOPAC tayini yapılmış ve ikinci kullanılan mobil faz ile 5-HT ve 5-HIAA'nın tayini yapılmıştır.

İlk kullanılan mobil fazın içeriği, 1 litre distile su içerisinde: 32 mM'lık sitrik asit (Sigma-Aldrich, ABD), 16 mM'lık sodyum sitrat (Merck, Almanya), 0.9 mM'lık sodyum 1-heptanosülfonik asit (Sigma-Aldrich, ABD), 0.16'lık mM etilendiamin tetraasetikasit (EDTA, Fluka, Almanya), 36 mM'lık tetrahidrofuran (Merck, Almanya), 0.02 mM'lık glasiyal asetik asit (Merck, Almanya) ve 0.616 mM'lık metanolden (J.T. Baker, Hollanda) oluşmaktadır. Bu kimyasallar ilk olarak yaklaşık 100 mL'lik distile su içerisinde çözdürülmüş ve daha sonra çözeltinin son hacmi 1 litre olacak şekilde distile su ile tamamlanmıştır. Ardından mobil fazın pH'sı 10 M'lık NaOH ile 4.9'a ayarlanmıştır (141).

İkinci kullanılan mobil fazın içeriği ise, 0.1 M'lık sodyum fosfat monobazik solüsyonu (Sigma-Aldrich, ABD) içerisinde 0.85 mM'lık 1-oktansülfonik asid sodyum tuzu (Sigma-Aldrich, ABD), 0.5 mM'lık $Na_2$·EDTA (Fluka, Almanya) ve % 11 metanolden oluşmaktadır. Mobil fazın pH'sı ise fosforik asit (Sigma-Aldrich, ABD) ile 3.4'e ayarlanmıştır (142).

Son olarak hazırlanan mobil fazlar, filtre kâğıdından süzülmüş ve sisteme verilmeden önce baseline'daki gürültüyü arttıran oksijenin varlığını ortadan kaldırmak için 30 dakika süreyle sonikasyona tabi tutulmuştur. Deney süresince, kullanım derecesine bağlı olarak mobil fazlar her hafta yenilenmiş ve böylece

kontaminasyona bağlı olumsuzluklar elimine edilmiştir. Mobil fazların yanı sıra, tüm standartlar da sisteme verilmeden önce 30 dakika boyunca sonike edilmişlerdir.

#### 4.1.9.4.3. Numunelerin HPLC-ECD Sistemine Enjeksiyonu

Monoaminlerin tayini için HPLC-ECD sistemi (Waters Corp, Milford MA, ABD) ile birlikte HPLC kolonu (C18, 5 µm, 0.46 x 25 cm, Waters Symmetry, ABD) kullanılmıştır. Ayrıca HPLC-ECD sistemine entegre bir şekilde bulunan in-line degazer (model DG2, Waters, ABD) kullanılarak mobil faz içerisinde bulunan eriyik gazların giderilmesi de sağlanmıştır. Tüm numunelerin analizi sırasında HPLC-ECD sisteminde; range 2 nA, kolon fırının sıcaklığı 36 $^{o}$C, akım hızı 1 mL/dak ve enjeksiyon hacmi 20 µL olarak ayarlanmıştır. Enjeksiyonlar yapılmadan önce, elektrokimyasal dedektörün cell bölümü açık pozisyondayken en az 1 saat süreyle, analiz baseline'ının 0 hattına gelmesi (dengeleme süreci) için beklenilmiştir. Analizler süresince 1 ml/dak olan akış hızı, sistem kullanılmadığı zamanlarda 0.2 mL/dak olarak ayarlanmıştır.

Beyin numunelerinden elde edilen süpernatantlar HPLC-ECD sisteminde analiz edilmeden önce, internal standart ile tüm eksternal standartlar tek tek sisteme enjekte edilmiş ve piklerin geliş/alınma süreleri (retention time) belirlenmiştir. Kullanılan kolon, akış hızı ve sıcaklık gibi parametreler sabitlenerek DHBA, DHPG, NA, DOPAC, DA, 5-HIAA ve 5-HT'ye ait piklerin üst üste binmeden analiz edilmek üzere uygun mesafelerde konumlanması sağlanmıştır. Ayrıca her gün numunelerin enjeksiyonlarından önce her bir standart ve ilgili metaboliti sisteme enjekte edilerek piklerin geliş sürelerindeki değişiklikler takip edilmiştir. Buna bağlı olarak numunelerin analizlerinden elde edilen monoamin ve

metabolitlerinin pik geliş süreleri ile standart olarak sisteme verilen monoamin ve ilgili metabolitlerinin pik geliş sürelerinin uyumlu olması sağlanmıştır. Böylece her bir external standartın alınma zamanına bağlı olarak beyin numunelerindeki monoamin ve metabolitleri tanımlanmıştır.

#### 4.1.9.4.4. Monoamin ve Metabolitlerinin Analizi

Beyin numunelerinden elde edilen süpernatantlar HPLC-ECD sisteminde analiz edildikten sonra, hem DHBA ve tüm eksternal standartların pik alanları hem de her bir beyin bölgesinde belirlenen DHBA, monoamin ve metabolitlerinin pik alanları Waters HPLC software programında (Breeze Waters) hesaplanmıştır. Elde edilen pik alanlarına bağlı olarak; her bir beyin bölgesindeki monoaminlerin ve metabolitlerinin miktarı aşağıdaki formüller kullanılarak belirlenmiştir.

$$\textbf{\textit{Respons Faktör}}\ (\textbf{\textit{RF}}) = \frac{\text{Standart solüsyondaki DHBA'nın pik alanı}}{\text{Standart solüsyondaki monoaminin pik alanı}}$$

$$\textbf{\textit{Pik Konsantrasyonu}} = \frac{\text{Örnekteki bilinmeyen pikin alanı}}{\text{Örnekteki DHBA pikinin alanı}}\ \text{x RF x SF}$$

$$\textbf{\textit{Sonuç}} = \frac{\text{Pik konsantrasyonu}}{\text{Protein ağırlığı}}\ (\text{pg amin/ µg protein})$$

Yukarıdaki formülde "SF" sulandırma faktörü olup 7.5 olarak alınmıştır. Formülde ifade edilen protein ağırlığı ise spektrofotometrik analizlerden elde edilen "µg" cinsinden protein değerleridir (141). Analizler sonucu elde edilen monoamin ve metabolitlerin konsantrasyonları "pg amin/mg protein" olarak hesaplanmıştır.

### 4.1.10. Histolojik Değerlendirmeler

Kronik irisin uygulamasının üreme organları üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, deney sonunda ovaryum ve testis dokuları sırasıyla % 10'luk formaldehit ve bouin solüsyonlarında fiksasyon işlemine tabi tutulmuştur. Dokular fiksatifler ile tespit edildikten sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek dehidrate edilmiştir (Tablo 4). En son aşamada dokular parafin bloklara (Sigma-Aldrich Paraplast Embedding Media, ABD) gömülmüş ve bu parafin bloklardan 5-6 µm kalınlığında kesitler alınmıştır. Over kesitleri Hematoksilen-Eozin (H&E) ve Masson'un üçlü boyamaları ile boyanırken testis dokularına ait kesitler H&E ile boyanmıştır. Ardından tüm doku kesitleri Leica DM500 görüntüleme sistemi kullanılarak değerlendirilmiş ve fotoğraflanmıştır. Her bir kesitte rastgele seçilen 20 alan incelenmiş ve 20X'lik büyütme altında skorlanmıştır.

**Tablo 4.** Histolojik takip işlem basamakları.

| Sıra | İşlem | Süre (saat) |
|---|---|---|
| 1 | % 70 Alkol | 2 |
| 2 | % 80 Alkol | 1 |
| 3 | % 96 Alkol | 1 |
| 4 | % 96 Alkol | 1 |
| 5 | % 100 Alkol | 1 |
| 6 | % 100 Alkol | 1 |
| 7 | Ksilol I | 1 |
| 8 | Ksilol II | 1 |
| 9 | Sert Parafin | Gece boyu |
| 10 | Gömme | |

Histopatolojik değerlendirmelerde; ovaryum dokularında ovaryan folikül rezervi ile birlikte fibrozis değerlendirilmiştir. Foliküller histolojik olarak primordiyal, primer, sekonder ve Graaf folikül olarak sınıflandırılmıştır. Foliküllerin klasifikasyonu aşağıda belirtilen şekilde yapılmıştır:

- ***Primordial folikül;*** oosit kısmen veya tamamen yassı granüloza hücreleriyle çevrilidir.
- ***Primer folikül;*** genişlemiş oosit yassı granüloza hücreleri arasında bir tane küboidal hücre veya bir sıra kübik hücre ile çevrilidir.
- ***Sekonder folikül;*** oosit iki sıra granüloza hücre tabakası veya en az bir tabaka granüloza hücresi ve ikinci tabakada en az bir granüloza hücresi içerir.
- ***Graff folikülü;*** oosit ikiden fazla granüloza hücre tabakası ile çevrilidir ve antrum oluşmuştur (143).

Fibrozis oluşumu semi-kantitatif olarak değerlendirilmiş olup fibrozis oluşumunun olmaması 0, düşük fibrozis oluşumu 1, orta dereceli fibrozis oluşumu 2 ve aşırı fibrozis oluşumu ise 3 olarak skorlanmıştır (144, 145).

Testiküler hasarın belirlenmesinde de semi-kantitatif skorlama yapılmış olup, hasarın derecesi 0 (hasar olmaması), 1 (hafif hasar oluşumu), 2 (orta hasar oluşumu) ve 3 (aşırı hasar oluşumu) olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca testis dokularında histomorfometrik çalışmalar da gerçekleştirilmiştir. Buna bağlı olarak rastgele seçilen 200 adet seminifer tübülde seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığı ölçülmüştür.

### 4.1.11. İstatistiksel Analizler

Tez çalışmasının 1. deneysel aşamasında elde edilen veriler, istatistiksel açıdan SPSS 23.0 for Windows programı kullanılarak değerlendirilmiş ve ortalama ± standart sapma (ort ± SS) olarak verilmiştir. Verilerin dağılımının normalliğini doğrulamak için Shapiro Wilk testi kullanılmıştır. Dişi ve erkek sıçanlarda kontrol ve irisin grupları arasındaki karşılaştırmalar, parametrik veriler için unpaired Student's *t*-testi ile gerçekleştirilmiştir. Normal dağılım göstermeyen veriler için non-parametrik test olan Mann-Whitney *U*-testi kullanılmıştır. Tüm testlerde *p* değerinin 0.05'den küçük olduğu durumlar istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

## 4.2. İrisinin Cinsel Fonksiyon Bozukluğu Üzerindeki Etkinliğinin Sorgulanması (2. Deneysel Aşama)

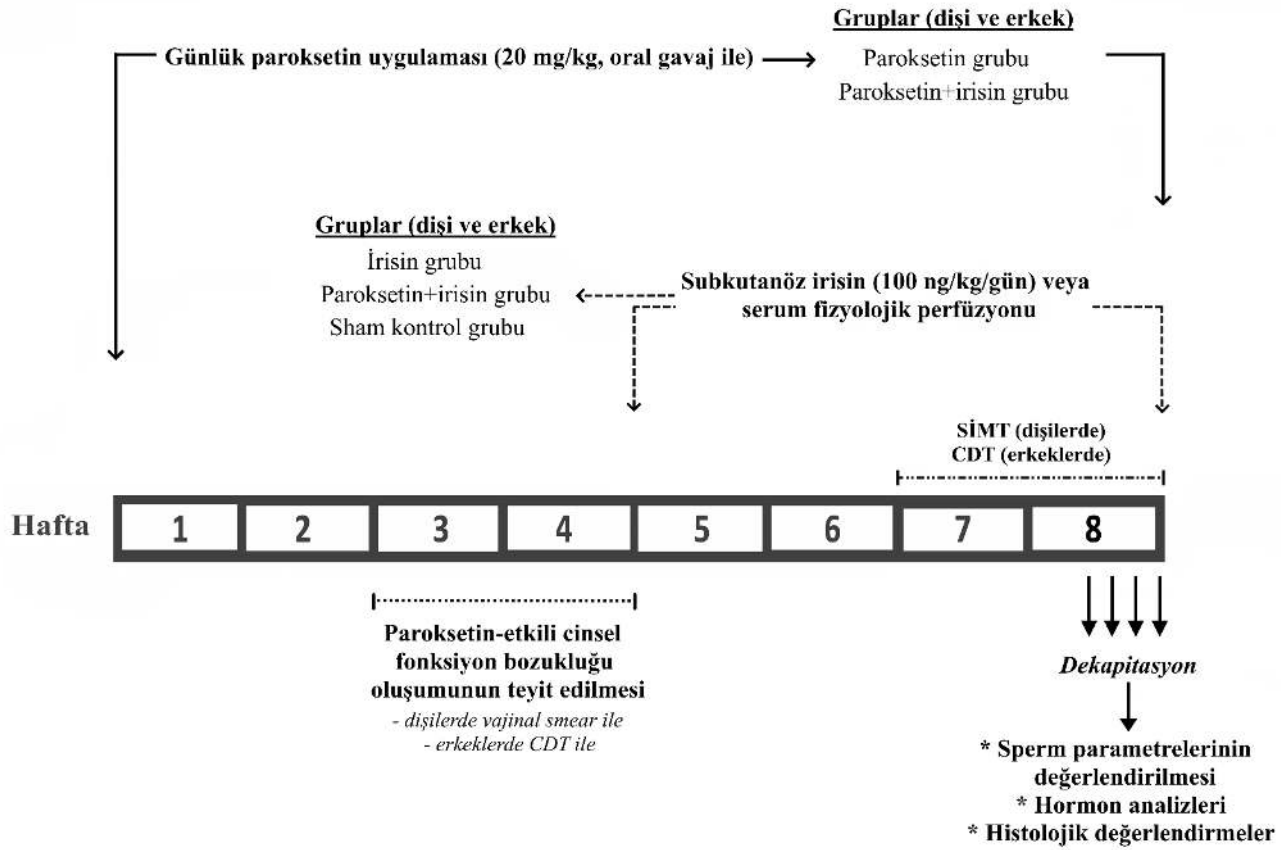
### 4.2.1. Deney Hayvanları ve Deney Grupları

Tez çalışmasının bu aşamasında gerçekleştirilen deneysel çalışmalar Şekil 14'de özetlenmiştir.

Çalışmanın bu aşamasında, ortalama 2-3 aylık, 200-250 gram ağırlığında olan ve düzenli östrus siklusu gösteren toplam 50 adet Sprague-Dawley ırkı dişi sıçan ile ortalama 3-4 aylık, 300-350 gram ağırlığında ve sağlıklı cinsel aktiviteye sahip olan toplam 50 adet Sprague-Dawley ırkı erkek sıçan kullanılmıştır. Hayvanların bakımı ve beslenmesi Yöntem 4.1.1'de açıklandığı şekilde FÜDAM'da gerçekleştirilmiştir.

Hayvanlar dişi ve erkek grubu olacak şekilde 2 ana gruba ayrılmıştır. Bu 2 ana grup da kontrol, sham kontrol, irisin, paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarını içeren 5 alt gruba ayrılmıştır. Deney grupları aşağıda verilmektedir.

| **Dişi grupları:** | **Erkek grupları:** |
|---|---|
| 1) Kontrol grubu (n=10) | 1) Kontrol grubu (n=10) |
| 2) Sham kontrol grubu (n=10) | 2) Sham kontrol grubu (n=10) |
| 3) İrisin grubu (n=10) | 3) İrisin grubu (n=10) |
| 4) Paroksetin grubu (n=10) | 4) Paroksetin grubu (n=10) |
| 5) Paroksetin+irisin grubu (n=10) | 5) Paroksetin+irisin grubu (n=10) |




**Şekil 14.** 2. deneysel aşamada gerçekleştirilen çalışmaların şematik gösterimi. SİMT: Seksüel insentif motivasyon testi ve CDT: Cinsel davranış testi.

### 4.2.2. Paroksetin-etkili Cinsel Fonksiyon Bozukluğu Modeli Oluşturma

Paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarında yer alan dişi ve erkek sıçanlara ortalama 8 hafta boyunca her gün 20 mg/kg dozunda paroksetin oral gavaj ile 10:00-12:00 saatleri arasında verilmiştir (146). Günlük uygulanan paroksetin dozu her bir hayvanın vücut ağırlığına göre belirlenip 0.2 mL hacimde serum fizyolojik ile verilmiştir. Verilen paroksetin dozları günlük olarak hazırlanmıştır. Etken maddesi paroksetin olan Paxil film tabletler ise eczaneden temin edilmiştir.

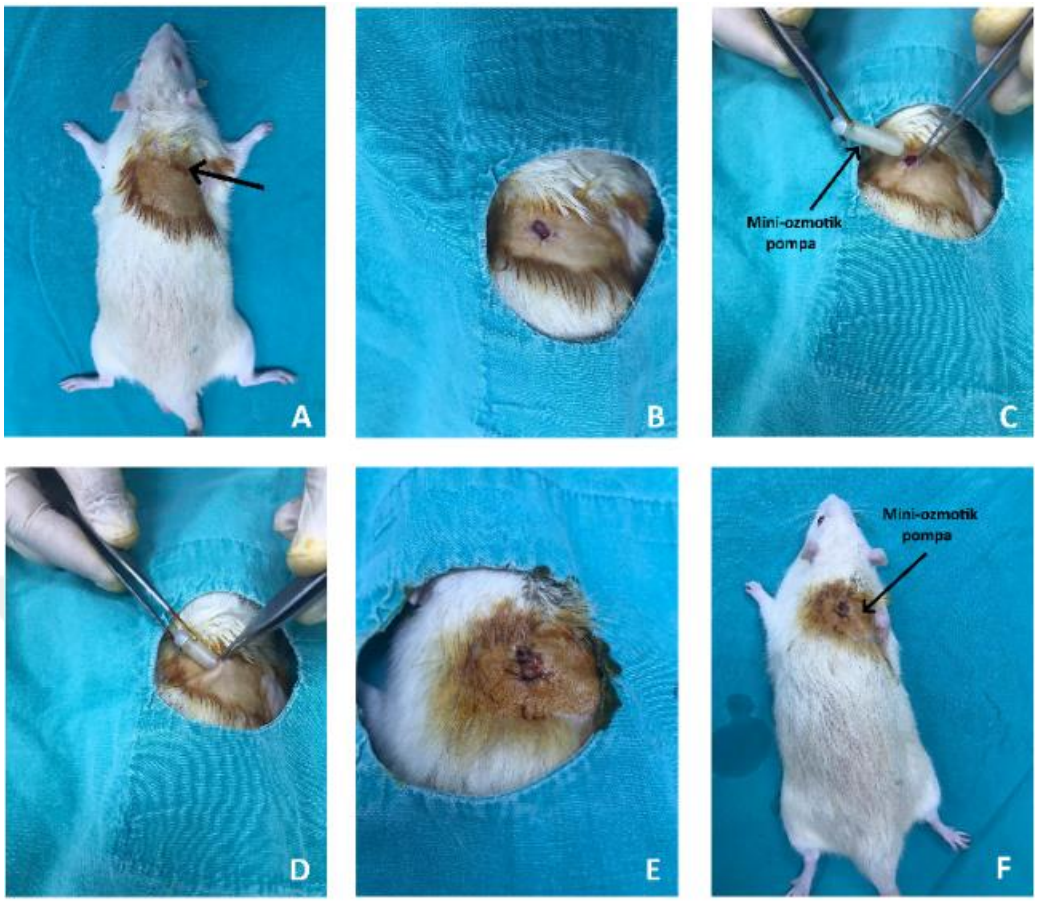
Dişi sıçanlarda 2 haftalık paroksetin uygulamasından sonra, hayvanlarda 15 günlük östrus siklusu takibi yapılarak paroksetine bağlı olarak östrus siklusundaki bozulmalar tespit edilmiştir. Bunun sonucunda, paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarında yer alan dişi sıçanların % 70'inin östrus siklusunda bozulma olduğu tespit edilmiştir. Erkek sıçanlarda ise 2 haftalık paroksetin uygulamasından sonra, 2 hafta boyunca cinsel davranış testleri gerçekleştirilmiş ve bunun sonucunda paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarında yer alan hayvanların % 80'inin ejakülasyon sayısında azalma olduğu görülmüştür. Böylece hem dişi hem de erkek sıçanlarda paroksetin-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu oluşumu teyit edilmiştir.

Cinsel fonksiyon bozukluğunun teyit edildiği bu süre zarfında (ortalama 4 hafta boyunca) ve devamında mini-ozmotik pompa ile irisin salınımı süresince (28 gün); paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarında yer alan tüm hayvanlara paroksetin uygulaması yapılmaya devam edilmiştir. Böylece hayvanlarda toplamda ortalama 8 hafta boyunca paroksetin uygulaması gerçekleştirilmiştir.

### 4.2.3. Subkutanöz İrisin Perfüzyonu

Ortalama 4 haftalık paroksetin uygulamasından sonra (yani hayvanlarda paroksetin-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu oluşumu teyit edildikten sonra), irisin ve paroksetin+irisin gruplarında yer alan tüm dişi ve erkek sıçanlara irisin salınımını gerçekleştirmek üzere subkutanöz mini-ozmotik pompa (Alzet, model 2004, Durect Corp, Cupertino, CA, ABD) yerleştirilmiştir. Mini-ozmotik pompanın pompalama hızı saatte 0.25 µL olup günde 6 µL'dir ve pompalama süresi ise 28 gündür. Mini-ozmotik pompa aracılığıyla irisin ve paroksetin+irisin gruplarında yer alan her bir hayvana, deiyonize suda çözdürülen irisinin (100 ng/kg/gün) 28 gün boyunca, günde 6 µL hacimde sürekli salınımı gerçekleşmiştir. Sham kontrol grubunda yer alan dişi ve erkek sıçanlara ise mini-ozmotik pompayla aynı süre zarfında ve aynı pompalama hızıyla serum fizyolojik salınımı gerçekleştirilmiştir. Mini-ozmotik pompa, anestezi altında ve subkutanöz perfüzyon bölgesi hayvanın yan sırt bölgesinde olacak şekilde yerleştirilmiştir (Şekil 15).

Mini-ozmotik pompa yerleştirilen tüm hayvanlara ortalama 2 hafta iyileşme süreci verilmiştir. Kontrol grubunda yer alan hayvanlara ise deney süresince herhangi bir madde uygulaması veya cerrahi işlem yapılmamıştır.




**Şekil 15.** Mini-ozmotik pompanın yerleştirilmesi. A) anestezi altına alınmış olan sıçanda mini-ozmotik pompanın yerleştirileceği bölge, B) bu bölgede kesi yapılmış alan, C, D) kesi yapılmış bölgeye irisin ile doldurulmuş mini-ozmotik pompanın yerleştirilmesi, E) mini-ozmotik pompa yerleştirildikten sonra bu bölgenin 30 ipek iplik ile kapatılmış şekli ve F) mini-ozmotik pompa yerleştirilmiş sıçanın genel görüntüsü.

### 4.2.4. Cinsel Fonksiyonun Değerlendirilmesi

Dişi ve erkek sıçanlarda paroksetin-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu üzerinde irisin hormonunun etkisini değerlendirmek için dişi sıçanlarda SİMT ve erkek sıçanlarda CDT yapılmıştır. Tez çalışmasının bu aşamasında, dişi sıçanlarda SİMT ile birlikte CDT yapılması da planlanmıştır, fakat dişi sıçanlarda hem paroksetine bağlı genel östrus siklusundaki bozulmalardan hem de irisin salınımının kısa süreli (28 gün) oluşundan dolayı dişi sıçanlarda cinsel davranış testleri gerçekleştirilememiştir.

***Test hayvanları:*** Dişi sıçanların seksüel insentif motivasyon testlerinin ve erkek sıçanların cinsel davranış testlerinin yapılmasında, Yöntem 4.1.5'de açıklandığı şekilde test hayvanları olarak Sprague-Dawley ırkı dişi ve erkek sıçanlar çalışmaya dahil edilmiştir. Bu hayvanlar sadece SİMT ve CDT'lerde test partneri olarak kullanılmış olup hayvanlara ait herhangi bir veri alınmamıştır.

#### 4.2.4.1. Dişi Sıçanlarda Seksüel İnsentif Motivasyon Testi

Mini-ozmotik pompa yerleştirilmesinin akabinde hayvanların iyileşme süreci tamamlandıktan sonra; kontrol, sham kontrol, irisin, paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarında yer alan tüm dişi sıçanlara günlük 10:00-12:00 saatleri arasında vajinal smear yapılmış ve östrus fazında olduğu belirlenen sıçanlara Yöntem 4.1.5.1'de açıklandığı şekilde 13:00-17:00 saatleri arasında SİMT yapılmıştır. Seksüel insentif motivasyon testinde, östrus fazında olan dişi sıçanın cinsel ya da sosyal uyaranı tercih etmesi (partner tercihi) ile birlikte bu uyaranlara karşı olan aktif ilgisi ve böylece dişi sıçanların cinsel motivasyonu,

Yöntem 4.1.5.1'de açıklanan parametrelere göre değerlendirilmiştir. Tüm hayvanların SİMT'leri irisin salınımının 3-4. haftalarında tamamlanmıştır.

#### 4.2.4.2. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış Testleri

Mini-ozmotik pompa yerleştirilen hayvanların iyileşme süreci tamamlandıktan sonra; kontrol, sham kontrol, irisin, paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarında yer alan tüm erkek sıçanlara savunmasız çiftleşme düzeneğinde, karanlık fazda ve kırmızı ışık altında CDT yapılarak hayvanların laboratuvar ortamına ve deney düzeneğine adaptasyonu sağlanmıştır. Hayvanların adaptasyonu tamamlandıktan sonra, irisin salınımının 3-4. haftalarında tüm gruplarda yer alan hayvanlara 15:00-19:00 saatleri arasında 30 dakika süren bir CDT yapılmış ve videolar daha sonra analiz edilmek üzere kayıt altına alınmıştır. Analiz sonunda elde edilen verilere göre, Yöntem 4.1.5.3'de tanımlanan cinsel davranış parametreleri belirlenmiştir.

### 4.2.5. Deneyin Sonlandırılması

Seksüel insentif motivasyon testi tamamlanan dişi sıçanlarda günlük olarak vajinal smear yapılmaya devam edilmiş ve ilk diöstrus fazında olan hayvanlar için deney sonlandırılmıştır. Benzer şekilde cinsel davranış testi tamamlanan erkek sıçanlar için de deney sonlandırılmıştır. Mini-ozmotik pompayla irisin salınımı devam ederken hayvanlar anesteziye alınmadan dekapite edilmiş ve Yöntem 4.1.6'da açıklandığı şekilde sıçanların serum numuneleri ile ovaryum ve testis dokuları uygun şartlar altında alınmış ve saklanmıştır. Ayrıca sıçanların epididimisleri de sperm parametrelerinin değerlendirilmesi amacıyla alınmıştır.

### 4.2.6. Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Çalışmanın bu aşamasında, paroksetin-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu modeli oluşturulmuş sıçanların sperm parametreleri üzerinde irisin hormonunun etkilerini ve ayrıca kısa süreli irisin uygulamasının sperm parametreleri üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, deney sonunda tüm deney gruplarından alınan sol ve sağ epididimislerden Yöntem 4.1.7'de açıklandığı şekilde sperm motilitesi, anormal sperm oranları ve sperm konsantrasyonu belirlenmiştir.

### 4.2.7. Hormon Analizleri

Deney sonunda alınan ve -20 $^{o}$C'de muhafaza edilen serum numunelerinden, Yöntem 4.1.8'de açıklanan rat spesifik ELISA kitleri kullanılarak serum FSH, LH, östradiol, progesteron ve AMH seviyeleri ELISA yöntemiyle belirlenmiştir. Yöntem 4.1.8'de açıklanan rat spesifik testosteron ELISA kitinden farklı olarak, deneysel çalışmaların bu aşamasında kullanılan testosteron ELISA kiti Enzo marka (Enzo Life Sciences, İsviçre) olup kitin katalog numarası ADI-900-065'dir. Kitin hassasiyeti ise 5.67 pg/mL olup ölçüm aralığı 7.81-2000 pg/mL'dir. Deney sonunda, testosteron plate'i için elde edilen optik dansiteler 405 nm dalga boyunda okutulmuştur.

### 4.2.8. Histolojik Değerlendirmeler

Deneysel çalışmaların bu aşamasında, kısa süreli irisin uygulaması, paroksetin uygulaması ve paroksetin ile irisinin birlikte uygulanmasının üreme organları üzerindeki etkilerini belirlemek amacıyla, deney sonunda alınmış ve % 10'luk formaldehit solüsyonunda fikse edilmiş ovaryum dokuları ile bouin

solüsyonunda fiksasyon işlemine tabi tutulmuş testis dokularında, Yöntem 4.1.10'da açıklandığı şekilde histolojik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. Buna bağlı olarak ovaryum dokularından elde edilen kesitlerinde ovaryan folikül rezervi ve semi-kantitatif olarak fibrozis oluşumu değerlendirilmiştir. Testis dokularına ait histolojik kesitlerde ise semi-kantitatif skorlama yapılarak testiküler hasar belirlenmiş ve ayrıca seminifer tübüllerde histomorfometrik analizler gerçekleştirilmiştir.

### 4.2.9. İstatistiksel Analizler

Tez çalışmasının 2. deneysel aşamasında elde edilen veriler, istatistiksel açıdan SPSS 23.0 for Windows programı kullanılarak değerlendirilmiş olup ortalama ± standart hata (ort ± SH) olarak sunulmuştur. Verilerin değerlendirilmesi ve gruplar arası farklılıklar için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Post-Hoc Tukey testi kullanılmıştır. Tüm analizlerde, $p < 0.05$ değeri istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir.

# 5. BULGULAR

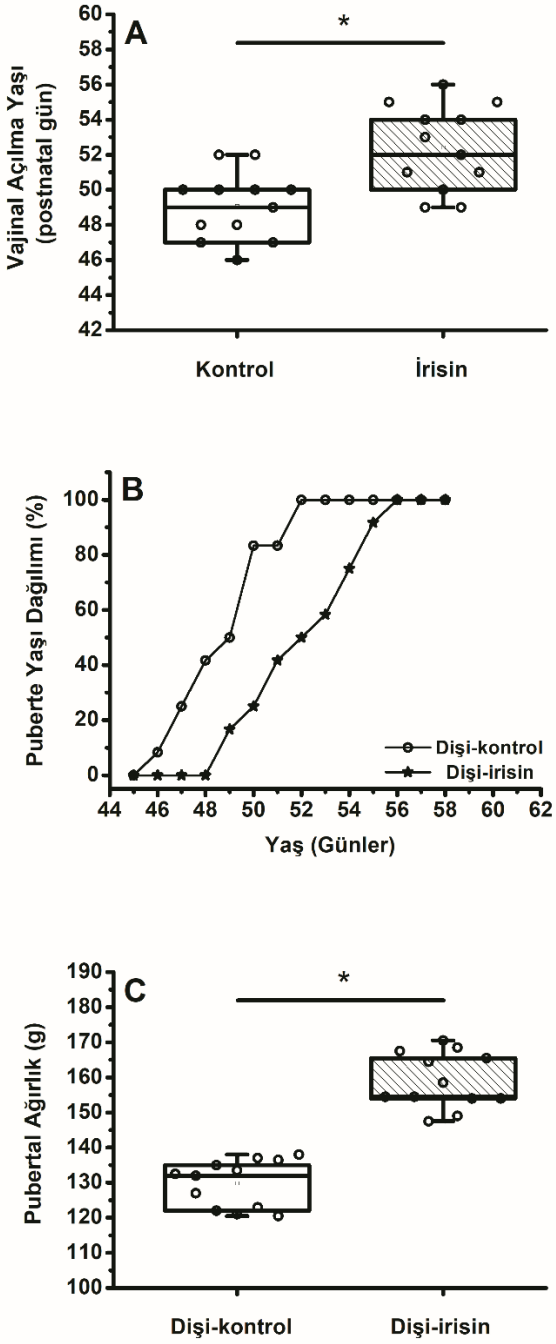
Bu bölümde tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalardan elde edilen bulgular sunulmuştur. İlk olarak 1. deneysel aşamadan (***irisinin puberteye geçiş ve üreme sistemi üzerindeki etkinliğinin sorgulanması***) ve daha sonra 2. deneysel aşamadan (***irisinin cinsel fonksiyon bozukluğu üzerindeki etkinliğinin sorgulanması***) elde edilen sonuçlara yer verilmiştir.

## 5.1. (1. Deneysel Aşama)

Bu başlık altında, öncelikli olarak dişi sıçanlardan ve daha sonra erkek sıçanlardan elde edilen bulgular sunulmuştur.

### 5.1.1. Dişi Sıçanlarda Puberteye Geçiş Parametreleri

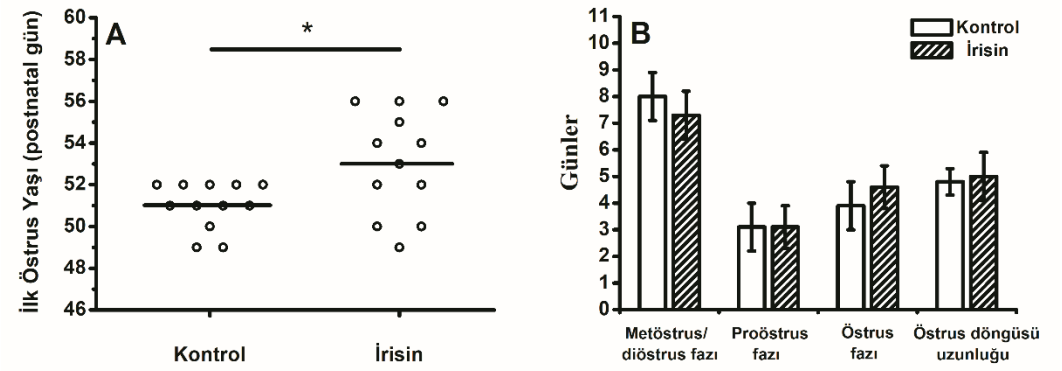
Dişi deney gruplarında puberteye giriş verileri değerlendirildiğinde, kontrol grubuyla irisin grubu karşılaştırıldığında kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda puberteye geçişi anlamlı bir şekilde geciktirdiği bulunmuştur (sırasıyla; PN 49.1 ± 1.9 gün ve PN 52.4 ± 2.4 gün, $p<0.001$, Şekil 16A). Kontrol grubunda ilk vajinal açılma PN 46. günde meydana gelmişken irisin grubunda PN 49. günde görülmüştür. Ayrıca kontrol grubunda yer alan tüm sıçanların vajinal kanalizasyonu PN 52. günde tamamlanmış olup, irisin grubunda yer alan sıçanların ise PN 52. günde % 50'sinin vajinal kanalizasyonunun tamamlandığı görülmüştür (Şekil 16B). Puberteye giriş zamanına paralel olarak, kronik irisin uygulamasının dişi sıçanların pubertal ağırlıklarını anlamlı bir şekilde artırdığı da bulunmuştur (kontrol grubu; 130.3 ± 6.4 g ve irisin grubu; 159.1 ± 7.5 g, $p<0.001$, Şekil 16C).




**Şekil 16.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda pubertal olgunlaşma parametreleri üzerindeki etkileri. Dişi-kontrol ve dişi-irisin gruplarında; A) vajinal açılma yaşının dağılımı, B) puberteye giriş günlerinin yüzde dağılımı ve C) pubertal ağırlıkların dağılımı. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *p<0.001; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=12).

### 5.1.2. İlk Östrus Yaşı ve Östrus Döngüsü

Dişi sıçanlarda 15 günlük östrus siklusu takibi sonucunda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kronik irisin uygulanmış dişi sıçanlarda vajinal açılmadaki gecikmeye paralel olarak ilk östrus yaşının da anlamlı bir şekilde geciktiği bulunmuştur (sırasıyla; PN 51 ± 1.1 gün ve PN 53.1 ± 2.5 gün, $p<0.05$, Şekil 17A). Bunun yanı sıra, kronik irisin uygulanmış tüm sıçanlar düzenli östrus döngüsü göstermiştir. Dolayısıyla sıçanların metöstrus/diöstrus, proöstrus ve östrus fazlarının ortalama süresi ile total östrus döngüsü uzunluğunun irisinden etkilenmediği belirlenmiştir (Şekil 17B).




**Şekil 17.** Kronik irisin uygulamasının ilk östrus yaşı ve östrus döngüsü üzerine etkileri. A) ilk östrus yaşı ve B) östrus döngüsü fazlarının süresi ile total östrus döngüsü uzunluğu. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *$p<0.05$; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=12).

### 5.1.3. Dişi Sıçanlarda Seksüel İnsentif Motivasyon Testi Bulguları

Dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının partner tercihi ve aktivite indeksi üzerindeki etkileri Tablo 5'de verilmiştir. Kronik irisin uygulamasına bağlı olarak dişi sıçanların; erkek hayvanın yanında harcadığı süreyi (EHS) azalttığı ($p<0.01$), dişi hayvanın yanında harcanan süreyi (DHS) artırdığı ($p<0.001$) ve toplam harcanan süreyi ise değiştirmediği belirlenmiştir. Kronik irisin uygulamasının EHS ve DHS'de meydana getirdiği bu değişimlere bağlı olarak erkek tercih oranının azaldığı bulunmuştur ($p<0.001$). Ayrıca kronik irisin uygulanmış sıçanların aktivite indeksinin (test aparatının merkezinden geçiş sayısı) de anlamlı bir şekilde arttığı görülmüştür ($p<0.05$).

**Tablo 5.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda partner tercihi ve aktivite indeksi üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *p<0.05, **p<0.01 ve ***p<0.001; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=12).

| **Parametreler** | **Dişi-kontrol grubu** | **Dişi-irisin grubu** |
|---|---|---|
| EHS (sn) | 352.7 ± 67.4 | **280.3 ± 43.4**** |
| DHS (sn) | 81 ± 15.6 | **181.6 ± 56.7***** |
| THS (sn) | 433.7 ± 62.6 | 461.9 ± 36.4 |
| Erkek tercih oranı (EHS/THS) | 0.8 ± 0.07 | **0.6 ± 0.1***** |
| Aktivite indeksi | 20.8 ± 5.8 | **26.8 ± 4.9*** |

EHS: Erkek hayvanın yanında harcanan süre, DHS: Dişi hayvanın yanında harcanan süre ve THS: Toplam harcanan süre.

Aktif keşiften elde edilen sonuçlara göre, kronik irisin uygulanmış dişi sıçanlarda; erkeği araştırmak için harcanan sürenin (EAS) değişmediği, fakat dişiyi araştırmak için harcanan sürenin (DAS) ise istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği bulunmuştur ($p<0.001$, Tablo 6). İrisin grubunda DAS'daki bu artışa paralel olarak toplam araştırma süresinin (TAS) anlamlı bir şekilde arttığı ($p<0.01$) ve TAS'daki bu artışa bağlı olarak erkek araştırma oranının anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.01$) belirlenmiştir (Tablo 6).

**Tablo 6.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda aktif keşif üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *$p<0.01$ ve **$p<0.001$; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=12).

| **Parametreler** | **Dişi-kontrol grubu** | **Dişi-irisin grubu** |
|---|---|---|
| EAS (sn) | 172 ± 33 | 181.6 ± 53.1 |
| DAS (sn) | 50.1 ± 18.8 | **106.6 ± 40.9**** |
| TAS (sn) | 222.1 ± 34.9 | **288.1 ± 47.7*** |
| Erkek araştırma oranı (EAS/TAS) | 0.78 ± 0.08 | **0.63 ± 0.13*** |

EAS: Erkeği araştırmak için harcanan süre, DAS: Dişiyi araştırmak için harcanan süre ve TAS: Toplam araştırma süresi.

### 5.1.4. Dişi Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi Bulguları

Dişi sıçanlarda gerçekleştirilen cinsel davranış testlerinin sonucunda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kronik irisin uygulanmış dişi sıçanlarda lordozis derecesi ve lordozis oranının değişmediği dolayısıyla kronik irisin uygulamasının dişi sıçanların cinsel performansını etkilemediği belirlenmiştir (Tablo 7).

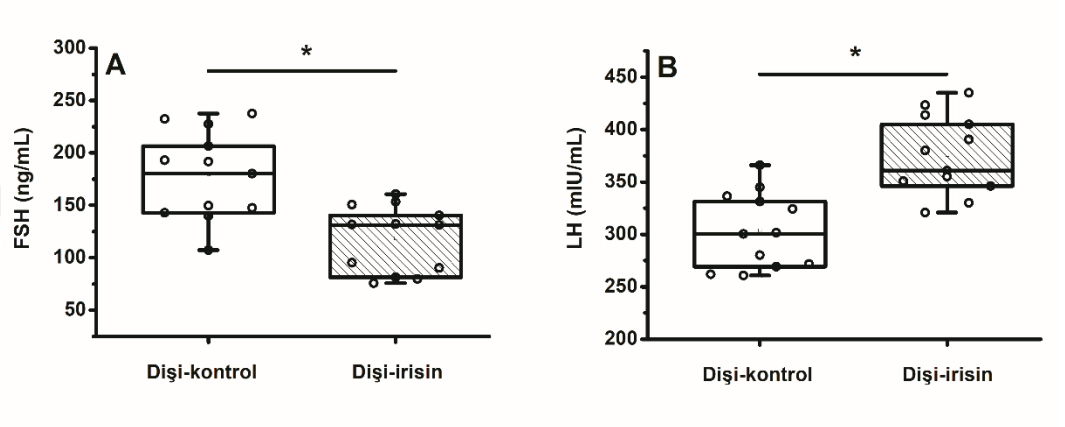
**Tablo 7.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanların cinsel performansı üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir (Student's *t*-testi, n=12).

| **Parametreler** | **Dişi-kontrol grubu** | **Dişi-irisin grubu** |
|---|---|---|
| Lordozis derecesi | 2.1 ± 0.7 | 2.3 ± 0.6 |
| Lordozis oranı | 97.8 ± 4.4 | 97.5 ± 7.9 |

Lordozis derecesi 4-nokta skalasına göre (0-3) ve lordozis oranı ise "lordozis cevap sayısı/mount sayısı x 100" formülü ile hesaplanmıştır.

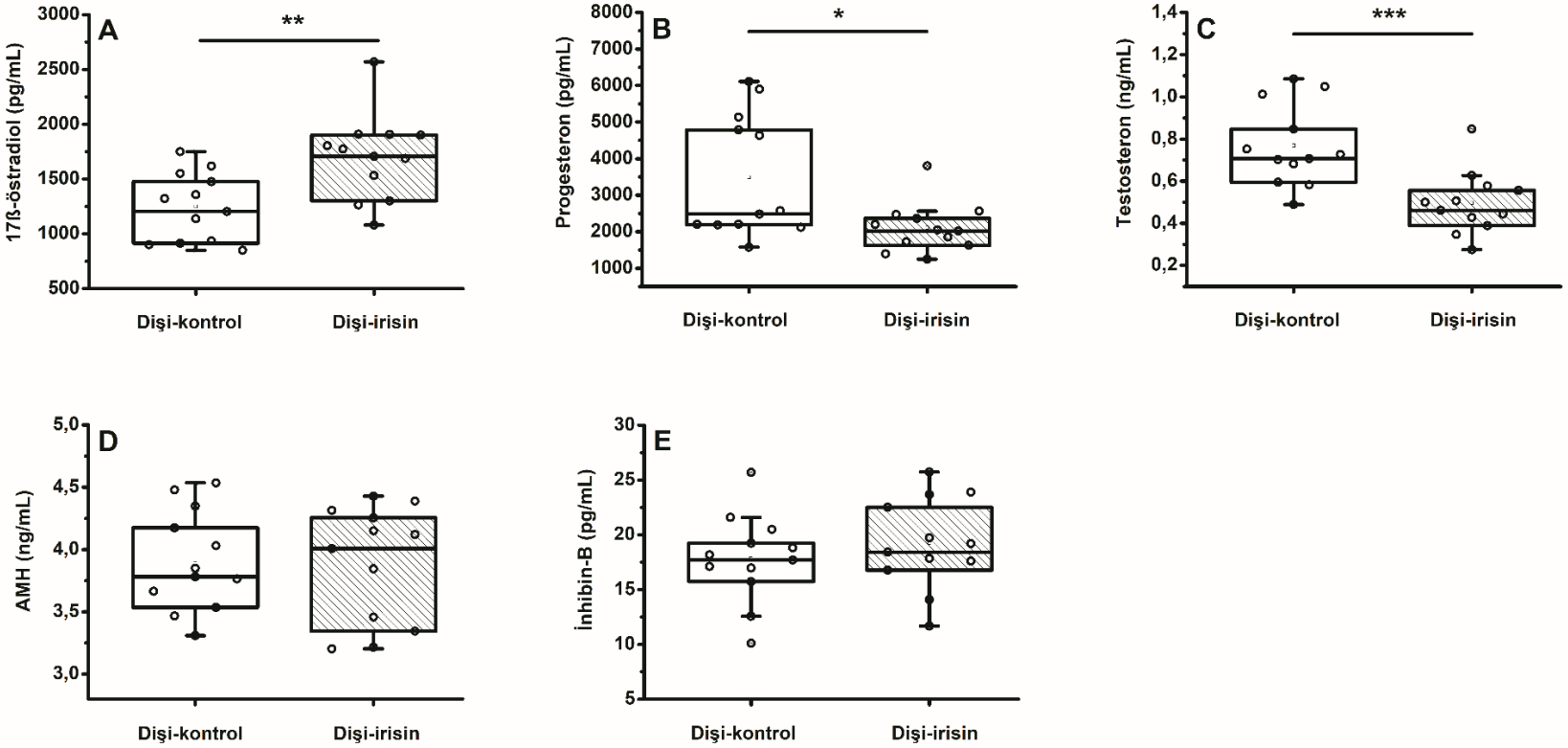
### 5.1.5. Dişi Sıçanlarda Serum Hormon Seviyeleri

Dişi sıçanlarda ölçülen hormon seviyelerine bakıldığında, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kronik irisin uygulamasının serum FSH seviyesini anlamlı bir şekilde azalttığı ($p<0.01$, Şekil 18A) ve serum LH seviyesini ise anlamlı bir şekilde artırdığı belirlenmiştir ($p<0.01$, Şekil 18B).




**Şekil 18.** Kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda serum FSH ve LH seviyeleri üzerine etkileri. Dişi-kontrol ve dişi-irisin gruplarında; A) serum FSH seviyesi ve B) serum LH seviyesi. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *$p<0.01$; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=12). FSH: Folikül uyarıcı hormon ve LH: Luteinizan hormon.

Deneysel çalışmaların bu aşamasında, dişi sıçanlarda serum gonadotropin (FSH ve LH) seviyelerinin yanı sıra serum östradiol, progesteron, testosteron, AMH ve inhibin-B seviyeleri de belirlenmiştir. Buna bağlı olarak, kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda serum östradiol seviyelerini anlamlı bir şekilde artırdığı ($p<0.01$, Şekil 19A), serum progesteron ve testosteron seviyelerini ise anlamlı bir şekilde azalttığı (sırasıyla; $p<0.05$ ve $p<0.001$, Şekil 19B-C) bulunmuştur. Serum AMH ve inhibin-B seviyelerine bakıldığında ise dişi sıçanlarda kontrol grubu ile irisin grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (Şekil 19D-E).




**Şekil 19.** Dişi-kontrol ve dişi-irisin gruplarında; A) serum 17β-östradiol, B) serum progesteron, C) serum testosteron, D) serum AMH ve E) serum inhibin-B seviyeleri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *p<0.05, **p<0.01 ve ***p<0.001; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Mann-Whitney *U*-testi ve Student's *t*-testi, n=12). AMH: Anti-müllerian hormon.

### 5.1.6. Dişi Sıçanların Beyin Dokusunda Monoamin Seviyeleri

Analizler sonucunda elde edilen, DHBA, DHPG, NA, DOPAC, DA, 5-HIAA ve 5-HT'nin retention time'ları (her bir standarta ait piklerin geliş süreleri/alınma zamanları) Tablo 8'de verilmiştir. Buna bağlı olarak her bir pikin geliş süresinin ayrı zamanlarda olduğu ve birbiriyle çakışmadığı görülmüştür.

**Tablo 8.** İnternal standart ve eksternal standartların alınma zamanları. Veriler ort ± SS olarak verilmiştir (n=34).

| **Standartlar** | **Alınma zamanı (dak)** |
|---|---|
| **İlk kullanılan mobil fazda:** | |
| - DHBA (internal standart) | 11.95 ± 0.42 |
| - DHPG (noradrenalin metaboliti) | 4.1 ± 0.08 |
| - NA (noradrenalin) | 6.8 ± 0.28 |
| - DOPAC (dopamin metabiliti) | 6.2 ± 0.18 |
| - DA (dopamin) | 20.3 ± 0.47 |
| **İkinci kullanılan mobil fazda:** | |
| - DHBA (internal standart) | 8.58 ± 0.53 |
| - 5-HIAA (serotonin metaboliti) | 15.2 ± 1.29 |
| - 5-HT (serotonin) | 29.2 ± 2.15 |

Elde edilen internal ve eksternal standartların alınma zamanı ve pik alanlarına bağlı olarak NAC, MPOA ve MeA'da monoamin ve metabolitlerinin miktarları belirlenmiştir. Buna bağlı olarak bu beyin bölgelerindeki noradrenalin dönüşümü (DHPG/NA), dopamin dönüşümü (DOPAC/DA) ve serotonin dönüşümü (5-HIAA/5-HT) de hesaplanmıştır.

*Nükleus akkumbensde;* kronik irisin uygulamasının DOPAC seviyesini ve dopamin dönüşümünü anlamlı bir şekilde artırdığı ($p<0.05$) ve istatistiksel olarak anlamlı olmamakla beraber dopamin konsantrasyonunu azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak 5-HIAA seviyesinin de anlamlı bir şekilde azaldığı ($p<0.05$) bulunmuştur (Tablo 9).

**Tablo 9.** Dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının **nükleus akkumbensde** monoamin seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *$p<0.05$; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=6).

| **Monoamin, metabolitleri ve dönüşümleri** | **Nükleus akkumbens** | |
|---|---|---|
| | **Dişi-kontrol grubu** | **Dişi-irisin grubu** |
| NA (pg/mg) | 0.6 ± 0.13 | 0.6 ± 0.1 |
| DOPAC (pg/mg) | 7.8 ± 1.4 | **12.7 ± 2.1*** |
| DA (pg/mg) | 15.4 ± 3.2 | **9.7 ± 2.9** |
| DOPAC/DA | 0.92 ± 0.26 | **1.87 ± 0.43*** |
| 5-HIAA (pg/mg) | 1.3 ± 0.3 | **0.8 ± 0.4*** |
| 5-HT (pg/mg) | 0.9 ± 0.3 | 0.7 ± 0.4 |
| 5-HIAA/5-HT | 1.44 ± 0.52 | 1.37 ± 0.6 |

NA: Noradrenalin, DOPAC: Dopamin metaboliti, DA: Dopamin, 5-HIAA: Serotonin metaboliti ve 5-HT: Serotonin.

*Medial preoptik alanda;* kronik irisin uygulamasına bağlı olarak dişi sıçanlarda NA ve DOPAC seviyeleri dişi-kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir azalma göstermiştir ($p<0.05$). Benzer şekilde, istatistiki açıdan anlamlı olmamakla birlikte, kronik irisin uygulaması sonucunda dopamin konsantrasyonunda da azalma olduğu belirlenmiştir. Dişi-kontrol ve dişi-irisin grupları arasında serotonin ve metaboliti açısından ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (Tablo 10).

**Tablo 10.** Dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının **medial preoptik alanda** monoamin seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *p<0.05; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=6).

| **Monoamin, metabolitleri ve dönüşümleri** | **Medial preoptik alan** | |
|---|---|---|
| | **Dişi-kontrol grubu** | **Dişi-irisin grubu** |
| NA (pg/mg) | 3.4 ± 0.44 | **1.6 ± 0.41*** |
| DOPAC (pg/mg) | 4 ± 1.2 | **1.2 ± 0.2*** |
| DA (pg/mg) | 1.4 ± 0.4 | **0.7 ± 0.07** |
| DOPAC/DA | 2.17 ± 0.62 | 1.96 ± 0.42 |
| 5-HIAA (pg/mg) | 1.2 ± 0.8 | 1 ± 0.45 |
| 5-HT (pg/mg) | 0.9 ± 0.35 | 0.7 ± 0.2 |
| 5-HIAA/5-HT | 0.99 ± 0.37 | 1.28 ± 0.4 |

NA: Noradrenalin, DOPAC: Dopamin metaboliti, DA: Dopamin, 5-HIAA: Serotonin metaboliti ve 5-HT: Serotonin.

*Medial amigdalada;* dişi-kontrol grubuyla kıyaslandığında, dişi-irisin grubunda NA ve DA seviyelerinin istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gösterdiği bulunmuştur ($p<0.01$). Medial preoptik alanda olduğu gibi medial amigdalada da kronik irisin uygulamasının 5-HIAA ve 5-HT konsantrasyonunu etkilemediği belirlenmiştir (Tablo 11).

**Tablo 11.** Dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının **medial amigdalada** monoamin seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *$p<0.01$; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=6).

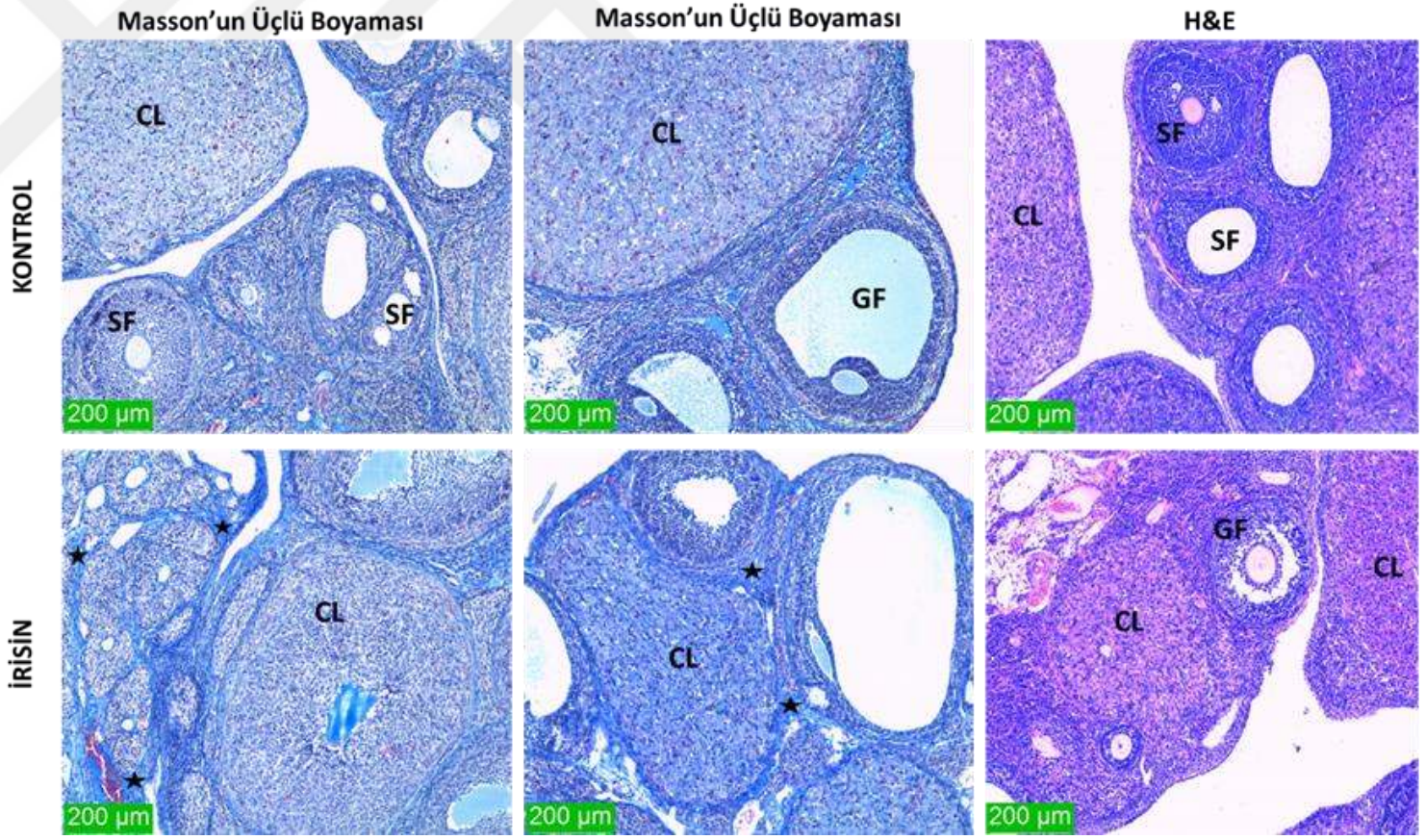
| **Monoamin, metabolitleri ve dönüşümleri** | **Medial amigdala** | |
|---|---|---|
| | **Dişi-kontrol grubu** | **Dişi-irisin grubu** |
| NA (pg/mg) | 2.5 ± 0.36 | **1.1 ± 0.2*** |
| DOPAC (pg/mg) | 1.1 ± 0.2 | 1.1 ± 0.3 |
| DA (pg/mg) | 2.3 ± 0.5 | **0.4 ± 0.1*** |
| DOPAC/DA | 0.88 ± 0.38 | 1.44 ± 0.17 |
| 5-HIAA (pg/mg) | 1.7 ± 0.9 | 1 ± 0.35 |
| 5-HT (pg/mg) | 1 ± 0.37 | 0.9 ± 0.3 |
| 5-HIAA/5-HT | 1.72 ± 0.5 | 1.27 ± 0.56 |

NA: Noradrenalin, DOPAC: Dopamin metaboliti, DA: Dopamin, 5-HIAA: Serotonin metaboliti ve 5-HT: Serotonin.

Dişi sıçanlarda, NAC, MPOA ve MeA'da DHPG ise belirlenememiş olup buna bağlı olarak bu beyin bölgelerinde noradrenalin dönüşümü de hesaplanamamıştır.

### 5.1.7. Ovaryum Histolojisi

Kontrol grubuna ait sıçan over preparatlarının ışık mikroskobik incelemesinde, over yüzeyini döşeyen germinal epitelin genellikle tek katlı kübik şekilli ve düzgün görünümde olduğu tespit edilmiştir. Kortekste çok sayıda korpus luteum ve over folikülleri (primordiyal, primer, sekonder ve Graff) saptanmıştır. Korpus luteum ile farklı gelişim aşamalarındaki foliküllerde granüloza hücreleri ve teka yapılarının normal görünümde olduğu gözlenmiştir (Şekil 20). İrisin grubuna ait over kesitleri incelendiğinde ise, kontrol grubundaki preparatlarda olduğu gibi ovaryum yüzeyinin genellikle tek katlı kübik germinal epitel ile döşeli olduğu ancak nadiren de olsa bazı yerlerde epitelde dökülmeler olduğu tespit edilmiştir. Kontrol grubuyla benzer şekilde ovaryum korteksinde çok sayıda korpus luteum ve farklı gelişim evrelerinde ovaryum folikülleri saptanmıştır. Korpus luteum yapılarının kontrol grubuyla benzer şekilde normal yapıda olduğu belirlenmiş ve over foliküllerindeki granüloza hücreleri ve çevreleyen teka yapılarının normal histolojik görünümde olduğu görülmüştür (Şekil 20).




**Şekil 20.** Kontrol ve irisin gruplarına ait over dokularının histolojik görünümü. CL: Korpus luteum, SF: Sekonder folikül, GF: Graff folikülü, ★: Over parankimasında fibrozis ve H&E: Hematoksilen-Eozin.

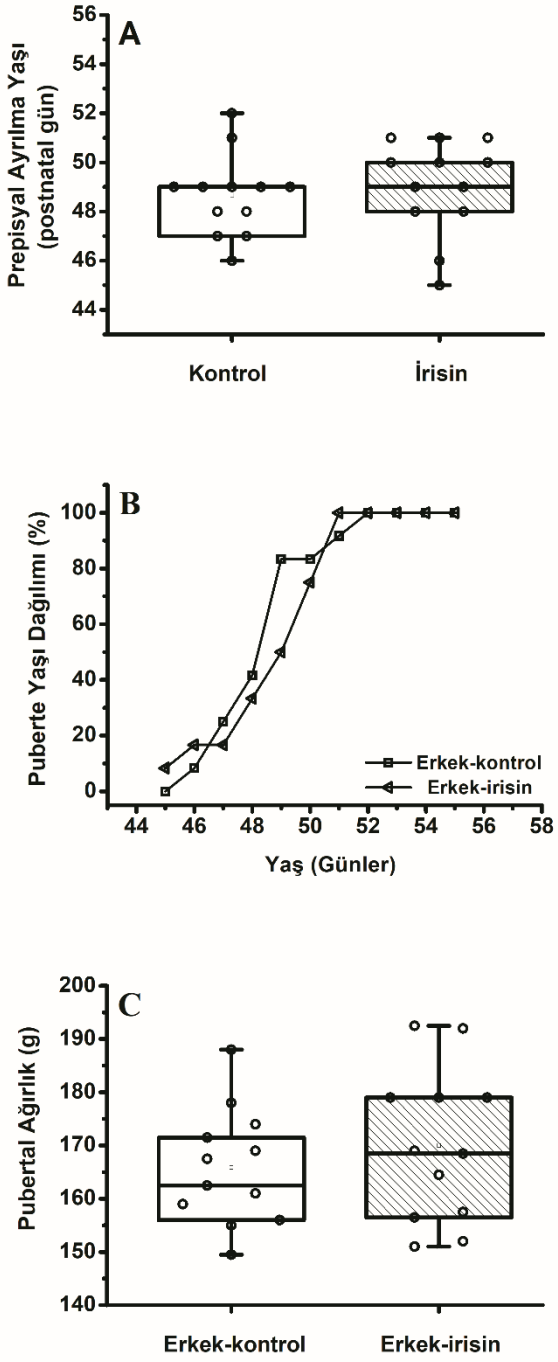
Ovaryum dokularına ait ***histopatolojik değerlendirmelerde***; kontrol grubuna kıyasla kronik irisin uygulamasının primordiyal, sekonder, tersiyer foliküller ile korpus luteum sayılarında bir farklılık oluşturmadığı, fakat primer folikül sayısını anlamlı bir şekilde azalttığı belirlenmiştir ($p<0.001$, Tablo 12). Semi-kantitatif olarak değerlendirilen fibrozis oluşumuna bakıldığında ise, kontrol grubuna göre irisin grubunda anlamlı bir artış olduğu görülmüştür ($p<0.05$, Tablo 12).

**Tablo 12.** Kontrol ve irisin gruplarının over dokularında ovaryan foliküllerin sayısı ile fibrozisin histopatolojik skoru. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *p<0.05 ve **p<0.001; dişi-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Mann-Whitney *U*-testi ve Student's *t*-testi, n=5).

| **Değişkenler** | **Dişi-kontrol grubu** | **Dişi-irisin grubu** |
|---|---|---|
| Primordiyal folikül | 6.6 ± 1.3 | 6 ± 1 |
| Primer folikül | 8.5 ± 1.9 | **2.4 ± 0.9**** |
| Sekonder folikül | 8.4 ± 3.3 | 5.5 ± 1 |
| Tersiyer folikül | 1.4 ± 0.6 | 0.8 ± 0.5 |
| Korpus luteum | 9.6 ± 2.4 | 9.4 ± 3.1 |
| Fibrozis | 0.5 ± 0.3 | **1.83 ± 0.3*** |

### 5.1.8. Erkek Sıçanlarda Puberteye Geçiş Parametreleri

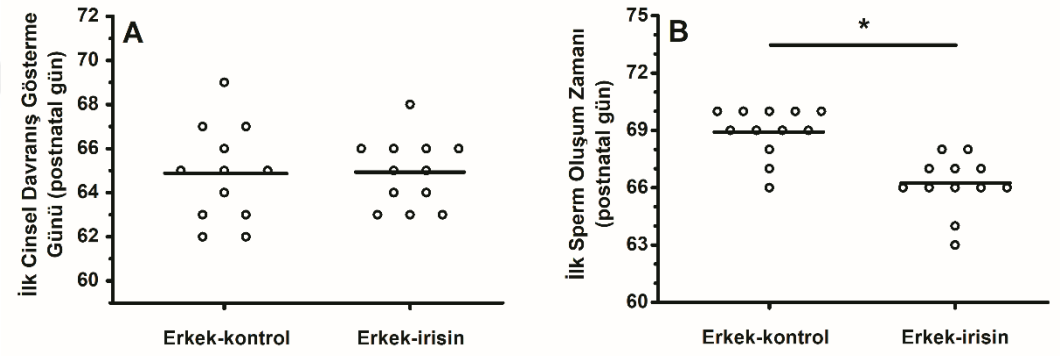
Erkek deney gruplarında puberteye giriş verileri değerlendirildiğinde, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kronik irisin uygulamasının puberteye geçişi etkilemediği görülmüştür (sırasıyla; PN 48.7 ± 1.7 gün ve PN 49 ± 2 gün, Şekil 21A). Prepüsyal ayrılma; kontrol grubunda PN 46-52. günlerde ve irisin grubunda ise PN 45-51. günlerde gerçekleşmiştir (Şekil 21B). Benzer şekilde, erkek-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kronik irisin uygulamasının erkek sıçanların pubertal ağırlığını değiştirmediği görülmüştür (sırasıyla; 165.9 ± 10.9 g ve 170 ± 14.4 g, Şekil 21C).




**Şekil 21.** Kronik irisin uygulamasının erkek sıçanlarda pubertal olgunlaşma parametreleri üzerindeki etkileri. Erkek-kontrol ve erkek-irisin gruplarında; A) prepisyal ayrılma yaşının dağılımı, B) puberte başlangıç günlerinin yüzde dağılımı ve C) puberteye geçiş günlerine ait vücut ağırlıklarının dağılımı. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir (Student's *t*-testi, n=12).

### 5.1.9. Erkek Sıçanlarda Cinsel Olgunlaşma Parametreleri

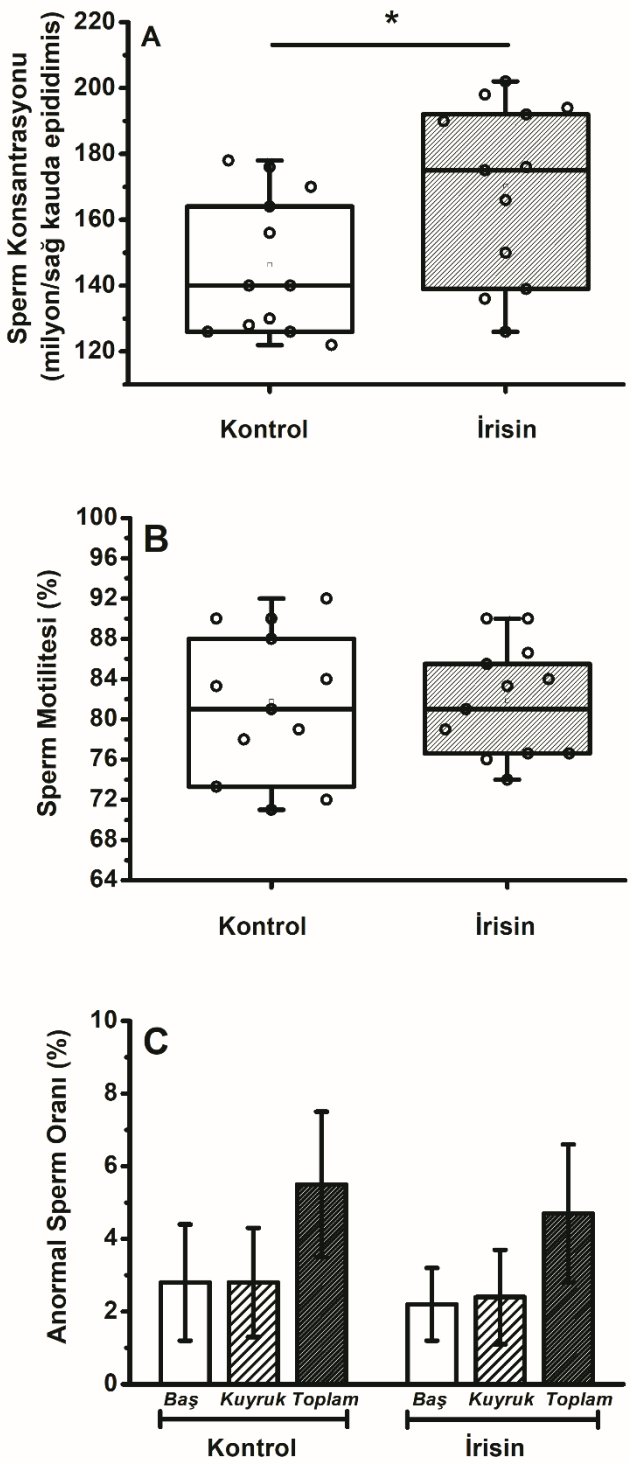
Erkek-kontrol ve erkek-irisin gruplarında, ilk cinsel davranış gösterme günü ile ilk sperm oluşum zamanına ait veriler Şekil 22'de verilmiştir. Kronik irisin uygulamasının ilk cinsel davranış gösterme gününü etkilemediği (Şekil 22A), fakat ilk sperm oluşum zamanını anlamlı bir şekilde öne çektiği belirlenmiştir (kontrol grubu; PN 68.9 ± 1.3 gün ve irisin grubu; PN 66.2 ± 1.5 gün, $p<0.001$, Şekil 22B).




**Şekil 22.** Kronik irisin uygulamasının postpubertal dönemde olan erkek sıçanlarda cinsel olgunlaşma parametreleri üzerindeki etkileri. Erkek-kontrol ve erkek-irisin gruplarında yer alan hayvanların; A) ilk cinsel davranış gösterdikleri gün ve B) vajinal smearda ilk sperminin görüldüğü gün. *$p<0.001$; erkek-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=12).

### 5.1.10. Sperm Parametreleri

Kontrol ve irisin gruplarına ait sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve anormal sperm oranlarının değerleri Şekil 23'de verilmiştir. Kronik irisin uygulamasının sperm konsantrasyonunu anlamlı bir şekilde artırdığı bulunmuştur (kontrol grubu; 145.6 ± 21.4 milyon/sağ kauda epididimis ve irisin grubu; 171.2 ± 27.7 milyon/sağ kauda epididimis, $p<0.05$, Şekil 23A). Sperm motilitesi ile baş, kuyruk ve toplam anormal sperm oranları değerlerine bakıldığında ise kontrol grubu ile irisin grubu arasında anlamlı bir farklılık olmadığı görülmüştür (Şekil 23B-C).




**Şekil 23.** Kronik irisin uygulamasının sperm parametreleri üzerine etkileri. Erkek-kontrol ve erkek-irisin gruplarında; A) sperm konsantrasyonu, B) sperm motilitesi ve C) anormal sperm oranı. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *p<0.05; erkek-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=12).

### 5.1.11. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi Bulguları

Kontrol ve irisin gruplarında yer alan erkek hayvanların cinsel davranış testlerinin sonuçları Tablo 13'de verilmiştir. Sıçanların mount, intromisyon ve ejakülasyon davranışlarına göre belirlenmiş olan bu parametreler değerlendirildiğinde, kronik irisin uygulamasının anlamlı olmamakla birlikte ML, IL ve EL'yi azalttığı ve MF ve EF'yi ise artırdığı belirlenmiştir.

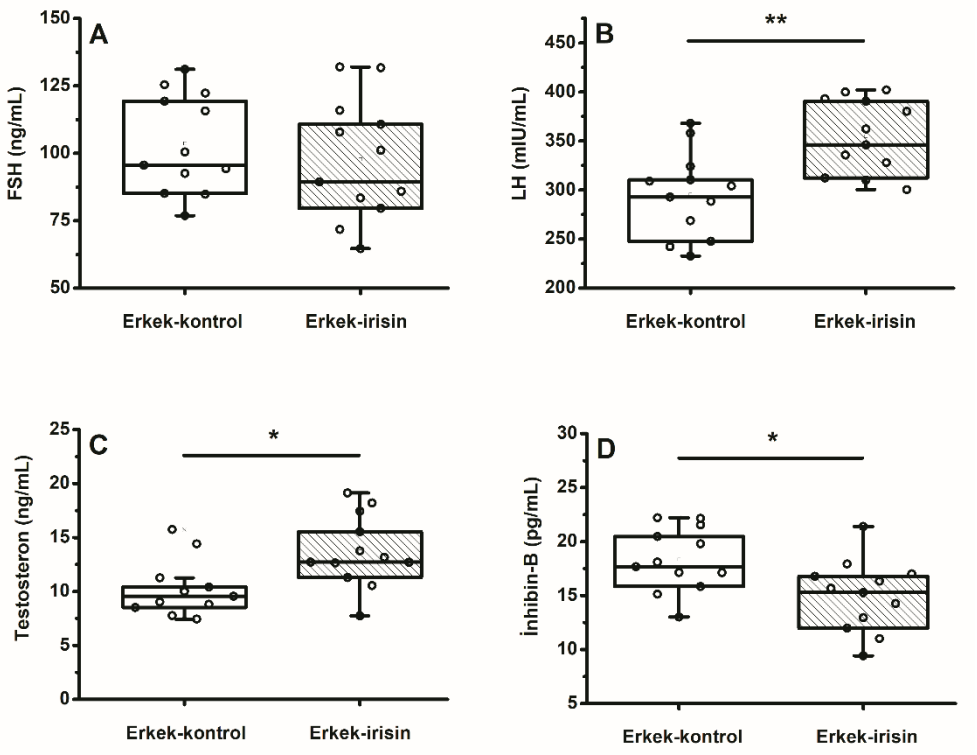
**Tablo 13.** Kronik irisin uygulamasının erkek sıçanların cinsel davranışı üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir (Mann-Whitney *U*-testi ve Student's *t*-testi, n=12).

| **Parametreler** | **Erkek-kontrol grubu** | **Erkek-irisin grubu** |
|---|---|---|
| ML (sn) | 6 ± 3.2 | **5.1 ± 3.3** |
| IL (sn) | 9.5 ± 4.9 | **7.3 ± 2.8** |
| EL (sn) | 787.5 ± 353 | **656.4 ± 396.1** |
| MF | 9.1 ± 4.5 | **11.8 ± 8.2** |
| IF | 38.3 ± 6.8 | 38.8 ± 15.2 |
| EF | 1.5 ± 0.5 | **1.7 ± 0.6** |
| PEI (sn) | 413.3 ± 18.3 | 427 ± 84.6 |
| IO | 0.81 ± 0.08 | 0.83 ± 0.12 |
| ÇO | 0.07 ± 0.04 | 0.08 ± 0.05 |
| CAİ | 11.58 ± 1.45 | 11.31 ± 1.76 |

ML: Mount latensi, IL: İntromisyon latensi, EL: Ejakülasyon latensi, MF: Mount frekansı, IF: İntromisyon frekansı, EF: Ejakülasyon frekansı, PEI: Ejakülasyon sonrası aralık, IO: İntromisyon oranı, ÇO: Çiftleşme oranı ve CAİ: Cinsel aktivite indeksi.

### 5.1.12. Erkek Sıçanlarda Serum Hormon Seviyeleri

Erkek-kontrol ve erkek-irisin gruplarına ait serum FSH, LH, testosteron ve inhibin-B seviyeleri Şekil 24'de verilmiştir. Buna bağlı olarak, kronik irisin uygulanmış erkek sıçanlarda serum FSH seviyelerinin değişmediği (Şekil 24A), fakat serum LH ve testosteron seviyelerinin anlamlı bir şekilde arttığı bulunmuştur (sırasıyla; $p<0.01$ ve $p<0.05$, Şekil 24B-C). Erkek-irisin grubundaki sıçanların serum inhibin-B seviyelerinin ise kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığı belirlenmiştir ($p<0.05$, Şekil 24D).




**Şekil 24.** Kronik irisin uygulamasının erkek sıçanlarda üreme hormonları üzerine etkileri. Erkek-kontrol ve erkek-irisin gruplarında; A) serum FSH, B) serum LH, C) serum testosteron ve D) serum inhibin-B seviyeleri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *$p<0.05$ ve **$p<0.01$; erkek-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=12). FSH: Folikül uyarıcı hormon ve LH: Luteinizan hormon.

### 5.1.13. Erkek Sıçanların Beyin Dokusunda Monoamin Seviyeleri

*Nükleus akkumbensde;* kronik irisin uygulamasının DHPG ve DA seviyelerini anlamlı bir şekilde artırdığı görülmüştür ($p<0.05$). Bu değişimlere bağlı olarak, noradrenalin dönüşümünün arttığı ($p<0.05$) ve dopamin dönüşümünün ise azaldığı ($p<0.05$) belirlenmiştir. Ayrıca, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak anlamlı olmamakla beraber DOPAC konsantrasyonunun da azaldığı görülmüştür (Tablo 14).

**Tablo 14.** Erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasının **nükleus akkumbensde** monoamin seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *p<0.05; erkek-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=6).

| **Monoamin, metabolitleri ve dönüşümleri** | **Nükleus akkumbens** | |
|---|---|---|
| | **Erkek-kontrol grubu** | **Erkek-irisin grubu** |
| DHPG (pg/mg) | 0.3 ± 0.06 | **0.6 ± 0.07*** |
| NA (pg/mg) | 0.9 ± 0.26 | 0.5 ± 0.12 |
| DHPG/NA | 0.58 ± 0.17 | **1.62 ± 0.4*** |
| DOPAC (pg/mg) | 14.4 ± 2.1 | **11.9 ± 2.2** |
| DA (pg/mg) | 10.1 ± 1.8 | **16.4 ± 1.2*** |
| DOPAC/DA | 2.02 ± 0.51 | **0.72 ± 0.14*** |
| 5-HIAA (pg/mg) | 0.4 ± 0.13 | 0.5 ± 0.33 |
| 5-HT (pg/mg) | 0.4 ± 0.13 | 0.3 ± 0.1 |
| 5-HIAA/5-HT | 1.25 ± 0.6 | 1.41 ± 0.46 |

DHPG: Noradrenalin metaboliti, NA: Noradrenalin, DOPAC: Dopamin metaboliti, DA: Dopamin, 5-HIAA: Serotonin metaboliti ve 5-HT: Serotonin.

*Medial preoptik alanda;* erkek-kontrol ve erkek-irisin grupları arasında monoamin, metabolitleri ve dönüşümleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır (Tablo 15). Bunun yanı sıra bu beyin bölgesinde DHPG ise belirlenememiş olup buna bağlı olarak noradrenalin dönüşümü de hesaplanamamıştır.

**Tablo 15.** Erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasının **medial preoptik alanda** monoamin seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir (Student's *t*-testi, n=6).

| **Monoamin, metabolitleri ve dönüşümleri** | **Medial preoptik alan** | |
|---|---|---|
| | **Erkek-kontrol grubu** | **Erkek-irisin grubu** |
| NA (pg/mg) | 2.4 ± 0.24 | 1.9 ± 0.31 |
| DOPAC (pg/mg) | 0.8 ± 0.08 | 0.9 ± 0.02 |
| DA (pg/mg) | 0.5 ± 0.07 | 0.6 ± 0.01 |
| DOPAC/DA | 1.74 ± 0.37 | 2.22 ± 0.59 |
| 5-HIAA (pg/mg) | 0.7 ± 0.64 | 0.6 ± 0.38 |
| 5-HT (pg/mg) | 0.5 ± 0.18 | 0.5 ± 0.27 |
| 5-HIAA/5-HT | 1.1 ± 0.35 | 1.3 ± 0.57 |

NA: Noradrenalin, DOPAC: Dopamin metaboliti, DA: Dopamin, 5-HIAA: Serotonin metaboliti ve 5-HT: Serotonin.

*Medial amigdalada;* erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasının noradrenalin ve dopamin konsantrasyonlarını etkilemediği belirlenmiştir. Fakat erkek-kontrol grubuna göre, kronik irisin uygulamasının 5-HIAA ve 5-HT seviyelerini anlamlı bir şekilde azalttığı bulunmuştur (sırasıyla; $p<0.05$ ve $p<0.01$, Tablo 16).

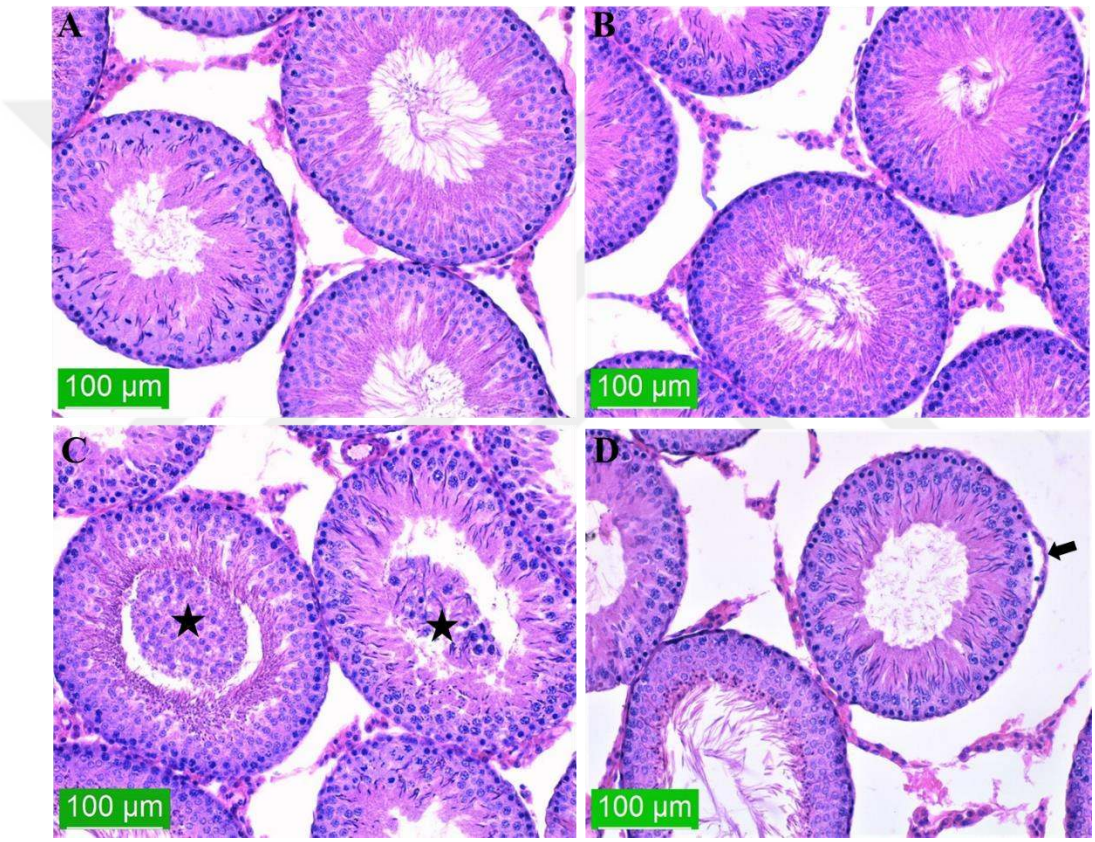
**Tablo 16.** Erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasının **medial amigdalada** monoamin seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *$p<0.05$ ve **$p<0.01$; erkek-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=6).

| **Monoamin, metabolitleri ve dönüşümleri** | **Medial amigdala** | |
|---|---|---|
| | **Erkek-kontrol grubu** | **Erkek-irisin grubu** |
| DHPG (pg/mg) | 1.2 ± 0.36 | 0.7 ± 0.07 |
| NA (pg/mg) | 0.9 ± 0.18 | 1.1 ± 0.14 |
| DHPG/NA | 1 ± 0.22 | 0.6 ± 0.03 |
| DOPAC (pg/mg) | 1.1 ± 0.17 | 0.9 ± 0.06 |
| DA (pg/mg) | 0.8 ± 0.1 | 0.9 ± 0.08 |
| DOPAC/DA | 1.36 ± 0.2 | 1.1 ± 0.11 |
| 5-HIAA (pg/mg) | 1 ± 0.3 | **0.7 ± 0.2*** |
| 5-HT (pg/mg) | 0.6 ± 0.13 | **0.4 ± 0.11**** |
| 5-HIAA/5-HT | 1.55 ± 0.52 | 1.76 ± 0.37 |

DHPG: Noradrenalin metaboliti, NA: Noradrenalin, DOPAC: Dopamin metaboliti, DA: Dopamin, 5-HIAA: Serotonin metaboliti ve 5-HT: Serotonin.

### 5.1.14. Testis Histolojisi

Kontrol ve irisin gruplarına ait testis dokularının histolojik görüntüleri Şekil 25'de verilmiştir. Kontrol grubuna ait kesitler incelendiğinde, seminifer tübüllerin normal histolojik yapıda olduğu belirlenmiştir (Şekil 25A-B). Kontrol grubundan farklı olarak, irisin grubunda seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücreleri ile seminifer tübül bazal membran ayrılmaları dikkat çekmiştir (Şekil 25C-D).




**Şekil 25.** Testis dokusu histolojik görünümü. A, B) kontrol grubu: Normal görünümlü germinal epitel, Sertoli hücreleri, bazal membran ve interstisyel alan. C) irisin grubu: Seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücreleri (★). D) irisin grubu: Seminifer tübül bazal membranında ayrılma (→). Hematoksilen & Eozin (x200).

Testis dokularına ait ***histopatolojik değerlendirmelerde***; kronik irisin uygulamasının seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücrelerinde ve seminifer tübül bazal membran ayrılmalarında anlamlı bir artışa neden olduğu belirlenmiştir (sırasıyla; $p<0.01$ ve $p<0.05$, Tablo 17). ***Histomorfometrik çalışmalara bağlı olarak***, kronik irisin uygulamasının seminifer tübül çapını artırdığı ($p<0.001$) fakat germinal epitel kalınlığını azalttığı ($p<0.05$) görülmüştür (Tablo 17).

**Tablo 17.** Kontrol ve irisin gruplarının testis dokusunda semi-kantitatif histoloji temelli analizler (histolojik skor ve histometrik veriler). Veriler ort ± SS olarak gösterilmiştir. *p<0.05, **p<0.01 ve ***p<0.001; erkek-kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (Student's *t*-testi, n=5).

| **Değişkenler** | **Erkek-kontrol grubu** | **Erkek-irisin grubu** |
|---|---|---|
| Seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücreleri | 0.21 ± 0.1 | **0.88 ± 0.2**** |
| Seminifer tübül bazal membranlarında ayrılma | 0.13 ± 0.1 | **0.54 ± 0.2*** |
| Seminifer tübül çapı (μm) | 284.8 ± 3.7 | **302.2 ± 3.5***** |
| Germinal epitel kalınlığı (μm) | 82.5 ± 1 | **79.1 ± 1*** |

## 5.2. (2. Deneysel Aşama)

Bu başlık altında da, öncelikli olarak dişi sıçanlardan ve daha sonra erkek sıçanlardan elde edilen bulgulara yer verilmiştir.

### 5.2.1. Dişi Sıçanlarda Seksüel İnsentif Motivasyon Testi Bulguları

Dişi sıçanlarda, paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulamasının partner tercihi, aktif keşif ve aktivite indeksi üzerindeki etkileri Tablo 18'de verilmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulamasının partner tercih parametreleri (EHS, DHS, THS ve erkek tercih oranı) ve aktif keşif parametrelerini (EAS, DAS, TAS ve erkek araştırma oranı) etkilemediği belirlenmiştir. Fakat sham kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, paroksetin ve paroksetin+irisin grubunda; dişiyi araştırmak için harcanan sürede anlamlı bir azalma (DAS; $p<0.05$) ve bu azalmaya bağlı olarak erkek araştırma oranında anlamlı bir artış ($p<0.05$) olduğu görülmüştür. Aktivite indeksine bakıldığında ise sadece sham kontrol grubu ile irisin grubu arasında istatistiksel bir anlam olduğu; irisin uygulanan sıçanlardaki aktivite indeksinin sham kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı bulunmuştur ($p<0.01$).

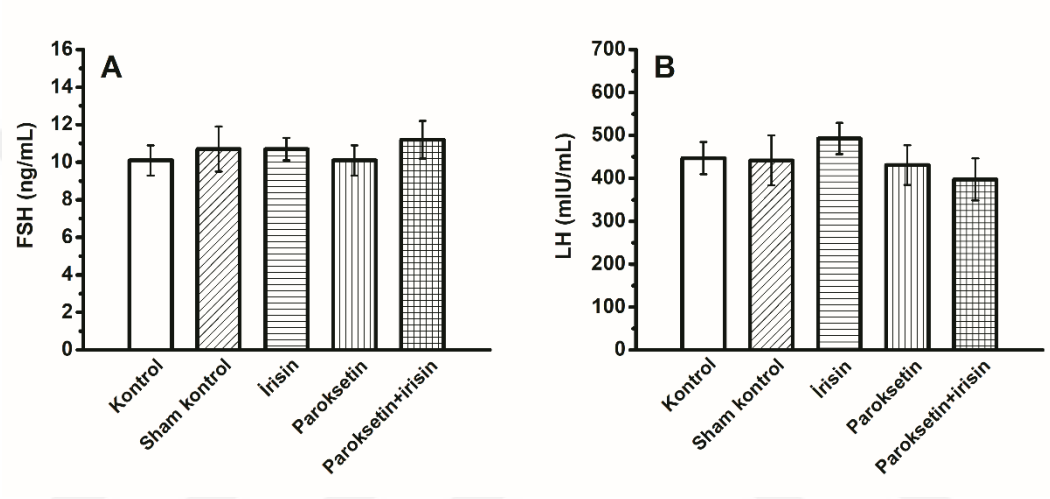
**Tablo 18.** Dişi sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının partner tercihi, aktif keşif ve aktivite indeksi üzerindeki etkileri. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir. *p<0.05 ve **p<0.01; sham kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi , n=10).

| **Parametreler** | **Gruplar** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **Kontrol** | **Sham kontrol** | **İrisin** | **Paroksetin** | **Paroksetin+irisin** |
| EHS (sn) | 451.1 ± 23.3 | 375.1 ± 47.9 | 465.3 ± 24.7 | 474.6 ± 24 | 440.6 ± 31.1 |
| DHS (sn) | 77.6 ± 16.8 | 124.6 ± 30.3 | 55.6 ± 19.3 | 52.4 ± 10.9 | 78.5 ± 19.8 |
| THS (sn) | 528.8 ± 15.7 | 499.8 ± 23 | 520.9 ± 17.1 | 527 ± 18.8 | 519.1 ± 16 |
| Erkek tercih oranı (EHS/THS) | 0.85 ± 0.03 | 0.73 ± 0.07 | 0.89 ± 0.03 | 0.9 ± 0.02 | 0.84 ± 0.04 |
| EAS (sn) | 108.4 ± 11.6 | 118.6 ± 24.3 | 123.1 ± 21.2 | 123.6 ± 11.5 | 129.1 ± 15 |
| DAS (sn) | 24.4 ± 3.1 | 34.9 ± 8.4 | 17 ± 3.9 | **14.6 ± 2.8*** | **13.8 ± 3.8*** |
| TAS (sn) | 132.9 ± 12.2 | 153.5 ± 28.1 | 140.1 ± 21.3 | 138.3 ± 13.7 | 142.9 ± 14 |
| Erkek araştırma oranı (EAS/TAS) | 0.81 ± 0.02 | 0.77 ± 0.05 | 0.88 ± 0.03 | **0.9 ± 0.02*** | **0.9 ± 0.03*** |
| Aktivite indeksi | 10.6 ± 0.8 | 14.1 ± 2 | **7 ± 0.7**** | 10.5 ± 1 | 10.8 ± 1.2 |

EHS: Erkek hayvanın yanında harcanan süre, DHS: Dişi hayvanın yanında harcanan süre, THS: Toplam harcanan süre, EAS: Erkeği araştırmak için harcanan süre, DAS: Dişiyi araştırmak için harcanan süre ve TAS: Toplam araştırma süresi.

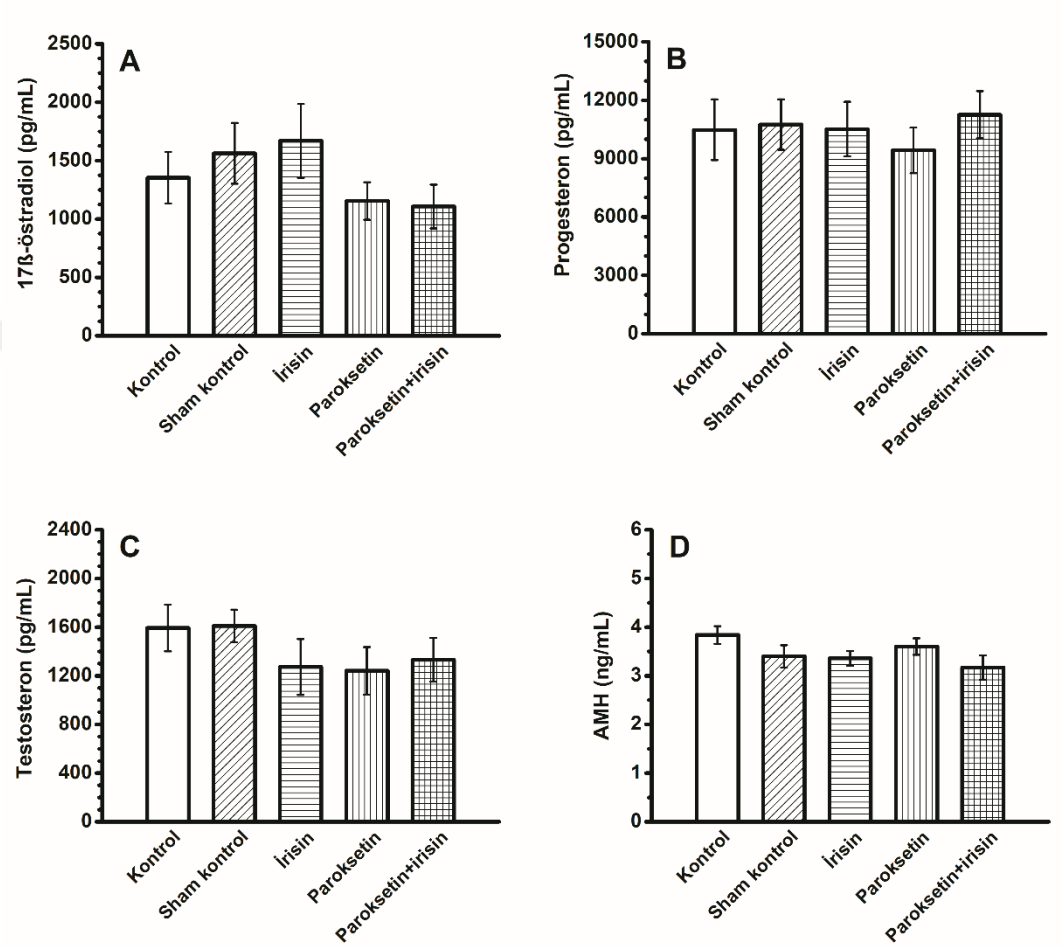
### 5.2.2. Dişi Sıçanlarda Serum Hormon Seviyeleri

Dişi sıçanlarda, paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulamasının serum gonadotropin seviyeleri üzerindeki etkileri Şekil 26'da gösterilmiştir. Buna bağlı olarak, sadece paroksetin veya irisin uygulamasının ve paroksetin ile irisinin birlikte uygulanmasının serum FSH ve LH seviyelerini değiştirmediği belirlenmiştir.




**Şekil 26.** Dişi sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının A) serum FSH ve B) serum LH seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi, n=10). FSH: Folikül uyarıcı hormon ve LH: Luteinizan hormon.

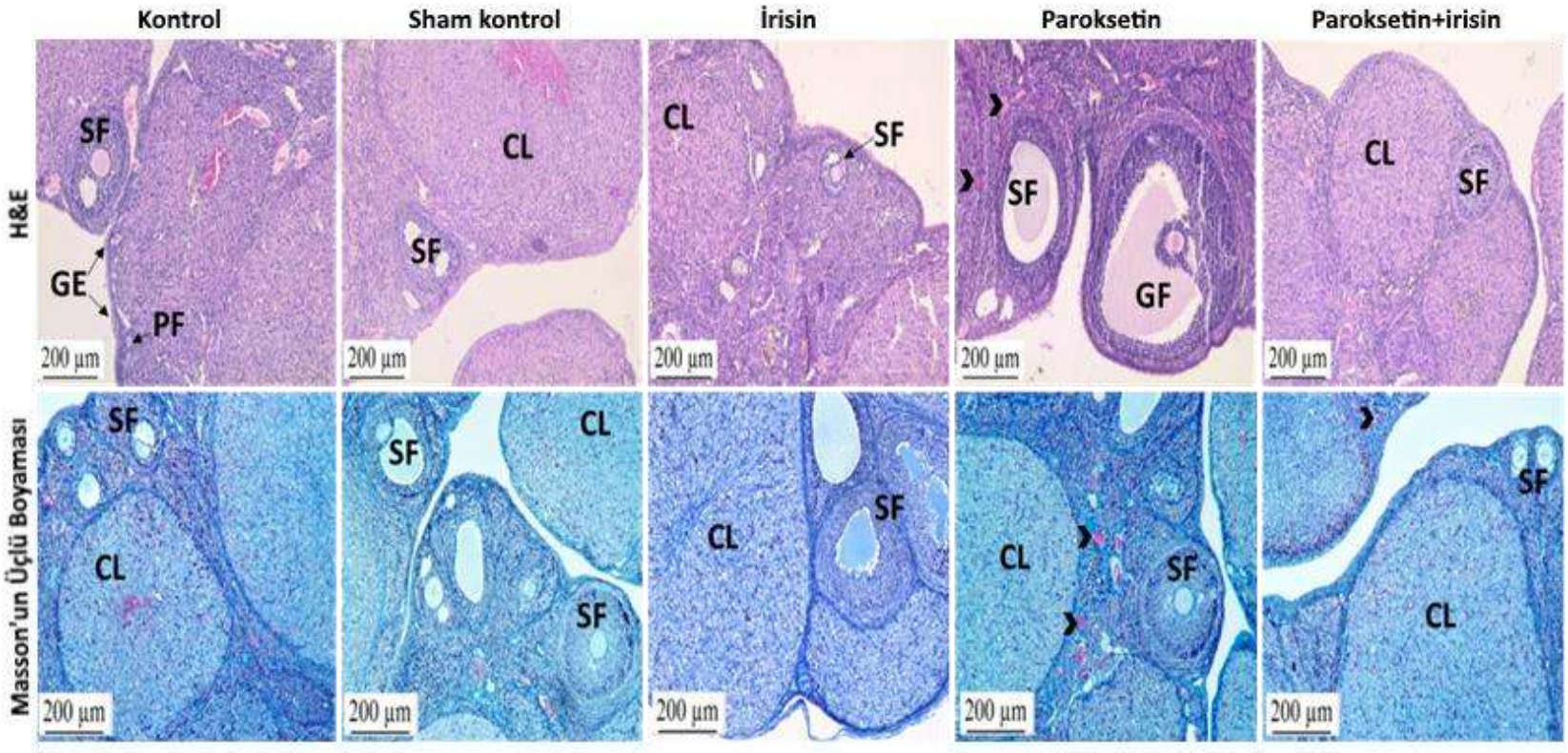
Serum gonadotropin seviyelerinde olduğu gibi, dişi sıçanlarda paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulamasının serum östradiol, progesteron, testosteron ve AMH seviyelerini de değiştirmediği görülmüştür (Şekil 27).




**Şekil 27.** Dişi sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının A) serum 17β-östradiol, B) serum progesteron, C) serum testosteron ve D) serum AMH seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi, n=10). AMH: Anti-müllerian hormon.

### 5.2.3. Ovaryum Histolojisi

Kontrol ve sham kontrol gruplarına ait kesitler incelendiğinde, over yüzeyini döşeyen germinal epitelin genellikle tek katlı kübik şekilli ve düzgün görünümde olduğu tespit edilmiştir. Kortekste çok sayıda korpus luteum ve over folikülleri (primordiyal, primer, sekonder ve Graff) saptanmıştır. Farklı gelişim aşamalarındaki foliküllerde, granüloza hücreleri ve teka yapılarının normal görünümde olduğu gözlenmiştir. Korpus luteum yapıları geniş, oval ve sınırları belirgin olarak izlenmiştir. İrisin grubuna ait over kesitlerinde de sham kontrol grubu ile benzer şekilde çok sayıda korpus luteum ve farklı gelişim evrelerinde ovaryum folikülleri saptanmış, fakat yalnızca bazı yerlerde germinal epitelde dejenerasyon tespit edilmiştir. Paroksetin grubuna ait ovaryum dokuları incelendiğinde ise, over korteksinde gelişmekte olan foliküllerin belirgin yapıda olduğu görülmüştür. Ancak kontrol grubundan farklı olarak, bu grupta kortikal stromada yer alan damarlarda aşırı dilatasyon ve konjesyon dikkat çekmiştir. Paroksetin+irisin grubunda ise paroksetin grubu ile karşılaştırıldığında vasküler konjesyonda azalma tespit edilmiştir (Şekil 28).




**Şekil 28.** Kontrol, sham kontrol, irisin, paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarına ait over dokularının histolojik görünümü. CL: Korpus luteum, SF: Sekonder folikül, PF: Primer folikül, GF: Graff folikülü, GE: Germinal epitel, ›: Vasküler dilatasyon ve konjesyon ve H&E: Hematoksilen-Eozin.

Ovaryum dokularına ait ***histopatolojik değerlendirmelerde***; paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarında primordiyal, primer, sekonder, tersiyer foliküller ile korpus luteum sayılarının değişmediği belirlenmiştir (Tablo 19). Deneysel çalışmaların 1. aşamasında olduğu gibi, bu aşamada da kısa süreli irisin uygulamasının primordiyal, sekonder, tersiyer foliküller ile korpus luteum sayılarında bir farklılık oluşturmadığı fakat primer folikül sayısını anlamlı bir şekilde azalttığı belirlenmiştir ($p<0.05$, Tablo 19). Masson'un üçlü boyaması ile boyanan kesitler incelendiğinde ise fibrozis açısından gruplar arası anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Tablo 19).

**Tablo 19.** Kontrol, sham kontrol, irisin, paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarının over dokularında ovaryan foliküllerin sayısı ile fibrozisin histopatolojik skoru. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir. *p<0.05; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi, n=5).

| **Değişkenler** | **Gruplar** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **Kontrol** | **Sham kontrol** | **İrisin** | **Paroksetin** | **Paroksetin+irisin** |
| Primordiyal folikül | 7.6 ± 1.7 | 6.6 ± 2.1 | 8.2 ± 0.8 | 6.2 ± 0.37 | 6.6 ± 0.6 |
| Primer folikül | 10.6 ± 1.6 | 8.6 ± 2.6 | **3.4 ± 0.75*** | 8.8 ± 1.46 | 7.6 ± 1.17 |
| Sekonder folikül | 9.8 ± 1.43 | 12.2 ± 2.33 | 10.4 ± 1.36 | 7 ± 0.71 | 8.4 ± 1.47 |
| Tersiyer folikül | 1.6 ± 0.68 | 1.6 ± 0.4 | 0.8 ± 0.37 | 1.6 ± 0.4 | 1.4 ± 0.25 |
| Korpus luteum | 10.6 ± 1.25 | 13.4 ± 0.4 | 13.4 ± 1.94 | 9 ± 1 | 9.6 ± 1.1 |
| Fibrozis | 0.5 ± 0.34 | 0.5 ± 0.22 | 1 ± 0.37 | 1.17 ± 0.4 | 0.83 ± 0.31 |

### 5.2.4. Erkek Sıçanlarda Cinsel Davranış Testi Bulguları

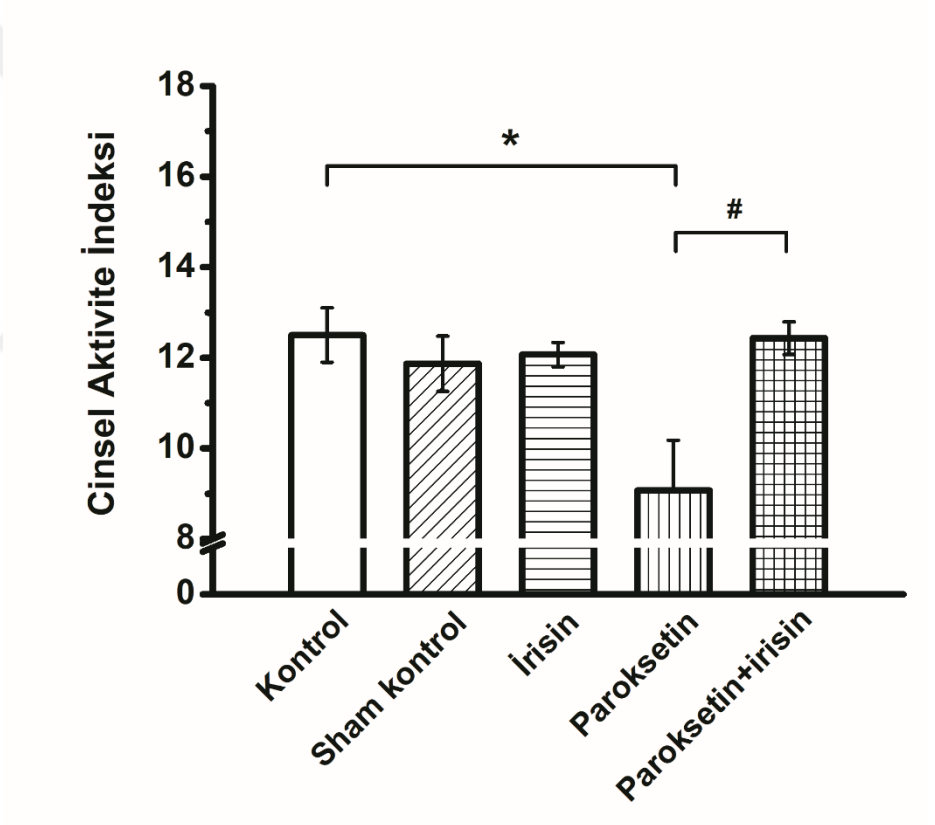
Erkek sıçanlarda, paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulamasının cinsel davranış parametreleri üzerindeki etkileri Tablo 20'de verilmiştir. Sham kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, kısa süreli irisin uygulamasının anlamlı olmamakla beraber mount latensini azalttığı ve intromisyon frekansını ise artırdığı belirlenmiştir. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise paroksetin uygulamasının ejakülasyon latensini anlamlı olarak artırdığı ($p<0.001$) bulunmuştur. Benzer şekilde, paroksetin uygulamasının anlamlı olmamakla birlikte mount ve intromisyon latenslerini artırdığı da görülmüştür. Bunun yanı sıra, paroksetin uygulamasının ejakülasyon frekansı ve çiftleşme oranını anlamlı olarak azalttığı ($p<0.05$) belirlenmiştir. Paroksetin grubuyla karşılaştırıldığında, paroksetin+irisin grubunda mount latensinin ($p<0.05$) ve intromisyon latensinin (istatistiki açıdan anlamlı olmamakla beraber) azaldığı görülmüştür. Ayrıca paroksetin+irisin grubunda, paroksetin uygulamasına bağlı olarak artan ejakülasyon latensi irisin uygulamasıyla birlikte anlamlı olarak azalmıştır ($p<0.01$). Benzer şekilde, paroksetin uygulamasının neden olduğu ejakülasyon frekansındaki azalma irisin uygulamasına bağlı olarak artış göstermiştir ($p<0.05$).

**Tablo 20.** Erkek sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının cinsel davranış üzerindeki etkileri. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir. *p<0.05 ve **p<0.001; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ve $^{\#}$p<0.05 ve $^{\#\#}$p<0.01; paroksetin grubuyla karşılaştırıldığında (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi, n=10).

| **Parametreler** | **Gruplar** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **Kontrol** | **Sham kontrol** | **İrisin** | **Paroksetin** | **Paroksetin+irisin** |
| ML (sn) | 23.6 ± 9.9 | 22.1 ± 7 | **8.5 ± 1.3** | **69.6 ± 28.4** | **8.6 ± 1.6$^{\#}$** |
| IL (sn) | 24.4 ± 9.5 | 15.9 ± 6.1 | 26.4 ± 12.5 | **46.9 ± 21.4** | **26.3 ± 10.1** |
| EL (sn) | 477.9 ± 72.8 | 578.4 ± 75.5 | 574.2 ± 41.8 | **991.9 ± 147.9**** | **519.9 ± 38.5$^{\#\#}$** |
| MF | 15.8 ± 4.3 | 9.1 ± 2.9 | 11.7 ± 2.3 | 10.3 ± 2 | 10.8 ± 2.9 |
| IF | 40.9 ± 3.4 | 39.9 ± 2.6 | **49.1 ± 4.3** | 34.4 ± 3.3 | 45 ± 3.7 |
| EF | 2.4 ± 0.18 | 2.3 ± 0.16 | 2.4 ± 0.16 | **1.5 ± 0.27*** | **2.4 ± 0.18$^{\#}$** |
| PEI (sn) | 317.8 ± 17 | 350.9 ± 9.3 | 327.3 ± 13.9 | 372.1 ± 21.7 | 375.3 ± 20.7 |
| IO | 0.74 ± 0.06 | 0.83 ± 0.04 | 0.81 ± 0.03 | 0.76 ± 0.05 | 0.83 ± 0.03 |
| ÇO | 0.14 ± 0.03 | 0.11 ± 0.02 | 0.11 ± 0.01 | **0.05 ± 0.01*** | 0.11 ± 0.02 |

ML: Mount latensi, IL: İntromisyon latensi, EL: Ejakülasyon latensi, MF: Mount frekansı, IF: İntromisyon frekansı, EF: Ejakülasyon frekansı, PEI: Ejakülasyon sonrası aralık, IO: İntromisyon oranı ve ÇO: Çiftleşme oranı.

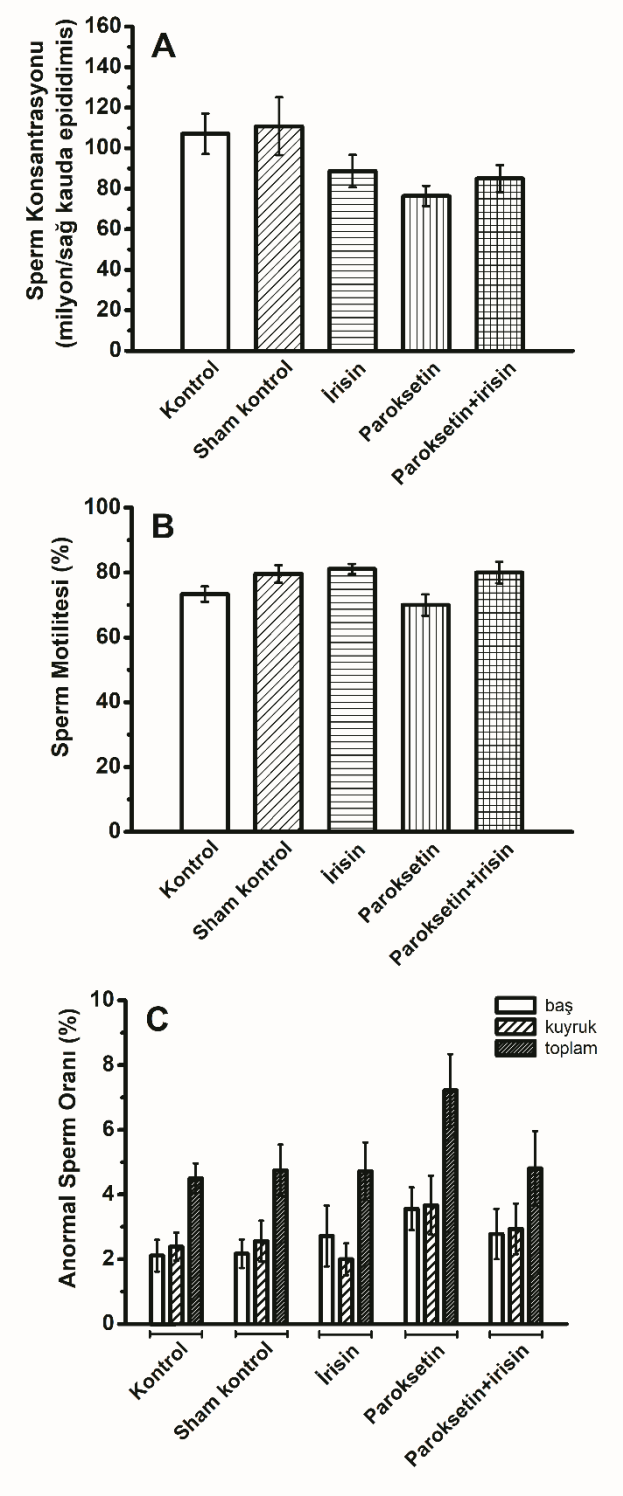
Erkek sıçanlarda, paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulamasının üreme davranışı üzerindeki etkileri cinsel aktivite indeksi (CAİ) ile de belirlenmiş olup Şekil 29'da gösterilmiştir. Buna göre, sham kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kısa süreli irisin uygulamasının CAİ'yi etkilemediği belirlenmiştir. Fakat kontrol grubuna göre, paroksetin uygulaması CAİ'yi anlamlı bir şekilde azaltmıştır ($p<0.01$). Paroksetin grubuyla karşılaştırıldığında ise paroksetin+irisin grubunda; paroksetin uygulamasına bağlı olarak azalan CAİ irisin uygulamasıyla birlikte tekrar artış göstermiştir ($p<0.01$).




**Şekil 29.** Erkek sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının cinsel aktivite indeksi üzerindeki etkileri. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir. *$p<0.01$; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ve $^{\#}p<0.01$; paroksetin grubuyla karşılaştırıldığında (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi, n=10).

### 5.2.5. Sperm Parametreleri

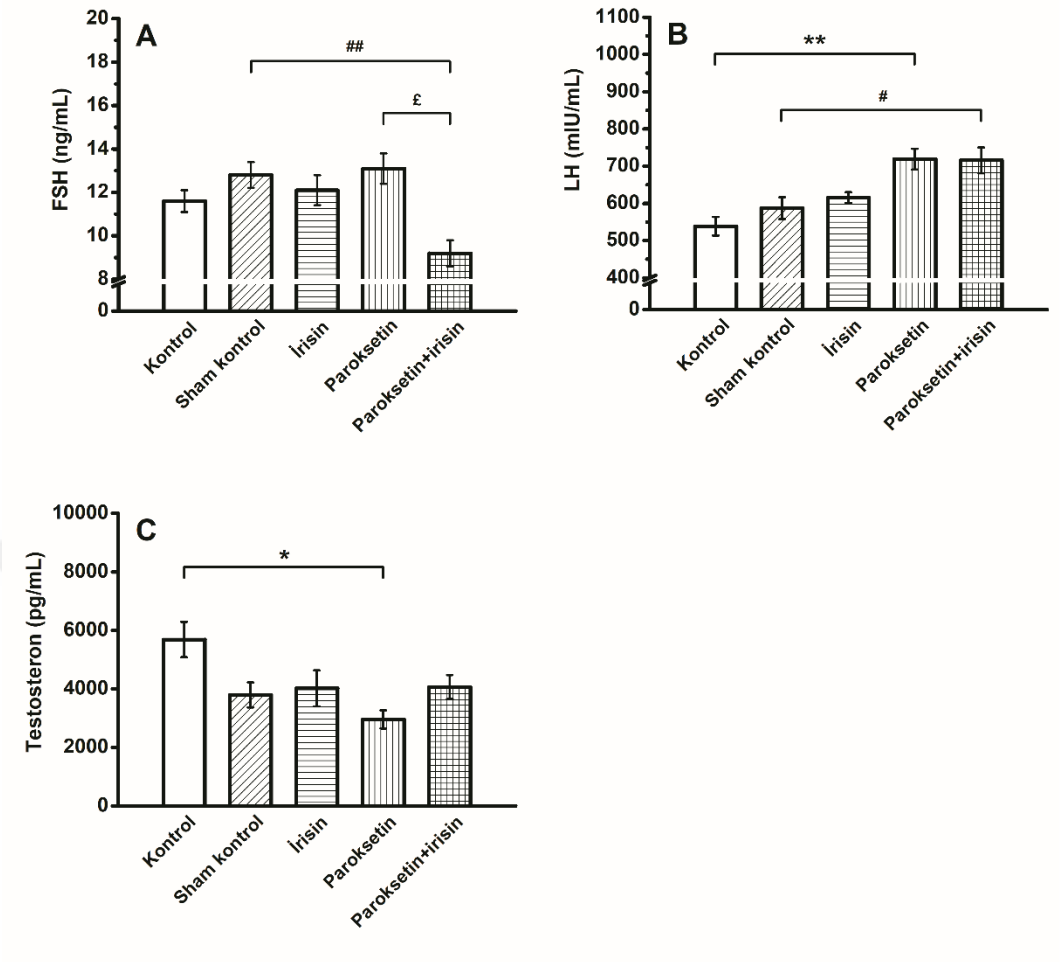
Kontrol, sham kontrol, irisin, paroksetin ve paroksetin+irisin gruplarına ait sperm parametreleri Şekil 30'da verilmiştir. Kontrol ve sham kontrol gruplarına ait sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve anormal sperm oranları verilerinin benzer olduğu ortaya koyulmuştur. Deneysel çalışmaların 1. aşamasından farklı olarak, bu aşamada kısa süreli irisin uygulamasının sperm konsantrasyonunu değiştirmediği belirlenmiştir (Şekil 30A). Benzer şekilde sperm motilitesi ve anormal sperm oranları da kısa süreli irisin uygulamasından etkilenmemiştir (Şekil 30B-C). Paroksetin grubunda ise anlamlı olmamakla beraber sperm konsantrasyonunda ve motilitesinde azalma ve anormal sperm oranında ise artış olduğu belirlenmiştir. Paroksetin grubuyla karşılaştırıldığında, paroksetin+irisin grubunda istatistiki olarak anlamlı olmamakla birlikte, sperm konsantrasyonu ile motilitesinde artış ve anormal sperm oranında azalma olduğu görülmüştür.




**Şekil 30.** Paroksetin ve/veya irisin uygulamasının sperm parametreleri üzerine etkileri. A) sperm konsantrasyonu, B) sperm motilitesi ve C) anormal sperm oranı. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi, n=10).

### 5.2.6. Erkek Sıçanlarda Serum Hormon Seviyeleri

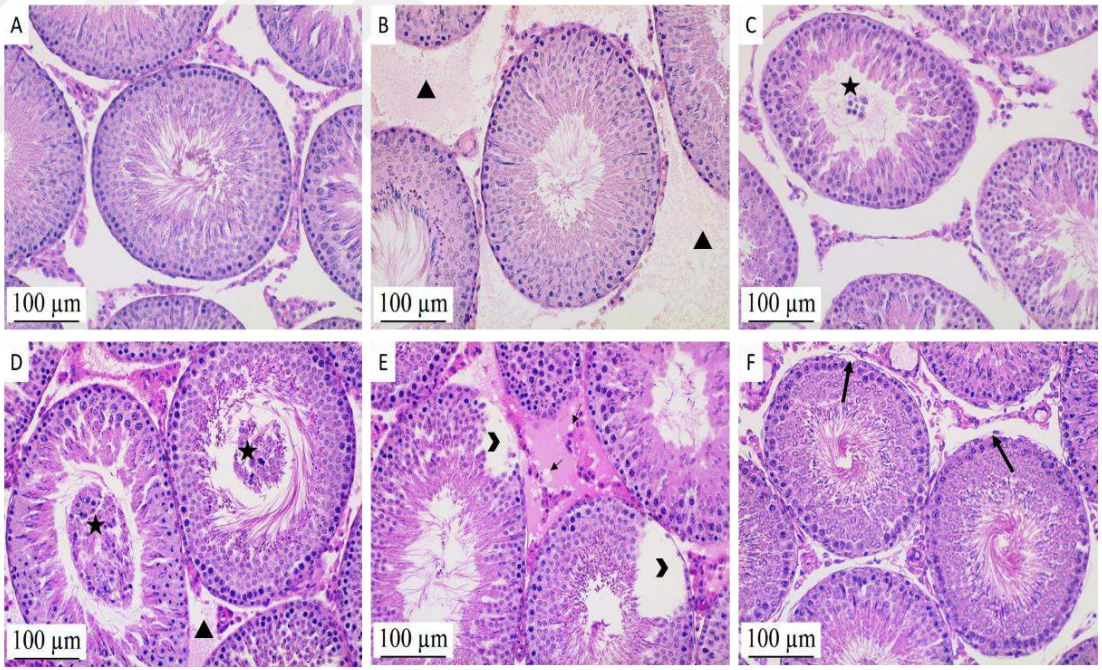
Erkek deney gruplarında, paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulamasının serum FSH, LH ve testosteron seviyeleri üzerindeki etkileri Şekil 31'de verilmiştir. Buna göre, sırasıyla kontrol ve sham kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında paroksetin veya kısa süreli irisin uygulamasının serum FSH seviyesini değiştirmediği belirlenmiştir (Şekil 31A). Fakat hem sham kontrol grubuyla hem de paroksetin grubuyla kıyaslandığında, paroksetin ile irisinin birlikte uygulanmasının serum FSH seviyesini anlamlı bir şekilde azalttığı belirlenmiştir (sırasıyla $p<0.01$ ve $p<0.001$, Şekil 31A). Deneysel çalışmaların 1. aşamasından farklı olarak, bu aşamada kısa süreli irisin uygulamasının serum LH ve testosteron seviyelerini etkilemediği bulunmuştur (Şekil 31B-C). Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise, paroksetin uygulamasının serum LH seviyesini artırdığı ($p<0.001$, Şekil 31B) ve serum testosteron seviyesini azalttığı ($p<0.01$, Şekil 31C) belirlenmiştir. Bunun yanı sıra sham kontrol grubuyla kıyaslandığında, paroksetin ile irisinin birlikte uygulanmasının serum testosteron seviyesini değiştirmediği (Şekil 31C) ve serum LH seviyesini ise anlamlı bir şekilde artırdığı belirlenmiştir ($p<0.05$, Şekil 31B).




**Şekil 31.** Erkek sıçanlarda paroksetin ve/veya irisin uygulamasının A) serum FSH, B) serum LH ve C) serum testosteron seviyeleri üzerine etkileri. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir. *p<0.01 ve **p<0.001; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, $^{\#}$p<0.05 ve $^{\#\#}$p<0.01; sham kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ve $^{£}$p<0.001; paroksetin grubuyla karşılaştırıldığında (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi, n=10). FSH: Folikül uyarıcı hormon ve LH: Luteinizan hormon.

### 5.2.7. Testis Histolojisi

Kontrol grubuna ait kesitler incelendiğinde seminifer tübüller normal histolojik yapıda izlenmiştir (Şekil 32A). Sham kontrol grubuna ait kesitlerde interstisyel alanda ödem (Şekil 32B), irisin grubunda ise seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücrelerinde artış (Şekil 32C) tespit edilmiş ancak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu histopatolojik değişikliklerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirlenmiştir (Tablo 21). Paroksetin grubunda, seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücrelerinde, interstisyel alandaki ödemde ve seminifer tübül germinal epitellerinde dejenerasyonda anlamlı bir artış tespit edilmiştir ($p<0.05$, Şekil 32D-E, Tablo 21). Bunun yanı sıra, paroksetin grubunda interstisyel alanda vakuolizasyon da dikkat çekmiştir (Şekil 32E). Paroksetin+irisin grubunda ise paroksetin grubu ile karşılaştırıldığında tüm bu histopatolojik değişikliklerde (lümene dökülmüş germ hücreleri, interstisyel ödem ve dejenere tübüller) anlamlı bir azalma olduğu belirlenmiştir ($p<0.05$, Şekil 32F, Tablo 21). Ancak bu gruba ait kesitlerde diğer preparatlarda sıkça karşılaşılmayan seminifer tübül bazal membranında ayrılma dikkat çekmiştir (Şekil 32F). Paroksetin+irisin grubundaki bu histopatolojik değişiklik, hem kontrol hem de paroksetin grubuna göre anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.05$, Tablo 21).




**Şekil 32.** Testis dokusu histolojik görünümü. A) kontrol grubu: Normal görünümlü germinal epitel, Sertoli hücreleri, bazal membran ve interstisyel alan. B) sham kontrol grubu: İnterstisyel alanda ödem (▲). C) irisin grubu: Seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücreleri (★). D) paroksetin grubu: Seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücreleri (★) ve interstisyel alanda ödem (▲). E) paroksetin grubu: Seminifer tübül germinal epitelinde dejenerasyon (›) ve interstisyel alanda vakuolizasyon (→). F) paroksetin+irisin grubu: Seminifer tübül bazal membranında ayrılma (→). Hematoksilen & Eozin (x200).

**Tablo 21.** Testis dokusuna ait histolojik skor tablosu. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir. *p<0.05; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ve #p<0.05; paroksetin grubuyla karşılaştırıldığında (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi, n=5).

| **Değişkenler** | **Gruplar** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | **Kontrol** | **Sham kontrol** | **İrisin** | **Paroksetin** | **Paroksetin+irisin** |
| Lümene dökülmüş germ hücreleri | 0.2 ± 0.1 | 0.28 ± 0.12 | 0.56 ± 0.17 | **0.96 ± 0.24*** | **0.16 ± 0.08#** |
| İnterstisyel ödem | 0.16 ± 0.08 | 0.6 ± 0.15 | 0.4 ± 0.14 | **0.84 ± 0.17*** | **0.24 ± 0.12#** |
| Dejenere tübüller | 0.08 ± 0.08 | 0.24 ± 0.11 | 0.28 ± 0.12 | **0.92 ± 0.21*** | **0.16 ± 0.08#** |
| Bazal membranlarda ayrılma | 0.12 ± 0.09 | 0.28 ± 0.12 | 0.2 ± 0.1 | 0.12 ± 0.07 | **1.12 ± 0.2*,#** |

***Histomorfometrik çalışmalara bağlı olarak***, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında paroksetin grubunda germinal epitel kalınlığının anlamlı bir şekilde arttığı belirlenmiştir ($p<0.05$, Tablo 22). Sham kontrol grubuyla kıyaslandığında ise, paroksetin+irisin grubunda hem seminifer tübül çapının hem de germinal epitel kalınlığının anlamlı olarak arttığı görülmüştür ($p<0.05$, Tablo 22). Benzer şekilde, paroksetin+irisin grubundaki germinal epitel kalınlığı irisin grubuna göre de anlamlı bir artış göstermiştir ($p<0.05$, Tablo 22).

**Tablo 22.** Testis dokusuna ait histomorfometrik ölçümler. Veriler ort ± SH olarak gösterilmiştir. *$p<0.05$; kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, $^{\#}p<0.05$; sham kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ve $^{£}p<0.05$; irisin grubuyla karşılaştırıldığında (one-way ANOVA ve Post-Hoc Tukey testi, n=5).

| **Gruplar** | **Seminifer tübül çapı (µm)** | **Germinal epitel kalınlığı (µm)** |
|---|---|---|
| Kontrol | 295.3 ± 3.5 | 89.2 ± 2.1 |
| Sham kontrol | 296.5 ± 8 | 85 ± 2.9 |
| İrisin | 318.7 ± 4.9 | 92.5 ± 2.8 |
| Paroksetin | 316.5 ± 6.9 | **103.91 ± 3.3**$^{*}$ |
| Paroksetin+irisin | **333.7 ± 8.5**$^{\#}$ | **103.94 ± 3.1**$^{\#, £}$ |

# 6. TARTIŞMA

İrisin yeni tanımlanmış bir miyokin olup egzersize cevap olarak dolaşıma salınan bir hormondur. İrisin hormonu beyaz yağ dokunun kahverengi yağ dokusuna dönüşümünü uyarır ve böylece enerji tüketimini artırır (113). Yapılan çalışmalarda irisinin üreme sistemi üzerinde etkilerinin olabileceği (117, 124, 125) ve egzersizle düzeltilebilecek metabolik hastalıklar için terapötik bir molekül olabileceği ifade edilmektedir (113, 116). Fakat irisin hormonunun üreme sistemi üzerindeki nöroendokrin etkileri tam olarak bilinmemektedir. Tez kapsamında gerçekleştirilen deneysel çalışmalarla, ekzojen irisin uygulamasının sıçanlarda cinsiyete bağlı olarak pubertal olgunlaşma ve üreme fonksiyonu üzerinde farklı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca SSRI kullanımına bağlı gelişen cinsel fonksiyon bozukluklarında irisinin terapötik bir ajan olabileceği ortaya koyulmuştur.

## 6.1. (1. Deneysel Aşama)

Bu başlık altında, ilk olarak dişi sıçanlar için ve daha sonra erkek sıçanlar için elde edilen bulgulara dair tartışmalar yer almaktadır.

### 6.1.1. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanlarda Pubertal Gelişim Üzerine Etkileri

Kompleks bir fizyolojik süreç olan pubertede HHG eksenin yeniden aktivasyonuyla üreme yeteneği elde edilir ve bireyde fiziksel, emosyonel, davranışsal ve psikolojik değişimler meydana gelir (6). Puberte, vücut enerji

rezervlerinin durumu ile bağlantılı olup çeşitli metabolik sinyallere karşı duyarlıdır. Pubertenin başlangıcını düzenleyen nöroendokrin mekanizmalar belirsizliğini korumakta olup, kisspeptinden bağımsız olarak puberte başlangıcında metabolik bir tetikleyici olarak miyokinlerin rol alabileceği öne sürülmektedir (147). Bu noktada bir miyokin olarak irisin hormonu son zamanlarda dikkat çekmektedir.

Literatürde, sınırlı sayıda yapılan çalışmalarla irisinin pubertal olgunlaşma üzerindeki etkinliği sorgulanmıştır. Örneğin, normal ağırlıklı kız çocuklarında pubertal aşamalarda (prepubertal, pubertal ve postpubertal) serum irisin seviyesinin farklılık göstermediği ifade edilmiştir (148). Normal ağırlıklı çocuklardan farklı olarak obez çocuklarda ise pubertenin artmış serum irisin seviyesiyle ilişkili olduğu gösterilmiştir (21). Bir başka çalışmada ise obez çocuklardaki irisin seviyesinin yaş, cinsiyet, vücut ağırlığı ve pubertal aşamadan bağımsız olduğu önerilmiştir (149). Yapılan son bir çalışmayla da santral puberte prekoks tanısı olan kız çocuklarında serum irisin seviyesinin sağlıklı kız çocuklarına göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (129).

Yukarıda bahsi geçen tüm bu çalışmalardan anlaşıldığı üzere, irisin hormonu ile pubertal olgunlaşma arasındaki ilişki tam olarak netlik kazanamamıştır. Ayrıca insanlarda yapılan bu çalışmalardaki bulguların farklılığı ise; puberte zamanında rol oynayan genetik faktörler, sosyoekonomik durumlar, beslenme ve çevresel faktörler gibi karıştırıcı faktörler ile açıklanabilir (150). Bu nedenle bu tez çalışması kapsamında, irisin hormonunun pubertal olgunlaşma üzerindeki rolünü yukarıda bahsedilen karıştırıcı faktörlerden bağımsız olarak açığa çıkarmak için sıçan modelleri kullanılmıştır. Böylece ilk kez bu tez çalışmasıyla

birlikte irisinin dişi sıçanlarda puberteye geçişi geciktirdiği, erkek sıçanlarda ise puberteye geçişi etkilemediği açığa çıkarılmıştır.

Kadın atletlerde, kronik veya aşırı egzersizin normal üreme fonksiyonunu bozduğu ve fiziksel efordaki artışın HHG eksenin dengesini bozarak hormonal dengesizliklere neden olduğu bilinmektedir. Üreme aksındaki bu dengesizliklere bağlı olarak da gecikmiş puberte, gecikmiş menstruasyon ve amenore görülebilmektedir (109, 151). Bu çalışmada da bir egzersiz hormonu olan irisinin kronik uygulamasının dişi sıçanlarda hem puberteye geçişi hem de ilk östrus yaşını geciktirdiği belirlenmiştir.

Kadın atletlerde yoğun egzersizle birlikte leptin salınımının azaldığı veya inhibe edildiği de bilinmektedir (109, 152). Leptin fertilitenin düzenlenmesinde rol oynamakta, özellikle puberteye geçişte uyarıcı bir sinyal görevi görmekte ve puberte ve menstruasyonun başlaması ve sürdürülmesinde kritik bir leptin seviyesi gerekmektedir (153). Yaptığımız bir çalışmada, dişi sıçanlarda irisin uygulamasının serum leptin seviyesini azalttığı belirlenmiştir (154). Tez çalışması kapsamında ise sıçanlarda serum leptin seviyesi ölçülmemiş olmakla birlikte, irisin uygulanmış dişi sıçanlarda puberteye geçişteki ve ilk östrus yaşındaki gecikmenin azalmış serum leptin seviyesiyle ilişkili olabileceği çıkarımı yapılabilir. Sonuç olarak, kronik veya yoğun egzersizin üreme fonksiyonu üzerindeki etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, tez çalışması kapsamında elde ettiğimiz bu sonuçlarla; kronik veya yoğun egzersizin dişi üreme sistemi üzerindeki negatif etkilerinde irisin hormonunun rolü olabileceği düşünülebilir.

### 6.1.2. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanlarda Üreme Hormonları Üzerine Etkileri

Bu tez kapsamında, kronik irisin uygulamasının üreme endokrin fonksiyonu üzerindeki etkilerini ortaya koymak için serum gonadotropin ve seks steroid hormon seviyeleri belirlenmiştir. Buna bağlı olarak, dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının serum FSH, LH, östradiol, progesteron ve testosteron seviyelerinde major değişikliklere neden olduğu bulunmuştur.

Literatürde, irisinin FSH seviyesini azalttığı veya artırdığını gösteren çalışmalar mevcuttur (124, 126). Bu çalışmada ise dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının serum FSH seviyesini azalttığı görülmüştür. Ayrıca, adenohipofizde FSH salınımını inhibe eden inhibin-B hormonunun seviyesinin ise kronik irisin uygulamasına bağlı olarak değişmediği belirlenmiştir. Dolayısıyla bu çalışmada, FSH seviyesinin azalmasında inhibin-B'nin endokrin rolünün olmadığı görülmektedir.

Poretsky ve arkadaşları (2017) ise irisin uygulamasının murin hipofiz hücre hattında LH sentezi üzerinde uyarıcı bir etki gösterdiğini ortaya koymuşlardır (117). Benzer şekilde, Jiang ve arkadaşları (2017) da irisinin tilapia hipofiz hücrelerinde gonadotropin gen ekspresyonunu uyardığını göstermişlerdir (124). Literatüre uygun olarak, bu çalışmada da kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda serum LH konsantrasyonunu artırdığı bulunmuştur.

Üreme çağındaki kadınlarda en sık görülen endokrin bozukluk olan polikistik over sendromu (PCOS) gelişiminde irisinin bir biyomarker olabileceği önerilmiştir. Bunun yanı sıra PCOS'lu kadınlarda aşırı LH sekresyonu söz konusu

olduğu için (155) irisinin bu noktadaki rolü dikkat çekmektedir. Dolayısıyla çalışmamızda, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak FSH ve LH sekresyonunda meydana gelen bozuklukların çeşitli kadın fertilite bozuklukları ile ilişkilendirilen nöroendokrin anormallikleri yansıtabileceği önerilmektedir.

Bu çalışmada bir diğer dikkat çekici sonuç, dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasına bağlı olarak serum östradiol seviyesindeki artıştır. Literatürde de bizim sonuçlarımıza benzer şekilde, kadınlarda östradiol konsantrasyonunun irisin seviyesiyle pozitif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir (119). *In vitro* bir çalışmada ise, insan granüloza hücrelerinin primer kültüründe irisinin östradiol üretimini uyardığı, fakat irisin ile insülinin birlikte uygulandığı durumda ise irisinin bu uyarıcı etkisinin ortadan kalktığı gösterilmiştir (117). Bu noktada, *in vivo* ortamda irisinin insülin ile etkileşiminin yanı sıra gonadotropinler ve çeşitli otokrin/parakrin faktörlerle de etkileşime girmesi nedeniyle; irisinin over fonksiyonu üzerinde fizyolojik etkisinin belirlenmesinde çalışmamızın önemi ortaya çıkmaktadır. Sonuç olarak bu çalışmada, dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının gonadotropik hormonların (FSH ve LH) seviyelerini değiştirerek ya da direkt olarak overleri etkileyerek serum östradiol seviyesini artırabileceği sonucuna varılabilir.

Kronik irisin uygulanmış dişi sıçanlarda artan östradiol seviyesinin yanı sıra serum progesteron ve testosteron seviyelerindeki azalma, kronik irisin uygulamasının endokrin sistem üzerindeki diğer olumsuz etkilerini yansıtmaktadır. Histolojik bulgularımızda, kronik irisin uygulanmış sıçanlarda teka yapılarının normal görünümde olduğu ve korpus luteum sayısının değişmediği belirlenmiştir. Fakat buna rağmen serum progesteron seviyesindeki azalmanın, progesteron

üretiminde enzimatik seviyelerde meydana gelen değişimlerle ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Bu düşünce, hem bir adipokin olan leptinin progesteron sentezinde rol oynayan 3β-hidroksisteroid dehidrojenaz enziminin sentezini düzenlediğini gösteren çalışmadan (156) hem de irisinin leptin sentezi üzerinde etkili olduğunu gösterdiğimiz çalışmamızdan (154) ortaya çıkmıştır. Sonuç olarak, irisin hormonunun da bir adipomiyokin olduğu göz önüne alındığında, irisinin progesteron sentezinde rol oynayan enzimler üzerinde bir etkisinin olabileceği varsayılabilir.

Literatürde, kronik egzersiz yapan kadınlarda luteal fazda progesteron seviyesinin azaldığı ifade edilmiştir (157). Bir başka çalışmada ise egzersiz ile gebelik arasındaki ilişki incelenmiş ve bunun sonucunda düzenli egzersiz yapan kadınlarda implantasyon başarısızlığının iki kat arttığı ve düşük yapma olasılığının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (158). Progesteron özellikle implantasyonda, sekretuvar endometriyalde önemli bir rol oynamakta (159) ve dolayısıyla egzersizin gebelik üzerindeki bu olumsuz etkilerinde progesteron seviyesinin önemi açıktır. Tez çalışması kapsamında elde ettiğimiz bu sonuçlar, literatürde ifade edilen kronik/aşırı egzersize bağlı olarak implantasyonda meydana gelen olumsuzluklarda, irisine bağlı azalan progesteron seviyesinin rolü olabileceğini göstermektedir.

Sedanter bireylere göre, düzenli egzersiz yapan genç kadınlarda plazma testosteron konsantrasyonunun daha düşük olduğu ifade edilmiştir (151). Çalışmamızda da kronik irisin uygulamasının serum testosteron seviyesini azalttığı belirlenmiştir ve dolayısıyla kadınlarda egzersize bağlı olarak azalan testosteron seviyesinde irisin hormonunun rolü olabileceği düşünülmektedir.

### 6.1.3. Kronik İrisin Uygulamasının Ovaryum Dokusu Üzerine Etkileri

Tez kapsamında kronik irisin uygulamasının primer folikül sayısını azalttığı ve over dokusunda fibrozis oluşumunu artırdığı görülmüştür. Fakat ovaryan dokusundaki bu patalojik değişikliklere rağmen serum AMH ve inhibin-B seviyelerinin ise değişmediği belirlenmiştir. Memelilerde FSH, postpubertal dönemde foliküler büyümeyi ve gelişmeyi uyaran önemli bir dolaşım hormonudur. Folikül uyarıcı hormon seviyesinin değişmemesi ya da azalması foliküler büyümede başarısızlığa neden olur ve bunun sonucunda da ovaryan rezervinde bir azalma meydana gelir (160, 161). Dolayısıyla çalışmamızda, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak azalan primer folikül sayısı, azalmış serum FSH seviyesiyle ilişkilendirilebilir. Ayrıca bu çalışmada, primer folikül sayısındaki azalmanın bir başka nedeni; ovaryum dokusunda yapısal hasara yol açabilen artmış fibrozis olabilir. Sonuç olarak bu morfolojik bulgular (primer folikül sayısındaki azalma ve fibrozisdeki artış), irisinin dişilerde HHG eksen üzerinde etkilerinin olabileceğini desteklemektedir.

Folikülogenezisde önemli bir rol oynayan AMH fonksiyonel over rezervi ile ilişkilidir ve bu nedenle AMH üreme bozuklukları ve infertilitede tanısal ve prognostik bir marker olarak kullanılmaktadır (162). Anti-müllerian hormon ekspresyonu primer foliküllerin granüloza hücrelerinde başlar ve en yüksek AMH ekspresyonu küçük antral foliküllerin ve preantral foliküllerin granüloza hücrelerinde gerçekleşir. Serum AMH seviyesindeki azalma ise büyüyen foliküllerin sayısındaki azalma ile ilişkilidir (163). Çalışmamızda kronik irisin uygulaması sadece primer folikül sayısını azaltmış olup, bu azalmanın serum AMH seviyesini etkilemediği görülmüştür. Ayrıca serum AMH seviyesinin değişmemiş

olması, kronik irisin uygulamasının fonksiyonel granüloza hücrelerini etkilememiş olabileceğini de yansıtabilir.

Anti-müllerian hormonun yanı sıra inhibin-B de over rezerv biyomarkeri olarak kullanılmaktadır ve inhibin-B foliküler gelişimin parakrin modülatörüdür. Küçük antral foliküllerin granüloza hücrelerinde üretilen inhibin-B, foliküler fazın erken döneminde artar daha sonra döngü ortasına doğru düşer ve luteal fazda ise inhibin-B seviyeleri daha düşüktür (164, 165). Ayrıca kadınlarda AMH seviyesi ile inhibin B seviyesinin korelasyon gösterdiği de ifade edilmiştir (166). Çalışmamızda da serum AMH seviyesinde olduğu gibi serum inhibin-B seviyesinin de kronik irisin uygulamasından etkilenmediği bulunmuştur. Ayrıca, inhibin-B sentezi esas olarak küçük antral foliküllerin granüloza hücrelerinde gerçekleştiği için, bu çalışmada inhibin-B seviyesinin primer folikül sayısındaki azalmadan bağımsız olması beklenen bir durumdur.

### 6.1.4. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanlarda Beyin Monoamin Seviyeleri Üzerine Etkileri

Tez çalışması kapsamında, dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının cinsel fonksiyonda önemli rolleri olan beyin bölgelerinden NAC, MPOA ve MeA'da monoamin seviyelerinde değişikliğe neden olduğu bulunmuştur.

Nükleus akkumbensde, anlamlı olmamakla birlikte azalmış dopamin konsantrasyonuna artmış DOPAC konsantrasyonu ve dopamin dönüşümü (DOPAC/DA) eşlik etmiştir, bu da kronik irisin uygulamasına yanıt olarak dopaminin metabolitlerine dönüşümünün arttığını göstermektedir. Bu bölgedeki artmış dopamin dönüşümü, dopaminin intranöral monoamin oksidaz (MAO) ile

DOPAC'a katabolizmasındaki artışı yansıtabilir. Yapılan çalışmalarda özellikle DOPAC/DA oranının dopaminerjik aktiviteyi yansıttığı belirtilmiştir (167). Dolayısıyla bu çalışmada, dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının nükleus akkumbensde dopaminerjik nöronların aktivitesini artırdığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca NAC'de serotonin konsantrasyonu ve serotonin dönüşümü değişmezken, serotoninin primer metaboliti olan 5-HIAA konsantrasyonunda azalma olduğu görülmüştür. Serotonerjik aktivitenin göstergesi olan serotonin dönüşümü (5-HIAA/5-HT), sinapsta bulunan ve salındıktan sonra 5-HIAA'ya metabolize olan serotoninin miktarını yansıtır (168). Beyinde 5-HIAA seviyesi ve 5-HIAA/5-HT oranı serotonerjik aktivitenin indeksi olarak kullanılmaktadır. Fakat merkezi serotonerjik aktiviteyi; beyin 5-HIAA konsantrasyonundan ziyade 5-HIAA/5-HT oranının daha iyi yansıttığı ifade edilmiştir (169). Buna bağlı olarak çalışmamızda, kronik irisin uygulamasının nükleus akkumbensde serotonerjik aktiviteyi etkilemediği düşünülmektedir.

Medial preoptik alanda ise kronik irisin uygulamasına bağlı olarak noradrenalin, DOPAC ve anlamlı olmamakla beraber dopamin seviyelerinin azaldığı görülmüştür. Yapılan çalışmalarda, dopaminerjik nöronların inhibisyonunun ya da sayısındaki azalmanın dopamin ve metabolitlerinin seviyelerinde azalmaya neden olduğu ve bu azalmanın da dopaminerjik nöronların azalmış aktivitesini yansıtacağı belirtmiştir (170, 171). Dolayısıyla elde ettiğimiz sonuçlar, kronik irisin uygulamasının MPOA'da dopaminerjik aktiviteyi azalttığını göstermektedir. Literatürde, kullanılan ajana bağlı olarak adrenerjik nöronlar açısından zengin olan beyin bölgelerinde merkezi noradrenerjik liflerde dejenerasyonun olması veya noradrenerjik nöronlarda tirozin hidroksilaz

aktivitesinin azalmasına bağlı olarak noradrenalin konsantrasyonunda azalma olduğu ifade edilmiştir (172). Çalışmamızda da irisinin noradrenerjik nöronlar üzerinde veya bu nöronlarda enzimatik seviyelerde inhibitör etki göstererek noradrenalin seviyesini azaltmış olabileceği düşünülmüştür.

Medial preoptik alanda olduğu gibi, kronik irisin uygulamasının MeA'da da hem dopamin hem de noradrenalin konsantrasyonlarını azalttığı belirlenmiştir. Dolayısıyla irisinin hem dopaminerjik hem de noradrenerjik nöronlar üzerindeki inhibitör etkisine bağlı olarak dopamin ve noradrenalin aktivitesinde azalma olduğu çıkarımı yapılmaktadır. Ayrıca irisinin, nörotransmitterlerin yıkımında rol oynayan MAO enziminin aktivitesini artırarak dopamin ve noradrenalin konsantrasyonunu azaltmış olabileceği söylenebilir.

Sonuç olarak dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının beyinde bölgesel olarak dopamin ve noradrenalin seviyelerini azalttığı ve serotonin seviyesini ise değiştirmediği belirlenmiştir. Dopamin, noradrenalin ve serotonin egzersizle modüle edilebilen üç ana nörotransmitterdir (173). İlgili literatür incelendiğinde, farklı egzersiz tiplerine bağlı olarak farklı beyin bölgelerinde dopamin, noradrenalin ve serotonin konsantrasyonlarının arttığı, azaldığı veya değişmediği görülmüştür. Sonuçlardaki bu farklılıklar ise egzersizin tipi, yoğunluğu ve beyin bölgeleri ile ilişkilendirilmiştir (173, 174). Çalışmamızın sonuçları, egzersize bağlı olarak farklı beyin bölgelerindeki monoamin konsantrasyonunda meydana gelen değişimlerde irisinin rolü olabileceğini göstermektedir.

Dişi sıçanların cinsel davranışında, eksitatör olarak dopamin ve noradrenalinin ve inhibitör olarak ise serotoninin önemli rol oynadıkları

bilinmektedir (53). Çalışmamızda da dişi sıçanların azalan cinsel motivasyonunda; kronik irisin uygulamasına bağlı olarak ilgili beyin bölgelerinde dopamin ve noradrenalin konsantrasyonlarında meydana gelen azalmanın rol oynadığı düşünülmektedir.

### 6.1.5. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanların Cinsel Motivasyonu Üzerine Etkileri

Çalışmamızda, kronik irisin uygulanan dişi sıçanlarda erkeğin yanında harcanan sürede ve erkek tercih oranı ile erkek araştırma oranında azalma olduğu ve dolayısıyla dişi sıçanların cinsel motivasyonlarının azaldığı görülmüştür.

Kronik irisin uygulanmış dişi sıçanlarda cinsel motivasyondaki azalma ile birlikte, dişinin yanında harcanan sürede, dişiyi araştırmak için harcanan sürede ve aktivite indeksinde artış olduğu da belirlenmiştir. Lokomotor aktiviteyi ifade eden aktivite indeksindeki değişimin, sıçanlarda hem cinsel motivasyonda hem de aktif keşif üzerinde kafa karıştırıcı bir faktör olabileceği ifade edilmektedir (134). Dolayısıyla kronik irisin uygulanmış sıçanların dişiye karşı olan aktif ilgisindeki artışın, artmış aktivite indeksi ile alakalı olabileceği düşünülmektedir.

Literatürde, kadınlarda kronik veya aşırı egzersize bağlı olarak endokrin sistemle ilişkili üreme bozuklukları sonucu cinsel fonksiyondaki azalma dikkat çekmektedir (82, 108). Kadınların cinsel isteğinde seks steroid hormonların (testosteron, östradiol ve progesteron) rol oynadığı ve bu hormonların cinsel istek üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (175, 176). Özellikle testosteronun kadınlarda cinsel isteği etkileyen primer seks steroidi olduğu ve düşük testosteron seviyesinin cinsel istekte azalmaya neden olduğu ifade edilmiştir

(177, 178). Çalışmamızda da kronik irisin uygulamasına bağlı olarak azalan testosteron seviyesinin dişi sıçanlarda cinsel motivasyonu azaltmış olabileceği düşünülmektedir.

Genel olarak östrojenlerin kadınlarda cinsel isteği pozitif yönde etkilediği bilinmektedir ve klinik çalışmalarda artan östradiol seviyeleri artmış cinsel istek ile ilişkilendirilmiştir (178, 179). Çalışmamızda ise kronik irisin uygulamasına bağlı olarak artmış östradiol seviyesine rağmen cinsel motivasyonda azalma olduğu bulunmuştur. Bu nedenle, kronik irisin uygulanan dişi sıçanların cinsel motivasyonunu olumsuz yönde etkileyen hormonal dengesizliklerden birinin de yüksek östradiol seviyesinin olabileceği düşünülmektedir.

Cinsel motivasyondaki artışta progesteron seviyesindeki artış da önemlidir. Dişi sıçanlarda cinsel motivasyonu yansıtan proseptif davranışların genel olarak progesteron seviyesine bağlı olduğu ve progesteronun proseptif davranışları tetiklediği bilinmektedir (55, 180). Çalışmamızda, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak azalan serum progesteron seviyesinin cinsel motivasyonda azalmaya neden olan bir diğer hormonal dengesizlik olabileceği düşünülmektedir. Özetle bu çalışmada, dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının endokrin disfonksiyona neden olarak cinsel motivasyonu azalttığı sonucuna varılmıştır.

Kadınlarda cinsel isteğin oluşmasında seks hormonları, nörotransmitterler ve psikososyal faktörler arasındaki etkileşim rol oynar. Cinsel istekte dopamin, noradrenalin, oksitosin ve melanokortinler uyarıcı bir etki sağlarken, serotonin, opioidler ve endokannabinoidlerin ise inhibe edici özelliği vardır (176, 181). Özellikle cinsel motivasyonda, NAC, MPOA ve MeA'nın rolü olduğu ve bu beyin

bölgelerindeki nörotransmitter değişiminin cinsel motivasyonu etkilediği ifade edilmektedir. Örneğin, NAC ve MPOA'da artan dopamin seviyesinin cinsel motivasyonda artışa neden olduğu ifade edilmiştir (182, 183). Bizim çalışmamızda ise hem NAC'de hem de MPOA'da dopamin konsantrasyonunda azalma olduğu belirlenmiş olup, cinsel motivasyondaki azalmada dopamin seviyelerindeki azalmanın rolü olabileceği düşünülmektedir.

Medial amigdala ise alınan feromonlara bağlı olarak aktive edilen ve cinsel motivasyonda rolü olan önemli bir beyin bölgesidir. Medial amigdala hem noradrenerjik hem de dopaminerjik uyarı almakta ve östrojen, progesteron ve testosteron reseptörleri içermektedir. Bu reseptörlere bağlı olarak MeA'nın cinsel motivasyondaki önemi artmaktadır (183). Çalışmamızda, diğer beyin bölgelerinde olduğu gibi MeA'da da monoamin seviyelerindeki (noradrenalin ve dopamin) azalmanın cinsel motivasyonda azalmaya neden olabileceği belirlenmiştir.

Beyinde monoaminlerin salınımında seks steroid hormonların da rolü olduğu belirtilmiştir. Örneğin, dişilerde hormon uygulamasının (östradiol ve/veya progesteron) MPOA'da dopamin salınımında artışa neden olduğu bildirilmiştir (182). Bir başka çalışmada ise dişi sıçanlarda ekzojen östradiol/progesteron uygulamasının posterodorsal medial amigdalada tirozin hidroksilaz ekpresyonunu artırarak katekolamin sentezini artırdığı ifade edilmiştir. Ayrıca bu çalışmada, progesterondaki artışa bağlı olarak medial amigdaladaki dopamin artışının cinsel motivasyonu artırdığı da önerilmiştir (184). Bu bilgiler ışığında, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak üreme hormonlarında meydana gelen değişimlerin ilgili beyin bölgelerinde monoamin seviyelerini etkilemiş olabileceği ve buna bağlı olarak cinsel motivasyonda azalmanın gerçekleştiği de düşünülmektedir.

Sonuç olarak bu tez çalışmasında, kadınlarda kronik veya aşırı egzersize bağlı olarak azalan cinsel istekte irisin hormonunun rolü olabileceği önerilmektedir.

### 6.1.6. Kronik İrisin Uygulamasının Dişi Sıçanların Cinsel Performansı Üzerine Etkileri

Çalışmamızda, kronik irisin uygulamasının lordozis derecesi ve lordozis oranını değiştirmediği ve dolayısıyla dişi sıçanların cinsel performansının kronik irisin uygulamasından etkilenmediği belirlenmiştir.

Lordozis, beyne etki eden ovaryan steroidleri tarafından indüklenen bir davranıştır. Dişi sıçanlarda, yüksek östradiol ve progesteron seviyeleri artmış seksüel reseptivity (lordozis oranı) ile ilişkilendirilmektedir (185). Tek başına östrojen ise reseptiviteyi uyarmak için yeterli iken, progesteron östrojene bağlı gerçekleşen lordosiz cevabını kolaylaştırır. Örneğin, sadece 2 µL östradiol benzoat verilen overektomili sıçanlarda lordozis oranının % 40 oranında bulunduğu; östradiol benzoat ve progesteronun birlikte verildiği durumda ise lordosiz oranın % 100 olduğu belirlenmiştir (64).

Ventromedial hipotalamik nükleus ise lordozis için birincil öneme sahip olan beyin bölgesidir. Özellikle ovaryan hormonları VMN'nin nöronlarının aktivasyonunda rol oynar (186). Çalışmamızda monoamin seviyeleri açısından VMN değerlendirilmemiş olmakla birlikte, östradiol seviyesindeki artış ve progesteron seviyesindeki azalmanın bu beyin bölgesinde resiprokal etki göstererek lordozisi değiştirmemiş olabileceği düşünülmektedir.

### 6.1.7. Kronik İrisin Uygulamasının Erkek Sıçanlarda Pubertal Gelişim Üzerine Etkileri

Literatürde, erkeklerde fiziksel aktivitenin pubertal olgunlaşma üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışma sayısının sınırlı olduğu ve bu çalışmalarda egzersizin puberteye geçişi erkene kaydırdığı, geciktirdiği veya etkilemediği ifade edilmiştir (187, 188). Genel olarak, egzersizin erkek üreme ekseni üzerindeki etkilerinin egzersiz yoğunluğu ve süresiyle ve ayrıca bireyin beslenme-metabolik durumuna göre değiştiği belirtilmiştir (188). Tez çalışması kapsamında ise bir egzersiz hormonu olan irisinin kronik uygulamasının erkek sıçanlarda puberteye geçiş parametrelerini (puberteye giriş günü ve pubertal ağırlık) etkilemediği belirlenmiştir. Dolayısıyla, sütten kesildikten sonraki dönemde (prepubertal) başlayan ve ortalama 4-5 hafta boyunca uygulanan irisinin erkek sıçanlarda HHG eksen üzerinde bir etki oluşturmadığı düşünülebilir. Tekin ve arkadaşları (2019) ise, yetişkin erkek sıçanlarda i.c.v. irisin uygulamasının HHG eksen üzerinde inhibitör bir etkiye sahip olabileceğini ifade etmişlerdir (126). Çalışmamızda irisinin HHG eksen üzerinde bir etki oluşturmaması; Tekin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan farklı olarak, irisinin prepubertal dönemde, periferal ve farklı dozda uygulanması ile açıklanabilir.

### 6.1.8. Kronik İrisin Uygulamasının Erkek Sıçanlarda Üreme Hormonları Üzerine Etkileri

Yukarıda da açıklandığı üzere, erkek sıçanlarda ilk 4-5 haftalık irisin uygulamasının HHG eksen üzerinde bir etki oluşturmadığı belirlenmiştir. Fakat devam eden deney süresi içerisinde kronik irisin uygulamasına bağlı olarak hem

spermatogenezin daha erken başlaması hem de serum hormon seviyelerindeki değişimler ile sperm konsantrasyonundaki artış; kronik irisin uygulamasının HHG eksen üzerinde uyarıcı bir etkisinin ve dolayısıyla üreme ilişkili endokrin sistemi etkilemiş olabileceğini ifade etmektedir.

Çalışmamızda ortalama 10 haftalık kronik irisin uygulaması sonucu, erkek sıçanlarda serum FSH seviyesinin değişmediği, serum LH ve testosteron konsantrasyonlarının arttığı ve serum inhibin-B seviyesinin ise azaldığı belirlenmiştir. Güncel bir çalışmada, irisin uygulamasının obez erkek sıçanlarda azalan FSH, LH ve testosteron konsantrasyonlarını artırdığı ifade edilmiştir. Buna bağlı olarak irisinin, gonadlar üzerindeki direkt veya indirekt etkisi aracılığıyla, gonadal hormonal fonksiyonun sürdürülmesinde potansiyel bir rolü olduğu önerilmiştir (189). Bir başka çalışmada da irisinin gonadotropin gen ekspresyonunda intrahipofizer bir faktör olarak rol oynayabileceği ifade edilmiştir (124). Çalışmamızda ise, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak serum FSH seviyesinin değişmemesine rağmen serum LH seviyesindeki artış; irisinin gonadotropin gen ekspresyonu üzerinde uyarıcı bir etkiye sahip olabileceği görüşünü destekler niteliktedir.

Çalışmamızda serum inhibin-B seviyesindeki azalmaya rağmen serum FSH seviyesinin değişmediği bulunmuştur. İnhibin, FSH-β geninin ekspresyon seviyesini düşürmek için işlev görür. Dolayısıyla, serum FSH seviyeleri; testisler hasar gördüğünde ve dolaşımdaki inhibin-B seviyesi azaldığında yükselme eğilimindedir. Bununla birlikte gonadotropik hormonların dolaşımda pulsatil olarak salındığı da bilinmektedir (190). Tüm bu bilgiler ışığında, çalışmamızda bir kez

alınmış kan örneğinden ölçülmüş serum FSH seviyesinin, irisinin FSH üzerindeki net etkisini yansıtamamış olabileceği göz önünde bulundurulabilir.

Egzersizin endokrin sistemin güçlü bir uyarıcısı olduğu bilinmektedir ve erkeklerde farklı egzersiz tiplerine bağlı olarak (40 dakikalık uzatılmış egzersiz, maraton koşusu ve maksimal egzersiz gibi) dolaşımdaki testosteron konsantrasyonunun arttığını gösteren çalışmalar mevcuttur (191-194). Tez çalışması kapsamında elde ettiğimiz veriler; egzersize bağlı olarak dolaşıma salınan irisin hormonunun, egzersize-bağlı artan testosteron konsantrasyonunda rolü olabileceğini göstermektedir.

Gonadotropinlere yanıt olarak testisten testosteron ve inhibin-B olmak üzere iki ana endokrin sinyal üretilir. Testosteron LH sinyaline cevap olarak Leydig hücrelerinden ve inhibin-B ise FSH sinyaline cevap olarak Sertoli hücrelerinden üretilir (195-197). Dolayısıyla çalışmamızda, artan LH seviyesine bağlı olarak testosteron konsantrasyonundaki artış; irisinin hipotalamus-hipofiz-testiküler (HHT) aks üzerindeki aktivitesini yansıtmaktadır. İnhibin-B'nin ise testislerde Leydig hücreleri tarafından testosteron üretiminin uyarılmasını inhibe ettiği bilinmektedir (198). Buna bağlı olarak, çalışmamızda kronik irisin uygulaması sonucu azalan inhibin-B'nin; Leydig hücreleri üzerindeki bu inhibe edici etkisi ortadan kalktığı için testosteron seviyesinin artış olabileceği düşünülebilir.

Ayrıca yapılan çalışmalarda, testosteronunun inhibin-B sekresyonu üzerinde inhibitör bir rolü olduğu ve inhibin-B'nin bazal gonadotropinlerden bağımsız bir sekresyonu olabileceği önerilmiştir (199, 200). Literatüre uygun olarak, bu tez çalışması ile birlikte erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasına

bağlı olarak azalan serum inhibin-B seviyesinde artan testosteronun rolü olabileceği düşünülmektedir.

### 6.1.9. Kronik İrisin Uygulamasının Sperm Parametreleri ve Testis Histolojisi Üzerine Etkileri

Tez çalışması kapsamında, kronik irisin uygulamasının sıçanlarda ilk sperm oluşum zamanını öne çektiği ve sperm konsantrasyonunu artırdığı belirlenmiştir. Spermatogenezin endokrin kontrolü HHT aks boyunca nöroendokrin aktiviteyle sağlanır. Spermatogenezin başlamasında ve sürdürülmesinde esas olarak FSH ve LH'nın rol oynadığı ve belirli bir androjen konsantrasyonunun gerekli olduğu bilinmektedir. Hem FSH hem de LH, temel olarak Sertoli hücre faktörlerinin düzenlenmesi yoluyla spermatogenez üzerinde etki gösterir ve FSH direk yolla LH ise indirekt yolla (testosteron-androjen reseptörü yoluyla) spermatogenezi düzenler. Dolayısıyla çalışmamızda, kronik irisin uygulamasının spermatogenez üzerindeki etki mekanizmasının indirek yolla olduğu düşünülmektedir. Diğer bir değişle, irisin uygulanan sıçanlarda LH konsantrasyonundaki önemli artışın Leydig hücrelerinde testosteron salınımını artırdığı ve artan testosteronun Sertoli hücrelerini indirekt olarak etkileyerek testiküler spermatogenezi uyardığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca FSH, LH ve testosteronun; androjenisitenin hormonal markerleri ve özellikle testosteronun ana indeksi olduğu göz önüne alındığında (201), irisinin sıçanlarda normal testiküler fonksiyonu artırarak androjenik bir potansiyele sahip olabileceği de önerilmektedir.

Deneysel çalışmalarımızda, sperm analizlerinin yanı sıra testis morfolojisi de incelenmiş olup, irisinin seminifer tübül çapını önemli ölçüde artırdığı

belirlenmiştir. Kronik irisin uygulamasına bağlı olarak FSH seviyesinin değişmemesine rağmen sperm sayısındaki artışın, irisinin doğrudan seminifer tübülleri ve özellikle Leydig hücrelerini uyarması ile ilişkili olabileceği düşünülebilir.

Wahab ve arkadaşları (2020), irisinin organotipik testis kültüründe Sertoli hücresi ve spermatogonial transkriptlerin ekspresyon seviyelerini artırdığını göstermişlerdir. Buna bağlı olarak, irisinin primat testisinde spermatogonial aktivitelerin modülasyonunda rol oynayan yeni bir faktör olduğunu ifade etmişlerdir (128). Ibrahim ve arkadaşları (2018) ise sıçan modellerinde gerçekleştirdikleri çalışmada, irisinin obeziteye bağlı gelişen testiküler disfonksiyona karşı potansiyel pozitif rolü olduğunu belirtmişlerdir (189). Literatüre uygun olarak çalışmamızda da, irisinin spermatogenez üzerinde uyarıcı bir etkisinin olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bu çalışmada dikkat çeken bir diğer sonuç ise inhibin-B seviyesindeki azalmaya rağmen sperm sayısındaki artıştır. İnhibin-B seviyesinin, total sperm miktarı ile korelasyon göstermediğini veya pozitif korelasyon gösterdiğini ifade eden çalışmalar mevcuttur. Ayrıca, inhibin-B seviyesindeki azalma hem seminifer tübüllerin disfonksiyonunu hem de Sertoli hücre disfonksiyonunu yansıtmaktadır (190, 202). Çalışmamızda ise kronik irisin uygulamasının seminifer tübüllerde patolojik değişikliklere (seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücreleriyle seminifer tübül bazal membranlarda ayrılmada artış ve germinal epitel kalınlığında azalma) neden olduğu görülmüştür, fakat Sertoli hücresi ile alakalı herhangi bir değerlendirilme yapılmamıştır. Kronik irisin uygulaması sonucu meydana gelmiş olan tüm bu patolojik değişikliklere ve belki de Sertoli hücre fonksiyonundaki

azalmaya bağlı olarak inhibin-B seviyesinin azalmış olabileceği düşünülebilir. Sonuç olarak bu tez çalışmasında, irisinin indirekt yolla (LH→Leydig hücreleri→testosteron) etki ederek ve inhibin-B'den bağımsız olarak spermatogenezi indüklemiş olabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Sertoli hücrelerinin, gelişmekte olan germ hücrelerine besinsel ve yapısal destek sağladığı bilinmektedir. Spermatogenez boyunca, gelişen germ hücreleri Sertoli hücreleri ile yakın temas halinde kalırlar (203). Çalışmamızda kronik irisin uygulamasının Sertoli hücre fonksiyonunu olumsuz yönde etkilemiş olabileceği çıkarımı (azalan inhibin-B seviyesine göre); germ hücrelerinin besinsel ve yapısal destek alamaması sonucunda lümene dökülmelerindeki artışla desteklenmektedir.

Özetle, ilk kez bu çalışmada kronik irisin uygulamasının erkek sıçanlarda fertilite parametrelerini (sperm konsantrasyonu, serum LH ve testosteron seviyeleri ve seminifer tübül çapı) artırdığı belirlenmiştir. Tüm bu sonuçlarımıza dayanarak, erkeklerde infertilite tedavisinde irisinin terapötik bir ajan olabileceği önerilmektedir.

### 6.1.10. Kronik İrisin Uygulamasının Erkek Sıçanlarda Beyin Monoamin Seviyeleri Üzerine Etkileri

Erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasına bağlı olarak; NAC'de DHPG ve dopamin konsantrasyonları ile noradrenalin dönüşümünün (DHPG/NA) arttığı ve dopamin dönüşümünün (DOPAC/DA) ise azaldığı belirlenmiştir. Medial preoptik alanda monoamin seviyelerinin değişmediği ve MeA'da ise hem 5-HIAA hem de serotonin konsantrasyonlarında azalma olduğu bulunmuştur.

Noradrenalin metoboliti olan DHPG, büyük ölçüde MAO enziminin etkisiyle noradrenalinin oksidatif deaminasyonundan intranöronal (büyük ölçüde) ve ekstranöronal (küçük ölçüde) olarak türetilir (204). Dolayısıyla, kronik irisin uygulamasının NAC'de intranöral MAO aktivitesini artırarak DHPG konsantrasyonu artırmış olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda, noradrenalin dönüşümünün merkezi noradrenerjik nöronal aktivitenin bir ölçüsü olduğu da ifade edilmiştir (205). Çalışmamızda, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak NAC'de noradrenalin dönüşümündeki artışın bu beyin bölgesinde noradrenerjik aktivitedeki artışı yansıtabileceği ortaya koyulmuştur.

Dişi sıçanlardan farklı olarak, erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasının NAC'de dopamin konsantrasyonunu artırdığı ve dopamin dönüşümü ile anlamlı olmamakla beraber DOPAC konsantrasyonunu azalttığı belirlenmiştir. Dolayısıyla bu sonuçlar, erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasına yanıt olarak NAC'de; dopaminin metabolitlerine dönüşümünün azaldığını ve intranöral MAO enzimiyle DOPAC katabolizmasındaki azalmayı yansıtabilir.

Serotonin, MAO enziminin aktivitesiyle 5-HIAA'ya deamine edilir ve dolayısıyla beyindeki 5-HIAA seviyesinin MAO aktivitesini yansıttığı öne sürülmüştür (206). Literatürde, sıçan beyninde serotonin ve 5-HIAA'nın sentez ve yıkım oranlarının benzer olduğu ve beyinde ölçülen 5-HIAA seviyesinin serotonin seviyesiyle korelasyon gösterdiği ifade edilmiştir (207). Erkek sıçanlarda, kronik irisin uygulaması sonucunda MeA'daki azalmış serotonin konsantrasyonu; bu beyin bölgesinde deaktive edilmiş serotonin sistemini ve dolayısıyla serotonin sentezinin azalmasını yansıtabilir. Ayrıca kronik irisin uygulaması sonucunda MeA'da 5-HIAA konsantrasyonundaki azalmanın, MAO enziminin aktivitesindeki

azalma ile ilişkili olabileceği de düşünülmektedir. Çalışmamızda serotonin seviyesindeki azalmaya paralel olarak 5-HIAA seviyesinin azalması literatüre uygunluk göstermektedir.

Sonuç olarak çalışmamızda, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak NAC'da dopamin konsantrasyonu ve noradrenerjik aktivitedeki artış ile MeA'da serotonin konsantrasyonundaki azalmanın, erkek sıçanların artmış cinsel fonksiyonunda rol oynayan faktörler olabileceği düşünülmektedir.

Özetle çalışmamızda, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak meydana gelen cinsel davranıştaki fizyolojik ve davranışsal değişimlerin altında yatan nörokimyasal mekanizmalardan birinin; üreme ile ilişkili olan farklı beyin bölgelerindeki monoamin konsantrasyonlarındaki değişimlerin olabileceği sonucuna varılmıştır.

### 6.1.11. Kronik İrisin Uygulamasının Erkek Sıçanların Cinsel Davranışı Üzerine Etkileri

Tez çalışması kapsamında, kronik irisin uygulamasının erkek sıçanların hem cinsel motivasyonunu hem de cinsel performansını artırdığı belirlenmiştir.

Mount hareketi erkek sıçanların uyarılması ve cinsel etkileşim için gerekli olan bir hareket olup ejakülasyonu kolaylaştırır. İntromisyon ise ejakülasyonun gerçekleşmesini sağlayan çiftleşme davranışlarının temel bir öğesidir. Bir hayvanın çiftleşme davranışı ise mount ya da intomisyon ile başlar. Dolayısıyla bir hayvanın hangi hareketle çiftleşmeye başladığı ve bu harekete kadar geçen süre (mount latensi ya da intromisyon latensi) cinsel motivasyon açısından önemlidir (64).

Mount latensi (ML), intromisyon latensi (IL) ve ejakülasyon latensi (EL) cinsel motivasyonun göstergeleridir. ML ve IL'nin cinsel uyarılmaların göstergeleri olduğu da ifade edilmiştir. Örneğin, ML ve IL'deki azalma sıçanlarda cinsel uyarılabilirlik performansının, cinsel motivasyonun ve cinsel gücün uyarılmasının göstergeleri olarak kabul edilir (208, 209). EL'deki azalma ise kolaylaştırılmış bir cinsel davranışı yansıtmaktadır (64). Tez çalışması kapsamında, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak azalan ML, IL ve EL erkek hayvanların cinsel motivasyonundaki/uyarılmasındaki artışı göstermektedir. Ayrıca EL'deki kısalma, kronik irisin uygulamasının cinsel motivasyonun yanı sıra cinsel performansı da artırdığını yansıtmaktadır.

Genel olarak mount frekansı (MF), intromisyon frekansı (IF) ve ejakülasyon frekansı (EF) cinsel güç, libido (cinsel istek/motivasyon) ve cinsel potansiyeli yansıtır. Örneğin MF'deki artış cinsel motivasyondaki artışı yansıtırken, IF'deki artış ereksiyonun etkinliğini, penil oryantasyonunu ve ejakülasyon reflekslerinin etkinleştirilme kolaylığını gösterir (64, 208). Bunun yanı sıra, MF, IF ve EF'nin; erkek hayvanın çiftleşme performansının değerlendirilmesinde kullanılan parametreler arasında olduğu da ifade edilmiştir. Buna bağlı olarak, ML ve IL'nın sıçanlarda cinsel motivasyonun değerlendirilmesi amacıyla kullanılan parametreler olduğu, cinsel performansının ise MF, IF ve EF ile değerlendirildiği sonucuna ulaşılmıştır (210). Ayrıca hem EF hem de EL, ejakülasyon davranışının son noktası olarak da ölçülür. Ejakülasyon frekansındaki azalma cinsel performanstaki ve aktivitedeki azalmayı ve EL'deki artış ise çiftleşme davranışındaki bir bozulmayı yansıtır (211). Çalışmamızda hem MF hem de EF'deki artışa bağlı olarak, kronik

irisin uygulamasının erkek sıçanların cinsel performansını artırdığı sonucuna ulaşılmıştır.

Post ejakülatör inteval (PEI) ise, cinsel gücü, libidoyu ve ilk ejakülasyondan sonra yorgunluktan kurtulma hızını yansıtır. Ayrıca, PEI cinsel performans veya çiftleşmenin bir göstergesi olarak da kullanılmaktadır. Dolayısıyla PEI'daki artış cinsel güç ve libidodaki azalmayı gösterir (212).

Sıçanda intromisyonun gerçekleşebilmesi için ereksiyonun meydana gelmesi gereklidir ve dolayısıyla intromisyon oranı (IO) hayvanın erektil fonsiyonunu yansıtmaktadır. Çiftleşme oranı (ÇO) ise sıçanın verimliliğine bağlı olan bir parametre olup, çiftleşme oranındaki artış artmış çiftleşme hızı olarak yorumlanmaktadır (64). Cinsel aktivite indeksindeki (CAİ) anlamlı azalma ise sıçanların genel üreme davranışının baskılandığını ifade etmektedir (213). Çalışmamızda ise kronik irisin uygulamasının, PEI, IO, ÇO ve CAİ'yi etkilemediği belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda, nükleus akkumbensteki dopamin seviyesinin erkek sıçanların cinsel davranışında önemli bir rolü olduğu gösterilmiştir. Örneğin, NAC'de dopaminerjik nöronların lezyonu veya dopamin seviyesindeki azalmaya bağlı olarak erkek sıçanların cinsel davranışında bozulma olduğu bildirilmiştir. Hem cinsel uyarılma hem de cinsel performans proseslerinde rol oynayan NAC'deki artmış dopamin konsantrasyonunun ise hayvanlarda cinsel davranışı artırdığı ifade edilmiştir (214, 215). Erkek sıçanların cinsel davranışının santral düzenlenmesinde, noradrenalinin de kolaylaştırıcı bir rol oynadığı ve artan merkezi noradrenarjik aktivitenin çiftleşmeyi aktive ettiği bilinmektedir (216).

Çalışmamızda da kronik irisin uygulamasına bağlı olarak NAC'de artmış dopamin seviyesi ile noradrenarjik aktivitedeki artışın erkek sıçanların cinsel motivasyonunu ve cinsel performansını artırdığı düşünülmektedir.

Artan serotonin seviyesi cinsel motivasyon, ejakülasyon ve orgazmda inhibitör bir etki göstermektedir. Erkek sıçanlarda, serotonin seviyesindeki azalmaya bağlı olarak ejakülasyon latensinde bir kısalma ve ejakülasyon frekansında bir artış söz konusudur. Dolayısıyla, serotonerjik aktivitenin azalmasının erkek sıçanların cinsel davranışını kolaylaştırdığı ifade edilmiştir (53, 216). Tez çalışmamızda da kronik irisin uygulamasına bağlı olarak erkek sıçanların artan cinsel davranışında (EL'daki azalma ve EF'deki artışa bağlı olarak); MeA'da serotonerjik sistemin aktivasyonundaki azalmanın rolü olabileceği çıkarımı yapılmıştır.

Literatürde, genel olarak yüksek testosteron seviyesine bağlı olarak cinsel davranışın arttığı, fakat nörotransmitter seviyelerindeki değişimlerin de cinsel davranışı değiştirebileceği ifade edilmektedir (217). Sonuç olarak, çalışmamızda kronik irisin uygulamasına bağlı olarak erkek sıçanların artan cinsel davranışında; testosteren, dopamin, noradrenalin ve serotonin seviyelerindeki değişimlerin etkili olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

## 6.2. (2. Deneysel Aşama)

Bu başlık altında da, öncelikli olarak dişi sıçanlardan ve daha sonra erkek sıçanlardan elde edilen bulgulara dair tartışmalar yer almaktadır.

### 6.2.1. Dişi Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Üreme Hormonları Üzerine Etkileri

Dişi sıçanlarda paroksetin, irisin ve paroksetin+irisin gruplarında üreme hormonları üzerindeki etkiler değerlendirilmiştir. Bu amaçla serum FSH, LH, östradiol, progesteron, testosteron ve AMH seviyeleri belirlenmiş ve dişi sıçanlarda paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulamasının üreme hormonlarını etkilemediği görülmüştür.

Yaptığımız bir çalışmada, dişi sıçanlarda daha düşük dozda paroksetinin (3.6 mg/kg/gün) kronik uygulamasının (ortalama 70 gün) serum FSH, LH ve AMH seviyelerini değiştirmediği, fakat östradiol seviyesini artırdığı bulunmuştur (218). EL-Gaafarawi ve arkadaşları (2005) ise daha kısa süreli bir paroksetin uygulamasının (10 günlük) dişi sıçanlarda hipofiz gonadotropinleri ve seks steroid hormonları üzerindeki etkilerine bakmışlardır. Buna bağlı olarak FSH, LH, progesteron ve östradiol seviyelerinde azalma, testosteron seviyelerinde ise artış olduğu gösterilmiştir (219). Tez çalışması kapsamında, dişi sıçanlarda paroksetin uygulamasının üreme hormonları üzerinde bir etkisinin olmamasında; paroksetinin dozu, uygulama süresi veya uygulama periyodu (prepubertal dönem veya yetişkinlik dönemi) rol oynayabilir. Sonuç olarak çalışmamızda ortalama 8 haftalık paroksetin uygulamasının, dişi sıçanların HHG ekseni üzerinde bir etki oluşturmadığı sonucuna varılmıştır.

Tez çalışmasında, ilk 2 haftalık paroksetin uygulaması sonucunda dişi sıçanların % 70'inde östrus siklusunda bozulma olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla 2 haftalık sürede paroksetin uygulamasına bağlı olarak, östrus siklusuyla ilişkili olan üreme hormonlarında bozulmaların olduğu düşünülebilir. Bu düşünce; kısa süreli paroksetin uygulamasının (10 günlük) üreme ilişkili endokrin sistem üzerindeki olumsuz etkilerinin gösterildiği çalışma (219) ile de desteklenmektedir.

Kronik SSRI kullanımına bağlı olarak meydana gelen serotonindeki artış, serotonin reseptörlerinde desensitizasyona neden olur. Merkezi sinir sisteminde antidepresanlara adaptif yanıtın, reseptörlerdeki bu duyarsızlaşmayla gerçekleştiği ifade edilmiştir (220). Dolayısıyla çalışmamızda, 8 haftalık paroksetin uygulamasının serotonin reseptörlerinde desensitizasyona yol açtığı ve buna bağlı olarak ilk 2 haftalık paroksetin uygulamasının üreme hormonları üzerindeki muhtemel olumsuz etkileri; 8 haftanın sonunda paroksetine adaptasyonun gerçekleşmesi ile ortadan kalkmış olabileceği düşünülebilir.

Tez çalışması kapsamında, dişi sıçanlarda kronik irisin uygulaması (ortalama 70 günlük) ile kısa süreli irisin uygulamasının (ortalama 28 günlük) üreme hormonları üzerinde farklı etkiler oluşturduğu ortaya koyulmuştur. Çalışmanın bu aşamasında dişi sıçanlarda kısa süreli irisin uygulamasının; serum FSH, LH, östradiol, progesteron, testosteron ve AMH seviyelerinde bir değişiklik oluşturmadığı ve dolayısıyla HHG eksen üzerinde bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. İlgili literatür incelendiğinde, kadınlarda farklı egzersiz sürelerinin üreme ilişkili endokrin sistem üzerinde farklı etkileri olduğu görülmüştür. Örneğin kısa süreli egzersiz sonucunda serum FSH, LH ve östrojen seviyelerinde değişimin olmadığı (221, 222), amenorik kadın atletlerde ise plazma FSH, LH, östradiol veya

progesteron seviyelerinde azalma olduğu belirlenmiştir (223). Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda; egzersiz süresi ile üreme ilişkili endokrin sistem arasındaki ilişkide dolaşıma salınan irisin hormonunun rolü olabileceği önerilmektedir.

Çalışmamızda paroksetin ve kısa süreli irisin uygulamasında olduğu gibi, paroksetin ile irisinin birlikte uygulandığı durumda da dişi sıçanlarda serum üreme hormonlarında bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.

### 6.2.2. Dişi Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Ovaryum Dokusu Üzerine Etkileri

Literatürde, SSRI (paroksetin veya fluoksetin gibi) kullanımına bağlı olarak epididimis, testis ve uterus gibi üreme organlarında histopatolojik değişikliklerin meydana geldiği ifade edilmiştir (218, 219, 224). Kronik paroksetin uyguladığımız bir çalışmada, sıçanların ovaryum dokusunda kortikal stromada yer alan damarlarda aşırı dilatasyon ve konjesyon olduğu görülmüştür (218). Tez çalışmasında da, paroksetin uygulamasına bağlı olarak ovaryum dokusunda benzer patolojik bulgular (vasküler dilatasyon ve konjesyon) elde edilmiştir. Bu patolojik değişikliklerin dışında, fibrozis oluşumu dâhil herhangi bir patolojik bulguya rastlanmamıştır. Ayrıca, paroksetin grubunda serum AMH seviyesinin değişmemesine paralel olarak, over korteksinde gelişmekte olan foliküllerin de paroksetin uygulamasından etkilenmediği belirlenmiştir.

Yapılan çalışmalarda, ovaryan fizyolojisinde serotonin sisteminin rolü olduğu gösterilmiştir. Overlerde, kan damarlarında serotonin reseptörlerinin lokalize olduğu ve özellikle serotoninin 5-$HT_{2B}$ reseptörleri aracılığıyla vasküler düzenlemede rolü olabileceği önerilmiştir (225). Dolayısıyla, çalışmamızda

paroksetin uygulamasına bağlı olarak artan serotonin seviyesinin overlerde 5-$HT_{2B}$ reseptörleri aracılığıyla kortikal stromada yer alan damarlarda aşırı dilatasyon ve konjesyona neden olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, kısa süreli irisin uygulanan sıçanlarda primer folikül sayısında azalma olduğu, fakat esas olarak AMH ekspresyonunun gerçekleştiği foliküllerin sayılarında ise bir değişimin olmadığı belirlenmiştir. Dolayısıyla azalan primer folikül sayısının serum AMH seviyesini etkilemediği belirlenmiştir. Bunun yanı sıra, kronik irisin uygulamasının gerçekleştirildiği 1. deneysel aşamadan farklı olarak bu aşamada kısa süreli irisin uygulamasının fibrozis oluşumunu etkilemediği de görülmüştür.

Kronik paroksetin uygulanan sıçanlara ortalama 4 haftalık irisin uygulaması sonucunda, vasküler konjesyonda azalma olduğu tespit edilmiştir. Paroksetin grubunda olduğu gibi, paroksetin+irisin grubunda da korpus luteum ile ovaryum foliküllerin sayıları ve fibrozis oluşumunun değişmediği ve buna bağlı olarak serum AMH seviyelerinde bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir.

Çalışmamızın sonuçları, uzun dönem SSRI kullanımına bağlı olarak ovaryum dokusunda meydana gelebilecek histopatolojik değişiklikleri hafifletmede/azaltmada irisinin ve dolayısıyla kısa süreli egzersizin rolü olabileceğini göstermektedir. İrisinin overlerde özellikle 5-$HT_{2B}$ reseptörleri aracılığıyla bu etkiyi oluşturabileceği de düşünülmektedir.

### 6.2.3. Dişi Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Cinsel Motivasyon Üzerine Etkileri

Çalışmamızın bu aşamasında, dişi sıçanlarda paroksetin uygulamasının partner tercih parametrelerini değiştirmediği, fakat aktif keşif parametrelerinde değişikliklere neden olduğu belirlenmiştir. Paroksetin uygulamasının, erkeği araştırmak için harcanan süreyi etkilemediği, fakat dişiyi araştırmak için harcanan süreyi azalttığı ve dolayısıyla paroksetin uygulamasının dişi sıçanlarda sosyal motivasyonda azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Dişiyi araştırmak için harcanan sürenin azalmasına bağlı olarak ise erkek araştırma oranında bir artış söz konusu olup bu artışın tek başına cinsel motivasyonu yansıtmadığı düşünülmektedir. Kaspersen ve Agmo (2012), dişi sıçanlarda cinsel motivasyonu değerlendirmek için "tercih skoru" parametresini kullanmışlardır [tercih skoru = cinsel uyaranın yanında harcanan süre/toplam harcanan süre (hem cinsel hem de sosyal uyaranın yanında harcanan süre]. Bu parametredeki azalmanın; ya cinsel uyaranın yanında harcanan süredeki azalmaya ya da sosyal uyaranın yanında harcanan süredeki artışa bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bu noktada, sadece cinsel uyaranın yanında harcanan sürede bir azalma olmasının cinsel motivasyondaki azalmayı yansıtabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca, cinsel motivasyondaki değişikliğin; hem cinsel uyaranın yanında harcanan süreyle hem de tercih skoru ile değerlendirilmesi gerektiğini de önermişlerdir (226). Dolayısıyla bizim çalışmamızda da sadece dişiyi araştırmak için harcanan sürede azalmanın ve buna bağlı olarak erkek tercih oranında bir artışın olması, paroksetin uygulanmış dişi sıçanların aktif ilgisini ve dolayısıyla cinsel motivasyonunu tam olarak yansıtmamaktadır.

Kaspersen ve Agmo (2012), dişi sıçanlarda 4 haftalık paroksetin (10 mg/kg/gün) uygulaması sonucunda cinsel motivasyonda azalma olduğunu belirlemişlerdir (226). Çalışmamızda ise 8 haftalık paroksetin uygulamasının dişi sıçanlarda cinsel motivasyonu değiştirmediği belirlenmiştir. Sonuçlar arasındaki bu farklılığın, paroksetinin uygulama süresi veya dozuna bağlı olabileceği düşünülebilir.

Literatürde, serotoninin sosyal davranışın önemli bir düzenleyicisi olduğu ve serotonerjik nörotransmisyondaki artışın sıçanlarda sosyal davranışı azalttığı gösterilmiştir (227). Çalışmamızda da kronik paroksetin uygulamasına bağlı olarak artan serotonin seviyesinin, dişi sıçanların sosyal motivasyonundaki azalmaya neden olabileceği düşünülmektedir.

Deneysel çalışmaların 2. aşamasında, kısa süreli irisin uygulamasının dişi sıçanların cinsel motivasyonunu değiştirmediği belirlenmiştir. Kısa süreli irisin uygulamasının, üreme ilişkili endokrin sistem ve özellikle cinsel motivasyonla ilişkili olan serum östradiol, testosteron ve progesteron seviyeleri üzerinde bir etki oluşturmamasına bağlı olarak cinsel motivasyonda da bir değişimin olmaması beklenen bir durumdur. Ayrıca kısa süreli irisin uygulamasının aktivite indeksinde azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla dişi sıçanlarda hem cinsel motivasyonda hem de aktif keşif üzerinde kafa karıştırıcı bir faktör olabileceği ifade edilen aktivite indeksindeki azalma, cinsel motivasyonun değişmemesinde etkili bir parametre olabilir.

Sonuç olarak tez çalışmamızda, kronik irisin uygulamasının dişi sıçanlarda cinsel motivasyonu azalttığı (1. deneysel aşama) ve kısa süreli irisin uygulamasının

ise cinsel motivasyonu değiştirmediği (2. deneysel aşama) belirlenmiştir. Dolayısıyla, egzersiz süresinin kadın cinsel fonksiyonu üzerindeki etki mekanizmasında irisin hormonunun rolü olabileceği önerilmektedir.

Seksüel insentif motivasyon testi ile birlikte, paroksetin+irisin grubu ile paroksetin grubunda benzer sonuçların elde edildiği görülmüştür. Buna bağlı olarak, paroksetin+irisin grubunda; dişiyi araştırmak için harcanan sürede bir azalma (dolayısıyla sosyal motivasyonda bir azalma) ve bu azalmaya bağlı olarak erkek araştırma oranında bir artış olduğu bulunmuştur. Yukarıda da açıklandığı üzere, bu değişimlerin tek başına dişi sıçanların aktif ilgisini ve dolayısıyla cinsel motivasyonunu yansıtmadığı düşünülmektedir. Sonuç olarak, paroksetin+irisin grubunda dişi sıçanların cinsel motivasyonunun değişmediği, fakat sosyal motivasyonun azaldığı ortaya koyulmuştur. Dolayısıyla, paroksetin grubunda da gözlemlenen bu parametrelerdeki değişimler üzerinde kısa süreli irisin uygulamasının bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, bu gruptaki sosyal motivasyondaki azalmanın paroksetin uygulamasına bağlı olarak artan serotonin seviyesiyle ilişkili olabileceği de düşünülmektedir.

### 6.2.4. Erkek Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Üreme Hormonları Üzerine Etkileri

Erkek sıçanlarda kronik paroksetin uygulamasının serum FSH seviyesini değiştirmediği, serum LH konsantrasyonunu artırdığı ve serum testosteron seviyesini ise azalttığı belirlenmiştir.

Yaptığımız bir çalışmada, kronik paroksetin uygulanmış (70 gün ve 3.6 mg/kg/gün) erkek sıçanlarda serum gonadotropin seviyeleri ile testosteron

seviyelerinde bir değişimin olmadığını belirledik (228). Literatürde, erkek sıçanlarda farklı sürelerde paroksetin uygulamasının FSH, LH ve testosteron konsantrasyonları üzerinde farklı etkiler oluşturduğu görülmüştür. Örneğin, 10 günlük paroksetin uygulaması sonucu bu hormonların seviyelerinde değişim olmamasına rağmen 30 günlük uygulama sonucunda tüm bu hormonlarda azalma olduğu belirlenmiştir (219). Bir başka çalışmada ise iki aylık paroksetin (20 mg/kg) uygulamasının sıçanlarda serum FSH ve testosteron seviyelerini azalttığı, LH seviyesini ise değiştirmediği ifade edilmiştir (229). Toyin ve arkadaşları (2012) ise erkek sıçanlarda 5 günlük paroksetin uygulamasına (10 mg/kg) bağlı olarak serum FSH ve LH seviyelerinde artış ve testosteron seviyesinde ise azalma olduğunu belirtmişlerdir (230). Yukarıda bahsedilen tüm bu çalışmalarda paroksetinin oral olarak uygulandığı göz önüne alındığında; FSH, LH ve testosteron seviyelerindeki değişimlerde paroksetinin dozu ve uygulama süresinin önemli faktörler olduğu görülmektedir.

Serotoninin hipofiz-testiküler aks üzerinde ve dolayısıyla LH sentezi ve Leydig hücre steroidogenezi üzerinde rolü olabileceği ifade edilmiştir. Ayrıca, serotoninin GnRH salınımı üzerinde de etkisinin olabileceği ve SSRI'ların GnRH sekresyonunu etkileyebileceği gösterilmiştir. Bu noktada, SSRI kullanımına bağlı olarak artan serotonin seviyesinin, HHT aksta lokalize olmuş serotonerjik reseptörler üzerinden etki göstererek üreme aksında disregülasyona neden olabileceği önerilmiştir (231, 232). Bu bilgiler ışığında, çalışmamızda erkek sıçanlarda paroksetin kullanımına bağlı olarak artan serotonin seviyesinin HHT eksen üzerinde etki göstererek LH ve testosteron sekresyonunda bozulmalara neden olabileceği düşünülmektedir. Ayrıca, çalışmamızda azalan testosteron seviyesine

bağlı olarak HHG eksende geri bildirim inhibisyonunun ortadan kalkması sonucunda LH konsantrasyonunda artışın gerçekleşmesi de olası bir durumdur. Özellikle paroksetin uygulamasını takiben testosteron seviyesindeki azalma, paroksetinin gonadlar üzerindeki doğrudan toksik etkisine veya androjenlerin sekresyonundan ve salınmasından sorumlu olan hipofiz bezi üzerindeki dolaylı bir etkiye bağlı olabilir. Paroksetinin gonadlar üzerindeki toksik etkisi ve dolayısıyla testosteron seviyesi üzerindeki negatif etkisi, ileride de ifade edileceği üzere, paroksetine-bağlı testisin interstisyel dokusunda oluşan ödem ve vakualizasyon gibi önemli histopatolojik değişikliklerle de desteklenmektedir.

Çalışmamızda, kısa süreli irisin uygulamasının serum FSH, LH ve testosteron seviyelerini değiştirmediği görülmüştür. Literatürde, erkeklerde egzersiz değişkenlerine bağlı olarak (egzersizin süresi ve yoğunluğu gibi) FSH seviyelerinde azalma, LH ve testosteron seviyelerinde ise artma, azalma veya değişimin olmadığı ifade edilmiştir. Sonuç olarak egzersize bağlı olarak meydana gelen hormonal değişimlerde egzersiz değişkenlerinin rol oynadığı ifade edilmiştir (233, 234). Tez çalışması kapsamında, erkek sıçanlarda kronik (1. deneysel aşama) ve kısa süreli (2. deneysel aşama) irisin uygulamasının LH ve testosteron seviyeleri üzerinde farklı etkiler oluşturduğu görülmüştür. Dolayısıyla çalışmamızın sonuçları, egzersiz değişkenlerinin üreme hormonları üzerindeki etkilerinde irisin hormonunun rolü olabileceğini göstermektedir.

Paroksetin ve irisinin birlikte uygulandığı durumda ise erkek sıçanlarda serum FSH seviyesinde azalma, LH seviyesinde artma ve testosteron seviyesinde ise değişimin olmadığı görülmüştür. Tek başına paroksetin uygulamasının veya irisin uygulamasının serum FSH seviyesini değiştirmediği fakat paroksetin ile

birlikte irisin uygulamasının serum FSH seviyesini azalttığı görülmüştür. Benzer şekilde, paroksetin grubuyla da karşılaştırıldığında, serum FSH seviyesinin paroksetin+irisin grubunda anlamlı bir şekilde azaldığı belirlenmiştir. İrisinin, Sertoli hücreleri tarafından üretilen ve ön hipofiz bezinden FSH salınımını inhibe eden inhibin-B seviyesini artırmasına bağlı olarak FSH seviyesi azalmış olabilir.

Hem paroksetin hem de paroksetin+irisin grubunda serum LH seviyelerinin arttığı belirlenmiştir. İrisin grubunda da serum LH seviyesinin değişmediği göz önüne alındığında, erkek sıçanlarda paroksetin uygulamasına bağlı olarak artan LH konsantrasyonu üzerinde irisin uygulamasının bir etki oluşturmadığı belirlenmiştir.

Tek başına paroksetin uygulamasının serum testosteron seviyesini azalttığı, paroksetin+irisin grubunda ise azalan testosteron seviyesinin irisin uygulamasıyla birlikte tekrar normal seviyelere döndüğü belirlenmiştir. Yukarıda da açıklandığı üzere, irisin uygulamasının LH sentezi üzerinde bir etkisinin olmamasına rağmen testosteron seviyesini normal seviyelere çekmesi; irisinin Leydig hücreleri üzerindeki koruyucu rolünü veya testiküler endokrin fonksiyonu stimüle ettiğini göstermektedir. Literatürde, egzersizin oksidatif stres ve inflamasyonu azaltarak testis fonksiyon kaybına karşı koruyucu bir rolü olduğu ifade edilmiştir (235, 236). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda ise irisinin anti-inflamatuar ve anti-oksidatif etkiye sahip olduğu bildirilmiştir (237). Tüm bu bilgiler göz önüne alındığında, çalışmamızın sonuçlarına bağlı olarak, egzersizin testiküler fonksiyon üzerindeki koruyucu etkisinde egzersize bağlı olarak dolaşıma salınan ve anti-inflamatuar ve anti-oksidatif etkiye sahip olan irisin hormonunun rolü olabileceği ortaya koyulmuştur.

Sonuç olarak çalışmamızda, paroksetin uygulamasına bağlı olarak bozulmuş testosteron seviyesinin irisin uygulaması ile düzelmesi erkek üreme sağlığı açısından dikkat çekici ve olumlu bir sonuç olarak görülmektedir.

### 6.2.5. Erkek Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Sperm Parametreleri Üzerine Etkileri

Paroksetin uygulamasına bağlı olarak, anlamlı olmamakla beraber sperm konsantrasyonunda ve motilitesinde azalma ve anormal sperm oranın da ise artış olduğu görülmüştür.

Spermatogenez ve testiküler aktivite için FSH, LH ve testosteron önemli markerler olarak kullanılmaktadır. Spermatogenez, FSH'nın Sertoli hücrelerini uyarması ve LH'nın Leydig hücrelerini aktive etmesini takiben testosteron sentezinin uyarılması aracılığıyla seminifer tübüllerdeki germ hücreleri tarafından gerçekleştirilir (238). Yapılan çalışmalarda azalan testosteron seviyesine bağlı olarak epididimal sperm konsantrasyonunda ve sperm motilitesinde azalma ve anormal sperm oranında ise artış olduğu ifade edilmiştir (239, 240). Çalışmamızda, paroksetin uygulamasına bağlı olarak azalan testosteron seviyesinin; sperm konsantrasyonunda ve motilitesinde azalmaya ve anormal sperm oranında artışa neden olabileceği düşünülmektedir. Literatürde, serotoninin spermatogenezde rol oynadığı ve aşırı serotonin seviyesinin spermatozoa'da azalma dâhil olmak üzere sperm disfonksiyonuna neden olabileceği de bildirilmiştir (241). Ayrıca, sıçanlarda sistemik serotonin enjeksiyonunun spermatogenezi bozduğu ve SSRI'ların sperm parametreleri üzerindeki negatif etkilerinde HHT eksende lolalize olmuş serotonerjik reseptörlerin rol oynadığı ifade edilmiştir. Buna bağlı olarak,

SSRI'ların üreme sistemi üzerindeki etkilerinde artan serotoninin rol oynadığı önerilmiştir (232). Dolayısıyla çalışmamızda, paroksetin uygulamasına bağlı olarak artan serotonin seviyesinin sperm disfonksiyonuna neden olmuş olabileceği de düşünülmektedir.

Tez çalışmasında, kısa süreli irisin uygulamasının sperm konsantrasyonu, motilitesi ve anormal sperm oranını etkilemediği belirlenmiştir. Kısa süreli irisin uygulamasının spermatogenezde rol oynayan serum FSH, LH ve testosteron seviyelerini değiştirmemesine bağlı olarak sperm parametrelerinin de değişmemesi beklenen bir sonuçtur. Deneysel çalışmalarımızın 1. aşamasında ise kronik irisin uygulamasının artan LH ve testosteron seviyelerine bağlı olarak sperm konsantrasyonunu artırdığı göz önüne alındığında, irisinin uygulama süresine bağlı olarak sperm parametreleri üzerinde farklı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir.

Paroksetin+irisin grubunda ise, paroksetinin sperm parametreleri üzerinde oluşturduğu olumsuz etkinin irisin uygulamasıyla ortadan kalktığı belirlenmiştir. Yukarıda da ifade edildiği üzere çalışmamızda, paroksetin+irisin grubunda serum FSH seviyesinin azalmasında inhibin-B seviyesindeki artışın rol oynayabileceği düşünülmüştür. Dolayısıyla bu grupta, irisin uygulamasına bağlı olarak hem testosteron seviyesindeki artışın hem de inhibin-B seviyesindeki olası artışın sperm parametrelerini düzeltmiş olabileceği çıkarımı yapılmıştır. Sonuç olarak bu çalışmada, paroksetin uygulanan sıçanlarda irisinin testosteron ve inhibin-B seviyelerini artırarak sperm fonksiyonu üzerinde protektif etki oluşturduğu belirlenmiştir.

### 6.2.6. Erkek Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Testis Histolojisi Üzerine Etkileri

Tez çalışmasında, paroksetin uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda interstisyel alanda vakuolizasyon dikkat çekmiştir. Ayrıca, seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücrelerinde, interstisyel alandaki ödemde, seminifer tübül germinal epitellerinde dejenerasyonda ve germinal epitel kalınlığında artış olduğu belirlenmiştir. Yakubu ve Atoyebi (2018), sıçanlarda paroksetin uygulaması sonucu FSH, LH ve testosteron seviyelerindeki azalmanın veya artan serotoninin seminifer tübüllerde dejenerasyona neden olduğunu belirtmişlerdir (238). Benzer şekilde EL-Gaafarawi ve arkadaşları (2005) da, sıçanlarda paroksetin uygulamasına bağlı olarak meydana gelen gonadal hasarda azalan FSH, LH ve testosteron seviyelerinin rol oynadığını bildirmişlerdir (219). Yaptığımız bir çalışmada ise kronik paroksetin uyguladığımız sıçanların testis dokusunda atrofi, seminifer tübüllerin interstisyel alanında ödem ve seminifer tübül epitelinde vakualizasyon olduğu görülmüştür (228). Atli ve arkadaşları (2017) ise, bir SSRI olan sertralin uygulamasına bağlı olarak sıçanların testiküler dokusunda histopatolojik değişikliklerin oluştuğunu ve bu oluşumlarda sertraline bağlı olarak artan LH konsantrasyonunun rolü olabileceğini belirtmişlerdir (232). Tüm bu bilgiler göz önüne alındığında, çalışmamızda paroksetin uygulaması sonucu azalan testosteron seviyesi, artan LH seviyesi veya artan serotonin konsantrasyonuna bağlı olarak testis dokusunda histopatolojik değişikliklerin oluştuğu düşünülmektedir.

Kısa süreli irisin uygulamasının testis dokusunda önemli histopatolojik değişiklikler oluşturmadığı belirlenmiştir. Deneysel çalışmaların 1. aşamasında olduğu gibi bu deneysel aşamada da irisin uygulamasına bağlı olarak seminifer

tübül lümenine dökülmüş germ hücrelerinde ve seminifer tübül çapında artış olduğu görülmüştür. Fakat bu deneysel aşamada meydana gelmiş olan bu artışların anlamlı olmadığı belirlenmiştir. Bir bütün olarak ele alındığında, erkek sıçanlarda kısa süreli irisin uygulamasının; serum FSH, LH ve testosteron seviyeleri, sperm parametreleri ile gonadlar üzerinde ve dolayısıyla HHG eksen üzerinde bir etki oluşturmadığı ve tüm bu parametrelerin sağlıklı hayvanlarda belirlenen parametreler ile benzer olduğu sonucuna varılmıştır.

Paroksetin+irisin grubunda ise paroksetin uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda oluşan histopatolojik değişikliklerin (lümene dökülmüş germ hücreleri, interstisyel ödem ve dejenere tübüller) irisin uygulamasıyla azaldığı belirlenmiştir. Bu noktada, irisin uygulamasıyla beraber testosteron seviyesinin normalleşmesinin bir sonucu olarak testis dokusunda paroksetin ile indüklenen bu histoyapısal değişikliklerin şiddetinin önemli ölçüde azaldığı düşünülmektedir. Bunun yanı sıra, paroksetin+irisin grubunda bazal membranlarda ayrılmadaki artış ile seminifer tübül çapının artması da dikkat çekmiştir. Benzer şekilde deneysel çalışmaların 1. aşamasında da kronik irisin uygulamasına bağlı olarak bu histopatolojik değişikliklerin oluştuğu görülmüştür. Ayrıca, paroksetin uygulamasına bağlı olarak artan germinal epitel kalınlığı üzerine irisinin bir etkisinin olmadığı da belirlenmiştir. Sonuç olarak çalışmamızda kısa süreli irisin uygulamasının, sıçanların testis dokularında paroksetinin neden olduğu histopatolojik değişiklikler üzerinde koruyucu etkileri olduğu düşünülmektedir.

### 6.2.7. Erkek Sıçanlarda Paroksetin ve/veya Kısa Süreli İrisin Uygulamasının Cinsel Davranış Üzerine Etkileri

Literatürde, sıçanlarda paroksetin-etkili cinsel işlev bozukluğu modelinin oluşturulduğu ve herhangi bir ajanın cinsel davranış üzerindeki etkinliğini incelemek için bu modelin geçerli olduğu ifade edilmiştir (238, 242). Çalışmamızda da, irisinin cinsel fonksiyon bozukluğu üzerindeki etkinliğini araştırmak için erkek sıçanlarda paroksetin-etkili cinsel fonksiyon bozukluğu modeli oluşturulmuştur.

Erkek sıçanlarda paroksetin uygulamasının mount, intromisyon ve ejakülasyon latenslerini (sırasıyla ML, IL ve EL) artırdığı, ejakülasyon frekansı, çiftleşme oranı ve cinsel aktivite indeksini (sırasıyla EF, ÇO ve CAİ) ise azalttığı belirlenmiştir. Mount latensi ve IL cinsel motivasyonu veya uyarılabilirliği değerlendirmek için kullanılmakta ve EL ise hem libido indeksi olarak kullanılmakta hem de cinsel motivasyonu yansıtmaktadır (230, 238). Dolayısıyla çalışmamızda ML ve IL'deki uzamaya bağlı olarak, paroksetin uygulamasının erkek sıçanlarda cinsel motivasyonu veya uyarılabilirliği azalttığı belirlenmiştir. Benzer şekilde EL'deki uzama da paroksetin uygulamasına bağlı olarak cinsel motivasyondaki azalmayı ve çiftleşme davranışındaki bozulmayı yansıtmaktadır.

Ejakülasyon frekansındaki azalma cinsel davranışın inhibe edildiğini ve dolayısıyla seksüel disfonksiyonu yansıtmaktadır (238). Çiftleşme oranı ise sıçanın verimliliğine bağlı olan bir parametre olup genel uyarılma ile alakalıdır (64, 243). Çalışmamızda, paroksetin grubunda EF ve ÇO'daki azalmaya bağlı olarak, paroksetin uygulamasının sıçanlarda seksüel disfonksiyona neden olduğu ve sıçanların cinsel verimliliğini azalttığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, paroksetin

uygulanmış sıçanlarda CAİ'deki azalma, paroksetinin erkek sıçanlarda çiftleşme davranışı üzerindeki inhibe edici etkisini yansıtmaktadır.

Çalışmamızda, paroksetin grubunda anlamlı olmamakla beraber IF'de bir azalma olduğu görülmüştür. İntromisyon frekansı penil ereksiyonu ifade etmekte olup, paroksetin uygulamasına bağlı olarak IF'deki azalma, ereksiyonun azaldığını ve dolayısıyla paroksetinin erektil disfonksiyona neden olduğunu da göstermektedir. Sonuç olarak çalışmamızda, erkek sıçanlarda paroksetin uygulamasından sonra EF ve IF sayısındaki azalma ile uzamış ML, IL ve EL; paroksetinin sıçanların cinsel davranışı üzerinde inhibitör bir etki oluşturduğunu ve sıçanların cinsel davranışını bozulduğunu göstermektedir.

Literatürde, SSRI'ların düşük cinsel isteğe, ejakülasyonda veya orgazmda gecikmeye ve erektil disfonksiyona neden olduğu ifade edilmiştir. Özellikle SSRI kullanımına bağlı olarak artan serotoninin cinsel davranışı ve ejakülasyonu inhibe ettiği ve ayrıca azalmış ejakülasyon frekansı ve artmış ejakülasyon latensinin serotonerjik nörotransmisyondaki artışı yansıttığı belirtilmiştir (244, 245). Özetle biyolojik teoriye göre, SSRI'lar sinapsta serotonin birikimini artırır ve beyinde serotoninin ejakülatör inhibe edici etkileri artarak ejakülasyonda gecikme veya inhibisyon meydana gelir (208). Ayrıca, paroksetine bağlı meydana gelen cinsel fonksiyon bozukluğunda testosteron seviyesindeki azalmanın da rolü olduğu ifade edilmiştir (238). Sıçanlarda paroksetin uygulamasına bağlı olarak artan serotonin seviyesinin testis androjen sentezini inhibe ettiği ve testosteron metabolizmasını bozduğu bildirilmiştir (242). Tez çalışmasında da, paroksetin uygulamasına bağlı olarak erkek sıçanlarda serum testosteron seviyesinde azalma olduğu ve bu

azalmaya bağlı olarak sıçanların cinsel davranışının bozulduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Antidepresan kullanımına bağlı olarak, erkeklerde cinsel yan etkilerin kadınlara göre daha fazla olduğu ifade edilmiştir. Beyin görüntüleme çalışmalarında elde edilen verilere göre, SSRI kullanan kadınların striatumunda sinaptik dopamin konsantrasyonunun erkeklere göre daha yüksek olduğu ve buna bağlı olarak kadınlarda cinsel yan etkilerdeki prevelansın erkeklere göre daha az olduğu ifade edilmiştir (246). Tez çalışmamızda da, dişi sıçanlarda paroksetin kullanımına bağlı olarak cinsel yan etkinin oluşmadığı fakat erkek sıçanlardaki cinsel yan etki profilinin oldukça yüksek olduğu belirlenmiştir. Dolayısıyla dişi ve erkek sıçanlar arasındaki bu farklılığın merkezi dopamin konsantrasyonu ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda, kısa süreli irisin uygulamasının anlamlı olmamakla birlikte mount latensini azalttığı ve intromisyon frekansını (IF) ise artırdığı belirlenmiştir. Mount latensinin azalması kısa süreli irisin uygulamasının cinsel motivasyonu veya uyarılabilirliği artırdığını ve IF'deki artış ise cinsel performansı (ereksiyonun etkinliğini) artırdığını göstermektedir. Tez çalışması kapsamında, kronik irisin uygulamasının da (1. deneysel aşama) erkek sıçanların cinsel motivasyonunu ve performansını artırdığı belirlenmiştir. Dolayısıyla bu tez çalışmasıyla birlikte, irisinin cinsel davranış üzerinde uyarıcı bir rolü olduğu sonucuna varılmıştır.

Paroksetin+irisin grubunda ise, paroksetin uygulamasına bağlı olarak artan ML, IL ve EL'nin irisin uygulamasına bağlı olarak azaldığı ve sağlıklı hayvanlarda belirlenen parametreler ile benzerlik gösterdiği belirlenmiştir. Dolayısıyla

paroksetin uygulamasıyla beraber azalan cinsel motivasyonun veya bozulan çiftleşme davranışının irisin uygulamasıyla beraber düzeldiği/iyileştiği ortaya koyulmuştur. Benzer şekilde paroksetin+irisin grubunda, paroksetine bağlı olarak azalan EF ve CAİ parametreleri de irisin uygulamasıyla beraber artış göstererek normal seviyelere gelmiştir. Ejakülasyon frekansındaki artış, paroksetine bağlı olarak bozulmuş ereksiyon etkinliğinin veya azalmış cinsel performansın irisine bağlı olarak artış göstererek düzeldiğini yansıtmaktadır. Paroksetin grubunda azalan CAİ'nin irisin uygulamasıyla beraber artış göstermesi ise irisinin; paroksetinin erkek sıçanların cinsel davranışı üzerinde inhibe edici etkisini ortadan kaldırdığını göstermektedir. Literatürde, cinsel fonksiyon bozukluğunun düzelmesinde artan testosteron seviyesinin önemli bir rol oynadığı ifade edilmektedir (212, 235). Tez çalışmasının 1. deneysel aşamasında, kronik irisin uygulamasına bağlı olarak artan serum testosteron seviyesinin erkek sıçanların cinsel davranışını artırdığı görülmüştür. Benzer sonuçlar bu deneysel aşamada (2. deneysel aşama), paroksetin+irisin grubunda da elde edilmiştir. Buna bağlı olarak çalışmamızda erkek sıçanlarda irisin uygulamasının, paroksetine bağlı bozulmuş cinsel fonksiyonu serum testosteron seviyesini artırarak düzelttiği düşünülmektedir.

Klinikte, cinsel fonksiyon bozukluğu tedavisinde nonfarmakolojik bir yaklaşım olarak egzersizin önerildiği bilinmektedir. Özellikle antidepresan ilaç kullanan kişilerde egzersizin bozulmuş cinsel fonksiyonu düzelttiği belirtilmiştir (101-104). Çalışmamızın sonuçları irisinin, paroksetin tedavisinin neden olduğu cinsel işlev bozukluğunu düzeltebileceğini/iyileştirebileceğini göstermektedir. Dolayısıyla, egzersizin cinsel fonksiyon bozukluğu üzerindeki düzeltici etkisinde egzersizle birlikte dolaşıma salınan irisin hormonunun rolü olabileceği sonucuna

varılmıştır. Ayrıca bu tez çalışmasıyla birlikte, irisinin cinsel fonksiyon bozukluğunda terapötik bir ajan olabileceği de ortaya koyulmuştur.

**SONUÇ;**

Bu tez çalışmasında bir egzersiz hormonu olan irisinin, puberteye geçiş ve üreme sistemi üzerindeki etki mekanizmasının anlaşılması ve SSRI kullanımına bağlı gelişen cinsel fonksiyon bozuklukları tedavisindeki rolünün araştırması amaçlanmıştır. Bu amaçla yürütülen deneysel çalışmalardan aşağıda özetlenen sonuçlar elde edilmiştir.

***Dişi sıçanlarda kronik irisin uygulamasının;***

- Puberteye geçişi ve ilk östrus yaşını geciktirdiği ve östrus siklusunu ise etkilemediği belirlenmiştir.
- Serum FSH, testosteron ve progesteron seviyelerini azalttığı, serum LH ve östradiol konsantrasyonlarını artırdığı ve serum AMH ile inhibin-B seviyelerini ise değiştirmediği bulunmuştur.
- Ovaryum dokusunda fibrozis oluşumunu artırdığı ve primer folikül sayısını azalttığı görülmüştür.
- Nükleus akkumbensde dopaminerjik nöronların aktivitesini artırdığı ve serotonerjik aktiviteyi etkilemediği belirlenmiştir. Medial preoptik alanda ise noradrenalin seviyesini ve dopaminerjik aktiviteyi azalttığı bulunmuştur. Medial amigdalada da hem dopamin hem de noradrenalin konsantrasyonlarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.
- Cinsel motivasyonu azalttığı ve cinsel performansı ise etkilemediği görülmüştür.

***Erkek sıçanlarda kronik irisin uygulamasının;***

- Pubertal olgunlaşmayı etkilemediği belirlenmiştir.
- Serum FSH seviyesini değiştirmediği, serum LH ve testosteron konsantrasyonlarını artırdığı ve serum inhibin-B seviyesini ise azalttığı saptanmıştır.
- Spermatogenezi daha erken başlattığı ve sperm konsantrasyonunu arttığı görülmüştür.
- Testis dokusunda histopatolojik değişikliklere (seminifer tübül lümenine dökülmüş germ hücrelerinde ve seminifer tübül bazal membranlarında ayrılmada artış) neden olduğu ortaya koyulmuştur. Ayrıca seminifer tübül çapını artırdığı ve germinal epitel kalınlığı ise azalttığı belirlenmiştir.
- Nükleus akkumbensde dopamin konsantrasyonunu ve noradrenerjik aktiviteyi arttığı bulunmuştur. Medial preoptik alanda monoamin seviyelerini değiştirmediği ve medial amigdalada ise serotonin konsantrasyonunda azalmaya neden olduğu belirlenmiştir.
- Cinsel motivasyonu ve performansı artırdığı bulunmuştur.

***Paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulanmış dişi sıçanlarda;***

- Paroksetin uygulamasının, kısa süreli irisin uygulamasının veya paroksetin ile irisinin birlikte uygulanmasının serum FSH, LH, östradiol, progesteron, testosteron ve AMH seviyelerini etkilemediği belirlenmiştir.
- Paroksetin uygulamasının ovaryum dokusunda patolojik değişikliklere neden olduğu ve kısa süreli irisin uygulamasının primer folikül sayısını azalttığı bulunmuştur. Paroksetin ile irisinin birlikte uygulandığı durumda ise paroksetine

bağlı olarak gelişen histopatolojik değişikliklerin irisin uygulamasıyla azaldığı belirlenmiştir.

- Paroksetin uygulamasının cinsel motivasyonu etkilemediği fakat sosyal motivasyonu azalttığı görülmüştür. Kısa süreli irisin uygulamasının ise cinsel motivasyonu değiştirmediği bulunmuştur. Ayrıca, paroksetine bağlı gelişen sosyal motivasyondaki azalma üzerinde irisinin bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

***Paroksetin ve/veya kısa süreli irisin uygulanmış erkek sıçanlarda;***

- Paroksetin uygulamasına bağlı olarak serum FSH seviyesinin değişmediği, serum LH konsantrasyonunun arttığı ve serum testosteron seviyesinin ise azaldığı görülmüştür. Kısa süreli irisin uygulamasının ise serum FSH, LH ve testosteron seviyelerini etkilemediği belirlenmiştir. Paroksetin ve irisinin birlikte uygulandığı durumda ise serum FSH seviyesinde azalma, serum LH seviyesinde artma ve serum testosteron seviyesinde ise değişimin olmadığı bulunmuştur.
- Paroksetin uygulamasına bağlı olarak sperm konsantrasyonunda ve motilitesinde azalma ile anormal sperm oranında artış olduğu saptanmıştır. Kısa süreli irisin uygulamasının ise sperm parametrelerini değiştirmediği belirlenmiştir. Paroksetin ile irisinin birlikte uygulandığı durumda ise, paroksetinin sperm parametreleri üzerinde oluşturduğu olumsuz etkilerin irisin uygulamasıyla beraber ortadan kalktığı bulunmuştur.
- Paroksetin uygulamasına bağlı olarak testis dokusunda çeşitli histopatolojik değişikliklerin oluştuğu belirlenmiştir. Kısa süreli irisin uygulamasının ise testis dokusunda önemli histopatolojik değişikliklere neden olmadığı bulunmuştur.

Paroksetin ile irisinin birlikte uygulandığı durumda ise, paroksetine bağlı oluşan testis dokusundaki histopatolojik değişikliklerin irisin uygulamasıyla azaldığı görülmüştür.

- Paroksetin uygulamasına bağlı olarak hem cinsel motivasyonunun hem de cinsel performansının azaldığı dolayısıyla paroksetinin cinsel davranışı inhibe ettiği saptanmıştır. Kısa süreli irisin uygulamasının ise hem cinsel motivasyonu hem de cinsel performansı artırdığı ortaya koyulmuştur. Paroksetin ile irisinin birlikte uygulandığı durumda ise, paroksetinin cinsel davranış üzerindeki inhibe edici etkisinin irisin uygulamasıyla ortadan kalktığı görülmüştür.

Sonuç olarak, irisinin nöroendokrin üreme aksında ve dolayısıyla pubertenin başlama mekanizmasında bir rolü olduğu açığa çıkarılmıştır. Özellikle irisinin uygulama süresinin üreme sistemi bileşenleri üzerinde farklı etkiler oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca, irisinin erkeklerde infertilite ve cinsel fonksiyon bozuklukları tedavisinde terapötik bir protein olabileceği önerilmektedir.

# 7. KAYNAKLAR


1. Christensen A, Bentley GE, Cabrera R, et al. Hormonal Regulation of Female Reproduction. Horm Metab Res 2012; 44(8): 587-591.
2. Tiwari AK, Pragya P, Ram KR, Chowdhuri DK. Environmental chemical mediated male reproductive toxicity: Drosophila melanogaster as an alternate animal model. Theriogenology 2011; 76(2): 197-216.
3. Terasawa EI, Fernandez DL. Neurobiological mechanisms of the onset of puberty in primates. Endocr Rev 2001; 22(1): 111-151.
4. Sharma R, Biedenharn KR, Fedor JM, Agarwal A. Lifestyle factors and reproductive health: taking control of your fertility. Reprod Biol Endocrinol 2013; 11(1): 1-15.
5. da Silva Faria T, da Fonte Ramos C, Sampaio FJ. Puberty onset in the female offspring of rats submitted to protein or energy restricted diet during lactation. J Nutr Biochem 2004; 15(2): 123-127.
6. Ebling FJ. The neuroendocrine timing of puberty. Reproduction 2005; 129(6): 675-683.
7. Sultan C, Gaspari L, Maimoun L, Kalfa N, Paris F. Disorders of puberty. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol 2018; 48: 62-89.
8. Crown A, Clifton DK, Steiner RA. Neuropeptide signaling in the integration of metabolism and reproduction. Neuroendocrinology 2007; 86(3): 175-182.
9. Wahab F, Shahab M, Behr R. Hypothesis: Irisin is a metabolic trigger for the activation of the neurohormonal axis governing puberty onset. Med Hypotheses 2016; 95: 1-4.
10. Nieuwenhuis D, Pujol-Gualdo N, Arnoldussen IA, Kiliaan AJ. Adipokines: A gear shift in puberty. Obes Rev 2020; 21(6): e13005.
11. Baker ER. Body weight and the initiation of puberty. Clin Obstet Gynecol 1985; 28(3): 573-579.
12. Terasawa E, Kurian JR, Keen KL, et al. Body weight impact on puberty: effects of high-calorie diet on puberty onset in female rhesus monkeys. Endocrinology 2012; 153(4): 1696-1705.
13. Sliwowska JH, Fergani C, Gawałek M, et al. Insulin: its role in the central control of reproduction. Physiol Behav 2014; 133: 197-206.
14. Tena-Sempere M. Roles of ghrelin and leptin in the control of reproductive function. Neuroendocrinology 2007; 86(3): 229-241.
15. Robinson JJ. Nutrition and reproduction. Anim Reprod Sci 1996; 42(1-4): 25-34.
16. Pellerin-Massicotte J, Brisson GR, St-Pierre C, Rioux P, Rajotte D. Effect of exercise on the onset of puberty, gonadotropins, and ovarian inhibin. J Appl Physiol 1987; 63(3): 1165-1173.
17. Frisch RE, Hegsted DM, Yoshinaga K. Body weight and food intake at early estrus of rats on a high-fat diet. Proc Nat Acad Sci USA 1975; 72(10): 4172-4176.
18. Van der Spuy ZM. Nutrition and reproduction. Clin Obstet Gynaecol 1985; 12(3): 579-604.

19. Feng Li X, Lin YS, Kinsey-Jones JS, O'Byrne KT. High-fat diet increases LH pulse frequency and kisspeptin-neurokinin B expression in puberty-advanced female rats. Endocrinology 2012; 153(9): 4422-4431.
20. Chen N, Li Q, Liu J, Jia S. Irisin, an exercise-induced myokine as a metabolic regulator: an updated narrative review. Diabetes Metab Res Rev 2016; 32(1): 51-59.
21. Reinehr T, Elfers C, Lass N, Roth CL. Irisin and its relation to insulin resistance and puberty in obese children: a longitudinal analysis. J Clin Endocrinol Metab 2015; 100(5): 2123-2130.
22. Clarke H, Dhillo WS, Jayasena CN. Comprehensive review on kisspeptin and its role in reproductive disorders. Endocrinol Metab 2015; 30(2): 124-141.
23. Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. Physiol Rev 2012; 92(3): 1235-1316.
24. d'Anglemont de Tassigny X, Fagg LA, Carlton MB, Colledge WH. Kisspeptin can stimulate gonadotropin-releasing hormone (GnRH) release by a direct action at GnRH nerve terminals. Endocrinology 2008; 149(8): 3926-3932.
25. Messager S, Chatzidaki EE, Ma D, et al. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. Proc Nat Acad Sci USA 2005; 102(5): 1761-1766.
26. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. Nature 2001; 411(6837): 613-617.
27. Knox AMI, Li XF, Kinsey-Jones JS, et al. Neonatal lipopolysaccharide exposure delays puberty and alters hypothalamic Kiss1 and Kiss1r mRNA expression in the female rat. J Neuroendocrinol 2009; 21(8): 683-689.
28. Gaytan F, Gaytan M, Castellano JM, et al. KiSS-1 in the mammalian ovary: distribution of kisspeptin in human and marmoset and alterations in KiSS-1 mRNA levels in a rat model of ovulatory dysfunction. Am J Physiol Endocrinol Metab 2009; 296(3): E520-E531.
29. Lapatto R, Pallais JC, Zhang D, et al. Kiss1−/− mice exhibit more variable hypogonadism than Gpr54−/− mice. Endocrinology 2007; 148(10): 4927-4936.
30. Silveira LG, Noel SD, Silveira-Neto AP, et al. Mutations of the KISS1 gene in disorders of puberty. J Clin Endocrinol Metab 2010; 95(5): 2276-2280.
31. Trevisan CM, Montagna E, de Oliveira R, et al. Kisspeptin/GPR54 system: what do we know about its role in human reproduction?. Cell Physiol Biochem 2018; 49(4): 1259-1276.
32. Tsutsui K, Saigoh E, Ukena K, et al. A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release. Biochem Biophys Res Commun 2000; 275(2): 661-667.
33. Han X, He Y, Zeng G, et al. Intracerebroventricular injection of RFRP-3 delays puberty onset and stimulates growth hormone secretion in female rats. Reprod Biol Endocrinol 2017; 15(1): 1-10.
34. Rizwan MZ, Poling MC, Corr M, et al. RFamide-related peptide-3 receptor gene expression in GnRH and kisspeptin neurons and GnRH-dependent mechanism of action. Endocrinology 2012; 153(8): 3770-3779.

35. Sethi S, Tsutsui K, Chaturvedi CM. Age-dependent variation in the RFRP-3 neurons is inversely correlated with gonadal activity of mice. Gen Comp Endocrinol 2010; 168(3): 326-332.
36. Ahima RS, Dushay J, Flier SN, Prabakaran D, Flier JS. Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice. J Clin Investig 1997; 99(3): 391-395.
37. Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, et al. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. Endocrinology 1996; 137(7): 3144-3147.
38. Chehab FF, Lim ME, Lu R. Correction of the sterility defect in homozygous obese female mice by treatment with the human recombinant leptin. Nat Genet 1996; 12(3): 318-320.
39. Manfredi-Lozano M, Roa J, Ruiz-Pino F, et al. Defining a novel leptin–melanocortin–kisspeptin pathway involved in the metabolic control of puberty. Mol Metab 2016; 5(10): 844-857.
40. Moguilevsky JA, Wuttke W. Changes in the control of gonadotrophin secretion by neurotransmitters during sexual development in rats. Exp Clin Endocrinol Diabetes 2001; 109(04): 188-195.
41. Weiner RI, Ganong WF. Effect of the depletion of brain catecholamines on puberty and the estrous cycle in the rat. Neuroendocrinology 1971; 8(2): 125-135.
42. Kim K, Lee BJ, Cho BN, et al. Blockade of Noradrenergic Neurotransmission with Diethyldithio-carbamic Acid Decreases the mRNA Level of Gonadotropin-Releasing Hormone in the Hypothalamus of Ovariectomized, Steroid-Treated Prepubertal Rats. Neuroendocrinology 1994; 59(6): 539-544.
43. Sarkar DK, Smith GC, Fink G. Effect of manipulating central catecholamines on puberty and the surge of luteinizing hormone and gonadotropin releasing hormone induced by pregnant mare serum gonadotropin in female rats. Brain Res 1981; 213(2): 335-349.
44. Morello H, Taleisnik S. Changes of the release of luteinizing hormone (LH) on the day of proestrus after lesions or stimulation of the raphe nuclei in rats. Brain Res 1985; 360(1-2): 311-317.
45. Harris GC, Levine JE. Pubertal acceleration of pulsatile gonadotropin-releasing hormone release in male rats as revealed by microdialysis. Endocrinology 2003; 144(1): 163-171.
46. Sisk CL, Richardson HN, Chappell PE, Levine JE. *In vivo* gonadotropin-releasing hormone secretion in female rats during peripubertal development and on proestrus. Endocrinology 2001; 142(7): 2929-2936.
47. Moran MJ, Ayala ME, Gallegos E, et al. Effects of systemic administration or intrabursal injection of serotonin on puberty, first ovulation and follicular development in rats. Reprod Fertil Dev 2013; 25(8): 1105-1114.
48. Holder MK, Blaustein JD. Puberty and adolescence as a time of vulnerability to stressors that alter neurobehavioral processes. Front Neuroendocrinol 2014; 35(1): 89-110.
49. Korenbrot CC, Huhtaniemi IT, Weiner RI. Preputial separation as an external sign of pubertal development in the male rat. Biol Reprod 1977; 17(2): 298-303.
50. Pfaus JG, Kippin TE, Centeno S. Conditioning and sexual behavior: a review. Horm Behav 2001; 40(2): 291-321.

51. Argiolas A, Melis MR. Neuropeptides and central control of sexual behaviour from the past to the present: a review. Prog Neurobiol 2013; 108: 80-107.
52. Knobil E, Neill JD. Knobil and Neill's physiology of reproduction. 4th Edition, Academic Press, 2006.
53. Pfaus JG. Reviews: Pathways of sexual desire. J Sex Med 2009; 6(6): 1506-1533.
54. Giuliano F, Pfaus J, Balasubramanian S, et al. Experimental models for the study of female and male sexual function. J Sex Med 2010; 7(9): 2970-2995.
55. Beach FA. Sexual attractivity, proceptivity, and receptivity in female mammals. Horm Behav 1976; 7(1): 105-138.
56. Nelson RJ. An introduction to behavioral endocrinology. Sunderland: Sinauer Associates, 2005.
57. Kercmar J, Tobet SA, Majdic G. Social isolation during puberty affects female sexual behavior in mice. Front Behav Neurosci 2014; 8: 337.
58. Flanagan-Cato LM, McEwen BS. Pattern of Fos and Jun expression in the female rat forebrain after sexual behavior. Brain Res 1995; 673(1): 53-60.
59. Frohmader KS, Pitchers KK, Balfour ME, Coolen LM. Mixing pleasures: review of the effects of drugs on sex behavior in humans and animal models. Horm Behav 2010; 58(1): 149-162.
60. Afonso VM, Sison M, Lovic V, Fleming AS. Medial prefrontal cortex lesions in the female rat affect sexual and maternal behavior and their sequential organization. Behav Neurosci 2007; 121(3): 515.
61. Gelez H, Greggain-Mohr J, Pfaus JG, Allers KA, Giuliano F. Flibanserin treatment increases appetitive sexual motivation in the female rat. J Sex Med 2013; 10(5): 1231-1239.
62. Angoa-Pérez M, Kuhn DM. Neuroanatomical dichotomy of sexual behaviors in rodents: a special emphasis on brain serotonin. Behav Pharmacol 2015; 26(6): 595.
63. Erskine MS. Solicitation behavior in the estrous female rat: a review. Horm Behav 1989; 23(4): 473-502.
64. Heijkoop R, Huijgens PT, Snoeren EM. Assessment of sexual behavior in rats: The potentials and pitfalls. Behav Brain Res 2018; 352: 70-80.
65. Tennent BJ, Smith ER, Davidson JM. The effects of estrogen and progesterone on female rat proceptive behavior. Horm Behav 1980; 14(1): 65-75.
66. Chu X, Ågmo A. Sociosexual behaviors during the transition from non-receptivity to receptivity in rats housed in a seminatural environment. Behav Process 2015; 113: 24-34.
67. Hardy DF, Debold JF. Effects of mounts without intromission upon the behavior of female rats during the onset of estrogen-induced heat. Physiol Behav 1971; 7(4): 643-645.
68. Beach FA. Effects of injury to the cerebral cortex upon the display of masculine and feminine mating behavior by female rats. J Comp Psychol 1943; 36(3): 169.
69. Kow LM, Pfaff DW. Induction of lordosis in female rats: two modes of estrogen action and the effect of adrenalectomy. Horm Behav 1975; 6(3): 259-276.

70. Hawcock AB, Dawkins TE, Reynolds DS. Assessment of 'active investigation'as a potential measure of female sexual incentive motivation in a preclinical non-contact rodent model: observations with apomorphine. Pharmacol Biochem Behav 2010; 95(2): 179-186.
71. Ågmo A. Male rat sexual behavior. Brain Res Protoc 1997; 1(2): 203-209.
72. Snoeren EM, Veening JG, Olivier B, Oosting RS. Serotonin 1A receptors and sexual behavior in male rats: a review. Pharmacol Biochem Behav 2014; 121: 102-114.
73. Hull EM, Dominguez JM. Sexual behavior in male rodents. Horm Behav 2007; 52(1): 45-55.
74. Besong EB, Ateufack G, Babiaka SB, Kamanyi A. Leaf-methanolic extract of Pseudopanax arboreus (Araliaceae)(LF Phillipson) reverses amitriptyline-induced sexual dysfunction in male rats. Biochem Res Int 2018; 2018: 1-14.
75. Chan JS, Waldinger MD, Olivier B, Oosting RS. Drug-Induced Sexual Dysfunction in Rats. Curr Protoc Neurosci 2010; 53(1): 9-34.
76. Snoeren EM, Veening JG, Olivier B, Oosting RS. Serotonin 1A receptors and sexual behavior in female rats: a review. Pharmacol Biochem Behav 2014; 121: 43-52.
77. Jannini EA. SM= SM: the interface of systems medicine and sexual medicine for facing non-communicable diseases in a gender-dependent manner. Sex Med Rev 2017; 5(3): 349-364.
78. Nathan SG. The epidemiology of the DSM-III psychosexual dysfunctions. J Sex Marital Ther 1986; 12(4): 267-281.
79. Bates JN, Kohn TP, Pastuszak AW. Effect of thyroid hormone Derangements on sexual function in men and women. Sex Med Rev 2020; 8(2): 217-230.
80. Mollaioli D, Ciocca G, Limoncin E, et al. Lifestyles and sexuality in men and women: the gender perspective in sexual medicine. Reprod Biol Endocrinol 2020; 18(1): 1-11.
81. Kennedy SH, Rizvi S. Sexual dysfunction, depression, and the impact of antidepressants. J Clin Psychopharmacol 2009; 29(2): 157-164.
82. Krychman ML, Gubili J, Pereira L, Holstein L, Cassileth B. Female sexual enhancers and neutraceuticals. Curr Sex Health Rep 2007; 4(4): 177-182.
83. Rosen RC. Prevalence and risk factors of sexual dysfunction in men and women. Curr Psychiatry Rep 2000; 2(3): 189-195.
84. Snoeren EM, Bovens A, Refsgaard LK, et al. Combination of Testosterone and Vardenafil Increases Female Sexual Functioning in Sub-Primed Rats. J Sex Med 2011; 8(4): 989-1001.
85. Basson R, Rees P, Wang R, Montejo AL, Incrocci L. Sexual function in chronic illness. J Sex Med 2010; 7(1): 374-388.
86. Shivananda MJ, Rao TS. Sexual dysfunction in medical practice. Curr Opin Psychiatry 2016; 29(6): 331-335.
87. Qureshi S, Ara Z, Qureshi VF, et al. Sexual dysfunction in women: an overview of psychological/psycho-social, pathophysiological, etiological aspects and treatment strategies. Pharmacogn Rev 2007; 1(1): 41-48.
88. Kaminetsky J. Epidemiology and pathophysiology of male sexual dysfunction. Int J Impot Res 2008; 20(1): S3-S10.

89. Montgomery SA, Baldwin DS, Riley A. Antidepressant medications: a review of the evidence for drug-induced sexual dysfunction. J Affect Disord 2002; 69(1-3): 119-140.
90. Montejo AL, Calama J, Rico-Villademoros F, et al. A real-world study on antidepressant-associated sexual dysfunction in 2144 outpatients: The SALSEX I Study. Arch Sex Behav 2019; 48(3): 923-933.
91. Gregorian Jr RS, Golden KA, Bahce A, et al. Antidepressant-induced sexual dysfunction. Ann Pharmacother 2002; 36(10): 1577-1589.
92. Michael A, O'Keane V. Sexual dysfunction in depression. Hum Psychopharm Clin 2000; 15(5): 337-345.
93. Khazaie H, Rezaie L, Payam NR, Najafi F. Antidepressant-induced sexual dysfunction during treatment with fluoxetine, sertraline and trazodone; a randomized controlled trial. Gen Hosp Psychiatry 2015; 37(1): 40-45.
94. Keltner NL, McAfee KM, Taylor CL. Biological Perspectives: Mechanisms and Treatments of SSRI-Induced Sexual Dysfunction. Perspect Psychiatr Care 2002; 38(3): 111-116.
95. Bourin M, Chue P, Guillon Y. Paroxetine: a review. CNS Drug Rev 2001; 7(1): 25-47.
96. Sanchez C, Reines EH, Montgomery SA. A comparative review of escitalopram, paroxetine, and sertraline: are they all alike?. Int Clin psychopharmacol 2014; 29(4): 185.
97. Johnson AM. Paroxetine: A pharmacological review. Int Clin Psychopharmacol 1992; 6(4): 15-24.
98. Magellan Rx Management. “Antidepressants, Selective Serotonin Reuptake Inhibitors (SSRI) Therapeutic Class Review (TCR)”. https://hhs.texas.gov/sites/default/files/documents/about-hhs/communications-events/meetings-events/dur/04262019/3e-antidepressants-SSRI.pdf.
99. Ferguson JM. SSRI antidepressant medications: adverse effects and tolerability. Prim Care Companion J Clin Psychiatry 2001; 3(1): 22.
100. Werneke U, Northey S, Bhugra D. Antidepressants and sexual dysfunction. Acta Psychiatr Scand 2006; 114(6): 384-397.
101. Lorenz T, Rullo J, Faubion S. Antidepressant-induced female sexual dysfunction. Mayo Clin Proc 2016; 91(9): 1280-1286.
102. Kennedy SH. Management strategies for SSRI-induced sexual dysfunction. J Psychiatry Neurosci 2013; 38(5): E27.
103. Lorenz TA, Meston CM. Acute exercise improves physical sexual arousal in women taking antidepressants. Ann Behav Med 2012; 43(3): 352-361.
104. Stanton AM, Handy AB, Meston CM. The effects of exercise on sexual function in women. Sex Med Rev 2018; 6(4): 548-557.
105. Young M, Penhollow T. Sexual desirability and sexual performance: Does exercise and fitness really matter. Electronic J Hum Sex 2004; 7.
106. Morris D, Marshall SA, Demers D. Exercise Predictors of Self-Reported Sexual Performance among Healthy Adults. Int J Health Sci 2018; 6(1): 1-16.

107. Karatas OF, Baltaci G, Ilerisoy Z, et al. The evaluation of clitoral blood flow and sexual function in elite female athletes. J Sex Med 2010; 7(3): 1185-1189.
108. dos Santos KM, Da Roza T, da Silva LL, et al. Female sexual function and urinary incontinence in nulliparous athletes: An exploratory study. Phys Ther Sport 2018; 33: 21-26.
109. Witkoś J, Wróbel P. Menstrual disorders in amateur dancers. BMC women's health 2019; 19(1): 1-6.
110. Pre-Conception Health Special Interest Group. "The role of exercise in improving fertility, quality of life and emotional well-being". https://www.fertilitysociety.com.au/wp-content/uploads/FSA-The-role-of-exercise-in-improving-fertility-2016.pdf.
111. Hamilton LD, Fogle EA, Meston CM. The roles of testosterone and alpha-amylase in exercise-induced sexual arousal in women. J Sex Med 2008; 5(4): 845-853.
112. Fu J, Han Y, Wang J, et al. Irisin lowers blood pressure by improvement of endothelial dysfunction via AMPK-Akt-eNOS-NO pathway in the spontaneously hypertensive Rat. J Am Heart Assoc 2016; 5(11): e003433.
113. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. A PGC1-α-dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. Nature 2012; 481(7382): 463-468.
114. Hofmann T, Elbelt U, Stengel A. Irisin as a muscle-derived hormone stimulating thermogenesis–a critical update. Peptides 2014; 54: 89-100.
115. Buscemi S, Corleo D, Buscemi C, Giordano C. Does iris (in) bring bad news or good news?. Eat Weight Disord 2018; 23(4): 431-442.
116. Manish G, Sukriti K, Gupta A, Keshav GK, Syed RM. Irisin: A clue for metabolic disorders. J Obes Metab Res 2016; 3(1): 41.
117. Poretsky L, Islam J, Avtanski D, et al. Reproductive effects of irisin: Initial in vitro studies. Reprod Biol 2017; 17(3): 285-288.
118. Norheim F, Langleite TM, Hjorth M, et al. The effects of acute and chronic exercise on PGC-1α, irisin and browning of subcutaneous adipose tissue in humans. FEBS J 2014; 281(3): 739-749.
119. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, et al. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. Metabolism 2012; 61(12): 1725-1738.
120. Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene?. Nature 2012; 488(7413): E9-E10.
121. Hecksteden A, Wegmann M, Steffen A, et al. Irisin and exercise training in humans–results from a randomized controlled training trial. BMC Med 2013; 11(1): 1-8.
122. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, et al. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. J Clin Endocrinol Metab 2013; 98(4): E769-E778.

123. Aydin S, Kuloglu T, Aydin S, et al. Cardiac, skeletal muscle and serum irisin responses to with or without water exercise in young and old male rats: cardiac muscle produces more irisin than skeletal muscle. Peptides 2014; 52: 68-73.
124. Jiang Q, Zhang Q, Lian A, Yue X. Irisin stimulates gonadotropins gene expression in tilapia (Oreochromis niloticus) pituitary cells. Anim Reprod Sci 2017; 185: 140-147.
125. Wahab F, Khan IU, Polo IR, et al. Irisin in the primate hypothalamus and its effect on GnRH in vitro. J Endocrinol 2019; 241(3): 175-187.
126. Tekin S, Beytur A, Erden Y, et al. Effects of intracerebroventricular administration of irisin on the hypothalamus–pituitary–gonadal axis in male rats. J Cell Physiol 2019; 234(6): 8815-8824.
127. Majeed S, Shafi R, Moin H, et al. Effects of recombinant irisin on body mass index, serum insulin, luteinizing hormone and testosterone levels in obese female BALB/c mice. J Coll Physicians Surg Pak 2019; 29(8): 736-740.
128. Wahab F, Drummer C, Mätz-Rensing K, Fuchs E, Behr R. Irisin is expressed by undifferentiated spermatogonia and modulates gene expression in organotypic primate testis cultures. Mol Cell Endocrinol 2020; 504: 110670.
129. Kutlu E, Özgen İT, Bulut H, et al. Serum Irisin Levels in Central Precocious Puberty and Its Variants. J Clin Endocrinol Metab 2021; 106(1): e247-e254.
130. Kumsar Ş, Ciğerli Ö, Hasırcı E, Akay AF, Peşkircioğlu L. The relationship between serum irisin levels and erectile dysfunction in diabetic men (irisin and erectile dysfunction in diabetic patients). Andrologia 2021; e13959.
131. Cora MC, Kooistra L, Travlos G. Vaginal cytology of the laboratory rat and mouse: review and criteria for the staging of the estrous cycle using stained vaginal smears. Toxicol Pathol 2015; 43(6): 776-793.
132. Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. Braz J Biol 2002; 62(4A): 609-614.
133. Snoeren EM, Chan JS, De Jong TR, et al. A new female rat animal model for hypoactive sexual desire disorder; behavioral and pharmacological evidence. J Sex Med 2011; 8(1): 44-56.
134. Adams S, Heckard D, Hassell J, Uphouse L. Factors influencing fluoxetine-induced sexual dysfunction in female rats. Behav Brain Res 2012; 235(1): 73-81.
135. Jones SL, Farrell S, Gregory JG, Pfaus JG. Sensitization of sexual behavior in ovariectomized rats by chronic estradiol treatment. Horm Behav 2013; 64(1): 8-18.
136. Uphouse L, Hiegel C, Adams S, Murillo V, Martinez M. Prior hormonal treatment, but not sexual experience, reduces the negative effects of restraint on female sexual behavior. Behav Brain Res 2014; 259: 35-40.
137. Grønli J, Murison R, Fiske E, et al. Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions. Physiol Behav 2005; 84(4): 571-577.

138. Agmo A, Paredes R, Fernández H. Differential effects of GABA transaminase inhibitors on sexual behavior, locomotor activity, and motor execution in the male rat. Pharmacol Biochem Behav 1987; 28(1): 47-52.
139. Türk G, Sönmez M, Aydin M, et al. Effects of pomegranate juice consumption on sperm quality, spermatogenic cell density, antioxidant activity and testosterone level in male rats. Clin Nutr 2008; 27(2): 289-296.
140. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-275.
141. Kutlu S. Sıçanlarda gebeliğin son döneminde ve doğumda oksitosin salgılamasının mü ve kappa opioid reseptörleri tarafından düzenlenmesi. Doktora tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2001.
142. Zhen XH, Quan YC, Jiang HY, et al. Fucosterol, a sterol extracted from Sargassum fusiforme, shows antidepressant and anticonvulsant effects. Eur J Pharmacol 2015; 768: 131-138.
143. Mazaud S, Guigon CJ, Lozach A, et al. Establishment of the reproductive function and transient fertility of female rats lacking primordial follicle stock after fetal gamma-irradiation. Endocrinology 2002; 143: 4775-4787.
144. Samrao D, Wang D, Ough F, et al. Histologic parameters predictive of disease outcome in women with advanced stage ovarian carcinoma treated with neoadjuvant chemotherapy. Transl Oncol 2012; 5: 469-474.
145. Sapmaz E, Kale A, Akpolat N. Melatonin use in unilateral total salpingectomy in rats. Clin Exp Obstet Gynecol 2012; 39: 186-190.
146. de Jong TR, Pattij T, Veening JG, et al. Effects of chronic selective serotonin reuptake inhibitors on 8-OH-DPAT-induced facilitation of ejaculation in rats: comparison of fluvoxamine and paroxetine. Psychopharmacology 2005; 179(2): 509-515.
147. Alonso A, Medina B, González C, Díaz E. Impact of Maternal Chronodisruption on Female Offspring Puberty. A Role of Kisspeptin and Irisin. 2021.
148. Jang HB, Kim HJ, Kang JH, et al. Association of circulating irisin levels with metabolic and metabolite profiles of Korean adolescents. Metabolism 2017; 73: 100-108.
149. Blüher S, Panagiotou G, Petroff D, et al. Effects of a 1-year exercise and lifestyle intervention on irisin, adipokines, and inflammatory markers in obese children. Obesity 2014; 22(7): 1701-1708.
150. Louis GMB, Gray LE, Marcus M, et al. Environmental factors and puberty timing: expert panel research needs. Pediatrics 2008; 121(Supplement 3): S192-S207.
151. Enea C, Boisseau N, Fargeas-Gluck MA, Diaz V, Dugué B. Circulating androgens in women. Sports Med 2011; 41(1): 1-15.
152. Leal-Cerro A, Gippini A, Amaya MJ, et al. Mechanisms underlying the neuroendocrine response to physical exercise. J Endocrinol Invest 2003; 26(9): 879-885.
153. Martos-Moreno GA, Chowen JA, Argente J. Metabolic signals in human puberty: effects of over and undernutrition. Mol Cell Endocrinol 2010; 324(1-2): 70-81.

154. Ozcan S, Ulker N, Bulmus O, et al. The modulatory effects of irisin on asprosin, leptin, glucose levels and lipid profile in healthy and obese male and female rats. Arch Physiol Biochem 2020; 1-8.
155. Chang CL, Huang SY, Soong YK, et al. Circulating irisin and glucose-dependent insulinotropic peptide are associated with the development of polycystic ovary syndrome. J Clin Endocrinol Metab 2014; 99(12): E2539-E2548.
156. Bilbao MG, Di Yorio MP, Faletti AG. Different levels of leptin regulate different target enzymes involved in progesterone synthesis. Fertil Steril 2013; 99(5): 1460-1466.
157. Shangold M, Freeman R, Thysen B, Gatz M. The relationship between long-distance running, plasma progesterone, and luteal phase length. Fertil Steril 1979; 31(2): 130-133.
158. Morris SN, Missmer SA, Cramer DW, et al. Effects of lifetime exercise on the outcome of in vitro fertilization. Obstet Gynecol 2006; 108(4): 938-945.
159. Kubota K, Cui W, Dhakal P, et al. Rethinking progesterone regulation of female reproductive cyclicity. Proc Natl Acad Sci USA 2016; 113(15): 4212-4217.
160. Macklon NS, Fauser BC. Follicle-stimulating hormone and advanced follicle development in the human. Arch Med Res 2001; 32(6): 595-600.
161. Doherty E, Pakarinen P, Tiitinen A, et al. A novel mutation in the FSH receptor inhibiting signal transduction and causing primary ovarian failure. J Clin Endocrinol Metab 2002; 87(3): 1151-1155.
162. Hayes E, Kushnir V, Ma X, et al. Intra-cellular mechanism of Anti-Müllerian hormone (AMH) in regulation of follicular development. Mol Cell Endocrinol 2016; 433: 56-65.
163. Visser JA, Schipper I, Laven JS, Themmen AP. Anti-Müllerian hormone: an ovarian reserve marker in primary ovarian insufficiency. Nat Rev Endocrinol 2012; 8(6): 331.
164. Knight PG, Glister C. TGF-β superfamily members and ovarian follicle development. Reproduction 2006; 132(2): 191-206.
165. Makanji Y, Harrison CA, Robertson DM. Feedback regulation by inhibins A and B of the pituitary secretion of follicle-stimulating hormone. Vitam Horm 2011; 85: 299-321.
166. Sowers M, McConnell D, Gast K, et al. Anti-Müllerian hormone and inhibin B variability during normal menstrual cycles. Fertil Steril 2010; 94(4): 1482-1486.
167. Dalla C, Antoniou K, Kokras N, et al. Sex differences in the effects of two stress paradigms on dopaminergic neurotransmission. Physiol Behav 2008; 93(3): 595-605.
168. Mikail HG, Dalla C, Kokras N, Kafetzopoulos V, Papadopoulou-Daifoti Z. Sertraline behavioral response associates closer and dose-dependently with cortical rather than hippocampal serotonergic activity in the rat forced swim stress. Physiol Behav 2012; 107(2): 201-206.
169. Winberg S, Nilsson GE. Time course of changes in brain serotonergic activity and brain tryptophan levels in dominant and subordinate juvenile Arctic charr. J Exp Biol 1993; 179(1): 181-195.
170. Sari Y, Hammad LA, Saleh MM, Rebec GV, Mechref Y. Alteration of selective neurotransmitters in fetal brains of prenatally alcohol-treated C57BL/6 mice: quantitative

analysis using liquid chromatography/tandem mass spectrometry. Int J Dev Neurosci 2010; 28(3): 263-269.

171. Park JY, Myung SW, Kim I, et al. Simultaneous measurement of serotonin, dopamine and their metabolites in mouse brain extracts by high-performance liquid chromatography with mass spectrometry following derivatization with ethyl chloroformate. Biol Pharm Bull 2013; 36(2): 252-258.
172. Breese GR, Traylor TD. Depletion of brain noradrenaline and dopamine by 6-hydroxydopamine. Br J Pharmacol 1971; 42(1): 88-99.
173. Lin TW, Kuo YM. Exercise benefits brain function: the monoamine connection. Brain Sci 2013; 3(1): 39-53.
174. Meeusen R, De Meirleir K. Exercise and brain neurotransmission. Sports Med 1995; 20(3): 160-188.
175. Cappelletti M, Wallen K. Increasing women's sexual desire: the comparative effectiveness of estrogens and androgens. Horm Behav 2016; 78: 178-193.
176. Clayton AH. The pathophysiology of hypoactive sexual desire disorder in women. Int J Gynecol Obstet 2010; 110(1): 7-11.
177. Bhasin S, Enzlin P, Coviello A, Basson R. Sexual dysfunction in men and women with endocrine disorders. The Lancet 2007; 369(9561): 597-611.
178. Shirazi TN, Self H, Dawood K, et al. Hormonal predictors of women's sexual motivation. Evol Hum Behav 2019; 40(3): 336-344.
179. Roney JR, Simmons ZL. Hormonal predictors of sexual motivation in natural menstrual cycles. Horm Behav 2013; 63(4): 636-645.
180. Fadem BH, Barfield R, Whalen RE. Dose-response and time-response relationships between progesterone and the display of patterns of receptive and proceptive behavior in the female rat. Horm Behav 1979; 13(1): 40-48.
181. Kingsberg SA, Clayton AH, Pfaus JG. The female sexual response: current models, neurobiological underpinnings and agents currently approved or under investigation for the treatment of hypoactive sexual desire disorder. CNS drugs 2015; 29(11): 915-933.
182. Hull EM, Lorrain DS, Du J, et al. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. Behav Brain Res 1999; 105(1): 105-116.
183. Rudzinskas SA, Williams KM, Mong JA, Holder MK. Sex, drugs, and the medial amygdala: a model of enhanced sexual motivation in the female rat. Front Behav Neurosci 2019; 13: 203.
184. Holder MK, Veichweg SS, Mong JA. Methamphetamine-enhanced female sexual motivation is dependent on dopamine and progesterone signaling in the medial amygdala. Horm Behav 2015; 67: 1-11.
185. Contreras CM, Gutiérrez-García AG. Estrogen and progesterone priming induces lordosis in female rats by reversing the inhibitory influence of the infralimbic cortex on neuronal activity of the lateral septal nucleus. Neurosci Lett 2020; 732: 135079.

186. Pfaff DW, Schwartz-Giblin S, McCarthy MM, Kow LM. Cellular and molecular mechanisms of female reproductive behaviors. In: Knobil E, Neill JD. (Editors). The Physiology of Reproduction. New York: Raven Press 1994; 107-220.
187. Gurd B, Klentrou P. Physical and pubertal development in young male gymnasts. J Appl Physiol 2003; 95(3): 1011-1015.
188. Georgopoulos NA, Roupas ND. Impact of intense physical activity on puberty and reproductive potential of young athletes. In: Exercise and Human Reproduction. Springer, New York, NY 2016; 239-251.
189. Ibrahim RH, El-Malkey NF. Role of irisin administration in modulating testicular function in adult obese albino rats. Med J Cairo Univ 2018; 86(8): 4647-4655.
190. Winters SJ, Wang C, Abdelrahaman E, et al. Inhibin-B levels in healthy young adult men and prepubertal boys: is obesity the cause for the contemporary decline in sperm count because of fewer Sertoli cells?. J Androl 2006; 27(4): 560-564.
191. Galbo H, Hummer L, Petersen IB, Christensen NJ, Bie N. Thyroid and testicular hormone responses to graded and prolonged exercise in man. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1977; 36(2): 101-106.
192. Ponjee GA, De Rooy HA, Vader HL. Androgen turnover during marathon running. Med Sci Sports Exerc 1994; 26(10): 1274-1277.
193. Sutton JR, Coleman MJ, Casey J, Lazarus L. Androgen responses during physical exercise. Br Med J 1973; 1(5852): 520-522.
194. Tremblay MS, Copeland JL, Van Helder W. Influence of exercise duration on post-exercise steroid hormone responses in trained males. Eur J Appl Physiol 2005; 94(5): 505-513.
195. Wang X, Stocco DM. The decline in testosterone biosynthesis during male aging: a consequence of multiple alterations. Mol Cell Endocrinol 2005; 238(1-2): 1-7.
196. Ramaswamy S, Weinbauer GF. Endocrine control of spermatogenesis: Role of FSH and LH/testosterone. Spermatogenesis 2014; 4(2): e996025.
197. Parandin R, Yousofvand N, Ghorbani R. The enhancing effects of alcoholic extract of Nigella sativa seed on fertility potential, plasma gonadotropins and testosterone in male rats. Iran J Reprod Med 2012; 10(4): 355-362.
198. Du Plessis SS, Cabler S, McAlister DA, Sabanegh E, Agarwal A. The effect of obesity on sperm disorders and male infertility. Nat Rev Urol 2010; 7(3): 153-161.
199. Ramaswamy S, Marshall GR, Pohl CR, Friedman RL, Plant TM. Inhibitory and stimulatory regulation of testicular inhibin B secretion by luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone, respectively, in the rhesus monkey (Macaca mulatta). Endocrinology 2003; 144(4): 1175-1185.
200. Klingmüller D, Haidl G. Inhibin B in men with normal and disturbed spermatogenesis. Hum Reprod 1997; 12(11): 2376-2378.

201. Yakubu MT, Akanji MA, Oladiji AT, Adesokan AA. Androgenic potentials of aqueous extract of Massularia acuminata (G. Don) Bullock ex Hoyl. stem in male Wistar rats. J Ethnopharmacol 2008; 118(3): 508-513.
202. Foresta C, Bettella A, Rossato M, et al. Inhibin B plasma concentrations in oligozoospermic subjects before and after therapy with follicle stimulating hormone. Hum Reprod 1999; 14(4): 906-912.
203. Kopera IA, Bilinska B, Cheng CY, Mruk DD. Sertoli–germ cell junctions in the testis: a review of recent data. Philos T R Soc B 2010; 365(1546): 1593-1605.
204. Hastings JA, Morris MJ, Lambert G, Lambert E, Esler M. NPY and NPY Y1 receptor effects on noradrenaline overflow from the rat brain in vitro. Regul Pept 2004; 120(1-3): 107-112.
205. Bigazzi R, Kogosov E, Campese VM. Altered norepinephrine turnover in the brain of rats with chronic renal failure. J Am Soc Nephrol 1994; 4(11): 1901-1907.
206. Wolf WA, Youdim MB, Kuhn DM. Does brain 5-HIAA indicate serotonin release or monoamine oxidase activity?. Eur J Pharmacol 1985; 109(3): 381-387.
207. Kumar S. Aluminium-induced changes in the rat brain serotonin system. Food Chem Toxicol 2002; 40(12): 1875-1880.
208. Malviya N, Jain S, Gupta VB, Vyas S. Management of drug induced sexual dysfunction in male rats by ethyl acetate fraction of onion. Acta Pol Pharm 2013; 70(2): 317-322.
209. Yakubu MT, Afolayan AJ. Effect of aqueous extract of Bulbine natalensis (Baker) stem on the sexual behaviour of male rats. Int J Androl 2009; 32(6): 629-636.
210. Yeh KY, Pu HF, Kaphle K, et al. Ginkgo biloba extract enhances male copulatory behavior and reduces serum prolactin levels in rats. Horm Behav 2008; 53(1): 225-231.
211. Clément P, Laurin M, Compagnie S, et al. Effect of dapoxetine on ejaculatory performance and related brain neuronal activity in rapid ejaculator rats. J Sex Med 2012; 9(10): 2562-2573.
212. Ajiboye TO, Nurudeen QO, Yakubu MT. Aphrodisiac effect of aqueous root extract of Lecaniodiscus cupanioides in sexually impaired rats. J Basic Clin Physiol Pharmacol 2014; 25(2): 241-248.
213. Sadeghzadeh M, Shirpoor A, Khalaji N, et al. The effect of chronic ethanol consumption on sexual motivation and behavior of adult male Wistar rats in the copulatory phase. Addict Health 2018; 10(3): 190-197.
214. Liu YC, Sachs BD, Salamone JD. Sexual behavior in male rats after radiofrequency or dopamine-depleting lesions in nucleus accumbens. Pharmacol Biochem Behav 1998; 60(2): 585-592.
215. Fiorino DF, Phillips AG. Facilitation of sexual behavior and enhanced dopamine efflux in the nucleus accumbens of male rats afterd-amphetamine-induced behavioral sensitization. J Neurosci 1999; 19(1): 456-463.
216. Bitran D, Hull EM. Pharmacological analysis of male rat sexual behavior. Neurosci Biobehav Rev 1987; 11(4): 365-389.

217. Ramachandran S, Sridhar Y, Sam SKG, et al. Aphrodisiac activity of Butea frondosa Koen. ex Roxb. extract in male rats. Phytomedicine 2004; 11(2-3): 165-168.
218. Ulker N, Yardimci A, Tektemur NK, et al. Chronic exposure to paroxetine or bupropion modulates the pubertal maturation and the reproductive system in female rats. Reprod Biol 2020; 20(2): 154-163.
219. EL-Gaafarawi I, Hassan M, Fouad G, El-Komey F. Toxic effects of paroxetine on sexual and reproductive functions of rats. Egypt J Hosp Med 2005; 21(1): 16-32.
220. Yildiz A, Gönül AS, Tamam L. Mechanism of actions of antidepressants: beyond the receptors. Klinik Psikofarmakol Bülteni 2002; 12(4): 194-200.
221. Bonen A, Ling WY, MacIntyre KP, et al. Effects of exercise on the serum concentrations of FSH, LH, progesterone, and estradiol. Eur J Appl Physiol Occup Physiol 1979; 42(1): 15-23.
222. Smith AJ, Phipps WR, Thomas W, Schmitz KH, Kurzer MS. The effects of aerobic exercise on estrogen metabolism in healthy premenopausal women. Cancer Epidemiol Prev Biomarkers 2013; 22(5): 756-764.
223. Arena B, Maffulli N, Maffulli F, Morleo MA. Reproductive hormones and menstrual changes with exercise in female athletes. Sports Med 1995; 19(4): 278-287.
224. Aggarwal A, Jethani SL, Rohatgi RK, Kalra J. Effect of Fluoxetine on epididymis of albino rats: A Histological study. Group 2013; 5(1.51): 0-0000053.
225. Henriksen R, Dizeyi N, Abrahamsson PA. Expression of serotonin receptors 5-HT1A, 5-HT1B, 5-HT2B and 5-HT4 in ovary and in ovarian tumours. Anticancer Res 2012; 32(4): 1361-1366.
226. Kaspersen H, Ågmo A. Paroxetine-induced reduction of sexual incentive motivation in female rats is not modified by 5-HT 1B or 5-HT 2C antagonists. Psychopharmacology 2012; 220(2): 269-280.
227. Homberg JR, Schiepers OJ, Schoffelmeer AN, Cuppen E, Vanderschuren LJ. Acute and constitutive increases in central serotonin levels reduce social play behaviour in peri-adolescent rats. Psychopharmacology 2007; 195(2): 175-182.
228. Yardimci A, Ulker N, Bulmus O, et al. Effects of long-term paroxetine or bupropion treatment on puberty onset, reproductive and feeding parameters in adolescent male rats. Andrologia 2019; 51(6): e13268.
229. Erdemir F, Atilgan D, Firat F, et al. The effect of sertraline, paroxetine, fluoxetine and escitalopram on testicular tissue and oxidative stress parameters in rats. Int Braz J Urol 2014; 40(1): 100-108.
230. Toyin YM, Olaide NQ. Effects of aqueous extract of Cnestis ferruginea (Vahl ex De Cantolle) root on paroxetine-induced sexual dysfunction in male rats. Asian Pac J Reprod 2012; 1(2): 111-116.
231. Rehavi M, Attali G, Gil-Ad I, Weizman A. Suppression of serum gonadal steroids in rats by chronic treatment with dopamine and serotonin reuptake inhibitors. Eur Neuropsychopharmacol 2000; 10(3): 145-150.

232. Atli O, Baysal M, Aydogan-Kilic G, et al. Sertraline-induced reproductive toxicity in male rats: evaluation of possible underlying mechanisms. Asian J Androl 2017; 19(6): 672-679.
233. Schmid P, Pusch HH, Wolf W, et al. Serum FSH, LH, and testosterone in humans after physical exercise. Int J Sports Med 1982; 3(02): 84-89.
234. Kuoppasalmi K, Näveri H, Härkönen M, Adlercreutz H. Plasma cortisol, androstenedione, testosterone and luteinizing hormone in running exercise of different intensities. Scand J Clin Lab Invest 1980; 40(5): 403-409.
235. Joseph AM, Nguyen LD, Welter AE, et al. Mitochondrial adaptations evoked with exercise are associated with a reduction in age-induced testicular atrophy in Fischer-344 rats. Biogerontology 2014; 15(5): 517-534.
236. Matos B, Howl J, Ferreira R, Fardilha M. Exploring the effect of exercise training on testicular function. Eur J Appl Physiol 2019; 119(1): 1-8.
237. Askari H, Rajani SF, Poorebrahim M, et al. A glance at the therapeutic potential of irisin against diseases involving inflammation, oxidative stress, and apoptosis: an introductory review. Pharmacol Res 2018; 129: 44-55.
238. Yakubu MT, Atoyebi A.R. Brysocarpus coccineus (Schum & Thonn) root reinstates sexual competence and testicular function in paroxetine-induced sexual dysfunction in male Wistar rats. Andrologia 2018; 50(4): e12980.
239. Anjum MR, Reddy PS. Recovery of lead-induced suppressed reproduction in male rats by testosterone. Andrologia 2015; 47(5): 560-567.
240. Dirican EK, Kalender Y. Dichlorvos-induced testicular toxicity in male rats and the protective role of vitamins C and E. Exp Toxicol Pathol 2012; 64(7-8): 821-830.
241. Ortiz Á, Espino J, Bejarano I, et al. The correlation between urinary 5-hydroxyindoleacetic acid and sperm quality in infertile men and rotating shift workers. Reprod Biol Endocrinol 2010; 8(1): 1-5.
242. Allouh MZ, Daradka HM, Barbarawi MMA, Mustafa AG. Fresh onion juice enhanced copulatory behavior in male rats with and without paroxetine-induced sexual dysfunction. Exp Biol Med 2014; 239(2): 177-182.
243. Bialy M, Bogacki-Rychlik W, Przybylski J, Zera T. The Sexual Motivation of Male Rats as a Tool in Animal Models of Human Health Disorders. Front Behav Neurosci 2019; 13: 257.
244. Cantor JM, Binik YM, Pfaus JG. Chronic fluoxetine inhibits sexual behavior in the male rat: reversal with oxytocin. Psychopharmacology 1999; 144(4): 355-362.
245. de Jong TR, Snaphaan LJ, Pattij T, et al. Effects of chronic treatment with fluvoxamine and paroxetine during adolescence on serotonin-related behavior in adult male rats. Eur Neuropsychopharmacol 2006; 16(1): 39-48.
246. Reisman Y. Are there any sex/gender differences in post-selective serotonin reuptake inhibitors (SSRI) sexual dysfunction (PSDD)?. Curr Sex Health Rep 2019; 11(4): 237-242.

# 8. ÖZGEÇMİŞ

**Eğitim Durumu**

2015-2021 Doktora
Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Programı, Fizyoloji Anabilim Dalı

2013-2015 Yüksek Lisans
Fırat Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıp Programı, Fizyoloji Anabilim Dalı

2011-2013 Yüksek Lisans
Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı

2005-2011 Lisans
Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü

**Yabancı Diller**

İngilizce, C1 İleri

**İş Deneyimi**

Araştırma Görevlisi (ÖYP)

Fırat Üniversitesi, Temel Tıp Bilimleri Bölümü, Fizyoloji Anabilim Dalı (2013-devam ediyor)