



**Erkek Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyet ile İndüklenen Obezitede Reprodüktif
Toksik Etkiler Açısından Probiyotik Uygulamasının Koruyucu Etkilerinin
Değerlendirilmesi**

Yüksek Lisans Tezi

Ramtın HARATI

Eskişehir 2024

**Erkek Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyet ile İndüklenen Obezitede Reprodüktif
Toksik Etkiler Açısından Probiyotik Uygulamasının Koruyucu Etkilerinin
Değerlendirilmesi**

Ramtın HARATI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sinem ILGIN

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Temmuz 2024

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Ramtın HARATI'in "Erkek Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyet ile İndüklenen Obezitede Reprodüktif Toksik Etkiler Açısından Probiyotik Uygulamasının Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi" başlıklı tezi 31.07.2024 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Yeterlik Tezi olarak kabul edilmiştir.

	<u>Unvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı)	: Prof. Dr. Sinem ILGIN	
Üye	: Prof. Dr. Başar SIRMAGÜL	
Üye	: Prof. Dr. Özlem ATLI EKLIOĞLU	

Prof. Dr. Saime ÖNCE

Enstitü Müdürü

ÖZET

Erkek Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyet ile İndüklenen Obezitede Reprodüktif Toksik Etkiler Açısından Probiyotik Uygulamasının Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi

Ramtın HARATI

Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Temmuz 2024

Danışman: Prof. Dr. Sinem ILGIN

Batı dünyasında obezite epidemik seviyelere ulaşmış, üreme sağlığı için risk oluşturmuş ve potansiyel olarak sperm kalitesinde düşüşe neden olmuştur. Bu tezin amacı, yüksek yağlı diyetle indüklenen aşırı kilo/obezite modelinin sıçanlarda üreme sistemi üzerindeki toksik etkilerini araştırmak ve probiyotik uygulamasının potansiyel toksik etkiler üzerindeki koruyucu ve tedavi edici etkilerini incelemektir. Çalışma, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanların testis ve epididim ağırlıklarının arttığını, sperm konsantrasyonunun azaldığını ve anormal morfolojik spermlere sahip olduğunu ortaya koymuştur. Testiküler histopatolojik bulgular seminifer tübül lümeninde sperm miktarında azalma, seminifer tübül yapısında dejenerasyon ve testiküler yapı hücrelerinde anomaliler olduğunu göstermiştir. Yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda serum LH seviyeleri kontrol sıçanlarına kıyasla azalmış ve testis dokularında GSH ve MDA seviyelerinde artış kaydedilmiştir. Probiyotik uygulaması, yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda kilo alımını azaltmış, ancak yüksek yağlı diyetle beslenmenin neden olduğu testis ve epididim ağırlıkları, sperm konsantrasyonu ve morfolojisindeki olumsuz değişiklikler üzerinde önemli bir koruyucu ve iyileştirici etki göstermemiştir. Bununla birlikte, probiyotik uygulaması testis histopatolojik bulguları ve hafif yapısal deformasyon üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olmuştur. Terapötik probiyotik uygulaması, yüksek yağlı diyetin neden olduğu testiküler dejeneratif bulguları hafifçe kötüleştirmiş, ancak testiküler MDA seviyelerine olumlu bir katkı sağlamamıştır.

Anahtar Sözcükler: Yüksek yağlı diyet, erkek reprodüktif sistem toksisitesi, reprodüktif hormon seviyeleri, oksidatif stres, probiyotik.

ABSTRACT

Evaluation of the Protective Effects of Probiotic Administration in terms of Reproductive Toxic Effects in High-Fat Diet-Induced Obesity in Male Rats

Ramtin HARATI

Department of Pharmaceutical Toxicology

Anadolu University, Graduate School, July 2024

Supervisor: Prof. Dr. Sinem ILGIN

Obesity in the Western world has reached epidemic levels, posing risks to reproductive health and potentially causing a decrease in sperm quality. This thesis aimed to investigate the toxic effects of a high-fat diet-induced overweight/obesity model on the reproductive system in rats and investigate the protective and treatment effects of probiotic administration on potential toxic effects. The study found that rats fed a high fat diet had increased testicular and epididymal weights, decreased sperm concentration, and abnormally morphological sperm. Testicular histopathological findings showed decreased sperm amount in the seminiferous tubule lumen, degeneration in the seminiferous tubule structure, and anomalies in testicular structure cells. Serum LH levels decreased in rats fed a high-fat diet compared to control rats, and increased GSH and MDA levels were noted in testicular tissues. Probiotic administration reduced weight gain in rats fed a high-fat diet, but did not show a significant protective and healing effect on the negative changes in testicular and epididymal weights, sperm concentration, and morphology caused by high-fat diet feeding. However, probiotic application had a protective effect on testicular histopathological findings and mild structural deformation. Therapeutic probiotic application slightly worsened testicular degenerative findings induced by the high-fat diet, but did not provide a positive contribution to testicular MDA levels.

Keywords: High-fat diet, male reproductive system toxicity, reproductive hormone levels, oxidative stress, probiotic.

TEŞEKKÜR

Hazırlamış olduğum bu yüksek lisans tezinin her aşamasında sevgisini, tecrübesini, bilgisini, desteğini esirgemeyen, zor zamanlarda bana destek olan Saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Sinem **ILGIN** 'a; çalışmalarımda karşılaştığım sorunlar ve problemlerin çözümümde her zaman sevgi ve içtenlikle bana yardımcı olan, her konuda beni motive eden, Saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Özlem **ATLI EKLİOĞLU** 'na; güler yüzüyle ve samimiyetiyle, bir hocadan ziyade baba gibi gördüğüm anabilim dalı başkanımız Saygıdeğer Hocam Prof. Dr. Bülent **ERGUN** 'a, bir hocadan çok abim gibi olan, beni hiçbir konuda kendinden ayırmayan, her konuda gerek akademik hayatta gerek noraml hayatta tecrübelerini benle paylaşan, bana yol gösteren, deneylerimiz sırasında tüm bilgilerini sunan sevgili Hocam Arş. Gör. A. Burak **KARADUMAN** 'a; yüksek lisans süresi boyunca hocadan ziyade bir ablam gibi bana ablalık yapan gerek akademik hayatta gerek normal yaşantıda deteklerini hiç esirgemeyen Saygıdeğer Öğr. Gör. Büşra **KORKUT ÇELİKATES** 'e, deneyler sırasında tecrübesini, bilgisini hiç esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Merve **BAYSAL** 'a; bana her konuda destek olan gerek manevi gerek akademik konularda canım arkadaşım Arş. Gör. Merve **GÜVEN** 'e, çocukları olduğum için gurur duyduğum, bugünlere gelmemde çokça maddi ve manevi yardımları olan canım babam Ramin **HARATI** ve annem Leila **ABEDİNİ TEFLİSİ** 'e, yüksek lisans süreci boyunca bana hep destek çıkan canım arkadaşım Ecz. Yunus Emre **DEMİREL** 'e; bu süreçte bana zor zamanlarda her konuda destek çıkan canım dostum Ecz. Alper Ali **FİDAN** ve sevgili eşi Av. Ayşegül **GÜNEY FİDAN** 'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Ecz. Ramtın **HARATI**

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalardan bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan "bilimsel intihal tespit programı"yla tarandığını ve hiçbir şekilde "intihal içermediğini" beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Ecz. Ramtın HARATI

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. KAYNAK BİLGİSİ.....	2
2.1. Obeziteyle İlgili Genel Bilgiler.....	2
2.2. Obezitenin Tedavisi	2
2.3. Probiyotik.....	2
2.4. Obezite ve Erkek Reprodüktif Sistemin İlişkisi.....	3
2.5. Obezite ve Bağırsak Mikrobiyom İlişkisi	4
2.6. Obezite ve Probiyotik İlişkisi.....	5
2.7. Obezite ve Probiyotik ve Erkek Reprodüktif Sistemin İlişkisi	5
3. GEREÇLER.....	6
3.1. Kullanılan Maddeler.....	6
3.2. Kullanılan Cihazlar	6
4. YÖNTEMLER.....	8
4.1. Sperm Konsantrasyonunun ve Motilitesinin Değerlendirilmesi	11
4.2. Sperm Morfolojisinin Değerlendirmesi	11
5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR	13

5.1.Vücut Ağırlıklarının ve Bağlı Organ Ağırlıklarının Değerlendirilmesi.....	13
6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER	24
6.1. Sonuçlar	24
6.2. Öneriler	28
KAYNAKLAR	29
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 5.1. Gruplara ait vücut ağırlıkları ve bağıl testis ve epididimis ağırlıkları	13
Tablo 5.2. Gruplara ait sperm parametreleri	16
Tablo 5.3. Gruplara ait serum hormon seviyeleri	22
Tablo 5.3. Gruplara ait testiküler GSH ve MDA seviyeleri	23



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 5.1. Gruplara ait testis enine kesitleri	8
Şekil 5.2. Gruplara ait yüksek büyütme seminifer tübül yapısı	20



KISALTMALAR DİZİNİ

BMİ	: Vücut Kitle Endeksi
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FSH	: Folikül Stimüle Edici Hormon
GSH	: Glutatyon
HFD	: Yüksek Yağlı Diyet
INHb	: İzoniazid
K	: Kontrol Grubu
LAB	: Laktik Asit Bakterileri
LH	: Luteinleştirici Hormon
MDA	: Malondialdehid
ND	: Normal Diyet
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda batı dünyasında obezite insidansının epidemik seviyelere ulaştığı vurgulanmaktadır. Aşırı kilo ve obezite birçok hastalık için risk faktörü olarak kabul edilmekte ve hem kadınlarda hem de erkeklerde reproduktif sağlığı da olumsuz olarak etkileyebilmektedir. Erkeklerde aşırı kilo ve obezitenin, özellikle de obezitenin artan prevalansının, son yıllarda sperm kalitesindeki azalmanın bir nedeni olabileceği ifade edilmektedir. Elbette, obezite ve sperm kalitesindeki paralel değişim, obezite ve erkek fertilitesi arasında potansiyel bir bağlantı olduğunun da habercisi olarak yorumlanmaktadır. Bu noktada çalışmalar aşırı kilo ve obezite ile birlikte ilişkili komplikasyonların önlenmesine ve tedavisine odaklanmıştır. Günümüzde bu amaçlarla farklı stratejiler uygulanmakla birlikte probiyotiklerle yapılan çalışmalarla umut vaat edici sonuçlar elde edilmiştir. Çünkü bağırsak mikrobiyotasının, önemli bir çevresel faktör olarak, obezitenin ortaya çıkmasına ve ilerlemesine önemli ölçüde katkıda bulunduğu dair kanıtlar artmaktadır [1], [2].

Bu tez çalışmasında, yüksek yağlı diyetle bağlı obezite modelinin sıçanlarda üreme sistemi üzerindeki toksik etkilerinin belirlenmesi ve olası toksik etkilere karşı probiyotik uygulamasının koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. Ayrıca olası toksisitede rol oynayabilecek mekanizmaların aydınlatılması da çalışmamızda amaçlanmıştır. Erkek reproduktif sistemi üzerine toksik etkiler sıçanlarda sperm sayısı, motilitesi ve morfolojisi ve sperm DNA integritisi ve testis dokusunun histopatolojik olarak incelenmesi ile belirlenecektir. Ayrıca reproduktif hormonlar, inflamatuvar parametreler ve oksidatif stres biyogöstergelerinin seviyelerinin belirlenmesiyle sıçanlarda olası patolojinin mekanizması aydınlatılacaktır. Bu doğrultuda sıçanlarda spermatogenez sürecinde rol oynayan hormonlar olan folikül stimüle edici hormon (FSH), lutinleştirici hormon (LH) ve testosteron seviyelerindeki, testis dokusunda mevcut oksidatif durumun değerlendirilmesinde kullanılan parametreler olan glutatyon (GSH) ve malondialdehit (MDA) seviyelerindeki seviyelerindeki değişimler belirlenecektir

2. KAYNAK BİLGİSİ

2.1. Obeziteyle İlgili Genel Bilgiler

Obezite, genellikle vücut yağı olarak bilinen beyaz yağ dokusunun, sağlık üzerinde olumsuz sonuçlar doğurabilecek ve ortalama yaşam süresini potansiyel olarak azaltabilecek derecede aşırı birikimi ile karakterize edilen patolojik bir durumdur. Vücut Kitle İndeksi (BMİ) 25 ila 30 kg/m² arasında olan bireyler fazla kilolu, BMİ 30 kg/m²'yi aşan bireyler ise obez olarak kabul edilir. Bununla birlikte, özellikle merkezi karın bölgesindeki yağ dokusunun dağılımı da hastalarda obeziteyi tanımlamak amacıyla kullanılmaktadır. Halihazırda, bel çevresinin obezitenin daha kesin bir göstergesi olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, bu tanımların yalnızca öneri olarak kabul edilmesi gerektiğini unutmamak önemlidir. BMİ 21 kg/m²'yi aştığında kronik hastalıklara yakalanma olasılığı giderek artmaktadır [3], [4].

Batı dünyası, daha hareketsiz bir yaşam tarzı ve sağlıksız beslenmenin birleşimi nedeniyle hem çocuk hem de yetişkin aşırı kilolu ve obez bireylerin sayısında bir artışa tanık olmuştur. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, 2005 yılında yaklaşık 1,6 milyar kişi aşırı kilolu ve 400 milyon yetişkin obez olarak sınıflandırılmıştır [3], [5].

2.2. Obezitenin Tedavisi

Obezite tedavisinde farklı yöntemler kullanılmaktadır, bunları sırasıyla anlatmak gerekirse ilk olarak günlük hayattaki değişiklikler olacaktır [6], porsiyon boyutlarını etkili bir şekilde yönetirken dengeli ve besleyici bir beslenme planı benimsemeyi içeren diyet değişikliklerini uygulamak [7], [8]. Kilo kaybını teşvik etmek ve genel sağlığı iyileştirmek amacıyla düzenli egzersizi günlük aktivitelere entegre etmek için tutarlı fiziksel aktivitede bulunmak. Stresle yemek yeme veya duygulara tepki olarak yemek yeme gibi aşırı yemeye katkıda bulunan davranışsal ve duygusal değişkenlerin ele alınması, davranış değişiklikleri yapılmasını içerir.

2.3. Probiyotik

Yüz yıldan uzun bir süre önce, Rus bilim insanı, Nobel ödüllü ve Paris'teki Pasteur Enstitüsü'nde profesör olan Elie Metchnikoff, laktik asit bakterilerinin (LAB) sağlığı iyileştirme ve daha uzun bir yaşam süresine katkıda bulunma potansiyeline sahip olduğunu varsaydı. Bağırsak mikrobiyotasını değiştirerek ve protein sindirimi sırasında fenoller, indoller ve amonyak gibi zararlı bileşikler üreten proteolitik mikroorganizmaları

faydalı mikroplarla değiştirerek “bağırsak oto-intoksikasyonu” sürecinin ve ardından gelen yaşlanmanın önlenebileceğini öne sürdü. “Bulgar basili” adını verdiği özel bir mikropla fermente edilmiş süt kullanarak bir beslenme planı oluşturdu [9].

Bunu takiben, bu konseptin daha erken gelişmeleri meydana gelmiştir. Bağırsak mikrobiyotası, sindirim sistemi bozukluklarını gidermek için genellikle değiştirilir veya canlı patojen olmayan mikroorganizmalarla değiştirilir. 1917 yılında, Sir Alexander Fleming'in penisilini tanımlamasından önce, Alman bilim adamı Alfred Nissle, Birinci Dünya Savaşı'nda önemli bir şigelloz salgını sırasında enterokolitten etkilenmeyen bir askerin dışkılarından patojen olmayan bir Escherichia coli suşu çıkarmıştır. Nissle 1917 Escherichia coli suşu, LAB kategorisine ait olmayan nadir bir probiyotik örneğidir [10].

Pasteur Enstitüsü'nden bir araştırmacı olan Henry Tissier, ishal yaşayan bebeklere vermek amacıyla anne sütüyle beslenen bir yenidoğandan bir Bifidobacterium çıkardı. Bunun ishale neden olan proteolitik bakterileri değiştirebileceğini öne sürmüştür. Japonya'da Dr. Minoru Shirota, ishal vakalarıyla mücadele etmek için özellikle Lactobacillus casei Shirota türünü izole etmiştir. Bu özel türü içeren bir probiyotik ürün 1935'ten beri piyasada bulunmaktadır [10].

Probiyotikler, yeterli miktarlarda verildiğinde konakçının sağlığı üzerinde olumlu bir etki sağlayan canlı mikroorganizmalardır. Kullanılan baskın probiyotikler Lactobacillus ve Bifidobacterium türleridir, ancak Saccharomyces boulardii mayası ve bazı E. coli ve Bacillus türleri de kullanılmaktadır [11]. Diğer türlere ek olarak Clostridium butyricum da yeni bir tür olarak kabul edilmektedir. Yakın zamanda Avrupa Birliği'nde yeni bir gıda olarak onay almıştır. Lactobacillus türleri gibi laktik asit bakterileri, binlerce yıldır fermantasyon yoluyla gıda muhafazası için kullanılmaktadır. Bu bakteriler gıda fermantasyonu için katalizör görevi görür ve sağlık avantajları sağlama potansiyeline sahiptir. Teknik olarak, “probiyotik” terimi yalnızca kontrollü çalışmalarla insan sağlığı üzerinde olumlu bir etki sağladığı kanıtlanmış canlı mikroorganizmalar için kullanılmalıdır. Fermantasyon, tahıllar, kökler, yumrular, meyveler, sebzeler, süt, et ve balık gibi çeşitli temel tarımsal ürünlerin korunması için dünya çapında yaygın olarak kullanılmaktadır [10].

2.4. Obezite ve Erkek Reprodüktif Sistemin İlişkisi

Erkek hipogonadizmi, gonadların yeterli miktarda testosteron ve normal miktarda sperm üretilmediği bir durumdur (androjen yetmezliği ve erkek kısırlığı ile sonuçlanır).

Bu durum hipotalamik-hipofiz-testis ekseninin bir veya daha fazla seviyesindeki işlev bozukluğundan kaynaklanır [12]. Erkek infertilitesi genellikle gebe kalamamaya yol açarken, androjen eksikliğinin semptomları ve göstergeleri yaş, eksikliğin süresi, diğer bozuklukların varlığı, hormon replasman tedavisi veya bireysel algı gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir. Hipogonadizmin libido azalması, erektil disfonksiyon, vücut kıllarının kaybı, meme hassasiyeti, ateş basması ve terleme gibi bazı klinik belirtileri yüksek derecede özgüllük gösterir. Öte yandan, enerji azalması, üzgün ruh hali, uyku bozukluğu, vücut yağında artış ve yüksek BMİ gibi bazı semptomlar daha az spesifiktir [12].

Çok sayıda çalışma, yüksek BMİ veya bel/kalça oranı ile seminal parametrelerdeki düşüş arasında bir korelasyon olduğunu gösterirken, başka bir dizi çalışma bu bulguyla çelişmektedir [13]. Obezite ile üreme hormonlarının bozulması veya hipogonadizm belirtilerinin varlığı arasındaki ilişki, tartışmaya çok az yer bırakan önemli miktarda araştırma ile desteklenmektedir [13], [14]. Teerds ve arkadaşlarına göre, incelenen çalışmaların %88'inde testosterondaki düşüş ile LH ve FSH seviyelerindeki düşüş arasında bir korelasyon bulunmamıştır. Ayrıca, obez erkeklerde sıklıkla normal gonadotropin seviyeleri görülmüştür [13]. Obez erkekler genellikle erektil disfonksiyon ve libido azalması nedeniyle cinsel işlev bozukluğu yaşamaktadır. Coğrafi konum ve değerlendirme metodolojilerindeki farklılıklara bakılmaksızın, sekiz popülasyon temelli araştırma, obez erkeklerde normal kilolu olanlara kıyasla daha yüksek bir erektil disfonksiyon prevalansı olduğunu tutarlı bir şekilde göstermiştir [15].

2.5. Obezite ve Bağırsak Mikrobiyom İlişkisi

Obezite, hem genetik faktörlerden hem de çevrenin etkisinden etkilenen dünya çapında önemli bir sağlık sorunudur ve yaygınlığı her yıl giderek artmaktadır. Son zamanlarda, obezite ve bağırsak mikrobiyotası arasında bir bağlantı kuran kanıtlar giderek artmaktadır [16], [17]. Bağırsak mikrobiyotasını yönetmek, obeziteyi tedavi etmek için yeni bir yaklaşım olarak ortaya çıkmıştır [16]. Bununla birlikte, genetik, çevre, bağırsak mikrobiyotası ve obezite arasındaki karmaşık ilişkiler hala tam olarak anlaşılamamıştır. Bu derleme, obezitede bağırsak mikrobiyotasının özellikleri, bağırsak mikrobiyotasının obeziteye katkıda bulunduğu mekanizma ve genetik ve çevresel faktörlerin bağırsak mikrobiyotası ve obezite üzerindeki etkisi hakkında kısa bir genel bakış sunmaktadır [18]. Obezite ve mikrobiyota arasındaki karmaşık ilişkiye dair

anlayışımızı geliştirmeyi amaçlamaktadır. Aynı zamanda, bağırsak mikrobiyotası ile ilgili obezite araştırması yapılması önerisi ortaya konmaktadır [19].

2.6. Obezite ve Probiyotik İlişkisi

Bağırsak mikrobiyotasını fizyolojimizin temel bir bileşeni olarak daha kapsamlı bir şekilde kavrayarak, nihayetinde obezite için tanısıl bir gösterge olarak kapasitesini keşfedebiliriz. Şu anda, obeziteyi iyileştirmek ve kontrol etmek amacıyla insan bağırsak mikrobiyotasını manipüle etmek ve işlevselliğini artırmak için başarılı bir strateji uygulamak için gerekli unsurları belirlemenin ilk aşamalarındayız [20]. Probiyotik temelli terapötik müdahaleler obezite için yenilikçi tedaviler sağlayabilir. Probiyotikler, yeterli miktarlarda verildiğinde konakçıya sağlık avantajları sağladığı kanıtlanmış olan zararsız canlı mikroorganizmalardır [21]. Birçok çalışma, bağırsak mikrobiyotasının ayarlanmasının obezitenin iyileştirilmesi ve yönetilmesi için etkili bir yaklaşım olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, probiyotiklerin obezite tedavisindeki terapötik faydaları hem hayvan hem de insan çalışmalarında kanıtlanmıştır [20], [21], [22].

2.7. Obezite ve Probiyotik ve Erkek Reprodüktif Sistemin İlişkisi

Probiyotiklerin erkek doğurganlığı üzerindeki etkileri kapsamlı bir şekilde incelenmemiştir. Araştırmalar, probiyotik suşların hem canlı organizmalarda hem de laboratuvar ortamlarında ve bazı hastalık modellerinde spermin hareket ve hareket özellikleri üzerinde avantajlı etkilere sahip olduğunu göstermiştir [23], [24]. Diyetleri yoluyla obez hale getirilen farelerin diyetine *Lactobacillus rhamnosus* PB01 eklenmesi, aktif olarak hareket eden sperm oranında kayda değer bir artışa yol açmış ve kilo kaybı ve üreme hormonları üzerinde faydalı etkileri olmuştur [23]. Öte yandan, *Lactobacillus* ve *Bifidobacterium* varlığı, astenozoospermisi olan erkeklerde sperm motilitesi artırmış ve hasarlı sperm DNA'sı oranını azaltmıştır [25].

3. GEREÇLER

3.1. Kullanılan Maddeler

Alkol	: Sigma-Aldrich, Almanya
DMEM/Ham's F-12	: capricorn, Almanya
Lam	: İSOLAB, Türkiye
Lamel yapıştırıcısı	: Eukitt, ispanya
LR White	: London Resin Campany, İngiltere
Paraformaldehit	: Sigma-Aldrich, Almanya
PBS	: MP Biomedicals, Fransa
Probiyotik (VSL#3)	: One-Up, Türkiye
Rat CRP Elisa Kiti	: ELK Biotechnology, Çin
Rat FSH Elisa Kiti	: ELK Biotechnology, Çin
Rat INHB (İnhibin B) Elisa Kiti	: ELK Biotechnology, Çin
Rat LH Elisa Kiti	: ELK Biotechnology, Çin
Rat SHBG Elisa Kiti	: ELK Biotechnology, Çin
Rat Testosteron Elisa Kiti	: ELK Biotechnology, Çin
Rat TNF- α Elisa Kiti	: ELK Biotechnology, Çin
Sodyum klorür (NaCl)	: Merck, Almanya
Sperm Blue dark staining	: Microptic SL, İspanya
Sperm Blue fixative solution	: Microptic SL, İspanya
Üretan	: Sigma-Aldrich, Almanya

3.2. Kullanılan Cihazlar

Güç kaynağı	: Thermo Scientific, Amerika Birleşik Devletleri
Hassas terazi	: Ohaus, Amerika Birleşik Devletleri
Homojenizatör	: Sartorius, Almanya

Isıtıcılı manyetik karıştırıcı	: Lab Companion, Amerika Birleşik Devletleri
İnkübatör	: Lab Companion, Amerika Birleşik Devletleri
Mikroplate okuyucu	: Biotek, Amerika Birleşik Devletleri
Nikon Eclipse 50i	: IMP, Güney Afrika
Otomatik Sperm Yazılımı	: SCA, İspanya
Soğutmalı santrifüj	: Eppendorf, Amerika Birleşik Devletleri
Ultrasonik banyo	: Bandelin, Almanya
Vorteks	: Heildolph, Almanya



4. YÖNTEMLER

Deney hayvanlarında diyet ile indüklenen obezite modeli için etkili bir model bulmanın en büyük zorluğu, obeziteye neden olan protokoller arasında standardizasyonun olmamasıdır. Çalışmalarda farklı diyet içeriklerinin, farklı hayvan türlerinin ve farklı uygulama sürelerinin kullanıldığı gözlenmekte, bu durum daha doğru deneysel obezite modelinin seçimini zorlaştırmaktadır. Diyet ile indüklenen deneysel obezite modelinde kalorinin genellikle %45 ile %60'ı yağlardan sağlanmaktadır. Bu noktada kontrol grubuna uygulanacak normal diyetin (ND) de obezojenik diyetle benzer bir beslenme içeriğine sahip olmasının gerekliliği vurgulanmalıdır. Yani, yüksek yağlı diyet (HFD) ve ND, yalnızca obeziteyi indüklemek için kullanılan yağ gibi spesifik makro besinlere göre farklılık göstermelidir. Diğer taraftan Sprague-Dawley sıçanlar kilo alımı ve lipid metabolizmasında değişikliklere neden olabilen aşırı gıda tüketimi konusunda insanlara benzer bir davranışa sahiptir ve bu nedenle diyet ile indüklenen deneysel obezite modeli için doğru bir tür olarak kabul edilmektedir. Ayrıca çalışmalar 3 haftadan uzun diyet uygulama sürelerinin deneysel obezitenin gelişimi için daha doğru sonuçlar üretebileceğini göstermektedir. Yedinci haftanın kilo alımındaki artış için bir dönüm noktası olduğu vurgulanırken, obezitenin fenotipik ve metabolik özelliklerinin sağlamaştırılması için 10 ile 12 haftalık uzun bir uygulama süresinin önemi de vurgulanmaktadır [26].

Buna göre deneylerde yaklaşık olarak 180-200 g ağırlığında yetişkin (6 – 8 haftalık) erkek Sprague-Dawley sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar, çalışma ortamına uyum sağlamaları için deney başlangıcından bir hafta önce laboratuvar ortamına alındı ve 12 saat karanlık 12 saat aydınlık döngüsünde, 24 ± 1 °C sıcaklıktaki iyi havalandırılan odalarda barındırıldı. Her grupta 10 sıçan olmak üzere 4 grup oluşturuldu. Sıçanlar pleksiglas kafeslere her bir kafeste en fazla 4 adet sıçan olacak şekilde yerleştirildi.

Çalışmada HFD kalori içeriği yaklaşık %20 protein, %20 karbonhidrat ve %60 yağ olarak çalışmalar ile uyumlu olarak seçildi [27], [28], [29], [30]. ND kalori içeriği ise yaklaşık %34 protein, %50 karbonhidrat ve %16 yağ olarak belirlendi. Her iki diyetle mikrobesein içeriği açısından benzerlik göstermektedir. Ayrıca diyet uygulama süresi 10 hafta ad libitum olarak belirlendi. Bu süre hem deneysel obezite modelinin indüklenmesi hem de sıçanlarda spermatogenez süreci ile uyumluluk göstermektedir. Spermatogenez üzerinde herhangi bir maruziyet ile ilişkili herhangi bir olumsuz etkiyi değerlendirmek

için en az bir tam spermatogenik döngü boyunca etkene maruz bırakılmalıdır ki bu sıçanlarda yaklaşık olarak 70 gün (10 hafta) olarak belirtilmiştir [31].

Şu anda probiyotik preparatlarının günlük dozlarına yönelik kabul görmüş bir plan veya kural bulunmamaktadır. Bu konu birçok tartışmayı da beraberinde getirmektedir. Bazen minimum 10^6 CFU terapötik doz olarak önerilirken, bazen de günde 10^{11} CFU kadar yüksek olması gerektiği ifade edilmektedir [32]. Çocuklar için günde 5 ila 10 milyar CFU, yetişkinlerde ise günde 10 ila 20 milyar CFU probiyotik dozu önerilmektedir [33]. Deneylerde kullanılacak olan probiyotik karışımının insanlarda önerilen günlük dozu 1×10^{10} CFU dondurularak kurutulmuş bakteri ve 300 mg inülinidir. Bu noktada hayvan eşdeğer dozu, insan dozunun (mg/kg) K_m oranına bölünmesi (sıçan için 0,162) veya çarpılması (sıçan için 6,2) yoluyla vücut yüzey alanı temel alınarak hesaplandığı vurgulanmalıdır [34]. Bu formüle göre sıçan eş değer dozu ise $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün ve 31 mg/kg/gün inülin olarak hesaplanmıştır. Ayrıca bu çalışma kapsamında kullanılacak probiyotik karışımında 4 Laktobasil, 3 Bifidobakteri suşu bulunmaktadır. Bu suşlar *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium Lactis*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*'dur.

Deneylerde kullanılacak sıçanların ilk ağırlıkları ölçülerek kaydedildi. Her grupta 10 sıçan olacak ve sıçanlar üçerli (2 kafes) ve dörtlü (1 kafes) olarak kafeslere yerleştirildi. Deney süresince hayvanların genel durumları günlük olarak kontrol edildi. Deneyin başlangıcında her bir sıçan başına 10g/gün olacak şekilde yem hesabı yapıldı. Buna göre; 4 sıçan olan kafese 40 g ve 3 sıçan olan kafese ise 30 g yem bırakıldı. Sıçanların günlük yem tüketimleri ise günlük verilen yem miktarından artan yem miktarı çıkarılarak kayıt edildi. Sıçanları vücut ağırlıkları haftada 1 kez aynı gün ve saatte olmak üzere ölçüldü ve kaydedildi.

Normal diyet grubu (K): 10 hafta boyunca ND ile beslenen sıçanlar.

Yüksek-yagli diyet grubu (HFD): 10 hafta boyunca HFD ile beslenen sıçanlar.

Probiyotik + yüksek-yagli diyet grubu (P-HFD): 10 hafta boyunca HFD ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar.

Yüksek-yagli diyet + probiyotik grubu – (HFD-P): 5 hafta boyunca HFD ile beslenen ve takiben 5 hafta boyunca HFD ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$

CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar.

1. 10 haftalık maruziyet süresi sonunda intraperitoneal 1.5 g/kg ürethan anestezisi [35] altında kalp sağ ventrikül yapısından yüksek miktarda kan alınması ile sıçanlar öldürüldü [36], [37], [38], [39].
2. Sıçanlara ait kan örnekleri 2-8°C'de bir gece bekletildi, süre sonunda 1000 x g'de 15 dk santrifüj edilerek plazma örnekleri hazırlandı [36], [37], [38], [39]. Plazma örnekleri FSH, LH ve testosteron seviyelerinin belirlenmesinde kullanılmak üzere -20°C'de saklandı. FSH, LH ve testosteron seviyelerinin belirlenmesinde ticari kitler kullanılarak ve kit protokolüne uygun olarak deneysel çalışmalar gerçekleştirildi.
3. Kan alınmasını takiben sıçanların sağ testis ve sağ epididimis dokuları çıkarıldı. Sol testis ve sol epididimis dokuları fosfat tampon solüsyonu (PBS) (NaCl: 8 g/L, KCl: 0.2 g/L, KH₂PO₄: 0.2 g/L and Na₂HPO₄: 1.14 g/L; pH: 7.4) ile kan ve diğer kirliliklerden arındırıldıktan sonra tartılıp ağırlıkları kaydedildi [36], [37], [39].
4. Sol testis dokuları eşit parçalara ayrılıp GSH ve MDA seviyelerinin belirlenmesinde kullanılmak üzere -20°C'de saklandı [36], [37], [38], [39]. GSH ve MDA seviyelerinin belirlenmesinde ticari kitler kullanılarak ve kit protokolüne uygun olarak deneysel çalışmalar gerçekleştirildi.
5. Sağ testis dokuları PBS ile temizlendikten sonra histopatolojik inceleme için fikse edildi. Histopatolojik inceleme için gruplara ait testis dokularının %10'luk formalin fiksatifinde 48 saat süre ile fiksasyonları sağlandı. Fiksasyonları sağlanan örnekler fiksatifin çökmesini engellemek amacıyla 3- 4 saat çeşme suyunda yıkandı. Çeşme suyuyla yıkanan doku parçaları daha sonra sırasıyla kademeli olarak %70, %80, %90 ve %96'lık alkol serilerinde 45'er dk bekletilerek dehidratasyonları sağlandı. Dehidratasyonlarının ardından örnekler şeffaflandırılmak üzere 2 kez 20'şer dk ksilolde bekletildi. Örnekler şeffaflaşmalarının ardından etüv içinde 65 °C'de eritilmiş parafinlere alınarak 60 dk süreyle üç ayrı parafinde bekletildi. Parafinize edilen dokular ayrı ayrı parafin içeren kasetlere gömülerek bloklandı ve kesit alınmaya hazır duruma getirildi. Parafin bloklardan kesitlerin alınmasında kullanılacak mikrotom bıçağı buzdolabında soğutuldu, mikrotom aracılığı ile her bir örnekten 5'er µm kalınlığında doku kesitleri alındı. Kesitlerin 45°C'de su banyosunda açılmaları sağlanarak temiz lamalar üzerine alınmasından sonra etüv içinde 1 saat süre ile bekletilmeleri sağlandı. Preparatlar 1'er

saat süre ile iki ayrı ksilolde tutulup deparafinizasyonları sağlandıktan sonra boyama aşamasına geçildi. Kesitlerin boyanmasında hematoksilen-eosin ikili boyası kullanıldı. Deparafinizasyonu yapılmış olan doku kesitleri 5'er dk süreyle %96, %90, %80, %70'lik alkollerde ve distile suda bekletildi. Kesitler hematoksilen ile 2 dk ve eosin ile 10 dk boyandı. Çeşme suyu ile fazla boyası alınan kesitler hızla alkol serilerinden geçirilip dehidratasyonları sağlandı. Dokular iki ayrı ksilolde 30'ar dk tutularak şeffaflaştırıldı ve şeffaflaşan dokular daha sonra entellan ile kapatılarak ışık mikroskopik düzeyde Olympus BH-2 mikroskop ile değerlendirmeleri yapıp doku örnekleri içeren tüm preparatların Olympus DP-70 digital kamera ile fotoğrafları çekildi [36], [37], [38], [39].

6. Sağ epididimisin kauda dokuları sperm parametrelerinin belirlenmesinde kullanıldı. Sperm sayısı, motilitesi, morfolojisi ve sperm DNA integritisi olmak üzere temel sperm parametrelerinin analizi Sperm Class Analyzer® cihazında otomatik olarak gerçekleştirildi. Sperm Class Analyzer® sperm örneklerinin kantitatif analizini sağlamak üzere tasarlanmış bilgisayar destekli otomatik sperm analiz sistemidir. Sıçanların sağ epididimis, bovine serum albümin (4 mg/ml) ve Hepes (5.7 mg/ml) içeren pH'sı 7.4 37 °C Ham-F10 medyumun 10 ml'sinde spermilerin açığa çıkması için parçalandı. Daha sonra spermilerin salıverilmesi için 10 dk 37 °C'de bekletildi. Epididimis dokusu ortamdan uzaklaştırıldı, sperm süspansiyonu sperm sayısı, motilitesi ve morfolojisinin değerlendirilmesi için kullanıldı [36], [37], [38], [39].

4.1. Sperm Konsantrasyonunun ve Motilitesinin Değerlendirilmesi

Sperm sayısı ve motilitesinin değerlendirilmesi için FluoCount kiti kullanıldı. 100 µl sperm süspansiyonu 50 µl fosfat tamponu ile 5 dk 37 °C'de bekletildi. Aynı bir vialde 250 µl fosfat tamponu ve 1 µl FluoCount çözeltisi ilave edildi ve 5 dk 37 °C'de bekletildi. Fosfat tamponu ve sperm süspansiyonu karışımının 50 µl'si 250 µl fosfat tamponu ve 1 µl FluoCount çözeltisi karışımına ilave edildi. Bu karışım 5 dk 37 °C'de bekletildi. Süre sonunda Sperm Class Analyzer® sisteminde sperm sayısı ve motilitesi belirlendi [40], [41].

4.2. Sperm Morfolojisinin Değerlendirmesi

Sperm solüsyonu $20-30 \times 10^6$ spermatozoa/ml olacak şekilde medyum ile dilüe edildi. Süspansiyonun 23 µl'si önceden ısıtılmış silikonize slaytlara yerleştirildi. Mikroskopik incelemeden önce 15 dk oda ısısında bekletildi. Sperm Class Analyzer®

kontrol bilgisayarına bağı 37 °C'ye ısıtılmış tablada mikroskop altında otomatik olarak incelemeye tabi tutuldu [36], [37], [38], [39], [40], [41].

7. İstatistiksel Değerlendirme: Değerler ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi. İstatistiksel analiz için IBM SPSS Statistics v. 23 (IBM Corporation- International Business Machines Corporation of Armonk, New York, ABD) kullanılmıştır. Değişkenlerin normal dağılımını değerlendirmek için Shapiro-Wilk testi kullanılmıştır. Bağımsız gruplarda ikiden fazla grubu karşılaştırmak için ANOVA testi kullanılmıştır. Tek Yönlü Varyans Analizi (ANOVA) testi istatistiksel olarak anlamlı olduğunda, post hoc LSD testi yapılmıştır. $p < 0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



5. BULGULAR ve TARTIŞMALAR

5.1. Vücut Ağırlıklarının ve Bağlı Organ Ağırlıklarının Değerlendirilmesi

Vücut ağırlığı artışı, yüksek yağlı diyetin aşırı kilo/obezite gelişimine olan etkisinin değerlendirilmesi ve probiyotik uygulamasının etkisinin izlenmesi açısından önemli bir parametredir. Yüksek yağlı diyetle beslenen grupta normal diyetle beslenen kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı artış elde edilmiştir. Deneyssel prosedürün başlangıcı ve bitişi arasındaki sürede kontrol grubu sıçanlarda vücut ağırlığındaki artış %43.59 hesaplanırken yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta %62.02 olarak hesaplanmıştır. Bu sonuçlar sıçanlara 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet uygulamasıyla deneyssel aşırı kilo/obezite modelinin indüklendiğinin bir göstergesi olarak yorumlanmıştır. Yüksek yağlı diyet ile eş zamanlı olarak probiyotik uygulanan grupta normal diyetle beslenen kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı artış elde edilmiştir. Bu grupta ağırlık artışı %50.36 olarak hesaplanmıştır. Yüksek yağlı diyet ile birlikte son 5 haftasında eş zamanlı probiyotik uygulanan grupta da normal diyetle beslenen kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı artış elde edilmiştir. Bu grupta ağırlık artışı %49.63 olarak hesaplanmıştır. Yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplar arasında vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında, probiyotik uygulanan gruplarda sadece yüksek yağlı diyet ile beslenen gruba göre istatistiksel olarak anlamlı azalmış vücut ağırlıkları ölçülmüştür. Hammami ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek yağlı diyet ile birlikte kefir uygulanan sıçanlarda vücut ağırlığının sadece yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlara göre anlamlı olarak azaldığı belirlenmiştir [42].

Organ ağırlıkları, çeşitli maruziyetlerin organ/sistem düzeyindeki toksisitelerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kabul görmektedir [43, 44]. Erkeklerde de reproduktif sisteme ait testisler, epididimis, prostat bezi ve seminal vezikül ağırlıklarının belirlenmesi, reproduktif toksik etkilerin değerlendirilmesinde önemli bir göstergedir [45]. Testis ağırlıklarındaki değişiklikler, seminifer tübüllerdeki değişiklikleri veya interstisyel ödemi yansıtabilmektedir. Epididimal ağırlıktaki değişiklikler, azalmış sperm üretiminin hassas bir göstergesi olabilmekte veya ödem veya inflamasyonu yansıtabilmektedir. Ayrıca reproduktif sisteme ait organların ağırlıklarının belirlenmesi mature hayvanlarda immature hayvanlara göre daha değerlidir [43]. Bu noktada organ ağırlıklarının organ ağırlığı / vücut ağırlığı şeklinde bağlı ağırlıklar halinde ifade

edilmesinin önemi vurgulanmalıdır, çünkü organ ağırlıkları vücut ağırlıkları ile ilişkilidir [45, 46].

Çalışma sonuçlarımız yüksek yağlı diyet ile beslenen grupta bağıl testis ve epididimis ağırlıklarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığını göstermiştir. Farklı çalışmalar da yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda bağıl testis ağırlıklarının azaldığını göstermektedir [47, 48]. Yüksek yağlı diyet ile eş zamanlı olarak probiyotik uygulanan grupta da bağıl testis ve epididimis ağırlıklarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığı tespit edilmiştir. Benzer şekilde yüksek yağlı diyet ile birlikte son 5 haftasında eş zamanlı probiyotik uygulanan grupta da bağıl testis ve epididimis ağırlıklarının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azaldığı tespit edilmiştir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplar arasında bağıl testis ve epididimis ağırlıkları açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir.

Gruplara ait vücut ağırlıkları ve bağıl testis ve epididimis ağırlıkları **Tablo 5.1**'de sunulmuştur.

Tablo 5.1 Gruplara ait vücut ağırlıkları ve bağıl testis ve epididimis ağırlıkları

Deney grupları	Vücut Ağırlığı (g)	Bağıl testis ağırlığı (g/100 g vücut ağırlığı)	Bağıl epididimis ağırlığı (g/100 g vücut ağırlığı)
K	362.90 ±10.63	0.38 ±0.008	0.16 ±0.004
HFD	443.50 ±10.61 (*)	0.31 ±0.008 (*)	0.13 ±0.003 (*)
P-HFD	390.40 ±16.73 (*, +)	0.32 ±0,01 (*)	0.14 ±0.007 (*)
HFD-P	384.40 ±6.70 (*, +)	0.33 ±0,006 (*)	0.14 ±0.004 (*)

K: 10 hafta boyunca normal diyet ile beslenen sıçanlar. **HFD:** 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlar. **P-HFD:** 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar. **HFD-P:** 5 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen ve takiben 5 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar.

Sonuçlar ortalama ±standart hata olarak verilmiştir.

(*) Kontrollden farklı ($p \leq 0.05$).

(+) O'dan farklı ($p \leq 0.05$).

5.2. Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Erkek infertilitesinin %2-5'i endokrin bozukluklar (genellikle hipogonadizmden kaynaklanan), %5'i sperm transport bozuklukları (vazektomi gibi) ve %65-80'i primer testiküler defektler (tanımlanabilir bir nedeni olmayan anormal sperm parametreleri) ile ilişkilendirilirken, %10-20'si idiyopatik (infertil bir erkeğin normal sperm ve semen parametrelerine sahip olması) olarak kabul edilmektedir [49]. Dolayısıyla Dünya Sağlık Örgütü kılavuzunda yer alan sperm konsantrasyonu, motilitesi ve morfoloji gibi semen analizinde değerlendirilen parametrelerin erkek fertilitésinin değerlendirilmesinde belirleyici olduğunu söylemek mümkündür ve bu parametreler için belirlenen referans değerler fertil popülasyonlara ait çalışmalardan elde edilmiştir. Bu parametrelere ait değerlerin referans değerler içinde olmaması, erkeklerde fertilité problemlerine yol açabilmektedir [50].

Yüksek yağlı diyetle beslenen grupta normal diyetle beslenen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalan sperm konsantrasyonu ve artan anormal sperm morfolojisi tespit edilmiştir. Sperm motilitesi açısından bu iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Aşırı kilo/obezite ve sperm parametreleri üzerine önceki çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. Bazıları obezite ile sperm konsantrasyonu [51-56], sperm motilitesi [52, 53, 57, 58] ve normal sperm morfolojisi [52, 54-56, 59, 60] arasında negatif korelasyonu işaret ederken, bazı çalışmalar ise obezite ve sperm parametreleri arasında herhangi bir korelasyon olmadığına dikkat çekmiştir [61-64].

Yüksek yağlı diyet ile eş zamanlı olarak probiyotik uygulanan grupta normal diyetle beslenen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalan sperm konsantrasyonu ve artan anormal sperm morfolojisi tespit edilmiştir. Sperm motilitesi açısından bu iki grup arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir. Benzer şekilde yüksek yağlı diyet ile birlikte son 5 haftasında eş zamanlı probiyotik uygulanan grupta normal diyetle beslenen kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalan sperm konsantrasyonu ve artan anormal sperm morfolojisi tespit edilmiştir. Sperm motilitesi açısından bu iki grup arasından anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Hammani ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek yağlı diyet ile beslenen sığırcılarda azalan sperm sayısı ve normal morfolojili sperm yüzdesinin yüksek yağlı diyetle birlikte eş zamanlı kefir uygulanan sığırcılarda iyileştiği gözlenmiştir [42].

Deneyisel reproduktif toksisitenin indüklendiği farklı iki çalışmada da sperm parametreleri açısından eş zamanlı probiyotik uygulamasıyla olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Di-n-bütil ftalat ve mono-n-bütil ftalat ile indüklenen reproduktif toksisite modelinde *Lactiplantibacillus plantarum* RS20D sperm konsantrasyonunu ve sperm morfolojik anomalilerini düzeltmiştir [65]. Karbontetraklorür ile indüklenen bir diğer reproduktif toksisite modelinde azalmış sperm konsantrasyonu ve normal morfolojili sperm yüzdesi eş zamanlı *Lactobacillus coagulans* ve *Lactobacillus casei* uygulamasıyla düzelmiştir [66].

Yüksek yağlı diyet ile beslenen gruplar arasında parametreleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir. Gruplara ait parametreleri Tablo 5.2’de sunulmuştur.

Tablo 5.2. Gruplara ait sperm parametreleri

Deney grupları	Sperm konsantrasyonu (10 ⁶ /ml)	Motilite (%)	Anormal sperm morfolojisi (%)
K	3,27 ±0.28	90.43 ±2.00	19.69 ±1.30
HFD	1.97 ±0.15 (*)	80.74 ±4.21	33.06 ±2.40 (*)
P-HFD	1.99 ±0.32 (*)	87.87 ±2.60	34.31 ± 2.58 (*)
HFD-P	2.17 ±0.41 (*)	85.37 ±2.66	35.44 ±2.21 (*)

K: 10 hafta boyunca normal diyet ile beslenen sıçanlar. **HFD:** 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlar. **P-HFD:** 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar. **HFD-P:** 5 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen ve takiben 5 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar.

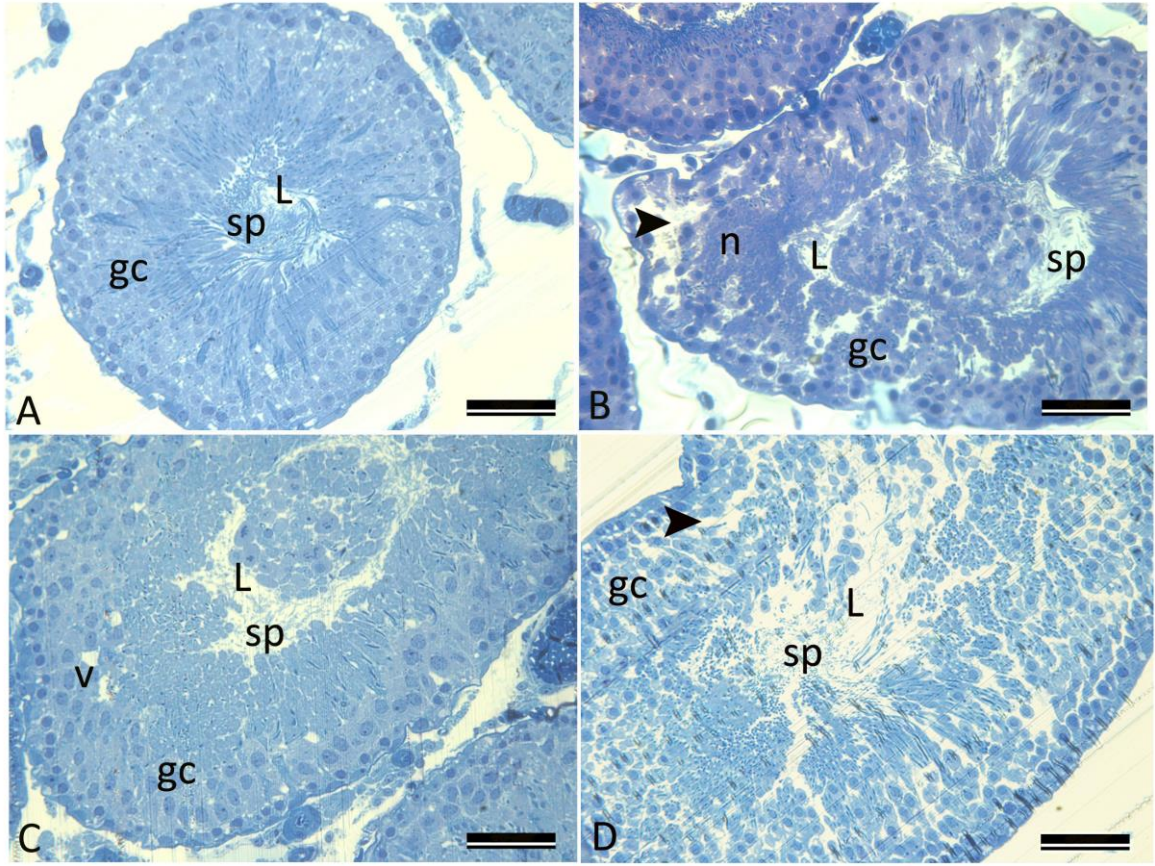
Sonuçlar ortalama ±standart hata olarak verilmiştir.

(*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$).

5.3. Testis Dokusunun Histolojik Olarak İncelenmesi

Reprodüktif sistemi oluşturan dokuların histolojik olarak değerlendirilmesi reprodüktif toksik etkilerin önemli göstergesi olarak kabul edilmektedir. Özellikle testiküler dokuda izlenen patolojik bulgular reprodüktif fonksiyonlardaki bozuklukların habercisi olarak kabul edilmektedir [67].

Kontrol grubu sıçanlara ait testis doku örneklerinde seminifer tübüllerin, germinal epitel hücrelerin ve interstisyel hücrelerin organizasyonun normal olduğu tespit edilmiş, ayrıca lümen içerisinde spermatozoa miktarının normal olduğu belirlenmiştir. (**Şekil 1A**). Yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlara ait testis doku örneklerinde, germinal epitel hücreleri arasında büyük boşluklar ve hücre zarlarının parçalanması ile seminifer tübüllerin şekli ve yapısında değişiklikler izlendi. Germinal epitel hücrelerinde nekroz ve hücrelerin sitoplazmasında lipid damlacıklarının artan birikimine bağlı olarak doku hasarı gözlemlendi. Seminifer tübüllerin lümeninde spermatozoa miktarının azaldığı dikkat çekti (**Şekil 1B**). Yüksek yağlı diyet ile eş zamanlı olarak probiyotik uygulanan sıçanlara ait testis doku örneklerinde, germinal epitel hücreleri arasında nadir vakuol oluşumları ve boşluklar ile seminifer tübüllerin hafif deformasyonu izlendi. Diğer taraftan lümende spermatozoa miktarının azalmış olması dikkat çekiciydi (**Şekil 1C**). Yüksek yağlı diyet ile birlikte son 5 haftasında eş zamanlı probiyotik uygulanan gruba ait testis doku örneklerinde, neredeyse tamamen hasarlı bir germinal epitel doku yapısı izlendi. Hücrelerin sitoplazmasında lipidlerin yüksek seviyelerde birikmesine bağlı olarak membran hasarı ve doku kaybı gözlemlendi. Ayrıca seminifer tübüllerin lümeninde spermatozoa miktarının azaldığı dikkat çekti (**Şekil 1D**).

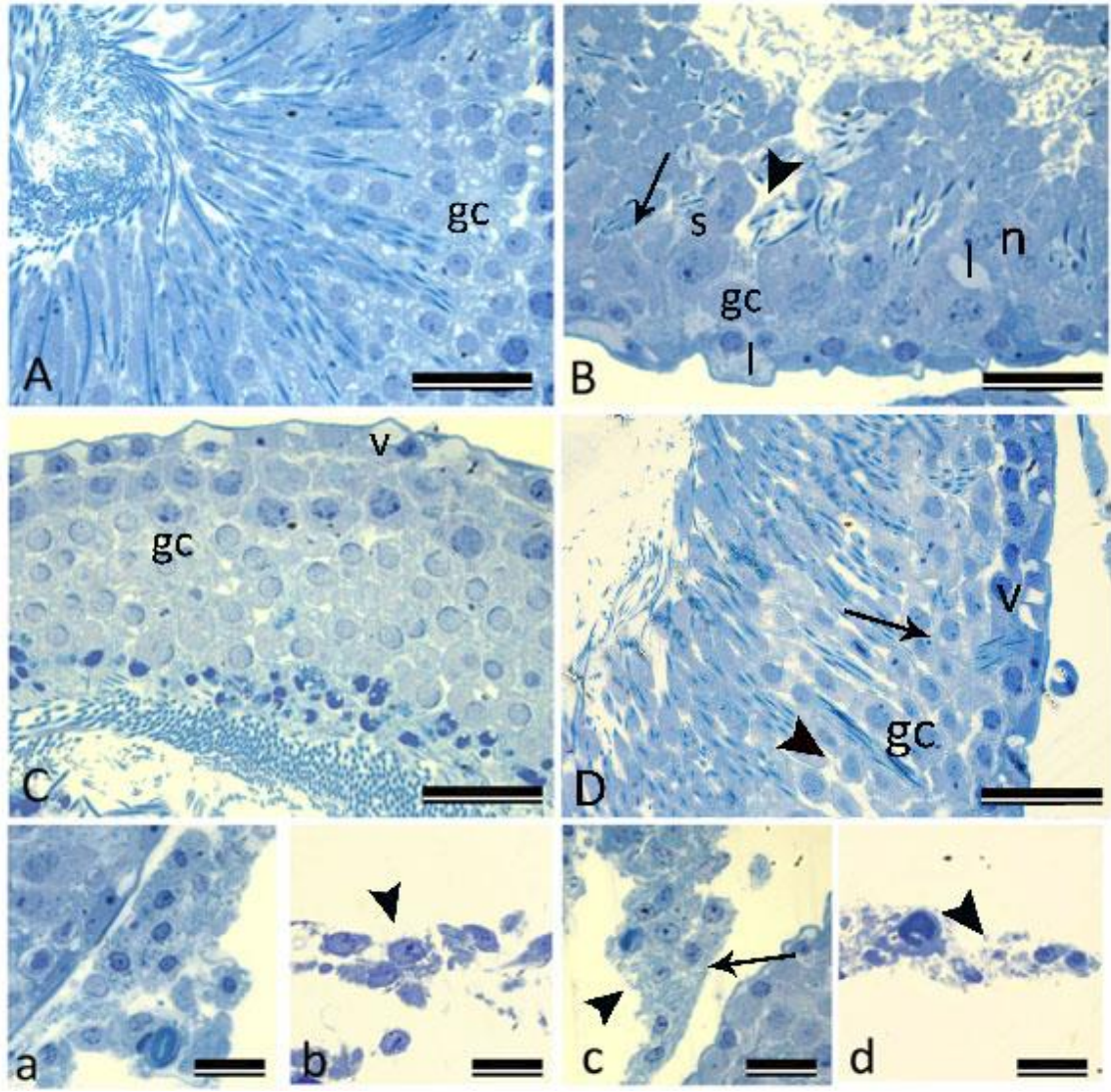


Şekil 5.1. Gruplara ait testis enine kesitleri

(A) **Kontrol:** germinal epitel hücreleri, interstisyel hücreler ve lümende normal miktarda spermatozoa içeren seminifer tübülün normal görünümü (B) **HFD:** Seminifer tübülün düzensiz şekli, germinal epitelin genişlemesi (ok), nekroz (n) ve germinal epitel hücrelerinin azalması, lümen içindeki spermatozoa miktarının azalması. (C) **P-HFD:** Seminifer tübülün hafif deformasyonu, germinal epitel hücreleri arasında büyük vakuoller (v), lümen içindeki spermatozoa miktarının azalması. (D) **HFD-P:** Seminifer tübülün deformasyonu, germinal epitel dokusu arasında büyük boşluklar (ok), lümen içindeki spermatozoa miktarının azalması. Kısaltmalar: L: lümen; gc: germinal epitel hücreleri; sp: spermatozoa. (Scale abar: 20 µm).

Kontrol grubu sıçanlara ait testis doku örneklerinde germinal epitel hücreleri düzgün şekilli ve düzenli olarak izlendi (**Şekil 2A**). Ayrıca bu grupta Leydig hücreleri, polihedral şekil ve tek eksantrik yerleşimli oval çekirdek ile olağan yapılarında izlendi (**Şekil 2a**). Yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlara ait testis doku örneklerinde, germinal epitel hücrelerinin düzensizliği ve hücrelerin sitoplazmasında lipid damlacıklarının varlığı dikkat çekmiştir. Seminifer tübül yapısının germinal epitel hücrelerinin şişmesine, nekrozuna ve parçalanmasına bağlı olarak genişlediği gözlenmiştir (**Şekil 2B**). Ayrıca bu grupta Leydig hücrelerinde membran hasarı ve büzülme dikkat çekicidir (**Şekil 2b**).

Yüksek yağlı diyet ile eş zamanlı olarak probiyotik uygulanan sıçanlara ait testis doku örneklerinde, germinal epitel hücrelerinin en dış tabakasındaki vakualizasyon dışında hemen hemen normal bir yapı izlendi (**Şekil 2C**). Ayrıca bu grupta Leydig hücreleri, artmış lipid damlacıkları ve hafif membran değişiklikleri dışında hemen hemen olağan yapılarında izlendi (**Şekil 2c**). Yüksek yağlı diyet ile birlikte son 5 haftasında eş zamanlı probiyotik uygulanan gruba ait testis doku örneklerinde, germinal epitel hücrelerinde yüksek miktarda lipid damlacıklarının biriktiği ve membran hasarına bağlı olarak germinal epitel hücrelerinde ciddi parçalanma ve atrofi izlendi. Bu grubun seminifer tübüllerinde yüksek miktarda lipid birikimi ve hücrelerin parçalanmasına bağlı olarak hücresel bütünlüğün kaybı ve tübüler yapının deformasyonu dikkat çekicidir (**Şekil 2D**). Ayrıca bu grupta Leydig hücrelerinin parçalandığı, membranlarında ciddi hasarlar olduğu ve hücresel yapının kaybolduğu gözlemlendi (**Şekil 2d**).



Şekil 5.2. Gruplara ait yüksek büyütme seminifer tübül yapısı

(A) **Kontrol:** Germinal epitel hücrelerinin normal histolojik görünümü (B) **HFD:** Germinal epitel hücrelerinin şişmesi (s), düzensiz dizilimi (ok) ve nekrozu (n), hücrelerin içinde büyük lipid damlacıkları (l), tübül yapısının parçalanması (ok). (C) **P-HFD:** Seminifer tübülün en dış tabakasında vakuolleşme (v), germinal epitel hücrelerinin düzenli dizilimi. (D) **HFD-P:** Germinal epitel hücrelerinin deformasyonu ve vakuolleşmesi (v), germinal epitel hücreleri arasında büyük boşluklar (ok), germinal epitel hücrelerinin düzensiz dizilimi (ok). (a-d) Leydig hücrelerinin yüksek büyütmesi. **Kısaltmalar:** L: lümen; gc: germinal epitel hücreleri; sp: spermatozoa (Scale abar: 20 µm).

Yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda testiküler yapısal anomalileri işaret eden farklı çalışmalar bulunmaktadır [55, 68-71]. Diğer taraftan Hammami ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda testiküler morfolojik anomalilerin yüksek yağlı diyetle birlikte eş zamanlı kefir uygulanan sıçanlarda düzeldiği gözlenmiştir [42]. Deneysel reproduktif toksisitenin indüklendiği farklı iki

çalışmada da testiküler morfoloji açısından eş zamanlı probiyotik uygulamasıyla olumlu sonuçlar elde edilmiştir. Di-n-bütil ftalat ve mono-n-bütil ftalat ile indüklenen reproduktif toksisite modelinde eş zamanlı *Lactiplantibacillus plantarum* RS20D uygulaması ftalatların testislerde neden olduğu yapısal hasarı önemli ölçüde hafifletmiştir [65]. Karbontetraklorür ile indüklenen bir diğer reproduktif toksisite modelinde de testislerde meydana gelen yıkıcı yapısal değişiklikler eş zamanlı *Lactobacillus coagulans* ve *Lactobacillus casei* uygulamasıyla hafiflemiştir [66].

5.4. Serum Hormon Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Hipotalamus-hipofiz-gonad (HPG) eksen, bir dizi hormonun salıverilmesiyle reproduktif fonksiyonu ve fertilitiyi kontrol etmekte ve karmaşık bir eksitator ve inhibitör faktörler dizisi tarafından sıkı bir şekilde düzenlenmektedir [72]. Testiküler fonksiyonların değerlendirilmesinde serum reproduktif hormon seviyelerinin belirlenmesi önemli bir ölçüttür. Bu hormonlar ile regüle edilen spermatogenez sürecindeki olası patolojik durumların açıklanmasında reproduktif hormon seviyeleri kritik bir rol oynamaktadır [73, 74]. Bu noktada genel yaşam tarzının, özellikle de diyet alışkanlıklarının, uygun reproduktif fonksiyonların sürdürülmesinde büyük önem taşıdığı ve uygun olmayan diyet yapısının HPG ekseninde düzensizliklere neden olduğu ifade edilmelidir [72, 75].

Çalışmamızda yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda serum FSH ve testosteron seviyeleri açısından kontrol grubundan farksız değerler elde edilmiştir. Serum LH seviyeleri ise yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı azalmıştır. Coskunlu ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda serum testosteron seviyesinin arttığı, LH seviyesinin azaldığı ve FSH seviyesinin değişmediği gözlenmiştir [55]. Ayrıca yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlar serum hormon seviyeleri açısından kendi aralarında karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark elde edilmemiştir.

Çalışmamızda gruplara ait serum hormon seviyeleri Tablo 5.3'te sunulmuştur.

Tablo 5.3. Gruplara ait serum hormon seviyeleri

Deney grupları	FSH (ng/ml)	LH (mIU/mL)	Testosteron (pg/ml)
K	0.51 ±0.08	1.32 ±0.20	1978.90 ±32.19
HFD	0.47 ±0.05	0.55 ±0.12 (*)	1948.15 ±39.37
P-HFD	0.45 ±0.07	0.64 ±0.09 (*)	2009.08 ±17.81
HFD-P	0.47 ±0.07	0.61 ±0.09 (*, +)	20000.85 ±17.27

K: 10 hafta boyunca normal diyet ile beslenen sıçanlar. **HFD:** 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlar. **P-HF):** 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar. **HFD-P:** 5 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen ve takiben 5 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar.

Sonuçlar ortalama ±standart hata olarak verilmiştir.

(*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$).

5.5. Testiküler GSH ve MDA Seviyelerinin Değerlendirilmesi

Oksidatif stres, testis dokusunda hücre bölünmesi ve mitokondriyal oksijen tüketiminin yüksek olması ile birlikte bu dokunun ve sperm hücre membranının yüksek oranda doymamış yağ asit içeriği nedeniyle erkek infertilitesi için önemli bir etken olarak kabul edilmektedir [76]. MDA, hücre membranındaki lipidlerin oksidatif bozulmasının bir yan ürünüdür ve bu nedenle MDA konsantrasyonundaki değişiklik oksidatif hücre hasarının bir endeksi olarak kullanılmaktadır [77]. Çalışmamızda yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda lipid peroksidasyonunun son ürünü olan MDA seviyelerinin de yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda kontrol grubuna göre anlamlı olarak artmıştır. Sonuçlarımızla uyumlu olarak, yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda testiküler MDA seviyelerinin arttığı farklı çalışmalarda da gösterilmiştir [55, 77-81].

Diğer taraftan çalışmamızda şaşırtıcı olarak yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda GSH seviyelerinin kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı belirlenmiştir. Ancak farklı çalışmalar yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda testiküler GSH seviyelerinin azaldığını işaret etmektedir [55, 79-81]. Ancak az sayıda da olsa birkaç çalışma yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda farklı dokularda GSH seviyelerinin arttığı gözlenmiştir. Buna göre renal, hepatik ve serum total GSH ve GSH seviyelerinde yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir [82]. Ayrıca Barreto ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanların karaciğer dokusunda GSH düzeylerinin arttığı belirlenmiştir [83]. Ayrıca testiküler glutatyon içeriğinin yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda değişmediğini gösteren bir çalışma da bulunmaktadır [47].

Yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlar arasında hem GSH hem de MDA seviyeleri açısından anlamlı bir fark elde edilmemiştir. Gruplara ait testiküler GSH ve MDA değerleri Tablo 5.4'te sunulmuştur.

Tablo 5.4. Gruplara ait testiküler GSH ve MDA seviyeleri

Deney grupları	GSH (μ M)	MDA (mcg/ml)
K	128.80 $\pm$ 20.54	7.48 $\pm$ 0.44
HFD	241.06 $\pm$ 32.34 (***)	11.31 $\pm$ 0.45 (*)
P-HFD	288.37 $\pm$ 36.40 (***)	8.73 $\pm$ 0.44
HFD-P	263.04 $\pm$ 30.48 (***)	10.72 $\pm$ 0.82 (*)

ND: 10 hafta boyunca normal diyet ile beslenen sıçanlar. **HFD:** 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlar. **P-HFD:** 10 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar. **HFD-P:** 5 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile beslenen ve takiben 5 hafta boyunca yüksek yağlı diyet ile birlikte eş zamanlı gastrik gavaj yoluyla $1,03 \times 10^9$ CFU/kg/gün dondurularak kurutulmuş bakteri karışımı ve 31 mg/kg/gün inülin uygulanan sıçanlar.

Sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir.

(*) Kontrolde farklı ($p \leq 0.05$).

(***) Kontrolde farklı ($p \leq 0.001$).

6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

6.1. Sonuçlar

Son yıllarda aşırı kilo/obezitenin artan prevalansı hakkında bilimsel basında, popüler dergilerde ve gazetelerde binlerce makale yazılmıştır [84]. Bu yazıları destekler nitelikte Dünya Sağlık Örgütü'nün 2022 yılı verileri 18 yaş ve üzeri 2,5 milyar yetişkinin aşırı kilolu olduğuna ve bunların 890 milyonunun ise obez olduğuna dikkat çekmiştir. Bu, 18 yaş ve üzeri yetişkinlerin %43'ünün aşırı kilolu olduğu anlamına gelmektedir. 1990 yılında %25 olarak belirtilen bu oranın yıllar içerisinde belirgin bir artış gösterdiği aşıkardır. Ayrıca 2022 yılında dünya çapında 18 yaş ve üzeri yetişkinlerin yaklaşık %16'sının obez olduğu ve obezitenin dünya çapında prevalansının 1990 ile 2022 yılları arasında iki katından fazla arttığı vurgulanmaktadır [85]. Bu noktada obezitenin günümüzde epidemik bir salgın olarak ifade edildiği vurgulanmalıdır. Obezite sadece bir metabolik hastalık değil aynı zamanda birçok hastalık için önemli bir risk faktörü olarak kabul edilmektedir [86-88]. Obeziteyle ilişkili çok iyi bilinen komorbid hastalıkların yanı sıra, son yıllarda giderek artan sayıda kanıt erkeklerde reproduktif yaşlardaki aşırı kilo/obezitenin fertilitiyi olumsuz olarak etkilediğini göstermektedir [54, 87]. Özellikle erkek obezitesi, sperm kalitesinin azalmasıyla ilişkilidir ve bunun sonucunda fertilité oranları azalmaktadır [89].

Bu tez çalışmasında normal diyet ile beslenen kontrol sıçanlara kıyasla yüksek yağlı diyetle beslenen sıçanlarda artmış vücut ağırlığına eşlik eden bağıl testis ve epididimis ağırlıkları belirlenmiştir. Yine yüksek yağlı diyetle beslenen grupta sperm konsantrasyonu azalırken anormal morfolojili sperm yüzdesi artmıştır. Testiküler histopatolojik bulgularda da seminifer tübül lümeninde azalmış sperm miktarı izlenmiştir. Ek olarak, bu grupta seminifer tübül yapısında dejenerasyon ile testiküler yapıyı oluşturan hücrelerde anomali dikkat çekmiştir. Ayrıca, normal diyet ile beslenen kontrol sıçanlar ile karşılaştırıldığında yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda serum LH seviyesinin azaldığı diğer hormonal parametreler açısından anlamlı bir fark oluşmadığı gözlenmiştir. Yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanların testis dokularında artmış GSH seviyeleri ve MDA seviyeleri dikkat çekmiştir. Probiyotik uygulaması yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda kilo artışını azaltmıştır. Fakat probiyotik uygulaması yüksek yağlı diyet ile

beslenmenin neden olduğu bağıl testis ve epididimis ağırlıkları, sperm konsantrasyonu ve morfolojisi düzeyinde meydana gelen olumsuz değışiklikler üzerine anlamlı bir koruyucu ve iyileştirici etki göstermemiştir. Diğer taraftan yüksek yağılı diyet ile indüklenen testiküler histopatolojik bulgular üzerine probiyotik uygulamasının hafif yapısal deformasyon ile birlikte koruyucu etkinliği gözlenmiştir. Fakat tedavi edici probiyotik uygulamasının yüksek yağılı diyet ile indüklenen testiküler dejeneratif bulguları bir miktar daha kötüleştirdiğini söylemek mümkündür. Testiküler MDA seviyeleri üzerine de pozitif bir katkı sağlamamıştır.

Çalışma sonuçlarımız yüksek yağılı diyet ile beslenen sıçanlarda sperm kalitesinin azaldığına dikkat çekmektedir. Dünya Sağlık Örgütü tarafından zorunlu tutulan geleneksel sperm parametreleri olan sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve sperm morfolojisi üzerinde aşırı kilo/obezitesinin etkisini araştıran çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar da kilo artışı ile sperm kalitesi arasındaki negatif korelasyonu göstermektedir [54-56]. Aşırı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin neden olduğu oksidatif stres, sperm kalitesini ve fonksiyonunu olumsuz etkilediği bilinmektedir. Çalışmalarda da obezitenin inflamasyon ve oksidatif stres ile ilişkili olduğu vurgulanmaktadır [71, 90], ancak aralarındaki ilişkinin zamansal sırasını belirlemek zordur. Obez kişilerde değışen lipid ve glikoz metabolizması, kronik inflamasyon, doku disfonksiyonu, hiperleptinemi ve anormal yemek sonrası artan ROS üretimi oksidatif stresin kaynakları olarak ifade edilmektedir [90]. Sağlıklı koşullar altında, oksidasyon ve inflamasyonla ilişkili hücresel süreçler, fizyolojik homeostazı koruyan kompansatuar/homeostatik mekanizmalar olarak işlev görmektedir. Ancak, çevresel ve/veya endojen stresörlerde olduğu gibi, bir mekanizma diğerini kronik olarak bastırdığında, denge değışmekte ve sonuç zararlı olabilmektedir. İnflamasyon ve oksidatif stresin etkileşimiyle harekete geçen ve hastalığa yol açan olaylar dizisi 'oksidatif-inflamatuar kaskad' olarak ifade edilebilmektedir. Bu kaskad içinde, bağışıklık sistemi, adipoz doku ve mitokondriden gelen ROS strese duyarlı kinazları aktive etmektedir. Bu kinazlar, TNF- α ve IL-6 gibi pro-inflamatuar mediatörlerin ekspresyonunu indüklemektedir. Pro-inflamatuar mediatörlerin sistemik etkisi, ROS üretimini daha da indüklemekte ve böylece pozitif feedback döngüsünü güçlendirmektedir [91]. Bu bağlamda değışen testis ortamının spermatogenez sürecini etkilemesi kaçınılmazdır, bu şartlar altında sperm kalitesi bozulabileceği aşıkardır [75, 77]. Zaten testiküler hücreler ve sperm, plazma membranlarındaki yüksek çoklu

doymamış yağ asidi içeriği ve sınırlı miktardaki sitoplazmik antioksidan içeriği nedeniyle ROS'a karşı daha savunmasızdır [47, 87]. Plazma membranındaki çoklu doymamış yağ asitleri, ROS'un doğrudan hedefidir. Bu substratların ROS tarafından lipid peroksidasyonu, MDA gibi genotoksik son ürünler üretmektedir [87]. Dolayısıyla hücrel oksidatif stresin reproduktif fonksiyonlara zarar veren başlıca etken olduğu vurgulanmalıdır [86, 92]. Dolayısıyla çalışmamızda yüksek yağlı diyet ile beslenen sıçanlarda artmış MDA seviyelerinin işaret ettiği oksidatif stres sperm kalitesinin azalmasının nedeni olarak yorumlanmaktadır.

HPG eksen, reproduktif sisteminin fonksiyonlarını düzenleyen önemli bir nöroendokrin eksenidir. Bu eksenin temel fonksiyonu, gonadal hormonların salıverilmesi ve reproduktif fonksiyonu düzenlemek ve koordine etmektir [93]. Spermatogenez, seks steroidlerinin sıkı kontrolü altındadır ve bu da hipotalamus, hipofiz ve testislerde bulunan Leydig ve Sertoli hücreleri tarafından düzenlenmektedir [94]. Aşırı kilo/obezitenin HPG düzeyindeki anormal düzenlenmesinden kaynaklı olarak da spermatogenez süreci bozulabilmektedir [75, 94]. Obezitenin neden olduğu hipogonadotropik hipogonadizm, yani gonadotropin seviyelerinin azalması ile ilişkili testosteron seviyesinin azalması erkek infertilitesinin önemli bir etkeni olarak kabul edilmektedir [95-97]. Gerçekten de artan vücut yağı gonadotropin eksenini etkilemekte ve bu da sonuç olarak spermatogenezi engellemekte ve sperm kalitesinde düşüşe yol açmaktadır. Ek olarak, yağ dokusunun fazlalığı testosteron ve östrojenin relatif oranını değiştirebilmektedir [98] ve bu da insülin, seks hormonu bağlayıcı globulin, leptin ve inhibin B üretiminin bozulmasına neden olarak testosteron sentezinin azalmasına ve spermatogeneze zarar vererek en kötü senaryo olan azospermiye yol açmaktadır [77]. Obezitenin gonadotropin seviyelerini azalttığına dair ifade çalışmada yüksek yağlı diyet uygulanan sıçanlar sadece azalan LH seviyeleri ile desteklenmektedir. Bu durum serum FSH seviyelerine yansımamıştır. Aynı zamanda azalan LH seviyelerine Leydig hücrelerinden azalan testosteron salıverilmesi eşlik etmemiştir.

Obezite ve reprotüktif toksik etkilerde de dahil olmak üzere oksidatif stresin rol oynadığı patolojilerde antioksidan takviyesinin etkinliğine dair birçok çalışma yapılmıştır. Son yıllarda antioksidan etkiyi de destekleyebilen diğer yaklaşımlar öne çıkmıştır. Bu anlamda, probiyotiklerin kullanımı, antioksidan etkileri nedeniyle artmıştır [99]. Probiyotik suşların farklı yollar ile antioksidan aktivite gösterdikleri ifade edilmektedir. Bu yollar arasında metal iyonlarını şelatlama yeteneği, kendi antioksidan

enzimlerine sahip oldukları, antioksidan metabolitler ürettikleri, konakçının antioksidan enzimatik aktivitelerini pozitif, ROS üretim enzimlerinin aktivitelerini negatif düzenledikleri, konakçıda antioksidan etkili metabolitlerin seviyelerini artırdıkları, sinyal yollarını ve bağırsak mikrobiyotasını düzenledikleri ifade edilmektedir [100]. Bağırsak mikrobiyotası, bakteri, mantar, virüs, arkea, protistler dahil olmak üzere büyük miktarlarda mikroorganizmayı bünyesinde barındıran, insan bağırsak sisteminde kolonize olan karmaşık bir ekosistemi ifade etmektedir. Sağlıklı bir durumda, bağırsak mikrobiyotası konakçı ile uyumlu bir şekilde bir arada bulunmakta ve temel besin maddelerinin dijesyonu ve absorpsiyonu, zararlı mikroorganizmalara karşı koruma ve immun homeostazın sürdürülmesi de dahil olmak üzere konağın çoklu fizyolojik fonksiyonlarının düzenlenmesine katkı sağlamaktadır. Diğer taraftan bağırsak disbiyozunun konakçı için elverişsiz olduğu bilinmekte ve obezite de dahil olmak üzere çeşitli hastalıkların gelişimine yol açtığı vurgulanmaktadır [101, 102]. Obez bireyler ile normal kilolu bireyler arasında bağırsak mikrobiyotası açısından farklılıklar olduğuna dikkat çeken çalışmalar bulunmaktadır [103-106]. Değişmiş bağırsak mikrobiyotası, enerji homeostazının bozulmasına, lipid sentezi ve depolanmasına, santral iştah ve beslenme davranışının düzenlenmesine ve kronik düşük dereceli inflamasyona neden olarak çoklu mekanizmalar ile obezitenin patogenezeine de katkı sağlamaktadır [102]. Şu anda, obezitenin tedavisi için çeşitli etkili stratejiler bulunmaktadır. Öte yandan, bağırsak mikrobiyotası, obezitenin ilerlemesine kritik bir katkı sağladığı için obezite tedavisi için umut verici bir hedef olarak düşünülmektedir [101, 102]. Yüksek yağlı diyet ile aşırı kilo/obezite modelini indüklediğimiz çalışmamızda hem koruyucu hem de tedavi edici olarak probiyotik uygulaması ağırlık artışını baskılamıştır. Ancak sıçanların normal diyet ile beslenen sıçanlara göre ağırlıkları artmıştır. Bununla birlikte, bağırsak mikrobiyotası profili vücut ağırlığı ve gıda bileşenlerinden (lif ve doymuş yağ asitleri dahil) etkilenmektedir, bu nedenle probiyotik takviyesi, diyet alışkanlıklarında değişikliklerle birlikte olmadığında etkisiz hale gelebilmektedir [90]. Diğer taraftan kilo artışına sekonder olarak meydana gelen reproduktif toksisite bulguları üzerinde probiyotik uygulamasının herhangi bir koruyucu ve tedavi edici etkinliği gözlenmemiştir. Yüksek yağlı diyet ile eş zamanlı olarak probiyotik uygulamasının testiküler morfolojide koruyucu etkinliği gözlenmiştir. Zaten bu grupta MDA seviyesi daha az ölçülmüştür, dolayısıyla fonksiyonel anomaliler devam etse de bu grupta yapısal anomali hafiflemiştir. Ancak farklı çalışmalarda yüksek yağlı diyet ile indüklenen obezite modelinde

reprodüktif toksik etkiler açısından probiyotik uygulamasının koruyucu etkinliği gözlenmiştir. Fakat bu çalışmalarda kullanılan yüksek yağlı diyetin içeri tespit edilememiştir. Çalışmamızda kullanılan yüksek yağlı diyet içeriğinde yağ oranı %60 gibi oldukça yüksek bir miktardır. Ayrıca farklı bakteri suşlarının da sağlık üzerinde farklı etkiler gösterdiği vurgulanmalıdır [90].

6.2. Öneriler

Çalışma sonuçlarımıza göre aşırı kilo/obezitenin azalan sperm kalitesi ve testis dokusunda histopatolojik bulgular ile ilişkili olduğunu söylemek mümkündür. Bu patolojide hormonal homeostazın bozulmasının ve oksidatif stresin rol oynayabileceği ifade edilmelidir. Obezitenin kronik düşük dereceli inflamatuvar bir ortam oluşturması sonucu inflamasyon-oksidatif stres kaskadının sürekli aktivasyonu testiküler ortamı değiştirmektedir. Bu durum sperm kalitesine ve testiküler yapıya olumsuz yansımaktadır. Diğer taraftan farklı patolojilerde olumlu sağlık etkileri açısından öne sürülen probiyotik uygulamasının aşırı kilo/obezitenin deneysel modelinde reprodüktif toksisite düzeyinde koruyucu ve tedavi edici bir etkisi gözlenmemiştir. Ancak koruyucu ve tedavi edici probiyotik uygulaması kilo artışını kısıtlamıştır. Bu durum sağlıklı beslenmenin kilo artışından ayrı olarak direkt fizyolojik sistemler üzerinde, çalışmamızda erkek reprodüktif sistemi üzerinde, olumsuz etkilere neden olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır. Probiyotiklerin aşırı kilo/obeziteye sekonder erkek reprodüktif sistem üzerine etkilerinin tanımlanması için probiyotiklerin daha uzun süreli uygulandığı deneysel çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca salt olarak da probiyotiklerin fertilite problemleri yaşayan ve bu nedenle kliniklere başvuran hastalarda sperm parametreleri üzerine etkilerinin değerlendirilmesi gerekmektedir. Son olarak obeziteye bağlı hastalıkların fiziksel aktivite ile birlikte kilo kaybı ile sağlanabileceğinin altı çizilmelidir. İkincil olarak, sağlık üzerinde olumlu etkiler oluşturan besinlerin (nutrientlerin) düzenli tüketiminden fayda elde etmeyi hedeflemelidirler.

KAYNAKLAR

- [1] C. M. Apovian, 'Obesity: definition, comorbidities, causes, and burden.', *Am J Manag Care*, vol. 22, no. 7 Suppl, pp. s176-85, Jun. 2016.
- [2] D. E. Broughton and K. H. Moley, 'Obesity and female infertility: potential mediators of obesity's impact.', *Fertil Steril*, vol. 107, no. 4, pp. 840–847, Apr. 2017.
- [3] S. S. Du Plessis, S. Cabler, D. A. McAlister, E. Sabanegh, and A. Agarwal, 'The effect of obesity on sperm disorders and male infertility', *Nat Rev Urol*, vol. 7, no. 3, pp. 153–161, Mar. 2010.
- [4] D. W. Haslam and W. P. T. James, 'Obesity.', *Lancet*, vol. 366, no. 9492, pp. 1197–209, Oct. 2005.
- [5] world Health Organization, 'obesity', *world Health Organization*, 2009, [Online]. Available: world Health Organization. History.com (2009)
- [6] V. W. Barry, M. Baruth, M. W. Beets, J. L. Durstine, J. Liu, and S. N. Blair, 'Fitness vs. fatness on all-cause mortality: a meta-analysis.', *Prog Cardiovasc Dis*, vol. 56, no. 4, pp. 382–90, 2014.
- [7] M. L. Butryn, V. Webb, and T. A. Wadden, 'Behavioral treatment of obesity.', *Psychiatr Clin North Am*, vol. 34, no. 4, pp. 841–59, Dec. 2011.
- [8] L. E. Burke *et al.*, 'Using mHealth technology to enhance self-monitoring for weight loss: a randomized trial.', *Am J Prev Med*, vol. 43, no. 1, pp. 20–6, Jul. 2012.
- [9] G. Wieërs *et al.*, 'How Probiotics Affect the Microbiota.', *Front Cell Infect Microbiol*, vol. 9, p. 454, 2019.
- [10] C. Hill *et al.*, 'The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic', *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, vol. 11, no. 8, pp. 506–514, Aug. 2014.
- [11] T. Wilkins and J. Sequoia, 'Probiotics for Gastrointestinal Conditions: A Summary of the Evidence.', *Am Fam Physician*, vol. 96, no. 3, pp. 170–178, Aug. 2017.
- [12] S. Bhasin *et al.*, 'Testosterone therapy in men with androgen deficiency syndromes: an Endocrine Society clinical practice guideline.', *J Clin Endocrinol Metab*, vol. 95, no. 6, pp. 2536–59, Jun. 2010.

- [13] K. J. Teerds, D. G. de Rooij, and J. Keijer, 'Functional relationship between obesity and male reproduction: from humans to animal models.', *Hum Reprod Update*, vol. 17, no. 5, pp. 667–83, 2011.
- [14] K. Michalakis, G. Mintziori, A. Kaprara, B. C. Tarlatzis, and D. G. Goulis, 'The complex interaction between obesity, metabolic syndrome and reproductive axis: a narrative review.', *Metabolism*, vol. 62, no. 4, pp. 457–78, Apr. 2013.
- [15] R. L. Kolotkin, C. Zunker, and T. Østbye, 'Sexual functioning and obesity: a review.', *Obesity (Silver Spring)*, vol. 20, no. 12, pp. 2325–33, Dec. 2012.
- [16] A. C. Gomes, C. Hoffmann, and J. F. Mota, 'The human gut microbiota: Metabolism and perspective in obesity.', *Gut Microbes*, vol. 9, no. 4, pp. 308–325, Jul. 2018.
- [17] J. L. Sonnenburg and F. Bäckhed, 'Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism.', *Nature*, vol. 535, no. 7610, pp. 56–64, Jul. 2016.
- [18] Z. S. Ma, L. Li, and N. J. Gotelli, 'Diversity-disease relationships and shared species analyses for human microbiome-associated diseases.', *ISME J*, vol. 13, no. 8, pp. 1911–1919, Aug. 2019.
- [19] B.-N. Liu, X.-T. Liu, Z.-H. Liang, and J.-H. Wang, 'Gut microbiota in obesity', *World J Gastroenterol*, vol. 27, no. 25, pp. 3837–3850, Jul. 2021.
- [20] Y. Kang and Y. Cai, 'The development of probiotics therapy to obesity: a therapy that has gained considerable momentum.', *Hormones (Athens)*, vol. 17, no. 2, pp. 141–151, Jun. 2018.
- [21] I. Moreno-Indias, F. Cardona, F. J. Tinahones, and M. I. Queipo-Ortuño, 'Impact of the gut microbiota on the development of obesity and type 2 diabetes mellitus.', *Front Microbiol*, vol. 5, p. 190, 2014.
- [22] R. Luoto, M. Kalliomäki, K. Laitinen, and E. Isolauri, 'The impact of perinatal probiotic intervention on the development of overweight and obesity: follow-up study from birth to 10 years.', *Int J Obes (Lond)*, vol. 34, no. 10, pp. 1531–7, Oct. 2010.
- [23] F. Dardmeh, H. Alipour, P. Gazerani, G. van der Horst, E. Brandsborg, and H. I. Nielsen, 'Lactobacillus rhamnosus PB01 (DSM 14870) supplementation affects markers of sperm kinematic parameters in a diet-

- induced obesity mice model', *PLoS One*, vol. 12, no. 10, p. e0185964, Oct. 2017.
- [24] A. Barbonetti *et al.*, 'Effect of vaginal probiotic lactobacilli on in vitro–induced sperm lipid peroxidation and its impact on sperm motility and viability', *Fertil Steril*, vol. 95, no. 8, pp. 2485–2488, Jun. 2011.
- [25] D. G. Valcarce *et al.*, 'Probiotic administration improves sperm quality in asthenozoospermic human donors', *Benef Microbes*, vol. 8, no. 2, pp. 193–206, Apr. 2017.
- [26] M. de Moura e Dias *et al.*, 'Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers', *Diabetol Metab Syndr*, vol. 13, no. 1, p. 32, Dec. 2021.
- [27] I. L. Savetsky *et al.*, 'Lymphatic Function Regulates Contact Hypersensitivity Dermatitis in Obesity.', *J Invest Dermatol*, vol. 135, no. 11, pp. 2742–2752, Nov. 2015.
- [28] M.-G. Heo and S.-Y. Choung, 'Anti-obesity effects of *Spirulina maxima* in high fat diet induced obese rats via the activation of AMPK pathway and SIRT1.', *Food Funct*, vol. 9, no. 9, pp. 4906–4915, Sep. 2018.
- [29] J.-H. Shin *et al.*, 'Amelioration of obesity-related characteristics by a probiotic formulation in a high-fat diet-induced obese rat model.', *Eur J Nutr*, vol. 57, no. 6, pp. 2081–2090, Sep. 2018.
- [30] S.-M. Won, S. Chen, S. Y. Lee, K. E. Lee, K. W. Park, and J.-H. Yoon, 'Lactobacillus sakei ADM14 Induces Anti-Obesity Effects and Changes in Gut Microbiome in High-Fat Diet-Induced Obese Mice.', *Nutrients*, vol. 12, no. 12, Nov. 2020.
- [31] L. C. Saalu, L. A. Enye, and A. A. Osinubi, 'An assessment of the histomorphometric evidences of doxorubicin-induced testicular cytotoxicity in Wistar rats', 2009. [Online]. Available: <http://www.academicjournals.org/IJMMS>
- [32] H. Tomczak, M. Wrońska, P. Pecyna, K. Hampelska, 'The issue of the correct use of probiotics in the absence of recommendations.', *Postepy Hig Med Dosw (online)*, vol. 75, pp. 107-115, Nov. 2021.
- [33] B. Kligler, A. Cohrssen, 'Probiotics', *American Family Physician*, vol. 78, no. 9, pp. 1073-1078, Nov. 2008.

- [34] A. B. Nair and S. Jacob, 'A simple practice guide for dose conversion between animals and human.', *J Basic Clin Pharm*, vol. 7, no. 2, pp. 27–31, Mar. 2016.
- [35] K. Takeuchi *et al.*, 'Animal models of gastric bleeding induced by dual antiplatelet therapy using aspirin and clopidogrel--prophylactic effect of antiulcer drugs.', *Curr Pharm Des*, vol. 20, no. 7, pp. 1139–48, 2014.
- [36] A. B. Karaduman *et al.*, 'Reproductive toxic effects and possible mechanisms of zonisamide in male rats.', *Hum Exp Toxicol*, vol. 38, no. 12, pp. 1384–1396, Dec. 2019.
- [37] C. M. Ardiç *et al.*, 'Olanzapine induced reproductive toxicity in male rats.', *Sci Rep*, vol. 11, no. 1, p. 4739, Feb. 2021.
- [38] G. Görmüş *et al.*, 'Risperidone induced reproductive toxicity in male rats targeting leydig cells and hypothalamic-pituitary-gonadal axis by inducing oxidative stress.', *Andrologia*, vol. 53, no. 1, p. e13813, Feb. 2021.
- [39] B. Korkut Celikates *et al.*, 'Effects of quetiapine administration on sperm quality and testicular histology.', *Drug Chem Toxicol*, vol. 45, no. 5, pp. 2379–2387, Sep. 2022.
- [40] T. S. Omolaoye, B. T. Skosana, and S. S. du Plessis, 'Diabetes mellitus-induction: Effect of different streptozotocin doses on male reproductive parameters.', *Acta Histochem*, vol. 120, no. 2, pp. 103–109, Feb. 2018.
- [41] G. van der Horst, L. Maree, S. H. Kotzé, and M. J. O'Riain, 'Sperm structure and motility in the eusocial naked mole-rat, *Heterocephalus glaber*: a case of degenerative orthogenesis in the absence of sperm competition?', *BMC Evol Biol*, vol. 11, p. 351, Dec. 2011.
- [42] Hammami I, Ben Ali R, Nahdi A, Boussada M, Mahjoub R, Bibi A, El May MV. Kefir milk consumption decreases sperm alterations due to the high-fat diet in adult male rats. *Andrologia*. 2022 Aug;54(7):1631-1642.
- [43] Sellers RS, Morton D, Michael B, Roome N, Johnson JK, Yano BL, Perry R, Schafer K. Society of Toxicologic Pathology position paper: organ weight recommendations for toxicology studies. *Toxicol Pathol*. 2007 Aug;35(5):751-5.

- [44] Piao Y, Liu Y, Xie X. Change trends of organ weight background data in sprague dawley rats at different ages. *J Toxicol Pathol.* 2013 Mar;26(1):29-34.
- [45] Lucinda, L.M., Rocha, C.B., Reboredo, M.M., Faria, V.C., Sa, R.C. (2010). Assessment of sperm production and reproductive organs of Wistar rats to long-term exposure of *Caesalpinia ferrea*. *An Acad Bras Cienc.*, 82 (4), 907-914.
- [46] Andersen H, Larsen S, Spliid H, Christensen ND. Multivariate statistical analysis of organ weights in toxicity studies. *Toxicology.* 1999 Aug 31;136(2-3):67-77.
- [47] Billah MM, Khatiwada S, Lecomte V, Morris MJ, Maloney CA. Ameliorating high-fat diet-induced sperm and testicular oxidative damage by micronutrient-based antioxidant intervention in rats. *Eur J Nutr.* 2022 Oct;61(7):3741-3753.
- [48] Miao XL, Gao GM, Jiang L, Xu R, Wan DP. 2018. Asiatic acid attenuates high-fat diet-induced impaired spermatogenesis. *Exp Ther Med.* 15:2397–2403.
- [49] Leslie SW, Soon-Sutton TL, Khan MAB. Male Infertility. [Updated 2024 Feb 25]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK562258/>
- [50] Menkveld, R., Wong, W.Y., Lombard, C.J., Wetzels, A. M., Thomas, C.M., Merkus, H.M., Steegers Theunissen, R.P. (2001). Semen parameters, including WHO and strict criteria morphology, in a fertile and subfertile population: an effort towards standardization of in-vivo thresholds. *Hum Reprod.*, 16 (6), 1165-1171.
- [51] Alshahrani S, Ahmed AF, Gabr AH, Abalhassan M, Ahmad G. The impact of body mass index on semen parameters in infertile men. *Andrologia.* 2016;48(10):1125-1129.
- [52] Kozopas NM, Chornenka OI, Vorobets MZ, Lapovets LY, Maksymyuk HV. Body Mass Index and Sperm Quality: Is there a Relationship? *J Hum Reprod Sci.* 2020;13(2):110-113.

- [53] Keszthelyi M, Gyarmathy VA, Kaposi A, Kopa Z. The potential role of central obesity in male infertility: body mass index versus waist to hip ratio as they relate to selected semen parameters. *BMC Public Health*. 2020;20(1):307.
- [54] Heydari H, Ghiasi R, Hamidian G, Ghaderpour S, Keyhanmanesh R. Voluntary exercise improves sperm parameters in high fat diet receiving rats through alteration in testicular oxidative stress, mir-34a/SIRT1/p53 and apoptosis. *Horm Mol Biol Clin Investig*. 2021 Feb 9;42(3):253-263.
- [55] Coskunlu B, Koroglu MK, Hersek I, Ertas B, Sen A, Sener G, Ercan F. Ameliorative effects of *Myrtus communis* L. extract involving the inhibition of oxidative stress on high fat diet-induced testis damage in rats. *Biotech Histochem*. 2024 Apr;99(3):157-173.
- [56] Liu CY, Chen CC, Chiang LH, Yang BH, Chang TC, Tsao CW. *Hirsutella sinensis* intensifies testicular function and spermatogenesis in male mice with high-fat diet-induced obesity. *J Chin Med Assoc*. 2024 Jul 1.
- [57] Magnúsdóttir EV, Thorsteinsson T, Thorsteinsdóttir S, Heimisdóttir M, Ólafsdóttir K. Persistent organochlorines, sedentary occupation, obesity and human male subfertility. *Hum Reprod*. 2005;20(1):208-15.
- [58] Hammoud AO, Wilde N, Gibson M, Parks A, Carrell DT, Meikle AW. Male obesity and alteration in sperm parameters. *Fertil Steril*. 2008;90(6):2222-5.
- [59] Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA, Roudebush WE. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality. *J Androl*. 2006;27(3):450-2.
- [60] La Vignera S, Condorelli RA, Vicari E, Calogero AE. Negative effect of increased body weight on sperm conventional and nonconventional flow cytometric sperm parameters. *J Androl*. 2012;33(1):53-8.
- [61] Qin DD, Yuan W, Zhou WJ, Cui YQ, Wu JQ, Gao ES. Do reproductive hormones explain the association between body mass index and semen quality? *Asian J Androl*. 2007;9(6):827-34.
- [62] Aggerholm AS, Thulstrup AM, Toft G, Ramlau-Hansen CH, Bonde JP. Is overweight a risk factor for reduced semen quality and altered serum sex hormone profile? *Fertil Steril*. 2008;90(3):619-26.

- [63] Pauli EM, Legro RS, Demers LM, Kunselman AR, Dodson WC, Lee PA. Diminished paternity and gonadal function with increasing obesity in men. *Fertil Steril*. 2008;90(2):346-51.
- [64] Duits FH, van Wely M, van der Veen F, Gianotten J. Healthy overweight male partners of subfertile couples should not worry about their semen quality. *Fertil Steril*. 2010;94(4):1356-1359.
- [65] Zhu YT, Wang XJ, Liu SL, Lai JH, Li JL, Li Q, Hu KD, Liu AP, Yang Y, He L, Chen SJ, Ao XL, Zou LK. Lactiplantibacillus plantarum RS20D Alleviates Male Reproductive Toxicity Induced by Pubertal Exposure to Di-n-butyl Phthalate and Mono-n-butyl Phthalate. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2024 Apr 29.
- [66] Keshtmand Z, Akbaribazm M, Bagheri Y, Oliaei R. The ameliorative effects of Lactobacillus coagulans and Lactobacillus casei probiotics on CCl₄-induced testicular toxicity based on biochemical, histological and molecular analyses in rat. *Andrologia*. 2021 Feb;53(1):e13908.
- [67] Dere, E., Anderson, L.M., Hwang, K., Boekelheide, K. (2013). Biomarkers of Chemotherapy-Induced Testicular Damage. *Fertil Steril.*, 100 (5), 10.
- [68] Ibáñez CA, Erthal RP, Ogo FM, Peres MNC, Vieira HR, Conejo C, Tófolo LP, Francisco FA, da Silva Silveira S, Malta A, Pavanello A, Martins IP, da Silva PHO, Jacinto Saavedra LP, Gonçalves GD, Moreira VM, Alves VS, da Silva Franco CC, Previante C, Gomes RM, de Oliveira Venci R, Dias FRS, Armitage JA, Zambrano E, Mathias PCF, Fernandes GSA, Palma-Rigo K. A High Fat Diet during Adolescence in Male Rats Negatively Programs Reproductive and Metabolic Function Which Is Partially Ameliorated by Exercise. *Front Physiol*. 2017 Nov 2;8:807.
- [69] Erdemir F, Atilgan D, Markoc F, Boztepe O, Suha-Parlaktas B, Sahin S. The effect of diet induced obesity on testicular tissue and serum oxidative stress parameters. *Actas Urológicas Españólas*. 2012; 36: 153–159.
- [70] Liu Y, Zhao W, Gu G, Lu L, Feng J, Guo Q, et al. Palmitoyl-protein thioesterase 1 (PPT1): an obesity-induced rat testicular marker of reduced fertility. *Molecular Reproduction and Development*. 2014; 81: 55–65.
- [71] Elmorsy EH, Aly RG, Badae NM, Aboghazala MM, Omar SS. Zinc alleviates high fat diet-induced spermatogenic dysfunction in Wistar rats:

- role of oxidative stress, HMGB1 and inflammasome. *Rev Int Androl.* 2024 Mar;22(1):44-52.
- [72] Zhang Y, Luo C, Huang P, Chen L, Ma Y, Ding H. Effects of chronic exposure to a high fat diet, nutritive or non-nutritive sweeteners on hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) and -gonadal (HPG) axes of male Sprague-Dawley rats. *Eur J Nutr.* 2024 May 14.
- [73] Esteves, S.C., Miyaoka, R. and Agarwal, A. (2011). An update on the clinical assessment of the infertile male. *Clinics*, 66 (4), 691–700.
- [74] Misell, L.M., Holochwest, D., Boban, D., Santi, N., Shefi, S., Hellerstein, M. K., Turek, P.J. (2006). A stable isotope-mass spectrometric method for measuring human spermatogenesis kinetics in vivo. *J Urol.* 175, 242-246.
- [75] Uddandrao VVS, Eraniappan S, Balakrishnan Ramajayam A, Singaravel S, Roy A, Parim BN, Ponnusamy C, Ganapathy S, Ponnusamy P, Sasikumar V. Hydroxycitric acid and capsaicin combination alleviates obesity-induced testicular apoptosis, oxidative stress and inflammation. *Syst Biol Reprod Med.* 2024 Dec;70(1):20-37.
- [76] Asadi, N., Bahmani, M., Kheradmand, A., Rafieian Kopaei, M. (2017). The Impact of Oxidative Stress on Testicular Function and the Role of Antioxidants in Improving it: A Review. *J Clin Diagn Res.*, 11 (5), IE01-IE05.
- [77] Leisegang K, Sengupta P, Agarwal A, Henkel R. Obesity and male infertility: mechanisms and management. *Andrologia.* 2021; 53: e13617
- [78] Qi X, Guan Q, Zhang W, Huang X, Yu C. The time-dependent adverse effects of a high-fat diet on sperm parameters. *Adv Clin Exp Med.* 2023 Aug;32(8):889-900.
- [79] Migliaccio V, Sica R, Scudiero R, Simoniello P, Putti R, Lionetti L. Physiological Adaptation to Simultaneous Chronic Exposure to High-Fat Diet and Dichlorodiphenylethylene (DDE) in Wistar Rat Testis. *Cells.* 2019 May 10;8(5):443.
- [80] Gujjala S, Putakala M, Gangarapu V, Nukala S, Bellamkonda R, Ramaswamy R, Desireddy S. Protective effect of Caralluma fimbriata against high-fat diet induced testicular oxidative stress in rats. *Biomed Pharmacother.* 2016 Oct;83:167-176.

- [81] Wang EH, Yu ZL, Bu YJ, Xu PW, Xi JY, Liang HY. Grape seed proanthocyanidin extract alleviates high-fat diet induced testicular toxicity in rats. *RSC Adv.* 2019 Apr 16;9(21):11842-11850.
- [82] Cristina RT, Mohamed EA, Tulcan C, Dumitrescu E, Muselin F, Orășan SA, Mateoc-Sirb T, Vlad D. The Oxidative Stress Markers' Protective Influence of Sea Buckthorn and Grape Extracts in Atorvastatin-Treated Hyperlipidemic Rats. *Nutrients.* 2024 Jun 19;16(12):1954.
- [83] Barreto LP, de Oliveira Silva RY, de Almeida BB, Ovidio PP, Jordao AA. Metabolic Effects of Coconut Oil on Fatty Liver and Oxidative Stress Induced by a High-fat Diet in Rats. *Gene Expr.* 2023;22(1):10-18.
- [84] Rubenstein AH. Obesity: a modern epidemic. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2005;116:103-11; discussion 112-3.
- [85] World Health Organization. Obesity and overweight. March, 2024. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>
- [86] Xia Y, Tian Y, Zhou D, Zhang L, Cai Y, Fu S, Zhang X, Gao Y, Chen Q, Gao P. Gut microbiota involved in spermatogenic function of Sancai Lianmei granules in obese mice. *Naunyn Schmiedeberg's Arch Pharmacol.* 2023 Jan;396(1):83-97.
- [87] Jing J, Peng Y, Fan W, Han S, Peng Q, Xue C, Qin X, Liu Y, Ding Z. Obesity-induced oxidative stress and mitochondrial dysfunction negatively affect sperm quality. *FEBS Open Bio.* 2023 Apr;13(4):763-778.
- [88] Lasker S, Rahman MM, Parvez F, Zamila M, Miah P, Nahar K, Kabir F, Sharmin SB, Subhan N, Ahsan GU, Alam MA. High-fat diet-induced metabolic syndrome and oxidative stress in obese rats are ameliorated by yogurt supplementation. *Sci Rep.* 2019 Dec 27;9(1):20026.
- [89] Bieniek JM, Kashanian JA, Deibert CM, Grober ED, Lo KC, Brannigan RE, Sandlow JJ, Jarvi KA. Influence of increasing body mass index on semen and reproductive hormonal parameters in a multi-institutional cohort of subfertile men. *Fertil Steril.* 2016 Oct;106(5):1070-1075.
- [90] Savini I, Catani MV, Evangelista D, Gasperi V, Avigliano L. Obesity-associated oxidative stress: strategies finalized to improve redox state. *Int J Mol Sci.* 2013 May 21;14(5):10497-538.

- [91] Lamb RE, Goldstein BJ. Modulating an oxidative-inflammatory cascade: potential new treatment strategy for improving glucose metabolism, insulin resistance, and vascular function. *Int J Clin Pract*. 2008 Jul;62(7):1087-95.
- [92] Aitken, R. J., Bromfield, E. G., & Gibb, Z. (2022). Oxidative stress and reproductive function. The impact of oxidative stress on reproduction: A focus on gametogenesis and fertilization. *Reproduction*, 164(6), F79–F94.
- [93] Corradi PF, Corradi RB, Greene LW. Physiology of the Hypothalamic Pituitary Gonadal Axis in the Male. *Urol Clin North Am*. 2016 May;43(2):151-62.
- [94] Palmer NO, Bakos HW, Fullston T, Lane M. Impact of obesity on male fertility, sperm function and molecular composition. *Spermatogenesis*. 2012 Oct 1;2(4):253-263.
- [95] Hofstra J, Loves S, van Wageningen B, Ruinemans-Koerts J, Jansen I, de Boer H. High prevalence of hypogonadotropic hypogonadism in men referred for obesity treatment. *Neth J Med*. 2008 Mar;66(3):103-9.
- [96] Pivonello R, Menafra D, Riccio E, Garifalos F, Mazzella M, de Angelis C, Colao A. Metabolic Disorders and Male Hypogonadotropic Hypogonadism. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Jul 25;10:345.
- [97] Fernandez CJ, Chacko EC, Pappachan JM. Male Obesity-related Secondary Hypogonadism - Pathophysiology, Clinical Implications and Management. *Eur Endocrinol*. 2019 Aug;15(2):83-90.
- [98] Maghsoumi-Norouzabad L, Zare Javid A, Aiiashi S, Hosseini SA, Dadfar M, Bazyar H, Dastoorpur M. The Impact of Obesity on Various Semen Parameters and Sex Hormones in Iranian Men with Infertility: A Cross-Sectional Study. *Res Rep Urol*. 2020 Sep 3;12:357-365.
- [99] Oliveira LCSL, Costa EC, Martins FDG, Rocha ASD, Brasil GA. Probiotics supplementation in the treatment of male infertility: A Systematic Review. *JBRA Assist Reprod*. 2024 Jun 1;28(2):341-348.
- [100] Wang Y, Wu Y, Wang Y, Xu H, Mei X, Yu D, Wang Y, Li W. Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. *Nutrients*. 2017;9:521.
- [101] León SC, Vergara PC, Neira AC, Maldonado RM, Araneda CD, Zuñiga MR. Gut microbiota and obesity: prebiotic and probiotic effects. Oral Health by Using Probiotic Products. IntechOpen. 2019.

- [102] Cheng Z, Zhang L, Yang L, Chu H. The critical role of gut microbiota in obesity. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2022;13:1025706.
- [103] Million M, Angelakis E, Maraninchi M, Henry M, Giorgi R, Valero R, Vialettes B, Raoult D. Correlation between body mass index and gut concentrations of *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium animalis*, *Methanobrevibacter smithii* and *Escherichia coli*. *Int J Obes (Lond)*. 2013;37(11):1460-6.
- [104] Selma MV, Romo-Vaquero M, García-Villalba R, González-Sarrías A, Tomás-Barberán FA, Espín JC. The human gut microbial ecology associated with overweight and obesity determines ellagic acid metabolism. *Food Funct*. 2016;7(4):1769-74.
- [105] Koliada A, Syzenko G, Moseiko V, Budovska L, Puchkov K, Perederiy V, Gavalko Y, Dorofeyev A, Romanenko M, Tkach S, Sineok L, Lushchak O, Vaiserman A. Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiol*. 2017;17(1):120.
- [106] Yun Y, Kim HN, Kim SE, Heo SG, Chang Y, Ryu S, Shin H, Kim HL. Comparative analysis of gut microbiota associated with body mass index in a large Korean cohort. *BMC Microbiol*. 2017;17(1):151.

EKLER

EK-1: ETİK KURUL ONAYI



T.C. ANADOLU ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARAR FORMU

Toplantı No: 2 Dosya Kayıt No:23-14 BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN ADI	Erkek Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyet ile İndüklenen Obezitede Reprodüktif Toksik Etkiler ve Bağırsak Mikrobiyomundaki Değişiklikler Açısından Probiyotik Uygulamasının Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi
	SORUMLU ARAŞTIRMACI ÜNVANI / ADI KURUMU	Prof. Dr. Sinem İLGİN Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi
	YARDIMCI ARAŞTIRMACILAR	Doç. Dr. Özlem ATLI EKİOĞLU, Doç. Dr. Hülya KARACA, Ecz. Ramtin HARATI
	Hayvan Türü ve Sayısı	Sprague Dawley/(Erkek-40)

DEĞERLENDİRİLEN BELGE	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ ve EKLERİ	Var
-----------------------	----------------------------------	-----

KARAR BİLGİLERİ	Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Öğretim Üyesi Prof. Dr. Sinem İLGİN'in 11.01.2023 tarih ve 2023-03 karar no ile düzeltme istenen "Erkek Sıçanlarda Yüksek Yağlı Diyet ile İndüklenen Obezitede Reprodüktif Toksik Etkiler ve Bağırsak Mikrobiyomundaki Değişiklikler Açısından Probiyotik Uygulamasının Koruyucu Etkilerinin Değerlendirilmesi" başlıklı etik kurul proje başvurusu Deney Hayvanları etik kurul yönergesine uygun bulunarak onaylanmasına karar verilmiştir.
KARAR NO: 2023-14	KARAR TARİHİ: 22.02.2023

ETİK KURUL ÜYELERİ			
ÜNVANI / ADI SOYADI ETİK KURUL GÖREVİ	BİRİMİ	TOPLANTIYA KATILMA	KARARA KATILMA İMZA
Prof. Dr. Bülent ERGUN BAŞKAN	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Prof. Dr. Özgür Devrim CAN ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Prof. Dr. A.Tansu KOPARAL ÜYE	Yunus Emre Sağlık Hiz. Meslek Yüksek Okulu	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Prof. Dr. Gülşen AKALIN ÇİFTÇİ ÜYE	Eczacılık Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Prof.Dr. Ümide DEMİR ÖZKAY ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Doç. Dr. M.Sinan KAYNAK ÜYE	Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Dr.Öğr.Üy.Mustafa ESER ÜYE	Deney Hayvanları Arş. Ve Uyg. Birimi	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
Vet. Hek. Mustafa SAYIN ÜYE	Serbest	☒ Katıldı ☐ Katılmadı	
		☐ Katıldı ☐ Katılmadı	

ÖZGEÇMİŞ

Adı-Soyadı : Ramtın HARATI
Yabancı Diller : İngilizce, Farsça, Azerice

Eğitim ve Mesleki Geçmişi:

- 2022-2024, Anadolu Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji ABD Tezli Yüksek Lisans Programı
- 2015-2021, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi.

Sertifikalar:

- Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu, 2022