

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**DELİ BALIN ERKEK RATLARIN ÜREME HORMON SEVİYESİ VE
CİNSEL DAVRANIŞLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Kutluhan Furkan GÜL

TRABZON – 2022

T.C.
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ACİL TIP ANABİLİM DALI

**DELİ BALIN ERKEK RATLARIN ÜREME HORMON SEVİYESİ VE
CİNSEL DAVRANIŞLARI ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ**

Uzmanlık Tezi

Dr. Kutluhan Furkan GÜL

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Abdülkadir GÜNDÜZ

TRABZON - 2022

ÖNSÖZ

Acil tıp uzmanlık eğitimimde emekleri olan ve desteklerini esirgemeyen tez danışman hocam Sayın Prof. Dr. Abdülkadir GÜNDÜZ'e, Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Tıp Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Özgür TATLI'ya, Sayın Doç. Dr. Yunus KARACA'ya, Sayın Doç. Dr. Aynur ŞAHİN'e, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Vildan ÖZER'e, Sayın Dr. Öğr. Üyesi Melih İMAMOĞLU'na, ve Sayın Dr. Öğr. Üyesi Sinan PASLI'ya saygılarımı sunar ve teşekkürü bir borç bilirim.

Çalışmamın deney ve veri analizi bölümünün her aşamasında emek harcayan Sayın Doç. Dr. Zafer ŞAHİN'e, Sayın Doç. Dr. Selim DEMİR'e ve Sayın Arş. Gör. Nazife ÜLKER'e teşekkür eder ve saygılar sunarım.

Tüm asistanlık sürecimde yaşamıma birçok anlamlı an katan ve yanımda olan asistan ve uzman arkadaşlarıma, çalışma verilerimin araştırma ve yorumlanmasında mesleki tecrübesi ile bana yol gösteren ablam Tüba GÜL'e, her konuda daima bana destek olan ve benim yanımda olan çok değerli babama, anneme ve diğer tüm aile üyelerime sonsuz teşekkürler.

Dr. Kutluhan Furkan GÜL

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
TABLolar DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
KISALTMALAR DİZİNİ.....	x
ÖZET.....	xiii
SUMMARY	xiv
1. GİRİŞ ve AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bal Nedir?.....	3
2.2. Bal ve Deli Bal Tarihi	4
2.3. Rhododendronlar	9
2.3.1. Ülkemizdeki Rhododendron Çeşitleri	11
2.3.1.1. Rhododendron luteum Sweet: Sarı Çiçekli Orman gülü, Zifin	11
2.3.1.2. Rhododendron caucasicum Pall.: Kafkas / Dağ Orman gülü	11
2.3.1.3. Rhododendron ungeronii Trautv.: Beyaz Orman gülü	12
2.3.1.4. Rhododendron smirnovii Trautv.: Pembe / Kızıl Orman gülü	13
2.3.1.5. Rhododendron x davisianum R. Milne, (R. smirnowii x R. caucasicum)	14
2.3.1.6. Rhododendron x filidactylis R. Milne, (R. ponticum x R. ungeronii).....	14
2.3.1.7. Rhododendron x rosifaciens R. Milne, (R. Smirnowii x R. ungeronii)	15

2.3.1.8. Rhododendron x sohadzeae Charadze & Davlianidze (R. ponticum x R. caucasicum)	16
2.3.1.9. Rhododendron ponticum L.: Mor Çiçekli Orman gülü, Komar	16
2.4. Grayanotoksin	18
2.5. Grayanotoksinlerin Kimyasal Yapısı	20
2.6. Cinsel Aktivasyon Döngüsünün Nöroanatomik ve Nörofizyolojik Kontrolü	23
2.7. Cinsel Aktivasyon Döngüsünün Nörohormonal Kontrolü.....	24
2.8. Cinsel Aktivasyon Döngüsünde Yaş ve Tecrübenin Önemi	26
2.9. Cinsel Aktivasyon Döngüsünde Feromonların Önemi	27
2.10. Grayanotoksinin İnsan Vücudu Üzerindeki Nörofizyolojik Etkileri	29
2.11. Grayanotoksinin İnsan Vücudu Üzerindeki Nöroendokrin Etkileri.....	32
2.12. Folekül Stimüle Edici Hormon (FSH) ve Lüteinize Edici Hormon (LH)....	32
2.13. Testosteron Metabolizması.....	33
2.14. Aromataz enzimi ve Östrojen	34
2.15. 5 Alfa-Redüktaz Enzimi	35
2.16. Grayanotoksinin İnsan Vücudu Üzerindeki Nörotransmitter ve Diğer Moleküler Etkileri.....	36
2.17. Grayanotoksin İçeriğindeki Bazı Maddelerin Spesifik Özellikleri	39
2.18. Grayanotoksinin Oksidan-Antioksidan İçeriğinin Cinsel Sistemler Üzerindeki Etkileri	41
2.19. Hayvan Modellerinde Cinsel Fonksiyonların Mekanizması ve Yorumlanması	43
3. MATERYAL VE METOD.....	48
3.1. Deney Hayvanları.....	48
3.2. Deney Grupları ve Uygulamalar	48
3.3. Cinsel Davranış Testleri	49

3.4. Cinsel Davranış Testinde Değerlendirilen Parametreler	51
3.5. Deneyin Sonlandırılması	52
3.6. Hormon Analizi	52
3.7. İstatiksel Analiz	59
4. BULGULAR	65
5. TARTIŞMA	68
5.1. Çalışmanın Kısıtlılıkları	85
6. SONUÇ	87
7. ÇALIŞMANIN BİLİME OLAN KATKILARI ve ÖNERİLER	88
8. KAYNAKÇA	91

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1.	Balın içeriğini oluşturan başlıca bileşenler (%) (1).....	4
Tablo 2.	Rhododendron ponticum polenin amino asit, mineral, fenolik ve vitamin içeriği (2).....	18
Tablo 3.	İnsan seksüel cevabının üç evresi üzerine etkili maddeler (3).....	36
Tablo 4.	Cinsel işlev bozukluğuna neden olan bazı nörotransmitterlerin etki mekanizmaları (3).....	39
Tablo 5.	Sıçan cinsel davranışına farklı parametrelerin etkileri. (Sıçan cinsel davranışının temel bileşenleri birinci sütunda, gözlemlenen cinsel motivasyon ve performans bozuklukları ikinci sütunda ve çeşitli kemirgen modelleri ile insan hastalıklarının incelenmesi üçüncü sütunda yer almaktadır. Anormal cinsel davranışın altında yatan nedenlerin detaylı incelemesi veya öngörülen nedenlerin doğrulanması için kullanılabilecek testler ve parametreler ise dördüncü sütunda yer almaktadır) (4).....	47
Tablo 6.	Akut etkinin incelendiği gruptaki ratların cinsel davranış testi (CDT) parametre düzeyleri arasındaki ilişki.....	60
Tablo 7.	Akut etkinin incelendiği gruptaki ratlardan alınan testis dokusunda ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki.....	60
Tablo 8.	Akut etkinin incelendiği gruptaki ratlardan alınan serum örneklerinde ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki.....	61
Tablo 9.	Kronik etkinin incelendiği gruptaki ratların cinsel davranış testi (CDT) parametre düzeyleri arasındaki ilişki.....	61
Tablo 10.	Kronik etkinin incelendiği gruptaki ratlardan alınan testis dokusunda ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki.....	62
Tablo 11.	Kronik etkinin incelendiği gruptaki ratlardan alınan serum örneklerinde ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki.....	62
Tablo 12.	Akut ve kronik etkinin incelendiği deli bal ile beslenen gruptaki ratların cinsel davranış testi (CDT) parametre düzeyleri arasındaki ilişki.....	63
Tablo 13.	Akut ve kronik etkinin incelendiği deli bal ile beslenen gruptaki ratlardan alınan testis dokusunda ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki	63

Tablo 14. Akut ve kronik etkinin incelendiği deli bal ile beslenen gruptaki ratlardan alınan serum örneklerinde ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki	64
---	----



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.	Eski Mısırlılarda Arıcılık Mezopotamya'da yaşayan Sümerlerin M.Ö. 3000 yıllarında balı ilaç olarak kabul ettikleri bilinmektedir (5).4
Şekil 2.	Balın etkisi altındayken kehanetlerde bulunan ve “Arı-Kahinler” (6)..... 6
Şekil 3.	16. Yüzyılda balın zehirleyici etkileri üzerine yazılmış olan kitap (The Feminine Monarchie by Charles Butler, 1632) (7) 8
Şekil 4.	Ülkemizin Doğal <i>Rhododendron</i> (Orman gülü) Türlerinin İri ve Gösterişli Çiçekleri: a- <i>R. ponticum</i> , b- <i>R. ungeronii</i> , c- <i>R. smirnovii</i> , d- <i>R. luteum</i> , e- <i>R. caucasicum</i> (Foto S. Terzioğlu)..... 10
Şekil 5.	<i>Rhododendron luteum</i> (Foto S. Terzioğlu) 11
Şekil 6.	<i>Rhododendron caucasicum</i> (Foto S. Terzioğlu)..... 12
Şekil 7.	<i>Rhododendron ungeronii</i> (Foto S. Terzioğlu)..... 13
Şekil 8.	<i>Rhododendron smirnovii</i> (Foto S. Terzioğlu)..... 13
Şekil 9.	<i>Rhododendron x davisianum</i> (Foto S. Terzioğlu)..... 14
Şekil 10.	<i>Rhododendron x filidactylis</i> (Foto S. Terzioğlu) 15
Şekil 11.	<i>Rhododendron x rosifaciens</i> (Foto S. Terzioğlu) 15
Şekil 12.	<i>Rhododendron x sochadzeae</i> (Foto S. Terzioğlu) 16
Şekil 13.	<i>Rhododendron ponticum</i> (Foto S. Terzioğlu) 17
Şekil 14.	Türkiye’de orman güllerinin yayılım gösterdiği alanlar (8)..... 17
Şekil 15.	GTX ve izoformları olan GTX I, II ve III’ün genel kimyasal yapısı (9).22
Şekil 16.	Testesteronun estradiol’e enzim aromatazın etkisi ile dönüşümü (10)... 35
Şekil 17.	Çeşitli toksinler tarafından modüle edilen sinyal iletim yolları (11). 42
Şekil 18.	Cinsel davranış testi düzeneği. A) düzeneğin genel şekli ve B) karanlık fazda gerçekleştirilen cinsel davranış testi. 50
Şekil 19.	FSH ölçümünde kullanılan standart grafiği 54
Şekil 20.	LH ölçümünde kullanılan standart grafiği 56

Şekil 21. TES ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	57
Şekil 22. 5 α R ölçümünde kullanılan standart grafiği.....	59
Şekil 23. Çalışmamızdaki veriler üzerinden, grayanotoksinin vücut üzerindeki etkilerinin yorumlanması	85



KISALTMALAR DİZİNİ

Rh	: Rhododendron
GTX	: Grayanatoksin
SF	: Serum Fizyolojik
M.Ö	: Milattan Önce
GRAY	: Grayanotoksin
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
IV	: İntravenöz
Na-K ATP az	: Sodyum- Potasyum Adenozidin Trifosfataz
DHT	: Dihidrotestosteron
DB	: Deli Bal
5AR	: 5 alfa-redüktaz
HHT	: Hipotalamo-Hipofizer-Testiküler
PC, KK	: Kâğıt Kromatografisi
TLC, İTK	: İnce Tabaka Kromatografisi
GK	: Gaz Kromatografisi
IR	: İnfrared
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
MS	: Kütle Spektrometrisi
LC-MS/MS	: Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi/ Kütle Spektrometri
LC-TOF-MS	: Sıvı Kromatografisi Uçuş Zamanlı Kütle Spektrometrisi
ER	: Östrojen Reseptörü
DHT	: Dihidrotestosteron
GnRH	: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon

StAR	: Steroidojenik Akut Düzenleyici Protein
PKA	: Protein Kinaz A
LH	: Lüteinleştirici Hormon
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
CDT	: Cinsel Davranış Testi
HcG	: İnsan Koryonik Gonadotropin
ML	: Mount Latensi
IL	: İntromisyon Latensi
EL	: Ejakülasyon Latensi
MF	: Mount Frekansı
IF	: İntromisyon frekansı
EF	: Ejakülasyon Frekansı
PEI	: Post Ejakülatör İnterval
IO	: İntromisyon Oranı
ÇO	: Çiftleşme oranı
CAİ	: Cinsel Aktivite İndeksi
LD50	: Lethal (Öldürücü) Doz
VMH	: Ventromedial Hipotalamus
SV	: Seminal Vezikül
BNST	: Stria Terminalinin Yatak Çekirdeğinin
POA	: Preoptik Hipotalamus
MeA	: Medial Amigdala
NO	: Nitrik Oksid
NOS	: Nitrik Oksid Sentaz
NE	: Norepinefrin

Ach	: Asetilkolin
DA	: Dopamin
LPS	: Lipid Peroksidasyonunun
ERa	: Östrojen Reseptörü Alfa
T	: Testosteron
MPOA	: Medial Preoptik Alan
TS	: Türk Standardı
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RNS	: Reaktif Azot Türleri
LPS	: Lipid Peroksidasyonu
AA	: Arjunolik Asidin
GSH	: İndirgenmiş Glutasyon
SOD	: Süperoksit Dismutaz
CAT	: Katalaz
GPx	: Glutasyon Peroksidaz

ÖZET

AMAÇ: Grayanotoksin (GTX), flavonoidler, fenoller gibi birçok doğal bileşiği yapısında barındıran deli bal (DB), *Ericaceae* familyasının *Rhododendron* cinsi bitkilerin nektarından elde edildiğinden orman gülü balı olarak da bilinmektedir. Bu çalışmanın amacı, DB'nin cinsel davranış ve erkek üreme hormonu seviyeleri üzerindeki etkilerini araştırmak ve olası fonksiyonel mekanizmalarını değerlendirerek bilimsel veriler ışığında sunmaktır.

MATERYAL VE METOD: Çalışmada, Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜDAM, Elazığ) temin edilen, 4-5 aylık sağlıklı cinsel aktiviteye sahip olan toplam 36 adet Sprague-Dawley ırkı erkek sıçan kullanılmıştır. Denekler, her grupta 6 adet rat olacak şekilde rastgele 6 gruba ayrılmış, bunlardan da üçü tek doz uygulama yapılarak akut, diğer üçü 30 gün boyunca hergün düzenli uygulama yapılarak kronik uygulama grubu olarak seçilmiştir. Her üçlü, SF verilen kontrol grubu, çam balı (ÇB) ve DB verilen grup olarak ayrıca incelenmiştir. Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyokimya Bölümün'de kan ve testis dokusunda testosteron (T), FSH, LH, 5 alfa redüktaz enzim (5aR) düzeyleri bakılmış ve sonrasında cinsel aktivasyon-davranış parametreleri tanımlı ölçekler çerçevesinde değerlendirilmiştir.

BULGULAR: Testis dokusu incelemesinde anlamlı fark bulunmazken, akut ve kronik grup arasında DB alanlarda, T ve 5aR düzelerinde anlamlı, FSH-LH seviyelerinde anlamlı olmasa da rakamsal artış saptanmıştır. Cinsel aktivasyon yönünden ise, kronik maruziyet grubunda post ejakülatuar intervalde (PEI), akut etki grubunda ise ejakülasyon latansında (EL) istatistiksel olarak anlamlılık mevcuttur.

SONUÇ: Elde ettiğimiz veriler, DB'nin içerdiği GTX izoformu, bala maruziyetin süresi, uygulanan dozun yüksekliğine bağlı olarak toksik etkileri olabileceği, bu etkilerin (otonom, nöroendokrin, nörotransmitter, vb.) santral mekanizmalara bağlı gerçekleştiği ve mortal seyredebileceğini göstermektedir. Fakat, daha ayrıntılı çalışmalara ihtiyaç olduğu da aşikârdır.

Anahtar Kelimeler: Deli bal, grayanotoksin, cinsel fonksiyon, hormon

SUMMARY

AIM: Mad honey (MH), which contains many natural compounds such as grayanotoxin (GTX), flavonoids, phenols, is also known as rhododendron honey because it is obtained from the nectar of Rhododendron plants of the Ericaceae family. The aim of this study is to investigate the effects of MH on sexual behavior and male reproductive hormone levels and to evaluate its possible functional mechanisms and present them in the light of scientific data.

MATERIAL AND METHOD: In the study, a total of 36 Sprague-Dawley male rats with healthy sexual activity of 4-5 months and obtained from Firat University Experimental Research Center (FÜDAM, Elazığ) were used. The subjects were randomly divided into 6 groups, with 6 rats in each group, three of them were selected as acute with a single dose application, and the other three were selected as the chronic application group by applying regularly every day for 30 days. Each trio was also examined as a control group given SF, and a group given pine honey (PH) and MH. Testosterone (T), FSH, LH, 5 alpha reductase enzyme (5aR) levels were measured in blood and testis tissue at Karadeniz Technical University, Department of Biochemistry and then sexual activation-behavior parameters were evaluated within the framework of defined scales.

RESULTS: While no significant difference was found in the testicular tissue examination, there was a significant increase in T and 5aR levels for the acute and chronic groups, in MH patients, and a numerical increase in FSH-LH levels, although not significant. In terms of sexual activation, there is statistical significance in the post ejaculatory interval (PEI) in the chronic exposure group and in the ejaculatory latency (EL) in the acute effect group.

CONCLUSION: The data we obtained show that MH may have toxic effects depending on the GTX isoform it contains, the duration of exposure to honey, and the high dose applied, and these effects (autonomic, neuroendocrine, neurotransmitter, etc.) occur due to central mechanisms and may be mortal. However, it is clear that more detailed studies are needed.

Keywords: Mad honey, grayanatoxin, sexual function, hormone.

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Deli bal zehirlenmesi ağırlıklı olarak Türkiye'nin Karadeniz bölgesinde görülür, ancak dünya çapında deli bal zehirlenmesi vakaları bildirilmiştir (12). Deli bal zehirlenmesi ilk olarak M.Ö. 401 yılında bir Atinalı yazar ve ordu komutanı olan Xenophon tarafından tanımlanmış ve M.Ö. 67 yılında Pompey'e karşı Kuzeydoğu Anadolu'nun Kral Mithradates (IV) tarafından silah olarak kullanılmıştır (13). Deli bal zehirlenmeleri genelde besin olarak tüketilmesi sırasında istemeden oluşur. Deli bal zehirlenmesinin nedenlerinden biride alternatif tıp ilacı olarak değişik amaçlarla kullanılmasıdır (14, 15).

Grayanotoksin, doğal olarak oluşan sodyum kanallarına etki eden bir toksin olup, *Ericaceae* familyasının *Rhododendron* cinsi bitkilerin nektarından elde edilen bal ile insan besin kaynağına girer. Grayanotoksin/deli bal zehirlenmesi az bilinen, fakat iyi çalışılmış, bir zehirlenmedir ve genelde yaşamı tehdit eden bradikardi, hipotansiyon ve değişen mental durum ile sonuçlanır (12-14).

Rhododendron türleri, dünya çapında bahçe bitkileri olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır ve bazı türler, romatizmal veya diş ağrısı, soğuk algınlığı ve ödem tedavisi için yaygın olarak analjezik olarak kullanılmaktadır (16). Grayanotoksin de nadiren de olsa konvülsiyonlara neden olabilir (17). İntoksikasyon vakaları, genellikle Karadeniz'de üretilen balın yenmesiyle ortaya çıkmaktadır. Bu bölgede halk, yara iyileşmesinde, artrit tedavisinde, mide ağrıları şikayetlerinde, bağırsak hastalıkları ve hipertansiyonda alternatif tedavi yöntemi olarak deli balı kullanır, ayrıca cinsel gücü artırıcı etkiye sahip olduğuna inanılmaktadır (18-20).

Bu çalışma ile Grayanotoksin içeren deli balın cinsel davranış ve erkek üreme hormonu seviyeleri üzerindeki etkilerini araştırarak yüzyıllardır yerel halk tarafından özellikle orta yaş üzeri erkeklerde cinsel destek amacıyla kullanılan deli balın bu etkisinin olup olmadığının bilimsel verilerle ortaya konması hedeflenmektedir. Bu çalışmada, Grayanotoksin'in gerçekte böyle bir etkisinin olup olmadığının, deli bal

ile beslenmiş erkek ratların davranış şekillerinde oluşabilecek değişikliklerin ve ratlardaki cinsel hormon seviyelerindeki farklılaşmaların gözlemlenmesi amaçlanmaktadır. Deli balın böyle bir etkisinin olup olmadığının bulunup açıklanması, deli balın cinsel performans artırıcı olarak alternatif tıp alanında kullanımını etkileyebilecektir. Böylece acil servislerde karşılaştığımız deli bal ile zehirlenme vakalarının başvurusunda değişiklik olması beklenmektedir. Ayrıca bu çalışma, benzer alanlarda yapılabilecek farklı çalışmalara öncü olabilecektir.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bal Nedir?

Bal, TS 3036 Bal Standardı'na göre; "Bitkilerin çiçeklerinde ya da diğer canlı kısımlarında bulunan nektar bezlerinden salgılanan nektarın ve bitki üzerinde yaşayan bazı böceklerin, bitkilerin canlı kısımlarından yararlanarak salgıladığı tatlı maddelerin, bal arıları (*Apis mellifera*) tarafından toplanması, vücutlarında bileşimlerinin değiştirilip petek gözlerine depo edilmesi ve buralarda olgunlaşması sonucunda meydana gelen tatlı bir ürün" olarak tanımlanmaktadır. Arılar tarafından bitkisel kaynaklardan toplanan nektarlar, sindirim sistemlerinde bir dizi kimyasal işlemle metabolize edilerek bala dönüşür. Bal türleri, arının nektar topladığı kaynağa göre çiçek balı ve salgı balı olmak üzere başlıca 2 gruba ayrılır. Çiçek balının kaynağı bitki çiçeklerinin nektarı olup başlıca çeşitleri; ıhlamur, yonca, turunçgil, pamuk, kekik ve akasya ballarıdır. Salgı balının kaynağını ise bitkilerin veya bitki üzerinde yaşayan böceklerin salgısı oluşturmaktadır. Bu grubun tipik örnekleri ise; çam, meşe, köknar ve yaprak ballarıdır (1).

Balın yapısında yaklaşık olarak 200 çeşit bileşen bulunmakta olup, içerdiği vitaminler, mineraller, organik asitler, flavonoidler, fenolik asitler, aminoasitler ve enzimler, kısacası kimyasal bileşimi, coğrafi ve botanik kaynağına göre değişiklik göstermektedir (21).

Bal, flavonoidler (luteolin, kuersetin, apigenin, galangin vd), fenolik asitler (kafeik asit, ferulik asit vd) ve bu maddelerin türevlerini içermekte olup balın yapısında bulunan bu tür polifenoller balın görünüşü ve fonksiyonel özellikleri üzerine de etkili olmaktadır. Balın fenolik bileşen miktarı nektar kaynağına ve coğrafi ve ekolojik şartlara göre değişiklik göstermekle birlikte, açık renkli bal örneklerinin fenolik bileşen içeriğinin koyu renkli ballara göre genellikle daha düşük olduğu bildirilmektedir (22).

Tablo 1. Balın içeriğini oluşturan başlıca bileşenler (%) (1).

	Çiçek Balı		Salgı Balı	
	Ortalama	En Küçük-En Büyük	Ortalama	En Küçük-En Büyük
Su	17.2	15-20	16.3	15-20
Monosakkaritler				
Fruktoz	38.2	30-45	31.8	28-40
Glikoz	31.3	24-40	26.1	19-32
Disakkaritler				
Sakkaroz	0.7	0.1-4.8	0.5	0.1-4.7
Diğerleri	5.0	2-8	4.0	1-6
Trisakkaritler				
Melezitoz	<0.1	-	4.0	0.3-22
Erlöz	0.8	0.5-6	1.0	0.1-6
Diğerleri	0.5	0.5-1	3.0	0.1-6
Oligosakkaritler	3.1	-	10.1	-
Mineraller	0.2	0.1-0.5	0.9	0.6-2
Aminoasitler	0.3	0.2-0.4	0.6	0.4-0.7
Asitler	0.5	0.2-0.8	1.1	0.8-1.5
pH değeri	3.9	3.5-4.5	5.2	4.5-6.5

2.2. Bal ve Deli Bal Tarihi

Anadolu halklarının en önemli geçim kaynaklarından biri olan balcılık ve arıcılık (M.Ö. 12.000-5000) e dayanan bir tarihe sahiptir. Avcılık ve toplayıcılıkla geçinen insanoğlu tüketicilik sonrasında üretici bir yapıya geçtiği çağlarda farklı kaynaklar bulmuşlardır. Bu amaçla arayışları sonucunda ilk kez bu dönemlerde bal arılarından faydalandıkları ortaya çıkmıştır(23).



Şekil 1. Eski Mısırlılarda Arıcılık Mezopotamya'da yaşayan Sümerlerin M.Ö. 3000 yıllarında balı ilaç olarak kabul ettikleri bilinmektedir (5).

Tarihi gelişmeler göz önüne alındığında arıcılık daha çok tarıma elverişli olmayan araziler, kırlık ve ormanlık alanlarda önemli bir gelir kaynağı olarak kabul edilmektedir. Aynı zamanda balın kullanımı yaygınlaştıkça gelir kaynağı olmasının yanı sıra çeşitli konularda şifa sağladığı ortaya çıkmıştır. Şifa ve tedavi amacıyla bal; yara iyileşmesi amacı ile bir merhem olarak, antimikrobiyal etkisine inanıldığı için enfeksiyon tedavisinde, yine romatizmal hastalıkların tedavisi amacıyla, kalp ve sindirim sistemi hastalıklarında ve buna benzer pek çok alanda tedavi edici ve şifalı etkilerinden faydalanılmak amacıyla kullanılmıştır (23).

Arıcılık farklı bölgelere yayıldıkça farklı çeşitlerde balların ortaya çıkması da kaçınılmaz olmuştur. Özellikle ülkemizde Doğu Karadeniz Bölgesi'nde, sıcaklık ve yağış değerlerinde kısa mesafede meydana gelen değişikliklerin bitki örtüsünün tür ve dağılımını etkilediği ve böylece çeşitli bitkilerin yetişmesini ve farklı zamanlarda çiçek açmalarını sağladığı bilinmektedir. Bu sayede bölgede arıcılık faaliyetleri gelişmiş ve farklı çeşitlerde bal türleri ortaya çıkmıştır (23). Bu bal çeşitlerinden bir tanesi de halk arasında "deli bal" olarak isimlendirilen baldır.

Halk arasında deli bal olarak da adlandırılan kestane balı hakkında Antik kaynaklardan günümüze kadar edinilen bilgiler doğrultusunda ulaştığımız en önemli veri, deli balın Komar ve Zifin çiçeği olarak da anılan orman gülünün polenlerinden elde edildiği verisidir. Sadece kuzey yarım kürede 850'den fazla Orman gülü ya da Latince adı ile Rhododendron türü bulunmakta olup Avrupa'da Alp Dağları, doğuda Kafkas ve Himalaya Dağları'na kadar geniş bir alana yayılmışlardır. Türkiye'de Karadeniz bölgesinde 800 metre yükseklikteki ormanlık alanlarda yetişirler, literatürdeki adı "Rhododendron Pontica" olarak geçer ve halk arasında orman gülü olarak bilinir (24). Orman gülü (Rhododendron ponticum L.) doğu ve batı akdeniz ülkelerinde doğal olarak yetişebilen bir ağaç türü olup bu ağacın çiçeğinden elde edilen bal insanlarda "bal tutması" olarak adlandırılan zehirlenmelere neden olabilmektedir. Türkiye'de "deli bal, tutan bal, kara ağı" veya "acı bal" olarak da isimlendirilir.

Deli bal dışarıdan bakıldığında diğer ballara göre daha kırmızı ve kahverengi bir görünüme sahiptir. Keskin ve kendine has bir kokusu bulunur. Yüzyıllardır yerel halk tarafından şifa amacıyla kullanılmaktadır. Deli balın kaynatılması veya uzun

süre bekletilmesi ile zehrinin azalacağına inanılmaktadır bu sebeple halk arasında bu balın sütle kaynatılıp köpüğü alınırsa zehirsiz hale geleceğine inanılır (24).

Deli bal hakkında tıbbi literatüre ek olarak tarih kitaplarında da dikkat çekici bilgiler bulunmaktadır. Milattan önce 8-6. yüzyıllar arasında yazılmış olan “Homeric Hymn to Hermes” adlı kitapta taze balın etkisi altındayken kehanetlerde bulunan ve “Arı-Kâhinler” olarak isimlendirilen genç kadınlardan bahsedilmektedir. Kitapta Parnassus Dağı eteklerinde yaşayan ve “yellow honey” adı verilen “olgunlaşmamış, sırlanmamış (üzeri bal mumu ile kapatılmamış) “balla beslenen kâhinlerin bu balı yiyemedikleri zaman kehanet özelliklerinin ortadan kaybolduğundan bahsedilir. Burada anlatılanlardan yola çıkarak “yellow honey” olarak tasvir edilen balı yiyen arı kâhinlerin bilinç değişikliği yaşadıkları anlaşılmakta olup bu balın muhtemel “deli bal” olduğu sonucu ortaya çıkabilir.

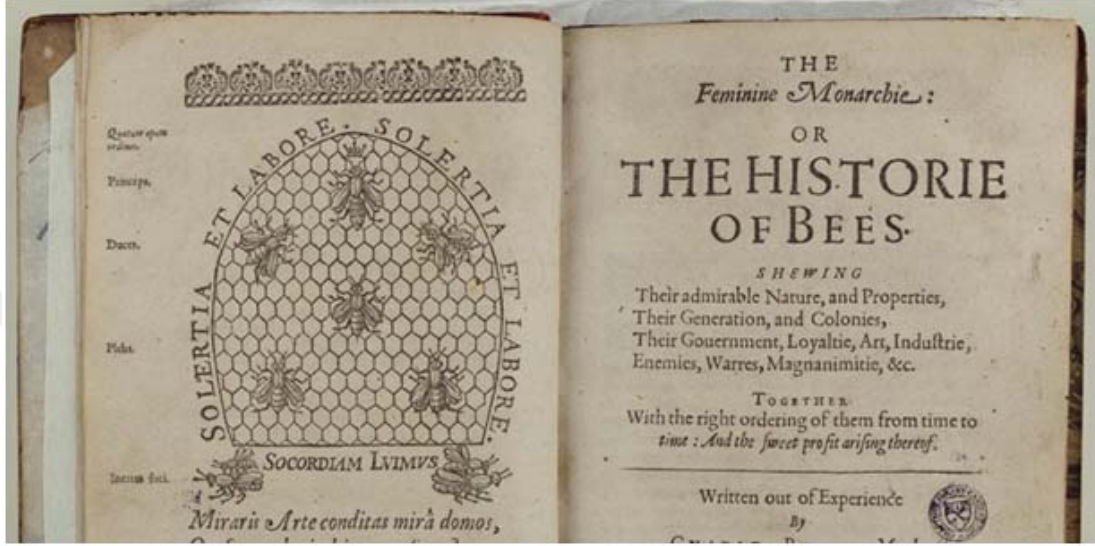


Şekil 2. Balın etkisi altındayken kehanetlerde bulunan ve “Arı-Kâhinler” (6).

Yine tarihte milattan önce 401 yılında, Persler üzerine düzenlenen seferde Yunan askerlerine komutanlık eden General Xenophon'un (M.Ö. 430-355) "The Anabasis" adlı eserinde, askerlerinin Trabzon dolaylarından geçerken konakladıkları alanda baldan zehirlenmelerini şöyle tariflemiştir: "Doruğa ulaşan Yunanlılar bol erzak dolu birçok köyde konakladılar. Bu köylerde onları şaşırtan bir tek şeyle karşılaştılar: Çok fazla kovan vardı. Bu kovanlardaki peteklerden bal yiyen askerler kustular, ishal oldular ve içlerinden hiçbiri ayakta duramıyordu. Az yiyenler körkütük sarhoş olmuş insanlara, çok yiyenler ise azgın çılgınlara, hatta can çekişen insanlara benziyorlardı. Birçoğu bir bozgun sonrasındaymiş gibi yere serilmiş, büyük bir umutsuzluk başlamıştı. Ertesi gün kimsenin ölmediği görüldü ve sarhoşluk yaklaşık olarak bir gün önce başladığı saatte geçti. Üçüncü ve dördüncü gün müşhil almış gibi bitkin düşmüş halde ayaklandılar." (25). Yazıda anlatılanlarla güncel bilgiler karşılaştırıldığında askerlerde deli bal zehirlenme bulgularının görüldüğü açık bir şekilde anlaşılmaktadır. Bu da bize deli balın zehirlenme bulgularının o dönemde de farkında olduğunu ve sadece şifa verici amaçla değil biyolojik bir silah olarak kullanılmak istenildiğini düşündürmektedir.

Hekim ve aynı zamanda farmakoloji bilgini olan Roma İmparatorluğu zamanında yaşamış Dioscorides de araştırmaları sonucunda zehirli ballar ile ilgili görüşlerini "De Materia Medica" adlı kitabında belirtmiştir. Konu hakkındaki yazısında; Heraklia'da bazı çiçeklerden yılın belirli dönemlerinde elde edilen balların zehirli olabileceğinden, zehirli balların kokusunun hapşırmaya neden olacağından ve tadının keskin olduğundan bahsetmiştir. Yazıda zehirlenme durumunda tedavi için sedef otunun yenilebileceğinden, tuzlu besinler ve bal şarabı ile hastanın kusturulabileceğinden bahsedilir. Balın, güneş yanıklarının ve sıyrıkların iyileşmesinde etkili olduğu görüşüyle tedavi edici bir yönünün de olabileceği yazıda belirtilmektedir (26). Yine Türk tarihi kayıtlarında da deli bal ile ilgili olabileceği düşünülen kayıtlar bulunmaktadır. Osmanlı imparatorluğu döneminde mahkeme kayıtlarının tutulduğu şerhiye sicilleri incelendiğinde; XVI. yüzyılda Trabzon'da geçen bir zehirlenme vakası dikkat çekmektedir. Bu zehirlenme vakası, "Abdullah oğlu İskender adındaki bir satıcının Nasuh oğlu Mustafa Bey ve misafirlerine iyidir dediği, övdüğü bir balı satması, bu baldan yiyen Mustafa ve arkadaşlarının zehirlenmeleri ve bu durum karşısında mahkemeye başvurarak Bakkal İskender'den

şikayetçi olduklarını söylemeleri” şeklinde Osmanlı şeriyeye sicil kayıtlarına geçmiştir. Kayıtlarda balı satın alan Mustafa ve arkadaşlarının neredeyse öldüklerinden bahsedilmektedir (27). Bu vaka da Karadeniz Bölgesi’nde görülen tipik deli bal zehirlenmesi vakalarına benzemektedir.



Şekil 3. 16. Yüzyılda balın zehirleyici etkileri üzerine yazılmış olan kitap (The Feminine Monarchie by Charles Butler, 1632) (7)

Yakın dünya tarihine bakıldığında, İngiliz bir jeolog olan William J. Hamilton’un tuttuğu kayıtlar dikkat çekmektedir. William J. Hamilton 1831-1835 yılları arasında Ermenistan ve Anadolu’da ziyaretlerde bulunmuş ve bu gezilerini kayıt altına almıştır. Kayıtlarda Trabzon’da üretilen deli baldan bahsedilmektedir. William J. Hamilton yazısında Trabzon’daki bu balın, Xenophon ve Strabon’un da bahsettiği bal olduğunu, sarhoş edici özelliğini hala koruduğunu belirtmiştir. Bölgede yaşayanlara göre zehirli balı, şehirdeki tepelerde bolca yetişen sarıçiçekli ormangülüyle beslenen arıların ürettiğini belirtmiştir. Hamilton yazısında araştırmalarından elde ettiği bu bilgileri Pliny’nin araştırmaları sonrası ortaya çıkardığı bilgilerle karşılaştırmıştır. Pliny balın tepelerde yaygın olarak yetişen ormangülü çiçeğinden alındığını söylemiştir ancak Hamilton ise arıların zehri, kokusuz Rohdodendrondan ziyade kokulu Azalea bitkisinden aldığı iddiasında bulunmuştur. Açıyaların bütün Trabzon sahili boyunca ve zehirli bal üretilen diğer bölgelerde de yetişmekte olduğunu belirten Hamilton, bu konudaki tespitlerinin Pliny’yi doğrular nitelikte olduğunu belirtmiştir (28). Güncel olarak bilinen bilgiler

de deli balın *Rhododendron Ponticum* ve *Rhododendron Luteum* olduğunu göstermektedir.

Anadolu'daki bitki florası hakkında bilgi edinmek isteyen Alman Botanist Prof. Dr. Kurt Krause (1883-1963) yine yakın tarihte Anadolu'yu gezmiş ve Anadolu florası hakkına incelemeler yapmıştır. Bu gezilerde Dr. Kurt Krause'nin elde ettiği bilgilere göre Antik Yunan döneminde ilgi çeken zehirli balın aynısının Anadolu'da üretildiğinden ve bu balı yiyen kişiler üzerinde antik çağlarda bıraktığı etkiyi bıraktığından bahseder. Yine bu yazısında Dr. Krause, kişisel deneylerine dayanarak bal zehirlenmesinin etkilerini betimler. Dr Krause'nin betimlemesine göre bal zehirlenmesi “tıpkı çılgınlık yapmak gibidir” ve zehirli tatlıdır. Sersemliğe ve bazen de kısa süreli bilinç kaybına neden olur, ardından halsizlik meydana gelir. Dr. Krause notlarında, arıların zehirli nektarı nereden aldığına henüz cevaplanamamış bir soru olduğundan ve şüphelerin iki ormangülü türü üzerinde yoğunlaştığından bahseder (29).

Deli bal tarih sayfalarında zehirlenme vakalarının yanı sıra tedavi edici yönü ile de yer edinmiştir. M.Ö. 382-322 yılları arasında yaşamış olan ünlü filozof Aristotle'nun yazılarının derlendiği “Works Of Aristotle” adlı kitapta; “Trabzon civarında üretilen balın rahatsız edici ağır bir kokusunun olduğu, epilepsi hastalarını tamamen tedavi ederken akli başında kişileri deliye döndürdüğü” ibaresine yer verilmiştir (30).

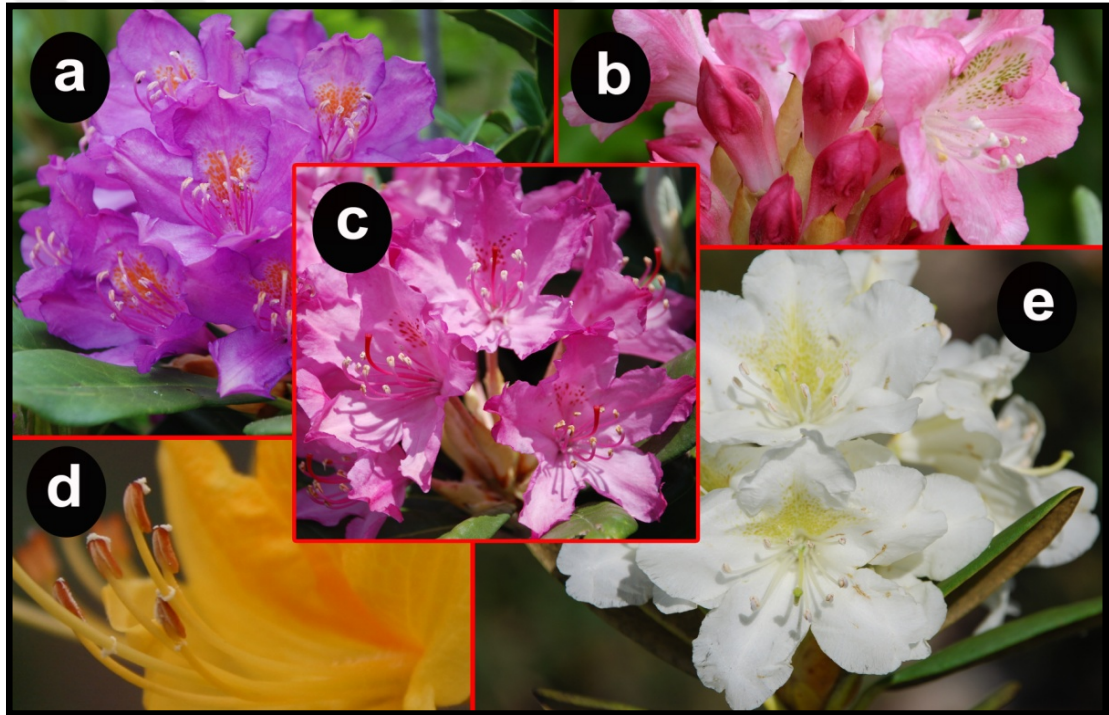
Deli balın, yüzlerce yıldır hem şifa vermesi amacıyla kullanıldığı hem de biyolojik silah olarak tercih edildiği anlaşılmaktadır. Bu tüketim sırasında da sıklıkla zehirlenme vakalarıyla karşılaşmaktadır (31).

2.3. Rhododendronlar

Bal üretimi öncelikli kullanım alanı olan ve değişik yöresel amaçlarla kullanılan odunlarıyla da dikkat çeken Ormangülleri (*Rhododendron L.*) ülkemizin nemli Kuzey ormanlarında batıdan doğuya geniş bir hat şeklinde uzanmış halde bulunmaktadır. Ülkemizdeki doğal türlerinin ve melezlerinin en yoğun yayıldıkları bölüm Doğu Karadeniz'dir ve en yaygın görülen türü *Rhododendron ponticum* ve

Rhododendron luteum ‘dur. Kuzey yarımkürede yaklaşık 1000 tür ve tür altı taksonu mevcuttur. Odunları ise başta fasulye sırgı olmak üzere dış mekânlarda kullanılabilirken birçok ev aleti yapımında da dayanıklı olmaları sebebiyle çokça tercih edilmektedirler. Yerel olarak tırmık, değişik alet sapları yapımında kullanılan odunu, yüksek kalorisi nedeniyle ısınmada ve fırıncılıkta yoğun bir şekilde tercih edilir. Ayrıca buldukları ekosistemlerde toprağı örterek rüzgâr ve su erozyonuna engel olabildikleri görülmüştür (32, 33).

Halk arasında bilinen adı “Komar-Kumar, Ağı-Ağu, Zifin-Çifin” gibi birden fazla olan Orman gülü türlerinin isimlendirilmelerinde; çiçeklerinin renkleri, yayılış özellikleri ve melez olmaları kullanılmıştır (32, 33).



Şekil 4. Ülkemizin Doğal *Rhododendron* (Orman gülü) Türlerinin İri ve Gösterişli Çiçekleri: a-*R. ponticum*, b-*R. ungeronii*, c-*R. smirnovii*, d-*R. luteum*, e- *R. caucasicum* (Foto S. Terzioğlu)

2.3.1. Ülkemizdeki Rhododendron Çeşitleri

RHODODENDRON L. (ERICACEAE): ORMAN GÜLÜ, KOMAR

2.3.1.1. Rhododendron luteum Sweet: Sarı Çiçekli Orman gülü, Zifin

Ülkemizdeki orman güllerinden yaprağını döken tür olarak bilinir. 3-4 m kadar yüksekliğe ulaşabilir. Çiçekleri sarı renkli ve keskin kokuludur. Diğer türler göre daha güney ve güneşli yamaçları tercih eder. 1830 yılında ilk kez Trabzon'dan toplanmış ve tanımlanmıştır.



Şekil 5. Rhododendron luteum (Foto S. Terzioğlu)

2.3.1.2. Rhododendron caucasicum Pall. : Kafkas / Dağ Orman gülü

Yeşil yapraklarının alt yüzükahverengi-pas renkli tüylerle kaplıdır ve kanarları kıvrık haldedir. Boyları 0.5 – 1 metre kadar uzayabilmektedir. Krem ve beyaz renkte çiçeklere sahiptir. Dağların subalpin ve alpin kesimlerde yoğun olarak yayılmışlardır. İlk kez 1784 yılında Kafkaslar'dan toplanmış ve tanımlanmıştır.



Şekil 6. *Rhododendron caucasicum* (Foto S. Terzioğlu)

2.3.1.3. *Rhododendron ungerii* Trautv.: Beyaz Orman gülü

Alt yüzü keçeeye benzer beya tüylerle kaplı yeşil renkte yaprakları vardır ve kenarları kıvrık şekilli değildir. Boyları 5 – 6 metreye kadar uzayabilmektedir. Çiçeklerinin renkleri beyazdan açık pembe tonlarına kadar değişkenlik gösterebilmektedir. Yer yer orman içi açıklıklarda yayılmış haldedirler. 1884 yılında il kez Artvin’den toplanmış ve tanımlanmıştır.



Şekil 7. Rhododendron ungerii (Foto S. Terzioğlu)

2.3.1.4. Rhododendron smirnovii Trautv.: Pembe / Kızıl Orman gülü

Yeşil yapraklarının kenarları alt tarafına doğru kıvrıktır ve alt yüzü keçe gibi yoğun beyaz tüylerle kaplı haldedir. Koyu pembe renkte çiçekleri bulunmaktadır. Boyları 5-6 metreye kadar uzayabilmektedir. Dağların yer yer subalpin kesimlerinde bulunurlar. İlk olarak Artvin'den toplanmış ve tanımlanmıştır.



Şekil 8. Rhododendron smirnovii (Foto S. Terzioğlu)

2.3.1.5. Rhododendron x davisianum R. Milne, (R. smirnowii x R. caucasicum)

İlk kez 2000 yılında Artvin'den toplanmış ve tanımlanmıştır. Haziran-Temmuz aylarında çiçeklenir.2000 metre yüksekte yayılmış haldedir.



Şekil 9. Rhododendron x davisianum (Foto S. Terzioğlu)

2.3.1.6. Rhododendron x filidactylis R. Milne, (R. ponticum x R. ungerii)

1750 metre yükseklikte yayılım gösterir ve ilk kez 2000 yılında Artvin'de tanımlanmıştır. Haziran-Temmuz aylarında çiçeklenirler.



Şekil 10. *Rhododendron x filidactylis* (Foto S. Terzioğlu)

2.3.1.7. *Rhododendron x rosifaciens* R. Milne, (*R. smirnowii* x *R. ungeronii*)

Doğu Karadeniz’de 1650 metre yüksekte yayılım göstermektedir. İlk olarak 2000 yılında Artvin’de tanımlanmıştır.



Şekil 11. *Rhododendron x rosifaciens* (Foto S. Terzioğlu)

2.3.1.8. *Rhododendron x sochadzeae* Charadze & Davlianidze (*R. ponticum* x *R. caucasicum*)

Bu tür dünya genelindeki en geniş yayılım gösteren doğal Orman gülü melezi olarak bilinir. 1967’de ilk kez Rusya’da toplanmış ve orada tanımlanmıştır. Doğu Karadeniz’de, 1700-2400 metre yüksekte yayılmıştır.



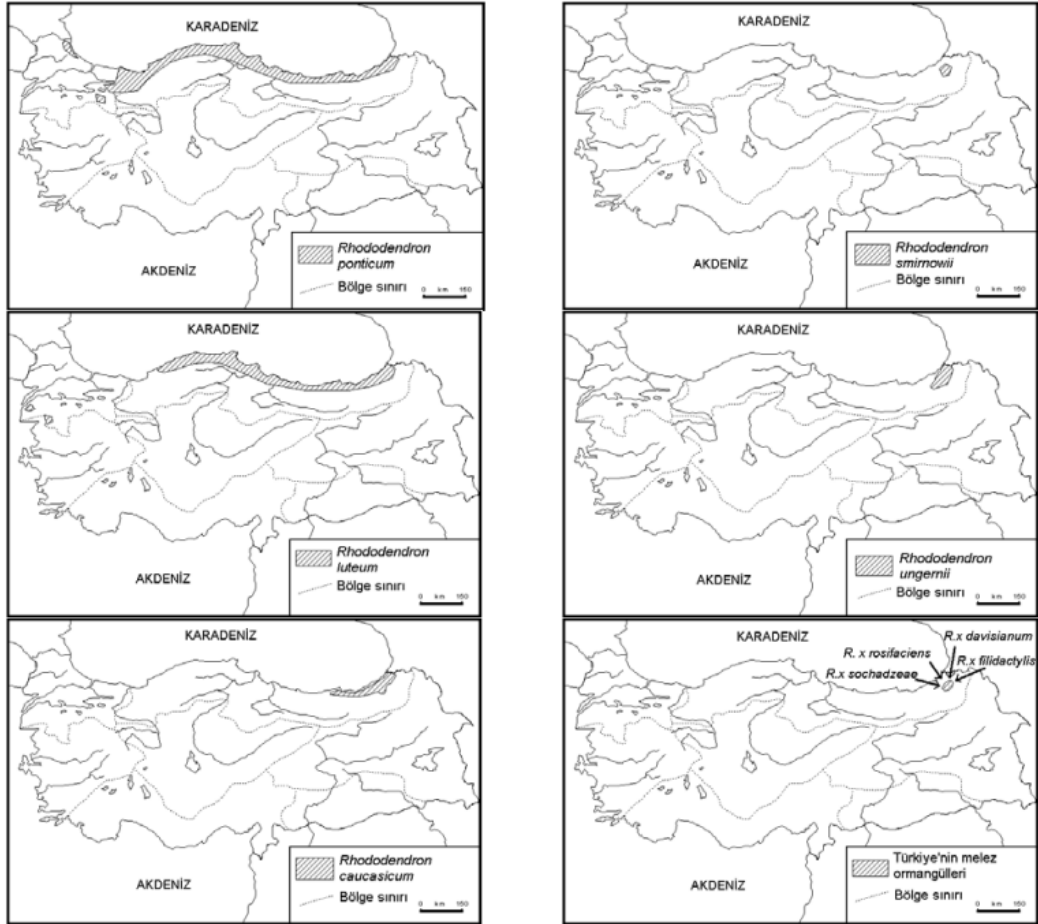
Şekil 12. *Rhododendron x sochadzeae* (Foto S. Terzioğlu)

2.3.1.9. *Rhododendron ponticum* L.: Mor Çiçekli Orman gülü, Komar

Yapraklarının kenarları düzdür ve alt yüzü tamamen çıplak halde bulunur. Nadiren albino renkteki türleri olsa da çiçek renkleri açık pembenden koyu pembeye doğru değişken haldedir. Boyları 4-5 metreye kadar uzayabilmektedir. Bu tür ilk kez 1762 yılında Karadeniz Bölgesi’nde tanımlanmıştır. Çiçeklenme zamanı ise (Mart) Mayıs – Haziran (Ağustos) aylarıdır. 150 – 1800 (2100) metre yüksekte yayılım göstermektedir.



Şekil 13. *Rhododendron ponticum* (Foto S. Terzioğlu)



Şekil 14. Türkiye’de orman güllerinin yayılım gösterdiği alanlar (8).

Yukarıdaki haritalarda görülen orman güllerinin Türkiye’deki yayılım alanları ile (Şekil 14.), deli bal sebebiyle meydana gelen zehirlenme vakalarının ortaya çıktığı bölgeler paralellik göstermektedir.

Tablo 2. Rhododendron ponticum polenin amino asit, mineral, fenolik ve vitamin içeriği (2).

Amino acids (µg/g)		Elements (mg/kg)		Phenolics (µg/100 g)		Vitamins (µg/100 g)	
L-Tryptophan	8053.00	Li	0.01	Gallic acid	83.17	A (β-carotene)	264
Taurine	68.71	Be	nd	Protocatechuic acid	59.79	A (Retinol)	22
L-Tyrosine	1256.60	Na	113.707	2,5-Dihydroxybenzoic acid	18.81	B1 (Tiamin)	315
L-Phenylalanine	2719.40	Mg	1113.509	Syringic acid	nd	B2 (Riboflavin)	735
L-isoleucine	1591.02	Si	nd	Salicylic acid	37.92	B5 (Pantothenic acid)	1940
L-Leucine	2091.80	P	3002.084	Caffeic acid	1137.09	B6	455
Gamma-aminobutyric acid	11374.60	K	9145.125	Chlorogenic acid	931.8	B7 (Biotin)	46
3-Amino isobutyric acid	5338.20	Ca	459.507	Catechin	1207.08	B12 (Cyanocobalamin)	0.86
L-Methionine	517.64	V	0.020	Epicatechin	1350.41	C (L- ascorbic acid)	16240
L-2-Amino adipic acid	94.38	Cr	0.071	Gibbarellic acid	nd	E (alpha tocopherol)	490
Beta-Alanine	413.24	Mn	25.629	Tyrosol	1137.65	K1 (Phylloquinone)	nd
L-Aspartic acid	7152.80	Fe	47.007	Verbascoside	nd	K2 (Menaquinone-4)	1.51
L-Glutamic acid	7791.40	Co	0.009	Sinapic acid	nd		
L-Valine	2236.60	Ni	3.764	Rutin	441.46		
L-2-aminobutyric acid	19.28	Cu	13.496	2-Hydroxytranscinnamic acid	nd		
Ethanolamine	1055.62	Zn	28.760	p-Coumaric acid	945.95		
L-Alanine	870.76	Ga	nd	Naringin	nd		
L-Threonine	646.06	As	nd	trans-Ferrulic acid	147.73		
L-Serine	5838.00	Se	0.0154	Ethyl Gallate	nd		
L-Glycin	1986.56	Rb	25.177	Phlorizin	14.54		
L-Asparagine	62606.00	Sr	2.111	Indole-3-acetic acid	nd		
trans-4-hydroxy L-proline	2291.00	Pd	0.003	Oleuropein	nd		
L-Glutamine	395.08	Ag	nd	Resveratrol	nd		
L-Proline	14341.60	In	0.113	Myricetin	3744.36		
Sarcosine	16.73	Sb	nd	Ellagic acid	nd		
L-Homocitrulline	nd	Cs	0.006	Propyl gallate	nd		
L-Citrulline	34.16	Ba	17.626	Quercetin	23.5		
DL-Homocystine	nd	Hg	nd	Abcsic acid	408.66		
O-Phosphoryl Ethanolamine	nd	Tl	nd	Lutolein	6.68		
Argininosuccinic acid	nd	Pb	nd	KaempferolF	191.09		
L-Arginine	6320.20	Bi	nd	Isorhamnetin	9.61		
L-Cystathionine	nd			Jasmonic acid	30.93		
L-Cystine	nd			Apigenin	nd		
L-Histidine	1222.08						
L-Ornithine	11.31						
L-Carnosine	nd						
L-Lysine	939.82						
O-Phospho-L-Serine	nd						
DL-5-Hydroxy lysine	nd						
3-Methyl-L-Histidine	91.32						
1-Methyl-L-Histidine	81.14						
L-Anserine	nd						

nd: not detected

2.4. Grayanotoksin

Grayanotoksinler (GTX) toksik polihidroksile diterpenlerdir. GTX-I’den tiplenerek GTX-II ve GTX-III’ ü meydana getiriler. Bu bileşikler Rhododendron ve

Kalmia gibi türlerin yapraklarında, çiçek gibi kısımlarında bulunur ve nektar salgısının büyük bir kısmını oluştururlar. Bugüne kadar Rhododendron türlerinden 25 grayanone tipi diterpenoid izole edilmiştir (23, 34)

Bal arıları bu bitkilere ait polenleri ve nektarı alırken aslında bu bileşikleri de alıp kovandaki petek gözlere taşırlar. Nektar bal kovanına taşınıp petek gözlere gömüldüğünde bu bileşikler detoksifiye olmazlar. Fakat bal herhangi bir şekilde kovandan alınıp yenilince GTX' ler toksik etkilerini gösterirler. Bu nedenle bu bal çok eski yıllardan beri "tutan bal" veya "deli bal" olarak adlandırılmıştır ve halen pek çok yerel yerleşim yerinde bu adları ile bilinirler (23).

Arı ürünlerinin canlılar üzerindeki etkilerine ilişkin farklı alanlarda yapılan çalışmalardan bazılarında bal ve polen hem tek başlarına hem de karışım şeklinde uygulanarak veriler değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerde, bal ve polenin ayrı ve birlikte uygulanmasının farklı sonuçlar doğurduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalar hem hayvan deneklerde hem de insanlarda benzer sonuçlar vermiştir. Genel olarak, bal ve polen karışımının etkinliği arttırdığı belirtilmiştir (35, 36). Bildiğimiz gibi arılar topladıkları polenleri kovana getirip, bazı süreçler sonucunda bal olarak üretmektedirler. Bu nokta da işin içiresine arının kendi bünyesinde barındırdığı, kendisi için toksik olma da insanlar için alerjik ya da toksik olabilecek, hatta arı zehiri olarak da bilinen maddelerinde ürettikleri balın içerisine eklenebilmesi söz konusudur. Ayrıca, arıların sadece polen değil, birkilerin üzerinde farklı canlı türleri tarafından oluşturulmuş, o canlıların özelliklerine göre içerik ve etki yönünden değişik moleküller barındıran reçine ve sekresyonları da topladığı ve ürettikleri bala ilave ettikleri bilinmektedir. Ayrıca birçok deli bal çalışmasına ayrıntılı bakılırsa, içerik analizlerinin bal ve polenler için çok farklı olabildiği görülebilir.

GTX'ler merkezi sinir sistemindeki hücre zarlarının sodyum kanallarına etki ederek kanallara açık durumda bağlanarak inaktivasyonu tüm memelilerde olduğu gibi arılar için de önler. Apis ve Bombus'taki sodyum kanalı genlerinin ve proteinlerinin incelendiği bir çalışmada, %60 'dan fazlasının benzer olduğunu, ancak GTX'in toksik etkilerine karşı metabolizmasında veya detoksifikasyonunda görevli genler yönünden belirgin farklılıklar olduğunu göstermiştir. Soliter arı, bal arısı ve yaban arıları üzerinde yapılan bir başka çalışma ise, insanların tam tersine, bal arıları

için *R. ponticum* nektarının toksik bileşeninin GTX III değil GTX I olduğunu, GTX'e bağlı ölüm oranlarının belirgin olarak arttığı ve diğer arıların ise herhangi bir GTX'den etkilenmediğini göstermiştir (22, 37, 38). Bu çalışmalar, DB içeriğinin neden özellikle insanlarda toksik etkileri olan GTX III ve bileşenleri açısından zengin olduğunu ortaya koymuştur

Epoksit hidrolazlar, juvenil hormon (JH) degradasyonundaki rolleriyle böceklerde en iyi bilinen çok işlevli enzimlerdir. Bal arısında, esas olarak kast farklılaşması ve işçilerin yaşa bağlı davranışsal gelişiminde rolleri ve arılar diğer sosyal hymenopteraların (eşek arıları ve karıncalar gibi) aksine, diyetleri tamamen protein ve lipid kaynağı olarak nektar ve özellikle polen gibi bitkisel ürünlerle sınırlı olduğu, böceklerdeki EH aktivitesinin, diyetlerinde bulunan bitkisel doğal ürünler arasında yaygın olan epoksit işlevselliği olduğu için bal arılarında özellikle önemlidir (39). İnsanlarda ise suda çözünür formda olarak (sEH), birçok dokuda varlıkları gösterilmiştir. Karaciğerde geniş dağılımı olmasına rağmen, böbrek gibi diğer dokularda daha lokalize yerleşmiştir. Beyinde, arteriyollerin düz kaslarında, nöronal hücre gövdelerinde, oligodendrositlerde ve astrositlerde de yüksek oranda ekspresyon edilir. Vasküler etkisi nitrik oksit (NO) tarafından modüle edilirken, G proteinine (Gs) bağımlı bir mekanizma yoluyla vasküler düz kas üzerinde etki ettiği öne sürülmüştür (40).

2.5. Grayanotoksinlerin Kimyasal Yapısı

Lipid çözünebilir olan grayanotoksinler uçucu olmayan toksik diterpenlerdir. Günümüzde grayanotoksinler olarak bilinen bu toksik diterpenler eskiden çoklu hidroksilli halkalı hidrokarbon bileşikler olarak andromedotoksin, asetil andremodol ve rodotoksin olarak bilinmektedir (24).

Grayanoid diterpenler (Rhodojaponin III, grayanotoksin III ve kalmanol), tetrasiklik diterpenoidler olup, bu bileşiklerin ekolojik fonksiyonunun savunma konusunda olduğu ve DB içeriğinde bulunup, çeşitli biyolojik aktivitelerden sorumlu olduğunu bildiren yayınlar vardır. Rhodojaponin III, *R. molle* bitkisinin çiçeklerindeki aktif bileşen olarak tanımlanmıştır. Yapılan bir çalışmada, bal arısı kolonilerinde üretim dönemi sonrası tekrar kullanılmak kovanlardan alınıp depolanan

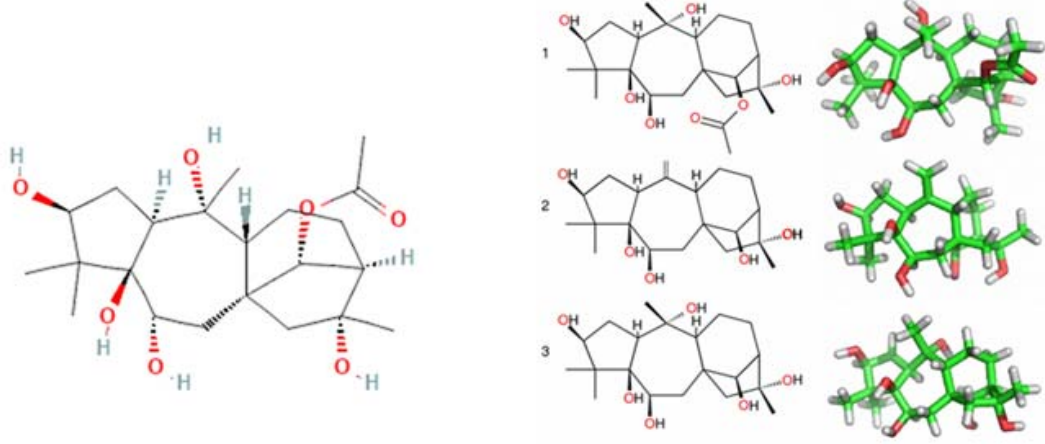
petekleri tahrip ederek, tekrar kullanılmaz hale getiren büyük balmumu güvesi *Galleria mellonella* L. (Lepidoptera: Pyralidae)'nın larvalarına karşı Rodojaponin-III'ün botanik insektisit fonksiyonu ile nöromuskuler blokaj yaparak beslenme önleyici, büyüme inhibitörü ve böcek öldürücü aktivite gösterdiği görülmüştür (37, 41, 42).

Toksinlerin kimyasal yapısı ve toksisiteleri arasındaki ilişkinin değerlendirildiği bir araştırmada, Hikino vd. (1967) incelenen toksinler arasında en basit yapıya Grayanotoksin III'ün sahip olduğunu belirtilmiştir. Rodojaponin IV'nin LD50 değeri 1,31 olarak belirlenmiştir. Moleküler yapıya bakıldığında; Grayanotoksin III'ün 2C pozisyonuna bir hidroksil grubu girdiği ve bu kimyasal yapı farklılığının toksik etkiyi düşürdüğü raporlanmıştır. Grayanotoksin III'ün 3β pozisyonuna bir hidroksilin gelmesi ise toksik etki oluşumu için kritiktir (3 deoxy grayanotoksin III LD50 >100), onun dehidrjenasyonu ile grayanotoksin V (LD50>100) ve 3α konfigürasyonuna konversiyonunda 3-epi grayanotoksin (LD50 >100) meydana gelmekte ve toksitede belirgin bir azalma görülmektedir. Bununla birlikte Grayanotoksin III'ün 3 β hidroksil aldığı Rodojaponin III olmaktadır ve daha fazla toksik etki görülmektedir (LD50: 0.40). Yine, Grayanotoksin III'teki 10 hidroksilin dehidrasyonu olan grayanotoksin II de toksik etkinin belirgin oranda azaldığı görülmüştür. Benzer şekilde 14β hidroksil için bir acetoxyl'in yer değiştirmesi (grayanotoksin III---- grayanotoksin I ile rodojaponin III ----IV) toksik etkiyi önemli miktarda azaltmaktadır.

Özet olarak, toksinlerin C zincirleri toksisite gelişimine büyük oranda etki etmektedir. 11 α ya da 12 β- hidroksil biyolojik aktivitenin ortaya çıkmasını bloklamaktadır. Kimyasal yapı ve aktivite arasındaki ilişki değerlendirildiğinde, grayanotoksin III'ün β oryantasyonunda hidroksiller toksiteye büyük miktarda katkı sağlarken Grayanotoksin III'ün α konfigürasyonunda olanlar sadece az aktivite göstermektedir. İlave hidroksiller ise yüksek toksik etkinin ortaya çıkmasına engel olmaktadır.

Bu çalışmalarda da görüldüğü gibi, DB içerisinde bulunan maddeler her ne kadar arılar için faydalı olsalar da insanlar ve diğer canlılar için toksik olabilir.

Grayanotsinler içerisinde en toksik olanın GTX IV olduğu ve onu GTX III'ün takip ettiği belirtilmiştir (43).



Şekil 15. GTX ve izoformları olan GTX I, II ve III'ün genel kimyasal yapısı (9).

Grayanotoksinin ballardan saflaştırılma ve izole etme yöntemleri çeşitli şekillerde yapılabilmektedir. İstenilen maddeden GTX'leri saflaştırmak için genel olarak kullanılan ekstraksiyon yöntemleri kullanılabilir. Bu yöntemlerden biri kâğıt kromatografisi (PC, KK) ve ince tabaka kromatografisi (TLC, İTK) kullanımıyla bu bileşiklerin sulu alkol çözeltileriyle ekstraksiyonu ve ayrılması sınıflandırılmaları için kullanılan yöntemdir. 1960'larda ve sonraki yıllarda analitik ayırma yöntemlerindesıkça kullanılan gaz kromatografisi (GK) uygulamaları ve ondan biraz daha farklı olan gazsıvı kromatografisi analiz aşamasında bir diğer yol gösterici seçenek olmuştur. Daha ileri analizler infrared (IR), nükleer manyetik rezonans (NMR) ve kütle spektrometrisi (MS) ile yürütülebilir.

Son 20 yılda ise sıvı kromatografisi-kütle spektrometrisi/ kütle spektrometri (LC-MS/MS) ve son yıllardaki sıvı kromatografisi uçuş zamanlı kütle spektrometrisi (LC-TOF-MS) grayanotoksinlerin biyolojik materyallerden (yaprak, çiçek ve bal) belirlenmesinde kullanılmaktadır (23).

2.6. Cinsel Aktivasyon Döngüsünün Nöroanatomik ve Nörofizyolojik Kontrolü

Cinsel aktivasyon süreci; merkezi sinir sisteminin hipotalamus, beyin sapı, omurilik, otonom sistem, refleks yollar, sinaptik iletimler üzerinden oluşur (44). Hormonların kan dolaşımına geçerek hedef organ üzerinde etki gösterme süresi, nöral yolla oluşan etkiye göre daha uzundur (45).

Cinsel davranışı kontrol eden başlıca nöroanatomik alanlar; ön medial beyin demeti, hipotalamusun medial preoptik anterior (MPOA) bölgesi ve bununla ilgili limbik-hipokampal yapılar ve orta beyinin ventral tegmentumunu içermektedir (46). Hayvanlar üzerinde yapılan deneylerde, hipotalamusun elektrikle uyarılması sonucu, hayvanın spermini boşalttığı (ejakülasyon), özellikle hipotalamusun ventromediyal (VMH) çekirdeğinin uyarılması sonucu hayvanların sakinleştiği görülmüştür. Hipotalamusun hasarlanmasında ise cinsel gücün kaybolduğu görülmüştür (47).

Cinsel uyarılmanın nöroanatomik bağıntılarını araştırmak için fonksiyonel beyin görüntüleme tekniklerinin kullanıldığı birçok çalışmanın verilerinin incelendiği bir metaanaliz çalışmasında, deneklerden görsel cinsel uyarımları izlemeleri ve uyarımları kontrol etmeleri istenmiştir. İnceleme sonucunda, heteroseksüel erkeklerde kortikal aktivasyon bölgelerinin; lateral oksipitotemporal, inferotemporal, parietal, orbitofrontal, medial prefrontal, insular, anterior singulat ve frontal premotor korteksler ve ayrıca subkortikal bölgeler olduğu ifade edilmiştir. Görsel cinsel uyarımlar, amigdala ve talamusta erkeklerde daha belirgin aktivasyona neden olmuştur. Ejekülasyon sırasında, prefrontal korteks boyunca azalan aktivasyon gözlenmiştir (48).

Sıçanlarda ventromedial hipotalamusun ventrolateral alt bölümü (VMHvl), erkek-erkek ve erkek-kadın sosyal karşılaşmaları sırasında aktivitesi artan nöronları içerdiğinden, bu bölgedeki östrojen reseptörlerinin aktivasyonu ile hem erkek hem de dişi deneklerde montaj davranışının, koklama ve birbirine yaklaşma hareketlerinin teşvik edildiği gösterilmiştir (49).

MPOA, erkek cinsel davranışının hem cinsel uyarılma hem de performans aşamalarının düzenlenmesi için önemli olup, lezyonlarını takiben erkek cinsel davranışının bozulduğunu ve MPOA uyarımı ile arttığını gösteren çalışmalar vardır (50). MPOA'nın ana innervasyon kaynağı medial amigdalanın (MeA) kimyasal uyarımının, hücre dışı MPOA'da DA seviyelerini arttırdığı ve erkek cinsel davranışını kolaylaştırdığı gösterilmiştir (51).

Erkeklerde, VMH'nin koku işaretleme ve eş tercihleri gibi sosyoseksüel davranışlar için hayati olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (52).

Spinal düzeyde torakolomber sempatik, sakral parasempatik ve motor (Onuf çekirdeği) nükleuslar, periferik ve serebral uyarı girdilerinin integrasyonu ve pelvipereineal yapılara gönderdikleri uyarıcı sinyaller ile ejakülasyon fizyolojisinde, duyuşal bilgilerin, sekretuar, otonomik ve somatik motor uyarılar haline dönüştürülmesinde önemli role sahiptir. Yapılan çalışmalarda ejakülasyonda rol alan spinal internöronların lomber L3-L4 segmentlerde lamina X ve VII de yerleşim gösteren internöronlar olduğu (Lst) ve hücrelerin galanin, kolesistokinin ve enkefalin içerdiği gösterilmiştir. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda; periferden gelen pudental sinir afferent liflerinin Lst hücrelerinin hemen yakınında sonlandıkları, bulbospinöz (BS) kası innerve eden motor nöronların, spinal sempatik ve parasempatik preganglionik nöronlar ve Lst hücreleri ile bağlantısı gösterilmiştir. Ejakülasyonun her iki fazını, sempatik, parasempatik ve motor nöronların koordinasyonu ile kontrol eden torakolomber seviyede lokalize spinal refleks merkezi olup, buradaki Lst hücrelerin, ejakülasyonun emisyon fazını kontrol eden torakolomber sempatik nükleuslara projeksiyonlar gönderdiği gibi, ejakülasyon esnasında SPN da yoğun innervasyonlar göndererek hem penis, prostat ve vas deferens kontraksiyonlarını, hemde seminal vezikül (SV) başta olmak üzere aksesuar glandların epitelyal sekresyonlarını kontrol ettiği gösterilmiştir (53).

2.7. Cinsel Aktivasyon Döngüsünün Nörohormonal Kontrolü

Triptofan, orman gülü polenlerinde yüksek oranda bulunan ve DB yapısında da yer alan bir aminoasittir. 5-Hidroksitriptofan (5-HTP), doğal olarak triptofandan oluşan bir ara madde olup, serotonin sentezinde öncü molekül olarak görevlidir (54).

Ejekülasyon sonrası salınan 5-HT'in, PEI dönemindeki sessiz periyodun oluşumunda görev aldığına dair yayınlar, 5-HT'in artışı ile ML, IL ve EL sürelerinin arttığı ve çiftleşmeyi engellediği ve serotonerjik inhibisyonun lateral hipotalamus üzerinden değil de, MPOA üzerinden gerçekleştiğini göstermektedir (55)

Oksitosinin (OT) çiftleşmeyi kolaylaştırdığını ve OT için tıpkı emzirme sürecinde olduğu gibi pozitif bir feed back etkisi ile her çiftleşmenin beyindeki OT/OTR sistemini uyardığı bir süreç olduğu ortaya konmuştur (56). Erkeklerde beynin hipotalamus bölgesinden salgılanan GnRH hormonu (gonadotropin salgılatıcı faktör) hipofiz bezine ulaşarak FSH ve LH hormonlarının üretimine yol açar. Sperm oluşumu ve testosteron salgısı, hipofiz bezinden salgılanan FSH ve LH hormonları tarafından kontrol edilir. Hipofiz bezinden salgılanan LH hormonu Leydig hücresinden testosteron salgısını artırırken, hipofiz bezinden salgılanan FSH hormonu seminifer tübüllerde sperm üretimini sağlar. Beyinde daha az LH salgılanması, daha az testosteron üretimi ve bozulmuş sperm üretimi ile sonuçlanır. İlerleyen yaş, testis ve hipofiz/hipotalamik defektler gibi birçok neden azalmış LH ve GnRH sekresyonuna ve buna bağlı olarak testislerde azalmış testosteron üretimine neden olabilmektedir. İnsanlarda testosteron seviyesindeki azalmanın, libido azalması gibi fiziksel değişikliklere, uyku bozuklukları, depresyon veya özgüven eksikliği gibi duygusal değişikliklere, yağ kütlesinde artış ve kas kütlesinde azalma gibi fiziksel değişikliklere de yol açtığına dair yayınlar mevcuttur (57).

Yapılan çalışmalarda, serum T düzeyindeki endojen artışın veya androjen tedavisinin, seminal veziküllerin (SV) sekretuar aktivitesinde ve SV ağırlığında artışa yol açtığı bildirilmektedir. SV aynı zamanda 5 alfa-redüktaz (5aR) aktivitesine sahip olduğu, LH ve insan koriyonik gonadotropin (hCG) reseptörleri içerdiği, LH tarafından direkt olarak regüle edilebildiği gösterilmiştir. SV, sempatik (süperior lumbar ve hipogastrik sinirlerden) ve parasempatik (pelvik pleksustan) innervasyon alır ve sekretuar aktivitesi kolinerjik ve adrenerjik sinir sistemiyle de regüle edilmektedir. Seminal veziküller, erkeklerdeki nitrik oksit sentetaz kaynaklarından biri olup, muskarinik uyarı ile nitrik oksit üretimi artırmaktadır (58).

Normal erkeksi cinsel davranışın ifadesi için T ve androjen reseptörlerine (AR) bağlanması gereklidir, ancak bu kandaki serbest T ile sağlanır. Androjen

reseptör proteini (ARP) sertoli hücrelerinde eksprese edilmekte ve bu durum T uyarımı ile gerçekleşmektedir. (Shah, Wasim, et al. "The Molecular Mechanism of Sex Hormones on Sertoli Cell Development and Proliferation." *Frontiers in Endocrinology* 12 (2021).) Üretilen T'un çok küçük bir kısmı serbest formda bulunur ve bununda çok az bir miktarı aromataz enzimi ile östrojene dönüştürülür. T, östrojen reseptörü alfa ve/veya beta'ya bağlanabilir. AR ve ERα ve ERβ, stria terminalinin yatak çekirdeğinin (BNST) medial alt bölümünün posteromedial bileşeni olan medial amigdala (MeA) ve preoptik hipotalamus (POA) gibi birbirine bağlı limbik bölgelerde yaygın olarak bulunduğu gösterilmiştir. Bir çalışmada, ERα nakavt farelerin veya sıçanların kısır olduğunu, ERβ nakavt farelerin veya sıçanların bu tür anormalliklere sahip olmadığını, ERα alt biriminin doğurganlık ve üreme için gerekli olduğunu göstermiştir (59).

2.8. Cinsel Aktivasyon Döngüsünde Yaş ve Tecrübenin Önemi

Memeliler için "yetişkin" ifadesi, türler arasında oldukça farklı zaman aralıkları ve yaşları temsil etmektedir. Kemirgenler cinsel olarak yaklaşık beş haftalıktan itibaren üreyebilirler de cinsel davranış paternleri ve cinsel olgunluğa ulaşması uzun zaman alabilir. Deneysel çalışmalarda 'yetişkin' tanımının kemirgenin cinsel olgunluğunu ifade ettiği ve 2-3 aylık bir sıçanın bu açıdan uygun olduğu, birçok kaynakta belirtilmektedir. Fakat, cinsel açıdan tecrübe oranı arttıkça, santral sinir sisteminde nöroplastisite geliştiği, bu durumun nörohormonal parametrelerde ve cinsel davranış üzerinde, tecrübesiz olanlara göre oldukça farklı sonuçlar doğurduğu da bir çok çalışma ile gösterilmiştir (60).

Bazı durumlarda, etkisi araştırılan maddenin deney hayvandaki davranışsal etkileri, yalnızca normalin altında cinsel aktiviteye sahip sıçanlarda saptanabilir. Düşük cinsel aktiviteye sahip hayvanlarda uyarıcı etkilerin tespit edilmesinin daha kolay olduğuna dair bazı çalışmalar mevcuttur. Bir başka yöntem de, erkeklerin tükenene kadar çiftleşmelerine izin vermek ve ardından araştırma konusu olan maddeyi hayvana uygulamak ve cinsel davranışları ne kadar hızlı iyileştirdiklerini belirlemektir (61). Nitekim deli bal tüketimi ile pozitif cinsel davranış etkinliği elde ettiğini söyleyen ileri yaştaki erkek bireylerde, gençlere göre daha bariz etki görülmesi bu nedenle olabilir.

Cinsel deneyimin kazanılmasının, çiftleşme verimliliğinde ve çiftleşmenin başlatılmasında farklı nöronal ağları içerdiği gösterilmiştir. Çiftleşme hızını düzenleyen anahtar sinir ağı, amigdala, BNST, merkezi tegmental alan ve MPOA arasındaki bağlantıları içerir. Cinsel deneyim kazanılması ile, MPOA'da, Fos protein ekspresyonunda ve cinsel aktivitenin düzenlenmesi için önemli olan nörotransmitter, reseptör veya enzim ve hormon seviyelerinde artış meydana gelir. Cinsel deneyim kazanılmasının, daha yüksek seviyelerde nitrik oksit sentaz, glutamat, dopamin, D1 reseptör sinyalizasyonu, D2 reseptör sinyali ve oksitosin reseptörleri ve androjen reseptörleri içeren artan sayıda nöron ile birlikte NO düzeylerinde artış ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, cinsel deneyimin kazanılması ve çiftleşme verimliliğindeki gelişmenin, nöronal plastisiteyi sağladığı, parieto-okspital kortekste c-fos gen ekspresyonu ile gösterilmiştir. Ek olarak, medial prefrontal korteksteki dopamin ve noradrenalin seviyeleri de cinsel deneyim ile doğrudan ilişkilidir (4).

2.9. Cinsel Aktivasyon Döngüsünde Feromonların Önemi

Feromonlar üzerine son yıllarda yapılan çalışmaların, tarım, hayvancılık, davranış bilimi, paramedikal tedavi yöntemleri, sosyoloji, gıda sektörü, aromaterapi, farmakoterapi ve daha birçok bilim alanında yoğunlaştığını görüyoruz. Gıda alımı ile feromonların değişimi ilk olarak 1970'lerde yemlerin besi hayvancılığına etkileri yönüyle araştırmalara konu olmaya başlamış. Birçok canlı türü çalışmalarda yer almıştır (62).

Prepusyal bezler, birçok memeli için üreme organlarının ön deri kıvrımlarında bulunan ve feromon ürettiği bilinen ekzokrin bezleridir. Kadınlarda Bartholin bez adıyla bilinirler Erkeklerde, sünnet derisinin iç yüzünde bulunur ve smegma adı verilen koyu kıvamdaki salgıyı oluştururlar. Prepusyal bezlerin çıkarılmasının dişi sıçanları cinsel açıdan deneyimli erkek sıçanlar için çok daha az çekici hale getirdiği, dişi sıçanların tüm vücut kokularının (., örn. vajinal salgılar veya idrar), erkek sıçanlar için prepusyal bez kokusunun kokularından daha çekici olduğunun gösterildiği birçok çalışma mevcuttur. Yapılan bir çalışmada, dişi prepusyal bez kokusunun üretimi, hayvanların endokrin durumu ile ilişkili olduğu, dişi prepusyal bezi tarafından cinsel kokuların üretilmesi ile alıcılığın başlaması arasında zamansal bir ilişki olduğu ifade edilmiştir. Dişi sıçanların tüm vücut ve

prepusyal bez kokularını test etmek için cinsel açıdan deneyimli erkek sıçanların kullanıldığı benzer bir çalışmada, erkek sıçanlar, bariz bir farkla prepusyal bezleri alınmış olan dişiler yerine, sağlam olanlara yönelim göstermişlerdir. Yumurtalıkları alınmış dişi sıçanlar yerine yine alınmamış olanlara yöneldikleri görülmüş. Özellikle östrus öncesi ve östrustaki dişi sıçanları tercih etmişlerdir. 7 gün boyunca östradiol benzoat alan ancak yumurtalıkları alınmış sıçanların ön salgı bezi kokuları erkek sıçanlar için çekiciyken, progesteron verildiğinde etki görülmemiş. Bununla birlikte, tek bir östradiol benzoat enjeksiyonundan 72 saat sonra verilen tek bir progesteron enjeksiyonu, yumurtalıkları alınmış sıçanları alıcı yapmakla kalmamış, aynı zamanda prepusyal bez kokularını erkek sıçanlar için çekici kılmıştır. Sonuçlarda; dişi sıçanın prepusyal bezinin, cinsel açıdan deneyimli erkek sıçanları çekmeye yarayan kokulardan sorumlu olduğunu, yumurtalık steroidlerinin, dişi sıçandaki alıcılığı arttırmasının yanında, prepusyal bezlerinde cinsel çekiciliklerini arttıran feromonların üretimini de kontrol ettiği, prepusyal bezlerin boyutu ile erkek sıçanları cezbetme yetenekleri arasında bir ilişki olmadığı, bu nedenle prepusyal bez büyümesi ve seks çekici maddelerin üretiminin aynı hormonal kontrol altında olmadığı ifade edilmiştir (63).

Melanosit uyarıcı hormonun (MSH) prepusyal bez kokularının üretimini de uyardığı yapılan çalışmalarla kesinlik kazanmıştır ancak, diğer hipofiz hormonlarının benzer bir etkiye sahip olup olmadığı konusunda yeterli veri yoktur. Hipofiz hormonlarının prepusyal bezlerin büyümesini uyardığı ve progesteron veya testosteron, MSH ile birlikte uygulandığında belirgin etkinlik artışı olduğu ve sadece prepusyal bezin boyutunun değil, aynı zamanda lipojenik aktivitesinin de arttığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Tirindelli ve ark nın yaptığı benzer araştırmada, prepusyal bezlerin boyutu ile cinsel çekiciliklerin varlığı arasında bir ilişki olmadığı, progesteronun, prepusyal bezlerin ağırlığını arttırmada rolü olsa da prepusyal bez kokularının salgılanması üzerinde hiçbir etkisinin olmadığı görülmüştür. Özellikle şimdiye kadar tanımlanmış memeli feromonlarının çoğunun lipid olduğu görüşü geçerliliğini kaybetmiş ve feromonların içeriğinde, türlere göre değişkenlik gösteren lipidler, proteinler ve farklı bazı kimyasal bileşiklerin izleri saptanmıştır. Koku alma organlarının feromonları algılamak üzere farklı nöronal alt kümeleri, feromon bağlanmasını elektrik sinyallerine dönüştürmek için belirli tipte reseptörleri, ikinci

haberci sistemleri ve iyon kanalları olduğu kanıtlanmıştır. Bu noktada kalsiyum kanallarının önemli olduğu gösterilmiştir (64).

Homoseksüel bireyler üzerinde yapılan çalışmalarda intrauterin eksik gonadal hormon maruziyeti, genetik yatkınlık gibi nedenlerin yanı sıra, koku reseptörlerinde ve beyindeki algı merkezlerinde bozulmaların sonucu olarak, feromonların algı, cinsel istek, cinsel tercih ve davranış modellerini değiştirdiği gösterilmiştir (65).

2.10. Grayanotoksinin İnsan Vücudu Üzerindeki Nörofizyolojik Etkileri

Bütün hücrelerde membran boyunca potansiyel farkı mevcuttur. Hücre dışı sıvıda sodyum (Na⁺) konsantrasyonu potasyum (K⁺) konsantrasyonundan 30-40 kat daha fazla halde bulunmaktadır. İyonların hücre içi ve dışında eşit olmayan dağılımı ile lipofilik membranlardan hidrofilik iyon geçişleri iyon kanalları ile kontrol edilir ve bu sayede dinlenme membran potansiyeli oluşur. Dinlenme esnasında sinir hücre membranının (K⁺) geçirgenliği, uyarı durumunda ise (Na⁺) geçirgenliği geçici olarak 600 kat artış gösterir. (Na⁺) girişi ile membran potansiyeli pozitif hale gelir ve aksiyon potansiyeli akson boyunca yayılmaya başlar ve en uç noktaya kadar iletilirerek bir diğer sinir hücresine aktarılır. Sodyum kanalları aksiyon potansiyelinin başlamasını sağlayan sodyum permeabilitesinde voltaja bağımlı artıştan sorumlu olan transmembran proteinleridir (66).

Grayanotoksinin hücre üzerindeki toksik etkileri sodyum kanalları üzerinden meydana gelmektedir. Maejima tarafından yapılan derlemeye göre grayanotoksinin voltaj bağımlı Na kanalları üzerine etkisi 3 aşamada gerçekleşir. İlk aşamada grayanotoksin voltaj bağımlı kanalların açılma fazında bu kanallara bağlanır daha sonra kanallar modifiye olur ve son olarak da modifiye Na kanallarının aktivasyon potansiyeli hiperpolarizasyonuna sebep olur. Bu durum sonucunda hücre membranında voltaj bağımlı aktivasyon veya inaktivasyon oluşur (67). Böylece, uyarılabilir hücreler (sinir ve kas) depolarizasyon durumunda kalır, bu sırada kalsiyumun hücrelere girişi daha kolay hale getirilmiş olur (68). İskelet ve kalp kaslarının, sinirlerin ve merkezi sinir sisteminin grayanotoksin alımı sonrası oluşan tüm yanıtları bu membran etkileri ile ilişkilidir (69).

Grayanotoksinin bir diğerk bilinen etki mekanizması da vagus siniri üzerinden gerçekteştirdiği inhibitör etkisidir. Klinik gözlemler ve sonrasında yapılan bazı çalışmalarda grayanotoksinin kardiyovasküler sistem üzerindeki bradikardi etkisini N. vagus üzerinden meydana getirmiş olduğu düşünölmüştür.

Yine yapılan farklı bir deneyde Onat ve arkadaşları, grayanotoksinin indökleği bradikardinin ve respiratuar depresyonun non-spesifik antimuskarinik bir ajan olan atropin ile düzeldiğini raporlamıştır. Bu bulgularla Onat, grayanotoksinin kardiotoksik etkisinin M₂-Muscorinik reseptörler üzerinden geliştiği sonucuna varmıştır (70). Deli bal intoksikasyonu vakalarında, GTX toksik etkilerinin, atropin verilmesi sonrası düzelme göstermesi, deli balın muskarinik reseptörler üzerinde de etkisi olduğunu göstermektedir (18, 71). Parasempatik sistem ile inerve edilen dokularda bulunan reseptörler “muskarinik reseptörler (M)” olarak bilinir. Sinir aksonu ile gelen uyarı, presinaptik sinir ucundan asetilkolin salınımı ile hedef organdaki M reseptörlere iletilir ve reseptörün alt tipine göre gelen uyarının ortaya çıkardığı etki de değişkenlik gösterir. M reseptörlerin beş alt tipi vardır; M1: Beyin korteksi, hipokampus, mide M2: Kalp, sinir dokusu ve düz kasta bulunur ve otoreseptör, cAMP azaltıcı, K kanallarının açılması görevleri vardır, M3: Glandlar, düz kaslar ve endotelde, dış salgı bezleri gastrointestinal yollar, solunum sistemi ,beyinde M4: Neostriatum, M5: Substantia nigra, striatum,hipokampus Pons,medulla, serebellumda bulunur (72).

Atropin, Atropa belladonna (Güzellavrat Otu) adlı bitkiden elde edilen bir alkaloid olup, muskarinik reseptör antagonistlerinin prototipidir. Hem santral hem periferik etkinliği olup, doz bağımlı olarak tüm M resptörler üzerinde etkisi vardır. Solunum sistemindeki M reseptörler uyarılınca bronkonstrüksiyon ve solunum sıkıntısı oluşur, kardiyak M reseptörler uyarılınca ise kalp kasılması azalır ve hız düşer.

Ejekölasyon oluşumundaki ikinci faz olan ejeksiyon (emölasyon) fazı yani; bulbokavernöz ve iskiokavernöz kasların ritmik kontraksiyonları, mesane boynunun kapanması ve eksternal üretral sfinkterin gevşemesi parasempatik sistem kontrolünde olur (73).

Asetilkolin sinir sisteminde majör nörotransmitterdir. Asetilkolin, kolinesteraz enzimi ile inaktif bileşenleri olan kolin ve asetik asite hidrolize olur. Kolinesteraz enziminin iki şekli vardır: asetilkolinesteraz (AChE) sinir dokusundaki eritrositlerde bulunurken psödokolinesteraz (plazma kolinesteraz) beyin, kalp, karaciğer, pankreas ve serumda bulunur. Kolinesterazın rolü, asetilkolinin kolin ve asetik asite hidrolizidir. Kolinesterazın inhibisyonu, sinir sinapslarında ve nöromuskuler kavşakta asetilkolinin artmasına yol açarak asetilkolin reseptörlerinin uyarılmasında artışa neden olur. Asetilkolin reseptörlerinin sürekli uyarımı ile motor son plaklarda asetilkolin birikimine bağlı olarak merkezi sinir sisteminde, otonomik gangliyonlarda, parasempatik ve sempatik sinir sonlarında ve somatik sinirlerde, yaygın kolinerjik sinaptik paralizi ile santral ve periferik klinik belirtiler ortaya çıkar. Parasempatik aktiviteye bağlı muskarinik etkiler ve sempatik aktiviteye bağlı nikotinik etkiler görülür. Asıl semptom ve bulgular muskarinik ve nikotinik reseptörler arasındaki dengeye bağlıdır. Organofosfatlar asetilkolinesterazın aktif bölümündeki serin aminoasitine kovalen fosfat bağı ile bağlanarak geriye dönüşümsüz bir baskılanma yaparlar. Organik fosfor kolinesteraz bağı, antidot tedavisi olmadan kendiliğinden geri dönmez ve 24-48 saatlik devamlı bağlanmada kolinesterazda geri dönüşümsüz yıkım oluşur (74).

Glans, primer erojenik bir alandır ve hem ereksiyonun başlatılmasında hemde ejakülasyonun son aşaması olan ekspülsiyon ve orgazm fazında görev almaktadır. Penis derisi ve glans penis'in duyusu n. dorsalis penis ile alınır ve n. pudendus aracılığı ile medulla spinalis'e aktarılır (75). Glans penisdeki nosiseptör olarak da adlandırılan ve uyarılmaları ile bilgiyi spinal korda taşıyan serbest sinir uçlarının uyarımının belli bir seviyeyi aşması durumunda, cilt altındaki basınç, yüzeyel, dokunma ve derin duyuyu algılayan cisimciklerde boşalma oluşur ve son aşama olan detümesans evresinde torakolomber sempatik yolak aktivasyonu ile vasküler ve düz kas üzerine olan etkiler sonucunda penisin flask gevşek bir hale dönmesi sağlanmış olur. Penil duyu yaştın ilerlemesiyle ters orantılı olarak azalmakta ve duyu kaybı nedenli cinsel fonksiyon bozukluk insidansı artmaktadır (76).

2.11. Grayanotoksinin İnsan Vücudu Üzerindeki Nöroendokrin Etkileri

Yapılan bir diğer çalışmada Tatlı ve arkadaşları, grayanotoksinin vücuttaki hipotalamik/hipofizer aks sonucu oluşan hormonlar üzerinden de çeşitli etkileri olabileceğini araştırmıştır. Deli balın farelerdeki testosteron oluşumu ve miktarı üzerine etkisini araştıran Tatlı ve arkadaşları, normal çiçek balı ve deli bal ile fareler üzerinde yaptıkları deneylerde serbest ve toplam testosteron miktarının deli bal kullanılmış olan grupta artış gösterdiğini görmüşlerdir. Eğer bu artış sadece toplam testosteron seviyelerinde olsaydı, testosteron bağlayıcı globulin seviyelerinde artış olarak yorumlanabilirdi ancak; FSH ve LH seviyesinde herhangi bir azalma olmaması, hipotalamo-hipofizer aksın artmış olan uyarılmasına bağlı olabileceği şeklinde yorumlanmıştır. Eğer deli bal testisleri uyararak testosteron artışı yapmış olsaydı FSH ve LH seviyesinde düşüş beklenirdi. Yine bu deneyde progesteron seviyelerinde artış yoktur, aksine progesteron seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı olmayan bir azalma vardır. Yapılan bu çalışmada Tatlı ve arkadaşları elde ettikleri bu bulgular ışığında grayanotoksin ihtiva eden bu balın hipotalamik/hipofiz aksı indüklediği ve hem serbest testosteron hem de toplam testosteron düzeylerini yükseltebileceği yorumlarında bulunmuşlardır (18).

2.12. Folekül Stimüle Edici Hormon (FSH) ve Luteinize Edici Hormon (LH)

İki gonadotropik hormon olan LH ve FSH ön hipofiz bezinin gonadotropik hücrelerinden üretilir ve bu hücrelerden salınır. Bu iki hormonun ismi kadında yaptıkları görevlerden gelmektedir. Hipotalamustan gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH) salgılanır, kısa bir portal dolaşım ile yüksek konsantrasyonlarda ön hipofizdeki reseptörleri aracılığı ile gonadotropik hücreleri uyarır ve bu hücrelerden luteinize edici hormon (LH) ve follikül uyarıcı hormon (FSH) salgılanır. Ön hipofiz ile testisler arasında portal bir dolaşım yoktur, bu nedenle LH ve FSH sistemik dolaşıma katılarak testislere ulaşmaktadır. LH testislerdeki Leydig hücrelerini uyararak testosteron (T) salınımını sağlarken, FSH Sertoli hücrelerini uyararak başta seks-hormon bağlayıcı globülin (SHBG) ve inhibin olmak üzere onlarca molekülün salgılanmasını sağlar ve spermatogenezin başlatılması, devam ettirilmesinde rol oynar (77).

2.13. Testosteron Metabolizması

Testosteron, androstenedion, dihidrotestosteron, dehidroepiandrosteron gibi birçok erkek cinsiyet hormonlarını kapsayan hormon topluluğu androjenler olarak isimlendirilmiştir ve androjenler arasında en yüksek düzeyde bulunan ve erkeklik hormonu olarak adlandırılan hormon ise testosteron olarak kabul edilmektedir (78, 79).

Erkek üreme sisteminde hormonal kontrol hipotalamo-hipofizer-testiküler (HHT) aks ile sağlanmaktadır. Bu mekanizma, santral sinir sisteminin yüksek merkezleri ile hipotalamus, hipofiz bezi, testisler ve periferik dokulardan meydana gelir. Birbiriyle uyum içinde çalışan bu aksın her seviyesinde salınan hormonlar aracılığıyla pozitif ya da negatif feedback sinyaller oluşur ve böylece testiküler fonksiyonun kontrolü ve koordinasyonu düzenlenmiş olur. Hipotalamus ve hipofiz bezi, santral sinir sisteminden hipotalamusa gelen noradrenerjik ve dopaminerjik uyarılar, median preoptik alandaki nöronlardan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sentezini ve bu hormonun salınımını kontrol etmektedir. Bir dekapeptid olan GnRH, hipofizer portal sisteme pulsatil olarak salınır ve hipofiz ön lobundan gonadotropinlerin sentez ve salınımını denetler. Bu gonadotropik hormonlar, lüteinize edici hormon (LH) ve follikül uyarıcı hormondur (FSH) olarak adlandırılan hormonlardır. LH, testiküler düzeyde, leydig hücrelerindeki G-proteini ile kenetli reseptörüne bağlanır ve testosteron sentezini ve salınımını uyarır (80).

Testosteron steroid yapıda bir hormondur ve kolesterolden birden fazla basmakta sentezlenmektedir. Vücutta sirkülasyonda bulunan LH, Leydig hücrelerinin yüzeyinde bulunan LH ve hCG için olan reseptöre (LHCGR) bağlanır. Bu reseptör G protein ile kenetlenmiş bir reseptör yapısındadır. Bu reseptörde meydana gelen agregasyon ve konformasyonel bir değişiklik sonucu Gs proteini aktive olur. Bir sonraki basamakta cAMP'ye bağlı protein kinaz A (PKA) aktive olur. Aktive olan PKA steroidogenezi ve testosteron biyosentezini düzenleyen proteinlerin oluşumunu artırır. LH ile uyarılan PKA'nın biyosentezini düzenlediği ana proteinler aşağıda sıralanmıştır:

1. Steroidojenik akut düzenleyici protein (StAR): Bir transport proteini ve görevi, kolesterolün mitokondrinin dış membranından iç membranına transferini regüle etmektedir. Bu basamak steroid üretimi için hız sınırlayıcı bir basamaktır,

2. Kolesterol yan zincirini kıran enzim (CYP11A1): Mitokondri iç membranında StAR proteini tarafından getirilen kolesterolün pregnanolona dönüşmesi aşamasında katalizör görevi görmektedir. Bu basamak da steroidogenezdeki ilk ve hız sınırlayıcı olan enzimatik basamaktır,

3. CYP17 (17 α hidroksilaz): Pregnanolonun 17-OHpregnanolona dönüşmesinde görev alır. Testosteron sentezindeki ikinci enzimatik basamaktır ve bu basamağı takip eden bir dizi basamağın sonucunda testosteron sentezi meydana gelmiş olur. Testosteron sentezlendikten sonra Leydig hücre membranından interstisiyel alana geçer ve bu geçiş pasif difüzyon aracılığı ile olur. Bu belirtilen aşamalar sonrasında meydana gelen testosteron, ekstrasellüler sıvı ve kan plazmasında steroid bağlayan proteinler tarafından bağlanır ve bu proteinler aracılığı ile taşınır (81)

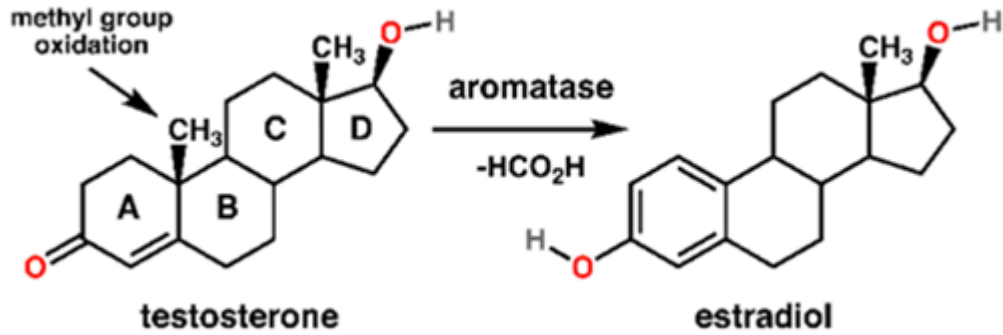
2.14. Aromataz enzimi ve Östrojen

Erkeklerde androjenlere ek olarak östrojen de bulunmaktadır ve testislerde kilit halindeki hormonlardan bir tanesidir. Erkek vücudunda biyolojik olarak bulunan en potent östrojen hormonu türü ise östradioldür. Östradiol üretimi düşük miktarda gözlenmektedir (82). Bu üretim; testosteronun aromataz enziminin katalizlediği bir reaksiyon sonucunda östrodiol dönüşümü ile meydana gelir. Aromataz enzimi östrojen biyosentezine özgü sitokrom P450 sistemine ait bir enzimdir (83). Östrojen erkeklerde, hipotalamo-hipofizer gonadal eksen GnRH ve gonadotropin hormonlarının salgılamasını kontrol eden bir göreve sahiptir. Hipotalamus ve hipofiz bezinde testosteron reseptörlerinin yanı sıra östrojen reseptörleri (ER) de bulunmaktadır (84, 85). Normal testis gelişimi ve spermatogenez; gonadotropinler ve testosteron tarafından kontrol edilse de, östrojen hormonunun da bu mekanizma üzerinde etkileri vardır (86). Salgılanan östrojen miktarının feed back etkisi ile testosteron-östrojen dönüşüm dengesi sağlanmış olur. Vücuttaki testosteron-östrojen dengesindeki bozukluk veya düzensizlikler, bazı hastalıklara neden olur (82).

Fare beyrinde östrojen reseptör-alfa (ERalfa) ve/veya androjen reseptörünün (AR) rollerini inceleyen araştırmacılar sonuçta; T uygulaması ile E2 reseptörlerinin, daha fazla NOS aktivasyonuna neden olduğunu, T ve E2 uygulamasının ise preoptik alanda daha fazla reaksiyona neden olduğunu, estradiol uygulanmasının stria terminalisin bazal çekirdeki NOS aktivitesini azalttığı görölmüştür (87).

Erkek farelerde VMH ventrolateral alandaki östrojen reseptörlerinin uyarımının, sosyoseksüel ve montaj davranışını arttırdığı gösterilmiştir (49).

Temel işlevi androjenlerin östrojenlere dönüşümü olan aromataz enzimi, yağ dokusunda, adrenal bezlerde, karaciğerde, kaslarda, endotelde ve prostatta sentezlenir. DB içerisinde de bulunan; Resveratrol, kafein, çinko, kateşinler, yeşil çay, apigenin, eriodiktiol gibi doğal bileşikler aromataz enzim inhibitörü olarak görev alırlar. Aromataz inhibisyonu ile reaksiyon bloke olur ve T miktarında artış gözlenir.



şekil 16. Testesteronun estradiol'e enzim aromatazın etkisi ile dönüşümü (10).

Testosteron, tüm bu bu sentez basamakları sonrası dolaşıma katıldığında uğradığı reaksiyonlar sonrasında vücutta birden fazla görev almak üzere belirli dokulara yönelir. Vücutta sekonder seks karakterlerinin gelişmesi, spermatogenez, libido ve ereksiyonun sağlanması gibi pek çok görevde rol üstlenir (80).

2.15. 5 Alfa-Redüktaz Enzimi

Dihidrotestosteron (DHT) testosteronun aktif metaboliti olarak bilinir. Testosteronun etki edebilir hale gelebilmesi ve dokular üstünde androjenik etki gösterebilmesi için 5AR enzimi ile DHT'ye dönüşüm gerekmektedir. 5AR enzimi

testosteron, progesteron ve deoksikortikosteronu sırası ile periferik dokularda 5-alfa 20 dihidrotestosteron (DHT), 5-alfa dihidroprogesteron ve 5-alfa dihidrodeoksikortikosterona dönüştürmektedir (88). DHT androjen reseptörü (AnR) ile etkileşir (89). Bu mekanizma ile DHT intrauterin dönemde prostat bezinin, ve erkek dış genital yapısının (penis/skrotum), puberte döneminde ise yüz ve vücut tüylerinin gelişiminde görev alır (90).

Tablo 3. İnsan seksüel cevabının üç evresi üzerine etkili maddeler (3).

Evre 1: İstek	Evre 2: Uyarılma	Evre 3: Orgazm
Dopamin (DA) (+)	Dopamin (DA) (+)	Serotonin (5HT) (–)
Melanokortin (+)	Melanokortin (+)	Norepinefrin (NE) (+)
Testosteron (+)	Testosteron (+)	Dopamin (DA) (+/–)
Östrojen (+)	Östrojen (+)	Nitrik oksit (NO) (+/–)
Prolaktin (–)	Norepinefrin (NE) (+)	
Serotonin (5HT) (–)	Asetil kolin (Ach) (+)	
	Nitrik oksit (NO) (+)	
	Serotonin (5HT) (–)	

2.16. Grayanotoksinin İnsan Vücudu Üzerindeki Nörotransmitter ve Diğer Moleküler Etkileri

Seks hormonları; östrojen, progesteron ve testosteron, seksüel davranışı modüle eden nörotransmitterler üzerine santral ve periferik seviyede etki eder ve oluşan bu etkileşimler cinsel istek, seksüel uyarılma ve orgazmın kompleks modülasyonu anlamına gelir (46).

Stahl'a göre nörotransmitterler insan seksüel cevap döngüsünde üç faz üzerine etki ederek sürecin oluşumuna katkıda bulunmaktadır. İlk evre olan cinsel istek evresinde; dopamin (DA), melanokortin, testosteron ve östrojen pozitif etki gösterirken, prolaktin ve serotonin (5HT) negatif etkiye sahiptir. İkinci evre olan uyarılma evresi erkeklerde ereksiyon ve kadınlarda genital ıslanma ve lubrikasyon ile ilişkili olup, Nitrik oksit (NO), norepinefrin (NE), melanokortin, testosteron, östrojen, asetilkolin (Ach) ve dopamini içeren çeşitli nörotransmitterlerin seksüel uyarılmayı kolaylaştırdığı gösterilmiştir. Erkeklerde periferde ejakulasyon, santralde ise orgazmın oluştuğu üçüncü evre üzerine dopamin ve nitrik oksit zayıf pozitif etki

gösterirken, bu evre serotonin tarafından inhibe edilir ve norepinefrin tarafından ise kolaylaştırılır (91).

Yapılan çalışmalarda cinsellik üzerine inhibitör etki mekanizmaları olarak; antikolinergik, noradrenergik α -1 reseptörlerinin blokajı, antihistaminergik, anitidopaminergik ve yükselmiş prolaktinin etkileri sayılmaktadır. Nitrik oksid sentaz üzerine inhibitör bir etki de; dopaminergik, kolinerjik, histaminergik ve α -adrenergik reseptörlere bağlanması, istek ve ödülün inhibe olması, artmış sedasyon ve periferik vazodilatasyonun azaltılması yoluyla doğrudan seksüel fonksiyonu etkileyebilir (3).

Asetilkolin, arter ve venlerde muskarinik reseptörleri üzerinden vazodilatasyon oluşturur. Çizgili kasa ve erektil organlara giden damarlar haricinde vasküler sisteme parasempatik lif ulaşmaz (72). AChE, sinir dokusundaki eritrositlerde bulunurken, psödokolinesteraz beyin, kalp, karaciğer, pankreas ve serumda bulunmaktadır. DB ile zehirlenmiş hastalardan alınan kan örneklerindeki psödokolinesteraz düzeyleri hastaların %90'ında normal sınırlarda ve %10'unda normalin altında bulunmuştur. Bu verilere dayanarak deli bal zehirlenmesinin kolinerjik zehirlenme olarak değerlendirilemeyeceği görüşü ortaya konmuştur (71). Ancak, vaka bazlı çalışmalarda, DB zehirlenme semptom ve bulguların bazılarının atropin uygulandıktan 2-6 saat içinde normale döndükleri bildirilmiştir (15). DB gruplarında LDL kolesterol düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük olmasına rağmen, doza bağlı olarak artış gözlenmiş. DB gruplarında dozaj artışı ile CPK seviyeleri aritmetik düşüş gösterirken, psödokolinesteraz seviyeleri aritmetik artış göstermiştir (92). Bu durum kolinerjik etkinliğin doz bağımlı ortaya çıktığını, bu nedenle her DB çalışmasında neden sonuçların aynı olmadığını desteklemektedir.

VMH, glikoz arttıkça aktivitesini artıran (glikozla uyarılan) veya azalan (glikoz tarafından inhibe edilen) glikoz algılayan nöronlar içerir. VMH'deki östrojen reseptör aktivitesini seçici olarak baskılamak, dolaşımdaki glikoz seviyelerinde artışa neden olur (93). Kolinesteraz inhibitörlerinin toksisitesi hipofiz-tiroid ve hipofiz-adrenal aks üzerindeki etkisine bağlı; ACTH, kortizol ve prolaktin düzeylerinde yükselme, T3 ve T4 düşüklüğü ile TSH yüksekliği, pankreatit ve hiperglisemi geliştiği gösterilmiştir. Bu durumun adrenal medulladan katekolamin salınımına

bağlı olduğu düşünülmüştür. Kolinerjik uyarıyla salınan insülin etkisiyle ortaya çıkan hipoglisemi ise çok daha nadir görülür (94).

GTX, otonom sinir sistemi üzerindeki etkisi ile, aşırı terleme, hipersalivasyon, kusma ve bradikardi gibi semptomları ortaya çıkardığına dair yayınlar vardır. Ventromedial hipotalamustaki (VMH) nöronlar, santral sinir sisteminde yer alan ve vücut hemostazı ve otonom sinir sisteminin kontrolünü düzenleyen ana regülatör merkez olarak kabul edilmektedir. Bir çalışmada, VMH nöronlarında sinaptik iletim üzerindeki GTX III'ün etkileri olduğu, spontan ve uyarılmış GABAerjik ve glutamaterjik postsinaptik akımlar kullanılarak gösterilmiştir. GTX III, spontan GABAerjik ve glutamaterjik postsinaptik akımların genliklerini etkilemeden, doza bağlı bir şekilde frekansını artırmış ve GTX III'ün hem inhibitör hem de uyarıcı sinir terminallerinde sinaps yapan verici salınımını geliştirdiğini, VMH nöronları üzerinde sinaps yapan inhibitör ve uyarıcı sinir terminallerinde voltaja bağlı Na⁺ kanallarının aktivasyonuna ikincil olarak, voltaja bağlı Ca²⁺ kanalları yoluyla Ca²⁺ akışını arttırdığını göstermiştir. Sonrasında bu terminallerden artan GABA ve glutamat salınımının, GTX intoksikasyonunun otonomik semptomlarından sorumlu olabileceği ifade edilmiştir (95).

NO, beyin ve penis dokusunda, limbik sistemde yoğun olarak bulunan "NO sentaz" (NOS) tarafından L-Arginin'den sentezlenir ve c-GMP hücre içi sinyal ileticisi yoluyla düz kaslarda relaksasyon ve vasküler endotelde dilatasyon yapar. Ereksiyonun başlatılması ve sürdürülmesinde, post ekejülatuar faza geçişte bu açıdan önemli rolleri vardır. NO depolanan bir madde olmayıp, kullanıldıktan hemen sonra genital bölgedeki etki ettiği hücrelerde fosfodiesteraz-5 enzimi tarafından yıkılır (96).

Tablo 4. Cinsel işlev bozukluğuna neden olan bazı nörotransmitterlerin etki mekanizmaları (3).

İlaç etkisi	Fizyolojik etki	Seksüel işleve olan etkisi
Dopamin reseptör antoganizması	Motivasyon ve ödül inhibisyonu	Azalmış istek
Dopamin D2 reseptör antogonizması (tubuloindibular yolak)	Hiperprolaktinemi	Azalmış istek, bozulmuş uyarılma ve orgazm
Histamin reseptör antoganizması	Sedasyon	Bozulmuş uyarılma
Kolinerjik reseptör antoganizması	Azalmış periferel vazodilatasyon	Erektile disfonksiyon
α -adrenerjik reseptör antoganizması	Azalmış periferel vazodilatasyon	Priapizm, ereksiyon/lubrikasyon azalması, anormal ejakülasyon

2.17. Grayanotoksin İçeriğindeki Bazı Maddelerin Spesifik Özellikleri

Amentoflavone, çeşitli bitkisel bitkilerde bulunan, aynı zamanda DB içeriğinde de olduğu gösterilmiş bir biyoflavonoiddir. *Cnestis ferruginea* (CF) bitkisinin kökü kaynatılarak, geleneksel Afrika tıbbında psikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanılmaktadır. CF'nin kök ekstraktından izole edilen amentoflavonun (CF-2) antidepresan ve anksiyolitik etkileri olduğunu, antidepresan etkisini 5-HT₂ reseptörü ve α 1- ve α 2-adrenoseptörleri ile etkileşim yoluyla ürettiği, anksiyolitik etkinin ise iyonotropik GABA reseptörünü içerdiği sonucuna varılmıştır (97).

Skopolamin, Solanaceae familyası bitkilerinden elde edilen bir tropan alkaloid olup, DB'nin içerisinde de bulunduğu gösterilmiştir. Yapısal olarak nörotransmitter asetilkoline benzer ve muskarinik asetilkolin reseptörlerini baskılayarak çalışır. Skopolaminin, fare beyininde artan AChE aktivitesi ve oksidatif stres ile birlikte hafıza bozukluğuna neden olduğunu ve CF (amentoflavone) verilmesi ile bu etkilerin ortadan kalktığını gösteren çalışmalar vardır (98). Bu iki çalışmanın verileri incelendiğinde hem skopolaminin hem de amentoflavonun DB yapısında bulunabildiği ancak birbirine zıt etkileri olduğu görülmektedir. Bu da bize bir kez daha DB etkilerinin, sadece doz ve süreye bağlı değil, asıl olarak içeriğinde hangi maddelerin bulunduğuyla bağlı olarak değişebileceğini göstermiştir.

Glutamik ve aspartik asit, *Rhododendron ponticum* arı poleninin yapısında bulunan başlıca aminoasitlerdendir. Glutamik ve aspartik asit konsantrasyonlarının, cinsel aktivite sırasında cinsel açıdan güçlü erkek sıçanların hipotalamusunun paraventriküler çekirdeğine implante edilen probalar ile ölçümünün yapıldığı bir

çalışmada, erkek sıçanlar, yumurtalıkları alınmış östrojen ve progesteron ile hazırlanmış bir dişi sıçanın yanına konulduğunda ve onunla çiftleştirildiğinde temassız ereksiyonlar göstermiş ve paraventriküler alandaki glutamik ve aspartik asit konsantrasyonları her iki cinstede artmıştır. Cinsel yönden güçlü erkek sıçanlar, östrojen ve progesteron ile hazırlanmayan yumurtalıkları alınmış dişi sıçanlara maruz bırakıldığında veya iktidarsız erkek sıçanlar kullanıldığında, paraventriküler diyalizatta glutamik ve aspartik asit konsantrasyonlarında herhangi bir değişiklik saptanmamıştır. Aspartik asit reseptör antagonistinin paraventriküler çekirdeğe enjeksiyonu ile temassız ereksiyonlar azalmış ve çiftleşme aktivitesi belirgin olarak bozulmuştur. Bu sonuçlar, paraventriküler çekirdeğin erektil fonksiyonun ve çiftleşme davranışının kontrolünde yer aldığını doğrulamış ve fizyolojik bağlamlarda penil ereksiyon meydana geldiğinde paraventriküler çekirdekte uyarıcı amino asit konsantrasyonunun arttığını göstermiştir (99). R. ponticum arı poleni içerisinde bu aminoasitlerin bulunmasının, üretilen balın içeriğindeki miktarına bağlı olarak, cinsel fonksiyonlar üzerinde olumlu etkileri olabileceği söylenebilir. Polenlerin içerikleri ile üretilen balın içeriği, oluşum sürecinde girdiği reaksiyonlar nedeniyle, farklılıklar göstermektedir (2).

Fisetin, DB yapısında bulunan moleküllerden biri olup; amiloid proteinin agregasyonunu engelleyebileceğini, iltihaplanmayı azaltabileceğini, apoptozu indükleyebileceğini, DNA topoizomeras I ve II'yi inhibe edebileceğini, oksidasyonu engelleyebileceğini ve kansere karşı direnci arttırabileceğine dair yayınlar mevcuttur (100).

Quercetin, birçok doğal bitkide bulunabilir. Çağdaş farmakolojik çalışmalar, in vitro ve in vivo olarak birçok biyolojik aktiviteye sahip olduğunu tespit etmiştir. Bunlardan bazıları; sıçan aortunda fenilefrinin neden olduğu kasılmayı engelleyebileceği, antikanser, antioksidan, anti-inflamatuar, MAO-A inhibitörü, Katenin/Tcf sinyal inhibitörü, serbest radikal süpürücü ve anti-obezite aktivitesi olarak sayılabilir. İmmunmodülatör, antikoagülan, antiviral etkileri ile de Covid 19 virüsüne karşı korumada ve enfeksiyonun kontrolünde faydalı olabileceğine dair son zamanlarda yapılan birçok yayın mevcuttur (100, 101)

Rutin, DB bileşenlerinden biri olup, quersetin glikoziti olarak, tartar, karabuğday ve benzeri doğal bitkilerde çok yaygın bulunmaktadır. Rutinin antikanser, antiinflamatuvar, antioksidan etki ve antikonvülsif etkileri olduğuna dair çok sayıda yayın vardır (100).

Arjunolik asidin (AA), antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-apoptotik aktivitelere sahip olduğu rapor edilmiş olan bir DB bileşenidir. Yapılan çalışmalarda, AA ile önceden tedavi edilen sıçanlarda, nörolojik defisit skoru, enfarktüs boyutu önemli ölçüde azalmış, orta serebral arter tıkanıklığı olan sıçanlarında malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH), nitrik oksit (NO), protein karbonil içeriği ve mitokondri tarafından üretilen reaktif oksijen radikallerini düzenleyerek, fokal serebral iskemi reperfüzyon hasarının neden olduğu nöronal hasarı önlediği gösterilmiştir. Ayrıca Na⁺-K⁺ ATPaz, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx) ve glutatyon redüktaz (GR) enzim aktivitelerini de kontrol ettiği bildirilmiş olup, AA'nın koruyucu etkisinin özellikle Na⁺-K⁺ ATPaz aktivitesini geliştirerek nöronal membran bütünlüğünü koruma kapasitesine bağlı olduğu ifade edilmiştir (102).

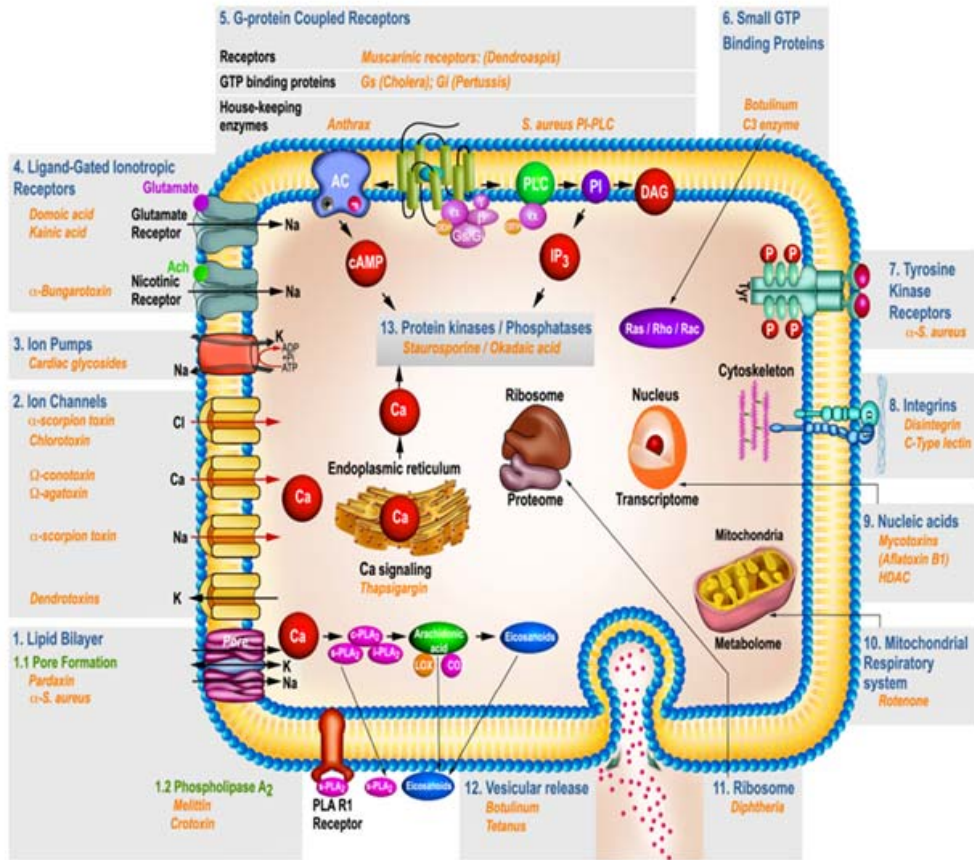
2.18. Grayanotoksinin Oksidan-Antioksidan İçeriğinin Cinsel Sistemler Üzerindeki Etkileri

Her ne kadar balın oksidan özelliği, içerdiği maddelerin türü ve miktarına bağlı olsa da yapılan çalışmalara göre DB, antioksidan içerik açısından tahmin edildiği kadar ön sıralarda değildir. Bir antioksidan etki çalışması analiz sonuçlarına göre, kestane balının toplam fenolik madde miktarı ve uygulanan metotlara göre, incelenen diğer ballardan daha yüksek antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Başka bir çalışmada; Türkiye'de üretilen bazı balların toplam fenolik içerikleri incelenmiş; en yüksek fenolik içeriğine funda, meşe ve kestane balının sahip olduğu gösterilmiştir (103). Ordu ili genelinde yapılan bir çalışmada benzer şekilde, bal örneklerin arasında en fazla fenolik içerik sırası ile; kestane balı > yayla balı (multifloral bal) > orman gülü balı > akasya balı olarak saptanmıştır (104).

Germ hücrelerinin plazma zarındaki alışılmadık derecede yüksek çoklu doymamış yağ asiti konsantrasyonu, onları serbest radikal oksidasyonuna karşı

savunmasız hale getirir ve bu hücrelerde reaktif oksijen/azot türlerinin (ROS/RNS) aracılık ettiği oksidatif stres, lipid peroksidasyonunun (LPS) patogenezinde rol oynar. LPS'in, NO ve prostaglandin oluşumunu hızlandırarak lipid peroksitlerde artış yaptığı ve sıçan testisinin sertoli hücreli gibi fonksiyonel organellerinin işlevsel bütünlüğünde bozulmaya neden olduğu gösterilmiştir. Normal fizyolojik koşullar altında, testis subselüler kompartmanlarında serbest radikaller üretilir ancak fizyolojik mekanizmalar ile etkisizleştirilir (105).

Özellikle reaktif oksijen radikalleri olmak üzere, genel anlamda serbest radikaller, canlı hücrelerde birikerek oksidatif stres oluşumuna yol açar. Oksidatif stresin, hücrelerde hasara yol açtığı, hücrenin işlevini azalttığı iyi bilinmektedir, Örneğin, testislerdeki Leydig hücrelerinde hem enzimatik hem de enzimatik olmayan antioksidan rezervuarı azalttığı, doku hasarı oluşturduğu ve T sentezinde, dolayısıyla serum testosteron seviyesinde azalmaya yol açtığına dair bir çok yayın mevcuttur (106).



Şekil 17. Çeşitli toksinler tarafından modüle edilen sinyal iletim yolları (11).

2.19. Hayvan Modellerinde Cinsel Fonksiyonların Mekanizması ve Yorumlanması

Deney hayvanlarının cinsel davranışlarını açıklayabilmek amacıyla kullanılan bazı tanımlar mevcuttur:

Mount; erkek hayvanın dişi hayvanın arkasına yaklaşarak her iki ön bacağıyla dişinin sırt yan kısımlarını sıkıca kavraması olarak tanımlanır (61, 107).

İntromisyon (vajinal penetrasyon); mount gibi karakterize edilmekte fakat mounttan farklı olarak hayvanın pelvisini ileri doğru ittirmesi ve penisin vajinaya girmesi söz konusudur. Mount ve intromisyon serileri sonrasında erkek hayvan ejakülasyona ulaşır (61, 108, 109).

Ejakülasyon; derin penetrasyon olup emüsyon ve atılma olmak üzere iki fazdan oluşmaktadır. Emisyonda, seminal sıvının üretraya salgılanması ve hareketi söz konusu iken; atılma fazında üretral içeriğin güçlü ejeksiyonu meydana gelir. Bu iki faz senkronize bir şekilde gerçekleşmektedir (108-110).

Bu tanımlar kullanılarak cinsel davranış testleri yapılmaktadır ve bu testlerde bazı parametreler değerlendirilir:

Mount latensi (ML); hayvanların ilk bir araya gelmesinden sonra ilk mounta kadar geçen süreyi tanımlar.

İntromisyon latensi (IL); hayvanların ilk bir araya gelişinden sonra ilk intromisyona kadar geçen süreyi tanımlar.

Ejakülasyon latensi (EL); ilk intromisyondan ilk ejakülasyona kadar geçen süreyi tanımlar. (Test süresi boyunca, ejakülasyon göstermeyen hayvanlar için ejakülasyon latensi 30 dakika olarak kabul edilmiştir).

Mount frekansı (MF); 30 dakika içerisindeki toplam mount sayısını tanımlar.

İntromisyon frekansı (IF); 30 dakika içerisindeki toplam intromisyon sayısını tanımlar.

Ejakülasyon frekansı (EF); 30 dakika içerisindeki toplam ejakülasyon sayısını tanımlar.

Post ejakulatör interval (ejakülasyon sonrası aralık) (PEI); ilk ejakülasyondan sonra hayvanın göstermiş olduğu ilk harekete (mount ya da intromisyon) kadar geçen süreyi tanımlar.

İntromisyon oranı (IO); toplam intromisyon sayısının toplam mount ve intromisyon sayısına bölünmesiyle oluşturulan bir parametredir. $(IF/MF+IF)$.

Çiftleşme oranı (ÇO); toplam mount ve intromisyon sayısının ilk mount/intromisyondan ejakülasyona kadar geçen süreye bölünmesiyle oluşturulan bir parametredir (111, 112)

Cinsel Aktivite İndeksi (CAİ) ; tüm bu parametreler bazılarında faydalanılarak oluşturulan, cinsel davranış yoğunluğunun genel bir ölçüsü olduğu düşünülen ve bir formül üzerinden hesaplanan parametredir (113).

Cinsel davranış testinde ölçülen mount latensi (ML) ve intromisyon latensisi (IL) parametreleri cinsel motivasyonu veya uyarılabilirliği değerlendirmek için kullanılmakta ve ejakülasyon latensisi (EL) ise hem libido indeksi olarak kullanılmakta hem de cinsel motivasyonu yansıtmaktadır. Ejakülasyon frekansı (EF) olarak adlandırılan parametre ise cinsel davranışın ve seksüel fonksiyonu yansıtmaktadır (114, 115). Post ejakulatör interval (PEI) ise, cinsel gücü, libidoyu ve ilk ejakülasyondan sonra yorgunluktan kurtulma hızını gösterir. Ayrıca, PEI cinsel performans veya çiftleşmenin bir göstergesi olarak da kullanılır (116). Çiftleşme oranı ise (ÇO) sıçanın verimliliğine bağlı olan bir parametre olup genel uyarılma ile alakalıdır (4, 111).

Cinsel aktivite indeksindeki (CAİ), cinsel davranışın yoğunluğunu ölçebilmek için elde edilen parametrelerin formül haline dönüştürülmüş halidir. Buna göre; mount, intromisyon ve boşalma gecikmelerinin tersi 15 ile çarpılıp ve daha sonra

doğal logaritmalara donusturulmusu (gecikme ne kadar kısa olursa, bu Şekilde elde edilen değer o kadar büyük olur); mount ve intromisyon sayısı karekoklere donusturulup, boşalma varlığına 4 değer ve boşalma olmamasına 0 değer verilmiştir. Donusturulen sayıların toplamı Cinsel Aktivite İndeksi'ni (SAI) olarak kabul edilmiş olup, anlamlı azalma sıÇanların genel üreme davranışının baskılandığını ifade etmektedir Şeklinde görüsü bildirilmiştir (113).

SıÇanlarda ve insanlarda cinsel davranış ve sağlık bozukluklarının tüm yönleri aynı olmadığından, kemirgen modellerinin genellikle insanlardaki nörolojik, kardiyovasküler ve metabolik hastalıkların karmaşık patogenezinin sadece seŐilmiŐ yönlerini içermesi nedeniyle, hayvan modellerinin translasyon uygulamasından dikkatli bir Şekilde yararlanılmalıdır. Bunun yanı sıra, erkek sıÇan modellerinin cinsel yönden yapılan çalışmalarda sık kullanılması nedeniyle, cinsel davranıŐlarının nöroanatomik, nörotransmitter ve nörohormonal yapılarının ve cinsel davranışın motivasyonel ve tamamlayıcı yönlerinin temelde benzer olmasıdır (117, 118).

Her ne kadar cinsel davranış çalıŐmalarında bir model olarak kullanılabilmek için, insan yapısına oldukça benzer mekanizmalara sahip olsalar da karşı cins ile iletiŐimde insanlardan çok daha belirgin Şekilde, erkek ratlarda çiftleşme deneyiminin varlığı, birleŐme öncesi sesle iletiŐim ve kemoresoptorlerin aktivasyonu önemli rol oynamaktadır. Bir erkek sıÇanın alıcı bir dişiye maruz kalması ile ilk vajinal penetrasyon olmadan birleŐme arasındaki süre, baŐlatma aŐamasının uzunluğunu belirler ve ML olarak tanımlanır. Bir dişi ve erkek aynı ortama bırakıldıklarında bir süre sonra, karŐılıklı olarak ultrasonik sesler çıkarmaya baŐlarlar ve koku, görsel, iŐitsel ve dokunsal ipuçları, hem cinsel motivasyon düzeyini artırarak çiftleşme davranışına yol açar, hem de cinsel uyarılma düzeyini artırarak, erkeği ereksiyon ve etkili intromisyon için aktif hale getirir (119).

ML, cinsel olarak naif erkeklerde, cinsel açıdan deneyimli sıÇanlara göre önemli olude daha uzundur. Çiftleşme etkinliğinin en önemli olusu, ilk giriŐten boşalmaya kadar geçen süreyi tanımlayan EL'dir. D1 reseptoru agonistinin accumbens çekirdeğine akut olarak uygulanması, EL'de kısıalma olmaksızın, naif erkeklerin mount sayısını önemli olude artırmaktadır. Nükleus accumbens-anterior singulat korteks-medial prefrontal korteks ağının cinsel motivasyonda ve yeni bir

davranışın başlatılmasında kritik bir rolü olduğu, anterior singulat korteksin lezyonlarında ML'nin uzaması ile ortaya konmuştur (120).

Boşalmayı indüklemek için gereken genital stimülasyon seviyesinin göstergesi ve cinsel uyarılma birikiminin ifadesi, intromisyon sayısıdır. Ratlarda cinsel uyarılmanın biriktiği merkezler olan; Amigdalanın kortiko-medial kısmı ve BNST alanlarındaki lezyonlar intromisyon sayısında dramatik bir artışa yol açar. D4 agonistlerinin bu duruma herhangi bir etkisi olmayıp, 5HT1A ve D2 agonistinden ve daha az etkili bir şekilde D1 agonisti uygulanmasından sonra ise, intromisyon sayısında önemli ölçüde azalma ortaya çıkmaktadır (121).

Düşük ÇO, NO sentezinde azalmaya (nöronal ve epitelyal kaynak), periferik nöropatiye veya vasküler patolojiye bağlı olabilen ve erektil disfonksiyonla güçlü bir şekilde ilişkili bir parametredir. Erken boşalmanın cinsel açıdan deneyimli sıçanlarda iki oluşum mekanizması fenotipi vardır; Biri, 30 dakikalık kısa bir cinsel etkileşim seansı sırasında beş boşalmaya kadar hızlı ve sık boşalma sağlayan erkek sıçanlarla erken boşalmayı temsil eder. Diğeri ise, cinsel açıdan deneyimli sıçanların, böyle bir seans sırasında herhangi bir boşalma olmaksızın yalnızca intromisyonlara ulaştığı, gecikmiş boşalmanın hayvan modelini temsil eder ki bu grupta altta yatan mekanizmalardan bazıları da, seratonerjik sistemi etkileyen maddeler (fenolik bileşikler ve floavonoidler sayılabilir), metabolik bozukluklardan özellikle tip 2 diabetes mellitus, depresif benzeri/anhedonik durumlar veya yüksek kaygı düzeyleri olarak sayılabilir (4).

Boşalma sonrası dönemin arkasındaki mekanizmalarda spinal ve supraspinal yapılar görev alsa da halen belirsiz yönleri vardır. Erkeğin cinsel davranışını kontrol eden; genel uyarılma, cinsel motivasyon ve cinsel uyarılma olmak üzere üç sürecin tümü farklı parametrelerde yansıtılır; Genel uyarılmada, boşalmadan sonra, erkek genellikle bir odanın köşelerinden birine geçer ve hareketsiz bir şekilde 22 kHz bandında bir ses çıkarmaya başlar. İlk boşalmadan yaklaşık 2 dakika sonra (ve ikincisinden önemli ölçüde sonra), bir erkek, boşalma sonrası ses çıkarması sona ermeden önce deney odasını keşfetmeye başlar. Bu keşfedici davranış, artan genel uyarılmayı yansıtır, ancak cinsel motivasyon veya cinsel uyarılmayı yansıtmaz.

Cinsel uyarılma ise, ilk boşalma sonrası dönemde, ilk keşif davranışı ortaya çıktıktan sonra meydana gelen penil ereksiyon ile ölçülür (4).

Tablo 5. Sıçan cinsel davranışına farklı parametrelerin etkileri. (Sıçan cinsel davranışının temel bileşenleri birinci sütunda, gözlemlenen cinsel motivasyon ve performans bozuklukları ikinci sütunda ve çeşitli kemirgen modelleri ile insan hastalıklarının incelenmesi üçüncü sütunda yer almaktadır. Anormal cinsel davranışın altında yatan nedenlerin detaylı incelenmesi veya öngörülen nedenlerin doğrulanması için kullanılabilecek testler ve parametreler ise dördüncü sütunda yer almaktadır) (4).

Parameter	Possible Cause	Preclinical Models	Additional Tests / Parameters
Anticipatory Behavior – Emotional Value, Reward Value of Previous Contacts			
PVs (No.)	Lower vs Control		
Rearing (No.)	↓ Reward	Dysregulation of Rewarding System/Drug Withdrawal/ Anhedonic States/Depressive Like-Behavior [1] Emotional Memory Dysfunctions [2] Sexual Fetishism (Absence of Fetish) [3]	<ul style="list-style-type: none"> • CPP • Instrumental Reaction • Glucose Preference Test • Forced Swim Test • Open Field (General Activity)
Bi-Level (No. of changes)	Higher vs Control		
Exploration (Distance in meters)	↑ Reward	Drug-Induced Behavior [4]	<ul style="list-style-type: none"> • CPP • Open Field (General Activity)
Initiation Behavior – Motivation Value			
	Shorter vs Control		
	↑ Sexual Motivation	Neurodegenerative Hypersexualism [5] Sexual Fetishism (Presence of Fetish) [3]	<ul style="list-style-type: none"> • Open Field (General activity, Time Spent in Center)
	↓ Level of Anxiety	Low Anxiety Level [6]	<ul style="list-style-type: none"> • Open Field (Time Spent in Center) • CRH/ACTH/ Corticosterone Levels
	Longer vs Control		
ML (Mount Latency in sec.)	↓ Sexual Motivation	Anhedonic States [7] Insulin-Resistance (mice) [8] HPG Axis Disorders [9] Depressive-Like Behavior [10] Alcoholism [11] Diabetes Related Neurological Impairment [12]	<ul style="list-style-type: none"> • Medical Examination • Additional Laboratory Tests for Metabolic Disorders • Glucose Preference Test • Forced Swim Test
	↑ Level of Anxiety	Anxiety Disorders [13]	<ul style="list-style-type: none"> • Open Field (Time Spent in Center) • CRH/ACTH/ Corticosterone Levels
	↓ Preference to Female	Same-Sex Preference/Sex Identity Formation Disruptions (Gender Dysphoria) [14]	<ul style="list-style-type: none"> • Sexual/Copulatory Preference Test
Copulatory Rate – Efficiency (Motivation) to Achieve Ejaculation(s)			
	Shorter vs Control		
	↑ Sexual Experience	Acquisition of Sexual Experience [2] Sexual Fetishism (Presence of Fetish) [3]	<ul style="list-style-type: none"> • Normal or Lower NI
	↓ Ejaculatory Threshold	Premature Ejaculation [15]	<ul style="list-style-type: none"> • Lower NI • Higher EF
	Longer vs Control		
EL (Ejaculation Latency in sec.)	↓ Sexual Motivation	Stress Induced Behavior/Depressive Like-Behavior [16] Alcoholism [11] HPG Axis Disorders [9] Diabetes Related Neurological Impairment [12]	<ul style="list-style-type: none"> • Longer Time Between Intromissions (III)
	↑ Ejaculatory Threshold	Delayed ejaculation, SSRI Induced Ejaculatory Dysfunction [17]	<ul style="list-style-type: none"> • Normal III • Ex copula mechanically evoked pattern of ejaculation
Number of Intromissions – Accumulation of Sexual Arousal			
	Lower vs Control		
NI (No. intromissions)	↓ Ejaculatory Threshold	Premature Ejaculation [18] Sexual Fetishism (Presence of Fetish) [3]	<ul style="list-style-type: none"> • Short EL
	Higher vs Control		
	↓ Arousal Accumulation	Neurodegenerative Diseases [19]	<ul style="list-style-type: none"> • Normal or Shorter III • Higher EL
Intromission Ratio – Erectile Function			
	Lower vs Control		
IR (No. intromissions / No. mountings + intromissions)	Erectile Dysfunction	Neuropathy [12] NO synthesis inhibition [20]	<ul style="list-style-type: none"> • ML • Ex copula test
	Higher vs Control		
	Improved Erection	PDE5 Inhibition [21]	<ul style="list-style-type: none"> • ML • Ex copula test

3. MATERYAL VE METOD

Çalışma, Karadeniz Teknik Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Etik Kurulu'nun 2020/12 protokol nolu etik kurul onayı ve Fırat Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurulu'nun 15.01.2020 tarih ve 01 sayılı kararı ile ve etik yönden uygun bulunmuştur. Çalışma bütçesinin tamamı Karadeniz Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'nin TTU-2020-8285 no'lu kararı gereğince karşılanmıştır.

3.1. Deney Hayvanları

Kemirgen modelleri genellikle insanlarda nörolojik, kardiyovasküler ve metabolik hastalıkların karmaşık patogenezinin sadece seçilmiş yönlerini içerir. Erkek sıçanın cinsel davranışı insanlarda görülenle aynı olmasa da nörotransmitterler, beyin yapıları, nöronal ağlar ve cinsel davranışın motivasyonel ve tamamlayıcı yönleri temelde benzer görünmektedir. Bu konuda cinsel davranış modeli olma açısından en uygun kemirgen grubu sıçanlardır (4).

Çalışmada kullanılan, sağlıklı cinsel aktiviteye sahip olan toplam 36 adet Sprague-Dawley ırkı erkek ratlar (4-5 aylık) Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi'nden (FÜDAM, Elazığ) temin edilmiştir. Ratlar FÜDAM biriminde, sıcaklığı (21 ± 1 °C) ile bağıl nemi %50-60) sabit tutulan ve 12 saat aydınlık/12 saat karanlık (07:00-19:00 arasında aydınlık faz) olan deney odalarında 3'erli gruplar halinde barındırılmışlardır. Deney süresince, ratlar Korkutelim Yem Gıda San. Tic. AŞ. (Korkuteli/Antalya)'den temin edilen pelet halindeki özel sıçan yemi ve çeşme suyu ile *ad libitum* olarak beslenmişlerdir.

3.2. Deney Grupları ve Uygulamalar

Toplam 36 adet rat, her grupta 6 adet rat olacak şekilde rastgele 6 gruba ayrılmıştır. Deney grupları aşağıda özetlenmiştir.

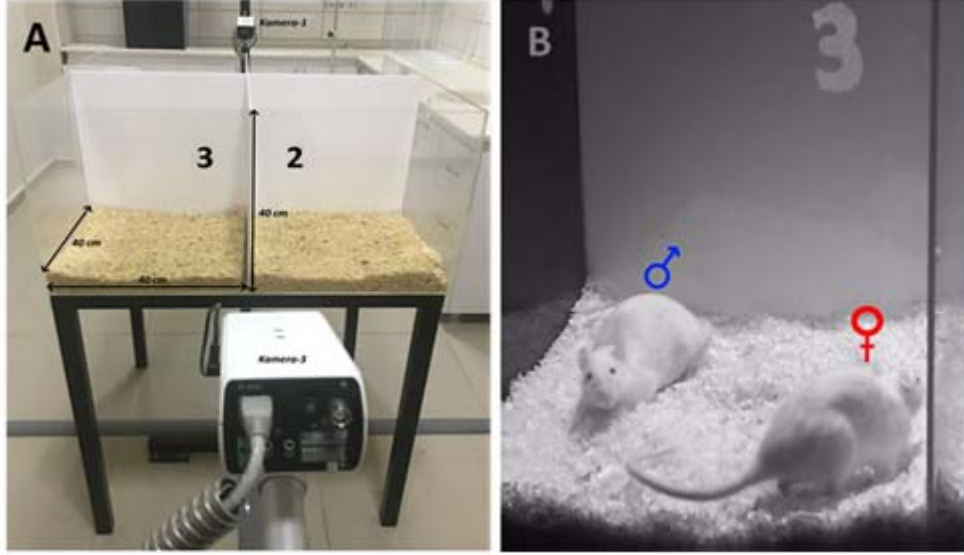
- 1) **Grup 1:** Akut kontrol grubu (n=6): Bu grupta yer alan hayvanlara orogastrik yolla tek doz serum fizyolojik (80 mg/kg, 1 çay kaşığı) 14:00-15:00 saatleri arasında verilmiştir.
- 2) **Grup 2:** Akut çam balı grubu (n=6): Bu grupta yer alan hayvanlara orogastrik yolla tek doz çam balı (80 mg/kg, 1 çay kaşığı) 14:00-15:00 saatleri arasında verilmiştir.
- 3) **Grup 3:** Akut deli bal grubu (n=6): Bu grupta yer alan hayvanlara orogastrik yolla tek doz deli bal (80 mg/kg, 1 çay kaşığı) 14:00-15:00 saatleri arasında verilmiştir.
- 4) **Grup 4:** Kronik kontrol grubu (n=6): Bu grupta yer alan hayvanlara orogastrik yolla 30 gün boyunca serum fizyolojik (80 mg/kg, 1 çay kaşığı) 14:00-15:00 saatleri arasında verilmiştir.
- 5) **Grup 5:** Kronik çam balı grubu (n=6): Bu grupta yer alan hayvanlara orogastrik yolla 30 gün boyunca çam balı (80 mg/kg, 1 çay kaşığı) 14:00-15:00 saatleri arasında verilmiştir.
- 6) **Grup 6:** Kronik deli bal grubu (n=6): Bu grupta yer alan hayvanlara orogastrik yolla 30 gün boyunca deli bal (80 mg/kg, 1 çay kaşığı) 14:00-15:00 saatleri arasında verilmiştir.

3.3. Cinsel Davranış Testleri

Ratlarda ideal çiftleşme zamanı, hayvanların aktif olduğu yani karanlık periyotta oldukları zaman aralığıdır (110). Dolayısıyla çalışma kapsamında gerçekleştirilen tüm CDT'ler, davranış laboratuvarının aydınlık karanlık döngüsü değiştirilerek, karanlık fazda, kırmızı ışık altında ve 17:00-18:00 saatleri arasında gerçekleştirilmiştir.

Cinsel davranış testlerinde kullanılan çiftleşme düzeneği şekil 18'de gösterilmiştir. Testte, dişi ve erkek ratlar test düzeneğine birlikte yerleştirilir ve bu düzeneğe dişi hayvanın erkek hayvandan kaçabileceği bir alan olmadığı için hayvanlar sürekli olarak birbiriyle temas halindedir (122, 123). Teste başlamadan

önce, erkek ratların test düzeneğine adaptasyonunun sağlanması amacıyla, düzenekte dişi ratlar olmadan hayvanlar bireysel olarak düzeneğe birkaç gün (30 dakika/gün) bırakılmışlardır.



Şekil 18. Cinsel davranış testi düzeneği. A) düzeneğin genel şekli ve B) karanlık fazda gerçekleştirilen cinsel davranış testi.

Test hayvanları: Erkek ratların cinsel davranış testlerinde kullanılmak üzere, ortalama 2-3 aylık Sprague-Dawley ırkı dişi ratlar çalışmaya dâhil edilmiştir. Bu dişi ratlar birden çok CDT’de kullanılacağı için hayvanlarda olası gebeliği önlemek adına overektomi yapılmıştır. Daha sonra, bu hayvanlara CDT’den 48 saat önce östradiol (10 µg) ve 4 saat önce progesteron (500 µg) susam yağında çözdürülerek 0.1 mL hacminde subkutan olarak verilmiştir (124). Böylece dişi sıçanlar östradiol ve progesteron uygulamasına bağlı olarak östrus fazına (dişi hayvanın cinsel olarak erkek hayvanı kabul ettiği faz) alınarak erkek ratların cinsel davranış testleri gerçekleştirilmiştir. Çalışmamızda, test hayvanı olarak belirlenen bu dişi ratlar sadece CDT’de kullanılmış olup bu hayvanlara ait herhangi bir veri çalışmaya dâhil edilmemiştir.

Deney gruplarında cinsel deneyim oluşturma: Çalışmada, akut veya kronik deli bal uygulamasının ratlarda cinsel davranış üzerindeki etkilerini ortaya koyabilmek için; serum fizyolojik, çam balı veya deli bal uygulamalarına başlamadan önce tüm ratlar cinsel olarak deneyimli hale getirilmiştir. Bunun için,

tüm ratlara 30 dakika süren 2 adet cinsel davranış testi (CDT) uygulanmış ve 2 test arasında hayvanlara 3-4 gün dinlenme süreci verilmiştir.

Deney gruplarında cinsel davranış testleri: Grup 1, grup 2 ve grup 3'te yer alan tüm hayvanların cinsel deneyimleri oluşturulduktan 3-4 gün sonra, sırasıyla hayvanlara tek doz serum fizyolojik, çam balı ve deli bal uygulaması gerçekleştirmiş ve uygulamalardan 3 saat sonra tüm hayvanlara 30 dakikalık bir cinsel davranış testi uygulanmıştır.

Grup 4, grup 5 ve grup 6'daki hayvanların cinsel deneyimi oluşturulduktan 3-4 gün sonra ise, bu hayvanlara sırasıyla 30 gün boyunca serum fizyolojik, çam balı ve deli bal uygulaması yapılmış ve son uygulamanın gerçekleştiği günde (30.günde) uygulamalardan 3 saat sonra tüm hayvanlarda 30 dakikalık bir cinsel davranış testi gerçekleştirilmiştir.

Grup 1, grup 2, grup 3, grup 4, grup 5 ve grup 6'da yer alan tüm hayvanların CDT'leri, video kayıt sistemiyle (Limelight system) ile kayıt altına alınmış ve daha sonra uzman bir gözlemci tarafından tarafsız olarak analiz edilmiştir.

3.4. Cinsel Davranış Testinde Değerlendirilen Parametreler

30 dakikalık cinsel davranış testlerinde, erkek ratların sergiledikleri mount, intromisyon ve ejakülasyon davranışlarına göre; mount latensi (ML), intromisyon latensi (IL), ejakülasyon latensi (EL) (test süresi boyunca, ejakülasyon göstermeyen hayvanlar için ejakülasyon latensi 30 dakika olarak kabul edilmiştir), mount frekansı (MF), intromisyon frekansı (IF), ejakülasyon frekansı (EF), post ejakülatör interval (ejakülasyon sonrası aralık) (PEI), intromisyon oranı (IO) ve çiftleşme oranı (ÇO) parametreleri kullanılmıştır.

Yine bu parametrelerden bazıları kullanılarak oluşturulan cinsel davranış indeksi (CAİ) parametresi bu çalışmamızda kullanılmıştır. Aşağıdaki şekilde formülize edilmiştir.

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

Bu formülde “t” ile belirtilen değer cinsel davranış testinin süresini saniye olarak ifade etmekte olup 1800 olarak kullanılmıştır. “Y” ile belirtilen değer ise hayvan ejakülasyon gösterdiğinde 4 ve göstermediğinde ise 0 olarak alınmıştır. Bu formüldeki mount, intromisyon ve ejakülasyon latensleri saniye olarak kullanılmıştır (113).

3.5. Deneyin Sonlandırılması

Tüm deney gruplarında yer alan hayvanların CDT’leri tamamlandıktan hemen sonra hayvanlar anestezide alınmadan dekapite edilmiştir. Hemen ardından, seperatör jelli biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri oda sıcaklığında 30 dakika bekletilerek pıhtılaşmaları sağlanmıştır. Pıhtılaşmalarının ardından örnekler 1800xg’de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonucu elde edilen serum numuneleri mikro hacimli kapaklı tüplere bölünerek çalışılncaya kadar -80°C’de saklanmıştır. Dekapitasyonu takiben, ratlardan elde edilen testis doku örnekleri mikro hacimli kapaklı tüplere konularak çalışılncaya kadar -80°C’de saklandı

Grup 6’da yer alan hayvanlardan bir tanesi uygulamalar esnasında öldüğü için bu gruptaki CDT’ler ve analizler 5 adet hayvan için gerçekleştirilmiştir.

3.6. Hormon Analizi

Cinsel davranış testi (CDT) sonrasında ratlardan alınan ve -80 derecede muhafaza edilen serum ve doku örneklerinde, folikül sitümüle edici hormon, luteinize edici hormon, 5 alfa redüktaz ve testosteron düzeyleri, Karadeniz Teknik Üniversitesi Biyokimya Bölümün’de, ticari ELISA kitleri kullanılarak analiz edilmiştir.

Serum Örneklerinin Hazırlanışı

-80°C’de saklanan serum örnekleri oda sıcaklığına getirilerek erimeleri sağlandı ve ardından vortekslenerek biyokimyasal analizlerde kullanıldı.

Doku Örneklerinin Hazırlanışı

Alınan dokuların her birinden yaklaşık 30'ar mg'lık kesimler yapıldı. Sonrasında bu dokular homejenizatör (IKA Ultra-Turrax T-25, Staufen im Breisgau, Almanya) yardımıyla 1.5 mL fosfat tamponu (PBS, pH:7.4) içerisinde 9500 rpm'de homojenize edildi. Homojenatlar 1800xg'de 10 dakika santrifüjlendi. Santrifüj sonucu elde edilen süpernatantlarda biyokimyasal parametrelerin ölçümü gerçekleştirildi.

Doku Örneklerindeki Protein Miktarlarının Belirlenmesi

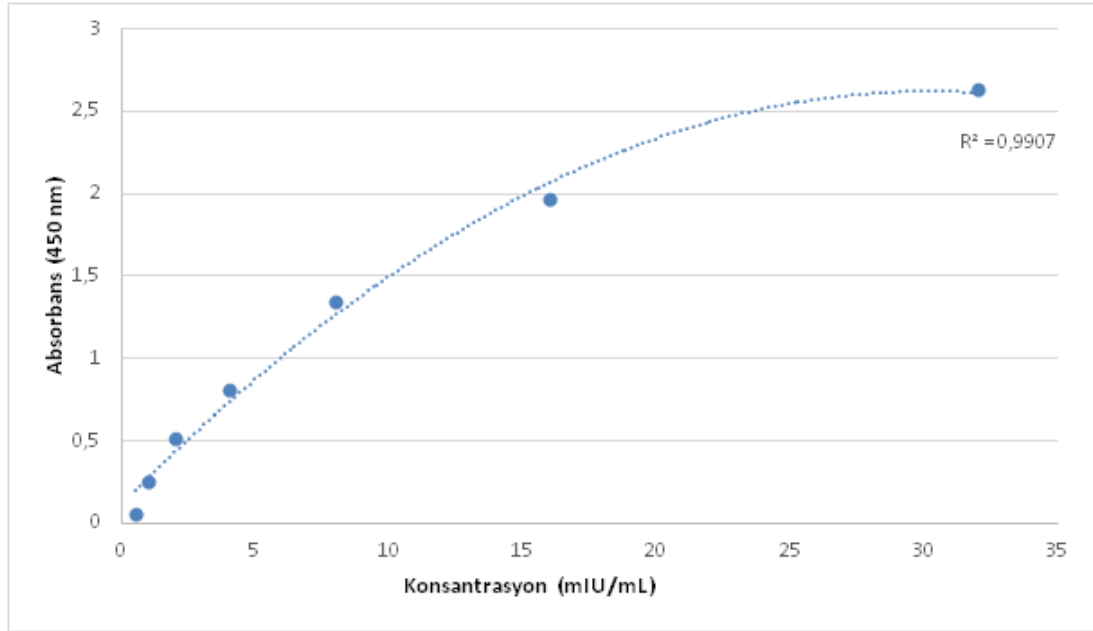
Doku örneklerindeki protein miktarları üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ticari kit (Thermo Scientific Pierce BCA Protein Assay Kit, Cat No: 23227, Rockford, IL, ABD) kullanılarak belirlendi ve sonuçlar mg/mL cinsinden hesaplandı. Dokularda ELISA kitleri kullanılarak ölçülen tüm biyokimyasal parametrelerin seviyeleri, standardize olması açısından hesaplanan örnek protein miktarlarına oranlanarak mg protein başına olacak şekilde verildi.

Doku ve Serum Folikül Stimüle Edici Hormon (FSH) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerinin FSH seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E0182Ra, Zhejiang, Çin) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- FSH standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve ilgili kuyucuklara 50'şer μL hacimde pipetlendi. İlgili örnek kuyucuklarına 40'ar μL örnek ve 10'ar μL anti-FSH antikorları ve ardından 50'şer μL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda (ShellLab/Sheldon S14-2, Cornelius, ABD) 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı (BioTek, Winooski, ABD) kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.

- Her bir kuyucuğa renklendirme için Substrat A ve Substrat B çözeltilerinden 50'şer μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede (Versamax, Molecular Devices, California, ABD) 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek FSH standart grafiği çizildi (Şekil 19). Bu grafikten yararlanılarak serum ve doku FSH seviyeleri mIU/mL olarak hesaplandı. Doku örnekleri için elde edilen değerler örneklerin protein miktarına bölündü. Serum FSH değerleri mIU/mL, doku FSH değerleri ise mIU/mg protein birimi ile verildi.

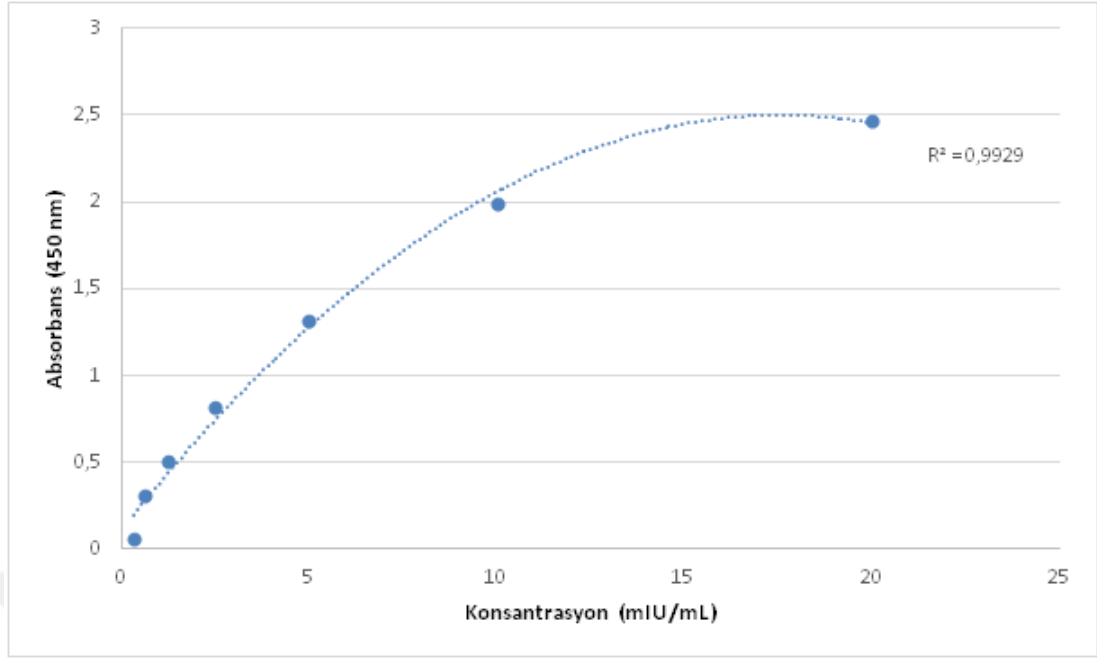


Şekil 19. FSH ölçümünde kullanılan standart grafiği

Doku ve Serum Lüteinleştirici Hormon (LH) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerinin LH seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E0179Ra, Zhejiang, Çin) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- LH standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve ilgili kuyucuklara 50'şer μL hacimde pipetlendi. İlgili örnek kuyucuklarına 40'ar μL örnek ve 10'ar μL anti-LH antikoları ve ardından 50'şer μL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için Substrat A ve Substrat B çözeltilerinden 50'şer μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbanları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorban sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek LH standart grafiği çizildi (Şekil 20). Bu grafikten yararlanılarak serum ve doku LH seviyeleri mIU/mL olarak hesaplandı. Doku örnekleri için elde edilen değerler örneklerin protein miktarına bölündü. Serum LH değerleri mIU/mL, doku LH değerleri ise mIU/mg protein birimi ile verildi.



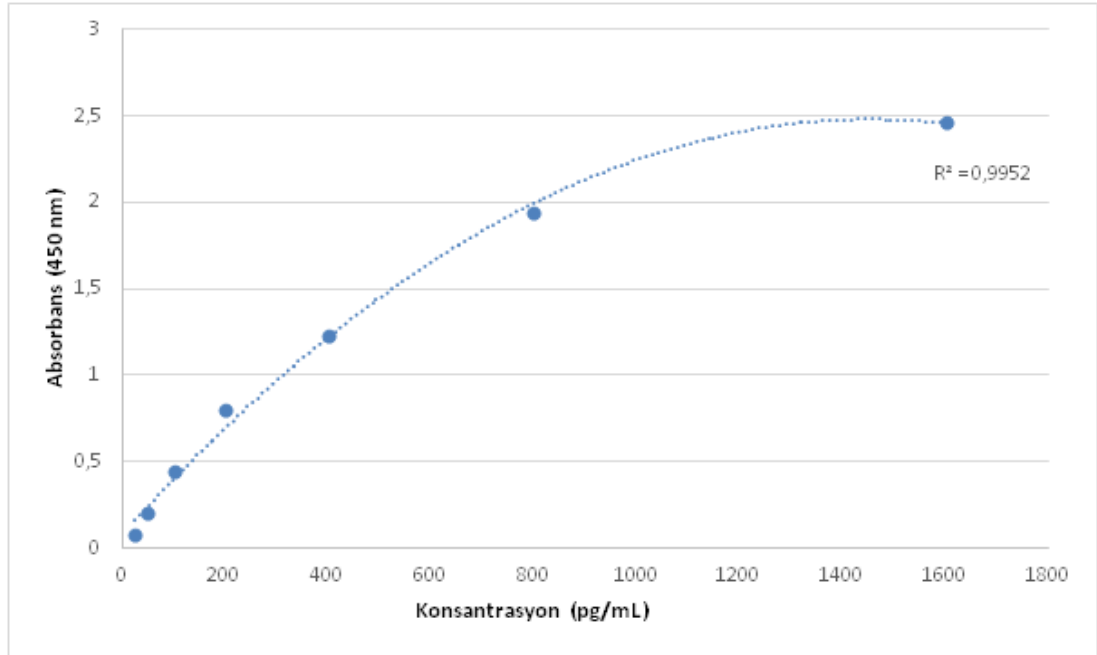
Şekil 20. LH ölçümünde kullanılan standart grafiği

Doku ve Serum Testosteron (TES) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerinin TES seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E0259Ra, Zhejiang, Çin) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- TES standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve ilgili kuyucuklara 50'şer μL hacimde pipetlendi. İlgili örnek kuyucuklarına 40'ar μL örnek ve 10'ar μL anti-TES antikorları ve ardından 50'şer μL streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C 'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için Substrat A ve Substrat B çözeltilerinden 50'şer μL eklendi ve pleyt 37°C 'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.

- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μL renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikroyuvar okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek TES standart grafiği çizildi (Şekil 21). Bu grafikten yararlanılarak serum ve doku TES seviyeleri pg/mL olarak hesaplandı. Doku örnekleri için elde edilen değerler örneklerin protein miktarına bölündü. Serum TES değerleri pg/mL , doku TES değerleri ise pg/mg protein birimi ile verildi.

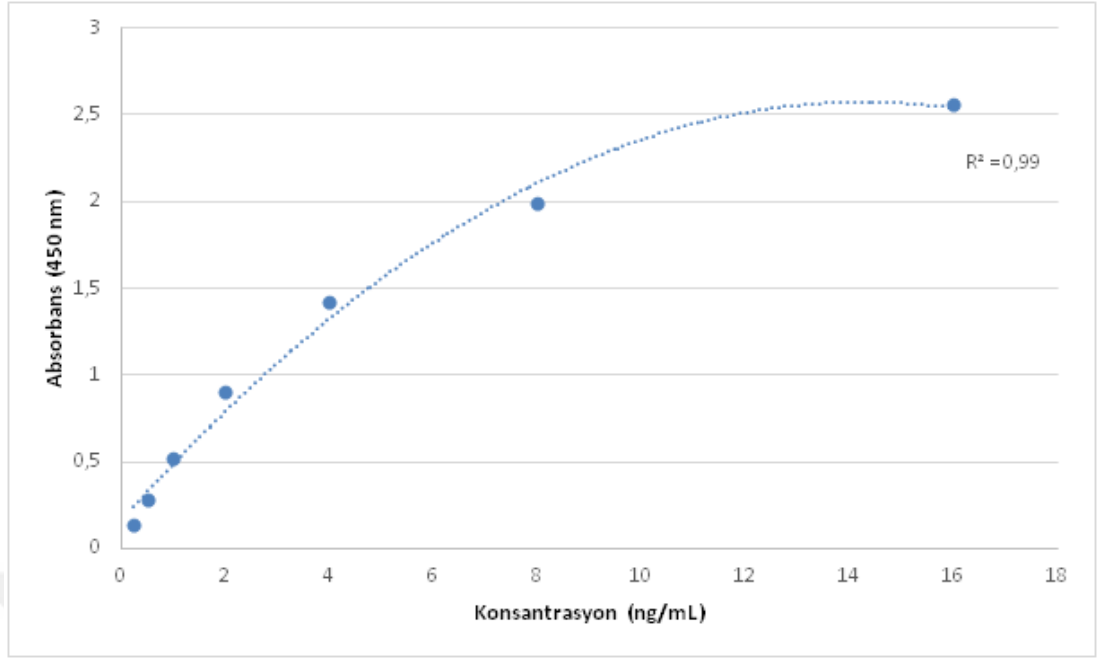


Şekil 21. TES ölçümünde kullanılan standart grafiği

Doku ve Serum 5-Alfa Redüktaz (5 α R) Seviyelerinin Belirlenmesi

Doku ve serum örneklerinin 5 α R seviyeleri, üretici firmanın tavsiyeleri doğrultusunda ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory, Cat No: E1585Ra, Zhejiang, Çin) kullanılarak belirlendi. Bunun için sırasıyla aşağıdaki işlemler gerçekleştirildi:

- 5 α R standartları kit prosedürlerine uygun olarak hazırlandı ve ilgili kuyucuklara 50'şer μ L hacimde pipetlendi. İlgili örnek kuyucuklarına 40'ar μ L örnek ve 10'ar μ L anti-5 α R antikorları ve ardından 50'şer μ L streptavidin-HRP çözeltisi ilave edildi. Pleyt, folyo ile kapatılarak 37°C'de çalkalayıcıda 60 dakika inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonrasında pleyt, yıkama tamponu ile pleyt yıkayıcısı kullanılarak 5 kez yıkandı. Kuyucuklarda kalan artık yıkama tamponu iyice uzaklaştırıldı.
- Her bir kuyucuğa renklendirme için Substrat A ve Substrat B çözeltilerinden 50'şer μ L eklendi ve pleyt 37°C'de çalkalayıcıda 15 dakika inkübasyona bırakıldı.
- Referans dalga boyu olan 620 nm'deki ölçüm sonucunda, en yüksek standardın optik yoğunluğunun 0.9-0.95'e ulaşmasıyla birlikte her bir kuyucuğa 50'şer μ L renklenmeyi durdurma çözeltisi eklendi ve numunelerin renginin sarıya döndüğü gözlemlendi.
- Süre sonunda örnek ve standart absorbansları mikropleyt okuyucu spektrofotometrede 450 nm dalga boyunda okundu.
- Elde edilen standart absorbans sonuçları konsantrasyona karşı grafiğe geçirilerek 5 α R standart grafiği çizildi (Şekil 22). Bu grafikten yararlanılarak serum ve doku 5 α R seviyeleri ng/mL olarak hesaplandı. Doku örnekleri için elde edilen değerler örneklerin protein miktarına bölüdü. Serum 5 α R değerleri ng/mL, doku 5 α R değerleri ise ng/mg protein birimi ile verildi.



Şekil 22. 5αR ölçümünde kullanılan standart grafiği

3.7. İstatiksel Analiz

Verilerin analiz aşamasında SPSS 22,0 istatistik paket programı kullanılmıştır. Değerlendirme sonuçlarının tanımlayıcı istatistikleri; ortalama, standart sapma, ortanca ve 25-75'lik yüzdeler biçiminde verilmiştir. Bağımsız grupların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Kruskal Wallis testinde önemli farklılıkların görülmesi durumunda Post hoc karşılaştırmalar ise Bonferroni ile test edilmiştir. İstatistiksel alfa anlamlılık seviyesi $p < 0,05$ olarak kabul edilmiştir.

Tablo 6. Akut etkinin incelendiği gruplardaki ratların cinsel davranış testi (CDT) parametre düzeyleri arasındaki ilişki

Parametre	Grup 1 (Akut-Kontrol) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 2 (Akut-Çam Balı) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 3 (Akut-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	p values
Mount Latensi (ML)	7,2±2,1 8 4,75-9	7,5±1,4 8 6,5-8,25	5,8±1,3 6 4,75-6,5	0,221
İntromisyon Latensi (IL)	7,2±1,7 7,5 6,25-8,25	6,3±1,6 6,5 4,75-8	6,8±1,5 7 6,25-8	0,615
Ejakülasyon Latensi (EL)	504,5±76,7 507 419,5-583,75	381,2±54,9 387 337-418,75	572,7±54,7 592,5 532-607,75	0,003 P ²⁻³ =0,002
Mount Frekansı (MF)	3,8±2,5 4 1-6,25	2,5±1,0 2,5 1,75-3,25	3,5±1,4 3 2,75-4,5	0,427
İntromisyon Frekansı (IF)	31,2±4,8 31 27,75-35	31,5±4,9 31 27,25-36,5	29,8±5,6 30 24,5-34,75	0,848
Ejakülasyon Frekansı (EF)	2,2±0,8 2 1,75-3	1,8±0,4 2 1,75-2	1,7±0,8 1,5 1-2,25	0,427
Post Ejakülasyon İnterval (PEI)	405,0±79,5 388 354,75-441,75	427,0±54,7 454,5 362,25-466,0	468,12±80,1 487,5 413-524,5	0,331
İntromisyon Oranı (IO)	0,8±0,1 0,76 0,64-0,89	0,8±0,2 0,9 0,51-0,95	0,9±0,04 0,9 0,85-0,93	0,504
Çiftleşme Oranı (ÇO)	0,07±0,01 0,07 0,05-0,08	0,06±0,02 0,06 0,04-0,07	0,05±0,02 0,05 0,03-0,06	0,211
Cinsel Aktivite İndeksi (CAİ)	12,2±1,04 12,1 11,4-13,2	12,2±1,4 12,1 11,1-13,4	10,9±0,8 10,7 10,38-11,63	0,084

Tablo 7. Akut etkinin incelendiği gruplardaki ratlardan alınan testis dokusunda ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki

Parametre	Grup 1 (Akut-Kontrol) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 2 (Akut-Çam Balı) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 3 (Akut-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	p values
Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)	0,05±0,03 0,04 0,02-0,08	0,07±0,02 0,07 0,05-0,08	0,06±0,04 0,06 0,02-0,09	0,528
Lüteinleştirici Hormon (LH)	0,03±0,01 0,02 0,02-0,03	0,03±0,01 0,02 0,02-0,03	0,03±0,004 0,02 0,02-0,03	0,972
Testosteron	1,77±0,75 1,67 1,12-2,37	1,92±0,99 1,86 1,01-2,58	2,10±0,86 1,85 1,40-3,01	0,884
5 alfa Redüktaz Enzimi (5αR)	0,02±0,003 0,02 0,02-0,03	0,03±0,01 0,03 0,02-0,03	0,03±0,01 0,03 0,02-0,03	0,747

Tablo 8. Akut etkinin incelendiği gruplardaki ratlardan alınan serum örneklerinde ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki

Parametre	Grup 1 (Akut-Kontrol) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 2 (Akut-Çam Balı) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 3 (Akut-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	p values
Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)	4,3±1,7 4,34 2,76-6,01	3,5±1,4 3,12 2,49-4,38	4,0±1,1 4,2 3,19-4,59	0,548
Lüteinleştirici Hormon (LH)	1,84±0,21 1,81 1,65-2,00	1,8±0,6 1,88 1,22-2,38	2,2±0,6 2,1 1,66±2,69	0,325
Testosteron	30,4±11,7 31,2 21,02-41,50	39,5±5,1 41,1 33,98-43,93	59,2±18,0 66,1 40,3-74,25	0,028 P ¹⁻³ =0,022
5 alfa Redüktaz Enzimi (5αR)	0,4±0,1 0,32 0,30-0,51	0,4±0,1 0,43 0,35-0,46	0,5±0,1 0,49 0,42±0,61	0,109

Tablo 9. Kronik etkinin incelendiği gruplardaki ratların cinsel davranış testi (CDT) parametre düzeyleri arasındaki ilişki

Parametre	Grup 4 (Kronik-Kontrol) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 5 (Kronik-Çam Balı) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 6 (Kronik-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	p values
Mount Latensi (ML)	13,5±2,6 13,5 11-15	17,2±8,8 14,5 12-20	18,8±8,7 16 11-28	0,596
İntromisyon Latensi (IL)	37,5±20,4 36,5 19,25-58,25	40,8±22,9 38 19-66,25	41,2±13,1 41 31,5-51	0,857
Ejakülasyon Latensi (EL)	1459,7±286,8 1457,5 1225,75-1747,5	1416,0±541,6 1714,5 810,25-1800	1385,8±569,4 1800 764,5-1800	0,917
Mount Frekansı (MF)	1,7±0,8 1,5 1-2,25	3,3±2,0 4 1-5	2,4±1,5 2 1-4	0,299
İntromisyon Frekansı (IF)	26,5±10,1 30 14,5-34,75	24,3±4,7 23 20,5-30	26,4±5,1 27 22-30,5	0,687
Ejakülasyon Frekansı (EF)	1,0±0,6 1 0,75-1,25	0,7±0,8 0,5 0-1,25	0,8±1,1 0 0-2	0,711
Post Ejakülasyon İnterval (PEI)	461,8±29,7 462 436,5-479,25	399,0±7,4 399 392,25-404,75	432,8±21,9 432 414,5-451,5	0,003 P ⁴⁻⁵ =0,002
İntromisyon Oranı (IO)	0,9±0,1 0,9 0,8-0,97	0,8±1,9 0,8 0,7-0,91	0,9±0,2 1,0 0,71-0,99	0,132
Çiftleşme Oranı (ÇO)	0,02±0,01 0,02 0,01-0,03	0,03±0,02 0,03 0,02-0,06	0,05±0,03 0,05 0,03-0,07	0,383
Cinsel Aktivite İndeksi (CAİ)	8,1±2,2 8,45 7,0-9,63	9,6±1,5 9,4 8,18-11,0	10,5±0,2 10,5 10,3-10,7	0,036 P ⁴⁻⁶ =0,031

Tablo 10. Kronik etkinin incelendiği gruplardaki ratlardan alınan testis dokusunda ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki

Parametre	Grup 4 (Kronik-Kontrol) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 5 (Kronik-Çam Balı) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 6 (Kronik-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	p values
Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)	0,05±0,02 0,06 0,02-0,07	0,05±0,03 0,05 0,03-0,07	0,06±0,02 0,07 0,04-0,08	0,696
Lüteinleştirici Hormon (LH)	0,02±0,003 0,02 0,02-0,03	0,03±0,01 0,03 0,02-0,03	0,03±0,004 0,03 0,02-0,03	0,869
Testosteron	2,03±0,41 1,97 1,75-2,42	1,9±0,9 2,03 0,97-2,73	2,6±0,4 2,51 2,26-2,89	0,193
5 alfa Redüktaz Enzimi (5αR)	0,02±0,002 0,02 0,02-0,03	0,02±0,003 0,02 0,02-0,03	0,03±0,003 0,03 0,02-0,03	0,315

Tablo 11. Kronik etkinin incelendiği gruplardaki ratlardan alınan serum örneklerinde ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki

Parametre	Grup 4 (Kronik-Kontrol) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 5 (Kronik-Çam Balı) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 6 (Kronik-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	p values
Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)	3,5±1,5 3,4 2,36-4,37	4,2±1,7 3,9 2,73-5,88	4,2±1,4 4,2 2,96-5,37	0,594
Lüteinleştirici Hormon (LH)	1,6±0,8 1,4 0,89-2,18	1,9±0,7 1,7 1,43-2,56	2,6±0,4 2,7 2,19-3,0	0,079
Testosteron	38,4±17,8 35,7 24,25-49,73	39,5±16,8 35,7 29-53,38	84,2±7,2 80 78,5-92	0,007 P ⁴⁻⁶ =0,014 P ⁵⁻⁶ =0,019
5 alfa Redüktaz Enzimi (5αR)	0,5±0,1 0,55 0,40-0,62	0,5±0,09 0,51 0,43-0,60	0,8±0,02 0,75 0,73-0,77	0,006 P ⁴⁻⁶ =0,007 P ⁵⁻⁶ =0,037

Tablo 12. Akut ve kronik etkinin incelendiği deli bal ile beslenen gruplardaki ratların cinsel davranış testi (CDT) parametre düzeyleri arasındaki ilişki

Parametre	Grup 3 (Akut-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 6 (Kronik-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	p values
Mount Latensi (ML)	5,8±1,3 6 4,75-6,5	18,8±8,7 16 11-28	0,004
İntromisyon Latensi (IL)	6,8±1,5 7 6,25-8	41,2±13,1 41 31,5-51	0,004
Ejakülasyon Latensi (EL)	572,7±54,7 592,5 532-607,75	1385,8±569,4 1800 764,5-1800	0,004
Mount Frekansı (MF)	3,5±1,4 3 2,75-4,5	2,4±1,5 2 1-4	0,329
İntromisyon Frekansı (IF)	29,8±5,6 30 24,5-34,75	26,4±5,1 27 22-30,5	0,429
Ejakülasyon Frekansı (EF)	1,7±0,8 1,5 1-2,25	0,8±1,1 0 0-2	0,247
Post Ejakülatör İnterval (PEI)	468,12±80,1 487,5 413-524,5	432,8±21,9 432 414,5-451,5	0,126
İntromisyon Oranı (IO)	0,9±0,04 0,9 0,85-0,93	0,9±0,2 1,0 0,71-0,99	0,126
Çiftleşme Oranı (ÇO)	0,05±0,02 0,05 0,03-0,06	0,05±0,03 0,05 0,03-0,07	1,000
Cinsel Aktivite İndeksi (CAİ)	10,9±0,8 10,7 10,38-11,63	10,5±0,2 10,5 10,3-10,7	0,429

Tablo 13. Akut ve kronik etkinin incelendiği deli bal ile beslenen gruplardaki ratlardan alınan testis dokusunda ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki

Parametre	Grup 3 (Akut-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 6 (Kronik-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	p values
Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)	0,06±0,04 0,06 0,02-0,09	0,06±0,02 0,07 0,04-0,08	0,931
Lüteinleştirici Hormon (LH)	0,03±0,004 0,02 0,02-0,03	0,03±0,004 0,03 0,02-0,03	0,931
Testosteron	2,10±0,86 1,85 1,40-3,01	2,6±0,4 2,51 2,26-2,89	0,329
5 alfa Redüktaz Enzimi (5αR)	0,03±0,01 0,03 0,02-0,03	0,03±0,003 0,03 0,02-0,03	0,662

Tablo 14. Akut ve kronik etkinin incelendiği deli bal ile beslenen gruplardaki ratlardan alınan serum örneklerinde ölçülen hormon ve enzim düzeyleri arasındaki ilişki

Parametre	Grup 3 (Akut-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	Grup 6 (Kronik-Delibal) Mean±SD Median (%25-75)	P values
Folikül Uyarıcı Hormon (FSH)	4,0±1,1 4,2 3,19-4,59	4,2±1,4 4,2 2,96-5,37	0,931
Lüteinleştirici Hormon (LH)	2,2±0,6 2,1 1,66±2,69	2,6±0,4 2,7 2,19-3,0	0,177
Testosteron	59,2±18,0 66,1 40,3-74,25	84,2±7,2 80 78,5-92	0,004
5 alfa Redüktaz Enzimi (5αR)	0,5±0,1 0,49 0,42±0,61	0,8±0,02 0,75 0,73-0,77	0,004

4. BULGULAR

İki aşamalı olarak yapılan bu çalışmanın ilk aşamında akut etki gözlemlenmiştir. Akut etki beklenen Grup 1-2-3 olarak sınıflandırılan 18 ratın incelendiği cinsel davranış testinde, kontrol grubu olan, sf ile beslenen Grup 1 ve çam balı ile beslenmiş olan Grup 2 arasında ML, IL, EL, MF, IF, EF, PEI, IO, ÇO, CAİ parametreleri incelendiğinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Çam balı ile beslenen Grup 2 ve deli bal ile beslenen Grup 3 arasında, cinsel davranış testi parametrelerinden EL değeri açısından anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p=0,002$). Grup 3 için ölçülen değer Grup 2 için ölçülenden daha yüksek bulunmuştur. Bu parametrenin Grup 1’de bakılan değerine göre Grup 3’teki değerinde de artış tespit edilmiştir ancak bu artış istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

Kronik etki açısından ise 30 gün boyunca beslenen ve gözlemlenen, Grup 4-5-6 olarak adlandırılan 18 rat ile deneye başlanmıştır ancak; deli bal ile beslenen Grup 6’daki 1 adet ratın ölmesi sebebiyle bu sayı 17’ye düşmüştür. Bu ratların cinsel davranış testi parametrelerinin anlamlılık değerlendirmesinde ise; kontrol grubu olarak sf ile belenen Grup 4 ile çam balı ile beslenen Grup 5 arasında ML, IL, EL, MF, IF, EF, IO, ÇO parametreleri açısından anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. PEI parametresi açısından ise anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p=0,002$). Grup 4 içinde yer alan ratlarda ölçülen bu değer Grup 5’te ölçülenden daha yüksek bulunmuştur. Ölçülen bu parametre için çam balı ile beslenen Grup 5’te ölçülen değer deli bal ile beslenen Grup 6’daki değere göre ve Grup 6’daki değer Grup 4’tekine göre daha düşüktür ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Grup 5 ile Grup 6 arasında, ölçülen ML, IL, EL, MF, IF, EF, IO, ÇO, CAİ parametreleri açısından da anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır. Kontrol grubu olarak sf ile belenen Grup 4 ile deli bal ile beslenen Grup 6 arasında CAİ parametresi açısından anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p=0,031$). Grup 4 için ölçülen bu değer Grup 6 için ölçülenden daha düşük bulunmuştur. Aynı parametre için Grup 5’te ölçülen değer Grup 6’dakine ve Grup 4’te ölçülen Grup 5’tekine göre daha düşük hesaplanmıştır ancak; aradaki bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Her iki aşamada da cinsel davranış testi sonrası değerlendirilen hormon analizi bölümünde akut ve kronik etki gözlemlenen gruplar tekrar karşılaştırılmıştır.

Akut etkinin gözlemlendiği Grup 1-2-3 adı verilen gruplarda bulunan ratlardan alınan serum örneklerinden çalışılan FSH, LH, Testosteron hormon düzeyleri ve 5 alfa redüktaz enzim düzeyi değerlendirildiğinde; FSH, LH ve 5 alfa redüktaz enzim değerleri açısından bir farklılık tespit edilmemiş olup, alınan serum örneklerindeki Testosteron düzeyleri arasında sf ile beslenen Grup 1 ve deli bal ile beslenen Grup 3 arasında anlamlı bir farklılık mevcuttur ($p=0,022$). Grup 1’de bulunan ratların serum örneklerindeki testosteron miktarı Grup 3’teki ratlarda ölçülene oranla daha düşük bulunmuştur. Çam balı ile beslenen Grup 2’ye oranla deli bal ile beslenen Grup 3’te de artış mevcuttur ölçülen testosteron hormon değeri için ancak bu artış istatistiksel açıdan anlamlı değildir. Deli bal ile beslenen Grup 3 içinde yer alan ratlardan alınan serum örneklerinde bakılan FSH, LH, Testosteron ve 5 alfa redüktaz enzim değerlerinde çam balı ile beslenen ratların bulunduğu Grup 2’ye göre artış tespit edilmesine rağmen, bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Testis doku örneklerinde incelenen FSH, LH, Testosteron ve 5 alfa redüktaz enzim düzeylerinde ise akut etkinin gözlemlendiği 3 grupta da anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir.

Deli balın kronik etkisinin araştırıldığı, Grup 4-5-6 olarak adlandırılan gruplarda bulunan ratlardan alınan serum örneklerinde ölçülen FSH, LH hormon düzeylerinde anlamlı bir farklılık bulunmamıştır. Deli bal ile beslenen Grup 6 içinde yer alan ratlardan alınan serum örneklerinde bakılan FSH, LH hormon düzeylerinde çam balı ile beslenen ratların bulunduğu Grup 5’e göre daha yüksek tespit edilmiştir ancak; bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Grup 6 için ölçülen FSH değeri, sf ile beslenen Grup 4 için ölçülen değere göre daha yüksek bulunmuştur ve yine Grup 5 için ölçülen değer Grup 4 için ölçülen değere göre yüksek olarak tespit edilmiştir ancak bu farklar da istatistiksel olarak anlamlı değildir. Testosteron düzeyleri incelendiğinde ise sf ile beslenen Grup 4 ve deli bal ile beslenen Grup 6 arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmiştir ($p=0,014$). Grup 4 için ölçülen değer Grup 6 için ölçülenden daha düşük bulunmuştur. Çam balı ile beslenen Grup 5 ve deli bal ile beslenen Grup 6 arasında da ölçülen Testosteron düzeyleri açısından

anlamli bir farklılık mevcuttur ($p=0,019$). Grup 6 için ölçülen bu hormon düzeyi, Grup 5 için ölçülenden daha yüksek bulunmuştur. 5 alfa redüktaz enzim düzeyleri incelendiğinde ise sf ile beslenen Grup 4 ve deli bal ile beslenen Grup 6 arasında da anlamli bir farklılık tespit edilmiştir ($p=0,007$). Ölçülen bu enzim düzeyi Grup 4'te Grup 6'dan daha düşük bulunmuştur. Çam balı ile beslenmiş olan Grup 5 ve deli bal ile beslenen Grup 6 arasında da 5 alfa redüktaz enzim düzeyleri açısından anlamli bir farklılık mevcuttur ($p=0,037$). Grup 5 için ölçülen bu değer Grup 6 için ölçülenden daha düşük bulunmuştur. Alınan testis doku örneklerinde ölçülen FSH, LH, Testosteron ve 5 alfa redüktaz enzim düzeyleri için, Grup 4,5 ve 6 arasında herhangi bir anlamli farklılık bulunamamıştır.



5. TARTIŞMA

Bu çalışmadan elde ettiğimiz pirimer veri orta yaş üzeri erkeklerde cinsel destek amacıyla kullanılan DB'nin, doğru içerik ve doğru dozda kullanılmasının, erken boşalma, erektil disfonksiyon gibi bazı cinsel sorunlar açısından cinsel performans artırıcı olduğudur. Çalışmadan elde ettiğimiz sekonder veri bilinçsizce kullanımının zararlı etkiler oluşturabildiği ve hatta nadiren de olsa mortal seyirli olabileceğidir. Elde ettiğimiz verilerin diğer bilimsel ve toplumsal katkıları ise deli balın böyle bir etkisinin olup olmadığının bulunup açıklanması, deli balın cinsel performans artırıcı olarak alternatif tıp alanında kullanımını etkileyebilecek olmasıdır.

Vaka örneklerinde ve yapılan çalışmalarda, GTX'e bağlı semptom, bulgu ve şiddetinin doza ve maruz kalınan süreye bağlı olarak arttığı gösterilmiştir (125, 126). Bu nedenle çalışmamızda iki farklı doz uygulaması yaparak, hem farklı dozların nasıl etki ettiğini gösterebilmeyi, hem de doza bağlı oluşabilecek değişkenleri ortadan kaldırmayı amaçladık. Tek doz uygulama ile akut etkileri, uzamış tekrarlayan doz uygulamaları ile de kronik dönem etkileri değerlendirdik. Yüksek doz uygulamasını tek seferde çok yüksek oranda deli bal vermek yerine, uzamış dönemde düzenli ve kümülatif olarak uyguladık.

Yapılan bir çalışmada, *R. ponticum* L.'dan elde edilen polen örneği, önemli ölçüde daha yüksek bir bütirikolinesteraz aktivitesine sahipken, *R. luteum*'dan hazırlanan bal özünün, AChE üzerinde %50 inhibisyon etkisine sahip olduğu bulunmuştur (127). Ayrıca, uygulanan doz arttırıldıkça AChE inhibisyon potansiyeli olduğu ortaya konmuştur (128). Kumarinler, flavonoidler, stilbenler deli balın içeriğinde mevcut olan önemli AChE enzimi inhibitörü olduğu bilinen maddelerdir. Kumarin türevi bileşiklerin asetilkolinesteraz ve bütirikolinesteraza karşı potansiyel inhibe edici aktivite göstermiştir (129). Tüm bu çalışmalar, DB'nin AChE ve BChE enzim inhibisyonu etkisinin net olarak bulunduğunu, ancak bunun balın sahip olduğu içeriğe, uygulanan dozuna bağlı olarak değişkenlik gösterdiğinin kanıtıdır. Bu veriler

ışığında, bizim çalışmamızda elde ettiğimiz verilerde genel anlamda bir inhibisyon etkisinin varlığından söz etmek yanlış olmaz.

DB'in sempatik (adrenerjik) sistem üzerinde bir etkisi olmadığı, asıl etkisini parasempatik (kolinerjik) sistemi uyararak gösterdiği ortaya konmuştur (130). GTX'in kardiyak ve solunumsal etkilerinin merkezi sinir sistemi içinde olduğunu ve bradikardiye periferdeki vagal stimülasyonun aracılık ettiğini öne sürmüşlerdir (131). Artan GABA ve glutamat salınımının, GTX intoksikasyonunun otonomik semptomlarından sorumlu olabileceği ifade edilmiştir (95). DB'in farklı uygulama yöntemlerinin farklı sonuçlar doğurabileceği görülmüştür (15). Birçok DB çalışmasında farklı verilerin elde edilmiş olması, vaka bildirimlerinde bazı bulguların nedeninin tam olarak açıklanamamış olması, özellikle geniş çaplı bir nöral etki yelpazesine sahip olması ile açıklanabilir. DB hem iyon kanallarına hem parasempatik sisteme, hemde sinaptik aralığa etki gösterebilmektedir. Ancak organizmanın farklı organlarında farklı reseptörler ve komut sistemleri olduğu için, ortaya çıkan sonuçlarda da bazı doku ve organlar için olumlu iken, bazıları için olumsuz olabilmektedir. Nitekim bizim çalışmamızda da testosteron düzeyinde artış varken, ejakülasyon oluşumunda gecikme, ejakülasyon sonrası dönemde uzama, bir nevi cinsel isteksizlik gelişmiş olması bu değişken etki spektrumuna bağlı olarak değerlendirilebilir.

Rhododendronlardan elde edilen ekstraktlar ve doğrudan grayanotoksin maruziyetinin; antioksidan, anti-diyabetik, sitotoksik, spazmolitik, tirozinaz inhibitörü, sedatif ve asetilkolinesteraz inhibitörü etkileri olduğu birçok çalışma ile gösterilmiştir (18). Deli balın, AchE inhibisyonu ile sinaptik aralıkta ACH artışına yolun açması, hedef organlardaki uyarımın da artmasına neden olmaktadır. Parasempatik sistem aktivasyonunun artması bu mekanizma ile açıklanabilir.

Transmembran potansiyellerinin hiperpolarizasyonu, erkek ratlarda penil kaslarda kasılma süresinin uzamasına neden olmaktadır (132). Parasempatik sistemin hem ereksiyon hem de ejakülasyon oluşumunda rolü vardır. Ereksiyon sürecinde parasempatik sistem uyarımı ile penil arterlerin dilatasyonu ile laküner alan içine kan akımı artar ve kavernoöz içi basınç yükselir ve arteriyel dilatasyonu takiben, trabeküler düz kas gevşer ve böylece laküner alan kompliyansı artarak kanın burada

yoğunlaşması sağlanır (133). DB ile PS uyarı artışı ve uzamış depolarizasyon, çalışmamızda akut uygulamadaki EL uzamasını açıklayabilir. Ayrıca, kronik grupta PEI değeri istatistiksel anlamlı olarak SF alanlarda ÇB alanlardan, istatistiksel anlamlı olmasa da DB alanlarda, ÇB alanlardan daha yüksek bulunmuştur. DB'ın PEI değerinin, rakamsal olarak SF alanlardan daha düşük olmasının, DB grubunda bir hayvanın çalışmanın sonlandırılmasından önce ölmüş olması ve bu nedenle rakamsal hesaplara dahil edilememesinin neden olduğu kanaatindeyiz.

Her ne kadar SF ile DB grubu sonuçları birbirine yakın olsada, DB gerubunda, çam balına göre yüksek değerler elde etmemiz ve ölen hayvana bağlı rakamsal düşüş olduğunu göz önünde bulundurarak, DB alımı ile PEI değerinin olumsuz olarak etkilendiğini söyleyebiliriz. Bu durum fizyolojik olarak graniyotoksinin uzamış depolarizasyon etkisi ile açıklanabilir.

Yapılan birçok çalışma, deli balın parasempatik sistem üzerinden farklı dokulardaki muskarinik reseptörlere etkisi olduğunu göstermektedir (70, 134). Ayrıca, kalp üzerinde M2 reseptörleri dağılımına baktığımızda, kardiyak kas dokusunda çok az oranda, Sinüs düğümü ve AV nodda ise yüksek oranda bulunduğunu, bu nedenle kısa süreli DB alımı ile bradikardi ortaya çıkarken, uzun süreli ve yüksek doz alımda kümülatif toksik etki nedeniyle Sinüs düğümü ve AV nodda aşırı inhibisyon ortaya çıkar. Bu sürecin, kardiyak ileti bloğu ve az sayıdaki vakada ölümle sonuçlanabildiği görülmüştür (135, 136). Bu durumun atropin uygulaması ile düzelmesi ise, deli balın tüm muskarinik reseptörler üzerinde etkisinin olduğunu ortaya koymaktadır. Bu durum, bizim çalışmamızdaki verilerin aslında çelişkili olmadığı, farklı yolların ve reseptörlerin etkileneşine bağlı olarak kompleks sonuçlar oluştuğunu desteklemektedir. Çalışmamızda, uzun süreli deli bal verilen grupta bir hayvanın çalışmanın sonuna doğru ölmüş olmasının bu duruma bağlı olduğu kanaatindeyiz. Kronik deli bal uygulanan grupta PEI uzaması, genel anlamda kardiyak kökenli bedensel yorgunluk nedeniyle efor kapasitesinde düşme olması ve yeni bir cinsel aktivasyon başlatmada zorluk çektikleri için ejakülasyon sonrası sürenin uzamış olması ile açıklanabilir.

Deli bal, ejakülasyonun ikinci fazında PS etkinlikte bir aktivasyona neden olur, ancak ejakülasyon süreci son aşaması olan boşaltım/orgazm(ekspülasyon) evresi

olmadan tamamlanamaz. Bu aşamada ise penil duyarlılık ve istemli pelvik taban kaslarında kasılma sürecin tamamlanmasını sağlar (73). Antienflamatuvar ve antinosisseptif ajanlar, periferik duyarlılığı azalttığı ve önlediği için, hem duysal girdileri algılamada hem de ardışık uyarıma sekonder boşalma tepkisinde gecikmeye neden olur (137). DB, içeriğinde bulunan triterpenoidler, ursolik asit ve 23-hidroksiursolik asit, özellikle yüksek dozlarında güçlü anti-nosisseptif ve anti-inflamatuvar etkiye sahiptir (138). DB, antienflamatuvar ve antinosisseptif etkileri ile her ne kadar birçok durumda faydalı olsa da penil duyarlılıkta azalma, ejakülasyonun son basamağı olan boşaltım/orgazm evresine geçişi zorlaştırma ve gecikmiş orgazma neden olması nedeniyle cinsel fonksiyonlar üzerinde olumsuz etki göstermektedir. Tüm bu veriler ışığında, ejakülasyonun son evresine geçişin zorlaşması bizim çalışmamızdaki EL uzamasını açıklayabilir. Aynı şekilde, yeni bir cinsel döngünün başlamasının gecikmesinde, yani PEI süresinin uzamasında da etkisi olması muhtemeldir.

VMH'deki elektrofizyolojik kayıtlar, glukozla uyarılan nöronların değil, glukozla inhibe olan nöronların uyarılması ile cinsel bir dimorfizm göstermiştir; erkek fare nöronları, dişi farelere kıyasla genellikle daha düşük glukoz konsantrasyonlarında uyarılabilirliklerini arttırmışlardır (93). Ayrıca yapılan çalışmalar, GTX'in düşük dozda parasempatik etki ile pankreastan insülin salınımını artırarak hipoglisemi yaptığını ancak, yüksek düzeyde GTX içeren bal uygulanmasının sürrenal medulladan adrenalın salgılanmasına yol açması ve dolayısıyla kan glukoz seviyesinin yükselmesine neden olduğunu göstermektedir. Bir başka çalışmada ise, düşük doz GTX ile hayvanlarda kan glikoz düzeylerinde belirli değişiklikler olmasına rağmen, insanlarda kan glikoz düzeyinde, renal ve hepatik toksisitede önemli etkilerinin olmadığı bildirilmiştir (134). Deli balın düşük doz uygulaması ile ortaya çıkan hipoglisemi, erkek sıçanlarda cinsel uyarılabilirliği artırıcı etki gösterirken, uzun dönem ve yüksek doz uygulanması VMH üzerindeki etkisi ve hiperglisemik etkisi ile seksüel davranışta kaçınma, isteksizliğe neden olabilmektedir. Bizim çalışmamızda akut DB grubunda PEI etkilenmezken, kronik grupta etkilenmiş olmasında bu mekanizmanın payı olabilir. Ayrıca karaciğer üzerindeki toksik etkilerinin, SHBG ve albümin üzerinde azaltıcı etkisi olup olmadığını incelemek, serum serbest ve proteine bağlı testosteron oranlarının,

dolayısıyla testosteronun etkinliğindeki değişimlerde rolü olup olmadığını anlaşılması adına önem arz etmektedir.

Bal üzerinde daha önce yapılan çalışmalarda, sıçanlarda testosteron, LH ve FSH gibi üreme hormonları üzerinde etkileri olduğu bildirilmiş ve balın sıçanlarda T üretimini ve dolayısıyla sperm sayısını artırdığı öne sürülmüştür (139). DB'nin testis dokusu üzerinde iskemi-reperfüzyon hasarı sırasında hücrel hasarı ve apoptozu azalttığını ve üreme hormonları üzerinde önemli koruyucu etkileri olduğu bulunmuştur (140). Doğanyiğit ve arkadaşlarının (2018), sıçanlarda akut ve kronik grayanotoksin III ün farklı dozlarında uygulamasının histolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal etkilerini değerlendirdikleri bir çalışmada, uygulama dozu arttıkça T düzeylerinin serumda azaldığı saptanmış, bu durum GTX'e bağlı testis hasarına bağlanmış ve serum LH düzeylerindeki eş zamanlı düşüş, GTX'in ayrıca hipotalamo/hipofiz hattında doza bağlı hasara neden olmasıyla açıklanmıştır (141). Gerek normal gerekse GTX içeren ballar için, içeriğine, uygulanan doza ve süreye göre bazı değişiklikler gözlenmesine karşın genel bir yargı olarak; LH artışına neden olup, Leydig hücrelerinde oksidatif hasarı azaltarak, StAR gen ekspresyonunu güçlendirerek ve/veya testislerde aromataz aktivitesini inhibe ederek serum T seviyesini arttırdığı rapor edilmiştir (142). Başka bir çalışmada, DB grubundaki sıçanların total ve serbest T düzeyleri, normal bal ve kontrol gruplarına göre daha yüksek bulunmuş. Diğer hormonal parametrelerde herhangi bir değişiklik tespit edilmemiş. Araştırmacılar hem total hem de serbest T düzeylerindeki artışı testiküler globulin düzeylerindeki artışa bağlarken, FSH ve LH düzeylerinde azalma olmamasının hipofiz/hipotalamik indüksiyondaki artışa bağlı olabileceğini bildirmişlerdir (18). Benzer şekilde bizim çalışmamızda, akut uygulama grubunda serum testosteron düzeyi DB alanlarda, kontrol grubuna göre anlamlı düzeyde artmış, ÇB grubuna göre de artış olmuş ancak istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmemiştir. LH, FSH ve 5 a redüktaz serum düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı olmasa da, DB alanlarda diğer gruplara göre artmıştır. Testis dokusunda fark bulunmamıştır. Yukarıdaki ile benzer olarak serum T düzeyindeki artış, birden fazla mekanizma ile açıklanabilir.

Hipofizin ön lobundan GnRH'nın uyarıcı etkisi sonucu oluşan FSH'nın yarı ömrü 1-3 saattir. GnRH düzeyindeki küçük değişikliklerin, FSH salınımı üzerinde belirgin bir etkisi yoktur. GnRH'da oluşan uzun müddetli uyarılara cevap olarak FSH ancak birkaç saat sonra cevap verir. GnRH'dan ön hipofiz gonadotroplarına gelen iletiler neticesinde gerçekleşen LH'nın salınımı ise FSH'nın aksine pulsatil tarzda olup, GnRH'daki anlık değişimlerle korele olarak değişkenlik gösterebilir (143). Bizim çalışmamızda hem akut hem kronik uygulama grubunda testis dokusu incelemesinde FSH ve LH düzeylerinde anlamlı bir değişiklik görmemiş olmamız, bu kısa süreli ya da değişken salınım paternlerine bağlı olabilir. Ayrıca hem FSH hem de LH'nın kısa süreli yarılanma ömrüne sahip olması, kullanımı dışında salınımı ya da periferik dokuda depo edilmesi söz konusu olmayıp, feedback mekanizmaların kontrolü ile düzeyleri ayarlandığı için, çalışma gruplarımızda testis dokusu biyopsilerinde saptanamamış olması beklenen bir durum olarak değerlendirilebilir.

Farklı dozlarda verilen GTX-III'ün rat testis dokusunda akut ve kronik etkilerinin histolojik olarak incelendiği bir çalışmada alınan testis doku örneklerinde; seminifer tübül çapının akut ve kronik yüksek doz uygulanan gruplarda daha belirgin olarak, kontrole göre önemli oranda azaldığı, hemoraji, epiteliyal dökülme, seminifer epitelde düzensizlik ve vakuolizasyon olduğu gözlenmiş ve apoptotik hücrelerde artış belirlenmiştir. Sonuçta; GTX-III'ün doza bağlı akut ve kronik etkilerinin farklı olduğu, yüksek dozun olumsuz etkilerinden dolayı araştırmalarda bu faktörün göz önünde tutulması gerektiği sonucuna varılmıştır (141). Bu sonuçlar bir kez daha bize DB çalışmalarının literatürde olumlu etki ve toksik etki konusunda tutarlı sonuçlar olmadığını göstermektedir.

Testosteronun vazodilatasyon ve relaksasyon etkisi, düz kas iyon kanalı fonksiyonunun modülasyonu gibi görünmektedir. Özellikle L tipi voltajla çalışan kalsiyum kanallarının inaktivasyonu ve/veya voltaja bağımlı kalsiyumla aktive olan potasyum kanallarının aktivasyonu ile bu etkileri gerçekleştirdiği bildirilse de kavernozaal düz kas hücrelerindeki etkisi için kanıt niteliğinde çalışma bulunmamaktadır. Eldeki kanıtlar, izole korpora kavernozaal şeritlerde, T'un adenozin trifosfata duyarlı potasyum kanallarını aktive ederek gevşemeye yol açtığı yönündedir (144). DB'ın, voltaja bağlı Na⁺ kanallarının aktivasyonuna ikincil

olarak, voltaja bağılı Ca^{2+} kanalları yoluyla Ca^{2+} akışını arttırdığı bilindiğinden, T'un iyon kanalları üzerinden yaptığı bu etkileri de tam olarak gerçekleştiremeyecektir. Yani, kan T düzeyinin yüksek olması demek, cinsel fonksiyonlar üzerinde direkt olumlu bir etki yapacağı anlamına gelmemektedir. Bizim çalışma verilerimizde, DB alımının T düzeylerini arttırmasına rağmen, EL, PEI uzaması gibi olumsuz cinsel aktivasyon süreçleri yaşanması, DB'ın iyon kanalları üzerindeki bu etkisiyle, T etkisini önlediği şeklinde yorumlanabilir.

5 α R enzim inhibisyonu ile DHT azalmakta, buna bağılı en belirgin bozulma cinsel istek ve libido da azalma şeklinde olmaktadır. Ayrıca ereksiyondaki görevinde bozulma olduğu için erektil disfonksiyon ortaya çıkmaktadır. Ejekülasyon evresinde ise belirgin rolü olmadığından, genelde bozulma göz ardı edilebilir düzeydedir (145). Finasterid, 5 α R2 alt tipine spesifik ve yarışmalı inhibisyon mekanizması ile bağlanır. Ortamdaki substrat arttıkça, inhibitör ilacın etkisinde devre dışı kalmış olur. Doğada bulunan birçok fitokimyasal ajanın 5 α R inhibitörü etkisi olduğu gösterilmiştir. DB içerisinde bulunan çoğu flavonoid ve fenolik bileşiklerde bu grupta yer almaktadır (146, 147).

Normal bir süreçte; substrat enzimin üzerinde kendisi için olan bölgeye bağlanıp, enzimatik reaksiyon sonrasında farklı bir molekül haline dönüşmüş olarak enzimden ayrılır. Burada enzimde herhangi bir değişim olmaz ve yarılanma ömrü süresince kullanılmaya devam edebilir. Yarışmalı inhibisyonda ise, substrat yerine, aynı bağlanma bölgesine sahip başka bir molekül enzime bağlanır, substrat dönüşmesi gereken moleküle dönüşemez ve ortamda azalmaya başlar. Enzimde ise yine bir değişim olmaz (148). Bu süreçte substrat-T, enzim-5 α R, ürün-DHT ve inhibitör ise DB içeriğindeki flavonoid/fenolik bileşiklerdir. Sonuçta; ortamda DHT azalır, T dönüşemeyip biriktiği için artar ancak 5 α R miktarı sabit kalır, hatta rölatif olarak artabilir. İşte, tüm bu döngü bizim çalışmamızdaki verilerimizi açıklamak için son derece uygundur; 5 α R akut grupta anlamsız, kronikte anlamlı artmış, T iki grupta da anlamlı olarak artmış, DHT'un etkinliği azalmıştır. DHT azalmasına rağmen neden erektil disfonksiyon olmadığını birkaç nedenle açıklamak mümkündür; ilki, DHT moleküller ve kimyasal yapısı nedeniyle, FSH-LH gibi kısa yarı ömürlü değildir. Ayrıca genital bölgede görev aldığı hücrelerde, özellikle sertoli

hücrelerindeki endoplazmik retikulumlarda ve golgi cisimciğinde depo edilir ve uyarımla ihtiyaç halinde salınmaya devam eder.

Finasterid, 5 α R tip 2 üzerinde etkilidir. Fakat flavonoidlerin hangi subtipler üzerinde etkili olduğuna dair kesin bir bilgi yoktur. Yani, bizim çalışmamızda etkisi olduğunu düşündüğümüz flavonoid ya da fenolik bileşik belkide ağırlıklı olarak tip1 üzerinde etkili olmaktadır ve bu nedenle erektil disfonksiyon kliniği ortaya çıkmamaktadır. Ayrıca sertoli hücrelerinin aşırı uyarımı ile depo DHT sekrete edilerek, tam tersine uzamış ereksiyon ve ejakülasyon fazına geçişte zorlanma durumunu da açıklamış olur.

Yüksek T seviyeleri insan prostat ve sıçan sinir sisteminde antioksidan özelliklere sahipken, sıçan ve tavşan testis dokularında, sıçan kaslarında oksidasyon ile sonuçlanabilir (141). Bu bulgular, testosteronun dokuya ve cinsiyete bağlı bir şekilde prooksidan etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Testis dokusundaki hücre zarları çoklu doymamış yağ asitleri açısından oldukça zengin olduğundan, oksidatif strese karşı son derece hassastırlar. DB içeriğindeki flavonoid ve isoflavonoidler, birkaç alt grupları dışında oksidan özellik göstermektedirler. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) hücre fonksiyonlarının bozulmasına neden olarak zardaki çoklu doymamış yağ asitleri dahil tüm makromoleküllere zarar verdiği bilindiğinden, DB'in sahip olduğu içeriğe ve uygulanma dozuna bağlı olarak testiküler hasara neden olup gonadal T azaltabileceği gibi, antioksidan rolüyle ya da nöromodülatör yollarla santral nedenli artışına da neden olabileceğini söyleyebiliriz. Bu durum bizim çalışmamızda, T düzeyinin santral kaynaklı artışı olduğu ve akut ve kronik grupta testis doku incelemesinde doku bozulmasına bağlı T yüksekliği olmadığını düşündürmektedir.

DB üzerine yapılan bir çalışmada, sadece toplam T düzeylerinde artış olmasının, T bağlayıcı SHBG düzeylerindeki artış ile yorumlanabileceği, FSH ve LH düzeylerinde azalma olmamasının ise, hipotalamus/hipofiz indüksiyonu nedeniyle olduğu, çünkü DB, direk testisleri etkileseydi, FSH ve LH seviyelerinde düşüş olması gerekeceği belirtilmiştir. Sonuç olarak; DB'da normal balda olmayan bir şeyin hipotalamik/hipofiz eksenini indüklediği ve hem serbest testosteron hem de toplam testosteron düzeylerini artırdığı yorumu yapılmıştır (18). Bu çalışma bizim

çalışmamızdaki T artışı ile uyumludur ancak, serbest-total ayırımı bilinmediği için yapılacak daha ayrıntılı ve daha fazla denek içerek çalışmalara ihtiyaç olduğu aşikârdır.

Cinsel ilişki süreci boyunca gerçekleşen davranış patenlerinde östrojen (ER) varlığı, gerek uyarılma gerekse ereksiyon-ejekülasyon döngüsünde önemli role sahiptir (149). Erkek çiftleşme davranışının, fonksiyonel östrojen reseptörü alfa geni olmayan farelerde (ERalphaKO fareleri) yetersiz olduğu, dişiye verilen nöroendokrin tepki ve cinsel davranış oluşumu arasındaki normal sürecin ERalphaKO farelerinde bozulduğu, dişi feromonlara verilen yanıtlar için ERalpha gerekmezken, normal erkek cinsel performansı için ERalpha geninin gerekli olduğu sonucuna varılmıştır (150). Krisin (5,7-dihidroksiflavon), propolis ve balda yüksek seviyelerde bulunan bir flavonoid olup,, T'un estradiole dönüşümünü katalize eden bir enzim olan aromataz enziminin güçlü bir inhibitörü olarak kabul edilmiştir (147, 151). Tüm bu sonuçlar bize cinsel davranış oluşumunda T'dan üretilen östrojenin belirgin rolü olduğunu göstermektedir. Birçok bitkinin yapısında, aynı zamanda DB içeriğinde bulunan; krisin, resveratrol, kafein, çinko, kateşinler, apigenin doğal aromataz inhibitörü maddelerdir. DB tüketilmesinin bu yönüyle uzun süre ve yüksek doz alımında aromataz enzim eksikline bağlı östrojen oluşumunda azalmaya neden olabileceği söylenebilir. Östrojen, negatif feedback mekanizması ile hipotalamusa etki ederek LH ve FSH, dolayısıyla T salınımını azaltır. Eğer yeterli oranda olmazsa bu feedback mekanizması da bozulur ve T, FSH, LH düzeylerinde santral nedenli bir artış ortaya çıkar. Bizim çalışmamızdaki akut ve kronik grupta T'daki artış, anlamlı olmasa da FSH ve LH daki yükselmenin bu durum ile açıklanabilmesi kuvvetle muhtemeldir.

Nitekim normalde, sertoli hücresinden salınan inhibin ve T yüksekliği ile LH 'ın negatif feedback mekanizması sonucu santral yoldan hipotalamo-hipofizer aksı baskılayıp, T düşürmesi beklenir. Fakat burada, çalışmamızdaki T artışını da açıklayabilecek, iki farklı hipotez ön plana çıkmaktadır; ilk olarak, bu negatif feedback yolunda östrojenin de görevi vardır, ancak DB ile düzeyinin azalması bu yolu işlevsiz kılmaktadır. İkincisi ise, negatif geri dönüşte görevli olan serbest T olup, protein bağlı olanın bu konuda etkisi olmadığıdır. Ayrıca T santral salınımında

otonom sistem, santral nöral yolların endojen kaynaklı olmayan yollarla uyarımı söz konusu olup (örneğin; fermonların kemoreseptör aktivasyonu, dışıden gelen uyarıcı nitelikte ses frekansları gibi), periferdeki artış ile baskılanabilmesi için yüksek ve uzun süreli T maruziyeti olmalıdır.

SHBG karaciğer hücreleri tarafından sentezlenir ve DHT ve T için yüksek bir afiniteye sahiptir. Diyetle alınan birçok flavonoid ve fenolik bileşiklerin SHBG üretimini ve salınımını arttırdığına dair birçok klinik çalışma mevcuttur (152, 153). Bizim çalışmamızda DB alanlarda T yüksek olmasına rağmen EL, PEI uzaması gibi cinsel aktivasyonda bozulmalar izlenmesinin nedenini açıklamak adına destekleyicidir. Çalışmamızda santal kökenli arttığını düşündüğümüz T, DB alımı ile SHBG artışı ve buna bağlı olarak kandaki serbest T azalıp, proteine bağlı T düzeyinin artışına yol açtığı muhtemel bir mekanizma olarak akla gelmektedir. Asıl fonksiyon gösteren de serbest olan T olduğu için, her ne kadar totalde artsa da görevli olduğu fonksiyonlarda bozulmalar olması beklenen bir durumdur. Çalışmamızda serbest T düzeyine bakamamış olmamız, bu hipotezi geçerli kanıtlara dayandırmayı zorlaştırmaktadır.

GABA için hem seksüel fonksiyonda regülasyon hem inhibisyon yaptığı söylenebilir. Yapılan çalışmalar; GTX uygulaması sonrasında GABA ve glutamat salınımının arttığını saptamışlardır (95). Chan ve ark. (2008), VMH'deki GABAerjik inhibitör etkideki bir artışın, düşük doz GTX intoksikasyonuna benzer şekilde glukagon ve sempatoadrenal tepkileri baskıladığını, hipoglisemi, terleme, parestezi ve baş dönmesi ve otonom yetmezliğe yol açtığını öne sürmüşlerdir (154).

Glutamat düzeyleri, cinsel aktivite sırasında artar, ejakülasyon sırasında pik yapar ve ejakülasyon sonrası giderek düşer. İlk ejakülasyon sonrası düzeylerde ani bir düşüş meydana gelmiş; bu düşüşün büyüklüğü, PEI süresinin uzunluğu ile yüksek oranda ilişkili bulunmuştur. (155).

Çalışmalar, GTX III'ün, spontan GABA-erjik ve glutamaterjik postsinaptik akımların frekansını, genliklerini etkilemeden doza bağlı bir şekilde arttırdığını göstermiştir (95). Glutamat konusundaki inceleme sonuçları, bizim çalışma verilerimizi açıklaması yönünden pek anlamlı değildir. Glutamat GTX ile

arttığından, cinsel aktivasyon yönünden olumlu bir sonuç yani EL ve PEI azalması beklenirken, bizde tam terzi bir sonuç vardır. GTX ile GABA'nın inhibitör etkisi aşıkârdır. Nitekim aslında aktivatör nitelikte olan glutamaterjik uyarının artışı ile cinsel fonksiyonlarda neden bozulma olduğu ise, doz bağımlı etkinliği ile hipotalamusun farklı alanlarına farklı etkiler yaptığı ya da GTX intoksikasyonunun VMH nöronunda düşük dozda parasempatik uyarıda artışa neden olmasıyla etki gösterirken, yüksek doz glutamatın nörodejeneratif etkisi ile etki ettiği bölgedeki gücünün kaybolması gibi farklı birçok hipotez ile açıklanabilir. Bu verilere dayanarak bizim çalışma sonuçlarımız ile bağlantı kurmamız çok olası değildir. Bu durum glutamatın beynin hangi alanında, hangi dozda ne tür bir etkinlik gösterdiği konusunda yeterli çalışma yapılırsa belki aydınlatılabilir.

Androjenlerin sıçanlarda penis korpus kavernozumunda NOS ekspresyonunu arttırdığı, DHT'un ise NOS ekspresyonunu arttırmada T'dan daha fazla etkili olduğu gösterilmiştir (156). NO-cGMP yolunun erkek sıçanlarda MPOA da, dopamin ve çiftleşmenin düzenlenmesindeki rolünü araştıran bir çalışmada; Soubil guanilat siklaz inhibitörü uygulaması çiftleşmeyi bloke etme yönünde etki gösterirken, aktivatörü ise kolaylaştırmıştır (157). Gonadal steroidlerin santral sinir sisteminde belli bölgelerde NO üretimi üzerinde etkisi olduğu, ancak bazı bazı bölgelerin ise kendi NO üretimlerini gonadal T etkisinden bağımsız olarak yapabildikleri sonucuna varılmıştır (158). NO varlığının nörokimyasal ve nöroendokrin sinyallerin önemli bir düzenleyicisi olduğu, cinsel fonksiyonlar açısından ise hem periferik hem de santral sinir sistemi üzerinde olumlu bir rol oynadığı bu çalışma ile gösterilmiştir. NO inhibisyonunun, her yönüyle cinsel fonksiyonlar üzerinde olumsuz etkisinin, DB'nin NO inhibitör etkisiyle birlikte düşünüldüğünde, cinsel fonksiyonlarda olumsuz yönde etkiler yapabileceği fikri yanlış olmaz. Bizim çalışmamızdaki olumsuz etkileri açıklayıcı bir parametre olabilir.

Nörotransmitterin doku seviyeleri, sentezin yanı sıra salınımı da yansıtır. Gonadal olarak üretilen serbest T düzeyindeki azalmalar, periferik dokuda NO etkisini azaltsa da santralde pek etki etmemektedir. Santral uyarım devam ettikçe, NO üretimi ve dolayısıyla periferik etkiside devam etmektedir. Ayrıca, testosteronun, erkek cinsel davranışını, MPOA'da NO üretimini arttırıp, bu yolla DA salınımını

arttırarak aktive ettiği bilinmektedir. Testiküler testosteronun olmayışının, santral sinir sistemine özgü NOS aktivitesi ile tolere edilebildiği ve MPOA'daki DA sentezini etkilemediği sonucuna varılabilir (159). Bu durum bizim çalışma sonuçlarımız da DB etkisi ile NO inhibisyonuna rağmen, ereksiyon sorunu olmaması ve akut etki ile EL uzamış olmasının, santral kökenli mekanizmaların çalışmaya devam etmesine bağlı olduğu hipotezimiz ile oldukça uyumludur. Bunun yanı sıra, kronik grupta PEI dönemindeki uzamayı açıklayacak birçok mekanizma konusunda destekli verilerimiz olsa da DB in periferik NO baskılayıcı etkisinin; NO yarılanma ömrü kısa olduğundan ancak uzun dönemde belirgin bulgu verir hale gelmesi ve deneklerimiz nispeten cinsel açıdan tecrübesiz oldukları için santral mekanizmaların yeni bir ereksiyon fazını başlatmakta yetersiz kaldığı için PEI de uzamaya neden olduğunu düşündürmektedir.

Hipotalamusun medial preoptik alanında (MPOA) dopamin (DA) salınımı, erkek cinsel davranışının önemli bir kolaylaştırıcısıdır. Duyusal stimülasyona ek olarak, testosteron, nitrik oksit ve glutamat MPOA'da DA salınımını etkileyen diğer faktörler olarak sayılabilir (160). Çalışmalar, glutamatın MPOA'da hücre dışı DA'yı, NOS aktivitesini uyararak NO yoluyla arttırdığı ve glutamaterjik uyarım ile MPOA'da dişi maruziyeti kaynaklı DA artışı oluştuğunu göstermiştir (161). Bu çalışma bizim verilerimiz ile uyumlu olarak; DB ile glutamatın aktive olmasının, santral kökenli cinsel aktivasyon mekanizmalarının devamını sağladığını göstermiştir.

Dopamin (DA), çiftleşmeden kısa bir süre önce ve sırasında erkek sıçanların MPOA'sında salınır. Yapılan çalışmalar, MPOA dokusunda depolanmış DA içeriğinin, kısırlaştırılmış erkek sıçanlarda, gonadal olarak sağlam erkeklere göre daha fazla olduğunu, ancak hücre dışı formunun daha az olduğunu bildirilmiştir (162). Buna göre, santral DA depo formundaki hali, testiküler T yokluğundan etkilenmiyor ancak, hücre dışındaki DA miktarı azalıyor; yani depodan hücre dışına salınım azalıyor denebilir. Testis dokusu olmayınca T ve metaboliti olan E2 de haliyle olmadığından DA salınımı aksıyor ve hücre dışı DA azalmış oluyor. E2'ün tamamen tükenmiyor olması, adrenal bezden az da olsa bir T salınımının olmasına bağlı olabilir. T metaboliti olan E2, MPOA'da nöronal nitrik oksit sentazını (nNOS)

arttırır (DHT burda etkili değil), böylece NO artar. NO, MPOA'da DA salınımının artışında rol alır.

Tüm bu veriler bize, NO, dopamin, E2 varlığının cinsel fonksiyonlar üzerinde ne denli önemli olduğunu göstermiştir. Bunun yanı sıra, T-E2 dönüşümünü sağlayan aromataz enziminin kritik bir rolü olduğu, buna karşın T-DHT dönüşümünde görevli 5 a redüktaz enziminin buradaki rolünün ise tartışılabilir olduğu fikrini vermiştir. DB'ın aromataz enzim inhibisyonu ile E2 varlığının azalması, cinsel aktivitenin sağlıklı olması için gereken DA'de de azalmaya neden olacağı, ancak DA depoları belli bir süre yeteceği için, uzun dönem maruziyet sonrasında olumsuz etkilerini göstereceği yorumu yapılabilir. Çalışmamızdaki veriler tüm bu olası mekanizmalar ile oldukça uyumluluk göstermektedir.

DB ın farklı etkilerinden sorumlu olarak bilinen en geniş sınıf fenolik bileşenler sınıfıdır (163). Karadeniz Bölgesi'nden altı farklı ilden numune toplanarak yapılan bir çalışmada DB içeriğinde; benzoik asit türevlerinden; gallik asit, protokatekuik asit, p-OH benzoik asit, hidroksinamik asit üyesi olan o-kumarik asit, sinamik asit türevlerinden; kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit ve flavonollardan; kuersetin, apigenin tespit edilmiştir (164). Bu moleküllerin herbirinin kendine has özellikleri vardır. Örneğin; Askorbik asit DB içeriğinde de bulunmakta olup, Östrojen reseptörü alfanın (ERa), normal üreme ve cinsel davranışla ilgili düzenleyici süreçlerin kritik bir parçası olduğu, farelerde erkeksi cinsel davranışın oluşması için ERa dışında, DA tarafından kontrol edilen bir yol daha olduğu askorbik asitle yapılan bir çalışmada gösterilmiştir (165). Nitekim cinsel fonksiyonlar açısından inhibitör etkisi olması, kullandığımız DB içerisinde olması durumunda bulgularımızı açıklayacak unsurlardan biri olabilir. Bu durum diğer bileşenler için de geçerlidir.

DB'ın, hücreleri serbest radikallerin saldırılarına karşı koruyan antioksidan özelliklere sahip binlerce farklı fenolik bileşik içerdiğine dair birçok yayın mevcuttur. Normal olarak, sağlıklı bir hücrede oksidan ve antioksidanların seviyeleri dengelidir. Ancak bu denge, nükleik asitler, proteinler, karbonhidratlar ve çoklu doymamış yağ asitleri gibi zararlı biyopolimerlerin birincil kaynağı olan ve "serbest radikal" olarak adlandırılan kararsız moleküllerin neden olduğu oksidatif stres

nedeniyle değişebilir. Ayrıca her bal çeşidinin çeşitli biyoaktivite özellikleri ve antioksidan etkileri değişkenlik göstermektedir (127, 166). DB, Leydig hücrelerinin performansını ve dolayısıyla esas olarak antioksidan savunma mekanizmasını güçlendirerek testosteron üretimini artırabilir (142). Geniş kapsamlı bir araştırmada, antioksidan parametreler üzerindeki etkiler, esas olarak, tek başına GTX veya yüksek dozda deli bal uygulanan gruplarda gösterilmiş (167).

DB'nin da içeriğine ve uygulama süresine-dozuna bağlı olarak prooksidan-oksidan özellikler gösterdiğine dair yayınlar bulunmaktadır. Hem GTX, hem de yüksek doz Rhododendron bal uygulamalarının, kan plazması ve incelenen organ dokuları üzerinde oksidan etki gösterdiği bildirilmiştir (168). Bir çalışmada, sıçanlara farklı dozlarda GTX III ve DB verdikten sonra kan, kalp, akciğer, karaciğer, böbrek, testis epididim, dalak ve beyin dokuları incelenmiş ve GTX-III ün her dozda, DB'nin ise yüksek dozda uygulanmasının, gruplarının kan ve incelenen dokularında LPS'na neden olduğu görülmüştür. Oksidatif stres veya lipid peroksidasyonu, antioksidan savunma sistemi ile reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi arasındaki dengesizliğin bir sonucu olduğu belirtilmiştir (169). ROS, normal metabolizmanın reaktif ve kararsız bir yan ürünü olup, biyomoleküller üzerinde toksik ve dejeneratif etki gösterir. Genital dokular ve gonadlar üzerinde ROS üretimiyle artan oksidatif stres ile antioksidan savunma mekanizmalarının hasar riskini minimize edici dengesi yönünden cinsel süreçler için yüksek T seviyeleri gereklidir. Ancak gerek farklı birçok etken gerekse biyolojik hücrel aktivitenin sürekli devam etmesi zamanla ROS birikimi artırma lehine bir kısır döngü içine girer ve ilerleyen yaşla birlikte bu koruyucu mekanizmalarda etkinliğini kaybeder.

Elde edilen sonuçlar ışığında, her ormangülü balı ve polenin farklı miktarlarda fenolik içeriğe ve farklı bir antioksidan veya antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu söylenebilir. DB'nin saf bir antioksidan etkinliğe sahip olmadığı, oksidan etkileri ile toksik bulgulara neden olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır. Bizim çalışma verilerimizdeki cinsel açıdan bozulmuş ve azalmış aktivite gömstergesi olan bazı parametrelerin bu durumla izahı mümkündür. Ancak, balın içerik analizi yapılarak antioksidan, antiradikal, vb. olumlu etkilere sahip olduğu kesinleştirmede, yüksek dozlarda bile bu olumlu etkileri devam etmekte olduğu

görülmektedir. Ancak bu şekilde içerik analizi yapılarak oluşturulan DB çalışmaları, DB'ın hastalıklar için medikal bir tedavi seçeneği olarak gündeme gelmesinde faydalı olabilir.

Günümüzde DB içerisindeki moleküller ve bileşikler izole olarak alternatif tıp alanında kullanılmaktadır. Örneğin, Covid 19 için Quercetin, Resveratrol preparatları, antioksidan özellikleri sebebiyle eczanelerde mevcuttur. Ancak geniş çaplı kullanım alanları sağlayabilmek amacıyla daha kapsamlı ve çok sayıda çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır.

Yapılan çalışmalar adölesan dönemini seksüel matürasyonun olduğu dönem olarak tanımlamışlar ve bu döneme özgü davranışsal ve psikofarmakolojik değişiklikler görüldüğünü belirtmişlerdir. Bu kriter doğrultusunda sıçanlarda adölesan dönemi doğumdan sonra yaklaşık 30 ile 42. günler arasında uymaktadır. Bir araştırmada, adölesan sıçan beyninde prefrontal korteks ve hipokampus bölgelerinin diğer dönemlere göre oksidan strese karşı daha savunmasız olduğu bulunmuştur (170). NO; bazal ve dışı tarafından uyarılan MPOA'da dopamin salınımını düzenler. Bu bilgiye dayanarak yapılan bir araştırmada; NO sentez inhibitörünün MPOA'ya mikroenjeksiyonunun, cinsel tecrübesi az olan sıçanlarda çiftleşmeyi bloke ettiği ve cinsel açıdan deneyimli erkeklerde ise çiftleşmeyi bozduğu gösterilmiş (171). Cinsel olarak deneyimsiz olanlarda, ML, İL, EL ve PEI değerlerinde yüksek rakamlar saptanmıştır. Bu veriler, astrosit kaynaklı glutamat salınımının başlangıçta cinsel davranışın modülasyonunda rolü olduğu, ancak sürekli cinsel deneyim ile BnST ve medial amigdala gibi diğer beyin bölgelerinden glutamaterjik projeksiyonlar baskın modülatörler haline geldiğini ve MPOA'nın glutamaterjik innervasyonunun cinsel deneyimin bir fonksiyonu olarak değiştiğini gösterir (172). Bu sonuç, MPOA'daki NO varlığının, erkek sıçanlarda çiftleşme ve uyarın duyarlılığı için oldukça önemli olduğunu göstermiştir. Ayrıca cinsel tecrübe arttıkça, cinsel davranış üzerinde olumsuz etkili maddelerin nispeten tecrübesizlere göre daha az zarar verdiği sonucunu çıkarmak da yanlış olmaz. Bizim çalışmamızdaki PEI uzamasının, deli bala bağlı NO baskılanması sonucunda ortaya çıkmış, bir nevi cinsel isteksizlik ve dışıdan gelen uyarılara karşı yanıtsızlık durumu oluşturduğu fikrini desteklemektedir. Aynı zamanda, yaş farkının cinsel fonksiyonlar üzerindeki

etkisinin organik bir temele dayalı olarak değiştiğini, yař ilerledikęe tecrube artsa da farklı mekanizmaların devrede olduğunu göstermekte olup, DB'nin cinsel fonksiyonlar için kullanımında özellikle ileri yař tarafından tercih edilmesini açıklayabilir. Bizim alışmamızdaki sıçanların 4-5 aylık yani genç eriškin yař grubunda olması, oksidan strese karşı hassasiyet taşıma oranlarının sonuçlarımızı etkileyecek bir değişken olmasını önlemiştir. Ancak gerek içerik analizi yapılamadığı için gerekse oksidan etkilerin yüksek dozlarda ve uzun sürede ortaya çıkması nedeniyle, çalışmamızda kullandığımız ballardaki oksidan-antioksidan etkinlik konusunda kesin bir yorum yapmak doğru olmaz.

Yapılan bazı çalışmalarda, cinsel aktiviteyi değerlendirebilmek için kullanılan cinsel aktivite indeksi (CAI) parametresi, Agmo ve ark. tarafından ilk kez 1987 yılında kendi çalışma verilerini yorumlamak adına formüle edilen bir parametre olmuştur. Bu parametrenin cinsel davranış yoğunluğu hakkında bilgi verdiği düşünölmüştür (113). Bizim alışmamızda da ölçmüş olduğumuz bu parametre, formülden yer alan verilerin rakamsal yansıması ile DB kullanımının cinsel aktiviteyi arttırdığı şeklinde gözükmektedir. Ancak; formölün içeriğinde hesaplamaya katılan bazı verilerin, istatistiksel anlamlılık saptanmamasına ve tek başlarına bir anlam ifade etmemelerine rağmen, yüksek oranlarda olması, sonucun rakamsal büyüklüğünü etkilemiştir. Sonraki yıllarda yapılan çalışmalarda da bir tür ölçek gibi kullanılmış olsa da CAI 'nin tanısai anlamını destekleyen bir geçerlilik-güvenilirlik çalışması yapılmadığı için cinsel fonksiyonların kanıta dayalı ve objektif bir yansımasını sağlayıp sağlamadığı sorusunun cevabı net değildir.

Feromonlar, yetişkin erkeklerde üreme davranışını kolaylaştırırken, ergenlik öncesi erkeklerde aynı davranış modelini oluşturmaz. Alıcı bir dişiye veya kokusuna yanıt olarak MPOA'dan salınan DA yetişkin erkek sıçan cinsel davranışının altında yatan nöral olayların önemli bir bileşenidir. Cinsel olarak ilgili kemosenör uyarıların sinirsel işlenmesinin ergenlik döneminde olgunlaştığını, ergenlikten önce dişi feromonlara bir DA yanıtının olmamasını, ergenlik öncesi erkeklerin üreme davranışı gösterememesini açıkladığı belirtilmiştir (173).

Alınan gıdalar ile ter, göz yaşi gibi diş salgıların yanı sıra endojen salgılarda da değişimlerin olduğu gösterilmiştir. İsrail'deki Weizzmann Bilim Enstitüsü'nde

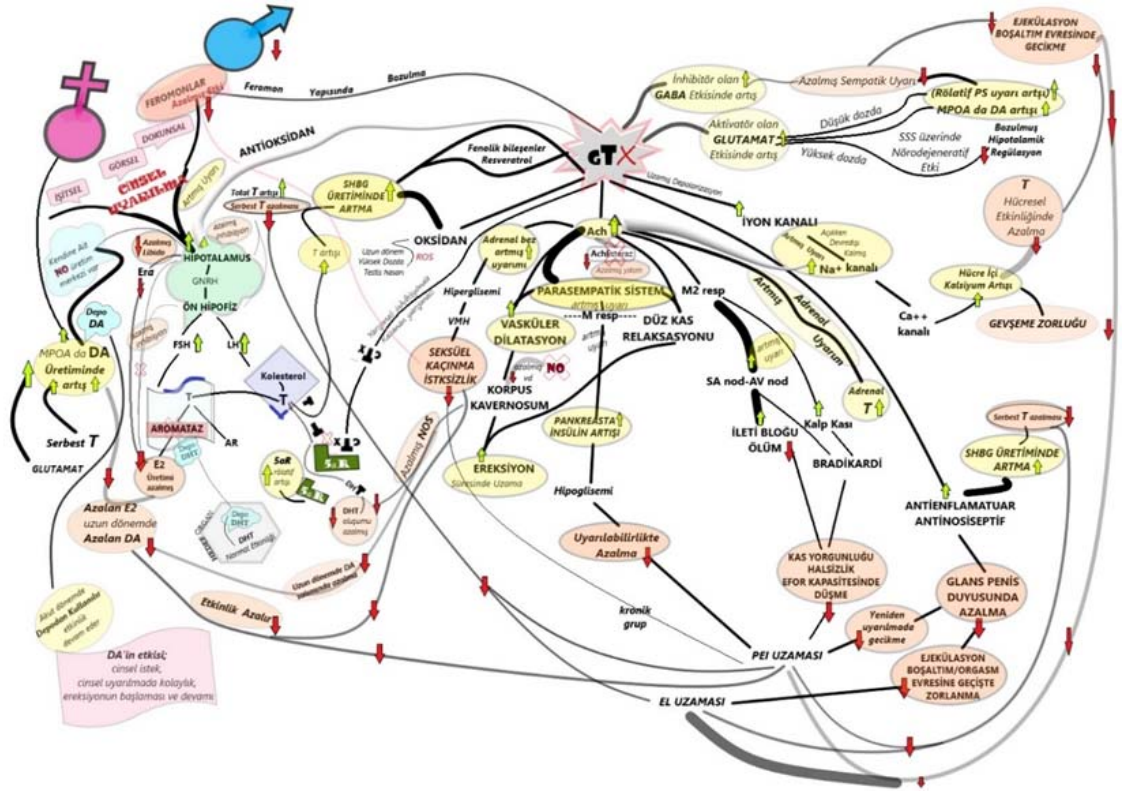
yürütülen bir çalışmada bir film karşısında ağlayan kadınların göz yaşları toplanıp, duygusal stabil durumda olan erkek partnelerine uzun süre koklatılmış ve sonuçta istatistiksel anlamlı olarak erkeklerin T düzeyinde düşme ve cinsel isteksizlik tablosu olduğu saptanmıştır (174). Toksik pestisitlere maruz kalan hayvanların cinsel aktivasyon kaybı ve üreme bozuklukları incelendiğinde, vücut salgılarında feromonal değişiklikler olduğu gösterilmiş (175). Feromonlardaki değişimlerin, kişilerin sadece partnerleri ile değil sosyal yaşamlarındaki genel bir çevredeki kabul görme, benimsenme ve arzulanma davranışını azalttığı görülmüştür (176).

Fenolik bileşikler, flavonoid grupları, diterpen bazlı bitkisel içerikteki ürünlerin oral yoldan alınması başta olmak üzere, her tür uygulaması ile toksik etkilerinin yanı sıra endojen ve ekzojen salgıların içeriğinde, feromonal bileşiklerin kimyasal yapısında bozulmalara yol açarak cinsel isteksizlik, sosyal kaçınma davranışı, cinsel bıkkınlık ve soğuma, partnere karşı anksiyete ve aşırılık davranışları gibi birçok yönden de olumsuz etkileri olduğu, gerek hayvan deneyleri, gerekse insan çalışmaları ile yapılan yayınlarla birçok kez gösterilmiştir (177).

Tüm bu çalışmalar ışığında, aslında DB'nin etkileri değerlendirilirken feromonal etkisinin bugüne kadar hiçbir çalışmada değinilmemiş bir konu olduğunu gördük. Her ne kadar çalışmamızdaki tüm verileri yorumlayacak anlamlı, birbiri ile uyumlu ve objektif açıklamalarımız olsa da, feromonların etkilerine bağlı olarak bazı sonuçlarımızı yorumlamak mümkündür. Deneklerimizde, özellikle kronik maruziyet grubunda, PEI'nin uzamış olması, bir nevi cinsel isteksizlik, yeniden uyarılmakta zorluk, enerji ve performans kaybı gibi birçok nedenle açıklanabilir. Tüm bunlar ise sadece feromon etkilerine bağlı olabilir.

Son yıllarda yapılan birçok deneysel araştırma, bireylerin sahip oldukları feromonların sadece karşılarındaki partnerlerinde değil, belirgin bir şekilde bireyin kendi davranış tarzı, ruhsal durumu ve duygu duruma bağlı her tür bedensel faaliyetlerinde etkili olduğu, herhangi bir nedene bağlı olarak bireyin feromon içeriğinde ve kimyasal yapısında değişiklik olmasının, öncelikle yine kendi bünyesinde etkili olduğunu bilimsel kanıtlarla ortaya konmuştur (178-180). Yani, bizim çalışmamızdaki erkek sıçanlarda, DB içeriğindeki maddelerle niteliği değişen kendi feromonlarının kendi beyin bölgelerindeki etkisinde değişerek, çekingenlik,

uzak durma, ilgisizlik gibi davranışlar sergilemelerini sağlayacak duruma getirmiş olduklarını düşünmek gayet olası bir öngörüdür. Tabii bu durumun objektif açıklaması için daha kapsamlı çalışmaların gerektiği de aşikârdır.



Şekil 23. Çalşımamızdaki veriler üzerinden, grayanotoksinin vücut üzerindeki etkilerinin yorumlanması

5.1. Çalşımanın Kısıtlılıkları

Serumda proteine bağlanarak taşınan hormonlarla ilgili etkinlik, fonksiyon, hedef organda oluşan yanıt gibi parametrelerin incelendiği her çalışmada, sağlıklı ve bilimsel kanıt niteliği taşıyan sonuçlar alabilmek ve bu sonuçları en anlamlı şekilde yorumlamak için her iki serbest ve proteine bağlı her iki hormon fraksiyonu düzeyine de bakılmalıdır. Total düzey bu ikisinin toplamını yansıtırken, aslında asıl fonksiyon gören serbest fraksiyondur. Bu nedenle bizim çalışmamızda da olduğu gibi, sadece toplam testosteron değerine bakılarak sonuçların yorumlanması, asıl etkili olan serbest fraksiyonu olduğu için, verilerin yorumlanmasında hipotez oluşturmakla sınırlı kalmaktadır.

Gerek balın yapısında arı tarafından işlenmemiş olarak bulunan polen miktarları ve türleri, gerekse andromedotoksinlerin üyeleri olan grayanotoksinlerden hangi izoformlarının bulunduğu, bunların hangi oranda mevcut olduğuna dair içerik analizini yapamamış olmamız, elde ettiğimiz verilerin hangi maddeye bağlı olarak ortaya çıktığını anlamamız ve bu maddelerin etki mekanizmalarını yorumlamak konusunda kısıtlı kalmamıza neden olmuştur.

Cinsel olgunluğa ulaşmış ve tecrübe kazandırılmış denekler kullanılmış olsa da, daha fazla cinsel deneyime sahip ve farklı yaşlarda gruplarla karşılaştırma yapamamış olmamız, yaş ve tecrübeye bağlı değişkenleri değerlendirmek konusunda sınırlayıcı olmuştur.

Deneklerimizde fonksiyonel bozukluk oluşturacak herhangi bir patoloji olmamasının, verilerimizde yüksek anlamlı sonuçlar olmayışının nedeni olabileceği gibi, sonuçlarımızın yorumlanmasında bizi sınırlamış olduğunu söyleyebiliriz.

DB'ın cinsel performans ve diğer sistemler üzerindeki etkisini değerlendirmek ve bu bulguları doğrulamak için, yukarıda söz ettiğimiz tüm unsurları kapsayacak ve daha büyük grupları içerecek şekilde yapılacak hem deneysel hem de klinik çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ

Bu çalışma ile halkın DB kullanırken oluşmasını beklediği faydalı etkilerin, değişkenlik gösterebileceğini ortaya koymuş olduk. Bunun da DB içindeki GTX nedeniyle cinsel davranış, üreme organları ve hormon düzeylerinde neden olduğu etkiler sebebiyle meydana geldiğini söyleyebiliriz. GTX izomerlerinden, flavonoid ya da fenolik bileşiklerden hangilerini ve ne miktarda içerdiği, balın toksik mi yoksa faydalı mı olduğunun en önemli belirteci olarak karşımıza çıkmaktadır. Ayrıca DB alımı ne kadar uzun süreli ve ne denli yüksek dozda olursa, o kadar daha toksik etkinliğinin artacağını gösterdik.

Sonuçta, özellikle orta yaş üzeri erkeklerde cinsel destek amacıyla kullanılan DB'nin, doğru içerik ve doğru dozda kullanılmasının, erken boşalma, erektil disfonksiyon gibi bazı cinsel sorunlar açısından cinsel performans artırıcı olduğu, aksi durumlarda bilinçsizce kullanımının zararlı etkiler oluşturabildiğini ve hatta nadiren de olsa mortal seyirli olabileceğini göstermiş olduk. Tüm bu verilerimiz dikkate alınarak, bilinçli tüketim sağlanabilirse, acil servislerde karşılaştığımız DB zehirlenme vakalarının başvurusunda belirgin bir azalma olacağı aşikârdır.

7. ÇALIŞMANIN BİLİME OLAN KATKILARI ve ÖNERİLER

1. Rhododendron'un baldaki kimyasal özellikleri ve biyolojik aktiviteleri hakkında yapılan çalışmaların birçoğu ya laboratuvar parametreleri ya da davranış parametrelerinin değerlendirilmesine dayanmaktadır. Bizim çalışmamız ise, deli balın cinsel performans üzerindeki etkilerinin aynı anda farklı doku ve sistemler için birlikte incelendiği az sayıda çalışmadan biridir. Ayrıca 5 alfa redüktaz serum düzeylerinin tüm bu verilerle birlikte değerlendirildiği ilk çalışmadır.
2. Bu çalışmamız, literatürde balın organ ve dokular üzerinde veya hastalıklar yönünden incelendiği ve verilerin yorumlarının son derece yüzeysel ve genellemelere dayalı olduğu birçok çalışmanın aksine, aynı anda birden fazla sistem üzerindeki etkilerin incelenmesi ve kapsamlı literatür taraması ile, aslında, nöroendokrin, nörofizyolojik ve nörokimyasal açıdan altta yatan birçok mekanizmaya bağlı, farklı doku ve organlarda farklı sonuçlar doğurabildiği gerçeğini gün yüzüne çıkardık. DB'nin vücudun biyolojik işleyişinin oluşum süreçlerinin birçok aşaması üzerindeki etkisini parasempatik sistem uyarım artışı ile olduğunu, eş zamanlı olarak hem periferik hem santral sinir sistemi, hatta medulla spinalisteki refleks merkezler üzerinde nörotransmitter, doku proteinleri ve diğer hormonları etkileyerek doku ve organ cevabı oluşturduğunu bizim çalışmamızla bir kez daha göstermiş olduk.
3. DB konusunda yapılan çalışmaların tamamına yakınında, bal verildikten sonra sadece hedeflenen organdaki parametrelere bakılmış, sonuçları iyileştirici yönde olunca da direkt faydalı bir üründür, ya da tam aksi zararlı bir üründür yorumu yapılmış. Oysaki vücudumuzda hiçbir sistem tek yönlü etki altında değildir. Farklı durumlara göre farklı yanıtlar vermek üzere tasarlanmış, memeli organizmasında, bir maddenin bir dokuya yaptığı etkiyi aynı anda diğer dokulara da yapacağı genellemesi son derece yanlıştır. Araştırma verilerini en doğru şekilde yorumlayıp

değerlendirebilmek için, her tür doku ve sistemdeki işleyiş, nöral mekanizmalarla ve diğer birçok parametre ile olan değişim potansiyelleri çok iyi bilinmelidir. Yaptığımız çalışmamız için tüm bu bahsettiğimiz unsurları ve gereklilikleri itina ve dikkatle yerine getirmeye ve sahip olduğumuz verileri bilimsel anlamda en doğru yaklaşımla sunmaya çalıştık.

4. Uygulanan DB dozunun yüksek ve düşük miktarda verilisinin değerlendirmede bir parametre olması gayet mantıklıdır. Ancak buna ek olarak, uygulanan deli balın (ya da herhangi bir maddenin) gerek canlı türleri arasında gerekse organ ve sistemlerce algılanan yüksek ve düşük doz kavramının toksisite sınırının birbirinden farklı olması, deli bal içerisindeki maddelerin hem son derece yararlı olduğu söylenirken, hem de toksik etkiye nasıl yol açtığını açıklayabilir. Bizim çalışmamız, literatürde DB çalışmaları içinde en yüksek dozun kullanıldığı nadir çalışmalardan biri olup, kemirgenler için toksisite oluşturma sınırı kapsamındadır. Yani doz bağımlı etki açısından verilerimizin anlamlılığı oldukça yüksektir.
5. Çalışma verilerini incelerken, hiç düşülmemiş ancak olası mekanizmalar açısından da değerlendirme yapmak; işte bir çalışmayı bilime katkısı açısından değerli kılacak yegâne sonuçları doğuran unsurdur. Nitekim bizim çalışma verilerimizin yorumunda, şu ana kadar hiçbir DB çalışmasında değinilmemiş olan feromonların etkilerine değinmemiz, DB için bambaşka bir inceleme alanı oluşturmuştur. Feromonlar ve etkilerine tartışma kısmında nispeten uzun bir kısım ayırmış olmamızın amacı, okuyucularımızda farkındalık oluşturmak, bundan sonraki çalışmalara ilham olabilmesi ve çalışmamız için bilime katkı yönünde bambaşka bir nitelik kazandırmaktır.
6. Fitoterapötiklerin ve apiterapinin oldukça popülerlik kazandığı bu dönemde, insan sağlığı üzerindeki etkilerinin olası tüm yönleriyle incelenmesi ile bu ürünler onay alıp, ruhsatlı birer tedavi aracı haline gelebilir. Örneğin; deli bal, yukarıda söz ettiğimiz tüm değişkenlerin

incelendiği süreçlerden geçirilerek, balların içerisinde bulunan farklı izoformlu grayanotoksinlerin izolasyonla farmakolojik etkilerinin ön plana çıkarılması ile farklı hastalıklar için gereken uygun içerik ve miktar kompozisyonları belirlenmesi, toksik etki endişesi olmadan, kimyasal bir medikal ajana göre son derece dk maliyetle bir tedavi ajanı olarak kullanılır hale gelmesini sağlayabilir. Nitekim son iki yıl içinde “Quercetin”, “Revetrol+Quercetin” içeren ve Covid 19 araştırmaları sonucunda etkinliği gösterilerek kullanıma giren preparatlar mevcuttur.

7. Bu alımamızda kullandığımız iki farklı doz grubundan kronik deli bal etkisinin gzlemelendiği gruptan bir deney hayvanının ölüm sebebinin, uygulandığımız deli bal miktarının kümülatif etkisine bağlı bradikardi, hipotansiyon ve halsizlik sebebiyle olabileceği dnlmtır. Bu sebeple, bradikardi ve hipotansiyon oluşturmadan, cinsel davranışta ve üreme hormonlarında artış yapabilecek deli bal dozlarının belirlenebilmesi amaçlanarak yapılması gereken alımlara ihtiyaç vardır.

8. KAYNAKÇA

1. Karadal F, Yıldırım Y. Balın kalite nitelikleri, beslenme ve sağlık açısından önemi. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi. 2012;9(3).
2. Nesrin EB. Vitamin, mineral, polyphenol, amino acid profile of bee pollen from *Rhododendron ponticum* (source of “mad honey”): nutritional and palynological approach. *Journal of Food Measurement & Characterization*. 2021;15(3):2659-66.
3. Yelboğa Z, Korgalı E. Psikofarmakoloji ve cinsel işlev. *Androloji Bülteni*. 2015;17(62):189-93.
4. Bialy M, Bogacki-Rychlik W, Przybylski J, Zera T. The sexual motivation of male rats as a tool in animal models of human health disorders. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*. 2019:257.
5. Eroğlu Ö, Yuksel S. Historical development and current status of beekeeping in Turkey and the World. *ATLAS J*. 2020;6:345-54.
6. Broad WJ. For Delphic Oracle, Fumes and Visions. *The New York Times*. 2002;19.
7. Butler C. *The feminine monarchie*: Northern Bee Books; 1969.
8. Meral A. Ormangülleri (*Rhododendron L.*) Ve türkiye'deki doğal yayılışları. *Coğrafya Dergisi*. 2004(12).
9. Jansen SA, Kleerekooper I, Hofman ZL, Kappen IF, Stary-Weinzinger A, van der Heyden MA. Grayanotoxin poisoning: ‘mad honey disease’ and beyond. *Cardiovascular toxicology*. 2012;12(3):208-15.
10. <https://stringfixer.com/tr/Aromatization>.
11. Lahiani A, Yavin E, Lazarovici P. The molecular basis of toxins’ interactions with intracellular signaling via discrete portals. *Toxins*. 2017;9(3):107.
12. Gunduz A, Durmus I, Turedi S, Nuhoglu I, Ozturk S. Mad honey poisoning-related asystole. *Emergency Medicine Journal*. 2007;24(8):592-3.
13. Leach D. Ancient curse of the rhododendron. *Amer Hort Mag*. 1972.
14. Gunduz A, Turedi S, Russell RM, Ayaz FA. Clinical review of grayanotoxin/mad honey poisoning past and present. *Clinical toxicology*. 2008;46(5):437-42.

15. Gunduz A, Turedi S, Uzun H, Topbas M. Mad honey poisoning. The American journal of emergency medicine. 2006;24(5):595-8.
16. Tasdemir D, Demirci B, Demirci F, Dönmez AA, Baser KHC, Rüedia P. Analysis of the volatile components of five Turkish Rhododendron species by headspace solid-phase microextraction and GC-MS (HS-SPME-GC-MS). Zeitschrift Für Naturforschung C. 2003;58(11-12):797-803.
17. Gündüz A, Aydın M, Akca M, Türkmen S, Türedi S, Eryiğit U, et al. Is grayanotoxin directly responsible for mad honey poisoning-associated seizures. Turkish Journal of Medical Sciences. 2012;42(6):1086-92.
18. Tatli O, Karaca Y, Turkmen S, Gulgen G, Sahin A, Eryigit U, et al. The effect of mad honey on testosterone levels of male rats. Bratislavske lekarske listy. 2016;117(11):677-80.
19. Türkmen S, Karagöz Ü, Gündüz A, Türedi S, Akca M, Yildirim M. The dose-dependent effect of grayanotoxin on the cardiovascular system. Turkish Journal of Medical Sciences. 2013;43(5):700-5.
20. Demircan A, Keleş A, Bildik F, Aygencel G, Doğan NÖ, Gómez HF. Mad honey sex: therapeutic misadventures from an ancient biological weapon. Annals of Emergency Medicine. 2009;54(6):824-9.
21. Özmen N, Alkin E. Balın antimikrobiyel özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. Uludağ Arıcılık Dergisi. 2006;6(4):155-60.
22. Mutlu C, Erbaş M, Tontul SA. Bal ve diğer arı ürünlerinin bazı özellikleri ve insan sağlığı üzerine etkileri. Akademik Gıda. 2017;15(1):75-83.
23. Ayaz AF., Çolak N., Kurt A., Bal ve Deli Bal. Gunduz A., editör. Grayanotoksinlerin (GTX) Kimyasal Yapısı ve Analitik Belirlenme Yöntemlerine Genel Bir Bakış. 1. Basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2015. sayfa.45-7. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri.
24. Bostock J, Riley HT. The natural history of Pliny: G. Bell; 1900.
25. Chambry P, Gökçöl T. Anabasis: (Onbinlerin dönüşü): Sosyal Yayınlar; 1984.
26. Dioscorides P, Osbaldeston TA, Wood RP. Dioscorides de materia medica: being a herbal with many other medical materials written in Greek in the first century of the common era; a new indexed version in modern English: Ibdid; 2000.
27. Trabzon Şeriye sicili, No:1818, 49/8.
28. Hamilton WJ. Researches in Asia Minor Pontus Armenia with Some account of Their Antiquities and Geology vol-2.1842.

29. Şimşek P, Gündüz A. MAD HonEY In oLD HIstoRY. *New Trends in Health Sciences*.147.
30. Aristotle W, Ross J. *Works Translated Into English Under the Editorship of WD Ross*. 1908.
31. Gunduz A, Turedi S, Oksuz H. The honey, the poison, the weapon. *Wilderness & environmental medicine*. 2011;22(2):182-4.
32. Terzioglu S. Bal ve Deli Bal. Gunduz A., editör. *Rhodendronlar: Türkiye' nin Ormangülleri*. 1. Basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2015. sayfa.53-56. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi.
33. Gunduz A, Bostan H, Turedi S, Nuhoglu I, Patan T. Wild flowers and mad honey. *Wilderness and Environmental medicine*. 2007;18(1):69.
34. Qiang Y, Zhou B, Gao K. Chemical constituents of plants from the genus *Rhododendron*. *Chemistry & Biodiversity*. 2011;8(5):792-815.
35. Küpeli Akkol E, Orhan DD, Gürbüz I, Yesilada E. In vivo activity assessment of a “honey-bee pollen mix” formulation. *Pharmaceutical Biology*. 2010;48(3):253-9.
36. Münstedt K, Voss B, Kullmer U, Schneider U, Hübner J. Bee pollen and honey for the alleviation of hot flushes and other menopausal symptoms in breast cancer patients. *Molecular and clinical oncology*. 2015;3(4):869-74.
37. Stevenson PC. For antagonists and mutualists: the paradox of insect toxic secondary metabolites in nectar and pollen. *Phytochemistry Reviews*. 2020;19(3):603-14.
38. Tiedeken EJ, Egan PA, Stevenson PC, Wright GA, Brown MJ, Power EF, et al. Nectar chemistry modulates the impact of an invasive plant on native pollinators. *Functional Ecology*. 2016;30(6):885-93.
39. Mackert A, Hartfelder K, Bitondi MMG, Simões ZLP. The juvenile hormone (JH) epoxide hydrolase gene in the honey bee (*Apis mellifera*) genome encodes a protein which has negligible participation in JH degradation. *Journal of Insect Physiology*. 2010;56(9):1139-46.
40. Morisseau C, Hammock BD. Impact of soluble epoxide hydrolase and epoxyeicosanoids on human health. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2013;53:37-58.
41. Xu J, Liu A, Shang Z. Preliminary observation of toxicological effects of rhodojaponins and toosendanin on neuromuscular transmission of larval *drosophila melangaster meigen*. *Insect Science*. 1996;3(4):338-44.

42. Akyol E, Yeninar H, Şahinler N, CEYLAN A. Büyük balmumu güvesi galleria mellonella l.'nın (lepidoptera: pyralidae) kontrolünde karbondioksitin (co2) kullanımı. *Uludağ Arıcılık Dergisi*. 2009;9(1):26-31.
43. Hikino H, Ito K, Ohta T, Takemoto T. Stereostructure of Rhodojaponin I, II, and III, Toxins of Rhododendron japonicum, and of Asebotoxin III, Toxin of Pieris japonica. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. 1969;17(5):1078-9.
44. Georgiadis JR. Functional neuroanatomy of human cortex cerebri in relation to wanting sex and having it. *Clinical Anatomy*. 2015;28(3):314-23.
45. Yardımcı A. Antidepresan olarak kullanılan bupropiyon, paroksetin ve agomelatinin erkek sıçanlarda puberteye geçiş üzerindeki etkileri/Effects of paroxetine, bupropion and agomelatine, which are used as antidepressants, on puberty onset in male rats. 2015.
46. Boyarsky BK, Hirschfeld RM. The management of medication-induced sexual dysfunction. *Essent Psychopharmacol*. 2000;3(2):151.
47. Üngüren E. Beynin nöroanatomik ve nörokimsiyal yapısının kişilik ve davranış üzerindeki etkisi. *Uluslararası Alanya İşletme Fakültesi Dergisi*. 2015;7(1).
48. Stoléro S, Fonteille V, Cornélis C, Joyal C, Moulier V. Functional neuroimaging studies of sexual arousal and orgasm in healthy men and women: a review and meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2012;36(6):1481-509.
49. Lee H, Kim D-W, Remedios R, Anthony TE, Chang A, Madisen L, et al. Scalable control of mounting and attack by Esr1+ neurons in the ventromedial hypothalamus. *Nature*. 2014;509(7502):627-32.
50. Shimura T, Yamamoto T, Shimokochi M. The medial preoptic area is involved in both sexual arousal and performance in male rats: re-evaluation of neuron activity in freely moving animals. *Brain research*. 1994;640(1-2):215-22.
51. Dominguez JM, Hull EM. Stimulation of the medial amygdala enhances medial preoptic dopamine release: implications for male rat sexual behavior. *Brain research*. 2001;917(2):225-9.
52. Harding SM, McGinnis MY. Microlesions of the ventromedial nucleus of the hypothalamus: effects on sociosexual behaviors in male rats. *Behavioral neuroscience*. 2005;119(5):1227.
53. Giuliano F, Clément P. Serotonin and premature ejaculation: from physiology to patient management. *European urology*. 2006;50(3):454-66.
54. Maffei ME. 5-Hydroxytryptophan (5-HTP): Natural occurrence, analysis, biosynthesis, biotechnology, physiology and toxicology. *International journal of molecular sciences*. 2020;22(1):181.

55. Lorrain DS, Matuszewich L, Friedman RD, Hull EM. Extracellular serotonin in the lateral hypothalamic area is increased during the postejaculatory interval and impairs copulation in male rats. *Journal of Neuroscience*. 1997;17(23):9361-6.
56. Gil M, Bhatt R, Picotte KB, Hull EM. Sexual experience increases oxytocin receptor gene expression and protein in the medial preoptic area of the male rat. *Psychoneuroendocrinology*. 2013;38(9):1688-97.
57. Traish AM, Guay A, Feeley R, Saad F. The dark side of testosterone deficiency: I. Metabolic syndrome and erectile dysfunction. *Journal of andrology*. 2009;30(1):10-22.
58. Aşçı R, Çayan S, Erdemir F, Orhan İ, Yaman Ö, Usta MF, et al. Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi. İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevi. 2013.
59. Macheroni C, Lucas TFG, Porto CS. The role of estrogen receptors in rat Sertoli cells at different stages of development. *Heliyon*. 2020;6(11):e05363.
60. Jackson SJ, Andrews N, Ball D, Bellantuono I, Gray J, Hachoumi L, et al. Does age matter? The impact of rodent age on study outcomes. *Laboratory animals*. 2017;51(2):160-9.
61. Ågmo A. Male rat sexual behavior. *Brain Research Protocols*. 1997;1(2):203-9.
62. Palo RT, Robbins CT. Plant defenses against mammalian herbivory: CRC Press; 1991.
63. Thody A, Dijkstra H. Effect of ovarian steroids on preputial gland odours in the female rat. *Journal of Endocrinology*. 1978;77(3):397-403.
64. Tirindelli R, Dibattista M, Pifferi S, Menini A. From pheromones to behavior. *Physiological reviews*. 2009;89(3):921-56.
65. Luoto S. Did prosociality drive the evolution of homosexuality? Response to Barron (2020). *Archives of Sexual Behavior*. 2021;50(7):2777-9.
66. Hodgkin AL, Huxley AF. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of physiology*. 1952;117(4):500-44.
67. Maejima H, Kinoshita E, Seyama I, Yamaoka K. Distinct sites regulating grayanotoxin binding and unbinding to D4S6 of Nav1.4 sodium channel as revealed by improved estimation of toxin sensitivity. *Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(11):9464-71.
68. Eller P, Hochegger K. Honey intoxication and the Bezold–Jarisch reflex. *International journal of cardiology*. 2010;144(2):251.

69. Seyama I, Yamaoka K, Yakehiro M, Yoshioka Y, Morihara K. Is the site of action of grayanotoxin the sodium channel gating of squid axon? *The Japanese journal of physiology*. 1985;35(3):401-10.
70. Onat F, Yegen B, Lawrence R, Oktay A, Oklay S. Mad honey poisoning in man and rat. *Reviews on environmental health*. 1991;9(1):3-10.
71. Gunduz A, Kalkan A, Turedi S, Durmus I, Turkmen S, Ayaz FA, et al. Pseudocholinesterase levels are not decreased in grayanotoxin (mad honey) poisoning in most patients. *The Journal of emergency medicine*. 2012;43(6):1008-13.
72. Türkmen M, Akçay G. Endokrin sistem hastalıklarında otonom sinir sistemi fonksiyonlarının ter testi ile değerlendirilmesi.
73. Şirin ODH, Kendirci M. Gecikmiş ejakülasyon.
74. Uludağ Ö. Organik fosfor zehirlenmelerinde tanı ve tedavide güncel yaklaşımlar. *Adıyaman Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*. 2015;1(2):126-38.
75. Çelik S, Kılıç KD, Yiğittürk G, Çavuşoğlu T, Erbaş O, Uyanıkgil Y, et al. Penis naklinde güncel durum; morfolojik bir değerlendirme. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Transplantasyon Dergisi*. 2017;2(1):34-44.
76. Aykan S, Gönültaş S, Yılmaz M, Dinçer MM. Gecikmiş orgazm ve anorgazmi. *Androloji Bülteni*. 2017;19(4):131-7.
77. Özbey İ., Ziypak T., Erkeklerde Hipotalamus-Hipofiz-Testis Aksı. *Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi*(Aşçı R, Çayan S, Erdemir F, Orhan İ, Yaman Ö, Usta MF, Kendirci M, Ekmekçioğlu O, Kadioğlu A, ed) İstanbul Tıp Kitabevi; 2013. pp.39-55.
78. Lambard S, Silandre D, Delalande C, Denis-Galeraud I, Bourguiba S, Carreau S. Aromatase in testis: expression and role in male reproduction. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2005;95(1-5):63-9.
79. Bartke A. Role of growth hormone and prolactin in the control of reproduction: What are we learning from transgenic and knock-out animals? 1. *Steroids*. 1999;64(9):598-604.
80. Özkaya M, Demirtaş A, Ekmekçioğlu O. Erkek Infertilitesinde Endokrin Değerlendirme. *İçinde: Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi* Editörler: Aşçı R, Çayan S, Erdemir F, Orhan İ, Yaman Ö, Usta MF, Kendirci M, Ekmekçioğlu O, Kadioğlu A İstanbul Tıp Kitabevi, İstanbul, s. 2013:227-39.
81. Karagüzel E. Leydig Hücreleri ve işlevleri. *Erkek üreme sistemi hastalıkları ve tedavisi* (Aşçı R, Çayan S, Erdemir F, Orhan İ, Yaman Ö, Usta MF, Kendirci M, Ekmekçioğlu O, Kadioğlu A, ed) İstanbul Tıp Kitabevi. 2013:79-86.

82. De Ronde W, de Jong FH. Aromatase inhibitors in men: effects and therapeutic options. *Reproductive Biology and Endocrinology*. 2011;9(1):1-7.
83. Bourguiba S, Genissel C, Lambard S, Bouraïma H, Carreau S. Regulation of aromatase gene expression in Leydig cells and germ cells. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2003;86(3-5):335-43.
84. Carreau S. Germ cells: a new source of estrogens in the male gonad. *Molecular and cellular endocrinology*. 2001;178(1-2):65-72.
85. Sharpe RM. The roles of oestrogen in the male. *Trends in Endocrinology & Metabolism*. 1998;9(9):371-7.
86. Tan RB, Guay AT, Hellstrom WJ. Clinical use of aromatase inhibitors in adult males. *Sexual Medicine Reviews*. 2014;2(2):79-90.
87. Scordalakes EM, Shetty SJ, Rissman EF. Roles of estrogen receptor α and androgen receptor in the regulation of neuronal nitric oxide synthase. *Journal of Comparative Neurology*. 2002;453(4):336-44.
88. Russell DW, Wilson JD. Steroid 5 α -reductase: two genes/two enzymes. *Annual review of biochemistry*. 1994;63(1):25-61.
89. Azzouni F, Godoy A, Li Y, Mohler J. The 5 alpha-reductase isozyme family: a review of basic biology and their role in human diseases. *Advances in urology*. 2011;2012.
90. Cilotti A, Danza G, Serio M. Clinical application of 5 α -reductase inhibitors. *Journal of endocrinological investigation*. 2001;24(3):199-203.
91. Stahl SM. *Stahl's essential psychopharmacology: neuroscientific basis and practical applications*: Cambridge university press; 2021.
92. Silici S, Doğan Z, Sahin H, Atayoğlu T, Yakan B. Acute effects of grayanotoxin in rhododendron honey on kidney functions in rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 2016;23(4):3300-9.
93. Khodai T, Luckman SM. Ventromedial Nucleus of the Hypothalamus Neurons Under the Magnifying Glass. *Endocrinology*. 2021;162(10):bqab141.
94. Güven M, Bayram F, Ünlühizarci K, Kelestimur F. Endocrine changes in patients with acute organophosphate poisoning. *Human & experimental toxicology*. 1999;18(10):598-601.
95. Kim S-E, Shin M-C, Akaike N, Kim C-J. Presynaptic effects of grayanotoxin III on excitatory and inhibitory nerve terminals in rat ventromedial hypothalamic neurons. *Neurotoxicology*. 2010;31(2):230-8.
96. İncesu C. Cinsel işlevler ve cinsel işlev bozuklukları. *Klinik Psikiyatri Dergisi*. 2004;7(Suppl 3):3-13.

97. Ishola IO, Chatterjee M, Tota S, Tadigopulla N, Adeyemi OO, Palit G, et al. Antidepressant and anxiolytic effects of amentoflavone isolated from *Cnestis ferruginea* in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2012;103(2):322-31.
98. Ishola IO, Tota S, Adeyemi OO, Agbaje EO, Narender T, Shukla R. Protective effect of *Cnestis ferruginea* and its active constituent on scopolamine-induced memory impairment in mice: a behavioral and biochemical study. *Pharmaceutical biology*. 2013;51(7):825-35.
99. Melis MR, Succu S, Mascia MS, Cortis L, Argiolas A. Extracellular excitatory amino acids increase in the paraventricular nucleus of male rats during sexual activity: Main role of N-methyl-D-aspartic acid receptors in erectile function. *European Journal of Neuroscience*. 2004;19(9):2569-75.
100. Li W, Du L, Li M. Alkaloids and flavonoids as α 1-adrenergic receptor antagonists. *Current medicinal chemistry*. 2011;18(32):4923-32.
101. Manjunath SH, Thimmulappa RK. Antiviral, immunomodulatory, and anticoagulant effects of quercetin and its derivatives: Potential role in prevention and management of COVID-19. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2021.
102. Yaidikar L, Thakur S. Arjunolic acid, a pentacyclic triterpenoidal saponin of *Terminalia arjuna* bark protects neurons from oxidative stress associated damage in focal cerebral ischemia and reperfusion. *Pharmacological Reports*. 2015;67(5):890-5.
103. Can Z, Yildiz O, Sahin H, Turumtay EA, Silici S, Kolayli S. An investigation of Turkish honeys: their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Food chemistry*. 2015;180:133-41.
104. Akgün N. Ordu ilinde üretilen kestane balı, akasya balı, orman gülü balı ve yayla ballarının fiziksel ve kimyasal aktiviteleri ile antioksidan özelliklerinin incelenmesi: Fen Bilimleri Enstitüsü; 2017.
105. Doğanyiğit Z, Silici S, Kaymak E, Aslı O, Akın At, Pandır D. Apilarnil'in erkek sıçanlarda lipopolisakkarite (lps) bağlı testis toksisitesine karşı koruyucu rolünün belirlenmesi Determination of the Protective Role of Apilarnil Against Testicular Toxicity Due to Lipopolysaccharide (LPS) in Male Rats. *Bozok Tıp Dergisi*. 2019;9(2):146-54.
106. Nasrolahi O, Khaneshi F, Rahmani F, Razi M. Honey and metformin ameliorated diabetes-induced damages in testes of rat; correlation with hormonal changes. *Iranian journal of reproductive medicine*. 2013;11(12):1013.
107. Plant TM, Zeleznik AJ. *Knobil and Neill's physiology of reproduction*: Academic Press; 2014.

108. Snoeren EM, Veening JG, Olivier B, Oosting RS. Serotonin 1A receptors and sexual behavior in male rats: a review. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2014;121:102-14.
109. Besong EB, Ateufack G, Babiaka SB, Kamanyi A. Leaf-methanolic extract of *Pseudopanax arboreus* (Araliaceae)(LF Phillipson) reverses amitriptyline-induced sexual dysfunction in male rats. *Biochemistry Research International*. 2018;2018.
110. Chan JS, Waldinger MD, Olivier B, Oosting RS. Drug-Induced Sexual Dysfunction in Rats. *Current Protocols in Neuroscience*. 2010;53(1):9.34. 1-9.. 11.
111. Heijkoop R, Huijgens PT, Snoeren EM. Assessment of sexual behavior in rats: The potentials and pitfalls. *Behavioural Brain Research*. 2018;352:70-80.
112. Grønli J, Murison R, Fiske E, Bjorvatn B, Sørensen E, Portas CM, et al. Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions. *Physiology & behavior*. 2005;84(4):571-7.
113. Agmo A, Paredes R, Fernández H. Differential effects of GABA transaminase inhibitors on sexual behavior, locomotor activity, and motor execution in the male rat. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 1987;28(1):47-52.
114. Yakubu M, Atoyebi A. *Bryocarpus coccineus* (Schum & Thonn) root reinstates sexual competence and testicular function in paroxetine-induced sexual dysfunction in male Wistar rats. *Andrologia*. 2018;50(4):e12980.
115. Toyin YM, Olaide NQ. Effects of aqueous extract of *Cnestis ferruginea* (Vahl ex De Cantolle) root on paroxetine-induced sexual dysfunction in male rats. *Asian Pacific Journal of Reproduction*. 2012;1(2):111-6.
116. Ajiboye TO, Nurudeen QO, Yakubu MT. Aphrodisiac effect of aqueous root extract of *Lecaniodiscus cupanioides* in sexually impaired rats. *Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology*. 2014;25(2):241-8.
117. Chan JS, Olivier B, de Jong TR, Snoeren EM, Kooijman E, van Hasselt FN, et al. Translational research into sexual disorders: pharmacology and genomics. *European journal of pharmacology*. 2008;585(2-3):426-35.
118. Georgiadis JR, Kringelbach ML, Pfaus JG. Sex for fun: a synthesis of human and animal neurobiology. *Nature reviews urology*. 2012;9(9):486-98.
119. Hull E, Rodríguez-Manzo G. 1.01-male sexual behavior. *Hormones, Brain and Behavior*, 3rd Edn, eds DW Pfaff and M Joëls (Oxford: Academic Press). 2017:1-57.

120. Sanna F, Bratzu J, Piludu MA, Corda MG, Melis MR, Giorgi O, et al. Dopamine, noradrenaline and differences in sexual behavior between roman high and low avoidance male rats: a microdialysis study in the medial prefrontal cortex. *Frontiers in behavioral neuroscience*. 2017;11:108.
121. Sanna F, Contini A, Melis MR, Argiolas A. Role of dopamine D4 receptors in copulatory behavior: studies with selective D4 agonists and antagonists in male rats. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*. 2015;137:110-8.
122. Snoeren EM, Chan JS, De Jong TR, Waldinger MD, Olivier B, Oosting RS. A new female rat animal model for hypoactive sexual desire disorder; behavioral and pharmacological evidence. *The journal of sexual medicine*. 2011;8(1):44-56.
123. Adams S, Heckard D, Hassell J, Uphouse L. Factors influencing fluoxetine-induced sexual dysfunction in female rats. *Behavioural brain research*. 2012;235(1):73-81.
124. Jones SL, Farrell S, Gregory JG, Pfaus JG. Sensitization of sexual behavior in ovariectomized rats by chronic estradiol treatment. *Hormones and behavior*. 2013;64(1):8-18.
125. Yaylacı S, Ösken A, Olt S, Temiz T, Tamer A, Gündüz H. Mad honey poisoning accompanied by hypotension and bradycardia. *Sakarya Medical Journal*. 2011;1(2):73-5.
126. Yılmaz İ, Kaya E, Yaykaşlı K, Türker Y. The dose-dependent cardiovascular effects of intravenous grayanotoxin-III in rats. *İzmir Dr Behçet Uz Çocuk Hastanesi Dergisi*. 2017;7(2):121-8.
127. Akgün M. Farklı Orman Gülü (Rhododendron L.) Türlerinden Elde Edilen Balların Antimikrobiyal, Antioksidan ve Biyoaktif Özelliklerinin Belirlenmesi: Fen Bilimleri Enstitüsü; 2019.
128. Zaidi H, Ouchemoukh S, Amessis-Ouchemoukh N, Debbache N, Pacheco R, Serralheiro ML, et al. Biological properties of phenolic compound extracts in selected Algerian honeys—The inhibition of acetylcholinesterase and α -glucosidase activities. *European Journal of Integrative Medicine*. 2019;25:77-84.
129. Cengiz T. Yeni Sentezlenen Kumarin Türevi Ve Benzeri Bileşiklerin Asetilkolinesteraz Ve Bütirikolinesteraz Aktivitesi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi: Fen Bilimleri Enstitüsü; 2019.
130. Ahlenius S, Heimann M, Larsson K. Prolongation of the ejaculation latency in the male rat by thioridazine and chlorimipramine. *Psychopharmacology*. 1979;65(2):137-40.
131. Koca I, Koca AF. Poisoning by mad honey: a brief review. *Food and Chemical Toxicology*. 2007;45(8):1315-8.

132. Cestèle S, Catterall WA. Molecular mechanisms of neurotoxin action on voltage-gated sodium channels. *Biochimie*. 2000;82(9-10):883-92.
133. Kızılkcan Y. Erektıl Disfonksiyon Fizyolojisi. In: Canoğulları Z, editor. *Erkek ve Kadın Seksüel Bzukluklarına Yaklaşım*. Akademisyen Kitabevi2020.
134. Doğan Z. *Ratlarda Orman Gülü Balının Bazı Biyokimyasal Ve Histopatolojik Parametreler Üzerine Etkisi: Fen Bilimleri Enstitüsü*; 2013.
135. Cabadak H. Distribution of Muscarinic Acethylcholine Receptors and Related Signal. *Türk Biyokimya Dergisi*. 2006.
136. Yılmaz İ, Kaya E, Yaykaşlı KO, Türker Y. Sıçanlarda intravenöz uygulanan deli bal toksini grayanotoksin-III'ün doza bağımlı kardiyak etkileri. *Journal of Dr Behcet Uz Children's Hospital*. 2017;7(2).
137. Atan A, Tuncel A. Erkek genitüriner sistem cerrahilerinden sonra oluşan ağrının mekanizması ve tedavi yaklaşımları. *Yeni Üroloji Dergisi*. 2013;8(1):72-6.
138. Tapondjou L, Lontsi D, Beibam Luc S, Jongwon C, Kyung-Tae L, Hyun-Ju J, et al. In Vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of the two triterpenes, ursolic acid and 23-hydroxyursolic acid, from *cussonia bancoensis*. *Archives of pharmacal research*. 2003;26(2):143-6.
139. Salman TM, Alagbonsi IA, Olayaki LA, Biliaminu SA, Salahdeen HM, Olowu OA. Honey increases sperm count in male albino rats by enhancing testosterone production. *Biokemistri*. 2013;25(2):39-44.
140. Gholami M, Abbaszadeh A, Khanipour Khayat Z, Anbari K, Baharvand P, Gharravi A. Honey improves spermatogenesis and hormone secretion in testicular ischaemia–reperfusion induced injury in rats. *Andrologia*. 2018;50(1):e12804.
141. Doğanyığıt Z, Silici S, Demirtaş A, Kaya E, Kaymak E. Determination of histological, immunohistochemical and biochemical effects of acute and chronic grayanotoxin III administration in different doses in rats. *Environmental Science and Pollution Research*. 2019;26(2):1323-35.
142. Banihani SA. Mechanisms of honey on testosterone levels. *Heliyon*. 2019;5(7):e02029.
143. Demir İ. Sıçanlarda intraserebroventriküler salusin-β infüzyonun hipotalamus-hipofiz-testiküler aks üzerindeki etkileri: İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2019.
144. Podlasek CA, Mulhall J, Davies K, Wingard CJ, Hannan JL, Bivalacqua TJ, et al. Translational perspective on the role of testosterone in sexual function and dysfunction. *The journal of sexual medicine*. 2016;13(8):1183-98.

145. Balcı UDM, Altuğ Tuncel P, Atan A. 5- α redüktaz enzim inhibitörlerinin erkek cinsel fonksiyonları üzerine etkileri. *ANDROLOJİ*.176.
146. Azizi A, Mumin NH, Shafqat N. Phytochemicals With Anti 5-alpha-reductase Activity: A Prospective For Prostate Cancer Treatment. *F1000Research*. 2021;10.
147. Çalışkan U, Durbilmez GD, Memiş G. Benign prostat hiperplazisi üzerinde etkili fitoterapötikler. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*. 2016;43(2):173-96.
148. Rawlings ND, Barrett AJ, Finn R. Twenty years of the MEROPS database of proteolytic enzymes, their substrates and inhibitors. *Nucleic acids research*. 2016;44(D1):D343-D50.
149. Juntti SA, Tollkuhn J, Wu MV, Fraser EJ, Soderborg T, Tan S, et al. The androgen receptor governs the execution, but not programming, of male sexual and territorial behaviors. *Neuron*. 2010;66(2):260-72.
150. Wersinger S, Rissman E. Oestrogen receptor α is essential for female-directed chemoinvestigatory behaviour but is not required for the pheromone-induced luteinizing hormone surge in male mice. *Journal of neuroendocrinology*. 2000;12(2):103-10.
151. Oliveira G, Ferraz E, Souza A, Lourenço R, Oliveira DPd, Dorta DJ. Evaluation of the mutagenic activity of chrysin, a flavonoid inhibitor of the aromatization process. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*. 2012;75(16-17):1000-11.
152. Adlercreutz H, Mousavi Y, Clark J, Höckerstedt K, Hämäläinen E, Wähälä K, et al. Dietary phytoestrogens and cancer: in vitro and in vivo studies. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 1992;41(3-8):331-7.
153. Peng M-f, Tian S, Song Y-g, Li C-x, Ren Z, Li M. Effects of total flavonoids from *Eucommia ulmoides* Oliv. leaves on polycystic ovary syndrome with insulin resistance model rats induced by letrozole combined with a high-fat diet. *Journal of Ethnopharmacology*. 2021;273:113947.
154. Chan O, Cheng H, Herzog R, Czyzyk D, Zhu W, Wang A, et al. Increased GABAergic tone in the ventromedial hypothalamus contributes to suppression of counterregulatory responses after antecedent hypoglycemia. *Diabetes*. 2008;57(5):1363-70.
155. Dominguez JM, Gil M, Hull EM. Preoptic glutamate facilitates male sexual behavior. *Journal of Neuroscience*. 2006;26(6):1699-703.
156. Pinsky MR, Gur S, Tracey AJ, Harbin A, Hellstrom WJ. The effects of chronic 5 α -reductase inhibitor (dutasteride) treatment on rat erectile function. *The journal of sexual medicine*. 2011;8(11):3066-74.

157. Sato S, Hull E. The nitric oxide–guanosine 3', 5'-cyclic monophosphate pathway regulates dopamine efflux in the medial preoptic area and copulation in male rats. *Neuroscience*. 2006;139(2):417-28.
158. Hadeishi Y, Wood RI. Nitric oxide synthase in mating behavior circuitry of male Syrian hamster brain. *Journal of neurobiology*. 1996;30(4):480-92.
159. Du J, Hull EM. Effects of testosterone on neuronal nitric oxide synthase and tyrosine hydroxylase. *Brain research*. 1999;836(1-2):90-8.
160. Dominguez JM, Hull EM. Dopamine, the medial preoptic area, and male sexual behavior. *Physiology & behavior*. 2005;86(3):356-68.
161. Dominguez J, Muschamp J, Schmich J, Hull E. Nitric oxide mediates glutamate-evoked dopamine release in the medial preoptic area. *Neuroscience*. 2004;125(1):203-10.
162. Putnam SK, Sato S, Riolo JV, Hull EM. Effects of testosterone metabolites on copulation, medial preoptic dopamine, and NOS-immunoreactivity in castrated male rats. *Hormones and behavior*. 2005;47(5):513-22.
163. Silici S, Sarioglu K, Dogan M, Karaman K. HPLC-DAD analysis to identify the phenolic profile of rhododendron honeys collected from different regions in Turkey. *International Journal of Food Properties*. 2014;17(5):1126-35.
164. Şahin H, Zehra C, Kolaylı S. Bazı ormangülü ballarının fenolik içerik kompozisyonu. *Arıcılık Araştırma Dergisi*. 2017;9(2):40-6.
165. Wersinger SR, Rissman EF. Dopamine activates masculine sexual behavior independent of the estrogen receptor α . *Journal of neuroscience*. 2000;20(11):4248-54.
166. Sahin H, Turumtay EA, Yildiz O, Kolayli S. Grayanotoxin-III detection and antioxidant activity of mad honey. *International journal of food properties*. 2015;18(12):2665-74.
167. Bagdatli E, Atmaca H, Erturk O. Bioactive Properties and Phytochemical Screening of Mad Honey Bee Pollen. *Complementary Medicine Research*. 2022:1-11.
168. Sibel S, Enis YM, Hüseyin S, Timucin AA, Duran O. Analysis of grayanatoxin in Rhododendron honey and effect on antioxidant parameters in rats. *Journal of ethnopharmacology*. 2014;156:155-61.
169. Finkel T, Holbrook NJ. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *nature*. 2000;408(6809):239-47.
170. Uysal N, Gönenç S, Sönmez A, Aksu İ, Topçu A, Kayatekin BM, et al. Antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation levels in adolescent rat brain. *Ege Tıp Dergisi*. 2005;44:75-9.

171. Lagoda G, Muschamp JW, Vigdorichik A, Hull EM. A nitric oxide synthesis inhibitor in the medial preoptic area inhibits copulation and stimulus sensitization in male rats. *Behavioral neuroscience*. 2004;118(6):1317.
172. Will RG, Nutsch VL, Turner JM, Hattori T, Tobiansky DJ, Dominguez JM. Astrocytes in the medial preoptic area modulate ejaculation latency in an experience-dependent fashion. *Behavioral neuroscience*. 2015;129(1):68.
173. Schulz KM, Richardson HN, Romeo RD, Morris JA, Lookingland KJ, Sisk CL. Medial preoptic area dopaminergic responses to female pheromones develop during puberty in the male Syrian hamster. *Brain research*. 2003;988(1-2):139-45.
174. Mishor E, Amir D, Weiss T, Honigstein D, Weissbrod A, Livne E, et al. Sniffing the human body volatile hexadecanal blocks aggression in men but triggers aggression in women. *Science advances*. 2021;7(47):eabg1530.
175. Beauchamp GK. Diet influences attractiveness of urine in guinea pigs. *Nature*. 1976;263(5578):587-8.
176. Oleszkiewicz A, Suhle P, Haehner A, Croy I. Prior exposure to Hedione, a model of pheromone, does not affect female ratings of male facial attractiveness or likeability. *Physiology & Behavior*. 2021;238:113458.
177. Drickamer L. Pheromones: behavioral and biochemical aspects. *Molecular and Cellular Basis of Social Behavior in Vertebrates*: Springer; 1989. p. 269-348.
178. Hattori T, Osakada T, Matsumoto A, Matsuo N, Haga-Yamanaka S, Nishida T, et al. Self-exposure to the male pheromone ESP1 enhances male aggressiveness in mice. *Current biology*. 2016;26(9):1229-34.
179. Keverne E. Importance of olfactory and vomeronasal systems for male sexual function. *Physiology & behavior*. 2004;83(2):177-87.
180. Nagalingham K. Functional significance of male attractants of *Bactrocera tryoni* (Diptera: Tephritidae) and underlying mechanisms: Queensland University of Technology; 2014.