

T.C.
FIRAT ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
ANABİLİM DALI

STREPTOZOTOSİN İLE DİYABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARIN TESTİSLERİNDE KİSSPEPTİN
İMMÜNREAKTİVİTESİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EMİNE SARMAN

2015

ONAY SAYFASI

Prof. Dr. Mustafa KAPLAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu tez Yüksek Lisans standartlarına uygun bulunmuştur.

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Yüksek Lisans Tezi
olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU

Danışman

Yüksek Lisans Sınavı Jüri Üyeleri

..... _____
..... _____
..... _____
..... _____

İTHAF SAYFASI

Sevgili Aileme...

TEŞEKKÜR

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda gerçekleştirdiğim yüksek lisans eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım, tez konumun seçimi, yürütülmesi ve değerlendirilmesinde tüm yoğunluğuna rağmen desteğini ve sabrını esirgemeyen, akademik olarak gelişmemde büyük katkıları olan danışman hocam Prof. Dr. Neriman ÇOLAKOĞLU'na, yüksek lisans eğitimim süresince sorduğum tüm sorulara büyük bir sabırla cevap vererek bilgilerini ve tecrübelerini paylaşmaktan çekinmeyen, emeğini ve desteğini unutamayacağım Yrd. Doç. Dr. Tuncay KULOĞLU'na, eğitimim süresince yol gösteren, manevi desteğini esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Enver OZAN'a, katkılarından dolayı bölümümüzdeki öğretim üyesi hocalarım Prof. Dr. Leyla C. KOYUTÜRK'e, Doç. Dr. D. Özlem DABAK'a, Yrd. Doç. Dr. Nevin KOCAMAN'a, bölümümüzdeki araştırma görevlisi, yüksek lisans ve doktora öğrencisi arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Akademik bir bakış açısı kazanmamda büyük emekleri olan Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Süleyman AYDIN'a ve kıymetli eşi Uzm. Dr. Suna AYDIN'a teşekkür ederim.

Büyük fedakârlıklar göstererek yetişmemde emekleri olan ve bugünlere gelmemi sağlayan, hayatım boyunca yürüdüğüm ve yürümeye devam edeceğim bu yolda manevi destekçilerim olan annem Zühire SARMAN ve babam Sabahattin SARMAN'a, ağabeyim Abdullah SARMAN ve kardeşim Esmâ SARMAN'a sonsuz teşekkür ederim.

Tez çalışmamda katkıları olan FÜDAM' daki tüm idari personele ve tezin finansmanını karşıladığı için FÜBAP'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI.....	i
ONAY SAYFASI.....	ii
İTHAF SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR	iv
İÇİNDEKİLER	v
TABLolar LİSTESİ.....	viii
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	ix
KISALTMALAR LİSTESİ.....	xii
1. ÖZET.....	1
2. ABSTRACT	1
3. GİRİŞ	3
3.1. Erkek Üreme Sistemi	3
3.1.1. Testisler	3
3.1.1.1. Testis Anatomisi	3
3.1.1.2. Testis Embriyolojisi	7
3.1.1.3. Testis Histolojisi	10
3.1.1.3.1. Spermatogenez	10
3.1.1.3.1.1. Spermatositogenez	10
3.1.1.3.1.2. Mayoz.....	12
3.1.1.3.1.3. Spermiyogenez.....	12
3.1.1.3.1.3.1. Golgi Fazı.....	13
3.1.1.3.1.3.2. Akrozomal Faz.....	13
3.1.1.3.1.3.3. Maturasyon (Olgunlaşma) Fazı.....	14

3.1.1.3.2. Sertoli Hücreleri	15
3.1.1.3.3. İnterstisyel Doku ve Leydig Hücresi	16
3.1.1.3.4. Yardımcı Genital Bezler, Testis İçi Genital Kanallar ve Erkek Genital Boşaltım Kanalları.....	17
3.2. Diabetes Mellitus	19
3.2.1.Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması	19
3.2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus.....	21
3.2.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus.....	24
3.2.1.3. Deneysel Diyabet Yöntemleri	25
3.2.1.3.1. Streptozotosin.....	26
3.2.2. Açlık Kan Şekeri Düzeyinin Ölçülmesi.....	29
3.2.3. Diabetes Mellitus ve Erkek İnfertilitesi	29
3.3. Erkeklerde Puberte ve Hipotalamus-Hipofiz-Gonad Eksenini	31
3.4. Kisspeptin (Kiss-1) ve GPR-54 (Kiss-1r)	33
3.4.1. Kisspeptin'in Puberte Üzerine Etkisi.....	36
3.4.2. Kisspeptin'in Diğer Organlar Üzerine Etkileri	40
3.4.3. Kisspeptin ve Tüp Bebek Tedavisi	41
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	43
4.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri.....	43
4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması	44
4.3. Diyabet İndüksiyonu	45
4.4. Doku Örneklerinin Alınması.....	45
4.5. İmmünohistokimya	46
4.6. Enzim-Bağlı İmmün Assay Yöntemi (ELISA).....	49

4.7. İstatistiksel Analiz.....	49
5.BULGULAR	50
5.1. Klinik Bulgular	50
5.2. Biyokimyasal Bulgular.....	50
5.2.1.Kan-Glukoz Değerleri.....	50
5.2.2. Serum Testosteron Düzeyleri.....	51
5.3. Işık Mikroskopik Bulgular	52
5.4. İmmünohistokimya	59
6.TARTIŞMA	63
KAYNAKLAR	70
ÖZGEÇMİŞ.....	81

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 1. Sertoli hücrelerinin görevleri	16
Tablo 2. Diyabetin etiyolojik sınıflandırılması	20
Tablo 3. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkihi.....	44
Tablo 4. Histolojik takip serileri.....	46
Tablo 5. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü	48
Tablo 6. Kontrol, sham ve diyabetik grupların başlangıç ve final vücut ağırlıkları	50
Tablo 7. Kontrol, sham ve diyabetik grupların başlangıç ve final kan-glukoz değerleri.....	51
Tablo 8. Deney hayvanlarının serum testosteron düzeyleri	51
Tablo 9. İmmünohistokimyasal boyanma şiddetinin derecesi	60

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Erkek üreme sistemini oluşturan yapıların şematik çizimi.....	3
Şekil 2. Testisinin anatomik yapısı	7
Şekil 3. Erkek genital sistemi	8
Şekil 4. Seminifer tübül epiteli	12
Şekil 5. Spermatogenezis serisi.....	14
Şekil 6. Testis ve genital kanalların şematik gösterimi.....	18
Şekil 7. Streptozotosin'in açık formülü.....	27
Şekil 8. Erkek hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini	32
Şekil 9. Kisspeptin'in hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini üzerine etkisi.....	33
Şekil 10. Kisspeptin öncüsünden aktif kisspeptin formlarının oluşumu.....	34
Şekil 11. Kisspeptin'in etki mekanizması.....	41
Şekil 12. Kontrol Grubu. Seminifer tübül epitelinini (mavi ok) oluşturan spermatogenik hücreler, Sertoli hücreleri (siyah ok) ve interstisyel bölgede yer alan Leydig hücreleri (sarı ok) normal yapıda ayırt edilmekte. Hematoksilen & Eozin x 200	53
Şekil 13. Kontrol Grubu. Seminifer tübüllerinin etrafındaki bazal membran (siyah ok), seminifer tübül epiteli (*), Leydig hücreleri (mavi ok) normal olarak gözlenmekte. PAS x 200	54
Şekil 14. Sham Grubu. Seminifer tübüllerinde yer alan hücreler, tübüllerinin bazal membranları (siyah ok), interstisyel alan ve bu alanda yer alan Leydig hücreleri (mavi ok) normal yapı sergilemekte. PAS x 200.....	54

- Şekil 15.** DM3 Gün Grubu. Seminifer tübüller normal olarak gözlenirken interstisyel bölgede bulunan damarlarda konjesyon (ok) dikkat çekmekte. Masson'nun üçlü boyaması x 200..... 55
- Şekil 16.** DM3 Gün Grubu. Seminifer tübüllerin epiteli ve bazal membranı (ok) normal yapıda ayırt edilmekte. PAS x 200 55
- Şekil 17.** DM1 Hafta Grubu. İnterstisyel alanda ödem (*). Hematoksilen & Eozin x 200..... 56
- Şekil 18.** DM1 Hafta Grubu. Seminifer tübülleri çevreleyen bazal membran (ok) normal yapıda olmakla birlikte, seminifer tübül epitelinde dejenerasyon (*) dikkati çekmekte. PAS x 200 56
- Şekil 19.** DM1 Hafta Grubu. Seminifer tübüllerin lümenlerinde olgunlaşmalarını henüz tamamlamamış olan spermatogenik seriye ait hücre döküntüleri (*) ayırt edilmekte. Hematoksilen & Eozin x 200 57
- Şekil 20.** DM2 Hafta Grubu. Seminifer tübüllerin lümenlerinde olgunlaşmalarını henüz tamamlamamış olan spermatogenik seriye ait hücreler (*). Hematoksilen & Eozin x 200 57
- Şekil 21.** DM2 Hafta Grubu. Normal görünümlü seminifer tübüllerin arasında kontürleri düzensiz ve atrofik seminifer tübüller (ok). Hematoksilen & Eozin x 200..... 58
- Şekil 22.** DM4 Hafta Grubu. Seminifer tübül bazal membranında invaginasyonlar (ok) ve epitelde atrofi (*). PAS x 200 58
- Şekil 23.** DM4 Hafta Grubu. Atrofik seminifer tübül (*). Hematoksilen & Eozin x 200..... 59

- Şekil 24.** Kontrol Grubu. Spermatogenik hücrelerde (siyah ok) ve interstisyel bölgede yer alan Leydig hücrelerinde (sarı ok) +3 şiddetinde kisspeptin 1 immünreaktivitesi ayırt edilmekte. AECx200 60
- Şekil 25.** DM3 Gün Grubu. Spermatogenik hücrelerde (siyah ok) ve interstisyel bölgede yer alan Leydig hücrelerinde (mavi ok) +3 şiddetinde kisspeptin 1 immünreaktivitesi. AECx200 61
- Şekil 26.** DM1 Hafta Grubu. Spermatogenik hücrelerde (mavi ok) kisspeptin 1 immünreaksiyonu +1 şiddetinde ayırt edilirken, Leydig hücrelerinde (siyah ok) +3 şiddetinde gözlenmekte. AECx200..... 61
- Şekil 27.** DM2 Hafta Grubu. Spermatogenik hücrelerde (siyah ok) kisspeptin 1 immünreaksiyonu +1 şiddetinde ayırt edilirken, Leydig hücrelerinde +3 (sarı ok) şiddetinde gözlenmekte. AECx200 62
- Şekil 28.** DM4 Hafta Grubu. Spermatogenik hücrelerde eser miktarda (+1) kisspeptin 1 immünreaktivitesi saptanırken, Leydig hücrelerinde +3 şiddetinde immünreaksiyon gözlenmekte. AECx200 62

KISALTMALAR LİSTESİ

ABP	: Androjen Bağlayıcı Protein
ADA	: Amerikan Diyabet Birliği
AMH	: Anti Müllerian Hormon
D.E.R	: Düz Endoplazmik Retikulum
DKA	: Diyabetik Ketoasidoz
DM	: Diabetes Mellitus
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
EIA	: Enzim İmmunoassay
FSH	: Fölikül Uyarıcı Hormonu
GnRH	: Gonadotropin-Serbestleştirici Hormon
GPR54	: G-Protein-Coupled Receptor-54
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HbA1c	: Glikolize Hemoglobin
hCG	: İnsan Koryonik Gonadotropini Hormonu
HLA	: Human Leukocyte Antigen
HPG	: Hipotalamik-Pituiter-Gonadal
IDDM12	: Insulin Dependent Diabetes Mellitus 12
IDDM2	: Dependent Diabetes Mellitus 2
IFG	: Bozulmuş Açlık Glukozu
IGF-I	: Büyüme Faktörü-1
IGT	: Glukoz Tolerans Bozukluğu
IVF	: İn-Vitro Fertilizasyon
İ.P	: İnter Peritonal

İHH	: İzole Hipogonodotropik Hipogonadizm
Kiss-1	: Kisspeptin-1
LDL	: Düşük Dansiteli Lipoprotein
LH	: Luteinizan Hormonunu
MIS	: Müller kanallarını baskılayıcı madde
OGTT	: Oral Glukoz Tolerans Testi
OHSS	: Ovarian Hiperstimülasyon Sendromu
PAS	: Periodic Acid Schiff
PBS	: Fosfat tamponu
RNA	: Ribonükleik Asit
RT-PCR	: Transkriptaz Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SRY	: Y kromozomu üzerindeki seks belirleyici bölge
SSS	: Santral Sinir Sistemi
STZ	: Streptozotosin
TDF	: Testis Belirleyici Faktör
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
YÜT	: Yardımcı Üreme Teknikleri

1. ÖZET

Amaç: Diyabet, genellikle insülin sekresyonundaki veya etkinliğindeki bozukluğa bağlı olarak gelişen hiperglisemi ile karakterize metabolik bir hastalıktır ve üreme sağlığını menfi yönde etkilemektedir. Hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen birbiriyle koordineli çalışarak üreme fonksiyonunun düzenlenmesinde rol oynamaktadırlar. Kiss-1 geninin ürünü olan, hipotalamik nöronlar tarafından sentezlenen kisspeptin adı verilen nöropeptidler bu eksen üzerinde etki göstererek puberteye geçişi ve fertilitiyi regüle etmektedir. Biz bu çalışmada, diyabetin, testiküler dokuyu ve bu dokudaki kisspeptin immünreaktivitesini zamana bağlı olarak nasıl etkilediğini belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmada 8 haftalık 48 adet Spragua Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, Grup I (Kontrol, n:8), Grup II (Sham, n:8); Grup III (Diyabet Grubu, n:32) olacak şekilde ayrıldı. Diyabetik sıçanlar ise 3 günlük, 1, 2 ve 4 haftalık diyabetik gruplar olarak düzenlendi. Deney sonunda sıçanlar anestezi altında dekapite edildi. Deneklerden serum/testosteron düzeyi ölçümü için kan örnekleri ve histopatolojik incelemeler için testis dokuları alındı. Rutin doku hazırlama yöntemi ile parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan 5µm kalınlığında doku kesitleri alındı. Dokular, histokimyasal ve imünohistokimyasal yöntemlerle boyanıp, incelendi.

Bulgular: Deney sonunda diyabetik gruplarda sürenin uzamasıyla birlikte özellikle 1. haftadan sonra giderek artan anlamlılıkta sıçanlarda kilo ve serum testosteron düzeyinde düşüş gözlemlendi. Diyabetin olduğu 3. günde dokunun etkilenmesi minimal düzeyde idi. Diyabetin ilerlemesi ile birlikte seminifer tübül epitelinde dejenerasyon, interstisyel ödem, bazı tübüllerin lümeninde

olgunlaşmamış spermatogenik hücreler ayırt edildi. İki haftalık ve 4 haftalık diyabetik grupta bu bulgulara ilaveten birkaç atrofik tübül gözlemlendi. İmmünohistokimyasal boyama yapılan doku kesitlerinde ise kontrol, sham ve 3 günlük diyabetik gruplarda Leydig hücrelerinde ve spermatogenik hücrelerde belirgin kisspeptin immünreaktivitesi saptandı. Diyabet süresinin ilerlemesine bağlı olarak spermatogenik hücrelerdeki kisspeptin immünreaktivitesinin şiddetinde belirgin azalma gözlemlendi.

Sonuç: Diyabete bağlı testislerde oluşan yapısal bozuklukların; kisspeptin immünreaktivitesindeki ve serum testosteron düzeyindeki azalmayla birlikte seyretmesi, sağlıklı koşullarda testiküler fizyolojinin regülasyonunda ve yapısal bütünlüğünün korunmasında kisspeptin ve testosteronun birbiriyle korele çalışan moleküller arasında yer aldıklarını düşündürdü.

Anahtar kelimeler: Diabetes Mellitus, Kisspeptin, Sıçan, Testis.

2. ABSTRACT

DETERMINATION OF KISSPEPTIN IMMUNOREACTIVITY IN TESTES OF RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES

Aim: Diabetes Mellitus, is a metabolic disorder which is generally characterized with hyperglycemia that is developed due to corruption in insulin secretion or effectiveness and it affects reproductive health negatively. Hypothalamus-pituitary-gonadal axis work together coordinated and have a role in organizing reproductive function. Neuropeptides called kisspeptin which are synthesized by hypothalamic neurons are which axis and regulate transition to puberty and fertility. In this study we have aimed to find out how diabetes mellitus affects testicular tissue and the kisspeptin immunoreactivity in this tissue according to time.

Materials and Methods: In this study, 48 8-week-old Sprague Dawley male rats have been used. Rats have been classified as Group I, Group II, Group III. Diabetic rats have been classified as 3-days-old, 1-week, 2-week, and 4-week-old. At the end of the experiment, rats have been decapitated under anesthetized. Blood samples have been taken from subjects for measuring serum testosterone level and testicular tissues for histopathological examining. Paraffin blocks have been prepared by routine tissue preparation method. The tissue blocks were sectioned at a thickness of 5 μm to perform histochemical and immunohistochemical staining.

Results: At the end of the experiment, in diabetic group, we have observed a decrease in weight and serum testosterone level among the rats meaningfully

especially after 1 weeks. Diabetes Mellitus has been existed on 3 days and on this day the affection of tissue has been on a minimal level with the increase of diabetes mellitus, we have observed degeneration in seminiferous tubules epithelium, interstitial edema and immature spermatogenic cells in some tubules lumens. Addition to these findings in 2-weeks-old and 4-weeks-old diabetic group, we have observed some atrophic tubules. In tissue sections which have been immunohistochemical stained, we have found out clear kisspeptin immunoreactivity in Leydig cells and spermatogenic cells in control, sham and 3-days-old diabetic groups. According to progress of diabet time, we have observed a clear reduction in intensity of spermatogenic cells kisspeptin immunoreactivity.

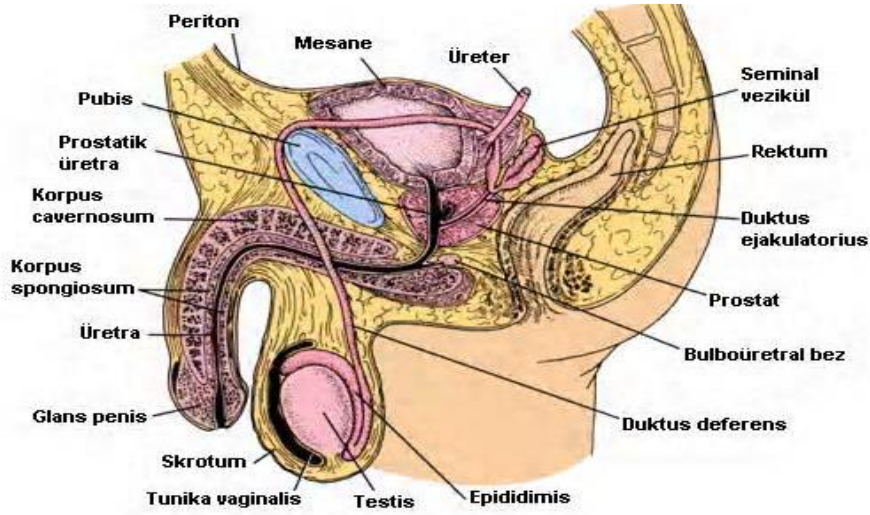
Conclusion: It has been thought that structural impairments in testis due to diabetes mellitus, with the reduction in kisspeptin immunoreactivity and serum testosterone level that in healthy conditions, regulation of testicular physiology and protection of structural integrity, kisspeptin and testosterone are molecules that work correlated with each other.

Key words: Diabetes Mellitus, Kisspeptin, Rat, Testis.

3. GİRİŞ

3.1. Erkek Üreme Sistemi

Erkek Üreme Sistemi (EÜS); hormon ve spermatozoon üreten testisler, düz kas kasılmalarının da yardımıyla spermatozoonların dışarıya gönderilmesinden sorumlu olan salgıları üreten ve aynı zamanda spermatozoonlara gerekli besinleri sağlayan genital kanallar ve yardımcı bezlerden, spermatozoonlar ile birlikte genital kanal ve yardımcı bezlerin salgısını dışı üreme sistemine iletmekte görevli olan penisten oluşur (1,2).



Şekil 1. Erkek üreme sistemini oluşturan yapıların şematik çizimi (3)

3.1.1. Testisler

3.1.1.1. Testis Anatomisi

Testis, skrotum içinde yer alan ve erkek üreme hücrelerinin yapıldığı bir çift organdır (4).

Funikulus spermaticus'a asılı durumda bulunan testisler, sağlı sollu bir çift

olup, skrotom'un içinde bulunurlar. İri bir badem büyüklüğünde olan testisler yaklaşık olarak 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve 10-14 g ağırlığındadır (5). Testisler yaklaşık olarak aynı büyüklükte olmalarına karşın, yapısal olarak sol testis sağdakine göre biraz daha aşağıda yer alır. Ayrıca sağ testis sola göre % 10 daha ağırdır. Sıcaklıkları vücut sıcaklığından 3-4°C daha düşüktür (5,6).

Testisin facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü; margo anterior ve margo posterior olmak üzere iki kenarı; extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere iki ucu vardır. Testislerin uzun eksenleri tam vertikal yönde bulunmaz. Üst ucu biraz önde ve dışta, alt ucu ise biraz arkada ve içte bulunur. Konveks ön kenarı biraz dışa-aşağı doğru, daha düzce olan arka kenarı da, biraz yukarı-içe doğru bakar. Buna göre uzun ekseni yukarıdan-aşağıya, dıştan-içe ve önden-arkaya doğru meyilli olarak bulunur. Testisin ön kenarı, her iki yüzü ve uçları düz ve konveks olup, visseral periton (epiorchium) ile kaplıdır. Arka kenarının sadece lateral kısmı peritonla örtülüdür. Peritonsuz olan medial bölümüne, epididimis tutunur ve buradan damar-sinirleri ve kanalları geçer (5-6).

Yapısal olarak testis; **lamina visceralis (epiorchium)**, **tunica albuginea** ve **tunica vasculosa** olmak üzere üç tabaka ile sarılmıştır (6):

Tunica vaginalis; fascia spermatica internanın iç, testisin dış yüzünü saran seröz zarıdır (peritoneum). Embriyolojik dönemde karın boşluğunu döşeyen pariyetal periton skrotuma doğru bir cep şeklinde çıkıntı gönderir. Saccus vaginalis denilen bu çıkıntı, skrotumun tabakalarından en içte bulunan fascia spermatica internaya gevşek olarak yapışır. İki yapraktan oluşur. İç yaprağı olan

lamina visseralis, testis ve epididimisin üzerini örterken; dış yaprağı lamina pariyetalis ise skrotumun iç yüzünü örter.

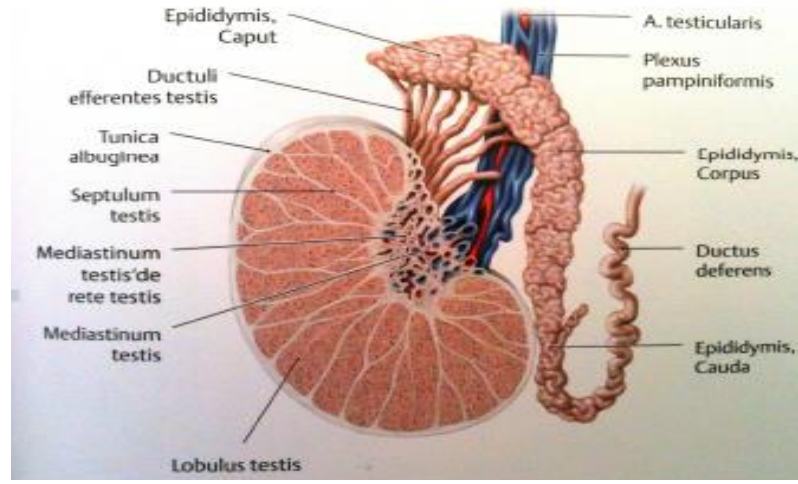
Tunica albuginea; Testisi saran mavimsi-beyaz renkli, sıkı yapılı fibröz bir tabakadır. Bu tabakayı oluşturan beyaz fibröz demetler, farklı yönlerde uzanarak birbiri içine girerler. Tunica albugineayı, arka kenarı hariç dıştan tunica vaginalis testisin lamina visceralisi (epiorchium) örter. Peritonun bulunmadığı arka kenara epididimis tutunur ve buradan testisin damar sınırları girip çıkar. Tunica albuginea, arka kenarda testisin içine doğru kalın ve vertikal yarım bir bölme şeklinde uzantı gönderir. Bu bölmeye mediastinum testis (corpus highmori) denilir. Yarım bölme şeklindeki bu yapı, testisin üst ucundan alt ucuna kadar uzanır ve yukarı kısmı daha geniştir. Mediastinum testisin ön ve yan kısımlarından çıkan bölmeler, testisi saran tunica albugineaya tutunurlar. Septula testis denilen bu bölmeler testisi piramit şeklinde boşluklara ayırır. Tabanı periferde, tepesi ise mediastinum testise bakan bu boşluklarda tubuli seminiferi contorti ve tubuli seminiferi rekti bulunur. Mediastinum testisten damarlar ve kanallar girip çıkarlar.

Tunica vasculosa; Tunica albugineanın iç yüzünde bulunan damar ağı tabakasıdır. Damarlar arasında kalan aralıkları da gevşek bağ dokusu doldurur. Tunica vasculosa, tunica albugineanın iç yüzünü ve tüm bölmelerin yüzlerini döşer. Böylece, testisin içindeki tüm lobuli testisi de sarmış olur. Sayıları 200-300 arasında değişen ve lobuli testis denilen bez kümelerinin büyüklükleri, buldukları yere göre farklılık gösterir. Testisin ortasında bulunanlar daha büyük ve uzundurlar (4,5).

Her bir lobçuk, 1 ile 3 veya daha fazla kıvrıntılı seyirli tubuli seminiferi kontorti tübüllerini içerir. Lobçukların mediastinum testise bakan tepe kısımlarında bu boruların seyri gittikçe düzleşir ve birbirleriyle birleşerek sayıları 20 ile 30'a iner. Tubuli seminiferi rektiler mediastinum testisin fibroz dokusu içine girerek arkaya ve yukarı doğru uzanır. Bu kanallar seyri esnasında birbirleriyle anastomoz yaparak rete testis denilen ağı oluştururlar. Rete testis, mediastinum testisin üst bölümünde sayıları 12 ile 15 arasında değişen kanallar şekline dönüşür. Duktuli efferentes testis denilen bu kanallar, testisin arka kenarının üst kısmında, tunika albugineayı delerek dışarı çıkarlar. Dışarı çıkan kanallar önce düz olarak uzanır, daha sonra kalınlaşarak kıvrıntılı bir seyirle lobçukları oluştururlar. Lobuli coni epididimidis denilen bu lobçukların yükseklikleri yaklaşık 1 cm dir. Bunların tepe kısımları testise, taban kısımları ise epididimise bakar. Her bir lobçuk açıldığında boyu 15-20 cm yi bulan tek bir kanaldan oluştuğu görülür (bazen 1 ile 3 veya daha fazla kanaldan oluşabilir). Caput epididimisi, sayıları 12 ile 15 arasında değişen lobuli coni epididimidis ve bunların açıldığı duktus epididimidisin başlangıç kısmı oluşturur. Epididimisin kıvrımlarını gevşek bağ dokusu, birbirine bağlar. Epididimis'de, spermiumlar depo edilir ve olgunlaşmasının son safhasını tamamlar (4-6).

Testis ve epididimis, aorta'nın dalı olan a. testicularis'den beslenirler. Testis ve epididimisin venleri ise, önce funiculus spermaticusu saran bir ağ şeklinde plexus pampiniformisi, daha sonra da birbirleriyle birleşerek, v. testicularisi oluştururlar. Bunların da sağ taraftaki v. cava inferiora, sol taraftaki v. renalis sinistraya açılır. Lenfatik drenajı yüzeysel ve derin olmak üzere iki grupta toplanır. Yüzeyde olanlar tunika vaginalis'in yüzeyinde, derindeki ise epididimis

ve testisin içinde bulunur. Bunlar 4 ile 8 damar şeklinde funiculus spermaticus ile birlikte karın boşluğuna girerler. V. testicularisi takip ederek aortanın ön ve yan tarafındaki lenf nodüllerine açılırlar. Sinirlendirilmesi, T 10.-11. medulla spinalis segmentlerinden kaynaklanan simpatik lifler, damarlarının çevresindeki pleksuslar aracılığı ile sağlanır (4-6).

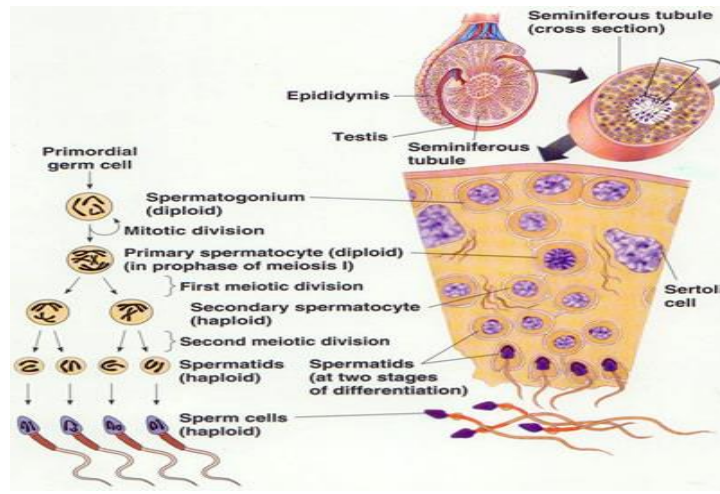


Şekil 2. Testisinin anatomik yapısı (7)

3.1.1.2. Testis Embriyolojisi

Embriyonun cinsiyeti, fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar erkek veya dişi morfolojik özelliklerine sahip değildirler. Primordial germ hücreleri, gelişimin erken evrelerinde yolk (vitellus) kesesinin allontoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında belirirler. Son barsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketler ile ilerleyerek 5.haftanın başında primitif gonadlara ulaşır, 6.haftada da genital sırtları işgal ederler. Bu hücreler genital sırtlara ulaşamadıkları takdirde gonadlar gelişemezler. Gonadların over veya testise farkanmasında primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır. Primordial germ hücrelerinin primitif

gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital sırtın epiteli proliferer olur ve epitelyum hücreleri altlarındaki mezenşimin içine gömülürler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen irregüler şekilli kordonları oluştururlar. Hem erkek hem dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadların'ın birbirinden ayırt edilmesi mümkün değildir. İşte bu devredeki gonad farklanmamış gonad olarak bilinir (8).



Şekil 3. Erkek genital sistemi (9)

İlkel üreme hücreleri büyük, yuvarlak şekilli hücrelerdir. Gelişimin 4. haftası başında allantois kesesine yakın vitellus kesesi endoderm hücreleri arasında belirirler. Embriyonun katlanması sırasında vitellüs kesesinin dorsal kısmı embriyonun içinde kalır. İlkel üreme hücreleri arka bağırsağın dorsal mezenteriy boyunca genital şişkinliklere göç ederler. Gelişimin 6. haftasında ilkel üreme hücreleri alttaki mezenşime sokulup, ilkel cinsiyet kordonları içine girerler (1,8,10,11). İlkel üreme hücrelerinin gonadlara ulaşmasından hemen önce ve o sırada genital şişkinliklerin epiteli çoğalır, epitel hücreleri alttaki mezenşim içine gömülürler ve ilkel cinsiyet kordonları denilen düzensiz şekilli kordonları yaparlar.

İlkel cinsiyet kordonları yüzey epiteliyle bağlantıdadır. İlkel gonadlar dışta korteks, içte medulla bölgelerinden oluşur (1,10,11). Embriyo XY kromozom çifti içeriyorsa medulla testisleri oluşturmak için ileri farklanırken, korteks dejenere olur. Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki testis belirleyici faktörler için SRY geni, farklılaşmamış gonadın testis olarak gelişiminde anahtar işlevi görür (8). Testis belirleyici faktör (TDF), ilkel cinsiyet kordonlarını uyararak, farklanmamış gonad medullasının derinlerine doğru uzamalarına neden olur (1,10). Kordonlar mediastinum testiste dallanıp birbirleriyle anastomozlaşarak rete testisi oluştururlar. Kalın fibröz bir kapsül olan tunika albuginea geliştikten sonra cinsiyet kordonlarının, yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur (1). Büyüyen testis aşamalı olarak dejenere olan mezonefrozdaki ayrılır. Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tubuli rekti ve rete testise farklılaşırlar (11). Seminifer tübüller, arasındaki mezenşimden interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) farklılaşır, mezenşimden ayrılırlar. 8. Haftadan sonra Leydig hücreleri, androjenik hormonları (testosteron ve andosteron) salgılamaya başlarlar, bu hormonlar mezonefrik ve dış genital kanalların farklılaşmasını uyarır (10,11).

İnsan Koryonik Gonodotropin (hCG) hormonu testosteron üretimini artırır, hormonun miktarı 8-12 haftalık evrede en yüksek değerine ulaşmıştır. Testosterona ek olarak fetal testisler glikoprotein bir hormon olan Müller kanallarını baskılayıcı madde (MIS) ya da Anti Müllerian Hormon (AMH) denilen bir hormonu da salgılamaktadır. Müller kanallarını baskılayıcı madde, Sertoli hücrelerince salgılanır. Hormonun salgılanması puberteye kadar sürer, daha sonra da düzeyi azalır. AMH, paramezonefrik kanalların gelişimini baskılar (1,10).

Seminifer tübüller, puberteye kadar kapalıdır, puberteden sonra lumen

açılır. Seminifer tübül duvarında iki tip hücre bulunur:

Sertoli hücreleri; destek hücreleri olarak da adlandırılan bu hücreler, testisin yüzey epitelinden gelişirler (11,12).

Spermatogonyum; ilkel spermiyum öncülleridir ve ilkel üreme hücrelerinden farklıdır (11,12).

Fötal testiste, Sertoli hücreleri, tübüllerde çoğunluklu olan hücrelerdir. İlerleyen evrelerde, testisin yüzey epiteli yassılaştır ve yetişkin testisinin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, duktuli efferentesi oluşturan 15-20 adet mezonefrik tübüller ile devam eder. Bu kanallar, duktus epididimisi oluşturan mezonefrik kanal ile bağlanırlar (9,11). 28. haftada testisler karın arka duvarından ayrılarak inguinal kanalın derinliğine doğru yer değiştirirler. Genelde de doğumdan önce skrotuma inmiş olurlar (1,10,12,13).

3.1.1.3. Testis Histolojisi

3.1.1.3.1. Spermatogenez

Spermatogenez, spermatogoniumlardan olgun germ hücrelerinin gelişimini tanımlayan, yaklaşık olarak 64 gün süren bir süreçtir. Bu süreç spermatositogenez, mayoz ve spermiogenez olmak üzere üç evreden oluşur:

3.1.1.3.1.1. Spermatositogenez

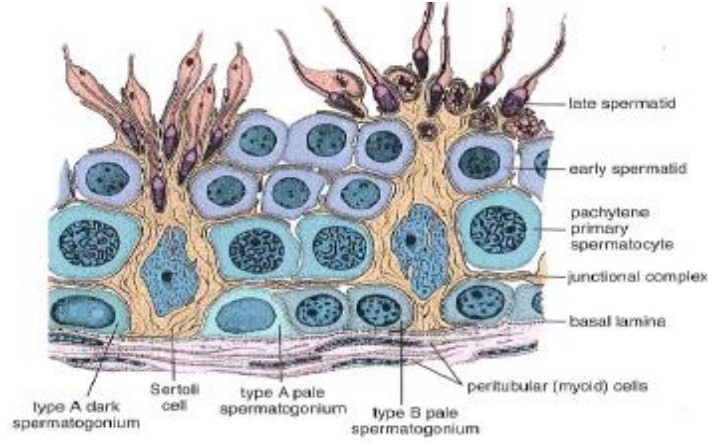
Spermatositogenez; spermatogoniumların primer spermatosite diferansiyasyonunu tanımlar. Spermatogoniumlar, bazal kompartımda bazal lamina ile direkt ilişkide olan diploid spermatogenik hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki tkayıcı bağlantıların altında yer alırlar ve bu nedenle de kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar. Spermatogonyumlar, spermatogonyal kök hücreden

köken alırlar ve pubertede başlayan mitotik hücre bölünmeleri geçirirler. spermatogonyal kök hücrelerin erkek fertilesinde önemli etkileri vardır.

Morfolojik olarak iki temel tipe ayrılır: Tip A spermatogonyum (insan testislerinde koyu ve açık olarak izlenir) ve tip B spermatogonyum. Heterokromatik oval çekirdekli hücreler olan koyu tip A spermatogonyumlar, diferansiyasyon sürecine girmeyen hücrelerdir. Açık tip A spermatogonyumlar ise testosteronun etkisiyle prolifer olurlar ve sınırlı sayıda mitotik bölünme geçirerek tip B spermatogonyumlara dönüşürler (1,2).

Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmesi ile primer spermatositler oluşur. Primer spermatositlerin birinci mayoz bölünme geçirmesiyle iki adet sekonder spermatosit oluşur. Bu bölünme sonucunda primer spermatosidin diploid olan kromozom sayısı, haploide inmiş olur (14).

Kromozomlardaki bu sayıca azalmaya her hücredeki DNA miktarının azalması eşlik eder (14,15). Sekonder spermatositlerin ikinci mayoz bölünmesi sonucunda ise spermatidler oluşur. Bu hücreler haploid kromozom ve DNA içeriğine sahiptirler. Birinci mayoz bölünmeden sonra oluşan sekonder spermatositler primer spermatositlere oranla daha küçük hücrelerdir. Spermatidlerin çoğu ise tubulusta lümene yakın, baş ve kuyruk oluşmaya başlamış hücreler halinde görülürler (1,14).



Şekil 4. Seminifer tübül epiteli (11)

3.1.1.3.1.2. Mayoz

Tip B spermatogonyumların en son mitotik bölünmesinin ardından, ortaya çıkan yavru hücreler DNA sentezlerler (S fazı), G2 fazına ilerler ve 4C DNA içerikleri ile birinci mayoz bölünmeye başlarlar. Birinci mayoz bölünme yaklaşık 10 gün süren uzun bir profaz ile karakterizedir. Birinci mayoz bölünmenin profazının alt evreleri; leptoten (ipliksi), zigoten (eşleşen), pakiten (kalınlaşan), diploten (çift görünen) ve diyakinez (uzaklaşan) evreleridir. Bu profaz evresinden sonra, kardeş kromatid çiftleri metafaz, anafaz ve telofaz evrelerinden geçer ve yavru hücrelere- sekonder spermatositlere- dağılırlar. İkinci mayoz bölünme sırasında profaz, metafaz, anafaz ve telefaz evreleri kardeş kromatidleri yavru hücrelere –spermatidlere- dağıtırlar (2).

3.1.1.3.1.3. Spermiyogenez

Spermatidlerin transformasyonu olarak bilinen spermiyogenez, spermatozoon üretiminin son aşamasıdır (2). Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleşmez. Spermatitler küçük boyutları ve yoğunlaşmış kromatin bölgeleri

içeren nükleusları ile fark edilebilirler. Seminifer tübüllerde lümen yakınında yerleşmişlerdir. Spermiyogenez, akrozom oluşumunu, nükleus yoğunlaşmasını ve uzamasını, flagellum gelişmesini ve sitoplazmanın çoğunun kaybolmasını içeren karmaşık bir süreçtir. Üç faza ayrılır (1,2,11,14,15):

3.1.1.3.1.3.1. Golgi Fazı

Spermatidlerin sitoplazması, nükleusun yakınında yer alan belirgin bir golgi kompleksi, bir çift sentriyol, mitokondriler, serbest ribozomlar ve düz endoplazma retikulum tubüllerini içerir.

Küçük PAS-pozitif proakrozomal granüller golgi kompleksinde birikirler ve bunun hemen sonrasında birleşerek membranla sınırlanmış bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granülü oluştururlar. Sentriyoller göç ederek akrozomun olduğu bölgenin karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksenom oluşmaya başlar ve sentriyoller yeniden nükleusa doğru geri dönerek hareket ettikçe aksonemal komponentleri çevresine sarar (15).

3.1.1.3.1.3.2. Akrozomal Faz

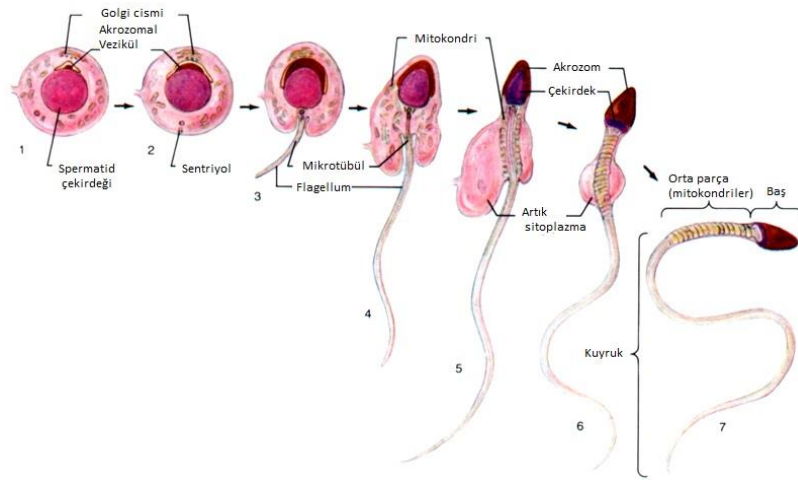
Akrozomal faz, spermatidin morfolojisinde çeşitli değişikliklerle karakterizedir (1,2).

Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan nükleusun ön yarısını kaplayıp yayılarak akrozom adını alır. Akrozom hiyalüronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içerir. Spermatozoonlar bir oositle karşılaştığında, akrozomun dış membranı birçok bölgede spermatozoonun plazma membranı ile kaynaşarak akrozomal enzimlerin

hücre dışına boşalmasını sağlar. Bu işlem akrozomal reaksiyon olarak bilinir ve döllemenin ilk aşamalarından biridir. Bu fazda nükleus uzar ve daha yoğun bir hale gelir. Aynı zamanda sentriyollerden bir tanesi gelişerek flagellumu oluşturur. Mitokondriler de flagellumun proksimal kısmı etrafında toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur, bu bölge spermatozoon hareketlerinin enerji kaynağıdır (11,15).

3.1.1.3.1.3.3. Maturasyon (Olgunlaşma) Fazı

Maturasyon fazı, spermatidin sitoplazmasının atılması ile karakterizedir (11). Sitoplazmik atıklar Sertoli hücreleri tarafından fagosit edilir ve serbest kalan spermatozoon seminifer tübülün lümenine salınır (11,15).



Şekil 5. Spermatogenezis serisi (10)

3.1.1.3.2. Sertoli Hücreleri

Bazalden lümene kadar uzanan büyük, prizmatik hücrelerdir. Bu hücrelerin yuvarlak veya üçgen şekilli, ökromatik nükleusları büyük olup bazal sitoplazmada gözlenir ve 1-2 adet belirgin nükleolus içerir. Nükleuslarının en önemli özelliği bir ya da daha fazla derin invaginasyonlar göstermesidir. Elektron mikroskopik düzeyde Sertoli hücreleri sitoplazmalarının lipid damlacıkları yönünden zengin oldukları görülür. Ayrıca gelişmiş granüler ve agranüler endoplazmik retikulum, belirgin Golgi kompleksi, bol mitokondriyonlar, dağınık halde serbest ribozomlar, primer ve sekonder lizozomlar, glikojen granülleri, mikrotübüller ve mikrofilamentlere sahiptir (1,2,11,15).

Sertoli hücreleri, puberteye kadar seminifer epitelin dominant hücre tipidir fakat puberteden sonra sayıları azalır. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatogenik hücre popülasyonu azaldığı zaman, Sertoli hücreleri tekrar seminifer epitelin ana elamanı haline gelir (11,15).

Spermatogenik hücreler, Sertoli hücrelerinin lateral uzantılarıyla oluşturulan bölmelerde yerleşmişlerdir. Seminifer tübüllerin bazal kısmına yakın bölgelerde Sertoli hücreleri arasında spermatogonyumlar ve erken dönem primer spermatositler yerleşirken, luminal bölgelere doğru ise daha olgun spermatositler ve spermatidler yerleşir. Spermatogenik hücreler bölünüp olgunlaştıkça lümene doğru ilerlerken, Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı komplekslerinin oluşturduğu bariyeri aşmak zorundadır. Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı kompleksleri aynı zamanda kan- testis bariyeri olarak adlandırılan özel bir bariyeri de oluşturmuş olurlar (1,2,11,14,15).

Sertoli hücreleri, testosteron ve dihidrotestosterona yüksek oranda

bağlanma afinitesine sahip androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezler. ABP sayesinde luminal bölgede testosteron hormonu yüksek konsantrasyonlarda tutularak, gelişim ve farklılaşma evrelerinde olan sperm hücrelerinin olgunlaşmaları sağlanır. Bu hücrelerde ayrıca FSH hormonu salınımını baskılayan inhibin, plazminojen aktivatör ve transferin sentezlenir (11,15).

Tablo 1. Sertoli hücrelerinin görevleri

1- Gelisen tohum hücrelerinin beslenmesi ve desteklenmesi
2- Spermiyogenez sırasında ortaya çıkan sitoplazma fazlalıklarının fagositozu
3- Kan-testis bariyerinin oluşturulması
4- ABP üretimi ve salgılanması
5- Embriyogenez sırasında AMH salgılanması
6- İnhibin, aktivin üretimi ve salgılanması
7- Testiküler transferin üretimi ve salgılanması
8- Früktozdan zengin, spermatozoonları besleyen ve taşınmasını kolaylaştıran sıvının salgılanması

3.1.1.3.3. İnterstisyel Doku ve Leydig Hücresi

Leydig hücre toplulukları, kan damarları ve lenfatik kanal veya sinozoidler yakınında, intertübüler alanda yerleşmiştir. Birçok steroid üreten hücre gibi, Leydig hücreleri lipid damlacıkları, karakteristik tübüler kristal mitokondriyonlar ve iyi gelişmiş bir düz endoplazmik retikulum (DER) içerir (1,2).

Bu hücrelerin sitoplazmasının köpüksü görünümü testosteron sentezi için depolanan kolesterole bağlı olarak yüksek düzeyde lipid içermesinden kaynaklanır. Büyük, çok yüzeyle olan bu hücrelerde merkezin dışında yer alan ve bir ya da iki çekirdekçiği bulunan bir çekirdek mevcuttur. Hücre yüzeyinde çok

sayıda mikrovillus yer alır.

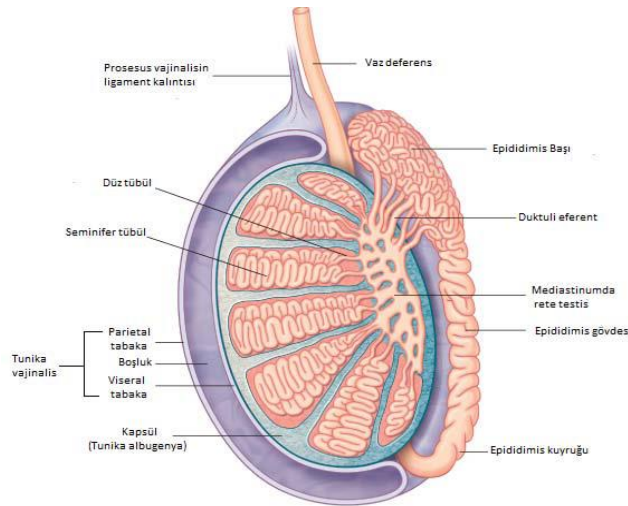
İnsanlardaki Leydig hücrelerinde, birbirine dik açılı çizgiler şeklinde çok düzenli bir biçimde dizilmiş kristalloid inklüzyonlar (reinke kristalleri) da görülür ancak işlevleri bilinmemektedir. Bu inklüzyonlar puberteden önce görülmez ve yaş ilerledikçe sayıları artar. Lizozomlarla ilişkili lipofuksin pigmentinin miktarı da ileri yaşlarda artar (16).

Leydig hücrelerindeki organellerin ve inklüzyonların çoğu testosteron sentezini ve salgısını düzenler, ancak en fazla DER bulunur. Testosteron, öncülü olan kolesterolden türer. Kolesterol ya doğrudan DER zarlarında sentezlenmekte ya da dolaşımdaki düşük yoğunluklu lipoprotein moleküllerinden türemektedir. Zarla sarılı olmayan lipid damlacıklarında gerektiğinde kullanılmak üzere kolesterol depolanır. Taşıyıcı proteinler kolesterolü mitokondriyonun iç zarına aktardıktan sonra mitokondriyonlar luteinizan hormonun etkisi ile kolesterolü pregnanolona çevirir. Sentezlenen pregnanolon mitokondriyon zarından DER'e aktarılır. DER üzerindeki enzimler pregnanolon üzerinde başka değişiklikler gerçekleştirerek testosterona çevirirler. Bu hücreler tarafından aralıksız sentezlenen testosteron mikrovilluslarla yüzey alanı artırılan hücre zarından difüzyonla geçer. Hücre dışı aralığa salınan testosteron hızla dolaşımdaki steroid bağlayıcı proteinlere bağlanır (11,15,16).

3.1.1.3.4. Yardımcı Genital Bezler, Testis İçi Genital Kanallar ve Erkek Genital Boşaltım Kanalları

Yardımcı genital bezler; erkeklerde üreme işlevinin sürdürülebilmesi için gerekli salgıların üretilmesinden sorumludur (15). Seminal veziküller, prostat bezi ve bulboüretral bezler olmak üzere üç yardımcı (aksesuar) bez bulunur (1,12,15).

Testis içi genital kanallar, seminifer tübüllerinden gelen sıvıyı ve spermatozoonları duktus epididimise taşır (1). Henüz serbest bırakılmamış spermler hareketli değildirler ve seminifer tübüllerden her bir testisi üzerinde uzanan epididimise bağlayan, içi sıvı ile dolu intertestiküler boşaltım kanallarına geçerler. Bu boşaltım kanalları; düz tübüller (tubuli rekti) ve mediastinum testiste yer alan, epitel hücre hattıyla döşeli rete testisten oluşurlar. Spermler rete testisten duktuli efferentes (getirici kanallar) adı verilen ve spermin, testisten epididimisin başlangıç veya baş kısmına ulaşmasını sağlayan, yaklaşık 12 adet olan kısa tübüllere giderler. Spermlerin penil üretraya iletimini sağlayan testis-dışı kanal, duktus (vas) deferens ve prostat bezi içerisindeki ejakülatuar kanal ile devam eden duktus epididimistir. Cinsel uyarı ve ejakülasyon sırasında, duktus epididimisi çevreleyen düz kasın güçlü kasılmaları ile spermleri dışarıya atarlar (11,12).



Şekil 6. Testis ve genital kanalların şematik gösterimi (17).

3.2. Diabetes Mellitus

Dünya nüfusunun yaklaşık olarak %3'nü etkileyen Diabetes Mellitus (DM) (18), pankreastan salgılanan ve kan şekerinin kullanımını düzenleyen insülin hormonu yetersizliği sonucunda (19) (insülin sekresyonunun ve/veya insülin etkisinin mutlak veya göreceli azlığı sonucu) (20) karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasındaki bozukluklarla seyreden ve kronik hiperglisemi ile karakterize bir metabolizma ve endokrin sistem hastalığıdır (18,20).

Hiperglisemik bir hastalık olan DM'un mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyonları vardır. Özellikle testis, beyin, göz, böbrek, pankreas gibi farklı dokularda ve organlarda hasara, fonksiyon kaybına ve organ yetmezliklerine neden olur. Bu nedenle diyabet, hastaların yaşam kalitesini düşürdüğü gibi yaşam süresini de kısaltabilir (21,22,23).

3.2.1.Diabetes Mellitus'un Sınıflandırılması

DM, hızla artış gösteren ve özel bakım gerektiren bir halk sağlığı problemidir. Birçok ülkede ölüme neden olan hastalıklar içinde diyabet beşinci sırada yer alan kronik metabolik bir hastalıktır. Uluslararası diyabet federasyonunun (IDF) raporlarına göre, 2011 yılında 366 milyon diyabetli bulunurken, 2030'da bu sayının 552 milyon olacağı tahmin edilmektedir (24).

Hızlı nüfus artışı, yaşlanmanın ve kentleşmenin getirdiği yaşam tarzı değişimi sonucu obezite ve fiziksel inaktivitenin artması tahminleri daha şimdilerde doğru çıkarmaktadır (19,25).

DM'nin yapılan çalışmalarla daha iyi anlaşılmasıyla, hastalığın sınıflaması da sürekli yenilenmektedir. 2003 yılında, bozulmuş açlık glikozu (IFG) tanısı için ADA tarafından bazı değişiklikler yapılmıştır. WHO ve IDF tarafından 2006 yılı

sonlarında yayınlanan raporda ise 1999 kriterlerinin korunması benimsenmiştir. Son olarak 2010 yılında ADA, glikolize hemoglobin (HbA1c)'in kullanılması önerilmiştir (26). Amerikan Diyabet Birliği (ADA) tarafından yapılan diyabetin etiyolojik sınıflandırılması Tablo 2'de gösterilmiştir (20,26,27);

Tablo 2. Diyabetin etiyolojik sınıflandırılması

<p>1) Tip 1; β hücre tahribatı ile giden mutlak insülin yetmezliği.</p> <ul style="list-style-type: none">• Otoimmünite• İdiopatik <p>2) Tip 2; çoğunlukla insülin direnci ile giden insülin eksikliği.</p> <p>3) Gestasyonel Diyabet</p> <p>4) Diğer tipleri;</p> <ul style="list-style-type: none">• β hücrelerinde genetik defekt<ul style="list-style-type: none">➤ Maturity Onset Diabetes of the Young 1 (MODY1)➤ Maturity Onset Diabetes of the Young 2 (MODY2)➤ Mitokondrial DNA mutasyonları• İnsülin sekresyonunda genetik defekt<ul style="list-style-type: none">➤ Tip A insülin rezistansı➤ Rabson-Mendenhall sendromu➤ Lipoatrofik diyabet• Diğer genetik sendromlar<ul style="list-style-type: none">➤ Down sendromu➤ Frederik ataksisi➤ Huntington hastalığı➤ Turner sendromu• Ekzokrin pankreas hastalığı<ul style="list-style-type: none">➤ Pankreatit➤ Travma➤ Neoplazma➤ Kistik fibroz➤ Hemakromatoz• Endokrinopatiler<ul style="list-style-type: none">➤ Cushing sendromu➤ Akromegali➤ Glukagonoma➤ Hipertiroidizm➤ Somatostatinoma• İlaç ve kimyasallar<ul style="list-style-type: none">➤ Nikotik asit➤ Glukokortikoidler➤ Tiroid hormonları➤ Tiazidler➤ Fenitoin➤ Streptozotosin➤ Alloksan➤ Pentamidin• İnfeksiyonlar<ul style="list-style-type: none">➤ Konjenital Rubella➤ Sitomegalovirüs➤ Cocksackie B4

3.2.1.1. Tip 1 Diabetes Mellitus

Tüm diyabetlilerin yaklaşık % 5-10 oluşturan (27) Tip 1 diyabet (Insülin-dependent diabetes mellitus, IDDM), çocukluk yaşlarında daha çok rastlanan (Tip 1 DM görülme sıklığı çocukluk döneminde 5-7 yaş civarında ve puberte döneminde belirgin iki pik yapar (28,29), pankreasın beta hücrelerinin harabiyetine bağlı olarak gelişen otoimmün bir hastalıktır (28,30).

Diyabetli olguların % 90'nını oluşturan Tip 1a (İmmün kökenli), %10'luk kısmını oluşturan (otoimmün belirleyicileri negatif olan) Tip 1b olarak ikiye ayrılmaktadır (31).

Tip 1a, immün-aracılıklı tip 1 diyabet olarak sınıflandırılır (32,33,34). otoimmün bozukluk ya da otoimmün antikorların olmadığı farklı bir tipi de vardır: Tip 1b veya idiyopatik diyabet. Bu tipte ketozis oluşmaz. Yaşamını sürdürebilmesi için insüline gereksinim duyulan ve hiperglisemiyle devam eden bir hastalık süreci vardır (34). Çok düşük veya tespit edilemeyen insülin ve C-peptid düzeyleri Tip 1 diyabetiklerde görülür. Tip 1a diyabetli hastalarda graves, vitilligo ve pernisiyöz anemi gibi hastalıklar da görülebilir (32,34). Büyük bir kısmının Afrika ve Asya kökenli olduğu bilinen Tip 1b diyabetli hastalarda ise düşük insülin ve C-peptid düzeyleri ile ketoasidoza eğilim görülmektedir. (33,34).

Kompleks ve multifaktöriyel bir hastalık olan Tip 1 DM etiolojisinde, genetik, çevresel ve otoimmün faktörler önemli rol oynamaktadır (28,30,31,35).

Diyet, enfeksiyonlar, mevsimsel dönemler gibi çevresel faktörler Tip 1 DM sıklığını etkilemektedir. Kış ve sonbahar aylarında viral enfeksiyonlar daha fazla görülebileceği için bu dönemlerde daha da artış gösterdiği bilinmektedir

(28,35). Ayrıca yaşamın erken döneminde maruz kalınan enfeksiyonların da görülme riskini arttırdığı bilinmektedir (31,35,36).

Pankreasın β hücrelerinde harabiyetine yol açarak tip 1 DM oluşumunu kolaylaştırdığı için kimyasal ajanlar ve ilaçlar da kullanılmaktadır (37,38). Nitrozamin bileşikleri olduğu bilinen alloxan, streptozotosin, pentamidin ve vacor gibi ilaçlar, diyabetojenik etkiye sahip oldukları için diyabetik hayvan modeli oluşurmada en sık kullanılan kimyasallardır. Bu kimyasallar içinde en çok kullanılan streptozotosindir. Streptozotosin, pankreasın β hücrelerini direkt olarak etkilemektedir. Hedef hücreler üzerindeki insülin reseptörlerinin etkileri azalır, böylece pankreasta insülin salınımı azalır (37-40).

Tip 1 DM gelişimindeki yatkınlığın % 45-60'ından sorumlu olan HLA (Human Leukocyte Antigen) genleri'nin, Tip 1 DM'de önemli vazifeye sahip olduğu bilinmektedir (36,41). Çeşitli genlerin Tip 1 DM'de yatkınlığı sağladığı bilirse de fonksiyonları tam olarak bilinmemektedir. Diyabete yatkınlıktan sorumlu olan Insulin Dependent Diabetes Mellitus 2 (IDDM2) ile T hücre aktivasyonundan sorumlu olan Insulin Dependent Diabetes Mellitus 12 (IDDM12) genleri örnek olarak verilebilir (28,36,41).

Adacık hücre antikoru olarak bilinen Islet Cell Antibodies (ICAs)'in, Tip 1 DM'de ilk tanımlanan antikor olduğu bilinmektedir. İnsülin (Insulin autoantibodies, IAA), glutamik asit dekarboksilaz (Glutamic acid decarboxylase, GAD65A) ve transmembran protein tirozin fosfataz (ICA512A) antikorları da daha sonra yapılan çalışmalarla ortaya çıkmıştır (28,31,42).

Tip 1 DM'li hastalarda otoimmün süreç; çevresel faktörlere maruziyet, T hücrelerinin uyarılması, T hücrelerinin farklılaşması, β hücrelerinin haraplanması şeklinde gerçekleşmektedir (28).

Pankreas adacıklarında β hücre kaybı hastalarda hiperglisemiye neden olmaktadır. Oluşan hiperglisemi ile glukoz, glikojenoliz ve glukoneogenez yoluyla aşırı olarak üretilir, dokularda (yağ ve kas gibi) hücre alımı azalır (43). Serum total kolesterol, trigliserid ve serbest yağ asitleri de artış gösterir. Bu şekilde artan serbest yağ asitleri periferik glukozun kullanılmaması ve keton üretiminin artması gibi sorunları da beraberinde getirmektedir. Artan keton ürünleri periferik kullanım kapasitesinin ve renal atılım kapasitesinin üzerine çıkarsa ketoasidoza neden olmaktadır (36,45,46). Klinik olarak; prediyabet, diyabetin ortaya çıkması, kısmi remisyon (balayı) ve total diyabet dönemi olarak sınıflandırılmaktadır (36,45). Poliüri, polidipsi, kilo kaybı, halsizlik ve yorgunluk, çocuk ve adölesan yaşlarında diyabetin en sık görülen belirtileri arasında yer alır (28,35,36).

Yeni tanı almış tip 1 DM olgularının % 15-40'ı diyabetik ketoasidoz bulguları ile başvurmaktadır. Bu kişilerin yaklaşık olarak %30-60'ı, 1-6 ay içinde insülin ihtiyacı azaldığı için kısmi remisyon (balayı) dönemine girmektedir. Yaklaşık olarak 1-2 yıl sürecek olan bu dönemden sonra birkaç yıl içerisinde klinik ve biyokimyasal bulguların daha hakim olduğu total diyabet dönemi başlamaktadır (47).

Son yıllarda yapılan çalışmalar, tip 1 ve tip 2 DM görülme sıklığının genç yaşlarda arttığını göstermektedir. Üreme çağında DM'nin görülmesi, ileri yaşlarda

daha ciddi üreme sistemi hastalıklarını beraberinde getirerek, bir endişe oluşturmaktadır.

Gelişmiş toplumlarda doğurganlık oranlarıyla ilgili yapılan çalışmalar, DM'nin artan insidansı ile doğurganlık oranının azalması arasında ciddi bir ilişki olduğunu göstermektedir (48,49).

3.2.1.2. Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 DM karaciğerde glukoz yapımında artma, bozulmuş insülin sekresyonu, insülin direnci, hiperinsülinemi ile karakterize metabolik bir hastalık olarak bilinmektedir (50,51).

En sık (% 85-90) görülen diyabet tipi olarak bilinen tip 2 DM, genellikle erişkin yaşlarda görülmesine rağmen çocuk ve adölesan yaş gruplarında da ortaya çıkabilmektedir. Görülme riski yaş, obezite ve fiziksel inaktiviteye bağlı olarak artmaktadır (20,21).

Bu tip bireyler, çoğunlukla yaşamını sürdürebilmek için insülin tedavisine ihtiyaç duymazlar. Etiyolojileri tam olarak bilinmemekle birlikte, β hücrelerinin otoimmün yıkımı meydana gelmemekte fakat tip 2 DM'de tanı gözden kaçmakta veya geç konulabilmektedir. Bunun nedeni ise; tip 2 DM'li olgularda, tip 1 DM'li olgularda görülen ozmotik diürece bağlı semptomların başlangıçta görülmemesidir.

40-45 yaş üzeri kişilerde ilk belirtiler kendini göstermeye başlar. Diğer DM tiplerinde görülebilecek polidipsi, poliüri, polifaji'nin yanı sıra retinopati, nefropati, nöropati ve aterosklerotik kalp hastalığı gibi kronik komplikasyonlar da görülebilmektedir. Hiperglisemiye görülmesine rağmen kan ve idrarda keton cisimleri çok az görülmekte ya da görülmemektedir (21,52,53).

3.2.1.3. Deneysel Diyabet Yöntemleri

Deneysel diyabet yöntemleri; diyabetin çeşitli dokularda ya da organlarda oluşturacağı etkileri anlayabilmek, farklı tedavi yöntemlerini geliştirilebilmek için en fazla kullanılan kullanılan yöntemlerdir. Bu yöntemler;

1. Kendiliğinden veya genetik olarak
2. Beslenmeye bağlı
3. Kimyasal ajanlarla
4. Cerrahi olarak
5. Transgenik ve knock-out hayvanlarla modellenenmektedir (55).

Çeşitli deney hayvanları deneysel diyabet oluşturmak amacıyla kullanılabilir. Bunlar içerisinde en fazla çalışma yapılanlar fare, sıçan, tavşan, kobay, hamster, maymun, domuz, köpek ve kedi gibi hayvanlardır (56,57,58).

İnsanlardaki insülin bağımlı DM'nin mekanizmasını anlayabilmek ve kronik diyabetin neden olduğu yan etkileri ortadan kaldıracak tedavi yöntemleri geliştirebilmek için deney hayvanlarında çeşitli kimyasalların veya ilaçların kullanılmasıyla deneysel diyabet modelleri oluşturulabilmektedir (59,60,61).

Alloksan ve streptozotosin (STZ) laboratuvar hayvanlarında kimyasal olarak diyabet oluşturmak için kullanılan ekili ajanlardır (61,62).

Diyabetojenik etki gösterdiği bilinen STZ veya alloksan, β hücrelerine karşı spesifik bir toksisite oluşturmaktadır. Bu maddelerin mekanizmaları birbirinden farklı olsa da, pankreas β hücrelerinde deformasyona neden olmaktadır (63,64,65).

Diyabet ile ilgili en sık kullanılan modellerden birisi, pankreasın β hücreleri için toksik bir nitrozamin olan STZ ile sıçanlarda oluşturulan diyabetir (62,66).

STZ'nin pankreas β hücrelerinde meydana getirdiği hasar sonucu gelişen hipoinsülinemi, hiperglisemi ve doku hasarı, hem Tip 1 hem de Tip 2 DM için kullanılabilir (63,67).

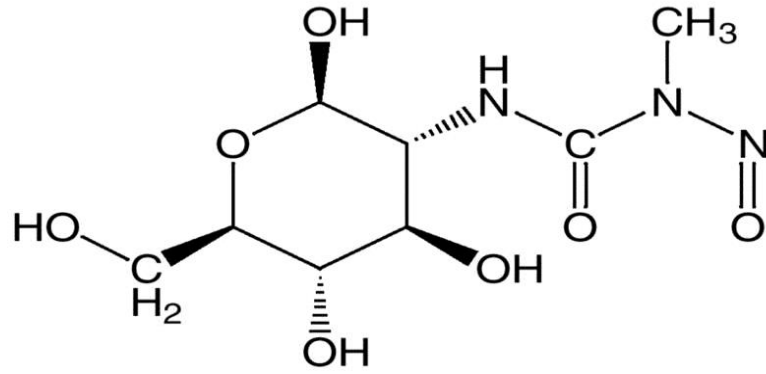
3.2.1.3.1. Streptozotosin

STZ, pankreas β hücrelerinde meydana getirdiği hasarla hem insüline bağımlı, hem de insülininden bağımsız diyabete neden olmaktadır (61,62).

İlk kez 1960 yılında *Streptomyces achromogenes* kültüründen elde edilmiş olan STZ, dar spektrumlu bir antibiyotik olarak kullanılırken diyabetojenik, antitümöral ve karsinojenik özellikleri ortaya çıkmıştır (68).

Streptozotosin açık sarı renkte, suda ve alkolde kolayca çözünebilen, nem ve ışığa duyarlı bir maddedir (69). Nötral PH'da hızla dekompoze olduğundan optimum stabilitesi için ortamın PH'sı 4-4.5 olmalıdır. Bu nedenle STZ çözüldürülürken sitrat tamponu kullanılmalıdır (70,71). Suda 4,5 PH'da çözünüp sabit kalmakta, bu PH'nın dışında parçalanmaktadır (69).

Farklı doz ve uygulama biçimlerinde kullanılarak değişik diyabet modelleri oluşturulmaktadır. Moleküler ağırlığı 265,2 kilodalton ve formülü C₈H₁₅N₃O₇ olan STZ'nin Şekil 7'de kimyasal yapısı gösterilmiştir (72,73).



Şekil 7. Streptozotosin'in açık formülü (73)

Yapısında bir glukoz molekülü olduğu için plazma membranındaki glukoreseptörlere bağlanarak glikozla uyarılarak insülin salınımını bloke eder. Temel etki yerlerinden biri de nükleer DNA'dır. STZ'nin hücre içinde dekompozisyonu ile oluşan reaktif karbonyum iyonları DNA bazlarında alkalizasyona neden olur.

Diyabetik erkeklerde DNA fragmentasyonu ve ileri glikolizasyon ürünlerinde artış olduğu ve bu durumun sperm kalitesinin bozulmasına yol açarak spermatogenezde, gen ekspresyonunda ciddi değişimlere neden olduğu gösterilmiştir (62,74).

Yetişkin sıçanlarda tek doz (40-60 mg/kg) damar içi yolla STZ uygulamasının insüline bağımlı diyabete, yeni doğmuş sıçanlara tek doz periton içi veya damar içi yolla 100 mg/kg STZ uygulamasının ise insülden bağımsız diyabete neden olduğu bilinmektedir (62).

İnsandaki diyabetten farklı olarak; diyabete bağlı ateroskleroz gelişimi, hipertansiyon gelişimi olmadığı ve retinal vasküler proliferasyon gelişimi ise nadiren meydana gelmektedir.

STZ'nin;

- pankreas alfa ve delta hücrelerini etkilememesi,
- rezidüel insülin sekresyonunun hayvanın yaşamını idame ettirmesini sağlaması,
- ketozis ve mortalitenin daha az olması,
- kolay ve yöntemin ucuz olması gibi avantajları vardır (75).

Pankreatik β hücreleri için toksik olan STZ, β hücrelerinin hızlı ve geri dönüşümsüz olarak nekrozuna neden olur (71).

STZ'nin β hücrelerindeki etkisi ile kan glikozunda şu etkiler olur:

- İlk 2 saat içinde kan şekeri yükselir. Bu geçici hiperglisemik dönemde plazma insülin düzeyleri düşüktür. Hepatik oksijen yıkımının epinefrin salınmasının bir sonucu olacağı düşünülmektedir.
- İkinci faz yaklaşık 6 saat sonra başlar ve şiddetli hipoglisemi ile karakterizedir. Hipoglisemi β hücrelerinin ölümüyle birlikte aşırı miktarda insülin salınımına bağlıdır. Diyabetojenik ilaç uygulamasını izleyen ilk 24 saat içindeki ölümlerden bu hipoglisemi sorumludur ve bu dönemde hayvana bol sıvı verilir. Bu dönemde plazma insülin düzeyleri çok yükselmiştir.
- Üçüncü faz 10-12. saatlerde başlar ve bu dönem hiperglisemi dönemidir. Plazma insülin seviyeleri aylarca düşük olarak seyreder (67,76,77).

STZ ile oluşturulan diyabet sonucu fertilité, testiküler sperm sayısı, hareketliliği ve ağırlığı azalmaktadır (66,78,79). Seminifer tübüllerdeki FSH, insülin, insülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörlerinin dağılımı etkilenerek, LH, FSH ve testosteron düzeyleri azalmaktadır. Bunun yanı sıra germ hücre sayısında,

Sertoli ve Leydig hücrelerinin sayısında ve fonksiyonunda azalma görülmektedir (79,80).

STZ ile oluşturulan deneysel diyabette, Leydig hücre fonksiyonunda ve seminifer tübül epitelinde bazı değişikliklerden sorumlu olan testosteron seviyesi azalır. Bu azalma gonadal bozukluklara yol açarak, yetersiz sperm üretimine neden olmaktadır (81).

3.2.2. Açlık Kan Şekeri Düzeyinin Ölçülmesi

Kan şekeri ölçümü, biyokimya laboratuvarında bulunan otoanalizör cihazıyla ya da kan ölçüm cihazlarıyla da yapılabilir. Eğer çalışma boyunca bir kez kan ölçümü yapılacak ise otoanalizör ile ölçüm yapılması daha doğru olur. Ancak kan glikoz seviyesi belirli aralarla ölçülecek ise bir damla kanla çalışan cihazlar seçilebilir. Bu uygulamada; deney hayvanının kuyruğundan alınan bir damla taze kan, ölçüm cihazının stripine emdirilir, 15-20 saniye sonra kan şekeri düzeyi cihazın ekranından okunur. Bu metod, “glikoz-oksidad peroksidaz” olarak bilinmektedir (62).

3.2.3. Diabetes Mellitus ve Erkek İnfertilitesi

Fertilite, bir yıldan daha kısa bir süre içinde gebeliğin oluşması ve canlı bir doğuma kadar sürdürülmesi olarak tanımlanabilir (82). İnfertilite (kısırlık) ise, çiftlerin bir yıl süreyle düzenli ilişkiye girmelerine rağmen ve herhangi bir yöntemle korunmaksızın, gebeliği başarmada yetersiz kalmaları olarak tanımlanmaktadır. (82,83).

İnfertilite, tüm toplumlarda görülen sosyal bir sorun olarak kabul edilmektedir. Evli çiftlerin en büyük sorununu (%60) üreme ile ilgili çeşitli

nedenler oluşturmaktadır. Erkeklerde görülen üreme problemleri de, doğrudan veya dolaylı olarak infertilite'ye neden olmaktadır (84).

Erkeklerde infertiliteye endokrin, immünolojik ve sistemik nedenler, konjenital anomaliler, sigara ve alkol kullanımı, sıcaklık, stres, radyasyona maruz kalma gibi faktörler neden olmaktadır (85,86).

Çeşitli klinik ve deneysel çalışmalar, DM'nin etkisiyle meydana gelen değişikliklerin erkek üreme sisteminde meydana getirdiği moleküler mekanizmanın üzerinde durmaktadır. Endokrin bozukluklar, nöropati ve oksidatif stres en çok görülen ve dikkat çeken bulgulardır (87).

Farklı sürelerde erkek hayvan modellerinde oluşturulan DM'de spermatogenez dahil olmak üzere testislerde dejeneratif ve apoptotik değişiklikler, Sertoli/kan-testis bariyerinde bozulmalar, testosteron seviyelerinde düşüş gibi pek çok neden erkek infertilitesini beraberinde getirmektedir (88,89,90,91).

DM, hem insanlarda hem de deney hayvanlarında birçok değişikliğe neden olmaktadır. Seminifer tübüllerde atrofi, tübüllerin duvarını döşeyen germ epitelinde düzensizlik ve hücre kaybı, bazal membranda kalınlaşma ile interstisyel dokuda dolayısıyla Leydig hücrelerinde yapısal ve fonksiyonel bozukluklar meydana gelmektedir (67).

Sıçanlarda oluşturulan deneysel diyabette, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH)-hipofiz cevabının azaldığı, fakat GnRH uygulandığında LH ve FSH düzeylerinde değişimler olduğu bildirilmektedir. Deney hayvanlarındaki karbonhidrat düzeyinde meydana gelen bu yükselme, üreme sistemindeki bozukluklarının hipotalamus-hipofiz yolu ve gonadlar ile ilişkili olabileceğini akla getirmektedir (67,91).

Spermatogenik seri hücrelerinin oluşması sırasında, farklılaşmış spermatogenik hücrelerin birçoğu sperm haline gelmeden ölmektedir. Yapılan çalışmalar bu süreçte apoptozisin önemli rol oynadığını ortaya koymaktadır (92,93). Apoptozisin meydana getirdiği bu değişimlerin yanı sıra, erkeklerde görülen DM insan ve deney hayvanlarının testislerinde ciddi deformasyonlar meydana getirmektedir. Tübül duvarında kalınlaşma, germ hücrelerinde ciddi bir azalma ve Sertoli hücrelerinde vakuolizasyon gibi değişimler en fazla karşılaşılan sorunlar olarak bildirilmiştir (90). Bunun yanı sıra penil ereksiyon ya da ejakulattaki bozulma sonucunda spermatogenezisin endokrin kontrolünü etkileyerek, erkek üreme fonksiyonlarını azalttığı çalışmalarla desteklenmektedir (94,95).

Diyabetik sıçanlarda motilite ve sperm sayısını kontrol etmek için insülin yerine farklı tedavi yöntemlerinin de uygulanabileceğini gösteren çalışmalar vardır (66).

3.3. Erkeklerde Püberte ve Hipotalamus-Hipofiz-Gonad Eksen

Püberte, çocukluktan yetişkinliğe geçiş dönemidir. Bu dönemi ruhsal, sosyal, hormonal ve fiziksel birçok faktör etkilemektedir. Pübertede oluşan fiziksel değişiklikler; sekonder cinsiyet özelliklerinin belirgin hale gelmesi, vücut yağ dağılımında meydana gelen değişimler, iskelet gelişiminde hızlanma ve spermatogenezin başlaması ile kendisini göstermektedir (96).

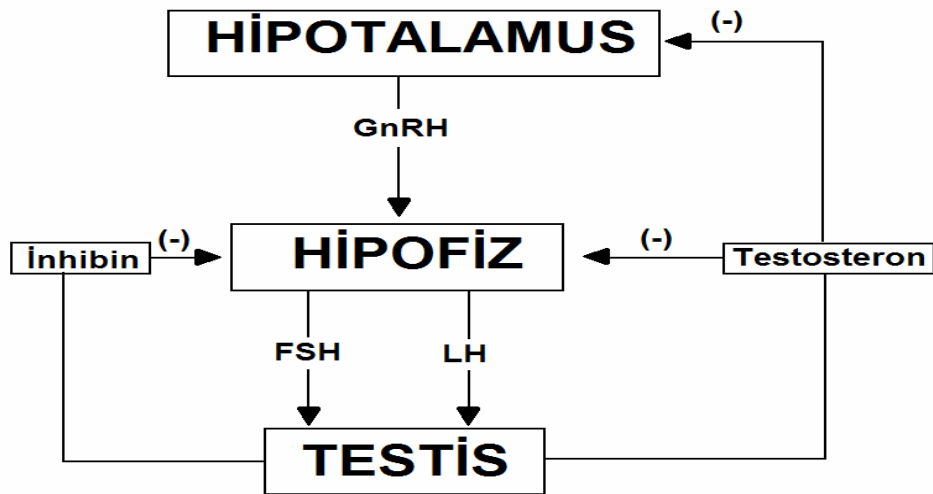
Prepubertal sıçanlarda yapılan çalışmada, testislerde görülen fonksiyon bozukluğunun, ergenlikte geniş kapsamlı sonuçlara neden olabilecek kümülatif oksidatif bozuklukların bir yansıması olabileceği gösterilmiştir (66).

Bu geçiş döneminde hormonlar da önemli vazifeye sahiptir. Hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini, hormonlar kontrolünde olmakta ve ergenlik başlangicında ve üreme organlarının gelişmesinde önemli etkisi vardır. Puberte dönemi hipotalamustan salgılanan gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) ile gerçekleşmektedir (97).

GnRH, 10 aminoasidden oluşan peptid yapısında bir hormondur. Hipofiz bezinden gonadotropinlerin (FSH ve LH) salınımını sağlamakla görevlidir (98).

GnRH, LH ve FSH salgılamasını uyarmakta buna bağlı olarak gonadal steroid sekresyonu gerçekleşmektedir (99,100).

LH, testislerde Leydig hucreslerinden testosteron sentezini başlatırken; FSH testislerde Sertoli hucreslerini etkileyerek, sperm sentezi üzerinde etkili olmaktadır. Testosteron feedback mekanizması ile GnRH salınımı kontrol edilmektedir. Bu denetim mekanizmasında önemli yere sahip olan inhibin, Sertoli hucreslerinden salgılanan bir proteindir ve FSH salınımı üzerinde inhibitör etki göstermektedir (şekil 8) (98).

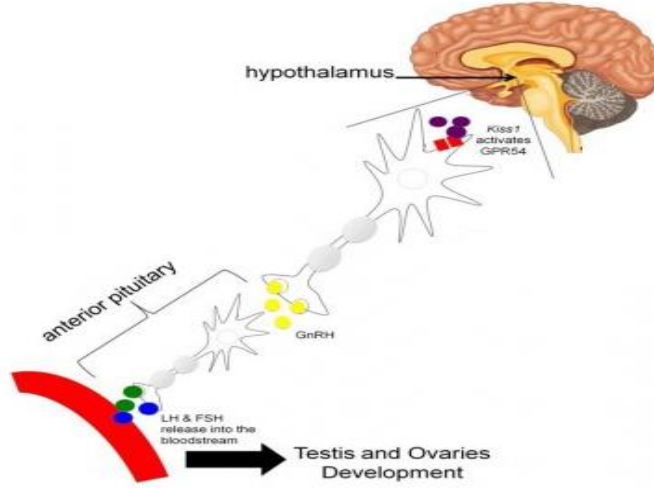


şekil 8. Erkeklerde hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini (98)

Hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini, çevresel ve genetik faktörlerle kontrol edilmektedir. Yapılan çalışmalarla ergenlik problemleriyle ilgili en az 20 tek gen mutasyonu olduğu bilinmektedir (101).

Pubertal sistemin kurulması, etkinleşmesi ve hayat boyu devam edecek olan fonksiyonları için öneme sahip olan GnRH nöronlarının göçü ile ilgili genler (KiSS1/GPR54 sinyal sistemi) büyük bir yer tutmaktadır (101,102).

Kisspeptin ve kisspeptin reseptörlerinin fizyolojik olarak incelendiği çalışmalarda, gonadotropinlerin ve gonadal steroid hormonların kontrolünde etkili olduğu gösterilmiştir (103).



Şekil 9. Kisspeptin’in hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini üzerine etkisi (103)

3.4. Kisspeptin (Kiss-1) ve GPR-54 (Kiss-1r)

İlk olarak Amerika Birleşik Devletleri (ABD)’nin Hershey kentinde GPR54 (G-protein-coupled receptor-54) hormonu ve bu hormonu kodlayan KiSS-1 geni (1q32) keşfedilmiş ve kentin Kiss (öpücük) çikolatasının ismi verilmiştir. “Kiss” kelimesindeki “ss” süpresör diziyi ifade etmektedir. (104).

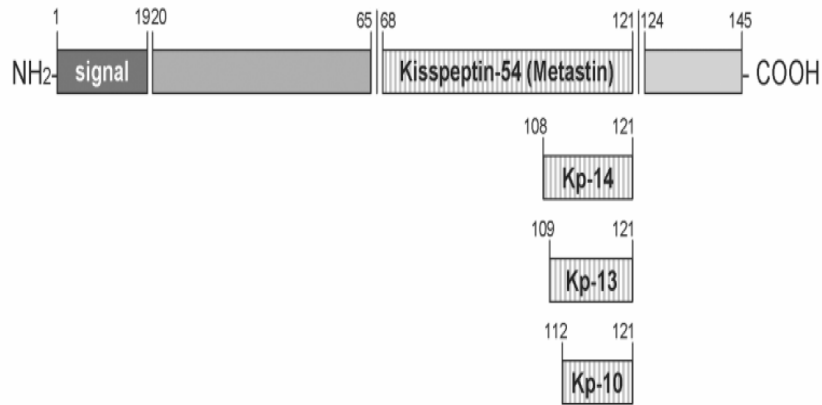
Kisspeptinin en etkili türü'nün 54 aminoasitlik protein olan kisspeptin-54 olduğu bilinmektedir (105). Kiss-1 geni (1q32) tarafından kodlanan 145 amino asitli bu protein, 54, 14, 13 veya 10 amino asitli daha kısa peptidlere parçalanır (106). Bu peptidler GPR54'ün agonistidir (107, 108).

2003 yılında Kiss-1 geni (aynı zamanda Kiss-1r olarak da bilinir) GPR54'ün bir endojen ligandı olan kisspeptin (metastin) 'in insanlarda ve farelerde GnRH salgılanmasında önemli bir göreve sahip olduğu bulunmuştur (109,110).

Başlangıçta kisspeptin'in biyolojik fonksiyonunun tümör metastazını baskılamak olduğu biliniyordu (111).

KISS-1 geninin ürünleri meme kanseri ve melanoma metastazını baskıladığı için bu genin 54 amino asitlik ürününe "metastin" (Kisspeptin-54) ismi verilmiştir (112).

Yapılan araştırmalarla kisspeptin-54'ün daha kısa fragmanları'nın da olduğu ortaya çıkmış ve tümüne "kisspeptinler" ismi verilmiştir. Bu ürünlerin hepsi GPR54 reseptörüne bağlanarak aktivite olmakta ve pubertenin başlangıcını kontrol etmektedir (113,114).



Şekil 10. Kisspeptin öncüsünden aktif kisspeptin formlarının oluşumu (113)

KiSS-1 proteini 145 amino asit içermekte ve öncül kisspeptin olarak bilinmektedir (115,116).

Kisspeptin, C-terminal fragmanlarına göre kisspeptin-54, 14, 13 ve 10 olarak çeşitli şekillerde isimlendirilmektedir (Şekil 10) ve GPR54'e bağlanarak etkisini göstermektedir (117,118).

Kisspeptin, gonadotropinler tarafından salgılanan temel bir düzenleyici olarak bilinir. Kisspeptin'in hipotalamustan GnRH salgılanmasını başlattığı ve üreme fonksiyonunu kontrol ettiği bilinmektedir. Pubertenin başlangıcında anahtar bir role sahip olduğunu ve fertilitiyi kontrol ettiğini gösteren çalışmalar vardır. Kisspeptin egzogenleri, hastalığı belli seviyede olan hayvanlara uygulandığında üreme fonksiyonunu düzeltebileceği ve bu sayede GnRH kontrolü'nün yapılabileceği bilinmektedir (119).

Potansiyel bir mekanizma olan kisspeptin'in hipogonadotropik hipogonadizm, obezite ve diyabet hastalarında az salgılandığını veya salgılanmadığını; fakat dışarıdan egzogen olarak GnRH verildiğinde FSH ve LH salınımının gerçekleştiği gösterilmiştir (120).

Farklı hastalık modellerine (erkek-dişi) kisspeptin (kisspeptin-10, kisspeptin-54) uygulandığında (damar içine veya deri altına), gonadotropinlerin salgılanmasında etkisi olduğu gösterilmiştir (121).

Tip 2 diyabetli hipogonadal erkeklere kisspeptin-10 uygulanmasıyla LH salgılanma sıklığında ve LH sekresyonunda artış gözlenmiştir (122).

3.4.1. Kisspeptin'in Puberte Üzerine Etkisi

Puberte, bir dizi karmaşık gelişimsel olayların uç noktası olan, genetik ve çevresel faktörlerin etkileşimi sonucuyla üreme kapasitesine ulaşma olarak tanımlanmaktadır.

2003 yılında, GPR54 genini hipogonadotropik hipogonadizm hastalarında bulundu. Bu bulgu, Kisspeptin/GPR54 sisteminin üreme ve pubertal gelişim kontrolü için önemli olduğunu gösterdi. Kisspeptin/GPR54 sisteminin ergenlik başlangıcı için tetikleyici olduğu ve GnRH ve gonodotropinlerin salgılanmasını kontrol eden periferik girdiler için vazgeçilmez bir tamamlayıcı olarak işlev gördüğü bilinmektedir (123).

Kisspeptin salgılanmasını ve dolaylı olarak GnRH salgılanmasında ve düzenlenmesinde birçok faktörün görev aldığı bilinmektedir (123,124).

Bu faktörlerin düzenlenmesinde, kisspeptin ve GnRH nörosekresyon mekanizması arasındaki direkt ilişkiyi hem insanlarda hem de hayvanlarda yapılan çalışmalar kanıtlamaktadır (125).

Kisspeptin - GPR54 sisteminin pubertal gelişimde önemli rol oynadığı biliniyor fakat bu sistemde nörotransmitter olarak mı çalıştığı ya da hormonlardan biri olarak mı görev yaptığı hala gizemini korumaktadır (126,127).

Çalışmalarda pubertal gelişim süresince kisspeptin tarafından GnRH salınımının aktive olduğu, GnRH'nin kisspeptin'e duyarlılığının ise giderek artış gösterdiği gösterilmiştir (128). Bununla birlikte kronik intraserebroventriküler kisspeptin'in dişi ratlarda erken puberteyi başlattığı, seks steroidleri'nin üretimini ve uterin volümü arttırdığı gösterilmiştir (129).

Yapılan bir çalışmada, Kiss-1 mRNA düzeylerinin erkek farelerde testosteron, dişi farelerde ise östrojen tarafından negatif feedback mekanizması tarafından kontrol edildiği gösterilmiştir (130).

Kisspeptin'in, prepubertal ratlarda LH ve FSH sekresyonunu arttırdığı gözlemlenmiştir. Buna karşılık prepübertal ve erişkin karşılaştırmalı yapılan hayvan deneylerinde LH stimülasyonunun prepubertal grupta daha zayıf olduğu gösterilmiştir. Bu durum kisspeptin'in puberte öncesi tam aktivasyonda çalışmadığını göstermektedir (123,131,132).

Kisspeptin'in etki mekanizmasıyla ilgili daha çok dişi denekler üzerinde çalışmalar yapılmaktadır. Sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada, kisspeptin'in kronik uygulanmasının (santral yolla) dişi sıçanlarda pubertenin birkaç gün erken başlamasına sebep olduğunu gösterilmiş olsa da (130), erkeklerde etki mekanizmasının nedenleri tam olarak bilinmemektedir.

Yapılan çalışmada hipogonadizm olan 4 erkek vakayı, 7 kontrolle karşılaştırılarak, enzim immunoassay (EIA) ile plazma kisspeptin düzeyleri ölçülmüştür. İHH (izole hipogonodotropik hipogonadizm) dışında, Kallman sendromu, azospermi ve hipergonodotropik hipogonadizimli üç vakada plazma kisspeptin düzeyleri yükselmiştir. Yüksek olmasının nedeninin hipotalamus-hipofiz-gonad ekseninde, steroidlerin feedback mekanizmasını etkileyerek, hipotalamustan kisspeptin salgısını uyarması olduğu gösterilmiştir. Dolayısıyla erkek hipogonadizmin daha iyi anlaşılması için plazma kisspeptin seviyelerini ölçmenin yarar sağlayabileceği gösterilmiştir (133).

Yapılan çalışmalarda intraserebroventriküler, intravenöz (i.v.-damar içi), intraperitoneal (i.p.-karın içi), ya da subkutan (s.c.-deri altı) uygulandığında, LH

salınımını etkilediği gösterilmiştir. Bu özellik, bu peptidin gonadotropik aksın kontrolünde önemli rol oynadığını göstermekle birlikte, üreme fonksiyonlarının farmakolojik müdahaleleri için uygun bir hedef haline getirmektedir (134).

Bir çalışmada kisspeptin/GPR54 sisteminin de farklı terapötik etkileri olabileceğini, ergenliğe girmesi gecikmiş kişiler için umut verici olabileceği ifade edilmiştir (135).

Erkek üreme sisteminde dolayısıyla spermatogenezis ve testiküler doku üzerine kisspeptin'in etkileri az bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda (136,137), GnRH antagonisti olan cetrorelixin uygulanması ile erkek üreme sistemine meydana gelen olumsuzlukların önlenebileceği gösterilmiştir (129,137,138,139).

Kisspeptin'in i.p. doza bağımlı olarak kronik olarak uygulanmasının testis dokusu, seminal vezikül ve prostat bezinde dejenerasyona neden olduğu gösterilmiştir (140,141,142).

Kisspeptin-54'ün akut olarak uygulandığı erkeklerde ise serbest LH, FSH ve testosteron seviyelerini arttırdığı bilinmektedir (143,144).

Kisspeptin'in hipogonadotropik hipogonadizm (erkek hipogonadizmi-testisler tarafından yeterli testosteron ve/veya sperm üretiminin yapılamaması) nedenlerinden biri olduğu ve insulin direnci üzerinde daha az etkisinin olduğu düşünülmektedir (144,145).

İmmatür dişi sıçanlarda kisspeptin 6 gün intraserebroventriküler (i.c.v.) uygulandığında vajinal açılmayı uyardığı (111) ve iyi beslenememiş dişi sıçanlarda vajinal açılmayı iyileştirdiği gösterilmiştir (146).

Kisspeptin-GPR54 sistemi, üreme hastalıklarını tedavi etmek için önemli bir hale geldiğini gösteren çalışmalar yapılmaktadır (147). Yapılan bir çalışmada

aralıksız olarak (8 yada 30 saat) i.v. kisspeptin uygulanmıştır. Mevsimsel anöstrus olan koyunların büyük bir oranında ovulasyon olmuştur (148). Ancak bu işlemleri asıl başlatan santral seviyede hücresel ve moleküler olaylar hala bilinmemektedir.

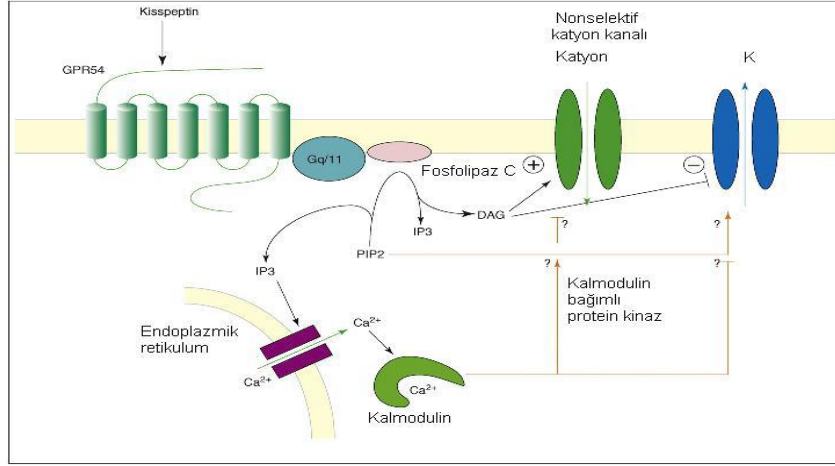
Bir yıldan fazla evli olanlar, kendi yaş grubundaki fertil grupla karşılaştırıldığında kisspeptin, LH ve testosteron düzeylerinin düşük çıkmasıyla erkek infertilitesi arasında bir ilişki olabileceği gösterilmiştir (149).

3.4.2. Kisspeptin'in Diğer Organlar Üzerine Etkileri

Kisspeptin'in santral sinir sistemi (SSS) ile birlikte testis, ovaryum, pankreas, barsaklar, karaciğer, kalp, akciğerler, kas, böbrekler ve plasentada sentezlendiği gösterilmiştir (150).

Pankreas adacıklarında GPR54 ve kisspeptin'in yüksek seviyede olduğu bilinmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarla kisspeptin ve GPR54'ün pankreas β hücreleri üzerinde önemli regülatuar fonksiyonları olduğu belirlenmiştir. Kisspeptin'in pankreas β hücreleri üzerinde direkt etki gösterdiği, A ve D hücreleri üzerinde parakrin etki gösterdiği ratlarda yapılan deneysel çalışmalarda gözlemlenmiştir. Ratlarda i.v. verilen kisspeptin-10'un doza bağımlı olarak in vivo ve in vitro artmış insülin seviyesine yol açtığı, kisspeptin-13'ün ise insülin seviyesini azalttığı, ancak bazal insülin seviyelerini değiştirmedeği tespit edilmiştir (150,151).

Birçok çalışma (elektrofizyolojik) kisspeptin'in, GnRH nöronlarını depolarize ederek çalıştığını göstermiştir. Etki mekanizmasının da potasyum kanallarını kapatmak ve katyon kanallarını açmak suretiyle gerçekleştiğini göstermektedir (Şekil 11) (152,153).



Şekil 11. Kisspeptin'in etki mekanizması (156)

3.4.3. Kisspeptin ve Tüp Bebek Tedavisi

Son 50 yılda YÜT (Yardımcı Üreme Teknikleri) hızla devam etmektedir. İnfertilite'nin yanı sıra, özellikle üreme ve endokrin bozuklukların artış göstermesi, bu tekniklerin uygulanabilmesi için önemli bir hedef haline gelmektedir (154).

IVF (İn-Vitro Fertilizasyon) uygulamasında dünya çapında devam eden bir büyüme söz konusudur. Özellikle Ovarian Hiperstimülasyon Sendromu (OHSS)'nu önlemek ve tedavi etmek için çeşitli stratejiler geliştirilmektedir fakat OHSS nedeni tam olarak bilinmemektedir (155).

Endojen veya ekzojen olarak Human Chorionic Gonadotropin Hormon (hCG) veya LH verildiğinde, korpus luteumu yüksek düzeyde uyarmakta olduğu çalışmalarla desteklenmiştir. Bu şekilde OHSS riski yüksek olan hastalarda gonodotropin dozunu arttırmak, olumsuz gebelik oranlarını azaltabilir (156).

Fakat gonodotropin etkinlik ve güvenliğini arttırmak yerine, kisspeptin ve diğer nöropeptid veya benzerlerinin kullanılması, IVF için önemli bir potansiyele sahiptir (157).

İnsan üreme-nöroendokrin mekanizmasının önemli düzenleyicileri olan kisspeptinler dışarıdan verildiğinde LH artışı olduğu ve IVF döngüsünde son oosit olgunlaşmasını uyardığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Londra’da ilk kez insanlar üzerinde denenen yöntemle kisspeptin’in, yumurta oluşumunu daha hafif ve daha doğal bir şekilde uyardığı ve 30 kadından 29’unda sonuç verdiği bilinmektedir (158).

Yapılan çalışmalar ışığında infertil erkek ve kadınlar için doğal bir farmakolojik ajan olarak kisspeptinlerin kullanılması, IVF’de farklı tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi için yeni bir umut kaynağı olacaktır.

Biz de planladığımız bu çalışmada toplumumuzda oldukça sık karşılaşılan ve fertilitiyi menfi yönde etkileyen diyabetin zamana bağlı olarak testislerde kisspeptin immünreaktivitesi üzerine olan etkilerini belirlemeyi amaçladık.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Hayvan Deneyleti Etik Kurulu'nun 09.04.2014 tarih ve 2014/9 Sayılı 93 no'lu kararı ile onay alındıktan sonra Fırat Üniversitesi Deneysel Araştırma Merkezi (FÜDAM) biriminde ve Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji laboratuvarında yapıldı. Çalışma bütçesinin tamamı Fırat Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (FÜBAP) tarafından karşılandı.

4.1. Deney Hayvanları ve Beslenmeleri

Deneyde kullanılan 48 adet 8 haftalık Spragua Dawley cinsi erkek sıçan, FÜDAM biriminden temin edildi. Hayvanlar FÜDAM hayvan laboratuvarında buldukları ortamın sıcaklığı 22–25 °C arasında sabit tutularak 12 saat ışık (07:00-19:00) ve 12 saat (19:00-07:00) karanlıkta takip edildi. Sıçanlar özel olarak yaptırılan kafeslerde beslendi ve her gün altları temizlendi. Tüm hayvanlara aynı standart sıçan yemi verilerek add libitum su ve yiyecek alımları sağlandı. Yemler; çelik kaplarda, su; cam biberonlarda normal çeşme suyu olarak verildi. Hayvan yemleri Elazığ Yem Sanayi A.Ş. Yem Fabrikası'nda hazırlandı. Yemlerin terkibi Tablo 3' de gösterildi.

Tablo 3. Deney hayvanlarına verilen sıçan yeminin terkihi

Buğday (%)	15
Mısır (%)	10
Arpa (%)	27
Kepek (%)	8
Soya (%)	29,4
Balık Unu (%)	8
Tuz (%)	0,6
Kavimix VM 23-Z (%) *	0,2
Methionin (%)	0,2
DCP (%)**	1,6

* 1 gramında: 4800 IU A, 960 IU D₃, 12 mg E, 0,8 mg K₃, 0,8 mg B₁, 2,4 mg B₂, 1,2 mg B₆, 0,006 mg B₁₂ vitaminleri, 16 mg Nicotin amid, 3,2 mg Cal. D. Panth. 0,32 mg Folic acid, 0,02 mg D-Biotin, 50 mg Cholin Chloride, 20 mg Zinc Bacitracin, 32 mg Mn, 16 mg Fe, 24 mg Zn, 2 mg Cu, 0,8 mg I, 0,2 mg Co, 0,06 mg Se, 4 mg Antioksidan ve 200 mg Ca. ** % 18 fosfor, % 25 kalsiyum, % 0,2 flor'dan oluşur.

4.2. Deney Gruplarının Oluşturulması

Çalışmada 8 haftalık 48 adet Spragua Dawley cinsi erkek sıçanlar 3 gruba ayrıldı;

Grup I (Kontrol Grubu); deney süresi boyunca ad-libitum su ve yemle beslenen sıçanlardan oluşan kontrol grubu (n:8).

Grup II (Sham grubu); tek doz intraperitoneal (i.p.) Sodyum Sitrat Buffer solüsyonu enjekte edilen sıçanlardan oluşan sham grubu (n:8).

Grup III (Diyabet Grubu); geriye kalan 32 adet sıçana ise i.p. 50 mg/kg tek doz STZ 0.1 M sodyum sitrat tamponunda (PH:4.5) çözdürülerek uygulandı. 72 saat sonra bir gece aç bırakılan sıçanların kuyruk veninden kan alındı ve kan glukoz düzeyi 250 mg/dl üzerinde olanlar diyabetik kabul edildi. Diyabetik oldukları belirlenen,

Grup III (DM3 gün); diyabet oluştuktan 3 gün sonra (n:8),
Grup IV (DM1 hafta); diyabet oluştuktan 1 hafta sonra (n:8),
Grup V (DM2 hafta); diyabet oluştuktan 2 hafta sonra (n:8),
Grup VI (DM4 hafta); diyabet oluştuktan 4 hafta sonra (n:8),
dekapite edilip kan ve testis dokuları değerlendirilen sıçanlardan oluşturuldu.

4.3. Diyabet İndüksiyonu

Çalışmada kullanılan 32 adet erkek sıçan diyabet oluşturmak için 26 gauge'lık insülin enjektörüyle 50 mg/kg dozunda STZ (Sigma Chemical Co Louis Missouri) 0,1 M sodyum sitrat tamponunda (PH: 4,5) çözdürülerek i.p. enjeksiyonla tek doz olarak uygulandı. 72 saat sonra, 12 saat aç bırakılan sıçanların sabah saat 8-10 arasında kuyruk venlerinden kan örneği alınarak, glukometre cihazındaki ölçümü sonucu açlık kan glukozu düzeyi 250 mg/dl'yi geçenler diyabetik olarak kabul edildi.

4.4. Doku Örneklerinin Alınması

Deneyin sonunda tüm gruptaki sıçanlar ketamin (75mg/kg) + xylazine (10mg/kg) i.p. uygulanarak anestezi altında dekapite edildi. Dekapitasyonun ardından sıçanların testis dokuları hızla çıkarıldı. Histolojik çalışma için her gruptan alınan testis dokuları Bouin's solüsyonunda tespit edildikten sonra sırasıyla % 50'lik, % 60'lık ve % 70'lik alkollerde yıkandı. Yıkanan dokular rutin histolojik takip serilerinden (Tablo 4) geçirildi. Ksilolde parlatılıp parafin bloklara (Sigma- paraplast embedding media, Stenheim, Germany) gömüldü.

Tablo 4. Histolojik takip serileri

1	%70 Alkol	2 saat
2	%80 Alkol	1,5 saat
3	%96 Alkol I	30 dakika
4	% 96 Alkol II	30 dakika
5	%100 Alkol I	30 dakika
6	%100 Alkol II	30 dakika
7	Alkol + Xylol	15 dakika
8	Xylol I	15 dakika
9	Xylol II	15 dakika
10	Yumuşak parafin + Xylol	45 dakika
11	Yumuşak parafin	1 saat
12	Yumuşak parafin + Sert parafin	1,5 saat
13	Sert parafin	3 saat
14	Gömme	

4.5. İmmünohistokimya

Testis dokusunda kisseptin immünreaktivitesinin belirlenmesi için Avidin-Biotin-Peroksidaz Kompleksi yöntemi uygulandı. (Tablo 5).

Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında alınan kesitler polilizinli lamlara alındı. Deparafinize edilen dokular dereceli alkol serilerinden geçirilip antijen retrieval için sitrat tampon solüsyonunda PH: 6'da mikrodalga fırında (750W) 12 dakika kaynatıldı. Endojen peroksidaz aktivitesini önlemek için H₂O₂ (TA-060-HP, Lab Vision Corporation, USA) ile muamele edildi. Zemin boyasını engellemek için Ultra V Block (TA-060-UB, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu ile 5 dakika muameleden sonra primer antikor (Rabbit Anti-Kisseptin Polyclonal Antibody, bs-0749R, Bioss, Atlanta, Georgia, USA) ile 60 dakika

inkübe edildi. Dokular, primer antikor uygulanmasından sonra sekonder antikor (Biotinylated Goat Anti-Poliyvalent (anti-mouse / rabbit IgG), TP-060-BN, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildi.

Sekonder antikor uygulanmasından sonra Streptavidin HRP (Horse radish peroksidaz) (TS-060-HR, Lab Vision Corporation, USA) ile 30 dakika nemli ortamda oda ısısında inkübe edildikten sonra PBS içerisine alındı. Dokulara AEC (3-Amino-9-ethyl carbazole) (TA-060-HA, Lab Vision Corporation, USA) solüsyonu damlatılıp ışık mikroskobunda görüntü sinyali alındıktan sonra eş zamanlı olarak distile su ile yıkamaya alındı. Mayer's hematoksilen ile zıt boyaması yapılan dokular distile sudan geçirilerek uygun kapatma solüsyonu (Large Volume Vision Mount, TA-125-UG, Lab Vision Corporation, USA) ile kapatıldı. Hazırlanan preparatlar Olympus BH-2 fotomikroskopta incelenerek değerlendirildi ve fotoğraflandı. İmmünohistokimyasal boyamanın değerlendirilmesinde boyanmanın şiddeti esas alındı. İmmün boyanmanın şiddeti 0 (yok), +1 (az), +2 (orta), +3 (şiddetli)'e kadar sayı ile semi-kantitatif olarak skorlandı (Tablo 6).

Tablo 5. İmmünohistokimyasal boyama prosedürü

Sıra	İşlem	Süre
1	Xylol I	10 dakika
2	Xylol II	10 dakika
3	Xylol III	10 dakika
4	% 100 Alkol	10 dakika
5	% 96 Alkol	10 dakika
6	% 80 Alkol	10 dakika
7	Distile su	5 dakika
8	Mikrodalga	7+5 dakika
9	Oda ısısında soğutma	20 dakika
10	PBS (Phosphate Buffered Saline)	3X5 dakika
11	H ₂ O ₂	10 dakika
12	PBS	3X5 dakika
13	Normal blok solüsyonu	5 dakika
14	Primer antikor	60 dakika
15	PBS	3X5 dakika
16	Sekonder antikor	30 dakika
17	PBS	3X5 dakika
18	Streptavidin HRP (Horse radish peroksidaz)	20 dakika
19	PBS	3X5 dakika
20	AEC (3-Amino-9-ethyl carbazole)	5 dakika
21	Distile su	5 dakika
22	Zıt boya olarak Mayer's hematoksilen	10 saniye
23	Akarsu	5 dakika
24	Özel kapatma maddesi ile kapatma

4.6. Enzim-Bağlı İmmün Assay Yöntemi (ELISA)

ELISA, antijen ve antikorların kompleks oluşturma prensibine bağlı olup, biyolojik numunelerde konsantrasyonların belirlenmesine yardımcı olan bir yöntemdir. Bu çalışmada ELISA kiti üretici firmanın katalogunda belirtildiği gibi (E-EL-R0072, Elabscience, USA) çalışılarak testosteron düzeyleri tespit edilip, ELx-800 cihazında 450 nm’de okutuldu.

4.7. İstatistiksel Analiz

Elde edilen veriler ortalama \pm standart sapma olarak belirlendi. İstatistiksel analiz için SPSS version 22 programı kullanıldı. Gruplar arası değerlendirme One-way ANOVA ve Posthoc Tukey testi ile yapıldı. $p < 0.05$ değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

5.BULGULAR

5.1. Klinik Bulgular

Çalışmada sıçanların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında; kontrol ve sham gruplarında deney sonunda başlangıca göre anlamlı bir artış gözlenirken, DM1 hafta, DM2 hafta ve DM4 hafta gruplarında deney sonunda başlangıca göre anlamlı bir azalma meydana geldiği belirlendi ($p<0.05$) (Tablo 6).

Tablo 6. Kontrol, sham ve diyabetik grupların başlangıç ve final vücut ağırlıkları

	Kontrol (n=8)	Sham (n=8)	DM3 gün (n=8)	DM1 hafta (n=8)	DM2 hafta (n=8)	DM4 hafta (n=8)
Başlangıç vücut ağırlığı (gr)	196.66± 1.63	198.33±5.60	198.66±7.06	206.50±2.07	209.83±0.75	225.16±3.18
Final vücut ağırlığı (gr)	216.00±2.36 *	222.83±5.70 *	197.50±1.64	201.16±0.40 *	194.16±4.16 *	200.16±1.72 *

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* Başlangıç vücut ağırlığına göre karşılaştırıldığında, ($p<0.05$).

5.2. Biyokimyasal Bulgular

5.2.1.Kan-Glukoz Değerleri

Çalışmada yer alan sıçanların glukoz düzeyleri karşılaştırıldığında; diyabetik gruplarda deney sonunda başlangıca göre anlamlı bir artış meydana geldiği belirlendi ($p<0.05$) (Tablo 7).

Tablo 7. Kontrol, sham ve diyabetik grupların başlangıç ve final kan-glukoz değerleri

	Kontrol (n=8)	Sham (n=8)	DM3 gün (n=8)	DM1 hafta (n=8)	DM2 hafta (n=8)	DM4 hafta (n=8)
Başlangıç kan-glukoz değerleri (mg/dl)	95.33± 1.96	106.83± 1.72	86.16± 1.94	87.33± 2.06	87.50±1.37	89.33±2.42
Final kan-glukoz değerleri (mg/dl)	100.66± 2.87	107.83± 8.08	302.33±12.4*	304.66±8.47*	305.50±8.8*	302.66±7.03*

Değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir.

* Başlangıç kan-glukoz değerlerine göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

5.2.2. Serum Testosteron Düzeyleri

Serum testosteron düzeyleri için yapılan ELISA çalışmasında; kontrol, sham ve DM3 gün grupları arasında anlamlı bir farklılık izlenmedi. Kontrol ve sham gruplarıyla karşılaştırıldığında DM1 hafta, DM2 hafta ve DM4 hafta gruplarında serum testosteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma belirlendi (p<0.05) (Tablo 8).

Tablo 8. Deney hayvanlarının serum testosteron düzeyleri

	Kontrol (n=8)	Sham (n=8)	DM3 gün (n=8)	DM1 hafta (n=8)	DM2 hafta (n=8)	DM4 hafta (n=8)
Testosteron düzeyleri (ng/mL)	5,78±0,78*	5,85± 0,89*	5,81± 0,91	4,61± 0,53*	3,06±0,22*	1,67±0,40*

Değerler ortalama±standart sapma olarak verilmiştir.

* Kontrol ve sham gruplarına göre karşılaştırıldığında, (p<0.05).

5.3. Işık Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubuna ait testis kesitlerinde, seminifer tübüller, tübüllerin epitelini oluşturan spermatogenik seriye ait olan hücreler ve Sertoli hücreleri, interstisyel alan ve bu alanda yer alan Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi (Şekil 12). Periodic Acid Schiff (PAS) tekniği ile yapılan boyamada seminifer tübüllerin bazal membranları da düzgün seyirli idi (Şekil 13). Sham grubuna ait kesitlerde de seminifer tübüllerde yer alan hücreler, tübüllerin bazal membranları, interstisyel alan ve bu alanda yer alan Leydig hücreleri kontrol grubuna benzer olarak ayırt edildi (Şekil 14).

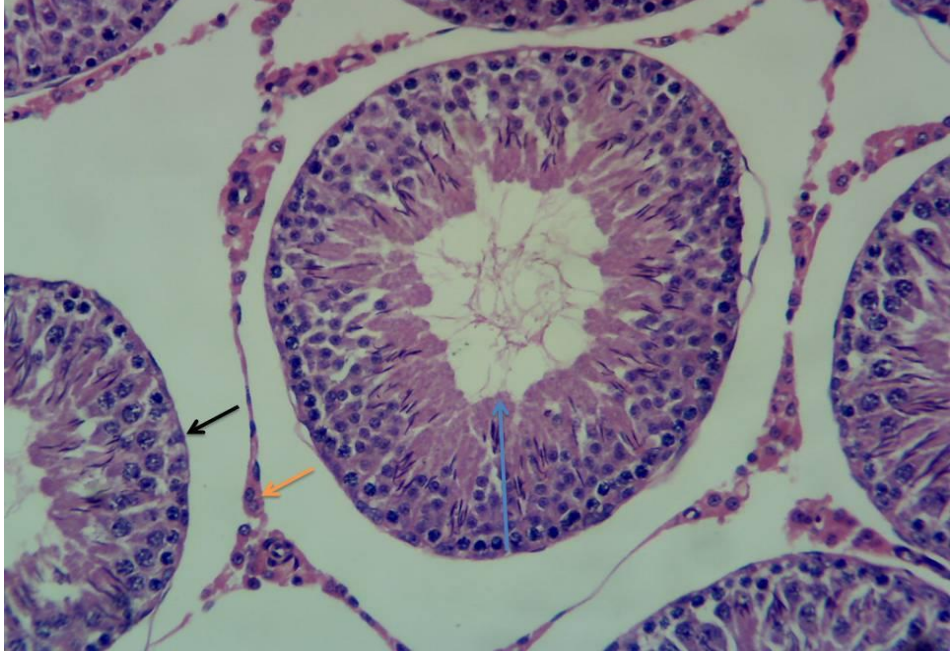
DM3 gün grubunda, dikkati çeken en önemli bulgu interstisyel alanda yer alan damarlardaki konjesyondur (Şekil 15). Seminifer tübül epitelini oluşturan hücreler ve bazal membran normal yapıda gözlemlendi (Şekil 16).

DM1 hafta grubunda, interstisyel alandaki damarlarda konjesyon ve interstisyel ödem (Şekil 17), yer yer epitelleri dejenere olmuş seminifer tübüller ayırt edildi. Seminifer tübülleri çevreleyen bazal membran normal yapıda saptandı (Şekil 18). Bazı seminifer tübüllerin lümenlerinde olgunlaşmalarını tamamlamamış spermatogenik seriye ait hücreler gözlemlendi (Şekil 19).

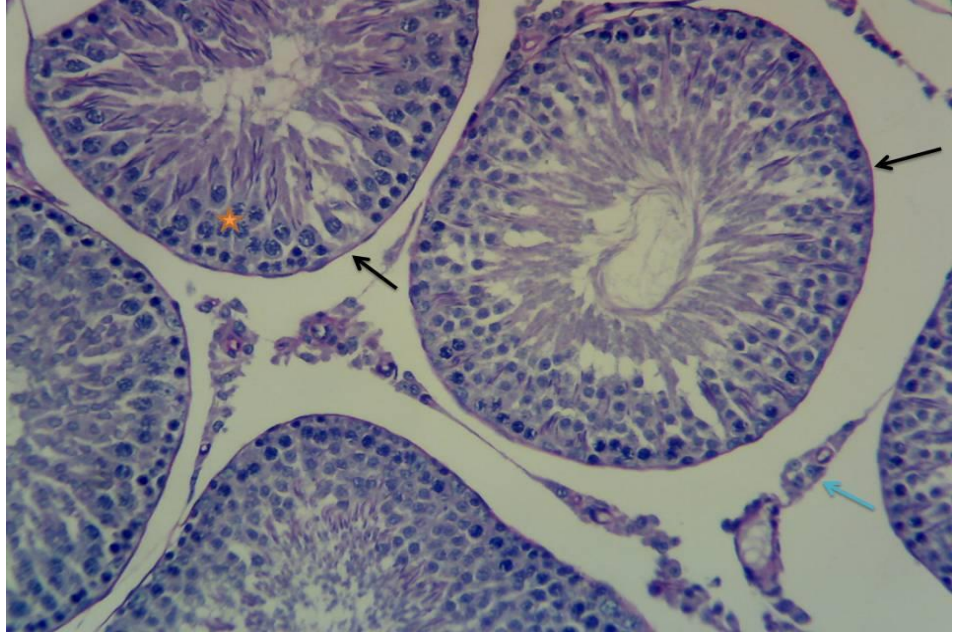
DM2 hafta grubunda, bazı seminifer tübüllerin lümenlerinde olgunlaşmalarını henüz tamamlamamış olan spermatogenik seriye ait hücre döküntüleri gözlemlendi (Şekil 20). Normal görünümlü seminifer tübüllerin arasında kontürleri düzensiz ve birkaç adet atrofik seminifer tübül ayırt edildi (Şekil 21).

DM4 hafta da interstisyel ödem ve damarlarda konjesyon, bazı tübüllerin lümenlerinde olgunlaşmalarını tamamlamamış spermatogenik hücre döküntüleri,

birkaç adet atrofik tübül ve tübül bazal membranlarında yer yer invaginasyonlar ayırt edildi (Şekil 22, 23).



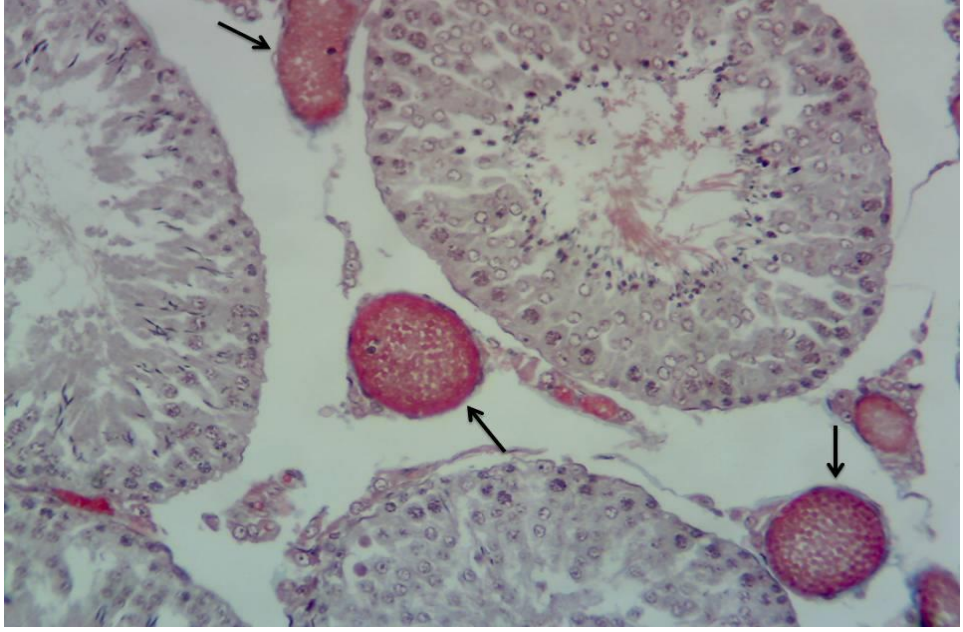
Şekil 12. Kontrol Grubu. Seminifer tübül epitelini (mavi ok) oluşturan spermatogenik hücreler, Sertoli hücreleri (siyah ok) ve interstisyel bölgede yer alan Leydig hücreleri (sarı ok) normal yapıda ayırt edilmekte. Hematoksilen & Eozin x 200



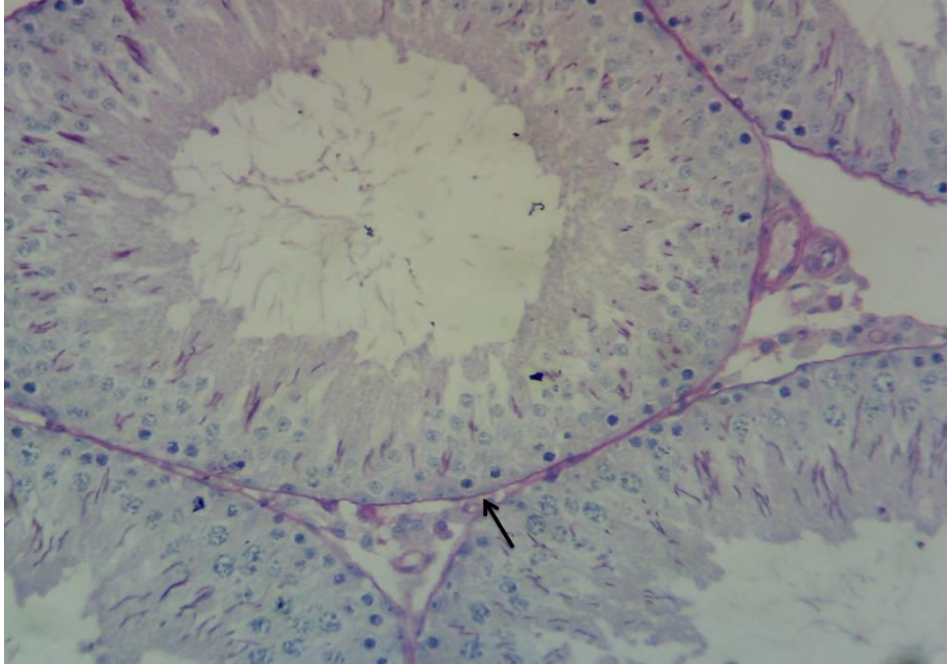
Şekil 13. Kontrol Grubu. Seminifer tübüllerin etrafındaki bazal membran (siyah ok), seminifer tübül epiteli (*), Leydig hücreleri (mavi ok) normal olarak gözlenmekte. PAS x 200



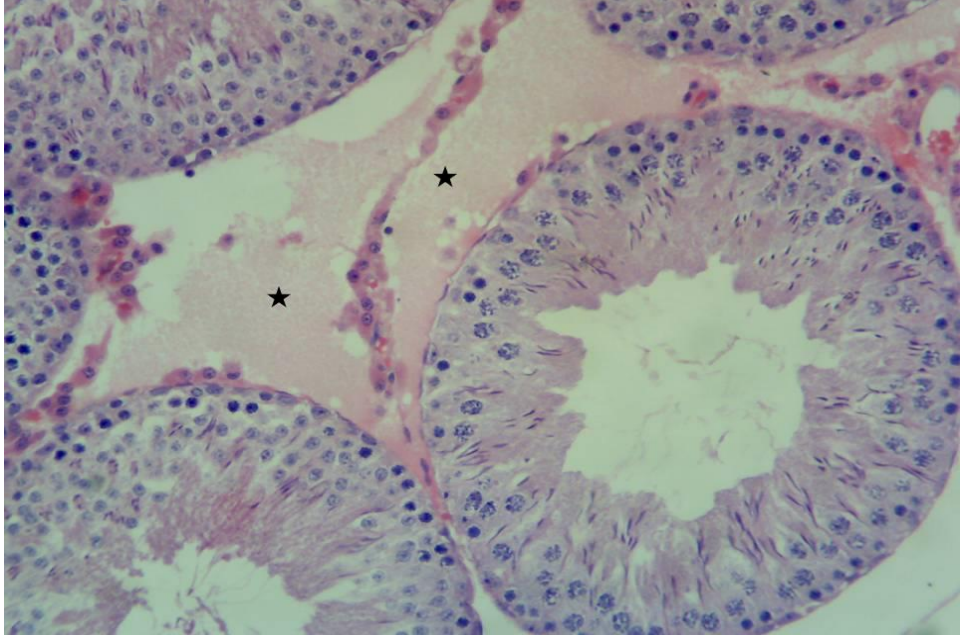
Şekil 14. Sham Grubu. Seminifer tübüllerde yer alan hücreler, tübüllerin bazal membranları (siyah ok), interstisyel alan ve bu alanda yer alan Leydig hücreleri (mavi ok) normal yapı sergilemekte. PAS x 200



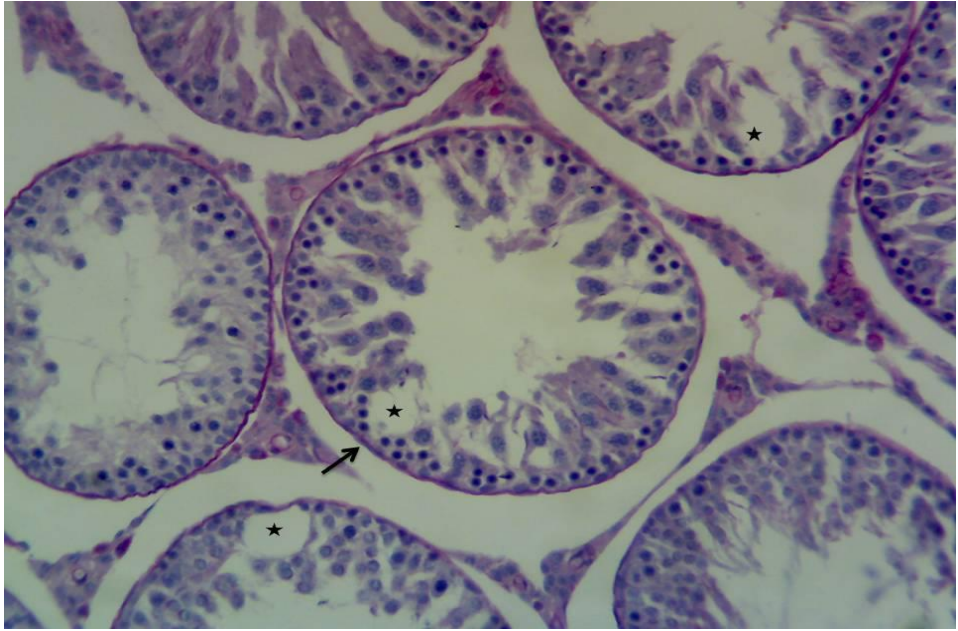
Şekil 15. DM3 Gün Grubu. Seminifer tübüller normal olarak gözlenirken interstisyel bölgede bulunan damarlarda konjesyon (ok) dikkat çekmekte. Masson'nun üçlü boyaması x 200



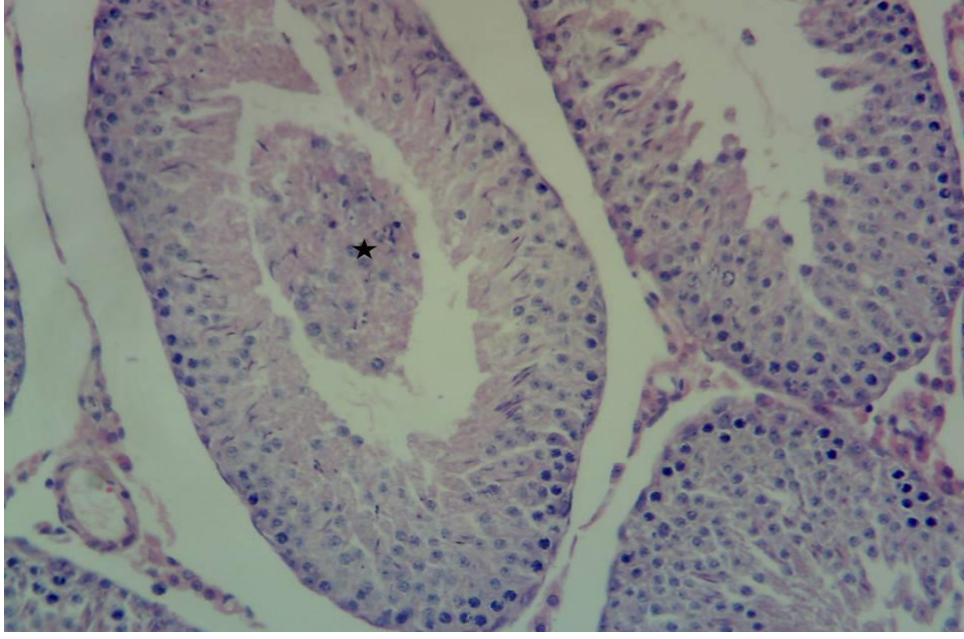
Şekil 16. DM3 Gün Grubu. Seminifer tübüllerin epiteli ve bazal membranı (ok) normal yapıda ayırtılmakta. PAS x 200



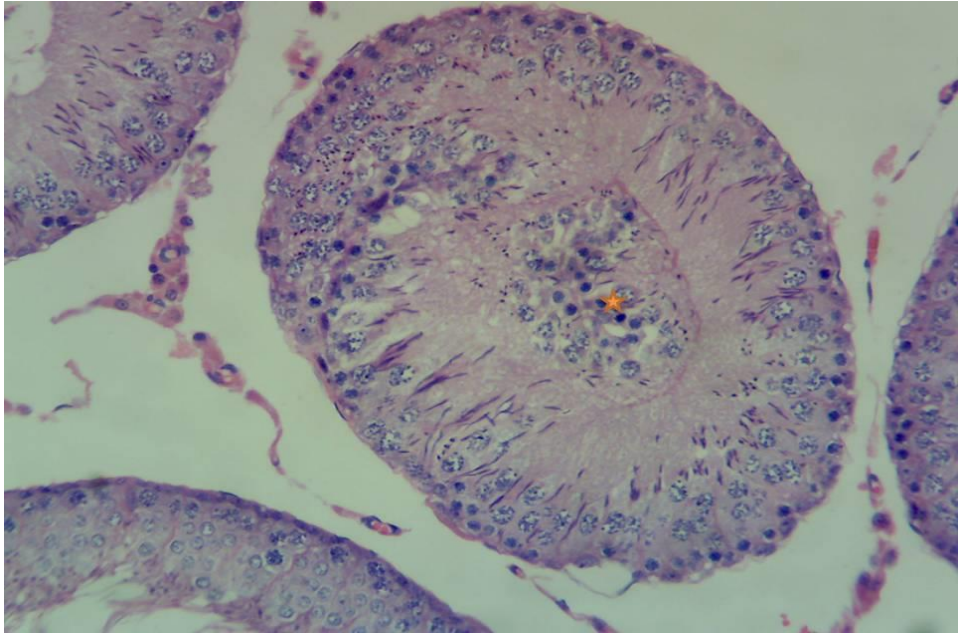
Şekil 17. DM1 Hafta Grubu. İnterstisyel alanda ödem (*). Hematoksilen & Eozin x 200



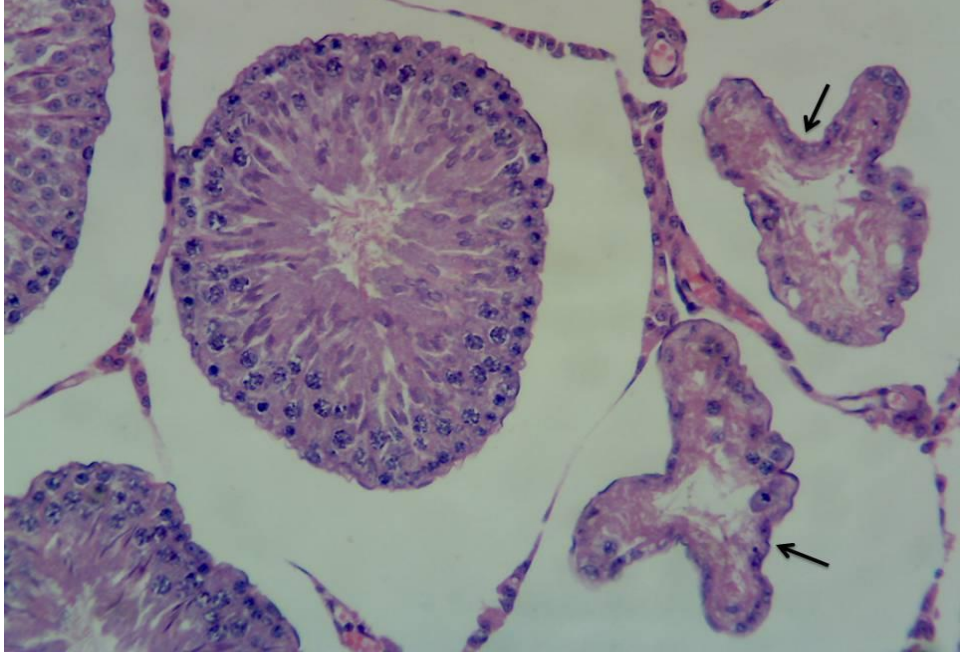
Şekil 18. DM1 Hafta Grubu. Seminifer tübülleri çevreleyen bazal membran (ok) normal yapıda olmakla birlikte, seminifer tübül epitelinde dejenerasyon (*) dikkati çekmekte. PAS x 200



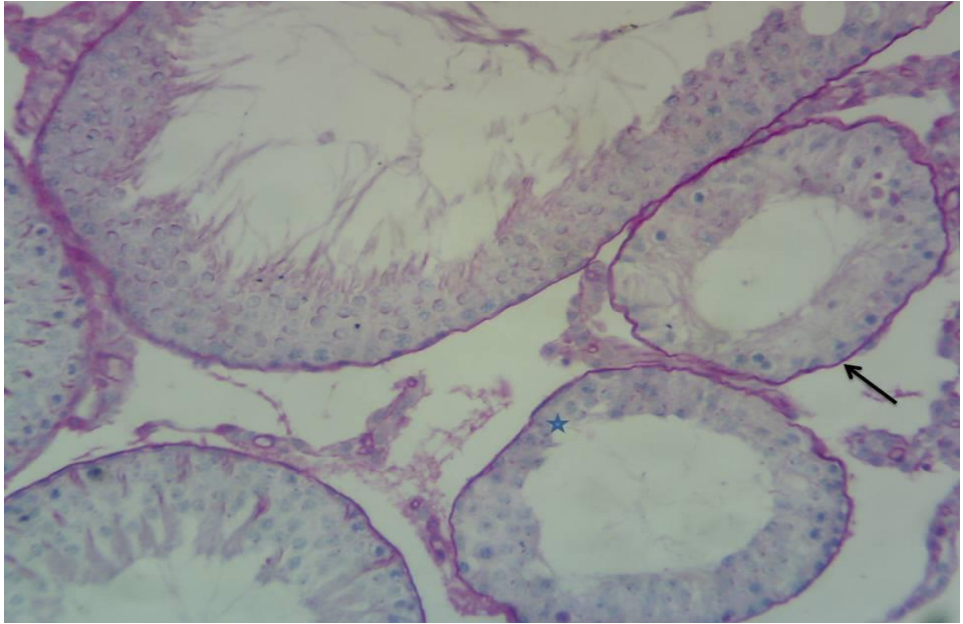
Şekil 19. DM1 Hafta Grubu. Seminifer tübüllerin lümenlerinde olgunlaşmalarını henüz tamamlamamış olan spermatogenik seriye ait hücre döküntüleri (*) ayırt edilmekte. Hematoksilen & Eozin x 200



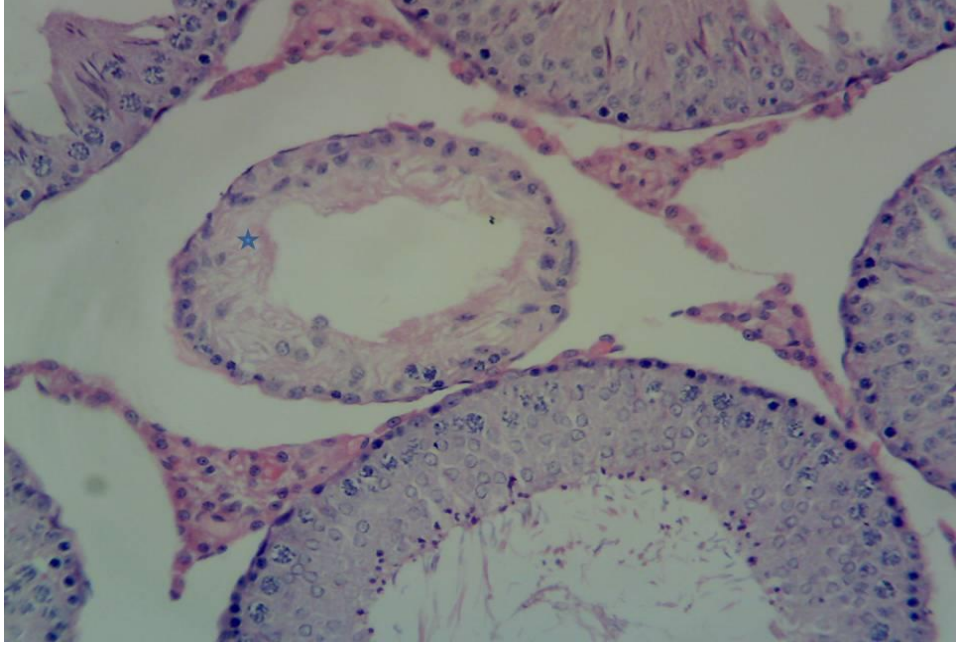
Şekil 20. DM2 Hafta Grubu. Seminifer tübüllerin lümenlerinde olgunlaşmalarını henüz tamamlamamış olan spermatogenik seriye ait hücreler (*). Hematoksilen & Eozin x 200



Şekil 21. DM2 Hafta Grubu. Normal görümlü seminifer tübüllerin arasında kontürleri düzensiz ve atrofik seminifer tübüller (ok). Hematoksilen & Eozin x 200



Şekil 22. DM4 Hafta Grubu. Seminifer tübül bazal membranında invaginasyonlar (ok) ve epitelde atrofi (*). PAS x 200



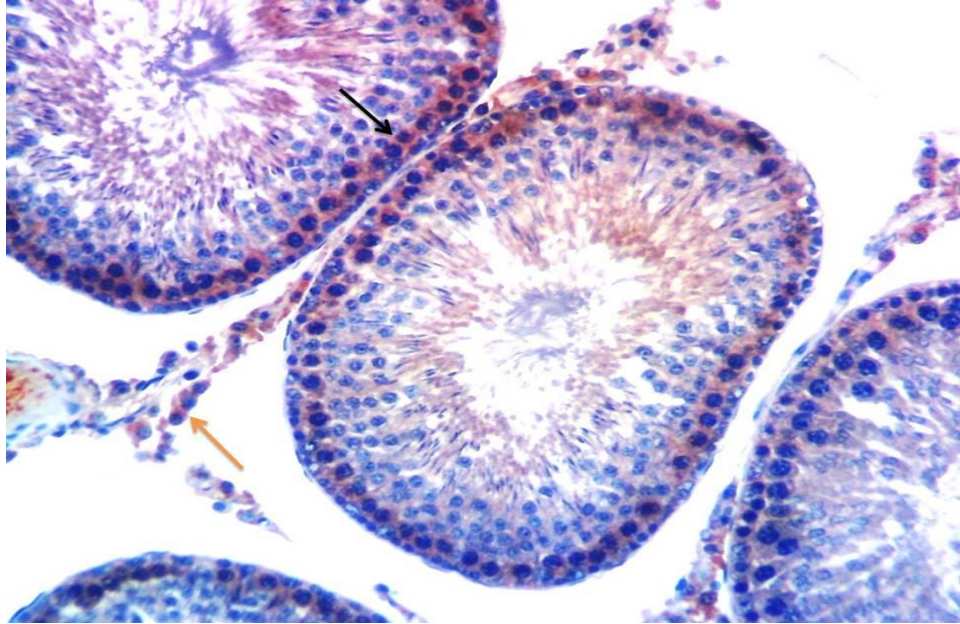
Şekil 23. DM4 Hafta Grubu. Atrofik seminifer tübül (*). Hematoksilen & Eozin x 200

5.4. İmmünohistokimya

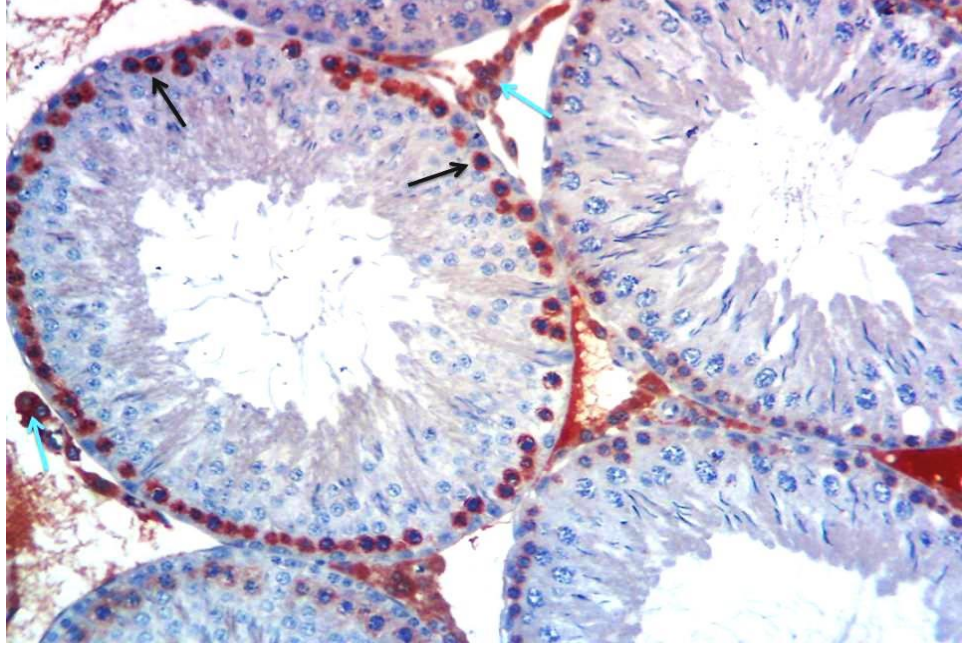
Kontrol, sham ve DM3 gün grubunda spermatogenik hücrelerde ve interstisyel Leydig hücrelerinde +3 şiddetinde kisseptin 1 immünreaktivitesi gözlemlendi (Şekil 24,25). DM1 hafta, DM2 hafta ve DM4 hafta 'lık gruplarda ise spermatogenik hücrelerde eser miktarda (+1) kisseptin 1 immünreaktivitesi saptanırken, Leydig hücrelerinde +3 şiddetinde immünreaksiyon ayırt edildi (Şekil 26, 27, 28).

Tablo 9. İmmünohistokimyasal boyanma şiddetinin derecesi

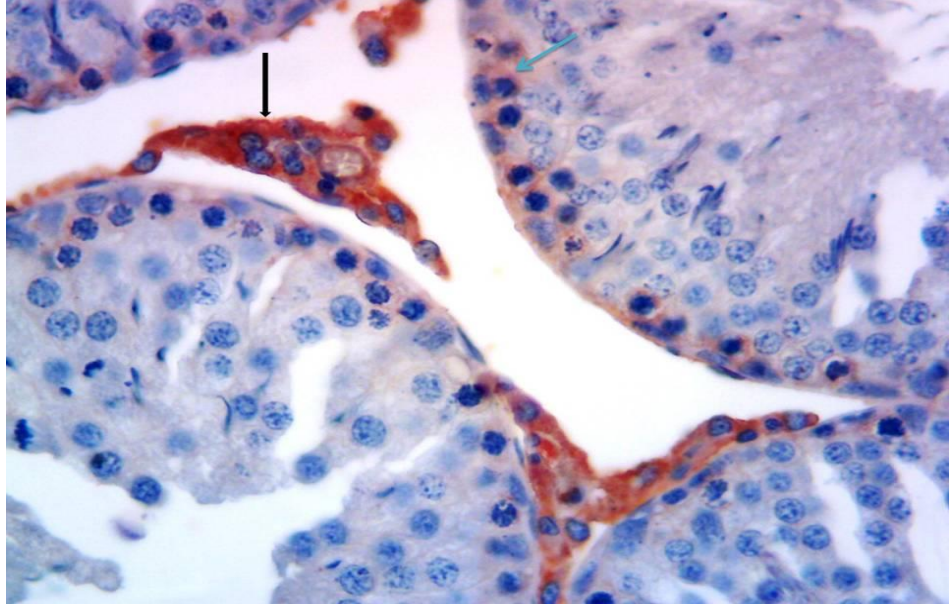
Grup	Spermatogenik hücreler	Leydig hücreleri
Kontrol	+3	+3
Sham	+3	+3
DM3 gün	+3	+3
DM1 hafta	+1	+3
DM2 hafta	+1	+3
DM4 hafta	+1	+3



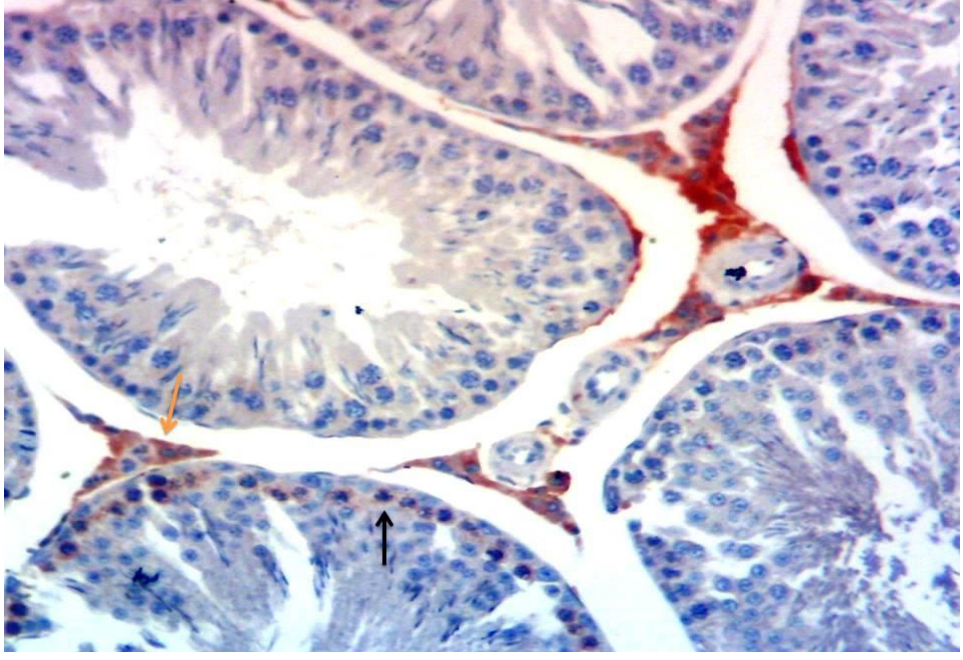
Şekil 24. Kontrol Grubu. Spermatogenik hücrelerde (siyah ok) ve interstisyel bölgede yer alan Leydig hücrelerinde (sarı ok) +3 şiddetinde kisspeptin 1 immünreaktivitesi ayırt edilmekte. AECx200



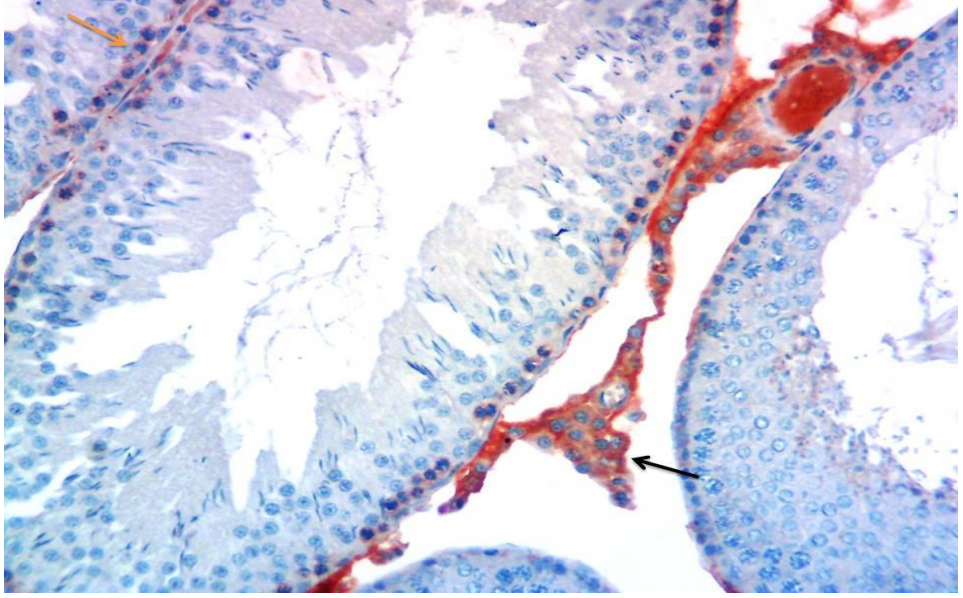
Şekil 25. DM3 Gün Grubu. Spermatogenik hücrelerde (siyah ok) ve interstisyel bölgede yer alan Leydig hücrelerinde (mavi ok) +3 şiddetinde kisspeptin 1 immünreaktivitesi. AECx200



Şekil 26. DM1 Hafta Grubu. Spermatogenik hücrelerde (mavi ok) kisspeptin 1 immünreaksiyonu +1 şiddetinde ayırt edilirken, Leydig hücrelerinde (siyah ok) +3 şiddetinde gözlenmekte. AECx200



Şekil 27. DM2 Hafta Grubu. Spermatogenik hücrelerde (siyah ok) kisspeptin 1 immünreaksiyonu +1 şiddetinde ayırt edilirken, Leydig hücrelerinde +3 (sarı ok) şiddetinde gözlenmekte. AECx200



Şekil 28. DM4 Hafta Grubu. Spermatogenik hücrelerde eser miktarda (+1) kispeptin 1 immünreaktivitesi saptanırken, Leydig hücrelerinde +3 şiddetinde immünreaksiyon gözlenmekte. AECx200

6.TARTIŞMA

DM, insülin salgılanması veya insülin etkisindeki bozukluktan kaynaklanan ve kronik hiperglisemi ile karakterize bir hastalık olup; karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasında ciddi bozukluklara neden olmaktadır (159).

DM, retinopati, nöropati, nefropati, kardiyovasküler hastalıklar ve erkek infertilitesi dahil olmak üzere ciddi komplikasyonları olan (160), dünya çapında hızla artış gösteren ve özel tedavi yöntemleri gerektiren bir halk sağlığı problemi (24).

İnsanlardaki insülin bağımlı DM'nin oluşum mekanizmalarını anlayabilmek, engelleyebilmek ve kronik diyabetin neden olduğu yan etkileri ortaya koyabilmek amacıyla deney hayvanlarında çeşitli kimyasalların veya ilaçların kullanılmasıyla deneysel diyabet modelleri oluşturulmaktadır (59,60,61). Bu amaçla fare, sıçan, tavşan gibi deney hayvanları kullanılabilir (56,57,58). Laboratuvar hayvanlarında kimyasal olarak diyabet oluşturmak için kullanılan STZ, pankreatik β hücrelerine karşı olan spesifik toksisitesi nedeniyle diyabetojenik ajan olarak kabul edilmekte ve pankreas β hücrelerinde deformasyona neden olmaktadır (63,64,65).

STZ ile oluşturulan diyabet sonucu testiküler sperm sayısı, sperm hareketliliği ve testis ağırlığı belirgin olarak azalmaktadır. Yaptığımız çalışmada STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde, 4 haftalık diyabetik grupta sıçanların testis dokusunda bazı seminifer tübüllerde atrofiye bağlı spermatogenik seriye ait hücrelerde ciddi bir azalma olduğu görülmüştür ve bu bulgular Schoeller ve ark. (66), Gazzaruso ve ark. (78), Kiyaniyard ve ark. (79)'nin çalışmaları ile paralellik göstermektedir.

Kiyanifard ve ark. (79)'nın yaptığı çalışmada, diyabet etkisiyle dokuda işlevsel bir bozukluk meydana geldiği, insülin ve hormonların etkisinin azalmasıyla Sertoli ve Leydig hücrelerinin fonksiyonunun azaldığı gösterilmiştir.

Hussein ve ark. (161) ile Rezvani ve ark. (162), her iki cinsiyetteki diyabetik hastalarda yapmış oldukları çalışmada, serum LH ve FSH düzeylerinin sağlıklı bireylere kıyasla azalmış olduğunu göstermiştir.

Mangoli ve ark. (163), farelerde deneysel olarak oluşturdukları diyabette sperm hareketliliği ve epididimis canlılığının azaldığını, DNA fragmantasyonu ve denatürasyonunun ise arttığını göstermişlerdir.

Yine yapılan başka bir çalışmada T-2 DM'li hastalarda erektil fonksiyon bozukluğu, düşük libido, penis eğriliği, küçük boyutlu penis ve peniste plaklar oluştuğu saptanmıştır (164).

Owiredu ve ark. (165), 18-82 yaşları arasındaki 300 DM 'li hasta üzerinde yaptıkları çalışmada; testosteron seviyesinin, glikolize hemoglobin (HbA1c) ve açlık kan şekeri ile negatif ilişkili olduğunu, bu durumun diyabetik hastalarda cinsel işlev bozukluklarının sık görülmesinin bir nedeni olabileceği sonucuna varmışlardır. STZ ile oluşturduğumuz deneysel diyabet modelinde elde ettiğimiz bulgular Owiredu ve ark. (165)'nin çalışması ile paralellik göstermekte olup, sıçanlardaki kan glukoz düzeylerinin zamana bağlı olarak artış gösterdiği, serum testosteron seviyelerinin ise azaldığı gözlemlenmiştir.

Erkek üreme sisteminde anormalliklere neden olan oksidatif stres, hastalığın patofizyolojisinde önemli bir yer tutmaktadır (74). Kyathanahalli ve ark. (61), STZ'den 1 gün sonra hücre içi düzeyde sitozolik ve mikrozomal olarak oksidatif stres parametrelerinde bir artış olduğunu, 5. günden itibaren elektron

taşıma aktivitesinde azalmayla ilgili olarak da mitokondriyal fonksiyon bozukluğunun meydana geldiğini, 7 hafta sonra seminifer tübüllerde deformasyon ve lümendeki spermatidlerde ileri bir kaybolma ile hücrelerde vakuolizasyonunun görüldüğünü göstermiştir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, tedavi edici olarak kullanılan antioksidanların diyabetik komplikasyonları azaltarak, serbest radikal oluşumunu önlediğini ve oksidatif strese karşı koruduğunu göstermektedir (166).

Burul-Bozkurt ve ark. (167), STZ ile oluşturdukları diyabette (4-12 hafta) ovaryum ve testislerde aromataz ekspresyon seviyelerinin değiştiğini, buna karşın rahim ve vas deferens’de enzim etkinliğinin değişmediğini göstermişlerdir.

Porto ve ark. (168), STZ uygulamasının 20. gününde, prostat ağırlığı ve epitelyum hücre çoğalmasının azaldığını, Pontes ve ark. (169) ise STZ uygulamasının 3. Haftasında seminal vezikül ve prostat bezi ağırlığında azalma, plazma testosteron seviyesinde düşüş olduğunu göstermişlerdir.

Başka bir çalışmada, STZ uygulamasından 105 gün sonra sperm üretiminin azaldığı, tübüllerde pul pul dökülmelerin olduğu, damar trombozu ve hücre içermeyen bölgelerin varlığı gösterilmiştir (171). Bizim çalışmamızda DM3 gün grubunda dikkati çeken en önemli bulgu interstisyel alanda yer alan damarlardaki konjesyonu. Diyabetin oluşum mekanizması düşünüldüğünde çalışmamız Bondarenko ve ark. (171) ile benzerlik gösterse de, süre açısından zıtlık göstermiştir.

Kianifard ve ark. (172), 10. haftada plazma testosteron seviyesi, FSH ve LH ‘nın azalmış olduğunu; histomorfolojik olarak spermatogenezin bozulmasıyla seminifer tübül epiteli yüksekliğinde azalma ve intersistiyel alanda ödem görüldüğü rapor etmişlerdir. Çalışmamızda 1 haftalık diyabetik grupta interstisyel

alandaki damarlarda konjesyon ve interstisyel ödem yer yer epitelleri dejenere olmuş seminifer tübüller ayırt edildi. Bazı seminifer tübüllerin lumenlerinde olgunlaşmalarını tamamlamamış spermatogenik seriye ait hücreler gözlenirken, benzer şekilde bu bulgulara 2 haftalık diyabetik grupta da rastlandı. 2 haftalık diyabetik grupta ayrıca birkaç atrofik tübül de ayırt edildi. 4 haftalık diyabetik grupta ise bu bulgular zamana bağlı olarak şiddetlenme göstermekteydi. Bu grupta ayrıca seminifer tübül bazal membranında invaginasyonlar gözlemlendi. Bu bulgular Kianifard ve ark. (172)'nin çalışmasıyla benzerlik göstermekle birlikte, yapısal değişimlerin bizim çalışmamızda daha kısa sürede meydana geldiği gözlemlendi.

STZ ile oluşturulan deneysel diyabette, Leydig hücre fonksiyonunda ve seminifer tübül epitelinde bazı değişikliklerden sorumlu olan testosteron seviyesi azalır. Testosteron seviyesindeki bu azalma gonadal fizyolojide bozukluklara yol açarak, yetersiz sperm üretimine neden olmaktadır (81). Dolayısıyla DM'un erkek üreme sistemi üzerinde meydana getirdiği etkiler hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini aracılığıyla değişikliklere neden olmaktadır (95).

Erkeklerde hipotalamus-hipofiz-gonad ekseninde testosteron negatif feedback mekanizması ile GnRH salınımını denetlemektedir (92). KiSS-1/GPR54 sistemi, pubertal sistemin kuruluşu açısından önem taşımaktadır (94,95).

2003 yılında Kiss-1 geni (aynı zamanda Kiss-1r olarak da bilinir) GPR54'ün bir endojen ligandı olan Kisspeptin (metastin) 'in insanlarda ve farelerde GnRH salgılanmasında önemli bir göreve sahip olduğu bulunmuş (109,110), Min ve ark. (173), yaptığı çalışmada ise Kisspeptin'in KNDY (Kisspeptin-Neurokinin B-Dynorphin) olarak bilinen nöronal ağı uyardığı keşfedilmiştir.

Hameed ve ark. (103), kisspeptin ve kisspeptin reseptörlerini fizyolojik olarak inceleyerek, gonodotropinlerin ve gonodal steroid hormonların kontrolünde etkili olduğunu göstermişlerdir. Kisspeptin/GPR54 sisteminin ergenlik başlangıcı için tetikleyici olduğu, GnRH ve gonodotropinlerin salgılanmasını kontrol eden periferel girdiler için vazgeçilmez bir tamamlayıcı olarak işlev gördüğü bilinmektedir (123).

Skorupskaite ve ark. (119), kisspeptin egzogenlerinin, hastalığı belli seviyede olan hayvanlara uygulandığında üreme fonksiyonunu düzeltebileceği ve bu sayede GnRH kontrolünün yapılabileceğini göstermiştir.

Spermatogenezis ve testiküler doku üzerine kisspeptinin etkileri az bilinmekte, fakat konuyla ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Ramzan ve ark. (140,141,142), Kisspeptin'in i.p. doza bağımlı kronik olarak uygulanmasının testis dokusu, seminal vezikül ve prostat bezinde dejenerasyona neden olduğunu göstermiştir.

Rhie ve ark. (143) ile Dhillon ve ark. (144) çalışmalarında, Kisspeptin-54'ün akut olarak uygulandığı erkeklerde serbest LH, FSH ve testosteron seviyelerini arttırdığını göstermişlerdir. Kisspeptin veya benzerlerinin kullanılması, IVF için de önem taşımaktadır (157). Diyabetiklerde azalan/bozulan insülin sekresyonunun tekrar kazandırılması için uygulanan insülin tedavisinin fertilitiyi yeniden kazandıracağını/kazandıramayacağını gösteren çalışmalar yapılmaktadır. Fakat plazmadaki insülinin kan-testis bariyerini geçemeyeceğini, ancak hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini uyaracak farklı farmakolojik ilaçların (kisspeptin ve diğerleri) kullanılmasıyla bunun aşılabileceği ifade edilmiştir (66).

Bu çalışmada, STZ ile oluşturulan deneysel diyabet modelinde diyabetin sıçan testis dokusunda oluşturduğu hasarın zamana bağlı olarak arttığı gözlemlendi. Hipotalamus-hipofiz-gonad ekseninde adeta modulator gibi davranan kisspeptin ise, kontrol, sham ve 3 günlük diyabetik gruplara ait testis dokularında spermatogenik hücrelerde ve Leydig hücrelerinde belirgin olarak işaretlendi. Fakat diyabet süresinin artmasına dolayısıyla yapısal değişikliklerin oluşumuna paralel olarak kisspeptin immünreaktivitesinin şiddetinde özellikle spermatogenik hücrelerde azalma olduğu tespit edildi. Leydig hücrelerindeki kisspeptin ekspresyonu ise diyabetik sıçanlarda belirginliğini korumaktaydı.

Arikawe ve ark. (170), ise STZ uygulaması ile oluşturdukları diyabet modelinde proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immünreaktivitesini incelemiş ve deneyin 12. haftasında, testis dokusunda PCNA immünreaktivitesinde diyabete bağlı azalma olduğunu rapor etmişlerdir.

Sonuç olarak, hiperglisemi ile karakterize, metabolik bir hastalık olan diyabet yaptığımız bu çalışmada zamana bağlı olarak azalmış vücut ağırlığı ve serum testosteron düzeyi ile birlikte seyretti. Testiküler dokunun mikroskopik muayenesinde diyabetik sürenin uzaması ile birlikte seminifer tübül epitelinde dejenerasyon, olgunlaşmasını henüz tamamlamadan tübül lümenine dökülmüş olan spermatogenik seriye ait olan hücreler ve zamanla seminifer tübüllerde atrofiye varan ciddi değişiklikler saptandı. Yine çalışmamızda hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen üzerinden üreme fizyolojisinin regülasyonunda etkili olan kisspeptin, kontrol ve sham grubuna ait testiküler dokuların Leydig hücrelerinde ve spermatogenik hücrelerinde immünohistokimyasal yöntemle belirgin olarak tanımlandı. Diyabetik sürenin uzamasıyla birlikte, özellikle spermatogenik

hücrelerde kisspeptin ekspresyonunun şiddetinde azalma tespit edildi. Diyabete bağlı olarak testislerde yapısal bozuklukların gözlenmesi, kisspeptin immünreaktivitesinin ve serum testosteron düzeyinin azalması, sağlıklı koşullarda kisspeptin ve testosteronun birbiriyle korele olarak testiküler fizyolojiyi regüle ettiğini ve dokunun yapısal bütünlüğünün korunmasında etkili olduklarını düşündürdü. Bu konuda yeni çalışma protokolleri ve farklı teknikler kullanılarak yapılacak olan deneysel çalışmalar diyabet bağımlı/bağımsız üreme sağlığı ile ilgili problemlerde kisspeptinin normal fizyolojide rol oynayabilme potansiyeline daha net bir bakış açısı kazandırabilir.

KAYNAKLAR

1. Kierszenbaum AL. Histology and Cell Biology: An Introduction To Pathology. 3rd Edition. Elsevier, 2012.
2. Mescher AL. Junqueira's Basic Histology Text and Atlas. 13th Edition. 2013: 429-448.
3. Koyuncu İ. Varikoselli Hastalarda Sperm Morfolojisinin Değerlendirilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli: Kocaeli Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2008.
4. Sancak B, Cumhur M. Fonksiyonel Anatomi. 2. Baskı, Ankara: Medipress, 2012: 291-292.
5. Arinci K, Elhan A, Anatomi. 1. Cilt. 5.Baskı , Ankara: Güneş, 2014: 330-337.
6. Yıldırım M. Resimli Sistemik Anatomi, 1. Baskı, İstanbul: Nobel. 2013:581-596.
7. Schünke M, Schulte E, Schumacher U, Voll M, Wesker K. Prometheus Anatomi Atlası. Yıldırım M. (Çeviren). İstanbul: Nobel, 2009.
8. Sadler TW. Langman's Medical Embryology. 11 nd Edition. Baltimore, 2010.
9. Dar KA. Erkek üreme sistemi. [http://www.akademik.adu.edu.tr/fakulte/med/webfolders/ File/ Dersicerikleri/ ErkekGenital Sistemi Histo. ppt.](http://www.akademik.adu.edu.tr/fakulte/med/webfolders/File/Dersicerikleri/ErkekGenitalSistemiHisto.ppt)
10. Moore KL, Persaud TVN. Klinik Yönleri İle İnsan Embriyolojisi. Yıldırım M, Okar İ, Dalçık H (Çeviren). 8. Baskı, İstanbul: Nobel, 2009.
11. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology A Text and Atlas With Cell and Molecular Biology. 6 nd Edition. Philadelphia, 2011.
12. Eroschenko VP. Di Fiore Histoloji Atlası. Demir R. (Çeviren). 10.Baskı. Ankara: Palme; 2013.
13. Ensari E. Gebelikte Olaylanan Deneysel Hipokside Ginkgo Biloba'nın Testis Dokusunda Olası Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Ankara: Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2010.
14. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. Malatya Medipres Matbaacılık. 2009: 254-267.
15. Carneiro J, Junqueira CL. Temel Histoloji Text & Atlas. Solakoğlu S, Aytekin Y (Çeviri Editörleri). Nobel, 2009; 431-441.
16. Ovalle WK, Nahirney PC. Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P (Çeviri Editörleri), Ankara: Güneş, 2009: 386-387.
17. Drake RL, Vogl W, Mitchell AWM. Gray's Anatomi Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin. Yıldırım M (Çeviri Editörü), Ankara: Güneş, 2007: 408.
18. Crawford JM, Cotran RS. Robbins Pathologic Basis of Disease. Philadelphia: WB Saunders, 2005; 913-20.
19. Shaw JE, Sicree RA, Zimmet PZ. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. Diabetes Res Clin Pract 2010;87:4-14.

20. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care 2014 31:12-54.
21. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes Care 2012; 35: 64-71.
22. Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. Pharmacol Rep 2005;57(1):90-6.
23. Chen L, Magliano DJ, Zimmet PZ. The worldwide epidemiology of type 2 diabetes mellitus: Present and future perspectives. Nat Rev Endocrinol 2011; 8: 228-36.
24. Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J. IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. Diabetes Res Clin Pract 2011; 94: 311-21.
25. International Diabetes Federation. Diabetes Atlas, 4th Edition, Brussels, 2009.
26. Parmaksız İ. Streptozotocin İle Sıçanlarda Oluşturulan Diyabet Modelinde Aminoguanidinin Serum Nitrik Oksit Değerleri Ve Doku Nitrik Oksit Sentaz Ekspresyonu Üzerine Etkisi. Uzmanlık Tezi. İstanbul: Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, 2009.
27. American Diabetes Association; Diagnosis and classification of diabetes mellitus; Diabetes care 2004; 27(1):5-10
28. Alemzadeh R, Wyatt D.T. Diabetes Mellitus. 17 Edition, Pennsylvania: Elsevier, 2004:1947-1972.
29. Saka HN, Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S. Pediatrik Endokrinoloji. 1. Baskı. Ankara: Kalkan Matbaacılık 2003:415-455.
30. Morales AE, She JX, Schatz DA. Genetics of type 1 diabetes. 1 Edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2004:403- 410
31. Fiallo-Scharer R, Eisenbarth GS. Pathophysiology of insulin-dependent diabetes. 1 edition. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins 2004:411-426.
32. Arslan M. Diabetes Mellitusta tanı ve sınıflandırma. 2. Baskı, Ankara; Öncü Basımevi, 2005.
33. Baskal N. Diabetes Mellitus'un sınıflandırılması. 2. Baskı, Ankara: MN Medical & Nobel, 2005.
34. Bennett PH, Knowler WC. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and glucose homeostasis, 1997.
35. Rosenbloom AL, Silverstein JH. Diabetes İn The Child and Adolescent. In: Lifshitz F (eds). Pediatric Endocrinology. 4 edition. New York (USA): Marcel Decker, 2004:611-651.
36. Haller MJ, Atkinson MA, Schatz D. Type 1 diabetes mellitus: Etiology, presentation, and management. Pediatr Clin North Am 2005; 52:1553-1578.
37. Collins J, Pien FD, Houk JH. Insulin-dependent diabetes mellitus associated with pentamidine. Am J Med Sci 1989; 297:174-175.

38. Rees DA, Alcolado JC. Animal models of diabetes mellitus. *Diabet Med* 2005; 22:359-370.
39. Guleria RS, Singh AB, Nizamutdinova IT, et al. Activation of retinoid receptor-mediated signaling ameliorates diabetes induced cardiac dysfunction in Zucker diabetic rats. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology* 2013; 57:106–118.
40. Mansor LS, Gonzalez ER, Cole MA, et al. Cardiac metabolism in a new rat model of type 2 diabetes using high-fat diet with low dose streptozotocin. *Cardiovascular Diabetology* 2013; 12:136
41. Anjos SM, Tessier MC, Polychronakos C. Association of the cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 gene with type 1 diabetes: evidence for independent effects of two polymorphisms on the same haplotype block. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 6257-6265.
42. Atkinson MA, Schatz D. Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation, and management. *Pediatr Clin North Am* 2005; 52: 1553-1578.
43. Sperling MA. Diabetes Mellitus. In: Sperling M.A (eds). *Pediatric Endocrinology*. 2nd edition. Pennsylvania (USA): Saunders Elseiver Science; 2002: 323-66.
44. Huynh K, Bernardo BC, McMullen JR, Ritchie RH. Diabetic cardiomyopathy: mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacology and Therapeutics* 2014; 142: 375–415.
45. Abacı A, Böber E, Büyükgebiz A. Tip 1 Diyabet. *Güncel Pediatri* 2007; 5: 1-10.
46. Andrade EF, Lobato RV, De Araújo TV, et.al. effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients: a systematic review. *Nutr Hosp* 2015; 31(1):170-177 issn 0212-1611.
47. Lombardo F, Valenzise M, Wasniewska M, et al. Two-year prospective evaluation of the factors affecting honeymoon frequency and duration in children with insulin dependent diabetes mellitus: the key-role of age at diagnosis. *Diabetes Nutr Metab* 2002; 15: 246-251.
48. Mayer-Davis EJ, Beyer J, Bell RA, et al. Diabetes in African American youth: prevalence, incidence, and clinical characteristics: the search for diabetes in youth study. *Diabetes Care* 2009; 32: 112-22.
49. Schon S, Schoeller EL, Moley KH. The effects of type 1 diabetes on the hypothalamic, pituitary and testes axis. *Cell Tissue Res* 2012; 349: 839-47.
50. Chang KC, Tseng CD, Wu MS, et al. Aminoguanidine prevents arterial stiffening in new rat model of type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest* 2006;36(8):528-35.
51. Arora S, Ohjha SK, Vohora D. Characterisation of streptozotocin induced diabetes mellitus in Swiss albino mice. *Glob J Pharmacol*. 2009; 3: 81–4.
52. Beers MH, Berkow R. *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*. 17 th Edition, Philadelphia: Merk, 2002.

53. Aksu I, Baykara B, Kiray M et al. Serum IGF-1 levels correlate negatively to liver damage in diabetic rats. *Biotechnic & Histochemistry* 2013; 88: 194–201.
54. Yenigün M. Her Yönüyle Diabetes Mellitus, 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2001.
55. Srinivasan K, Ramarao P. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. *Indian J Med Res* 2007; 125: 451-472.
56. Van de Maele I, Rogier N, Daminet S. Retrospective study of owners' perception on home monitoring of blood glucose in diabetic dogs and cats. *Can Vet J* 2005; 46: 718-23.
57. Xu X, Liu C, Xu Z et.al. Long-term exposure to ambient fine particulate pollution induces insulin resistance and mitochondrial alteration in adipose tissue. *Toxicol Sci* 2011; 124: 88–98.
58. Hajizadeh MR, Eftekhari E, Zal F. Mulberry leaf extract attenuates oxidative stress-mediated testosterone depletion in streptozotocin-induced diabetic rats. *IJMS* 2014.
59. Abbasi Z, Tabatabaei SRF, Mazaheri Y, Barati F, Morovvati H. Effects of sesame oil on the reproductive parameters of diabetes mellitus-induced male rats. *World J Mens Health* 2013; 31(2): 141-149
60. Liu C, Bai Y, Xu X, Sun L, Wang A, Wang TY, Maurya SK. Exaggerated effects of particulate matter air pollution in genetic type II diabetes mellitus. Liu et al. *Particle and Fibre Toxicology* 2014; 11:27.
61. Kyathanahalli C, Bangalore S, Hanumanthappa K. Experimental diabetes-induced testicular damage in prepubertal rats. *Journal of Diabetes* 2014; 6: 48–59.
62. Öntürk H, Özbek H. Deneysel diyabet oluşturulması ve kan şekeri seviyesinin ölçülmesi. *Genel Tıp Derg* 2007; 17(4): 231-236.
63. Kanter M, Uysal H, Karaca T, Ozdemir Sagmangil H. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic β -cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats. *Arch Toxicol* 2006; 80(6): 362-9.
64. Trindade AA, Simões AC, Silva RJ, Macedo CS, Spadella CT. Long term evaluation of morphometric and ultrastructural changes of testes of alloxan-induced diabetic rats. *Acta Cir Bras* 2013; 28: 256-65.
65. Amaral S, Oliveira PJ, Ramalho-Santos J: Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr Diabetes Rev* 2008; 4(1): 46–54.
66. Schoeller EL, Schon S, Moley KH. The effects of type 1 diabetes on the hypothalamic, pituitary and testes axis. *Cell Tissue Res* 2012; 349: 839–47.
67. Navarro-Casado L, Juncos-Tobarra MA, Cháfer-Rudilla M, et.al. Effect of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity: Study in rats. *J Androl* 2010; 31: 584–92.
68. Cabadak H. Hücre siklusu ve kanser. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi* 2008; 9(3): 51-61.

69. HSDB (Hazardous Substances Data Bank), Online database produced by the National Library of Medicine, Streptozotocin, 2001.
70. Smith RJ (editors). Joslin's Diabetes Mellitus. 14 th ed. Boston: Lippincott William and Wilkins, 2005.
71. Szkuldelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas, *Physiol*, 2001.
72. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res* 2005; 51(2): 117-23.
73. Bolzan AD, Bianchi MS. Genotoxicity of streptozotocin. *Mutation Research* 2002; 512(2-3): 121-34.
74. Karimi J, Goodarzi MT, Tavilani H, Khodadadi I, Amiri I. Relationship between advanced glycation end products and increased lipid peroxidation in semen of diabetic men. *Diabetes Res Clin Pract* 2011; 91: 61-6.
75. Wei M, Ong L, Smith MT, et.al. The streptozotocin-diabetic rat as a model of the chronic complications of human diabetes. *Heart, Lung & Circulation* 2003; 12: 44-50.
76. Fidanol Z. Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanların Testis Dokularında P38 MAPK İmmünreaktivitesinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Edirne : Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Ensttüsü, 2012.
77. Arulselvan P, Subramanian SP. Beneficial effects of *Murraya koenigii* leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic β - cells in experimental diabetes in rats. *Chem Biol Interact* 2007; 165(2): 155-6.
78. Gazzaruso C, Coppola A, Giustina A. Erectile dysfunction and coronary artery disease in patients with diabetes. *Curr Diabetes Rev* 2011; 7: 143-7.
79. Kiyarifard D, Hassanzadeh S H, Sadrkhanlo R A, Farshid, A. Study of changes Structure seminiferouse tubule and hormone changes gonadotropin diabetic rats. *Medical J Med*, 2010; 22: 239-248.
80. Pino FR., Galiano DG., Lozano MM., Leon S. Effects and interactions of tachykinins and dynorphin on FSH and LH secretion in developing and adult rats. doi: 10.1210/en.2014-1026.
81. Shahreari SH, Khaki A, Ahmadi-Ashtiani HR, Hajiaghahi R. Rezazadeh SH. Effects of *Danae racemosa* on Testosterone Hormone in Experimental Diabetic Rats. *J Med Plants* 2010; 9: 114-119.
82. Orshan SA. *Maternity, Newborn and Woman's Health Nursing*. Philadelphia: Lippincott Williams And Wilkins A Wolters Kluwer Business, 2008.
83. Ulusal Aile Planlaması Hizmet Rehberi. İnfertilite Hizmetlerinin Düzenlenmesi. T.C. Sağlık Bakanlığı, Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü, Damla Matbaacılık, Reklamcılık Ve Yayıncılık Tic. Ltd. Şti., Ankara, 2000.

84. Esteves SC, Miyaoka R, Agarwal A. An update on the clinical assessment of the infertile male. *Clinics (Sao Paulo)* 2011; 66: 691 – 700.
85. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Jensen MS, Toft G, Bonde JP. Is smoking a risk factor for decreased semen quality: A cross-sectional analysis. *Hum Reprod* 2007; 22(1): 188-96.
86. Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA et al. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality *J Androl* 2006; 27(3): 450-2.
87. La Vignera S, Condorelli R, Vicari E, D'Agata R, Calogero AE. Diabetes mellitus and sperm parameters. *J Androl* 2012; 33: 145-53.
88. Alves MG, Martins AD, Cavaco JE, Socorro S, Oliveira PF. Diabetes, insulin-mediated glucose metabolism and Sertoli/blood-testis barrier function. *Tissue Barriers* 2013; 1: 1-13.
89. El Baba K, Azar ST. Low testosterone and diabetes. *Curr Diabetes Rev* 2013; 9: 418-21.
90. Mallidis C, Agbaje I, McClure N, Kliesch S. The influence of diabetes mellitus on male reproductive function: A poorly investigated aspect of male infertility. *Urologe A* 2011; 50: 33-7.
91. Armağan A, Uz E, Yılmaz HR, Soyupek S, Oksay T, Özçelik N. Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J Androl* 2006; 8: 595–60.
92. Ratajczak MZ, Machalinski B, Wojakowski W, Ratajczak J, Kucia M. A hypothesis for an embryonic origin of pluripotent Oct4 (+) stem cells in adult bone marrow and other tissues. *Leukemia* 2007; 21(5):860–867.
93. Sun C, Liu YK. Induced pluripotent cancer cells: progress and application. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137(1):26.
94. Agbaje IM, Rogers DA, Mcvicar CM, et al. Insulin dependent diabetes mellitus: implications for male reproductive function. *Hum Reprod* 2007; 22(7):1871-7.
95. Gomez O, Ballester B, Romero A, et al. Expression and regulation of insulin and the glucose transporter GLUT8 in the testes of diabetic rats. *Horm Metab Res* 2009; 41: 343-9.
96. Günöz H. Gonadlar ve hastalıkları. Neyzi O, Ertuğrul T (Editörler). *Pediyatri* 2. Cilt. 4. baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2010: 1621-1624.
97. Darendeliler F. Gelişme-Olgunlaşma: Neyzi O, Ertuğrul T (editors). *Pediyatri*. 4. Baskı. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 2010: 123-135.
98. Öcal G. Pubertal fizyoloji. Günöz H, Öcal G, Yordam N, Kurtoğlu S (Editörler). *Pediyatrik Endokrinoloji*. 1. Basım, Ankara: Pediyatrik Endokrinoloji ve Oksoloji Derneği Yayınları, 2003: 137-153.
99. Gaytan F. Kisspeptin receptor haplo-insufficiency causes premature ovarian failure in spite of preserved gonadotropin secretion. *Endocrinology* 2014; 1110.

100. Cejudo Roman A. Analysis of the expression of neurokinin B, kisspeptin, and their cognate receptors NK3R and KISS1R in the human female genital tract. *Fertil Steril*. 2012; 97(5): 1213–1219.
101. Herbison AE. Genetics of puberty. *Horm Res* 2007; 68: 75-79.
102. Ebling FJ. The neuroendocrine timing of puberty. *Reproduction* 2005; 129: 675-683.
103. Hameed J, Jayasena CN, Dhillon WS. Kisspeptin and fertility. *Journal of Endocrinology* 2011; 208: 97–105.
104. Tena-Sempere M. GPR54 and kisspeptin in reproduction. *Human Reproduction Update* 2006; 12: 631-639.
105. Thompson EL, Murphy KG, Patterson M, et al. Chronic subcutaneous administration of kisspeptin-54 causes testicular degeneration in adult male rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291: 1074–1082.
106. Kotani M, Detheux M, Vandenberghe A, et al. The metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes kisspeptins, the natural ligands of the orphan G protein-coupled receptor GPR54. *J Biol Chem*. 2001; 276: 34631–34636.
107. Lee JH, Miele ME, Hicks DJ, et al. KiSS-1, a novel human malignant melanoma metastasis suppressor gene. *J Natl Cancer Inst* 1996; 88: 1731–1737.
108. Chan YM, Butler JP, Pinnell NE, et al. Kisspeptin resets the hypothalamic GnRH clock in men. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;6: 908–915.
109. Jyothis T, Seminara SB. Kisspeptin and the hypothalamic control of reproduction: lessons from the human. *Endocrinology* 2012; 153: 5130-5136.
110. Okamura H, Tsukamura H, Ohkura S, Uenoyama Y, Wakabayashi Y. Kisspeptin and GnRH pulse generation. *Adv Exp Med Biol* 2013; 784: 297-323.
111. Roa J, Navarro VM, Tena-Sempere M. Kisspeptins in reproductive biology: consensus knowledge and recent developments. *Biol Reprod* 2011; 85: 650 – 660.
112. Ohtaki T, Shintani Y, Honda S, et al. Metastasis suppressor gene KiSS-1 encodes peptide ligand of a G-protein-coupled receptor. *Nature* 2001; 411: 613-617.
113. Roseweir AK, Millar RP. The role of kisspeptin in the control of gonadotrophin secretion. *Hum Reprod Update* 2009; 15: 203-212.
114. Pinilla L, Aguilar E, Dieguez C, Millar RP, Tena-Sempere M. Kisspeptins and reproduction: physiological roles and regulatory mechanisms. *Physiol Rev* 2012; 3: 1235–1316.
115. Kuohung W, Kaiser UB. GPR54 and KiSS-1: role in the regulation of puberty and reproduction. *Rev Endocr Metab Disord* 2006; 7: 257-263.
116. Hofmann HA. Gonadotropin-releasing hormone signaling in behavioral plasticity. *Curr Opin Neurobiol* 2006; 16: 343-350.
117. Messenger S, Chatzidaki EE, Ma D, et al. Kisspeptin directly stimulates gonadotropin-releasing hormone release via G protein-coupled receptor 54. 2005; 102: 1761-1766.

118. Reynolds RM, Logie JJ, Roseweir AK, McKnight AJ, Millar RP. A role for kisspeptins in pregnancy: facts and speculations. *Reproduction* 2009; 138: 1-7.
119. Skorupskaite K, George JT, Anderson RA. The kisspeptin-GnRH pathway in human reproductive health and disease. *Human Reproduction Update*, 2014; 20: 485–500.
120. George JT, Millar RP, Anderson RA. Hypothesis: kisspeptin mediates male hypogonadism in obesity and type 2 diabetes. *Neuroendocrinology* 2010; 4: 302–307.
121. Chan YM, Butler JP, Sidhoum VF, Pinnell NE, Seminara SB. Kisspeptin administration to women: a window into endogenous kisspeptin secretion and GnRH responsiveness across the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 8: 1458–1467.
122. George JT, Veldhuis JD, Tena-Sempere M, Millar RP, Anderson RA. Exploring the pathophysiology of hypogonadism in men with type 2 diabetes: kisspeptin-10 stimulates serum testosterone and LH secretion in men with type 2 diabetes and mild biochemical hypogonadism. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013; 1: 100–104.
123. Young-Jun Rhie. Kisspeptin/G protein-coupled receptor-54 system as an essential gatekeeper of pubertal development. *Ann Pediatr Endocrinol Metab* 2013; 18: 55-59.
124. Clifton DK, Popa SM, Steiner RA. The Role of Kisspeptins and GPR54 in the Neuroendocrine Regulation of Reproduction. *Annu Rev Physiol*. 2008; 70: 213–38.
125. Hrabovszky E, Ciofi P, Vida B, et al. The kisspeptin system of the human hypothalamus: sexual dimorphism and relationship with gonadotropin-releasing hormone and neurokinin B neurons. *Eur J Neurosci* 2010; 11: 1984–1998.
126. Popa SM, Clifton DK, Steiner RA. The role of Kisspeptin and GPR54 in the neuroendocrine regulation of reproduction. *Annu. Rev. Physiol* 2008; 70: 213-238.
127. Smith JT, Dungan HM, Stoll EA, Gottsch ML, Braun RE. Differential regulation of KiSS-1 mRNA expression by sex steroids in the brain of the male mouse. *Endocrinology* 2005; 146: 2976-2984.
128. Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, Castellano JM. Advanced vaginal opening and precocious activation of the reproductive axis by Kiss-1 peptide, the endogenous ligand of GPR54. *J Physiol* 2004; 561: 379-386.
129. Irwiga MS, Fraleyb GS, Smithb JT, et al. kisspeptin activation of gonadotropin releasing hormone neurons and regulation of KiSS-1 mRNA in the male rat. *Neuroendocrinology* 2004; 80: 264–27.
130. Navarro VM, Castellano JM, Fernandez-Fernandez R, et al. Developmental and hormonally regulated Messenger ribonucleic acid expression of KiSS-1 and its putative receptor, GPR54, in rat hypothalamus and potent luteinizing hormone-releasing activity of KiSS-1 peptide. *Endocrinology* 2004; 145: 4565-4574.
131. Han SK, Gottsch ML, Lee KJ, et al. Activation of gonadotropin-releasing hormone neurons by kisspeptin as a neuroendocrine switch for the onset of puberty. *J. Neurosci*. 2005; 25: 11349–56.

132. Navarro VM, Castellano JM, Fernandez-Fernandez R, et al. Effects of KiSS-1 peptide, the natural ligand of GPR54, on follicle-stimulating hormone secretion in the rat. *Endocrinology* 2005; 146: 1689–97.
133. Kotani M, Katagiri F, Hirai T, Kagawa J. Plasma kisspeptin levels in male cases with hypogonadism. *Endocrine Journal* 2014; 61 (11): 1137-1140.
134. Smith JT, Clifton DK, Steiner RA. Regulation of the neuroendocrine reproductive axis by kisspeptin-GPR54 signaling. *Reproduction* 2006; 131 (4): 623-30.
135. Meczekalski B, Podfigurna-Stopa A, Genazzani AR. Why kisspeptin is such important for reproduction. *Gynecological Endocrinology* 2010; 1: 1-6.
136. Thompson EL, Amber V, Stamp GW, et al. Kisspeptin-54 at high doses acutely induces testicular degeneration in adult male rats via central mechanisms. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 609–25.
137. Gottsch ML, Cunningham MJ, Smith JT, et al. A role for kisspeptins in the regulation of gonadotropin secretion in the Mouse. *Endocrinology* 2004; 145: 4073–7.
138. Matsui H, Takatsu Y, Kumano S, Matsumoto H, Ohtaki T. Peripheral administration of metastin induces marked gonadotropin release and ovulation in the rat. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320: 383–388.
139. Shahab M, Mastronardi C, Seminara SB, et al. Increased hypothalamic GPR54 signaling: a potential mechanism for initiation of puberty in primates. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; 102: 2129–34.
140. Ramzan F, Qureshi IZ. Intraperitoneal kisspeptin-10 administration induces dose-dependent degenerative changes in maturing rat testes. *Life Sci* 2011; 88: 246 – 256
141. Ramzan F, Qureshi IZ, Ramzan M, Ramzan MH. Immature rat seminal vesicles show histomorphological and ultrastructural alterations following treatment with kisspeptin-10. *Reprod Biol Endocrinol* 2012; 10: 18
142. Ramzan F, Qureshi IZ, Ramzan M, Ramzan MH. Kisspeptin-10 induces dose dependent degeneration in prepubertal rat prostate gland. *Prostate* 2013; 73: 690 – 699.
143. Rhie YJ, Lee KH, Eun SH, et al. Serum kisspeptin levels in korean girls with central precocious puberty. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 927 – 931.
144. Dhillon WS, Chaudhri OB, Patterson M, et al. Kisspeptin-54 stimulates the hypothalamic-pituitary gonadal axis in human males. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90: 6609 – 6615.
145. Öztin H. Hipogonadotropik hipogonadizimli erkek hastalarda kisspeptin düzeyleri ve glukoz-insulin dinamiği ilişkisi. *Tıpta Uzmanlık, Ankara: GATA / Haydarpaşa Eğitim Hastanesi/İç Hastalıkları Anabilim Dalı, 2012*
146. Castellano JM, Navarro VM, Fernandez-Fernandez R, et al. Changes in hypothalamic KiSS-1 system and restoration of pubertal activation of the reproductive axis by kisspeptin in undernutrition. *Endocrinology* 2005; 146: 3917–3925.

147. Dhillon WS, Chaudhri OB, Thompson EL, et al. Kisspeptin-54 stimulates gonadotropin release most potently during the preovulatory phase of the menstrual cycle in women. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92: 3958–3966.
148. Caraty A, Smith JT, Lomet D, et al. Kisspeptin synchronizes preovulatory surges in cyclical ewes and causes ovulation in seasonally acyclic ewes. *Endocrinology* 2007; 148: 5258–67.
149. Ramzan MH, Ramzan M, Wahab FRF. Insight into the Serum Kisspeptin Levels in Infertile Males. *Arch Iran Med* 2015; 18(1): 12 – 17.
150. Silvestre RA, Egido EM, Hernandez R, Marco J. Kisspeptin-13 inhibits insulin secretion without affecting glucagon or somatostatin release: study in the perfused rat pancreas. *J Endocrinol* 2008; 196: 283-290.
151. Bowe JE, King AJ, Kinsey-Jones JS, et al. Kisspeptin stimulation of insulin secretion: mechanisms of action in mouse islets and rats. *Diabetologia* 2009; 52: 855-862.
152. Colledge WH. Kisspeptins and GnRH neuronal signalling. *Trends Endocrinol Metab* 2009; 20: 115-121.
153. Liu X, Lee K, Herbison AE. Kisspeptin excites gonadotropin-releasing hormone neurons through a phospholipase C/calcium-dependent pathway regulating multiple ion channels. *Endocrinology* 2008; 149: 4605-4614.
154. Steven L. Young. A “kiss” before conception: triggering ovulation with kisspeptin-54 may improve IVF. *J Clin Invest* 2014; 124(8): 3277–3278.
155. <http://www.cdc.gov/art/ART2011>. 25.06.2014.
156. Van Der Linden M, Buckingham K, Farquhar C, Kremer JA, Metwally M. Luteal phase support for assisted reproduction cycles. *Cochrane Database Syst* 2011; (10): CD009154.
157. Millar RP, Newton CL. Current and future applications of GnRH, kisspeptin and neurokinin B analogues. *Nat Rev Endocrinol* 2013; 9(8): 451–466.
158. http://www.bbc.co.uk/turkce/haberler/_daha_guvenli_tup_bebek, 18.06. 2013
159. American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2011; 34 (Suppl 1): 62-9.
160. Melendez-Ramirez LY, Richards RJ, Cefalu WT. Complications of type 1 diabetes. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010; 39: 625-40.
161. Hussein Z, Al-Qaisi J. Effect of diabetes mellitus type 2 on pituitary gland hormones (FSH, LH) in men and women in Iraq. *J Al- Nahrain Uni Sci* 2012; 15: 57-79.
162. Rezvani MR, Saadatjoo SA, Sorouri S, Fard MH. Comparison of serum free testosterone, luteinizing hormone and follicle stimulating hormone levels in diabetics and non-diabetics men- a case-control study. *J Res in Health Sci* 2012; 12: 98-100.
163. Mangoli E, Talebi AR, Anvari M, Pouretezari M. Effects of experimentally- induced diabetes on sperm parameters and chromatin quality in mice. *Iran J Reprod Med* 2013; 11: 53-60.

164. Salama N. Sexual dysfunctions as self-reported by diabetic- type-2 men: An andrology clinic-based study in Alexandria, Egypt. *American J Med Biol Res* 2013; 1: 350-7.
165. Owiredu WK, Amidu N, Alidu H, Sarpong C, Gyasi-Sarpong CK. Determinants of sexual dysfunction among clinically diagnosed diabetic patients. *Reprod Biol Endocrinol* 2011; 9: 70.
166. Mohasseb M, Ebied S, Yehia MAH, Hussein N. Testicular oxidative damage and role of combined antioxidant supplementation in experimental diabetic rats. *J Physiol Biochem* 2011; 67: 185-94.
167. Burul-Bozkurt N, Pekiner C, Kelicen P. Diabetes alters aromatase enzyme levels in gonadal tissues of rats. *Naunyn-Schmied Arch Pharmacol* 2010; 382: 33-41.
168. Porto EM, Dos Santos SA, Ribeiro LM, et al. Lobe variation effects of experimental diabetes and insulin replacement on rat prostate. *Microsc Res Tech* 2011; 74: 1040-8.
169. Pontes DA, Fernandes GS, Piffer RC, Gerardin DC, Pereira OC, Kempinas WG. Ejaculatory dysfunction in streptozotocin induced diabetic rats: the role of testosterone. *Pharmacol Rep* 2011; 63: 130-8.
170. Arikawe AP, Daramolab AO, Udenzec IC, Akinwolerea MF, Olatunji- Bellod II, Obikae LF. Comparison of streptozotocin-induced diabetic and insulin resistant effects on spermatogenesis with proliferating cell nuclear antigen (PCNA) immunostaining of adult rat testis. *J Exp Clin Med* 2012; 29: 209-14.
171. Bondarenko LB, Shayakhmetova GM, Matvienko AV, Kovalenko VM. Diabetes-mediated changes in rat type i collagen and spermatogenesis indices. *Rom J Diabetes Nutr Metab Dis* 2012; 19: 245-54.
172. Kianifard D, Sadrkhanlou RA, Hasanzadeh S. The ultrastructural changes of the sertoli and leydig cells following streptozotocin induced diabetes. *Iran J Basic Med Sci* 2012; 15: 623-35.
173. Min L, Soltis K, Reis AC, Xu S, Kuohung W, Jain M, Carroll RS, Kaiser UB. Dynamic kisspeptin receptor trafficking modulates kisspeptin-mediated calcium signaling. *Mol Endocrinol* 2014;1:16–27.

ÖZGEÇMİŞ

25.09.1990 yılında Elazığ'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Keban Baraj İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimimi Keban Çok Programlı Lisesi'nde üçüncü olarak tamamladım. 2008 yılında Fırat Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü kazandım. 2011-2012 yılları arasında Pedagojik Formasyon Eğitimi aldım. 2012 yılında bölümümden mezun oldum. 2012-2013 bahar döneminde Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji (Tıp) Programı'nda yüksek lisans öğrenimime başladım. 2009 yılından itibaren muhabir olarak görev yapmaktayım. Yabancı dilim İngilizcedir.