

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇAN TESTİS DOKUSUNDA SİSPLATİN İLE
OLUŞTURULAN HASAR ÜZERİNE PROPOLİSİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Erkan DELİGÖNÜL**

**Danışman
Doç. Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ**

Doktora Tezi

**Mart 2016
KAYSERİ**

**T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**SIÇAN TESTİS DOKUSUNDA SİSPLATİN İLE
OLUŞTURULAN HASAR ÜZERİNE PROPOLİSİN
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Hazırlayan
Erkan DELİGÖNÜL**

**Danışman
Doç. Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ**

Doktora Tezi

**Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
TDK-2014-5080 nolu proje ile desteklenmiştir.**

**Mart 2016
KAYSERİ**

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK


Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Adı-Soyadı: Erkan DELİGÖNÜL

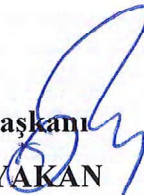
İmza: 

YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI

“Sıçan Testis Dokusunda Sisplatin İle Oluşturulan Hasar Üzerine Propolisin Etkilerinin Araştırılması” adlı **Doktora** Tezi, Erciyes Üniversitesi Lisansüstü Tez Önerisi ve Tez Yazma Yönergesi’ne uygun olarak hazırlanmıştır.

Tezi Hazırlayan
Erkan DELİGÖNÜL 

Danışman
Doç.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ 

Anabilim Dalı Başkanı
Prof.Dr. Birkan YAKAN 

Doç. Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ danışmanlığında **Erkan DELİGÖNÜL** tarafından hazırlanan “**Sıçan Testis Dokusunda Sisplatin İle Oluşturulan Hasar Üzerine Propolisin Etkilerinin Araştırılması**” konulu bu çalışma, jürimiz tarafından Erciyes Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü **Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalında Doktora** tezi olarak kabul edilmiştir.

..... / / 2016

JÜRİ

Danışman : Doç.Dr.Mehmet Fatih SÖNMEZ
(Erciyes Üni. Histoloji- Embriyoloji AD)

Üye : Prof.Dr. Birkan YAKAN
(Erciyes Üni. Histoloji- Embriyoloji AD)

Üye : Prof.Dr.Hakkı DALÇIK
(Fatih Üni. Histoloji- Embriyoloji AD)

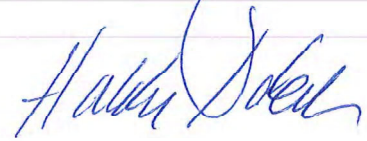
Üye : Prof.Dr.Ahmet NACAR
(Hacettepe Üni. Histoloji- Embriyoloji AD)

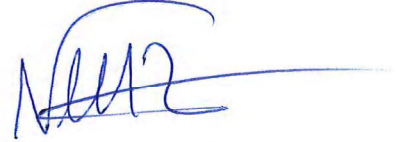
Üye : Doç.Dr.Niyazi ACER
(Erciyes Üni. Anatomi AD)

İmza











ONAY

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulununtarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof.Dr. Aykut ÖZDARENELİ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim başlangıcından itibaren bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen Tez konumun seçilmesi, planlanması ve yürütülmesinde bana destek olan, yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım sayın Doç. Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ'e,

Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof. Dr. Birkan YAKAN'a ve bölüm hocalarımız Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR, Yrd. Doç. Dr. Arzu YAY ve Uzm. Dr. Esra BALCIOĞLU'na, asistanlığını yaptığım Prof. Dr. Hakkı DALÇIK'a,

Bu çalışmayı yaparken deneysel bölümünde benden katkısını esirgemeyen, Derya, Tuğçe, Emin ve bölümdeki tüm arkadaşlarıma

Maddi ve manevi anlamda hep benimle olan aileme ve tüm dostlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Erkan Deligönül

Mart 2016, KAYSERİ

SIÇAN TESTİS DOKUSUNDA SİSPLATİN İLE OLUŞTURULAN HASAR ÜZERİNE PROPOLİSİN ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Erkan DELİGÖNÜL

Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Programı
Doktora Tezi, Mart 2016
Danışman: Doç.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ

ÖZET

Bu çalışmada, sisplatin ile testis dokusunda oluşturulan hasar üzerine propolisin koruyucu etkinliğinin araştırılması amaçlandı.

Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yetiştirilen 40 adet ergin erkek Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Denekler rastgele 4 gruba ayrıldı. Grup 1 (n=10); kontrol grubu, Grup 2 (n=10); 7 mg/kg (intraperitoneal) sisplatin uygulanan sıçanlar, Grup 3 (n=10); 7 mg/kg sisplatin + 50 mg/kg/gün propolis (intragastrik) uygulanan sıçanlar, Grup 4 (n=10); 50 mg/kg/gün propolis (intragastrik) uygulanarak oluşturuldu. Propolis, sisplatin uygulamasından bir hafta önce başlanarak deney sonuna kadar verildi. Sisplatin uygulamasından 72 saat sonra denekler dekapite edilerek testis dokuları alındı. Deney sonunda testiküler histopatoloji, apoptozis, HIF-1 α ekspresyonu ve serum testosteron seviyeleri değerlendirildi.

Sisplatin uygulanan grupta germinal epitelde düzensizlik, lümene epitel hücre dökülmesi, epitel hücreleri arasında vakuol oluşumu ve yer yer nekrotik tübüller gözlemlendi. Sisplatin uygulanan grupta seminifer tübül çapları, Johnsen'in tübüller biyopsi skoru ve serum testosteron seviyesi azalırken doku HIF-1 α ekspresyon düzeyinin ise arttığı belirlendi. Koruyucu amaçlı verilen propolisin ise tüm bu hasarları engellediği gözlemlendi.

Sonuç olarak sisplatin uygulaması, testis dokusunda histopatolojik değişikliklere neden olmaktadır ve koruyucu amaçlı verilen propolisin bu hasarları engellediği belirlenmiştir.

Anahtar Kelimeler: Sisplatin, Testis, Propolis, Sıçan, HIF-1 α

INVESTIGATION EFFECTS OF PROPOLIS ON CISPLATIN-INDUCED TESTICULAR DAMAGED IN RATS

Erkan DELİGÖNÜL

Erciyes University, Department of Histology and Embryology

PhD Thesis, March 2016

Advisor: Asc.Prof.Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ

ABSTRACT

In this study, our aim was to investigate the protective effect of propolis on cisplatin-induced testicular damage.

40 of adult male Wistar albino rats grown in Erciyes University Experimental and Clinic Researches Center (DEKAM) were used. They were separated into four groups randomly. Group 1 (n=10) ; control group, Group 2 (n=10); (intraperitoneal) rats administered with 7 mg/kg cisplatin, Group 3 (n=10); rats administered with 7 mg/kg cisplatin + 50 mg/kg/day propolis (intragastric), Group 4 (n=10); rats with 50 mg/kg/day propolis administered (intragastric).

Propolis was given from starting a week before the cisplatin administration to the end at experiment. After 72 hours of cisplatin administration, testicular tissues of the rats were removed by decapitating. Testicular histopathology, apoptosis, Hif-1 α expression and serum testosterone levels were evaluated at the end of experiment.

Germinal epithelium disorder, desquamation of epithelial cell in the lumen, formation of the vacuoles in epithelial cells and some necrotic tubules were observed in cisplatin-induced group. Seminiferous tubul diameters, Johnsen tubular biopsy score and serum testosterone level were decreased and HIF-1 α level was increased in cisplatin-induced group. It was observed that the propolis given for the protective purpose prevented all these damages.

As a results, the cisplatin administration induced histopathologic modifications on the testicular tissue and it was determined that the propolis given for the protective purpose prevented these damages.

Key Words: Cisplatin, Testicular, Propolis, Rat, HIF-1 α

İÇİNDEKİLER

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
YÖNERGEYE UYGUNLUK ONAYI	iii
Onay	iv
TEŞEKKÜR	v
ÖZET	vi
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	x
TABLolar LİSTESİ	xii
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.TESTİS EMBRİYOLOJİSİ.....	3
2.2. TESTİSİN ANATOMİSİ	6
2.3. TESTİSİN HİSTOLOJİSİ	9
2.3.1. Seminifer tübüller	11
2.3.2.Spermatogenez	13
2.3.3. Spermiyogenez	14
2.3.3.1 Golgi fazı	14
2.3.3.2 Akrozomal faz	14
2.3.3.3 Matürasyon(Olgunlaşma) fazı	14
2.3.4.Sertoli Hücreleri.....	15
2.3.5. İnterstisyel Alan.....	17
2.4. SİSPLATİN	18
2.4.1. Sisplatinin fiziksel ve kimyasal özellikleri.....	19
2.4.2.Sisplatinin toksik etkisi.....	20
2.5. PROPOLİS	22
2.5.1 Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri.....	23
2.5.2 Propolisin Biyolojik Özellikleri ve Antioksidan Etkileri	25
2.6. HIF-1 α (Hipoksi İndükleyici Faktör).....	26
3. GEREÇ VE YÖNTEM	28
3.1 DENEYSEL PROSEDÜR	28
3.2. SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPLARININ ÖLÇÜMÜ (MSTD)	30
3.3. JOHNSEN TESTİKÜLER BİYOPSİSKORU.....	30

3.4.TUNEL METODU	31
3.5 İMMÜNOHİSTOKİMYA METODU	32
3.6 ELISA METODU	33
3.7 MALONDİALDEHİD (MDA) SEVİYESİ TAYİNİ.....	33
3.8 PROPOLİS ETANOLİK EKSTRAKSİYONU	34
3.8.1 LC-MS/MS ile Kuru Propolis Ekstraktının Hazırlanması.....	34
3.8.2 LC-MS/MS Cihazının Kullanım Koşulları	34
3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	36
4. BULGULAR	37
4.1. Işık Mikroskopik Bulgular	37
4.2. Seminifer Tübül Çapları Ölçüm (MSTD)Sonuçları.....	38
4.3. Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru (JTBS) Sonuçları	38
4.4. İmmunohistokimya sonuçları	39
4.5. Apoptotik Bulgular.....	39
4.6. Biyokimyasal bulgular	40
4.7. ELISA Bulguları	40
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	47
6.KAYNAKÇA	54
EKLER	
ÖZGEÇMİŞ	

KISALTMALAR

ATP	: Adenozin Trifosfat
ALC₃	: Alimunyum Kloride
bFGF	: Basic Fibroblast Growth Faktör
CAPE	: Kafeik Asit Fenetil Ester
CAT	: Katalaz
CP	: Sisplatin
DAB	: Diaminobenzidin
DAPI	: 4',6-diamidino-2-phenylindole
DEKAM	: Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
Dox	: Doxorubicin
G6PDH	: Glukoz-6-fosfat de-hidrojenaz
GP	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Redükte Glutasyon Peroksidaz
GR	: Glutasyon redüktaz
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
H-E	: Hemotoksilen-Eozin
HIF-1α	: Hipoksi İndükleyici Faktör
JTBS	: Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru
Kg	: Kilogram
LPS	: Lipopolisakkarit
L	: Litre
ml	: Mililitre
mg	: Miligram
μg	: Mikrogram

MDA	: Malondialdehit
MSTD	: Ortalama Seminifer Tübül Çapı
RNA	: Ribonükleik Asit
ROS	: Reaktif Oksijen Radikalleri
TDF	: Testis Belirleyici Faktör
SOD	: Süperoksit Dismutaz
PBS	: Fosfat Tamponu
PGH	: Primordiyal Germ Hücreleri
Pt	: Platin

TABLolar LİSTESİ

Tablo 2.1: Propoliste Belirlenen Bileşik Grupları ve Sayıları	25
Tablo 3.1: Işık Mikroskobu Doku Hazırlama Tekniği	29
Tablo 3.2: Hematoksilen-Eozin Boyama Tekniği.....	30
Tablo 3.3: Johnsen Testikuler Biyopsi Skolaması	31
Tablo 3.4: İmmünohistokimya boyama tekniği.	33
Tablo 3.5: Propolis ekstraktının fenolik bileşenleri	35
Tablo 4.1: Gruplara ait sıçan ve testis ağırlıkları.	37
Tablo 4.2: Seminifer tübül çapı ölçüm sonuçları.	38
Tablo 4.3: Johnsen Testiküler Biyopsi Sonuçları	38
Tablo 4.4: Testis kesitlerinde HIF-1 α immünoreaktivite skoru.....	39
Tablo 4.5: Apoptotik indeks Sonuçları.	40
Tablo 4.6: Testis doku MDA Sonuçları	40
Tablo 4.7: Serum Testosteron Sonuçları	40

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: A. 3 haftalık embriyoda yolk kesesi duvarında, allantois bağlantısına yakın bir yerde primordiyal germ hücrelerini gösteren şematik çizim. B. Primordiyal germ hücrelerinin, son barsak ve dorsal mezenter boyunca genital kıvrıma doğru göç yolu.	4
Şekil 2.2: Testisin anatomisi.....	7
Şekil 2.3: Testis ve üreme yollarını gösteren şematik çizim	10
Şekil 2.4: Seminifer tübül epiteli	12
Şekil 2.5: Olgun spermatozoon.....	15
Şekil 2.6: Bir seminifer tübülde Sertoli hücrelerinin yerleşimi.....	17
Şekil 4.1: Grup 1 Sıçanlara ait testis dokusu normal histoloji sergilemekte (H&E).	41
Şekil 4.2: Grup 2 Sıçanlara ait testis dokusunda germinal epitele ait hücre serilerinde düzensizlik ve dağılma ayırt edilmekte (H&E).....	41
Şekil 4.3: Grup 2 Sıçanlara ait testis dokusunda germinal epitele ait hücre serilerinde düzensizlik ve dağılma gözlenmekte (H&E).	42
Şekil 4.4: Grup 3'e ait testis dokusu normal testiküler histomorfoloji ayırt edilmekte	42
Şekil 4.5: Grup 4 sıçanlara ait testis dokusu normal histoloji sergilemekte (H&E).....	43
Şekil 4.6: Grup 1 deneklerin testis dokusunda, intertisyel alanda orta yoğunlukta (++) HIF-1 α ekspresyonu gözlenmekte.....	43
Şekil 4.7: Grup 2 testis dokusunda ise HIF-1 α ekspresyonu intertisyel alanda (+) olarak ayırt edilmekte.....	44
Şekil 4.8: Grup 3 deneklerin testis dokusunda, kontrol grubuna benzer şekilde intertisyel alanda (++) , seminifer tübüllerde ise (-/+) HIF-1 α ekspresyonu gözlenmekte	44
Şekil 4.9: Grup 4 deneklerin testis dokusunda, intertisyel alanda kuvvetli (++) HIF-1 α ekspresyonu gözlendi.	45
Şekil 4.10: Negatif kontrol kesitlerinde herhangi bir boyanma gözlenmemekte.	45
Şekil 4.11: Grup 1'e ait testis kesitinde TUNEL boyama	46
Şekil 4.12: Grup 2'ye ait testis kesitinde TUNEL boyama	46

Şekil 4.13: Grup 3'e ait testis kesitinde TUNEL boyama47

Şekil 4.14: Grup 4'e ait testis kesitinde TUNEL boyama47

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sisplatin (CP) özellikle baş, boyun, serviks, mesane, ovaryum ve testis gibi birçok kanser tedavisinde kullanılan platin türevli bir bileşiktir (1). Bu kanserlerin tedavisinde CP'nin kullanılması kaçınılmazdır. CP'nin terapötik etkisi yanında birçok yan etkileri (toksik) de bulunmaktadır. Bunlardan bazıları; ototoksisite, gastrointestinal toksisite, miyelosupresyon, nörotoksisite ve böbrek hasarıdır. CP'nin en önemli yan etkilerinden birisi nefrotoksisitedir (2, 3).

CP'in multiorgan sistemleri üzerine akut ve kronik bu yan etkileri kullanımını sınırlandırmaktadır. Testis de bu kemoterapik ajan maruziyeti sonucunda hasar gören hedef organlardan biridir. CP'in spermatoksik etkisinden dolayı, neredeyse tüm hasta insanlar testis atrofisi hatta geçici veya kalıcı azospermi gösterebilmektedir (4). Hayvan çalışmalarında ise CP'in testis dokusunda ciddi patolojik değişiklikler yaptığı bilinmektedir (4, 5). CP spermatozoidlerde apoptoz artışı, testis seminifer tübüllerinde atrofi ve lipid peroksidasyonuna sebep olmaktadır. CP neden olduğu testis hasarının ana mekanizmasının, oksidatif stres kaynaklı olduğu bildirilmiştir. Bu nedenle birçok antioksidan ve doğal ürün CP'in sebep olduğu testis hasarına karşı koruyucu amaçlı deneysel olarak çalışılmıştır (6).

Propolis, bal arılarının bitkilerin parçalarından, tomurcuklarından ve eksüdalarından biriktirdikleri doğal, reçineli karışımlardır. Propolisin mumu yapısından ve mekanik özelliklerinden dolayı arılar propolisi kovanlarının inşasında ve tamirinde, iç duvarlarının açılıp-kapanmasında ve çatlakların düzeltilmesinde, dış istilacılara; yılanlara, kertenkelelere ve benzerlerine karşı koruyucu bir bariyer olarak veya rüzgâr ve yağmura karşı kullanırlar (7, 8). Antik zamanlardan beri propolis; insanoğlu tarafından özellikle halk tıpında çeşitli hastalıkların tedavisinde geniş çaplı kullanılmıştır (9). Propolisin antibakteriyel aktivitesinden dolayı Avrupada 17. ve 20. yy'lar arasında popüler olmuştur (10). Balkanlarda propolis, yara ve yanık tedavisinde

faranjit ve mide ülseri tedavisinde kullanılmıştır. Propolis ile ilk bilimsel çalışma kimyasal özelliklerini ve kompozisyonunu kimyasal özetinde endeksli olarak 1908'de yayınlanmıştır (11). Günümüzde propolis; güncel kullanım için birçok sağlıklı yiyecek dükkânlarında farklı şekillerde bulunan doğal bir ilaçtır. Aynı zamanda kozmetikte veya çeşitli hastalıkların otomedikasyon tedavisi için alternatif tıpta kullanılır. Propolisin antimikrobiyal, antiviral ve antioksidan özelliklerinden dolayı, insan, veteriner tıbbında, farmakoloji'de ve kozmetikte de genişçe kullanılmaktadır (12).

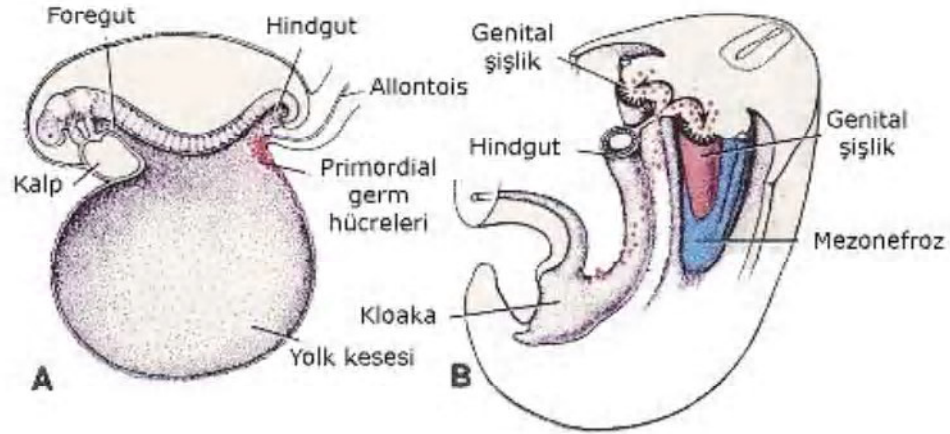
Bu çalışmanın amacı, testislerdeki CP'in oluşturduğu hasar üzerine oral yolla uygulanan propolisin koruyucu etkisinin olup olmadığının ışık mikroskopik olarak belirlenmesidir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.TESTİS EMBRİYOLOJİSİ

İnsanın gelişimi dişi gamet hücresi oosit ile erkek gamet hücresi spermin birleşmesi sonucu oluşan zigot ile başlar. Bu olay fertilizasyon veya döllenme olarak isimlendirilir. Gametler döllenmeden sonra ikinci hafta içerisinde epiblast içerisinde oluşan sonra da yolk kesesine göç eden primordiyal germ hücrelerinden (PGH) köken almaktadırlar. Dördüncü haftadan itibaren PGH'leri yolk kesesinde gelişmekte olan gonadlara göç ederek beşinci haftada gonadlara yerleşirler. Bu esnada mitozla çoğalıp sayısını artıran PGH'leri, gonadlara ulaştıkları zamanda bu mitotik aktivitelerini devam ettirirler. Çok karmaşık bir süreç olan cinsiyet belirlenmesi bazıları otozomal olan, çok sayıda gen tarafından düzenlenmektedir. Seksüel dimorfizmin anahtarı, kısa kol üzerinde (Yp11) SRY genini taşıyan Y kromozomudur. SRY proteini testis belirleyici faktör (TDF) olup, bu genin protein ürünü rudimenter durumdaki cinsiyet organlarının genlerini harekete geçiren bir transkripsiyon faktörüdür (13, 14).

Embriyonun cinsiyeti genetik olarak fertilizasyon aşamasında belirlenmektedir. Fakat gonadların erkek veya dişi morfolojik özellikleri gelişimin 7. haftasına kadar belirgin değildir (13). Genital sistem, gelişimin başlarında her iki cinste benzer olmasından dolayı bu başlangıç dönemine seksüel gelişimin farklılaşmamış safhası denir. Gonadlar, primordiyal germ hücreleri, posterior abdomianal duvarı döşeyen mezotel (mezoderm epiteli) ve altındaki mezenşim (embriyonik bağ doku) olmak üzere üç kaynaktan gelişirler. Farklılaşmamış gonadlar, mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma şeklinde gonadal gelişimin ilk safhaları olan 5. haftada ortaya çıkmaktadır (14).



Şekil 2.1: A. 3 haftalık embriyoda yolk kesesi duvarında, allantois bağlantısına yakın bir yerde primordiyal germ hücrelerini gösteren şematik çizim. B. Primordiyal germ hücrelerinin, son barsak ve dorsal mezenter boyunca genital kıvrıma doğru göç yolu. (Langman's Medikal Embriyoloji'den alınmıştır.)

Gonadlar, genital (gonadal) sırt olarak isimlendirilen bir çift halinde ortaya çıkarlar. Epitelin çoğalması ve alttaki mezenşim yoğunlaşması ile oluşmuş olan genital kabartı içinde gelişimin 6. haftasına kadar germ hücreleri yoktur (13). Mezoderm epiteli ve altındaki mezenşimin çoğalması sonucunda mezonefrozun medialinde meydana gelen kabarıklık gonadal kabartıyı oluşturur. Parmak şeklinde olan bu epitelyal kordonlar (gonadal kordonlar) kısa süre içerisinde alttaki mezemşim içerisine doğru ilerleyerek büyürler (14). Epiblasttan köken alan PGH'leri primitif çizgi boyunca göç ederek üçüncü haftada yolk kesesinin allontoise yakın duvarındaki endoderm hücrelerini arasına yerleşirler. Dördüncü haftada ise son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketlerle ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşırlar, genital sırtlara ise 6. haftada ulaşırlar (14). Bu aşamada farklılaşmamış gonad, dışta korteks ve içte medulladan oluşur. Eğer embriyo, XX seks kromozomuna sahipse farklılaşmamış gonadın korteksi overe farklılaşırken, medulla geriler. XY seks kromozomuna sahip embriyoda ise medulla testise farklılaşır. Korteks ise bir kısım kalıntılar dışında gerileyerek ortadan kalkar (13, 14).

Eğer PGH'leri genital sırtlara ulaşamazlarsa gonadlar gelişmemektedir. Gelişen gonadların, over veya testise farklılaşması üzerine primitif germ hücrelerinin indükleyici

etkisi vardır. Genital sırttaki epitel hücrelerinin çoğalarak alttaki mezenşimin içine gömülmesi, primordiyal germ hücrelerini gonadlara ulaşmalarının hemen öncesi ve ulaştıkları zamanda meydana gelir. Sonuçta primitif cinsiyet kordonları denen düzensiz kordonları oluştururlar. Erkek ve dişi de bu kordonlar yüzey epiteline bağlı olduğundan erkek ve dişi gonadları birbirinden ayırt etmek mümkün olmadığından bu evredeki gonada farklılaşmamış gonad adı verilir (13). Testisler embriyonik ara mezodermden gelişirler. Ara mezoderm, seminifer tübüllerin öncüleri olan primer epitelyal cinsiyet kordonları ilk olarak oluşturur. Dört haftalık embriyoda vitellus kesesi endodermindeki primordiyal germ hücreleri cinsiyet kordonlarına doğru göç ederler (15).

PGH'leri XY kromozomuna sahipse embriyo genetik olarak erkektir. Testis belirleyici faktörü kodlayan Y kromozomu üzerindeki SRY geninin etkisiyle, primitif cinsiyet kordonları çoğalmaya devam edip medulla derinliklerine doğru ilerleyerek testis ve meduller kordonları oluştururlar. Oluşan bu kordonlar bezin hilusuna doğru daha sonra minik hücre sıraları halinde bir ağ oluşturacak şekilde dağılarak rete testis tübüllerini oluştururlar. Daha ileriki gelişim aşamalarında ise yoğun fibroz bağ dokusu olan tunika albuginea testis kordonlarını yüzey epitelinden ayırır. Testis kordonları, at nalı şeklini dördüncü ayda alır. Bu at nalının açık uçları rete testis olarak devam eder. Bunun sonucunda primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden gelişen sertoli destek hücreleri ile beraber testis kordonları meydana gelir.

Testis kordonları arasında bulunan ve bu kordonların farklanmaya başlamasında sonra gelişmeye başlayan interstisiyel Leydig hücreleri, gonadal sırtın orijinal mezenşiminden köken almaktadır. Leydig hücrelerinin testosteron üretimi gebeliğin sekizinci haftasında başlar. Bu olaydan sonra testisler genital kanal ve dış genital organların cinsiyetini etkileyecek hale gelirler. Testis kordonları puberteye kadar solid haldedirler (13). Yeni doğanlarda testisler, tabakalar şeklinde düzenlenmiş olan germ hücre kordonlarından ve ilerde destekleme görevi yapacak olan sertoli hücrelerine dönüşecek epitel hücrelerinden oluşmaktadır. Puberteye kadar dolu olan kordonlar uzadıkça çapları genişleyerek içinde lümen oluşur (15). Pubertede, lümenleri açılarak seminifer tübüllere dönüşmektedirler. Seminifer tübüller, kanalize olduktan sonra rete testis tübülleriyle birleşerek duktuli eferenteslere girerler. Mezonefrik sisteme ait boşaltım tübüllerinin geride kalmış parçacıkları olan eferent duktuslar rete testisle, daha sonra da duktus deferens adını alacak olan mezonefrik (wolffian) kanalları birbirine bağlar (13).

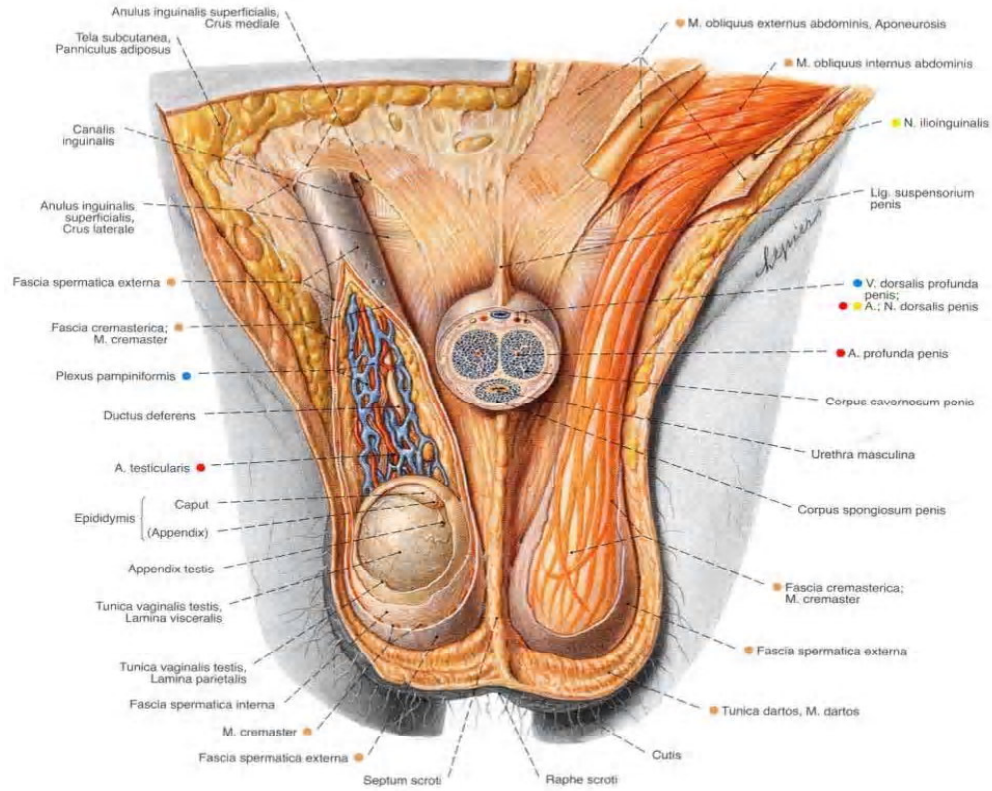
2.2. TESTİSİN ANATOMİSİ

Testisler (orchis), spermium (eşey hücresi) ve testosteron (erkeklik hormonu) üreten ve scrotum içerisinde Funiculus spermaticus ile asılı olarak bulunan bir çift üreme organdır (16). Penisin arka alt kısmında bulunan testisler, iki uyluk arasında ve symphysis pubica altında yer alırlar. En dışta görülen deri kabartısı scrotom'u sağ ve sol yarımlara ayırır. Dıştan scrotomu ikiye ayıran bu deri kabartısına raphe scroti denir (17). Testisler sağlı sollu olarak yerleşmiş ve yanlardan basık olup, oval şekillidirler. 3 cm kalınlığında, 2,5 cm genişliğinde, 4-5 cm uzunluğunda ve yaklaşık olarak her biri 10-14 gr ağırlığa sahiptirler. Testisler, scrotum içerisinde rahat hareket etme özelliğine sahip olup, sağ testis sol testise göre 1 cm daha yukarı da olup sol testise göre biraz daha küçüktür (16). Bunun nedeni ise sol taraftaki funiculus spermaticus'un sağ tarafa göre daha uzun olmasıdır. Scrotum derisi üzerinde ince kıllar, ter bezleri ve özel bir kokuya sahip yağ bezleri bulunmaktadır (18).

Deri de bulunan sinir sonlanmaları, ısı değişikliği için son derece önemli fonksiyona sahiptir. Testislerin margo posterior (arka) ve margo anterior (ön) olmak üzere iki kenarı, facies medialis (iç) ve facies lateralis (dış) olmak üzere iki yüzü ve extremitas superior (üst) ve extremitas inferior (alt) olmak üzere de iki ucu vardır. (Şekil 2.2) Testislerin scrotum içerisindeki yönü düz olmayıp, uzun eksenleri oblik pozisyonundadır. Alt ucu arkaya ve içe doğru ön ucu ise öne ve dışa doğrudur. Ön kenar konveks arka kenar daha düzgündür. Kısaca oblik pozisyonundaki uzun eksenini yukarıdan aşağıya, önden arkaya ve dıştan içe doğru meyilli olarak bulunur. Arka kenarın iç kısmına ise epididymis tutunmaktadır. Testisin alt ucu olan extremitas inferior, cauda epididymis ile kaplıdır. Testisin üst ucu olan extremitas superiora ise caput epididymis yerleşmiştir. Epididymis ise testislerin arka kenarının dış kısmına bağlanmış olarak bulunur (16-18).

Testisler, mesorchium (testisin mesenterium'u) aracılığı ile tunica vaginalis testis'i oluşturan tabakalar arasında asılı halde bulunmaktadır (16). Testisin ön kenarı visseral peritonun uzantısı olan epiorchium ile kaplı olup, her iki yüzü ve uçları düz ve konvekstir. Sadece arka kenarın lateral kısmını periton örter. Ancak margo posteriorun orta kısmında sperm kanalları, testis damar ve sinirlerin geçtiği mediastinum testis peritonsuzdur (18). Testisler basınca ve aşırı ısıya karşı çok duyarlı olup, böyle

durumlarda fonksiyonlarını yitirebilirler. Karın içi sıcaklıkta fonksiyon görmezler 2-3 derece daha düşük sıcaklıkta fonksiyon görürler (17).



Şekil 2.2: Testisin anatomisi (Sobotta İnsan Anatomisi Atlası'ndan alınmıştır).

Testis capsula testis adı verilen asıl kılıfı aracılığı ile tunica albuginea, tunica vasculosa ve lamina visceralis olmak üç tabaka ile sarılıdır. Tunica vaginalis testis, periton kesesinin dışında gelişen fascia spermatica interna'nın iç, testisin dış yüzünü saran seröz bir zar olup periton uzantısıdır. İnguinal bölgeye doğru inen testis, saccus vaginalis'e girerek gömülür ve etrafı peritonla sarılır. Böylece testis inguinal kanaldan geçerek scrotuma inmektedir. Bunun sonucunda saccus vaginalisin testisi örten lamina visceralis katmanı ve spermatica internaya yapışan lamina parietalis katmanı oluşturur. Erişkinlerde bu iki yaprağa tunica vaginalis testis denir. Cavitas scroti adında bir miktar sıvı içeren dar bir aralık bu iki katman arasında bulunur. Bu aralıktaki sıvı eklem sıvısına benzer olup, kaygan seröz özelliktedir. Tunica vaginalis testisin lamina visceralis ve lamina parietalis olmak üzere iki yaprağı bulunmaktadır (16, 18) .Bunlar;

Lamina visceralis (epiorchium), testisin arka kenarı dışında bütün testisi örten, arka kenar boyunca da medial ve lateralden epididymisi kısmen örter. Lamina visceralis, epididymis ve testisi birbirine bağlar. Üst kutupta da caput epididymisi örttükten sonra lamina pariyatelis olarak fascia spermatica interna'nın iç yüzüne geçmektedir (16). Peritonun fascia spermatica internayı döşeyen yaprağı olan lamina parietalis (periorchium) ise faniculus spermaticusun ön ve iç kısmından yukarıya doğru biraz uzamaktadır. Bu yüzden lamina visceralisten daha geniştir. Lamina parietalisin iç yüzü mezotelle kaplı olup düzdür. Tunika vaginalisin iç tarafında ise tunika albuginea ve tunika vasculosa olmak üzere testisleri saran iki tabaka daha vardır (16, 18).

Genleşme ve elastikiyet özelliği olmayan, tunica vaginalis'in visceral yaprağının iç tarafındaki sağlam bir zar olan tunica albuginea testisleri sarar. Tunica albuginea mavimsi beyaz renkte, sıkı yapılı fibröz bir tabakadır. Testisin arka yüzünden girerek mediastinum testisi (vertikal bir bölme şeklinde) oluşturur. Testisin arka kenarındaki bu yapı, testisin üst ucundan alt ucunun yakınına kadar uzanmaktadır. Mediastinum testis, testise giren, çıkan damarları ve testis kanallarını içermektedir. Mediastum testis bu kanal ve damarları desteklemektedir. Tunica albugineanın iç yüzeyinden ayrılan bağ dokusu uzantıları (septula testis) periferden mediastinum testise uzanmaktadır. Bu uzantılarda (septula testis), testisi 200-300 lobule ayırmaktadır. Testisin parankiminde üreme hücrelerini oluşturan tubuli seminiferi cortortiler bulunmaktadır. Bu tubulusların içerisine ilerleyen septula testisten ayrılan bağ dokusu uzantıları, bu tubulusların etrafını sarar. Bu bağ dokusu içerisinde ise Leydig hücreleri (intersitisyel hücreler) bulunmaktadır (16-18). Epididymisin tutunduğu, testisin damar ve sinirlerinin testise girip çıktığı arka kısımda tunica vaginalis bulunmaz.

Aortanın dalı olan a.testicularis tarafından testis ve epididymis beslenir. A. testicularis birçok dala ayrılmaktadır. Bu dallardan epididymisi besleyen iki ya da dört tanesi ductus deferens boyunca uzanır. Tunica albugineanın arka kısmını delerek testise giren diğer dalları ise testisi besler. Testis ve epididymis venleri ise plexus panpiniformis olarak isimlendirilen kıvrıntılı ven plexusunu, bunların daha sonra birbirleriyle birleşmesiyle de v.testikularisi oluştururlar (19). Tunica albuginea'nın iç yüzünde bulunan damar tabakası ise tunica vasculosadır. Tüm septula testisi saran bu tabaka da gevşek bağ dokusu yapısıyla tüm damarların arasını doldurur (16). Tunica albuginea'nın iç yüzünü ve tüm bölmelerin üzerini kaplar (18). Her bir testiste 200-300 arasında

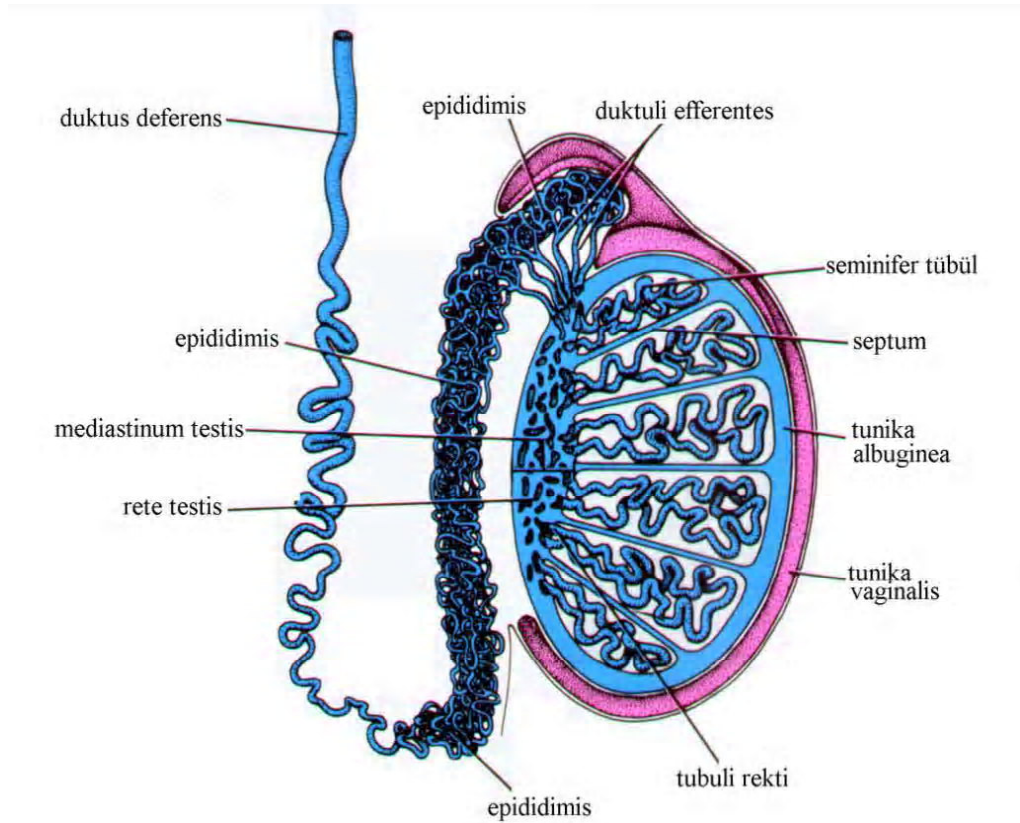
lobulus ve her bir lobuluste ise 1-3 arasında değişen sayıda tubuli seminiferi contorti bulunmaktadır. Bu tubuli seminiferi contortilerin büyüklükleri buldukları yere göre değişir. Testisin ortasında bulunanlar daha büyük ve uzundur. Tepe kısımları mediastinum testise, taban kısımları ise periferine yönelmiş bir şekilde bulunurlar. Mediastinum testise yaklaşan tubuli seminifer contortiler düzleşir ve birbirleriyle birleşerek yaklaşık 20-30 arasında tubuli seminiferi recti'yi oluştururlar. Rete testisi oluşturan tubuli seminiferi recti ise testisin fibroz bağ dokusuna sokularak yukarı ve arkaya geçip birbiriyle birleşmesiyle rete testis (Haller ağı) oluştururlar. Rete testisten sonra epididymise uzanan kanallara ise ductuli eferentes testis denir (16, 18). Ductuli eferentes testis'ler caput epididymis'te ductus epididymis'e açılırlar (16).

2.3. TESTİSİN HİSTOLOJİSİ

Erkek üreme sistemi testislerden, genital boşaltım kanallarından, aksesuar cinsiyet bezlerinden ve penisten oluşur. Testis, sperm üretimi (spermatogenez) ve androjenlerin sentezlenmesi (steroidogenez) gibi hem ekzokrin hemde endokrin fonksiyonu olan bir organdır. Androjenler, özellikle de testosteron spermatogenez için gerekli olup, erkek embriyonun fenotipik fetusa gelişiminde ve seksüel dimorfizmden (erkek fiziksel ve davranış karakteristikleri) sorumludur (20, 21) (Şekil 2.3). Yetişkinlerde testisler, skrotum içerisinde vücut boşluğu dışında uzun bir muskulofasiyal kesesin ucunda asılı oval şekilli bir çift organdır. Testisler abdominal duvara spermatik kordonlar ile bağlıdırlar ve gubernekulumun kalıntıları olan skrotal ligamentlerle skrotuma bağlıdırlar (20).

Skrotum içerisindeki testisler dıştan üç tabakalı kapsül ile çevrelenmiştir. En dış tabakası olan tunika vajinalis testislerin karın boşluğundan skrotuma inerken birlikte sürükledikleri abdominal periton tabakasıdır (22). Tunika vajinalis tabakası mezotel ile döşeli olup testisin anterolateral yüzeyinde bulunur. Her bir testisi saran orta tabaka olan tunika albuginea adında sıkı bağ dokusundan yapıllı kapsül sarar. Tunika albuginea en kalın ve en belirgin tabakasıdır. Testise giren ve çıkan kan, lenf damarları ve kanallar bu tabaka içerisinde seyredir (20, 22). Kapsülün iç kısmını ise kan damarlarını içeren gevşek bağ dokusu yapısındaki tunika vasküloza oluşturur. Her bir testisi kapsülden içeriye uzanan septum, lobüllere ayırır. Her bir testiste bu şekilde bağ dokusunun ayırdığı yaklaşık 250 lobül bulunmaktadır. Tunika albuginea testisin posteriyor yüzeyi

boyunca kalınlaşarak mediastinum testis olarak devam eder. Testise giren ve çıkan kan damarları, lenf damarları ve genital boşatım kanalları mediastinum içinden geçer.



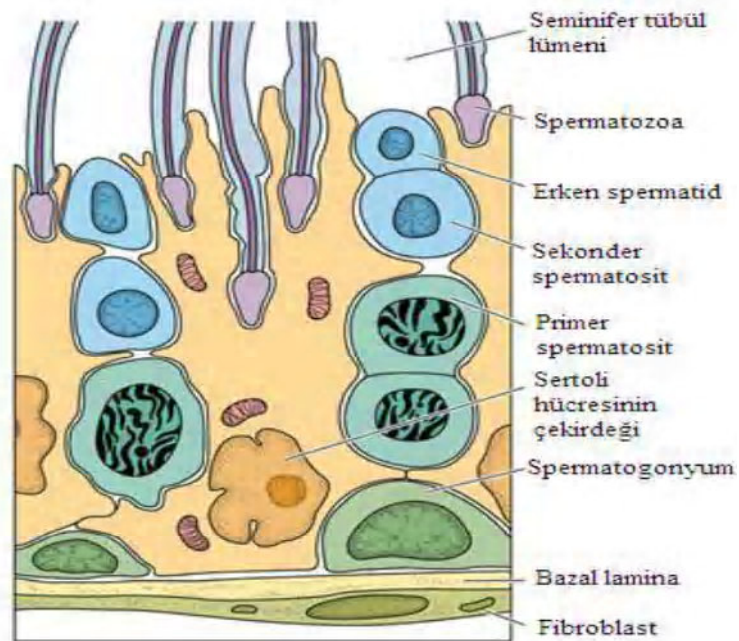
Şekil 2.3: Testis ve üreme yollarını gösteren şematik çizim (Ross, Romrell, Histoloji. A Textand Atlas, 5th ed.'dan modifiye edilmiştir.)

Testisi oluşturan lobüllerden her birisi sperm üretiminin yapıldığı 1-4 adet seminifer tübül ile bağ dokusu yapısındaki stromada bulunan Leydig (interstisyel) hücrelerden meydana gelir. Seminifer tübüller oldukça uzun ve kıvrımlı olup kendi üzerlerine katlanırlar. Seminifer tübüllerin uç kısımları mediastum testise yakındır. Seminifer tübülün bu kısmı kısa ve düz bir seyir izlediğinden düz tübül (tubulus rektus) olarak isimlendirilir. Bu bölüm anastomozlaşık mediastum testis içindeki kanalı yapı olan rete testisi oluşturur. Her bir seminifer tübül yaklaşık olarak 50 cm uzunluğunda (30-80 cm) ve 150-250 µm çapındadır. Çok katlı sıra dışı bir epitel içeren seminifer tübül epiteli temel olarak iki farklı hücre popülasyonundan oluşmaktadır (20).

2.3.1. Seminifer Tübüller

Her bir seminifer tübül 30-80 cm uzunlukta ve 150-250 µm çapta olup U şeklinde rete testise açılan tüplerdir. Seminifer tübül, merkezi bir lümen etrafında iki belirgin hücre popülasyonundan oluşur (13, 21). Seminifer tübüller, spermatogenik seriye ait hücreler ve sertoli hücreleri olmak üzere iki farklı hücre içeren çok katlı epitel ile döşelidir. Bu epitel seminifer epitel veya germinal epitel olarak da isimlendirilir (22). Epitelin altında ince bir bazal membran yer alır. Bazal membran yassılaştırmış fibroblastları, bağ dokusu liflerini ve düz kas hücrelerine benzeyen 3-5 sıra miyoid hücreleri içeren ince bir peritübüller bağ dokusu ile çevrelenmiştir. Bu dokuya tunika propria ismi verilmektedir (20, 22, 23). Seminifer tübüllerin her biri ayrı bir bağ dokusu, kasılabilen yassı miyoid hücre tabakası ve bazal membran ile çevrelenmiştir. Miyoid hücreler ritmik kasılma hareketleri ile hareketsiz spermleri rete testise iletmekten sorumludur (15). Ayrıca miyoid hücreler bağ dokusundaki kollajen lifleri sentezlemede görevlidirler (22).

Seminifer epitelde bulunan spermatogenik hücreler farklı gelişim aşamalarında olup bazal membrandan lümenine kadar birbiri üzerine sıralanmışlardır (22). Spesifik hücre tiplerinin, bir arada toplandığı seminifer tübüldeki spermatogenik hücreler belli bir düzene göre sıralanmışlardır (Şekil 2.4). Bu sıralanma veya hücrelerin bir araya gelerek gruplanması her Ap spermatogonyum çiftinin soyları arasındaki hücreler arası bağlantılar ve periyodik olarak hücrelerin olgunlaşmasının her aşamasında o aşamaya özgü zaman geçirmeleriyle ortaya çıkmaktadır. Bu hücreler farklılaşmanın tüm aşamaları seminifer tübülün herhangi bölümünde oluşmaktadır (20). Bazal membrana en yakın olanlar spermatogonyum, seminifer tübül lümenine yakın olan daha olgun hücreler ise spermatidlerdir. Seminifer tübül lümeninde ise spermiyumlar bulunur. Bazal membrandan seminifer tübül epiteline kadar uzanan prizmatik şekilli sertoli hücreleri ise spermatogenik hücreleri besleyen ve destek olan hücrelerdir (22).



Şekil 2.4:Seminifer tübül epiteli (Gartner Color Textbook Histoloji, 2th ed.'dan modifiye edilmiştir.)

Seminifer tübülde bazal membran üzerine oturmuş olan spermatogonyumlar sürekli yenilenen kök hücre topluluklarıdır. Bu hücreler nispeten büyük olup, yaklaşık 12 μm çapında, yuvarlak çekirdeği bulunan ve az olgunlaşmış diploid kök hücrelerdir. Bölündükleri zaman seminifer tübülün üçte birlik orta kısmını oluşturan daha büyük çekirdeğe sahip primer spermatozoidleri oluştururlar. Primer spermatozoidler ise yaklaşık 22 gün sonra mayoz bölünme sonucunda sekonder spermatozoidleri oluştururlar. Sekonder spermatozoidler DNA replikasyonu olmadan hızlı bir şekilde sekonder (ikinci) mayoz bölünmeyi gerçekleştirirler. İkinci mayoz bölünme sonucunda oluşan 9 μm çapındaki yuvarlak spermatidler, haploid DNA miktarına ve kromozom sayısına sahip hücrelerdir. Sertoli hücrelerinin girintileri arasında gömülmüş bulunan spermatidler lümene doğru ilerlerken şekilleri uzar ve mitoz bölünmenin olmadığı spermiyogenez adı verilen olgunlaşma işlemi gerçekleşir. Spermiyogenez aşamasından sonra oluşan spermatozoonlar, küçük, yoğun, koni biçimli bir çekirdeğe ve tek bir kamçıya sahip özelleşmiş hücrelerdir. Bu şekilde günde ortama 300 milyon civarında üretilen spermatozoonlar lümene bırakılır (15).

2.3.2. Spermatogenez

Spermatogenez, spermatogonyumlardan sperm oluşum aşamasıdır. Spermilerin üretildiği spermatogenez sırasında bir çok kompleks olay meydana gelmektedir. Bu olaylar hipofiz bezinde gonadotropinlerin seviyesinin artmasıyla puberteden kısa bir süre önce başlar ve yaşam boyunca devam eder. Spermatogonyal kök hücreler çok sayıda bölünme geçirirler. Bu bölünmeler sonucunda Hematoksilen Eozin boyalı preparatlarda farklı nüklear görünümde spermatogonyal soyları üretilir. İnsan spermatogonyumları nükleusların görünümleri temel alınarak rutin histolojik preparatlarda 3 tip olarak sınıflandırılmaktadır (20).

1. Tip A koyu (Ad): Bu sınıftaki spermatogonyumların, seminifer tübülün kök hücreleri olduğu düşünülmektedir. Bu hücrelerin bölünmesi sonucunda ya kök hücre olarak kalan bir çift tip Ad veya bir çift tip Ap spermatogonyum oluşmaktadır. Tip A koyu spermatogonyumlar oval nükleuslu, yoğun bazofilik ve ince granüllü kromatine sahip hücrelerdir.
2. Tip A açık (Ap): Mitotik olarak ardışık bölünmeler geçirerek sayılarını artıran bu hücreler spermi oluşturmak için farklılaşma sürecine girmişlerdir. Ap spermatogonyumlar oval nükleuslu, ince graüllü kromatine sahip açık boyanan hücrelerdir.
3. Tip B Spermatogonyumlar: Yuvarlak nükleuslara sahiptirler. Genel olarak merkezi nükleolusun çevresinde ve nüklear zarf boyunca geniş kümeler oluşturacak şekilde yoğunlaşmış kromatin bulunan hücrelerdir (20).

Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmesiyle primer spermatositler oluşur. Primer spermatositler daha sonra mayoz bölünmeye başlamadan önce DNA'larını replike ederler. Böylelikle her bir primer spermatosit iki katı miktarda DNA (4d) ve normal sayıda kromozom (2n) içermektedir. DNA miktarı 4d'dir. Çünkü her bir kromozom iki kromatinden oluşmaktadır. Mayoz I de kromozom sayısı 2n'den 1n'e inerek azalırken, DNA miktarı haploid (4d'den 2d'ye) duruma gelir. Böylece 2d miktarda DNA ve haploid sayıda kromozoma sahip sekonder spermatosit oluşur. Mayoz II'de DNA replike olmadığından her bir spermatid haploid (n) sayıda kromozomu vardır. Her bir kromozomda tek bir kromatid içerir (20).

2.3.3. Spermiyogenez

Spermiyogenez spermatidlerin olgun spermelere dönüşmesi ve bu esnada yeniden şekillenerek son şeklini almasıdır. İkinci mayoz bölünme sonunda her bir spermatid 22 otozomal kromozoma ve bir X veya Y kromozoma sahip olup, DNA içeriği olarak haploiddir. Bu aşamadan sonra bölünme olmaz, haploid spermatidler farklılaşma aşamasına girerek olgun sperm oluştururlar. Oluşan bu olgun spermde haploiddir. Olgun bir sperm ancak bir oositi dölediği zaman diploid durum oluşur. Spermiyogenez dört aşamadan meydana gelmektedir. Bu aşamalar meydana gelirken fiziksel olarak spermatidler sertoli hücrelerinin plazma membranına özel bağlantılar ile tutunurlar (20).

2.3.3.1. Golgi Fazı

Bu fazda spermatidin golgi kompleksinde kümelenmiş olarak Peryodik Asit-Schiff (PAS) ile boyanan pozitif granüllerin bulunmasıyla karakterize olan fazdır. Bu proakrozomal granüller glikoprotein bakımından zengin bir içeriğe sahiptirler. Bu proakrozomal granüller nüklear kılıf yakınında bulunan akrozomal veziküllerle birleşirler. Spermin ön kutbunu belirleyen bu akrozomal veziküllerin bulunduğu bölgedir. Bu olaylar sırasında sentriyollerde arka kutba doğru göç ederek sperm kuyruğundaki aksonemi oluşturacak mikrotübüller oluşmaya başlar (22).

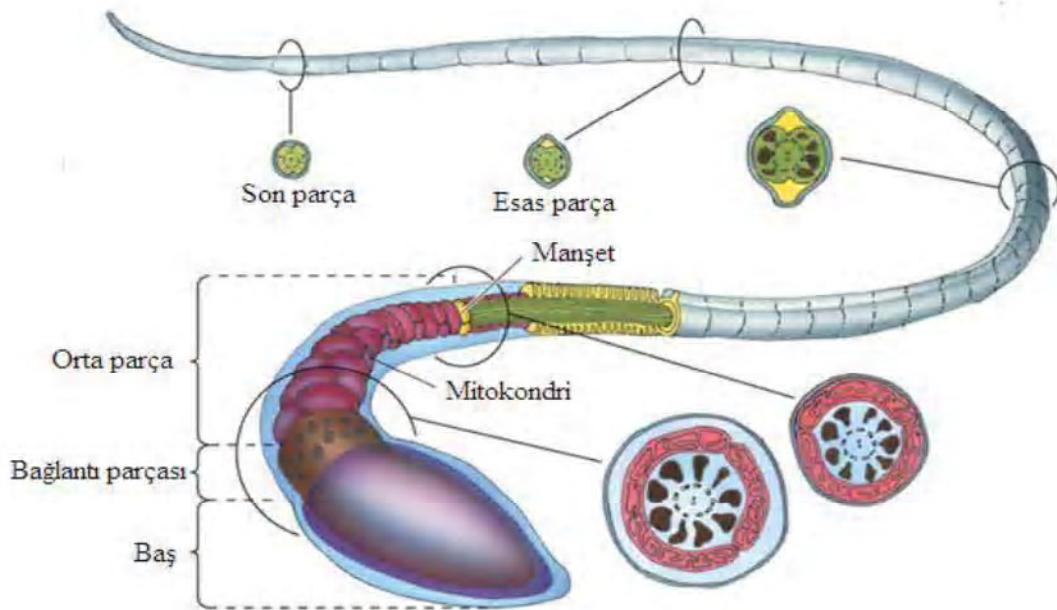
2.3.3.2. Akrozomal Faz

Belirgin bir şekil değişikliğinin yaşandığı bu fazda bulunan spermatid kendini tekrar hizalayarak baş kısmı sertoli hücrelerinin içerisine iyice gömülür ve bazal laminaya doğru yönelir. Spermatidin yoğunlaşan nükleusu yassılaştır ve uzar. Gelişmekte olan flagellum ise seminifer tübülün lümenine doğru yönelir (22).

2.3.3.3. Matürasyon (Olgunlaşma) Fazı

Spermin yeniden şekillendiği fazdır. Bu fazda flagellanın etrafındaki fazla sitoplazma atılır ve olgun spermatozoon oluşturulur. Bu atılan fazla sitoplazma (rezidüel cisimcik) sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Gelişmekte olan gametlere özgü olan intraselüler köprüler, rezidüel cisimlerde kalır. Birbirine bağlı olmayan spermatidler sertoli hücrelerinden salınırlar (19). Tam olarak olgunlaşan bir sperm hücresi; baş, orta parça ve kuyruk olmak üzere 3 parçadan oluşmaktadır (Şekil 2.5). Baş bölgesi anterior

yarısına kadar akrozomla sarılı olup yoğun kromatin içeren yassı şekilli bir çekirdek içerir. Baş bölgesini kuyruk bölgesine bağlayan bir çift sentriolün bulunduğu boyun bölgesinden başlayan aksonem, kuyruk boyunca uzanırken, özellikle boyun bölgesinde çok sayıda mitokondriyon ile çevrilidir. Yapısal olarak silyuma benzeyen spermin en uzun parçası olan kuyruk 3 parçadan oluşmaktadır; orta parça, esas parça, son parça. Orta parça; sarmal dizilmiş mitokondriyonların oluşturduğu bir tabaka, 9+2 mikrotübüler aksonem ve spermin boynundan başlayıp kuyruk boyunca uzanan, dokuz adet dış yoğun lifler adı verilen filamandan meydana gelmiştir. Kuyruğun en uzun parçası olan esas parça, yedi dış yoğun lifle sarılı merkezi aksonem ve bir fibröz kılıftan oluşmaktadır. Kuyruğun en kısa parçası olan son parça ise dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın sonlanması nedeniyle sadece aksonem içerir (20, 21).



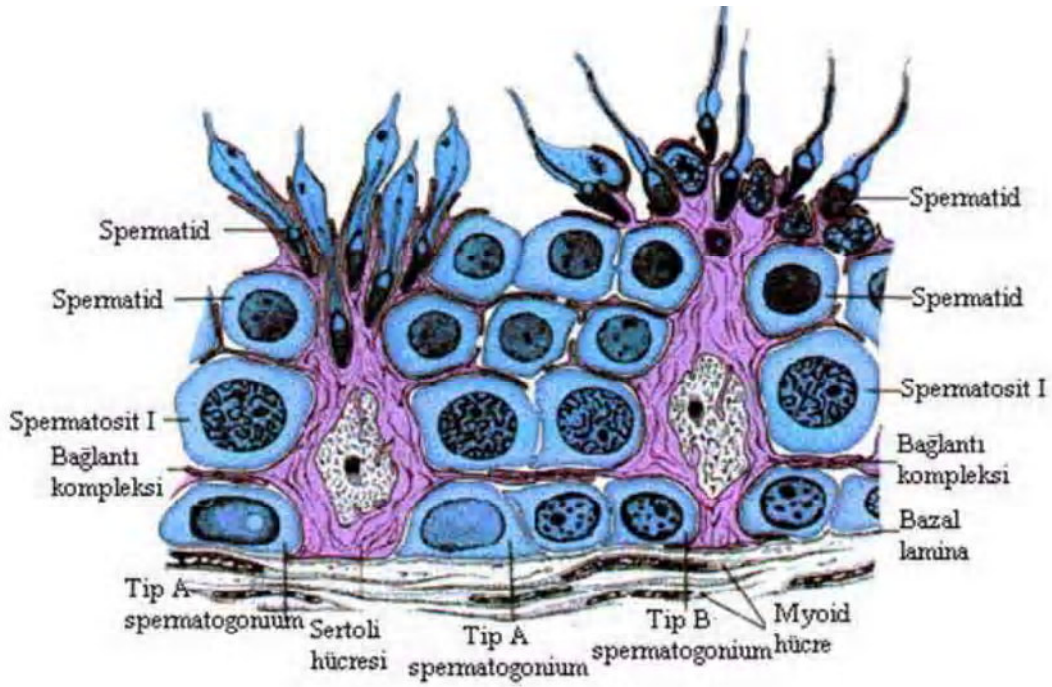
Şekil 2.5: Olgun spermatozoon (Gartner Color Textbook Histoloji, 2th ed.'dan modifiye edilmiştir.)

2.3.4. Sertoli Hücreleri

Spermatogenik hücrelerden farklı olarak bölünme yeteneği olmayan sertoli hücreleri gelişmekte olan spermatogenik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek gibi görevleri vardır (23). Puberteye kadar seminifer tübüllerin baskın olan hücreleridir.

Sertoli hücreleri puberteden sonra ise seminifer tübülü döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluştururlar. Erkeklerde ilerleyen yaşla birlikte düşen spermatogenik hücrelerin yerini tekrar sertoli hücreleri alarak baskın hale gelir (24). Seminifer tübül epitelini oluşturan sertoli hücreleri endokrin ve ekzokrin salgı fonksiyonuna sahiptir. Sertoli hücreleri seminifer tübülün esas epitelini oluşturan hücrelerdir. Seminifer epitelin bazal laminası üzerinde uzanan replike olmayan uzun prizmatik hücrelerdir. Bazal membrandan tübül epiteline kadar uzanan bu prizmatik şekilli hücrelerin sınırları güç ayırt edilir. Sertoli hücrelerinin sınırları düzgün olmayan ökromatik bir çekirdeği ve belirgin bir çekirdekçiği vardır (15). Sertoli hücreleri spermlerin mayoz bölünmeden sonra yüzeylerine tutundukları destek hücreler olarak fonksiyon görürler. Sertoli hücrelerinin, lümen tarafındaki üst kısımlarında spermatozoonların lümene bırakılıncaya kadar yerleştiği girintileri vardır (15,22) (Şekil 2.6).

Sertoli hücrelerinde de çok aktif hücrelerin özelliği olan ökromatik nükleusu, bir ya da daha fazla iç katlantılara sahip olup şekli genellikle oval ya da üçgen şeklindedir. Şekli ve yerleşimi değişken olup, nükleus hücrenin bazal kısmına yakın ve paralel uzanıyorsa şekli yassıdır. Fakat nükleusun şekli oval veya üçgen şeklinde ise hücre bazaline biraz daha uzak olarak bulunur. Sertoli hücreleri birbirine oldukça kompleks olan komşu membranlar arasında 50'den fazla bağlantı noktası bulunan sıkı bağlantı kompleksi (zonula okludens) bağlantı yapmaktadır. Bu bağlantı bölgelerinde her hücrede yassılaştırmış bir granülsüz endoplazmik retikülüm (aER) sisternası plazma membranına paralel uzanmaktadır. Ayrıca bu plazma membranı ve sisternalar arasında aktin filament demetleri hegzagonal olarak paketlenmiş halde bulunmaktadır. Sertoli hücrelerindeki sıkı bağlantı kompleksine benzer bir bağlantı spermatidlerin tutunduğu alanlarda da bulunmakla birlikte sıkı bağlantı şeklinde değildir ve spermatid aktin filamentinden ve yassılaştırmış aER sisternalarında yoksundur. Bu bağlantılar dışında sertoli hücreleri arasında oluklu bağlantılar, erken evre spermatogenik hücreler ile sertoli hücreleri arasında desmozom benzeri bağlantılar ve bazal lamina ile sertoli hücresi arasında ise hemidesmozom tipi bağlantılar vardır.



Şekil 2.6: Bir seminifer tübülde Sertoli hücrelerinin yerleşimi, birbirleri ile bağlantıları ve gelişimin farklı dönemlerindeki spermatojenik hücreleri gösteren çizim (Ross, Romrell, Histology A Text and Atlas'tan)

Sertoli-sertoli hücresi iki kopartmandan oluşmaktadır. Bunlar spermatogonyumların ve erken primer spermatositlerle sınırlı olan sertoli-sertoli ve bazal lamina arasındaki bağlantı kompartmanı, diğeri ise daha olgun spermatositler ve spermatidler sertoli hücresi-sertoli hücresi luminal tarafındaki kompartmandır. Her iki kompartmanda da spermatojenik hücreler sertoli hücrelerini uzantıları ile kuşatılır. Bu aradaki yakın ilişkiden dolayı sertoli hücrelerine bakıcı veya destekleyici hücreler olarak fonksiyon gördüğü düşünülmektedir. Sertoli hücreleri dolaşım sistemi ile spermatojenik hücreler arasında metabolik substratlar ve atıkların değişiminde de görev yapmaktadır. Spermatogenez aşamasında farklılaşma aşamasını tamamlayan ve spermatogenezin son aşamasında oluşan rezidüel cisimleri fagosite etmektedir (20).

2.3.5. İnterstisyel Alan

İnterstisyel doku, kan ve lenf damarlarından, sinirlerden zengin olan testiste seminifer tübüller arasını dolduran gevşek bağ dokusudur (22). Ayrıca bu alanda farklılaşmamış

bağ dokusu hücreleri, fibroblastlar, makrofajlar ve mast hücreleri de bulunmaktadır. Bu alanda puberteden itibaren Leydig hücreleri (intertisyel hücreler) görülmektedir. Bağ dokusu içinde tek tek veya gruplar halinde bulunan Leydig hücreleri yuvarlak veya poligonal şekilli olup yuvarlak nükleusa ve asidofilik sitoplâzmaya sahiptirler. Endokrin fonksiyonu ile testosteron salgılayan Leydig hücreleri salgılarını kan veya lenf damarlarına boşaltırlar. Kan proteinleri ve makromoleküllerin geçişini sağlayan testiküler kapillerler pencerelidir (25). Steroid sentezi yapan hücre özelliğine sahip bu hücrelerin sitoplâzmalarında vakoullar bulunabilir. Leydig hücrelerin sitoplâzmalarında tubulokristallere sahip bol miktarda mitokondriyon, lipofuksin pigmenti ve çubuk şeklindeki inkluzyon olan Reinke kristalleri görülmektedir (22).

Leydig hücreleri, tipik olarak lipid damlacığı içeren, büyük hücrelerdir. Steroid sentezleyen diğer hücrelerde olduğu gibi Leydig hücreleri de bol miktarda aER bulunur. Leydig hücrelerinin eozinofilik özelliği bundan dolayıdır. Kolesterolde testosteron sentezi için gerekli enzimler aER ile ilişkilidir. Embriyonik gelişim, cinsel olgunlaşma ve üreme fonksiyonları için gerekli olan testosteronun sentezi erken fetal yaşamda farklılaşan Leydig hücreleri tarafından salgılanır. Testosteron ve diğer androjenlerin embriyoda salgılanması erkek fetüsta gonadların normal gelişimi için gereklidir. Puberte esnasında ise sperm üretiminin başlatılması, aksesuar cinsiyet bezlerinin salgıları ve sekonder seks karakterlerinin gelişimi için gereklidir. Yetişkinlerde salgılan testosteron ise spermatogenez, sekonder seks özellikleri ve genital boşaltım kanalları ile aksesuar cinsiyet bezlerinin sürekliliğinin sağlanmasından sorumludur. Erkek fetüsün erken farklılaşmasında aktif olan Leydig hücreleri, fetal hayatın yaklaşık olarak 5. ayından itibaren inaktif bir sürece girerler. Fibroblastlar ile inaktif Leydig hücrelerini birbirinden ayırt etmek zordur. Pubertede gonadotropik uyarıya maruz kalan Leydig hücreleri yeniden androjen sentezlerler ve tüm yaşam boyunca aktif kalmaktadırlar (20).

2.4. SİSPLATİN (CP)

CP, birçok solid kanser tedavisinde kullanılan oldukça etkili kemoterapik bir ajandır. CP özellikle de baş, boyun, serviks, mesane, ovaryum ve testis gibi birçok kanser türüne karşı kullanılan ve Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanan platin grubu taşıyan 6 kemoterapikten biri olup, ağır bir metal olan platin (Pt) içermektedir (26). CP, 19. Yüzyılın ortalarından beri bilinen bir moleküldür. CP'nin biyolojik

aktivitesi ise 1960'ların ortalarında tesadüfen keşfedilmiştir (27). 1965'te Rosenberg ve arkadaşları CP'nin *Escherichia coli* proliferasyonunu inhibe ettiğini bulmuşlardır (28). 1970'den itibaren de klinik onkolojide kullanılmaya başlanmıştır (29). Diğer kemoterapik maddeler ile aynı etkiye sahip olan CP, hücre gelişimi ve çoğalmasını önler. Üreme hızları çok büyük olan kanserli hücreler üzerine daha fazla etkili olmakla birlikte normal sağlıklı hücreleri de etkileyebilmektedir (30). CP hücreleri her dönemde etkileyebilmektedir, yani döneme özgü olmayan bir ilaçtır. CP alkalleyici bir ilaçtır. Alkalleyici ilaçlar bazı bitkisel kaynaklı antineoplastik ilaçlar ve antimetabolitler ile sinerjistik etkileşim gösterebilir (30,31). CP ağız yoluyla alındığında yeterli emilmediği için intravenöz (IV) veya İntraperitoneal (IP) olarak uygulanmaktadır. CP'nin, testis, karaciğer, böbrek ve bağırsağa yüksek oranda geçişi olmakla birlikte kan-beyin bariyerini geçişi çok azdır (30).

CP kemoterapisi, çocuklarda ve yetişkinlerde geniş olarak uygulanmaktadır. Bu platinum kökenli alkalleyici ajan etkisini hücre döngüsünde spesifik olmayan istirahat ve çoğalma dönemindeki hücrelere karşı gösterir (32). Buna ek olarak mitokondrinin CP'nin başlıca hedefi olduğu ve mitokondri DNA'sının CP tarafından çok fazla (ciddi) hasara uğradığı düşünülmektedir (33). CP hücre içerisine difüzyon yoluyla girerek DNA ile etkileşime girer. DNA içi ve arası çapraz bağlar yapar (34). Bu bağlarda DNA transkripsiyon ve replikasyon olaylarını inhibe eder. Bu da yanlış kopyalamaya veya kopyalama sonucu bağlarda kopmalara neden olur. Hücrenin hasarlanan DNA'sı sonucunda hücre, apoptoz veya nekroz yoluyla ölüme gider. CP, hücre mitokondrisine de zarar vererek ATPaz aktivitesini de inhibe etmektedir (30).

2.4.1. Sisplatinin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Platin türevi bileşikler kemoterapi tedavisinde çok sık kullanılan ilaçlardır. Platin bileşikleri olarak, üç farklı molekül vardır. Bunlar CP, oksaplatin ve karboplatindir. CP, cis- ve trans- olmak üzere iki farklı izomere sahip olup, sitotoksik özelliğe cis- formu sahiptir. CP iki değerlikli merkezi atoma bağlı iki klor ve iki amonyum bağı içeren suda çözünebilir bir bileşiktir (30,31). CP'nin yarılanma ömrü 60 saattir (35). Erime noktası 270 °C'dir. Kristal halde koyu sarı, çözelti olarakta berrak bir renge sahiptir. Moleküler formülü, $Cl_2H_6N_2Pt$ şeklindedir. Moleküler ağırlığı, 300.1 g/mol'dur (36).

2.4.2.Sisplatinin Toksik Etkisi

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlardan birisi olan CP, tesadüfen yaklaşık 55 yıl önce keşfedilmiştir (37). CP baş, boyun, akciğer, testis, ovaryum ve göğüs dahil olmak üzere birçok solid kanser tedavisinde kullanılan bir atineoplastik ilaçtır. Ancak CP'nin yüksek dozda kullanımı ciddi toksik etkilere yol açmaktadır. Ototoksisite, gastrotoksisite, myelosupresyon ve alerjik reaksiyonlar başlıca toksisitesi olmasına rağmen doz sınırlanmasına neden olan başlıca toksisite nefrotoksisitedir (2). CP toksisitesi farklı mekanizmalar ile meydana gelebilir. Oksidatif stresin artması ve serbest radikallerin hasarı, CP nedenli toksisitenin mekanizması olarak ileri sürülmektedir. Çalışmalar CP'nin, DNA hasarı, lipid peroksidasyonu ve reaktif oksijen türlerine neden olduğunu göstermiştir. Bu yüzden CP ile tedavi esnasında diyetle alınan antioksidanların tüketimi serbest oksijen radikallerinin zararına karşı kullanılabilceği düşüncesi önemli bir noktadır (2,38).

CP'nin asıl atılım yeri böbrekler olup diğer organlara göre daha fazla böbrekte birikir. CP hem proksimal hem de distal tübüllerde birikmekte olup, proksimal tübüllerdeki konsantrasyonu serumun 5 katıdır. CP genellikle böbreklerden glomerüler filtrasyon ve bir miktar da sekresyonla atılmaktadır. CP'nin neden olduğu nefrotoksisite en fazla proksimal tübülün S3 segmentinde olur. CP uygulamasında 3 saat sonra renal kan akımı azalabilmekte, azalan kan akımından sonra glomerüler filtrasyon oranı düşmektedir. Proksimal ve distal tübüllerin reabsorpsiyonu CP uygulanmasından 48-72 saat sonra bozular. İdrarı konsantre etme yeteneği azalır. Distal tübüllerde su ve Na Emilimi, proksimal tübüllerde ise Na Emilimi azalır. Poliüri oluşur (39). CP'inin sebep olduğu nefrotoksisite de tübüler hücrelerde apoptoz, tübüler dilatasyon ve tübüler lümende debris ve nekrotik maddelerin döküntüsü oluşumu eşlik etmektedir. Ayrıca deneysel veriler CP'in sıçan karaciğer hücrelerinde de mitokondriyal fonksiyonları bozduğu ve apoptoza teşvik ettiğini göstermektedir (40).

Ototoksisite, bazı kimyasal ve ilaçlara bağlı olarak oluşan iç kulak hasarıdır. İnsanlarda görülme sıklığı ve derecesi değişkendir. Kohleayı, vestibülü veya her ikisini de etkilemektedir. İşitme ve dengeyi bozmaktadır (29). CP nedenli ototoksisitenin mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber korti organı için toksik olan serbest radikallerin arttığı ve hücre membranını değiştiren CP yıkım ürünlerinin, kalsiyum

azalmasına yol açtığı düşünülmektedir. İnsan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda, CP'den en çok etkilenen yer kohleanın orta ve bazal kıvrımında dış tüy hücreleri olduğu belirtilmiştir. Bunun yanında bazen de iç tüy hücre kaybı da olabileceği bildirilmiştir. Yüksek dozda CP kullanımı stria vaskularis hasarı geliştirebilir (41). CP'nin neden olduğu işitme kaybı bilateral olup kullanılan doz miktarına göre değişmektedir. İşitme kaybı yüksek frekanslarda başlayıp düşük frekansları da etkileyen sensörinöral tiptedir (29).

CP etkisini, DNA'nın sarmal yapısını bozarak hücre çoğalmasını önleyerek DNA üzerinde gösterir (42). Alkalleyici bir ajan olan CP, DNA'da iç ve dış zincirlere çapraz bağlanarak Türkçe karşılığı tam olmayan ancak normal yapısı bozularak bükülmüş DNA zinciri anlamına gelen 'adduct'formları oluşturur. Muhtemelen bu mekanizma boyunca spermler etkilenir ve testis yapısı zarar görür. CP, spermin kromatin bütünlüğünü de bozmaktadır (43). Daha önceki çalışmalarda yetişkin kemirgenlerde, CP tarafından üreme organlarında başlıca spermatogenez ve steroidogenez olmak üzere hasar oluşturduğu rapor edilmiştir (44). CP germ hücrelerinde nükleik asit sentezini inhibe etmekte ve farklı aşamalarındaki spermatogenez hücrelerinin ölümüne neden olmaktadır. Dahası sertoli hücre morfositolojisini etkileyerek, Leydig hücre fonksiyonları ve sperm üretimine zarar verebilmektedir. Bu yüzden intratestiküler testosteron ve serum seviyesi azalmaktadır. Seminifer tübüllerde yaşayan spermatogonyum kök hücrelerinin kendilerini yenileme yetenekleri vardır. Bu yüzden yetişkin hastaların %50-80'i özellikle CP tedavisinden sonra iki ile beş yıl içerisinde tekrar fertil hale gelebilmektedirler. Sperm üretiminin düzelmesi, sertoli hücresi ve tip A spermatogonyumlardan kaynaklanan hasar derecesine göre devam ettirilebilir (45).

CP, hücreler üzerinde oldukça etkili bir ilaçtır. CP'e maruz kalan 15-35 yaşlarındaki erkeklerin testislerinde spermatogenezini durdurma, infertilite gibi geri dönüşü olmayan ciddi hasarlara sebep olmaktadır. CP spermatogenezinin bozulmasına, spermde kromozomal anomolilere sebep olabilir (46). CP uygulaması sonrası testis hasarının patogenezi genellikle oksidatif hasar ile ilgilidir (1). DNA, membran ve proteinlerindeki oksidatif hasarın dahil olduğu morfolojik değişiklikler düşük sperm aktivitesinin etiolojisinde önemli bir faktördür. CP'in sebep olduğu oksidatif stresin kısa ve uzun süren etkileri önceki çalışmalarda gösterilmiştir (4,47).

CP uzun dönemde, spermatogenezde başarısızlık ve testosteron salgısını inhibe ettiği rapor edilmiştir (48). Buna ek olarak; testis dokularında oksidatif hasara karşı koruyan enzimlerin aktivitesini azaltan lipid peroksidasyonunu stimule ettiği gösterilmiştir. Oksidatif stresten koruma glutatyon (GSH) gibi antioksidanlar, glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) gibi antioksidan enzimlerin dahil olduğu serbest radikallerin savunma etkisi tarafından korunmaktadır. Serbest radikaller ve hidroksi radikal, hidrojen peroksit ve süperoksit anyonları gibi diğer reaktif oksijen türleri (ROS) normal oksijen metabolizmasından veya ekzojen faktör ve ajanlardan kaynaklanan yüksek reaktif moleküllerinin tüm sınıflarından biridir. CP uygulaması üreme organlarının ağırlıklarında azalmasına, sperm kalitesinde ve testosteron salgılanmasının inhibasyonuna önemli derecede yol açmaktadır (1). Ayrıca CP testiste, sperm konsantrasyonu ve sperm hareketliliği azalmasına, toplam anormal sperm sayısı ve anormal başlı sperm yüzdesini artırmaktadır. CP testiste dejenerasyona, nekroza ve intersitiyal ödeme de neden olmaktadır (1, 6).

2.5. PROPOLİS

Bal arısı (*Apis mellifera L.*) insanlar tarafından binlerce yıldır dünyanın her tarafında yetiştirilen sosyal bir böcektir. Bitkilerde tozlaşmayı sağlamanın yanında bal, bal mumu, polen, arı sütü ve propolis gibi ürettiği birçok ürünle insanlara fayda sağlamaktadır. Propolis kaynağı olarak arılar genellikle kavak, huş ve çam türleri, kara ağaç, at kestanesi, akça ağaç, söğüt, erik, ıhlamur, meşe gibi birçok bitki türlerinden toplanmaktadır (49). Genç işçi arılar tarafından toplanan propolis arının başı ile toraksı arasında bulunan aktif enzimlerle karıştırılarak pelet haline getirilir. Bu pelet ise ön ve arka bacakların yardımı ve bacak hareketleriyle arının arka bacağına bulunan polen sepetçisinde biriktirilir. Gerekli işlemlerde kullanılmak için kovana getirilen propolis yaklaşık 25-30 dk içerisinde boşaltılır. İşçi arılar her seferinde yaklaşık olarak 10 mg propolisi kovana taşıyabilmektedirler (36). Propolisi toplama zamanı bölgeden bölgeye değişmektedir. Son yıllarda hastalıkların tedavisinde kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve hastalıklara neden olan etmenlerin bu ilaçlara karşı direnç kazanması doğal ilaçların kullanımına karşı ilgiyi artırmıştır (50).

Arılar kovanın delik ve çatlak yerlerini kapatarak içerideki besinleri ve larvaları korurlar. Kovanı propolis ile sararak kovana içi dezenfeksiyonu sağlandığı gibi dışarıdan gelen tehlikelere karşıda korur. Kovana içerisinde ölmüş canlıları propolis ile sararak

bozulmasını önler. Kovan içerisinde sıcaklık ve nemi ayarlayarak kontaminasyonu engeller. Ayrıca arılar yavru arıların yetiştiği petek hücrelerini cilalayarak koruma sağlar (51, 52).

Arı ürünleri uzun yıllardır birçok hastalığı tedavi etmede kullanılmaktadır. Son yıllarda arı ürünlerinin içeriği ve etkileri belirlenerek kullanım alanlarını artırmaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır (50). Doğal bir arı ürünü olan propolisin de önemi gittikçe artmaktadır. Propolisin dünyanın birçok yerinde halk tarafından yöresel halk ilacı olarak M.Ö 300'lere kadar dayanan bir kullanımı vardır (9). İlk kez Yunanlılar tarafından keşfedilen ve antibiyotik olarak kullanılan propolisi daha sonraları farklı tedavilerde kullanılmıştır. Mısırlılar ölü mumyalama ve bazı hastalıkların tedavisinde, Yunan ve Romalılar ise deri apse tedavisinde uzun bir süre kullanmışlardır (49). İbranice'de 'trozi' olarak geçen propolisin terapötik özelliklerinden bahsedilmektedir. İnkalar ise propolisi ateş düşürücü olarak kullanmışlardır (50). Avrupa'daki 12.yy'daki kayıtlarda ise diş sağlığı ve ağızdaki yara ve enfeksiyonların tedavisinde kullanımından bahsedilmektedir. 17.yy'da propolis Londra da resmi ilaç listesine dahil edilmiş ve Avrupadaki önemi de artmıştır (10). Çok eski çağlardan günümüze kadar birçok hastalığın tedavisi veya etkisinin azaltılmasında kullanılan propolisten antik çağ bilginlerinden Hipokrat, Herodot ve Aristo gibi birçok bilgin övgüyle bahsetmektedir (9). Uzun yıllardır halk arasında birçok hastalığın tedavisinde kullanılan arı ürünleri son zamanlarda bilimsel çalışmalardaki sonuçları dolayısıyla tıp alanında 'Apiterapi' adı altında kabul görmeye başlamıştır (49).

2.5.1. Propolisin Fiziksel ve Kimyasal Özellikleri

Propolisin rengi toplandığı bitki ve yöreye göre sarı yeşilden koyu kahverengine kadar değişmektedir (49). Propolisin üzerinden zaman geçtikçe ve eskidikçe rengi koyulaşarak kırılganlaşabilir (53). İçeriği ise toplandığı bitkiye ait proteinleri içeren mumsu kıvamda yapışkan bir maddedir. İnsan cildinde yağlar ve proteinlerle güçlü bir etkileşimi olduğundan vücuttan çıkması zordur. Kovandan alındığında kendisine özgü bir kokusu olan propolis 10 °C altında sert ve kırılgandır. 15-25 °C arasında mum kıvamında elastik bir yapı kazanırken, 30-40 °C de yumuşayarak yapışkan bir duruma olup, 80 °C kısmen

erimektedir. Yumuşak haldeki propolis derin dondurucuya konduğunda hemen katılaşmaktadır. Genelde alkolde çözünen propolis suda az çözünür (49).

Propolisin şimdiye kadar kayda değer 300 den fazla bileşeni tanımlanmıştır (54). Genel olarak propolisin başlıca birleşenleri yağ, alifatik ve aromatik asitler, flavonoidler, alkoller, terpenler, şeker ve esterlerdir. Yapılan çeşitli çalışmalarda propolisin ayrı ayrı bileşenlerin yüzdelik farklılıkları, arı türü ve toplanan reçinenin bitki türüne bağlı olarak değiştiği kabul edildiği gibi toplandığı mevsim de etkilemektedir (55). Farklı coğrafik bölgelerdeki propolis analiz örneğinde, büyük farklılıklar göstermiştir. Bu farklılıklarda propolisin biyolojik aktivitesini de etkilemektedir (54). Farklı bitkilerden toplanan propolisin kimyasal içeriği farklıdır. Propolisin kimyasal yapısındaki bu farklılık, sağlık alanında uygulama ve kalitesinin belirlenmesinde zorluklarla karşılaşmaktadır. Bunun sebebi propolis toplanan kaynağın tam olarak takip edilememesidir (51). Dünyanın farklı bölgelerinde elde edilen propolis örneklerindeki birleşenlerin çeşitli olmasına rağmen, genellikle propolis yüksek antibakteriyel, antiviral, antioksidan, antifungal, aterosjenik, antiproliferatif ve proapoptotik aktivite gösterir (54).

Propoliste yaklaşık olarak % 60 oranında lipid bulunur. Bu lipidin ise % 49.09 yağ asitleri, % 50.91 ise streoller, uzun zincirli alkoller ve hidrokarbonlar oluşturur. Propolisin içerisinde doymuş yağ asitleri olarak stearik asit ve palmitik asit bulunmaktadır. Doymamış yağ asitleri ise oleik, linoleik, araşidonik ve nervolik asitlerdir. Propolisteki bazı mineraller ise sodyum, potasyum, demir, magnezyum, bakır, çinko ve kalsiyum gibi minerallerdir. Ayrıca propolisin yapısında glukoz, fruktoz ve sukroz gibi şekerler de bulunmaktadır. Propolisin toplandığı kaynağa göre farklılık gösteren içeriğindeki bileşikler tablo 2.1 de gösterilmiştir. Propolis içeriğinde B1, B2, B6, A, C, E, pantotanik asit ve niasin gibi birçok vitamin de bulunur (49).

Tablo 2.1: Propoliste Belirlenen Bileşik Grupları ve Sayıları (56).

Bileşikler Tanımlanan Bileşik Sayısı (adet)	Tanımlanan Bileşik Sayısı (adet)
Flavanoidler	38
Hidroksiflavonlar	27
Hidroksiflavononlar	11
Kalkonlar	2
Benzoik Asit ve Türevleri	12
Asitler	8
Esterler	4
Benzaldehit Türevleri	2
Sinamil ve Sinamik Asit ile türevleri	14
Alkoller, Ketonlar, Fenoller	8
Heteroaromatik Bilesikler	12
Terpen ve Sekuterpen ve Türevler	7
Alifatik Hidrokarbonlar	6
Sekuterpen ve Triterpen Hidrokarbonlar	11
Steroller ve Steroid Hidrokarbonlar	6
Mineraller	22
Seker	7
Aminoasitler	24

2.5.2. Propolisin Biyolojik Özellikleri ve Antioksidan Etkileri

İnsan sağlığı ve savunma sistemi açısından oldukça önemli olan ve uzun yıllar boyunca birçok hastalık tedavisinde kullanılan propolisin tıbbi özellikleri çok eskiden beri bilinmektedir. Eski çağlardan beri propolisin savaşlarda yara ve dokuların iyileşmesinde merhem olarak kullanıldığı bilinmektedir. Arılar tarafından üretilen doğal bir ürün olan propolis son yıllarda tıp alanında da kullanılmaktadır. Yapılan çeşitli çalışmalarda propolisin antioksidan, antifungal, antiprotozoal, antiviral, antikanserojenik ve antibakteriyal gibi birçok özellik gösterdiği belirlenmiştir (53, 57). Propolisin yapısındaki flavonoidler ve terpenlerin güçlü antioksidan etkileri vardır. Flavonoidlerin birçok bakteri üzerine etkisi, kalp-damar sistemi üzerine olumlu etkisinin olduğu, kılcal

damar çatlaklarını azalttığı, kan dolaşımını düzenlediği bilinmektedir. Bunun yanında mide iç salgısını düzenlediği, mide yaralarını küçülttüğü ve mide mukozasını da ülserle karşı koruduğu belirlenmiştir. Propolisin içeriğindeki sinamik asit ve türevleri ise gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı antibiyotik etkisi göstermektedir. Sinamik asit pıhtılaşmayı da hızlandırmaktadır. Virüslerin enzim salgılamalarını ve üremelerini engelleyici özellikleri belirlenen bioflavonoidlerde propolis içeriğinde bulunmaktadır (49, 58).

Organizmada metabolik olaylar sırasında ortaya çıkan serbest radikaller, hücre yaşlanması ve buna bağlı olarak kanser, diyabet, Parkinson, Alzheimer ve kardiyovasküler hastalıklara yol açar. Organizmadaki antioksidan enzimler ise SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz), GPx (glutasyon peroksidaz), GR (glutasyon redüktaz) ise bu serbest radikalleri ortadan kaldırır. Propoliste bulunan flavonoidler ve diğer bileşenlerin serbest radikalleri temizleme özelliği olan antioksidanlardır. Lipid peroksidasyonun başlangıç aşamasında bazı flavonoidler doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleri ile reaksiyona girerek temizleme etkisi yaparlar. Flavonoidlerin bu antioksidan etkileri, hidrojen peroksit, peroksit iyonları ve diğer lipid peroksit radikallerini ortadan uzaklaştırma özelliğinden dolayıdır (59).

2.6. HIF-1 α (Hipoksi İndükleyici Faktör)

HIF-1 α , memeli hücrelerinde hipoksik koşulların oluşmasında yer alan ana düzenleyici olarak tanımlanmakla beraber, iskemi, hipoksi, anti-ve proapoptotik yanıtın oluşması gibi metabolik süreçlerde bulunan 100 den fazla hipoksiye-duyarlı genin aktive edilmesi için gerekli iyi karakterize edilmiş bir transkripsiyon faktörüdür (60, 61). HIF homoestazinin temel düzenleyicisi olan bir transkripsiyon faktörüdür ve anjiyogenezde önemli rol oynar (62, 63). HIF-1, pek çok dokuda hipoksi ve oksijen dengesinin düzenleyicisidir. HIF-1, heliks-loop-heliks/PER-ARNT-SIM transkripsiyon faktörleri süper ailesinin bir üyesidir (64). HIF-1, anjiyogenez, eritropoiez, glikoliz, apoptotik, iskemi ve hipoksi yanıtında görev alan hedef genleri aktive eder (65). Aktif HIF-1, alfa ve beta alt birimlerinden oluşan bir heterodimerdir. HIF alt birimleri memeli dokularında yaygın olarak eksprese olur. Aktif HIF-1, ilk olarak hipoksi durumunda eksprese olur. Diğer normal şartlar altında, HIF-1 α alt birimleri çok kararsızdır ve

proteazomda hemen parçalanırlar (66, 67). Hipoksiye maruz kalmak pek çok hücrede HIF-1 α proteininde in vivo ve in vitro olarak hızlı bir artışa yol açar. Oksijene duyarlı süreçler hipoksiye yanıt olarak HIF-1 α proteini seviyesini artırdığı henüz kanıtlanamasa da, HIF-1 α proteininin hipoksi durumunda regulasyonunun artış mekanizması iyi karakterize edilmiştir. Hücre içindeki oksijen kritik bir seviyeden düşük bir eşiğe ulaştığı zaman HIF-1 α alt birimleri proteozomal yıkımdan hızlıca kurtulur, HIF-1 α ve HIF-1 β alt birimlerinin birleşip aktif HIF-1 oluşturmasına olanak verir. Çalışmalar gösteriyor ki, HIF-1 α hipoksi koşullarında ROS tarafından gerçekleştirilen oksidatif modifikasyonlarla stabilize olabilir (65).

HIF-1 α , HIF- α 'nin hipoksik yanıtta en kritik olan 3 izomerinden biridir (68). Direkt ya da indirekt olarak HIF-1 α tarafından düzenlenen Vasküler Endotelial Büyüme Faktör-A (VEGF-A) ve temel Fibroblast Büyüme Faktör (bFGF) gibi 100'den fazla anjiyogenik gen vadır (69). HIF-1 α alt birimi sabit olarak eksprese olur. Ancak normal şartlarda hızlıca parçalanır. HIF-1 α hipoksik hücrelerin nükleusunda birikebilir ve protein immunohistokimyasal boyama ile saptanabilir (63). Pek çok araştırmacı, embriyogenez, tümör vaskularizasyonu ve gelişimi, iskemik süreler boyunca HIF-1'in moleküler biyolojisini çalışmaktadır (70). HIF-1'in rolünün daha iyi anlaşılması iskemi ilişkili (testis iskemisi gibi) hastalıkların tedavisi için gerekli genetik yaklaşımları sağlayacaktır (65).

Birçok dokudaki hipoksiya tarafından indüklenmiş HIF-1 α ekspresyonunun aksine, HIF-1 genel olarak normal testis ve testis torsiyon ve reperfüzyonun sebep olduğu etkilenmemiş iskemik ve hipoksiya HIF-1 testis seviyeleri tarafından ekspre olmaktadır (70). Ayrıca HIF-1 α normal fare testisindeki Leydig hücreleri tarafından sentezlenmektedir (71). HIF-1 α nın işlevsel olarak normal dokularda aktif olduğunu ortaya çıkarmıştır. Testislerdeki fizyolojik oksijen tansiyonu ölçümlerine göre testiskular pO₂ seviyeleri hipoksiyaya yakın derecede düşük çıkmıştır ve bununla beraber reaktif oksijen türleri gibi diğer faktörlerin, normal koşullarda dahi testislerde hipoksik seviyelerin ortaya çıkmasına sebep olduğu düşünülmektedir (71,72). Testisteki gende HIF-1 hakkında çok az şey bilinmekle beraber, testisteki oksijen bölgesindeki değişikliklere karşı Leydig hücrelerindeki hücresel ve moleküler yanıtları anlamak için araştırmacılar bu alanda araştırma yapmaya ilgi duymaktadır (61).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Hayvan Denepleri etik kurulu tarafından onaylanmıştır. Çalışma süresince etik kurallara uygun bir şekilde çalışmalar sürdürülmüştür. Çalışmada Erciyes Üniversitesi Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezinde (DEKAM) yetiştirilen ortalama 250-300 gr ağırlığında ergin erkek Wistar albino türü sıçanlar kullanıldı. Kafesler içinde tutulan sıçanlara günün normal düzeninde 21 °C ve 12 saatlik aydınlık/karanlık ortamında bakım odalarında izin verilen ölçüde standart besin ve su ile yetiştirildi. Denekler ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde rastgele 4 gruba ayrıldı.

Grup 1 (n=10); kontrol grubu,

Grup 2 (n=10); 7 mg/kg CP uygulanan (intraperitoneal)

Grup 3 (n=10); 7 mg/kg CP + 50mg/kg/gün propolis (intragastrik)

Grup 4 (n=10); 50mg/kg/gün propolis (intragastrik) uygulanarak oluşturuldu.

3.1. DENEYSEL PROSEDÜR

Sekiz haftalık denekler ağırlıkları birbirine yakın olacak şekilde dört eşit gruba ayrılarak farklı kafeslere konuldu. Grup 1 kontrol olarak değerlendirildi ve herhangi bir uygulama yapılmadı. Grup 2 sıçanlar 7 mg/kg tek doz intraperitoneal CP uygulandıktan 72 saat sonra dekapite edildi. Grup 3 sıçanlara 50 mg/kg/gün propolis uygulamasının 7. gününde CP 7 mg/kg olacak şekilde, propolis uygulamasından 1 saat sonra intraperitoneal olarak uygulandı. Grup 4 sıçanlara ise 10 gün boyunca 50 mg/kg/gün olacak şekilde gavaj yoluyla propolis verildi. Onuncu günün sonunda tüm denekler ketamin + xylazin anestezisi altında dekapite edilerek testis dokuları çıkarıldı. Tüm prosedürler etik kurallara uygun bir şekilde gerçekleştirildi. Dekapitasyon sonrası alınan testis dokularının bir bölümü histolojik incelemeler, diğer bölümü ise biyokimyasal incelemeler için kullanıldı. Biyokimyasal incelemeler için alınan testis dokuları -80 °C'de saklandı.

Dekapite edilen sıçanlardan alınan testisler ışık mikroskopik incelemeler için % 4'lük formaldehit ile tespit edildi. Tespit solüsyonunda 72 saat bekleyen testisler bir gece akan musluk suyunda bırakıldıktan sonra artan alkol serilerinden geçirilerek sudan kurtarıldı ve ksilol ile şeffaflandırıldıktan sonra parafine gömülerek bloklandı. Yapılan bu işlemler Tablo 3.1'de ayrıntılı olarak verilmiştir.

Tablo 3.1: Işık Mikroskobu Doku Hazırlama Tekniği

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	%4 Formaldehid	72 saat	8	Absolü Alkol	1 saat
2	Musluk suyu	1 gece	9	Absolü Alkol	1 saat
3	%50 Alkol	1 saat	10	Ksilen	20 dakika
4	%70 Alkol	1 saat	11	Ksilen	20 dakika
5	%80 Alkol	1 saat	12	Ksilen	20 dakika
6	%96 Alkol	1 saat	13	Eriyik parafin (60°C)	3 saat
7	Absolü Alkol	1 saat	14	Bloklama	

Parafin bloklardan alınan 5-6 µm'lik kesitler polilizin kaplı lamlara yayıldı. Hazırlanan lamalar standart histolojik yöntemler kullanılarak ksilol ile parafini uzaklaştırıldı ve dereceli alkol serilerinden geçirilip sulandırıldı. Genel histolojik yapıyı görmek amacıyla kesitler Hematoksilen-Eozin (H&E) (Tablo 3.2) boyası ile boyanarak önce artan alkol serilerinden daha sonra ksilolden geçirilerek kapatıldı.

Tablo 3.2: Hematoksilen-Eozin Boyama Tekniği

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	2 saat	13	Akarsu	5 dakika
2	Ksilen I	10 dakika	14	Eozin	3-5 dakika
3	Ksilen II	10 dakika	15	Akarsu	1 dakika
4	Ksilen III	10 dakika	16	%50 Alkol	1-2 dakika
5	Absolü Alkol I	5 dakika	17	%70 Alkol	1-2 dakika
6	Absolü Alkol II	5 dakika	18	%80 Alkol	1-2 dakika
7	%96 Alkol	5 dakika	19	%96 Alkol	1-2 dakika
8	%80 Alkol	5 dakika	20	Absolü Alkol I	1-2 dakika
9	%70 Alkol	5 dakika	21	Absolü Alkol II	1-2 dakika
10	%50 Alkol	5 dakika	22	Ksilen I	10 dakika
11	Akarsu	5 dakika	23	Ksilen II	10 dakika
12	Hematoksilen	5-8 dakika	24	Kapatma	

3.2. SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPLARININ ÖLÇÜMÜ (MSTD)

Testisteki hasarın bir göstergesi olarak Seminifer Tübül Çaplarının ölçümü kullanıldı. H&E ile boyalı kesitlerde, Olympus BX51 mikroskobundaki Analysis LS Research programı kullanılarak seminifer tübül çapları ölçüldü ve ortalama tübül çapları hesaplandı. Seminifer tübül çapı ölçümü, her bir deneğe ait preparattan 10 farklı alandaki tübül çapları 20'lik objektifteki farklı alanlardan ölçülerek yapıldı. İstatistiksel analizler için SPSS paket programı kullanıldı.

3.3. JOHNSEN TESTİKÜLER BİYOPSİ SKORU

Bu skorlamaya göre, hasarlanmaya neden olan herhangi bir olay sonrasında, tübülün içindeki hücrelerin dağılımı belli bir sıra takip ederek progresif bir şekilde kaybolur. Tübüllerdeki bu hasarlanmanın derecesinin değerlendirilmesinde Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru (JTBS) kullanıldı (Tablo 3.3). Histolojik incelemelerin sonuçları Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalında iki uzman histolog tarafından değerlendirildi. Her gruptan rastgele seçilmiş 10 farklı preparattan 20'şer

farklı tübül 20'lik objektifle incelendi. Her grup için ayrı ayrı 200 adet tübül değerlendirilerek ortalama JTBS hesaplandı. Gruplar arası istatistiksel karşılaştırmalar için SPSS paket programı kullanıldı. Elde edilen veriler önceden hazırlanan bir forma işlendi.

Tablo 3.3: Johnsen Testikuler Biyopsi Skolaması

Skor	Histolojik Bulgular	Skor	Histolojik Bulgular
1	Tübüler kesitte hiçbir hücre yoktur.	6	Az sayıda (5/ tübül) spermatid mevcuttur.
2	Sadece sertoli hücreleri vardır.	7	Farklanma işareti olmaksızın fazla sayıda spermatid vardır.
3	Germ hücreleri olarak sadece spermatogonyumlar vardır.	8	Olgun spermatozoa olmaksızın geç spermatidler mevcuttur.
4	Az sayıda (5/ tübül) spermatosit vardır.	9	Az sayıda (5/ tübül) spermatozoa vardır.
5	Fazla sayıda spermatosit mevcuttur.	10	Fazla sayıda spermatozoanın görüldüğü tam spermatogenez mevcuttur.

3.4. TUNEL METODU

Deneklere ait tüm kesitlerde apoptotik hücreleri belirlemek için Roche marka In Situ Cell Detection Apoptosis Fluorescein Kit'i kullanıldı ve boyama işlemi, kitin prosedürüne göre yapıldı. Kısaca özetleyecek olursak, 5-6 µm kalınlığında alınan testis dokuları deparafinize ve ardından rehidrate edildikten sonra PBS ile yıkandı. Daha sonra antijen geri kazanımı için 0.01 M sodyum sitrat tamponunda mikrodalga fırında 350 W'de 5 dakika bekletildi ardından oda ısısında 20 dakika soğumaya bırakıldı. PBS ile 3 defa 5'er dakika yıkanan dokular daha sonra kitin içinden çıkan TUNEL reaksiyon karışımı ile 37 °C'de nemli ve karanlık ortamda 60 dakika inkübe edildi. PBS ile 3 defa 5'er dakika yıkanan dokulara 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) ile zıt boyama yapıldı. Gliserollü kapatma solüsyonu ile kapatılan dokular Olympus BX-51 floresan

mikroskopta 450-500 nm dalga boyunda görüntülendi. Apoptotik indeks için her kesitte on farklı alandaki apoptotik hücreler sayıldı.

3.5. İMMÜNOHİSTOKİMYA METODU

Deneydeki sıçanlara ait testis dokularında HIF-1 α proteinini belirlemek için avidin-biotin-peroksidaz yöntemi ile immunohistokimya uygulandı. Bir gece 60 °C’de tutulan önce ksilen sonra dereceli alkol serilerinden geçirilerek rehidrate edilen kesitler daha sonra distile su ile yıkandı. Daha sonra antijen geri kazanımı için %5’lik sitrat tamponu ile mikrodalga fırında 600W’de 3X5 defa kaynatılan kesitler 20 dakika oda ısısında aynı tampon solüsyon içinde bekletildi. Bekletilen kesitler endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için 10 dakika %3 hidrojen peroksit (H₂O₂) ile muamele edildi. Bundan sonraki aşamalar için Thermo boyama kiti kullanıldı. Kesitler PBS adı verilen yıkama solüsyonu ile 3 defa yıkandı. Yıkanan kesitlere daha sonra tekrar 2-3 damla PBS damlatılarak 1-2 dakika bekletildi. Kesitlere antijenik alanların dışında kalan bölgelerin kapatılmasını sağlamak için oda sıcaklığında 5 dakika blok serum uygulandı. Hemen ardından kesitler tavşan poliklonal birincil antikorunu HIF-1 α ile 10 dakika oda ısısında inkübe edildi. Negatif kontrol için, birincil antikor yerine PBS kullanıldı. Yıkama işleminden sonra kesitler biotin-sekonder antikor ile 10 dakika inkübe edildi ve ardından yıkama işlemi tekrarlandı. Daha sonra AB enzim ayracı ile 10 dakika muamele edilen kesitler yıkanarak immunreaktiviteyi görünür hale getirmek için diaminobenzidin (DAB) özelliği gösteren kitteki peroksidaz substrat ile 10 dakika muamele edildikten sonra distile su ile yıkandı. Gill hematoksilen ile 1 dakika muamele edildikten sonra zıt boyanan kesitler birkaç kez distile su ile yıkandı. Son olarak artan alkol serileri ile suyu uzaklaştırılarak ksilenden geçirilen kesitler kapatma solüsyon (Entellan®, Merck) ile kapatılarak ışık mikroskopunda incelendi. Boyama metodu aşağıdaki tabloda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 3.4). İmmun reaktivite açısından boyanan sıçan testis dokularının değerlendirilmesi birbirinden bağımsız iki uzman histolog tarafından yapıldı. İmmunohistokimya uygulanan kesitlerdeki HIF-1 α ekspresyonu görülmeyen negatif (-), zayıf (-/+), az (+), orta (++) ve çok yoğun reaksiyon (+++) olarak değerlendirildi.

Tablo 3.4: İmmünohistokimya boyama tekniği.

Sıra	Yapılan işlem	Süre	Sıra	Yapılan işlem	Süre
1	Etüv (60 °C)	2 saat	18	PBS	3x1 dakika
2	Ksilen I	5 dakika	19	Streptavidin	10 dakika
3	Ksilen II	5 dakika	20	PBS	3x1 dakika
4	Ksilen III	5 dakika	21	DAB kromojen	4-5 dakika
5	Absolü Alkol	5 dakika	22	Distile su	Yıka
6	%96 Alkol	5 dakika	23	Hematoksilen	1 dakika
7	%80 Alkol	5 dakika	24	Musluk suyu	5 dakika
8	%70 Alkol	5 dakika	25	Distile su	Yıka
9	Distile Su	3 kez yıka	26	%70 Alkol	5 dakika
10	%3 Sitrat Buffer	20 dakika	27	%80 Alkol	5 dakika
12	%3 H ₂ O ₂	10 dakika	28	%96 Alkol	5 dakika
13	PBS	3x1 dakika	29	Absolü Alkol	5 dakika
14	Normal Serum	5 dakika	30	Ksilen I	5 dakika
15	Primer Antikor	10 dakika	31	Ksilen II	5 dakika
16	PBS	3x1 dakika	32	Ksilen III	5 dakika
17	Sekonder	10 dakika	33	Kapatma	

3.6. ELISA METODU

Deneklerden alınan kanlar sitrat içermeyen tüplere alındı ve 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlardan ELISA kitleri ile Serum testosteron (201-11-5126, SunRedBio) seviyeleri üretici firmanın kit prosedürüne göre belirlendi.

3.7. MALONDİALDEHİD (MDA) SEVİYESİ TAYİNİ

Deney sonunda -80 °C derecede saklanan doku örnekleri oda ısısında bir süre bekletildikten sonra PBS içinde homojenize edildi. Daha sonra soğutmalı santrifüjde +4 derecede 12000 rpm de 30 dakika santrifüj edildi ve süpernatantları alındı. Alınan

süpernatantlar MDA analizi için kullanıldı. Metodun temel prensibi, lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA' ın tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek 532 nm'de absorbans veren pembe renkli bir kompleks oluşturması esasına dayanır. Kısaca; 0,2 ml doku homojenatı, 0.8 ml fosfat tamponu (pH:7.4) ve 0.025 ml bitüle hidroksitoluen solüsyonu ile karıştırıldı 0,5 ml %30'luk TCA (trikloroasetik asit) eklendi, 120 dk buz üzerinde inkübe edildi ve akabinde 2000 x g'de 15 dk santrifüj edildi. 1ml süpernatant, 0,075 ml 0,1 M EDTA ve 0,25 ml % 1'lik Tiyobarbitürik asit (TBA), (0.05 NaOH içinde hazırlanmış) ile karıştırıldı, tüpler 15 dk su banyosunda kaynatılıp oda sıcaklığına kadar soğutulularak, absorbansları 532 nm'de tayin edildi.

3.8. PROPOLİSİN ETANOLİK EKSTRAKSİYONU

Propolis başlangıç olarak soğutuldu ve öğütücü blendır aracılığı ile toz haline getirildi. (Warning Products, Torrington, CT, USA). Propolis ekstraktı oda sıcaklığında (% 96) lık ethanol kullanılarak bir haftalık bir sürede elde edildi. 30 gr propolis ekstraktı 100 ml ethanolde çözüldü. Ekstraksiyon işleminden sonra örnek, kağıt filtre aracılığı ile filtrelendi ve filtrelenen ekstrakt çözücünün kalıntılarını ortadan kaldırmak amacıyla döner buharlaştırıcı ile 40 °C de buharlaştırıldı. Kuru ekstrakt ise sonrasında fenolik bileşimi analizlemek amacıyla kullanıldı.

3.8.1. LC-MS/MS ile Kuru Propolis Ekstraktının Hazırlanması

Kuru propolis ekstraktı 1000 mg/L metanol ile dilüe edildi. Daha sonra karışım LC–MS/MS analizleme işlemini uygulamadan önce 0.2 µm mikrofiber filtre ile filtrelendi.

3.8.2. LC-MS/MS Cihazının Kullanım Koşulları

Propolisin fenolik bileşiminin LC–MS/MS analizlenmesi, Nexera model Shimadzu UHPLC cihazı ile gerçekleştirildi. Likit kromatografi LC-30AD ikili pompalar, DGU-20A3R gaz giderici, CTO-10ASvp sütun ocak ve SIL-30AC otomatik numune alma cihazı ile donatılmıştır. Kromatografik ayırım C18 ters-faz Inertsil ODS-4 (150 mm × 4.6 mm, 3 µm) analitik sütunda gerçekleşti. Sütunun sıcaklığı 40°C de sabitlendi. Seyrelme eğimi hareketli faz A (su, 5 mM amonyum format ve 0.1% formik asit) ve hareketli faz B (metanol, 5 mM amonyum format ve 0.1% formik asit) den oluşmaktadır. Çözücü B nin derecelenme programı B%: (0, 40), oranları takiben uygulandı. Çözücünün akış hızı 0.5 mL/min de ayrıca püskürtmeli hacim ise 4 µL de

sürdürüldü. MS belirlenmesinde hem pozitif hemde negatif iyonizasyon modunu çalıştıran ESI kaynak ile döşenmiş Shimadzu LCMS 8040 model triple quadropole kütle spektrometre cihazı kullanılmıştır. LC–MS/MS data verileri toplanmıştır ve Lab Solutions software (Shimadzu, Kyoto, Japan) ile işlenmiştir. Çoklu reaksiyon monitorü (MRM) araştırılan bileşiklerin tayinini analizlemek için kullanılmıştır. Propolis ekstraktının fenolik bileşikleri aşağıdaki tabloda verilmiştir.

Tablo 3.5: Propolis ekstraktının fenolik içerikleri.

Fenolik birleşikler	mg/g Kuru Ekstrakt
Hesperidin	1.89±0.09
Quinic acid	0.39±0.02
Malic acid	0.45±0.02
<i>trans</i> -aconitic acid	0.08±0.00
Gallic acid	0.72±0.04
Chlorogenic acid	0.18±0.01
Protocatechuic acid	1.46±0.07
Tannic acid	0.23±0.01
<i>trans</i> -caffeic acid	37.97±1.97
Vanillin	50.18±2.46
<i>p</i> -coumaric acid	2.99±0.15
Rutin	0.01±0.00
Hyperoside	0.01±0.00
Myricetin	0.09±0.01
Fisetin	0.06±0.00
4-hydroxybenzoic acid	0.05±0.00
Salicylic acid	0.03±0.00
Quercetin	3.18±0.23
Kaempferol	2.09±0.11
Naringenin	10.61±0.58
Hesperetin	0.20±0.01
Luteolin	0.56±0.04
Apigenin	18.28±0.97
Rhamnetin	8.71±0.53
Chrysin	168.91±8.95

3.9. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Tüm istatistiksel analizler SPSS yazılım programında yapıldı. Veriler ortalama \pm standart hata olarak belirlendi. Bütün skorlar ANOVA yöntemiyle değerlendirildi. Post hock analiz için Tukey testi kullanıldı. İstatistiksel anlamlılık $P < 0.05$ olarak tanımlandı.

4. BULGULAR

Tüm gruplara ait deneklerin vücut ve testis ağırlıkları deney sonunda ölçüldü. Deney sonunda grup 2 deneklerin vücut ağırlıklarının grup 1'e göre azaldığı belirlendi. Testis ağırlıklarına bakıldığı zaman ise gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmedi. (Tablo 4.1).

Tablo 4.1: Gruplara ait sıçan ve testis ağırlıkları ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. ^aGrup 1 ile karşılaştırıldığında $P < 0.05$

	Vücut ağırlığı (gr)	Testis ağırlığı (gr)
Grup 1	242.50 \pm 3.53	1.34 \pm 0.02
Grup 2	198.66 \pm 8.87 ^a	1.34 \pm 0.03
Grup 3	203.80 \pm 8.57	1.39 \pm 0.05
Grup 4	223.77 \pm 7.16	1.42 \pm 0.06

4.1. Işık Mikroskopik Bulgular

Grup 1'e ait testislerin ışık mikroskopik incelenmesinde, kesitlerde tunika albuginea, seminifer tübüller ve aradaki intertisyel bağ dokusu, seminifer tübüldeki germinal epiteldeki hücreler normal olarak gözlemlendi. Seminifer tübül içerisinde bulunan germinal epitele ait spermatogenik hücre serilerinin yerleşimi bazal membrandan lümene doğru normal bir şekilde gözlemlendi (Şekil 4.1). Grup 2'de CP'nin testise olan etkisi ışık mikroskopik olarak değerlendirildiğinde, grup 2 sıçanların testis dokularında germinal epitele ait hücre serilerinde düzensizlik ve dağılma, ayrıca bazal membrandan hücre kopmaları ve dökülmeleri ayırt edildi (Şekil 4.2). Ayrıca seminifer tübüller arasındaki intertisyel dokudaki damarlarda konjesyon belirgindi (Şekil 4.3). Grup 3'teki testis dokusunda seminifer tübül epitelinde ayrılma daha az olmakla birlikte yine de

görülmekteydi (Şekil 4.4). Grup 4, sadece propolis uygulanan sıçanların testis dokularında ise grup 1'e benzer histolojik bulgular ayırt edildi (Şekil 4.5).

4.2. Seminifer Tübül Çapları Ölçüm Sonuçları

Seminifer tübül çapları açısından testisler incelendiğinde, gruplar arasında fark bulunmadı (Tablo 4.2).

Tablo 4.2: Seminifer tübül çapı ölçüm sonuçları. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Seminifer tübül çapı (μm) (n=200)	149.12 \pm 3.10	146.75 \pm 2.43	155.90 \pm 1.86	149.11 \pm 2.88

4.3. Johnsen Testiküler Biyopsi Skoru (JTBS) Sonuçları

Johnsen testiküler biyopsi sonuçları tablo 4.3 te gösterilmiştir. Grup 2 sıçanların JTBS değerlerinin grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlendi. Koruyucu amaçlı propolis verilen grup 3 sıçanların JTBS değerlerinin ise Grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. Sadece propolis verilen grup 4 sıçanların JTBS değerleri Grup 1'e benzerdi.

Tablo 4.3: Johnsen Testiküler Biyopsi Sonuçları. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. ^a Grup 1 ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$; ^bGrup 2 ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Johnsen biyopsi skoru (n:200)	9.83 \pm 0.05	8.57 \pm 0.18 ^a	9.44 \pm 0.08 ^b	9.69 \pm 0.06

4.4. İmmunohistokimya sonuçları

HIF-1 α ekspresyonunu belirlemek için yapılan immunohistokimyasal boyamada (Tablo. 4.4.) grup 1 (Şekil. 4.6) ve sadece grup 4 (Şekil 4.9) deneklerin testis dokusunda, intertisyel alanda orta yoğunlukta (++) HIF -1 α ekspresyonu gözlemlendi. Seminifer tübül epitel hücrelerinde ise bazı alanlarda çok zayıf boyanma (-/+) tespit edildi. CP verilen grup 2'nin testis dokusunda ise HIF-1 α ekspresyonu intertisyel alanda azalarak (+) olarak ayırt edildi. Ancak bu grupta özellikle hasarlanmış tübüllerin epitel hücrelerinde (++) boyanma belirlendi (Şekil 4.7). CP ile birlikte koruyucu amaçlı propolis uygulanan grup 4'te ise grup 1'e benzer şekilde intertisyel alanda (++) , seminifer tübüllerde ise (-/+) HIF-1 α ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.9).

Tablo 4.4: Testis kesitlerinde HIF-1 α immunoreaktivite skoru. (-) negatif, (-/+) zayıf, (+) az yoğunlukta reaksiyon, (++) orta yoğunlukta reaksiyon ve (+++) çok yoğun reaksiyon.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
HIF-1α immunoreaktivitesi (intertisyel alan)	++	+	++	++
HIF-1α immunoreaktivitesi (germinal epitel)	-/+	++	-/+	-/+

4.5. Apoptotik Bulgular

Çalışmamızda apoptozu belirlemek için TUNEL yöntemi kullanıldı. Apoptotik hücreler genel olarak testiste seminifer tübüllerdeki spermatogenik hücrelerde belirlendi. CP uygulanan grup 2'deki apoptotik hücre sayısı grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdi (Şekil 4.12). Koruyucu amaçlı propolis verilen grup 3'te ise apoptotik hücre sayısı CP uygulanan grup 2'ye göre istatistiksel olarak azaldığı gözlemlendi (Şekil 4.13) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: Apoptotik indeks Sonuçları. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. ^a Grup 1 ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$, ^bGrup 2 ile karşılaştırıldığında $p < 0.05$.

	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Apoptotik indeks	1.59 \pm 0.18	4.06 \pm 0.35 ^a	1.90 \pm 0.21 ^b	1.72 \pm 0.31

4.6. Biyokimyasal bulgular

Grupların MDA değerleri Tablo 4.6’da gösterilmiştir. MDA değerleri açısından gruplar arasında herhangi bir farklılık gözlenmedi.

Tablo 4.6: Testis dokusu MDA Sonuçları. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir.

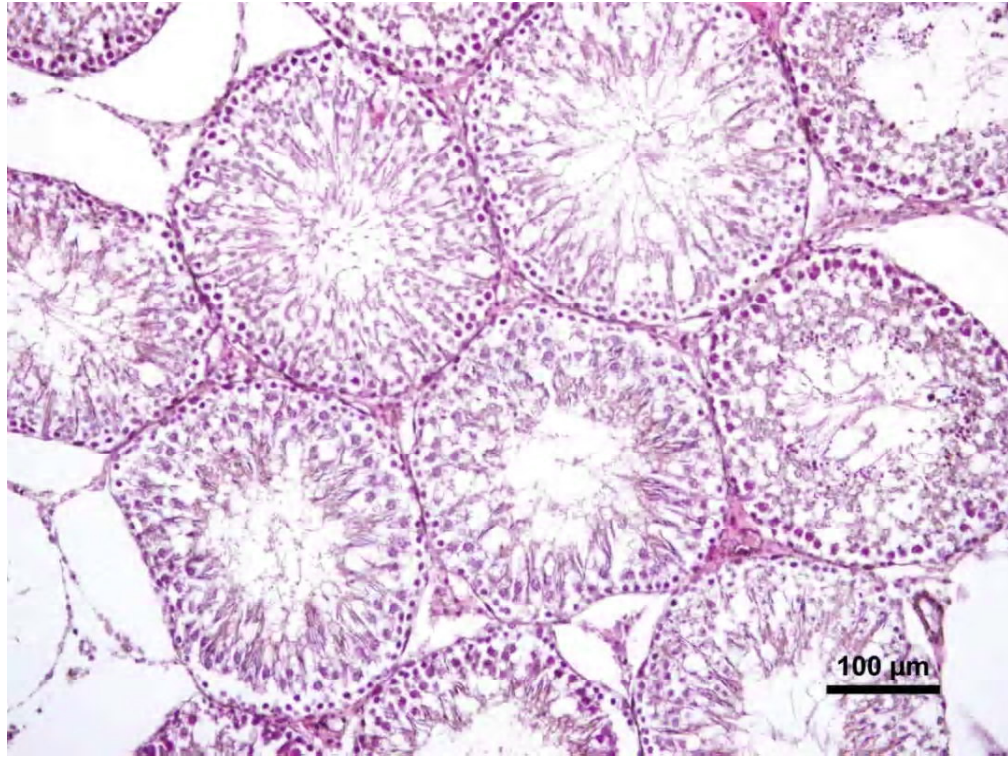
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Doku MDA (nmol/gr protein)	9.87 \pm 1.19	7.14 \pm 0.32	6.90 \pm 0.67	6.37 \pm 1.15

4.7. ELISA Bulguları

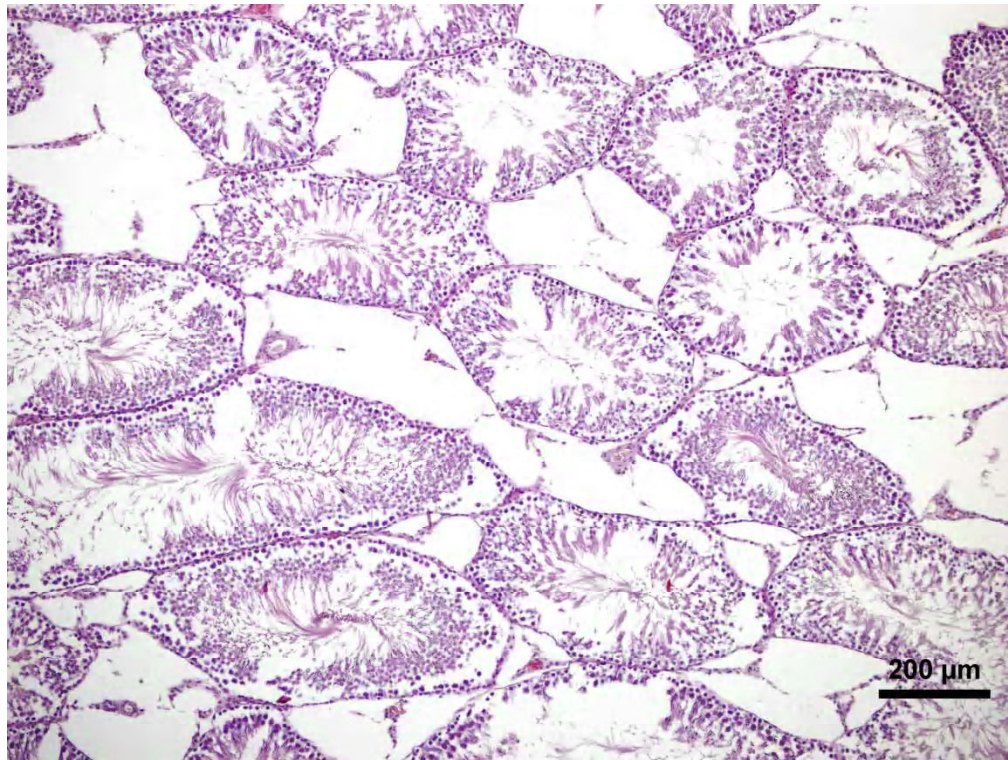
CP’in testis dokusunda oluşturduğu hasarda serum testosteron düzeyleri ELISA yöntemiyle araştırıldı. Serum testosteron değerleri açısından gruplara arasında herhangi bir farklılık belirlenmedi (Tablo 4.7.)

Tablo 4.7: Serum Testosteron sonuçları. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir..

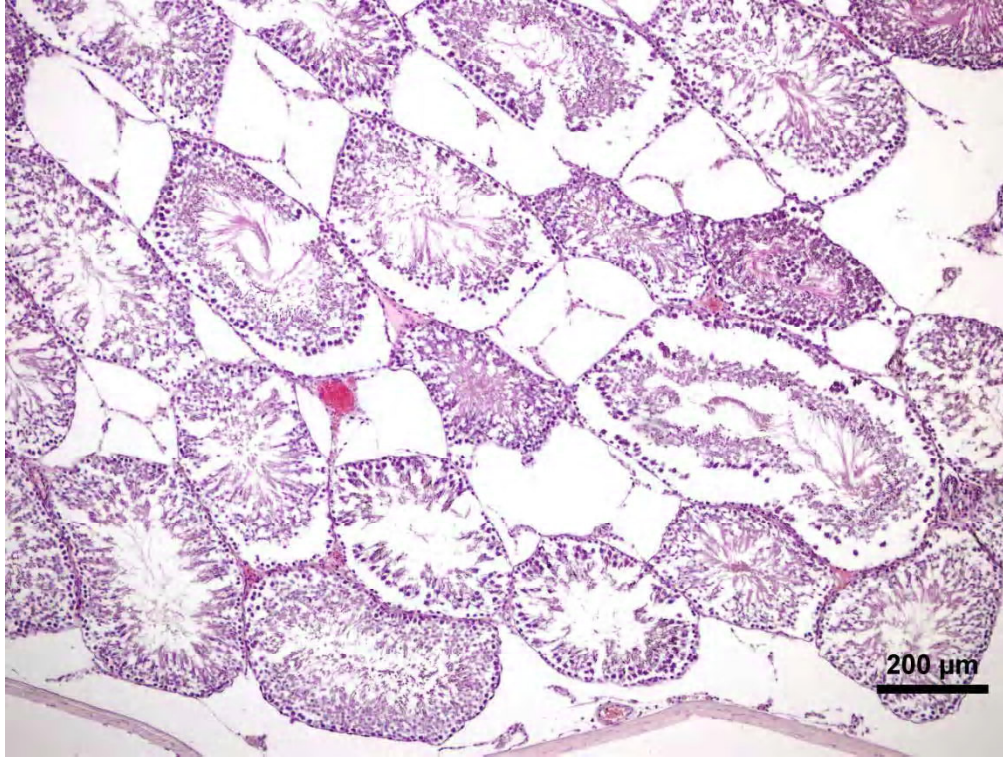
	Grup 1	Grup 2	Grup 3	Grup 4
Serum testosteron (ng/ml)	0.49 \pm 0.06	0.48 \pm 0.03	0.57 \pm 0.04	0.48 \pm 0.05



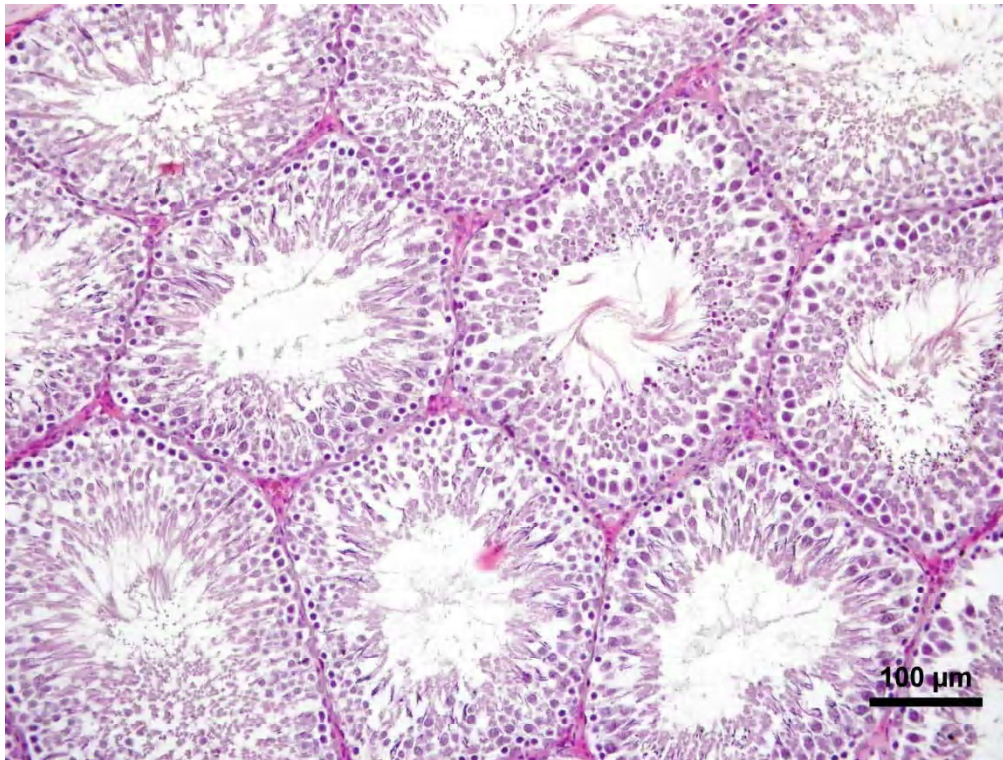
Şekil 4.1: Grup 1 sıçanlara ait testis dokusu normal histoloji sergilemekte (H&E).



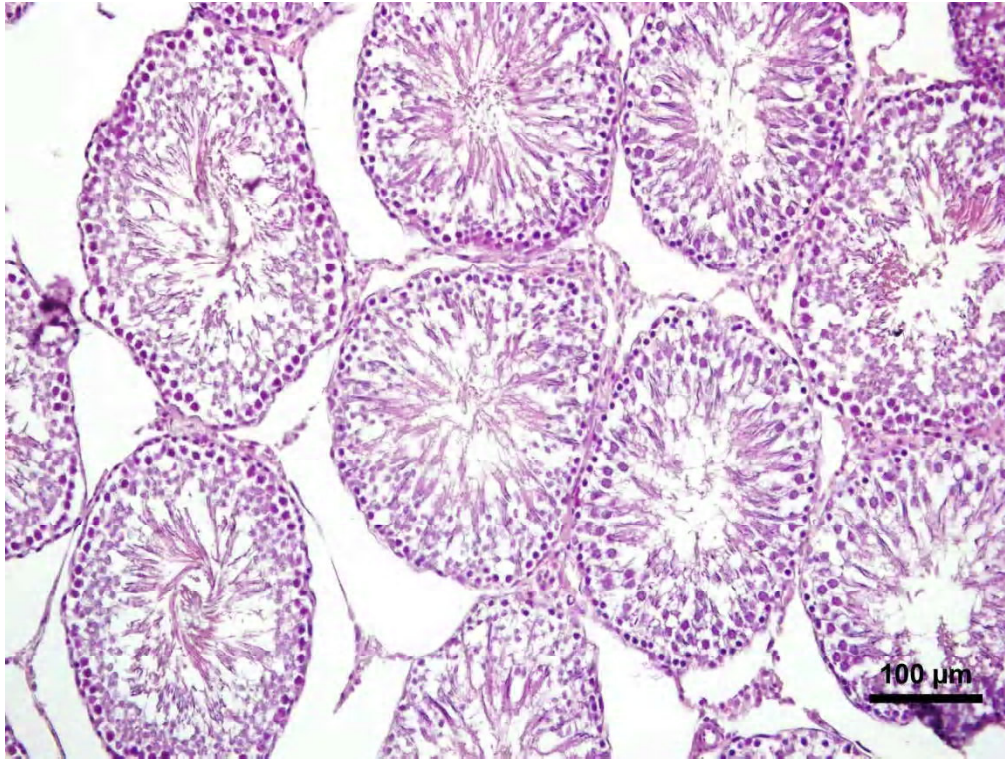
Şekil 4.2: Grup 2 sıçanlara ait testis dokusunda germinal epitele ait hücre serilerinde düzensizlik ve dağılma ayırt edilmekte (H&E).



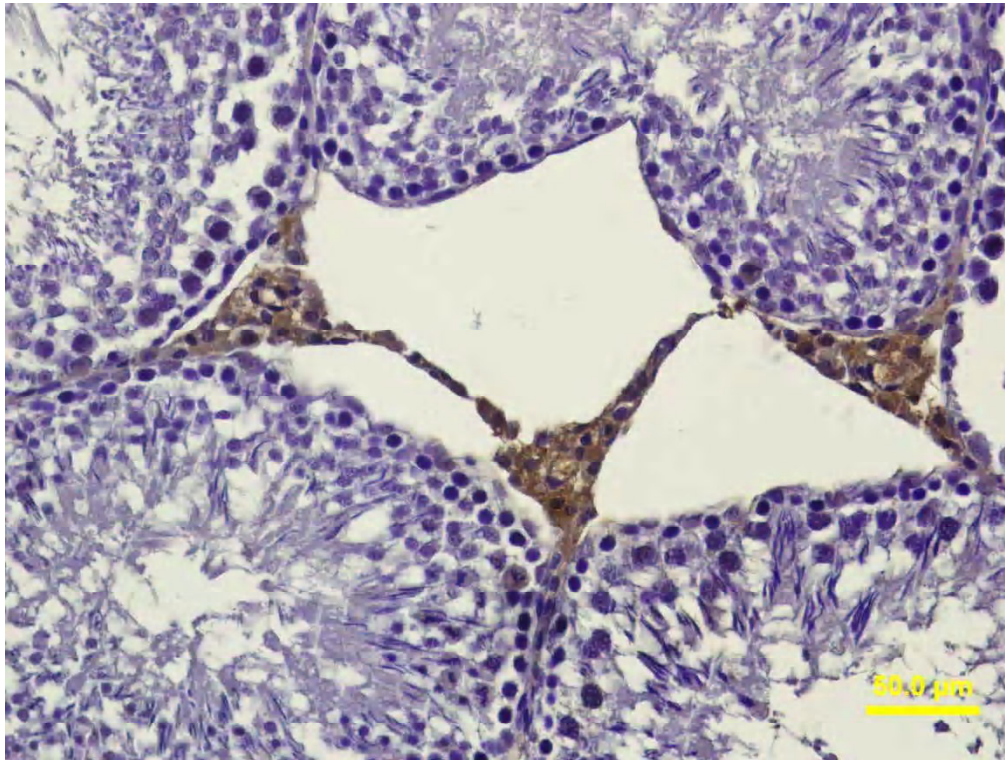
Şekil 4.3: Grup 2 sıçanlara ait testis dokusunda germinal epitele ait hücre serilerinde düzensizlik ve dağılma gözlenmekte (H&E).



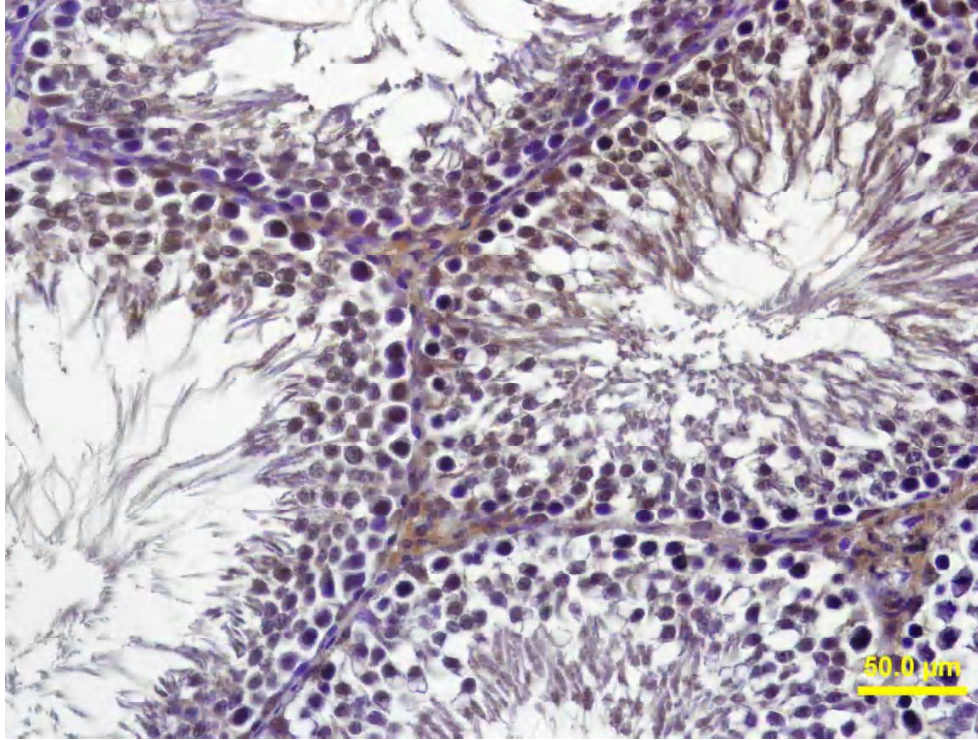
Şekil 4.4: Grup 3'e ait testis dokusu. Normal testiküler histomorfoloji ayırt edilmekte. (H&E).



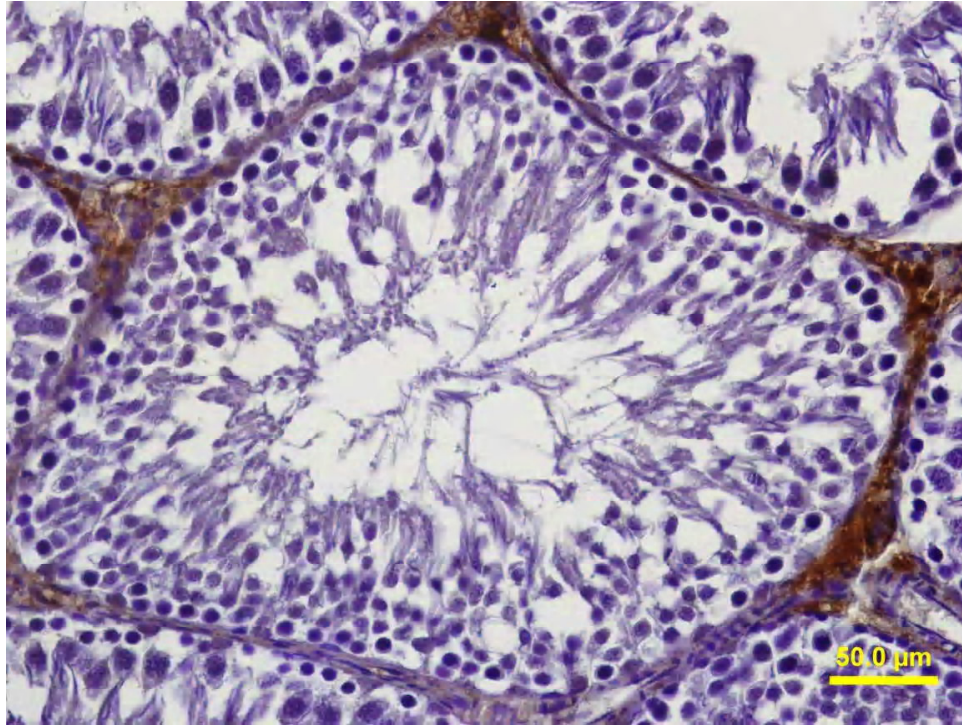
Şekil 4.5: Grup 4 sıçanlara ait testis dokusu normal histoloji sergilemekte (H&E).



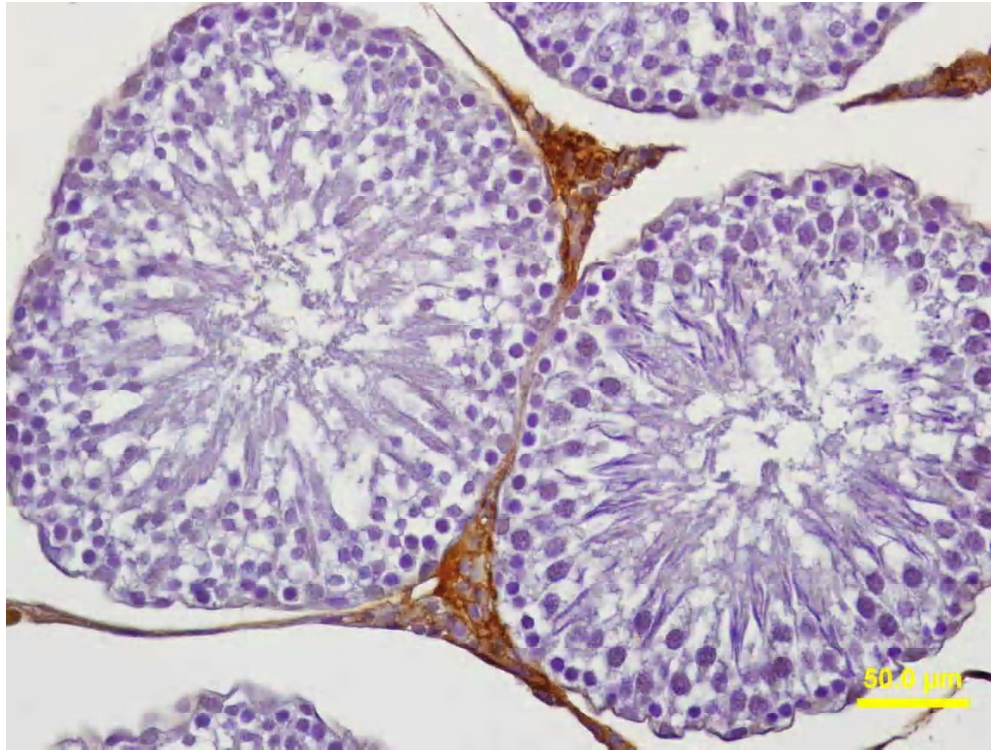
Şekil 4.6: Grup 1 deneklerin testis dokusunda, intertisyel alanda orta yoğunlukta (++) HIF-1 α ekspresyonu gözlenmekte. Seminifer tübül epitel hücrelerinde ise bazı alanlarda çok zayıf boyanma (-/+) tespit edildi.



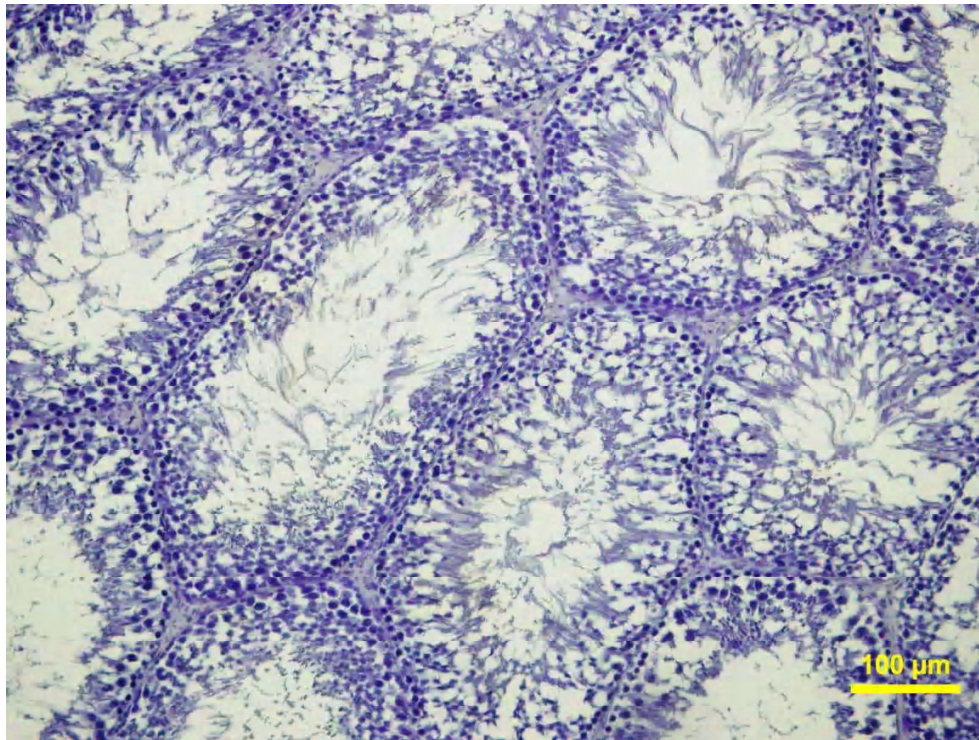
Şekil 4.7: Grup 2 testis dokusunda ise HIF-1 α ekspresyonu intertisyel alanda (+) olarak ayırt edilmekte. Ancak bu grupta özellikle hasarlanmış tübüllerin epitel hücrelerinde (++) boyanma gözlenmekte.



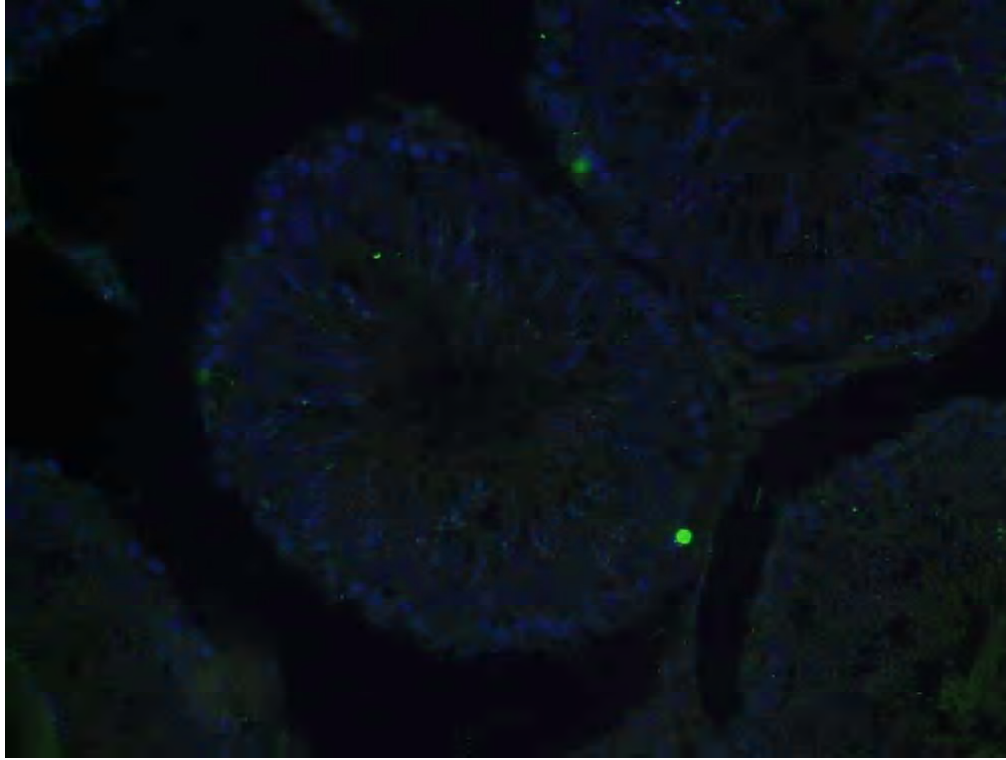
Şekil 4.8: Grup 3 deneklerin testis dokusunda, kontrol grubuna benzer şekilde intertisyel alanda (++) seminer tübüllerde ise (-/+) HIF-1 α ekspresyonu gözlenmekte.



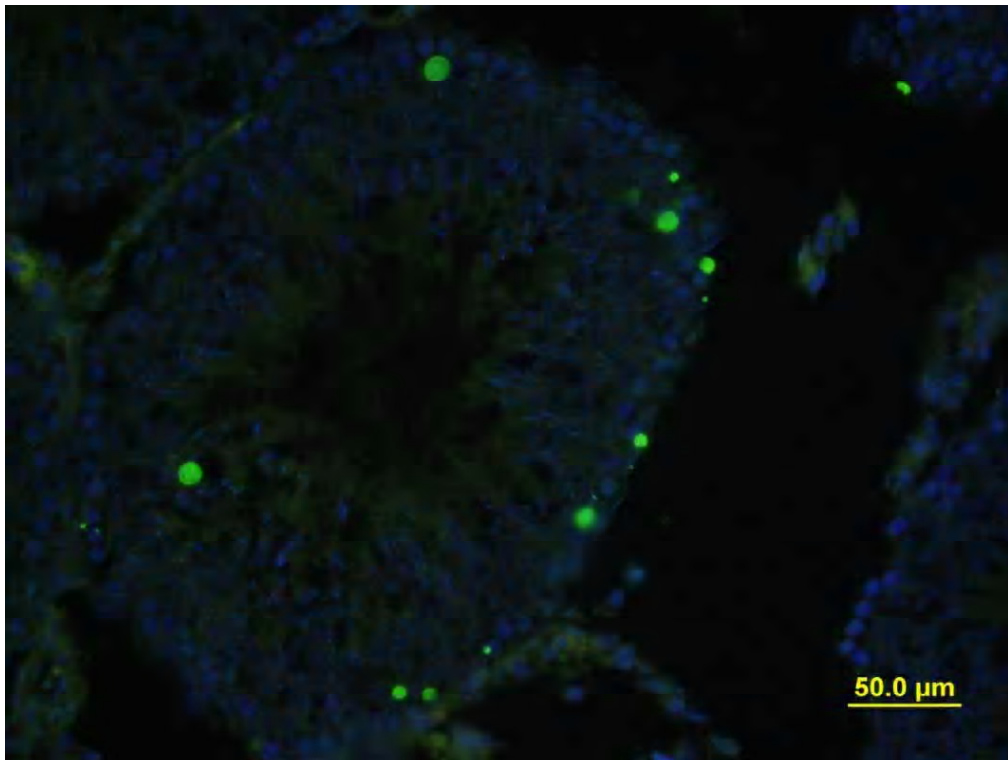
Şekil 4.9: Grup 4 deneklerin testis dokusunda, intertisyel alanda kuvvetli (++) HIF-1 α ekspresyonu gözlemlendi. Seminifer tübül epitel hücrelerinde ise bazı alanlarda çok zayıf boyanma (-/+) tespit edildi.



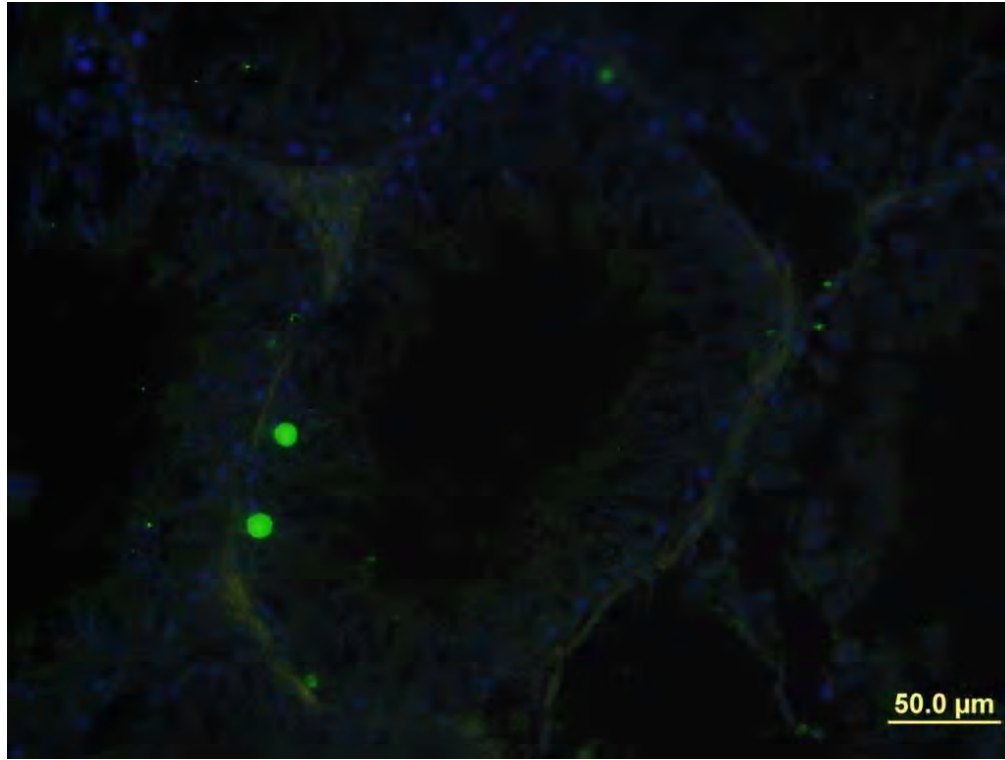
Şekil 4.10: Negatif kontrol kesitlerinde herhangi bir boyanma gözlenmemekte.



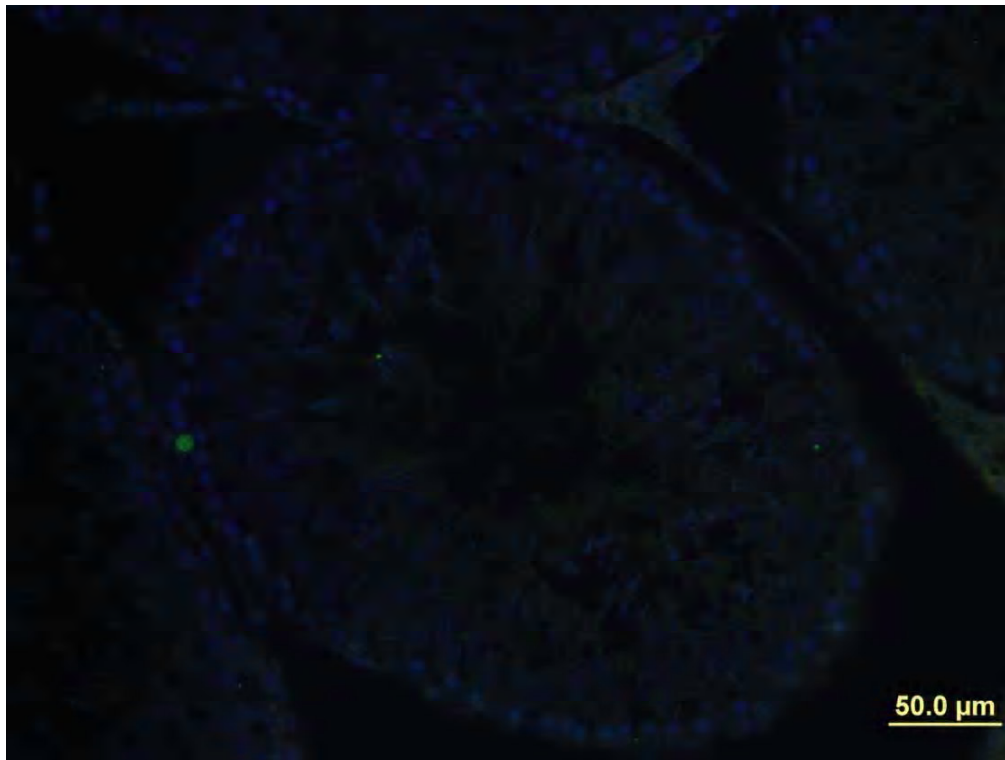
Şekil 4.11: Grup 1'e ait testis kesitinde TUNEL boyama. Tunel pozitif hücreler seminifer tübül epiteli içinde ayırt edilmekte.



Şekil 4.12: Grup 2'ye ait testis kesitinde TUNEL boyama. Tunel pozitif hücreler seminifer tübül epiteli içinde ayırt edilmekte.



Şekil 4.13: Grup 3'e ait testis kesitinde TUNEL boyama. Tunel pozitif hücreler seminifer tübül epiteli içinde ayırt edilmekte.



Şekil 4.14: Grup 4 ait testis kesitinde TUNEL boyama. Tunel pozitif hücreler seminifer tübül epiteli içinde ayırt edilmekte.

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Kanser tedavisindeki ilerleme ve gelişmeler sonucunda hastaların yaşam süreleri uzamıştır. Bununla birlikte tedavide kullanılan kemoterapik maddelerin toksik etkileri de artmıştır. Kanser tedavisinde en çok kullanılan kemoterapik ajanlardan birisi de CP'dir. CP birçok solid tümör tedavisinde kullanılan etkili bir neoplastik ve DNA alkalleyci bir ajandır. Testiküler toksisite, nörotoksisite, ototoksisite, kemik iliği süpresyonu ve nefrotoksisite gibi birçok toksik etkisi vardır. Doz sınırlamasına neden olan en önemli yan etkisi ise nefrotoksisitedir (32,73).

CP etkisini, DNA'nın sarmal yapısını bozarak hücre çoğalmasını önleyerek DNA üzerinde gösterir (42). Alkalleyci bir ajan olan CP, DNA'da iç ve dış zincirlere çapraz bağlanarak Türkçe karşılığı tam olmayan ancak normal yapısı bozularak bükülmüş DNA zinciri anlamına gelen 'adduct'formları oluşturur. Muhtemelen bu mekanizma boyunca spermler etkilenir ve testis yapısı zarar görür. CP, spermin kromatin bütünlüğünü de bozmaktadır (43). CP'nin insan ve hayvanlarda kısa ve uzun süreli kullanımlarında testis fonksiyonunu nasıl etkilediğine dair birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan çalışmalar sonucunda CP'nin DNA hasarı, apoptozis ve oksidatif sistemi bozarak üreme sistemi üzerinde toksik etkileri olduğu belirlenmiştir. CP'nin spermotoksik etkisinden dolayı, spermatositogenez ve testis endokrin fonksiyonlarındaki hasar, doz miktarına bağlı olarak kalıcı ve geçici azospermi gösterebilir (74,75). Yapılan çalışmalarda CP uygulanan sıçanlarda, seminifer tübül çaplarının, sperm üretiminin ve testosteron sentezinin azaldığı, seminifer tübüllerde ise apoptotik hücrelerin arttığı bildirilmiştir (76). CP'nin uzun dönem kullanımı sonucunda testiküler atrofi ve buna bağlı olarak infertilitenin gelişebileceği belirtilmiştir (45,76). İlbey ve ark. (77) yaptıkları çalışmada 7 mg/kg/gün CP verilen sıçan testislerinde ; testis ağırlığı, testosteron seviyesi, glutatyon peroksidaz ve glutatyon seviyeleri azalırken, MDA ve nitrit oksit (NO) seviyelerinin önemli ölçüde arttığını göstermişlerdir.

Histopatolojik görüntülerde ise CP uygulanan grubun seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığının azaldığını belirlemişlerdir. Amin ve ark. (32). CP'nin oluşturduğu toksisiteye ile ilgili çalışmalarında, 10 mg/kg CP uygulanan grupta seminifer tübüllerin germ hücrelerinde dejenerasyon ile ciddi testiküler atrofi gözlemlenmiştir. Tübüllerdeki germ hücreleri iyice azalmış ve tübüllerin çapı daralmıştır. Lümende ise sertoli hücreleri ile çok az miktarda germ hücresi gözlemlenmiştir. Vücut ağırlıkları ile ilişkili olan testis ve epididimis ağırlıkları CP uygulandıktan sonra önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur. Epididimiste CP uygulaması sonrası anormal sperm sayısının önemli ölçüde arttığı bulunmuştur. Amin ve ark. (78) yaptıkları başka bir çalışmada yine 10 mg/kg CP uygulanan grupta seminifer tübüllerde çok fazla hasar, spermatogoniyalarda vakuolasyon, sperm ve spermatid kaybı ve tübül hücrelerinde disorganizasyon ve intersistiyel dokuda konjesyon tespit edilmiş. Silici ve ark. (79) 7 mg/kg CP uygulanan grup ile kontrol grubunu karşılaştırdıklarında SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz seviyeleri önemli oranda azaldığı ve testislerde MDA konsantrasyonunun arttığını belirlemişlerdir.

Zhang ve ark. (80) sıçanlara intraperitoneal olarak 1, 5 ve 10 mg/kg CP uygulaması yapmışlar. Daha sonra uygulama yapılan bütün grupları 1. 3. ve 7. günün sonunda dekapite etmişler. Deney sonunda CP uygulanan grupların testislerinde spermatozoon ve spermatidlerin sayılarının azaldığını, ancak CP uygulanan herhangi bir gruptaki seminifer tübüllerdeki spermatosit ve spermatogonyum sayılarında önemli bir değişiklik olmadığını gözlemişler. CP uygulanan gruptaki spermatogenik hücrelerde apoptoz belirlemişler. Doz ve zamana bağlı olarak uyarılmış apoptotik hücre sayısını izlemişler ve sadece 10 mg/kg CP uygulanan grupta 7. gündeki gruptaki germ hücrelerinde arttığını gözlemişler. Sonuç olarak CP uygulamasıyla oluşan hasardaki apoptotik hücre oranının zaman ve doza bağlı olduğunu belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda da CP'nin testise vermiş olduğu hasar belirgin olarak gözlemlendi. CP'li grupta spermatogenik hücrelerin ve sertoli hücrelerinin bazal membrandan ayrıldığı, germ hücreleri arasında düzenin bozulduğu ayırt edildi. Grup 2 sıçanların JTBS değerlerinin grup 1 ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı, CP uygulanan grup 2'deki apoptotik hücre sayısının ise grup 1'e göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterdiği belirlendi. Ancak seminifer tübül çapları, serum testosteron ve doku MDA düzeylerinde anlamlı bir değişiklik görülmedi. Çalışmamızda elde edilen bulgular daha önceki çalışmaların bulgularıyla benzerlik göstermektedir. Ancak, yapılan bu çalışmada

testis patolojisinin değerlendirilmesinde kullanılan bazı parametrelerin değişmemesinin, deneyde uygulanan CP dozuna ve deney süresine bağlı olduğunu düşünmekteyiz. Oksidatif stres sonucu ortaya çıkan serbest radikaller birçok hastalığın oluşmasına neden olmaktadır. Üretilen bu serbest radikalleri ise antioksidanlar önlemektedir. Antioksidanlar canlı hücrelerde okside olabilecek protein, DNA, karbonhidrat ve lipid gibi maddelerin oksidasyonunu geciktirmekte veya önlemektedir. Vücutta oksidan antioksidan dengesi vardır. Vücuttaki antioksidan sistem, oluşan serbest radikalleri engellemeye çalışmaktadır. Ancak vücuttaki antioksidan sistemi yeterli olmadığı zaman bu dengeyi sağlamak için dışarıdan antioksidan maddeler alınarak bu denge sağlanmaya çalışılır (Ör: CAPE, Melatonin, Vitamin E,C). Erkek infertilitesinde de antioksidanlar önemli olup sperm kalitesini geliştirmekte ve lipid peroksidasyonunu azaltarak fertilizasyon oranını arttırmaktadır (81).

Son yıllarda yapılan çalışmalarda CP'nin testiste meydana getirdiği hasarının patogenezinde oksidatif sistemin önemli rol oynadığı belirtilmiştir (1). Bu nedenle araştırmacılar CP'nin testis dokusunda oluşturduğu hasarı engellemek için antioksidan tedavi üzerine çalışmalar yapmışlardır. Amin ve ark. (82) yapmış oldukları bir çalışmada sıçanlarda üreme üzerine CP toksisitesine Ginger (Zencefil) ve Roselle (Afrika bamyası) etkisini araştırmışlardır. CP uygulandıktan sonra testis ve epididimis ağırlıklarının, epididimiste sperm sayısı ve hareketliliğinin, SOD, CAT aktivitesi ve GSH miktarının önemli derecede azaldığı, anormal sperm sayısının ve testis MDA düzeyinin önemli miktarda arttığını rapor etmişlerdir. CP tedavisinden önce ve sonra uygulanan roselle ve ginger ile tedavi edilen sıçanların bütün parametrelerinin iyileştiğini gözlemlemişler. İlbey ve ark. (77). CP ile oluşturulan hasara karşı Curcumin (Zerdaçal) uygulanan sıçanların testis dokularındaki sperm morfolojisinin büyük ölçüde korunduğunu rapor etmişlerdir. Türk ve ark. (83). CP uygulanan sıçanlara Likopenin (LC) ve Elaik asit'in (EA) etkisini araştırmışlardır. CP uygulanan grubunun JTBS ve MDA seviyelerinin önemli derecede arttığını belirlemişler. LC ve EA, uygulanan grup CP grubu ile karşılaştırıldığında JTBS skoru ve MDA seviyelerinin önemli derecede azaldığını tespit etmişler. Silici ve ark. (84). CP'in sebep olduğu testis hasarına karşı Royal Jelly (Arı sütü)'nin etkisini araştırdıkları çalışmalarında, Royal Jelly'nin CP hasarı ile azalan testis ve epididimis ağırlığı ile epidimal sperm konsantrasyonu ve hareketliliğini iyileştirdiğini gözlemlemişler. Ayrıca, CP uygulanan sıçanlara Royal

Jelly uygulandığında doku MDA, SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktivitelerini iyileştirdiğini tespit etmişler.

Yukarıdaki çalışmalarda görüldüğü üzere CP'nin oluşturduğu testis hasarına karşı verilen antioksidan özellikli maddelerin iyileşme sağladığı rapor edilmiştir. Yapılan literatür araştırmasında güçlü antioksidan özellikleri bulunan propolisin CP'nin oluşturduğu hasarda koruyucu özelliklerini araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışmada koruyucu amaçlı olarak propolis verilmiştir. Propolis çam, meşe, huş, okaliptus, kavak, kestane gibi ağaçlar ve bazı otsu bitkilerin tomurcuk, yaprak ve benzeri kısımlarından bal arıları tarafından toplanan ve mumla karıştırılarak kovan içerisinde birçok amaca yönelik olarak kullanılan zamk gibi yapışkan, reçinems kokulu ve rengi koyu sarıdan kahverengiye kadar değişen bir maddedir (84). Arılar propolisi kovan içinde delik ve çatlakların kapatılmasında, peteklerin tamir edilmesinde ve birbirlerine yapıştırılmasında, kovan girişini daraltmak amacıyla ve savunmayı kolaylaştırmak gibi birçok amaca yönelik olarak kullanılmaktadırlar. Propolis dezenfektan özellikte bir madde olup petek gözlerinin dezenfeksiyonunu sağlar. Propolisin yapısında bulunan flavanoidler, hidroksiflavonlar, terpenler ve kafeik asit fenil ester (CAPE) gibi bileşikler oldukça kuvvetli antioksidanlardır (85,86). Özcan ve ark. (87). Busulfan uygulanmış gebe sıçanların erkek yavrularının testisinde oluşturduğu hasara karşı propolisin etkinliğini araştırmışlardır. Busulfan uygulanmış gebe sıçanlardan doğan yavruların testislerinde kontrol grubundan doğan sıçanların yavruların testislerine göre ciddi spermatogenik hasar olduğunu, propolis uygulanan gruptaki yavruların testislerinde bu hasarı azaldığı gözlemlenmiştir. Sonuç olarakta busulfanın oluşturduğu hasarın propolis tarafından azaltıldığını bildirmişlerdir. Yousef ve ark. (88) Yapmış oldukları çalışmalarda, trifeniltin klorür vererek erkek tavşanlarda oluşturdukları hasara karşı propolisin etkilerini araştırmışlardır. Hasar sonucu azalan plazma testoteron seviyesi, vücut, testis ve epididimis ağırlıklarında propolis verilen grupta göreceli bir artış olduğunu rapor etmişlerdir. Sherine ve ark. (89) Sıçanlarda Doxorubicinin (Dox) neden olduğu testis hasarına karşı propolisin etkisini incelemişler. Dox sperm sayısını testis fonksiyon belirteçlerini, sterogenezi azaltırken, testiküler oksidatif stresi, inflamasyonu ve apoptozu arttırmıştır. Dox'in antitumor aktivitesini engellemeden meydana gelen bu değişiklikler propolis tarafından azaltmıştır. Mahran ve ark. (90). Yapmış oldukları çalışmada alimunyum klorid (AIC₃) toksisitesinde testis

dokusunda propolisin koruyucu etkinliğini araştırmışlardır. AIC₃ uygulaması sonucu testis dokusunda germinal epitelde bozulma ve kalınlaşma, seminifer tübüllerde bozulma, Leydig hücreleri ve damarlarda konjesyon belirlenmiş. Koruyucu amaçlı verilen propolisin bu hasarları azalttığını belirlemişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada koruyucu amaçlı propolis verilen grup 3 sıçanların testis histolojisinin çoğunlukla normal görünümde olduğu ve JTBS ve apoptotik indeks değerlerinin grup 2'ye göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde korunduğu belirlendi. Sadece propolis verilen grup 4 sıçanların JTBS değerleri ve apoptotik indeksi grup 1'e benzerdi. HIF-1 α , memeli hücrelerinde hipoksik koşulların oluşmasında yer alan ana düzenleyici olarak tanımlanmakla beraber, iskemi, hipoksi, anti-ve proapoptotik yanıtın oluşması gibi metabolik süreçlerde bulunan 100 den fazla hipoksiye-duyarlı genin aktive edilmesi için gerekli iyi karakterize edilmiş bir transkripsiyon faktörüdür (60, 61). HIF homoestazinin temel düzenleyicisi olan bir transkripsiyon faktörüdür ve anjiyogenezde önemli rol oynar (62, 63). Pek çok araştırmacı, embriyogenez, tümör vaskularizasyonu ve gelişimi, iskemik süreler boyunca HIF-1 in moleküler biyolojisini çalışmaktadır (70). HIF-1, pek çok dokuda hipoksi ve oksijen dengesinin düzenleyicisidir. HIF-1 α normal fare testisindeki Leydig hücreleri tarafından sentezlenmesi, HIF-1 α 'nın işlevsel olarak normal dokularda aktif olduğunu ortaya çıkarmıştır (71, 72).

Bizim yaptığımız çalışmada ise, grup 1 ve sadece grup 4 uygulanan deneklerin testis dokusunda, intertisyel alanda orta yoğunlukta (++) HIF -1 α ekspresyonu gözlemlendi. Seminifer tübül epitel hücrelerinde ise bazı alanlarda çok zayıf boyanma (-/+) tespit edildi. CP verilen grup 2'nin testis dokusunda ise HIF -1 α ekspresyonu intertisyel alanda azalarak (+) olarak ayırt edildi. Ancak bu grupta özellikle hasarlanmış tübüllerin epitel hücrelerinde (++) boyanma belirlendi. CP ile birlikte koruyucu amaçlı propolis uygulanan grup 4'te ise grup 1'e benzer şekilde intertisyel alanda (++) seminifer tübüllerde ise (-/+) HIF -1 α ekspresyonu gözlemlendi. Bu sonuçlar CP'nin testis dokusunda oluşturduğu hasarda HIF-1 α 'nin da etkin olarak rolünü ortaya koymaktadır. Ayrıca koruyucu amaçlı verilen propolis, değişen tüm parametrelerde olduğu gibi HIF-1 α ekspresyonu üzerinde de yararlı etki göstermektedir.

Sonuç olarak CP birçok organı etkilediği gibi özellikle de testisler üzerinde histopatolojik değişiklikler oluşturmaktadır. Arıların kovana korumak için yaptığı propolisin CP ile testis dokusunda oluşan hasarı değişen parametreler düzeyinde

koruduğu gözlendi. Propolisin tüm bu faydalı özellikleri göz önüne alındığında, CP tedavisini almak durumunda kalan kişilere besin takviyesi olarak propolis önerilebilir.

6. KAYNAKLAR

1. Saral S, Özcelik E, Cetin A, et al. Protective role of Diospyros lotus on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Andrologia* 2015; 20: 1-10.
2. Miller RP, Tadagavadi RK, Ramesh G, et al. Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity. *Toxins (Basel)* 2010; 2: 2490–2518.
3. Yılmaz HR, Söğüt S, Özyurt H, ve ark. Sıçanlarda Sisplatinle Oluşturulan Nefrotoksisitede Metabolik Enzim Aktivitelerine Kafeik Asit Fenetil Ester'in Etkisi. *Van Tıp Dergisi* 2004; 11: 1-6.
4. Cherry SM, Hunt PA, Hassold TJ. Cisplatin disrupts mammalian spermatogenesis, but does not affect recombination or chromosome segregation. *Mutat Res* 2004; 564: 115–128.
5. Boekelheide K. Damage to fertility by cancer and its treatments. Mechanisms of toxic damage to spermatogenesis. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2005; 34: 6–8.
6. Hamza AA, Elwy HM, Badawi AM. Fenugreek seed extract attenuates cisplatin-induced testicular damage in Wistar rats. *Andrologia* 2016; 48(2): 211-221.
7. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis. *Food and Chemical Toxicology* 1998; 36: 347-363.
8. Bankova V, Castro SL, Marcucci MC. Propolis: Recent Advances in Chemistry and Plant Origin. *Apidologie* 2000; 31: 3-15.
9. WEB_1.(2015).http://www.sayallar.com/poloen_web/propolis.htm(01.02.2016).
10. Monti M, Berti E, Arminati CG, et al. Occupational and cosmetic dermatitis from propolis. *Contact Dermatitis* 1983; 9(2): 163.

11. Helfenberg KD. The analysis of beeswax and propolis. *Chemiker Zeitung* 1908; 31: 987–998.
12. Wagh VD. Propolis: a wonder bees product and its pharmacological potentials. *Adv Pharmacol Sci* 2013; 2013: 1-11.
13. Sadler TW, Basaklar AC. *Langman's Medikal Embriyoloji* (9.baskı), Ankara, Palme Yayıncılık, 2005: p 313-354.
14. Moore KL, Persaud TVN. *Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi* (8. Baskı), Yıldırım M, Dalçık H (Çeviri Editörü), İstanbul, Nobel Tıp Kitap Evleri, 2009: p 262-265.
15. Ovalle KW, Nahrney PC, Netter Temel Histoloji. Müftüoğlu S, Kaymaz F, Atilla P. (Çeviri Editörü). 4. baskı, Ankara, Güneş Tıp Kitapevleri, 2009: p 377-398.
16. Sarsılmaz M. *İnsan anatomisi*. 1 basım Akademi Basın ve Yayıncılık, 2014: p 589-591.
17. Sancak B, Cumhuriyet M. *Fonksiyonel Anatomi* (5. Baskı). Odtü Yayıncılık, 2010: p 286-287.
18. Aktümsek A. *Anatomi ve fizyoloji insan biyolojisi* (3. Baskı), Ankara, Nobel Yayın Dağıtım, 2006: p 90.
19. Bayatlı F. *Torsiyon Detorsiyon Sonuçunda Sıçan Testisinde Oluşan Hasar Üzerine Üzüm Çekirderiği Ekstresinin Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2012:64
20. Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. *Histology: a Text and Atlas* (4th ed), Lippincott Williams-Wilkins, Philadelphia, 2003: p 689-696.
21. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*. Pennsylvania, W.B. Saunders Company, 1997: p 406-412.
22. Eşrefoğlu M. *Özel Histoloji*. Medipres Matbaacılık, Malatya 2009; p: 251-267.
23. Junqueira LC, Carneiro J. *Temel Histoloji* (10. Baskı), Solakoğlu S, Aytakin Y. (Çeviri editörü), İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 2009: p 135.
24. Kierszenbaum AL. *Histoloji ve hücre biyolojisi*, Demir R. (Çeviri editörü), Ankara Palme yayıncılık, 2006: p 459-467.
25. Gartner LP, Hiatt JL. *Color text book of Histology* (3.edition), Philadelphia, 1997: p 491-500.

26. Sabuncuoğlu S, Özgüneş H. Sisplatin toksisitesi: Oksidatif stresin önemi ve antioksidanların etkisi. *İst Tıp Fak Derg* 2010; 73: 18-25.
27. Florea AM, Büsselberg D. Cisplatin as an anti-tumor drug: cellular mechanisms of activity, drug resistance and induced side effects. *Cancers (Basel)*. 2011; 15: 1351-1371.
28. Cepeda V, Fuertes MA, Castilla J, et al. Biochemical mechanisms of cisplatin cytotoxicity. *Anticancer Agents Med Chem* 2007; 7(1): 3-18.
29. Tuncer S, Dalkilic N, Akif Dunbar M, et all. Comparative effects of alpha lipoic acid and melatonin on cisplatin-induced neurotoxicity. *International Journal of Neuroscience*, 2010);120(10):655-663.
30. Savranlar Y, Sisplatin ile Oluşturulan Nefrotoksisite Üzerine Amifostinin Etkisinin Histokimyasal Olarak Değerlendirilmesi, Uzmanlık Tezi, Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kayseri 2011:79
31. Gültekin B. Sisplatin Toksisitesinin Sıçan Testisinde Yarattığı Histolojik Değişimlere Çinkonun Etkisinin Araştırılması (Deneysel Çalışma), Doktora Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Konya 2013:114
32. Amin A, Mahmoud-Ghoneim D, Syam MI, et al. Neural network assessment of herbal protection against chemotherapeutic-induced reproductive toxicity. *Theor Biol Med Model* 2012; 9(1): 1-14.
33. Tarladacışır YT, Kanter M, Uygun M. Protective effects of vitamin C on cisplatin-induced renal damage: a light and electron microscopic study. *Renal failure*, 2008; 30: 1-8.
34. Çetintaş VB, Eroğlu Z. Cisplatin direncinde etkili moleküler mekanizmalar. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 2013; 20(2): 72-79.
35. Topçu Y. Cisplatinin Oluşturduğu Böbrek Korteks Hasarında E ve C Vitamini Etkilerinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeylerde İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne 2003: 75
36. Donmez DB, Bozdoğan S. Effect of Sodium Selenite on Testicular Damage Induced by Cisplatin in Adult Male Rats. *Biol Med* 2014; 6: 209.
37. Pabla, N, Dong Z. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies. *Kidney Int* 2008; 73(9): 994-1007.

38. Yildirim S, Kisa F, Karadeniz A, ve ark. Effects of pomegranate seed extract on liver paraoxonase and bcl-xL activities in rats treated with cisplatin. *J Med Plants Res* 2012; 6: 2317-2323.
39. Uğur S. Sisplatin Nefrotoksisitesi Oluşturulan Ratlarda Sirtuin Ekspresyonu Üzerine Kurkuminin Etkilerinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Fırat Üniversitesi, Tıp Fakültesi İç Hastalıklar Anabilim Dalı, Elazığ 2013: 86
40. Nematbakhsh M, Ashrafi F, Pezeshki Z, et al. A histopathological study of nephrotoxicity, hepatotoxicity or testicular toxicity: Which one is the first observation as side effect of Cisplatin-induced toxicity in animal model? *J Nephropathol* 2012; 1(3): 190-193.
41. Giran S. Cisplatin Ototoksisitesinde Askorbik Asidin Koruyucu Etkisinin Kobaylarda Elektrofizyolojik Testler ve Ultrastrüktürel Çalışma ile Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne 2009: 85
42. Miessler GL, Tarr DA, İnorganik Kimya (3. Baskıdan çeviri) Karacan N, Gürkan P, (çevirir editörleri), Ankara, Palme yayıncılık, 2009: p 618-621.
43. Narayana K, Al-Bader M, Mousa A, Khan KM. Molecular effects of chemotherapeutic drugs and their modulation by antioxidants in the testis. *Eur J Pharmacol* 2012; 674: 207-216.
44. Adler ID, El Tarras A. Clastogenic effects of cis-diamminedichloroplatinum II. Induction of chromosomal aberrations in primary spermatocytes and spermatogonial stem cells of mice. *Mutat Res* 1990; 243(3): 173-178.
45. Favareto APA, Fernandez CDB, Da Silva DAF, et al. Persistent impairment of testicular histology and sperm motility in adult rats treated with cisplatin at peri-puberty. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2011; 109(2): 85-96.
46. Marcon L, Zhang X, Hales BF, et al. Effects of chemotherapeutic agents for testicular cancer on rat spermatogonial stem/progenitor cells. *J Androl* 2011; 32(4): 432-443.
47. Ahmed EA, Omar HM, Ragb SM, et al. The antioxidant activity of vitamin C, DPPD and L-cysteine against cisplatin-induced testicular oxidative damage in rats. *Food Chem Toxicol* 2011; 49(5): 1115-1121.

48. Ateşşahin A, Karahan I, Türk G, et al. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reprod Toxicol* 2006; 21(1): 42-47.
49. Kutluca S, Genç F, Korkmaz A. Propolis Samsun Tarım İl Müdürlüğü Çiftçi Eğitimi ve Yayım Şubesi, Samsun, 2006; 57.
50. Dobrowolski JW, Vohoraq SB, Sharma K. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 1991; 35(1): 77-82.
51. Bankova V, Castro SL, Marcucci MC. Propolis: Recent Advances in Chemistry and Plant Origin. *Apidologie* 2000; 31: 3-15.
52. Sforcin JM, Propolis and the immune system: a review. *J Ethnopharmacol* 2007; 113:1-14
53. Burdock GA. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol* 1998; 36(4): 347-363.
54. Kurek-Górecka A, Rzepecka-Stojko A, Górecki M, et al. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules* 2013; 19: 78-101.
55. Sawicka D, Car H, Borawska MH, et al. The anticancer activity of propolis. *Folia Histochem Cytobiol* 2012; 24: 25-37.
56. Karacaoğlu M. Propolisin Yapısı ve Kullanımı. *Teknik Arıcılık* 1997; 57: 18-25.
57. Paşaoğlu OM. L-name Uygulanan Sıçan Dokularında Bazı Biyokimyasal Parametreler Üzerine Propolisin Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Niğde Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Niğde 2011: 73
58. Marcucci MC. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 1995; 26: 83-99.
59. Bozkurt AF, Kurtoğlu F. Evaluation of the effects of propolis administration on lipid peroxidation (MDA) and some biochemical parameters of mice. *Mellifera*, 2010; 10(20): 2-13.
60. Weidemann A, Johnson RS. Biology of HIF-1 α . *Cell Death Differ* 2008; 15(4): 621-627.
61. Palladino MA, Shah A, Tyson R, et al. Karpodinis M. Myeloid cell leukemia-1 (Mcl-1) is a candidate target gene of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) in the testis. *Reprod Biol Endocrinol* 2012; 10: 104.

62. Pugh CW, Ratcliffe PJ. Regulation of angiogenesis by hypoxia: role of the HIF system. *Nat Med* 2003; 9: 677-684.
63. Yuan Q, Bleiziffer O, Boos AM, et al. PHDs inhibitor DMOG promotes the vascularization process in the AV loop by HIF-1 α up-regulation and the preliminary discussion on its kinetics in rat. *BMC Biotechnol* 2014; 14: 1.
64. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, et al. Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Natl Acad Sci USA* 1995; 92(12): 5510-5514.
65. Powell JD, Elshtein R, Forest DJ, Palladino MA. Stimulation of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) protein in the adult rat testis following ischemic injury occurs without an increase in HIF-1 α messenger RNA expression. *Biol Reprod* 2002; 67(3): 995-1002.
66. Jaakkola P, Mole DR, Tian YM, et al. Targeting of HIF- α to the von Hippel-Lindau ubiquitylation complex by O₂-regulated prolyl hydroxylation. *Science* 2001; 292(5516): 468-472.
67. Ivan M, Kondo K, Yang H, et al. HIF α targeted for VHL-mediated destruction by proline hydroxylation: implications for O₂ sensing. *Science* 2001; 292(5516): 464-468.
68. Gu YZ, Hogenesch JB, Bradfield CA. The PAS superfamily: sensors of environmental and developmental signals. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2000; 40: 519-561.
69. Forsythe JA, Jiang BH, Iyer NV, et al. Activation of vascular endothelial growth factor gene transcription by hypoxia-inducible factor 1. *Mol Cell Biol*. 1996; 16(9): 4604-4613.
70. Zhong H, Agani F, Baccala AA, et al. Increased expression of hypoxia inducible factor-1 α in rat and human prostate cancer. *Cancer Res* 1998; 58(23): 5280-5284.
71. Free MJ, Schluntz GA, Jaffe RA. Respiratory gas tensions in tissues and fluids of the male rat reproductive tract. *Biol Reprod* 1976;14(4): 481-488.
72. Aitken RJ, Roman SD. Antioxidant systems and oxidative stress in the testes. *Oxid Med Cell Longev* 2008; 1(1): 15-24.

73. Söğüt S, Yılmaz HR, Songur A, ve ark. Sıçanlarda cisplatin ile oluşturulan nefrotoksisitede bazı metabolik enzim aktiviteleri ve bunlar üzerine E vitamininin etkileri. *İ.Ü.T.F Tıp Araştırmaları Dergisi*, 2004; 2: 23-28.
74. Malarvizhi D, Mathur PP. Protective effects of testosterone propionate on cisplatin-induced Leydig cell dysfunction in adult rats. *Biomedical Letters* 1996; 173-178.
75. Malarvizhi D, Manimaran RR, Aruldas MM, et al. Quantitative maintenance of spermatogenesis in cisplatin-treated rats by exogenous administration of testosterone propionate. *J Endocrinol Reprod* 1998; 1: 67-72.
76. Azu OO, Duru FIO, Osinubi AA, et al. Histomorphometric effects of *Kigelia africana* (Bignoniaceae) fruit extract on the testis following short-term treatment with cisplatin in male Sprague–Dawley rats. *Middle East Fertil Soc J* 2010; 15: 200-208.
77. Ilbey YO, Özbek E, Cekmen M, ve ark. Protective effect of curcumin in cisplatin-induced oxidative injury in rat testis: mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B signaling pathways. *Hum Reprod* 2009; 24(7): 1717-1725.
78. Amin A, Abraham C, Hamza AA, et al. A standardized extract of *Ginkgo biloba* neutralizes cisplatin-mediated reproductive toxicity in rats. *J Biomed Biotechnol* 2012; 1-11.
79. Silici S, Ekmekcioglu O, Eraslan G, ve ark. Antioxidative effect of royal jelly in cisplatin-induced testes damage. *Urology* 2009; 74(3): 545-551.
80. Zhang X, Yamamoto N, Soramoto S, et al. Cisplatin-induced germ cell apoptosis in mouse testes. *Arch Androl* 2001;46: 43-49.
81. Koyutürk M, Bolkent S, Özdil S, ve ark. The protective effect of vitamin C, vitamin E and selenium combination therapy on ethanol-induced duodenal mucosal injury. *Hum Exp Toxicol* 2004; 23(8): 391-398.
82. Amin A, Hamza AA. Effects of Roselle and Ginger on cisplatin-induced reproductive toxicity in rats. *Asian J Androl* 2006; 8(5): 607-12.
83. Türk G, Çeribaşı AO, Şahna E, et al. Lycopene and ellagic acid prevent testicular apoptosis induced by cisplatin. *Phytomedicine* 2011; 18(5): 356-361.
84. Tarım ve Köy işleri Bakanlığı Yayın Dairesi Başkanlığı ANKARA – 2004 Çiftçi Eğitim Serisi Yayınları No: 2004/2.

85. Bankova V, Boudourova-Krasteva G, Popov S, et al. Seasonal variations of the chemical composition of Brazilian propolis. *Apidologie* 1998; 361-367.
86. Schmidt JO. Bee Products: Chemical composition and application. Bee products, properties, applications, and apitherapy, The conference on bee products section 2. in proceedings of an international conference on bee products: properties, applications and apitherapy, s 15-26, 26-30 Mayıs 1996; Tel Aviv-İsrail.
87. Özcan F. Busulfan ve Busulfan+Propolis Uygulanmış Gebe Sıçanlardan Doğan Erkek Sıçanların Testislerinin Mikroskopik Olarak İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir 2013:150
88. Yousef MI, Kamel KI, Hassan MS, et al. Protective role of propolis against reproductive toxicity of triphenyltin in male rabbits. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(7): 1846-1852.
89. Rizk SM, Zaki HF, Mina MA. Propolis attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats. *Food Chem Toxicol* 2014; 67: 176-186.
90. Mahran AA, Al-Rashidy AHAR, El-Mawla AMAA. Role of propolis in improving male rat fertility affected with aluminum chloride cytotoxicity. *Spatula DD* 2011; 1(4): 189-198.

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL KURUL BAŞKANLIĞI
KAYŞERİ-TÜRKİYE

ETİK KURULUN ADI: Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



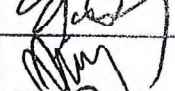
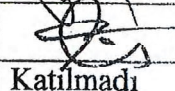
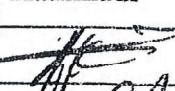
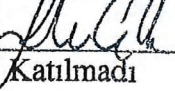
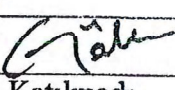
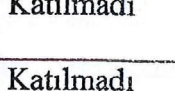
ETİK KURULUN ADRESİ: Deneysel ve Klinik Araştırma Merkezi (DEKAM)

Tarih: 12.02.2014

Toplantı Sayısı: 02

Karar No:14/027

Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 12.02.2014 tarihinde Prof. Dr. Harun ÜLGER'in başkanlığında toplanmıştır.

Üye Adı/Soyadı	Unvanı	Bölümü	İmza
Harun ÜLGER	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Abdullah İNCİ	Prof. Dr.	Veteriner Fak.	
Özlem CANÖZ	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Füsun Ferda ERDOĞAN	Prof. Dr.	Tıp Fak.	
Coşkun TEZ	Prof. Dr.	Fen Fak.	
Betül AYCAN	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	Katılmadı
Ahmet ÖZTÜRK	Doç. Dr.	Tıp Fak.	
Gökçen Yuvalı ÇELİK	Doç. Dr.	Eczacılık Fak.	
Servet KESİM	Yrd. Doç. Dr.	Diş Hekimliği Fak.	Katılmadı
Gökçen DİNÇ	Dr.	DEKAM	
Serap ALTUNDAŞ EROĞLU	Av.	Kurumla İlişkisi Olmayan Üye	Katılmadı
Asiye GÖKBELLEN	Yardım Sevenler Der. Başk.	Sivil Toplum Kuruluşu Temsilcisi	Katılmadı

Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesinden Doç. Dr. Mehmet Fatih SÖNMEZ tarafından sunulan "Sığan Testis Dokusunda Sisplatin ile Oluşturulan Hasarı Üzerine Propolisin Koruyucu Etkinliğinin Araştırılması" adlı araştırma projesi incelenerek çalışmanın yapılmasının uygun olacağına ve Rektörlük makamına sunulmasına oybirliğiyle karar verildi.

Tarih : 12.05.2014

Etik Kurul Başkanı : Prof. Dr. Harun ÜLGER

İmzası



ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Ad ERKAN DELİGÖNÜL
Uyruđu T.C.
Dođum tarihi 07.05.1983
Dođum yeri Kahramanmaraş
e-mail erkan_deligonul@hotmail.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

2012-2016 Doktora, **Erciyes Üniversitesi, Kayseri** Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp Fakóltesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı
2008-2011 Yüksek Lisans, **Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay** Sağlık Bilimleri Enstitüsü Veteriner Fakóltesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı
2003-2007 Lisans, **Mustafa Kemal Üniversitesi, Hatay** Fen-Edebiyat Fakóltesi Biyoloji Bölümü

İŞ DENEYİMİ

2007-2013 Biyolog, Mustafa Kemal Üniveritesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Laboratuvarı
2013-... Mart-halen Fatih Üniversitesi Tıp Fakóltesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

EĞİTİM VE SERTİFİKA BİLGİLERİ

2009-Haziran Araştırmacılar İçin Denev Hayvanları Kullanımı Sertifika Programı Kursu
2010-25 Haziran 1.kök hücre kursu ve 5.kök hücre sempozyumu katılım sertifikası
2013- 27 Nisan: 1. EBMT önemi üzerine eğitim toplantısı
2014-3-6 Şubat: 4. hücre ölümü metodları kursu
2014- 18-20 Ekim: Tıbbi Bilimlerde Araştırma Projesi ve Yürütme Eğitimi
2014- 1 Mart: 3. Uluslara arası öğrenci kongresi

KONGRE ve YAYIN BİLGİLERİ

1. 4. Ulusal Hücre Tedavi ve Rejeneratif Tıp Kongresi" ve "3. Uluslararası Öğrenci Kök Hücre Kongresi, 24 Şubat-04 Mart 2014.
2. Sönmez MF, Kılıç E, Karabulut D, Çilenk K, **Deligönül E**, Dündar M.N
oxide synthase in diabetic rat testicular tissue and the effects of pentoxifylline therapy.Syst Biol Reprod Med. 2016 Feb;62(1):22-30.
3. Nacar A, Selçuk Y, Malik Okuyan H, Sefil NK, **Deligönül E**, Nacar E.. Borik asit uygulamasının sıçan böbrek ve testis dokusunda oluşturduğu hasara karşı Omega-3 yağ asitlerinin koruyucu etkisinin histopatolojik olarak incelenmesi. Dicle Tıp Dergisi. 2014; 41 (2): 385-390.
4. Sönmez MF, Çilenk KT, Karabulut D, Ünalmiş S, **Deligönül E**, Öztürk I, et al, Protective effects of propolis on Methotrexate-induced testis injury in rat. Biomedicine & Pharmacotherapy, 2016; 79: 44-51.