



**FRUKTOZ VE BİSFENOL A’NIN EŞ ZAMANLI UYGULANMASI İLE
ADİPOZİTOKİNLERDE VE TESTİS DOKUSUNDA OLUŞACAK OLASI
HASARA MELATONİNİN ETKİSİ**

İsmail TÜRKOĞLU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

AĞUSTOS 2015

İsmail Türkoğlu tarafından hazırlanan “Fruktoz ve Bisfenol A ’nın Eş Zamanlı Uygulanması ile Adipositokinlerde ve Testis Dokusunda Oluşacak Olası Hasara Melatoninin Etkisi” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU

Histoloji-Embriyoloji, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

.....

...

Başkan : Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL

Histoloji-Embriyoloji, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

.....

.

Üye : Prof. Dr. Ahmet NACAR

Histoloji-Embriyoloji, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

.....

.

Tez Savunma Tarihi: 13/ 08 / 2015

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

(İmza)

İsmail TÜRKOĞLU

13 / 08 / 2015

FRUKTOZ VE BİSFENOL A 'NIN EŞ ZAMANLI UYGULANMASI İLE
ADİPOİTOKİNLERDE VE TESTİS DOKUSUNDA OLUŞACAK OLASI HASARA
MELATONİNİN ETKİSİ

(Yüksek Lisans)

İsmail TÜRKOĞLU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Ağustos 2015

ÖZET

Metabolik sendrom (MetS) dünyada giderek yaygınlaşan kardiyak ve metabolik komplikasyonları ile yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan ve üreme organları dahil tüm biyolojik sistemleri etkileyen ciddi bir halk sağlığı sorunudur. Metabolik sendromun fizyopatolojisinin temelini, insülin direnci ve yağ dokusu bozuklukları oluşturmaktadır. Yağ dokudaki artış sonucu oluşan obeziteyle birlikte hücrede patolojik olaylar sırasında aşırı miktarda reaktif oksijen radikalleri açığa çıkar. Bu da testisküler hasara yol açar. BPA ve Fruktoz da kullanım alanlarından dolayı MetS gibi metabolik hastalıklara yol açabilme potansiyelleri yüksek maddelerdir. Deneyde 42 tane, pubertal, Sprague Dawley cinsi, erkek sıçan kullanıldı, her grupta 6 hayvan olacak şekilde 7 grup oluşturuldu. Gruplar; Grup 1: (n=6) Kontrol, Grup 2: (n=6) Fruktoz Grubu (%10 D-Fruktoz), Grup 3: (n=6) BPA Grubu(25mg/v.a./gün), Grup 4: (n=6) F-BPA Grubu, Grup 5: (n=6) F-Melatonin Grubu (20mg/v.a./gün), Grup 6: (n=6) BPA-Melatonin Grubu, Grup 7: (n=6) Fruktoz-BPA-Melatonin Grubu olacak şekilde düzenlendi. Alınan doku örnekleri ile bu çalışmada, literatüre uygun olarak Fruktoz ve BPA'nın eş zamanlı uygulamasının MetS oluşuna, adipositokinlere ve testis dokusuna olan olası etkileri değerlendirildi ve melatoninin bu sürece olan etkisi araştırıldı. BPA, Fruktoz ve Fruktoz+BPA grupları testislerde hasara yol açarken Melatonin uygulaması kısmen bu hasarı önlemede başarılı olmuştur.

Bilim Kodu : 1033

Anahtar Kelimeler : bisfenol A, melatonin, metabolik sendrom, testis, adipositokinler, obezite

Sayfa Adedi : 146

Danışman : Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU

THE EFFECTS OF MELATONIN ON POSSIBLE DAMAGE WILL BE OCCUR ON
ADIPOCYTOKINES AND TESTIS WITH THE COADMINISTRATION OF
FRUCTOSE AND BISPHENOL A

(M. Sc. Thesis)

İsmail TÜRKOĞLU

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

August 2015

ABSTRACT

Metabolic syndrome (MetS) is a serious public health problem that causes high morbidity and mortality with increasing prevalence of cardiac and metabolic complications and affects whole biological system includes reproductive organs in the world. The basis for the physiopathology of MetS is insulin resistance and adipose tissue disorders. Excessive amounts of reactive oxygen species are exposed during the result of the increase in adipose tissue that occurring with obesity during pathological events in the cell. Then testicular damage occurs. Due to highly usage of Bisphenol A and Fructose have ability cause metabolic disorder as MetS. For these purpose, forty-two pubertal male Wistar-albino rats were divided equally into seven groups. Groups are; Group 1:(n=6) Control (sesame oil+ethanol), Group 2: (n=6) Fructose Group (%10 D-Fructose), Group 3: (n=6) BPA Group (25mg/bw/day), Group 4: (n=6) F-BPA Group (%10 D-Fructose+BPA 25mg/bw/day), Group 5: (n=6) F-Melatonin Group (20 mg//bw/day), Group 6: (n=6) BPA-Melatonin Group, Group 7: (n=6) F-BPA-Melatonin Group. At the end of the experimental period, all rats were sacrificed and the uterine tissue of rats were removed. In this study, in light of these information, we aimed to determine any variations in the testis tissue and adipocytokines when exposed to BPA and Fructose in male rats and to determine the possible effects of melatonin exposure against the variations which may occur. While, BPA, Fructose ve Fructose+BPA groups cause testicular damage, administration of melatonin prevented partially this damage.

Science Code : 1033

Key Words : bisphenol A, melatonin, metabolic syndrome, testis, adipocytokines, obesity

Page Number : 146

Advisor : Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN başta olmak üzere yüksek lisans öğrenimim süresince hoşgörüsü, sabrı ve desteği ile her zaman yanımda olan çok değerli Danışmanım Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU'na, hem eğitimimde hem de gelişmem de katkıları olan değerli hocalarım sayın, Prof. Dr. Celal ILGAZ'a, Prof. Dr. Candan ÖZOĞUL'a, Prof. Dr. Gülnur TAKE'ye, Prof. Dr. Çiğdem ELMAS'a teşekkürlerimi ve saygılarımı sunuyorum.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana destek ve yardımcı olan Anabilim Dalımızda görev alan tüm araştırma görevlilerine, tez çalışmalarım boyunca birlikte çalışmaktan keyif aldığım, tezimin her aşamasında bana yardımcı olan, yol gösteren sevgili Uz. Emb. Neslihan COŞKUN'a ve Araş. Gör. Özen AKARCA DİZAKAR'a, dönem arkadaşlarıma ve Anabilim Dalı personeli Recep ORHAN'a teşekkür ediyorum.

Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Başkanlığı (GÜBAP) tarafından 01/2015-23 nolu “FRUKTOZ VE BİSFENOL A’NIN EŞ ZAMANLI UYGULANMASI İLE ADİPOZİTOKİNLERDE VE TESTİS DOKUSUNDA OLUŞACAK OLASI HASARA MELATONİNİN ETKİSİ” isimli yüksek lisans tezi araştırma projesi kapsamında sağlanan maddi destekler için kuruma teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xv
RESİMLERİN LİSTESİ	xvi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xix
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.2. Testis Anatomisi.....	7
2.2.1. Testis'in damarları, lenf dolaşımı ve sinirleri.....	9
2.3. Testis Histolojisi.....	10
2.3.1. Testisler	10
2.3.2. Seminifer tübüller	11
2.3.3. Seminifer epitel	11
2.3.4. İnterstisyel doku	19
2.3.5. Kan-testis bariyeri	20
2.4. Testis Fizyolojisi	20
2.4.1. Spermatogenezis.....	20
2.4.2. Testosteron ve diğer erkek cinsiyet hormonları	22
2.4.3. Erkek cinsel işlevlerinin hormonal kontrolü	26
2.4.4. Erkek hipogonadizm.....	27
2.5. Fruktoz	27

	Sayfa
2.5.1. Fruktozun formülü ve genel özellikleri	27
2.5.2. Fruktozun diyetel kaynakları	28
2.5.3. Fruktoz metabolizması	29
2.5.4. Fruktozun patofizyolojik etkileri.....	30
2.5.4. Fruktozun metS ve bileşenleri ile ilişkisi	31
2.5.5. Fruktozun erkek üreme sistemine etkileri	31
2.6. Metabolik Sendrom.....	32
2.6.1. Metabolik sendrom tanımı ve tarihçesi	32
2.6.2. Metabolik sendrom kriterleri.....	33
2.6.3. Metabolik sendromun görülme sıklığı.....	37
2.6.4. Metabolik sendromun nedenleri	37
2.6.5. Metabolik sendrom bileşenleri	38
2.6.6. Metabolik sendromun fizyolojik ve biyokimyasal etkileri.....	41
2.6.7. Metabolik sendromun üreme sistemine etkileri	43
2.7. Adipositokinler.....	44
2.7.1. Leptin.....	44
2.7.2. Adiponektin	46
2.8. Bisfenol A (BPA).....	50
2.8.1. BPA'nın tarihçesi ve genel kimyasal ve fiziksel özellikleri.....	50
2.8.2. BPA'nın kullanım alanları.....	51
2.8.3. BPA'nın salınımı	52
2.8.4. Bisfenol A'nın biyotransformasyonu ve insanlarda tespit edilen BPA düzeyleri.....	53
2.8.5. BPA'nın metabolik sendrom ve bileşenleri ile ilgisi.....	54
2.8.6. BPA'nın erkek üreme sistemine olan etkisi ve mekanizmaları.....	55
2.8.7. BPA'nın serbest radikal oluşumu üzerine etkisi ve bu durumun üreme sistemine ve metabolik sendrom tablosuna yansımaları.....	58

	Sayfa
2.9. Serbest Radikaller	59
2.9.1. Serbest radikaller ve oksidatif stres	59
2.9.2. Serbest radikallerin biyolojik moleküllere etkisi.....	60
2.10. Antioksidan Savunma Sistemleri	62
2.10.1. Endojen kaynaklı antioksidanlar	62
2.10.2. Eksojen kaynaklı antioksidanlar	65
2.10.3. Antioksidanların etki mekanizmaları	65
2.11. Melatonin	65
2.11.1. Melatonin yapısı, sentezi ve yıkımı.....	66
2.11.2. Melatoninin etki mekanizması	67
2.11.3. Melatoninin fonksiyonları	68
2.11.4. Melatoninin antioksidan etkileri.....	68
2.11.5. Melatoninin erkek üreme sistemindeki rolü	70
2.11.6. Melatoninin mets ile ilişkisi	70
3. GEREÇ VE YÖNTEM	71
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	71
3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar	73
3.3. Vücut Kitle İndeksinin Hesaplanması.....	73
3.4. Doku ve Kan Örneklerinin Alınışı ve Saklanması.....	73
3.4.1. Doku örneklerinin alınışı ve saklanması	73
3.4.2. Kan örneklerinin alınışı ve saklanması.....	74
3.5. Histolojik İncelemeler	74
3.5.1. Hematoksilen-eosin boyama yöntemi	74
3.5.2. İmmünohistokimyasal analizler.....	75
3.5.3. TUNEL yöntemi	76
3.6. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi	77

	Sayfa
3.6.1. Serum örneklerinin biyokimyasal analizleri.....	77
3.7. İstatistiksel Analizler.....	78
4. BULGULAR	81
4.1. H&E Bulguları	81
4.1.1. Kontrol grubu	81
4.1.2. Fruktoz grubu	83
4.1.3. BPA grubu	85
4.1.4. Fruktoz-bpa grubu	87
4.1.5. Fruktoz- melatonin grubu	88
4.1.6. BPA - melatonin grubu.....	90
4.1.7. Fruktoz- bpa- melatonin grubu.....	93
4.2. İmmunohistokimyasal (IHK) Bulgular	95
4.2.1. Leptin (ObR) IHK reaktivite bulguları.....	95
4.2.2. Adiponektin reseptör 1 (AdipoR1) IHK reaktivite bulguları	96
4.3. TUNEL Bulguları.....	98
4.4. Hayvan Ağırlıkları ve Vücut Kitle İndeksi Bulguları	98
4.4.1. Hayvan ağırlıkları.....	98
4.4.2. Vücut kitle indeksi bulguları	99
4.5. Biyokimyasal Parametre Bulguları	99
4.5.1. Lipit profili bulguları.....	99
4.5.2. Hormon analiz bulguları.....	100
4.6. İstatistiksel Bulgular.....	101
4.6.1. Vücut ağırlıklarının ve vücut kitle indeksinin'nin istatistiksel olarak değerlendirilmesi.....	101
4.6.2. Testis ağırlıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi.....	103
4.6.3. H&E bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi	104

	Sayfa
4.6.4. TUNEL bulgularının istatistiksel olarak değeriendirilmesi	108
5. TARTIŞMA	111
6. SONUÇ	123
KAYNAKLAR	125
EKLER.....	143
EK-1. Etik Kurul Onayı.....	144
EK-2. Etik Kurul Sertifikası.....	145
ÖZGEÇMİŞ	146

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Metabolik sendrom kriterleri	36
Çizelge 2.2. Bisfenol A'nın Genel Özellikleri	50
Çizelge 2.3. Düşük Dozlarda Bisfenol A'ya Maruziyetin Sonuçları	58
Çizelge 2.4. Oksijen ve Azot Kaynaklı Resktifler	59
Çizelge 2.5. Enzimatik olmayan antioksidanlar	64
Çizelge 2.6. Vitaminler antioksidanları	65
Çizelge 4.1. Biyokimyasal serum analiz sonuçları	100
Çizelge 4.2. Gruplara ait testis ağırlıklarının ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri.....	103
Çizelge 4.3. Gruplara ait semifer tübül çapları ölçümlerinin ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri	105
Çizelge 4.4. Gruplara ait semifer tübül epitel kalınlığının ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum değerleri	106

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Glukoz, fruktoz ve sükrozun kimyasal yapıları.....	28
Şekil 2.2. Fruktozun çeşitli organ ve sistemlerine etkisi	30
Şekil 2.3. Metabolik sendromun biyokimyasal etkileri	42
Şekil 2.4. Bisfenol A'nın moleküler yapısı.....	50
Şekil 2.5. BPA'nın üreme sistemindeki başlıca etkileri ve etkilediği yerler	56
Şekil 2.6. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu	59
Şekil 2.7. Melatoninin yapısı	66
Şekil 2.8. Melatoninin antioksidan özellikleri	69
Şekil 4.1. Grupların vücut ağırlık ortalamaları (Ortanca değere göre hesaplanmıştır).....	101
Şekil 4.2. Gruplara ait vücut kitle indeksi grafiği (Ortanca değere göre hesaplanmıştır)	102
Şekil 4.3. Gruplara ait testis ağırlıkları ortalamaları.....	104
Şekil 4.4. Gruplara ait seminfer tübül çapı ölçüm değerleri ortalamaları.....	105
Şekil 4.5. Gruplara ait semifer tübül epitel kalınlığının grafiği (Ortanca değere göre oluşturulmuştur)	107
Şekil 4.6. Gruplara ait semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücre sayıları (ortanca değere göre hesaplanmıştır).....	108

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Kontrol grubuna ait, testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti Tunika albuginea (TA), Seminifer tübüller (ST), interstisyel alan (★) izlenmekte	82
Resim 4.2. Kontrol grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti Seminifer tübüller arasında kan damarları (KD), tek tek ya da gruplar halinde yuvarlak, eosinofilik boyanmış Leydig hücreleri (▲), miyoid hücreler (M), primer spermatositler (←), spermatozoalar (➤) görülmekte	82
Resim 4.3. Kontrol grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti Seminifer tübüller arasında interstisyel alan (★), Leydig hücreleri (▲), Seminifer tübüller içinde, spermatogenik hücre serileri arasında bu hücrelerle superimpoze Sertoli hücreleri (⬆), spermatogoniumlar (sg) ve spermatozoalar (➤) izlenmekte.....	83
Resim 4.4. Fruktoz grubuna ait testis dokusunun Hematoksilen-eozin ile boyanmış enine kesiti Atrofik görünümde seminifer tübüller (⬆), interstisyel alan (★), vasküler oluşumlar (⬆) görülmekte.	84
Resim 4.5. Fruktoz grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti Spermatozoalar (➤), Leydig hücreleri (▲), kan damarları (KD) görülmekte	84
Resim 4.6. BPA grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti çapları ve seminifer tübül epitel kalınlıkları homojen olmayan seminifer tübüller (ST), atrofi ve dejenerasyonun ileri düzeyde olduğu seminifer tübüller (⬆) görülmekte.....	86
Resim 4.7. BPA grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti bazal membran bütünlüğü bozulan seminifer tübüller (⬆), germ hücreleri arasında izlenen bağlantı kaybı (↗), bazal membran üzerinde izole spermatogonia (sg) ve spermatogenezisin farklı gelişim aşamalarındaki diğer hücrelerinin izlenmemesi (◆◆) görülmekte	86
Resim 4.8. BPA grubuna ait testis dokusunun Hematoksilen-eozin ile boyanmış enine kesiti yapısı tamamen bozulmuş seminifer tübül (⬆), Bazal membran (BM), germ hücreleri arasında farklı boyutlarda vakuolize alanlar (v) ve spermatogenezisde arrest (★) görülmekte.....	87
Resim 4.9. A-B:Fruktoz ve BPA uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesitleri Tunika albuginea (TA), yapısı farklı derecelerde bozulmuş seminifer tübüller (⬆), interstisyel alanda kayıp (➤), vasküler oluşumlar (⬆), bazal membran yapısının bozulduğu (BM), germ hücreleri arasında izlenen bağlantı kaybı (↗), hücrel debris (★), immatür germ hücreleri (→) ve interstisyel alan kaybı (◆) görülmekte	88

Resim	Sayfa
Resim 4.10. Fruktöz ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti normal yapıda seminifer tübüller (ST), atrofik değişikliklerin devam ettiği seminifer tübüller (↑), vasküler oluşumlar (↑) görülmekte.	89
Resim 4.11. Fruktöz ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti bazal membran üzerine oturan spermatogonia (sg) ve germ hücreleri arasındaki bağlantılar (↗) görülmekte.....	89
Resim 4.12. BPA ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti normal yapıda seminifer tübüller (ST), atrofik görünümlü seminifer tübüller (↑), boş seminifer tübül lümeni (★) ve germ hücreleri arasında vakuolize alanlar (v) görülmekte.....	91
Resim 4.13. BPA ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti bazal membran üzerindeki spermatogonia (sg), germ hücre bağlantıları (↗), normal yapıdaki seminifer tübül lümeni (➤), seminifer tübül lümenindeki boşluk ve debris (◆), vasküler oluşumlar (↑) ve Leydig hücreleri (▲) görülmekte.....	92
Resim 4.14. Fruktöz, BPA ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti atrofik alanların mevcut olduğu ve lümenin boş olduğu seminifer tübüller (↑), normal görünümlü tübüller (ST) ve interstisyel alanda vaskülerize alanlar (↑) görülmekte.....	93
Resim 4.15. Fruktöz, BPA ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti atrofik alanların mevcut olduğu seminifer tübüller (↑), spermatogenik hücre serisinin kısmen korunduğu seminifer tübüller (ST) ve interstisyel alandaki Leydig hücreleri (▲) görülmekte.....	94
Resim 4.16. A:Kontrol grubu, B: Fruktöz grubu, C: BPA grubu, D: Fruktöz-BPA grubuna ait ObR ile immunohistokimyasal olarak boyanmış testis dokusuna ait enine kesitler seminifer tübüllerdeki spermatogenik seriye ait farklı gelişim aşamalarındaki germ hücrelerindeki immunreaktivite (↘) görülmekte.....	95
Resim 4.17. A:Fruktöz-Melatonin grubu, B: BPA-Melatonin grubu, C: Fruktöz-BPA Melatonin grubuna ait ObR ile immunohistokimyasal olarak boyanmış testis dokusuna ait enine kesitler seminifer tübüllerdeki spermatogenik seriye ait farklı gelişim aşamalarındaki germ hücrelerindeki immunreaktivite (↘) görülmekte.....	96
Resim 4.18. A: Kontrol grubu, B: Fruktöz grubu, C: BPA grubu, D: Fruktöz-BPA grubuna ait AdR1 antikoru ile immunohistokimyasal olarak boyanmış testis dokusuna ait enine kesitler kontrol grubunda immunreaktivite gösteren Leydig hücreleri (▲) ve diğer gruplarda immunreaktivite göstermeyen Leydig Hücreleri (†) izlenmekte	97

Resim**Sayfa**

Resim 4.19. A:Fruktoz-melatonin grubu, B: BPA-melatonin grubu, C: Fruktoz-BPA-melatonin grubuna ait AdR1 antikoru ile immunohistokimyasal olarak boyanmış testis dokusuna ait enine kesitler zayıf immunreaktivite gösteren Leydig hücreleri (▲) izlenmekte	98
---	----

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
μg	Mikrogram
μm	Mikrometre
μM	Mikromolar
g	Gram
H_2O_2	Hidrojen peroksit
kg	Kilogram
L	Litre
$\text{L}^\bullet$	Lipid radikali
$\text{LOO}^\bullet$	Lipid peroksit radikalleri
LOOH	Lipidperoksitl
m^2	Metrekare
mg	Miligram
mm	Milimetre
nM	Nanomolar
O^2	Oksijen Molekülü
$^\circ\text{C}$	Santigrat
OH	Hidroksil radikali
Kısaltmalar	Açıklamalar
A.	Arter
AACE	American Association of Clinical Endocrinology
ABC	Avidin-Biotin-peroxidase Complex
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
ACTH	Adrenocorticotropic Hormone
ADR1	Adiponektin Resöptörü-1
AHA/NHLBI	American Heart Asso. and the National Heart, Lung

Kısaltmalar**Açıklamalar**

AHM	Anti-müllerian hormon
ALT	Alanine Aminotransferase (SGOT)
apM1	Adipose most abundant gene transcript 1
ASG	Açlık Serum Glukoz
ASİ	Açlık Serum İnsülin
AST	Aspartate Aminotransferase (SGPT)
ATP III	Adult Treatment Panel III
BKO	Bel Kalça Oranı
BMI	Body Mass Index
CYP2C18	Cytochrome P450,family2, subfamilyC, polypeptide
18 CYP2C19	Cytochrome P450,family2,subfamily C, polypeptide
19 CYP2C9	Cytochrome P450 2C9
DKB	Diyastolik Kan Basıncı
DM	Diabetes Mellitus
DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
E2	Östrodiol
EGIR	European Group for the Study of Insulin Resistance
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FSH	Folikül uyarıcı hormon
GBP28	Gelatin binding protein of 28 kDa
GH	Growth Hormone
GLP-1R	Glucagon Like Peptide 1 Receptor
GLUT	Glucose Transporter
GLUT	Glukoz transporter
GnRH	Gonadotropin Serbestleştirici Hormon
GPx	Glutasyon Peroksidaz
H & E	Hemotoksilen & Eosin
hCG	Human Chorionic Gonadotropin
HDL-K	High Density Lipoprotein Cholesterol
HOMA-IR	Homeostasis Model Assessment For Insulin Resist
HRP	Horse Radish Peroxidase
HT	Hipertansiyon

Kısaltmalar**Açıklamalar****ICSH veya ISUH**

intersellüler hücre uyarıcı edici hormon

ICSH

İnterselüler hücre stimüle edici hormon

IDF

International Diabetes Federation

IFG

Bozulmuş açlık toleransı

IGT

Bozulmuş glukoz toleransı

İHK

İmmünohistokimya

İR

İnsülin direnci

İV

İntravenöz

LDL

Düşük dansiteli lipoprotein

LDL-K

Low-Density Lipoprotein Cholesterol

LH

Luteinize edici hormonun

MetS

Metabolik Sendrom

METSAR

Türkiye Metabolik Sendrom Sıklığı Araştırması

MT 1 ve 2

Melatonin reseptör tip 1 ve 2

NAFL

Non-Alcoholic Fatty Liver

NAFLD

Nonalkolik yağlı karaciğer

NCEP ATP III

National Cholesterol Edu.Prog.AdultTreatment Panel3

NF-κB

Nüklear faktör-κB

NHANES III

National Health and Nutrition Evaluation Survey

ObR

Lepin antibody

OGTT

Oral glukoz toleransı testi

OpM1

Adiponektin gen transkript-1

P4

Progesterone

PBS

Phosphate Buffer Saline

PCOS

Poly Cystic Over Syndrome

PGH

Primordial germ hücresi

PVN

Paraventriküler Nükleus

ROS

Reaktif oksijen türleri

SD-LDL

Small Density Low Density Lipoprotein

SHBG

Seks hormonu bağlayıcı globülin

SKB

Sistolik Kan Basıncı

SOD

Süperoksit dismutaz

Kısaltmalar**Açıklamalar****SON**

Supraoptik Nükleus

SYA

Serbest yağ asitleri

T2DM

Tip 2 Diyabetes Mellitus

TDF

Testis belirleyici faktör

TEKHARF

Türk Erişkinleri Kalp Hast. Ve Risk Fak.Sık. Taraması

TG

Trigliserid

TK

Total Cholesterol

TNF- α Tümör nekrozis faktör- α **TP**

Total Protein

TSH

Tiroid Uyarıcı Hormon

TT

Total Testosterone

v.

Vena

VKİ

Vücut Kitle İndeksi

VLDL

Çok düşük dansiteli lipoprotein

VLDL-K

Very Low-Density Lipoprotein Cholesterol

WHO

World Health Organization

1. GİRİŞ

Metabolik sendrom ve üreme sistemi arasındaki etkileşimin varlığına dair kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır [1-4].

Metabolik sendrom (MetS) dünyada giderek yaygınlaşan kardiyak ve metabolik komplikasyonları ile yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan ve üreme organları dahil tüm biyolojik sistemleri etkileyen ciddi bir halk sağlığı sorunudur [5]. İnsülin direnç sendromu veya sendrom-X olarak da bilinen MetS, insülin rezistansı, abdominal obezite, glukoz intoleransı, dislipidemi, hipertansiyon ve koroner arter hastalığı (KAH) gibi sistemik bozukluklara yol açar [6].

Fakat metabolik sendromun tüm bileşenlerinin etiyopatogenezini açıklayabilecek tek bir genetik, infeksiyöz ya da çevresel bir faktör henüz tanımlanamamıştır [7]. Poligenik yatkınlık söz konusu olsa da, modern kent hayatının getirdiği sedanter yaşam ve yüksek kalorili beslenme bu metabolik bozuklukların seyrini negatif biçimde etkilemektedir [7, 8]. Özellikle son yıllarda yüksek fruktoz içerikli rafine gıda tüketiminde yaşanan aşırı artış [9, 10] ve “hormon bozucu veya endokrin bozucu” olarak adlandırılan kimyasal maddelere etkin kalma miktarı ve sürelerindeki yükseliş nedeniyle, Mets ve buna bağlı veya birlikte oluşan klinik durumların görülme sıklığındaki artış dikkat çekici bir hal almıştır. Bu kimyasallar içinde en çok suçlanan ise tüm dünyada yaygın olarak kullanılan bisfenol A’dır (BPA) [11-19].

BPA, 2,2-bis(4-hidroksifenil) propan 1891 yılında Rus Kimyacı A.P. Dianin tarafından kimyasal tasarımı yapılmış, 1905 yılında Zincke tarafından da asit katalizaz reaksiyonu sonucu doymamış 2 fenol halkasının aseton ile birleşmesiyle sentezlenmiş bir bileşiktir [20]. Östrojen replasman tedavilerinde çok kısa bir süre kullanılan BPA, daha sonra yerini daha güçlü östrojenik özelliği olan dietilstilbesterol’e (DES) bırakmıştır [21]. 1940’lı ve 1950 yıllarda geniş kullanım alanlarından dolayı plastik ürünlerin yapısında kullanılmaya başlanması ile önemli bir kimyasal madde haline gelmiştir [22]. Plastik içeren ürünlerin hayatımıza daha fazla girmesi de BPA’nın kullanım miktarlarının giderek arttırmış, 1980’li yıllarda BAP’nın yıllık üretim miktarı 1 milyon ton’a, günümüzde de 3 milyon tonu aşkın bir üretim miktarına ulaşmıştır [11, 23]. BPA monomerleri, özellikle besinlerin paketlenmesi için kullanılan kâğıt ve benzeri ürünlerde, ürünlerin sıvı ile temasını kesmek için konserve

ve metal meşrubat kutularının iç kısımlarında, besin saklama kapları, PVC üretiminde ve sağlıkla ilgili ürünlerde bulunan polikarbonatların ve epoksi reçinelerinin üretiminde kullanılırlar [22, 24]. BPA'nın kullanım alanlarının çok fazla olması nedeniyle insanlar intrauterin yaşamdan başlayarak tüm yaşamları boyunca endokrin bozucu özelliği bilinen BPA içeren maddelerle temas halinde olması insan sağlığını tehdit eder niteliktedir.

BPA ile ilişkin biyotransformasyon çalışmalarının birçoğu hayvan modelleri üzerinden gerçekleştirilmiştir. İnsanlar üzerindeki çalışmalar ise etik uygunluğu açısından sadece rastgele temas eden kişilerde veya gönüllüler üzerinden yapılmıştır. Bu nedenle BPA'nın metabolik yolağıyla ilgili hala birçok aydınlatılamamış noktalar vardır [25].

Oral veya intravenöz düşük doz BPA verilen erişkin farelerde, hiperinsülinizm ve insülin direnci geliştiği gösterilmiştir. BPA'nın insan adipoz dokusundan çeşitli adipositokinlerin salınımının düzenlenmesini etkilediği fade edilmiştir. Bunlardan Adiponektin karaciğer, yağ dokusu, hipotalamus, kan ve iskelet kasına etki ederek lipit sentezi, glikoz üretimi, trigliserit üretimi, serbest yağ asiti konsantrasyonunu azalttığı, hepatositlerde ve iskelet kasında insülin duyarlılığını, kasta enerji dağılımını, hepatositlerde yağ oksidasyonunu arttırdığı saptanmıştır. Leptin ise, iştah ve enerji harcamasını düzenlemenin yanı sıra, reproduktif fonksiyonda, yağ depolanmasında, lipid metabolizmasında, nöroendokrin sistemde ve immünfonksiyonda önemli rol oynar. Yapılan çalışmalarda da BPA'nın hiperinsülinizm ve insülin direnci oluşumuna, adipoz doku artışına, adipositokinlerin kontrolsüz salınımına ve serbest radikallerin miktarlarının artışına yol açtığı göstermiştir [13, 26].

BPA endokrin bozucu özelliğini nedeniyle üreme sistemi bozukluklarına yol açabilme potansiyeline sahiptir [11].

BPA doğum sonrası dönemde, pubertal dönemde ve yetişkinlik döneminleri boyunca, BPA hipotalamo-hipofizer aksı LH, FSH, androjen ve östrojen hormon sentezlerini, ekspresyonlarını ve ilgili resöptörlerin fonksiyonlarını değiştirerek etkiler. Bu etkilenen mekanizmalar da sperm parametrelerini değiştirir. BPA aynı zamanda testis ve epididimdeki oksidatif stresi antioksidan enzimleri inhibe ederek ve lipid peroksidasyonunu da artırarak uyarır [11].

İn utero dönemde BPA'ya 16-18 gün boyunca etkin kalma durumunda erkek farelerde anogenital açıklığın azaldığı, prostat büyümesi ve epididimal ağırlık azalmasının gözlemlendiği gösterilmiştir [27, 28]. Sıçanlarla in utero dönemde yapılan bir diğer çalışmada, BPA'ya oral etkin kalma sonucunda testis ağırlığında önemli bir artışın ortaya çıktığı saptanmıştır [29]. Günde 20 mg/kg BPA'ya (intraperitoneal) dört hafta süreyle karşılaşma sonucu erişkin farelerde, günlük sperm üretimlerinde ve total sperm sayılarında azalma; prostat ve seminal vezikül ağırlıklarında düşüş belirlenmiş; serum testosteron düzeylerinin azaldığı, ancak testis veya epididimis ağırlıklarının değişmediği bildirilmiştir. Ayrıca, sıçanların serum testosteron düzeylerinin düştüğü, karaciğer ve böbrek ağırlıklarında azalma olduğu da saptanmıştır [30]. BPA'nın testosteron biyosentezini inhibe ettiği dolayısıyla Leydig hücrelerindeki testosteron üretimini bozduğu gösterilmiştir [31]. Bu da BPA'nın potansiyel antiandrojen etkiye sahip olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte bir çalışmada BPA'nın sertoli hücreleri üzerinde apoptotik etkisinin olabileceği gösterilmiştir [32].

Ayrıca BPA, erkek üreme sisteminde düzenleme görevine sahip olduğu bulunan leptin ve adiponektin gibi adipositokinlerin salınımını etkileyerek üreme sisteminde işlev bozukluklarına neden olabilmektedir [12, 13, 33].

Mets, obezitede ve diğer bileşenlerinin artışına paralel olarak erkek üreme sistemindeki fonksiyon bozukluklarının görülme sıklığındaki yükselişin diğer önemli bir etkeni de fruktozun, insanın diyetindeki oranında yaşanan artıştır [34-38]. Yapılan bir çok çalışmada, %10 oranında fruktoz uygulamasının sıçanların, insanlardaki metabolik sendrom bulgularına çok benzer nitelikte metabolik değişiklikler gösterdiği ifade edilmiştir. %10 oranında fruktoz uygulaması sıçanlarda, MetS bileşenlerinden olan glukoz intoleransı, insülin direnci, hiperinsülinemi, hipertansiyon ve hipertrigliseridemi bulgularına yol açmaktadır [5, 39]. Ayrıca, fruktoz oksidatif stresi artırarak doku hasarına yol açmaktadır [9].

Melatonin etkili bir antioksidan [40] olmasının yanında, enerji harcanması ve vücut yağ kütlesinin düzenlenmesinde de görev alır. Bunlarla birlikte, metabolik düzenleyici rolü vardır [41, 42]. Ayrıca, son yıllarda melatoninin üreme sisteminin düzenlenmesindeki rolüne olan ilgi de artmıştır [43]. Oksidatif stres oluşturan BPA ve fruktozun testis dokusundaki negatif etkilerinin bastırılmasında ne gibi yararlı etkilerinin olduğunun araştırılması

gelecekteki araştırmalar için önemli bilgiler sağlayabilir. Özellikle melatoninin metabolik etkilere sahip olması bu araştırmada kullanılmasını daha değerli kılmaktadır.

Bu bilgiler ışığında, bu çalışmada literatüre uygun olarak Fruktoz ve BPA'nın eş zamanlı uygulamasının oluşacak MetS'ye, adipositokinlere ve testis dokusuna dokusuna olan olası etkilerini değerlendirmeyi ve Melatoninin bu sürece olan etkisini saptamayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

Genetik açıdan embriyonun cinsiyeti döllenme sürecinde belirlenmiş olmasına rağmen, gonadlar gelişimin 7. haftasına kadar erkek veya dişi morfolojik özellikleri açısından farklılık göstermezler [44]. Bu dönemdeki gonadlar farklanmamış gonad olarak adlandırılırlar. Gonadlar (testisler ve overler) üç değişik embriyonik dokudan köken almaktadır [44, 45].

- Karın arka duvarını döşeyen mezotel (Mezodermal epitel),
- Altında bulunan mezenşim (Embriyonik bağ dokusu),
- İlkel cinsiyet hücreleri (Primordial germ hücreleri)

Gonad gelişiminin ilk evresi, embriyonal gelişimin 5. haftasında mezonefrozun medialinde mezotelin kalınlaşması olayı ile başlar. Mezodermal epitelin (kölom epiteli) proliferasyonu ile birlikte altındaki mezenşimin çoğalıp yoğunlaşması ile sağda ve solda mezonefrozun medialinde genital veya gonadal sırt biçimlenir. Embriyonal gelişimin ilk 6 haftası boyunca genital sırtlar içerisinde germ hücreleri yer almaz [44, 45].

Primordiyal germ hücreleri (PGH) morfolojik olarak büyük, yuvarlak hücreler olup, epiblastan köken alırlar [45]. Embriyonun katlanmasıyla birlikte PGH epiblastan primitif çizgi boyunca göç ederek 3. haftada yolk kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücrelerinin arasına yerleşirler. 4. hafta ile birlikte amip benzeri hareketlerle son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca göçlerine devam ederler. 5. haftanın başında da primitif gonadlara ulaşır, 6. haftada da genital sırtlara tamamen yerleşirler. Eğer bu hücreler genital sırtlara göç edip, yerleşemezlerse gonad gelişimi indüklenmez. Çünkü PGH'nin gonadların over veya testise farklanmaları üzerinde uyarıcı etkileri vardır [44, 45].

PGH'nin ilkel gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaştıkları sırada bu hücrelerin göçü sırasında oluşmuş olan genital sırtların kölomik epitel hücrelerinin sayısında artış olur. Çoğalan bu hücreler mezenşim içerisine doğru gömülerek düzensiz, parmaklı bir şekile sahip primer cinsiyet kordonları denilen, yüzey epiteli ile bağlantılı epitel benzeri yapıları oluştururlar. Embriyonal gelişimin bu aşamasına kadar her iki cinsiyet için de gonadların bir birinden ayırımı olanaksızdır ve bu evredeki gonadlara farklanmamış gonad adı verilir. Bu evredeki gonadlar dışta korteks, içte ise medullanın yer aldığı bir yapı sergiler.

Embriyonal gelişimin 7. haftasından itibaren, embriyoda cinsiyet gelişimi erkeklik ya da dişilik yönünde değişmeye başlar. Embriyo erkek genetik cinsiyet kromozomu olan XY kromozomuna sahip ise embriyonun medullası testise farklanırken, korteksi bir takım kalıntılar dışında tamamen dejenere olur. Bu değişliği ortaya çıkaran moleküler mekanizmalar Y kromozomunun cinsiyet belirleyici bölgesinde bulunan SRY geninin kodladığı testis belirleyici faktör (TDF) tarafından kontrol edilir. Primer seks kordonları, TDF'nin etkisi altında çoğalmaya devam ederek medullanın derinlerine doğru yol alırlar ve testis veya medullar kordonları yaparlar [45]. Bu kordonlar ilerlemeye devam ederek gonadların hilusuna doğru ağ şeklinde birbirleri ile anastomoz yaparak, rete testis tübüllerini meydana getirirler. Daha ileri evrelerde primer seks kordonlarının yüzey epiteli ile olan bağlantısı tunica albuginea denilen kalın fibröz kapsülün araya girmesi ile son bulur [44, 45].

Gelişimin 12. haftasıyla birlikte testis kordonları at nalı biçimini alır ve bu kordonların uçları ince bir kanal olan tubuli rektiye, tubuli rektelerde rete testise açılır. Bu safhada testis kordonları sadece PGH ve gonadın yüzey epiteli olan kölomik epitelden köken alan Sertoli destek hücrelerini içerir [45]. Eğer fötüs erkek ise Sertoli hücrelerince Antimüllerian hormon (AHM) salgınır ve paramezonefroz kökenli Müller kanalları geriler. Mezonefroz kökenli olan Wolff kanalların gelişmesi ise testosteron salgınımına bağlıdır. Testis kordonları arasında, genital sırtın mezenşiminden gelişen interstisiyel Leydig hücreleri bulunur. Bu kordonların farklanmaya başlamasından hemen sonra gelişirler. Gebeliğin 8.haftasında, Leydig hücreleri testosteron salgılamaya başlar. Böylece testisler mezonefrik kanalların farklanmasını ve erkek dış genital organların oluşumunu sağlayacak hale gelirler. Testosteron bulunması durumunda Wolff kanalı erkek iç genitaleri yönünde farklanır (duktus epididimis, duktus deferens, vesikula seminalis). Dış genital sinüs ürogenitalisten farklanır. Dihidrotestosteron varlığında erkek dış genital gelişir [44, 45].

Puberteye değin solid halde kalan testis kordonlarının lümenleri pubertede açılarak seminifer tübüllerini meydana getirirler. Seminifer tübüllerin lümeni açılır açılmaz rete testis tübüllerleriyle birleşir ve mezonefrik kanal kökenli olan duktuli efferenteslere açılırlar. Bunlar da tek bir kanal olan duktus deferens ile birleşir. Büyüyen testis aşamalı olarak dejenere olan mezonefroza ayrılır ve kendi mezenterisi olan mezorşiyum ile asılı hale gelir. Testisler embriyonal gelişim sırasında karın boşluğunda lomber omurların iki yanında gelişmeye

başlar. Testislerin skrotuma inmesi insanlarda iki ana evrede gerçekleşir; transabdominal göç evresi ve inguinokrotal iniş evresi [46].

İnsanlarda ilk evre intra-uterin gelişimin 10. ile 15. haftaları arasında, cinsel organların gelişiminin başlamasının hemen sonrasında olaylanmaktadır. Bu dönemde testisler abdomen içinde böbreklerin alt kutubundan inguinal kanal girişine doğru yer değiştirirler. Daha sonra inguinokrotal göç başlayana kadar 28. haftanın sonuna kadar süren bir duraklama olur ve bu dönemde testisler internal halka seviyesinde kalmaya devam ederler. Son dönem olan inguinokrotal evrede testisler inguinal kanaldan geçerek skrotuma yerleşirler ve iniş 35. hafta sonunda tamamlanmaktadır [47].

2.2. Testis Anatomisi

Testisler, intrauterin olarak embriyonun karın boşluğunda gelişir. Daha sonra aşağıya doğru hareket edip canalis inguinalis (inguinal kanal) içinden geçerek skrotum'a inerler. Yapısal olarak testisler, skrotum içinde, penis'in her iki tarafında ve sol testis sağ testise göre (soldaki) daha aşağıda olacak şekilde asılı haldedir. Spermiyum'ların yaşayabilmesi için normal vücut ısısından daha düşük ısıda üretilmeleri gerekliliği vardır. Testislerin skrotum içerisine yerleşerek, spermatogenezis için gerekli olan vücut sıcaklığından 2-3 °C daha düşük ısıda olmaları sağlanır. Bu yüzden testisler vücudun dışında yerleşmişlerdir [48].

Testisler küçük, oval şekilli, yetişkin insanlarda yaklaşık 4-5 cm uzunluk ve 2,5 cm genişlikte, 20-30 gr ağırlığında olup funiculus spermaticus aracılığıyla skrotum içinde asılı halde, oblik pozisyonda yerleşmişlerdir [49-52].

Testis 7 ayrı tabakadan oluşmaktadır

- Skrotum
- Deri
- Tunika Dartos
- Fasia spermatica eksterna
- Fasia kremasterika
- Fasia spermatica interna
- Tunika vaginalis testis

Skrotumun iç yüzü septum skroti (septum testis) ile ikiye ayrılır ve testisler bu boşluklarda yerleşmişlerdir. Testislerin facies medialis ve facies lateralis olarak isimlendirilen iki yüzü, margo anterior ve margo posterior olarak isimlendirilen iki kenarı, ekstremitas superior ve ekstremitas inferior olarak isimlendirilen iki ucu vardır [51, 53-55].

Testis dıştan içe; tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunica vaskuloza adında üç tabaka ile çevrelenmiştir. Tunica vaginalis embriyonik processus vaginalis'in alt ucunun kalıntısıdır ve lamina visseralis (epiorchium) ve lamina parietalis (periorchium) adında iki ayrı tabaka içerir. Lamina visseralis yalnız testisin ön kenarı ile birlikte iki yüzünü örter; arka kenarın medial ve lateral kısımlarında ise kendi üstüne kıvrılarak lamina parietalis ile devam eder. Lamina parietalis ise testisin alt kısmından üst kısmına doğru, funiculus spermaticus'un ön ve iç tarafını da saracak şekilde bir miktar yukarıya doğru uzanmaktadır. Bu iki tabaka arasında cavum serosum scroti adı verilen içi seröz sıvı dolu bir boşluk bulunur. Bu alan sayesinde testisler skrotum içerisinde serbest bir şekilde hareket edebilirler [44, 54].

Tunica albuginea, lamina visseralis'in altında bulunur ve testisi dıştan saran mavimsi beyaz renkte fibröz özellikte bir zardır. Kollagen liflerden zengin sert bir yapıda olduğundan dolayı bu katmanın elastikiyeti ve genişleme özelliği azdır. Tunica albuginea, testis'in arka yüzünde testis içine sokularak kalınlaşıp dikey bir bölme olan mediastinum testis'i oluşturur. Damarlar, sinirler ve kanallar organa mediastinum testisten girip, çıkarlar [51].

Mediastinum testisin ön ve yan kısmından çıkan uzantılar, septula testis adını alırlar ve bu uzantılar, testis parankiminden geçerek tunica albuginea'nın iç yüzüne ışınal uzanarak organı lobuli testis adı verilen piramidal şekilli 250-300 lopçuğa bölerler [54].

Lobuli testislerin taban kısımları perifere doğru yönelirken, tepe kısımları ise mediastinum testise doğru yönelmiştir.

Her lobuli testis lobçuğu da 1-4 tubuli seminiferi contorti (seminifer tübül) olarak adlandırılan kıvrıntılı tüplerden oluşur. Testisteki bu 250-300 lobçukta yaklaşık olarak 600-1000 adet seminifer tübül yer almaktadır [56]. Bu tübüllerin uzunlukları 30-70 cm, çapları ise 150-250 μm 'dir [51].

Tubuli seminiferi kontortileri saran bağ dokusunda damar ve sinirlerin arasında küme şeklinde Leydig hücreleri (Interstitial endocrinocytes) denilen endokrin hücreler bulunur [56].

Kıvrıntılı bir yapı gösteren tubuli seminifer kontortilerin mediastinum testise bakan kısımlarında lümen daralır, kanallar düzleşir, kıvrımlarını yitirir ve düz tübüller şeklinde birbirleri ile birleşerek tubuli seminiferi rekti denilen kısa ve düz kanalları oluştururlar. Bu sırada kanalların sayısı 20-30 kadar düşerken oluşan Tubuli seminiferi rekti kanalların çapları da genişleyerek 0,5 mm olur. Sonrasında tubuli seminiferi rekti mediastinum testise uzanır ve birbirleriyle anastomoz yaparak rete testisi (Haller ağı) meydana getirirler. Rete testis tunica albuginea'nın oluşturduğu mediastinum testisin üst bölümünde yer alan kanalları sayıları 12-15 arasında değişen ductulus efferentes adı verilen küçük kanalcıklara dönüşür. Bu efferent kanalcıklar da tunica albugineayı delerek testis dışına kadar uzanırlar [53]. Tunica vaskulosa, tunica albuginea'nın alt kısmında yer alan lobulus testisleri çevreleyen zengin bir damar ağı içeren gevşek bağ dokusu yapısında olan en iç katmandır [53, 54].

2.2.1. Testis'in damarları, lenf dolaşımı ve sinirleri

Testislerin beslendiği damarlar, aortanın dalı olan aorta abdominalis'ten ayrılan arteria testikularislerdir. Arterler, testis'e geldikten sonra septalar aracılığıyla interstisyuma ulaşırlar. A. testikularis, funiculus spermaticus aracılığı ile testis'in arka kenarından (margo posterior) organ içerisine girer. Sonrasında mediastinum testis'te birçok dala ayrılarak testisleri besler. Testislerin venleri olan sağ v. testicularis, v. cava inferior'a; sol v. testikularis ise sol v. renalis'e dökülür. Testiste iki türlü lenf drenajı vardır; yüzeysel ve derin. Yüzeysel lenf damarları tunica vaginalis'in yüzeyinde yer alırlar. Derin lenf damarları ise testis ve epididimis'in içinde ve funiculus spermaticus ile birlikte karın boşluğuna uzanırlar.

Testislerin sinirlendirilmesi, otonom sinirlerle gerçekleştirilir ve bu sinirler a. testikularis'in çevresindeki plexus testikularis'ten gelirler. Sempatikler medulla spinalis'in T 10-11 segmentlerden, parasempatikler ise n.vagus'tan gelir. Bu sinirler damarların çevresinde organa ulaşır [50, 51, 57].

2.3. Testis Histolojisi

2.3.1. Testisler

Erkek üreme sistemi, skrotum içinde asılı halde duran bir çift testis, testis içi genital kanallar (tubuli rekti, rete testis, duktuli efferentes), genital boşaltım kanalları (duktus epididimis, duktus vasdeferens, duktus ejakulatorius, üretra), yardımcı genital bezler (vezikula seminalis, prostat, bulbouretral bez) ve penis'i kapsamaktadır [58, 59].

Testisler, hem endokrin hem de ekzokrin işlevleri olan birleşik tübüler bez yapısındadır. Testisler; ekzokrin salgısı ile puberteden itibaren erkek üreme hücresi olan spermiyumların üretimi, endokrin salgısı ile de erkek seks hormonu olan testosteron'un sentezi, depolanması ve salınması görevlerini yerine getirirler-üstlenirler. Puberteyle birlikte erkek üreme hücresi olan spermiyumların üretilmesi testislerin ekzokrin işlevi iken, erkek seks hormonu olan testosteron'un sentezi, depolanması ve salınması testisin endokrin işlevidir [58-61].

Testisler, skrotum içerisinde dıştan içe doğru üç katman ile çevrelenmiştir. Bu katmanlar; tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vaskuloza'dır.

Tunica vaginalis, mezotelyal hücrelerin meydana getirdiği periton kökenli, çift yaprağı olan seröz bir zardır. Testisin ön ve yan kısımlarında tunika albuginea'yı örter [59].

Tunica albuginea, düzensiz yerleşmiş kollagen demetler içeren yoğun fibroelastik bağ dokusundan meydana gelen, testis de en belirgin kalın katmandır. Ayrıca yapısında bulunan bağ dokusu arasında çok az sayıda düz kas lifleri vardır [52, 58-60].

Tunica vaskuloza da tunica albuginea 'nın iç yüzünde yer alır ve kan damarlarından oldukça zengin olan gevşek bağ dokusu yapısındaki en iç tabakadır [52, 58-60, 62].

Tunica albuginea testis'in arka yüzünde testis içine sokularak kalınlaşıp dikey bir bölme olan mediastinum testis'i oluşturur. Damarlar, sinirler ve kanallar organa mediastinum testisten girip, çıkarlar [51].

Buradan testis içine doğru giren tunika albuginea ile bağlantılı fibröz septumlar organın derinlerine ilerleyerek bezi yaklaşık 250 piramidal parçaya böler, her bir parçaya testis

lobülü adı verilir. Bu bölmeler tam değildir ve lobüller arasında çoğunlukla iletişim vardır. Her lobülde gevşek bağ dokusu ile çevrelenmiş 1-4 seminifer tübül yer alır. Buradaki bağ dokusunda bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) bulunur [52, 58-60].

2.3.2. Seminifer tübüller

Spermiumların üretim yeri olan seminifer tübüllerin her biri yaklaşık 150-250 µm çapında, 30-80 cm uzunluğundadır. Her bir testiste ortalama 200-300 adet bulunur ve bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık olarak 250 metredir [52, 58-60].

Seminifer tübüller kıvrımlı yapıda olup başlangıçları kör durumdadır. Sonlanırken de lümenleri daralır ve düz tübüller ya da tubuli rekti olarak adlandırılan kısa segmentlere dönüşürler. Testis içi boşaltım kanallarından biri olan tubuli rekti, seminifer tübülleri mediastinum içinde bulunan ve anastomozlaşmış bir kanal sistemi olan rete testis'e bağlar. Anastomoz yapan bu rete testis kanalları da yaklaşık 10-20 ductulus efferentes ile epididimis'in baş kısmına bağlı haldedirler [59].

Seminifer tübülleri, fibröz ayrı bir bağ dokusu, yassı miyoid hücrelerden meydana gelmiş bir tabaka ve bir bazal membran sarar [63]. Seminifer tübülü saran birkaç fibroblast katmanından oluşan ve Tip I kollagen lifleri içeren bu fibröz bağ dokusu yapısındaki kılıfa tunika propria olarak isimlendirilir. Oldukça iyi gelişmiş bir bazal lamina tunika propria ile seminifer tübül epitelini birbirinden ayırır. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas hücre özelliklerine de sahip yassılaştırmış miyoid hücreleri barındırır. Buradaki miyoid hücreler, hareketsiz spermleri ritmik kasılmalar göstererek rete testis'e iletilmesi görevinden sorumludur [58, 59]. Spermler, ancak epididimal kanaldan geçtikten sonra ileri hareket etme kabiliyetine kavuşurlar [58-60].

2.3.3. Seminifer epitel

Seminifer tübül duvarı, karmaşık bir yapı sergileyen germinal ya da seminifer epitel adı verilen birçok katlı epitel ile döşelidir. Seminifer tübül epiteli iki hücre grubu barındırır: Sertoli (destek) hücreleri ve spermatogenezdeki seriyi oluşturan hücreler [58, 59, 63].

Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri, 1865 yılında İtalyan fizyolog ve histolog Enrico Sertoli tarafından tanımlanmış ve adlandırılmıştır. Bu hücreler puberteye kadar seminifer epitelin baskın hücre tipiyken, puberteden sonra germ hücrelerinin çoğalmasıyla seminifer tübül epitelindeki hücrelerin yaklaşık %10'unu oluştururlar. Sertoli hücreleri, puberteden sonra postmitotiktir. Erişkin testisinde mitotik hücre bölünmesi gözlenmez [62]. İlerleyen yaşla birlikte spermatogenik hücre topluluğundaki azalma sonucunda, Sertoli hücreleri yeniden epitelin esas yapısı haline gelirler [64].

Sertoli hücreleri, seminifer epitelin germinal olmayan tek elemanı olup, spermatogenik serideki hücreleri saran uzamış piramidal şekilli hücrelerdir. Sertoli hücrelerinin tabanları geniştir ve bazal lamina üzerine oturur, apikal uçları ise seminifer tübülün lümenine kadar uzanır [52, 59, 60]. Tübüller arası boşluk ve tübül lümeni arasında köprü hücreler görevini üstlenirler. Sertoli hücreleri mitotik aktivite göstermezler [52, 64]. Kötü koşullar ve yaralanmalar karşısında spermatogenik hücrelerden daha dirençlidirler [60]. Sertoli hücrelerinin üst ve yan hücre membranlarının sınırları düzensiz olup, gelişmekte olan spermatogenik hücreler bu düzensiz aralıklardan lümene ulaşırlar. Işık mikroskopunda, spermatogenik seri hücrelerini çevreleyen çok sayıda yan uzantı sebebiyle Sertoli hücrelerinin sınırları iyi belirlenemez ve bu yüzden soluk renkli görülürler [59, 60].

Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda bu hücrelerin çok sayıda granülsüz endoplazmik retikulum, az miktarda granüllü endoplazmik retikulum, iyi gelişmiş Golgi kompleksi, çok sayıda yuvarlak ve uzun mitokondriyonlar, primer ve sekonder lizozomlar, çok sayıda mikrotübül, lipit damlacıkları, kesecikler, glikojen granülleri ve filamentler içerdiği bildirilmiştir. Hücelerde bulunan bu filamentlerin uzunluğu 7-9 nm olup, kılıflar içerisinde yer almakta ve çekirdeğin etrafını sararak, çekirdeği diğer stoplazmik organellerden ayırmaktadır.

Sertoli hücrelerinin oldukça iri ve sıklıkla üçgen biçiminde uzamış ve bazale yerleşik çekirdekleri vardır ve çekirdeklerindeki heterokromatin miktarı azdır. Çekirdekçikleri ise belirgin ve merkeze yerleşik haldedir. Bu hücrelerin çekirdekleri oldukça aktif olduğu için, az miktarda olan heterokromatin içeriği nedeniyle çekirdekleri açık renkli görülür [52, 58-60]. Ayrıca, Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarının bazal bölgelerinde Charcot-Böttcher

inkluzyonları olarak adlandırılan protein yapısındaki kristalloid cisimcikler gözlemlenebilmektedir. Bu ince ve mekik şeklindeki kristalloidler, 10-25 µm uzunluğunda ve yaklaşık 1 µm genişliğindedir ama kristalloidlerin görevi ve kimyasal bileşimleri henüz bilinmemektedir [52, 58, 61].

Yan yana bulunan Sertoli hücreleri, hücrenin alt yan yüzlerinde (bazolateral) bulunan engelleyici özellikteki sıkı bağlantı birimleri ile birbirlerine bağlanarak kan-testis bariyerini meydana getirirler. Böylece seminifer tübül lümenini çepeçevre saran kesintisiz bir hücre tabakası oluşmuş olur. Aynı zamanda bu yapı seminifer epiteli alt kısmı bazal, üst kısmı da adluminal bölüm olacak şekilde iki bölüme ayırır. Bu iki bölme spermatogenezis için bir mikroçevre sağlarlar. Spermatogoniyumlar, bu bariyerin altında yer alan bazal kompartmanda yerleşim gösterirler. Spermatogenezis sırasında spermatogenik hücreler bu bağlantılardan geçerek bazal bölümden adluminal bölüme çıkarlar.

Spermatidlerin kuyrukları geliştikçe başlarını Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazma çıkıntıları arasına sokarak gelişirler. Bu evrede kuyrukları lümende yüzer. Spermiyumlar olgunlaşınca Sertoli hücrelerinden ayrılıp lümende serbestleşirler. Sertoli hücrelerinin yan yüzlerinde ayrıca oluklu bağlantılar (gap junction) da bulunur, bu yolla hücrelerin iyonik ve kimyasal alışverişi sağlanır [59, 60].

Sertoli hücrelerinin birçok önemli işlevi bulunmaktadır. Bunlar;

1. Gelişmekte olan spermatogenik hücrelerin desteklenmesi, korunması ve beslenmesini sağlamak,
2. Spermiyogenezisin sonunda, spermatidler tarafından atılan fazla hücre kısımlarını lizozomlar aracılığı ile fagosite etmek ve sindirmek,
3. Olgun spermiyumların aktin-aracılı kasılmalarla, spermiyasyon denilen süreçte, seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaştırmak,
4. Seminifer tübül lümenine genital kanallar yönünde akan ve spermilerin taşınması için kullanılan protein ve iyondan zengin sıvı salgılamak,
5. Folikülü Uyarıcı Hormon (FSH) ve testosteron denetimi altında, seminifer tübül içinde spermatogenezis için gerekli olan testosteronun yoğunlaştırılmasını sağlayan Androjen-bağlayıcı protein salgılamak (ABP),

6. Hipofiz bezi ön lobundan FSH sentezini ve salınmasını baskılayan inhibin adı verilen bir peptid salgılamak,
7. Embriyonik gelişme sırasında erkek fötusta Müller (paramezonefrik) kanalların gerilemesini sağlayan glikoprotein yapıda Anti-Müllerian hormonu (Müller kanalını baskılayıcı hormon) sentezlemek,
8. Kan-testis bariyeri ile spermatosit/spermatidlerin otoimmün yanıtıdan korunmasını sağlamak,
9. Serum transferrin'den demiri alarak olgunlaşma sürecindeki gametlere ileten testiküler transferrin'in sentezini ve salgılanmasını sağlamak [58, 59].

Spermatogenezdeki seriyi oluşturan hücreler veya spermatogenik seri hücreleri

Spermatogenik seri hücreleri 4-8 tabaka şeklinde düzenlenmiştir. Bu hücrelerin işlevleri spermatozoonları üretmektir. Spermatozoon üretimine spermatogenezis denilmektedir. Bu süreç, mitoz ve mayoz hücre bölünmeleri içerir ve hücreler sonunda spermatozoidlere farklılaşır; bu safha da spermiyogenez olarak adlandırılır [63].

Seminifer tübül duvarını döşeyen epiteldeki hücrelerin çoğunluğunu bu tip hücreler oluşturur. İlkel germ hücresi olan Spermatogoniyumun, olgun üreme hücresi olan spermatozoon (spermiyum) halini alıncaya değin geçirdiği üretim süreci olan spermatogenezisin tüm safhaları, spermatogenik hücre katmanlarında meydana gelir. Hücreler olgunlaştıkça bazaldan lümene doğru yer değiştirirler ve lümene yaklaştıkça olgunlaşırlar. Seminifer tübül duvarındaki epitelde spermatogenik seri hücreleri incelendiğinde bazaldan lümene doğru dört hücre tipi gözlenmektedir [59, 60, 64].

Spermatogoniyum (Spermatogonium)

Spermatogoniyumlar bazal kompartmanda bazal lamina ile direkt ilişkide olan yaklaşık 12 µm çapında, diploid (2n) spermatogenik hücrelerdir. Diğer seri hücrelerine göre daha küçük hücrelerdir [59]. Sertoli hücrelerince çevrelenmişlerdir [58, 64]. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların (tıkayıcı - tight junction) altında yerleşim gösterirler ve bu nedenle kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar [58, 62, 64].

Spermatogoniyumlar spermatogoniyal kök hücreden köken alırlar ve pubertede başlayan testosteronun etkisiyle başarılı mitotik hücre bölünmeleri geçirirler. Üç temel morfolojik spermatogoniyal hücre tipi gözlemlenebilir [58].

Koyu A tipi Spermatogoniyum, morfolojik olarak küçük ve kubbe şeklinde hücreler olup, çekirdekleri oval ve heterokromatiktir. Seminifer epitelin kök hücresi olduğu sanılmaktadır. Hücre döngüsüne katılmazlar ve depo olarak görev yaparlar. Mitozla bölünüp, çoğalarak yeni koyu ve açık A tipi spermatogoniyumları meydana getirirler [52, 58].

Açık A tipi Spermatogoniyum, bu tip spermatogoniyumların çekirdekleri ökromatik olup, çekirdekçikleri çok belirgin haldedir. Mitokondriyonlar, az sayıda Golgi kompleksi, birkaç granüllü endoplazmik retikulum tubulusu ve ribozom içerikleri vardır. Testosteronun etkisiyle mitotik aktivite göstererek çoğalırlar ve B tipi Spermatogoniyumları meydana getirirler. Bu hücreler B tipine dönüşmeden önce sırasıyla A1, A2, A3, A4 ve daha sonra ara Spermatogoniyumları oluştururlar [52, 58].

B tipi Spermatogoniyum, merkezi yerleşimli, küre biçiminde çekirdeklere sahiptirler ve mitoz bölünmeler geçirerek primer spermatositleri meydana getirirler [52, 58].

Spermatositler

B tipi spermatogoniyumların mitoz bölünme geçirmesi sonucu primer spermatositlere farklılaşırlar. Farklılaşmadan kısa bir süre sonra ve mayoz bölünme safhasına girmeden önce son S evresinde DNA sentezi yaparlar. Böylece primer spermatositler, 46 kromozom (44+XY) ve 4n DNA içeriğine sahip olurlar [52, 59].

Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayoz bölünmenin profazına girerler. Bu evrede leptoten, zigoten, pakiten ve diploten fazlarını geçerek diyakinez evresine ulaşırlar ve krossing-over'dan sonra kromozomlar ayrılır. Daha sonra hücreler metafaz evresine girerler. Anafazda kromozomlar hücrenin karşıt kutuplarına çekilirler. Bu bölünmenin profaz aşaması yaklaşık 22 günlük bir süreç aldığı için, kesitlerde görülen spermatositlerin çoğu bu aşamada gözlemlenir [52, 59]. Primer spermatositler, spermatogenik serinin en büyük hücreleridir ve çekirdeklerindeki sinaptonemal kompleksin varlığı ile karakterizedirler [59].

Birinci mayoz bölünmeden sonra sekonder spermatosit olarak adlandırılan yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler oluşur [59]. Kromozomlardaki bu sayıya azalmaya (46'dan 23'e) her hücredeki DNA miktarının eksilmesi (4N'den 2N'ye) eşlik eder. Testis kesitlerinde, sekonder spermatositlerin izlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve hızlıca ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir.

Sekonder spermatositlerin bölünmesi sonucu 23 kromozomlu iki spermatid hücresi meydana gelir. Spermatositlerde birinci ve ikinci mayoz bölünmeler arasında S fazı (DNA sentezi) görülmediği için, ikinci bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid (n) hücreler meydana gelir. Böylece, mayoz bölünme sürecinin sonunda haploid sayıda kromozom içeren hücreler oluşur. Döllenmeyle bunlar tekrardan normal diploid sayıya dönerler [59, 62].

Birinci mayoz bölünme uzun, ikinci mayoz bölünme ise çok kısa (dakikalar) olduğu için, primer spermatositler seminifer tübüllerde en çok gözlemlenen hücre tipidir [62].

Spermatidler

Spermatidler yaklaşık 7-8 µm çapında, küçük, yuvarlak şekilli ve haploid sayıda kromozom içeriğine sahip hücrelerdir. Yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren çekirdekleri ile karakterizedirler. Seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanda yerleşmişlerdir. Spermatidler, Sertoli hücre sitoplazma kriptaları (çukurcukları) içinde gömülü haldedirler [62]. Bu hücrelerin çok sayıda granüllü endoplazmik retikulumu, mitokondriyonları, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve bir çift sentriyolleri vardır [58, 59].

Spermatidler, spermiyogenezis adı verilen oldukça farklılaşmış bir hücre işlemi geçirirler. Spermiyogenezis, spermatozoon üretiminin son aşamasıdır ve spermatidlerin, son derece özelleşmiş hücreler olan spermiyuma dönüşmesi sürecidir. Spermatid'in, olgun spermiyum haline (spermatozoona) dönüştüğü bu süreci, spermiyogenezi dört ana olay karakterize eder [52, 58].

Bunlar, spermatidlerin özel bağlantılarla Sertoli hücre membranına fiziksel olarak bağlandığında oluşur [52].

Golgi evresi

Spermatidlerin Granüllü endoplazmik retikulumda üretilen hidrolitik enzimler, Golgi kompleksinde birikerek glikoproteinden zengin ve PAS-pozitif yapıdaki proakrozomal granülleri oluştururlar. Daha sonra bu granüller birleşirler ve membranla sınırlı bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granül şeklinde yoğunlaşırlar. Akrozomal kese spermiyumun ön kutbunu belirler, bunun karşı kutbuna da sentriyoller yerleşir ve spermiyumun kuyruğunun şekillenmesi sürecini başlatır [58, 59].

Şapka evresi

Akrozomal vezikül, yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılarak çekirdek zarına tutunan bir şapka oluşturur. Akrozomal şapkanın altında yer alan çekirdek kılıfı porlarını yitirerek kalınlaşır ve çekirdek içeriği yoğunlaşır [52, 58, 59].

Akrozomal evre

Çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılan akrozomal vezikül ve granül artık akrozom olarak adlandırılır. Akrozom hyaluronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz, proteaz gibi hidrolitik enzimleri içerdiğinden dolayı özelleşmiş lizozom işlevine sahiptir [59].

Yine bu evrede, çekirdek uzar ve yoğunlaşır. Bu olay mikrotübüllerden oluşan manşet olarak adlandırılan silindir benzeri bir yapıyla kolaylaştırılır. Sentriyollerden hücre yüzeyine dik duran, spermiyumun kuyruğunu yapacak bir flagellum oluşturur. Sitoplazma, flagellum çevresinde hareket edip onu çevreler. Mitokondriyonlar, kuyruğun başlangıç bölümü çevresinde spiral olarak yerleşip spermiyumun gövdesini yaparlar ve hareket için gerekli olan enerjiyi sağlarlar [52, 60].

Olgunlaşma (matürasyon) evresi

Spermiyum olgunlaşıp kuyruklu hale gelince, Sertoli hücresinden ayrılarak, seminifer tübül lümenine salınır. Bu olgunlaşma sürecinden geri kalan sitoplazma artıkları ise Sertoli hücrelerince fagosite edilir [59, 60].

Spermatozoon (olgun spermiyum)

Olgun germ hücreleridir ve insanlarda spermatagoniumlardan spermiyum oluşma süresi yaklaşık 64 gündür. Ortalama 60-65 µm uzunluğunda olan olgun spermiyum, baş ve kuyruk olarak iki ana kısımdan meydana gelir [52, 58-60].

Baş (caput)

Spermiyumun akrozomla sarılmış çekirdekten (nucleus) oluşan, yaklaşık 4.5-5 µm uzunluğunda, 3 µm genişliğinde ve 1 µm kalınlığındaki bölümdür [52, 58]. Çekirdek yassılaştırmıştır ve yoğun bir yapı sergiler. Çekirdeğin ön yarısını akrozom örter ve lizozomlarda bulunan hidrolitik enzimlerden proteazlar, asit fosfatazlar, hyalüronidaz ve yanı sıra nöraminidaz içeriğine sahiptir. Bu akrozomal enzimler, oositi saran korona radyata hücrelerini ayırır ve zona pellusida'yı eritir ve oosite spermiyum girişini kolaylaştırmak için döllenme anında salınır [62].

Kuyruk (flagellum)

Boyun, orta, esas ve son parçalar olarak dört bölümde incelenir.

Boyun, yaklaşık 5 µm uzunluğunda, çekirdeğe tutunmuş proksimal sentriyol ve aksoneme kaynaklık eden distal sentriyolü bulunduran dar bir parçadır.

Orta parça, ise yaklaşık 5 µm uzunluğundadır ve boyun ile esas parça arasında yer alır. 9+2 mikrotübül yapısında filajellum'dan oluşur. Çevresinde spiral mitokondriyon halkası ve bu parçada filajellum çevresinde ayrıca kuyruk sonuna doğru incelerek kaybolan dokuz tek kalın fibril de yer alır.

Esas parça da yaklaşık 45 µm uzunluğunda, kuyruğun en uzun kısmıdır. Annulus olarak adlandırılan mitokondriyon sarmalın son dönümünün altında yoğun bir halka olan son halkadan itibaren başlar ama mitokondriyon sarmalı içermez. Yedi dış yoğun lifle sarılı merkezi aksonem ve fibröz bir kılıftan oluşur. Hem dış yoğun lifler ve hem de fibröz kılıf, spermiyumun öne hareketi anında yapısındaki mikrotübüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturur.

Son parça, yaklaşık 5 µm uzunluktadır. Dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın erken sonlanması nedeniyle sadece aksonem içeren, kuyruğun en kısa bölümüdür [52, 58, 62].

2.3.4. İnterstisyel doku

Testisin interstisyel dokusu, androjen üretimi açısından önemlidir [59]. Testislerde, seminifer tübüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, kan ve lenf damarlarıyla doldurulmuştur. Testiküler kapillerleri pencere tiptedir ve kan proteinleri gibi büyük moleküllerin geçişine imkân verir. İnterstisyel bağ dokusu fibroblastlar, farklılaşmış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar gibi çeşitli tipte hücreler barındırır. Bu hücrelere ek olarak puberte ile birlikte işlevsel olarak belirgin hale gelen ve Leydig hücreleri veya interstisyel hücreler denilen bir hücre grubu da görülmeye başlar [59]. Testiste bu bölüm stromayı oluşturur.

Leydig hücreleri

Kapillerlere komşu olan Leydig hücreleri, tek, tek veya gruplar halinde bulunabilirler. Hücre şekli yuvarlak ya da poligonal olup, yaklaşık 15 µm çapındadır. Merkezi bir çekirdek ile küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik bir sitoplazmaya sahiptir [52, 58, 59]. Çekirdek ökromatiktir ve 1-2 çekirdekçisi vardır [60].

Leydig hücreleri, sekonder seks karakterlerinin ortaya çıkmasını sağlayan testosteron hormonunun üretiminden sorumludur. Testosteron sentezi mitokondriyon ve granülsüz endoplazma retikulumunda bulunan enzimler vasıtasıyla gerçekleştirilir. Bundan dolayı da steroid salgılayan hücrelerde olduğu gibi iyi gelişmiş granülsüz endoplazma retikulumu, iyi gelişmiş Golgi kompleksi, lizozomlar, çok sayıda küçük lipid damlacıkları, tübüler kristal mitokondriyonları vardır [59]. Sitoplazmalarında ayrıca çok sayıda küçük lipid damlacıkları vardır ancak testosteron sentezlendikten sonra hemen salgılandığı için, salgılayıcı vezikül bulundurmazlar. Lizozom ve peroksizomlar da sahiptirler fakat ileriki yaşlarda lipokrom (lipofuskin) pigmenti biçiminde gözlemlenirler. Sitoplazmaları ayrıca Reinke kristallerini olarak adlandırılan kristalize yapıdaki proteinler de içerir [52, 58].

Bu hücreler salgıladıkları testosteron hormonu (toplam testosteronun %95'ini üretir, geri kalan %5 böbrek üstü bezinin korteksinde üretilir) ile spermatogenezisi sürdürür. Üretilen

testosteron doğrudan kana verilir [63]. İnterstisyel hücrelerin hem işlevsellikleri ve hem de dokudaki sayıları hormonal uyarılara bağlıdır [59].

İnsanda embriyo döneminde plasentadan üretilen gonadotropik hormon, maternal kandan fötuse geçer ve androjenik hormonları üreten fetal testiküler interstisyel hücreleri uyarır. Erkek genital organlarının embriyonik farklılaşması testosteron hormonunun varlığına bağlıdır. Bundan dolayı fetal Leydig hücreleri gebeliğin 8 ile 18. haftaları arasında oldukça aktiftirler fakat daha sonraki süreçlerde bu aktiflikleri sona ererek puberte öncesi döneme kadar inaktif duruma geçerler [52, 59].

2.3.5. Kan-testis bariyeri

İnterstisyel doku ile seminifer tübüller arasında yer alan kan-testis bariyeri, kan ve lenfatik yolla gelen maddelerin seminifer tübüller içerisine geçişini kontrol eden bir primer bariyer olarak görev yapar. Sertoli hücreleri, arasındaki sıkı bağlantılar kan testis bariyerini oluşturur ve seminifer epiteli bazal ve adluminal kompartmanlara ayırır. Testiküler kapillerler pencere tiptedir ve büyük moleküller aralıklardan kolayca geçebildikleri için Spermatogoniyumlar kanda bulunan maddelere kolayca erişebilirler. Ancak, kan-testis bariyeri, büyük moleküllerin Sertoli hücreleri arasındaki boşluğa geçmesini engeller. Böylece spermatogenezin daha ileri aşamalarındaki germ hücreleri, kandaki zararlı maddelere karşı korunmuş olur [58, 59].

2.4. Testis Fizyolojisi

Testis ekzokrin ve endokrin fonksiyonları olan bileşik-tübüler bir bezdir. Ekzokrin işlevi seminifer tübüllerde spermiyogenezis ile spermiyumları üretmektir. Endokrin işlevi ise androjenler olarak tanımlanan erkeklik hormonlarını salgılamaktır.

2.4.1. Spermatogenezis

Embriyonun gelişimi sırasında, primordiyal germ hücreleri testise göç eder ve seminifer tübüllerin iç yüzeylerinin iki ya da üç tabakasında yerleşmiş Spermatogoniyum adı verilen olgunlaşmamış germ hücrelerine ayrılırlar. Bu hücrelerin işlevleri, spermatozoonları üretmektir. Spermatozoon üretimine spermatogenezis denilmektedir. Spermatogoniyumlar, puberteden itibaren mitoz bölünme geçirirler ve sürekli olarak proliferasyon ve değişim

göstererek, sperm yapımı için tüm gelişim basamaklarından geçerler. Hücreler sonunda spermatozoidlere farklılaşırlar ve bu safha da spermiyogenezis olarak adlandırılır [63, 65]. Spermatogenezis sürecinin tamamı yani spermatogoniyumdan sperme dönüşüm yaklaşık olarak 64 gün sürer [45].

Spermatogenezis, aktif seks yaşamı süresince ön hipofiz gonadotropik hormonlarının uyarısı sonucunda, seminifer tübüllerde gerçekleşir ve yaklaşık 13 yaşında başlayıp, ileri yaşlarda belirgin şekilde azalarak, yaşam boyu devam eder [65].

Spermatogenezisi uyaran hormonal faktörler

Spermatojenezde kesin etkinliği olan hormonlardan bazılarını şöyle sıralayabiliriz:

Testosteron, testislerde interstisyumda yerleşim gösteren Leydig hücrelerinden salgılanır. Sperm yapımında testisin germinal hücrelerinin bölünme ve gelişmeleri için gereklidir.

Luteinizan hormon (LH), ön hipofiz bezinden salgılanarak, Leydig hücrelerini uyarak, testosteron salgılanmasını sağlar.

Folikül uyarıcı hormon (FSH) da ön hipofiz bezinden salgılanır. Sertoli hücrelerini uyarır. Bu uyarı olmaksızın spermatidlerin spermilere dönüşümü (spermiyogenezis olayı) olanaksızdır.

Östrojenler, follikül uyarıcı hormon (FSH) ile uyarılan Sertoli hücrelerinde testosterondan yapılır. Muhtemelen spermiyogenezis için gereklidirler.

Büyüme hormonu (ve diğer pek çok hormon), testislerin temel metabolik işlevlerinin kontrolü için gereklidir. Büyüme hormonu, özellikle Spermatogoniyumların erken bölünmesini hızlandırır. Hipofize bağlı cücelikte olduğu gibi, hormonun yokluğunda spermatogenezis ciddi boyutlarda yetmezlik gösterir ve infertiliteye neden olur [65].

2.4.2. Testosteron ve diğer erkek cinsiyet hormonları

Erkek seks hormonlarının salgısı, kimyası ve metabolizması

Testosteronun salgılanması

Testisler, testosteron, dihidrotestosteron (DHT), androstenedion gibi genelde androjenler adıyla tanımlanan pek çok erkeğe ait cinsiyet hormonlarını salgırlar. Testosteron, diğer androjenlere göre daha fazla miktarda bulunduğundan en önemli testis hormonudur. Ancak, testosteronun çoğu olmasa bile büyük bir kısmı, hedef dokularda daha aktif olan dihidrotestosterona çevrilir [65, 66].

Testosteron, interstisyel Leydig hücreleri tarafından üretilir. Bu hücreler, seminifer tübüller arasındaki interstisyel bölgede bulunurlar ve erişkin testis kütlelerinin %20'sini meydana getirirler. Leydig hücreleri testislerin testosteron salgılamadığı çocukluk evresinde hemen hemen hiç saptanmazken, yeni doğan erkek çocukta yaşamın ilk birkaç ayında ve puberte sonrası erişkin dönemde aktif hale geçerek bol miktarda testosteron üretirler [65, 66].

Diğer androjenler

Maskülinize etkileri olan steroidleri tanımlamak için "Androjen" terimi kullanılır. Testosteronun kendisi ve testisler dışında vücudun farklı bölgelerinde de üretilen erkek seks hormonları için de bu terim kullanılır. Örneğin, böbrek üstü bezleri en az beş farklı androjen salgırlar. Böbrek üstü bezleri korteksi tarafından üretilen androjenler kanda oldukça büyük miktarlarda olmasına rağmen testosteron kadar etkili değildir. Testosteron salgısı çeşitli nedenlerle azalırsa, böbreküstü korteksinden salgılanan androjenler testosterona bağlı fonksiyonlarını devam ettiremezler [65].

Androjenlerin kimyası

Testosteron dihidrotestosteronun ve androjenlerin tümü steroid yapılı bileşiklerdir. Androjenler, hem testislerde hem de adrenal bezlerde kolesterolden veya doğrudan asetil koenzim A'dan sentezlenirler [65, 66].

Testosteron metabolizması

Erkeklerde testosteronun % 95'i testislerde, % 5'ise adrenal kortekste sentezlenir. Erkeklerde testosteronun plazma derişimi kadınlarınkinden 15 kat fazladır ancak yaşlanmayla birlikte azalır. Testislerde Leydig hücrelerinden salgılandıktan sonra, testosteronun yaklaşık %97'si zayıf bağlarla plazma albumini ya da daha sıkı bir şekilde, seks hormonu bağlayan globülin [Sex Hormone Binding Globulin (SHBG)] olarak adlandırılan bir beta-globülinle bağlanırlar. Bağlı hormonun dolaşım sisteminde kalış süresi 30 dakika, 1 saat bazen de daha uzun olabilir. Bu sürenin sonunda, testosteron ya dokulara transfer edilir ya da inaktif ürünlere dönüşerek vücuttan atılır. Dokulara transfer edilen testosteronun çoğunluğu hücre içinde dihidrotestosterona çevrilir. Bu olayın gerçekleştiği hedef organlar erişkinlerde, özellikle prostat bezi, erkek fetusta dış genital organlardır. Testosteronun bazı etkileri göstermesi bu dönüşümün yapılmasına bağlı iken diğer etkilerde bu değişim bir rol oynamaz [65, 67].

Testosteron etkisinin temel hücreiçi mekanizması

Testosteronun temel etkisi, hedef hücrelerde protein sentezi hızını arttırmaktır. Testosteron salgılandıktan birkaç dakika sonra diğer steroid hormonlar gibi hücre zarını kolaylıkla geçerek hücre içine girer, hücre içinde 5α -redüktaz enziminin etkisi altında dehidrotestosterona dönüşür ve sitoplazmik "reseptör proteinine" bağlanır. Reseptör-hormon kompleksi daha sonra çekirdeğe girer ve çekirdekteki regülatör proteinlere bağlanarak DNA-RNA transkripsiyon işlemini indükler. RNA polimeraz aktifleşir ve hedef hücrelerde RNA konsantrasyonu artmaya başlar. Bu olayı, hücre protein artışı izler. Birkaç gün sonra, dokudaki DNA miktarının artışı sonucunda, aynı anda doku hücrelerinin sayısında artış gözlenir. Böylece, testosteron genelde vücudun her yerinde protein yapımını büyük oranda artırmaktadır. Ancak bu artış daha özgün olarak ikincil seks özelliklerinin gelişmesinde görevi olan "hedef" organ ve dokularda görülmektedir. Örneğin, testosteron prostat bezlerinden salgı artışını sağlayan enzimlerin sentezini uyarır [65, 68].

Testosteronun yıkımı ve atılması

Dokularda hücre içine girmeyen testosteron, karaciğerde başlıca androsteron ve dehidroepiandrosterona dönüştürülür. Aynı anda, her iki yapı glukuronidlerle veya

sülfatlarla (özellikle glukuronidlerle) birleşerek bağlı hale getirilir. Bunlar da, safra içinde sindirim kanalından ya da idrarla böbreklerden vücut dışına atılırlar [65, 68].

Testosteronun işlevleri

İnsanlarda birincil ve ikincil seks karakterlerinin ortaya çıkması testosterona bağlıdır. fetal yaşam sürecinde, testisler plasentada oluşan koryonik gonadropinlerle uyarılarak, orta düzeyde testosteron üretilir. Bu hormon fetal gelişim döneminde ve hatta doğumdan sonrasında, çocukluk döneminde yaklaşık 10-13 yaşına kadar testosteron üretimi olmaz. Daha sonra, puberte safhasında ön hipofiz gonadotropik hormonlarının uyarısıyla testosteron yapımı hızla artarken, 50 yaşından sonra hızla düşmeye başlar ve 80 yaşında en üst düzeyin %20-50'sine kadar iner [65].

Fötal gelişim sürecinde testosteronun işlevleri

Testosteron, erkek fetus testislerinde, embriyonik hayatın yaklaşık 7. haftasında yükselmeye başlar. Erkek ve kadın seks kromozomu arasındaki en önemli işlevsel farklılık, erkek kromozomunun gelişmekte olan genital plaktan testosteron, kadın kromozomunun ise östrojenlerin salgılanmasını sağlamasıdır. Bu nedenle, ilk önceleri genital plaktan, daha sonra fetal testislerden salgılanan testosteron hormonu erkek vücut özelliklerinin gelişmesinden sorumludur. Böylece vajina ve klitoris yerine penis ve skrotum oluşur. Aynı şekilde, prostat bezi, seminal veziküller, erkek genital kanallarının gelişimini kolaylaştırırken, bunun yanında, dişi genital organlarının baskılanmasına neden olur [45, 65, 66].

Bununla birlikte testisler, genellikle gebeliğin son 2-3 ayında yeterli düzeyde testosteron üretildiği takdirde skrotuma inerler. Yine, yeni doğmuş çocuğun testislerinde Leydig hücrelerini uyaran gonadotropik hormonların uygulanması durumunda da testisler testosteron salgırlar ve bu da testislerin inmesini sağlayacak etki oluşturabilir [65].

Testosteronun erişkinde birincil ve ikincil seks özelliklerinin gelişmesine etkisi

Puberte sonrasında, testosteron üretiminin yeniden başlaması ile penis, skrotum ve testislerde 20 yaşından önce yaklaşık sekiz kat kadar büyüme gözlemlenir. Buna ek olarak, testosteron sekonder seks karakterlerini geliştirir. Bu olay, puberteden itibaren başlar ve

olgunluk döneminin sonuna kadar sürer. İkincil seks karakterlerini, genital organlara ek olarak erkekle kadının ayrımında etkilidir.

Testosteronun en önemli etkileri, erkek farklılaşması, spermatogenesis ve spermin gelişmesi, genital organların, prostattın ve vezikula seminalisin işlevleri üzerinedir. Spermatogenezis için yeterli miktarda testosteron gereklidir ve sterilite testosteronun geri dönüşümsüz olarak ortadan kalkması sonucunda oluşur. Testosteronun spermatogenezisi uyarıcı etkisi doğrudan salgılandığı Leydig hücrelerinden diffüzyonla spermatogonialara ulaşarak olur.

Testosteron ayrıca ergenlik döneminde belirginleşen ikincil cinsiyet özelliklerinin (ses kalınlaşması, fiziksel gelişim, kıllanma, akne, deri kalınlığında artış) ortaya çıkmasını da sağlar. Ayrıca testosteron erkekte cinsel istek (libido), üreme kapasitesi ve cinsel birleşme kapasitesi (potentia coeundi) içinde gereklidir. Testosteron ayrıca hematopoezisi uyarır, kemik büyümesini, kalsiyum depolanmasını, bazal metabolizmayı artırır ve protein yapımını artırma, erkeklerde kas kitlesinin artmasını sağlama gibi anabolik özelliklere de sahiptir. Bunlara ek olarak merkezi sinir sistemini de etkileyerek örneğin saldırganlığa yol açar [65-68].

Erkekte östrojen üretimi

Erkekte, testostere ek olarak, az miktarda östrojen de üretilmektedir (gebe olmayan bir kadındaki miktarın yaklaşık beşte biri kadar). Erkek idrarında ölçülebilir miktarlarda östrojenler bulunabilir. Fakat erkekte östrojenlerin gerçek kaynağı hakkında şüpheler mevcuttur. Östrojenin, Sertoli hücrelerinde testosteronun östradiole dönüştürülmesiyle oluşturulduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, vücudun diğer dokularında, özellikle karaciğerde çok daha büyük miktarlarda östrojen, testosteron ve androstanediol'den oluşturulur. Bu organlarda sentezlenen östrojenler, erkekte yapılan toplam östrojenin %80 kadarını oluşturur. Östradiol erkekte ejakülat oluşumunu, epifiz kıkırdakları, hipotalamik ve hipofizer aktivite gibi birçok işlevi etkilemektedir [65, 67].

2.4.3. Erkek cinsel işlevlerinin hormonal kontrolü

Üreme işlevleri her iki cinsiyette hipotalamustaki nöroendokrin hücreleri salınan Gonadotropin serbestleştirici hormon'un (GnRH) etkisi ile hipofiz ön lobundan (adeno hypophysis) salınan gonadotropinler olarak bilinen folikül uyarıcı hormon (FSH) ve Luteinizan hormon (LH) tarafından kontrol edilmektedir.

GnRH, hipotalamus-hipofiz portal sistemi kan yoluyla ön hipofize taşınır ve LH ve FSH'nın salgılanmasını uyarır. Eğer hipotalamustan GnRH sekresyonu olmazsa, hipofiz bezinden LH ya da FSH hemen hemen hiç salgılanmaz [65, 66].

GnRH aralıklı olarak 1-3 saatte bir, birkaç dakika süreyle pulsatil olarak salgılanır. Ön hipofizden LH salgılanması da döngüler halindedir ve tamamen salgılan GnRH'a bağlı olarak kana verilir. Fakat FSH salgısı GnRH'daki uzun süreli değişimlere karşın, FSH birkaç saatten fazla bir dönem sonunda çok yavaş yanıt verir [65, 66].

LH ve FSH hormonları, dişilerde etkili oldukları organa göre isimlendirilmişlerdir. Moleküler yapıları glikoprotein yapısındadır ve her iki cinsiyette aynıdır [65]. LH erkekte, genellikle intersellüler hücre uyarıcı edici hormon (ICSH veya ISUH) olarak isimlendirilir [68]. Erkekte FSH ve LH'nın etkileri sadece testisler üzerine olur. FSH ve LH testislerdeki hedef dokular üzerinde siklik adenoazin monofostat ikinci haberci sistemini aktive ederler. Bu sistem daha sonra hedef hücrelerdeki özgül enzim sistemlerinin aktive olmasını sağlar. LH, testislerden testosteron salgılanması için başlıca uyarandır. FSH ise, özellikle spermatogenezisi uyarır [65, 66, 68].

Testislerin interstisyel Leydig hücreleri'nden testosteron serbestlenmesi, yalnızca hipofiz bezinden salgılanan LH'nın uyarısı ile gerçekleşir [65]. LH uyarısı ile testislerden serbestlenen testosteron hormonu, kan yoluyla taşınarak, hipotalamusa ve ön hipofize etki eder. Sonuç olarak GnRH ve LH salgısını baskılar. Böylece, testosteron salgısının miktarının her çok fazla artışında, otomatik olarak negatif geribildirim etkisiyle hipotalamusun ve ön hipofizin salgısı azaltılarak testosteron sekresyonu baskılanır ve hormon düzeyi normale getirilir. Ayrıca, östradiol de LH ve GnRH salgılanmasını baskılar [65, 67]. Testosteronun spermatogenezisi uyarıcı etkisi doğrudan salgılandığı Leydig hücrelerinden diffüzyonla spermatogonialara ulaşarak olur. Peritübüler dokuya ulaşan testosteron ABP yardımı

olmadan sperm yapımını uyaramadığından dolayı FSH'nin etkisi ile Sertoli hücrelerinden salınan androjen bağlayıcı proteine (ABP) ihtiyaç duyar. Testosteron ABP bağlanarak seminifer tübül lümenine ulaşır. Buna ek olarak FSH, Sertoli hücrelerinde inhibin ve aktivin salgılanmasını ve Leydig hücrelerinde LH reseptörü yapımını da uyarır. FSH negatif geri bildirimi de testosteron, DHT, inhibin ve östradiyol tarafından çok fazla salgılandıklarında FSH salgısını baskılayarak gerçekleştirilir. Aktivinin fizyolojik işlevi henüz tanımlanmamıştır ancak FSH salgılanmasını baskılama işlevi vardır [67].

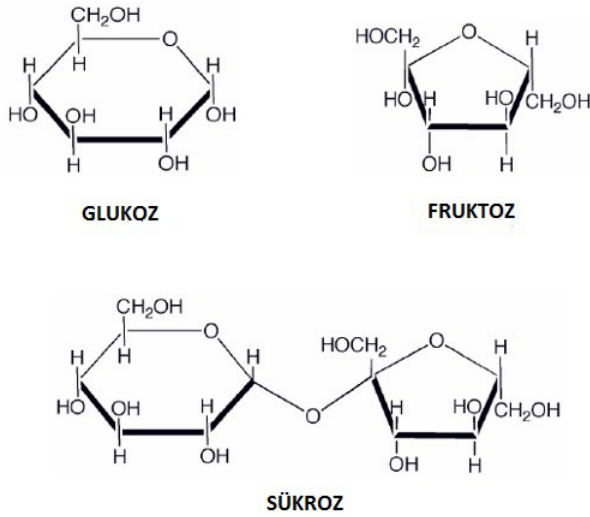
2.4.4. Erkek hipogonadizm

Erkek hipogonadizmi, testisler tarafından yeterli testosteron ve/veya sperm üretiminin yapılamaması durumudur. Hipogonadizmin nedenleri primer yani testisküler, sekonder yani hipotalamo-hipofizer aks kaynaklı olabilir. Hipogonadotropik hipogonadizm de hipotalamik veya hipofizer nedenlerle gonadotropik hormonlarda da yetersizlik meydana gelir. GnRH başta LH olmak üzere FSH'nin salınmasında önemli bir uyarıcıdır. GnRH hormonu birçok uyarıcı faktör etkisindedir [1].

2.5. Fruktoz

2.5.1. Fruktozun formülü ve genel özellikleri

Fruktoz, 6 karbona sahip (heksoz) bir polihidroksiketondur. Fruktoz, glukoz ile aynı kimyasal formüle ($C_6H_{12}O_6$) sahip olmasına karşın, yapısal olarak birbirlerinden farklılık gösterirler. Fruktoz 2. karbona bağlanmış bir keton grubu taşıyan 5 karbonlu halkaya sahip yapıdadır. Glukoz 6 karbonlu ilk karbondan aldehit grubu taşıyan bir yapıdadır [34]. Serbest olarak bulunabileceği gibi sükroz (sakkaroz, sofra şekeri) şeklinde disakkarit olarak da bulunur. Sükroz, 1 molekül glukoz ve 1 molekül fruktozun α -1,4 glikozit bağıyla bağlanmasıyla oluşmuştur [69].



Şekil 2.1. Glukoz, fruktoz ve sükrozun kimyasal yapıları [69].

Beyaz kristal bir katı görünüme sahip olan fruktoz, suda çok kolay çözünür ve oldukça tatlıdır. Bundan dolayı tatlandırıcı olarak kullanımı yaygındır.

2.5.2. Fruktozun diyetel kaynakları

Bitkilerdeki karbonhidratlar, glukoz, fruktoz, sükroz (fruktoz + glukoz) formunda bulunur. Meyve-sebzeler, bal ve özellikle şeker pancarı yüksek sükroz içeriklerinden dolayı diyetle alınan fruktozun en önemli doğal kaynaklarıdır. Sükroz kolay ve maliyeti düşük enzimatik yöntemlerle basit iki bileşene ayrılabilir. Gıda üretiminde teknolojinin kullanılmasının yaygınlaşması ile maliyet odaklı gıda üretimi benimsenmiştir. Bunun yansıması olarak da gerçekte birkaç yüzyıl öncesine kadar hiç diyetimizde olmayan birçok ürün yaygın şekilde kullanılmaya başlanmıştır.

Gıda sektöründe mısırdan elde edilen yüksek fruktozlu mısır şurubu maliyetinin düşük olması, pek çok ürünle kolayca karışabilmesi, güçlü bir tatlandırıcı olması ve doyma hissini geçiktirmesi gibi özelliklerinden dolayı hazır gıda üretiminde tercih edilmeye başlanmıştır. Böylece yüksek fruktozlu mısır şurubu modern diyetteki fruktozun en önemli kaynağı haline “gelmiştir. Yüksek fruktozlu mısır şurubu, gazlı içecekler başta olmak üzere tüm tatlandırılmış hazır içecekler (meyve suyu, soğuk çay, meyveli soda vb.), çikolata, kek, şekerleme türleri, konserve, reçel, marmelat ve diğer jöle türü yiyeceklerin üretiminde kullanılmaktadır [37, 70, 71].

Yüksek fruktozlu mısır şurubu, ticari kullanımı 1970 yılında Amerika da başlamıştır ve gıda sektöründe son 40 yıl içinde kullanımı hızlı bir şekilde artmıştır. İlk kullanıma başlandığı 1970'lerde kişi başı günlük tüketilen fruktoz miktarı 0,5 g'dan azken, 1997 yılına gelindiğinde yaklaşık 80 kat artışla 40 g'a yükselmiş ve total günlük karbonhidrat alımının %20'den daha fazlasını oluşturur hale gelmiştir. Günümüzde ise bu miktar 85-100 g'dır ve taze meyve- sebzelerden alınan doğal fruktoz miktarı ise bunun yalnızca 15 g'ını oluşturmaktadır. Fruktoz tüketiminin bu derece artmasının altında yatan önemli bir faktör, tadını fruktozdan alan yiyecek ve içeceklerin doyma hissini geciktirmesi ve ikincil acıkma hissini öne çekmesidir. Binlerce yıldır günde 16-20 g fruktoz tüketen, bunun da büyük kısmını sebze-meyvelerden karşılayan insanların bu yeni oluşan durumda sağlık açısından büyük bir tehlike içine girebilme ihtimali hayli yüksektir [35, 37, 70].

2.5.3. Fruktoz metabolizması

Diyetle alınan fruktoz ince bağırsaktaki absorpsiyonu kolaylaştırılmış difüzyonla, glukoz absorpsiyonu ise aktif transport yolu ile gerçekleşmektedir. Bu nedenle fruktoz glukozla kıyasla iki kat daha hızlı emilmektedir [34]. Fruktoz portal dolaşım ile hızla karaciğere gelir ve büyük bir miktarı hepatositler tarafından GLUT2 taşıyıcısıyla alınarak metabolize edilir. Ekstrahepatik özellikle de böbrek ve yağ dokularının fruktoz metabolizmasındaki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır fakat katkısının çok az olduğu düşünülmektedir. Budan dolayı da kandaki miktarları mikromolar düzeylerinde bulunmaktadır [34].

Fruktoz hücreye girdikten sonra fruktokinaz (ketoheksokinaz, KHK) tarafından fosforile edilir ve fruktoz-1-fosfat meydana gelir. Bu molekül, aldolaz B ile kırılarak dihidroksiaseton fosfat (DHAP) ve gliseraldehit'e dönüştürülür ve bunlar da daha ileri olarak glikolitik yolla metabolize edilebilirler [35, 72, 73].

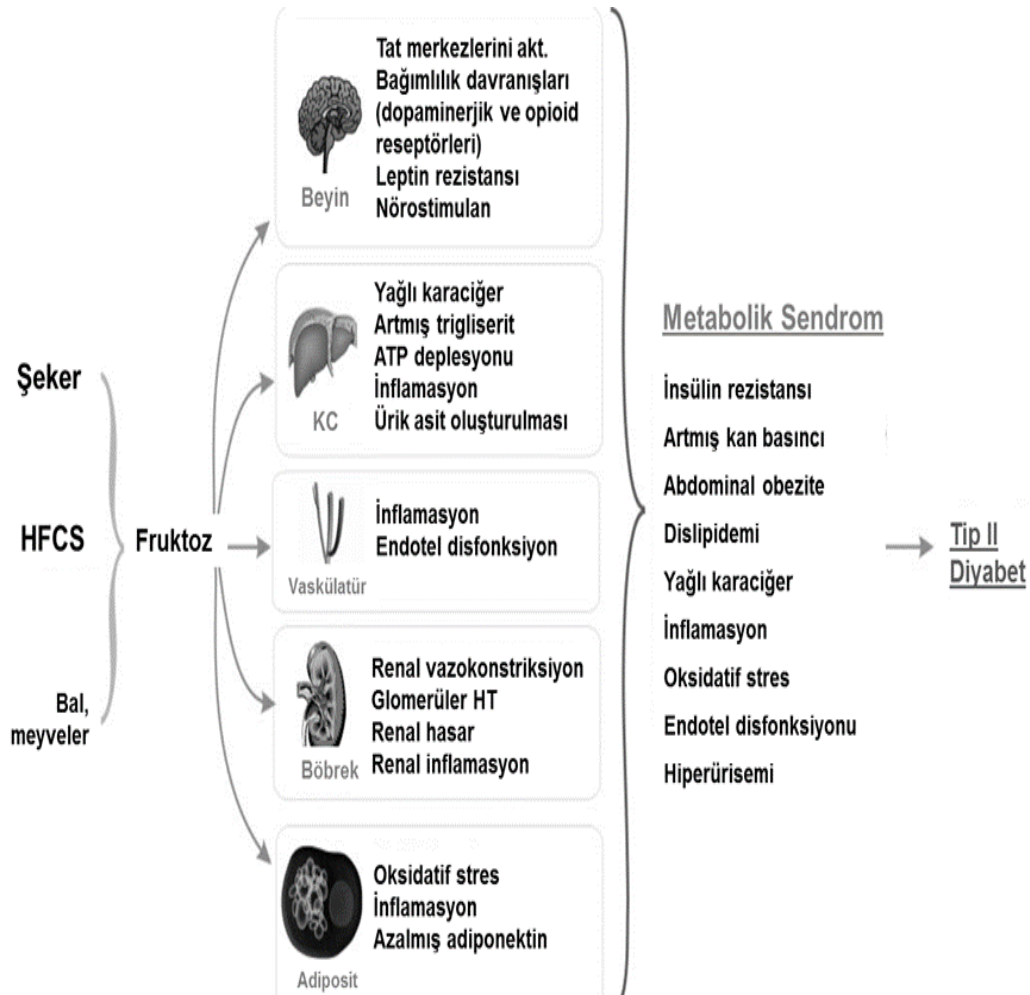
Fruktozun serum düzeyleri hem açlıkta hem de oral veya intavenöz fruktoz yüklemesinden sonra düşük olma eğilimindedir. Sağlıklı insanlarda açlıkta kan fruktoz konsantrasyonu tipik olarak 1 mg/dL veya daha azdır. Fruktoz ve glukozun glisemik indeksleri kıyaslandığında fruktozun 19-20 glukozun ise 100'dür yani fruktozdan beş kat daha yüksektir [35].

2.5.4. Fruktozun patofizyolojik etkileri

Diyet içeriği ile MetS arasında ilişkinin varlığına dair kanıtlar artmaktadır. Son zamanlarda diyet ile alınan fruktoz, obezite ve MetS'un diğer komponentlerine neden olan çevresel faktörlerden biri gibi görünmektedir [74].

Fruktoz, metabolizmayı etkiler ve canlı sistemlerde birçok potansiyel kötü etkiler oluşturur [35, 73].

Fruktozun çeşitli organlar üzerindeki etkilerinin bazıları Johnson ve arkadaşları tarafından özetlenmiştir (Şekil 2.2) [73, 75].



Şekil 2.2. Fruktozun çeşitli organ ve sistemlerine etkisi [35, 75] (HFCS: yüksek fruktozlu mısır şurubu, KC: Karaciğer; HT: Hipertansiyon)

2.5.4. Fruktozun metS ve bileşenleri ile ilişkisi

Yapılan çalışmalar MetS oluşumunda etkili olan insülin direnci, artmış açlık insülin konsantrasyonu ve glukoz intoleransı arasında bir ilişkinin varlığına işaret etmektedirler. Bu ilişkiye neden olan ana faktörün fruktoz ile beslenme sonucu yağ asidi konsantrasyonunda meydana gelen değişimlerdir. Esterleşmemiş yağ asitlerinin deneysel olarak kullanılması hem β hücre fonksiyonları üzerinde zararlı etkiye sahiptir ve hem de intramyosellüler lipid içeriğini arttırarak insülin direnci gelişimine neden olmaktadır. İnsülin direnci gelişenlerde yağ asitlerinin hücrede mitokondriyal oksidatif fosforilasyon kapasitesinde azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Oksidasyon kapasitesindeki azalma hücre içinde yağ asidi metabolitlerinin artmasına ve insülin sinyallerinin bozulmasına neden olur [9].

Deney hayvanları ile yapılan çalışmalar yüksek fruktoz diyetinin insülin direnci oluşturduğunu göstermiştir ve yüksek fruktoz tüketimi ile çeşitli MetS modelleri oluşturulabilmiştir. Bu modeller, farelerde hipertansiyon, hipertrigliseridemi, hiperinsülinemi ve insulin direnci meydana getirebilmektedir [5, 76].

Yapılan bir çok çalışmada, %10 oranında fruktoz uygulamasının fruktoz ile beslenen sıçanların, insanlardaki metabolik sendrom bulgularına çok benzer nitelikte metabolik değişiklikler gösterdiği ifade edilmiştir. Fruktoz bakımından zengin diyetle beslenen sıçanlarda, glukoz intoleransı, insülin direnci, hiperinsülinemi, hipertansiyon ve hipertrigliseridemi bulgularına yol açmaktadır [5, 39, 76].

2.5.5. Fruktozun erkek üreme sistemine etkileri

Aşırı fruktoz tüketimini MetS ve bileşenlerinin oluşmasına zemin hazırlar. MetS sonucu ortaya çıkan oksidatif strese bağlı olarak testiküler dokuda hasar oluşmaktadır. Oksidatif stres, spermatozoa fonksiyonunu azaltan en önemli etkenlerden biridir [2, 36].

Yüksek metabolizma oranı ve hücre turnover değişiminin olduğu testis dokusunda oksidatif stres hasara neden olmaktadır. Bununla birlikte, çoklu doymamış yağ asitlerinden zengin testiküler hücre membranları oksidatif stresten etkilenmekte ve sperm fonksiyonları bozularak infertilite oluşmaktadır [36].

Kısacası oksidatif stres sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri testiküler disfonksiyona neden olarak infertilite oluşturmakta ve yapılan çalışmalar testiste oluşan oksidatif hasar ve testiküler disfonksiyon ile infertilite oluşması arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermektedir.

Sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında MetS'lu erkeklerde serum testosteron seviyelerinin de anlamlı ölçüde azaldığı bildirilmiştir [2, 77]. Bir başka araştırmada düşük testosteron seviyesinin tip II diyabet ve MetS için önemli bir belirteç olduğu ortaya konulmuştur [77].

2.6. Metabolik Sendrom

2.6.1. Metabolik sendrom tanımı ve tarihçesi

Metabolik sendrom (MetS) dünyada giderek yaygınlaşan kardiyak ve metabolik komplikasyonları ile yüksek morbidite ve mortaliteye neden olan ve üreme organları dahil tüm biyolojik sistemleri etkileyen ciddi bir halk sağlığı sorunudur [5].

Metabolik sendrom kavramı seksen yılı aşkın bir süredir-zamandır varlığını sürdürmektedir [78]. MetS teriminden ilk kez 1923 yılında işveçli fizyolog Kylin hipertansiyon, hiperglisemi ve gut hastalığının birlikteliğinden meydana gelen metabolik bozukluklar olarak bahsetmiştir [79]. Fransa da 1940'ların sonlarına doğru Jean Vague merkezi obezitenin (erkek tipi obezite) tip II diyabet, ateroskleroz ve gut hastalıkları ile arasındaki birlikteliği göstermiştir [80, 81]. Daha sonra, 1967 de Avogaro ve arkadaşları bir MetS tanımı yapmışlardır [82] 1985 de ise Michaela Modan hiperinsülinemisinin hipertansiyon, obezite and glukoz intoleransı arasındaki bağlantı olduğunu bildirmiştir [83]. 1988 yılına geldiğimizde Gerald M. Reaven insülin direncini glukoz intoleransı, hiperinsülinemi, artmış VLDL, azalmış HDL ve hipertansiyon ile ilişkilendirmiş, ancak orijinal MetS tanımına obeziteyi dahil etmemiştir ve kendisi bu sendromu “sendrom X” olarak adlandırmıştır [84]. İnsülin direnci ve hiperinsülinemisinin, MetS'yi oluşturan kriterlerin altında yatan en önemli mekanizma olduğu ve bunun da kardiyovasküler hastalıklar için ciddi bir risk faktörü olduğunu göstermiştir [85]. Bununla birlikte Ferrannini ve ark. Reaven ile eş zamanlı yapılan çalışmalarda, sendromun en önemli sebebinin insülin direnci olduğu ileri sürülmüş ve Ferrannini tarafından sendroma İnsülin direnci sendromu adı verilmiştir [86]. 1998'de Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), sendromu tanımlamak için evrensel bir terim önermiş ve

İnsülin direnci sendromu yerine sendromun tüm bileşenlerini kapsadığı için metabolik sendrom teriminin kullanımının daha uygun olduğuna karar verilmiştir [87]. Obezitenin insülin direnci ile sonuçlanan metabolik değişikliklere yol açabildiği daha sonraki yıllarda fark edilerek tanımı genişletilmiştir. MetS tarihsel süreç boyunca dismetabolik sendrom, plurimetabolik sendrom, kardiyometabolik sendrom, dislipidemik sendrom, prediyabet, dislipidemik hipertansiyon, hipertrigliseridemik bel ve ölümcül dörtlü olarak da adlandırılmıştır [5, 7].

2.6.2. Metabolik sendrom kriterleri

Metabolik sendroma neden olan pek çok bileşenin olması, hastalığın tanı ve teşhisini zorlaştırmaktadır. Bu durumun giderilmesi için son 15-20 sene içerisinde değişen ihtiyaçlara bağlı olarak değişik kuruluşlar tarafından farklı tanı kıstasları tanımlanmıştır.

World Health Organization (WHO [Dünya Sağlık Örgütü]):

WHO tarafından 1998 yılında konulan kriterlerde, insülin rezistansı mutlaka olması gereken bir kriterdir. Buna ek olarak, şu beş risk faktöründen ikisinin de sağlanması gerekir: obezite, hipertansiyon, yüksek trigliserit düzeyi veya düşük HDL-kolesterol düzeyi, mikroalbuminüri [87].

1998’de WHO, ilk evrensel tanımlamasını yayınlarken en yaygın kullanılan dört tanımlamadan birini yapmıştır. Bu tanımlama, hem diyabeti olan hem de diyabeti olmayan bireyleri bir arada içermektedir ve kriterler arasında mikroalbuminüriye de yer verilmiştir (Çizelge 2.1) [8].

European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR) Avrupa İnsülin Direnci Çalışma Grubu İnsülin Direnci Avrupa Çalışma Grubu [European Study Group of Insulin Resistance (EGIR)]

EGIR kılavuzu 1999 yılında yayınlanarak, ‘insülin direnci sendromu’ kavramını gündeme getirmiştir. 1999 yılında EGIR, tanımlamasında “insülin direnci sendromu” terimini kullanmış ve diyabetik hastaları tanımlamadan çıkarmıştır. İnsülin direncinin bulunması bu tanımlamada da zorunlu tutulmuştur. WHO kriterlerinden farklı olarak obezitenin belirlenmesinde bel çevresi ölçümü kullanılmasını da önermiştir [88].

Ulusal Kolesterol Eğitim Programı - Erişkin Tedavi Paneli III (NCEP-ATP III)

NCEP-ATP III klavuzu 2001'e göre; abdominal obezite, hipertrigliseridemi, HDL-K düşüklüğü, HT ve açlık serum glukozunun ≥ 110 mg/dl olması durumunda herhangi üçünün birlikte bulunması MetS olarak tanımlanmıştır. Bu klavuz tüm sınıflamalar içerisinde en çok yararlanılan kılavuzdur. ATP III, açlık kan şekerini temel alarak OGTT (Oral glukoz toleransı testi)'yi gerekli görmemesinden dolayı daha pratiktir [8, 89].

Uluslararası Diyabet Federasyonu (IDF)

IDF, 2005 yılında yayınladığı klinik tanımda, insülin rezistansının tanı için zorunlu olmadığını ifade ederken, abdominal obezitenin mutlaka tanım içinde yer alması gerektiğini söylemiştir. Bunun dışında, şu 4 faktörden 2'sinin olması gereklidir: Yüksek trigliserit, düşük HDL- kolesterol, hipertansiyon, artmış açlık glukozu düzeyleri [8].

AHA/ NHLBI

Aynı yılda AHA/NHLBI da tanı kriterlerini yayınlamış ve ATP III kriterlerinde bazı değişikliklere gitmiştir. Buna göre, abdominal obezite mutlaka olması gereken bir faktör değildir ve IDF'in açıkladığı 5 faktörden 3'ünün olması MetS tanımlaması için yeterlidir [8, 75].

Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği MetS Çalışma Grubu Metabolik Sendrom Tanı Kriterleri (2005):

Türkiye Endokrinoloji Metabolizma Derneği MetS Çalışma Grubu; MetS tanı kriterleri arasında insülin direncinin olması gerektiğini savunmaktadır. Bu gerekçeyle; insülin direncini de içeren 1999-Dünya Sağlık Örgütü Metabolik sendrom tanı kriterleriyle, insülin direncini içermeyen fakat daha sıkı metabolik eşik değerler hedefleyen 2001-NCEP ATP III tanı kriterlerinden oluşturulan yeni bir tanı kılavuzunu önerir [7].

Aşağıdakilerden en az biri:

- Diabetes mellitus veya
- Bozulmuş glukoz toleransı veya
- İnsülin direnci

ve

Aşağıdakilerden en az ikisi:

- Hipertansiyon (sistolik kan basıncı >130 , diyastolik kan basıncı >85 mmHg veya antihipertansif kullanıyor olmak)
- Dislipidemi (trigliserid düzeyi > 150 mg/dl veya HDL düzeyi erkekte < 40 mg/dl, kadında < 50 mg/dl)
- Abdominal obezite (VKİ > 30 kg/m² veya bel çevresi: erkeklerde > 94 cm, kadınlarda > 80 cm)*

* Yerel veriler olmadığından IDF 2005 kılavuzunda Avrupalılar için önerilen değerler baz alınmıştır.

Hem klinik pratikte, hem de bilimsel çalışmalardaki uygulama kolaylığından dolayı NCEP-ATP III tanı kriterleri içlerinde en sık kullanılandır.

Çizelge 2.1. Metabolik sendrom kriterleri [89, 90]

Klinik ölçü	WHO (1998)	EGIR	NCEP ATP III(2001)	AACE (2003)	IDF (2005)	AHA/NHLBI (2005)
İnsülin direnci	BGT, BAG, Tip 2 DM veya azalmış insülin duyarlılığı* ve aşağıdakilerden herhangi ikisi	Plazma insülin > 75. persentil ve aşağıdakilerden herhangi ikisi	Hiçbiri. Fakat Aşağıdaki 5 özellikten herhangi 3'ü	BGT veya BAG ve aşağıdaki klinik karara dayalı olanlardan herhangi birisi	Hiçbiri	Hiçbiri. Fakat Aşağıdaki 5 özellikten herhangi 3'ü
Obezite	BKO: Erkek ≥ 0.9 Kadın ≥ 0.85 ve/veya VKİ ≥ 30 kg/m ²	BÇ: Erkek ≥ 94 cm Kadın ≥ 80 cm	BÇ: Erkek ≥ 102 cm† Kadın ≥ 88 cm	VKİ ≥ 25 kg/m ²	Artmış BÇ (populasyona özgü) ve aşağıdakilerden herhangi ikisi	BÇ: Erkek ≥ 102 cm Kadın ≥ 88 cm
Dislipidemi	TG ≥ 150 mg/dl ve/veya HDL-K: Erkek ≤ 35 mg/dl Kadın ≤ 39 mg/dl	TG ≥ 150 mg/dl ve/veya HDL-K <39 mg/dl erkek veya kadın	TG ≥ 150 mg/dl HDL-K: Erkek ≤ 40 mg/dl Kadın ≤ 50 mg/dl	TG ≥ 150 mg/dl ve HDL-K: Erkek < 40 mg/dl Kadın < 50 mg/dl	TG ≥ 150 mg/dl veya TG tedavisi HDL-K: Erkek ≤ 40 mg/dl Kadın ≤ 50 mg/dl veya HDL-K tedavisi	TG ≥ 150 mg/dl veya TG tedavisi HDL-K: Erkek ≤ 40 mg/dl Kadın ≤ 50 mg/dl veya HDL-K tedavisi
Kan basıncı	$\geq 140/90$ mmHg	$\geq 140/90$ mmHg Veya hipertansiyon tedavisi	$\geq 130/85$ mmHg	$\geq 130/85$ mmHg	SKB ≥ 130 mmHg veya DKB ≥ 85 mmHg veya hipertansiyon tedavisi	SKB ≥ 130 mmHg veya DKB ≥ 85 mmHg veya hipertansiyon tedavisi
Glukoz	BGT, BAG veya Tip 2 DM	BGT veya BAG (fakat diyabet değil)	≥ 110 mg/dl ‡ ve diyabet	BGT veya BAG (fakat diyabet değil)	≥ 100 mg/dl (ve diyabet)	≥ 100 mg/dl veya artmış glukoz için tedavi
Diğer	Mikroalbuminüri			İnsülin direncinin diğer özellikleri §		

2.6.3. Metabolik sendromun görülme sıklığı

Metabolik sendromun tüm dünyada kabul gören tek bir tanımı olmadığından dolayı MetS'nin yaygınlığına ilişkin veriler de farklılıklar vardır [5].

Mattsson ve ark Finlandiya'da yaptığı 24-39 yaş arası kişileri kapsayan bir araştırmada, EGIR kriterlerine göre MetS prevalansı % 9,8 iken, Uluslararası IDF kriterlerine göre MetS prevalansı % 14,3 olarak hesaplanmıştır [91].

Metabolik sendromun görülme sıklığı dünya çapında giderek artmaktadır ve Türkiye'de de durum çok farklı görünmemektedir [92]. NCEP ATP-III kriterleri temel alınarak yaptığı Türk Erişkinlerinde Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri Sıklığı Taraması (TEKHARF) çalışmasına göre MetS prevalansı toplumumuzda, 30 yaş ve üstü erkeklerde % 28 iken kadınlarda % 45 olarak saptanmıştır. Bu verilere göre kişi sayısı hesaplandığında; ülkemizde 30 yaş üzerindeki 9,1 milyon yetişkinde (5,1 milyonu kadın) MetS olduğu tahmin edilmektedir ve veriler coğrafi bölgelere göre de değişiklik göstermektedir. MetS sıklığının, 1990 yılında % 24,4 iken, 2000 yılında % 36,2'ye yükseldiği görülmüştür. Yine ülkemizde 2004 yılında yapılan Türkiye Metabolik Sendrom Sıklığı Araştırması (METSAR) sonuçlarına göre, 20 yaş ve üzerindeki erişkinlerde MetS sıklığı genel olarak % 35 olarak, cinsiyete göre ise erkeklere % 28,8 iken kadınlarda % 41,1 olarak bulunmuştur [93]. Son olarak Sanisoglu ve arkadaşlarının 2006 yılında MetS ve ilişkili bozuklukları araştırdıkları çalışmalarında, ülkemizde MetS prevalansı erkeklerde % 10, kadınlarda % 27 olarak tespit edilmiştir [94, 95].

2.6.4. Metabolik sendromun nedenleri

Metabolik sendromun tüm bileşenlerinin etiyopatogenezini açıklayabilecek tek bir genetik, infeksiyöz ya da çevresel bir faktör henüz tanımlanamamıştır [7]. Bununla birlikte metabolik sendromun gelişiminde en fazla suçlanan faktörler, insülin direnci ve obezitedir [5, 96-98]. Ayrıca poligenik yatkınlık söz konusu olsa da, modern kent hayatının getirdiği sedanter yaşam ve yüksek kalorili beslenme sendromun seyrini negatif biçimde etkilemektedir [7, 8]. Özellikle son yıllarda aşırı bir şekilde artan fruktoz içerikli yüksek kalorili, rafine gıda

tüketimi nedeniyle, Mets ve buna bağlı veya birlikte oluşan klinik durumların görülme sıklığında artış dikkat çekici bir hale gelmiştir [9, 10].

Bunların yanında MetS patogenezinde temel bileşen olarak kabul edilen İR ve obezite olgularının görülme sıklığındaki artışı, sadece genetik faktörlere, kötü beslenme ve hareketsizlik gibi hayat tarzı değişiklikleriyle açıklamak, bu salgının dünyanın birbirinden çok farklı hayat şartlarına sahip tüm ülkelerini ilgilendirdiği için yeterli olmamaktadır [99]. Son yıllarda dünyanın farklı yerlerindeki bilim insanları tarafından yapılan birçok çalışma sayesinde Mets'in temel bileşenlerindeki bu inanılmaz boyutlardaki artışta “hormon bozucu” maddelerin ve bunlar içinde de özellikle “obezojen” yani obeziteye yol açan kimyasal maddelerin önemli rolü olabileceği gösterilmiştir. Bu kimyasallar içinde en çok suçlananlarda biri ise tüm dünyada yaygın olarak kullanılan Bisfenol A'dır (BPA) [11-19, 100].

2.6.5. Metabolik sendrom bileşenleri

İnsülin direnci

“Endojen veya ekzojen insüline karşı biyolojik yanıtızsızlık” olarak tanımlanan insülin direnci metabolik sendromun gelişiminde en fazla suçlanan faktörlerin başında gelir [5, 96, 98, 101]. Metabolik sendromu oluşturan hastalıkların (dislipidemi, hiperglisemi, hipertansiyon, obezite) hepsinin temelinde insülin direncinin rolü bulunmaktadır [102]. Genetik faktörler, fetal malnütrisyon, adipoz dokudan salgılanan hormonlar, hipotalamo-hipofizer-böbrek üstü bezi bozuklukları, fiziksel inaktivite, obezite ve yaşın ilerlemesi ve çevresel faktörlerden endokrin bozucular insülin direncine neden olmaktadır. Şu ana kadar yapılan çalışmalar neticesinde İR'ne neden olan bir çok mekanizma bulunmasına rağmen son yıllarda İR temelinde MetS gelişiminde, postreseptör düzeydeki anomallikler sonucu olduğu düşünülmektedir. Bu durum insülinin, reseptörüne bağlanması sonucu hücre içi yollarda bozukluklara bağlı olarak gelişmektedir [5]. Özellikle son yıllarda yapılan çalışmalar, endokrin bozucuların İR ve DM patogenezindeki mekanizmaların gelişiminde direkt etkilerinin olduğunu göstermiştir [14, 100].

Ayrıca; bununla birlikte adipoz doku bozuklukları ve obezite de İR gelişiminde rol oynayan önemli faktörlerden biridir [96, 103].

Obezite

Obezite günümüzde birçok gelişmiş toplumda epidemi olarak kabul edilmektedir [3, 104-106]. Genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimiyle oluşan vücut yağ dokusunun aşırı birikimi olarak tanımlanmaktadır [106, 107]. Ayrıca obezite sosyal, psikolojik ve tıbbi komplikasyonları olabilen önemli bir enerji metabolizma bozukluğudur [107, 108]. En önemli nedeni pozitif enerji dengesidir [105].

Yağ dokusunun karın bölgesinde aşırı lokalizasyonu sonucu oluşan visseral abdominal obezite adipoz doku fonksiyonlarını etkileyerek MetS oluşumuna neden olmaktadır [105]. Fakat obezite MetS'nin gelişiminde temel bileşenlerden kabul edilse de, tüm obez bireylerin insülin direncine sahip olmadığı araştırmalar sonucunda ortaya konulmuştur [85, 109]. Bununla birlikte, insülin dirençli metabolik sendrom olgularının bir kısmında da obezite olgusuna rastlanmayabilir [7].

Abdominal veya visseral obezitenin hiperinsülinemi, insülin direnci, serbest yağ asidi (SYA) düzeylerinde artma, hipertansiyon, tromboza eğilim; hipertrigliseridemi, küçük yoğun LDL [Small Density Low Density Lipoprotein (SD-LDL)] partikülleri ve HDL-K'da azalma ile ilişkili olduğu bildirilmektedir.

MS'un diğer komponentleri olan hiperglisemi, dislipidemi ve HT'da obezitenin en önemli sonuçlarıdır.

MetS'in diğer bileşenleri

Hipertansiyon

Esansiyel hipertansiyonun altında genellikle insülin direnci bulunmaktadır [6, 7]. İnsülinin, santral sempatik aktiviteyi artırıp, böbrekten su ve tuz tutulumunu uyarmasıyla beklenen hipertansif etkisi, normal fizyolojik koşullar altında oluşturduğu periferik vazodilatasyona bağlı hipotansif etkisiyle dengelenmiştir. İnsülin direnci varlığında, periferik vazodilatör etkisine de direnç geliştiği için dengelenememiş vazopressör etkisiyle hipertansiyon oluşturduğu düşünülmektedir [6, 7].

Ülkemizde Metabolik sendromun en sık rastlanan şekli hipertansiyon ve HDL-K düşüklüğüdür. Esansiyel hipertansiyonun altında genellikle insülin direnci bulunmaktadır. İnsülin, santral sempatik aktiviteyi arttırıp, böbrekten su ve tuz tutulumunu uyararak hipertansif etki yapmaktadır, ancak bu fizyolojik bir tepki olan periferik vazodilatasyonla karşılanır. İnsülin direnci varlığında ise, periferik vazodilatör etkiye direnç geliştiği için dengelenememiş vazopressör etki ve sonuçta hipertansiyon oluştuğu düşünülmektedir [7].

Metabolik sendromlu bireylerde diyabet birlikteliği hipertansiyon görülme sıklığını % 85'den üst değerlere taşıyabilmektedir. Bu durum, kardiyovasküler mortalite ve morbiditeyi de arttırmaktadır [110, 111].

Metabolik sendromlu hastaların da yaklaşık üçte biri hipertansiftir. Metabolik sendromlu hastalarda hipertansiyonun gelişim mekanizmaları ve insülin direnci ve hipertansiyon ilişkisini açıklamak için birçok mekanizma ileri sürülmüştür.

Dislipidemi

Metabolik sendrom'da trigliserid ve düşük-yoğun ağırlıklı LDL yüksek, HDL-kolesterol düşük iken, LDL-kolesterol genellikle artmamıştır. İnsülin direnci ilerledikçe, trigliserid düzeyleri yükselmekte, HDL azalmaktadır. Hipertrigliseridemi ve HDL düşüklüğü kardiyovasküler hastalık riskini artırır [7].

Bozulmuş glukoz toleransı ve Diabetes Mellitus (DM)

Her ne kadar, tüm tip 2 diyabet olgularında insülin direnci olmasa da, belirgin DM veya bozulmuş glukoz toleransı varlığı metabolik sendromun tanı kriterlerinin ilk basamağını karşılar, ayrıca insülin direncinin olması aranmaz [7].

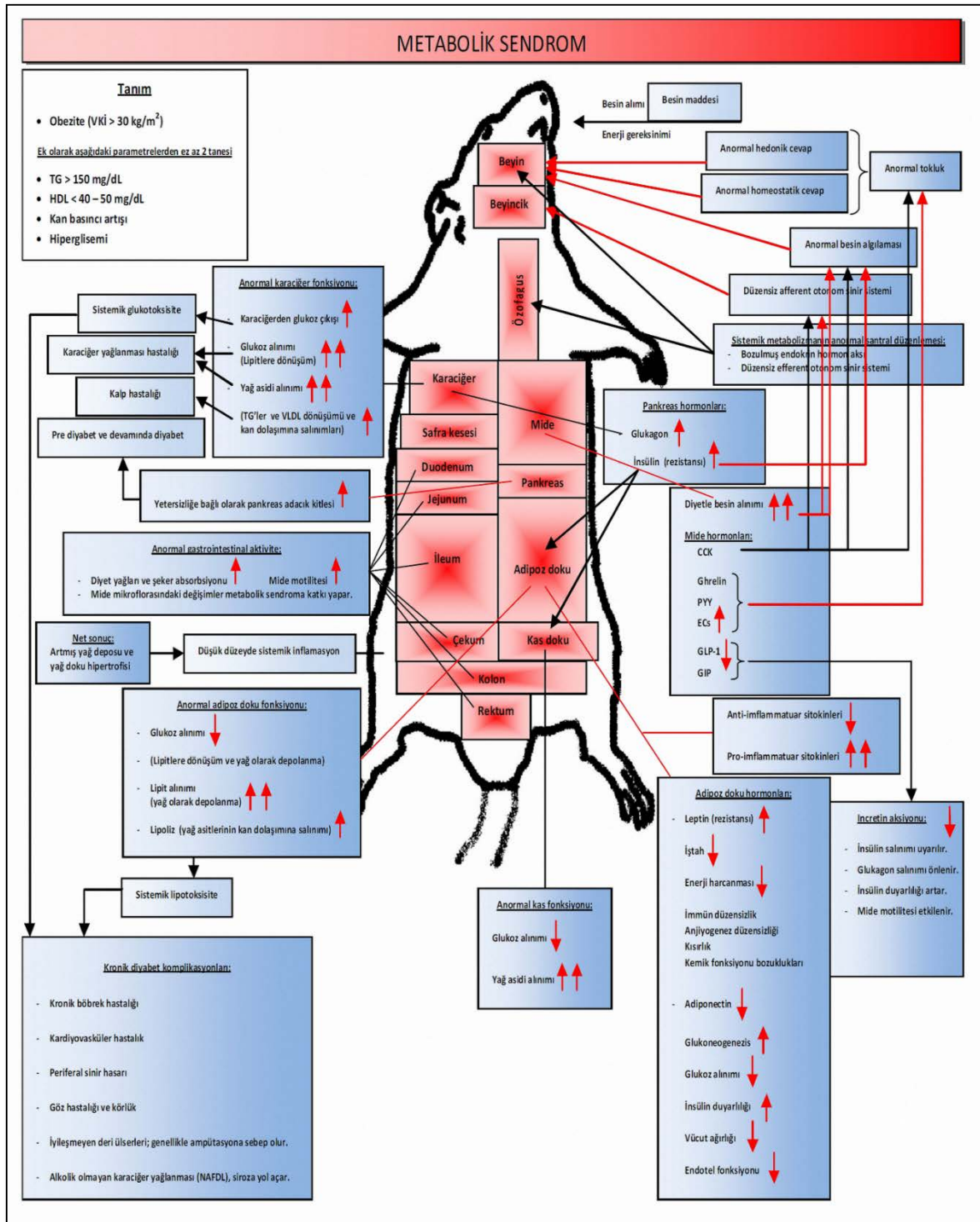
Metabolik sendromda glukoz metabolizma bozukluğunun sonuçları, Tip-2 diyabet, bozulmuş açlık glukozu (IFG) ve bozulmuş glukoz toleransı (IGT) olarak sınıflanabilir. Diğer tüm komponentler gibi glukoz metabolizması bozukluğu da, obezite ve insülin direnci ekseninde gelişmektedir [112].

MetS de birlikte görülen diğer klinik tablolar

MetS çoğu kez başka durumlarla da ilişkilidir. Bunların arasında karaciğer yağlanması, uyku apnesi, gut, depresyon, polikistik over sendromu (PCOS), lipodistrofi, mikrovasküler hastalıklar ve hipogonadizm gibi üreme sistemini etkileyen hastalıklarda sayılabilir [6, 113, 114].

2.6.6. Metabolik sendromun fizyolojik ve biyokimyasal etkileri

MetS, biyolojik sistemlerde üreme fonksiyonunu da içeren birçok biyokimyasal olaya etki etmektedir [5]. Bütün bu karmaşık olaylar Şekil 2.3 de özetlenmektedir [95].



Şekil 2.3. Metabolik sendromun biyokimyasal etkileri [95, 115].

2.6.7. Metabolik sendromun üreme sistemine etkileri

MetS ve testis disfonksiyonu arasındaki etkileşimin varlığına dair kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır [1, 3].

Testis disfonksiyonu, testislerin anormal işlevini belirtmek için kullanılan genel bir terimdir. Testislerin ekzokrin yetmezliği için “spermatogenez bozukluğu” terimi kullanılırken, testislerin endokrin yetmezliği için “hipogonadizm” terimi kullanılır. Hipogonadizm terimi hem birincil testis bozukluğu (birincil veya hipogonadotropik hipogonadizm) hem de hipotalamus-hipofiz-testis aksının hasarı (ikincil ve ya hipogonadotropik hipogonadizm) olarak da kullanılabilir [1].

MetS, özellikle obezitede insülin direnci ile artan insülin seviyesi seks hormonu bağlayıcı globülininin (SHBG) karaciğerdeki üretimini baskılamaktadır. Sonrasında bu baskılama SHBG düzeyi azaltır ve testosteronun periferik dokulara iletiminde azalmaya neden olarak aromatazlar östrodiol dönüşümü için bir substrat olan serbest T düzeylerini artırır. Sonuçta spermatogenez üzerinde olumsuz etkiler yapmaktadır. Bununla birlikte hipogonadizm ile oluşan MetS, esas patofizyolojik mekanizmalarından biri olan insülin rezistansını daha da arttırmaktadır [116, 117].

Erkek obezitesi, adipositler içinde artmış olan aromataz aktivitesi [118] ve hipofizden salgılanan LH üzerine negatif etki yapan östrodiol (β -Estradiol; 17 β -estradiol) ile ilişkilidir [119]. Bu da sırasıyla obezitenin daha da kötüye gitmesini ve kısır döngü haline gelen hipogonadal bir durumun ortaya çıkmasını teşvik edebilir. Bu hipogonadal durum ise kas dokusunda azalma ve visseral yağ hacminde artışa yol açan yağ kitlesinin artışı ile sonuçlanabilir [120].

Yukarıda bahsedildiği gibi bu sendromun fizyopatolojik mekanizmaları tam olarak aydınlatılamamasına rağmen, biyoaktif yapıdaki peptidlerle özellikle de, leptin ve adiponektin gibi adipostokinlerin MetS ve testiküler işlevler arasındaki etkileşiminde önemli roller oynadığı açıktır [1].

2.7. Adipositokinler

Günümüzde aktif bir endokrin organ olarak düşünülen adipoz doku, adipositokinler olarak adlandırılan çok sayıda biyoaktif faktör üretmektedir. Adipositokinlerin bir kısmı adipositlerden diğer bir kısmı ise preadiposit, lenfosit, makrofaj, endotel hücreleri, fibroblastlar gibi adipoz dokunun stromal-vasküler komponentleri tarafından salgılanmaktadır [121]. Adipositokinlerin otokrin, parakrin ve endokrin etkiler gösterdiği araştırmalar sonucu ortaya koyulmuştur [122]. Adipoz dokudan salgılanan bu biyoaktif moleküller lokal ve sistemik etkileri sayesinde enerji metabolizmasını, insülin duyarlılığını, inflamasyonu vasküler cevapları düzenlemektedir [123].

Adipoz dokudaki değişiklikler, adipositokinlerin düzenlenme mekanizmalarını bozarak, adipoz doku inflamasyonu, insülin direnci, kronik sistemik inflamasyon ve endotel disfonksiyonu ile birlikte pekçok metabolik bozukluğa zemin oluşturabilmektedir [122]. Bu yüzden bu substansların seviyelerinin dengede kalması üreme sistemine ile ilişkisi bilinen obezite, MetS ve kardiyovasküler hastalıkların önlenmesinde bir gereklilik olduğu çok iyi bilinmektedir. Bu nedenlerle son yıllarda adipoz dokunun üreme sistemi üzerindeki endokrin kontrolü veya etkisini araştıran çalışmalara olan ilgi artarak devam etmektedir [123].

Bu güne kadar pek çok adipokin tanımlanmış olmasına rağmen, özellikle üreme sistemi alanındaki araştırmalar adiponektin, leptin ve resistin adı verilen adipositokinler üzerinde yoğunlaşmıştır [1, 123, 124].

2.7.1. Leptin

Leptin, 167 aminoasit içeren, sitokin benzeri bir peptittir [125]. 1994 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır. 16-kDa büyüklüğündeki hormon “ob” geni tarafından kodlanır [126]. 4 anti paralel α -sarmal demet motifi içeren üç boyutlu bir yapıya sahiptir [127]. Leptinin besin alımı, enerji tüketimi, yağ depolanması, bağışıklık fonksiyonları ve insülin sinyalizasyonunun dengelenmesinde önemli görevleri vardır [128]. Leptin, özellikle adipositler tarafından salgılanmasına rağmen, son zamanlarda yürütülen çalışmalarla; mide, plasenta, göğüs, tükürük bezi, kolon, karaciğer ve erkek [129-131] ve kadın üreme sistemi [132] organlarında da ekspresyonunun yapıldığı gösterilmiştir [133].

Çesitli fare modelleri üzerinde yapılan çalışmalar, neticesinde Leptinin, hipotalamusta bulunan özgün reseptörlerle etkileşime girerek, iştahın ayarlanmasında, metabolizma, pubertal gelişim ve gonadotropin salınımında temel roller üstlendiği gösterilmiştir [134].

Leptin düzeyi, fiziksel aktivitede olduğu gibi, vücut hacmindeki değişime bağlı olarak farklılık göstermekte olup, obez ve normal ağırlıktaki bireyler incelendiğinde; obez bireylerin serum leptin konsantrasyonu, normal ağırlıktaki bireyler ile kıyaslandığında oldukça yüksek değerlerde olduğu gözlemlenmiştir. Serum leptin düzeyi, adipoz dokudaki enerji rezervlerinin bir göstergesidir ve vücut yağ oranı ve vücut kitle indeksi ile korelasyon gösterir. Bu değerler normal bireylerde 7,5 ng/ml iken obez bireylerde 31,3 ng/ml seviyelerindedir [135]. Obez bireylerde bu değerde bir artış gözlemlenirken, kilo kaybı neticesinde azaldığı bildirilmiştir [136]. Ayrıca, aynı yaş ve vücut ağırlık indeksine sahip bireyler incelendiğinde ise kadınlarda leptin konsantrasyon değerinin erkeklerden daha yüksek olduğu bildirilmiştir [137].

Yeterli leptin düzeyi, besin alımını önleyerek; üreme, büyüme gibi süreçlerde enerji tüketimine izin verir. Leptin ekspresyonu; otonom sinir sistemi, immün sistem ve endokrin sistemin diğer unsurları tarafından düzenlenir [138]. Leptin salınımı pulsatil bir sirkülasyon göstermekte olup, leptin konsantrasyonu gece pik yapan günlük bir ritme sahiptir [139]. Serum leptin düzeyleri diğer adipositokinlerde olduğu gibi, vücuttaki toplam yağ oranı ile pozitif korelasyon gösterir [1].

Leptinin erkek üreme sistemi üzerine etkisi

Leptin, metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sisteminde ve periferik dokularda (akciğer, böbrek, karaciğer, kalp, pankreasın endokrin kısmında, böbrek üstü bezler, uterus, ovaryum, testis, hematopoietik hücreler, iskelet kası vb.) bulunan reseptörlerle etkileşerek gösterir [140, 141]. Asıl etki alanı hipotalamus olan leptin reseptörleri; iştah, üreme ve büyümenin kontrolü ile ilişkili hipotalamik-hipofizyal-gonadal aksın kontrolünde, düzenlenmesinde önemli görevler alırlar [142].

Sıçanlarla yapılan bir araştırmanın sonucunda elde edilen bulgular leptinin üreme fonksiyonundaki rolünü açıkça ortaya koymaktadır. Bu çalışmada, obez C57BL/6J ob/ob yani leptin sentezleyemeyen farelerin genetik olarak hipogonadotropik hipogonadizm

gösterdikleri ve steril oldukları saptanmıştır. Bununla birlikte sterilite kilo verme (diyet kısıtlaması) ile de düzelmemektedir. Ancak bu farelere leptin verilmesi ile puberte başlamış ve infertilite düzelmiştir. Ayrıca, normal sıçanlara leptin verilmesi ile de pubertenin başlamasının hızlandığı gösterilmiştir [143]. İnsanlarda ise düşük leptin seviyelerinin veya diüurnal ritmin bozulmasının hipotalamik hipogonadizm ve amenore ile sonuçlandığı bildirilmiştir [144]. Yine hayvan çalışmalarında bu kez leptin fazlalığının 17OH-progesteronun testosterona dönüşümünü engelleyerek serum testosteron düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir [145]. Obez hastalarda gözlenen fazla leptin androjenleri baskılar ve infertiliteye neden olabilir. Bu bireylerde yüksek leptin düzeyleriyle beraber yüksek infertilite görülmesi bu bulguyu destekler niteliktedir [146]. Leptinin bu etkileri yanında GnRH'un nöronal fonksiyonu etkilediği ve aynı zamanda fertilitiyi baskılayan önbeyin nöronlarına etki ettiği de belirtilmiştir [147].

Bunlarla birlikte, leptinin germ hücrelerine direkt etkisi de bulunmaktadır. Aynı zamanda plazma leptin düzeylerinin semen leptin düzeyleri ile korele olduğu gösterilmiştir. Leptin testiste belli bir düzeyde bulunur ve eğer bu miktar artarsa spermatogenezde bozulmalar meydana gelir [129]. Leptin reseptörlerinin sadece testiküler dokuda değil aynı zamanda sperm plazma membranında da olması hipotalamo-hipofizer akstan bağımsız olarak leptinin direkt olarak spermi etkileyebileceğini gösterir. Obezite oluşturulmuş farelerde hormon bozukluğu olmaksızın sperm motilitesinde azalma izlenmesi bu bilgiyi doğrulamaktadır [148].

Yukarıda da bahsedildiği gibi üreme sistemi fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli görevleri olan leptin hormonunun üreme sistemi ile ilişkisi bilinen MetS ve obezitenin testis fonksiyonlarına etkisinin araştırılmasında bakılması gereken önemli bir adipokin olduğunu ortaya koymaktadır.

2.7.2. Adiponektin

1995 ve 1996 yıllarında farklı gruplar tarafından tanımlanmıştır. Bu nedenle de farklı adlandırılan adiponektinin diğer adları ise; Acrp30 (adipocyte complement-related protein of 30 kDa), apM1 (adipose most abundant gene transcript 1), GBP28 (gelatin binding protein of 28 kDa) ve AdipoQ'dir. Adiponektin gen transkript-1 (OpM1) bölgesinden kodlanan, 244

aminoasitden oluşan, kollagen VIII, X ve C1q ile yüksek derecede benzerlik gösteren bir polipeptittir [149].

Adiponektin beyaz yağ dokusu tarafından en fazla salgılanan proteindir ve son günlerde obezitede seviyesi azalan faydalı adipokin olarak ifade edilmiştir [133]. Azalmış adiponektin düzeyleri daha sonra metabolik sendroma kadar gidecek bir tabloya neden olan obezite ve Tip-2 diyabet durumlarında sıklıkla gözlemlenmektedir [150].

Adiponektin, serumda düşük molekül ağırlıklı (trimer) ve yüksek molekül ağırlıklı (hekzamer ve multimer) formda bulunur. Her birinin hedef dokuya bağlı olarak, değişik biyolojik aktiviteleri vardır. Dolaşımdaki total plazma proteinlerinin %0.01'ini oluşturur ve plazma düzeyleri 3-30 µg/mL arasında değişir [151-153]. Adiponektin ekspresyonu subkutan yağ dokusunda visseral yağ dokusundan daha fazladır. Plazma adiponektin düzeyleri erkeklerde kadınlara oranla 2-3 kat daha düşüktür [153]. Adiponektin insülin duyarlılığını artırır, hepatik glukoneogenezi ve vasküler inflamasyonu inhibe eder [154]. Obez bireylerde dolaşımdaki düzeyi azalırken kilo verildiğinde düzeyleri artar [152]. Adiponektin açlıkta daha yüksek konsantrasyonda iken yemekten sonra düzeyleri düşer [155]. Dolaşımdaki adiponektin düzeyleri hiperinsülemi ve insülin direnci ile ters orantılıdır [156].

Adiponektin esas olarak adiponektin reseptör-1 (AdipoR1) ve adiponektin reseptör-2 (AdipoR2) olarak adlandırılan iki farklı reseptörü üzerinden etkilerini gerçekleştirmektedir [157]. AdipoR1 pek çok dokuda bulunurken, AdipoR2 primer olarak hepatik dokularda bulunur [158]. Adiponektinin nükleer faktör kappa B (NFkB) yolağının transkripsiyonel yanıtlarını inhibe ederek makrofaj ve adipositler üzerinde anti-inflamatuar etkiler meydana getirdiği gösterilmiştir [159]. Bunun aksine, başka bir çalışmada adiponektinin synoviyal eklem ve bağırsak epiteli hücrelerinde pro-enflamatuar cevaplar oluşturduğu ifade edilmiştir [160]. Adiponektinin hücre tipine göre özgün cevaplarına ek olarak, adiponektine etkin kalma dozu ve formu (monomerik vs multimerik, full uzunluk vs globüler) adiponektinin dokuda oluşturacağı etkinin şiddetini etkileyebilir [158].

Yine, adiponektinin periferik üreme organı dokularında pro-enflamatuar ya da anti-enflamatuar etkilere sahip olup, olmadığı hala gizemini korumaktadır ve bu yüzden bu konunun araştırılması gerekmektedir [133, 150].

Adiponektinin erkek üreme sistemi üzerine etkisi

Son zamanlarda yapılan çalışmalar glukoz ve lipid homeostazisinde önemli görevleri olan adiponektinin, ovaryum, böbrek-üstü bezi ve hipofiz gibi birçok endokrin organların düzenlenmesinde de önemli görevler üstlendiğini ortaya koymuştur. Fakat adiponektinin erkek testislerindeki biyolojik rolü büyük ölçüde keşfedilememiştir [161].

Orta yaşlı MetS’li hastalarda serum testosteron konsantrasyonu adiponektin konsantrasyonu ile pozitif korelasyon göstermektedir. Bu durum da obezitedeki adiponektin ve testosteron azlığı arasındaki bağıın nedenini açıklar [162]. Plazma adiponektin düzeyleri erkeklerde kadınlara oranla daha düşüktür ve bu da adiponektin düzeylerinin cinsiyet farklılığından, dolayısıyla hormonal düzenden etkilendiğine bir kanıt olabilir. Fareler üzerinde yapılan çalışmalar, erkek ve dişilerde adiponektin düzeyinin olgunlukla lehine değiştiğini göstermiştir. Sonuçta, birçok çalışma hem androjenlerin hem de östrojenlerin adiponektin üretimini azaltıcı yönde etki yaptıklarını ortaya koymuştur [163].

Adiponektin, AdipoR1 ve AdipoR2 reseptörleri üzerinden biyolojik eylemlerini gerçekleştirmektedir. Bir veya her iki adiponektin reseptörünün ovaryum, tuba uterina, endometriyum, testis ve plasentayı da içeren bütün periferal üreme dokularında var olduğu gösterilmiştir [164-166]. Fakat adiponektinin bu dokulardaki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır [133]. Qiao ve ark. adiponektin geninden yoksun farelerin yaşayabildiğini, fertilité söz konusu olduğunda ise normal bir doğurganlık sergiledikleri bildirmişlerdir [167]. Bununla birlikte adiponektin reseptörlerinin (AdipoR1, AdipoR2 veya her ikisi) genetik delesyonu subfertilite ile ilişkili olmamasına [157] rağmen başka bir çalışmada, AdipoR2 reseptörünün kaybı erkek subfertilitesi ile ilişkili bulunmuştur [168]. Adiponektin delesyonlu erkek ve dişî farelerle yürütölen başka bir çalışmada ise bu farelerin canlı, adiponektin yoksunu yavruları olduğu ve böylece bu farelerin ovaryum, uterus, plaseenta dokularının ve embriyolarının adiponektin sinyalinden yoksun bir şekilde her fonksiyonlarını yerine getirebildiğini göstermiştir [167]. Ayrıca, adiponektin proteininin ve reseptörlerinin insan testisindeki Leydig hücrelerinin yanında ductus epididimide, spermatazolarda da ifadelendiğı gösterilmiştir [150, 165]. Caminos ve ark. yaptıkları bir çalışmada, sıçan testis dokusunda adiponektin uygulaması sonucunda testis dokusunda testosteron üretiminin azaldığı fakat anti-Mullerian hormonu (AMH)’nın transkripsiyon düzeyinin etkilenmediğini bildirmişlerdir [165]. Ayrıca, AdipoR2 yoksunu farelerle yapılan

başka bir çalışmada ise bu farelerin aspermi gösteren atrofik seminfer tübüllere ve büyümüş bir beyin yapısına sahip olduklarını ancak normal bir testosteron üretimi sergilediklerini bildirilmiştir. Fakat oluşan bu testiküler defektin nedeni olan AdipoR2 sinyal kaybına karşı gösterilen cevabın sistemik mi, periferik mi olduğu hala tam olarak açıklanamamıştır [169]. Son zamanlardaki çalışmalar, AdipoR1 ve AdipoR2 nin ekspresyonları adiponektinin tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa) gibi pro-inflamatör sitokinlere karşı koruyucu bir rol oynadığı fare TM3 ve mLTC Leydig hücre hatlarında gösterilmiştir [161]. Bu tip mekanizma AdipoR1-temelli AMPK fosforilasyonunun artışı sayesinde nükleer faktör kB (NFkB) sinyalizasyon yolağında inhibisyonun oluşması ile gerçekleştirilir [150]. Erkek ratlarda, düşükten ara dozlara kadar verilen adiponektinin (10 and 100 ng/ml) bazal testosteron üretimini düşen StAR protein ekspresyonu sonucu testiküler seviyede inhibe ettiği gösterilmiştir [165, 170]. Sonuçta, adiponektin testis seviyesinde etki ederek testosteron üretimi üzerinde bir inhibitör etki ortaya koyabilir. Fakat bunun gibi bir düzenlenme hormon konsantrasyonuna ve gonadal vaziyete bağlıdır [150]. Adiponektinin, testiküler seviyede lokal etkisine ek olarak adiponektin erkek üreme sistemine hipotalamus ve hipofiz aksı üzerinden de etki edebilir. AdipoR1 ve AdipoR2'in insan hipotalamus ve hipofizin de eksprese olduğu gösterilmiştir [171]. Sonuçta, Adiponektin üreme ve büyümeyi kontrol etmek için metabolizma ve endokrin kontrolü bir birine bağlayan bir sinyal olarak işlev görebilir [150].

Bunların yanında, adiponektin spermatogenezisde de düzenleyici bir role sahiptir. Kemirgenlerde, obezite azalmış sperm hareketliliğine neden olur. Oluşan düşük sperm kalitesi de doğurganlık potansiyelinde hafif bir azalmaya neden olur [172]. Buda obezitenin erkek fertilizasyonunda bozulmalara yol açabileceğini destekler. Buna ek olarak, obezite koşulları altında testiküler seviyedeki oksidatif stres spermatogenesis de azalma ve sperm hasarı ile sonuçlanabilir. Gerçekten de erkekte oluşan obezite testiküler fonksiyonların değişmesine yol açabilir [150].

Leptin – Adiponektin:

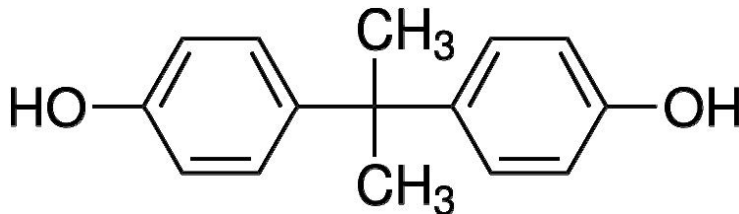
Adiponektin düzeyleri ile dolaşımdaki leptin konsantrasyonu ve insülin duyarlılığı arasında ters orantı söz konusudur. Genellikle leptin düzeylerindeki artış ile adiponektinde azalma görülmektedir [173].

2.8. Bisfenol A (BPA)

MetS patogenezinde temel bileşen olarak kabul edilen İR ve obezite vakalarının görülme sıklığındaki artışı sadece genetik faktörlere ve kötü beslenme ve hareketsizlik gibi hayat tarzı değişiklikleriyle açıklamak, bu salgının dünyanın birbirinden çok farklı hayat şartlarına sahip tüm ülkelerini ilgilendirdiği için yeterli olmamaktadır. Son yıllarda dünyanın farklı yerlerindeki bilim insanları tarafından yapılan birçok çalışma sonucunda Mets'in temel bileşenlerindeki bu inanılmaz boyutlardaki artışta “hormon bozucu veya endokrin bozucu” olarak adlandırılan kimyasal maddelerin önemli rolü olabileceği gösterilmiştir. Bu kimyasallar içinde en çok suçlananlarda biri ise tüm dünyada yaygın olarak kullanılan Bisfenol A'dır (BPA) [11-19, 100, 174]

2.8.1. BPA'nın tarihçesi ve genel kimyasal ve fiziksel özellikleri

Bisfenol A (BPA), 2,2-bis(4-hidroksifenil) propan 1891 yılında Rus Kimyacı A.P. Dianin tarafından kimyasal tasarımı yapılsı, 1905 yılında Zincke tarafından da asit katalizaz reaksiyonu sonucu doymamış 2 fenol halkasının aseton ile birleşmesiyle sentezlenmiş bir bileşiktir ve Bisfenol A'daki “A” harfi asetondan gelir [20].



Şekil 2.4. Bisfenol A'nın moleküler yapısı [22, 175]

Çizelge 2.2. Bisfenol A'nın Genel Özellikleri [22, 175]

Genel Özellikleri	
Genel adı	Bisfenol A
IUPAC adlandırması	2,2-bis(4-hidroksifenil)propan
CAS numarası	80-05-7
Kimyasal formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Yapısal formülü	(CH ₃) ₂ -C-(C ₆ H ₄ -OH) ₂
Molekül ağırlığı	228.9g/mol
Erimme sıcaklığı	153-156 °C
Kaynama sıcaklığı	220 °C (0.5 kPa)
Alevlenme sıcaklığı	270 °C
Uçuculuğu	193 °C (1 atm basınçta)
Log Kow	3.32
Log Pow	3.32
Sudaki çözünürlüğü	(25 °C) 120 mg/L

1930’larda Dodds ve Lawson, subkutan (cilt altı) enjeksiyon uygulaması sonucu BPA’nın östrojenik etkinliği olduğunu saptamıştır [176]. Bunun ardından kemirgenlerde de aynı östrojenik etki gösterdiği belirlenmiştir. Bu sebeple östrojen replasman tedavilerinde çok kısa bir süre kullanılmış, fakat daha sonra yerini daha güçlü östrojenik özelliği olan dietilstilbesterol’e (DES) bırakmıştır [21]. 1940’lı ve 1950 yıllarda geniş kullanım alanlarından dolayı plastik ürünlerin yapısında kullanılan önemli bir kimyasal madde haline gelmiştir [22]. Plastik içeren ürünlerin hayatımıza daha fazla girmesi de BPA’nın kullanım miktarlarının giderek arttırmış, 1980’li yıllarda BPA’nın yıllık üretim miktarı 1 milyon ton’a, günümüzde de 3 milyon tonu aşkın bir üretim miktarına ulaşmıştır [11, 23].

Birçok araştırma grubu tarafından endokrin bozucu etkilerinden dolayı dünyadaki ekosistem ve burada yaşayan canlıların sağlığını tehdit ettiğinin kanıtlanmasının ardından birçok kuruluş ve devlet tarafından bazı ürünlerin kullanılmasına yasak getirilmesine rağmen hala dünya genelinde yıllık üretimi en fazla olan kimyasal maddelerden biridir [11, 26, 177].

2.8.2. BPA’nın kullanım alanları

BPA dünya genelinde en fazla üretilen ikinci kimyasal olup [178] üretilen BPA’nın % 70’i polikarbonat plastiklerin, % 25’i epoksi reçinelerin üretiminde kullanılmaktadır [22, 179]. BPA monomerleri, özellikle besinlerin paketlenmesi için kullanılan kâğıt ve benzeri ürünlerde, ürünlerin sıvı ile temasını kesmek için konserve ve metal meşrubat kutularının iç kısımlarında, besin saklama kapları, PVC üretiminde ve sağlıkla ilgili ürünlerde bulunan polikarbonatların ve epoksi reçinelerinin üretiminde kullanılırlar [22, 24].

Genel kullanım alanlarının özetlemek gerekirse;

- Besin saklama kapları ve paketlenmesi,
- Bebek biberonları,
- Diş tedavisi malzemeleri,
- Kontakt lensler,
- Ambalaj endüstrisi,
- Spor ile ilgili ürünler,
- Polikarbonatların ve epoksi reçinelerin üretimi,
- CD’ler, DVD’ler, cep telefonları ve çeşitli elektronik malzemeler.
- Fungusit ve pestisitlerin içeriğinde
- Sanayide köpük ve paketlenme sistemlerinde,
- Fiberglass üretiminde

- Beton restorasyonu ve korumasını içine alan inşaat uygulamalarında

kullanılır [24].

2.8.3. BPA'nın salınımı

BPA içeren ürünlerin üretimi sırasında tamamlanmamış polimerizasyon veya depolimerizasyon işlemleri sırasında kasıtlı (sterilizasyon amaçlı) veya kasıtsız (depolama sırasında) olarak sıcaklık artışının sebep olduğu durumlarda serbestleşen BPA ve türevleri besinlerin, meşrubatların ve kapların içindeki besin veya sıvıya karışabilirler [180, 181]. Dolayısıyla konservelerin, bebek biberonlarının, içecek şişelerinin, vb. ürünlerin pişirme, ısıtma veya sterilizasyon amacıyla sıcaklığa etkin kalması BPA'nın salınımına neden olmaktadır. Yani, konserveler sterilizasyon amacıyla ısıtıldığında, kapların yüksek ısıda ve tekrarlanan yıkanmaları sırasında sıcak sıvıyla teması ve ambalajlı gıdalar mikrodalgada ısıtıldığında yiyeceklere BPA geçişi olmaktadır. Ayrıca sıcaklığa ek olarak asidik ve bazik koşullar da BPA'nın geçişini artırmaktadır [24, 182, 183].

BPA'nın canlı dokularına girişi sadece besinler yoluyla değil çevreden inhalasyon veya deriden emilim yoluyla da gerçekleşebilir. Özellikle BPA imalatında çalışan ve yüksek dozda BPA'ya etkin kalan işçilerde fotosensitif dermatite yol açtığı ayrıca bu üretim yerlerinin çevresinde yaşayan hayvanlarda da deri ve müköz membranlar yoluyla emilim sonrası et ve süt ürünlerinde BPA birikiminin oluşabildiği bildirilmiştir [24].

Üretimi kapalı sistemlerde gerçekleşen BPA'nın çevreye sızıp burada bulunmasının sebebi BPA içerikli maddelerin üretimi sonucunda ortaya çıkan endüstriyel atık sularından kaynaklanmaktadır [184].

BPA salınımının en yüksek düzeyine, infant formülleri ve meyve sularında rastlanmaktadır [184]. Yapılan bir çalışmada plastik bebek biberonları ve kaplarının sterilizasyonu sırasında polikarbonat materyalin gramı başına 7-58 µg BPA salındığı HPLC yöntemiyle tespit edilmiştir [180].

2.8.4. Bisfenol A'nın biyotransformasyonu ve insanlarda tespit edilen BPA düzeyleri

İnsanlar intrauterin yaşamdan başlayarak tüm yaşamları boyunca BPA içeren maddelerle temas halindedir. BPA ya etkin kalma, erişkinlere göre çocukluk çağında daha fazladır. Özellikle süt çocukluğu dönemi etkilenimin en yüksek olduğu dönem olarak ifade edilmekte olup, yaş ilerlemesi ile etkilenim miktarı düşmektedir.

Tolere edilebilir günlük alım miktarı (TDI-Tolerable Daily Intake), bir maddenin vücut ağırlığı temel alınarak ifade edilen ve tüm yaşam boyunca herhangi bir risk olmadan her gün tüketilebilir olan miktarıdır. Amerikan Çevre Koruma Örgütü BPA için bu miktarı 50 µg/kg/gün, Avrupa 10 µg/kg/gün olarak kabul etmektedir [185].

BPA ile ilişkin biyotransformasyon çalışmalarının birçoğu hayvan modelleri üzerinden gerçekleştirilmiştir. İnsanlar üzerindeki çalışmalar ise etik uygunluğu açısından sadece rastgele temas eden kişilerde veya gönüllüler üzerinden yapılmıştır. Bu nedenle BPA'nın metabolik yolağıyla ilgili hala birçok aydınlatılamamış noktalar vardır [25].

Asıl etkin kalma yolunun oral yolla gerçekleşmesi sebebiyle, çalışmalar daha sıklıkla bu temas yolunu kullanan deney modelleri kullanılarak yapılmıştır [25]. Okul çocuklarında ve daha küçük çocuklarda temasın %99,9'unun oral yolla olduğu saptanmıştır [177]. İnsanlarda oral alınan BPA gastrointestinal sistemden emilir. Deri yolu ile de %10 civarında emilim olabileceği gösterilmiştir. İnhalasyon yoluyla da etkin kalma olası olduğundan etkilenimin olabileceği ifade edilmektedir ki her yıl BPA üretimi sırasında yaklaşık olarak 100 tonunun atmosfere yayıldığı bildirilmiştir [22].

BPA, oral emilimini takiben insan karaciğerinde hızla birincil olarak CYP2C18 daha az CYP2C19 ve CYP2C9 enzimleri ile metabolize edilir. Karaciğerden ilk geçişte eliminasyona uğrar ve takiben glukuronik asit ve sülfat ile konjuge olarak sırasıyla ana metaboliti BPA glukronit ve minor metaboliti BPA-sülfata dönüşür. Yarı ömrü yaklaşık 6 saattir ve yaklaşık 42 saatte tamamına yakınının idrarla atıldığı saptanmıştır.

Az sayıda gönüllü ile yapılan bir çalışmada BPA'nın %9,5'nin hiç değişmeden (total BPA), %69,5 BPA glukronit ve %21'nin BPA-sülfat konjugatları şeklinde idrarla atıldığı gösterilmiştir [31]. Çok az bir miktar da dışkı ile atılır [22]. Vücutta idrardan (0,4 to 149

$\mu\text{g/L}$) başka kan (0,1-10 $\mu\text{g/L}$), yağ dokusu, semen, anne sütü, amniyotik sıvı (0,1-10 $\mu\text{g/L}$), plasenta, fetus, kolostrum, kord kanında ve tükürükte de BPA bulunduğu bildirilmiştir [186, 187]. Amerikan popülasyonunun %95'inde idrar BPA düzeyleri saptanabilir limitler içindedir [188]. Asıl endokrin bozucu etkinin serbest BPA ile olduğu, dönüştürülen metabolitleri hormonlarla etkileşmediği gösterilmiştir [189, 190].

2.8.5. BPA'nın metabolik sendrom ve bileşenleri ile ilgisi

Önceki konularda da değinildiği gibi BPA'nın Mets görülme sıklığındaki artışta önemli rol alabileceği ifade edilmiştir [11-19, 100, 174, 191]. Aynı zamanda MetS'nin üreme sistemi üzerindeki etkileri de birlikte düşünüldüğünde, BPA'nın etkilediği MetS tablosundaki değişimin üreme fonksiyonlarına da negatif yönde etki edebileceği de düşünülebilir.

Takeuchi ve ark. Japonyada yaptıkları bir çalışmada BPA'ya etkin kalmış obez olan PCOS'lu, obez olmayan PCOS'lu ve obez olan sağlıklı kadınların BPA serum düzeylerini sağlıklı normal kadınlarla karşılaştırdıklarında normal sağlıklı kadınlardan daha yüksek seviyelerde olduğunu saptamışlardır. Yine obez olan kadınların BPA konsantrasyonlarının sağlıklı obez olmayan kadınlara göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bunun sonucunda da beden kitle indeksi ile BPA düzeyleri arasında pozitif korelasyonun olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılar ayrıca, BPA düzeyleri ile testosteron ve androjen düzeyleri arasında da pozitif korelasyon olduğunu da ifade etmişlerdir [192]. 2003-2006 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada, yaşları 18 ile 74 arası değişen 2747 ABD'li yetişkinlerin idrar BPA düzeyleri ile obezite görülme sıklığı arasında anlamlı bir ilişkinin var olduğu gösterilmiştir [193]. Bununla birlikte, yine ABD de 3967 kişi ile yapılan başka bir çalışmada da idrar BPA düzeylerinin artmış diyabetes mellitus riski ile ilişkili olduğu belirtilmiştir [194].

Oral veya intravenöz düşük doz BPA verilen yetişkin farelerde, hiperinsülinizm ve insülin direncinin geliştiği ifade edilmiştir [14]. Bu etkinin, BPA'nın adipositlerde ve pankreas beta hücrelerinde bulunan östrojen reseptörlerine bağlanması neticesinde olduğu düşünülmektedir. Reseptörlere bağlanmanın pankreatik hücrelerde insülin salınımlarında sinyal iletimini artırdığı, bu yolla da direnç yaratabileceği belirtilmiştir. Aynı zamanda, yağ dokusu hücrelerinin glukoz alımını artırarak insülin direnci oluşturabileceği de bildirilmiştir [14].

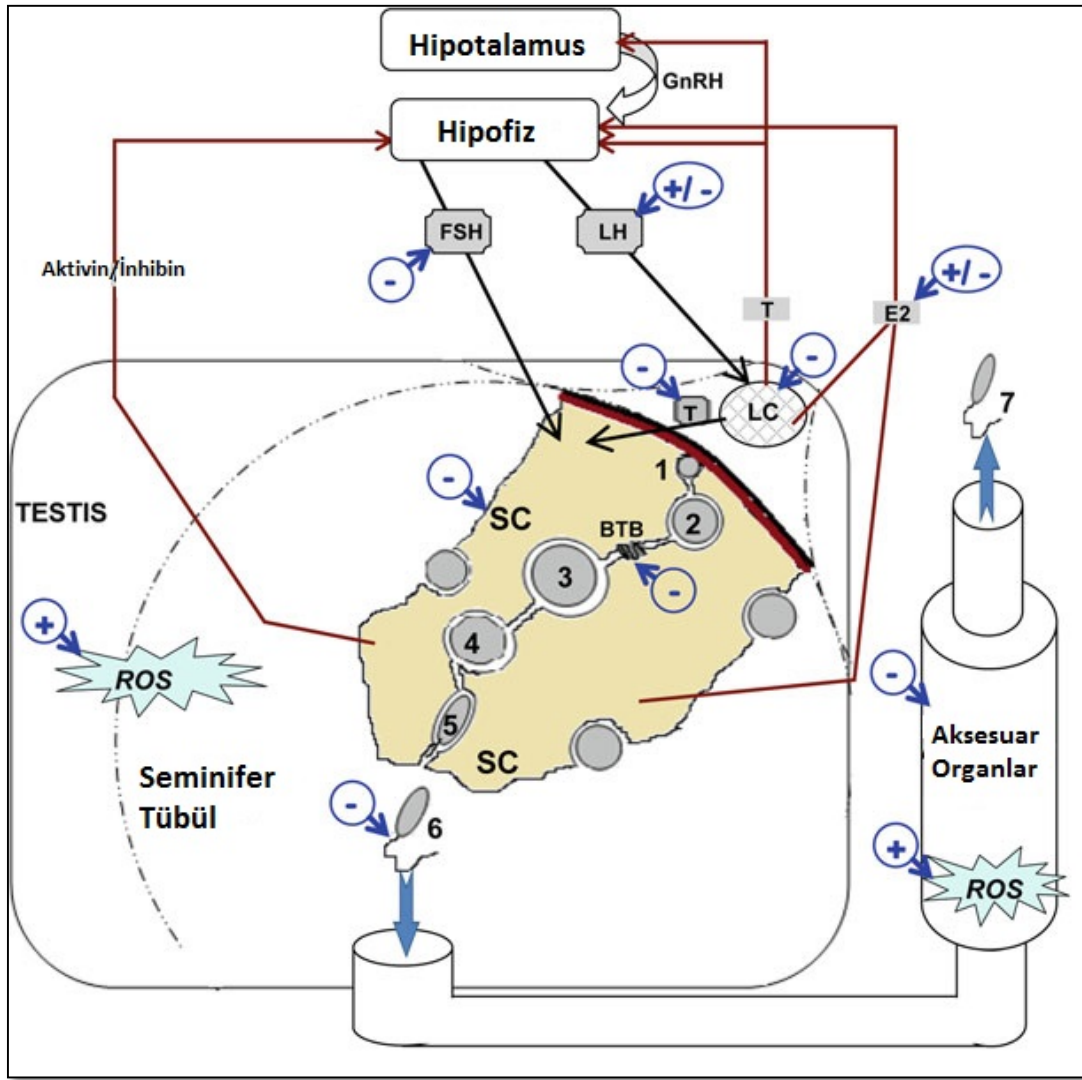
BPA'nın adiposikotinlere etkisi

Lee ve arkadaşları 24 saatlik 10 μ M dozluk BPA'nın 3T3-L1 hücre hattında Leptin mRNAlarının ifadelenmesinin artmasına neden olduğunu göstermişlerdir [195]. Miyawaki, 2007 deki çalışmasında dişilerde serum leptin seviyesinde artış bulurken erkeklerde bir artış gözlemlenmemiştir. Dişilerdeki bu artış, adipoz doku ağırlığındaki artışla pozitif bir korelasyon göstermiştir [33].

Hugo ve ark. yaptıkları bir çalışmada ise BPA'nın 0,1-1-10 nM dozunun insan göğüs, derialtı ve visseral adipoz eksplantlarından adiponektin salınımını azalttığı gösterilmiştir [13]. Ayrıca adiponektinin baskılanmasının metabolik sendrom açısından bireyleri riske soktuğu bildirilmiştir [12]. Lipolizi uyaran, insülin duyarlılığını azaltan, adiposit farklılaşmasını ve lipid homeostazını etkileyen interleukin-6 ve TNF- α gibi inflamatuvar sitokinlerin kandaki düzeyini artırdığı belirtilmektedir. Benzer bulgular ve artmış kardiyovasküler hastalık riskine işaret eden başka çalışmalar da bulunmaktadır [196]. Ayrıca, BPA'nın metabolik sendromuna neden olduğu, meme ve prostat kanserinin tedavisini olumsuz yönde etkilediği de bildirilmektedir [197].

2.8.6. BPA'nın erkek üreme sistemine olan etkisi ve mekanizmaları

Doğum sonrası dönemde, pubertal dönemde ve yetişkinlik döneminleri boyunca, BPA hipotalamo-hipofizer aksı LH, FSH, androjen ve östrojen hormon sentezlerini, ekspresyonlarını ve ilgili resöptörlerin fonksiyonlarını değiştirerek etkiler. Bu etkilenen mekanizmalar da sperm parametrelerini değiştirir. BPA aynı zamanda testis ve epididimideki oksidatif stresi antioksidan enzimleri inhibe ederek ve lipid peroksidasyonunu da artırarak uyarır [11].



Şekil 2.5. BPA'nın üreme sistemindeki başlıca etkileri ve etkilediği yerler [11]

(-): BPA hücre fonksiyonlarını bozar ve aksesori (ikincil) organların ağırlığını düşürür, veya hormon düzeylerinin azaltır.

(+): BPA hormon düzeylerinin artışı uyarır veya reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışı uyarır veya prostat bezinin büyümesini stimüle eder.

(+/-): BPA ya etkin kalma durumunda hormon ya üretimi + olduğunda uyarılır; ya da – olduğunda inhibe edilir. 1) spermatogonium, 2) birincil spermatosit, 3) ikincil spermatosit, 4) yuvarlak spermatit, 5) uzamış spermatit, 6) ve 7) spermatozoa

BTB: Kan-Testis bariyeri, E2: Östrojen, LC: Leydig hücresi, SC: Sertoli hücresi, T: Testosteron, ROS:Reaktif oksijen türleri

BPA'nın erkek üreme sistemi üzerine etkilerini değerlendiren çalışmaların çoğu hayvan modelleri üzerinde yapılmıştır.

BPA, somatostatin reseptöründe modifikasyon yaparak büyüme hormonu (GH) ve TSH salınımını azaltıcı etki gösterebilmektedir [198]. Bu durumda pubertal gelişim ve hipotalamo-hipofizer aksı üzerinde etki oluşturmaktadır [199].

In utero dönemde 16-18 gün boyunca BPA'ya etkin kalan erkek farelerde anogenital açıklığın azaldığı, prostat hiperplazisi (büyümesi) ve epididimal ağırlık azalmasının gözlemlendiği saptanmıştır. Prostat hiperplazisi ile hücre üzerindeki östrojen reseptörü ilişkili bulunmuş ve bu etki antiöstrojenlerle bloke edilmiştir [27, 28]. Yine, sıçanlar üzerinde in utero dönemde yapılan bir diğer araştırmada, BPA'ya oral etkin kalma sonucunda testis ağırlığında önemli bir artışın söz konusu olduğu bildirilmiştir [29].

Gurmeet ve ark. prepubertal sıçanlarla yaptıkları çalışmada 1, 5, 10 ve 100 mg/kg/gün BPA'ya 6 hafta oral şekilde etkin kalma durumunda BPA uygulanan sıçanlarda spermatogenezis olayının daha seyrek olduğu, hücreler arası bağlantı kaybı ve seminifer tübül lümeninde germ hücrelerin sayısında azalma olduğu seminifer tübül epiteli hasarının artan dozlara bağlı olarak daha da şiddetlendiği görülmüştür. Ayrıca bu hayvanların seminifer tübüllerin lumeninde atrofiye bağlı olarak olgunlaşmamış germ hücrelerine ve hücre debris oluşumları olduğunu saptamışlardır. Bu hasarın artan dozlara bağlı olarak, seminifer tübül çaplarında, seminifer epitel kalınlığında saptanan azalmaya neden olabileceğini aktarmışlardır. Elde edilen bu bulguların BPA uygulanan sıçanların serum testosteron ve östradiol değerlerinde yaşanan önemli düşüşle ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bunlarla ek olarak, BPA'ya etkin kalan tüm gruplardaki sıçanların vücut ağırlıklarında, testis ve epididimis ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişime rastlamamışlardır. Bunların sonucunda, günlük sperm üretiminde ve fertilitede azalmaya neden olabileceğini ifade etmişlerdir [200].

Erişkin farelerin 4 hafta süreyle intraperitoneal olarak 20 mg/kg/gün BPA'ya etkin kalması sonucu, günlük sperm üretimlerinde ve total sperm sayılarında azalma; prostat ve seminal vezikül ağırlıklarında düşüş belirlenmiş; ancak testis veya epididimis ağırlıklarında herhangi bir değişimin meydana gelmediğini göstermişlerdir. Ayrıca bu araştırmada, sıçanların serum testosteron düzeyleri ile karaciğer ve böbrek ağırlıklarında azalma olduğu da gözlenmiştir [30]. Bunlara ek olarak, plazma LH hormon düzeyinde değişiklik ve plazma testosteron miktarında azalma sonucunda sperm sayısında azalma olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [201].

Sakaue ve ark.'nın Japonyada sıçanlarla yaptıkları bir diğer çalışmada, yüksek dozda BPA'ya oral şekilde etkin kalma durumunun günlük sperm üretiminde ve fertilitede azalmaya neden olduğu; ancak 20 µg/kg/gün dozunun altında sperm üretiminin önemli

ölçüde etkilenmediği bildirilmiştir [202]. Bununla birlikte erkek sıçanlarda düşük doz BPA ile karşılaşmanın testiküler ve epididimal ağırlıkta azalma ile karakterize, sperm üretimi ve fertilitede azalmaya neden olduğu saptanmıştır [22]. BPA'nın ters etki gözlenmeyen doz düzeyinin (NOAEL- Lowest Observed Effect Level) belirlenmesi amacıyla üç nesil sıçan üstünde yapılan çalışmalar sonucu sistemik toksisite için NOAEL değeri 75 ppm (5 mg/kg/gün); üreme ve postnatal etkiler için için NOAEL değeri 750 ppm (50 mg/kg/gün) olarak belirlenmiştir [203].

Çizelge 2.3. Düşük Dozlarda Bisfenol A'ya Maruziyetin Sonuçları [204]

Fare ve sıçanlar üzerine ters etkileri	İnsan sağlığına olası ters etkileri
Prostat hiperplazisi ve kanser	Prostat kanseri artışı
Anormal üretra/ obstrüksiyon	Hipospadias
Sperm sayısının azalması	Sperm sayısının azalması
Vücut ağırlığı artışı	Obezitenin artışı

2.8.7. BPA'nın serbest radikal oluşumu üzerine etkisi ve bu durumun üreme sistemine ve metabolik sendrom tablosuna yansımaları

Bazı çalışmalarda, BPA'nın erkek üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkisi, spermde oksidatif stresin indüksiyonu ile açıklanmaktadır. Testisin işlevleri, normal fizyolojik koşullar altında, bir antioksidan sistem tarafından düzenlenen reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile ilişkilidir. Fakat BPA gibi ajanlara etkin kalma durumu testiküler oksidatif stresse neden olan bu ROS üretimini daha da şiddetlendirir [11, 205]. Sıçanların oral yoldan artan dozlarda BPA'ya etkin kalma durumu, antioksidan savunma sisteminin azalmasına ve epididimal spermelerde oksidatif stresin artışına yol açabildiği saptanmıştır [11].

Erkek sıçanlarda oral yoldan 10 mg/kg/ağırlık dozunda BPA uygulanması sonucunda glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz gibi testiküler antioksidan enzimlerin miktarında azalma saptanmıştır. Aynı zamanda testis ve spermatozoa da hidrojen peroksidaz ve lipid peroksidasyon düzeylerinde de artış saptanmıştır. Yine Chitra ve ark. yaptığı farklı bir araştırma da aynı sonuçlar elde edilmiş, ek olarak da epididimal ve sperm hücrelerinde de bu etkilere rastlandığı belirtilmiştir [206].

2.9. Serbest Radikaller

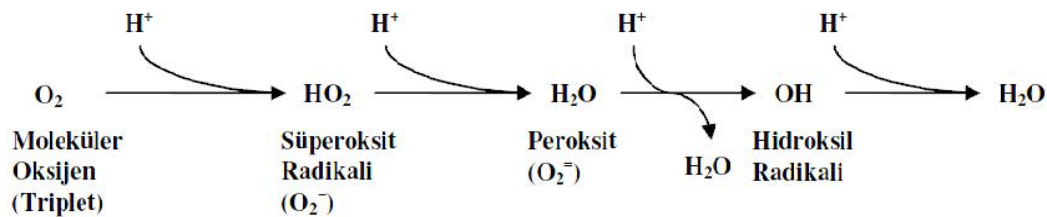
2.9.1. Serbest radikaller ve oksidatif stres

Serbest radikaller, dış orbitalinde eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller olarak tanımlanmaktadır. Ömürleri çok kısa olan ve kararsız bir yapı gösteren bu tanecikler organizmada hem normal metabolizma olayları sürecinde sürekli ortaya çıkarlar, hem de çevre kirliliği, radyasyon, ilaçlar ve BPA'nın da içinde olduğu zararlı kimyasallar gibi çeşitli dış etkenlerin etkisi sebebiyle meydana gelebilirler. Organizmada ortaya çıkan radikallerin çok önemli bir kısmı oksijen kaynaklı olup, oksijen dışında azot, karbon ve kükürt kaynaklı radikaller de meydana gelmektedir (Çizelge 2.4) [11, 207].

Çizelge 2.4. Oksijen ve Azot Kaynaklı Resktifler

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Hidroksil	$\text{HO} \cdot$	Hidrojen peroksit	H_2O_2
Alkoksil	$\text{RO} \cdot$	Singlet oksijen	$^1\text{O}_2$
Peroksil	$\text{ROO} \cdot$	Ozon	O_3
Süperoksit	$\text{O}_2 \cdot^-$	Hipoklorid asit	HOCl
Nitrik oksit	$\text{NO} \cdot$	Lipit hidroperoksit	LOOH
Azot dioksit	$\text{NO}_2 \cdot$	Peroksinitrit	ONOO^-

Oksijenin enerji üretimi için mitokondride solunum olaylarında kullanılması sonucu %2-3 kadarı suya dönüşmemekte ve oksijen kaynaklı radikalleri meydana getirmektedir (Şekil 2.6). Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile superoksit radikali, iki elektron alarak indirgenmesi ile hidrojen peroksit oluşur. Üçüncü elektron ilavesi ile yüksek derecede reaktif hidroksil radikali oluşur. Dördüncü elektron eklenmesi ile su oluşmaktadır [207].



Şekil 2.6. Reaktif oksijen türlerinin oluşumu [207]

Bunlarla birlikte serbest radikaller canlı sistemlerde mitokondrinin yanı sıra hücrelerin tüm kompartımanlarında zara bağlı veya serbest halde bulunan pek çok enzimin katalizlediği reaksiyonlar esnasında da oluşmaktadır [207].

Aktif oksijen türleri ROS kararsız yapı sergilemeleri sebebiyle başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme ve onlara zarar verme potansiyeline sahiptirler. Bu zarar organizmada birçok biyolojik sorunlara neden olur [207]. Buna karşı canlılar da antioksidan olarak adlandırılan bazı savunma sistemleri geliştirmişlerdir. Antioksidanlar, serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi oluşturarak serbest radikallere uygun eletronun bağlanmasını sağlayarak istikrarlı bir yapı oluşmasını sağlarlar. Böylece hücre ve dokuların yapısal bütünlüğünün korunarak, normal fonksiyonlarının yerine getirmeleri sağlanmış olur. Bununla birlikte, oksidan ve antioksidan sistem arasındaki bu dengenin korunması büyük önem taşımaktadır. Oksidatif denge sağlandığı sürece canlı sistemler, serbest radikallerden etkilenmemektedir. Fakat çeşitli nedenlerle savunma mekanizması aracılığıyla ortadan kaldırılardan daha fazla radikal oluşması durumunda oksidatif stres oluşur. Sonucunda hasarın yerine bağlı olarak çeşitli organ ve sistemler etkilenerek organizmada fizyolojik ve biyokimyasal fonksiyon bozuklukları meydana gelir [207].

2.9.2. Serbest radikallerin biyolojik molekülere etkisi

Serbest radikaller reaktif yapıları sebebiyle başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme ve onlara zarar verme özelliğine sahiptir.

Serbest radikallerin lipitlere etkisi

Lipidler serbest radikallerin etkilerine karşı en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranlarındaki kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyon ürünleri meydana getirirler. Lipit peroksidasyonunu başlatan başlıca radikaller süperoksit radikali, hidroksil radikali, peroksil radikali ve alkoksil radikali'dir. Lipid peroksidasyonu kendi kendini devam ettiren zincir reaksiyonu şeklinde ilerler ve oldukça hasar vericidir.

Lipid radikali ($L^{\bullet}$) dayanıksız bir yapı sergiler ve bir dizi değişikliğe uğrar. Lipid radikallerinin ($L^{\bullet}$) moleküler oksijenle (O_2) etkileşmesi sonucu lipid peroksit radikalleri ($LOO^{\bullet}$) oluşur. Lipid peroksit radikalleri ($LOO^{\bullet}$), membran yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipidperoksitlerine ($LOOH$) dönüşürler ve böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder. Lipid peroksitleri ($LOOH$) yıkıldığında çoğu biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur. Bu bileşikler ya hücre düzeyinde metabolize edilirler veya başlangıçtaki etki alanlarından diffüze olup hücrenin diğer bölümlerine hasarı yayarlar. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonunda malondialdehit (MDA) meydana gelir.

Malondialdehit kanda ve idrarda ortaya çıkar, yağ asidi oksidasyonunun özgün ya da kantitatif bir indikatörü olmamakla beraber lipid peroksidasyonunun derecesiyle iyi korelasyon gösterir. Bu nedenle biyolojik materyalde MDA ölçülmesi lipid peroksit seviyelerinin belirteci olarak kullanılır.

Lipid peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa sebep olur [207, 208].

Serbest radikallerin proteinlere etkisi

Proteinler serbest radikallerin ataklarına karşı poliansatüre yağ asitlerine göre daha dayanıklıdır. Proteinlerin serbest radikal harabiyetinden etkilenme derecesi amino asit içeriklerinin ne olduğuna göre değişir. Doymamış bağ ve kükürt içeren triptofan, tirozin, fenilalanin, histidin, metiyonin, sistein gibi amino asitlere sahip proteinler serbest radikallerin ataklarından kolaylıkla etkilenirler. Serbest radikallerin etkileri sonunda, proteinlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulmasına neden olur [208].

Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine etkisi

Serbest radikallerin etkisi sonucu DNA yapısını etkileyerek pürin ve pirimidin bazlarında parçalanma, zincir kırılmaları, DNA denatürasyonu gibi DNA moleküllerinde zararlı yapısal değişimlerin oluşmasına neden olur.

2.10. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu ve bunların meydana getirdikleri hasarları önlemek amacıyla canlılar birçok savunma mekanizmaları geliştirmişlerdir. Bu mekanizmalar "antioksidan savunma sistemleri" veya kısaca "antioksidanlar" olarak adlandırılır. Antioksidanlar, endojen ve eksojen kaynaklı olmak üzere iki ana grupta incelenir [207].

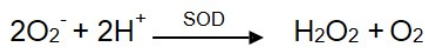
2.10.1. Endojen kaynaklı antioksidanlar

Endojen kaynaklı antioksidanlar, enzimatik ve enzimatik olmayan (nonenzimatik) antioksidanlar olmak üzere iki sınıfta incelenir [207, 208].

Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) hidrojen peroksit (H_2O_2) ve moleküler oksijene (O_2) dönüşümünü katalizleyen antioksidan enzimdir. İnsanda süperoksit dismutazın iki izomer tipi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde bulunur, Cu ve Zn içerir, dimerik yapıdadır, siyanidle inhibe edilir. Mn SOD mitokondride bulunur, Mn içerir, tetramerik yapıdadır, siyanidle inhibe olmaz. Genel olarak hücrede en bol bulunan izomer sitozolik Cu-Zn SOD'dır.



SOD'ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının ($O_2^{\cdot-}$) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO_2 artışıyla artar. SOD'ın ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür [208].

Katalaz (CAT)

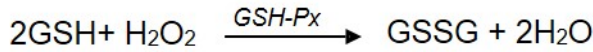
Katalaz yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz esas olarak peroksizomlarda daha az olarak sitozolde ve mikrozomal bölümde bulunur. Katalaz hidrojen peroksidi (H_2O_2) suya ve oksijene parçalar.



Hücrede oluşan hidrojen peroksidi (H_2O_2) hidroksil serbest radikali ($\text{OH}^\bullet$) oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır. Katalaz metil hidroperoksit ve etil hidroperoksit gibi küçük moleküllerin indirgenmesini de sağlar, ancak büyük molekül ağırlıklı lipit hidroperoksitlere karşı etki göstermez [208].

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu (Se) içerir, tetramerik bir enzimdir. Glutasyon peroksidaz, hidrojen peroksit ile hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur.



Zar fosfolipitlerinden, fosfolipaz A2 tarafından salınan lipit hidroperoksitlere etki eder. Fagositik hücrelerde önemli bir fonksiyonu vardır. Solunum patlaması sırasında serbest radikal hasarı sonucu fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksit birikmesine ve hücre hasarına yol açar. GSH-Px, hem lipit peroksidasyonunun başlamasını önler, hem de lipit peroksidasyonu sonucu oluşan lipit hidroperoksitlerin metabolizmasını sağlar [207].

Glutasyon S-Transferazlar (GST)

Gerek organizmaya dışarıdan gelen, gerekse biyotransformasyon reaksiyonlarıyla oluşan zararlı bileşikler, ya etkili bir nükleofil olan glutasyon ile konjuge olur ya da GST tarafından katalizlenen bir dizi reaksiyonla suda çözünen merkaptürik asit türevlerine dönüşerek safra

veya idrar yolu ile organizmadan uzaklaştırılırlar. Bir multienzim ailesi olan glutatyon transferazlar detoksifikasyon işleminden sorumludur. Alifatik heterosiklik radikaller, epoksitler ve birçok genotoksik ksenobiotiklerin GSH ile konjugasyonunu katalize ederler. Bu enzimler karsinogenik, polisiklik aromatik hidrokarbonları detoksifiye ederler, konjuge izotiyosiyanatları daha az reaktif ve suda çözülür ürünler haline getirirler. Ayrıca, başta araşidonik asit ve linoleik asit hidroperoksitler olmak üzere lipit hidroperoksitlere karşı selenyumdan bağımsız GSH-Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar [207].

Glutatyon Redüktaz

GSH-Px vasıtasıyla hidroperoksitlerin indirgenmesi sonucu oluşan Okside Glutatyonu tekrar indirgenmiş Glutatyona (GSH) dönüşümünü kataliz eder.

Mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi

Solunumun zincirinin son enzimi olup, Süperoksidi (O_2^-) detoksifiye eder.

Enzimatik (nonenzimatik) olmayan antioksidanlar

Bu gruptaki antioksidanların etkileri alanları enzimatik antioksidanlara göre daha dardır [208].

Çizelge 2.5. Enzimatik olmayan antioksidanlar [209]

Antioksidan	Reaksiyonu
Melatonin	Lipofilik özellik göstermesinden dolayı hücrenin hemen hemen bütün organellerine hatta hücrelerine kadar ulaşarak geniş bir dağılım gösteren melatonin, hidroksil ve süperoksit radikallerini tutarak antioksidan etki gösterir.
Seruloplazmin	Ferro demiri (Fe^{2+}) ferri demire (Fe^{3+}) yükseltgeyerek fenton reaksiyonunu ve hidroksil radikali oluşumunu engeller.
Transferrin	Serbest demir iyonlarını bağlayarak fenton reaksiyonunu önler
Laktoferrin	Düşük pH'lı ortamlardaki demir iyonlarını bağlar.
Glutatyon (GSH)	Karaciğerde sentezlenen bir tripeptittir. Hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşmesini önler. Eritrositleri, lökositleri, göz lensini oksidatif hasara karşı korur.
Sistein	Süperoksit ve hidroksil radikali toplayıcısıdır.
Ürik asit	Genelde metal bağlayıcı olarak çalışırken değişik radikalleride toplar.
Glikoz	Hidroksil radikali gidericisidir.
Albumin	HOCl radikali toplar. Proteini ve metal iyonlarını bağlar.
Bilirubin	Önemli bir peroksil radikali toplayıcısıdır.

2.10.2. Eksojen kaynaklı antioksidanlar

Eksojen antioksidanlar; vitaminler ve ilaç antioksidanları olarak sınıflandırılır [209].

Çizelge 2.6. Vitaminler antioksidanları [209]

Antioksidan	Reaksiyonu
VitaminE (α -tokoferol) B-karoten	Süperoksit, hidroksil radikallerini indirger. Membran lipidlerinde çözünerek peroksidasyon zincirini kırar. Serbest radikal türlerini toplar.
VitaminC (askorbikasıit)	Hidroksil radikal gidericidir ve tokoferolü indirger. Kollagen sentezinde lizin ve prolinin hidroksilasyonu için gereklidir.
KoenzimQ (ubikinon)	Mitokondriyal enerji metabolizmasında görev alan ve bütün canlılarda çeşitli oranlarda bulunan vitamin benzeri bir antioksidandır. B3 vitamini ile DNA onarımında rol almaktadır. Vücut tarafından sentezlendiği gibi dışardanda besinlerle de alınabilir.

2.10.3. Antioksidanların etki mekanizmaları

Toplayıcı etki; Serbest oksijen radikallerini tutarak veya daha zayıf moleküllere dönüştürerek etki gösterirler. Antioksidan enzimler bu şekilde işlev görürler.

Bastırıcı etki; Serbest oksijen radikallerine bir hidrojen ekleyerek aktivitelerini azaltarak veya inaktif hale dönüştürerek etki gösterirler. Vitaminler ve flavanoidler bu özellikteki antioksidanlardır.

Zincir kırıcı etki; Serbest oksijen radikallerinin zincirlerini kırıcı etki gösterirler. Hemoglobın, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler [208].

Onarıcı etki; Serbest radikallerin meydana getirdiği hasarı onarıcı etkiye sahiptirler.

Hücresele kinaz kayıplarını önleme; Oksidasyon reaksiyonlarını durdururlar.

Enzimatik etki; SOD gibi antioksidan enzimler ile enzimatik olmayan antioksidanların sentezini arttırarak etkilerini gösterirler [209].

2.11. Melatonin

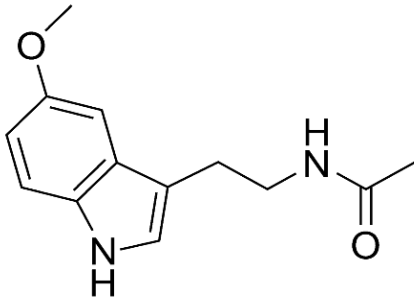
Melatonin başlıca pineal (epifiz) bezinden salgılanan ve salgısı hipotalamusun suprakiasmatik çekirdeğinin aracılığı ile merkezi sinir sistemi kontrolünde olan bir

hormondur [210]. Lerner ve arkadaşları tarafından ilk olarak 1958’de pineal bezinin hormonu olarak ifade etmiştir [211]. Bulunan ilk fonksiyonu balık ve amfibilerde deri rengini açma özelliği olmasından dolayı melatonin olarak adlandırılmıştır. 1980 yılında ışığın melatonin sekresyonunu baskıladığı Lewy ve arkadaşları tarafından bulunmuştur [212]. Daha sonraki çalışmalar sonucu melatoninin sirkadien ritimleri regüle ettiği ve fotoperiyodik değişimlere cevap veren türlerde gün uzunluğunun ölçülmesi yoluyla mevsimsel üremenin zamanlanmasında, metabolizma ve davranışta rolleri olduğu gösterilmiştir. Bu keşiflerin ardından melatonine olan ilgi artmış ve son yıllarda melatoninin immünite gibi çok sayıda yeni fonksiyonunun olduğu bildirilmiştir [213].

2.11.1. Melatonin yapısı, sentezi ve yıkımı

Melatonin yapısı

Melatonin (N-asetil-5-metoksitriptamin, $C_{13}H_{16}N_2O_2$) esansiyel bir amino asit olan L-triptofan’dan üretilen indolaminler içerisinde önemli bir yer tutan, 232 molekül ağırlığına sahip ve başlıca pineal bezde sentezlenen bir hormondur.



Şekil 2.7. Melatoninin yapısı [214]

Pineal bez insanlarda beyin merkezinde üçüncü ventrikülün arkasında yerleşmiş, total vücut ağırlığına göre oldukça küçük (insanlarda 50-150 mg) bir endokrin organdır. Diensefalondan köken alır, lateral gözler ve hipotalamus ile aynı kökene sahiptir [52].

Melatonin biyosentezi

Pineal bezde melatonin biyosentezi ışık tarafından kontrol edilir [215]. Başlıca 4 basamakta sentez tamamlanır. Öncelikle kandan beze diffüze olan L-triptofan hidroksilaz enzimi ile

hidroksillenip, 5-hidroksitriptofan'a sonrasında ise serotonin'e (5-hidroksi triptamin) dönüşür [216]. Serotonin düzeyi ışığa etkin kalma ile artar ve karanlıkta ise melatonine çevrilmesi sebebiyle azalır [217]. Oluşan serotonin ise önce N-asetilserotonin'e sonrasında ise melatonin'e çevrilir [216]. Pineal melatonin, hem diurnal hem de nokturnal hayvanlarda günün karanlık periyodu boyunca pineal bezde üretilir [216] ve sonra direkt olarak kana ve beyin omurilik sıvısına (BOS) verilir [217]. Dolaşımdaki melatonin konsantrasyonu pineal melatonin konsantrasyonuna yakındır [215]. Hipotalamik nörohormonlara benzer olarak melatonin salgılanması da nöral-bağımlıdır ve direkt olarak hipotalamusun suprakiazmatik nükleusunun kontrolü altındadır. Üretilen melatonin miktarı yaşa bağlı olarak pineal bezin kütlelerinin azalması ve kalsifikasyon miktarına göre oransal bir düşüş gösterir [218]. Yenidoğanda melatonin sekresyonunun başlaması 9-12 haftayı bulurken, 1-3 yaşta en yüksek pikini yapar ve pubertede azalmaya başlar ve sonrasında ise kademeli olarak azalmaya devam eder [217].

Melatoninin yıkımı

Melatonin, dolaşımdaki biyolojik ömrü yaklaşık 10 dakikadır ve başlıca karaciğer tarafından 6-hidroksimelatonin'e çevrilerek inaktif bir forma dönüştürülür. Daha sonra bu molekül bir sülfat veya bir glukuronite metabolize olur. Oluşan ürün de idrar ve gaitayla sülfat ve glukuronit konjugatları olarak vücuttan atılır [217]. Beyin, koroid pleksus ve pineal dokularında ise melatonin, indolamin 2,3-dioksijenaz ile indol halkası kırılarak L-kinürenin'e metabolize edilir [215]. Melatoninin küçük bir miktarı (%2-3) ise idrarla değişmeden melatonin olarak atılır [217].

2.11.2. Melatoninin etki mekanizması

Melatonin, lipofilik özelliğinden dolayı plasenta, kan-beyin bariyeri gibi tüm morfolojik bariyerlerden geçebilir [210, 215, 217, 218]. Böylece sadece her hücreye değil, aynı zamanda her subsellüler kompartmana ulaşır. Hedef dokuya ulaştığında plazma membranında veya hücre çekirdeğinde bulunan özgün bağlanma bölgeleri aracılığıyla direkt olarak etkisini gösterir [218]. Bunun yanında bazı intrasellüler aksiyonlarını reseptör-bağımsız olarak da gerçekleştirebilir [210]. Melatoninin en çok araştırılmış ve bilinen reseptörleri G-protein bağlı reseptör ailesinden olan Melatonin reseptör tip 1 (MT1, yüksek afinite; pikomolar) ve tip 2 (MT2, düşük afinite; nanomolar)'dir [210, 215, 218].

Melatoninin aktivitelerinin çoğu baskılayıcı özelliktedir [215]. MT1 ile bağlanması adenilat siklaz aktivitesini inhibe etme ve inozitol fosfatı stimule etme vasıtasıyla intrasellüler sinyali yönetirken, MT2 reseptörünün aktivasyonu ise iki sekonder habercinin, cAMP ve cGMP, oluşumunu inhibe eder. Melatonin, membran reseptörlerinin yanı sıra nükleer RZR/ROR reseptörlerinin vasıtasıyla da etkisini gösterir [218].

2.11.3. Melatoninin fonksiyonları

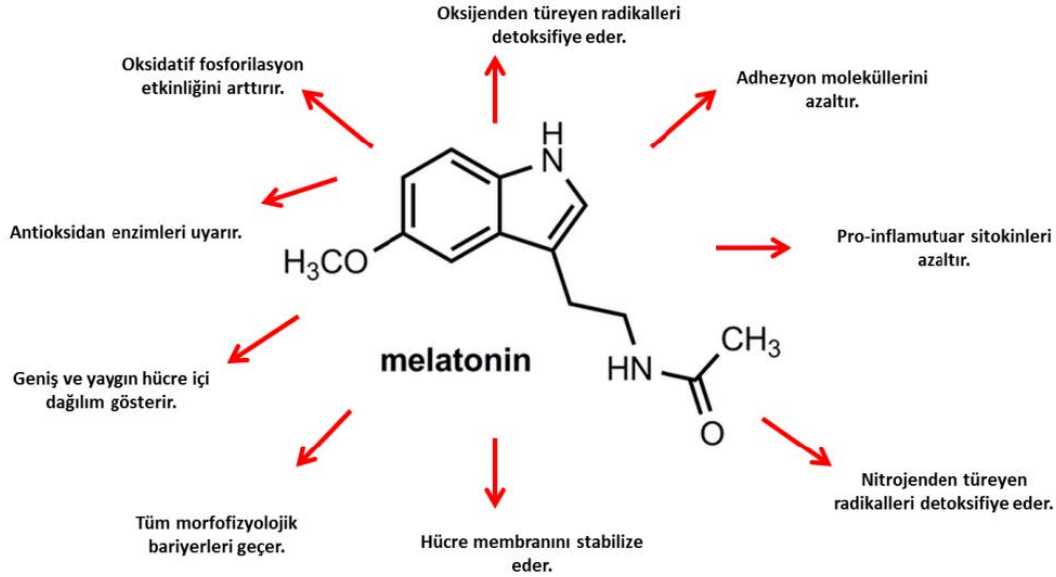
Melatonin, sahip olduğu reseptör çeşitliliği sayesinde farklı dokularda farklı işlevler gösterebilen çok yönlü bir moleküldür [219, 220]. Melatoninin memelilerdeki başlıca işlevi SCN'den gelen uyarılarla birlikte kronobiyotik bir faktör olarak, mevsimsel ve sirkadien ritimleri endojen olarak senkronize etmektir. Vücudun zamanlayıcısı gibi davranarak; yıllara, mevsimlere, günlere, saatlere bağlı salgı değişimleriyle tüm hücrelere bilgi verir. Bu sayede tüm vücut hücre ve dokularının işlevlerinin uyum içerisinde yürütülmesine katkıda bulunur [210, 220]. Ayrıca melatoninin üremede de düzenleyici rolü vardır. Hayvanlarda gonadotropin ve genital fonksiyonları ve bunlara bağlı olarak gonadların gelişimini ve ağırlıklarını önemli ölçüde etkileyebilir ve puberte sürecinde muhtemel görevleri vardır [221].

Melatonin, bunların dışında da birçok fizyolojik işlevde görev alır. İşlev ve etkileri olarak şu ana kadar bulunabilenlerden en önemlileri; immün cevabın düzenlenmesi, termoregülasyon, kan basıncının düzenlenmesi, onkostatik ve yaşlanmayı geciktirici özelliği olarak söylenebilir [210, 219]. Bunlara ek olarak son yıllardaki çalışmalar sonucu melatoninin MetS ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi bulunan plazma total kolesterol, VLDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve TG düzeylerini azalttığı gösterilmiştir [113, 210, 222].

2.11.4. Melatoninin antioksidan etkileri

Melatoninin özellikleri iyibilinen bir antioksidandır. Genel olarak melatoninin antioksidan özelliğini iki temel başlık altında inceleyebiliriz: Birincisi reseptörden bağımsız olarak oksidan maddeye (serbest radikal, reaktif oksijen türevi vb.) elektron sağlaması yoluyla olan doğrudan süpürücü etki, ikincisi ise endojen antioksidan mekanizmaları reseptör bağımlı olarak harekete geçirmek yoluyla gösterdiği indirekt etkisidir [220]. Direkt süpürücü etkisiyle süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), hidroksil radikali ($OH^\cdot$), peroksinitritler

(ONOO⁻) gibi radikal ve reaktif maddeleri zararsız hale getirdiği hem in vivo, hem de in vitro deneylerle ortaya çıkarılmıştır [219]. Bunlarla birlikte lipofilik özellikte olmasından dolayı melatonin LDL partiküllerine girip lipid peroksidasyonunu engelleyebilir [223].



Şekil 2.8. Melatoninin antioksidan özellikleri [224]

İndirekt etki olarak ise süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimlerin DNA seviyesinde ekspresyonlarını artırdığı ve peroksinitritlerin artışına neden olabilen uyarılabilir (indüklenebilir) nitrik oksit sentaz (iNOS) enzimini inhibe ettiği gösterilmiştir [225]. Melatonin çeşitli yönleriyle klasik antioksidanlardan (E vitamini, C vitamini, β -karoten vs.) ayrılır. Klasik antioksidanlar, etkilerini gösterdikten sonra prooksidan maddelere dönüşürler. Yani bu maddeler süpürdükleri oksidan maddelerden sadece daha az zararlıdır. Ancak melatonin oksidan maddelere etki ettikten sonra ara kademelerde ve sonuçta oluşan ürünler yine antioksidan etkili özelliklerini korurlar. Bu özellik bir antioksidan ajan için çok değerlidir ve “suicidal veya terminal antioksidan” olarak nitelendirilir [40]. Ayrıca melatonin kanser gibi kronik oksidatif stres oluşturan hastalıklarda, birçok seviyede etki ederek ortaya çıkan kısır döngüyü engeller [226].

Melatonin etkili bir antioksidan olmasının yanında, enerji harcanması ve vücut yağ kütlesinin düzenlenmesinde de görev alır [41]. Bunlara ek olarak metabolik düzenleyici rolü vardır. Melatoninle ilgili MetS hastalarında veya deney hayvanı modellerinde de çeşitli

araştırmalar yapılmıştır. Kronik melatonin tedavisinin, diyetle indüklenen obezite tarafından ortaya çıkarılan metabolik anormallikleri önlediği bildirilmiştir [210].

2.11.5. Melatoninin erkek üreme sistemindeki rölü

Son yıllarda melatoninin üreme sisteminin düzenlemesindeki rölüne olan ilgi artışmıştır [43]. Dişi ratlarda melatonin uygulamasının ovaryum gelişimini baskıladığı ve puberteyi geiktirdiği gösterilmişken, erkek ratlara eksojen melatonin uygulandığında ise testis boyutlarında azalma olduğu sonucana ulaşılmıştır. Melatonin reseptörlerinin insan hipotalamus ve hipofizinde bulunması melatoninin bu dokularda üretilen GnRH, FSH ve LH hormonlarının düzenlenmesinde etkisinin olabileceğini destekleyebilecek niteliktedir. Ayrıca melatonin testiste eksprese olan kendine özel reseptörlerini bağlanarak testiküler gelişimi doğrudan düzenleyebileceği söylenebilir [43].

2.11.6. Melatoninin mets ile ilişkisi

Melatonin etkili bir antioksidan [40] olmasının yanında, enerji harcanması ve vücut yağ kütlesinin düzenlenmesinde de görev alır. Bunlarla birlikte, metabolik düzenleyici rölü vardır [41, 42].

Melatoninle ilgili MetS hastalarında veya deney hayvanı modellerinde de çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Kronik melatonin tedavisinin diyetle indüklenen obezite tarafından ortaya çıkarılan metabolik anormallikleri önlediği bildirilmiştir [210].

Melatonin ve obezite

Çocuklarda ve ergenlerde (1–20 yaş) görülen nokturnal melatonin düşüşünün vücut ağırlığıyla ve vücut yüzey alanı ile korelasyon içinde olduğu fakat daha ileri yaşlarda bu korelasyonun devam etmediği kaydedilmiştir. Çocuk ve ergenlerin serum melatonin düzeyleri ile vücut ağırlıkları arasındaki bu negatif korelasyon, bu periyotta serum melatonin seviyesinde gözlenen düşüşün vücut ebatlarının artmasından kaynaklandığını düşündürmüştür [227].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Çalışmada, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme ve Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'nden sağlanan 4-5 haftalık 150-200 g ağırlığında, 42 adet erkek Spraque-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık, 20-25°C'lik sıcaklıktaki ortamda uygun kafesler içinde barındırılarak serbestçe beslenmeleri ve su içmeleri sağlandı. Çalışmamızda yapılan tüm işlemler Gazi Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 14.01.2015 tarihli ve G.Ü.ET-15.005 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Deney hayvanları her bir grupta 6 hayvan olmak üzere kontrol (susam yağı + %0,1'lik etanol çözeltisi), Fruktoz, BPA, Fruktoz + BPA, Fruktoz + Melatonin, Fruktoz- BPA-Melatonin grubu olmak üzere toplam 7 gruba ayrıldı.

Grup 1: (n=6) Kontrol Grubu

Birinci günden itibaren 8 hafta (60 gün) boyunca 25 mg/kg vücut ağırlığı dozda susam yağı ve 20 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozda %0,1'lik etanol çözeltisi gavaj ile uygulandı.

Grup 2: (n=6) Fruktoz Grubu

Birinci günden itibaren 8 hafta (60 gün) boyunca içme sularına %10 lik D-Fruktoz çözeltisi eklenerek ad-libitum olarak beslenmeleri sağlandı.

Grup 3: (n=6) BPA Grubu

Birinci günden itibaren 8 hafta (60 gün) boyunca 25 mg/kg vücut ağırlığı dozda BPA susam yağında çözüldükten sonra gavaj ile uygulandı.

Grup 4: (n=6) Fruktoz-BPA Grubu

Birinci günden itibaren 8 hafta (60 gün) boyunca içme sularına %10 luk D-Fruktoz çözeltisi eklenerek ve 25 mg/kg vücut ağırlığı dozda BPA susam yağında çözüldükten sonra gavaj ile uygulandı.

Grup 5: (n=6) Fruktoz - Melatonin Grubu

Birinci günden itibaren 8 hafta (60 gün) boyunca içme sularına %10 luk D-Fruktoz çözeltisi eklendi ve gavajla 20 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozunda melatonin uygulandı.

Grup 6: (n=6) BPA - Melatonin Grubu

Birinci günden itibaren 8 hafta (60 gün) boyunca 25 mg/kg vücut ağırlığı dozda BPA susam yağında çözüldükten sonra gavaj ile uygulandı ve 20 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozunda melatonin yine gavajla uygulandı.

Grup 7: (n=6) Fruktoz -BPA-Melatonin Grubu

Birinci günden itibaren 8 hafta (60 gün) boyunca içme sularına %10 luk D-Fruktoz çözeltisi eklenerek, 25 mg/kg vücut ağırlığı dozda BPA susam yağında çözüldükten gavajla uygulandı ve 20 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozunda melatonin yine gavajla uygulandı.

Sekiz haftalık deney boyunca bütün gruplardaki sıçanların ağırlıkları ile boyları 2 hafta aralıklarla ölçülerek vücut kitle indeksleri hesaplandı. Sekiz haftalık deney süresi sonunda tüm deneklerin yine ağırlıkları ile boyları ölçülerek derin anestezi (ketamin-ksylazin) altında intrakardiyak kan alınarak ötenazileri gerçekleştirilmiştir.

3.2. Deneyde Kullanılan Kimyasallar

- Bisphenol A (BPA) $\geq 99\%$, susam yağında çözüldü
- Melatonin powder (TLC) $\geq 98\%$, %2' lik etanolde çözüldü.
- D-Fructose $\geq 99\%$
- Bouin's Fixative (BesLab)
 - Pikrik asit 3000.0 ml
 - Formaldehit 1000.0 ml
 - Glasiyal asetik asit 200.0 ml

Sıçanlara verilen D-fruktoz, Merck'ten (Lot: 1.04007.1000, Darmstadt, Almanya) ve DaeJung (Lot: F0043ME) , melatonin, Sigma-Aldrich'den (St.Louis ABD) temin edilmiştir.

Alınan kanlar serum tüplerine konmuş, santrifüj edilerek serumun ayrılması sağlanmış ve serumlar -80°C 'de saklanmıştır.

3.3. Vücut Kitle İndeksinin Hesaplanması

Obezitenin tespiti için VKİ ölçümü kullanıldı. Sıçanlarda VKİ şu formülle belirlenir; $\text{VKİ} = \text{vücut ağırlığı (g)} / \text{boy uzunluğu}^2 (\text{cm}^2)$. Vücut ağırlığını tespit etmek için her bir sıçan darası alınmış kapaklı plastik bir kaptaki tartıldı. Boy uzunluğunu tespit etmek için burun ucundan anüse kadar olan mesafe ölçüldü. Sağlıklı sıçanlar için $\text{VKİ} = 0.72 \text{ g/cm}^2$ iken obez sıçanlarda VKİ değeri $\text{VKİ} \geq 1.00 \text{ g/cm}^2$ olarak belirlendi [228].

3.4. Doku ve Kan Örneklerinin Alınışı ve Saklanması

3.4.1. Doku örneklerinin alınışı ve saklanması

Sekiz haftalık deney süresi sonunda kurban edilen sıçanların sağ testis dokuları ağırlıkları ölçülerek rutin histolojik incelemeler için Bouin solusyonuna (Lot: 02102013.0210, BesLab) alındı. Sol testis dokuları ise biyokimyasal doku analizleri için fizyolojik çözeltide yıkandıktan sonra sıvı azotta dondurularak çalışmaya kadar -80°C 'de saklanmıştır.

3.4.2. Kan örneklerinin alınışı ve saklanması

Alınan kanlar serum tüplerine konmuş, santrifüj edilerek serumun ayrılması sağlanmış ve yapılacak olan biyokimyasal analizler için serumlar -80°C’de saklanmıştır.

3.5. Histolojik İncelemeler

Bouin solusyonuna alınan sağ testis doku örnekleri rutin histolojik takip yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı ve hazırlanan parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığındaki kesitlere alınarak Hematoksilen-Eosin boyaması, İmmünohistokimyasal boyama ve TUNEL yöntemleri uygulandı. Elde edilen kesitler Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobunda incelenerek ve edilen görüntüler, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi.

3.5.1. Hematoksilen-eosin boyama yöntemi

Deney yöntemi

Deparafinizasyon işlemi için, lamlara alınan kesitler 37°C’lik etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak için etüv ısısı 57°C’ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Lamlar deparafinizasyonu tamamlamak için 3 kez 20’şer dakika ksilolde bırakıldıktan sonra dehidratasyon işlemi için sırasıyla %100, %90, %80, %70 ve %50 etil alkol serilerinde 10’ar dakika tutuldu. Daha sonra, kesitler havada kurutularak 10 dakika akan musluk suyu ile yıkanarak alkolden arındırıldı. Kesitler 10 dakika hematoksilen boya solüsyonunda tutuldu. Daha sonra akan musluk suyu altında 10 dakika yıkandı. Kesitler ayırılma (farklılaşma) işlemi için glasiyel asetik asit ile alkol karışımı olan solüsyona 2-3 kez batırılıp çıkarılarak akan musluk suyu altında 10 dakika yıkandı. Kesitler 10 dakika Eosin boya solüsyonunda tutuldu. Sonra 10 dakika akan musluk suyu ile yıkandıktan sonra dehidratasyon işlemi için sırasıyla % 50, %70, %80, %90 ve %100’lük etil alkol serilerinden hızlıca geçirilerek 45 dakika ksilolde bekletildi ve lamlar entellan ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobunda elde edilen görüntüler, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi.

Yapılan incelemeler

Hematoksilen-eozin boyaması sonrasında testis dokusunda morfolojik ve morfometrik incelemeler yapıldı. Bu incelemede seminifer tübüllerin çapı ve seminifer tübüllerin epitel kalınlıkları Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobu kullanılarak ölçüldü. Seminifer tübül yapısındaki değişiklikler incelendi ve gruplar arası farklılıklar istatistiksel yöntemlerle belirlendi. Morfometrik değerlendirmeler için her gruba ait 6 hayvanın her bir kesitinde randomize seçilen 10 seminifer tübülde ölçüm yapıldı. Elde edilen morfometrik değerler istatistik yöntem ile değerlendirildi.

3.5.2. İmmünohistokimyasal analizler

Elde edilen testis dokusu preparatları Leptin (ObR) ve Adiponektin reseptörü-1 (AdR1) immünreaktiviteleri, kitler kullanılarak immünohistokimyasal yöntemle belirlendi.

Deney yöntemi

İmmünohistokimyasal boyamalar için testis dokusu bloklarından polilizinli lamlara 4 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler, 37°C’ deki etüvde bir gece tutuldu, daha sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak için etüv ısısı 57°C’ ye çıkarılarak bu ısıda 1 saat, son olarakta 61 °C’ de 20 dakika bekletildi. Lamlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 20’şer dakika ksilol’e etkin bırakıldı. Daha sonra 10’ar dakika sırasıyla %100, %96,%90, %80 ve % 70’lik alkol serilerinden geçirildi.

Dehidrate edilen dokuları alkolden arındırmak için kesitler 2 kez 5’er dakika distile sudan geçirildi. Daha sonra, dokulara sitrat tamponu (pH 6.0) (Cat: AP-9003-500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) ile mikrodalga fırında retriver işlemi uygulandı. Mikrodalgadan çıkan sitrat tamponundaki dokular 20 dakika dışarıda soğumaya bırakıldı. Daha sonra dokular sitrattan arındırılmak için 2 kez 5’er dakika distile sudan geçirildi. Dokuların etrafı PAP-pen ile çevrilerek nemli ortam olan immünohistokimya barına dizildi. Dokular 3 kez 3’er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (Ph:7.4) ile yıkandı. Daha sonra, 15 dakika %3’lük hidrojen peroksit (Cat: AP-9003-500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) ile etkin bırakılan dokulardan endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. İşlem sonrasında PBS ile lamlar yıkandı.

Yıkanan lamlara 5 dakika UltraV block (Lot: PHL150128, Lab Vision, Thermo Scientific) uygulanarak, özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi sağlandı. Bu işlemden sonra dokular yıkanmadan primer antikör aşamasına geçildi.

Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan, 1/100 oranında hazırlanan ObR (Leptin, Lot: J2313, Santa Cruz), AdR1 (Adiponektin resöptörü-1, Lot: J2414, Santa Cruz) primer antikörlerine etkin bırakılarak 45 dakika oda sıcaklığında bekletildi. Bu aşamada dokulara uygulanan her iki primer antikoru +4 derecede 1 gece inkübe edildi. Ertesi gün işlemlere devam edildi. Primer antikordan sonra lamlar 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandı. Daha sonra 10 dakika biotinli sekonder antikör (Cat: TP-125-BN, Lot: PBN100121, Lab Vision, Thermo Scientific) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Tekrar PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biotine bağlanması amacıyla 10 dakika streptavidin peroksidaz enzim (Cat: TS-125-HR, Lot: SHR100406, Lab Vision, Thermo Scientific) kompleksine etkin bırakıldı. İşlem sonunda dokular yine 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandı.

Son olarak ortama diaminobenzedin içeren (DAB) substratı (Cat: DABS-125, Lot: 90824B, Spring Bioscience) içeren kromojen DAB (Cat: DABC-004, Lot: HD25395, Spring Bioscience) eklenerek yaklaşık 5-10 dakika bekletildi ve gözle görülebilir immün tepkimenin ortaya çıkması sağlandı. Zemin boyası olarak Mayer'in hematoksilin'i kullanıldı. DAB ile boyanan lamlar azalan alkol serilerinden geçirildi. Son olarak da 20 dakika ksilolde bekletildikten sonra entellan ile lamel ile kapatıldı. Kesitler bilgisayar destekli DM 4000 Leica Germany görüntülü analiz sisteminde incelenerek değerlendirildi.

3.5.3. TUNEL yöntemi

Deney yöntemi

Her gruba ait doku örneklerinde DNA fragmentasyonu ile gelişen apoptozisi saptamak için TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) yöntemi uygulanmıştır.

Kesitler 37°C'deki etüvde bir gece tutulmuş daha sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak için etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak bu ısıda 1 saat, son olarak da 61°C'de 20 dakika bekletilmiştir. Lamlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15'er dakika ksilol'e etkin

bırakılmıştır. Daha sonra 5'er dakika sırasıyla 2 kez absölü alkol, 1 kez %96'lık ve %70'lik alkol serilerinden geçirilmiştir. Kesitler alkolden arındırılmak için 5 dakika PBS ile yıkanmıştır. Daha sonra etrafı PAP-pen ile çevrelenen dokular, 15 dakika boyunca 20 µg/ml proteinaz K ile inkübe edilmiştir. Bunları takiben dokular 2 kez 2'ser dakika PBS ile yıkanmıştır. PBS ile yıkama aşamasından sonra 5 dakika %3'lük hidrojen peroksit ile etkin bırakılmış dokularda endojen peroksidaz aktivitesi bloke edilmiştir. 2 kez 5'er dakika PBS ile yıkanan kesitler üzerine Equilibration Buffer damlatılarak oda sıcaklığında 5 dakika bekletilmiştir. 60 dakika 37°C nemli ve karanlık ortamda Millipore Apoptag Plus Peroxidase in Situ Apoptosis Detection kit (Lot: 2500798) ile bekletilmiştir. Daha sonra dokular Stop/Wash tamponunda 10 dakika bekletilmiş ve 1 dakika PBS ile yıkanmıştır. Ardından dokular Anti-Digoxin Peroxidase solüsyonu ile nemli ortamda, oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edilmiştir. Tekrar dokular, 4 kez 2'ser dakika PBS ile yıkanmıştır. Yıkamanın ardından TUNEL pozitif hücreleri belirleyebilmek için DAB ile boyama yapılmıştır. 3 kez 1'er dakika distile su ile yıkanmış ve 5 dakika distile suda bekletilmiştir. Zemin boyası olarak Metilen Green'de 10 dakika bekletilmiştir. Boyanan lamalar 3 kez 1'er dakika distile suda yıkandıktan sonra artan alkol serilerinden geçirilmiştir. Son olarak da 20 dakika ksilolde bekletildikten sonra entellan ile lamelle kapatılmışlardır. Kesitler Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobunda elde edilen görüntüler, Leica Q Vin 3 programında değerlendirildi.

Yapılan incelemeler

Leica DM 4000B (Germany) bilgisayar destekli ışık mikroskobunda elde edilen görüntülerdeki seminifer tübüllerinde pozitif tutulum gösteren apoptotik hücreler belirlenerek her grup için sayıldı ve gruplar arası farklılıklar istatistiksel yöntemlerle belirlendi.

3.6. Biyokimyasal Parametrelerin Analizi

3.6.1. Serum örneklerinin biyokimyasal analizleri

Bütün serum parametrelerinin analiz işlemleri Gazi Üni. Tıp Fakültesi Biyokimya Merkez laboratuvarlarında bulunan otoanalizör ile yapılmıştır.

Analiz edilen biyokimyasal parametreler:

- Lipit parametreleri: Trigliserit (TG) total kolesterol, HDL-kolesterol, VLDL-kolesterol, ALT (Alanin Aminotransferaz)
- Hormon (testosteron, östrodiol, LH) düzeyleri

3.7. İstatistiksel Analizler

Sıçanların deney başlangıcından deney sonlandırılıncaya kadar haftada bir kez ağırlıkları tartıldı ve boyları ölçüldü. Deney sonlandırıldıktan sonra alınan testis dokusu ağırlığı ölçüldü. Elde edilen H&E boyamalarında, her gruba ait deneklerden alınan seri kesitlerden 6'şar ölçüm yapılarak seminifer tübül çap genişliği, semifer tübül epitel kalınlığı ölçüldü. Tunel ihc boyaması ile apoptozise giden hücreler değerlendirildi.

Her gruba ait sıçanların seminifer tübül çapları, seminifer epitelyum kalınlığı, tunel pozitif hücre sayıları, deney sürecindeki ağırlık değişimleri, vücut kitle indeksi, testis dokusu ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirilmek üzere, değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro-Wilk testi ile belirlendi. $p < 0,05$ ise nonparametrik testler, $p > 0,05$ ise parametrik testler uygulanarak gruplar arası karşılaştırmalar sağlandı. Normal dağılıma uygun değişkenlerde ortalama $\pm$ standart sapma değeri belirlendi. Normal dağılımı uygun olmayan değişkenlerde ise ortanca (çeyrekler arası genişlik) değerleri belirlendi.

Parametrik test varsayımlarını sağlayan tübül çapı, testis ağırlığı değerleri karşılaştırılırken Independent Samples T Testi kullanıldı. Her gruba ait tübül çapı, testis ağırlığı değerleri ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri hesaplandı. Parametrik test varsayımlarını sağlayan ardışık ağırlık ölçümleri ve vücut kitle indeksinde verilen maddelere karşılık grup içi haftalık değişimler ve gruplar arasındaki farklılıklar Repeated Measures testi uygulanarak hesaplandı.

Parametrik test varsayımlarını sağlamayan seminifer tübül epitelyum kalınlığı, tunel pozitif hücre sayıları değerleri karşılaştırılırken tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olup olmadığına Kruskal-Wallis testi uygulanarak bakıldı. Kruskal-Wallis testinde anlamlılık görüldüğü takdirde gruplar arasındaki ikili karşılaştırmaları Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi ile belirlendi. Her gruba ait seminifer tübül epitelyum

kalınlığı, tunel pozitif hücre sayımlarına ait ortanca (çeyrekler arası genişlik) değerleri hesaplandı.

İstatistiksel analiz ve hesaplamalar IBM SPSS Statistics 20 ile yapıldı. $p \leq 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

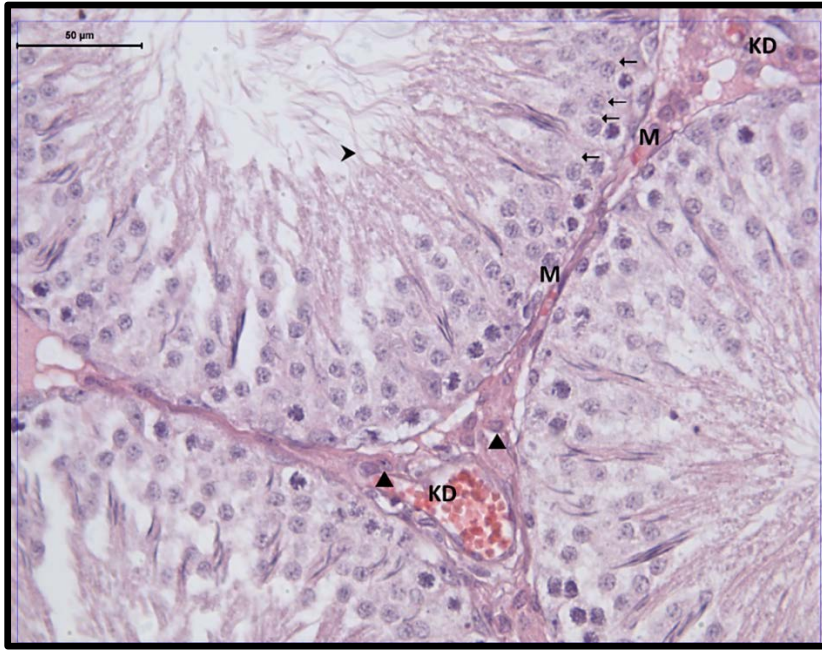
4.1. H&E Bulguları

4.1.1. Kontrol grubu

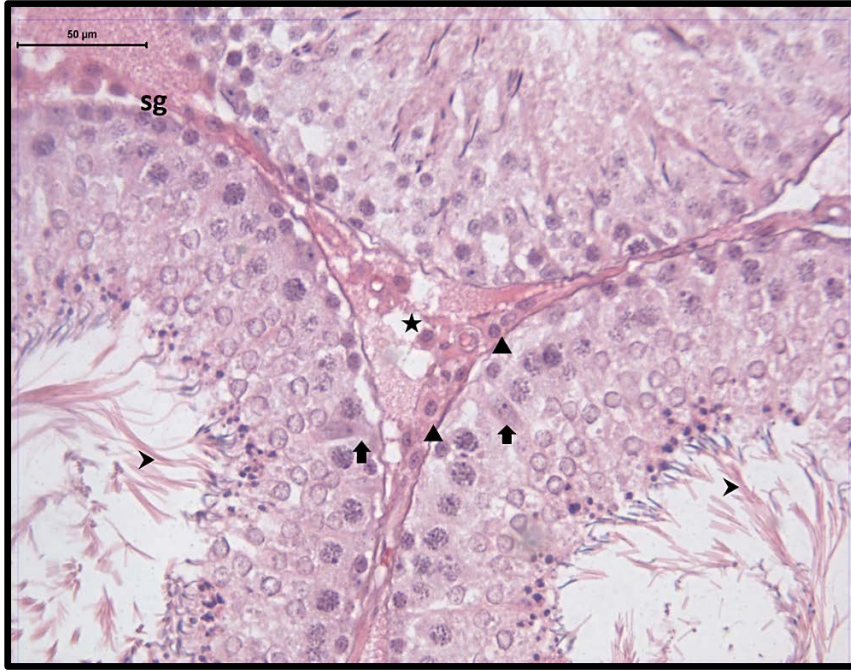
Kontrol grubuna ait ratlardan alınan testis dokusunun Hemotoksilen & Eosin (H&E) ile boyanmış enine kesitlerinde, küçük büyültmede testis dokusunu dışta saran sıkı, fibroz bağ dokusu yapısında kapsül olan tunika albuginea ile çevrili olduğu görüldü. Kapsülün altında normal yapıda ve birbirlerine yaklaşık olarak eşit büyüklükte seminifer tübüller (tubuli seminiferi kontortiler) izlendi. Seminifer tübüller arasındaki kan damarlarından zengin interstiyel bağ dokusu yapısı normal olarak ayırt edildi. Her bir seminifer tübül içte ince bazal membran üzerinde dizilim gösteren seminifer epitel dokusunu içermekteydi (Resim 4.1). Kontrol grubuna ait ratlardan alınan testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesitlerinde, büyük büyültmede seminifer tübüller ve seminifer tübüller arasında gözlemlenen interstisyel alan daha ayrıntılı olarak seçildi. Seminifer tübüller içerisinde, spermatogenik hücre serisine ait hücreler ve spermatozoaların baş bölümlerini içeriye gömdükleri Sertoli hücreleri çoğunlukla birbirleri ile süperimpoze olarak izlendi. Spermatogenik hücreler bazal membrandan itibaren sırası ile kök hücre özelliğinde olan spermatogonialar, primer spermatosit, sekonder spermatosit, spermatid ve spermatozoa aşamalarında gözlemlendi. Seminifer tübüller çevresinde yassılaştırmış, uzun çekirdekleri ile seçilen miyoid hücreler ayırt edildi (Resim 4.2). Seminifer tübüller arasındaki interstisyel bağ dokusunun kan kapillerlerinden zengin olduğu ve bu alanda yuvarlak görünümlü, eozinofilik boyanma özelliği gösteren Leydig hücrelerin tek tek ya da gruplar yapmış olarak bulunduğu gözlemlendi (Resim 4.2, 4-3). Spermatogenik hücre serileri arasında uzun, prizmatik şekilli, spermatogenik hücreleri destekleyen Sertoli hücreleri izlendi (Resim 4.3).



Resim 4.1. Kontrol grubuna ait, testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti Tunika albuginea (TA), Seminifer tübüller (ST), interstisyel alan (★) izlenmekte (H&E x100)



Resim 4.2. Kontrol grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti Seminifer tübüller arasında kan damarları (KD), tek tek ya da gruplar halinde yuvarlak, eosinofilik boyanmış Leydig hücreleri (▲), miyoid hücreler (M), primer spermatositler (↔), spermatozoalar (▶) görülmekte (H&E x400)

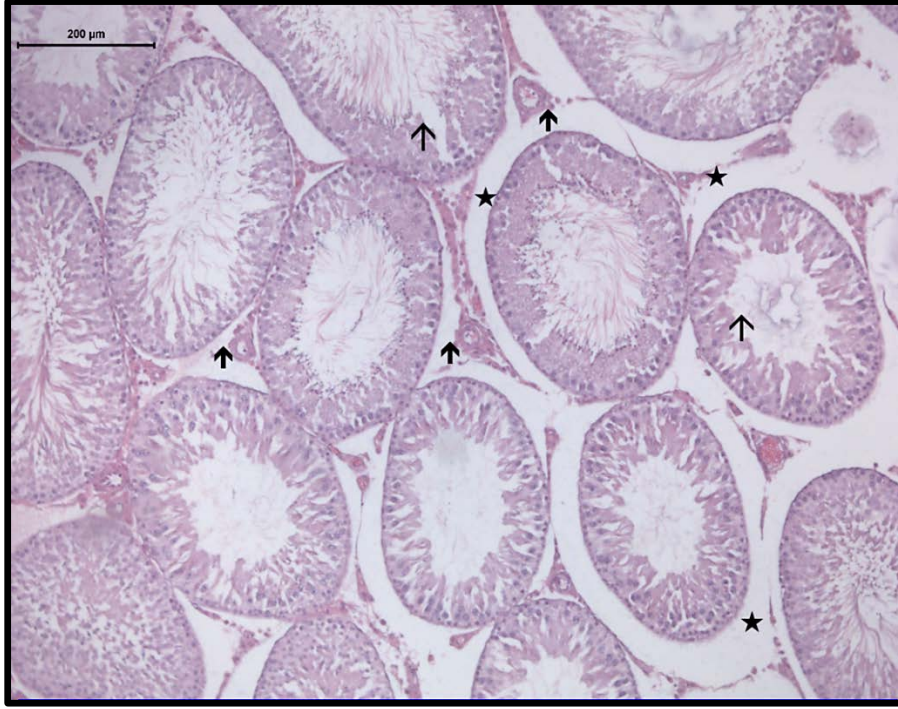


Resim 4.3. Kontrol grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti Seminifer tübüller arasında interstisyel alan (★), Leydig hücreleri (▲), Seminifer tübüller içinde, spermatogenik hücre serileri arasında bu hücrelerle superimpoze Sertoli hücreleri (↑), spermatogoniumlar (sg) ve spermatozoalar (➤) izlenmekte (H&E x400)

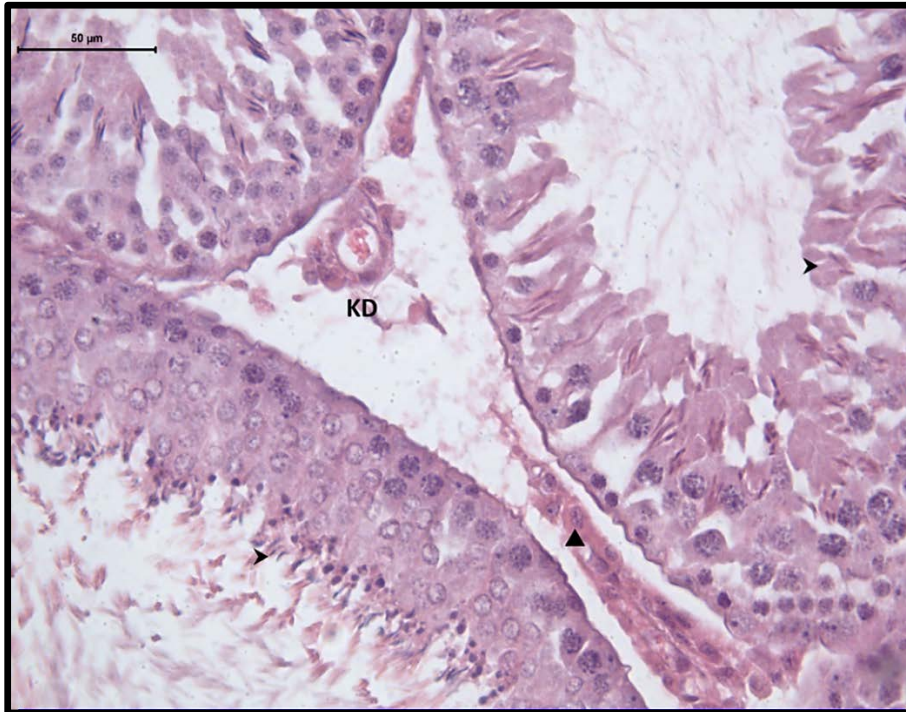
4.1.2. Fruktoz grubu

8 hafta süre ile içme sularına % 10' luk D-Fruktoz çözeltisi eklenen ratlara ait testis dokusunun hematoksilin eosin ile boyanmış enine kesitlerinde, küçük büyültmede seminifer tübüllerin büyük bir kısmında atrofik değişimler görüldü. Morfolojik olarak bu gruptaki seminifer epitel kalınlığının kontrol grubuna göre azalmış olduğu izlendi (Resim 4.4). Seminifer tübüller arasında bulunan interstisyel bağ dokusunda belirgin kayıp olduğu belirlendi. Ancak interstisyel alanda izlenen bağ doku kaybına rağmen farklı büyüklüklerdeki vasküler oluşumların varlığı dikkati çekti (Resim 4.4).

Aynı grubun büyük büyültmeli enine kesitlerinde, seminifer epitel kalınlığındaki azalmanın spermatogenik hücre bütünlüğünün bozulmasına ve bazal membrandan itibaren spermatogenik hücre serilerini oluşturan farklı gelişim aşamalarındaki hücrelerde belirgin olarak kayba yol açtığı izlendi. Seminifer tübül lümenindeki ve kuyrukları seminifer tübüllere uzanan spermatozaların, kontrol grubuna göre azalmış olduğu gözlemlendi (Resim 4.5). Spermatogenik hücre serisi arasında bulunan ve bu hücreleri destekleyen Sertoli hücrelerine ise seminifer tübüllerin çoğunda rastlanmadı. Seminifer tübüller arasındaki interstisyel bağ dokusunda kaybın belirginliği dikkati çekti, ancak bu gruplarda tek tek ya da gruplar halinde olan Leydig hücrelerine ve düzensiz kan damarlarına rastlandı (Resim 4.5).



Resim 4.4. Fruktoz grubuna ait testis dokusunun Hematoksilen-eozin ile boyanmış enine kesiti Atrofik görünümde seminifer tübüller (↑), interstisyel alan (★), vasküler oluşumlar (↗) görülmekte (H&E x100).



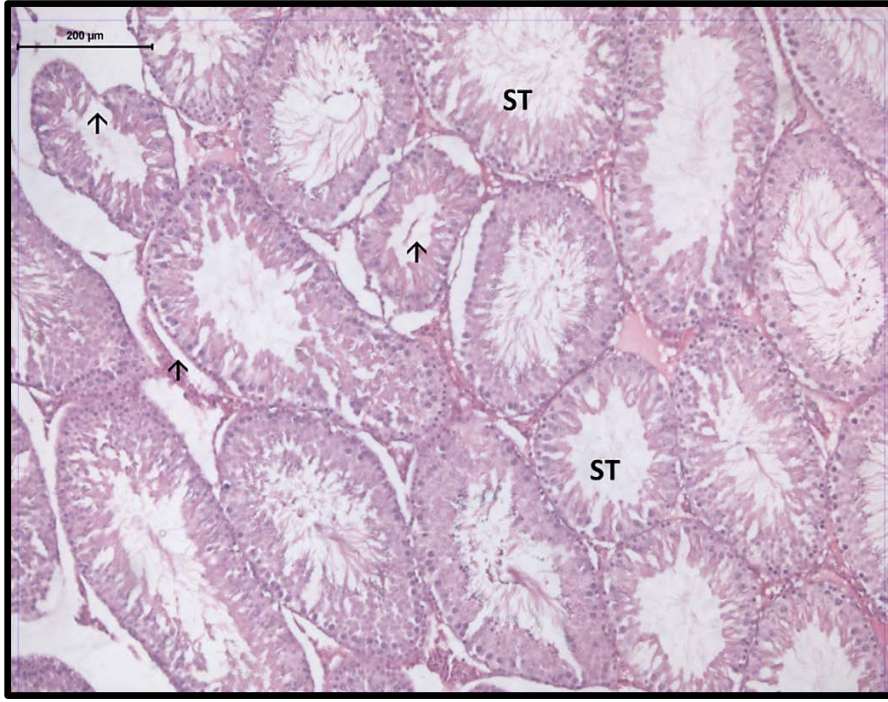
Resim 4.5. Fruktoz grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti Spermatozoalar (➤), Leydig hücreleri (▲), kan damarları (KD) görülmekte (H&E x400)

4.1.3. BPA grubu

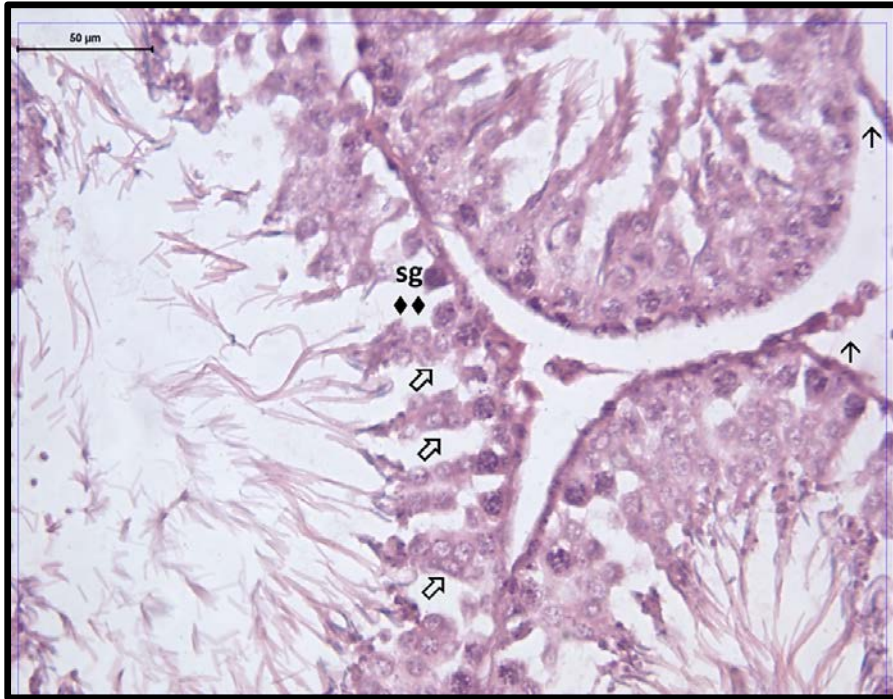
8 hafta süre ile günde 25 mg/kg vücut ağırlığı dozda susam yağında çözüldükten sonra gavaj ile BPA uygulanan sıçanlara ait testis dokusunun H&E ile boyanmış küçük büyültmeli enine kesitlerinde, seminifer tübül çaplarının homojen olmadığı, çapları diğerlerine göre azalmış olan ve seminifer epitel kalınlığı birbirinden farklı olan tübüller dikkati çekti. Seminifer tübüllerdeki atrofik değişikliklerin bazı tübüllerde daha belirgin olduğu ve bazı tübüllerde seminifer tübül bazal membranı ile seminifer epiteli oluşturan spermatogenik seriyi oluşturan hücreler arasında ayrılmalar olduğu izlendi. Bazı seminifer tübüllerde bazal membran bütünlüğünün bozuldu görüldü. Seminifer tübüller arasındaki interstisyel alan değerlendirildiğinde ise bağ dokuda kayıp olduğu izlendi (Resim 4.6).

Aynı gruba ait büyük büyültmeli enine kesitlerde ise, bazı seminifer tübüllerde bazal membran bütünlüğünün bozulduğu net olarak ayırt edildi (Resim 4.7). Germ hücreleri arasındaki bağlantıların kaybolmuş olduğu ve spermatogenezisin farklı gelişim aşamalarındaki germ hücrelerinde de kayıplar olduğu izlendi. Yer yer, bazal membran üzerinde izole spermatogoniaların mevcut olduğu, ancak diğer spermatogenik seri hücrelerinin görülmediği belirlendi (Resim 4.7).

Aynı gruba ait büyük büyültmeli bir diğer enine kesitte ise seminifer tübül morfolojik yapısının tamamen bozulduğu, bazal membranın tamamen kaybolduğu, atrofi ve dejenerasyonun ileri boyutlarda olduğu gözlemlendi. Ayrıca seminifer epiteli oluşturan germ hücreleri arasında farklı boyutlarda lokalize alanlar olduğu, spermatogenezisin değişik aşamalarında olması gereken germ hücrelerinin mevcut olmadığı, Sertoli hücrelerine rastlamadığı ve interstisyel bağ dokusunun kaybı belirgin olarak dikkati çekti (Resim 4.8).



Resim 4.6. BPA grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti çapları ve seminifer tübül epitel kalınlıkları homojen olmayan seminifer tübüller (ST), atrofi ve dejenerasyonun ileri düzeyde olduğu seminifer tübüller (↑) görülmekte (H&E x100)



Resim 4.7. BPA grubuna ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti bazal membran bütünlüğü bozulan seminifer tübüller (↑), germ hücreleri arasında izlenen bağlantı kaybı (↗), bazal membran üzerinde izole spermatogonia (sg) ve spermatogenezisin farklı gelişim aşamalarındaki diğer hücrelerinin izlenmemesi (◆◆) görülmekte (H&E x400)

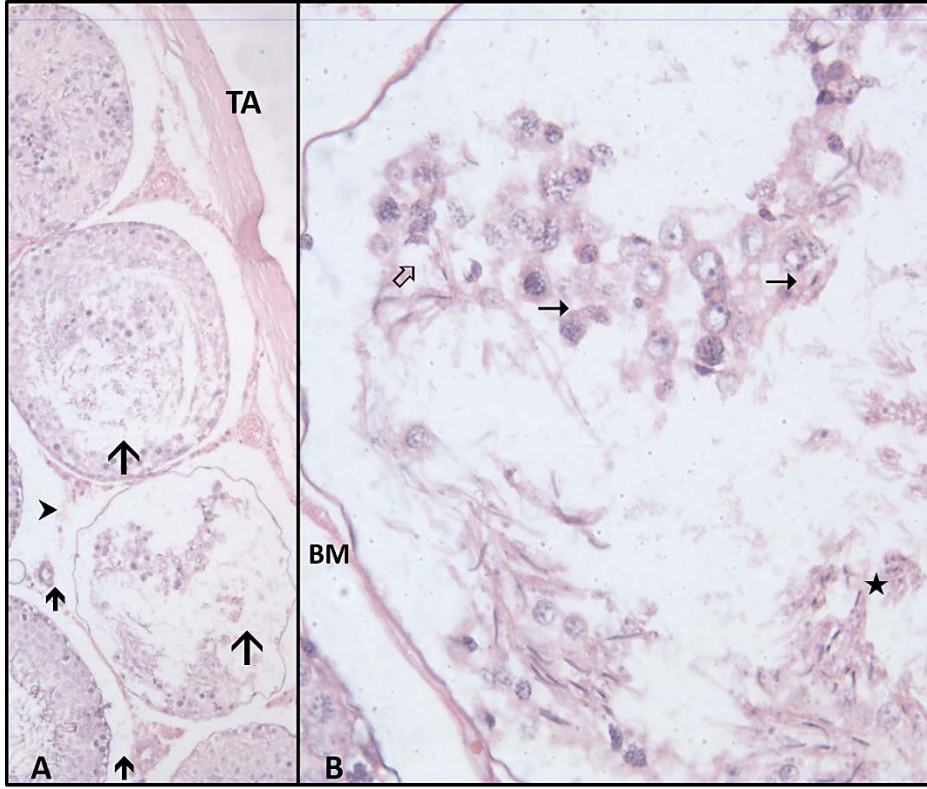


Resim 4.8. BPA grubuna ait testis dokusunun Hematoksilen-eozin ile boyanmış enine kesiti yapısı tamamen bozulmuş seminifer tübül (↑), Bazal membran (BM), germ hücreleri arasında farklı boyutlarda vakuolize alanlar (v) ve spermatogenezisde arrest (★) görülmekte (H&E x400)

4.1.4. Fruktöz-bpa grubu

8 hafta süre ile içme sularına %10'luk D-Fruktöz çözeltisi eklenen ve 25 mg/kg vücut ağırlığı dozda susam yağında çözüldükten sonra gavaj ile BPA uygulanan sıçanlara ait testis dokusunun H&E ile boyanmış küçük büyültmeli enine kesitlerinde, Tunika albugineanın altındaki testis dokusunu oluşturan seminifer tübüllerdeki yapısal değişikliklerin farklı boyutlarda olduğu izlendi. Bazı seminifer tübüllerde yapısal bozulmaların ileri düzeyde olduğu görüldü (Resim 4.9-A). Seminifer tübüller arasındaki interstisyel bağ dokusu alanında kayıp gözlenirken, interstisyel alanda farklı büyüklüklerdeki vasküler oluşumlar dikkati çekti (Resim 4.9-A).

Aynı gruba ait büyük büyültmeli enine kesitlerde ise, seminifer tübül bazal membranının bozulduğu, hücreler arasında bağlantı kaybı ve Sertoli hücrelerin yokluğu izlendi (Resim 4.9-B). Seminifer tübül lümeninde hücresel debris ve immatür germ hücrelerinin varlığı saptandı. Seminifer tübüller arası alanda kayıp gözlenirken, yer yer vasküler oluşumlar olduğu ancak Leydig hücre gruplarına rastlanmadığı saptandı (Resim 4.9-B).



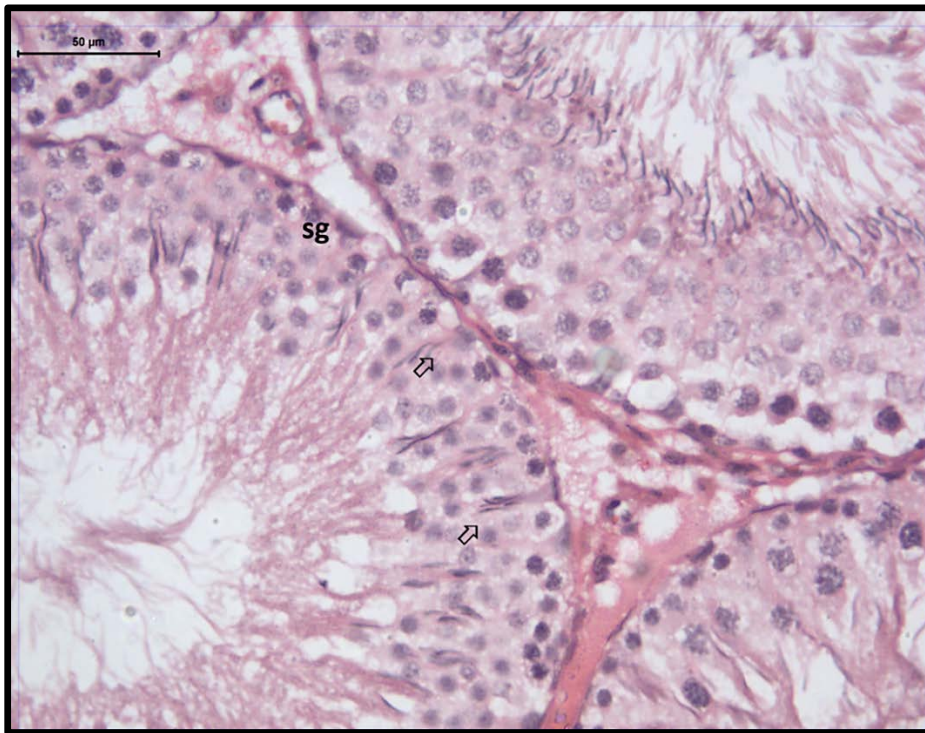
Resim 4.9. A-B: Fruktoz ve BPA uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesitleri Tunika albuginea (TA), yapısı farklı derecelerde bozulmuş seminifer tübülleri (↑), interstisyel alanda kayıp (➤), vasküler oluşumlar (⬆), bazal membran yapısının bozulduğu (BM), germ hücreleri arasında izlenen bağlantı kaybı (↗), hücrelerel debris (★), immatür germ hücreleri (→) ve interstisyel alan kaybı (◆) görülmekte (H&E x100, x400)

4.1.5. Fruktoz- melatonin grubu

8 hafta süre ile içme sularına %10'luk D-Fruktoz çözeltisi eklenen ve 20 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozunda gavaj ile melatonin uygulanan sıçanlara ait testis dokusunun H&E ile boyanmış ait küçük büyültmeli enine kesitlerinde, testis dokusunu oluşturan seminifer tübüllerde yalnızca fruktoz uygulanan gruba göre çoğu seminifer tübül yapısının korunduğu ve yer yer bazı seminifer tübül çaplarının ve seminifer tübül epitel kalınlığının yalnızca fruktoz uygulanan gruba göre artmış olduğu dikkati çekti. Seminifer tübüller arasındaki interstisyel bağ dokusunda ise büyüklükleri farklı vasküler oluşumlara rastlandı (Resim 4.10). Aynı grubun büyük büyültmeli enine kesitlerinde seminifer tübül içerisine oturan spermatogoniyalar ile başlarını Sertoli hücreleri arasına sokmuş spermatozoalar ayırt edildi. Germ hücreleri arasındaki bağlantıların, sadece fruktoz uygulanan gruba göre daha iyi olduğu ve seminifer tübül lümeninde hücrelerin daha yoğun olduğu gözlemlendi (Resim 4.11).



Resim 4.10. Fruktöz ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti normal yapıda seminifer tübüller (ST), atrofik değişikliklerin devam ettiği seminifer tübüller (↑), vasküler oluşumlar (↑) görülmekte (H&E x100).



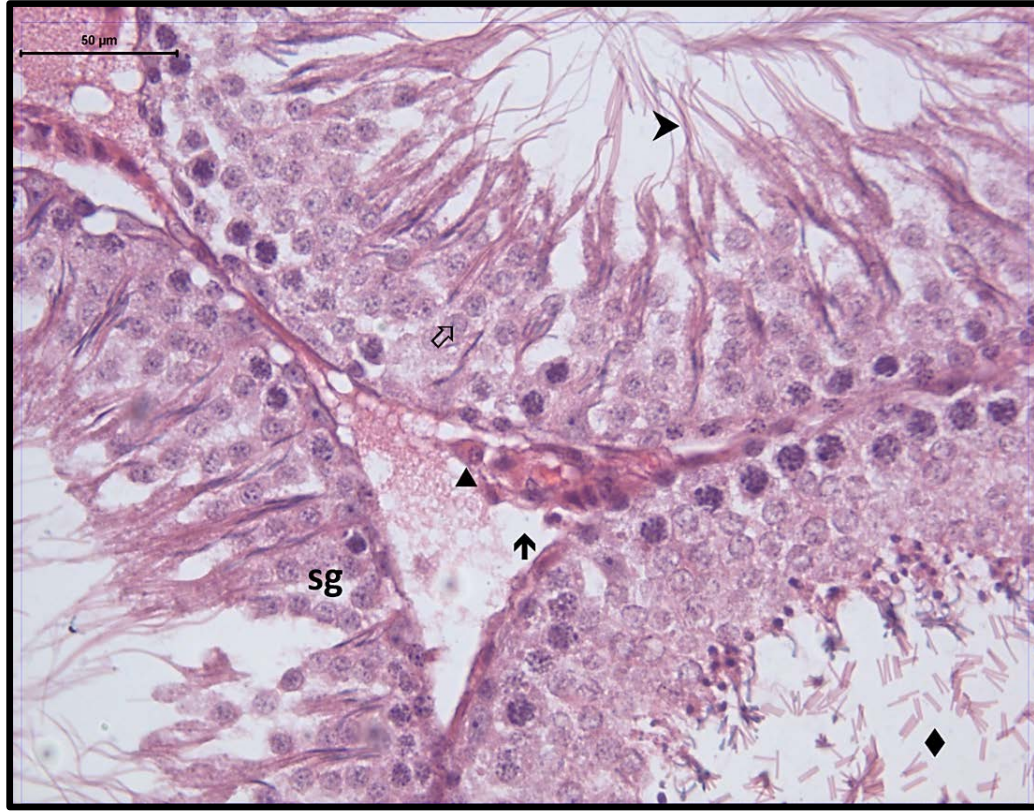
Resim 4.11. Fruktöz ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti bazal membran üzerine oturan spermatogonia (sg) ve germ hücreleri arasındaki bağlantılar (↗) görülmekte (H&E x400).

4.1.6. BPA - melatonin grubu

8 hafta süresi ile 25 mg/kg vücut ağırlığı dozda susam yağında çözölen ve gavaj ile uygulanan BPA ile 20 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozunda yine gavaj ile melatonin uygulanan sıçanlara ait testis dokusunun H&E ile boyanmış küçük büyöülmeli enine kesitlerinde, testis dokusunu oluşturan bazı seminifer tübüllerin normale yakın görünümde olmasına karşılık bazılarında atrofik değışimlerin devam ettiğı, seminifer tüböl lümeninin boş olduğı ve germ hücreleri arasındaki vakuolize alanların varlığı dikkati çekti. Ancak seminifer tüböldeki ve interstisyel alandaki morfolojik değışikliklerin yalnızca BPA uygulanan gruba göre, daha normale yakın olduğı izlendi (Resim 4.12). Aynı gruba ait HE ile boyanmış büyük büyöülmeli enine kesitlerde, seminifer tüböl bazal membranı üzerinde düzenli dizilim gösteren spermatogonia, spermatogenezise ait farklı gelişim aşamalarındaki hücreler, bu hücreler arasındaki bağlantılar ve seminifer tüböl lümeni bazı tübüllerde normal iken; bazı tübüllerde spermatogenik hücre serisinde bozulma, seminifer tüböl lümeninde debris şeklinde oluşumlar ve boşluklar devam etmekteydi. İntersitisyel alanda ise vasküler oluşumlar ve çevresinde tek tek ya da superimpoze şeklinde Leydig hücrelerinin varlığı ayırt edildi (Resim 4.13).



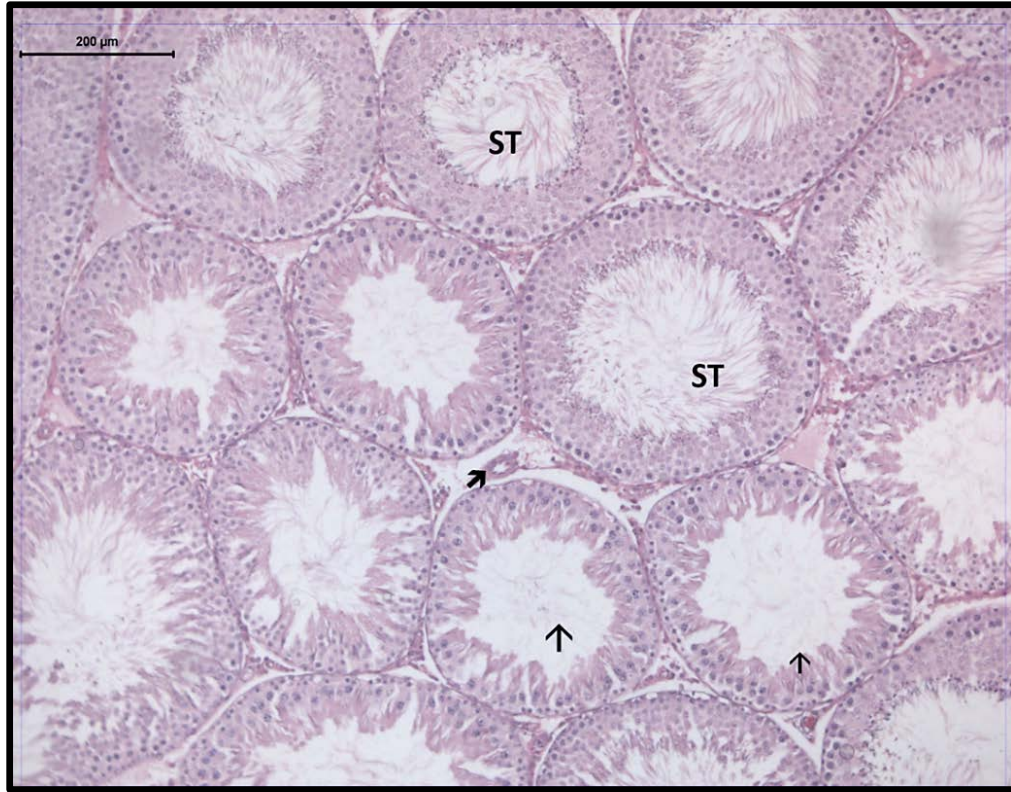
Resim 4.12. BPA ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti normal yapıda seminifer tübüller (ST), atrofik görünümlü seminifer tübüller (↑), boş seminifer tübül lümeni (★) ve germ hücreleri arasında vakuolize alanlar (v) görülmekte (H&E x100)



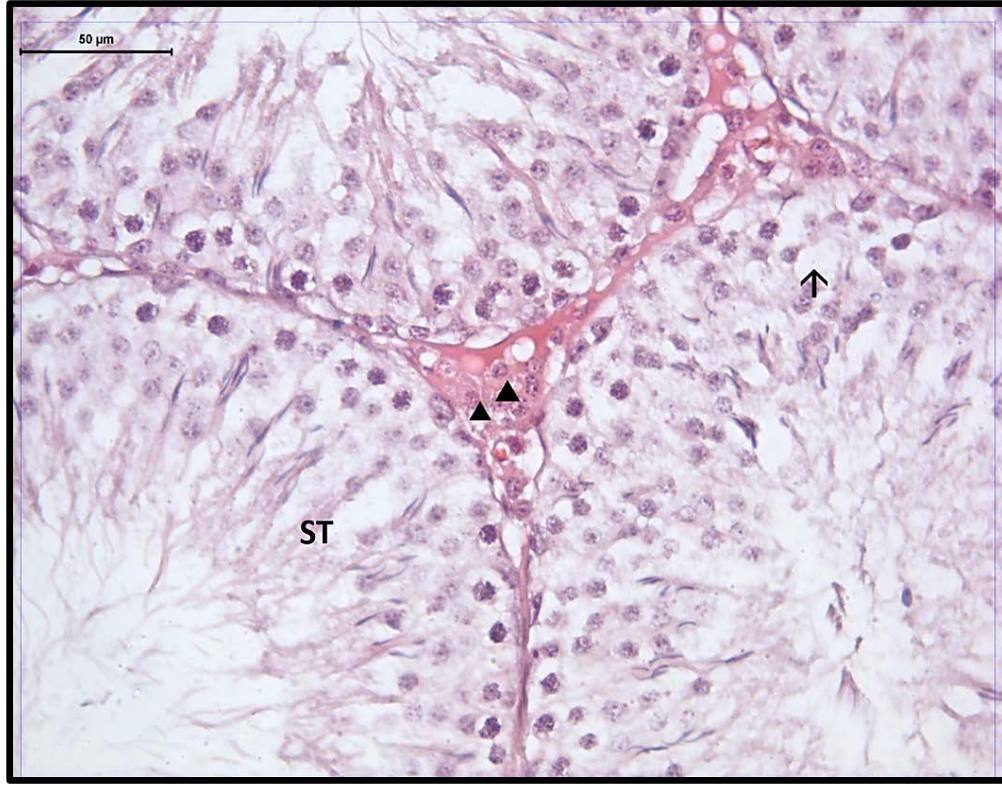
Resim 4.13. BPA ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti bazal membran üzerindeki spermatogonia (sg), germ hücre bağlantıları (◇), normal yapıdaki seminifer tübül lümeni (➤), seminifer tübül lümenindeki boşluk ve debris (◆), vasküler oluşumlar (↑) ve Leydig hücreleri (▲) görülmekte (H&E x400)

4.1.7. Fruktoz- bpa- melatonin grubu

8 hafta süre ile içme sularına %10'luk D-Fruktoz çözeltisi eklenen, 25 mg/kg vücut ağırlığı dozda susam yağında çözüldükten sonra gavaj ile uygulanan BPA ve 20 mg/kg/gün vücut ağırlığı dozunda yine gavaj ile melatonin uygulanan sıçanlara ait testis dokusunun H&E ile boyanmış küçük büyültmeli kesitlerinde, fruktoz ve BPA uygulanan gruba göre seminifer tübüldeki yapısal değişimlerin kısmi olarak düzeldiği görüldü. Seminifer epiteli oluşturan germ hücreleri arasındaki bağlantıların, farklı gelişim aşamalarındaki germ hücre serisine ait düzenliliğin ve seminifer tübül lümenindeki değişikliklerin kısmen düzelmiş olduğu dikkati çekti. İnterstisyel alan içerisinde vaskülerize alanlar ve tek tek ya da gruplar halinde yuvarlak, eosinofilik boyanmış Leydig hücreleri izlendi (Resim 4.14, 4.15).



Resim 4.14. Fruktoz, BPA ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti atrofik alanların mevcut olduğu ve lümenin boş olduğu seminifer tübüller (↑), normal görünümlü tübüller (ST) ve interstisyel alanda vaskülerize alanlar (↑) görülmekte (H&E x100)

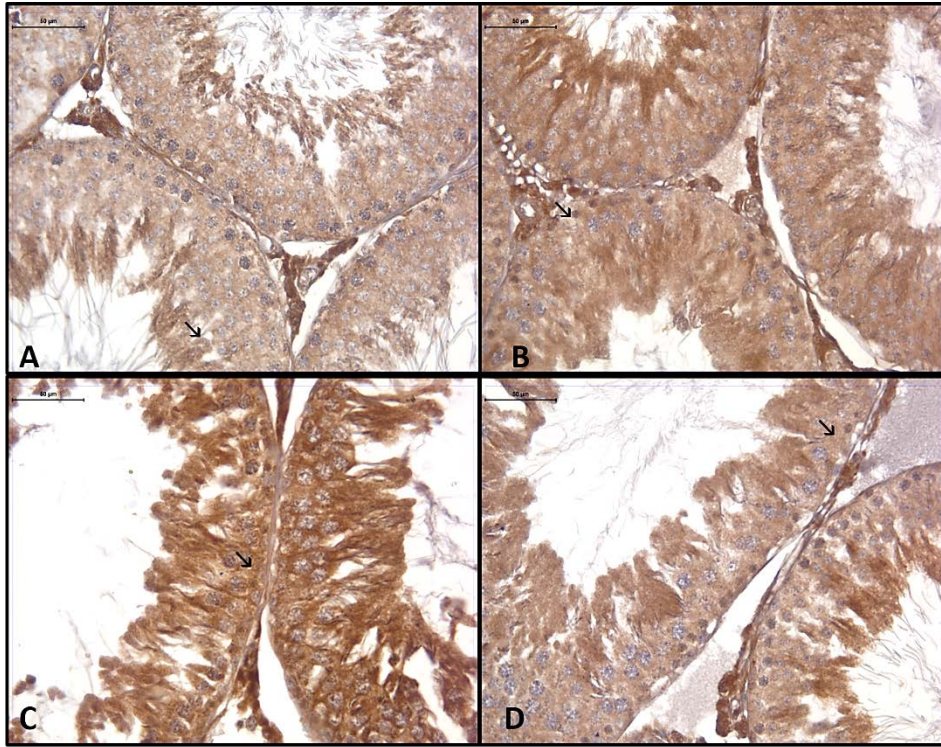


Resim 4.15. Fruktoz, BPA ve melatonin uygulanan gruba ait testis dokusunun H&E ile boyanmış enine kesiti atrofik alanların mevcut olduğu seminifer tübüller (↑), spermatogenik hücre serisinin kısmen korunduğu seminifer tübüller (ST) ve interstisyel alandaki Leydig hücreleri (▲) görülmekte (H&E x400)

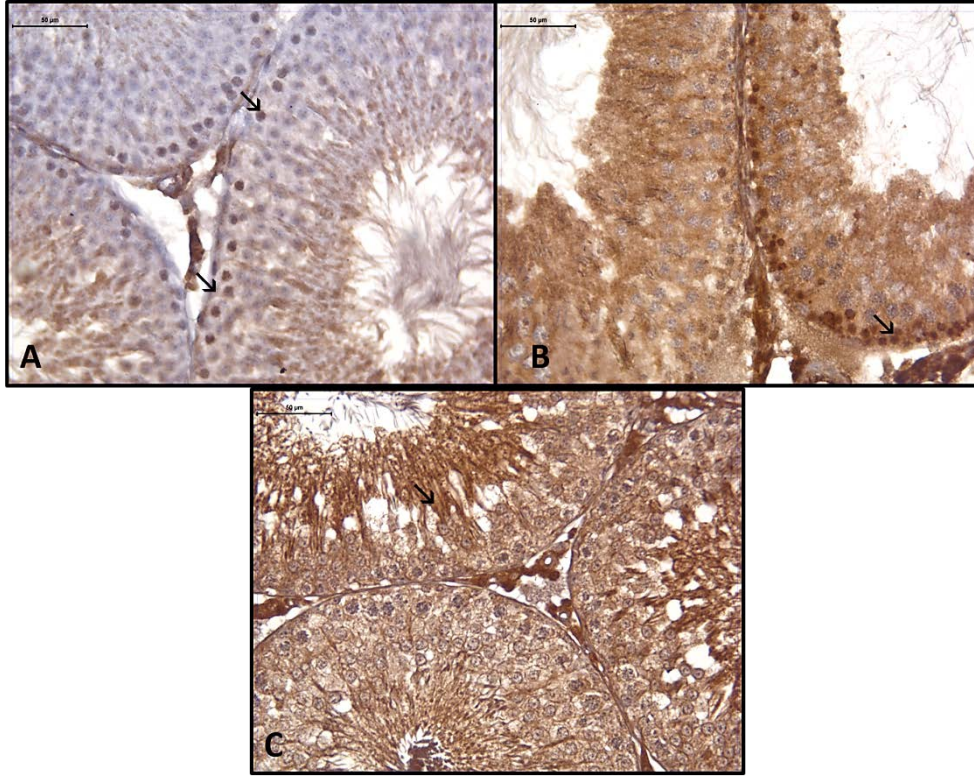
4.2. İmmunohistokimyasal (IHK) Bulgular

4.2.1. Leptin (ObR) IHK reaktivite bulguları

ObR antikoru ile yapılan immunohistokimyasal boyamalar sonucunda, semikantitatif değerlendirmede, Fruktoz, BPA ve Fruktoz-BPA gruplarında seminifer tübüllerdeki spermatogenezisin farklı gelişim aşamalarındaki germ hücrelerindeki immunreaktivitenin kontrol grubuna göre artmış olduğu; Fruktoz-melatonin, BPA-Melatonin ve Fruktoz-BPA-Melatonin gruplarında ise immunreaktivitenin kontrol grubuna göre daha kuvvetli olduğu ancak, Fruktoz, BPA ve Fruktoz-BPA gruplarına göre daha zayıf olduğu dikkati çekti.



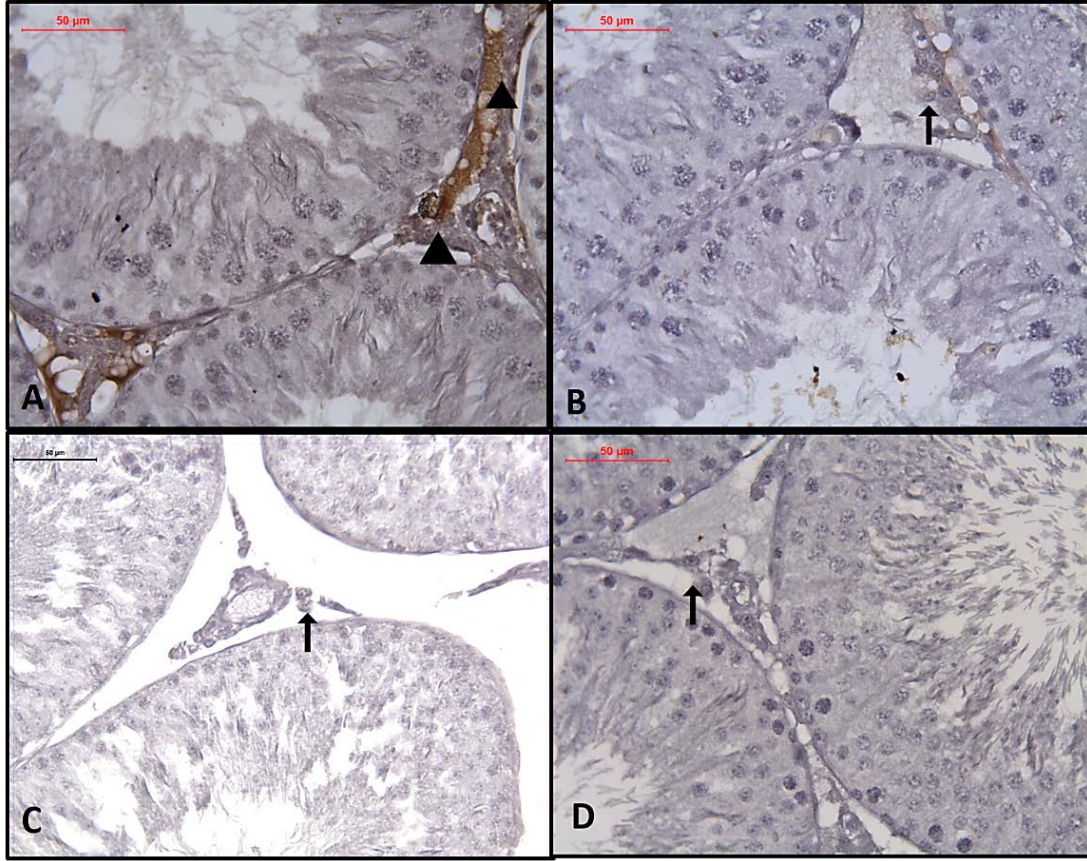
Resim 4.16. A:Kontrol grubu, B: Fruktoz grubu, C: BPA grubu, D: Fruktoz-BPA grubuna ait ObR ile immunohistokimyasal olarak boyanmış testis dokusuna ait enine kesitler seminifer tübüllerdeki spermatogenik seriye ait farklı gelişim aşamalarındaki germ hücrelerindeki immunreaktivite (↘) görülmekte (x400)



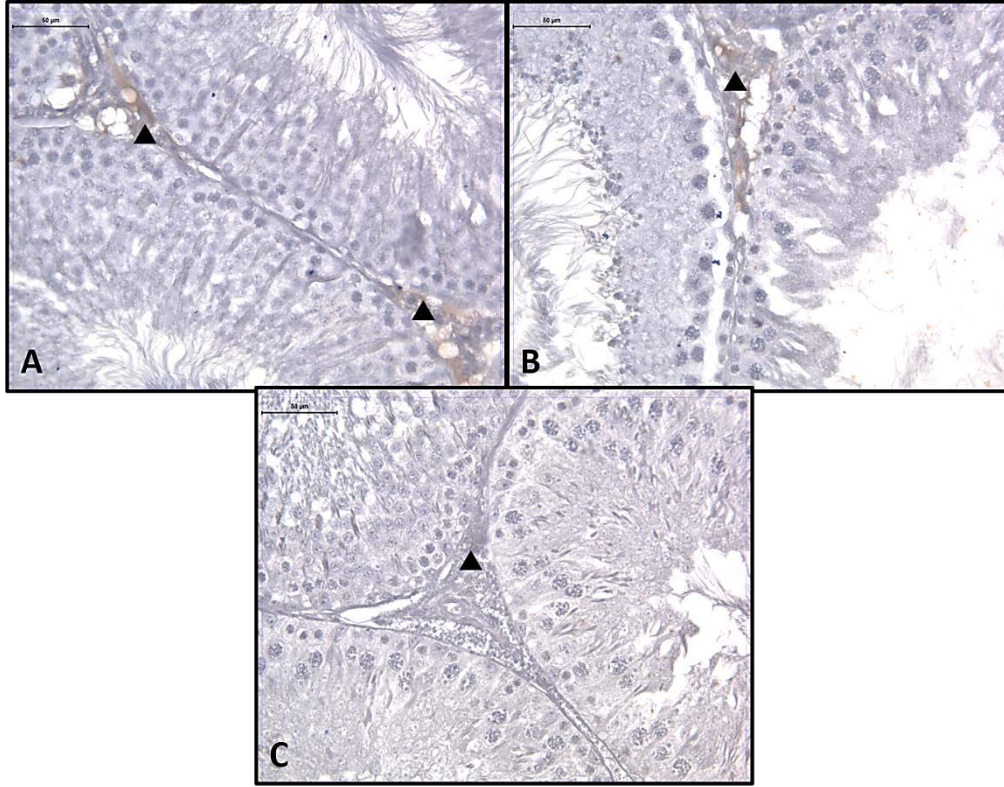
Resim 4.17. A:Fruktoz-Melatonin grubu, B: BPA-Melatonin grubu, C: Fruktoz-BPA Melatonin grubuna ait ObR ile immunohistokimyasal olarak boyanmış testis dokusuna ait enine kesitler seminifer tübüllerdeki spermatogenik seriye ait farklı gelişim aşamalarındaki germ hücrelerindeki immunreaktivite (↘) görülmekte (x400)

4.2.2. Adiponektin reseptör 1 (AdipoR1) IHK reaktivite bulguları

Tüm gruplarda yapılan immunohistokimyasal boyamalarda immunreaktiviter karşılaştırıldı ve yapılan değerlendirme sonucunda seminifer tübül içerisindeki germ hücrelerinde ve Sertoli hücrelerinde hiçbir grupta immunreaktivite izlenmemiştir. İnterstisyel alandaki Leydig hücreleri karşılaştırıldığında ise kontrol grubunda Leydig hücrelerinde immunreaktivitenin varolduğu dikkati çekerken; Fruktoz, BPA ve Fruktoz- BPA gruplarında ise interstisyel alanda Leydig hücresi olarak değerlendirilen hücrelerde herhangi bir immunreaktivite gözlenmediği görüldü. Fruktoz-Melatonin, BPA-Melatonin ve Fruktoz-BPA-Melatonin gruplarında ise Leydig hücrelerinde kontrol grubuna göre zayıf immunreaktivite izlendi.



Resim 4.18. A: Kontrol grubu, B: Fruktoz grubu, C: BPA grubu, D: Fruktoz-BPA grubuna ait AdR1 antikoru ile immunohistokimyasal olarak boyanmış testis dokusuna ait enine kesitler kontrol grubunda immunreaktivite gösteren Leydig hücreleri (▲) ve diğer gruplarda immunreaktivite göstermeyen Leydig Hücreleri (↑) izlenmekte (x400)



Resim 4.19. A:Fruktöz-melatonin grubu, B: BPA-melatonin grubu, C: Fruktöz-BPA-melatonin grubuna ait AdR1 antikoru ile immunohistokimyasal olarak boyanmış testis dokusuna ait enine kesitler zayıf immunreaktivite gösteren Leydig hücreleri (▲) izlenmekte (x400)

4.3. TUNEL Bulguları

Gruplar arasında DNA fragmentasyonunu belirlemek amacı ile yapılan TUNEL boyaması sonucu, testis dokusundan alınan enine kesitlerde apoptotik pozitif hücre sayımı yapıldı.

4.4. Hayvan Ağırlıkları ve Vücut Kitle İndeksi Bulguları

4.4.1. Hayvan ağırlıkları

Sıçanların deney başlangıcından itibaren deneyi sonuna kadar belli aralıklarla 7 kez ağırlıkları ölçülerek, her gruba ait ağırlık artışı ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri hesaplandı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak yöntemde belirtildiği gibi değerlendirildi.

4.4.2. Vücut kitle indeksi bulguları

Sıçanların deney başlangıcından itibaren deneyi sonuna kadar belli aralıklarla 7 kez ağırlıkları ve boyları ölçülerek VKİ hesaplandı ve her gruba ait VKİ değişimleri ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri hesaplandı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak yöntemde belirtildiği gibi değerlendirildi.

Obezitenin tespiti için VKİ ölçümü kullanıldı. Çalışmamızda sıçanların VKİ'leri şu formülle belirlendi; $VKI = \text{vücut ağırlığı (g)} / \text{boy uzunluğu}^2 (\text{cm}^2)$. Sağlıklı sıçanlar için $VKI = 0.72 \text{ g/cm}^2$ iken obez sıçanlarda VKİ değeri $VKI \geq 1.00 \text{ g/cm}^2$ olarak kabul edildi.

4.5. Biyokimyasal Parametre Bulguları

4.5.1. Lipit profili bulguları

Verilerimize göre aşırı fruktoz tüketimi, trigliserit düzeylerinde ve dolayısıyla VLDL-kolesterol, ALT düzeylerinde artışa yol açarken, 2 ay boyunca %10'lık fruktozlu su alımı sıçanlarda HDL-kolesterol düzeylerini düşürmüştür (Çizelge 4.7).

BPA uygulamasında ise yalnız uygulandığı grupta Alanin amino transferaz (ALT) düzeylerinde artışa ve HDL de ise azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Buna karşın TG ve VLDL-K değerlerinde bir azalma belirlendi (Çizelge 4.7).

Bu iki maddenin bir, birleriyle etkileşiminin kontrol grubuyla karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında, BPA (25mg/kg/gün) ve D-Fruktozun (%10'luk) 8 hafta süreyle oral yolla uygulanması neticesinde, serum trigliserit, VLDL-kolesterol düzeylerinde artışa ve HDL de ise azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu grubun serum trigliserit ve VLDL değerleri Fruktoz ve Fruktoz+BPA gruplarıyla kıyaslandığında daha yüksek çıkmıştır (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Biyokimyasal serum analiz sonuçları

	ORTALAMA						
	E2(Östrodiol)	LH	Testosteron	TRIGL (Trigliserit)	HDL	VLDL	ALT (Alanin Aminotransferaz)
Grup 1	17,46	0,17	7,82	32,38	23,13	6,48	56,47
Grup 2	14,74	0,17	5,69	43,23	24,20	8,65	57,30
Grup 3	22,00	0,17	1,30	27,87	17,65	5,57	58,68
Grup 4	15,55	0,18	1,69	93,18	21,10	18,64	53,97
Grup 5	19,62	0,16	Ölçülemedi	65,88	22,45	13,18	48,63
Grup 6	16,64	0,17	2,03	37,08	22,08	7,42	61,18
Grup 7	16,44	0,16	1,32	70,65	27,18	14,13	46,98

4.5.2. Hormon analiz bulguları

Bütün gruplardaki sıçanlar için Östrodiol (E2), Lüteinize edici hormon (LH), Total testosteron (TT) düzeyleri sıçanlardan alınan serum örneklerinden otoanalizör kullanılarak ölçüldü. Saptanan değerlerin ortalamaları hesaplandı.

LH düzeylerinin bütün grupları arasında kayda değer bir değişim göstermediği saptandı (Çizelge 4.1).

Östradiol düzeyleri Fruktoz uygulamasında azaldığı, BPA uygulamasında arttığı, Fruktoz+BPA grubunda azaldığı, melatonin grupların da ise kontrole yakın değerlerde olduğu belirlendi (Çizelge 4.1).

Serumdaki testosteron düzeyleri değerlendirildiğinde, Fruktoz, BPA ve Fruktoz+BPA uygulamalarının testosteron seviyelerini kontrole göre kontrole göre azalttığı saptanmıştır (Çizelge 4.1).

Melatonin gruplarında ise testostreon düzeyinin yine kontrole göre azaldığı gösterilmiştir (Çizelge 4.1).

Testosteron düzeylerindeki en fazla azalma BPA uygulaması sonucu gerçekleşmiştir. Fruktoz+Mel grubunda ise testosteron ölçümü yapılamamıştır (Çizelge 4.1).

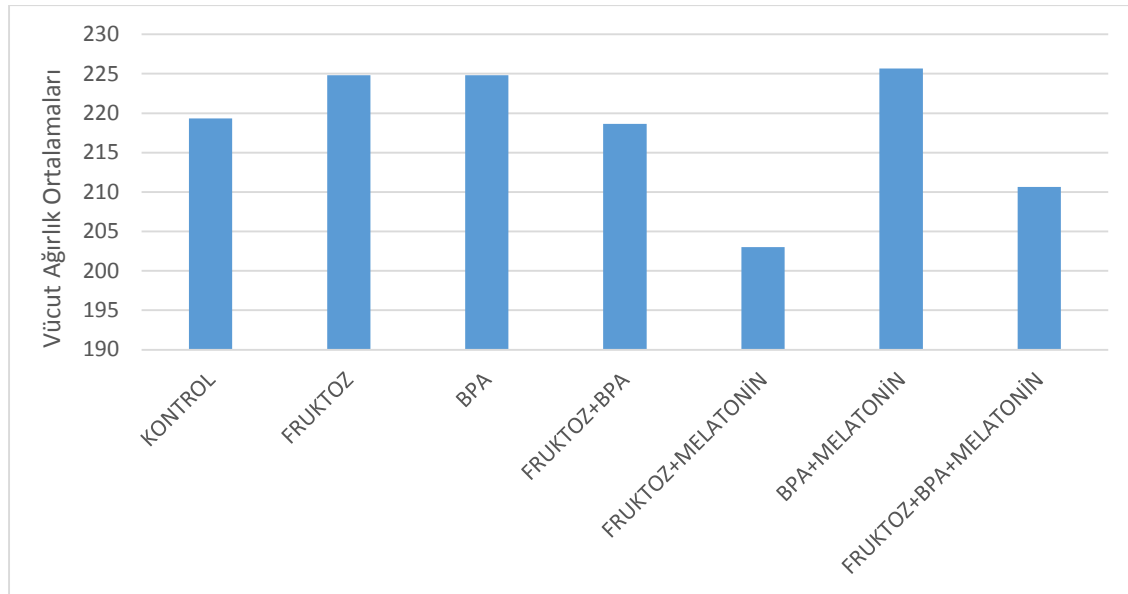
4.6. İstatistiksel Bulgular

4.6.1. Vücut ağırlıklarının ve vücut kitle indeksinin'nin istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Vücut ağırlıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Sıçanların deney başlangıcından itibaren deneyi sonuna kadar belli aralıklarla 7 kez ağırlıkları ölçüldü ve bu değerlerin ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri hesaplandı.

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede her gruba ait yapılan ağırlık ortalamaları sırasıyla $212,02 \pm 33,42$; $222,09 \pm 42,86$; $215,61 \pm 31,73$; $214,07 \pm 34,33$; $200,50 \pm 28,54$; $216,57 \pm 30,45$; $205,21 \pm 27,57$ olarak saptandı (Şekil 4.1).



Şekil 4.1. Grupların vücut ağırlık ortalamaları (Ortanca değere göre hesaplanmıştır)

Gruplar arasında belirli aralıklarla ölçülen vücut ağırlığının zamana bağlı olarak değişiminin değerlendirmesini istatistik olarak ortaya koymak için (Shapiro-Wilk testine göre; $p=0,110$) Repeated Measure testi uygulandı.

Her gruba ait 7 ardışık ölçüm değerlendirildiğinde zamanla grup içerisinde istatistiksel olarak anlamlı bir kilo artışı olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). Bu artışı alt gruplar arasında

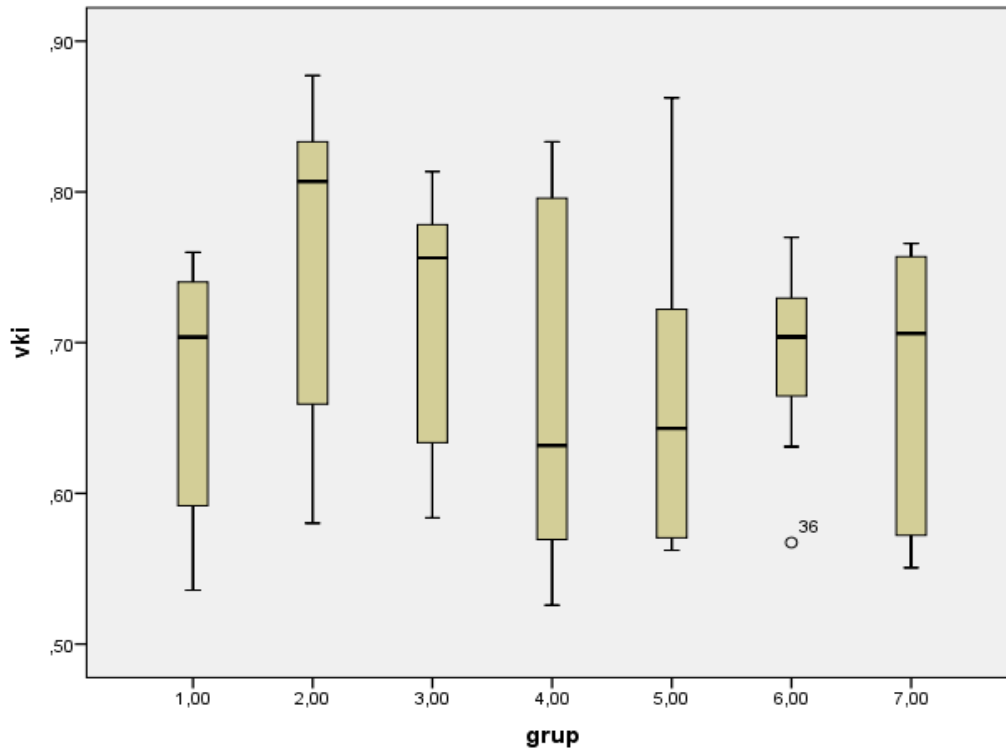
birbiriyle kıyasladığımızda istatistiksel olarak herhangi bir interaksiyon olmadığı gözlemlendi ($p=0,408$).

Ancak yapılan ölçüm ortalamaları değerlendirildiğinde Fruktoz ve BPA'nın hem tek başına hem de birlikte uygulandığı gruplarda kilo artışının en fazla olduğu buna karşılık Fruktoz ve BPA uygulanmış gruplara melatonin uygulandığında kontrol grubuna benzer ağırlıklarda olduğu gözlemlendi.

Vücut kitle indeksinin istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Sıçanların deney başlangıcından itibaren deneyi sonuna kadar belli aralıklarla yapılan ağırlık ve boy ölçümleri esas alınarak vki değerleri hesaplandı.

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede grupların VKİ değerlerine ait ortanca (çeyrekler arası değer) değerleri sırasıyla 0,70 (0,17); 0,80 (0,23); 0,75 (0,18); 0,63 (0,24); 0,64 (0,17); 0,70 (0,11); 70,61 (0,21) olarak saptandı (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. Gruplara ait vücut kitle indeksi grafiği (Ortanca değere göre hesaplanmıştır)

Gruplar arası vki'ne ait farkları istatistik olarak ortaya koymak için (Shapiro-Wilk testine göre; $p=0,012$) Friedman testi uygulandı. Friedman Testine göre yedi grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,001$).

Post Hoc testi ile yapılan ileri analizlerde grupların ikili karşılaştırılması yapıldı. $p<0.05$ 'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede kontrol grubu tedavi amaçlı melatonin verilmiş gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak vki açısından anlamlı bir farklılık gözlenmedi (1-5 $p=0,241$, 1-6 $p=0,821$, 1-7 $p=0,786$). Ancak, fruktoz ve BPA'nın hem tek hem birlikte verilen gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi (1-2 $p=0,001$, 1-4 $p=0,047$).

4.6.2. Testis ağırlıklarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

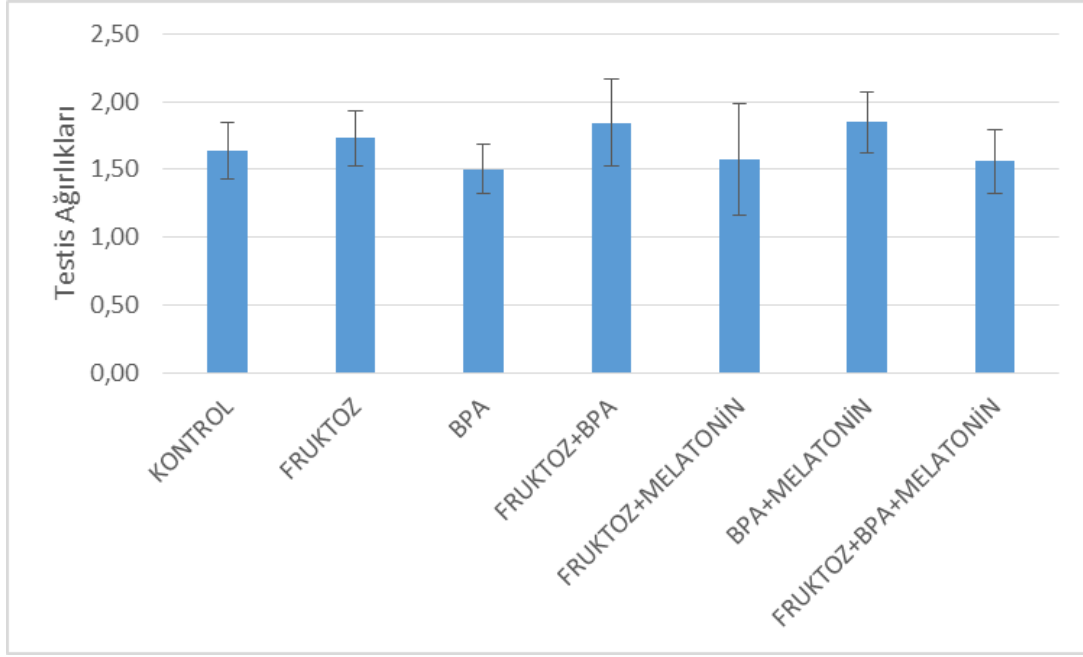
Her gruba ait sıçanların deney sonlandırıldıktan sonra testisleri tartıldı. Testis ağırlıklarının ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri hesaplandı (Çizelge 4.2).

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede grupların testis dokusu ağırlıkları ortalamaları sırasıyla $1,64\pm0,2$; $1,73\pm0,20$; $1,50\pm0,18$; $1,85\pm0,32$; $1,58\pm0,41$; $1,85\pm0,22$; $1,56\pm0,24$ olarak saptandı (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Gruplara ait testis ağırlıklarının ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri

GRUPLAR		ORTALAMA $\pm$ SS	ORTANCA (MIN/MAX)
1	KONTROL	$1,64\pm0,21$	1,71 (1,34/1,84)
2	FRUKTOZ	$1,73\pm0,20$	1,80 (1,38/1,98)
3	BPA	$1,50\pm0,18$	1,43 (1,32/1,77)
4	FRUKTOZ+BPA	$1,85\pm0,32$	1,88 (1,48/2,34)
5	FRUKTOZ+MELATONİN	$1,58\pm0,41$	1,74 (0,93/1,97)
6	BPA+MELATONİN	$1,85\pm0,22$	1,84 (1,46/2,14)
7	FRUKTOZ+BPA+MELATONİN	$1,56\pm0,24$	1,18 (33,19/1,91)

Gruplar arası testis ağırlığı istatistik olarak ortaya koymak için (Shapiro-Wilk testine göre; $p=0,616$) parametrik testlerden Independent Samples T Test uygulandı. $p<0.05$ 'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



Şekil 4.3. Gruplara ait testis ağırlıkları ortalamaları

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede kontrol grubu diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı saptandı (1-2 $p=0,437$, 1-3 $p=0,270$, 1-4 $p=0,214$, 1-5 $p=0,756$, 1-6 $p=0,123$, 1-7 $p=0,569$). Fakat, BPA uygulanan grup BPA+Mel uygulanan grupla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ($p=0,015$). Fruktoz ile Fruktoz+Mel uygulanan gruplar ($p=0,421$) ve Fruktoz+BPA ile Fruktoz+BPA+Mel uygulanan gruplar ($p=0,112$) arasında da istatistiksel olarak anlamlılık gözlenmedi.

4.6.3. H&E bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

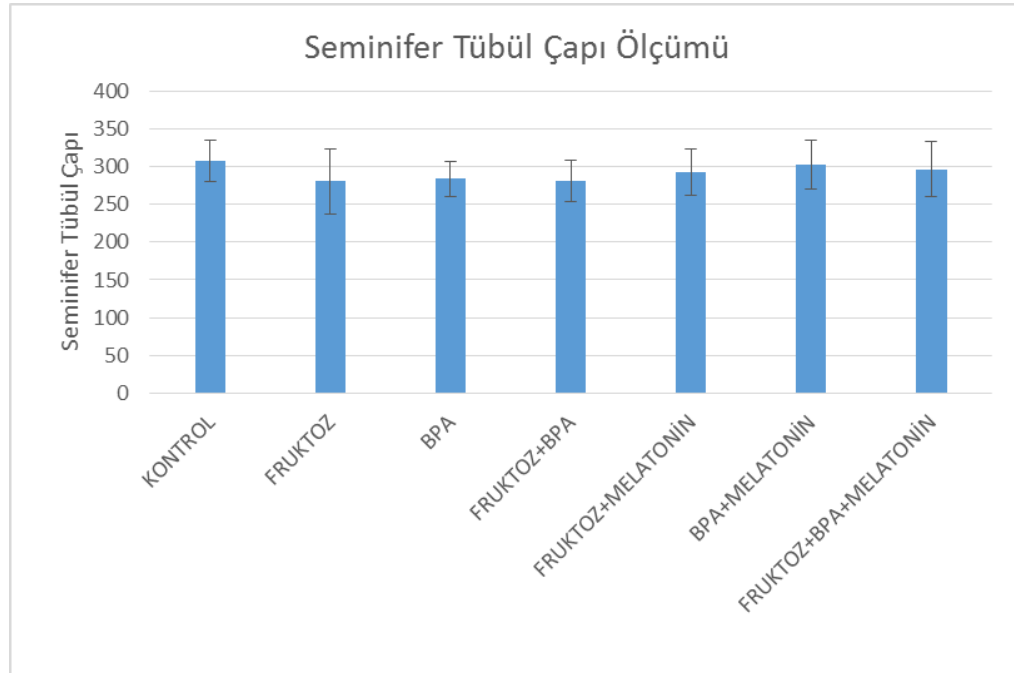
Seminifer tübül çapının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Her gruba ait alınan seri kesitlerin, H&E boyamalarının ardından yapılan değerlendirmelerde, her bir seri kesitten 6'şar ölçüm yapılarak seminifer tübül çap genişliği ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri hesaplandı (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3. Gruplara ait seminifer tübül çapları ölçümlerinin ortalamaları, standart sapmaları, ortanca değerleri

	GRUPLAR	ORTALAMA±SS	ORTANCA (MIN/MAK)
Grup 1	KONTROL	308,08±27,00	315,39 (242,77/350,00)
Grup 2	FRUKTOZ	280,76±43,04	279,95 (200,00/350,20)
Grup 3	BPA	284,27±22,84	283,38 (236,38/335,39)
Grup 4	FRUKTOZ+BPA	281,80±27,24	279,90 (229,86/328,14)
Grup 5	FRUKTOZ+MELATONİN	293,30±31,17	287,27 (215,73/367,12)
Grup 6	BPA+MELATONİN	303,23±32,92	304,30 (244,02/381,81)
Grup 7	FRUKTOZ+BPA+MELATONİN	297,12±37,16	296,33 (227,03/379,23)

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede grupların tübül çapı ölçüm değer ortalamaları sırasıyla 308,08±27,00; 280,76±43,04; 284,27±22,84; 281,80±27,24; 293,30±31,17; 303,23±32,92; 297,12±37,16 olarak saptandı (Şekil 4.4).



Şekil 4.4. Gruplara ait seminifer tübül çapı ölçüm değerleri ortalamaları

Gruplar arası tübül çapı farklarını istatistik olarak ortaya koymak için Independent Samples T Test uygulandı (Shapiro-Wilk testine göre; $p=0,814$). $p<0,05$ 'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede kontrol grubu tedavi amaçla melatonin verilmiş gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (1-6 $p=0,496$, 1-7 $p=0,156$). Ancak, Fruktoz ve BPA uygulanan gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi.

Fruktoz ve Fruktoz+Mel uygulanmış grup kıyaslandığında Fruktoz uygulanmış grupta tübül çapı ortalaması daha az olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmezken ($p=0,161$), BPA uygulanmış grup BPA+Mel uygulanmış grupla ($p=0,006$) ve Fruktoz+BPA uygulanmış grup, Fruktoz+BPA+Mel uygulanmış grupla ($p=0,05$) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu belirlendi.

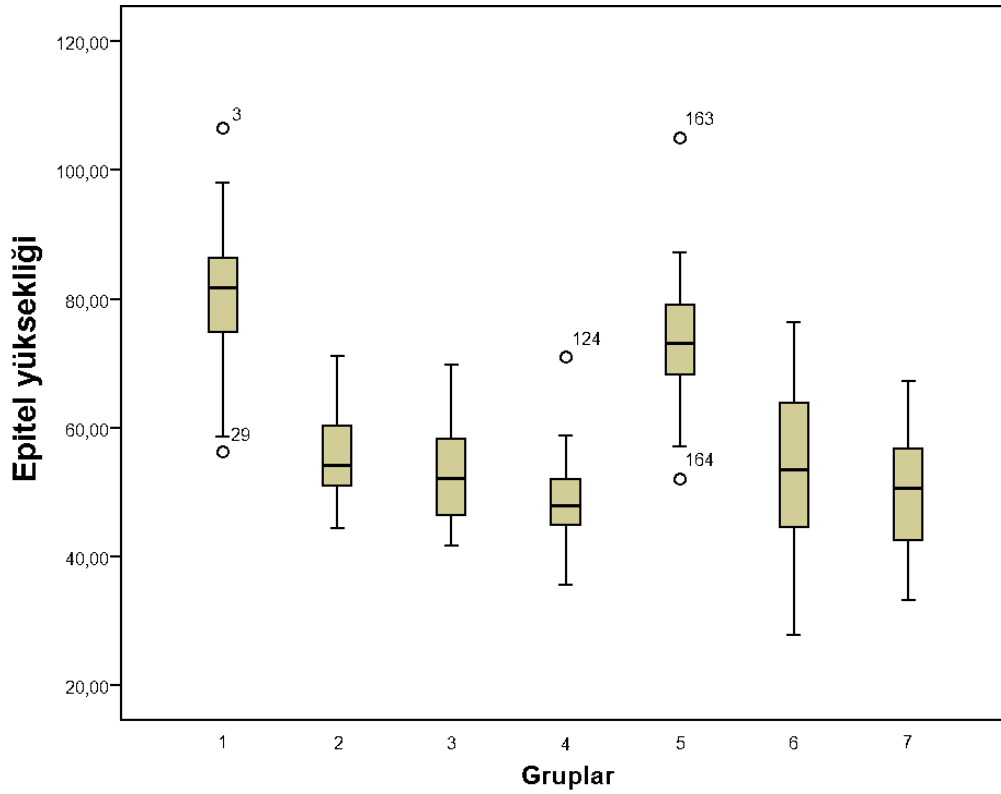
Seminifer tübül epitel kalınlığının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Her gruba ait alınan seri kesitlerin, H&E boyamalarının ardından yapılan değerlendirmelerde, her bir seri kesitten 6'şar ölçüm yapılarak semifer tübül epitel kalınlığına ait ortanca (çeyrekler arası değer) değerleri hesaplandı.

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede grupların semifer tübül epitel kalınlığı ölçümlerine ait ortanca (çeyrekler arası değer) değerleri sırasıyla 81,69 (50,47); 54,22 (9,50); 52,18 (12,08); 47,82 (7,25); 73,11 (11,36); 53,51 (19,63); 50,56 (14,72) olarak saptandı (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4. Gruplara ait semifer tübül epitel kalınlığının ortalama, standart sapma, ortanca, minimum, maksimum değerleri

	GRUPLAR	ORTALAMA $\pm$ SS	ORTANCA (MIN/MAK)
1	KONTROL	81,06 $\pm$ 10,51	81,70 (56,16/106,59)
2	FRUKTOZ	55,89 $\pm$ 7,39	54,22 (44,36/71,14)
3	BPA	52,79 $\pm$ 7,08	52,19 (41,58/69,70)
4	FRUKTOZ+BPA	48,54 $\pm$ 6,65	47,83 (35,45/70,86)
5	FRUKTOZ+MELATONİN	73,38 $\pm$ 10,16	73,11 (51,90/104,91)
6	BPA+MELATONİN	54,14 $\pm$ 12,79	53,51 (27,68/76,43)
7	FRUKTOZ+BPA+MELATONİN	49,96 $\pm$ 8,61	50,56 (33,19/67,21)



Şekil 4.5. Gruplara ait semifer tübül epitel kalınlığının grafiği (Ortanca değere göre oluşturulmuştur)

Gruplar arası semifer tübül epitel kalınlığına ait farkları istatistik olarak ortaya koymak için (Shapiro-Wilk testine göre; $p < 0,001$) Kruskal-Wallis testi uygulandı. Kruskal-Wallis Testine göre yedi grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p < 0,001$).

Bonferroni düzeltilmeli Mann Whitney U testi ile yapılan ileri analizlerde grupların ikili karşılaştırılması yapıldı. $p < 0,05$ 'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Kontrol grubuyla tüm gruplar kıyaslandığında semifer tübül epitel kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi (sırasıyla 1-2 $p < 0,001$, 1-3 $p < 0,001$, 1-4 $p < 0,001$, 1-5 $p = 0,001$, 1-6 $p < 0,001$, 1-7 $p < 0,001$).

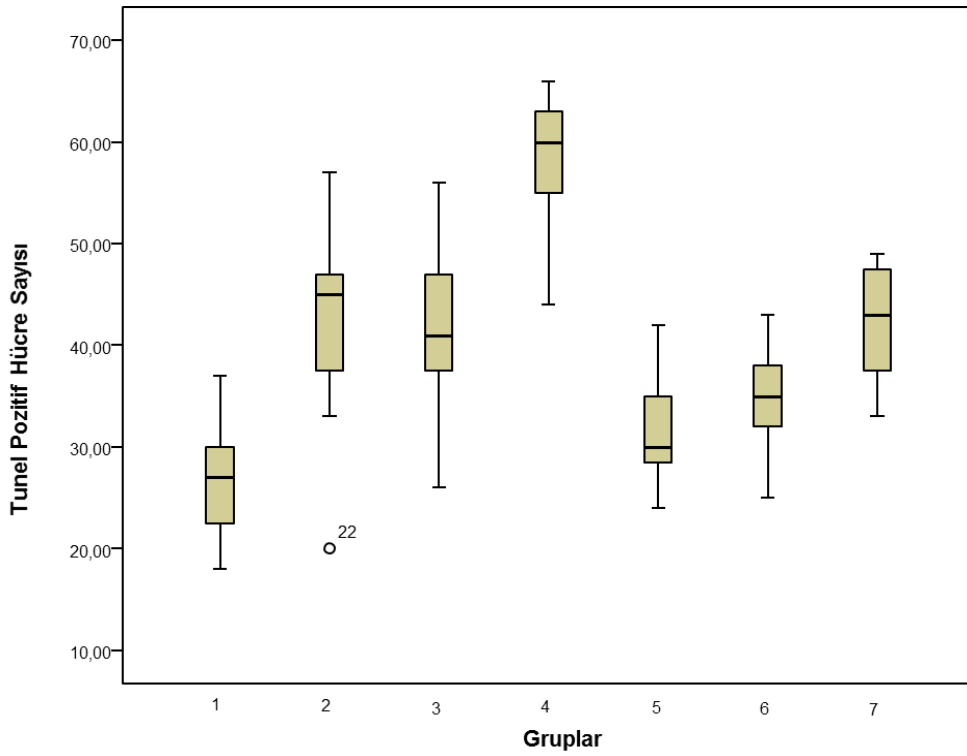
Fruktoz ve Fruktoz+Mel uygulanmış grup kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi ($p < 0,001$). Bpa uygulanmış grup BPA+Mel uygulanmış grupla kıyaslandığında bpa uygulanmış grupta semifer tübül epitel kalınlığı daha az olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p = 0,09$). Fruktoz+BPA

uygulanmış grup, Fruktoz+BPA+Mel uygulanmış grupla ($p=0,05$) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu saptandı.

4.6.4. TUNEL bulgularının istatistiksel olarak değerlendirilmesi

Her gruptaki deneklerden alınan 5'er kesit üzerinden semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücreler sayılarak ortanca (çeyrekler arası değer) değerleri hesaplandı.

İstatistiksel olarak yapılan değerlendirmede grupların semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücre sayılarına ait ortanca (çeyrekler arası değer) değerleri sırasıyla 27,00 (8,00); 45,00 (10,00); 41,00 (10,00); 60,00 (8,00); 30,00 (7,00); 35,00 (7,00); 43,00 (11,00) olarak saptandı (Çizelge 4.6).



Şekil 4.6. Gruplara ait semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücre sayıları (ortanca değere göre hesaplanmıştır)

Gruplar arası semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücre sayılarına ait farkları istatistik olarak (Shapiro-Wilk testine göre; $p=0,029$) ortaya koymak için Kruskal-Wallis testi uygulandı. Kruskal-Wallis Testine göre yedi grup arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,001$).

Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi ile yapılan ileri analizlerde grupların ikili karşılaştırılması yapıldı. $p<0.05$ 'ten küçük olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Kontrol grubuyla tüm gruplar kıyaslandığında semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu belirlendi (sırasıyla 1-2 $p<0,001$, 1-3 $p<0,001$, 1-4 $p<0,001$, 1-5 $p=0,007$, 1-6 $p=0,001$, 1-7 $p<0,001$).

Fruktoz ve Fruktoz+Mel uygulanmış grup kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu saptandı ($p=0,001$).

Hem fruktoz hem bpa grubuna melatonin uygulanmasıyla semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücre sayılarının kontrole yakın olduğu gözlemlendi. Fruktoz+BPA uygulanmış grup, Fruktoz+BPA+Mel uygulanmış grupla ($p<0,001$) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu saptandı.

5. TARTIŞMA

Metabolik sendrom ve üreme sistemi arasındaki etkileşimin varlığına dair kanıtlar gün geçtikçe artmaktadır [1-4]. MetS ve buna bağlı bileşenleri, dünyada giderek yaygınlaşarak kardiyak ve metabolik komplikasyonları ile yüksek morbidite ve mortaliteye neden olmakta ve üreme organları dahil tüm biyolojik sistemleri etkilemektedir [4, 5]. Fakat metabolik sendromun tüm bileşenlerinin etiopatogenezi açıklayabilecek tek bir genetik, infeksiyöz ya da çevresel bir faktör henüz tanımlanamamıştır [7]. Poligenik yatkınlık söz konusu olsa da, modern kent hayatının getirdiği sedanter yaşam ve yüksek kalorili beslenme bu metabolik bozuklukların seyrini negatif biçimde etkilemektedir [7, 8]. Özellikle son yıllarda yüksek fruktoz içerikli rafine gıda tüketiminde yaşanan aşırı artış [9, 10] ve “hormon bozucu veya endokrin bozucu” olarak adlandırılan kimyasal maddelere etkin kalma miktarı ve sürelerindeki yükseliş nedeniyle, Mets ve buna bağlı veya birlikte oluşan klinik durumların görülme sıklığındaki artış dikkat çekici bir hal almıştır. Bu kimyasallar içinde en çok suçlanan ise tüm dünyada yaygın olarak kullanılan bisfenol A’dır (BPA) [11-19].

Bu endokrin bozucu olarak nitelendirilen ajana günlük yaşantımızda etkin kalma olasılığımızın yüksek olması nedeniyle bu çalışmada bu ajanın testis dokusuna etkisi incelenmek istenmiştir.

BPA’nın asıl temas yolunun oral yolla gerçekleşmesi sebebiyle, çalışmalar daha sıklıkla bu temas yolunu kullanan deney modelleri kullanılarak yapılmıştır [25]. Bu sebeple BPA’nın testis dokusuna olan olası etkilerini araştırmak için biz de BPA’yı sıçanlara gavaj ile oral olarak uyguladık.

Mets, obezitede ve diğer bileşenlerinin artışına paralel olarak erkek üreme sistemindeki fonksiyon bozukluklarının görülme sıklığındaki yükselişin diğer önemli bir etkeni de fruktozun, insanın diyetindeki oranında yaşanan artıştır [34-38]. Yapılan bir çok çalışmada, %10 oranında fruktoz uygulamasının sıçanların, insanlardaki metabolik sendrom bulgularına çok benzer nitelikte metabolik değişiklikler gösterdiği ifade edilmiştir. %10 oranında fruktoz uygulaması sıçanlarda, MetS bileşenlerinden olan glukoz intoleransı, insülin direnci, hiperinsülinemi, hipertansiyon ve hipertrigliseridemi bulgularına yol açmaktadır [5, 39]. Fruktoz kullanılarak gerçekleştirilen metabolik sendrom modellerinde gözlenen patofizyolojik değişimlerin, kullanılan hayvanın soyu, yaşı, fruktozun miktarı,

verilme yolları ve süresi gibi deney yöntemlerinden kaynaklanabilen farklılıklar gösterdiği bildirilmektedir [5, 39, 76]. Ayrıca, fruktoz oksidatif stresi artırarak doku hasarına yol açmaktadır [9].

Hem BPA hem de fruktoz oksidatif stresi artırarak testiküler hasar ve fertilité ile ilgili birçok hastalığa neden olabilmektedir. Bundan dolayı bu iki maddenin hem ayrı ayrı hem de beraber kullanımı sonucunda elde edilecek verilerin, bu iki maddenin bir birleriyle etkileşimi sonucunda testis dokusuna olası etkilerinin incelenmesinde önemli veriler sunacağı görüşündeyiz. Ayrıca bu iki madde de günümüzde aktif bir endokrin organ olarak düşünülen yağ dokusuna ve bu dokudan salınan adipositokinler denilen hormonların düzenlenme mekanizmalarını bozarak, adipoz doku inflamasyonu, obezite, insülin direnci, kronik sistemik inflamasyon ve endotel disfonksiyonu ile birlikte pek çok metabolik bozukluğa zemin oluşturabilmektedir [122]. Bu yüzden bu substansların seviyelerinin dengede kalması üreme sistemi ile ilişkisi bilinen obezite, MetS ve kardio vasküler hastalıkların önlenmesinde bir gereklilik olduğu çok iyi bilinmektedir. Son yıllarda adipoz dokunun üreme sistemi üzerindeki endokrin kontrolü veya etkisini araştıran çalışmalara olan ilgi artarak devam etmektedir [123]. Özellikle üreme sistemi alanındaki araştırmalar adiponektin, leptin adı verilen adipositokinler üzerinde yoğunlaşmıştır [1, 123, 124].

Çalışmamızda adipositokinleri BPA ve Fruktoza etkin kalma etkilenimleri de gözden geçirilmiştir. BPA ve fruktoz uygulamalarının testis dokusundaki leptin ve adiponektin dağılımlarına etkisinin incelenmesinin bu hormonların erkek üreme sistemi üzerindeki düzenleme görevlerini nasıl gerçekleştirdiğine dair önemli bilgiler verebilir.

Bu çalışmada BPA ve Fruktoza etkin kalma sonucunda testis dokusunda adipositokinlerin ekspresyonunda değişikliklere neden olabileceği görülmüştür.

Bu verileri elde edebilmek için Mets ve obezite oluşturabilme yeteneği olan BPA ve % 10 'luk D-Fruktoz çözeltisi [5], fruktozun içme suyu yoluyla verilmesine karşı daha hassas olduğu bildirilen 120-200 g ağırlığında Sprague-Dawley cinsi sıçanlara [5, 39, 76] 8 hafta boyunca hem ayrı ayrı hem de eş zamanlı oral yolla uygulanarak, bu iki maddenin testis dokusunda hem testiküler hasar oluşturma potansiyellerine hem de leptin ve adiponektin hormonlarını nasıl etkilediğine bakıldı.

Böylelikle BPA ve fruktoza birlikte etkin kalmakla bunların oluşturabileceği kümülatif etki araştırılmıştır.

Melatonin etkili bir antioksidan [40] olmasının yanında, enerji harcanması ve vücut yağ kütlesinin düzenlenmesinde de görev alır. Bunlarla birlikte, metabolik düzenleyici rolü vardır [41, 42]. Ayrıca, son yıllarda melatoninin üreme sisteminin düzenlemesindeki rolüne olan ilgi de artmıştır [43]. Oktidatif stres oluşturan BPA ve fruktozun testis dokusundaki negatif etkilerinin bastırılmasında ne gibi yararlı etkilerinin olduğunun araştırılması gelecekteki araştırmalar için önemli bilgiler sağlayabilir. Özellikle melatoninin metabolik etkilere sahip olması bu araştırmada kullanılmasını daha değerli kılmaktadır.

Takeuchi ve ark. Japonyada yaptıkları bir çalışmada BPA'ya etkin kalmış obez olan PCOS'lu, obez olmayan PCOS'lu ve obez olan sağlıklı kadınların BPA serum düzeylerini sağlıklı normal kadınlarla karşılaştırdıklarında normal sağlıklı kadınlardan daha yüksek seviyelerde olduğunu saptamışlardır. Yine obez olan sağlıklı kadınların BPA konsantrasyonlarının sağlıklı obez olmayan kadınlara göre daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Bunun sonucunda da beden kitle indeksi ile BPA düzeyleri arasında pozitif korelasyonun olduğunu göstermişlerdir [192]. 2003-2006 yılları arasında Amerika Birleşik Devletlerinde yapılan bir çalışmada, yaşları 18 ile 74 arası değişen 2747 ABD'li yetişkinin idrar BPA düzeyleri ile obezite görülme sıklığı arasında anlamlı bir ilişkinin var olduğu gösterilmiştir [193].

Buna karşın, Gurmeet ve ark. ise prepubertal sıçanlarla yaptıkları çalışmada 1,5, 10 ve 100 mg/kg/gün BPA'ya 6 hafta oral şekilde etkin kalma durumunda tüm gruplardaki sıçanların vucüt ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir değişime rastlamamışlardır [200].

Bunlarla birlikte, aşırı fruktoz tüketiminin ağırlık artışına neden olduğunu [9, 34] bildiren çalışmalar olduğu gibi fruktoz uygulaması sonrası ağırlık artışı saptanmayan çalışmalar da vardır [5, 229].

Bu çalışmada ise her gruba ait 7 ardışık ölçüm değerlendirildiğinde zamanla grup içerisinde istatistiksel olarak anlamlı bir kilo artışı olduğu gözlemlendi ($p < 0,001$). Bu artışı alt gruplar arasında birbiriyle kıyasladığımızda istatistiksel olarak herhangi bir interaksiyon olmadığı gözlemlendi ($p = 0,408$). Ancak yapılan ölçüm ortalamaları değerlendirildiğinde fruktoz ve

BPA'nın hem tek başına hem de birlikte uygulandığı gruplarda kilo artışının en fazla olduğu buna karşılık fruktoz ve BPA uygulanmış gruplara melatonin uygulandığında kontrol grubuna benzer ağırlıklarda olduğu gözlemlendi.

Deneyin sonunda VKİ verileri değerlendirildiğinde, Friedman Testine göre yedi grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p < 0,001$). Kontrol grubu tedavi amaçlı melatonin verilmiş gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak vki açısından anlamlı bir farklılık gözlenmedi (1-5 $p=0,241$, 1-6 $p=0,821$, 1-7 $p=0,786$). Bu durum melatonin uygulamasının vki'nin normal değerlere düşmesinde etkili olabileceğini göstermiştir. Ancak, fruktoz ve BPA'nın hem tek hem birlikte verilen gruplarıyla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi (1-2 $p=0,001$, 1-4 $p=0,047$). Özellikle bu durum fruktoz uygulamasının vki'nde anlamlı bir artışa sebep olduğunu, buna karşın melatonin verilen gruplarda normal değerlere ulaştığını göstermiştir.

Deney sonunda, yalnız fruktoz uygulanan grup kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, VKİ'de, serum trigliserit, VLDL-kolesterol ve Alanin amino transferaz (ALT) düzeylerinde artışa yol açtığı tespit edilmiş ve böylelikle metabolik sendromun bazı bileşenlerinin oluştuğu gözlemlenmiştir.

Yine yapılan birçok çalışmada BPA'ya etkin kalmanın MetS'e ve obezite görülme sıklığını arttırdığı dolayısıyla bu olguların oluşmasını tetikleme potansiyeline sahip olan BPA'nın [11-19] yalnız uygulandığı grupta VKİ'de, Alanin amino transferaz (ALT) düzeylerinde artışa ve HDL de ise azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir. VKİ de artış olması BPA ile obezite görülme sıklığı arasında anlamlı bir ilişkinin var olduğunu destekleyebilir [192, 193]

Bu iki maddenin bir, birleriyle etkileşiminin kontrol grubuyla karşılaştırma sonuçlarına bakıldığında, BPA (25mg/kg/gün) ve D-Fruktozun (%10'luk) 8 hafta süreyle oral yolla uygulanması neticesinde, VKİ'de, serum trigliserit, VLDL-kolesterol düzeylerinde artışa ve HDL de ise azalmaya yol açtığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte bu grubun serum trigliserit ve VLDL değerleri Fruktoz ve Fruktoz+BPA gruplarıyla kıyaslandığında daha yüksek çıkmıştır.

Melatonin etkili bir antioksidan [40] olmasının yanında, enerji harcanması ve vücut yağ kütlesinin düzenlenmesinde de görev alır. Bunlarla birlikte, metabolik düzenleyici rolü vardır [41, 42]. Melatoninle ilgili MetS hastalarında ve deney hayvanı modellerinde yapılan çeşitli araştırmalar sonucu kronik melatonin tedavisinin diyetle indüklenen obezite tarafından ortaya çıkarılan metabolik anormallikleri önlediği bildirilmiştir [210]. Kozirog ve ark. MetS hastaları üzerinde yaptığı bir çalışmada 2 ay süre ile uygulanan melatoninin (5 mg/gün) lipid profilini iyileştirmesine (LDL-kolesterolde azalma) ve kan basıncını düşürmesine ek olarak, antioksidan savunma sistemini uyarak katalaz aktivitesinde artışa, lipid peroksidasyonunda azalmaya neden olduğunu göstermiştir [222].

Bu çalışmada, 8 hafta boyunca 20 mg/kg/gün melatoninin uygulanan fruktoz, BPA ve fruktoz+BPA gruplarında serum trigliserit, VLDL-kolesterol, ALT düzeylerinde azalttığı ve HDL düzeyini ise yükselttiği tespit edilmiştir. Bu gruplardaki VKİ'yi değerlerini ise kontrol grubuna yakın seyrettiği gözlemlenmiştir. Sonuçta literatüre uygun olarak melatonin uygulaması (8 hafta, 20 mg/kg/gün) hem fruktozun hem de BPA'nın yol açtığı metabolik anormallikleri engellemede başarılı olmuştur.

In utero dönemde 16-18 gün boyunca BPA'ya etkin kalan erkek farelerde anogenital açıklığın azaldığı, prostat hiperplazisi (büyümesi) ve epididimal ağırlık azalmasının gözlemlendiği saptanmıştır [27, 28]. Yine, sıçanlar üzerinde in utero dönemde yapılan bir diğer araştırmada, BPA'ya oral etkin kalma sonucunda testis ağırlığında önemli bir artışın söz konusu olduğu bildirilmiştir [29].

Gurmeet ve ark. prepubertal sıçanlarla yaptıkları çalışmada 1,5, 10 ve 100 mg/kg/gün BPA'ya 6 hafta oral şekilde etkin kalma durumunda BPA uygulanan sıçanlarda spermatogenezisin daha seyrek olduğu, hücreler arası bağlantı kaybı ve seminifer tübül lümeninde germ hücrelerin sayısında azalma olduğu, seminifer tübül epiteli hasarının artan dozlara bağlı olarak daha da şiddetlendiği görülmüştür. Ayrıca bu hayvanların tetis dokusundaki seminifer tübüllerin lumeninde atrofiye bağlı olarak olgunlaşmamış germ hücrelerinin, debris oluşumlarının olduğunu saptamışlardır. Bu hasarın artan dozlara bağlı olarak, seminifer tübül çaplarında, seminifer epitel kalınlığında azalmaya neden olabileceğini aktarmışlardır. Elde edilen bu bulguların BPA uygulanan sıçanların serum testosteron ve östradiol değerlerindeki yaşanan önemli düşüşle ilgili olduğunu ileri sürmüşlerdir. Bunlara ek olarak, BPA uygulanan sıçanların testis ve epididimis

ağırlıklarında kontrol grubuyla ve birbirleriyle karşılaştırıldıklarında herhangi bir önemli değişimin olmadığını göstermişlerdir. Bunların sonucunda, BPA'nın günlük sperm üretiminde ve fertilitede azalmaya neden olabileceğini ifade etmişlerdir [200].

Erişkin farelerle yapılan deneyde, 4 hafta süreyle intraperitoneal olarak 20 mg/kg/gün BPA'ya etkin kalması sonucu, günlük sperm üretimlerinde ve total sperm sayılarında azalma; prostat ve seminal vezikül ağırlıklarında düşüş belirlenmiş; ancak testis veya epididimis ağırlıklarında herhangi bir değişimin meydana gelmediğini göstermişlerdir. Ayrıca bu araştırmada, sıçanların serum testosteron düzeylerinin azaldığı, karaciğer ve böbrek ağırlıklarında azalma olduğu da gözlenmiştir [30]. Bunlara ek olarak, plazma LH hormon düzeyinde değişiklik ve plazma testosteron miktarında azalmanın sonucunda sperm sayısında azalma olduğunu bildiren çalışmalar da bulunmaktadır [201].

Sakaue ve ark.'nın Japonyada sıçanlarla yaptıkları bir diğer çalışmada, yüksek dozda BPA'ya oral şekilde etkin kalma durumunun günlük sperm üretiminde ve fertilitede azalmaya neden olduğu; ancak 20 µg/kg/ gün dozunun altında sperm üretiminin önemli ölçüde etkilenmediği bildirilmiştir [202]. Bunlarla birlikte erkek sıçanlarda düşük doz BPA ile karşılaşmanın testiküler ve epididimal ağırlıkta azalma ile karakterize, sperm üretimi ve fertilitede azalma gözlendiği saptanmıştır [22].

Deneyin sonunda, testis ağırlıklarının istatistiksel olarak yapılan değerlendirmesinde, kontrol grubu diğer gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olmadığı saptandı (1-2 p= 0,437, 1-3 p=0,270, 1-4 p=0,214, 1-5 p=0,756, 1-6 p=0,123, 1-7 p=0,569). Fakat, BPA uygulanan grup BPA+Mel uygulanan grupla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu (p=0,015) bu anlamlılığın melatonin uygulaması sonrasında kontrole yakın değerlerde olmasından kaynaklandığı testip edildi. Fruktoz ile fruktoz+mel uygulanan gruplar (p=0,421) ve Fruktoz+BPA ile Fruktoz+BPA+Mel uygulanan gruplar (p=0,112) arasında da istatistiksel olarak anlamlılık gözlenmedi.

Bu çalışmada, seminifer tübül çaplarının değişimleri incelendiğinde, kontrol grubu tedavi amaçla melatonin verilmiş gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi (1-6 p= 0,496, 1-7 p=0,156). Bu durum melatonin uygulamasının tübül çapında oluşan hasara karşı koruyucu etkili olabileceğini göstermiştir. Ancak, Fruktoz ve BPA

uygulanan gruplarla kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi ve bu farklılığın Fruktoz ve BPA'nın hem tek hem birlikte verilmesiyle tübül çapında meydana gelen hasara bağlı azalmadan kaynaklandığı saptandı (1-2 $p=0,002$, 1-3 $p<0,001$, 1-4 $p<0,001$, 1-5 $p=0,035$).

Fruktoz ve Fruktoz+Mel uygulanmış grup kıyaslandığında fruktoz uygulanmış grupta tübül çapı ortalaması daha az olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmezken ($p=0,161$), BPA uygulanmış grup BPA+Mel uygulanmış grupla ($p=0,006$) ve fruktoz+bpa uygulanmış grup, fruktoz+bpa+mel uygulanmış grupla ($p=0,05$) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu ve bu anlamlılığın tedavi amacıyla uygulanmış melatoninin tübül çapındaki azalmaya karşı koruyucu bir etki göstermesinden kaynaklanabileceğini gösterdi.

Deneyin sonunda, gruplar arası semifer tübül epitel kalınlığına ait farkları değerlendirildiğinde (Shapiro-Wilk testine göre; $p<0,001$) Kruskal-Wallis Testine göre yedi grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,001$).

Kontrol grubuyla tüm gruplar kıyaslandığında semifer tübül epitel kalınlığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ve bu farklılığın diğer gruplara kıyasla kontrol grubundaki semifer tübül epitel kalınlığının fazla olmasından kaynaklandığı belirlendi (sırasıyla 1-2 $p<0,001$, 1-3 $p<0,001$, 1-4 $p<0,001$, 1-5 $p=0,001$, 1-6 $p<0,001$, 1-7 $p<0,001$).

Fruktoz ve fruktoz+mel uygulanmış grup kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ve bu farklılığın fruktoz uygulanmış grupta epitelyum yüksekliğinin daha az olmasından kaynaklandığı gözlemlendi ($p<0,001$). BPA uygulanmış grup BPA+Mel uygulanmış grupla kıyaslandığında BPA uygulanmış grupta semifer tübül epitel kalınlığı daha az olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık gözlenmedi ($p=0,09$). Fruktoz+BPA uygulanmış grup, fruktoz+bpa+mel uygulanmış grupla ($p=0,05$) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu ve bu anlamlılığın tedavi amacıyla uygulanmış melatoninin semifer tübül epitel yüksekliğindeki azalmaya karşı koruyucu bir etki göstermesinden kaynaklandığı saptandı.

LH düzeylerinin bütün grupları arasında kayda değer bir değişim göstermediği saptandı [4]. Fakat BPA uygulaması sonucu LH düzeylerinde değişim olduğunu bildiren çalışmalarda mevcuttur [201].

Östradiol düzeyleri Fruktoz uygulamasında azaldığı, BPA uygulamasında arttığı, Fruktoz+BPA grubunda azaldığı, melatonin grupların da ise kontrole yakın değerlerde olduğu belirlendi.

Serumdaki testosteron düzeyleri değerlendirildiğinde, Fruktoz, BPA ve Fruktoz+BPA uygulamalarının testosteron seviyelerini kontrole göre kontrole göre azalttığı saptanmıştır. Testosteron düzeylerindeki en fazla azalma BPA uygulaması sonucu gerçekleşmiştir [202].

Bu sonuçlar da bize seminifer tübül epitelindeki germ hücre kayıplarının BPA uygulamasındaki azalmayı açıklar niteliktedir. Fruktoz+Mel grubunda ise testosteron ölçümü yapılamamıştır.

Leptin, özellikle adipositler tarafından salgılanmasına rağmen, son zamanlarda yürütülen çalışmalarla; mide, plasenta, göğüs, tükürük bezi, kolon, karaciğer ve erkek [129-131] ve kadın üreme sistemi [132] organlarında da ekspresyonunun varlığı gösterilmiştir [133]. Serum leptin düzeyi, adipoz dokudaki enerji rezervlerinin bir göstergesidir ve vücut yağ oranı ve vücut kitle indeksi ile korelasyon gösterir. Bu değerler normal bireylerde 7,5 ng/ml iken obez bireylerde 31,3 ng/ml seviyelerindedir [135, 230]. Obez bireylerde bu değerde bir artış gözlemlenirken, kilo kaybı neticesinde azaldığı bildirilmiştir [136]. Yeterli leptin düzeyi, besin alımını önleyerek; üreme, büyüme gibi süreçlerde enerji tüketimine izin verir [138]. Leptin, metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sisteminde ve periferik dokularda (akciğer, böbrek, karaciğer, kalp, endokrin pankreas, böbrek üstü bezler, uterus, ovaryum, testis, hematopoietik hücreler, iskelet kası vb.) bulunan reseptörlerle etkileşerek gösterir [140, 141]. Asıl etki alanı hipotalamus olan leptin reseptörleri; iştah, üreme ve büyümenin kontrolü ile ilişkili hipotalamik-hipofizyal-gonadal aksın kontrolünde-düzenlenmesinde önemli görevler alırlar [142]. Sıçanlarla yapılan bir araştırmanın sonucunda elde edilen bulgular leptinin üreme fonksiyonundaki rolünü açıkça ortaya koymaktadır. Bu çalışmada obez C57BL/6J ob/ob yani leptin sentezleyemeyen farelerin genetik olarak hipogonadotropik hipogonadizm göstermeleri ve steril oldukları saptanmıştır. Bununla birlikte sterilite kilo verme (diyet kısıtlaması) ile de düzelmemektedir. Ancak bu farelere

leptin verilmesi ile puberte başlamış ve infertilite düzelmiştir. Ayrıca, normal sıçanlara leptin verilmesi ile de pubertenin başlamasının hızlandığı gösterilmiştir [143]. İnsanlarda ise düşük leptin seviyelerinin veya diüurnal ritminin bozulmasının hipotalamik hipogonadizm ve amenore ile sonuçlandığı bildirilmiştir [144]. Yine hayvan çalışmalarında bu kez leptin fazlalığının 17OH-progesteronun testosterona dönüşümünü engelleyerek serum testosteron düzeyini düşürdüğü bildirilmiştir [145]. Obez hastalarda gözlenen fazla leptin, androjenleri baskılar ve infertiliteye neden olabilir. Bu bireylerde yüksek leptin düzeyleriyle beraber yüksek infertilite görülmesi bu bulguyu destekler niteliktedir [146]. Leptinin bu etkileri yanında GnRH'un nöronal fonksiyonunu etkilediği ve aynı zamanda fertilitiyi baskılayan önbeyin nöronlarına etki ettiği de ifade edilmiştir [147].

Bunlarla birlikte, leptinin germ hücrelerine direkt etkisi de bulunmaktadır. Aynı zamanda plazma leptin düzeylerinin semen leptin düzeyleri ile korele olduğu gösterilmiştir. Leptin testiste belli bir düzeyde bulunur ve eğer bu miktar artarsa spermatogenezde bozulmalar meydana gelir [129]. Leptin reseptörlerinin sadece testiküler dokuda değil aynı zamanda sperm plazma membranında da olması hipotalamo-hipofizer akstan bağımsız olarak leptinin direkt olarak spermi etkileyebileceğini gösterir. Obezite oluşturulmuş farelerde hormon bozukluğu olmaksızın sperm motilitesinde azalma izlenmesi bu bilgiyi doğrulamaktadır [148].

Yukarıda da bahsedildiği gibi üreme sistemi fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli görevleri olan leptin hormonunun üreme sistemi ile ilişkisi bilinen MetS ve obezitenin testis fonksiyonlarına etkisinin araştırılmasında bakılması gereken önemli bir adipokin olduğunu ortaya koymaktadır.

Bizim çalışmamızda ise MetS ve obezite ile ilişkisi bilinen fruktoz ve BPA maddelerine etkin kalan sıçanların testis dokusunda ObR antikoru ile yapılan immunohistokimyasal incelemeler sonucunda yapılan semikantitatif değerlendirmede, testis dokusunda leptin immunreaktivitesinin BPA ve fruktoz uygulanan gruplarda, kontrole göre reaktif olarak arttığı saptandı. Bu immünreaktivitenin seminifer tübüllerdeki spermatogenezisin farklı gelişim aşamalarındaki germ hücrelerinde olduğu izlendi.

Melatonin uygulaması sonucunda (Fruktoz-melatonin, BPA+Melatonin ve Fruktoz+BPA+Melatonin) ise immunreaktivitenin kontrol grubuna göre artmış olduğu fakat

fruktoz, BPA ve fruktoz+BPA gruplarına göre daha zayıf olduğu dikkati çekti. Bu durumun oluşmasında melatoninin son yıllardaki çalışmalar sonucu, MetS ve kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi bulunan plazma total kolesterol, VLDL-kolesterol, LDL-kolesterol ve TG düzeylerini azaltmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz [113, 210, 222].

Bu durumun melatonin uygulamasının metabolik sendroma bağlı gelişebilecek sekonder etkileri önlemesi ile ilgili olduğunu düşündürmektedir.

Adiponektin beyaz yağ dokusu tarafından en fazla salgılanan proteindir ve son zamanlarda obezitede seviyesi azalan faydalı adipokin olarak ifade edilmiştir [133]. Azalmış adiponektin düzeyleri daha sonra metabolik sendroma kadar gidecek bir tabloya neden olan obezite ve tip-II diyabet olgularında sıklıkla gözlemlenmektedir [150]. Son zamanlarda yapılan çalışmalar glukoz ve ve lipid homostasisinde önemli işlevleri olan adiponektinin, ovaryum, böbrek üstü bezi ve hipofiz gibi birçok endokrin organın fonksiyonunun düzenlenmesinde de önemli görevler üstlendiğini ortaya koymuştur. Fakat adiponektinin erkek testislerindeki biyolojik rolü büyük ölçüde keşfedilememiştir [161].

Orta yaşlı MetS'li hastalarda serum testosteron konsantrasyonu adiponektin konsantrasyonu ile pozitif korelasyon göstermektedir. Bu durum da obezitedeki adiponektin ve testosteron azlığı arasındaki ilişkinin nedenini açıklamaktadır [162].

Adiponektin, esas olarak adiponektin reseptör 1 (AdipoR1) ve adiponektin reseptör 2 (AdipoR2) olarak adlandırılan iki farklı reseptörü üzerinden eylemlerini gerçekleştirmektedir [157]. Adiponektin reseptör 1 (AdipoR1) reseptörünün ovaryum, tuba uterina, endometriyum, testis ve plasentayı da içeren bütün periferik üreme dokularında var olduğu gösterilmiştir [164-166]. Fakat adiponektinin bu dokulardaki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır [133]. Ayrıca, adiponektin proteininin ve reseptörlerini insan testisindeki Leydig hücrelerinin yanında epididimide, spermatazolarda da ifadelendiği gösterilmiştir [150, 165]. Adiponektinin testiküler seviyede lokal etkisine ek olarak adiponektin erkek üreme sistemine hipotalamus ve hipofiz aks üzerinden de etki edebilir. AdipoR1 ve AdipoR2 insan hipotalamus ve hipofiz de eksprese olduğu gösterilmiştir [171]. Sonuçta; Adiponektin üreme ve büyümeyi kontrol etmek için metabolizma ve endokrin kontrollü bir birine bağlayan bir sinyal olarak işlev görebilir [150]. Bunların yanında, adiponektin spermatogenezde de düzenleyici bir role sahiptir. Kemirgenlerde, obezite

azalmış sperm hareketliliğine neden olur. Oluşan düşük sperm kalitesi de doğurganlık potansiyelinde hafif bir azalmaya neden olur [172]. Bu da obezitenin erkek fertilizasyonunda bozulmalara yol açabileceğini destekler. Buna ek olarak, obezite koşulları altında testiküler seviyedeki oksidatif stres spermatogenezis de azalma ve sperm hasarı ile sonuçlanabilir. Gerçekten de erkekte oluşan obezite, testiküler fonksiyonların değişmesine yol açabilir [150].

Bu çalışmamızda MetS ve obezite ile ilişkisi bilenen fruktoz ve BPA maddelerine etkin kalan sıçanların testis dokusunda AdipoR1 antikoru kullanılarak tüm gruplarda yapılan immunohistokimyasal uygulamalarla immunreaktivite karşılaştırıldı.

Yapılan değerlendirme sonucunda, seminifer tübül içerisindeki germ hücrelerinde ve Sertoli hücrelerinde hiçbir grupta immunreaktivite izlenmezken, interstisyel alandaki Leydig hücreleri karşılaştırıldığında ise kontrol grubundaki Leydig hücrelerinde immunreaktivite varlığı dikkati çekerken; fruktoz, BPA ve Fruktoz- BPA gruplarında ise interstisyel alanda Leydig hücresi olarak değerlendirilen hücrelerde herhangi bir immunreaktivite gözlenmedi. Bu durumun oluşmasında, Fruktoz ve BPA'nın adiponektin azaltıcı metabolik etkilerinin sonucunda olduğu düşünülebilir.

Melatonin uygulanması sonucunda Fruktoz+Melatonin, BPA+Melatonin ve Fruktoz+BPA+Melatonin gruplarında ise Leydig hücrelerinde kontrol grubuna göre zayıf immunreaktivite gözlenmesi melatoninin üreme sistemine etkileri olan MetS ve obezite gibi metabolik hastalıklarda karşı koruma özelliğinin var olduğunu gösterebilir.

MetS sonucu ortaya çıkan oksidatif strese bağlı olarak testiküler dokuda hasar oluşmaktadır. Oksidatif stres, spermatozoa fonksiyonunu azaltan en önemli etkenlerden biridir [2, 36]. Sperm plazma membranı doymamış yağ asitlerinden zengindir ve bu nedenle lipid peroksidasyonu hasarına çok yatkındır. Bu hasar sonucu sperm hücre fonksiyonu bozulmakta ve spermatozoa motilitesi azalmaktadır [231]. Yağ asitleri erkek üreme hücrelerinde sperm fonksiyonlarının sağlanmasında çok önemlidir [231].

Kısacası oksidatif stres sonucu oluşan serbest oksijen radikalleri testiküler disfonksiyona neden olarak infertilite oluşturmakta ve yapılan çalışmalar testiste oluşan oksidatif hasar ve

testiküler disfonksiyon ile infertilite oluşması arasında kuvvetli bir ilişki olduğunu göstermektedir [36].

Bazı çalışmalarda, BPA'nın erkek üreme sistemi üzerindeki olumsuz etkisi, spermde oksidatif stresin indüksiyonu ile açıklanmaktadır. Testis işlevleri, normal fizyolojik koşullar altında, bir antioksidan sistemi tarafından düzenlenen reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimi ile ilişkilidir. Fakat BPA gibi ajanlara etkin kalma durumu testiküler oksidatif strese neden olan bu ROS üretimini daha da şiddetlendirir [11, 205]. Sıçanların oral yoldan artan dozlarda BPA'ya etkin kalma durumu, antioksidan savunma sisteminin azalmasına ve epididimal spermelerde oksidatif stresin artışına yol açabilmektedir [11]. Oksidatif stres de hücre ölümlerine yol açarak dokuda işlev bozukluklarına yol açar.

Çalışmamızda semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücre sayılarını belirleyerek BPA ve fruktozun dokuda yaptığı hücre hasarını belirlemeye çalıştık.

Yedi grup arasındaki farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p < 0,001$). Kontrol grubuyla tüm gruplar kıyaslandığında semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücreler açısından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ve bu farklılığın diğer gruplara kıyasla kontrol grubundaki tünel pozitif hücre sayısının daha az olmasından kaynaklandığı belirlendi (sırasıyla 1-2 $p < 0,001$, 1-3 $p < 0,001$, 1-4 $p < 0,001$, 1-5 $p = 0,007$, 1-6 $p = 0,001$, 1-7 $p < 0,001$).

Fruktoz ve fruktoz+mel uygulanmış grup kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu ve bu farklılığın fruktoz uygulanmış grupta semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücrelerin daha fazla olmasından kaynaklandığı gözlemlendi ($p = 0,001$).

Bpa uygulanmış grup bpa+mel uygulanmış grupla kıyaslandığında bpa uygulanmış grupta semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücrelerin daha fazla olmasından kaynaklı olarak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olduğu gözlemlendi ($p = 0,0015$). Hem fruktoz hem bpa grubuna melatonin uygulanmasıyla semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücre sayılarının kontrole yakın olduğu gözlemlendi. Fruktoz+bpa uygulanmış grup, fruktoz+bpa+mel uygulanmış grupla ($p < 0,001$) kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılığın olduğu ve bu anlamlılığın tedavi amacıyla uygulanmış melatoninin semifer tübül epitelinde apoptozise giden hücrelerde azalmaya sebep olarak koruyucu bir etki göstermesinden kaynaklandığı saptandı.

6. SONUÇ

Sonuç olarak; günlük yaşantımızda çeşitli nedenlerle etkin kaldığımız Bisfenol A ile günlük beslenme yolu ile etkin kaldığımız fruktozun ayrı, ayrı metabolik sendrom oluşumuna katkıda bulunan maddeler olmasının yanısıra birlikte uygulanmaları ile oluşabilecek kümülatif etkinin MetS'e yol açabileceği, bunun erkek üreme sistemi üzerine ve adipositokinler üzerine etkisinin melatonin eş uygulaması ile kısmen önlenebileceği çalışmada kullanılan yöntemlerle gösterilmiştir. Ancak bu etkilerin ve melatoninin bu konudaki etkinliğinin daha ileri yöntemler ve çalışmalar ile pratik uygulamaya geçirilmesi bilime katkıları anlamında yarar sağlayacaktır.

KAYNAKLAR

1. Goulis, D.G. ve Tarlatzis, B.C. (2008). Metabolic syndrome and reproduction: I. testicular function. *Gynecological Endocrinology*, 24, 33-39.
2. Kasturi, S.S. Tannir, J. and Brannigan, R.E. (2008). The metabolic syndrome and male infertility. *Journal of Andrology*, 29, 251-259.
3. Ilacqua, A. Francomano, D. and Aversa, A., (2015). Obesity and Testicular Function. *Multidisciplinary Approach to Obesity*. Springer, 99-106.
4. Catak, Z. Aydin, S. Sahin, I. Kuloglu, T. Aksoy, A. ve Dagli, A.F. (2014). Regulatory neuropeptides (ghrelin, obestatin and nesfatin-1) levels in serum and reproductive tissues of female and male rats with fructose-induced metabolic syndrome. *Neuropeptides*, 48, 167-177.
5. Aydin, S. Aksoy, A. Aydin, S. Kalayci, M. Yilmaz, M. Kuloglu, T. Cital, C. ve Catak, Z. (2014). Today's and yesterday's of pathophysiology: biochemistry of metabolic syndrome and animal models. *Nutrition*, 30, 1-9.
6. Cornier, M.A., Dabelea, D., Hernandez, T.L., Lindstrom, R.C., Steig, A.J., Stob, N.R., Van Pelt, R.E., Wang, H. and Eckel, R.H. (2008). The metabolic syndrome. *Endocrine Reviews*, 29, 777-822.
7. Arslan, M. Atmaca, A. Ayvaz, G. Başkal, N. Beyhan, Z. Bolu, E. Can, S. Çorakçı, A. Dağdelen, S. ve Demirağ, N.G. (2009). Metabolik Sendrom Kılavuzu. *Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği Dergisi*.
8. Grundy, S.M., Cleeman, J.I., Daniels, S.R., Donato, K.A., Eckel, R.H., Franklin, B.A., Gordon, D.J. , Krauss, R.M., Savage, P.J., Smith, S.C., Jr. Spertus, J.A. and Costa, F. (2005). Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*, 112, 2735-2752.
9. Rutledge, A.C. and Adeli, K. (2007). Fructose and the Metabolic Syndrome: Pathophysiology and Molecular Mechanisms. *Nutrition Reviews*, 65, S13-23.
10. Kelishadi, R. (2015). How Food Industries Can Help in Preventing Childhood Obesity and Metabolic Syndrome? *Nutrition and Food Sciences Research*, 2, 1-2.
11. Manfo, F.P., Jubendradass, R., Nantia, E.A., Moundipa, P.F. and Mathur, P.P. (2014). Adverse effects of bisphenol A on male reproductive function. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 228, 57-82.
12. Ben-Jonathan, N., Hugo, E.R. and Brandebourg, T.D. (2009). Effects of bisphenol A on adipokine release from human adipose tissue: Implications for the metabolic syndrome. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 304, 49-54.
13. Hugo, E.R., Brandebourg, T.D., Woo, J.G., Loftus, J., Alexander, J.W. and Ben-Jonathan, N. (2008). Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits

- adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes. *Environmental Health Perspectives*, 116, 1642-1647.
14. Alonso-Magdalena, P., Ropero, A.B., Soriano, S., Quesada, I. and Nadal, A. (2010). Bisphenol-A: a new diabetogenic factor? *Hormones (Athens)*, 9, 118-126.
 15. Huc, L., Lemarie, A., Gueraud, F. and Helies-Toussaint, C. (2012). Low concentrations of bisphenol A induce lipid accumulation mediated by the production of reactive oxygen species in the mitochondria of HepG2 cells. *Toxicology In Vitro*, 26, 709-717.
 16. Song, S., Zhang, L., Zhang, H., Wei, W. and Jia, L. (2014). Perinatal BPA exposure induces hyperglycemia, oxidative stress and decreased adiponectin production in later life of male rat offspring. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11, 3728-3742.
 17. Teppala, S., Madhavan, S. and Shankar, A. (2012). Bisphenol A and Metabolic Syndrome: Results from NHANES. *International Journal of Endocrinology*, 598180.
 18. Wang, T., Li, M., Chen, B., Xu, M., Xu, Y., Huang, Y., Lu, J., Chen, Y., Wang, W., Li, X., Liu, Y., Bi, Y., Lai, S. and Ning, G. (2012). Urinary bisphenol A (BPA) concentration associates with obesity and insulin resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97, E223-227.
 19. Wei, J., Lin, Y., Li, Y., Ying, C., Chen, J., Song, L., Zhou, Z., Lv, Z., Xia, W., Chen, X. and Xu, S. (2011). Perinatal exposure to bisphenol A at reference dose predisposes offspring to metabolic syndrome in adult rats on a high-fat diet. *Endocrinology*, 152, 3049-3061.
 20. Huang, Y.Q., Wong, C.K., Zheng, J.S., Bouwman, H., Barra, R., Wahlstrom, B., Neretin, L. and Wong, M.H. (2012). Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment International*, 42, 91-99.
 21. Erler, C. and Novak, J. (2010). Bisphenol a exposure: human risk and health policy. *Journal of Pediatric Nursing*, 25, 400-407.
 22. Chapin, R.E., Adams, J., Boekelheide, K., Gray, L.E.Jr. Hayward, S.W., Lees, P.S. McIntyre, B.S., Portier, K.M., Schnorr, T.M., Selevan, S.G., Vandenberg, J.G. and Woskie, S.R. (2008). NTP-CERHR expert panel report on the reproductive and developmental toxicity of bisphenol A. *Birth Defects Research Part B Developmental and Reproductive Toxicology Journal*, 83, 157-395.
 23. Greiner, E., Kaelin, T., Toki, G. and Nakamura, K. (2007). *Chemical Economics Handbook – Bisphenol A*. Menlo Park, CA: SRI Consulting.
 24. Halden, R.U. (2010). Plastics and health risks. *Annual Review of Public Health*, 31, 179-194.
 25. Durmaz, E. ve Giray, B.K. (2013). Çevresel bir endokrin bozucu: Bisfenol A ve toksik etkilerinin değerlendirilmesi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 56.

26. Fernández, M.F., Román, M. Arrebola, J.P. and Olea, N. (2014). Endocrine Disruptors: Time to Act. ***Current Environmental Health Reports***, 1, 325-332.
27. Gupta, C. (2000). Reproductive malformation of the male offspring following maternal exposure to estrogenic chemicals. ***Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine***, 224, 61-68.
28. vom Saal, F.S., Cooke, P.S., Buchanan, D.L., Palanza, P., Thayer, K.A. , Nagel, S.C., Parmigiani, S. and Welshons, W.V. (1998). A physiologically based approach to the study of bisphenol A and other estrogenic chemicals on the size of reproductive organs, daily sperm production, and behavior. ***Toxicology and Industrial Health***, 14, 239-260.
29. Atanassova, N., McKinnell, C., Turner, K., Walker, M., Fisher, J., Morley, M., Millar, M., Groome, N. and Sharpe, R. (2000). Comparative effects of neonatal exposure of male rats to potent and weak (Environmental) estrogens on spermatogenesis at puberty and the relationship to adult testis size and fertility: evidence for stimulatory effects of low estrogen levels 1. ***Endocrinology***, 141, 3898-3907.
30. Takahashi, O. and Oishi, S. (2003). Testicular toxicity of dietarily or parenterally administered bisphenol A in rats and mice. ***Food and Chemical Toxicology***, 41, 1035-1044.
31. Ye, X., Wong, L.Y., Bishop, A.M. and Calafat, A.M. (2011). Variability of urinary concentrations of bisphenol A in spot samples, first morning voids, and 24-hour collections. ***Environmental Health Perspectives***, 119, 983-988.
32. Wang, C., Fu, W., Quan, C., Yan, M., Liu, C., Qi, S. and Yang, K. (2014). The role of Pten/Akt signaling pathway involved in BPA-induced apoptosis of rat sertoli cells. ***Environmental Toxicology***.
33. Miyawaki, J., Sakayama, K., Kato, H., Yamamoto, H. and Masuno, H. (2007). Perinatal and postnatal exposure to bisphenol a increases adipose tissue mass and serum cholesterol level in mice. ***Journal of Atherosclerosis and Thrombosis***, 14, 245-252.
34. Tappy, L. and Lê, K.-A. (2010). Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. ***Physiological Reviews***, 90, 23-46.
35. Gaby, A.R. (2005). Adverse effects of dietary fructose. ***Alternative Medicine Review***, 10, 294.
36. Ozan, G., Kaya, N., Yılmaz, O.F. , Erdem, E. ve Ozan, E. (2014). Yüksek Fruktöz Diyeti ile Metabolik Sendrom Oluşturulan Ratların Testis Dokusunda Ghrelin Dağılımına Oleuropeinin Etkisi. ***Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Veteriner Dergisi***, 28 (3): 127–133.
37. Alzamendi, A., Giovambattista, A., Raschia, A., Madrid, V., Gaillard, R.C., Rebolledo, O., Gagliardino, J.J. and Spinedi, E. (2009). Fructose-rich diet-induced abdominal adipose tissue endocrine dysfunction in normal male rats. ***Endocrine***, 35, 227-232.

38. Tran, L.T., Yuen, V.G. and McNeill, J.H. (2009). The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. ***Molecular and Cellular Biochemistry***, 332, 145-159.
39. Abdulla, M.H., Sattar, M.A. and Johns, E.J. (2011). The relation between fructose-induced metabolic syndrome and altered renal haemodynamic and excretory function in the rat. ***International Journal of Nephrology***, Article ID:934659, 17.
40. Korkmaz, A., Reiter, R.J., Topal, T., Manchester, L.C., Oter, S. and Tan, D.X. (2009). Melatonin: An Established Antioxidant Worthy of Use in Clinical Trials. ***Molecular Medicine***, 15, 43-50.
41. Korkmaz, A., Topal, T., Tan, D.X. and Reiter, R.J. (2009). Role of melatonin in metabolic regulation. ***Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders***, 10, 261-270.
42. Tan, D.X., Manchester, L., Fuentes-Broto, L., Paredes, S. and Reiter, R. (2011). Significance and application of melatonin in the regulation of brown adipose tissue metabolism: relation to human obesity. ***Obesity Reviews***, 12, 167-188.
43. Li, C. and Zhou, X. (2015). Melatonin and male reproduction. ***Clinica Chimica Acta***, 446, 175-180.
44. Moore, K. L. and Persaud, T.V.N. (2009). ***Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi***. (Çev. H. Dalçık, M. Yıldırım) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, (Eserin orijinali 2008'de yayımlandı). 262-265
45. Sadler, T. W. (2011). ***Langman's Medikal Embriyoloji***. (Çev. A.Can Başaklar) Palme Yayınları, (Eserin orijinali 2009'da yayımlandı), 246-261.
46. Hutson, J.M., Hasthorpe, S. and Heyns, C.F. (1997). Anatomical and functional aspects of testicular descent and cryptorchidism. ***Endocrine Reviews***, 18, 259-280.
47. Agras, K. (2012). Embryology of Undescended Testis and Mechanisms of Testicular Descent. ***Türk Üroloji Seminerleri/Turkish Urology Seminars***, 25, 17-22.
48. Peate, I. and Nair, M. (2011). ***Fundamentals of anatomy and physiology for student nurses***. America: John Wiley & Sons, 478-488.
49. Moore, K.L. and Dalley, A.F. (2007). ***Kliniğe Yönelik Anatomi***. (Çev. K. Şahinoğlu). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri. (Eserin orijinali 1999'da yayımlandı.). 378-381.
50. Aktümsek, A. (2006). ***Anatomi ve fizyoloji: İnsan biyolojisi***. Ankara: Nobel Yayın Dağıtım, 90.
51. Cumhuriyet, M. (2001). ***Temel Anatomi***. (1.baskı). Ankara: ODTÜ Yayıncılık, 287-291.
52. Ross, M.H. and Pawlina, W. (2011). ***Histology A Text and Atlas***, (6.Edition). Lippincott Williams & Wilkins, 729-747.
53. Arıncı, K. and Elhan, A. (2006). ***Anatomi***. 2. cilt, 4. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 54-57.

54. Sancak, B. ve Cumhuri, M. (2010). **Fonksiyonel Anatomi**. (5.baskı). Ankara: ODTÜ Yayıncılık, 302-303.
55. Snell, R.S. (2004). **Klinik Anatomi**. (Çev. M. Yıldırım). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri (Eserin orijinali 2000’de yayımlandı.) 337-340.
56. Yousef, M.I. (2010). Vitamin E modulates reproductive toxicity of pyrethroid lambda-cyhalothrin in male rabbits. **Food and chemical toxicology**, 48, 1152-1159.
57. Ozan, H. (2004). **Anatomi**.(2.baskı). Ankara: Nobel Tıp Kitapevleri, 304-309.
58. Gartner,L.P. and Hiatt, J.L. (2007). **Color Textbook of Histology**, (3. Edition). USA: Elsevier's, 489-500.
59. Junqueira, L.C. and Carneiro, J. (2006) **Temel Histoloji**. (Çev. S. Solakoğlu ve Y. Aytekin). İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri. (Eserin orijinali 2003’te yayımlandı). 432-443.
60. Erdoğan, D., Görgün, M., Hatipoğlu, T. ve Ilgaz C. (2007). **Özel Histoloji**. 2. Baskı. Ankara: Hatipoğlu Yayınevi, 156-172.
61. Erdoğan, D., Hatipoglu, M.T., Görgün, M. ve Ilgaz, C. (2008). **Genel Histoloji**. Ankara: Hatiboğlu Yayınevi, 79.
62. Kierszenbaum, A.L. (2006). **Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş**. (Çev. Ramazan Demir). Ankara: Palme Yayınları. (Eserin orijinali 2002’de yayımlandı). 531-547.
63. Ovalle, W.K. and Patrick, C.N. (2009). **Netter Temel Histoloji**.(Çev. S. Müftüoğlu, P. Atilla ve F. Kaymaz). Ankara: Güneş Tıp Kitapevleri. 378-388.
64. Straus, III JF and Barbieri, RL., (2006). **Yen ve Jaffe: Üreme Endokrinolojisi**. 5. Baskı (Çev. S. Günalp). Ankara: Güneş Kitabevi. 368-375.
65. Guyton, A.C. and Hall, J.E. (2013). **Tıbbi fizyoloji**. (Çev. Z. Solakoğlu). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. (Eserin orijinali 2011’de yayımlandı). 923-986.
66. Berne, R., Levy, M., Koeppen, B. and Stanton, B. (2008). **Principles of Physiology** (5. Baskı). Ankara: Güneş Tıp Kitabevi, 920-947.
67. Silbernagl, S. D. (2012). **Renkli fizyoloji Atlası**. (Çev. A. Solakoğlu, Z. ve Akalın, A.). İstanbul: İstanbul Tıp Kitabevi. (Eserin orijinali 2009’da yayımlandı). 296-311.
68. Rhoades, R. and Bell, D.R., (2013). **Medical physiology: Principles for Clinical Medicine**. Philadelphia:Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 676-692.
69. Lehninger, A., Nelson, D.L. and Cox, M.M. (2005). **Lehninger's Principles of Biochemistry**. New York:W. H Freeman and Company, 235-239.
70. Korkmaz, A. (2008). Fructose; A Hidden Threat for Chronic Diseases. **TAF-Preventive Medicine Bulletin**, 7, 343.

71. Lê, K.A. and Tappy, L. (2006). Metabolic effects of fructose. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 9, 469-475.
72. Madero, M., Perez-Pozo, S.E., Jalal, D., Johnson, R.J. and Sánchez-Lozada, L.G. (2011). Dietary fructose and hypertension. *Current Hypertension Reports*, 13, 29-35.
73. Johnson, R.J., Perez-Pozo, S.E., Sautin, Y.Y., Manitius, J., Sanchez-Lozada, L.G., Feig, D.I., Shafiu, M., Segal, M., Glassock, R.J., Shimada, M., Roncal, C. and Nakagawa, T. (2009). Hypothesis: Could Excessive Fructose Intake and Uric Acid Cause Type 2 Diabetes? *Endocrine Reviews*, 30, 96-116.
74. Elliott, S.S., Keim, N.L., Stern, J.S., Teff, K. and Havel, P.J. (2002). Fructose, weight gain, and the insulin resistance syndrome. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 76, 911-922.
75. Paşaoğlu, Ö.T. (2014). *Ratlarda oluşturulan fruktoz aracılı metabolik sendrom modelinde melatoninin böbrek no-adma yolu ve enerji metabolizması üzerine etkisi*, Yayınlanmamış Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
76. de Moura, R.F. Ribeiro, C., de Oliveira, J.A., Stevanato, E. and de Mello, M.A.R. (2009). Metabolic syndrome signs in Wistar rats submitted to different high-fructose ingestion protocols. *British Journal of Nutrition*, 101, 1178-1184.
77. Menéndez, E., Valdés, S., Botas, P., Delgado, E. and Abello, N. (2011). Glucose tolerance and plasma testosterone concentrations in men. Results of the Asturias Study. *Endocrinología y Nutrición (English Edition)*, 58, 3-8.
78. Cameron, A.J., Shaw, J.E. and Zimmet, P.Z. (2004). The metabolic syndrome: prevalence in worldwide populations. *Endocrinology and Metabolism Clinics of North America*, 33, 351-375.
79. Eckel, R.H., Grundy, S.M. and Zimmet, P.Z. (2005). The metabolic syndrome. *The Lancet*, 365, 1415-1428.
80. Vague, J. (1956). The degree of masculine differentiation of obesities a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 4, 20-34.
81. Vague, J. (1999). The degree of masculine differentiation of obesities: a factor determining predisposition to diabetes, atherosclerosis, gout, and uric calculous disease. *Nutrition*, 15, 89-91.
82. Balkau, B., Valensi, P., Eschwege, E. and Slama, G. (2007). A review of the metabolic syndrome. *Diabetes & Metabolism*, 33, 405-413.
83. Modan, M., Halkin, H., Almog, S., Lusky, A., Eshkol, A., Shefi, M., Shitrit, A. and Fuchs, Z. (1985). Hyperinsulinemia. A link between hypertension obesity and glucose intolerance. *Journal of Clinical Investigation*, 75, 809.
84. Reaven, G.M. (1997). Role of Insulin Resistance in Human Disease. *Nutrition*, 13, 65-65.

85. Alexander, C.M., Landsman, P.B., Teutsch, S.M. and Haffner, S.M. (2003). NCEP-defined metabolic syndrome, diabetes, and prevalence of coronary heart disease among NHANES III participants age 50 years and older. **Diabetes**, 52, 1210-1214.
86. Ferrannini, E., Haffner, S., Mitchell, B. and Stern, M. (1991). Hyperinsulinaemia: the key feature of a cardiovascular and metabolic syndrome. **Diabetologia**, 34, 416-422.
87. Alberti, K.G. and Zimmet, P.Z. (1998). Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. **Diabetic Medicine**, 15, 539-553.
88. Balkau, B. and Charles, M.A. (1999). Comment on the provisional report from the WHO consultation. European Group for the Study of Insulin Resistance (EGIR). **Diabetic Medicine**, 16, 442-443.
89. National Cholesterol Education Program Expert Panel on Detection, E. ve Treatment of High Blood Cholesterol in, A. (2002). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. **Circulation**, 106, 3143-3421.
90. Küçüksu, M. (2009). **Metabolik sendrom oluşturulmuş ratlarda Enalapril Maleate'ın ghrelin ve obestatin üzerine etkisi**, Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
91. Mattsson, N., Rönnekaa, T., Juonala, M., Viikari, J.S.A. and Raitakari, O.T. (2007). The prevalence of the metabolic syndrome in young adults. The Cardiovascular Risk in Young Finns Study. **Journal of Internal Medicine**, 261, 159-169.
92. Onat, A. ve Sansoy, V. (2002). Halkımızda koroner hastalığın başsuçlusu metabolik sendrom: sıklığı, unsurları, koroner risk ile ilişkisi ve yüksek risk kriterleri. **Türk Kardiyoloji Derneği Arşivi**, 30, 8-15.
93. Metabolik Sendrom Araştırma Grubu (2004). METSAR sonuçları. XX. **Ulusal Kardiyoloji Kongresi**. Antalya.
94. Sanisoglu, S.Y., Oktenli, C., Hasimi, A., Yokusoglu, M. ve Ugurlu, M. (2006). Prevalence of metabolic syndrome-related disorders in a large adult population in Turkey. **Bmc Public Health**, 6, 92.
95. Catak, Z. (2012). **Fruktozla metabolik sendrom oluşturulmuş ratlarda serum ve gonadal ghrelin, obestatin ve nesfatin-1 ekspresyonlarının incelenmesi**, Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
96. Bruce, K.D. ve Byrne, C.D. (2009). The metabolic syndrome: common origins of a multifactorial disorder. **Postgraduate Medical Journal**, 85, 614-621.
97. Ford, E.S. and Giles, W.H. (2003). A comparison of the prevalence of the metabolic syndrome using two proposed definitions. **Diabetes Care**, 26, 575-581.

98. Fulop, T., Tessier, D. and Carpentier, A. (2006). The metabolic syndrome. ***Pathologie Biologie (Paris)***, 54, 375-386.
99. İnternet: Küçükyurt, R. BPA obezite ve diyabete yol açıyor, URL: <http://ahmetrasimkucukusta.com/2012/03/15/yazilar/tip-yazilari/bisfenol-a-bpa/bpa-obezite-ve-diyabete-yol-aciyor-2/> Son Erişim Tarihi: 15.07.2015.
100. Le Corre, L., Besnard, P. and Chagnon, M.C. (2015). BPA, an energy balance disruptor. ***Critical Reviews in Food Science and Nutrition***, 55, 769-777.
101. Ford, E.S. (2005). Prevalence of the metabolic syndrome defined by the International Diabetes Federation among adults in the U.S. ***Diabetes Care***, 28, 2745-2749.
102. Özbakkaloğlu, M. (2003). Epidemic of the Century: Metabolic Syndrome. ***Tepecik Eğitim Hastanesi Dergisi***, 13, 121-127.
103. O'Neill, S. and O'Driscoll, L. (2015). Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. ***Obesity Reviews***, 16, 1-12.
104. James, P.T., Rigby, N., Leach, R. and International Obesity Task, F. (2004). The obesity epidemic, metabolic syndrome and future prevention strategies. ***European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation***, 11, 3-8.
105. Despres, J.P. and Lemieux, I. (2006). Abdominal obesity and metabolic syndrome. ***Nature***, 444, 881-887.
106. Lenzi, A., Migliaccio, S. and Donini, L.M. (2015). ***Multidisciplinary Approach to Obesity***,
107. Maggi, S., Busetto, L., Noale, M., Limongi, F. and Crepaldi, G. (2015). Obesity: Definition and Epidemiology. ***Multidisciplinary Approach to Obesity***. Springer, 31-39.
108. Bray, G.A. and Ryan, D.H. (2000). Clinical evaluation of the overweight patient. ***Endocrine***, 13, 167-186.
109. Handelsman, Y. (2009). Metabolic syndrome pathophysiology and clinical presentation. ***Journal of Toxicologic Pathology***, 37, 18-20.
110. Franklin, S.S. (2006). Hypertension in the metabolic syndrome. ***Metabolic Syndrome and Related Disorders***, 4, 287-298.
111. Parmaksız, A. (2009). ***Metabolik sendrom oluşturulan ratlarda kuersetin, alfa lipoik asit ve tiazolidindion uygulanmasının serum resistin düzeyleri üzerine etkileri***, Yayınlanmamış Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
112. Laaksonen, D.E., Niskanen, L., Punnonen, K., Nyyssonen, K., Tuomainen, T.P., Valkonen, V.P., Salonen, R. and Salonen, J.T. (2004). Testosterone and sex hormone-binding globulin predict the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men. ***Diabetes Care***, 27, 1036-1041.

113. Cardinali, D.P., Bernasconi, P.A.S., Reynoso, R, Toso, C.F.R. and Scacchi, P. (2013). Melatonin may curtail the metabolic syndrome: studies on initial and fully established fructose-induced metabolic syndrome in rats. ***International Journal of Molecular Sciences***, 14, 2502-2514.
114. Pothiwala, P., Jain, S.K. and Yaturu, S. (2009). Metabolic syndrome and cancer. ***Metabolic Syndrome and Related Disorders***, 7, 279-288.
115. İnternet: Levinson, R.S. Metabolic Syndrome ePoster", URL: http://www.nature.com/nm/e-poster/eposter_full.html. Son Erişim Tarihi: 15.07.2015.
116. Hautanen, A. (2000). Synthesis and regulation of sex hormone-binding globulin in obesity. ***International journal of obesity and related metabolic disorders: journal of the International Association for the Study of Obesity***, 24, 64-70.
117. Kalme, T., Koistinen, H., Loukovaara, M., Koistinen, R. and Leinonen, P. (2003). Comparative studies on the regulation of insulin-like growth factor-binding protein-1 (IGFBP-1) and sex hormone-binding globulin (SHBG) production by insulin and insulin-like growth factors in human hepatoma cells. ***The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology***, 86, 197-200.
118. Dandona, P. and Dhindsa, S. (2011). Update: hypogonadotropic hypogonadism in type 2 diabetes and obesity. ***The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism***, 96, 2643-2651.
119. Pitteloud, N., Dwyer, A.A., De Cruz, S., Lee, H., Boepple, P.A., Crowley, W.F., Jr. and Hayes, F.J. (2008). The relative role of gonadal sex steroids and gonadotropin-releasing hormone pulse frequency in the regulation of follicle-stimulating hormone secretion in men. ***The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism***, 93, 2686-2692.
120. Caprio, M., Fabbrini, E., Isidori, A.M., Aversa, A. and Fabbri, A. (2001). Leptin in reproduction. ***Trends in Endocrinology & Metabolism***, 12, 65-72.
121. Anfossi, G., Russo, I., Doronzo, G., Pomero, A. and Trovati, M. (2010). Adipocytokines in atherothrombosis: focus on platelets and vascular smooth muscle cells. ***Mediators of inflammation***, 2010, 174341.
122. Deng, Y. and Scherer, P.E. (2010). Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. ***Annals of the New York Academy of Sciences***, 1212, E1-E19.
123. Tersigni, C., Di Nicuolo, F., D'Ippolito, S. , Veglia, M., Castellucci, M. and Di Simone, N. (2011). Adipokines: new emerging roles in fertility and reproduction. ***Obstetrical & Gynecological Survey***, 66, 47-63.
124. Michalakis, K., Mintziori, G., Kaprara, A., Tarlatzis, B.C. and Goulis, D.G. (2013). The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: a narrative review. ***Metabolism-Clinical and Experimental***, 62, 457-478.

125. Madej, T., Boguski, M.S. and Bryant, S.H. (1995). Threading Analysis Suggests That the Obese Gene-Product May Be a Helical Cytokine. ***Federation of European Biochemical Societies Letters***, 373, 13-18.
126. Zhang, Y., Proenca, R., Maffei, M., Barone, M., Leopold, L. and Friedman, J.M. (1994). Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. ***Nature***, 372, 425-432.
127. Fruhbeck, G. (2001). A heliocentric view of leptin. ***Proceedings of the Nutrition Society***, 60, 301-318.
128. Ahima, R.S., Qi, Y. and Singhal, N.S. (2006). Adipokines that link obesity and diabetes to the hypothalamus. ***Hypothalamic Integration of Energy Metabolism***, 153, 155-174.
129. Ishikawa, T., Fujioka, H., Ishimura, T., Takenaka, A. and Fujisawa, M. (2007). Expression of leptin and leptin receptor in the testis of fertile and infertile patients. ***Andrologia***, 39, 22-27.
130. Tena-Sempere, M., Manna, P.R., Zhang, F.P., Pinilla, L., Gonzalez, L.C., Dieguez, C., Huhtaniemi, I. and Aguilar, E. (2001). Molecular mechanisms of leptin action in adult rat testis: potential targets for leptin-induced inhibition of steroidogenesis and pattern of leptin receptor messenger ribonucleic acid expression. ***Journal of Endocrinology***, 170, 413-423.
131. Fombonne, J., Charrier, C., Goddard, I., Moyse, E. and Krantic, S. (2007). Leptin-mediated decrease of cyclin A2 and increase of cyclin D1 expression: relevance for the control of prepubertal rat Leydig cell division and differentiation. ***Endocrinology***, 148, 2126-2137.
132. Masuzaki, H., Ogawa, Y., Sagawa, N., Hosoda, K., Matsumoto, T., Mise, H., Nishimura, H., Yoshimasa, Y., Tanaka, I., Mori, T. and Nakao, K. (1997). Nonadipose tissue production of leptin: Leptin as a novel placenta-derived hormone in humans. ***Nature Medicine***, 3, 1029-1033.
133. Kawwass, J.F., Summer, R. and Kallen, C.B. (2015). Direct effects of leptin and adiponectin on peripheral reproductive tissues: a critical review. ***Molecular Human Reproduction***, 21(8):617-32, gav025.
134. Chehab, F.F., Qiu, J., Mounzih, K., Ewart-Toland, A. and Ogus, S. (2002). Leptin and reproduction. ***Nutrition Reviews***, 60, 39-46; discussion S68-84, 85-37.
135. Carlsson, B., Ankarberg, C., Rosberg, S., Norjavaara, E., Albertsson-Wikland, K. and Carlsson, L.M. (1997). Serum leptin concentrations in relation to pubertal development. ***Archives of Disease in Childhood***, 77, 396-400.
136. McConway, M.G., Johnson, D., Kelly, A., Griffin, D., Smith, J. and Wallace, A.M. (2000). Differences in circulating concentrations of total, free and bound leptin relate to gender and body composition in adult humans. ***Annals of Clinical Biochemistry***, 37 (5), 717-723.

137. Mantzoros, C.S. and Moschos, S.J. (1998). Leptin: in search of role(s) in human physiology and pathophysiology. ***Clinical Endocrinology (Oxf)***, 49, 551-567.
138. Louis, G.W. and Myers, M.G., Jr. (2007). The role of leptin in the regulation of neuroendocrine function and CNS development. ***Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders***, 8, 85-94.
139. Guilmeau, S., Buyse, M. and Bado, A. (2004). Gastric leptin: a new manager of gastrointestinal function. ***Current Opinion in Pharmacology***, 4, 561-566.
140. Goumenou, A.G., Matalliotakis, I.M., Koumantakis, G.E. and Panidis, D.K. (2003). The role of leptin in fertility. ***European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology***, 106, 118-124.
141. Houseknecht, K.L. and Portocarrero, C.P. (1998). Leptin and its receptors: regulators of whole-body energy homeostasis. ***Domestic Animal Endocrinology***, 15, 457-475.
142. Yu, W.H., Kimura, M., Walczewska, A., Karanth, S. and McCann, S.M. (1997). Role of leptin in hypothalamic-pituitary function. ***Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)***, 94, 1023-1028.
143. Chehab, F.F., Mounzih, K., Lu, R. and Lim, M.E. (1997). Early onset of reproductive function in normal female mice treated with leptin. ***Science***, 275, 88-90.
144. Laughlin, G.A. and Yen, S.S. (1997). Hypoleptinemia in women athletes: absence of a diurnal rhythm with amenorrhea. ***The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism***, 82, 318-321.
145. Caprio, M., Isidori, A.M., Carta, A.R., Moretti, C., Dufau, M.L. and Fabbri, A. (1999). Expression of functional leptin receptors in rodent Leydig cells. ***Endocrinology***, 140, 4939-4947.
146. Wozniak, S.E., Gee, L.L., Wachtel, M.S. and Frezza, E.E. (2009). Adipose tissue: the new endocrine organ? A review article. ***Digestive Diseases and Sciences***, 54, 1847-1856.
147. Landry, D., Cloutier, F. and Martin, L.J. (2013). Implications of leptin in neuroendocrine regulation of male reproduction. ***Reproductive Biology***, 13, 1-14.
148. Ghanayem, B.I., Bai, R., Kissling, G.E., Travlos, G. and Hoffler, U. (2010). Diet-Induced Obesity in Male Mice Is Associated with Reduced Fertility and Potentiation of Acrylamide-Induced Reproductive Toxicity. ***Biology of reproduction***, 82, 96-104.
149. Nakano, Y., Tobe, T., Choi-Miura, N.H., Mazda, T. and Tomita, M. (1996). Isolation and characterization of GBP28, a novel gelatin-binding protein purified from human plasma. ***The Journal of Biochemistry***, 120, 803-812.
150. Martin, L.J. (2014). Implications of adiponectin in linking metabolism to testicular function. ***Endocrine***, 46, 16-28.
151. Arita, Y., Kihara, S., Ouchi, N., Takahashi, M., Maeda, K., Miyagawa, J., Hotta, K., Shimomura, I., Nakamura, T., Miyaoka, K., Kuriyama, H., Nishida, M.,

- Yamashita, S., Okubo, K., Matsubara, K., Muraguchi, M., Ohmoto, Y., Funahashi, T. and Matsuzawa, Y. (1999). Paradoxical decrease of an adipose-specific protein, adiponectin, in obesity. ***Biochemical and Biophysical Research Communications***, 257, 79-83.
152. Yang, W.S., Lee, W.J., Funahashi, T., Tanaka, S., Matsuzawa, Y., Chao, C.L., Chen, C.L., Tai, T.Y. and Chuang, L.M. (2001). Weight reduction increases plasma levels of an adipose-derived anti-inflammatory protein, adiponectin. ***The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism***, 86, 3815-3819.
 153. Pajvani, U.B., Du, X., Combs, T.P., Berg, A.H., Rajala, M.W., Schulthess, T., Engel, J., Brownlee, M. and Scherer, P.E. (2003). Structure-function studies of the adipocyte-secreted hormone Acrp30/adiponectin. Implications for metabolic regulation and bioactivity. ***Journal of Biological Chemistry***, 278, 9073-9085.
 154. Comninos, A.N., Jayasena, C.N. and Dhillon, W.S. (2013). The relationship between gut and adipose hormones, and reproduction. ***Human reproduction update***, 20 (2):153-174
 155. Berg, A.H., Combs, T.P. and Scherer, P.E. (2002). ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. ***Trends in Endocrinology & Metabolism***, 13, 84-89.
 156. Stefan, N. and Stumvoll, M. (2002). Adiponectin - Its role in metabolism and beyond. ***Hormone and Metabolic Research***, 34, 469-474.
 157. Yamauchi, T., Nio, Y., Maki, T., Kobayashi, M., Takazawa, T., Iwabu, M., Okada-Iwabu, M., Kawamoto, S., Kubota, N., Kubota, T., Ito, Y., Kamon, J., Tsuchida, A., Kumagai, K., Kozono, H., Hada, Y., Ogata, H., Tokuyama, K., Tsunoda, M., Ide, T., Murakami, K., Awazawa, M., Takamoto, I., Froguel, P., Hara, K., Tobe, K., Nagai, R., Ueki, K. and Kadowaki, T. (2007). Targeted disruption of AdipoR1 and AdipoR2 causes abrogation of adiponectin binding and metabolic actions. ***Nature Medicine***, 13, 332-339.
 158. Yamauchi, T., Kamon, J., Ito, Y., Tsuchida, A., Yokomizo, T., Kita, S., Sugiyama, T., Miyagishi, M., Hara, K., Tsunoda, M., Murakami, K., Ohteki, T., Uchida, S., Takekawa, S., Waki, H., Tsuno, N.H., Shibata, Y., Terauchi, Y., Froguel, P., Tobe, K., Koyasu, S., Taira, K., Kitamura, T., Shimizu, T., Nagai, R. and Kadowaki, T. (2003). Cloning of adiponectin receptors that mediate antidiabetic metabolic effects. ***Nature***, 423, 762-769.
 159. Ajuwon, K.M. and Spurlock, M.E. (2005). Adiponectin inhibits LPS-induced NF-kappaB activation and IL-6 production and increases PPARgamma2 expression in adipocytes. ***The American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology***, 288, R1220-1225.
 160. Fayad, R., Pini, M., Sennello, J.A., Cabay, R.J., Chan, L., Xu, A. and Fantuzzi, G. (2007). Adiponectin deficiency protects mice from chemically induced colonic inflammation. ***Gastroenterology***, 132, 601-614.
 161. Wu, L., Xu, B., Fan, W., Zhu, X., Wang, G. and Zhang, A. (2013). Adiponectin protects Leydig cells against proinflammatory cytokines by suppressing the nuclear

- factor- κ B signaling pathway. *Federation of European Biochemical Societies Journal*, 280, 3920-3927.
162. Bai, J., Liu, Y., Niu, G.F., Bai, L.X., Xu, X.Y., Zhang, G.Z. and Wang, L.X. (2011). Relationship between adiponectin and testosterone in patients with type 2 diabetes. *Biochemia medica*, 21, 65-70.
 163. Combs, T.P., Berg, A.H., Rajala, M.W., Klebanov, S., Iyengar, P., Jimenez-Chillaron, J.C., Patti, M.E., Klein, S.L., Weinstein, R.S. and Scherer, P.E. (2003). Sexual differentiation, pregnancy, calorie restriction, and aging affect the adipocyte-specific secretory protein adiponectin. *Diabetes*, 52, 268-276.
 164. Caminos, J.E., Nogueiras, R., Gallego, R., Bravo, S., Tovar, S., Garcia-Caballero, T., Casanueva, F.F. and Dieguez, C. (2005). Expression and regulation of adiponectin and receptor in human and rat placenta. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 90, 4276-4286.
 165. Caminos, J.E., Nogueiras, R., Gaytan, F., Pineda, R., Gonzalez, C.R., Barreiro, M.L., Castano, J.P., Malagon, M.M., Pinilla, L., Toppari, J., Dieguez, C. and Tena-Sempere, M. (2008). Novel expression and direct effects of adiponectin in the rat testis. *Endocrinology*, 149, 3390-3402.
 166. Michalakis, K.G. and Segars, J.H. (2010). The role of adiponectin in reproduction: from polycystic ovary syndrome to assisted reproduction. *Fertility and Sterility*, 94, 1949-1957.
 167. Qiao, L., Yoo, H.S., Madon, A., Kinney, B., Hay, W.W., Jr. and Shao, J. (2012). Adiponectin enhances mouse fetal fat deposition. *Diabetes*, 61, 3199-3207.
 168. Lindgren, A., Levin, M., Rodrigo Blomqvist, S., Wikstrom, J., Ahnmark, A., Mogensen, C., Bottcher, G., Bohlooly, Y.M., Boren, J., Gan, L.M. and Linden, D. (2013). Adiponectin receptor 2 deficiency results in reduced atherosclerosis in the brachiocephalic artery in apolipoprotein E deficient mice. *Public Library of Science One*, 8, e80330.
 169. Bjursell, M., Ahnmark, A., Bohlooly, Y.M., William-Olsson, L., Rhedin, M., Peng, X.R., Ploj, K., Gerdin, A.K., Arnerup, G., Elmgren, A., Berg, A.L., Oscarsson, J. and Linden, D. (2007). Opposing effects of adiponectin receptors 1 and 2 on energy metabolism. *Diabetes*, 56, 583-593.
 170. Pfaehler, A., Nanjappa, M.K., Coleman, E.S., Mansour, M., Wanders, D., Plaisance, E.P., Judd, R.L. and Akingbemi, B.T. (2012). Regulation of adiponectin secretion by soy isoflavones has implication for endocrine function of the testis. *Toxicology Letters*, 209, 78-85.
 171. Psilopanagioti, A., Papadaki, H., Kranioti, E.F., Alexandrides, T.K. and Varakis, J.N. (2009). Expression of adiponectin and adiponectin receptors in human pituitary gland and brain. *Neuroendocrinology*, 89, 38-47.
 172. Fernandez, C.D., Bellentani, F.F., Fernandes, G.S., Perobelli, J.E., Favareto, A.P., Nascimento, A.F., Cicogna, A.C. and Kempinas, W.D. (2011). Diet-induced obesity

- in rats leads to a decrease in sperm motility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 9, 32.
173. Matsubara, M., Maruoka, S. and Katayose, S. (2002). Inverse relationship between plasma adiponectin and leptin concentrations in normal-weight and obese women. *European Journal of Endocrinology*, 147, 173-180.
 174. Baillie-Hamilton, P.F. (2002). Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 8, 185-192.
 175. European Union Risk Assessment Report (2008). Updated European Risk Assessment Report 4,4'-Isopropylidenediphenol (Bisphenol-A) Part1-Environment. *JRC Scientific and Technical Reports*, EUR 24588 EN, 5-6.
 176. Dodds, E. and Lawson, W. (1936). Synthetic estrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature*, 137, 996.
 177. Vandenberg, L.N., Chahoud, I., Heindel, J.J., Padmanabhan, V., Paumgarten, F.J. and Schoenfelder, G. (2010). Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environmental Health Perspectives*, 118, 1055-1070.
 178. European Union Risk Assessment Report (2003). European Union Risk Assessment Report: 4, 4'-Isopropylidenediphenol (Bisphenol A). *European Union Risk Assessment Report - ECHA - Europa*
 179. Tsai, W.T. (2006). Human health risk on environmental exposure to Bisphenol-A: a review. *Journal of Environmental Science and Health. Part C, Environmental Carcinogenesis & Ecotoxicology Reviews*, 24, 225-255.
 180. Biles, J.E., McNeal, T.P., Begley, T.H. and Hollifield, H.C. (1997). Determination of bisphenol-A in reusable polycarbonate food-contact plastics and migration to food-simulating liquids. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 3541-3544.
 181. Brotons, J.A., Olea-Serrano, M.F., Villalobos, M., Pedraza, V. and Olea, N. (1995). Xenoestrogens released from lacquer coatings in food cans. *Environmental Health Perspectives*, 103, 608-612.
 182. Vandenberg, L.N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N. and Welshons, W.V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*, 24, 139-177.
 183. Rubin, B.S. and Soto, A.M. (2009). Bisphenol A: Perinatal exposure and body weight. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 304, 55-62.
 184. Markey, C.M., Michaelson, C.L., Sonnenschein, C. and Soto, A.M., (2001). Alkylphenols and bisphenol A as environmental estrogens. *Endocrine Disruptors-Part I*. Springer, 129-153
 185. Kamrin, M.A. (2004). Bisphenol A: a scientific evaluation. *The Medscape Journal of Medicine*, 6, 7.

186. Ikezuki, Y., Tsutsumi, O., Takai, Y., Kamei, Y. and Taketani, Y. (2002). Determination of bisphenol A concentrations in human biological fluids reveals significant early prenatal exposure. ***Human Reproduction***, 17, 2839-2841.
187. Lakind, J.S. and Naiman, D.Q. (2008). Bisphenol A (BPA) daily intakes in the United States: estimates from the 2003-2004 NHANES urinary BPA data. ***Journal of Exposure Science and Environmental Epidemiology*** 18, 608-615.
188. Calafat, A.M., Ye, X.Y., Wong, L.Y., Reidy, J.A. and Needham, L.L. (2008). Exposure of the US population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. ***Environmental Health Perspectives***, 116, 39-44.
189. Snyder, R.W. , Maness, S.C., Gaido, K.W., Welsch, F., Sumner, S.C. and Fennell, T.R. (2000). Metabolism and disposition of bisphenol A in female rats. ***Toxicology and Applied Pharmacology***, 168, 225-234.
190. Willhite, C.C., Ball, G.L. and McLellan, C.J. (2008). Derivation of a bisphenol A oral reference dose (RfD) and drinking-water equivalent concentration. ***Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B Critical Reviews*** 11, 69-146.
191. Saal, F.S.v. and Myers, J.P. (2008). Bisphenol A and Risk of Metabolic Disorders. ***The Journal of the American Medical Association***, 300(11):1353-1355
192. Takeuchi, T., Tsutsumi, O., Ikezuki, Y., Takai, Y. and Taketani, Y. (2004). Positive relationship between androgen and the endocrine disruptor, bisphenol A, in normal women and women with ovarian dysfunction. ***Endocrine Journal***, 51, 165-169.
193. Carwile, J.L. and Michels, K.B. (2011). Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003-2006. ***Environmental Research***, 111, 825-830.
194. Shankar, A. and Teppala, S. (2011). Relationship between Urinary Bisphenol A Levels and Diabetes Mellitus. ***Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism***, 96, 3822-3826.
195. Lee, M.J., Lin, H., Liu, C.W., Wu, M.H., Liao, W.J., Chang, H.H., Ku, H.C., Chien, Y.S., Ding, W.H. and Kao, Y.H. (2008). Octylphenol stimulates resistin gene expression in 3T3-L1 adipocytes via the estrogen receptor and extracellular signal-regulated kinase pathways. ***American Journal of Physiology-Cell Physiology***, 294, 1542-1551.
196. Melzer, D., Rice, N.E., Lewis, C., Henley, W.E. and Galloway, T.S. (2010). Association of urinary bisphenol a concentration with heart disease: evidence from NHANES 2003/06. ***Public Library of Science One***, 5, e8673.
197. Sharpe, R.M. and Drake, A.J. (2010). Bisphenol A and metabolic syndrome. ***Endocrinology***, 151, 2404-2407.
198. Facciolo, R.M., Alo, R., Madeo, M., Canonaco, M. and Dessi-Fulgheri, F. (2002). Early cerebral activities of the environmental estrogen bisphenol A appear to act via the somatostatin receptor subtype sst(2). ***Environmental Health Perspectives***, 110(3), 397-402.

199. Rasier, G., Parent, A.-S., Gérard, A., Lebrethon, M.C. and Bourguignon, J.P. (2007). Early maturation of gonadotropin-releasing hormone secretion and sexual precocity after exposure of infant female rats to estradiol or dichlorodiphenyltrichloroethane. ***Biology of reproduction***, 77, 734-742.
200. Gurmeet, K., Rosnah, I., Normadiyah, M., Das, S. and Mustafa, A. (2014). Detrimental effects of bisphenol A on development and functions of the male reproductive system in experimental rats. ***Experimental and Clinical Sciences Journal***, 13, 151-160.
201. Akingbemi, B.T., Sottas, C.M., Koulova, A.I., Klinefelter, G.R. and Hardy, M.P. (2004). Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol a is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. ***Endocrinology***, 145, 592-603.
202. Sakaue, M., Ohsako, S., Ishimura, R., Kurosawa, S., Kurohmaru, M., Hayashi, Y., Aoki, Y., Yonemoto, J. and Tohyama, C. (2001). Bisphenol-A affects spermatogenesis in the adult rat even at a low dose. ***Journal of Occupational Health***, 43, 185-190.
203. Tyl, R.W., Myers, C.B., Marr, M.C., Thomas, B.F., Keimowitz, A.R., Brine, D.R., Veselica, M.M., Fail, P.A., Chang, T.Y., Seely, J.C., Joiner, R.L., Butala, J.H., Dimond, S.S., Cagen, S.Z., Shiotsuka, R.N., Stropp, G.D. and Waechter, J.M. (2002). Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. ***Toxicological Sciences***, 68, 121-146.
204. Erkekoğlu, P. ve Belma, K.G. (2012). Bisfenol A' nın Endokrin Bozucu Etkileri. Toksikoloji Bülteni. Ankara: ***Türk Toksikoloji Derneği***, 10-12.
205. El-Beshbishy, H.A., Aly, H.A. and El-Shafey, M. (2013). Lipoic acid mitigates bisphenol A-induced testicular mitochondrial toxicity in rats. ***Toxicology and Industrial Health***, 29, 875-887.
206. Chitra, K.C., Latchoumycandane, C. and Mathur, P.P. (2003). Induction of oxidative stress by bisphenol A in the epididymal sperm of rats. ***Toxicology***, 185, 119-127.
207. Uysal, M. (2006). ***Biyokimya'da Serbest radikaller ve Oksidatif Stres***. Editörler F. Gürdöl ve E. Ademoğlu. İstanbul:Nobel Tıp Kitabevleri, 829-835; 647-652
208. Young, I. and Woodside, J. (2001). Antioxidants in health and disease. ***Journal of Clinical Pathology***, 54, 176-186.
209. Aydemir, B. ve Sarı, E.K. (2009). Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile ilişkisi. ***Kocatepe Veterinary Journal***, 2.
210. Nduhirabandi, F., du Toit, E.F. and Lochner, A. (2012). Melatonin and the metabolic syndrome: a tool for effective therapy in obesity-associated abnormalities? ***Acta Physiologica***, 205, 209-223.
211. Lerner, A.B., Case, J.D., Takahashi, Y., Lee, T.H. and Mori, W. (1958). Isolation of melatonin, the pineal gland factor that lightens melanocyteS1. ***Journal of the American Chemical Society***, 80, 2587-2587.

212. Lewy, A.J., Wehr, T.A., Goodwin, F.K., Newsome, D.A. and Markey, S.P. (1980). Light suppresses melatonin secretion in humans. **Science**, 210, 1267-1269.
213. Hardeland, R., Cardinali, D.P., Srinivasan, V., Spence, D.W., Brown, G.M. and Pandi-Perumal, S.R. (2011). Melatonin--a pleiotropic, orchestrating regulator molecule. **Progress in Neurobiology**, 93, 350-384.
214. İnternet: Melatonin URL: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Melatonin#section=Top>. Accessed. Son Erişim Tarihi: 10.07.2015.
215. Vanecek, J. (1998). Cellular mechanisms of melatonin action. **Physiological Reviews**, 78, 687-721.
216. Konturek, S.J., Konturek, P.C. and Brzozowski, T.(2006). Melatonin in gastroprotection against stress-induced acute gastric lesions and in healing of chronic gastric ulcers. **Journal of physiology and pharmacology**, 57 Suppl 5, 51-66.
217. Kalra, S., Agrawal, S. and Sahay, M. (2012). The reno-pineal axis: A novel role for melatonin. **Indian journal of endocrinology and metabolism**, 16, 192-194.
218. Karasek, M. and Winczyk, K. (2006). Melatonin in humans. **Journal of physiology and pharmacology**, 57 Suppl 5, 19-39.
219. Reiter, R.J. and Korkmaz, A. (2008). Clinical aspects of melatonin. **Saudi medical journal**, 29, 1537-1547.
220. Topal, T., Öter, Ş. ve Korkmaz, A. (2009). Melatonin ve kanserle ilişkisi. **Genel Tıp Dergisi**, 19, 137-143.
221. Danilenko, K.V. and Ragino, Y.I. (2013). Melatonin and its use in atherosclerosis and dyslipidemia. **ChronoPhysiology & Therapy**, 3.
222. Koziróg, M., Poliwczak, A.R., Duchnowicz, P., Koter-Michalak, M., Sikora, J. and Broncel, M. (2011). Melatonin treatment improves blood pressure, lipid profile, and parameters of oxidative stress in patients with metabolic syndrome. **Journal of Pineal Research**, 50, 261-266.
223. Vural, H., Sabuncu, T., Arslan, S.O. ve Aksoy, N. (2001). Melatonin inhibits lipid peroxidation and stimulates the antioxidant status of diabetic rats. **Journal of Pineal Research**, 31, 193-198.
224. Ballı, Ballı, E. (2003). Melatoninin Fonksiyonları. **Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi**, 4(4), 380-385.
225. Rodriguez, C., Mayo, J.C., Sainz, R.M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V. and Reiter, R.J. (2004). Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin. **Journal of Pineal Research**, 36, 1-9.
226. Korkmaz, A., Topal, T., Oter, S., Tan, D.X. ve Reiter, R.J. (2008). Hyperglycemia-related pathophysiologic mechanisms and potential beneficial actions of melatonin. **Mini reviews in medicinal chemistry**, 8, 1144-1153.

227. Çam, A. ve Erdoğan, M.F. (2003). Melatonin. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 56, 103-112.
228. Sahin, İ., Aydın, S., Ozkan, Y., Dagli, A.F., Akin, K.O. , Guzel, S.P., Catak, Z. ve Ozercan, M.R. (2011). Diet-induced obesity suppresses ghrelin in rat gastrointestinal tract and serum. *Molecular and cellular biochemistry*, 355, 299-308.
229. Sánchez-Lozada, L.G., Tapia, E., Jiménez, A., Bautista, P., Cristóbal, M., Nepomuceno, T., Soto, V., Ávila-Casado, C., Nakagawa, T. and Johnson, R.J. (2007). Fructose-induced metabolic syndrome is associated with glomerular hypertension and renal microvascular damage in rats. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 292, F423-F429.
230. Considine, R.V. , Sinha, M.K., Heiman, M.L. , Kriauciunas, A. , Stephens, T.W., Nyce, M.R., Ohannesian, J.P., Marco, C.C., McKee, L.J., Bauer, T.L. ve et al. (1996). Serum immunoreactive-leptin concentrations in normal-weight and obese humans. *The New England Journal of Medicine*, 334, 292-295.
231. Turner, T.T. ve Lysiak, J.J. (2008). Oxidative stress: a common factor in testicular dysfunction. *Journal of Andrology*, 29, 488-498.

EKLER

EK-1. Etik Kurul Onayı



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başkanlığı

Sayı : 66332047-604.01.02-
Konu : Değerlendirme ve Onay

Sayın Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı - Öğretim Üyesi

Araştırmacı grubu Suna ÖMEROĞLU, Mustafa KAVUTÇU, Tuncay Veyssel PEKER, Neslihan COŞKUN, İsmail TÜRKOĞLU, Meriç Arda EŞMEKAYA ve Murat KOCABIYIK'dan oluşan, G.Ü.ET-15.004 kod numaralı ve "**Fruktoz ve Bisfenol A'nın Eş zamanlı uygulanması ile Adipositokinlerde ve Testis dokusunda oluşacak olası hasara melatoninin etkisi**" başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-15.004 and entitled "*The Effects of melatonin on possible Damage Will be Occur on Adipocytokines and Testes With the Coadministration of Fructose and Bisphenol A*" is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.

e-imzalıdır
Prof. Dr. Leyla AÇIK
Kurul Başkanı

EK :
1 liste



XIV. DENEY HAYVANLARI UYGULAMA VE ETİK KURSU

30 EKİM – 07 KASIM 2013

KATILIM SERTİFİKASI

Sayın, İsmail TÜRKOĞLU

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı ile
Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yerleştirme ve
Deneyisel Araştırmalar Merkezi tarafından
30 Ekim - 7 Kasım 2013 tarihleri arasında düzenlenen
Deney Hayvanları Uygulama ve Etik Kursu XIV'e katılarak,
Teorik ve Pratik Eğitimleri başarı ile tamamlamış ve
bu sertifikayı almaya hak kazanmıştır.

Prof. Dr. Süleyman BÜYÜKBERBER
Rektör

L. AÇIK
Prof. Dr. Leyla AÇIK
Etik Kurul Başkanı

T. Tekinay
Doç. Dr. Turgay TEKİNAY
Merkez Müdür Vekili

Sertifika no: 2013-14/04

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : Türkoğlu, İsmail
Uyruğu : T.C.
Doğum tarihi ve yeri : 06.09.1984
Medeni hali : Bekar
Telefon : 0554 459 82 17
e-mail : ismailt.turkoglu@gmail.com



Eğitim Derece

Yüksek Lisans

Lisans

Lise

Eğitim Birimi

Gazi Ü. Tıp Fak Histoloji-Embriyoloji

A.İ.B.Ü. Fen Edebiyat Fak. Biyoloji

Ataköy Lisesi

Mezuniyet tarihi

Devam ediyor

2009

2003

İş Deneyimi

Yıl

2013-.....

Yer

Gazi Ü. Tıp. Fak.

Görev

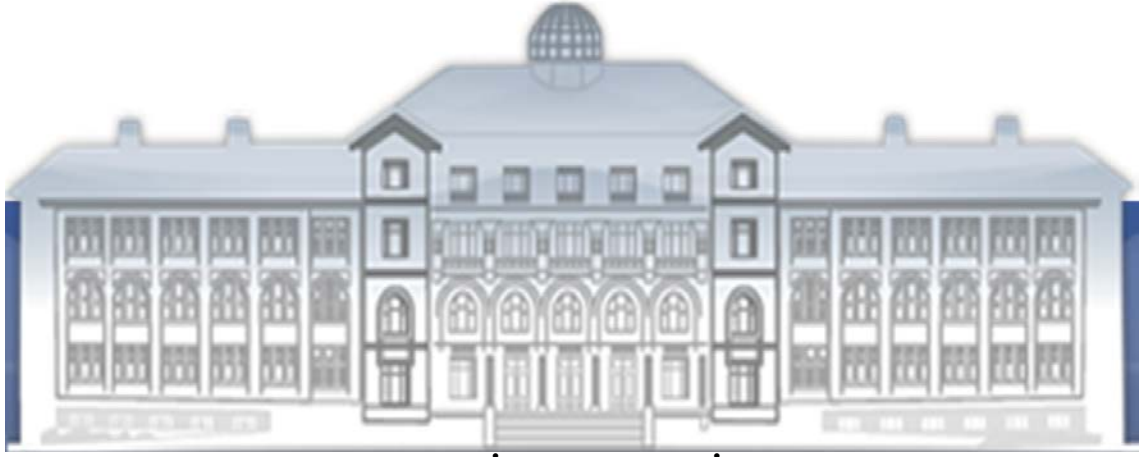
Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Hobiler

Teknoloji, Spor, Doğa yürüyüşü



GAZİ GELECEKTİR...