T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÇİNKO EKSİK DİYETLE BESLENEN GEBE SIÇANLARIN ERKEK YAVRULARINDA, ÇİNKO EKSİKLİĞİ ve UYGULAMASININ TESTİS ve KARACİĞERDE RELAKSİN AİLESİ PEPTİDLERİ, OKSİDAN SİSTEM ve TESTOSTERON DÜZEYLERİ ile İLİŞKİLERİ

Hamiyet KÖSE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Danışman

Prof. Dr. ABDULLAH SİVRİKAYA

KONYA-2020

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın yürütülmesi sürecinin her aşamasında bilgilerini, tecrübelerini ve değerli zamanlarını esirgemeyerek bana her fırsatta yardımcı olan danışmanım Sayın Prof. Dr. Abdullah SİVRİKAYA'ya teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitim sürecimde ve tez çalışmamın belirlenmesi sürecinde yardımcı olan Doç. Dr. Esma MENEVŞE'ye teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans eğitim sürecimde ve ratların temini konusunda göstermiş oldukları anlayış, ilgi ve yardım severlikten dolayı Selçuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI'ya ve Fizyoloji Anabilim Dalı ekibinden Arş. Gör. Saltuk Buğra BALTACI'ya, Arş. Gör. Dr. Derviş DAŞDELEN'e ve Arş. Gör. Ömer ÜNAL'a saygılarımla teşekkürlerimi sunarım.

Bölümümüz hocalarından Prof. Dr. Ali ÜNLÜ, Prof. Dr. F. Hümeyra YERLİKAYA AYDEMİR, Prof. Dr. Hüsamettin VATANSEV, Doç. Dr. Sedat ABUŞOĞLU, Doç. Dr. Bahadır ÖZTÜRK'e eğitim sürecimdeki katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tüm eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen her zaman yanımda olan sevgili aileme şükranlarımı sunuyorum.

İÇİNDEKİLER **Sayfa**

SİMGELER VE KISALTMALAR ..... **v**

ÖZET ..... **vii**

SUMMARY ..... **ix**

1. GİRİŞ **1**

1.1.Genital Sistem ve Gelişimi 1

1.1.1.Farklanmamış Gonadlar 1

1.1.2.Cinsiyet Belirlenmesi 1

1.1.3.Fetal Testis Gelişimi 2

1.1.4.Testislerin İnmesi 3

1.2.Genital Boşaltım Yollarının Gelişimi 4

1.2.1.Farklanmamış Evre 4

1.2.2.Erkek Genital Boşaltım Yolları ve Bezlerinin Gelişmesi 4

1.2.3.Erkek Dış Genitallerin Gelişimi 5

1.3.Testis 7

1.3.1.Testis Anatomisi 7

1.3.2.Testis Histolojisi 7

1.3.3.Testis Fizyolojisi 17

1.4. Karaciğer 19

1.4.1. Karaciğer Anatomisi 19

1.4.2. Karaciğer Embriyolojisi 20

1.4.3. Karaciğer Histolojisi 21

1.4.4. Karaciğer Fizyolojisi 22

1.4.5. Karaciğer Hasarı 23

1.4.6. Karaciğer Rejenerasyon 23

1.5. Prepuberte ve Puberte 24

1.5.1. Erkeklerde Prepuberte ve Puberte 24

1.5.2.Erkek Ratlarda Puberte 33
1.6. Fetilite 34
1.6.1.İnsanlarda Fertilite 34
1.6.2.Ratlarda Fertilite 35
1.6.3. Erkeklerde Fertiliteyi Etkileyen Faktörler 36
1.7. Reaktif Oksijen Türleri 37
1.7.1.Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres 38
1.7.2. Oksidatif Stres Vve Sperm Fonksiyonu 38
1.7.3. Oksidatif Stres ve Karaciğer Fonksiyonu 39
1.7.4. Oksidatif Stres ve Proteinler 39
1.7.5. Lipit Peroksidasyonu 39
1.7.6. Malondialdehit 40
1.7.7. Raktif Oksijen Türleri Ve Antioksidan Sistem 41
1.7.8.Glutatyon 43
1.8. Çinko 45
1.8.1. Çinko'nun Puberte, Fertilite, Karaciğer Fonksiyonu ve ROS ile ilişkisi . 45
1.9. RelaksinPeptid Ailesi ve İnsülin Benzeri Peptidler 47
1.9.1. İnsülin Benzeri Peptid 3 47
1.9.2. İnsülin Benzeri Polipeptid 7 51
1.9.3. Relaksin ailesi peptid reseptörü 1 52
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER 56
2.1. Gereç 56
2.1.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma 56
2.1.2. Cerrahi İşlemler 57
2.1.3. Dokuların Muhafaza Edilmesi 57
2.1.4. Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Malzemeler 57
2.1.5.Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Reaktifler 58

2.2. Yöntem 58
2.2.1. Dokuların Homojenizasyonu 58
2.2.2. Karaciğer ve Testis Dokularında MDA Düzeylerinin Ölçümü 59
2.2.3. Karaciğer ve Testis Dokularında GSH Düzeylerinin Ölçümü 59
2.2.4. Karaciğer ve Testis Dokularında Protein Düzeylerinin Ölçümü 60
2.2.5. Karaciğer ve Testis Dokularında INSL3 Düzeylerinin Ölçümü 60
2.2.6. Karaciğer ve Testis Dokularında INSL7 (Relaksin-3) Düzeylerinin Ölçümü 62
2.2.7. Testis Dokusunda RXFP1 Düzeylerinin Ölçümü 64
2.2.8. Testis Dokusunda Testosteron Düzeylerinin Ölçümü 66
2.3. İstatistiksel Değerlendirmeler 68
3. BULGULAR 69
4. TARTIŞMA 82
5. SONUÇ VE ÖNERİLER 93
5.1. Sonuçlar 93
5.2. Öneriler 94
6. KAYNAKLAR 96
7. EKLER 117
7.1.EK-A: Etik Kurul Onayı 117
8. TURNİTİN RAPORU 118
9. ÖZGEÇMİŞ 125

SİMGELER VE KISALTMALAR

µm	Mikrometre
ABP	Androjen bağlayıcı protein
DTNB	5-5'-dithiobis (2-nitrobenzoic acid)
EC	Hücre dışı
FSH	Folikül uyarıcı hormone
GSH	Glutatyon
GnRH	Gonadotropin salgılatıcı hormone
GSSG	Okside glutatyon
HHG	Hipotalamo-hipofizer-gonad
HPGA	Hipotalamo-pitüiter-gonadal aks
IC	Hücre içi
INSL3	İnsülin Benzeri Peptid 3
INSL7 (Relaksin-3)	İnsülin Benzeri Peptid 7
LDLa	Lipoprotein a
LGR	Lösin bakımından zengin reseptör
LH	Lüteinleştirici hormone
LHR	LH reseptörü
LPO	Lipid peroksidasyonu
MIS	Mullerian inhibitör hormon
ROS	Reaktif oksijen türleri
RXFP1	Relaksin ailesi peptid reseptörü 1
RXFP2	Relaksin ailesi peptid reseptörü 2
–SH	Tiyol
SOD	Süperoksit dismutaz

SP	Sinyal peptide
TC	Teka hücreleri
TM	Trans membrane
Zn	Çinko

ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Çinko Eksik Diyetle Beslenen Gebe Sıçanların Erkek Yavrularında, Çinko Eksikliği ve Uygulamasının Testis ve Karaciğerde Relaksin Ailesi Peptidleri, Oksidan Sistem ve Testosteron Düzeyleri İle İlişkileri

Hamiyet KÖSE

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı

Danışman

Prof. Dr. Abdullah SİVRİKAYA

YÜKSEK LİSANS TEZİ/KONYA-2020

Memelilerde hayat zigottan embriyonun oluşması ve belli bir süre sonunda canlının anneden doğması ile başlamaktadır. Fetal dönem, gebeliğin son dönemidir ve yavrunun dünyaya gelmeden önce anne karnında doku ve organlarının olgunlaşması ile karakterizedir. Testisler, fetal erkeklik ve erkek gelişiminin temel endokrin düzenleyicileridir ve gebelik sırasında düzenlemeye tabidir. Spermatogonyumların puberte döneminde değişikliklerin başında germ hücre yüzeylerinde oluşan proteinlerin sentezi gelir.

Çinko; Protein-karbonhidrat-lipid metabolizmasının, normal büyüme ve gelişmeyle ilişkili bir dizi biyolojik işlemin düzenlenmesinde önemlidir. Pankreas dokusunda çok miktarda bulunan çinko, insülinin etkisinin düzenlenmesinde rol oynar.

Çinkonun ergenliğe girişteki kritik rollerinin bilinmesi düşüncesinden yola çıkarak, çinko eksik diyetle beslenen gebe ratlardan doğan erkek ratların, ergenlik geçişinde önemli olan cinsiyet hormonu ile insülin benzeri proteinlerin (relaksin ailesi peptidleri) üzerindeki etkileri, oksidan sistem üzerindeki değişimlerin araştırılması amaçlandı. Bunun yanı sıra, pubertal dönemde çinko eksikliği ve uygulamalarında testis ve karaciğerdeki söz konusu biyokimyasal yolakların nasıl işlediği ve düzenlendiği aydınlatılmaya çalışıldı.

Tez çalışması, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde bakımı ve kesimi gerçekleştirilen sıçanlar üzerinde gerçekleştirilmiştir. Erkek yavru sıçanlar için 4 grup planlanmıştır. Grup I; Kontrol grubunu oluşturan erkek sıçanlardan, grup II; Çinko eksik diyetle beslenen erkek sıçanlardan, grup III; Normal diyetle beslenen erkek sıçanlardan, grup IV; Çinko takviyeli diyetle beslenen erkek sıçanlardan oluşturulmuştur.

Testis dokusunda grup 4'ün INSL3 düzeyleri, diğer gruplardan istatistisel olarak yüksek bulundu ($P<0,05$). Grup 4'ün INSL7 düzeyleri, grup 2 ve grup 1'e göre önemli düzeyde yüksekti ($P<0,05$). Grup 4'ün Reseptör1 düzeyleri grup 3 ve grup 1'e göre önemli düzeyde yüksek bulundu

($P<0,05$). Grup 1'de Reseptör1 düzeyleri grup 2'ye göre anlamlı düzeyde yüksek, grup 4'ün testosteron düzeyleri, grup 2'ye göre önemli düzeyde yüksek tespit edildi ($P<0,05$).

Karaciğer dokusunda grup 4'ün INSL3 düzeyleri, grup 1 ve grup 2'den anlamlı düzeyde yüksek, grup 3'ün INSL7 düzeyleri ise grup 1'den anlamlı düzeyde yüksekti ($P<0,05$).

Çalışmamızın prepubertal ve pubertal dönemlerde Zn, INSL3, INSL7, RXFP1, testosteron parametrelerinin spermatogenez aşamasından itibaren aydınlatılması ve olası ilişkilerinin sunulması infertilitenin erken tanı ve tedavisine yön vermesi bakımından faydalı olduğunu düşünmekteyiz.

Anahtar Sözcükler: Fertilizasyon, Spermatogenez, Prepuberte, Puberte, Relaksin Peptid Ailesi ve Insülin Benzeri Peptidler, Testosteron, Çinko Sülfat

SUMMARY

REPUBLIC of TURKEY

SELÇUK UNIVERSITY

HEALTH SCIENCES INSTITUTE

The Relationship Of Zinc Deficiency And Supplememation On Testis And Liver Relaxin Family Peptides, Oxidant System And Testosterone Levels In The Male Offspring Pregnant Rats Fed With Zinc Deficient Diet

Hamiyet KÖSE

Department of Medical Biyochemistry

Consultant

Professor Dr. Abdullah SİVRİKAYA

MASTER THESIS / KONYA-2020

Life in mammals begins with the formation of the embryo from the zygote and after a certain period of time the creature is born from the mother. The fetal period is the last period of pregnancy and is characterized by the maturation of the tissues and organs in the womb before the baby is born. Testicles are the main endocrine regulators of fetal masculinity and male development and are subject to regulation during pregnancy. At the beginning of the changes in the puberty period of spermatogonia comes the synthesis of proteins formed on germ cell surfaces.

Zinc; It is important in the regulation of protein-carbohydrate-lipid metabolism, a set of biological processes associated with normal growth and development. Zinc, which is present in large amounts in pancreatic tissue, plays a role in the regulation of the effect of insulin.

Based on the idea of knowing the critical roles of zinc in entering puberty, it was aimed to investigate the effects of male rats born from pregnant rats fed zinc deficient diet on sex hormone and insulin-like proteins (relaxin family peptides), which are important in the transition to puberty, and the changes on the oxidant system. In addition to this, it was tried to be elucidated how the biochemical pathways in the testis and liver in the pubertal period zinc deficiency and its applications function and regulate.

The thesis study was carried out on rats that were cared for and slaughtered in Selcuk University Experimental Medicine Research and Application Center. 4 groups were planned for male baby rats. Group I; From the male rats that make up the control group, group II; From male rats fed zinc deficient diet, group III; From male rats fed normal diet, group IV; It was created from male rats fed a zinc-fortified diet.

INSL3 levels of group 4 in testicular tissue were statistically higher than the other groups ($P < 0.05$). INSL7 levels of group 4 were significantly higher than group 2 and group 1 ($P < 0.05$). Receptor1 levels of group 4 were significantly higher than group 3 and group 1. ($P < 0.05$). Receptor1

levels in group 1 were found to be significantly higher than group 2, and testosterone levels in group 4 were significantly higher than group 2 ($P < 0.05$).

In liver tissue, INSL3 levels of group 4 were significantly higher than group 1 and group 2, and INSL7 levels of group 3 were significantly higher than group 1 ($P < 0.05$).

In our study, we think that it is beneficial to clarify the Zn, INSL3, INSL7, RXFP1, and testosterone parameters in prepubertal and pubertal periods from the spermatogenesis stage and present their possible relationships in terms of directing the early diagnosis and treatment of infertility.

Keywords: Fertilization, Spermatogenesis, Prepuberte, Puberty, Relaxin Peptide Family and Insulin-Like Polypeptides, Testosterone, Zinc Sulphate

1. GİRİŞ

1.1.Genital Sistem ve Gelişimi

Embriyo cinsiyetinin genetik ve kromozom yapısı fertilizasyon anında belirleniyor olmasına rağmen erkek ve dişi morfolojik özellikleri embriyonik dönemin 6-7. haftasına kadar gelişime başlamaz. Testisler, farede ortalama 12 gün, insanda ise 6-7 hafta sonrasında genital sırttan ayrıldığı bilinmektedir. Bu işlem, genital sistemin erken evresinde her iki cinste benzer özelliktedir ve bu evre 'seksüel gelişimin farklanmamış evresi' olarak bilinir. Gonad gelişimi ilk olarak 5. haftada mezonefrozun medialinde, mezotelde kalınlaşma ile başlar. Bu epitelin ve alt tarafındaki mezenşimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde genital kabartı oluşur. Bu kabarıklıklar oluşmadığı durumda gonadlar gelişemez (Moore and Persaud 2002, Sadler 2005, Piprek 2010).

Genital kabarıklığın sölomik epiteli prolifere olur ve mezenşim içine girerler. Burada primitif cinsiyet kadranları olan gelişigüzel şekilli kordonları meydana getirirler. Erkek ve dişi embriyolarındaki bu kordonlar yüzey epiteli ile kontaktır. Bu dönemde erkek ve dişi gonadları ayırt edilememektedir ve 'farklanmamış gonad' adıyla ifade edilir. Gonadların over veya testise farklanması aşamasında çeşitli gen aktivasyonlarının ve hormon reseptör indükleyicilerinin etkisi vardır (Sadler 2005).

1.1.1.Farklanmamış Gonadlar

Temel germ hücrelerinin göçleri esnasında ya da göçlerinden hemen önce gonad çıkıntısının sölom epiteli yeniden artış gösterip tabanındaki mezenşime yayılarak temel germ kordonlarını oluştururlar. Embriyonun cinsiyetini ovumu dölleyen sperm türü belirlese de morfolojik özellikler embriyo döneminin 7. haftasına kadar her iki cinste de benzerdir. Bu benzerlikten dolayı bu evredeki gonadlara 'farklanmamış gonad' denilmektedir (Şeftalioğlu 1998, Ata 2009, Carlos and Carneiro 2009).

1.1.2.Cinsiyet Belirlenmesi

Cinsiyet kromozomları X ve Y olarak ifade edilir. Diploid dişi hücrelerde XX kromozomu, erkek hücrelerde XY kromozomu bulunur. Gametogenez aşamasında normal olan tüm ovumlarda sadece X kromozomu (XX) bulunur, fakat normal

spermlerin yarısı X, yarısı Y kromozomu (XY) içerir. Y kromozomu bulunduran sperm ovumu döllediğinde XY yapısı meydana gelir ve gonadların medullası testislere farklılanır yani zigot genetik olarak erkeğe dönüşür (Şeftalioğlu 1998, Moore and Persaud 2002, Barrett, Barman et al. 2015).

1.1.3.Fetal Testis Gelişimi

Primer seks kordonları testis belirleyici faktör etkisiyle kalınlaşarak gonadın medullasına uzanır. Meydana gelen bu kordonlar 'Testis' adını alır. Testis kordonları hücre kordonlarına ayrışarak rete testisleri meydana getirir. 6. haftada sertoli hücreleri, 8. haftada ise testiküler hormon olan insülin benzeri peptid 3 (INSL3) ve testosteron salgılayan Leydig hücreleri oluşmaktadır. Normal erkek iç ve dış genital organların meydana gelebilmesi bu hormonların gerekli miktarda, doğru lokasyonda ve ihtiyaç duyulan zaman diliminde salgılanmasına bağlıdır. Embriyo gelişiminin 12. haftasında tunika albugiena oluşur ve testis kordonları yüzey epiteli ile bağlantılarını koparırlar. Testis kordonları tubulirektileri oluşturur. Üretilen testosteron hormonu ile mezonefrik kanalın distal parçası duktus epididimisi oluşturur. Mezonefrik kanalın diğer bölümlerinden duktus deferens ve duktus ejaculatorious oluşur. Böylece dış genital organların gelişimi uyarılır (Husmann and Levy 1995, Şeftalioğlu 1998, Sadler 2005).

Sertoli hücreleri, antimüllerian hormonu puberteye kadar salgılar. Puberteye kadar gelişmeyen testis kordon lümenleri puberte ile açılır ve seminifer tübülüsleri meydana getirirler. Seminifer tübüller, rete testis tübüllerine dâhil olur. Rete testis, mezonefrik tübül ile duktuli efferentesleri meydana getirirler (Şeftalioğlu 1998, Sadler 2005).

Büyüyen testis, gerileyen mezonefrozdan ayrılır mezorkium ile asılı kalır. Gelişen testisin yüzey epiteli yassılaşır ve dış yüzeyini tek sıra mezotelium oluşturur (Şeftalioğlu 1998). Kısaca testis gelişiminde INSL3, erkek wolf kanal gelişimi ve gubernakulumun maskülinizasyonu için gereklidir (Husmann and Levy 1995).

Fetal büyümeyi etkileyen faktörler; annenin kilosu, ilaç kullanımı, stresi, yaşı, perinatal enfeksiyonların yanı sıra, fetüse olan kan akımı ve çevresel etkilerde (radyasyon, hava, su) dâhil edilebilir (Çetin and Malas 2005).

1.1.4.Testislerin İnmesi

Spermatogenezin normal seyrinde meydana gelebilmesi için testislerin skrotuma inmesi gerekir (Moore and Persaud 2002). İntakt bir hipotalamo-pitüiter-gonadal aks (HPGA), normal testiküler iniş için ilk koşuldur (Foresta, Zuccarello et al. 2008).

Bireylerde testislerin ilk konumu karın arka duvarı üzerindedir. 4. ay itibariyle testisler inmeye başlar ve 28. haftada derin inguinal halkaya ve 42. haftada skrotuma iner (Moore and Persaud 2002). Ratlarda ise 15-51. günler aralığında iner (Kandemir 2018). Testisler 6. haftada mezonefrozun medialinde bulunur. Fetüs ve abdominal kavitenin genişlemesi sonucu over yukarı çıkar ama testisler yerinde sabittir. Over ve testisin hareketlilik açısından birbirinden ayrılmalarının temel nedeni gubernakulumdur. Gubernakulum gelişimi erkekte mezenkimal proliferasyon ve hyalürinik asit artışı sayesinde olur. Testislerin transabdominal inişi esnasındaki gubernakulum gelişimini INSL3 baskılamaktadır (Husmann and Levy 1995). Rat testisinin karın duvarında asılı kalması görevini üstlenen bir başka ligamanın (kraniyal gonadal süspansör ligaman) olduğu ve testosteron sayesinde bu ligamanın regrese olduğu bildirilmektedir. Bu durum testisin kaudal yönde hareketine yardımcı olmaktadır. İnsanlarda kraniyal süspansör ligaman bulunmasına rağmen işlevsizdir (Van der Schoot and Elger 1992). Yani androjenler kraniyal süspansör gonadal ligamanın regrese olmasını ve böylece testisin internal inguinal halka seviyesinde sabitlenmesini; INSL3 ise gubernakulumun gelişimini sağlar.

Testisler 3. ve 7. aylarda sabittir. Bu süreçte prosessus vajinalis ve gubernakulum testiküler inişi sağlamak amacıyla yol hazırlar (Heyns and Hutson 1995). Testiküler iniş 24. ve 35. haftalarda tamamlanır. Bu süreçte testosteron, gubernakulumun visko elastik özelliğini minimize eder (Heyns 1987, Husmann and Levy 1995).

Doğumda inmemiş olan testisin inişi ilk 3 aylık süreçte hipotalamo-hipofizer aks üzerindeki endokrin evreye bağımlı negatif feedback'in etkisini kaybetmesiyle sekonder gelişen testosteron patlaması (mini puberte) ile gelişebilir (Job, Toublanc et al. 1987). Postnatal serum testosteronlarındaki artış, inmiş testislerin olduğu çocuklarda inmemiş testislere sahip olanlardan daha fazladır (Gendrel, Roger et al. 1980).

- **Testislerin inmesi ve INSL3 ilişkisi**

Testislerin inişi iki aşamada gerçekleşir. İlk aşamada gubernakulumun olgunlaşmasını sağlayan INSL3 rol oynar. İkinci aşamada testosteron, genitofemoral sinir ucundan kalsitonin gen ilişkili peptid salınımını uyarır, kalsitonin gen ilişkili peptid ise ikinci fazdaki gubernakular migrasyonu uyarır (Hutson and Hasthorpe 2005, Hutson, Balic et al. 2010).

INSL3, fetal testis tarafından üretilebilen, fetal overler tarafından üretilemeyen parakrin etkili hormondur. INSL3 üreten Leydig hücreleri 8. haftada belirmektedir. Bu reseptör gubernakulumda eksprese edilmektedir ve G protein reseptör ailesinin üyesi olup, nadiren GREAT ismiyle de anılır. INSL3 ile inmemiş testis tespiti yapılabilmektedir. Gubernakulum, INSL3'ün reseptörleri ile uyarılması sayesinde büyür (Husmann and Levy 1995).

1.2.Genital Boşaltım Yollarının Gelişimi

1.2.1.Farklanmamış Evre

Erkek ve dişi embriyo gelişiminin 5-6. haftalarında bir çift mezonefroz (Wolffian) ve bir çift paramezonefroz (Mullerian) kanalı mevcuttur. Bu zaman dilimi genital boşaltma yolaklarının farklanmamış evresi olarak tanımlanmaktadır (Şeftalioğlu 1998).

Mezonefroz yolakları, ürogenital kabartılarının dış yanında, mezonefroz tübcüklerinin, pronefroz yolaklarına açılmasıyla oluşmaktadır. Mezonefroz böbrekte kranialinden başlar ve ürogenitalsinus'a açılır. Paramezonefroz kanalları kranial yardımıyla sülom boşluğuna açılır ve mezonefroz kanallarının dış yanını paralel izler (kranial dikey parçaları), ardından yatay kestikten sonra kaudomedial yönde orta noktada sağ ve sol taraftan kendisine benzeyen parçalarla birleştikten sonra Y şeklinde uterovaginal kanalı meydana getirirler (Şeftalioğlu 1998).

1.2.2.Erkek Genital Boşaltım Yolları ve Bezlerinin Gelişmesi

Fetal testislerin sertoli hücrelerinden mullerian inhibitör (MIS) hormonu salgılanır. Testosteron salgılanması koryonik gonadotropik hormon tarafından yönetilir. Testosteron, mezonefrik yolaklardan erkek genitalduktus yapımını sağlarken MIS ise yok olmasına sebeptir. Mezonefrozun dejenere olabilen bir yapı

olmasından dolayı bir kısmı kalıcıdır ve bunlar efferent duktulileri (duktuli efferentes) meydana getirmektedir (Junqueira, Carneiro et al. 2005). Meydana gelen duktuliler, mezonefrik duktusa dökülür ayrıca mezonefrik duktus duktus epididimise dönüşür. Mezonefrik duktuslardan dışa doğru seminal veziküller oluşur. Bu veziküller spermlerin beslenebilmesi için sekresyonlar yapar (Moore, Persaud et al. 2018).

1.2.3.Erkek Dış Genitallerin Gelişimi

Embriyonun gelişmeye başlamasını takiben 8. haftasında Leydig hücreleri testosteron üretir. Fallusun genişlemesi ve uzaması ile penis meydana gelir. Peniste ventral yüzey üzerinde bulunan ürogenital tabakalar, ürogenital oluğun lateral yüzeyini meydana getirirler. Penisteki ventralin üst tabakanın başından sonuna kadar, ürogenital tabakalar, karşılıklı etkileşim ile spongioz üretrayı oluşturur ve penis haznesine dâhil edilir (Moore and Persaud 2002, Sadler 2005, Sahinturk, Guclu et al. 2007).

Normal erkek fenotipi (iç ve dış genital organlar) için INSL3 hormonunun doğru zaman ve lokalizasyonda ve gerekli miktarda salgılanmalıdır (Husmann and Levy 1995).

Tablo 1.1. Erkek ürogenital yapının yetişkindeki karşılığı ve kalıntıları (Husmann and Levy 1995, Moore and Persaud 2002, Sadler 2005).

Ürogenital embriyonik yapı	**Erkek**
Farklanmamış gonad	Testis
Korteks	Seminifer tübüller
Medulla	Rete testis
Gubernakulum	Gubernakulum testis
Mezonefrik tübüller	Ductulie fferentes, Paradidimis
Mezonefrik duktus	Appendiks epididimis, Duktus epididimis, Duktus deferens, Üreter, Pelvis, Kaliksler, Toplayıcı tübüller, Ejekülatuar duktus, Seminal veziküller
Paramezonefrik duktus	Appendiks testis
Ürogenital sinüs	Mesane, Üretra (naviküler fossa hariç), Prostatikutrikül, Prostat bezi, Bulboüretral bezler
Sinüs tüberkülü	Seminal kollikulus
Fallus	Penis
Ürogenital katlantılar	Penisin ventral yüzü
Labiaskrotal şişkinlikler	Skrotum

1.3.Testis

1.3.1.Testis Anatomisi

Memeli hayvanlarda testisler karın boşluğunun dışında perineal bölgede skrotum kesesinde yumurta şeklindeki bir organdır (Kierszenbaum 2006). Testislerin skrotumda bulunması vücut ile skrotum sıcaklık farklılığından kaynaklanmaktadır (Short 1997). Testisler spermatogenezis için vücut sıcaklığından 3-4ºC daha az sıcaklığa sahiptirler (Atal 2014). Erkek üreme sisteminin birincil cinsiyet organı olan testisler spermatogenez ile sperm üreterek ekzokrin işlevini, testosteron hormonlarını salgılayarak ise endokrin işlevlerini gerçekleştirirler (Gnessi, Fabbri et al. 1997).

Testislerin üst kenarında appendix testis denilen yapı vardır. Epididimis testislerin arka uçlarını sarar; epididimisin iç yanı boyunca yer alan funiculus spermaticus, margoposterior'dadır. Testislerin her iki yüzü, ön kenarı ve uçları visceral periton ile örtülüdür. Periton arka kenarı sadece lateral kısmını örtmektedir (Şimşek 1992, Sancak and Cumhur 1999).

Testisler fetal dönemde karın boşluğunun içerisinde, fascia transversalis ve periton arasında olgunlaşır, doğumdan önce canalisin guinalis'ten ilerleyerek skrotum içine iner. Testislerde puberte dönemi ile sperm üretimi başlar ve ileri yaşlara kadar devam eder.

Tunika albuginea testisleri örten, elastik olmayan fibröz katmandır. Testisin içine bu katman arka uçtan girerek vertikal alan oluşturur. Bu alana mediastinum testis adı verilir. Rete testis'in ön ve yan taraflarından septula testis denilen uzantılar vardır. Bu uzantılar testisi lobçuklara böler. Testis kıvrımlı yapısı sebebiyle kanalcıkları meydana getirir. Bu kanalcıklar rete testisi meydana getirir. Spermiumlar lobuli testislerde oluşur, rete testisten ductuli efferentes testis yardımıyla epididimise gelir ve burada olgunlaşır (Şimşek 1992, Aktümsek 2004, Arıncı and Elhan 2006, Moore and Agur 2006).

1.3.2.Testis Histolojisi

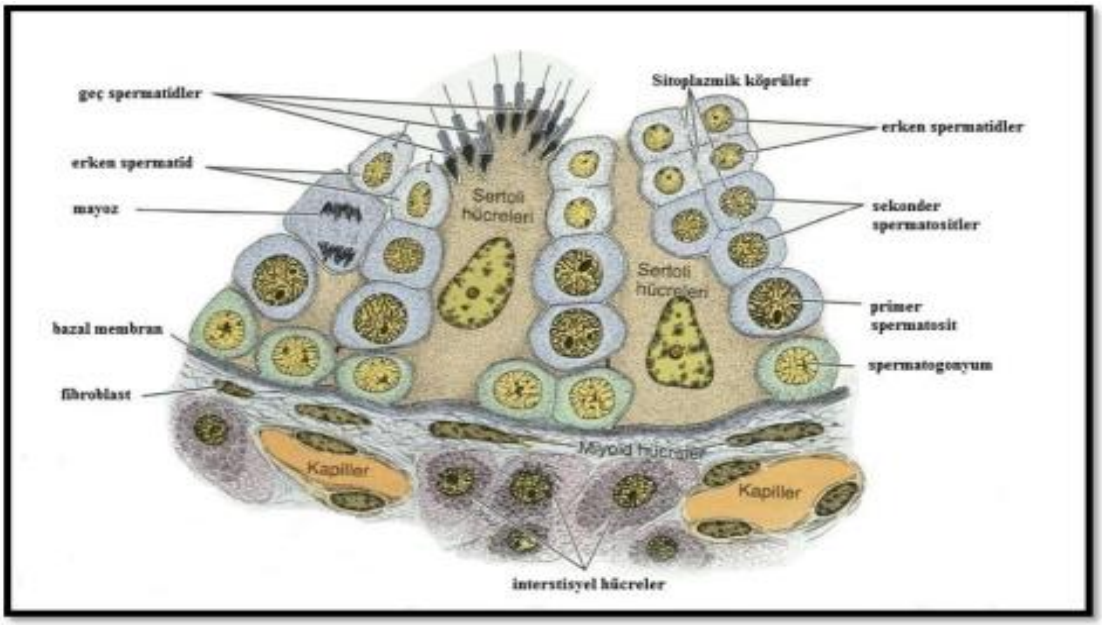
Erkek üreme sistemi, skrotum kesesinde asılı bulunan testisten, penisten, genital kanallardan ve yardımcı bezlerden meydana gelir (Kierszenbaum 2006, Pawlina and Ross 2018).

Testislerin hem endokrin hemde ekzokrin fonksiyonu bulunmaktadır. Ekzokrin fonksiyonunu; puberte döneminde spermiyum üretimi sağlayarak, endokrin fonksiyonunu ise androjen hormonlarının salgı ve depolaması ile gerçekleştirir (Gartner and Hiatt 2006).

- **Seminifer Tübüller**

Testislerin her birinde ortalama 250-1000 adet seminifer tübül bulunmaktadır (Junqueira and Carneiro 2009). Her testiste tübüllerin total boyu 250 metredir. Kıvrımlı olan bu tübüller uçlarda düz tübüller halini alarak devam eder. Seminifertübüller, düz tübüller yardımıyla rete testise bağlanır. Rete testis, seminifer epitel ürünleri olan testiküler sperm, iyonlar ve proteinleri toplayan kanallar topluluğudur (Abraham 2006). Rete testis kanallardan anastomoz yapanlar duktuli efferentes aracılığıyla epididimin baş bölümüne bağlanır (Hassa 2003, Junqueira and Carneiro 2009).

Seminifer tübüller belirgin bazal membran, fibröz bağ dokusu kılıfı ve seminifer epitel ya da karmaşık germinalden oluşur. Seminifer tübüller arasında olan boşluk lenfatik kanallar veya sinüzoidler, kan damarları, makrofajlar ve androjen üretimi sağlayan hücre grupları olan interstiyel (Leydig) hücreler tarafından doldurulur (Şekil 1.1) (Abraham 2006, Gartner and Hiatt 2006, Junqueira and Carneiro 2009).



Şekil 1.1. Seminifer Tübül ve İntersiyel Bağ Dokusunun Yapısı (Junqueira and Carneiro 2009)

Seminifer epitelde iki tür hücre bulunur;

1. Sertoli hücreleri
2. Spermatogenez serisini meydana getiren hücreler

- Spermatogonyumlar
- Spermatositler
- Spermatidler
- Spermatozoonlar

Spermatogenez serisindeki hücrelerin görevleri spermatositleri üretmektir. Bu döngüde, mayoz ve mitoz hücre bölünmeler ile spermatidler oluşur ve bu süreç sonunda spermatozoonlara farklılaşır. Bu farklılaşma basamağına spermiyogenez denir (Carter, True et al. 1997, Junqueira and Carneiro 2009).

- **Sertoli hücreleri**

Sertoli hücreleri, bazal membrandan seminifer tübül boşluğuna uzanan piramidal hücreler olmakla beraber seminifer tübül lümeniyle tübüller arası boşluk arasında köprü görevi üstlenen seminifer epitelyumun germinal olmayan elemanıdır. Sertoli hücreleri kemirgenlerde testis somatik hücreler ile beraber koelomik epitelden üretilir (Karl and Capel 1998, Abraham 2006, Junqueira and Carneiro 2009, Pawlina and Ross 2018).

Bu hücreler puberte dönemine kadar seminifer epitel dokusunun baskın hücresidir. Puberte döneminden sonra postmitotiktir. Seminifer tübül hücrelerinin ortalama %10'luk kısmı sertoli hücreleridir. İleri yaşlardaki erkeklerin spermatojenik hücre popülasyonu azaldığında, sertoli hücreleri yine epitel yapının temel elemanı haline gelmektedir (Abraham 2006, Pawlina and Ross 2018).

Erişkin ratlarda doğurganlık, yetişkin Sertoli hücrelerinin son sayılarına bağlıdır. Sertoli hücre proliferasyonu, fetal ve prepubertal dönem süresince ortaya çıkmaktadır ve fetüste meydana gelen proliferasyon değişikliklerinin yetişkin dönem içinde önemli sonuçları olduğu bilinmektedir (Auharek, de Franca et al. 2010).

Sertoli hücrelerinin görevleri:

- Spermiyogenezde spermatidlerin atılımını sağladığı rezidüel (Agarwal, Makker et al.) cisimciklerin fagosite edilmesini sağlamak,
- Spermatojenik hücrelerin gelişmesini desteklemek ve korumak,

- Olgunlaşmış spermatidlerin aktin aracılı kasılmalar ile seminifer tübül lümenine geçişini kolaylaştırmak,
- Spermin taşınması için seminifer tübül lümenine genital kanallar yönünde akan protein yönünden zengin olan sıvı salgılamak,
- Gelişme aşamasındaki spermatidler ve spermatositleri otoimmün tepkimelerden koruyan kan-testis bariyeriyle kandaki tehlikeli etkenlere karşı koruma sağlamak,
- Testiküler transferrinin sentez ve salgılanmasını sağlamak,
- Aktivin ve inhibin peptidlerini salgılayıp gonadotropin salgılatıcı faktörün (GnRH) ve folikül uyaran hormonunun (FSH) salgılanmasında pozitif ve negatif feedback etki gösterilmesini sağlamak,
- Spermatogenezde önemli olan testosteronun konsantrasyonunu arttırması için androjen bağlayıcı proteini (ABP) salgılamak,
- Antimüllerian hormon üreterek fetüste Müller kanallarının gerilemesini sağlamak (Fawcett and Raviola 1994, Abraham 2006, Gartner and Hiatt 2006, Kierszenbaum 2006).

Memelilerde sperm salınımı büyük oranda, sertoli hücresinin apeksinde olan mikro filamentlerin ve ayrıca mikro tübüllerin meydana getirdiği hücresel hareketler sonucu oluşur (Erdoğan, Hatiboğlu et al. 1996).

- **Spermatogenezis**

Spermatogenezis, puberte döneminden itibaren başlayan mayoz ve mitoz bölünmeleri kapsayan spermatozoon üretilme sürecidir. Spermatogenezis süreci üç faza ayrılmaktadır:

1. Spermatogonial faz
2. Spermtosit fazı (mayoz)
3. Spermatid fazı (spermiyogenez) (Ovalle, Netter et al. 2009).

Spermatogonyum

Spermatogenezis süresi boyunca oluşan ilk hücre spermatogonyumlardır. Sertoli hücreleri arasında olan tıkayıcı bağlantıların alt kısmında yani kan-testis bariyerinin dış kısmında bulunmaktadır (Hassa 2003, Ross and Pawlina 2011).

Puberte döneminin başlamasıyla spermatogonyum hücreler mitoz ile bölünüp çoğalarak yeni hücreleri oluştururlar.

İki morfolojik spermatogonyal hücre tipi vardır:

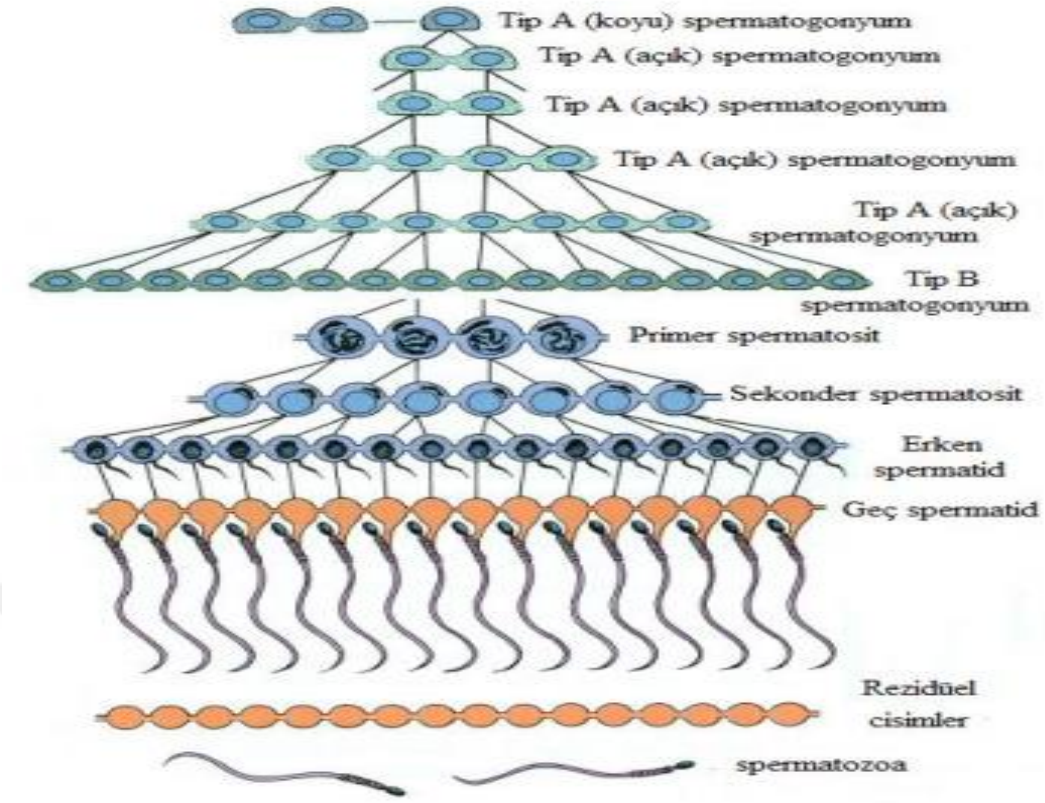
- Tip A Spermatogonyum
- Tip B Spermatogonyum

Spermatogonyumlar çoğunlukla Ais (Aisolated) diğer adıyla Tip A spermatogonyum olan köken hücre yapılarından oluşur. A tipi spermatogonyumlar (A açık ve A koyu spermatogonyumlar) kök hücre yapısıyla bölünmeye devam edebilir ya da mitoz bölünme esnasında farklılaşarak B tipi spermatogonyumları meydana getirebilirler. Tip B spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan temel hücre yapılarıdır ve preleptoten spermatositleri meydana getirmeleriyle mayoz bölünme başlar. Böylece spermatogenezis evresine girilmiş olur (Abraham 2006, Gartner and Hiatt 2006, Junqueira and Carneiro 2009, Ross and Pawlina 2011).

Primer ve sekonder spermatositler

Doğru ve yeterli mitoz bölünmeler gerçekleştirilirse B tipi spermatogonyumlar, DNA sentezini tamamlamanın ardından mayoz bölünmedeki profaz aşamasına dâhil olurlar. Spermatosit hücrelerindeki bu son DNA sentez aktivetisi ile mayozdakiprofaz I evresindeki primer spermatosit DNA miktarının spermatogonyuma göre iki kat fazla olacağı belirlenir. Primer spermatositlerde 46 kromozom bulunmaktadır. Profaz süresi ortalama 22 gün olduğu için spermatositlerin hemen hemen hepsini bu aşamada görmek mümkündür. Spermatogenez sürecindeki en büyük hücrelerin primer spermatositler olmasının yanı sıra bu hücreler çekirdeklerinde bulunan kromozomlarla bilinirler.

Mayoz I'de 46 yerine 23 kromozom içeren sekonder spermatositler meydana gelir. Bu spermatositlerin her fazda uzun süre kalmadan hızlıca mayoz II bölünme aşamasına geçen testis kesitlerinde gözlenemeyecek kadar kısa ömürlüdürler. Sekonder spermatositlerin bölünmesiyle 23'er kromozom içeren iki ayrı spermatid oluşur. Spermatositlerin mayoz bölünmelerinde DNA sentezi olmadığından dolayı bu süreç sonunda haploid sayıda kromozomdan oluşan hücreler meydana gelir (Şekil 1.2). Daha sonra döllenme ile tekrar diploid sayıya artar (Hassa 2003, Abraham 2006, Junqueira and Carneiro 2009, Ovalle, Netter et al. 2009).



Şekil 1.2. Spermatogenezis şeması (Ross and Pawlina 2011)

Spermatid fazı (spermiyogenez)

Spermatozoon üretiminde son aşamadır. Spermatidlerin DNA'sını ovuma iletmek üzere spermatozoona dönüştüren sürece spermiyogenez denir. Bu süreç boyunca hücre bölünmesi yoktur.

Spermiyogenez dört ayrı fazdan oluşmaktadır:

Golgi fazı: Proakrozomal pozitif granüller golgi kompleks içerisinde birikmesinin ardından bir araya gelerek membran ile sınırlandırılmış olan akrozomal vezikül içerisindeki akrozomal granülü meydana getirmektedirler. Golgi fazı aşamasında vezikül genişler. Gelişmekte olan spermin ön kısmında akrozom vezikülü bulunmaktadır. Bu fazın son aşamalarında sentriyoller akrozomun oluştuğu spermatidin ön kutbundan uzaklaşarak hücre yüzeyine yaklaşır (Şekil 1.3) (Gartner and Hiatt 2006, Junqueira and Carneiro 2009, Pawlina and Ross 2018).

Başlık (Çap) fazı: Bu fazda akrozom vezikül, çekirdeğin büyük bir kısmını çevreler ve bu oluşan yapıya akrozomal kep adı verilir. Faz boyunca akrozomal kep kalınlaşır

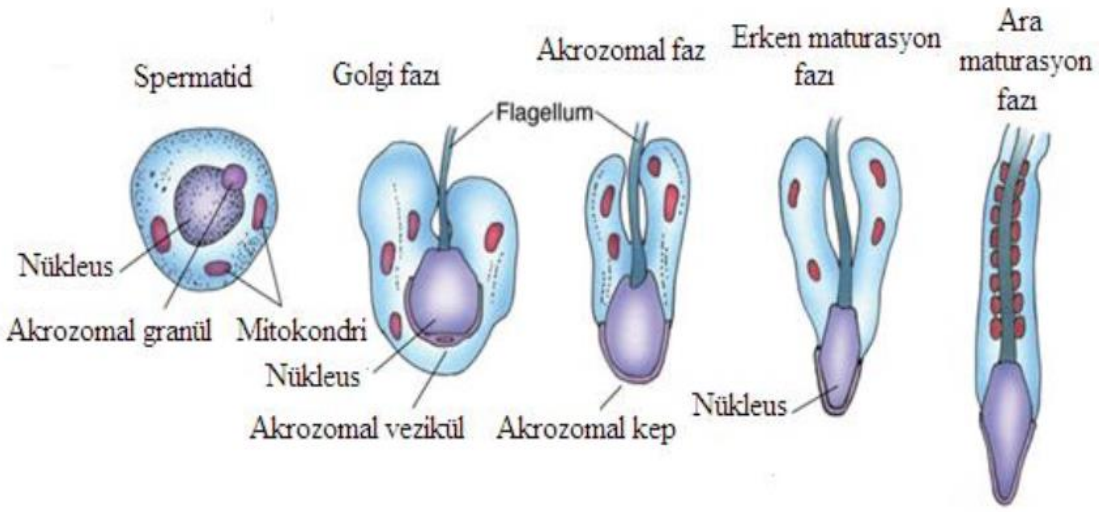
ve çekirdekte yoğunlaşma artar (Şekil 1.3) (Gartner and Hiatt 2006, Ross and Pawlina 2011).

Akrozom fazı: Akrozom içerisinde hyaluronidaz, asit fosfataz, nöraminidaz ve birçok hidrolitik enzimler bulunmaktadır. Bu enzimler korona radyata hücreleri birbirinden ayırmakla beraber zona pellusidayı sindirme işlevindedir ve akrozomal reaksiyon adıyla bilinen bu basamak fertilizasyonun ilk aşamalarından biridir.

Akrozomal fazda nukleus uzar ve yoğunluğu artar. Mitokondriler flagellumun proksimal kısmı çevresinde birleşerek sperm hareketliliğini sağlayan 'orta parça' denilen bölümü oluşturur (Şekil 1.3). Flagellum hareketinin sağlanması için mikrotübüller, ATPaz aktivitesi, mikro tübüller önemli rol oynamaktadır (Gartner and Hıatt 2001, Hassa 2003, Kierszenbaum 2006, Junqueira and Carneiro 2009).

Maturasyon fazı: Son faz olan bu süreçte spermatid çekirdeğinden spermiyumun başı oluşur ve sentriyoller aracılığıylada mitokondrilerden kuyruk kısmı oluşur. Sertoli hücreleri, spermatidin geri kalan organellerini fagosite eder. Bu faz sayesinde spermiyum son halini alır. Spermatidler sertoli hücreleri ile aralarında olan sitoplazmik köprüler varlığını devam ettirmektedir (Şekil 1.3) (Gartner and Hıatt 2001, Hassa 2003, Junqueira and Carneiro 2009, Ross and Pawlina 2011).

H^3-timidinin enjekte edilerek gerçekleştirildiği deneysel araştırmalar sayesinde, insanlarda spermatogonyum süreci ile spermatozoon oluşum süreci arasında farklı tübül kesitlerinde ve bu kesitlerin her birinin farklı alanlarında spermatogenezin farklı süreçleri gözlemlenmiştir. Bu durumda spermatogenez olayı seminifer tübüllerin tamamında ve her seminifer tübülde eş zamanlı ya da uyumlu bir zaman sıralaması ile ilerlemediği netleştirilmiştir (Fawcett and Raviola 1994). Yani tübül duvarının tüm bölümünde spermatogenezin diğer bölümlerinden kısmen bağımsız ilerlediğini ifade etmektedir. Bu durum, spermatozoonların seminifer tübüllerin belirli bölümlerinde bulunurken diğer bölümlerinde sadece spermatidlerin olmasını anlatır. Bu olayın adı seminifer epitel döngüsüdür (Fawcett and Raviola 1994, Sternberg 1997, Junqueira and Carneiro 2009).



Şekil 1.3. Spermatogenezin aşamaları (Gartner and Hıatt 2001)

Spermatogenezisin tamamı HPGA ile düzenlenmektedir. Bu süreçte lüteinleştirici hormonu (LH) ve FSH önemi büyüktür. Germ hücrelerinin içerisinde FSH ve LH reseptörleri olmamasına rağmen sertoli hücrelerinden germ hücrelerine hormonal sinyalleri ileten iletişim ağı bulunmaktadır. LH, Leydig hücrelerin testosteron salgılanmasını uyarır. FSH ise prepubertal döneminde Sertoli hücrelerinin proliferasonunu sağlamak için önemlidir. Ancak spermatogenezisin gerçekleşebilmesi için FSH çok gerekli olmadığı fareler üzerinde gerçekleştirilen çalışmalarda kesinleştirilmiştir (Xia, Mruk et al. 2005, Hogeveen and Sassone-Corsi 2006).

- **Spermatozoon (olgun spermatozoa)**

Olgun insan spermatozoonu ortalama 60 mikrometre (µm) uzunluğa sahiptir. Hareketli yapıya sahip olan spermatozoon, baş ve kuyruktan oluşmaktadır (Şekil 1.4).

Baş: Büyük bir kısmı çekirdekten oluşup 2-3 µm genişliğinde, 4-5 µm uzunluğunda, 1 µm kalınlığında bir yapıdır. Baş kısmın 2/3'ü hidrolitik enzimler bulunduran akrozomla kaplıdır.

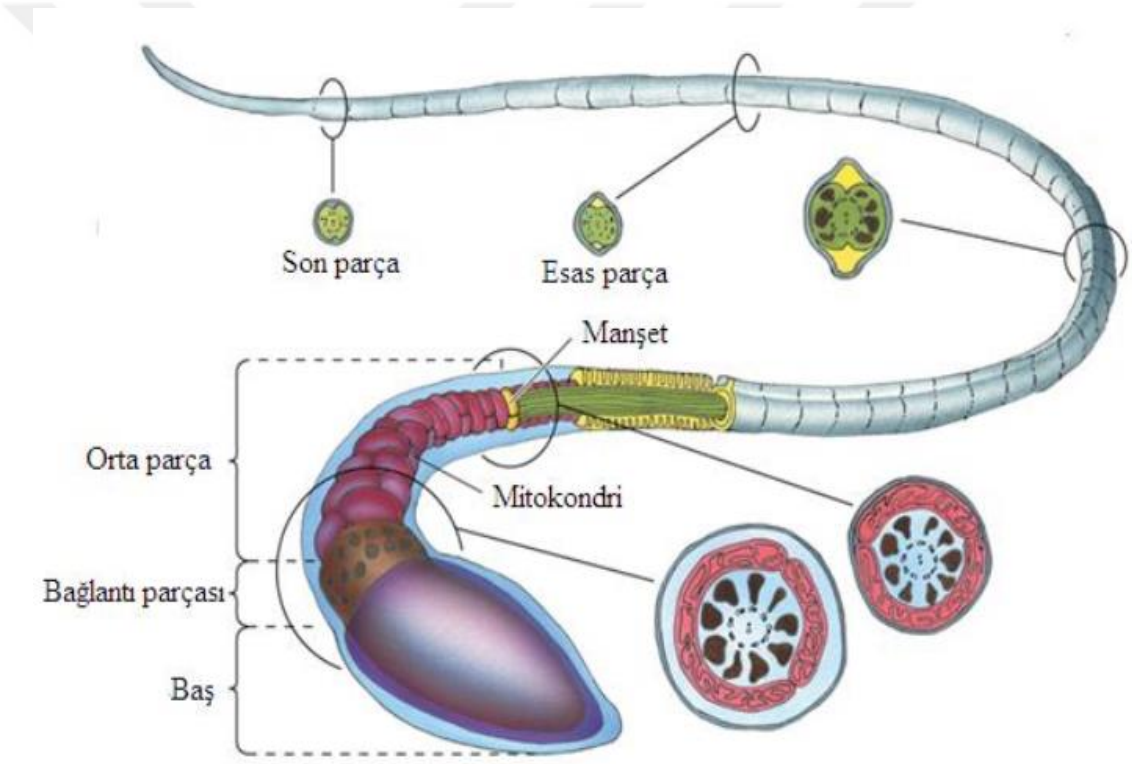
Kuyruk kısmı 55 µm uzunlukta olmakla beraber 4 ayrı parçadan meydana gelmiştir. Bu parçalar:

Boyun: Kısa yapılıdır ve segmentli kolonlardan oluşmuş bağıntı parçasıyla proksimal sentriyolden meydana gelmiştir.

Orta parça: Kuyruk bölümünün 9+9+2 mikrotübül düzenini dairesel olarak düzenlenmiş olan mitokondri içinde bulunduran ortalama 5-7 µm uzunluktaki yapıdır.

Esas parça: Kuyruk bölümünün 9+0+2 mikrotübül düzenini kapsayan 0,5 µm kalınlığında ve 45 µm uzunluğunda kuyruğun en uzun yapısıdır. Dış kısmı yoğun lif ile sarılı olup merkezi aksonem ve fibröz kılıftan oluşmaktadır.

Son parça: Ortalama 5 µm olan uzunluğuyla kuyruğun en kısa parçasıdır. Dış tarafındaki fibröz kılıf ve liflerin erken sonlanması sebebiyle yalnızca aksonemi kapsamaktadır (Fawcett and Raviola 1994, Sternberg 1997, Ovalle, Netter et al. 2009).



Şekil 1.4. Olgun spermatozoon (Gartner and Hıatt 2001)

- **İnterstisyel doku ve Leydig hücreleri**

Testisteki interstisyel doku, androjen üretimi bakımından öneme sahiptir. Bu doku bünyesinde fibroblastlar, Leydig hücreleri, kılcal damarlar, lenf damarları, sinirler, Leydig hücre yapılarına dönüşme özelliğine sahip olan farklanmamış bağ dokusu hücreleri, makrofajlar vardır.

Leydig hücrelerin işlevleri ergenlik döneminde daha belirgin bir hal almaktadır. Leydig hücreleri lokasyon olarak lobüller arasında bulunan bağ dokusu bölmelerinde yer alırlar (Hassa 2003, Abraham 2006, Junqueira and Carneiro 2009, Ovalle, Netter et al. 2009).

Leydig hücreleri, steroid salgılama özelliğine sahip olmakla beraber ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişmesinde ve testosteron hormon üretimi ve salgılanmasında görevlidir. Leydig hücrelerinden salgılanan testosteron hormonu spermatogenez, gonadotropin salgı kontrolünün yanı sıra embriyonal ve fetal yaşam sürecindeki cinsiyet farklılaşması için gereklidir. Fetal Leydig hücreleri, androjen üretiminin yanı sıra INSL3 üretiminden de sorumludur. Serum içerisindeki testosteronun ortalama %95'lik bir oranı Leydig hücreleri tarafından salgılanır (Gartner and Hıatt 2001, Haider 2004, Kierszenbaum 2006, Junqueira and Carneiro 2009, Ovalle, Netter et al. 2009).

Erkek genital organların embriyonik farklılaşabilmesi için Leydig hücreleri olmalıdır. Bu hücreler hamilelikteki 4 ay süresince farklılaşmış olarak bulunsalar da testosteron sentezinde azalarak gerilerler. Hipofiz bezinden salgılanan LH uyarısıyla tekrar testosteron sentezinin başlayacağı prepuberteye kadar dinlenme sürecinde beklerler. Leydig hücreleri pubertal dönem ile artar fakat ileriki yaşlarda azalma gösterir. Testislerdeki bu düzeni hipotalamohipofizer portal sistem kontrol eder (Erdoğan, Hatiboğlu et al. 1996, Junqueira and Carneiro 2009, Ovalle, Netter et al. 2009).

Kemirgenlerde fetal ve yetişkin Leydig hücreleri, ortak bir progenitör popülasyondan oluşmaktadır (Shima and Morohashi 2017).

- **Fetal Leydig Hücreleri**

Fetal Leydig hücreleri fetüste androjenin baskın kaynağıdır (O'shaughnessy, Baker et al. 2006). Bu hücrelerin erkek genital organ farklılaşmasında hormonal görevi vardır. Sahip olduğu hormonal görevi doğum sonrası kaybolur. Farklanma için insanlarda normal hipofiz gelişimi kritik öneme sahiptir. Kemirgenlerde ise gebelik sırasında Leydig hücre fonksiyonunun hipofiz hormonu kontrolüne bağımlılığının olmadığına yönelik güçlü kanıtlar bulunmaktadır (Van Vorstenbosch, Colenbrander et al. 1982). Fetal Leydig hücreleri androstenedion üretimini sağlar fakat testosteron üretimi için gerekli olan 17β-hidroksi steroid dehidrogenaz

içermemektedir. Bu testosteron dönüşümünü fetal sertoli hücreleri sağlar (Wen, Cheng et al. 2016).

- **Yetişkin Leydig Hücreleri**

Yetişkin Leydig hücreleri ikincil cinsiyet karakterleri, cinsel olgunlaşma ve ergenlikte hormonal görev üstlenirler. İnsülin benzeri peptid, bu hücrelerin proliferasyonunu uyarır ve olgunlaşmasına katkıda bulunur (Christensen and Fawcett 1961).

- **Kan-Testis bariyeri**

Pubertal dönemde spermatogenezin başlamasıyla beraber kan-testis bariyer gelişimide başlar. Germ hücrelerinin pubertal dönemle gerçekleştirdiği spermatozoa üretiminde gerçekleşen intrasellüer ve yüzey protein sentezini immün sistem tehdit olarak algılar. Bu sebeple germ hücreleri belirli antijenlerden ayrı olan bir bölümde olmalıdır ve bu işlemi kan-testis bariyeri sağlamaktadır.

Bu bariyer spermatogenezis esnasında preleptoten spermatositlerin bazal bölgeden apikal bölgeye geçişini sağlayacak şekilde düzenlenmiş açılıp kapanabilen dinamik yapıdadır. Kan ve seminifertübüllerin iç bölgeleri arasında bulunan bariyer sayesinde sadece kandaki belirli maddeler testikuler sıvıya geçebilmektedir. Apikal bölümde olan germ hücrelerinin antijenlerden uzak olan korumalı ortama geçmesi kan-testis bariyeri ile sağlanır. Bağışıklık sistemi ile gelişen spermler arasındaki etkileşimi önleyen bu bariyer seminifer tübüllere immünoglobulinlerin geçişini engeller. Bu durum, serumlarında çok yüksek oranda sperm antikorları bulunan hastalardaki döllenme sorununu açıklar.

1.3.3.Testis Fizyolojisi

Cinsel işlevler hipotalamo-hipofizer sisteminin kontrolünde gerçekleşir. Puberte sonrası erkeklerde testis fonksiyonu kritik olarak hipofiz gonadotropinlerine bağlıdır. Hormonlar, spermatogenez sürecine önemli uyarıcı etkilerde bulunurlar. Bunlar:

Testosteron: Leydig hücrelerinden salınır. Erkek genital organın, spermatogenik hücrelerin bölünüp gelişmesi için önemli ve gerekli olan androjendir. Testislerde ve böbrek üstü bezlerinde direkt asetil koenzim A'dan ya da kolesterolden

salgılanmaktadır. Protein sentezini arttırıp yıkımını azaltmaktadır. Yani büyüme hızını etkilemektedir. Testosteron, kas üzerinde anabolik etkiler, gırtlak gelişimi, spermatogenezin uyarılması, seks gücünün artması, iç genital yapının gelişmesi durumlarını direkt olarak etkilemektedir. Ayrıca erkek dış genital gelişimi, prostat gelişimi, testislerin inmesi gibi durumları da dihidrotestosteron üzerinden etkilemektedir. Testosteron prenatal gelişim, puberte dönemi ve puberte sonrasında cinsiyet özellikleri ve cinsiyet organlarının gelişmesinde önemlidir.

Luteinizan hormon (LH): Ön hipofiz bezinden salınır. Leydig hücreleri üzerine etki ederek testosteron salınımını sağlar. Salgılanan testosteron miktarı ile uyarıcı özellikte olan LH miktarı doğru orantılıdır. LH'ın hipofiz bezinden salınımı negatif geri besleme ile düzenlenmektedir (Şekil 1.5). Testosteron salınımı arttıkça LH salınımı azalırken tersi durumda yani testosteron salınımı azaldığında ise LH sentezi artmaktadır. LH salınımı süreklilik arz etmemektedir, geceleri 90 dakikalık aralıklarla salınım olur.

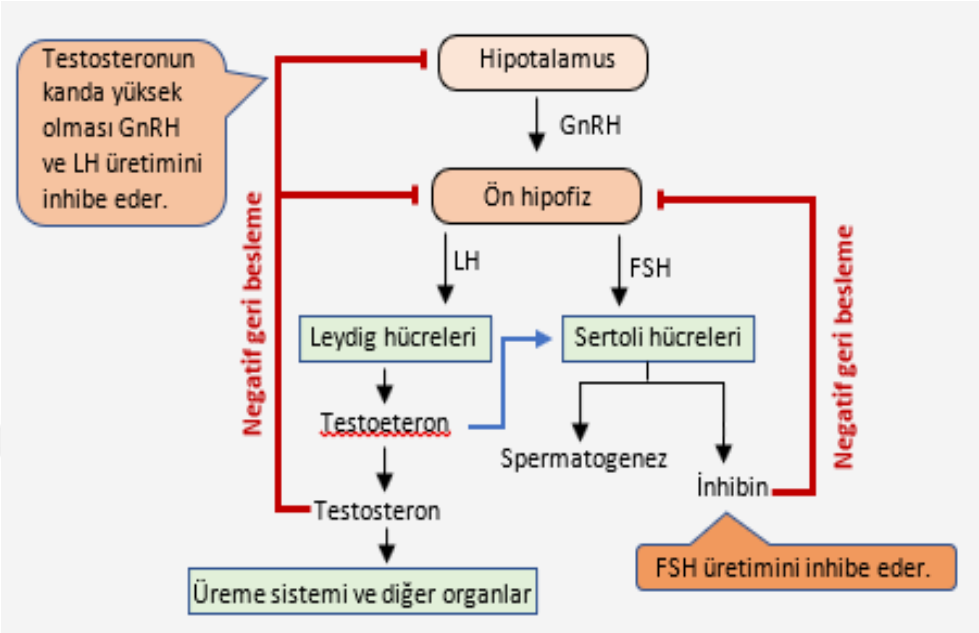
Folikülstimülan hormon (FSH): Ön hipofizden salgılanarak sertoli hücrelerini, siklik adenozin monofosfat (cAMP) ve adenilsiklaz yapımını uyarır. ABP'nin sentez ve salınımının başlamasını sağlar. ABP testosterona bağlanır ve böylece FSH'ı seminifer tübül lümenine iletir. Bu sayede spermatidlerin sperme dönüşmesi için gerekli olan spermatogenez uyarılır (Şekil 1.5). Kemirgenlerde ve insanlarda FSH her ne kadar sertoli hücre fonksiyonunun uyarılması için önemliyse de farklılaşmadan sonraki süreçlerde FSH'ın önemi belirsizdir.

Östrojenler: FSH ile uyarılmış olan sertoli hücreleri içerisinde testosterondan oluşturulmaktadır. Östrojenler, ABP'yi bağlayarak spermatogenezisi azaltmaktadırlar.

Büyüme hormonu (GH): Spermatogonyumun erken bölünmesini yönetir. GH eksiklik ve yokluğu durumunda spermatogenezde aksama olur ya da durur. Bu hormonun ön hipofizi uyarması ile LH ve FSH sentezi gerçekleşir (Şekil 1.5).

Estradiol: LH sentezini düzenler. Karaciğer, yağ ve kas dokularında testosteronun metabolize edilmesi sonucu estradiol salgılanması gerçekleşir. Ortalama %20'si Leydig hücrelerinden sentezlenir.

İnhibin ve Aktivin: Adenohipofizden FSH sentezini inhibinler baskılarken aktivinler uyarıcı görev üstlenir (ORTH 1984, Ganong 1995, Fawcett and Jensh 2002, Ackermann, Yeğen et al. 2006).



Şekil 1.5. Erkek üreme sisteminin hormonal denetimi (Styne 1994)

1.4. Karaciğer

1.4.1. Karaciğer Anatomisi

Karaciğer, karın boşluğundaki sağ üst bölümde, diyaframın altında yer alıp mide ve bağırsakların üstünde bulunmaktadır. Vücutta deriden sonra en büyük bez ve organdır. Sindirim sistemine yardımcı bir bezdir (Saladin 2004, Ross and Pawlina 2006). Karaciğer 4 lobtan meydana gelmektedir. Karaciğer, fibrinojen, glikoproteinler, albümin gibi proteinleri ve glikozu sentezleyip doğrudan kana verdiğinden endokrin; safra kanalları aracılığıyla safrayı duodenuma boşalttığından dolayı ise ekzokrin bir bezdir. Bir karaciğer hücresi birçok olayı aynı anda gerçekleştirebilecek özelliğe sahiptir (Odze and Goldblum 2014, Saxena 2017).

Rat karaciğeri; sol medial, sol lateral, sağ medial, sağ lateral ve caudal loblardan meydana gelmektedir. Glison kapsülü her lobu ayrı ayrı sarmaktadır ve bu loblar porta hepatis düzeyinde bir araya toplanmaktadır. Ratlarda safra kesesi olmadığı için hepatik kanal, pankreas kanalları ile birleşir ve duodenuma dökülür (Kogure, Ishizaki et al. 1999).

Karaciğerin fonksiyonları;

- Kanda bulunan besin maddelerini depolar.
- Vücuda giren ilaç ve zehirlerin oluşturduğu toksiteyi azaltır veya ortadan kaldırır.
- Kandaki birçok plazma proteinin yapımını sağlar.
- Glikozu glikojene çevirerek depolar ve glikoza ihtiyaç olduğunda glikojen parçalanarak kana glikoz salınımını sağlar. Kandaki glikoz düzeyini kontrol ederek dengede kalmasını sağlar.
- Bakterileri fagosite eder.
- Yağların sindiriminde önemli rolü vardır.
- Aminoasitleri üreye ve yağ asidine dönüştürür.
- Yağ, karbonhidrat ve proteinlerin metabolizmasında önemli görevleri vardır.
- Karaciğer kendi kendini onarabilen bir yapıdır. Ölen ve zedelenen hücreleri ortamdan uzaklaştırarak yerine yenilerini koyar.
- Karaciğer, genişleyebilen yapısı sayesinde kan damarlarındaki kanı depolayabilir. Sağlıklı bir karaciğer vücuttaki kanın %10'unu tutar (Odze and Goldblum 2014, Saxena 2017).

1.4.2. Karaciğer Embriyolojisi

Karaciğer, safra kesesi ve kanalları 4. hafta itibariyle ön bağırsağın kaudalinden beliren hepatik divertikülden gelişmektedir. Hepatik divertikül oluşumu, gelişmekte olan kalbin fibroblast büyüme faktörünün bipotent hücreleri uyarmasıyla gerçekleşmektedir. Karaciğer 5. hafta ile 10. hafta hızlı bir büyüme süreci gösterir. Embriyonik karaciğer 6. haftada hematopoeze, 12. haftada ise safra üretimine başlamaktadır. Karaciğer gelişiminin 9. haftasında vücut ağırlığının ortalama %10'unu oluşturmaktadır (Odze and Goldblum 2014, Saxena 2017).

Fetal ratların karaciğerindeki sinüzoidler 10-16 günlükken endotel hücrelerle çevrilidir ve gebeliğin 17. gününden itibaren endotel hücreler artış göstermektedir. Bazal membran gebeliğin 13-14. gününde oluşmaktadır (Bankston and Pino 1980).Endotel hücrelerin fetal gelişiminde aralıksız hücreler ile aralıklı hücreler yer değiştirmektedir. Bu süreç insanlarda 12. haftada gerçekleşirken ratlarda 17. günde gerçekleşmektedir. Ratlarda perisinüzoidal ve sinüzoidal yapılar doğum sonrası 4-5. günlerde oluşur (Enzan, Himeno et al. 1997).

1.4.3. Karaciğer Histolojisi

Karaciğer, fibröz yapılı olan glisson kapsülü ile çevrelidir. Bu kapsülün altında stroma ve parankima adında iki yapı vardır. Karaciğerin kendi görevlerini yerine getiren yapı ve hücrelerin oluşturduğu organ içerisindeki düzenlemelerin tamamına parankima, bunu meydana getiren yapı ve hücrelere destek olan organ iskeletini oluşturan destek yapılara ise stroma denilmektedir (Kierszenbaum 2006, Mescher and Junqueira 2013, Ovalle and Nahirney 2013).

Stroma; Lobüllerin birbiriyle ilişkili olduğu yerlerde fibröz bağ doku kalınlaşır ve içerisinde ven, arter, safra kanalları içeren bölümler oluşturur (Mescher and Junqueira 2013).

Parankima; Parankim hücresi olan hepatositler, karaciğeri oluştururlar. Parankima birbiriyle bağlantılı katmanların meydana getirdiği duvar gibi bir yapıdır. Bu duvarın korunması karaciğerin bütünlüğü ve rejenerasyonu için önemli rol oynamaktadır. Eğer duvar bozulursa hepatosit hasarının iyileşmesi fibroz ile sonuçlanır. Karaciğer fibrozisi arttığı zaman kan akımı ve karaciğer içi kan dolaşımı etkilenir ve siroza neden olur (Ovalle and Nahirney 2013, Odze and Goldblum 2014).

- **Karaciğer yapı elemanları**

Hepatosit: Bu hücreler 20-30 μ çaplarına sahiptir. Karaciğer hücrelerinin %65'ini ve hacminin %80-88'ini oluşturmaktadır. Hepatositin sinüzoidal ve bazolateral yüzeyi perisinuzoidal aralığa uzanan mikrovilluslar içermektedir. Bu sayede kan ile direkt olarak temasın sağlanması gerekli olan sekresyon aktivitesini ve yüksek emilimi kolayca gerçekleştirir (Bejarano, Garcia et al. 2006, Odze and Goldblum 2014, Saxena 2017).

Hepatikstellat hücresi: Perisinuzoidal hücreler ve ito hücreler olarakta bilinen bu yapı disse aralığında yer alan, normal ve hasarlı karaciğerde ekstrasellülermatriksin temel kaynağı olan hücre türüdür. Başlıca görevi yağ depolamaktır. Hepatosit büyüme faktörünün kaynağıdır ve sinuzoidal kan akımının kontrolünde önemlidir (Senoo, Yoshikawa et al. 2010, Odze and Goldblum 2014, Saxena 2017).

Endotel hücresi: İnce bazal membrana sahip, delikli ve yassı hücreledir. Az miktarda sitoplazmaları bulunmaktadır (Junqueira, Carneiro et al. 2005, Kierszenbaum and Tres 2015).

Kupffer hücreleri: Bu hücreler mono nükleer fagositer sistem makrofajlarıdır. İmmün komplekslerin, endotoksinlerin, partiküllerin ve lezyonlu eritrositlerin klirensi ile görevlidir. Bu sebeple bu hücreler, vücut savunmasında ve korunmasında önemli rol oynamaktadırlar (Junqueira, Carneiro et al. 2005, Odze and Goldblum 2014, Kierszenbaum and Tres 2015, Saxena 2017).

Safra yolları hücresi: En küçük safra sekresyonu aygıtı kanaliküllerdir. Safra kanallikülleriperiportal alanlarda bulunan safra duktuslarına açılmaktadırlar. Daha sonra bunlar portal alanlarda yer alan interlobüler safra kanallarına, interlobüler safra kanalları ise septal safra kanallarına açılırlar. Bu kanallar sürekli olarak çevreden katılan kanallarla büyür ve duvarı kalınlaşır. Bu yapılar intrahepatik safra yolları olarak bilinir (Odze and Goldblum 2014, Saxena 2017).

1.4.4. Karaciğer Fizyolojisi

Karaciğerin temel işlevleri: Yağ, karbonhidrat, protein, yabancı kimyasal maddelerin ve hormonların metabolize edilmesi, kanın filtrasyonu ve depolanması, demir ve vitaminin depolanması, safra yapımı, albümin, hormon bağlayıcı protein ve steroid bağlayıcı protein sentezi, pıhtılaşma faktörlerinin üretimidir.

Karaciğer tarafından üretilen proteinler; Non-immün α- ve β- globülinler, albümin, lipoproteinler, glikoproteinler, protrombin ve fibrinojendir. Bu proteinler plazma kolloidozmotik basıncının dengede tutulması, kan pıhtılaşması, lipid metabolizması ve demir taşınması gibi fonksiyonlarda rol oynar.

Karaciğer, vitaminlerin birçoğunu kan dolaşımından alarak depolar ve biyokimyasal olarak modifiye edilirler. Bunlardan bazıları; K, A ve D vitaminleridir. Bu vitaminlerden K vitamini, şilomikronlar aracılığıyla karaciğere taşınır. Pıhtılaşma faktörlerinin karaciğerde sentezlenebilmesi için gereklidir. A vitamini, karaciğer bu vitaminin alınması, dolaşımdaki düzeyinin korunması ve depolanmasında önemlidir. Ayrıca karaciğer D3 vitaminin 25-hidroksikalsiferole dönüştürülmesinde önemli role sahiptir. D vitaminin bu formu metabolizmada dolaşan en yaygın formudur. D vitamini karaciğerde depolanmamaktadır. Kalsiyum ve fosfat mekanizmasında

önemli rol oynayan bir vitamindir (Gebo, Herlong et al. 2002, Junqueira, Carneiro et al. 2005, Odze and Goldblum 2014, Saxena 2017).

1.4.5. Karaciğer Hasarı

Farklı özelliklerdeki toksik, mikrobik, neoplastik, dolaşımsal ve metabolik hastalıklar karaciğeri olumsuz etkiler. Karaciğerin depo özelliği sebebiyle karaciğer bozuklukları kliniğe geç yansıyabilir, ancak hasarın kronikleşmesi halinde karaciğer parankiminin ilerleyici kaybı ve safra akışının bazı nedenlerle engellenmesi ile karaciğer fonksiyonları önemli oranda etkilenebilir.

Karaciğerin hasarlara karşı cevapları:

İnflamasyon: Karaciğer inflamasyonuhepatosit nekrozu ya da apoptozisi izleyebilir fakat tersine iyileşme de görülebilmektedir. Kupffer hücreleri hepatositlerin nekroza uğramasıyla ölü hücreleri fagosite etmektedirler (Gebo, Herlong et al. 2002, Ghany, Kleiner et al. 2003).

Dejenerasyon: Balonlaşma dejenrasyonuolarakta bilinen geri dönüşü olan hücresel zedelenmelerdir. Hepatositler şişmiş ve stoplazmik organeller nükleus etrafında düzensiz olarak toplanmıştır (Gebo, Herlong et al. 2002, Ghany, Kleiner et al. 2003).

Nekroz: Canlı organizmada lokal doku ve bir grup hücrenin ölmesiyle oluşan lezyona nekroz denilir. Nekrozlar genellikle bölgesel yayılım gösterirler.

1.4.6. Karaciğer Rejenerasyon

Karaciğer, rejenerasyonun fazlaca olduğu organdır. Karaciğer dokusu toksik ajan ve cerrahi yolla kaybedildiğinde karaciğer hücrelerinin bölünmesini başlatan ve doku onarılana kadar devam eden bir süreçtir. Sıçanlarda karaciğerin %75'i çıkarılsa dahi bir ay kadar kısa bir sürede kaybedilen doku yenilenmektedir.

Doku çıkarıldığında şalon miktarı düşer ve bu yüzden mitoz olayı başlar. Rejenerasyon boyunca şalon miktarı artar ve sonuç olarak mitoz bölünme aktivitesi azalarak biter. Epidermal büyüme faktörü, hepatosit büyüme faktörü, transforme edici büyüme faktörü alfa ve beta, norepinefrin, vasküler büyüme faktörleri, ilaçlar, fibroblast büyüme faktörleri gibi etkenler karaciğer rejenerasyonunda olumlu yönde

rol oynamaktadır (Michalopoulos 1990, Tsujii, Okamoto et al. 1993, Michalopoulos and DeFrances 1997, Junqueira, Carneiro et al. 2005).

Fetal kan öncelikle karaciğere uğramaktadır. Bu kan ile gelen maddelerin ilk önce karaciğeri etkilemesi beklenir. Bu bilgiler ışığında tezimizde çinko eksik diyetle beslenen dişi gebe ratlardan doğan yavruların farklı çinko diyetlerle beslenmelerinin karaciğere etkilerini değerlendirmeyi amaçladık. Ayrıca gebelik döneminde çinko eksik diyetle beslenen ratlardan doğan erkek yavrulara farklı çinko diyetleri uygulayarak karaciğerde meydana gelen olumlu veya olumsuz yönde (Castellucci, Schepe et al. 1990, Castellucci and Kaufmann 2006) spermatogenez sürecini etkilediği düşünülen insülin benzeri proteinlerin (INSL3, INSL7 ve RXFP1) karaciğere etkilerini incelemeyi amaçladık.

1.5. Prepuberte ve Puberte

1.5.1. Erkeklerde Prepuberte ve Puberte

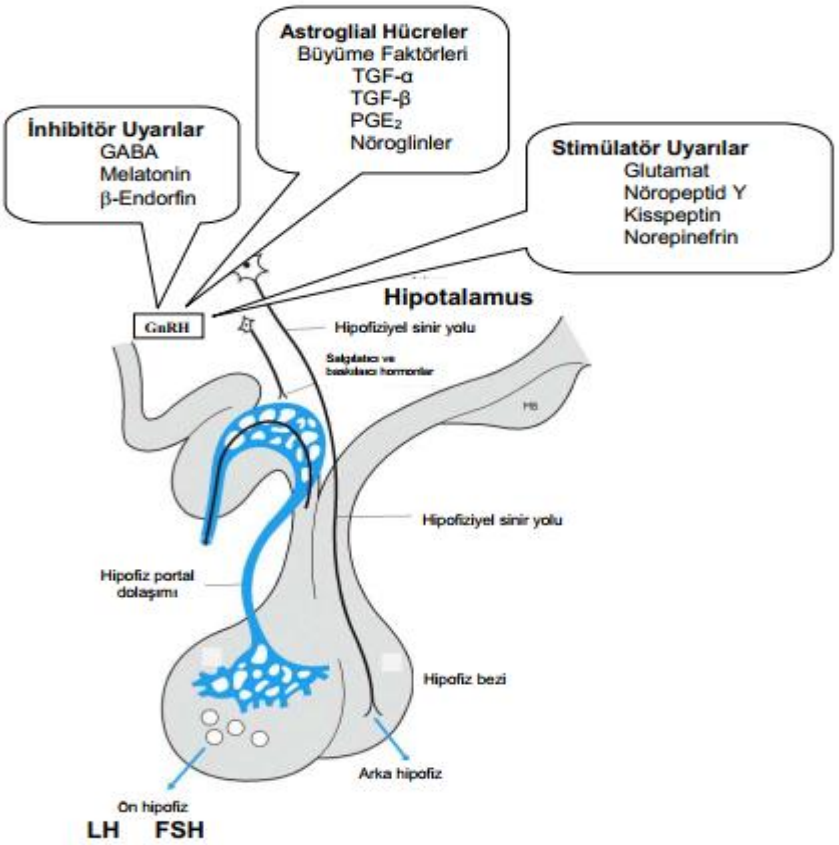
İnsanlarda puberte, sekonder cinsiyet özelliklerinin ve gonadların geliştiği, kemik olgunlaşma ve büyüme hızının arttığı, boy uzamasının pik yaptığı fizyolojik değişiklik dönemiyle beraber çocuğun fertil özellik kazandığı dönemdir (Garel, Dubois et al. 2001, Neyzi and Ertuğrul 2002). Puberte tanımından da anlaşılacağı gibi bu dönemde nöroendokrin ve fiziksel değişikler meydana gelir (Wheeler 1991).

Gebeliğin 34.-38. haftalarında erkeklerde peptid yapıda olan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) sentezi pik yapar ve bu pik 2-3 yaşlara kadar devam edebilir. Pubertenin başlayabilmesi için GnRH gereklidir. Doğum zamanı yaklaştığında seks steroidlerinin negatif geri denetimi sayesinde gonadotropinler azalmaktadır. Doğumdan sonraki birinci ay içerisinde seks steroidleri kesilir ve geri-denetim düzeni bozulur. Bu nedenle FSH ve LH artar. Bu sürece ‘’yenidoğan mini pubertesi’’ denilmektedir. Daha sonraki prepubertal dönemde ise GnRH uyarıcısı uyku halindedir ve ganadotropin miktarları baskılanmıştır. Yenidoğan pubertesi döneminde aktif olan hipotalamo-hipofizer-gonad (HHG) ekseni çocukluk döneminde uyku halindeyken puberte dönemiyle tekrar aktif hale gelmektedir (Reiter 1987, Bourguignon, Gerard et al. 1992, Reyes-Fuentes and Veldhuis 1993, Veldhuis 1996, Ojeda and Heger 2001, Grumbach 2002).

Prepuberte döneminde FSH baskın hormon olmasına rağmen puberte başlangıcıyla LH sentez ve biyoaktivite özelliği artar. Erkeklerde LH'ın artmasıyla testosteronda artar. Puberte başlangıcında LH sentezi sadece gece olurken ilerleyen puberte evrelerinde LH sentez ve amplitüdünde artış olur. GnRH salınımını glutamat ve kisspeptin sağlarken, inhibasyonunu gama amino-bütirik asit ile opioiderjik konrtol eder. Glutamat reseptörleriyle glutamat sinyalinin artması ve GABA sinyalinin azalması puberte başlangıcında yer alan temel değişikliklerdir (Ojeda, Lomniczi et al. 2006). Norepinefrin, melatonin glutamat aminoasidi ve nöropeptid Y'nin etkili olduğu kadar olmasada pubertede uyarıcı etki payı büyüktür. Norepinefrin ve nöropeptid Y pubertenin başlamasını sağlamaktan ziyade maturasyonun sürdürülmesinde etkilidir. İnhibe edici ve uyarıcı faktörlerin kendi aralarında bir dengesi söz konusudur.

Puberte döneminin başlamasında inhibe ve stimüle edici faktörler kadar astroglial etkileşimlerinde önemi büyüktür (Şekil 1.6). GnRH nöron fonksiyonlarının hücreler arası sinyal iletmesinde astroglial hücreler görev almaktadır (glia-nöron düzenleyici sistem). TGF-α ve TGF-β,nöroglinler ve epidermal büyüme faktörü (EGF) astrositlerdeki hücreler arası iletişimi sağlayan ve GnRH nöronlarında etkili büyüme faktörleridir (Ojeda and Heger 2001) (Şekil 1.6). Pubertenin başlaması nöroendokrin ile düzenlenir (Şekil 1.6).

Bu bilgiler ışığında pubertenin başlayabilmesi için inhibe edici ve stimüle edici yapıdaki aminoasitler ve hücreler arası sinyal iletimini sağlayan astroglial nöronların etkileşimleri gereklidir. Pubertal başlangıçta yer alan sistemler şekil 1.6'da ifade edilmiştir (Ojeda and Heger 2001).



Şekil 1.6. Pubertenin başlamasını düzenleyen inhibe edici ve uyarıcı sistemler (ERDEVE and BERBEROĞLU).

İnsanlarda ve kemirgenlerde puberte yaşı ve süresi farklılıklar gösterebilmektedir. Bu farklılıkların %50-80'i genetik faktörlere bağlıdır (Kaprio, Rimpelä et al. 1995, Eaves, Silberg et al. 2004). Fetal veya çocukluğun erken dönemlerinde hormonal olarak çevresel bozuculara maruz kalınması puberte başlangıcında etkilidir (Parent, Teilmann et al. 2003). Bu dönemin başlamasında ve ilerlemesinde doğru beslenmede önemlidir (Frisch 1984). Hızlı kemik olgunlaşmasına neden olan hipertiroidizm ve konjenital adrenal hiperplazi gibi hastalıklar pubertenin erkene kaymasına sebep olurken, kemik olgunlaşma sürecini yavaşlatan anemi ve hipotiroidizm gibi hastalıklar ise pubertenin gecikmesine sebep olur (Boyar, Finkelstein et al. 1973, Tanner and Whitehouse 1975).

Puberteye ait belirtiler erkeklerde 7-13.5 yaş arasında başlayıp 2-6 yıl kadar sürebilir. Fakat puberte başlangıcını takvim yaşıyla değil biyolojik yaşla ifade etmek daha doğrudur. Biyolojik yaş ise kemik yaşı ve epifiz gelişimi ile ifade edilebilir (Styne 1994, Garel, Dubois et al. 2001, Neyzi and Ertuğrul 2002).

Adrenarş: Puberte başlangıcından ortalama 2 yıl önce başlayan adrenal bezlerin pubertesidir. Adrenarşın başlangıç mekanizmasıda puberte gibi tam olarak bilinmemektedir. Fakat dehidroepi androsteron sülfat artışı adrenarş başlangıcının biyokimyasal belirtecidir.

Gonadarş: FSH ve LH'ın uyarmasıyla gonadların etkin hale gelmesidir. Pubertenin en erken gonadal değişikliklerini ifade eder. Bu süreçte testisler büyümeye başlar ve testosteron başta olmak üzere seks steroidlerinin üretimini arttırmaya başlar (Styne 1994, Rosenfield, Cooke et al. 2014).

- **Erkeklerde Pubertal Değişiklikler**

Puberte dönemi ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişim aşamalarını ve belirli olaylar sıralamasını içeren birkaç sınıflandırma bulunmaktadır. Bu evreleme 'Seksüel olgunlaşma aralığı' ya da 'Tanner evrelemesi' olarak adlandırılır. Tanner evrelemesi erkek genital yapısında meydana gelen değişiklikleri içeren ikincil cinsiyet özelliklerin gelişimini ve pubik kıllanma süreçlerini sınıflandırmaktadır. İlk evre prepubertal ve son evre yetişkin dönemi belirtmek üzere 5 ayrı evreden meydana gelmektedir.

Erkeklerde Tanner evrelemesine göre genital değişikliklerin sınıflandırılması şu şekildedir;

Genital organlarda büyüme

Evre 1: Skrotum, penis ve testislerde büyüme henüz başlamamıştır.

Evre 2: Skrotum ve testislerde büyüme başlamıştır. Bu evrede skrotum derisi pembeleşip kalınlaşmaktadır. Peniste büyüme olmamaktadır veya minimal seviyede bir büyüme mevcuttur.

Evre 3: Skrotum ve testislerde belirgin şekilde büyüme olmaktadır. Penis boyunda uzama olmaktadır.

Evre 4: Testislerin büyümesi devam etmektedir ve penis boyundaki uzamanın beraberinde çap artışı da başlamıştır. Skrotum derisinin renginde koyulaşma başlamıştır.

Evre 5: Erişkin boyut ve şeklinde büyüme gözlenir.

Pubik kıllanma

Evre 1: Pubik kıllanma henüz başlamamıştır.

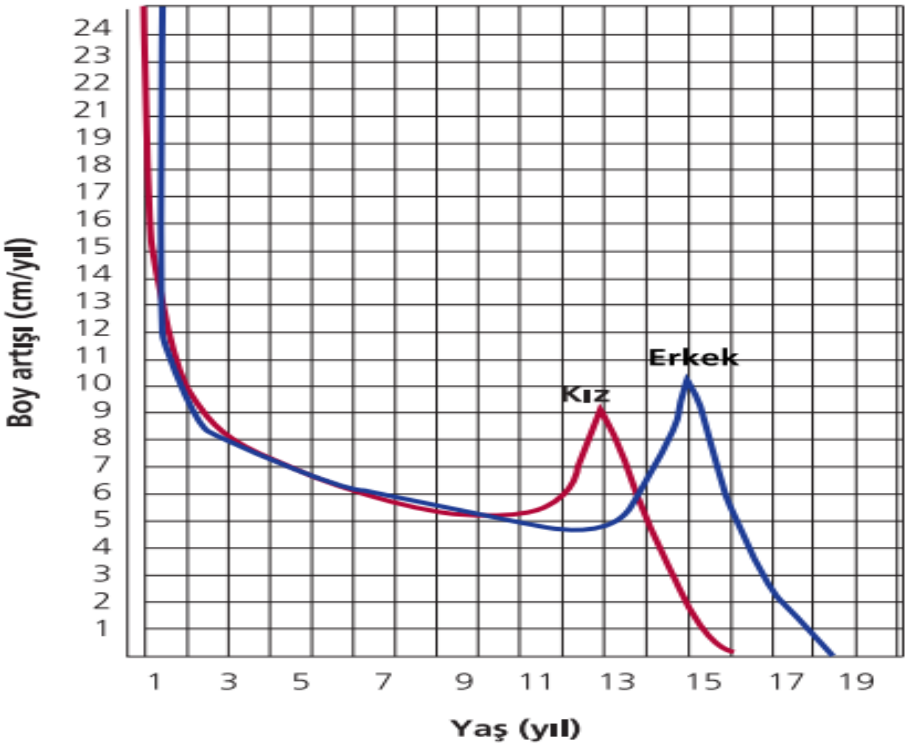
Evre 2: Peniste seyrek, ince, biraz kıvrımlı veya düz kıllanma başlamıştır.

Evre 3: Kıllar daha kıvrımlı ve kalındır. Bu evrede kılların rengi koyu renktedir.

Evre 4: Koltuk altı kıllanmaları, bıyık ve sakal oluşumları bu evrede başlamaktadır.

Evre 5: Erişkin özellikte kıllanmalar mevcuttur (Marshall and Tanner 1970, Nijveldt, Siroen et al. 2004).

Puberte dönemindeki boy sıçraması, cinsiyet hormonları ve bu cinsiyet hormonlarının uyardığı büyüme hormonu sentezi ile düzenlenir. Puberteden önceki dönemde her iki cinste de büyüme eğrisi benzer şekildedir (Şekil 1.7). Yetişkin boy uzunluğunun ortalama %17-18'lik kısmı puberte döneminde kazanılmaktadır (Tanner 1962, Bass, Delmas et al. 1999). Erkeklerde pubertal süreç boyunca 28 cm boy uzaması olur. Erkeklerde testis volümü 11.1±2 olduğunda maksimum büyüme meydana gelir, bu dönem 13.7±0.7 yaşa karşılıktır. Uzama hızı 10.1±1.6 cm/yıl'dır (Şekil 1.7) (Tanner and Whitehouse 1975, Bundak, Darendeliler et al. 2007, Bundak, Darendeliler et al. 2008).



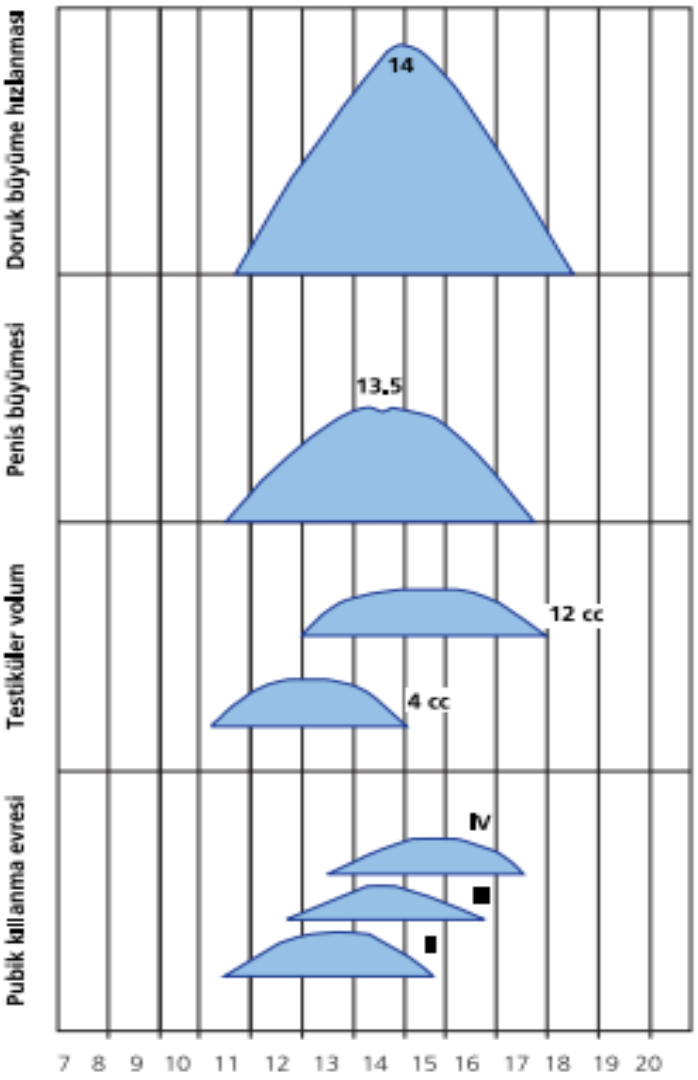
Şekil 1.7. Kız ver erkeklerde maksimum büyüme hızı (Tanner 1962)

Maksimum büyüme hızı, kemik mineralizasyonu ve pubertal süreçler birbiriyle ilişkilidir. Erkek vücudundaki toplam kalsiyumun 1/2-1/3'ü pubertal süreçte yerine konulmaktadır (Bass, Delmas et al. 1999, Magarey, Boulton et al. 1999). Erişkin ağırlık düzeyinin %50'si adolesan döneminde kazanılmaktadır. Erkek bireylerde boy uzamasını 9 kg/yıl ağırlık artış takip eder. Puberte dönemi süresince olan ağırlık miktarındaki değişmeler, ayrıca vücut kas oranı ve yağ oranı arasındaki denge cinsiyet spesifik vücut yapısındaki farklılığı yansıtmaktadır. Örneğin erken puberte döneminde erkeklerde vücut yağının bir göstergesi olarak cilt kıvrım kalınlığı azalır (Maynard, Wisemandle et al. 2001). Erkeklerde puberte başlangıcının gecikmesi ile obezite arasında ilişki vardır (Biro, Lucky et al. 2003).

- **Erkeklerde pubertal matürasyon fizyolojisi**

Olgunlaşma sürecinin başlama zamanı, sıralaması ya da temposu bireyler arası farklılıklar göstermektedir. Her ne kadar bireyler arası farklılıklar olsa da adolesanların birçoğu pubertal olgunlaşmada benzer aşamaları izlemektedirler.

Erkek matürasyonundaki ilk bulgu yaklaşık 6 ay devam eden testis hacmindeki artıştır. Penis boyundaki ve çapındaki artış pubertenin 3. evresinde belirginleşir. Genital gelişimin hemen ardından pubik kıllanma başlar (Şekil 1.8). Spermatogenez ortalama 13.5 yılda başlar. Spermatogenez için gerekli olan motilite ve yoğunluk kemik yaşı 17 olduğunda elde edilse de fertilitenin olabilmesi mümkündür. Türk erkek çocuklarının puberte yaşı 11.6 (9.7- 13.0) 'dır (Baker, Burger et al. 1976, Biro, Lucky et al. 2003, Parent, Teilmann et al. 2003, Bundak, Darendeliler et al. 2007, Susman, Houts et al. 2010).

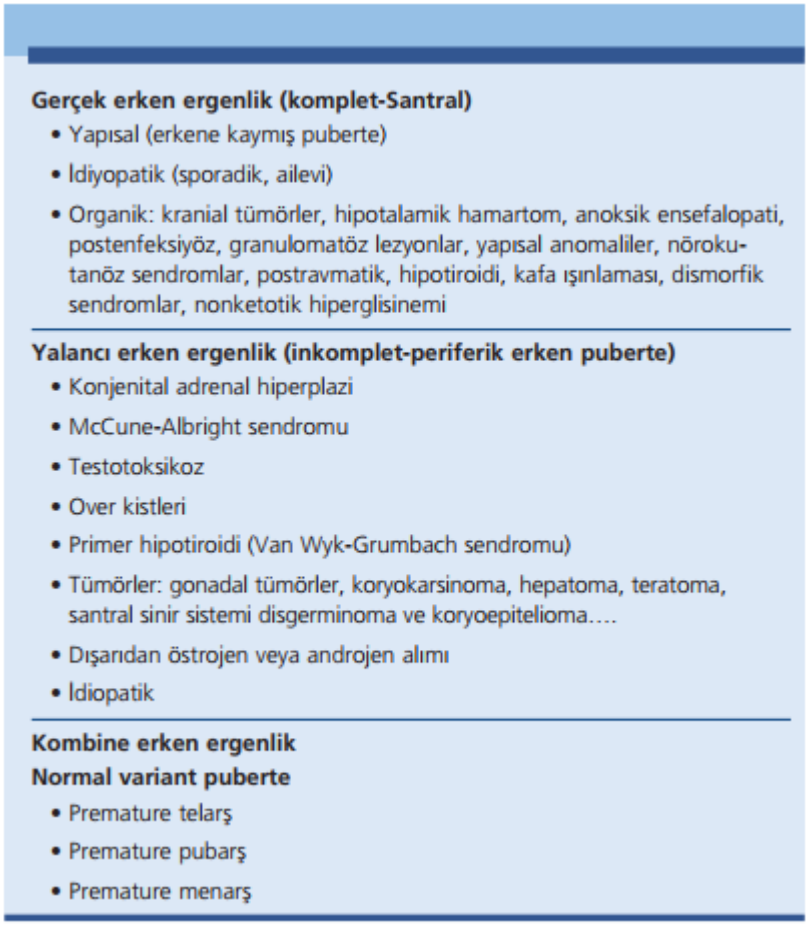


Şekil 1.8. Erkeklerde pubertalmaturasyon süreci (Kuczmarski 2000)

- **Pubertenin zamanlaması ile ilgili sorunlar**

Pubertenin Erkene Kayması: Pubertenin, bulunulan toplumun standart zamanlamasından -2.5 SD önce başlamasıdır. Genel olarak değerlendirildiğinde erkeklerde 9 yaşından önceki puberte bulguları erken pubertedir. Erken puberte nedenleri tablo 2'de belirtilmiştir.

Tablo 1.2. Erken puberte nedenleri (Öcal 2003)



Gerçek erken ergenlik (komplet-Santral)

- Yapısal (erkene kaymış puberte)
- İdiyopatik (sporadik, ailevi)
- Organik: kranial tümörler, hipotalamik hamartom, anoksik ensefalopati, postenfeksiyöz, granulomatöz lezyonlar, yapısal anomaliler, nörokutanöz sendromlar, postravmatik, hipotiroidi, kafa ışınlaması, dismorfik sendromlar, nonketotik hiperglisinemi

Yalancı erken ergenlik (inkomplet-periferik erken puberte)

- Konjenital adrenal hiperplazi
- McCune-Albright sendromu
- Testotoksikoz
- Over kistleri
- Primer hipotiroidi (Van Wyk-Grumbach sendromu)
- Tümörler: gonadal tümörler, koryokarsinoma, hepatoma, teratoma, santral sinir sistemi disgerminoma ve koryoepitelioma....
- Dışarıdan östrojen veya androjen alımı
- İdiopatik

Kombine erken ergenlik

Normal variant puberte

- Premature telarş
- Premature pubarş
- Premature menarş

Santral erken ergenlik durumunda HPGA aktif haldedir. Görülme oranı 1/5.000-1.000'dir. Yalancı erken ergenlik durumunda ise HPGA'da aktiflik olmadığında farklı kaynaklardan sentezlenen cinsiyet hormonlarının etki etmesiyle puberte bulguları oluşur. Sentezlenen hormon, cinsiyet ile aynı doğrultuda bulgulara sebep oluyorsa 'izoseksuel yalancı erken puberte', karşı cinsiyet özelliklerinin oluşmasına sebep oluyorsa 'heteroseksüel yalancı erken puberte' denilmektedir (Öcal 2003). Tanı için sol el bilek grafisinden kemik yaşı tayin edilir. Gerçek erken pubertede kemik yaşı takvim yaşından büyüktür. Normal şartlarda gonadotropinler prepuberte döneminde düşükken LH ölçümünde 0.3 IU/L ve üzeri sonuçlar hormonal değişikliğin başladığını gösterir. Tedavi sürecine girilmeden önce boy yaşı ve kemik yaşı oranı, aile boy ortalaması ve kemik yaşı ortalamasına göre değerlendirilmelidir. Erkeklerin tedavisi normal puberte başlama yaşı olan 12-13 yaşa kadar sürer (Blondell, Foster et al. 1999).

Gecikmiş Puberte: Testis boyutunun 14 yaşında hala artmamış olması gecikmiş puberte olarak bilinir.

Pubertal Duraklama: Başlamış olan pubertenin ilerlememesidir.

Erkeklerde pubertal belirtileri takip eden 4.5-5 yıl içinde genital gelişim tamamlanmamışsa düşünülmelidir.

Erkek çocuklarında gecikmiş puberte kriterleri;

Testis gelişiminin 13.7 yaşında hala başlamamış olması
Cinsel gelişim derecesinin
II'den III'e → 2.2 yılda
III'den IV'ye → 1.6 yılda
IV'den V'e → 1.9 yılda geçememesi
17.1 yaşında cinsel gelişmenin V. evreye ulaşmaması

Gecikmiş puberte nedenleri;
Gonadotropin eksikliği
Hipotalamo-hipofizer aks fonksiyonunda bozulma veya gecikme
İlaç alışkanlığı
Konstitusyonel puberte gecikmesi
Aşırı egzersiz
Kronik hastalıklar
Malnutrisyon
Morbidobezite
Endokrinopatiler (hipotiroidi, diyabet…)
Psikolojik sorunlar
Organik Hipotalamo-hipofizer defektler

- Doğumsal nedenler:
- Hipofizer gelişim defektleri
- Kallman sendromu
- Orta hat defektleri (septo-optik displazi, yarım damak)
- İzole FSH veya LH eksiklikleri
- Edinsel nedenler:
- Tümör, granülomatoz, radyoterapi, cerrahi, travma vs.

Gonad yetersizliğine bağlı hipergonadotropizm

- Doğumsal nedenler
- Androjen sentez defekti
- Gonadotropin direnci
- Turner sendromu
- Edinsel nedenler
- Kemoterapi, radyoterapi, enfeksiyon, otoimmün, travma (Marshall and Tanner 1970, Styne 1994, Abbasi, Asagami et al. 2001).

Konstitüsyonel (Yapısal Puberte Gecikmesi): Erkeklerdeki puberte gecikmesinin en fazla görülme sebebidir. Gelişim sürecinde görülmesi normal olan geçici bir süreçtir. Bu süreci yaşayan çocukların puberteye girmeleri gecikir ve gecikmelide olsa bu süreç düzene girer. Kemik yaşının takvim yaşından geride olduğu izlense de boy yaşı ile dengelidir. Aile bireylerinden aynı cinsiyete sahip olanların %60'ında gecikmiş puberte öyküsü kayda değer tanı ölçütlerindendir. Kesin tanı koyabilmek için altta yatabilecek öteki sebepler ekarte edilmelidir. Tedavi için düşük dozda uygulanabilecek cinsiyet hormonları puberte başlatmak için yeterli olabilir (Hirano 1997).

1.5.2.Erkek Ratlarda Puberte

Erkek ratlarda puberte ise testis ve spermatogenezisin başlama dönemi ile karakterizedir. İlk sperm doğum sonrasını takip eden 45. gün itibariyle üretilse de 75 günden önce maksimum üretim olmaz. GnRH sayesinde sentezlenen LH ve FSH ile puberte döneminde testosteron üretimini artar. İnsanlarda olduğu gibi ratlarda da LH ile Leydig hücreleri uyarılıp testosteron sentezi artarken bu aşamada FSH'ın rolü net bilinmemektedir (Russell 1992, Kierszenbaum 2006).

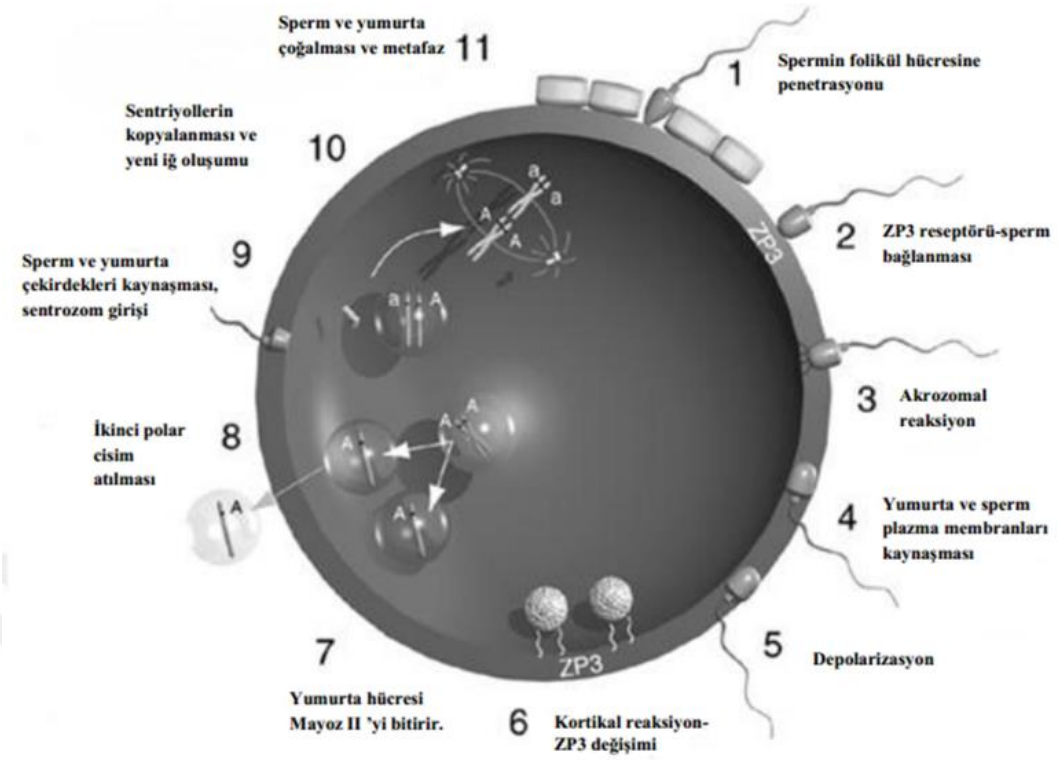
Pubertenin başlangıç dönemi ırklar arasında farklı olabilir. Buna az sayıda kardeşi olan ratların ve bol miktarda yiyeceğin bulunduğu yerdeki ratların daha erken puberteye girmeleri örnek verilebilir. Leptin düzeyindeki artış puberteyi uyarıcı etkidedir. Olgun ağırlıklarının yarısına ulaşan ratların da puberteye girdiği ama bunun güvenli bir belirleyici olmadığı, vücut uzunluğunun 148-150 cm olmasının yaş ve ağırlıktan daha güvenli olduğu nettir. Ratlar pubertal olgunluğa ulaşama süreleri ortalama 8-10 haftadır (Russell 1992, Nagatani, Guthikonda et al. 2000, Mülazımoğlu 2008).

1.6. Fetilite

1.6.1.İnsanlarda Fertilite

İnsanlarda ve diğer tüm memelilerde germ hücrelerinin matürasyon ile dişi ve erkek gamatlere dönüşmesine gametogenez denilmektedir. Bu süreçte erkek germ hücrelerindeki kromozom ve sitoplazmalarda meydana gelen değişikliklerin bir nedeni de fertilizasyon için üreme hücrelerinin biçiminin değiştirilmesidir (Moore, Persaud et al. 2018). Fertilizasyon, oosit ve spermatozoon çekirdeklerinin bir araya gelip etkileşime girmesidir. Erkeklerin fertilite yeteneği kazanabilmesi için Y kromozomundaki genlerin kontrolünde olan spermatogenez aşamalarını normal sürecinde tamamlanmalıdır. Bu aşamalar; maturasyon, kapasitasyon, hiperaktivasyon, zona pellusidaya bağlanma, akrozom reaksiyonu, sperm-oosit membran füzyonu, kromatin dekondensasyonu ve erkek-dişi pronükleuslarının füzyonudur (Şekil 1.9). Olgunlaşmasını tamamlamamış olan sperm, bu süreçler sonunda hareket ve fertilite yeteneği kazanmış olur (Jarow, Sharlip et al. 2002, Mawhinney and Mariotti 2013).

Seminifer tübüldeki sperm epididimis kanalına girerek sirküler hareketlerde bulunur. Spermin fertilite özelliğini kazanabilmek için dişi üreme kanalı uterus içerisinde geçirdiği sürece kapasitasyon denir. Sperm ardından ovidukt kanalında oosit döllenmesi olur ve süreç devam eder. Kapasitasyon süreci insanlarda ortalama 7 saattir ve bu süreç sonunda spermiyum ZP tabakasına tutunabilir. ZP3 molekülü sperm reseptörü olarak fonksiyon özelliği göstermesinden ötürü fertilizasyon olayının birinci basamağında önemlidir. ZP3, sperm akrozom reaksiyonunu tetiklemektedir (Sadler 2005). G-protein, cAMP, kalsiyum, redoks bağımlı bir olay olan kapasitasyonun olabilmesi, ortamda enerji, serum, glikoz, bikarbonat ve albümin kaynaklarına bağlıdır. Tirozin fosforilasyonunun artması kapasitasyon süresince oluşan olaylardan bir tanesidir. Bu fosforilasyonu serbest oksijen türleri (Ojeda, Lomniczi et al.) ve cAMP –bağımlı sinyal mekanizması başlatmaktadır. Tüm bu olaylar serisi sonucunda sperm daha hareketli hale gelir. Bu süreçler sperm-oosit birleşmesinden önce tamamlanmış olmalıdır. Son olarak sperm oositin plazma membranı ile birleşir ve membranlar arası füzyon gerçekleşir (Baldi, Luconi et al. 1996, LECLERC, de LAMIRANDE et al. 1998, Mandal, Naaby-Hansen et al. 1999).



Şekil 1.9. Memelilerde fertilizasyon (AKKUŞ 2020)

Fertilizasyon olayını ifade eden oosit-spermatozoon füzyonunun tüm aşamaları bilinmemekle birlikte bu aşamaları düzenleyen uyarıcı faktörlerin, proteinlerin, hücre-hücre etkileşimlerinin neler olduğu hala net değildir. Tez araştırmamızda bu süreci etkileyen etkenler üzerinedir.

1.6.2.Ratlarda Fertilite

Erkek ratlarda çiftleşmenin gerçekleşebilmesi testosteronun varlığına bağlıdır. Erkek çiftleşme davranışlarında feromonların önemi göz ardı edilemez (Nelson 2005). Kopulasyon çoğunlukla fotoperiyodun karanlık evresinde meydana gelmektedir. Çiftleşmenin ardından vajina içinde erkek eklenti bezlerinden kaynaklanan salgılar pıhtılaşarak vaginal tıkacı oluşturur. Bu tıkaç spermatozoonlarınuterusa iletilmesinde etkilidir (Matthews Jr and Adler 1978, Carballada and Esponda 1992). Çiftleşme vaginal tıkaç haricinde vaginalsmear içinde sperm varlığı ya da çiftleşme davranışının gözlenmesi ile onaylanabilir (Baker 1979). Eklenti bezleri çıkarılan erkek ratların spermatozoonları oosite kadar ulaşamamakta ve fertilite gerçekleşememektedir (Carballada and Esponda 1993). Fertilizasyon gerçekleştikten sonra 21-23 günlük gebelik sonucunda ortalama 10 adet yavru doğmaktadır (Richardson 2008).

1.6.3. Erkeklerde Fertiliteyi Etkileyen Faktörler

Fetiliteyi etkileyen faktörleri değerlendirecek olursak;

İnsanlarda;

Yaş Faktörü: Kaliteli sperm üretimi 20-30 yaşlarında maksimuma ulaşır. Bu oran 40 yaşından sonra düşüş gösterse de ileri yaşlara kadar üreme yeteneği devam etmektedir. Fertilite hızı 25-29 yaşlarda %4-8 oranında, 30-34 yaşlarda %15-19 oranda, 35-39 yaşlarda %26-46 oranda ve 40-45 yaş aralığında %95oranında azalma olmaktadır (Yumru and Öndeş 2011, Amanak, Karaöz et al. 2014, Sezgin and Hocaoglu 2014).

Obezite: Hormon sentezini olumsuz yönde etkileyerek spermatogenezi azaltır (Hussain, Tauseef et al. 2014, Katib 2015).

Psikolojik Nedenler: Depresyon, çaresizlik, yetersizlik gibi durumlar fertiliteyi olumsuz yönde etkilemektedir.

Sigara, Alkol ve Kafein: Erkeklerde jinekomastiye sebep olan en büyük nedenler arasındadırlar. Alkol teratojendir ve sperm konsantrasyonunu, sperm motilitesini, sperm hareketliliğini bozmaktadır. Sigaradaki nikotin, kotin, kadmiyum ve ağır metaller sperm üzerinde toksik etkiye sahiptir. Kafein uterusa giden kan akımını azaltır. Sigara ve kafein vücuda beraber alındığı zaman ölü sperm sayısı artar ve sperm motilitesi düşer.

Diğer Nedenler: Skrotal ısı artımı (varikosel), endokrin bozukluklar, genetik hastalıklar, kimyasal maruziyetler, anaboliksteroid kullanımı fertiliteyi olumsuz yönde etkilemektedir (Klonoff-Cohen 2005, Millheiser, Helmer et al. 2010, Mostafa 2010, Sadeu, Hughes et al. 2010, Koyun, Taşkın et al. 2011, Demirel 2018).

Ratlarda;

Yaş: Erkek ratların üreme yetenekleri dişilere oranla daha uzun sürse dahi onlarda da ortalama 2 yaşından itibaren fertilizasyon düşmeye başlamaktadır (Mattheij and Swarts 1991).

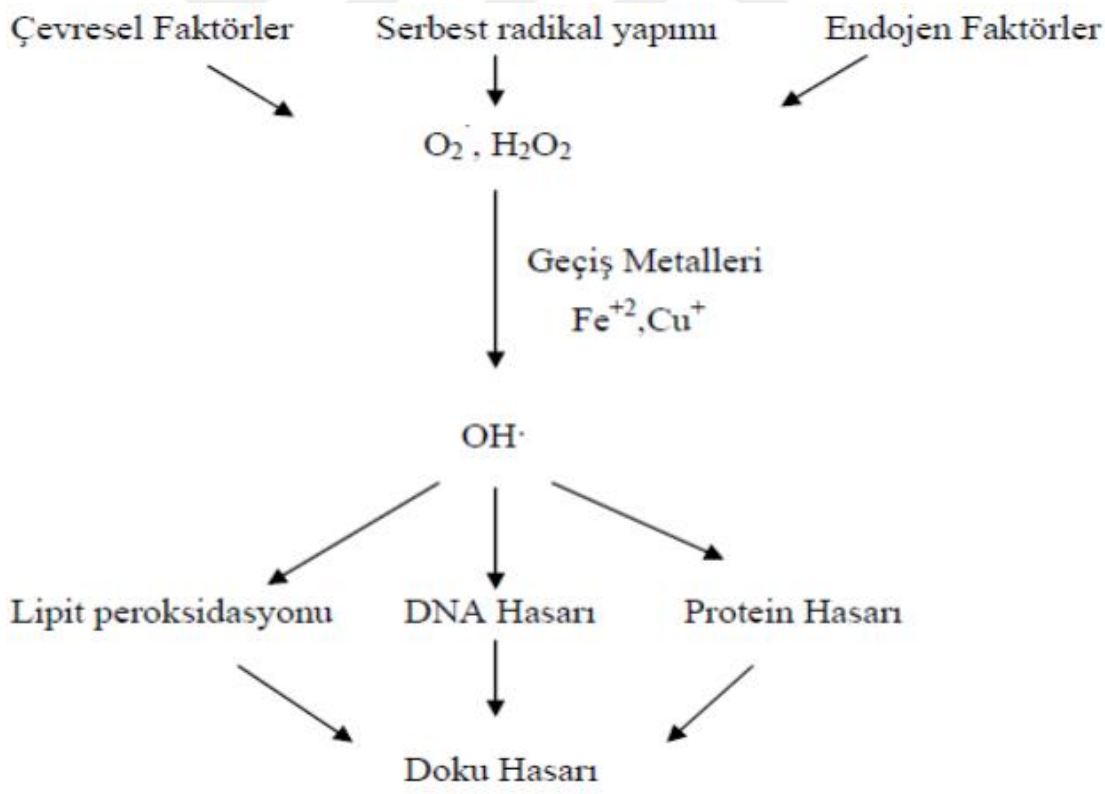
Sıcaklık: Erkek ratların 30˚C'den daha fazla çevre sıcaklığına maruz kalması durumunda testiste geri dönüşü olmayan harabiyet ortaya çıkar (Faith, Allen et al. 2020).

Protein: Protein oranındaki düşüklük fertiliteyi olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle pubertal dönemdeki ratlarda %14 olan protein oranı fertiliteyi arttırmak için %24'e arttırılabilir (Richardson 2008).

Diğer nedenler: E vitamini ekskliği, aşırı gürültü, kirlilik, kötü bakım olanakları, sivri-keskin kenarlı altlık kullanımı, beslenme yetersizliği, ışık ve nem düzeninin düzensizliği fertiliteyi olumsuz etkilemektedir (Morrow 1986, Richardson 2008).

1.7. Reaktif Oksijen Türleri

Biyolojik sistemde dış orbitallerinde bir ya da daha fazla eşlenmemiş serbest elektron bulunduran, elektron alma isteği olan ve belirli moleküllerle oksijen tepkimesine giren atomlara serbest radikaller denir (Valko, Rhodes et al. 2006, Tinggi 2008). Reaktif oksijen türleri (ROS) oldukça reaktif, okside edici ajanlar olup serbest radikal sınıfındandır. Serbest radikaller çeşitli yollar ile ortaya çıkar (Akkuş 1995, Sanocka, Miesel et al. 1996, Sikka 1996) (Şekil 1.10).



Şekil 1.10. Vücuttaki önemli serbest radikaller ve serbest radikal hasarı sonuçları (Antmen 2005)

Serbest radikaller protein, nükleik asitler, çoklu doymamış yap asitleri ve polisakkaritler başta olmak üzere tüm biyolojik maddelerle tepkimeye girerler (Freeman and Crapo 1982). ROS'da artış hücre için toksik etkidedir. Bu durum

hücrede lipidleri, nükleik asitleri ve proteinleri hasara uğratarak hücre içi sinyal yolaklarını bozmaktadır (López-Alarcón and Denicola 2013).

1.7.1.Reaktif Oksijen Türleri ve Oksidatif Stres

Serbest radikallerin aktif oksijen türevlerine oksidanlar denilmektedir. Oksidatif stresin artmasıyla ROS artmaktadır (Valko, Leibfritz et al. 2007). Normal fizyolojik şartlarda serbest radikal oluşumu ve yıkımı denge halindedir. Bu olay oksidatif denge olarak bilinir. Denge halinin devam ettiği süreçte meydana gelen serbest radikaller canlının üzerinde bir etkiye sahip değildir. Fakat bu denge hali ROS lehine herhangi bir sebeple bozulur ya da bileşiklerin oluşum hızı yıkım hızının önüne geçerse oksidatif stres oluşur (Serafini and Del Rio 2004). Bu oksidanlar canlı vücudunda mitokondriyel, ekstrasellüler ve sitoplazmik formları olan Glutatyon peroksidaz, süperoksitdismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzim sistemler ile transferrin, askorbik asit, alfa-tokoferol, seruloplazmin ve glutatyon (Samuel, Tian et al.) gibi antioksidanlar tarafından yıkılırlar (Aitken, Harkiss et al. 1993, Agarwal and Said 2003, Cocuzza and Agarwal 2007, Valko, Leibfritz et al. 2007).

Serbest radikaller erkek fertilitesinde büyük öneme sahiptir. Oksidatif strese bağlı olarak spermde fonksiyon kaybının fazla ROS üretimiyle ilgili olduğu gösterilmiştir. Başka bir görüşe göre ise düşük düzeyde olan ROS bazı sperm fonksiyonlarının fizyolojik kontrolünü düzenlemektedir (Sanocka, Miesel et al. 1996, Sikka 1996).

Oksidatif stres ve bunu takiben meydana gelen toksik serbest radikaller karaciğerin patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır. ROS, endotelde ve hepatositlerde hasara yol açmaktadır. Serbest radikal düzeyi belli bir seviyeyi aşarsa karaciğerde önemli hasarlar oluşur. Antioksidan savunma sistemi sayesinde ROS oluşumu kontrol edilebilmektedir (Glantzounis, Salacinski et al. 2005, Jaeschke and Woolbright 2012).

1.7.2. Oksidatif Stres Vve Sperm Fonksiyonu

Spermatozoa plazma membranında bulunan poliunsatüre yağ asitleri sebebiyle sperm büyük oranda oksidatif strese maruz kalmakta ve hücre membranında meydana gelen peroksidatif hasar membranın daha geçirgen olmasına sebeptir (Irvine 1996). Spermatozoada oluşan ROS indüksiyonlu hasarın sistemleri,

sperm plazma membran lipitleri üzerinde oksidatif etki oluşturur ve böylece lipit peroksidasyonunun başlamasına sebep olur. Sonuç olarak spermatozoa sperm-oosit füzyon, hareket ve akrozom reaksiyon yeteneğini kaybeder. Ayrıca ROS sperm DNA, RNA ve protein sentezini de etkiler (Jones, Mann et al. 1979, Aitken, Harkiss et al. 1993).

1.7.3. Oksidatif Stres ve Karaciğer Fonksiyonu

Oksidatif stres, karaciğer patogenezinde önemlidir. Oksidatif stresin antioksidan sistem üzerinde sebep olduğu olumsuz etkilere bağlı olarak karaciğerde lipid peroksidasyonu (LPO) artmaktadır. Artan LPO karaciğerde fibrozise ve hasara sebep olabilmektedir (Gochee, Jonsson et al. 2003). Karaciğer hasarı ile lipid parametreleri de artmaktadır (Chu, Qu et al. 2003). Serbest radikallerin artmasıyla plazma ve organel membranları üzerinde başlayan LPO karaciğer fonksiyonunu olumsuz etkiler (Akkoç 2008).

1.7.4. Oksidatif Stres ve Proteinler

ROS'un proteinler ile etkileşmesi sonucu meydana gelen ileri oksidasyon protein ürünleri proteinlerdeki oksidatif hasarın belirleticidir (Nelson, Cox et al. 2008). Artan oksidatif stres ile proteinlerin sekonder ve tersiyer yapılarında değişiklikler meydana gelmektedir (Akkoç 2008). Serbest radikaller proteinler üzerinde lipitlerdeki hasardan daha az hasar oluştururlar. Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme oranlarını amino asit içerikleri belirler. Sülfür ve doymamış bağı bulunan moleküller serbest radikaller ile daha yüksek reaktiviteye sahip oldukları için serbest radikallerle daha kolay reaksiyona girmektedirler. Enzimlerin yapısındaki proteinlerin hasar görmesi ile enzim aktivitelerinde sorunlar ve hücresel fonksiyonlarda bozulmalar oluşabilir (Freeman and Crapo 1982, Devasagayam, Boloor et al. 2003).

1.7.5. Lipit Peroksidasyonu

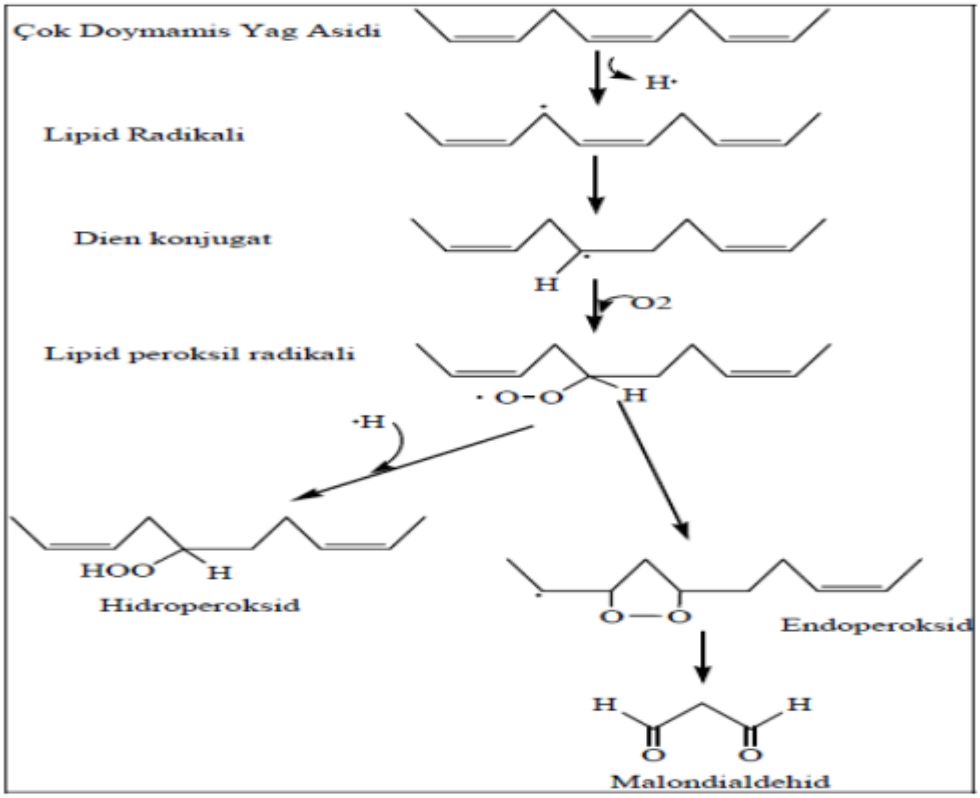
LPO, poliansatüre yağ asitlerindeki alfa-metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaştırılması ile oluşmaya başlamaktadır. Yani poliansatüre yağ asitlerinin oksidatif yıkımına LPO denilmektedir. Hücre membranlarında lipit serbest radikallerinin ve lipit peroksit lipitlerinin oluşması, reaktif oksijen türlerinin sebep

olduğu hücre hasarının göstergesidir (Akpoyraz and Durak 1995). LPO tepkimesi toplayıcı antioksidan tepkimelerle ile durdurulur ya da otokatalitik yayılma tepkimeleriyle devam ederek ilerler (Gutteridge 1995).

Spermatozoa, ekzojen H_2O_2 varlığında meydana gelen LPO ürünü sebebiyle hareket kaybına maruz kalır. Sperm plazma membran yapısındaki unsatüre yağ asitleri sayesinde akışkanlık sağlanır ve fertilizasyon için gerekli olan membran füzyon süreçleri düzenlenir. Bu moleküllerde çift bağ bulunduğundan serbest radikal etkilere maruz kalırlar ve bu durum LPO sürecinin başlamasına sebep olmaktadır. Spermatozoada LPO başladığı zaman sperm plazma membran yapısında lipit peroksitlerinin birikmesine sebep olmaktadır. Lipit peroksitleri membran akışkanlığını etkileyerek membran bağımlı anahtar enzimlerin (örneğin Ca^{+2}/Mg^{+}-ATPaz gibi hücrelerdeki kalsiyum homoestazının korunmasında önemi olan enzimler) aktivitesini olumsuz etkiler (Aitken, Harkiss et al. 1993, Irvine 1996, Storey 1997).

1.7.6. Malondialdehit

Lipid peroksidasyonunun en önemli ürünlerinden biri malondialdehit (MDA)'dır (MERCAN 2004). Serbest radikaller hücre membranında bulunan yağ asitlerinin doymamış bağları ve kolesterol ile kolaylıkla tepkimeye girer ve LPO'yu oluşturur. LPO, yağ asidi zincirlerindeki hidrojen atomlarının koparılması ile yağ asidi zincirinin lipid radikali olmasıyla başlamaktadır. Daha sonra lipid radikalleri oksijen ile tepkimeye girerek lipid peroksit radikalleri meydana getirir. LPO radikalleri membrandaki diğer yağ asitlerini de etkiler ve yeni lipit radikallerin oluşmasına sebep olur. Lipit peroksitler yıkıldığında ortaya çıkan yıkım ürünlerinden bir tanesi de MDA'dır (Young and Woodside 2001, Ayala, Muñoz et al. 2014) (Şekil 1.11).



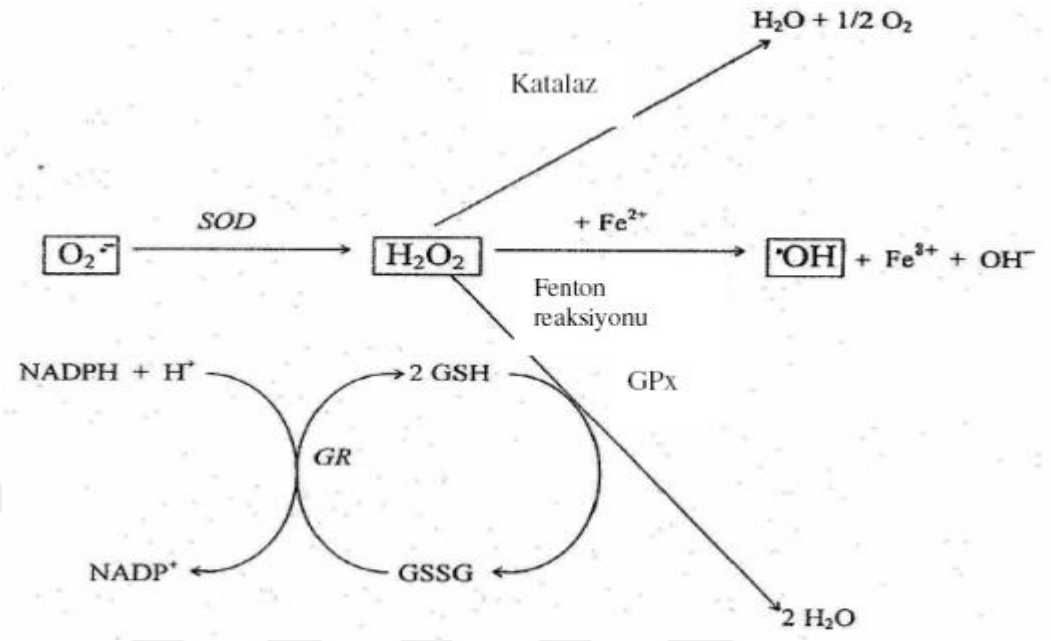
Şekil 1.11. Malondialdehid oluşumunun kimyasal yolu (Murray, Mayes et al. 1993)

MDA kantitatif ya da spesifik bir indikatör olmamakla beraber Lipit peroksidasyonunun son ürünü olduğu için oksidatif hasarın güvenilir belirtecidir. MDA'yı ölçerek LPO değerlendirilebilir (Düzgüner 2005). Peroksidasyon ile oluşan MDA, proteinleri denatüre ederek stokinler gibi pro inflammatory mediatorlerin oluşmasına sebep olmaktadır (Bickers and Athar 2006). MDA, membranlar üzerinden iyon alışverişine etki ederek iyon geçirgenliğini, enzim aktivitesinin değişmesi ve membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanması gibi olumsuzluklara yol açar. MDA, DNA'nın nitrojen bazları ile reaksiyona girebilir (MERCAN 2004).

1.7.7. Raktif Oksijen Türleri Ve Antioksidan Sistem

ROS birikiminin artmasıyla hücreler çeşitli antioksidan enzimleri kullanarak savunma mekanizması oluştururlar. Antioksidanlar, ROS, protein, nükleik asit, karbonhidrat ve lipit peroksidasyon oluşumunu düzenleyen, ortadan kaldıran ve baskılayan bileşiklerdir. Bu sebeple ROS süpürücü etkiye sahip maddelerin karaciğer ve testis fonksiyon özelliklerini düzeltmesi muhtemeldir (Calvin, Cooper et al. 1981, Sanocka, Miesel et al. 1996, Sikka 1996, Vernet, Aitken et al. 2004, Sudheesh and Vijayalakshmi 2005).

Antioksidanlar, birbiriyle bağlantılı ya da birbirinden bağımsız olarak ayrı mekanizmalar ile etkilerini göstermektedirler (Şekil 1.12).



Şekil 1.12. Antioksidan savunma mekanizması (Armstrong 1998)

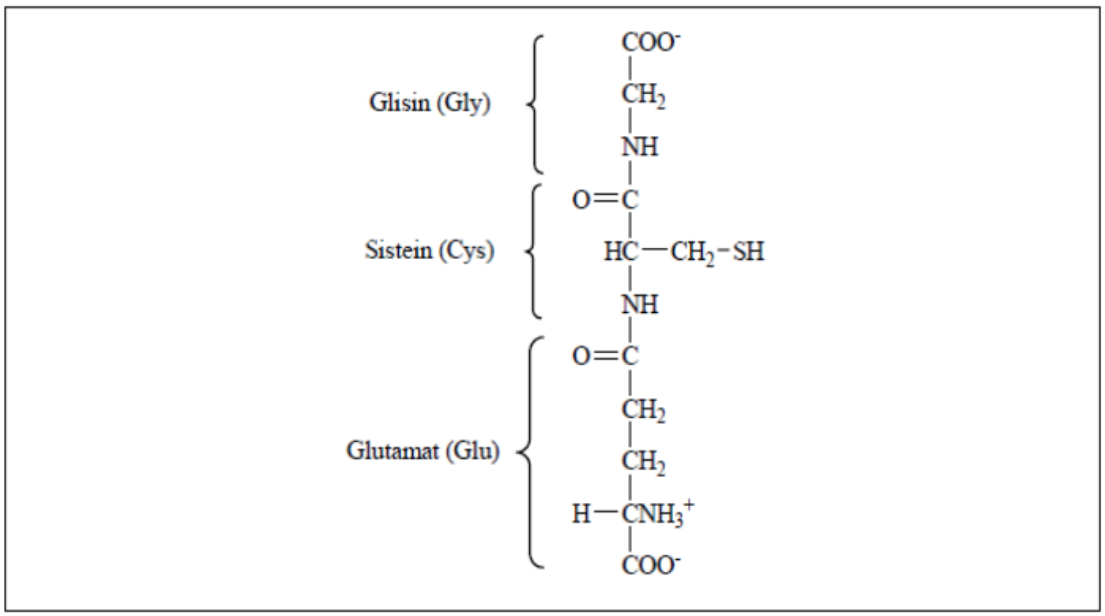
Savunmada enzimatik antioksidanlar daha etkilidir (Halliwell 1989). Bu enzimler tablo 3'te gösterilmektedir.

Tablo 1.3. Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi (Yanbeyi 1999, Sener, Sehirli et al. 2002, Valko, Leibfritz et al. 2007)

Enzimatik	**Nonenzimatik**	
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutatyon	Albümin
Katalaz (KAT)	α-Tokoferal	Seruloplazmin
Glutatyonperoksidaz	Askorbat	Transferrin
Fosfolipit hidroperoksit glutatyon	β-Karoten	Ferritin
Peroksidaz	Flavonoidler	Laktoferrin
Glutatyon S-transferaz (GST)	Ürat	Melatonin
Glutatyon redüktaz (GSSG-R)	Bilirubin	Sistein
	Kreatinin	Östrojen

1.7.8.Glutatyon

Glutatyon (GSH), glisin, sistein ve glutamattan sentezlenir (Meister and Larsson 1995) (Şekil 1.13). Glutatyon, dokularda denge halinde olan, okside glutatyon (GSSG) ve indirgenmiş Glutatyon (Samuel, Tian et al.)olmak üzere iki ayrı formda bulunmaktadır (Akkuş 1995, Yanbeyi 1999). GSH, oksidatif stresi ölçmede önemli bir belirteç olma özelliğindeki antioksidandır. GSH, hücre sitozolünde bol miktarda olan intrasellülertiyoldür. GSH'ın üretim ve tüketimi arasındaki dengeyi hücresel GSH miktarı belirlemektedir. Proteinlerde bulunan tiyol (–SH) gruplarını redükte halde tutar ve serbest elektronların ortaklanmamış elektronu ile bağlanarak radikal oluşumu azaltır. GSH, oksidatif hasar ve toksinlere karşı korumada merkezi rol oynar. Peroksitler ve serbest radikallerle reaksiyona giren glutatyon hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır (Kidd 1997, Urso and Clarkson 2003).



Şekil 1.13. Glutatyon yapısı (Champe, Harvey et al. 1997)

Oksidatif streste reaktif oksijen türlerinin GSH'a bağlı detoksifikasyonu iki ayrı mekanizma ile gerçekleşebilir. Bunlardan birincisi, ROS ile direkt ya da kendiliğinden gerçekleşen tepkimelerdir. Diğeri ise GPx enzimi ile katalizlenen tepkimelerdir (Sen and Packer 2000) GSH serbest radikalleri süpürüp H_2O_2 'yi azaltmaktadır(Sikka 1996, Hayes and McLELLAN 1999).

$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GPx} GSSG + 2H_2O$$

$$GSSG + NADPH \xrightarrow{GR} 2GSH + NADP$$

Doku Glutatyon Düzeylerinin Artması ve Azalması;

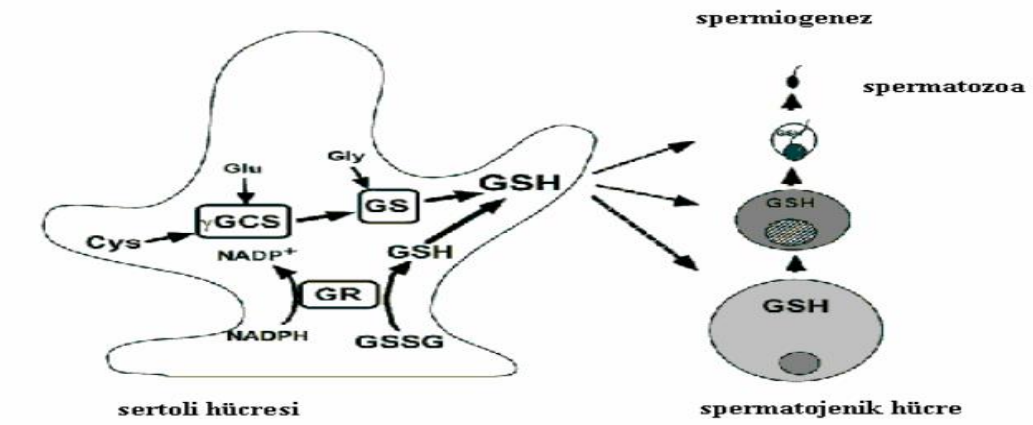
GSH'ın hücre içi redüksiyonunun azaltılması ve sınırlı sentezi, doku ve hücrelerde GSH oranını düşürmektedir. GSH oranının korunması ve arttırılması için kullanılan en yaygın yöntem sınırlayıcı özellikli olan aminoasit L-sistein yapıtaşının GST reaksiyonlarıyla bu aminoasidi yerine koymak ya da L-sistein kullanılabilirliğini arttırmaktır (Griffith 1999, Suntres 2002).

- **GSH ve Karaciğer Fonksiyonu İlişkisi**

GSH, testis, plazma, beyin, akciğer, böbrekler gibi doku ve organlarda bulunsa da temel kaynağı karaciğerdir. Karaciğer kseno biyotiklerin detoksifiye edildiği temel organdır. Karaciğer sitozolünde bulunan GSH yarı ömrü 2-4 saat iken mitokondride yarı ömrü 30 saattir. Sağlıklı bir karaciğerde GSH'ın hücre içi yoğunluğu en fazla ortalama 20 milimolardır. Karaciğerdeki GSH oranı testis ve böbreklerden ortalama 2 kat fazladır (Reed 2000).

- **GSH ve Testis İlişkisi**

Grosshans ve Calvin'in yaptığı bir çalışmada sıçan ve rat testisinde yüksek konsantrasyonlarda glutatyon olduğu belirlenmiştir (Grosshans and Calvin 1985). GSH düzeyini yükselten bileşikler erkek fertilitesini iyileştirmektedir (Donnelly, McClure et al. 2000). Spermatozada glutatyon oranı az olduğundan dolayı sertoli hücrelerinden GSH temini spermatojenik hücreler için hem ROS'dan koruma hem de spermatogeneze amino asit kaynağı olarak gereklidir. Sertoli hücreleri GSH temini için novo yoluna ve GSSG döngü sistemine sahiptir (Şekil 1.14). Glutatyon ya da N-asetilsistein (sisteinin membran geçirgenliğini sağlayan öncü madde) yeterliliği fertilitenin sürdürülebilirliği için gereklidir (Donnelly, McClure et al. 2000).



Şekil 1.14. Sertoli hücreleri, spermatojenik hücre ve GSH ilişkisi (Öztürk 2015)

1.8. Çinko

Çinko (Zn), esansiyel bir mikromineraldir. Erişkin bir bireyin vücudunda 1.4-2.4 gr bulunur ve günlük diyet ihtiyacı 15 mg'dır. Oral yolla alınan Zn'nin %10-15'i absorbe olur. Esasen feçesle olmak üzere, ter ve idrarla atılımı gerçekleşir (Leary, Olhaberry et al. 1983, Colagar, Marzony et al. 2009).

1.8.1. Çinko'nun Puberte, Fertilite, Karaciğer Fonksiyonu ve ROS ile ilişkisi

Zn, canlı organizmalardaki enzim fonksiyonunda, protein sentezinde, DNA replikasyonunda, sperm membran bütünlüğünün arttırılmasında, sperm kuyruğunun helezoni hareketinin arttırılmasında, spermatozoa adenil siklazının inhibe edilerek ATP sentezinin arttırılmasında, seminifer tübül-testis gelişiminde, hücre bölünme ve farklılaşmasında önemli bir eser elementtir (Eliasson 1968, Hartoma, Nahoul et al. 1977, Arver 1982, Frederickson 1989, Colagar, Marzony et al. 2009). Çinko dehidrogenaz, aldolaz, fosfotaz, peptidaz, izomeraz, aspartat transkarbamilaz ve transforforilazın yapı ve işlevi için gereklidir (Halsted, Ronaghy et al. 1972). Çinkonun büyük bir kısmı karaciğer, prostat dokusunda bulunur (Sherins and Howards 1978, Fahim, Ibrahim et al. 1985, Madding, Jacob et al. 1986). Zn, çinko taşıyıcıları içeren 1000'den fazla proteinin temel bileşenlerindendir (Baltaci and Yuce 2018, Baltaci, Yuce et al. 2018). Çinko takviyesi protein metabolizmasını geliştirir (Kodama, Tanaka et al. 2020).

Bu bilgilerden yola çıkarak çinkonun pubertal dönemde insülin benzeri proteinlerin etki mekanizmalarında rol oynadığı söylenebilir.

Karaciğer fonksiyonunu yerine getirebilmesi için çinkoya ihtiyaç duyar. Zn karaciğeri hastalıklara karşı korumaktadır (Stamoulis, Kouraklis et al. 2007). Çinko metabolizmasından etkilenebilecek ana organ karaciğerdir. Çinko eksikliği karaciğer harabiyetine yol açabilir (Grüngreiff, Reinhold et al. 2016). Zn, karaciğerdeki proteinleri koruyucu özelliktedir (Kostara, Lekkas et al. 2018).

Bu bilgiler ışığında farklı çinko diyetler ile beslenen ratlarda çinkonun karaciğerde INSL3, INSL7 ve oksidatif stres üzerineetkisini araştırmayı amaçladık.

Zn, gelişen spermatositlerde yüksek olduğundan ve spermatidlerde DNA paketlendirmesini kolaylaştırdığından dolayı mayoz bölünme ve DNA yoğunlaşması

için önemlidir (Kundu and Rao 1996, Pradeepa and Rao 2007). Zn spermatogenezde büyük öneme sahiptir (Kellokumpu and Rajaniemi 1981). Zn, semen içinde fazla miktarda bulunur. Zn, androjenik aktiviteye bağlı olarak prostatta birikmektedir. Zn, testosteronun 5-alfa dihirotestosterona dönüşmesini etkiler ve prostatın androjen metabolizması üzerine negatif feedback mekanizması uygular (Dubin and Amelar 1971, Skandhan, Skandhan et al. 1978). Seminal plazmadaki çinko yoğunluğu, fertiliteiçin gereklidir (Lindholmer 1972). Çinkonun spermatogenez üzerinde birçok etkisi olmasına rağmen, altında yatan mekanizmalar net değildir.

Zn eksikliği söz konusu olduğunda insan ve hayvanlarda fetal anomaliler, libido kaybı, gelişme geriliği, hipogonadizm, iktiyoz, gece körlüğü, seminifer tübül-testis atrofisi, sekonder cinsiyet karakter gelişiminde gerileme, anemi ve ölüm görülmektedir (Dubin and Amelar 1971, Colagar, Marzony et al. 2009). Zn düzeyi semende düşük olan erkeklerde fertilite potansiyeli düşüktür (Pleban and Mei 1983). Aynı şekilde yüksek olduğunda da sperm motilite ve morfolojisinde bozukluğa yol açarak fertiliteyi olumsuz etkilemektedir (Umeyama, Ishikawa et al. 1986).

Emriyo hayatı ve bebeklik-hamilelik gibi hızlı gelişmenin olduğu dönemlerde çinkoya yüksek oranda ihtiyaç duyulduğu nettir. Çalışmamızda bu bilgiler ışığında dişi gebe ratlar çinko eksik diyetle beslenmiştir ve doğan erkek ratlara pubertal dönemine kadar uygulanan farklı çinko diyetlerin fertiliteye etkisinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

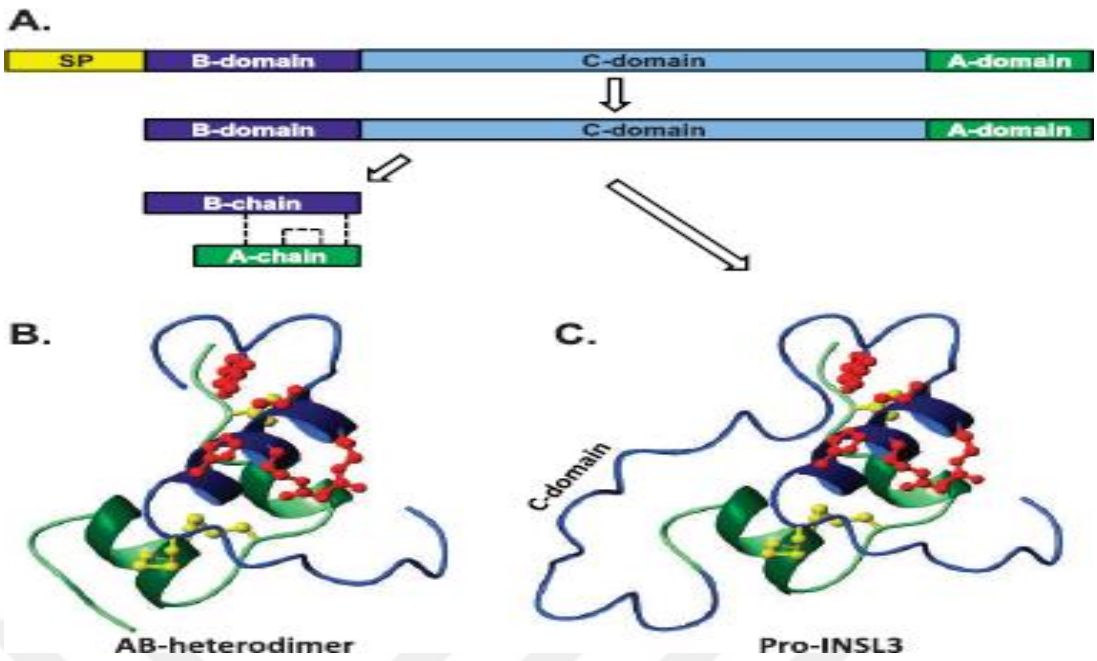
Spermatozoanların membranı poliansatüre yağ asitleri bakımından zengin olduğu için oksidatif strese karşı çok hassastır (Agarwal, Makker et al. 2008). Zn, oksidan sistemin aktivitesi ile beraber hücre hasarını engelleyebilmektedir (Powell 2000, Ozturk, Baltaci et al. 2003, Ozdemir and Inanc 2005). Zn'nin reaktif oksijen türleri oluşumunu baskılayıp ve antioksidan yollarının aktivasyonunu arttırrarak dengelediği bilinmektedir (Zhou, Wang et al. 2005). Diyette Zn eksikliği olan ratların testislerinde hücre hasarı görülmesi muhtemeldir. Ayrıca Zn eksikliği ile rat dokularında lipit peroksidasyonu artarken, ek Zn takviyesi ile bu bozukluk düzeltilir (Shaheen and Abd El-Fattah 1995, Oteiza, Adonaylo et al. 1999, Ozdemir and Inanc 2005). Sonuç olarak diyetteki çinko eksikliği de fazlalığı da stres yolaklarını aktivite eder ve serbest radikallerin birikmesiyle oksidatif stresin oluşmasına yol açar (Kostara, Lekkas et al. 2018).

1.9. RelaksinPeptid Ailesi ve İnsülin Benzeri Peptidler

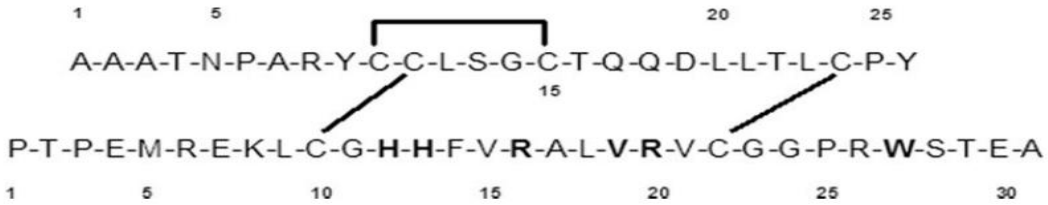
Relaksin peptid ailesi relaksin 1,2 ve 3'den oluşurken insülin benzeri peptidler 3,4,5 ve 6'dan oluşmaktadır. Yapısal olarak insülin ile yakından ilişkilidir ve bu aile üyelerinin hepsi disülfür bağlarıyla başlayan iki alt birimden (A zinciri ve B zinciri) oluşan benzer yapılara sahiptir. Bu ailenin mekanizmalarının aydınlatılma süreci devam etmektedir (Bathgate, Ivell et al. 2006, Wilkinson and Bathgate 2007, Tanaka 2010).

1.9.1. İnsülin Benzeri Peptid 3

INSL3, yapısal olarak ilişkili olduğu peptidlerin insülin/gevşetme ailesine üyedir ve etki mekanizmasına relaksin ailesi peptid reseptörü 2 (RXFP2) aracılık etmektedir (Halls 2011). Dolaşımdaki konsantrasyon düzeyi yaklaşık olarak 1 ng/ml'dir (Ivell, Hartung et al. 2005). Bu hormon başlangıçta üç peptid alanı içermekle birlikle translasyonel olarak bir pro-form yapıya veya öncü maddeye dönüştürülen peptidlere sahiptir (Şekil 1.15). INSL3, 24 adet amino asit sinyal peptidi içeren 131 aminoasitli preprotein olarak salgılanır (Ivell, Hartung et al. 2005). INSL3, yapısal olarak ilişkili olduğu insülin ve relaksine benzer şekilde ortalama 6 kDa'lık bir heterodimetrik A-B yapısına (Şekil 1.15, Şekil 1.16) sahip olduğu varsayılan bir hormondur (Ivell and Bathgate 2002, Ivell and Anand-Ivell 2009). İlk olarak hem C-peptid alanı bulunduran hem de ortalama 14-18 kDa öncül pro-formunun (pro-INSL3) ve olgun A-B heterodimerinin tespiti varsayımlarla ilişkilendirilmiştir. INSL3 ilk önce B-C-A alanlarına bağlı bir sinyal peptidi içeren prohormon öncüsü olarak sentezlenir. İkinci olarak, domuzda tespit edilen daha uzun pro-INSL3 ile dolaşımda büyük formları olduğu ve aynı zamanda kanda kısa A-B peptidi bulunmasıdır (Büllesbach and Schwabe 2002, Minagawa, Fukuda et al. 2012). B bölgesi reseptör bağlanmasının çoğunu içerirken, bunun A bölgesi tarafından spesifik bir konformasyon içinde sınırlandırılması aktivite için esastır. C bölgesi ilk gen çevirici ürününün parçasıdır. Bu bölgenin reseptör aktivasyonunu ya da bağlanmasını etkilemediği belirtilmiştir. C bölgesinde kırmızı ile gösterilen amino asit yan zincirleri, reseptör ile etkileşime girerek molekül bölgesinin tıkanmasını engeller (Şekil 1.15) (Büllesbach and Schwabe 2005, Bathgate, Ivell et al. 2006, Rosengren, Zhang et al. 2006).



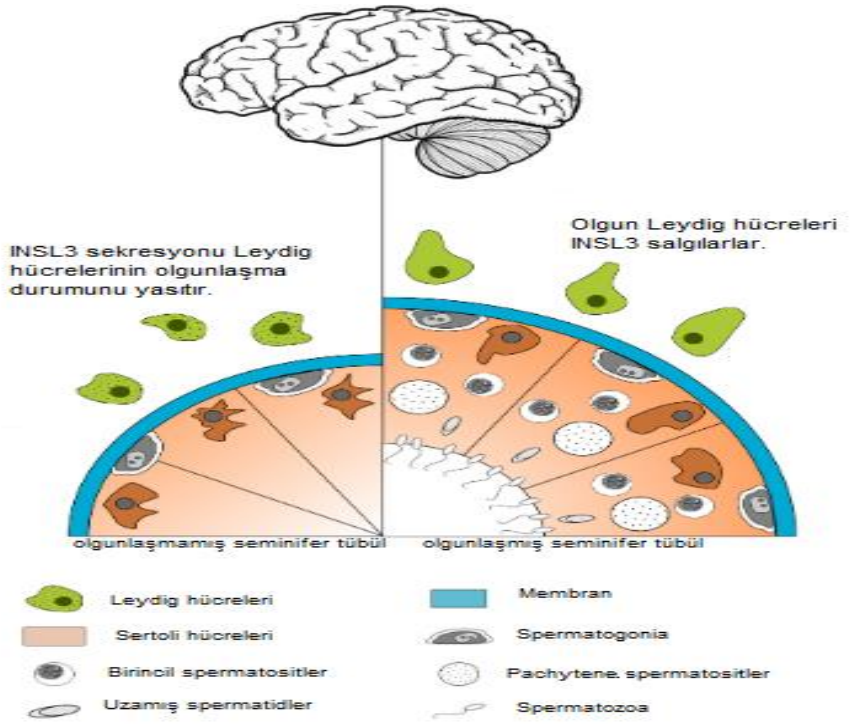
Şekil 1.15. A) INSL3 geninin üretilmesi için ko-translasyonel olarak çıkarılan sinyal peptidi (SP) dâhil olmak üzere, geçici bir pro-form olarak INSL3 geninin ekspresyonunu gösteren diyagram şeması. Daha sonra A-B heterodimerine neden olacak şekilde işlenir. B) iki zincirli insülin benzeri heterodimerin bilinen konformasyonuna dayanılarak heterodimerik INSL3 ve C) INSL3'ün öncüsünün (pro-INSL3) üçüncül tahmini yapısı (A ve B domenlerini doğru konformasyonlarda tutan sistein köprüleri sarı renkte, reseptör etkileşiminde bulunan amino asit yan grupları ise kırmızı renk ile belirtilmiştir.) (Rosengren, Zhang et al. 2006, Ivell, Wade et al. 2013).



Şekil 1.16. İnsan INSL3'ün birincil yapısı ve aminoasit kalıntıları numaralandırılması. (Tek tek veya alaninli gruplar halinde bulunan B zinciri kalıntıları koyu renkle gösterilmiştir) (Rosengren, Zhang et al. 2006).

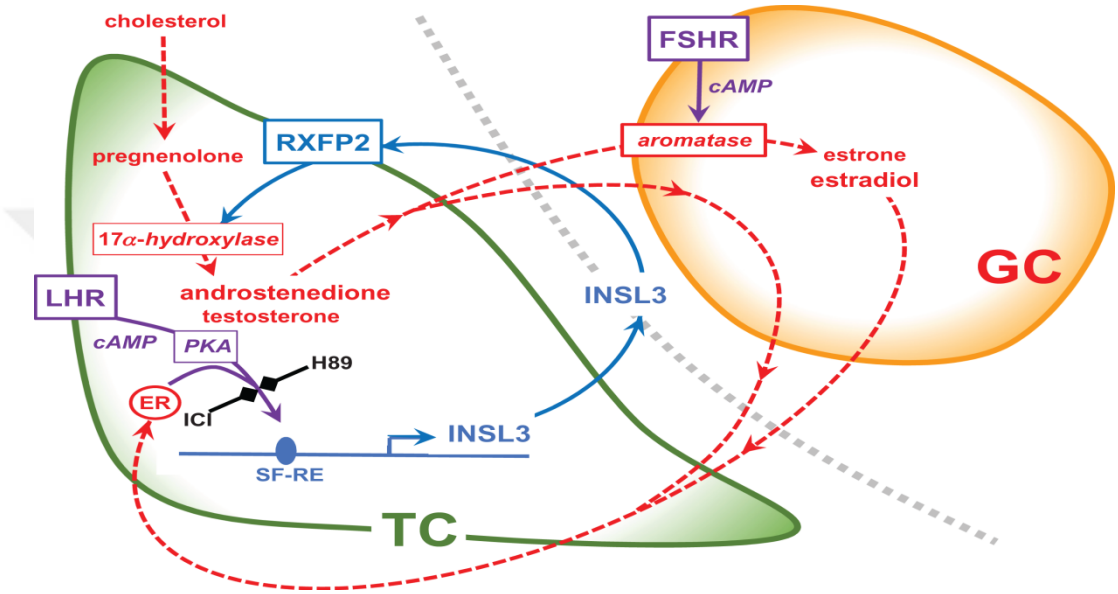
INSL3, maternal ve plasental patolojiyi ve fizyolojiyi etkileyebilen fetal hormon olarak hareket edebilen yapıdadır. INSL3, fetal Leydig hücreleri tarafından erkek üreme organının gelişimi için üretilen bir hormondur (Ivell, Wade et al. 2013, Bay and Anand-Ivell 2014). INSL3 üretim süreçleri kemirgenlerde ve insanlarda büyük ölçüde benzerlik göstermektedir (McKinnell, Sharpe et al. 2005, Anand-Ivell, Ivell et al. 2008). INSL3, peptid/reseptör gelişimi testis kökenlidir bu nedenle başlıca fizyolojik etkilerini üreme sistemi içinde gösterir (Halls 2011). Fetal gelişim sırasında önemli rol oynar (Ahmed and McNeilly 2014). INSL3 etkisiyle gubernakulum kalınlaşır, vücudun ve organların dorsal olarak büyümesi sürecinde testislerin alt karın bölgesinde tutulmasını sağlayarak testisleri sabitler (Ivell and

Hartung 2003). Erkeklerde INSL3, mililitre başına nanogram oranında bulunur ve bu sebeple potansiyel endokrin fonksiyonları vardır (Ivell and Anand-Ivell 2009). Erkeklerde dolaşımda bulunan INSL3 konsantrasyonları, perinatal dönemde artış gösterirken çocukluk döneminde azalır ve pubertal dönemde yüksek konsantrasyona sahiptir (Ahmed and McNeilly 2014). Fakat Tanner 5 evresinde bu konsantrasyon hala maksimuma ulaşmış gibi gözlemlenmemektedir. Yani Tanner 5 evresinden sonrada Leydig hücreleri gelişmeye devam etmektedir (Ferlin, Garolla et al. 2006, Wikström, Bay et al. 2006). INSL3'ün maksimum salgılanması kemirgenlerde ve insanlarda doğum sonrası 'mini-puberte' döneminde olmaktadır (Bay, Virtanen et al. 2007, Anand-Ivell, Ivell et al. 2008). INSL3, Leydig hücre farklılaşmasını, fonksiyonel özelliğini ve sayısını değerlendirmek için HHG'nin hormonları tarafından düzenlenen testosterondan daha hassas bir belirteç olarak kabul edilmektedir (Şekil 1.17) (Ivell, Wade et al. 2013, Ahmed and McNeilly 2014). INSL3'ün yaşla birlikte (on yılda %12) yavaş yavaş azaldığı muhtemelen Leydig hücrelerinin fonksiyonel kapasitesinin yansıttığı bildirilmiştir (Anand-Ivell, Wohlgemuth et al. 2006). Düşük INSL3, kas kaybı gibi birçok hipogonadizm belirti ve semptomlarına yol açabilmektedir (Ferlin, De Toni et al. 2017, Ferlin, De Toni et al. 2018).



Şekil 1.17. Testis olgunluğu öncesi ve sonrası testiküler endokrin fonksiyonu (Sansone, Kliesch et al. 2019).

INSL3, testislerden hariç herhangi bir fetal organ tarafından üretilmemektedir. Bu durum INSL3'ün fetal testis gelişimi ve farklılaşması için spesifik olduğunu göstermektedir (Şekil 1.18) (Ivell, Wade et al. 2013). INSL3'ün testis için giderek daha iyi bir birbiyobelirteç olduğu kanıtlanmaktadır. Uygun yaş referans aralığının olmaması, hassas ve dayanıklı immünolojik testlerin bulunmaması INSL3'ün rutin çalışmalarda kullanılamamasına neden olmaktadır (Ahmed and McNeilly 2014).



Şekil 1.18.Büyüyen bir antral folikül içindeki teka hücreleri (TC) ve granüloza hücreleri (Baker, Burger ve ark.) arasındaki ilişkiyi içeren iki hücre hipotezinin görünümü. Reseptörü RXFP2 üzerinde otokrin / parakrin şekilde hareket eden INSL3, androstenedion yapmak için 17α-hidroksilazı uyarır. Bu da, aromataz tarafından östrojenlere (estron veya estradiol) dönüştürülecek granulosa hücrelerine taşınır ve daha sonra, INSL3 gen promoterinde SF1'e duyarlı bir elementi (SF-RE) içeren klasik olmayan bir mekanizma ile TC'deki INSL3 genini aktive eder. Veya androstenedion, doğrudan TC'deki östrojen reseptörlerini aktive edebilir. TC'deki östrojene bağımlı sinyal yolu, LH reseptöründen (LHR) gelenle sinerji oluşturur, öyle ki her iki yol da PKA inhibitörü H89 veya östrojen reseptör antagonisti ICI-182,780 (ICI) tarafından inhibe edilebilir (Ivell and Anand-Ivell 2018).

- **Testosterona karşı INSL3**

Memelilerde fetal testis tarafından testosteron sentezlenir ve fetal Leydig hücrelerinden INSL3 sentezlenir (Anderson, Cambray et al. 2002).

Dolaşımda bulunan testosteronun HPG eksenini kontrol eden negatif geri besleme döngüsü için yetersiz kaldığında, testosteronda Leydig hücrelerinin uzun

vadeli farklılaşmasından kronik olarak etkilenmektedir. Testosteronun ölçümü ile testis, hipofiz ve hipotalamik düzeyleri değerlendirilebilir. Yani testosteron hem kronik hem de akut fizyolojiye cevap vermektedir.

INSL3, HPG ekseninin hormonları tarafından akut olarak düzenlenmez ve sağlıklı bireylerde birkaç hafta veya ay boyunca dalgalanmalar gösterir. Bu nedenle INSL3, Leydig hücre farklılaşmasını, fonksiyonel özelliğini ve sayısını değerlendirmek için HHG aks eksenin hormonları tarafından düzenlenen testosterondan daha hassas bir belirteç olarak kabul edilmektedir (Anand-Ivell, Wohlgemuth et al. 2006, Ivell and Anand-Ivell 2009, Ivell, Wade et al. 2013, Ahmed and McNeilly 2014).

1.9.2. İnsülin Benzeri Polipeptid 7

Relaksin3 olarakta bilinen ve yakın zamanda keşfedilen peptid hormondur (Shabanpoor, Separovic et al. 2009, Smith, Ryan et al. 2011). Relaksin, iki zincirli bir yapıya sahip heterodimerik bir peptit hormondur (Wilkinson, Speed et al. 2005).Yapısal olarak öncü polipeptid, sinyal peptidleri, C peptid, A zinciri ve B zincirinden oluşmaktadır (Büllesbach, Yang et al. 1992). İnsüline benzer yapıda C-peptidinin çıkarılmasından ve A zincirindeki ilgili sistein kalıntıları ile B zinciri arasında üç adet disülfür bağının oluşmasıyla iki zincirli peptid üretilmektedir (James, Niall et al. 1977). Son zamanlarda beyine lokalize olmasının haricinde bu hormonun testislerde bağlanma yerleri bulunması spermatozoa üzerindeki lokalizasyonun ve ekspresyonunun incelenmesine ışık tutmuştur. İnsülin benzeri peptid 7 (INSL7), sperm başı ve boynun akrozomal sonrası bölgesinde lokalizedir (Heidari, Taromchi et al. 2018). Bu hormon sperm motilitesindeki azalmayı engelleyen bir role sahiptir (Heidari, Taromchi et al. 2018). INSL7'nin Leydig hücrelerinin canlılığı, farklılaşması ve spermatogenez üzerinde parakrin etkileri bulunabilmektedir (Ivell, Balvers et al. 1997, Samuel, Tian et al. 2003). INSL7 prepubertal ve postpubertal dönem arasında sentezlenmesinin yanı sıra yetişkin testislerinde spermatozoa farklılaşmasında önemli role sahiptir (Braun and Jewgenow 2017). INSL7 özellikleri sıçan ile insan arasında %92 oranında özdeşlik göstermektedir (Chen, Kuei et al. 2005).

1.9.3. Relaksin ailesi peptid reseptörü 1

Relaksin ailesi peptid reseptörü 1 (RXFP1) geni 4. kromozom üzerinde 18 ekzon ile lokalizedir ve 757 amino asitli bir proteini kodlar (Hsu, Kudo et al. 2000).Relaksin reseptörü G proteini ile birleştirilmiş lösin bakımından zengin reseptör (LGR) içermektedir. RXFP1 düşük yoğunluklu lipoprotein a (LDLa) modülü içerir. Başlangıçta LGR7 olarak keşfedilen bu reseptör şuan RXFP1 olarak sınıflandırılmıştır. Bu reseptör FSH, LH, testosteron içeren LGR ailesinin alt grubuna aittir (Hsu, Nakabayashi et al. 2002, Samuel, Zhao et al. 2003, Bathgate, Halls et al. 2013, Yegorov, Bogerd et al. 2014). Kollajen yapısına benzer bir tekrar içeren doğal olarak meydana gelen bir proteinden türetilen kısa lineer peptitlerin (RXFP1)'de etki ettiği bildirilmiştir (Shemesh, Toporik et al. 2008). NOS, NO, cAMP, cGMP sinyal yolakları RXFP1 tarafından aktive edilir (Baccari, Nistri et al. 2007, Ahmad, Wang et al. 2012, Alexiou, Wilbring et al. 2013, Valkovic, Bathgate et al. 2019). Bu reseptör glukokortikoid reseptörü için bir ligand olarak işlev görebilmektedir. Relaksin dışında ek ligandlar da RXFP1 yoluyla sinyal iletimi sağlamaktadır. Relaksin-3 gibi diğer gevşetici peptitlerin de RXFP1'i bağladığı ve aktive ettiği bilinmektedir (Dschietzig, Bartsch et al. 2004, Bathgate, Lin et al. 2006). RXFP1, farelerde testis dokusunun apoptozunu azaltır ve spermin hareketliliğini, kapasitasyon ve akrozom reaksiyonunu iyileştirmekle beraber relaksin insan spermatozoasında çok sayıda fonksiyonu pozitif olarak etkilediği bildirilmiştir (Heidari, Taromchi et al. 2018). RXFP1, akrozom kapağında güçlü lokalizasyon ve spermatozoanın boynunda ve kuyruğunda lokalizasyonu ile insan spermatozoasında eksprese edildiği bildirilmiştir (Ferlin, Menegazzo et al. 2012). Bu bulgular relaksinin RXFP1 için tek ligand olmadığını ve RXFP1'in relaksin için tek reseptör olmadığını ve relaksin fizyolojisinin karmaşıklığını vurguladığını göstermektedir. Relaksin tarafından aktive edilen hücre sinyal yolları hakkında çok şey bilinmesine rağmen, ligand-reseptör etkileşimlerinin çok boyutlu olduğu ve hücre sinyal regülasyonu için potansiyel bir alanı temsil ettiği açıktır.

Yakın tarihli çalışmalar RXFP1'in anomalisinin relaksin sinyalleri üzerinde olumsuz sonuçlara yol açarak çeşitli hastalıklara neden olduğunu göstermektedir (Feng, Agoulnik et al. 2010, Feng and Agoulnik 2011, Giordano, Volpi et al. 2012, Fallowfield, Hayden et al. 2014, Tan, Tedrow et al. 2016, Bahudhanapati, Tan et al. 2019, Corallo, Pinto et al. 2019, Nagórniewicz, Mardhian et al. 2019).

Relaksin3 ve INSL3'ün her ikisi de in vitro olarak RXFP1 ve RXFP2'yi aktive etseler de, RXFP2'nin in vivo olarak relaksin3 tarafından aktive edildiğine dair bir kanıt yoktur (Hsu, Nakabayashi et al. 2002, Kumagai, Hsu et al. 2002, Scott, Fu et al. 2005). Ayrıca, RXFP2'deki bağlayıcı, relaksin3 için önerilen bağlanma bölgesinden yoksundur ve bu nedenle relaksin3 için RXFP1'den daha düşük bir afiniteye sahiptir (Hoare, Bruell et al. 2019). Relaksin3/RXFP1 sistemi, INSL3/RXFP2'den çok daha geniş bir doku dağılımı ve fonksiyon aralığına sahiptir (Halls, Bathgate et al. 2006, Halls, Bathgate et al. 2015).

- **Relaksin3'ün RXFP1'i aktive etmesi**

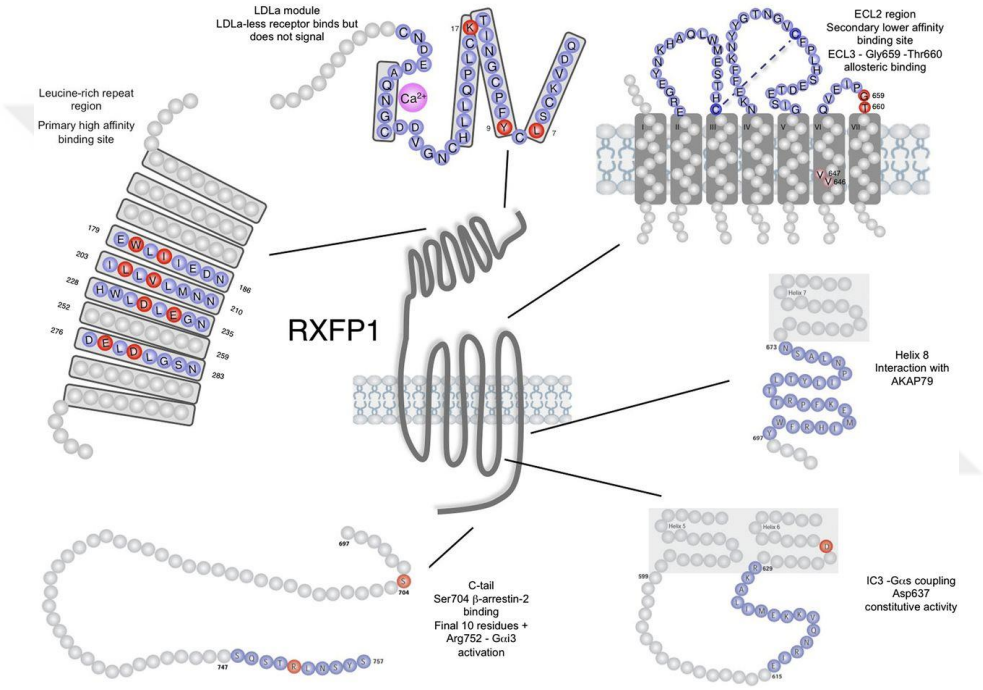
RXFP1 proteini üç ana bölgeden oluşur: hücre dışı (EC), transmembran (TM) ve hücre içi (IC) bölgeler (Venkatakrishnan, Deupi et al. 2013).

EC Bölgesi: RXFP1'in EC bölgesi üç hücre dışı döngü (ECL1, ECL2, ECL3) ve N-terminalinden meydana gelmektedir (Venkatakrishnan, Deupi et al. 2013). ECL'ler RXFP1'in ligand bağlanmasına, TM konumlandırılmasına ve aktivasyonuna yardımcı olmanın yanı sıra TM segmentlerini bağlamaktadır (Palczewski, Kumasaka et al. 2000, Wheatley, Wootten et al. 2012). EC bölgesinde LDLa modülü, bağlayıcı alan ve LRR alanı olmak üzere üç protein alanı mevcuttur (Hoare, Bruell et al. 2019). N terminus LDLa modülünü ve LRR alanını RXFP1'de bir araya getiren 32 bağlayıcı vardır (Şekil 1.19) (Sethi, Bruell et al. 2016). Bu bağlayıcılar, relaksin A zincirinin sabit bağlanması için gerekli bağlanma yerlerini sağlar (Scott, Layfield et al. 2006, Sethi, Bruell et al. 2016). Relaksin3, doğrudan TM bölgesine bağlanan G-protein-bağlı reseptör ligandlarından farklı olarak EC bölgesinin LRR alanındaki ligand bağlanma bölgesi aracılığıyla RXFP1'e bağlanır (Şekil 1.19) (Hoare, Bruell et al. 2019). Relaksin LRR'ye bağlandığı zaman TM bölgesi ile etkileşime girebilmek için LDLa modülünün konumunu sabitlemek üzere reseptörün konformasyonel değişikliğini indükler (Hopkins, Layfield et al. 2007).

TM Bölgesi: RXFP1, EC bölgesindeki yüksek afiniteli bağlanma yerine ek olarak TM bölgesinde düşük afiniteli bir relaksin bağlanma bölgesi vardır (Halls, Bond et al. 2005). G-protein-bağlı reseptörlerin TM bölgeleri (TM1-TM7) reseptörün çekirdeğini oluşturur. Ligand/reseptör etkileşiminin IC bölgesine dönüştürülebilmesinde TM bölgesindeki yapısal değişiklikler rol oynar (Venkatakrishnan, Deupi et al. 2013). TM bölgesindeki yapısal değişiklikler

konformasyonel seçiciliği ve ligand bağlayıcılık afinitesini etkiler (Heitz, Holzwarth et al. 1999, Doré, Robertson et al. 2011).

IC Bölgesi: IC bölgesi, sitozolik sinyal proteinleri ile arayüz oluşturur. ICL1,ICL2 ve ICL3 olmak üzere üç hücre içi döngü bulundurur. Ayrıca C terminal kuyruk yapısında fosforilasyon bölgesi ve hücre içi amfipatik sarmal içerir (Hsu, Kudo et al. 2000, Scheerer, Park et al. 2008). ICL3, RXFP1 reseptörünün bağlanmasında önemli rol oynar (Şekil 1.19) (Shpakov, Gur'yanov et al. 2007).



Şekil 1.19. RXFP1'in fonksiyonel alanları. RXFP1'in N-terminal bölgesi, gevşetici tarafından desteklenen ancak allosterik modülatör ML290 tarafından desteklenen sinyal verme için gerekli olan bir LDLa modülünden oluşur. L29, Y31 ve K39 kalıntıları gevşetici tarafından reseptör aktivasyonu için önemlidir. LDLa modülü, gevşeme için birincil yüksek afiniteli bağlanma bölgesini içeren lösin açısından zengin tekrar bölgesine bağlanır. Relaxin B-zinciri kalıntıları R13 ve R17'nin, LRR8'de E277 ve D279'a ve LRR6'da D231 ve E233'e bağlandığına inanılırken, I20'nin LRR4 ve L204'te W180 ve I182 ve LRR5'te V206 ile etkileştiği düşünülmektedir. ECL2 bölgesi, gevşeme için ikincil düşük afiniteli bağlanma bölgesini içerirken, ECL3, ML290 tarafından RXFP1'in aktivasyonu için gerekli olan iki kalıntı, G659 ve T660 içerir. Helix 8, sinyalozom oluşumu için gerekli olan AKAP79 ile etkileşim için gerekli olan bağlanma motiflerini içerir. ICL3'ün uzak bölgesi, Gα'lara bağlanmak için gereklidir ve D637 içeren reseptör, konstitütif aktivite sergiler. C-terminal kuyruk bölgesinde S704, p-arrestin bağlanması ve sinyalozom oluşumu için gerekliyken, son 10 tortu ve özellikle R752, RXFP1'in Gαi3'e bağlanması için gereklidir (Halls, Bathgate et al. 2015).

Yukarıda sunulan bilgilerden yola çıkarak, çinkonun ergenliğe girişte, insülin benzeri proteinlerin etki mekanizmalarında ve oksidatif hasarda kritik rol oynayabileceği düşünülmektedir.

Çalışmada; çinko eksik diyetle beslenen gebe ratlardan doğan erkek ratların, ergenlik geçişinde önemli olan cinsiyet hormonu ile insülin benzeri proteinlerin (relaksin ailesi peptidleri) üzerindeki etkileri, oksidan sistem üzerindeki değişimlerin araştırılması amaçlandı. Bunun yanı sıra, pubertal dönemde çinko eksikliği ve uygulamalarında testis ve karaciğerdeki söz konusu biyokimyasal yolakların nasıl işlediği ve düzenlendiği aydınlatılmaya çalışıldı.

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. Gereç

2.1.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Mevcut çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu (Karar no: 2019-19) kararı ile Selçuk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğünce (Proje no: 19202040) desteklenmiştir. Çalışmada, Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden 250-300 gr ağırlığında olan 40 adet Wistar Albino türü pubertal erkek sıçan temin edildi.

Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının elde edilmesi için 15 adet erişkin dişi sıçan (deney grupları için), 5 adet erişkin dişi sıçan rastgele seçildi. Sıçanlar çiftleşmesi ve gebelik oluşturulması amacıyla her kafeste 2 ergin dişi ve 1 erkek sıçan tutularak eşleşme sağlandı. Belli bir süreden sonra (10gün) erkek sıçanlar kafeslerden ayrıldıktan sonra dişiler günde 2 kez (sabah saat 8:00 ve akşam 17:00) gebelik açısından kontrol edildi. Gebelik vajinal plağın (embriyonik gün 0) varlığı ile saptandı.

Gebeliği saptanan 15 adet dişi sıçan gebelik başlangıcından doğum sonrası yavrularından ayrılacakları 21. güne kadar çinko eksik (0.650 ppm/g çinko) diyetle beslendi. Yavru sıçanlar (21 günlük) annelerinden ayrıldıktan sonra aşağıdaki şekilde gruplara ayrıldı. Sadece kontrol grubunu oluşturan sıçanlar normal diyetle beslenen annelerden doğan yavrular arasından rastgele seçildi.

Grup I: Kontrol grubu, 10 adet erkek sıçandan oluşturuldu. Normal diyetle beslenen annelerden doğan yavrular arasından rasgele olarak seçilip standart sıçan yemiyle beslendi.

Grup II: Çinko eksik diyetle beslenen 10 adet erkek sıçandan oluşturuldu. Annelerinden ayrıldıktan sonra, çalışmanın sonlandırılacağı zamana kadar (66-70 günlük) çinko eksik diyetle (0.650 ppm/g çinko) beslendi.

Grup III: Normal diyetle beslenen10 adet erkek sıçandan oluşturuldu. Annelerinden ayrıldıktan sonra, çalışmanın sonlandırılacağı zamana kadar (66-70 günlük) standart sıçan yemiyle beslenen cinsel deneyimi olmayan erkek yavrular.

Grup IV: Çinko takviyeli beslenen 10 adet erkek sıçandan oluşturuldu. Annelerinden ayrıldıktan sonra, standart sıçan yemine ilave olarak çalışmanın sonlandırılacağı zamana kadar (66-70 günlük) çinko takviyeli (5 mg/kg/gün intraperitoneal çinko sülfat) ile beslenen cinsel deneyimi olmayan erkek yavrular.

Deney hayvanları her gün su ile yıkanarak temizlenen özel olarak yapılmış çelik kafeslerde beslendi. Yemler özel çelik kaplarda verilirken su ise cam biberonlarda (normal çeşme suyu) verildi. Hayvan yemleri, normal sıçan yemi (pelletler halinde) olarak Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edildi. Deney hayvanları 12 saat karanlık, 12 saat aydınlık ve standart oda sıcaklığı (21±1 ^{o}C) sağlanan ortamda tutuldu.

2.1.2. Cerrahi İşlemler

Ketaminehydrochloride (60 mg/kg) ile Xylazine (5mg/kg) kombinasyonu kullanılarak sakrifiye edilen deney hayvanlarından testis ve karaciğer doku örnekleri alındı.

2.1.3. Dokuların Muhafaza Edilmesi

Testis ve karaciğer doku örnekleri pH 7.4 fosfat tampon çözeltisine konulup analiz yapılıncaya kadar -40 ˚C'de muhafaza edildi. Testis doku örneklerinde INSL3, INSL7, Relaksin-1, Testosteron, GSH ve MDA düzeyleri, karaciğer doku örneklerinde ise INSL3, INSL7, GSH ve MDA düzeyleri ölçüldü.

2.1.4. Çalışmada Kullanılan Cihaz ve Malzemeler

1-Doku parçalayıcı olarak Misonix's Microscan ultrasonic doku parçalayıcısı,

2-ELISA yıkayıcı olarak Rayto MicroplateYıkayıcı (RT-2600 Çin),

3-ELISA okuyucu olarak CLARIOstar *Plus* BMG LABTECH (Almanya),

4- Santrifüj (Beckman Coulter Allegra, TM X-2212, ABD),

5- PH Metre (Radiometer Copenhagen Phm 92 Lab Ph Meter),

6- Magnetik Bar, Magnetik Karıştırıcı,

7- Vorteks (Heidolph, Almanya),

8- Hassas Terazi (Sartorius BP 110 S),

9- Otomatik Pipetler (Eppenderf Resarch 100-1000 µL, 20-200 µL, 10 µL),

10- Örnek Saklama Tüpleri (Ependorf 1,5 mL),

11- Derin Dondurucu (Sanyo Ultra Low (-40ºC)).

2.1.5.Çalışmada Kullanılan Çözelti ve Reaktifler

1- KCI (Sigma: 12636, Germany),

2- NaH_2PO_4 (Sigma: 04269, Germany),

3- Na_2HPO_4 (Merck: 106580.1000, Germany),

4-NaOH (Sigma: 06203, Germany),

5-$C_4H_4KNaO_6$ (Merck: 108087.1000, Germany),

6-$CuSO_4$ (Sigma: 12849),

7- Na_2SO_4(Merck: 106649.0500, Germany),

8- HCI (Merck: 100317.2501, Germany),

9- $C_4H_4N_2O_2S$ (Tiyobarbitürik asit (TBA)) (Merck: 108180.0025, Germany),

10-H_3PO_4(Sigma: 04107, Germany),

11-DTNB (5-5’ dithiobis(2-nitrobenzoic acid)) (Sigma D-8130, Germany),

12- $HClO_4$(Merck: 100518.2501, Germany).

2.2. Yöntem

2.2.1. Dokuların Homojenizasyonu

INSL3, INSL7, Relaksin1, Testosteron analizleri için dokuların yaş ağırlıkları tartıldıktan sonra 1 N pH 7.4 fosfat tamponu ile %10’luk homojenat hazırlandı. +4ºC’de Misonix’s Microscan ultrasonic doku parçalayıcısında homejenize edildi. Elde edilen homojenatlar 3000 rpm’de15 dakika süreyle +4ºC soğutmalı santrifüjde santrifüj edildikten sonra süpernatantlar ayrılıp eppendorf tüplere konuldu. Analizler,

süpernatantlar üzerinde gerçekleştirildi (Foye, Lemke et al. 1981, Srivastava, Singh et al. 1987).

GSH, MDA ve protein analizleri için dokuların yaş ağırlıkları tartıldıktan sonra 150 mM KCI'de %10'luk homojenat oluşturuldu. +4ºC'de Misonix's Microscan ultrasonic doku parçalayıcı ile homejenize edildi. Elde edilen homojenatın bir kısmında MDA düzeyleri çalışıldı. Kalan homojenat ise 3000 rpm15 dakika süreyle +4 soğutmalı santrifüjde santrifüj edildikten sonra süpernatant ayrılıp GSH ve protein analizleri gerçekleştirildi (Uchiyama and Mihara 1978, Ellman 1959).

2.2.2. Karaciğer ve Testis Dokularında MDA Düzeylerinin Ölçümü

Malondialdehit ölçüm yönteminin prensibi TBA ile MDA'nın asidik pH ve sıcak ortamda tepkimesi sonucu oluşan pembe renkli pigmentin spektrofotometrik ölçümüne dayanmaktadır. Doku MDA düzeyi Uchiyama ve Mihara metoduyla yapıldı. Dokular +4˚C'de Misonix's Microscan ultrasonic doku parçalayıcısında 150 mM KCI'de %10'luk homojenat oluşacak şekilde parçalandı. Homojenize dokudan 2 ml alınarak üzerine sırasıyla 2 ml %8'lik $HCIO_4$ ilave edilerek 3000 devirde 15 dakika santrifüj edildi.0,5 ml süpernatant üzerine 3 ml %1'lik H_3PO_4 ve 1 ml % 0,675'lik TBA ilave edilerek +90 derecelik su banyosunda vidalı kapaklı cam tüplerde 45 dakika inkübasyona bırakıldı. Karışımın soğutulmasından sonra üzerlerine 4 ml n-bütanol ilave edilip karıştırılarak 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi ve n-bütanole karşı 532 nm'de okundu. Sonuç nmol/grdoku şeklinde verildi (Uchiyama and Mihara 1978).

2.2.3. Karaciğer ve Testis Dokularında GSH Düzeylerinin Ölçümü

Örneklerin GSH miktarları Ellman metoduyla ölçüldü. Prensibi Ellman Ayıracı [DTNB (5-5'-dithiobis(2-nitrobenzoic acid)] sülfidril bileşikleri ile tepkimeye girdiğinde bir disülfit bileşiği olan sarı renkli kompleks yapının optik dansitesinin okunarak GSH miktarı tayini esasına dayanır (Beutler 1963).

GSH tayini için doku +4˚C'de 150 mm KCl'de %10'luk homojenat hazırlandı. 3000 rpm 15 dakika süreyle santrifüj edildi. Analiz için kör ve numune tüpleri hazırlandı. Numune tüpüne 200 µl örnek konulduktan sonra üzerine 8 ml pH 6.8 olan fosfat tamponundan, 78 µl 1 N NaOH ve 100 µl Ellman ayıracı eklendikten

sonra distile suya karşı 412 nm' de okutuldu. Sonuçlar mikromol/gr protein şeklinde ifade edildi (Ellman 1959).

2.2.4. Karaciğer ve Testis Dokularında Protein Düzeylerinin Ölçümü

Protein tayini biüret metoduyla yapıldı. Peptid bağlarının alkali çözeltilerde bakır ile kompleks oluşturması esasına dayanır. Biüret reaktifinde bulunan Cu^{+2}iyonları, bir veya daha fazla sayıdaki peptid bağı ile reaksiyona girmekte ve mavi-mor renkli bir kompleks oluşturmaktadır. Dokular tartıldıktan sonra deney tüplerine konuldu ve +4˚C'de Misonix's Microscan ultrasonic doku parçalayıcısında 150 mM KCI içerisinde %10'luk homojenat oluşacak şekilde parçalandı. Elde edilen homojenatlar 3000 rpm'de 15 dakika santrifüj edildi. 1ml sodyum sülfat 50µl distile su kör olarak, 1 ml sodyum sülfat 50µl numune, numune olarak alındı. Karıştırıldıktan sonra her iki küvete de 1'er ml biüret ayıracı eklenip ve 5 dakika beklendikten sonra 505 nm'de köre karşı numuneler okunur.

2.2.5. Karaciğer ve Testis Dokularında INSL3 Düzeylerinin Ölçümü

INSL3 düzeyleri, BT Lab marka ELISA test kiti (Cat No:E2114Ra) kullanılarak analiz edildi. Elisa yıkayıcı olarak Rayto microplate washer (RT-2600, Çin) ile Elisa okuyucusu CLARIOstar *Plus* BMG LABTECH (Almanya) cihaz kullanıldı. Analizler için aşağıdaki solüsyonlar kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı.

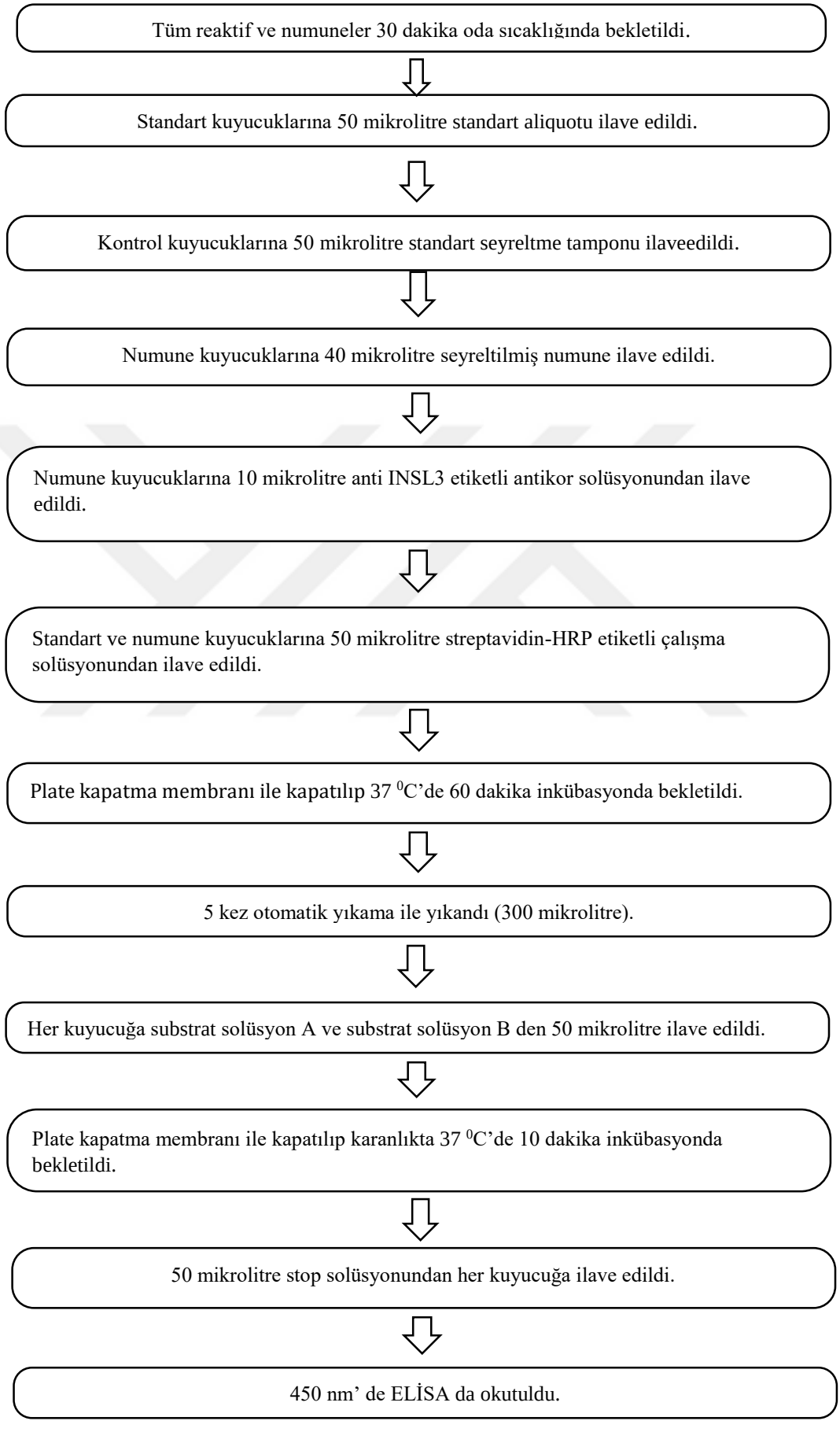
Yıkama Tamponu Hazırlanması

20 ml konsantre yıkama tamponu distile su ile 500 ml'ye seyreltilerek hazırlandı.+4^{o}C'de muhafaza edildi.

Standart Hazırlanması

Stok standart (19.2 ng/ml)'tan seyreltme tamponu ile 9.6 ng/ml, 4.8 ng/ml, 2.4 ng /ml, 1.2 ng/ml, 0.6 ng/ml standartları seri dilüsyon ile hazırlandı.

INSL3 Test Çalışma Prosedürü



2.2.6. Karaciğer ve Testis Dokularında INSL7 (Relaksin-3) Düzeylerinin Ölçümü

INSL7 düzeyleri, BT Lab marka ELISA test kiti (Cat No:E1517RA) kullanılarak analiz edildi. Elisa yıkayıcı olarak Rayto microplate washer (RT-2600, Çin) ile Elisa okuyucusu CLARIOstar *Plus* BMG LABTECH (Almanya) cihaz kullanıldı. Analizler için aşağıdaki solüsyonlar kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı.

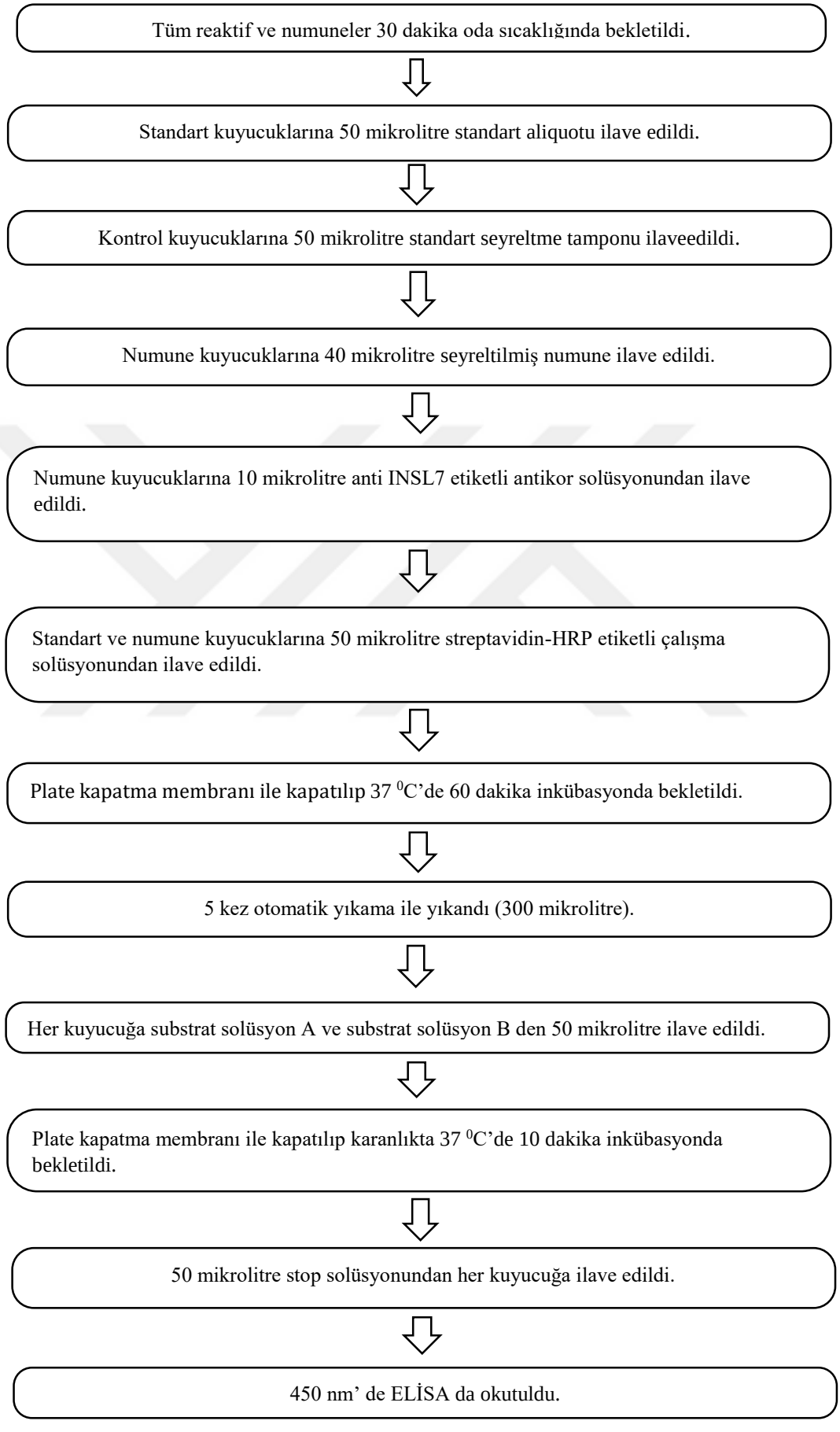
Yıkama Tamponu Hazırlanması

20 ml konsantre yıkama tamponu distile su ile 500 ml'ye seyreltilerek hazırlandı. +4^{o}C'de muhafaza edildi.

Standart Hazırlanması

Stok standart (480 ng/L)'tan seyreltme tamponu ile 240ng/L, 120ng/L, 60ng/L, 30 ng/L, 15 ng/L standartları seri dilüsyon ile hazırlandı.

INSL7 Test Çalışma Prosedürü



2.2.7. Testis Dokusunda RXFP1 Düzeylerinin Ölçümü

Relaksin ailesi peptid reseptörü 1 (RXFP1) düzeyleri, BT Lab marka ELISA test kiti (Cat No:E2544Ra) kullanılarak analiz edildi. Elisa yıkayıcı olarak Rayto microplate washer (RT-2600, Çin) ile Elisa okuyucusu CLARIOstar *Plus* BMG LABTECH (Almanya) cihaz kullanıldı. Analizler için aşağıdaki solüsyonlar kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı.

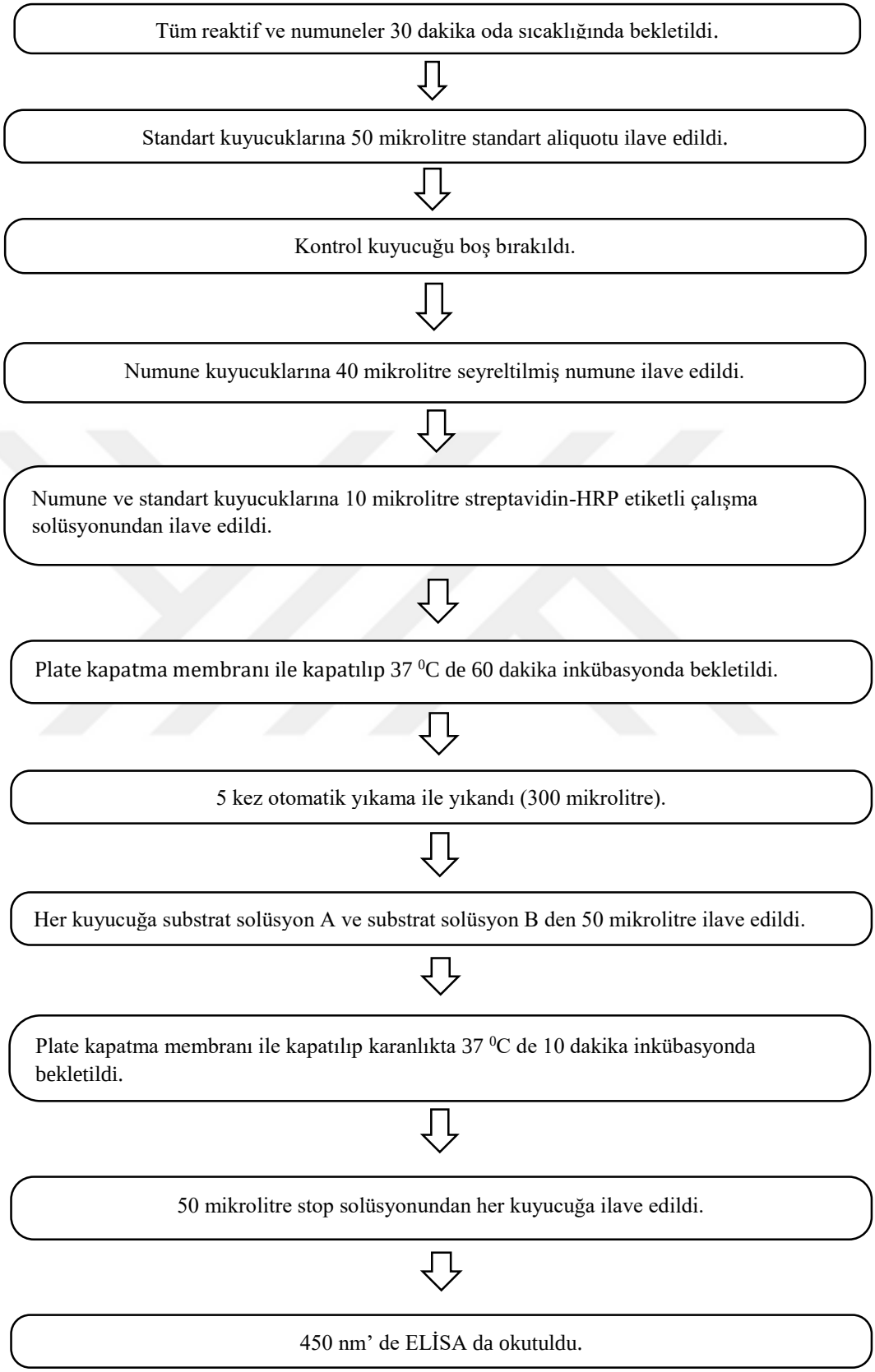
Yıkama Tamponu Hazırlanması

20 ml konsantre yıkama tamponu distile su ile 500 ml'ye seyreltilerek hazırlandı.+4ºC'de muhafaza edildi.

Standart Hazırlanması

Stok standart (1280 ng/L)'tan seyreltme tamponu ile 640ng/L, 320ng /L, 160 ng/L, 80 ng/L, 40 ng/L standartları seri dilüsyon ile hazırlandı.

RXFP1 Test Çalışma Prosedürü



2.2.8. Testis Dokusunda Testosteron Düzeylerinin Ölçümü

Testosteron düzeyleri, BT Lab marka ELISA test kiti (Cat No: EA0023Ra) kullanılarak analiz edildi. Elisa yıkayıcı olarak Rayto microplate washer (RT-2600, Çin) ile Elisa okuyucusu CLARIOstar *Plus* BMG LABTECH (Almanya) cihaz kullanıldı. Analizler için aşağıdaki solüsyonlar kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı.

Standart Hazırlanması

Stok standart (96 ng/ml)'tan seyreltme tamponu ile 48 ng/ml, 24ng/ml, 12ng/ml, 6ng /ml, 3ng/ml, 1.5ng/ml standartları seri dilüsyon ile hazırlandı.

Biyotin etiketli antikor çalışma solüsyonunun hazırlanması

Biyotin etiketli antikor üzerine seyreltme tamponu ilave edilerek kullanılmadan bir saat önce hazırlandı. Hazırlandıktan sonra oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.

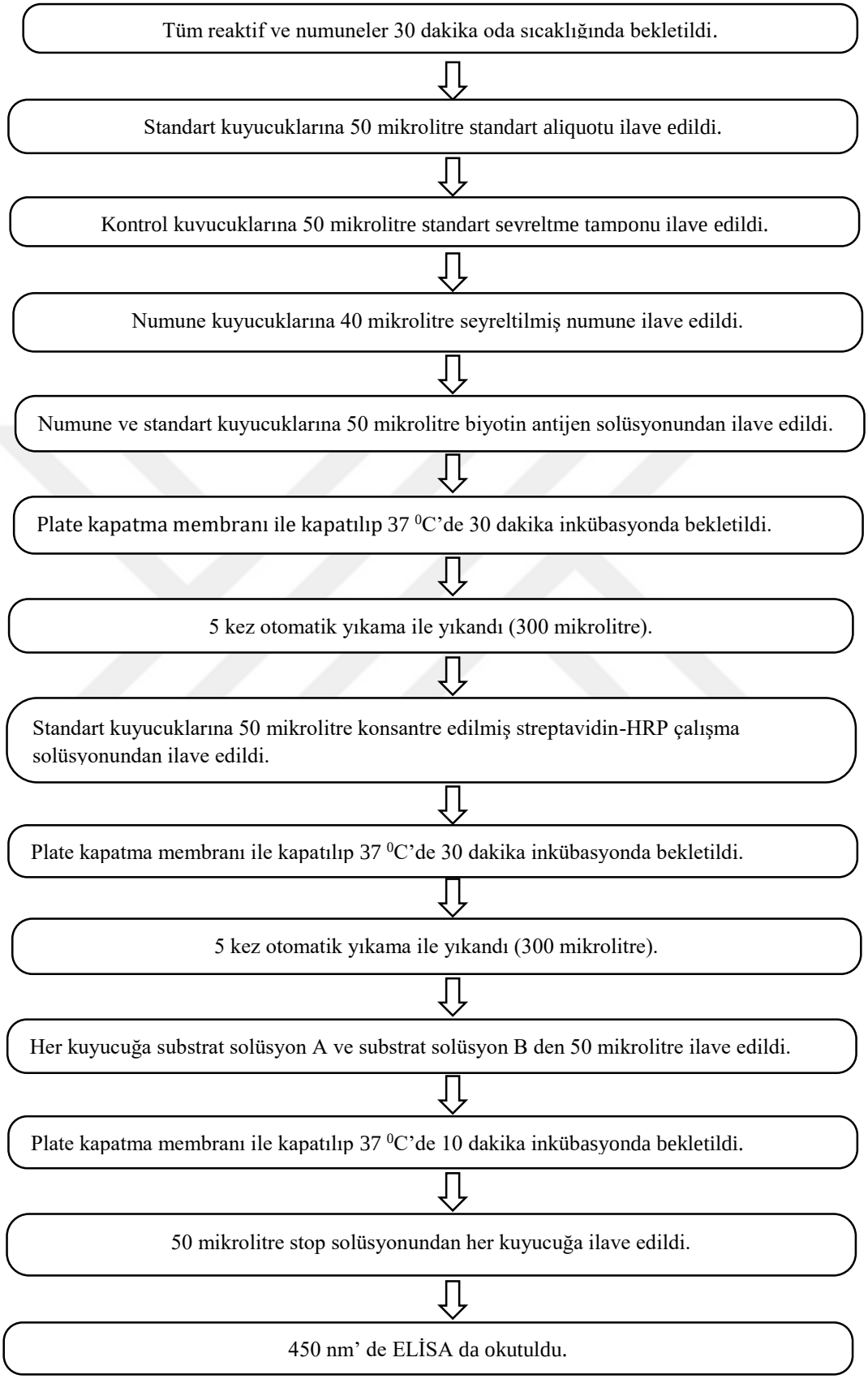
HRP-Streptavidin Konjugat Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması

100 mikrolitre antibody üzerine seyreltme tamponu ilave edilip vortex ile karıştırılarak hazırlandı. Hazırlandıktan sonraoda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.

Yıkama Tamponunun Hazırlanması

20 ml konsantre yıkama tamponu distile su ile 500 ml'ye seyreltilerek hazırlandı. +4^{o}C'de muhafaza edildi.

Testosteron Test Çalışma Prosedürü



2.3. İstatistiksel Değerlendirmeler

Bulguların istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 22.0 bilgisayar paket programı ile yapılarak, bütün parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Verilerin homojenliğinin belirlenmesi amacıyla "Shapiro-Wilk" testi yapıldı ve verilerin normal dağılım göstermediği belirlendi. Gruplar arası farklılıkların tespitinde Kruskal-Wallis H testi, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının belirlenmesi için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. $P<0,05$ düzeyindeki farklılıklar anlamlı olarak kabul edildi.

3. BULGULAR

Çalışmamızda oluşturulan gruplara ait biyokimyasal sonuçlar tablolarda gösterilmektedir.

Grup 1 kontrol olarak seçilen 10 adet rat (n=10), grup 2 çinko eksik diyetle beslenen 10 adet rat (n=10), grup 3 normal diyetle beslenen 10 adet rat (n=10), grup 4 ise çinko takviyeli beslenen 10 adet rattan (n=10) oluşmaktadır.

Ratların testis dokularındaki analizlerin değerlendirilmesi;

Tablo 3.1'de çalışmaya katılan ratların testis dokularındaki biyokimyasal analiz düzeylerine ait istatistiksel veriler bulunmaktadır.

Tablo 3.1. Çalışmaya Katılan Grupların Testis Dokusundaki INSL3, INSL7, RXFP1, Testosteron, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	**Kontrol** (Grup 1)	**Çinko Eksik Diyet** (Grup 2)	**Normal Diyet** (Grup 3)	**Çinko Takviyeli Diyet** (Grup 4)
INSL3 (ng/ml gr doku)	0,333±0,01	0,328±0,01	0,351±0,02	0,388±0,05[a,d,g]
INSL7 (ng/L gr doku)	47,11±16,94	50,00±19,71	60,90±18,33	71,511±26,84[c,f]
RXFP1 (ng/L gr doku)	65,38±10,28	50,07±6,65[b]	57,38±8,61	68,99±14,72[a,d,g]
Testosteron (ng/ml gr doku)	7,88±1,54	6,57±1,19[b]	7,85±2,11	8,96±2,60[e]
MDA (nmol/gr doku)	8,83±2,48	18,54±2,20[a]	13,66±2,30[a,d]	12,77±2,47[d]
GSH (µmol/gr protein)	103,38±31,21	76,97±21,13	97,27±43,13	79,17±28,75

[a] Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında P<0.001.
[b] Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında P<0.01.
[c] Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında P<0.05.
[d] Grup 2 ile karşılaştırıldığında P<0.001.
[e] Grup 2 ile karşılaştırıldığında P<0.01.
[f] Grup 2 ile karşılaştırıldığında P<0.05.
[g] Grup 3 ile karşılaştırıldığında P<0.05.

Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun INSL3 düzeyleri (0,388±0,05 ng/ml gr doku), normal diyet (0,351±0,02 05 ng/ml gr doku), çinko eksik diyet (0,328±0,01

ng/ml gr doku) ve kontrol (0,333±0,01 ng/ml gr doku) grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05).

Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun INSL7 düzeyleri (71,511±26,84), çinko eksik (50,00±19,71 ng/ml gr doku) ve kontrol (47,11±16,94 ng/ml gr doku) gruplarına göre önemli düzeyde yüksek bulundu (P<0,05).

Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun RXFP1 düzeyleri (68,99±14,72ng/L gr doku) normal diyet (57,38±8,61 ng/ml gr doku) ve çinko eksik diyet (50,07±6,65 ng/ml gr doku) grubuna göre önemli düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). Kontrol grubu RXFP1 düzeyleri (65,38±10,28)'de çinko eksik diyet grubu (50,07±6,65)'na göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu.

Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun testosteron düzeyleri (8,96±2,60 ng/mL gr doku), çinko eksik diyet grubu (6,57±1,19 ng/ml gr doku)'na göre önemli düzeyde yüksek bulundu (P<0,05).

Çinko eksik diyet grubunun MDA düzeyleri (18,54±2,20 nmol/gr doku), normal diyet (13,66±2,30nmol/gr doku), çinko takviyeli diyet (12,77±2,47 nmol/gr doku) ve kontrol (8,83±2,48 nmol/gr doku) grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). Çinko takviyeli diyet grubunun MDA düzeyleri (12,77±2,47 nmol/gr doku) kontrol grubundan (8,83±2,48 nmol/gr doku) yüksek (P<0,05) bulundu.

Gruplar arasında GSH (µmol/gr protein) düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 3.2.Çalışmaya Katılan Çinko Eksik Diyet ve Normal Diyet Gruplarının Testis Dokularında INSL3, INSL7, RXFP1, Testosteron, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Çinko Eksik Diyet	Normal Diyet	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,328±0,01	0,351±0,02	0,121
INSL7 (ng/L gr doku)	10	50,00±19,71	60,90±18,33	0,249
RXFP1 (ng/L gr doku)	10	50,07±6,65	57,38±8,61	0,128
Testosteron (ng/ml gr doku)	10	6,57±1,19	7,85±2,11	0,149
MDA (nmol/gr doku)	10	18,54±2,20	13,66±2,30	**0,000**
GSH (mikromol/gr protein)	10	76,97±21,13	97,27±43,13	0,165

Çinko eksik diyet grubunun MDA düzeyleri normal diyet grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p<0,001). INSL3, INSL7, RXFP1, Testosteron ve GSH düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark yoktu (P>0,05).

Tablo 3.3. Çalışmaya Katılan Çinko Eksik Diyet ve Çinko Takviye Diyet Gruplarının Testis Dokularında INSL3, INSL7, RXFP1, Testosteron, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Çinko Eksik Diyet	Çinko Takviyeli Diyet	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,328±0,01	0,388±0,05	**0,000**
INSL7 (ng/L gr doku)	10	50,00±19,71	71,511±26,84	**0,027**
RXFP1 (ng/L gr doku)	10	50,07±6,65	68,99±14,72	**0,000**
Testosteron (ng/ml gr doku)	10	6,57±1,19	8,96±2,60	**0,009**
MDA (nmol/gr doku)	10	18,54±2,20	12,77±2,47	**0,000**
GSH (mikromol/gr protein)	10	79,17±28,75	76,97±21,13	0,879

Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun INSL3 ve RXFP1 düzeyleri, çinko eksik diyet grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu ($p<0,001$). Çinko takviyeli diyet grubunda INSL7 ve testosteron düzeyleri çinko eksik diyet grubundan anlamlı düzeyde yüksekti (sırasıyla $p<0,05$ ve $p<0,01$). Çinko takviyeli diyet grubunun MDA düzeyleri anlamlı düzeyde düşük bulundu ($p<0,001$). GSH düzeylerinde gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 3.4. Çalışmaya Katılan Çinko Eksik Diyet ve Kontrol Gruplarının Testis Dokularında INSL3, INSL7, RXFP1, Testosteron, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Çinko Eksik Diyet	Kontrol	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,328±0,01	0,328±0,01	0,767
INSL7 (ng/L gr doku)	10	50,00±19,71	47,11±16,94	0,758
RXFP1 (ng/L gr doku)	10	50,07±6,65	65,38±10,28	**0,002**
Testosteron (ng/ml gr doku)	10	6,57±1,19	8,96±2,60	**0,009**
MDA (nmol/gr doku)	10	18,54±2,20	8,83±2,48	**0,000**
GSH (mikromol/gr protein)	10	76,97±21,13	103,38±31,21	0,074

Kontrol grubu RXFP1 ve testosteron düzeyleri çinko eksik diyet grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek ($p<0,01$), MDA düzeyleri istatistiksel olarak düşüktü ($P<0,001$). GSH düzeyleri bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($p>0,05$).

Tablo 3.5. Çalışmaya Katılan Normal Diyet ve Çinko Takviyeli Diyet Gruplarının Testis Dokularında INSL3, INSL7, RXFP1, Testosteron, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Normal Diyet	Çinko Takviyeli Diyet	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,351±0,02	0,388±0,05	**0,015**
INSL7 (ng/L gr doku)	10	60,90±18,33	71,511±26,84	0,262
RXFP1 (ng/L gr doku)	10	57,38±8,61	68,99±14,72	**0,018**
Testosteron (ng/ml gr doku)	10	7,85±2,11	8,96±2,60	0,211
MDA (nmol/gr doku)	10	13,66±2,30	12,77±2,47	0,404
GSH (mikromol/gr protein)	10	97,27±43,13	79,17±28,75	0,673

Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun INSL3 ve RXFP1 düzeyleri normal diyet grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). INSL7, testosteron, MDA ve GSH düzeyleri gruplar arasında farklı değildi (p>0,05).

Tablo 3.6. Çalışmaya Katılan Normal Diyet ve Kontrol Gruplarının Testis Dokularında INSL3, INSL7, RXFP1, Testosteron, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

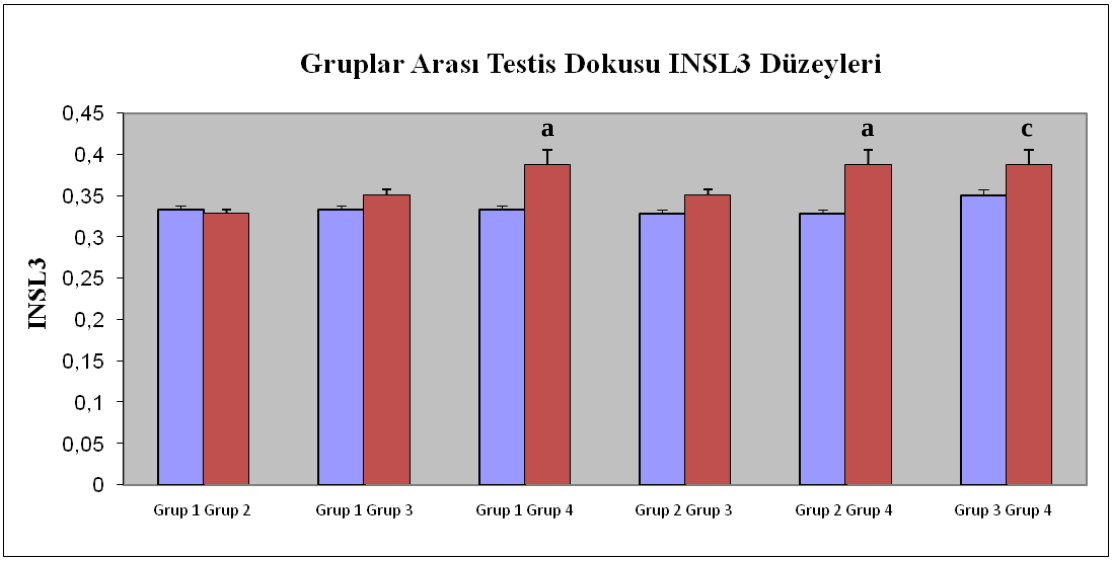
Parametreler	N	Normal Diyet	Kontrol	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,351±0,02	0,328±0,01	0,206
INSL7 (ng/L gr doku)	10	60,90±18,33	50,00±19,71	0,147
RXFP1 (ng/L gr doku)	10	57,38±8,61	50,07±6,65	0,097
Testosteron (ng/ml gr doku)	10	7,85±2,11	8,96±2,60	0,973
MDA (nmol/gr doku)	10	13,66±2,30	8,83±2,48	**0,000**
GSH (mikromol/gr protein)	10	97,27±43,13	103,38±31,21	0,673

Normal diyet grubunun MDA düzeyleri kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,001). INSL3, INSL7, RXFP1, testosteron ve GSH bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı (p>0,05).

Tablo 3.7. Çalışmaya Katılan Çinko Takviyeli Diyet ve Kontrol Gruplarının Testis Dokularında INSL3, INSL7, RXFP1, Testosteron, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Çinko Takviyeli Diyet	Kontrol	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,388±0,05	0,328±0,01	**0,000**
INSL7 (ng/L gr doku)	10	71,511±26,84	50,00±19,71	**0,027**
RXFP1 (ng/L gr doku)	10	68,99±14,72	65,38±10,28	**0,000**
Testosteron (ng/ml gr doku)	10	8,96±2,60	8,96±2,60	0,224
MDA (nmol/gr doku)	10	12,77±2,47	8,83±2,48	**0,001**
GSH (mikromol/gr protein)	10	79,17±28,75	103,38±31,21	0,100

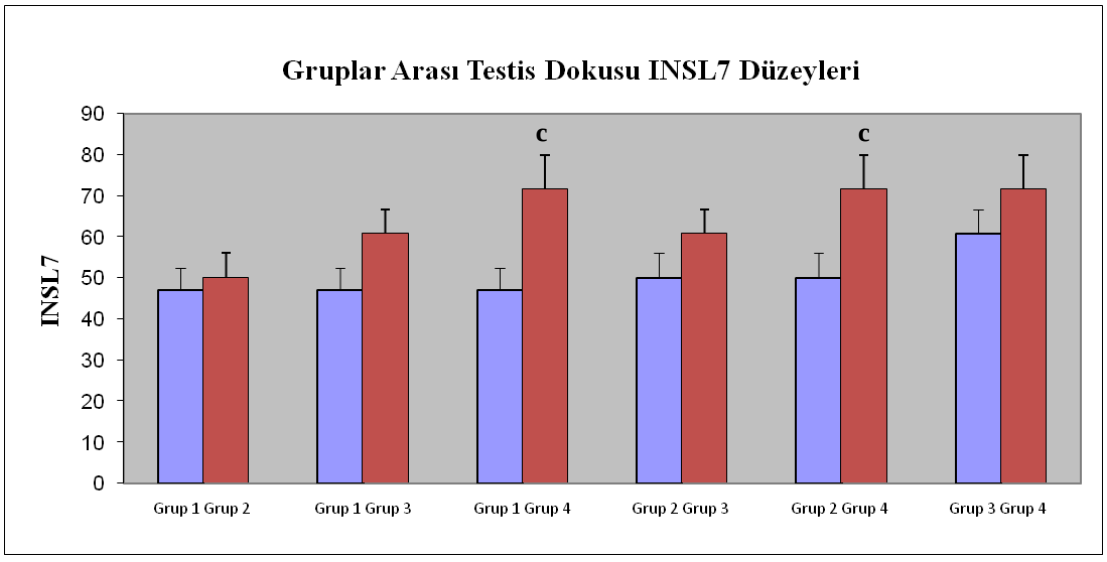
Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun INSL3 ve RXFP1 düzeyleri kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksekti (P<0,001). Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun INSL7 ve MDA düzeyleri kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek bulundu (Sırasıyla P<0,05 ve P<0,01). Testosteron ve GSH düzeyleri gruplar arasında farklı değildi (p>0,05).



Grafik 3.1. Gruplar Arası Testis Dokusu INSL3 Düzeyleri

[a] *p<0.001* , [b] *p<0.01*, [c] *p<0.05* ikili grupların birbirlerine kıyasla istatistiksel olarak farkı.

Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun INSL3 düzeyleri (0,388±0,05 ng/ml gr doku), normal diyet (0,351±0,02 05 ng/ml gr doku), çinko eksik diyet (0,328±0,01 ng/ml gr doku) ve kontrol (0,333±0,01 ng/ml gr doku) grubundan anlamlı düzeyle yüksek bulunmuştur (P<0,05). INSL3 düzeyleri, normal diyet (0,351±0,02 05 ng/ml gr doku), çinko eksik diyet (0,328±0,01 ng/ml gr doku) uygulanan grup ve kontrol (0,333±0,01 ng/ml gr doku) grubu arasındaki fark anlamlı değildi.

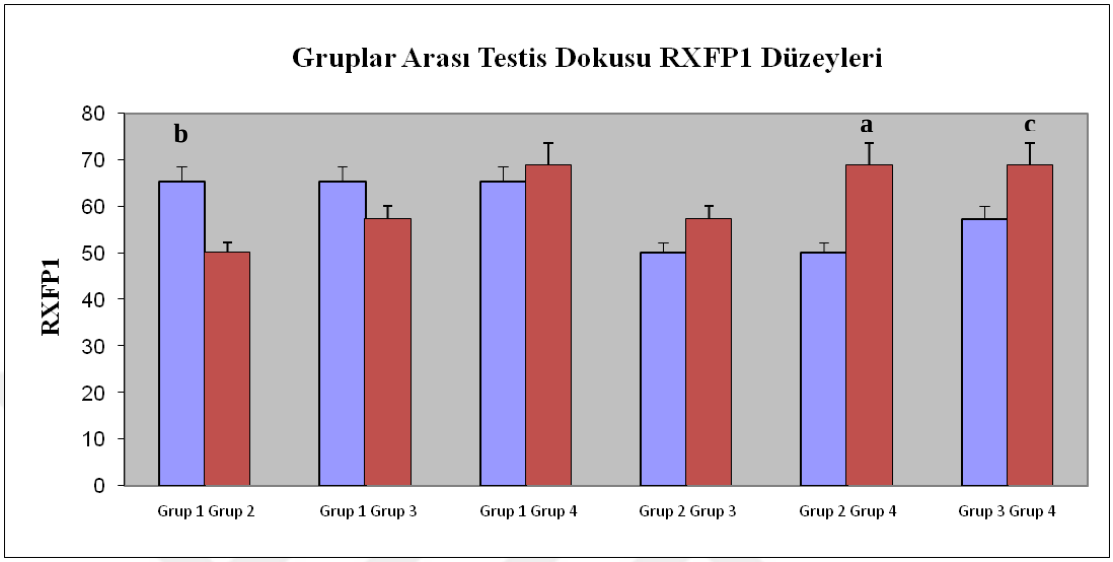


Grafik 3.2. Gruplar Arası Testis Dokusu INSL7 Düzeyleri

[a] *p<0.001*, [b] *p<0.01*, [c] *p<0.05* ikili grupların birbirlerine kıyasla istatistiksel olarak farkı.

Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun INSL7 düzeyleri (71,511±26,84), çinko eksik (50,00±19,71 ng/ml gr doku) ve kontrol (47,11±16,94 ng/ml gr doku) gruplarına göre önemli düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). INSL7 düzeyleri, kontrol

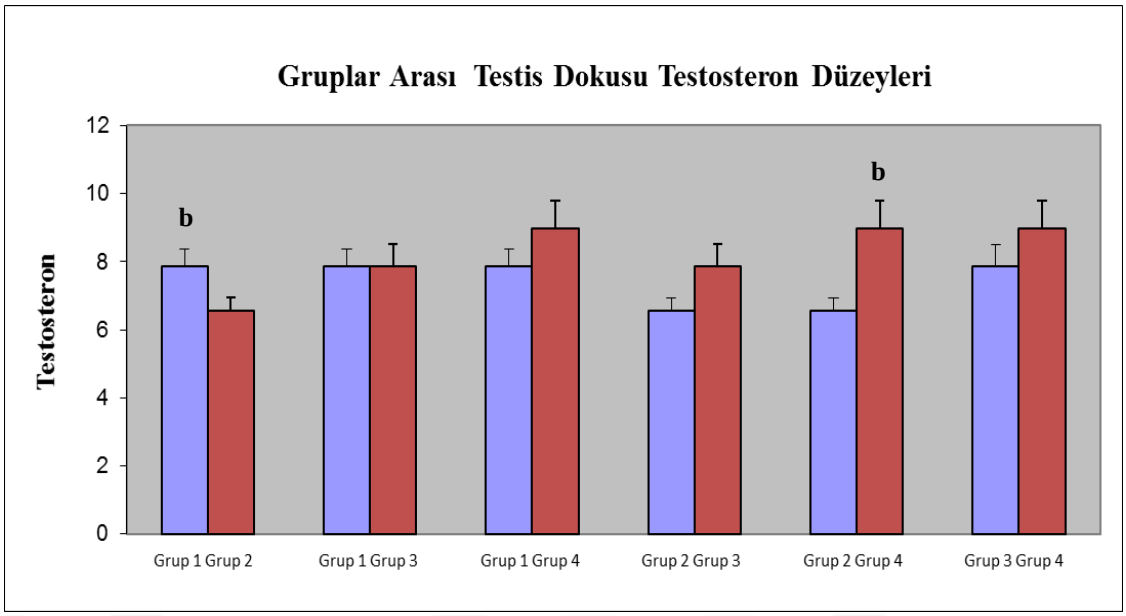
grubu (47,11±16,94 ng/ml gr doku), normal diyet (60,90±18,33 ng/ml gr doku) ve çinko eksik diyet uygulnan gruplar arasında anlamlı fark bulunmadı. Çinko takviyeli diyet grubu (71,511±26,84 ng/ml gr doku) ile normal diyet grubu (60,90±18,33 ng/ml gr doku) arasında anlamlı bir fark bulunmadı.



Grafik 3.3. Gruplar Arası Testis Dokusu RXFP1 Düzeyleri

[a] *p<0.001,* [b] *p<0.01,* [c] *p<0.05* ikili grupların birbirlerine kıyasla istatistiksel olarak farkı.

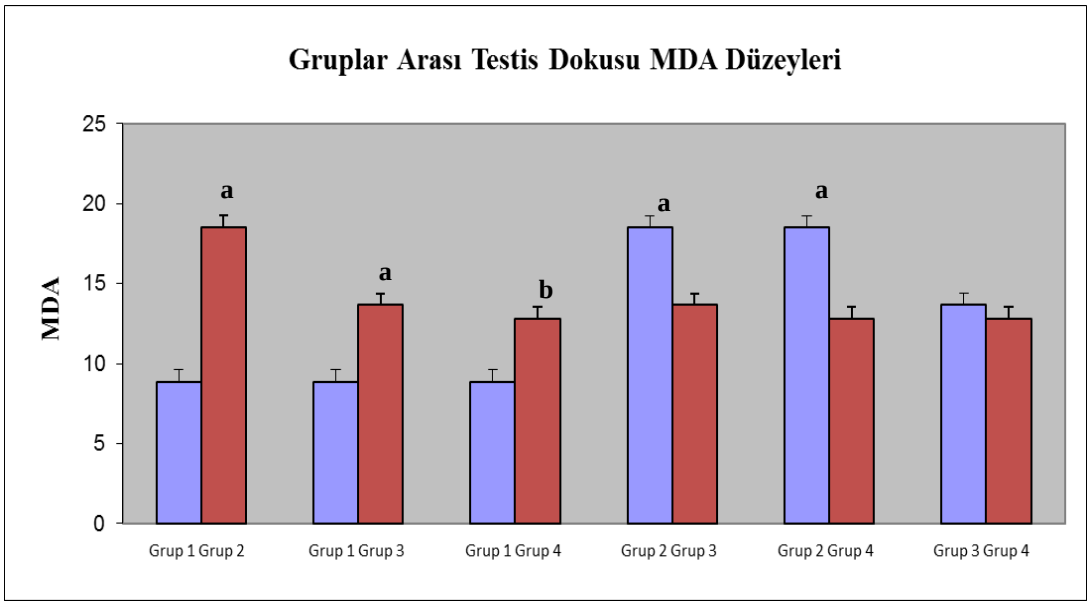
Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun RXFP1 düzeyleri (68,99±14,72 ng/L gr doku) normal diyet (57,38±8,61 ng/ml gr doku) ve çinko eksik diyet grubu (50,07±6,65 ng/ml gr doku)'na göre önemli düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). Kontrol grubu RXFP1 düzeyleri (65,38±10,28) de çinko eksik diyet grubu (50,07±6,65)'na göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu. RXFP1 düzeyleri, çinko takviyeli diyet (68,99±14,72 ng/ml gr doku) ve normal diyet (57,38±8,61 ng/ml gr doku) grupları kontrol grubundan (65,38±10,28 ng/ml gr doku) farklı bulunmadı. Normal diyet grubu (57,38±8,61 ng/ml gr doku) ve çinko eksik diyet grubu (50,07±6,65 ng/ml gr doku) arasında anlamlı bir fark yoktu.



Grafik 3.4. Gruplar Arası Testis Dokusu Testosteron Düzeyleri

[a] *p<0.001,* [b] *p<0.01,* [c] *p<0.05* ikili grupların birbirlerine kıyasla istatistiksel olarak farkı.

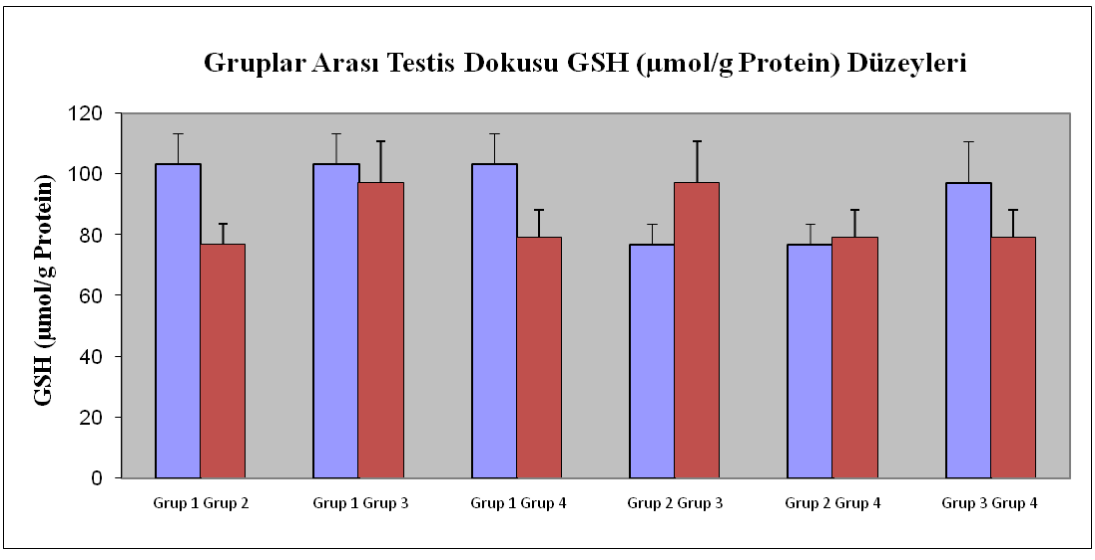
Çinko takviyeli diyet uygulanan grubun testosteron düzeyleri (8,96±2,60 ng/mL gr doku), çinko eksik diyet grubu (6,57±1,19 ng/ml gr doku)'na göre önemli düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). Kontrol grubunun testosteron seviyeleri (7,88±1,54 ng/ml gr doku) çinko eksik diyet grubundan (6,57±1,19 ng/ml gr doku) anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Çinko takviyeli diyet (8,96±2,60 ng/ml gr doku), çinko eksik diyet (6,57±1,19 ng/ml gr doku) ve normal diyet (7,85±2,11 ng/ml gr doku) uygulanan grupların testosteron düzeyleri kontrol grubuna (7,88±1,54 ng/ml gr doku) göre farklı değildi. Çinko eksik diyet grubu (6,57±1,19 ng/ml gr doku) ile normal diyet grubu (7,85±2,11 ng/ml gr doku) arasındaki fark anlamlı değildi. Normal diyet grubu (7,85±2,11 ng/ml gr doku) ile çinko takviyeli diyet grubu (8,96±2,60 ng/ml gr doku) arasındaki fark anlamlı değildi.



Grafik 3.5. Gruplar Arası Testis Dokusu MDA Düzeyleri

[a] *p<0.001*, [b] *p<0.01*, [c] *p<0.05* ikili grupların birbirlerine kıyasla istatistiksel olarak farkı.

Çinko eksik diyet grubunun MDA düzeyleri (18,54±2,20 nmol/gr doku), normal diyet (13,66±2,30 nmol/gr doku), çinko takviyeli diyet (12,77±2,47 nmol/gr doku) ve kontrol (8,83±2,48 nmol/gr doku) grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). Çinko takviyeli diyet grubunun MDA düzeyleri (12,77±2,47 nmol/gr doku) kontrol grubundan (8,83±2,48 nmol/gr doku) yüksek (P<0,05), normal diyet (13,66±2,30 nmol/gr doku) uygulanan gruptan farklı değildi. Normal diyet grubu (13,66±2,30 nmol/gr doku) ve çinko takviyeli diyet grubu (12,77±2,47 nmol/gr doku) arasında fark bulunmadı.



Grafik 3.6. Gruplar Arası Testis Dokusu GSH (µmol/g protein) Düzeyleri

Gruplar arasında GSH (µmol/gr protein) düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Ratların karaciğer dokularındaki analizlerin değerlendirilmesi;

Tablo 3.8'de çalışmaya katılan ratların karaciğer dokularındaki biyokimyasal analiz düzeylerine ait istatistiksel veriler bulunmaktadır.

Tablo 3.8. Çalışmaya Katılan Grupların Karaciğer Dokusundaki INSL3, INSL7, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	Kontrol (Grup 1)	Çinko Eksik Diyet (Grup 2)	Normal Diyet (Grup 3)	Çinko Takviyeli Diyet (Grup 4)
INSL3 (ng/ml gr doku)	0,257±0,01	0,265±0,01	0,295±0,01 [a,d]	0,306±0,01 [a,c]
INSL7 (ng/L gr doku)	18,96±5,48	28,79±10,49	33,78±14,98 [b]	28,56±13,98
MDA (nmol/gr doku)	11,62±1,80	13,81±3,27	11,16±2,86	10,71±1,67 [e]
GSH (µmol/gr protein)	113,54±24,87	98,61±19,65	94,62±20,24	116,76±34,99

[a] Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında P<0.001.
[b] Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında P<0.05
[c] Grup 2 ile karşılaştırıldığında P<0.001.
[d] Grup 2 ile karşılaştırıldığında P<0.01.
[e] Grup 2 ile karşılaştırıldığında P<0.05.

Çinko takviyeli diyet grubunun INSL3 düzeyleri (0,306±0,01 ng/ml gr doku), kontrol (0,257±0,01 ng/ml gr doku) grubu ve çinko eksik diyet grubu (0,265±0,01 ng/ml gr doku)'ndan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05).

Normal diyet uygulanan grubun INSL7 düzeyleri (33,78±14,98 ng/L gr doku) kontrol grubundan (18,96±5,48 ng/L gr doku) anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05).

Çinko eksik diyet grubunun MDA düzeyleri (13,81±3,27 nmol/gr doku) çinko takviyeli diyet grubundan (10,71±1,67 nmol/gr doku) anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05).

Gruplar arasında GSH (µmol/gr protein) düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Tablo 3.9. Çalışmaya Katılan Çinko Eksik Diyet ve Normal Diyet Gruplarının Karaciğer Dokusunda INSL3, INSL7, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Çinko Eksik Diyet	Normal Diyet	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,265±0,01	0,295±0,01	**0,001**
INSL7 (ng/L gr doku)	10	28,79±10,49	33,78±14,98	0,782
MDA (nmol/gr doku)	10	13,81±3,27	11,16±2,86	0,100
GSH (mikromol/gr protein)	10	98,61±19,65	94,62±20,24	0,985

Normal diyet grubunun INSL3 düzeyleri, çinko eksik diyet grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,01). INSL7, MDA ve GSH düzeylerinde anlamlı bir fark yoktu (p>0.05).

Tablo 3.10. Çalışmaya Katılan Çinko Eksik Diyet ve Çinko Takviyeli Diyet Gruplarının Karaciğer Dokusunda INSL3, INSL7, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Çinko Eksik Diyet	Çinko Takviyeli Diyet	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,265±0,01	0,306±0,01	**0,000**
INSL7 (ng/L gr doku)	10	28,79±10,49	28,56±13,98	0,966
MDA (nmol/gr doku)	10	13,81±3,27	10,71±1,67	**0,041**
GSH (mikromol/gr protein)	10	98,61±19,65	116,76±34,99	0,800

Çinko takviyeli diyet grubunun INSL3 düzeyleri çinko eksik diyet grubundan anlamlı düzeyde yüksek (P<0,001), MDA düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşüktü (P<0,05). Gruplar arasında INSL7 ve GSH düzeyleri bakımından anlamlı bir fark yoktu (p>0.05).

Tablo 3.11. Çalışmaya Katılan Çinko Eksik Diyet ve Kontrol Gruplarının Karaciğer Dokusunda INSL3, INSL7, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Çinko Eksik Diyet	Kontrol	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,265±0,01	0,257±0,01	0,642
INSL7 (ng/L gr doku)	10	28,79±10,49	18,96±5,48	0,265
MDA (nmol/gr doku)	10	13,81±3,27	11,62±1,80	0,223
GSH (mikromol/gr protein)	10	98,61±19,65	113,54±24,87	0,569

Çinko eksik diyet grubu ile kontrol grubunun INSL3, INSL7, MDA ve GSH düzeyleri arasında anlamlı bir fark tespit edilmedi (p>0.05).

Tablo 3.12. Çalışmaya Katılan Normal Diyet ve Çinko Takviyeli Diyet Gruplarının Karaciğer Dokusunda INSL3, INSL7, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Normal Diyet	Çinko Takviyeli Diyet	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,295±0,01	0,306±0,01	0,424
INSL7 (ng/L gr doku)	10	33,78±14,98	28,56±13,98	0,758
MDA (nmol/gr doku)	10	11,16±2,86	10,71±1,67	0,978
GSH (mikromol/gr protein)	10	94,62±20,24	116,76±34,99	0,235

Çinko takviyeli diyet grubu ile normal diyet grubunun INSL3, INSL7, MDA ve GSH düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu (p>0.05).

Tablo 3.13. Çalışmaya Katılan Normal Diyet ve Kontrol Gruplarının Karaciğer Dokusunda INSL3, INSL7, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

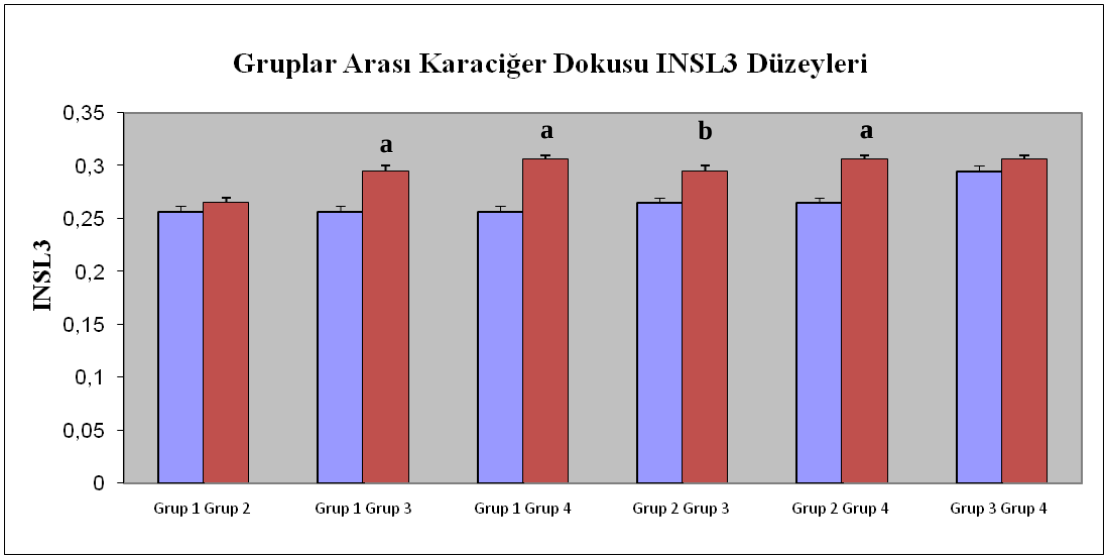
Parametreler	N	Normal Diyet	Kontrol	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,295±0,01	0,257±0,01	**0,000**
INSL7 (ng/L gr doku)	10	33,78±14,98	18,96±5,48	**0,039**
MDA (nmol/gr doku)	10	11,16±2,86	11,62±1,80	0,975
GSH (mikromol/gr protein)	10	94,62±20,24	113,54±24,87	0,366

Normal diyet uygulanan grubun INSL3 ve INSL7 düzeyleri (sırasıyla P<0,001 ve P<0,05) kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu. Normal diyet grubu ile kontrol grubunun MDA, GSH düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu (P>0,05).

Tablo 3.14. Çalışmaya Katılan Çinko Takviyeli Diyet ve Kontrol Gruplarının Karaciğer Dokusunda INSL3, INSL7, MDA ve GSH Düzeylerinin Karşılaştırılması.

Parametreler	N	Çinko Takviyeli Diyet	Kontrol	P
INSL3 (ng/ml gr doku)	10	0,306±0,01	0,257±0,01	**0,000**
INSL7 (ng/L gr doku)	10	28,56±13,98	18,96±5,48	0,078
MDA (nmol/gr doku)	10	10,71±1,67	11,62±1,80	0,845
GSH (mikromol/gr protein)	10	116,76±34,99	113,54±24,87	0,992

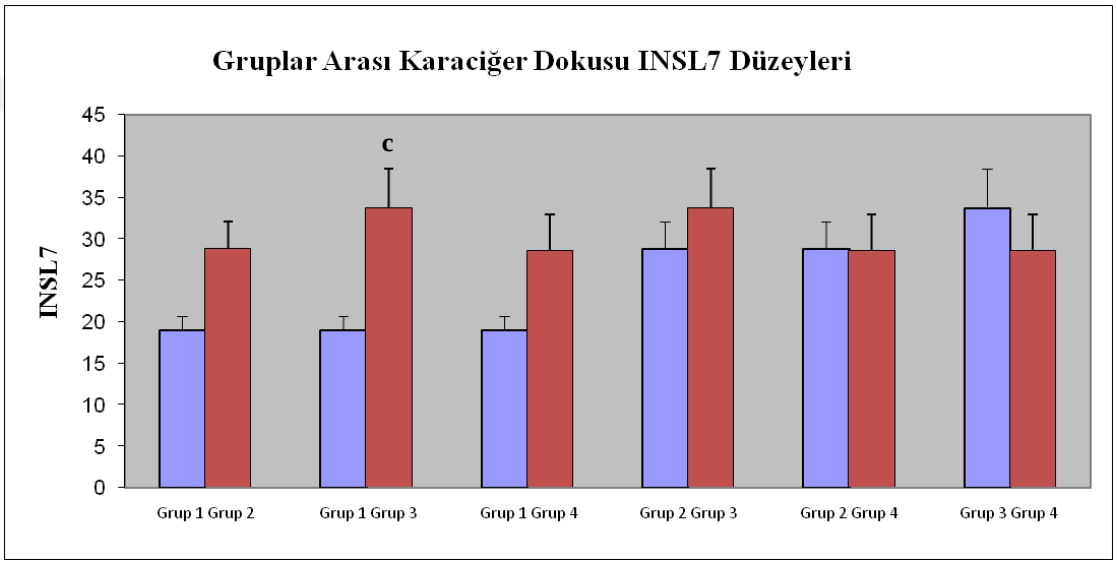
Çinko takviyeli diyet grubunun INSL3 düzeyleri, kontrol grubundan anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,001). Çinko takviyeli diyet grubunu ile kontrol grubunun INSL7, MDA, GSH düzeyleri arasında anlamlı bir fark yoktu (P>0,05).



Grafik 3.7. Gruplar Arası Karaciğer Dokusu INSL3 Düzeyleri

[a] *p<0.001*, [b] *p<0.01*, [c] *p<0.05* ikili grupların birbirlerine kıyasla istatistiksel olarak farkı.

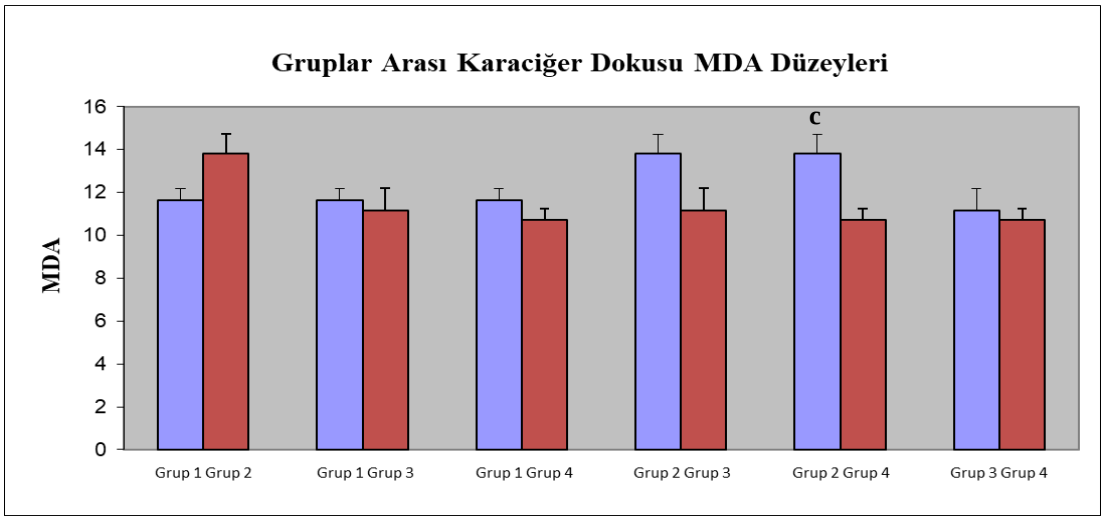
INSL3 düzeyi, çinko takviyeli diyet (0,306±0,01 ng/ml gr doku) grubu, kontrol grubu (0,257±0,01 ng/ml gr doku) ve çinko eksik diyet (0,265±0,01 ng/ml gr doku) grubuna göre anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). Normal diyet grubu (0,295±0,01 ng/ml gr doku) INSL3 seviyeleri çinko eksik diyet grubundan (0,265±0,01 ng/ml gr doku) anlamlı düzeyde yüksek bulundu. INSL3 seviyeleri, Normal diyet grubunda (0,295±0,01 ng/ml gr doku) kontrol (0,257±0,01 ng/ml gr doku) grubundan istatistiksel olarak yüksek bulundu.



Grafik 3.8. Gruplar Arası Karaciğer Dokusu INSL7 Düzeyleri

[a] *p<0.001*, [b] *p<0.01*, [c] *p<0.05* ikili grupların birbirlerine kıyasla istatistiksel olarak farkı.

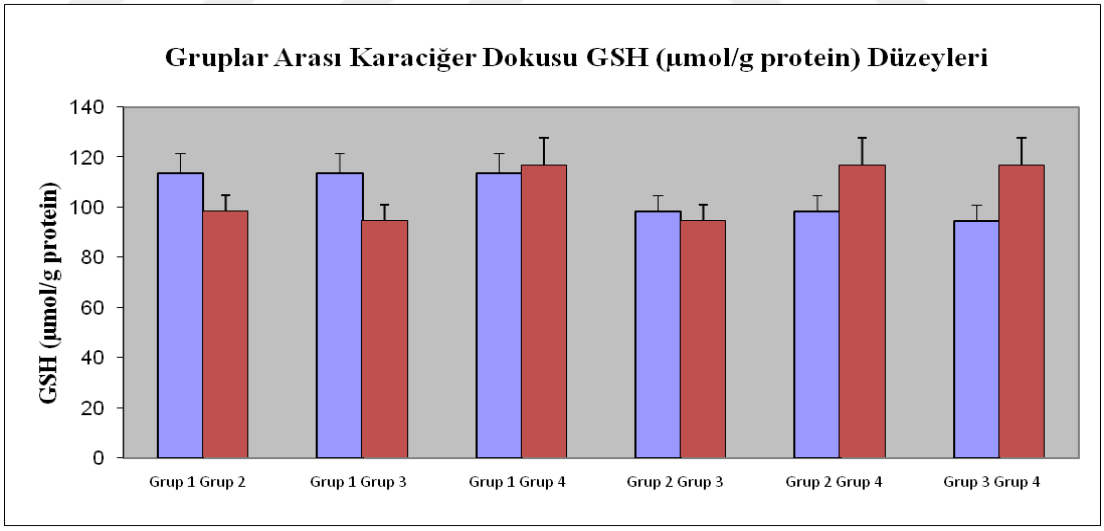
Normal diyet grubunun INSL7 düzeyleri (33,78±14,98 ng/L gr doku) kontrol grubundan (18,96±5,48 ng/L gr doku) anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). Diğer gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.



Grafik 3.9. Gruplar Arası Karaciğer Dokusu MDA Düzeyleri

[a] *p<0.001*, [b] *p<0.01*, [c] *p<0.05* ikili grupların birbirlerine kıyasla istatistiksel olarak farkı.

Çinko eksik diyet grubunun MDA düzeyleri (13,81±3,27 nmol/gr doku) çinko takviyeli diyet grubundan (10,71±1,67 nmol/gr doku) anlamlı düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). Diğer gruplar arasındaki yapılan karşılaştırmadaki fark anlamlı bulunmamıştır.



Grafik 3.10. Gruplar Arası Karaciğer Dokusu GSH (µmol/g protein) Düzeyleri

Gruplar arasında GSH (µmol/gr protein) düzeyleri bakımından istatistiksel açıdan anlamlı bir fark gözlenmedi.

4. TARTIŞMA

Sunulan tez çalışması; prepubertal ve pubertal dönemlerde çinko diyet düzenlenmesinin cinsiyet fonksiyonlarına etkili olan INSL3, INSL7, Reseptör1, Testosteron gibi hormonal faktörlerin ilişkilerini düzenleyen moleküler yolaklarda çinko sülfat ajanının olası etkilerinin araştırılması açısından ilk çalışmadır. Spermatogenez ve fertilizasyonda bu proteinlerin önemli rolleri vardır.

Proteinler, genler, metabolitler veya bunların kombinasyonu gibi farklı tiplerde moleküller, biyobelirteç olarak kullanılabilirler (Boschetti, Chung et al. 2012). Proteinler, hastalıkların biyobelirteçleri olarak kullanılabilen moleküller olma özelliğiyle umut vaat etmektedir. Protein aktivitesindeki ve miktarlarındaki varyasyonlar genom düzeyinde tahmin edilmesi güç olan değişimler hakkında bilgi verir (Kovac, Pastuszak et al. 2013). Fertilizasyonun temelini oluşturan oosit-spermatozoan füzyonunu düzenleyen proteinlerin, uyarıcı faktörlerin ve hücre-hücre etkileşimlerinin çözümlenmesi işlev ve düzenleyici mekanizmalarını anlamada, tedaviye yaklaşım planına yön vermede temel öneme sahiptir (Natsume, Yamauchi et al. 2002, Pawsonand Nash 2003, Gedikli, Özbek et al. 2013).

Zn, Leydig interstisyel hücrelerinden testosteron sentezini arttıran, serbest radikaller üzerinde olumlu etkiye sahip olan güçlü bir antioksidandır (Saalu, Oluyemi et al. 2007). Gelişme sürecindeki hayvanlarda ve insanlarda çinko eksikliğinin belirgin bir etkisi hipogonadizmdir (Hambidge and Mills 1989). Zn, testis gelişiminde, spermatogenezde ve testis fonksiyonunun sürdürülebilirliğinin sağlanmasında önemli rol oynar (Aihara, Nishi et al. 1985). Zn ile üreme fonksiyonu ilişkisinin olduğuna dair net olan bilgilere rağmen, erkek üreme sisteminin karmaşıklığından dolayı hala tam olarak aydınlatılamamıştır. Rat sütü, %10.3 yağ, %6.4 kazzein, %1.3 mineral, %2.6 laktoz ve %2 protein içermektedir (Nagasawa, Fujiwara et al. 1983). Ratlarda süt verimi doğum sonrası 17. günde pik yaptıktan sonra azalmaya başlar. Maternal antikorlar yavruya 21 günlük yaşa kadar süt ile geçer (Woodside and Jans 1995). Çalışmamızda bu teoriden yola çıkarak, çinko eksik diyetle beslenen annelerden doğan erkek yavruların prepubertal dönemden itibaren çinko takviyesi ile, erkek infertilitesinin erken tedavisine yaklaşım planı hedeflenildi.

Joshi ve ark. 60 adet prepubertal sıçan ile yaptıkları çalışmada kontrol grubu, çinko takviyeli beslenen grup ve çinko eksik diyetle beslenen grup olmak üzere üç ayrı grup oluşturmuşlardır. 4 hafta boyunca uyguladıkları bu diyetler sonucunda prepubertal dönemde çinko eksikliğinin prostat yapısını bozduğunu, 3β-hidroksisteroid dehidrojenaz aktivitesi ve nitrik oksid düzeylerini artırığı, total protein konsantrasyonunu ise azalttığını bildirmişlerdir (Joshi, Nair et al. 2014).

Stegmayr ve ark. 42 erkek bireyin seminal plazma çinko, kalsiyum ve magnezyum düzeylerini araştırdıkları çalışmalarında, çinkonun spermatozoa fonksiyonunu düzenleyici bir rolü olduğunu öne sürmüşlerdir (Stegmayr, Berggren et al. 1982).Bu katyonların, spermatozoanın hareketliliği, canlılığı, morfolojisi ve konsantrasyonunda etkili oldukları gösterilmiştir (Homonnai, Matzkin et al. 1978).Çalışmamızda spermatogenez aşamasında etkili olduğu öne sürülen INSL3, INSL7 ve RXFP1 protein düzeylerinin çinko takviyesi ile artması bu çalışmaları desteklemektedir.

Çinko eksik ve çinko takviyeli diyetle beslenen domuzların Leydig hücre yapılarının incelendiği bir çalışmada, 1 μm toluidin mavi boya ile testis interstisyel dokunun incelendiği, çinko eksik diyetle beslenen hayvanların Leydig hücrelerinin daha küçük olduğu, endoplazmik retikulumda azalma ve düzensizlik meydana geldiği tespit edilmiştir. Spermatogenezin ana regülatörünün Zn olduğu savunulmuştur (Hesketh 1982).Çalışmamızdaki çinko diyet gruplandırmalarının diğer çalışmalardan farklı kılan bir yönüde erkek yavruların çinko eksik diyet ile beslenen gebe dişi ratlardan doğmasına rağmen, yavruların çinko diyetler ile spermatogenezi iyileştirdiğini söyleyebiliriz.

Oteiza, Clegg ve ark. çinko eksikliği ile artan oksidatif stresin testiküler patolojiye etkisini araştırmak için yaptıkları bir çalışmada, 7 gün boyunca çinko eksik diyetle beslenen sıçanlarda, çinko eksikliğinin Leydig hücrelerine zarar verdiğini ve steroid sentezini, testis büyümesini azalttığınıve oksidatif stresi arttırdığını bildirmişlerdir(Oteiza, Clegg et al. 2001).Çalışmamızda çinko eksik diyet grubu ratların hem testis hemde karaciğer dokularında MDA düzeylerinin artarken, çinko takviyeli diyet gruplarında azalması bu çalışma ile benzerlik göstermektedir.

Zhang ve ark. diyabet hastalığının çinko eksikliğini arttırdığını rapor etmişlerdir. Diyabetin karaciğer dokusunda göz ardı edilemeyecek kadar hasara yol

açtığı bildirilmiştir. Ratlar üzerinde yapılan araştırmada, çinko takviyeli diyetin karaciğer dokusunda MDA düzeyini azaltıp ve SOD aktivitelerini arttırdığını ifade etmişlerdir (Zhang, Khan et al. 2019).

Çalışmamızda; çinko eksik diyet grubu testis dokusunun INSL3, INSL7 ve RXFP1 parametreleri, çinko takviyeli diyet grubuna göre düşük düzeylerde bulundu ($P<0,05$). Karaciğerde dokusunda çinko eksik diyet grubunda INSL3 düzeyleri çinko takviyeli diyet grubuna göre düşük bulundu ($P<0,05$). INSL7 düzeyleri ise gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı.

Relaksin peptid ailesi relaksin 1,2 ve 3'den oluşurken insülin benzeri peptidler INSL 3, 4, 5 ve 6'dan oluşmaktadır (Bathgate, Ivell et al. 2006, Wilkinson and Bathgate 2007, Tanaka 2010). Bu ailenin spermatazoada birçok fonksiyonu olumlu etkilediği varsayılarak mekanizmalarının aydınlatılma süreci devam etmektedir. Relaksin ailesinin farklı fonksiyonlarının tanımlanması türler arasında karmaşık olan biyolojik özelliklerin önemini belirlemek için kritik önem taşımaktadır. Ayrıca peptid ailesi karaciğer üzerinde antifibrotik etkilere sahiptir (Bennett et al. 2005).

INSL3, Leydig hücrelerinin önemli salgı ürünüdür (Bay and Andersson 2011). INSL3, gelişimi testis kökenlidir bu nedenle başlıca fizyolojik etkilerini üreme sistemi içinde göstermektedir (Halls 2011). INSL3, fetal testis tarafından üretilebilen fakat fetal overler tarafından üretilemeyen parakrin etkili hormondur (Husmann and Levy 1995). INSL3 salgılanması kemirgenlerde ve insanlarda büyük ölçüde benzerlik göstermektedir (McKinnell, Sharpe et al. 2005, Anand-Ivell, Ivell et al. 2008). INSL3'ün maksimum salgılanması kemirgenlerde ve insanlarda doğum sonrası prepuberte döneminde olmaktadır (Bay, Virtanen et al. 2007, Anand-Ivell, Ivell et al. 2008)**.**Normal erkek fenotipi (iç ve dış genital organlar) için INSL3 hormonu doğru zaman ve lokalizasyonda ve gerekli miktarda salgılanmalıdır (Husmann and Levy 1995). INSL3, testiküler iniş süreci için önemlidir (Bay, Virtanen et al. 2007, Lieber, Hershman et al. 2014). INSL3, testiküler inişte ilk aşama olarak gerekli olan gubernakulumun olgunlaşması sürecinde rol oynar (Hutson and Hasthorpe 2005, Hutson, Balic et al. 2010). Kriptorşidizim, testis kanseri ve infertilitede tanımlanmış bir risk faktörüdür (Saalu, Oluyemi et al. 2007).INSL3, Leydig hücre fonksiyonunun değerlendirilmesinde testosterondan daha duyarlı

olduğu ileri sürülmüştür (Foresta, Bettella et al. 2004, Bay, Matthiesson et al. 2006, Ferlin, Garolla et al. 2006).

Chen ve ark. erkek ratlarda prepubertal dönemde eter inhalasyonu ile hipofiz gonadotropin inhibisyonunun testis fonksiyonu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Prepubertal dönem olan ratlar ile doğumdan sonraki herhangi bir zaman diliminde seçilen ratlarla 2 ayrı grup oluşturulmuştur. Gruplar arasında, testis inişinde önemli rol üstlenen INSL3 düzeyinin anlamlı bir fark göstermediğini bildirmişlerdir(Chen, Wang et al. 2015).

McKinnell ve ark. (McKinnell, Sharpe et al. 2005)yaptıkları çalışmada di (*n*-butil) ftalat (DBP)'a maruz kalan fetal ve yetişkin sıçanlarda INSL3 ekspresyonu ve kriptorşidizm ilişkisini değerlendirmişlerdir. DBP'ın, utero maruziyette kriptorşidizmi indükleme, testosteron üretimi ve INSL3 gen ekspresyonunu baskıladığı tespit edilmiştir. Flutamid ise, antiandrojenik etkilere sahiptir (Mylchreest, Sar et al. 2002, Fisher, Macpherson et al. 2003, Mahood, Hallmark et al. 2005). DBP'ye maruziyet INSL3 ekspresyonunu baskılarken, flutamide maruziyet INSL3 üzerinde hiçbir etki göstermemiştir. Bu durum fetal sıçan Leydig hücrelerinde INSL3 ekspresyonunu androjenin düzenlemediği sonucuna ulaştırmıştır. DBP'ye maruz bırakılan fetal yaşamdaki sıçanlarda testisin anormal pozisyonu ile hayvanlarda INSL3'ün inhibe edilmesi arasında tutarlı bir ilişki bulunamamıştır. Baskılanmış INSL3, sürekli olarak kriptorşidizm ile sonuçlanmadığı, pubertal dönemde Leydig hücrelerdeki INSL3 ekspresyonunun arttığı ve yetişkin sıçanlarda Leydig hücrelerindeki ekspresyonun yüksekliğinin fetal döneme benzerliği, INSL3'ün testisin inişindeki rolünün yanı sıra spermatogenezde de etkili olduğunu göstermiştir(McKinnell, Sharpe et al. 2005).

INSL3, embriyonik gelişim sırasında testis inişinde çok önemli bir rol oynar. INSL3'ün genetik ablasyonu veya reseptörü RXFP2 farelerde kriptorşidizme neden olur. INSL3 ve RXFP2 genlerindeki allelik varyantlar sadece inmemiş testise sahip hastalarda bulunmuştur. Kriptorşidizm vakalarının INSL3/RXFP2'de meydana gelen genetik anormalliklerle ilişkili olduğu düşünülmektedir (Gorlov, Kamat et al. 2002, Ferlin, Simonato et al. 2003, Bogatcheva and Agoulnik 2005). T222P, INSL3/RXFP2 mutasyonudur. Bogatcheva ve ark. INSL3 reseptörü RXFP2'in T222P mutasyonu, in vitro deneylerde hücre yüzeyinde reseptörün ekspresyonunu

engellediği ve testiküler inişi olumsuz etkilediği sonucunu elde etmişlerdir (Bogatcheva, Ferlin et al. 2007). Genel olarak, INSL3 ve RXFP2 genlerinde mutasyona sahip kriptorşid erkeklerin fenotipleri yaşamın ilk yılında tek taraflı kriptorşidizmden, kalıcı iki taraflı kriptorşidizme kadar önemli ölçüde farklılık gösterir (Ferlin, Simonato et al. 2003, Foresta, Zuccarello et al. 2008).Çalışmamızda çinko diyetlerinin üreme üzerindeki etkisini değerlendirdiğimiz parametrelerden INSL3'ün, çinko eksik diyet grubunda anlamlı düzeyde düşük bulunması, çinko yetersizliğinde kriptorşidizme ve buna paralel olarak infertiliteye neden olduğu düşünülmektedir.

Ferlin ve Foresta sağlıklı erkek testisi ve farklı patolojileri olan testislere sahip yetişkin bireylerin dolaşımdaki INSL3 düzeylerini değerlendirmişlerdir. Yetişkin erkeklerde dolaşımdaki INSL3 varlığının tamamının olmasa da çoğunluğunun testis kökenli olduğunu göstermişlerdir. Testis hasarının fazla olduğu deneklerde çok az miktarda da olsa INSL3 üretiminin devam ettiğini, hipospermatogenezi olan infertil erkeklerde ise INSL3 düzeylerinin azaldığınırapor etmişlerdir. INSL3 hormonunun konsantrasyonu Leydig hücrelerinin fonksiyonel durumlarını yansıttığı bildirilmiştir (Ferlin and Foresta 2005). INSL3 salınımı prepubertal dönemde maksimum olmasına rağmen yaşam boyu devam ettiği ve bireylerin üreme kalitesini değerlendirip tanı koyulabilmesi için önem arzetmektedir.

Huand ve ark. yaptıkları çalışmada farelerde INSL3 veya RXFP2 genlerinin delesyonu, gubernakulum gelişimindeki başarısızlıktan kaynaklanan kriptorşidizme neden olduğunu bildirmişlerdir. Farklı dokulardaki RXFP2'nin delesyonu için Cre / loxP yaklaşımını kullanmışlardır. Gubernaküler düz veya çizgili kas hücrelerinde RXFP2 delesyonu, testis inişi veya testis gelişiminde herhangi bir anormallik bulunmadığını ifade etmişlerdir. Stra8-icre (stimule edici retinoik asit geni 8) transgeni kullanan erkek germ hücrelerinde RXFP2'nin spesifikablasyonu, yetişkin erkeklerde testis inişini, spermatogenezi veya doğurganlığı etkilemediği belirtildi. Mutant erkeklerde germ hücre apoptozunda önemli bir değişiklik tespit edilmediği ifade edilmiş. INSL3 / RXFP2 sinyalinin testis inişi için önemli olduğunu, ancak yetişkin erkeklerde spermatogenez ve fertilite için vazgeçilebilir olduğunu savunmuşlardır (Huang, Rivas et al. 2012).

Johansen ve ark. sağlıklı pubertal erkek çocuklarda üreme hormonlarıyla ilişkili olan INSL3 düzeylerini değerlendirdikleri bir çalışmada, serum INSL3 düzeyleri yaşın artması, pubertenin başlaması ve testis hacminin artması ile ilişkiliolduğunu belirtmişlerdir. Testosteron ve INSL3'ün serum konsantrasyon düzeylerinin bireysel olarak değişiklik gösterdiği bildirilmiştir. Bu durumun testosteron ve INSL3'ün farklı şekilde düzenlenebileceğinden kaynakladığını savunmuşlardır (Johansen, Anand-Ivell et al. 2014). Bu çalışmanın aksine çalışmamızda, testosteron ile INSL3 düzeyleri gruplar arasında paralellik göstermektedir.

Yaşa uygun referans değerlerinin bulunmaması ve hassasiyeti yüksek doğru sonuçların elde edileceği ölçüm metotlarının olmaması, INSL3'ün rutin kullanımı için başlıca engellerdir (Ahmed and McNeilly 2014).

Testis iniş süreci, Leydig hücre hormonları olan INSL3 ve testosteron tarafından düzenlenen gubernaküler büyümeye ve gelişime bağlıdır (Bay et al. 2011). Çinko, testosteronun dihidrotestosterona dönüşümünü etkiler. Bu dönüşümde yer alan 5α-redüktaz çinkoya bağlı bir enzimdir (Baltaci, Mogulkoc et al. 2019). Testosteron, sertoli hücrelerindeki androjen reseptörleri aracılığıyla etkisini göstermektedir (Silva, Leite et al. 2002). Spermatogenezi yöneten hormonlardan biri de testosteron hormonudur (Porto and Lazari 2013). Testosteronun ana hedeflerinin mayoz ve spermiyogenez olduğu bilinmektedir. Olgunlaşmamış testislerde isegonadal oluşum ve testis farklılaşması için gereklidir (Buzzard, Wreford et al. 2003, Haywood, Spaliviero et al. 2003, Sharpe, McKinnell et al. 2003).

Scott ve ark. yaptığı çalışmada, DBP ile fetal sıçan testisini indükleyerek androjen seviyelerini ve etkilerini, sertoli hücre sayısını ve Leydig hücresini nasıl değiştirdiğini araştırmışlardır. Testosteron eksikliğinin, sıçan spermatogenezinin erken evresinde çok çekirdekli gonosit proliferasyonunun meydana gelmesine katkıda bulunabileceğini, testosteron ile sertoli hücreleri arasında pozitif bir korelasyon olduğunu ve ayrıca testosteron ile Leydig hücreleri arasında negatif bir korelasyon olduğunu göstermişlerdir (Scott, Hutchison et al. 2007).

Ali ve ark. yaptıkları çalışmada fertil ve infertil popülasyonda çinko düzeyini ölçmeyi ve testosteron ilişkisini kurmayı amaçlamışlardır. Testosteron düzeylerini oligospermik ve azoospermik gruplarda normospermik ve kontrol gruplarına göre

anlamlı şekilde düşük bulmuşlardır. Yine aynı şekilde seminal çinko düzeylerinin de azospermik ve oligospermik gruplarda düşük olduğu bildirilmiştir. Çinkonun spermatogenez ve steroidogenez için olası bir rolü olduğu belirtilmiştir. İnfertil bireylerde bulunan düşük çinko konsantrasyonundan yola çıkarak, testis fonksiyonundan çinkonun sorumlu olduğunu bildirmişlerdir (Ali, Baig et al. 2005).Çalışmamızda, çinko takviyeli diyet grubunun testis dokusu testosteron düzeyleriçinko eksik diyet grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmasıbu çalışmayı desteklemektedir.

Bakalska ve ark. sıçan testisinden testosteron geri çekilmesinin, aşamaya bağlı bir şekilde mayotik ve spermatojenik hücre apoptozunda bir artışa yol açtığını ve testosteronun bir hayatta kalma faktörü olarak hareket edebileceğini ileri sürmüşlerdir (Bakalska, Atanassova et al. 2004).

İrani ve ark. 1966 ile 2016 yılları aralığındaki çalışmaları ele alarak yaptıkları meta analiz ile subfertil erkeklerde çinko desteğinin sperm özelliklerini ve endokrin parametreler üzerine etkisini araştırmışlardır. Çinko takviyesinin sperm konsantrasyonu, serum testosteron düzeyi ve sperm hareketliliği üzerinde pozitif bir etkisi olduğunu bildirmişlerdir (Irani, Amirian et al. 2017).

Geç başlangıçlı hipogonadizm semptomları çeşitlidir ve dolaşımdaki testosteron seviyesi ile tam olarak açıklanamaz. Testosteron tek başına gonadal durumu tanımlamak için yetersizdir. Testisler tarafından dolaşıma dört farklı hormon (testosteron, AMH, INSL3 ve InhB) salgılanmaktadır. Chong ve ark. 2017'de yaptıkları çalışmaya 19-50 yaş 111 erkek ve 70-90 yaş 98 erkek dâhil edilmiştir. Bu hormonların genç ve yaşlı erkeklerde birbirinden bağımsız değişmesi, endokrin hücre sayısından etkilenmesinin yanında, dinamik olarak düzenlendiğini göstermişlerdir. Yaşlı erkeklerde testis hormonlarının farklı düzeylerde olduğunun gözlenmesi, testislerin erkekler arasında farklı yaşlandığını akla getirmiştir. Bir başka çalışmada ise yaşa bağlı olarak testosteron ve INSL3 düzeylerindeki azalmanın birbiriyle ilişkili olduğu bildirilmiştir(Chong, Pankhurst et al. 2017).

Bulgularımız ışığında çinkonun serbest radikalleri iyileştirme özelliği ile Leydig'in interstisyel hücrelerinden testosteron sentezini attırdığı veçinko takviyesinin normal üreme fonksiyonu olan sıçanlarda spermatogenizi arttırdığı söylenebilir.

Relaksin ve reseptörünün erkek üreme sistemindeki dağılımı ve işlevi net olarak bilinmemektedir (Ivell et al. 2011). INSL7 prepubertal ve postpubertal dönem arasında sentezlenmesinin yanı sıra yetişkin testislerinde spermatozoa farklılaşmasında önemli rolü olduğu bildirilmektedir(Braun and Jewgenow 2017). RXFP1; FSH, LH, testosteron içeren LGR ailesinin alt grubuna aittir (Hsu, Nakabayashi et al. 2002, Samuel, Zhao et al. 2003, Bathgate, Halls et al. 2013, Yegorov, Bogerd et al. 2014). Relaksin3 / RXFP1 sistemi, INSL3 / RXFP2'den çok daha geniş bir doku dağılımı ve fonksiyon aralığına sahiptir (Halls, Bathgate et al. 2006, Halls, Bathgate et al. 2015).

Yang ve ark. çalışmalarında; testiste INSL7a ve INSL7b şeklinde isimlendirdikleri iki ayrı INSL7 geni tanımlamışlardır. Tanımladıkları bu genlerden INSL7a'nın testiste, INSL7b'nin ise beyinde baskın olarak eksprese edildiğini ifade etmişlerdir. Testis gelişiminde INSL7'nin rolünü anlamak için, homolog null-INSL7 gen mutant hattı CRISPR/Cas9 teknolojisi ile oluşturulmuştur. INSL7a'nın mutasyonu ile spermatogonia, spermatosit, spermatid ve spermlerde spermatojenik hücrelerinde önemli bir azalma tespit etmişlerdir. Ayrıca germ hücresi ve Leydig hücresinde önemli rol oynayan genlerin ekspresyonunu bastırdığı, ölü doğumları arttırdığı, sperm deformasyonuna ve sperm hareketliliğin azalmasına neden olduğu belirtilmiştir. Bu çalışma INSL7'nin HPG ekseni aracılığıyla testiste androjen üretimi için vazgeçilmez bir aracı olduğunu kanıtlamıştır (Yang, Li et al. 2020). Çalışmamızda beyin ve testis dokularında lokalize olduğu bilinen INSL7'ninçinko takviyeli diyet grubunun testis dokusunda, çinko eksik diyet grubuna göre önemli düzeyde yüksek olduğu bulundu.

Bennett ve ark. sirotik karaciğer üzerinde INSL7 ve INSL3 tedavisinin etkisini araştırdıkları bir çalışmalarında; relaksinin, sirozda kollajen birikiminde sorumlu olan hepatik yıldız hücreleri üzerinde antifibrotik etkilere sahip olduğu düşüncesinden yola çıkmışlardır. INSL3 ve INSL7'nin hepatik fibroz tedavisinde kullanılabileceği sonucuna ulaşmışlardır (Bennett, Mahan et al. 2005).

Yamamotove ark. yaptıkları çalışmada INSL7'nin yağ dokusunda ekspresyonu ve adipogenez üzerindeki etkilerini incelemişledir. INSL7, adipositlerde trigliseridleri arttırıp lipaz aktivitesini azalttığı sonucuna ulaşmışlardır. INSL7'nin

adipositlerdeki lipid birikimini düzenlediği bildirilmiştir (Yamamoto, Shimokawa et al. 2014).

Filonzi ve ark. erkek sıçanın üreme kanalındaki INSL7 reseptörü olan RXFP1'in yüksek ekspresyonuna sahip bir doku olan vasdeferens'te Relaksinin işlevini araştırmışlardır. RXFP1, testis ve vasdeferens'te yüksek oranlarda erkek üreme sisteminin hemen hemen tüm bölümlerinde mevcut olduğu bildirilmiştir. Sertoli hücrelerinde RXFP1 tespit edilmiştir. Sonuç olarak spermatidler ve Sertoli hücreleri üzerindeki RXFP1'in spermatogenezde önemli olabileceğini belirtmişlerdir. Relaksin, vasdeferens'te kontraktiliteyi etkilememiş olsa da, vasküler uyumu ve kolajen matrisin yeniden şekillenmesini etkileyebileceği sonucunu elde etmişlerdir (Filonzi, Cardoso et al. 2007).

Cardoso ve ark.'nın yaptığı çalışmada, testis ve vasdeferens dokularında Relaksin'in ekspresyonunu, sertoli hücre proliferasyonu üzerine olan etkisini ve vasdeferenslerde epitelyal sekresyona ve doku düzenlenmesi için katkı sağlayan bazı proteinlerin mRNA seviyeleri üzerindeki etkisini belirlemek için yapılmıştır. Relaksin immüno reaktivitesinin seminifer epitelde tespit edilmesine karşın testisyel kompartmanda tespit edilmediğini bildirmişlerdir. Çalışmada lokal olarak üretilen Relaksin'in testiste bir otokrin veya parakrin ajanı olarak davrandığını ve seminal sıvı kompozisyonunu, spermatogenezi etkilemek için vasdeferens'in gerekli olduğu sonucunu elde etmişlerdir. Vasdeferens ve prostatta meydana gelen gevşeme mRNA düzeylerini azalttığını ve bu azalmanın etkisinin testosteron tarafından önlendiğini savunmuşlardır (Cardoso, Nascimento et al. 2010).

INSL7 biyoaktivitesi ve RXFP1 bağlanma özelliklerininin araştırıldığı bir çalışmada, testis ve prostatta, seminifer tübülleri çevreleyen interstisyel boşluk ve prostatik stromal hücrelerin baskın immün boyanma gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışma ile INSL7 ve RXFP1'in üreme dokularında peptid olarak önemi genişletilmiştir (Silvertown, Neschadim et al. 2010).

Porto ve ark. sıçan üzerinde yaptıkları çalışmalarında INSL7'nin spermatogenezdeki rolünü araştırmışlardır. INSL7 ve RXFP1'in Sertoli hücre çoğalmasını uyardığını bildirmişlerdir. Relaksin, Sertoli hücre proliferasyonunu uyarıp dolaylı olarak veya germ hücrelerini etkileyip doğrudan spermatogenez üzerinde etkili olabileceğini söylemişlerdir. Ayrıca çalışma sonunda Relaksin'in,

mayoz öncesi mayotik hücrelerin sayısını artırdığı düşüncesini de ileri sürmüşlerdir (Porto and Lazari 2013).

Bennett ve ark. Relaksin3'ün organları hücre dışı matriks birikiminden koruduğu düşüncesiyle fareler üzerinde in vivo olarak yaptıkları çalışmada, yaşlanmayla beraber yaygın olarak ortaya çıkan hepatik fibroz değerlendirilmiştir. Hepatikfibroz, hepatik yıldız hücrelerinin aktivasyonu, hücre dışı matriks degradasyonunun azalması ve aşırı kollajen birikimi ile karakterizedir. Relaksin3 kollajen üretimini inhibe ederek aşırı kollajen birikiminden kaynaklanan karaciğer fibrozunu azaltabildiği bildirilmiştir. Relaksin3 ile tedavi, fibroz ve sirozda hepatik kollajen üreten ana hücre olan aktif hepatik yıldız hücrelerinin miyofibroblastik fenotipini azalttığı gösterilmiştir. Sonuç olarak hepatik hasar varlığı devam etse de, Relaksin3 ile yerleşmiş hepatik fibrozda kollajen birikimi, hepatik yıldız hücre aktivasyonun azaldığını ve hepatikfibrozun tedavisi için etkili olabileceğini bildirmişlerdir (Bennett, Heimann et al. 2014).

MDA, lipidperoksidasyonunun önemli parametresi olarak kabul görmüştür (Akil, Gurbuz et al. 2015). GSH, antioksidan savunma sisteminde önemli rol oynayan elemanlardan birisidir (Oztekin, Baltaci et al. 2007). Artan serbest radikal ve oksidan oluşumunun, testis hasarının oluşmasında önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir (Saalu, Oluyemi et al. 2007).

Metwaly diyabetik sıçan testis dokusu üzerinde yaptığı çalışmalarında; çinkonun oksidatif stres ve sperm özellikleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çinkonun, diyabetin sebep olduğu oksidatif strese karşı koruyucu olduğu ve testis dokularında GSH artarken MDA'nın önemli ölçüde azaldığı bildirilmiştir (Metwaly 2015).

Oteiza ve ark'ın7 gün çinko eksik diyetle beslenen grup, sınırlı grup ve kontrol grubu olmak üzere 3 ayrı grup oluşturularak yaptıkları çalışmalarında, testis glutatyon peroksidaz ve glutatyon redüktaz aktivitelerinin üç grup arasında farklılık göstermediği belirtilmiştir (Oteiza, Clegg et al. 2001).

Omu ve ark. yaptıkları çalışmada çinko eksikliğinin sıçanlarda spermatogenez üzerindeki etki mekanizmalarını araştırmışlardır. Çinko takviyeli grup, çinko eksik diyet ve kontrol grubu olmak üzere 3 ayrı gruplandırma yapılan sıçanlar 4 hafta boyunca beslenmişlerdir. 4 hafta sonunda çinko eksik diyet ile beslenen grubun

testosteron üretiminde azalma, MDA düzeyinde artma, GSH düzeyinde azalma ve spermatogenezin bozulduğu gözlenmiştir (Omu, Al-Azemi et al. 2015). Çalışmamız testis dokusu testosteron ve MDA düzeyleri bakımından bu çalışma ile uyumludur.

Uddin ve ark. kronik karaciğer hastalar, ve gönüllü sağlıklı bireylerin MDA ve Zn düzeylerini araştırdıkları çalışmalarında; kronik karaciğer hastalarında yüksek MDA düzeyleri bulunurken çinko düzeyleri kontrol grubuna göre düşük olduğu bildirilmiştir. (Uddin, Hossain et al. 2017).

Çinkonun yeterli düzeyde diyete dahil edilmesinin oksidan savunma sisteminin optimal işleyişi için önemli rol oynadığı ve çinko eksikliğinin artmış doku oksidatif hasar riski ile ilişkili olduğu konusunda yapılan birçok çalışma mevcuttur. Farklı çinko eksikliği modellemeleriyle lipit seviyelerinin yüksek bulunduğu çalışmalar (Kraus, Roth et al. 1997, Bagchi, Vuchetich et al. 1998, Oteiza, Adonaylo et al. 1999, Tate Jr, Miceli et al. 1999, Virgili, Canali et al. 1999), protein ve DNA oksidasyonu ile ilgili çalışmalar (Olin 1989, Oteiza, Olin et al. 1995)vardır. Çalışmamızda karaciğer dokusunda çinko takviyeli grup ile çinko eksik grup arasında MDA ve GSH düzeyleri bakımından anlamlı bir fark bulunmadı. Ancak çinko eksik grubunun testis dokusunda artan MDA düzeyleri, çinkonun üreme üzerindeki önemini açıkça göstermektedir.

Sahin ve ark. alüminyum klolürünoksidatif stres üzerinde bilinen olası etkilerinden yola çıkarak Wistar erkek sıçanları 4 ayrı gruba ayırıp 30 gün boyunca belli dozlarda periton içi uygulama yapmışlardır. Alüminyum klolürürdozunun yüksek verildiği gruptaki sıçanların karaciğer dokularında çinko seviyesinin daha düşük olduğu ve MDA seviyelerinin yüksek olduğu bildirilmiştir (Sahin, Ozkaya et al. 2017).

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

Bu çalışma Selçuk Üniversitesi Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilen 250-300 gr ağırlığında olan 40 adet Wistar Albino türü pubertal erkek sıçan üzerinde gerçekleştirilmiştir. Gebeliği saptanan 15 adet dişi sıçan gebelik başlangıcından doğum sonrası yavrularından ayrılacakları 21. güne kadar çinko eksik (0.650 ppm/g çinko) diyetle beslendi. Yavru sıçanlar (21 günlük) annelerinden ayrıldıktan sonra gruplara ayrıldı. Sadece kontrol grubunu oluşturan sıçanlar normal diyetle beslenen annelerden doğan yavrular arasından rastgele seçildi. Yapılan çalışmada sıçanlar dört farklı grup olarak ayrıldı. **Grup I:** Kontrol grubu, 10 adet erkek sıçandan oluşturuldu. **Grup II:** Çinko eksik diyetle beslenen 10 adet erkek sıçandan oluşturuldu. **Grup III:** Normal diyetle beslenen10 adet erkek sıçandan oluşturuldu. **Grup IV:** Çinko takviyeli beslenen 10 adet erkek sıçandan oluşturuldu. Çinko sülfat uygulamaları Periton içi (i.p) uygulandı. Testis doku örneklerinde INSL3, INSL7, Relaksin-1, Testosteron, GSH ve MDA düzeyleri, karaciğer doku örneklerinde ise INSL3, INSL7, GSH ve MDA düzeyleri ölçüldü. Bulguların istatistiksel değerlendirilmesi SPSS 22.0 bilgisayar paket programı ile yapılarak, bütün parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart sapmaları hesaplandı. Verilerin homojenliğinin belirlenmesi amacıyla "Shapiro-Wilk" testi yapıldı ve verilerin normal dağılım göstermediği belirlendi. Gruplararası farklılıkların tespitinde Kruskal-Wallis H testi, farklılığın hangi gruptan kaynaklandığının belirlenmesi için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı.

Çalışmada kullanılan deney hayvanlarının elde edilmesi için 15 adet erişkin dişi sıçan (deney grupları için), 5 adet erişkin dişi sıçan rastgele seçildi. Sıçanlar çiftleşmesi ve gebelik oluşturulması amacıyla her kafeste 2 ergin dişi ve 1 erkek sıçan tutularak eşleşme sağlandı. Belli bir süreden sonra (10gün) erkek sıçanlar kafeslerden ayrıldıktan sonra dişiler günde 2 kez (sabah saat 8:00 ve akşam 17:00) gebelik açısından kontrol edildi. Gebelik vajinal plağın (embriyonik gün 0) varlığı ile saptandı.

Testis dokusunda grup 4'ün INSL3 düzeyleri, diğer gruplardan istatistisel olarak yüksek bulundu ($P<0,05$). Grup 4'ün INSL7 düzeyleri, grup 2 ve grup 1'e göre önemli düzeyde yüksekti ($P<0,05$). Grup 4'ün Reseptör1 düzeyleri grup 3 ve

grup 1'e göre önemli düzeyde yüksek bulundu (P<0,05). Grup 1'de Reseptör1 düzeyleri grup 2'ye göre anlamlı düzeyde yüksek, grup 4'ün Testosteron düzeyleri, grup 2'ye göre önemli düzeyde yüksek tespit edildi (P<0,05). Grup 2'nin MDA düzeyleri, diğer gruplara göre anlamlı düzeyde yüksek, grup 4'ün MDA düzeyleri ise grup 1'den yüksek bulundu (P<0,05). Gruplar arasında GSH düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Karaciğer dokusunda grup 4'ün INSL3 düzeyleri, grup 1ve grup 2'den anlamlı düzeyde yüksek, grup 3'ün INSL7 düzeyleri ise grup 1'den anlamlı düzeyde yüksekti (P<0,05). Grup 3'ün MDA düzeylerigrup 4'ten anlamlı düzeyde yüksek bulundu(P<0,05). Gruplar arasında GSH düzeyleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı.

Çalışmamız, prepubertal dönem için bu çalışmalara bir izlenim daha kazandırmak adına yararlı olacağını ileri sürebiliriz.

Çalışmamızın prepubertal ve pubertal dönemlerde Zn, INSL3, INSL7, RXFP1, testosteron parametrelerinin spermatogenez aşamasından itibaren aydınlatılması ve olası ilişkilerinin sunulması infertilitenin erken tanı ve tedavisine başlanılabilmesi adına faydalı olduğunu düşünmekteyiz. Bu kapsamda literatüre katkı sağlayacağı düşünülmekte olup, ileri çalışmalara yön veren ilk çalışma özelliği taşımaktadır.

5.2. Öneriler

Hastalıkların erken tanı ve tedavilerini sağlayabilmek, yeni tedavi yöntemlerini geliştirebilmek ve hastalıkların oluşmadan elimine edilebilmesini sağlamayabilmek bakımından bu biyomarkırların biyokimyasal fonksiyonlarının öneminin anlaşılabilmesi için araştırılması gereken bir konudur.

INSL3, INSL7 ve RXFP1 yeni keşfedilmiş ve araştırılmaya ihtiyacı olan parametrelerdir. İnfertiliteye sebep olan hedef organlarda tanı konulabilmesi için referans aralığı oluşturabilmekve büyük bir kısmı testis dokusundan salgılanan bu hormonların dolaşımdaki dağılımını anlamlandırabilmek ve bu hormonlar üzerinde çinko etkisini değerlendirebilmek için yapılacak ek çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu parametreleri bireylere göre farklılık gösteren testosteron parametresini de ele alarak

değerlendirip referans aralığı oluşturulup oluşturulamayacağını destekleyerek daha net sonuçlara ulaşılabileceğini söyleyebiliriz.

Sonuç olarak çalışmamızda, Zn diyetlerinin spermatogenez aşamasında INSL3, INSL7, RXFP1 ve testosteron seviyelerindeki değişiklikte önemli rol oynadığı düşüncesindeyiz. Bulgularımıza dayanarak ve prostatın tüm diğer organlardan daha fazla Zn konsantrasyonuna sahip olduğu bilgisinin desteğiyle testis dokusunun karaciğer dokusundan daha fazla etkilendiğini düşünüyoruz.

Spermatogenez ve fertilizasyonda önemli rolleri olan INSL3, INSL7, RXFP1 ve Testosteron parametrelerinin değerlendirilmesi, infertilizasyona tedavi yaklaşım planına yol gösterebileceğini düşünmekteyiz. İnfertilitenin klinik bir sorun haline gelmeden engellenebilmesi için elde ettiğimiz bulgular ve varsaydığımız değerlendirmeler göz önüne alındığında, heyecan verici ve sürprizlerle dolu önümüzdeki birkaç yılı dört gözle bekleyebiliriz.

6. KAYNAKLAR

Abbasi, F., et al. (2001). Am J Cardiol88(null): 1201.

Abraham, L. (2006). "Üreme Sistemi, Histoloji ve Hücre Biyolojisi,(Çev.: Demir, R.), 1." Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara: 531-564.

Ackermann, U., et al. (2006). PDQ fizyoloji, İstanbul Medikal Yayıncılık.

Agarwal, A., et al. (2008). "Clinical relevance of oxidative stress in male factor infertility: an update." American journal of reproductive immunology59(1): 2-11.

Agarwal, A. and T. M. Said (2003). "Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility." Human reproduction update9(4): 331-345.

Ahmad, N., et al. (2012). "Relaksin induces matrix-metalloproteinases-9 and-13 via RXFP1: induction of MMP-9 involves the PI3K, ERK, Akt and PKC-ζ pathways." Molecular and cellular endocrinology363(1-2): 46-61.

Ahmed, S. F. and J. D. McNeilly (2014). Disorders of puberty and sex development. Clinical Biochemistry: Metabolic and Clinical Aspects, Elsevier: 412-432.

Aihara, K., et al. (1985). "Zinc, copper, manganese, and selenium metabolism in patients with human growth hormone deficiency or acromegaly." Journal of pediatric gastroenterology and nutrition4(4): 610-615.

Aitken, R., et al. (1993). "Analysis of lipid peroxidation mechanisms in human spermatozoa." Molecular Reproduction and Development35(3): 302-315.

Aitken, R., et al. (1993). "Relationship between iron-catalysed lipid peroxidation potential and human sperm function." Reproduction98(1): 257-265.

Akil, M., et al. (2015). "Selenium prevents lipid peroxidation in liver and lung tissues of rats in acute swimming exercise." Bratislavske lekarske listy116(4): 233.

Akkoç, H. (2008). "Miyokardiyal iskemi reperfüzyon hasarı." Dicle Tıp Dergisi35(3): 211-215.

Akkuş, İ. (1995). "Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri." Mimoza Yayınları, Konya1.

AKKUŞ, P. D. M. (2020). Fertilizasyon,Yarıklanma ve İmplantasyon,Bilaminar Disk Oluşumu.

Akpoyraz, M. and İ. Durak (1995). "Serbest radikallerin biyolojik etkileri." Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası48(02).

Aktümsek, A. (2004). Anatomi ve fizyoloji:(insan biyolojisi), Nobel Yayın Dağıtım.

Alexiou, K., et al. (2013). "Relaksin protects rat lungs from ischemia-reperfusion injury via inducible NO synthase: role of ERK-1/2, PI3K, and forkhead transcription factor FKHRL1." PLoS One8(9).

Ali, H., et al. (2005). "Relationship of serum and seminal plasma zinc levels and serum testosterone in oligospermic and azoospermic infertile men." Journal of the College of Physicians and Surgeons--Pakistan: JCPSP15(11): 671-673.

Amanak, K., et al. (2014). "Modern Yaşamın İnfertilite Üzerine Etkisi." TAF Preventive Medicine Bulletin13(4).

Anand-Ivell, R., et al. (2008). "Insulin-like factor 3 levels in amniotic fluid of human male fetuses." Human reproduction23(5): 1180-1186.

Anand-Ivell, R., et al. (2006). "Peripheral INSL3 concentrations decline with age in a large population of Australian men." International journal of andrology29(6): 618-626.

Anderson, R., et al. (2002). "Expression and localization of inhibin alpha, inhibin/activin betaA and betaB and the activin type II and inhibin beta-glycan receptors in the developing human testis." Reproduction123(6): 779-788.

Antmen, Ş. (2005). "Beta talasemide oksidatif stres." Yüksek Lisans. Adana: Çukurova Üniversitesi.

Arıncı, K. and A. Elhan (2006). "Anatomi, Güneş Kitabevi, 3." Baskı Ankara1.

Arıncı, K. and A. Elhan (2006). "Anatomi. 2. cilt, 4. baskı." Ankara, Türkiye, Güneş Kitabevi: 54-57.

Armstrong, D. (1998). Free radical and antioxidant protocols, Springer.

Arver, S. (1982). "Studies on zinc and calcium in human seminal plasma."

Ata, C. (2009). Erişkin Erkek Sıçanlarda Deneysel Olarak Oluşturulmuş Bor Toksisitesi Üzerinde E Vitamininin Rolü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri ….

Atal, S. (2014). Erişkin erkek sıçanlarda metotreksat kaynaklı testis hasarında kurkuminin etkisi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi.

Auharek, S. A., et al. (2010). "Prenatal plus postnatal exposure to di (n-butyl) phthalate and/or flutamide markedly reduces final Sertoli cell number in the rat." Endocrinology151(6): 2868-2875.

Ayala, A., et al. (2014). "Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal." Oxidative medicine and cellular longevity2014.

Baccari, M. C., et al. (2007). "Reversal by relaksin of altered ileal spontaneous contractions in dystrophic (mdx) mice through a nitric oxide-mediated mechanism." American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology293(2): R662-R668.

Bagchi, D., et al. (1998). "Protective effects of zinc salts on TPA-induced hepatic and brain lipid peroxidation, glutathione depletion, DNA damage and peritoneal macrophage activation in mice." General Pharmacology: The Vascular System30(1): 43-50.

Bahudhanapati, H., et al. (2019). "MicroRNA-144-3p targets relaksin/insulin-like family peptide receptor 1 (RXFP1) expression in lung fibroblasts from patients with idiopathic pulmonary fibrosis." Journal of Biological Chemistry294(13): 5008-5022.

Bakalska, M., et al. (2004). "Induction of male germ cell apoptosis by testosterone withdrawal after ethane dimethanesulfonate treatment in adult rats." Endocrine regulations38(3): 103-110.

Baker, D. E. (1979). Reproduction and breeding. The laboratory rat, Elsevier: 153-168.

Baker, H., et al. (1976). "Changes in the pituitary-testicular system with age." Clinical endocrinology5(4): 349-372.

Baldi, E., et al. (1996). "Human sperm activation during capacitation and acrosome reaction: role of calcium, protein phosphorylation and lipid remodelling pathways." Front Biosci1: d189-205.

Baltaci, A. K. and K. Yuce (2018). "Zinc transporter proteins." Neurochemical research43(3): 517-530.

Baltaci, A. K., et al. (2019). "The role of zinc in the endocrine system." Pakistan journal of pharmaceutical sciences32(1).

Baltaci, A. K., et al. (2018). "Zinc metabolism and metallothioneins." Biological trace element research183(1): 22-31.

Bankston, P. W. and R. M. Pino (1980). "The development of the sinusoids of fetal rat liver: morphology of endothelial cells, Kupffer cells, and the transmural migration of blood cells into the sinusoids." American Journal of Anatomy159(1): 1-15.

Barrett, K. E., et al. (2015). Ganong'un tıbbi fizyolojisi, Nobel Tıp Kitabevleri.

Bass, S., et al. (1999). "The differing tempo of growth in bone size, mass, and density in girls is region-specific." The Journal of clinical investigation104(6): 795-804.

Bathgate, R., et al. (2013). "Relaksin family peptides and their receptors." Physiological reviews93(1): 405-480.

Bathgate, R. A., et al. (2006). "International Union of Pharmacology LVII: recommendations for the nomenclature of receptors for relaksin family peptides." Pharmacological reviews58(1): 7-31.

Bathgate, R. A., et al. (2006). "Relaksin-3: improved synthesis strategy and demonstration of its high-affinity interaction with the relaksin receptor LGR7 both in vitro and in vivo." Biochemistry45(3): 1043-1053.

Bay, K. and R. Anand-Ivell (2014). Human testicular insulin-like factor 3 and endocrine disrupters. Vitamins & Hormones, Elsevier. 94: 327-348.

Bay, K., et al. (2006). "The effects of gonadotropin suppression and selective replacement on insulin-like factor 3 secretion in normal adult men." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism91(3): 1108-1111.

Bay, K. and A. M. Andersson (2011). "Human testicular insulin-like factor 3: in relation to development, reproductive hormones and andrological disorders." International journal of andrology34(2): 97-109.

Bay, K., Main, K. M., Toppari, J., & Skakkebæk, N. E. (2011). Testicular descent: INSL3, testosterone, genes and the intrauterine milieu. Nature Reviews Urology, 8(4), 187.

Bay, K., et al. (2007rt). "Insulin-like factor 3 levels in cord blood and serum from children: effects of age, postnatal hypothalamic-pituitary-gonadal axis activation, and cryptorchidism." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism92(10): 4020-4027.

Bejarano, P. A., et al. (2006). "Liver glycogen bodies: ground-glass hepatocytes in transplanted patients." Virchows Archiv449(5): 539-545.

Bennett, R. G., et al. (2005). "Relaksin receptor expression in hepatic stellate cells and in cirrhotic rat liver tissue." Annals of the New York Academy of Sciences1041(1): 185-189.

Bennett, R. G., et al. (2014). "Relaksin decreases the severity of established hepatic fibrosis in mice." Liver International34(3): 416-426.

Beutler, E. (1963). "Improved method for the determination of blood glutathione." J. lab. clin. Med.61: 882-888.

Bickers, D. R. and M. Athar (2006). "Oxidative stress in the pathogenesis of skin disease." Journal of Investigative Dermatology126(12): 2565-2575.

Biro, F. M., et al. (2003). "Pubertal maturation in girls and the relationship to anthropometric changes: pathways through puberty." The Journal of pediatrics142(6): 643-647.

Blondell, R. D., et al. (1999). "Disorders of puberty." American Family Physician60(1): 209-218.

Bogatcheva, N. V. and A. Agoulnik (2005). "INSL3/LGR8 role in testicular descent and cryptorchidism." Reproductive biomedicine online10(1): 49-54.

Bogatcheva, N. V., et al. (2007). "T222P mutation of the insulin-like 3 hormone receptor LGR8 is associated with testicular maldescent and hinders receptor expression on the cell surface membrane." American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism292(1): E138-E144.

Boschetti, E., et al. (2012). "" The quest for biomarkers": Are we on the right technical track?" PROTEOMICS–Clinical Applications6(1-2): 22-41.

Bourguignon, J.-P., et al. (1992). "Neuroendocrine mechanism of onset of puberty. Sequential reduction in activity of inhibitory and facilitatory N-methyl-D-aspartate receptors." The Journal of clinical investigation90(5): 1736-1744.

Boyar, R. M., et al. (1973). "Twenty-four hour patterns of plasma luteinizing hormone and follicle-stimulating hormone in sexual precocity." New England Journal of Medicine289(6): 282-286.

Braun, B. and K. Jewgenow (2017). "Expression of steroidogenic enzymes and steroid receptors in foetal gonads of domestic cat—Sex similarities and differences." Reproduction in domestic animals52: 130-136.

Buzzard, J. J., et al. (2003). "Thyroid hormone, retinoic acid, and testosterone suppress proliferation and induce markers of differentiation in cultured rat Sertoli cells." Endocrinology144(9): 3722-3731.

Bundak, R., et al. (2007). "Analysis of puberty and pubertal growth in healthy boys." European journal of pediatrics166(6): 595-600.

Bundak, R., et al. (2008). "Puberty and pubertal growth in healthy Turkish girls: no evidence for secular trend." Journal of clinical research in pediatric endocrinology1(1): 8.

Büllesbach, E., et al. (1992). "The receptor-binding site of human relaksin II. A dual prong-binding mechanism." Journal of Biological Chemistry267(32): 22957-22960.

Büllesbach, E. E. and C. Schwabe (2002). "The primary structure and the disulfide links of the bovine relaksin-like factor (RLF)." Biochemistry41(1): 274-281.

Büllesbach, E. E. and C. Schwabe (2005). "LGR8 signal activation by the relaksin-like factor." Journal of Biological Chemistry280(15): 14586-14590.

Calvin, H. I., et al. (1981). "Evidence that selenium in rat sperm is associated with a cysteine-rich structural protein of the mitochondrial capsules." Gamete Research4(2): 139-149.

Carballada, R. and P. Esponda (1992). "Role of fluid from seminal vesicles and coagulating glands in sperm transport into the uterus and fertility in rats." Reproduction95(3): 639-648.

Carballada, R. and P. Esponda (1993). "Structure of the vaginal plugs generated by normal rats and by rats with partially removed seminal vesicles." Journal of Experimental Zoology265(1): 61-68.

Cardoso, L. C., et al. (2010). "Locally produced relaksin may affect testis and vas deferens function in rats." Reproduction139(1): 185.

Carlos, J. and J. Carneiro (2009). "Temel Histoloji. Aytekin Y. Solakoğlu S." Çev. Ed.). İstanbul, Nobel Tıp Yayınevleri.

Carter, D., et al. (1997). Serous Membranes in Histology for Pathologists (Sternberg, SS, ed.), Lippincott-Raven, New York.

Castellucci, M. and P. Kaufmann (2006). Basic structure of the villous trees. Pathology of the human placenta, Springer: 50-120.

Castellucci, M., et al. (1990). "The development of the human placental villous tree." Anatomy and embryology181(2): 117-128.

Champe, P. C., et al. (1997). "Lippincott's Illustrated reviews serisinden: Biyokimya." Çeviri: Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E2: 33-34.

Chen, J., et al. (2005). "Pharmacological characterization of relaksin-3/INSL7 receptors GPCR135 and GPCR142 from different mammalian species." Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics312(1): 83-95.

Chen, L., et al. (2015). "Hormone inhibition during mini-puberty and testicular function in male rats." International journal of endocrinology and metabolism13(4).

Chong, Y. H., et al. (2017). "The testicular hormones AMH, InhB, INSL3, and testosterone can be independently deficient in older men." The Journals of Gerontology: Series A72(4): 548-553.

Christensen, A. K. and D. W. Fawcett (1961). "The normal fine structure of opossum testicular interstitial cells." The Journal of Cell Biology9(3): 653-670.

Chu, S., et al. (2003). "Effect of saponin from Tribulus terrestris on hyperlipidemia." Zhong yao cai= Zhongyaocai= Journal of Chinese medicinal materials26(5): 341-344.

Cocuzza, M. and A. Agarwal (2007). "Nonsurgical treatment of male infertility: specific and empiric therapy." Biologics: targets & therapy1(3): 259.

Colagar, A. H., et al. (2009). "Zinc levels in seminal plasma are associated with sperm quality in fertile and infertile men." Nutrition Research29(2): 82-88.

Corallo, C., et al. (2019). "Altered expression of RXFP1 receptor contributes to the inefficacy of relaksin-based anti-fibrotic treatments in systemic sclerosis." Clinical and experimental rheumatology37: 69-75.

Çetin, E. and M. A. Malas (2005). "Fetal büyümeye etki eden çevresel faktörler." SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi12(2): 65-72.

Demirel, G. (2018). İnfertil erkeklerde alkol ve sigara kullanımına bağlı olarak semen analiz sonuçlarının değerlendirilmesi, Biruni Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Devasagayam, T., et al. (2003). "Methods for estimating lipid peroxidation: an analysis of merits and demerits." Indian journal of biochemistry & biophysics40(5): 300-308.

Donnelly, E. T., et al. (2000). "Glutathione and hypotaurine in vitro: effects on human sperm motility, DNA integrity and production of reactive oxygen species." Mutagenesis15(1): 61-68.

Doré, A. S., et al. (2011). "Structure of the adenosine A2A receptor in complex with ZM241385 and the xanthines XAC and caffeine." Structure19(9): 1283-1293.

Dschietzig, T., et al. (2004). "Identification of the pregnancy hormone relaksin as glucocorticoid receptor agonist." The FASEB Journal18(13): 1536-1538.

Dubin, L. and R. D. Amelar (1971). "Etiologic factors in 1294 consecutive cases of male infertility." Fertility and sterility22(8): 469-474.

Düzgüner, V. (2005). Deneysel olarak diyabet olusturulan tavşanlarda çinkonun lipit peroksidasyonu ve antioksidan sistem üzerine etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü ….

Eaves, L., et al. (2004). "Genetic and environmental influences on the relative timing of pubertal change." Twin Research and Human Genetics7(5): 471-481.

Eliasson, R. (1968). "Biochemical analyses of human semen in the study of the physiology and pathophysiology of the male accessory genital glands." Fertility and sterility19(3): 344-350.

Ellman, G. L. (1959). "Tissue sulfhydryl groups." Archives of biochemistry and biophysics82(1): 70-77.

Enzan, H., et al. (1997). "Development of hepatic sinusoidal structure with special reference to the Ito cells." Microscopy research and technique39(4): 336-349.

ERDEVE, Ş. S. Y. and M. T. D. BERBEROĞLU Erkene kaymış puberteli kız olguların klinik özellikleri ve gnrha tedavisinin kemik yaşına göre boya etkisi: 2 yıllık izlem, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim ….

Erdoğan, D., et al. (1996). "Özel histoloji." Baskı SBAD Yayınları, Ankara: 179-186.

Fahim, M., et al. (1985). "Value of intraprostatic injection of zinc and vitamin C and of ultrasound application in infertile men with chronic prostatitis." Archives of andrology14(1): 81-87.

Faith, R. E., et al. (2020). Housing and environment. The laboratory rat, Elsevier: 349-417.

Fallowfield, J. A., et al. (2014). "Relaksin modulates human and rat hepatic myofibroblast function and ameliorates portal hypertension in vivo." Hepatology59(4): 1492-1504.

Fawcett, D. and R. Jensh (2002). Epithelium. Concise Histology, Arnold Publishers, London.

Fawcett, D. and E. Raviola (1994). "Bloom and Fawcett: A textbook of histology Chapman and Hall." New York, NY.

Feng, S. and A. I. Agoulnik (2011). "Expression of LDL-A module of relaksin receptor in prostate cancer cells inhibits tumorigenesis." International journal of oncology39(6): 1559-1565.

Feng, S., et al. (2010). "Suppression of relaksin receptor RXFP1 decreases prostate cancer growth and metastasis." Endocrine-related cancer17(4): 1021-1033.

Ferlin, A., et al. (2018). "Protective role of testicular hormone INSL3 from atrophy and weakness in skeletal muscle." Frontiers in endocrinology9: 562.

Ferlin, A., et al. (2017). "Relaksin and insulin-like peptide 3 in the musculoskeletal system: from bench to bedside." British journal of pharmacology174(10): 1015-1024.

Ferlin, A., et al. (2006). "Changes in serum insulin-like factor 3 during normal male puberty." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism91(9): 3426-3431.

Ferlin, A., et al. (2012). "Effect of relaksin on human sperm functions." Journal of andrology33(3): 474-482.

Ferlin, A. and C. Foresta (2005). "Insulin-Like Factor 3: A Novel Circulating Hormone of Testicular Origin in Humans." Annals of the New York Academy of Sciences1041(1): 497-505.

Ferlin, A., et al. (2003). "The INSL3-LGR8/GREAT ligand-receptor pair in human cryptorchidism." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism88(9): 4273-4279.

Filonzi, M., et al. (2007). "Relaksin family peptide receptors Rxfp1 and Rxfp2: mapping of the mRNA and protein distribution in the reproductive tract of the male rat." Reproductive Biology and Endocrinology5(1): 1-12.

Fisher, J., et al. (2003). "Human 'testicular dysgenesis syndrome': a possible model using in-utero exposure of the rat to dibutyl phthalate Hum Reprod 18 (7): 1383–1394." Find this article online.

Foresta, C., et al. (2004). "A novel circulating hormone of testis origin in humans." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism89(12): 5952-5958.

Foresta, C., et al. (2008). "Role of hormones, genes, and environment in human cryptorchidism." Endocrine reviews29(5): 560-580.

Foye, W. O., et al. (1981). Principles of medicinal chemistry, Lea & Febiger.

Frederickson, C. J. (1989). Neurobiology of zinc and zinc-containing neurons. International review of neurobiology, Elsevier. 31: 145-238.

Freeman, B. A. and J. D. Crapo (1982). "Biology of disease: free radicals and tissue injury." Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology47(5): 412-426.

Frisch, R. E. (1984). "Body fat, puberty and fertility." Biological Reviews59(2): 161-188.

Ganong, W. F. (1995). "Tıbbi Fizyoloji, 17. baskı." Editör: Doğan. A. Barış Kitabevi, İstanbul. Bölüm19: 365-386.

Garel, L., et al. (2001). "US of the pediatric female pelvis: a clinical perspective." Radiographics21(6): 1393-1407.

Gartner, L. and J. Hıatt (2001). "Male Reproductive System, Chapter 21." Color Textbook of Histology, 2nd ed, WB Saunders Company: 487-508.

Gartner, L. P. and J. L. Hiatt (2006). Color textbook of histology e-book, Elsevier Health Sciences.

Gebo, K. A., et al. (2002). "Role of liver biopsy in management of chronic hepatitis C: a systematic review." Hepatology36(S1): S161-S172.

Gedikli, S., et al. (2013). "Fertilizasyonun moleküler temeli." Van Tıp Dergisi20(4): 294-301.

Gendrel, D., et al. (1980). "Plasma gonadotropin and testosterone values in infants with cryptorchidism." The Journal of pediatrics97(2): 217-220.

Ghany, M. G., et al. (2003). "Progression of fibrosis in chronic hepatitis C." Gastroenterology124(1): 97-104.

Giordano, N., et al. (2012). "Expression of RXFP1 in skin of scleroderma patients and control subjects." Scandinavian journal of rheumatology41(5): 391-395.

Glantzounis, G. K., et al. (2005). "The contemporary role of antioxidant therapy in attenuating liver ischemia-reperfusion injury: A review." Liver Transplantation11(9): 1031-1047.

Gnessi, L., et al. (1997). "Gonadal peptides as mediators of development and functional control of the testis: an integrated system with hormones and local environment." Endocrine reviews18(4): 541-609.

Gochee, P. A., et al. (2003). "Steatosis in chronic hepatitis C: Association with increased messenger RNA expression of collagen I, tumor necrosis factor-α and cytochrome P450 2E1." Journal of gastroenterology and hepatology18(4): 386-392.

Gorlov, I. P., et al. (2002). "Mutations of the GREAT gene cause cryptorchidism." Human molecular genetics11(19): 2309-2318.

Griffith, O. W. (1999). "Biologic and pharmacologic regulation of mammalian glutathione synthesis." Free Radical Biology and Medicine27(9-10): 922-935.

Grosshans, K. and H. I. Calvin (1985). "Estimation of glutathione in purified populations of mouse testis germ cells." Biology of reproduction33(5): 1197-1205.

Grumbach, M. M. (2002). "The neuroendocrinology of human puberty revisited." Hormone Research in Paediatrics57(Suppl. 2): 2-14.

Grüngreiff, K., et al. (2016). "The role of zinc in liver cirrhosis." Annals of hepatology15(1): 7-16.

Gutteridge, J. (1995). "Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage." Clinical chemistry41(12): 1819-1828.

Haider, S. G. (2004). "Cell biology of Leydig cells in the testis." Int Rev Cytol233(4): 181-241.

Halliwell, B. (1989). "Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis." British journal of experimental pathology70(6): 737.

Halls, M. (2011). Insulin-like peptide 3 (INSL3). xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference, Academic Press: 1-9.

Halls, M. L., et al. (2006). "Relaksin family peptide receptors RXFP1 and RXFP2 modulate cAMP signaling by distinct mechanisms." Molecular pharmacology70(1): 214-226.

Halls, M. L., et al. (2015). "International Union of Basic and Clinical Pharmacology. XCV. Recent advances in the understanding of the pharmacology and biological roles of relaksin family peptide receptors 1–4, the receptors for relaksin family peptides." Pharmacological reviews67(2): 389-440.

Halls, M. L., et al. (2005). "Multiple binding sites revealed by interaction of relaksin family peptides with native and chimeric relaksin family peptide receptors 1 and 2 (LGR7 and LGR8)." Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics313(2): 677-687.

Halsted, J. A., et al. (1972). "Zinc deficiency in man: the Shiraz experiment." The American journal of medicine53(3): 277-284.

Hambidge, K. and C. Mills (1989). "Zinc in Human Biology."

Hartoma, T. R., et al. (1977). "Zinc, plasma androgens and male sterility." The Lancet310(8048): 1125-1126.

Hassa, H. (2003). "İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuar Uygulamaları. 1." Baskı, Eskişehir: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Yayınları: 127-165.

Hayes, J. D. and L. I. McLELLAN (1999). "Glutathione and glutathione-dependent enzymes represent a co-ordinately regulated defence against oxidative stress." Free radical research31(4): 273-300.

Haywood, M., et al. (2003). "Sertoli and germ cell development in hypogonadal (hpg) mice expressing transgenic follicle-stimulating hormone alone or in combination with testosterone." Endocrinology144(2): 509-517.

Heidari, S., et al. (2018). "Expression and localisation of RXFP 3 in human spermatozoa and impact of INSL 7 on sperm functions." Andrologia50(3): e12928.

Heitz, F., et al. (1999). "Site-directed mutagenesis of the putative human muscarinic M2 receptor binding site." European journal of pharmacology380(2-3): 183-195.

Hesketh, J. (1982). "Effects of dietary zing deficiency on Leydig cell ultrastructure in the boar." Journal of Comparative Pathology92(2): 239-247.

Heyns, C. (1987). "The gubernaculum during testicular descent in the human fetus." Journal of anatomy153: 93.

Heyns, C. F. and J. M. Hutson (1995). "Pediatric urology: review article: historical review of theories on testicular descent." The Journal of urology153(3): 754-767.

Hirano, T. (1997). "Constitutional delay of growth and puberty in male." Nihon rinsho. Japanese journal of clinical medicine55(11): 2952-2957.

Hoare, B. L., et al. (2019). "Multi-component mechanism of H2 relaksin binding to RXFP1 through NanoBRET kinetic analysis." iScience11: 93-113.

Hogeveen, K. N. and P. Sassone-Corsi (2006). "Regulation of gene expression in post-meiotic male germ cells: CREM-signalling pathways and male fertility." Human Fertility9(2): 73-79.

Homonnai, Z. T., et al. (1978). "The cation composition of the seminal plasma and prostatic fluid and its correlation to semen quality." Fertility and sterility29(5): 539-542.

Hopkins, E. J., et al. (2007). "The NMR solution structure of the relaksin (RXFP1) receptor lipoprotein receptor class A module and identification of key residues in the N-terminal region of the module that mediate receptor activation." Journal of Biological Chemistry282(6): 4172-4184.

Hsu, S. Y., et al. (2000). "The three subfamilies of leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptors (LGR): identification of LGR6 and LGR7 and the signaling mechanism for LGR7." Molecular endocrinology14(8): 1257-1271.

Hsu, S. Y., et al. (2002). "Activation of orphan receptors by the hormone relaksin." Science295(5555): 671-674.

Husmann, D. A. and J. B. Levy (1995). "Current concepts in the pathophysiology of testicular undescent." Urology46(2): 267-276.

Hussain, T., et al. (2014). "Awareness among general population attending Civil Hospital Karachi about risk factors associated with infertility." JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association64(6): 725-730.

Hutson, J. M., et al. (2010). Cryptorchidism. Seminars in pediatric surgery, Elsevier.

Hutson, J. M. and S. Hasthorpe (2005). "Testicular descent and cryptorchidism: the state of the art in 2004." Journal of pediatric surgery40(2): 297-302.

Irani, M., et al. (2017). "The effect of folate and folate plus zinc supplementation on endocrine parameters and sperm characteristics in sub-fertile men: a systematic review and meta-analysis." Urology journal14(5): 4069-4078.

Irvine, D. S. (1996). "Glutathione as a treatment for male infertility." Reviews of Reproduction1(1): 6-12.

Ivell, R. and R. Anand-Ivell (2009). "Biology of insulin-like factor 3 in human reproduction." Human reproduction update15(4): 463-476.

Ivell, R. and R. Anand-Ivell (2018). "Insulin-like peptide 3 (INSL3) is a major regulator of female reproductive physiology." Human reproduction update24(6): 639-651.

Ivell, R., et al. (1997). "Relaksin-like factor: a highly specific and constitutive new marker for Leydig cells in the human testis." Molecular human reproduction3(6): 459-466.

Ivell, R. and R. A. Bathgate (2002). "Reproductive biology of the relaksin-like factor (RLF/INSL3)." Biology of reproduction67(3): 699-705.

Ivell, R. and S. Hartung (2003). "The molecular basis of cryptorchidism." Molecular human reproduction9(4): 175-181.

Ivell, R., et al. (2005). "Insulin-like factor 3: where are we now?" Annals of the New York Academy of Sciences1041(1): 486-496.

Ivell, R., et al. (2013). "INSL3 as a biomarker of Leydig cell functionality." Biology of reproduction88(6): 147, 141-148.

Jaeschke, H. and B. L. Woolbright (2012). "Current strategies to minimize hepatic ischemia–reperfusion injury by targeting reactive oxygen species." Transplantation reviews26(2): 103-114.

James, R., et al. (1977). "Primary structure of porcine relaksin: homology with insulin and related growth factors." Nature267(5611): 544-546.

Jarow, J. P., et al. (2002). "Best practice policies for male infertility." The Journal of urology167(5): 2138-2144.

Job, J., et al. (1987). "The pituitary-gonadal axis in cryptorchid infants and children." European journal of pediatrics146(2): S2-S5.

Johansen, M. L., et al. (2014). "Serum levels of insulin-like factor 3, anti-Müllerian hormone, inhibin B, and testosterone during pubertal transition in healthy boys: a longitudinal pilot study." Reproduction147(4): 529-535.

Jones, R., et al. (1979). "Peroxidative breakdown of phospholipids in human spermatozoa, spermicidal properties of fatty acid peroxides, and protective action of seminal plasma." Fertility and sterility31(5): 531-537.

Joshi, S., et al. (2014). "Dietary zinc deficiency effects dorso-lateral and ventral prostate of Wistar rats: histological, biochemical and trace element study." Biological trace element research161(1): 91-100.

Junqueira, L. and J. Carneiro (2009). "Temel Histoloji,(Çeviri: Aytekin, Y., Solakoğlu, S.,) 10." Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul135.

Junqueira, L. C., et al. (2005). "Basic Histology (A Lange medical book)." Middle east edition. Appleton & Lange Norwalk, Connecticut, Los Altos. California: 423-440.

Kandemir, E. G. (2018). Borun Gebe Ratlarda Fötal Gelişim Boyunca Lipid Profili Üzerine Etkisinin Araştırılması, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Kaprio, J., et al. (1995). "Common genetic influences on BMI and age at menarche." Human biology: 739-753.

Karl, J. and B. Capel (1998). "Sertoli cells of the mouse testis originate from the coelomic epithelium." Developmental biology203(2): 323-333.

Katib, A. (2015). "Mechanisms linking obesity to male infertility." Central European journal of urology68(1): 79.

Kellokumpu, S. and H. Rajaniemi (1981). "Effect of zinc on the uptake of human chorionic gonadotropin (hCG) in rat testis and testosterone response in vivo." Biology of reproduction24(2): 298-305.

Kidd, P. M. (1997). "Glutathione: systemic protectant against oxidative and free radical damage." Altern Med Rev2(3): 155-176.

Kierszenbaum, A. L. (2006). "Histoloji ve hücre biyolojisi." Ankara, Palme Yayıncılık.

Kierszenbaum, A. L. and L. Tres (2015). Histology and Cell Biology: an introduction to pathology E-Book, Elsevier Health Sciences.

Klonoff-Cohen, H. (2005). "Female and male lifestyle habits and IVF: what is known and unknown." Human reproduction update11(2): 180-204.

Kodama, H., et al. (2020). "Japan's Practical Guidelines for Zinc Deficiency with a Particular Focus on Taste Disorders, Inflammatory Bowel Disease, and Liver Cirrhosis." International Journal of Molecular Sciences21(8): 2941.

Kogure, K., et al. (1999). "A comparative study of the anatomy of rat and human livers." Journal of hepato-biliary-pancreatic surgery6(2): 171-175.

Kostara, C. E., et al. (2018). "Lipidome of plasma lipoproteins and liver is zinc-modulated in High fat diet treated mice." Journal of Trace Elements in Medicine and Biology50: 268-275.

Kovac, J. R., et al. (2013). "The use of genomics, proteomics, and metabolomics in identifying biomarkers of male infertility." Fertility and sterility99(4): 998-1007.

Koyun, A., et al. (2011). "Yaşam dönemlerine göre kadın sağlığı ve ruhsal işlevler: Hemşirelik yaklaşımlarının değerlendirilmesi." Psikiyatride Guncel Yaklasimlar3(1): 67-99.

Kuczmarski, R. J. (2000). "CDC growth charts; United States."

Kumagai, J., et al. (2002). "INSL3/Leydig insulin-like peptide activates the LGR8 receptor important in testis descent." Journal of Biological Chemistry277(35): 31283-31286.

Kundu, T. K. and M. R. S. Rao (1996). "Zinc dependent recognition of a human CpG island sequence by the mammalian spermatidal protein TP2." Biochemistry35(49): 15626-15632.

Kraus, A., et al. (1997). "Supplementation with vitamin C, vitamin E or β-carotene influences osmotic fragility and oxidative damage of erythrocytes of zinc-deficient rats." The Journal of nutrition127(7): 1290-1296.

Leary, W., et al. (1983). "Zinc metabolism under physiological conditions." South African medical journal= Suid-Afrikaanse tydskrif vir geneeskunde64(8): 283-284.

LECLERC, P., et al. (1998). "Interaction Between Ca2+, Cyclic 3 ‘, 5’Adenosine Monophosphate, the Superoxide Anion, and Tyrosine Phosphorylation Pathways in the Regulation of Human Sperm Capacitation." Journal of andrology19(4): 434-443.

Lieber, D. S., et al. (2014). "Next generation sequencing with copy number variant detection expands the phenotypic spectrum of HSD17B4-deficiency." BMC medical genetics15(1): 30.

Lindholmer, C. (1972). "Zinc and magnesium in human spermatozoa."

López-Alarcón, C. and A. Denicola (2013). "Evaluating the antioxidant capacity of natural products: A review on chemical and cellular-based assays." Analytica chimica acta763: 1-10.

Madding, C. I., et al. (1986). "Serum and semen zinc levels in normozoospermic and oligozoospermic men." Annals of nutrition and metabolism30(4): 213-218.

Maeda, K.-I., et al. (2000). Physiology of reproduction. The laboratory rat, Elsevier: 145-176.

Magarey, A., et al. (1999). "Bone growth from 11 to 17 years: relationship to growth, gender and changes with pubertal status including timing of menarche." Acta Paediatrica88(2): 139-146.

Mahood, I. K., et al. (2005). "Abnormal Leydig cell aggregation in the fetal testis of rats exposed to di (n-butyl) phthalate and its possible role in testicular dysgenesis." Endocrinology146(2): 613-623.

Mandal, A., et al. (1999). "FSP95, a testis-specific 95-kilodalton fibrous sheath antigen that undergoes tyrosine phosphorylation in capacitated human spermatozoa." Biology of reproduction61(5): 1184-1197.

Marshall, W. A. and J. M. Tanner (1970). "Variations in the pattern of pubertal changes in boys." Archives of disease in childhood45(239): 13-23.

Mattheij, J. and J. Swarts (1991). "Quantification and classification of pregnancy wastage in 5-day cyclic young through middle-aged rats." Laboratory animals25(1): 30-34.

Matthews Jr, M. K. and N. T. Adler (1978). "Systematic interrelationship of mating, vaginal plug position, and sperm transport in the rat." Physiology & Behavior20(3): 303-309.

Mawhinney, M. and A. Mariotti (2013). "Physiology, pathology and pharmacology of the male reproductive system." Periodontology 200061(1): 232-251.

Maynard, L. M., et al. (2001). "Childhood body composition in relation to body mass index." Pediatrics107(2): 344-350.

McKinnell, C., et al. (2005). "Expression of insulin-like factor 3 protein in the rat testis during fetal and postnatal development and in relation to cryptorchidism induced by in utero exposure to di (n-Butyl) phthalate." Endocrinology146(10): 4536-4544.

Meister, A. and A. Larsson (1995). "Glutathione synthetase deficiency and other disorders of the gamma-glutamyl cycle." The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease1: 1461-1495.

MERCAN, U. (2004). "Toksikolojide serbest radikallerin önemi." Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi15(1): 91-96.

Mescher, A. L. and S. Junqueira (2013). Basic histology text and atlas, Medical McGraw Hill eBook. Indiana.

Metwaly, M. E. (2015). "Ameliorative Effect of Zinc Oxide Nanoparticles on Antioxidants and Sperm Characteristics in Streptozotocin-Induced Diabetic Rat Testes." BioMed Research International Volume 2015, Article ID 153573, 6 pages.

Michalopoulos, G. K. (1990). "Liver regeneration: molecular mechanisms of growth control." The FASEB Journal4(2): 176-187.

Michalopoulos, G. K. and M. C. DeFrances (1997). "Liver regeneration." Science276(5309): 60-66.

Millheiser, L. S., et al. (2010). "Is infertility a risk factor for female sexual dysfunction? A case-control study." Fertility and sterility94(6): 2022-2025.

Minagawa, I., et al. (2012). "Relaksin-like factor (RLF)/insulin-like peptide 3 (INSL3) is secreted from testicular Leydig cells as a monomeric protein comprising three domains B–C–A with full biological activity in boars." Biochemical Journal441(1): 265-273.

Moore, K. and A. Agur (2006). "Temel klinik anatomi,(Çev.: Elhan, A.), 2." Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara.

Moore, K. and T. Persaud (2002). "Klinik yönleri ile insan biyolojisi 6. baskıdan çeviri." Prof. Dr. Yıldırım M, Prof. Dr. Okar, Prof. Dr. Dalçık H. stanbul, Nobel Tıp Kitapevleri.

Moore, K. L., et al. (2018). The Developing Human-E-Book: Clinically Oriented Embryology, Elsevier Health Sciences.

Morrow, D. A. (1986). Current therapy in theriogenology: diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals.

Mostafa, T. (2010). "Cigarette smoking and male infertility." Journal of Advanced Research1(3): 179-186.

Murono, E. P., et al. (2001). "Differential effects of octylphenol, 17β-estradiol, endosulfan, or bisphenol A on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells." Reproductive Toxicology15(5): 551-560.

Murray, R., et al. (1993). "Harper'in biyokimyası." Barış Kitapevi1025.

Mülazımoğlu, S. B., İDE, T., Aslan, S. (2008). "Ratlarda üreme." Journal of Clinical and Analytical Medicine: 39-44.

Mylchreest, E., et al. (2002). "Fetal testosterone insufficiency and abnormal proliferation of Leydig cells and gonocytes in rats exposed to di (n-butyl) phthalate." Reproductive Toxicology16(1): 19-28.

Nagasawa, H., et al. (1983). "Jikken Dobutsu Handbook, Handbook of Experimental Animals." Tokyo: Yokendo.

Nagatani, S., et al. (2000). "Appearance of a nocturnal peak of leptin secretion in the pubertal rat." Hormones and behavior37(4): 345-352.

Nagórniewicz, B., et al. (2019). "Engineered Relaksin as theranostic nanomedicine to diagnose and ameliorate liver cirrhosis." Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine17: 106-118.

Natsume, T., et al. (2002). "A direct nanoflow liquid chromatography− tandem mass spectrometry system for interaction proteomics." Analytical chemistry74(18): 4725-4733.

Nelson, D. L., et al. (2008). Principles of biochemistry, Freeman New York:.

Nelson, R. J. (2005). An introduction to behavioral endocrinology, Sinauer Associates.

Neyzi, O. and T. Ertuğrul (2002). "Pediatri (3. Baskı) Nobel Tıp Kitabevi." Ġstanbul18: 1203-1208.

Nijveldt, R. J., et al. (2004). J Nutr134((10 Suppl.)): 2848S.

O'shaughnessy, P., et al. (2006). "The foetal Leydig cell–differentiation, function and regulation." International journal of andrology29(1): 90-95.

Odze, R. D. and J. R. Goldblum (2014). Odze and Goldblum Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract and Pancreas E-Book, Elsevier Health Sciences.

Ojeda, S. R. and S. Heger (2001). "New thoughts on female precocious puberty." Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism14(3): 245-256.

Ojeda, S. R., et al. (2006). "Minireview: the neuroendocrine regulation of puberty: is the time ripe for a systems biology approach?" Endocrinology147(3): 1166-1174.

Olin, A. (1989). An improved limit for conversion of (mu+ e-) to (mu+ e-) Proc. XXIIIrd Yamada Conf. on Nuclear Weak Processes and Nuclear Structure (Osaka.

Omu, A. E., et al. (2015). "Molecular basis for the effects of zinc deficiency on spermatogenesis: An experimental study in the Sprague-dawley rat model." Indian journal of urology: IJU: journal of the Urological Society of India31(1): 57.

ORTH, J. M. (1984). "The role of follicle-stimulating hormone in controlling Sertoli cell proliferation in testes of fetal rats." Endocrinology115(4): 1248-1255.

Oteiza, P. I., et al. (1999). "Cadmium-induced testes oxidative damage in rats can be influenced by dietary zinc intake." Toxicology137(1): 13-22.

Oteiza, P. I., et al. (2001). "Short-term zinc deficiency affects nuclear factor-κB nuclear binding activity in rat testes." The Journal of nutrition131(1): 21-26.

Oteiza, P. I., et al. (1995). "Zinc deficiency causes oxidative damage to proteins, lipids and DNA in rat testes." The Journal of nutrition125(4): 823-829.

Ovalle, W. K. and P. C. Nahirney (2013). Netter's Essential Histology: with Student Consult Access, Elsevier Health Sciences.

Ovalle, W. K., et al. (2009). Netter temel histoloji, Güneş Tıp Kitabevleri.

Ozdemir, G. and F. Inanc (2005). "Zinc may protect remote ocular injury caused by intestinal ischemia reperfusion in rats." The Tohoku journal of experimental medicine206(3): 247-251.

Oztekin, E., et al. (2007). "Lipid peroxidation in ovariectomized and pinealectomized rats: the effects of estradiol and progesterone supplementation." Cell Biochemistry and Function: Cellular biochemistry and its modulation by active agents or disease25(5): 551-554.

Ozturk, A., et al. (2003). "Effects of zinc deficiency and supplementation on malondialdehyde and glutathione levels in blood and tissues of rats performing swimming exercise." Biological trace element research94(2): 157-166.

Öcal, G. (2003). "Erken puberte." Ed: Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S, Pediatrik Endokrinoloji: 155-188.

Öztürk, E. K. (2015). "İn vitro fertilizasyon (IVF) olgularında serum ve folliküler sıvıda total oksidan ve total antioksidan seviyelerinin değerlendirilmesi."

Palczewski, K., et al. (2000). "Crystal structure of rhodopsin: AG protein-coupled receptor." Science289(5480): 739-745.

Parent, A.-S., et al. (2003). "The timing of normal puberty and the age limits of sexual precocity: variations around the world, secular trends, and changes after migration." Endocrine reviews24(5): 668-693.

Pawlina, W. and M. H. Ross (2018). Histology: a text and atlas: with correlated cell and molecular biology, Lippincott Williams & Wilkins.

Pawson, T. and P. Nash (2003). "Assembly of cell regulatory systems through protein interaction domains." Science300(5618): 445-452.

Piprek, R. P. (2010). "Molecular and cellular machinery of gonadal differentiation in mammals." International Journal of Developmental Biology54(5): 779-786.

Pleban, P. A. and D.-S. Mei (1983). "Trace elements in human seminal plasma and spermatozoa." Clinica chimica acta133(1): 43-50.

Porto, C. S. and M. F. Lazari (2013). "Effects of relaksin in a co-culture of Sertoli and germ cells." Italian Journal of Anatomy and Embryology: 29-31.

Powell, S. R. (2000). "The antioxidant properties of zinc." The Journal of nutrition130(5): 1447S-1454S.

Pradeepa, M. M. and M. Rao (2007). "Chromatin remodeling during mammalian spermatogenesis: role of testis specific histone variants and transition proteins." Society of Reproduction and Fertility supplement63: 1-10.

Reed, D. (2000). Mechanisms of chemically ınduced cell injury and cellular protection.(E. Hodgson; RC Smart, Editörler). Introduction to biochemical toxicology, United States of America: Wiley and Sons Inc.

Reiter, E. O. (1987). "Neuroendocrine control processes: Pubertal onset and progression." Journal of Adolescent Health Care8(6): 479-491.

Reyes-Fuentes, A. and J. D. Veldhuis (1993). "Neuroendocrine physiology of the normal male gonadal axis." Endocrinology and metabolism clinics of North America22(1): 93-124.

Richardson, V. C. (2008). Diseases of small domestic rodents, John Wiley & Sons.

Rosenfield, R. L., et al. (2014). Puberty and its disorders in the female. Pediatric Endocrinology: Fourth Edition, Elsevier Inc.

Rosengren, K. J., et al. (2006). "Solution structure and characterization of the LGR8 receptor binding surface of insulin-like peptide 3." Journal of Biological Chemistry281(38): 28287-28295.

Ross, M. H. and W. Pawlina (2006). Histology, Lippincott Williams & Wilkins.

Ross, M. H. and W. Pawlina (2011). Histology a text and atlas 6th edition, Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business.

Russell, L. (1992). "Normal development of the testis." Pathobiology of the aging rat1.

Saalu, L., et al. (2007). "β-Tocopherol (vitamin E) attenuates the testicular toxicity associated with experimental cryptorchidism in rats." African Journal of Biotechnology6(12).

Sadeu, J., et al. (2010). "Alcohol, drugs, caffeine, tobacco, and environmental contaminant exposure: reproductive health consequences and clinical implications." Critical reviews in toxicology40(7): 633-652.

Sadler, T. (2005). "Langman Medikal Embriyoloji,(Çev.: Başaklar, AC), 9." Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.

Sahin, Z., et al. (2017). "Investigation of the role of α-lipoic acid on fatty acids profile, some minerals (zinc, copper, iron) and antioxidant activity against aluminum-induced oxidative stress in the liver of male rats." Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology28(4): 355-361.

Sahinturk, V., et al. (2007). "Protective effects of vitamin E on ethane dimethane sulfonate-induced testicular toxicity in rats." Asian journal of andrology9(1): 117-124.

Saladin, K. S. (2004). "Anatomy & physiology: the unity of form and function."

Samuel, C. S., et al. (2003). "Relaksin is a key mediator of prostate growth and male reproductive tract development." Laboratory investigation83(7): 1055-1067.

Samuel, C. S., et al. (2003). "Relaksin deficiency in mice is associated with an age-related progression of pulmonary fibrosis." The FASEB Journal17(1): 121-123.

Sancak, B. and M. Cumhur (1999). "Fonksiyonel Anatomi." Ankara: Metu Pres: 152-155.

Sanocka, D., et al. (1996). "Oxidative stress and male infertility." Journal of andrology17(4): 449-454.

Sansone, A., et al. (2019). "AMH and INSL3 in testicular and extragonadal pathophysiology: what do we know?" Andrology7(2): 131-138.

Saxena, R. (2017). Practical Hepatic Pathology: A Diagnostic Approach E-Book: A Volume in the Pattern Recognition Series, Elsevier Health Sciences.

Scheerer, P., et al. (2008). "Crystal structure of opsin in its G-protein-interacting conformation." Nature455(7212): 497-502.

Scott, D., et al. (2005). "Characterization of the rat INSL3 receptor." Annals of the New York Academy of Sciences1041(1): 13-16.

Scott, D. J., et al. (2006). "Characterization of novel splice variants of LGR7 and LGR8 reveals that receptor signaling is mediated by their unique low density lipoprotein class A modules." Journal of Biological Chemistry281(46): 34942-34954.

Scott, H. M., et al. (2007). "Role of androgens in fetal testis development and dysgenesis." Endocrinology148(5): 2027-2036.

Sen, C. K. and L. Packer (2000). "Thiol homeostasis and supplements in physical exercise." The American journal of clinical nutrition72(2): 653S-669S.

Sener, G., et al. (2002). "The protective effect of melatonin on renal ischemia–reperfusion injury in the rat." Journal of pineal research32(2): 120-126.

Senoo, H., et al. (2010). "Hepatic stellate cell (vitamin A-storing cell) and its relative–past, present and future." Cell biology international34(12): 1247-1272.

Serafini, M. and D. Del Rio (2004). "Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?" Redox report9(3): 145-152.

Sethi, A., et al. (2016). "The complex binding mode of the peptide hormone H2 relaksin to its receptor RXFP1." Nature communications7(1): 1-12.

Sezgin, H. and Ç. Hocaoglu (2014). "Infertilitenin Psikiyatrik Yönü/Psychiatric Aspects of Infertility." Psikiyatride Guncel Yaklasimlar6(2): 165.

Shabanpoor, F., et al. (2009). "The human insulin superfamily of polypeptide hormones." Vitamins & Hormones80: 1-31.

Shaheen, A. A. and A. A. Abd El-Fattah (1995). "Effect of dietary zinc on lipid peroxidation, glutathione, protein thiols levels and superoxide dismutase activity in rat tissues." The international journal of biochemistry & cell biology27(1): 89-95.

Sharpe, R. M., et al. (2003). "Proliferation and functional maturation of Sertoli cells, and their relevance to disorders of testis function in adulthood." REPRODUCTION-CAMBRIDGE-125(6): 769-784.

Shemesh, R., et al. (2008). "Discovery and validation of novel peptide agonists for G-protein-coupled receptors." Journal of Biological Chemistry283(50): 34643-34649.

Sherins, R. and S. Howards (1978). "Male infertility." Campbell's urology1: 715.

Shima, Y. and K.-i. Morohashi (2017). "Leydig progenitor cells in fetal testis." Molecular and cellular endocrinology445: 55-64.

Short, R. (1997). "The testis: the witness of the mating system, the site of mutation and the engine of desire." Acta Paediatrica86(S422): 3-7.

Shpakov, A., et al. (2007). "Studies of the molecular mechanisms of action of relaksin on the adenylyl cyclase signaling system using synthetic peptides derived from the LGR7 relaksin receptor." Neuroscience and behavioral physiology37(7): 705-714.

Silva, F., et al. (2002). "Rapid signal transduction in Sertoli cells." European journal of endocrinology147(3): 425-433.

Silvertown, J. D., et al. (2010). "Relaksin-3 and receptors in the human and rhesus brain and reproductive tissues." Regulatory peptides159(1-3): 44-53.

Sikka, S. C. (1996). "Oxidative stress and role of antioxidants in normal and abnormal sperm function." Frontiers in bioscience: a journal and virtual library1: e78-86.

Skandhan, K., et al. (1978). "Semen electrolytes in normal and infertile subjects. II. Zinc." Experientia34(11): 1476-1477.

Smith, C. M., et al. (2011). "Relaksin-3 systems in the brain—the first 10 years." Journal of chemical neuroanatomy42(4): 262-275.

Srivastava, S., et al. (1987). "In vivo protection by protein A of hepatic microsomal mixed function oxidase system of ccl4-administered rats." Biochemical pharmacology36(23): 4055-4058.

Stamoulis, I., et al. (2007). "Zinc and the liver: an active interaction." Digestive diseases and sciences52(7): 1595-1612.

Stegmayr, B., et al. (1982). "Calcium, magnesium, and zinc contents in organelles of prostatic origin in human seminal plasma." Scandinavian journal of urology and nephrology16(3): 199-203.

Sternberg, S. S. (1997). Histology for pathologists, Lippincott-Raven.

Storey, B. T. (1997). "Biochemistry of the induction and prevention of lipoperoxidative damage in human spermatozoa." Molecular human reproduction3(3): 203-213.

Styne, D. M. (1994). "Physiology of puberty." Hormone Research in Paediatrics41(Suppl. 2): 3-6.

Sudheesh, S. and N. Vijayalakshmi (2005). "Flavonoids from Punica granatum—potential antiperoxidative agents." Fitoterapia76(2): 181-186.

Suntres, Z. E. (2002). "Role of antioxidants in paraquat toxicity." Toxicology180(1): 65-77.

Susman, E. J., et al. (2010). "Longitudinal development of secondary sexual characteristics in girls and boys between ages 9½ and 15½ years." Archives of pediatrics & adolescent medicine164(2): 166-173.

Şeftalioğlu, A. (1998). "Genel & Özel İnsan Embriyolojisi. 3." Baskı, Ankara.

Şimşek, E. (1992). Anatomi fizyoloji, Hacettepe Taş.

Tan, J., et al. (2016). "Expression of RXFP1 is decreased in idiopathic pulmonary fibrosis. Implications for relaksin-based therapies." American journal of respiratory and critical care medicine194(11): 1392-1402.

Tanaka, M. (2010). "Relaksin-3/insulin-like peptide 7, a neuropeptide involved in the stress response and food intake." The FEBS journal277(24): 4990-4997.

Tanner, J. and R. Whitehouse (1975). "A note on the bone age at which patients with true isolated growth hormone deficiency enter puberty." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism41(4): 788-790.

Tanner, J. M. (1962). "Growth at adolescence."

Tate Jr, D. J., et al. (1999). "Zinc protects against oxidative damage in cultured human retinal pigment epithelial cells." Free Radical Biology and Medicine26(5-6): 704-713.

Tinggi, U. (2008). "Selenium: its role as antioxidant in human health." Environmental health and preventive medicine13(2): 102.

Tsujii, H., et al. (1993). "Prostaglandin E2 and rat liver regeneration." Gastroenterology105(2): 495-499.

Uchiyama, M. and M. Mihara (1978). "Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test." Analytical biochemistry86(1): 271-278.

Uddin, M. G., et al. (2017). "Elemental zinc is inversely associated with C-reactive protein and oxidative stress in chronic liver disease." Biological trace element research178(2): 189-193.

Umeyama, T., et al. (1986). "A comparative study of seminal trace elements in fertile and infertile men." Fertility and sterility46(3): 494-499.

Urso, M. L. and P. M. Clarkson (2003). "Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation." Toxicology189(1-2): 41-54.

Valko, M., et al. (2007). "Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease." The international journal of biochemistry & cell biology39(1): 44-84.

Valko, M., et al. (2006). "Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer." Chemico-biological interactions160(1): 1-40.

Valkovic, A. L., et al. (2019). "Understanding relaksin signalling at the cellular level." Molecular and cellular endocrinology487: 24-33.

Van der Schoot, P. and W. Elger (1992). "Androgen-induced prevention of the outgrowth of cranial gonadal suspensory ligaments in fetal rats." Journal of andrology13(6): 534-542.

Van Vorstenbosch, C., et al. (1982). "Leydig cell development of pig testis in the early fetal period: an ultrastructural study." American Journal of Anatomy165(3): 305-318.

Veldhuis, J. D. (1996). "Neuroendocrine mechanisms mediating awakening of the human gonadotropic axis in puberty." Pediatric Nephrology10(3): 304-317.

Venkatakrishnan, A., et al. (2013). "Molecular signatures of G-protein-coupled receptors." Nature494(7436): 185-194.

Vernet, P., et al. (2004). "Antioxidant strategies in the epididymis." Molecular and cellular endocrinology216(1-2): 31-39.

Virgili, F., et al. (1999). "Intestinal damage induced by zinc deficiency is associated with enhanced CuZn superoxide dismutase activity in rats: effect of dexamethasone or thyroxine treatment." Free Radical Biology and Medicine26(9-10): 1194-1201.

Wen, Q., et al. (2016). Development, function and fate of fetal Leydig cells. Seminars in cell & developmental biology, Elsevier.

Wheatley, M., et al. (2012). "Lifting the lid on GPCRs: the role of extracellular loops." British journal of pharmacology165(6): 1688-1703.

Wheeler, M. D. (1991). "Physical changes of puberty." Endocrinology and Metabolism Clinics20(1): 1-14.

Wikström, A. M., et al. (2006). "Serum insulin-like factor 3 levels during puberty in healthy boys and boys with Klinefelter syndrome." The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism91(11): 4705-4708.

Wilkinson, T. N. and R. A. Bathgate (2007). The evolution of the relaksin peptide family and their receptors. Relaksin and Related Peptides, Springer: 1-13.

Wilkinson, T. N., et al. (2005). "Evolution of the relaksin-like peptide family." BMC evolutionary biology5(1): 14.

Woodside, B. and J. E. Jans (1995). "Role of the nutritional status of the litter and length and frequency of mother-litter contact bouts in prolonging lactational diestrus in rats." Hormones and behavior29(2): 154-176.

Xia, W., et al. (2005). "Cytokines and junction restructuring during spermatogenesis—a lesson to learn from the testis." Cytokine & growth factor reviews16(4-5): 469-493.

Yamamoto, H., et al. (2014). "The expression of relaksin-3 in adipose tissue and its effects on adipogenesis." Protein and Peptide Letters21(6): 517-522.

Yanbeyi, S. (1999). "Aspirin ve antioksidant buthylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri." Ondokuz Mayıs Üni. Biyoloji Anabilim Dalı, Doktora Tezi, Samsun, 88s.

Yang, L., et al. (2020). "Rln3a is a prerequisite for spermatogenesis and fertility in male fish." The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology197: 105517.

Yegorov, S., et al. (2014). "The relaksin family peptide receptors and their ligands: new developments and paradigms in the evolution from jawless fish to mammals." General and comparative endocrinology209: 93-105.

Young, I. and J. Woodside (2001). "Antioxidants in health and disease." Journal of clinical pathology54(3): 176-186.

Yumru, A. E. and B. Öndeş (2011). "İnfertil Çifte Yaklaşım ve İn Vitro Fertilizasyon'a Doğru Hasta Seçimi."

Zhang, Y., et al. (2019). "Preparation and characterization of D. opposita Thunb polysaccharide-zinc inclusion complex and evaluation of anti-diabetic activities." International journal of biological macromolecules121: 1029-1036.

Zhou, Z., et al. (2005). "Zinc supplementation prevents alcoholic liver injury in mice through attenuation of oxidative stress." The American journal of pathology166(6): 1681-1690.

8. TURNİTİN RAPORU

ÇİNKO EKSİK DİYETLE BESLENEN GEBE SIÇANLARIN ERKEK YAVRULARINDA, ÇİNKO EKSİKLİĞİ ve UYGULAMASININ TESTİS ve KARACİĞERDE RELAKSİN AİLESİ PEPTİDLERİ, OKSİDAN SİSTEM ve TESTOSTERON DÜZEYLERİ ile İLİŞKİLE

Gönderim Tarihi: 06-Kas-2020 08:50AM (UTC+0300)
Gönderim Numarası: 1437765279
Dosya adı: O_EKS_K_D_YETLE_BESLENEN_GEBE_SI_ANLARIN_ERKEK_YAVRULARINDA.docx (3.37M)
Kelime sayısı: 18685
Karakter sayısı: 132256

Yazar Hamiyet Köse

ÇİNKO EKSİK DİYETLE BESLENEN GEBE SIÇANLARIN ERKEK YAVRULARINDA, ÇİNKO EKSİKLİĞİ ve UYGULAMASININ TESTİS ve KARACİĞERDE RELAKSİN AİLESİ PEPTİDLERİ, OKSİDAN SİSTEM ve TESTOSTERON DÜZEYLERİ ile İLİŞKİLE

ORIJINALLIK RAPORU

%8	%6	%2	%3
BENZERLIK ENDEKSI	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCI ÖDEVLERI

BIRINCIL KAYNAKLAR

1	Submitted to Selçuk Üniversitesi Öğrenci Ödevi	%1
2	adumilas.adu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
3	burkonturizm.com İnternet Kaynağı	%1
4	library.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	%1
5	acikerisim.pau.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
6	acikerisim.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
7	zoofed.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1

8	acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
9	istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
10	Richard Ivell, Ravinder Anand-Ivell. "Insulin-like peptide 3 (INSL3) is a major regulator of female reproductive physiology", Human Reproduction Update, 2018 Yayın	<%1
11	www.selcukmedj.org İnternet Kaynağı	<%1
12	earsiv.halic.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
13	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
14	www.thd.org.tr İnternet Kaynağı	<%1
15	GEDİKLİ, Semin, ÖZBEK, Elvan and DEMİRCİ, Tuba. "Fertilizasyonun moleküler temeli", Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi, 2013. Yayın	<%1
16	YÜCE, Abdurrauf and AKSAKAL, Mesut. "Ratların karaciğer ve testis dokusundaki antioksidan aktivite üzerine nar suyunun etkisi", Fırat Üniversitesi, 2007.	<%1

Yayın

17	TAŞAR, Medine Ayşin, DEMİR, Hasan, ATAY, Gürkan, ARİKAN, Fatma İnci and DALLAR, Yıldız Bilge. "The value of c-reactive protein, procalcitonin, ınterleukin-6 levels to predict urinary tract ınfection in children with fever without a focus", Çocuk Enfeksiyon Hastalıkları Derneği, 2014. Yayın	<%1
18	DAMAR, Ertan, AKSUN, Murat, GİRGİN, Senem, GÖKTOĞAN, Tayfun, YILMAZ, Engin, ARAN, Gülçin, ŞENCAN, Atilla, GÜRBÜZ, Ali and KARAHAN, Nagihan. "Koroner arter baypas greft ameliyatlarında pompa prime solüsyonu olarak Ringer ve Ringer solüsyonuna eklenmiş %6'lık hidroksietil nişasta (130/0.4-HES) kullanımının hemodinamik, metabolik, renal ve hemostatik etkilerinin karşılaştırılması", TUBITAK, 2012. Yayın	<%1
19	A. K. Baltaci, H. Gokbudak, S. B. Baltaci, R. Mogulkoc, M. C. Avunduk. "The effects of resveratrol administration on lipid oxidation in experimental renal ischemia-reperfusion injury in rats", Biotechnic & Histochemistry, 2019 Yayın	<%1
20	Submitted to Univerza v Ljubljani Öğrenci Ödevi	<%1

21	geneltip.org İnternet Kaynağı	<%1
22	turkosteoporozdergisi.org İnternet Kaynağı	<%1
23	R. Ivell, R. Anand-Ivell. "Biology of insulin-like factor 3 in human reproduction", Human Reproduction Update, 2009 Yayın	<%1
24	acikerisim.aku.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	<%1
25	Submitted to Ondokuz Mayıs Universitesi Öğrenci Ödevi	<%1
26	docs.neu.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
27	Submitted to Higher Education Commission Pakistan Öğrenci Ödevi	<%1
28	www.021yjsw.com İnternet Kaynağı	<%1
29	tndt.org İnternet Kaynağı	<%1
30	www.shgrsw.com İnternet Kaynağı	<%1

ÖZCAN, Ercan, TOPUZ, Cem, ODACILAR,

31	Özgül, MEHEL, Murat, FEYİZİ, Hatice and TURGUT, Namigar. "İntraabdominal Cerrahi Operasyonlarında, Preoperatif ve İntraoperatif Forced-Air Isıtmayla İntraoperatif Isıtmanın Perioperatif Vücut Isısına Etkilerinin Karşılaştırılması", Logos Yayıncılık, 2017. Yayın	<%1
32	www.turkbiyofizik.com İnternet Kaynağı	<%1
33	www.turkinvasivecard.org İnternet Kaynağı	<%1
34	Lamp, Ole (Prof. Dr. Almuth Einspanier, Prof. Dr. Claudia Binder, Prof. Dr.. Almuth Einspanier and Universität Leipzig, Veterinärmedizinische Fakultät). "Etablierung biochemischer Marker für Diagnostik und Prognose caniner Mammatumore", Universitätsbibliothek Leipzig, 2012. Yayın	<%1
35	Submitted to Okan Ãniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
36	ihslc.mehmetakif.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
37	www.hindawi.com İnternet Kaynağı	<%1

Kürşâd YİĞİTARSLAN, Şefika ERCAN,

38	Candemir ÖZCAN, Ümran AKIN ÖZCAN. "Platelet Rich Plasma and its Utilization Areas in Veterinary Medicine", Turkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences, 2018 Yayın	<%1
39	Mithat GÜNAYDIN, Dilek GÜVENÇ, Levent YILDIZ, Abdurrahman AKSOY et al. "Comparison of Substances Used for Prevention of Intra-Abdominal Adhesions: An Experimental Study in Rats", Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences, 2012 Yayın	<%1
40	"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 Yayın	<%1
41	REVAN, Serkan, OKUDAN, Nilsel, BALCI, Şükrü Serdar, BELVİRANLI, Muaz, PEPE, Hamdi and GÖKBEL, Hakkı. "Coenzyme Q10 supplementation and regular physical exercise affect the level of glutathione and superoxide dismutase in the brain", Erciyes Üniversitesi, 2013. Yayın	<%1

Alıntıları çıkart Kapat
Eşleşmeleri çıkar Kapat
Bibliyografyayı Çıkart Kapat

9. ÖZGEÇMİŞ

1994 yılında Ankara'da doğdu. İlkokul, ortaokul ve lise eğitimini Ankara'da tamamladı. Selçuk Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Kimya Mühendisliği Bölümünden 2017 yılında mezun oldu. 2017 yılında Selçuk Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim dalında yüksek lisans eğitimine başladı ve halen yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.