



Kekliklerin Ovaryum ve Testis Dokularında Bazı Metabolik Hormonların Dağılımı

Uğur TOPALOĞLU^{1,a,✉}, Mehmet Erdem AKBALIK^{1,b}, Hakan SAĞSÖZ^{1,c}, Muzaffer Aydın KETANI^{1,d}, Berna GÜNEY SARUHAN^{1,e}

¹ Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE

^aORCID: 0000-0002-8306-491X; ^bORCID: 0000-0001-9898-0593; ^cORCID: 0000-0002-5456-697X

^dORCID: 0000-0002-1546-9747; ^eORCID: 0000-0002-5111-5524

Geliş Tarihi/Received
05.10.2019

Kabul Tarihi/Accepted
22.12.2019

Yayın Tarihi/Published
31.12.2019

Öz

Sunulan çalışma keklik ovaryum ve testisinde ghrelin, leptin ve obestatin hormonlarının dağılımlarını göstermek amacıyla yapılmıştır. Materyal olarak 5 dişi (360-420 g) ve 5 erkek (480-540 g) olmak üzere toplam 10 tane sağlıklı yetişkin keklik (Chukar partridge) kullanıldı. Keklik genital sisteminden elde edilen doku örnekleri %10'luk formol-alkol solüsyonunda tespit edildikten sonra rutin histolojik işlemlerden geçirildi ve peptidlerin lokalizasyonunu göstermek amacı ile immunohistokimya boyaması yapıldı. Bu peptidlerin testisin seminifer tubüllerinde ve bazı interstisyel hücrelerinde; ovaryumun ise germinatif epitelinde, folliküllerde ve stromadaki bazı bağ doku hücrelerinde lokalize olduğu gözlemlendi. Böylece incelenen peptidlerin kanatlı genital sistem organlarından testis ve ovaryum üzerinde fonksiyonel bir etkileri olabileceği düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: Ghrelin, Leptin, Obestatin, Ovaryum, Testis

Distribution of Some Metabolic Hormones in Partridge's Ovary and Testicular Tissues

Abstract

The study was conducted to show the distribution of ghrelin, leptin and obestatin hormones in partridge ovary and testis. A total of 10 healthy adult partridges (Chukar partridge) were used as material 5 females (360-420 g) and 5 males (480-540 g). Tissue samples obtained from the partridge genital system were detected in 10% formol-alcohol solution and then subjected to routine histological procedures and immunohistochemical staining was performed to show the localization of the peptides. These peptides were observed to be localized in seminiferous tubules and some interstitial cells of testes and germinative epithelium of ovary, follicles and some connective tissue cells in stroma. Thus, it was thought that the peptides examined could have a functional effect on testes and ovaries from poultry genital system organs.

Key Words: Ghrelin, Leptin, Obestatin, Ovary, Testes

GİRİŞ

Kanatlı erkek üreme sistemi, testisler, epididimis, duktus deferens ve kloakadaki erektil organı içerir. Bu türlerde testisler memelilerden farklı olarak karın boşluğunda yer alır ve işlevlerini 41-42 °C vücut sıcaklığında sürdürür. Testislerin işlevlerini yerine getirmesi için termoregülasyonunun hava keseleri tarafından sağlandığı düşünülmektedir. Testisler dıştan fibroelastik yapıda olan bir kapsül ile sarılmıştır. Tunika albuginea olarak adlandırılan bu kapsül memelilerin aksine çok ince olup organı septalara ayırmamaktadır. Bununla birlikte seminifer tubulusları oluşturmak üzere iplik şeklinde çok ince bir bağ dokusu tunikadan içeri girmektedir. Ayrıca kanatlı testisin ara dokusunda kan ve lenf damarları, leydig hücreleri (interstisyel hücreler), makrofajlar, fibrositler, miyofibroblastlar ve sinir tellerinin bulunduğu ifade edilmiştir (1, 2, 3).

Kanatlı dişi genital sisteminin fonksiyonel gonadı sol ovaryum olup abdominal kavitenin sol tarafında, orta hatta yakın olacak şekilde yerleşmiş düzensiz şekilli, pembemsi bir organdır. Ovaryumlar dorsal vücut duvarına mezovaryum denen bir periton yaprağı ile tutturulmuştur. Mezovaryumda kan damarı, fibröz bağ dokusu, düz kas ve sinirler yer alır ve bunların hepsi birden ovaryan sapını meydana getirirler. Ovaryum, dışta yumurta hücrelerini barındıran folliküllerin bulunduğu korteks ile içte bağ dokusundan meydana gelen vasküler bir medulladan oluşur. Ovaryumun yüzeyi kübik germinal epitel ile kaplanmış ve dış katmanlar ile ara stromal alanlar korteks olarak ifade edilmiştir. Korteks germinal epitel, stroma ve 30 ila 400 µm arasında değişen farklı büyüklükteki ovalardan meydana gelmektedir. Ayrıca kortikal stromada vakuoler, pigment ve interstisyel olarak adlandırılan

bağ doku hücreleri bulunmaktadır. Medulla ise kan damarları, sinir telleri ile düz kas hücreleri içeren kısım olarak belirlenmiştir (2, 3).

Leptin başlangıçta beyaz yağ doku tarafından üretilen, doygunluk ve enerji dengesinin düzenlenmesinde etkili bir hormon olarak tanımlanmıştır. Daha sonra leptinin beyaz yağ dokuda üretilmesinin yanı sıra karaciğer, mide, meme dokusu, kemik iliği, barsak, ovaryum, testisler, mide fundusu ve plasentadan sentezlendiği bildirilmiştir (4, 5). Leptin üreme sistemine etki ederek ergenliğin başlaması ve doğurganlık gibi fizyolojik olayların meydana gelmesinde hipotalamik-hipofiz merkezi nöroendokrin etkisinin yanı sıra periferde ovaryum ve testislere etki ederek genital sistemin işlevlerine etkisi olduğu ifade edilmiştir (6, 7).

İştah hormonu olarak bilinen ghrelinin başlangıçta mide fundusundan salgılandığı, daha sonra yapılan çalışmalarla birlikte bağırsak, kalp, böbrek, karaciğer, akciğer, pankreas, plasenta, ovaryum ve testisten de salındığı belirlenmiştir. Büyüme hormonunun salınımını uyaran ghrelin, gastrointestinal, kardiyovasküler ve genital sistemleri üzerinde geniş etkileri olduğu ifade edilmiştir. Erkeklerde leydig hücrelerini etkileyerek bu hücrelerde testosteron oluşumunu ve salınımını uyardığı, dişilerde ise ovaryum epitelindeki hücre proliferasyonu, oosit olgunlaşması ve folliküler uyarımları gibi üreme sisteminde fonksiyonel etkileri olduğu bildirilmiştir (8, 9).

Obestatin başlangıçta midenin oksantik mukozasından salgılanan anoreksijenik bir peptid olarak ifade edilmiştir. Daha sonra elde edilen bulgularla obestatin immunoreaktivitesi pankreas, miyenterik plexus ve testislerin leyding hücrelerinde görülmüştür (10). Obestatinin ekspresyonu ve etkileri ile ilgili yapılan çalışmaların hala sınırlı olduğu ve üreme sistemi üzerindeki etkisinin daha tam anlaşılmadığı bildirilmiştir (11).

Bu peptidlerin lokalizasyonu ve etkileri ile ilgili çalışmalar, genellikle memeliler ile ilgili olup, kanatlılarda oldukça az sayıda araştırmaya rastlanmıştır. Bu nedenle, bu çalışmada keklik ovaryum ve testisinde ghrelin, obestatin ve leptin hormonlarının lokalizasyonunun immunohistokimyasal yöntemler kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOT

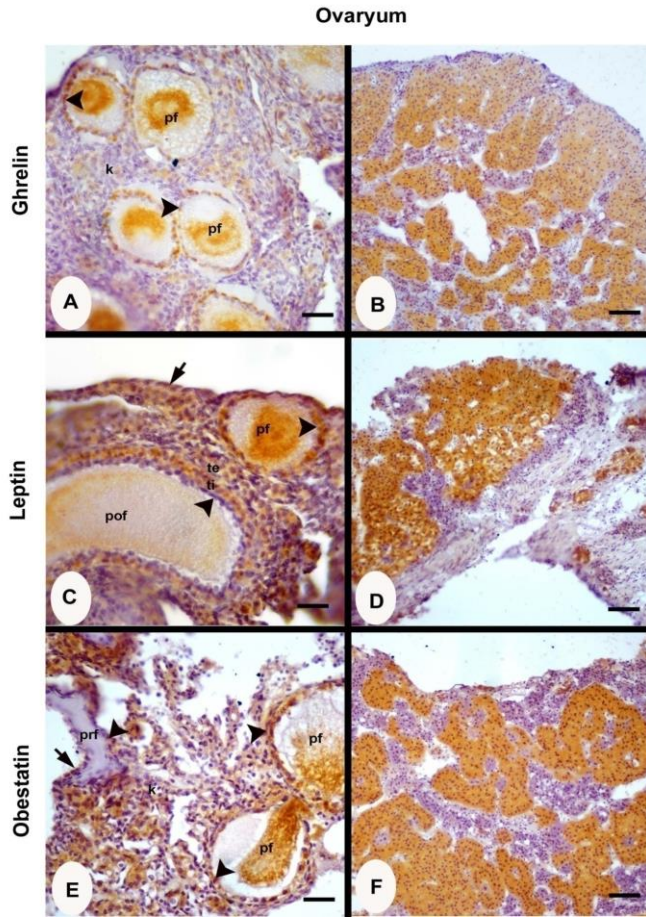
Çalışmanın materyali 5 dişi (360-420 g), 5 erkek (480-540 g) olmak üzere toplam 10 tane sağlıklı yetişkin keklikten (Chukar Partridge) meydana gelmektedir. Özel bir yetiştirme çiftliğinden kesim sonrası elde edilen kekliklerin testis ve ovaryum dokuları, %10'luk formol-alkolde 18 saat tespit edildi. Tespit sonrası dokular sırası ile düşükten yükseğe doğru dereceli alkollerden ve metil benzoat serilerinden geçirilip, benzolle muamele edildikten sonra parafin içine gömüldü. Daha sonra parafin bloklarından, ghrelin, obestatin ve leptin ekspresyonlarını immunohistokimyasal olarak göstermek için 5µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler rutin histolojik uygulamalar olan deparafinizasyon ve rehidrasyon işlemlerinden sonra endojen peroksidaz aktivitesini engellemek amacıyla metanol ile hazırlanmış % 3'lük H₂O₂'de 20 dakika süreyle tutuldu. Daha sonraki aşamada preparatlar iki defa

5'er dk süreyle 0.01M phosphate buffer saline (PBS)'de yıkandı. Yıkamayı takiben, antijen retrieval işlemi için sitrat tamponu (0.01 M, pH 6) hazırlanarak 95 OC'de 20 dk süre kaynatıldı ve ardından soğuması için bekletildi. Kesitler spesifik olmayan boyanmayı engellemek amacıyla protein blocking çözeltisi (Ultra V Block) ile oda ısısında 15 dk. inkübasyona tabi tutuldu. Ardından kesitler 1/100 seyreltilmiş anti-ghrelin primer antikoru (Rabbit polyclonal to Ghrelin Anti-Ghrelin antibody, Abcam, cat no: ab129383), 1/200 seyreltilmiş anti-obestatin primer antikoru (Rabbit polyclonal to Obestatin-Antibody, cat no: ab41704) ve 1/100 seyreltilmiş anti-leptin primer antikoru (Rabbit polyclonal to Leptin Anti-Leptin antibody, cat no: ab117751) ile bir gece +4°C'de inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası preparatlar 0.01M PBS'de 5 dk boyunca dört defa yıkandı ve oda sıcaklığında 20 dk süresince biotinlenmiş sekonder antikor ile muamele edildi. Bu işlemden sonra preparatlar tekrar 0.01M PBS'de 5 dk boyunca dört kez yıkandı ve ardından, 20 dk. süre ile streptavidin peroksidaz solüsyonunda reaksiyona tabi tutuldu ve son defa olacak şekilde 0.01M PBS'de 5'er dakika dört kez yıkandı. Bu uygulamaların sonucunda reaksiyonu göstermek amacıyla preparatlar 3'-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) ile 5-15 dk arasında muameleye tabi tutuldu ve çekirdek boyaması için mayers hematoksilende 2-3 dk. bekletildi. Bunun sonucunda oluşan zıt boyamayı görmek amacıyla kesitler çeşme suyunda yıkandı ve daha sonra alkol ve ksilol serilerinden geçirilip entellan ile kapatıldı. Boyanmanın doğruluğunu kanıtlama açısından negatif kontroller kullanıldı ve bu kontrollerde primer antikor yerine PBS kullanılarak inkübasyon sağlandı. Daha sonra preparatlar dijital bir kamera (Nikon Coolpix 4500) ile donatılmış Nikon Eclipse E400 (Nikon, Tokyo, Japonya) araştırma mikroskobu kullanılarak fotoğraflandı.

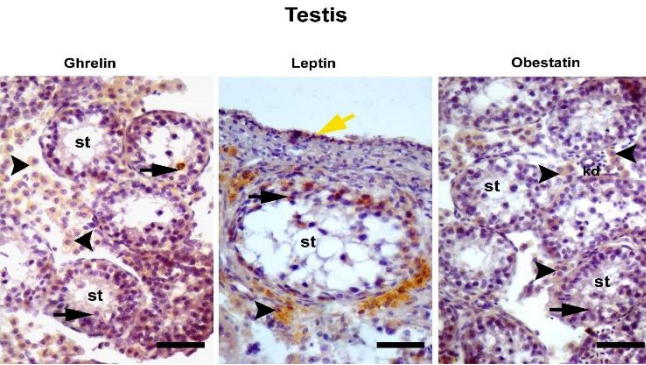
BULGULAR

Yapılan immunohistokimya boyamasında leptin hormonunun ovaryum germinatif epitelinde güçlü, obestatinin ise zayıf bir reaksiyon verdiği görüldü (Şekil 1C, E). Ayrıca germinatif epitelin altında yer alan primordiyal follikül duvarındaki pre-granuloza hücrelerinde obestatin immunoreaktivitesi tespit edildi (Şekil 1E). Bununla birlikte ovaryum korteksinde bulunan primer folliküllerin duvarındaki granuloza hücrelerinde ghrelin, leptin ve obestatin immunoreaktivitesi tespit edilirken (Şekil 1A, C, E), pre-ovulatorik follikül duvarındaki granuloza hücrelerinde leptin immunoreaktivitesine rastlanmadı. Ancak bu follikülün teka interna ve teka eksterna hücrelerinde belirgin bir reaksiyon olduğu belirlendi (Şekil 1C). Öte yandan kortikal stromada ghrelin leptin ve obestatin hormonlarının bazı bağdoku hücrelerinde yoğun şekilde reaksiyon verdikleri görüldü (Şekil 1B, D, F).

Testisi dışarıdan saran tunika albuginea katmanında leptin immunoreaktivitesine rastlandı. Ayrıca seminifer tubuluslarda bulunan farklı aşamalardaki bazı spermatogenik hücre serilerinde ghrelin, leptin ve obestatin immunreaksiyonu tespit edildi. Bununla birlikte seminifer tubuller arasında bulunan intertisyel hücrelerde de ghrelin, leptin ve obestatin immunoreaksiyonlarının var olduğu görüldü (Şekil 2).



Şekil 1. Keklik ovaryum; ovaryumun germinatif epiteli (ok), Primer follikül (pf), Pre ovulatorik follikül (pof), Primordiyal follikül (prf), korteks (k), granuloza hücresi (ok başı), teka interna (ti), teka eksterna (te). Bar: 25 µm



Şekil 2. Keklik testis; Tunika albuginea (sarı ok), seminifer tubul (st), spermatogonik hücre serileri (siyah ok), intertisyel hücreler (ok başı), kan damarı (kd). Bar: 25 µm

TARTIŞMA VE SONUÇ

Yapılan çalışmalarda, yağ dokudan ve gastrointestinal sistemden salgılanan ghrelin, ve leptinin hipotalamik-hipofiz gonad ekseninin düzenlenmesine etki ettikleri ve bu peptidlerin karbonhidrat ve yağ metabolizmasının yanı sıra üreme fonksiyonları üzerinde çeşitli etkilere neden oldukları ifade edilmiştir (12). Bununla birlikte metabolik etkisi olan diğer peptid hormonu obestatinin de üreme sistemi ve hormonlarına etki edebileceği bildirilmiştir (13).

Ghrelinin, LH ve FSH salgısı üzerine etki ettiği ve bundan ötürü üreme işlevlerinde önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. Üreme fonksiyonları üzerindeki merkezi etkisinin yanı sıra, ghrelinin dişi ve erkek gonadları üzerinde doğrudan etkisi olduğu ifade edilmiştir (9). Yapılan çalışmalarda ghrelin ekspresyonu, dişi gonadların primordiyal ve sekonder folliküllerin granuloza hücreleri ve korpus luteum'da, testiste Leydig hücreleri gibi çeşitli üreme sistemi organlarında tespit edilmiştir (14, 15). Yine başka bir çalışmada memeli ovaryumlarında ghrelin hormonunun genelde luteal hücrelerde lokalize olduğu, bunun aksine tavuk ovaryumlarında ise çoğunlukla granuloza ve teka hücrelerinde ekspresse olduğu bildirilmiştir. Buna göre, ghrelin hormonunun tavuk ovaryumlarında çoğalma, farklılaşma ve apoptozis gibi fizyolojik fonksiyonları üzerine doğrudan bir etkisi olduğunu ileri sürmüşlerdir (16). Çalışmamızda da ghrelinin primer follikül duvarında bulunan granuloza hücrelerinde ve kortikal stromadaki bazı bağdoku hücrelerinde lokalize olması ovaryumların fizyolojik fonksiyonları üzerinde bir etkisinin olabileceğini düşündürmektedir.

Ghrelinin, diğer hormon ve faktörlerle etkileşime girecek testisin endokrin fonksiyonlarına katkı sunduğu ileri sürülmektedir. Yapılan çalışmalarda ghrelinin memelilerde leydig, sertoli ve germ hücrelerinde ekspresse olduğu ifade edilirken türler arasında lokalizasyon farklılıklarının olduğundan bahsedilmiştir. Özellikle insanda ghrelinin leydig hücrelerinde ekspresse edilmesini hücre farklılaşması ile ilişkilendirip testisin fizyolojik fonksiyonları üzerine etkisi olduğu ileri sürmüştür (9). Yaptığımız çalışmada ghrelinin intertisyel hücrelerde ve seminifer tubul duvarında farklı aşamadaki hücrelerde lokalize olduğu gözlenmiştir. Bunun sonucunda ghrelinin, keklik testislerinde fizyolojik fonksiyonlara katkı sunabileceği düşünülmektedir.

Leptinin, birçok metabolik etkisinin yanı sıra embriyo gelişimi, oosit olgunlaşması ve ovaryum fonksiyonları üzerinde rolleri olduğu ve memelilerin aksine tavuk ve bildircinlardaki salınımının adipoz dokudan çok az olması sonucunda kanatlılar için önemli bir adipokin olmadığı ifade edilmiştir (17, 18). Daha önce yapılan çalışmada leptinin tavuklarda östrojen salınımı üzerine etkisinin olduğu ve böylece memelilerde olduğu gibi kanatlı üreme aktivitesi üzerine etki ettiği ifade edilmiştir. Bununla birlikte leptin konsantrasyonu daha yüksek olan bildircinların cinsel olgunluğa daha erken ulaştığı ve yumurta verimliliğinin daha fazla olduğu bildirilmiştir (19). Yapılan başka bir çalışmada ise aç bırakılan ördeklere leptin enjeksiyonu sonucu gerileyen ovaryumlarda gelişme görüldüğü ve plazma östrojen seviyesi ile LH, FSH reseptörlerinin ekspresyonlarında artış olduğu gözlenmiştir (20). Çalışmamızda da leptinin ovaryum germinatif epitelinde, preovulatorik follikül duvarındaki teka hücrelerinde ve primer follikülün granuloza hücrelerinde lokalize olması, diğer kanatlı ve memelilerde olduğu gibi kekliklerde de ovaryumun fizyolojik fonksiyonları üzerine etki edebileceği düşünülmektedir.

Leptin, üreme sisteminde farklı lokalizasyon değerleri ile hipotalamus-hipofiz-testis ekseninin farklı kısımlarına etki ederek regülasyonda önemli bir rol oynayabileceği ifade edilmiştir. Testislerde leptin ekspresyonu ile spermatogenez ara-

sındaki ilişkilerin araştırılması sonucu, leptinin germ hücrelerinde ve çoğunlukla spermelerde ekspresse olduğu bildirilmiştir (21). Bunların yanı sıra tavuk embriyosu ile bıldırcınların testis ve ovaryumlarında, leptin ekspresyonunun varlığından söz edilmiştir (18). Ayrıca yapılan başka bir çalışmada, embriyonik dönemde leptin ilavesi yapılan erkek bıldırcınlarda, kontrol gurubuna oranla testestoron hormonu konsantrasyonunda anlamlı derecede fark tespit edildiği belirtilmiştir (19). Bizim araştırmamızda da leptin, tunika albuginea, seminifer tubuluslarda bulunan farklı aşamalardaki bazı spermatogenik hücre serilerinde ve intertisyel hücrelerde reaksiyonunun görülmesi testisin fizyolojik fonksiyonları üzerinde bir rol oynayabileceğini akla getirmiştir.

Obestatin, beyni tokluk veya açlık hakkında bilgilendirdiği ve potansiyel olarak gastrik mukoza, miyenter pleksus, pankreas ve testis leydig hücrelerinde üretilen asit peptidi hormonudur. Obestatin hormonun dokulardaki lokalizasyonu ve üreme işlevlerine dahil edilmesine ilişkin çalışmalar hala sınırlıdır. Ancak yapılan çalışmada obestatinin, kültürlenmiş domuz ovaryum granuloza hücrelerinde progesteron salgılanmasını önemli ölçüde arttırdığı ve yetişkin erkek sıçanlarda da testosteron salgılanmasına neden olabileceği bildirilmiştir (22). Öte yandan obestatinin kanatlı üreme sistemi sadece hipotalamik düzeyde değil aynı zamanda ovaryum hücrelerini de doğrudan etkileyerek ovaryum fonksiyonlarının düzenlenmesine katkı sağladığı ifade edilmiştir. Domuzlarda ovaryum hücrelerinde proliferasyon ve apoptozisi teşvik ederken, tavuklarda proliferasyonun baskılandığı ancak steroid hormonların salınımı ve apoptozisi teşvik ettiği bildirilmiştir. Bunun yanında kanatlı ovaryumunun teka ve granuloza hücreleri obestatin karakterini belirleyebilecekleri ve obestatinin bu hücrelerde morfolojik ve fonksiyonel etkilere sahip olabileceği gösterilmiştir (23). Çalışmamızda da obestatinin ovaryum follikül duvarında bulunan granuloza hücrelerinde germinatif epitel ve bazı stromal hücrelerde ekspresse olduğu görülmüştür. Bu sonuçla obestatinin keklik ovaryumunun fizyolojik fonksiyonları üzerinde bir etkiye sahip olabileceğini akla getirmiştir.

Obestatinin erkek üreme sistemi ile ilgili çalışmalarda sıçanlarda testestoron salgılanmasında uyarıcı rol oynadığı ve seminifer tübüller ile spermatogenezisi etkilediği görülmüştür. Ayrıca insan testisinin leyding hücrelerinde immuno-reaksiyona rastlanmazken germinal epitel ve sertoli hücrelerinde görüldüğü ifade edilmiştir (24, 25, 25). Bizim çalışmamızda obestatinin, bazı seminifer tubulus ve intertisyel hücrelerde reaksiyon göstermesi kanatlılarda da testosteron salınımını uyarabileceği ve testisin fizyolojik fonksiyonlarını etkileyebileceğini düşündürmüştür.

Sonuç olarak, keklik ovaryum ve testislerinde ghrelin, leptin ve obestatin üreten hücrelerin var olduğu ve bu peptidlerin ovaryum ve testislerde fizyolojik fonksiyonlara sahip olabilecekleri varsayılmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Korkmaz D, Özcan Z. (2011). Bıldırcın (*Coturnix Coturnix Japonica*) Erkek Genital Sisteminin Yapısı Üzerinde Işık ve Elektron Mikroskopik Çalışmalar. Ankara Üniv Vet Fak Derg. 2(58): 79-84.

2. Hodges RD. (1974). The Histology of The Fowl. Academic Press, London.
3. Akbalık ME, Saruhan Güney B, Topaloğlu U, Sağsöz H, Ketani MA. (2016). Kanatlılarda Genital Sistem Histolojisi. Dicle Üniv Vet Fak Derg. 2(5): 73-82.
4. Comba A, Mert H, Comba B. (2014). Leptin ve Metabolik Etkileri. YYU Vet Fak Derg. 25(3): 87-91.
5. Meier U, Gressner AM. (2004). Endocrine Regulation of Energy Metabolism: Review of Patho Biochemical and Clinical Chemical Aspects of Leptin, Ghrelin, Adiponectin and Resistin. Clin Chem. 50(9): 1511-1525.
6. Hu S, Gan C, Wen R, Xiao Q, Gou H, Liu H. (2014). Role of Leptin in the Regulation of Sterol/ Steroid Biosynthesis in Goose Granulosa Cells. Theriogenology. 82(5): 677-685.
7. Ayla Ş, Keskin İ, Varlı Yelke T, Önel T, Karahüseyinoğlu S. (2017). Erkek İnfertilitesinde Seminal Leptin Seviyelerinin Semen Parametreleri ve Dna Fragmantasyonu ile İlişkisi. Zeynep Kamil Tıp Bülteni. 48(2): 39-43.
8. İlhan T, Erdost H. (2009). Ghrelin. Uludağ Univ J Fac Vet Med. 28(1): 67-74.
9. Dupont J, Maillard V, Coyral-Castel S, Ram'e C, Froment P. (2010). Ghrelin in Female and Male Reproduction. Int J Pept. 2010(3): 8-11.
10. Ullah H, Jahan S, Ahmed S. (2011). Obestatinin Duces Testosterone Secretion From Rat Testis in Vitro. Afr J Biotechnol. 10(19): 3921-3928.
11. Meszarosova M, Sirotkin AV, Grossmann R, Darlak K, Valenzuela F. (2008). The Effect of Obestatin on Porcine Ovarian Granulosa Cells. Anim Reprod Sci. 108(1-2): 196-207.
12. El-Eshrawy MM, Abdel İA, El Hawary AK. (2010). Association of Ghrelin and Leptin with Reproductive Hormones in Constitutional Delay of Growth and Puberty. Reprod Biol Endocrinol. 8: 153.
13. Sirotkin AV, Harrath AH, Grossmann R. (2016). The Role of Metabolic State and Obestatin in Control of Chicken Ovarian Hormone Release. Poult Sci. 95(8): 1939-1942.
14. Soares JB, Leite-Moreira AF. (2008). Ghrelin, Des-acyl Ghrelin and Obestatin: Three Pieces of the Same Puzzle. Peptides. 29(7): 1255-1270.
15. Akbalık ME, Topaloğlu U, Saruhan Güney B. (2019). Keklik (*Alectoris Chukar*) Oviduktunda Ghrelin, Leptin ve Obestatinin Lokalizasyonu. 6. Uluslararası Multidisipliner Çalışmaları Kongresi. Gaziantep-Türkiye, s. 649-657.
16. Sirotkin AV, Grossmann R, Maria-Peon MT, Roa J, Tena-Sempere M, Klein S. (2006). Novel Expression and Functional Role of Ghrelin in Chicken Ovary. Mol Cell Endocrinol. 257(258): 15-25.
17. Perez-Perez A, Sanchez-Jimenez F, Maymo J, Duenas JL, Varone C, Sanchez-Margalet V. (2015). Role of Leptin in Female Reproduction. Clin Chem Lab Med. 53(1): 15-28.
18. Seroussi E, Cinnamon Y, Yosefi S, et al. (2016). Identification of the Long-Sought Leptin in Chicken and Duck: Expression Pattern of the High Lygc-Rich Avian Leptin Fits an Autocrine/Paracrine rather than Endocrine Function. Endocrinology. 157(2): 737-751.
19. Macajova M, Lamosova D, Zeman M. (2004). Role of Leptin in Farm Animals: a Review. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med. 51(4): 157-166.
20. Ohkubo T, Adachi H. (2008). Leptin Signaling and Action in Birds. Int J Poult Sci. 45(4): 233-240.

21. Zhang J, Gong M. (2018). Review of the Role of Leptin in the Regulation of Male Reproductive Function. *Andrologia*. 50: 4.
22. İbrahim MHM, Selim SAA, Abd-Alaleem DI, Al-Sayed RM. (2014). Effect of Obestatin on Gonadal Functions in High Fat-Fed Albino Rats. *Basic Sci Med*. 3(39): 43-59.
23. Sirotkin AV, Meszarosova M, Harrath AH, Grossmann R. (2016). Obestatin Directly Controls Chicken Ovarian Cell Functions. *J Biol Regul Homeos Agents*. 3(3): 665-674.
24. Moretti E, Vindigni C, Tripodi SA, et al. (2014). Immunolocalisation of Ghrelin and Obestatin in Human Testes, Seminal Vesicles, Prostate and Spermatozoa. *Andrologia*. 46: 979-985.

25. Jahan S, Sidrat T, Ahmed S, Wazir H, Ullah K. (2011). Effect of Obestatin on Morphometry of Testes and Testosterone Secretion in Male Rats. *Afr J Biotechnol*. 10(39): 7717-7722.
26. Ullah H, Jahan S, Ahmed S. (2011). Obestatin İnduces Testosterone Secretion from Rat Testis in Vitro. *Afr J Biotechnol*. 10(19): 3921-3928.

✉ **Yazıřma Adresi:**

Arř. Gör. Uğur TOPALOĞLU
Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Diyarbakır, TÜRKİYE
e-posta: ugur.topaloglu@dicle.edu.tr