



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GENTAMİSİNLE TESTİS HASARI OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA C VİTAMİNİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

M. ÖZGE ARTIRAN

DANIŞMAN: YRD.DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU DÖNMEZ



**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**GENTAMİSİNLE TESTİS HASARI OLUŞTURULAN
SIÇANLARDA C VİTAMİNİNİN KORUYUCU ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

M. ÖZGE ARTIRAN

DANIŞMAN: YRD.DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU DÖNMEZ

KABUL VE ONAY SAYFASI

M. Özge ARTIRAN'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Gentamisinle Testis Hasarı Oluşturulan Sıçanlarda C Vitamininin Koruyucu Etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih:25.12.2014

Üye : Prof. Dr. Cengiz BAYÇU

Üye : Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK

Üye : Doç. Dr. Hakan ŞENTÜRK

Üye : Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ

Üye : Yrd. Doç. Dr. Hakan AY

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 30.12.2014 tarih ve 1028/4810 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof Dr. Kazım ÖZDAMAR

K. Özdamar
Enstitü Müdürü

ÖZET

Gentamisinle testis hasarı oluşturulan sıçanlarda C vitamininin koruyucu etkisi.

Aminoglikozidler, günümüzde klinik uygulamalarda sık olarak kullanılmaktadır. Gentamisin, gram (-) bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan aminoglikozid türevi bir antibiyotiktir. Aminoglikozid kullanımının kısıtlayıcı en önemli özelliği toksisitesidir. Gentamisin testiste yapısal ve sitotoksik değişiklikler ortaya çıkarmaktadır. Hücre ve dokular, oluşan bu toksik etkilerden C vitamini gibi antioksidanlarla korunabilirler. Çalışmamızda gentamisinin sıçan testisleri üzerindeki toksik etkisi üzerine C vitaminin rolünü araştırmayı amaçladık. Bu çalışmada, 28 adet Sprague-Dawley türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar her grupta 7 erişkin erkek sıçan olacak şekilde kontrol, 5 mg/kg gentamisin, 5 mg/kg gentamisin + 200 mg/kg C vitamini ve 200 mg/kg C vitamini verilen grup olmak üzere dört gruba ayrıldı. Deney süresi sonunda sıçanlar anestezi madde ile uyutularak testis dokusu örnekleri alındı, vücut ve testis ağırlıkları ölçüldü ve karşılaştırmalar yapıldı. Sol testisler doku takip işlemi için Bouin çözeltisi içerisine, sağ testisler ise %10'luk nötral formalin içerisine alındı ve rutin histolojik işlemlerden sonra bloklandı. Elde edilen parafin bloklardan 3 µm kalınlığında seri kesitler alındı ve kesitler Hematoksilen ve Periyodik Asit-Schiff + Hematoksilen ile boyanarak mikroskopik incelemeleri yapıldı. Çalışma sonunda elde edilen bulgulara göre vücut ağırlıkları açısından gruplar arasında önemli fark gözlemlendi. Mikroskopik incelemelerde, gentamisinin testislerde önemli hasara yol açtığı ve bu hasarın gentamisin + C vitamini verilen gruplarda azaldığı gözlemlendi. Elde edilen bulgularla, gentamisinin testislerde meydana getirdiği toksik etkinin C vitamini verilmesiyle önlenebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler: Gentamisin, C vitamini, Sıçan, Testis.

SUMMARY

Protective effect of vitamin C from gentamicin induced testicular damage in rats.

Aminoglycosides are commonly used in clinical practice today. Gentamicin, gram (-) used in the treatment of bacterial infection is an antibiotic of the aminoglycoside derivatives. The most important feature is the restriction of the use of aminoglycoside toxicity. Gentamicin in teste reveal the structural and cytotoxic changes. Cells and tissue can be protected from gentamicin toxicity from antioxidants such as vitamin C. In this study we aimed to investigate the role of vitamin C in the protection of rat testes from gentamicin toxicity. In our study 28 Sprague-Dawley rats were used in four groups of 7. Rats in each group of 7 male rats were controlled to 5 mg / kg of gentamicin, 5 mg / kg gentamicin + 200 mg / kg of vitamin C and 200 mg / kg of vitamin C. After the experiment, the body weight and testicles were measured and comparisons were made. For follow-up is left testes tissue taken up in Bouin solution, while the right testis was taken up in 10% buffered formalin for routine histological processing then tissue preparation. Obtained from paraffin blocks were serially sectioned at 3 mm thick hematoxylin and sections stained with hematoxylin and periodic acid-Schiff microscopic examination was performed. Significant differences between groups in terms of body weight were observed. Microscopic examination revealed gentamicin caused significant damage to the testes punctuate and start a new sentence, because it makes the next sentence sound stronger. This damage decreased in the group treated with gentamicin + Vitamin C. From the resulting findings it can be concluded that gentamicin toxicity in the rat testes can be prevented by the administration of vitamin C.

Key words: Gentamicin, Vitamin C, Rat, Testis

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL	VE	ONAY	SAYFASI
..... <i>Hata! Yer işareti tanımlanmamış.</i>			
ÖZET.....			<i>iii</i>
SUMMARY.....			<i>iv</i>
İÇİNDEKİLER.....			<i>v</i>
TABLO DİZİNİ.....			<i>viii</i>
ŞEKİLLER DİZİNİ.....			<i>ix</i>
SİMGELER VE KISALTMALAR.....			<i>x</i>
I.GİRİŞ VE AMAÇ.....			<i>1</i>
2. GENEL BİLGİLER.....			<i>2</i>
2.1. Testis Anatomisi.....			<i>2</i>
2.2. Testisin Embriyolojisi.....			<i>4</i>
2.2.1. Gonadların gelişimi.....			<i>4</i>
2.3. Testis Histolojisi.....			<i>6</i>
2.3.1. Seminifer tübül.....			<i>7</i>
2.3.2. Sertoli hücreleri.....			<i>8</i>
2.3.3. Leydig hücreleri.....			<i>10</i>
2.3.4. Spermatogenik seri hücreler.....			<i>10</i>
2.3.5. Spermiyogenez.....			<i>12</i>
2.3.6. İnterstisyel Alan.....			<i>14</i>
2.4. Testisin Histofizyolojisi.....			<i>16</i>
2.5. Aminoglikozid Antibiyotikler.....			<i>16</i>

2.5.1. Gentamisin.....	17
2.5.2. Yan Etkileri.....	19
2.5.3. Testise Yan Etkileri.....	20
2.5.4. Oksidatif Stres ve Serberst Oksijen Radikalleri.....	20
2.5.5. Lipid Peroksidasyonu.....	21
2.6.C Vitamini (Askorbik Asit).....	22
2.6.1. Genel özellikleri.....	22
2.6.2. Kimyası.....	23
2.6.3. C Vitamini Kaynakları.....	24
2.6.4. C Vitamini Eksikliği	24
2.6.5. C Vitamininin Fazla Alınması.....	25
2.6.6. C Vitaminini Emilimi, Taşınması, Metabolizması.....	25
2.6.7. C Vitaminin Antioksidan Özelliği.....	25
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	26
3.1. Deney Hayvanları.....	26
3.2. Kimyasallar.....	26
3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü.....	26
3.4. Bouin Çözeltisinin Hazırlanması.....	27
3.5. Dokuların Alınması.....	27
3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü.....	27
3.7. Testis Ağırlık İndeksi Hesaplanması.....	27
3.8. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması.....	28
3.9. Boyaların Hazırlanması.....	29
3.9.1. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) Boyasının	

Hazırlanışı	29
3.11.Kesitlerin Alınması ve Boyanması.....	29
3.12.Histolojik Bulgular.....	32
4.BULGULAR.....	32
4.1.İstatistiksel Bulgular.....	33
4.1.1.Vücut Ağırlıkları.....	33
4.1.2. Sağ ve sol testis ağırlıkları.....	36
4.1.3.Toplam Testis Ağırlıkları Analizi.....	36
4.1.4.Toplam Testis Ağırlıkları İndeksi Analizi.....	37
4.2.Histolojik Değerlendirme.....	38
5.TARTIŞMA.....	49
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR DİZİNİ.....	54
ÖZGEÇMİŞ.....	62

TABLolar DİZİNİ

Tablo 3.1: Doku takip yöntemine ait süreler.....	28
Tablo 3.2: PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri	30
Tablo 3.3: H-E boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri..	31
Tablo 4.4: Gruplara göre deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları	34
Tablo 4.5: Gruplar arasında son vücut ağırlıkları farkları.....	34
Tablo 4.6: Sıçanların gruplarına göre toplam testis ağırlıkları indeksi....	36

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Testis anatomisi.....	2
Şekil 2.2. Testis gelişiminin şematik gösterimi.....	4
Şekil 2.3. Sertoli hücreleri.....	8
Şekil 2.4. Seminifer tübül epiteli.....	12
Şekil 2.5. Spermin yapısı.....	15
Şekil 2.6. Gentamisin kimyasal yapısı.....	18
Şekil 2.7. C vitamininin (askorbik asit) kimyasal yapısı.....	23
Şekil 4.8. Sıçanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları	33
Şekil 4.9. Sağ testis ve sol testis ağırlıklarının karşılaştırılması.....	35
Şekil 4.10. Toplam testis ağırlıklarının deney gruplarına göre karşılaştırılması.....	36
Şekil 4.11. Toplam testis ağırlıkları indeksinin deney gruplarına göre karşılaştırılması.....	37
Şekil 4.12. Kontrol grubuna ait testis kesiti (H-E)...	39
Şekil 4.13. C vitamini grubuna ait testis kesiti (H-E)	40
Şekil 4.14. C vitamini grubuna ait testis kesiti.....	41
Şekil 4.15. Gentamisin grubuna ait testis kesiti.....	42
Şekil 4.16. Gentamisin grubuna ait testis kesiti.....	43
Şekil 4.17. Gentamisin grubuna ait testis kesiti.....	44
Şekil 4.18. Gentamisin grubuna ait testis kesiti.....	45
Şekil 4.19. Gentamisin grubuna ait testis kesiti.....	46
Şekil 4.20. Gentamisin ve C vitamini grubuna ait testis kesiti.....	47
Şekil 4.21. Gentamisin ve C vitamini grubuna ait testis kesiti.....	48

SİMGE VE KISALTMALAR

α	Alfa
ABP	Androjen Bağlayıcı Protein
ACK-2	Anti-C-Kit Monoklonal Antikor
AMH	Antimüllerian Hormon
SRY	Cinsiyet Belirleyici Gen
C vit	C vitamini
DNA	Deoksiribonükleik asit
LDL	Düşük Dansiteli Lipoproteinler
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
FAM	Fosforamid Mustard
GM	Gentamisin
H-E	Hematoksilen-Eozin boyası
hCG	İnsan Koryon Gonadotropin Hormonu
LH	Luteinleştirici Hormon
m	Metre
μ m	Mikrometre
MIS	Müllerian İnhibitör Madde
i.p	Periton İçi
PAS+H	Periyodik Asit Schiff + Hematoksilen Boyası
RNA	Ribonükleik Asit
cm	Santimetre
°C	Santigrat Derece
ROS	Serbest oksijen radikalleri
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
SLE	Sistemik lupus eritematozus
SOD	Süperoksit Dismutaz
TBF	Testis Belirleyici Faktör

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Gentamisin (GM), genellikle hayatı tehdit edici Gram-negatif bakterilerin sebep olduğu hastalıkların tedavisinde kullanılan aminoglikozid bir antibiyotiktir (Ali, 1995). Özellikle Gram negatif bakterilere karşı geniş bakterisid spektruma sahip olması, beta-laktamlara dirençli mikroorganizmalara karşı etkinliği ve maliyetinin düşük olması nedeni ile kullanım alanı oldukça geniştir (Maldonado vd., 2003). Aminoglikozid grubu antibiyotikler arasında dihidrostreptomisin, streptomisin tobramisin, kanamisin, amikasin, gentamisin yer almaktadır (Schacht, 1993). Gentamisin en sık kullanılan aminoglikozid grubu antibiyotiktir (Mostafa, Tawfik, Hefnawi, Hassan & Ismail, 2007).

İlk olarak 1940'lı yıllarda keşfedildikten sonra bakteriyal enfeksiyonlar özellikle de tüberkülozun tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde, tüberküloz prevalansının yüksek olduğu ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Schacht, 1993).

Gentamisinin yetişkinlere verilen doz aralığı 7-10 gün boyunca 3.0-5.0 mg/kg, çocuklara verilen doz ise 5-7,5 mg/kg'dır. Gentamisinin ototoksik ve nefrotoksik olduğu iyi bilinmektedir. Gentamisin özellikle deney hayvanlarının testisinde yapısal değişikliklere neden olur epitelde dökülme, germ hücrelerinde dejenerasyon, seminifer tübüllerde atrofik değişiklikler, intersitiyel alanda boşluklar ve son olarak sperm üretiminde azalmaya neden olmaktadır (Naryana, 2008). Oksidatif hasara ve nekroza neden olduğu bilinmektedir. Gentamisine maruz kalan sıçanlarda testosteron seviyesinin düştüğü gözlenmiştir (Nouri, Khaki, Azar & Rashidi, 2009).

C vitamini, suda çözünen bir vitamin olup, yapı olarak da altı karbonlu bir laktondur. C vitamini bazı memelilerde karaciğerde glukozdan sentezlenirken, kuş ve sürüngenlerde böbrekte sentezlenir. İnsanlar ise askorbik asitin biyosentez yolağında terminal (bağlantı ucunda bulunan) enzim olan, L-gulonolakton oksidaz enzimi eksik olduğundan, askorbik asiti sentezleyemezler ve bu nedenle C vitaminini dışarıdan almak zorundadırlar (Nishikimi, 1994).

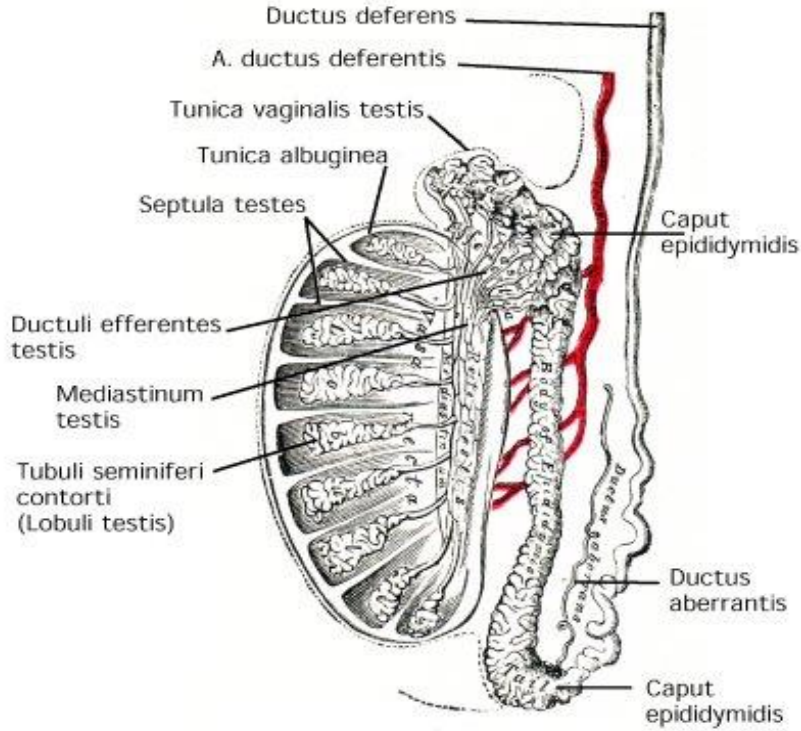
C vitamini çok hızlı elektron transferiyle reaktif oksijen türlerini temizler ve böylelikle lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve sitotoksik serbest radikalleri ortadan kaldırır (Halliwell, Wasil & Grootveld, 1987). C vitamini antioksidan özelliğini üreme sistemi üzerinde de göstermektedir. C vitaminin, insan spermindeki DNA'lara serbest radikallerin zarar vermesini engellediği gösterilmiştir.(Champe, Harvey, 1997).

Gentamisin ve C vitamininin bu özelliklerinden yola çıkarak çalışmamızda Gentamisin hasarına uğramış sıçan testis dokusunda, C vitamininin koruyucu bir etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 Testis'in Anatomisi

Funiculus spermaticus'a asılı durumda bulunan testis'ler, sağlı sollu bir çift olup, scrotum'un içinde bulunurlar. İri bir badem büyüklüğünde olan testisler yaklaşık olarak 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde, 3 cm kalınlığında ve 20-25 gr ağırlığındadır (Arıncı & Elhan, 2006). Aynı büyüklükte olmalarına karşın yapısal olarak sol testis sağ testise göre biraz daha aşağıda yer alır. Ayrıca, sağ testis sol testise göre %10 daha ağırdır (Drake, Vogl & Mitchell, 2007).



Şekil 2.1: Testisin Anatomisi (Drake, vd., 2007)

Testis aşağıdaki tabakalardan oluşur: (Arıncı&Elhan, 2006)

- a. Skrotum (Deri)
- b. Tunika Dartos
- c. Fasia spermatica eksterna
- d. Fasia kremasterika
- e. Fasia spermatica interna
- f. Tunika vaginalis testis

Testis'lerin facies medialis ve facies lateralis adı verilen iki yüzü, margo anterior ve margo posterior adı verilen iki kenarı, extremitas

superior ve extremitas inferior adı verilen iki ucu vardır (Sancak & Cumhuriyet, 2004; Hatipoğlu & Turgut, 1996; Yıldırım, 1999; Yücel, 2003).

Testisler, embriyonal yaşamda karın boşluğunda bel omurlarının iki yanında gelişmeye başlar, daha sonra aşağıya doğru göç ederek gebeliğin 7. ayında skrotuma inerler. Testis venlerinde soldaki (v. testicularis) sol v. renalis'e, sağdaki v. cava inferior'a açılırlar (Yavaş, 2010).

Tunica vaginalis, testisin büyük bölümünü saran periton katlantısı olup, embriyonik processus vaginalis'in distal kalıntısıdır (Moore, 2009). Tunica vaginalis; skrotum'un iç yüzünü döşeyen lamina parietalis (periorchium) ve testisi saran lamina visceralis (epiorchium) olarak iki katmandan oluşur. Lamina visceralis (epiorchium), epididimis'in büyük kısmı ile arka kenarının mediyal bölümü dışında, testis'i sarar ve bu iki yapıyı birbirine bağlar. Lamina parietalis (periorchium), periton'un fascia spermatica interna'yı döşeyen kısmıdır (Hatipoğlu, 2005).

Testis distan içe tunika vaginalis'in lamina visceralis'i (epiorchium), tunika albuginea ve tunika vasculosa olmak üzere üç tabaka ile sarılıdır (Cumbul, 2008; Hatipoğlu & Turgut, 1996; Yücel, 2003). Testisi örten lamina visceralisin altında tunika albuginea denilen fibröz bir tabaka bulunur. Bu tabaka testisin arka kenarından organın içine sokularak vertikal bölmeyi (mediastinum testis) oluşturur. Mediastinum testis'in ön ve yan kısımlarından çıkan uzantılara septula testis adı verilir (Şekil 2.1). Bu uzantılar testis yüzeyine doğru ışınal tarzda dağılarak tunika albugineanın iç yüzeyine tutunur ve testisi lobüllere ayırır. Her lobül içinde de tubuli seminiferi kontorti denilen kanalcıklar yer alır. Spermler bu kanalcıkların duvarlarında gelişmelerini tamamlarlar (Cumbul, 2008).

Tunica vasculosa, tunika albuginea'nın iç yüzünü ve lopçukları döşeyen damar ağı katmanıdır. Damarlar arasında gevşek bağ dokusu bulunur (Arıncı & Elhan, 2006).

Testis ve epididimis, aortanın dalı olan arteria testikularisten beslenirler. Testis ve epididimisin venleri, önce funiculus spermaticus'u saran bir ağ şeklinde plexus pampiniformisi, daha sonra da birbirleriyle birleşerek vena testikularisi oluştururlar. Bunlar da sağ tarafta vena cava inferior, sol tarafta vena renalis sinistraya açılır (Arıncı & Elhan, 2006; Karataş, 1998).

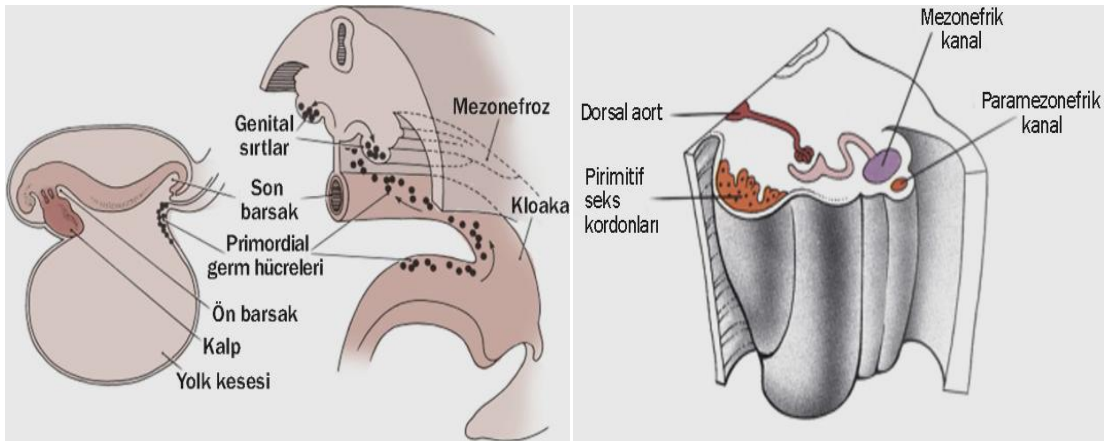
2.2. Testisin Embriyolojisi

2.2.1. Gonadların gelişimi

Embriyonun genetik ve kromozomal cinsiyeti, ovumu dölleyen sperm çeşidi ile fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmakla beraber, erkek ve dişi morfolojik karakteristik özellikleri, embriyonal dönemin 7. haftasına kadar gelişime başlamazlar. Genital sistem erken dönemde her iki cinsten de birbirine benzer, bu nedenle genital sistemin gelişiminin başlangıç dönemine seksüel gelişimin farklılaşmamış evresi olarak adlandırılır (Şekil 2.2) (Moore, 2002; Tok, 2013).

Gonadlar (testisler ve overler) üç kaynaktan köken alırlar: (Moore, 2002; Sadler, 2005):

1. Karın arka duvarını döşeyen mezotel (mezodermal epitel)
2. Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
3. Primordiyal germ hücreleri



Şekil 2.2: Testis gelişiminin şematik gösterimi (Hatipoğlu & Turgut, 1996).

Embriyonun cinsiyeti, genetik açıdan daha fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar erkeğe veya dişiye ait morfolojik özelliklere sahip değildir (Moore, 2002; Sadler, 2005). Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkar ve mezonefrozun mediyalinde mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin poliferasyonu ile mezonefrozun mediyalinde genital kabartı oluşur. Parmak şeklindeki epitel kordonları (gonadal kordonlar), altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklılaşmamış gonad dışta yer alan korteks ve içte bulunan medulladan oluşur. Eğer embriyo XX cinsiyet kromozom yapısına sahip ise, farklılaşmamış gonadın korteksi ovaryuma farklılaşır ve medullası geriler. Embriyo XY cinsiyet kromozomu yapısına sahip ise medulla testise

farklılaşır, korteks bir takım kalıntılar bırakarak geriler ve dejenere olur (Tok, 2013; Junqueira vd., 2005).

Primordiyal germ hücreleri, epiblasttan köken alır, primitif çizgi boyunca göç eder ve üçüncü haftada yolk kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücrelerinin arasına yerleşir. Dördüncü haftada ameboid hareketlerle son barsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır, 6. haftada da genital sırtlara göç ederler. Bu hücreler genital sırtlara ulaşmadıkları takdirde gonadlar gelişemez. Primordiyal germ hücrelerinin gonadların over veya testise farklılaşmaları üzerinde indükleyici etkileri vardır. (Sadler, 2005).

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmalarından hemen önce ve ulaştıkları sırada, genital sırttaki epitel hücreleri polifere olarak altlarındaki mezenşimin içine gömülürler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen düzensiz kordonları oluştururlar. Hem erkek hem de dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesi mümkün değildir. Bu evredeki gonada farklılaşmamış gonad denir (Sadler, 2005).

Cinsiyet farklılaşması, bazıları otozomal olan çok sayıda genin rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. Seksüel dimorfizmin anahtarı, kısa kolu üzerinde (Yp11) SRY genini (Y kromozomu üzerinde ki cinsiyeti belirleyen bölge=sex-determining region on Y) taşıyan Y kromozomudur. Bu genin protein ürünü rudimenter durumdaki cinsiyet organlarının kaderini belirleyen genleri harekete geçiren bir transkripsiyon faktörüdür. SRY proteini testis belirleyici faktördür (TDF). Fetusun cinsiyeti bu faktör varsa erkek tipinde, yoksa kız tipinde gelişir (Moore, 2002).

Testis belirleyici faktör (TDF), primer seks kordonlarını uyararak, onların farklılaşmamış gonadın medulla derinlerine doğru uzamasına neden olur, kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomoz yaparlar ve böylece rete testis oluşur. Seks kordonlarının (semifer- testiküler - kordonların) kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea geliştikten sonra, yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. Yoğun tunika albuginea gelişimi fetusta testiküler gelişim için oldukça karakteristiktir. Genişleyen testis aşamalı olarak dejenere olan mezonefroz'dan ayrılır ve kendi mezenterisi olan mezorşiyum ile asılı hale geçer. Seminifer kordonlar, seminifer tubullere, tubuli rekti ve rete testise farklılaşırlar (Tok, 2013; Erkanlı, 2008; Sadler, 2005).

Gonadal sırtın mezenşiminden köken alan interstisyel Leydig hücreleri, testis kordonlarının arasında bulunur ve kordonların farklılaşmaya başlamasından hemen sonra gelişmeye başlar. Gelişimin 8. haftasından itibaren Leydig hücreleri, testosteron üretmeye başlar. Bu hormonlar

mezonefrik kanalların ve dış genitalerin maskülin olarak farklanmasını uyarırlar. Testosteron üretimini, insan koryonik gonadotropin (hCG) hormonu stimüle eder. Hormonun miktarı, 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşır. Dördüncü aydan itibaren, testis kordonları at nalı şeklini alır ve bu at nalının uçları rete testis ile devam eder. Bu durumda testis kordonları, primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken alan Sertoli destek hücrelerinden meydana gelmiştir (Yavaş, 2010; Sadler, 2005).

Sertoli hücreleri (destek hücreleri), Antimüllerian hormon (AMH) salgırlar. Bu hormon, paramezonefrik (Müllerian) kanalların gelişimini baskılar. Spermatogonia ise primordial germ hücrelerinden farklanırlar (Moore, 2002).

Seminifer tübüller, puberteye kadar solid halde kalırlar, puberteden itibaren lümen gelişir. Seminifer tübül duvarında germinal ve nongerminal olmak üzere iki tip hücre bulunur (Tok, 2013; Erkanlı, 2008; Sadler, 2005).

•**Sertoli hücreleri:** Destek hücreleri olan bu hücreler, testisin yüzey epitelinden gelişirler.

•**Spermatagonia:** Primordial sperm hücreleri olan bu hücreler, primordial germ hücrelerinden farklanırlar.

Mezonefroz kanalları duktus epididimis ve vas deferense farklılaşır. Bu yapılar mezonefroz tübüllerinden gelişen efferent kanalcıklarla testise bağlanmaktadır. Mezonefrozun giderek dejenere olmasıyla karnın her iki tarafında uzanan ve testislerin skrotuma inişinde kılavuzluk eden gubernakulum adı verilen bir bağ yer alır (Cumbul, 2008).

28. haftada gubernakulum kasılırken testis ve epididimis karın arka duvarı boyunca aşağıya kayar ve skrotuma iner. Testisin skrotuma inişinde karın içi organların büyümesi ve karın içi basıncın artmasının rol oynadığı düşünülmektedir. Periton inguinal kanalda ilerleyerek testis ve epididimisin üzerini sarar (Cumbul, 2008).

2.3. Testisin Histolojisi

Erkek üreme sistemi; testisler, genital kanallar, yardımcı bezler ve penisten oluşmuştur. Testisin başlıca iki görevi hormon ve spermatozonları üretmektir (Junqueira & Carneiro, 2005). Erkek üreme sistemi haploid erkek gametin (spermatozoa veya sperm) devamlı üretimi, beslenmesi ve geçici olarak depolanmasından; erkek seks hormonlarının (androjenler) sentezi ve sekresyonundan sorumludur (Abraham, 2006).

Testisler karın boşluğunun dışında skrotum içinde yer alan çift organlardır. Testis, tunika albuginea adı verilen kalın bir kollajenöz bağ dokusu kapsülü ile çevrilidir. Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Burada bezin içine giren fibröz septumlar bu yapıyı testiküler lobüller denilen yaklaşık iki yüz elli adet piramidal bölmeye ayırırlar. Bu uzantılar kesintisiz değildir ve çoğunlukla bölmeler birbirleri ile bağlantılıdır. Her lobülde gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 adet seminifer tübül yer alır. Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve Leydig hücreleri adı verilen interstisyel hücreleri içerir. Seminifer tübüller erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretirken, intersitiyel hücreler de testis androjenlerini salgılar (Junqueira & Carneiro 2005; Abraham, 2006).

Her bir seminifer tübül yaklaşık 150 mikrometre çapta ve 80 cm uzunluktadır; iki ucu U şeklinde olan ve rete testise açılan tüplerdir. Rete testis, seminifer epitelyumun ürünlerini (testiküler sperm, salgısal proteinler ve iyonlar) toplayan kanallar ağıdır. Seminifer epitel bir bazal membran ile kollajen lifler, fibroblastlar ve kasılabilir miyoid hücrelerden oluşan bir duvarla çevrelenmiştir. Miyoid hücreler hareketsiz spermleri rete testise iletten ritmik kasılma aktivitelerinden sorumludur (Abraham, 2006).

Testisler, embriyolojik gelişim sırasında karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişirler. Fetüsün gelişmesi sırasında göç ederler ve skrotum içinde spermatik kordonların uçlarında asılı olarak bulunurlar. Her biri tunika vaginalis denilen seröz bir kese taşır; bu kese peritondan gelişir. Tunika vaginalis dışta pariyetal ve içte ise viseral bir tabakadan oluşur ve testisin ön ve yan kısımlarında tunika albugineayı örter. Skrotumun, testislerin karın içinden daha düşük bir ısıda saklanmalarında önemli bir rolü vardır (Junqueira & Carneiro, 2005).

2.3.1. Seminifer tübül epiteli

Her bir seminifer tübül yaklaşık 150-250 µm çapında ve 30-70 cm uzunluktadır, karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşelidir. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu 250 m civarındadır (Arıncı & Elhan, 2006). Tübüller kıvrımlıdır ve uçlarına doğru lümeni daralarak düz tübüller ya da tübüli rekti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eden kanallar şeklinde uzanır. Bu düz tübüller, seminifer tübüllerini rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlar. Mediastinumun bağ dokusunda bulunan rete, 10-20 adet duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmaktadır (Junqueira & Carneiro, 2005).

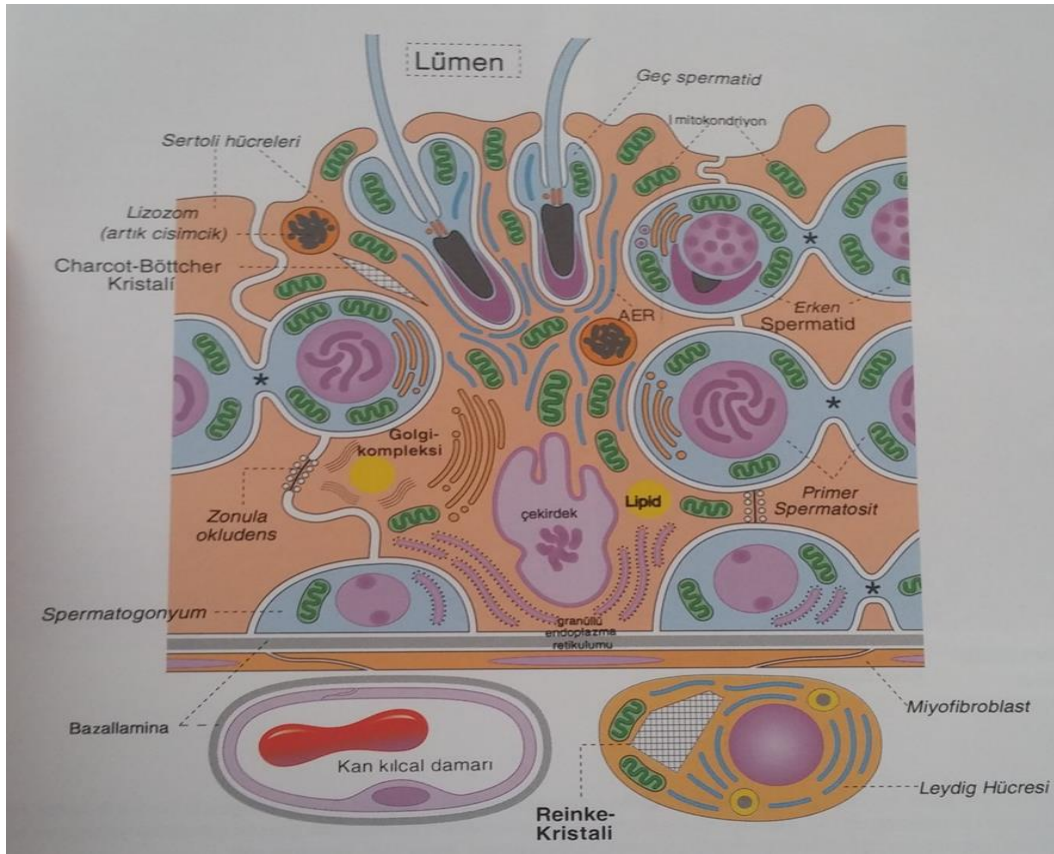
Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir (germinal ya da seminifer) epitelden oluşur. Seminifer tübülü saran fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmanından

oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas özellikleri de gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir. Seminifer tübüllerin arasındaki boşluk kan damarları, lenfatik kanalları veya sinüzoidler, makrofajlar ve androjen üreten Leydig hücre grupları tarafından doldurulmuştur (Junqueira & Carneiro, 2005; Abraham, 2006).

2.3.2. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri puberteye kadar seminifer epitelin dominant hücre tipidir. Puberteden sonra, seminifer tübülleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluşturur. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatogenik hücre popülasyonu düştüğü zaman, Sertoli hücreleri tekrar epitelin ana elemanı haline gelir (Abraham, 2006).

Sertoli hücreleri bazal laminadan seminifer tübül lümenine doğru uzanan prizmatik hücrelerdir (Şekil 2.3). Işık mikroskopunda spermatogenik seri hücrelerini çevreleyen çok sayıda yan uzantı nedeniyle, Sertoli hücrelerinin sınırları iyi belirlenemez. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda, bu hücrelerin çok sayıda düz endoplazmik retikulumu, az granüllü endoplazmik retikulumu, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondri ile lizozomlar içerdiği gösterilmiştir. Sertoli hücrelerinin açık renkli çekirdeği düzensizdir; içinde belirgin çekirdekçik bulunur (Junqueira & Carneiro 2005; Abraham, 2006; Welsch, 1999).



Şekil 2.3: Sertoli hücreleri (Mesci, 2011).

Yan yana bulunan Sertoli hücrelerinin alt yan yüzlerinde (bazolateral) engelleyici özellikte sıkı bağlantı birimleri bulunur. Sertoli hücreleri arasında sıkı bağlantılar (zonula okludens) üreme epitelinin bazal ve adluminal bölümlerini ayıran kan-testis duvarını oluşturur (Junqueira & Carneiro, 2005; Welsch, 1999). Spermatogonyumlar, bu bariyerin altında yer alan bazal bölmede yerleşmiştir. Spermatogenez sırasında, spermatogonyumların bölünmesi sonucu oluşan bazı hücreler bu bağlantı noktalarından bir şekilde geçerek, bariyerin üzerinde yer alan adluminal bölgeye ulaşırlar. Spermatozoidler ve spermatozoidler, bariyerin üzerinde Sertoli hücrelerinin yan ve üst kenarlarındaki derin girintilerde yerleşmişlerdir. Spermatozoidlerin kamçı kuyrukları geliştikçe, bunlar Sertoli hücrelerinin üst uçlarından çıkan saçaklar halinde görülürler (Junqueira & Carneiro, 2005).

Sertoli hücrelerinin önemli fonksiyonları vardır;

- Gelişmekte olan spermatogonik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek.
- Spermiyogenezin sonunda spermatozoidler tarafından atılan rezidual (artık) cisimcikler olarak adlandırılan fazla hücre kısımlarını fagositoz ile elimine etmek.
- Olgun spermatozoidlerin aktin-aracılı kasılmalarla, spermiyasyon denilen bir süreç, seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaştırmak ve seminifer tübül lümenine proteinler ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak (Abraham, 2006).
- Seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaşmasını sağlayan androjen-bağlayıcı proteini (ABP) salgılamak.
- Testosteronu östradiol haline çevirmek ve aynı zamanda, ön hipofiz bezinden FSH sentezini ve salgılanmasını önleyen inhibin adı verilen bir peptid salgılamak.
- Embriyo gelişimi sırasında erkek fetüste Müller (paramezonefroz) kanallarının gerilemesini sağlayan bir glikoprotein olan AMH'yi salgılamak.
- Spermatogenezin daha ileri aşamalarındaki germ hücrelerini kandaki zararlı maddelere karşı koruyan kan-testis bariyerini yapmak (Junqueira & Carneiro, 2005).

2.3.3. Leydig hücreleri

Embriyonal gelişim sırasında bir diğer hücre tipi belirgin hale gelerek, yuvarlak ya da poligonal şekilli olan merkezi bir nükleusu ve küçük lipid damlacıklarınca zengin eozinofilik bir sitoplazması bulunan bir hücreyi oluşturmaktadır. Steroid salgılayan hücre özelliklerini gösteren bu hücreler, testisin interstisyel ya da Leydig hücreleridir. Bu hücreler, sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üretmektedirler. Testosteron sentezi mitokondri ve düz endoplazmik retikulumunda bulunan enzimlerce gerçekleştirilmektedir (Ovalle & Nahirney, 2009; Junqueira, Carneiro & Robert, 1998).

Gebeliğin 18. haftasından itibaren, testiste Leydig hücre popülasyonu baskındır. Fetal Leydig hücreleri gebeliğin 8 ve 18. haftaları arasında steroidojenik olarak aktiftirler. Bu dönemde fetal Leydig hücreleri tarafından üretilen androjenler erkek üreme kanalının gelişiminde kritiktir. Leydig hücreleri, gebeliğin 8. ayında, fetal testis içinde ilk defa belirirler ve birkaç haftada sayıları artar. Sonra doğuma çok az kalana dek sayıları azalır (Abraham, 2006; Zikrin & Chen, 2000). Testiküler steroidogenez, yeni doğanda doğumdan sonraki 2 ile 3 ay içinde üst seviyelere ulaşır ve sonra azalır. LH artışı androjen seviyesini aktive edene kadar, pubertede androjen seviyeleri düşük kalır (Junqueira & Carneiro, 2005).

Testosteron spermatogenez, embriyonal ve fetal yaşam sırasındaki cinsiyet farklılaşması ve gonadotropin salgısının kontrolü açısından (örneğin, kıl dağılımı ve kıllanma). Androjen üreten interstisyel hücreli tümörler erkeklerde erken puberteye yol açabilir (Junqueira & Carneiro, 2005).

Puberteden sonra, bir siklik adenozin monofosfat (cAMP) aracılı mekanizma tarafından lüteinleştirici hormon ile uyarılmanın ardından Leydig hücreleri, 5 alfa-redüktaz enzimi ile dihidrotestosterona dönüştürülebilen testosteron üretir. Serumda bulunan testosteronun yaklaşık % 95'i Leydig hücreleri tarafından sentezlenir, kalan testosteron adrenal korteks tarafından üretilir (Abraham, 2006).

2.3.4. Spermatogenik seri hücreleri

Seminifer epitel 2 tip hücreden meydana gelmektedir: Sertoli ya da destek hücreleri ile spermatogenetik seriyi oluşturan hücreler (Şekil 2.4). Spermatogenetik seri hücreleri, bazal lamina ve tübül lümeni arasını dolduracak 4-8 tabaka halinde düzenlenmişlerdir (Feldman, Mullinb & Ryan, 2005). Bu hücreler birkaç bölünmeden sonra farklılaşır ve spermatozoonları oluşturur (Junqueira & Carneiro, 2005).

Spermatogonyumlar bazal kompartmanda bazal lamina ile direkt ilişkide olan diploid spermatogenik hücrelerdir (Abraham, 2006). Cinsel olgunluk çağında mitoz bölünme ile çoğalmaya başlar ve yeni hücreler oluşur. Yeni oluşan hücreler iki yoldan birini izleyebilir; tip A spermatogonyumlar, A koyu ve A açık spermatogonyumlar olarak gözlenir. Süregelen bölünmeler boyunca farklılaşarak tip B spermatogonyumları oluştururlar. Tip A spermatogonyumlar spermatogenik serinin kök hücreleridir. Tip B spermatogonyumlar ise primer spermatositlere farklılaşan öncül hücrelerdir (Junqueira & Carneiro, 2005; Abraham, 2006).

Spermatogonyal kök hücrelerin erkek fertilitesinde önemli etkileri vardır. Bu hücreler kısmen sessiz hücrelerdir ve bu nedenle radyasyon ve kanser kemoterapisine dirençlidirler. Mitozla bölünen spermatogonyumlar, mayotik bölünen spermatositler ve farklılaşmakta olan spermatidler kanser kemoterapisine ve radyasyona duyarlıdır. Radyoterapi ve antikanser kemoterapisinin sonlandırılmasından sonra, spermatogonyal kök hücreleri spermatogenik süreci yeniden oluşturabilirler. Postmitotik Sertoli hücreleri bu tedavilere yüksek oranda dirençlidirler (Abraham, 2006).

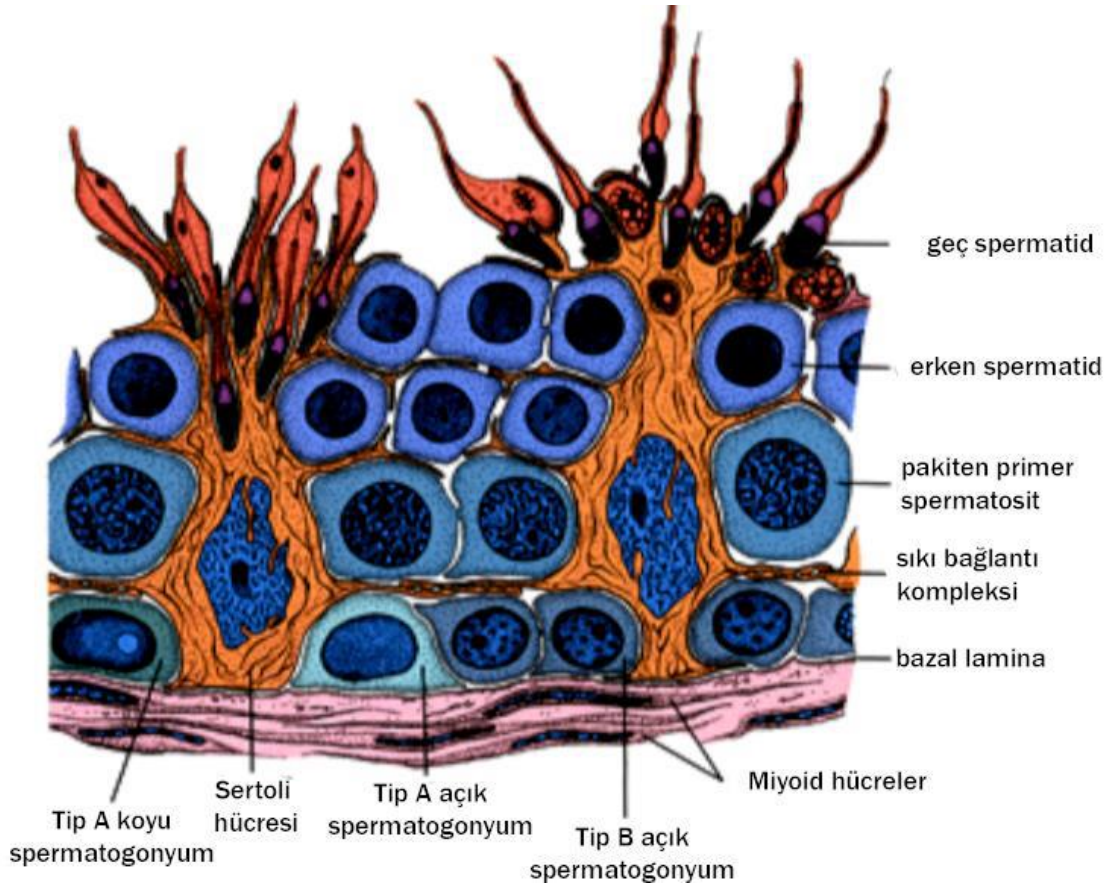
Başarılı mitotik bölünmeler geçirdikten sonra, tip B spermatogonyumlar, son S fazını (DNA sentezi) tamamladıktan hemen sonra mayoz bölünmenin profaz aşamasına girerler. Spermatogenik hücrelerin yaşam süresindeki esas DNA sentez aktivitesinin bu son turu, mayozun profaz I aşamasına başlayan bir primer spermatositin spermatogonyuma göre iki kat DNA miktarına sahip olacağını belirler (Abraham, 2006).

B tipi spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan öncül (progenitör) hücrelerdir. Spermatositler iki başarılı mayotik hücre bölünmesi geçirirler ve Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların hemen üzerinde, seminifer tübülün adluminal kompartmanında yer alırlar. Dolayısıyla, mayoz bölünmeler kan-testis bariyerinin içinde gerçekleşir (Abraham, 2006; Junqueira & Carneiro, 2005).

Birinci mayotik bölünmeden sonra oluşan sekonder spermatositler denilen ve yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler oluşur. Bu sayıya azalma (46'dan 23'e) her hücrede ki DNA miktarının eksilmesi (4 N'den 2 N'e) ile birlikte olur (1). Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin gözlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve çabucak ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir. Sekonder spermatositlerin bölünmesi 23 kromozom içeren iki hücrenin, spermatidlerin oluşmasıyla sonuçlanır (Junqueira & Carneiro, 2005).

Birinci mayoz bölünme uzun, ikinci mayoz bölünme çok kısa (dakikalar) olduğundan, primer spermatositler seminifer tübüllerde en bol gözlemlenen hücrelerdir. Böylece, mayoz bölünmenin sonunda haploid

sayıda kromozom içeren hücreler oluşur. Döllenmeyle bunlar normal diploid sayıya dönerler (Abraham, 2006; Junqueira & Carneiro, 2005).



Şekil 2.4: Seminifer tübül epiteli. (Okan, 2010)

2.3.5. Spermioyogenez

Spermatidler spermioyogenez adı verilen oldukça farklılaşmış bir hücre işlemine uğrarlar. Spermioyogenez spermatogenezin son aşamasıdır. Spermatidler, Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içinde gömülüdürler (Abraham, 2006). Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleşmez (Junqueira & Carneiro, 2005). Bunlar diğer hücrelerden küçük boyutları yoğunlaşmış kromatin bölgeleri taşıyan nükleusları ve seminifer tübüllerde lümen yakınında yerleşmeleri ile tanınırlar (Junqueira & Carneiro, 2005).

Bu süreçte , akrozom oluşur, nükleus yoğunlaşır ve uzar, flagellum gelişir ve sitoplazmanın çoğu kaybolur. Sonuçta seminifer tübülün lümenine salınan olgun spermatozoon meydana gelir (Junqueira & Carneiro, 2005).

Spermioyogenez üç faza ayrılabilir.

Golgi fazı : Spermatidlerin sitoplazması, çekirdeğin yakınında belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriler, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz endoplazmik retikulum tübüleri içerir. Küçük PAS-pozitif proakrozomal granüller Golgi kompleksinde birikirler ve bunun hemen sonrasında birleşerek membranla sınırlanmış bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granülü oluştururlar. Sentriyoller göç ederek akrozomun olduğu bölgenin karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksonem oluşmaya başlar ve sentriyoller yeniden nükleusa doğru geri dönerken hareket ettikçe aksonem komponentlerini çevresine sarar (Şekil 2.5).

Akrozomal evre: Döllenme için gerekli olan hidrolitik enzimlerin depolanması ve sürekli sentezinin gerçekleştiği akrozomal keseyi içerir. Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra akrozom adını alır. Akrozom, hyaluronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içerir. Akrozom bu yüzden lizozom gibi işlev görür. Bu enzimlerin, korona radiata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir. Bunlar henüz ovulasyona uğramış yumurtayı çevreleyen yapılardır. Bu işlem akrozomal reaksiyon olarak bilinir ve döllenmenin ilk basamaklarından biridir (Abraham, 2006; Junqueira & Carneiro, 2005).

Akrozomal faz sırasında hücrenin akrozomunu içeren ön kutbu, seminifer tübülün tabanına doğru yönelir. Buna ek olarak nükleus uzar ve daha yoğun bir hale gelir (Şekil 2.5). Aynı zamanda sentriyollerden bir tanesi gelişerek flagellumu oluşturur. Mitokondriler de flagellumun proksimal parçası etrafında toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur. Bu bölge spermatozoonların hareketlerinin kaynağını aldığı yerdir (Junqueira & Carneiro, 2005).

Mitokondrilerin bu şekilde yerleşmesi, bu organellerin hücre hareketi ve yüksek enerji tüketimi ile ilgili olan bölgelerde toplanmasına başka bir örnek teşkil eder. Flagellum hareketi, mikrotübüller, ATP ve dinein denilen ATPaz aktivitesine sahip bir proteinin etkileşmesi sonucunda oluşur (Junqueira & Carneiro, 2005).

İmmotil silya sendromu (Kartagener sendromu), hareketsiz spermatozoonlar ve sonuçta infertilite ile karakterizedir. Bu sendrom, hastanın spermatozoonlarında dineinin ya da flagellar hareket için gerekli olan diğer proteinlerin eksikliğine bağlıdır. Bu bozukluk genellikle kronik solunum yolu enfeksiyonları ile birlikte görülür. Çünkü buna benzer bir eksiklik de solunum sisteminde epitel hücrelerinin siliyer aksonemlerinde bulunur (Junqueira & Carneiro, 2005).

Olgunlaşma evresi: geriye kalan artık sitoplazma, Sertoli hücreleri

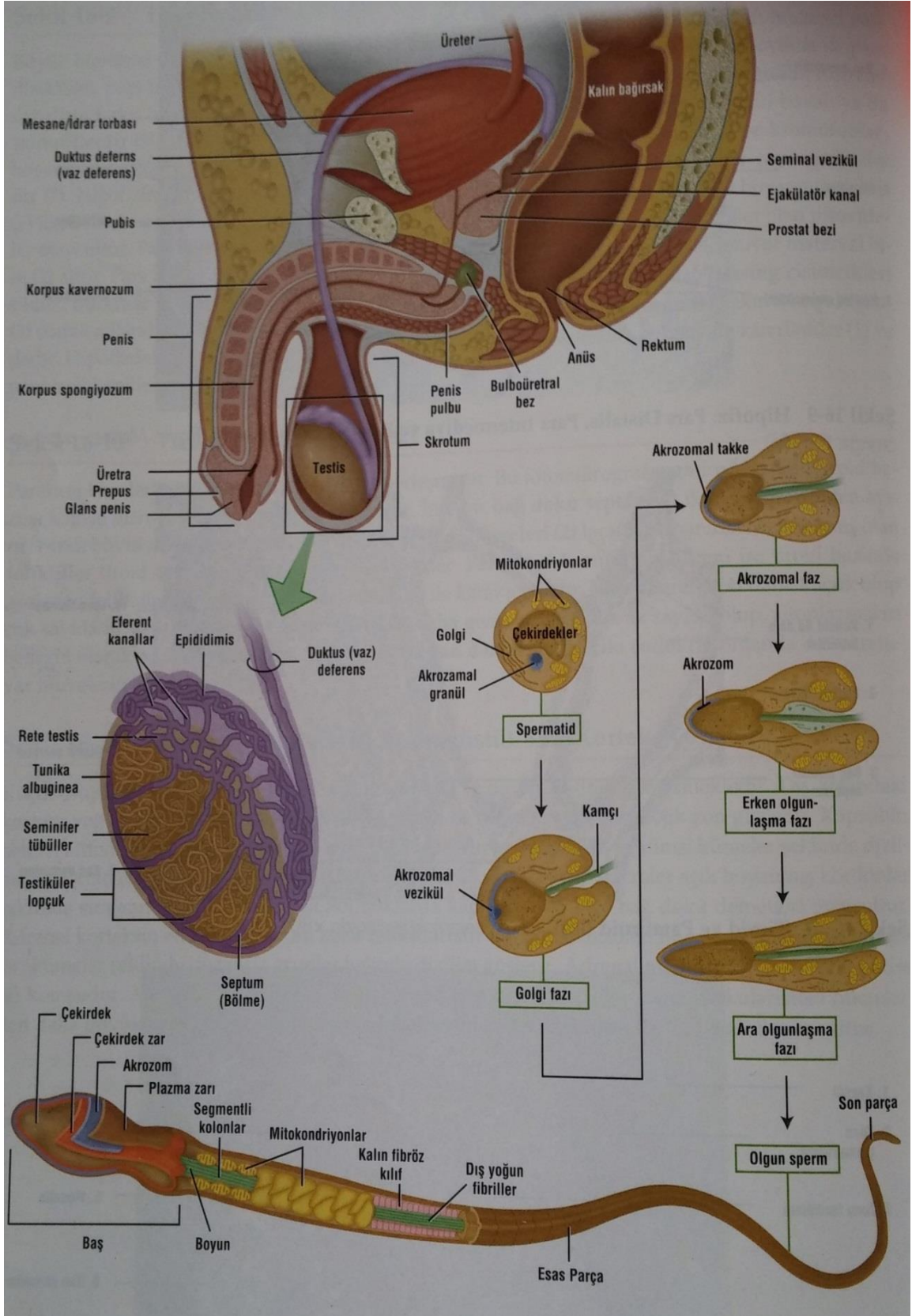
tarafından fagosite edilir ve spermatozoonlar túbülün lümenine doğru salınırlar (Junqueira & Carneiro, 2005).

Spermatogonyumların bölünmesi sırasında ortaya çıkan hücreler tamamen ayrılmaz ve sitoplazmik köprülerle birbirlerine bağlı kalırlar. Hücreler arasındaki köprüler, tek bir spermatogonyumdan oluşan her primer ve sekonder spermatositle spermatid arasındaki iletişimi sağlar. Hücreden hücreye bilgi aktarımına izin vermesi sebebiyle bu köprüler spermatogenezdeki olaylar zincirinin koordinasyonunda önemli bir rol oynar. Bu ayrıntı aşağıda açıklanan seminifer epitel siklusunu anlamakta önemli bir rol oynayabilir. Spermatogenez süreci tamamlandığında sitoplazma ve sitoplazmik köprülerin artık cisimcikler olarak dökülmesi ile spermatidler arasında bir ayrılma olur (Junqueira & Carneiro, 2005).

Testislere deneysel ³H-timidin enjeksiyonu ile gönüllüler üzerinde yapılan araştırmalarda insanda spermatogonyum safhası ile spermatozoon oluşumu arasındaki sürenin yaklaşık altmış dört gün olduğu gösterilmiştir. Sürecin yavaş olmasının yanısıra, spermatogenez, eş zamanlı olarak her seminifer túbülde aynı anda gerçekleşmez. Bu olay bir dalgalanma biçiminde olur. Bu durum her bölgesinde spermatogenezin farklı bir safhasının izlendiği seminifer túbüllerin düzensiz görünümünü açıklar. Aynı zamanda neden seminifer túbüllerin bazı bölgelerinde spermatozoonlar bulunduğu halde diğer bölgelerde sadece spermatidlerin bulunduğunu da açıklamaktadır. Seminifer epitel siklusu germinal epitelde belli bir hücre evresinin ardışık iki görünümü arasında oluşan matürasyon değişiklikleri dizisini ifade eder. İnsanda her bir siklus yaklaşık 16±1 gün sürer ve spermatogenez 4 siklustan sonra biter (Junqueira & Carneiro, 2005).

2.3.6. İnterstisyel alan

Testislerde seminifer túbüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, kan ve lenf damarlarıyla doldurulmuştur. Testiküler kapillerler pencerelidir ve kan proteinleri gibi makromoleküllerin geçişine olanak verir. Bağ dokusu çeşitli tipte hücreler içerir; bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte (puberte ile birlikte) bir hücre tipi daha işlevsel olarak belirgin hale gelir. Bu hücreler, testis'in interstisyel ya da Leydig hücreleridir (Junqueira & Carneiro, 2005).



Şekil 2.5: Spermin Yapısı (Welsch, 1999).

2.4. Testisin Histofizyolojisi

İnsanda iki testisten günlük ortalama spermatozoon yapımı iki yüz milyondur. Bu büyük bir miktar gibi görünse de diğer türlerle karşılaştırıldığında düşük bir sayıdır. İnsanda her iki testis sekizyüz-bin iki yüz adet kıvrıntılı borucuk içerir. Bunların her biri 30-70 cm uzunluğundadır. Oluşan ejakulat miktarı ise 2-5 ml dir. Bu ejakulat 40-100 milyon/ml spermatozoon içerir. Bu sayı 20 milyonun altına düşerse kısırlıktan (infertilite) söz edilir (Hatipoğlu & Turgut, 1996). 37°C olan vücut içi sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda oluşan spermatogenezin regülasyonunda ısı çok önemlidir. Testiküler ısı yaklaşık 35°C'dir, bu birkaç mekanizma ile kontrol edilir. Zengin bir venöz pleksus (pampiniform pleksus) her bir testiküler arterin etrafını sarar, testiküler ısının sürdürülmesinde bir karşı akımı sağlar. Diğer faktörler; skrotumdaki terin buharlaşması ile ısı kaybı ve spermatik kordondaki krameter kaslarının kasılması ile testislerin daha yüksek bir ısıda kalabileceği inguinal kanallara çekilmesidir (Junqueira & Carneiro, 2005).

Spermatogenez üzerinde en önemli etkiyi endokrin faktörler oluşturur. Spermatogenez, hipofizin FSH ve LH hormonlarının testiküler hücreler üzerindeki etkilerine bağlıdır. LH interstisyel hücreler üzerine etki ederek spermatogenik seri hücrelerinin normal gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını stimüle eder. FSH'nin ise Sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklaz yapımını stimüle ettiği ve sonuçta cAMP'nin artışına yol açtığı ve aynı zamanda ABP'nin sentez ve salgılanmasını sağladığı bilinmektedir. Bu protein testosteron ile bağlanır ve testosteronu seminifer tübüllerin lümenine taşır. Spermatogenez testosteron ile uyarılır, östrojen ve progesteronlarla inhibe edilir (Tok, 2013). Spermatozoonlar epididimise, uygun bir ortam olan testiküler sıvı içinde taşınırlar. Testiküler sıvı Sertoli hücreleri ve rete testis tarafından üretilir. Bu sıvı steroidler, proteinler, iyonlar ve testosteronla birleşmiş ABP içerir (Ersoy, 2008).

İnsanda ergenlikle başlayan spermatogenez devamlıdır ve ölünceye kadar azalarak da olsa devam eder. Germ hücre epiteli toksik ajanlar, alkol, çeşitli enfeksiyon hastalıkları ve beslenme yetersizliklerine (vitamin A ve E eksikliği) hassastır (Abraham, 2006).

2.5. Aminoglikozid antibiyotikler

Aminoglikozidler; *Streptomyces* ve *Micromonospora* cinsi funguslardan elde edilen doğal ya da semisentetik antibiyotiklerdir (Aygün, 2010). Aminoglikozidler oldukça güçlü ve geniş spektrumlu antibiyotiklerdir. Aminoglikozid kullanımı 1944 yılında Streptomisin ile başlamıştır. Schatz ve ark. tarafından *Streptomyces griseus*'tan streptomisin izole edilmiş ve *Mycobacterium tuberculosis* üzerine bakterisid etkisi gösterilmiştir. Bunu Kanamisin (1957), Gentamisin (1963) ve Tobramisinin (1967) seri şekilde gram negatif infeksiyonların

tedavisinde kullanıma girmesi izlemiştir. 1970'li yıllara gelindiğinde semisentetik aminoglikozidler olan Dibekasin, Amikasin ve Netilmisin dirençli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (Zeren, 2010).

Aminoglikozidler daha yeni ve daha az toksik antibakteriyal ajanların rekabetine karşın bugün hala tek başına veya kombine edilerek aerop Gram-negatif basillerin etken olduğu ağır enfeksiyonlarda ve betalaktamlarla birlikte stafilokok ve enterokok gibi Gram-pozitif bakterilerin etken olduğu önemli birçok enfeksiyonun tedavisinde yaygın olarak kullanılan ilaçlardır (Aygün, 2010).

Suda çok çözülürken, organik çözücülerde çözünmezler; çok az lipofiliktir, bundan dolayı yağ içeren zarlardan sınırlı geçişleri vardır. Moleküler ağırlıkları dört yüz kırk beş ve altı yüz dalton arası değişir. Moleküler yapıları, dondurulmaya, 4 saat boyunca 100°C de ısıtılmaya dayanıklıdır. Fizyolojik pH olan 7,4'de katyonik olup oldukça yüksek pozitif yükü vardır. Bu aynı zamanda antimikrobiyal aktivite ve toksisitesi ile de yakından ilişkilidir. Antimikrobiyal aktivite alkalik pH'da artarken, asidik pH'da azalır. Aminoglikozidler ve beta laktamlar kimyasal olarak birbirlerine aktif olup, nükleofilik açılma sonucunda birbirlerini etkisiz hale getirirler (Başhan, 2009).

Aminoglikozidler kimyasal yapılarına göre beş aileye ayrılır (Başhan, 2009).

1. Streptomisin ailesi; streptomisin
2. Kanamisin ailesi; kanamisin A, kanamisin B, amikasin, tobramisin, dibekasin
3. Gentamisin ailesi; gentamisin C1, gentamisin C1a, gentamisin, C2, sisomisin, nedimisin, isepamisin
4. Neomisin ailesi; neomisin, paromomisin
5. Spektinomisin ailesi; spektinomisin

2.5.1. Gentamisin

GM, *Micromonospora purpurea*'dan elde edilen aminoglikozid bir antibiyotiktir. Gerçekte yapıca birbirine çok benzeyen üç GM türünün (GM C1, C1a ve C2) karışımından ibarettir. Aminoglikozid ilaçlar içinde, amikasinden sonra spektrumu en geniş ve antibakteriyel etki gücü en yüksek olanıdır (Gören, 2011).

İlk olarak 1940'lı yıllarda keşfedildikten sonra bakteriyel enfeksiyonlar özellikle de tüberkülozun tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Gelişmekte olan ülkelerde, tüberkülozun prevalansının yüksek olduğu ülkelerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Schacht, 1993). Özellikle Enterobacteriaceae grubu (*E.coli*, *Klebsiella*, *Aerobacter* vb.) bakteriler ile

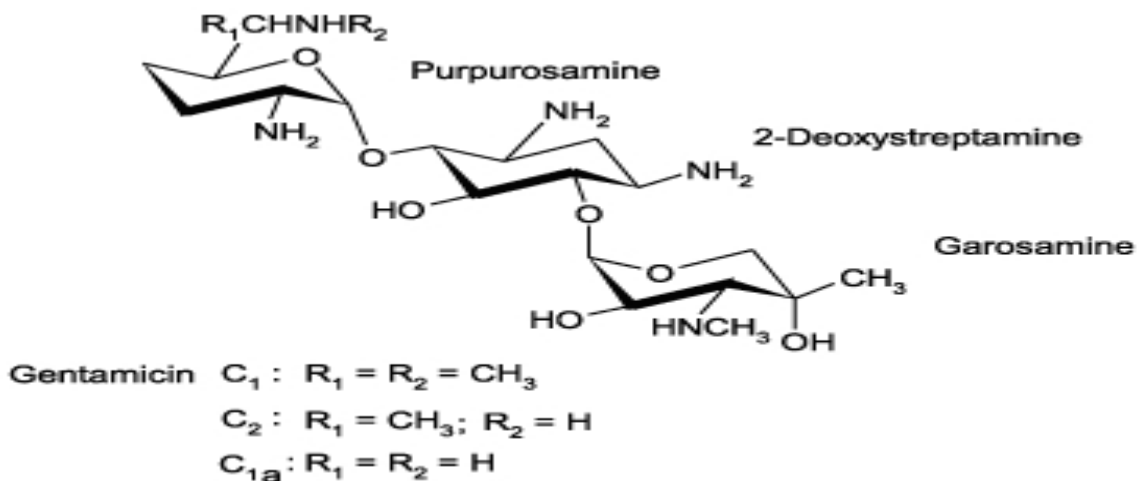
Pseudomonas aeruginosa gibi gram- negatif basiller ve penisiline ve metisiline dayanıklı *Staphylococcus aureus* suşları üzerinde etkilidir (Bedirhan, 2005).

Kanda yaklaşık %10 oranında eritrositlere bağlandığı için anemik hastalarda serbest gentamisin konsantrasyonu yükselir. Böbrekler, kaslar, akciğerler ve karaciğerde toplanır, plasentayı geçer ve anne kanındaki konsantrasyonunun yarısı fetüs kanında bulunur. Değişikliğe uğramadan böbrekler yolu ile atılır ve idrarda serumdakinden 10-100 kez daha yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Parenteral ve lokal uygulanabilir (Zeren, 2010).

Günümüzde aminoglikozidlerin klinik kullanımı antibiyogram testlerine dayandırılmaktadır. Önemli toksik potansiyele sahip olduklarından ve bakterilerde kısa surede direnç oluştuğundan aminoglikozid uygulaması dikkatle yapılmalıdır (Zeren, 2010).

Gentamisin mutad olarak 1-2 mg/kg dozunda 8 saatte bir (günde 3 kez) kullanılır. İdrar yolu infeksiyonlarında daha ufak dozlarda (0.3-1mg/kg) etkili olabilir. Lokal uygulamaya özgü %0.3'lük oftalmik solüsyonu veya merhemi ve %0.1'lik cilt merhemi veya kremi vardır. Toksisitesinin fazlalığı ve terapötik indeksinin düşük olması nedeniyle böbrek yetmezliği olan hastalarda dozunun ayarlanması ve mümkünse serumdaki düzeyinin izlenmesi gerekir (Başhan, 2009).

Kimyasal yapıları yönünden ortak özellikleri, moleküllerinin, bir heksoz (aminosiklitol) kısmına bağlı aminoşekerlerden oluşmasıdır. GM'nin kimyasal yapısı Şekil 2.6' da gösterilmiştir (Dökmeci, 2000).



Şekil 2.6: Gentamisinin kimyasal yapısı (Aydın, 2006).

2.5.2. Yan etkileri

Aminoglikozidlerin nefrotoksik, ototoksik ve nörotoksik olmak üzere üç önemli ortak toksik etkileri vardır. Bunlar doz-bağımlı toksik etkilerdir (Kayaalp, 2009).

1-Nefrotoksik etki: Nefrotoksisite en önemli yan etkileridir. Farklı hasta gruplarında farklı olmak üzere %5-15 arasında görülür. Tedavinin başlangıcından 2-5 gün sonra geliştiği düşünülmektedir. Serum kreatinin düzeyinde 0.4-0.5 mg/dl'lik artış anlamlı olarak tanımlanmış ve nefrotoksisite olarak yorumlanmıştır (glomerüler filtratın azalması, konsantrasyon yeteneğinde azalma, serum kreatinin ve kan üre azotunda artış) (Lode, 1988). Son yapılan çalışmalarda aminoglikozidlerin ve gentamisin yüksek dozda ve uzun süre kullanılmasının, böbrek tübül epitelinde arjinin vazopressin hormonu cevabını bozduğu saptanmıştır. Ayrıca aquaporin içeren su kanallarını da azalttığı bildirilmiştir (Zeren & Özçelik, 2011).

2-Ototoksik etki: Ucuz ve etkili olmaları nedeni ile dünyada yaygın olarak kullanılmalarıyla mevcut olan aminoglikozitler bu ajanlar içerisinde ototoksisite açısından önemli bir orana sahiptir (Rizzi & Hirose, 2007). Günümüzde ilk aminoglikozid olan streptomisin üretilmesinden kısa bir süre sonra ototoksik ve vestibülotoksik olduğu anlaşılmıştır. Aminoglikozidlerin kokleotoksik ve vestibulotoksik özellikleri değişkendir. Streptomisin ve gentamisin esas olarak vestibülotoksik iken, amikasin, neomisin, dihidrostreptomisin ve kanamisin ise kokleotoksiktir (Akyürek, 2009). Vestibülotoksik etki fizyolojik olarak kompensasyona uğrarken, kokleotoksik etki ise koklear tüylü hücrelerde rejenerasyon olamadığından dolayı kalıcı işitme kaybı olarak görülür (Segal & Skolnick, 1998; Meyers, 1970).

Ototoksik tesirlerin önemli bir niteliği, ilaca maruz kalma uzarsa geri dönüşümsüz olmasıdır. İşitmedeki azalma başlangıçta, özellikle yüksek frekanslı seslerde olur ve bu nedenle konuşmanın işitilmesi başlangıçta bozulmaz. Hastanın odiyogram yapmak suretiyle izlenmesi böyle bir etkinin başladığını erken olarak ortaya koyabilir. Önce 8 kilohertz frekansın üzerindeki sesin işitilmesi bozulur. İlaç verilmeye devam edilirse konuşma sırasında çıkan daha düşük frekans aralığındaki sesin işitilmesi de bozulur. İşitme bozukluğu yanında kulak çınlaması ve kulakta dolgunluk duyumsaması olabilir. Denge organının bozulması sonucu bulantı, kusma, bas dönmesi, ayağa kalkıldığında denge kaybı ve nistagmus oluşur; bozukluk ileri derecede ise ataksi ve Meniere - benzeri bir klinik durum ortaya çıkar. Dengedeki bozulma görme ile kompanse edildiğinden ayakta iken gözleri kapama denge kaybı yapar (Pozitif Romberg işareti) (Bedirhan, 2005).

Aminoglikozit ototoksitesini engelleme, genel ototoksik ajanlardan korunma prensiplerinin yanı sıra mekanizmada meydana gelen olay ve mediatörler üzerinden etkili bir takım yöntemleri de içermektedir. Genel yöntemler arasında daha az toksik olan bir alternatif var ise bu ilacın kullanılması, aminoglikozit verilmesi durumunda tedavinin mümkün olan en erken aşamada sonlandırılması, aynı zamanda işitme ve vestibüler fonksiyonlarının monitörize edilmesi sayılabilir. Burada özellikle yüksek frekans odyometri değerlidir. Mekanizma üzerine etkili yöntemler ise daha çok demir şelasyonu ve serbest radikaller üzerinden çalışmaktadır (Aynalı, 2009).

3-Nörotoksik etki: Aminoglikozitler yüksek dozda, çizgili kaslarda kürar-benzeri zayıf nöromusküler blok yaparlar. Motor sinir ucundan asetilkolin saliverilmesininin azaltılmasına ve kavak sonrası membranda asetilkoline duyarlılığın düşürülmesine bağlıdır. Intravenöz yoldan hızlı enjeksiyonla aminoglikozit uygulanması halinde, belirgin bir kas felci olabilir. Hipokalsemi, hipokalmi ve myasthenia gravis gibi durumlarda hastalar söz konusu etkiye daha fazla duyarlıdır (Bedirhan, 2005).

2.5.3. Testise yan etkileri

Birkaç çalışma GS'nin üreme sistemi üzerine etkisini göstermiştir. İlk başlarda GS'nin kan testis bariyerinden çok az geçmesinden dolayı testiste birikmediği rapor edilmiştir. Buna rağmen sonraki çalışmalarda tersine testiste germ hücrelerinde hücre bölünmesini ve protein sentezini engellediği ve seminal vezikülde hücre ölümünü indüklediği rapor edilmiştir. Ayrıca GS'nin üreme organında fosfotaz aktivitesini inhibe ettiği bilinmekte ve sperm sayısını, askorbik asit, steroidogenik enzimler ve kolestrol seviyesini azaltmış olduğu görülmüştür (Naryana, 2008).

2.5.4. Oksidatif stres ve serbest oksijen radikalleri

Serbest radikaller; yörüngelerinde bir veya daha fazla sayıda eşleşmemiş elektronun olduğu atom veya atom gruplarıdır (Coşkun vd., 2005). Bu eşleşmemiş elektron nedeni ile serbest radikal molekülü kararsız konumdadır ve kararlı yapı kazanabilmesi için elektronunu başka bir elektronla eşleştirmesi gerekir. Bu nedenle serbest radikalın kimyasal aktivite potansiyeli yüksektir (Suru, 2008; Serarslan, Altuğ, Kantaş, Atik & Avcı, 2007). Bu oksidan ürünlerin arttığı durumlarda hedef moleküller olan membran yapısındaki fosfolipidler, glikolipidler, membran proteinleri ve doymamış yağ asitleri oksidatif strese maruz kalırlar (Maher & Schubert, 2000).

Oksidatif stres basit bir şekilde, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizlik olarak tanımlanabilir. Oksidatif stres, toksisitenin olası bir mekanizması olarak son on yıldır toksikolojik

araştırmaların odağı haline gelmiştir. Serbest radikaller hidroksil, süperoksit, nitrik oksit ve lipid peroksit radikalleri gibi değişik kimyasal yapılara sahiptir (Mercan, 2004).

Serbest radikaller, hücrelerde endojen ve ekzojen kaynaklı etmenlere bağlı olarak oluşurlar. Ekzojen kaynaklı etmenler arasında parakuat, alloksan gibi kimyasalların etkisi altında kalma, karbon tetraklorür, parasetamol gibi ilaç toksikasyonları, iyonize ve ultraviyole radyasyon, hava kirliliği yapan fitokimyasal maddeler, sigara dumanı, solventler gibi çevresel faktörler, nitrofurantoin, bleomisin, doksorubisin ve adriamisin gibi antineoplastik ajanlar, alkol ve uyusturucular gibi aliskanlık yapıcı maddeler bulunması nedeniyle serbest radikaller toksikolojik açıdan da önemlidir (Mercan, 2004).

Birçok çalışmada gentamisinin serbest radikal oluşumu ve lipid peroksidasyonunu arttırarak testiste oksidatif strese neden olduğu gösterilmiştir. Bu biyokimyasal değişiklikler testiste yapısal ve sitotoksik değişiklik olarak ortaya çıkmaktadır (Zahedi, Fathiazad, Khaki & Ahmadnejad, 2012). Günümüzde, gentamisinin ciddi ototoksik olduğu bilinmektedir ve bunun oksidatif strese bağlı olduğu düşünölmektedir (Khaki vd., 2009).

Serbest radikal hasarını önlemek için, vücut doğal antioksidan savunma sistemine sahiptir. Antioksidanlar, güvenli bir şekilde serbest radikallerle reaksiyona giren, hayati moleküller hasara uğramadan önce zincir reaksiyonunu sonlandıran moleküllerdir. Her ne kadar vücutta serbest radikallerden koruyucu çeşitli enzimler varsa da; temel antioksidan vitaminler; E vitamini, Beta karoten ve C vitaminidir. Ek olarak, selenyum vücutun antioksidan enzim sistemlerinin uygun fonksiyon görmesi için gerekli bir eser elementtir. Vücut bu vitaminleri üretmez, o yüzden bunların besinle alınması gerekir (Mesci, 2011).

2.5.5. Lipit peroksidasyonu

Lipit peroksidasyonu, vücutta oluşan serbest radikallerin etkisi sonucu membran yapısında bulunan doymamış yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu uzaklaştırılması ile başlar. Bunun sonucunda, yağ asiti zinciri bir lipit radikali niteliği kazanır. Oluşan bu lipit radikallerinin moleküler oksijenle etkileşimiyle lipit peroksil radikali meydana gelir. Lipit peroksil radikalleri, membran yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerini etkileyerek yeni lipit radikallerinin oluşumuna yol açarlar. Kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlere dönüşürler ve böylece olay kendi kendine katalizlenerek devam eder. Lipit peroksidasyonunun en önemli ürünü malondialdehittir (Ertekin, Karaca, Akkan, Cemek & Ormancı, 2003). Bu reaksiyonlar, hücre membranındaki lipidlerin yapısını bozar, iyonlara karşı geçirkenlik artar ve hücre ölüümü olur (Mihmanlı vd., 2003).

Gentamisin testiste hücre bölünmesi ve protein sentezini engeller ve seminal vezikülde hücre ölümüne neden olur. Gentamisinin sperm sayısı, hareketliliği ve canlılığını azalttığı bilinmektedir. Gentamisin, serbest radikal oluşumunu ve lipid peroksidasyonunu artırarak ve antioksidan enzim düzeylerini azaltarak bu değişiklikleri indükler (Akondi, Akula & Challa, 2011).

Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonlarını engelleyerek veya serbest radikalleri toplayarak lipid peroksidasyonunu ve hücre zararını engellerler. Başlıca endojen antioksidanlar olarak süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSPx), katalaz (CAT), b-karotin, retinol, a-tokoferol, askorbik asit, glutatyon ve serüloplazmin sayılabilir (Ertekin vd., 2003).

Antioksidan maddelerden C vitamininin, süperoksit ve hidroksil radikali ile reaksiyona girip bu radikalleri temizleyerek etkilerini gösterdikleri bildirilmektedir (Erenel, Erbaş & Arıcıoğlu, 1992).

2.6. C Vitamini (Askorbik Asit)

2.6.1. Genel özellikleri

C vitamini (Askorbik asit= AA), insanlar, insan dışı primatlar ve kobaylar hariç birçok memeli türlerinin karaciğerinde glikozdan sentezlenen 6 karbonlu bir laktondur (Şekil 2.7). Bu türler, 2 keto-gulonolakton öncüsü askorbik asitin sentezi için gerekli olan gulonolakton enzimine sahip değildir. Gulonolakton oksidaz için DNA şifrenmesi, bir işlevsel enzimin yokluğuyla sonuçlanan önemli bir mutasyona uğrarlar (Okan, 2010). Dolayısı ile, insanlar yiyeceklerinde vitamin C almadıkları zaman çeşitli klinik belirtiler ile bir yetersizlik durumu ortaya çıkmaktadır. Vitamin C yetersizliğinin klinik belirtilerinden biri olan skorbüt tedavi edilmezse ölümcül bir durumdur (Descombes, Hanck & Fellay, 1993).

C vitamini güçlü indirgeyici etkisi ile ideal bir antioksidandır (Jialal & Fuller, 1993). C vitamini kollagen senteziyle kan damarının yapısının korunmasını sağlamaktadır; vücuda alınan C vitamini enfeksiyonlara ve bakteri toksinlerine karşı koruma sağlar (Hughes, 1982).

Memeli testisleri, spermatogonyal hücrelerin normal farklılaşması için C vitamini içerirler ve ROS'un zararına karşı koruma sağlarlar. Ayrıca, C vitamini testis farklılaşması, bütünlüğü ve steriodogenik fonksiyonları için gerekli olan bir antioksidandır (Hughes, 1982).

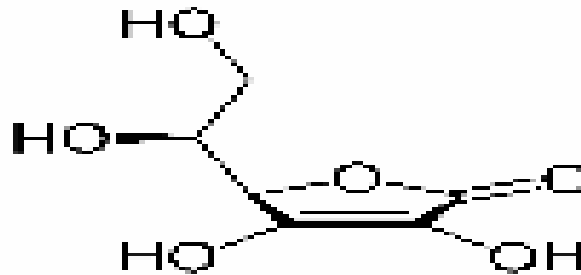
2.6.2. Kimyası

Beyaz kristal yapılı katı seklinde olan askorbik asit, suda kolay çözünür. Geri dönüşümlü şekilde yükseltgenerek askorban adı ile bilinen dehidroaskorbik asidi oluşturur. Birbirine dönüşebilen bu iki form, insanda biyolojik olarak eşit aktivite gösterir. Ancak dehidro şekli, indirgenmiş şeklinden daha dayanıklıdır. Bitkiler ve hayvanların birçoğu, D-glukoza kullanarak D-glukuronik asit ve L-gulonik asit üzerinden bu vitamini sentezler. Ancak insanlarda ve kobra, kuş ve balık gibi hayvanlarda L-gulonolaktone oksidaz enziminin olmamasından dolayı C vitamini sentezlenemez (Savran, 2011).

Dokularda bir enzimin katalitik aracılığı olmadan bile kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenir. Dehidro şekline dönüşmesi molekül başına iki hidrojen atomunun serbest kalmasına neden olur. Bu özelliği nedeniyle askorbik asit indirgeyici nitelik gösterir. Dehidro askorbik asit ortamda iki H⁺ almak suretiyle kolaylıkla askorbik aside indirgenir. Bu kimyasal özelliklerinden dolayı askorbik asit ve dehidroaskorbik asit vücut sıvılarında denge halinde bulunurlar, birbirlerine kolayca dönüşürler ve böylece redoks niteliği gösterirler. İki şekilde aynı derecede fizyolojik etkinlik gösterir (Şekil 2.7) (Uyanık, 2010).

İnsanda, L-gulonik asit askorbik aside dönüşemediğinden sentezi yapılmaz, ancak diyetle alınır. Ağız yolu ile alınan askorbik asit ince bağırsaklardan emilerek, doku ve plazmada askorbata dönüşür. Fazlası ise idrarla atılır (Fernandes vd., 2011).

Lipid peroksidasyon başlatıcı radikalleri yok ederek membranları oksidan hasarına karşı korur. Bazı çalışmalar, radyasyon hasarında ortaya çıkan serbest radikalleri bağlayarak, koruyucu etki yaptığını göstermiştir (Nam, Cho & Kim, 1998).



Şekil 2.7: Vitamin C (askorbik asit) (Uyanık, 2010).

2.6.3. C Vitamini kaynakları

C vitamininin önemli kaynakları arasında, domates, patates (özellikle kabukları), turunçgiller, ekşi ve kabuksuz meyveler, yeşil biber, çiğ lahana, kavun, karpuz ve yeşil yapraklı sebzelerde bulunur. İnsan sütü de C vitamini içerir (Savran, 2011). Bağırsaklardan aktif transport ile kolayca emilir. Emilimi alınan doz arttıkça kısmen azalır (Descombes vd., 1993).

Kan damarları, tendonlar, ligamentler ve kemiğin önemli bir yapısal bileşeni olan kollajenin sentezi için C vitamini gereklidir. C vitamini aynı zamanda nörotransmitter ve norepinefrinin sentezinde de önemli bir rol oynar. Nörotransmitterler beyin fonksiyonu için kritiktir ve ruh durumuna etki ettiği bilinmektedir (Carr & Frei, 1999). C vitamini deride sağlıklı kollojenin devamlılığının sağlanmasında, hasarlanmış doku onarımında, sağlıklı diş ve kemik devamlılığının korunması ve immün sistemin güçlenmesinde görev alır (Mesci, 2011).

Askorbik asitin antioksidan olarak esas görevi lipid hidroperoksitlerin oluşumunu engellemektir. Vitamin C insan plazmasında lipid peroksidasyonunun en güçlü inhibitörüdür ve süperoksit hidroksil radikali gibi çeşitli ROS'ların etkili temizleyicisidir (Mutlu,2011). C vitamini ayrıca lipid peroksidasyonunu önleyen antioksidan bir molekül olan karnitinin biyosentezini olumlu yönde etkiler (Rebouche, 1991).

Askorbik asidin vücutta bazı biyokimyasal işlevleri vardır. Askorbik asidin işlevleri olduğu düşünülen bazı reaksiyonlar aşağıda sıralanmıştır (Akbiyık, 2009).

- Hidrojen / elektron transferi – redoks sistemi olarak
- Kollajen sentezinde pirolin ve lizinin hidroksilasyonu
- Karnitin biyosentezi
- L-tirosin ve katekolamin oluşumu metabolizması
- İmmünolojik ve antibakteriyel aktivite
- Demir metabolizması, özellikle demir absorpsiyonu
- Prostaglandin sentezinin modifikasyonu
- Histamin birikiminin önlenmesi
- Serbest radikal zararına karşı koruma

2.6.4. C Vitamini'nin eksikliği

C vitamini'nin yetersizliği ile idrar ve kandaki C vitamini miktarı azalmaktadır. Bu durumda askorbik asit eksikliğine bağlı klinik belirtiler görülmeye başlamaktadır. Klinik belirtilerin hafif şekilleri yorgunluk, iştah azalması, yaraların iyileşmesindeki gecikme ve isteksizliktir. Yetersizlik

arttıkça, büyümede duraklama, anemi, enfeksiyonlara karşı direncin azalması, burun kanamaları, ağız içi yaralar, diş etlerinin şişmesi ve kanaması, diş kaybı, eklemlerde şişmeler, ateş, kanamalar ve kemiklerde kırılmalarla belirlenen skorbüt hastalığı görülmektedir. Çocuklarda büyümenin yavaşlaması, enfeksiyonlara karşı vücut direncinin azalması, enfeksiyon hastalıkları, yaşlılarda ciddi damar problemleri, yüksek tansiyon, eklem iltihabı, ülser, damar sorunları, allerji ve safra kesesi taşları gibi bir çok sağlık sorununun C vitamini ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Carpenter, 1986).

2.6.5. C Vitamini'nin fazla alınması

C Vitamini, güvenle kullanılabilen bir maddedir. Fazla miktarda C vitamini alımı (günde yaklaşık 1000 mg` dan fazla) bulantı, ishal, karın krampları ve böbrek taşlarına neden olabilir. Böbrek hastalarının, C Vitamini kullanmaması gereklidir (Massey, Liebman & Kynast-Gales, 2005).

2.6.6. C Vitamini'nin emilimi, taşınması ve metabolizması

C vitamininin emilimi, bir kısmının dehidro sekline çevrildiği midede hızla gerçekleşir. Fizyolojik pH değerlerinde yüksüz dehidroaskorbik asit hücre membranını, monoanyonik L- askorbata göre daha hızlı geçer. Bazı hücrelere, özellikle lökosit ve eritrositlere, C vitamini büyük oranda pasif difüzyon ile alınır. Bunun yanı sıra trombositlere, adrenaller ve retinaya C vitamini alınmasında aktif transport kullanılır. Hücrelere serbest olarak diffüze olan dehidroaskorbik asit, hücre içinde indirgenerek daha az difüzyona uğrayan askorbat iyonuna çevrilir. Lökositlerde plazmaya göre daha yüksek konsantrasyonda askorbat bulunması bu şekilde açıklanır. Birçok dokuda bulunan C vitaminin, hipofiz, adrenal korteks, korpus luteum ve timus gibi salgı bezlerindeki miktarı çok daha yüksektir ve retinada, plazma konsantrasyonunun 20- 30 katı kadar C vitamini bulunur. İnsanlarda C vitaminin ortalama yarı ömrü 16 gün kadardır. Askorbat ve dehidroaskorbik asit bulunmasına ek olarak katabolitler daha az miktarlarda idrarla atılır (Savran, 2011).

2.6.7. C Vitamini'nin antioksidan özelliği

Son dönemlerde C vitaminin antioksidan özelliği daha ön plana çıkmış ve oksidatif hasara karşı koruyucu etkileri üzerine yapılan çalışmalar ağırlık kazanmıştır (Kaida, Ohta, Imai & Kawanishi, 2010).

C vitamini , hidrofildir ve ekstrasellüler sıvıdaki en önemli serbest radikal temizleyicisidir. C vitamini, bu görevini biyosentetik veya antioksidan reaksiyonlarda elektron kaybederek kısa yarı ömre sahip askorbil radikali ve dehidro askorbik aside (DHA) okside olarak gerçekleştirir (Wilson, 2002). İndirgeyici ve antioksidan bir ajan olarak

askorbik asit çeşitli lipid hidroperoksitlerle direk olarak reaksiyona girerek, hücre membran komponentlerini oksidatif hasardan korumaktadır (Frei, Stocker & Ames, 1988).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın yazımı sırasında kullandığımız biyolojik ve tıp terimlerinin yazımı ve Türkçeleştirilmesinde Histoloji ve Embriyoloji Terimleri Sözlüğü kullanılmıştır.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, 4 aylık 250-300 g ağırlığında toplam 28 adet erişkin erkek Spraque-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda anabilim dalımız hayvan odasında, uygun kafesler içinde barındırılarak serbestçe beslenmeleri ve su içmeleri sağlandı. Çalışmamızda yapılan tüm işlemler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 27.03.2013 tarihli ve 331 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Deney hayvanları, her bir grupta 7 deney hayvanı olacak şekilde Kontrol, Gentamisin, C vitamini ve Gentamisin + C vitamini grubu olarak 4 gruba ayrıldı.

1) Kontrol Grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, 14 gün boyunca günde 1 kez sıçanların vücut ağırlıklarına göre hacmi hesaplanarak belirlenen dozda distile su i.p olarak verilmiştir.

2) Gentamisin Grubu: Bu gruba 14 gün boyunca 5 mg/kg gentamisin intraperitoneal yolla uygulanmıştır (Khaki vd., 2008; Khaki vd., 2009).

3) C vitamini: Bu gruba 14 gün boyunca tek doz 200 mg/kg C vitamini intraperitoneal yolla uygulanmıştır (Ural, Özgüner, Şenal, Sütçü & Delibaş, 2005).

4) Gentamisin + C vitamini: Bu guruba 14 gün boyunca her gün tek doz 5 mg/kg gentamisin ve 14 gün boyunca her gün tek doz 200 mg/kg C vitamini intraperitoneal yolla uygulanmıştır (Khaki vd., 2009; Khaki vd., 2008; Ural vd., 2005).

3.2. Kimyasallar

Gentamisin olarak, İ.E. Ulugay firmasının Genta 40 mg 1 ampul adlı ürünü kullanıldı. C vitamini olarak riedel-de haen firmasına ait 25 mg L(+)-Ascorbic acid puriss adlı ürünü kullanıldı.

3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Deney başından itibaren hayvanların vücut ağırlıkları uygulanacak madde dozlarını belirlemek üzere günlük olarak tartıldı. Deney sonunda ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

3.4. Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması

Dokuların tespitinde kullanılacak Bouin çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı;

Doymuş pikrik asit çözeltisi	75 ml
Formaldehit (% 40)	25 ml
Glasiyal asetik asit	5 ml

Molekül ağırlığı kadar tartılan pikrik asit (12,2 g) 1000 ml saf su içerisinde çözüldü. İyiye çözdürülmesine dikkat edilerek gerekli miktarda pikrik asit kullanıldı.

Çözelti kullanılmadan önce süzüldü. Bouin çözeltisini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi ile formaldehit, daha sonra üzerine yavaşça glasiyal asetik asit ilave edilerek karıştırıldı (Bancroft & Stevens, 1977).

3.5. Dokuların Alınması

Hayvanlar 14. günün sonunda vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedildikten sonra ketamin (Ketalar 90 mg/kg) + ksilazin (Alfazyne 10 mg/kg) i.p. verilerek anestezi edildi ve servikal dislokasyon ile öldürüldü. Hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı (Moore, 2002).

3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü

Çevre dokularından iyice temizlenen testislerin her biri Ohaus (Adventurer Pro AV264C) marka hassas terazi ile tartıldı. Testis ağırlıkları her sıçan için ayrı ayrı sağ ve sol olmak üzere tartılarak kayıt edildikten sonra, sol testisler Bouin çözeltisine alındı (Russell, Etlin, Hikim & Clegg, 1990; Sahintürk, Guclu & Baycu, 2007). Sağ testisler ise %10'luk formaldehit içerisine alındı.

3.7. Testis Ağırlık İndeksi Hesaplaması

Deneyin son günü ölçülen vücut ağırlığı ile aynı hayvana ait sağ ve sol testis ağırlığı toplamı aşağıdaki formüle göre hesaplanarak her bir hayvan için TA değerleri belirlendi (Şahintürk vd., 2007);

TA : [(sağ+sol testis ağırlıkları toplamı)/vücut ağırlığı] × 100

3.8. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Çıkarılmış testislerin üzerine Bouin çözeltisi, sağ testislerin üzerine ise %10'luk formaldehit döküldükten sonra testislerin uzun eksenlerine dik olacak şekilde enjektör ucu ile testislerin kapsüllerine karşılıklı birkaç delik açıldı. Fiksatif içerisindeki testis dokuları sertleştikten sonra testisler enine olacak şekilde önce ortadan iki eşit parçaya ve daha sonra bu parçalar da yeniden ikiye bölünerek kasetlere alındı. Dokular fiksatiflerin içerisinde toplam 48 saat bekletildi ve daha sonra rutin doku takibi işlemi uygulanarak her hayvana ait parafin bloklar hazırlandı. Her testisten 2 blok elde edildi. (Bancroft & Stevens, 1977, Russell vd., 1990)

Parafin bloklar hazırlamak için kullanılan doku takip yönteminin basamakları aşağıda gösterilmiştir (Tablo 3.1).

Doku takip yöntemine ait süreler (her basamağa ait zaman birimi aksi belirtilmediği durumda saat olarak anlaşılmalıdır).

Tablo 3.1: Doku takip yöntemine ait süreler (saat)

Kimyasal	Uygulama Süresi
Bouin Çözeltisi	48
%70 Alkol	1
%80 Alkol	1
%90 Alkol	1
%96 Alkol I	1
%96 Alkol II	1
%100 Alkol	30 dk
Ksilol I	10 dk
Ksilol II	10 dk
%50 Parafin - %50 Ksilol	30 dk
Parafin I	45
Parafin II	1
Parafin III	1
Bloklama	

3.9. Boyaların Hazırlanması

3.9.1. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) boyasının hazırlanışı

Kesitlerin boyanmasında kullanılacak boya çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı (Bancroft & Stevens, 1977).

A- Periyodik asit 1 g
Distile su 200 ml

B- Schiff çözeltisi *
Bazik fuksin 1 g
Distile su 200 ml

C- Potasyum Metabisülfid ($K_2S_2O_5$) 2 g

D- Hidroklorik asit (HCl) 2 ml

E- Aktif kömür 2 g

(*Schiff çözeltisi boyama yapılmadan 1 gün önce hazırlanmıştır.)

Periyodik asit saf suda çözdürüldü ve kaynatıldı. Kaynatılan çözeltiliye bazik fuksin eklenerek karıştırıldı ve 50°C'ye kadar soğutuldu. Daha sonra 2 g potasyum metabisülfid eklenerek karıştırıldı. Oda sıcaklığına geldiğinde 2 ml hidroklorik asit eklenerek karıştırıldı, sonra 2 g aktif kömür eklenip yeniden karıştırıldıktan sonra karanlık ortamda oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü (Russell vd., 1990; Masuzawa vd., 2003).

3.11. Kesitlerin Alınması ve Boyanması

Her bloktan 60 µm trim aralığı ile 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Her lam üzerinde 2 kesit olacak şekilde ve kesitin alınma sırasına göre lamlar numaralandı. Her bloktan alınan 3 µm kalınlığındaki seri kesitlerden oluşan 2 adet lam (64 kesit) mikroskobik inceleme için PAS+H boyası ve H-E ile boyandı (Masuzawa vd., 2003).

Boyama yönteminin basamakları ve uygulama süreleri aşağıda Tablo2 ve Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2: PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri:

Kimyasal madde	Uygula süresi (dk)
Ksilol I	20
Ksilol II	20
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	3
%90 Alkol	3
%80 Alkol	3
%70 Alkol	3
Saf su	1
Periyodik asit	5
Saf Su	2
Schiff çözeltisi	15
Çeşme suyu	2
Hematoksilen	15
Çeşme suyu	2
%70 Alkol	2
%80 Alkol	2
%90 Alkol	2
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	2
Ksilol I	5
Ksilol II	5
Lamların kapatılması	

Tablo 3.3: Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri

Kimyasal madde	Uygulama süresi (dk)
Ksilol I	15
Ksilol II	15
%96 Alkol I	5
%96 Alkol II	5
%90 Alkol	5
%80 Alkol	5
%70 Alkol	5
Distile Su	5
Hematoksilen	1
Çeşme suyunda yıkama	Suyun rengi şeffaf olana kadar
Eozin	5
%70 Alkol	2
%80 Alkol	2
%90 Alkol	2
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	2
Ksilol I	5
Ksilol II	5
Lamların kapatılması	

3.12. Histolojik Değerlendirme

PAS+H ve H-E yöntemi ile boyanan kesitler histolojik değerlendirme için DP 70 dijital kamera ile donatılmış Olympus BX51 ışık mikroskobunda (Olympus Corp. Tokyo, Japonya) incelenerek grupları temsil eden görüntüler elde edildi.

Kesitler incelenirken, interstisyel alanlar ve seminifer tübüller ayrı ayrı olarak değerlendirildi. Hazırlanan preparatlarda, bazal membran, spermatogenik seri hücreler, Sertoli hücreleri, Leydig hücreleri, bağ dokusunda yer alan hücre, lif, damar yapısı ve damarlardaki kanlanma ve ödem bu mikroskopta incelenerek grupları temsil eden görüntüler elde edildi. Elde edilen histolojik bulgular, istatistiksel bulgular ile karşılaştırıldı.

4.BULGULAR

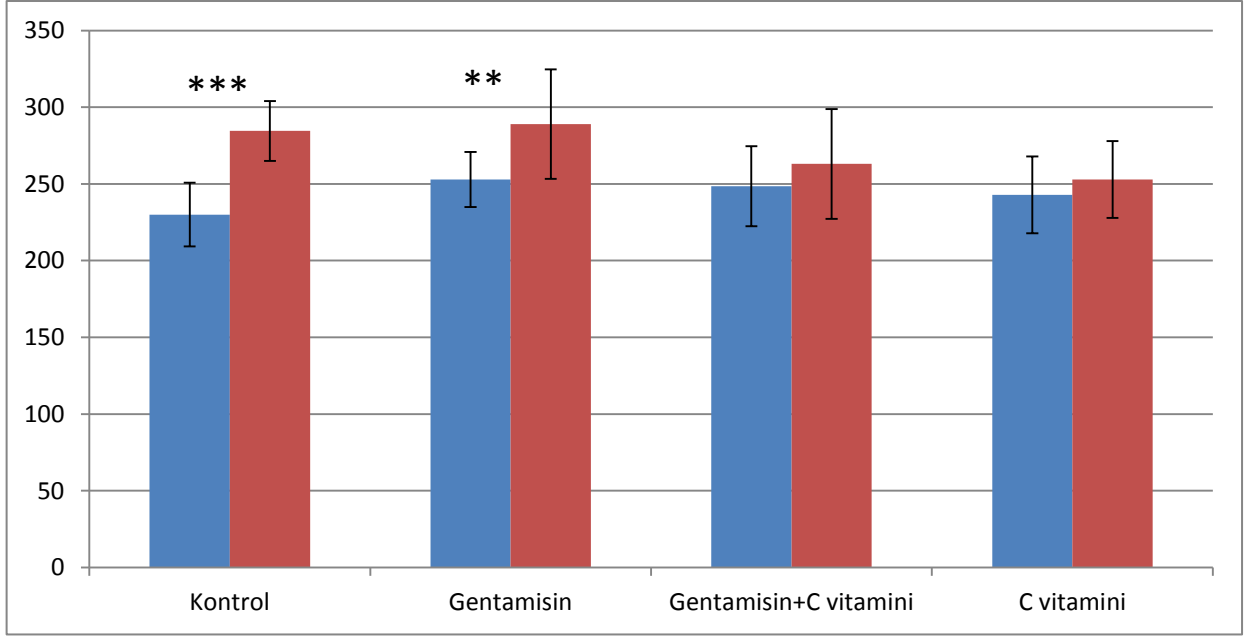
4.1. İstatistiksel Bulgular

İstatistiksel analizlerde IBM SPSS 21 paket programı ve Mini Tab 16 paket programı kullanılmıştır. Sürekli değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uygun olup olmadığı Shapiro-Wilk testiyle araştırılmıştır. Grupların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi ile iki yönlü varyans analizi (tek faktör tekrarlı) analizler uygulanmıştır.

İlk ağırlık, son ağırlık, sağ testis, sol testis ve TAİ skorları açısından dört grupta normal dağılım gösterdiği için gruplar arası farklılıkların karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Tek yönlü varyans analizi sonucuna göre sağ testis, sol testis, toplam testis ve TAİ skoru açısından dört grup arasında anlamlı bir farklılık görülmemiştir ($P>0,05$).

4.1.1. Vücut ağırlıkları analizi

Vücut ağırlıkları düzeyleri iki yönlü tekrarlı ölçümler (tek faktör tekrarlı) varyans analizi ile karşılaştırıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Tukey eş zamanlı testi kullanıldı. Grup ve işlemler aynı zamanda göz önünde bulundurularak karşılaştırma yapıldığında anlamlı farklılıklar gözlenmiştir ($P< 0,05$).



Şekil 4.8: Sıçanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları

(Mavi çubukla gösterilen ilk vücut ağırlığı, kırmızı çubukla gösterilen son vücut ağırlığını belirtmektedir.) (* $p < 0,05$ ** $p < 0,01$ *** $p < 0,001$)

Kontrol grubunda deney sonrası vücut ağırlığının deney öncesi vücut ağırlığından yüksek olduğu belirlenmiştir. İstatistiksel olarak önemli düzeyde fark saptanmıştır ($p < 0,001$). GM uygulanan grupta deney sonrası vücut ağırlığının deney öncesi vücut ağırlığından yüksek olduğu saptanmıştır. İstatistiksel olarak önemli düzeyde fark saptanmıştır ($p < 0,01$). GM+C Vit. uygulanan grupta deney sonrası vücut ağırlığı deney öncesi vücut ağırlığından yüksek çıkmıştır ancak istatistiksel olarak önemli düzeyde fark saptanmamıştır ($p > 0,05$). C Vitamini uygulanan grupta ise deney sonrası vücut ağırlığının deney öncesi vücut ağırlığından yüksek olduğu belirlenmiştir ama istatistiksel olarak çok önemli düzeyde fark saptanmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4: Gruplara göre deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları (gr)

Deney Öncesi ve Sonrası Vücut Ağırlıkları (Ortalama ± Standart Sapma)			
Gruplar	İlk vücut ağırlıkları	Son vücut ağırlıkları	Anlamlılık Düzeyi
Kontrol	230 ±20,82	284,57 ±19,53	P<0,001***
Gentamisin	252,85 ±17,99	289 ±35,74	P <0.01**
GM+ C vit.	248,57 ±26,09	263 ±35,83	P >0.05 ^{ns}
C vitamini	242,85 ±24,97	252,85 ±25,06	P>0.05 ^{ns}

(*p<0.05, **p<0.01, ***p<0.001, ns: not significant)

Gruplar arasında ilk vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık (P>0,05) gözlenmemiştir. Bu nedenle tablo şeklinde belirtilmemiştir. Ancak gruplar arasında son vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında Gentamisin ve Gentamisin+C vitamini (P<0.01) arasında ve Gentamisin ve C Vitamini (P<0,05) grupları arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada anlamlı bir farklılık gözlenmiştir (Tablo 4.5).

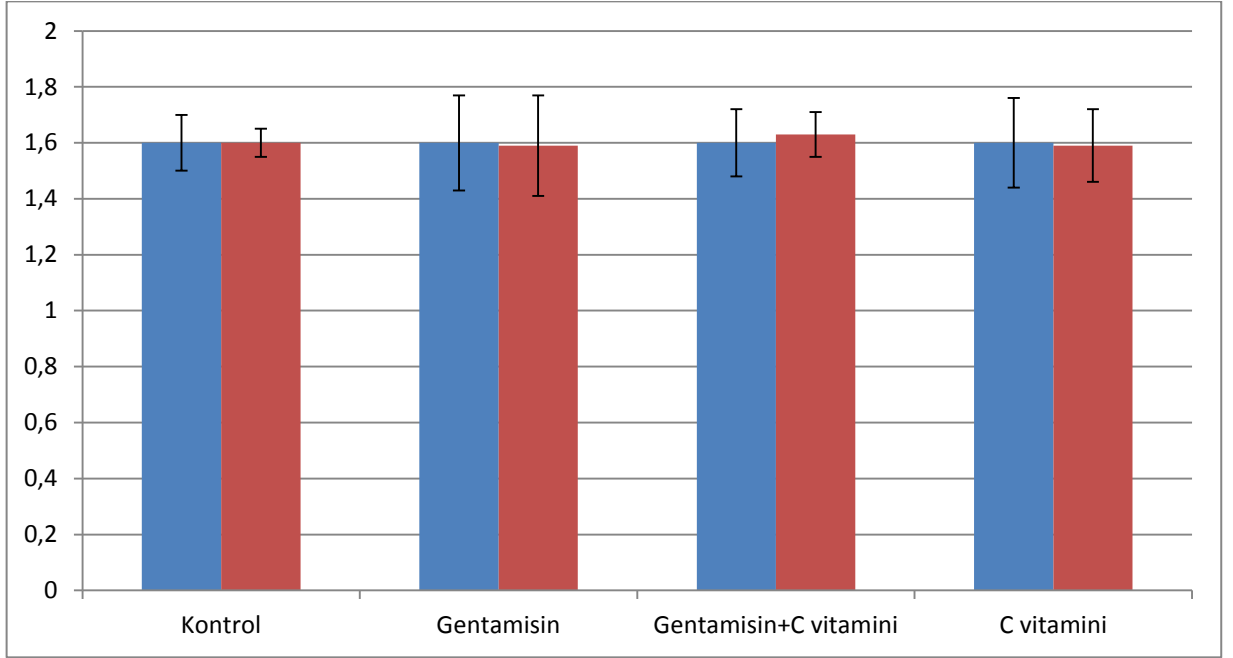
Tablo 4.5: Gruplar arasında son vücut ağırlıkları farkları

Son Vücut ağırlıkları	P Değeri
Kontrol vs Gentamisin	P=0,9987 ^{ns}
Kontrol vs GM+C Vit.	P=0,0064**
Kontrol vs C vitamini	P=0,1262 ^{ns}
Gentamisin vs GM+C Vit.	P=0.0016**
Gentamisin vs C Vitamini	P=0,0372*
GM+C Vit. vs C Vitamini	P=0,8722 ^{ns}

Ns: önemli değil (not significant), *: P<0,05, **: P<0,01

4.1.2. Sağ ve sol testis ağırlıkları

Gruplara göre sağ testis ağırlıklarına ilişkin bulgular Şekil 4.9'da gösterilmiştir. Sol testis ve sağ testis ağırlıklarında önemli düzeyde fark saptanmamıştır ($P>0,05$).

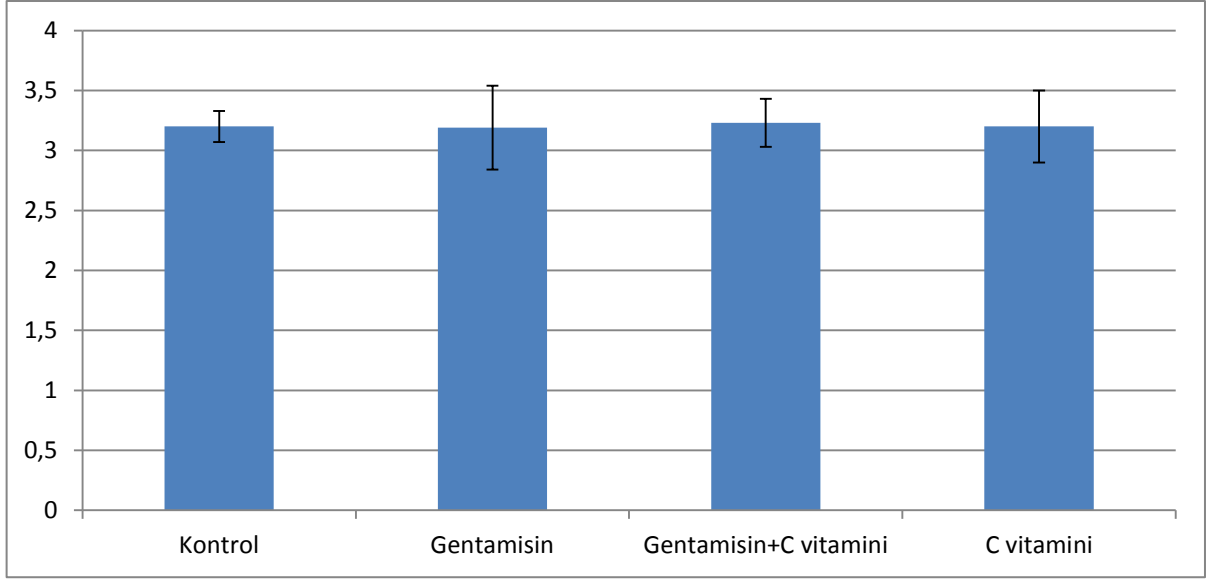


Şekil 4.9: Sağ testis ve sol testis ağırlıklarının karşılaştırılması

(Mavi çubukla gösterilen sağ testis, kırmızı çubukla gösterilen sol testistir.)

4.1.3. Toplam Testis Ağırlıkları Analizi

Gruplara göre toplam testis ağırlıklarına ilişkin bulgular Şekil 4.10 'da gösterilmiştir. Gruplar arasında yapılan istatistiksel karşılaştırmada önemli derecede fark saptanmamıştır ($P>0,05$).



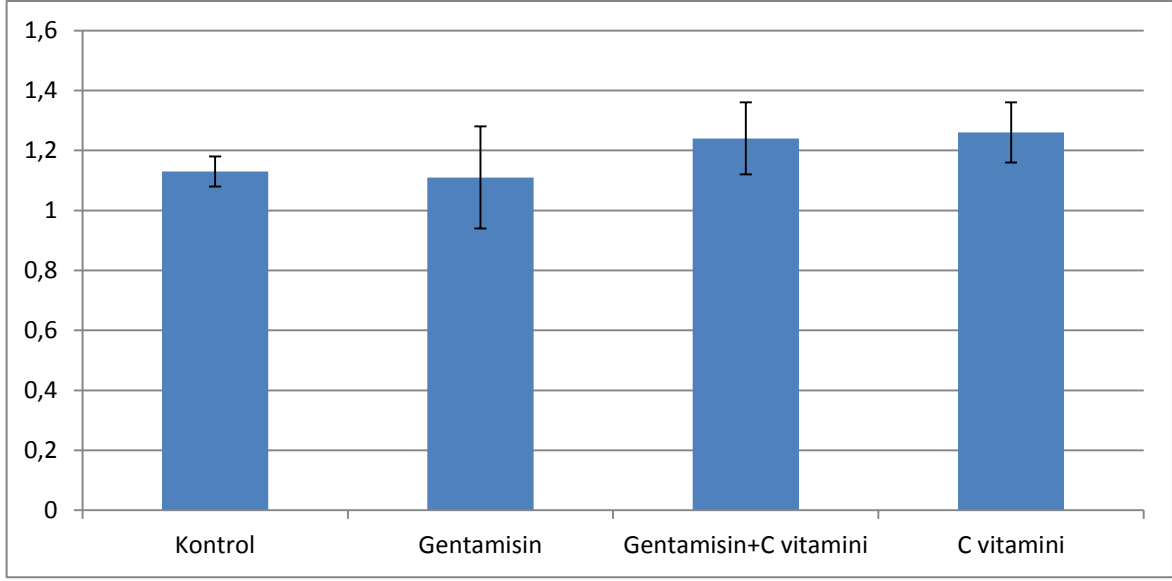
Şekil 4.10: Toplam testis ağırlıklarının deney gruplarına göre karşılaştırılması

4.1.4. Toplam testis ağırlık indeksi analizi

Gruplara göre TAİ'lere ilişkin bulgular Tablo 4.6 ve Şekil 4.11'de görülmektedir. Yapılan istatistiksel karşılaştırmada TAİ bakımından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($P=0,063$).

Tablo 4.6: Sıçanların gruplarına göre toplam testis ağırlıkları indeksi (gr)

Gruplar	Ortalama \pm Standart Sapma	P
Kontrol	1,13 \pm 0,05	0,063 ^{ns}
Gentamisin	1,11 \pm 0,17	
GM+C Vit.	1,24 \pm 0,12	
C Vitamini	1,26 \pm 0,10	



Şekil 4.11:Toplam testis ağırlıkları indeksinin deney gruplarına göre karşılaştırılması (Tümü $p>0,05$)

4.2. Histolojik Bulgular

Işık mikroskopik olarak kontrol ve deney gruplarını oluşturan sıçan testislerinde genel görünümü saptamak için Hemotoksilen-Eozin (H-E) boyası ve Periyodik Asit-Schiff (PAS + H) boyası yapıldı.

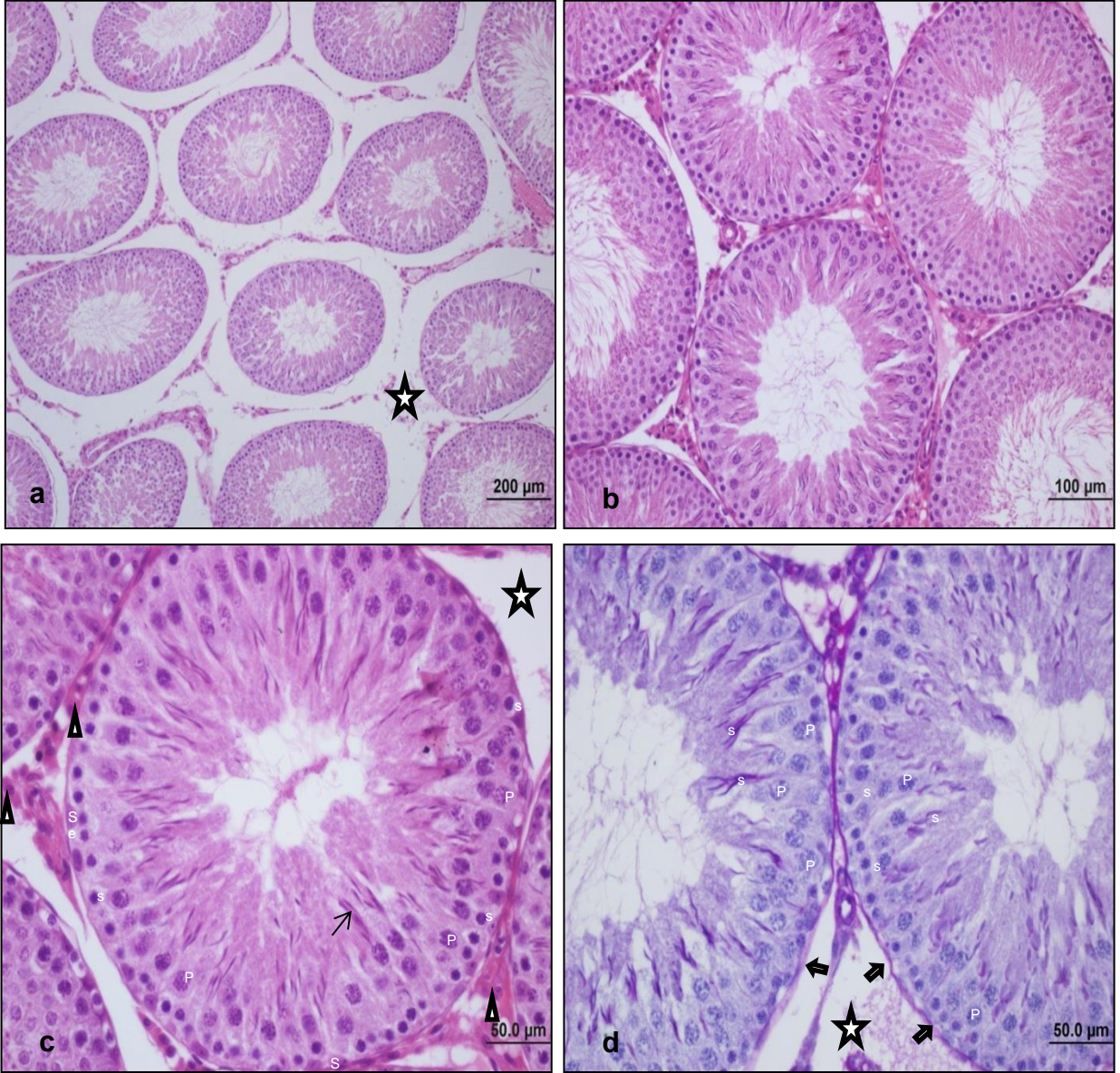
1-)Kontrol Grubu: Boyanan preparatlardan elde edilen bulgulara göre; kontrol grubunun yapılan mikroskopik incelemelerinde testiste, bazal lamina yapısı, seminifer tübül yapıları ve interstisyel alan normal yapıda gözlemlendi (Şekil 4.12 a-d). İnterstisyel alanda damar yapıları normal yapıda olduğu gözlemlendi. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, eksentrik yerleşimli nükleusları ve tipik yerleşim yerleriyle oldukça düzgün görüldü (Şekil 4.12 c). PAS + H ile boyadığımız kontrol grubu testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran yapısı ve tunika albuginea normal yapıda gözlemlendi (Şekil 4.12 d). Düzgün bir spermatogenezin olduğu tübül duvarı, Sertoli hücreleri, çok belirgin spermatogonyumları ve spermatogenik seri hücrelerini içeriyordu.

3-) C Vitamini Grubu: C vitamini grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, normale yakın yapıda seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogonyumlar, primer spermatositler, sekonder spermatositler, spermatid hücreleri normale yakın görüldü ayrıca bazal membran, interstisyel alanda Leydig hücreleri, makrofajlar ve damar yapıları kontrol grubuna benzer yapı gösterdiği gözlemlendi (Şekil 4.13 a-d ve Şekil 4.14 a-b).

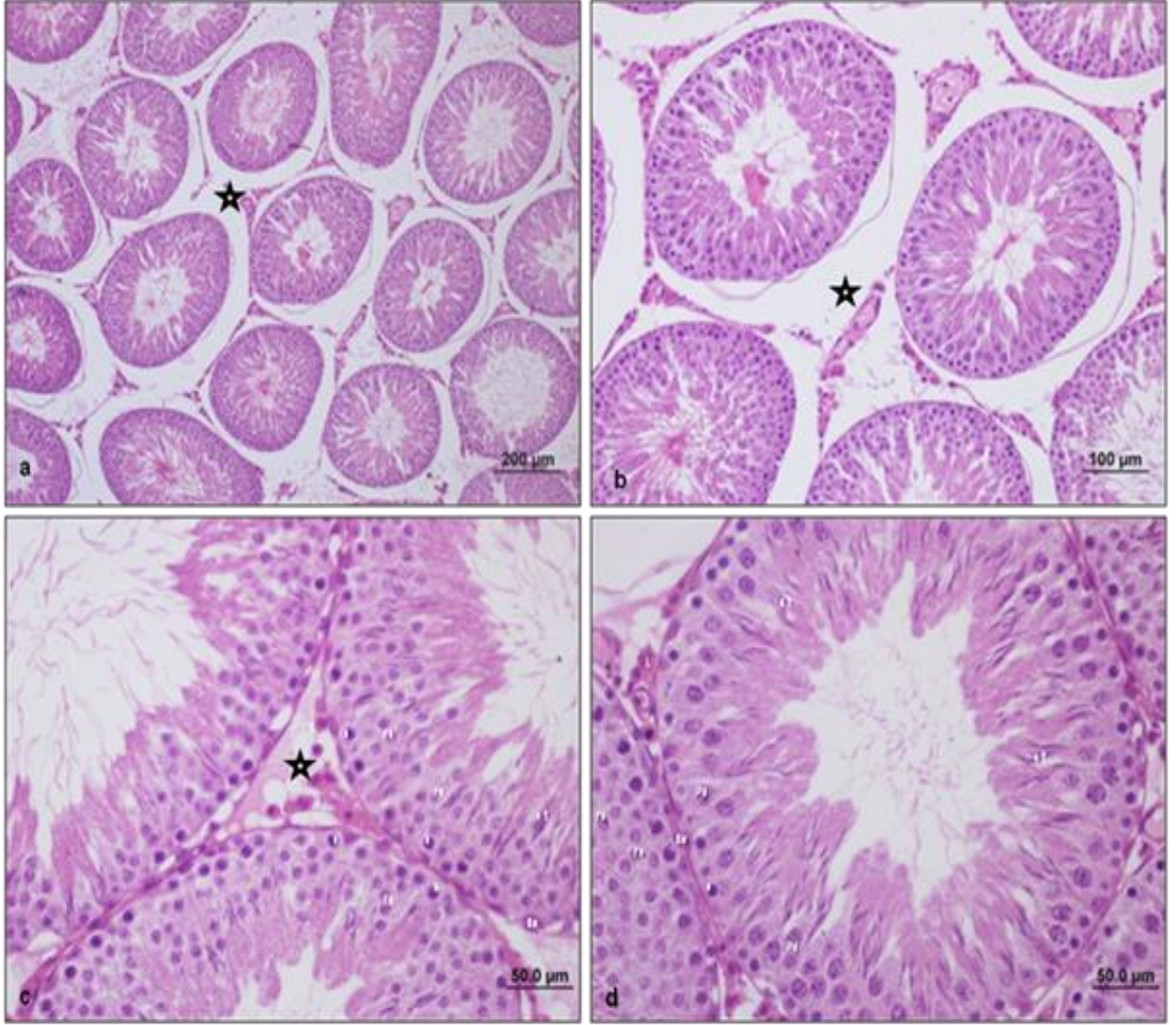
2-)Gentamisin Grubu: Gentamisinin yapısal değişiklikleri indüklediği gözlemlendi. Seminifer tübül epitelinde dökülme, vakuoller, epitelde boşluklar,

nükleer piknoz ve birkaç tübülde atrofik değişikliklere yol açtığı görüldü. Ayrıca seminifer tübül duvarındaki hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücre kayıpları gözlemlendi (Şekil 4.15 a-d, Şekil 4.16 a-d, Şekil 4.17 a-d, Şekil 4.18 a-d, Şekil 4.19 a-d) 5 mg/kg gentamisinle maruz kalan bütün hayvanlarda, germ hücrelerinde azalma, germinal hücrelerde nekroz, hücre döküntüsü ve lümeninde lenfosit ve plazmosit varlığı gözlemlendi. İnterstisyel alanda genişleme ve damarlarda konjesyona rastlandı. Ayrıca incelmış, ayrılmış tübül duvarı ve bazal membranda yer yer ayrılmalar gözlemlendi (Şekil 4.18 a-b).

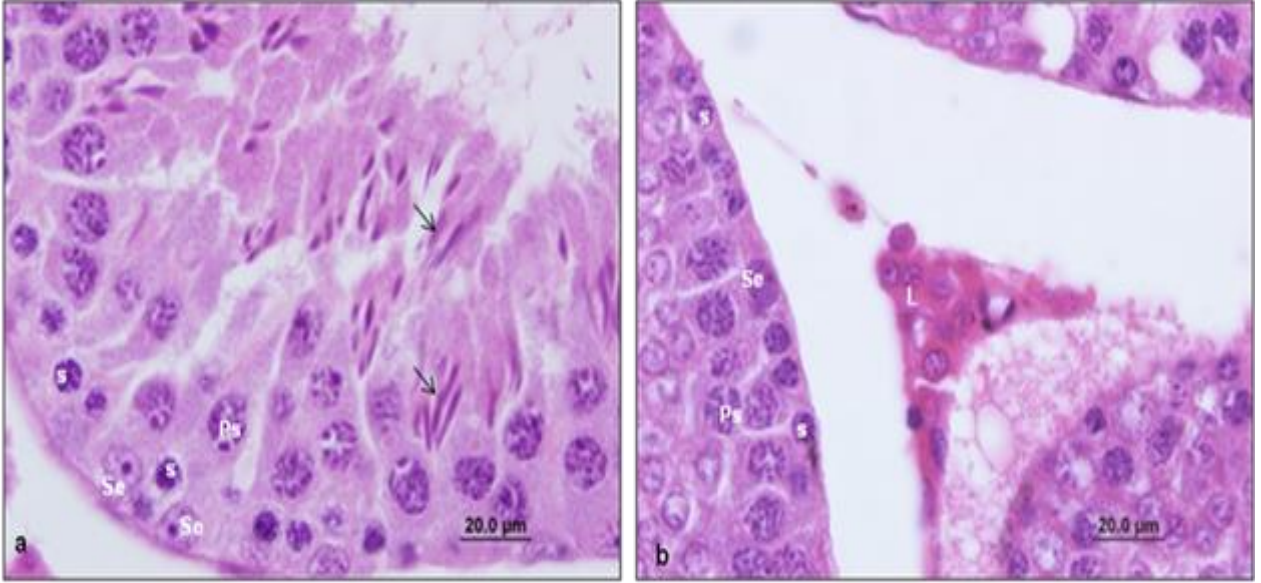
4-) Gentamisin + C Vitamini Grubu: Gentamisin ile birlikte verilen C vitamini grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopundaki incelemeleri sonucunda, birkaç tübülde hasar gözlenirse de korunmuş spermatogenik hücreler ile spermatogenezin devam ettiği gözlemlendi (Şekil 4.20 a-b ve Şekil 4.21 a-d). İnterstisyel alanda ise azalmış ödem ve normale yakın görünümlü Leydig hücreleri gözlemlendi (Şekil 4.21 a-d). Ayrıca bütünlüğünü koruyan normale yakın yapıdaki PAS pozitif bazal membran yapısı gözlemlendi. Gentamisin verilen grupta damarlarda konjesyon ve interstisyel alanda ödem gözlenmekteydi ancak Gentamisin+C vitamini verilen grupta konjesyon ve ödemin dikkate değer şekilde azaldığı gözlemlendi.



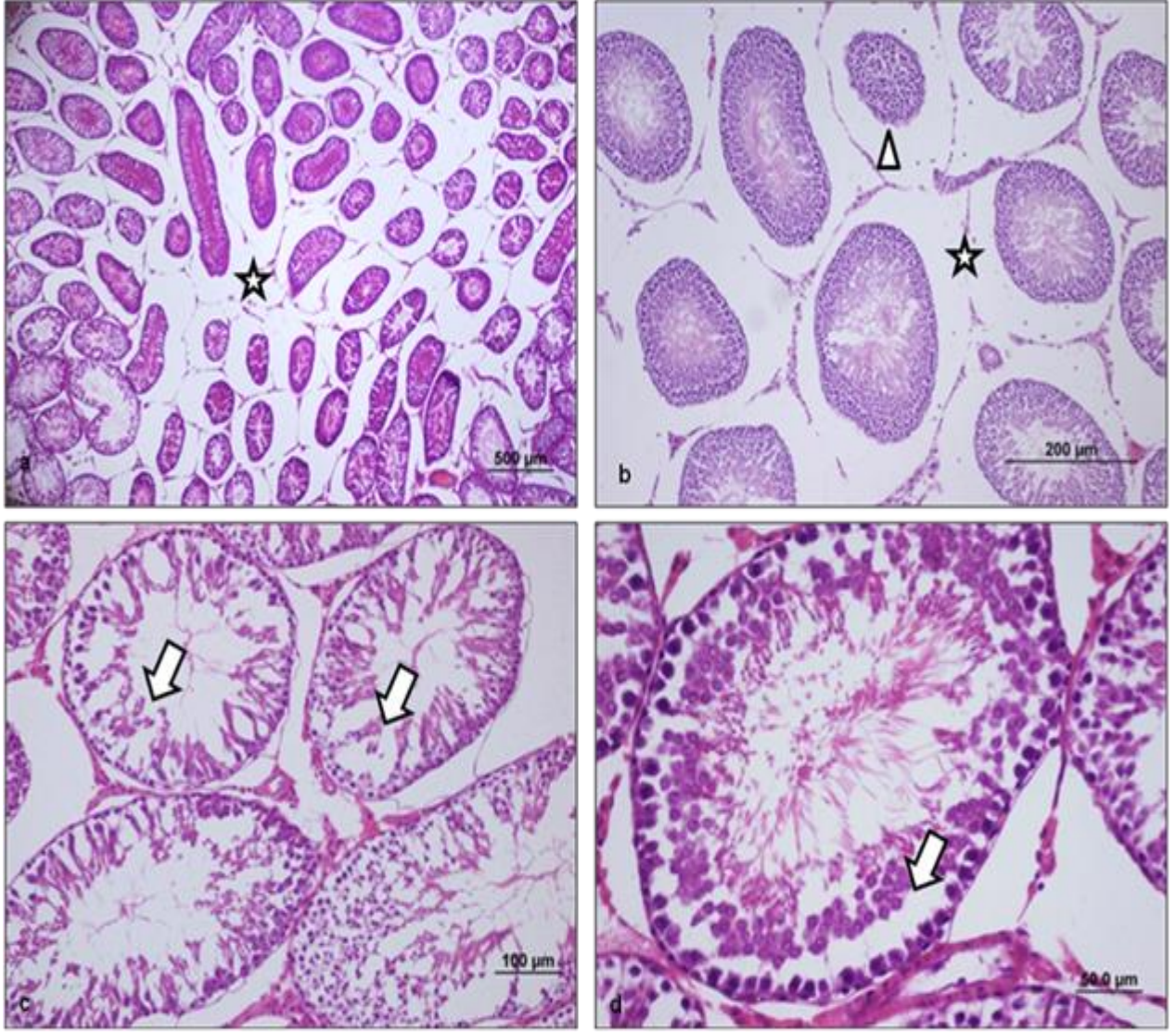
Şekil 4.12: Kontrol grubu: Kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri; Sertoli hücresi (Se), spermatogonyum (s), primer spermatosit (Ps) ve spermatid (st) ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. Normal görünümlü interstisyel alan (*) ve Leydig hücreleri (►) izlenmekte. Ayrıca normal yapıdaki PAS pozitif bazal membran yapısı (→) izlenmekte (bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, HE, (a-c), PAS+HE, (d)).



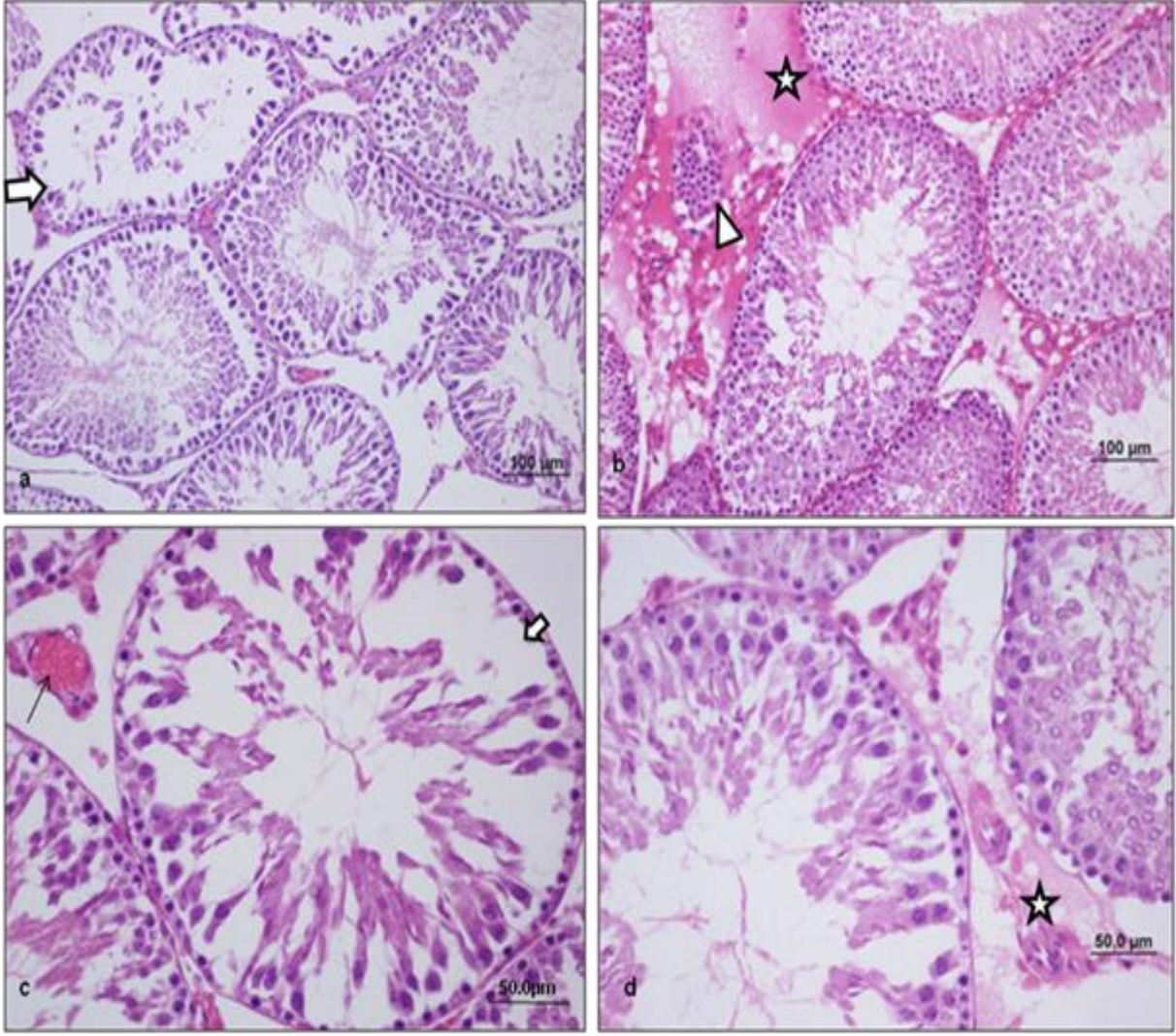
Şekil 4.13: C vitamini grubu: C vitamini grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri; Sertoli hücresi (Se), spermatogonyum (s), primer spermatosit (Ps), spermatid hücreleri (rs-st) ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. Normal görünümlü interstisyel alan (*) ve Leydig hücreleri (L) izlenmekte (bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, HE, a-d).



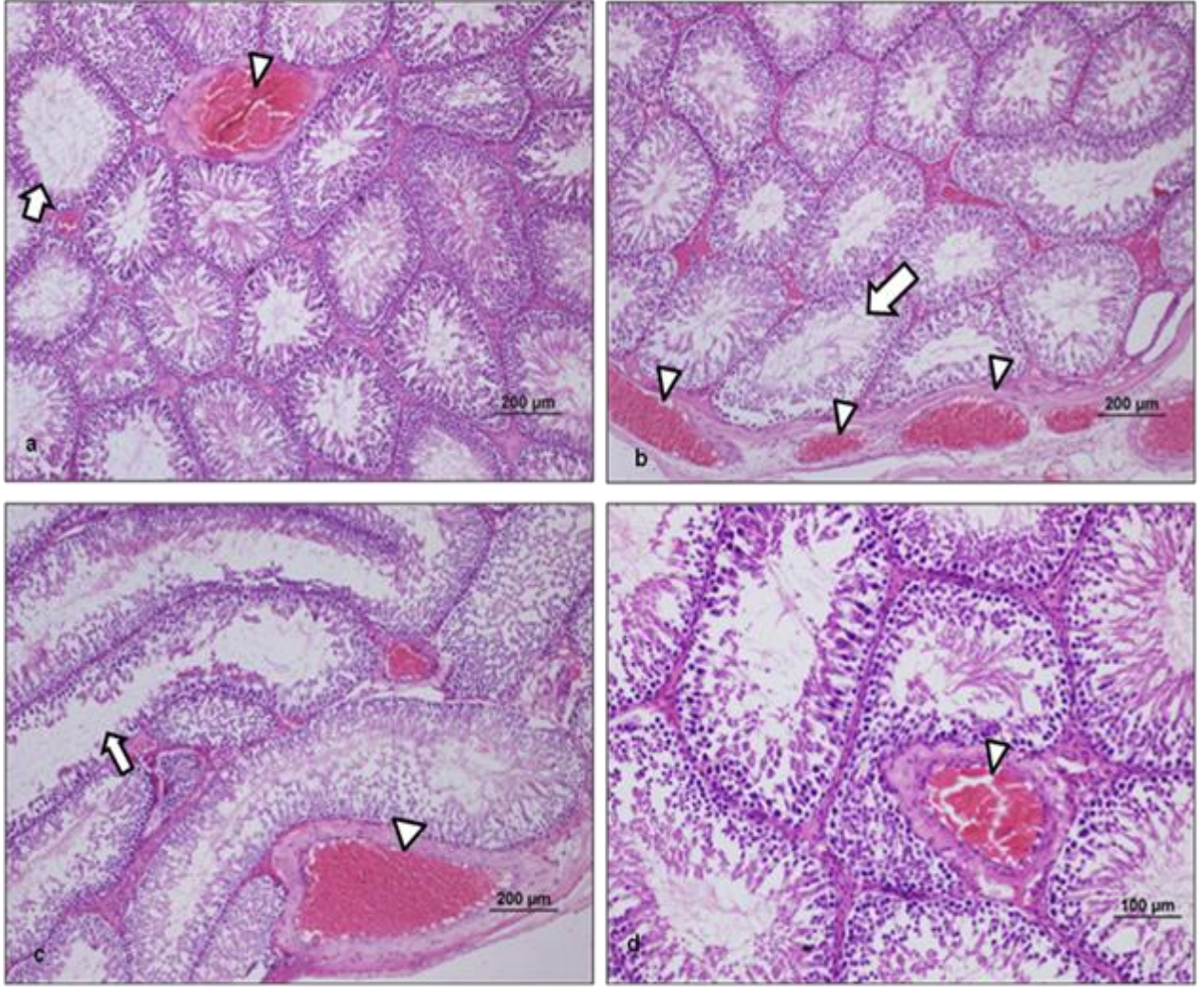
Şekil 4.14: C vitamini grubu: C vitamini grubunu oluşturan sıçan testislerinin büyük büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri; Sertoli hücresi (Se), spermatogonyum (s), primer spermatosit (Ps) ve spermatid (→) ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. Ayrıca normal görümlü interstisyel alan (*) ve Leydig hücreleri (L) izlenmekte (bar: 20.0µm, HE, a-b).



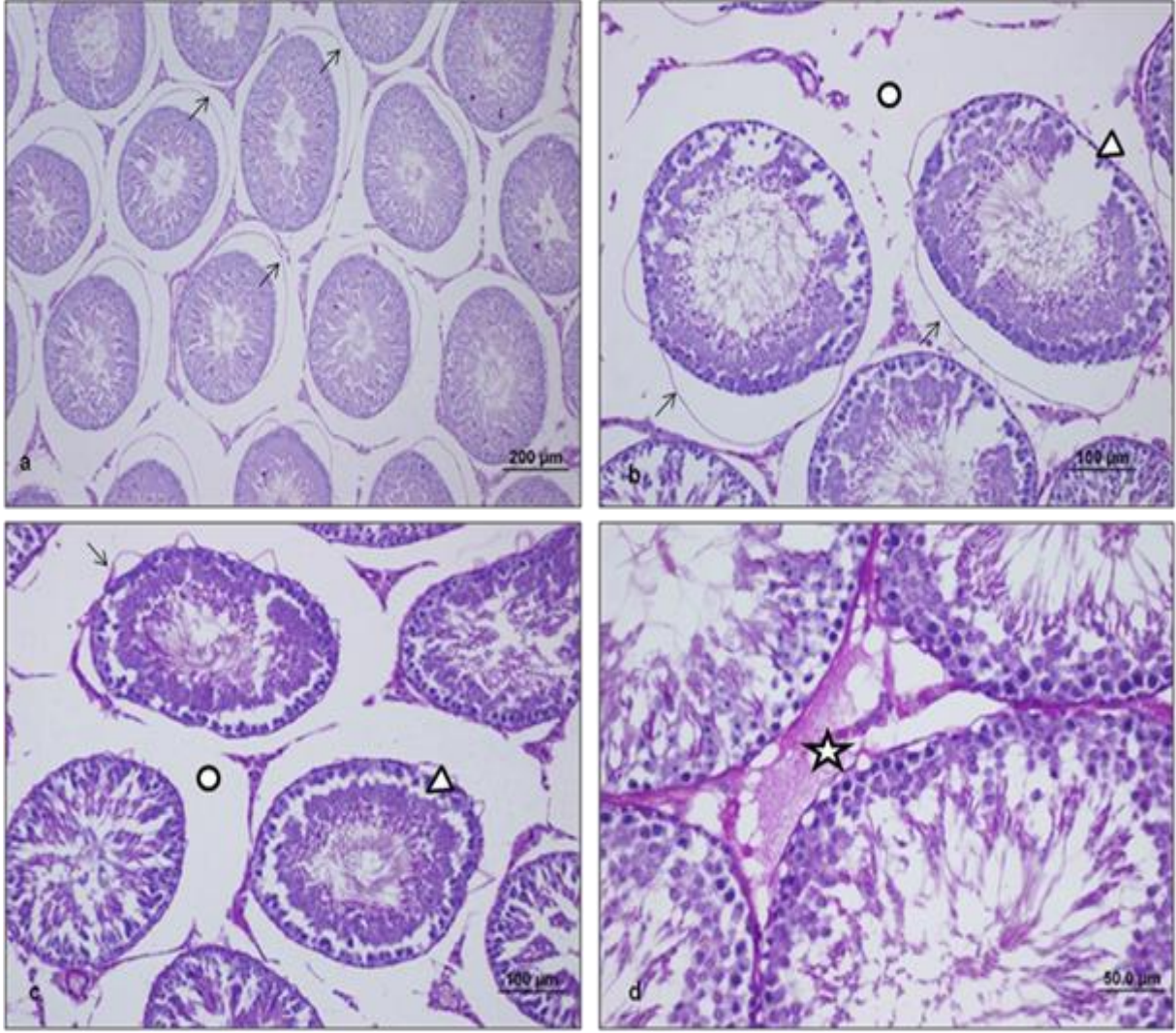
Şekil 4.15: Gentamisin grubu: Gentamisin grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar (→) ile bazı tübüllerde atrofi görülmekte (▴). İnterstisyel alanda ise ayrılmalar (*) dikkat çekmekte (bar: 500µm, bar: 200µm bar: 100µm, bar: 50.0µm, HE)(a-d).



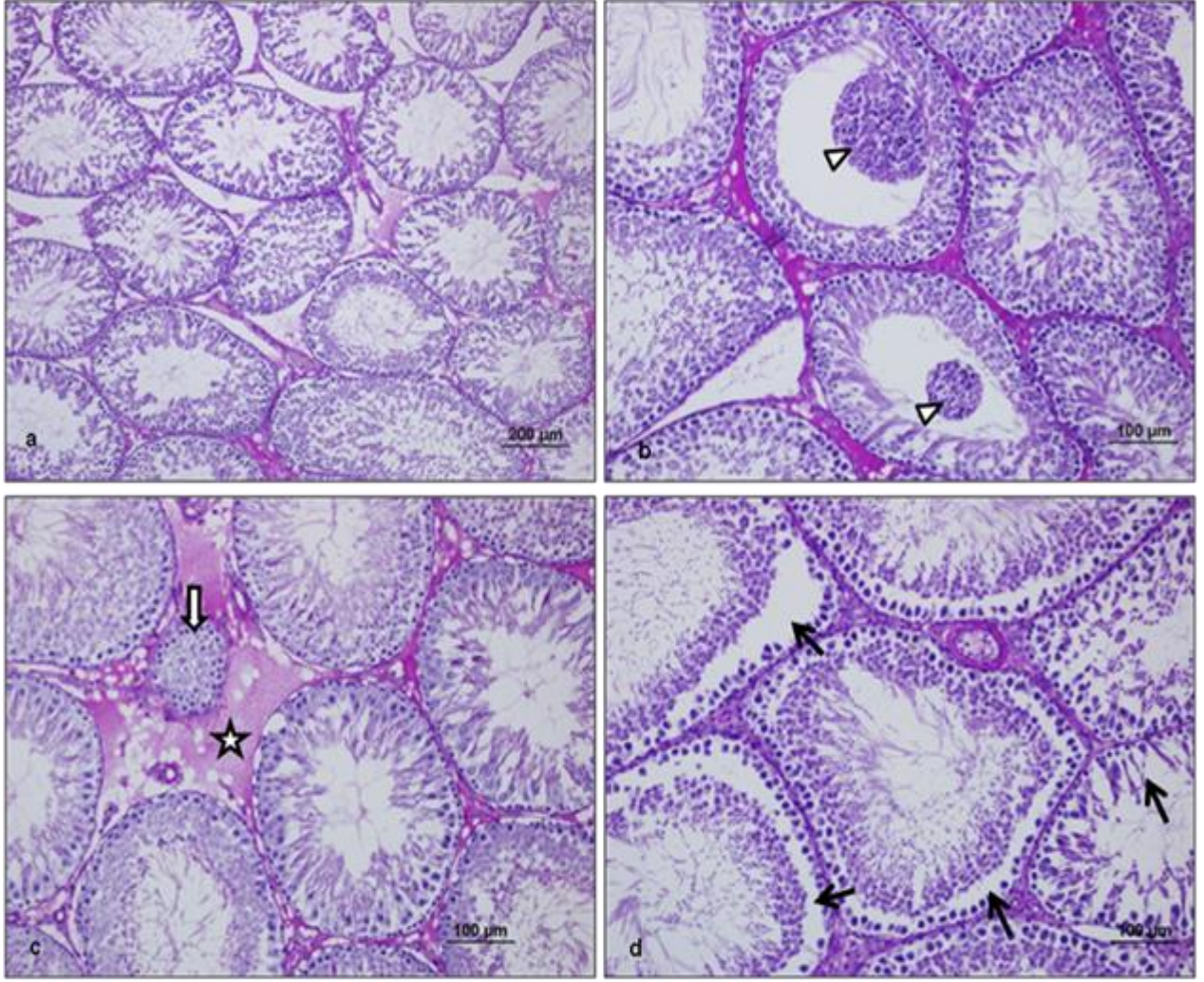
Şekil 4.16: Gentamisin grubu: Gentamisin grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar (kalın ok) ile birlikte incelmış tübül duvarı ve bazı tübüllerde atrofi görülmekte (►). İnterstisyel alanda ise damar kongesyonu (→) ve ödem (*) dikkat çekmekte (bar: 100µm, bar: 50.0µm, HE)(a-d).



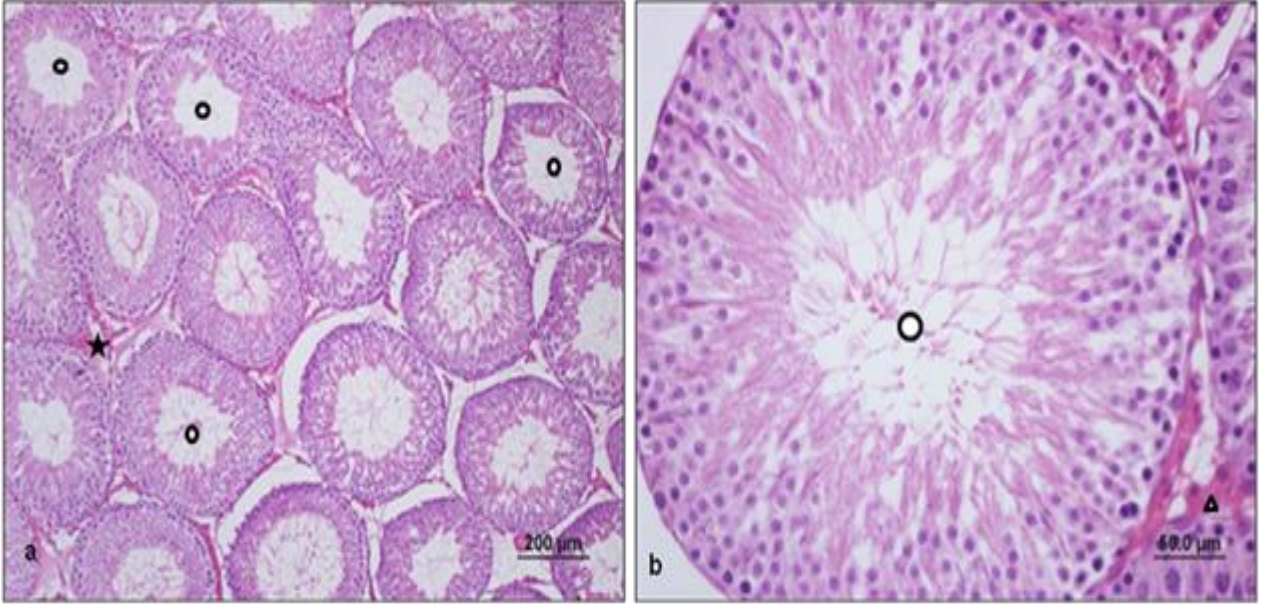
Şekil 4.17: Gentamisin grubu: Gentamisin grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar (→) ile birlikte incelmış tübül duvarı görülmekte. İnterstisyel alanda ise yoğun damar kongesyonu (▶) dikkat çekmekte (bar: 200µm, bar: 100µm, HE)(a-d).



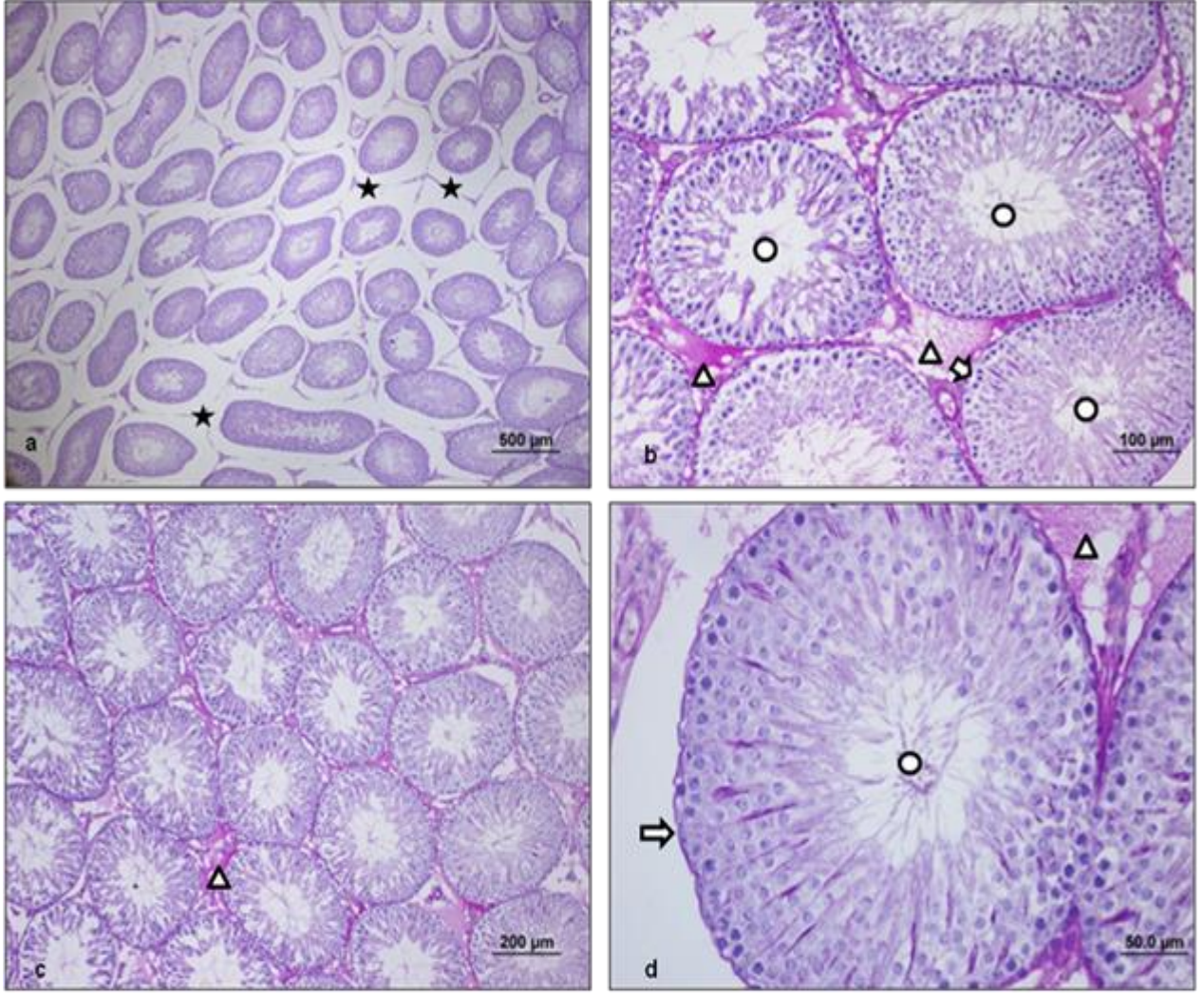
Şekil 4.18: Gentamisin grubu: Gentamisin grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar (▴) görülmekte. Ayrıca tübül duvarından ayrılmış PAS pozitif bazal membran yapısı (→) izlenmekte. İnterstisyel alanda ise ayrılmalar (●) ve ödem (*) dikkat çekmekte (bar: 200μm, bar: 100μm, bar: 50.0μm, PAS+HE)(a-d).



Şekil 4.19: Gentamisin grubu: Gentamisin grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Tübül lümenine dökülmüş hücre kümeleri (►), atrofik tübül yapıları (kalın ok) ve tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde ayrılmalar (→) görülmekte. İnterstisyel alanda ise ödem (*) dikkat çekmekte (bar: 200µm, bar: 100µm, PAS+HE)(a-d).



Şekil 4.20: Gentamisin grubu+C vitamini grubu: Gentamisin grubu+C vitamini grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı tübüllerde hasar devam etse de genellikle azalmış hasar ve normale yakın yapıdaki seminifer tübüller (●) ile devam eden spermatogenez izlenmekte. İnterstisyel alanda ise azalmış ödem (*) ve normale yakın görünümlü Leydig hücreleri (▶) gözlenmekte (bar: 200µm, bar: 50.0µm, HE, a-b).



Şekil 4.21: Gentamisin grubu+C vitamini grubu: Gentamisin grubu+C vitamini grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı tübüllerde hasar devam etse de genellikle azalmış hasar ve normale yakın yapıdaki seminifer tübüller (●) ile devam eden spermatogenez izlenmekte. İnterstisyel alanda azalmış ayrılmalar (*) ve ödem (▶) dikkat çekmekte. Ayrıca bütünlüğünü koruyan normale yakın yapıdaki PAS pozitif bazal membran yapısı (→) izlenmekte (bar: 500µm, bar: 100µm, bar: 200µm, bar: 50.0µm, PAS+HE, a-d).

5. TARTIŞMA

Gentamisin, geniş spektrumlu aminoglikozid bir antibiyotiktir ve mikrobiyal patojenlere özellikle gram negatif bakterilere etkilidir. Bir çok çalışma açığa kavuşturmuştur ki gentamisin serbest radikal oluşumu ile lipid peroksidasyonunu artırarak testiste oksidatif strese neden olmaktadır. Oksidatif hasar, yüksek lipid peroksidasyonu ve membran özelliklerinin değişmesi daha sonraki aşamalarda germ hücrelerinin ölümü ve sperm sayısında azalmaya yol açmaktadır. Buna göre; antioksidan tedavisi doğurganlık gelişim parametrelerine ve oksidatif strese karşı koruyucu savunma etkisi göstermesi beklenmektedir. Askorbik asit gibi antioksidanların semendeki spermatozoayı koruduğu araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (Zahedi vd., 2012). Bu çalışmada gentamisinin testiste neden olduğu bu hasarlara karşı antioksidan olan C vitamininin (askorbik asit) koruyucu etkisini araştırdık.

Gentamisinin yetişkinlere verilen doz aralığı 7-10 gün boyunca 3.0-5.0 mg/kg, çocuklara verilen doz ise 5-7,5 mg/kg'dır. Gentamisinin normal dozajından kaynaklanan şiddetli oksidatif stresten dolayı ve ADR profili nedeniyle nefrotoksisite ve otoksisiteye neden olduğuna inanılmaktadır (Feldman, Efrati & Eviatar, 2007).

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, GS'nin testisler üzerinde hasara sebep olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızın bulguları ile benzer bulgular taşıyan; Narayana K.'nin testisler üzerinde yaptığı çalışmada, altı gruba ayırdıkları sıçanlardan 2 gruba su diğer 2 gruba 3 mg/kg GS, diğer 2 gruba da 5 mg/kg GS 10 gün boyunca intraperitoneal yolla uygulanmıştır. İlaç enjeksiyonu yapmadan önce suyla çözmüşlerdir (5 mg/ml). 10 gün GS verilmesinden sonra vücut ağırlığında önemli bir değişiklik olmamış ancak 5 mg/kg GS verilmesinden sonra çok az değişiklik olmuştur. GS, serbest radikal, lipid peroksidasyonu artışına ve antioksidan seviyesinde düşmeye neden olmuş. GS testiste yapısal değişikliklere neden olmuş; epitelde dökülme, germ hücrelerinde dejenerasyon, seminifer tübüllerde atrofik değişiklikler, intersitiyel alanda boşluklar ve son olarak sperm üretiminde azalmaya neden olmuş (Naryana, 2008). Yaptığımız çalışmada da GS grubunda benzer histopatolojik değişiklikler görülmüştür.

Öner ve arkadaşları antibiyotiklerin spermatogenezis üzerine etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmalarda gentamisin uygulanan sıçanlarda mayoz'da bir bozukluk meydana gelerek tübüllerde anormal yapılı primer spermatositlerin arttığı gözlenmiştir. Bunun yanında spermatogonyum ve spermatosit I 'lerin bölünmelerinin kısmen yada tamamen durduğu saptanmış tübül lümenlerinde çok az sayıda spermatozoon yanında çok sayıda normal ve anormal yapıda spermatositlere ve artıklarına rastlandığı gözlenmiştir (Öner, Aytakin, Sağduyu & Altuğ, 1983).

Nouri M. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, 24 gün boyunca günlük i.p. olarak 5 mg/kg GS verilmiş ve bu çalışmada elde edilen histolojik bulgular; spermatogenik hücrelerde nekroz ve dejenerasyon ile spermatid, spermatozoonlarda azalma görmüşlerdir. GM'nin oksidatif hasara ve nekroza neden olduğu belirlenmiştir. Gentamisine maruz kalan sıçanlarda testosteron seviyesinin düştüğü de gözlenmiştir (Nouri vd., 2009).

Akondi R. B. ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı bir başka çalışmada 5 mg/kg gentamisin su içinde çözülerek intraperitoneal olarak on gün boyunca uygulanmış. Yaptığımız çalışmayla paralel olarak gentamisin uygulanan grupta önemli derecede seminifer tübülde hasar ve spermatozoon ile spermatidde nekroz gözlenmiştir. Epitelde dökülme ile epitelyal boşluklar gözlenmiştir. Germ hücrelerinin bölünmesini inhibe ettiği, testiste protein sentezi ve seminal vezikülde hücre ölümünü indüklediği bulunmuştur. Gentamisinin sperm sayısı, hareketliliği ve canlılığını azalttığı bulunmuştur (Akondi vd., 2011).

C vitamini, insanlar ve pek çok hayvan türü için dışarıdan alımı zorunlu olan bir besin maddesidir. Canlılar kendilerini radikal oksijen türevlerinin neden olduğu oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz gibi enzimatik ve E vitamini, C vitamini, taurin, glutatyon gibi non enzimatik antioksidan sistemleri kullanarak korumaktadırlar. C vitamini, vücutta glutatyonla bağlanarak güçlü bir biçimde redüktan ajan olarak işlev görür ve antioksidan etkisiyle birlikte organizmayı fazlalaşan reaktif oksijen türlerinin ya da serbest radikallerin neden olduğu oksidatif strese karşı korur. C vitamini, bağışıklık hücrelerinde yoğun bir biçimde bulunur ve bir enflamasyon varlığında bu hücrelerde hızlı bir biçimde tüketilir. C vitaminin bağışıklık sistemindeki rolü ve etkileri tam olarak açığa kavuşmamış olsa da, lenfosit proliferasyonunda, iltihabi hücrelerin hedef dokulara adezyonunda, sitokin üretiminde ve fagositoz etkinliğinde rol oynadığına dair teoriler öne sürülmektedir (Preedy, Watson & Sherma, 2010, pp. 36).

Vitamin C suda çözünen vitaminlerden biridir. Vitamin C çok hızlı elektron transferi ile ROS'u temizler ve böylelikle lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve sitotoksik serbest radikalleri ortadan kaldırır (Halliwell vd., 1987).

Sönmez ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı bir çalışmada alkolün testiste oluşturduğu hasar ve eNOS ekspresyonu üzerine melatonin ve C vitaminin koruyucu etkilerinin belirlenmesi araştırılmıştır. Bu çalışmada 28 gün boyunca günlük 40 mg/kg C vitamini intraperitoneal yolla uygulanmıştır. Bu çalışmada alkol ile birlikte koruyucu amaçlı verilen C vitamini bazı hasarların oluşumunu engellediği belirlendi. Alkol grubunda oluşan ödem ve seminifer tübüllerinde hücre dökülmesi C vitamini

uygulamasını ile azaldığı gözlenmiştir (Sönmez, Akkuş, Selvi & Balcıoğlu, 2010).

Gupta ve arkadaşlarının 2004 yılında yaptığı bir çalışmada kadmiyum uygulanmış erkek sıçanların testis dokusunda C vitamininin etkisine bakılmış. C vitamini uygulamasının kadmiyum ile oluşturulan hasara karşı koruyucu olduğu bildirilmiştir (Sen Gupta vd., 2004).

Ural ve arkadaşlarının 2006 yılında yaptığı bir çalışmada akut diazinon toksisitesinin testis dokusunda oluşturduğu histolojik değişiklikler ve bu değişikliklere C ve E vitamininin etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır. 200 mg/kg C vitamini (Redoxan) intraperitoneal olarak uygulanmış ve ilaç uygulanmasından 24 saat sonra sıçanların testis dokuları alınmıştır. C ve E vitamininin kısa süreli verilmesinden dolayı diazinon'un toksisitesini önleyemediği görülmüştür. Ancak çeşitli oksidanların neden olduğu oksidatif hasara karşı C vitamininin koruyucu olduğuna ilişkin birçok çalışmada mevcuttur (Ural, Özgüner, Büyükvanlı, Kuplay & Köylü, 2006). Bizim çalışmamızda ise C vitamininin verilen doz ve sürede Gentamisin ile oluşturulan testis hasarını azalttığı görülmüştür.

Ayinde ve arkadaşları 2012 yılında kurşuna maruz kalan albino ratlarda testiküler toksisite ve vitamin C ve E nin testiküler çinko içeriğine etkisini araştırmışlardır. 14 gün boyunca ratlara 40 mg/kg ascorbik asit (VC) uygulanmıştır. Vitamin C ile birlikte ilaca maruz kalan hayvanlarda spermatazoa ve seminifer tübüllerde iyileşme rapor edilmiştir. Deney vitamin C ve E' nin sperm DNA'sını oksidatif strese karşı koruduğunu ve üremeyi iyileştirdiğini göstermiştir. Vitamin C önemli şekilde glutasyon içeriğini, süperoksit dismutaz ve katalaz enzim aktivitesini artırmış ayrıca lipid peroksidasyon üretimini azaltmıştır. Vitamin C kurşun içeriğini azaltmış ve çinko içeriğini testiste artırmış. Sadece kurşun uygulanan gruba göre kurşun ve Vitamin C uygulanan grupta FSH hormonu ve testosteron miktarında önemli derecede artış olduğu gözlenmiştir. Kurşun uygulanan grupta sperm motilite ve anormal sperm morfolojisi yüzdeliğine bakıldığında artış gözlenmiştir. Ancak Vitamin C yada Vitamin E uygulanan gruplarda sperm motilite ve sayısında artış gözlenmiş ve de anormal sperm morfolojisi yüzdesinde azalma gözlenmiştir (Ayinde, Ogunnowo & Ogedegbe, 2012).

Sapra ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Vitamin C eksikliğinde kobay farelerde testiküler yapı üzerinde meydana gelen değişiklikler araştırılmıştır. Kobay farelerde tıpkı insanlar gibi karaciğerlerinde L-galaktonolaktan oksidaz enziminin bulunmayışından dolayı C vitamini sentezleyemezler. 3-4 haftalık vitamin C açısından bir beslenme eksikliği kobaylarda akut iskorbüte neden olmuştur. Bunun sonucunda iştahsızlık, ağrılı eklem, kilo kaybı gibi belirtiler ortaya çıkmıştır. 6. haftanın sonunda kobayların testisinde dejeneratif değişiklikler görülmeye başlanmıştır. Spermatogenezis tamamen durmuştur. Mitoz bölünme sadece birkaç aktif hücre üzerinde devam etmiştir. Kontrolle karşılaştırıldığında tübül çapında

küçülme gözlenmiştir. İntersitiyel dokuda önemli bir değişiklik görülmemiştir. Leydig hücrelerinin mikroskopik olarak sayı ve yapısı düzgün gözlenmiştir (Sapra, Sharma & Kothari, 1987). Bu çalışmada da deney gruplarından C vitamininin tek başına ve Gentamisinle verildiği gruplarda da Leydig hücrelerinde herhangi bir hasar ya da kayıp gözlenmemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Deney süreci sonunda yapılan istatistiksel ve histolojik analizlere göre;

1. Gentamisin 14 gün boyunca her gün 5mg/kg verildiğinde vücut ağırlığında artışa neden olmuştur.

2. Gentamisin, testis üzerinde oldukça toksik etki göstermiştir. Spermatogenik hücrelerde yoğun hasar ve hücresel dökülmelere neden olarak spermatogenezi olumsuz yönde etkilemiştir. Bazal laminada kalınlaşmaya, tübüllerde yoğun hasara ve atrofiye neden olmuştur. İntersitiyel alanda genişleme ve damarlarda konjesyona neden olmuştur. İnterstisyel dokuda bulunan Leydig hücreleri üzerinde ise önemli bir değişikliğe yol açmamıştır.

3. 14 gün boyunca her gün 200 mg/kg verilen C vitamini testis ağırlığında ve vücut ağırlığında istatistiksel olarak önemli bir değişikliğe yol açmamıştır.

4. 14 gün boyunca her gün gentamisinle birlikte verilen C vitamini, gentamisin testis üzerinde oluşturduğu hasarı azaltmıştır.

Bu çalışma; testis üzerinde Gentamisinin önemli oranda hasara neden olduğu ve bu hasarda antioksidan ajanların GM'nin neden olduğu zarara karşılık koruyucu bir ajan olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Bu çalışmada antioksidan etkinliği bilinen C vitamininin uygulanmasıyla GM neden olduğu hasar azaltılmıştır. C vit'in GM toksitesini nasıl önlediğinin ortaya konmasında ileri enzimatik, biyokimyasal ve immünohistokimyasal düzeyde yapılacak araştırmalar bu konuda ek bilgiler ve kanıtlar sağlayabilir. Bununla birlikte gözlenen bu olumlu etkinin klinik ve geniş katımlı çalışmalarda değerlendirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR DİZİNİ

Abraham, L.K. (2006). *Histoloji ve hücre biyolojisi*, (Çev., Demir, R.), ISBN, 9944-341-02-9, Ankara: Palme yayıncılık.

Akbıyık, T. (2009). Bakır(II)- katalizli C vitamini oksidatif bozumunun koruyucu meyve asitleri varlığında kinetik incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Akondi, R., Akula, A., & Challa, S. (2011). *Protective effects of rutin and naringin on gentamicin induced testicular oxidative stress*, Eur J Gen Med , 8(1):57-64.

Akyürek F. (2009). Deneysel hayvan modelinde gentamisine bağlı gelişen kokletoksik etkiyi önlemede ginkgo biloba ve betahistin dihidroklorür'ün rolünün otoakustik emisyonla araştırılması, Uzmanlık Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Bolu.

Ali, B. H. (1995). *Gentamicin nephrotoxicity in humans and animals: some recent research*. Gen Pharmacol;26(7):1477-87.

Arıncı, K., & Elhan, A. (2006). *Anatomi*, 1. Cilt, , 330 s. Ankara: Güneş Kitabevi

Aydın H. (2006). İntratimpanik gentamisin uygulamasına bağlı kokleotoksik etkiyi önlemede deksometazonun rolü. Uzmanlık Tezi, Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Kulak Burun Boğaz Hastalıkları Anabilim Dalı, Manisa

Aygün, F. O. (2010). Sıçanlarda deneysel gentamisin nefrotoksisi-nde oksidatif stresin rolünün ve olası oksidatif stres üzerine kafeik asit fenetil ester'in etkisinin araştırılması, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Isparta.

Ayinde, O.C., Ogunnowo, S., & Ogedegbe, R. A. (2012). *Influence of Vitamin C and Vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats*, BMC Pharmacol Toxicol, Dec 14;13:17. doi: 10.1186/2050-6511-13-17.

Aynali, G. (2009). Aminoglikozid ototoksitesini önleme, S.D.Ü. Tıp Fak. Derg., 16(2)/ 39-44

Bancroft, J.D., & Stevens, A. (1977). *Theory and practice of histological techniques*, Churchill, Livingstone, Edinburgh, London and New York.

Başhan, P. (2009). Gentamisine nefrotoksikite oluşturulan sıçanlarda L-Argininin koruyucu etkisi üzerine katyonik kompetisyonun olası katkısı, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Farmakoloji Anabilim Dalı, Adana.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Bedirhan S. (2005). Sıçanlarda oluşturulan gentamisin nefrotosisinde Resveratrol ve E Vitaminin protektif etkilerinin karşılaştırılması, Yüksek Lisan Tezi, Abant İzzet Baysal Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı, Düzce.

Carpenter K. J. (1986). *The history of scurvy and vitamin C*, Cambridge and New York.

Carr, A.C., & Frei, B. (1999). *Toward a new recommended dietary allowance for vitamin C based on antioxidant and health effects in humans*: Am J Clin Nutr. 69(6):1086-1107.

Champe P. C., & Harvey R. A. (1997). *Biyokimya*. Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.

Coşkun, O., Armutçu, F., Kanter, M., & Kuzey, G.M. (2005). *Protection of endotoxin-induced oxidative renal tissue damage of rats by vitamin E or/and EGb 761 treatment*. J Appl Toxicol.25(1):8-12.

Cumbul, A. (2008). Deneysel vazektominin farklı süreler sonra- sında erişkin sıçan testisinde oluşturduğu morfolojik değişikliklerin stereolojik yöntemlerle incelenmesi, Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir.

Çelik, E. (2012). Ratlarda deneysel testis torsiyonu ile oluşturulan iskemi/reperfüzyon hasarından korunmada hesperetin etkileri, Uzmanlık Tezi, Tıp Fakültesi, İnönü Üniversitesi, Malatya.

Descombes, E., Hanck, A,B, & Fellay, G. (1993). *Water soluble vitamins in chronic hemodialysis patients and need for supplementation*: Kidney. Int,43:1319-28.

Dökmeci İ. (2000). *Farmakoloji temel kavramlar*. 1. basım. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 883-91.

Drake, R.I., Vogl, W. & Mitchell, A.W.M. (2007). *Grays Anatomi*, (Çev:Yıldırım, M.), Ankara: Güneş kitabevleri.

Erenel, G., Erbaş, D., & Arıcıoğlu, A. (1992). *Serbest radikaller ve antioksidan sistemler*: Gazi Tıp Fak. Derg., 3: 243-250.

Erkanlı, G. (2008). Radyasyon ve yüksek ısı uygulanmasının sıçan testis morfolojisi, hücre ölümü ve kan testis bariyeri üzerine etkileri: infertilite açısından değerlendirme, Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Marmara Üniversitesi, İstanbul.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Erso, Y. (2008). In utero etanol uygulamasının sıçan testis morfolojisi, hücre ölümü ve kan-testis bariyeri üzerine etkileri: İnfertilite açısından değerlendirme, Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Marmara Üniversitesi, İstanbul.

Ertekin, A., Karaca, M., Akkan, H.A., Cemek, M., & Ormancı, N. (2003). *Köpeklerde Gentamisin Nefrotoksikozisinde Lipit Peroksidasyonu, Antioksidan Maddeler, Antioksidan Vitaminler ve Bazı Hematolojik Biyokimyasal Parametre Düzeylerinin Araştırılması*. Turk J Vet Anim Sci, Tübitak, 27 535-540,

Feldmana, G.J., Mullinb, J.M., & Ryan, M.P. (2005). *Occludin: structure, function and regulation*. Adv Drug Deliv Rev, 57:883-917.

Feldman, L., Efrati, S., & Eviatar, E. (2007). *Gentamycin induced ototoxicity in haemodialysis patients is ameliorated by N-acetylcysteine*. Kidney Int, 72(3):359-63.

Frei. B., Stocker, R., & Ames, B. N. (1988). *Antioxidant defences and lipid peroxidation in human blood plasma*. Proc Natl Acad Sci USA, 85:9748-52.

Fernandes, G. S., Fernandez, C. D., Campos, K. E., Damasceno, D. C., Anselmo-Franci, J. A., Kempinas, W. D. (2011). *Vitamin C partially attenuates male reproductive deficits in hyperglycemic rats*. Reproductive Biology and Endocrinology, 9:100.

Gören, U. D. (2011). Gentamisinin neden olduğu böbrek korteks hasarına karşı curcuminin koruyucu etkisinin morfolojik olarak incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniveristesi, Edirne

Gültekin, B. (2013). Sisplatin toksisitesinin sıçan testisinde yarattığı histolojik değişimlere çinkonun etkisinin araştırılması (deneysel çalışma), Doktora Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Selçuk Üniversitesi, Konya.

Halliwell, B., Wasil, M., & Grootveld M. (1987). *Biologically significant scavenging of the myeloperoxidase-derived oxidant hypochlorous acid by ascorbic acid*. FEBS Lett; 213:15-17.

Hatiboğlu, M. T., & Turgut, H.B. (1996). *Anatomi ve histoloji terimleri söyleyiş ve yazım kılavuzu*,1. Baskı, Ankara: SBAD Yayınları

Hatiboğlu, M.T. (2005). *Anatomi sözlüğü*, 6. Baskı, Ankara: Hatiboğlu Yayınevi 112-113

Hughes, R. E. (1982). *Vitamin C: Some current problems*. Journal of the Royal Society of Medicine Volume 75 March London.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Jialal, I., & Fuller, C. J. (1993). *Oxidized LDL and antioxidants*. Clin Cardiol, 16: 1-9.

Junqueira, L.C., & Carneiro, J. (2005). *Temel Histoloji*. (Çeviri: Aytekin, Y., Solakoğlu, S.,) 10. Baskıdan Çeviri, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, 418-428 s.

Karataş, S. (1998). Sıçanlarda Kadmiyum Klorür'ün (CdCl₂) testis dokusuna etkisi, Yüksek Lisans Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.

Kayaalp O. (2009). *Tıbbi Farmakoloji*. Ankara: Pelikan Tıp ve Teknik Kitapçılık, 216-24.

Kaida, S., Ohta, Y., Imai, Y. & Kawanishi, M. (2010). *Protective effect of L-ascorbic acid against oxidative damage in the liver of rats with water-immersion restraint stress*. Redox Rep;15(1):11-9.

Khaki, A., Novin, V. G., Khaki, A. A., Nouri, M., Sanati, E. & Nikmanesh, M. (2008). *Comparative study of the effects of gentamicin, neomycin, streptomycin and ofloxacin antibiotics on sperm parameters and testis apoptosis in rats, Pakistan journal of biological sciences*, 11(13) : 1683-1689.

Khaki, A., Novin, M.G., Khaki, A.A., Fathiazad, F., Khaberi, M., Hossinchi, J., Sehzadeh, R. (2009). *Ultra structural study of gentamicin and ofloxacin effect on testis tissue in rats: Light and transmission electron microscopy, African Journal of Pharmacy and Pharmacology Vol.*, 3(4). pp. 105-109, April.

Junqueira, L. C., Carneiro, J. & Robert O. (1998). *Kelley a Lange medical book*. Çeviri editörü: Prof. Dr. Yener Aytekin. Barış Kitabevi.

Lode, H. (1988). *Tobramycin: a review of therapeutic uses and dosing schedules, Curr Ther Res*, 59:420-53.

Maher, P., & Schubert, D. (2000). *Signaling by reactive oxygen species in the nervous system, Cell Mol Life Sci*, 57:1287-1305.

Maldonado, P. D., Barrera, D., Rivero, I., Mata, R., Medina-Campos, O. N., Hernández-Pando R. & Pedraza-Chaverri, J. (2003). *Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. Free Radic Biol Med*. 35(3):317-24.

Massey, L. K., Liebman, M., & Kynast-Gales, S. A. (2005). *Ascorbate increases human oxaluria and kidney stone risk. J Nutr*; 135(7): 1673-1677.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Masuzawa, M., Nakao, S., Miyamoto, E., Yamada, M., Murao, K., Nishi, K. & Shingu, K. (2003). *Pentobarbital inhibits ketamine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens: a microdialysis study*, *Anesth Analg*; 96, 148 -52 s.

Mercan, U. (2004). *Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi*, YYU Vet Fak Derg., 15 (1-2):91-96.

Mesci, S. (2011). Rat overinde iskemi reperfüzyon hasarında selenyum ve C vitaminin etkinliği, Tıpta Uzmanlık Tezi, Düzce Üniversitesi, Düzce.

Meyers, R. M. (1970). *Ototoxic effects of Gentamicin*. *Arch Otolaryngol*, 970; 95: 160-2.

Mihmanlı. A., Güneylüoğlu, D., Özşeker, F., Arslan, S., Özgel, & M., Akkaya, E. (2003). *Astımlı Hastalarda Serbest Oksijen Radikalleri ve Antioksidanların Aktiviteleri*, *Türk Toraks Dergisi*, Cilt 4, Sayı 3, s. 264-268

Moore, K.L. (2009). *İnsan embriyolojisi*, (Çev.: Dalkılıç, H., Yıldırım, M.), İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 262-265 s. 172-176

Mostafa, B. E., Tawfik, S., Hefnawi, N. G., Hassan, M. A., & Ismail, F. A. (2007). *The role of deferoxamine in the prevention of gentamicin ototoxicity: a histological and audiological study in guinea pigs*. *Acta Otolaryngol*. 127(3): 234-9.

Mutlu, B. (2011). Deneysel olarak devamlın hiperoksi sonrası oluşturulan akciğer hasarının tedavisinde E+C vitamini kombine tedavisi ile N-Asetilsistein tedavisinin etkinliğinin değerlendirilmesi, Neonatoloji Yandal Uzmanlık Tezi, Çocuk Sağlığı Ve Hastalıkları A.B.D., Çukurova Üniversitesi, Adana.

Nam, S. Y., Cho, C. K., & Kim, S. G. (1998). *Correlation of increased mortality with the suppression of radiation-inducible microsomal epoxide hydrolase and glutathione S-transferase gene expression by dexamethasone: effects on vitamin C and E-induced radioprotection*, *Biochem Pharmacol*, Nov 15;56(10):1295-304.

Narayana, K. (2008). *An aminoglycoside antibiotic gentamycin induces oxidative stress, reduces antioxidant reserve and impairs spermatogenesis in rats*, *The Journal of Toxicological Sciences Vol. 33*, No. 1, February P 85-96.

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Nishikimi M. (1994). *Cloning and chromosomal mapping of the human nonfunctional gene for L-gulono-gamma-lactone oxidase, the enzyme for Lascorbic acid biosynthesis missing in man. Journal of Biological Chemistry*; 269: 13685–13 688.

Nouri, M., Khaki, A., Azar, F. F., & Rashidi, M. R. (2009). *The Protective Effects of Carrot Seed Extract on Spermatogenesis and Cauda Epididymal Sperm Reserves in Gentamicin Treated Rats, Yakhteh Medical Journal*, Vol 11, No 3, Autumn Pages: 327-333.

Okan, D. (2010). Sıçanlarda streptozotosin diyabet ve eksojen C vitamini (askorbik asit) uygulamasına timus lenfositlerinin cevabı, Yüksek Lisans Tezi , Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Ovalle, W., & Nahirney, P. (2009). *Netter Temel Histoloji*, (Çev.: Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla, P.) Güneş Tıp Kitabevleri. 386-387 s.

Öner, A., Aytekin, Y., Sağduyu, H., & Altuğ, T. (1983). *Gentamisin ve Sulfametoksazol Trimetoprim'in Spermatogenezis Üzerine Etkisi,7.Ulusal Üroloji Kongresi, Serbest Bildiriler Özet Kitabı* sayfa 89-90, Mersin.

Park, J. M. (2007). *Wein: Campbell-Walsh Urology, 9th ed. Section XVII–Pediatric Urology, Chapter 106–Normal Development of the Urogenital System*.p. 6-684.

Preedy, V. R., Watson, R. R., & Sherma, Z. (2010). *Dietary Components and Immune Function Humana Press, Nutrition and Health* ,52: pp. 36.

Rebouche, C. J. (1991). *Ascorbic acid and carnitine biosynthesis, Am J Clin Nutr*, 54(6Suppl):1147S-52S.

Rizzi, M. D., Hirose, K. (2007). *Aminoglycoside ototoxicity. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 15(5): 352-7.

Russell, L. D., Etlin, A. R., Hikim, A.P.S. & Clegg, E. D. (1990). *Histological and histopatological evaluation of the testis, Cache River Press, St. Louis*, 286 s.

Sahinturk, V., Guclu, C. & Baycu, C. (2007). *Protective effects of vitamin E on ethane dimethane sulfonate-induced testicular toxicity in rats, Asian J. Androl.*, 9, 1, 117–124 s

Sancak, B., Cumhuri, M. (2004). *Fonksiyonel Anatomi*, 3. Baskı, ODTÜ Yayıncılık, 291 s. C

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Sapra, M. M., Sharma, P. P. & Kothari, L. K. (1987). *Effect of vitamin C deficiency on testicular structure in the guinea pig*, *Journal of Postgraduate Medicine (Impact Factor: 1.26)*; 33(2):69-73.

Savran, M. (2011). *Ratlarda metotreksat kaynaklı karaciğer ve böbrek hasarında C vitamininin koruyucu etkisinin araştırılması*, Tıpta Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Isparta.

Sax, N. I. (1984). *Dangerous Properties of Hazardous Materials. 6th Ed. New York: Van Nostrand Reinhold*; 2718 s.

Schacht, J. (1993). *Biochemical basis of aminoglycoside ototoxicity*, *Otolaryngol. Clin. North Am.*, 26: 845-856.

Sadler, T. W. (2005). *Langman medikal embriyoloji*, (Çev., Başaklar, C.A.), Ankara: Palme yayıncılık ISBN, 975-8982-12-5,

Segal JA, & Skolnick P. (1998) Polyamine- like actions of aminoglycosides and aminoglycoside derivates at NMDA receptors. *Eur J Pharmacol* , 347: 311-7.

Sen Gupta, R1, Kim, J., Gomes, C., Oh, S., Park, J., Im, W.B., Seong, J.Y, Ahn, R. S., Kwon, H. B., & Soh, J. (2004). *Effect of ascorbic acid supplementation on testicular steroidogenesis and germ cell death in cadmium-treated male rats*. *Mol Cell Endocrinol*; 221(1-2):57-66.

Serarslan, G., Altug, E., Konaş, T., Atik E., & Avcı G. (2007). *Caffeic acid phenethyl ester accelerates cutaneous wound healing in a rat model and decreases oxidative stress*, *Clin Exp Dermatol*, 32(6):709-15.

Sönmez, M. F., Akkuş, D., Selvi, F., & Balcıoğlu, E. (2010). *Melatonin ve C Vitamini'nin Kronik Alkolik Sıçanların Testis Dokusundaki Hasar Ve eNOS İmmunreaktivitesi Üzerine Etkileri*, *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)*, 19(1) 1-11.

Suru, S. M. (2008). *Onion and garlic extracts lessen cadmium-induced nephrotoxicity in rats*. *Biometals*, 3.

Tok, O. E. (2013). *Cep telefonlarının yaydığı elektromanyetik dalgaların sıçan testis gelişimi, hücre ölümü ve kan-testis bariyeri üzerine etkileri: infertilite açısından değerlendirme*, Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı, Marmara Üniversitesi, İstanbul.

Ural, M., Özgüner, M., Şenal, D., Sütçü, R., & Delibaş, N. (2005). *Siklosporin A'nın sıçanlarda oluşturduğu nefrotoksisteye vitamin C ile vitamin E'nin verapamilin etkilerinin ışık mikroskopunda değerlendirilmesi*, *S.D.Ü. Tıp Fak. Derg.*, 12(4)/ 28-35

KAYNAKLAR DİZİNİ (Devam Ediyor)

Ural, M., Özgüner, M., Büyükvanlı, B., Kuplay, H., & Köylü, H. (2006). *Akut diazinon toksisitesinin testis dokusundaoluşturduğu histolojik değişiklikler ve bu değişikliklere C vitamini ve E vitaminin etkisi*, S.D.Ü. Tıp Fak. Derg., 13(2)/ 22-25.

Uyanık, M. Ş. (2010). Deneysel akut miyoglobinürik böbrek yetmezliği gelişiminde değişik dozlardaki C vitaminin etkileri, Uzmanlık tezi, Trakya üniversitesi, Edirne.

Yavaş, G. (2010). Toluen inhalasyonuna bağlı olarak sıçanlarda testis ve epididimiste meydana gelen yapısal değişikliklere vitamin C'nin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi, Ankara.

Yıldırım, M. (1999). *insan anatomisi*, Ankara: Nobel Tıp Kitabevleri.

Yücel, H. A. (2003). *Erkek genital sistemi*, (Çev.: Gökmen, Gövsa, F.) Sistematik anatomi, İzmir: Güven Kitabevi, 549-551 s.

Zahedi, A., Fathiazad, F., Khaki, A., & Ahmadnejad, B. (2012). *Protective Effect of Ginger on Gentamicin-Induced Apoptosis in Testis of Rats*, *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 2(2), 197-200.

Zeren, M. S. (2010). Gentamisin nefrotoksitesinde hiperbarik oksijen tedavisi ile birlikte endojen ve eksojen melatoninin etkileri, Uzmanlık Tezi, İstanbul Üniveristesi, Tıp Fakültesi, İstanbul

Zeren, İ. M., & Özçelik F. (2011). *Brusellozlu bir olguda gentamisine bağlı gelişen akut böbrek yetmezliği*, *Anatol J Clin Investig*, 5(3):153-155

Zikrin, B. R., & Chen, H. (2000). *Regulation of Leydig Cell Steroidogenic Function During Aging*, *Biology of Reproduction*, 63, 977-981 p.

Welsch, U. (1999). *Sobotta histoloji*, (Çev., Erbeni, T., Örs, Ü., Güven, C., Şatiroğlu G., Tekelioğlu, M.) 5. Baskı, Beta Yayıncılık,

Wilson, J. X. (2002). *The physiological role of dehydroascorbic acid*. *FEBS Let*; 527(1-3): 5-9.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : M. Özge Artıran

Doğum tarihi ve yeri : 02.07.1988

Uyruğu : T.C.

Medeni durumu : Bekar

İletişim adresleri : ozgeartran@gmail.com

Eğitim Durumu

1994 – 2002: Mamak İlköğretim Okulu

2002 - 2006: Mamak Yabancı Dil Ağırlıklı Lisesi - Fen Bilimleri

2007 - 2011: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi – Biyoloji

2011 - 2013: Eskişehir Osmangazi Üniversitesi – Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Yabancı dil: İngilizce

Mesleki Deneyim : Esen Ortak Sağlık Ve Güvenlik Birimi- İş Güvenliği Ve Sağlığı Uzmanı

Kurslar ve Eğitim Programları :

Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TICAM), Deney hayvanları ile araştırma temel eğitim kursu, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir 2011