SUBKUTAN LEPTİN UYGULANAN GEBE FARELERİN ERKEK YAVRULARINDA SPERM CANLILIĞI VE MOTİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Hümeyra ÇEBİ

201503103

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Disiplinler Arası Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı

Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman: Doç. Dr. Çağrı ÖNER

İstanbul

T.C. Maltepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ocak,2023

SUBKUTAN LEPTİN UYGULANAN GEBE FARELERİN ERKEK YAVRULARINDA SPERM CANLILIĞI VE MOTİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Hümeyra ÇEBİ

201503103

ORCID:0000-0002-2582-2591

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Disiplinler Arası Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı

Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı

Danışman: Doç. Dr. Çağrı ÖNER

İstanbul

T.C. Maltepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Ocak,2023



JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Bu belge, Yükseköğretim Kurulu tarafından 19.01.2021 tarihli "Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge" ile bildirilen 6698 Sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında gizlenmiştir.

ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI

Bu belge, Yükseköğretim Kurulu tarafından 19.01.2021 tarihli "Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge" ile bildirilen 6698 Sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında gizlenmiştir.

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması konusunda düşünce ve önerileriyle yardımlarını esirgemeyen, tez çalışma sürem boyunca bir telefon kadar uzağımda olan, desteğini her zaman bana hissettiren, tez çalışmamın tüm aşamasında bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, akademik anlamda beni doyuma ulaştırarak emek veren değerli tez danışmanım Doç. Dr. Çağrı ÖNER'e saygı ve sevgilerimle emeklerinden dolayı çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, değerli hocam Prof. Dr. Mehmet CINCIK'a teşekkürü bir borç bilirim.

Yüksek Lisans tez dönemim boyunca bana her konuda yardımcı olan MÜDEHAM Sorumlu Veteriner Hekimi Necdet ALTINER'e ve her sürecinde yanımda olan Yüksek Lisans arkadaşım Merve ERKOÇ'a çok teşekkür ederim. Bu süreçte hem maddi hem de manevi olarak yanımda oldukları için.

Yüksek lisans tez dönemi boyunca bizimle tüm bilgilerini paylaşan, kendi tezleriymiş gibi özen gösteren, kimi dönemlerde tüm işimizin yoğunluğunu ve stresini üzerimizden alan Maltepe Üniversitesi Tıp Fakültesi 4. sınıf öğrencisi Abdullah PEHLİVAN ve Ahmet Hakan TEMİZ'e çok teşekkür ederim.

Çalışma ve öğrencilik dönemim boyunca yardımlarını esirgemeyen tüm Maltepe Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (MÜDEHAM) ekibine, enstitü sekreterine çok teşekkür ederim.

Ve bana inanan kendi yolumdan gitmem için maddi ve manevi tüm desteği sağlayan canım rahmetli yengem Sariye ÇEBİ'ye çok teşekkür ediyorum. Bu süreçte yanımda olan tüm arkadaşlarıma başta Melek YILMAZ olmak üzere hepsine çok teşekkür ederim.

Hümeyra ÇEBİ

Ocak, 2023

ÖZET

SUBKUTAN LEPTİN UYGULANAN GEBE FARELERİN ERKEK YAVRULARINDA SPERM CANLILIĞI VE MOTİLİTESİNİN ARAŞTIRILMASI

Hümeyra Çebi
Yüksek Lisans Tezi
Disiplinler Arası Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı
Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı
Danışman: Doç. Dr. Çağrı Öner
Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, 2023

Erkek infertilitesi, erkeğin doğal yoldan baba olmaması durumudur. Erkek infertilitesi iki karakteristiğe sahiptir; sperm yetersizliği ve morfolojik anomalilerdir. Leptin sağlıklı üreme işlevi için gerekli olmakla beraber; fazla miktarda leptin erkek üreme sistemi üzerinde zararlı etkileri olabilmektedir. Bu tez çalışmasında gebelik sırasında annelerine deri altına leptin enjeksiyonu yapılan 10 haftalık Balb-C farelerinin erkek yavrularının ağırlık, sperm morfolojisi ve sperm motilitesindeki farklılıkların infertilite ile ilişkili olup olmadığının belirlenmesi amaçlanmıştır. Leptin tedavisinin ikinci nesil farelerde erkeklerin ağırlığı, sperm morfolojisi ve hareketliliği üzerindeki etkileri incelendi.

12 haftalık Balb-C farelere gebelik oluşturulduktan sonra, subkutan leptin enjeksiyonu uygulanan grup deney grubu olarak tasarlandı. Subkutan distile su enjeksiyonu uygulanan grup kontrol grubu olarak tasarlandı. İkinci jenerasyon 10 haftalık erkek Balb-C farelerin epididimisleri çıkartılıp, elde edilen sperm örnekleri kontrol grubu ile karşılaştırıldı. Sperm morfolojisini belirlemek için, Spermac ile boyanan sperm örnekleri ışık mikroskopunda 100X'lik büyütme oranında sperm sayımı yapıldı. Sperm motilitesini belirlemek için, makler kamerası kullanılarak 40X'lik büyütme oranında hareketli ve hareketsiz spermlerin sayımı yapıldı.

Kontrol grubu ile deney grubunun kiloları değerlendirildiğinde gruplar arasında anlamlı fark gözlenmedi ($p>0.05$). Kontrol grubuna göre deney grubunda kıvrık kuyruk

anomalisinde artma; normal spermde azalma istatiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Deney grubu ile kontrol grubu arasında, hareketsiz sperm sayılarında azalma ($p<0.05$); hareketli ve toplam sperm sayılarında ise artma istatiksel olarak anlamlı bir şekilde belirlendi ($p<0.05$).

Leptinin ikinci jenarasyonun sperm hareketi ve morfolojisini gösteren ilk veri setleri arasında yer almaktadır. Leptin ile yapılan bu çalışmalara ek olarak ikinci kuşak erkek infertilitesinin birinci kuşakta alınan leptin ile ilgili olduğunu savunan bir çalışma olarak bilimsel literatürde ilkler arasında yer alacaktır.

Anahtar Kelimeler: Erkek İnfertilitesi, İnfertilite, Leptin, Sperm Morfolojisi, Sperm Motilitesi

ABSTRACT

INVESTIGATION OF SPERM VITALITY AND MOTILITY IN MALE PUP OF PREGNANT MICE RECEIVING SUBCUTANEOUS LEPTIN

Hümeyra Çebi

Master Thesis

Interdisciplinary Clinical Embryology Department

Clinical Embryology Master's Program With Thesis

Thesis Advisor: Associate Prof. Dr. Çağrı Öner

Maltepe University Graduate School, 2023

Male infertility is the condition of a man not being a natural father. Male infertility has two characteristics: sperm deficiency and morphological anomalies. Although leptin is necessary for healthy reproductive function; Excessive amounts of leptin can have harmful effects on the male reproductive system. In this thesis, it was aimed to determine whether the differences in weight, sperm morphology and motility of male offspring of 10-week-old Balb-C mice whose mothers were injected with subcutaneous leptin during pregnancy are associated with infertility. The effects of leptin treatment on the weight, sperm morphology and motility of males in the second generation of mice were examined.

After establishing a pregnancy in 12-week-old Balb-C mice, the group that received subcutaneous leptin injection was designed as the experimental group. The group that received subcutaneous distilled water injection was designed as the control group. Epididymis of second generation 10-week-old male Balb-C mice were removed and the sperm samples obtained were compared with the control group. To determine the sperm morphology, sperm counts were performed on the sperm samples stained with Spermac at 100X magnification under a light microscope. To determine sperm motility, motile and immobile sperm counts were made using a Makler camera at 40X magnification.

When the weights of the control and experimental groups were evaluated, no significant difference was observed between the groups ($p>0.05$). An increase in the curved tail

anomaly in the experimental group compared to the control group; decrease in normal sperm was found to be statistically significant ($p<0.05$). A decrease in the number of immobile sperm between the experimental group and the control group ($p<0.05$); a statistically significant increase was determined in the motile and total sperm counts ($p<0.05$).

Leptin is among the first datasets showing the sperm motility and morphology of the second generation. In addition to these studies with leptin, a study claiming that second-generation male infertility is related to first-generation leptin will be among the first in the scientific literature.

Keywords: Male Infertility, Infertility, Leptin, Sperm Morphology, Sperm Motility

İÇİNDEKİLER

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI ii

ETİK İLKE VE KURALLARA UYUM BEYANI iii

TEŞEKKÜR iv

ÖZET v

ABSTRACT vii

İÇİNDEKİLER ix

ŞEKİLLER LİSTESİ xii

KISALTMALAR LİSTESİ xiii

1.GİRİŞ 1

1.1. Problem 2

1.2. Amaç 3

1.3. Önem 4

1.4.Varsayımlar 4

1.5. Sınırlıklar 4

2. GENEL BİLGİLER 2

2.1. İnfertilite 2

2.1.1. İnfertilitede erkek faktörü 3

2.2. Erkek Üreme Sistemi 3
2.2.1. Testis 4
2.2.2. Seminifer tübüller 6
2.2.3. Sertoli hücreleri 7
2.2.4. Leydig hücreleri 7
2.3. Erkek Genital Kanal Sistemi 8
2.3.1. Duktili Eferentes, Epididimis, Ductus Deferens 8
2.3.2. Penis ve Üretra 9
2.3.3. Salgı yapan bezler: 10
2.4. Spermatogenez 10
2.5. Spermiyogenez 12
2.6. Sperm Anatomisi 14
2.7. Sperm Şekil (Morfoloji) Bozuklukları 15
2.7.1. Baş yapısı bozuklukları 15
2.7.2. Gövde yapısı bozuklukları 16
2.7.3. Kuyruk yapısı bozuklukları 17
2.9. Leptin Hormonu Ve İşlevi 19
2.10. Leptin Ve Hastalıklar İle İlişkisi 20
2.11. Leptin Hormonu Ve Erkek İnfertilitesi İle İlişkisi 22
3.YÖNTEM 23
3.1. Araştırma Modeli 23

3.2. Evren Ve Örneklem 23

3.3. Veriler Ve Toplanması 23

3.4. Deney hayvanının yetiştirilmesi ve leptinin subkutan enjeksiyon olarak uygulanması 24

3.5. Spermlerin Toplanması 24

3.6. Sperm Sayısının Belirlenmesi 24

3.7. Sperm Morfolojisi Ve Değerlendirme 25

4. BULGULAR VE TARTIŞMA 27

4.1. Kontrol Ve Deney Gruplarının Kilolarının Karşılaştırılması 27

4.2. Işık Mikroskopu Ve Morfoloji Analizi 27

4. 3. Makler Kamerası Ve Motılıte Sayımı 29

4.4. Tartışma 30

5. SONUÇ VE ÖNERİLER 34

7. KAYNAKÇA 35

EKLER 46

Ek-1: Etik Kurul Kararı 46

ÖZGEÇMİŞ 47

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Erkek üreme sistemi ile anatomik bölgeleri ile sperm taşıyan kanalların ve endokrin bezlerin görüntüsü. 4

Şekil 2. Testis yapısı ve seminifer tübüller 6

Şekil 3. Duktus efferentes, duktus ejakulatorius, prostat bezlerinin anotamik görüntüsü. 9

Şekil 4. Spermatogenezis, 3 faza ayrılır: 1-Spermatogonial faz, 2-Spermatosit fazı ve 3-Spermatit fazıdır. 11

Şekil 5.Spermatogenez ve spermiyogenez. 13

Şekil 6. Normal ve anormal sperm yapıları. 16

Şekil 7. Normal ve anormal sperm yapıları ile kuyruk formları 17

Şekil 8. Kontrol grubu erkek fareler ile deney grubu erkek farelerin kiloları. 27

Şekil 9. Kontrol grubu erkek fareler ile deney (leptin) grubu erkek farelerin spermlerindeki akrozom, boyunda sitoplazmik droplet, çift kuyruk, boyun ve kıvrık kuyruk anomalisi ile normal sperm yüzdeleri..... 28

Şekil 10. (A) Kontrol grubu fareye ait spermac ile boyanan spermlerin ışık mikroskobik görüntü. Zeiss, 40X. (B) Deney grubu fareye ait spermac ile boyanan spermlerin ışık mikroskobik görüntü. Zeiss, 40X. 29

Şekil 11.Kontrol grubu ile deney grubu total motilite sayıları, hareketsiz sperm sayıları ve hareketli sperm sayıları. 30

KISALTMALAR LİSTESİ

WHO : Dünya Sağlık Örgütü

HPO : Hipotalamus-Pitüiter-Over

NPY : Nöropeptit Y

LH : Luteinizan Hormon

M2 : Mayoz-2 geçirmiş oosit

FSH : Folikül Uyarıcı Hormon

BTB : Kan Testis Bariyeri

MIF : Antimüllerian Hormon

MSS : Merkezi Sinir Sistemi

IL-1 : İnterlökin-1

BH : Büyüme Hormonu

BKİ : Beden Kütle İndeksi

İBF-1 : İnsülin Benzeri Büyüme Faktörü-1

JAK-STAT : Hücre Yüzeyi Reseptörleri/Janus Kinazlar ve Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Proteinleri

IL-2 : İnterlökin-2

IL-4 : İnterlökin-4

T : Timus

SHBG : Seks Hormon Bağlayıcı Globulin

IFN-γ **:** İnterferon gama

GnRH **:** Gonadotropin Salıcı Hormon

Th1/Th2 **:** T yardımcı 1 ve 2 hücreleri

TNF-α **:** Tümör Nekröz Faktörü Alfa

OKS **:** Oral Kontraseptif Haplar

1.GİRİŞ

İnfertilite, evli bireylerin bir yıl süreyle cinsel ilişki yaşanması ve oral kontraseptif haplarını (OKS) da kullanmaksızın gebelik elde edememeleri olarak tanımlanmaktadır. Günümüzde infertiliteye bağlı problemler yardımcı üreme tekniklerinin de gelişmesiyle birlikte nedenleri daha fazla araştırılmaya başlanmıştır (Fıçıcıoğlu C. ve Yeşiladalı M., 2014). Geçmiş yıllarda bu çalışmalar sadece kadın odaklı yapılırken aslında bu nedenlerin yarısından fazlasının erkek olduğu yapılan çalışmalarda anlaşılmıştır. İnfertilite %35'i kadına, %30'u erkeğe, %25'i ikisine bağlı olarak ve %10'u açıklanamayan sebepler (idiopatik) olarak bilinmektedir (Engin Üstün Y., 2013). Erkek infertilite problemleri erkek iç genital mekanizmasından dolayı meydana gelebilmektedir. Sperm oluşum anomalileri, spermin morfolojik anomalileri, total ve hareketli motilite sayıları, sperm kanallarındaki tıkanıklıklardan kaynaklanan idrar problemleri, kalıtımsal mutasyonlar, testis torsiyonu, hormonal ve kromozomal bozukluklar, anatomik sorunlar, varikosel, geçirilmiş hastalıklar, erkek iç genital enfeksiyonlar, çevresel faktörler, idiopatik ve alınan ek takviyeler, alınan ağır antibiyotikler erkeğe bağlı infertilite sebepleri olarak gösterilebilir (Erdemir F., 2013).

Semen için değişkenler erkek kısırlığı için hayati değer göstermektedir. Semen parametreleri incelemelerinde sperm motilite sayısıyla beraber sperm hareketi ışık mikroskopu altında incelenmektedir. Morfolojik olarak sperm değerlendirmenin temelinde anormal ve normal değerleri ayırt ederek spermatozoonların kalitesini ortaya koymaktadır (Liu Y. ve Ding Z., 2017). Dünya Sağlık Örgütü (WHO) sperm atlası (Organizasyon WH., 2021) morfoloji açısından Kruger kriterleri ile en yaygın kullanılan değerlendirmelerdir

Sperm kaput, kollum, median düzlem ve kuyruk ile 4 ana iskelet yapısından oluşan spermatozoon ortalama 60-65 μm boyundadır. Döllenebilme yeteneği olan spermin şekil yapısında kaput kısmı oval yapıda, boyu 5-6 μm, eni ise 2.5-3.5 μm olmalı sperm ve yumurtanın birleşmesi sırasında önemli bir yere sahip olan kaputun önündeki akrozom %41-70'ini oluşturmaktadır. Başta vakuol sayısı %2'den küçük olmalı ve vakuol, başın

kapladığı alanın %20'sini geçmemelidir (Organizasyon WH., 2010). Post akrozomal kısımda vakuol bulunmamalıdır. Kuyruk ise kırık ya da kıvrık olmaması gerekmektedir (Punjabi U., 2016). Sperm şekil yapısındaki defektlerden spermin kaput kısmı normalden büyük ise (megalo head) veya küçük ise (micro head), normal görünümüne göre konik, dairesel, kristal, çift başlı, armut biçimli veya sitoplazmasında içi sıvı boşluklar içerebilir halde olabilmektedir. Kaputun asimetrik olarak kollumun içine girmesi, kollumun ince veya düzensiz olması, bunların biri ya da birkaçının birlikte olması durumunda baş ve boyun defektleri söz konusudur (Perdrix A., 2013). Erkek üreme problemleri adı altında yapılan araştırmalarda temel sperm değişkenlerinin önemli olduğu gözlemlenmektedir. Astenozoosperm ve azospermi erkek infertilitesinde en sık problemlerden biri olduğu bilinmektedir (San Agustin JT. ve ark., 2015). Sperm morfolojisi de erkek üreme problemleri arasında önemli bir yer tutmaktadır. Oligospermi, azopermi ve teratozoospermi de sperm hareket bozukluklarından biridir ve infertiliteye sebep olur. Sperm morfolojisi ve motilitesinin erkek üreme işlevselliği için önemli olması sperm morfoloji ve motilitesinin değerlendirmesini kriterlere uygun olarak doğru bir şekilde yapma gereğini doğurmuştur (Singh AP. ve Rajender S., 2015).

1.1. Problem

Hipotalamus–Pitüiter- Over (HPO) aksının doğru işleyişi hem ovulasyon hem de uterusun gelişme ve ayrışması sebebiyle önemli bir yere sahip olmaktadır. Ayrıca, tiroit ve böbrek üstü bezleri de dahil vücuttaki endokrin organların düzenli olarak çalışması da üreme sağlığı açısından son derece önemlidir. Dolayısıyla, HPO aksının veya diğer endokrin organların fonksiyonlarındaki bir bozukluk bazı jinekolojik problemlere ve infertiliteye neden olabilmektedir (Khosropour S. ve ark., 2014).

Hipotalamus ve hipofiz fonksiyonlarındaki azalmanın nedenleri konusundaki araştırmalar devam etmek ile birlikte adipoz dokudan salgılanan bazı hormonlar (leptin, adinopektin, grelin, glukagon-benzeri peptid-1) üzerinde durulmaktadır (Guo J. ve ark., 2014). Obezite gen meyvesi olarak bilinen leptinin beslenme, vücut enerji dengesi ve reprodüktif aksta önemli rolü bulunmaktadır (Garolla ve ark., 2015). Leptin over fonksiyonlarının regülasyonunda doğrudan işlevsel bir rol üstlendiği gibi enerji dengesinin regülasyonundaki görevi sebebiyle vücut kitle indeksi ile de pozitif

korelasyon göstermektedir (Belloc S. ve ark., 2014). Leptin menstrüel siklus boyunca dalgalanmalar göstermektedir ve luteal fazda progesterona paralel olarak en yüksek seviyeye çıkmaktadır. Bu durum, hipotalamo-hipofizer aks ile leptin arasındaki olası bir pozitif geri dönüşümü göstermektedir (Best D. ve ark., 2015). Başka bir açıdan hipotalamo-hipofizer aksta leptin reseptörleri ve mRNA; granulosa hücreleri, oositler ve erken evre embriyolarda da leptin reseptörleri ve proteinlerin varlığı gösterilmiştir. Ancak leptin üreme sisteminde yaygın olarak bulunmasına rağmen, üreme hormonları ile arasındaki ilişki henüz kesin olarak bilinmemektedir (MG Alves ve ark., 2016).

Erkek infertilitesi çeşitli faktörlere bağlı olmakla beraber, spermatogenezin oluşumunda hormonal sistem büyük bir önem göstermektedir. Fakat bu sistemin daha tam olarak çözülememiş olması, bu konuda yapılan güncel araştırmaların önemini artırmaktadır (MG Alves ve ark., 2016). Hipotalamik, hipofize, adrenal, tiroid ve testiküler patolojilerde, hipotalamus-hipofiz-testis aksı bozularak spermatogenezi inhibe etmektedir. Bu aksın kontrolü santral sinir sistemindeki bazı merkezler, hipotalamus, hipofiz ve testisin endokrin germinal kompartmanları tarafından geri dönüş mekanizmalar ile sağlanmaktadır (Wasim M. ve ark., 2016). Leptin yağ dokusundan salınan, hipotalamik-hipofizer-gonadal aksın metabolik regülasyonunda, pubertenin başlamasında ve insan üreme sisteminde önemli görev üstlendiği düşünülen bir hormondur (Liu Y. ve Ding Z.,2017). Leptinin hipotalamusta GnRH salınımını inhibe eden Nöropeptid Y (NPY)'yi baskılayarak, GnRH ve Luteinize Edici Hormon'u (LH) yükselttiği söylenmektedir. Birçok araştırmacı leptinin NPY aracılığıyla GnRH sekresyonunu sağlayarak etki ettiği görüşünde hem fikir olmaktadır. Yapılan hayvan deneylerinde leptin tedavisi ile endokrin sisteminin aktif hale geldiği gösterilmiş olmasına rağmen, leptinin erkek üreme sistemindeki etki mekanizması işlevi hala bilinmezliğini korumaktadır (Martins AD. ve ark., 2015). Sperm olmayan erkek bireylerde spermi olan erkek bireylere oranla %50'den yüksek serum leptin düzeyi saptamışlardır (Oi Zhang ve K. Zheng, 2016).

1.2. Amaç

Adiposit kaynaklı bir hormon özelliğinde olan leptinin gebelik döneminde anneye ek gıda olarak verilmesiyle ikinci kuşak erkek bireylerde sperm morfolojisine ne yönde bir katkı

sağladığı araştırıldı. Bu amaç doğrultusunda yapılacak olan tez ile leptin ile yapılan in vivo modeli ile ikinci kuşak nesillerin üreme kapasitelerinin belirlenmesi hedeflendi.

1.3. Önem

Leptin, üreme sistemi ve vücuttaki diğer sistemler de dahil birçok metabolik fonksiyonda anahtar rol oynamaktadır. Leptin düzeyinde artış ve çok yüksek düşüş olduğunda anormal sperm morfolojisi ortaya çıkmaktadır. Bu araştırmalar sonucunda elde edilen veriler literatüre önemli bir derecede katkı sağlamıştır. Doğum sırasında ya da doğumdan önce leptin ek takviyesi alan annenin erkek yavrularının fertilitesi üzerindeki etkisi sperm parametreleri incelenerek dolaylı şekilde belirlenmiş olup; leptinin erkek infertilitesi ve sağlık üzerindeki etkisi belirlenmiş oldu.

1.4.Varsayımlar

Yapılan birçok klinik ve deneysel araştırmalarda gebelik sürecinde yeterli seviyede alınan vitamin ve hormon takviyelerinin fetüsün gelişimini negatif yönde etkilediği ve gelecek dönemlerde infertil bireylerin olduğu gözlenmiştir (Martins AD. ve ark., 2015). Yapılan bu tez de gebelik döneminde 48 saat arayla yeterli miktarda alınacak olan leptinin ikinci kuşak yavru erkek farelerdeki sperm morfolojisi ve mortalitesinin kalitesini arttıracağı düşünülmektedir. Tezin hipotezi '*Subkutan olarak enjekte edilen leptinin gebelik oluşturulmuş Balb-C farelerin erkek yavrularında sperm kalitesinin düşmesi, morfolojisinin değişimi ve yapısal anomali geliştirme olasılığı üzerinde etkisi bulundurur'* şeklindedir. Araştırma sorusu ise; '*Subkutan olarak enjekte edilen leptin, bir sonraki jenerasyondaki erkek yavruların sperm kalitesi, morfolojisi ve yapısal anomali gelişimi üzerinde herhangi bir etki yaratır mı?*' şeklindedir.

1.5. Sınırlıklar

Çalışma süresinin kısıtlı olması, çalışma için herhangi bir fon tarafından desteklenmemesi araştırma parametrelerini temel standartlarda tutmaya neden olmuştur. Bu nedenden dolayı bakılan parametreler temel hedefler üzerinden seçilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. İnfertilite

İnfertilite, evli bireylerin bir sene boyunca düzenli cinsel yönden aktif olmalarına ve oral kontraseptif kullanmaksızın gebelik elde edememeleri olarak tanımlanmaktadır (Fıçıcıoğlu C. ve Yeşiladalı M., 2014). İnfertilite %35'i kadına, %30'u erkeğe, %25'i ikisine bağlı olarak ve %10 u açıklanamayan sebepler (idiopatik) olarak bilinmektedir. Kontraseptif yöntemler kullanmadan geçen 1 sene sonunda evli bireylerin %80'i ilk 6 ayda, geri kalanların ise ancak %10'u sonraki 6 ay içinde gebe kalabilmektedir (Bieniek JM. ve ark., 2016). Topdemir (2012) birincil ve ikincil infertiliteyi iki alt sınıfa ayırmaktadır. Önceden hiç gebelik oluşmama durumundaki kadınlarda primer (birincil) infertilite olarak söylerken; canlı doğum gerçekleşmesede, en az bir gebelik oluşması ikincil (sekonder) infertilite olarak görülmektedir (Topdemir, 2012).

İnfertilitenin bir sebebi de hormonal faktörler oluşturmaktadır. Hipotalamus-Pitüiter-Over (HPO) aksının düzgün işleyişi hem ovulasyon hem de uterusun gelişme ve farklılaşması önemli olarak görülmektedir (BC Borges ve ark., 2017). Ayrıca, tiroid ve böbrek üstü bezleri gibi diğer endokrin organların düzgün çalışması da üreme sağlığı açısından son derece önemli olmaktadır (Cocuzza M. ve ark., 2014). Dolayısıyla, HPO aksının veya diğer endokrin organların fonksiyonlarındaki bir bozukluk bazı jinekolojik problemlere ve infertiliteye neden olabilmektedir (Cocuzza M. ve ark., 2014).

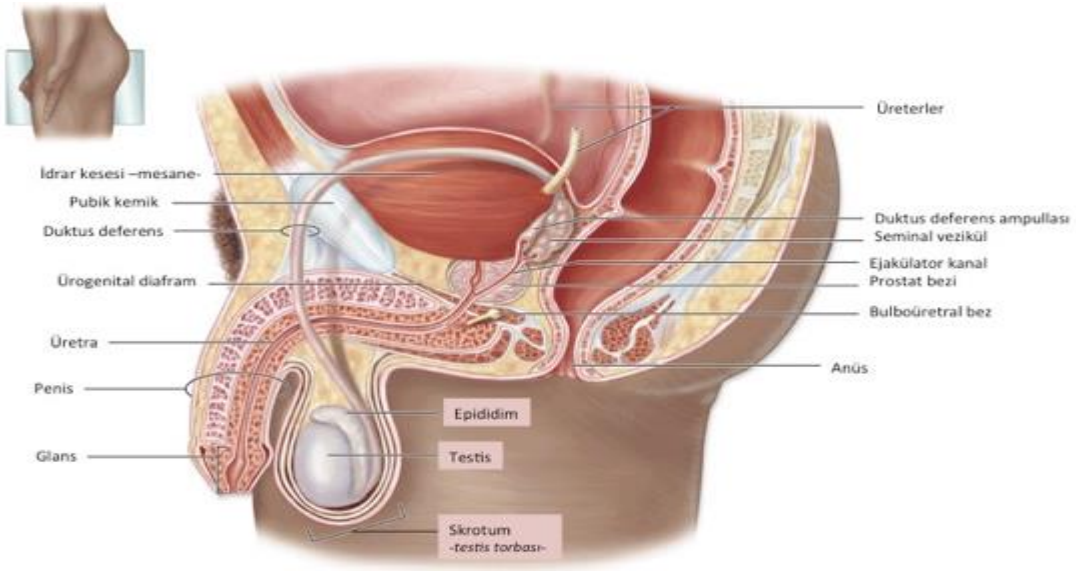
Erkek infertilitesindeki ana problemler erkek üreme sisteminde meydana gelen sorunlar yüzünden kaynaklanmaktadır (Anawalt BD., 2013). Sperm üretimindeki anomaliler, spermin glans penise gelene kadar ki bölümlerdeki tüplerde oluşan tıkanıklık problemleri, spermin strüktürel ve sayısal bozuklukları, sperme karşı antikor olması, kalıtımsal mutasyonlar, testis torsiyonu, hormonal ve kromozomal bozukluklar, anatomik sorunlar, varikosel, geçirilmiş hastalıklar, erkek iç genital enfeksiyonlar, çevresel faktörler, alınan ek takviyeler ve alınan ağır antibiyotikler erkeğe bağlı infertilite sebepleri olarak gösterilebilmektedir. Bu nedenlere ek olarak semen parametreleri erkek infertilitesinin kriterlerinin belirlenmesi için son derece önemli olmaktadır (AO Hammoud, 2012).

2.1.1. İnfertilitede erkek faktörü

Sağlıklı erkeğin evliliğinin üzerinden bir yıl geçmesi ile düzenli cinsel ilişkiye rağmen doğal yolla baba olamama durumuna erkek infertilitesi ya da infertilitede erkek faktörü denilmektedir (Avasthi P. ve ark., 2013). Erkek infertilitesi birçok nedene bağlı olabilmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda infertilitede erkek faktörü üzerinde durulmuştur. Erkek kısırlığı son yıllarda %25-40 oranında görülmektedir (Fıçıcıoğlu ve Yeşiladalı, 2014). 3 ana grup altında incelenen erkek sperm fonksiyon bozuklukları, sperm üretim bozuklukları ve üreme kanalı sistemindeki anormal belirteçlerdir (CD Morrison ve ark., 2015). Erkek infertilitesinde tedavi yöntemleri gruplandırılarak incelenmektedir. Erkek bireylerde kısırlık tedavisine yaklaşım kromozomal sebepler ile birlikte gonadotropin yetmezliği, enfeksiyon, immünolojik nedenler, anatomik kusurlar ve idiopatik nedenler birlikte altı ana faktör adı altında belirtilmektedir (Erdemir F., 2013).

2.2. Erkek Üreme Sistemi

İnsan üremesinde rol oynayan gamet hücresi, 23 kromozomu olan eşey hücresidir. Döllenme esnasında, spermatozoan diye bilinen erkek gametteki kromozomlar, oosit adı verilen (mayoz 2 geçirmiş (M2) oosit) kadın gametteki kromozomlarla birlikte 46 kromozom setini oluşturmaktadır (Gül IG. ve ark., 2012). Erkek üreme sistemi sperm üreterek spermleri dişi kanalına transfer etmekte fonksiyoneldir. İki testiste de minik ve epeyce kıvrımlı sperm kanalcıkları bulunmaktadır. Bu kanalcıklar beyindeki hipofiz bezinin salgıladığı Folikül Uyarıcı Hormonunun (FSH) verdiği komut ile sperm hücrelerini üretmektedirler. Testisler yine hipofiz bezinden salgılanan LH adı verilen hormonun etkisiyle androjen olan testosteron hormonu üretirler (Kantarcı F. ve ark., 2012). Erkeklerde en önemli hormon testosterondur. Testis, seminifer tübüller, sertoli hücreleri, leyding hücreleri düktili eferens, epididimis, ductus deferens ve salgı yapan bezler (veziküloseminalis, prostat ve bulbouretral bezler), sperm olgunlaşma sürecine yardımcı olup; spermi vajinaya ileten glans penise taşımaktadır (Şekil-1, Kaur G. ve ark.,2014).



Şekil 1. Erkek üreme sistemi ile anatomik bölgeleri ile sperm taşıyan kanalların ve endokrin bezlerin görüntüsü. (Keith L. Moore ve ark., 2017, Kliniğe Yönelik Anatomi adlı kaynaktan alınmıştır).

Erkek üreme sistemi 3 ana bölümden meydana gelmektedir. Testisler, sperm taşıyan kanallar ve salgı yapan bezler olarak açıklanan bu bölümler erkek üreme sistemi açısından hem tek tek hem de bütün olarak ele alınmalı; anatomik bilgiler aynı şekilde değerlendirilmelidir (Aydın MS. ve ark., 2013).

2.2.1. Testis

Glandüler dokudan oluşan testislerde yoğun beyaz fibröz bir kapsül olan tunika albuginea bulunmaktadır. Anne karnında 40 lunaar haftalık dilimde erkek bebeğin karnı içinde gelişen testisleri doğum sonrasında skrotum diye bilinen torbaya inmektedir ve testisler sağ ve sol olmak üzere iki tane olarak bulunmaktadır. (Amerikan Üreme Derneği, 2017). Testisler yumuşak deri, fasya ve düz kastan oluşan kese olan skrotumda tutunmaktadır. Gebeliğin 30-32. Haftalarında testisler skrotal keseye inmektedir, böylelikle doğumdan sonra vücut dışına uzanan çıkıntı görülebilmektedir (Ramos CF. ve Zamoner A., 2014). Sağlıklı testis üretilebilmesi için skrotum normal vücut ısısından bir derece daha soğuk bir ortam sağlamaktadır (Palmer NO. ve ark., 2012).

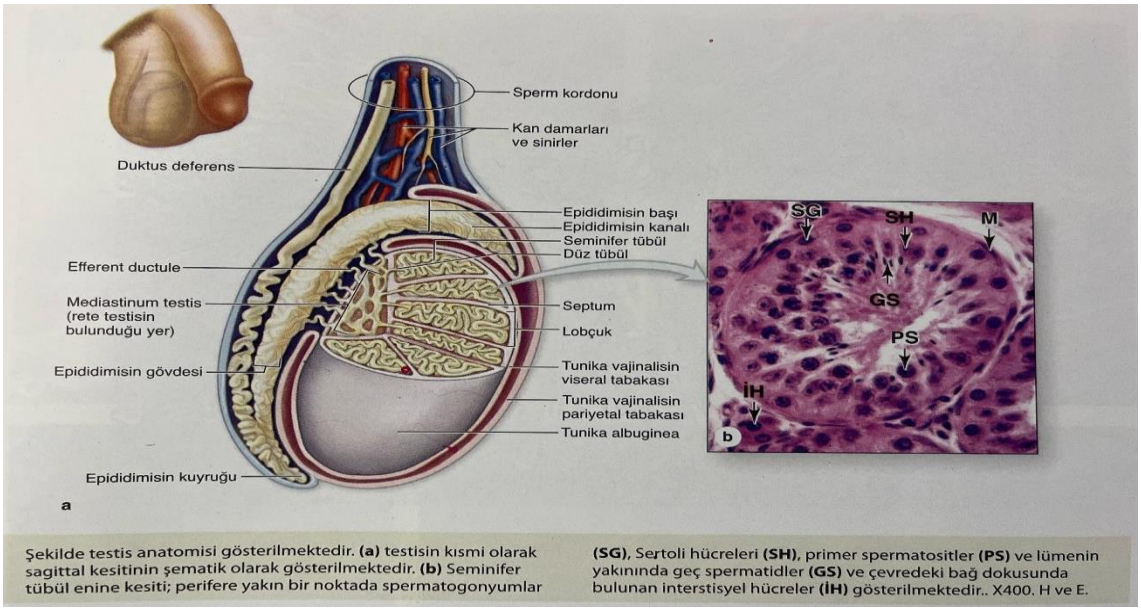
4-5 cm boya sahip olan testis, 2-3 cm ene ve 40 gram ağırlığa sahip olmaktadır (Palmer NO. ve ark.,2012). Testis on lobdan oluşup ve bu lobların içinde seminifer tübüller olmaktadır. Her bir testiküler lobül içinde bir ya da dört adet seminifer tübüllü, en az 150-200 löbülü olan glandüler dokusu bulunmaktadır (Şekil-2). Sperm, seminifer tübüller duvarında gelişir ve tübüllerin lümenine gönderilmektedir (Kantarcı F. ve ark., 2012).

Hormon salgılaması için önemli olan testislerde leydig hücreleri, kolesterolü kullanarak erkeklik hormonu üretmektedir. Erkeklik hormonu olan testosteron steroid yapılı ve ortalama günde 4-9 mg civarında üretilmektedir (K. Michalakis ve ark., 2013). Testislerde seminifer tübüller içerisinde yıldız şeklinde sperm üreten hücreler (germ hücrelerini) saran sertoli hücreleri spermatozoanın oluşması sürecinde spermatogenez esnasında germ hücrelerine destekte bulunmak ve bu hücreleri besleyecek birçok proteini salgılamak ve bir kısmının da seminifer tübül boşluğuna da salgılanarak epididimise kadar spermatozoaları besleyici görevi bulunmaktadır (Gatimel N. ve ark., 2017, Alp H. ve ark., 2016). Bununla beraber, kan damarları ve seminifer tübül boşluğundan besleyici maddelerin transferini sağlamak, kan-testis bariyerini oluşturmak, spermatidleri epitelde lümene doğru ilerleterek oluşan artık maddelerin temizlenmesini sağlamak da sertoli hücrelerinin fonksiyonları arasında bulunmaktadır. (Auger J. ve ark., 2016). Testiküler kapsül 3 tabakadan meydana gelmiştir (Görgülü N., 2019). Bunlar;

1-Tunika Vaginalis: En dışta kısımda bulunan ve düzleşmiş mezotelyal hücrelerden oluşan tabaka olarak adlandırılmaktadır. Kapalı seröz kesenin visseral tabakası kökeni peritondan gelmektedir. Testisin ön ve yan yüzlerini çevrelemektedir (Anawalt BD., 2013). Yüzeyde skrotum üzerine uzanarak tunika vaginalisin paryetal tabakası ile visseral tabakalar arasındaki seröz boşluk testisin mobilizasyonuna izin vermektedir (Anawalt BD., 2013, Avasthi P. ve ark., 2013).

2-Tunika Albuginea: En net tabaka olan tunika albuginea bazal lamina ile tunika vaginalisten ayrılmaktadır. Tunika albuginea düz kas hücrelerinin kapladığı alanlara fibroelestik bağ dokusu olarak adlandırılmaktadır. Testisin epididimise komşu posterior de düz kas hücreleri daha fazla alanda bulunmaktadır (Auger J. ve ark., 2016).

3-Tunika Vasküloza: Testiküler yapının en iç kısmı ince bir areolar bağ dokusu içerisinde kan damarları ağlarından oluşan tabakaya denilmektedir (Amaral A., 2013).



Şekil 2. Testis yapısı ve seminifer tübüller (Junqueira et al., 2015 Temel Histoloji Atlası adlı kaynaktan alınmıştır)

2.2.2. Seminifer tübüller

Testislerin içinde seminifer tübüller bulunmaktadır ve spermin üretimini başlatan yapılardır. Her testisin standart hacmi 30 ml ve bu testisler 200-300 löbüle bölünmektedir. Bu löbüllerin her biri 70-80 cm uzunluğunda, her bir testis için 200 m boyu ve her biri 1-3 döngü seminifer tübül içermektedir (Sermondade N. ve ark., 2012). Seminifer tübüller bazal membrandan, sertoli hücrelerinden ve olgunlaşma aşamasındaki çeşitli germ hücrelerinden meydana gelir. Şimdiye kadar 13 farklı tip insan germ hücresi tanımlanmıştır (Moretti E. ve ark., 2015). Bu hücreler olgunlaşma sürecine göre A tipi spermatogoniumlar, B tipi spermatogonia, preleptotene, leptoten, zigoten ve primer spermatositler, ikincil spermatogonia pakiten spermatidler olarak sınıflandırılmaktadır (NO Palmer ve ark., 2012). Seminifer tübülleri peritübüler dokuyu sarıp ve myoid hücrelerin katmanlarından, fibrosit aynısı adventisyel hücreler ile kolajen matrikten oluşmaktadır. Sertoli hücreleri ile birlikte, peritübüler doku kan testis bariyerini (BTB) oluşturmaktadır (Nozawa YI. ve ark., 2014). Sperm vücuttan glans penis aracılıyla dışarı çıkmaktadır. Glans penise ulaşana kadar çeşitli kanalcıklardan geçen rete testis yoluyla testisi terk ederek, bu şekilde epididime ulaşmaktadır. Epididimden vas deferens yoluyla prostat içerisinde bulunan kanallara geçmektedir. Bu kanallar idrar kanalı olan üretraya

açılmaktadır ve üretra yoluyla erkeğin meni içerisindeki sperm dışarı atılmaktadır (Ross MH. ve Pawlina W., 2013).

2.2.3. Sertoli hücreleri

Uzun, prizmatik hücreler bazal laminadan seminifer tübül lümenine uzanırlar ve olgunlaşmakta olan spermatogenik hücrelere kriptalar sağladığı için düzensiz apikal ve lateral hücre membranlarına sahip olmaktadır (Paal D. ve ark., 2017, Paoli D. ve ark., 2014). Çekirdek içinde bulunan ve genellikle açık renkli görülen, hücre sentez fazında boyayı az emen, hücre bölünmesi ilerledikçe boyanma özelliği artan, bölünmenin sonuna doğru tekrar azalan, kromozomların aktif genleri kapsadığı sertoli hücre çekirdeği 7-9 nm kalınlığında filamentöz bir kılıfla sarılı ve hücre tabakasının üstünde yer alıp; eliptik ya da üçgen görüntüsü olan makro soluk çekirdek en dip bölgeyi istila etmektedir ve 1-2 tane çekirdekçik içinde bulundurmaktadır (Perdrix A., 2013). Çekirdekçik oldukça belirgin olup, merkezi asidofilik kısmın periferinde bazofil materyal kümeleri görülmektedir (Punjabi U., 2016, Zhou J. ve ark., 2012).

Sertoli hücreleri spermatik hücreleri için gerekli besini ve fiziksel desteği sağlamakla birlikte sitoplazmik artıkları fagosite etmektedir. Fruktozca zengin bir sıvı sentezleyip salgılamaktadırlar (Wang EY. ve ark., 2017). Birbirleriyle yaptıkları sıkı bağlantılarla spermatogenik hücreleri içlerinde muhafaza ederek kandaki savunma hücrelerinin otoimmünitesinden korumaktadırlar. ABP ve inhibin salgılamaktadır. Testiküler transferrin ile demir alınımını sağlamaktadır. Antimüllerian Hormon (MIF) ile embriyogenezizde ovaryum oluşmasını engellenmektedir (Kierszenbaum A. L., 2006, Eşrefoğlu M., 2016).

2.2.4. Leydig hücreleri

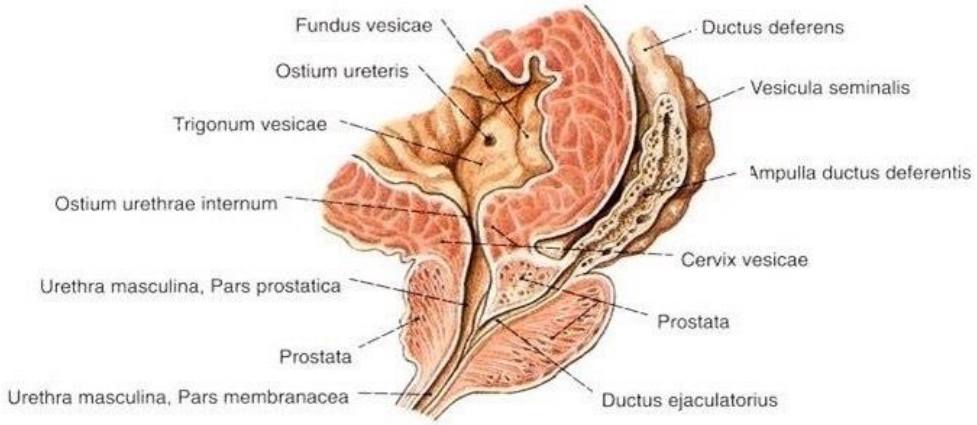
Testiste bulunan hipofizden salınan lutenize edici hormona (LH) karşı duyarlı olarak çalışan ve testosteron oluşumunda ikincil seks karakterleri ve libido oluşumunda etkili olan hücrelerdir (Vendramini V. ve ark., 2017). Testosteron kök hücrelerden yetişkin leyding hücre olgunlaşması ile yavaşça yüksek seviyelere çıkmaktadır (La Vignera ve ark., 2012). Yetişkin bireylerde LH, leydig hücresi LH reseptörlerine bağlanma, cAMP üretimini uyararak, kolesterol translokasyon oranını mitokondriye yükseltmektedir

(Görgülü N., 2019, Maruyuma SY. Ve ark., 2016). İç mitokondriyal membrana kolesterol translokasyonu, kolesterol bağlayıcı translokatör protein, gerilime bağlı anyon kanalı ve diğer mitokondriyal ve sitozolik proteinlerden oluşan mitokondriyal kısımlarında oluşan bir protein kompleksi kolesterol seviyesini yükseltmek bununla birlikte testosteron oluşumunu arttırarak etki göstermektedir (Görgülü N., 2019, Leisegang K. ve ark., 2019). Testosteron seviyesindeki azalma yaşlı ve genç erkekte görülmekle birlikte metabolik ve yaşam kalitesinde değişiklikler oluşturmaktadır (Komiya A. ve ark., 2013).

2.3. Erkek Genital Kanal Sistemi

2.3.1. Duktili Eferentes, Epididimis, Ductus Deferens

Epididimisler, vas deferens, boşalma kanalları ve üretra erkek üreme sisteminin kanalları olarak adlandırılmaktadır. (Şekil-3). Sperm, seminifer tübüllerden, skrotum içerisindeki testislerin yukarısında ve ast kısmında bulunan epididimislere gitmektedir (Watson San Agustin JT. ve ark., 2015). Epididimis, sıkıca sarılmış altı metre boyundaki duktus epididimislerden oluşmaktadır. Sperm epididimiste olgunlaşır, daha aktif hareketli hale gelmektedir bununla birlikte mayoz-2'yi geçirmiş oositi (M2 oositi) dölleyebilmektedir. Sperm cinsel uyarılmayla beraber güçlü peristaltik kasılmalar sonucunda vas deferens'e ilerlemektedir (Tortora GJ. ve Derrickson BH., 2013, Köse MG. ve ark., 2012). Vas deferens ek olarak sperm için kısmi olarak depo görevi görmektedir. Vas deferens üreter üzerinden ve idrar torbasının arkasından geçerek boşaltım kanalını meydana getirip seminal veziküle bağlanmaktadır (Şekil-3, Tortora GJ. ve Derrickson BH., 2013). Penise girerken vas deferens'e kan ve lenfatik damarlar ile otonom sinirler eşlik etmektedir; bununla birlikte vas deferens spermatik kord oluşturmaktadır (Görgülü N., 2019). Boşalma kanalı, prostat bezinden geçmektedir ve spermin üretraya ulaşması için bir kanal görevi görmektedir. Üretra, spermin boşalma kanallarından penisin içinden dış üretral orifiste vücudun dışına geçmesi için bir yol sağlamaktadır (Ross MH. ve Pawlina W., 2013).



Şekil 3. Duktus efferentes, duktus ejakulatorius, prostat bezlerinin anotamik görüntüsü. (F.H. Netter, 2015, İnsan Anotomi Atlasın adlı kaynaktan alınmıştır.)

2.3.2. Penis ve Üretra

Üriner sistemin ve erkek genital sistemin son parçası olan penis dorsalde yerleşen iki adet korpus kavernozum penis ve ventrale yerleşen korpus spongiyozum penis olmak üzere üç silindirik erektil doku kitlesi ile üretrayı içermektedir. Ayrıca dıştan deri ile sarılmıştır (Ross MH. ve Pawlina W., 2013). Penisin içinde bulunan üretra semenin boşalması ve bununla birlikte idrar çıkışına yol sağlamaktadır. Anatomik olarak penis korpus spongiosum, corpus penis ve glans penisten oluşmaktadır. Penisin gövdesi üç erektil doku kolonu içermektedir. Korpus spongiosum ile iki lateral karpora kavernoza dokusu üretranın çevresini içermektedir (Wogatzky J. ve ark., 2012). Bu kolonlar cilt ve deri altı tabaka ile kaplıdır ve mükemmel bir kan kaynağına sahip olmaktadırlar (Görgülü N., 2019). Korpus spongiosumun distal ucu üçgen bir yapı oluşturacak şekilde genişler, üretranın vücudun dışına çıktığı glans penisini meydana getirmektedir (Tortora GJ ve Derrickson BH., 2013). Glans penis, klitorisin analog organıdır ve çabuk uyarılıp erekte olmaktadır (Tortora GJ ve Derrickson BH., 2013).

2.3.3. Salgı yapan bezler:

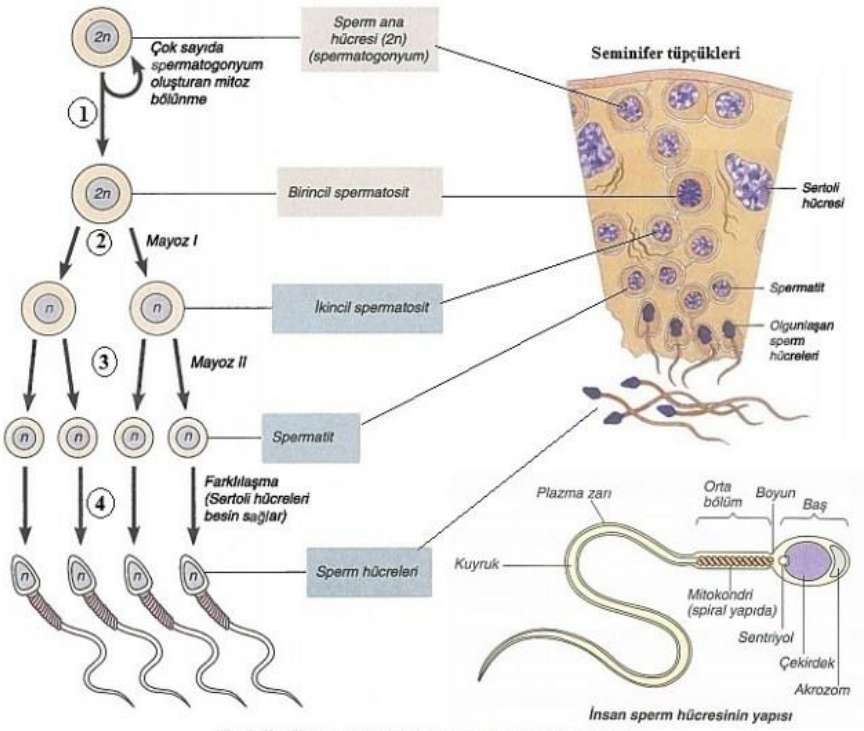
Testisin kendisi de bir salgı bezidir, testisin devamında vezikülоseminalis, prostat ve bulbouretral (Cowper's) bezler salgı yapan bezler bulunmaktadır. Semenin hepsi bu bezlerden gelen salgıların bir araya gelmesinden oluşmaktadır (Ross MH. ve Pawlina W., 2013). Semen'in pH değeri 7.2-7.7'dir ve alkalik özellik göstermektedir. Sperm boşalma hacmi, 50-100 milyon sperm / mL içeren 3.0-5.0 mL'dir. Çok sayıda sperm gerekir çünkü birkaç sperm sekonder oosite ulaşmaktadır (Tortora GJ. ve Derrickson BH., 2013). Mukus benzeri salgılamaktadırlar, penis ile üretranın yağlanmasını sağlayarak, boşalma sırasında spermin zarar görmesini azaltmaktadır (Görgülü N., 2019).

2.4. Spermatogenez

Spermatogenez, spermatogonial kök hücrelerden olgun spermatozoaya kadar uzanan hücre farklılaşması sürecini kapsamaktadır. Testisin tübüler kompartmanının temel işlevidir. Bu süreç kişiler arasında farklılıklar göstermekle beraber ortalama 74 gün kabul edilmektedir. Günde yaklaşık 100 milyon sperm üretilmektedir (Bottrel M. ve ark 2018). Spermatogenez normal vücut ısısından 1-2 derece düşük sıcaklıkta meydana gelmektedir. Spermatogenez erkek çocukların puberteye girmesinden hemen önce başlayıp yaşlanıncaya kadar devam etmektedir (Chen J. ve ark., 2017).

Olgunluğa ulaşan organizma, germ hücreleri fonksiyonel gametlere farklılaşma yeteneği kazanmaktadır (Görgülü N., 2019). Mayoz-1 evresinde kromozom sayısı 2n'den 1n'e düşmektedir (Ross MH. ve Pawlina W., 2013). Spermatogenez dört aşamaya ayrılır: (a) Primordial germ hücrelerinin ekstragonodal orijini, (b) Germ hücrelerinin mitozla çoğalması, (c) Mayoz geçirmesi, (d) spermatozoanın yapısal ve fonksiyonel olgunlaşmasıdır (Görgülü N., 2019).

Spermatogenez, spermatidlerin oluştuğu evredir. Epitelin bazal laminasının yanında bulunan ve gelişmemiş bir germ hücresi olan spermatogonyum ile başlamaktadır. Cinsel olgunlukta, spermatogonia, peş peşe hücre kuşakları üreterek, mitoz bölünmeye başlamaktadır (Moretti E. ve ark., 2015). Spermatogenezis, 3 faza ayrılır: 1-Spermatogonial faz, 2-Spermatosit fazı ve 3-Spermatid fazıdır (Şekil-4).



Şekil 4. Spermatogenezis, 3 faza ayrılır: 1-Spermatogonial faz, 2-Spermatosit fazı ve 3-Spermatit fazıdır. (www.biyoloji.org.tr adlı kaynaktan alınmıştır.)

1-Spermatogonial Faz: Spermatogonia, kök hücreleri ve primer spermler olsun diye mitoz bölünme geçirmektedir. Spermatogonial faz esnasında A tipi spermatogonia, birden fazla klon olabilmeleri tekrarlanan mitotik bölünmeye sebep olmaktadır; bu bölünmeler sırasında sitokinez tamamlanmamış ve kök hücrelerin tümü plazmodyum meydana getiren sitoplazmik bir köprü ile bağlanmaktadır (Zhou J. ve ark., 2012). Bu sitoplazmik devamlılık, bağlantılı hücrelerin eş zamanlı gelişiminden sorumludur. Bu evrenin sonunda A tipi spermatogonia B tipi spermatogonia olarak farklılaşmaktadır (Perdrix A., 2013).

2-Spermatosit Fazı: Primer spermler, haploid spermatidler olabilmek için iki mayoz bölünme geçirmektedir. Spermatosit fazı esnasında her B tipinin mitotik bölünmesi, spermatogonya, seminifer tübülün lümen kompartmanına doğru giden iki kardeş primer spermin üretilmesini sağlamaktadır (Nozawa YI. ve ark., 2014). Mayoz-1 geçirilmeden önce bu hücreler DNA'larını kopyalamaktadır. Kromatitler DNA'nın miktarı kadar iki katına çıkmaktadır. Mayoz-1 sonunda, iki sekonder sperm (2n, 1d) oluşmaktadır

(Görgülü N., 2019). Sekonder spermatozitler, spermatidlerin (1n, 0.5d) oluşmasıyla interfaz evresi olmadan direk olarak mayoz-2'ye geçmektedir (Lachance C. ve Leclere P., 2011).

3-Spermatid Fazı: Bu fazda spermatidler genel olarak sertoli hücrelerine bağlı iken spermatozoa olarak gelişim göstermektedirler (Liu Y. ve ark., 2015).

2.5. Spermiyogenez

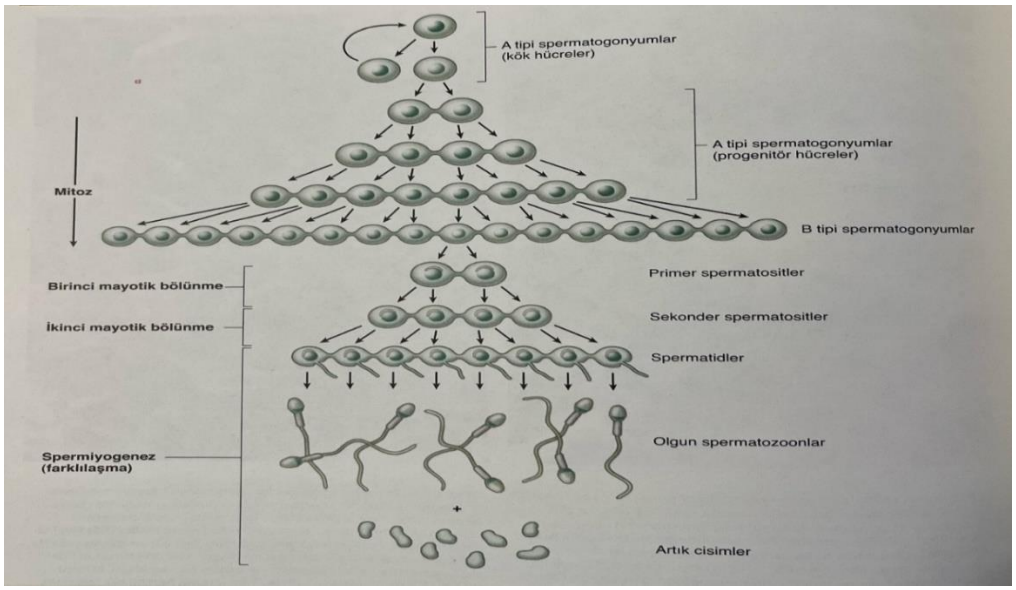
Spermiyogenez, sperm üretiminin son kısmı olup, spermatozoaların sentezinin en son basamağı olarak adlandırılmaktadır. Spermiyogenez sırasında spermatidler, erkek DNA'sını yumurtaya transfer etmek için özelleşmiş hücreler olan spermlerin spermatozoalarına dönüşmektedir (Şekil-5, Liu Y. ve ark., 2015). Bu işlem esnasında hücre bölünmesi olmamaktadır. Spermiyogenez, akrozom oluşum ve yoğunlaşmasını, çekirdeğin uzamasını, flagellum gelişimini ve sitoplazmanın çoğunun kaybını içeren kompleks bir süreçten oluşmaktadır. Olgun spermatozoon, seminifer tübülün lümenine salınmaktadır. Golgi, olgunlaşma, cap ve akrozom aşamaları olarak 4 aşamada gerçekleşmektedir (Lai TH. ve ark., 2016).

1)Golgi aşaması: Bu aşamada spermatidlerin kutupları oluşmaktadır. Trans-Golgi sisteminden türetilen proakrozomal veziküller, merkezdeki nükleer zarf ve proksimal tarafıyla akrozomal granüller akrozomal boşluk oluşturmak için birleşmektedir. Bu olayı, sentriollerin flagellum oluşumunu başlatmak üzere karşı uca göçü takip etmektedir (Kuo YC. ve ark., 2012).

2)Cap aşaması: Spermatid gelişimi devam ettikçe, akrozomal vezikül kapak düzleşip çekirdek üzerinde yayılırken golgi aparatı gelişen kollum kısmına göç etmektedir (Chen J. ve ark., 2017). Bu sırada, daire biçimindeki spermatidler 200'den fazla yalnız bir türe özgü olan transkript (gen) aktarmaktadır (Bottrel M. ve ark., 2018). Bununla beraber, akrozom biyogenezindeki kritik 15 kontrol noktaları, cap fazından uzama fazına geçiş fazıdır. Bu nedenle spermiogenez, bu aşamada gen susturma (Herb ve GOPC genleri gibi) ile kolayca bozulmaktadır. Bu mutantlarda Golgi'den türetilmiş veziküller kaynaşmaz ve spermatidler büyüdükçe akrozomal granüller çekirdekten tamamen ayrılmaktadır (Görgülü N., 2019).

3)Akrozomal faz: Spermatid yeniden yön verilmektedir; bu şekilde flagellum lümene uzanırken akrozom da bazal laminayı göstermektedir. Çekirdek düzleşerek uzar ve sitoplazma, flagellum çevresindeki mitokondriye odaklanarak posterioral mobilizasyon yapmaktadır. Sentrioller çekirdeğe doğru geri göç eder ve bağlantı parçasını (boyun) oluşturmaktadır (Lachance C. ve Leclere P., 2011). Akrozomal içerikleri yavaş yavaş elektron yoğun bir matriste yoğunlaşırken akrozomal kapak uzamaktadır (Görgülü N., 2019). Bir sonraki kontrol noktası, uzama (akrozomal) fazından olgunlaşma fazına geçiş dönemidir (Amerikan Üreme Derneği, 2013). IgSF proteinini RA175 kodlayan genin silinmesi, spermatid aşamasında spermiyogenezin bozulmasına ve oligoteratozoospermiye sebep olmaktadır (Lishko PV. ve ark., 2015).

4)Maturasyon fazı: Akrozomal veziküllerdeki yoğun madde (akrozomal granül), akrozomun ön ve arka kısmına, en sonunda da akrozomal zarın tamamına yayılmaktadır (Görgülü N., 2019). Spermiasyon öncesi, spermatidlerin sitoplazması ile organellerinin bir kısmı sitoplazmik damlacıktan atılmaktadır ve spermatidler lümen içine spermatozoa veya sperm olarak salınmaktadır (Görgülü N., 2019). Spermatidlerden salınan kalıntı cisimler sonunda Sertoli hücreleri tarafından durdurularak kontrol altına alınmaktadır (Komeya M. ve Ogawa T., 2015).



Şekil 5.Spermatogenez ve spermiyogenez. (Junqueira et al., 2015 Temel Histoloji Atlası adlı kaynaktan alınmıştır)

2.6. Sperm Anatomisi

Sperm hücresi yaklaşık olarak 0.005 milimetre uzunluğunda olup farklı bölümden oluşur. Kuyruk kısmı protein liflerinden meydana gelmektedir. Orta kısmında mitokondri yer almaktadır. Baş kısmında ise nükleus bulunmaktadır. Nükleus adı verilen çekirdek yapı spermin genetik bilgisini taşımaktadır. Sperm DNA'sı spermin baş kısmında yer almaktadır (Ross MH. ve Pawlina W., 2013. Orhanizasyon WH., 2021).

Normal ve sağlıklı bir spermin baş kısmı oval olmalıdır. Kuyruk kısmı ise uzun olmalıdır. Ayrıca sağlıklı bir spermin 5 – 6 µm uzunluğunda ve 2,5 – 3,5 µm genişliğinde olması gerekir. Normal bir şekil, her zaman için yumurta hücresini dölleme şansını artıran önemli bir özelliktir (Auger J. ve ark., 2016).

Spermin baş kısmı aynı zamanda en geniş kısmıdır. Burada genetik bilgi yer almaktadır. Sperm başının ucunda ise yumurtanın dış yüzeyinde yer alan proteinleri ve şekerleri eriterek içine girmesini sağlayacak enzimler bulunmaktadır (Chang V. ve ark., 2017). Spermin boyun kısmında sentrozom bulunmaktadır. Sentrozom temel olarak sperm kuyruğunun başlangıcı olarak kabul edilmektedir. Sentrozom son derece önemlidir çünkü döllenmiş yumurtada yumurtanın kendi sentrozomu erimektedir (Aydın MS. ve ark., 2013).

Spermin orta kısmında ise mitokondri yer almaktadır. Hücrenin ihtiyaç duyduğu enerji spermin orta kısmında üretilmektedir. Sperm mitokondrisinde meydana gelen bozukluklar işlevsel bozukluklara neden olabilmektedir. Sperm hareketliliğinin düşük olması mitokondrideki bozukluklardan kaynaklanabilmektedir (Belloc S. ve ark., 2014). Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO), 2021'de yayımlanan verilerine göre 'normal sınırlarda bir sperm testinde' sperm sayısı toplamda 39 milyon (mililitrede 15 milyon), ileri doğru hareketlilik oranı %32, pH'sı>7,2; hacmi>2 ml, normal şekilli sperm oranı da (morfoloji) %4 üzerinde olmalıdır. Ayrıca sıvılaşma süresinin en erken 1 saat ve lökosit sayısının da 1 milyon/ml olması beklenmektedir (Organizasyon WH., 2021). Spermin kuyruğu, hücrenin yumurtaya doğru yüzmesini sağlamaktadır. Kuyrukta meydana gelen şekilsel bozukluklar kısırlığa yol açabilmektedir. Ancak bu bozukluklar yumurtanın döllenmesine engel olmamakta ve tüp bebek tedavisi ile döllenmiş yumurta elde etmek mümkün olmaktadır (Alverez Sedo C., 2012).

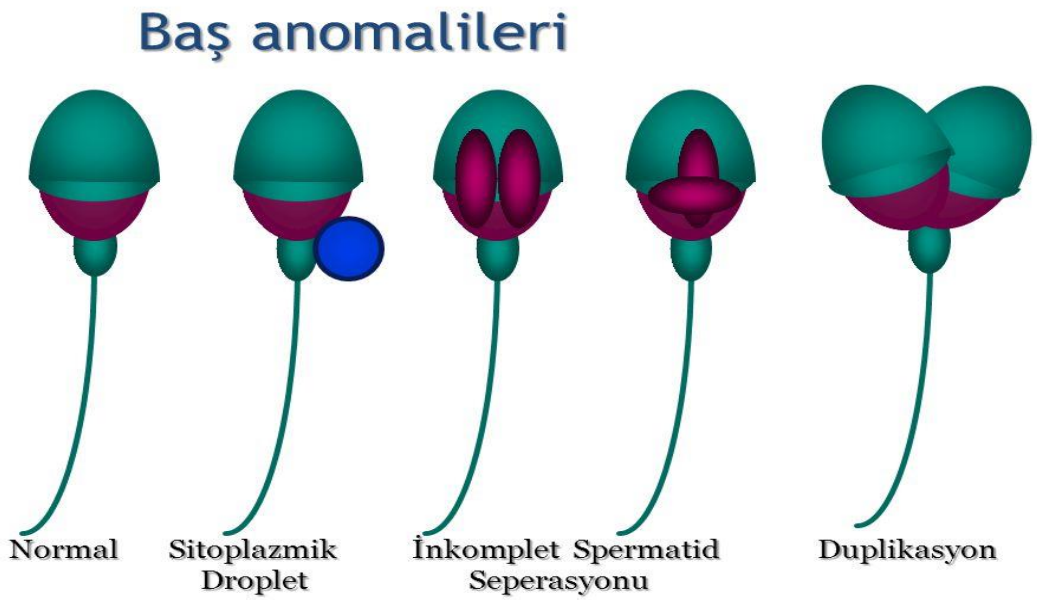
2.7. Sperm Şekil (Morfoloji) Bozuklukları

Spermi oluşturan şekil bozuklukları önemli işlevsel problemlere yol açmaktadır. Bu bozukluklar spermin boyutunda, anatomisinde ya da şeklinde olabilmektedir. Meydana gelen bozukluklara bağlı olarak kısırlık gibi problemler ortaya çıkabilmektedir (Singh AP. ve Rajender S., 2015). Spermin morfoloji bozuklukları baş, gövde ve kuyruk kısmında olmak üzere üçe ayrılmaktadır.

2.7.1. Baş yapısı bozuklukları

Başlıca anomal sebepler arasında baş ve akrozomun boyut ve şekilleri ve baş bölgesinde yer alan vakuoller sıralanabilir. Makrosefali, sperm başının normale göre daha büyük olması durumunu eden bir terimdir. Bu tip sperm morfolojisi kromozom fazlalığı durumunda ortaya çıkmaktadır (Menkveld R., 2013). Mikrosefali, sperm başının normal ölçülerden küçük olması halidir. Bu tip spermlerde genellikle genetik materyal eksikliği görülmektedir. Konik baş, sperm başının oval değil, konik biçimde olmasıdır (Ray PF. ve ark., 2017). İğne baş, spermlerde baş bir nokta halinde görülmektedir. Bu sperm morfolojisi diyabetik durumların habercisi olabilmektedir. İnce baş, konik baş bozukluğunun bir varyasyonudur. Genellikle sorunlu DNA yapılarından kaynaklanmaktadır. Yuvarlak baş, bir mutasyon türü olarak tanımlanabilir. Bu morfolojiyi gösteren spermlerin döllenme kabiliyeti bulunmamaktadır (Organizasyon WH., 2021). Başsız sperm, bir iplik görünümüne sahip baş şeklinde tanımlanmaktadır. Çift başlı sperm, sperm hücresinin iki başlı olması durumudur. Kişinin zehirli ya da ağır metal içerikli maddelere maruz kalması gibi hallerde görülmektedir (Ray PF. ve ark., 2017). Semen içerisinde başsız (asefalik, başı toplu, iğne başlı) sperm hücreleri de gözlemlenmektedir (Alverez Sedo C., 2012). Başsız spermin oluşması sentriol-kuyruk birleşmesindeki hatadan kaynaklanmaktadır. Sonrasında sperm ve kuyruk ayrılmaktadır. Baş kısımları da ayrıca sertoli hücreleri tarafından fagosite edilmektedir (Auger J. ve ark., 2016). Akrozom anomalisi, spermin gelişmesi ve farklılaşması aşamalarında oluşan anomali olarak tanımlanmaktadır. Akrozom anomalileri; anormal formasyon, anormal dağılım ve sperm başında anormal bağlanma şeklinde bulgulanmaktadır (Ray PF. ve ark., 2017). Boyunda sitoplazmik droplet varlığı spermin olgunlaşmadığını göstermektedir, ayrıca bu damlacığın varlığı immatürite işaretidir. Boyun kısmında atılan manşetin kalan

sitoplazmik kalıntısı boyun kısmına tutunmaktadır (Şekil-6) Genellikle testiküler spermlerde gözlemlenmektedir. Boyunda sitoplazmik droplet başın yarısından büyük olmaması gerekmektedir (Organizasyon WH., 2021). Spermde boyun anomalisi, sperm başının normalden büyük, çoğunlukla düzensiz yapıda ve mültinükleer (çok çekirdekli) olması olarak tanımlanmaktadır (Organizasyon WH., 2021).



Şekil 6. Normal ve anormal sperm yapıları. (www.urolojiatlası.com adlı kaynaktan alınmıştır.)

2.7.2. Gövde yapısı bozuklukları

Gövde yapısı bozuklukları genellikle mitokondri, sentrioller, büyük sitoplazmik droplet ve mikrotübüllerle ilişkilidir. Gövde yapısındaki bu tür bozukluklar baş ve kuyruk bölgesindeki anomaliler şeklinde kendilerini gösterebilmektedir (Knez K. ve ark., 2012). Gövde yapısındaki bozukluklar spermatid nükleusu ve sentriol arasındaki ilişkiden de ortaya çıkmaktadır. Büyük ve şişmiş orta kısım, spermlerde enerji üretimi orta kısımlarda yapılmaktadır. Bu kısımlarda hatalı mitokondri ya da enerji üretim merkezinin bulunması, büyük ve şişmiş bir sperm morfolojisini meydana getirmektedir (Kovac JR. ve ark., 2017). Nükleer vakuoller, spermde çok sayıda kist benzeri kabarcıkların bulunması durumu olarak açıklanabilir. Sitoplazmik droplet spermin olgunlaşmaması olarak

adlandırılmaktadır. Globozospermia, akrozom yokluğu anlamına gelmekte olup anomaliye sahip spermlerin dölleme kabiliyeti bulunmamaktadır (Li B. ve ark., 2014).

2.7.3. Kuyruk yapısı bozuklukları

Kuyruğun görünümü, boyu ve miktarındaki değişiklikler (Şekil-7) anomalilere neden olabilmektedir. Kuyruksuz sperm, en bariz sperm morfoloji türleri arasında yer almaktadır. Bu bozukluğa sahip spermlerdeki hücrelerin ya büyük bir kısmı ya da tümü cansızdır. Dolayısıyla döllenme yeteneğinden yoksundurlar (Chang V. ve ark., 2017). Sarmal kuyruklu sperm, kuyruğun hasar görmesi sonucu hücrenin yüzme kabiliyetini kaybetmesine neden olan bir bozukluktur (Berker B. ve ark., 2012). Spermin bakteriyel faaliyetlere maruz kalması durumunda ortaya çıkar. Hatalı seminal sıvı şartları da bu sorunu doğurabilir (Berker B. ve ark., 2012). Kısa kuyruklu spermler yüzünden anormal kromozomlar meydana gelmektedir. Gerçek zamanlı spermin formasyonu esnasında ortaya çıkmaktadır (Amaral A., 2013). Multiple (çift) kuyruk anomalisi, tek bir başa ait birden çok kuyruğun varlığının gözlemlendiği anomali durumu olarak adlandırılmaktadır ve bu formdaki spermler ile döllenme gerçekleşmemektedir (Organizasyon WH., 2021).



Şekil 7. Normal ve anormal sperm yapıları ile kuyruk formları (Ross MH ve Pawlina W., 2013 adlı kaynaktan alınmıştır).

2.8. Sperm Hareket (Motilite) Bozuklukları

Bir canlının ya da sıvının hareket etme yeteneğine "hareketlilik (motilite)" olarak adlandırılmaktadır (Garolla ve ark., 2015). Embriyonun oluşması için spermin kadın vajinasına boşaldıktan sonra rahimde ilerleyerek ve fallop tüplerinin ampulla kısmında yumurta ile birleşmesi gerekmektedir (Alp H. ve ark., 2012). Spermin fallop tüpünden ilerleyip ampulla kısmında yumurta ile birleşmesi için spermin hareketliliği çok büyük öneme sahip olmaktadır. (Abbasoğlu L. ve ark., 2012).

Sperm hareketliliği farklı şekillerde görülebilmektedir. İlerleyici (progressif) sperm hareketliliğinde spermler kıvrımlı olmayan ya da geniş daireler çizerek ileri yönlü hareket etmektedir (Husseyin A. ve ark., 2014). İlerleyici olmayan (non-progressif) sperm hareketliliğinde spermler kıvrımlı kuyruk formları ile çok küçük daireler çizerek ilerleme göstermektedirler (Husseyin A. ve ark., 2014, Katib A., 2015). Spermin yumurtayı döllemek için rahimde ilerleyebilmesi saniyede minimum 25 mikrometre hız yapması gerekmektedir (Hosseini B ve ark., 2014).

Sperm hareketliliği erkek kaynaklı kısırlık olarak karşımıza çıksa da bu süreçte bilinmesi gereken spermlerin hangi hareketleri yaptığı cenin oluşumu için belirleyici bir faktördür. Örnek verecek olursak sadece yerinde titreşim hareketi gösteren bir sperm hareketli kabul edilmektedir (Engin Üstün Y., 2011). Fakat böyle spermlerin hareket kısıtlılığı olduğu için yumurtaya ulaşamamaktadır. Bu sebepten dolayı ceninin oluşabilmesi için; ilerleyici hareketliliği olan mayoz-2'yi geçirmiş spermlere ihtiyaç duyulmaktadır (Cooper IG. ve ark., 2012). Düzgün bir şekilde mobilize spermlerin oranının, tüm spermlerin %32'sinden az olması durumu; *astenozoospermi* adı verilmektedir (Guo J. ve ark., 2014). Sperm sayısı, semen içerisindeki sperm hücresi sayısıdır. Mililitre başına 15 milyon altında sperm olmaması ideal olarak kabul edilmektedir. Hareket eden spermlerin oranının, tüm spermlerinin 15 milyondan az olması *oligospermi*, ejakulatta sperm olmaması *azospermi,* normal morfolojide %4'ten az spermin olması *teratozoospermi* olarak adlandırılmaktadır (Gatimel N. ve ark., 2017). Sperm hareket azlığı olması halinde spermlerin fallop tüplerindeki ampulla bölgesinde yumurta ile döllenmenin gerçekleşmesi olasılığı düşmektedir (Kutluyer F. ve ark., 2016).

Sperm hareket azlığı birçok farklı sebepten ötürü oluşabilmektedir. Genetik nedenler, hormonal kaynaklı tıbbi durumlar, yaşam tarzı, çevresel faktörler, sürekli ve çok miktarda alkol tüketimi, pelvik bölgeye alınan travmalar, kronik hastalıklar, aşırı strese maruz kalmak, obezite ve varikosel sperm motilitesine zarar verebilmektedir (Palmer NO. ve ark., 2012).

2.9. Leptin Hormonu Ve İşlevi

Leptin, 16 kDA ağırlığında, tek zincirli ve 167 amino asit içeren polipeptid yapıda bir adiposit hormondur ve ana görevi merkezi sinir sistemi (MSS) ve periferik organlara beslenme durumunu bildirmektir. (Oi Zhang ve K Zheng, 2016). Yapılan araştırmalarda da leptin molekülünün 4'lü sarmal yapıya sahip olduğunu ve helikal sitokin ailesi ile aynı sitokin kategorisinde yer aldığını gösterilmektedir (Ramos CF. ve Zamoner A., 2014). Leptin plasenta ve gastrointestinal kanalda da sentezlenir, ancak bu dokulardaki rolü henüz net değildir (Wasim M. ve ark., 2016). Plazma leptin seviyeleri vücut kitle indeksi ve vücut yağ yüzdesi ile doğrudan değişmektedir. Leptin vücut ağırlığının düzenlenmesine katkıda bulunmaktadır (Talmor A. ve ark., 2015). Leptin plazma konsantrasyonları ayrıca metabolik hormonlar, cinsiyet ve vücut enerji gereksinimlerinden etkilenmektedir (Wasim M. ve ark., 2016).

Leptin hormonu düzgün çalışabilmesi için salgılanan sitokinler, bazı hormonları etkilemektedir. İnterlökin-1 (IL-1) ve tümör nekroz faktör alfa (TNF-α) gibi akut faz reaktanları ile T lenfositlerinin proliferasyonu ve gelişmesinde rolü bulunan leptin, T hücrelerinin immun yanıtlarını düzenlemektedir (Khosropour S. ve ark., 2017). CD4+T hücrelerinde adezyon moleküllerinin ekspresyonunu CD71, CD11c, CD11b, HLA-DR ve CD25, monosit ve makrofajların proliferasyonunu ve interlökin-2 (IL-2) ve interferon gama (IFN-γ) üretimini artırarak interlökin-4 (IL-4) düzeyini azaltmasıyla T-yardımcı 1ve 2 hücrelerinin (Th1/Th2) dengesinde rol oynamaktadır. Leptin östrojen sentezini arttırırken androjen sentezini inhibe etmektedir (L Hatami-Baroogh, 2010). Leptin etkisini hipotalamustaki reseptörlerine bağlanarak gerçekleştirmektedir. Kendine özgü reseptörlere bağlanmasıyla, Leptin, hücre yüzeyi reseptörleri/janus kinazlar ve sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon proteinleri (JAK-STAT) yolağını stimüle etmekte ve NPY^yi regüle edilmektedir (Li S. ve Li X., 2016). Leptin sinyal

yolağındaki kusurlar, hayvan ve insanlarda obezite ile sonuçlanır. Bununla birlikte, insanlardaki çoğu obezite vakası, düşük leptin seviyeleri ile ilişkilidir. Beyinde hipotalamusu etkileyen bu hormon, beynimize vücudumuzun yağ depolarıyla ilgili bilgi vermektedir (Cardozo ER.,2012). Tokluk durumunda ve vücutta yeterli miktarda yağ bulunuyorsa, hipotalamus beyne bilgi verir ve leptin iştahı azaltır (Heydari H. ve ark., 2021). Böylelikle vücuttaki yağ miktarı korunması sağlanmaktadır. Eğer yağ miktarında azalma varsa, kandaki leptin miktarı da azalmaktadır (Cocozza M. ve ark., 2014). Bu durumda hipotalamus beyine hemen sinyal göndermektedir ve bu sinyaller iştahın artmasına sebep olmaktadır. Vücudumuzdaki yağ miktarının artış veya azalışını ayarlayan leptin hormonu uzun dönem vücut kilo kontrolünde etkili olmaktadır. Bu nedenle, insanlarda obezite, bir leptin direnci durumunu temsil edebilmektedir (Best D. ve ark., 2015, Belloc S. ve ark., 2014). Periferik leptin konsantrasyonlarındaki dakikadan dakikaya dalgalanmalar, hipotalamik-hipofiz-yumurtalık ve hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenlerin aktivitesini etkileyerek leptinin üreme, stresle ilişkili endokrin fonksiyon ve davranış modülatörü olabileceğini göstermektedir. Bu, çeşitli insan hastalıklarının teşhisinde, patofizyolojisinde ve tedavisinde leptin veya onun antagonistlerinin potansiyel rollerini göstermektedir (Alves MG ve ark., 2016 Chambers TJ. ve ark., 2015).

2.10. Leptin Ve Hastalıklar İle İlişkisi

Yapılan çalışmalarda leptinin vücudumuzda insülin, ghrelin, adiponektin, tiroid hormonları ve büyüme hormonu (BH) ile obezite ilişkisinin olduğu gösterilmektedir (Abdulhadi MH. ve ark.,2021). İnsülin, enerji dengesinin en önemli düzenleyici hormonu olarak adlandırılmakta, glikoz, serbest yağ asitleri ve amino asitlerin dokular tarafından kullanımını sağlamaktadır. İnsülinin esas etkisi yağ dokusu ve karaciğer üzerinde görülmektedir. (Hontsariuk DO. ve ark., 2020). Anabolik ve antikatabolik hormon olarak bilinen insülin, özellikle kaslarda ve adipoz dokuda hücre membranından glukozun hücre içine girişini sağlamakta ve glikozun kullanımını arttırmaktadır. Plazma insulin düzeyindeki artış ile birlikte plazma leptin düzeyini de arttırmaktadır. İnsülin enjeksiyonu ile hem plazma leptin hem de yağ doku leptin mRNA düzeylerinin arttığı gösterilmiştir (Ahmed HS., 2022). Yapılan başka bir çalışmada ise düşük kilodaki farelere insülin verilmesi leptin düzeyini yükseltirken, kilosu normalden yüksek farelerde böyle bir leptin artışı görülmemiştir. Bu çalışmaya göre; leptin direnci sonucunda obezite gen

transkripsiyonu ile serum leptin düzeyinde artış meydana getirmektedir (Palmer NO. ve ark., 2012). Tip-2 diyabetli kişilerde yapılan bir klinik çalışmada insülin verilmesinden 6 saat sonra serum leptin düzeyinin yaklaşık 2 kat yükseldiği belirlenmiştir (Becic B. ve ark., 2018).

Komplemeter DNA (Cdna) olarak bilinen adiponektini kodlayan, esas olarak beyaz adipositlerden salınan 30 kDa ağırlığında olan bir protein olarak adlandırılmaktadır. Beyaz adipoz doku en büyük enerji deposudur ve enerji homeostazisi için oldukça öneme sahip olmaktadır (Hontsariuk DO. ve ark., 2020). Adiponektin, özellikle beyaz yağ dokusu hücresinden üretilmektedir ve insülin duyarlılığını arttırıcı bir etkisi olan proteindir. Aşırı miktarda düzensiz yemek ile enerjiyi trigliseridler şeklinde depolayan beyaz adipoz doku ile obezite arasında korelasyon olmaktadır (Izquierdo AG. ve ark., 2019). Adiponektin seviyesi ve dolaşım sistemindeki leptinin yoğunlaşması ve insülin hassaslığı arasında ters korelasyon ilişkisi bulunmaktadır. Leptin düzeylerindeki artış adiponektinde azalmaya neden olmakta ve böylelikle obezite durumunda leptin düzeyinde azalış gözlemlenmektedir (Al-Hussaniy HA. ve ark., 2021).

Tiroid hormonları metabolik hızı arttırmaktadır. Vücut ısısı ve enerji metabolizması üzerinde leptin ve tiroid hormonlarının aynı şekilde vücutta etki yaratması ve bu etkilerin başlıca adrenerjik üst ayarlama olmak üzere sempatik sinir sistemi regülasyonu gibi benzer fizyolojik yollardan gösterme olasılığı olduğunu düşündürmektedir ortaya çıkmaktadır (Ahmed HS., 2022). Teoride tiroid hormonunun leptin sekresyonu üzerinde inhibitör etkisi olduğu kabul edilmektedir. Yapılan hayvan deneylerinde leptin, troidektomi uygulanmış farelerde kontrol grubuna göre yüksek bulunurken, T3 veya T4 infüzyonu sonrası bu farelerde leptin seviyesinin düştüğü bulgulanmıştır (Becic B. ve ark., 2018).

Farelerin midelerinde ilk kez izole edilmiş olan ghrelin ilk defa ve BH salgılatıcı reseptörün doğal ligandı olduğu yapılan araştırmalarda ortaya çıkmış bir peptittir (Cui H. ve ark., 2017). Ghrelin, BH salınımını arttırmasının yanı sıra iştahı arttırır ve obeziteye neden olmaktadır. Obezite meydana geldiğinde vücuttaki leptin seviyesinde azalma meydana gelmektedir ve böylelikle leptin ile ghrelin arasında ters ilişki olduğu yapılan çalışmalarda da gösterilmektedir (Öztaş B. ve ark., 2021).

BH sadece büyüme ve gelişme ile ilişkili olmayıp aynı zamanda vücut kompozisyonunda ve yağ dağılımında da önemli bir etkisi vardır. Obezite, BH-insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IBF-1) aksı içindeki dağılım ile ilişkilidir (Hontsariuk DO. ve ark., 2020). Obez kişilerde BH ve İBF-bağlayıcı proteinlerin serum değerleri ve bununla birlikte leptin düzeyleri azalmaktadır. BH salınımının düzenlenmesi leptin tarafından kontrol edilmektedir (Izquierdo AG. ve ark., 2019).

Yetersiz beslenme plazma leptin düzeyini düşürmekte, kortizol düzeyini ise arttırmaktadır. Bu kortizol artışı ile birlikte protein mobilizasyonu, glikoneogenezis gibi metabolik adaptasyonlara katkı sağlanmaktadır ve yeniden beslenme davranışını uyarmaktadır (Ahmed HS., 2022). Beslenme sonrası insülin sekresyonu ve leptin sentezi artmaktadır. Kan leptin seviyesinin yükselmesi kanda insülin ve kortizol düzeylerini normal düzeye indirmekte ve böylece homeostatik denge tekrar sağlanmaktadır (Al-Hussaniy HA. ve ark., 2021).

2.11. Leptin Hormonu Ve Erkek İnfertilitesi İle İlişkisi

Leptin, yağ dokusundan salınan, vücut ağırlığı ile beden kütle indeksinin (BKİ) düzenlenmesinde etkili olan, ayrıca, hipotalamus-hipofiz-gonad aksının metabolik regülasyonu ile pubertenin başlaması ve kadın/erkek üreme sisteminin normal işlevselliği açılarından önemli bir hormon olarak bilinmektedir (L Hatemi-Baroogh ve ark., 2010). Bununla birlikte artan kilo sebebiyle vücutta yağ oranının artışından dolayı erkek bireylerde infertilite problemi ortaya çıkmaktadır. Bununla ilişkili olarak leptin'in folikül uyarıcı hormon (FSH) ve LH'dan bağımsız olarak leyding hücreleri aracılığı ile timüs (T) hücreleri ve seks hormon bağlayıcı globulin (SHBG) aracılığı ile de testiküler fonksiyonu bozabileceğini belirtilmiştir (Li S. ve Li X., 2016). Ayrıca obez erkek bireyler de yapılan çalışmalarda skrotal yağ oranlarında belirgin bir artış olduğu bununla beraber leptin düzeyinde azalma olduğu gözlemlenmiştir. Obez erkek bireylerde hem skrotal yağın artması hem de bireylerin tüm sedanter yaşamına hakim olması skrotal ısının yükselmesi neden olmaktadır. Skrotal ısı artışı yapılan deneysel ve klinik çalışmalarda erkek infertilitesine sebep olduğu gözlemlenmiştir (Kahn BE ve Brannigan RE., 2017, Kasum M. ve ark., 2016).

3.YÖNTEM

3.1. Araştırma Modeli

Disiplinler arası klinik embriyoloji yüksek lisans programı öğrencisi olan Hümeyra ÇEBİ'nin tez çalışmasında kullanılan araştırma modeli deneysel çalışma olarak uygulandı. Araştırma amacına uygun bir şekilde verilerin toplanması, çözümlenmesi ve düzenlenmesi yapıldı. İlgili tez araştırmasında leptin uygulanan gebe Balb-C farelerin erkek yavrularında sperm motilitesi ile morfolojisine bağlı olarak infertiliteye sebep olup olmadığı araştırıldı.

3.2. Evren Ve Örneklem

Tez araştırmasında Maltepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde (MÜDEHAM) üretilen, 8-12 haftalık erişkin, 14 adet Balb-C dişi ve 7 adet Balb-C erkek fare deneyin birinci kısmında kullanıldı. 2 dişi fareye bir erkek fare gelecek şekilde kafeslere konuldu ve çiftlendirildi. Çiftleştirme sırasında vajinal plak kontrolü yapılıp, plak görülen fareler ayrı kafese alındı. Gebelik süresinde bu farelerden rastgele 7 tanesi kontrol grubu; 7 tanesi de subkutan olarak leptin enjeksiyonu yapılan deney grubu olarak ayrıldı. Deney grubu olarak kullanılacak olan erkek farelerin annelerine iki günde bir 250 mg/doz olacak şekilde enjeksiyon yapıldı. 14 fare deney süresi boyunca optimum laboratuvar koşulları (22±10C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve %21 ham protein içeren palet yemlerle beslenildi. Deney grubu 7 fareye gün aşırı belli aralıklarla (250mg/doz) olacak şekilde subkutan olarak leptin uygulaması yapıldı.

3.3. Veriler Ve Toplanması

Maltepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (MÜHADYEK) tez araştırmasının etik kurul başvurusu yapılıp, 2022.06.01 protokol numaralı deney hayvanları etik kurul izni alındı. Kontrol grubunu subkutan leptin yerine distile su uygulanan, gebe Balb-C farelerin 10 haftalık erkek yavruları oluşturmaktadır. Deney grubu ise; subkutan leptin uygulanan gebe Balb-C farelerin 10 haftalık erkek yavrularından oluşmaktadır. Kontrol ve deney grubu oluşturan farelerin kiloları, sperm morfolojileri ve sperm motiliteleri karşılaştırıldı. Deney sonunda ışık mikroskopu altında

makler kamerası kullanılarak yapıldı. Gruplardan toplanan sperm örnekleri Spermac ile boyanarak ışık mikroskopu altında morfolojik olarak değerlendirildi. Elde edilen ham veriler SPSS 26.0 programı kullanılarak değerlendirildi.

3.4. Deney hayvanının yetiştirilmesi ve leptinin subkutan enjeksiyon olarak uygulanması

Tez araştırmasında Maltepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde (MÜDEHAM) üretilen, 8-12 haftalık erişkin, 14 adet Balb-C dişi ve 7 adet Balb-C erkek fare deneyin birinci kısmında kullanıldı. 2 dişi fareye bir erkek fare gelecek şekilde kafeslere konuldu ve çiftleştirildi. Çiftleştirme sırasında vajinal plak kontrolü yapılıp, plak görülen fareler ayrı kafese alındı. Gebe dişi fareler rastgele her grupta 7 fare olacak şekilde kontrol grubu ve deney (leptin) grubu olarak 2 gruba ayrıldı. Erkek yavruları deney grubu olarak ayarlanan fareye iki günde bir 250 mg/doz olacak şekilde subkutan enjeksiyon yapıldı. Erkek yavruları kontrol grubu olacak olan farelere ise vajinal plak görüldükten sonra iki günde bir distile su subkutan enjeksiyon yapıldı.

İkinci jenerasyonda olgun, kontrol ve deney gruplarından 7. haftada, rastgele 14 erkek fare alındı. Her kafeste 3'er ve 4'er tane fare olacak şekilde 18-24°C sıcaklıkta, %50-%60 nem oranında, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık koşullarda laboratuvar pelet yemi ve su devamlı kullanabilir durumda 10. haftaya gelene kadar tutuldu. 10. haftada erkek fareler 10 mg/doz ketamin kullanılarak etik kurallara uygun bir şekilde sakrifiye edildi.

3.5. Spermlerin Toplanması

10 haftalık erkek fareler 10 mg/doz ketamin kullanılarak etik kurala uygun bir şekilde sakrifiye edildikten sonra testis ve epididimisleri çıkarıldı. Testislerden ayırıp çıkartılan epididimisler her sperm örneği için ayrı ayrı petri kabı içine 0.5 cc yıkama medyumu (İrvine Scientific, CA, USA) içinde diseke edildi. İnkübasyon sonrasında %90'lık 0.5 cc gradient ve %45'lik 0.3 cc gradient ile hazırlanılmış 37°C altındaki ependorflara sıvı kısmı alındı. Alınan sperm örnekleri 37°C de 10 dakika 1200 rpm de santrifüj edildi.

3.6. Sperm Sayısının Belirlenmesi

Yapılan tez çalışmasında ependorflara %45'lik 0.3 cc gradient (Cook, Sidney IVF Sperm Gradient) ve %90'lık 0.5 cc gradient (Cook, Sidney IVF Sperm Gradient) konuldu. Her

sperm örneği için ayrı ayrı petri kabları içine 0.5 cc yıkama medyumu (İrvine Scientific, CA, USA) koyuldu. Erkek farelerden alınan epididimisler 0.5 cc yıkama medyumu (İrvine Scientific, CA, USA) içinde diseke edildi. Hazırlanan ependorflara diseke edilmiş yıkama solüsyonu ile hazırlanmış spermlerin sıvı kısımları alındı. Alınan sperm örnekleri 10 dakika 1200 rpm de santrifüj edildikten sonra pelleti (sperm ana maddesi) ve diğer yoğun kısmı (eritrosit hücreleri vb.) ependorflarda ikiye ayrıldı. Sperm ana maddesindeki kısmından alınan 1 ml'lik örneği makler kamerasının lamı üzerine konularak ışık mikroskopu altında ilk 40X objektifte 10 kare sayımı yapıldı. Fare spermlerinin kuyrukları normal insan sperminin kuyruklarından daha uzun olması sebebiyle, maklerde sadece hareketli ve hareketsiz sperm sayımı yapıldı. Yatay ve dikey 10 kare sayımlarında da elde edilen sonuçlar birbirine benzerdi. Aynı spermlerin sayımı yapılmadığına dikkat edilip karenin içindeki tüm spermlerin sayımının yapıldığına dikkat edildi. Sayımdan elde edilen sonuçlar 10^6 katsayısı ile çarpılarak mililitredeki sperm sayısı hesaplandı. Makler kamerası her ölçümde temizlenerek tekrar tekrar kullanıldı.

3.7. Sperm Morfolojisi Ve Değerlendirme

Spermac Stain boyama seti ile sperm morfoloji analizi yapıldı. İnkübe edilen her fare sperm örneğinin sperm morfolojisi değerlendirmesi için, lam üzerine yayma yapılarak oda sıcaklığında 15-20 dakika inkübe edildi. Hazırlanan preperatlar %'50'lik, %70'lik ve %90'lık etil alkol serilerinde 5'er dakika bekletilerek fiksasyonu sağlandı. Örnekler etil alkol ile fikse edildikten sonra distile su ile yıkanıp havlu peçete yardımı ile kurutuldu. Spermac A boyasında 2 dk bekletildikten sonra distile su da tekrar daldırılıp çıkarılarak yıkanıldı ve fazla suyu havlu peçete ile temizlendi. Spermac B boyasında 2 dk bekletildikten sonra distile suya daldırılıp çıkarılarak yıkandı ve havlu peçete ile fazla su alındı. Spermac C boyasında 2 dk bekletildikten sonra distile suya daldırılıp çıkarılarak yıkandı ve havlu peçete ile fazla su alındı. Boyama işlemi tamamlanan sperm örnekleri oda sıcaklığında 30 dk kuruması için beklenildi. Lamlar Spermac Stain boya setiyle muamele edildikten sonra ışık mikroskopunda (Zeiss, Almanya) 40X ve 100X büyütme oranında değerlendirildi. Her bir fare için 100 sperm sayıldı. Fare sperm morfolojik değerlendirmelerini belirten bir talas bulunmadığından, sıçan sperm morfolojik değerlendirmeleri belirten atlas kaynak alınarak sperm baş, boyun ve kuyruk anomalileri

değerlendirildi (Wisniewski p. ve ark., 2015, Zhou J. ve ark., 2012). Farklı morfolojilere sahip spermler 40X ve 100X büyütme oranında detaylı olarak incelendi.

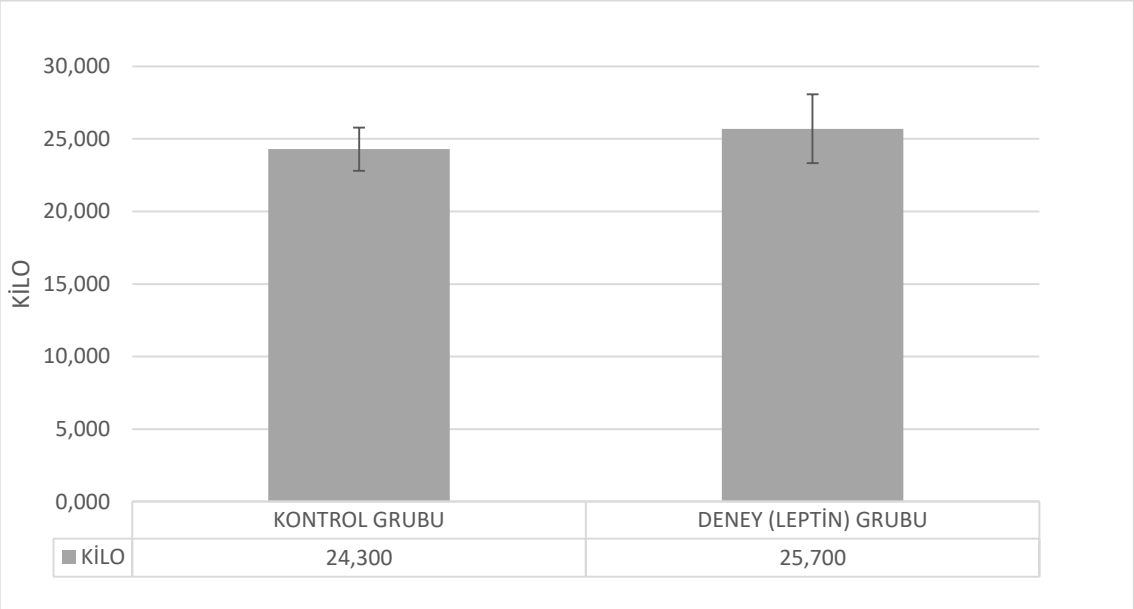
3.8. İstatiksel Değerlendirmeler

Kolmogorov-Smirnov uygunluk testi kullanılarak sürekli değişkenlerin normal dağılımı belirlendi. Tek Yönlü varyans analizi (ANOVA) ile normal dağılan gruplar arasında Chi-Kare testi uygulanarak çoklu karşılaştırmalar değerlendirildi. Normal dağılım göstermeyen gruplar arasındaki çoklu karşılaştırmalar Kruskal-Wallis testi kullanılarak değerlendirildi. Student t testi kullanılarak çoklu karşılaştırmaları karşılaştırdı. Elde edilen tüm verilerin analizleri IBM SPSS Statistics 26.0 yazılım paketi kullanılarak yapıldı. Gruplar arasında anlamlılık $p<0.01$; $p<0.05$ ve $p<0.001$ ile; anlamlı bir fark yok ise $p>0.05$ ile gösterildi. Metin içinde yer alan veriler ortalama değeri ± standart sapma (sd) olarak gösterildi.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Kontrol Ve Deney Gruplarının Kilolarının Karşılaştırılması

Kontrol grubu erkek fareler ile deney grubu erkek fareler Şekil-4.1.1'de kiloları gösterilmiştir. Kiloları değerlendirildiğinde; kontrol grubu (24.3±0.57) ile deney grubu (25.7±0.90) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur (p>0.05, Şekil-8).



Şekil 8. Kontrol grubu erkek fareler ile deney grubu erkek farelerin kiloları.

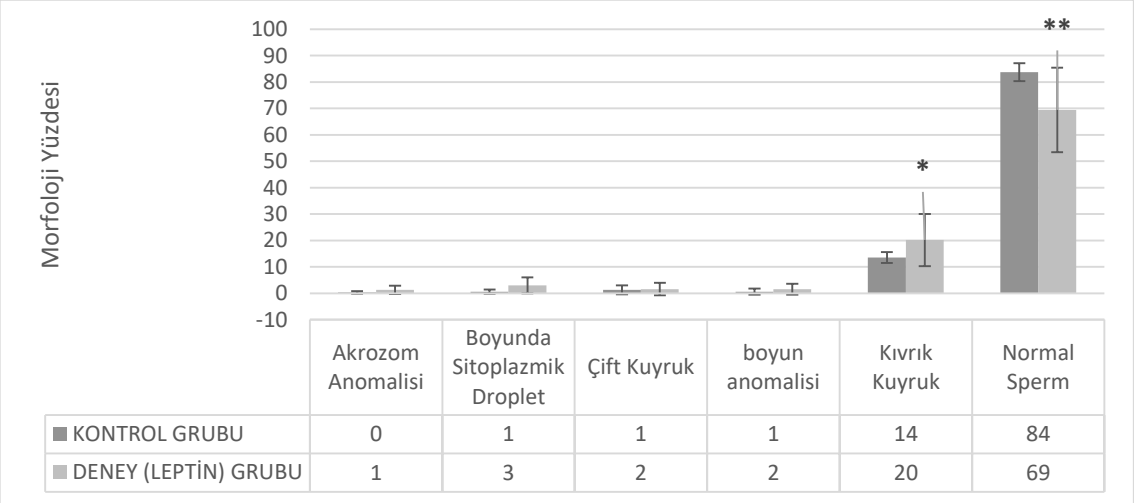
4.2. Işık Mikroskopu Ve Morfoloji Analizi

Kontrol grubu erkek fareler ile deney grubu erkek fareler Şekil-4.2.1'de Spermac ile boyanan spermlerin ışık mikroskopu altında bakılan morfoloji değerleri gösterildi. Her biri için 100 tane sperm sayıldı.

Morfoloji değerleri her sperm örneği için ayrı ayrı değerlendirilip grupların aritmetik ortalamaları ± standart sapma (sd) olarak hesaplandı. Kontrol grubuna (0.29±0.18) göre deney grubunda (1.29±0.61) akrozomal anomalisi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmadı (p>0.05, Şekil-2). Boyunda stoplazmik droplet morfolojisinde, kontrol grubuna (0.57±, 0.30) göre deney grubunda (3.0±1.16) istatistiksel olarak anlamlı bir

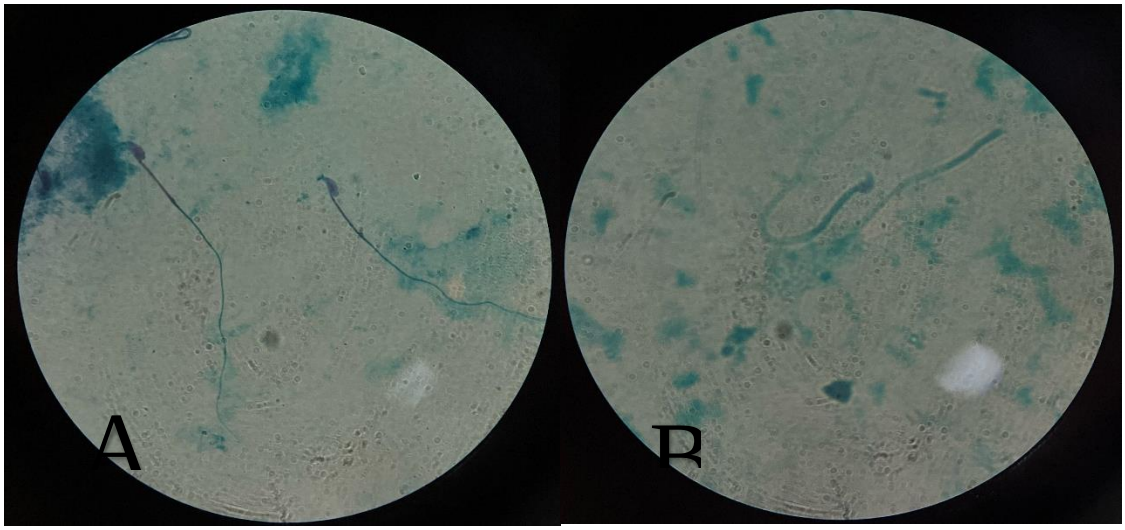
artma görülmedi (p>0.05). Çift kuyruk morfolojisinde, kontrol grubuna (1.29±0.64) göre deney grubunda (1.57±0.90) istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmedi (p>0.05). Kontrol grubuna (0.57±0.30) göre deney grubunda (1.57±0.78) boyun anomalisi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmadı (p>0.05).

Kontrol grubu değerleri (13.57±0.78) ile deney grubu (20.14±3.75) karşılaştırıldığında istatiksel olarak kıvrık kuyruk anomalisi değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı bulundu (p<0,01). Kontrol grubunun (83.71±1.27), deney grubuna (69.43±6.06) göre normal sperm morfolojisinin anlamlı bir şekilde yüksek olduğu tespit edildi (p<0.05).



	Akrozom Anomalisi	Boyunda Sitoplazmik Droplet	Çift Kuyruk	boyun anomalisi	Kıvrık Kuyruk	Normal Sperm
KONTROL GRUBU	0	1	1	1	14	84
DENEY (LEPTİN) GRUBU	1	3	2	2	20	69

Şekil 9. Kontrol grubu erkek fareler ile deney (leptin) grubu erkek farelerin spermlerindeki akrozom, boyunda sitoplazmik droplet, çift kuyruk, boyun ve kıvrık kuyruk anomalisi ile normal sperm yüzdeleri.

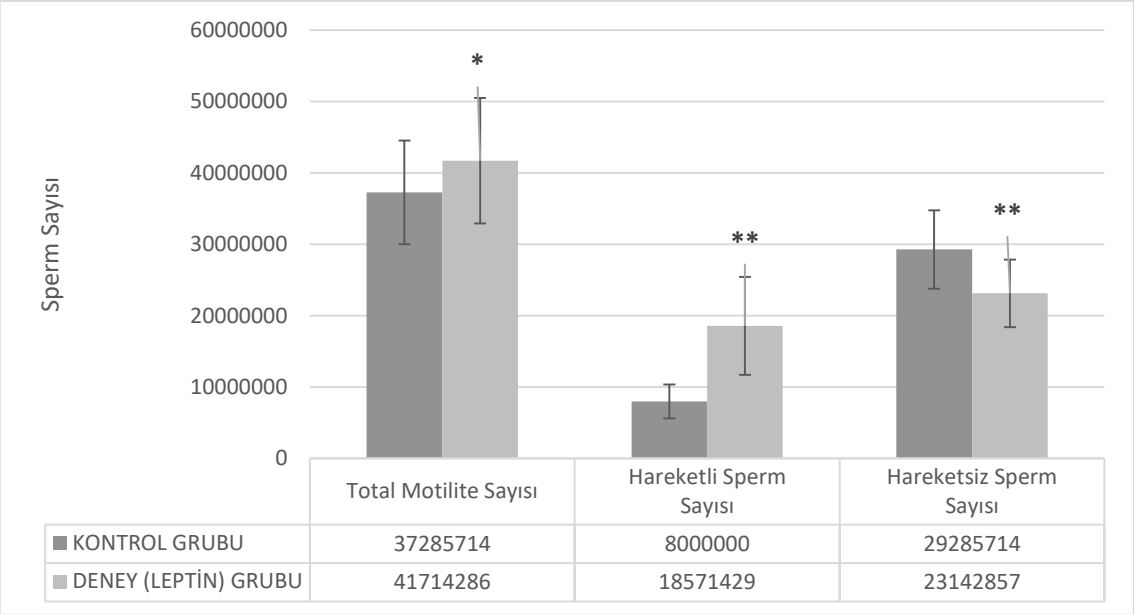


Şekil 10. (A) Kontrol grubu fareye ait spermac ile boyanan spermlerin ışık mikroskobik görüntü. Zeiss, 40X. (B) Deney grubu fareye ait spermac ile boyanan spermlerin ışık mikroskobik görüntü. Zeiss, 40X.

4. 3. Makler Kamerası Ve Motılıte Sayımı

Kontrol grubu erkek fareler ile deney grubu erkek farelerden alınan sperm örnekleri makler kamerasında sayımı yapıldı. Sayımı yapılan spermlerin her biri ayrı ayrı değerlendirilip grupların aritmetik ortalamaları hesaplandı. Makler kamerasında motilite değerleri bakılan farelerin Kolmogorov-Smirnov testine göre değerleri Şekil-4.3.1'de gösterildi.

Makler kamerasında deney grubu (23142857±1791894) ile kontrol grubu (29285714±2078395) hareketsiz sperm motiliteleri karşılaştırıldığında hareketsiz sperm sayıları istatiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Deney grubu (18571429±2589881) ile kontrol grubu (8000000±899735) hareketli sperm motiliteleri istatiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı olarak artış olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Deney grubuna (41714286±3321749) göre kontrol grubu (37285714±2740475) total motilite sayısı istatiksel olarak karşılaştırıldığında total motilite anlamlı olarak artış olduğu görüldü ($p<0.01$).



Şekil 11.Kontrol grubu ile deney grubu total motilite sayıları, hareketsiz sperm sayıları ve hareketli sperm sayıları.

4.4. Tartışma

Çalışmamızda gebelik sırasında subkutan olarak leptin uygulanan annelerden doğan erkek fareler ile kontrol grubunu oluşturan erkek farelerin sperm parametreleri karşılaştırıldı. Sperm morfoloji paremetresi olarak çift kuyruk, kıvrık kuyruk, orta parça anomalisi, kuyrukta sitoplazmik droplet, baş anomalisi ve akrozom anomalisi incelendi. Sperm motilitesinde ise hareketli ve hareketsiz sperm sayımları yapıldı. Leptinli anneden doğan farelerde sperm sayısı ve motilitesinde artış olduğu ama bununla birlikte bu gruptaki farelerin sperm morfoloji bozukluklarında da artış olduğu gözlemlendi.

Leptin, obezite geni tarafından sentezlenen, spermatogenez, gonadotropin kontrolü ve spermatosit matürasyonunda etkili olan bir proteindir (Li S. ve Li X., 2016). Ayrıca leptin adipoz dokudaki adipositler tarafından sentezlenerek kana salınan ve buna bağlı olarak kişinin yağ dokusu ile orantılı olarak serum düzeylerini yükselten bir hormondur (Abdulhadi MH. ve ark., 2021). Yapılan çalışmalarda TESE'de sperm bulunamayan hastaların leptin serum düzeyi yüksek olarak ölçülmüş ve leptinin sperm üretimini azalttığı sonucuna ulaşılmıştır (L. Hatami-Baroogh ve ark., 2010). Bizim çalışmamızda da leptinli anneden doğan erkek yavruların spermlerinde leptin hormonuna bağlı olarak; deney grubu ile kontrol grubu hareketsiz sperm motiliteleri karşılaştırıldığında hareketsiz

sperm sayıları istatiksel olarak anlamlı bir şekilde düşük olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Deney grubu ile kontrol grubu hareketli sperm motiliteleri istatiksel olarak karşılaştırıldığında anlamlı olarak artış olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Deney grubuna göre kontrol grubu total motilite sayısı istatiksel olarak karşılaştırıldığında total motilite anlamlı olarak artış olduğu görüldü ($p<0.05$). Elde edilen verilere göre, gebelik sırasında alınan leptinin, erkek yavrularda sperm hareketliliğinde önemli derecede artmaya; hareketsizliğinde ise azalmaya neden olduğu belirlendi. Bu da leptinin ikinci jenarasyonda olsa bile sperm hareketinde pozitif bir etkiye sahip olduğunu gösterdi.

Yapılan çalışmalarda insanda pubertenin başlamasında leptinin rolü olabileceği öne sürülmüştür. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada varikosel ilişkili spermatogenik disfonksiyonun artan leptin ve leptin reseptör hormonu ile ilgili olduğu gözlemlenmiştir (Köse MG. ve ark., 2012). Çeşitli çalışmalarda leptinin spermatogenez ile ilişki içinde olduğu söylenmiştir ancak leptin ile sperm motilitesi arasındaki ilişki tam olarak belirlenememiştir. Guo ve arkadaşları idiopatik astenozoospermi hastalarında seminal leptin seviyelerinin artış gösterdiğini ve seminal leptin seviyeleri ile sperm motilitesi arasında negatif bir ilişki olduğunu yaptıkları çalışmada göstermişlerdir (Guo J. ve ark., 2014). Bu tez çalışmasında, gebelik sırasında leptin takviyesi alan annelerin erkek yavrularından alınan sperm örneklerinin motilitesinin leptin ile birbiriyle istatiksel olarak anlamlı pozitif bir korelasyon yaptığı gösterildi.

Erkek infertilitesindeki en büyük faktörlerden bir tanesi de obezitedir. Obezite vücuttaki leptin düzeyi ile birebir ilişki içerisindedir (Liu Y. ve Ding Z., 2017). Leptin vücut ağırlığının düzenlenmesinde anahtar rol oynar ve ayrıca leptin sempatik sinir sistemi aktivasyonunu ve lipolizi arttırarak enerji tüketimini arttırarak vücut ağırlığını azaltmaktadır (Al-Hussaniy HA. ve ark., 2021). Leptin ayrıca hipotalamik reseptörler yolu ile beslenmeyi inhibe etmektedir. Serum leptin konsantrasyonu adipoz dokuların büyüklüğü ile ilişkilidir ve kilo kaybı sonrasında artarken, kilo kazancı sonrasında azalmaktadır (Alves MG. ve ark., 2016). Obezite, her iki cinsiyette de doğurganlık bozukluğu ile bağlantılı olmuştur. Erkeklerde obezite, varsayılan olarak HPG ve hipotalamik-hipofiz-adrenal eksenleri hedefleyerek bozulmuş spermatogenez, azalmış testosteron seviyeleri, erektil disfonksiyon ve zayıf libido yoluyla doğurganlıklarını etkileyebilmektedir. Leptin, üreme dahil birçok metabolik fonksiyonda anahtar rol

oynamaktadır (Anawalt BD., 2013). Nonobstrüktif azospermi, oligozoospermi ve oligo-asteno-teratozoospermi dahil olmak üzere testiküler parankimi etkileyen bozuklukları olan infertil erkeklerde yüksek leptin konsantrasyonları bulunmaktadır (Guo J. ve ark., 2014). Kiloları değerlendirildiğinde; kontrol grubu ile deney (leptin) grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0.05$). Elde edilen sonuçlara göre, gebelik sırasında leptin takviyesi alan annelerin erkek çocuklarında kilo açısında herhangi artış ya da azalıştan söz edilemeyeceği belirlendi.

Serum leptin düzeylerinin serum testosteron düzeyleri ve sperm parametreleri ile negatif, serum folikül uyarıcı hormon ve lüteinize edici hormon düzeyleri ve anormal sperm morfolojisi ile pozitif ilişkileri bulunmaktadır (Hussein A. ve ark., 2012). Leptin sonrasında sperm motilitesi ve normal morfolojide düşüş olduğu bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Izquerdo AG. ve ark., 2019). Elektron mikroskobisi ile incelenen spermlerde makler kamerası yardımı ile motilitelerin (hareketli-hareketsiz sperm) bakılması, morfolojik yapıları (sperm baş-boyun-gövde yapısı) gibi detaylı birçok bilgi elde edilebilmektedir (Komiya A. ve ark.,2013). Yapılan çalışmalarda elektron mikroskopu incelemelerinde leptin ile sperm morfolojisi arasında negatif yönde bir ilişki olduğu gözlemlenmiştir. Aynı şekilde makler kamerasında ışık mikroskopu altında bakılan sperm motilite örneklerinde leptin ile arasında negatif yönde bir ilişki olduğu gösterilmiştir (Guo J. ve ark., 2014). Bu tez çalışmasında ışık mikroskopu altında makler kamerasında yapılan sayımda leptinli grubun sperm motilitesi ve hareketli sperm sayısı kontrol grubuna oranla daha fazla olduğu gözlendi. Yine ışık mikroskopu altında bakılan sperm örneklerinin morfolojilerine bakıldığında deney grubundaki sperm örneklerinde, akrozom anomalisi, baş anomalisi, boyunda sitoplazmik droplet, çift kuyruk, boyun anomalisi ve kıvrık kuyruk anomalileri gözlemlendi. Kontrol grubuna göre deney grubunda akrozomal anomalisi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmadı ($p>0.05$, Şekil-2). Boyunda stoplazmik droplet morfolojisinde, kontrol g rubuna göre deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artma görülmedi ($p>0.05$). Çift kuyruk morfolojisinde, kontrol grubuna göre deney grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış görülmedi ($p>0.05$). Kontrol grubuna göre deney grubunda boyun anomalisi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark çıkmadı ($p>0.05$). Yapılan tez çalışmasında leptin takviyesi almış gebelerin erkek yavrularında normal morfolojinin kontrol grubuna göre daha düşük olduğunu ve kıvrık kuyruk anomalisinin deney (leptin) grubunda daha fazla

olduğu gözlendi. Bu durum morfolojik hasar olarak değerlendirildi. Elde edilen verilere göre gebelik sırasında leptin takviyesi alan annelerin erkek yavrularının spermlerinde defekt olabileceği fikrini uyandırmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Leptin çeşitli metabolik etkilere sahip bir hormon olarak, gebelik sırasında değişim göstermektedir. Gebelik sırasında düşen leptin seviyesini stabil halde tutmak için yapılan manipülasyonların gelecekteki nesilde herhangi bir etkiye neden olabileceği hakkında literatürde yeterli sayıda çalışma bulunmamaktadır. İlgili durumu deneysel olarak denemek için tasarlanan bu tez çalışmasında leptin takviyesi subkutan olarak belirli aralıklarla uygulanmış olup, daha sonra erkek yavruların spermleri çeşitli parametrelerde incelendi. İnceleme sonrasında gözlenen sonuçlar şöyledir;

1. Gebelik esnasında leptin takviyesi yapılan Balb-C farelerden doğan erkek yavrular (deney grubu) ile gebelik esnasında leptin takviyesi yapılmayan Balb-C farelerden doğan erkek yavrular (kontrol grubu) karşılaştırıldığında; leptin takviyesi yavrularda herhangi bir kilo artışına neden olmadığı belirlendi. Takviye olarak alınan leptin hormonu bir sonraki jenerasyonda obeziteye sebep olmadığı gözlendi.
2. Gebelik esnasında leptin takviyesi yapılan Balb-C farelerden doğan erkek yavrular (deney grubu) ile gebelik esnasında leptin takviyesi yapılmayan Balb-C farelerden doğan erkek yavrular (kontrol grubu) karşılaştırıldığında; sperm motilitesinde artış gözlendi. Gebelik sırasında alınan leptin, ikinci jenerasyondaki erkeklerde spermlerin hareketliğini etkilediğini gösterdi.
3. Gebelik sırasında leptin takviyesi alan gebelerin erkek yavrularında her ne kadar sperm hareketliliğinde bir artış gözlense de kıvrık kuyruk morfolojisinde artma; normal sperm morfolojisinde ise azalma gözlenmesi leptinin ikinci jenarasyonun sperm kalitesini düşmesine ancak miktarının armasına neden olduğunu gösterdi.

Elde edilen tüm sonuçlar göz önünde bulundurulduğunda; leptinin ikinci jenarasyonun sperm hareketi ve morfolojisini gösteren ilk veri setleri arasında yer almaktadır. Leptin ile yapılan bu çalışmalara ek olarak ikinci kuşak erkek infertilitesinin birinci kuşakta alınan leptin ile ilgili olduğunu savunan bir çalışma olarak bilimsel literatürde ilkler arasında yer alacaktır. Ayrıca, literatürde bulunan leptin-erkek infertilitesi üzerine yapılacak olan çalışmalara katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

7. KAYNAKÇA

Abdulhadi MH, Al-Kuraishy HM, Al-Gareeb AI. (2021). Beneficial effects of levothyroxine replacement therapy on leptin adiponectin ratio in patients with idiopathic primary hypothyroidism. *Journal Of The Pakıstan Medıcal Assocıatıon.* 71(12):S17-21.

Ahmed HS (2022). Serum Leptin as a Biomarker in Diabetes: Links with Acromegaly. *InBiomarkers in Diabetes*. 2022 (22);1-16

Al-Hussaniy HA, Alburghaif AH, Naji MA. (2021). Leptin hormone ve its effectiveness in reproduction, metabolism, immunity, diabetes, hopes ve ambitions. *Journal of Medicine and Life.*(14):(5):600 – 5.

Abbasoğlu L, Kalaz EB, Soluk-Tekkeşin M, Olgaç V, Doğru-Abbasoğlu S, Uysal M. (2012). Beneficial effects of taurine ve carnosine in experimental ischemia/reperfusion injury in testis. *Pediatr Surg Int18*. (28):(11),1125-31.

Alp H, Cirit U, Tas M, Rifaioglu MM, Hatipoglu NK, Aytekin I, Yucel M, Firat U, Ozmen MF, Seker U, Eren LB. (2012). Effects of sildenafil citrate, isoniazid, ve streptomycin on testicular tissue ve epididymal semen quality in rats. *Urology* (80)(4):953.e9-953.e14.

Alves, MG, Jesus, TT, Sousa, M, Goldberg, E, Silva, BM, Oliveira, PF. (2016). Male fertility ve obesity: are ghrelin, leptin ve glucagon-like peptide-1 pharmacologically relevant? *Curr Pharmaceut Des*. (22):783–91.

Alvarez Sedo C. (2012). Kuyruk Hikayeleri ve Sperm Baş, boyun ve kuyruğu etkileyen sperm patolojilerinin prognostik önemine ilişkin değişen kavramlar. *Asyalı J Androl* 2012(14):14–23.

Auger J, Jouannet P & Eustache F. (2016) İnsan spermine bir başka bakış morfoloji. *Hum Reprod*. Jan;31(1):10-23.

Amaral A,Lourenco B,Markalar M,Ramalho-Santos J. (2013). Mitokondri işlevselliği ve sperm kalitesi. *Üreme* (146):R163–R174.

Amerikan Üreme Derneği Uygulama Komitesi (2017). M. Sperm DNA bütünlük testinin klinik faydası: Bir kılavuz. *Fertil Steril.* (99):673–7.

Anawalt, BD. (2013). Approach to male infertility ve induction of spermatogenesis. *J Clin Endocrinol Metabolism* (98):3532–42.

AO Hammoud, AW Meikle, LO Reis, M. Gibson, CM Peterson ve DT Carrell, "Obezite ve erkek infertilitesi: pratik bir yaklaşım eng)," *Üreme Tıbbı Seminerleri*, cilt. 30. 6, s. 486–495, 2012.

Avasthi P, Scheel JF, Ying G, Frederick JM, Baehr W, Wolfrum U. (2013). Germline deletion of Cetn1 causes infertility in male mice. *J Cell Science*. (126):3204–3213.

Aydin MS, Senturk GE ve Ercan F .(2013). Cryopreservation increases DNA fragmentation in spermatozoa of smokers. *Acta Histochem.* 115(4);394-400.

Becic T, Studenik C, Hoffmann G. (2018). Exercise increases adiponectin ve reduces leptin levels in prediabetic ve diabetic individuals: systematic review ve meta-analysis of randomized controlled trials. *Medical Sciences.* 2018 (6):(4):97.

Berker B, Sükür YE, Kahraman K, Atabekoğlu CS, Sönmezer M, Ozmen B, Ateş C., (2012). Absence of Rapid ve Linear Progressive Motile Spermatozoa “Grade A” in Semen Specimens: Does It Change Intrauterine Insemination Outcomes? *Urology 2012 Oct 3.*

Best, D, Bhattacharya, S. (2015). Obesity ve fertility. *Horm Mol Biol Clin Invest*. 24:5–10.

Belloc, S, Cohen-Bacrie, M, Amar, E, Izard, V, Benkhalifa, M, Dalléac, A, vd. (2014). High body mass index has a deleterious effect on semen parameters except morphology: results from a large cohort study. *Fertil Steril*. (102):1268–73.

Bieniek, JM, Kashanian, JA, Deibert, CM, Grober, ED, Lo, KC, Brannigan, RE, vd., (2016). Influence of increasing body mass index on semen ve reproductive hormonal parameters in a multi-institutional cohort of subfertile men. *Fertil Steril* (106):1070–5.

BC Borges, D. Garcia-Galiano, SDS Cruz-Machado vd., (2017). "Erkek farelerde obezite kaynaklı kısırlık, Crisp4 ekspresyonunun ve sperm dölleme kapasitesinin bozulmasıyla ilişkilidir" *Endocrinology*. (158):9, s. 2930–2943.

Bottrel M, Acha D, Ortiz I, Hidalgo M, Gósalvez J, Camisão J, Dorado J. Cui H, López M, Rahmouni K. (2017). Obezitede leptin ve grelin direncinin hücresel ve moleküler temelleri. *Doğa İncelemeleri Endokrinoloji.* 2017(13) (13):338–351.

Chambers, TJ, Anderson, RA. (2015). The impact of obesity on male fertility. *Hormones (Basel)* (14):563–8.

Cocuzza, M, Esteves, SC. (2014). Epidemiology ve evidence of declining male fertility. In: *Male infertility*. New York, NY: Springer; 2014(1)–15 pp.

CD Morrison ve RE Brannigan. (2015). "Erkeklerde metabolik sendrom ve kısırlık", *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynecology*, cilt. 29. 4, s. 507–515.

Chen J, Saili KS, Liu Y, Li L, Zhao Y, Jia Y, Bai C, Tanguay RL, Dong Q, Huang C. (2017). Developmental bisphenol A exposure impairs sperm function ve reproduction in zebrafish. *Chemosphere.* 169:262-70.

Chang V, Heutte L, Petitjean C, Hartel S, Hitschfeld N. (2017). İnsan sperm başı morfolojisinin otomatik sınıflandırması. *Biol Medicine*. (84):205–16.

Cooper TG, Noonan E, von Eckardstein S, Auger J, Baker HWG, Behre HM,. (2012). İnsan semen özellikleri için Dünya Sağlık Örgütü referans değerleri. *Hum Reprod Güncellemesi.* (16):231–45.

Cardozo, E.R. et al., (2012), "Infertility patients' knowledge of the effects of obesity on reproductive health outcomes", Am J Obstet Gynecol, 207(6), 509

Danielewicz A, Przybyłowicz KE, Przybyłowicz M. (2018). Erkeklerde diyet kalıpları ve düşük semen kalitesi riski: kesitsel bir çalışma. *Besinler.* (10),(9):1162.

Engin Üstün, Y., (2011), "*İnfertil Çiftin Değerlendirilmesi*", Çelik, Ö (Ed.), Adana: Nobel Kitabevi.

Engin Üstün, Y., (2011), "*Yardımcı Üreme Teknikleri Temel Klinik ve Embriyolojik Uygulamalar*", Çelik, Ö (Ed.), Adana: Nobel Kitabevi.

Erdemir , F.,(2013), "Obezite ve Erkek İnfertilitesi", *J Clin Anal Medicine,* 4(1), 76-82.

Fıçıcıoğlu, C.,Yeşiladalı, M., (2014), "*İnfertilite, "Güncel Obstetrik ve Jinekoloji Tanı ve Tedavi*", Editör: Tıraş, M., Demir, S., Ankara: Güneş Tıp Evleri

Garolla, A, Torino, M, Miola, P, Caretta, N, Pizzol, D, Menegazzo, M, vd. (2015). Twenty-four-hour monitoring of scrotal temperature in obese men ve men with a varicocele as mirror of spermatogenic function. *Hum Reprod* (30):1006–13.

Gatimel N, Moreau J, Parinaud J, Leandri RD. (2017). Sperm morfolojisi: değerlendirme, patofizyoloji, klinik alaka düzeyi ve 2017'deki son teknoloji. *Androloji.*

Guo J, Zhao Y, Huang W, Hu W, Gu J, Chen C vd., (2014). Sperm motility inversely correlates with seminal leptin levels in idiopathic asthenozoospermia. *Int J Clin Exp Medicine.* (7)(10);3550-5.

Görgülü N. (2019). *Odarant ve Progesteron Uygulanmış Kültür Ortamlarında Sperm Kalsiyum Kanalları ve Olfaktör Reseptörlerinin Çeşitli İnfertil Olgularda İncelenmesi.* (Yayın no: 588625), [Yüksek Lisans Tezi, Biruni Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitisü] İstanbul, s;33-38. https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/

Gül, I. G., Kartalcı, Ş., Cumurcu, B. E., Karıncaoğlu, Y., Yoloğlu, S., ve Karlıdağ, R. (2013). Evaluation of sexual function in patients presenting with Behçet's disease with or without depression. *Journal of the European Academy of Dermatology ve Venereology*

Hontsariuk DO, Ferfetska KV, Khrystych TM, Fediv OI, Temerivska TG, Jiguleva EO, Honcharuk LM, Olinik OY. (2020). Kronik pankreatit ve tip 2 diabetes mellitustan mustarip hastaların kanında C-reaktif protein, tümör nekroz faktörü-α, adiponektin, Leptin ve resistin insidansı. *J Med Life.* 13 (4):568–71.

Heydari, H, Ghiasi, R, Ghaderpour, S, Keyhanmanesh, R.(2021). The mechanisms involved in obesity-induced male infertility. *Curr Diabetes Rev* 2021;17.

Hosseini, B, Eslamian, G. (2014). Association of dietary factors with male ve female infertility: review of current evidence. *Thrita* 2014;3.

Hussein A, Ozgok Y, Ross L, Rao P, Niederberger C. (2012). Optimization of spermatogenesis-regulating hormones in patients with non-obstructive azoospermia ve its impact on sperm retrieval: a multicentre study. BJU Int 2012 Sep 7.

Ilhan T, Erdost H. (2012). Effects of capsaicin on testis ghrelin expression in mice. *Biotech Histochem*.

Izquierdo AG, Crujeiras AB, Casanueva FF, Carreira MC. (2019). Leptin, obezite ve leptin direnci: 25 yıl sonra neredeyiz? *Besinler*. 11 (11):2704.

J. Guo, Y. Zhao, W. Huang vd., (2014). "İdiyopatik astenozoospermide sperm hareketliliği seminal leptin seviyeleri ile ters orantılıdır", *International Journal of Clinical ve Experimental Medicine*, cilt. 7. 10, s. 3550–3555.

Katib, A. (2016). Mechanisms linking obesity to male infertility. *Cent European J Urol*. 68:79.

Kasum, M, Anić-Jurica, S, Čehić, E, Klepac-Pulanić, T, Juras, J, Žužul, K. (2016) Influence of male obesity on fertility. *Acta Clin Croat*. 55:301–8.

Kahn, BE, Brannigan, RE. (2017). Obesity ve male infertility. *Curr Opin Urol*. 27:441–5.

Kantarci F, Cebi Olgun D, Mihmanli I. (2012). Shear-wave elastography of segmental infarction of the testis. *Korean J Radiol*. 13(6):820-2.

Kaur G, Thompson LA ve Dufour JM. (2014) Sertoli cells--immunological sentinels of spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol*. (30);36-44.

Khosropour, S, Hamidi, M, Fattahi, A, Khodadadi, I, Karami, M, Fazilati, M, vd.. (2017). Leptin ve leptin-receptor polymorphisms in fertile ve infertile men. *Syst Biol Reprod Med* (63):7–14.

K. Michalakis, G. Mintziori, A. Kaprara, BC Tarlatzis ve DG Goulis. (2013) "Obezite, metabolik sendrom ve üreme ekseni arasındaki karmaşık etkileşim: anlatı incelemesi," *Metabolism Clinical and Experimental*, cilt. 62. 4, s. 457–478.

Kutluyer F, Öğretmen F, Inanan BE. (2016). Cryopreservation of goldfish (Carassius auratus) spermatozoa: effects of extender supplemented with taurine on sperm motility veDNA damage. *Cryo Letters.* (37):41-6.

Kuo YC, Lin YH, Chen HI, Wang YY, Chiou YW, Lin HH, Pan HA, Wu CM, Su SM, Hsu CC, Kuo PL. (2012). SEPT12 mutations cause male infertility with defective sperm annulus. *Hum Mutat* (33):710– 719.

Knez K, Tomazevic T, Zorn B, Vrtacnik-Bokal E, Virant-Klun I. (2012). Intracytoplasmic morphologically selected sperm injection improves development ve quality of preimplantation embryos in teratozoospermia patients. *Reprod Biomed Online* (25):168 –179.

Komiya A, Watanabe A, Kawauchi Y, Fuse H. (2013). Sperm with large nuclear vacuoles ve semen quality in the evaluation of male infertility. *Syst Biol Reprod Med*. 59:13–20.

Kovac JR, Smith RP, Cajipe M, Lamb DJ, Lipshultz LI. (2017). Normal sperm morfolojisi tamamen olmayan erkekler, yardımcı üreme olmadan yüksek başarı oranları sergilerler. *Asya J Androl*. (19):39–42.

Komeya M ve Ogawa T. (2015). Spermatogonial stem cells: Progress ve prospects. *Asian J Androl.* (17)(5):771-5.

Köse MG, Erdem SR, Peşkircioğlu CL, Caylak B. (2012). Effects of angiogenesis inhibition by spironolactone on isolated vas deferens contractility in an experimental varicocele model in rats. *Urology* (80):(4):816-21.

Lachance C, Leclerc P. (2011). Mediators of the Jak/STAT signaling pathway in human spermatozoa. *Biol Reprod* (85):1222–1231.

Lai TH, Wu YY, Wang YY, Chen MF, Wang P, Chen TM, Wu YN, Chiang HS, Kuo PL, Lin YH. (2016). SEPT12-NDC1 Complexes Are Required for Mammalian Spermiogenesis. *Int J Mol Science* (17): E1911.

La Vignera, S, Condorelli, RA, Vicari, E, Calogero, AE. (2012). Negative effect of increased body weight on sperm conventional ve nonconventional flow cytometric sperm parameters. *J Androl* (33):53–8.

Leisegang, K, Henkel, R, Agarwal, A. (2019). Obesity ve metabolic syndrome associated with systemic inflammation ve the impact on the male reproductive system. *Am J Reprod Immunol* (82):e13178.

Liu, Y, Ding, Z. Obesity, (2017). A serious etiologic factor for male subfertility in modern society. *Reproduction* (154):123–31.

Li B, Ma Y, Huang J, Xiao X, Li L, Liu C vd. (2014). İnsan normal sperm morfolojisi oranının döngü sonuçları ve yardımcı üreme yöntemleri seçimi üzerindeki etkisinin araştırılması. *Plos Bir.* (9):e113392.

Lishko PV, Kirichok Y, Ren D, Navarro B, Chung JJ, Clapham DE. (2012).The control of male fertility by spermatozoan ion channels. *Annu Rev Physiol* (74):453–475.

Liu Y, DeBoer K, de Kretser DM, O'Donnell L, O'Connor AE, Merriner DJ, Okuda H, Whittle B, Jans DA, Efthymiadis A, McLachlan RI, Ormandy CJ vd., (2015).

LRGUK-1 is required for basal body ve manchette function during spermatogenesis ve male fertility. *Plos Genet* (11):e1005090.

L. Hatami-Baroogh, S. Razavi, H. Zarkesh-Esfahani vd, (2010)."İnsan spermatozoasında leptin reseptörünün değerlendirilmesi", *Reproductive Biology ve Endocrinology*, cilt. 8, hayır. (17).

Li, S, Li, X. (2016). Leptin in normal physiology ve leptin resistance. *Sci Bull* (61):1480–8.

Liu, Y, Ding, Z. Obesity. (2017). A serious etiologic factor for male subfertility in modern society *Reproduction*. (86):R123–31.

Martins, AD, Moreira, AC, Sá, R, Monteiro, MP, Sousa, M, Carvalho, RA, et al..(2015). Leptin modulates human Sertoli cells acetate production ve glycolytic profile: a novel mechanism of obesity-induced male infertility? *Biochim Biophys Acta* (1852):1824–32.

Maruyama SY, Ito M, Ikami Y, Okitsu Y, Ito C, Toshimori K, Fujii W, Yogo K.. (2016). A critical role of solute carrier 22a14 in sperm motility ve male fertility in mice. *Sci Rep* (6):36468.

Menkveld R. (2013).Katı (tygerberg) kriterler kullanılarak sperm morfolojisi değerlendirmesi. Yöntemler Mol Biol. (927):39–50.

Mechanick, JI, Zhao, S, Garvey, WT. Leptin,. (2018). an adipokine with central importance in the global obesity problem. *Glob Heart* (13):113–27.

Moretti E, Collodel G, Mazzi L, Russo I, Giurisato E. (2015). Ultrastructural study of spermatogenesis in KSR2 deficient mice. Transgenic Res (24):741–751.

MG Alves, TT Jesus, M. Sousa, E. Goldberg, BM Silva ve PF Oliveira,. (2016). "Erkek doğurganlığı ve obezite: ghrelin, leptin ve glukagon benzeri peptit-1 farmakolojik olarak alakalı mı?" *Güncel Farmasötik Tasarım,* cilt. 22. 7, s. 783–791.

NO Palmer, HW Bakos, T. Fullston ve M. Lane, (2012). "Erkek doğurganlığı, sperm fonksiyonu ve moleküler kompozisyon üzerindeki obezitenin etkisi", *Spermatogenesis*, vol. 2. 4, s. 253–263.

Nozawa YI, Yao E, Gacayan R, Xu SM, Chuang PT. (2014). Mammalian Fused is essential for sperm head shaping ve periaxonemal structure formation during spermatogenesis. *Dev Biol* (3889:170–180.

Kadıoğlu A. (2021), *Dünya Sağlık Örgütü - İnsan semeninin incelenmesi ve işlenmesi için DSÖ laboratuvar kılavuzu*. Türk Üroloji Derneği,

Öztaş B, Şahin D, Kır H, Kuşkay S, Ateş N. (2021).Genetik absans epilepsisi olan WAG/Rij sıçanlarında leptin, ghrelin ve nöropeptid y'nin spike-dalga deşarj aktivitesi ve bazı biyokimyasal parametreler üzerindeki etkileri. *Nöroimmünoloji Dergisi.* (351) :577454.

Qi Zhang ve K. Zheng, (2016)."Leptin ve erkek kısırlığı arasındaki ilişki", *International Journal of Endocrinology ve Metabolism*, cilt. 36, s. 1673–4157.

Palmer, NO, Bakos, HW, Fullston, T, Lane, M.(2012). Impact of obesity on male fertility, sperm function ve molecular composition. *Spermatogenesis* (2):253–63.

Palmer, NO, Bakos, HW, Owens, JA, Setchell, BP, Lane, M. (2017). Diet ve exercise in an obese mouse fed a high-fat diet improve metabolic health ve reverse perturbed sperm function. *Am J Physiol Endocrinol Metabolism* (302):E768-80.

Paál D, Strejček F, Tvrdá E, Vašíček J, Baláži A, Chrenek P, Massányi P. (2017). Taurine does not improve the quality of shortterm stored rabbit spermatozoa in vitro. *Reprod Domest Anim.* 52:1046-51. PMID: 28695635 DOI: 10.1111/ rda.13022.

Ray PF, Toure A, Metzler-Guillemain C, Mitchell MJ, Arnoult C, Coutton C. (2017). Genetic abnormalities leading to qualitative defects of sperm morphology or function. *Clin Genet* (91):217–232.

Paoli D, Lombardo F, Lenzi A ve Gandini L. (2014) *Sperm cryopreservation: effects on chromatin structure.* Adv Exp Med Biol. 791;137-50.

Perdrix A, Travers A, Clatot F, Sibert L, Mitchell V, Jumeau F, Mace B, Rives N. (2013) Modification of chromosomal architecture in human spermatozoa with large vacuoles. *Andrology* (1):57–66.

Punjabi U, Wyns C, Mahmoud A, Vernelen K, China B, Verheyen G. (2016). Semen analizinin harici kalite değerlendirmesinde on beş yıllık Belçika deneyimi. *Androloji.* (4):1084–93.

Ramos CF ve Zamoner A. (2014) Thyroid hormone ve leptin in the testis. *Front Endocrinol (Lausanne).* (5);198.

Ross MH ve Pawlina W. (2013). *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Ankara: Palme Yayıncılık.

San Agustin JT, Pazour GJ, Witman GB. (2015). Intraflagellar transport is essential for mammalian spermiogenesis but is absent in mature sperm. *Mol Biol Cell* (26) :4358–4372.

Sermondade, N, Faure, C, Fezeu, L, Shayeb, AG, Bonde, JP, Jensen, TK, vd. (2012). BMI in relation to sperm count: an updated systematic review ve collaborative meta-analysis. *Hum Reprod Update* (19):221–31.

Singh AP, Rajender S. (2015). CatSper channel, sperm function ve male fertility. *Reprod Biomed Online* (30):28–38.

Tortora GJ, Derickson BH (2013) *Essentials of Anatomy vePhysiology Ninth Edition.* International Student Version, E-Book Search, Benjamin Cummings Yayıncılık

Vendramini V, Cedenho AP, Miraglia SM ve Spaine DM. (2014). Reproductive function of the male obese Zucker rats: alteration in sperm production ve sperm DNA damage. *Reprod Science.* (21)(2);221-9.

Zhou J, Yang F, Leu NA, Wang PJ. (2012). MNS1 is essential for spermiogenesis ve motile ciliary functions in mice. *Plos Genet*; 8:e1002516.

Wasim, M, Awan, FR, Najam, SS, Khan, AR, Khan, HN. (2016). Role of leptin deficiency, inefficiency, ve leptin receptors in obesity. *Biochem Genet* (54):565–72.

Wang, EY, Huang, Y, Du, QY, Yao, GD, Sun, YP. (2017). Body mass index effects sperm quality: a retrospective study in Northern China. *Asian J Androl* (19):234.

Wisniewski P, Romano RM, Kizys MM, Oliveira KC, Kasamatsu T, Giannocco G, Chiamolera MI, Dias-da-Silva MR, Romano MA. (2015). Adult exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of the hypothalamic-pituitary-testicular axis. *Toxicology*. (2):329:1- 9.

Wogatzky J, Wirleitner B, Stecher A, Vanderzwalmen P, Neyer A, Spitzer D, Schuff M, Schechinger B, Zech NH. (2012). The combination matters—distinct impact of lifestyle factors on sperm quality: a study on semen analysis of 1683 patients according to MSOME criteria. *Reprod Biol Endocrinol* (10):115.

EKLER

Ek-1: Etik Kurul Kararı

Bu belge, Yükseköğretim Kurulu tarafından 19.01.2021 tarihli "Lisansüstü Tezlerin Elektronik Ortamda Toplanması, Düzenlenmesi ve Erişime Açılmasına İlişkin Yönerge" ile bildirilen 6698 Sayılı Kişisel Verilerin Korunması Kanunu kapsamında gizlenmiştir.

ÖZGEÇMİŞ

Hümeyra ÇEBİ

Eğitim

Yüksek Lisans	2023	TC. Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Disiplinler Arası Klinik Embriyoloji Anabilim Dalı/Klinik Embriyoloji Tezli Yüksek Lisans Programı
Lisans	2020	TC. İstanbul Medipol Üniveristesi Sağlık Bilimleri Fakültesi/Ebelik
Lise	2013	75. Yıl Cumhuriyet Anadolu Lisesi