

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANA BİLİM DALI**

**LEPTİNİN YENİDOĞAN SIÇANLARIN TESTİS GERM
HÜCRELERİNE ETKİSİNİN IŞIK MİKROSKOBİ
DÜZEYİNDE İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Hazırlayan

Asiye USTA

Danışman

Doç. Dr. Gülçin ABBAN

DENİZLİ – 2005

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans tezimin seçilmesi, gerçekleştirilmesi ve sonuçlandırılması aşamalarında her zaman destek olan Danışman Hocam Doç. Dr. Sayın Gülçin ABBAN'a ve Anabilim Dalımız Başkanı Hocam Doç. Dr. Sayın Recep KUTLUBAY'a teşekkür ederim. Tezim sırasında bana her türlü yardımlarından dolayı Doç. Dr. Sayın A. Çevik TUFAN'a, Yrd. Doç. Dr. Sayın Erdoğan KOCAMAZ'a, Yrd.. Doç. Dr. Sayın E. Oğuzhan OĞUZ'a çalışmalarında yardımını esirgemeyerek her zaman destek olan Araş. Gör. Sayın Arzu A. YAY'a, deney aşamasında her türlü imkanı sağlayan Veteriner Hekim Sayın Barbaros ŞAHİN'e , ayrıca bana destek olan Patoloji Anabilim Dalı çalışanlarına teşekkür ediyorum.

Hayatım boyunca bana sabırla destek olan, maddi ve manevi katkılarını esirgemeyen aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER.....	II
RESİM ÇİZELGESİ	IV
1.GİRİŞ.....	1
2.GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. GENİTAL SİSTEMİN GELİŞİMİ.....	2
2.1.1.Farklanmamış Gonadlar	3
2.1.2.Cinsiyet Belirlenmesi	3
2.1.3.Testislerin Gelişmesi	4
2.1.4.Testislerin İnmesi	5
2.2.GENİTAL BOŞALMA YOLLARININ GELİŞMESİ.....	6
2.2.1.Farklanmamış Evre (<i>Undifferentiated stage</i>).....	6
2.2.2.Erkek Genital Boşaltım Yolları ve Bezlerinin Gelişmesi.....	7
2.2.3.Dış Genitallerin Gelişimi.....	8
2.2.4.Erkek Dış Genitallerin Gelişimi	8
2.3.ERKEK GENİTAL SİSTEM HİSTOLOJİSİ.....	9
2.3.1.Seminifer Tübüller	10
2.3.2.Spermatogenezis.....	11
2.3.3.Spermiyogenez	13
2.3.4.Çekirdek Şekil ve Büyüklüğünün Değişmesi ile Birlikte, Kromatin Yoğunlaşması.....	15
2.3.5.Sertoli Hücreleri	16
2.3.6.İnterstisyel Doku	18

2.3.7.Kan – Testis Bariyeri.....	20
2.4.TESTİS ANATOMİSİ	20
2.5.EPİDİDYMİS	22
2.6.TESTİS FİZYOLOJİSİ	25
2.7.LEPTİN	26
2.7.1.Leptinin Yapısı	28
2.7.2.Leptin Reseptörleri, İşlevi ve Klerensi.....	28
2.7.3.Spontan Leptin Sekresyonu.....	33
2.7.4.Serum Leptin Seviyesinin Regülasyonu.....	33
2.7.5.Erkek Üremesinde Leptin.....	37
2.7.6.Leptinin Testiküler Aksiyonu.....	37
2.7.7.Üreme Aksi Üzerine Leptin Aksiyon Bölgeleri	37
2.7.8.Fetüs ve Yenidoğanda Leptin.....	38
2.7.9.Çocuklukta ve Pubertede Leptin	38
2.7.10.Leptin ve Obezitede Leptine Direnç.....	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
3.1.Hayvanlar ve Bakım Şartları	41
3.2. Deneysel Uygulama	41
3.3. Histolojik Boyalar ve Solüsyonlar	42
3.4. Uygulanan Teknikler.....	43
4.BULGULAR	45
5.TARTIŞMA.....	69
6.ÖZET	73
7.SUMMARY	74
8.KAYNAKLAR.....	75

RESİM ÇİZELGESİ

RESİM 1	48
RESİM 2	49
RESİM 3	50
RESİM 4	51
RESİM 5	52
RESİM 6	53
RESİM 7	54
RESİM 8	55
RESİM 9	56
RESİM 10	57
RESİM 11	58
RESİM 12	59
RESİM 13	60
RESİM 14	61
RESİM 15	62
RESİM 16	63
RESİM 17	64
RESİM 18	65
RESİM 19	66
RESİM 20	67
RESİM 21	68

1. GİRİŞ

1994 yılında Zhang ve ekibi tarafından keşfedilen leptin 167 aminoasitten oluşmuş bir proteindir. Doğunluk ve enerji dengesi ile ilgili olduğu bilinen leptin yağ hücrelerinden salgılanmaktadır. Hipotalamusa geri bildirim yolu ile etki eden leptin, obesiteyi önleyen bir faktördür. Bu ajan, hem hayvanlarda hem de insanlarda pubertenin başlamasında, hipotalamik pituiter işlevlerin düzenlenmesinde, insülin direncinde, enerji dengesinin sağlanmasında etkili olduğu gibi, vücut ağırlığı ve yiyecek alışının düzenlenmesinde de önemli rol oynar (1,2,3).

Leptinin hem kadın hemde erkek üreme sisteminin düzenlenmesinde önemli rol oynadığı ortaya çıkmıştır. Leptinden yoksun olan dişi ob/ob farelerin kısır olması ve bu farelerin sürekli prepubertal dönemde bulunması leptinin üreme üzerindeki etkisinin son derece önemli olduğunu göstermektedir. Özellikle kısır farelere leptin uygulanması sonucunda pubertal döneme geçebilmeleri ve fertil hale gelmeleri, çalışmaların bu yöne kaymasına neden olmuştur. Serumda leptin seviyesinin oranı cinse bağlı farklılık göstermektedir (2,3). Leptin seviyesi dişi ve erkekte puberte başlangıcından önce artar ki, bu artışın puberte başlangıcını tetikleyebileceğine inanılmaktadır (4,5). Leptin seviyesi ve etkisi pubertal dönemden sonra dişi ve erkeklerde farklılık gösterir. Kadınlarda östrojen leptin salınmasını artırırken testosteron azaltmaktadır. Bununla birlikte leptinin pubertal dönemdeki etki mekanizmasının nasıl olduğu tam olarak açıklanamamıştır (6). Leptinin kadın üreme sistemi organlarına olası etkilerini açıklayan pek çok çalışmaya rastlanmıştır. Erkek üreme sistemi üzerine etkisini inceleyen çalışmalar sınırlı sayıdaadır.

Yapılan kaynak taramalarında leptinin testis işlevine olan etkilerinin değerlendirildiği çalışmalara rastlanmış ancak germ hücrelerinin gelişimi üzerindeki etkilerini histolojik olarak değerlendiren çalışmaların sayıca son derece az olduğu belirlenmiştir. Bu nedenle, çalışmamızda, leptinin yenidoğandan puberteye kadar olan dönemde, testis germ hücreleri üzerindeki etkilerinin ışık mikroskopi düzeyinde incelenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. GENİTAL SİSTEMİN GELİŞİMİ

Her ne kadar embriyonun genetik ve kromozomal cinsiyeti, ovumu dölleyen sperm çeşidi ile fertilizasyon sırasında belirleniyorsa da, erkek ve dişi morfolojik karakteristikleri, embriyonik dönemin 7. haftasına kadar gelişime başlamamaktadır. Genital sistem erken dönemde, her iki cinsten de birbirine benzemektedir ve bu nedenle genital sistemin gelişiminin başlangıç periyodu “seksüel gelişimin farklılaşmamış safhası” olarak adlandırılmaktadır (7).

Gonadlar üç kaynaktan köken alırlar

- Posterior karın duvarını döşeyen sölom epiteli.
- Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
- Primordial germ hücreleri (8)

Gonad gelişiminin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkar, mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde bir kabarıklık – gonadal (genital) kabartı oluşturmaktadır (7).

Primordial germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital kabarıklığın sölomik epiteli proliferatör ve epitelyum hücreleri altındaki mezenşim içine girerler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen düzensiz şekilli kordonları oluştururlar. Hem erkek, hem de dişi embriyolarında bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesi mümkün olmamaktadır. İşte bu devredeki gonad, ‘farklanmamış gonad’ olarak bilinir. Gelişimin 6. haftasına kadar genital kabarıklıklar içinde germ hücreleri mevcut değildir (9).

Primordiyal germ hücreleri, insan embriyosunda gelişimin 4 haftasında yolk kesesinin allontoise yakın duvarındaki endoderm hücreler arasında belirmektedir. Ameboid hareketlerle, son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır ve 6 haftada da genital kabarıklıkları işgal etmektedir. Kabarıklıklara ulaşamadıkları takdirde, gonadlar gelişemez. Gonadların over veya tertise farklanmasında, primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi bulunmaktadır (9).

2.1.1.Farklanmamış Gonadlar:

İlkel cinsiyet hücrelerinin göçlerinden az önce ya da göçleri sırasında gonad kabartısının sölom epiteli tekrar çoğalır ve altındaki mezenşime yayılarak düzensiz ilkel cinsiyet kordonları meydana getirirler. Hem erkek hem dişi embriyolarda bu kord onlar, yüzey epiteli ile devam ederler. 7. haftadan önce, her iki cinsin gonadları benzerdirler ve 'farklanmamış gonad' olarak adlandırılırlar (8).

İlkel cinsiyet hücrelerinin gonadlar üzerine indüktif etkileri vardır. Gonadlara ulaşamadıklarında ne testis ne de ovaryumlar gelişir (8).

2.1.2.Cinsiyet Belirlenmesi:

Kromozomal ve genetik cinsiyet, fertilizasyonda ve sekonder oositi dölleyen spermium'un X ya da Y cinsiyet kromozomu tarafından belirlenir. Y kromozom'u farklanmamış gonadın medullası üzerine, testis-belirleyici etkiye sahiptir. Testis-belirleyen faktör (*Testis determining factor = TDF*) geni, Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki cinsiyet belirleyen bölgede (*Sex-determining Region of the Y kromozom = SRY*) yerleşiktir. Bu faktör, farklanmamış gonadın ilkel cinsiyet kordonlarındaki hücrelerde sentezlendiğinde, taslak gonadlar, testislere farklırlar. İnsan Y kromozomunun TDF yöresinde, 223 amino asit düzeni, Sinclair ve arkadaşları tarafından 1990 yılında bulunmuştur (8).

Y kromozom'u yokluğunda, ovaryumlar meydana gelir. Böylece, fertilizasyonda saptanan cins kromozom kompleksi (XX ya da XY), gonadın tipini belirleyerek, farklanmamış gonadın testis ya da ovaryumlara farklanmasını sağlar (8).

Mevcut gonadların tipi ise, genital boşaltma yolları ve dış genital organların cinslere göre farklılaşmasını belirlemektedir. Testislerden üretilen androjenik testosteron, erkekliği oluşturur (8).

2.1.3. Testislerin Gelişmesi:

Y kromozomlu embriyonlarda, ilkel cinsiyet kordonları kalınlaşır ve gonadın medullasına uzanırlar. Oluşan bu kordonlara 'testis' ya da 'medulla kordonları' (*testicular = medullary cords*) denir. Testis kordonları, gonadın hilusunda ince hücre kordonlarına parçalanarak, rete testis'ler oluşur. Daha ileri gelişmede, kalın fibröz bir kapsül olan tunica albuginea oluştuğunda, testis kordonları yüzey epiteli ile bağlantılarını keserler (8).

Kalın fibröz tunica albugineanın 12. haftada oluşması, karakteristik olup, testisin geliştiğinin önemli bir göstergesidir. 16. haftada, testis kordonları at nalı biçimini (*horseshoe-shaped*) alırlar ve uç noktaları birleşerek tubuli recti'leri (*tubuli recti*) yaparlar. Testis kordonları bu evrede, ilkel cinsiyet hücrelerini ve sölom epitelinden köken alan sertoli hücre'lerini içermektedir. Testis kordonları arasındaki mezensefalda ise Leydig hücre'leri bulunur. Testis kordonlarının içi püberteye kadar doludur. Pübertede lümen kazanmakta ve seminifer tubül ismini almaktadır. Daha sonra, kanalize olan diğer genital boşaltma yollarına açılırlar. Giderek büyüyen testis, gerileyen mezonefroza ayrılır ve mezorchium (*mesorchium*) denilen kendi mezenteriyiyle asılı durur. Testis gelişmesinin son aşamasında, yüzey epiteli yassılaşmakta ve ergin testisin dış yüzünü döşeyen tek katlı mezotelium'u oluşturmaktadır (8).

2.1.4. Testislerin İnmesi:

Testislerin ilk gelişim yerleri L1 vertebra denginde karın arka duvarı üzerindedir. 4. ayda bu yerleşim yerlerinden göç ederek 28. haftada derin inguinal halkaya, 42. haftada skrotuma inerler (7).

Testisler karın arka duvarına ürogenital mezenter ile bağlıdır. Mezonefrozun gerilemesiyle bu bağlar yalnızca gonadın mezenteri haline gelirler, bu mezenter kaudal yönde gelişerek kaudal genital ligament adını alır. Testisin kaudal kutbunda, gubernakulum adı verilen ekstrasellüler matriksden zengin yoğun bir mezenşimal yapı aşağıya doğru uzanır (7).

Gubernakulumun testislerin inişindeki rolü tam olarak açık değildir. Gubernakulum inguinal bölgede internal ve eksternal abdominal oblik kasların arasında sonlanır. Daha sonra testis inguinal halkaya doğru inmeye başlarken, gubernakulumun abdomen dışındaki kısmı oluşur ve inguinal bölgeden skrotal şişkinliğe doğru büyür. Gubernakulum kızlarda da oluşur; ancak rudimenter olarak kalır (7).

Testislerin inguinal kanaldan geçişi visseral organların büyümesi sonucu karın iç basıncının artması nedeniyle. Testislerin inişi androgenik hormonlarla düzenlenir. İniş sırasında testisler aorta tarafından beslenmeye devam eder ve testiküler damarlar lumbar yerleşimlerinden skrotum içindeki testislere kadar uzarlar (7).

Testislerin inguinal kanal boyunca aşağıya inişleri 28. haftada olaylanır ve 2-3 gün sürer. Testisler periton ve processus vaginalis'in dışına çıkarlar ve 4 hafta sonra yani 32. haftada skrotum içine girerler (7).

Yenidoğanların %97'sinde testisler skrotum içindedir. Doğumda testisler skrotuma inmemiş olsa bile 3 ay içinde inebilirler (7).

Testislerin aşağıya inişinde ayrı olarak, kölom boşluğunun peritonunda karın ön duvarının orta çizgisinin her iki yanına doğru bir uzantı oluşturur. Bu uzantılar processus vaginalis olarak bilinirler. Müsküler ve fasiyel tabakalarla birlikte skrotal şişkinliğe ilerleyen processus vaginalis inguinal kanalı oluşturur (7).

Testisler skrotuma indikten sonra processus vaginalisin bir katlantısıyla sarılır. Buna tunika vaginalisin visseral tabakası, skrotum içini döşeyen kısımlarına da tunika vaginalisin pariyetal tabakası denir (7).

Yetersiz androjen üretimine bağlı olarak ya da grubernakulum testisin kısa olması nedeniyle doğumdan sonra testislerden birisi ya da her ikisi birden pel vis boşluğunda ya da inguinal kanal içinde yerleşik kalabilirler. Buna "Kriptorşizm" denir. İnmemiş testislere abdominal boşluktaki yüksek ısının etkisiyle gelişir spermatoza üretimi olmaz (7).

2.2.GENİTAL BOŞALMA YOLLARININ GELİŞMESİ

2.2.1.Farklanmamış Evre (*Undifferentiated stage*)

Gelişmenin 5–6. haftalarında, hem dişi hem erkek embriyonlar, iki çift genital ya da cinsiyet kanallarına sahiptirler. Bunlar, bir çift mezonefroz (*Wolffian*) ve bir çift paramezonefroz (*Müllerian*) kanallarıdır. Bu iki çift genital kanalın var olduğu döneme, genital boşaltma yollarının farklanmamış evresi denir (8),

Mezonefroz kanalları, mezonefroz böbrek sistemi gelişirken, urogenital kabartıların lateralinde, mezonefroz tübüllerin, bir çift pronefroz kanallarına açılmasıyla meydana gelmektedirler. Mezonefroz böbrek sisteminin kranialinden başlayıp, kaudaline kadar uzanırlar ve sonra urogenital sinus'a açılırlar. Paramezonefroz kanalları, urogenital kabartının, anterolateral yüzündeki sölom epitelinin uzunluğuna invaginasyonu ile oluşur. Kranialde huni benzeri bir yapı ile sölom boşluğuna açıldıktan sonra mezonefroz kanallarının lateralinde, onlara paralel seyrederek (kranial dikey parçaları), sonra onları ventral olarak kesip (yatay parçalar), kaudomedial yönde, ortada sağ ve sol dan gelen kendi benzer parçalarıyla birleşirler (kaudal dikey parçalar) ve Y şeklinde uterovaginal taslağı (*uterovaginal primordium*) ya da uterovaginal kanal'ı (*uterovaginal canal*) oluştururlar. Uterovaginal kanalın kaudal ucu, urogenital sinusun posterior duvarına değdiği yerde, paramezonefroz ya da Müller tüberkülü (*Müllerian tubercle*) meydana gelmektedir (8).

2.2.2.Erkek Genital Boşaltım Yolları ve Bezlerinin Gelişmesi

Fötal testislerde Sertoli hücreleri, müllerian inhibitör madde (MIS) adındaki hormonu sentezlerler. Sertoli hücreleri MIS üretimine 6–7 haftada, interstisyel hücreler ise,

testosteron salgılamaya 8. haftada başlamaktadırlar. Testosteron üretimi insan koryonik gonadotropik hormonu (hCG) tarafından uyarılır, testosteron erkeklerde mezonefrik kanallardan erkek genital duktusların oluşumunu uyarırken, MIS paramezonefrik duktusun epitelial–mezenşimal dönüşümü (*transformation*) ile kaybolmasına neden olur. Mezonefroz dejenere olduğundan, mezonefrik duktuslardan bazıları kalıcıdır ve efferent duktuliler (10) (*duktuli efferentes*) oluşturmaktadırlar. Bu duktuliler, mezonefrik duktusa açılırlar ve mezonefrik duktus bu bölgede duktus epididimise dönüşür. Epididimis distalinde mezonefrik duktus, kalın bir düz kas tabakası kazanır ve duktus deferens oluşur. Mezonefrik duktusların kaudal uçlarının lateralinden dışa doğru seminal veziküller gelişir. Bu, çift haldeki bezler, spermlerin beslenmesini sağlayan, sekresyon yapmaktadırlar. Seminal veziküllerin duktusu ile uretra arasında kalan mezonefrik duktus bölü mü, ejakülatuar duktus olarak gelişmektedir (7).

Prostat:

Uretranın prostatik parçasından meydana gelen, çok sayıda endodermal çıkıntı, etraftaki mezenşim içerisine doğru büyür. Prostadın glandüler bez epiteli bu endodermal hücrelerden gelişirken, epitelyum hücreleriyle ilişkili mezenşimden ise organın stroması ve düz kasları meydana gelmektedir (7).

Bulbo üretral Bezler:

Bezelye şeklindeki bu organlar, uretranın spongios parçasından, çift halde dışa doğru büyüyen hücrelerden gelişirler. Düz kas hücreleri ve stroma bölgedeki mezenşimden köken alırlar. Bezlerin salgısı semenle karışmaktadır (7).

2.2.3.Dış Genitalerin Gelişimi:

Her iki cinstede dış genitallerin gelişimi yedinci hafta sonuna kadar birbirlerine benzemektedir. Seksüel farklılaşma, 9. haftada ortaya çıkmaya başlarken, 12. haftaya kadar dış genitallerin farklılaşması tam olmamaktadır. Dördüncü haftadan, yedinci haftanın başlangıcına kadar dış genitaller seksüel olarak farklılaşmamıştır. Dördüncü haftanın başlangıcında, her iki cinste de kloakal membranın kranial ucunda mezenşim proliferasyonu sonucu genital tüberkül oluşmaktadır. Daha sonra kısa bir süre içerisinde kloakal membranın her iki tarafından labioskrotal şişkinlikler (genital şişkinlikler) ve ürogenital katlantılar (uretral katlantılar) gelişmektedir. Genital tüberkül hızla uzar ve bir fallus oluşmaktadır. Altıncı haftanın sonunda, ürorektal septum kloakal membran ile birleştiğinde, kloakal membran; dorsalde anal membrana ve ventralde ürogenital membrana bölünmektedir. Ürogenital membran ürogenital katlantılara bağlanmış, median bir oluk olan, ürogenital oluğun, tabanında yer almaktadır. Anal membran ve ürogenital membran bir hafta sonra yırtılırlar ve sırasıyla anüs ve ürogenital açıklık oluştururlar. Dişi fötuslarda uretra ve vagina, ortak bir boşluk olan, vagina vestibülüne açılırlar (7).

2.2.4. Erkek Dış Genitallerin Gelişimi:

Farklanmamış dış genitallerin erkek yönünde gelişmeleri, fetal testisler tarafından üretilen testosteron hormonunun etkisiyle olmaktadır. Fallus, uzayıp genişlediğinde, penisi oluşturur; penisin ventral yüzeyinde, ürogenital katlantılar, ürogenital oluğun lateral duvarlarını oluştururlar. Ürogenital oluk, ürogenital sinüsün fallik parçasından uzanan, uretral plağın endodermal hücrelerin proliferasyonu ile döşenir. Penisin ventral yüzeyi boyunca, ürogenital katlantılar, birbirleriyle birleşerek spongios uretra'yı meydana getirirler. Yüzey ektodermi penisin median hattında birleşerek penilrafe'yi oluşturur, böylece spongios uretra penis içerisinde hapsedilir. Glans penisin ucunda, ektodermal kökenli içe doğru büyüyen ve hücresel bir kordon olan glandüler (uretral) plak meydana gelir, bu oluşum penis köküne doğru büyür ve spongios uretra ile birleşir. Glandüler (uretral) plak, kanalize olarak, daha önce meydana gelen spongios uretraya bağlanır. Bu uretranın terminal parçasını tamamlar ve dış uretral açıklık, glans penis ucuna açılmış olur (7).

Glans penisin periferinde sirküler bir ektodermal içe büyüme yirminci haftada meydana gelmektedir. Bu içe büyüme kanalize olduğunda, örtücü bir deri katlantısı olan, prepusyum glans penise yapışık kalır ve genellikle doğumda geriye çekilemez haldedir. Penisin, corpus spongiosum ve corpus cavernosa kısımları, fallus mezenşiminden gelişmektedir. Labioskrotal şişkinlikler birbirine doğru büyüyerek sonuçta birleşirler ve skrotum meydana gelmektedir. Katlantıların birleşme çizgisi, skrotal rafe olarak açıkça görülür. İki vakada çok nadir bir anomali olan skrotumun agenezi (hiç oluşmaması) rapor edilmiştir (7).

2.3.ERKEK GENİTAL SİSTEM HİSTOLOJİSİ:

Erkek üreme sistemi, testisler genital kanallar, yardımcı besler ve penisten oluşmuştur. Testisler gametlerin (spermatozoonlar) meydana getirilmesi (spermatogenezis) ve steroid yapıdaki hormonların üretilmesi ile (steroidogenezis) görevlidir (10).

Herbir testis dıştan tunika vaginalis ile sarılıdır. Testislerin arka yüzünde tunika vaginalis yoktur. Kan damarları, sinirler ve lenfatik damarlar testise bu bölgeden girer ve yine organı bu bölgeden terk ederler. Spermatozoonlar, testis dokusu içinde seminifer tübül (tubulus seminiferus contortus) olarak adlandırılan tübüler yapılarda gelişmelerini sürdürürler (10).

2.3.1.Seminifer Tübüller:

Her bir seminifer tübül yaklaşık 150–250 µm çapında ve 30 – 70 cm uzunluktadır, karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşelidir. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu 250 m civarındadır. Kıvrımlı tübüller bir şebeke oluştururlar. Bu şebekedeki her tübül başlangıçta kör uçludur ve dallara ayrılır. Her bir tübül sonlanırken lümen daralır ve düz tübüller ya da tubuli rekti adıyla bilinen kısa segmentler halinde sürer. Bu düz tübüller, seminifer tübüllerin rete testis denilen, epitelyum ile döşeli kanalların oluşturduğu bir

labirente bağlanmasını sağlar. Mediastinumun bağ dokusunda bulunan rete, 10 – 20 duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmıştır. Seminifer tübüller bir fibröz bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir germinal ya da seminifer epitelden oluşur(10).

Seminifer tübülü saran fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olarak bulunan en içteki katman, düz kas özellikleri gösteren yassılaştırmış miyoid hücrelerde içermektedir(10).

Epitelyum Sertoli (*epitheliocytus sustentans*) yada destek hücreleri ile spermatogenik seriyi oluşturan iki tip hücreden meydana gelmektedir. Spermatogenik (*cellulae spermatogonicae*) seri hücreleri, bazal lamina ve tübül lümeni arasını dolduracak 4 – 8 tabaka halinde düzenlenmişlerdir. Bu hücreler birkaç bölünmeden sonra farklılaşır ve spermatozoonları oluştururlar. Bunlar erkek germ hücrelerinin sürekli farklılaşma sürecindeki çeşitli evrelerde bulunabilirler. Başlangıçtan bitişe kadar spermatogenez olarak adlandırılan bu fenomen üç faza ayrılabilir.

-Spermatositogenez:Spermatositogenez (Yun. Sperma; tohum + kytos; hücre + genesis; üretim) olarak adlandırılan evrede, spermatogonyumların bölünmeleri sonucunda oluşan hücrelerden spermatositler meydana gelmektedir.

-Mayoz:Spermatositlerin ardı ardına iki bölünme geçirerek kromozom sayılarının ve DNA miktarının eşit olarak her hücrede yarıya düşürülmesi sonucu gerçekleşen ve spermatidlerin oluştuğu evre mayoz adını almaktadır.

– **Spermiyogenez:** Spermiyogenez ise spermatidlerin özenli bir hücre farklılaşması süreci geçirerek spermatozoonları oluşturduğu safhadır (10).

2.3.2.Spermatogenezis:

Spermatogenez, bazal laminanın hemen üstüne yerleşmiş bir germ hücresi olan, spermatogonyum ile başlar. Bu, yaklaşık 12 µm çapında, nispeten küçük bir hücredir ve

çekirdeği soluk boyanan kromatin içerir. Seksüel olgunlaşmada bu hücreler bir seri mitoz geçirirler ve yeni oluşan hücreler iki yol izleyebilir (10).

Spermatogonyumların çoğu A_{is} ($A_{isolated}$) spermatogonyum olarak adlandırılan köken hücrelerdir. Bunun yanında diğer Tip A spermatogonyumlar; çoğalan ($A_{paired}=A_{pr}$ ve $A_{aligned}=A_{al}$) ve farklılaşan [A_1, A_2, A_3, A_4 ara ($Intermediet=In$) ve Tip B (B)] spermatogonyumlardır. A_{al} , kendilerini yenileyebilen hücreler olarak düşünülürler. A_{pr} ve A_{al} spermatogonyumlar, hücreler arası köprüler olarak bilinen sitoplazmik bağlantılarla diğer spermatogonyumlarla ilişki halindedirler. Hücreler arası köprüler, diğer tip spermatogenik hücrelerin ve spermatogonyum hücre gruplarının senkronize bir şekilde ilerlemesini sağlarlar. Spermatogonyum bölünme zinciri; “ $A_{is} \rightarrow A_{pr} \rightarrow A_{al} \rightarrow A_{al} \rightarrow A_{al}, A_1 \rightarrow A_2 \rightarrow A_3 \rightarrow A_4 \rightarrow In \rightarrow B$ ” şeklindedir. Her bölünme ile hücre sayısı iki katına çıkar, bununla birlikte en olgun A_{al}, A_1 hücrelerini şekillendirirken bölünme olmaz. Aralarında küçük morfolojik farklılıklar vardır. Çoğalan hücreler bundan sonra farklılaşan spermatogonyumlar olarak isimlendirilirler. Tip A_{is}, A_{pr}, A_{al} spermatogonyumlar tüm seminifer tubüllerde görülürler. A_1 'den A_2 'ye bölünme başlaması ve ardından gelen bölünmeler, seminifer tubüllerde birbirleriyle bağlantılı belli safhaların oluşmasına neden olmaktadır. Tip A, Ara tip ve Tip B spermatogonyumlar yapısal olarak birbirlerinden farklıdır. Farklılıklar genel olarak çekirdekteki kromatik miktarına göre belirlenir. Tip A'da, kromatin genelde az miktarda iken, Ara Tip'de orta derecede, Tip B'de ise çok miktarda bulunmaktadır. Spermatogonyumlar seminifer tubülün bazalinde yer alırlar. Farklılaşma fazının sonunda en olgun spermatogonyumlar genç primer spermatositleri şekillendirirler ve Tip B spermatogonyumların preleptoten spermatositleri oluş -turmalarıyla hücre siklusunun S fazına girilir. Bu yeni hücrelerin oluşumu ile mayoz bölünme başlar ve spermatositogenezis evresine girilir (11).

Tip B spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan öncül hücrelerdir. Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayotik bölünmenin profazına girerler. Bu sırada primer spermatositin 46 (44+XY) kromozomu vardır ve DNA'sı da 4 N'dir. [N

haploid kromozom sayısını (bu insanlarda 23 adettir) ya da bu kromozomlardaki DNA miktarını belirtmektedir]. Bu profazda, hücreler dört faz leptoten, zigoten, pakiten ve diploten geçirerek diakinez safhasına ulaşırlar ve sonuçta kromozomlar ayrılır. Genlerdeki “*crossing over*” mayozun bu safhalarında oluşur. Daha sonra hücre metafaza girer ve metafazı takip eden anafazda kromozomlar her bir kutba doğru giderler. Bu bölünmede profazın yaklaşık 22 gün dolayında bir süre alması nedeniyle incelenen hücrelerin büyük çoğunluğu bu fazda görülürler. Spermatogenik seride en büyük hücreler primer spermatositlerdir, bunlar çekirdeklerinde kangal yapma sürecinin değişik evrelerinde kromozomların bulunması ile tanınırlar (10).

Birinci mayotik bölünmeden sonra sekonder spermatositler denilen ve yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler oluşur. Bu sayıca azalma (46'dan 23'e) her hücredeki DNA miktarının eksilmesi (4 N'den 2 N'e) ile birlikte olur. Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin gözlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda kısa süre kalan ve çabucak ikinci mayotik bölünmeye giren hücrelerdir. Sekonder spermatositlerin bölünmesi spermatidlerin oluşmasına yol açar; bunlar 23 kromozom içerir. Birinci ve ikinci mayotik bölünmeler arasında spermatositlerde S fazı (DNA sentezi) görülmediği için ikinci bölünmeden sonra her bir hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid (1 N) hücreler meydana gelir. Böylece, mayotik sürecin sonunda haploid sayıda kromozomlara sahip hücreler oluşur. Fertilizasyonla bunlar normal diploid sayıya dönerler. Hücre bölünmesindeki indirgeyici işlev sebebiyle mayotik süreç kromozom sayısının türler için sabit, belirli bir miktarda kalmasını sağlar (10).

2.3.3.Spermiyogenez:

Spermatidlerin şekil değiştirerek olgun erkek cins hücreleri spermiyumlara dönüşmesi olayına spermiyogenezis denir. Spermatidler sekonder spermatositlerin bölünmesi ile oluşan hücrelerdir. Bunlar, 7 – 8 µm çapta olup, diğer hücrelerden küçük boyutları içeren yoğunlaşmış kromatin bölgeleri taşıyan nükleusları ve seminifer tübüllerde

lümen yakınında (*jükstaluminal*) yerleşimleri ile tanınırlar. Spermatidler spermiyogenez denen karmaşık bir farklılaşma süreci geçirirler. Bu süreçte, akrozom (Yun. akron, ekstremite + soma, gövde) oluşur, çekirdek yoğunlaşır ve uzar, flagellum gelişir ve sitoplazmanın çoğu kaybolur. Sonuçta seminifer tübülün lümenine salınan olgun spermatozoon meydana gelir (10).

Spermiyogenez : golgi fazı, akrozomal faz ve maturasyon fazı olmak üzere üç faza ayrılmaktadır.

A. Golgi Fazı: Spermatidlerin sitoplazması, nükleusun yakınında belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriler, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz endoplazma retikulumu tübülleri içermektedir. Küçük PAS (+) proakrozomal granüller Golgi kompleksinde birikirler ve bunun hemen sonrasında birleşerek membranla sınırlanmış bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granülü oluşturmaktadırlar. Sentriyoller göç ederek akrozomun olduğu bölgenin karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksonem oluşmaya başlar ve sentriyoller yeniden nükleusa doğru geri dönerken hareket ettikçe aksonemal komponentleri çevresini sarmaktadırlar (10).

B. Akrozomal Faz: Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan nükleusun ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra 'akrozom' adını alır. Akrozom, hyaluronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içermektedir. Akrozom bu yüzden lizozomun özelleşmiş bir tipi gibi iş görür. Bu enzimlerin, korona radyata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir. Bunlar henüz ovulasyona uğramış yumurtayı çevreleyen yapılardır. Spermatozoonlar ovumla karşılaştığında akrozomun dış membranı birçok bölgede plazma membranı ile kaynaşarak akrozomal enzimlerin boşalmasına yol açmaktadır. Bu işlem akrozomal reaksiyon olarak bilinir ve fertilizasyonun ilk basamaklarından birini oluşturmaktadır (10).

Akrozomal faz sırasında hücrenin akrozomu içeren ön kutbu, seminifer tübülün tabanına doğru yönelmektedir. Buna ek olarak nükleus uzar ve daha yoğun bir hale gelir. Aynı zamanda sentriyollerden bir tanesi gelişerek flagellumu oluşturmaktadır. Mitokondriler de flagellumun proksimal parçası etrafında toplanarak 'orta parça' adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur. Bu bölge spermatozoonların hareketlerinin kaynağını aldığı yerdir (10).

Mitokondrilerin bu şekilde yerleşmesi, bu organellerin hücre hareketi ve yüksek enerji tüketimi ile ilgili olan bölgelerde toplanmasına başka bir örnek teşkil etmektedir. Flagellum hareketi, mikrotübüller, ATP ve dinein denilen ATPaz aktivitesine sahip bir proteinin etkileşmesi sonucunda oluşmaktadır (10).

C. Matürasyon Fazı: Geriye kalan artık sitoplazma Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve spermatozoonlar tübülün lümenine doğru salınırlar (10).

Spermatogonyumların bölünmesi sırasında ortaya çıkan hücreler tamamen ayrılmaz ve sitoplazmik köprülerle birbirlerine bağlı kalırlar. Hücreler arasındaki köprüler, tek bir spermatogonyumdan oluşan her primer ve sekonder spermatositte spermatid arasındaki iletişimi sağlamaktadır. Hücreden hücreye bilgi aktarımına izin vermesi sebebiyle bu köprüler spermatogenezdeki olaylar zincirinin koordinasyonunda önemli bir rol oynamaktadırlar. Spermatogenez süreci tamamlandığında sitoplazma ve sitoplazmik köprülerin artık cisimcikler olarak dökülmesi ile spermatidler arasında bir ayrılma oluşturmaktadır (10).

Seminifer epitel siklusu germinal epitelde belli bir hücre evresinin ardışık iki görünümü arasında oluşan matürasyon değişiklikleri dizisini ifade eder. İnsanda her bir döngü yaklaşık 16 ± 1 gün sürer ve spermatogenez 4 döngüden sonra biter (654 ± 4.5 gün) (4).

2.3.4.Çekirdek Şekil ve Büyüklüğünün Değişmesi ile Birlikte, Kromatin Yoğunlaşması

Kuyruk gelişirken spermatid sitoplazmasındaki mikrotübülüsler, çekirdek etrafında manşet denilen bir bant oluştururlar. Manşetin oluşması ile çekirdek uzar ve akrozomla birlikte spermatidin bir kutbuna yanaşır. Buna bağlı olarak spermatid de uzamaya

başlar. Sentriyollerden bir tanesi gelişerek flagellum olur. Mitokondriona flagellum proksimal parçası etrafında toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeye yerleşir (10).

Geri kalan spermatid sitoplazma artıkları semnifer tübül lümenine salınır ve Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir (10).

Spermiyumlar hareketli olup baş ve kuyruktan oluşurlar.

Baş 4-5 mikrometre uzunlukta 2.5-3.5 mikrometre genişliğinde oval şekillidir. Büyük bir kısmı çekirdek oluşturur. Kromatini yoğun olup hacimce küçülmüştür. Bu spermiyuma hareketlilik kazandırır (10).

Kuyruk 55 mikrometre uzunluktadır. Kalınlık ve tabakalanma farklılığıyla 4 parçadan oluşmuştur. Bunlar:

Boyun: Kısa bir parça olup segmentli kolonlardan oluşan bağlantı parçası ve proksimal sentriyolden yapılmıştır.

Orta Parça: Kuyruğun 9+9+2 mikrotubul düzenini dairesel olarak saran ve ucuca düzenlenerek bir halka oluşturmuş mitokondriyon tabakasından yapılmıştır. Orta parçanın uzunluğu 5-7 mikrometre dir.

Esas Parça: 45 mikrometre uzunluğunda 0.5 mikrometre kalınlığındadır. Bu parça 9+0+2 mikrotubul düzenini kapsar. Elektron mikroskopta, kuyruğun enine kesiti incelendiğinde dorsal ve ventral uzunluğuna düzenlenmiş kolonlar izlenir. Bu uzunluğa kolonlar, her biri yarım yol seyreden iki dairesel çubukla birbirlerine bağlanırlar. Dorsal kolondan başlayan ikinci dairesel çubuk yine yarım yol döndükten sonra dorsal kolona bağlanır.

Bu yapı enine kesitlerde büyük ve küçük iki kompartmana bölünmüş olarak gözlenir. Küçük kompartmanda 3, büyük kompartmanda 4 kalın koyu dış fibril bulunur.

Son parça: Esas parça kuyruğun ucuna 5-7 mikrometre kala sona erer.

Bu noktanın distalinde kalan kısım, son parçadır. Son parçada ortada aksonem ve üzerinde hücre zarı bulunur.

Spermiyogenesis, çoğunlukla, seminifer tübüllerdeki Sertoli hücrelerinin apikal girintilerinde geçmektedir. Spermiyumların Sertoli hücrelerinden atılması olayına spermiyasyon denir.

Spermatogonyum bölünmesi sonucu oluşan hücreler tamamen ayırmaz ve sitoplazmik köpüklerle birbirlerine bağlı kalırlar (10).

2.3.5. Sertoli Hücreleri:

Sertoli hücreleri spermatogenik serideki hücreleri kısmi olarak saran uzamış pramidial hücrelerdir. Sertoli hücrelerinin tabanları bazal laminaya tutunur, apikal uçları ise sıklıkla seminifer tübülün lümenine uzanır. Işık mikroskopta, Sertoli hücrelerinin sınırları belirsiz olarak görülmektedir. Çünkü bunların spermatogenik seri hücrelerini çevreleyen çok sayıda lateral uzantıları bulunmaktadır. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda ise, hücrelerin bol miktarda düz endoplazma retikulumu, bir miktar kaba endoplazma retikulumu, iyi gelişmiş golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondri ile lizozomlar içerdiği gösterilmiştir. Sıklıkla üçgen biçiminde olan uzamış çekirdek çok sayıda kıvrımlar, belirgin bir çekirdekçik ve az miktarda heterokromatin görülür (10).

Bitişik Sertoli hücreleri birbirlerine spermatogonyumlar seviyesinde sıkı (*zonula okludens*) bağlantılarla bağlanmışlardır. Bu spermatogonyumlar, içine kanda bulunan materyallerin serbestçe girebildiği bazal bölmede yerleşirler. Spermatogenez sırasında spermatogonyum serisi, bu bağlantılardan bir yolunu bulup geçerek adluminal bölmeye çıkarlar. Burada spermatogenezin daha ileri dönemleri kandan gelen ürünlerden bir kan-testis bariyeri ile korunurlar. Bu bariyer Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar ile oluşturmaktadır. Spermatositler ve spermatidler Sertoli hücrelerinin apikal ve lateral kenarlarındaki derin girintilerde yerleşmişlerdir. Spermatidlerin flagellar kuyrukları geliştikçe bunlar Sertoli hücrelerinin apikal uçlarından çıkan püsküller şeklindeki çıkıntılar

halinde görülmektedirler. Sertoli hücreleri “*gap junction*” denilen birleşmelerle de ilişki kurar ve bu yolla hücrelerin iyonik ve kimyasal alışve rişi sağlanır. Bu da seminifer epitelyum siklusunun koordinasyonunda önemli olabilmektedir (10).

1-Gelişmekte olan spermatozoonların desteklenmesi, korunması ve beslenmesinin sağlanması,

2- Fagositoz,

3- Sekresyon,

4- Anti-müllerian hormon üretimi,

Sertoli hücrelerinin dört önemli fonksiyonudur.

Gelişmekte olan spermatozoonların desteklenmesi, korunması ve beslenmesinin sağlanması: Spermatogenik seri hücreleri birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlanmış olduklarından, bu hücreler şebekesi fiziksel olarak yaygın sitoplazmik Sertoli hücre dallanmaları ile desteklenir. Spermatisitler, spermatidler ve spermatozoonlar kan testis bariyeri ile kan desteğinden izole edildiği için, bu spermatogenik hücreler besin maddelerinin ve metabolitlerin alınıp verilmesinde Sertoli hücrelerinin aracılığına muhtaçtırlar. Sertoli hücre bariyeri gelişen sperm hücrelerini immünolojik saldırıdan da korur (10).

Fagositoz: Spermiyogenez sırasında fazla spermatid sitoplazması artık cisimcikler şeklinde dökülür. Bu sitoplazmik parçacıklar fagosite edilir ve Sertoli hücre lizozomları tarafından yıkılırlar (10).

Sekresyon: Sertoli hücreleri, sürekli olarak seminifer tübüllere genital kanallar yönünde akan ve sperm taşınımı için kullanılan bir sıvı salgılamaktadırlar. Androjen bağlayıcı protein sekresyonu Sertoli hücreleri tarafından folikül stimule edici hormon (FSH) ve testosteron kontrolü altında gerçekleştirilir. Bu protein, seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaşmasını sağlamaktadır. Sertoli

hücreleri, testosteronu östradiyol haline çevirebilmektedirler. Bu hücreler aynı zamanda, anterior hipofiz bezinden FSH sentez ve salınmasını önleyen 'inhibin' adı verilen bir peptid salgılamaktadırlar (10).

Anti-Müllerian Hormon Üretimi: Ayrıca Müllerian inhibe edici hormon olarak da isimlendirilen bu hormon embriyonik gelişme sırasında erkek fetusta Müller (paramezonefrik) kanallarının gerilemesini sağlayan bir glikoproteindir. Testosteron ise Wolf (mezonefrik) kanallarından köken alan yapıların gelişmesini sağlamaktadır.(10)

Sertoli hücreleri insanda ve diğer hayvanlarda üreme periyodu süresince bölünmezler. Bu hücreler, özellikle enfeksiyon, kötü beslenme, x-ışını irradasyonu gibi olumsuz koşullar ve bu koşulların zararlı etkileri karşısında spermatogenik seri hücrelerine göre çok daha dayanıklıdırlar. Memelilerde spermatozoonların salınımı muhtemelen hücre hareketlerinin bir sonucudur; bu hareket Sertoli hücrelerinin apeksinde bulunan mikrotübüller ve mikrofilamentler ile sağlamaktadır (10).

2.3.6.İnterstisyel Doku:

Testisin seminifer tübülleri arasındaki boşluklar bağ dokusu birikintileri, sinirler, kan ve lenfatik damarlarla doldurulmuştur. Testiküler kapillerler pencereci olup, kan proteinleri gibi makromoleküllerin serbestçe geçmesine izin vermektedirler. İnterstisyel alandaki lenf damarlarının oluşturduğu yoğun şebeke, bu organdan alınan interstisyel sıvı ile lenf sıvısının bileşimindeki benzerliği açıklamaktadır. İnterstisyel bağ dokusu fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar çeşitli hücre tipleri içerir. Embriyonal gelişim sırasında bir diğer hücre tipi belirgin hale gelerek, yuvarlak ya da poligonal şekilli olan merkezi bir nükleusu ve küçük lipid damlacıklarınca zengin eozinofilik bir sitoplazması bulunan bir hücreyi oluşturmaktadır. Steroid salgılayan hücre özelliklerini gösteren bu hücreler, testisin interstisyel ya da Leydig hücreleridir. Bu hücreler, sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu

üretmektedirler. Testosteron sentezi mitokondri ve düz endoplazma retikulumunda bulunan enzimlerce gerçekleştirmektedir (10).

İnterstisyel hücrelerin hem aktiviteleri ve hem de miktarları hormonal uyarımlara bağlıdır. İnsanda hamilelik sırasında üretilen plasental gonadotropik hormon, maternal kandan fetusa geçmekte ve androjenik hormonları üreten bol miktardaki fötal testikül interstisyel hücreleri uyarmaktadır. Hormonların bulunması embriyonik farklılaşmada erkek genital organlarının gelişmesi için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler, hamileliğin 4 ½ ayına kadar tamamen farklılaşmış olarak kalır iken ; bundan sonra testosteron sentezinde görülen bir azalma ile birlikte sayıca azalır. Daha sonra gebelik boyunca ve hipofizden salınan luteinizan hormon uyarımı altında testosteron sentezini yeniden yapmaya başladıkları prepubertal döneme kadar dinlenmede kalmaktadırlar (10).

Spermatogenez üzerinde en önemli etkiyi endokrin faktörler oluşturur. Spermatogenez, hipofizin folikül stimulan (FSH) ve luteinizan hormonlarının (LH) testikül hücreler üzerindeki etkilerine bağlıdır. Luteinizan hormon interstisyel hücreler üzerine etki ederek spermatogenik seri hücrelerinin normal gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını uyarmaktadır. FSH'un ise sertoli hücrelerine etkiyerek adenilat siklaz yapımını uyardığı ve sonuçta siklik adenozin monofosfat (cAMP) artışına yol açtığı ve aynı zamanda da androjen bağlayıcı proteinin (ABP) sentez ve salgılanmasını sağladığı bilinmektedir. Bu protein testosteron ile bağlanır ve bunu seminifer tübüllerin lümenine taşır. Spermatogenez testosteron ile uyarılmakta, östrojenler ve progestojenlerle inhibe edilmektedir (10).

2.3.7.Kan – Testis Bariyeri:

Kan ile seminifer tübüllerin iç bölgesi arasında bir bariyerin bulunması testikül sıvı içine kandan çok az maddenin geçmesini açıklamaktadır. Testikül kapillerler pencere tiptedir ve büyük moleküllerin serbest olarak geçişine izin vermektedirler. Erkek germ

hücrelerinin kandan gelen zararlı ajanlara karşı korunmasında önemli olan bu bariyer, Sertoli hücrelerinin arasındaki tıkaçıcı bağlantılar ile oluşturmaktadır.

Seminifer tübüller arasındaki intersitisiyel doku içerisinde fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, kan damarları, ince kollıojen ve retikulum lifleri bulunur.

Kan damarları çevresinde 14-21 mm büyüklüğünde poligonal şekilli intersitisiyel ya da Leyding hücreleri yer alır.

Bu hücreler testisin endokrin salgısı olan testosteronu oluştururlar. Leydig hücrelerinde çekirdek genelde bir ya da iki çekirdekçik içerir. Bu hücreler steroid sentez ederler ve salgılayan hücelere özgü sitoplazmik organel ve inklüzyonları kapsar.

Leydig hücrelerinin en önemli yapısal özelliklerinden biri de sitoplazmalarında Reinke kristalloidlerini içermekleridir (10).

2.4.TESTİS ANATOMİSİ:

Testis scrotum içinde yer alan ve erkek üreme hücrelerinin (spermium) yapıldığı organdır. Testis'ler bir çift olup yumurta şeklindedir. Her bir testis'in facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü, margo anterior ve margo posterior olmak üzere iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere iki ucu vardır (12).

Testisler funiculus spermaticus aracılığı ile scrotum içinde asılı durumdadır. Sol testis sağ testis'e göre genellikle 1 cm daha aşağıda bulunmaktadır (12). Testisin her biri yaklaşık 10 – 14 gr ağırlığındadır (13).

Testisler elips şeklinde olup scrotum içinde oblik pozisyonunda durmaktadır. Testislerin üst ucunda appendix testis adı verilen küçük, yassı bir yapı görülmektedir. Bu yapı para mesonephric kanalın üst ucunun kalıntısıdır. Testislerin arka kenarlarının dış kısmı boyunca epididymis yer alır; funiculus spermaticus da, epididymis'in medialinde olmak üzere, margo posterior'da bulunur. Testislerin ön kenarı, her iki yüzü ve uçları visseral

periton (*epiorchium*) ile örtülüdür. Periton arka kenarı sadece lateral kısmını örtmektedir (13).

Intrauterin hayatta karın boşluğunda yer alan testis doğumdan hemen önce canalis inguinalis'ten geçerek scrotum'a inmektedir. Bu geçiş sırasında karın boşluğunda kendisini saran periton kesesini (*processus vaginalis*) de beraberinde taşımaktadır. Doğumdan sonra procesus vaginalis periton boşluğuyla ilişkisini keserek tunica vaginalis ismini alır. Tunica vaginalis'in scrotum'un iç yüzünü döşeyen lamina parietalis (*periorchium*) ve testis'in üzerini örten lamina visceralis (*epiorchium*) olmak üzere iki tabakası vardır. Bu iki tabaka arasında, çok az miktarda seröz sıvı bulunmaktadır. Testis'e gelen ve testis'ten çıkan damar ve sinirler de testis'in scrotum'a inişi sırasında onu takip ederler. Bu oluşumlar bir araya gelerek funiculus spermaticus adı verilen bir kordon meydana getirmektedirler. Funiculus spermaticus içerisinde, ductus deferens, a. v. testicularis, a. ductus deferentis, a. cremasterica, n. genitofemoralis'in genital dalı, otonomik sinirler ve lenf damarları yer almaktadır(12). Tunica vaginalis testis'in iç tarafında da, testisleri saran iki tabaka daha vardır. Bunlar tunica vaginalis testis'ten derine doğru tunica albuginea ve tunica vasculosa olarak sıralanırlar (13).

Tunica albuginea, testisleri örten kalın, fibröz bir tabakadır. Elastikiyeti ve genişleme özelliği olmayan bu tabaka, margo posteriordan testis içine sokularak vertikal, mediastinum testis denilen bir bölme oluşturmaktadır. Mediastinum testis, testis'in extremitas superior'undan extremitas inferior yakınına kadar uzanmaktadır. Mediastinum testis'in ön ve yan kısmından çıkan uzantılara septula testis adı verilmektedir. Bu uzantılar, testis parankiminden geçerek tunica albuginea'nın iç yüzüne ulaşmakta ve böylece testis'i koni biçiminde lobuluslara (*lobuli testis*) bölmektedir. Testis parankimini, lobuli testis içinde bulunan kıvrımlı şeklinden dolayı 'tubuli seminiferi contonti' adı verilen kanalcıklar oluşturmaktadır. Her bir testis kanalcığı, mediastinum testis yakınında tubuli seminiferi recti adı verilen düz bir kanalcıkla uzanmaktadır. Bütün lobuluslardan gelen bu kanalcıklar, mediastinuma sokulmakta ve burada 'rete testis' denilen ağı oluşturmaktadır. Lobuli

testis'lerde yapılan spermium'lar rete testis'ten ductuli efferentes testis adı verilen kanallar aracılığıyla epididymis'e gelmektedir (13).

Tunica vasculosa, testis'in damar ağından oluşan ve tunica albuginea'nın iç yüzünü örten tabakasıdır. Bu tabaka, tunica albugineanın uzantısı olan septula testislerin iç yüzünü kapladığı için lobuli testis'lerinde etrafında bir tabaka oluşturmaktadır (13).

Arterler: Testis'in arteri aorta abdominalis'den gelen a. testicularis'dir.

Venler: Ductus deferens çevresinde plexus pampiniformis denilen ven ağını yaparlar. Bu ağdan önce iki, sonra birer vena testicularis oluşur. V. testicularis dextra, v. cava inferior'a; v. testicularis sinistra, v. renalis sinistra'ya drene olur.

Lenfatikler: Lenf damarları funiculus spermaticus içinde yükselir. Nodi lymphatici preaortici ve nodi lymphatici aortici laterales'te sonlanır.

Sinirleri: Testisleri innerve eden simpatik lifler 9–12 torakal spinal segmentlerinden çıkar. Testis'in vagal sitümlasyon olması, fetal hayatta, böbreğin hemen altında olmasından kaynaklanmaktadır (14).

2.5.EPIDİDYMİS:

Testisin üst kenarında önden arkaya doğru uzanan ve biraz da dış yan yüze taşan bir organdır (15).

Epididymis üç parçaya ayrılır.

1. Baş (caput). Ön ve şişkin parça,
2. Gövde (corpus). Orta parça,
3. Kuyruk (cauda). İnce ve arka parça.

Epididymis 5 cm uzunluğundadır. Baş kısmının yüksekliği ve genişliği 10-12 mm'dir. Gövde ve kuyrukta genişlik 1 cm'dir. Kalınlık ise gövdede 5 cm; kuyrukta 3 cm'dir.

Epididymis başı, büyükçe yuvarlak olup alt yüz ile testisin arka kenarının ön kısmına oturmuş ve ona efferent kanallarla gevşek bağ dokusu ve tunica vaginalis testis ile birleşmiştir. Tunica vaginalis testis'in lamina visceralis'i epididymis başının ön ve yanlarını sardıktan sonra aşağıda testis üzerine atlar. Bazen epididymis başının önünde ona yapışık ve başlangıcında dar, sonra çıkmaz şeklinde sonlanan ve embriyolojik büyüme devrine ait bir artık olan küçük bir cisimcik (*Appendix epididymidis*) görülür (15).

Epididymis gövdesi alt, iç yan, dış yan olmak üzere üç yüz gösterir.

Alt yüz lamina visceralis ile örtülü dış yan yüzünün yukarı ve orta bölümü arasında epididymis sinüs (*sinüs epididymis*) vardır. Dış yan yüz tunica vaginalis'in lamina visceralis ile örtülüdür, iç yan yüz bu zarla örtülü olmayıp bu yüzü çaprazlayan sperma kordonun damarları ile komşudur (15).

Epididymis kuyruğu, yukarıdan aşağıya basıktır. Üst yüzünün dış yan kısmı epiorchium ile örtülü, iç yan kısmı ise funiculus spermaticus ile komşudur. Alt yüzü fibröz bir doku ile testisle birleşmiştir, içyan kenarı, testis damarı ile komşudur.

Arka ucu; epiorchium dışında ductus deferens ile uzanır. Aynı zamanda scrotuma scrotal bağ ile bağlıdır (15).

Epididymis birbiri üzerine bükülmüş epididym kanalı (*Ductus epididymidis*) adı verilen bir kanaldan oluşmuştur. Epididymis kanalı eğriliğini birleştiren sıkı bir bağ dokusu vardır. Bu doku epididymis'in çevresini saran tunica albugineanın uzantılarıdır. Epididymis 6-7 m uzunluğunda 0.4 mm çapındadır. Epitelden sonra yapısında çizgili kaslan bulundurur (15).

Ductus epididymis Ductus Deferens ile devam eder.

Ductus deferens (*vas deferens*): Başlangıçta çok kıvrımlıdır. Ancak giderek düzleşir. Testisin arka kenarı ve epididymis'in iç yan boyunca yükselir (Pars epididymica). Testisin üst ucunda funiculus spermaticus'un arka kısmından yukarıya doğru ilerler (pars funicularis). Canalis inguinalis'den geçer (pars inguinalis). Vesicula seminalis'in üst ucu ve

vesicula urinaria'nın arka yüzü arasında içe ve hafif önce doğru uzanır. Pelvis dışı duvarı periton arasında arkaya doğru devam eder. Sonra üreteri çaprazlayarak vesicula seminalisin iç tarafında uzanırken yönü aşağıya ve içe doğrudur vesicula seminalis kanalı (*ductus excretorius*) ductus deferens'in ampulla parçasını (*ampulla ductus deferentis*) izleyen son bölümü birleştikten sonra prostat içine sokularak ductus ejaculatorius' u oluştururlar (15).

Duktus ejakulatorius: 2 cm uzunluğundadır. Prostat tabanından başlar, öne ve aşağıya ilerler. Utriculus prostaticus'un yan taraflarına geçer. Utrikulus prostaticus deliğinin kenarlarına ya da yarık şeklinde delikler ile colliculus seminalis üzerinde ürethraya açılırlar. Uretra penis ucunda ostium uretra externum ile dışarıya açılır (15).

Funiculus spermaticus: 15-20 cm uzunluğunda bir kısmı inguinal kanalın içinde bir kısmı inguinalis superficialisten testisin üst ucuna kadar uzanan parmak kalınlığında bir kordondur. Funiculus spermaticus yapan oluşumlar şunlardır: A. testicularis ve çevresinde bulunan plexus testicularis, arteria ductus deferentis, plexus pampiniformis, nervus genitofemoralis'in genital dalları, ductus deferens ve bu kanalı saran plexus ductus deferentis ve lenf damarları. Bu oluşumlar gevşek bağ dokusu ile bağlı dışarıdan kas demetleri ve zarlarla sarılıdır. Zarlardan içte olanı fascia transversalis abdominis'in devamı olan fascia spermatica interna, testis üst ucu yüksekliğinde periorciumla yapışır ve bu zarla birleşir. Bunun dışında musculus transversus abdominis ve musculus abliquus abdominis internus'tan ayrılarak testislerin inmesi sırasında beraber aşağıya sürüklenen musculus cremaster denilen kas demetleri vardır (15).

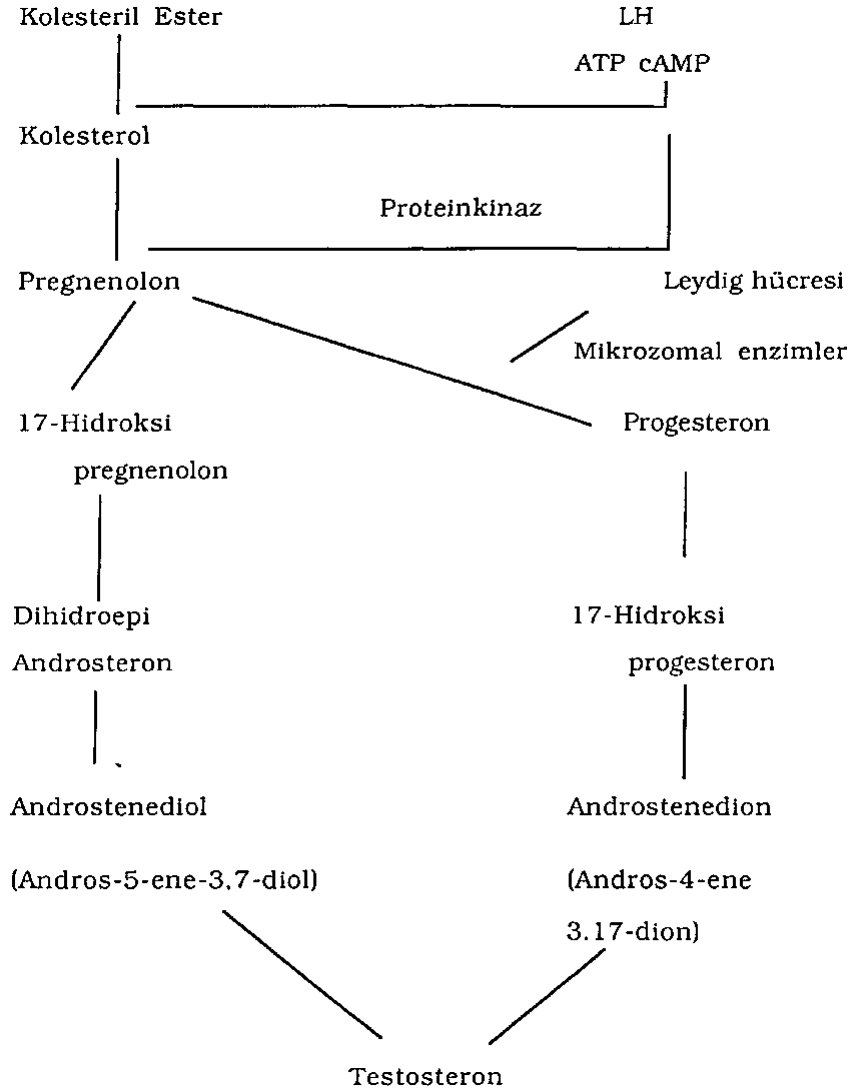
Musculus cremaster testislere kadar uzanır ve testisin her tarafını sarar. Funiculus spermaticus'u dıştan saran ve fascia cremasterica denilen fascia karın öndüvarının dış fascia'sının devamıdır (16).

2.6. TESTİS FİZYOLOJİSİ

Çeşitli dokulann aktiviteleri ve birbirleri ile olan ilişkiler sisteminin ve endokrin sistemin hücreleri tarafından salgılanan ve sentezlenen hormonlar olan kimyasal habercilerin kontrolü altındadır (16).

Erkeklerde esas üreme işlevi spermiyum'un (spermato zoon) oluşturulmasıdır. Bu da testislerde olur. Testis ayrıca erkek cinsiyet hormonu olan testosteronu yapar. Spermatogenezis için testosteron hormonuna gereksinim vardır. Testosteron intersitisiyel dokuda bulunan Leydig hücrelerince salgınır (16).

Testislerdeki Leydig hücre sayısı çocuklarda azdır. Ancak yeni doğanda ve püberteden sonra erkeklerde son derece fazladır. Bu dönemlerde testisler büyük miktarda testosteron salgırlar. Bu hormon Leydig hücrelerinde kolesterolden sentezlenir (16).



Testosteron progesteron yoluyla 17 hidroksi progesterondan da sentezlenir. Ancak insanlarda bu yoldan sentez azdır (16).

2.7.LEPTİN

Jackson laboratuvarı 1950'de, önce ob/ob olarak adlandırılan otozomal resesif bir mutasyon keşfetti. Bu mutasyon; erken yaşlarda ciddi obezite, hiperfaji, diyabet ve enerji tüketiminde azalmaya sebep olmaktadır. Kennedy ve arkadaşları 1953 yılında, vücut yağ dokusu depolarının durumunu beyine bildirerek enerji alımını ayarlayan, yağ dokusunda

yapılan ve dolaşıma verilen bir faktörün var olduğunu ileri sürdüler. Hervey, 1958 yılında kobayların dolaşımında doyumluk veren bir faktörün varlığını gösterdi. Daha sonra 1990 yıllarına kadar genetik açıdan şişman sıçanlarda, özellikle otozomal resesif kalıtımla geçen ob (obese) ve db (diabetes) genlerindeki mutasyonlar üzerinde çalışmalar yapıldı. Söz konusu mutasyonlar birbirinden farklıdır. Fizyolojik deneylerden alınan sonuçlar, ob/ob sıçanlarının doyma sağlayan faktörlerden yoksun olduklarını göstermiştir. db/db sıçanlarda ise doyma sağlayan faktör bol miktarda olduğu halde bu faktörün etkisine direnç vardır. Bu doyma sinyali veren faktör 1994 yılında 'leptin' olarak adlandırılmıştır. Rockefeller Üniversitesinden Jeffrey Freedman'ın ekibi 1994'de ob genini ve ob geninin ürünü leptini kodlayan geni klonladılar (2,17,18).

Leptin; Yunanca ince, zayıf anlamına gelen leptos kelimesinden türetilmiştir. Obezite ile savaş anlamına da gelmektedir. İlk kez 1994 yılının sonunda adiposit kökenli sinyal faktörü olarak tanımlandı. Bu faktörün reseptörleriyle etkileştikten sonra vücut ağırlığı ve enerji tüketiminin kontrolü gibi karmaşık bir yanıtı uyardığı, ayrıca üreme ve nöroendokrin sinyal oluşumunda da önemli fonksiyon gördüğü bildirildi (3,19). 1995'de leptinin moleküler yapısının keşfedilmesi endokrinolojide önemli bir gelişme olmuştur (20,21).

Leptin, 1994 yılında keşfedildikten sonra üzerinde geniş incelemeler yapılmış hormonal bir proteindir. Başlangıçta doyumluk ve enerji dengesi ile ilgili olduğu tanımlanan leptinin adipositlerden hipotalamusa geri bildirim yolu ile etki eden antiobezitan bir faktör olduğu ileri sürülmüştür. Elde edilen kanıtlar, hem hayvanlarda hem de insanlarda vücut ağırlığı ve yiyecek alışları düzenlenmesinde çok önemli bir hormon olan leptinin önemini vurgulamaktadır (1). Diğer araştırma sonuçlarına göre leptin, metabolizmanın düzenlenmesinde, cinsel gelişmede, üremede, hematopoiesizde, immünitede, gastrointestinal fonksiyonlarda, sempatik aktivasyonda ve anjiogenezde rol oynamaktadır (5,22,23,24,25,26,27,5, 28,29,30,31,32,33,34).

İnsan fizyolojisinde leptinin rolü gittikçe daha fazla açıklık kazanmaktadır. İnsanlarda yiyecek alımı ve obezitede, enerji dengesinin düzenlenmesinde, pubertenin başlangıcının kontrolünde, hipotalamik – pituitar fonksiyonların düzenlenmesinde ve insülin direncinde önemli roller oynamaktadır (2,3). İlave olarak, otonomik sistem, kardiyovasküler ve üriner sistem çalışması üzerine etkilidir. Ayrıca leptin hematopoeziz üzerine önemli bir görev üstlenmektedir (35,36,37,38,39,40,41,42,43,44,45,46,47). Yukarıda sayılan etkiler pek çok hayvan araştırması ile tesbit edilmiş olmakla beraber (37), insanlardaki etkileri halen çok açık değildir (48).

2.7.1.Leptinin Yapısı:

Leptin 167 aminoasitlik bir proteindir (19). Sıçanlarda 6 nolu kromozomda bulunan ob geni, insanlarda 7'nci kromozomun uzun kolunun 31'nci (7q31) bölgesinde bulunmaktadır. Bu genin DNA'sı 15000 baz çifti içermekte ve protein sentezini yöneten ana kodlama bölgelerini kapsayan 3. ekzonlarda yer almaktadır. İnsan ile sıçan leptini % 84 homoloji göstermektedir. Ya serbest halde ya da leptin bağlayıcı proteine bağlı olarak plazmada dolaşmaktadır. Leptin mRNA ekspresyonu dokuya özeldir. Çünkü leptin mRNA ekspresyonu sadece beyaz adipoz dokuda yüksek düzeyde bulunmaktadır. Leptin kahverengi dokudaki düşük düzeyde bulunmakta ve ekspresyonu muhtemelen beyaz yağ doku ile kontaminasyonuna bağlı olmaktadır (3,17,19,49).

2.7.2.Leptin Reseptörleri, İşlevi ve Klerensi:

Leptin araştırmasında önemli bir aşama leptin (ob) geninin klonlanmasından yaklaşık bir yıl sonra (1995'te) leptin reseptörünün (Ob-R) tanımlanmasıdır. Leptin reseptörü sınıf I sitokin reseptörüdür. Leptin reseptörü ekstraselüler, transmembran ve intraselüler zincirden oluşur. Ekstraselüler reseptör zinciri olan leptin reseptörü bağlayıcı protein gibi işlev görür (50). Leptin reseptörü (Ob/Rb) ilk kez fare koroid pleksüsünden 'ekspresyon-klonlanma' ile izole edilmiş ve sitokin reseptör ailesinin bir üyesi olarak tanımlanmıştır. Leptin reseptörlerinin değişik intraselüler bölgeye sahip izoformlarının

varlığı gösterilmiştir. Bilinen leptin reseptörlerinin tümü aynı tek genin varyantlarıdır. Leptinlerin uzun izoformları (Ob/Rb) sinyal transdüksiyonu kapasitesine sahiptir. Leptinin sinyali gerçekleştiren bu formu en çok hipotalamusta (arkuat nukleus nöronlarında) ve çok az olmak üzere diğer dokularda bulunur. Leptinin kısa form reseptörleri (Ob/Ra) ise intrasellüler sinyal için gerekli olan bölümün çeşitli segmentlerini veya tümünü taşımazlar. Bu nedenle de sinyal mekanizmasında çok az iş görürler (sinyal taşıma kapasiteleri çok azdır). Ob/Ra reseptörleri böbrek, akciğer, koroid plexus ve beyin kapillerlerinde yoğun olarak bulunur. Beyin kapillerleri ve koroid pleksüste Ob/Ra izoformlarının yoğun ekspresyonu, kısa form reseptörlerin leptinin MSS'ne transportunda önemli rol oynadığını gösterir. Ob-Ra formunun leptini beyne taşınmasında rol aldığı ancak leptin taşınmasında bu genetik faktörler yanında çevresel (örn. diyet) faktörlerin de rol aldığı ileri sürülmektedir (51).

Leptin metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sisteminde ve periferik dokularda (akciğer, böbrek, karaciğer, pankreas, adrenal bezler, overler, hematopoietik hücreler) bulunan özel reseptörlerle etkileşerek göstermektedir. Reseptör leptin sinyalini Janus protein tirozin kinaz 2 (JAK proteinler) ile 3, 5, 6 sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörlerine (*Signal transducer and activators of transcription 3, 5, 6 = STAT 3, 5, 6*) iletmektedir. Bu STAT alt grubuna “yağ-STAT’ları” denir. Bu reseptör karmaşık bir gen tarafından kodlanmakta ve diyabete yatkın db/db sıçanında, Zuckor şişman sıçanında (fa/fa), obez hale gelen Koletsky sıçanında mutasyona uğrarken, ob/ob sıçanlarında mutasyon bulunmamaktadır (17,19).

Leptinin reseptörüne bağlanması hem reseptörde ve hem de reseptörle ilişkili Janus kinazlarda (JAK) farklılaşmayı indüklemektedir. Bu olay reseptörün sitoplazmik kısımlarındaki tirozin (Y) bölgelerinin fosforilasyonunu sağlamakta ve STAT proteinleri için fosfotirozin bağlanma yerleri oluşturmaktadır. Bu şekilde STAT proteinleri hem reseptör hem de dimer oluşturmak üzere başka bir STAT proteinine bağlanmaktadır. Fosforilasyondan sonra bu STAT proteinlerindeki tirozin bölgeleri reseptörden ve

dimerlerden ayrılır ve böylece transkripsiyonel düzenleyicileri (STAT proteinleri) aktif e olur. Nukleusa taşındıktan sonra bunlar STAT'a yanıt veren molekülere ve DNA'ya bağlanırlar ve yanıtlayıcı hedef genlerin transkripsiyonunu uyarırlar (19).

Leptin, spesifik leptin reseptör izoformlarını aktive ederek etkisini göstermektedir. İki ayrı formda leptin reseptörü izole edilmiştir. Uzun formdaki reseptörlerinin yiyecek alımını ve enerji metabolizmasını düzenleyen hipotalamusda yerleştiği ve bu reseptörün birincil olarak leptin sinyalizasyonunda etkili olduğu düşünülmektedir. Uzun reseptör izoformu, büyük bir ekstrasellüler kısım, kısa bir hidrofobik transmembran kısım ve oldukça kısa intrasellüler kısım olmak üzere üç farklı yapıya sahiptir. Leptin reseptör geni, db genine yakın bir yere yerleşmiştir. db/db sıçanları, uzun reseptör formunun ek spresyonunu önleyen bir mutasyona sahiptir. Bu mutasyon, leptin reseptörünün intrasellüler kısmının sentezlenmemesine neden olmaktadır. Böylece anormal yapısı olan reseptör sentezlenmektedir. Bu anormal reseptör formu JAK-STAT şeklinde sinyal göndermeye elverişli değildir. Bu yüzden uzun reseptör izoformu leptin sinyalizasyonu için mutlaka gereklidir. Uzun reseptör formu insanlar da da vardır ve henüz önemi anlaşılamayan baz dizisi polimorfizmlerine sahiptir (3,17).

Kısa reseptör izoformunda reseptörün hidrofobik transmembran kısmı bulunmamaktadır. Bu izoform muhtemelen leptin reseptörünün çözülebilir bir formudur. Ekspresyonu beyinin koroid pleksus ve leptomeninks gibi alanlarında çok fazladır. Burada leptinin kan - beyin veya kan - serebrospinal sıvı bariyerinden alınmasına yardımcı olmaktadır (2,17,52). Leptin hücreye mesaj taşır. Koryonik pleksusta, 34 aa lik küçük bir sitoplazmik bölgede küçük bir leptin reseptörü tespit edilmiştir. Bu boyuttaki leptin reseptörü kan beyin bariyerinin ötesine mesaj taşımak için kullanılıyor olmalıdır. Hipotalamusta 302 aa'lık daha büyük bir reseptöre bağlanarak nöropeptid Y üretimini azaltmaktadır. Daha büyük leptin reseptörleri, janus kinaz üzerinden mesaj iletirler (36,41,46,53,54).

Leptin reseptörleri hipotalamus, serebellum, korteks, hipokampus, talamus, koroid pleksus ve beyin kapiller endotelyumu gibi birçok beyin alanlarında bulunmaktadır. Leptin reseptör izoformları kemirgenlerde ve insanda çok çeşitli dokularda gösterilmiştir. Kalp, plasenta, akciğer, pankreas, dalak, timus, prostat, testis, over, ince barsak ve kolon leptin reseptörünün varlığının gösterilmiş olduğu dokulardır. Leptinin ve leptin reseptörünün yapılarının sitokine olan benzerlikleri nedeniyle, leptin bir sitokin olarak da sınıflandırılabilir. Leptinin yapısı interleukin IL-6 ve IL-11 ile benzerlik gösterirken, leptin reseptörü de IL-6 reseptörü ile homoloji göstermektedir (55).

Kan beyin bariyerini oluşturan beyin kapillerlerinde Ob/Rc ve Ob/Rf reseptörlerinin de varlığı gösterilmiştir. Ancak beynin çeşitli bölgelerindeki Ob/Rc Ob/Rf reseptörlerinin dağılımının Ob/Ra reseptörlerinin dağılımından farklı olduğu saptanmıştır. Ob/Rc ve Ob/Rf reseptörlerinin olası işlevleri hakkında hemen hemen hiçbir bilgi yoktur. Ob/Rc beyin kapillerleri ve koroid pleksüste Ob/Ra kadar hatta daha yoğun bulunur. Bu da çeşitli maddelerin MSS'ne taşınmasında önemli iki yol olan kan-beyin bariyeri ve kan-serebrospinal sıvı bariyerinden leptin taşınmasında Ob/Rc'nin de rolü olduğunu düşündürür. Ayrıca Ob/Rc'nin korteks ve serebellumda da bulunması, bu reseptörlerin Ob/Ra reseptörlerinden farklı veya ek bazı fonksiyonlar yüklenmiş olabileceğini gösterir. Ob/Rf mRNA ekspresyonu ise Ob/Ra ve Ob/Rc ye göre daha azdır. Bu bakımdan beyin hücrelerindeki rolünün daha önemsiz olduğu kabul edilir (51).

Leptin reseptörlerinin hipotalamik çekirdek gruplarında bulunmaları, leptinin vücut ağırlığının kontrolü beslenme ve aynı zamanda nöroendokrin fonksiyonların düzenlenmesinde görev yaptığını gösterir. Ancak leptinin ekstrapitüer talamik dağılımı talamus ve serebellumdaki yerleşimi spesifik duyu ve motor sistemler üzerinde de etkili olabileceğini ortaya koyar. Ayrıca leptin reseptörlerinin nonnöronal lokalizasyonu (meninksler, koroid pleksus ve damar çeperlerine yerleşimi), bu reseptörlerin hem beyne taşınmasında hemde serebrospinal sıvıdan kana reabsorpsiyonunda görev aldıklarını düşündürür (51).

Sınıf I sitokin reseptör ailesinden olan uzun leptin reseptör izoformu daha önce açıklandığı gibi JAK'ı aktive ederek JAK–STAT sinyali ile transkripsiyonu aktive eder ve bazı nöropeptidlerin ekspresyonunu değiştirir. Hipotalamik pituiter gonadal eksenin etkileyen arkuat nukleustaki nöropeptit Y ile hipotalamik – hipofizer – tiroidal eksenin etkileyen kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH) bu konuda en iyi çalışılan ve JAK–STAT sinyali ile ekspresyonu değişen nöropeptidlerdir (3).

Leptin reseptörünün aktivasyonunun ve transkripsiyon faktörlerinin enerji metabolizmasını düzenleyici etkilerine aracılık eden genler bilinmemektedir. Etkili faktörlerden birisi besin alımını potansiyel olarak uyarıcı ve sentezi leptin tarafından inhibe olan hipotalamik nöropeptit Y'dir (NPY). NPY 36 aminoasitli, pankreatik polipeptid ailesinden bir polipeptiddir. NPY memelilerin beyin dokusunda; hipotalamus, hipokampus ve korteksinde yüksek konsantrasyonda bulunmaktadır. NPY'nin beslenme davranışı üzerinde güçlü bir uyarıcı etkisi vardır. Şişman hayvan modellerinin çoğunda NPY konsantrasyonları artmıştır. Intracerebroventriküler NPY infüzyonlarının normal hayvanlarda şişmanlığa neden olduğu gösterilmiştir. Leptinin eksik olduğu ob/ob sıçanlarda NPY ve NPY mRNA konsantrasyonları yüksek bulunmuştur. Bu hayvanlarda, leptin verildiği zaman yiyecek alımı ile birlikte NPY konsantrasyonları da azalmaktadır. Böylece NPY'nin leptinin etkili olması için kritik bir rol oynadığı kanısına varılmıştır (2,19,56).

Ayrıca, NPY karbonhidrat metabolizmasını, kortikosteroid ve insülin salınımını ve lipogenezi de uyarmaktadır. Üreme ve dolaşım fizyolojisinde önemli bir haberci molekülüdür. NPY enjeksiyonu LHRH salınımına yol açarak, LH salınımında ve ovulasyon indüksiyonunda rol oynamaktadır. NPY uygulanan hayvanların damar çeperi, noradrenalin etkilerine karşı daha duyarlı hale gelmektedir. NPY katekolaminlerin damar kasıcı etkilerini artırmaktadır (56).

NPY geninde mutasyon olan hayvanlarla yapılan çalışmalar, NPY geninin leptinin etkilerinde aracı tek madde olmadığını göstermiştir. Beyinde aktif olan ve aktivitesi leptin tarafından düzenlenen diğer faktörler melanosit – uyarıcı hormon ve reseptörü, glukagona

benzeyen peptid-1, kortiktropin – serbestleştirici hormon veya onunla ilgili olan ürokartin ve melanin – konsantre edici hormondur (19).

2.7.3.Spontan Leptin Salınımı:

Leptin pulsatil ve sirkadian ritimle salgılanmaktadır. Serum leptin konsantrasyonu öğleden sonra düşük olup gece yarısından sonra (saat 24 – 02) zirve yapmaktadır. Leptin sekresyonunun sirkadian ritmini kontrol eden faktörler; uyku ve uykunun sebep olduğu glukoz, insülin ve büyüme hormon konsantrasyonlarının değişimlidir. Yağ depolarının artışı ise serum leptin konsantrasyonlarında gece – gündüz farkını azaltmaktadır. Normal ağırlıklı bireylerde serum leptin konsantrasyonu ortalama 7.5 ± 9.3 ng/ml iken, şişman insanlarda ortalama 31.3 ± 24.1 ng/ml'dir (57).

24 saatlik sıklusa ilave olarak, normal ovülasyon siklusu olan kadınlarda bu hormonun siklusu aynı şekilde aylık bir siklus içerisinde gerçekleşir. Leptin sekresyonu mid sekretuar fazda pik yapar ki, bu da progesteron sekresyonundaki yükselmeye paralel seyrederek (58,59).

2.7.4.Serum Leptin Seviyesinin Düzenlenmesi:

İnsanda serum leptin seviyesinin konsantrasyonu cinse bağlı farklılık göstermektedir. Kadınlarda daha yüksek olan serum leptin düzeyi için, farklı üreme hormonları ve kadınların daha fazla subkutan yağ dokusu içermeleri sorumlu tutulabilir. Subkutan Leptin ekspresyonunun omental Leptin ekspresyonundan anlamlı olarak yüksek olması ve kadınlarda da subkutan yağın omental yağla oranla daha fazla olması bu görüşü desteklemektedir (2,3).

Androjenler, kültürdeki adipozitlerde leptin sekresyonu ve leptin mRNA üretimini inhibe ederek erkeklerde serum leptin konsantrasyonlarının pubertedeki düşüklüğüne kısmen aracılık etmektedir. Gecikmiş pubertesi olanlarda testosteron tedavisi ile serum leptin konsantrasyonlarında ve orantılı olarak vücut yağ içeriğinde azalma oluşmaktadır (4,57,60,61).

Androjenlerin inhibitör etkisinin tersine östrojenler leptin üretimini uyarıyor gibi görünmektedir. Sağlam sıçanlar, overektomi yapıp östrojen replasman tedavisi alan sıçanlarla karşılaştırıldığında, overektomi yapılmış sıçanlarda subkutan ve retroperitoneal adipoz dokuda düşük leptin konsantrasyonu ve ob geni bulunmaktadır. Menstrüel siklusun folliküler fazına karşı luteal fazda hem serum östradiol hem de leptin konsantrasyonları daha fazladır ve FSH ile artmış östradiol salınımı serum leptin konsantrasyonlarını artırmaktadır (57). Glukokortikoidler, in vivo ve in vitro olarak leptin seviyesini yükseltir (46,62,63). Diğer taraftan katekolaminler serum leptin seviyesini düşürmektedirler (41).

Genel olarak serum leptin seviyeleri, beslenme ve hormonal faktörlerden etkilenir. Açlık leptin seviyelerini düşürürken, aşırı beslenmede leptin sekresyonunu artırır. Bu yüzden, 24 saatlik açlık, başlangıç leptin seviyelerini % 30 oranında azaltır. A şırı gıda alınması ise 12 saat içinde leptin seviyelerini % 50 artırır. Leptin seviyeleri yağdan zengin diyet varlığında daha fazla artar (38,46,53,58,62,64,65,66).

Diyet kompozisyonu; özellikle makro veya mikronutrient alımı (çinko gibi) ve hormonal faktörler leptin düzeyini düzenlemektedir (3,17).

Uzun süreli insülin infüzyonu veya suprafizyolojik insülin düzeyleri dolaşan leptin düzeyini artırmaktadır. Ancak akut insülin enjeksiyonu leptin düzeyinde değişiklik yapmaz (3,18).

İsoproterenol ve beta-adrenerjik reseptör agonistleri leptin mRNA'sını ve dolaşımdaki seviyeleri düşürmektedir (3).

İnvitro olarak glukokortikoidlerin, leptin üretimini arttırdıkları gösterilmiştir. Ancak, Cushing sendromlu hastalarda yapılan çalışmalar sonucu elde edilen bilgiler tutarsızdır. Leptin ve adrenal arasındaki geri itilimli kontrol mekanizmasının varlığı ile ilgili çalışmalar devam etmektedir (3).

TNF- α , IL-1 ve IL-6 gibi sitokinler leptin mRNA'sını ve dolaşımdaki leptin düzeylerini değiştirmektedir (3).

Üreme sisteminin matürasyonunun düzenlenmesinde görev alan leptinin ilk belirtisi dişi ob/ob farelerin kısır olduğunun bulunmasıdır ki, bunlar leptin verilmesiyle fertil hale getirilebilmiştir (67).

Leptin seviyesi dişi ve erkek de pubertenin başlangıcından önce artar ve bu artışın puberte başlangıcını tetikleyebileceğine inanılmıştır (4,5). Ayrıca serum leptin seviyesinin dişi pubertal gelişim boyunca artışı, FSH – LH – östradiol hormonlar gibi puberteyle ilişkili diğer üreme hormonları artışından önce gelmektedir. (4,60,68,69). Yine de leptinin pubertedeki etki mekanizmasının nasıl olduğu tam olarak bilinmemektedir (6).

İmmatür dişi sıçanlarda ekzojen leptinin puberte başlangıcını dramatik bir şekilde hızlandırabilir olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte erken folikül olgunlaşmasını kısmen açıklayabilen leptin, folikül atrezisini de açık bir şekilde zayıflatmıştır ki bu oluşumlar dişi puberte başlangıcı için önkoşuldur (6).

Leptin enjekte edilmiş hayvanlarla kontrol hayvanlarının karşılaştırılması sonucunda, leptin enjekte edilmiş hayvanlardaki serum leptininin 2 ila 5 katı bir artma olmuştur (6).

Subkutan leptin uygulaması sonunda beyinde spesifik bağlanma anlamlı değil iken ovaryum ve serumda bütün leptinin en yüksek spesifik aktivitesi 30 dakika sonra görülebilir. Serumda leptinin yarı ömrü 2 saat 15 dakika ovaryumda 1 saat 40 dakika ve beyinde 4 saattir. Diğer organlarda bulunmuş total leptin miktarının yüzdesi total radyo aktivitenin yaklaşık % 20 ile % 50 sinde artmıştı. Radyolojik olarak işaretli leptin 6 saat sonra bile kaydedilmiştir (6).

İnsan yumurtalık hücrelerinde leptin reseptörleri için mRNA kodlandığı ve fonksiyonel leptin reseptörlerinin varlığı insan ve sıçan granüloza hücreleri üzerinde gösterilmiştir (70,71). Hatta leptinin anterior hipofizden invitro şartlarda FSH ve LH salgılayıcı etkisi olabileceği de gösterilmiştir (72).

Overiektomi yapılmış östrojenden yoksun dişi sıçanlarda leptinin LH salınımını indüklemekte (73,74). Leptinin hipotalamus–hipofiz aksı üzerine etkisi bazı durumlarda ovaryal fonksiyonlardan bağımsız olarak olabilmektedir (6). Başka bir çalışmada eksojen leptinin beslenme nedeniyle büyüme geriliği olan dişi sıçanlarda puberteyi indüklediği gösterilmiştir (75,76,77).

Kızlarda leptin seviyeleri pubertal dönem boyunca yaşa bağlı olarak d üzgün bir şekilde artış göstermektedir (4). İlaveten, kadınlarda menarş yaşında ve leptin seviyesi arasında ters bir ilişki vardır (28). Kadın hastaların leptin ve leptin reseptörü (Ob–R) yetersizliği primer amenorhea ve hypogonadotropic hypogonadismle ili şkilendirilmiştir (79). Dişi puberte başlangıcını leptinin başlatmadığı muhtemeldir, ancak sadece kilit bir rol oynamaktadır (80).

Leptin başlıca beyaz adipoz doku olmak üzere plasental trofoblast hücreleri tarafından da üretilmektedir (1).

Adipoz dokuda östrojen reseptörleri vardır ve bunun leptin sekresyonunu etkilediğine dair destekleyici bulgular mevcuttur. Farelerde oveiektomi sonrası adipoz dokuda mRNA ob gen miktarı ve serum leptin seviyeleri de bu farelerde düşer. Menapozda da serum leptin seviyesi genellikle düşer (81). Ancak menopozda leptin seviyesindeki düşme her zaman olmamaktadır. Postmenapozal hormon replasman tedavisinde serum leptin seviyesi yükselmemektedir. Kontraseptif ilaç kullanımı serum leptin seviyelerini etkilememektedir (48,82,83).

İlk kez “*Adipocyte Derived Signalling Factor*” olarak ifade edilen leptin, dişilerde 20 yaşına kadar yaşla birlikte artan bir seviye göstermektedir. Pubertenin başlamasında beklenen sinyalin leptin olduğu sanılmaktadır. İnsan ve kemirgenlerde plazma leptin konsantrasyonu ve mRNA ekspresyonunun cinsiyete bağımlı farklılıklar göstermesi, cinsiyet hormonlarının leptin düzeylerine olan etkilerinden kaynaklanmış olabileceğini düşündürmektedir (84).

Hiperhomosisteinemi, arteriosklerozis ve osteoporozis için bir risk faktörü olmakla birlikte, homosistein düzeyleri menapozdan sonra değişen hormon durumunun bir sonucu olarak ortaya çıkabilir. Overiektomili hastalarda östrojen tedavisinin homosistein düzeylerini etkilediği (85). homosisteinin ise menapoz sonrası sekonder gelişebilen hastalıklarda (aterosklerozis, osteoporozis) rolü olduğu bilinmektedir (86).

2.7.5. Erkek Üremesinde Leptin:

Leptinin dişi fertilitedeki etkisinin çok iyi kanıtlanmasına karşın erkek üreme işlevindeki etkisi tartışmalıdır. Pubertal gelişim boyunca sağlıklı erkeklerde leptin seviyesinin değerlendirilmesinde, kızların aksine, serum leptin konsantrasyonu 5 ila 10 yaşları arasında artmış fakat daha sonra devamlı bir şekilde düşmüştür (4). Dişilerdeki gibi, hypogonadotropic hypogonadism ve infertilite erkek ob/ob farelerde de yaygın şekilde görülür. Leptin tedavisi ile erkek ob/ob'de üreme işlevi düzenlenebilir (87,88,89). İnsanda endojen leptin yokluğu hypogonadism ve pubertal gelişime etki eder (90,91). Dişi ob/ob'ler dikkate değer bir şekilde infertil iken, ob/ob erkeklerde bu oran daha düşüktür (79).

2.7.6. Leptinin Testiküler Aksiyonu:

Sıçan testisinde Ob-R geninin ekspresyonu Leydig ve Sertoli hücrelerinde gösterilmiştir. (94,95). Fare germ hücrelerinde de Ob-R ekspresyonu bildirilmiştir (96,97).

2.7.7. Üreme Aksi Üzerine Leptin Aksiyon Bölgeleri:

Hipotalamus üreme işlevi ve yiyecek alımının kontrolünde anahtar bir element olan leptinin primer hedef organıdır (79,98). Ob-R hipotalamik nükleusta eksprese edilmiştir (93). Leptin GnRH salınımını uyarır (99,103).

Erkek üreme işlevindeki üzerine leptinin etkisi molekülün sirkülasyon seviyesine bağlıdır (104,105).

2.7.8. Fetüs ve Yenidoğanda Leptin:

Fetüsteki leptin plasenta ve ftal dokular tarafından üretilir. Leptin ftal kord kanında gestasyonunun 18'nci haftasından itibaren saptanmaya başlar. Otuz dört haftaya kadar konsantrasyonu çok düşüktür. 34. nc haftadan itibaren leptin konsantrasyonu dramatik olarak artmaya başlamaktadır (% 500 veya daha fazla). Bu yükseliş yağ kütlesi ve vücut ağırlığındaki artışla paraleldir. Kord kanındaki leptin, enerji depolarını beyine iletmenin dışında yenidoğan hematopoezi ve lenfopoezi yükseltir (3,57).

2.7.9.Çocuklukta ve Pubertede Leptin:

Leptin, pubertenin başlangıcı, menstrel sikls ve üreme için gerek li olan yağ depolarının kritik miktarlarını beyine iletir. Leptin ve LH salınımı ve hipotalamik pituiter gonadal aks arasındaki ilişkinin kesin mekanizması bilinmemekle beraber puberte öncesi farelere ve primatlara leptin verildiğinde pubertenin hızlandığı görülmüştür. Normal ocuklarda vücut yağ kitlesinin artmasıyla puberteden önce leptin düzeyleri yükselir ve pubertenin başlangıcında pik yapar. Buna göre insanlarda pubertenin başlamasında leptinin rolü olabileceği öne sürülmüştür. İnaktive leptin reseptör mutasyonları olan kişilerde morbid obezite ve hipogonadotropik hipogonadizm olduğu bildirilmektedir (3,57).

Erişkin ve ergenlik dönemlerinde kadınlarda leptin düzeylerinin erkeklere kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır. Bu bulgu kadınlarda daha fazla vücut yağ dokusu kitlesine sahip olmaları ile açıklanmıştır. Post menopozal kadınlarda, premenopozal kadınlara göre daha düşük leptin düzeyleri saptanması, leptin metabolizmasının östrojen ve progesteron ile ilgili olduğunu akla getirmiştir. Ancak postmenopozal kadınlarda yağ dokusu kitleleri aynı olan erkeklerden daha yüksek leptin düzeyleri saptanmıştır. Hipogonadizmli erkeklerde benzer vücut kitle indeksine sahip erkeklere göre 3 kat daha yüksek leptin düzeyleri llmştr. Aynı erkeklere testosteron verildiğinde leptin düzeylerinin normale dönmesi androjenlerin leptin sentezi üzerine baskılayıcı etkileri olduğunu akla getirmiştir (2).

Pubertenin başlaması için vücutta yeterli yağ dokusu depolarının bulunması gereklidir. Orta derecede şişman kızlarda puberte erken başlamaktadır. Patolojik şişmanlık

durumlarında, malnütrisyonlularda, kronik hastalığı olanlarda, anoreksia nervozalı kızlarda pubertenin başlaması gecikmektedir. Puberte uyku sırasında hipotalamik–hipofizer gonadotropinlerin ve büyüme hormonunun pulsatil olarak salınması ile başlamaktadır. Ayrıca yağ dokusu ile ilişkisi bilinen leptinin, pubertenin başlamasını sağlayan metabolik sinyal rolü oynadığı ileri sürülmüştür. Genetik olarak leptin eksikliği ve infertilitesi bulunan ob/ob farelerin leptin ile tedavisi sonucunda; dişi farelerde ovaryum ağırlığı, erkek farelerde ise testis ağırlığı artmıştır. Bir başka çalışmada ise normal dişi farelere leptin verilmesi, üreme fonksiyonlarının erken olgunlaşmasına yol açmıştır. Bu bulgular leptinin hipotalamik–hipofizer gonadal aksın düzenlenmesinde rol oynadığına işaret etmektedir (2,3).

Bir çalışmada leptin düzeyinin erkeklerde on yaşına kadar yükseldiği, pubertenin başlaması ile serum FSH ve LH düzeyleri yükselirken leptin düzeylerinin ani olarak azaldığı saptanmıştır. Kızlarda ise pubertede FSH, LH ve östradiol yükselmesine paralel olarak serum leptin düzeyi artmıştır. Diğer bir çalışmada ise leptin, erkeklerde pubertenin başlamasından hemen önce yükselmiş, daha sonra testosteron yükselirken azalarak iki yıl boyunca sabit olarak kalmıştır. Kızlarda ise pubertede serum leptin düzeyindeki her 1 ng/ml artışın, menarşın bir ay erken başlamasına neden olduğu ve yağ dokusu kitlesindeki artış oranının, menarş yaşı ile benzer biçimde ilişkili olduğu saptanmıştır. Bu sonuçlar, leptinin pubertenin başlaması, üreme fonksiyonlarının olgunlaşması ve seks steroidleri ile ilişkili olduğuna işaret etmektedir (42,49,57,60,61).

2.7.10. Leptin ve Obezitede Leptine Direnç:

Genetik olarak leptin eksikliği bulunan ve şişman olan ob/ob farelere leptin verildiğinde; fizik aktivitelerinin arttığı, yiyecek alımlarının azalarak kilo kaybettikleri, glikoz intoleransının kaybolduğu ve diyabetlerinin düzeldiği saptanmıştır. Bu çalışmalar, yağ

dokusunda sentezlenerek dolaşıma verilen leptinin beyindeki doyunluk merkezini etkilediğini, vücut yağ dokusu kitlesini ve vücut ağırlığını düzenlediğini düşündürmüştür. Ancak bazı şişman insanlarda, şişman olan ob/ob farelerin tersine leptin düzeylerinin yüksek olarak saptanması, şişmanlarda leptinin etkisinin yetersiz olduğunu ya da bir direncin var olabileceğini akla getirmiştir. Böylece şişman insanlarda yağ dokusu kitlesi arttıkça leptin sentezi artmakta ancak doyunluk merkezi leptine duyarsız olduğu için artmış yiyecek alımı sürmekte ve yine yağ dokusu kitlesi ve leptin sentezi artmaktadır. Nitekim genetik olarak şişman ve diyabetik olan db/db farelerde leptin reseptöründe mutasyon olduğu ve bu farelerin leptin tedavisine yanıt vermedikleri saptanmıştır (2,3,19,49).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Hayvanlar ve Bakım Şartları:

Bu çalışmada Pamukkale Üniversitesi Deneysel Araştırma Biriminde üretilmiş 80 adet Wistar tipi yenidoğan erkek sıçan kullanılmıştır.

Sıçanlar için önerilen uygun çevresel koşullar aynı merkez tarafından sağlandı ve sıçanlar, ışıklandırması 12 saat aydınlık -12 saat karanlık (07:00-19:00 saatleri arası aydınlık), havalandırılması (%60-70 nem), oda ısısı (20-24 C) kontrol edilen bir odaya yerleştirildi.

3.2. Deneysel Uygulama:

Denekler kontrol ve deney grubu olarak ikiye ayrılmıştır. Deney grubu (40) yavrulara doğdukları günden itibaren (doğduğu gün = 0) 14 gün boyunca sabah 0,25 µg/ml ve akşam 0,25µg/ml olmak üzere toplam 0.5µg/ml Leptin enjeksiyonu subkutan olarak gerçekleştirildi. Kontrol grubu (40) yavrulara hiçbir şey verilmedi.

Testis dokusu Bouin solüsyonunda 12 saat tesbit edildi ve %50 etil alkol içinde birkaç kez değiştirilerek yıkandı.

Rutin ışık mikroskopi teknikleri uygulandı. Dokulardan 5 µ kesitler alınarak hematoksilin-eosin (H-E) boyama yapıldı. Hazırlanmış olan preparatlar ışık mikroskopunda incelendikten sonra fotoğraf çekimleri yapılmıştır. Yine 5 µ kesitler periyodik asit schiff (PAS) boyama tekniği ile boyandı ve fotoğrafları ışık mikroskopu yardımıyla çekildi.

3.3. Histolojik Boyalar ve Solüsyonlar

a- Leptin Solüsyonunun Hazırlanması:

Sigma' dan temin edilen 1mg L-3772 (OB) mouse recombinant leptin , 100 ml PBS içine leptin vorteks yapıldıktan sonra ilave edildi. Hazırlanan solüsyon +4 C de muhafaza edildi.

b- Bouin Sıvısının Hazırlanması:

- 75 ml pikrik asit,
- 25 ml formaldehit,
- 5 ml asetik asit kullanılarak gerekli olan bouin sıvısı hazırlanmıştır.

c- Hematoksilen Boya Hazırlanması:

- 2 gr hematoksilen,
- 20 cc %96'lık etil alkol,
- 40 gr alüminyum amonyum sülfat,
- 500 ml distile su,
- 0,5 gr merkürük oksit,
- 1,6 ml asetik asit kullanılarak gerekli olan hematoksilen boyası hazırlanmıştır.

d- Eosin Boya Hazırlanması:

- 2 gr eosin
- 350 ml %96'lık etil alkol
- 150 ml distile su
- 2 cc asetik asit kullanılarak gerekli olan eosin boyası hazırlanmıştır.

e- Periyodik Asit Schiff :

Surgipath firmasından temin edilen Periodic Acid Solution ve Feulgen Stain (schiff) hazır olarak kullanılmıştır.

3.4. Uygulanan Teknikler:

a- Doku Takip Yöntemi:

- Alınan dokular formalinde 1 gece bekletildi.
- Akarsuda 1 saat yıkandı.
- %50'lik etil alkolde 2 saat bekletildi.
- %70'lik etil alkolde 2 saat bekletildi.
- %90'lık etil alkolde 2 saat bekletildi.
- %96'lık etil alkolde 2 saat bekletildi.
- %96'lık etil alkolde 2 saat bekletildi.
- Ksilende 2 saat bekletildi.
- Ksilende 2 saat bekletildi.
- 1 gece 57 C'de etüvde eriyik parafinde tutuldu.
- Blok olarak hazırlandı.

b- Hematoksilen-Eozin Boyama Yöntemi:

- Bloklardan 5 μ ' luk kesitler alınıp ılık su havuzuna bırakıldı.
- Lamlarla dokular toplanır ve zembillere yerleştirildi.
- Etüvde 1 saat 60 C'de bırakıldı.
- Ksilende 3 seri halinde 20'şer dk olmak üzere toplam 1 saat tutuldu.
- Sırasıyla %100, %96, %70, %50'lik azalan etil alkol serilerinden 2'şer dakika tutularak geçirildi.
- Alkolden çıkan preparatlar akar suda yıkandı.
- Hematoksilende 2,5-3 dakika bekletildi.

- Akar suda yıkandı.
- Asit-alkole daldırılıp çıkartıldı.
- Akar suda yıkandı.
- Eozinde 3-5 saniye tutuldu.
- Akar suda yıkandı.
- Sırasıyla %50, %70,%96, %100'lük artan etil alkol serilerinde 2'şer dakika tutuldu.
- Ksilende 30 dakika bekletildi.
- Entellan kullanılarak dokuların üzeri kapatıldı.
- c- Periyodik Asit Schiff Yöntemi:**
 - Alışıldık yöntemle kesitlerden parafin giderilir ve alkol serilerinden geçirilir ve sulandırılır.
 - Akar suda çalkalanır ve %0.5'lik periyodik asit schiff (PAS) 5 dakika oksidize edildi.
 - Akar suda 5 dakika yıkandı.
 - Schiff'in kimyasalına 30 dakika daldırıldı.
 - Akar suda 10 dakika yıkandı.
 - 30 saniye hematoksilende boyandı.
 - Akar suda yıkandı.
 - %95 ve %100 etil alkol içinde suyu giderildi.
 - Ksilen içinde 30 dakika bekletildi.
 - Dokular entellan ile kapatıldı.

4.BULGULAR

Bu çalışmada, yeni doğan erkek sıçanlardan 2 grup oluşturulmuştur. Deney gruplarına doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin uygulanmış, 15,25,35 ve 45. günlerde her iki gruba ait sıçanların testis dokuları alınarak farklı histolojik boyalar kullanılarak ışık mikroskopta karşılaştırmalı olarak değerlendirilmiştir.

Doğumu izleyen 15 günlük kontrol grubunda testisi oluşturan seminifer tübüller ve interstisyel doku normal yapıda izlenmiştir. Seminifer tübüllerin lümenlerinin fibrin benzeri açık renkte bir maddeyle kapalı olduğu belirlendi. Tübüller içerisinde germ hücre serisinin tam olarak ayırt edilemediği ve tübül duvarının oldukça ince olduğu gözlemlendi.

Seminifer tübülde spermatogonyumlar az sayıda izlenirken çok sayıda sertoli hücrelerinin varlığı dikkati çekmiştir. Yer yer primer spermatositlerin izlendiği kesitlerde sekonder spermatositler ve spermatidler gözlenmemiştir. Yine bu grupta spermiyogenezin olaylanmadığı belirlenmiştir. İnterstisyel doku incelendiğinde, Leydig hücrelerinin erişkin sayıya erişemedikleri saptanmıştır. PAS ile boyanan bazal membranlar normal yapıda izlenmiştir (Resim 1,2).

Doğumu izleyen 15 günlük leptin uygulanan grupta, testis genel yapısının erişkin benzer görünüme yaklaştığı saptanmıştır. Tübül duvarında germ hücre serisinin daha organize olduğu bazalden apikale spermatogonyumların ve spermatosit I'lerin ayırt edilebildiği gözlemlendi. Spermatogonyumların bazal membran üzerinde yuvarlak çekirdekleri ile çok düzenli yerleştikleri izlenmiştir. Çekirdekleri ile karakterize primer spermatositlerin de varlığı gözlemlenmiştir. Ayrıca bazı tübüllerde lümene yakın bölgelerde sekonder spermatositlerinde farklandığı ilgiyi çekmiştir. Bu hücreler arasında oval ve ökromatik çekirdekleri ile karakterize sertoli hücreleri de belirgin olarak izlenmiştir. İnterstisyel doku değerlendirildiğinde ise, kontrol grubundan ayrıcalık olarak bağ dokunun son derece gelişkin olduğu, fibroblastların belirgin olarak seçilebildiği ayrıca Leydig hücrelerinin göreceli olarak

artmış oldukları ilgiyi çekmiştir. PAS ile yapılan boyamalarda seminifer tübül ve kapillerler normal yapıda izlenmiştir (Resim 3,4).

Doğumu izleyen 25 günlük kontrol grubunda seminifer tübüllerde spermatogonyumlar bazal membran üzerine yuvarlak çekirdekleri ile tek sıra halinde yerleşmiş olarak izlenirken primer spermatozoidlerin artmış sayıda oldukları ve lümeni daraltan şekilde yayılım gösterdikleri ilgiyi çekmiştir. Tübül duvarında birkaç sıra halinde gözlenen primer spermatozoidlerin yanında sekonder spermatozoidler ile spermatidler de belirlenmiştir. Bu grupta sertoli hücrelerinin göreceli olarak daha az sayıda oldukları saptanmıştır. İntertisyumda Leydig hücreleri ile genişlemiş düzensiz şekilde kapillerler izlenmiştir. PAS boyamalarda bunlar normal yapıda işlenmiştir (Resim 5-6).

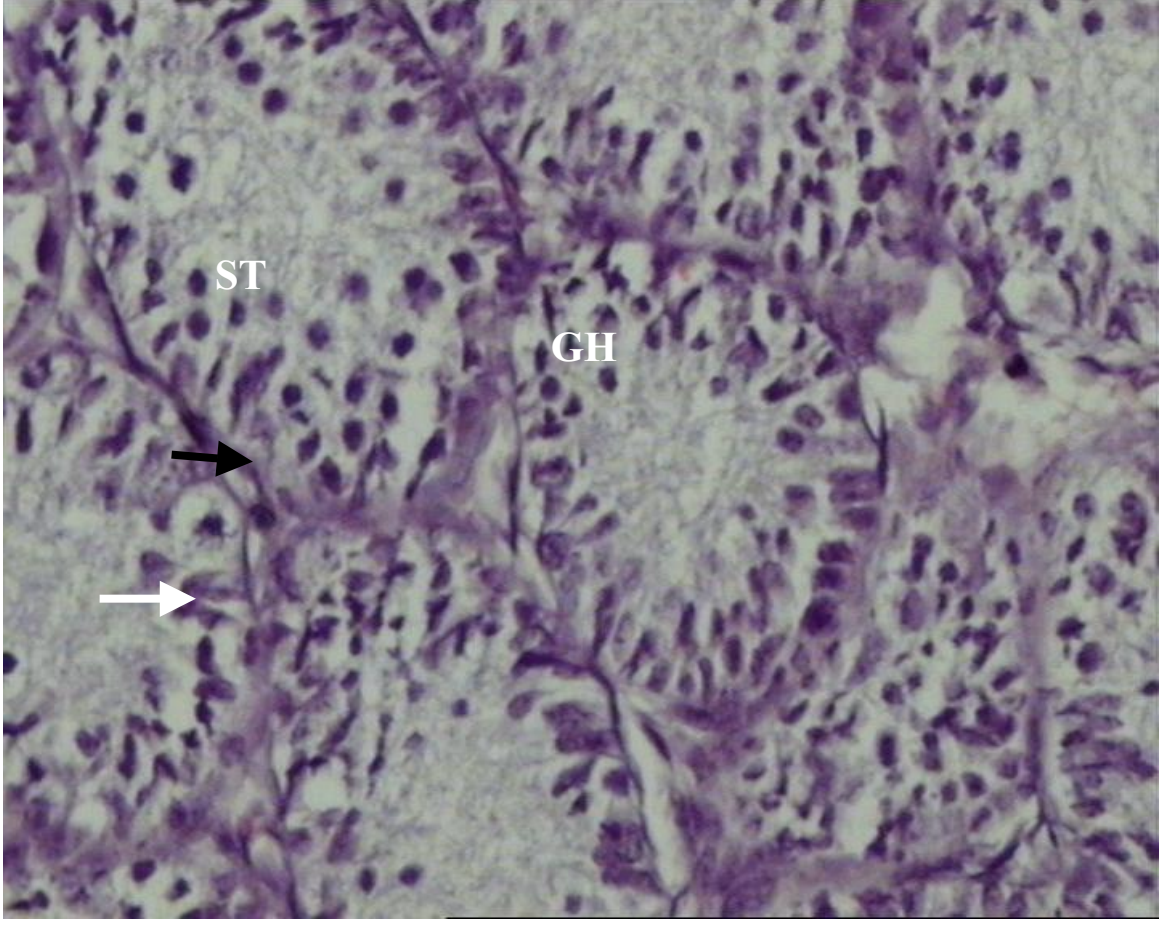
Doğum sonrası 25 günlük lepton grubunda, seminifer tübüllerin erişkin yapıya benzer görünümde oldukları saptanmıştır. Spermatogonyumlar bazal membran üzerine tek sıra oturmuş halde izlenmiştir. Primer spermatozoidler 2-3 sıra halinde gözlenmiş olup, sekonder spermatozoidler de artmış sayıda, lümeneye yakın lokalizasyonda belirlenmiştir. Bu grupta germ hücrelerin yüksek bölünme yeteneğinde oldukları ve bu nedenle lümenin daraldığı ve yıldız şeklinde bir görünüm sergilediği saptanmıştır. Ancak henüz spermatit ve olgun spermiumların farklanmadığı dikkati çekmiştir. İnterstisyel doku incelendiğinde, kapillerlerin son derece genişlediği ve Leydig hücrelerinin gruplar oluşturmaya başladıkları saptanmıştır. PAS ile yapılan boyamalarda bazal membran yer yer kalın olmakla birlikte normale yakın görünümde gözlenmiştir (Resim 7,8,9).

Doğum sonrası 35 günlük kontrol grubunda, Sertoli hücreleri sayıca azalmış ve erişkin görünüme sahip olarak izlenmiştir. Seminifer tübülde çeşitli gelişim evrelerindeki spermatogonyal hücreler belirlenmekle birlikte, bir önceki grupla benzer olarak olgun spermiumun olmadığı saptanmıştır. Kapillerler normal boyutta ve arada Leydig hücre grupları saptanmıştır (Resim 10,11). PAS boyamalarda bazal membranın normal kalınlıkta olduğu izlenmiştir (Resim 12).

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin uygulanıp 35. günde testisleri çıkarılan deneklerin seminifer tübüllerinde lümenin açıldığı izlendi. Tübül duvarında spermatogonyumlar, spermatozit I'ler kontrol grubundan farklı olarak da bazı tübüllerde spermatozit II'lerin oluştuğu izlendi (Resim 13-14).

Doğumu izleyen 45 günlük kontrol grubunda seminifer tübüller ve tübüller arası bağ doku belirgindi. Seminifer tübüllerin oldukça organize olduğu izlendi. Lümen açıklığı belirgindi. Tübüller arası bağ dokuda kan damarları ve onlar etrafında Leydig hücreleri seçilmekteydi. Seminifer tübülde spermatogonyumlar, spermatozit I'ler, spermatozit II'ler ve erken tipte spermatidler ayırt edilmekteydi (Resim15-16-17).

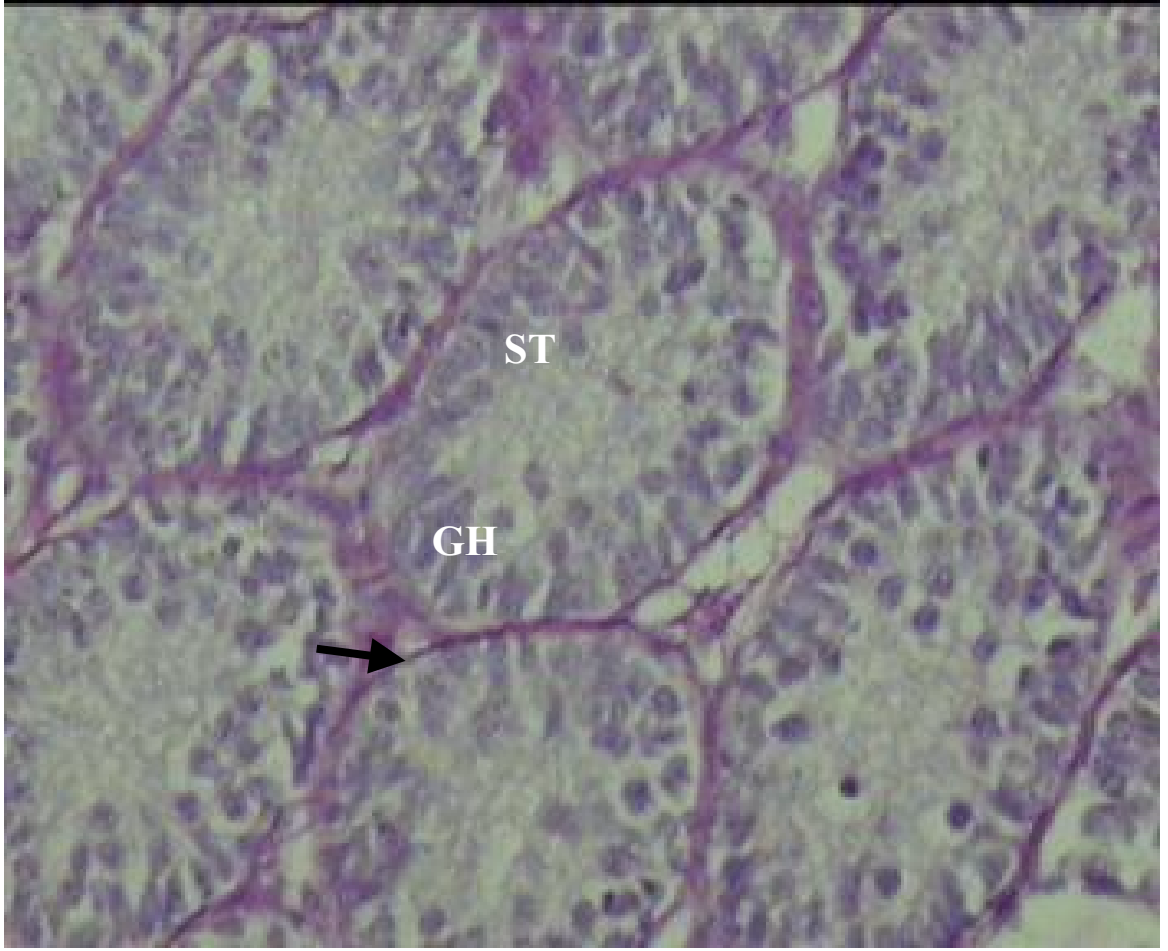
Doğumdan itibaren 14 süreyle leptin uygulanıp 45. günde testisleri çıkarılan grupta seminifer tübüller ve aradaki bağ doku izlenmekteydi. Bağ dokusunda damarlar ve bunlar etrafında iri Leydig hücreleri oldukça belirgin olarak izlendi. Seminifer tübüllerde spermatogonyumlar, spermatoziti'ler, spermatozitiII'ler, erken tipte spermatidler ve bazı tübüllerde de başları gömülü geç tipte spermatidlere rastlandı. Ayrıca tübüllerin çok azında lümene salınmış halde sperm izlendi. Bununla birlikte diğer gruplardan farklı olarak spermatogonyum çekirdeklerinde mitozu simgeleyen görünüm oldukça dikkat çekiciydi (Resim18-19-20-21).



Resim 1

Doğumu izleyen 15 günlük kontrol grubu deneklerinde seminifer tüpler ;(ST) ve bunlar arasında bağ dokusu;(Siyah ok).Sertoli(Kalın beyaz ok). Seminifer tüpler içerisinde germ hücre serisi görülmekte; (GH).

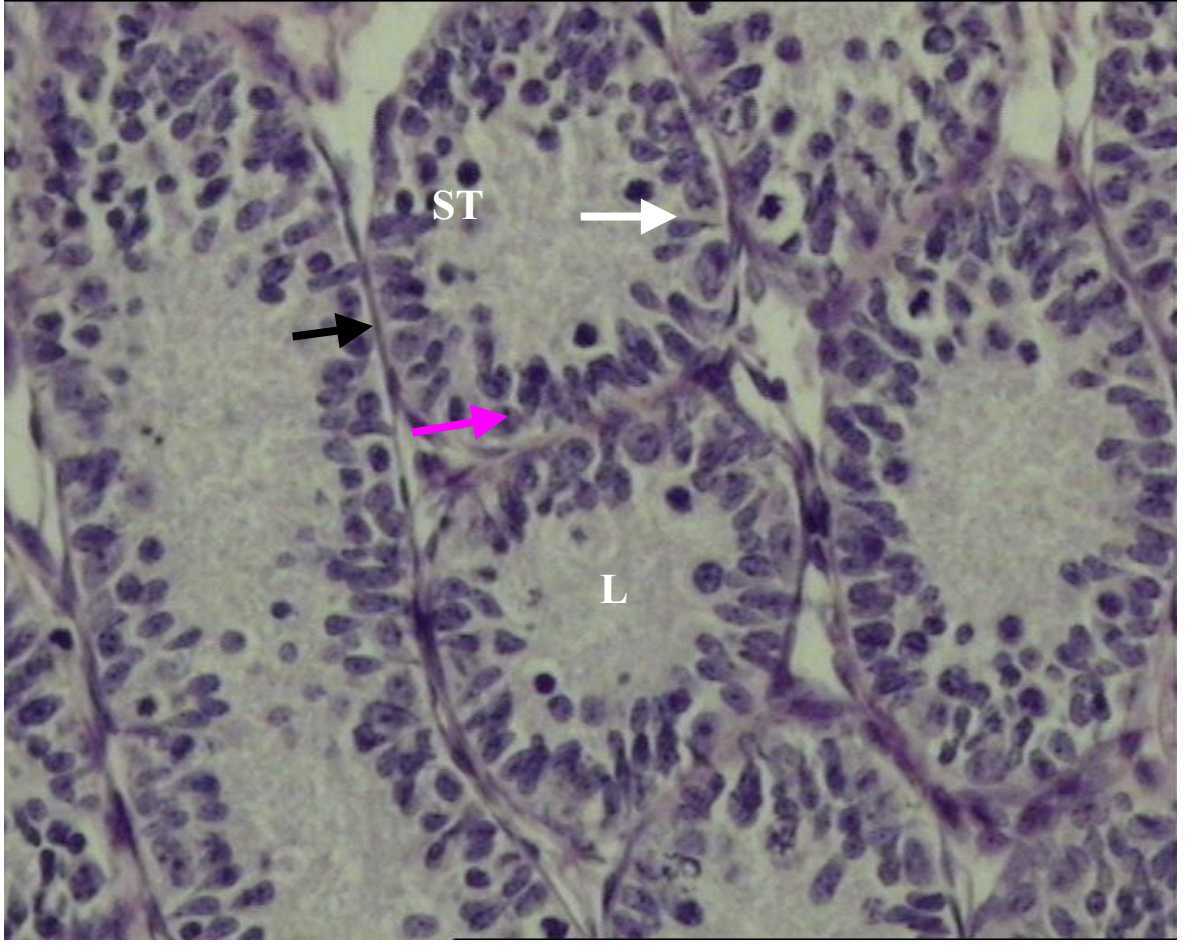
Hematoksilen-Eosin X20



Resim 2

Doğumu izleyen 15 günlük kontrol grubu deneklerinde Seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu ;(Siyah ok). Seminifer tüpler içerisinde germ hücre serisi görülmekte; (GH).

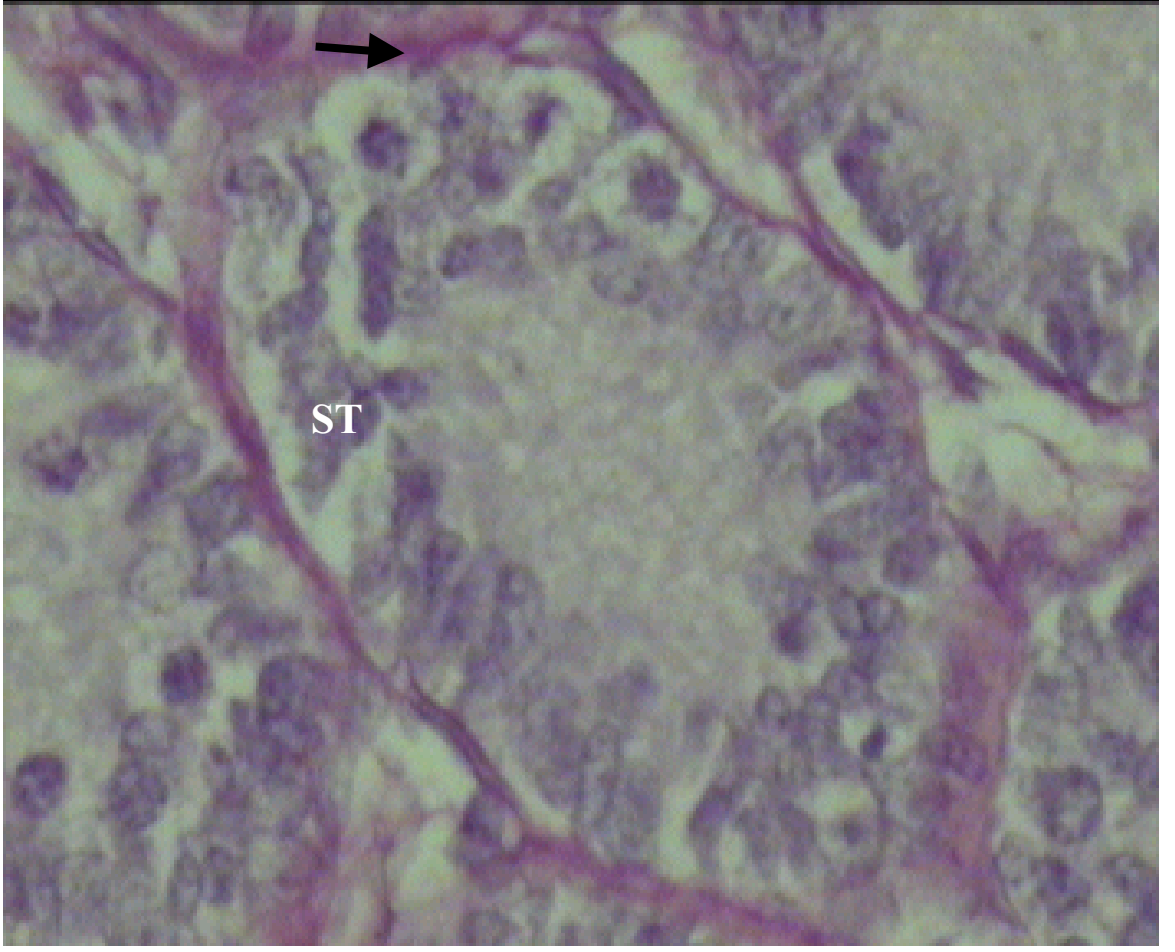
Periyodik Asit Schiff (PAS) X20



Resim 3

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 15. günde testisleri çıkarılan deneklerde Seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu bölmeleri ;(Siyah ok). Spermatogonyum; (Pembe ok), Lümen;(L),Sertoli (kalın beyaz ok).

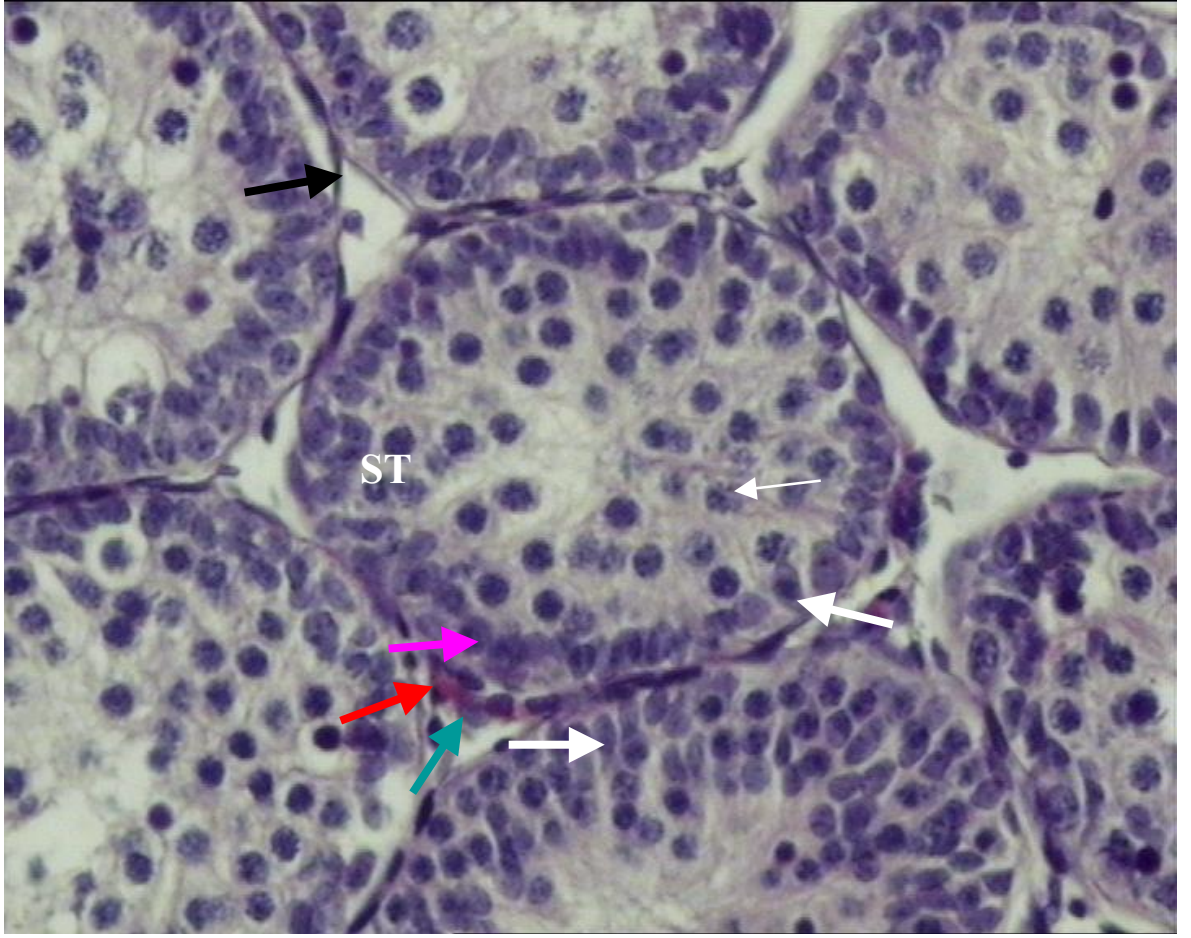
Hematoksilen-Eosin X20



Resim 4

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 15. günde testisleri çıkarılan deneklerde Seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu bölmeleri görülüyor;(Siyah ok).

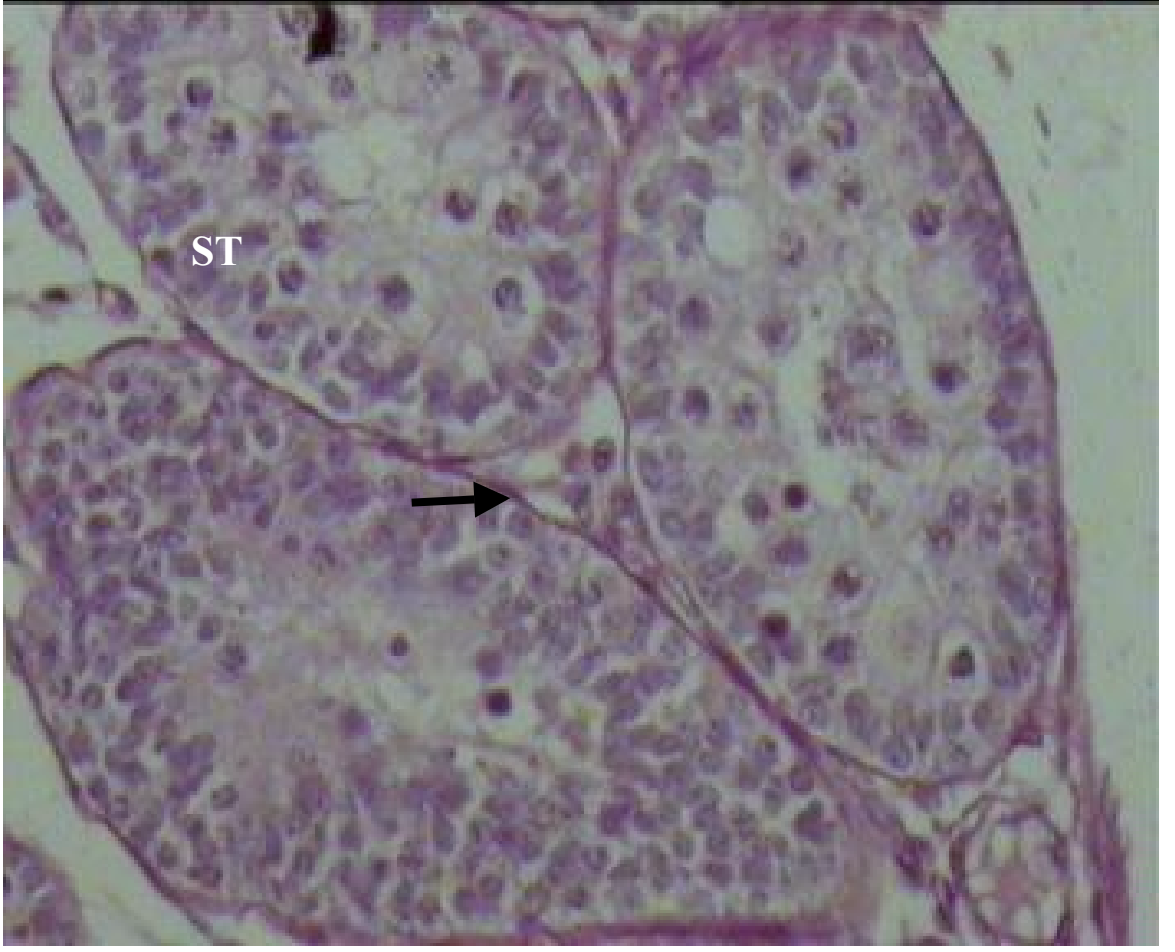
Periyodik Asit Schiff (PAS) X40



Resim 5

Doğumu izleyen 25 günlük kontrol grubu deneklerinde Seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu;(Siyah ok) Spermatogonyum; (Pembe ok), Spermatosit I ,(ince beyaz ok) , Damar;(Kırmızı ok), Leydig hücresi;(Yeşil ok) sertoli hücresi;(kalın beyaz ok).

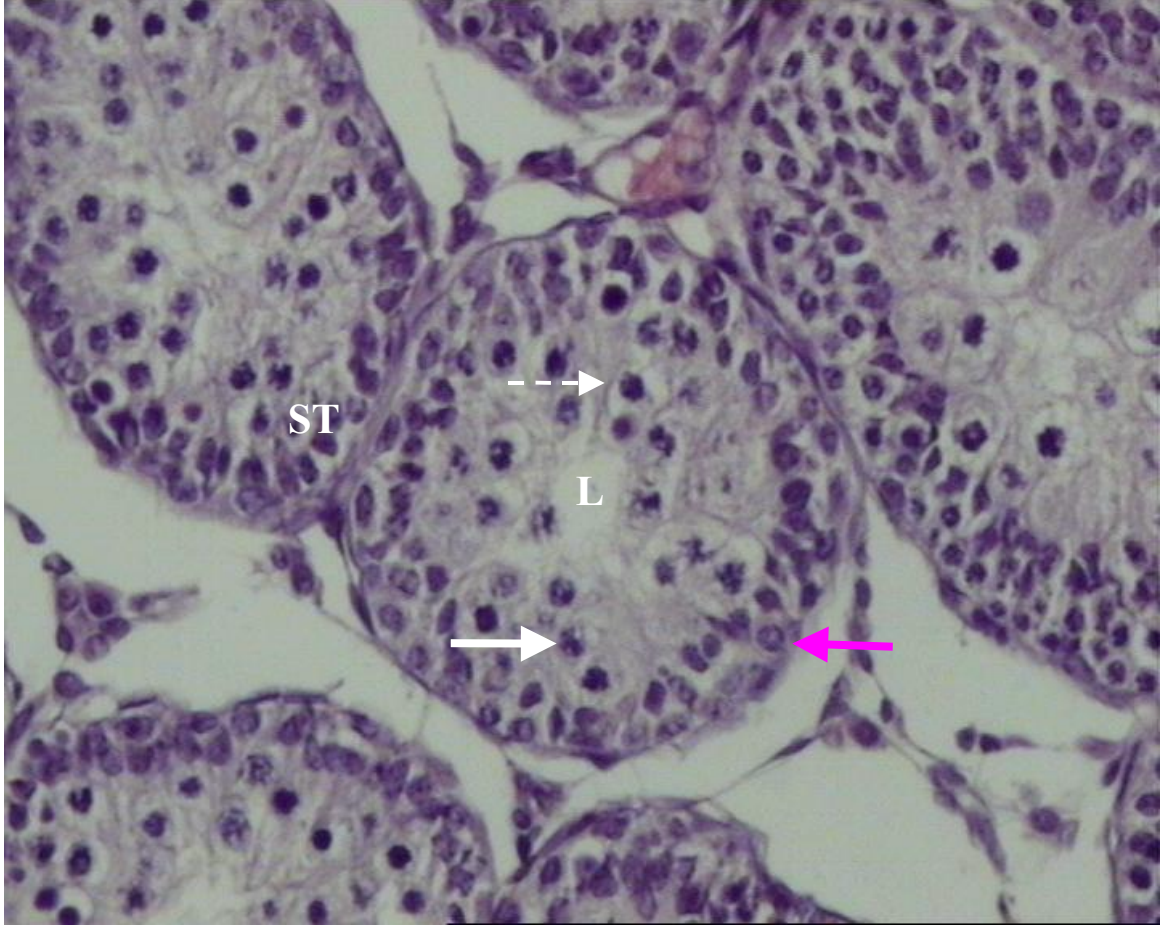
Hematoksilen-Eosin X20



Resim 6

Doğumu izleyen 25 günlük kontrol grubu deneklerinde Seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu ;(Siyah ok)

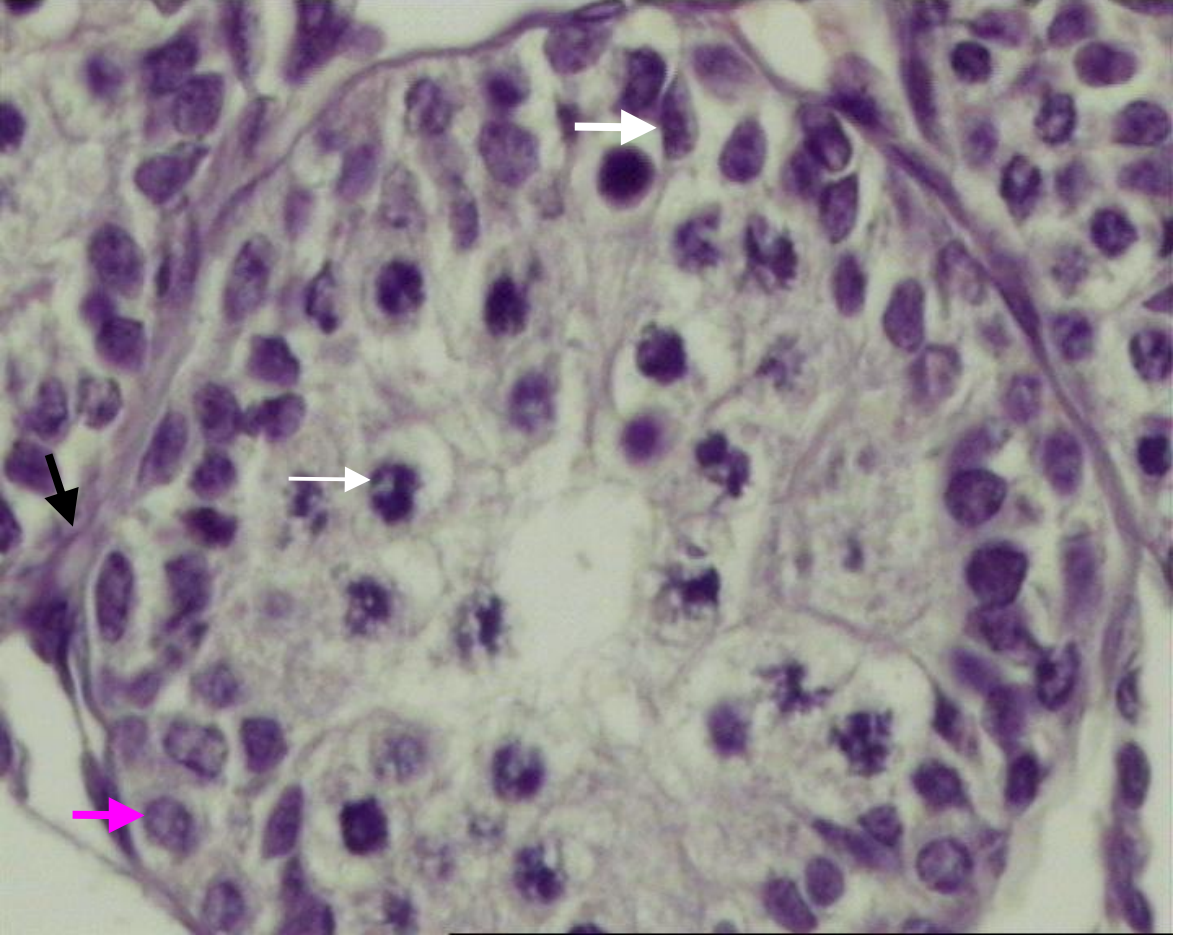
Periyodik Asit Schiff (PAS) X20



Resim 7

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 25. günde testisleri çıkarılan deneklerde Seminifer tübül (ST), Spermatogonyum;(Pembe ok), Spermatosit I;(Beyaz ok), Spermatosit II ;(Kesikli ok), Lümen ;(L).

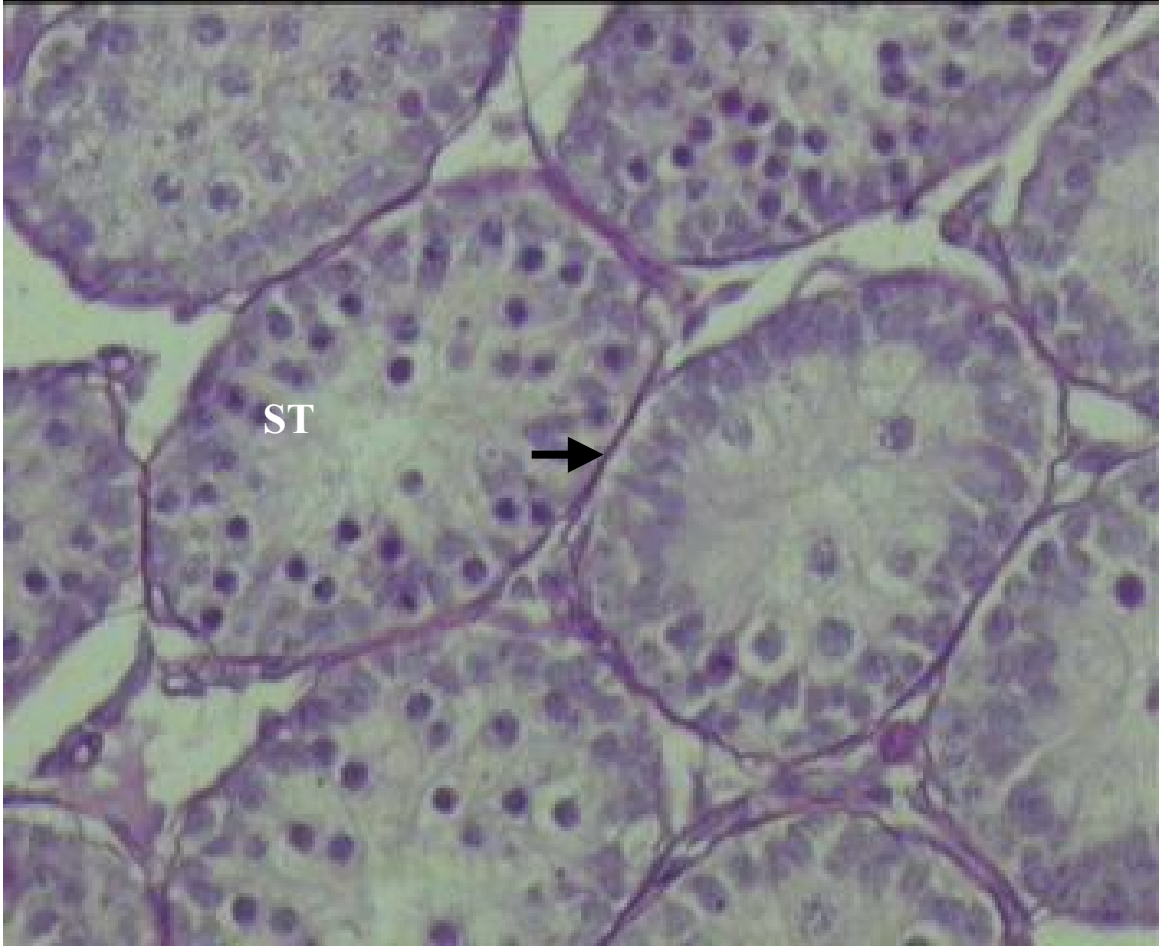
Hematoksilen-Eosin X20



Resim 8

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 25. günde testisleri çıkarılan deneklerde bağ dokusu ;(Siyah ok), Spermatogonyum ;(Pembe ok), Spermatosit I ;(İnce beyaz ok).

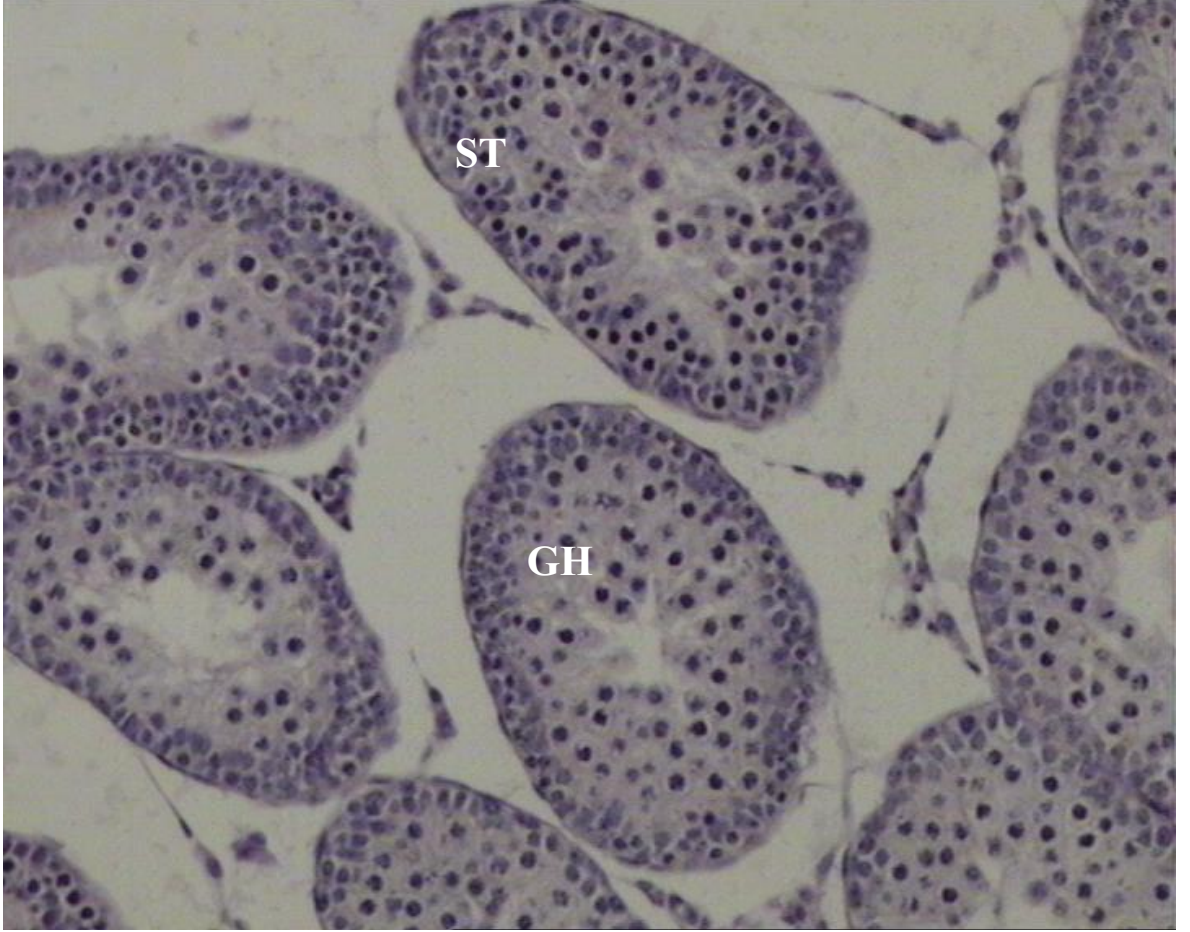
Hematoksilen-Eosin X40



Resim 9

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 25. günde testisleri çıkarılan deneklerde seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu ;(Siyah ok).

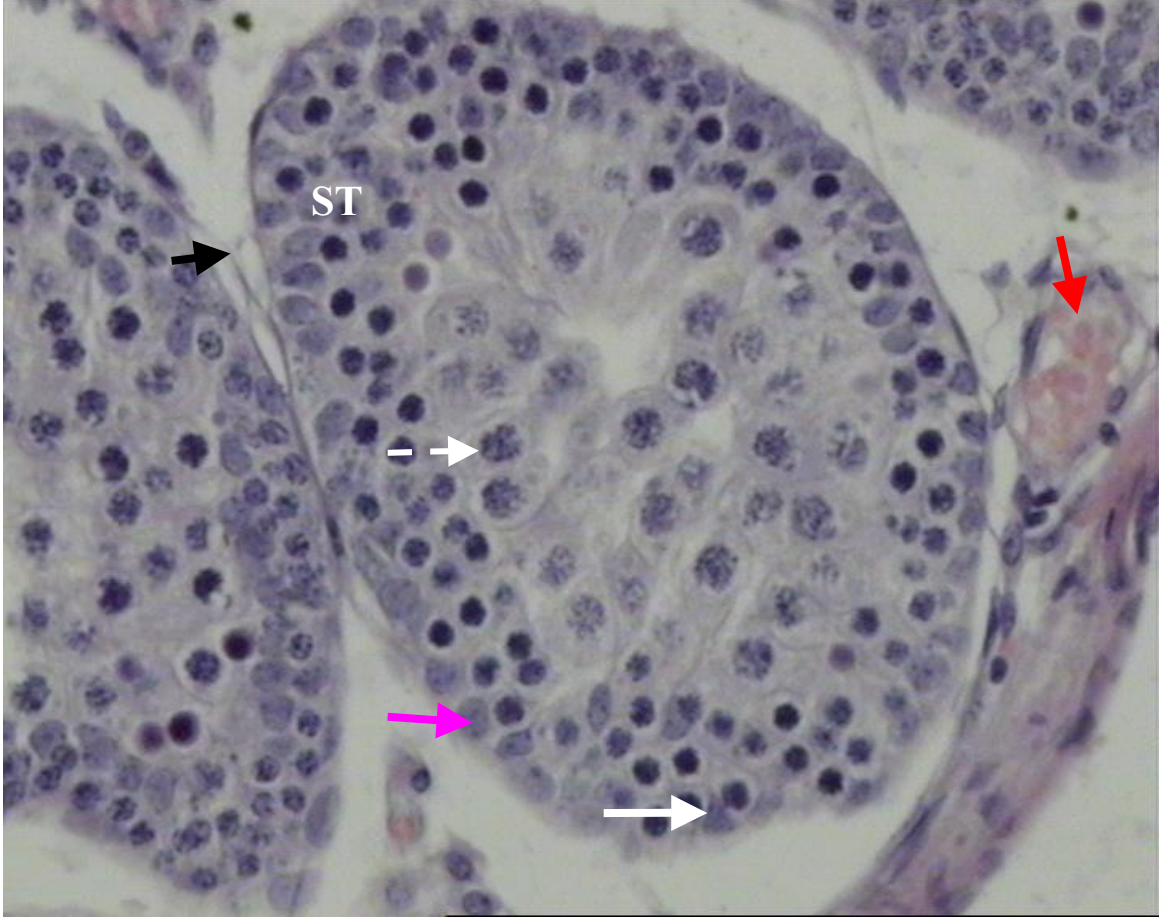
Periyodik Asit Schiff (PAS) X20



Resim 10

Doğumu izleyen 35 günlük kontrol grubu deneklerinde seminifer tübül (ST) ve Seminifer tüpler içerisinde germ hücre serisi (GH) görülüyor.

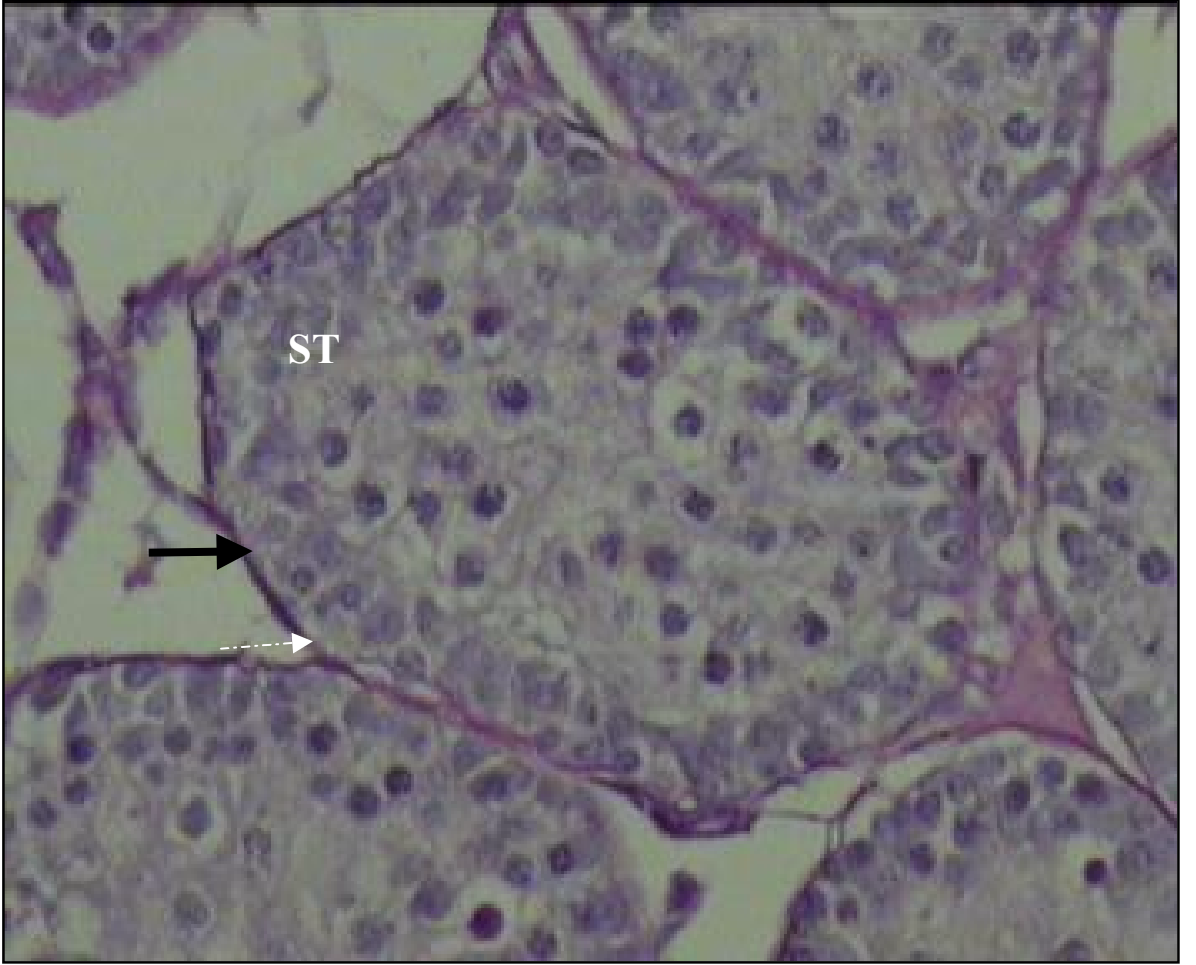
Hematoksilen-Eosin X20



Resim 11

Doğumu izleyen 35 günlük kontrol grubu deneklerinde Seminifer tübül (ST), bunlar arasında bağ dokusu ;(Siyah ok) bölmeleri, Spermatogonyum; (Pembe ok), Spermatosit I;(Kesikli ok), Sertoli Hücre;(Beyaz ok), Damar; (Kırmızı ok).

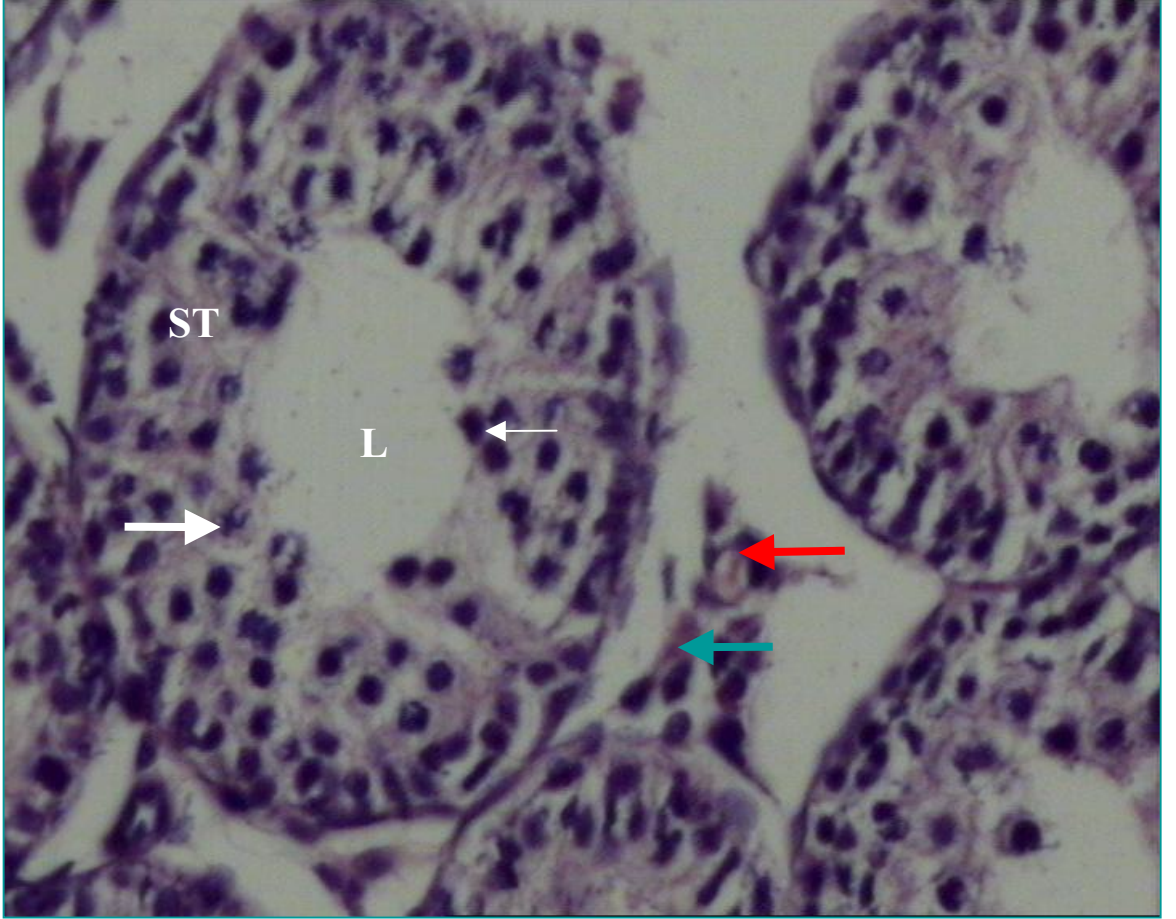
Hematoksilen-Eosin X40



Resim 12

Doğumu izleyen 35 günlük kontrol grubu deneklerinde Seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu;(Siyah ok) bölmeleri ,Bazal la mina ;(Kesikli ok) görülmekte.

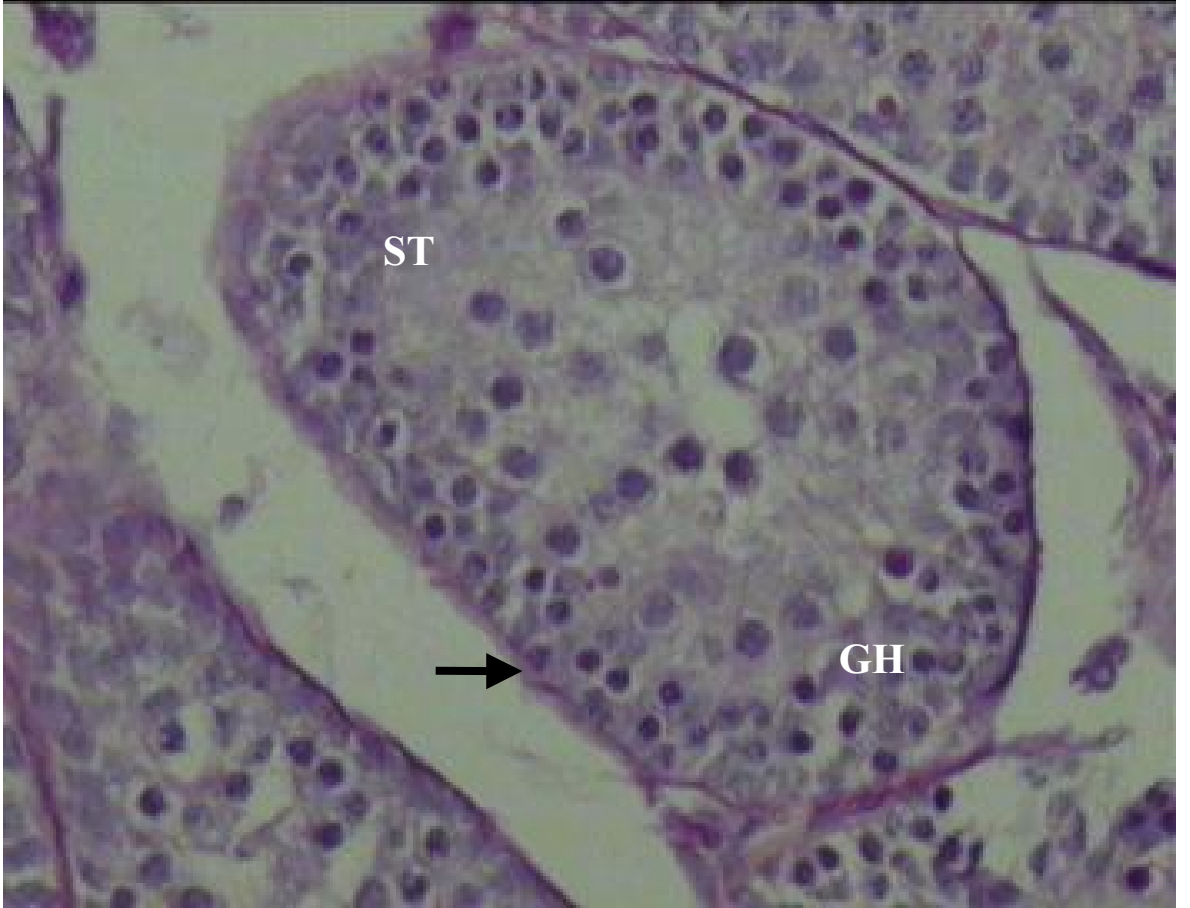
Periyodik Asit Schiff (PAS)X40



Resim 13

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 35. günde testisleri çıkarılan deneklerde seminifer tübül (ST), Damar;(Kırmızı ok), Leydig cell ;(Yeşil ok), Lümen;(L) Spermatozoid I;(Kalın beyaz ok), spermatozoid II ;(ince beyaz ok).

Hematoksilen-Eosin X40



Resim 14

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 35. günde testisleri çıkarılan deneklerde seminifer tübül (ST), bunlar arasında bağ dokusu ;(Siyah ok), Seminifer tübül içinde germ hücreleri ;(GH) görülüyor.

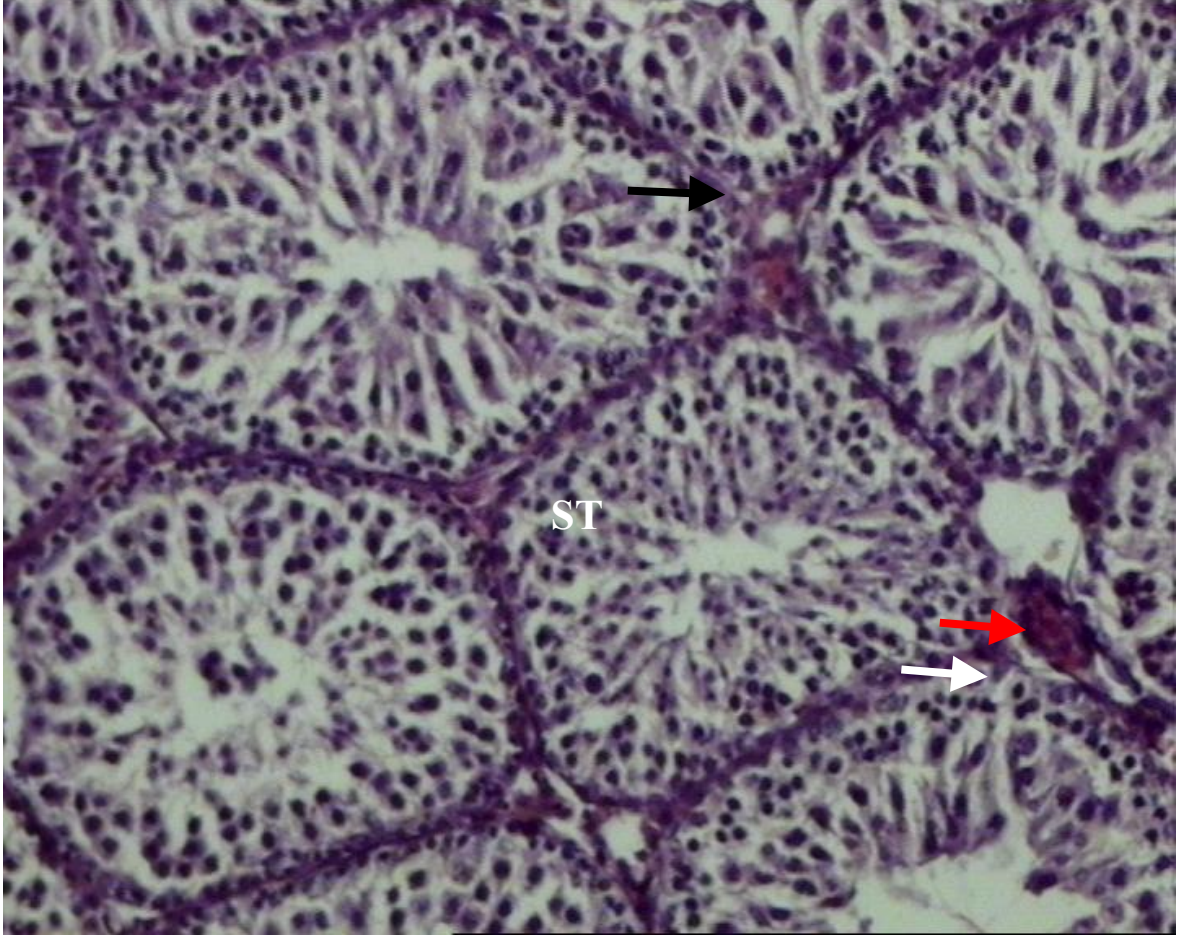
Periyodik Asit Schiff (PAS) X40



Resim 15

Doğumu izleyen 45 günlük kontrol grubu deneklerinde Seminifer tübül; (ST), Seminifer tübül içinde germ hücre serisi;(GH)Spermatozoa I;(kalın beyaz ok), Spermatozoa II;(İnce beyaz ok) Spermatid;(kesikli ok).

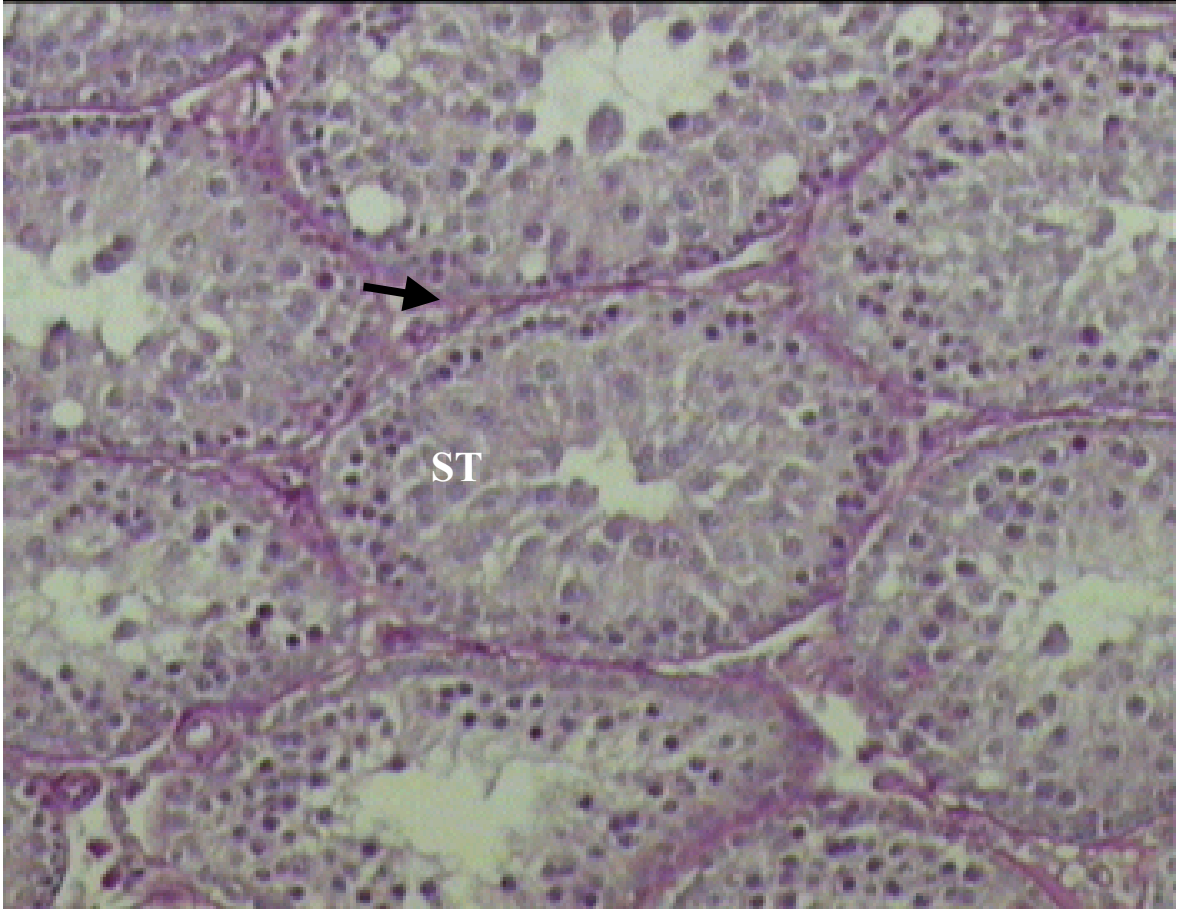
Hematoksilen-Eosin X40



Resim 16

Doğumu izleyen 45 günlük kontrol grubu deneklerinde Seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu ;(Siyah ok) bölmeleri, Damar ;(Kırmızı ok). Sertoli (Kalın beyaz ok).

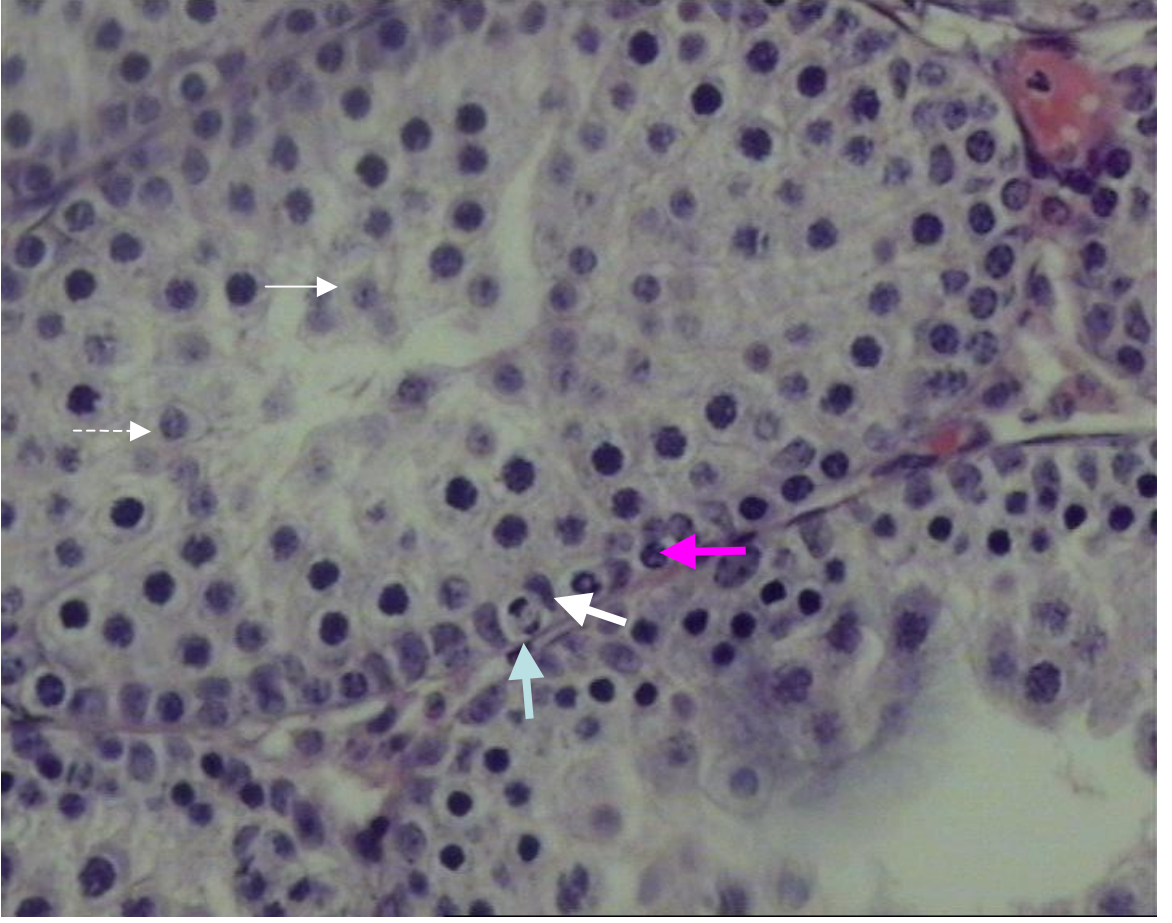
Hematoksilen-Eosin X20



Resim 17

Doğumu izleyen 45 günlük kontrol grubu deneklerinde Seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu ;(Siyah ok) bölmeleri, Seminifer tübül içindeki germ hücreleri ;(Sarı ok) görülüyor.

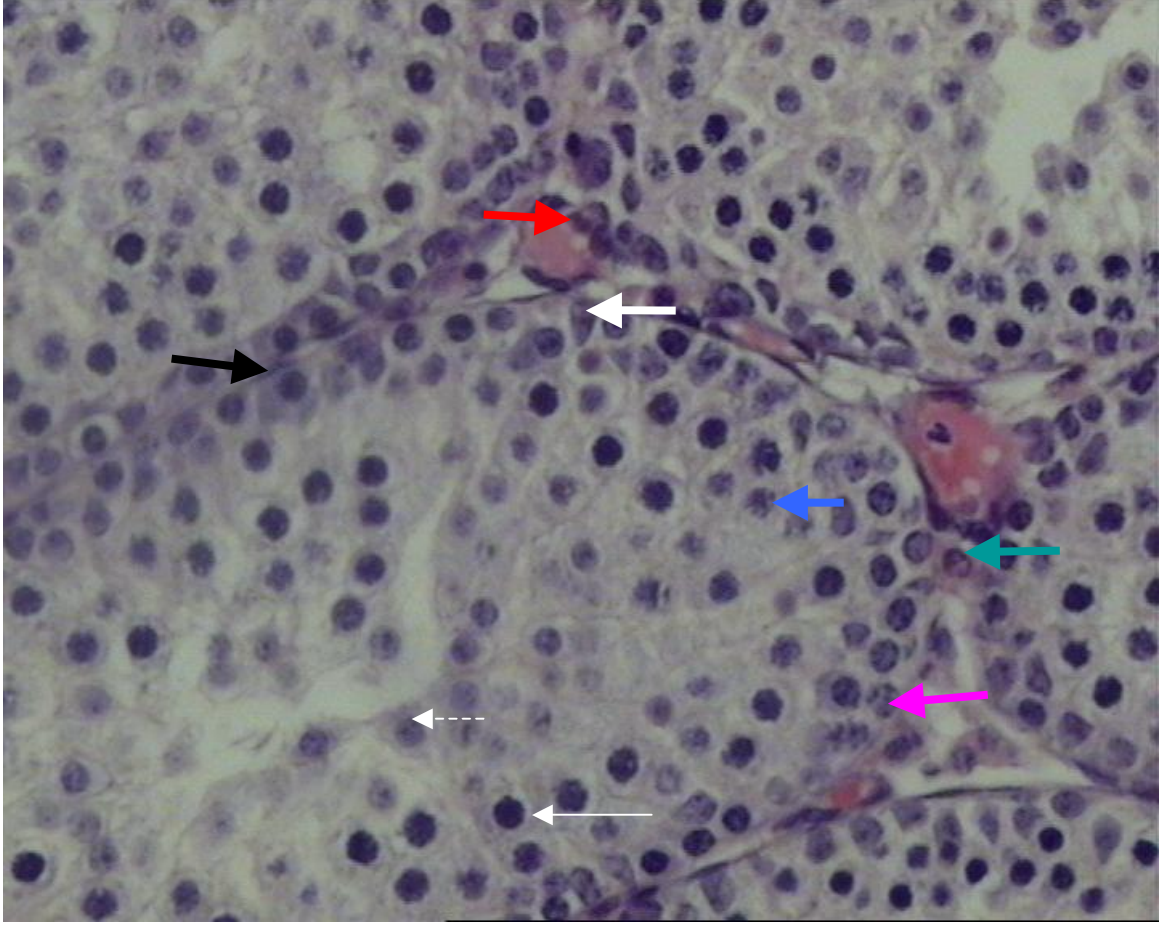
Periyodik Asit Schiff (PAS) X20



Resim 18

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin veriliip 45. günde testisleri çıkarılan deneklerde Sertoli hücresi;(Kalın beyaz ok), Mitoz;(Kalın beyaz ok), Spermatogonyum;(Pembe ok), Spermatid;(İnce beyaz ok), Spermatosit II;(Kesikli ok).

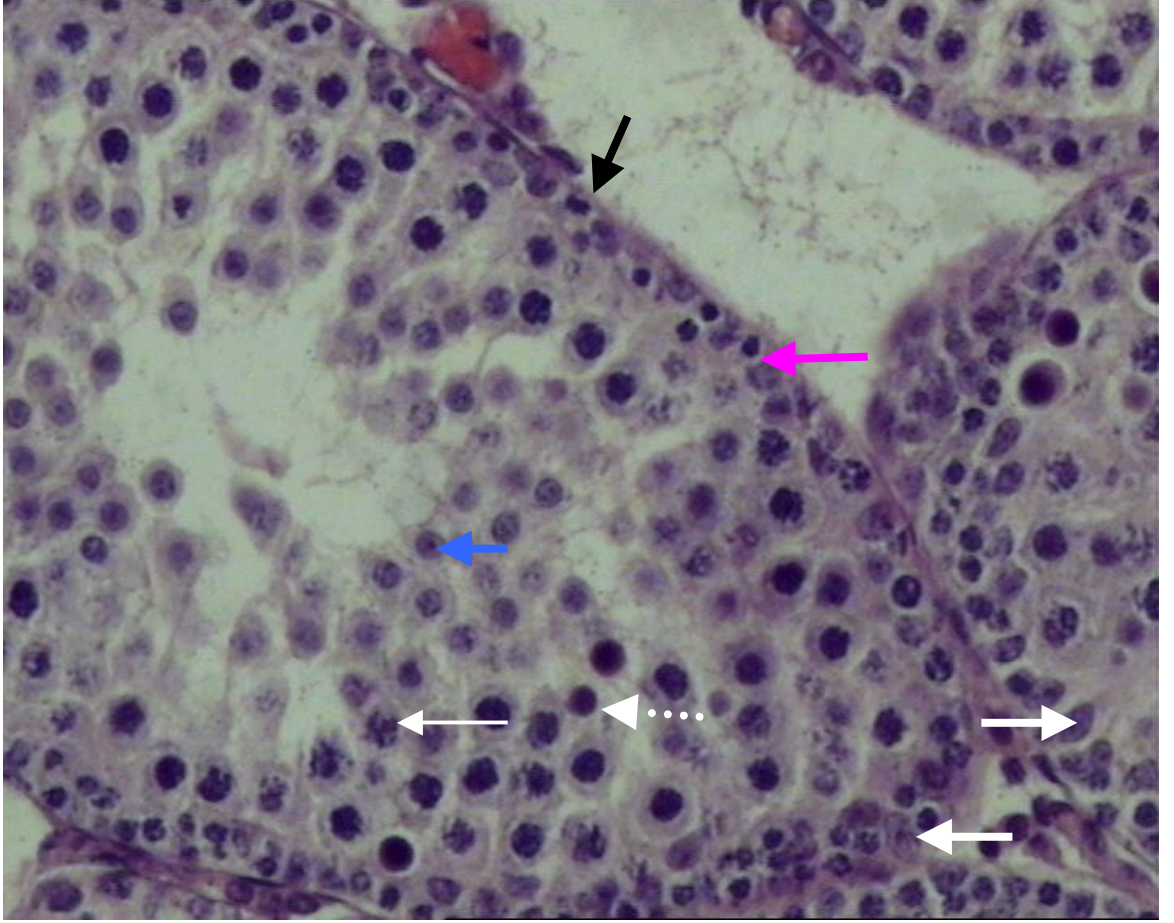
Hematoksilen-Eosin X40



Resim 19

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 45. günde testisleri çıkarılan deneklerde Bağ doku; (siyah ok), Sertoli hücresi; (Kalın beyaz ok), Spermatogonyum ; (Pembe ok), Leydig cell; (Yeşil ok), Spermatid; (kesikli ok), Spermatosit I; (mavi ok), Spermatosit II; (İnce beyaz ok), Damar ; (Kırmızı ok).

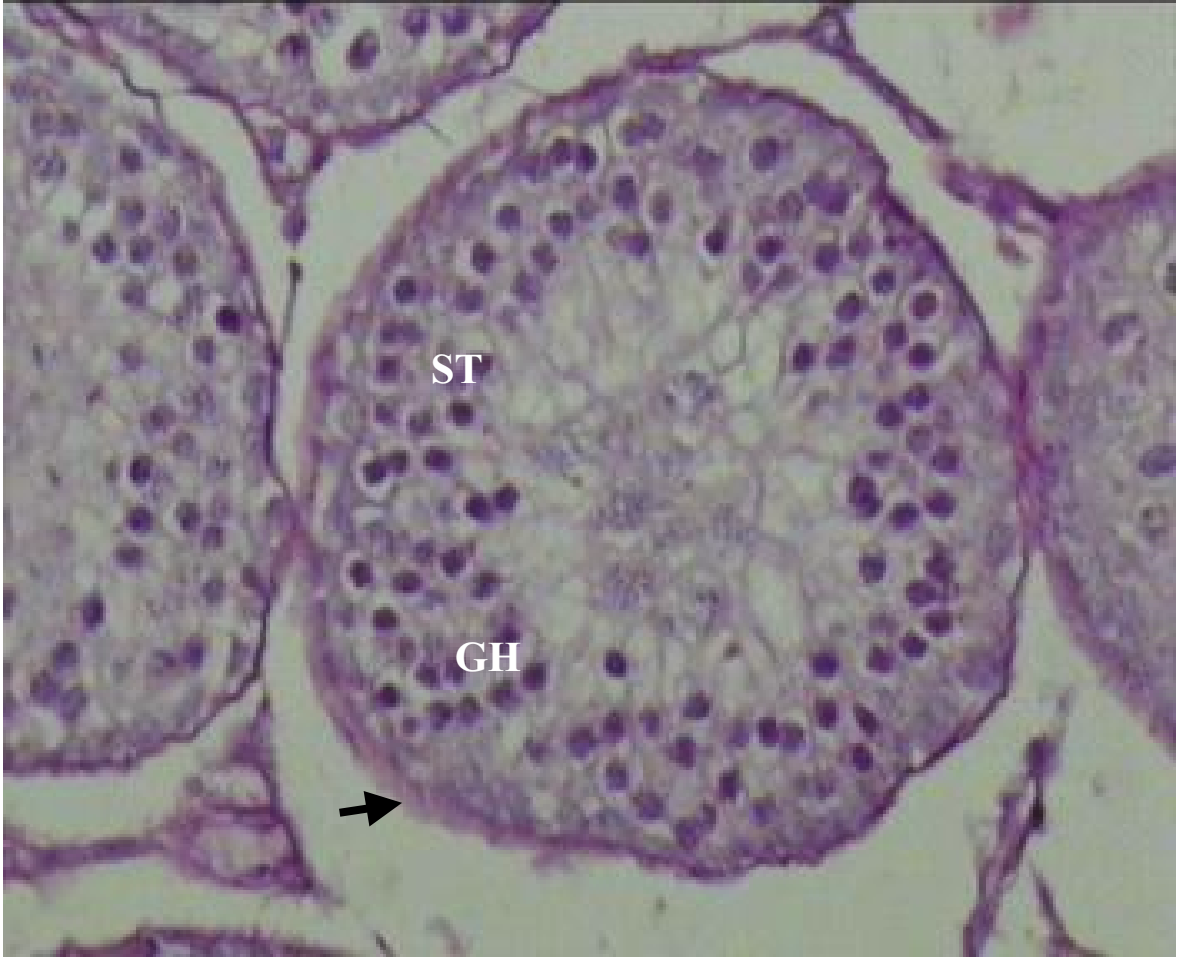
Hematoksilen-Eosin X40



Resim 20

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 45. günde testisleri çıkarılan deneklerde Bağ doku; (siyah ok), Sertoli hücresi; (Kalın beyaz ok), Spermatogonyum ; (Pembe ok), Spermatid; (mavi ok), Spermatosit I; (İnce beyaz ok), Spermatosit II; (Kesikli ok),

Hematoksilen-Eosin X40



Resim 21

Doğumdan itibaren 14 gün süreyle leptin verilip 45. günde testisleri çıkarılan deneklerde Seminifer tübül (ST) ve bunlar arasında bağ dokusu ;(Siyah ok), Seminifer tübül içinde germ hücreleri ;(GH).

Periyodik Asit Schiff (PAS) X40

5.TARTIŞMA

Leptin vücut ağırlığının düzenlenmesinde rol oynayan ve ob geni tarafından üretilen 16 kD a ağırlığında bir protehormondur. Beyaz yağ dokusu tarafından üretilir ve daha sonra beyine taşınır (106,107). Beyinde çeşitli merkezlerden yiyecek alımının azalması, enerjinin ve fiziksel aktivitenin artmasına sağlayan faktörlerin salınmasına neden olur. Bu faktörlerden en önemlisi neuropeptide Y (NPY) olarak bilinen nörotransmitterdir. Bu faktör aracılığı ile leptin salınması, enerjinin ve bazal metabolizmanın artması ile yiyecek alımının ve yağ doku kitlesinin azalması gerçekleşir (108). Yağ doku kitlesinin azalması diğer endokrin, otokrin ya da parakrin sinyallerin salınması ile yağ dokudan leptin sentezlenmesinin ve salınmasının azalmasına neden olur. Buradanda anlaşılacağı üzere, leptin salınımında negatif geri bildirim /feed back) söz konusudur. Leptinin beyin aracılığı ile dolaylı olan etkisinin yanında karaciğer , pankreas ve kas dokusu gibi çevresel dokulara direk yolla da etkisi vardı. Leptinin bu dokulara etkisinde de NPY nörotransmitteri aracılık eder (108,109,110). Leptin dokular üzerindeki etkisini hedef hücrelerde santral sinir sistemi ve diğer pek çok organda bulunan reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirir. Sıçan, domuz testislerindeki Leydig hücreleri leptin reseptörleri sahiptirler. Fare Leydig ve Sertoli hücrelerinde leptin reseptörü yoktur ancak spermatojenik serideki hücrelerde bulunmaktadır (111,112).

Son yıllardaki çalışmalar LH ve FSH'nın leptin reseptör ekspresyonunu düzenlediğini göstermektedir. Ancak leptin ve leptin reseptörü arasındaki ilişki henüz çok net açıklanmamıştır (113,114).

Leptin insülin salınımıyla da ilgilidir. Pankreatik β hücreleri leptin reseptörlerine sahiptirler ve leptinin direkt olarak β hücrelerinden insülin salınımını engellediği bildirilmektedir (115,116). Leptinin insülin sekresyonu dışında kortizol salınımını da düzenlediği bildirilmektedir. Obez insanlarda leptinin adrenokortikal hücrelerden kortizol üretimini azalttığı ileri sürülmektedir (109,117,118).

Yeterli beslenmenin üreme işlevinin sürdürülmesinde önemli olduğu yetersiz beslenmenin pubertinin başlamasını geciktirdiği ve normal seksüel döngüyü bozduğu bilinmektedir (119). Yetersiz beslenme erkeklerde hipogonadizime ve infertiliteye neden olmaktadır. Aynı zamanda yetersiz beslenme gonodotropin salgımında azaltmaktadır. Beslenme ve üreme arasındaki ilişkinin mekanizması yıllardır araştırılmaktadır. Beden yağ kitlesi ergin üreme sisteminin devamlılığını sağlayan ve pubertenin başlatılmasını kontrol eden faktörlerden biridir (120,121). Son dönemdeki pek çok araştırma beden yağ kitlesi değişimimizin metabolik veya beslenmeyle üreme işlevinin değişebileceğini göstermiştir. Çeşitli hormonlar beslenme ve üreme arasındaki olası sinyallerin iletiminde rol oynayabilirler. Beslenmeyle oluşan sinyallerin üreme sistemini nasıl etkilediği açık olarak bilinmemektedir. Leptinin keşfiyle birlikte sinyal iletiminde bu molekülün rol oynayabileceği görüşü ortaya atılmıştır. Leptin reseptörleri sentral sinir sisteminde hipotalamusun ventromedial ve arkuat bölgesinde bulunur. Bu bölgeler iştah, arzu, istek ve üremlle ilişkili bölgelerdir ve bu işlevler için buradan sinyal üretiminin olduğu düşünülmektedir (108,109).

Leptinin üreme işlevi üzerine etkilerini inceleyen araştırmalar yoğunluktadır (122,123). 1996 yılında Barash ve arkadaşları yapmış oldukları çalış-malarında ob/ob (genetik olarak leptin proteinin olmayan tür) dişi farelerin steril olduğu ve prepubertal dönemden çıkamadıkları ortaya konmuştur (124). Rekombinant leptin verilmesiyle ob/ob dişi farelerinde gonodotropin üretiminin , sekonder seks organlarının ağırlığı ile işlevinin düzeldiği ve bu hayvanların fertil hale geldiği gözlemlenmiştir (122).

Ob/ob erkek farelerde de fertilitte oranı oldukça düşüktür (125). Bu hayvanlar düşük düzeyde gonadotropin salgırlarlar ve hipogonadaldırlar (110,123). Seminifer t übülleri çok az sperm içerir ve Leydig hücreleri oldukça atrofiktir (122,125). Dişi farelerde olduğu gibi erkek farelerde de leptin verilmesi sonucunda fertilitenin düzeldiği, seminifer tübüllerde sperm sayısının arttığı ve leydig hücrelerinin normal şekil lerine ulaştığı belirlenmiştir. Böylece genetik olarak leptin proteinden yoksun olan farelerde leptin uygulamasının

fertiliteyi düzelttiği ileri sürülmüştür (126). Son yıllarda yapılan çalışmalar da leptin düşük konsantrasyonlarda etkili olduğunu yüksek konsantrasyonlarda verilen leptinin ovulasyonu inhibe ettiği bildirilmektedir.

Yetersiz beslenmeyle ilgili olarak yapılan deneylerde, yetersiz beslenmenin hayvanlarda üremeyi inhibe ettiği ve puberteyi geciktirdiği bildirilmektedir (127,128). Cheung ve arkadaşları obez olmayan fareleri / 80 libityum ile beslemiş ve puberte ile birlikte seksüel gelişimlerini incelediklerinde, bu farelerin hiçbirinde vaginal açıklığın olmadığını aynı zamanda da pubertenin başlamadığını görmüşlerdir. Leptin uygulanan grupta ise pubertenin normal zamanda olaylandığını ve gelişimlerinin normal olduğu görülmüştür (129). Bir diğer çalışmada da Ob/ob erkek farelere leptin uygulaması sonucu testikular ve seminal vezikül ağırlığının sperm üretiminin ve FSH düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Araştırmacılar obez olmayan hayvanlarda leptin tedavisinin beslenmeden daha etkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (125). Bir diğer çalışmada da leptinin pubertenin başlama zamanını öne çektiği gösterilmiştir (130). Farelerde yapılan çalışmalarda pubertenin başlama zamanının hemen öncesinde leptin seviyesinin arttığı bildirilmektedir (129). Bu gözlemler leptin salınımıyla seksüel gelişim arasında bir bağlantının olduğunu göstermektedir. Leptin FSH ve LH salınımını uyararak ovulasyonu artırmaktadır. Aynı zamanda overlerde Bcl-2'nin over ekspresyonuna neden olarak folliküler apoptozisi azaltıp atrofiye giden follikül sayısının azalmasına neden olmaktadır. İnsanlarda hem erkeklerde hem de kadınlarda sistemik leptin konsantrasyonu puberte döneminde artmaktadır. Bu artma kadınlarda puberte sonrası da aynen devam etmektedir. Ancak bu salınım erkeklerde puberte sonrası düşmektedir. Leptinin erkeklerde puberte sonrası düşmesi testosteronun leptin salınımına inhibisyonundan kaynaklanmaktadır. Bu inhibisyonunda leptin 8br-cAMPindüklenmiş testosteron üretimini inhibe eder (131,132).

Bununla birlikte Leptin ve puberte arasındaki ilişkiyi inceleyen son dönem çalışmalarda farklı sonuçlar ortaya konmuştur. Bunlardan biri 2004 yılında Mussa ve arkadaşları yaptıkları çalışmadır. Bu çalışmanın sonucunda araştırmacılar intraserebrovent -

riküler veya periferik leptin uygulamasının pubertal gelişime bir etkisi olmadığını görmüşlerdir. İnsanlarda ve hayvan modellerinde puberte döneminde leptinin rolü çok açık değildir. Prepubertal dönemdeki hayvanlara leptin uygulamasının pubertal değişikliklere yol açmadığı bildirilmektedir. Buna benzer bir diğer çalışmada normal beslenen farelere leptin uygulamasının seksüel gelişime açısından çok önemli etki yapmadığı gösterilmiştir.

Bu çalışmada testis gelişimi açısından leptin uygulanan gruplarla kontrol grupları arasında belirgin farklılık izlenmedi. Ancak seminifer tübüller her iki grupta ayrıntılı olarak incelendiğinde çok az farklılıkların olduğu gözlemlendi. 15 günlük kontrol grubunda Leydig ve spermatogonyumlar dışında germ hücre tipleri tam olarak ayırt edilemezken 15 günlük deney gruplarında Leydig hücrelerinin izlenmeye başladığı ve seminifer tübül duvarında spermatogonyumların yanısıra spermatosit I'lerin varlığı dikkati çekti. 25 günlük deney ve kontrol grupları gelişim birbirlerine benzer şekildeydi. Bizim çalışmamızda en anlamlı değişiklik 35 günlük ve 45 günlük deney gruplarında gözlemlendi. Otuzbeş günlük kontrol grubunda seminifer tübül duvarında spermatogonyumlar, spermatosit I ve II'ler bulunurken deney gruplarında erken tipte spermatidlerin geliştiği izlendi. Kırk beş günlük deney gruplarında kontrol grubundan farklı olarak geç tipte spermatidlere ve lümende çok az sayıda da olsa olgun spermelere rastlandı.

Bizim çalışmamızda leptinin yapısal olarak testislerin erken gelişmesinde çok önemli katkısı bulunamamıştır. Bulgular ekzojen uygulanan leptinin, sıçanların maksimum düzeyde leptin salgıladıkları dönem ile örtüşmesi nedeniyle, adipoz dokulardaki leptin salınımının negatif feedback yoluyla engellenmiş olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca gelişim süresince testosteron yapım basamaklarında leptinin baskılayıcı etkisinin de rol oynayabileceği diğer bir neden olabilir. Sonuç olarak pubertal testis gelişimine belirgin etkisi bulunamayan leptinin puberteyi normal dönemden önceye çekebileceği düşünülmemektedir.

6.ÖZET

Leptin, 167 aminoasitten oluşmuş bir proteindir. İnsanlarda yiyecek alımı, obezite, enerji dengesinin düzenlenmesinde etkili olduğu gibi, pubertenin başlama sında , hipotalamik pituiter işlevlerin düzenlenmesinde ve insülin direncinde de önemli rol oynamaktadır . Leptin hem kadın hemde erkek üreme sistemleri üzerinde etkilidir. Dişi ob/ob farelerin kısır olması ve bu farelerin sürekli pubertal dönemde bulunma sı leptinin üreme üzerindeki etkisinin ne denli önemli olduğunu göstermektedir. Leptin seviyesi ve etkisi pubertal dönemden sonra dişi ve erkeklerde farklılık göstermektedir. Kadınlarda östrojen, leptin salınmasını artırırken testosteron azaltmaktadır. Lit eratürde, leptinin erkek üreme organları üzerindeki etkilerinin histolojik olarak değerlendirildiği çalışmaların sayıca az olduğu gözlemlenmiştir. Bu nedenle, biz de çalışmamızda, leptinin yeni doğandan puberteye kadar olan dönemde testis germ hücrelerinde oluşturduğu yapısal değişimleri ışık mikroskopik olarak incelemeyi amaçladık.

Çalışmamızda yeni doğan erkek sıçanlara doğumun birinci gününden başlayarak 14 gün süreyle leptin uygulandı. Testisler doğumu izleyen 15, 25, 35 ve 45. günlerde çıkarılarak çeşitli histokimyasal boyalarla boyandı ve ışık mikroskobu düzeyinde incelendi.

Bu çalışmada testis gelişimi açısından leptin uygulanan gruplarla kontrol grupları arasında organın işlevini değiştirebilecek önemli bir bulguya rastlanmadı. En belirgin farklılığın 35 ve 45. günlerde olduğu saptandı. Kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, 35 günlük deney grubunda seminifer tübül duvarında spermatogonyum, spermatoisit I ve II'lerin yanısıra erken tipte spermatidlerde vardı. Kırkbeş günlük deney grubunda ise kontrolden farklı olarak geç tipte spermatid ve spermiumada rastlandı. Sonuç olarak, leptinin testislerin erken gelişmesinde çok da önemli bir katkısının olmadığı histolojik olarak gözlemlenmiştir. Bulgularımız, leptinin puberteyi normelden daha önceye çe kebileceğini düşündürmemektedir.

7.SUMMARY

Leptin is as a 167- amino acid protein. At humans food intake have an important role on obesity and energy expenditure, also it is important on regulation of hypothalamic – pituitary – gonadal axis, onset of puberty have important role too. Leptin has important role on both males and females reproductive system. The ob/ob (obese)female rats which are infertile and this rats are always in pubertal term,and this condition shows leptin's effects on reproductive is so important on it. Leptin level rises on females and males after the term of puberty may trigger the onset of puberty. Leptin level gets different value at male and female after puberty. Whereas estrogen is increase secretion of leptin, and decrease the testosterone. Nevertheless the effect mechanism of leptin in pubertal term and reproductive system of males in literature is completely unknown. So we want to investigate structural differences in testis germ cell caused by leptin from newborn until puberty like light microscopic.

In this study leptin is applied to the newborn male rate from first day of birth for fourteen days. The testises are taken out 15th., 25th., 35th. and 45th. days after birthday and they are stained with various histochemical dyes and they examined with light microscope.

In this study no differences could find on the developments of testis between the experiment and control groups. In this study the most definite differences were detected in 35th. and 45th. days. In the 35th. days experiment group spermatogonium, spermatosit I and II, early spermatid was observed together at seminifer tubul wall. In the 45th. days experiment group delayed different type spermatid and spermium has been found different from control. In our study leptin's structural behaviour has not very important additions in early development of testises. In the lights of our result puberty can not be pulled early than normal by leptins.

8. KAYNAKLAR

1. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM., Positional cloning of the Mouse obese gene and its human homologue. *Nature*. 1994;372: 425 –432.
2. Kirel B, Doğrusal N: Yeni Bir Hormon: Leptin Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi 1998; 7: 421.
3. Christos S, Mantzoros MD: The role of Leptin in Human Obesity and Disease: A Review of Current Evidence. *Ann Intern, Med* 1999; 130:671.
4. Garcia Mayor RV, Andrade MA, Rios M, Lage M, Rieiguez C, Casanueva FF: Serum leptin levels in normal children : Relationship to age, gender, body mass index, pituitary – gonadal hormones, and pubertal stage. *J., Clin Endocrinol Metab*. 1997: 82:2849 – 2855.
5. Mantzoros CS, Flier JS, Ragol AD: A longitudinal assesment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys: V. Rising leptin levels may signal the onset of puberty, *Journal of clinical Endocrinology and Metabolism*. 1997:82: 1065 –1070.
6. Almog B, Gold R, Tajima K, Dontes A, Salim K, Rubinstein M, Barkon D, Hamburg R, Lessing JB, Nevo N, Getrler A, Amsterdam A. Leptin attenuates follicular apoptosis and accelerates the onset of puberty in immature rats. *Molecular and cellular Endocrinology*. 2001: 183: 179–191.
7. Moore–Persaud–İnsan Embriyolojisi Klinik Yönleri ile. Çeviri Editörleri Prof. Dr. Mehmet Yıldırım Prof. Dr. İmer Okar Prof. DR. Hakkı Dalçık 6. Baskıdan Çeviri Nobel kitabevleri . 2001
8. Genel ve Özel insan embriyolojisi Prof. Dr. Aysel Şeftalioğlu 3. baskı Ankara. 1998.
9. Longman’sa medikal Embriyoloji yedinci baskı T.W. Sadler Çeviri Editörü Prof. Dr. A. Can başaklar Palme Yayıncılık.1999
10. Temel Histoloji. L. Carlos Junqueira, Jose Carneiro, Robert O. Kelley a Lange medical book. Çeviri editörü: Prof. Dr. Yener Aytakin. bar ış Kitabevi. 1998.

11. Russelld, Ettlın RA, Hıkım APS, CLEG ED. Histological and histopathological evaluation of the testis. Cache river pres, Bolesta. 1990.
12. Temel Anatomi. Editörü Prof. Dr. Meserret Cumhuri, , Editör Yrd. Doç. Dr. Nuran Yener Doç. Dr. Mürvet Tuncel ISBN . 2001.
13. Fonksiyonel Anatomi Editörler Prof. Dr. Bedia Sancak Prof. Dr. Meserret Cumhuri METU PRESS.1999.
14. Tıpta Uzmanlık Sınavına Hazırlık Programı. Anatomi Ders Notları – Yazar Uzm. Dr. Erdiñ Tunç. Hekimler Yayın Birliđi (hyb).1999.
15. Zeren ZB, Sistemik insan anatomisi, Ekim yayınları No:2 İstanbul 1982
16. Guyton AC., Textbook of medical physiology. Sixth edition WB, Saunders Company 997-1004 philadelphia, Toronto 1981.
17. Hatemi H: Leptin ve Vücut Ağırlığı Kontrolü, Endokrinolojide Yönelişler 1997; 6:169.
18. Hatemi H: Leptin: Obesitenin Genetik Çözümü mü? Endokrinolojide yönelişler 1997; 8:168.
19. Avwerx J, Stads b: Leptin. Lancet 1998; 351:737.
20. Schreiber V: Endocrinology 1995–1996. Cas. Lek. Cesk.1997:136: 240–241.
21. Robaczyk M, Smiarowska M,Krzyzanowska–swiniarska B: The ob gene product (leptin) – a new hormone of adipose tissue. Przeg. 1997:54: 348–352.
22. Pellemounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Bone T, Collins F,. Effects of the obese gene production body weight regulation in ob, ob mice. Science. 1995:269: 540–543.
23. Considine RU, Sinha MK, Heinman ML, Kriavciunas A, Stephans TW, Nyce MR., Ohannession JP, Mareo CC, McKee LJ, Brauer TL, Caro CF: Serum İmmunoreactive –

- Leptin Concentrations in normal weight and obese humans, *New England Journal of Medicine*. 1996; 334: 292–295.
24. Mercer JG, Moar KM, Rayner DV, Trayhurn P, Hoggard N: Regulation of Leptin receptor and NPY gene expression in hypothalamus of Leptin-treated obese (ob/ob) and cold exposed lean mice, *FEBS Letters*. 1997 ;402: 185–188.
 25. Trayhurn H, Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV: Leptin: Fundamental aspects. *International Journal of obesity and Related Metabolic Disorders*. 1999 ;23 :22 –28.
 26. Emilsson V, Liu YL, Cawthorne MA, Morton NM, Davenport M: Expression of the functional leptin receptor mRNA in pancreatic islets and direct inhibitory action of leptin on insulin secretion. *Diabetes*. 1997;46: 313–316.
 27. Kamohara S, Burcelin R, Halas JL, Friedman JM, Charron MJ : Acute Stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment. *Nature*. 1997;389, 374–377.
 28. Matkovic V, Ilich JZ, Skugor M, Badenhop NE, Goel P, Clairmont A, Klisovic D, Nahhas RW, Landoll JD: Leptin is inversely related to age at menarche in human females. *Journal of Clinical Endocrinology and metabolism*. 1997;82: 3239–3245.
 29. Chehab FM, Lu R.: Correction of sterility defect in homozygous obese female mice treated with human recombinant leptin. *Nature Genetics*. 1996;12: 318–320.
 30. Gainsford T, Wilson TA, Metcalf D, Handman E, Maffrand C, Alexander WS, Hilton DJ: Leptin can induce proliferation, differentiation and functional activation of hemopoietic cells. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the USA*:1996 :93,14564–14568.
 31. Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR, Lechler RI: Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression. *Nature*. 1998: 394: 897–901.

32. Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kormongant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerre-Millo M, Le Marchand-Brustel, Yand Lewinr MJ: The stomach is a source of leptin. *Nature*. 1998;394: 790–793.
33. Collins S, Kuhn CM, Petro AE, Swick AG, Chrnyk BA, Surwit RS: Role of leptin in fat regulation, *Nature* .1996;380: 677.
34. Sierra-Honinmann MR, Nath AK, Murakomi C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC, Madge LA, Schechner JS, Schwablo MB, Polverini PJ, Flovers-Riveros JR, Biological action of leptin as an angiogenic factor *Science*. 1998 :281: 1683 –1686.
35. Weigle DS. Leptin and other secretory products of adipocytes modulate multiple physiological functions. *Ann. Endocrinol. (Paris)*1997;58: 132–136.
36. Houseknecht KL, Baile CA, Matteri RL, Spurlock ME: The biology of leptin : a review, *J. Anim. Sci.* 1998;76: 405–420.
37. Haynes WG, Morgan DA, Walsh SA, Sivitz WI, Mark AL: Cardiovascular consequences of Obesity. Role of leptin. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*1998;25: 65–69.
38. Haynes WG, Sivitz WI, Morgan DA, Walsh SA, Mark AL: Sympathetic and cardiorenal actions of leptin. *Hypertension*. 1997;30: 619–623.
39. Wauters M, Mertens I, Rankinen I, Chagnon M, Bouchard C, Van Gall: Leptin receptor gene polymorphisms are associated with insulin in obese women with impaired glucose forerance, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*2001;86: 3227–3232.
40. Rohner-Jeanrenaud E, Jeanrenaud B: Central nervous system and body weight regulation. *Ann. Endocrinol (Paris)*. 1997;58: 137–142.
41. Remesar X, Rafecas I, Femandez-Lopez JA, Alemany M: Is leptin an insulin counter-regulatory hormone? *FEBS Leth.* 1997;402: 9–11.
42. Schwartz MW, Seeley RJ, Woods SC: Wasting illness as a disorder of body weight regulation. *Proc. Nutr. Soc.* 1997;56: 785–191.

43. Magnia P, Vektor R, Pagano C, Calcagno A, Martini L, Motta M: Control of the expression of human neuropeptide Y by leptin : in vitro studies. *Peptides*. 2001;22: 415 – 420.
44. Wolf G: Neuropeptides responding to leptin. *Nutr. Rev.*1997;55: 85 –88.
45. Castagna L, De Gregonio T, Auegra A, Buemi M, Corsonello A, Bonanzinga S: Leptin : adi pocyte hormone. *Recenti. Prog. Med.* 1998;89: 200–207.
46. Trayhurn P, Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV: Hormonal and neuroendocrine regulation of enerjy balance–the role of leptin. *Arch. Tiernahr.* 1998;51: 177–185.
47. Zemel MB, Agouti / melanocortin interactions with leptin pathways in obesity. *Nutr Rev.* 1998;56:271–274.
48. Castracane VD, Kraemer RR, Franken MA, Kraemer GR, Gimpel T: Serum leptin concentration in women : effect of age, obesity, and estrogen administration. *Fertil. Steril.*1998;70: 472–477.
49. Tritos NA, Mantzoros CS: The role of leptin in the obesity. *Diabetologia* 1997: 40:1371.
50. Cinaz P. Çocuklarda leptinin önemi:Genel tıp dergisi. Haziran 2003:13:13
51. Ziylan YZ. Merkezi sinir sisteminde leptin transportu:Genel tıp dergisi. Haziran 2003:13:18
52. Reichlin S : İs leptin a secretion of the brain. *J. Clin Endocrinol Metab.* 1999: 84:2267.
53. Bernardisand LL, Bellinger LL: The dorsomedial hypothalamic nucleus revisited : update. *Proc. Soc. Exp. Biol, Med.*1998;218: 284–306.
54. Sharma K, Considine RV: The ob protein (leptin) and the kidney. *Kidney Int.* 1998;53: 1483–1487.
55. Yeğen BÇ. İnfeksiyon ve İnflamasyonda leptin: Genel tıp dergisi. Haziran 2003:13:2

56. Hatemi H : Nöropeptid Y Merkezsel ve Çevresel Anlamı, Endokrinolojide Yönelişler. 1997 : 6 : 167.
57. Roemmich JN, Rogol AD : Role of leptin during childhood growth and development Endocrinol Metab Clin North AM. 1999: 28:749.
58. Sinha MK, Caro JF: Clinical aspects of leptin. V; t. Hormones:1998:54: 1 – 30.
59. Hardie L, Trayhurn P, Abramovich D, Fowler P: Circulating leptin in women a longutudinal study in the menstrual cycle and durgn pregnancy. Clin. Endocrino l. (Oxford). 1997:47: 101–106.
60. Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT : Plasma Leptin levels in healthy children and adolescents : Dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubental stage and testosterone. J., Clin Endocrinol Metab. 1997: 82:2904–2910.
61. Ahmed ML, Onog KKL, Morrell DJ, Cox L, Drayer N : Longitudinal Study of leptin concentrations during puberty : Sex differences and relationship to changes in body composition. J., Clin Endocrinol Metab.
62. J. Nedvidkova, Leptin Cesk. Fysiol.1997:46:182–188.
63. Halleux CM, Servais I, Reul BA, Detry R, Brichard SM: Multihormonal control of do gene statement and leptin secretion from cultured human visceral adipose tissue : increased responsiveness to glucoconticoids in obesity. J. Clin. Endocrin ol. Metab. 1998:83: 902–910.
64. Nicklas BJ, Toth MJ, Goldberg AP, Poehlman ET: Racial differences in plasma leptin concentrations in obese postmenopausal women. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1997:82: 315–517.
65. Pirwany IR, Fleming R, Satar N, Greer IA,Wallace AM: Circulating leptin concentrations and ovarian function in polycystic ovary syndrame Eur. J. Endocrinol. 2001:145: 289–294.

66. Conings DE, Gade R, Muhleman D, Peters WR, Mac Mucray JP: The LEP gene and age of menarche : maternal age as a potential cause of hidden stratification association studies. *Md. Genet. Metab.* 2001;73: 204–210.
67. Bray GA York, DA: Hypothalamic and genetic obesity in experimental animals, an autonomic and endocrine hypothesis. *Physiol. Rev.* 1979: 59: 719–809.
68. Carlsson B, Ankarberg C, Rosbmerg S, Norjavaara E, Albertsson–Wikland K, Carlsson LM.: Serum leptin concentrations in relation to pubertal development. *Arch. Dis. Child.* 1997: 77: 396–400.
69. Palment MR, Radovick S, Boepple PA. The impact of reversilole gonadal sex steroid suppression on serum leptin concentrations in children with central precocious puberty. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1998;83: 1091–1096.
70. Cioffi JA, Van Blerkom J, Antcrak M, Stafer A, Wittmer S, Snodgrass HR, The expression and its receptors in preovulatory human follicles. *Mol. Hum. Reprod.* 1997;3: 497–672.
71. Barkan D, Jia H, Dantes A, Vardimon L, Amsterdam A, Rubinstein M. Leptin modulates the glucocorticoid–induced ovarian strodogenesis. *Endocrinology.* 1999;140: 1731–1737.
72. Yu WH, Kimura M, Walzewska A, Karanth S, McCann SM. Role of leptin in hypothalamic–pituitary function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997;94: 1023–1028.
73. McCann SM, Kimura M, Nalczewska A, Karanth S, Rettoni V, Yu WH. Hypothalamic control of FSH and LH by FSH–RF, LHRH, leptin and nitric oxide. *Neuroimmunomodulation.* 1998;5: 193–202.
74. Henry BA, Goading JW, Tilbrook AJ, Dunshea FR, Clarke IJ. Intracerebroventricular infusion of leptin elevates the secretion of lutainising hormone without affecting food

- intake in long-term food-restricted sheep, but increases growth hormone irrespective of bodyweight. *J. Endocrinology* .2001:168: 67–77.
- 75.** Cheung CC, Thornton JE, Kuijper JL, Weigle DS, Clifton DK, Steiner RA, Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female rat. *Endocrinology*. 1997:138 : 855–858.
- 76.** Grauz – Gumowski NM, Lalaoui M, Pierroz DD, Englaro P, Sizoneko PC, Blum WF, Aubert ML. Chronic administration of leptin into the lateral ventricle induces sexual maturation in severely food-restricted female rats. *J. Neuroendocrinol*. 1998:10: 627–633.
- 77.** Barach IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting ED, Kuijper JL, Clifton DK Steiner RA: Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. *Endocrinology*. 1996: 137: 3144–3147.
- 78.** Carro E, Pinilla L, Seoane LM, Considine RV, Augiler E, Casanueva FF, Dieguez C. Influence of the endogenous leptin tone on the estrous cycle and LH pulsatility in female rats. *Neuroendocrinology*.1997 :66: 375–377.
- 79.** Ahima RS, Saper CB, Flier JS, Elmquist JK: Leptin regulation of neuroendocrine systems. *Front. Neuroendocrinol*. 2000 :21: 263–307.
- 80.** Casanueva FF, Dieguez C: Neuroendocrine regulation and actions of leptin. *Front. Neuroendocrinol*. 1999:20: 317–363.
- 81.** Shimizu H, Shimomura Y, Nakanishi Y, Futawatari T, Ohtani K, Sato N, Mori M: Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects. *J. Endocrinol*. 1997:154:285–292.
- 82.** Rosenbaum M, Nicolson M, Hirsch J, Heymsfield SB, Gallagher D, Chu F: Effects of gender, body composition, and menopause on plasma concentrations of leptin. *J. Clin. Endocrinol. Metab*.1996:81: 3424–3427.

- 83.** Haffner SM, Mykkanen L, Stern MP: Leptin concentrations in women in the San Antonio Heart Study. Effect of menopausal status and postmenopausal hormone replacement therapy. *Am. J. Epidemiol.* 1997;146: 581–585.
- 84.** Luukka V, Pesonen U, Huhtaniemi I, Lehtonen A, Tälvi R, Tuomilehto J: Inverse correlation between serum testosterone and leptin in men, *J Clin Endoc Metab.* 1998; 83 (9): 3243–46.
- 85.** El-Swefy SE, Ali SI, Asker ME, Mohamed HE: Hyperhomocysteinemia and cardiovascular risk in female ovariectomized rats; role of folic acid and hormone replacement therapy, *J Pharm Pharmacol.* 2002; 54(3): 391–397.
- 86.** Mijatovic V, Netelenbos C, Van der Moren MJ, De Valk-de Roo GW. Randomized, double-blind, placebo-controlled study of the effects of raloxifene and conjugated equine estrogen on plasma homocysteine levels in healthy postmenopausal women, Fertility and sterility. 1998;70 (6):1085–1089.
- 87.** Tena-Sempere M, Barreiro ML. Leptin in male reproduction : He testis paradigm department of Cell biology, physiology and Immunology (Physiology Section), Faculty of Medicine, University of Cordoba, Avda. Menendez Pidal s/n, 14004 Cordoba, Spain.
- 88.** Mounzih K, Lu R, Chehab FF: Leptin treatment rescues the sterility of genetically obese ob/ob males. *Endocrinology.* 1997; 138 :1 190–1193.
- 89.** Gonzalez LC, Pinilla L, Tena-Sempere M, Aguilar E: Leptin 116–130 stimulates prolactin and LH secretion in fasted adult male rats. *Neuroendocrinology.* 1999;70: 213–220.
- 90.** Strobel A, Issad T, Camoin L, Ozata M, Strosberg AD: A leptin missense mutation is associated with hypogonadism and morbid obesity. *Nature Gen.* 1998;18: 213–215.
- 91.** Wauters M, Considine RV, Van Gaal RF: Human Leptin : from an adipocyte hormone to an endocrine mediator. *Eur, J. Endocrinol.* 2000;143: 293–311.

92. Wabitsch M, Blum WF, Muhe R, Braun M, Habe F, Rascher WB, Heinze E, Teller W, Hauner H: Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. *J. Clin. Invest.* 1997;100: 808–813.
93. Zamorano PL, Mahesh VB, De Sevilla LM, Chorich LP, Bhat GK, Brann DW: Expression and localization of the leptin receptor in endocrine and neuroendocrine tissues of the rat. *Neuroendocrinology* .1997;65: 223–228.
94. Hoggard N, Mercer JG, Rayner DV, Moor K, Troyhum P, L. Williams LM: Localization of leptin receptor mRNA splice variants in murine peripheral tissues by RT-PCR and in situ hybridization. *Biochem. biophys. res. Commun.*1997;232: 383–387.
95. Caprio H, Isidori AM, Canta AR, Moretti C, Dufau ML, Fabbri A: Expression of functional leptin receptors in rodent Leydig cells. *Endocrinology*. 1999;140: 4939–4947.
96. El-Hefnawy T, Laffe S, Dym M: Expression of the leptin receptor during germ cell development in the Mouse testis. *Endocrinology*. 2000;141: 2624–2630.
97. Tena-Sempere M, Pinilla L, Zhong FP, Gonzalez LC, Huntaniemi I, Casanueva FF, Dieguez C, Aguilar E: Developmental and Hormonal regulation of leptin receptor (Db – R) messenger ribonucleic acid expression in rat testis. *Bid. Reprod.* 2001;64:S 634–643.
98. Schwartz MW, Seeley RJ, Campfield A, Burn P, Baskin DG: Identification of targets of leptin action in rat hypothalamus. *J. Clin. Invest.* 1996;98: 1101–1106.
99. Yu WH, Kimura M, Warkowska A, Karanth S, McCann SM: Role of leptin in hypothalamic–pituitary function. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997;94:1023–1028.
100. Tena-Sempere A, Pinilla L, Gonzalez LC, Navarro J, Dieguez C, Casanueva FF, Aguilar E: In vitro pituitary and testicular effects of leptin-related synthetic peptide, leptin 116–130 amide, involve actions both similar to and distinct from those of the native leptin molecule in the adult rat. *Eur. J. Endocrinol.*2000;142: 406–410.

- 101.** Zachow RJ, Magoffin DA: Direct intraovarian effects of leptin : impairment of the synergistic action of insulin-like growth factor-I on follicle-stimulating hormone dependent estradiol - 17 beta production by not ovarian granulosa cells. *Endocrinology*.1997;138: 847-850.
- 102.** Spicer LJ, Francisco CC: The adipase obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function. *Endocrinology* .1997;138: 3374-3379.
- 103.** Isidoni AM, Caprio M, Strollo F, Moretti C, Frajese G, Isidori A, Faldori A: Leptin and androgens in male obesity : evidence for leptin contribution to reduced androgen levels. *J. Clin Endocrinol. Metab.*1999;84: 3673-3680.
- 104.** Kruse M, Bornstein SR, Uhlmann K, Paeth G, Scherbaum WA: Leptin down-regulates the steroid producing system in the adrenal, *Endocrine Res.* 1998;24: 587-590.
- 105.** Cherradi N, Capponi AM, Gaillard RC, Pralong FP: Decreased expression of steroidogenic acute regulatory protein : a novel mechanism participating in the leptin-induced inhibition of glucocorticoid biosynthesis. *Endocrinology*.2001;142: 3302-3308.
- 106.** Dyer CJ, Simmons JM, Matteri RL, Keisler DH. Leptin receptor mRNA is expressed in the anterior pituitary and adipose tissues and is differentially expressed in hypothalamic regions of well-fed and feed-restricted ewes. *Domest. Anim. Endocrinol.* 1997;14:119-128.
- 107.** Wouters M, Considine RU, Van Gaal LF. Human leptin: from an adipocyte hormone to an endocrine mediator, *Eur. J. Endocrinol.* 2000: 143: 293-311.
- 108.** Tartaglia LA, Dembski M, Weng X, Deng N, Culpepper J, Devos R, Richards GJ, Campfield LA, Clark FT, Deeds J, Muir C, Sanker S, Moriarty A, Moore KJ, Smutko JS, Mays GG, Wolf EA, Monroe CA, Teper RI. Identification and expression cloning of a leptin receptor, OB-R. *Cell.* 1995;83:1263-1271

- 109.** Cohen B, Novick D, Rubinstein M. Modulation of insulin activities by leptin. *Science (Wash DC.)* 1996;274:1185-1188.
- 110.** Swerdloff RS, Peterson M, Vera A, Batt RA, Hever D, Bray GA. The hypothalamic-pituitary axis in genetically obese (ob/ob) mice: Response to kateinizing hormone – releasing hormone. *Endocrinology.* 1978;103:542-547.
- 111.** Hoggard n., Mercer jG, Rayner DU, Moar K, Trayhurn P, Williams LM. Localization of leptin receptor mRNA splice variants in murine peripheral tissues by RT – PCR and in situ hybridization. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 232: 383 -387
- 112.** Caprion m., Isidoni AM, Carto AR, Moretti C, Dufau ML, fabbini A, Expression of functional leptin receptors in rodent keydig cells. *Endocrinology.* 1999; 140: 4939 -4947
- 113.** Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the Mouse doese gene and ith human homologue. *Nute (Land).* 1994;372:425-432
- 114.** Tena – Sempere M, Mana PR, Zhong FP, Pinilla L, Ganzalez LC, Dieguez C, Huhtaniemi I, Aguilar E. Molecular mechanism of leptin receptor Messenger ribonusleic acid expression. *J. Endocrind* 2001 a: 170: 413 -423.
- 115.** Cusin. I, Sainbury A, Doyle P, Rohner – Jeanrennaud F, Jeanrennaud B. The ob gene and insulin. A relationship leading to clues to the understanding of obesity. *Diabetes.* 1995;44:1467-1470.
- 116.** Banks, WA, Kastin AJ, Huang W, Jaspan JB, Maness LM. Leptin enters the brain by a saturable system indopented of insulin. *Peptides.* 1996;17:305 -311.
- 117.** Kroder G, Kelerler M, Haring HU. Effect of leptin on insuli n signalling in rat – 1 fibroblasts overexpressing HIR. *Exp. Clin. Endocmnol. Diabetes.* 1996;104:66
- 118.** Kieffer TJ, Heller RS, Habener JF. Leptin receptons expresse on pancreatic b - cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1996;224:522 -527.

- 119.** Strobel A, Iosad T, Comoin L, Ozota M, Strosborg AD. A leptin missense mutation is associated with hypogonadism and morbid obesity nature Gen. 1998; 18: 213 - 215
- 120.** Pelleymounter MA, Cullen MJ, Baker MB, Hecht R, Winters D, Bone T, Collins F. Effects of the obese gene product on body weight regulation in ob/ob mice, Science (Wash DC). 1995; 269: 540 – 543.
- 121.** Campfield LA, Smith FS, Guisez Y, Devos R, Burn P. Recombinant Mouse OB protein: Evidence for a peripheral signal linking adiposity and central neural Networks. Science (Wash DC). 1995 : 269 : 546 - 549.
- 122.** Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper, Clifton DK, Steiner RA. Leptin is a metabolic signal to the reproductive system. Endocrinology. 1996;137:3144-3147
- 123.** Lane PW, Dickie MM. Fertile obese male mice. Relative sterility in obese males corrected by dietary restriction. J. Hered. 1954;45:56-58.
- 124.** Hamann A, Matthaei S. Regulation of energy balance by leptin. Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 1996;104:293-300.
- 125.** Chehab FF, Mounzih K, Lu R, Lim ME. Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. Science (Wash DC). 1997;275:88-90.
- 126.** Mounzih K, Lu R, Chehab FF, Leptin treatment rescues the sterility of genetically obese ob/ob males. Endocrinology. 1997;138:1190-1193
- 127.** Asdell SA. Nutrition and the treatment of sterility in dairy cattle: A review. J. Dairy Sci. 1949;32:60-70
- 128.** Widmaier EP. Metabolic feedback in mammalian endocrine systems. Horm. Metab. Res. 1992;24:147-153.

- 129.** Cheung CC, Thornton JE, Kuijper JL, Weigle DS, Clifton DK, Steiner RA. Leptin is a metabolic gate for the onset of puberty in the female not. *Endocrinology*. 1997;38:855-858.
- 130.** Mantzanos CS, Flier JS, Ragol AD. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys. V. Rising leptin levels may signal the onset of puberty. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1997;82:1066 -1070.
- 131.** Wabitsch M, Blum WF, Mushe R, Braun M, Hube F, Rascher W, Heinze E, Teller W, Hauner H. Contribution of androgens to the gender difference in leptin production in obese children and adolescents. *J. Clin. Invest.* 1997; 100: 808-813
- 132.** Tena – Sempene M, Pinilla I, Gonzalez LC, Dieguez C, Casanueva FF, Aguilar E., leptin inhibits testosterone secretion from adult testis in vitro . *J. Endocrinol.* 1999; 161: 211-218