

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



**STRES VE EGZERSİZE BAĞLI OLARAK
BEYİNDE VE DAVRANIŞLARDA
MEYDANA GELEN FİZYOPATOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERİN ARAŞTIRILMASI**

DOKTORA TEZİ

ÖZGÜR BULMUŞ

2018

ONAY SAYFASI



Prof. Dr. Mustafa KAPLAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Doktora Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.



Prof. Dr. Sinan CANPOLAT

Anabilim Dalı Başkanı

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

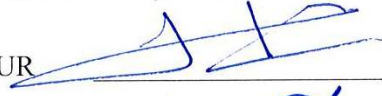
Prof. Dr. Sinan CANPOLAT



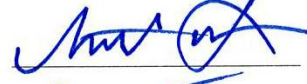
Danışman

Doktora Sınavı Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR



Prof. Dr. Ahmet AYAR



Prof. Dr. Selim KUTLU



Prof. Dr. Mete ÖZCAN



Prof. Dr. Sinan CANPOLAT



*Çocuklarım Emir, Emre
ve
Sevgili eşim
Funda GÜLCÜ BULMUŞ'a*



ETİK BEYAN

Kendime ait çalışmalar ile bu tez çalışmasını gerçekleştirdiğimi, Çalışmaların planlanmasından, bulguların elde edilmesine ve yazım aşamasına kadar tüm aşamalarında etiğe aykırı davranışımın 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.


Özgür BULMUŞ

22/05/2018

TEŞEKKÜR

İlim yüklü heybetli bir çınar misali, sırtımızı güvenle yasladığımız Sayın Prof. Dr. Haluk KELEŞTİMUR ve bu çınarın gövdesinden yeşermiş, her biri ayrı değere sahip, bilgi ve deneyimlerini sualsiz paylaşarak yardımlarını esirgemeyen örnek insanlar Sayın Prof. Dr. Sinan CANPOLAT, Sayın Prof. Dr. Mete ÖZCAN, Sayın Yrd. Doç. Dr. Emine KAÇAR ve Sayın Yrd. Doç. Dr. İhsan SERHATLIOĞLU'na, doktora eğitimim süresince gösterdikleri sabır ve verdikleri destek için teşekkürü bir borç bilirim.

O çınardan yetiyecek bir filiz olmaya beni layık görerek lisansüstü eğitim serüvenimin başlamasına vesile olan, varlığı ile bana güç veren çok değerli Danışman Hocam Sayın Prof. Dr. Sinan CANPOLAT'a, her zaman güvenini ve desteğini hissettirerek, bilgi ve tecrübeleri ile çalışmalarına ışık tuttuğu için ne kadar teşekkür etsem azdır.

Doktora Tez çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen Fizyoloji ve Biyofizik Anabilim Dallarında görevli tüm çalışma arkadaşlarıma emekleri için teşekkür ederim.

Ayrıca tez çalışmalarımın yürütülebilmesi için 114S179 numaralı proje kapsamında gerekli desteği sağlayan TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

BAŞLIK SAYFASI	i
ONAY SAYFASI	ii
ATIF	iii
ETİK BEYAN	iv
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLO LİSTESİ	xi
ŞEKİL LİSTESİ	xii
KISALTMALAR	xiv
1. ÖZET	1
2. ABSTRACT	3
3. GİRİŞ	5
3.1. Stres	5
3.1.1. Stresin Tanımı	5
3.1.2. Stres Faktörleri (Stresörler)	6
3.1.3. Stres Sınıflandırması	7
3.2. Stres Yanıtı	7
3.2.1. Sempatik Adrenomedullar (SAM) Sistem	10
3.2.2. Hipotalamo-Pitüiter-Adrenokortikal (HPA) Aks	10
3.2.3 Stres Yanıtını Etkileyen Faktörler	14
3.3. Stres Mediatorleri	14
3.3.1. Monoaminler	15
3.3.1.1. Dopamin ve Serotonin	15
3.3.1.2. Adrenalin ve Noradrenalin	16
3.3.2. Nöropeptidler	17
3.3.2.1. Kortikotropin-releasing hormon (CRH)	17
3.3.2.2. Ürokortinler	18
3.3.2.3. Arjijnin Vazopressin (AVP)	19

3.3.2.4. Oksitosin	19
3.3.2.5. Adrenokortikotropik Hormon (ACTH)	20
3.3.3. Kortikosteroidler	21
3.3.3.1. Kortikosteron ve Limbik Sistem	21
3.4. Stres Yanıtının Nöral Regülasyonu	23
3.4.1. Beyin Sapı	23
3.4.2. Lamina Terminalis	25
3.4.3. Hipotalamus	25
3.4.3.1. Hipotalamus Beslenme Merkezleri	26
3.4.4. Limbik Sistem	27
3.4.4.1. Hipokampus	28
3.4.4.2. Prefrontal Korteks (PFC)	29
3.4.4.3. Amigdala	30
3.4.4.4. Nükleus Akkumbens (NAc)	31
3.5. Stres, Nöromodulatorler ve Limbik Sistem	32
3.6. Stres İle İlişkili Hastalıklar	34
3.6.1. Akut Stresin Etkileri	35
3.6.2. Kronik Stresin Etkileri	36
3.6.2.1. Büyüme ve Gelişme Üzerine Etkiler	36
3.6.2.2. Tiroid Fonksiyonları Üzerine Etkiler	37
3.6.2.3. Reprodüksiyon Üzerine Etkiler	39
3.6.2.4. Metabolizma Üzerine Etkiler	40
3.6.2.5. Gastrointestinal Fonksiyonlar Üzerine Etkiler	43
3.6.2.6. İmmun Sistem Üzerine Etkiler	43
3.6.2.7. Uyanıklık ve Uyku Üzerine Etkiler	44
3.6.2.8. Psikiyatrik Bozukluklar	45
3.7. Kisspeptin	46
3.8. Ratlarda Cinsel Davranış	46
3.9. Egzersiz	48
3.9.1. Duygu Durumlarında Egzersizin Fizyolojik Mekanizmaları	51
3.9.1.1. Endorfin Hipotezi	51
3.9.1.2. Termojenik Hipotezi	51

3.9.1.3. Mitokondriyal Disfonksiyon Hipotezi	52
3.9.1.4. Rapamisin Memeli Hedefi (mTOR) Hipotezi	52
3.9.1.5. Nörotransmitter Hipotezi	53
3.9.1.6. HPA Aks Hipotezi	53
3.10. Amaç	54
4. GEREÇ ve YÖNTEM	55
4.1. Deney hayvanları	55
4.1.1. Deney Gruplarının Belirlenmesi ve Vücut Ağırlıklarının Takibi	55
4.1.2. Deney Hayvanlarının Bakımı ve Beslenmesi	56
4.2. Deney Düzenegi	57
4.2.1. Stres Çalışmaları	57
4.2.2. Egzersiz Çalışmaları	58
4.2.2.1. Egzersiz Programı	59
4.3. Davranış Testleri	61
4.3.1. Cinsel Davranış Testi (CDT)	62
4.3.2. Zorlu Yüzme Testi (ZYT)	65
4.3.3. Kuyruktan Asma Testi (KAT)	66
4.3.4. Aydınlık Karanlık Testi (AKT)	67
4.3.5. Açık Alan Testi (AAT)	69
4.3.6. Morris Su Labirenti Testi (MSL)	70
4.4. Deneyin Sonlandırılması	72
4.5. Doku Ağırlıklarının Belirlenmesi	72
4.6. İmmünohistokimyasal Çalışmalar	72
4.6.1. Beyin Kesitlerinin Hazırlanması	73
4.6.2. İmmünofloresan Boyama	74
4.6.3. Antikorlar	75
4.7. Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile Gen İfadesi Analizi..	76
4.7.1. Total RNA İzolasyonu	76
4.7.2. Spektrofotometrik RNA Ölçümü	77
4.7.3. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi	77
4.7.4. Kantitatif Gerçek Zamanlı (Real Time) - Polimeraz zincir reaksiyonu ile cDNA Çoğaltımı	78

4.8. İstatistiksel analiz	80
5. BULGULAR	81
5.1. Gıda Alımı ve Vücut Ağırlık Değişimine İlişkin Veriler	81
5.2. Doku Ağırlıkları	83
5.3. Cinsel Davranış Test Sonuçları	83
5.4. Kuyruktan Asma Test Sonuçları	84
5.5. Aydınlık Karanlık Test Sonuçları	85
5.6. Zorlu Yüzme Test Sonuçları	86
5.7. Açık Alan Test Sonuçları	88
5.8. Morris Su Labirenti Test Sonuçları	89
5.9. İmmunofloresan Çalışmalar	89
5.10. RT-PCR Yöntemiyle Gen İfadesi Analizi	93
6. TARTIŞMA	95
7. KAYNAKLAR	106
8. ÖZGEÇMİŞ	137

TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Akut Stres Sırasında Davranışsal ve Fiziksel Adaptasyon	9
Tablo 2. HPA aks aktivitesini değiştirerek davranışsal ve periferal adaptasyon bozukluklarına yol açan hastalıklar	12
Tablo 3. Kullanılan Normal Sıçan Yeminin Temel İçeriği	56
Tablo 4. Egzersiz Protokolü	60
Tablo 5. Davranış Test Programı	61
Tablo 6. cDNA Karışım Miktarı	78
Tablo 7. cDNA Sentezi için Uygulanan PCR Programı	78
Tablo 8. RT-PCR Yöntemiyle Analiz edilen Genlerin Listesi	79
Tablo 9. RT-PCR için her bir kuyucuğa konan bileşikler	79
Tablo 10. Uygulanan RT-PCR Programı	80
Tablo 11. Doku Ağırlıkları	83
Tablo 12. Cinsel Davranış Testi	84
Tablo 13. Kuyruktan Asma Testi	85
Tablo 14. Aydınlık Karanlık Testi	86
Tablo 15. Zorlu Yüzme Testi	87
Tablo 16. Açık Alan Testi	88
Tablo 17. RT-PCR Yöntemiyle Gen İfadelerinin Hipotalamus ve Hipokampus Bölgelerinde Kat Artışı Olarak Gösterilmesi	93
Tablo 18. RT-PCR Yöntemiyle Gen İfadelerinin Prefrontal Korteks ve Corpus Striatum Bölgelerinde Kat Artışı Olarak Gösterilmesi	94

ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa No</u>
Şekil 1. Hipotalamo-Pitüiter-Adrenokortikal (HPA) Aks	11
Şekil 2. Otonom sinir sistemi ve HPA aks stres sistemi etkileşimi	13
Şekil 3. Stresörlere yanıt olarak vücutta meydana gelen fizyolojik ve patolojik değişiklikler	34
Şekil 4. Stres sistemi ile büyüme aksı arasındaki etkileşim	37
Şekil 5. Stres sistemi ile tiroid aksı arasındaki etkileşim	38
Şekil 6. Stres sistemi ile gonadal aks arasındaki etkileşim	39
Şekil 7. Stres sistemi ile gonadal aks arasındaki etkileşim	41
Şekil 8. Kronik stresin metabolik sendrom gelişimine etkisi	42
Şekil 9. Erkek ve dişi cinsel davranışında seksüel cevap döngüsü. 30 dk'lık sürede gerçekleşen ejakülasyon tekrarları	48
Şekil 10. Egzersizin stres, anksiyete ve depresyon üzerine etkileri	54
Şekil 11. Kısıtlama aparatında stres uygulaması	57
Şekil 12. Koşu bandında egzersiz uygulaması	58
Şekil 13. CDT görüntüleme sistemi ve değerlendirilen temel parametreler	63
Şekil 14. Kuyruktan Asma Testi uygulaması	67
Şekil 15. Aydınlık Karanlık Testi uygulaması	68
Şekil 16. Açık Alan Testi uygulaması	70
Şekil 17. Sıçan Beyin Atlasında Arkuat Nükleusun Gösterilmesi	76
Şekil 18. Kümülatif Yem Tüketimi	81
Şekil 19. Kümülatif Su Tüketimi	82
Şekil 20. Canlı Ağırlık Değişimi	82

Şekil 21. Kuyruktan Asma Testi	85
Şekil 22. Aydınlık Karanlık Testi	86
Şekil 23. Zorlu Yüzme Testi	87
Şekil 24. Açık Alan Testi	88
Şekil 25. Morris Su Labirenti Test Sonuçları	89
Şekil 26. Arkuat Nükleustaki Kisspeptin İmmünoaktivitesi Gösteren Hücre Sayısı	90
Şekil 27. Pozitif Kontrol (Orşidektomi) Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoaktivitesi.	91
Şekil 28. Kontrol Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoaktivitesi.	91
Şekil 29. Egzersiz Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoaktivitesi.	92
Şekil 30. Stres Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoaktivitesi.	92
Şekil 31. Stres+Egzersiz Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoaktivitesi	93

KISALTMALAR

AAT	: Açık Alan Testi
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
AGRP	: Agouti-ilışkili Peptid
AKT	: Aydınlık Karanlık Testi
AVP	: Arjinin Vasopressin
AVPV	: Anteroventral Periventriküler Nükleus
BFGF	: Temel Fibroblast Büyüme Faktörü
BNST	: Stria Terminalisin Bed Nükleusu
CART	: Kokain-Amfetamin Düzenleyici Transkript
cDNA	: Komplementer DNA
CDT	: Cinsel Davranış Testi
CeA	: Amigdala Merkezi Nükleusu
CRH	: Kortikotropin-Releasing Hormon
DMH	: Dorsomedial hipotalamik nükleus
EL	: Ejakülasyon Latensi
FSH	: Follikül Stimüle Edici Hormon
GABA	: γ -Aminobütirik Asit
GH	: Büyüme Hormonu
GLP 1	: Glukagon benzeri Peptid 1
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GR	: Glukokortikoid Reseptörleri
HPA	: Hipotalamik-Pitüiter-Adrenal aks
IGF-1	: İnsülin-benzeri Büyüme Faktörü
III	: İntromisyonlar Arası İnterval
IL	: İntromisyon Latensi

IRT	: Toplam Verimlilik
IR1	: İntromisyon Oranı
KAT	: Kuyruktan Asma Testi
LH	: Lüteinizan Hormon
MC2-R	: Melanokortin tip-2 reseptörü
MeA	: Medial Amigdala
MePO	: Median Preoptik Nükleus
ML	: Mount Latensi
mPFC	: Medial prefrontal Korteks
MR	: Mineralokortikoid Reseptörleri
MSL	: Morris Su Labirenti Testi
MSS	: Merkezi Sinir Sistemi
mTOR	: Rapamisin Memeli Hedefi
NAc	: Nükleus Akkumbens
NPY	: Nöropeptid Y
NTS	: Nükleus Traktus Solitaryus
OVLT	: Lamina Terminalisin Vasküler Organı
PCOS	: Polikistik Over Sendromu
PEI	: Post Ejakülator Interval
PFC	: Prefrontal Korteks
POA	: Preoptik Area
POMC	: Pro-opiomelanokortin
PTSD	: Post Travmatik Stres Bozukluğu
PVN	: Paraventriküler Nükleus
RT-PCR	: Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAM	: Sempatik-Adrenomedullar Sistem

SCN	: Suprakiazmatik Nükleus
SFO	: Subfornikal Organ
SON	: Supraoptik Nükleus
STS	: Somatostatin
TrkB	: Tropomiyozin-ilifkili Kinaz Reseptörü
TRH	: Tirotropin Salgılatıcı Hormon
TSH	: Trioid Stimülan Hormon
VEGF	: Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü
VTA	: Ventral Tegmental Alan
ZYT	: Zorlu Yüzme Testi
α-MSH	: α -Melanosit Stimülan Hormon
3V	: ���nc� Ventrikül

1. ÖZET

Stres; homeostazisin bozulmasında etkili olan hafıza gibi içsel faktörlerden ve tehdit gibi çevresel etkilerden kaynaklanan uyaranlara karşı geliştirilen beyin-vücut reaksiyonu olarak tanımlanabilir. Stresörlerin varlığında homeostazisin korunması için endokrin, sinir ve immün sistemleri kapsayan kompleks bir stres yanıtı ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalarda belirtildiği üzere stres; stresörlerin etki süresine bağlı olarak birey üzerinde çeşitli sağlık sorunlarına yol açabilmektedir

Egzersiz ise fiziksel durumu iyileştirmek ve devamlı hale getirebilmek için düzenli tekrarlar şeklinde yapılan fiziksel aktivite olarak açıklanmaktadır. Egzersizin olumlu fiziksel etkilerinin yanında fizyolojik ve psikolojik yararlarının da olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur.

Bu çalışmada, stres ve egzersizin kognitif, afektif ve seksüel işlevler üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Tüm gruplara uygulanan davranış testlerinin yanında, stres ve egzersizin beyinde meydana gelen stres mekanizmasına doğrudan veya dolaylı olarak etkisi olduğu kabul edilen, nörotransmitterler ve nöropeptidlere ait reseptörlere ilişkin gen ifadelerindeki değişiklikler belirlenmiştir. Böylelikle stres ve egzersizin etkilerinin altında yatan hücresel mekanizmaların da ayrıntılı bir şekilde ortaya konulması amaçlanmıştır.

Çalışmada seksüel olgunluğa erişmiş (3 aylık) 40 adet Sprague-Dawley ırkı erkek sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar; Kontrol, Egzersiz, Stres, ve Stres+Egzersiz olmak üzere, her biri 10 hayvandan oluşan 4 gruba ayrılmıştır. Stres modeli için kısıtlama aparatı kullanılarak kronik stres oluşturulmuştur. Tüm gruplara çalışma süresince belirlenen zamanlarda davranış testleri uygulanarak kayıt altına

alınmıştır. Çalışmanın sonunda, immünofloresan ve gen ifadesi analizi için uygun yöntemler kullanılarak beyin örnekleri toplanmıştır. Elde edilen beyin örneklerinde Hipotalamusun arkuat nükleusunda (ARC) kisspeptin ekspresyonları immünofloresan yöntemle incelenmiştir. Ayrıca hipotalamus, hipokampus, prefrontal korteks ve korpus striatum bölgelerinde de stres ve egzersizle ilişkili gen ifadeleri Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu yöntemiyle (RT-PCR) analiz edilmiştir.

Yapılan davranış test sonuçlarına bakıldığında; hareketsizlik ile indüklenmiş stres grubunda anksiyete ve depresyon belirteçlerinin diğer gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak arttığı gözlenmiştir. Cinsel davranış test sonuçlarına göre ise stres oluşturulmuş grupta ejakülasyon ile sonuçlanmış başarılı cinsel performansın anlamlı düzeyde azaldığı görülmüştür. Bu hayvanlara egzersiz yaptırıldığında ise verilerin olumlu yönde değiştiği gözlenmiştir. Çalışmada gerçekleştirilen arkuat nükleusta kisspeptin ekspresyonlarındaki değişimler ve gen ifadesi analiziyle ortaya konulan sonuçlar, davranış testleriyle gösterilen etkilerin altında yatan mekanizmaları açıklayıcı niteliktedir. Sonuç olarak; stres oluşumu ile afektif, kognitif ve cinsel işlevlerde ortaya çıkan gerilemenin egzersiz uygulaması ile olumlu yönde değiştiği gösterilirken, değişimlerin altında yatan genetik ve hücresel mekanizmalara ait aydınlatıcı bilgilere ulaşılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Stres, egzersiz, beyin, davranış.

2. ABSTRACT

INVESTIGATION OF PHYSIOPATHOLOGICAL CHANGES CAUSED BY STRESS AND EXERCISE IN THE BRAIN AND BEHAVIOURS.

Stress can be defined as the factors that disrupt the homeostasis. These include the internal factors such as memory and the factors such as threats, which are developed by the brain-body reaction against the environmental stimulus. In the present of stressors, a complex stress response is generated involving the endocrine, nervous and immune systems to maintain homeostasis. As indicated in the studies conducted previously, stressors can cause health problems on the individual depending on the duration.

Exercise is explained as the activity that is conducted and repeated regularly to improve the physical condition to preserve that condition. Besides the physical beneficial effects of the exercise, its physiological and psychological beneficial effects have been provided by the studies conducted.

The cognitive, affective and the sexual effects of the stress and exercise were investigated in this study. Besides the behavioral analyses applied on the experimental groups, the changes were investigated for the neurotransmitter and neuropeptides' receptors, which were accepted as the direct or indirect effect mechanism accepted widely to occur through. Thus, a detailed explanation of the underlying cellular mechanisms regarding the effects of the stress and exercise on the above mentioned subjects were aimed.

Sexually mature (3-month-old) 40 male Sprague-Dawley rats were used in this study. The rats were divided into four groups as control, exercise, stress and stress+exercise groups, each including 10 animals. A restraint apparatus was used

to induce the chronic stress for the stress model. The behavioral analyses were conducted and recorded for all groups at indicated times throughout the study.

At the end of the experiments, brain samples were collected for the analyses of immunofluorescence and gene expression. Kisspeptin expressions were investigated in the hypothalamic arcuate nucleus (ARC) by using the immunofluorescence technique. In addition, the expression of the genes related with stress and exercise was investigated in the regions including hypothalamus, hippocampus, prefrontal cortex and corpus striatum were investigated by Real Time Polymerase Chain Reaction (RT-PCR).

During the behavioral tests, significant increases in the anxiety and depression parameters were observed in immobility induced stress group. Besides, the sexual behavior tests revealed that the stress-induced group had significantly reduced sexual performance with ejaculation. However, when these animals were exercised, it was observed that the data were improved. The indicated changes in kisspeptin and gene expressions in the arcuate nucleus have been revealing the possible underlying mechanisms causing the behavioral changes. As the conclusion, the decline in the affective, cognitive and the sexual functions due to the stress was improved by exercise and the informative knowledge regarding genetic and cellular mechanisms regarding the effects of exercise were obtained.

Key Words: Stress, exercise, brain, behavior.

3. GİRİŞ

3.1. Stres

3.1.1. Stresin Tanımı

Latineden köken alan "stres" kelimesine günümüze kadar zorlanma, gerilme, baskı, felaket, dert, keder gibi farklı anlamlar yüklenmiştir. Literatürde ise ilk kez 17. yüzyılda fizik bilimci Robert Hook tarafından; elastiki bir nesne ile ona uygulanan dış güç arasındaki ilişkiyi açıklamak için kullanılmıştır (1, 2).

Stres ile ilgili tıp alanındaki önemli çalışmalar ve tanımlamalar Walter Cannon ve Hans Selye tarafından yapılmıştır. Cannon organizmada hipotalamus, hipofiz bezi, sempatik sinir sistemi ve adrenal medullanın katıldığı çok kısa sürede oluşan akut stres yanıtından bahsederek "savaş ya da kaç" (fight or flight) sendromunu tanımlamıştır (3). Yine aynı araştırmacı, Claude Bernard tarafından sağlık için ön koşul olan "iç ortam" (milieu interieur) kavramını "homeostasis" olarak adlandırmıştır (4, 5).

Stresle ilgili çalışmaların öncülerinden olan Kanadalı fizyolog Hans Selye ilk deneysel çalışmalarında ratlara farklı doku ekstraktları ve formalin enjeksiyonu sonrasında hayvanlarda adrenal kortekste büyüme, timus, dalak ve lenf düğümlerinde atrofi, gastrointestinal sistemde derin kanamalı ülserlerle karakterize patolojik bozukluklar saptamıştır. İlerleyen zamanlarda, bu değişikliklerin en azından bir kısmının hipotalamik-pitüiter-adrenal aks aktivasyonu ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Adrenal korteksten dolaşıma salınan steroidler rezistansa yol açarken oluşan patolojik değişikliklerden de sorumlu olabilecekleri öne sürülmüştür. Selye'nin uzamış stresin fiziksel

hastalıklara ve mental bozukluklara yol açabileceğine dair fikirleri günümüzde yaygın olarak kabul edilmektedir (6).

Selye stresi "uyaranlara karşı vücudun verdiği non-spesifik yanıt" olarak tarif etmiş ve strese karşı oluşan bu yanıtı "Genel Adaptasyon Sendromu (GAS)" olarak tanımlamıştır (7, 8). Genel Adaptasyon Sendromu üç aşamada gerçekleşmektedir (6, 9, 10):

- **Alarm Dönemi:** Organizma stres faktörüyle karşılaşınca Hipotalamik-Pitüiter-Adrenal (HPA) aks ve sempatik sinir sistemi etkin hale gelir; "savaş ya da kaç" tepkisi oluşur. Bu dönem organizmada kalp atışının hızlanması, kan basıncının yükselmesi, solunumun hızlanması, vücut ısının düşmesi gibi fizyolojik değişimleri içerir.

- **Direnç (Adaptasyon) Dönemi:** Bu aşamada organizma savunmaya devam ederken, yeni koşullara da adapte olmaya ve bozulan dengeyi yeniden sağlamaya çalışır. Organizmanın stres etkenine karşı yanıtı sabit bir duruma gelir, stres semptomları genellikle azalır veya kaybolur.

- **Tükenme Dönemi:** Stres etkenleri ortadan kalkmaz ve stres süreklilik gösterirse kompenzatuvar mekanizmalar yıkılır, immun sistem baskılanır, hastalıklar ve ölüm görülebilir.

3.1.2. Stres Faktörleri (Stresörler)

Organizmada tehdit olarak algılanan herhangi bir uyarı yada strese yol açan faktörler "stresör" olarak adlandırılmaktadır. Stresörler başlıca iki temel kategoriye ayrılabilir (11):

- **Fiziksel Stresörler:** Travma, hemoraji, enfeksiyon, şiddetli egzersiz, gürültü, sıcaklık, nem, çevre kirliliği, yiyecek kısıtlaması, cerrahi girişimler, hareketsizlik gibi stres faktörlerini içerir.

- **Psikolojik Stresörler:** Hayal kırıklığı, izolasyon, sosyal çatışma ve istenmeyen çevresel uyarılar gibi psikolojik veya emosyonel stres faktörlerini içermektedir.

3.1.3. Stresin Sınıflandırılması

Stres; olumsuz stresörlerin oluşturduğu, organizmaya zarar veren "distres (distress)", hoş giden pozitif stresörlerin oluşturduğu "östress (eustress)" ve pozitif ya da negatif etki oluşturmayan "neustres (neustress)" olarak üçe ayrılabilir (12).

Amerikan Psikoloji Derneği (APA-American Psychology Association) stresi başlıca üç grupta sınıflandırmaktadır (13):

1. Akut Stres

2. Episodik Akut Stres

3. Kronik Stres

Akut stres oldukça yoğun olmakla birlikte; ani olarak ortaya çıkan ve hızla kaybolan stres tipidir. Akut stres sık olarak tekrarlandığı zaman ise episodik akut stres olarak adlandırılmaktadır. Kronik stres ise daha hafif olmakla birlikte; günler, haftalar hatta aylar gibi uzamış zaman periyotlarını kapsamaktadır.

3.2. Stres Yanıtı

Stres; homeostazisin bozulmasında rol oynayan hafıza gibi içsel faktörlerden ve tehdit gibi çevresel faktörlerden kaynaklanan uyaranlara karşı beyin-vücut reaksiyonu olarak tanımlanabilir (14). Stresörlerin varlığında

homeostazisin korunması endokrin, sinir ve immün sistemleri kapsayan kompleks bir stres yanıtı aktivasyonu gerektirir (15, 16).

Stres sistemi farklı yollardan çok çeşitli kognitif, emosyonel, nöro-duyusal ve periferik somatik sinyal olarak bunları bütünleştirmektedir. Bu sistemin aktivasyonu organizmada adaptif, zamanla sınırlı ve bireyin hayatta kalma şansını artırmaya yönelik davranışsal ve fiziksel değişikliklere yol açmaktadır (17).

Davranışsal adaptasyon; uyarılma, uyanıklık ile dikkat, odaklanma ve bilinç artışı; öfori; analjezi artışı ile iştah, beslenme ve üreme gibi vejetatif fonksiyonların baskılanmasını içermektedir. Fiziksel adaptasyon ise enerji ve oksijenin MSS ve strese etkilenen vücut bölgelerine yönlendirilmesi şeklinde ortaya çıkmaktadır. Buna yönelik olarak kardiyovasküler ton, solunum ve intermedier metabolizma (glukoneogenez, lipoliz) hızı ile detoksifikasyon fonksiyonları aktive edilirken; iştah, beslenme, büyüme, üreme gibi vejetatif fonksiyonlar inhibe edilmektedir (16-18) (Tablo 1).

Stresli bir uyarana karşı oluşan yanıtın organizasyonunda hem limbik sistemin çeşitli alanlarındaki nörotransmitter sistemlerin farklı tiplerinin aktivitesi hem de özellikle periferik organlardan ve bezlerden salgılanan glukokortikoidler gibi çeşitli hormonlar ve kimyasallara bu alanlardaki nöronların cevabı yer almaktadır. Böylece, stres vücut-beyin integrasyonunda önemli rol oynayan ve homeostazın düzenlenmesine katkı sağlayan bir süreçtir (14).

Tablo 1. Akut Stres Sırasında Davranışsal ve Fiziksel Adaptasyon (16, 17).

Davranışsal Adaptasyon	Fiziksel Adaptasyon
Uyarılma ve uyanıklık atışı	Oksijen ve besin maddelerinin MSS ve stresten etkilenen bölgelere yönlendirilmesi
Bilinç, dikkat ve odaklanmada artış	Kardiovasküler ton, kan basıncı artışı
Öfori (veya disfori)	Solunum hızı artışı
Analjezide artış	Glukoneogenez ve lipolizde artış
Vücut ısısı artışı	Toksik ürünlerin detoksifikasyonu
Açlık ve beslenme davranışlarının baskılanması	Büyüme ve üremenin inhibisyonu
Reproduktif aksın baskılanması	Sindirimin inhibisyonu

Organizmada stres yanıtı temelde birbirinden bağımsız fakat birbiriyle ilişkili iki sistem tarafından düzenlenir: Sempatik-adrenomedullar (SAM) sistem ve hipotalamik-pitüiter-adrenokortikal (HPA) sistem. SAM sistemi adrenal medulladan epinefrin (adrenalin) salgılayan, otonom sinir sisteminin sempatik bir bileşenidir. Dolaşımdaki epinefrin artışı metabolik kaynakların hızlı mobilizasyonuna ve "savaş ya da kaç" yanıtına katkı sağlar. Diğer taraftan HPA sisteminde ise steroid hormonlardan glukokortikoidler (insanlarda kortizol, rodentlerde kortikosteron) üretilir. Kan-beyin bariyerini yeterince geçemeyen epinefrinin aksine, beyin glukokortikoidlerin önemli bir hedefidir. Yine epinefrinden farklı olarak glukokortikoidlerin üretimi biraz zaman almaktadır (pik düzeylere yaklaşık 25 dakikada ulaşır). Glukokortikoidlerin vücut ve beyin üzerindeki etkilerinden birçoğu gen ekspresyonunda meydana gelen değişiklikler aracılığıyla gerçekleşmektedir. Sonuç olarak glukokortikoidlerin etkileri daha geç gelişir ve daha uzun süre devam eder (19). SAM ve HPA sistemlerinin

regülasyonu, otonom ve endokrin fonksiyonları davranışlarla bütünleştiren hipotalamusta birleşir (20).

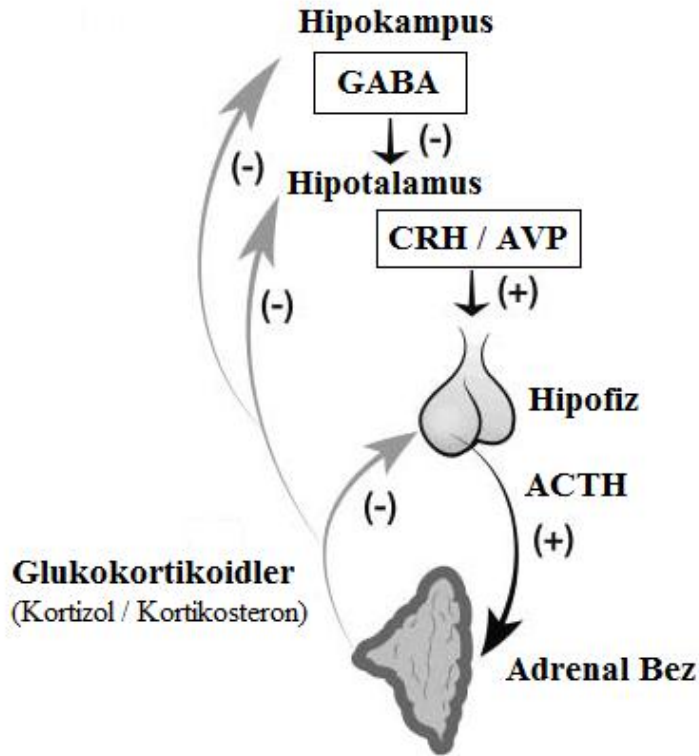
3.2.1. Sempatik Adrenomedullar (SAM) Sistem

Adrenal medullanın kromaffin hücreleri postgangliyonik sempatik nöronlarla ilişkili sekretor hücrelerdir ve sempatik sinir sisteminin parçası olarak kabul edilmektedirler. Omuriliğin intermediolateral gri maddesindeki sempatik pregangliyonik nöronlar tarafından innerve edilirler. Bu nöronlar omurganın ventral kökü boyunca akson gönderirler ve kromaffin hücrelerle kolinerjik sinapslar oluştururlar. Uyarılan kromaffin hücreler başlıca epinefrin (yaklaşık %80) ve bir miktar norepinefrin (%20) olmak üzere katekolaminleri salgırlar (21). Hedef organlardaki adrenoreseptörlere bağlanan epinefrin ve norepinefrin "savaş yada kaç" reaksiyonunda rol oynarlar. Kalp hızı ve atım volümünde dolayısıyla kardiyak outputta artışa, iskelet kası damarlarında vasodilatasyon, deri ve bağırsak damarlarında konstrüksiyona yol açarlar. Epinefrin glikojenolizi stimüle eder ve bu da kan glukoz düzeylerinde artışa yol açar. Böylece hem stres durumunda vücudun acil kullanımı için enerji kaynakları uygun hale getirilir; hem de enerji özellikle beyin ve iskelet kası gibi stres sırasında daha aktif olan dokulara yönlendirilmiş olur (20). Epinefrin ve Norepinefrin kan-beyin bariyerini geçememelerine rağmen, locus coerulesta (LC) üretilen norepinefrin ile bu katekolaminlerin periferik etkileri beyinde de benzer şekilde görülür (22).

3.2.2. Hipotalamo-Pitüiter-Adrenokortikal (HPA) Aks

Adrenal korteksten glukokortikoidlerin üretimine yol açan olaylar zinciri, hipotalamusta paraventriküler nükleusun (PVN) medial parvosellüler bölgesindeki

nöronlar tarafından kortikotropin-releasing hormon (CRH) ve arjinin vasopressin (AVP) salınımı ile başlar. AVP, CRH ile kuvvetli sinerjistik etki göstermesine rağmen tek başına oldukça az adrenokortikotropik hormon (ACTH) sekreatagog aktivitesine sahiptir. Bu iki nöropeptid aynı zamanda hipotalamus düzeyinde karşılıklı etkileşim ile birbirinin sekresyonunu da stimüle ederler. Stressiz durumlarda CRH ve AVP portal sisteme sirkadiyen, pulsatil ve oldukça uyumlu bir şekilde salgılanırlar (17). Bu iki hormon ön hipofiz üzerine etki ederek ACTH sekresyonunu stimüle ederler. ACTH ise adrenal korteksten glukokortikoidlerin sentez ve salınımını uyarır (23). Dolaşımdaki glukokortikoidler hipofiz, hipotalamus ve hipokampus düzeyinde negatif geri bildirim ile CRH ve ACTH sekresyonunu inhibe ederler. Ayrıca, dolaşımdaki ACTH düzeyleri de hipotalamustan CRH sekresyonunu baskılayıcı etki göstermektedir (20, 24).

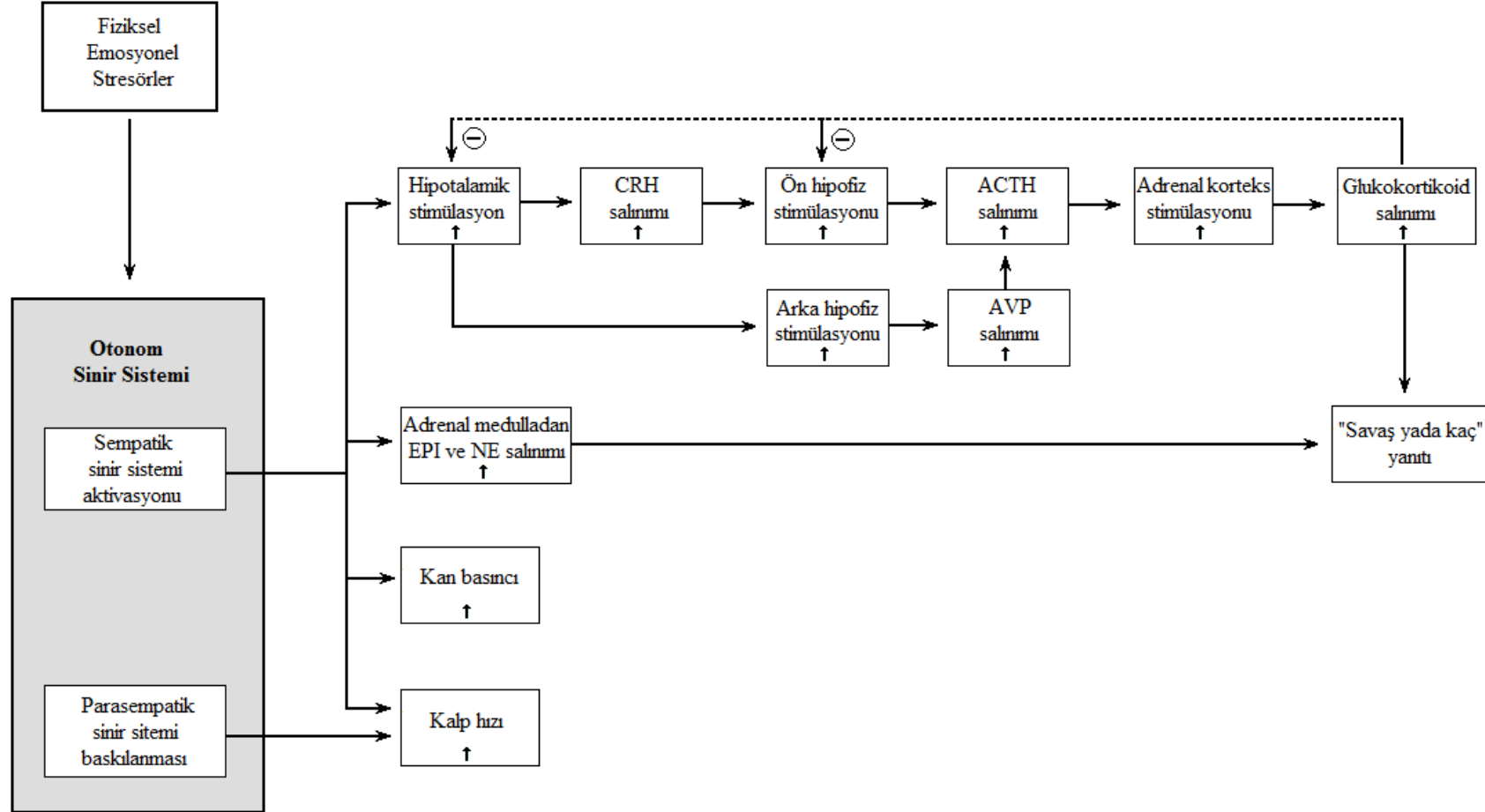


Şekil 1. Hipotalamo-Pitüiter-Adrenokortikal (HPA) Aks (20).

HPA aks aktivitesini artırıcı ya da azaltıcı yönde etki göstererek davranışsal ve/veya periferik adaptasyonda değişikliklere yol açan çeşitli bozukluklar Tablo 2' de verilmiştir.

Tablo 2. HPA aks aktivitesini değiştirerek davranışsal ve periferik adaptasyon bozukluklarına yol açan hastalıklar (16, 17).

HPA Aks Aktivitesinde Artış	HPA Aks Aktivitesinde Azalma
Kronik stres	Adrenal yetmezlik
Melankolik depresyon	Atipik / mevsimsel depresyon
Anoreksia nervosa	Kronik yorgunluk sendromu
Malnutrisyon	Fibromyalji
Obsesif kompulsif bozukluk	Hipotiroidizm
Panik bozukluk	Nikotin bağımlılığı
Aşırı egzersiz (zorunlu atletizm)	Glukokortikoid tedavisinin kesilmesi
Alkol ve uyuşturucu bağımlılığı	Cushing sendromu tedavisi sonrası
Diabetes mellitus	Premenstruel sendrom
Metabolik Sendrom	Postpartum dönem
Çocuklukta cinsel istismar	Kronik stres sonrası
Psikososyal zayıf kişilik	Romatoid artrit
Fonksiyonel gastrointestinal hastalıklar	Menopoz
Hipertiroidizm	
Cushing sendromu	
Gebelik (son trimester)	



Şekil 2. Otonom sinir sistemi ve HPA aks stres sistemi etkileşimi (25).

3.2.3 Stres Yanıtını Etkileyen Faktörler

Farklı stresör tipleri farklı stres yanıtlarına yol açar. Stresör tipi, potansiyel tehdit algılayan nöronal grupların vereceği yanıtı etkilerken; bu adaptif yanıtı katılacak nöronlar ve stres mediatörleri için de belirleyicidir (26). Fiziksel stresörler beyin sapı ve hipotalamik bölgeleri etkilerken (27, 28); psikolojik stresörler öncelikle duygular (amigdala ve prefrontal korteks), öğrenme, hafıza (hipokampus) ve karar verme (prefrontal korteks) ile ilişkili beyin bölgelerinde stres mediatörlerinin stres yanıtına katılmasına yol açarlar (29, 30).

Stresörün süresi de nöronal yanıtı büyük ölçüde etkiler. Akut stres faktörleri -örneğin hızla yaklaşan bir araba- nörotransmisyon, nöronal aktivasyon ve hormon salınımında hızlı bir dalgalanmaya neden olur. Bazal düzeylere hızla dönülür, ancak hipokampal ve hipotalamik nöronların geçici aktivasyonu gen ekspresyonunda değişikliklere yol açabilir ve nöronal yanıtları değiştirir. Aksine kronik stres belirli genlerin ekspresyonunda sürekli ve progresif değişikliklere ve nöronlarda yapısal bozukluklara yol açar (30).

Ayrıca cinsiyet, genetik yapı, strese maruz kalınan yaş ve stres anındaki sirkadien ritim evresi de oluşan stres yanıtını büyük ölçüde etkilemektedir (31).

3.3. Stres Mediatörleri

Stres sırasında salınarak, stres sinyalinin merkezi sinir sistemi (MSS)'ne ileten, MSS'deki fonksiyonel değişikliklere katılarak stres yanıtına aracılık eden moleküllere "stres mediatörleri" adı verilmektedir. Noradrenalin ve serotonin gibi nörotransmitterler, CRH ve vazopressin gibi peptidler, insanlarda kortizol ve rodentlerde kortikosteron gibi steroid hormonlar başta olmak üzere stres yanıtına

aracılık eden birçok molekül tanımlanmıştır (26). Stres mediatörleri başlıca üç ana sınıfta ele alınabilir:

3.3.1. Monoaminler

3.3.1.1. Dopamin ve Serotonin

Strese maruziyetin hemen ardından spesifik nöronal popülasyonlardan noradrenalin, dopamin ve serotonin gibi monoaminlerin salınımı artmaktadır. Monoamin salınımı, stresi değerlendiren beyin bölgeleri veya indirekt olarak sempatik sinir sistemi aktivasyonu ile tetiklenir. Hangi monoaminlerjik sistemlerin aktive olacağı ise cinsiyet, strese maruz kalınan zaman, stresörün kontrol edilebilirliği veya tekrarlama gibi birçok faktöre bağlıdır (22, 32-34). Örneğin şok maruziyeti sonrası serotonin üreten raphe nöronların aktivasyonu sadece durum kontrol edilemediği zaman belirgindir.

Stres sonrasında başlıca hipokampus, amigdala, prefrontal korteks ve nükleus akkumbens olmak üzere birçok beyin bölgesinden monoamin salınımı artmaktadır. Ancak salınımın olduğu beyin bölgesi, monoamin reseptör alt tipi, dağılımı ve affinitesine bağlı olarak farklı fonksiyonlar ortaya çıkmaktadır (26).

Stresle indüklenen monoamin salınımı, stresörün etkisinden sonra birkaç dakika içerisinde hızla gerçekleşir ve etkilerini G protein bağlı reseptörler aracılığıyla gösterirler. Her monoaminin stres yanıtı üzerine kendine özgü farklı davranışsal etkileri görülmektedir. Noradrenalinin daha genel çevresel tarama ve çözüm üretme (35); dopaminin risk değerlendirmesi ve karar stratejileri (36); serotoninin ise stres sonrası oluşan anksiyetenin azaltılması (37) yönünde etkileri bulunmaktadır.

3.3.1.2. Adrenalin ve Noradrenalin

Stresöre maruziyetin hemen ardından sempatik sistemin postgangliyonik nöronlarından ve adrenal medulladan adrenalin ve noradrenalin salınımı gerçekleşir. Nöronlardan ve adrenal medulladan salınan katekolaminlere oluşan yanıt aynı olmakla birlikte; adrenal medulladan salınan katekolaminler hızlı metabolize edilirler ve daha sınırlı etki gösterirler.

Katekolaminler etkilerini alfa (α_1 , α_2) ve beta (β_1 , β_2) reseptörler aracılığıyla oluştururlar. Katekolaminlerin etkileri şu şekilde özetlenebilir (25):

- Dolaşımdaki ve nöral olarak salınan noradrenalinin vasküler düz kas hücrelerinde bulunan α_1 reseptörlerine bağlanması, kaslarda kontraksiyona yol açarak vasküler yataklar tarafından beslenen organlara kan akımının azalmasına neden olur. Böylece sempatik aktivasyonla gastrointestinal sistem, deri ve böbrek gibi organlara kan akımı azalırken; stres dönemlerinde beyne, kalbe ve iskelet kaslarına maksimum kan akımı sağlanmış olur.
- Noradrenalinin aynı zamanda gastrointestinal sistem düz kaslarında bulunan reseptörlere bağlanarak kasın gevşemesine ve böylece sindirim ve gastrointestinal motilitenin yavaşlamasına da yol açar.
- Noradrenalin, karaciğer ve iskelet kaslarındaki glukoz depo formlarının parçalanmasını ve salınmasını artırarak plazma glukoz düzeylerinde artışa neden olur ve vücuda hazır enerji kaynağı sağlar.
- Gözü innerve eden sempatik sinirler tarafından salınan noradrenalin pupiller dilatasyona yol açarak organizmayı herhangi bir saldırı veya stres durumuna hazır hale getirir.

- Kalpte β_1 reseptörlere bağlanan adrenalin kalp hızı ve kardiyak kontraktileti artırarak, stres sırasında kardiyak outputta artışa yol açmaktadır.
- Karaciğer ve iskelet kasında β_2 reseptöre adrenalin bağlanması, glukoz salınımında artışa neden olarak savaş yada kaç tepkisi için hücrelerin kullanımına yönelik glukoz artışı ile sonuçlanır.
- Bronşiyal düz kaslarda bulunan β_2 reseptöre adrenalin bağlanması, kasın gevşemesi ile hava yollarını açarak, stres sırasında dokular için kanın oksijenasyonunu kolaylaştırarak akciğerlere hava akışını artırır.

3.3.2. Nöropeptidler

CRH ve vazopressin başta olmak üzere; oreksin, ghrelin, dinorfin gibi stres etkilerine aracılık eden; oksitosin ve nöropeptid Y gibi stres yanıtını baskılayan; galanin ve subtsans P gibi stresle ilişkili anksiyete ve disforiyi düzenleyen farklı etkili birçok nöropeptid stres yanıtına katılmaktadır (38).

3.3.2.1. Kortikotropin-releasing hormon (CRH)

CRH'nın, ön hipofizden ACTH salınımının primer düzenleyicisi olmasının yanısıra (39); otonom sinir sisteminin düzenlenmesi, enerji metabolizması, öğrenme, hafıza ve üreme davranışları üzerine de etkileri bulunmaktadır (40, 41). Strese yanıt olarak hipotalamik median eminensin akson terminallerinden salınarak hipofizdeki reseptörler üzerine etki eder. Bununla birlikte, paraventriküler nükleusun (PVN) medial parvosellüler kısmında, amigdala, hipokampus, lokus seruleus, olfaktor bulb, medial preoptik area ve stria terminalisin bed nükleusunda (BNST) eksprese edilmektedir (38, 42). Periferde

ise adrenal bez, testis, plasenta, gastrointestinal sistem, timus ve deride bulunmaktadır (43, 44).

Salınımından sonra birkaç saniye içerisinde lokal olarak hedef nöronlar üzerinde nöromodülatör etkilerini G protein bağlı reseptörleri (CRHR1 ve CRHR2) aracılığıyla göstermektedir (45). Her iki reseptör, CRH'nin farklı etkilerine aracılık etmektedir. CRHR1, CRH'nin anksiyete ilişkili etkilerine aracılık ederken; CRHR2 ise stresin daha çok vejetatif fonksiyonlar üzerindeki etkilerine aracılık etmektedir. Bununla uyumlu olarak, CRHR1 reseptörleri korku ve anksiyete ilişkili davranışlara aracılık eden kortiko-limbik yolaklarda; CRHR2 reseptörleri ise subkortikal beyin bölgelerinde yoğun olarak bulunmaktadır (20, 46). CRH dozuna bağlı olarak; reseptörlerinin doluluk oranı nöronal ateşleme, gen ekspresyonu ve davranışlar üzerinde etkili olmaktadır. Örneğin akut stres sırasında amigdalanın sentral nükleusundan ve orta düzeyde şiddet sırasında hipokampal internöronlardan salınan CRH hafıza konsolidasyonu ve iyileştirilmesi yönünde etki gösterirken (47, 48); şiddetli stres sonrası fazla miktarda CRH'nin hipokampal salınımı hipereksitabiliteye, piramidal hücrelerin dendritik sinapslarında hızlı kayba ve yapısal değişikliklere neden olabilmektedir (49, 50).

3.3.2.2. Ürokortinler

CRH nöropeptid ailesinin diğer üyelerinden Ürokortinler (UCN1, UCN2 ve UCN3) de CRH reseptörlerine bağlanarak farklı bölgelerde etkilerini gösterirler. UCN1 ekspresyonu Edinger-Westphal nükleusunda; UCN2 ekspresyonu PVN ve lokus seruleusta sınırlı iken; UCN3 ekspresyonu ise hipotalamusun perifornikal bölgesi, BNST, lateral septum ve amigdalada görülmektedir (51-53). CRH;

CRHR1'e CRHR2'den daha yüksek affinite ile bağlanırken, UCN1 her iki reseptöre de yüksek affinite gösterir ve CRHR2 üzerindeki etkisi CRH'den daha güçlüdür. UCN1 strese adaptasyon yönünde etkiye sahiptir (18, 51).

3.3.2.3. Arjinin Vazopressin (AVP)

Arjinin Vazopressin (AVP); hipotalamusun paraventriküler (PVN), supraoptik (SON) ve suprakiazmatik (SCN) nükleusunda eksprese edilir (54, 55). PVN ve SON'un magnoselüler nöronlarının hipofiz arka lobuna gönderdiği projeksiyonlar aracılığıyla, osmotik homeostasisin regülasyonu için doğrudan sistemik dolaşıma AVP salınımı gerçekleşir (56). Magnoselüler nöronlara ilaveten PVN'nin parvoselüler nöronlarından sentez edilen ve portal dolaşıma katılan AVP, CRH'nin ön hipofizden ACTH salınımı üzerindeki etkisini güçlendirir (57, 58).

AVP'nin ACTH salınımı üzerindeki sinerjistik etkilerine hipofiz kortikotroplarındaki vazopressin V1b reseptörleri aracılık etmektedir (59). PVN'nin parvoselüler nöronlarında AVP ekspresyonu ve hipofizer kortikotroplarda V1b reseptör yoğunluğunun kronik streste arttığı bildirilmektedir. Bu durum; AVP'nin kronik stres periyotları sırasında dolaşımdaki yüksek glukokortikoid düzeylerinde ACTH'nin yeni stresörlere duyarlılığını sürdürerek stres yanıtında önemli rol oynadığı hipotezini desteklemektedir (60).

3.3.2.4. Oksitosin

Yapısal olarak AVP'ye benzer şekilde, oksitosin hipotalamusun supraoptik ve paraventriküler nükleusunda sentezlenir ve strese yanıt olarak arka hipofizden salınır. Ancak, strese yanıt olarak HPA aksı üzerinde stimülatör etkiye sahip

AVP'nin aksine; oksitosin ACTH ve muhtemelen CRH salınımını inhibe ederek strese karşı HPA aks yanıtını zayıflatır. Oksitosinin HPA aksı üzerindeki bu stres azaltıcı yöndeki etkisi strese karşı "*tend-and-befriend*" yanıtı olarak adlandırılmaktadır; çünkü artan oksitosin düzeyleri arkadaşlık-odaklı davranışlarda artışla ilişkilidir. Bu tip stres yanıtında savaşmak yada kaçmak tepkisi yerine stresöre karşı fiziksel ve psikolojik koruma sağlamak için sosyal etkileşimlerin kullanılması tercih edilmektedir. Oksitosin düzeyleri kadınlarda erkeklerden daha yüksek olduğundan; ayrıca östrojenin beyinde oksitosinin biyolojik davranışsal etkilerini artırıcı yönde etki göstermesinden dolayı oksitosinin stres azaltıcı etkileri kadınlarda daha belirgin olarak ortaya çıkmaktadır. Bu stres-azaltıcı yöndeki etkiler arasında algılanan stres seviyeleri, anksiyete, saldırganlık, depresyon ve kan basıncının azaltılması ile dikkat ve hafıza artışı sayılabilir (12, 25).

3.3.2.5. Adrenokortikotropik Hormon (ACTH)

Pro-opiomelanokortin (POMC) hipotalamus ve hipofizden prohormon olarak eksprese edilerek; ACTH, β -endorfin, β -lipotropik hormon ve melanokortin gibi biyoaktif peptitlere dönüşmektedir (61). CRH'a yanıt olarak hipofiz kortikotroplarından sistemik dolaşıma salınan ACTH adrenokortikal zona fasciculatanın parenşimal hücrelerindeki melanokortin tip-2 reseptörüne (MC2-R) bağlanır. MC2-R aktivasyonu cAMP yolağının stimülasyonu steroidogenez ile glukokortikoid, mineralokortikoid ve androjenik steroidlerin sekresyonunu indükler (62). Ayrıca ACTH, glukokortikoid biyosentezinin ilk basamağı olan kolesterolün δ -5-pregnenolona dönüşümünü de uyarmaktadır (63).

3.3.3. Kortikosteroidler

Glukokortikoid (insanlarda kortizol, kemirgenlerde kortikosteron) sekresyonu pulsatil, sirkadiyen bir ritim göstermektedir. İnsanlarda sabah saatlerinde maksimum düzeylerdeyken; öğleden sonra ve akşam saatlerinde giderek azalır ve uykunun ilk birkaç saatinden sonra tekrar artar (64). Dolaşımdaki glukokortikoidler vücutta ve beyinde hücre sitoplazmasına girerek reseptörleriyle etkileşirler. Aktive olan reseptörler gen transkripsiyonun regülasyonu için hücrenin nükleusuna taşınırlar. Bu nedenle etkilerinin başlaması birkaç saat sürebilir ve saatlerce hatta günlerce devam edebilir (65).

3.3.3.1. Kortikosteron ve Limbik Sistem

Stres sırasında kan dolaşımına salınan kortikosteron kan-beyin bariyeri yoluyla kolayca ve hızla beyne girer ve farklı beyin bölgelerine yayılır. İntrasellüler glukokortikoid reseptörlerine bağlanarak etkilerini oluşturan kortikosteron stres sırasında spesifik nöronal devrelerin modülasyonu ile önemli bir vücut sinyali olarak görev yapmaktadır. Glukokortikoidler; glukokortikoid reseptörleri (GR) ve mineralokortikoid reseptörleri (MR) olmak üzere iki reseptör aracılığıyla etkilerini gösterirler. (66). MR'ler glukokortikoidlere GR'lerden yaklaşık 10 kat yüksek affinite ile bağlanırlar. Bu affinite farklılığından dolayı, glukokortikoidler dolaşımdaki bazal düzeylerinde daha çok MR'lere bağlanırken; stres sonrası artan glukokortikoid düzeylerinde GR'ler devreye girmektedir (29). Endojen hormon, sirkadiyen olarak düşük düzeylerinde (insanlarda öğleden önce, ratlarda öğleden sonra) %90 MR'lere bağlanırken sadece %10 kadarı GR'lere bağlanmaktadır. Ancak stres sonrasında ve/veya glukokortikoid sekresyonunun

sirkadiyen pik fazında (insanlarda öğleden sonra, ratlarda öğleden önce) MR'ler doymuş durumdayken, GR'ler %67-74 doluluk göstermektedir (64).

İki reseptör arasındaki diğer farklılık da beyindeki dağılımlarıdır. MR'ler yoğun olarak hipokampal nöronlar ve lateral septumda; orta düzeyde amigdala, lokus seruleus ve PVN'de eksprese edilirler. GR'ler ise hipokampus, lateral septum ve PVN'de daha yoğun olmak üzere beynin her yerinde eksprese edilirler. Bu bölgeler; stresli olayın kognitif, emosyonel ve nöroendokrin olarak işlenmesine katılan bir devreyi belirtmektedir.

Kortikosteronun beyindeki ana etkisi; hipofizde ve hipotalamusun paraventriküler nükleusunda bulunan GR'lere bağlanarak, negatif feed-back mekanizmayla HPA aks aktivasyonunun regülasyonudur (27, 29). Limbik ön beyin yapıları da bu feed-back mekanizmaya aracılık etmektedir. Hem GR hem de MR'ler hipokampus ve amigdalada bolca eksprese edilirken; prefrontal kortekste (PFC) özellikle GR ekspresyonu baskındır. GR'lerin bu limbik alanlarda bulunması; bunları stres sırasındaki yüksek kortikosteron düzeylerine duyarlı hale getirir. Ancak, HPA aksın aktivasyonunun düzenlenmesindeki rolleri beyin bölgesine bağlı olarak pozitif veya negatif şekilde değişmektedir. Örneğin, HPA aks aktivitesi üzerinde dorsomedial PFC (prelimbik ve singulat korteks) inhibitör rol oynarken; ventromedial PFC (infralimbik korteks) eksitator rol oynamaktadır (67-70). Ayrıca HPA aks aktivitesi üzerinde hipokampus inhibitör, amigdala ise eksitator rol oynamaktadır (70-72).

MR'ler aracılığıyla etki eden bazal kortikosteron düzeyleri hipokampal nöronlarda refraktör periyodu azaltarak sinaptik plastisiteyi artırır; bu nedenle hipokampusta devam eden bilgi akışının sürdürülmesi için MR aktivasyonu

gereklidir. Stres sonrası gibi bir durumda GR aktivasyonu ise nöronal uyarılma ve sinaptik plastisitede baskılanmaya yol açarak, hipokampal nöronlar üzerindeki etkileriyle öğrenme ve hafıza ile ilgili süreçleri etkilemektedir (31, 73).

3.4. Stres Yanıtının Nöral Regülasyonu

Paraventriküler nükleustaki (PVN) hipofizyotrofik nöronlar çoklu beyin bölgelerinden gelen afferent projeksiyonlarla innerve edilirler. Bu uyarıların büyük çoğunluğu başlıca dört bölgeden kaynaklanmaktadır: beyin sapı nöronları, lamina terminalis hücre grupları, hipotalamik nükleus ve ön beyideki limbik yapılar (18, 74).

3.4.1. Beyin Sapı

Beyin sapı; inflamasyon, visseral veya somatik ağrı, respiratuar distress ve kan kaybı gibi önemli homeostatik bozukluklara ait uyarıları almaktadır. Bu uyarılara karşı sempatik yanıtlar; omuriliğin intermediolateral bölgesindeki pregangliyonik sempatik nöronlar ve medulladaki alanlarla (örneğin; rostral ventrolateral medulla) ilişkili refleks yaylarını içermektedir. Stresi takiben, kalp ve akciğerlere vagal tonu değiştirmek ve otonom yanıtların sürdürülmesi için otonom sinir sisteminin parasempatik kolu da devreye girmektedir. Strese karşı parasempatik yanıtı vagus sinirinin dorsal motor nükleusu ve nükleus ambiguus aracılık etmektedir. Ayrıca medullar ve spinal kord; hipotalamus ve limbik ön beyinden gelen bilgilere uygun olarak stresörlere karşı otonom yanıtı düzenleyen arka beyin (örneğin; raphe pallidus, lateral parabrakial nükleus, Kölliler-Fuse

nükleus), orta beyin ve ön beyindeki (örneğin; dorsomedial hipotalamus) daha yüksek otonom bütünleştirici bölgeleri uyarır (27).

Beyin sapı katekolaminerjik merkezleri, HPA aksın regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. PVN'nin hipofizyotrofik alanına uzayan katekolaminerjik (adrenerjik ve noradrenerjik) projeksiyonlar Nükleus Traktus Solitarius (NTS) ve C1-C3 bölgelerinden orjin alırlar (75). NTS nöronları, torasik ve abdominal iç organların büyük bölümünü innerve eden kranial sinirlerden PVN'ye duysal bilgiyi aktarırlar. NTS ayrıca strese karşı davranışsal yanıtları düzenleyen prefrontal korteks ve amigdala sentral nükleusundan projeksiyonlar almaktadır (76). Lipopolisakkarid enjeksiyonu, hipotansiyon, zorunlu yüzme, immobilizasyon stres modellerinde NTS'deki nöral gruplar aktive olmaktadır (18). NTS'nin A2/C2 bölgesindeki stres-alıcı nöronlar yoğun olarak PVN'nin medial parvosellüler bölümünü innerve etmektedirler. Katekolaminerjik uyarıların HPA aks üzerinde başlıca eksitatör etki oluşturduğu, α -1 adrenerjik reseptöre bağlı mekanizmalarla CRH ekspresyonu ve protein salınımını indüklediği çeşitli in vivo ve in vitro çalışmalarla ortaya konulmuştur (77, 78). Non-aminerjik NTS nöronları da PVN'yi innerve ederek HPA aks regülasyonuna katılmaktadır. NTS'de Glukagon-benzeri Peptid 1 (GLP1) içeren nöronların fizyolojik stresörler tarafından aktive edildiği ve in vivo olarak ACTH salınımını indüklediği gösterilmiştir (79, 80). PVN'yi innerve eden NTS nöronlarından eksprese edilen somatostatin (STS), substans P, nöropeptid Y, enkefalin gibi çeşitli nöropeptidler de HPA aks üzerinde regülatör etkiler göstermektedir (81, 82).

Parvosellüler PVN, orta beyinde median raphe nükleustan da serotonerjik innervasyon almaktadır. Serotonin PVN nöronlarında serotonin 2A reseptörlerini aktive ederek HPA aksı uyarır (83, 84).

3.4.2. Lamina Terminalis

Ön beyinde lamina terminalis sisteminin bileşenleri; üçüncü ventrikülün rostral sınırında yerleşmiş subfornikal organ (SFO), median preoptik nükleus (MePO) ve lamina terminalisin vasküler organını (OVLT) içermektedir (85). Lamina terminalis hücre grupları kan-beyin bariyerinin dış kısmında uzanmış olup, kanın osmotik kompozisyonuna ilişkin PVN'ye bilgi aktarırlar. Böylece sıvı elektrolit dengesi ve kan basıncındaki bozukluklara yanıt oluşumuna katılırlar (86). Bu sistem anjiotensin-II ile kan basıncının merkezi düzenlenmesi için gereklidir. PVN'nin medial parvosellüler alt bölümü; OVLT ve MePO'dan daha az olmak üzere, özellikler SFO'dan yoğun innervasyon alır (87). SFO'dan PVN'ye uzanan nöronlar anjiotensinerjiktir ve HPA aksı aktive ederek CRH biyosentezi ile sekresyonunu uyarmaktadır (88, 89).

3.4.3. Hipotalamus

Stresörlere karşı otonom yanıt ve HPA aksın regülasyonuna direkt olarak katılan hipotalamik çekirdekler arasında PVN ön plana çıkmaktadır. PVN'nin medial parvosellüler alt bölümü, hipotalamusun γ -aminobütirik asit (GABA)-erjik nöronlarından afferent projeksiyonlar almaktadır (90). PVN'nin hipofizyotrofik nöronları GABA-A reseptör alt tipini eksprese ederler (91). GABA-A reseptör agonistlerinin hipotalamik enjeksiyonunun stresöre maruziyeti takiben

glukokortikoid sekresyonunu inhibe ettiğini gösteren çalışmalar, GABA'nın hipotalamik stres entegrasyonunda önemli rol oynadığını ileri sürmektedir (92, 93).

Dorsomedial hipotalamik nükleus (DMH) ve preoptik area (POA)'daki GABA-erjik nöronlar PVN'nin medial parvosellüler bölümüne projeksiyon gönderirler ve stresöre maruziyeti takiben aktive olurlar (90, 92). DMH; psikojenik uyarılara karşı otonom ve HPA aks yanıtlarını regüle etmektedir. DMH'nin lokal stimülasyonu fizyolojik stresörlere karşı HPA yanıtı ile birlikte kalp atım hızı ve kan basıncını artırırken (94); inhibisyonu ise stresle indüklenen bu etkileri azaltmaktadır (95). Dorsal DMH'nin lokal inhibisyonu parvosellüler PVN'de nöral uyarılmayı ve ACTH salınımını azaltmaktadır. Ventral DMH ise PVN'deki nöronal aktiviteyi inhibe etmektedir (92). Sonuç olarak; DMH HPA aks aktivitesini aktive veya inhibe eden anatomik olarak ayrılmış nöral popülasyonlar içermektedir (27).

POA'nın uyarılması glukokortikoid salınımı üzerine medial amigdalar stimülasyonun uyarıcı etkilerini zayıflatmaktadır (71). POA, HPA aks ile gonadal steroidler arasında entegrasyon için önemli bir alandır. POA'daki nöronlar gonadal steroidler tarafından aktive edilirler ve yüksek düzeyde androjen, östrojen ve progesteron reseptörleri eksprese ederler (96).

3.4.3.1. Hipotalamus Beslenme Merkezleri

Enerji homeostasisinin regülasyonuna katılan hipotalamik merkezler direkt olarak PVN nöronlarını innerve ederler. Arkuat nükleustaki nöronlar dolaşımdaki glukoz, insülin ve leptin düzeylerine duyarlıdır. Bu hücreler ayrıca beslenme davranışlarının düzenlenmesinde önemli rol oynayan nöropeptid Y (NPY), agouti-

ilişkili peptid (AGRP), α -melanosit stimulan hormon (α -MSH) ve kokain-amfetamin düzenleyici transkript (CART)'i de sentez etmektedirler (97-99). Enerji homeostasisindeki rollerinin yanı sıra arkuat nöropeptidlerinin HPA aks aktivitesi üzerinde de önemli etkileri bulunmaktadır. Oreksijenik faktör NPY enjeksiyonu HPA aks aktivasyonuna yol açarken (100; 101); AGRP infüzyonunun CRH salınımını artırdığı yönünde çalışmalar bulunmaktadır (102). Anorektik peptidler olan α -MSH ve CART'ın dolaşımdaki ACTH ve kortikosteron düzeylerini artırdığı, CRH nöronlarında cAMP bağlayan protein fosforilasyonunu indüklediği ve hipotalamik nöronlardan CRH salınımını stimüle ettiği ortaya konulmuştur (102-105). Bu çalışmalar, HPA aks aktivitesinin enerji balansının pozitif veya negatif olma durumuna göre düzenlendiğini ileri sürmektedir.

3.4.4. Limbik Sistem

Ön beyin limbik yapıları HPA aksın regülasyonunda önemli rol oynamaktadır. Hipokampus, prefrontal korteks ve amigdaladaki nöronal popülasyonlar hafıza oluşumu ve emosyonel yanıtlar için anatomik oluşumlar olup; stres sistemi ile nöropsikiyatrik bozukluklar arasındaki bağlantıyı oluşturabilirler (106). Hipokampus, prefrontal korteks ve amigdala glukokortikoid salınımı ve stresin davranışsal yanıtları üzerinde önemli etkilere sahiptir. Ancak bu limbik yapıların PVN hipofizyotrofik nöronlarıyla sınırlı sayıda direkt bağlantıları bulunmaktadır ve beyin sapı, hipotalamus ve BNST'deki intermedier nöronlar aracılığıyla HPA aks aktivitesini düzenledikleri düşünülmektedir (72, 107, 108).

3.4.4.1. Hipokampus

Hipokampus, stresle başlayan HPA aks yanıtının sonlandırılmasında önemli rol oynamaktadır (72, 109). Hipokampal nöronların stimülasyonu PVN parvosellüler bölümünde nöronal aktiviteyi azaltmakta ve glukokortikoid sekresyonunu inhibe etmektedir (110, 111). Hipokampal lezyonlar dolaşımdaki bazal glukokortikoid düzeylerinde artışa yol açarken; parvosellüler CRH ve AVP ekspresyonunu artırmakta ve strese yanıt olarak ACTH ve kortikosteron salınımını da uzatmaktadır (109, 112).

Hipokampusun HPA aks üzerindeki regülatör etkileri stresör spesifik olup, bu regülasyona multisinaptik yollar aracılık etmektedir (108). Hipotalamusun PVN üzerindeki inhibitör etkilerine ventral subiculumda sınırlanmış nöron popülasyonları katılmaktadır. Hipotalamusa yönelen hipokampal akım hipokampusun CA1 bölgesi ve ventral subiculumdan köken almaktadır. Bu bölgeler hipotalamusun peri-PVN alanına ve BNST'nin GABA-erjik nöronlarına afferent projeksiyonlar göndererek PVN'nin parvosellüler bölümünü direkt innerve etmektedir (108, 113).

Hipokampus noradrenalin, serotonin, dopamin ve asetilkolin salınımı yapan farklı beyin bölgelerinden monoaminerjik terminaller almaktadır (114, 115). Ayrıca glutamat ve GABA salgılayan intrinsik nöronlar da içermektedir. Böylece granül hücreler CA3 bölgesindeki glutamaterjik piramidal hücrelere aksonlarını gönderip sinaps yaparak glutamat salgılayarak, GABAerjik internöronlarda da GABA salgılatırlar. Piramidal CA3 nöronları opioid peptidler, kolesistokin ve bombesin gibi farklı peptidler aracılığıyla da aktive edilirler (116).

Çeşitli çalışmalarda farklı stres koşulları altında hipokampusta glutamat (117), noradrenalin (118), serotonin (118, 119), asetilkolin (120), dopamin (119) ve GABA (121) salınımının arttığı ortaya konulmuştur.

3.4.4.2. Prefrontal Korteks (PFC)

Medial prefrontal korteks (mPFC)'in farklı alt birimleri stres yanıtını farklı yönlerde etkilemektedir (27). mPFC nöronları akut ve kronik strese maruziyeti takiben aktive olarak katekolamin salgırlar (122). Prelimbik mPFC de hipotalamus gibi psikojenik stresörlere HPA aks yanıtını inhibe eder; glukokortikoid sekresyonunun pik düzeylerini değil ama süresini düzenleyerek yanıtın sonlandırılmasına katılır (123). Akut emosyonel strese yanıt olarak HPA aktivasyonunun dorsal mPFC lezyonlarından sonra arttığı, ventral mPFC lezyonlarından sonra ise zayıfladığı ortaya konulmuştur (68). Anterior singulat ve prelimbik korteksin bilateral lezyonlarının da strese ACTH ve glukokortikoid yanıtlarını artırması; PFC'nin HPA aks üzerine inhibitör etkileri olduğunu göstermektedir (67, 123). Prelimbik mPFC'in inhibisyonu veya lokal noradrenalin enjeksiyonunun psikolojik uyarıya yanıt kalp atım hızını artırması; prelimbik PFC'nin otonom stres yanıtlarını inhibe ettiğini desteklemektedir (70). Aksine infralimbik PFC ise psikojenik uyarıya otonom ve HPA yanıtlarının başlatılmasında rol almaktadır (68).

PFC nöronları aynı zamanda HPA aksın glukokortikoid feed-back inhibisyonunun düzenlenmesinde de rol oynamaktadır (18).

Stresli duruma yanıt olarak PFC'de bir takım nörokimyasal değişiklikler oluşmaktadır. Yapılan birçok çalışmada, farklı hafif stresörlerin (elle müdahale

gibi) PFC'de asetilkolin ve dopaminin ekstrasellüler konsantrasyonlarını artırdığı ortaya konulmuştur (124-127). Yapılan bazı çalışmalarda da, hafif yada kronik olarak hareket kısıtlanması gibi stresörlere maruz bırakılmış hayvanların PFC'lerinde noradrenalin (122) ve serotonin (128) gibi diğer nörotransmitterlerin de salgılandığı belirtilmiştir. PFC'de monoaminlerin strese yanıtı literatürde uyumlu olmasına rağmen, glutamat ve GABA gibi aminoasit nörotransmitterlerin yanıtı tartışmalıdır. Hafif hareket kısıtlamasının PFC'de ekstrasellüler glutamat ve GABA konsantrasyonlarını değiştirmediğini gösteren çalışmaların yanı sıra (124, 129); stres altında PFC'de ekstrasellüler glutamat konsantrasyonlarının arttığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (117, 130, 131). Glutamat konsantrasyonları açısından bu uyumsuzluğun farklı deneysel şartlar, stres tipi ve/vaya ratların ırk farklılıklarından kaynaklanabileceği düşünülmektedir (129).

3.4.4.3. Amigdala

Hipokampus ve PFC'nin aksine, amigdalanın HPA aksı aktive ettiği düşünülmektedir. Amigdalar nöronların stimülasyonu glukokortikoidlerin sentezini ve sistemik dolaşıma salınımlarını artırmaktadır. Amigdala merkezi nükleusu (CeA) özellikle korku tepkileri gibi stresle-ilişkili davranışlara ve otonomik regülasyona katılması nedeniyle stres entegrasyonunda önemli bir noktadır (132). Amigdalanın medial (MeA) ve merkezi (CeA) nükleusları HPA aks aktivitesinde kilit rol oynamaktadır ve strese adaptif yanıtın düzenlenmesinde kortikal, ortabeyin ve beyin sapı bölgelerine afferent projeksiyonlara katılmaktadır. CeA, homeostatik bozulma ve hemoraji gibi fizyolojik stresörler tarafından aktive edilirken (133, 134); MeA nöronları ise emosyonel veya

psikolojik stresörler tarafından uyarılmaktadır (11, 133). CeA, HPA aks üzerindeki düzenleyici etkilerini beyin sapındaki intermedier nöronlar aracılığıyla göstermektedir (108).

CeA ve MeA hem GR hem de MR eksprese ederler ve amigdala dolaşımdaki glukokortikoidler için önemli bir hedef oluşturmaktadır. Hipokampal ve kortikal nöronlar üzerine olan etkilerinin aksine, CeA'da glukokortikoidler CRH ekspresyonunu artırır ve kronik stresörlere otonom yanıtı güçlendirir (70, 108).

Amigdala, işlenmiş duyuşal bilgilerin emosyonel beyne temel giriş noktası olup; monoaminerjik (dopamin, noradrenalin, serotonin, asetilkolin) innervasyon alan önemli bir limbik oluşumdur (135, 136). Stresli koşullar altında amigdalada noradrenalin (137, 138), serotonin (128, 135) ve dopaminin (139, 140) ekstrasellüler konsantrasyonları artarken, asetilkolinin (141) ise artmadığı ortaya konulmuştur. Ratların akut strese maruziyeti sonrasında GABA ve glutamatin ekstrasellüler konsantrasyonlarının arttığını gösteren çalışmalar da bulunmaktadır (142, 143).

3.4.4.4. Nükleus Akkumbens (NAc)

PFC; NAc'e yaptığı projeksiyonlar aracılığıyla duyuşal emosyonel bilgileri bütünleştirerek hedefe yönelik davranışları düzenlemektedir (144). Bu entegrasyon, motor-limbik arayüzde önemli rol oynamaktadır (145). NAc'de hem kolinerjik internöronlar hem de ventral tegmental areadan (VTA) kaynaklanan dopamin projeksiyonları (mezo-limbik dopamin sistem); çevresel uyarılara yanıt

olarak motor davranışları kolaylaştıran GABA nöronları üzerinde düzenleyici etki göstermektedir (146-148).

Strese maruziyet sırasında NAc'de dopamin salınımının artmakta ve mesolimbik dopamin sistemi aktive olmaktadır (120; 149). Stresörlerin NAc'de dopamin salınımı üzerine etkileri NAc ile PFC'in fonksiyonel etkileşimine de bağlıdır. Stres altında PFC'de dopamin ve noradrenalin konsantrasyonlarındaki değişimler; NAc'de dopamin salınımını etkilemektedir (150, 151).

Stres sırasında NAc'de noradrenalin (152), serotonin (153), GABA (154) gibi nörotransmitterler ile beta-endorfin (155) gibi nöropeptidlerin de ekstrasellüler konsantrasyonlarının arttığı çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur.

3.5. Stres, Nöromodülatörler ve Limbik Sistem

Stres sırasında periferik organlardan salınan nöromodülatörler ve hormonların etkilerini araştıran çalışmaların ana hedefinde hipokampus yer almaktadır. Hipokampal nöronlar fazla miktarda MR ve GR yanı sıra beyin-kaynaklı-nörotrofik-faktör (BDNF) ve reseptörü tropomiyozin-ilişkili kinaz reseptörü B (TrkB) eksprese ederler. Bu nedenle hipokampus nörotrofin ve glukokortikoid sinyal yollarının kesiştiği önemli bir kilit noktası olarak ele alınmaktadır (156). Hipokampustaki nöronlar ayrıca insülin, büyüme hormonu (GH), insülin-benzeri büyüme faktörü (IGF-1), östradiol, ghrelin ve leptin reseptörleri de eksprese ederler (14, 156, 157).

İnsülin; kan beyin bariyerini geçip glukoz taşıyıcı GLUT8'i endoplazmik retiküluma geçişini sağlayarak etki gösterir (158). İnsülinin sinaptik ve kognitif fonksiyonları değiştirdiği; lokal hipokampal metabolizmayı artırarak hafıza

süreçlerini geliştirdiği ve sinaptik plastisiteyi regüle ettiği ortaya konulmuştur (156).

Fizyolojik stresin bir formu olarak da tanımlanabilen egzersiz; progenitor hücrelerin nöronal farklılaşmasını uyaran dolaşımdaki IGF-1'in beyin tarafından tutulmasını artırır, hipokampusta BDNF gen ekspresyonunu stimüle eder ve hipokampal-bağımlı öğrenme ve hafızayı düzenler (159-162). BDNF; merkezi sinir sisteminde nöronların yapı ve fonksiyonlarının devamlılığında görevli, aksonal ve dendritik dallanmalar ile sinaptogenez ve sinaptik etkinliği düzenleyen ve böylece nöronal plastisitede rol oynayan bir nörotrofindir (163-165). Sinaptik geçiş ve hücrel uyarlabilirliği etkileyerek davranış, öğrenme ve hafıza ile ilgili süreçlere de katılmaktadır (166, 167).

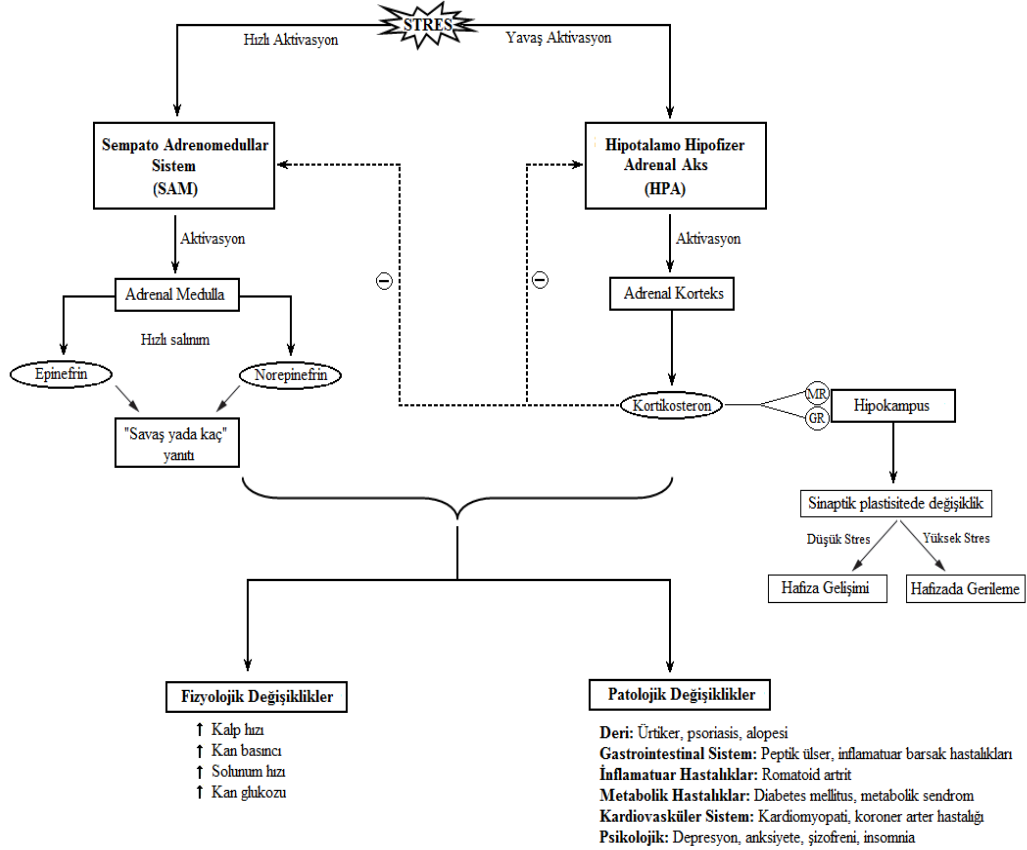
Hipokampusta sentezlenen GH, genel dolaşımdan da beyine geçmektedir (168) ve akut stresörler ile dişi ratlarda östadiol tarafından up-regüle edilmektedir (169). Östradiol farklı beyin bölgelerinde nöronal aktivite üzerine hem hızlı hem de geçikmiş uyarıcı etki göstermektedir (170). Hipokampusta gonadal steroidler nöronların uyarlabilirliğini etkilerler (157). Dişilerde östrojenler hipotalamusta egzersize bağlı BDNF regülasyonunu güçlendirmektedir (171).

Ghrelinin de kan beyin bariyerini geçerek hipokampusun piramidal nöronlarında sinaps oluşumunu artırdığı ve hipokampal hafızayı geliştirdiği belirtilmektedir (156, 172).

Leptin de beyine taşınarak sinaptik plastisite ve nöronal gelişmeyi desteklemekte; hipokampal dentritik morfoloji değişikliklerini düzenlemektedir. Ayrıca kognitif fonksiyonları geliştirici yönde de etki göstermektedir (173, 174).

3.6. Stres İle İlişkili Hastalıklar

Stres yanıtının genellikle kısa veya sınırlı süreli doğasından dolayı; bu süreç birey üzerinde çok fazla olumsuz etki oluşturmaz. Ancak stres sisteminin kronik aktivasyonu artmış CRH ve/veya glukokortikoid sekresyonu ile ilişkili olarak organizmada ciddi sağlık sorunlarına yol açabilmektedir (17).



Şekil 3. Stresörlere yanıt olarak vücutta meydana gelen fizyolojik ve patolojik değişiklikler (175).

Akut stres astım, egzema, ürtiker gibi allerjik bulguları, migrenleri, hipotansif veya hipertansif atakları, farklı tipte ağrıları (başağrısı, abdominal, pelvik ve bel ağrıları), gastrointesitinal semptomları (ağrı, hazımsızlık, diyare, konstipasyon), panik atak ve psikotik epizodları tetikleyebilir (176).

Kronik stres ise fiziksel, davranışsal ve nöropsikiyatrik bozukluklara; anksiyete, depresyon, kognitif bozukluklara; hipertansiyon gibi kardiovasküler problemlere; obezite, metabolik sendrom ve tip II diabetes gibi metabolik bozukluklara; aterosklerotik kardiovasküler hastalığa; nörovasküler dejeneratif bozukluklara; osteopeni ve osteoporoz; insomnia ve aşırı gündüz uykusu gibi uyku bozukluklarına yol açabilmektedir (176).

3.6.1. Akut Stresin Etkileri

Akut stresin yol açtığı bozuklukların patogeneğinde stres mediatörlerinin artmış sekresyonu rol oynamaktadır. Akut allerjik ataklar; akciğerler ve deri gibi kolay etkilenen organlarda immun-CRH ile indüklenen mast hücre degranülasyonu ile aktive olmaktadır. Bu reaksiyonlar sırasıyla astım ve egzemaya yol açarlar (177). Benzer şekilde; migren baş ağrıları da meningeal kan damarlarında mast hücrelerinin immun-CRH ile indüklenen degranülasyonunun yol açtığı lokal vazodilatasyon ve kan-beyin bariyerinde permeabilite artışının sonucunda ortaya çıkabilir (178). Panik veya psikotik atakları korku yanıtını aktive eden sentral amigdala CRH patlaması tetikleyebilmektedir. Hipertansif veya hipotansif ataklara da stresle-indüklenen sırasıyla sempatik ve parasempatik sistem aşırı aktivasyonları yol açabilmektedir (176).

3.6.2. Kronik Stresin Etkileri

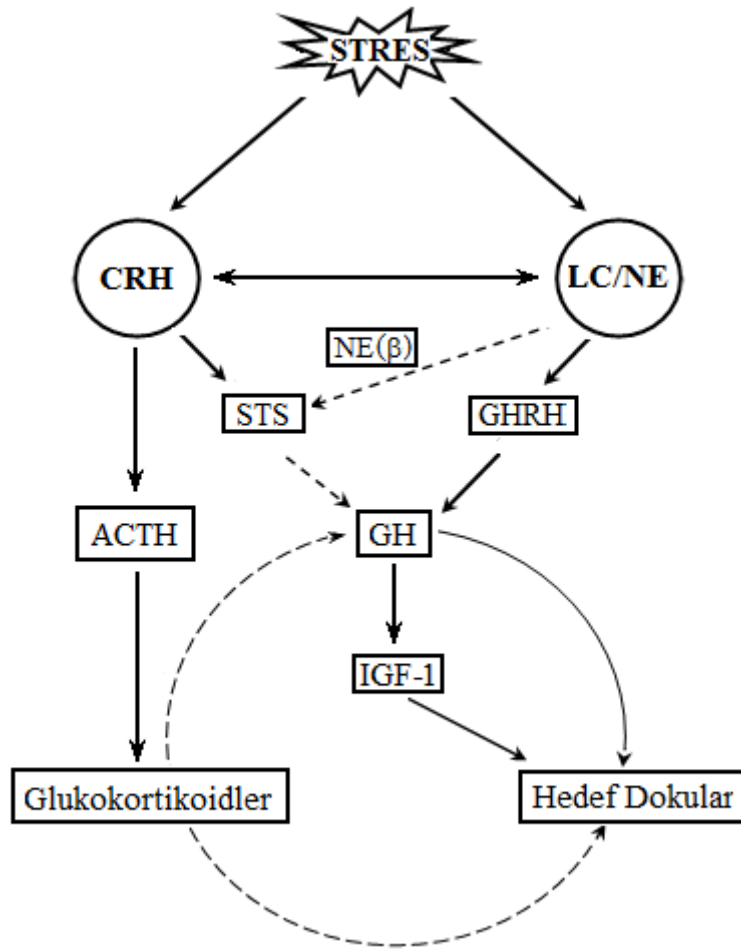
Kronik stres ile ilişkili bozuklukların patogeneğinde stres mediatörlerinin aşırı ve sürekli sekresyonunun birçok homeostatik sistem aktivitesinin etkilenmesi yer almaktadır. Stres sisteminin uzamış aktivasyonu, organizma için ciddi

sonuçlar doğurabilecek etkilere yol açmaktadır. Katabolik etkiye sahip glukokortikoidler insülini antagonize ederler, kan basıncı artışına yol açarlar; böylece diabet, hipertansiyon ve arterial hastalıkların gelişim riskini de artırmış olurlar. Bu süreçte gelişim, üreme ve doku onarım mekanizmaları da bozulmaktadır. Uzun süreli HPA aks aktivasyonu immun fonksiyonları da baskılayarak organizma için zararlı sonuçlar doğurabilmektedir (24, 179).

3.6.2.1. Büyüme ve Gelişme Üzerine Etkiler

Stres sırasında büyüme aksı birkaç farklı düzeyde inhibe edilmektedir (Şekil 3). HPA aksın uzamış aktivasyonu; IGF-I ve diğer büyüme faktörlerinin hedef dokular üzerinde glukokortikoidlerin yol açtığı inhibisyon ile GH sekresyonunun baskılanmasına neden olur. Glukokortikoidlerin büyüme üzerindeki baskılayıcı etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmalar kompleks olmakla birlikte; GH aktivitesini etkileyen transkripsiyonel ve translasyonel etkileri kapsamaktadır (180, 181).

Glukokortikoidlerin direkt etkilerine ilaveten, CRH'nın yol açtığı somatostatin sekresyonu artışları ve bu nedenle GH sekresyonunun inhibisyonu; kronik stresle ilişkili GH baskılanmasının potansiyel bir mekanizması olarak ortaya çıkmaktadır. Bununla birlikte, genin promoter bölgesinde glukokortikoid yanıt elemanları (GRE) aracılığıyla GH geninin stimölasyonu nedeniyle, stres tepkisinin başlangıcında yada akut glukokortikoid uygulamalarını takiben serum GH konsantrasyonlarında akut yükselmeler görülebilmektedir (182).



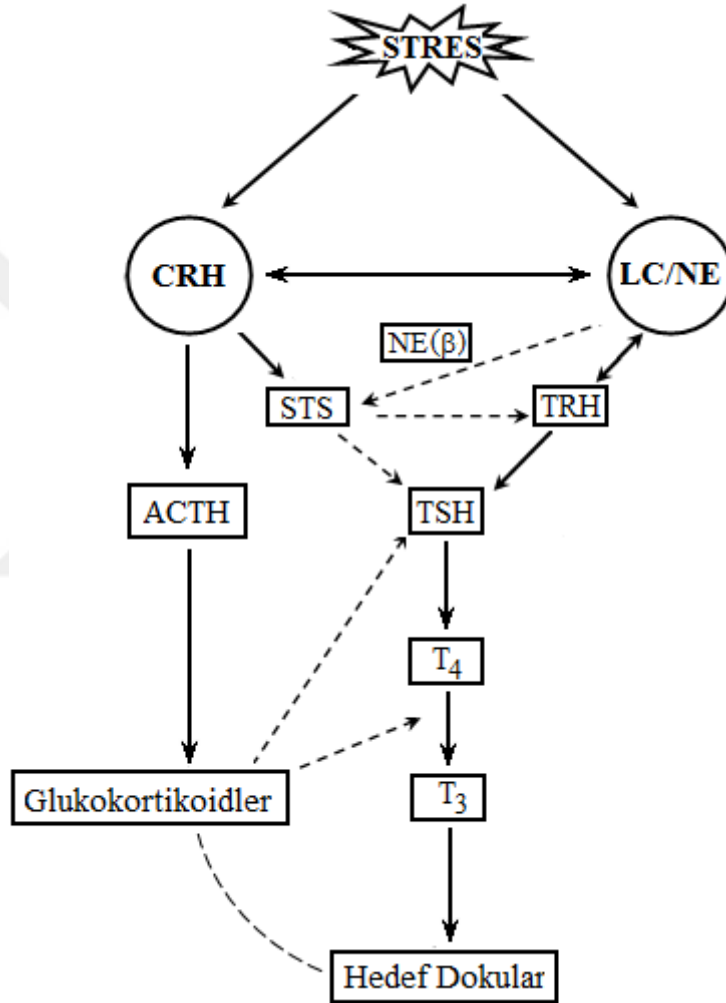
Şekil 4. Stres sistemi ile büyüme aksı arasındaki etkileşim (17).

CRH: Kortikotropin salgılatıcı hormon; LC: lokus seruleus;
 NE: Norepinefrin; ACTH: Adrenokortikotropik hormon;
 GHRH: Büyüme hormonu salgılatıcı hormon; GH: Büyüme hormonu
 IGF-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1; STS: Somatostatin

3.6.2.2. Tiroid Fonksiyonları Üzerine Etkiler

Stres sırasında tiroid fonksiyonları da inhibe edilmektedir (Şekil 5). HPA aksın aktivasyonu trioid stimülan hormon (TSH) üretiminin azalmasıyla ilişkili olup, aynı zamanda nispeten daha az aktif olan tiroksinin (T4) biyolojik olarak aktif triiyodotironine (T3) periferel dönüşümünü de inhibe etmektedir (183). Bu değişiklikler CRH ile indüklenen yüksek somatostatin ve glukokortikoid

konsantrasyonlarına bağılı olabilir. Somatostatin hem tirotropin (TRH) hem de TSH'ı baskımlarken; glukokortikoidler ise T₄'ü T₃'e dönüştüren 5-deiyodinaz enziminin aktivitesini inhibe etmektedir. İnflamatuvar stres sırasında TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinler de CRH sekresyonunu aktive ederken, 5-deiyodinaz aktivitesini inhibe etmektedirler (17).

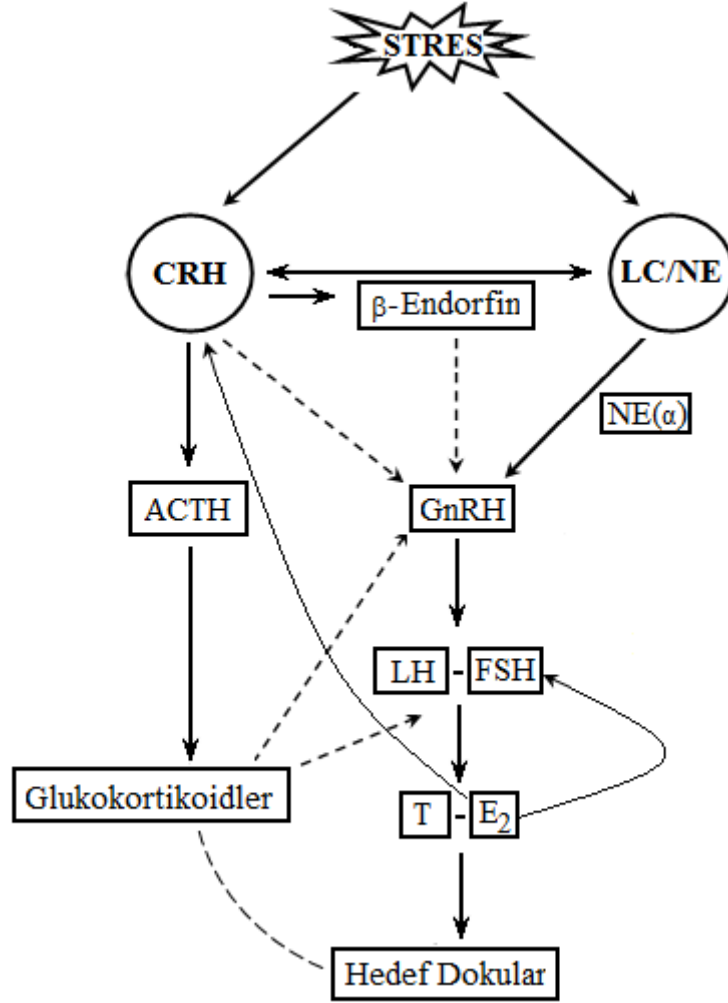


Şekil 5. Stres sistemi ile tiroid aksı arasındaki etkileşim (17).

CRH: Kortikotropin salgılatıcı hormon; LC: lokus seruleus;
NE: Norepinefrin; ACTH: Adrenokortikotropik hormon;
TRH: Tirotropin salgılatıcı hormon; STS: Somatostatin;
T₄: Tiroksin; T₃: Triiyodotironin

3.6.2.3. Reprodüksiyon Üzerine Etkiler

Reprodüktif aks, HPA aksın çeşitli bileşenleri tarafından her seviyede inhibe edilmektedir (Şekil 6). CRH; hem direkt olarak hem de arkuat POMC peptid-salgılatan nöronların stimülasyonu ile indirekt olarak gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sekresyonunu baskılamaktadır (184, 185).



Şekil 6. Stres sistemi ile gonadal aks arasındaki etkileşim (17).

CRH: Kortikotropin salgılatıcı hormon; LC: lokus seruleus;
NE: Norepinefrin; ACTH: Adrenokortikotropik hormon;
GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon; LH: Lüteinizan hormon;
FSH: Folikül stimulan hormon; T: Testosteron; E₂: Östradiol.

Glukokortikoidler GnRH nöronu, pitüiter gonadotrop ve gonadlar üzerinde de inhibitör etki gösterirler ve gonadal steroidlerin hedef dokularını bu hormonlara dirençli hale getirirler (186, 187). İnflamatuar stres sırasında artan sitokin düzeyleri de hem hipotalamustan GnRH'nın pulsatil sekresyonu hem de ovarian/testiküler steroidogenezin inhibisyonu yoluyla reproduktif fonksiyonların baskılanması ile sonuçlanmaktadır. Bu etkiler hem direkt hem de indirekt olarak POMC-den türeyen peptidler ve CRH sekrete eden hipotalamik nöral devrelerin aktivasyonu sonucunda dolaşımdaki glukokortikoid konsantrasyonlarının artırılması ile oluşmaktadır (188).

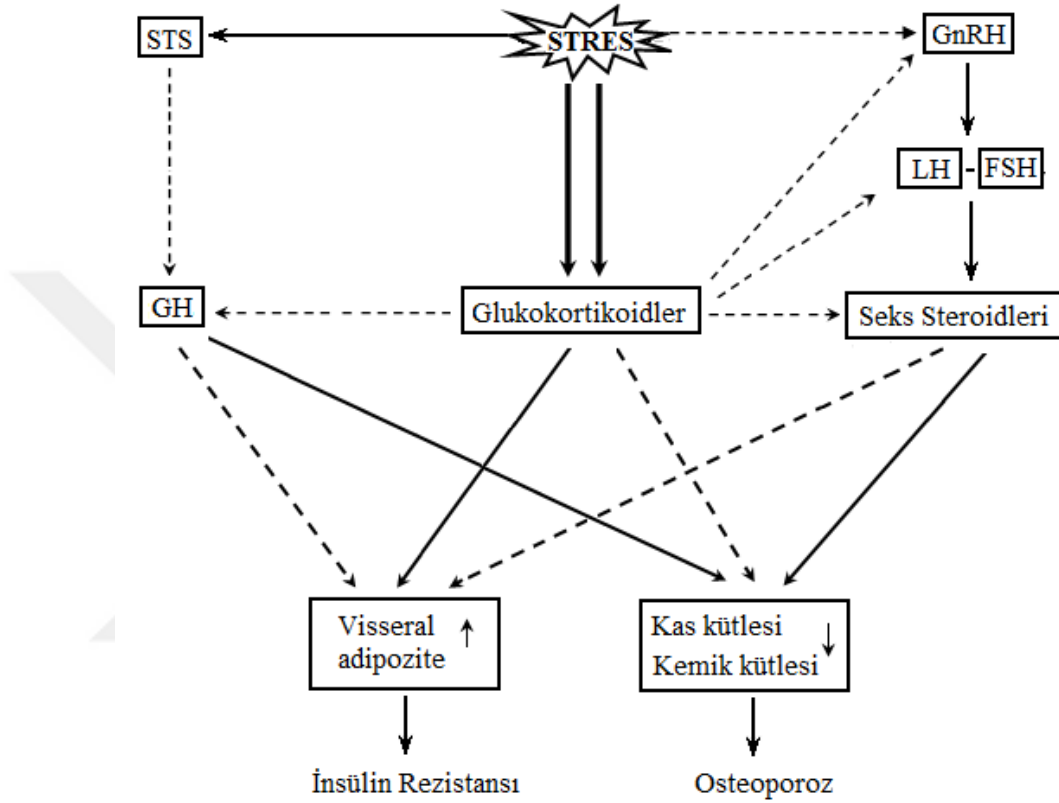
CRH ile hipotalamik-pitüiter-gonadal aks arasındaki etkileşim çift yönlüdür; östrojen CRH geninin promoter bölgesinde östrojen yanıt elemanları (ERE) aracılığıyla CRH gen ekspresyonunu artırmaktadır (189). Böylece, CRH geni gonadal steroidler için önemli bir hedeftir ve muhtemelen HPA aks aktivitesi ile stres yanıtında cinsiyetle ilişkili farklılıklara aracılık etmektedir.

3.6.2.4. Metabolizma Üzerine Etkiler

Direkt katabolik etkilerinin yanısıra, glukokortikoidler GH ve cinsiyet steroidlerinin yağ doku katabolizması (lipoliz) ile kas ve kemik anabolizması üzerindeki etkilerini antagonize ederler (Şekil 7).

Stres mediatörlerinin kronik olarak yüksek salınımı; reaktif insülin hipersekresyonu, düşük GH sekresyonu, hipogonadizm ve kronik hiperkortizolizmin sonucu olarak visseral yağ birikimine yol açabilmektedir (16, 17, 190). Aynı hormonal değişiklikler sarkopeni, osteopeni ve/veya osteoporoz da neden olmaktadır. Visseral obezite ve sarkopeni; dislipidemi (yüksek total

kolesterol, trigliserit ve LDL-kolesterol düzeyleri ile düşük HDL-kolesterol düzeyleri), hipertansiyon ve karbonhidrat intoleransı veya tip 2 diabetes mellitus gibi metabolik sendrom bulguları ile ilişkilidir. Sonuç olarak; kronik stres, metabolik sendrom gelişimine zemin hazırlayabilmektedir (Şekil 7).

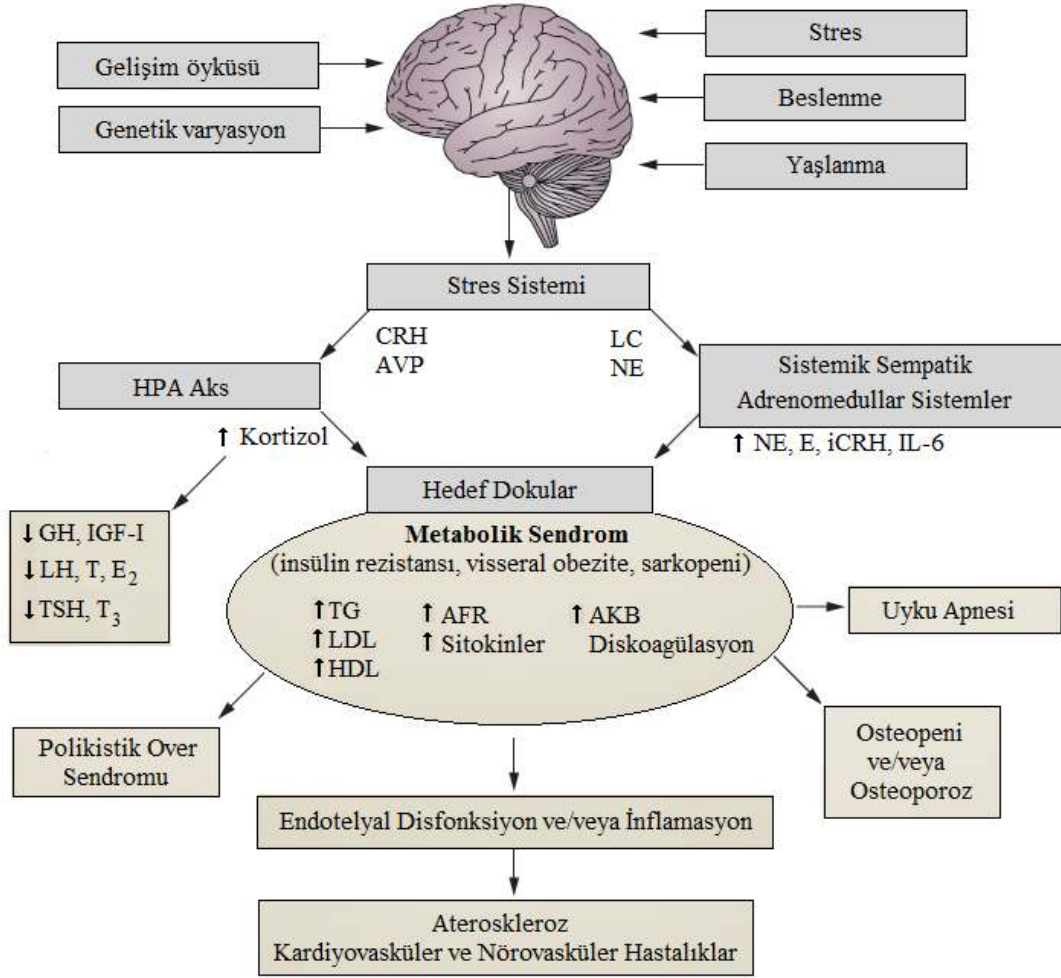


Şekil 7. Stres sistemi ile gonadal aks arasındaki etkileşim (17).

GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon; GH: Büyüme hormonu;
FSH: Folikül stimulan hormon; LH: Lüteinizan hormon; STS: Somatostatin.

Genetik veya yapısal olarak eğilimli reproduktif dönemdeki kadınlarda polikistik over sendromu (PCOS) gelişebilmektedir. Stres ile ilişkili IL-6 hipersekresyonu ve adipoz doku kaynaklı inflamatuvar hipersitokinemi ile aynı zamanda hiperkortizolizm; akut faz reaktanlarının artmış üretimine ve hiperkoagülasyona zemin hazırlamaktadır. İnsülin rezistansı, hipertansiyon, dislipidemi, hipersitokinemi ve hiperkoagülasyon endotelial disfonksiyon ve

ateroskleroz ile beraberinde kardiyovasküler ve nörovasküler bozukluklara yol açmaktadır (176). HPA aksın kronik aktivasyonu tip 1 diabetik hastalarda kötü glisemik kontrol ve tip 2 diabetik hastalarda diabetik nöropati gelişimi ile ilişkilendirilmiştir (17, 191).



Şekil 8. Kronik stresin metabolik sendrom gelişimine etkisi (176).

AVP: Arjinin vazopressin; LC: lokus seruleus; NE: Norepinefrin;
E: Epinefrin; CRH: Kortikotropin salgılatıcı hormon; iCRH: immun CRH;
GH: Büyüme hormonu; IGF-1: İnsülin benzeri büyüme faktörü;
IL-6: İnterlökin-6; LH: Lüteinizan hormon; TSH: Tiroid stimülan hormon;
T: Testosteron; E₂: Östradiol; TG: Trigliserid;
HDL: Yüksek dansiteli lipoprotein; LDL: Düşük dansiteli lipoprotein;
AFR: Akut faz reaktanları; AKB: Arteriyel kan basıncı.

3.6.2.5. Gastrointestinal Fonksiyonlar Üzerine Etkiler

PVN CRH gastrik asit sekresyonu ve boşalmasını baskılamak, kolonik motor fonksiyonları uyarmaktadır. Bu etkiler nervus vagusun gastrik motilite üzerine selektif inhibisyonu ve LC-NE ile düzenlenen sakral parasempatik sistemin kolon motilitesi üzerine selektif stimülasyonu ile oluşmaktadır (192). Bu nedenle, IL-1 konsantrasyonlarının yükseldiği inflamatuvar bir süreç sırasında veya cerrahi operasyon sonrasında görülen gastrik stazda CRH'nın rolü bulunmaktadır (193). CRH ayrıca irritabl barsak sendromlu hastalarda stresin yol açtığı kolon hipermotilitesi üzerine de etkilidir. Bu hastalarda kolon kontraksiyonu ve ağrı LC-NE sempatik nöronlarını aktive ederek kısır bir döngü oluşturmakta ve tablo kronik hale gelmektedir (17).

3.6.2.6. İmmun Sistem Üzerine Etkiler

HPA aksın aktivasyonu immün/inflamatuvar yanıt üzerinde baskılayıcı yönde etkiye sahiptir. Aslında immün yanıtın bütün bileşenleri glukokortikoidler tarafından inhibe edilmektedir (194). Hücrese düzeyde glukokortikoidlerin antiinflamatuvar ve immunsupresif etkileri lökositlerin inflamasyon bölgesine göçü ve fonksiyonlarını etkilemek; inflamasyon mediatörleri ile sitokinlerin üretimini azaltmak ve hedef dokulardaki etkilerini baskılamak şeklindedir (195). Bu etkiler hem dinlenme ve bazal durumda hem de dolaşımdaki glukokortikoid konsantrasyonlarının arttığı inflamatuvar stres durumlarında görülmektedir. Bazı immün faktörlerin plazma glukokortikoid konsantrasyonlarıyla zıt fazlı senkronizasyon şeklinde sirkadiyen aktivite gösterdikleri ortaya konulmuştur (196).

Üç önemli pro-inflamatuar sitokin, TNF- α , IL-1 ve IL-6, tek başlarına veya birbirleriyle sinerji içerisinde HPA aksı stimüle edebilmektedirler (197). Bu etki CRH nötralize eden antikorlar, prostanooid sentez inhibitörleri ve glukokortikoidler tarafından baskılanmaktadır. Her üç sitokinin hipotalamik CRH sekresyonunu stimüle ettiği ve bu etkinin de yine glukokortikoidler tarafından baskılandığı ortaya konulmuştur (198-200).

Stres sırasında aktive olan otonom sinir sistemi, sistemik dolaşımda IL-6 sekresyonunu uyarak immun organlarda sistemik etkiler de oluşturmaktadır. Doğal inflammatuar aktivitesine rağmen IL-6 glukokortikoid sekresyonunu uyarak ve TNF- α ile IL-1 sekresyonunu baskılayarak, inflamasyonun genel kontrolünde önemli rol oynamaktadır (17, 201, 202).

Katekolaminler de β -adrenerjik reseptörler aracılığıyla IL-12 sekresyonunu inhibe, IL-10 sekresyonunu ise stimüle ederek; hücrel immunitiyi baskılamakta, humoral immunitiyi ise uyarmaktadırlar (203).

3.6.2.7. Uyanıklık ve Uyku Üzerine Etkiler

Stres sisteminin aktivasyonu uyanıklık halini artırırken, uykuyu baskılamaktadır; aksine uykusuzluk ise stres sisteminin inhibisyonu ile ilişkilidir (204). İlginç olarak, uykusuzluk katekolaminlerin IL-6 sekresyonu üzerinde azalan stimülatör etkisine rağmen dolaşımda artan IL-6 düzeyleri ile ilişkilidir; bu değişiklik muhtemelen eş zamanlı olarak kortizol-aracılı inhibisyonun azalmasından kaynaklanmaktadır (205, 206).

3.6.2.8. Psikiyatrik Bozukluklar

Kronik strese maruziyette fazla miktarda kortizol üretimi hipokampal nöronlarda hasara yol açarak; öğrenme, hafıza ve dikkat sorunlarına, tekrarlayan ve ciddi depresyon epizodları ile post travmatik stres bozukluğu (PTSD) gibi psikiyatrik bozukluklara neden olabilmektedir (207, 208). Benzer şekilde, sempatik sinir sistemi aşırı aktivasyonu sonucu fazla üretilen norepinefrin de PTSD ve yaygın anksiyete bozukluğuna yol açabilmektedir (209, 210).

Çocuklarda ve ergenlerde en çok çalışılan stres faktörleri şiddete maruz kalma, istismar (cinsel, fiziksel, duygusal veya ihmal), evlilik/boşanma çatışmalarıdır (211). Bu stresörlerin psikolojik etkileri arasında duygulanım bozuklukları, provokatif davranışlar yer alırken; çocukluk döneminde cinsel istismarın kişilik bozukluklarını da içeren genel distres ve major psikolojik rahatsızlıklarda artışa yol açtığı; öğrenme ve okul başarısını olumsuz yönde etkilediği belirtilmektedir (212, 213). Boşanmış ebeveynlerin çocuklarında antisosyal davranışlar, anksiyete ve depresyon daha sık görülmektedir. Çocukluk döneminde savaş ve terör olaylarına maruz kalınması da PTSD ve depresif semptomlara yol açmaktadır. Yine bu dönemde kronik ve yoğun olarak stresörlere maruziyet uzun dönem nörobiyolojik etkilere, anksiyete, duygu ve agresif kontrol bozuklukları, hipo-immun disfonksiyon, merkezi sinir sisteminde yapısal değişiklikler ve erken ölüm için risk artışına yol açmaktadır (214, 215).

Gebelik sırasında maternal stres de çocuğun ilerideki yaşantısında dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu, otizm, şizofreni, anksiyete gibi olumsuz nöro-gelişimsel sonuçlara neden olabilmektedir (216).

Yetişkin melankolik depresyonu kronik disforik aşırı uyarılmışlık, LC-NE / Sempatik sinir sistemi ve HPA aks aktivasyonu ve rölatif immunsupresyona yol açan genel stres yanıtı bozukluğu için tipik bir örnek oluşturmaktadır. Bu hastalarda CRH hipersekresyonu, 24-saatlik idrar kortizol ekkresyonunda artış, eksojen CRH uygulanmasına ACTH yanıtında azalma ve serebrospinal sıvıda CRH ve norepinefrin konsantrasyonlarında artış görülmektedir (217, 218).

3.7. Kisspeptin

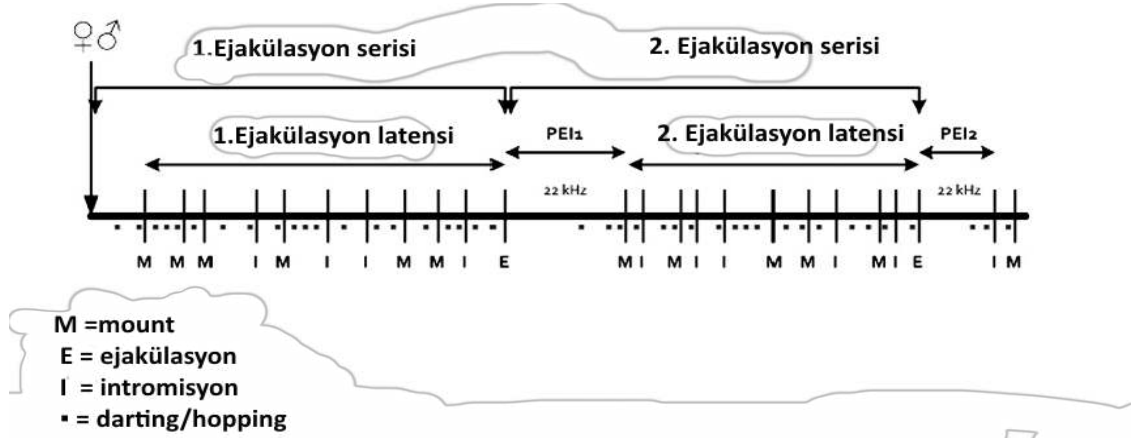
Kisspeptin, Kiss 1-Reseptörü (Kiss 1-R) olarak da adlandırılan G protein bağlı reseptör GPR54'e bağlanarak üremenin düzenlenmesinde önemli rol oynayan peptit yapılı bir hormondur (219). Kisspeptin, GPR54 reseptörüne bağlanarak hipotalamik GnRH nöronlarından GnRH sekresyonunu indükler. GnRH sekresyonu ile gonadotroplardan Follikül Stimüle Edici Hormon (FSH) ve Luteinizan Hormon (LH) salınımını uyarır. Bu salınım gonadlardan seks steroidlerinin sentezini uyarır ve gametogenez başlatılır (220) Kisspeptinin pubertenin başlaması, üremenin kontrolü ve besin alımıyla ilişkili olduğu yönünde bilgiler mevcuttur (221). Kisspeptin ve reseptörünün merkezi salınımı ise kemirgenlerde hipotalamusun 2 ana nöronal popülasyonunda gösterilmiştir. Bunlar ARC ve preoptik alanda anteroventral periventriküler nükleustur (AVPV) (222).

3.8. Ratlarda Cinsel Davranış

Ratların cinsel davranışı erkek ve dişi arasındaki etkileşim olup, birbirini etkilemek ve seksüel birleşmeyi sağlamak için gerçekleştirdiği çeşitli

davranışlardır. Bu davranışlar bir döngü oluşturur ve 3 temel bölüme ayrılır. Bunlar çiftleşme öncesi davranışlar, çiftleşme ve çiftleşmenin sürdürülmesidir (erkeklerde ejakülasyon). Dişi ve erkek ratlar arasındaki etkileşim, cinsel kabulün feromonal belirtilerini anlamak için yakınlaşma ve birbirlerinin anogenital bölgelerini koklama ile başlar. Bu çiftleşme öncesi davranışları içeren bölümü çiftleşme safhası takip eder, siklusun östrus evresinde olan dişi ratlar kulak titretme, hopping, darting gibi çeşitli talepkar davranışlar sergilerler (223). Hopping davranışı; dişinin 4 ayağıyla yerden sıçraması olarak belirlenir, darting davranışı; dişinin önce uzaklaşarak aniden durması ve erkek ratın mounting hareketini gerçekleştirebilmesi için vücudunu sunması olarak değerlendirilir. Kulak titretme davranışı ise dişinin başını hızlı bir şekilde sallaması olarak gözlemlenir. Çiftleşme bölümü erkek ratların tekrarlayan intromisyon ve mount hareketlerinden ibarettir. Mount; erkek ratın dişinin üzerine çıkması hareketidir. İntromisyon; mount hareketi sırasında pelvik itmeyle birlikte penisin vajina içine gönderilmesidir. Erkek ratların bu çiftleşme davranışlarına cevap olarak dişi ratlar, intromisyonun gerçekleşmesi için bel bölgelerini çukurlaştırarak ve kuyruğunu bir yana çevirerek lordosis olarak adlandırılan hareketi gerçekleştirir. Mount ve intromisyon hareketlerinden sonra ejakülasyon meydana gelir. Ratlarda ejakülasyonun gerçekleşmesi için genellikle 2-10 dakika gibi kısa bir sürede 10 ile 20 arasında intromisyon gerekmektedir (223).

Ejakülasyonu takiben yaklaşık olarak 5 dk kadar süren post ejakulator interval (PEI) evresi başlar bu evre yeni bir ejakülasyon döngüsünden önceki dinlenme evresi olarak bilinir (Şekil 9) (223).



Şekil 9. Erkek ve dişi cinsel davranışında seksüel cevap döngüsü. 30 dk'lık sürede gerçekleşen ejakülasyon tekrarları (223).

3.9. Egzersiz

Fiziksel aktivite iskelet kaslarının kontraksiyonu ile başlayan ve istirahat haline göre daha fazla enerji tüketimine neden olan vücut hareketleri olarak bilinmektedir. Egzersiz ise fiziksel durumu iyileştirmek ve devamlı hale getirebilmek için düzenli tekrarlar şeklinde yapılan fiziksel aktivite olarak açıklanmaktadır (224).

Egzersizin fiziksel etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda ortaya konan başlıca etkileri; kan basıncının azaltılması, kardiyovasküler sağlığın iyileştirilmesi, kilo kaybının sağlanması yanında kanser, diyabet, hipertansiyon, obezite, osteoporoz, Alzheimer ve bilişsel koşulların etkilendiği kronik hastalıkların önlenmesini kapsamaktadır (225, 226). Egzersizin olumlu fiziksel etkilerinin yanında fizyolojik ve psikolojik yararlarında olduğu yapılan çalışmalar ile ortaya konulmuştur. Fizyolojik olarak egzersiz ile endorfin düzeylerinde (227, 228), vücut ısısında (229, 230), mitokondriyal fonksiyonlar ve mitokondriyogenezde artış meydana gelirken (231, 232), nörotransmitter üretiminin (233, 234) ve stres durumlarına cevaben başlayan HPA aks yanıtının azaltılması gibi etkilerde ortaya

çıkabilir (232, 233, 235). Egzersizin psikolojik etkileri irdelendiğinde ise kişinin depresyon ve kaygı ile başedebilme yetisini olumlu yönde etkileyebileceği söylenebilir (236, 237).

Enflamasyon ve enflamatuvar hastalıkların kötüleşmiş zihinsel sağlığa ve duygu durum bozukluklarına giden sürece katkıda bulunabileceğine dair çok sayıda kanıt sunulmakla birlikte egzersizin enflamasyonu azaltmaya yardımcı olabileceği ve enflamatuvar hastalıklar açısından faydalı olabileceği de ileri sürülmüştür (238-240).

Yapılan bilimsel çalışmalarda egzersizin depresyon ve anksiyete gibi duygu durum bozukluklarının yanında demans, senkop ve inme gibi nörolojik hastalıkların tedavi edilmesinde de etkili olabileceği bildirilmiştir (241).

Yapılan birçok bilimsel araştırma egzersizin beyin fonksiyonları ile davranışları iyileştirme yönünde etkileri olduğunu ortaya koyarken egzersizin aynı zamanda beyin plastisitesini koruyan ve destekleyen moleküler ve hücresel basamakları harekete geçiren temel ve uygulanabilir bir davranış olduğunu işaret etmektedir (242).

Plastisite; beynin yapısal ve işlevsel olarak kendini değiştirebilme yeteneği şeklinde ifade edilmektedir. Beyin, plastisite sayesinde yeni bilgiler edinme ve öğrenme, nöral ağları çevresel faktörlere yanıt olarak yeniden yapılandırabilmektedir. Plastisite nörogenesis, planlanmış hücre ölümleri, nörotransmitter salınımı gibi anatomik, nörokimyasal ve elektrofizyolojik değişimlerle oluşmaktadır (243-245). Plastisitenin yaşlanma ile birlikte azaldığı fakat egzersiz etkisi ile bu durumun olumlu yönde değiştiği yapılan klinik çalışmalar ve hayvan deneylerinde gösterilmiştir (246, 247).

Egzersiz merkezi sinir sisteminde kognitif işlevlere olan etkisi ile ilgili üç hipotez öne sürülmüştür. Bunlardan ilki; Egzersizin, beyinde yüksek kognitif fonksiyonların ilişkilendirildiği alanlarda oksijen saturasyonunu ve anjiogenezi artırmasıdır (248-250). İkinci hipotez; Egzersizin beyinde serotonin ve norepinefrin gibi nörotransmitterleri artırması ve bilgi işleme sürecini olumlu yönde etkilemesidir (251, 252). Üçüncü hipotez ise; Egzersizin gelişmekte olan beyinde nörogenezisi ve farklılaşmayı, yetişkin beyinlerde dendritik bağlantıları ve sinaptik mekanizmaları destekleyen BDNF, İnsülin benzeri büyüme faktörü (IGF-1), temel fibroblast büyüme faktörü (BFGF) ve vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi nörotrofik faktörleri artırmasıdır (253).

Yapılan çalışmalar beyin kökenli nörotrofik faktör (BDNF) ve diğer büyüme faktörlerinin egzersizin beyin üzerinde oluşturduğu yararlı etkilere aracılık ettiğini göstermektedir (242). BDNF nöron büyümesi, gelişimi ve yaşam süresine olumlu yönde etki etmektedir (254). Bununla birlikte BDNF erişkin beyinde aksonal ve dendritik dallanma, sinaptogenez ve eksitator – inhibitör sinapsların fonksiyonel olgunlaşmalarını düzenlemede rol oynarken sinaptik aktarım etkinliğini artırarak sinaptik plastisite modülasyonuna da olumlu yönde etki etmektedir (255).

Egzersiz sonucunda beyinde bazı yapısal ve biyolojik değişikliklerin olduğunu belirten bilimsel çalışmalar da mevcuttur. Bu çalışmalarda striatumda D₂ dopamin reseptör seviyelerinde artış, hipokampustaki nöropeptitlerin immunoreaktivitesinde ve muskarinik reseptör yoğunluğunda artışın olduğu belirtilmiştir (256).

3.9.1. Duygu Durumlarında Egzersizin Fizyolojik Mekanizmaları

Egzersizin ruhsal durumu ve zihinsel sağlığı iyi yönde geliştirmesinin nedenlerini ortaya koyan çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal hipotezler bulunmaktadır. Bunlar endorfin hipotezi, termojenik hipotezi, mitokondriyal fonksiyon bozukluğu hipotezi, rapamisin memeli hedefi (mTOR) hipotezi, nörotransmitter fonksiyon bozuklukları ve hipotalamus hipofiz adrenal aksı (HPA) vurgulayan hipotezlerdir (257).

3.9.1.1. Endorfin Hipotezi

Endorfinlerin başlıca işlevi, uzayan ağrı ve stres dönemlerinde bedenin ağrıyı tolere etmesine yardımcı olmaktır. Çok sayıda atlet üzerinde yapılan bir çalışmada, atletler yoğun egzersiz seanslarını takiben öfori, sedasyon ve analjezik duygularını rapor etmişlerdir. Bu durumu doğrular şekilde birçok çalışmada egzersiz sonrası yüksek endorfin seviyeleri gösterilmiştir. Bununla birlikte, serum endorfin seviyelerinin merkezi sinir sistemindeki endorfin düzeylerini tam olarak yansıtmayabileceği görüşü bu hipotezi destekleyen sonuçların önemini doğrulamanın zor olacağı yönündedir (258).

3.9.1.2. Termojenik Hipotezi

Egzersiz sonrası iyileşen ruh hali ve kaygı belirtilerinde meydana gelen azalmanın yükselen vücut sıcaklığından kaynaklanabileceğini ileri süren çalışmalar bulunmaktadır (259, 260). Beyin sapı gibi bazı beyin bölgelerinde oluşan sıcaklık artışının kas gerginliğinde azalma ve genel rahatlama duygusunu oluşturmada etkili olabileceği belirtilmiştir (261). Ancak bu hipotez bazı

çalışmalarda aksi yönde veriler elde edildiği için büyük ölçüde desteklenmemektedir. Örneğin bir çalışmada vücut sıcaklığı deneysel olarak manipüle edilmiş ve artan vücut ısısının kaygı artışına neden olduğu gösterilmiştir (229, 262).

3.9.1.3. Mitokondriyal Disfonksiyon Hipotezi

Mitokondri, beyindeki sinirsel devrelerin sinaptik gücü ve hücresel esnekliğinde düzenleyici bir rol üstlenmektedir. şimdiye kadar ki depresyon ve duygu durum bozuklukları teorileri, beyin nöroplastisitesi ve nöroenez çevresinde şekillenmektedir. Yetersiz zihinsel sağlığın zayıf nöroplastisiteden kaynaklanabileceği ve bunun da beynin stres veya caydırıcı uyaranlara cevap verememesi ve uyarlanamamasına yol açabileceği düşünölmektedir. Gri madde çok sayıda mitokondri içerdii ve yoğun nöronal aktiviteye maruz kaldığı için mitokondri nöroplastide gözardı edilemeyecek bir rol üstlenmektedir (263).

3.9.1.4. Rapamisin Memeli Hedefi (mTOR) Hipotezi

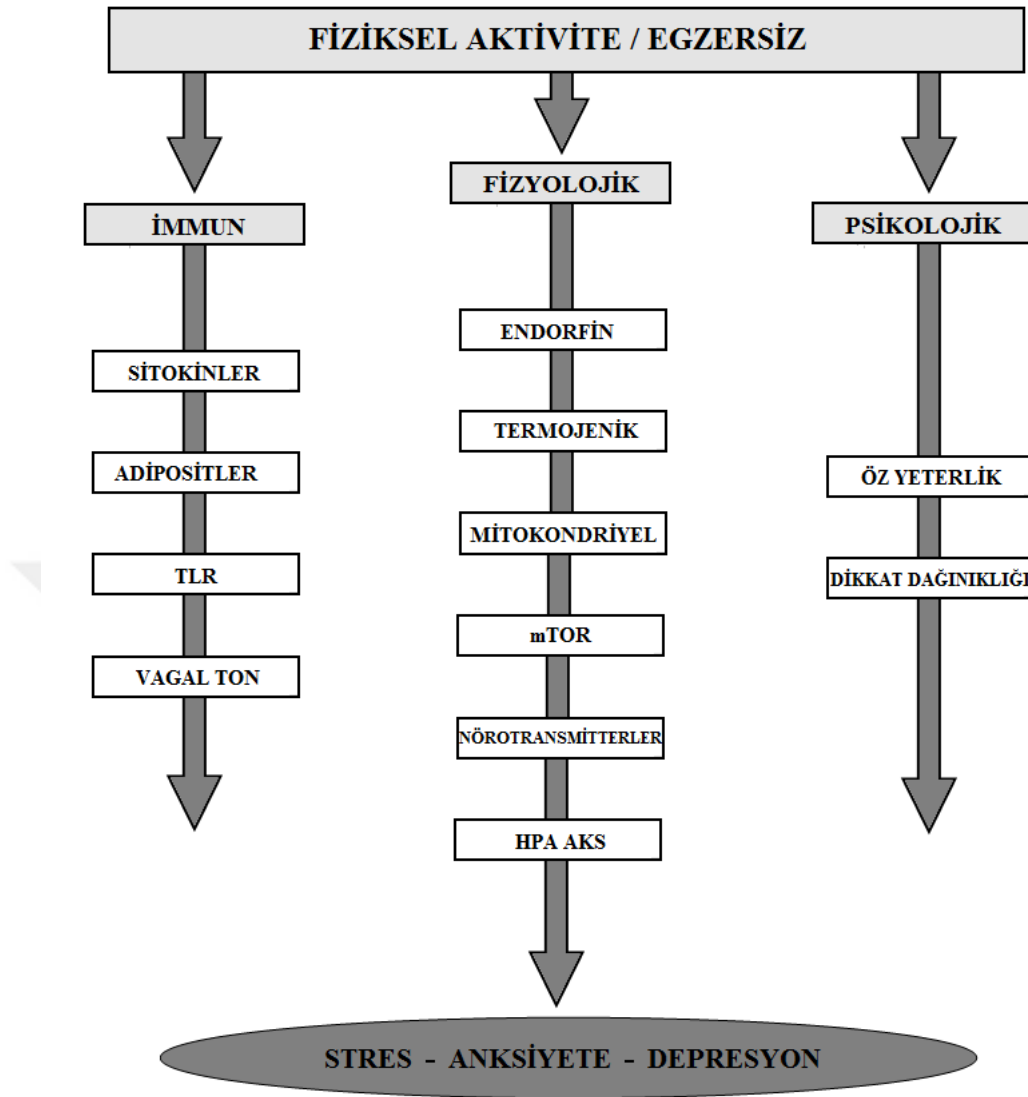
mTOR, hücre büyümesini ve metabolizmasını kontrol eden bir Serin / Treonin protein kinazdır (264). mTOR gelişim ve yaşlanmada önemli bir rol oynarken, öğrenme, hafıza ve antidepresan etkiler ile ilişkilidir. Birçok nörolojik bozukluk mTOR sinyallerindeki aksamalar ile ilişkilendirilmiştir (265). Egzersiz bilişsel ve duygusal davranışlarla ilgili beyin bölgelerinde mTOR' u aktive ederek stres, kaygı ve depresyonun etkilerini azaltarak zihinsel sağlık durumunu iyileştirmeye yardımcı olabilir görüşü paylaşılmaktadır (266).

3.9.1.5. Nörotransmitter Hipotezi

Depresyon hastalarının santral sinir sistemlerinde genellikle serotonin, dopamin, noradrenalin ve glutamat dengesizlikleri görülmektedir (267). Buna ek olarak çeşitli anksiyetik durumları ifade eden kişiler ile monoamin düzeylerindeki anormallikler ilişkilendirilmiştir (268). Yapılan çalışmalarda egzersizin seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) gibi hareket ederek beyindeki serotonerjik ve adrenerjik seviyeleri etkili şekilde artırabileceği düşünülmektedir (269).

3.9.1.6. HPA Aks Hipotezi

HPA aksı fiziksel ve psikolojik stres kaynaklarına adaptif cevaplardan sorumludur (270). Kaygı veya depresyonda görülen HPA disfonksiyonu, artmış veya azaltılmış kortizol salınımı, kortrikotropin salgılatıcı hormonun aşırı salınımı (271) ve glukokortikoidlere karşı duyarlılığın azalması ile ilişkilendirilebilir (272). Egzersizde kortizol salınımının ana rolü, vücuda yakıt kazandırmak ve uygun organlara glikoz sağlamak için kan glikoz düzeylerini yükseltmektir. Kortizol aynı zamanda pro-enflamatuar sitokinleri (TNF-alfa ve IL-6) inhibe ederek enflamasyonu hafifletmekte görev almaktadır (273).



Şekil 10. Egzersizin stres, anksiyete ve depresyon üzerine kompleks etkileri (257).

TLR: Toll benzeri reseptörler; mTOR: Rafamisin memeli hedefi.

3.10. Amaç

Bu tez çalışmasında amaç; davranışlar ve beyin üzerinde olumsuz etkiler meydana getirdiği bilinen stresin oluşturduğu fizyopatolojik etkilere aracılık eden mekanizmaların çeşitli davranış testleri, gen analizleri ve immunohistokimyasal yöntemlerden faydalanarak aydınlatılmasına ve aynı zamanda egzersizin bu mekanizmalar üzerinde ki muhtemel etkilerinin belirlenmesine katkı sağlamaktır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1. Deney hayvanları

Çalışmada Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezi'nden (FÜDAM) temin edilen, seksüel olgunluğa erişmiş (3 aylık) 40 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Çalışmada kullanılacak sıçanlar belirlenmeden önce aynı yaştaki birçok erkek sıçana 30 dakika süren Cinsel Davranış Testi uygulandı. Çalışmaya dahil edilme kriteri ise erkek sıçanın bu süre zarfında en az 2 sefer, en fazla 4 sefer ejakulasyon göstermesi olarak belirlendi. Seçilen hayvanlar deney süresince 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmış ortamda barındırıldı; su ve yem sınırlama yapılmadan verildi. Hayvanlar üzerinde yürütülecek tüm çalışmalar Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan alınan izin ile gerçekleştirilirken, hayvanların bakımı ve kullanılmasında etik kurallara uygun hareket edildi.

4.1.1. Deney Gruplarının Belirlenmesi ve Vücut Ağırlıklarının Takibi

Çalışmada kullanılan 40 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan; kontrol, egzersiz, stres, stres+egzersiz olmak üzere, ortalama vücut ağırlıkları yakın olacak şekilde her biri 10 hayvandan oluşan 4 gruba ayrıldı. Çalışmaya dahil edilen hayvanların deneyin başlangıcından sonlandırıldığı güne kadar vücut ağırlıkları, tükettikleri yem ve su miktarları günlük olarak ölçülüp kayıt altına alındı.

Grup 1 (Kontrol grubu): Kontrol grubu olarak belirlenen hayvanlara; standart bakım ve besleme şartları dışında farklı bir işlem yapılmaksızın diğer gruplarla eş zamanlı olarak davranış testlerinin tümü uygulandı.

Grup 2 (Egzersiz grubu): Egzersiz grubu olarak belirlenen hayvanlara; standart bakım ve besleme şartları dışında çalışma süresince treadmill cihazı kullanılarak haftada 5 gün olacak şekilde egzersiz yaptırıldı.

Grup 3 (Stres grubu): Stres grubu olarak belirlenen hayvanlara; standart bakım ve besleme şartları dışında çalışma süresince kısıtlama aparatı kullanılarak belirli sürelerle hareketsizlik stresi oluşturuldu.

Grup 4 (Stres+Egzersiz grubu): Stres+Egzersiz grubu olarak belirlenen hayvanlara; standart bakım ve besleme şartları dışında deney süresince 3. Gruba uygulanan hareketsizlik stresi ile birlikte 2. Gruba uygulanan egzersiz programı da uygulandı.

4.1.2. Deney Hayvanlarının Bakımı ve Beslenmesi

Deneyde kullanılan hayvanlar, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırmalar Merkezinde (FÜDAM); ışık düzeni 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık (07.00 - 19.00 saatleri arasında aydınlık) olacak şekilde, oda ısısı 22-25°C, ortamın nem oranı % 40-55 ve hava sirkülasyonu düzenli olan odalarda barındırıldı. Hayvanlar Korkutelim Yem Gıda San. Tic. AŞ. (Korkuteli / ANTALYA) den temin edilen Yetişkin Sıçan Yemi ile beslendi (Tablo 3).

Tablo 3. Kullanılan Normal Sıçan Yeminin Temel İçeriği

Ham Yağ	(%) 4,35
Ham Protein	(%) 24
Ham Selüloz	(%) 6,19
Ham Kül	(%) 6,55
Kalsiyum	(%) 0,88
Fosfor	(%) 0,99
Sodyum	(%) 0,05
Methionine	(%) 0,45
Lysine	(%) 1,34

Kullanılan Ham Maddeler: Soya fasülyesi küspesi, Mısır, Arpa, Buğday kepeği, Tam yağlı Soya, Yonca unu, dcp, Bitkisel yağ, Pelet Bağlayıcı, Toksin Bağlayıcı, Mineral, D.L Methionine, Kolin Klorid, Kanatlı Minerali, E Vitamini.

4.2. Deney Düzenegi

4.2.1. Stres Çalışmaları

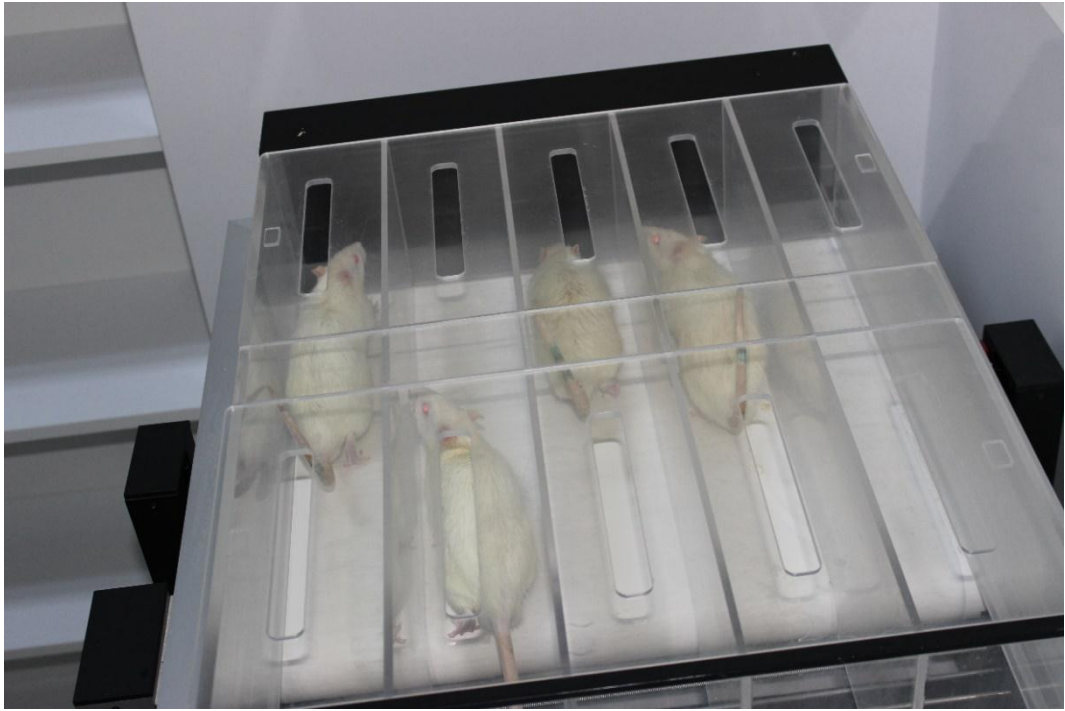
Stres uygulaması planlanan gruplardaki hayvanlarda stres oluşturmak amacıyla sıçanlar için tasarlanmış kısıtlama (Restraint) aparatları kullanıldı. Kısıtlama aparatları içine yerleştirilen sıçanlarda hareketsizlik stresi oluşturulması amaçlandı. Stres çalışmalarında hayvanlar; ilk 15 gün günde 1 saat, ikinci 15 gün günde 2 saat ve üçüncü 15 gün günde 3 saat olacak şekilde bu aparatlar içerisinde bekletildi. Bekletme sürelerindeki farklılık hayvanların kısıtlama aparatına adaptasyonunu engellemek amacıyla yapıldı. Stres oluşturulan hayvanlar daha sonra davranış testlerine tabi tutuldu.



Şekil 11. Kısıtlama aparatında stres uygulaması.

4.2.2. Egzersiz Çalışmaları

Egzersiz uygulaması yapılacak 2. ve 4. gruptaki hayvanlar, davranış testlerinin etkilenme riskini ortadan kaldırmak için davranış testi uygulanan günler dışında çalışma süresince düzenli olarak egzersiz uygulamasına tabi tutuldu. Bu uygulamalar için aynı anda 5 hayvanın koşturulmasına izin veren 5 şeride sahip May TME 0805 Treadmill Exerciser marka koşu bandından yararlanıldı. Yapılan çalışmada, egzersizin yoğunluğu ve süresini belirleme imkânı olması sebebiyle treadmill cihazında koşu egzersizi tercih edildi. Koşu bandı, 1-6 kademeler arasında ayarlanabilir hız göstergesi, devamlı ya da manuel olarak kullanılabilen elektrik şoku anahtarına ve eğimi -5^0 ile $+20^0$ arasında ayarlanabilen mekanizmaya sahip bir cihazdır. Her egzersiz uygulamasından sonra cihaz düzenli olarak temizlendi ve bir sonraki uygulama için hazır şekilde bırakıldı.



Şekil 12. Koşu bandında egzersiz uygulaması.

4.2.2.1. Egzersiz Programı

Egzersiz programı; haftada 5 gün ve toplamda 45 gün olacak şekilde kronik uygulama olarak planlandı (Tablo 4). Egzersiz uygulamaları hayvanlar için aynı sıra gözetilerek sabah 09:00-10:00 saatleri arasında gerçekleştirildi. Koşubandının eğimi '0°' olarak ayarlandı ve deney süresince sabit tutuldu. Egzersiz uygulamaları 15 m/dak'lık bir hızda başlatıldı. Periyodik olarak artırılan hız çalışma süresi sonunda 25 m/dak'lık hıza ulaştığında sonlandırıldı. Egzersiz uygulaması yapılacak gruplarda egzersiz süresi başlangıçta 15 dk olarak uygulanıp, periyodik artırılarak kesintisiz 50 dakikaya kadar devam eden süreye çıkarıldı (274-276). HPA eksenin uyarılmasını ve herhangi bir psikolojik stresin deney üzerindeki etkisini önlemek için ayak şokunun verilmemesine özen gösterildi.

Tablo 4. Egzersiz Protokolü.

GÜNLER	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
Egzersiz Hızı (m/dk)	15	15	15	15	15	-	-	20	20	20	20	20	-	-	20
Egzersiz Süresi (dk)	15	15	20	20	20	-	-	20	20	25	25	25	-	-	30
Stres Süresi (saat)	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

GÜNLER	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Egzersiz Hızı (m/dk)	20	20	20	20	CDT	20	20	25	KAT	25	25	25	AKT	25	25
Egzersiz Süresi (dk)	30	35	35	35	CDT	40	40	40	KAT	40	40	40	AKT	45	45
Stres Süresi (saat)	2	2	2	2	CDT	2	2	2	KAT	2	2	2	AKT	2	2

GÜNLER	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	33	44	45
Egzersiz Hızı (m/dk)	25	ZYT	25	25	25	AAT	25	25	25	25	25	25	25	MSL	-
Egzersiz Süresi (dk)	45	ZYT	45	45	50	AAT	50	50	50	50	50	50	50	MSL	-
Stres Süresi (saat)	3	ZYT	3	3	3	AAT	3	3	3	3	3	3	3	MSL	-

4.3. Davranış Testleri

Kısıtlama aparatı kullanarak oluşturduğumuz hareketsizlik stresinin davranışlar üzerine etkilerini incelemek ve bu etkilerde egzersizin rolünü araştırmak amacıyla tüm gruptaki hayvanlara çalışmanın 20. gününden itibaren başlanarak toplamda 6 davranış testi uygulandı. Davranış testlerinin bir sonraki testi etkileme riskini ortadan kaldırmak için testler 3'er günlük aralıklarla gerçekleştirildi. Egzersiz uygulaması yapılacak grupta ise; test üzerine yorgunluk ya da farklı herhangi bir etkinin olmaması için test günü egzersiz uygulaması yapılmadı. Çalışmada oluşturulan deneysel stresin belirteçlerinden olan depresyonu test etmek amacıyla kuyruktan asma testi ve zorlu yüzme testi, anksiyeteyi değerlendirmek amacıyla aydınlık-karanlık testi ve açık-alan testi, öğrenme ve hafızayı değerlendirmek amacıyla da Morris su labirenti testi uygulandı. Bunların dışında stres ve egzersizin bu hayvanlardaki cinsel parametreler üzerine etkilerini belirlemek amacıyla da cinsel davranış testi uygulandı.

Tablo 5. Davranış Test Programı

Günler	Davranış Testleri
20. gün	Cinsel Davranış Testi
24. gün	Kuyruktan Asma Testi
28. gün	Aydınlık-Karanlık Testi
31.gün	Zorlu Yüzme Alıştırma Testi
32.gün	Zorlu Yüzme Testi
36.gün	Açık Alan Testi
40-44.gün	Morris Su Labirenti Testi

4.3.1. Cinsel Davranış Testi (CDT)

Çalışmanın 20. gününde 14:00-16.00 saatleri arasında ve normal ışık altında 30 dakika süren cinsel davranış testi uygulandı. Hayvanlar deneyden en az 30 dk önce testin yapılacağı odaya adaptasyon sağlamaları amacıyla getirildi ve yine adaptasyon için kayıttan 10 dk önce kafes sistemine yerleştirildi. Testi yapılan hayvanın tüm hareketleri 4'ü çevre, 1'i üst olmak üzere 5 farklı noktaya yerleştirilmiş kamera ile kayıt altına alındı. CDT ile elde edilen görüntülerde değerlendirilen temel parametreler:

1. Mounting: Dişi hayvana arka taraftan yaklaşan erkek hayvanın arka ayakları üzerinde yükselerek ön ayaklarını dişinin sırtına koyma hareketidir. Bu harekette İntromisyon olmadan erkek hayvan geri çekilir (dismount) ve genital organını yalayarak temizler.

2. İntromisyon (Vajinal Penetrasyon): Mount ile başlayan İntromisyon hareketinde, erkek hayvan aniden pelvisini öne doğru iter ve birleşmeyi gerçekleştirir. Kısa sürede erkek hayvan geri çekilir ve genital bölgesini yalama davranışı ile intromisyon hareketini sonlandırır.

3. Ejakülasyon: Bu davranış intromisyonla başlar vajinal penetrasyondan sonra erkek hayvan pelvisini öne doğru güçlü bir şekilde iter ve 1-3 sn dişi üzerinde kalır. Erkek hayvanın arka abdomen bölgesindeki ritmik kasılmaları net bir şekilde görülebilir. Bu kasılmaları takiben erkek hayvan, ejakülasyon sırasında ön ayaklarını açarak yukarı kaldırır. Ejakülasyon gerçekleştikten sonra dişi sıçan erkekten uzaklaşır. Erkek hayvan ise yaklaşık 4-7 dk inaktif dinlenme dönemine geçer (277).

Bu 3 ana parametre video kayıt sistemi (Limelight system) ile sayısal veriler elde edilebilecek şekilde kayıt altına alındı (278).



Görüntüleme Sistemi



Mount



İntromisyon



Ejakülasyon

Şekil 13. CDT görüntüleme sistemi ve değerlendirilen temel parametreler.

CDT de dikkat edilen temel parametreler ile birlikte ölçülen destekleyici parametreler ise şunlardır:

ML (Mount Latensi): Dişi sıçanın erkek sıçanın olduğu kafese bırakılmasından ilk mount hareketine kadar geçen süredir. Doğru olmayan yaklaşımlar (vücut yanlarına veya başa olan temaslar) mount olarak değerlendirilmedi.

IL (İntromisyon Latensi): Dişi sıçanın erkek sıçanın olduğu kafese bırakılmasından ilk intromisyon (vajinal penetrasyon) hareketine kadar geçen süredir.

EL (Ejakülasyon Latensi): İlk mount veya intromisyon hareketinden ejakülasyon gerçekleşinceye kadar geçen süredir.

PEI (Post Ejakülatuar Latens): Bir ejakülasyondan sonra gerçekleşen ilk mount veya intromisyon hareketine kadar geçen süredir.

IR1 (İntromisyon Oranı): 1. Ejakülasyon serisindeki mount frekansı ve intromisyon frekansı toplamının, intromisyon frekansına bölünmesiyle elde edilen değer intromisyon oranı olarak adlandırılan ve ilk ejakülasyon serisinin verimlilik oranını ifade eden bir parametredir ($IF1/IF1+MF1$).

III (İntromisyonlar Arası İnterval): Ejakülasyon latensinin intromisyon frekansına bölünmesiyle elde edilen bir parametredir.

IRT (Toplam Verimlilik): 30 dakikalık kayıt süresince gerçekleşen tüm intromisyon hareketleri ve tüm mount hareketleri toplamının tüm intromisyon hareketleri sayısına bölünmesiyle elde edilen bir parametredir ($IFT/(IFT+MFT)$) (277).

CDT'nin temel unsurlarından biri de östrus evresindeki dişi sıçanlardır. Testin kontrollü olarak istenilen zaman aralıklarında uygulanabilmesi için CDT'de kullanılan dişi ratlara östrus evresi düzenlemesi yapıldı. Bu amaçla kullanılacak dişi sıçanlara testten 3 hafta önce ovariyektomi operasyonu yapıldı ve iyileşmeleri beklendi. Susam yağında çözdürülen 10 µg östradiol testten 48 saat önce, 500 µg progesteron ise testten 6-7 saat önce 0.1ml hacminde subkutan olarak bu dişi sıçanlara uygulandı (279). Cinsel davranış testi uygulanan

ovariyektomili dişi sıçanlar cinsel uyarım için belirtilen östrojen ve progesteron tedavisinden sonra erkek sıçanların bulunduğu kafeslere bırakıldı. Kafese bırakılan dişilerden kulak titretme, darting, hopping gibi proseptif davranış göstermeyenler kafesten çıkarılarak proseptif davranış gösteren dişiler testte kullanıldı.

4.3.2. Zorlu Yüzme Testi (ZYT)

Duygu durumu ve depresyon benzeri davranışları belirlemek için kullanılan bir testtir (278). ZYT kaçamayacağı bir strese maruz kalan bir hayvanın kaçma çabasının sona ermesi yani ümitsizlik hali göstermesi üzerine kuruludur. Test düzeneği; 25 cm çapında ve 60 cm yüksekliğinde şeffaf pleksiglas silindir tanktan oluşmaktadır. Tank 40 cm yüksekliğine kadar, sıcaklığı 23-25°C olan su ile doldurulur. Bu ölçüler sıçanın yan duvarlara tutunamaması ve silindirin tabanına temas etmemesi için gereken optimal ölçüler olarak belirlenmiştir (280). Testin uygulanması sırasında hayvanların çevreden etkilenmemesi için silindirin tabanı ve üç yanını kapatacak şekilde tasarlanmış siyah renkte ahşap bir aparat kullanıldı.

ZYT' nin deneysel uygulaması 2 aşamada gerçekleştirilir (281): ilk olarak asıl testten 24 saat önce uygulanan "Alıştırma aşamasında" (training); hayvan su dolu tanka bırakılarak, 15 dakika boyunca yüzdürülür. Bu uygulamadan 24 saat sonra gerçekleştirilen "Test aşamasında" ise hayvanlar aynı düzenekte 5 dk boyunca yüzdürülerek video kaydı yapılır. Testin başlangıç periyodunda hayvanlar bulundukları durumdan kurtulmak için mücadele ederken, süre ilerledikçe 'davranışsal çaresizlik' denilen duygu durumunun karakteristik

göstergesi olan hareketsiz duruşlar sergilemeye başlarlar (282). Elde edilen kayıt süresi aşağıda belirtilen kategorilere göre ayrılır.

1. Tırmanma (Climbing): Kaçma-Kurtulma odaklı davranışların gösterildiği bölümdür. Hayvanlar özellikle aktif ön bacak hareketleri ile suyun dışına çıkmak için yoğun çaba gösterirler, genellikle silindirin duvarına tırmanmaya çalışırlar (283).

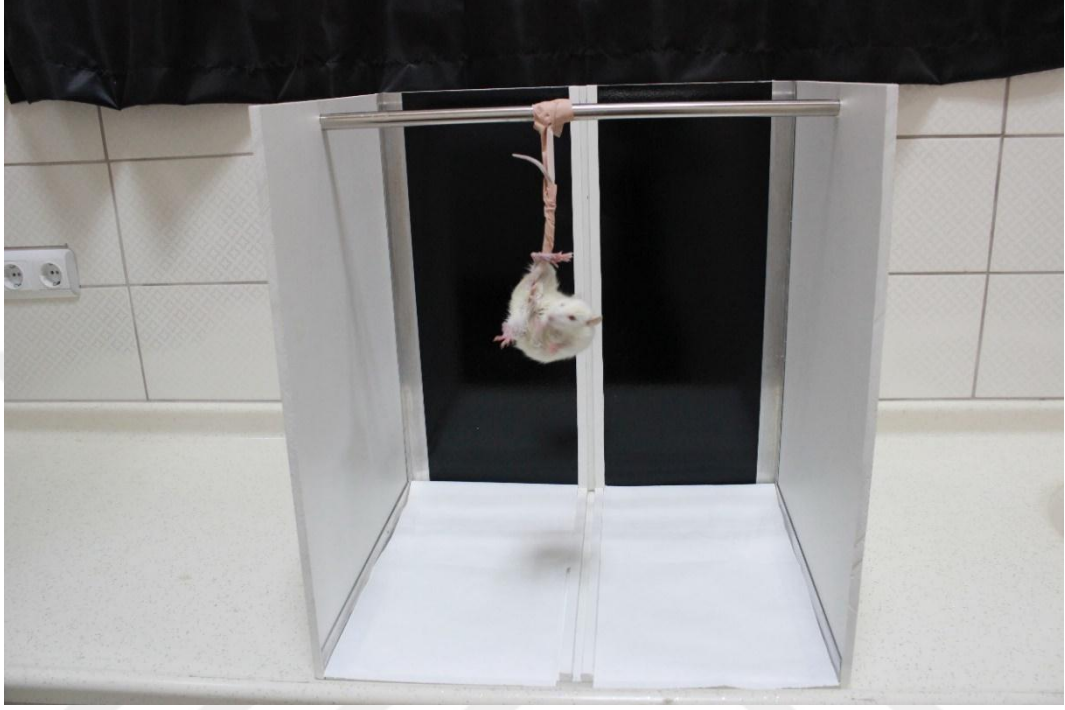
2. Yüzme (Swimming): Hayvanın aktif yüzme hareketleri ile tankın her tarafında yaptığı genellikle yatay yer değiştirme hareketleridir.

3. Hareketsizlik (Floating/İmmobil): Davranışsal umutsuzluk göstergesi olan bölümdür. Hayvanın çırpınmadan suda süzülme ve sadece başını suyun üzerinde tutmasını sağlayacak zorunlu hareketleri yapmasıdır (283, 284).

4.3.3. Kuyruktan Asma Testi (KAT)

Kuyruktan asma testi de zorunlu yüzme testindeki gibi davranışsal umutsuzluk üzerine kurulu bir modeldir. Bu modelin temeli, hayvanların kuyruklarından havada asılı olarak tutuldukları ve hayvanın hareketsiz kalma süresinin ölçülmesi esasına dayanmaktadır (285). Bu test ilk olarak Steru ve arkadaşları tarafından antidepresan ilaçların etkinliğini test etmek için kullanılmıştır (285). Çalışmada her bir sıçan kuyruğundan 20 cm uzunluğundaki bant ile hazırlanan düzeneğe (yüksekliği 50 cm, metal çubuk) asılmış ve 6 dk süre ile yaptığı çırpınma hareketleri kaydedilmiştir (286). Kuyruğundan asılan sıçanlar içinde bulundukları bu stresli durumdan kurtulmaya ve metal çubuğa tırmanmaya çalışır. Bir süre sonra artık içinde bulunduğu ortamdan kurtulma ile ilgili ümitsizlik gelişir ve sıçan çırpınma gayretini bırakarak hareketsiz bir şekilde

(immobilizasyon) asılı kalır. Hareketsiz kalma durumu “umutsuzluk davranışı” olarak yorumlanır ve bu süreler ölçülür. (287). Hareketsiz kalınan süre depresyon benzeri davranış göstergesi olarak kabul edildi (288).



Şekil 14. Kuyruktan Asma Testi uygulaması.

4.3.4. Aydınlık-Karanlık Testi (AKT)

Aydınlık-Karanlık testi ilk olarak 1980 yılında Crawley ve Goodwin tarafından kemirgenler üzerinde bazı ilaçların ortaya çıkardığı anksiyolitik etkilerinin göstergesi olan araştırıcı davranışları değerlendirmek amacıyla uygulanmıştır (289). Aydınlık-karanlık testi, kemirgenlerin parlak ışıkla aydınlatılmış bir ortamdan içgüdüsel anksiyete ve doğal kaçınma davranışları ile yeni ortam, ışık gibi orta düzeydeki stresörlere karşı içgüdüsel araştırıcı davranış tercihlerinin karşılaştırıldığı bir testtir (289). Bu karşılaştırma; keşfetmeye eğilim ile tanıdık olmayan ortamdan kaçmaya eğilim arasında kalma verilerine göre yapılmaktadır. Aydınlık tarafta geçirilen süre ve geçiş sayısında artış anksiyolitik

davranış olarak değerlendirilirken, karanlık tarafta geçirilen süre ve geçiş sayısında artış anksiyetik davranışların göstergesi olarak kabul edilir (290).

Çalışmamızda Aydınlık-Karanlık test düzeneği olarak; bir tarafı siyah diğer tarafı şeffaf pleksiglastan yapılmış 2 eşit bölümden oluşan bir düzenekten yararlanıldı (291). 2 bölüm arasında hayvanların geçişine imkan verecek büyüklükte bir açıklık bırakıldı. Karanlık tarafın üzerinde siyah renkte pleksiglastan yapılmış kapak varken (292) aydınlık taraf ise parlak ışık koşulunun sağlanması için 60 Watt gücünde bir lamba ile aydınlatıldı. Deneye başlarken, hayvanlar düzeneğin aydınlık bölümüne ve karanlık bölüm arkalarında kalacak şekilde bırakıldı. Düzenek üzerinde 5 dk boyunca serbest bırakılan sıçanın hareketleri kamera ile kaydedildi. Hayvanların her bir alanda geçirdikleri süre ve 2 bölme arasındaki geçiş sayıları belirlendi (293). Bir bölümden diğerine geçişlerde; hayvanın 4 ayağının da ilgili bölüme geçmesi esas alınarak sayıldı. Teste tabi tutulan her hayvandan sonra test düzeneği % 70 alkol ile dikkatlice temizlendi (294).



Şekil 15. Aydınlık Karanlık Testi uygulaması.

4.3.5. Açık Alan Testi (AAT)

Genellikle bir kemirgenin kullanıldığı, hiç bilinmeyen bir çevre ve hayvanın kaçmasına izin vermeyen yükseklikte duvarlarla çevrili bir sistemden oluşur (295). Açık alan testinde deney hayvanının uzaysal keşif dürtüsü, lokomotor aktivitesi, otonom işlevleri ve anksiyetik davranışları değerlendirilebilir (296). Değerlendirmelerde hayvanın, kayıt süresince horizontal hareketleri (geçtiği kare sayısı), vertikal hareketleri (şahlanma davranışı) ve vücudunun çeşitli bölgelerinde ki tüylerini uzun süreli temizlemesi (grooming davranışı) değerlendirilmektedir (297). Yapılan uygulama ile hayvanın sosyal grubundan ayrılarak tek başına teste tabi tutulması ya da beslendiği ve doğal ortamına kıyasla çok daha büyük bir alana bırakılması neticesinde yaşadığı açık alan korkusu (agorafobi) gibi nedenlerle anksiyete davranışı ortaya çıkarılabilmektedir. Deney düzeneğinin merkez bölgesinde geçirilen zamanda artış, lokomotor ve dikey hareketlerde artış, anksiyolitik benzeri etki olarak değerlendirilirken, bu davranışlarda meydana gelen azalmalar ise anksiyojenik etki olarak değerlendirilir (297).

Çalışmamızda kullandığımız açık alan test aparatı merkezinde 9, periferde 16 olmak üzere toplamda 25 eşit kareden oluşan 80x80 cm taban ölçülerine sahip ve çevresi 40 cm yükseklikte beyaz pleksiglass duvarlarla çevrili bir aparamdır (296). Deneye başlamadan en az 30 dakika önce uygulama odasına getirilen sıçanlar tek olarak düzeneğin merkez karesine bırakılırken aynı anda kamera kaydı başlatıldı. Deney süresi olan 10 dakika boyunca yapılan kayıta 4 temel parametre ölçüldü. Bunlar: toplam geçtiği kare sayısı (horizontal aktivite), şahlanma sayısı (vertikal aktivite), grooming süresi, ve dışkılama sayısıydı.

Toplam geçilen kare sayısı; lokomotor aktivitenin yani bir yerden başka bir yere geçme hareketini ifade etmek için kullanılan bir ölçüdür (296). şahlanma sayısı, sıçanların n pençelerini kaldırıp arka bacakları üzerinde durdukları pozisyonudur ve çevreyi araştırmanın belirtisi olarak kabul edilir. Grooming süresi, temizlenme davranışı olarak kabul edilmiştir ve sıçanlardaki stereotipik aktivite ile ilişkilidir. Artmış stereotipik aktivite deney hayvanının patolojik anksiyetesi hakkında dolaylı bilgi vermektedir. Dışkılama sayısı, hayvanın test süresi boyunca yaptığı dışkı sayısıdır. Her uygulamadan sonra açık alan düzeneği %70 alkol ile temizlendi.



şekil 16. Açık Alan Testi uygulaması.

4.3.6. Morris Su Labirenti Testi (MSL)

Su labirenti testi ilk olarak 1980’li yıllarda Richard Morris tarafından geliştirilmiştir. Normal ya da genetik olarak modifiye edilmiş kemirgenlerde uzaysal referans hafızayı değerlendirmek için kullanılan en yaygın yöntemdir (298). Moris su labirenti testi, 120 cm çapında, 50 cm derinlikte olan dairesel

siyah renkte bir tank kullanılarak loş ışıklı bir odada gerçekleştirildi (298). Tank 40 cm yüksekliğe kadar su ile dolduruldu ve suyun sıcaklığı $24\pm 2^{\circ}\text{C}$ olacak şekilde ayarlandı. Tank içerisine 10 cm çapında bir platform yerleştirildi. Platformun yüksekliği, sıçanlar tarafından görülmesini engellemek için su yüzeyinden 2 cm aşağıda kalacak şekilde ayarlandı (299). Su tankı hayali olarak doğu, batı, kuzey ve güney şeklinde 4 ayrı bölüme ayrıldı (300). Test uygulamaları 5 gün süreyle tekrarlandı. Platform başlangıçta tank içinde rastgele seçilmiş bir bölümde gizlendi ancak 5 günlük test süresince hep aynı yerde olmasına özen gösterildi. Hayvanlar her denemede hayali olarak belirlenmiş her bir bölüm duvarından suya bırakıldı ve 60 saniye boyunca platformu aramasına izin verildi. Eğer hayvan bu süre içerisinde platformu bulamadıysa uygun şekilde tutularak platform üzerine bırakıldı ve burada 30 sn kalması sağlandı. Her hayvan için 5 gün süreyle tekrarlanan uygulamalarda deneklerin öğrenme yeteneği platformu bulma zamanı olarak (sn) kaydedildi. Belleğin pekiştirilmesini test etmek için 5. günün sonunda probe testi yapıldı (301). Probe testinde platform sudan çıkarıldı ve hayvanlar tankın ortasından sırayla suya bırakılarak 60 sn boyunca tank içindeki hareketleri kayıt altına alındı. Probe testinde değerlendirilen parametreler şunlardır:

- **Bölümde Geçirilen Zaman** : Hayvanın platformun bulunduğu bölümde geçirdiği süre.
- **Hedef Bölgede Geçirilen Zaman** : Hayvanların platformun çevresindeki 20, 15 ve 10 cm çapındaki bölgelerde geçirdiği süre.
- **Geçiş Sayısı**: Platformun bulunduğu bölümden geçiş sayısı.

Bu ölçümler veya bunların kombinasyonlarına yayımlanan birçok çalışmada probe testi performansını ölçmek için başvurulmuş olup içlerinde en çok tercih edilen ölçüm ise bölümde geçirilen zaman yüzdesi olmuştur (298).

4.4. Deneyin Sonlandırılması

Egzersiz, stres ve davranış testleri programının bittiği 45. günde hayvanlar örneklerin toplanabilmesi için 5mg/kg ksilazin hidroklorür (BAYER) ve 50 mg/kg ketamin hidroklorür (PFIZER) kombinasyonunun kas içi (IM) enjeksiyonu ile anestezi altına alındı. Yeterli anestezi derinliğine ulaşan hayvanların sırt üstü pozisyonda karın boşlukları açılarak hepatik venden 7-8 ml kadar kan örneği alındı. Kan alma işleminden sonra immunohistokimyasal çalışmalarda beyin örnekleri kullanılacak hayvanlar kardiyak perfüzyon işlemi uygulanarak öldürülürken, diğer hayvanlar anestezi altında yapılan servikal dislokasyon yöntemi ile öldürüldü.

4.5. Doku Ağırlıklarının Belirlenmesi

Uygun yöntemler ile yaşamı sonlandırılmış her bir hayvandan; beyin, karaciğer, böbrek, pankreas, testis, epididimis, prostat, seminal vezikül dokuları hızlı bir şekilde çevre yapılardan ayrılarak çıkarıldı. Daha önceden ağırlıkları belirlenmiş alimünyum folyolar üzerine bırakılan her bir doku hassas terazide tartılarak ağırlığı kaydedildi.

4.6. İmmünohistokimyasal Çalışmalar

Hipotalamusun ARC nükleusunda kisspeptin ekspresyonları immünohistokimyasal yöntemle araştırıldı (302). Orşidektomi yapılan sıçanlarda

steroid hormonların negatif feedback etkisi ortadan kalkacağı ve arkuat nükleustaki kisspeptin immunoreaktivitesi daha belirgin olacağından 4 adet kastre sıçana ait 25 µm kalınlığındaki arkuat nükleus kesitleri immünohistokimyasal çalışmalarda pozitif kontrol olarak seçildi. Orşidektomili hayvanların arkuat nükleusundaki artmış olan kisspeptin immünoaktivitesi immünohistokimyasal analizlerin çalıştığına ortaya konulmasında ve deney gruplarının beyin kesitlerindeki immünoaktivitelerin değerlendirilmesinde kullanıldı.

4.6.1. Beyin Kesitlerinin Hazırlanması

Sıçanlar uygun dozda hazırlanan xylazine/ketamin karışımı ile anestezi altına alındı. Göğüs kafesi açılan sıçanlarda; %4 paraformaldehit kullanarak kardiyak perfüzyon yöntemi ile beyinler fikse (tespit) edildi. Fiksasyon işleminden sonra sıçanların kafatası açılarak beyinleri hasar görmeyecek şekilde çıkarıldı. Çıkarılan beyinler, fiksasyon işleminin tamamlanması için %4 paraformaldehit içinde 4 °C'de 6-7 saat bekletildi. Süre sonunda %4 paraformaldehit solüsyonu, % 30 süktroz solüsyonu ile değiştirilerek 4 °C'de beyin dokusunun süktrozla doygunluğa erişmesi beklendi (24-48 saat kadar). Beynin içinde bulunduğu süktroz solüsyonunun dibine çökmesi, süktrozla doygunluğun belirtisi olarak kabul edildi. Süktroz solüsyonundan çıkarılan beyinler kuru buz yardımıyla dondurulduktan sonra -20 °C de, 24 saat boyunca bekletilerek kesitlerin alınmasına hazır hale getirildi. 25 µm kalınlığında koronal kesitler alınmak üzere, hazırlanan beyinler mikrotomun (LEİCA –CM1520 Frozen Microtome) tablasına dik bir şekilde yerleştirildi. Mikrotomun sıcaklığı kesit alım işlemlerinin sonuna kadar -20 °C 'de sabit tutuldu. Stereotaksik atlas yardımıyla,

arkuat nükleusu içeren beyin bölgeleri belirlendi ve kesitler alındı. Alınan kesitler non-steril 6 kuyucuklu ve içleri beyin dokularını korumak amaçlı kyroproctan ile dolu kuyuçuklara ince bir fırça yardımıyla aktarıldı. Böylelikle kisspeptin varlığını tespit etmek için immünohistokimyal olarak boyama yapılacak olan beyin dokuları, analizlerin yapılacağı zamana kadar saklandı (-20 °C).

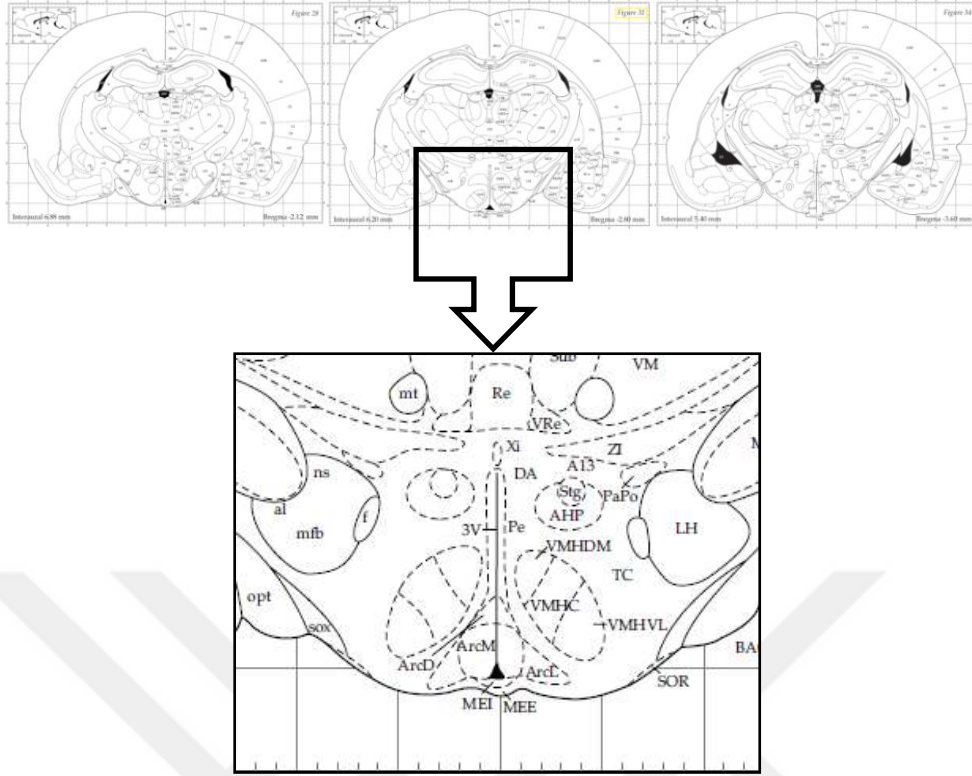
4.6.2. İmmünofloresan Boyama

Kisspeptin immünofloresan boyama deneyleri 25 µm kalınlığındaki hipotalamusun ARC nükleusunda gerçekleştirildi (Şekil 17). Cyroprotektan solüsyon içerisinde bulunan kesitler, içerisinde 1 molar PBS (Fosfat Tampon Solüsyonu) bulunan yüksüklere aktarıldı ve oda sıcaklığında 1M PBS'te yıkandı (pH 7,4, 8x15 dakika, 80 RPM), %3 hidrojen peroksitte 30 dakika inkübe edildi ve tekrar 1M PBS'te yıkandı (6x5 dakika, 80 RPM). Kesitler 1M PBS içerisinde iken pozitif şarjlı lamlara (Fisherbrand Superfrost Plus; Fisher Scientific, Pittsburgh, PA) yapıştırıldı ve oda sıcaklığında kuruması beklendi. Doku çok fazla kurumadan daha önceden hazırlanan humidify çember içine alındı. Dokunun etrafı panpen ile çizilerek üzerine 40C'de % 5 normal at serumu (Vector Laboratories, Inc., Burlingame, CA), % 0.1 BSA ve % 0.3 PBS Triton X-100 (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) içeren blok solüsyon çözeltisi eklendi. Gece boyunca çalkalayıcı üzerinde özgün olmayan bağlanmaları elimine etmek için inkübe edildi. Kesitler %5 Normal At Serumu çözeltisinde hazırlanan primer antikorlar (1:200 kiss) ile 40C'de 16 saat çalkalayıcı üzerinde (80 RPM) inkübe edildi ve daha sonra oda sıcaklığında 1 M PBS'te yıkandı (3x5 dakika, 80 RPM). İmmünofloresanı tespit etmek için kesitler oda sıcaklığında, karanlıkta 1 saat

PBS-at serumu çözeltisinde sekonder antikor (1:400 Cy3) ile inkübe edildi ve tekrar oda sıcaklığında 1 M PBS'te yıkandıktan (3x5 dakika, 80 RPM) sonra çekirdek boyası (DAPI, Diamidin-2-Fenilindol Dihidroklorid) ile 2 dk muamele edildi. Çekirdek boyasından sonra 1 M PBS'te yıkandı (2x5 dakika, 80 RPM) ve lamalar beyin dokularına değmeden kurutma kağıdı ile kurutuldu. Kesitler lam üzerinde karanlıkta kuruduktan sonra Gel/Mount akışkan koruyucu madde ile kaplanarak lamelle kapatıldı ve analizler yapılana kadar +4°C'de saklandı. İşlemlerin doğruluğunu ve primer antikorun çalışıp çalışmadığını test etmek için negatif kontrol kullanıldı. Negatif kontrolde, kesitler bloklama çözeltisine maruz bırakıldı; birinci antikor atlandı, diğer tüm işlemler aynen uygulandı. Her bir bölgeden alınan kesitlerde immünopozitif kisspeptin nöronlarının dağılım paterni, sayısı manuel olarak analiz edildi.

4.6.3. Antikorlar

Kisspeptin (Tavşan, anti-Kisspeptin antikor, AB9754, Merck Millipore) antikoru primer antikor olarak kullanıldı. Cy3-konjuge AffiniPure-donkey, anti-rabbit IgGs (Jackson Immuno Research Laboratories, Inc., West Grove, PA) sekonder antikor olarak kisspeptin immünoaktivitesini tespit etmek için kullanıldı.



Şekil 17. Sıçan Beyin Atlasında Arkuat Nükleusun Gösterilmesi

4.7. Gerçek Zamanlı-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile Gen İfadesi Analizi

Beynin hipotalamus, hipokampus, corpus striatum ve prefrontal korteks bölgelerinde stres ve egzersizle ilişkili nöropeptidler ve nörotransmitterle bunlara ait reseptörlerin gen ifadesi analizi, Real Time Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi.

4.7.1. Total RNA İzolasyonu

Yöntem

Ependorf tüplere alınan yaklaşık 30 mg beyin dokusu üzerine 1 ml Trizol (İnvitrogen, Foster City, CA, USA) ilave edilerek 18 gauge enjektör ile pellet parçalandı ve 5 dk. oda sıcaklığında inkübe edildi. 200 µl kloroform (Trizol

hacminin 1/5'i kadar) ilave edilerek 30 saniye vorteks yapıldı ve 2-3 dk. oda sıcaklığında bekletildi. +4 °C'de 10000 g'de 20 dk. santrifüj edildikten sonra en üstteki sıvı kısım yeni ependorf tüplere aktarıldı. Eldeki sıvı kısım ile eşit hacimde izopropanol eklenerek vorteks yapıldı ve 10 dk. oda sıcaklığında bekletildi. RNA pelleti için +4 °C'de 10000 g'de 20 dk. santrifüj edildi ve üstteki sıvı kısım uzaklaştırıldıktan sonra 1 ml %75'lik etanol ile yıkama işlemi gerçekleştirildi. +4 °C'de 10000 g'de 5 dk santrifüj işleminin ardından bu yıkama işlemi tekrarlandı ve etanol tamamen uzaklaştırıldıktan sonra 30 µl Nükleaz-free su eklenerek kullanılana kadar -80°C'de saklandı.

4.7.2. Spektrofotometrik RNA Ölçümü

Yöntem

İşleme geçmeden önce DNAaz-RNAaz içermeyen steril su ile kör ölçüm yapıldı. BioSpec-nano (Shimadzu) cihazının ölçüm alanına 1 µl RNA konularak RNA miktarı ng/µl olarak ölçüldü. Bu işlem her bir örnek için tekrarlandı.

4.7.3. Komplementer DNA (cDNA) Sentezi

Yöntem

cDNA sentezi High capacity revers transcriptaz enzimi (İnvitrogen, Foster City, CA, USA) ile üretici firmanın protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi. 0,2ml'lik ependorf tüplerde toplamda 20 µl hacimde gerçekleştirilen cDNA sentezi için RNA örneklerinden 10 µl kullanılırken 2 µl 10xRT Buffer, 0,8 µl 25xdNTP mix, 2 µl 10xRT Random Primers, 1 µl Multiscribe™ Reverse Transcriptase ve 4,2 µl nükleaz-free su kullanıldı (Tablo 6). Termal döngü

cihazına yerleştirilen örnekler; 25 °C'de 10 dk, 37 °C'de 120 dk, 85°C'de 5 dk ve 4 °C'de ∞ olacak şekilde cihazda bekletilerek sonunda oluşan cDNA örnekleri - 20°C'de saklandı (Tablo 7).

Tablo 6. cDNA Karışım Miktarı.

BİLEŞİK	HACİM (µl)
10x RT Tamponu	2.0
25x dNTP Karışımı (100mM)	0.8
Multiscribe™ Reverse Transkriptaz	1.0
10x RT Random Primer	2.0
Nükleaz İçermeyen H ₂ O	4.2
Karışımın Toplamı	10.0

Tablo 7. cDNA Sentezi için Uygulanan PCR Programı.

	1. BASAMAK	2. BASAMAK	3. BASAMAK	4. BASAMAK
SICAKLIK	25 °C	37 °C	85 °C	4 °C
SÜRE	10 dk	120 dk	5 dk	∞

4.7.4. Kantitatif Gerçek Zamanlı (Real Time) - Polimeraz zincir reaksiyonu ile cDNA Çoğaltımı

Revers transkripsiyon sonucunda elde edilen cDNA'lar spesifik primerlerin (Qiagene, Hilden, Germany, 330001) varlığında Real Time-Polimeraz Zincir Reaksiyonu (RT-PCR) ile çoğaltıldı. Tablo 10'da gösterilen genlerin ifadeleri analiz edildi.

Tablo 8. RT-PCR Yöntemiyle Analiz edilen Genlerin Listesi

SEMBOL	GEN
Bdnf	Beyin Derive Nörotrofik Faktör
Drd1	Dopamin Reseptör 1
Drd2	Dopamin Reseptör 2
Kiss1r	Gpr54
Kiss1	Kisspeptin
Mc4r	Melanokortin-4-Reseptör
Pomc	Pro-Opiomelanokortin
Htr2a	Serotonin Reseptör 2A
Htr2c	Serotonin Reseptör 2C
Npvf	RFRP-3

Gen ifadeleri arasındaki farklılıkların hesaplanmasında $2^{-\Delta\Delta CT}$ yöntemi kullanıldı.

Üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen RT-PCR yönteminde plate hazırlanırken her bir kuyucuğa 1 µl cDNA örneği konuldu. Her bir örnek için 2 µl qPCR SYBR mix (Invitrogen, Foster City, CA, USA), 1 µl primer ve 6 µl DNAaz ve RNAaz içermeyen steril su ilave edildi (Tablo 9).

Tablo 9. RT-PCR için her bir kuyucuğa konan bileşikler.

BİLEŞİKLER	HACİM (µl) x ÖRNEK SAYISI
cDNA	1.0
qPCR Mix	2.0
Primer	1.0
Su	6.0
Toplam	10

Gen ifade düzeyleri Applied Biosystems 7500 Real Time PCR sistemi(Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) ile belirlendi. Çalışmada kontrol gen (housekeeping) olarak GAPDH kullanıldı. Isı koşulları 1 kez 95 °C'de 15 dk ve 40 kez 95°C'de 15 sn-60°C'de 30 sn-72 °C'de 30 sn olacak şekilde ayarlandı (Tablo 10).

Tablo 10. Uygulanan RT-PCR Programı.

DÖNGÜ BASAMAĞI	SICAKLIK	SÜRE	DÖNGÜ SAYISI
Başlangıç Aktivasyonu	95°C	15 dk	1
Denatürasyon	95°C	15 sn	
Bağlanma	60-65°C	30 sn	40
Uzama	72°C	30 sn	

4.8. İstatistiksel Analiz

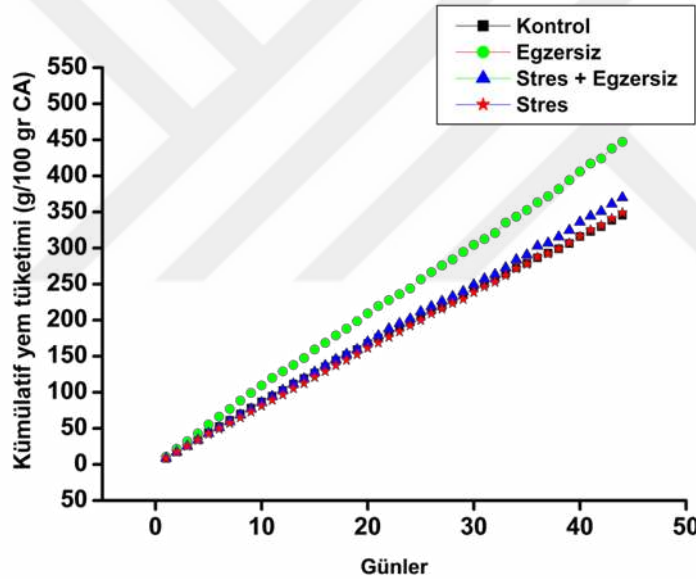
Çalışmadan elde edilen veriler SPSS 22 Windows programı kullanılarak değerlendirildi. Veriler, ortalama±standart hata (ort±SH) değerleri ile belirtildi. Verilerin değerlendirilmesi ve gruplar arası farklılıklar için Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) ve Post-Hoc Tukey testi, grup içi farklılıklar için ise Paired Sample T Testi kullanıldı. Bütün testler için $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

5. BULGULAR

5.1. Gıda Alımı ve Vücut Ağırlık Değişimine İlişkin Veriler

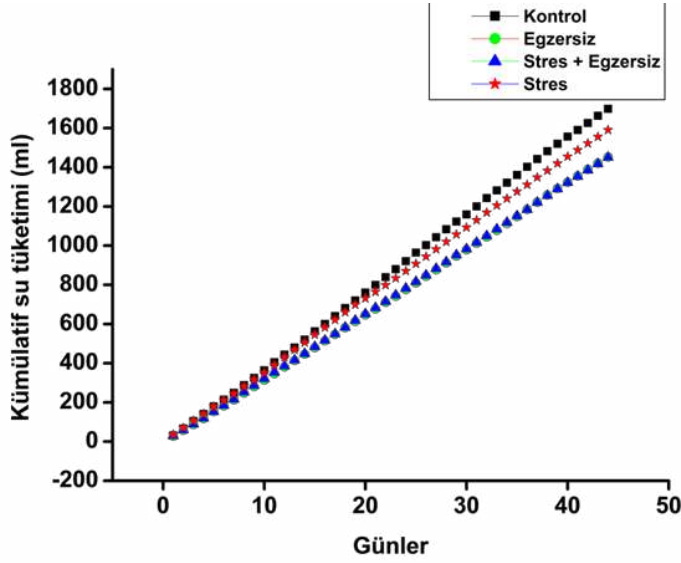
Tüm gruplardaki hayvanların günlük olarak yem tüketimleri, su tüketimleri ve canlı ağırlık verileri ölçülerek kayıt altına alınmıştır.

Günlük yem tüketimi yönünden; egzersiz grubu ile stres grubu arasında 6.günden itibaren, kontrol grubu ile egzersiz grubu arasında 27. günden itibaren istatistiksel olarak anlamlı farklılık görüldü. Egzersizin, kontrol grubu ve strese maruz kalan hayvanlara göre yem tüketimini arttırdığı belirlendi. Egzersizin meydana getirdiği yem tüketimindeki artışın ise stresin etkisiyle azaldığı görüldü (Şekil 18).



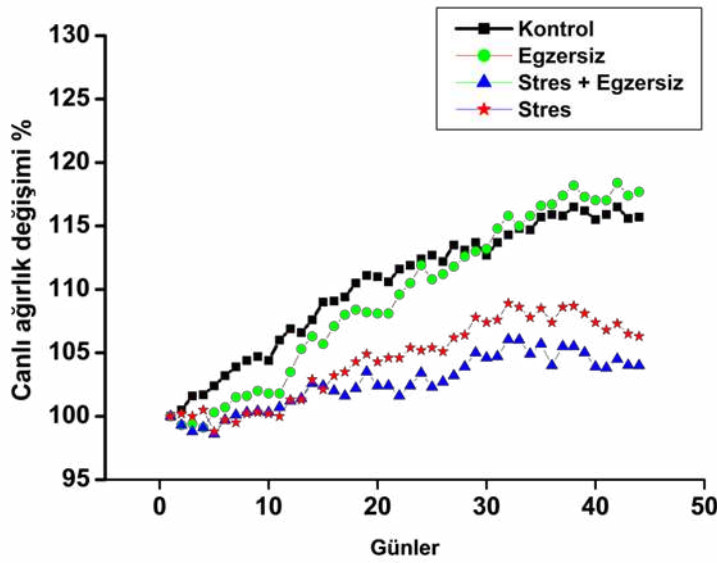
Şekil 18. Kümülatif Yem Tüketimi

Gruplar arasındaki su tüketimi değerlendirildiğinde, kontrol grubu ile egzersiz grubu arasında 19. günden itibaren, kontrol grubu ile stres+egzersiz grubu arasında ise 20. günden itibaren istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlendi. Yapılan değerlendirmede egzersizin kümülatif su tüketiminde azalmaya yol açtığı görüldü (Şekil 19).



Şekil 19. Kümülatif Su Tüketimi.

Yüzde ağırlık değişimi yönünden değerlendirildiğinde, kontrol grubu ile stres+egzersiz grubu arasında 15. günden itibaren, kontrol grubu ile stres grubu arasında 15 ile 27. günler arasında, egzersiz ile stres+egzersiz grubu arasında 22. günden itibaren, egzersiz ile stres grubu arasında 36. günden itibaren istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar belirlendi. Genel olarak, stresin canlı ağırlık artışında azalmaya yol açtığı görüldü (Şekil 20).



Şekil 20. Canlı Ağırlık Değişimi.

5.2. Doku Ağırlıkları

Tüm gruplardaki hayvanların doku ağırlıkları değerlendirildiğinde; Stres ve egzersizin birlikte uygulandığı hayvanların epididimis, epididimal yağ ve karaciğer ağırlıklarında kontrol gruplarına göre azalma meydana geldiği görülmüştür. Diğer doku ağırlıklarındaki değişimler ise istatistiksel öneme kavuşmamıştır.

Tablo 11. Doku Ağırlıkları (n=10 her bir grup için).

GRUPLARIN ORTALAMA DOKU AĞIRLIKLARI				
<u>Dokular</u>	<u>Kontrol</u>	<u>Egzersiz</u>	<u>Stres</u>	<u>Stres+Egzersiz</u>
Beyin	1.98±0.03	1.97±0.03	2.04±0.02	1.97±0.03
Testis	2.9±0.07	2.87±0.1	2.9±0.1	2.6±0.2
Epididimis	1.26±0.03	1.14±0.03	1.18±0.03	1.07±0.05 ^{*a}
Prostat	1.13±0.08	1.03±0.07	0.96±0.07	0.93±0.04
Pankreas	0.51±0.04	0.5±0.03	0.45±0.03	0.41±0.02
EPD yağ	2.35±0.19	1.86±0.14	1.99±0.14	1.57±0.13 ^{*a}
Seminal Vez.	0.86±0.04	0.79±0.05	0.74±0.03	0.72±0.05
Böbrek	2.66±0.18	2.43±0.07	2.6±0.08	2.4±0.08
Karaciğer	12.79±0.5	11.48±0.2	11.26±0.4 ^{*a}	10.52±0.2 ^{**a}

*: p<0.05, **: p<0.01

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

5.3. Cinsel Davranış Test Sonuçları

Cinsel davranış test sonuçları incelendiğinde (Tablo 12), egzersiz uygulanan strese maruz bırakılmış olan hayvanların ejakülasyon frekansında stres grubuna göre önemli artış gözlenmiştir. Dolayısıyla, egzersizin stresin yol açtığı cinsel performanstaki azalmayı iyileştirici bir etkiye sahip olduğu söylenebilir. Stres

grubunda intromisyon frekansındaki önemli artış ejakülasyon frekansındaki azalmayla ilişkilidir. Post-ejakülasyon aralığı (PEI) süresinin egzersize bağlı olarak azalması, egzersizin stresin yol açtığı cinsel performanstaki azalmayı önleyici etkisinin ilave bir göstergesidir.

Tablo 12. Cinsel Davranış Testi (n=10 her bir grup için)

Parametre	Kontrol	Egzersiz	Stres	Stres+egzersiz
EF (#)	2	2.5±0.1	1.8±0.29	2.6±0.2 ^{*b}
ML (s)	84.9±31.6	69.8±18.7	132.6±43.3	93.4±32
IL (s)	23.4±6.6	24.4±8.2	32.9±9	20.6±5.8
MF (#)	4.8±0.7	7.5±1.6	10.3±3.7	6.2±1.3
IF (#)	11.9±1.4	18.4±1.5	21.3±3.3 ^{*a}	17.2±1.2
III (s)	15.7±2.7	14±1.9	17±2.4	12.7±1.7
EL (s)	354.1±63.2	501.7±66.7	527.6±93.8	419.4±51.1
PEI (s)	494.1±31.7	367.7±29.8 ^{*a}	392.8±22.5	353.6±31.2 ^{**a}
IR1	0.71±0.03	0.72±0.04	0.72±0.04	0.75±0.04
MFT (#)	13±2	14.5±2.5	15.9±3.4	15.5±2.6
IFT (#)	27.2±2.6	34.5±3.8	34.9±4.5	36.5±4.08
IRT	0.67±0.03	0.7±0.04	0.69±0.03	0.7±0.03

*: p<0.05, **: p<0.01

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında

5.4. Kuyruktan Asma Test Sonuçları

Kuyruktan asma testi ile elde edilen veriler değerlendirildiğinde, egzersizin strese bağlı depresyonun önemli belirteçlerinden olan hareketsiz durma zamanını azalttığı görülmüştür (Tablo 13).

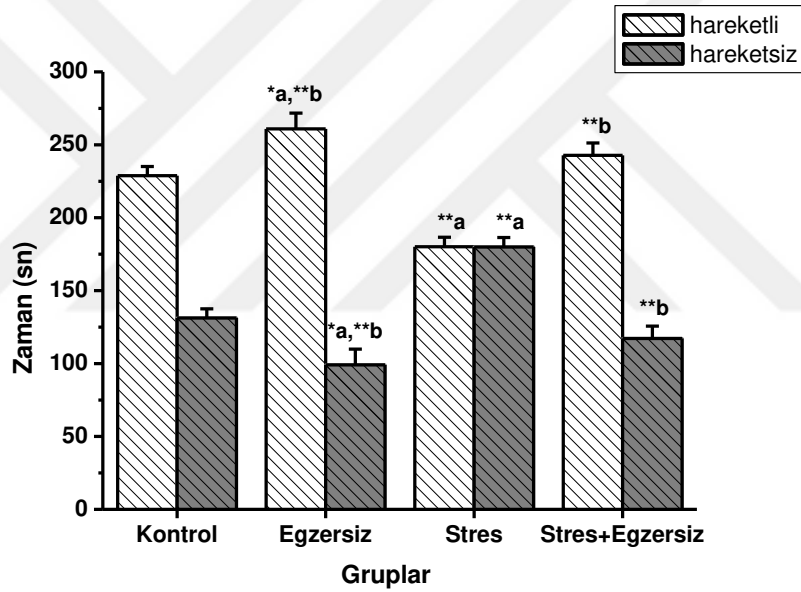
Tablo 13. Kuyruktan Asma Testi (n=10 her bir grup için)

Gruplar	Hareketli Süre (sn)	Hareketsiz Süre (sn)
Kontrol	228.8±6.3	131.2±6.3
Egzersiz	260.9±10.8 ^{*a,**b}	99.1±10.8 ^{*a,**b}
Stres	180.1±6.5 ^{**a}	179.9±6.5 ^{**a}
Stres+Egzersiz	242.8±8.5 ^{**b}	117.2±8.5 ^{**b}

*: p<0.05, **: p<0.01

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında



Şekil 21. Kuyruktan Asma Testi.

5.5. Aydınlik Karanlık Test Sonuçları

Anksiyete durumunu belirlemek için yararlanılan aydınlık-karanlık test sonuçlarına göre, strese maruz bırakılan hayvanlarda karanlıkta kalma süresi aydınlıkta kalma süresine göre anlamlı bir artış göstermiştir (Tablo 14). Egzersiz uygulamasının, strese maruz bırakılmış hayvanlarda gözlemlenen ve anksiyetenin bir belirtici olan karanlıkta kalma süresinde azalmaya yol açtığı belirlenmiştir.

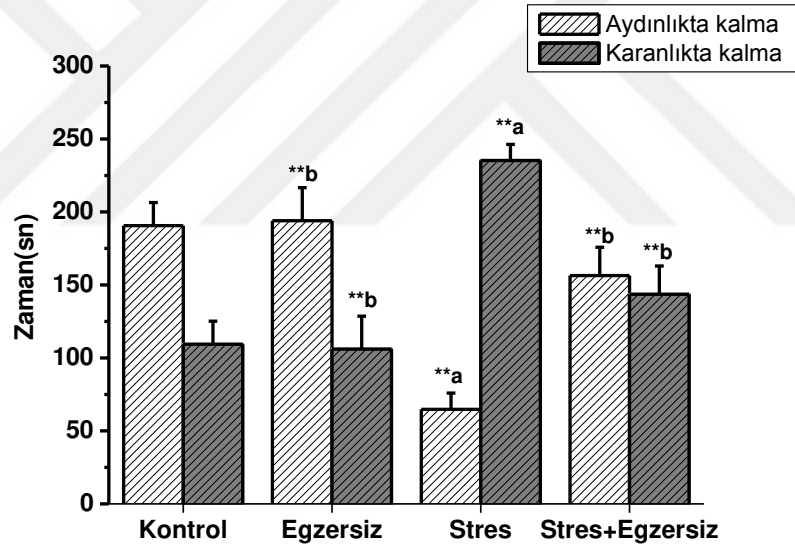
Tablo 14. Aydınlık Karanlık Testi (n=10 her bir grup için)

Gruplar	Aydınlıkta Kalma Süresi (sn)	Karanlıkta Kalma Süresi (sn)	Aydınlıktan Karanlığa Geçiş Sayısı
Kontrol	190.6±15.8	109.4±15.8	4±0.4
Egzersiz	194±22.6 ^{**b}	106±22.6 ^{**b}	3.8±0.2
Stres	64.8±11.1 ^{**a}	235.2±11.1 ^{**a}	4.2±0.6
Stres+Egzersiz	156.4±19.4 ^{**b}	143.6±19.4 ^{**b}	5.4±0.4

*: p<0.05, **: p<0.01

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında



Şekil 22. Aydınlık Karanlık Testi.

5.6. Zorlu Yüzme Test Sonuçları

Depresyon testi olarak kullanılan zorunlu yüzme testi sonuçlarına göre strese maruz bırakılan hayvanlarda floating (immobilite) süresinin önemli ölçüde uzadığı gözlenmiştir (Tablo 15). Böylece kronik fiziksel kısıtlama uygulanarak

oluşturulan stresin depresyona yol açtığı söylenebilir. Strese maruz bırakılan hayvanlarda egzersiz uygulanması immobilité süresini kontrol ve egzersiz grupların ortalama değerlerine yaklaştırmıştır. Böylece, egzersizin strese bağı olarak oluşan depresif etkiyi azalttığı sonucuna varılmıştır. Ayrıca, strese maruz bırakılmayan kontrol grubu hayvanlara göre de egzersizin olumlu etkisi gözlenmiştir.

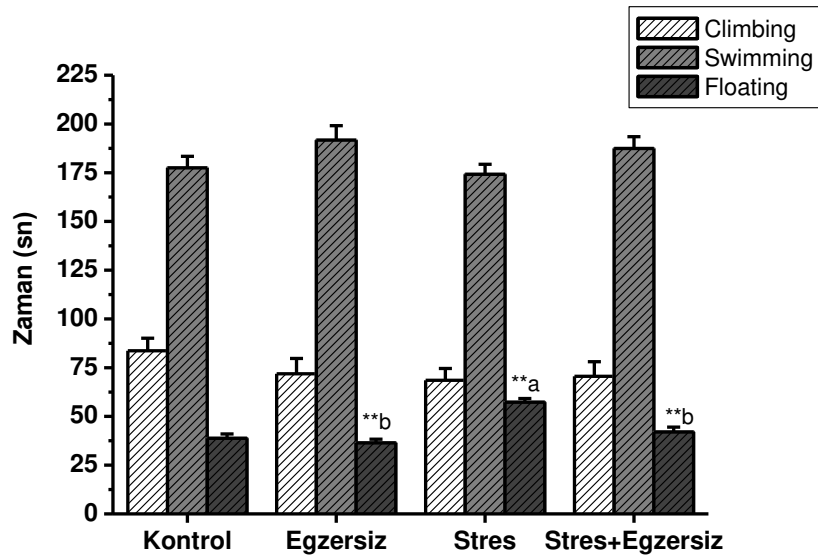
Tablo 15. Zorlu Yüzme Testi (n=10 her bir grup için)

Gruplar	Climbing	Swimming	Floating
Kontrol	83.7±6.4	177.5±5.9	38.8±2.2
Egzersiz	71.9±7.8	191.7±7.4	36.4±1.9 ^{**b}
Stress	68.5±6.1	174.2±5.1	57.3±1.9 ^{**a}
Stres+Egzersiz	70.6±7.5	187.4±6.1	42±2.5 ^{**b}

*: p<0,05, **: p<0,01

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında



Şekil 23. Zorlu Yüzme Testi.

5.7. Açık Alan Test Sonuçları

Lokomotor aktivitenin dolaylı ölçümü olan açık alan testinde, egzersiz grubunda geçilen çizgi sayısı stres grubuna göre önemli düzeyde artış göstermiştir. Buna göre, egzersiz lokomotor aktiviteyi artırmaktadır. Şahlanma sayısındaki önemli yükselme, egzersizin çevreye karşı merak duygusunda artışa yol açtığını göstermektedir (Tablo 16).

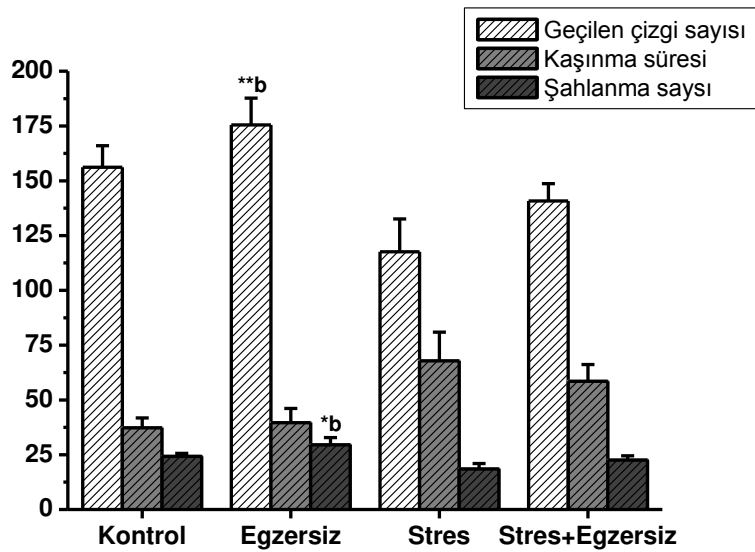
Tablo 16. Açık Alan Testi (n=10 her bir grup için)

Gruplar	Geçilen Çizgi Sayısı	Kaşınma (sn)	Şahlanma Sayısı	Defekasyon Sayısı
Kontrol	156.2±9.8	37.3±4.5	24.2±1.4	5±0.8
Egzersiz	175.5±12.2 ^{**b}	39.6±6.5	29.5±3.3 ^{*b}	3±1.5
Stres	117.6±15	67.8±13.1	18.5±2.5	5±0.7
Stres+Egzersiz	140.8±7.9	58.5±7.7	22.5±2	5.5±0.5

*: p<0.05, **: p<0.01

a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

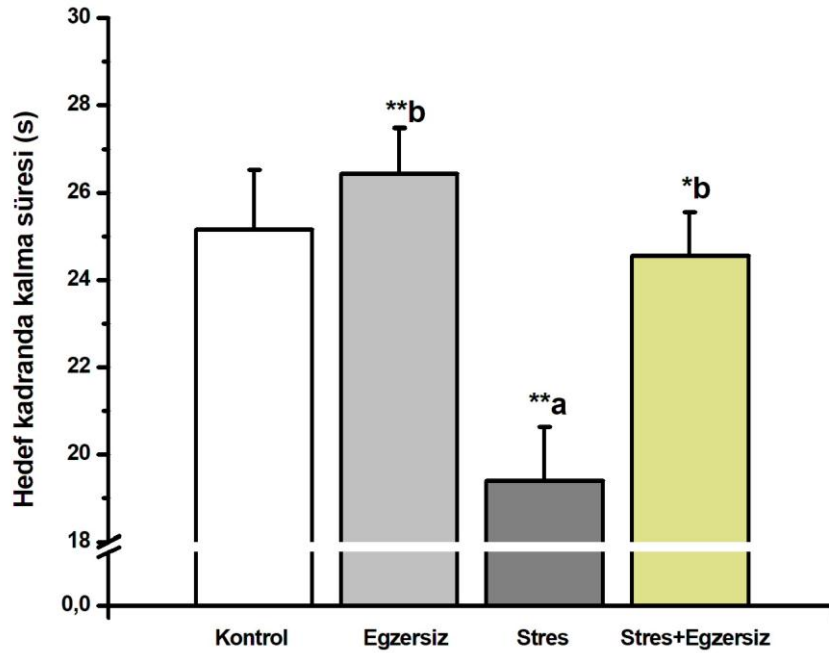
b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında



Şekil 24. Açık Alan Testi

5.8. Morris Su Labirenti Test Sonuçları

Morris su labirenti test sonuçları; deney gruplarındaki hayvanların belirlenmiş hedef kadranda geçirdiği süreler saniye cinsinden hesaplanarak ortaya konmuştur. Yapılan değerlendirmelere göre stres grubundaki hayvanların hedef kadranda geçirdikleri süre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı şekilde azalmıştır ($P<0.05$). Kontrol, egzersiz ve stres + egzersiz grupları arasında hedef kadranda geçirilen zaman bakımından anlamlı bir fark oluşmamışken, bu gruplar stres grubu ile karşılaştırıldığında hedef kadranda anlamlı şekilde fazla zaman geçirmişlerdir.



Şekil 25. Morris Su Labirenti Test Sonuçları (n=10 her bir grup için)

*: $p<0.05$, **: $p<0.01$

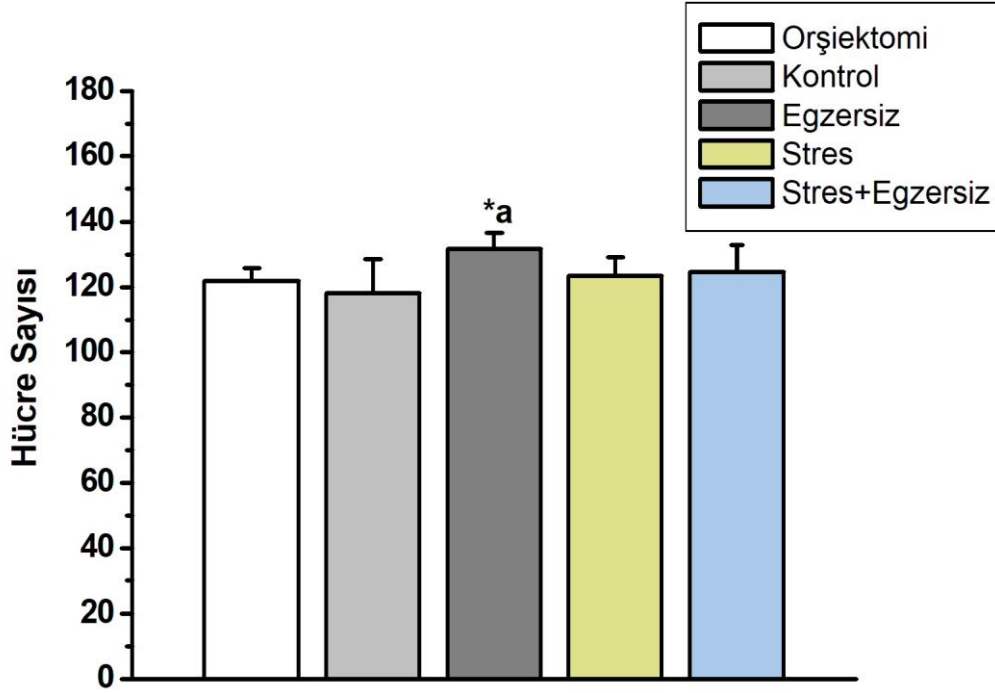
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

b: Stres grubu ile karşılaştırıldığında

5.9. İmmunofloresan Çalışmalar

Hipotalamusun arkuat nükleusunda Cy3 kisspeptin boyama sonrasında ışığa gösteren hücre sayısı kontrol grubu ile kıyaslandığında egzersiz grubunda

istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış göstermiştir (Şekil 26, Tablo 17). Stres+Egzersiz grubunda ise ışına gösteren hücre sayısı kontrol ve stres grubuna göre artış gösterebilirdi istatistiksel olarak anlam kazanmamıştır. Elde edilen bu veriler ile egzersizin kisspeptin nöronlarında immünoreaktif ışımayı arttırdığı belirlenmiştir.

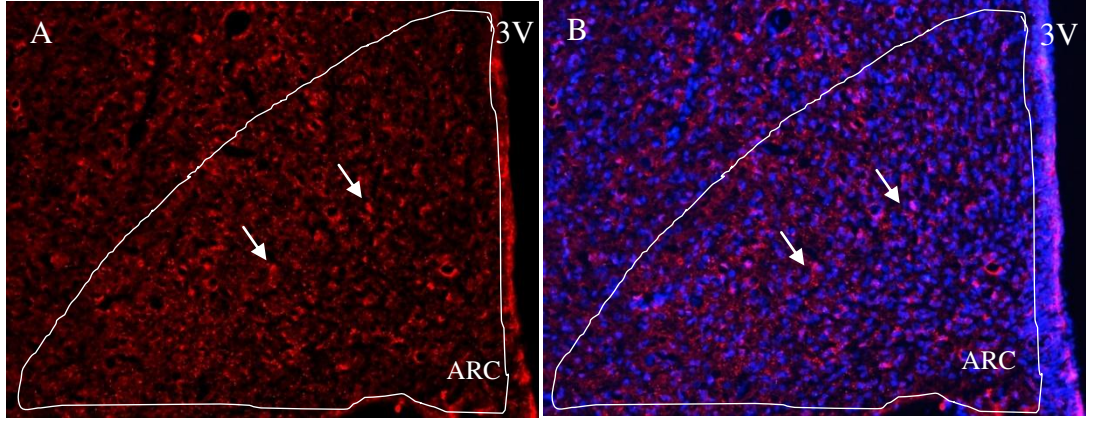


Şekil 26. Arkuat Nükleustaki Kisspeptin İmmünoreaktivitesi Gösteren Hücre Sayısı.

*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$

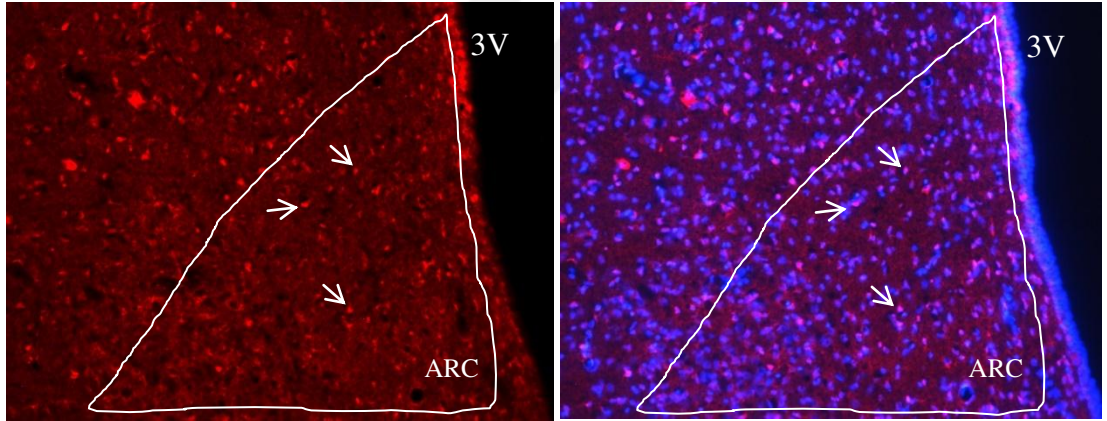
a: Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında

Yapılan immunfloresan görüntüleme sonucunda pozitif kontrol (Şekil 27), kontrol (Şekil 28), egzersiz (Şekil 29), stres (Şekil 30) ve stres+egzersiz (Şekil 31) gruplarına ait beyin kesitlerinde kisspeptin immünoreaktivitesi 20x büyütme ile görüntülenmiştir. Hücre sayıları ile uyumlu olarak egzersiz grubuna ait örneklerde kontrol grubuna göre daha fazla immünoreaktivite belirlenmiştir.



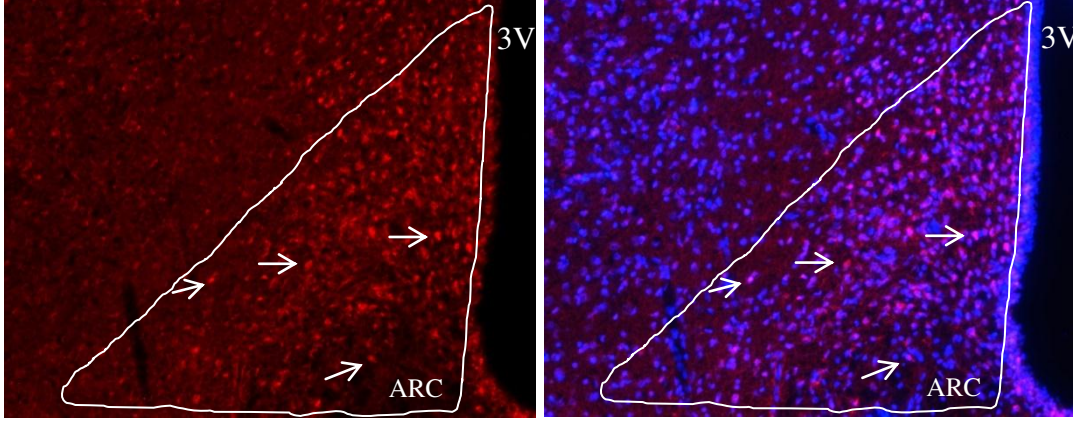
Şekil 27. Pozitif Kontrol (Orşidektomi) Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoreaktivitesi.

Büyütme A, B; 20X. Beyaz oklar kisspeptin eksprese eden nöron gövde ve aksonlarını işaret etmektedir. A; Kisspeptin immünoreaktivitesi (kırmızı flöresan, Cy3, B, Dapi; Mavi flöresan). 3V:Üçüncü Ventrikül, ARC: Arkuat Nükleus



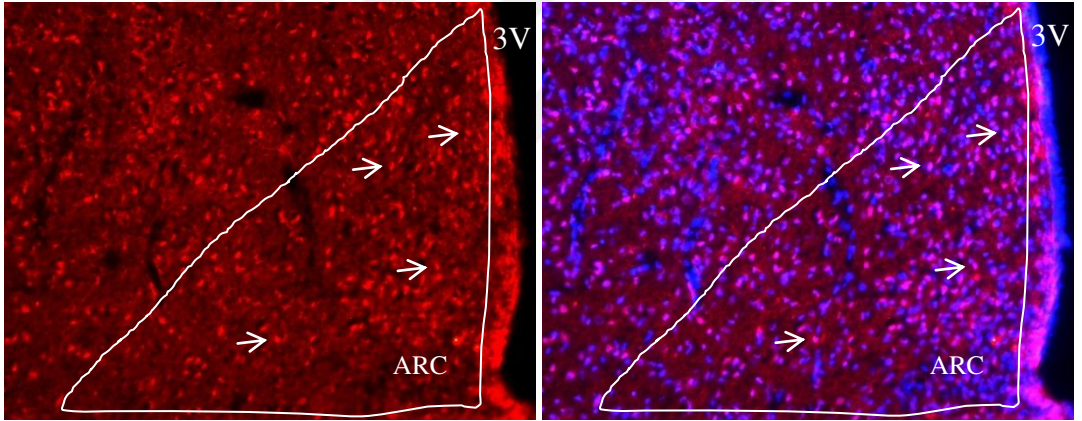
Şekil 28. Kontrol Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoreaktivitesi.

Büyütme C,D; 20X. Beyaz oklar kisspeptin eksprese eden nöron gövde ve aksonlarını işaret etmektedir. C; Kisspeptin immünoreaktivitesi, (kırmızı flöresan, Cy3, D; Dapi; Mavi flöresan). 3V:Üçüncü Ventrikül, ARC: Arkuat Nükleus



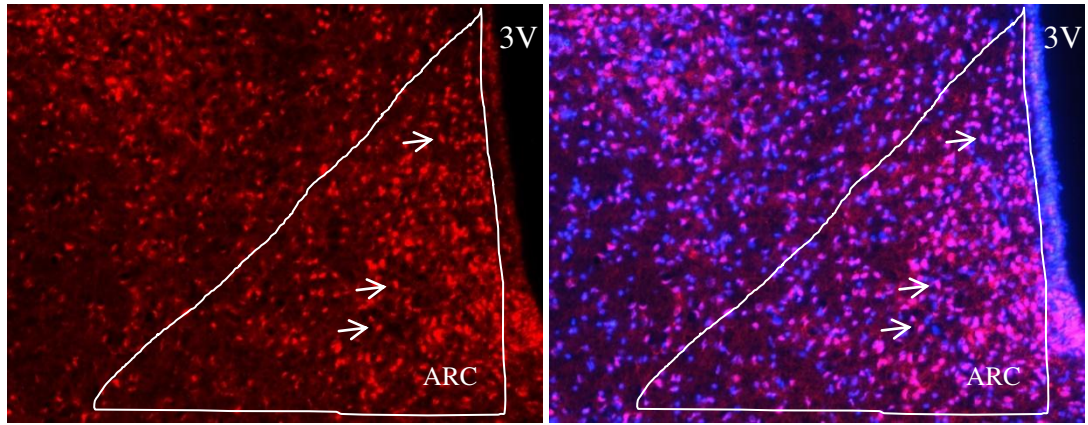
Şekil 29. Egzersiz Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoreaktivitesi.

Büyütme E,F; 20X. Beyaz oklar kisspeptin eksprese eden nöron gövde ve aksonlarını işaret etmektedir. E; Kisspeptin immünoreaktivitesi, (kırmızı flöresan, Cy3, F; Dapi; Mavi flöresan). 3V:Üçüncü Ventrikül, ARC: Arkuat Nükleus.



Şekil 30. Stres Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoreaktivitesi.

Büyütme G,H; 20X. Beyaz oklar kisspeptin eksprese eden nöron gövde ve aksonlarını işaret etmektedir. G;Kisspeptin immünoreaktivitesi (kırmızı flöresan, Cy3, H, Dapi; Mavi flöresan3V:Üçüncü Ventrikül, ARC: Arkuat Nükleus



Şekil 31. Stres+Egzersiz Grubunda Arkuat Nükleusta Kisspeptin İmmünoreaktivitesi.

Büyütme I, İ; 20X. Beyaz oklar kisspeptin eksprese eden nöron gövde ve aksonlarını işaret etmektedir. I; Kisspeptin immünoreaktivitesi (kırmızı floresan, Cy3, İ, Dapi; Mavi floresan). 3V: Üçüncü Ventrikül, ARC: Arkuat Nükleus.

5.10. RT-PCR Yöntemiyle Gen İfadesi Analizi

Stres ve egzersizin farklı beyin bölgelerinde gen ifadeleri üzerine etkileri kat artışı olarak Tablo 17 ve Tablo 18’de gösterilmiştir.

Tablo 17. RT-PCR Yöntemiyle Gen İfadelerinin Hipotalamus ve Hipokampus Bölgelerinde Kat Artışı Olarak Gösterilmesi

Genler	Hipotalamus			Hipokampus		
	Stres	Str+Egz	Egz	Stres	Str+Egz	Egz
Kiss 1	0.4 ^a	0.3 ^a	10.6 ^{abc}	1.2	0.9	9.4 ^{abc}
Kiss 1R	0.5	0.2 ^a	3.2 ^{abc}	1	0.8	6 ^{abc}
NPVF	0.4 ^a	0.2 ^{ab}	1.6 ^{abc}	0.8	0.6	2.4 ^c
HTR2A	0.3 ^a	0.08 ^{ab}	0.4 ^{ac}	0.5	0.1 ^{ab}	0.3 ^{ac}
HTR2C	0.9	0.6	1.2	0.8	0.7	0.5
POMC	1.3	1	5.1 ^{abc}	1.5	0.8	4.7 ^{abc}
DRD1	0.4	0.2 ^a	0.9 ^c	1.6	1.1	5.2 ^{abc}
DRD2	0.6	0.3 ^a	2.4 ^{abc}	1.1	0.7	3.5 ^{abc}
BDNF	0.3 ^a	0.4 ^a	1.4 ^{bc}	1.1	1.4	1.5
MC4R	0.3 ^a	0.1 ^a	2.2 ^{abc}	1.2	1.2	5.5 ^{abc}

^a, kontrol grubu ile kıyaslandığında

^b, stres grubu ile kıyaslandığında

^c, stres+egzersiz grubu ile kıyaslandığında

Tablo 18. RT-PCR Yöntemiyle Gen İfadelerinin Prefrontal Korteks ve Corpus Striatum Bölgelerinde Kat Artışı Olarak Gösterilmesi

Genler	<u>Prefrontal korteks</u>			<u>Corpus striatum</u>		
	Stres	Str+Egz	Egz	Stres	Str+Egz	Egz
Kiss 1	0.2 ^a	0.3 ^a	14 ^{abc}	1.6	2.2 ^a	8.6 ^{abc}
Kiss 1R	0.2 ^a	0.3 ^a	4.5 ^{abc}	1.1	0.8	2.5 ^{ac}
NPVF	0.1 ^a	0.2 ^a	2.1 ^{abc}	0.6	0.6	1.3
HTR2A	0.9	0.1 ^{ab}	0.4 ^{ac}	0.5	0.1 ^b	0.4 ^c
HTR2C	0.8	0.9	1.3	1	0.9	0.8
POMC	0.6	0.7	4.4 ^{abc}	1.1	0.9	2.3 ^{ac}
DRD1	1	0.9	2.8 ^{abc}	0.8	0.8	0.9
DRD2	0.9	0.4 ^a	2.2 ^{bc}	0.8	0.6	0.8
BDNF	0.8	1.1	2.4 ^{ab}	0.8	0.9	1.2
MC4R	0.6	0.5	5.1 ^{abc}	1.3	1.4	2.9 ^a

^a, kontrol grubu ile kıyaslandığında

^b, stres grubu ile kıyaslandığında

^c, stres+egzersiz grubu ile kıyaslandığında

6. TARTIŞMA

Dış çevre ile olan etkileşimler ve vücudun içinde meydana gelen değişiklikler organizmada birtakım cevaplar oluşturur. Oluşturulan bu cevaplar meydana gelen değişikliklere uyum sağlama konusunda yeterli olabileceği gibi, bazı durumlarda bu değişikliklerin sebep oldukları sinyaller vücutta geçici veya kalıcı fizyolojik problemlere yol açabilir. Bu bağlamda stres olgusunun kullanışlı bir tanımlanması Hans Selye tarafından yapılmıştır. Selye'ye göre stres, uyaranlara karşı vücudun oluşturduğu spesifik olmayan yanıtlardır. Yine Selye'ye göre strese karşı oluşan yanıt "Genel Adaptasyon Sistemi" olarak adlandırılmıştır (7,8). Stresin genel tanımı fizyolojik veya psikolojik değişimlere sebep olan herhangi bir değişim olduğu için, zararlı sonuçlar doğuran stres tipleri olduğu gibi faydalı sonuçları olan veya gözlemlenebilir bir değişikliğe yol açmayan stres etmenleri de mevcuttur (12). Ancak çalışma konusuna uygunluğu nedeni ile stres ve stres faktörleri negatif sonuca sebep olanlardan seçilerek açıklanmaya çalışılmıştır.

Çalışmanın bir diğer parçası olan egzersiz, bir tür fizyolojik stres olarak tanımlanabilse de, stresin yarattığı fizyolojik ve psikolojik bozuklukların giderilmesinde veya baskılanmasında olumlu katkı sunduğuna dair çok sayıda çalışma mevcuttur.

Çalışmadaki temel amaç, egzersizin stres yanıtının sebep olduğu fizyolojik veya psikolojik olumsuzlukların giderilmesi veya baskılanmasında rolü olup olmadığını görmektir. Çalışmada model organizma olarak sıçan kullanıldığı için belirlenmiş davranış testleri aracılığı ile fizyolojik ve psikolojik stres yanıtı seviyeleri belirlenmiştir. Çalışma bağlamında, stres parametrelerinden olan

depresyon ölçümü için kuyruktan asma testi ve zorlu yüzme testi, anksiyete ölçümü için aydınlık-karanlık testi ve açık alan testi, öğrenme ve hafızayı ölçmek için ise Morris su labirenti testi kullanıldı.

Çalışma sonunda elde edilen sonuçlar doğrultusunda; gıda alımı ölçümlerine göre, egzersiz grubunda, kontrol ve stres gruplarına kıyasla yem tüketimi artarken, egzersizin yol açtığı bu artış stres etkisiyle azalmıştır. Farelerde yapılan bir çalışmada, kronik kısıtlama stresi sonucunda besin alımının baskılandığı gözlenmiştir (303). Yine başka çalışmalarda da kısıtlama stresine maruz kalan Zucker diyabetik yağlı sıçanlarda besin alımında azalma gözlenmiştir (304, 305). Yaptığımız çalışmada da literatürle uyumlu bir şekilde besin alımı strese bağlı olarak azalmıştır. Depresyon ve anksiyetenin besin alımını azaltan bir faktör olduğu ve egzersizin, strese bağlı depresyon ve anksiyete benzeri davranışlarda azalmaya yol açtığı belirtilmiştir (306). Stres+egzersiz grubunda, stres grubuna göre yem tüketiminin uzun dönemde artması egzersiz sonucu azalan depresyon ve anksiyete benzeri davranışların yem tüketimini azaltıcı etkilerinin hafiflemesi ve artan enerji ihtiyacı sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Su tüketiminde ise egzersizin sebep olduğu bir azalma görülmüştür. Daha önce yapılan bir çalışmada, kronik kısıtlama stresine maruz bırakılan sıçanların su tüketim miktarında, kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmazken (307), Zucker diyabetik yağlı sıçanların kullanıldığı başka bir çalışmada ise, egzersiz yaptırılan sıçanların, sedanter yaşayan sıçanlara göre daha fazla su tükettiği belirlenmiştir (308). Diğer bir çalışmada ise uzun süreli stres uygulanan hayvanlarda kontrol grubuna göre su tüketiminde anlamlı bir artış gözlenirken, egzersizin stres kaynaklı bu artışı azalma yönünde düzelttiği belirlenmiştir (306). Yaptığımız

çalışmada da elde ettiğimiz veriler egzersizin kümülatif su tüketiminde azalmaya yol açtığını göstermiştir. Su tüketiminde görülen azalmanın vazopressin ve anjiyotensin sistemlerindeki değişiklikler sonucunda değişen sıvı tüketimi davranışından kaynaklanabileceği düşünülmüştür (309).

Çalışma süresince günlere bağlı olarak yüzde ağırlık değişimi değerlendirildiğinde, kısıtlama stresinin canlı ağırlıkta azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. Yapılan bir çalışmada da kronik kısıtlama stresine maruz kalan hayvanlarda vücut ağırlığının kontrol gurubuna oranla daha az arttığı gösterilmiştir (310). Bununla birlikte stres ve stres+egzersiz gruplarının vücut ağırlıkları kıyaslandığında, literatürle uyumlu olarak (311), stres+egzersiz grubunun vücut ağırlığının, stres grubundan yalnızca 36. günden sonra anlamlı bir şekilde az olduğu görülmüştür. Bu veriler stresin yol açtığı yem tüketimindeki azalma ile birlikte vücut ağırlığı artışı üzerine negatif etkide bulunduğunu göstermektedir.

Doku ağırlıkları ölçümünde istatistiksel olarak anlamlı fark stres+egzersiz grubu ile kontrol grubu arasında görülmüştür. Buna göre; epididimis, epididimal yağ ve karaciğer ağırlıkları stres+egzersiz grubunda daha düşük ölçülmüştür. Bu değişimin stres ve egzersizin birlikte uygulanmasının bir sonucu olarak ortaya çıktığı düşünülebilir. Karaciğer ağırlığındaki düşüşün ise stres sonucu artış gösteren adrenalin ve kortikosteron etkisiyle karaciğerde artan metabolik faaliyetler ve özellikle glikojenoliz metabolizmasından kaynaklanabileceği yorumu yapılabilir.

Çalışmamızda ayrıca stresin cinsel aktivite üzerine olası etkilerinin ortaya konulması da amaçlanmıştır. Stres sonucu aktive olan HPA aksın, farklı bileşenleri aracılığı ile reproduktif aksı inhibe ettiği bilinmektedir (184,185).

Stres ve egzersizin ayrı ayrı ve birlikte olduğu durumlarda cinsel parametrelerin değerlendirmesi için cinsel davranış testi kullanıldı. Yapılan bir çalışmada kronik hafif strese maruz kalan sıçanların, cinsel davranış parametrelerinde kötüleşme görülmüştür. Aynı çalışmada, cinsel performansın bir göstergesi olan ejakülasyon frekansının strese bağlı olarak azaldığı, ancak bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilirken, egzersiz uygulamasının bu düşüşü egzersiz seviyesine çektiği gösterilmiştir (312). Bununla birlikte bazı çalışmalar, egzersiz uygulamasının erkek sıçanlarda testosteron seviyelerini arttırdığını (313) ve kronik stres maruziyetinin ise testosteron seviyelerini azalttığını göstermiştir (314). Literatürle uyumlu olarak çalışmamızda da belirlenen, stres grubu ile stres+egzersiz grubu arasındaki iki önemli ölçüm farkı, egzersizin stres kaynaklı cinsel performans düşüşüne iyileştirici bir etkisi olduğunu göstermektedir. Bu farklardan ilki, stres+egzersiz grubunda ölçülen daha yüksek ejakülasyon frekansı, ikincisi ise azalan post-ejakülatör aralıktır. Stres grubunda belirlenen intromisyon frekansındaki önemli artışın ise ejakülasyon frekansındaki azalma ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Elde edilen veriler değerlendirildiğinde, egzersizin, stresin yol açtığı cinsel performanstaki azalmayı iyileştirici bir etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Kuyruktan asma testinde hareketsiz kalınan süre ümitsizliği belirten depresyon benzeri davranış olarak kabul edildi (288). Farelerle yapılan bir çalışmada, 21 gün boyunca kısıtlama stresine maruz bırakılmış hayvanların

kontrol hayvanlarına göre daha fazla hareketsiz kaldığı gösterilmiştir (315). Ovariectomize sıçanlarda yapılan başka bir çalışmada da egzersiz uygulanan hayvanların hareketsiz kalma süresinde egzersiz uygulanmayanlara göre anlamlı bir azamla olduğu bildirilmiştir (316). Çalışmamızdan elde ettiğimiz veriler literatür ile uyumlu olarak, stres grubunda kontrol grubuna göre hareketsiz kalınan zamanın anlamlı bir şekilde arttığını ve hareketli zamanın azaldığını göstermiştir. Egzersiz varlığında ise sıçanlarda depresyon benzeri davranış olarak değerlendirilen hareketsiz durma zamanının azaldığı görülmüştür. Bu veriler ışığında; egzersiz uygulamasının depresyon varlığında ortaya çıkan ümitsizlik davranışını olumlu yönde değiştirdiği söylenebilir.

Anksiyete seviyesinin ölçümü için kullanılan aydınlık-karanlık testinde, aydınlık tarafta geçirilen süre anksiyolitik davranış, karanlık tarafta geçirilen süre ise anksiyojenik davranış göstergesidir (290). Daha önce yapılan bir çalışmada, kronik kısıtlama stresine maruz bırakılan farelere uygulanan aydınlık karanlık testinde anksiyolitik davranışlar gözlenmiştir (317). Yapılan başka bir çalışmada ise yaptığımız çalışmaya benzer şekilde strese maruz bırakılmış sıçanların aydınlıkta kalma sürelerinde kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma görülürken, egzersizin bu süreyi arttırdığı görülmüştür (306). Elde edilen veriler stres varlığında ortaya çıkabilecek anksiyete durumlarında egzersiz uygulamasının olumlu yönde etki edebileceğini işaret etmektedir.

Zorlu yüzme testi, duygu durumu ve depresyon benzeri davranışları belirlemek amacıyla uygulanan bir testtir (278). Bu testte depresyon belirtici ümitsizliği işaret eden hareketsiz kalma süresidir. Çalışmamızda da strese maruz bırakılmış hayvanların duygu durumu ve depresyon benzeri davranışları üzerinde

egzersizin etkisini gözlemlemek amacıyla uygulanmıştır. Yapılan bir çalışmada uzayan sürelerde kısıtlama stresine maruz bırakılan sıçanlarda hareketsizlik süresinin arttığı görülmüştür (318). Başka bir çalışmada ise strese maruz bırakılmış overoktemize sıçanlarda kronik egzersiz uygulamasının, bu test ile ölçülen depresyon benzeri davranış parametrelerinde olumlu değişikliğe yol açtığı belirtilmiştir (319). Yaptığımız çalışmadan elde edilen veriler literatürde gösterilmiş verilerle uyumludur. Uyguladığımız zorlu yüzme testinde depresyon belirteci olan hareketsiz kalma süresi strese maruz kalan hayvanlarda diğer gruplara kıyasla daha fazla ölçülmüştür. Bu sonuç, uygulanan stresin depresyona yol açtığını göstermekle birlikte, stres+egzersiz grubunun hareketsiz kalma süresi kontrol ve egzersiz grubunun hareketsiz kalma sürelerinin ortalamasına yakındır. Bu da egzersizin stres kaynaklı depresyon etkisini baskılayabildiğini göstermektedir.

Açık alan testinde, horizontal ve vertikal hareketler, grooming davranışı gibi parametreler ölçüldü. Bu davranışlarda görülen fazlalık anksiyolitik, azalma ise anksiyojenik olarak değerlendirildi (297). Yapılan çalışmalarda, strese maruz bırakılmış açık alan testi uygulanan sıçanlarda hareketsizliğin anlamlı şekilde arttığı görülmüştür (320). Kronik kısıtlama stresi oluşturulmuş farelerin kullanıldığı başka bir çalışmada ise egzersizin, stresle indüklenmiş ve açık alan testiyle belirlenen anksiyete benzeri davranış parametrelerinde düzelmeye yol açtığı gösterilmiştir (321). Yaptığımız çalışmada literatür ile uyumlu olarak, egzersiz grubunda geçilen çizgi sayısı ve şahlanma sayısı stres grubuna göre anlamlı düzeyde artmış olarak belirlendi. Bunun yanında, stres+egzersiz grubu stres grubuna göre daha hareketli olarak gözlemlendi ancak hareketlilikteki artış

istatistiksel olarak anlamsız bulundu. Yapılan bu test ile egzersizin anksiyolitik etkisinin yanında lokomotor aktivite ve çevreye karşı merak olgusunda da artışa sebep olduğu gösterilmiştir.

Morris su labirenti testinde, öğrenme ve hafızayı ölçmek adına platformun bulunduğu yerde geçirilen süre, hedef bölgenin yakınında geçirilen süre ve platformun bulunduğu bölgeden geçiş sayısı ölçüldü. Yapılan bazı çalışmalarda kronik kısıtlama stresine maruz kalan hayvanların hafızaları değerlendirilmiş ve kontrol grubuna göre anlamlı şekilde bozulma görülmüştür (320). Bir başka stres modeli olan kronik yorgunluk uygulamasında ise egzersizin, stres maruziyeti ile bozulmuş hafıza verilerini olumlu yönde değiştirdiği gözlenmiştir (322). Yaptığımız çalışmada da literatür ile uyumlu olarak stres grubundaki hayvanların diğer gruplara göre hedef bölgede geçirdikleri süre anlamlı olarak azalırken, egzersiz uygulamasının, stres sebebiyle oluşan hafıza bozulmasına anlamlı olarak olumlu yönde etki ettiği görüldü. Elde edilen veriler ışığında, stres varlığında oluşabilecek öğrenme ve hafıza olgularındaki bozulmanın egzersiz uygulaması ile azaltılabileceği görülmüştür. Egzersizin bu etkisinin HPA aks yanıtını baskılaması ile GR aktivasyonunu azaltılması ve beyinde nöronal plastisite üzerindeki olumlu etkileri sonucu ortaya çıktığı düşünülebilir.

Deney süresinin sonunda hayvanlar sakrifiye edilerek, cinsiyet hormonlarını uyaran ve üremede önemli rolü olan (220, 221) Kisspeptin hormonunun immünohistokimyasal çalışması için beyin örnekleri alınıp hazırlandı. Stres ile egzersizde rolü olan nöropeptitler, nörotransmitterler ile bunların reseptörlerinin gen ifade analizi için beynin hipotalamus, hipokampus, corpus striatum ve prefrontal korteks bölgelerinden örnekler alındı.

Kisspeptin hedefli immünofloresan çalışma, egzersiz grubunun istatistiki olarak anlamlı biçimde diğer gruplardan daha fazla Kisspeptin salınımı yapan hücre barındırdığını göstermiştir ki bu sonuç cinsel davranış testi ile de uyumludur. Bu veri ışığında egzersizin cinsel davranışlarda meydana getirdiği olumlu değişimin yalnızca HPA aksın üreme üzerindeki olumsuz etkilerini azaltmak değil, aynı zamanda kisspeptin salınımı ile GnRH salınımının uyarılarak Gonadal aksın aktivasyonunu sağlamasında rol oynadığı söylenebilir. Diğer gruplar arasındaki karşılaştırmalar istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bir diğer değerlendirme hipotalamus, hipokampus, prefrontal korteks ve corpus striatumda stres ve egzersiz ile ilgili moleküllerin gen ifadesi analizidir. Seçilen genler; BDNF, DRD1, DRD2, Kiss1R, Kiss1, MC4R, POMC, HTR2A, HTR2C ve NPVF'dir. Dopamin reseptörleri G protein kapılı ikincil haberciler aracılığı ile sinyal ileten integral membran proteinleridir. Merkezi sinir sisteminde dopamin, lokomotor aktivitenin kontrolü, nöroendokrin sekresyon, motivasyon, duygusal süreçler, öğrenme, kognitif süreçlerde işlevseldir (323). Dopaminin ayrıca erkek cinsel davranışında etkili olduğu bilinmektedir (324). Merkezi sinir sisteminde ekspresyonu görülen melanokortin-4 reseptörü (MC4R) G protein kapılı ikincil haberciler aracılığı ile sinyal iletmekte olup beslenme ve enerji dengesinin sağlanmasında fonksiyoneldir. α -melanosit stimulan hormon (α -MSH), endojen MC4R agonistleri, agouti-related peptide (AGRP), ve endojen MC4R antagonistleri MC4R üzerinde etkilidir. MC4R hipotalamusta paraventriküler ve arkuat nukleusta yüksek seviyede ifade olmaktadır. Beynin bu bölümlerinin stres aksının aktivitesini direkt olarak düzenlemesi, MC4R'nin stres yanıtı üzerindeki etkisini işaret etmektedir (325). Büyük bir peptid olan pro-opiomelanokortin

(POMC); beta-endorfin, adrenokortikotropik hormon (ACTH) ve melanokortin de dahil olmak üzere pek çok nöropeptidin prekürsörüdür (326). Evrimsel olarak korunmuş bir molekül olan serotonin (5-HT) beyin sapında sentezlenmekte olup tüm beyinde çok sayıda farklı reseptöre bağlanarak etki göstermektedir. Serotonin reseptörleri HTR2A ve HTR2C'nin hipokampüste dorsal-ventral aks boyunca değişken bir şekilde eksprese edildiği bilinmektedir (327). RFamid grubu peptidlere dahil olan Nöropeptid VF (NPVF), merkezi otonom ve nöroendokrin regülasyonun da dahil olduğu çeşitli fizyolojik işlevler ile ilişkilendirilmektedir. NPVF, nörohormonların salınımı için önem taşıyan ve sempatik akışın düzenlenmesinde görevli hipotalamik paraventriküler nukleusta (PVN) bulunan NPFF1 ve NPFF2 reseptörlerine bağlanarak etki göstermektedir (328).

Her dört beyin bölgesinde egzersiz grubunda diğer gruplara kıyasla Kisspeptin (Kiss1) ve Kisspeptin reseptörü (Kiss1R) ifadesinde önemli artış vardır. Bununla birlikte diğer gruplar ile kontrol grubu arasındaki Kiss1 ve Kiss1R ifade farkı çok daha azdır. İlgili beyin bölgelerinde Kiss1 ve Kiss1R gen ifadelerindeki artış, egzersizin cinsel performans üzerindeki olumlu etkilerinin bir göstergesidir.

Yakın zamanda yapılmış olan bir çalışma, kronik stresin sıçanlarda arkuat nukleusta MC4R ekspresyonunda artışa sebep olduğunu göstermektedir (329). Ayrıca akut stresin ratlarda amigdalada (330) ve farelerde hipotalamusta (331) MC4R mRNA seviyelerinde artışa sebep olduğu bilinmektedir. Yapılan çalışmada hipokampüste Melanokortin-4-Reseptör (MC4R), Dopamin Reseptör 1 (DRD1) ve Dopamin Reseptör 2 (DRD2) ifadeleri egzersiz grubunda diğer gruplara kıyasla önemli artış göstermiştir. Aynı durum hipotalamusta da görülmüştür ancak

egzersiz grubu hipotalamusunda DRD1 artışı görülmemiştir. DRD1 ve DRD2 gen ifadelerindeki artış egzersizin depresyon ve anksiyete üzerindeki olumlu etkilerinin bir göstergesi olarak yorumlanabilir. Egzersiz grubu prefrontal korteksinde diğer gruplara kıyasla Kiss1, Kiss1R, DRD1, DRD2, BDNF, MC4R, NPVF ve Pro-opiomelanokortin (POMC) ifadesinde önemli artış görülmüştür. Corpus striatumda ise önemli farklılıklar egzersiz grubu ile diğer gruplar arasında Kiss1, egzersiz grubu ile kontrol ve stres+egzersiz grupları arasında Kiss1R, egzersiz grubu ile kontrol grubu arasında POMC ve MC4R ifadesinde görülmüştür. Egzersiz gruplarında bu genlerin ifadesi artmıştır. Bu gen analizi çalışması, stres yanıtında ve kontrolünde önemli rol oynayan genlerin (BDNF gibi), yine stres etkilerinin giderilmesine yardımcı olan nörotransmitter ve reseptörlerinin genlerinin (DRD1-2 gibi) ve stresin fizyolojik etkisini gösterip baskıladığı genlerin (Kiss1 ve Kiss1R gibi) egzersiz varlığında önemli ölçüde arttığını göstermektedir. BDNF gen ifadesindeki artışlar egzersizin öğrenme ve hafıza üzerindeki olumlu etkilerini işaret etmekte ve Morris su labirenti testinde elde edilen bulgularla da desteklemektedir.

Daha önce anlatılan davranış testleriyle birlikte tüm bu sonuçlar, önceki çalışmalarda da saptanan stres etkileri ile hem fizyolojik hem de psikolojik bağlamda tutarlı bir tablo sunup, egzersizin stres varlığında öngörülen iyileştirici etkisini davranış, doku, immünohistokimyasal ve gen boyutunda göstermiştir. Bununla birlikte, stres+egzersiz koşulunun iki parametresinin birlikte geliştirilmeyip önce kronik stresin yaratıldığı ve stres kronikleştikten sonra egzersiz uygulamasına geçildiği bir sistem gelecekteki çalışmalarda oluşturulabilir. Böylece egzersiz etkisinden bağımsız bir kronik stres modeli

oluşturmak ve egzersizin bu model üzerine etkisini incelemek mümkün olabilir. Bu çalışmanın temel ve örnek oluşturabileceği bir diğer model de psikolojik travma sonucu oluşan kronik stresin etkilerinin egzersiz ile iyileştirilme araştırması olabilir. Böyle bir çalışma özellikle çocukluk evresinde spesifik travmalara maruz kalmış bireyler için kronik stresi bastırmada egzersizin bir rol oynayıp oynayamayacağını veya uygun egzersiz düzeni oluşturma yolunda fikir vererek insanlara da uygulanabilir. Halihazırda aydınlatılmaya muhtaç bir diğer husus ise egzersizin moleküler bağlamda niçin kronik fiziksel stres olarak algılanmadığıdır. Dış kaynaklı herhangi bir kronik stres faktörünün vücutta yarattığı tepkiler ile düzenli egzersizin yarattığı tepkilerin farklarını ve bu farkın nedeni keşfedilirse, bu keşif stres sinyallerinin manipülasyonuna olanak verebilir. Görüldüğü üzere, fiziksel stres bir yana, tek başına akut ya da kronik psikolojik stres bile sadece yaşam kalitesini değil doğrudan yaşam süresini etkileyebilecek niteliktedir. Bu yüzden stres olgusunu kaynakları ve oluşturdıkları tepkilerle birlikte, vücutta harekete geçirdikleri mekanizmaları da değerlendirerek tıpkı enfeksiyon gibi sistemik bir rahatsızlık şeklinde ele almak gerekir.

7. KAYNAKLAR

1. Hinkle LE Jr. The concept of "stress" in the biological and social sciences. *Sci Med Man* 1973; 1: 31-48.
2. Lazarus RS, Folkman S. *Stress, appraisal and coping*. New York: Springer, 1984.
3. Cannon WB. The emergency function of the adrenal medulla in pain and the major emotions. *American Journal of Physiology*, 1914; 33: 356-372.
4. Cannon WB. *The wisdom of the body*. New York: WW. Norton; 1932.
5. Davies KJ. Adaptive homeostasis. *Mol Aspects Med*, 2016; 49: 1-7.
6. Goldstein DS, Kopin IJ. Evolution of concepts of stress. *Stress*, 2007; 10: 109-120.
7. Selye H. The general adaptation syndrome and the diseases of adaptation. *J Clin Med*, 1946; 6: 117-230.
8. Selye H. Stress and disease. *Science*, 1955; 122: 625-631.
9. Ganzel BL, Morris PA, Wethington E. Allostasis and the human brain: Integrating models of stress from the social and life sciences. *Psychol Rev*, 2010; 117: 134-174.
10. McEwen BS. Stressed or stressed out: what is the difference? *J Psychiatry Neurosci*, 2005; 30: 315-318.
11. Dayas CV, Buller KM, Crane JW, Xu Y, Day TA. Stressor categorization: acute physical and psychological stressors elicit distinctive recruitment patterns in the amygdala and in medullary noradrenergic cell groups. *Eur J Neurosci*, 2001; 14: 1143-1152.
12. Seaward BL. *Managing stress. Principles and strategies for health and well-being*. Ninth Edition. Chapter 1: The nature of stress.
13. American Physiological Association, The Different Kinds of Stress (adapted from "The Stress Solution", Lyle H Miller, Alma Dell Smith) <http://www.apa.org/helpcenter/stress-kinds.aspx>. Erişim: 25.06.2017.

14. Mora F, Segovia G, del Arco A, de Blas M, Garrido P. Stress, neurotransmitters, corticosterone and body-brain integration. *Brain Res*, 2012; 1476: 71-85.
15. Carrasco GA, Van de Kar LD. Neuroendocrine pharmacology of stress. *Eur J Pharmacol*, 2003; 463: 235-272.
16. Chrousos GP, Gold PW. The concepts of stress and stress system disorders. Overview of physical and behavioral homeostasis. *JAMA*, 1992; 267: 1244-1252.
17. Charmandari E, Tsigos C, Chrousos G. Endocrinology of the stress response. *Annu Rev Physiol*, 2005; 67: 259-284.
18. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci*, 2006; 8: 383-395.
19. de Kloet ER, Rots NY, Cools AR. Brain-corticosteroid hormone dialogue: slow and persistent. *Cell Mol Neurobiol*, 1996; 16: 345-356.
20. Gunnar M, Quevedo K. The neurobiology of stress and development. *Annu Rev Psychol*, 2007; 58: 145-173.
21. Vollmer RR. Selective neural regulation of epinephrine and norepinephrine cells in the adrenal medulla -- cardiovascular implications. *Clin Exp Hypertens*, 1996; 18: 731-751.
22. Morilak DA, Barrera G, Echevarria J, Garcia AS, Hernandez A, Ma S, Petre CO. Role of brain norepinephrine in the behavioral response to stress. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2005; 29: 1214-1224.
23. Vazquez DM. Stress and the developing limbic-hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Psychoneuroendocrinology*, 1998; 23: 663-700.
24. Lupien SJ, Lepage M. Stress, memory and the hippocampus: can't live with it, can't live without it. *Behavioural Brain Research*, 2001; 127: 137-158.
25. Corwin EJ. *Handbook of Pathophysiology*, 3rd Edition. Chapter 6, Klein LC, Corwin EJ, Homeostasis and the Stress Response. Lippincott Williams & Wilkins, 2008.
26. Joëls M, Baram TZ. The neuro-symphony of stress. *Nat Rev Neurosci*, 2009; 10: 459-466.

27. Ulrich-Lai YM, Herman JP. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nat Rev Neurosci*, 2009; 10: 397-409.
28. Fenoglio KA, Brunson KL, Baram TZ. Hippocampal neuroplasticity induced by early-life stress: functional and molecular aspects. *Front Neuroendocrinol*, 2006; 27: 180-192.
29. de Kloet ER, Joëls M, Holsboer F. Stress and the brain: from adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci*, 2005; 6: 463-475.
30. McEwen BS. Physiology and neurobiology of stress and adaptation: central role of the brain. *Physiol Rev*, 2007; 87: 873-904.
31. Joëls M, Karst H, Krugers HJ, Lucassen PJ. Chronic stress: implications for neuronal morphology, function and neurogenesis. *Front Neuroendocrinol*, 2007; 28: 72-96.
32. Maier SF, Watkins LR. Stressor controllability and learned helplessness: the roles of the dorsal raphe nucleus, serotonin, and corticotropin-releasing factor. *Neurosci Biobehav Rev*, 2005; 29: 829-841.
33. Linthorst AC, Reul JM. Stress and the brain: solving the puzzle using microdialysis. *Pharmacol Biochem Behav*, 2008; 90: 163-173.
34. Mitsushima D, Yamada K, Takase K, Funabashi T, Kimura F. Sex differences in the basolateral amygdala: the extracellular levels of serotonin and dopamine, and their responses to restraint stress in rats. *Eur J Neurosci*, 2006; 24: 3245-3254.
35. Aston-Jones G, Cohen JD. An integrative theory of locus coeruleus-norepinephrine function: adaptive gain and optimal performance. *Annu Rev Neurosci*, 2005; 28: 403-450.
36. Goto Y, Otani S, Grace AA. The Yin and Yang of dopamine release: a new perspective. *Neuropharmacology*, 2007; 53: 583-587.
37. Adamec R, Holmes A, Blundell J. Vulnerability to lasting anxiogenic effects of brief exposure to predator stimuli: sex, serotonin and other factors-relevance to PTSD. *Neurosci Biobehav Rev*, 2008; 32: 1287-1292.
38. Koob GF. A role for brain stress systems in addiction. *Neuron*, 2008; 59: 11-34.

39. Rivier C, Vale W. Modulation of stress-induced ACTH release by corticotropin-releasing factor, catecholamines and vasopressin. *Nature*, 1983; 305: 325-327.
40. Croiset G, Nijssen MJ, Kamphuis PJ. Role of corticotropin-releasing factor, vasopressin and the autonomic nervous system in learning and memory. *Eur J Pharmacol*, 2000; 405: 225-234.
41. Richard D, Lin Q, Timofeeva E. The corticotropin-releasing factor family of peptides and CRF receptors: their roles in the regulation of energy balance. *Eur J Pharmacol*, 2002; 440: 189-197.
42. Sawchenko PE, Imaki T, Potter E, Kovacs K, Imaki J, Vale W. The functional neuroanatomy of corticotropin-releasing factor. *Ciba Found Symp*, 1993; 172: 5-21, discussion 21-9.
43. Bruhn TO, Engeland WC, Anthony EL, Gann DS, Jackson IM. Corticotropin-releasing factor in the adrenal medulla. *Ann NY Acad Sci*, 1987; 512: 115-128.
44. Audhya T, Hollander CS, Schlesinger DH, Hutchinson B. Structural characterization and localization of corticotropin-releasing factor in testis. *Biochim Biophys Acta*, 1989; 995: 10-16.
45. Gallagher JP, Orozco-Cabal LF, Liu J, Shinnick-Gallagher P. Synaptic physiology of central CRH system. *Eur J Pharmacol*, 2008; 583: 215-225.
46. Bale TL, Vale WW. CRF and CRF receptors: role in stress responsivity and other behaviors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 2004; 44: 525-557.
47. Roozendaal B, Brunson KL, Holloway BL, McGaugh JL, Baram TZ. Involvement of stress-released corticotropin-releasing hormone in the basolateral amygdala in regulating memory consolidation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002; 99: 13908-13913.
48. Blank T, Nijholt I, Eckart K, Spiess J. Priming of long-term potentiation in mouse hippocampus by corticotropin-releasing factor and acute stress: implications for hippocampus-dependent learning. *J Neurosci*, 2002; 22: 3788-3794.
49. Chen Y, Bender RA, Brunson KL, Pomper JK, Grigoriadis DE, Wurst W, Baram TZ. Modulation of dendritic differentiation by corticotropin-releasing factor in the developing hippocampus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004; 101: 15782-15787.

50. Chen Y, Dube CM, Rice CJ, Baram TZ. Rapid loss of dendritic spines after stress involves derangement of spine dynamics by corticotropin-releasing hormone. *J Neurosci*, 2008; 28: 2903-2911.
51. Vaughan J, Donaldson C, Bittencourt J, Perrin MH, Lewis K, Sutton S, Chan R, Tumbull AV, Levejoy D, Rivier C. Urocortin, a mammalian neuropeptide related to fish urotensin I and to corticotropin-releasing factor. *Nature*, 1995; 378: 287-292.
52. Reyes TM, Lewis K, Perrin MH, Kunitake KS, Vaughan J, Arias CA, Hogenesch JB, Gulyas J, Rivier J, Vale WW, Sawchenko PE. Urocortin II: a member of the corticotropin-releasing factor (CRF) neuropeptide family that is selectively bound by type 2 CRF receptors. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001; 98: 2843-2848.
53. Li C, Vaughan J, Sawchenko PE, Vale WW. Urocortin III-immunoreactive projections in rat brain: partial overlap with sites of type 2 corticotrophin-releasing factor receptor expression. *J Neurosci*, 2002; 22: 991-1001.
54. Swanson LW, Sawchenko PE. Hypothalamic integration: organization of the paraventricular and supraoptic nuclei. *Annu Rev Neurosci*, 1983; 6: 269-324.
55. Brownstein MJ. Biosynthesis of vasopressin and oxytocin. *Annu Rev Physiol*, 1983; 129-135.
56. Brownstein MJ, Russel JT, Gainer H. Synthesis, transport, and release of posterior pituitary hormones. *Science*, 1980; 207: 373-378.
57. Antoni FA. Vasopressinergic control of pituitary adrenocorticotropin secretion comes of age. *Front Neuroendocrinol*, 1993; 14: 76-122.
58. Whitnall MH. Regulation of the hypothalamic corticotropin-releasing hormone neurosecretory system. *Prog Neurobiol*, 1993; 40: 573-629.
59. Hernando F, Schoots O, Lolait SJ, Burbach JP. Immunohistochemical localization of the vasopressin V1b receptor in the rat brain and pituitary gland: anatomical support for its involvement in the central effects of vasopressin. *Endocrinology*, 2001; 142: 1659-1668.
60. Aguilera G, Rabadan-Diehl C. Vasopressinergic regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: implications for stress adaptation. *Regul Pept*, 2000; 96: 23-29.

61. Raffin-Sanson ML, de Keyzer Y, Bertanga X. Proopiomelanocortin, a polypeptide precursor with multiple functions: from physiology to pathological conditions. *Eur J Endocrinol*, 2003; 149: 79-90.
62. Cone RD, Lu D, Koppula S, Vage DI, Klungland H, Boston B, Chen W, Orth DN, Pouton C, Kesterson RA. The melanocortin receptors: agonists, antagonists, and the hormonal control of pigmentation. *Recent Prog Horm Res*, 1996; 51: 287-317, discussion 318.
63. Simpson ER, Waterman MR. Regulation of the synthesis of steroidogenic enzymes in adrenal cortical cells by ACTH. *Annu Rev Physiol*, 1988; 50: 427-440.
64. Lupien SJ, Maheu F, Tu M, Fiocco A, Schramek TE. The effects of stress and stress hormones on human cognition: Implications for the field of brain and cognition. *Brain Cogn*, 2007; 65: 209-237.
65. Sapolsky RM, Romero LM, Munck AU. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr Rev*, 2000; 21: 55-89.
66. de Kloet ER. Brain corticosteroid receptor balance and homeostatic control. *Front Neuroendocrinol*, 1991; 12: 95-164.
67. Diorio D, Viau V, Meaney MJ. The role of the medial prefrontal cortex (cingulate gyrus) in the regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress. *J Neurosci*, 1993; 13: 3839-3847.
68. Radley JJ, Arias CM, Sawchenko PE. Regional differentiation of the medial prefrontal cortex in regulating adaptive responses to acute emotional stress. *J Neurosci*, 2006; 26: 12967-12976.
69. Sullivan RM, Gratton A. Prefrontal cortical regulation of hypothalamic-pituitary-adrenal function in the rat and implications for psychopathology: side matters. *Psychoneuroendocrinology*, 2002; 27: 99-114.
70. Akana SF, Chu A, Soriano L, Dallman MF. Corticosterone exerts site-specific and state-dependent effects in prefrontal cortex and amygdala on regulation of adrenocorticotrophic hormone, insulin and fat depots. *J Neuroendocrinol*, 2001; 13: 625-637.

71. Feldman S, Conforti N, Saphier D. The preoptic area and bed nucleus of the stria terminalis are involved in the effects of the amygdala on adrenocortical secretion. *Neuroscience*, 1990; 37: 775-779.
72. Jacobson L, Sapolsky R. The role of the hippocampus in feedback regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis. *Endocr Rev*, 1991; 12: 118-134.
73. Kim JJ, Diamond DM. The stressed hippocampus, synaptic plasticity and lost memories. *Nature Rev Neurosci*, 2002; 3: 453-462.
74. Herman JP, Figueiredo H, Mueller NK, Ulrich-Lai Y, Ostrander MM, Choi DC, Cullinan WE. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness. *Front Neuroendocrinol*, 2003; 24: 151-180.
75. Cunningham ET Jr, Bohn MC, Sawchenko PE. Organization of adrenergic inputs to the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus in the rat. *J Comp Neurol*, 1990; 292: 651-667.
76. Schwaber JS, Kapp BS, Higgins GA, Rapp PR. Amygdaloid and basal forebrain direct connections with the nucleus of the solitary tract and the dorsal motor nucleus. *J Neurosci*, 1982; 2: 1414-1438.
77. Widmaier EP, Plotsky PM, Sutton SW, Vale WW. Regulation of corticotropin-releasing factor secretion in vitro by glucose. *Am J Physiol*, 1988; 255: E287-292.
78. Plotsky PM, Cunningham ET Jr, Widmaier EP. Catecholaminergic modulation of corticotropin-releasing factor and adrenocorticotropin secretion. *Endocr Rev*, 1989; 10: 437-458.
79. Rinaman L. Interoceptive stress activates glucagon-like peptide-1 neurons that project to the hypothalamus. *Am J Physiol*, 1999; 277: R582-590.
80. Kinzig KP, D'Alessio DA, Herman JP, Sakai RR, Vahl TP, Figueiredo HF, Murphy EK, Seeley RJ. CNS glucagon-like peptide-1 receptors mediate endocrine and anxiety responses to interoceptive and psychogenic stressors. *J Neurosci*, 2003; 23: 6163-6170.

81. Sawchenko PE, Arias C, Bittencourt JC. Inhibin beta, somatostatin, and enkephalin immunoreactivities coexist in caudal medullary neurons that project to the paraventricular nucleus of the hypothalamus. *J Comp Neurol*, 1990; 291: 269-280.
82. Larsen PJ, Tang-Christensen M, Holst JJ, Orskov C. Distribution of glucagon-like peptide-1 and other preproglucagon-derived peptides in the rat hypothalamus and brainstem. *Neuroscience*, 1997; 77: 257-270.
83. Lowry CA. Functional subsets of serotonergic neurones: implications for control of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Neuroendocrinol*, 2002; 14: 911-923.
84. Zhang Y, Damjanoska KJ, Carrasco GA, Dudas B, D'Souza DN, Tetzlaff J, Garcia F, Hanley NR, Scripathirathan K, Petersen BR, Gray TS, Battaglia G, Muma NA, Van de Kar LD. Evidence that 5-HT_{2A} receptors in the hypothalamic paraventricular nucleus mediate neuroendocrine responses to (-)DOI. *J Neurosci*, 2002; 22: 9635-9642.
85. Berk ML, Finkelstein JA. Afferent projections to the preoptic area and hypothalamic regions in the rat brain. *Neuroscience*, 1981; 6: 1601-1624.
86. Johnson AK, Cunningham JT, Thunhorst RL. Integrative role of the lamina terminalis in the regulation of cardiovascular and body fluid homeostasis. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 1996; 23: 183-191.
87. Sawchenko PE, Swanson LW. The organization of forebrain afferents to the paraventricular and supraoptic nuclei of the rat. *J Comp Neurol*, 1983; 218: 121-144.
88. Plotsky PM, Sutton SW, Bruhn TO, Ferguson AV. Analysis of the role of angiotensin II in mediation of adrenocorticotropin secretion. *Endocrinology*, 1988; 122: 538-545.
89. Aguilera G, Young WS, Kiss A, Bathia A. Direct regulation of hypothalamic corticotropin-releasing-hormone neurons by angiotensin II. *Neuroendocrinology*, 1995; 61: 437-444.
90. Roland BL, Sawchenko PE. Local origins of some GABAergic projections to the paraventricular and supraoptic nuclei of the hypothalamus in the rat. *J Comp Neurol*, 1993; 332: 123-143.

91. Cullinan WE. GABA(A) receptor subunit expression within hypophysiotropic CRH neurons: a dual hybridization histochemical study. *J Comp Neurol*, 2000; 419: 344-351.
92. Cullinan WE, Helmreich DL, Watson SJ. Fos expression in forebrain afferents to the hypothalamic paraventricular nucleus following swim stress. *J Comp Neurol*, 1996; 368: 88-99.
93. Cullinan WE, Wolfe TJ. Chronic stress regulates levels of mRNA transcripts encoding beta subunits of the GABA(A) receptor in the rat stress axis. *Brain Res*, 2000; 887: 118-124.
94. Bailey TW, Dimicco JA. Chemical stimulation of the dorsomedial hypothalamus elevates plasma ACTH in conscious rats. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2001; 280: R8-R15.
95. Stotz-Potter EH, Willis LR, Dimicco JA. Muscimol acts in dorsomedial but not paraventricular hypothalamic nucleus to suppress cardiovascular effects of stress. *J Neurosci*, 1996; 16: 1173-1179.
96. Greco B, Allegretto EA, Tetel MJ, Blaustein JD. Coexpression of ER beta with ER alpha and progesterin receptor proteins in the female rat forebrain: effects of estradiol treatment. *Endocrinology*, 2001; 142: 5172-5181.
97. Sahu A. Minireview: A hypothalamic role in energy balance with special emphasis on leptin. *Endocrinology*, 2004; 145: 2613-2620.
98. Higuchi H, Hasegawa A, Yamaguchi T. Transcriptional regulation of neuronal genes and its effect on neural functions: transcriptional regulation of neuropeptide Y gene by leptin and its effect on feeding. *J Pharmacol*, 2005; 98: 225-231.
99. Butler AA. The melanocortin system and energy balance. *Peptides*, 2006; 27: 281-290.
100. Wahlestedt C, Skagerberg G, Ekman R, Heilig M, Sundler F, Hakanson R. Neuropeptide Y (NPY) in the area of the hypothalamic paraventricular nucleus activates the pituitary-adrenocortical axis in the rat. *Brain Res*, 1987; 417: 33-38.

101. Leibowitz SF, Sladek C, Spencer L, Tempel D. Neuropeptide Y, epinephrine and norepinephrine in the paraventricular nucleus: stimulation of feeding and the release of corticosterone, vasopressin and glucose. *Brain Res Bull*, 1988; 21: 905-912.
102. Dhillo WS, Small CJ, Seal LJ, Kim MS, Stanley SA, Murphy KG, Ghatei MA, Bloom SR. *Neuroendocrinology*, 2002; 75: 209-216.
103. Vrang N, Larsen PJ, Clausen JT, Kristensen P. Neurochemical characterization of hypothalamic cocaine- amphetamine-regulated transcript neurons. *J Neurosci*, 1999; 19: RC5.
104. Smith SM, Vaughan JM, Donaldson CJ, Rivier J, Li C, Chen A, Vale WW. Cocaine- and amphetamine-regulated transcript activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis through a corticotropin-releasing factor receptor-dependent mechanism. *Endocrinology*, 2004; 145: 5202-5209.
105. Sarkar S, Wittmann G, Fekete C, Lechan RM. Central administration of cocaine- and amphetamine-regulated transcript increases phosphorylation of cAMP response element binding protein in corticotropin-releasing hormone-producing neurons but not in prothyrotropin-releasing hormone-producing neurons in the hypothalamic paraventricular nucleus. *Brain Res*, 2004; 999: 181-192.
106. McEwen BS. The neurobiology of stress: from serendipity to clinical relevance. *Brain Res*, 2000; 886: 172-189.
107. Feldman S, Conforti N, Weidenfeld J. Limbic pathways and hypothalamic neurotransmitters mediating adrenocortical responses to neural stimuli. *Neurosci Biobehav Rev*, 1995; 19: 235-240.
108. Herman JP, Ostrander MM, Mueller NK, Figueiredo H. Limbic system mechanisms of stress regulation: hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2005; 29: 1201-1213.
109. Herman JP, Cullinan WE, Young EA, Akil H, Watson SJ. Selective forebrain fiber tract lesions implicate ventral hippocampal structures in tonic regulation of paraventricular nucleus corticotropin-releasing hormone (CRH) and arginine vasopressin (AVP) mRNA expression. *Brain Res*, 1992; 592: 228-238.

110. Sapolsky RM, Krey LC, McEwen BS. Glucocorticoid-sensitive hippocampal neurons are involved in terminating the adrenocortical stress response. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1984; 81: 6174-6177.
111. Saphier D, Feldman S. Effects of septal and hippocampal stimuli on paraventricular nucleus neurons. *Neuroscience*, 1987; 20: 749-755.
112. Knigge KM. Adrenocortical response to stress in rats with lesions in hippocampus and amygdala. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1961; 108: 18-21.
113. Cullinan WE, Herman JP, Watson SJ. Ventral subicular interaction with the hypothalamic paraventricular nucleus: evidence for a relay in the bed nucleus of the stria terminalis. *J Comp Neurol*, 1993; 332: 1-20.
114. Del Arco A, Mora F. Neurotransmitters and prefrontal cortex-limbic system interactions: implications for plasticity and psychiatric disorders. *J Neural Transm (Vienna)*, 2009; 116: 941-952.
115. Vizi ES, Kiss JP. Neurochemistry and pharmacology of the major hippocampal transmitter systems: synaptic and nonsynaptic interactions. *Hippocampus*, 1998; 8: 566-607.
116. Dodd J, Kelly JS. The actions of cholecystokinin and related peptides on pyramidal neurones of the mammalian hippocampus. *Brain Res*, 1981; 205: 337-350.
117. Moghaddam B. Stress preferentially increases extraneuronal levels of excitatory amino acids in the prefrontal cortex: comparison to hippocampus and basal ganglia. *J Neurochem*, 1993; 60: 1650-1657.
118. Vahabzadeh A, Fillenz M. Comparison of stress-induced changes in noradrenergic and serotonergic neurons in the rat hippocampus using microdialysis. *Eur J Neurosci*, 1994; 6: 1205-1212.
119. Yamato T, Yamasaki S, Misumi Y, Kino M, Obata T, Aomine M. Modulation of the stress response by coffee: an in vivo microdialysis study of hippocampal serotonin and dopamine levels in rat. *Neurosci Lett*, 2002; 332: 87-90.

120. Imperato A, Puglisi-Allegra S, Casolini P, Angelucci L. Changes in brain dopamine and acetylcholine release during and following stress are independent of the pituitary-adrenocortical axis. *Brain Res*, 1991; 538: 111-117.
121. de Groote L, Linthorst AC. Exposure to novelty and forced swimming evoke stressor-dependent changes in extracellular GABA in the rat hippocampus. *Neuroscience*, 2007; 148: 794-805.
122. Finlay JM, Zigmond MJ, Abercrombie ED. Increased dopamine and norepinephrine release in medial prefrontal cortex induced by acute and chronic stress: effects of diazepam. *Neuroscience*, 1995; 64: 619-628.
123. Figueiredo HF, Bruestle A, Bodie B, Dolgas CM, Herman JP. The medial prefrontal cortex differentially regulates stress-induced c-fos expression in the forebrain depending on type of stressor. *Eur J Neurosci*, 2003; 18: 2357-2364.
124. Del Arco A, Mora F. Dopamine release in the prefrontal cortex during stress is reduced by the local activation of glutamate receptors. *Brain Res Bull*, 2001; 56: 125-130.
125. Del Arco A, Segovia G, Garrido P, de Blas M, Mora F. Stress, prefrontal cortex and environmental enrichment: studies on dopamine and acetylcholine release and working memory performance in rats. *Behav Brain Res*, 2007; 176: 267-273.
126. Feenstra MG, Botterblom MH, Mastenbroek S. Dopamine and noradrenaline efflux in the prefrontal cortex in the light and dark period: effects of novelty and handling and comparison to the nucleus accumbens. *Neuroscience*, 2000; 100: 741-748.
127. Laplante F, Stewenson CW, Gratton A, Srivastava LK, Quirion R. Effects of neonatal ventral hippocampal lesion in rats on stress-induced acetylcholine release in the prefrontal cortex. *J Neurochem*, 2004; 91: 1473-1482.
128. Kawahara H, Yoshida M, Yokoo H, Nishi M, Tanaka M. Psychological stress increases serotonin release in the rat amygdala and prefrontal cortex assessed by in vivo microdialysis. *Neurosci Lett*, 1993; 162: 81-84.
129. Mora F, Segovia G, del Arco A. Aging, plasticity and environmental enrichment: structural changes and neurotransmitter dynamics in several areas of the brain. *Brain Res Rev*, 2007; 55: 78-88.

130. Bagley J, Moghaddam B. Temporal dynamics of glutamate efflux in the prefrontal cortex and in the hippocampus following repeated stress: effects of pretreatment with saline or diazepam. *Neuroscience*, 1997; 77: 65-73.
131. Lupinsky D, Moquin L, Gratton A. Interhemispheric regulation of the medial prefrontal cortical glutamate stress response in rats. *J Neurosci*, 2010; 30: 7624-7633.
132. Davis M. The role of the amygdala in fear and anxiety. *Annu Rev Neurosci*, 1992; 15: 353-375.
133. Sawchenko PE, Brown ER, Chan RK, Ericsson A, Li HY, Roland BL, Kovacs KJ. The paraventricular nucleus of the hypothalamus and the functional neuroanatomy of visceromotor responses to stress. *Prog Brain Res*, 1996; 107: 201-222.
134. Thrivikraman KV, Su Y, Plotsky PM. Patterns of fos-immunoreactivity in the CNS induced by repeated hemorrhage in conscious rats: correlations with pituitary-adrenal axis activity. *Stress*, 1997; 2: 145-158.
135. Mo B, Feng N, Renner K, Forster G. Restraint stress increases serotonin release in the central nucleus of the amygdala via activation of corticotropin-releasing factor receptors. *Brain Res Bull*, 2008; 76: 493-498.
136. de la Mora MP, Gallegos-Cari A, Arizmendi-Garcia Y, Marcellino D, Fuxe K. Role of dopamine receptor mechanisms in the amygdaloid modulation of fear and anxiety: Structural and functional analysis. *Prog Neurobiol*, 2010; 90: 198-216.
137. Galvez R, Mesches MH, McGaugh JL. Norepinephrine release in the amygdala in response to footshock stimulation. *Neurobiol Learn Mem*, 1996; 66: 253-257.
138. Tanaka T, Yokoo H, Mizoguchi K, Yoshida M, Tsuda A, Tanaka M. Noradrenaline release in the rat amygdala is increased by stress: studies with intracerebral microdialysis. *Brain Res*, 1991; 544: 174-176.
139. Inglis FM, Moghaddam B. Dopaminergic innervation of the amygdala is highly responsive to stress. *J Neurochem*, 1999; 72: 1088-1094.
140. Stewenson CW, Sullivan RM, Gratton A. Effects of basolateral amygdala dopamine depletion on the nucleus accumbens and medial prefrontal cortical dopamine responses to stress. *Neuroscience*, 2003; 116: 285-293.

141. Mark GP, Rada PV, Shors TJ. Inescapable stress enhances extracellular acetylcholine in the rat hippocampus and prefrontal cortex but not the nucleus accumbens or amygdala. *Neuroscience*, 1996; 74: 767-774.
142. Reznikov LR, Grillo CA, Piroli GG, Pasumarthi RK, Reagan LP, Fadel J. Acute stress-mediated increases in extracellular glutamate levels in the rat amygdala: differential effects of antidepressant treatment. *Eur J Neurosci*, 2007; 25: 3109-3114.
143. Singewald N, Kouvelas D, Mostafa A, Sinner C, Philippu A. Release of glutamate and GABA in the amygdala of conscious rats by acute stress and baroreceptor activation: differences between SHR and WKY rats. *Brain Res*, 2000; 864: 138-141.
144. Robbins TW, Everitt BJ. Neurobehavioural mechanisms of reward and motivation. *Curr Opin Neurobiol*, 1996; 6: 228-236.
145. Mogenson GJ, Jones DL, Yim CY. From motivation to action: functional interface between the limbic system and the motor system. *Prog Neurobiol*, 1980; 14: 69-97.
146. Grace AA, Floresco SB, Goto Y, Lodge DJ. Regulation of firing of dopaminergic neurons and control of goal-directed behaviors. *Trends Neurosci*, 2007; 30: 220-227.
147. Brady AM, O'Donnell P. Dopaminergic modulation of prefrontal cortical input to nucleus accumbens neurons in vivo. *J Neurosci*, 2004; 24: 1040-1049.
148. Austin MC, Kalivas PW. The effect of cholinergic stimulation in the nucleus accumbens on locomotor behavior. *Brain Res*, 1988; 441: 209-214.
149. Feenstra MG, Botterblom MH, van Uum JF. Local activation of metabotropic glutamate receptors inhibits the handling-induced increased release of dopamine in the nucleus accumbens but not that of dopamine or noradrenaline in the prefrontal cortex: comparison with inhibition of ionotropic receptors. *J Neurochem*, 1998; 70: 1104-1113.
150. Pascucci T, Ventura R, Latagliata EC, Cabib S, Puglisi-Allegra S. The medial prefrontal cortex determines the accumbens dopamine response to stress through the opposing influences of norepinephrine and dopamine. *Cereb Cortex*, 2007; 17: 2796-2804.

151. King D, Zigmond MJ, Finlay JM. Effects of dopamine depletion in the medial prefrontal cortex on the stress-induced increase in extracellular dopamine in the nucleus accumbens core and shell. *Neuroscience*, 1997; 77: 141-153.
152. Cenci MA, Kalen P, Mandel RJ, Björklund A. Regional differences in the regulation of dopamine and noradrenaline release in medial frontal cortex, nucleus accumbens and caudate-putamen: a microdialysis study in the rat. *Brain Res*, 1992; 581: 217-228.
153. Bland ST, Hargrave D, Pepin JL, Amat J, Watkins LR, Maier SF. Stressor controllability modulates stress-induced dopamine and serotonin efflux and morphine-induced serotonin efflux in the medial prefrontal cortex. *Neuropsychopharmacology*, 2003; 28: 1589-1596.
154. Saulskaya N, Marsden CA. Extracellular glutamate in the nucleus accumbens during a conditioned emotional response in the rat. *Brain Res*, 1995; 698: 114-120.
155. Marinelli PW, Quirion R, Gianoulakis C. An in vivo profile of beta-endorphin release in the arcuate nucleus and nucleus accumbens following exposure to stress or alcohol. *Neuroscience*, 2004; 127: 777-784.
156. McNay EC. Insulin and ghrelin: peripheral hormones modulating memory and hippocampal function. *Curr Opin Pharmacol*, 2007; 7: 628-632.
157. McEwen BS. Stress, sex, and neural adaptation to a changing environment: mechanisms of neuronal remodeling. *Ann N Y Acad Sci*, 2010; 1204: E38-59.
158. Piroli GG, Grillo CA, Hoskin EK, Znamensky V, Katz EB, Milner TA, McEwen BS, Charron MJ, Reagan LP. Peripheral glucose administration stimulates the translocation of GLUT8 glucose transporter to the endoplasmic reticulum in the rat hippocampus. *J Comp Neurol*, 2002; 452: 103-114.
159. Carro E, Nunez A, Busiguina S, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates effects of exercise on the brain. *J Neurosci*, 2002; 20: 2926-2933.
160. Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci*, 2002; 25: 295-301.
161. Ding Q, Vaynman S, Akhavan M, Ying Z, Gomez-Pinilla F. Insulin-like growth factor I interfaces with brain-derived neurotrophic factor-mediated synaptic plasticity to

- modulate aspects of exercise-induced cognitive function. *Neuroscience*, 2006; 140: 823-833.
- 162.** Trejo JL, Carro E, Torres-Aleman I. Circulating insulin-like growth factor I mediates exercise-induced increases in the number of new neurons in the adult hippocampus. *J Neurosci*, 2001; 21: 1626-1634.
 - 163.** McAllister AK, Katz LC, Lo DC. Neurotrophins and synaptic plasticity. *Annu Rev Neurosci*, 1999; 22: 295-318.
 - 164.** Alsina B, Vu T, Cohen-Cory S. Visualizing synapse formation in arborizing optic axons in vivo: dynamics and modulation by BDNF. *Nat Neurosci*, 2001; 4: 1093-1101.
 - 165.** Thoenen H. Neurotrophins and neuronal plasticity. *Science*, 1995; 270: 593-598.
 - 166.** Bekinschtein P, Cammarota M, Izquierdo I, Medina JH. BDNF and memory formation and storage. *Neuroscientist*, 2008; 14: 147-156.
 - 167.** Linnarsson S, Björklund A, Ernfors P. Learning deficit in BDNF mutant mice. *Eur J Neurosci*, 1997; 9: 2581-2587.
 - 168.** Pan W, Yu Y, Cain CM, Nyberg F, Couraud PO, Kastin AJ. Permeation of growth hormone across the blood-brain barrier. *Endocrinology*, 2005; 146: 4898-4904.
 - 169.** Donahue CP, Kosik KS, Shors TJ. Growth hormone is produced within the hippocampus where it responds to age, sex, and stress. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2006; 103: 6031-6036.
 - 170.** Joels M. Steroid hormones and excitability in the mammalian brain. *Front Neuroendocrinol*, 1997; 18: 2-48.
 - 171.** Berchtold NC, Kesslak JP, Pike CJ, Adlard PA, Cotman CW. Estrogen and exercise interact to regulate brain-derived neurotrophic factor mRNA and protein expression in the hippocampus. *Eur J Neurosci*, 2001; 14: 1992-2002.
 - 172.** Carlini VP, Varas MM, Cragolini AB, Schiöth HB, Scimonelli TN, de Barioglio SR. Differential role of the hippocampus, amygdala, and dorsal raphe nucleus in regulating

- feeding, memory, and anxiety-like behavioral responses to ghrelin. *Biochem Biophys Res Commun*, 2004; 313: 635-641.
- 173.** Harvey J, Shanley LJ, O'Malley D, Irving AJ. Leptin: a potential cognitive enhancer? *Biochem Soc Trans*, 2005; 33: 1029-1032.
- 174.** O'Malley D, MacDonald N, Mizielinska S, Connolly CN, Irving AJ, Harvey J. Leptin promotes rapid dynamic changes in hippocampal dendritic morphology. *Mol Cell Neurosci*, 2007; 35: 559-572.
- 175.** Jaggi AS, Bhatia N, Kumar N, Singh N, Anand P, Dhawan R. *Neurol Sci*, 2011; 32: 993-1005.
- 176.** Chrousos GP. Stress and disorders of the stress system. *Nat Rev Endocrinol*, 2009; 5: 374-381.
- 177.** Theoharides TC, Singh LK, Boucher W, Pang X, Letourneau R, Webster E, Chrousos G. Corticotropin-releasing hormone induces skin mast cell degranulation and increased vascular permeability, a possible explanation for its proinflammatory effects. *Endocrinology*, 1998; 139: 403-413.
- 178.** Theoharides TC, Spanos C, Pang X, Alferes L, Ligris K, Letourneau R, Rozniecki JJ, Webster E, Chrousos GP. Stress-induced intracranial mast cell degranulation: a corticotropin-releasing hormone-mediated effect. *Endocrinology*, 1995; 136: 5745-5750.
- 179.** McEwen BS. Stress, adaptation, and disease. Allostasis and allostatic load. *Ann N Y Acad Sci*, 1998; 840: 33-44.
- 180.** Burguera B, Muruais C, Penalva A, Dieguez C, Casanueva FF. Dual and selective actions of glucocorticoids upon basal and stimulated growth hormone release in man. *Neuroendocrinology*, 1990; 51: 51-58.
- 181.** Vottero A, Kimchi-Sarfaty C, Kratzsch J, Chrousos GP, Hochberg Z. Transcriptional and translational regulation of the splicing isoforms of the growth hormone receptor by glucocorticoids. *Horm Metab Res*, 2003; 35: 7-12.

- 182.** Raza J, Massoud AF, Hindmarsh PC, Robinson IC, Brook CG. Direct effects of corticotrophin-releasing hormone on stimulated growth hormone secretion. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1998; 48: 217-222.
- 183.** Benker G, Raida M, Olbricht T, Wagner R, Reinhardt W, Reinwein D. TSH secretion in Cushing's syndrome: relation to glucocorticoid excess, diabetes, goitre, and the 'sick euthyroid syndrome'. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 1990; 33: 777,786.
- 184.** Rivier C, Rivier J, Vale W. Stress-induced inhibition of reproductive functions: role of endogenous corticotropin-releasing factor. *Science*, 1986; 231: 607-609.
- 185.** Vamvakopoulos NC, Chrousos GP. Hormonal regulation of human corticotropin-releasing hormone gene expression: implications for the stress response and immune/inflammatory reaction. *Endocr Rev*, 1994; 15: 409-420.
- 186.** Chrousos GP, Torpy DJ, Gold PW. Interactions between the hypothalamic-pituitary-adrenal axis and the female reproductive system: clinical implications. *Ann Intern Med*, 1998; 129: 229-240.
- 187.** MacAdams MR, White RH, Chipps BE. Reduction of serum testosterone levels during chronic glucocorticoid therapy. *Ann Intern Med*, 1986; 104: 648-651.
- 188.** Pau KY, Spies HG. Neuroendocrine signals in the regulation of gonadotropin-releasing hormone secretion. *Chin J Physiol*, 1997; 40: 181-196.
- 189.** Vamvakopoulos NC, Chrousos GP. Evidence of direct estrogenic regulation of human corticotropin-releasing hormone gene expression. Potential implications for the sexual dimorphism of the stress response and immune/inflammatory reaction. *J Clin Invest*, 1993; 92: 1896-1902.
- 190.** Chrousos GP. The role of stress and the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in the pathogenesis of the metabolic syndrome: neuro-endocrine and target tissue-related causes. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2000; 24: S50-S55.
- 191.** Tsigos C, Young RJ, White A. Diabetic neuropathy is associated with increased activity of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993; 76: 554-558.

- 192.** Tache Y, Bonaz B. Corticotropin-releasing factor receptors and stress-related alterations of gut motor function. *J Clin Invest*, 2007; 117: 33-40.
- 193.** Suto G, Kiraly A, Tache Y. Interleukin 1 beta inhibits gastric emptying in rats: mediation through prostaglandin and corticotropin-releasing factor. *Gastroenterology*, 1994; 106: 1568-1575.
- 194.** Chrousos GP. The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *N Engl J Med*, 1995; 332: 1351-1362.
- 195.** Boumpas DT, Chrousos GP, Wilder RL, Cupps TR, Balow JE. Glucocorticoid therapy for immune-mediated diseases: basic and clinical correlates. *Ann Intern Med*, 1993; 119: 1198-1208.
- 196.** Derijk R, Michelson D, Karp B, Petrides J, Galliven E, Deuster P, Paciotti G, Gold PW, Sternberg EM. Exercise and circadian rhythm-induced variations in plasma cortisol differentially regulate interleukin-1 beta (IL-1 beta), IL-6, and tumor necrosis factor-alpha (TNF alpha) production in humans: high sensitivity of TNF alpha and resistance of IL-6. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997; 82: 2182-2191.
- 197.** Akira S, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL 1 and TNF). *FASEB J*, 1990; 4: 2860-2867.
- 198.** Busbridge NJ, Grossman AB. Stress and the single cytokine: interleukin modulation of the pituitary-adrenal axis. *Mol Cell Endocrinol*, 1991; 82: C209-214.
- 199.** Bernardini R, Kamilaris TC, Calogero AE, Johnson EO, Gomez MT, Gold PW, Chrousos GP. Interactions between tumor necrosis factor-alpha, hypothalamic corticotropin-releasing hormone, and adrenocorticotropin secretion in the rat. 1990; 126: 2876-2881.
- 200.** Sapolsky R, Rivier C, Yamamoto G, Plotsky P, Vale W. Interleukin-1 stimulates the secretion of hypothalamic corticotropin-releasing factor. *Science*, 1987; 238: 522-524.
- 201.** van Gool J, van Vugt H, Helle M, Aarden LA. The relation among stress, adrenalin, interleukin 6 and acute phase proteins in the rat. *Clin Immunol Immunopathol*, 1990; 57: 200-210.

202. Mastorakos G, Chrousos GP, Weber JS. Recombinant interleukin-6 activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in humans. *J Clin Endocrinol Metab*, 1993; 77: 1690-1694.
203. Elenkov IJ, Papanicolaou DA, Wilder RL, Chrousos GP. Modulatory effects of glucocorticoids and catecholamines on human interleukin-12 and interleukin-10 production: clinical implications. *Proc Assoc Am Physicians*, 1996; 108: 374-381.
204. Chrousos GP. Organization and Integration of the Endocrine System. *Sleep Med Clin*, 2007; 2: 125-145.
205. Vgontzas AN, Zoumakis M, Bixler EO, Lin HM, Prolo P, Vela-Bueno A, Kales A, Chrousos GP. Impaired nighttime sleep in healthy old versus young adults is associated with elevated plasma interleukin-6 and cortisol levels: physiologic and therapeutic implications. *J Clin Endocrinol Metab*, 2003; 88: 2087-2095.
206. Vgontzas AN, Chrousos GP. Sleep, the hypothalamic-pituitary-adrenal axis, and cytokines: multiple interactions and disturbances in sleep disorders. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2002; 31: 15-36.
207. Sapolsky RM. Glucocorticoids and hippocampal atrophy in neuropsychiatric disorders. *Arch Gen Psychiatry*, 2000; 57: 925-935.
208. Sapolsky RM. Atrophy of the hippocampus in posttraumatic stress disorder: how and when? *Hippocampus*, 2001; 11: 90-91.
209. Geraciotti TD, Baker DG, Ekhtor NN, West SA, Hill KK, Bruce AB, Schmidt D, Rounds-Kugler B, Yehuda R, Keck PE, Kasckow JW. CSF norepinephrine concentrations in posttraumatic stress disorder. *Am J Psychiatry*, 2001; 158: 1227-1230.
210. Nutt DJ. Neurobiological mechanisms in generalized anxiety disorder. *J Clin Psychiatry*, 2001; 62: 22-27.
211. Cicchetti D, Toth SL. Child maltreatment. *Annu Rev Clin Psychol*, 2005; 1: 409-438.
212. Haviland MG, Sonne JL, Woods LR. Beyond posttraumatic stress disorder: object relations and reality testing disturbances in physically and sexually abused adolescents. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 1995; 34: 1054-1059.

- 213.** Lowenthal B. The Effects of early childhood abuse and the development of resiliency. *Early Child Dev Care*, 1998; 142: 43-52.
- 214.** Shaw JA. Children exposed to war/terrorism. *Clin Child Fam Psychol Rev*, 2003; 6: 237-246.
- 215.** Schneiderman N, Ironson G, Siegel SD. Stress and health: psychological, behavioral, and biological determinants. *Annu Rev Clin Psychol*, 2005; 1: 607-628.
- 216.** Wilson CA, Vazdarjanova A, Terry AV Jr. Exposure to variable prenatal stress in rats: effects on anxiety-related behaviors, innate and contextual fear, and fear extinction. *Behav Brain Res*, 2013; 238: 279-288.
- 217.** Gold PW, Goodwin FK, Chrousos GP. Clinical and biochemical manifestations of depression. Relation to the neurobiology of stress (2). *N Engl J Med*, 1988; 319: 413-420.
- 218.** Wong ML, Kling MA, Munson PJ, Listwak S, Licinio J, Prolo P, Karp B, et al. Pronounced and sustained central hypernoradrenergic function in major depression with melancholic features: relation to hypercortisolism and corticotropin-releasing hormone. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000; 97: 325-330.
- 219.** Yun S, Kim DK, Furlong M, Hwang JI, Vaudry H, Seong JY. Does Kisspeptin Belong to the Proposed RF-Amide Peptide Family? *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2014; 5: 134.
- 220.** Putteeraj M, Soga T, Ubuka T, Pamar IS. A "Timed" Kiss Is Essential for Reproduction: Lessons from Mammalian Studies. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2016; 7: 121.
- 221.** Seminara SB, Messager S, Chatzidaki EE. et al. The GPR54 gene as a regulator of puberty. *N Engl J Med*, 2003; 349: 1614-1627.
- 222.** Clarke H, Dhillon WS, Javaseena CN. Comprehensive Review on Kisspeptin and Its Role in Reproductive Disorders. *Endocrinol Metab (Seoul)*, 2015; 30: 124-141.
- 223.** 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.

- 224.** Demir M, Filiz K. Spor egzersizlerinin insan organizması üzerindeki etkileri. Ahi Evran Üniversitesi Kırşehir Eğitim Fakültesi Dergisi, 2004; 5(2).
- 225.** Geirsdottir OG, Amarson A, Briem K, Ramel A, Tomasson K, Jonsson PV, Thorsdottir I. Physical function predicts improvement in quality of life in elderly Icelanders after 12 weeks of resistance exercise. J Nutr Health Aging, 2012; 16: 62-66.
- 226.** Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. CMAJ, 2006; 174: 801-809.
- 227.** Fuss J, Steinle J, Bindila L, Auer MK, Kirchherr H, Lutz B, Gass P. A runner's high depends on cannabinoid receptors in mice. Proc Natl Acad Sci USA, 2015; 112: 13105-13108.
- 228.** Tendzegolskis Z, Viru A, Orlova E. Exercise-induced changes of endorphin contents in hypothalamus, hypophysis, adrenals and blood plasma. Int J Sports Med, 1991; 12: 495-497.
- 229.** Koltyn KF, Morgan WP. Influence of wet suit wear on anxiety responses to underwater exercise. Undersea Hyperb Med, 1997; 24: 23-28.
- 230.** Youngstedt SD, Dishman RK, Cureton KJ, Peacock LJ. Does body temperature mediate anxiolytic effects of acute exercise? J Appl Physiol, (1985), 1993; 74: 825-831.
- 231.** Aguiar AS Jr, Stragier E, Da Luz Scheffer D, et al. Effects of exercise on mitochondrial function, neuroplasticity and anxio-depressive behavior of mice. Neuroscience, 2014; 271: 56-63.
- 232.** Lopresti AL, Hood SD, Drummond PD. A review of lifestyle factors that contribute to important pathways associated with major depression: diet, sleep and exercise. J Affect Disord, 2013; 148: 12-27.
- 233.** Clark A, Mach N. Exercise-induced stress behavior, gut-microbiota-brain axis and diet: a systematic review for athletes. J Int Soc Sports Nutr, 2016; 13: 43.
- 234.** van Praag HM. Depression, Lancet, 1982; 2: 1259-1264.

235. Droste SK, Gesing A, Ulbricht S, Müller MB, Linthorst AC, Reul JM. Effects of long-term voluntary exercise on the mouse hypothalamic-pituitary-adrenocortical axis, *Endocrinology*, 2003; 144: 3012-3023.
236. Barwood MJ, Weston NJ, Thelwell R, Page J. A motivational music and video intervention improves high-intensity exercise performance, *J Sports Sci Med*, 2009; 8: 435-442.
237. Deforche B, De Bourdeaudhuij I. Attentional distraction during exercise in overweight and normal-weight boys, *Int J Environ Res Public Health*, 2015; 12: 3077-3090.
238. Abd El-Kader SM, Al-Jiffri OH. Exercise alleviates depression related systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease patients. *Afr Health Sci*, 2016; 16: 1078-1088.
239. Dantzer R, O'Connor JC, Freund GG, Johnson RW, Kelley KW. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain. *Nat Rev Neurosci*, 2008; 9: 46-56.
240. Petersen AM, Pedersen BK. The anti-inflammatory effect of exercise. *J Appl Physiol* (1985), 2005; 98: 1154-1162.
241. Nelson ME, Rejeski WJ, Blair SN, et al. Physical activity and public health in older adults: recommendation from the American College of Sports Medicine and the American Heart Association. *Circulation* 2007; 116: 1094-1105.
242. Cotman CW, Engesser-Cesar C. Exercise enhances and protects brain function. *Exerc Sport Rev* 2002; 30(2): 75-79.
243. Taş A. Yapılan Düzenli Aralıklı Egzersizin Kognitif Fonksiyonlara ve IGF-1 Seviyelerine Etkisinin Araştırılması: Dokuz Eylül Üniversitesi, 2013.
244. Gomez-Pinilla F, Dao L, So V. Physical exercise induces FGF-2 and its mRNA in the hippocampus. *Brain Res* 1997; 764(1-2): 1-8
245. Van der Borght K, Kobor-Nyakas DE, Klauke K, et al. Physical exercise leads to rapid adaptations in hippocampal vasculature: temporal dynamics and relationship to cell proliferation and neurogenesis. *Hippocampus* 2009; 19(10): 928-936.

- 246.** Cotman CW, Berchtold NC. Exercise: a behavioral intervention to enhance brain health and plasticity. *Trends Neurosci* 2002; 25(6): 295-301.
- 247.** Vaynman S, Gomez-Pinilla F. License to run: exercise impacts functional plasticity in the intact and injured central nervous system by using neurotrophins. *Neurorehabil Neural Repair* 2005; 19(4): 283-295.
- 248.** Ploughman M. Exercise is brain food: the effects of physical activity on cognitive function. *Dev Neurorehabil* 2008; 11(3): 236-240.
- 249.** Kramer AF, Hahn S, Cohen NJ, et al. Ageing, fitness and neurocognitive function. *Nature* 1999; 400: 418-419.
- 250.** Kleim JA, Cooper NR, VandenBerg PM. Exercise induces angiogenesis but does not alter movement representations within rat motor cortex. *Brain Res* 2002; 934(1): 1-6.
- 251.** Kubesch S, Bretschneider V, Freudenmann R, et al. Aerobic endurance exercise improves executive functions in depressed patients. *J Clin Psychiatry* 2003; 64(9): 1005-1012.
- 252.** McMorris T, Collard K, Corbett J, et al. A test of the catecholamines hypothesis for an acute exercise-cognition interaction. *Pharmacol Biochem Behav* 2008; 89(1): 106-115.
- 253.** Schinder AF, Poo M. The neurotrophin hypothesis for synaptic plasticity. *Trends Neurosci* 2000; 23(12): 639-645.
- 254.** Barde YA. Neurotrophins: a family of proteins supporting the survival of neurons. *Prog Clin Biol Res* 1994; 390: 45-56.
- 255.** Lo DC. Neurotrophic factors and synaptic plasticity. *Neuron* 1995; 15(5): 979-981.
- 256.** Tong L, Shen H, Perreau VM, Balazs R, Cotman CW. Effects of exercise on gene-expression profile in the rat hippocampus. *Neurobiol Dis* 2001; 8(6): 1046-1056.
- 257.** Mikkelsen K, Stojanovska L, Polenakovic M, Bosevski M, Apostolopoulos V. Exercise and mental health. *Maturitas* 2017; 106: 48-56.
- 258.** Heyman E, Gamelin FX, Goekint M, et al. Intense exercise increases circulating endocannabinoid and BDNF levels in humans--possible implications for reward and depression. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 37(6): 844-851.

- 259.** Raglin JS. Exercise and mental health. Beneficial and detrimental effects. *Sports Med* 1990; 9(6): 323-329.
- 260.** Raglin JS, Morgan WP. Influence of exercise and quiet rest on state anxiety and blood pressure. *Med Sci Sports Exerc* 1987; 19(5): 456-463.
- 261.** deVries HA. Tranquilizer Effect of Exercise: A Critical Review. *Phys Sportsmed* 1981; 9(11): 46-55.
- 262.** Reeves DL, Levinson DM, Justesen DR, Lubin B. Endogenous hyperthermia in normal human subjects: experimental study of emotional states (II). *Int J Psychosom*, 1985; 32(4): 18-23.
- 263.** Zhu XH, Qiao H, Du F, et al. Quantitative imaging of energy expenditure in human brain. *Neuroimage* 2012; 60(4): 2107-2117.
- 264.** Hall MN. mTOR-what does it do? *Transplant Proc* 2008; 40: S5-S8.
- 265.** Hoeffler CA, Klann E. mTOR signaling: at the crossroads of plasticity, memory and disease. *Trends Neurosci* 2010; 33(2): 67-75.
- 266.** Lloyd BA, Hake HS, Ishiwata T, et al. Exercise increases mTOR signaling in brain regions involved in cognition and emotional behavior. *Behav Brain Res* 2017; 323: 56-67.
- 267.** Maletic V, Robinson M, Oakes T, et al. Neurobiology of depression: an integrated view of key findings. *Int J Clin Pract* 2007; 61(12): 2030-2040.
- 268.** Anderson E, Shivakumar G. Effects of exercise and physical activity on anxiety. *Front Psychiatry* 2013; 4: 27.
- 269.** Wipfli B, Landers D, Nagoshi C, Ringenbach S. An examination of serotonin and psychological variables in the relationship between exercise and mental health. *Scand J Med Sci Sports* 2011; 21(3). 474-481.
- 270.** Dishman RK, Hales DP, Pfeiffer KA, et al. Physical self-concept and self-esteem mediate cross-sectional relations of physical activity and sport participation with depression symptoms among adolescent girls. *Health Psychol* 2006; 25(3): 396-407.

- 271.** Pariante CM, Lightman SL. The HPA axis in major depression: classical theories and new developments. *Trends Neurosci* 2008; 31(9): 464-468.
- 272.** Gold PW, Chrousos GP. Organization of the stress system and its dysregulation in melancholic and atypical depression: high vs low CRH/NE states. *Mol Psychiatry* 2002; 7(3): 254-275.
- 273.** Brosse AL, Sheets ES, Lett HS, Blumenthal JA. Exercise and the treatment of clinical depression in adults: recent findings and future directions. *Sports Med* 2002; 32(12): 741-760.
- 274.** Kwon DH, Kim BS, Chang H, et al. Exercise ameliorates cognition impairment due to restraint stress-induced oxidative insult and reduced BDNF level. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 434(2): 245-251.
- 275.** Kim BS, Kim MY, Leem YH. Hippocampal neuronal death induced by kainic acid and restraint stress is suppressed by exercise. *Neuroscience* 2011; 194: 291-301.
- 276.** Iwamoto J, Takeda T, Sato Y. Effect of treadmill exercise on bone mass in female rats. *Exp Anim* 2005; 54(1): 1-6.
- 277.** Agmo A. Male rat sexual behavior. *Brain Res Brain Res Protoc* 1997; 1(2): 203-209.
- 278.** Soga T, Wong DW, Clarke IJ, Parhar IS. Citalopram (antidepressant) administration causes sexual dysfunction in male mice through RF-amide related peptide in the dorsomedial hypothalamus. *Neuropharmacology* 2010; 59(1-2): 77-85.
- 279.** 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.
- 280.** Detke MJ, Lucki I. Detection of serotonergic and noradrenergic antidepressants in the rat forced swimming test: the effects of water depth. *Behav Brain Res* 1996; 73(1-2): 43-46
- 281.** Porsolt RD, Anton G, Blavet N, Jalfre M. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur J Pharmacol* 1978; 47(4): 379-391.

282. Del Rosario A, McDermott MM, Panee J. Effects of a high-fat diet and bamboo extract supplement on anxiety- and depression-like neurobehaviours in mice. *Br J Nutr* 2012; 108(7): 1143-1149.
283. Cryan JF, Markou A, Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol Sci* 2002; 23(5): 238-245.
284. Şavlı E. Rodentlerde antidepresan aktivitenin davranışsal değerlendirmesinde deneysel depresyon modelleri. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* cilt 9, Sayı 1, 2012.
285. Steru L, Chermat R, Thierry B, Simon P. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice. *Psychopharmacology (Berl)* 1985; 85(3): 367-370.
286. Moreau M, Andre C, O'Connor JC, et al. Inoculation of *Bacillus Calmette-Guerin* to mice induces an acute episode of sickness behavior followed by chronic depressive-like behavior. *Brain Behav Immun* 2008; 22(7): 1087-1095.
287. Fukui M, Rodriguiz RM, Zhou J, et al. *Vmat2* heterozygous mutant mice display a depressive-like phenotype. *J Neurosci* 2007; 27(39): 10520-10529.
288. Riediger T. The receptive function of hypothalamic and brainstem centres to hormonal and nutrient signals affecting energy balance. *Proc Nutr Soc* 2012; 71(4): 463-477.
289. Crawley J, Goodwin FK. Preliminary report of a simple animal behavior model for the anxiolytic effects of benzodiazepines. *Pharmacol Biochem Behav* 1980; 13(2): 167-170.
290. Hascoet M, Bourin M, Nic Dhonnchadha BA. The mouse light-dark paradigm: a review. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2001; 25(1): 141-166.
291. Slawecki CJ. Comparison of anxiety-like behavior in adolescent and adult Sprague-Dawley rats. *Behav Neurosci* 2005; 119(6): 1477-1483.
292. Diaz MR, Mooney SM, Varlinskaya EI. Acute prenatal exposure to ethanol on gestational day 12 elicits opposing deficits in social behaviors and anxiety-like behaviors in Sprague Dawley rats. *Behav Brain Res* 2016; 310: 11-19.

293. Belzung C, Misslin R, Vogel E, Dodd RH, Chapouthier G. Anxiogenic effects of methyl-beta-carboline-3-carboxylate in a light/dark choice situation. *Pharmacol Biochem Behav* 1987; 28(1): 29-33.
294. Lohouel A, Kebieche M, Lakroun Z, et al. Neurobehavioral deficits and brain oxidative stress induced by chronic low dose exposure of persistent organic pollutants mixture in adult female rat. *Environ Sci Pollut Res Int* 2016; 23(19): 19030-19040.
295. Walsh RN, Cummins RA. The Open-Field Test: a critical review. *Psychol Bull* 1976; 83(3): 482-504.
296. Carli M, Prontera C, Samanin R. Effect of 5-HT_{1A} agonists on stress-induced deficit in open field locomotor activity of rats: evidence that this model identifies anxiolytic-like activity. *Neuropharmacology* 1989; 28(5): 471-476.
297. Prut L, Belzung C. The open field as a paradigm to measure the effects of drugs on anxiety-like behaviors: a review. *Eur J Pharmacol* 2003; 463: 3-33.
298. Maei HR, Zaslavsky K, Teixeira CM, Frankland PW. What is the most sensitive measure of water maze probe test performance? *Front Integr Neurosci* 2009; 3: 4.
299. Frye CA, Walf AA. Progesterone enhances performance of aged mice in cortical or hippocampal tasks. *Neurosci Lett* 2008; 437(2): 116-120.
300. Song L, Che W, Min-Wei W, Murakami Y, Matsumoto K. Impairment of the spatial learning and memory induced by learned helplessness and chronic mild stress. *Pharmacol Biochem Behav* 2006; 83(2): 186-193.
301. Tuzcu M, Baydas G. Effect of melatonin and vitamin E on diabetes-induced learning and memory impairment in rats. *Eur J Pharmacol* 2006; 537: 106-110.
302. Alçin E, Sahu A, Ramaswamy S, et al. Ovarian regulation of kisspeptin neurones in the arcuate nucleus of the rhesus monkey (*macaca mulatta*). *J Neuroendocrinol* 25(5): 488-496.
303. Jiang SZ, Eiden LE. Activation of the HPA axis and depression of feeding behavior induced by restraint stress are separately regulated by PACAPergic neurotransmission in the mouse. *Stress* 2016; 19(4): 374-382.

- 304.** Bates HE, Sirek AS, Kiraly MA, et al. Adaptation to mild, intermittent stress delays development of hyperglycemia in the Zucker diabetic Fatty rat independent of food intake: role of habituation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Endocrinology* 2008; 149(6): 2990-3001.
- 305.** Bates HE, Kiraly MA, Yue JT, et al. Recurrent intermittent restraint delays fed and fasting hyperglycemia and improves glucose return to baseline levels during glucose tolerance tests in the Zucker diabetic fatty rat--role of food intake and corticosterone. *Metabolism* 2007; 56(8): 1065-1075.
- 306.** Patki G, Li L, Aliam F, et al. Moderate treadmill exercise rescues anxiety and depression-like behavior as well as memory impairment in a rat model of posttraumatic stress disorder. *Physiology Behavior* 2014; 130: 47-53.
- 307.** Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, et al. Chronic restraint stress causes anxiety- and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry* 2012; 39(1): 112-119.
- 308.** Ito D, Cao P, Kakihana T, et al. Chronic Running Exercise Alleviates Early Progression of Nephropathy with Upregulation of Nitric Oxide Synthases and Suppression of Glycation in Zucker Diabetic Rats. *PloS One* 2015; 10(9): e0138037.
- 309.** Bhatnagar S, Vining C, Iyer V, Kinni V. Changes in hypothalamic-pituitary-adrenal function, body temperature, body weight and food intake with repeated social stress exposure in rats. *Journal of Neuroendocrinology* 2006; 18: 13-24.
- 310.** Yun J, Koike H, Ibi D, et al. Chronic restraint stress impairs neurogenesis and hippocampus-dependent fear memory in mice: possible involvement of a brain-specific transcription factor Npas4. *J Neurochem* 2010; 114(6): 1840-1851.
- 311.** Radahmadi M, Alaei H, Sharifi MR, Hosseini N. The effect of synchronized running activity with chronic stress on passive avoidance learning and body weight in rats. *International Journal of Preventive Medicine* 2013; 4(4): 430-437.

312. Chen G, Yang B, Chen J, et al. Changes in Male Rat Sexual Behavior and Brain Activity Revealed by Functional Magnetic Resonance Imaging in Response to Chronic Mild Stress. *The Journal of Sexual Medicine* 2018; 15(2): 136-147.
313. Allouh MZ. Effect of swimming activity on the copulatory behavior of sexually active male rats. *International Journal of Impotens Research* 2014; 27: 113-117.
314. Arun S, Burawat J, Sukhorum W, et al. Chronic restraint stress induces sperm acrosome reaction and changes in testicular tyrosine phosphorylated proteins in rats. *International Journal of Reproductive Biomedicine* 2016;14(7): 443-452.
315. Yoon SH, Kim BH, Ye SK, Kim MH. Chronic non-social stress affects depressive behaviors but not anxiety in mice. *Korean J Physiol Pharmacol* 2014; 18(3): 263-268.
316. Lu J, Xu Y, Hu W, et al. Exercise ameliorates depression-like behavior and increases hippocampal BDNF level in ovariectomized rats. *Neurosci Lett* 2014; 573: 13-18.
317. Delgado-Morales R, del Rio E, Gomez-Roman A, et al. Adrenocortical and behavioural response to chronic restraint stress in neurokinin-1 receptor knockout mice. *Physiology Behavior* 2012; 105(3): 669-675.
318. Suvrathan A, Tomar A, Chattarji S. Effects of chronic and acute stress on rat behaviour in the forced-swim test. *Stress* 2010; 13(6): 533-540.
319. Han TK, Lee JK, Leem YH. Chronic exercise prevents repeated restraint stress-provoked enhancement of immobility in forced swimming test in ovariectomized mice. *Metabolic Brain Disease* 2015; 30(3): 711-718.
320. Guedri K, Frih H, Chettoum A, Rouabbhi R. Chronic restraint stress induced neurobehavioral alterations and histological changes in rat. *Toxicology and Environmental Health Sciences* 2017; 9: 123-129.
321. Kim TK, Han PL. Physical Exercise Counteracts Stress-induced Upregulation of Melanin-concentrating Hormone in the Brain and Stress-induced Persisting Anxiety-like Behaviors. *Experimental Neurobiology* 2016; 25(4): 163-173.
322. Zou J, Yuan J, Tu J. Effects of exercise on behavior and peripheral blood lymphocyte apoptosis in a rat model of chronic fatigue syndrome. *J Huazhong Univ Sci Technology Med Sci* 2010; 30(2): 258-264.

323. Ostadali MR, Ahangari G, Eslami MB, et al. The Detection of Dopamine Gene Receptors (DRD1-DRD5) Expression on Human Peripheral Blood Lymphocytes by Real Time PCR. *Iran J Asthma Immunol* 2004; 3(4): 169-174.
324. Guadarrama-Bazente IL, Canseco-Alba A, Rodriguez-Manzo G. Dopamine receptors play distinct roles in sexual behavior expression of rats with a different sexual motivational tone. *Behavioural pharmacology* 2014; 25(7): 684-694
325. Karami Kheirabad M, Namavar Jahromi B, Tamadon A, et al. Expression of Melanocortin-4 Receptor mRNA in Male Rat Hypothalamus During Chronic Stress. *Int J Mol Cell Med*. 2015; 4(3): 182-187
326. Zhou Y, Kreek MJ. Persistent increases in rat hypothalamic POMC gene expression following chronic withdrawal from chronic "binge" pattern escalating-dose, but not steady-dose, cocaine. *Neuroscience* 2015; 289: 63-70
327. Tanaka KF, Samuels BA, Hen R. Serotonin receptor expression along the dorsal-ventral axis of mouse hippocampus. *Philosophical Transactions B* 2012; 367(1601): 2395-2401
328. Moulledous L, Barthas F, Zejac JM. Opposite control of body temperature by NPFF1 and NPFF2 receptors in mice. *Neuropeptides* 2010; 44(5): 453-456
329. Yamano Y, Yoshika M, Toda Y, et al. Regulation of CRF, POMC and MC4R gene expression after electrical foot shock stress in the rat amygdala and hypothalamus. *J Vet Med Sci*. 2004; 66(11): 1323-1327
330. Lui J, Garza JC, Li W, LU XY. Melanocortin-4 receptor in the medial amygdala regulates emotional stress-induced anxiety-like behaviour, anorexia and corticosterone secretion. *Internationale Neuropsychopharmacologicum* 2013; 16(1): 105-120
331. Jassura do C, Price S, Sabira E, et al. Melanocortin-4 receptors in the PVN and RVLM are important in mediating cardiovascular responses to acute stress. *The FASEB Journal* 2014; 28(1): 686.7

ÖZGEÇMİŞ

14.01.1977 yılında Bingöl’de doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Tekirdağ’da tamamladım. 1995 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi’nde lisans eğitimime başladım. 2001 yılında mezun olduktan sonra vatani görevimi yerine getirdim. 2004 yılında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimime başladım ve 2007 yılında yüksek lisans eğitimimi tamamladım. 2014 yılında aynı bölümde doktora eğitimime devam ettim. 2006-2009 yılları arasında Pfizer İlaçları LTD. ŞTİ.’nde, 2009-2011 yılları arasında Munzur Üniversitesinde, 2011-2015 yılları arasında Elazığ Veteriner Kontrol Enstitüsü Müdürlüğünde görev yaptım. 2015 yılında Fırat Üniversitesi bünyesinde Öğretim Görevlisi olarak başladığım görevime halen devam etmekteyim.