

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**DİYETSEL OBEZİTELİ FARELERDE KRONİK YAĞ ASİDİ BAĞLAYICI PROTEİN 4
İNİHİTÖRÜ UYGULAMASININ TESTİS DOKUSU VE SERUMDA BİYOKİMYASAL
PARAMETRELER ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI**

Dr. Tefik BALCI

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2016



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
MERAM TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

**DİYETSEL OBEZİTELİ FARELERDE KRONİK YAĞ ASİDİ BAĞLAYICI PROTEİN 4
İNİBİTÖRÜ UYGULAMASININ TESTİS DOKUSU VE SERUMDA BİYOKİMYASAL
PARAMETRELER ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI**

Dr. TEVFİK BALCI

UZMANLIK TEZİ

Danışman: PROF. DR. MEHMET AKÖZ

KONYA, 2016

TEŞEKKÜR

Hekimlik mesleğinin bir ömür devam eden eğitim sürecinde en önemli basamaklardan olan asistanlık eğitimimin sonuna gelmiş bulunuyorum. Sağlık hizmetinin kutsallığı bilinci ile hastalara uygun tanı ve tedavilerinde onlara zarar vermeksizin yardımcı olabilmek adına önümde aşmam gereken daha çok sayıda engel olduğunun farkındayım.

Uzmanlık eğitimi boyunca ilminden faydalandığım, insani ve ahlaki değerleri ile örnek edindiğim ve yanında çalışmaktan onur duyduğum değerli hocam; sayın Prof. Dr. Mehmet AKÖZ' e,

Eğitim sürecim boyunca tecrübelerini ve bilgilerini bizden esirgemeyen kıymetli Anabilim Dalı başkanımız Prof. Dr. Mehmet GÜRBİLEK' e

Desteklerini her zaman hissettiğim Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi hocalarımıza, asistan arkadaşlarıma, Biyokimya Laboratuvarımızın ve Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama merkezinin başta Uzm. Dr. Rahim KOCABAŞ olmak üzere tüm çalışanlarına çok teşekkür ederim.

Kendimi bildiğim günden bu yana maddi ve manevi her desteği bana sağlayan, en zor zamanlarda dahi sevgi, anlayış ve hoşgörülerini benden esirgemeyerek bugünlere ulaşabilmemde en büyük vesile olan anneme, babama, kardeşime ve eşim Ayşe Nur ÖZKAYA BALCI' ya bir ömür dualarında olmak ümidiyle çok teşekkür ederim.

ÖZET

DİYETSEL OBEZİTELİ FARELERDE KRONİK YAĞ ASİDİ BAĞLAYICI PROTEİN 4 İNHİBİTÖRÜ UYGULAMASININ TESTİS DOKUSU VE SERUMDA BİYOKİMYASAL PARAMETRELER ÜZERİNDEN ARAŞTIRILMASI

DR. TEVFİK BALCI

UZMANLIK TEZİ

KONYA, 2016

Amaç: Bu çalışmada erkek farelerde diyetsel obeziteye bağlı bir komplikasyon olan fertilite bozukluğu modeli oluşturularak BMS309403 adlı ilacın serumda biyokimyasal parametreler, testis dokusunda spermatogenez ve apoptoz belirteçleri üzerine etkileri araştırıldı.

Yöntem: Balb / c cinsi erkek fareler kontrol, obez kontrol, obez araç ve obez ilaç gruplarına ayrıldı. LOİ seviyelerine göre obezite gelişimi sonrası, obez ilaç grubuna 6 hafta boyunca oral BMS309403 uygulandı ve çalışma ötenazi ile sonlandırıldı. Kalpten alınan kanlar serum biyokimya tüplerine aktarıldı, santrifüj sonrası ayrılan serumlar - 80 °C' de saklandı ve çalışma günü ilgili testlerin analizleri yapıldı. Testis dokuları ise % 10' luk formalin ve parafin bloklara alındı ve çalışma günü ilgili testlerin analizleri yapıldı.

Bulgular: FABP4 serum düzeyleri obez kontrol ve obez araç gruplarında, diğer iki gruba göre artmış bulundu. Serum total testosteron, FAI, inhibin B, SHBG düzeyleri, testis Bcl - 2 ekspresyonu ve Johnson skoru parametreleri tüm obez gruplarda kontrol grubuna göre azalmış bulundu. Bax ekspresyonu ve Tunel - pozitif hücre sayısı ise tüm obez gruplarda kontrol grubuna göre artmış bulundu. İnhibin B düzeyleri ve Johnson skorlaması sonuçları obez ilaç grubunda, diğer iki obez grubuna göre azalmış bulundu. Tunel - pozitif hücre sayısı obez ilaç grubunda obez araç grubuna göre azalmış bulundu.

Sonuç: İlacın hormonal ve moleküler düzeyde erkek fertilite parametreleri üzerine olumsuz etkileri olduğu görüldü. Daha uzun süreli ilaç uygulamalarında ilacın etkilerini azaltıcı ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Anahtar Kelimeler: BMS309403, Deneysel Obezite, Erkek İnfertilitesi, Yan Etkiler

ABSTRACT

INVESTIGATE OF THE CHRONIC FATTY ACID BINDING PROTEIN 4 APPLICATION ON TESTICULAR TISSUE AND SERUM BIOCHEMICAL FERTILITY PARAMETERS IN DIETARY OBESE MICE

TEVFIK BALCI, MD

THESIS OF SPECIALTY

KONYA, 2016

Aim: In this study, the effects of the drug named BMS309403 on serum biochemical markers, testis tissue spermatogenesis and apoptotic markers were investigated by creating a model of dietary obesity induced fertility disorder complication on male mice.

Material and Method: Balb / c strain male mice divided into control, obese control, obese vehicle and obese drug groups. After development of obesity based on LIO levels, BMS309403 was administered orally to obese drug group for six weeks and the study was terminated by euthanasia. Blood samples taken from hearts were transferred to serum - separating tubes, after centrifugation the sera were stored at – 80 °C and relevant tests were performed on working day. Testicular tissues taken into 10 % formalin and paraffin blocks and relevant tests were performed on working day.

Results: Serum FABP4 levels were higher in obese control group and obese vehicle group compared to other two groups. Serum total testosterone, FAI, inhibin B, SHBG levels, testicular tissue Bcl - 2 expression level and Johnson scoring parameters were lower in all obese groups compared to control group. Bax expression level and Tunel - positive cell counts were higher in all obese groups compared to control group. Inhibin B levels and Johnson scoring results were lower in obese drug group compared to other two obese groups. Tunel - positive cell count were also lower in obese drug group compared to obese vehicle group.

Conclusion: Negative effects on hormonal and molecular level of male fertility parameters of the drug was shown. This increase in longer – term drug administration and further studies are required to investigate the effects of the drug.

Keywords: BMS309403, Experimental Obesity, Male Fertility, Side Effects

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
İÇ KAPAK	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
İÇİNDEKİLER	vi
TABLOLAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR	xi
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. OBEZİTE (ŞİŞMANLIK)	3
2.1.1. Obezitenin Tanımı	3
2.1.2. Obezitenin Sınıflandırılması	3
2.1.3. Obezitenin Ölçümü ve Tanısı	4
2.1.3.1. Vücut Yağ Oranı (VYO)	5
2.1.3.2. Vücut Kitle İndeksi (VKİ)	5
2.1.3.3 Lee Obezite İndeksi (LOİ)	6
2.1.3.4. Bel / Kalça oranı	6
2.1.3.5. Cilt Kalınlığı Ölçümü.....	6
2.1.4. Obezitenin Epidemiyolojisi	6
2.1.5. Obezitenin Etiyolojisi	9
2.1.6. Obeziteye Eşlik Edebilen Hastalıklar	10
2.1.7. Obezitenin Tedavisi	11
2.1.7.1. Obezite Tedavisinde Genel Prensipler	11
2.1.7.2. Obezitede Tıbbi Beslenme (Diyet) Tedavisi	12
2.1.7.3. Obezitede Egzersiz Tedavisi	13
2.1.7.4. Obezitede Davranış Değişikliği Tedavisi	14
2.1.7.5. Obezitede Farmakolojik Tedavi	15
2.1.7.6. Obezitede Cerrahi Tedavi	15
2.2. İNFERTİLİTE	16
2.2.1. İnfertilite Tanımı ve Nedenleri	16

2.2.2. Erkek İnfertilitesi	17
2.2.2.1. Erkek İnfertilitesi Nedenleri	21
2.2.2.2. Erkek İnfertilitesinde Tedavi Yöntemler	22
2.3. OBEZİTE İLE ERKEK İNFERTİLİTESİ İLİŞKİSİ	23
2.4. YAĞ ASİDİ BAĞLAYICI PROTEİNLER (FABPs)	25
2.4.1. FABPs Yapısı, Fonksiyonları ve Ligand Afinitesi	26
2.4.2. FABPs Sınıfları	27
2.4.3. FABP4	28
2.4.3.1. FABP4' ün Tedavide Kullanımı	30
2.5. APOPTOZİS, BCL - 2, BAX PROTEİNLERİ VE TUNEL YÖNTEMİ	31
2.6. JOHNSON SKORLAMASI	33
2.7. TOTAL TESTOSTERON	34
2.8. SHBG	34
2.9. İNHİBİN B	35
2.10. SERBEST ANDROJEN İNDEKSİ (FAI)	36
3. MATERYAL - METOD	37
3.1. MATERYAL	37
3.1.1. Vakaların Oluşturulması, Gruplama ve Deneysel Uygulama İle İlgili Hususlar	37
3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Aletler	39
3.1.3. Kullanılan Kimyasallar ve Kitler	39
3.2. METOD	40
3.2.1. Farelerin Periyodik Boy, Ağırlık Ölçümleri ve LOİ Hesaplamaları	40
3.2.2. Total testosteron Ölçümü	40
3.2.3. SHBG Ölçümü	41
3.2.4. İnhibin B Ölçümü	41
3.2.5. FABP4 Ölçümü	42
3.2.6. Johnson Skorlaması Ölçümü	43
3.2.7. Bax ve Bcl - 2 Ölçümü	43
3.2.8. Tunel Yöntemi Ölçümü	43
3.2.9. Verilerin İstatistiksel Analizi	45
4. BULGULAR	46
4.1. Ağırlık ve LOİ Parametrelerine Ait Bulgular	46
4.2. Serumda Çalışılan Parametrelere Ait Bulgular	48

4.3. Testis Dokusunda Çalışılan Parametrelere Ait Bulgular	49
4.4. Serumda Çalışılan Parametrelerin Şekillerle Gösterilmesi	51
4.5. Testis Dokusunda Çalışılan Parametrelerin Şekiller İle Gösterilmesi	54
5. TARTIŞMA	57
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	66
7. KAYNAKLAR	67



TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. DSÖ' ye Göre Obezite Sınıflandırması	4
Tablo 2. Kadın ve erkeklerde VYO ve yaş gruplarına göre obezite kriterleri	5
Tablo 3. DSÖ ye göre çocuklar için VKİ ile obezite sınıflaması	5
Tablo 4. Obeziteye neden olan ilaçlar	10
Tablo 5. Obeziteye eşlik eden hastalıklar	11
Tablo 6. DSÖ semen analizi referans değerleri ve referans aralıkları	18
Tablo 7. Erkek infertilitesine neden olan hipotalamo - hipofizer hastalıklar	22
Tablo 8. FABPs ailesi	27
Tablo 9. Johnson skorlaması	33
Tablo 10. Çalışma gruplarına ait veriler tablosu	38
Tablo 11. Çalışma boyunca gruplara ait ağırlık ve LOİ parametrelerinin ortalama ve \pm SD değerleri	47
Tablo 12. Ağırlık ve LOİ parametrelerinin gruplar arası istatistiksel bulguları	47
Tablo 13. Gruplara ait FABP4, Total testosteron, FAI İnhibin B ve SHBG parametrelerinin ortanca ve çeyrekler arası aralık değerleri ve gruplar arası istatistiksel bulguları	48
Tablo 14. Gruplara ait Bax, Bcl - 2 pozitif hücrelerin ortanca (% 50) ve çeyrekler arası aralık değerleri üzerinden ifadesi ile Johnson Skorlaması, Tunel yöntemi parametrelerinin ortalama ve \pm SD değerleri üzerinden ifadesi ve gruplar arası karşılaştırmaları	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Seminifer tübüllerde spermatogenezis ve sertoli hücreleri	19
Şekil 2. Spermatogenezde bölünme ve olgunlaşma aşamaları	20
Şekil 3. Hücre içi ve kompartmanlarında yağ asidi trafiği	26
Şekil 4. Gruplara ait FABP4 (a) ve total testosteron (b) ortanca değerlerinin kutu temalı gösterimi	52
Şekil 5. Gruplara ait İnhibin B (a) ve SHBG (b) ortanca değerlerinin kutu temalı gösterimi	53
Şekil 6. Gruplara ait FAI ortanca değerlerinin kutu temalı gösterimi	54
Şekil 7. Gruplara ait testis kesitlerinde Bax ekspresyonunun gösterimi	55
Şekil 8. Gruplara ait testis kesitlerinde Bcl - 2 ekspresyonunun gösterimi	55
Şekil 9. Gruplara ait testis kesitlerinde Tunel yöntemi ile pozitif boyanan hücrelerin gösterimi	56
Şekil 10. Gruplara ait testis kesitlerinde Hematoksilen – Eozin ile boyanma gösterimi ...	56

KISALTMALAR

- ABCA1 : ATP binding cassette transporter A1
AI : Apoptotik indeks
Bax : B - cell lenfoma 2 associated protein X
Bcl - 2 : B - cell lenfoma 2
COX - 2 : Cyclooxygenase - 2 (Siklooksijenaz - 2)
DMSO : Dimethyl sulfoxide (Dimetil sülfoksit)
DNA : Deoxyribonucleic acid (Deoksiribonükleik asit)
DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü
E : Erkek
ECG : Electrocardiography (Elektrokardiyografi)
ELISA : Enzyme linked immun sorbent assay
FABPs : Fatty acid binding proteins (Yağ asidi bağlayıcı proteinler)
FABP4 : Fatty acid binding protein 4 (Yağ asidi bağlayıcı protein 4)
FAI : Free androgen index (Serbest androjen indeksi)
FSH : Follicule stimulating hormone (Folikül stimulan hormon)
GnRH : Gonadotropin releasing hormone (Gonadotropin salıverici hormon)
HDL : High density lipoprotein (Yüksek dansiteli lipoprotein)
HPG : Hypothalamic - pituitary - gonadal (Hipotalamik – hipofizer - gonadal)
HRP : Horseradish Peroksidaz
HSL : Hormone sensitive lipase (Hormon sensitif lipaz)
IKK : Inhibitory of kappa kinase (İnhibitör kappa B kinaz)
IL1 β : Interleukin 1 beta (İnterlökin 1-beta)
IL6 : Interleukin 6 (İnterlökin 6)
iNOS : Inducible nitric oxide synthase (İndüklenebilir nitrik oksit sentaz)
JNK : c - Jun N terminal kinase (c - Jun N terminal kinaz)
K : Kadın
KONÜDAM : Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi
LH : Luteinizing hormone (Luteinize edici hormon)
LIO : Lee index of obesity
LOİ : Lee obezite indeksi

LXR - α : Liver x receptor- α
MCP - 1 : Monocyte chemoattractant protein-1 (Monosit kemoatraktant protein-1)
NEFA : Nonesterified fatty acid (Nonesterifiye yağ asidi)
NEÜ : Necmettin Erbakan Üniversitesi
NF - κ B : Nuclear factor kappa B (Nükleer faktör kappa B)
PBG : Progesteron bağlayan globulin
PKOS : Polikistik over sendromu
PPAR γ : Peroxisozome proliferator activated receptor gamma (Peroksizom proliferatör aktıveli reseptör gama)
SD : Standard deviation (Standart sapma)
SHBG : Seks hormon bağlayıcı globulin
Tdt : Terminal deoxynucleotidyl transferase (Terminal deoksinükleotidil transferaz)
TGF – beta : Transforming growth factor beta (Transforme edici büyüme faktörü beta)
TNF α : Tumor necrosis factor alpha (Tümör nekrozis faktör alfa)
TOHTA : Türkiye Obezite ve Hipertansiyon Taraması
Tunel : Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling
VKİ : Vücut kitle indeksi

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Obezite, alınan enerjinin, harcanandan fazla olmasından kaynaklanan ve vücut yağ kitlesinin, yağsız vücut kitlesine oranla artması ile karakterize kronik bir hastalıktır. Başta kardiyovasküler ve endokrin sistem olmak üzere vücudun tüm organ ve sistemlerini etkileyerek çeşitli hastalıklara ve hatta ölümlere yol açabilen önemli bir sağlık problemidir (Altunkaynak 2006).

Obezitenin epidemiyolojisi ve etiyojisinde birçok etmenin olması, hastalığın önlenmesini ve tedavisini son derece güç ve karmaşık hale getirmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Obezite tedavisi, bireyin kararlılığını ve etkin olarak katılımını gerektiren, tedavisi zorunlu, uzun ve süreklilik gerektiren bir süreçtir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Obezite tedavisinin başarılı olması için hastanın ilaç tedavisinin yanı sıra tıbbi beslenme tedavisi ve egzersiz tedavisini sürdürmeyi kabul etmesi ve düzenli olarak kontrollerini yaptırması gerekmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Obezite tedavisinde, obezitenin kendisi kadar sebep olduğu komplikasyonların tedavi edilmesi de önemli ve gerekli bir husustur. Birçok çalışmada obeziteye bağlı gelişen kardiyovasküler ve endokrin problemlerin tedavi edilmesi ile önemli başarı elde edildiği gösterilmiştir (Kralisch 2013).

Fertilite bozukluğu; obezitenin sebep olduğu komplikasyonlardan biri olup, hem bireyin hem de gelecek nesillerin sağlığını olumsuz etkileyen önemli bir sağlık problemidir. Son 10 yılda yoğunlaşan araştırmalarda annesel obezitenin oosit değişiklikleri nedeniyle embriyo gelişimini ve neticesinde gebeliği olumsuz etkilediği gösterilmiştir. Babasal obezitenin embriyo gelişimi ve gebelik üzerine etkileri ise yalnızca son 2 - 3 yıldır araştırılmaktadır. Şu an itibarıyla obezitenin embriyo gelişimi ve gebelik üzerine olumsuz etkilerinde erkek partner faktörünün bayan partner faktörü ile eşit düzeyde sorumlu olduğunu gösteren artan sayıda kanıtlar bulunmaktadır (Palmer 2012a).

Yağ asidi bağlayıcı protein 4 (fatty acid binding protein 4) (FABP4) yakın zamanda tanımlanmış, yağ dokudan derivate bir molekül olup; lipidlerin ve diğer birtakım hidrofobik moleküllerin hücre içi ve dışı arasında taşınmasında görev almaktadır. Çeşitli çalışmalarda

FABP4 serum düzeyleri ile metabolik sendrom ve vasküler hastalıklara ait belirteçler arasında pozitif korelasyonlar gösterilmiştir. Ayrıca bir grup diğer çalışmada bazal yüksek FABP4 serum düzeylerinin vasküler ve metabolik hastalıklara ait morbidite ve mortalitede risk göstergesi olabileceği belirtilmiştir. Hem FABP4 nakavt (FABP4 geni susturulmuş) fareler ve hem de FABP4 inhibitörü ile tedavi edilmiş farelerle yapılan çalışmalarda; FABP4'ün obeziteye eşlik eden ateroskleroz, hipertrigliseridemi ve insülin direnci gibi komplikasyonlarda iyileştirici etkileri olduğu gösterilmiştir (Kralisch 2013).

BMS309403 adlı ilaç FABP4'ün spesifik bir inhibitörüdür. FABP4'ün etkisini hidrofobik yarışmalı bir ligand vazifesi ile inhibe eder (Okada 2012). Deneysel hayvan çalışmalarında; ilacın obezite ve obezite ile ilişkili ateroskleroz gelişimi, hiperlipidemi, insülin direnci ve karaciğer yağlanması gibi komplikasyon durumlarında etkisine yakın zamanda çeşitli çalışmalarda bakılmış ve koruyucu etkileri gösterilmiştir (Furuhashi 2007, Suhre 2011). Obeziteye bağlı sık gözlenen bir diğer sağlık problemi olduğu halde üzerinde az sayıda araştırmanın gerçekleştirildiği erkek infertilitesi komplikasyonuna, bu ilacın etkilerini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlamadık. Biz de çalışmamızda erkek farelerde sıvı sükröz aracılığıyla diyetsel obezite oluşturduk ve obezite gelişimi sonrasında oral uyguladığımız BMS309403 adlı ilaç ile farelerin fertil fonksiyonları üzerine etkilerini araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda testis dokusunda histolojik incelemelerle Johnson skorlamasını kullanarak spermatogenez durumunu inceledik. Ayrıca yine testis dokusunda immünohistokimyasal yöntemle apoptozis belirteçleri olan B - cell lenfoma 2 (Bcl - 2), Bcl - 2 associated protein X (Bax) protein ekspresyonlarını ve Terminal deoxynucleotidyl transferase (Tunel) yöntemi ile DNA bütünlüğünü inceledik. Doku çalışmasına ilaveten serumda total testosteron, seks hormonu bağlayıcı globulin (sex hormone binding globulin) (SHBG), İnhibin - B ve FABP4 protein düzeylerini enzyme linked immun sorbent assay (ELISA) yöntemi ile araştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. OBEZİTE (ŞİŞMANLIK)

2.1.1. Obezitenin Tanımı

Obezite, "vücutta sağlığı bozacak ölçüde anormal veya aşırı yağ birikmesi" olarak tanımlanabilir (Altunkaynak 2006). Yetişkin erkeklerin vücut ağırlığının ortalama % 15 - 20' sini, yetişkin bayanların ise % 25 - 30' unu yağ dokusu oluşturmaktadır (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013). Bu oranın erkeklerde % 25' in, kadınlarda ise % 35' in üzerine çıkması durumunda obezite söz konusudur (Ersoy 2007).

Obezite, başta kardiyovasküler sistem ve endokrin sistem olmak üzere vücudun tüm organ ve sistemlerini etkileyerek çeşitli bozukluklara yol açabilen önemli bir sağlık problemidir. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından en riskli 10 hastalıktan biri olarak kabul edilmektedir (Altunkaynak 2006).

2.1.2. Obezitenin Sınıflandırılması

Obezite ortaya çıktığı yaşa göre, ikiye ayrılır;

1. Çocukluk yaşlarında başlayan ve yağ hücrelerinin sayıca fazla olması ile karakterize hiperplazik tip obezite.
2. Yetişkin yaşlarda başlayan ve yağ hücrelerinin sayıca çoğalmayıp, boyutça büyümesi ile karakterize hipertrofik tip obezite.

Ayrıca, obezite vücutta yağ birikiminin lokalizasyonuna göre de sınıflandırılır. Buna göre; yağ karında ve göğüste birikmiş ise elma tipi (santral, abdominal, visseral, erkek tipi veya android tip obezite) obezite adını alır. Elma tipi obezite hipertrofik bir obezitedir ve bel / kalça oranı erkekte 0,95' in, kadında ise 0,8' in üzerindedir.

Yağ, kalça ve uylukta toplanmış ise armut tipi (periferik, femoral, kadın tipi veya gynoid tip obezite) obezite adını alır. Bu obezite tipi, hiperplazik yani yağ hücre sayısı artışı ile birlikte olan obezitedir.

Android tip obezitede; hipertansiyon, diyabetes mellitus, hipertrigliseridemi, aterosklerotik koroner kalp hastalığı ve serebrovasküler hastalıklar gibi komplikasyonlara, armut tip obeziteye oranla daha sık rastlanmaktadır (Yılmaz 1999, T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Obezite, erişkinlerde vücut kitle indeksine (VKİ) göre de derecelere ayrılır. DSÖ, VKİ üzerinden bir sınıflandırma geliştirmiştir. DSÖ' ne göre obezite sınıflandırması Tablo 1' de gösterilmiştir (De Lorenzo 2016).

Tablo 1. DSÖ' ye Göre Obezite Sınıflandırması (De Lorenzo 2016)

VKİ (kg / m²)	Sınıflandırma
< 18,5	Düşük kilolu
18,5 - 24,9	Normal kilolu
25,0 - 29,9	Sınıf 1 obez (kilolu)
30,0 - 39,9	Sınıf 2 obez (obez)
≥ 40	Sınıf 3 obez (ekstrem obez)

Çocukluk çağı obezite sıklığı araştırmalarının değerlendirilmesinde ve karşılaştırılmasındaki en önemli sorun, erişkinler için mevcut olan ve uluslararası kabul gören VKİ eşik değerlerinin çocuklar için olmamasından, dolayısıyla her ülkenin kendi VKİ eğrilerini kullanmasından kaynaklanmaktadır. Ülkemizdeki araştırmalarda Neyzi standartlarına göre çocukların büyüme durumlarının değerlendirilmesinde fizik muayene, vücut ağırlığı, baş çevresi, boy uzunluğu ve VKİ ölçümleri ile yapılabilmektedir. Her çocuğun yaş ve cinsiyetine göre VKİ persentilleri, DSÖ referans değerleri üzerinden sınıflandırma yapılabilir. Bu araştırmalarda genel olarak VKİ 85 - 95 persentil arasında olanlar fazla kilolu, 95 persentil üzerinde olanlar ise obez olarak sınıflandırılmaktadır (Savaşhan 2015).

2.1.3. Obezitenin Ölçümü ve Tanısı

Obezite vücuttaki yağ miktarı oranının artışı olduğundan, yağ miktarının ve ağırlığa göre yağ oranının ne kadar arttığını göstermek için çeşitli yöntemler uygulanmaktadır. Doğrudan ölçüm (Direkt carcass analiz), ancak kadavrada uygulanabilen bir yöntemdir.

Onun için canlılarda dolaylı ölçüm yöntemleri kullanılmaktadır. Vücuttaki yağ oranını ölçen yöntemler arasında klinikte en çok kullanılanlar, boy ve ağırlığa dayanan yöntemler ile deri kıvrım kalınlığıdır (Yılmaz 1999).

2.1.3.1. Vücut Yağ Oranı (VYO)

Normal vücut yapısında kadınlarda yaklaşık % 20 - 30, erkeklerde ise % 12 - 20 oranında yağ dokusu bulunmaktadır. Beyaz ırk için yaş gruplarına göre belirlenen normal VYO ve obezite sınırları Tablo 2’ de gösterilmiştir. Pratik olarak obezite; VYO’nun ortalama olarak erkekte % 25, kadında ise % 35’in üzerinde olmasıdır (Ersoy 2007).

Tablo 2. Kadın ve erkeklerde VYO ve yaşlara göre obezite kriterleri (Ersoy 2007)

Yaş Grubu	20-40	40-60	60-80
Kadın Normal	% 21-33	% 23-34	% 24- 36
Kadın Obezite	> % 39	> % 40	> % 42
Erkek Normal	% 8-20	% 11- 22	% 13- 25
Erkek Obezite	>% 25	> % 28	> % 30

2.1.3.2. Vücut Kitle İndeksi (VKİ)

VKİ; ağırlık (kg) / boy² (m²) formülüyle hesaplanan ve uygulaması oldukça kolay bir yöntemdir. Obezitenin yaygın bir halk sağlığı sorunu olduğu göz önüne alındığında ucuz, kolay uygulanabilir ve doğruluk oranı yüksek bir yöntemin tanı ve takipte kullanılması gerekmektedir (Ersoy 2007). VKİ, yağ miktarının genel bir göstergesi olup, yağ dağılımı hakkında bilgi vermez. Bu nedenle büyüme çağındaki çocuklarda, hamilelerde, sporcularda, yaşlılarda, ödemle seyreden hastalığı olanlarda VKİ kullanılmamalıdır (Ersoy 2007). Erişkinlerde ve çocuklarda VKİ’ne göre obezitenin sınıflandırılması Tablo 3’ te gösterilmiştir.

Tablo 3. DSÖ’ ye göre çocuklar için VKİ ile obezite sınıflaması (Ersoy 2007).

Çocuklar İçin (2 yaş üzeri)	VKİ
Boy için normal kilolu	10 – 85 persentil
Kiloluluk için risk	85 – 95 persentil
Kilolu	> 95 persentil

2.1.3.3 Lee Obezite İndeksi (LOİ)

LOİ; 1928 yılında M.O Lee tarafından deneysel obezite modeli oluşturmak için geliştirilmiş, uygulaması nispeten kolay ve non - invaziv bir yöntem olup hem fare hem de ratlarda karkas yağ içeriğini tahmin etmede uygulanmaktadır. Ölçümde gram cinsinden vücut ağırlığının küp kökünün, santimetre cinsinden burun - anüs mesafesine bölünmesiyle elde edilen değer (body weight in g)^{1 / 3} / nasal - anal length in cm) 0,3' ten büyük bulunduğu takdirde o rat veya fare obez kabul edilmektedir (Lee 1929, Plocher 1977, Hilwani 2014). Biz de çalışmamızda deney farelerinde obezite gelişimi takibinde bu yöntemi uyguladık.

2.1.3.4. Bel / Kalça oranı

Elma tipi obezitede; insülin direnci, Tip 2 diabetes mellitus, hipertansiyon, hiperlipidemi, koroner arter hastalığı gibi durumlarla birliktelik armut tipi obeziteye göre çok daha sık görüldüğünden obeziteye bağlı komplikasyon riski değerlendirmesinde bel / kalça oranı önemlidir. Erkeklerde 0,95' in, kadınlarda 0,8' in üzerindeki bel / kalça oranı değerleri elma tipi obezite lehinedir. Bunun dışında bel çevresinin tek başına ölçümü de riskin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Erkeklerde 102 cm, kadınlarda 88 cm üzerindeki bel çevresi ölçümleri metabolik sendrom için yüksek risk göstergesidir (Ersoy 2007).

2.1.3.5. Cilt Kalınlığı Ölçümü

Cilt kalınlığı ölçümü, deri kıvrım kalınlığının ölçümüdür ve ölçüm yerine göre triceps, biceps, subskapular bölge ve suprailiyak bölgelerde cilt altı yağ dokusu hakkında bilgi verir. En çok kullanılan bölgelerden; triceps bölgesinden yapılan ölçümlerde genellikle erkeklerde 19 mm üzeri, kadınlarda 30 mm üzeri değerler ile subskapular bölgede erkeklerde 22 mm üzeri, kadınlarda 27 mm üzeri değerler obezite lehinedir (Ersoy 2007).

2.1.4. Obezitenin Epidemiyolojisi

Günümüzde yaklaşık 1,6 milyar erişkinin aşırı kilolu ve 400 milyon erişkinin ise obez olarak sınıflandığı toplamda yaklaşık 2 milyar insanı etkileyen epidemik rakamlara ulaşan küresel bir sağlık sorunu ile karşı karşıyayız. 1980 yılında dünya genelinde bu sayı toplamda yaklaşık 900 milyon civarlarında idi (Palmer 2012a, Ng M 2014).

1980 ile 2013 yılları arasını kapsayan, 188 ülkeden 1769 yayının tarandığı verilerle gerçekleştirilen 2014 yılına ait bir çalışmada tüm dünyada aşırı kilolu ve obez ($VKİ \geq 25$ kg / m²) sıklığının geçen 33 yılda erişkinler için % 27,5 ve çocuklar için % 47,1 oranında arttığı bildirilmiştir (Ng M 2014).

Tüm dünyada 20 yaş ve üzeri aşırı kilolu erkek oranı 1980' de % 28,8 iken bu rakam 2013 yılında % 36,9' a yükselmiştir ve kadınlar için bu oran artışı ise % 29,8' den % 38' e yükselme şeklinde olmuştur. Gelişmiş ülkelerde aşırı kilolu ve obez toplam oranı erkeklerde daha yüksek iken, gelişmekte olan ülkelerde kadınlarda daha yüksektir ve bu ilişki geçen zaman boyunca değişmeden devam etmiştir. Yalnızca obezite oranları hem gelişmiş hem de gelişmekte olan ülkelere yükselmektedir ve 2013 yılında her iki ülke gruplarında bu oran kadınlarda erkeklerden daha yüksektir. Aşırı kilolu ve obez oranı artışı 1992 ve 2002 yılları arasında en yüksek bulunmuş olup son 10 yılda bu artış hızı özellikle gelişmiş ülkelerde yavaşlamıştır. 1980' den bu yana 2 ile 19 yaş arası grup değerlendirildiğinde gelişmiş ülkelerde hem erkek hem de kız çocuklarda aşırı kilolu ve obez oranı önemli ölçüde artmıştır. Geçen sürede gelişmiş ülkelerde sıklık oranı erkek çocuklarda % 16,9' dan % 23,8' e, kız çocuklarda ise % 16,2' den % 22,6' ya yükselmiştir. Aynı süreçte gelişmekte olan ülkelere erkek çocuklarda sıklık oranı % 8,1' den % 12,9' a, kız çocuklarda ise % 8,4' den % 13,4' e yükselmiştir. Tüm yaşlarda sıklık oranları, gelişmiş ülkelere gelişmekte olan ülkelere daha yüksek bulunmuştur.

Gelişmiş ülkelere erkeklerde aşırı kiloluluk ve obezite pik yaşı 55 olup bu yaşta her üç erkekten ikisi aşırı kilolu ve her dört erkekten biri obezdir. Kadınların pik obezite yaşı 60 civarında olup bu dönemde obezite oranı % 31,3 bulunmuştur, aşırı kilolu ve obez toplam oranı ise % 64,5' dir.

Gelişmekte olan ülkelere bakıldığında yaş paternleri benzerlik göstermekle birlikte sıklık oranı gelişmiş ülkelere göre oldukça düşüktür. Erkeklerde pik yaşı 45 ve sıklık oranı % 8,1 iken kadınlarda obezite pik yaşı 55 ve sıklık oranı % 14,4 bulunmuştur.

Ülkemiz için 2013 yılına ait veriler incelendiğinde 20 yaş altındaki erkek çocuklarda obezite sıklığı % 7,1 iken aşırı kilolu ve obezlerin toplam sıklığı ise % 20,4 bulunmuştur. Aynı yaş grubunda kız çocuklarında bu oranlar sırası ile % 5,7 ve % 19,8 bulunmuştur. 20 yaş üstü erkeklerde obezite oranı % 20,1 iken aşırı kilolu ve obez toplam sıklığı % 63,8 bulunmuştur. Aynı yaş grubunda kadınlarda obezite sıklığı % 34,1 ile

oldukça yüksek bulunmuştur, aşırı kilolu ve obez toplam sıklığı ise % 65,8'dir (Ng M 2014).

Son 20 yılda, gelişmiş batı ülkelerinde olduğu gibi Türkiye'de de, sosyoekonomik durum iyileşmesi ve yiyecek alışkanlıklarının değişmesine paralel olarak obezite oranlarında artış olduğu düşünülmektedir. Türkiye'deki obezite prevalansı gelişmiş batılı ülkelere göre aşağı değildir (Apay 2009).

Türkiye Obezite Araştırma Derneği (TOAD) tarafından, 2000 - 2005 yılları arasında 6 ilde (İstanbul, Konya, Denizli, Gaziantep, Kastamonu ve Kırklareli) 20 yaş üstü 13,878 bireyde yapılan "Türkiye Obezite Profili" çalışmasında bireylerin % 30,9'unun $VKİ < 25 \text{ kg / m}^2$, % 39,6'sının (K: % 34,5; E: % 44,8) $VKİ \geq 25 - 30 \leq \text{kg / m}^2$ ve %29,5'inin (K:% 34,5; E:% 21,8) $VKİ > 30 \text{ kg / m}^2$ olduğu bulunmuştur. Bu çalışmadaki 7306 birey bel çevresine (elma tipi obezite açısından) göre değerlendirildiğinde kadınlarda bel çevresi ortalaması 79,8 cm, erkeklerde ise 98,5 cm olarak tespit edilmiştir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2010).

Ülkemizde, 15 - 49 yaş grubu kadınların çalışma kapsamına alındığı Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması sonuçları incelendiğinde de obezitenin kadın nüfusta giderek arttığı görülmektedir. Bu araştırma sonuçlarına göre, 15 - 49 yaş grubu kadınlarda fazla kiloluluk ($VKİ \geq 25 - 29,9 \leq \text{kg / m}^2$) sıklığı 1998, 2003 ve 2008 yılında sırasıyla % 33,4, % 34,2 ve % 34,4, obezite ($VKİ \geq 30 \text{ kg / m}^2$) sıklığı ise % 18,8, % 22,7 ve % 23,9 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlara göre kadınlarda obezite sıklığında 10 yılda %5,1'lik artış olmuştur (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Türkiye'de 47 ilde ve 87 noktada 4264 kişi üzerinde yapılan metabolik sendrom araştırması verilerine göre; obezite sıklığı Marmara Bölgesi'nde % 37,7, İç Anadolu Bölgesi'nde % 35,3, Doğu Anadolu Bölgesi'nde % 35,4, Karadeniz Bölgesi'nde % 40,2, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde % 31,9, Akdeniz Bölgesi'nde % 34,2 ve Ege Bölgesi'nde % 36,6 olarak tespit edilmiş olup genel ortalama % 36,2 olarak bulunmuştur. Aynı çalışmada obezite sıklığı kadınlarda % 54,8 iken erkeklerde % 17,2 bulunmuştur (Apay 2009).

2.1.5. Obezitenin Etiyolojisi

Tüm etiyolojik nedenlerdeki ortak olan nokta, alınan kalorinin gerek duyulan kaloriden fazla olmasıdır. Bazı fizyolojik ve patolojik durumlarda kalori ihtiyacının değişebileceği mutlaka akılda tutulmalıdır. Örneğin büyüme sürecinde, gebelik, emzirme döneminde ve enfeksiyonlar, kanser gibi bazı hastalıkların seyri esnasında kalori ihtiyacı artarken yaşlanmayla birlikte metabolizma yavaşlamasına ve sedanter yaşama bağlı olarak bu ihtiyaç azalmaktadır (Yılmaz 1999).

Obezite gelişiminde çocukluk obezitesinin de önemi vardır. Bu dönem obezitesinin gelişiminde özellikle infant (süt çocuğu) dönemindeki beslenme etkili olabilmektedir. İnfant dönemindeki diyetin yağ hücrelerini etkileyebildiği, gelecekteki obezite olasılığını arttırdığı şeklinde hipotezler vardır ve bu dönemde anne sütü yerine yüksek proteinli solid gıdalara geçmenin obezite ile pozitif ilişkisine dikkat çekilmektedir (Kirchberg 2015).

Aşırı ve yanlış beslenmeyle birlikte fiziksel aktivite yetersizliği, obeziteye neden olan en önemli faktör olarak kabul edilmektedir. Bundan başka genetik, çevresel, nörolojik, fizyolojik, biyokimyasal, sosyo - kültürel ve psikolojik pek çok faktör de obeziteye neden olabilmektedir. Dünya genelinde özellikle çocukluk çağı obezitesindeki artışın sadece genetik yapıdaki değişikliklerle açıklanamayacak derecede fazla olması nedeniyle, obezitenin oluşumunda çevresel faktörlerin rolünün de çok önemli bir yere sahip olduğu kabul edilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Obezite oluşmasına neden olan başlıca risk faktörleri ise aşağıda sıralanmıştır (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013);

- Aşırı ve yanlış beslenme alışkanlıkları
- Yetersiz fiziksel aktivite
- Eğitim düzeyi
- Sosyo - kültürel etmenler
- Gelir durumu
- Hormonal ve metabolik etmenler
- Genetik etmenler
- Psikolojik problemler

- Sigara - alkol kullanımı
- İlaçlar (trisiklik antidepresanlar, kortikosteroidler, antipsikotikler)

Yaygın olarak kullanılan birçok ilacın sık fakat genellikle gözden kaçan bir yan etkisi kilo artışıdır. Duyarlı kişilerdeki kilo artışı klinik olarak anlamlı obeziteyle ve ilişkili komorbiditeler (eşlik eden hastalık durumları) ile sonuçlanabilir. Birçok hastada kortikosteroidler, trisiklik antidepresanlar ve antipsikotikler, kalıcı ve sorun oluşturan belirgin kilo artışına neden olurlar. Tablo 4’ te obeziteye neden olabilen ilaçlar özetlenmiştir (Björntorp 2001).

Tablo 4. Obeziteye neden olan ilaç örnekleri (Björntorp 2001).

Antipsikotikler	Bütün alt grupları
Antidepresanlar	Trisiklik antidepresanlar, Lityum, MAO inhibitörleri
Antikonvülzanlar	Valproik asit, Karbamazepin
Antimigren ve antihistaminikler	Kriptoheptadin, Flunarizin, Pizotifen
Antidiyabetikler	Sülfonüreler, İnsülin preparatları
Glukokortikoidler	Farmakolojik dozları
Beta blokerler	Non spesifik (örnek ; Propranolol)
Seks hormonları	Östrojen (yüksek doz), Megestrol asetat, Tamoksifen
Diğer	Bazı antineoplastik ajanlar

2.1.6. Obeziteye Eşlik Edebilen Hastalıklar

Obezite, morbidite ve mortalite için başlı başına bir risk faktörüdür. Kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, endokrin sistem, gastrointestinal sistem gibi birçok sistemde komplikasyonlara neden olmanın yanı sıra psikiyatrik bozukluklara da yol açabilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013). Obeziteye eşlik edebilen hastalıklar Tablo 5’ te gösterilmiştir (Ersoy 2007).

Tablo 5. Obeziteye eşlik edebilen hastalıklar (Ersoy 2007)

Kardiyovasküler sistem	Koroner kalp hastalığı Hipertansiyon ve inme Derin ven trombozu
Solunum sistemi	Primer alveoler hipoventilasyon Obstrüktif uyku apne sendromu
Metabolik - endokrin sistem	Tip 2 diabetes mellitus İnsülin rezistansı - Metabolik Sendrom Polikistik over sendromu (PKOS)
Gastrointestinal sistem	Hiatus hernisi ve reflü hastalığı Nonalkolik yağlı karaciğer hastalığı Safra taşları Kolorektal kanser
Nörolojik sistem	Sinir sıkışmaları Siyatalji
Kas - iskelet sistemi	Osteoartrit Düz tabanlık
Ürogenital sistem	Stres inkontinansı (idrar kaçırma) Fertilitede azalma Gebelik komplikasyonları Üriner taşlar
Meme hastalıkları	Meme kanseri Jinekomasti
Psiko – sosyal bozukluklar	Kendinden memnuniyetsizlik Depresyon Anksiyete

2.1.7. Obezitenin Tedavisi

2.1.7.1. Obezite Tedavisinde Genel Prensipler

Obezite; tedavisi en zor durumlardan biridir. Kilo vermenin sağlanmasından sonra bu azaltılmış vücut ağırlığının uzun bir süre korunamaması özellikle önemli bir sorundur. Obez bireylerin tedavisinde hedef sadece kilo kaybı sağlanması değil, davranış ve yaşam tarzı değişikliği de olmalıdır (Low 2006).

Çocukluk ve adölesan döneminde oluşan obezite, yetişkin dönemi obezitesine zemin hazırlamaktadır. Bu nedenle toplumda obeziteden korunma için özellikle diyet ve düzenli egzersizin faydaları ile ilgili eğitime çocuk yaşlardan itibaren başlanması gerekmektedir. Obezite tedavisi, bireyin kararlılığını ile etkin olarak katılımını gerektiren, tedavisi zorunlu, uzun ve süreklilik arzeden bir süreçtir. Obezitenin etiolojisinde pek çok faktörün etkili olması, bu hastalığın önlenmesini ve tedavisini son derece güç ve karmaşık hale getirmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013). Obezitenin tedavisinde asıl önemli nokta; hangi hastanın tedaviye alınacağı ve hangi hastaya hangi tedavi yönteminin seçilmesinin gerekli olduğunun tespiti. Obezite teşhisi almış ve tedaviye alınacak olan bir hastada, uygulanacak tedavinin başarısı; hastanın tedaviye istekli bir şekilde katılması, tedavinin yalnızca o hastaya has nitelikler içermesi, hastanın bilinçli ve sabırlı olması, hekimiyle iletişimini sürdürmesi ile mümkündür (Yılmaz 1999).

Obezite tedavisinde amaç; gerçekçi bir vücut ağırlığı azalması hedeflenerek, obeziteyle ilişkili morbidite ve mortalite risklerini azaltmak, bireye yeterli ve dengeli beslenme alışkanlığı kazandırmak ve yaşam kalitesini yükseltmektir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Obezite tedavisinde kullanılan yöntemler 5 grup altında toplanabilmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013);

1. Tıbbi beslenme (diyet) tedavisi
2. Egzersiz tedavisi
3. Davranış değişikliği tedavisi
4. İlaç tedavisi
5. Cerrahi tedavi

Obezite tedavisi; hekim, diyetisyen, psikolog ve fizyoterapistten oluşan bir ekip tarafından düzenlenmesi gereken multidisipliner bir süreçtir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

2.1.7.2. Obezitede Tıbbi Beslenme (Diyet) Tedavisi

Diyet tedavisinin atlanarak diğer tedavi yöntemlerine geçiş, obezite tedavisinde başarısızlığa neden olabilir. Diyet, obezite tedavisinin birinci basamağını oluşturur. Prensip

olarak 800 kcal / gün altındaki diyetler obezite tedavisinde tercih edilmemelidir (Low 2006).

Hemen tüm diyetlerin uzun dönem başarıları, kişilerin diyeti uygulamamaları ve bırakmaları nedeniyle düşüktür. Diyet planı kişiye özel olmalıdır. Diyet tedavisindeki amaç, enerji alımının azaltılması ve tüm besin gruplarının belli oranlarda alınması olmalıdır (Low 2006).

Uygulanacak zayıflama diyetleri yeterli ve dengeli beslenme ilkeleri ile uyumlu olmalıdır. Diyette amaç, bireye doğru beslenme alışkanlığı kazandırılması ve bu alışkanlığın sürdürülmesi olmalıdır. Vücut ağırlığı boya göre olması gereken düzeye geldiğinde tekrar kilo alımı engellenmeli ve erişilen ağırlık korunmalıdır (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Günümüzde sıkça önerilen diyet şekli “Düşük - ılımlı (% 20 - 35) yağ içerikli ve düşük karbonhidrat içerikli ve düşük kalorili diyet (800 - 1200 kcal / gün) dir. Yeterli miktarda protein, vitamin ve elektrolit içeren, yağlı, rafine şekerli, unlu gıdanın az olduğu, bol sebze / meyve dolayısıyla lif ve selüloz içeren bu diyet hastalar tarafından çekici bulunmuştur. Bol lif içeren diyetlerin etkili olmasının ardında yatan prensip; kişinin yeterli meyve ve sebze, kepekli ekmek ve baklagiller gibi (enerji yoğunluğu fazla olmayan besinler) besinleri tüketmesi halinde, enerji yoğunluğu fazla olan besinleri tüketmek için iştahının kalmamasına dayanmaktadır. Lifler sindirim kanalında dolgunluk oluşturmasıyla diğer besinlerin bağırsaklardan emilimini yavaşlatırlar ve ayrıca diyet tedavisinin ana sorunlarından biri olan kabızlığı da önlerler. Ayrıca, hastaların diyete uyumunu artırırlar. Bol meyve, sebze, baklagil, rafine edilmemiş tahıl ve zeytinyağı ile süt ürünleri ve balık tüketiminin ön planda olduğu Akdeniz diyeti de tedavide oldukça başarılı bulunmuştur (Makris 2011).

2.1.7.3. Obezitede Egzersiz Tedavisi

Egzersiz veya fiziksel aktivite tedavisinin tek başına kilo vermeye sağladığı fayda halen tartışılmakla beraber, fiziksel aktivitenin tüm vücutta ve özellikle karın bölgesindeki yağlanmayı azalttığı, diyet yapıldığında görülebilen kas kütle kayıplarını önlediği kesin olarak kabul edilmektedir. Egzersiz tedavisi bireylerin tıbbi beslenme tedavisini destekleyici nitelikte zayıflamalarını ve tekrar ağırlık kazanımlarının önlenmesini sağlamaktadır (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013). Tek başına diyete kıyasla diyet egzersiz

birlikte uygulaması sinerjistik etki ile kilo kaybını artırabilmektedir. Ayrıca kilo kaybından bağımsız olarak obeziteye bağlı kardiyovasküler ve metabolik risk faktörlerini anlamlı ölçüde azalttığı bilinmektedir (Laskowski 2012).

Obezler genellikle az hareket etme eğilimindedirler. Düşük kalorili diyetlerle birlikte çok ağır egzersiz programlarının uygulanması doğru değildir. Maksimum kalp hızının % 60 - 70' ine ulaşmayı sağlayan bir egzersiz programının haftada 4 - 5 kez 20 - 30 dk veya haftada 2 - 3 kez 45 - 60 dakika uygulanması önerilmektedir. İzotonik egzersiz (kasın gücünün sabit olduğu egzersiz) programları kilo ve yağ dokusu kaybı sağlayabilir. İzometrik egzersiz (kasın boyunun sabit olduğu egzersiz) programları ise kilo kaybı sağlamaktan çok yağsız vücut kitlesini artırmaktadır. Sürdürülebilir ve düzenli egzersiz programları ile yağ kitlesi azaltılabilir ayrıca insülin direnci, serum lipid yüksekliği ve kan basıncı yüksekliği gibi komplikasyonlar düzeltilebilir (Lieber 1993, Low 2006).

2.1.7.4. Obezitede Davranış Değişikliği Tedavisi

Obezitede davranış değişikliği tedavisi; obeziteye neden olan aşırı yemek yeme alışkanlığı ve fiziksel aktivite hususunda isteksiz davranışları, istenen davranışlarla değiştirmek veya istenmeyen davranışları azaltmak amacıyla uygulanan tedavi şeklidir (Erge 2003).

Davranış Değişikliği Tedavisinin Basamakları

- a) Kendi kendini gözleme:** Bireyin, şişmanlığa neden olan davranışlarının farkına varması sağlanır. Yöntemin esası yemek yeme ve egzersizle ilgili davranışların kaydedilmesine dayanır.
- b) Uyaran kontrolü:** Sorun olan davranışa yol açan olaylar zincirini tanımlama ve zincirin erken aşamalarında müdahale için stratejiler geliştirme esasına dayanır. Amaç, aşırı yemek yemeyle ilgili dış uyaranlardan etkilenmeyi önlemektir.
- c) Alternatif davranış geliştirme:** Bireyin belirli aktivitelere yönlendirilmesidir. Bu amaçla ara öğünlerde ve atıştırma isteğinin duyulduğu dönemlerde yapılmak üzere "yemek dışında yapmaktan hoşlanılan aktiviteler" listesi önceden belirlenir ve en uygunu seçilir.
- d) Pekiştirme, kendi kendini ödüllendirme:** Bu yöntem ağırlık kaybı ve korunmasına yönelik uygun davranışları ödüllendirerek, pekiştirmeyi amaçlar.

e) **Sosyal destek:** Birçok obez birey için aile üyelerinin desteğini artırmak ve yine aile üyelerinden gelen bilinçli veya bilinç dışı olumsuz etkileri azaltmak, zayıflama tedavisi programının başarısında önemli bir faktördür (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

2.1.7.5. Obezitede Farmakolojik Tedavi

VKİ 30 ve üzeri olan bireylerle, VKİ 27 ve üzeri olup, hipertansiyon, Tip 2 diyabet gibi komorbidite durumları olan bireylerde diyet, egzersiz gibi diğer müdahaleler de yetersiz kaldığında farmakolojik tedavi gereksinimi olduğu düşünülmektedir (Kang 2012). İdeal bir obezite ilacı; uzun süre kullanmak için güvenilir olmalı, dozla ilişkili kilo kaybı sağlamalı, ulaşılan hedef kilonun devamlılığını sağlamalı, tolerans geliştirmemeli ve bağımlılık yapmamalıdır (TEMD 2015).

Genel olarak obezite ilaçlarından beklenen; alınan kaloriyi azaltması veya enerji harcanmasını arttırmasıdır. Günümüzde enerji harcanmasını arttıran ilaçlar henüz deneme aşamasındadır (Park 2015).

Obezitenin medikal tedavisinde kullanılan kalori alımını azaltıcı ilaçlara örnek olarak; Fentermin, Dietilpropion, Sibutramin, kannabinoid reseptör antagonistleri (rimonobant, taranabant), Orlistat, Benzfetamin, Fendimetazin, Bupropion, Fluoksetin, Sertralin, Venlafaksin, Topiramet, Fenilpropanolamin, Metformin, Pramlintid; Exenatid, Liraglutide ve Lorcaserin söylenebilir (Gülcan 2006, Kang 2012, Seger 2013).

2.1.7.6. Obezitede Cerrahi Tedavi

Obezitede cerrahi yaklaşım temelde bariyatrik ve rekonstrüktif cerrahi olarak ikiye ayrılmaktadır. Bariyatrik cerrahi, besinlerle alınan enerjinin azaltılmasına yönelik olup besinlerin gastrointestinal sistemde emilimini azaltmak hedeflenmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Rekonstrüktif cerrahide ise amaç; vücudun çeşitli bölgelerinde lokalize olmuş mevcut yağ dokularının uzaklaştırılmasıdır. Eğer hasta obezite tedavisinin gereklerini yerine getirmese yağ birikimi tekrar gerçekleşmektedir (T.C. Sağlık Bakanlığı 2013).

Obezitede cerrahi girişimlerin genel olarak VKİ 40 kg / m² üzerindeki hastalara uygulanması önerilmektedir. Bu yöntemler arasında intestinal bypass, parsiyel biliopankreatik bypass, gastropласти, ayarlanabilir silikon mide bandı takılması,

laparoskopik gastrik bant uygulaması, daha az invaziv olan ve endoskopik olarak uygulanan bir yöntem olarak gastrik balon uygulaması sayılabilir. Bu yöntemler ile midede oluşturulan 30 - 60 ml kapasitesindeki bir bölüm ile gastrointestinal sistemin devamlılığı sağlanmakta ve erken doyma hissi sayesinde gıda alımı kısıtlanmaktadır (Low 2006).

2.2. İNFERTİLİTE

2.2.1. İnfertilite Tanımı ve Nedenleri

12 ay korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi, DSÖ tarafından infertilite olarak tanımlanmaktadır ve tahmini olarak tüm dünyada çiftlerin yaklaşık % 8 - 12' sini etkilemektedir. Bu durum fizyolojik, sosyal, ekonomik boyutları olan ve strese, travmaya özellikle de psikolojik yıkıma neden olabilen önemli bir sağlık sorunudur (Kumar 2015).

Bir diğer tanıma göre ise 35 yaşın altındaki kadın partnerler ile 12 ay korunmasız cinsel ilişkiye rağmen veya 35 yaşın üstündeki kadın partnerler ile ise 6 ay korunmasız cinsel ilişkiye rağmen gebelik elde edilememesi infertilite olarak adlandırılmaktadır (Kumar 2015). Buradan çıkarılacak sonuç fertilitenin; özellikle kadınlarda yaşla beraber belirgin azalmasıdır. Nitekim kadınlarda fertilitenin, 30'lu yaşların ikinci yarısında erken 20'li yaşlara kıyasla yaklaşık yarı yarıya azalmaktadır. Erkeklerde ise semen parametrelerinde bozulma 35 yaşından sonra saptanabilmekle birlikte fertilitenin azalma genellikle 50 yaşından önce görülmemektedir (Dunson 2004). Yaşam tarzı ve diyetin fertilitenin üzerinde özellikle etkili olduğu bildirilmiştir. Çok zayıf veya çok şişman bireylerde fertilitenin belirgin olarak azalmış bulunmuştur. Sigara, alkol, aşırı kafein tüketimi, seksüel geçişli hastalık öyküsü, çevresel ve medikal toksinlere maruziyet de fertilitenin olumsuz etkilemektedir (Fertil Steril 2008).

İnfertil çiftlerin yaklaşık % 50' sinde nedensel veya katkı sağlayıcı olarak erkek faktörü olduğu tahmin edilmektedir (Poongothai 2009).

Erkek faktöre bağlı infertilite sıklığının artmakta olabileceğine ilişkin çeşitli veriler vardır. 1973 - 1992 arasını kapsayan dönemde Paris'de bulunan bir sperm bankasındaki semen kalitesi değerlendirilmiş ve yıllar içerisinde semen parametrelerinde bozulma tespit edilmiştir. Süre zarfında semen volümünde değişim gözlenmezken, ortalama sperm konsantrasyonu ve hareketli sperm miktarı giderek azalmış bulunmuştur (Auger 1995).

1938 - 1990 arasını kapsayan çalışmalarda yine süreç boyunca spermiyogram parametrelerinde düşüşler tespit edilmiştir (Carlsen 1992).

Populasyon tabanlı yapılan çalışmada ise infertilite nedenleri aşağıdaki gibi dağılmıştır (Hull 1985).

- Erkek faktörü % 26
- Ovulatuvar disfonksiyon % 21
- Tubal Hasar % 14
- Endometriozis % 6
- Koitus problemleri % 6
- Servikal faktör % 3
- Açıklanamayan % 28

2.2.2. Erkek İnfertilitesi

Fertil bir bayandan gebelik elde edilememesi erkek infertilitesi olarak tanımlanmaktadır (Kumar 2015). İnfertilite kliniğine başvuran çiftlerin yaklaşık yarısında erkek faktörüne bağlı problem görülmekte ve bu oranın arttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. (Morrison 2014, Kumar 2015).

Bir diğer tanıma göre ise; DSÖ' nün belirlediği sperm parametrelerinin normal değerlerin altında olması erkek fertil bozukluğu sebebi olarak bildirilmiştir (Kumar 2015). Bu parametreler Tablo 6' da yer almaktadır. Bunların içinde en önemlileri düşük sperm konsantrasyonu (oligospermi), azalmış sperm motilitesi (astenospermi) ve anormal sperm morfolojisi (teratospermi) görülmesidir. Azospermi mililitrede 1 milyondan az sperm bulunmasını ifade etmekte olup bu durumda sorun çoğu kez obstrüktif ve genetik bozukluklara bağlıdır. Sperm analizi infertilite tanısı için yeterli bir uygulama olmamakla birlikte yine de başlangıç değerlendirmesi için önemli kabul edilmektedir (Kumar 2015).

Tablo 6. DSÖ semen analizi referans değerleri ve referans aralıkları (Kumar 2015).

Parametreler	referans değer	referans aralıkları
Semen volümü (ml)	1,5	(1,4 - 1,7)
Total sperm sayısı (10^6)	39	(33 - 46)
Sperm konsantrasyonu (10^6 / ml)	15	(12 - 16)
Total motilite (Progresif+Nonprogresif, %)	40	(38 - 42)
Progressive motilite (Progresif, %)	32	(31 - 34)
Vitalite (canlı sperm, %)	58	(55 - 63)
Sperm morfolojisi (normal formlar, %)	4	(3,0 - 4,0)

Erkek infertilitesinde bayan partnerin yaşı, fertil durumu, infertilitenin süresi, semen analiz sonuçları ve infertilitenin primer / sekonder sebepli oluşu prognostik faktörler olarak değerlendirilmektedir. Bayanlarda evlilik ve gebelik düşüncesinin özellikle gelişmiş batı toplumlarında eğitim ve kariyer düşüncelerinin ardına itilmesi bayan yaşı faktörünü prognozu kötü etkileyen en önemli durum haline getirmektedir (Jungwirth 2015).

Erkek infertilitesinin anlaşılabilmesi için karmaşık süreçler içeren spermatogenez basamaklarının bilinmesi önemlidir. Fonksiyonel testisler ve normal spermatogenez süreçleri fertilité için mutlaka gereklidir.

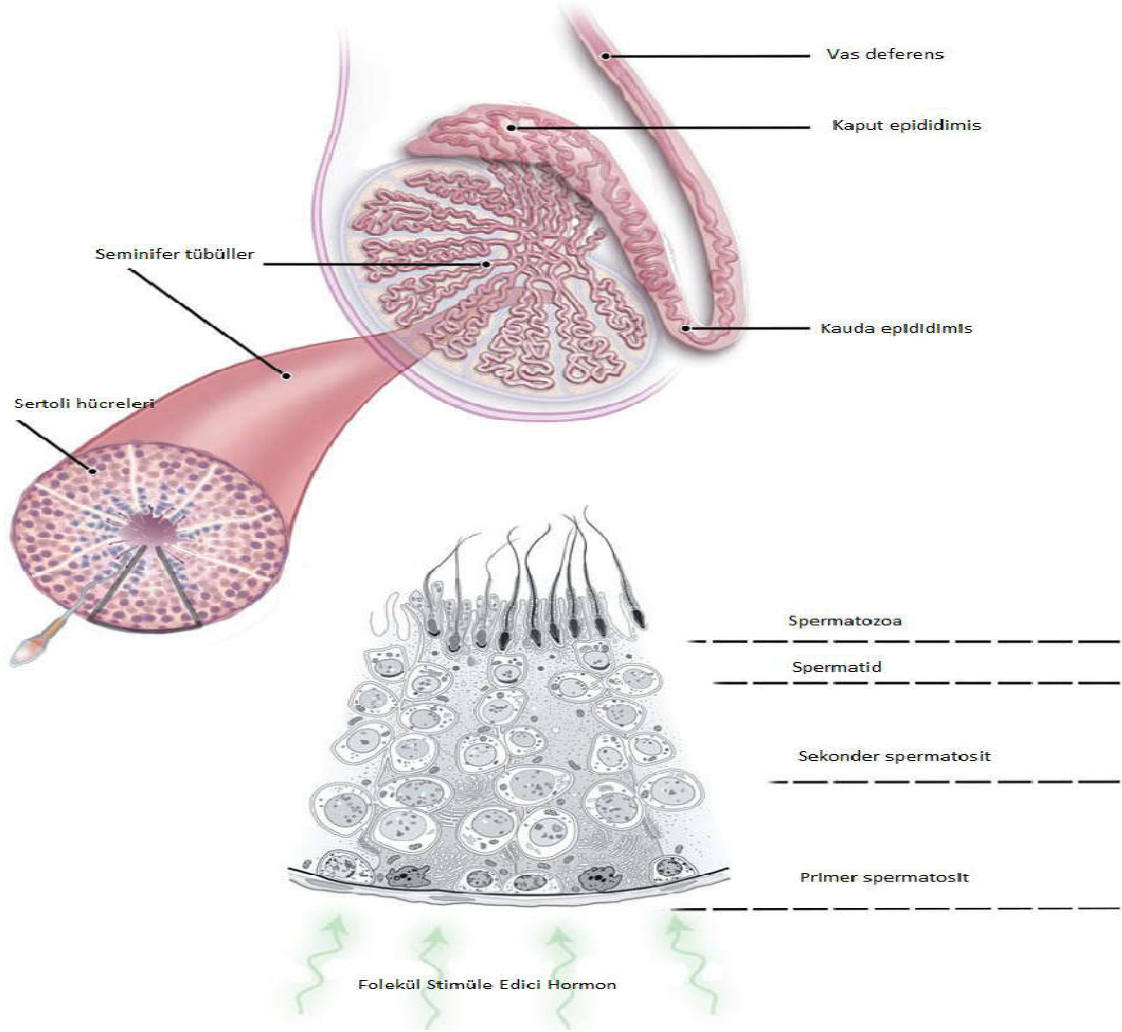
Testisler seminifer tübül ve leydig hücreleri olmak üzere iki farklı yapıdan oluşurlar. Leydig hücrelerinde testosteron üretilmektedir. Seminifer tübüller, sertoli hücreleri ve farklı olgunlaşma evrelerindeki germ hücrelerden oluşur. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar kan - testis bariyerini oluşturur. Bu bariyer sayesinde germ hücreleri antikorlardan ve çevresel toksinlerden korunurlar (Padubidri 2011).

Spermatogenezis, seminifer tübüllerde meydana gelir ve tamamlanması yaklaşık 74 gün sürer (Padubidri 2011). Seminifer tübüllerde spermatogenezis basamakları sırasıyla şekil 1 ve şekil 2’de gösterilmiştir (Samplaski 2010, Cheng 2010).

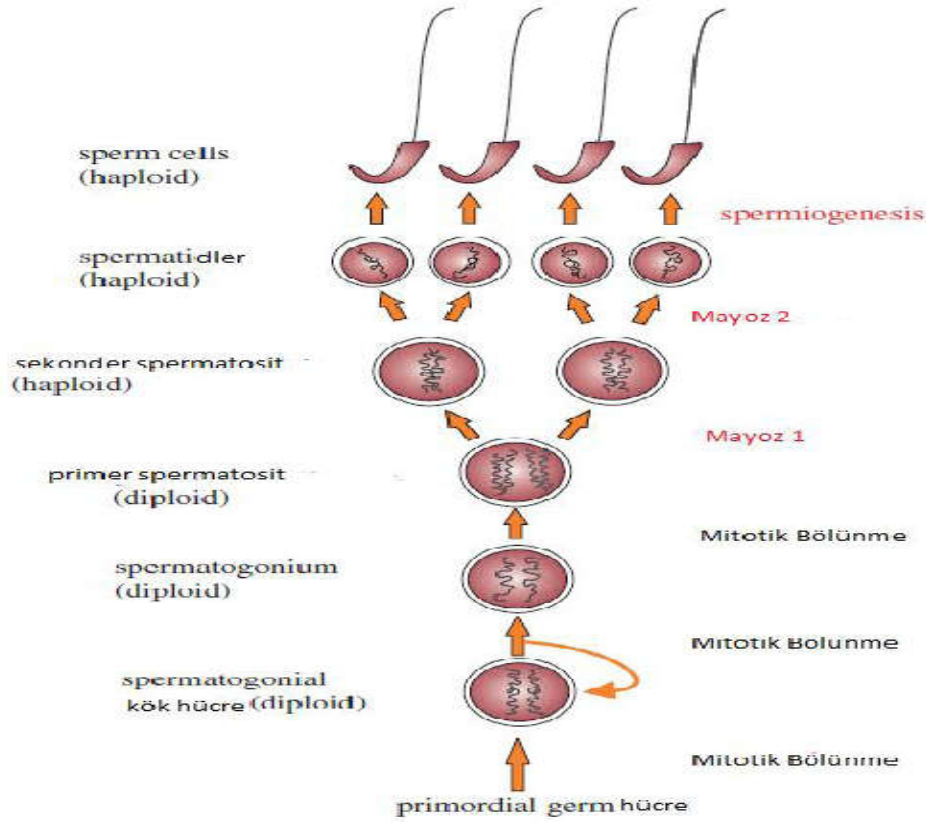
Spermatogenezis üç fazda olmaktadır. İlk faz spermatositogenezistir (mitotik faz) ve spermatogenezisin başlaması ile 46 kromozomlu spermatogonia büyür, olgunlaşır ve primer spermatositi oluşturur. İkinci faz mayotik fazdır ve mayoz 1’ in tamamlanması ile 2 adet 23 kromozomlu sekonder spermatosit oluşur. Oluşan her iki sekonder spermatosit 2.mayoz bölünmeye girer ve 4 adet 23 kromozomlu spermatit oluşur. Üçüncü faz spermiyogenezistir ve oluşan spermatidlerin her biri olgun spermatozoaya dönüşür. Spermatozoalar seminifer tübül lümenine salınır ve buradan kaput epididimise taşınırlar. Epididimiste spermler maturasyona uğrarlar ve hareket yeteneklerini burada kazanırlar. Spermler ejakülasyona kadar epididimiste depolanır. Epididimis; kuyruk bölgesi hareketli

ve fertilizasyon yeteneğine sahip spermlerin saptanabileceği ilk yerdir. Semen; prostat sıvısı, seminal vezikül sıvısı ve distal vas deferens salgılarının birleşiminden oluşan sıvıdır (Samplaski 2010).

Şekil 1. Seminifer tübüllerde spermatogenezis ve sertoli hücreleri (Samplaski 2010).



Şekil 2. Spermatojenizde bölünme ve olgunlaşma aşamaları (Cheng 2010).



Spermatojenizin düzgün ilerleyebilmesi iç ve dış etkenlere oldukça bağımlıdır. Örneğin skrotum sıcaklığı artışı spermatojeniz sürecini olumsuz etkileyen bir dış etken örneği iken, deoksiribonükleik asit (deoxyribonucleic acid) (DNA) metilasyonu ve histon modifikasyonlarında gelişen değişiklikler iç etken örnekleri olabilir. Her iki durumda da spermatojeniz ve nihayetinde fertil fonksiyonlar bozulmaktadır (Song 2011).

Normal testiküler fonksiyon ve spermatojeniz için hipofizden salgılanan gonadotropinlere ihtiyaç vardır. Luteinleştirici hormon (luteinizing hormone) (LH), Leydig hücrelerini stimüle ederek testosteron üretimini uyarır. Folikül stimulan hormon (follicle stimulating hormone) (FSH) ise Leydig hücrelerinde LH reseptörlerinin oluşumunu indükler. Seminifer tübüllerde spermatojeniz için ve epididimiste sperm maturasyonu için yüksek konsantrasyonda testosterona ihtiyaç vardır. FSH ayrıca, Sertoli hücrelerine bağlanarak androjen bağlayıcı protein salınımını artırır ve Sertoli hücrelerinde lokal yüksek testosteron konsantrasyonlarının oluşumuna yardımcı olur. Yüksek serum testosteron seviyeleri, hipotalamik gonadotropin salıverici hormon (gonadotropin releasing hormone) (GnRH) pulsatil salınımını ve hipofiz seviyesinde LH salınımını azaltır. Fizyolojik

testosteron seviyeleri ise FSH salınımını baskılamaz. Hipofizer FSH salınımının kontrolü sertoli hücreleri tarafından salınan inhibin B ile sağlanır. İnhibin B; sertoli hücrelerinden FSH stimülasyonuna yanıt olarak salgılanır ve hipofizer FSH sekresyonunu inhibe eder (Schill 2006).

2.2.2.1. Erkek İnfertilitesi Nedenleri

Erkek infertilitesi nedenleri dört ana grupta incelenebilir (Jungwirth 2015).

- Hipotalamik hipofizer hastalıklar (sekonder testiküler yetmezlik) : % 1 - 2
- Testiküler hastalıklar (primer testiküler yetmezlik) : % 40 - 50
- Post testiküler nedenler (obstrüktif azospermi) : % 15 - 20
- İdiyopatik (belirlenebilir bir nedenin bulunamadığı): % 30 - 40

Erkek infertilitesi olgularının büyük oranda idiyopatik grupta sınıflandırılması, karmaşık spermatogenez süreçleri ve sperm fonksiyonlarının temel mekanizmalarının tam olarak anlaşılabilmesi nedeniyledir (Aydos 2008).

Hipotalamik - Hipofizer hastalıklara baktığımızda GnRH veya gonadotropin eksikliğine yol açan tüm hastalıklar infertiliteye neden olabilir ve bu hastalıklar konjenital, edinsel ve sistemik hastalıklar olarak 3 grupta incelenebilir.

Erkek infertilitesine neden olan hipotalamo - hipofizer hastalıklar Tablo 7' de özetlenmiştir.

Tablo 7. Erkek İnfertilitesine neden olan hipotalamo - hipofizer hastalıklar (Jungwirth 2015).

<p>Konjenital nedenli hastalıklar</p> <p>Konjenital GnRH eksikliği (Kallmann Sendromu)</p> <p>Multiorgan etkilenmesi olan genetik hastalıkları (Prader - Willi Sendromu, Laurence – Moon - Biedl Sendromu, Familyal serebellar ataksi)</p> <p>Edinsel nedenli durumlar</p> <p>Hipofiz ve hipotalamus tümörleri (makroadenom, kraniofaringiom)</p> <p>İnfiltratif hastalıklar (sarkoidoz, histiyositoz, tüberküloz, fungal enfeksiyonlar)</p> <p>Travma, ameliyat ve radyoterapi</p> <p>Vasküler nedenler (anevrizma, infarkt)</p> <p>Hormonal (hiperprolaktinemi, östrojen artışı, kortizol artışı)</p> <p>İlaçlar (opioidler ve psikotropik ilaçlar, anabolik steroidler)</p> <p>Radyoterapi</p> <p>Sistemik hastalık durumları</p> <p>Kronik hastalıklar</p> <p>Nütrisyonel bozukluklar (Anoreksiya nervoza ve bulimiya nervosa)</p> <p>Obezite</p>
--

Obez erkeklerin serumlarında gonadotropin düzeyleri, total testosteron düzeyleri ve serbest testosteron düzeyleri düşük bulunmuştur ve bu durumun (erkeklerde obezitenin) hipogonadotropik hipogonadizme neden olabileceği bildirilmiştir. Obezitede ayrıca serum SHBG düzeyinde azalma da görülür ve bununla ilişkili olarak serum total testosteron konsantrasyonunda azalma olur. İlâveten serum serbest testosteron konsantrasyonu da, SHBG’deki değişiklikten bağımsız olarak vücut ağırlığı ve VKİ ile ters ilişkili olarak azalabilmektedir (Hammoud 2006). Ayrıca sperm kalitesinin de VKİ ile ters ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Kort 2006).

2.2.2.2. Erkek İnfertilitesinde Tedavi Yöntemleri

Erkek infertilitesinde tedavi yöntemleri etiyolojiye göre 3 ana başlıkta özetlenebilir (Fertility 2013).

- Medikal tedavi: Gonadotropinler, androjenler, anti - östrojenler, bromokriptin, alfa blokörleri, mast hücre blokörleri, kortikosteroidler, antibiyotik ve antioksidanları içeren ilaçlar kullanılabilir.

- Cerrahi tedavi: Obstrüktif azospermilerde gerekli olabilir.
- Yardımcı üreme tedavileri: İn vitro fertilizasyon ve intrasitoplazmik sperm enjeksiyonu gibi yöntemler uygulanabilir.

2.3. OBEZİTE İLE ERKEK İNFERTİLİTESİ İLİŞKİSİ

Kadınlarda obezitenin, gebelikte oosit değişiklikleri ile birlikteliği ve bunun sonucunda embriyo gelişimini olumsuz etkilemesi, son 5 - 10 yılda yapılan çok sayıda çalışmada gösterilmiştir (Pinborg 2011). Oysa ki obez erkek partnere bağlı embriyo gelişiminde ve gebelikte gözlenen değişikliklerin değerlendirmesi yalnızca son 2 - 3 yıldır araştırılmaya başlanmıştır. Artan kanıtlara dayanarak, şu an için erkek obezitesinin; fertilitate azalması, gebelik kayıpları ve embriyo gelişiminin olumsuz etkilenmesinde; annesel obezite ile hemen hemen eşit düzeyde sorumlu olduğunu söylenmektedir (Palmer 2012a).

Obezitenin erkek fertilitesi üzerine etkilerinin, kadın infertilitesi üzerine etkileri kadar net olmadığı ifade edilmiştir (Katib 2015). Bu konuda bazı hipotezler bulunmaktadır. Birincisi obeziteye bağlı artmış oksidatif stres ve reaktif oksijen radikalleri nedeniyle sperm miktar ve kalitesinde düşme olmasıdır. İkincisi obeziteye bağlı artan suprapubik ve skrotal yağ dokusunun testis sıcaklığını yükselterek spermatogenezi bozmasıdır (Kasturi 2008). Ayrıca obezlerde yüksek oranda görülen uyku apne sendromu nedeniyle, spermatogenezde gerekli olan nokturnal testosteron yükselmesi de engellenmektedir (Martini 2012). Son olarak obezlerde artmış bulunan leptin düzeylerinin, testislerde tespit edilen reseptörleri aracılığıyla leydig hücrelerinden testosteron salınımını azaltarak hipotalamo – hipofizer - gonadal (hypothalamic – pituitary - gonadal) (HPG) aksı bozması da önemli bir mekanizma olarak ifade edilmiştir (Pinilla 1999).

Obeziteye bağlı gelişen bir başka durum artmış yağ dokusuna bağlı aromataz enzim miktarında artış olması ve nihayetinde testosteronun östrojene periferik dönüşümünün artmasıdır. Artan bu östrojen nedeniyle spermatogenez bozulabilmekte, HPG aksı inhibe olmakta ve sekonder hipogonadizm gelişebilmektedir (Palmer 2012a).

Deneysel bir çalışmada yüksek yağlı diyetin testosteron düzeyleri üzerine etkisine bakılmış ve farelerde 10 hafta süre ile yüksek yağlı diyetle beslenme sonucunda serum testosteron düzeylerinde anlamlı düşüklük saptanmış, sonrasında 8 hafta süre ile normal diyete geçilmesiyle hormon düzeylerinin normale döndüğü gözlenmiştir. Aynı çalışmada

diyet ve / veya egzersize bağlı sperm hareketliliği, morfolojisi ve sperm DNA hasarında iyileşme de gözlenmiştir (Palmer 2012b).

Benzer şekilde insan çalışmalarında da erkek obezitesine bağlı total testosteron, serbest testosteron ve SHBG düzeylerinde anlamlı düşüklük gözlenmiştir (Morrison 2014). Uzun süreçli ve 942 kişi katılımlı bir çalışmada 9 yıllık takipte, bel çevresi ve VKİ ile total testosteron, serbest testosteron ve SHBG düzeylerinin ters korele olduğu gözlenmiştir (Derby 2006).

Yapılan çalışmalarda toplam 13 bin erkeğe ait veriler değerlendirilmiş, aşırı kilolu ve obez erkeklerde azospermi ve oligospermi oranları normal kilolu erkeklere göre anlamlı oranda yüksek bulunduğu bildirilmiştir (Sermondade 2013).

Obezite, sperm konsantrasyonunda azalmaya ilaveten ayrıca sperm DNA bütünlüğünü de olumsuz yönde etkilemektedir. Obeziteye bağlı erkek infertilitesinde sperm normal morfolojisi ve motilitesi üzerine ise belirgin etki görülmemektedir. Dolayısı ile obez erkeklerde infertilite araştırmasında spermiyogramın faydası kısıtlı kalmaktadır (Palmer 2012a). Deneysel hayvan çalışmalarında diyetsel obez farelerde normal kilolu farelere göre sperm hareketliliğinde azalma gözlenmiştir (Chavarro 2010, Palmer 2012a). Yapılan çalışmalarda diyet ve egzersiz tedavisi ile sperm hareketliliğinde artış, anormal sperm kuyruk morfolojisinde azalma ve DNA hasarında azalma bildirilmiştir (Palmer 2012b). Ancak kilo kaybının erkek infertilitesini azalttığı ya da iyileştirdiğine dair bilgiler henüz açığa kavuşmamıştır (Morrison 2014). Yine bazı deneysel hayvan çalışmalarında, artmış skrotal sıcaklığa bağlı spermde DNA hasarı, azalmış canlılık oranı ve nihayetinde embriyo kalitesinde olumsuz etkilenme gösterilmiştir (Morrison 2014).

Obezitenin bir başka olumsuz özelliği gelecek nesillere yansıyan etkilerinin olmasıdır. Obezitede, sperm moleküler yapısında gözlenen değişikliklerin mekanizması henüz bilinmese de, çeşitli çalışmalarda obez babaya sahip yavruların spermelerinde DNA metilasyonu, histon asetilasyonu, kodlanmayan RNA içeriğinde değişiklikler gibi epigenetik modifikasyonlar gözlenmiştir (Youngson 2011, Palmer 2012a). Ayrıca çalışmalarda obez ve normal kilolu erkekler arasında sperm proteomik profillerinin de farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Palmer 2012a). Diyetsel obez erkek kemirgen modellerinde de ilk yavrularda hem metabolik hem de reproduktif özelliklerde bozulma gözlenmiştir (Palmer 2012a).

Sonuç olarak erkek obezitesine bağılı HPG aksında bozulma, skrotal sıcaklıkta artış, sperm gelişimi, morfolojisi ve fonksiyon bozukluğu, erektil disfonksiyon, noktürnal LH ve testosteron salınımında azalma gibi nedenlerle fertilité olumsuz etkilenebilmektedir. Ayrıca obez babaya sahip olunması ile doğacak yavruların sağlığı da olumsuz etkilenebilmektedir.

Obezite ve erkek infertilitesinin kompleks patofizyolojisi ve tedavisine ait hormonal, mekanik ve psikososyal yönleri araştıran yeni çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır (Stokes 2015).

2.4. YAĞ ASİDİ BAĞLAYICI PROTEİNLER (FABPs)

Yağ asidi bağlayıcı proteinler (fatty acid binding proteins) (FABPs) hemen bütün hücrelerden çok miktarda salgılanan 14 - 15 kilodaltonluk sitoplazmik proteinlerdir (Storch 2008). Bu proteinler hücrelerde lipid trafiğini düzenleyen bir grup moleküldür ve metabolik ve inflamatuvar yollarla güçlü bir şekilde ilişkilidirler (Furuhashi 2008). FABPs; doymuş ve doymamış uzun zincirli yağ asitleri, eikozonoidler ve diğer lipidler gibi hidrofobik ligandlara yüksek afinite ile geri dönüşümlü olarak bağlanmaktadır. Ancak FABPs' nin kesin biyolojik fonksiyonları ve etki mekanizmaları tam olarak bilinmemektedir. Hücre kültürü çalışmalarında, yağ asitlerinin hücre içine alımı, depolanması ve hücre dışına verilmesinde FABPs' nin potansiyel etkilerinin olduğu ortaya konmuştur (Furuhashi 2008). Yüksek hızda yağ metabolizmasına sahip olan karaciğer, yağ ve kas dokusu gibi dokular yağ asidi alınımına ve kullanımına paralel olarak yüksek FABPs düzeylerine sahiptirler (Storch 2008) Son zamanlarda, hücre kültürleri ve deney hayvanları ile yapılan çalışmalarda, FABPs' nin metabolik ve immün cevap yolları ile ilişkisi ve lipid aracılı süreçlerdeki önemi gösterilmiştir. Hücrelerin çoğunda FABPs içeriği genellikle yağ asidi metabolizmasının hızı ile ilişki göstermektedir (Furuhashi 2008, Storch 2008). Yağ asitlerinin proteinlerden hücrelere transferi için, bir ara basamak olarak FABPs' nin membran ile fiziksel temas kurması gerekmektedir. FABPs çoğu ligandını membrandan direkt kontakt ile almaktadır (Storch 2008).

FABPs aynı zamanda yağ asitlerinin eikozanoid ara bileşiklere dönüştürülmesinde ve lökotrienlerin stabilizasyonunda da görev almaktadır. Ayrıca adipositlerdeki hormon sensitif lipaz (hormone sensitive lipase) (HSL) aktivitesi ile FABP4 arasında direkt etkileşim de rapor edilmiştir (Furuhashi 2008). FABPs' den yoksun fare modelleri

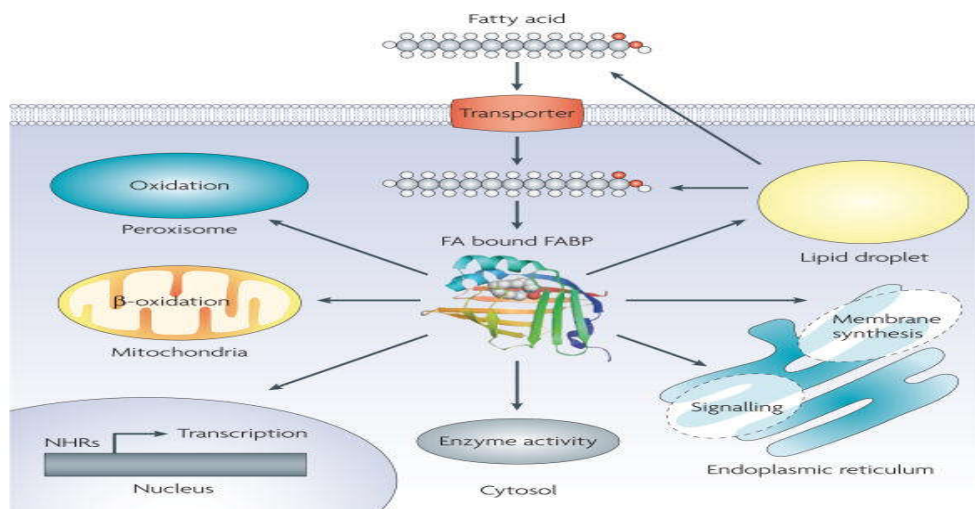
oluşturulmadan önce FABPs' nin hücre biyolojisi ve kompleks sistemlerdeki lipid metabolizması üzerine olan spesifik etkileri tam olarak bilinmemekte idi. Bu çalışmalarda, FABPs, özellikle de FABP4' ün farmakolojik inhibisyonu veya FABP4 genetik nakavt modelleri metabolik ve kardiyovasküler hastalıklarda tedavi hedefi olarak yeni olanaklar açmıştır (Furuhashi 2008, Kralisch 2013).

2.4.1. FABPs Yapısı, Fonksiyonları ve Ligand Afinitesi

FABPs, hücrede spesifik kompartmanlara lipid transportunda rol oynarlar (Furuhashi 2008, Storch 2008). Genel olarak FABPs' nin spesifik ligand selektiviteleri yoktur, afiniteleri genellikle ligand hidrofobisitesi ile koreledir. Yağ asidinin hücre zarından geçebilmesi için ligand giriş ve çıkışı sırasında konformasyonel değişikliklere uğrayan ve portal bölge olarak adlandırılan iki tane bölgeleri vardır. Hafif eliptik bir beta fıçısı şeklinde katlanırlar (Furuhashi 2008). Yağ asitleri iç kavitede bulunan ligand bağlayıcı boşlukta taşınır (Furuhashi 2008). FABPs' nin birçoğu karboksilat grubu içe doğru yönelmiş olan tek bir yağ asidi taşır (Storch 2008). Ligand bağlanmamış proteinlerin portal bölgelerinde ligand bağlı proteinlere göre farklılık görülmüştür, bu da ligand giriş çıkışı sırasında konformasyonel değişiklikler olduğunu düşündürmektedir (Storch 2009). Yapısı en iyi tanımlanmış izoform olan FABP4' de potansiyel fonksiyonel domain, bir nükleer lokalizasyon sinyali ile onun düzenleme bölgesini, nükleer eksport sinyalini ve HSL bağlanma bölgesini içerir (Gillilan 2007).

FABPs eşliğinde hücrelerde gerçekleşen yağ asidi trafiği şekil 3' te gösterilmiştir.

Şekil 3. Hücre içi ve kompartmanlarında yağ asidi trafiği (Furuhashi 2008).



FABPs, hücrede spesifik kompartmanlara lipid transportunda rol oynarlar. Lipidler depolanmak için lipid damlacıklarına, sinyal iletimi ve membran sentezi için endoplazmik retikulum, oksidasyon için mitokondri veya peroksizoma, enzim aktivitelerini düzenlemek için sitozole, lipid aracılı transkripsiyonel kontrol için nükleusa ve otokrin veya parakrin sinyal iletimi için hücre dışına yönelirler (Furuhashi 2008). FABPs yağ asitlerinin alımını çeşitli yollarla hızlandırır. Yağ asitlerinin sıvıda çözünürlüğünü kuvvetlendirerek membranlardan ayrılma hızını veya çift katlı fosfolipid tabakasıyla direkt ilişkiye geçerek yağ asitlerinin alıcı membranlara transferini arttırırlar (Chmurzynska 2006).

2.4.2. FABPs Sınıfları

İlk kez 1972’de keşfedilen FABPs’ nin dokuz tipi tanımlanmıştır (Furuhashi 2008).

Tablo 8’ de FABPs ailesi ve eksprese oldukları majör dokular gösterilmiştir.

Tablo 8. FABPs ailesi (Furuhashi 2008, Storch 2008)

GEN ADI	ALTERNATİF ADLARI	EKSPRESE OLDUĞU DOKULAR
FABP1 (Liver FABP)	L - FABP	Karaciğer, barsak, pankreas, böbrek, akciğer, mide
FABP2 (Intestinal FABP)	I - FABP	Barsak, karaciğer
FABP3 (Heart FABP)	H - FABP	Kalp, iskelet kası, beyin, böbrek, akciğer, mide, testis, aorta, adrenal bez, meme, plasenta, over, kahverengi yağ dokusu
FABP4 (Adiposit FABP)	A - FABP, aP2	Adiposit, makrofaj, dentritik hücreler
FABP5 (Epidermal FABP)	E - FABP	Deri, dil, adiposit, makrofaj, dentritik hücreler, meme, beyin, barsak, böbrek, karaciğer, akciğer, kalp, iskelet kası, testis, retina, lens, dalak
FABP6 (Ileal FABP)	I - FABP	İleum, over, adrenal bez, mide
FABP7 (Beyin FABP)	B - FABP	Beyin, glia, retina, meme
FABP8 (Myelin FABP)	M - FABP	Periferik sinir sistemi, schwann hücresi
FABP9 (Testis FABP)	T - FABP	Testis, tükrük bezi, meme

2.4.3. FABP4

FABP4 primer olarak yağ dokusundan, ayrıca daha az miktarda ve özel durumlara cevaben makrofajlar ve bronş epitelinden eksprese olan küçük lipid bağlayıcı proteindir (Furuhashi 2008, Hotamisligil 2015). Adipositler; makrofajlardan çok daha fazla FABP4 eksprese etmektedirler. FABP4 ekspresyonu; adiposit farklılaşmasının bir göstergesi olarak insulin, yağ asitleri, deksametazon ve peroksizom proliferatör aktivieli reseptör gama (peroxisome proliferator activated receptor gamma) (PPAR γ) aktivasyonu tarafından artırılmaktadır. Genetik fare modellerinden elde edilen kanıtlara göre PPAR γ direkt olarak FABP4 gen ekspresyonunu artırırken, FABP4 ise PPAR γ aktivitesini azaltmaktadır (Hotamisligil 2015). FABP4 ayrıca HSL ile etkileşerek katalitik aktivitesini modüle etmektedir. Bunun dışında c - Jun N terminal kinaz (c - Jun N terminal kinase) (JNK) / inhibitör kappa B kinaz (inhibitory of kappa kinase) (IKK) yolağı yoluyla inflamatuvar birçok sinyal ağına entegre olmaktadır. Yağ asidi girişini düzenlemenin yanında FABP4, uzak hedef dokularda etki eden adiposit lipid hormon üretiminin kontrolünde de önemli rol oynamaktadır (Furuhashi 2008).

FABP4' ün ana üretim yeri adipositler olmakla birlikte, dolaşımında da tespit edilebilir. Endoplazmik retikulum - golgi bağımlı yolak proteinlerin hücreden salınımındaki klasik yoldur. FABP4' ün ise bu klasik yoldan bağımsız mekanizmalarla dolaşıma salındığı düşünülmektedir. Yakın zamanda FABP4' ün adipositlerde HSL aracılı lipolizi indüklediği ve lipoliz esnasında adipositte salındığı gösterilmiştir. Ayrıca mikrovezikül aracılı salınım ve hücre içi kalsiyum artışına cevaben salınımı da gösterilmiştir (Furuhashi 2015).

Makrofajlarda ise FABP4; IKK / nükleer faktör kappa B (nuclear factor kappa B) (NF - kB) yolağı ile proinflamatuvar etkisinin yanında PPAR γ inhibisyonuna da neden olur. Farelerde FABP4 yokluğunda makrofajlarda birçok proinflamatuvar sitokin (tümör nekrozis faktör alfa (tumor necrosis factor alpha) (TNF α), interlökin 1 - beta (interleukin 1 beta) (IL1 β), interlökin 6 (interleukin 6) (IL6), monosit kemoatraktant protein - 1 (monocyte chemoattractant protein - 1) (MCP - 1) ve proinflamatuvar enzimlerin (indüklenabilir nitrik oksit sentaz (inducible nitric oxide synthase) (iNOS), siklooksijenaz - 2 (cyclooxygenase - 2) (COX - 2) üretiminin ve fonksiyonunun azaldığı saptanmıştır. Ancak insanlarda elde

edilen çalışmalarda buna uygun sonuçların elde edildiği çalışma sayısı daha azdır (Bourlier 2009).

FABP4 makrofajlarda kolesterol akışını “PPAR γ / liver X receptor - α (LXR - α) / ATP binding cassette transporter A1” (ABCA1) yolağının inhibisyonu ile düzenlemekte ve köpük hücre oluşumuna katkı sağlamaktadır. FABP4 eksikliği olan farelerde ise makrofajlardan kolesterol çıkışının arttığı gösterilmiştir (Makowski 2005).

Genetik olarak FABP4 yoksun modellenmiş farelerde, genetik obezite ve diyete bağlı obezite durumunda, hiperinsülinemi ve insülin direnci durumlarının azaldığı gösterilmiştir (Furuhashi 2008). Ayrıca FABP4 eksikliği olan farelerden elde edilen adipositlerde lipoliz etkinliğinin azaldığı hem in vivo ve hem de in vitro olarak gösterilmiştir. Bu etkinin, FABP4'ün HSL' yi bağlama ve aktive etme yeteneğinden kaynaklandığı düşünülmektedir, ancak henüz kanıtlanmamıştır (Scheja 1999). Makrofaj hücre kültürlerinde gerçekleştirilen bir çalışmada kolesterol düşürücü ajanlardan olan statinlerin FABP4 ekspresyonunu azalttığı gösterilmiştir (Llaverias 2004). Hayvan çalışmalarında; yüksek FABP4 düzeylerinin metabolik ve inflamatuvar yollarda düzenlemeler aracılığıyla metabolik sendrom, kronik inflamasyon ve obeziteyle ilişkili olabileceği bildirilmiştir (Reinehr 2007). FABP4 eksikliğinde ise TNF α , IL1 β , IL6 gibi proinflamatuvar sitokinlerin ve iNOS ve COX-2 gibi proinflamatuvar enzimlerin üretiminin baskılandığı bildirilmiştir (Furuhashi 2008).

Vücutta artmış yağ asitleri genelde, obezite ve insülin direnci ile pozitif koreledir. Ancak paradoksik olarak FABP4 eksikliği olan fare modellerinde artmış yağ asitlerine karşın insülin duyarlılıklarında da artma görülmüştür. Bu gözlem, mevcut dogma ile çelişkilidir ve metabolik sendromda yağ asitlerinin rolünün anlaşılmasını güçleştirmektedir. Burada öne sürülen mekanizmaya göre; obezitenin zararlı etkilerine sebep olan durum total vücut yağ miktarından ziyade, yağ asitleri ve derivelerinin hücre içinde ve vücutta dağılım profili ile çok daha yakından ilişkilidir denmektedir (Furuhashi 2008). Wang ve ark. yaptıkları çalışmada pimozid adlı antipsikotik ilaca bağlı adipogenez artışı ve aşırı kilo alımının sebebini araştırmışlar ve bu sayede pimozidin FABP4 inhibe edici özelliğini keşfettiklerini bildirmişlerdir (Wang 2015).

2.4.3.1. FABP4' ün Tedavide Kullanımı

FABP4 fonksiyonunu modifiye eden veya FABP4 etkinliğini azaltan farmakolojik ajanların geliştirilmesi, lipid sinyal yollarının, inflamatuvar cevapların ve metabolik regülasyonun doku veya hücre spesifik kontrolünü sağlar ve bu sayede çoklu endikasyonu olan yeni ilaç sınıfları oluşturulabilir (Furuhashi 2008).

Yapılan çalışmalarda; sentetik FABP4 inhibitörü kullanılarak insülin direnci, diyabet, yağlı karaciğer ve ateroskleroz gelişimine karşı terapötik etki sağlanabileceği gösterilmiştir (Furuhashi 2007). Oral olarak uygulanabilen bir molekül olan BMS309403, FABP4' ün güçlü ve selektif yarışmalı inhibitörüdür. Makrofajlarda FABP4 inhibisyonu ile, kolesterol ester birikimi engellenerek makrofajların köpük hücrelerine dönüşümünün azaltıldığı bildirilmiştir (Roden 2007, Furuhashi 2008). Ayrıca IL1 β , IL6, MCP - 1 ve TNF α gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınımını da azalttığı saptanmıştır (Roden 2007). FABP4' ün inhibisyonu; genetik veya diyetsel obeziteli ve diyabetli fare modellerinde glukoz metabolizmasını düzeltmiş ve insülin duyarlılığını arttırmıştır. Bunun ötesinde insülin direnci ve obezitesi olan transgenik fare modellerinde yağlı karaciğer infiltrasyonu ve obezite ile ilişkili inflamatuvar mediyatörlerin ekspresyonlarında azalma sağlanmıştır (Roden 2007, Furuhashi 2008). Bir başka çalışmada deneysel obeziteli ve ateroskleroz gelişimli farelerden transgenik FABP4 yoksun grupta obez ve aterosklerozlu kontrol grubuna göre proksimal aortada aterosklerotik lezyon çapında % 66 civarında küçülme gözlenmiştir (Makowski 2001). Bu çalışmayla uyumlu olarak BMS309403 adlı FABP4 spesifik inhibitörü uygulanan deney farelerinde ise aortada aterosklerotik lezyon çapında % 50'den fazla küçülme gözlenmiştir (Furuhashi 2007).

FABP4 yoksunluğu önemli olarak 2 majör metabolik süreci iyi yönde etkilemektedir. Birincisi yağ dokudan azalmış non esterifiye yağ asidi (non esterified fatty acid) (NEFA) salınımı ve ikincisi de dokularda yağ asitleri yerine glukoz kullanımının artışıdır (Baar 2005). Obezitede komplikasyon gelişiminin (insülin direnci, Tip 2 diyabetes mellitus vb) artmış yağ kütesinden ziyade uzun zincirli serbest yağ asitleri gibi lipid moleküller nedeniyle olabileceği ifade edilmiştir (Uysal 2000). Diyetel obez farelerde genetik ve farmakolojik olarak FABP4 inhibisyonunun yapıldığı çalışmalarda; FABP4 inhibisyonunun kilo alımını azaltıcı yönde etkisinin olmadığı ya da aksine kilo alımını

artırdığı, bununla birlikte insülin direnci, Tip 2 diyabetes mellitus ve ateroskleroz gibi obeziteye bağlı komplikasyonların gelişimini ise azalttığı gösterilmiştir (Yang 2011).

Çalışmamızda; obezitenin sık karşılaşılan bir komplikasyonu olan erkek fertilitte bozukluğuna etkilerini BMS309403 adlı ilaç üzerinden araştırmayı amaçladık. FABP4' ün kendisinin veya BMS309403 adlı ilaç ile inhibisyonunun, bu sağlık sorunu üzerine etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlayamadık. İlacın şu ana dek kardiyak miyosit kültürleri dışında birçok dokuya olası yan etkileri de henüz ortaya konulmamıştır.

İzole edilmiş rat kalp dokularında BMS309403 etkisinin araştırıldığı çalışmada, BMS309403 uygulaması ile kardiyak kontraktilitenin azaldığı ve bunun elektrokardiyografi (electrocardiography) (ECG) etkilenmeksizin, elektromekanik disosiyasyonla gerçekleştiği gözlenmiştir. Bunun sonucunda BMS309403' ün in vitro akut bir kardiyak depresan olduğu ifade edilmiştir (Look 2011).

2.5. APOPTOZİS, BCL - 2, BAX PROTEİNLERİ VE TUNEL YÖNTEMİ

Apoptozis ve nekroz hücre ölümünün iki farklı formudur. Nekroz çoğunlukla bir travma sonucu meydana gelir ve oluşturduğu inflamatuvar yanıt ile çok sayıda hücreyi etkiler ayrıca hücrenin şişmesine ve membran rüptürüne neden olur (Anzar 2002). Apoptozis veya programlı hücre ölümü ise, daha az sayıda hücrede meydana gelen ve inflamatuvar bir cevap ortaya çıkarmadan hücrenin dokudan temizlendiği, bir dizi morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerle karakterize olan hücre ölümünün özel bir formudur (Shen 2002). Bu değişiklikler, kromatin yoğunlaşması ve fragmantasyonu, sitoplazmik organellerin yoğunlaşması, mitokondriden sitokrom c' nin salınması, reaktif oksijen radikallerinin üretimi, endoplazmik retikulumun dilatasyonu ve hücre volümünün azalmasını içerir. Daha sonra hücre apoptotik parçalara ayrılır ve bu parçalar makrofajlar tarafından temizlenir (Aziz 2007).

Ekstrinsik ve intrinsik olmak üzere iki farklı ana apoptotik yolak vardır. Diğer ilave yollar ise apoptozu granzim A / B yoluyla indükleyen perforin / granzim yolağı ve genotoksik ve nongenotoksik stres ile indüklenen P53 yolağıdır (Shaha 2010). Büyüme faktörleri düzeyinde geri çekilme, DNA hasarı, Fas ligand bağlanması, ısı, radyasyon, kemoterapötik ilaçlara maruziyet gibi apoptozisi tetikleyen birçok faktör bilinmektedir. Bu tetikleyicilerin hepsi apoptozla sonuçlanan kaspaz sistemini aktive ederler. Bazı genler apoptozisin başlangıç fazını kontrol ederler. Örneğin Bcl gen ailesi hücreleri apoptozise

karşı korurken, Bax gen ailesi bunun tersi yönde etki gösterir. Kaspaz ailesinden proteazların aktivasyonu, hücre proteinlerinde yıkılmaya neden olur (Van Engeland 1998).

Bax ve Bcl - 2' nin her ikisi de intrinsik apoptoz yolağında yer alan mitokondriyal zar geçirgenliği üzerine etki ederler. Bax proteinin de yer aldığı Bax gen ailesi üyeleri bu geçirgenliği artırarak apoptozu artırıcı etki gösterirken, Bcl - 2 proteini ise zar geçirgenliğini azaltarak apoptozdan koruyucu etki gösterir. (Dejean 2010).

Tunel yöntemi, apoptoz veya farklı nedenlerle hücrelerde DNA bütünlüğünün bozulmasının değerlendirilmesinde kullanılan bir yöntemdir. Yöntemde kullanılan Terminal deoksinükleotidil transferaz (terminal deoxynucleotidyl transferase) (Tdt) enzimi DNA zincirinde kırık olan bölgeleri tanımakta ve işaretli nükleotitleri bu bölgelere eklemektedir. Değerlendirmede rastgele seçilen 100 hücrede apoptoz varlığı taranmakta ve apoptotik indeks (AI) ($AI = \text{Toplam apoptotik hücre sayısı} / 100$) hesaplanmaktadır. Erkek infertilitesinin değerlendirilmesinde de önemli bir yöntem olacağı düşünülmektedir (Ribas 2013, Yan 2015).

Spermatogenezis, spermatogoniaların mitotik bölünmesi, spermatositlerin mayotik bölünmesi, spermatidlerin morfolojik diferansiyasyonu ve maturasyonu ve sonuç olarak sperm formasyonunun oluşmasını içeren dinamik bir süreçtir (Shen 2002). Apoptozis normal spermatogenezis sürecinde genetik olarak defektif hücrelerin eliminasyonunda önemli rol alır. Diğer taraftan normal apoptozis sürecinde bozulmanın erkek infertilitesi ile yakından ilişkili olduğu saptanmıştır. Normal spermatogenezisi olanlarla karşılaştırıldığında azospermi ve oligospermisi olan erkeklerin testis dokusunda apoptotik germ hücrelerine daha çok rastlanması ve testiküler yetmezliği olan infertil hastaların testis biyopsisinde daha yüksek apoptozis oranları görülmesi bunu desteklemektedir (Lozano 2009). Ayrıca defektif germ hücrelerinin apoptozis ile seçilerek elenmesinde meydana gelen bir yetersizlik de semende anormal sperm sayısında artışa ve fertilitede azalmaya neden olmaktadır. İnfertil erkeklerin ejakulatlarında apoptotik sperm oranları daha yüksek bulunmaktadır (Anzar 2002).

Apoptoz parametrelerinin klinik pratikteki prognostik güçleri halen belirsizdir. Ancak aşık olarak bu belirteçler infertil erkeklerden elde edilen ejakülatlarda fertil erkeklerden elde edilen ejakülatlara göre anlamlı düzeyde yüksek oranda bulunmaktadır (Zorn 2012).

Erkek ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada diyetsel obeziteye bağlı ratların testislerinde spermatogenezin bozulduğu ve apoptozun artmış olduğu gözlenmiştir. Çalışmada testis dokularında hem immünohistokimyasal hem de polimeraz zincir reaksiyonu ile bakılan antiapoptotik etkili Bcl - 2 düzeyleri istatistiksel anlamlı olarak azalmış, proapoptotik etkili Bax düzeyleri ise istatistiksel anlamlı olarak artmış bulunmuştur (Chen 2011).

2.6. JOHNSON SKORLAMASI

Spermataogenezin kantitatif şekilde değerlendirilmesi amacıyla, Johnson tübüler biyopsi skoru kullanılabilmektedir. Bu skorlamaya göre seminifer tübülün içindeki hücrelerin dağılımı, belli bir sıra takip ederek progresif bir şekilde kaybolur. En olgun hücre tipi olan spermatozoa iskemiye en duyarlı olup, dejenere olan ilk hücredir. Bunu spermatidler, spermatositler, spermatogoniumlar ve en sonunda sertoli hücrelerinin kaybı izler (Johnson 1980). Tablo 9' da bu skorlama gösterilmiştir.

Tablo 9. Johnson skorlaması (Johnson 1980, Gencoglan 2011).

<p>Skor 1 Tübüler kesitte germ hücresi veya sertoli hücresi yok.</p> <p>Skor 2 Germ hücresi hiç yok, sadece sertoli hücresi mevcut.</p> <p>Skor 3 Germ hücresi olarak sadece spermatogonia mevcut.</p> <p>Skor 4 Sadece birkaç spermatosit (< 5) mevcut; ancak spermatozoa ve spermatid yok.</p> <p>Skor 5 Spermatozoa ve spermatid yok, fakat çok sayıda spermatosit mevcuttur.</p> <p>Skor 6 Hiç spermatozoa yok, sadece birkaç spermatid mevcut (< 5 - 10).</p> <p>Skor 7 Hiç spermatozoa yok, ancak birçok spermatid mevcut.</p> <p>Skor 8 Sadece birkaç spermatozoa mevcut (< 5 - 10).</p> <p>Skor 9 Çok sayıda spermatozoa mevcut ancak spermatogenezis disorganize.</p> <p>Skor 10 Komplet spermatogenezis ve mükemmel tübüller.</p>
--

2.7. TOTAL TESTOSTERON

Testosteron kolesterolden sentezlenir. Leydig hücrelerinde 3 ana kolesterol kaynağı vardır:

- 1 - Eksternal olarak kan lipoproteinlerinden gelen kolesterol.
- 2 - Asetattan de novo olarak sentezinden gelen kolesterol.
- 3 - Lipid damlacıklarında depolanan kolesterol esterlerinden gelen kolesterol.

Bu üç yolla elde edilen kolesterol mitokondriye taşınır. Desmolaz enzim kompleksi tarafından 27 karbonlu kolesterol, 21 karbonlu pregnanolona dönüştürülür. Pregnanolon düz endoplazmik retikuluma taşınır ve burada ilave dönüşümlerle testosteron oluşumu sağlanır. Testosteron daha sonra interstisyel sahaya salgılanır. Erişkin insanda günde 5 mg testosteron salgılanır. Salgılanan hormon hem kana hem de lenf sıvısına geçer. Normal erişkin erkekte dolaşımdaki major serum androjeni testosterondur ve % 95 oranında testislerde üretilir. Adrenalenden kaynaklanan androstenedion gibi diğer steroidler periferik metabolizma ile testosterona çevrilebilse de, bunlar tüm plazma testosteron üretiminin % 5' inden daha azını oluşturur. İnsan plazmasındaki testosteronun % 2' sinden daha azı serbesttir ve geriye kalan % 98' i değişik tipte çeşitli plazma proteinlerine bağlıdır. Steroid bağlayan plazma proteinleri, insan serum albumini, SHBG ve transkortinden oluşur. Normal erişkin erkekte plazmadaki testosteronun % 44 -65' ü SHBG' ye bağlanır ve % 33 - 50' si insan serum albumini ile bağlanır. % 1' inden azı ise transkortine bağlanır. Plazmadaki serbest testosteron prostat tarafından alınıp, dihidrotestosterona metabolize edilmeye ya da karaciğer veya barsak tarafından alınıp esas olarak 17 ketosteroidlere dönüştürülmeye elverişlidir. 17 ketosteroidler gibi metabolik androjenler, suda çözünen 16 glukuronid ya da sülfat konjugatları olarak idrara sekrete edilir. Sadece küçük bir miktar testosteron metabolize olmadan idrara atılır (Ye 2011, Tietz 2012).

2.8. SHBG

SHBG; steroid hormonlarının plazma proteinlerine bağlanması onların taşınması, dağılımı ve biyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır. İnsan plazmasında bu hormonlar genellikle SHBG ve kortikosteroid - bağlayıcı globulin gibi spesifik bir steroid hormon bağlayıcı proteinlere bağlanmaktadır. Sadece çok küçük bir fraksiyonları bağlanmamaktadır (Hryb 1990).

SHBG karaciğerde üretilen ve salınan bir plazma glikoproteinidir (Hoppe 2010). SHBG seks steroidlerini yüksek afinite ile bağlayan, dolayısıyla serbest form miktarlarını ve hedef hücrelere ulaşımını düzenleyen bir plazma glikoproteinidir (Hoppe 2010). İnsan SHBG'si kanda esasen testosteron ve östradiolü taşımaktadır. SHBG'nin kan konsantrasyonları bu seks steroidlerinin metabolik klirensinin ve hedef dokuya ulaşmalarının esas belirleyicisidir. Ölçümleri, dolaşımdaki proteine bağlı olmayan serbest seks steroidlerinin miktarlarının tahmin edilmesi için bir imkan sağlamaktadır (Hogeveen 2002).

Anormal olarak düşük serum SHBG seviyeleri obezitede ve polikistik over sendromlu kadınlarda sıklıkla görülmektedir. Serum SHBG seviyeleri ayrıca Tip 2 diyabet ve koroner arter hastalığı olanlarda da azalmıştır (Hogeveen 2002).

SHBG, düzlemsel yapıda olan ve bir 17β hidroksi grubu olan 5α - dihidrotestosteron, testosteron, 17β - östradiol ve androstenediol gibi seks steroidlerini yüksek afiniteyle bağlar. 5α - dihidrotestosterona afinitesi testosterondan 3 kat, 17β - östradioldan 8 kat daha fazladır. Seks steroid bağlama bölgesinin yakınındaki çinko bağlama bölgesi, çinkonun spesifik olarak östradiole bağlanmayı inhibe etmesinden dolayı testosteron ve östradiol için SHBG afinite farklılığını açıklayabilir (Hoppe 2010).

2.9. İNHİBİN B

İnhibin B, transforming growth factor beta (TGF - beta) protein ailesine ait kompleks protein yapıda bir moleküldür (Kingsley 1994). Testiste esasen sertoli hücrelerinde üretilmektedir. Spermatogenezin sağlıklılığı hakkında fikir veren ve diüurnal değişimi testosterona oldukça yakın seyreden bir proteindir. Testiküler volüm ve sperm sayısı ile inhibin B düzeyleri arasında pozitif korelasyon bildirilmiştir. Sertoli hücrelerinden FSH salınımını negatif geri bildirim ile inhibe etmektedir (Meachem 2001). İnhibin B erkek fertilitesi ve spermatogenez fonksiyonunun bir göstergesi olarak kullanılabilir. Fertil erkeklerde ortalama serum konsantrasyonu infertil erkeklere göre oldukça yüksektir (Myers 2008). Obez erkeklerde fertilitate açısından hormonal profile bakıldığında total testosteron, gonadotropinler, SHBG ve İnhibin B' nin her birinin normalden düşük düzeyde olduğu görülmüştür (Martini 2012).

2.10. SERBEST ANDROJEN İNDEKSİ (FAI)

FAI, biyoaktif serbest dolaşan testosteron düzeyleri hakkında bir gösterge elde etmek amacıyla tanımlanmış olup $100 \times [\text{total testosteron (nmol / L)}] / [\text{SHBG (nmol/L)}]$ şeklinde bir formül ile hesaplanmaktadır (Ho 2006). Brannian ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada FAI' nin hem erkek hem kadınlarda serbest testosteron düzeyleri ile iyi uyum gösterdiği bulunmuştur (Brannian 1998).



3. MATERYAL - METOD

3.1. MATERYAL

3.1.1. Vakaların Oluşturulması, Gruplama ve Deneysel Uygulama İle İlgili Hususlar

Necmettin Erbakan Üniversitesi (NEÜ) Kombassan Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden 14.11.2014 tarih ve 2014 - 057 sayılı etik kurul onayı ile deneysel çalışma için izin alındı. Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) koordinatörlüğü tarafından maddi desteğin sağlanmasını takiben 151518004 proje no lu çalışmaya başlandı. Çalışmamız, 9 haftalık yaşa sahip ve 16 - 19 gram ağırlıklarda olan toplam 56 adet erkek Balb / c cinsi fare üzerinde gerçekleştirildi. Farelerin rutin bakım ve takipleri diüurnal ışık şartlarında (12 saat aydınlık, 12 saat karanlık) gerçekleştirildi. Çalışma süresince fareler her kafeste 7 fare olacak şekilde toplam 8 kafeste barındırılmıştır. Çalışmanın başlangıcında tüm farelerin boy (burun - anüs mesafesi) ve gram cinsinden ağırlıkları ölçülerek LOİ'leri (Plocher 1977) hesaplanmıştır. Çalışmada her grupta 14 fare olacak şekilde toplam 4 grup oluşturulmuştur.

Grup 1 (Kontrol Grubu): Çalışma süresi boyunca normal pellet yem ve su ile ad libitum (istenildiği kadar serbest) beslendi.

Grup 2 (Obez Kontrol Grubu): Çalışma süresi boyunca normal pellet yeme ilaveten içme suyuna hacimce % 30 süzkroz eklenmiş olarak beslendi (Novelli 2007, Ritze 2014).

Grup 3 (Obez Araç Grubu): Grup 2 ile benzer şekilde beslendi, ilaveten gruptaki tüm fareler obez olduktan sonra 6 hafta süre ile, günlük tek doz olarak 0.015 ml dimetil sülfoksit (dimethyl sulfoxide) (DMSO) aracı oral gavaj ile uygulandı.

Grup 4 (Obez İlaç Grubu): Grup 2 ve Grup 3 ile benzer şekilde beslenmiştir, ilaveten tüm fareler obez olduktan sonra 6 hafta süre ile 15 mg / kg / gün günlük tek dozda BMS309403 adlı FABP4 inhibitörü ilaç; 0.015 ml DMSO aracı içinde çözdürülmüş olarak oral gavaj ile uygulandı (Furuhashi 2007, Lee 2011).

Farelerde obezite gelişimi LOİ ile 2 haftada bir takip edilerek değerlendirildi. LOİ 0,3' ten büyük olan fareler obez kabul edildi (Hilwani 2014). Çalışmanın 63. gününde Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'deki tüm farelerin LOİ'leri $\geq 0,3$ olduğu görüldü. Çalışma sonuna kadar Grup 2, Grup 3 ve Grup 4'deki tüm fareler içme sularında hacimce % 30 süzkroz bulunacak

şekilde beslenmeye devam ettirildi. Çalışmanın 105. günü Grup 1' de 7, Grup 2' de 8, Grup 3' te 10 ve Grup 4' deki 12 farenin sabah saat 07:00' de beslenmeleri durduruldu ve saat 13:00' de ketamin - ksilazin (50 mg / kg – 10 mg / kg) anestezisi uygulanması sonrası kardiyak ponksiyonla kanları alınarak ötenazi gerçekleştirildi. Kalpten alınan kanlar kırmızı kapaklı düz tüplere aktarıldı ve pıhtılaşma sonrası 4000 rpm / 5 dakika santrifüj edilen örneklerden serumlar elde edildi. Elde edilen serumlar biyokimyasal analizler için plastik ve kapaklı eppendorf tüplere aktarılarak – 80 °C deki derin dondurucuda saklandı. Çalışma günü - 80 °C' den çıkarılan serum numuneleri, oda ısısına getirildi ve vortekslenildi sonrasında analizler yapıldı. Total testosteron, SHBG, FABP4 ve İnhibin - B testleri ELISA yöntemi ile NEÜ Meram Tıp Fakültesi Biyokimya ABD' da çalışıldı. FAI değerleri ise total testosteron ve SHBG değerlerinden formül kullanılarak hesaplandı. Ötenazi sonrası alınan testis dokusu ise histolojik incelemeler için % 10' luk formalin içinde tespit edildi. Testis kesitleri Hematoksilen - Eozin ile boyanarak spermatogenez ve germ hücre sağlıklılığı açısından Johnson skorlaması ile değerlendirildi. Ayrıca parafin bloklara alınan kesitlerden apoptozis değerlendirmesi için immünohistokimyasal yöntemlerle Tunel - pozitif hücre sayımı, Bcl-2 ve Bax ekspresyon ölçümleri, NEÜ Meram Tıp Fakültesi Histoloji - Embriyoloji ABD'da yapıldı. Gruplara ait deneysel uygulama verileri tablo 10' da özetlenmiştir.

Tablo 10. Çalışma gruplarına ait veriler

	GRUP1 (Kontrol Grubu) (n=7)	GRUP2 (Obez Kontrol Grubu) (n=8)	GRUP3 (Obez Araç Grubu) (n=10)	GRUP4 (Obez İlaç Grubu) (n=12)
Toplam çalışma süresi boyunca uygulamalar (15 hafta)	Normal pellet yem ve su ad libitum verilmiştir.	Normal pellet yem ve çİme suyuna hacimce % 30 sıvı sükkroz eklenmiş halde beslenmiştir.	Normal pellet yem ve çİme suyuna hacimce % 30 sıvı sükkroz eklenmiş halde beslenmiştir.	Normal pellet yem ve çİme suyuna hacimce % 30 sıvı sükkroz eklenmiş halde beslenmiştir.
Oral gavaj uygulaması (10. - 15. haftalar, toplam 6 hafta)	-	-	DMSO (0,015 ml /gün)	0.015 ml DMSO içinde çözdürülmüş BMSO309403 (15 mg/kg/gün)

3.1.2. Kullanılan Cihazlar ve Aletler

- Bio - Tek ELx 50 marka ELİSA yıkayıcısı
- Bio - Rad marka ELİSA okuyucusu
- New Brunswick U570 marka - 80 °C' lik derin dondurucu
- Eppendorf marka santrifüj cihazı
- Thermo scientific marka ayarlanabilir tekli otomatik pipetler
- Socorex marka ayarlanabilir çoklu otomatik pipet
- Nüve marka vortex
- Nüve marka etüv

3.1.3. Kullanılan Kimyasallar ve Kitler

- Cayman marka 300657 - 03 - 08 cas numaralı liyofilize FABP4 inhibitörü
- Merck marka 1029521011 katalog numaralı DMSO
- YHbiosearch marka YHB1275Mo katalog numaralı fare total testosteron ELISA kiti
- YHbiosearch marka YHB1208Mo katalog numaralı fare SHBG ELISA kiti
- YHbiosearch marka YHB0749Mo katalog numaralı fare İnhibin B ELISA kiti
- YHbiosearch marka YHB1491Mo katalog numaralı fare FABP4 ELISA kiti
- Abcam marka ab7977 katalog numaralı Bax immünhistokimya kiti
- Abcam marka ab7973 katalog numaralı Bcl - 2 immünhistokimya kiti
- Apoptag In Situ Apoptosis Detection Kit marka Tunel immünhistokimya kiti
- % 10' luk formalin
- Parafin bloklar
- Hematoksilen - Eozin boyası
- Işık Mikroskobu
- Lam, lamel
- Fosfat tamponu (pH: 7,6)

3.2. METOD

3.2.1. Farelerin Periyodik Boy, Ağırlık Ölçümleri ve LOİ Hesaplamaları

Tüm farelerin boyları (milimetre cinsinden burun anüs mesafeleri) ve ağırlıkları (gram cinsinden) 14 günlük periyotlarla ölçülerek takip edildi. Gram cinsinden vücut ağırlığının küp kökünün, santimetre cinsinden burun - anüs mesafesine bölünmesiyle elde edilen değer ile farelerin LOİ 'leri hesaplandı.

3.2.2. Total Testosteron Ölçümü

Testin prensibi, biyotin çift antikor sandviç teknolojisine sahip ELISA yöntemi ile fare total testosteron düzeylerinin ölçümüne dayanmaktadır. Standartlar, 64 nanomol / L' lik fare total testosteron konsantrasyonuna sahip stok standart kullanılarak seri dilüsyonla 6 seviyeli olacak şekilde manuel olarak hazırlandı. Fare total testosteron monoklonal antikoru ile kaplanmış kuyucuklara, standartlardan 50 mikrolitre, fare serum numunelerinden 40 mikrolitre konulduktan sonra fare serum numunelerinin üzerine 10 mikrolitre biotin ile işaretli anti total testosteron antikoru eklendi. Sonra blank hariç tüm kuyucuklara 50'şer mikrolitre Streptavidin - Horseradish peroksidaz (HRP) kompleksi konuldu. Işık görmemesi ve buharlaşma ile konsantrasyon değişimi olmaması için kuyucukların üzeri kapatılarak 37 °C' lik inkübatörde 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar, yıkama tamponu ve otomatik ELİSA yıkayıcısı kullanılarak 5'er kez yıkandı. Yıkama sonunda tüm kuyucuklara 50' şer mikrolitre kromojen solüsyon A ve kromojen solüsyon B eklenip, üzeri kapatılıp karanlık ortamda ve 37 °C' lik inkübatörde 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 50' şer mikrolitre asidik solüsyon eklenerek reaksiyon durduruldu. Reaksiyon sonunda meydana gelen sarı rengin absorbansı, ELİSA okuyucusunda ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Absorbanslar total testosteron konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Standart total testosteron konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ile standart eğrisi çizildi. Bu eğri kullanılarak numunelerin total testosteron konsantrasyonları nanomol / L cinsinden hesaplandı.

3.2.3. SHBG Ölçümü

Testin prensibi, biyotin çift antikör sandviç teknolojisine sahip ELISA yöntemi ile fare SHBG düzeylerinin ölçümüne dayanmaktadır. Standartlar, 120 nanomol / L'lik fare SHBG konsantrasyonuna sahip stok standart kullanılarak seri dilüsyonla 6 seviyeli olacak şekilde manuel olarak hazırlandı. Fare SHBG monoklonal antikoru ile kaplanmış kuyucuklara, standartlardan 50 mikrolitre, fare serum numunelerinden 40 mikrolitre konulduktan sonra fare serum numunelerinin üzerine 10 mikrolitre biotin ile işaretli anti SHBG antikoru eklendi. Sonra blank hariç tüm kuyucuklara 50'şer mikrolitre Streptavidin - HRP kompleksi konuldu. Işık görmemesi ve buharlaşma ile konsantrasyon değişimi olmaması için kuyucukların üzeri kapatılarak 37 °C' lik inkübatörde 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar, yıkama tamponu ve otomatik ELISA yıkayıcısı kullanılarak 5'er kez yıkandı. Yıkama sonunda tüm kuyucuklara 50'şer mikrolitre kromojen solüsyon A ve kromojen solüsyon B eklenip, üzeri kapatılıp karanlık ortamda ve 37 °C' lik inkübatörde 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 50'şer mikrolitre asidik solüsyon eklenerek reaksiyon durduruldu. Reaksiyon sonunda meydana gelen sarı rengin absorbansı, ELISA okuyucusunda ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Absorbanslar SHBG konsantrasyonuyla doğru orantılıdır. Standart SHBG konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ile standart eğrisi çizildi. Bu eğri kullanılarak numunelerin SHBG konsantrasyonları nanomol / L cinsinden hesaplandı.

3.2.4. İnhibin B Ölçümü

Testin prensibi, biyotin çift antikör sandviç teknolojisine sahip ELISA yöntemi ile fare İnhibin B düzeylerinin ölçümüne dayanmaktadır. Standartlar, 480 nanogram / L'lik fare İnhibin B konsantrasyonuna sahip stok standart kullanılarak seri dilüsyonla 6 seviyeli olacak şekilde manuel olarak hazırlandı. Fare İnhibin B monoklonal antikoru ile kaplanmış kuyucuklara, standartlardan 50 mikrolitre, fare serum numunelerinden 40 mikrolitre konulduktan sonra fare serum numunelerinin üzerine 10 mikrolitre biotin ile işaretli anti İnhibin B antikoru eklendi. Sonra blank hariç tüm kuyucuklara 50'şer mikrolitre Streptavidin - HRP kompleksi konuldu. Işık görmemesi ve buharlaşma ile konsantrasyon değişimi olmaması için kuyucukların üzeri kapatılarak 37 °C' lik inkübatörde 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar, yıkama tamponu ve otomatik ELISA yıkayıcısı kullanılarak 5'er kez yıkandı. Yıkama sonunda tüm kuyucuklara 50'şer

mikrolitre kromojen solüsyon A ve kromojen solüsyon B eklenip, üzeri kapatılıp karanlık ortamda ve 37 °C' lik inkübatörde 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 50'şer mikrolitre asidik solüsyon eklenerek reaksiyon durduruldu. Reaksiyon sonunda meydana gelen sarı rengin absorbansı, ELİSA okuyucusunda ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Absorbanslar İnhibin B konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Standart İnhibin B konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ile standart eğrisi çizildi. Bu eğri kullanılarak numunelerin İnhibin B konsantrasyonları nanogram / L cinsinden hesaplandı.

3.2.5. FABP4 Ölçümü

Testin prensibi, biyotin çift antikor sandviç teknolojisine sahip ELISA yöntemi ile fare FABP4 düzeylerinin ölçümüne dayanmaktadır. Standartlar, 12 nanogram / mL' lik fare FABP4 konsantrasyonuna sahip stok standart kullanılarak seri dilüsyonla 6 seviyeli olacak şekilde manuel olarak hazırlandı. Fare FABP4 monoklonal antikoru ile kaplanmış kuyucuklara, standartlardan 50 mikrolitre, fare serum numunelerinden 40 mikrolitre konulduktan sonra fare serum numunelerinin üzerine 10 mikrolitre biotin ile işaretli anti FABP4 antikoru eklendi. Sonra blank hariç tüm kuyucuklara 50'şer mikrolitre Streptavidin - HRP kompleksi konuldu. Işık görmemesi ve buharlaşma ile konsantrasyon değişimi olmaması için kuyucukların üzeri kapatılarak 37 °C' lik inkübatörde 1 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklar, yıkama tamponu ve otomatik ELİSA yıkayıcısı kullanılarak 5'er kez yıkandı. Yıkama sonunda tüm kuyucuklara 50'şer mikrolitre kromojen solüsyon A ve kromojen solüsyon B eklenip, üzeri kapatılıp karanlık ortamda ve 37 °C' lik inkübatörde 10 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda tüm kuyucuklara 50'şer mikrolitre asidik solüsyon eklenerek reaksiyon durduruldu. Reaksiyon sonunda meydana gelen sarı rengin absorbansı, ELİSA okuyucusunda ve 450 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçüldü. Absorbanslar FABP4 konsantrasyonu ile doğru orantılıdır. Standart FABP4 konsantrasyonlarına karşılık gelen absorbans değerleri ile standart eğrisi çizildi. Bu eğri kullanılarak numunelerin FABP4 konsantrasyonları nanogram / mL cinsinden hesaplandı.

3.2.6. Johnson Skorlaması Ölçümü

Testis dokularından elde edilen enine kesitler Hematoksilen - Eozin ile boyandı ve seminifer tübüllerde germ hücreleri ve spermatogenez fonksiyonları Johnson skorlaması kriterlerine göre (Johnson 1980, Gencoglan 2011) değerlendirildi.

3.2.7. Bax ve Bcl - 2 Ölçümü

Testis dokuları immunhistokimyasal olarak Bax ve Bcl - 2 ekspresyonlarının tespiti amacıyla Abcam marka ab7977 ve ab7973 katalog numaralı kitlerle çalışıldı. Parafin bloklardan alınan dokulara, ilk olarak 1 saat deparafinizasyon uygulandı ve sonrasında 5' er dakika distile suda ve fosfat tamponunda (pH: 7,6) bekletildi. Ardından 20 dakika % 3' lük H₂O₂ muamelesi yapıldı ve bunu takiben 5' er dakika distile su ve fosfat tamponu ile yıkama tekrarlandı. Süper Blok(V - Blok) uygulaması yapıldı (7 dakika), yıkama işlemleri tekrarlandı. Bir saat primer antikor ile muamele edildi ve yıkama tekrarlandı. 20 dakika sekonder antikor ile muamele edildi ve yıkama tekrarlandı. 20 dakika streptavidin peroksidaz ile muamele edildi ve yıkama tekrarlandı. 15 dakika ABC kromojen ile muamele edildi ve 5 dakika distile suda bekletildi. Zıt boya olarak Mayer's Hematoksilen ile 3 dakika muamele edildi. Bir dakika akarsuda akıtma ve ardından 1 - 2 saniye amonyaklı su ile muamele edildi. Tekrar 1 - 2 saniye distile sudan geçirilen örneklerle, son kurulama ve kapatma maddesiyle kapatma uygulanarak çalışma tamamlandı.

3.2.8. Tunel Yöntemi Ölçümü

Hücrelerde DNA parçalanması ve apoptotik hücre ölümünün belirlenebilmesi amacıyla ApopTag In Situ Apoptosis Detection Kit (Millipore) kullanıldı. Apoptotik hücreler kahverengi boyanırken, normal hücreler yeşil boyandı. Her kesitte 100 seminifer tübül rastgele seçildi ve toplam apoptotik hücre sayısı sayıldı. Her grupta formül kullanılarak apoptotik indeks (AI) hesaplaması yapıldı (AI = Toplam apoptotik hücre sayısı / 100). (Yan 2015).

Çalışmada aşağıdaki basamaklar sırasıyla uygulandı.

1 - Parafin giderme ve suya indirme: Doku kesitleri, 2 x 5 dakika toluol, 2 x 5 dakika absolü alkol, 3 dakika % 95 alkol, 3 dakika % 70 alkol'de bekletildi ve 5 dakika fosfat tamponu ile çalkalandı.

- 2 - Proteinlerin sindirilmesi: Kesitler Proteinaz K (20 µg / ml) ile oda ısısında 15 dakika inkübe edildi.
- 3 - 2 x 2 dakika distile su ile çalkalandı.
- 4 - Endojen peroksidazın maskelenmesi: Kesitler fosfat tamponu ile hazırlanmış % 3' lük H₂O₂ ile 5 dakika oda ısısında muamele edildi.
- 5 - Fosfat tamponu ile 2 x 5 dk yıkandı.
- 6 - Dengeleme tamponu: Lamların etrafı dikkatlice kurulanıp, kesitlerin üzerine 75 µl dengeleyici tampon konulup, plastik lameller ile kapatıldı. 30 dakika oda ısısında inkübe edildi.
- 7 - Tdt enziminin uygulanması: Plastik lameller kaldırılıp etrafı kurulandı ve her lam üzerine 55µl Tdt enzimi konuldu ve plastik lameller ile kapatıldı. Nemli ortamda 37 °C etüvde 1 saat inkübe edildi.
- 8 - Durdurma / Yıkama: Plastik lameller kaldırıldı ve kesitler durdurma / yıkama tamponu ile oda ısısında 10 dakika yıkandı.
- 9 - Fosfat tamponu ile 3 x 5 dk yıkandı.
- 10 - Anti - Digoksinin - Peroksidaz: Her kesit üzerine 65 µl Anti – Digoksinin - Peroksidaz konuldu ve üzerlerine plastik lameller tekrar kapatılarak oda ısısında 30 dakika bekletildi.
- 11 - Plastik lameller kaldırıldı ve kesitler fosfat tamponu ile 3 x 5 dakika yıkandı.
- 12 - Renk reaksiyonu: Kesitlerin çevresi kurulandıktan sonra her kesit üzerine 75 µl diaminobenzidine substrat solusyonu damlatıldı. 3 - 6 dakika arasında pozitif renk reaksiyonu mikroskop altında tespit edildi.
- 13 - Renk reaksiyonu oluşmasından sonra kesitler distile su ile 3 x 1 dakika yıkandı.
- 14 - Kesitler distile su ile 5 dakika tekrar yıkandı.
- 15 - Zıt Boya Uygulaması: Kesitler metil yeşili ile 1 dakika boyandı ve distile suda boyama durduruldu.
- 16 - Fazla boyanın giderilmesi amacıyla kesitler 2 x 10 saniye % 100 alkol ile ve ardından tekrar 30 saniye % 100 alkol ile çalkalandı.

17 - Kapatma: Kesitler 2 x 2 dakika toluolde tutuldu. Toluolden çıkarıldıktan sonra entellan yapıştırıcı maddesi kullanarak kapatıldı.

3.2.9. Verilerin İstatistiksel Analizi

Elde edilen veriler, Statistical Package for the Social Sciences (SPSS™) versiyon 16.0 programı kullanılarak istatistiksel olarak değerlendirildi. Parametrelerin normal dağılım, çarpıklık ve basıklık gösterip göstermediğini anlamak için Shapiro - Wilk testi ile Skewness ve Kurtosis değerleri kullanıldı. Ayrıca her gruba ait fare sayıları göz önüne alınarak, her bir test için parametrik ya da non - parametrik istatistiksel verilerin kullanılacağı kararlaştırıldı.

Normal dağılım gösteren testlerden Tunel yöntemi ve Johnson Skorlaması testlerine parametrik ANOVA - Tukey HSD testi uygulandı. Normal dağılım gösteren ağırlık ve LOİ parametrelerine ise tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi (repeated measures anova) uygulandı. Mauchly' s Test of Sphericity değerinin 0,05' ten büyük olup olmadığının kontrolü ve ayrıca Bonferroni düzeltmesi de yapıldı. Kontrol grubu ile diğer grupların Post - Hoc değerlendirilmesi için Dunnett testi yapıldı.

Normal dağılım göstermeyen testlere (FABP4, total testosteron, İnhibin B, SHBG FAI, Bax ve Bcl-2) ise non - parametrik testlerden Kruskal - Wallis testi ve bir ileri aşama olarak grupların kendi aralarında ikili karşılaştırmasında Mann - Whitney U testi uygulandı. p değerinin < 0,05 olması istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmamızdan elde edilen bulgular ve bu bulguların istatistiki analizler verileri tablolar ve şekiller halinde sunulmuştur (Tablo; 11, 12, 13, 14), (Şekil; 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10).

4.1. AĞIRLIK VE LOİ PARAMETRELERİNE AİT BULGULAR

Gruplardaki her fareye ait ağırlık ve LOİ değerleri çalışma başlangıcında ve sonrasında 14 günde bir ölçüldü. Tablo 11' de de görüldüğü üzere Grup 1 kontrol grubunun LOİ değerlerinin çalışmanın başlangıcından sonuna kadar obez sınırı olan 0,3' e gelmediği görüldü. Grup 2 obez kontrol grubunda ise; 8. haftadan itibaren obezite gerçekleşti (LOİ $\geq 0,3$). 9. haftadan itibaren Grup 2 (obez kontrol), Grup 3 (obez araç) ve grup 4 (obez ilaç) gruplarında obezite gerçekleşti (LOİ $\geq 0,3$) ve çalışma sonuna kadar da obezitenin sürdüğü görüldü.

Tablo 12' de de görüldüğü üzere ağırlık parametresinin istatistiksel bulgularında kontrol grubu ile obez kontrol ve obez ilaç grubu (Grup 2 ve Grup 4) arasında ilk olarak 4. hafta sonunda (sırasıyla $p=0,035$ ve $p=0,035$), kontrol grubu ile tüm obez gruplar (Grup 2, Grup 3 ve Grup 4) arasında ise ilk olarak 6. hafta sonunda farklılık görüldü (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p<0,001$) ve çalışma sonuna kadar kontrol grubu ile tüm obez gruplar arasındaki farklılık devam etti. Obez ilaç grubu ile obez araç grubu arasında 15. hafta sonunda ağırlık açısından farklılık görüldü ($p=0,003$). Çalışma sonunda ağırlık ortalama değeri obez ilaç (Grup 4) grubunda en yüksek bulundu.

LOİ parametresinin istatistiksel bulgularında kontrol grubu ile obez kontrol ve obez araç grubu (Grup 2 ve Grup 3) arasında ilk olarak 2. hafta sonunda (sırasıyla $p=0,004$ ve $p=0,015$), kontrol grubu ile tüm obez gruplar arasında (Grup 2, Grup 3 ve Grup 4) ise ilk olarak 4. hafta sonunda farklılık görüldü (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$ ve $p=0,003$). LOİ parametresi için çalışma boyunca üç obez grup arasında fark görülmedi. Çalışma sonunda LOİ ortalama değeri obez ilaç (Grup 4) grubunda en yüksek bulundu.

Çalışma boyunca gruplara ait ağırlık ve LOİ parametrelerinin ortalama ve $\pm SD$ değerleri Tablo 11' de, gruplar arası istatistiksel bulguları ise Tablo 12' de görülmektedir.

Tablo 11. Çalışma boyunca gruplara ait ağırlık ve LOİ parametrelerinin ortalama ve \pm SD değerleri

	Grup 1 Kontrol		Grup 2 Obez Kontrol		Grup 3 Obez Araç		Grup 4 Obez İlaç	
	Ağırlık (gr)	LOİ	Ağırlık (gr)	LOİ	Ağırlık (gr)	LOİ	Ağırlık (gr)	LOİ
0. hafta	17,29 \pm 1,19	0,260 \pm 0,008	17,20 \pm 0,78	0,269 \pm 0,004	16,90 \pm 0,80	0,266 \pm 0,005	17,06 \pm 0,69	0,262 \pm 0,006
2. hafta	18,23 \pm 1,17	0,263 \pm 0,008	19,19 \pm 1,03	0,276 \pm 0,005	19,00 \pm 0,94	0,274 \pm 0,005	19,13 \pm 0,91	0,269 \pm 0,007
4. hafta	18,86 \pm 1,13	0,265 \pm 0,005	21,71 \pm 0,91	0,286 \pm 0,005	21,50 \pm 1,06	0,282 \pm 0,005	21,63 \pm 0,88	0,279 \pm 0,006
6. hafta	19,81 \pm 1,08	0,268 \pm 0,009	24,18 \pm 0,81	0,294 \pm 0,005	23,98 \pm 0,89	0,291 \pm 0,003	24,05 \pm 0,81	0,288 \pm 0,006
8. hafta	21,17 \pm 1,10	0,272 \pm 0,005	26,53 \pm 0,85	0,301 \pm 0,004	26,60 \pm 0,76	0,299 \pm 0,005	26,87 \pm 0,70	0,297 \pm 0,005
9. hafta	21,74 \pm 1,03	0,274 \pm 0,005	27,46 \pm 0,64	0,304 \pm 0,005	27,75 \pm 0,76	0,302 \pm 0,005	28,10 \pm 0,73	0,301 \pm 0,003
11. hafta	22,90 \pm 0,98	0,276 \pm 0,005	29,26 \pm 0,73	0,309 \pm 0,005	29,45 \pm 0,76	0,307 \pm 0,004	29,99 \pm 0,87	0,307 \pm 0,005
13. hafta	23,20 \pm 1,08	0,277 \pm 0,005	30,71 \pm 0,75	0,312 \pm 0,001	30,86 \pm 0,83	0,310 \pm 0,003	32,28 \pm 1,02	0,314 \pm 0,007
15. hafta	23,16 \pm 0,99	0,277 \pm 0,004	32,24 \pm 0,91	0,316 \pm 0,005	31,83 \pm 0,88	0,312 \pm 0,004	34,48 \pm 1,25	0,320 \pm 0,007

Tablo 12. Ağırlık ve LOİ parametrelerinin gruplar arası istatistiksel bulguları

Gruplar arası istatistiksel bulgular	Ağırlık						LOİ			
	0-2. haftalar	0-4. haftalar	0-6. haftalar	0-8. haftalar	0-13. haftalar	0-15. haftalar	0-2. haftalar	0-4. haftalar	0-6. haftalar	0-15. haftalar
Kontrol - Obez Kontrol	p=1,00	p=0,035*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p=0,004*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*
Kontrol - Obez Araç	p=1,00	p=0,100	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p=0,015*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*
Kontrol - Obez İlaç	p=1,00	p=0,035*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p<0,001*	p=0,661	p=0,003*	p<0,001*	p<0,001*
Obez Kontrol - Obez Araç	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=1,00
Obez Kontrol - Obez İlaç	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=0,442	p=0,070	p=0,085	p=0,058	p=0,199	p=1,00
Obez Araç - Obez İlaç	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=1,00	p=0,219	p=0,003*	p=0,372	p=0,826	p=1,00	p=1,00

(Tekrarlayan ölçümlerde varyans analizi sonuçları, * p < 0,05 istatistiksel anlamlı)

4.2. SERUMDA ÇALIŞILAN PARAMETRELERE AİT BULGULAR

Gruplara ait FABP4, total testosteron, FAI, İnhibin B ve SHBG bulguları ve gruplara ait ortanca (% 50' lik dilimdeki değer) ve çeyrekler arası aralık (interquartile range) değerleri ve gruplar arası istatistiksel bulgular Tablo 13' te görülmektedir.

Tablo 13. Gruplara ait FABP4, Total testosteron, FAI, İnhibin B ve SHBG parametrelerinin ortanca ve çeyrekler arası aralık değerleri ve gruplar arası istatistiksel bulguları

Parametreler	FABP4 (ng/mL)	Total testosteron (nmol / L)	FAI	İnhibin B (ng / L)	SHBG (nmol / L)
Gruplar					
Kontrol	0,347 (0,208)	8,411 (1,712)	83,131 (22,73)	36,148 (13,15)	9,84 (1,08)
Obez Kontrol	0,496 (0,118)	5,722 (3,016)	67,024 (15,39)	29,007 (11,21)	7,734 (3,08)
Obez Araç	0,513 (0,136)	4,561 (1,952)	71,716 (32,67)	26,758 (12,77)	7,237 (2,70)
Obez İlaç	0,306 (0,149)	4,093 (0,818)	56,587 (23,66)	19,59 (8,90)	7,368 (3,29)
Gruplar arası istatistiksel bulgular					
Kontrol - Obez Kontrol	p= 0,013*	p= 0,018*	p= 0,038*	p= 0,046*	p= 0,048*
Kontrol - Obez Araç	p= 0,015*	p= 0,004*	p= 0,032*	p= 0,030*	p= 0,007*
Kontrol - Obez İlaç	p= 0,286	p< 0,001*	p< 0,001*	p< 0,001*	p= 0,014*
Obez Kontrol - Obez Araç	p= 0,865	p= 0,693	p= 0,969	p= 0,753	p= 0,310
Obez Kontrol - Obez İlaç	p< 0,001*	p= 0,078	p= 0,085	p= 0,034*	p= 0,476
Obez Araç - Obez İlaç	p< 0,001*	p= 0,149	p= 0,060	p= 0,047*	p= 0,715

(Kruskal - Wallis ve Mann - Whitney U testi sonuçları, * p < 0,05 istatistiksel anlamlı)

. FABP4 değerleri, obez kontrol grubu (Grup 2) ve obez araç (Grup 3) grubunda, kontrol grubu (Grup 1) ve obez ilaç grubuna (Grup 4) göre yüksek, istatistiksel olarak da sırasıyla p=0,013 (Grup 2 ile Grup 1 karşılaştırması), p<0,001 (Grup 2 ile Grup 4 karşılaştırması), p=0,015 (Grup 3 ile Grup 1 karşılaştırması) ve p<0,001 (Grup 3 ile Grup 4 karşılaştırması) olarak bulundu.

Total testosteron ve FAI değerleri, tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4), kontrol grubuna (Grup 1) göre düşük, istatistiksel olarak da sırasıyla p=0,018 ve p=0,038, p=0,004 ve p=0,032, p< 0,001 ve p< 0,001 olarak bulundu.

İnhibin B değerleri, tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4), kontrol grubuna göre düşük, istatistiksel olarak da sırasıyla $p=0,046$, $p=0,030$ ve $p<0,001$ olarak bulundu. Obez gruplarından obez ilaç grubu (Grup 4) sonuçları; diğer iki obez gruba (Grup 2 ve Grup 3) göre de düşük, istatistiksel olarak da sırasıyla $p=0,034$ ve $p=0,047$ olarak bulundu.

SHBG değerleri tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4), kontrol grubuna göre düşük, istatistiksel olarak da sırasıyla $p=0,048$, $p=0,007$ ve $p=0,014$ olarak bulundu.

4.3. TESTİS DOKUSUNDA ÇALIŞILAN PARAMETRELERE AİT BULGULAR

Gruplara ait testis kesitlerinden Hematoksilen – Eozin boyama ile seminifer tübüllerde spermatogenez fonksiyonel durumu Johnson skorlamaları ile kantitatif olarak değerlendirildi. Bax, Bcl - 2 ve Tunel yöntemi testleri ise testis doku örneklerinde immünohistokimyasal incelemelerle değerlendirildi. Bu testlere ait değerler ve istatistiki bulgular, tablo 14 ile ve kutu temalı bulgular ise şekillerle (Şekil 4,5,6) gösterilmiştir. Gruplara ait Bax, Bcl - 2 parametrelerinin ortanca ve çeyrekler arası aralık değerleri Tablo 14' te gösterilmiştir.

Tablo 14. Gruplara ait Bax, Bcl - 2 pozitif hücrelerin ortanca (% 50) ve çeyrekler arası aralık değerleri üzerinden ifadesi ile Johnson Skorlaması, Tunel yöntemi parametrelerinin ortalama ve \pm SD değerleri üzerinden ifadesi ve gruplar arası karşılaştırmaları

Parametreler Gruplar	Bax pozitif			Bcl - 2 pozitif			Johnson Skorlaması	Tunel Yöntemi
	% 25	% 50	% 75	% 25	% 50	% 75	Ortalama \pm SD	Ortalama \pm SD
Kontrol	0	0	+1	+3	+3	+3	9,52 \pm 0,17	0,14 \pm 0,03
Obez Kontrol	+2	+2	+3	0	+1	+1	6,88 \pm 0,12	0,26 \pm 0,05
Obez Araç	+2	+2	+3	+1	+1	+1	7,05 \pm 0,22	0,25 \pm 0,06
Obez İlaç	+2	+3	+3	0	+1	+1	6,64 \pm 0,05	0,34 \pm 0,04
Gruplar arası karşılaştırmalar								
Kontrol - Obez Kontrol	p= 0,002*			p= 0,001*			p< 0,001*	p= 0,001*
Kontrol - Obez Araç	p= 0,002*			p= 0,001*			p< 0,001*	p= 0,002*
Kontrol - Obez İlaç	p= 0,001*			p= 0,001*			p< 0,001*	p< 0,001*
Obez Kontrol - Obez Araç	p= 0,674			p= 0,545			p= 0,192	p= 0,994
Obez Kontrol - Obez İlaç	p= 0,225			p= 0,884			p= 0,034*	p= 0,051
Obez Araç - Obez İlaç	p= 0,475			p= 0,530			p< 0,001*	p= 0,029*

(Kruskal - Wallis, Mann-Whitney U testi ve ANOVA - Tukey testi sonuçları, *p < 0,05 istatistiksel anlamlı).

Bax ve Bcl - 2 parametrelerinin immünohistokimyasal boyanma sonuçlarını karşılaştırmak için yapılan Kruskal - Wallis testi sonucunda gruplar arasında fark olduğu tespit edildi. Mann - Whitney U testi ile yapılan grup karşılaştırmalarında ise kontrol grubuna (Grup 1) göre tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4) sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0,05). Bax parametresi tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4) kontrol grubuna (Grup 1) göre artmış (sırasıyla p=0,002, p=0,002, p=0,001), Bcl - 2 parametresi ise tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4) kontrol grubuna (Grup 1) göre azalmış (sırasıyla p=0,001, p=0,001, p=0,001) bulundu.

Johnson skorlaması ve Tunel yöntemi parametrelerinin sonuçlarını karşılaştırmak için ANOVA - Tukey testi yapıldı ve gruplar arasında fark olduğu tespit edildi. Johnson skorlaması parametresi sonuçları tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4), kontrol grubuna (Grup 1) göre düşük (sırasıyla p<0,001, p<0,001, p<0,001) bulundu. Obez ilaç

grubu (Grup 4) sonuçları, obez kontrol grubu (Grup 2) ve obez araç grubu (Grup 3) sonuçlarına göre düşük (sırasıyla $p=0,034$, $p<0,001$) bulundu.

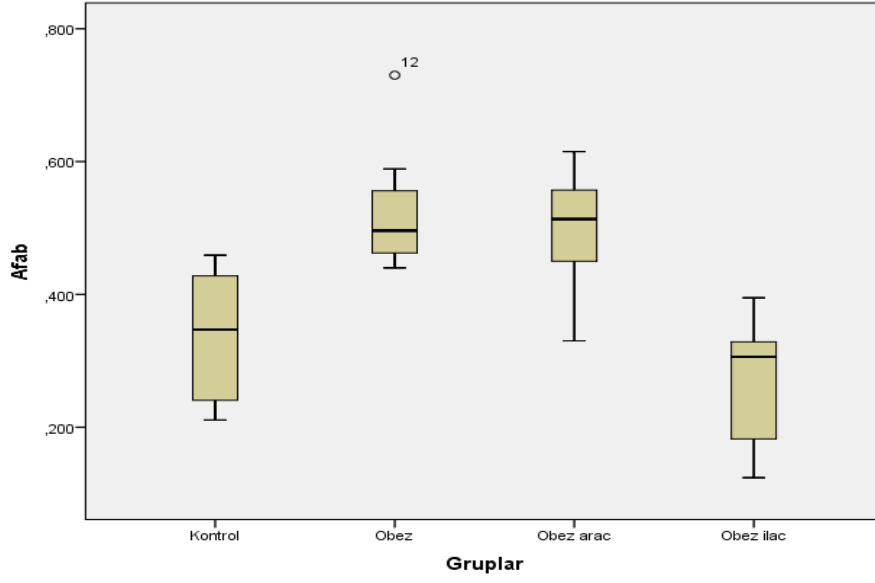
Tunel - pozitif boyanan hücre sayısı, tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4) kontrol grubuna (Grup 1) göre yüksek (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,002$, $p<0,001$) bulundu. Obez ilaç grubunun sonucu obez araç grubuna (Grup 3) göre yüksek ($p=0,029$) bulundu.

4.4. SERUMDA ÇALIŞILAN PARAMETRELERİN ŞEKİLLERLE GÖSTERİLMESİ

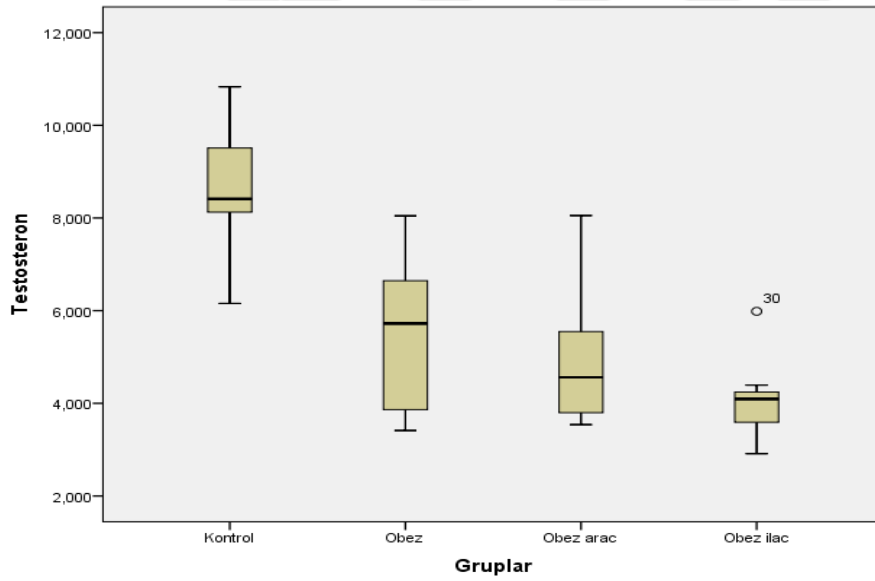
Gruplara ait FABP4 ve total testosteron ortanca değerlerinin kutu temalı gösterimi Şekil 4' te, İnhibin B ve SHBG ortanca değerlerinin kutu temalı gösterimi Şekil 5' te, FAI ortanca değerlerinin kutu temalı gösterimi ise Şekil 6' da verilmiştir.



Şekil 4. Gruplara ait FABP4 (AFABP) (a) ve total testosteron (testosteron) (b) ortalama değerlerinin kutu temalı gösterimi

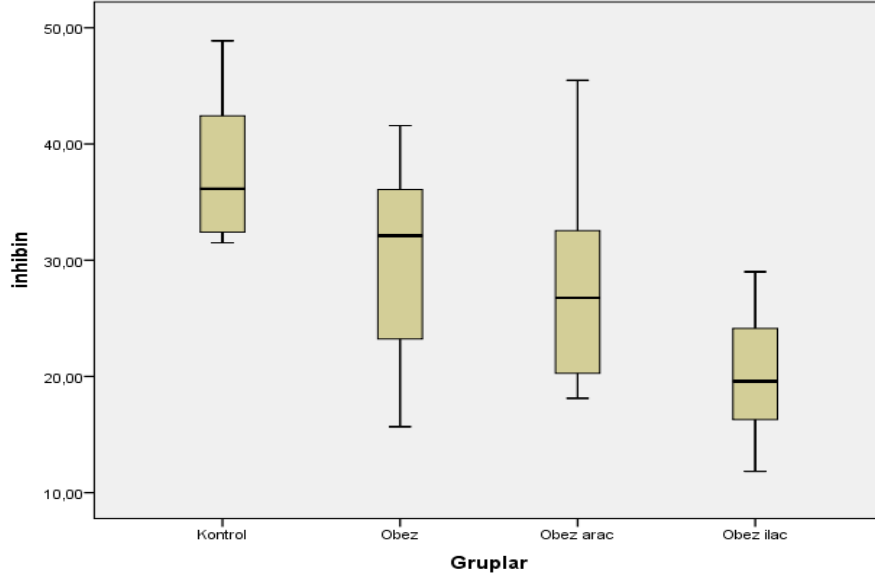


a

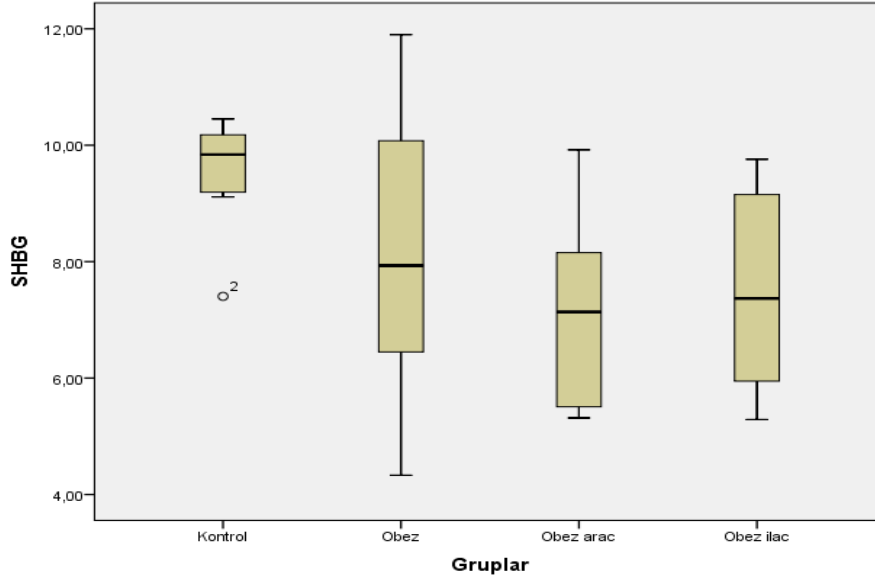


b

Şekil 5. Gruplara ait İnhibin B (a) ve SHBG (b) ortanca değerlerinin kutu temalı gösterimi

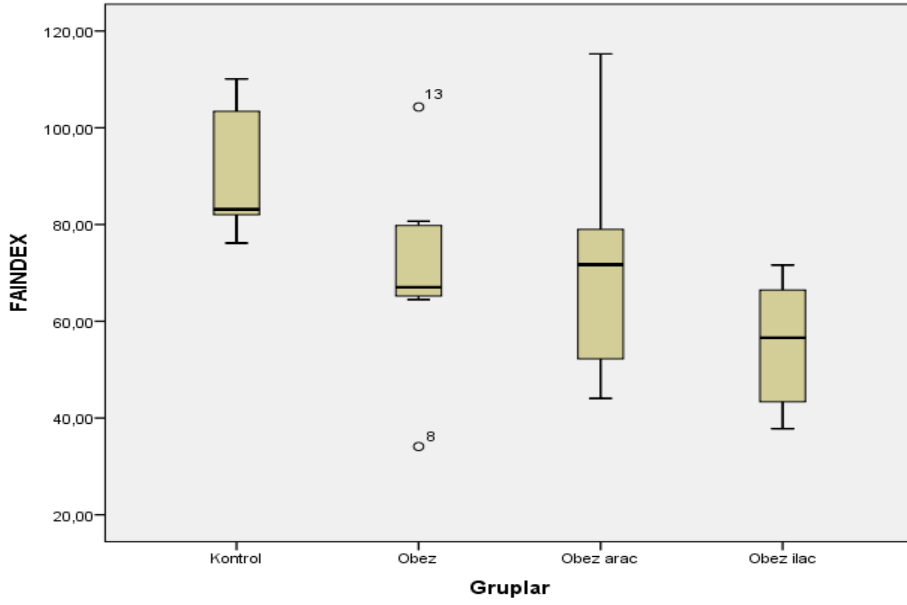


a



b

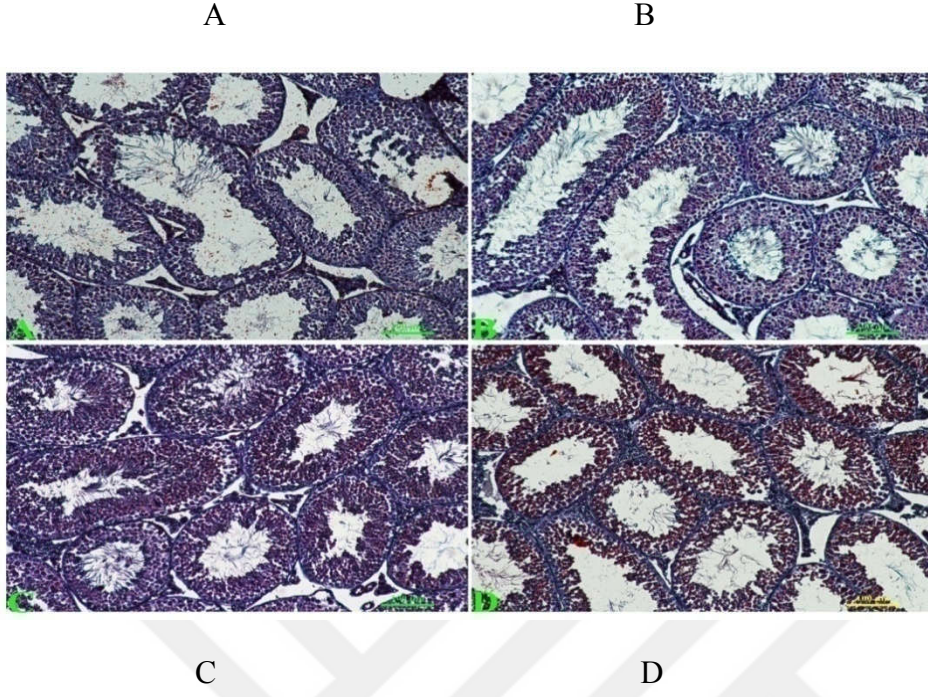
Şekil 6. Gruplara ait FAI (FAINDEX) ortanca değerlerinin kutu temalı gösterimi



4.5. TESTİS DOKUSUNDA ÇALIŞILAN PARAMETRELERİN RESİMLER İLE GÖSTERİLMESİ

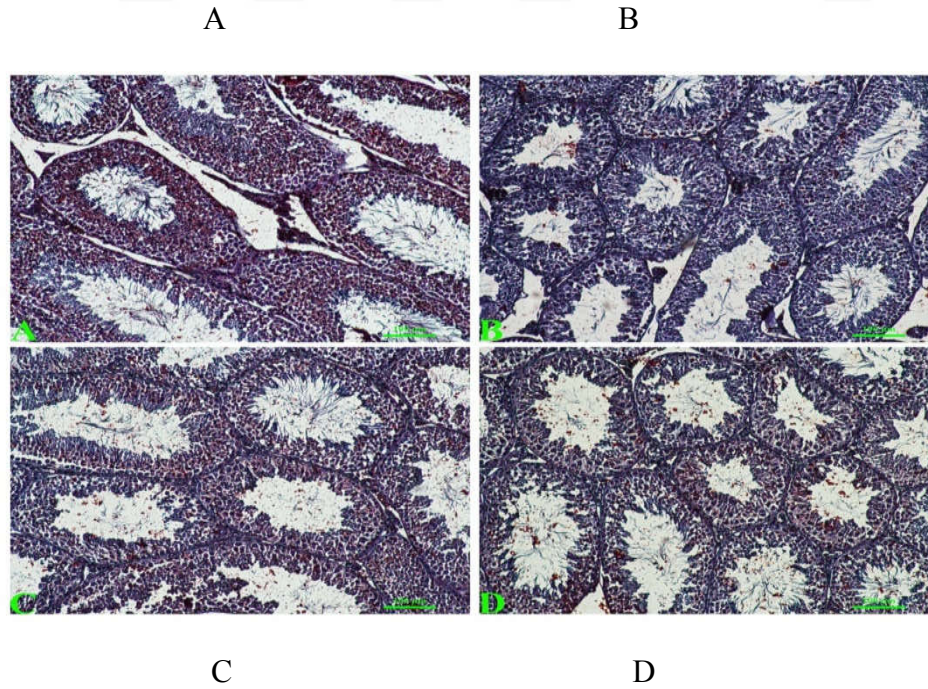
Gruplara ait testis kesitlerinde Bax ve Bcl - 2 ekspresyonlarının gösterimi sırasıyla Şekil 7' de ve Şekil 8' de, Tunel yöntemi ile pozitif boyanan hücrelerin gösterimi Şekil 9' da ve Johnson skorlaması için gerçekleştirilen Hematoksilen – Eozin ile boyanma gösterimi ise Şekil 10' da verilmiştir.

Şekil 7. Gruplara ait testis kesitlerinde Bax ekspresyonunun gösterimi



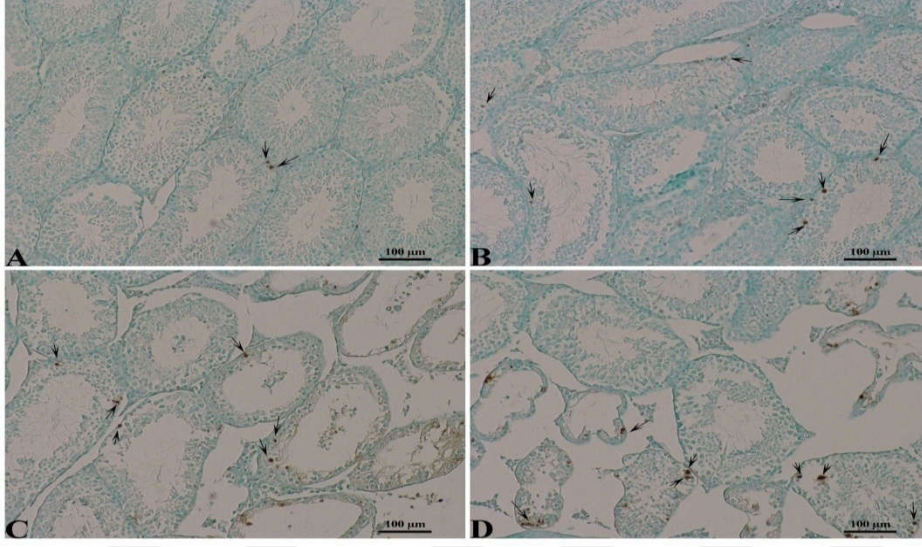
(A: Kontrol grubu, B:Obez kontrol grubu C: Obez araç grubu D: Obez İlaç grubu)

Şekil 8. Gruplara ait testis kesitlerinde Bcl - 2 ekspresyonunun gösterimi



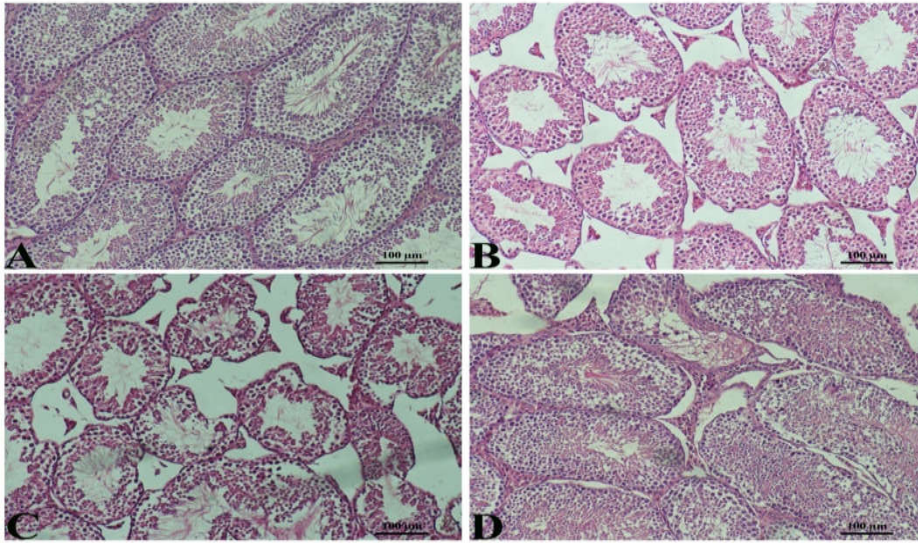
(A: Kontrol grubu, B:Obez kontrol grubu C: Obez araç grubu D: Obez İlaç grubu)

Şekil 9. Gruplara ait testis kesitlerinde Tünel yöntemi ile pozitif boyanan hücrelerin gösterimi



(A: Kontrol grubu, B:Obez kontrol grubu C: Obez araç grubu D: Obez İlaç grubu)

Şekil 10. Gruplara ait testis kesitlerinde Hematoksilen – Eozin ile boyanma gösterimi



(A: Kontrol grubu, B:Obez kontrol grubu C: Obez araç grubu D: Obez İlaç grubu)

5. TARTIŞMA

Deneysel obezite çalışmalarında; farmakolojik ve genetik FABP4 inhibisyonunun obezite ve obezite ile ilişkili ateroskleroz gelişimi, hiperlipidemi, insülin direnci ve karaciğer yağlanması gibi komplikasyonlara etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda FABP4 inhibisyonunun iyileştirici etkileri bildirilmiştir (Furuhashi 2007, Suhre 2011). Obeziteye bağlı sık gözlenen erkek infertilitesi komplikasyonuna; FABP4' ün etkilerini araştıran herhangi bir çalışmaya rastlayamadık.

Çalışmamızda, erkek deney farelerinde sıvı sükröz aracılı obezite modeli oluşturduk ve oral yoldan BMS309403 adlı FABP4 inhibitörü ilaç uygulaması yaptık. Obez farelerde ilacın etkilerini serum ve testis dokusunda inceledik.

Çalışmamızda FABP4 düzeyleri obez olmayan grup olan kontrol grubuna göre, obez kontrol grubu ve obez araç grubunda (Grup 2 ve Grup 3) yüksek olarak bulunmuş, bu bulgumuz Xu ve ark. yaptıkları çalışmalarla uyumlu görülmüştür. Nitekim Xu ve ark. yaptıkları çalışmada, 229 erişkine ait serumlarda FABP4 düzeylerine bakmışlar, aşırı kilolu / obez grupta; normal kilolu kontrol grubuna göre FABP4 düzeylerini yüksek bulduklarını bildirmişlerdir. Ayrıca bel çevresi, kan basıncı ve insülin direnci ile serum FABP4 düzeyleri arasında pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (Xu 2006). Çalışmamızda obez olduğu halde FABP4 inhibitörü olan ilaç (BMS309403) kullanan Grup 4' de ise FABP4 düzeyleri diğer iki obez gruptan (Grup 2 ve Grup 3) düşük bulunmuştur. Çalışmamızda ilacın (inhibitörün) etkisi görülmüş, ilaç kullanmayan obezlerde ise FABP4' ün yüksek olduğu görülmüştür.

Xu ve ark. yaptıkları daha sonraki bir çalışmada ise 495 sağlıklı erişkin 5 yıl boyunca takip edilmiş ve başlangıç bazal yüksek serum FABP4 düzeyinin, 5 yıllık takip sonunda metabolik sendrom ve kardiyovasküler risk profili kötüleşmesi açısından bağımsız bir risk faktörü olduğunu bildirmişlerdir (Xu 2007).

296 erişkin ile gerçekleştirilen bir çalışmada serum FABP4 düzeyleri kadınlarda erkeklerden yüksek bulunmuş ve bu durum kadınlarda erkeklerden fazla vücut yağlılığı bulunmasına bağlanmıştır. Aynı çalışmada vücut yağlılığı ile FABP4 düzeyleri arasında güçlü ve bağımsız bir korelasyon bulunduğu bildirilmiştir (Ishimura 2013).

Ning ve ark. gebeler üzerinde yaptığı bir çalışmada ise FABP4 düzeyleri gestasyonel diyabetes mellituslu gebe grupta, normal sağlıklı gebe grubuna göre yüksek

bulmuşlar, ayrıca FABP4 düzeyleri ile TNF α düzeyleri, aşırı kiloluluk ve insülin direnci arasında da anlamlı pozitif korelasyon olduğunu bildirmişlerdir (Ning 2016).

Furuhashi ve ark. yaptıkları çalışmada, klinik çalışmalara benzer şekilde farelerde de yüksek FABP4 düzeyinin metabolik sendrom, Tip 2 diyabetes mellitus ve ateroskleroz gelişiminde önemli rolü olduğu bildirilmiştir. Ayrıca BMS309403 adlı FABP4 spesifik inhibitörü ilacın, FABP4' ün metabolik ve inflamatuvar yollardaki etkilerini baskılaması sayesinde; ateroskleroz ve Tip 2 diyabet gibi metabolik hastalıkların tedavisinde yeni sınıf güçlü ajanlardan olabileceği belirtilmiştir (Furuhashi 2007).

Çalışmamızda BMS309403 ilacının çözücüsü olarak kullandığımız DMSO, deriye ve membranlara zarar vermeden hemen tüm hücrelere nüfuz edebilen ve bu sayede lipofilik ilaç taşıyıcısı olarak sık kullanılan bir ajandır (Cai 2011). DMSO' nun obezite ve / veya erkek fertil fonksiyonları üzerine etkilerini araştıran bir çalışmaya rastlayamadık. DMSO' ya bağlı olası etkileri ekarte edebilmek ve BMS309403' e ait net etkileri gözlemleyebilmek adına 3. Grup olarak obez araç grubunu oluşturduk ve bu gruba obez diyeti dışında yalnızca DMSO oral uygulaması gerçekleştirdik. Çalışmamızda, araştırdığımız tüm parametrelerde obez kontrol grubu ve obez araç grubu sonuçları istatistiksel olarak benzer bulundu.

Özetle çalışmamızda, literatürle uyumlu olarak obez kontrol (Grup 2) ve obez araç gruplarında (Grup 3) FABP4 düzeyleri kontrol grubu ve obez ilaç grubuna (Grup 4) göre yüksek, oral BMS309403 uyguladığımız obez ilaç grubunda (Grup 4) ise FABP4 düzeyleri; diğer obez gruplara göre düşük olarak bulundu. Bu bulgularımızın literatür ile uyumlu olduğu görüldü. Obes ilaç grubu ile kontrol grubu FABP4 bulgularının ise benzer olduğu görüldü.

Çalışmamızda total testosteron ve FAI düzeyleri tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3 ve Grup 4), obez olmayan kontrol grubuna göre düşük (sırasıyla $p=0,018$ ve $p=0,038$, $p=0,004$ ve $p=0,032$, $p<0,001$ ve $p<0,001$) bulundu. Obes grupların kendi aralarındaki karşılaştırmada ise anlamlı fark görülmedi. Bu iki test için (total testosteron ve FAI) kontrol grubuna kıyasla istatistiksel en anlamlı düşüş obez ilaç grubunda (sırasıyla $p < 0,001$ ve $p < 0,001$) saptandı. Çalışmamızdaki bulgularımız obezitenin total testosteron ve FAI düzeylerinde anlamlı düşüklüğe neden olduğunu gösterdi.

Çalışmamızda SHBG düzeylerinin tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4), kontrol grubuna göre düşük olduğu (sırasıyla $p=0,048$, $p=0,007$ ve $p=0,014$) görüldü.

Hammoud ve ark. obezitenin erkeklerde düşük serum gonadotropin, total testosteron ve serbest testosteron düzeylerinin eşlik ettiği hipogonadotropik hipogonadizm ile ilişkili olduğunu bildirmişlerdir. Obezitede ayrıca serum SHBG düzeyinde de azalma görüldüğü ve bununla ilişkili olarak serum total testosteron konsantrasyonunda azalma olduğu belirtilmiştir. İlaveten serum serbest testosteron düzeylerinin, SHBG' deki değişiklikten bağımsız olarak vücut ağırlığı ve VKİ ile ters ilişkili olarak azaldığı da ifade edilmiştir (Hammoud 2006).

Palmer ve ark. da farelerde yüksek yağlı diyetin testosteron düzeyleri üzerine etkisini araştırmışlar ve farelerde yüksek yağlı diyetle beslenme sonucunda serum testosteron düzeylerinde düşüklük olduğunu, daha sonra normal diyete geçilmesiyle hormon düzeylerinin normale döndüğünü bildirmişlerdir (Palmer 2012b).

İnsan çalışmalarında da; obez erkeklerde kilo kaybı ile testosteron seviyelerinde artış görüldüğü ve yağ dokusunda yüksek düzeyde bulunan aromataz enziminin testosteronu östradiole dönüştürmesinin bunun sebebi olarak düşünüldüğü bildirilmiştir (Håkonsen 2011).

Derby ve ark. yaptıkları 942 kişi katılımlı bir çalışmada 9 yıllık takipte, bel çevresi ve VKİ ile total testosteron, serbest testosteron ve SHBG düzeylerinin ters ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Derby 2006).

Kelly ve ark. yaptıkları çalışmada erkeklerde testosteron düşüklüğünün; yağ kütlesi artışı (özellikle santral obeziteye sebep olan), insülin direnci, bozulmuş glukoz toleransı, yüksek trigliserid, kolesterol düzeyleri ve düşük HDL düzeyleri ile ilişkili olduğunu ve bu nedenle kardiyovasküler hastalık riskini artırdığını ve ayrıca bu düşüklüğün gelecekte ortaya çıkabilecek olan insülin direnci, tip 2 diyabet ve metabolik sendromu tahmin etmede bağımsız bir faktör olduğunu bildirmişlerdir. Testosteron replasman tedavisi ile insülin direncinde ve glisemik kontrolde iyileşme, yağ kütlesinde, kolesterol ve trigliserid düzeylerinde düşüş sağlandığını bildirmişlerdir (Kelly 2013).

Brannian ve ark. gerçekleştirdikleri çalışmada hem erkek hem kadınlarda serbest testosteron düzeyleri ile FAI değerlerinin iyi uyum gösterdiğini bildirmişlerdir (Brannian 1998).

Çalışmamızda total testosteron, FAI ve SHBG parametrelerinde kontrol grubuna göre tüm obez gruplarda düşüklük bulundu. Bu bulgular ışığında erkek obez farelerde BMS309403 ile FABP4' ün inhibisyonunun total testosteron, FAI ve SHBG parametreleri üzerine bir etkisinin olmadığını söyleyebiliriz.

Çalışmamızda, obez ilaç grubunda ağırlık ve LOİ değerleri BMS309403 uygulamasına başlandıktan sonra da artış göstermeye devam etti ve çalışma sonunda hem ağırlık hem de LOİ açısından en yüksek değerler, diğer obez gruplara kıyasla (Grup 2 ve Grup 3' e kıyasla) obez ilaç grubunda (Grup 4) görüldü. Obezitenin genellikle uzun süreli ilaç tedavisi gerektirdiği düşünüldüğünde daha uzun süreli deneysel ve klinik ilaç uygulamalarında BMS309403' ün kilo alımı ve yağ kitlesini artırıcı etkilerinin belirginleşeceğini düşünüyoruz. Nitekim bulgularımız FABP4 inhibisyonuna bağlı etkilerinin araştırıldığı çalışmalarla uyumlu idi. Bu araştırmalarda bizim çalışmamızla benzer şekilde diyet aracılı obezite modelleri geliştirilmiş, BMS309403 uygulaması ile FABP4 inhibe edilmiş veya genetik değişiklik yöntemleri ile FABP4 ekspresyonu baskılanmış, sonuç olarak da çalışmalarda FABP4 inhibe edilmiş veya genetik olarak FABP4 baskılanmış obez gruplarda, obez kontrol gruplarına göre daha fazla kilo alımı görüldüğü bildirilmiştir (Yang 2011, Kralisch 2013).

Wang ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada pimozid adlı antipsikotik ilacın aşırı kilo aldırıcı yan etkisinin sebebi araştırılmış ve bu sayede ilacın FABP4 inhibe edici etkiye sahip olduğunu keşfedildiği bildirilmiştir (Wang 2015).

FABP4' ün yağ asitlerinin hücre içi ve dışı arasındaki trafiğinde rol aldığı ve lipolizi uyardığı bilinmektedir. Deneysel obezite modellerinde FABP4 inhibisyonunun iyileştirici etkilerine odaklanılan çalışmaların birçoğunda obeziteye bağlı artan yağ deposunun, lipoliz inhibisyonu ile yağ dokuda hapsedilmesi sayesinde plazmaya salınan NEFA miktarının azalması ve inflamatuvar süreçlerin baskılanması üzerine odaklanılmıştır (Baar 2005, Reinehr 2007, Furuhashi 2008, Bourlier 2009, Hotamisligil 2015). Bu araştırmalarda özellikle ateroskleroz, karaciğer yağlanması, insülin direnci gibi obezite komplikasyonlarına FABP4 inhibisyonunun iyileştirici etkileri olduğu bildirilmiştir.

Wang ve ark. yaptıkları çalışmada FABP4 inhibisyonu sebebiyle kilo alımında artışın, PPAR γ aracılı adipogenez artışı ve ayrıca lipoliz inhibisyonuna bağlı olduğu bildirilmiştir (Wang 2015). Bizim çalışmamızda ve diğer çalışmalarda (Yang 2011,

Kralisch 2013, Wang 2015) FABP4 inhibisyonu neticesinde deney hayvanlarında kilo artışı görülmesinin, lipoliz inhibisyonu ve adipogenez artışına bağlı olduğunu düşünüyoruz.

Tüm bu bulgular FABP4' ü hedefleyen tedavi yöntemlerinin esasen obezite üzerine değil, özellikle obezitenin sekonder metabolik ve inflamatuvar komplikasyonları üzerine etkili olabileceğini düşündürmektedir. Bu durumun, ilacın obezite tedavisinde tek ajan olarak kullanım şansını kısıtladığını düşünmekteyiz.

Obezlerde artmış bulunan periferik yağ dokusu nedeniyle periferik testosteron – östradiol dönüşümünde artış olabileceği (yağ dokuda yüksek miktarda bulunan aromataz enzimi aracılığıyla) ve bu durumun HPG aksını bozarak sekonder hipogonadizme neden olabileceği bildirilmektedir (Palmer 2012a). Ayrıca suprapubik ve skrotal bölgede artmış yağ dokusunun testis sıcaklığını yükselterek spermatogenezi bozabileceği ve obezlerde yağ dokusu artışıyla artış gösteren leptin düzeylerinin, testiküler testosteron üretimini azaltabileceği bildirilmektedir (Pinilla 1999, Kasturi 2008). Yine obeziteye bağlı artmış DNA fragmentasyon indeksi ve artmış reaktif oksijen radikalleri nedeniyle sperm miktar ve kalitesinde düşme olabileceği bildirilmektedir (Kasturi 2008). Obeziteye bağlı aterojenik etkiler neticesinde periferik damarsal yapıların etkilenmesi sonucu erektil disfonksiyon gelişebileceği bildirilmiştir (Chambers 2015). Ayrıca obezlerde yüksek oranda görülen uyku apne sendromu nedeniyle, spermatogenezde gerekli olan nokturnal testosteron yükselmesinin engellenmesinin de önemli olduğu bildirilmiştir (Martini 2012).

BMS309403 ile FABP4 inhibisyonu sayesinde, obez bireylerde lipoliz inhibisyonu, hücre dışına yağ taşınımında azalma gibi durumlar sayesinde plazmaya salınan NEFA miktarında azalma ve ayrıca proinflamatuvar süreçlerde azalma sağlandığı bildirilmiştir (Furuhashi 2008, Hotamisligil 2015).

Biz de çalışmamızla obezitenin erkek infertilitesi üzerine etkilerini ve BMS309403' ün kullanımının nasıl bir etki oluşturacağını araştırdık. Bulgularımız ışığında BMS309403 kullanımının erkek fertilitesi üzerine iyileştirici etkilerinin olmadığını, aksine olumsuz etkileri olabileceğini gözlemledik. Bu olumsuz etkilerin, obez ilaç grubunda BMS309403 uygulaması ile, kilo alım hızında ve obezitede artış gerçekleşmesine bağlı olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda, hem rat hem de farelerde karkas yağ dokusunun uyumlu bir göstergesi olması nedeniyle obezite modellemesinde kullandığımız LOİ parametresi ve ayrıca ağırlık ortalaması düzeyleri çalışma sonunda obez ilaç grubunda (Grup 4), kontrol grubu ve ayrıca diğer obez gruplara kıyasla en yüksek bulundu. Serum ve testis dokusunda değerlendirdiğimiz parametrelerde obez ilaç grubunda iyileştirici etki görülmemesini yapılan çalışmalarda bildirilen (Wang 1997, Pinilla 1999, Kasturi 2008, Palmer 2012a) sonuçlarla uyumlu olduğunu gördük. Bu bulguların artmış yağ dokusundan ve obezite artışından olabileceğini düşünüyoruz. Hu ve ark. yaptıkları çalışmada polikistik over sendromlu kadınlarda VKİ ve testosteron düzeyleri ile FABP4 düzeyleri arasında pozitif korelasyon görüldüğü ve FABP4 düzeyleri yüksek bayanlarda yüksek androjen düzeyi olabileceği bildirilmiştir (Hu 2006).

Artmış yağ dokusundan aromataz enzim aktivitesi aracılığıyla testosterondan östradiole dönüşüm artmakta bu da HPG aksında bozulmaya sebep olabilmektedir. Ayrıca yine artmış yağ dokusuna bağlı skrotal ve suprapubik ısı artışı olması sebebiyle spermatogenezde bozulma görülebilmektedir denmektedir (Palmer 2012a, Kasturi 2008).

Yapılan çalışmalarda; 44 infertil erkeğin % 86' sında testis ve spermatik kord boyunca lipomatozis saptanmış, bunların % 63' ünün ise obez olduğu, obez infertil erkeklerde gözlenen spesifik skrotal lipomatozis paterninin, obez olmayan ancak infertil olan gruptan farklı olduğu (Shafik 1981a, Kasturi 2008), skrotal lipektomi ile anlamlı derecede semen kalitesi artışı ve gebelik başarısı elde edildiği bildirilmiştir (Shafik 1981b, Kasturi 2008).

Wang ve ark. yaptıkları çalışmayla 1°C sıcaklık artışının spermatogenezde % 14 azalmaya neden olduğunu bildirmişlerdir (Wang 1997).

Obezitede erkek infertilitesi önemli bir halk sağlığı sorunudur; patofizyolojisinin, uygun ve etkin tedavi yöntemlerinin ortaya konması için daha ileri ve kapsamlı çalışmalar gerektiği kanaatindeyiz.

FABP4 proteinini hedefleyen ajanların piyasaya sürülmeden önce fertil fonksiyonlar üzerine olumsuz etkilerinin göz ardı edilmemesi gerektiğini ve bu etkilerin patofizyolojik mekanizmasının net olarak ortaya konabilmesi için hem farklı yaş gruplarında obez ve hem de normal kilolu denekler üzerinde planlanacak yeni çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

Spermatogenez fonksiyonlarını değerlendirmek için kullanılan spermiyogram, FSH düzeyleri ölçümünün çoğu kez tanıda yetersizliği ve ayrıca testiküler histoloji değerlendirmesinin ise komplikasyonlara neden olabilen invaziv bir prosedür olmasından dolayı, inhibin B' nin özellikle komplet germ hücre yokluğuna kadar değişen düzeylerde sperm üretim bozukluklarını ayırt etmede önemli bir parametre haline geldiği bildirilmiştir (Schlegel 1997, Meachem 2001).

Meachem ve ark. yaptıkları çalışmada inhibin B düzeyleri ile testiküler volüm ve sperm sayısı arasında güçlü pozitif korelasyon bulunduğunu, ayrıca özellikle erken evrelerde duraksamaya uğrayan spermatogenez hasarlarında inhibin B düzeylerinin en düşük düzeylerde bulunduğunu bildirmişlerdir (Meachem 2001).

Foppiani ve ark. primatlar ile yaptıkları çalışmada radyasyon aracılı spermatogenez hasarı sonrası inhibin B düzeylerinde hızlı ve keskin bir düşüş olduğunu, bu düşüşün henüz testis volümünde azalma ve FSH düzeylerinde yükselme başlamadan evvel ortaya çıktığını, ayrıca germ hücreleri tamamen hasar gördüğünde ise inhibin B düzeylerinin ölçüm limitlerinin altına kadar inmiş olduğunu bildirmişlerdir (Foppiani 1999). Yapılan çalışmalarda insanlarda, erkek kontrasepsiyonu amaçlı uygulanan ajanların spermatogenez azalmasına ve inhibin B düzeylerinde hızlı ve progresif düşüşe neden olduğu bildirilmiştir (Anderson 1997, Zhengwei 1998). Pauli ve ark. yaptıkları çalışmada inhibin B düzeylerinin, seminifer tübül disfonksiyonu ve sertoli hücre azalmasında düşük olduğu ve belirteç olarak kullanılabilereği bildirmiştir (Pauli 2008). Ayrıca Palmer ve ark. obezlerde inhibin B azalmasını kompanse etmek için beklenen FSH yükselmesinin görülmediğini ve bunun obezitede HPG aksında bozulmaya bağlı olabileceğini ve patofizyolojide önemli olduğunu bildirmişlerdir (Palmer 2012b). Yine yapılan çalışmalarda obeziteye bağlı olarak SHBG, leptin ve inhibin B düzeylerinin değişime uğramasının, testosteron – östrojen oranında değişiklik yaparak; spermatogenez hasarına neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca düşük inhibin B düzeylerinin leydig hücrelerinden testosteron üretiminde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir (Palmer 2012a, Davidson 2015). Bizim çalışmamızda da obezitenin ve BMS309403 ilacının inhibin B düzeylerinde düşüşe neden olduğu görülmüştür. Bulgularımız bu çalışmalarla uyumlu bulunmuştur. Bu bilgiler ışığında inhibin B' nin testiste toksik ajanlara bağlı spermatogenez hasarını saptamada önemli bir erken belirteç olarak kullanılabilereğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda obez ilaç grubunda, spermatogenez bozukluğu ve aynı zamanda germ hücrelerinin fonksiyon bozukluğu hakkında fikir veren inhibin B parametresini düşük bulduk ve bu durumun ilacın (BMS309403' ün) bir yan etkisi olduğunu düşünmekteyiz. Daha uzun süreli BMS309403 uygulaması ile yapılacak çalışmalarda erkek fertil bozukluğunun daha belirgin hale gelebileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda intrinsik proapoptotik (apoptozu indükleyen) süreçleri gösteren belirteçlerden olan Bax parametresinde ve apoptoza bağlı gözlenen DNA fragmantasyonunu belirlemede kullandığımız Tunel yöntemi ile pozitif boyanmış hücre sayısında tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3, Grup 4) kontrol grubuna göre artış (sırasıyla $p=0,002$, $p=0,002$, $p=0,001$ ve $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$) bulduk.

İntrinsik apoptozu önleyici yolakta yer alan Bcl - 2 parametresinin, tüm obez gruplarda kontrol grubuna göre düşük (sırasıyla $p=0,001$, $p=0,001$, $p=0,001$) olduğunu bulduk.

Lozano ve ark. yaptığı çalışmada normal apoptozis sürecinde bozulma ve proapoptotik süreçlerde artışın erkek infertilitesi ile yakından ilişkili olduğunu, normal spermatogenezisi olanlarla karşılaştırıldığında azospermi ve oligospermisi olan erkeklerin testis dokusunda apoptotik germ hücrelerinin daha çok görüldüğünü ve testiküler yetmezliği olan infertil hastaların testis biyopsisinde daha yüksek apoptozis oranlarının bulunduğunu bildirmişlerdir (Lozano 2009).

Zorn ve ark. yaptıkları çalışmada fosfolipid asimetrisi, mitokondriyal membran potansiyeli azalması ve DNA denatürasyonu gibi artmış apoptozu gösteren belirteçlerin akım sitometrik incelemesini yapmışlar ve fertil bozukluğu ortaya çıkarmada apoptotik belirteçlerin, konvansiyonel spermiyogram belirteçlerine kıyasla daha objektif bulgular ortaya koyduğunu belirtmişlerdir (Zorn 2012). Shaha ve ark. yaptıkları çalışmada obez erkeklerde görülen testosteron - östrojen dengesinde bozulmanın germ hücrelerinde apoptozu artırdığını bildirmişlerdir (Shaha 2010).

Chen ve ark. çalışmalarında obez erkek ratlarda spermatogenez bozukluğu ve apoptoz artışı (Bax ekspresyon düzeyi artışı ve Bcl - 2 ekspresyon düzeyi azalışına bağlı olarak) görüldüğünü bildirmişlerdir (Chen 2011). Yan ve ark. erkek ratlar üzerinde geliştirdikleri obezite (8 hafta süre ile yüksek yağlı diyet uygulaması ile) ve sonrasında uygulanan oral metformin tedavisi ile testiste hem apoptoz hem de spermatogenez

belirteçlerinde düzelme gözlenmiş, ayrıca metformine bağlı kilo vermenin de gerçekleştiğini bildirmişlerdir (Yan 2015). Isidori ve ark. ise obezlerde leptin düzeyi artışına bağlı olarak sperm üretiminde azalma ve germ hücre apoptozunda artış olduğunu bildirmişlerdir (Isidori 1999).

Obez erkeklerde fertil bozukluğun yalnızca spermiyogramda sperm kalitesinin incelenmesi ile açığa çıkarılamayabileceği, aynı zamanda germ hücrelerinin fiziksel ve moleküler yapısının ve farklı olgunlaşma aşamalarındaki sperm hücrelerindeki morfolojik durumunun da göz önünde bulundurulması gerektiği bildirilmiştir (Palmer 2012a). Biz de çalışmamızda bu durumu apoptoz markırları ve Johnson skorlaması ile değerlendirdik. Bulgularımız Palmer ve ark. yaptığı çalışmayla uyum göstermektedir.

Bu bulgular ışığında deneysel obezitede testis dokusunda proapoptotik süreçlerin indüklenebileceğini, BMS309403 uygulamasının bu süreçleri iyileştirici etkilerinin olmadığını, aksine apoptozu daha da artıracaklarını düşünmekteyiz.

Testis kesitlerinde Hematoksilen - Eozin boyama sonucunda seminifer tübüllerde spermatogenez fonksiyonel durumunu kantitatif olarak Johnson skorlaması ile değerlendirdik. Tüm obez gruplarda (Grup 2, Grup 3 ve Grup 4), kontrol grubuna kıyasla elde ettiğimiz düşük (sırasıyla $p<0,001$, $p<0,001$, $p<0,001$) sonuçlar, bu gruplarda spermatogenez bozukluğunun artmış olduğuna işaret etmektedir.

Obez ilaç grubunun (Grup 4) sonuçları, diğer iki obez grubun (Grup 2 ve Grup 3) her ikisinden de düşük (sırasıyla $p=0,034$, $p<0,001$) bulundu. Bu bulgular obez erkek farelerde BMS309403 uygulamasının spermatogenez bozukluğunu artırdığını göstermektedir.

Çalışmamızda değerlendirdiğimiz tüm parametreler birlikte değerlendirildiğinde, obez erkek farelerde BMS309403 uygulamasının proapoptotik süreçleri ve spermatogenez bozukluğunu artırdığını ve ayrıca cinsiyet hormon düzeylerinde de (düşük inhibin B düzeyleri, düşük total testosteron, düşük FAI ve düşük SHBG düzeyleri) olumsuz sonuçlara neden olduğunu, uyguladığımız oral DMSO' nun obezite ve fertil fonksiyonlar üzerine olumlu ya da olumsuz bir etkisinin olmadığını gördük.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bilindiği gibi günümüzde tüm dünyada yaklaşık 2 milyar insanı etkileyen obezite ve aşırı kiloluluk, yalnızca farmakolojik ilaç tedavisi ile üstesinden gelinebilecek bir durum olmayıp aynı zamanda diyet, egzersiz yapılması gibi bireyin uzun süreli sabır ve özverisini gerektiren global bir halk sağlığı problemidir.

Dikkate değer bir bulgu olarak son 30 yılda reproduktif çağdaki erkeklerde obezite sıklığı neredeyse üçe katlanmış ve aynı süreçte erkek infertilite oranında görülen artış da bu obezite sıklık artışı ile benzer bulunmuştur (Palmer 2012a). Obezitede erkek infertilitesi hem bireylerin, hem de çiftlerin sosyal ve psikolojik sağlığını olumsuz etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Daha önemli olarak obez olduğu halde çocuk sahibi olma yeteneği kaybolmayan ancak testislerinde moleküler düzeyde bozukluklar (epigenetik değişiklikler vb) başlamış olan obez bireylerin; doğacak çocuklarında hem reproduktif hem de metabolik sağlık sorunları (insülin salınım bozukluğu, glukoz tolerans bozukluğu, diyabet, obezite gibi) artmış sıklıkta saptanmıştır (Youngson 2011, Palmer 2012a). Özellikle bu durum toplum sağlığı açısından göz ardı edilmemelidir.

Çalışmamızda BMS309403 adlı ilacın obez erkek farelerde fertil fonksiyonlar üzerine iyileştirici etkileri olmadığı görülmüştür. İnhibin B düzeylerinde ve Johnson skorlarında diğer obez gruplara kıyasla düşüş görülmüştür. Tunel - pozitif hücre sayısında da obez ilaç grubunda artış görülmüştür. Daha uzun süreçlerde ilaç uygulaması ile yapılacak çalışmalarda ilaca bağlı kilo alımı ve yağ kitlesi artışının daha fazla olabileceğini ve buna bağlı olumsuz etkilerin daha da belirginleşebileceğini düşünmekteyiz.

Değerlendirdiğimiz parametrelerde saptadığımız olumsuz sonuçlar, obez erkeklerde fertil bozukluğun yalnızca spermiyogramda sperm kalitesinin incelenmesi ile açığa çıkarılamayabileceği, aynı zamanda histolojik incelemeler, apoptoz belirteçleri ve inhibin B gibi testlerle testiste germ hücrelerinin fiziksel ve moleküler yapısının da değerlendirilmesinin uygun olacağı sonucuna vardık.

Bu bilgiler bizi ilacın klinik kullanımını için uygunluğunun daha geniş ve kapsamlı çalışmalarla tartışılması gerektiği sonucuna getirmiş olup ayrıca bu konudaki çalışmalara katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

7. KAYNAKLAR

- Altunkaynak BZ, Özbek E. Obezite Nedenleri ve Tedavi Seçenekleri. Van Tıp Dergisi 2006; 13(4): 138-149
- Anderson RA, Wallace EM, Groome NP, Bellis AJ & Wu FC. Physiological relationships between inhibin B, follicle stimulating hormone secretion and spermatogenesis in normal men and response to gonadotrophin suppression by exogenous testosterone. Human Reproduction 1997 12 746-751.
- Anzar, M., et al., Sperm apoptozis in fresh and cryopreserved bull semen detected by flow cytometry and its relationship with fertility. Biol Reprod, 2002. 66(2): p. 354-360.
- Apay SE, Pasinlioğlu T. Obesity and Pregnancy. TAF Prev Med Bull 2009; 8(4):345-350
- Auger J, Kunstmann JM, Czyglik F, et al. Decline in semen quality among fertile men in Paris during the past 20 years. N Engl J Med 1995;332(5):281e5.
- Aydos Sena. Male Infertility and Genetics. Turkiye Klinikleri J Urology-Special Topics 2008;1(1):34-40
- Aziz, N., et al., The relationship between human sperm apoptozis, morphology and the sperm deformity index. Human Reproduction, 2007. 22(5): p. 1413-1419.
- Baar RA, Dingfelder CS, Smith LA et al (2005) Investigation of in vivo fatty acid metabolism in AFABP/aP2(-/-) mice. Am J Physiol Endocrinol Metab 288:E187–E193
- Bourlier V, Bouloumie A. Role of macrophage tissue infiltration in obesity and insulin resistance. Diabetes Metab 2009;35:251-60.
- Brannian JD, Long P, Kreger DO. Is the free androgen index a useful clinical marker in male patients? S D J Med 1998;51(12):449-51.
- Cheng* C. Yan and Dolores D. Mruk The biology of spermatogenesis: the past, present and future. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2010 May 27; 365(1546): 1459–1463.
- Cai WJ1, Huang JH, Zhang SQ, Wu B, Kapahi P, Zhang XM, Shen ZY. Icarin and its derivative icariside II extend healthspan via insulin/IGF-1 pathway in *C. elegans*.

PLoS One. 2011;6(12):e28835. doi: 10.1371/journal.pone.0028835. Epub 2011 Dec 21.

Carlsen E, Giwercman A, Keiding N, et al. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ* 1992; 305(6854):609e13.

Chambers TJ1, Richard RA1. The impact of obesity on male fertility. *Hormones (Athens)*. 2015 Oct-Dec;14(4):563-8. doi: 10.14310/horm.2002.1621.

Chavarro JE, Toth TL, Wright DL, et al. Body mass index in relation to semen quality, sperm DNA integrity, and serum reproductive hormone levels among men attending an infertility clinic. *Fertil Steril* 2010;93(7):2222e31.

Chen MM1, Lan XX, Li CY, Tian ZM, Chen KF. [Diet-induced obesity increases the apoptosis of testicular spermatogenic cells in pubertal male rats]. *Zhonghua Nan Ke Xue*. 2011 Apr;17(4):342-7.

Chmurzynska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (fabps): Function, structure and polymorphism. *J Appl Genet* 2006;47:39-48.

Çağatay Savaşan, Oktay Sarı, Ümit Aydoğan, Muhammed Erdal İlkokul çağındaki çocuklarda obezite görülme sıklığı ve risk faktörleri *Türk Aile Hek Derg* 2015;19 (1): 14-21

Davidson LM1, Millar K1, Jones C1, Fatum M1, Coward K1. Deleterious effects of obesity upon the hormonal and molecular mechanisms controlling spermatogenesis and male fertility. *Hum Fertil (Camb)*. 2015 Sep;18(3):184-193. doi: 10.3109/14647273.2015.1070438. Epub 2015 Jul 24.

De Lorenzo A1, Soldati L1, Sarlo F1, Calvani M1, Di Lorenzo N1, Di Renzo L1. New obesity classification criteria as a tool for bariatric surgery indication. *World J Gastroenterol*. 2016 Jan 14;22(2):681-703. doi: 10.3748/wjg.v22.i2.681.

Dejean LM1, Ryu SY, Martinez-Caballero S, Teijido O, Peixoto PM, Kinnally KW. MAC and Bcl-2 family proteins conspire in a deadly plot. *Biochim Biophys Acta*. 2010 Jun-Jul;1797(6-7):1231-1238. doi: 10.1016/j.bbabi.2010.01.007. Epub 2010 Jan 18.

Derby CA, Zilber S, Brambilla D, et al. Body mass index, waist circumference and waist to hip ratio and change in sex steroid hormones: the Massachusetts Male Ageing Study. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;65(1):125e31.

- Dhatariya KK, Nair KS. Dehydroepiandrosterone: Is There a Role for Replacement? *Mayo Clin Proc.* 2003;78:1257-1273.
- Dunson, D.B., D.D. Baird, and B. Colombo, Increased infertility with age in men and women. *Obstet Gynecol*, 2004. 103(1): p. 51-6.
- Erge S. Obezitede Diyet Tedavisini Destekleyen Davranışsal Tedavi, *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2003; Volume 7, Number 2, 075-082.
- Ersoy R, Çakır B. Obezite. *TurkMedicalJournal* 2007;1:107- 116.
- Fertility: Assessment and Treatment for People with Fertility Problems. Editors National Collaborating Centre for Women's and Children's Health (UK). Source London: Royal College of Obstetricians & Gynaecologists; 2013 Feb. National Institute for Health and Clinical Excellence: Guidance.
- Foppiani L, Schlatt S, Simoni M, Weinbauer GF, Hacker-Klom U & Nieschlag E. Inhibin B is a more sensitive marker of spermatogenetic damage than FSH in the irradiated non-human primate model. *Journal of Endocrinology* 1999 162 393-400.
- Furuhashi, M., Tuncman, G., Görgün, C.Z., et al. Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. *Nature* 447 959-965 (2007).
- Furuhashi M, Hotamisligil GS. Fatty acid-binding proteins: Role in metabolic diseases and potential as drug targets. *Nat Rev Drug Discov* 2008; 7: 489- 503
- Furuhashi M1, Saitoh S2, Shimamoto K3, Miura T1. Fatty Acid-Binding Protein 4 (FABP4): Pathophysiological Insights and Potent Clinical Biomarker of Metabolic and Cardiovascular Diseases. *Clin Med Insights Cardiol.* 2015 Feb 2;8(Suppl 3):23-33. doi: 10.4137/CMC.S17067. eCollection 2014.
- Gencoglan G, Tosun M. Effects of isotretinoin on spermatogenesis of rats. *Cutan Ocul Toxicol.* 2011 Mar;30(1):55-60.
- Gillilan RE, Ayers SD, Noy N. Structural basis for activation of fatty acid-binding protein 4. *J Mol Biol* 2007;372:1246-60.
- GÜLCAN, E., & ÖZKAN, A. (2006). Obezite. *DP Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 10, 185-194.
- Hammoud, A.O., et al., Obesity and male reproductive potential. *J Androl*, 2006. 27(5): p. 619-26.

- Hilwani I. Nur, R. Nasibah, S. Nurdiana, M. J. Norashirene. Gonadotoxic and cytotoxic effect of induced obesity via monosodium glutamate on mus musculus testis cytoarchitecture and sperm parameter International Journal of Biological, Veterinary, Agricultural and Food Engineering Vol:8 No:9, 2014
- Ho CK, Stoddart M, Walton M, Anderson RA, Beckett GJ. Calculated free testosterone in men: comparison of four equations and with free androgen index. *Ann Clin Biochem.* 2006 Sep;43(Pt 5):389-97.
- Hogeveen KN, Cousin P, Pugeat M, Dewailly D, Soudan B, Hammond GL. Human sex hormone-binding globulin variants associated with hyperandrogenism and ovarian dysfunction. *J Clin Invest* 2002; **109**(7):973-81.
- Hoppé E, Bouvard B, Royer M, Audran M, Legrand E. Sex hormone-binding globulin in osteoporosis. *Joint Bone Spine* 2010;**77**(4):306-12.
- Hotamisligil GS1, Bernlohr DA2. Metabolic functions of FABPs--mechanisms and therapeutic implications. *Nat Rev Endocrinol.* 2015 Oct;11(10):592-605. doi: 10.1038/nrendo.2015.122. Epub 2015 Aug 11.
- Hryb DJ, Khan MS, Romas NA, Rosner W. The control of the interaction of sex hormone-binding globulin with its receptor by steroid hormones. *J Biol Chem* 1990;**265**(11):6048-54.
- Hu WH1, Qiao J, Li R, Wang LN. [Relations of serum adipocyte fatty acid binding protein to sex hormone and lipoproteins in patients with polycystic ovary syndrome]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2006 Dec 5;**86**(45):3186-9.
- Hull, M.G., et al., Population study of causes, treatment, and outcome of infertility. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1985. 291(6510): p. 1693-7.
- Håkonsen LB1, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Olsen J, Bonde JP, et al. Does weight loss improve semen quality and reproductive hormones? Results from a cohort of severely obese men. *Reprod Health.* 2011 Aug 17;**8**:24. doi: 10.1186/1742-4755-8-24.
- Ishimura S, Furuhashi M, Watanabe Y, et al. Circulating levels of fatty acid-binding protein family and metabolic phenotype in the general population. *PLoS One.* 2013;**8**(11):e81318.

- Isidori , A.M. , Caprio , M. , Strollo , F. , Moretti , C. , Frajese , G. , Isidori , A. , & Fabbri , A . (1999) . Leptin and androgens in male obesity: evidence for leptin contribution to reduced androgen levels . *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 84 , 3673 – 3680 .
- Johnson L, Petty CS, Neaves WB. The relationship of biopsy evaluations and testicular measurements to over-all daily sperm production in human testes. *Fertil Steril*. 1980; 34:36-40.
- Jungwirth A. (Chair), T. Diemer, G.R Dohle, A. Giwercman, Z. Kopa, C.Krausz, H. Tournaye. Guidelines on Male Infertility European Association of Urology 2015
- Kang, J. G., & Park, C. Y. (2012). Anti-obesity drugs: a review about their effects and safety. *Diabetes & metabolism journal*, 36(1), 13-25.
- Kasturi SS, Tannir J, Brannigan RE. The metabolic syndrome and male infertility. *J Androl* 2008; 29(3):251e9.
- Katib A1. Mechanisms linking obesity to male infertility. *Cent European J Urol*. 2015;68(1):79-85. doi: 10.5173/cej.2015.01.435. Epub 2015 Mar 13.
- Kelly DM1, Jones TH. Testosterone: a metabolic hormone in health and disease.*J Endocrinol*. 2013 Apr 29;217(3):R25-45. doi: 10.1530/JOE-12-0455. Print 2013 Jun
- Kingsley DM (January 1994). "The TGF-beta superfamily: new members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms". *Genes & Development* **8** (2): 133–46.
- Kirchberg FF, Harder U, Weber M, Grote V, Demmelmair H, Peissner W, et al. European Childhood Obesity Trial Study Group. Dietary protein intake affects amino acid and acylcarnitine metabolism in infants aged 6 months. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015 Jan;100(1):149-58.
- Kort, H.I., et al., Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl*, 2006. 27(3): p. 450-2.
- Kralisch S1, Fasshauer M. Adipocyte fatty acid binding protein: a novel adipokine involved in the pathogenesis of metabolic and vascular disease? *Diabetologia*. 2013 Jan;56(1):10-21. doi: 10.1007/s00125-012-2737-4. Epub 2012 Sep 29.

- Kumar N1, Singh AK2 Trends of male factor infertility, an important cause of infertility: A review of literature. *J Hum Reprod Sci.* 2015 Oct-Dec;8(4):191-6. doi: 10.4103/0974-1208.170370.
- Laskowski ER1. The role of exercise in the treatment of obesity. *PM R.* 2012 Nov;4(11):840-4; quiz 844. doi: 10.1016/j.pmrj.2012.09.576.
- Lee, M. O., Ande. Clark 1929 Determination of the surface area of the white rat with its application to the expression of metabolic results. *Am. J. Physiol.*, vol. 89, pp. 24-33.
- Lee MY1, Li H, Xiao Y, Zhou Z, Xu A, Vanhoutte PM. Chronic administration of BMS309403 improves endothelial function in apolipoprotein E-deficient mice and in cultured human endothelial cells. *Br J Pharmacol.* 2011 Apr;162(7):1564-76. doi: 10.1111/j.1476-5381.2010.01158.x.
- Lieber RL1, Bodine-Fowler SC. Skeletal muscle mechanics: implications for rehabilitation. *Phys Ther.* 1993 Dec;73(12):844-856.
- Llaverias G, Noe V, Penuelas S, Vazquez-Carrera M, Sanchez RM, Laguna JC, et al. Atorvastatin reduces cd68, fabp4, and hbp expression in oxldl-treated human macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* 2004;318:265-74.
- Look C1, Morano I, Ehrhart-Bornstein M, Bornstein SR, Lamounier-Zepter V. BMS309403 directly suppresses cardiac contractile function. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2011 Sep;384(3):255-63. doi: 10.1007/s00210-011-0667-1. Epub 2011 Jul 16.
- Low AK, Bauldin MJ, Sumrall CD, Loustalot FV, Land KK. A Clinician's approach to medical management of obesity. *Am J Med Sci* 2006;331:175-82.
- Lozano, G.M., et al., Relationship between caspase activity and apoptotic markers in human sperm in response to hydrogen peroxide and progesterone. *J Reprod Dev*, 2009. 55(6): p. 615-621.
- Makowski L, Boord JB, Maeda K et al (2001) Lack of macrophage fatty-acid-binding protein ap2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis. *Nat Med* 7:699-705
- Makowski L, Brittingham KC, Reynolds JM, Suttles J, Hotamisligil GS. The fatty acid-binding protein, ap2, coordinates macrophage cholesterol trafficking and inflammatory activity. Macrophage expression of ap2 impacts peroxisome

- proliferator-activated receptor gamma and ikappab kinase activities. *J Biol Chem* 2005;280:12888-95.
- Makris A1, Foster GD. Dietary approaches to the treatment of obesity. *Psychiatr Clin North Am.* 2011 Dec;34(4):813-27. doi: 10.1016/j.psc.2011.08.004.
- Martini AC1, Molina RI, Ruiz RD, Fiol de Cuneo M. [Obesity and male fertility]. *Rev Fac Cien Med Univ Nac Cordoba.* 2012;69(2):102-10.
- Meachem SJ1, Nieschlag E, Simoni M. Inhibin B in male reproduction: pathophysiology and clinical relevance. *Eur J Endocrinol.* 2001 Nov;145(5):561-571.
- Morrison CD1, Brannigan RE2. Metabolic syndrome and infertility in men. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol.* 2015 May;29(4):507-15. doi: 10.1016/j.bpobgyn.2014.10.006. Epub 2014 Oct 24.
- Myers GM, Lambert-Messerlian GM, Sigman M (November 2008). "Inhibin B reference data for fertile and infertile men in Northeast America". *Fertil. Steril.* 92 (6): 1920–3.
- Ng M, Fleming T, Robinson M, Thomson B, Graetz N, Margono C, et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet.* 2014 Aug 30;384(9945):766-81. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60460-8. Epub 2014 May 29
- Ning H1,2, Tao H2, Weng Z2, Zhao X3. Plasma fatty acid-binding protein 4 (FABP4) as a novel biomarker to predict gestational diabetes mellitus. *Acta Diabetol.* 2016 May 5.
- Novelli EL1, Diniz YS, Galhardi CM, Ebaid GM, Rodrigues HG, Mani F, et al. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. *Lab Anim.* 2007 Jan;41(1):111-9.
- Obezite Tanı ve Tedavi Kılavuzu. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği • 2015 ISBN: 978-605-4011-19-3
- Okada T1, Hiromura M, Otsuka M, Enomoto S, Miyachi H. Synthesis of BMS-309403-related compounds, including [¹⁴C]BMS-309403, a radioligand for adipocyte fatty acid binding protein. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2012;60(1):164-8.
- Padubidri, VG; Daftary, SN, eds. (2011). *Shaw's Textbook of Gynaecology* (15th ed.). p. 201.
- Palmer NO1, Bakos HW, Fullston T, Lane M. Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis.* (2012a) Oct 1;2(4):253-263.

- Palmer , N.O. , Bakos , H.W. , Owens , J.A. , Setchell , B.P. , & Lane , M . (2012b) . Diet and exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health and reverse perturbed sperm function . *American Journal of Physiology, Endocrinology and Metabolism*, 302 , E768 – 780 .
- Park H1, Cho S2, Janat-Amsbury MM2, Bae YH3. Enhanced thermogenic program by non-viral delivery of combinatory browning genes to treat diet-induced obesity in mice. *Biomaterials*. 2015 Dec;73:32-41. doi: 10.1016/j.biomaterials.2015.09.011. Epub 2015 Sep 11.
- Pauli , E.M. , Legro , R.S. , Demers , L.M. , Kunesman , A.R. , Dodson , W.C. , & Lee , P.A . (2008) . Diminished paternity and gonadal function with increasing obesity in men . *Fertility and Sterility*, 90 , 346 – 351
- Pinborg A, Gaarslev C, Hougaard CO, Nyboe Andersen A, Andersen PK, Boivin J, et al. Influence of female bodyweight on IVF outcome: a longitudinal multicentre cohort study of 487 infertile couples. *Reprod Biomed Online* 2011; 23:490-9
- Pinilla L, Seoane LM, Gonzalez L, Carro E, Aguilar E, Casanueva FF, et al. Regulation of serum leptin levels by gonadal function in rats. *Eur J Endocrinol* 1999; 140:468-473;
- Plocher TA, Powley TL. Maintenance of obesity following hypophysectomy in the obese-hyperglycemic mouse (ob/ob). *Yale J Biol Med*. 1977 May-Jun;50(3):291-300
- Poongothai J1, Gopenath TS, Manonayaki S. Genetics of human male infertility. *Singapore Med J*. 2009 Apr;50(4):336-47.
- Practice Committee of American Society for Reproductive Medicine in collaboration with Society for Reproductive, E. and Infertility, Optimizing natural fertility. *Fertil Steril*, 2008. 90(5 Suppl): p. S1-6.
- Reinehr T, Stoffel-Wagner B, Roth CL. Adipocyte fatty acid-binding protein in obese children before and after weight loss. *Metabolism* 2007;56:1735-41.
- Ribas-Maynou J1, García-Peiró A, Fernández-Encinas A, Abad C, et al. Comprehensive analysis of sperm DNA fragmentation by five different assays: TUNEL assay, SCSA, SCD test and alkaline and neutral Comet assay. *Andrology*. 2013 Sep;1(5):715-722. doi: 10.1111/j.2047-2927.2013.00111.x. Epub 2013 Jul 11.

- Ritze Y1, Bárdos G1, D'Haese JG2, Ernst B3, Thurnheer M3, Schultes B3, Bischoff SC1. Effect of high sugar intake on glucose transporter and weight regulating hormones in mice and humans. *PLoS One*. 2014 Jul 10;9(7):e101702.
- Roden M. Blocking fatty acids' mystery tour: A therapy for metabolic syndrome? *Cell Metab* 2007;6:89-91.
- Samplaski, M.K., et al., New generation of diagnostic tests for infertility: review of specialized semen tests. *Int J Urol*, 2010. 17(10): p. 839-47.
- Scheja L, Makowski L, Uysal KT, Wiesbrock SM, Shimshek DR, Meyers DS, et al. Altered insulin secretion associated with reduced lipolytic efficiency in *ap2*^{-/-} mice. *Diabetes* 1999;48:1987-94.
- Schlegel PN & Su LM. Physiological consequences of testicular sperm extraction. *Human Reproduction* 1997 12 1688-1692.
- Seger, J. C., Horn, D. B., Westman, E. C., Lindquist, R., Scinta, W., Richardson, L. A., Bays, H. E. (2013). Obesity Algorithm, presented by the American Society of Bariatric Physicians.
- Sermondade N, Faure C, Fezeu L, et al. BMI in relation to sperm count: an updated systematic review and collaborative meta-analysis. *Hum Reprod Update* 2013;19(3):221e31.
- Shafik A, Olfat S. Scrotal lipomatosis. *Br J Urol*. 1981a Feb;53(1):50-4.
- Shafik A, Olfat S. Lipectomy in the treatment of scrotal lipomatosis. *Br J Urol*. 1981b Feb;53(1):55-61.
- Shaha, C., R. Tripathi, and D.P. Mishra, Male germ cell apoptosis: regulation and biology. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*, 2010. 365(1546): p. 1501-1515.
- Shen, H.M., et al., Detection of apoptotic alterations in sperm in subfertile patients and their correlations with sperm quality. *Hum Reprod*, 2002. 17(5): p. 1266-73.
- Song, Ning; Liu, Jie; An, Shuca; Nishino, Tomoya; Hishikawa, Yoshitaka; Koji, Takehiko (2011). "Immunohistochemical Analysis of Histone H3 Modifications in Germ Cells during Mouse Spermatogenesis". *Acta Histochemica et Cytochemica* 44 (4): 183–90.

- Stokes VJ1, Anderson RA, George JT. How does obesity affect fertility in men - and what are the treatment options? *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2015 May;82(5):633-8. doi: 10.1111/cen.12591. Epub 2014 Sep 16.
- Storch J CB. The emerging functions and mechanisms of mammalian fatty acid-binding proteins. *Annu Rev Nutr* 2008; 28: 73-95
- Storch J, McDermott L. Structural and functional analysis of fatty acid-binding proteins. *J Lipid Res* 2009;50 Suppl:S126-31.
- Suhre, K., Römisch-Margl, W., de Angelis, M.H., et al. Identification of a potential biomarker for FABP4 inhibition: The power of lipidomics in preclinical drug testing. *J Biomol Screen* 16(5) 467-475 (2011).
- TIETZ TEXTBOOK OF CLINICAL CHEMISTRY AND MOLECULAR DIAGNOSTICS ISBN: 978-1-4160-6164-9 Copyright © 2012 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.
- Türkiye Obezite (Şişmanlık) İle Mücadele ve Kontrol Programı. Sağlık Bakanlığı, Temel Sağlık Hizmetleri Genel Müdürlüğü. Kuban Matbaacılık Yayıncılık. 1. Baskı. Şubat 2010;773:17-112
- Türkiye Sağlıklı Beslenme ve Hareketli Hayat Programı (2014 - 2017) T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Obezite, Diyabet ve Metabolik Hastalıklar Daire Başkanlığı. Anıl Reklam Matbaa Ltd. Şti. 3. Baskı, Kasım 2013, Ankara; 773: 9-88.
- Uysal KT1, Scheja L, Wiesbrock SM, Bonner-Weir S, Hotamisligil GS. Improved glucose and lipid metabolism in genetically obese mice lacking aP2. *Endocrinology*. 2000 Sep;141(9):3388-96.
- van Engeland, M., et al., Annexin V-affinity assay: a review on an apoptosis detection system based on phosphatidylserine exposure. *Cytometry*, 1998. 31(1): p. 1-9.
- von Eckardstein S, Simoni M, Bergmann M, Weinbauer GF, Gassner P, Schepers AG et al. Serum inhibin B in combination with serum follicle-stimulating hormone (FSH) is a more sensitive marker than serum FSH alone for impaired spermatogenesis in men, but cannot predict the presence of sperm in testicular tissue samples. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1999 84 2496-2501.

- Wang C., V. McDonald, A. Leung, L. Superlano, N. Berman, L. Hull, R.S. Swerdloff
Effect of increased scrotal temperature on sperm production in normal men *Fertil. Steril*, 68 (1997), pp. 334–339
- Wang Y1, Lin HQ, Law WK, Liang WC, Zhang JF, et al. Pimozide, a novel fatty acid binding protein 4 inhibitor, promotes adipogenesis of 3T3-L1 cells by activating PPAR γ . *ACS Chem Neurosci*. 2015 Feb 18;6(2):211-8. doi: 10.1021/cn5002107. Epub 2014 Dec 3.
- Wolf-Bernhard Schill; Frank H. Comhaire; Timothy B. Hargreave (26 August 2006). *Andrology for the Clinician*. Springer Science & Business Media
- Xu A, Wang Y, Xu JY, et al. Adipocyte fatty acid-binding protein is a plasma biomarker closely associated with obesity and metabolic syndrome. *Clin Chem*. 2006;52(3):405–13.
- Xu A, Tso AW, Cheung BM, et al. Circulating adipocyte-fatty acid binding protein levels predict the development of the metabolic syndrome: a 5-year prospective study. *Circulation*. 2007;115(12):1537–43.
- Yan WJ1, Mu Y, Yu N, Yi TL, Zhang Y, Pang XL, Cheng D, Yang J. Protective effects of metformin on reproductive function in obese male rats induced by high-fat diet. *J Assist Reprod Genet*. 2015 Jul;32(7):1097-1104. doi: 10.1007/s10815-015-0506-2. Epub 2015 Jun 17
- Yang R, Castriota G, Chen Y et al (2011) RNAi-mediated germline knockdown of FABP4 increases body weight but does not improve the deranged nutrient metabolism of diet-induced obese mice. *Int J Obes (Lond)* 35:217–225
- Ye L1, Su ZJ, Ge RS. Inhibitors of testosterone biosynthetic and metabolic activation enzymes. *Molecules*. 2011 Dec 2;16(12):9983-10001.
- Yılmaz C. *Obezite ve Tedavisi*. 1.Baskı. İzmir: Mart matbaacılık 1999;11-29
- Youngson NA, Whitelaw E. The effects of acquired paternal obesity on the next generation. *Asian J Androl* 2011; 13:195-6; PMID:21186371; <http://dx.doi.org/10.1038/aja.2010.163>.

Zhengwei Y, Wreford NG, Royce P, de Kretser DM & McLachlan RI. Stereological evaluation of human spermatogenesis after suppression by testosterone treatment: heterogeneous pattern of spermatogenic impairment. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism* 1998 83 1284-1291.

Zorn, B., et al., Apoptotic sperm biomarkers and their correlation with conventional sperm parameters and male fertility potential. *J Assist Reprod Genet*, 2012. 29(4): p. 357-364.

