

T.C.
SELÇUK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

**RATLARDA TEK TARAFLI SÜRRENALEKTOMİ, KASTRASYON VE
TESTOSTERON UYGULAMASININ LEPTİN SALINIMINA ETKİSİ**

DOKTORA TEZİ

AYLİN (KUL) ÜSTÜN

Danışman

Doç. Dr. Abdülkerim Kasım BALTACI

KONYA-2007

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİ.....	3
2.1. Leptin	3
2.1.1. Leptin Reseptörleri	3
2.1.2. Leptinin Etki Mekanizması.....	4
2.1.3. Leptin Serbestlenmesi.....	4
2.2. Leptinin Fizyolojik Fonksiyonlar Üzerine Etkisi.....	5
2.2.1. Leptinin Kalsiyum ve Kemik Metabolizması ile İlişkisi.....	5
2.2.2. Leptin ve Bağışıklık Sistem.....	11
2.2.3. Leptinin Beslenme Davranışı Üzerine Etkisi.....	15
2.2.4. Leptinin Üreme Sistemi Üzerine Etkisi.....	18
3. MATERYAL ve METOT.....	25
4. BULGULAR.....	30
5. TARTIŞMA ve SONUÇ.....	33
6. ÖZET.....	38
7. SUMMARY.....	40
8. KAYNAKLAR.....	42
9. ÖZGEÇMİŞ.....	54

1.GİRİŞ

Leptin, Zhang ve ark (1994) tarafından tanımlandıktan sonra üzerinde geniş incelemeler yapılan obezite geninin 167 aminoasitli hormonal protein ürünüdür. Başlangıçta doygunluk ve enerji dengesi ile ilgili olduğu tanımlanan leptinin adipositlerden hipotalamusa feedback etki ile antiobezite faktörü olduğu ileri sürülmüştür. Artan kanıtlar, hem hayvanlarda hem de insanlarda vücut ağırlığı ve yiyecek alışı düzenlenmesinde çok önemli bir hormon olan leptinin önemini vurgulamaktadır (Trayhurn ve ark 1999). Diğer araştırma sonuçlarına göre leptin metabolizmanın düzenlenmesinde (Kamohara ve ark 1997), cinsel gelişmede (Mantzoros ve ark 1997), üremede (Chehab ve ark 1996), hematopoiesizde (Gainsford ve ark 1996), immünitede (Lord ve ark 1998), gastrointestinal fonksiyonlarda (Bado ve ark 1998), sempatik aktivasyonda (Collins ve ark 1996) ve anjiogenezde (Sierra-Honinmann ve ark 1998) rol oynamaktadır.

Yağ hücreleri tarafından üretilen ve vücudun enerji dengesinin düzenlenmesinde temel bir rol oynayan leptin hormonunun üreme sistemi üzerinde de önemli etkilere sahip olabileceği ileri sürülmektedir (Barash ve ark 1996). Üreme sistemi ile olan bağlantılarını inceleyen ilk çalışmalar leptin eksikliği olan ob/ob farelerdeki çalışmalardır. Bu fareler seksüel olgunluğa erişemezler ve infertildirler. Üreme ve gonadotropin hormon seviyeleri de düşüktür. Fakat leptin uygulaması sterilitiyi ortadan kaldırır. Durum insanlarda da benzerlik gösterir (Wada ve ark 1986). Hipotalamus hipofiz üreme eksenindeki leptin reseptörlerinin lokalizasyonu leptinin üreme sisteminde önemli bir nöroendokrin rolünün olabileceğini gösterir (Darrel ve ark 2002). Sıçan testislerinde ve leydig hücrelerinde leptin reseptörlerinin tanımlanması bu hormon ile erkek üreme sistemi arasında muhtemel ilişkinin delilidir (Caprio ve ark 1999). Leptinin GnRH, LH ve FSH salınımını uyararak hem erkek, hem de dişilerde puberteyi başlatan güçlü sinyaller

oluşturduğuna dikkat çekilmektedir (Yu ve ark 1997). Ancak leptin düzeyleri yönünden cinsiyetler arasında farklılıklar söz konusudur. Erkeklerde leptin seviyesi çocukluk döneminde başlayıp pubertenin erken safhasında en yüksek seviyeye ulaşırken daha sonra azalmaktadır ve sonuçta leptin seviyeleri dişilerde erkeklere göre 3-4 kat daha yüksek bulunmaktadır (Blum ve ark 1997; Isidori ve ark 2000). Puberteden sonra serum testosteron ve testis hacmi leptin seviyesi ile ters ilişkilidir (Blum ve ark 1997). Genç erkeklerde eksojen testosteron uygulamasının plazma leptin düzeylerinde önemli bir azalmayla sonuçlandığı bildirilirken (Luukkaa ve ark 1998), bir başka çalışmada leptinin sağlıklı erkeklerde testosteron salınımını baskıladığı, ancak testosteronun serum leptin düzeyleri üzerinde belirleyici bir faktör olmadığı ileri sürülmektedir (Van Den Saffele ve ark1999). Sonuç olarak gerçekleştirilen araştırmaların sonuçları çelişkili olmakla beraber, leptin ile erkek üreme sistemi arasındaki bir ilişkinin varlığı bilinmektedir.

Ratlarda tek taraflı sürrenalektomi, kastrasyon ve testosteron uygulamasının leptin salınımı üzerindeki etkilerini ortaya koyabilmek amacıyla gerçekleştirilen bu çalışma konuyla ilgili bilinenlere de katkı sağlayabilecektir.

2. LİTERATÜR BİLGİ

2.1. Leptin

Leptin, adipoz doku tarafından sentezlenen ve serbestlenen yakın zamanda tanımlanmış protein yapılı bir hormondur (Funahashi ve ark 1999, Haynes ve ark 1997, Kaplan 1998, Tritos ve ark 1997).

Adipoz dokunun bir hormon salgılayarak vücut ağırlığını kontrol edebileceği fikri ilk olarak 1953 yılında ortaya atılmış ve lipostatik teori adını almıştır (Tritos ve ark 1997).

Yaklaşık 20 yıl sonra, normal ve genetik olarak obez fareler kullanılarak yapılan parabiozis deneylerinde lipostatik teoriyi destekleyen sonuçlar elde edilmiş ve hormonal bir faktörün iştah sinyali olarak etki edebileceği öne sürülmüştür (Considine ve Caro 1997, Schwartz ve Seeley 1997, Tritos ve ark 1997).

1994 yılında Friedman grubundan Zhang ve arkadaşları (1994) sıçanlarda yaptıkları pozisyonel klonlama yöntemi ile şişmanlık genini ve bu genin 167 aminoasitten oluşan ürününü leptin hormonu olarak tanımlamışlardır (Haynes ve ark 1997, Kaplan 1998, Tritos ve ark 1997).

Leptin fare ve insan plazmasında 16 kDA'luk moleküler ağırlığa sahip bir protein olarak dolaşır (Meister 2000).

Leptin, Yunanca zayıf anlamına gelen leptos kelimesinden türetilmiştir.

2.1.1 Leptin Reseptörleri

Leptin reseptörleri (Ob-R) klas I sitokin reseptör familyasının bir üyesidir (Frühbeck ve ark 1998).

I¹²⁵ –leptin bağlayan bölgelerin gösterilmesinden sonra leptin reseptörleri ekspresyon klonlaması kullanılarak ilk olarak fare koroid pleksusundan izole edilmiştir (Meister 2000).

Ob-Ra, Ob-Rb, Ob-Rc, Ob-Re ve Ob-Rf olmak üzere altı varyantı bulunmaktadır(Haynes

ve ark 1997).

Leptin metabolik etkilerinin çoğunu merkezi sinir sisteminde ve periferik dokularda (akciğer, böbrek, karaciğer, pankreas, adrenal bezler, overler, hematopoiyetik hücreler) bulunan spesifik reseptörlerle etkileşerek gösterir (Tekler ve ark 2002).

Leptin reseptörleri, beyin hipotalamus bölgesindeki arkuat nükleus (ARN), ventromedial nükleus (VMN), paraventriküler nükleus (PVN), lateral hipotalamik nükleus (LHA), ventral premamiller nükleus ve dorsomedial nükleusda (DMN) bulunmaktadır (Haynes ve ark 1997).

2.1.2. Leptinin Etki Mekanizması

Leptin kan-beyin bariyerinin konsantrasyon gradyentine göre geçerek hipotalamusa etki eder. Leptin reseptöre bağlandıktan sonra Janus Kinase'ı (JAK) aktive eder. Leptin reseptörlerinin hücre dışı membran içi ve intra sitoplazmik bölümleri vardır. Leptin reseptörü hücre dışı parçasına bağlandıktan sonra, reseptörün sitoplazmik kısmına tirozin fosforilasyonu oluşur. Fosfotirozini "signal ve transkripsiyon aktivatörü " (STAT) 3, 5 ve 6 proteinlerine bağlanır. Bu proteinler dimer halinde reseptörlerden ayrılarak nükleusa girerler ve hedef gendeki DNA'da "STAT responsive elements" bölgesinde transkripsiyonu başlatırlar. STAT'ın aktivasyonu leptin dozuna bağlıdır. Leptin reseptörleri ile nörotransmitter /nöromodulator ürünleri yapan golgi aparatı nöron içinde birbirine çok yakındır. Leptinin bu ürünler vasıtası ile etkisini gösterdiği ileri sürülmektedir (Früchbeck ve ark 1998).

2.1.3. Leptin Serbestlenmesi

Leptin, hipotalamusta bulunan özel reseptörlerinden aldığı sinyal sonrasında beyaz yağ dokusundan üretilmesine karşılık çok az miktarda da kahverengi yağ dokusundan üretilmektedir (Auwerx ve Steals 1998).

Yağ hücresinden leptinin salgılanması β -3 adrenerjik reseptör aracılığıyla olur, β -3 adrenerjik reseptör agonistinin leptin mRNA yapımını azalttığı gösterilmiştir (Prolo ve ark 1998).

Leptin diurnal ve ultradiyan bir ritme sahip olup (Rexfor ve Jeffery 2000) yaklaşık olarak 30 dakikada dalga şekline pulsatil bir salgılanma gösterir. Serum leptin seviyesi gece yarısı ve sabahın erken saatlerinde en yüksek, öğle saatlerine yakın zamanda öğle sonrası ortalarına kadar en düşük düzeyde seyrederek (Frühbeck ve ark 1998).

Leptin seviyesi yağ dokusu kitlesi ile pozitif olarak ilişkilidir. Obez insanlar daha yüksek leptin mRNA'sına ve plazma leptin seviyelerine sahiptirler. Buna karşılık açlık süresince leptin seviyeleri hızla düşer (Meister 2000). Üretilen leptin kanla taşınır ve beyin üzerinde direkt etki gösterir (Funahashi ve ark1999). İnsanlarda leptinin yarılanma ömrü 24.9 ± 4.4 dakikadır (Prolo ve ark 1998).

2.2. Leptinin Fizyolojik Fonksiyonlar Üzerine Etkisi

2.2.1. Leptinin Kalsiyum ve Kemik Metabolizması ile İlişkisi

Çeşitli kanıtlara göre, kemiklerin yeniden oluşumu ve buna bağlı olarak iskelet homeostazisi, endokrin ve/veya humoral faktörler tarafından yönetilmektedir (Doğruel 2003, Riggs ve Melton 1986). Antropometrik ve metabolik faktörler arasında vücut ağırlığı kemik yoğunluğunun temel belirleyicisidir (Mazess ve ark 1987). Obezlerde, obezite oluşumu yıllarında daha fazla kemik oluşmaktadır ve yaşamın daha sonraki dönemlerinde kemik kaybı oranı daha yavaştır (Tremolieres ve ark 1993). Bu etkiler, kas kitlesinden çok yağ kitlesi ile ilgili görünmektedir (Reid ve ark 1992). Bu güne kadar obezitenin koruyucu etkisi oldukça şaşırtıcıdır ve adrenal androgenlerin periferik yağ dokusunda estrogenlere dönüşmesi veya mekanik yüklenme faktörleri ile açıklanabilir. Ancak bu iki mekanik model obezite ve artan kemik mineral yoğunluğu arasındaki ilişkiyi tam olarak açıklamamaktadır. Çünkü yağ kitlesi ve kemik yoğunluğu arasında, östrojen durumu ayarlandıktan sonra da bir bağ bulunmaktadır (Doğruel 2003, Reid ve ark 1992) ve bu ilişki hem kilo alınan hem de kilo artışı olmayan bölgelerde eşit

derecede varlığını sürdürmektedir. (Hıa ve ark 1996) Leptin, vücut yağları ile pozitif olarak bağlantılı olduğundan ve reproduktif hormonal regülasyonuna katıldığından dolayı, iskelet fiziolojisindeki rolünün tanımlanması giderek daha fazla ilgi çekmektedir.

Thomas ve ark (2001) insan kemik iliği hücreleri hM52-12 hücreleri üzerinde insan rekombinant leptinin rolünü incelemiştir. Bu hücre grubu osteoblast veya adipoz fenotipi olarak farklılaşma potansiyeline sahiptir (Doğruel 2003). Stromal (bağ dokusu) hücrelere leptin uygulanması mRNA ve leptin reseptörü için protein oluşması, ayrıca adiposit fenotipe karşı seçici osteoblast farklılaşmasında artış şeklinde sonuçlanmıştır. hMS2-12 hücrelerinde yer alan erken yanıt geni cbfa1'in (Komori ve ark 1997) bulunmaması ve alkalen fosfataz ile osteokalsin varlığı nedeniyle farklılaşmanın olgunlaşma evresinde gerçekleştiği sonucu çıkarılmıştır. Özet olarak Holloway ve ark (2002)'nin bulgularına göre leptin, kemik üzerinde kültürlerde insan mononükleer hücrelerinin osteoklastogenezisini önleyebilmektedir.

Reseland ve ark (2001)'nin bulgularına göre, kültür içinde izole edilmiş insan osteoblastları, hem leptin hem de leptin reseptörü üretebilmektedir. Bu bulgu tek bir nokta zaman ile sınırlıdır ve leptin oluşumu osteoblast farklılaşmasındaki mineralizasyon ve/veya osteosit geçişi süresi ile kısıtlanabildiği ileri sürülmüştür.

Deneylerden elde edilen ilk kanıtlara göre, leptin, osteoblastları kendiliğinden uyarma ve osteoklast farklılaşmasını önleme kapasitesine sahip bir hormondur. Bu bulguların toplanması sonucunda leptin, anabolik ve iskelet koruyucu fonksiyonlarını doğrudan etkileme potansiyeline sahip olabilir. Obezite ve kemik mineral dansitesi arasında bir bağ olduğu için, leptinin vücut kompozisyonu ve kemik mineral dansite arasındaki dengeyi yönettiği ileri sürülebilir (Doğruel 2003).

Hayvanlar üzerinde yapılan ilk deney sonuçlarından elde edilen kanıtlara göre, leptin,

kemirgen iskeletleri üzerinde potansiyel bir yönetim oluşturmaktadır. Bu verilere göre, leptin aksiyonu yaş ve tür farklarına, uygulamanın zamanlama ve yöntemine bağlıdır. Leptin periferal olarak uygulandığında anabolik ve/veya iskelet koruyucu olarak görünmektedir; ancak santral uygulamada negatif etkiler ortaya çıkmaktadır. Bu nedenle, kemik üzerindeki net sonuç, serum leptin konsantrasyonu ve kan-beyin bariyer geçirgenliğine bağlı olarak, pozitif periferal ve negatif santral etkilerin kombinasyonuna sekonder olabilir. Leptinin etkileri diğer hormonların varlığına bağlı görünmektedir; iskelet üzerindeki etkilerin belirlenmesi için, leptin-hormon etkileşmelerinin de detaylı olarak belirlenmesi gereklidir (Doğruel 2003).

Kanıtlara göre, leptin insan fetal gelişme sürecinde önemli bir büyüme faktörü olabilir. Göbek kordonu kan leptin konsantrasyonu ve yenidoğan bebeklerin ağırlığı, vücut kitle indeksi (BMI) ve koldaki yağ (derialtı yağ dokusu kalınlığı) arasında pozitif bir korelasyon saptanmıştır (Hassink ve ark 1997.) Fetal leptin konsantrasyonunun temel belirleyicisi yağ kütlesi birikimidir. Ogueh ve ark (2000)'ı fetal kan leptin düzeylerini, tip I pro-kollagenin (PICP, kemik formasyonunun bir markerı) karboksi-uçlu talopeptid ve tip I kollagenin (ICTP, kemik rezorbsiyonunun markerı) düzeylerini ölçmüştür. Sonuçlara göre, leptin konsantrasyonu ve gebelik yaşı arasında pozitif bir korelasyon ($r=0.240$, $p=0.042$) ve ICTP ile negatif bir korelasyon ($r=0.420$, $p=0.001$) vardır. Leptin konsantrasyonu ve ICTP arasındaki korelasyon sonucuna göre, leptin, net bir şekilde kemik kütlesini artırarak, kemik rezorbsiyonunu azaltabilmektedir (Doğruel 2003).

Çocuklarda leptin konsantrasyonları ve adipozite arasında pozitif bir korelasyon vardır (Hassink ve ark 1996) ve bu çocuklarda, puberte dönemi, normal ağırlıktaki çocuklara göre daha erken başlamaktadır. Buna ek olarak obeziteden bağımsız olarak, hem normal kilodaki hem de obez çocuklarda, gelişmenin ilerlemeyen Tanner evrelerinde leptin konsantrasyonlarının azaldığı

görülmektedir (Hassink ve ark 1996). Buna bağlı olarak postpubertal döneme oranla prepubertal dönemdeki leptin konsantrasyonlarının daha yüksek olması, daha hızlı büyüme ve gelişme için bir düzenlenme mekanizmasını yansıtabilir. Matkovic ve ark (1997)'ı büyümenin zirve düzeyine ulaştığı 343 sağlıklı beyaz genç kız üzerinde leptin ve kemik kütlesi arasındaki ilişkiyi değerlendirmiştir. Elde edilen sonuçlar, serum leptin ve toplam vücut bone mineral density = kemik mineral yoğunluğu (BMD) arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermektedir ($r=0.307$, $p<0.0001$). Leptin, kemik mineral içeriği üzerinde herhangi bir etki göstermemiştir. Klein ve ark (1998)'nın bulgularına göre, 30 normal kilolu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, yüksek leptin düzeylerine sahip 18 obez çocuğun kemik yoğunluğunda fark yoktur. Ancak obez çocukların, aynı pubertal evredeki obez olmayan çocuklara göre kemik yaşları, kronolojik yaşlarına göre daha büyüktür. Bu araştırmalarda kemik dönüşümünün biyokimyasal ölçümleri elde edilmediği için, kemik morfolojisi veya olgunlaşmasındaki belirtilen değişikliklere neden olan iskelet modelinin oluşturulması ve/veya yeniden yapılanması spesifik mekanizmaları açıklanmamıştır (Doğruel 2003).

Erken puberte, sekonder cinsiyet karakterlerinin hızlı gelişmesi ile karakterize hızlı fiziksel olgunlaşma olarak tanımlanır. Düşük doğum ağırlığı, büyümenin sonradan yakalanması çeşitli metabolik ve hormonal anormalliklerle birlikte olmaktadır (Ibanez ve ark 1999). Bu hormon bozukluklarından ikisi, hiperinsulinemi ve hiperandrojenizimdir; her ikisinde de yaşamın ilerleyen yıllarında BMD artışı gözlenmektedir. Ibanez ve ark (2000)'nın bulgularına göre, erken puberte görülen 52 normal kilolu kızdaki oluşan bir denek grubunda (yaş sınırı 6.9-14.9 yıl) BMI derecelerine göre leptin düzeyleri daha yüksektir. Bu deneklerde lumbal vertebra BMD'sinde artış görülmüştür. ($r=0.42$, $p<0.05$) ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, kemik yaşları, kronolojik yaşlarından büyüktür. Bu sonuçlara göre leptin düzeyleri, belli koşullarda, obeziteye

bağlı olmadan yüksek olabilir ve belki de, diğer endokrin faktörler arasındaki etkileşime bağlı olabilir. Ancak bu deneklerin kontrol grubu ile karşılaştırılmasında BMI kullanılmadığı için, bu bulgulara dayanılarak kesin bir sonuç çıkarılamaz (Doğruel 2003).

Leptin eksikliği görülen 9 yaşındaki bir kız üzerinde Farrooqi ve ark (1999)'ı tarafından yapılan detaylı bir araştırma, leptinin iskelet fizyolojisi gelişimi üzerindeki rolü hakkında ek bilgiler sağlamıştır. Özet olarak; hasta normal doğum ağırlığına sahiptir; ancak belirgin bir hiperfaji söz konusudur ve ilk dört ayda aşırı kilo almaya başlamıştır. Obeziteye bağlı olarak, bacaklarda valgus bozuklukları gelişmiştir. Hastaya yan tibial osteotomi uygulanmıştır. Hasta 9 yaşında vücut ağırlığı 94.4 kg'a ulaştığında (yaşa göre > 99.9 uncu persentil) günlük leptin enjeksiyonu ile tedavi başlatılmıştır. Leptin dozajı, çocuğun önceden tahmin edilen normal serum leptin konsantrasyonunun % 10'una eşittir (Doğruel 2003).

Hasta, tedavinin başlanmasından sonraki 2 hafta içinde kilo kaybetmeye başlamıştır ve 12 aylık tedavi periyodunda kilo kaybı devam etmiştir. Bu sürede hasta, % 95'i adipozite olduğu düşünülen toplam 16.4 kg kaybetmiştir. Kilo kaybına rağmen, kemik mineral kütlesi 0.15 kg artmıştır. Kemik kütlesindeki artış çeşitli faktörlere bağlı olsa da, deri altı leptin uygulanması, azalan vücut ağırlığı, adipozite ve azalan yiyecek tüketimine rağmen, kemik kütlesini korumakta ve/veya potansiyel olarak arttırmaktadır (Doğruel 2003).

. Leptinin, insan iskelet gelişimi üzerindeki rolünü inceleyen araştırmalara göre, hormonun etkileri, anabolik bir etki veya antiresorptif etki ya da bunların tümü ile ifade edilebilir. Buna ek olarak kemik gelişimi leptine bağlı mekanizmalarla artmaktadır. Gelişme yıllarındaki leptin rolünün belirlenmesi, deneklerin kronolojik, reproduktif ve kemik yaşı ile spesifik arşitektürel parametreler ve iskelet yeniden şekillenmesi arasında uzun süreli araştırmalarla gerçekleştirilebilecektir (Doğruel 2003) .

Leptinin yetişkin kemikleri üzerinde pozitif bir etkiye sahip olduğu ileri sürülmektedir (Thomas ve ark 2001). Bu güne kadar yapılmış olan en geniş araştırmada, Thomas ve ark (2001)'ı, serum leptin, insülin veya östrojen düzeylerinin, tek başına ya da birlikte, adipozite ve BMD arasındaki ilişkiyi düzenlediği hipotezini test etmişlerdir. Araştırma popülasyonu 343 erkek ve 349 dişi denekten oluşmaktadır. BMD, vücut kompozisyonu ve iskelet turn-overlarının biyokimyasal belirleyicileri değerlendirilmiş ve açlık serum hormon değerleri ilişkilendirilmiştir. Bulgularına göre serum leptin düzeyleri kadınlarda BMD ile bağlantılıdır; ancak erkeklerde böyle bir ilişki yoktur. Öncelikle erkeklerde, leptinin BMD değişkenliği, total kalça, orta lateral omurga, orta distal radiusta sıra ile % 0.3, % 1 ve % 0.1 olarak belirlenmiştir. Menapoz öncesi kadınlarda bu oranlar, % 10, % 0.3 ve % 5 ve post menopozal kadınlarda ise % 19, % 6 ve % 10'dur. Kadın denekler arasında, leptin, kemik turn-overunun çeşitli belirleyicileri [kemik alkalin fosfataz, osteokalsin, PICP, N-crosslinked telopeptidler (NTx)] ile ters orantı eğilimi göstermektedirler. Bu bağlantıların en sabit olanı, idrar NTx ile kaydedilmiştir. (Menopoz önce kadınlar için $r=-0.24$, $p<0.01$) buna göre hormon anti-resorptif bir etkiye sahiptir (Doğruel 2003).

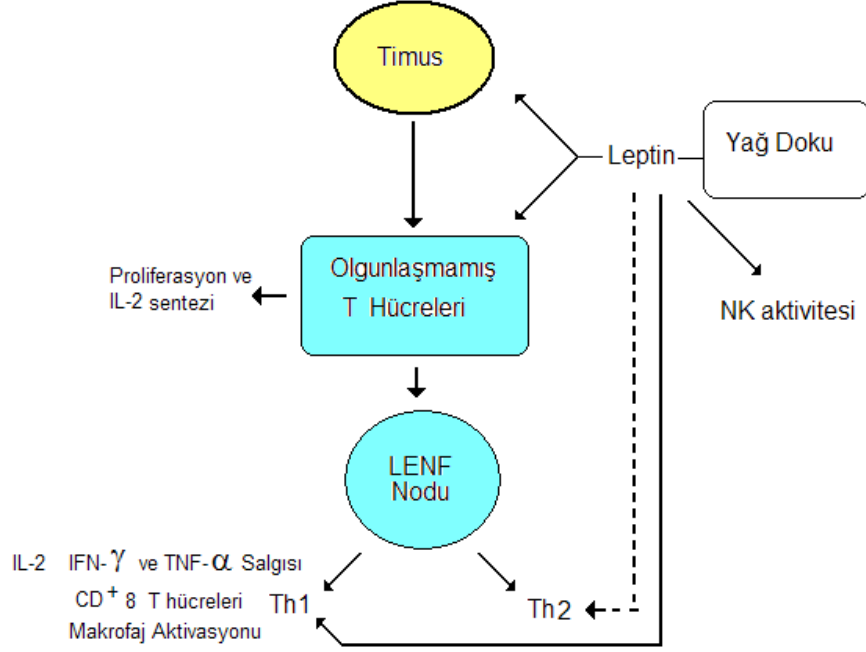
Leptinin adipozite ile yakından ilgisi olmasına rağmen, Pasco ve ark (2001)'ı, 214 sağlıklı ve obez olmayan kadın üzerinde yaptıkları bir araştırmada, serum leptin ve BMD arasında, vücut ağırlığı ve vücut yağ külesinden bağımsız olarak bir ilişki olduğunu göstermiştir. Spesifik olarak, yaş, vücut ağırlığı ve vücut yağ külesi hesaplarında kemik yoğunluğuna bağlı değişken olarak alındığında, leptinin doğal logaritması ile ilişkisi, lateral omurgada önemli bir düzeye ulaşmıştır (kısmi $r^2=0.030$, $p=0.011$). Ward üçgeni ve torakanterde sınır düzeyde önem taşımaktadır (kısmi-parsiyel $r^2=0.012-0.017$ $p=0.058-0.120$). Aynı zamanda ölçülen tüm bölgelerde leptin ve kemik mineral içeriği arasında pozitif korelasyonlar kaydedilmiştir. Buna ek olarak, 51 diyaliz hastasından oluşan bir denek grubunda kadınlar için, serum leptin ve distal radius kemik dansitesi

(BMD) arasında pozitif korelasyon ($r=0.469$, $p<0.02$) vardır; ancak erkeklerde yoktur (Yoneda ve ark 2001).

2.2.2. Leptin ve Bağışıklık Sistemi

Leptin ve leptin reseptörlerinin yapılarının sitokinelere olan benzerlikleri nedeniyle leptin bir sitokin olarak da sınıflandırılabilir (Matarase 2000). Özellikle leptin yapısal olarak IL-2'ye benzer ve önemli bir T-hücre büyüme faktörüdür (Matarase 2000). Leptinin dolaşımdaki konsantrasyonu yağ kitlesinin büyüklüğüyle orantılıdır (Friedman ve Halas 1998). Vücut yağının azalması veya beslenme eksikliği hipoleptinemi ile sonuçlanmakta (Friedman ve Halas 1998) leptin salgısındaki azalma da immün defekt ve enfeksiyonlardaki artışa neden olmaktadır (Lord ve ark 1998). Leptin ve immün sistem arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların raporları, serum leptininin düşük konsantrasyonunun T hepler (Th) hücrelerini azaltarak ve timik fonksiyonlara direkt etki ederek enfeksiyonlara olan eğilimi artırdığı hipotezini ortaya koymaktadır (Howard ve ark 1999, Lord ve ark 1998). CD^+_4 ve CD^+_8 T lenfositlerinde leptin reseptörlerinin varlığı da leptin ile immün fonksiyonların arasındaki ilişkinin bir delilidir.

Leptin, Th1 hücreleri üzerine uyarıcı, Th2 hücreleri üzerine inhibitör bir etkiye sahiptir. Enfeksiyonlara karşı hücrel immün cevapta Th1 hücre aktivasyonu ile Th1'in ürünleri olan yükselmiş IL-2, IFN- γ , TNF- α seviyelerinde leptin önemli bir rol oynar. Leptin Th1'in bahsedilen sitokin üretiminde önemli bir uyarıcı etki meydana getirir. NK hücre aktivasyonunun leptin uyarımına cevap vermesi leptinin NK hücre aktivasyonunda da önemli rol oynadığını göstermektedir (Faggioni ve ark 2001, Maruna ve ark 2001).



Şekil 1: Leptin ve bağışıklık sistemi

Leptinin yapısı interlökin (IL)-6 ve IL-11 ile benzerlik gösterirken, leptin reseptörü de IL-6 reseptörü ile homoloji göstermektedir. Leptinin lökosit sentezi üzerine stimüle edici etkisinin yanı sıra, eritropoietinin eritrositler üzerindeki uyarıcı etkisini kuvvetlendirdiği gösterilmiştir. Bu nedenle, leptin eksikliği hematopoezde de aksamalara neden olur. Bakteriyel antijenlere benzer şekilde, leptin makrofajları aktive eder, makrofajların fagositik aktivitelerini artırır ve makrofajlardan pro-inflamatuvar ve anti-inflamatuvar sitokinlerin sekresyonunu uyarır. Leptin neovaskülarizasyonu ve yara iyileşmesini de hızlandırmaktadır. Ayrıca, leptin eksikliği enfeksiyona ve inflamasyona yatkınlığı artırmakta ve bu artış sitokin yapımında bozuklukla ilgili bulunmaktadır (Faggioni ve ark 2001).

Leptinin doğal ve edinsel immünitede önemli rol oynadığı bilinmektedir. Enfeksiyon/inflamasyon sırasında leptin düzeyinin artması nedeniyle, konağın inflamasyona verdiği yanıtta leptinin önemli bir faktör olduğu öne sürülmüştür. Enfeksiyonların seyri sırasında görülen

anoreksinin konağın akut faz yanıtı olduğuna inanılmaktadır. Ancak, başlangıçta yararlı olmasına rağmen, uzun süreli anoreksinin iyileşmeyi geciktirip zararlı olduğu da bilinmektedir. Bakteri hücre duvarı bileşikleri (lipopolisakkaritler ve peptidoglikanlar gibi), mikrobiyal nükleik asitler ve viral glikoproteinler akut faz reaksiyonunu ve dolayısıyla da anoreksiyi tetiklemektedir. Bakteri/virüs ürünleri de proinflamatuvar sitokinlerin (IL'ler, tümör nekroz faktörü-alfa-TNF α , interferonlar) yapımını uyarır. Sitokinler de yağ dokusunda leptin ekspresyonunu artırır. Hem mikrobik ürünler, hem de oluşan sitokinler ve leptin gıda alımını azaltır. Bu nedenle, inflamasyon ve infeksiyon sırasında gelişen anoreksiden özellikle TNF- α , IL-1 ve IL-6'nın sorumlu olduğu ve sitokinlerin bu etkilerinde kısmen leptinin aracılık ettiği düşünülmektedir (Maruna ve ark 2001, Yeğen 2003).

Leptin-yokluğu veya leptin-reseptör-yokluğu olan hayvanlarda, ya da açlık veya malnütrisyon durumlarında, immün ve inflamatuvar yanıtlar değişmektedir. Malnütrisyonun immün yetmezliğe yol açtığı ve infeksiyonun ölümcül olmasına yol açtığı bilinmektedir. Açlık özellikle T-lenfosit yanıtlarını baskılar ve infeksiyona rezistansı azaltır. T lenfositlerin proliferasyonu ve gelişmesi için gerekli olan leptin, T hücre yanıtlarını da düzenler; Th hücrelerini daha çok Th1 fenotipine doğru yönlendirir. Açlık sırasındaki nöroendokrin ve immün fonksiyon bozukluklarında düşük leptin düzeyleri aracılık etmektedir (Yeğen 2003). Benzer şekilde, obes, leptin-yokluğu olan ob/ob farelerde inflamasyon sonrası ölüm riski artmaktadır; bu da leptinin inflamasyon yanıtında koruyucu rol oynadığını düşündürmektedir (Langhans 2000, Yeğen 2003).

Bilindiği gibi, leptinin plazma düzeyi yağ dokusu hacmi ile korelasyon göstermekte ve kalori kısıtlaması ile leptin akut olarak azalırken, yeniden-beslenme ile artmaktadır. Leptin yokluğu olan farelerde obesite, enerji kullanımında azalma ve hiperfaji görülmektedir. Kilolu ve obes

çocuklar ve erişkinlerde plazma C-reaktif düzeylerinin, IL-6, TNF- α ve leptin gibi inflamasyon göstergelerinin artması, aslında obezitenin sistemik inflamatuvar bir hastalık olduğunu düşündürmektedir. Endotoksin enjeksiyonu ile, sitokinlerle ve deneysel peritonit modelinde yağ dokusunda leptin mRNA'sının arttığı, plazma leptin konsantrasyonunun arttığı ve bu etkilerde IL-1 ile TNF- α 'nın aracılık ettiği, dolayısıyla inflamasyonun akut faz yanıtında leptinin tetikleyici olduğu bildirilmiştir. Akut sepsisteki hastalarda plazma leptin konsantrasyonunda önemli artış olduğu ve leptinin sirkadiyen ritminin ortadan kalktığı da gösterilmiştir (Brzozowski ve ark 2001, Hardwick ve ark 2001).

Etiyolojileri tam olarak bilinmeyen inflamatuvar barsak hastalıklarının (İBH) patogenezinde rol alan immünolojik ve inflamatuvar mekanizmalar ile, inflamatuvar mediyatörler konusunda pek çok çalışma bulunmaktadır. Deneysel kolit modellerinde dolaşımda artan endotoksin ve sitokinler (IL-1, TNF- α ve INF- γ) bir taraftan immün sistem hücrelerini aktive ederken (nötrofiller, makrofajlar, mast hücreleri ve T-lenfositleri), diğer taraftan aktive olan bu hücreler siklooksijenaz ürünlerinin de katılımıyla nitrik oksit (NO) üretimini arttırmaktadır. Bu şekilde, ortama salınan endotoksin ve sitokinler gastrointestinal sistemde NO aracılı hasar oluşturmaktadır. Bütün bunlara ek olarak, inflamasyon sırasında bazı hormonların da arttığına dair bulgular vardır. Örneğin, İBH'nı taklit eden çeşitli hayvan modellerinde leptin düzeylerinin yükseldiği gösterilmiştir. Sıçanlarda ince barsak inflamasyonunun erken döneminde hiperleptinemi geliştiğinin ve leptin sekresyonu engellendiğinde ise kolon inflamasyonunun azaldığının gösterildiği çalışmalar, leptinin pro-inflamatuvar olduğuna işaret etmektedir. İBH'da arttığı gösterilmiş olan IL-1 ve TNF- α gibi sitokinlerin enjekte edilmesi ile leptinin plazma düzeylerinin de arttığı gösterilmiştir. Ayrıca, artmış plazma leptin konsantrasyonu ile inflamasyonun derecesi ve anoreksi arasında da korelasyon bulunduğu gösterilmiştir. Buna

karşın, etanol veya iskemi-reperfüzyon ile oluşturulmuş mide lezyonlarında sistemik ya da santral yolla verilen leptinin koruyucu etki gösterdiği ortaya konmuştur. Bu bulguyu destekler şekilde, leptin birçok hücre tipi için bir büyüme faktörü olarak görev almaktadır ve bu nedenle özellikle kolon kanseri patogenezindeki rolü araştırılmaktadır (Fantuzzi ve Faggioni 2000, Yeğen 2003).

Sonuç olarak, akut inflamasyonda anoreksiye neden olan leptin, bazı patolojik durumlarda veya deneysel modellerde pro-inflamatuvar etki gösterirken, diğerlerinde ise anti-inflamatuvar etki sağlamaktadır. Bulguların çelişkili olması, olasılıkla farklı inflamasyon modellerinin kullanılmasından ve inflamasyonların farklı dönemlerinin araştırılmasından kaynaklanmaktadır (Yeğen 2003).

2.2.3. Leptinin Beslenme Davranışı Üzerine Etkisi

Leptinin etkisini gösterebilmesi için en önemli hedef organ hipotalamustur. Leptin hipotalamusta bulunan ilgili reseptör aracılığıyla gıda alımını arttırıcı etkiye sahip olan nöropeptid Y (NPY) üzerine etki ederek gıda alımını kontrol etmektedir (Auwerx ve ark 1998).

NPY nin salınımını inhibe ederek gıda alımı üzerine uyarıcı etkisini azaltmaktadır (Baydas ve ark 2001).

Leptin uygulaması vücut yağ kitlesini ve gıda alımını azaltmaktadır. Herhangi bir nedenle leptin yetersizliği veya leptin reseptöründeki bir değişiklik sonucu hipotalamusta NPY'nin sentez ve salınımı artmakta, buna bağlı olarak gıda alımı artarak obezite tablosu meydana gelmektedir (Canpolat ve ark 2001).

Ayrıca leptinden yoksun obez sıçanlarda hem NPY hem de NPY mRNA konsantrasyonlarının yüksek olduğu gözlenmiş ve leptin verildiğinde NPY seviyesinin azaldığı görülmüştür (Baydas ve ark 2001).

Midede özellikle fundus bölgesinde yoğun olmak üzere leptin reseptörleri ve mRNA'sı

bulunmuştur. Gastroprotektif etkisiyle midedeki gastrik lezyonları azalttığı gösterilmiştir. İnce barsakta ve daha çok jejunumda leptin reseptörleri bulunmaktadır. Leptin, NPY yapımını inhibe ederek iştahı azaltır, dolayısıyla gıda alımı azalır (Bado ve ark 1998).

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, leptin eksikliği gıda alımında artışa neden olmakta ve leptin uygulaması sonrası gıda alımının azaldığı gözlenirken, açlık sonucu azalan leptin salınımı gıda alımı ile birlikte tekrar artmaktadır (Remesar ve ark 1997).

Melanin – concentrating hormon (MCH) iştah arttırıcı etkiye sahip bir ajandır. MCH mRNA seviyesi obez farelerde yüksektir ve bu seviye leptin uygulamasından sonra normale döner (Meister 2000).

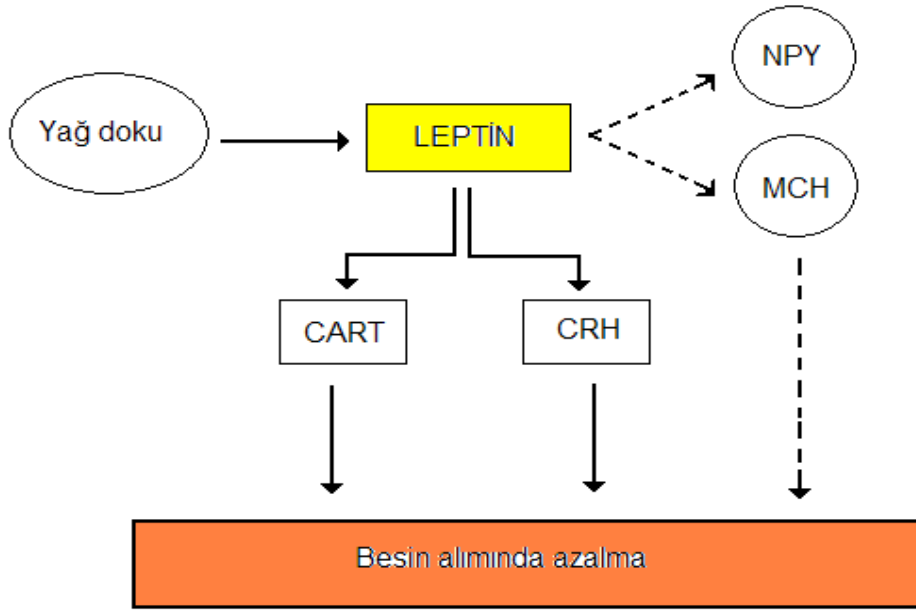
Benzer bir şekilde Shirashi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmadan leptin uygulaması, iştah açıcı etkiye sahip oreksin seviyesini azaltmıştır (Shiraishi ve ark 2000).

Gıda alımını baskılayıcı etkiye sahip olan, PVN ‘daki kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH) nöronlarında leptin reseptörleri gösterilmiştir. Leptin PVN’da CRH mRNA’sını arttırarak CRH yapımını uyarır. Aynı şekilde ARN’da bulunan kokain ve amfetamin düzenleyici transkript (CART) içeren nöronlar leptin tarafından kontrol edilir. Bu nükleusta, açlık sırasında ya da obez farelerde CART mRNA’sı düşüktür (Meister 2000).

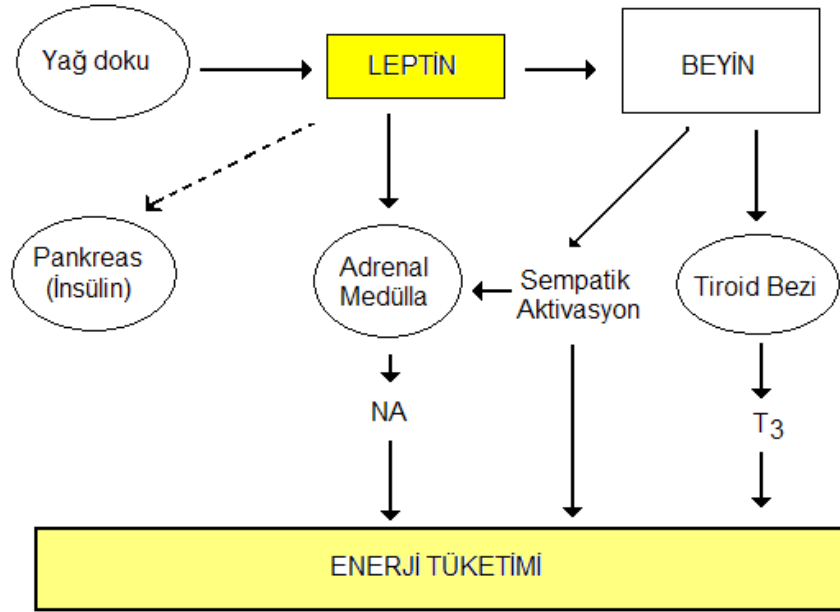
Besin alımı ve vücut yağ dokusunun düzenlenmesindeki biyolojik kontrollerle ilgili çok ileri gelişmeler sağlanmasına rağmen, obezitenin yaygınlığındaki artış önemli sağlık problemi olarak devam etmektedir. Leptin, Zhang ve ark (1994) tarafından tanımlandıktan sonra üzerinde geniş incelemeler yapılan obezite geninin 167 aminoasitli hormonal protein ürünüdür. Başlangıçta doygunluk ve enerji dengesi ile ilgili olduğu tanımlanan leptinin adipositlerden hipotalamusa feedback etki ile antiobezite faktörü olduğu ileri sürülmüştür. Bu nedenle de bir çok çalışma leptinin besin alımının düzenlenmesi üzerine olan etkisine odaklanmıştır.

İnsülin ile leptin arasında da bir ilişki mevcuttur. Açlık esnasında dolaşımdaki leptin

miktarı azalırken, karbonhidratla beslenen sıçanlarda leptin düzeyinde artış gözlenmiştir. Pankreasın β hücrelerinde leptin reseptörlerinin bulunması leptinin negatif feedback yoluyla insülin sentezine etki ettiğini göstermektedir (Remesar ve ark 1997).



Şekil 2: Leptin ve beslenme



Şekil 3: Leptin ve enerji dengesi

2.2.4. Leptinin Üreme Sistemi Üzerine Etkisi

Leptinin üreme fonksiyonları ile olan ilişkisi ilk kez 1996’ da rapor edilmiştir. Bu sonuç ob/ob genli erkek ve dişi farelerde obezite ve infertilitenin birlikte bulunması ile ortaya çıkmıştır. Gıda alımının kısıtlanması ile vücut ağırlığındaki azalma fertilitenin düzelmesinde etkili olmamış, buna karşılık rekombinant leptin uygulaması fertilitede düzelmeye neden olmuştur (Goumenou ve ark 2003). Gerçekten de leptinin GnRH, LH ve FSH salınımını uyararak hem erkek, hem de dişilerde puberteyi başlatan güçlü sinyaller oluşturduğuna dikkat çekilmektedir. Ancak leptin düzeyleri yönünden cinsiyetler arasında farklılıklar söz konusudur. Erkeklerde leptin seviyesi çocukluk döneminde başlayıp pubertenin erken safhasında en yüksek seviyeye ulaşırken daha sonra azalmaktadır ve sonuçta leptin seviyeleri dişilerde erkeklere göre 3-4 kat daha yüksek bulunmaktadır. Puberteden sonra serum testosteron ve testis hacmi leptin seviyesi ile ters ilişkiliden, östrojenler leptin salgısını uyarmaktadır. Hipotalamus-hipofiz üreme

eksenindeki leptin reseptörlerinin lokalizasyonu, leptinin üreme sisteminde önemli bir nöroendokrin rolünün olabileceğini düşündürmektedir (Darrell ve ark 2002). Leptin gonadotropin sekresyonunu uyarırken, endojen leptinin bloklanması dışı sıçandaki östrus siklusunu pulsatil luteinizan hormon sekresyonunu bozar. Leptin ve leptin reseptör yetersiz hipogonadotropik hipogonadizm ve primer amenore birlikte görülür (Sempere ve Barreiro 2002).

Pubertal dönemin başlayabilmesi için kritik bir vücut ağırlığı ve yağ içeriği kazanılmalıdır. Biyolojik açıdan puberte, hızlanmış büyüme ve üreme olgunluğunun kazanılmasını sağlar (Moschos ve ark 2002). Vücut yağlanma derecesinin üreme fonksiyonuyla ilgili olduğu bilinmektedir. Anoreksia nervosa'lı hastalar ve zayıf kişiler düzensiz menstrual siklus gösterirler. Zıt olarak aşırı vücut yağı bozulmuş üreme fonksiyonuyla ilgilidir (Brann DW ve ark 2002). Enerji dengesinin düzenlenmesinde önemli bir adiposit hormon olan leptin çoğu alanlarda üreme eksenine ilişkilidir (Moschos ve ark 2002). Leptin geninin tanımlanması leptin geni olmayan genetik olarak obez (ob/ob) farelerde sağlanmıştır. Bu ob/ob fareler sterildir ve aynı zamanda hiperinsülinemi, hiperglisemi ile bozulmuş tiroit fonksiyonu gösterirler. Besin alımının sınırlanması bu farelerde ağırlık kaybına rağmen sterilitiyi ortadan kaldırmaz. Buna karşın intraperitoneal yolla leptin verildiği zaman sterilitiyi defekti ortadan kaldırır. Bu nedenle de leptinin normal üreme fonksiyonu için geçerli olduğu kabul edilir (Spicer 2001). Ob/ob dışı farelerde üreme sisteminin normal durumuna dönüşü artmış ovaryum ve uterus ağırlığı, artmış LH konsantrasyonu, primer ve graaf folikül sayısındaki artışla gerçekleşir (Spicer 2001). Leptin tedavili ob/ob erkek farelerde fertilitenin sağlanması artmış semilunar vezikül, testis ağırlığı, sperm üretimi ve serum FSH düzeylerindeki artışın sonucudur (Spicer 2001, Spicer ve Francisco 1998). Puberteyi tetikleyen sinyal tam olarak tanımlanamamasına rağmen bu dönem; leptin, hipotalamus-hipofiz-gonadal sistem ile büyüme hormonu (GH) ve IGF-1 (insülin benzeri büyüme faktörü-1)'ide içine alan hormonal değişimlerin sonucu ortaya çıkar. Kemirgenlerde leptinin

büyüme hormonunu serbestletici hormon (GHRH) ve GH'ü üzerine direkt uyarıcı etkileri vardır. IGF-1 uygulamasının da median eminensiyadan gonadotropin hormonlar serbestletici hormon (GnRH) salınımını uyardığı ve serum LH düzeylerini artırdığı gösterilmiştir (Moschos ve ark 2002, Spicer ve ark 2000). Sonuçta hayvan deneyleri ve gözlemsel çalışmalar leptin düzeylerindeki yükselmenin pubertenin başlangıcı için en erken ortaya çıkan işaret olduğunu ortaya koyar. Leptin düzeylerindeki yükselme HPG sistemin aktivasyonu, cinsiyet hormonları üretimindeki bir artış ve GH/IGF-1 eksenin aktivasyonu ile sonuçlanır (Darrel ve ark 2002, Sempere ve Barreiro 2002).

Leptin reseptörleri (Ob-Rs) hipotalamus, ön hipofizdeki gonadotrop hücreler, ovaryumların granüloza, teka ve intersitisyel hücreleri, endometriyum ve leydig hücrelerinde de bulunmaktadır. Leptin HPG sistemde iki yönlü etki gösterebilir: 1. Spesifik olarak leptin yetersizliği HPG sistemde fonksiyon bozukluğuyla sonuçlanır. 2. Düşük dozlarda leptin verilmesi ise bozulan fonksiyonların geri dönüşümünü sağlar (Moschos ve ark 2002).

Leptinin GnRH salgılanmasını hızlandırdığı, aynı zamanda doz bağımlı olarak arkuat nükleustaki nöronları etkilediği belirlenmiştir. GnRH salgılayıcı nöronların leptin reseptörlerini tanımladığı rapor edilirken, in vitro olarak da GnRH salgılayıcı nöronların leptin uygulamasıyla GnRH salgısını uyardığı gösterilmiştir (Moschos ve ark 2002). Leptinin GnRH salınımı üzerinde indirekt etkileri de söz konusudur. Leptin transkript peptidleri düzenleyen (CART) kokain ve amfetamin, galanin benzeri peptid ve/veya hipotalamik MSH gibi nöropeptidleri salgılayan nöronları etkileyerek de GnRH salgısını kolaylaştırabilir. Leptin adrenerjik nöronlardan nitrik oksit (NO) salınımını uyararak da ilave bir indirekt etkiye sahip olabilir. NO salınımindaki artış guanilat siklaz ve siklooksijenaz 1'in her ikisini de aktive ederek GnRH salgılayan nöronlardan GnRH salınımını uyarır (Caprio ve ark 1999, Caprio ve ark 2001).

Leptin reseptör mRNA'sının koyunların, domuzların, farelerin ve sıçanların hipofizlerinde

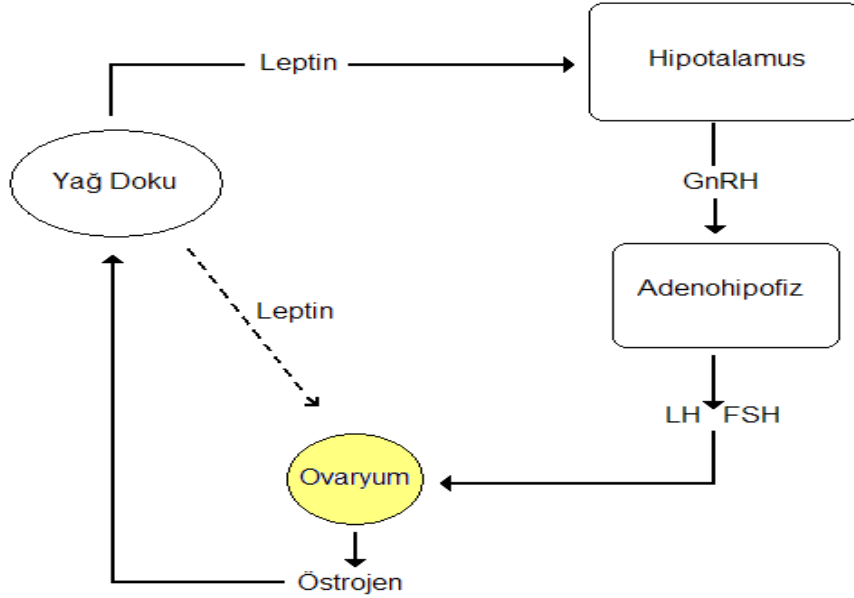
tespit edilmesi, hipofiz üzerinde leptinin direkt etkilerinin olabileceğini de göstermektedir (Spicer 2001). Sıçan ön hipofizinin kullanıldığı in vitro çalışmada leptinin LH ve FSH salgısını direkt olarak artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca normal diyetle beslenen sıçanların lateral ventriküllerine leptin anti serumu verilmesiyle LH ritminin azaldığı ve östrus döngüsünün durduğu bildirilmiştir. Leptin ritmik bir salgılanma gösterir ve gece 01.00-02.00 saatleri arasında pik yaparak yükselir. Bu ritmik yapı LH ile eş zamanlıdır. Hipogonadotropik hipogonadizmi leptin yetersiz kızlara 12 ay süreyle leptin verilmesi erken puberte ile uygun biçimde nokturnal LH sekresyonunu uyarılmaktadır. Bu sonuçlara dayanılarak leptinin LH salınımını düzenlediği veya önemli oranda katkıda bulunduğu kabul edilir (Chehab ve ark 2002, Moschos ve ark 2002, Spicer 2001)

Vücut ağırlığı ve yağ yoğunluğunun düzeltilmesinden sonra dahi kadınlar erkeklerden daha yüksek leptin düzeylerine sahiptir (Saad ve ark 1997). Serum leptin düzeylerindeki bu cinsiyet farklılığı bir çok faktörle ilgili olabilir. 1. Yağ yoğunluğu kadınlarda artmıştır ve derialtı/viseral yağ oranı dağılımında büyük farklılıklar vardır. Leptin mRNA tanımlaması derialtı dokuda visceral dokudan daha yüksektir (Montague ve ark 1998). 2. Kadınlar yüksek serum leptin düzeylerine fakat düşük leptin bağlayan proteinlere sahiptir. Bu da serbest leptinin kadınlarda fazla olduğu anlamına gelir (McConway ve ark 2000). Sonuç olarak kadın yağ dokusu hormonlara (insülin vb.) veya diğer maddelere daha duyarlı olabilir bu olayda leptin üretimini uyarır (Moschos ve ark 2002). Östrojen gibi cinsiyet hormonlarının leptin salınımını artırdığı da bilinmektedir (Oztekin ve ark 2005). Bu nedenle bir çok çalışmada leptin ile ovaryumlar arasındaki ilişki araştırılmıştır. Serum leptin düzeylerinin sıçanlarda ovariyektomiden 8 hafta sonra azaldığı ve bunun östradiol tedavisiyle tersine döndüğü gösterilmiştir. Benzer çalışmalarda da 17 β -östradiol tedavisinin ovariyektomize sıçanlarda serum leptini ve leptin gen ekspresyonunu artırdığı rapor edilmiştir (Shimuzu ve ark 1997). In vitro çalışmalar hem kemirgen, hem de büyükbaş hayvan modellerinde ovaryum hormonları üzerine leptinin negatif etkisinin olduğunu

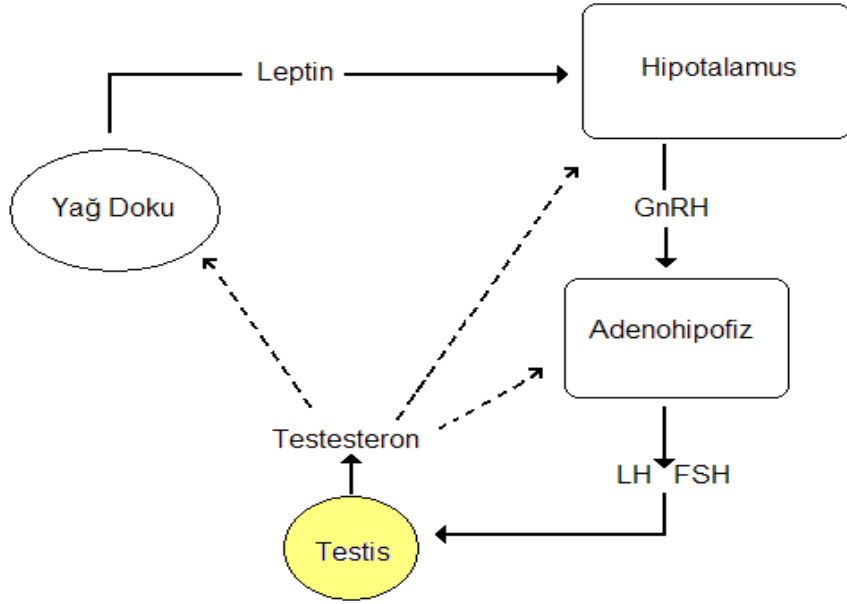
göstermektedir. Özellikle leptinin granülosa hücrelerinde insülinle uyarılan progesteron ve 17 β -östradiol üretimini inhibe ettiği, tekal hücrelerde de insülinle uyarılan progesteron ve androstenodion sekresyonunu önlediği gösterilmiştir (Spicer ve Francisco 1997). Sonuç olarak invitro çalışmalar leptinin ovaryum fonksiyonları üzerinde direkt negatif etkiye sahip olduğunu ve östradiol salgılanmasında azalmaya yol açtığını göstermektedir. Leptinin özellikle androstenodion sekresyonunu engellemesi östradiol üretiminin aşırıya kaçmasını engelleyen bir kontrol mekanizması sağlayabilir. Ancak yine de ob/ob farelerde leptinin ovaryum ve üreme fonksiyonları üzerine pozitif etkiye, fakat in vitro olarak ovaryum hormonları üzerine negatif etkiye sahip olduğu açık değildir. Bu uyumsuzluk in vivo hipotalamik-hipofizer-ovaryum eksenine üzerine leptinin etkisinin çok alanlı olmasıyla açıklanabilir (Spicer 2001).

Sıçanların spermatik ve leydig hücrelerinde leptin Ob-R ekspresyonu ilk kez 1997'de tanımlanmıştır (Ahima ve ark 1997). Gerçekleştirilen bir çalışmada testiküler leptin reseptör tanımlamasının LH ile FSH tarafından düzenlenmeye duyarlı olduğu bildirilmiştir. Erkeklerde pubertenin başlamasından önce leptin seviyelerinin %50 arttığı ve pubertenin başlamasından sonra standart değerlerden aşağı düştüğü gösterilmiştir (Mantrzoros ve ark 1997). Erkek ratlar üzerinde yapılan bir çalışmada, pubertal dönemde leptin seviyelerinin testosteron seviyelerindeki artışla birlikte yükseldiğine dikkat çekilmektedir (Nazian ve Cameron 1999). Leptin ile tedavi edilen erkek ob/ob fareler kontrol grubuyla karşılaştırıldığında yüksek serum FSH seviyelerine, artmış testiküler ve seminal vezikül ağırlıklarına, artmış seminal vezikül epitel hücre büyüklüğüne ve yüksek sperm sayısına sahip bulunmaktadır (Barash ve ark 1996). Zıt olarak puberteden sonra serum testosteron ve testis hacmi leptin seviyeleri ile ters ilişkilidir. Leptinin kan-testis bariyeri boyunca geçişi incelenmiş ve leptinin testise pasif-çözünemeyen bir süreçle girdiği tespit edilmiştir (Banks ve ark 1999). Leptinin rat kültür hücreleri içinde hızlı ve doz bağımlı olarak testosteron üretimini inhibe ettiği gösterilmiştir (Caprio ve ark 1999). Luukka ve

ark (1998) sağlıklı erişkin erkeklerde testosteron uygulamasının leptin salınımı üzerinde baskılayıcı bir etkiye sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Benzer bir bulgu Behre ve ark (1997) tarafından da bildirilmiştir. İn vitro çalışmaların sonuçları da testosteron gibi gonadal hormonların leptin sekresyonunda önemli bir regülatör rol oynayabileceğini göstermektedir. Buna karşın yaşlı erkekler üzerinde gerçekleştirilen bir çalışmada ise, sağlıklı insanda leptinin testosteron üzerinde negatif etkiye sahip olduğu, testosteronun ise serum leptini üzerinde belirleyici bir etkisinin olmadığı sonucuna varılmıştır.



Şekil 4: Leptin ve dişi üreme sistemi



Şekil 5: Leptin ve erkek üreme sistemi

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Hayvan Materyali ve Gruplar:

Bu çalışma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen Wistar-Albino cinsi erişkin 80 adet erkek sıçan üzerinde aynı fakültenin Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi. Deney protokolü Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından onaylandı.

Çalışmada kullanılan hayvanlar eşit sayıda 8 gruba ayrıldı.

Grup 1 (n=10), Kontrol Grubu: Hiçbir uygulamanın yapılmadığı normal diyetle beslenen grup.

Grup 2 (n=10), Testosteron Grubu: Normal diyetle beslenen ve 4 hafta süreyle kas içi 5 mg/kg/gün testosteron propionat uygulanan grup.

Grup 3 (n=10), Kastrasyon Grubu: Genel anestezi altında gerçekleştirilen kastrasyondan sonra normal diyetle beslenen grup.

Grup 4 (n=10), Sürrenalektomi Grubu: Genel anestezi altında gerçekleştirilen sürrenalektomiden sonra normal diyetle beslenen grup.

Grup 5 (n=10) Kastrasyon ve Sürrenalektomi Grubu: Genel anestezi altında gerçekleştirilen kastrasyon ve sürrenalektomiden sonra normal diyetle beslenen grup.

Grup 6 (n=10), Kastrasyon ve Testosteron Grubu: Genel anestezi altında gerçekleştirilen kastrasyondan sonra 4 hafta süreyle kas içi 5 mg/kg/gün testosteron propionat uygulanan ve normal diyetle beslenen grup.

Grup 7 (n=10), Sürrenalektomi ve Testosteron Grubu: Genel anestezi altında gerçekleştirilen sürrenalektomiden sonra 4 hafta süreyle kas içi 5 mg/kg/gün testosteron propionat uygulanan ve normal diyetle beslenen grup.

Grup 8 (n=10), Kastrasyon, Sürrenalektomi ve Testosteron Grubu: Genel anestezi altında

gerçekleştirilen kastrasyon ve sürrenalektomiden sonra sonra 4 hafta süreyle kas içi 5 mg/kg/gün testosteron propionat uygulanan ve normal diyetle beslenen grup.

Deney hayvanları standart sıçan yemiyle ve her gün vücut ağırlıklarınının 100 gramı başına 10 g yemle beslendiler.

3.2. Uygulamalar

3.2.1. Kastrasyon: Deney hayvanlarında kastrasyon işlemleri cerrahi olarak rompun (5 mg/kg) ve ketamin (60 mg/kg) kombinasyonu ile genel anestezi altında yapıldı. Anesteziden sonra skrotum derisi tamamen temizlendi (dışkı v.s. den). Skrotum üzerinde yaklaşık 1 cm boyutunda küçük bir median insizyon yapıldı. İnsizyondan sonra karşılaşılan subkutan konnektif doku açılarak kas kesesinde bulunan testisler açığa çıkarıldı. Karın bölgesinin aşağısından basınç uygulandığında testisler kolaylıkla görüldü. Uç kısmındaki her bir kese üzerine küçük bir insizyon (5 mm) yapılarak testisle birlikte cauda epididimis dışarı çıkarıldı, daha sonra ise caput epididimis, vas deferensler ve spermatic kan damarları dışarıya alındı. Tek bir ligatür kan damarları ve vas deferensler etrafına yerleştirilmesinden sonra ligatür aşağıya doğru ilerletilerek testis ve epididimisin ligatüre edilmesi (bağlanması) sağlandı. Bunu takiben bağlanan dokular (testis ve vas deferensler) kesilerek alındı. Vas deferens ve yağ dokunun geride kalan parçaları tekrar kese içerisine yerleştirilerek her bir kas insizyonu suture ile kapatıldı. Bunu takiben deri insizyonu ipek iplikle kapatıldı. Açılan kısım üzerine antisepsiye sağlamak üzere betadin sürülerek operasyon tamamlandı (Waynfort ve Flecknell 1994)

Operasyondan 5 gün sonra deri üzerindeki dikişler alındı.

3.2.2. Sürrenalektomi:Deney hayvanlarında sürrenalektomi işlemleri cerrahi olarak rompun (5 mg/kg) ve ketamin (60 mg/kg) kombinasyonu ile genel anestezi altında yapıldı. Hayvan, ağız üstü yatırılarak kuyruğu karın altına yerleştirildi. Oluşturulan pozisyonda hayvanın sırtı doğal olarak hafif bir çıkıntı şeklini aldı. Deride çıkıntınının tepe noktasınının tam gerisinde sona

eren 1-2 cm.lik küçük orta hat insizyonu yapıldı. Sivri uçlu makasla insizyonun içinden deri altına girildi. Kasa girmek için bağ dokusu ayrıldı. Son kaburganın hemen üstünden sol taraftan peritoneal boşluğa girilerek, kas içine sivri uçlu makaslarla spinal kasların birkaç milimetre altından küçük bir kesi yapıldı. Kas insizyonu sadece adrenal bezin geçişine izin verecek yeterli genişlikte yapıldı. Deliğin genişliği makasın veya forcepsin genişletilmesi ile ayarlandı. Sol elde tutulan eğri uçlu forceps peritoneal boşluğun içine sokularak dalağın dönmesini ve mediale hareketini engellemek için forcepsin konkav tarafına lateral olarak yatırıldı. İkinci bir forceps derin bir şekilde insizyondan sokularak, her iki forcepsle birlikte medial olarak hareket ettirildi. Bu manevra gevşek yağların büyük parçalarının uzaklaştırılması ve insizyonu bezin üzerine getirmek için yapıldı. Bez bulunduğu periadrenal yağ tutularak kas insizyonu içinden çıkarıldı. Bezin çıkarılması forcepsin her iki ucunun tabanındaki kan damarları ve dokuların klemlenmesi ile yapıldı. Klemlenip bağlandıktan sonra bez kesilerek dışarı çıkarıldı. Geride kalan yağ doku, abdominal boşluk içine geri itildi (Waynfort ve Flecknell 1994).

3.2.3. Testosteron Uygulaması: Testosteron hormonu susam yağı içerisinde çözdürüldü. Testosteron propianat (Testosterone propionate, T 1 875 Sigma Chemical Co. St. Louis M.O. USA) uygulamaları günlük kas içi enjeksiyonlar şeklinde 0.1 ml susam yağı içinde 5 mg/kg olarak verildi.

3.3. Biyokimyasal Analizler: Çalışmanın bitiminde bütün deney hayvanlarından plazma leptin, LH, FSH ile serbest ve total testosteron seviyelerinin belirlenebilmesi için dekapitasyonla heparinize tüplere alınan kan örnekleri (5 ml) santrifüj edilip plazmaları ayrıştırıldıktan sonra, plastik kapaklı tüpler içerisinde analiz zamanına kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

3.3.1. Plazma Leptin Tayinleri: Plazmada leptin analizi, Sıçan Leptin RIA (Radioimmunoassay) test kiti (Linco marka katalog no: RL-83K) kullanılarak ve Gama Counter

(DPC Gambyrt CR) yardımıyla analiz edildi. Sonuçlar ng/ml olarak verildi. Serumda leptin analizi, Sıçan Leptin RIA test kiti (Linco marka katalog no: RL-83K) kullanılarak yapıldı.

Analizler şu şekilde yapıldı:

1. gün: Total count tüpü haricindeki diğer tüplere (NSB, Bo, Standart, Kontrol ve Numune tüplerine) analiz tampon çözeltisinden ilave edildi. Standart olarak 0.5 ng/ml, 1ng/ml, 2 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml, 20 ng/ml, 50 ng/ml kullanıldı. Total, NSB, Bo, Standart ve Kontrol tüpleri iki kez çalışıldı. Total ve NSB tüpü hariç diğer tüplere Sıçan Leptin Antibody ilave edildi. Vortekslendi. Tüplerin ağzı kapatılarak oda sıcaklığında 20 saat inkübe edildi.

2. gün: Bütün tüplere I-125 Sıçan Tracer ilave edildi. Vortekslendi. Tüplerin ağzı kapatılarak oda sıcaklığında 22 saat inkübe edildi.

3. gün: Total tüp hariç diğer tüplere çöktürücü çözelti ilave edildi. +4 °C de 20 dakika inkübe edildi. +4 °C de 4500 devir/dakika' da 20 dakika santrifüj edildi. Süpernatantları 60 saniye içinde alınarak atıldı. Tüpte kalan çökeltiler Gamma Counter (DPC Gambyrt CR) yardımıyla ölçüldü. Değerler ng/ml olarak hesaplandı.

Sıçan Leptin analizinin limit sensitivitesi 0.5 ng/ml ve limit linearitesi 50 ng/ml dir.

3.3.2. Plazma LH Tayinleri: Plazmada LH analizi Biocode marka (katalog no: AH R002) sıçan LH kiti kullanılarak RIA metoduyla ve Gama Counter (DPC Gambyrt CR) yardımıyla analiz edildi. Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

3.3.3. Plazmada FSH Tayinleri: Plazmada LH analizi Biocode marka (katalog no: AH R004) sıçan FSH kiti kullanılarak IRMA (Immunoradiometricassay) metoduyla ve Gama Counter (DPC Gambyrt CR) yardımıyla analiz edildi. Sonuçlar ng/ml olarak verildi.

3.3.4. Plazmada Serbest Testosteron Tayinleri: Plazmada serbest testosteron tayinleri Coat- A – Count Free Testosteron test kiti (katalog no: TKTF1) kullanılarak RIA metodu ile Gama Counter (DPC Gambyrt CR) yardımıyla analiz edildi. Sonuçlar pg/ml olarak verildi.

3.3.5. Plazmada Total Testosteron Tayinleri: Plazmada total testosteron tayinleri Immulite marka ticari test (katalog no: L2KTT2) kullanılarak competitive immunoassay metodu ile Immulite 2000 otoanalizöründe ölçüldü. Sonuçlar ng/dl olarak verildi.

3.4. İstatistiksel Değerlendirmeler: Bulguların istatistiksel değerlendirmesi Minitab for Windows Release 13.0 bilgisayar paket programı ile yapıldı. Bütün parametrelerin aritmetik ortalamaları ve standart hataları hesaplandı. Gruplar arasındaki farklılıkların tespiti için varyans analizi uygulandı. $P < 0.01$ anlamlı olarak kabul edildi (Düzgüneş ve ark 1984).

4. BULGULAR

Deney hayvanları ağırlık ortalamaları yönünden değerlendirildiğinde hem çalışma öncesinde, hem de çalışma sonrasında grupların ağırlık ortalamaları birbirinden farklı değildi (Tablo 1).

Tablo 1. Çalışma öncesi ve sonrası hayvanların ağırlık ortalamaları

Gruplar (n=10)	Çalışma Öncesi Ağırlık (g)	Çalışma Sonrası Ağırlık (g)
1 Kontrol	150.25±11.20	155.30±12.40
2 Testosteron	152.05±10.45	155.50±12.75
3 Kastrasyon	150.65±12.50	156.70±11.80
4 Sürrenalektomi	153.00±09.90	158.60±10.90
5 Kastrasyon ve Sürrenalektomi	151.15±10.10	157.20±11.40
6 Kastrasyon ve Testosteron	152.75±10.40	158.35±12.20
7 Sürrenalektomi ve Testosteron	152.40±11.25	158.24±13.70
8 Kastrasyon, Sürrenalektomi ve Testosteron	153.95±10.40	159.70±13.50

En yüksek plazma leptin ve LH düzeyleri sırasıyla, grup 3 (kastrasyon) "11.10±1.70 ng/ml, 13.55±1.85 ng/ml " ve grup 5 (kastrasyon ve sürrenalektomi) "10.95±1.40 ng/ml, 14.00±2.00" ng/ml de elde edildi (P<0.01). Grup 1 (kontrol) "3.15±0.25 ng/ml, 5.75±0.70 ng/ml " ve grup 4 (sürrenalektomi)'ün "3.25±0.18 ng/ml, 5.20±0.90 ng/ml "'ün plazma leptin ve LH düzeyleri grup 2 (testosteron) "1.45±0.50 ng/ml, 2.95±0.20 ng/ml ", grup 6 (kastrasyon ve testosteron) "1.70±0.40 ng/ml, 3.20±0.40 ng/ml", grup 7 (sürrenalektomi ve testosteron) "1.55±0.30 ng/ml, 3.10±0.45 ng/ml " ve grup 8 (kastrasyon, sürrenalektomi ve testosteron) "1.60±0.25 ng/ml, 3.00±0.50 ng/ml "'den önemli şekilde yüksekti (P<0.01). Grup 2, 6, 7 ve 8'in plazma leptin ve LH değerleri birbirinden farklı değildi (Tablo 2). Çalışma gruplarının plazma

FSH düzeyleri mukayese edildiğinde; grup 3 (kastasyon) "90.12±8.70 ng/ml " ve grup 5 (kastasyon ve sürrenalektomi) "91.75±9.15 ng/ml" in FSH seviyeleri diğer grupların tamamından anlamlı şekilde yüksek bulundu (P<0.01). En düşük plazma FSH değerleri grup 1 (kontrol) "9.80±1.20 ng/ml" ve grup 4 (sürrenalektomi) "10.30±1.50 ng/ml "de elde edildi (P<0.01). Grup 2 (testosteron) "21.60±3.15 ng/ml ", grup 6 (kastasyon ve testosteron) "19.75±2.70 ng/ml ", grup 7 (sürrenalektomi ve testosteron) "22.00±2.08 ng/ml " ve grup 8 (kastasyon, sürrenalektomi ve testosteron) "21.90±3.10 ng/ml " nin plazma FSH düzeyleri arasında önemli bir farklılık tespit edilmedi (Tablo 2).

Tablo 2. Çalışma Gruplarının Plazma Leptin, LH ve FSH Düzeyleri

Gruplar (n=10)	Leptin (ng/ml)	LH (ng/ml)	FSH (ng/ml)
1 Kontrol	3.15±0.25 ^B	5.75±0.70 ^B	9.80±1.20 ^C
2 Testosteron	1.45±0.50 ^C	2.95±0.20 ^C	21.60±3.15 ^B
3 Kastasyon	11.10±1.70 ^A	13.55±1.85 ^A	90.12±8.70 ^A
4 Sürrenalektomi	3.25±0.18 ^B	5.20±0.90 ^B	10.30±1.50 ^C
5 Kastasyon ve Sürrenalektomi	10.95±1.40 ^A	14.00±2.00 ^A	91.75±9.15 ^A
6 Kastasyon ve Testosteron	1.70±0.40 ^C	3.20±0.40 ^C	19.75±2.70 ^B
7 Sürrenalektomi ve Testosteron	1.55±0.30 ^C	3.10±0.45 ^C	22.00±2.08 ^B
8 Kastasyon, Sürrenalektomi ve Testosteron	1.60±0.25 ^C	3.00±0.50 ^C	21.90±3.10 ^B
P	0.01	0.01	0.01

* Aynı sütunda değişik harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel yönden önemlidir (p<0.01).

En yüksek plazma serbest ve total testosteron düzeyleri sırasıyla, grup 2 (testosteron)

"16.05±3.20 pg/ml, 310.60±20.40 ng/dl", grup 6 (kastasyon ve testosteron) "14.80±2.20 pg/ml, 308.56±21.30 ng/ml" grup 7 (sürrenalektomi ve testosteron) "15.25±2.15 pg/ml, 311.56±21.30 ng/ml", ve grup 8 (kastasyon, sürrenalektomi ve testosteron) "14.75±1.75 pg/ml, 306.20±19.60 ng/ml"de elde edildi (P<0.01). En düşük plazma serbest ve total testosteron düzeyleri grup 3 (kastasyon) "0.02±0.00 pg/ml, 20.00±0.00 ng/ml" ve grup 5 (kastasyon ve sürrenalektomi) "0.02±0.00, 20.00±0.00" pg/ml'de tespit edildi (P<0.01). Grup 1 (kontrol) "5.20±0.75 pg/ml 195.80±18.40 ng/ml" ve grup 4 (sürrenalektomi) "4.95±0.80 pg/ml, 192.25±17.50 ng/ml" 'ün plazma serbest ve total testosteron düzeyleri birbirinden farklı değildi (Tablo 3).

Tablo 3. Çalışma Gruplarının Plazma Serbest ve Total Testosteron Düzeyleri

Gruplar (n=10)	Serbest Testosteron (pg/ml)	Total Testosteron (ng/dl)
1 Kontrol	5.20±0.75 ^B	195.80±18.40 ^B
2 Testosteron	16.05±3.20 ^A	310.60±20.40 ^A
3 Kastasyon	0.02±0.00 ^C	20.00±0.00 ^C
4 Sürrenalektomi	4.95±0.80 ^B	192.25±17.50 ^B
5 Kastasyon ve Sürrenalektomi	0.02±0.00 ^C	20.00±0.00 ^C
6 Kastasyon ve Testosteron	14.80±2.20 ^A	308.56±21.30 ^A
7 Sürrenalektomi ve Testosteron	15.25±2.15 ^A	311.56±21.30 ^A
8 Kastasyon, Sürrenalektomi ve Testosteron	14.75±1.75 ^A	306.20±19.60 ^A
P	0.01	0.01

* Aynı sütunda değişik harf taşıyan ortalamalar arasındaki farklılık istatistiksel yönden önemlidir (p<0.01).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

5.1. Bulguların Tartışılması

5.1.1. Deney Hayvanlarının Ağırlık Değişimlerinin Tartışılması

Çalışmanın hem başlangıcında hem de bitiminde grupların ağırlık ortalamaları birbirinden farklı değildi. Leptin, adipoz doku tarafından sentezlenen ve serbestlenen yakın zamanda tanımlanmış protein yapılı bir hormondur (Funahashi ve ark1999, Haynes ve ark 1997, Kaplan 1998, Tritos ve ark 1997). Adipoz dokunun bir hormon salgılayarak vücut ağırlığını kontrol edebileceği fikri ilk olarak 1953 yılında ortaya atılmış ve lipostatik teori adını almıştır (Tritos ve ark 1997). Leptin seviyesi yağ dokusu kitesiyle pozitif olarak ilişkilidir. Obez insanlar daha yüksek leptin mRNA'sına ve plazma leptin seviyelerine sahiptirler. Buna karşılık açlık süresince leptin seviyeleri hızla düşer (Meister 2000). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada grupların ağırlık değişimleri yönünden hem çalışma öncesi, hem de çalışma sonrası anlamlı bir farklılığın ortaya çıkmaması, deneylerde gerçekleştirilen uygulamalarla leptin salınımı arasındaki ilişkinin daha sağlıklı tartışılmasını sağlayabilecektir.

5.1.2. Plazma Leptin, LH ve FSH ile Serbest ve Total Testosteron Düzeylerinin Tartışılması

Çalışmamızda en yüksek leptin düzeylerini kastrasyon uygulanarak testosteron yetmezliği oluşturulan grup 3 (kastrasyon) ve grup 5 (kastrasyon ve sürrenalektomi)'de elde ettik. Leptin ile testosteron arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmaların sonuçları çelişkilidir (Blum ve ark 1997; Luukkaa ve ark 1998). Erkek ratlar üzerinde gerçekleştirilen çalışmada leptin seviyelerinin testosteron seviyelerindeki artışla birlikte arttığına ve böylece testosteronun leptin üzerindeki baskılayıcı rolünün sorgulanmaya açık olduğuna dikkat çekilmektedir (Nazian and Cameron, 1999). Ahima ve ark (1996)'nın bildirdiğine göre besin yoksunluğu olan erkek farelerde leptin

tedavisi LH ve testosterondaki düşmeyi önemli ölçüde azaltmaktadır. Buna karşın fareler üzerinde yapılan diğer çalışmalar leptinin testiküler steroidogenezi etkilemediğini göstermektedir (Banks ve ark 1999; Lado-Abeal ve ark 1999). Yaşlı hipogonadal erkeklerde gerçekleştirilen bir çalışmada dolaşımdaki artmış leptin seviyelerinin ilerleyen yaşla ya da azalan testosteronla ilişkili olmadığı rapor edilmektedir (Sih ve ark 1997). Benzer şekilde Bray ve York (1997)'da serum testosteronu ile leptin arasında önemli bir korelasyonun olmadığını ileri sürmektedirler. Gerçekleştirdiğimiz çalışma 4 hafta süreli testosteron yetmezliğinin plazma leptin düzeylerinde önemli bir artışa yol açtığını göstermektedir. Yani azalan testosteron seviyesi artmış leptin düzeyleriyle sonuçlanmaktadır. Behre ve ark (1997)'ı tarafından herhangi bir operasyon yapılmamış hipogonadal hastalar üzerinde yapılan çalışmada düşük serum testosteronuyla birlikte yükselmiş leptin seviyeleri tespit edilmiştir. Aynı çalışmada hipogonadal hastaların bir bölümüne ise eksojen androjen uygulanmış, androjen uygulamasını takiben artmış testosteron ve azalmış leptin düzeyleri elde edilmiştir. Bahsedilen çalışmada sonuç olarak, serum leptini ile testosteron arasında önemli bir negatif ilişki olduğu sonucuna varılmıştır. Benzer bir bulguda Luukkaa ve ark (1998)'ı tarafından rapor edilmiştir. Luukkaa ve ark (1998)'ının gerçekleştirdiği çalışmada nondiyabetik 269 erkekte testosteron ile leptin arasında negatif korelasyon bulunmuştur. Aynı çalışmada gönüllü 10 sağlıklı erkekte 12 aylık bir süreyle uygulanan eksojen testosteronun leptin seviyelerini önemli ölçüde azalttığını göstermişler, testosteron uygulanan bu grupta testosteron tedavisine ara verildikten sonra leptin konsantrasyonunun tedaviden önceki düzeylerine geri döndüğünü belirlemişlerdir. Kastrasyon uygulayarak testosteron yetmezliği oluşturduğumuz grup 3 (kastrasyon) ve grup 5 (kastrasyon ve sürrenalektomi)'de tespit edilen yüksek leptin düzeyleri bu yönüyle Behre ve ark. (1997)'ı ile Luukkaa ve ark (1998)'nın bulgularıyla uyumludur.

Biz çalışmamızda testosteron ile leptin arasındaki zıt ilişkiyi testosteron uygulaması yaptığımız grup 2 (testosteron), grup 6 (kastrasyon ve testosteron), grup 7 (Sürrenalektomi ve testosteron) ve grup 8 (kastrasyon, sürrenalektomi ve testosteron)'de de tespit ettik. En yüksek serbest ve total testosteron düzeyleri bu gruplarda elde edilmişken, aksine bahsedilen grupların tamamı en düşük plazma leptin düzeylerine sahipti. Grup 2, 6, 7 ve 8'de elde ettiğimiz azalmış leptin ile artmış serbest ve total testosteron düzeyleri; testosteron ile leptin arasında zıt ilişki olduğunu bir başka yönüyle ortaya koymaktadır. Ancak testosteron ile leptin arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalarda (Behre ve ark 1997; Luukkaa ve ark 1998) LH ve FSH tayinleri yapılmadığı da gözlenmektedir. Biz gerçekleştirdiğimiz çalışmada sadece leptin-testosteron ilişkisini değil, aynı zamanda bu hormonun LH ve FSH ile etkileşimini de araştırmak istedik.

En yüksek leptin düzeylerini elde ettiğimiz grup 3 (kastrasyon) ve grup 5 (kastrasyon ve sürrenalektomi) aynı zamanda en yüksek plazma LH ve FSH düzeylerine sahipti. Leptin ile LH ve FSH arasındaki ilişkiyi araştıran çalışmalar daha çok bu hormonun LH ve FSH'yı nasıl etkilediğine odaklanmış gibi görülmektedir. Leptinin steroid hormonlar tarafından etkilendiği ve LH salınımını uyardığı için pubertenin gelişiminde önemli bir sinyal olabileceği kabul edilmektedir (Gregoraszcuk ve ark 2003). Leptinin LH salınımını direkt olarak uyardığı ve gonadotroplarda NO aktivasyonu yoluyla da daha az olarak FSH salgısını uyardığı bildirilmektedir (Yu ve ark 1997). Aç bırakılmış erkek maymunlarda gonotropin sekresyonu üzerinde leptinin etkilerini inceleyen çalışmada , leptinin açlıkla uyarılan plazma LH ve FSH düzeylerindeki baskılanmayı önlediği rapor edilmiştir (Finn ve ark 1998). Gerçekleştirdiğimiz çalışmada grup3 ve grup5'de elde ettiğimiz yüksek LH ve FSH düzeyleri kastrasyonu takiben testosteron yetmezliğine bağlı olarak ortaya çıkması gereken , beklenen bir bulgudur. Ancak burada tartışılması gereken nokta leptin salınımı üzerinde esas etkili faktörün testosteron mu

yoksa LH ve FSH mı olduğudur. Ki biz diğer gruplara ait bulguların tartışılacağı bundan sonraki bölümlerde bu soruya cevap getirmeye çalışacağız. Ancak şu husus rahatlıkla vurgulanabilir ki, leptin ile LH ve FSH arasındaki ilişki tek yönlü değil gibidir. Eğer leptin LH ve FSH düzeylerini artırıyorsa, LH ve FSH'ın da plazma leptini üzerinde bir etkiye sahip olduğu düşünülebilir. Gerçekleştirdiğimiz çalışmada ratlarda oluşturulan testosteron yetmezliğine bağlı olarak LH ve FSH düzeylerindeki artışa leptin konsantrasyonunda yükselmenin eşlik etmesi bu ilişkinin çift yönlü olduğunun bir göstergesidir. Testosteron uygulaması yapılan grup 2 (testosteron), grup 6 (kastrasyon ve testosteron), grup 7 (Sürrenalektomi ve testosteron) ve grup 8 (kastrasyon, sürrenalektomi ve testosteron)'de azalmış leptin düzeylerine paralel olarak azalmış LH ve FSH düzeylerinin ortaya çıkması da leptin ile LH ve FSH ilişkisinin tek yönlü olmadığını düşündüren görüşümüzü desteklemektedir.

Çalışmamızda yalnızca sürrenalektomi uygulaması yaptığımız grup 4'ün plazma leptin, LH, FSH ile serbest ve total testosteron düzeyleri hiçbir uygulamanın yapılmadığı grup 1'den farklı değildi. Gerçekleştirdiğimiz çalışmada sürrenalektomi uygulaması yapma düşüncesi böbrek üstü bezi korteksinden salgılanan androjenlerin plazma leptinini etkileyip-etkilemediğinin ortaya konulabilmesi amacıyla kaynaklandı. Zaten literatürlerde de bu konu hakkında bir çalışmaya da rastlanılmadı. Gerçekleştirdiğimiz çalışmanın önemli sonuçlarından birisi de tek taraflı sürrenalektominin leptin salınımı üzerinde önemli bir etkiye sahip olmadığıdır.

Yaptığımız literatür taramalarda çalışmamızı bire bir karşılaştırabileceğimiz bir araştırmaya rastlayamadık. Çalışmamızın; kastrasyon ve sürrenalektomi uygulanmış ratlarda testosteron takviyesinin ayrı ayrı ve kombine eş zamanlı yapıldığı ilk çalışma olduğunu söyleyebiliriz.

Çalışmamızda sonuç olarak,

1. Kastrasyon uygulaması sıçanlarda plazma leptinini önemli ölçüde artırmaktadır.
2. Sürrenalektomi sıçanlarda leptini salınımı üzerinde önemli bir etkiye sahip değildir.
3. Testosteron uygulaması azalmış leptin düzeyleriyle sonuçlanmaktadır.
4. Kastrasyonun yol açtığı leptin düzeylerindeki artış testosteron uygulamasıyla da engellenmektedir.
5. Plazma leptini üzerinde testosterondan daha çok plazma LH düzeyleri etkili olabilir.

6. ÖZET

T.C.

SELÇUK ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FİZYOLOJİ (TIP) ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ/KONYA 2007

AYLİN (KUL) ÜSTÜN

Ratlarda tek taraflı sürrenalektomi, kastrasyon ve testosteron uygulamasının leptin salınımına etkisi

Yağ hücreleri tarafından üretilen ve vücudun enerji dengesinin düzenlenmesinde temel bir rol oynayan leptin hormonunun, üreme sistemi üzerinde de önemli etkilere sahip olabileceği ileri sürülmektedir. Leptinin sağlıklı erkeklerde testosteron salgılanmasını baskıladığı, ancak testosteronun leptin üzerinde belirleyici bir faktör olmadığı ileri sürülmektedir. Buna karşın testosteronun leptin salınımını baskılayabileceği yönündeki raporlar konunun tartışmalı olduğunu göstermektedir. Bu çalışmanın amacı da kastrasyon ve tek taraflı sürrenalektomi uygulanmış ratlarda, testosteron takviyesinin leptin salınımını nasıl etkilediğini araştırmaktır.

Araştırma Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Ünitesinden temin edilen Wistar-Albino cinsi erişkin 80 adet erkek ratlar üzerinde aynı fakültenin Fizyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında gerçekleştirildi.

Çalışmada kullanılan hayvanlar eşit sayıda 8 gruba ayrıldı.

Grup 1, Kontrol Grubu. Grup 2, Testosteron Grubu: 4 hafta süreyle kas içi 5 mg/kg/gün

testosteron propionat uygulanan grup. Grup 3, Kastrasyon Grubu: Genel anestezi altında kastrasyon uygulanan grup. Grup 4, Sürrenalektomi Grubu: Genel anestezi altında sürrenalektomi uygulanan grup. Grup 5. Kastrasyon ve Sürrenalektomi Grubu: Genel anestezi altında kastrasyon ve sürrenalektomi uygulanan grup. Grup 6, Kastrasyon ve Testosteron Grubu: Genel anestezi altında gerçekleştirilen kastrasyondan sonra 4 hafta süreyle kas içi 5 mg/kg/gün testosteron propionat uygulanan grup). Grup 7, Sürrenalektomi ve Testosteron Grubu: Genel anestezi altında gerçekleştirilen sürrenalektomiden sonra 4 hafta süreyle kas içi 5 mg/kg/gün testosteron propionat uygulanan grup. Grup 8, Kastrasyon, Sürrenalektomi ve Testosteron Grubu: Genel anestezi altında gerçekleştirilen kastrasyon ve sürrenalektomiden sonra sonra 4 hafta süreyle kas içi 5 mg/kg/gün testosteron propionat uygulanan grup.

Dört haftalık uygulamaların bitiminde, hayvanlardan dekapitasyonla alınan kan örneklerinde plazma leptin, LH, FSH ile serbest ve total testosteron düzeyleri tayin edildi.

Grup 3 ve 5 diğer grupların tamamından daha yüksek leptin ve LH düzeylerine sahipti ($P<0.01$). Grup 1 ve 4'ün leptin ve LH düzeyleri grup 2, 6, 7 ve 8'den daha yüksekti ($P<0.01$). Plazma FSH düzeyleri yönünden gruplar mukayese edildiğinde grup 3 ve 5'in bahsedilen parametresi diğer grupların tamamından önemli şekilde yüksekti ($P<0.01$). Grup 1 ve 4'ün FSH düzeyleri diğer grupların tamamından düşüktü ($P<0.01$). En yüksek serbest ve total testosteron düzeyleri grup 2, 6, 7 ve 8'de elde edildi ($P<0.01$). Grup 1 ve 4'ün serbest ve total testosteron düzeyleri grup 3 ve 5'den daha yüksekti ($P<0.01$).

Gerçekleştirilen çalışmanın sonuçları ratlarda tek taraflı sürrenalektominin leptin salınımı üzerine önemli bir etkiye sahip olmadığını, ancak plazma leptini üzerinde testosterondan daha çok plazma LH düzeylerinin etkili olabileceğini göstermektedir.

7. SUMMARY

The effect of unilateral adrenalectomy, castration and application of testosterone on leptin release in rats

Leptin is released from lipid cells and it has principal role on the regulation of energy balance. Additionally suggested that it may have an important effects on reproductive system. Leptin suppress secretion of testosterone in healthy men however, it is suggested that testosterone has no any characteristic effect on leptin. The reports are controversial about this matter because of informations that testosterone may suppress the release of leptin. The aim of this study is to examine how effects the release of leptin application of testosterone, castration and unilateral adrenalectomy. The present study was carried out in the department of physiology of Medical School of Firat University on 80 wistar albino male rats that those from Experimental Animals Study Unit of Firat University.

In this study, rats were divided randomly into 8 groups. Group I: Control Group, Group 2: Group of testosterone (the intramuscular (IM) application of testosterone propionate, 5 mg/kg/day), Group 3: Group of Castration (castration procedure under general anesthesia), Group 4: Group of adrenalectomy (adrenalectomy under general anesthesia), Group 5: Group of castration plus adrenalectomy (castration plus adrenalectomy under general anesthesia), Group 6: Group of castration plus testosterone application (during four weeks the intramuscular (IM) application of 5 mg/kg/day testosterone propionate after castration under general anesthesia), Group 7: Group of adrenalectomy plus testosterone application (during four weeks the intramuscular (IM) application of 5 mg/kg/day testosterone propionate after adrenalectomy

under general anesthesia), Group 8: Group of castration, adrenalectomy and the application of testosterone (during four weeks the intramuscular (IM) application of 5 mg/kg/day testosterone propionate after adrenalectomy and castration under general anesthesia)

Plasma leptin, LH, FSH, free and total testosterone levels investigated in blood samples obtained from animals after decapitation in the final of four weeks.

It was found that Group 3 and 5 have higher leptin and LH levels than other groups ($P<0.01$). Leptin and LH levels in Group 1 and 4 were higher than group 2,6,7,8 ($P<0.01$). In comparison of FSH levels between groups it was higher in group 3 and 5 than all of other groups ($P<0.01$). FSH levels were lower in group 1 and 4 than all of other groups ($P<0.01$). The most highest free and total testosterone levels were found in group 2, 6, 7 and 8 ($P<0.01$). Free and total testosterone levels in Group 1 and 4 were higher than group 3 and 5 ($P<0.01$).

Consequently, it seems that unilateral adrenalectomy has no effect on release of leptin and plasma LH levels more effective on plasma leptin levels than testosterone according to the results of this study.

8. KAYNAKLAR

Ahima RS, Dushay J, Flier SN, Prabakaran D, Flier JS (1997) *Leptin accelerates the onset of puberty in normal female mice*, J Clin Invest, 99, 391-395.

Ahima RS, Prabakaran D, Mantzoros C, Qu D, Lowell B, Maratos-Flier E and Flier JS (1996) *Role of leptin in the neuroendocrine response to fasting*, Nature, 382, 250-252

Auwerx J and Steals B (1998) *Leptin*, Lancet, 351, 737-742.

Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Lehy T, Guerre-Millo M, Le Marchand-Brustel Y and Lewin MJ (1998) *The stomach is a source of leptin*, Nature, 394, 790-793.

Bado A, Levasseur S, Attoub S, Kermorgant S, Laigneau JP, Bortoluzzi MN, Moizo L, Barbier M, Attoub S, Joubert M, Bado A, Laboisse C, Cherbut C and Galmiche JP (2001), *Proinflammatory role of leptin in experimental colitis in rats benefit of cholecystokinin-B antagonist and beta3-agonist*, Life Sci, 690, 567-580.

Banks WA, McLay RN, Kastin AJ, Sarmiento U and Scully S (1999) *Passage of leptin across the blood-testis barrier*, Am J Physiol, 276, E1099-1104.

Barash IA, Cheung CC, Weigle DS, Ren H, Kabigting EB, Kuijper JL, Clifton DK, Steiner RA (1996) *Leptin is a metabolic signal to the reproductive system*, Endocrinology, 137, 3144-3147.

Baydas G, Gursu F, Canpolat S, Konar V, Yasar A, Canatan H and Kelestimur H (2001) *Effects of pinealectomy on the circadian release pattern of leptin in male rat*, Neuro Endocrinol Lett, 22, 449-452.

Behre HM, Simoni M and Nieschlag E (1997) *Strong association between serum levels of leptin and testosterone in men*, Clin Endocrinol (Oxf) 47, 237-240.

Blum WF, Englaro P, Hanitsch S, Juul A, Hertel NT, Muller J et al (1997) *Plazma leptin levels in healthy children and adolescents: dependence on body mass index, body fat mass, gender, pubertal stage, and testosterone*, J Clin Endocrinol Metab, 82:2904-10.

Brann DW, Wade MF, Dhandapani KM, Mahesh VB and Buchanan CD (2002) *Leptin and reproduction*, Steroids, 67, 95-104.

Bray GA, York DA (1997) *Leptin and clinical medicine: a new piece in the puzzle of obesity*, J Clin Endocrinol Metab, 82:2771-6.

Brzozowski T, Konturek PC, Pajdo R, Kwiecien S, Ptak A, Sliwowski Z, Drozdowicz D, Pawlik M, Konturek SJ and Hahn EG (2001) *Brain-gut axis in gastroprotection by leptin and cholecystokinin against ischemia-reperfusion induced gastric lesions*, J Physiol Pharmacol, 52, 583-602.

Canpolat S, Sandal S, Yilmaz B, Yasar A, Kutlu S, Baydas G, Kelestimur H (2001) *Effects of pinealectomy and exogenous melatonin on serum leptin levels in male rat*, Eur J Pharmacol, 28, 428, 145-148.

Caprio M, Isidori AM, Carta AR, Moretti C, Dufau ML and Fabbri A (1999) *Expression of functional leptin receptors in rodent leydig cells*, Endocrinology, 140, 4939-4947.

Caprio M, Fabbrini E, Isidori AM, Aversa A and Fabbri A (2001) *Leptin in reproduction*, Trends Endocrinol Metab, 12, 65-72.

- Chehab F, Lim M and Lu R (1996)** *Correction of sterility defect in homozygous obese female mice treated with human recombinant leptin*, Nature Genetics, 12, 318-320.
- Chehab FF, Qiu J, Mounzih K, Ewart-Toland A, Ogus S (2002)** *Leptin and reproduction*, Nutr Rev. 60 (2) 39-46.
- Collins S, Kuhn CM, Petro A, Swick AG, Chrnyk BA and Surwit RS (1996)** *Role of leptin in fat regulation*, Nature 380, 677.
- Considine RV and Caro JF (1997)** *Leptin and the regulation of body weight*, Int J Biochem Cell Biol, 29, 1255-1272.
- Darrell WB, MarleneFW, Krishnan MD, Virendra BM and Clint DB (2002)** *Leptin and reproduction*, Steroids, 67, 95-104.
- Doğruel N (2003)** *Leptin ve iskelet*, Genel Tıp Derg, 13 (2, EK), 5-10.
- Düzgüneş O, Kesici T ve Gürbüz F (1984)** *İstatistik Metotları 1*, A. Ü. Ziraat Fakültesi Yayınları, 116-126, Ankara.
- Faggioni R, Feingold KR and Grunfeld C (2001)** *Leptin regulation of the immune response and the immunodeficiency of malnutrition*, FASEB J, 15, 2565-2571.
- Fantuzzi G and Faggioni R (2000)** *Leptin in the regulation of immunity, inflammation, and hematopoiesis*, J Leukoc Biol, 68,437-446.
- Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, Lawrence E, Cheetham CH, Pretice AM, Hughes IA, Mc Camish MA and O Rahilly S (1999)** *Effects of recombinant leptin therapy in a child with congenital leptin deficiency*, N Engl J Med, 341, 879-884.

Finn PD, Cunningham MJ, Pau KY, Spies HG, Clifton DK and Steiner RA. (1998) *The stimulatory effect of leptin on the neuroendocrine reproductive axis of the monkey*, Endocrinology, 139, 4652-4662.

Friedman JM and Halaas JL (1998) *Leptin and the regulation of body weight in mammals*, Nature, 395, 763-770.

Frühbeck G, Jebb SA and Prentice AM (1998) *Leptin physiology and pathophysiology*, Clin Physiol, 18, 399-419.

Funahashi H, Yada T, Muroya S, Takigawa M, Ryushi T, Horie S, Nakai Y and Shioda S (1999) *The Effects of leptin on feeding-regulating neurons in the rat hypothalamus*, Neurosci Lett, 264, 117-120.

Gainsford T, Willson TA, Metcalf D, Handman E, Mafarlane C, Ng A, Alexander WS, and Hilton DJ (1996) *Leptin can induce proliferation, differentiation and functional activation of hemopoietic cells*, Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 93, 14564-14568.

Goumenou AG, Matalliotakis IM, Koumantakis GE and Panidis DK (2003) *The role of leptin in fertility*. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 106, 118-124.

Gregoraszczuk EL, Wojtowicz AK, Ptak A and Nowak K (2003) *In vitro effect of leptin on steroids' secretion by FSH- and LH-treated porcine small, medium and large preovulatory follicles*, Reprod Biol, 3, 227-239.

Hardwick JC, Van Den Brink GR, Offerhaus GJ, Van Deventer SJ and Peppelenbosch MP (2001) *Leptin is a growth factor for colonic epithelial cells*, Gastroenterology, 121, 79-90.

Hassink SG, Sheslow DV, de Lancey E, Opentanova I, Considine RV and Caro JF

(1996) *Serum leptin in children with obesity: relationship to gender and development*, Pediatrics, 98, 201-203.

Hassink SG, Sheslow DV, Smith-Kirwin SM, O Conner DM, Considine RV, Opentanova

I, Dostal K, Spear ML, Leef K, Ash M, Spitzer AR and Funanage VI. (1997) *Placental leptin: an important new growth factor in intrauterine and neonatal development?*, Pediatrics, 100, E1.

Haynes WG, Sivitz WI, Morgan DA, Walsh SA and Mark AL (1997) *Sympathetic and*

cardiorenal actions of leptin, Hypertension, 30, 619-623

Hia MM, Davis JW, Ross PD, Yates AJ and Wasnich RD (1996) *A multicenter study of the*

influence of fat and lean mass on bone mineral content: evidence for differences in their relative influence at major fracture sites. Early postmenopausal intervention cohort (EPIC) study, Am J Clin Nutr, 64, 354-360.

Holloway WR, Collier FM, Aitken CJ, Myers DE, Hodge JM, Malakellis M, Gough TJ,

Collier GR and Nicholson GC (2002) *Leptin inhibits osteoclast generation*, J Bone Miner Res, 17, 200-209.

Howard JK, Lord GM, Matarese G, Vendetti S, Ghatei MA, Ritter MA, Lechler RI and

Bloom SR (1999) *Leptin protects mice from starvation-induced lymphoid atrophy and increases thymic cellularity in ob/ob mice*, J Clin Invest, 104, 1051-1059.

Ibanez L, Patau N, Francois I and Zegher F (1998) *Precocious pubarche, hyperinsulinism*

and ovarian hyperandrogenism in girls: relation to reduced fetal growth, J Clin Endocrinol Metab, 83, 3558-3662.

Ibanez L, Potau N, Dunger DB and De Zegher F (2000) *Increased bone mineral density and serum leptin in non-obese girls with precocious pubarche: relation to low birth weight and hyperinsulinism*, Horm Res, 54, 194-197.

Isidori AM, Strollo F, More M, Caprio M, Aversa A, Moretti C, Frajese G, Riondino G and Fabbri A (2000) *Leptin and aging: correlation with endocrine changes in male and female healthy adult populations of different body weights*, J Clin Endocrinol Metab, 85, 1954-62.

Kamohara S, Burcelin R, Halaas JL, Friedman JM and Charron MJ (1997) *Acute stimulation of glucose metabolism in mice by leptin treatment*, Nature, 389, 374-377.

Kaplan LM (1998) *Leptin obesity and liver disease*, Gastroenterology, 115, 997-1001.

Klein KO, Larmore KA, de Lancey E, and Brown JM Considine RV and Hassink SG (1998) *Effect of obesity on estradiol level, and its relationship to leptin, bone maturation, and bone mineral density in children*, J Clin Endocrinol Metab, 183, 3469-3475.

Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, Shimizu Y, Bronson RT, Gao YH, Inada M, Sato M, Okamoto R, Kitamura Y, Yoshiki S and Kishimoto T (1997) *Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts*, Cell, 89, 4301-4309.

Lado-Abeal J, Lukyanenko YO, Swamy S, Hermida RC, Hutson JC and Norman RL (1999) *Short-term leptin infusion does not affect circulating levels of LH, testosterone or cortisol in food-restricted pubertal male rhesus macaques*, Clin Endocrinol (Oxf), 51,41-51.

Langhans W (2000) *Anorexia of infection: current prospects*, Nutrition, 16, 996-1005.

Lord GM, Matarese G, Howard JK, Baker RJ, Bloom SR and Lechler RI (1998) *Leptin modulates the T-cell immune response and reverses starvation-induced immunosuppression*, Nature, 394, 897-901.

Luukkaa V, Pesonen U, Huhtaniemi I, Lehtonen A, Tilvis R, Tuomilehto J, Koulu M and Huupponen R (1998) *Inverse correlation between serum testosterone and leptin in men*, J Clin Endocrinol Metab, 83, 3243-3246.

Mantzoros CS, Flier JS, and Rogol AD (1997) A longitudinal assesment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys: rising leptin levels may signal the onset of puberty, J Clin Endocrinol Metab, 82, 1065-1070.

Maruna P, Gurlich R and Frasko R (2001) *Leptin--a new acute phase reactant*, Vnitr Lek, 47, 478-483.

Matarese G (2000) *Leptin and the immune system: how nutritional status influences the immune response*, Eur Cytokine Netw, 11, 7-14.

Matkovic V, Ilich JZ, Skugor M, Badenhop NE, Goel P, Clairmont A, Klisovic D, Nahhas RW and Landoll JD (1997) *Leptin is inversely related to age at menarche in human females*, J Clin Endocrinol Metab, 82, 3239-3245.

Mazess R, Barden J, Ettinger M, Johnston C, Dawson-Hughes B, Baran D, Powell M and Notellovetz M (1987) *Spine and femur density using dual-photon absorptiometry in USA white women*, Bone Miner, 2, 211-219.

Meister B (2000) *Control of food intake via leptin receptors in the hypothalamus*, Vitam Horm, 59, 265-304.

- McConway MG, Johnson D, Kelly A, Griffin D, Smith J, Wallace AM (2000)** *Differences in circulating concentrations of total, free and bound leptin relate to gender and body composition in adult humans*, Ann Clin Biochem, 37, 717-723
- Montague CT, Prins JB, Sanders L, Zhang J, Sewter CP, Digby J, Byrne CD, O'Rahilly S (1998)** *Depot-related gene expression in human subcutaneous and omental adipocytes*, Diabetes, 47, 1384-1391.
- Moschos S, Chan JL and Manzartos CS (2002)** *Leptin and reproduction: a review*, Fertil Steril, 77(3), 433-444
- Nazian SJ, and Cameron DF (1999)** *Temporal relation between leptin and various indices of sexual maturation in the male rat*, J Androl, 20,487-491.
- Ogueh O, Sooranna S, Nocolaides KH and Johnson MR (2000)** *The relationship between leptin concentration and bone metabolism in the human fetus*, J Clin Endocrinol Metabol, 85, 1997-1999.
- Oztekin E, Mogulkoc R, Baltaci AK, Tiftik AM (2005)** *The effect of estradiol and progesterone application on leptin concentration in ovariectomized rats*, Acta Physiol Hung, 92, 27-31.
- Pasco JA, Henry MJ, Kotowicz MA, Collier GR, Ball MJ, Ugoni AM and Nicholson GC (2001)** *Serum leptin levels are associated with bone mass in nonbese women*, J Clin Endocrinol Metab, 86, 1884-1887.
- Prolo P, Wong ML and Licinio J (1998)** *Molecules in focus leptin*, Int J Biochem Cell Biol, 30,1285-1290.

Reid LR, Ams R, Evars M, Sharpe S, Gamble G, France JT, Lim TM and Cundy TF

(1992) Determinations of total body and regional bone mineral density in normal post menopausal women-a key role for fat mass, J Clin Endocrinol Metab, 75, 45-51.

Remesar X, Rafecas I, Fernandez-Lopez JA and Alemany M (1997) *Leptin*, Med Res Rev, 17, 225-234.

Reseland JE, Syversen U, Bakke I, Qvigstad G, Eide LG, Hjetner O, Gordelade JO and

Drevon CA (2001) *Leptin is expressed in and secreted from primary cultures of human osteoblasts and promotes bone mineralization, J Bone Miner Res, 16, 1426-1433.*

Rexfor SA and Jeffery SF (2000) Adipose tissue as an endocrine organ, Trends Endocrinol Metab, 11, 327-332.

Riggs BL and Melton LJ (1986) *Medical progress: Involutional osteoporosis, N Engl J Med, 314, 1676-1678.*

Saad MF, Damani S, Gingerich RL, Riad-Gabriel MG, Khan A, Boyadjian R, Jinagouda SD, el-Tawil K, Rude RK, Kamdar V (1997) *Sexual dimorphism in plasma leptin concentration, J Clin Endocrinol Metab, 82:579-584.*

Schwartz MW and Seeley RJ (1997) *Neuroendocrine responses to starvation and weight loss, N Engl J Med, 336, 1802-1811.*

Sempere MT and Barreiro ML (2002) *Leptin in male reproduction: the testis paradigm, Mol Cell Endocrinol, 188, 9-13.*

Shimizu H, Shimomura Y, Nakanishi Y, Futawatari T, Ohtani K, Sato N, Mori M (1997) *Estrogen increases in vivo leptin production in rats and human subjects, J Endocrinol, 154, 285-292.*

- Shiraishi T, Oomura Y, Sasaki K and Wayner MJ (2000)** *Effects of leptin and orexin-A on food intake and feeding related hypothalamic neurons*, *Physiol Behav*, 71, 251-261.
- Sierra-Honinmann MR, Nath AK, Murakomi C, Garcia-Cardena G, Papapetropoulos A, Sessa WC, Madge LA, Schechner JS, Schwabb MB, Polverini PJ and Flores-Riveros JR (1998)** *Biological action of leptin as an angiogenic factor*, *Science*, 281, 1683-1686.
- Sih R, Morley JE, Kaiser FE, Perry HM, Patrick P and Ross C (1997)** *Testosterone replacement in older hypogonadal men: a 12-month randomized controlled trial*, *J Clin Endocrinol Metab*, 82,1661-1667.
- Spicer LJ, Francisco CC (1997)** *The adipose obese gene product, leptin: evidence of a direct inhibitory role in ovarian function*, *Endocrinology*, 138, 3374-339.
- Spicer LJ and Francisco CC (1998)** *Adipose obese gene product, leptin, inhibits bovine ovarian thecal cell steroidogenesis*, *Biol Reprod*, 58, 207-212.
- Spicer LJ, Chamberlain CS and Francisco CC (2000)** *Ovarian action of leptin: effects on insulin-like growth factor-I-stimulated function of granulosa and thecal cells*, *Endocrine*, 1,53-59.
- Spicer Leon J (2001)** *Leptin: a possible metabolic signal affecting reproduction*, *Domest Anim Endocrinol* 21, 251-270.
- Teker Z, Özer G, Topaloğlu K, Mungan NÖ and Yüksel B (2002)** *Leptin yapı ve fizyolojisi*, *Arşiv*, 11, 30-40.

Thomas T, Burguera B, Melton LJ, Atkinson EJ, O Fallon WM, Riggs BL and Khosla S

(2001) *Role of serum leptin, insulin and estrogen levels as potential mediators of the relationship between fat mass bone mineral density in men versus women.* Bone, 29, 114-120.

Trayhurn P, Hoggard N, Mercer JG and Rayner DV (1999) *Leptin: fundamental aspects,* Int J

Obes Relat Metab Disord, 23 (suppl, 1), 22-28.

Tremollieres F, Povilles JM and Ribot C (1993) *Vertebral postmenopausal bone loss is*

reduced in overweight women: a longitudinal study in 155 early postmenopausal women, J Clin Endocrinol Metab, 77, 683-686.

Tritos NA and Mantzaros CS (1997) *Leptin: its role in obesity and beyond.* Diabetologia,

40, 1371-1379.

Van Den Saffele JK, Goemaere S, De Bacquer D and Kaufman JM (1999) *Serum leptin*

levels in healthy ageing men: are decreased serum testosterone and increased adiposity in elderly men the consequence of leptin deficiency?, Clin Endocrinol (Oxf), 51,81-88.

Wada L, King JC (1986) *Effect of low zinc intakes on basal metabolic rate, thyroid hormones*

and protein utilization in adult men, J Nutr, 116:1045-53

Waynforth HB and Flecknell PA (1994) *Experimental and Surgical Tecnique in the Rat*

,Special Surgical Operations (bölüm 5). Sayfa 124- 127 ve 275-276, Academic Pres. London.

Yeğen BÇ (2003) *İnfeksiyon ve inflamasyonda leptin,* Genel Tıp Derg, 13 (2, EK), 3-4.

Yoneda T, Maruyama Y, Uji Y, Motomiya Hashiguchi Y, Miura M, Kitajima I and

Maruyama I. (2001) *A possible role for leptin in normo or hypoparathyroid üremic bone in postmenopausal dialysis women*, J Bone Miner Metab, 19, 119-124.

Yu WH, Karanth S, Walczewska A, Sower SA and McCann SM (1997) *A hypothalamic follicle-stimulating hormone-releasing decapeptide in the rat*, Proc Natl Acad Sci, 94, 9499-9503.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L and Friedman JM (1994)

Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue, Nature, 372, 406-407.

9.ÖZGEÇMİŞ

1976 yılında Trabzon'da doğdu. İlk, orta ve lise öğrenimini Giresun'da tamamladı. 1994 yılında Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesini kazandı. 1999 yılında mezun oldu. 2000 yılında Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji (Tıp) Anabilim Dalında doktora eğitimine başladı. Evli ve bir çocuk annesidir.