

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

**ERİŞKİN ERKEK SIÇANLARDA CİSPLATİN İLE
OLUŞTURULAN TESTİS HASARI ÜZERİNE SODYUM
SELENİTİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEREN BOZDOĞAN

DANIŐMAN: YRD. DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU

HAZİRAN 2012

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

**ERİŞKİN ERKEK SIÇANLARDA CİSPLATİN İLE
OLUŞTURULAN TESTİS HASARI ÜZERİNE SODYUM
SELENİTİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEREN BOZDOĞAN

DANIŐMAN: YRD. DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU

KABUL VE ONAY SAYFASI

Seren BOZDOĞAN'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Erişkin erkek sıçanlarda cisplatin ile oluşturulan testis hasarı üzerine sodyum selenitin etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih

21/06/2012

Üye Prof. Dr. Cengiz BAYÇU
Üye Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK
Üye Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ
Üye Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN
Üye Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 25/06/2012 tarih ve 919/4281 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

ÖZET

Erişkin erkek sıçanlarda cisplatin ile oluşturulan testis hasarı üzerine sodyum selenitin etkisi.

Cisplatin, kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan kemoterapötik bir maddedir. Ayrıca testis üzerinde de oldukça toksik bir etki göstermektedir. Sodyum selenit ise, antioksidan özelliği olan glutatyon peroksidazın etkin merkezini oluşturan, hücrelerin antioksidan dengesinin sağlanmasında ve lipid peroksidasyonunda önemli işlevi olan bir kimyasaldır. Bu çalışmada, cisplatin ile oluşturulan sıçan testis hasarına karşı selenyumun etkilerinin ortaya konulması amacıyla 28 adet Spraque-Dawley türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar her grupta 7 erişkin erkek sıçan olacak şekilde kontrol, 7 mg/kg cisplatin, 1 mg/kg selenyum, 7 mg/kg cisplatin+ 1 mg/kg selenyum verilen grup olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deney sonunda sıçanların 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 sol testisten alınan kesitler Hematoksilen+ Eozin ve Periyodik Asit-Schiff+ Hematoksilen ile boyanarak mikroskopik incelemeleri yapıldı. Sağ testisten alınan kesitler ise apoptotik hücrelerin belirlenmesi amacıyla TUNEL yöntemi ile boyandı. Mikroskopik olarak incelenen preparatlarda testiste gözlenen belirli hasarlara göre tablo oluşturularak skorlama yapıldı ve veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Sonuç olarak cisplatinin testis ve vücut ağırlığını azalttığı, testiste seminifer tübüllerde ve hücrelerde hasara yol açtığı, ayrıca spermatogenezi durdurduğu gözlemlendi. Cisplatin ile birlikte verilen selenyumun ise testiste gözlenen bu hasarı azaltabileceği gözlemlendi.

Anahtar Sözcükler : Cisplatin, Selenyum, Sıçan, Testis

SUMMARY

Effect of sodium selenite on testicular damage induced by cisplatin in adult male rats.

Cisplatin is a frequently used chemotherapeutic agent, also it has strong toxic effect on testes. Whereas, the active center of the glutathione peroxidase which has an antioxidant activity is formed by sodium selenite that is a chemical having important functions in cells for sustaining antioxidant balance and lipid peroxidation. In this study, we aimed to determine the effects of sodium selenite on cisplatin induced testicular damage in rats. Total 28 Sprague- Dawley rats were used in the present study. Rats were divided into 4 groups as control, 7 mg/kg cisplatin, 1mg/kg selenium, 7mg/kg cisplatin + 1mg/kg selenium, with 7 adult male rats in each group. At the end of administration period, the weight of testes and whole body were measured and compared to each other. Left testes were put into Bouin solution, right testes were put into 10% neutral formalin for tissue tracking process and were blocked after the routine histological procedures. Serial sections with 3µm thickness were obtained from that paraffin blocks and microscopical examinations were performed on sections of left testes after stained by Hematoxylene + Eozin and Periodic Acid- Schiff + Hematoxylene. Meanwhile, sections from right testes were stained with TUNEL method to determine apoptotic cells. In the preparates examined microscopically, scoring were performed by forming table accords to particular damage in testes and data was analysed statistically.

Results of the present study indicate that, cisplatin causes reduction in body and testes weight, damage of seminiferous tubules and cells of testes, also arrest spermatogenesis. However it was observed that a administration of selenium together with cisplatin might lead to reduction in damage level observed in testes.

Key words : Cisplatin, Selenium, Rat, Testis

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
ÖZET	v
SUMMARY	vi
TABLolar DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Testisin Anatomisi	4
2.2. Testisin Embriyolojisi	7
2.3. Testisin Histolojisi	9
2.3.1. Seminifer tübül epiteli	10
2.3.1.1. Sertoli hücreleri	11
2.3.1.2. Spermatogonyumlar	12
2.3.1.3. Primer ve sekonder spermatositler	13
2.3.1.4. Erken ve geç dönem spermatidler	14
2.3.2. İnterstisyel alan	15
2.3.2.1. Leydig hücreleri	15
2.3.2.2. Myoid hücreler	16
2.3.3. İnterstisyel bağ dokusu	16
2.3.4. Spermatogenez	17
2.3.4.1. Spermatositogenez	17
2.3.4.2. Mayoz bölünme	17
2.3.4.3. Spermijogenez	18
2.3.4.3.1. Golgi fazı	18
2.3.4.3.2. Başlık (Cap) fazı	19
2.3.4.3.3. Akrozom fazı	19
2.3.4.3.4. Olgunlaşma fazı	19
2.4. Testisin Histofizyolojisi	20
2.5. Testiste Atrofi ve Rejenerasyon	22
2.6. Kanser ve Kemoterapi	22
2.7. Apoptozis	26
2.7.1. Spermatogenezde apoptozisin rolü	28
2.8. Cisplatin	29
2.8.1. Cisplatinin moleküler yapısı ve özellikleri	30

2.8.2. Cisplatinin hücre içine alınışı	32
2.8.3. Biyotransformasyon ve DNA- platin bağlarının oluşması	32
2.8.4. Cisplatinin farmakokinetiği	34
2.8.5. Cisplatinin toksisitesi	35
2.9. Antioksidanlar	39
2.9.1. Glutasyon peroksidaz	41
2.10. Selenyum (Se)	42
3. GEREÇ VE YÖNTEM	46
3.1. Deney Hayvanları	46
3.2. Kimyasallar	47
3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü	47
3.4. Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması	47
3.5. Dokuların Alınması	48
3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü	48
3.7. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması	48
3.8. Boyaların Hazırlanması	50
3.8.1. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) boyasının hazırlanışı	50
3.8.2. TUNEL yöntemi	50
3.9. Kesitlerin Alınması ve Boyanması	51
3.10. Histolojik Değerlendirme	55
3.11. İstatistiksel Analiz	56
4. BULGULAR	57
4.1. İstatistiksel Bulgur	57
4.1.1. Vücut ağırlıkları analizi	57
4.1.2. Toplam testis ağırlıkları analizi	60
4.1.3. Histolojik skorlama analizi	61
4.1.3.1. Bazal membran kalınlaşması	61
4.1.3.2. Bazal membran ayrılması	61
4.1.3.3. Multinükleer hücre yapısı	61
4.1.3.4. Hücre nekrozu	61
4.1.3.5. Hücresel dejenerasyon	62
4.1.3.6. Tübül duvarı incilmesi	62
4.1.3.7. Epitelyal hücre dökülmesi	62
4.1.3.8. Tübüler atrofi	62
4.1.3.9. Vakuolizasyon	63
4.1.3.10. Kongesyon	63
4.1.3.11. İnterstisyel alanda ödem	63
4.2. Histolojik Bulgular	65
5. TARTIŞMA	83

6. SONUÇ VE ÖNERİLER	96
KAYNAKLAR DİZİNİ	98
ÖZGEÇMİŞ	117

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1: Cisplatinin kimyasal özellikleri.....	30
Tablo 2: Cisplatine ait farmakokinetik özellikler.....	34
Tablo 3: Cisplatine bağlı istenmeyen etkiler.....	36
Tablo 4: Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi.....	40
Tablo 5: Doku takip yöntemine ait süreler.....	49
Tablo 6: Hematoksilen Eozin boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri...52	
Tablo 7: PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri53	
Tablo 8: TUNEL yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri.....54	
Tablo 9: Gruplara göre deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları.....57	
Tablo 10: Gruplar arasında deney sonu vücut ağırlığı farkları.....59	
Tablo 11: Sıçanların gruplarına göre toplam testis ağırlıkları.....60	
Tablo 12: Histolojik skora.....64	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1. Testisin anatomik yapısı.....	4
Şekil 2. Cisplatinin moleküler yapısı.....	30
Şekil 3. Cisplatinin DNA ile oluşturduğu bağlar.....	33
Şekil 4. Sıçanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları.....	58
Şekil 5. Sıçanların deney sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması.....	59
Şekil 6. Sıçanların toplam testis ağırlıklarının deney gruplarına göre karşılaştırılması.....	60
Şekil 7. Kontrol grubuna ait testis kesiti (H-E).....	67
Şekil 8. Kontrol grubuna ait testis kesiti (H-E).....	68
Şekil 9. Kontrol grubuna ait testis kesiti (PAS+H-E).....	69
Şekil 10. Kontrol grubuna ait testis kesiti (PAS+H-E).....	70
Şekil 11. Kontrol grubuna ait testis kesiti (TUNEL).....	71
Şekil 12. Cisplatin grubuna ait testis kesiti (H-E).....	72
Şekil 13. Cisplatin grubuna ait testis kesiti (H-E).....	73
Şekil 14. Cisplatin grubuna ait testis kesiti (PAS+H-E).....	74
Şekil 15. Cisplatin grubuna ait testis kesiti (TUNEL).....	75
Şekil 16. Se grubuna ait testis kesiti (H-E).....	76
Şekil 17. Se grubuna ait testis kesiti (H-E).....	77
Şekil 18. Se grubuna ait testis kesiti (PAS+H-E).....	78
Şekil 19. Se grubuna ait testis kesiti (TUNEL).....	79
Şekil 20. Cisplatin+Selenyum grubuna ait testis kesiti (H-E).....	80
Şekil 21. Cisplatin+Selenyum grubuna ait testis kesiti (PAS+H-E).....	81
Şekil 22. Cisplatin+Selenyum grubuna ait testis kesiti (TUNEL).....	82

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat Derece
ABP	Androjen-bağlayıcı protein
AMH	Antimülleriyan hormon
APAF-1	Apoptozis proteaz aktive edici faktör
ATP	Adenozin tri fosfat
C	DNA miktarı
cAMP	Döngüsel adenozin trifosfat
Cd	Kadmiyum
CdCl ₂	Kadmiyum klorür
CDDP	Cisplatin
Cl	Klor
cm	Santimetre
CTR1	Copper transporter 1
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
FSH	Folikül uyarıcı hormon
g	Gram
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
GSSG-R	Glutasyon reduktaz
GST	Glutasyon S-transferaz
H	Hematoksilen
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
hCG	İnsan koryonik gonadotropin
H-E	Hematoksilen- Eozin
HMG1 ve HMG2	Nonhistone chromosomal high-mobility group
hUBF	Human RNA polymerasa 1 trancription upstream binding factor
i.p	Periton İçi
KAT	Katalaz
kg	Kilogram

LH	Luteinizan hormon
m	Metre
MDA	Malondialdehid
mg	Miligram
MIM	Mülleryan inhibitör madde
ml	Mililitre
mm	Milimetre
MMR	Mismatch repair
Na ₂ SeO ₃	Sodyum selenit
NADPH	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NH ₃	Amonyum
NS	Anlamli değil
O ₂	Oksijen
OH	Hidroksil
PAS	Periyodik asit Schiff
pg	Pikogram
PLGSH-Px	Fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz
Pt	Platin
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
Se	Selenyum
SOD	Süperoksit dismutaz
SR	Serbest radikaller
SRY	Y'nin cinsiyeti belirleyen bölgesi
TBF	Testis belirleyici faktör
TBP	TATA binding protein
TNFR	Tümör nekroz faktör reseptör
Vit C	Askorbat
Vit E	α -Tokoferol
μ m	Mikrometre

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser; normal hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalması, yaygın nitelik kazanması, metastaz yapması ile kendini gösteren ve kalp hastalıklarından sonra ölüme yol açan nedenler arasında ikinci sırada yer almaktadır (110, 174).

Kanser; tipine ve gelişim evresine bağlı olarak cerrahi çıkarım, radyoterapi ve kemoterapi yöntemlerinin ya tek başına ya da kombine uygulamalarıyla tedavi edilmektedir (165).

Kemoterapötik ajanlar çeşitli kanser tiplerinin tedavisinde kullanılmakta olup; alkilleyiciler, antimetabolitler, mitotik inhibitörler, antibiyotikler, enzimler, hormonlar ve hormon antagonistleri gibi çeşitli kategorilere ayrılırlar ve bu ajanların etki mekanizmaları birbirinden farklıdır (109).

Antineoplastik kemoterapi; tümör hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını durdurarak tamamen yok edebilen bir tedavi şekli olmasının yanı sıra, normal hücre ile tümör hücresi arasındaki yapısal benzerlikler nedeniyle normal hücrelere de zarar verebilmektedir (110).

Cisplatin (CDDP); yapısı bakımından diğer antineoplastik ilaçlara benzemeyen, organik platin türevi bir ilaç olup; özellikle baş-boyun, testis, yumurtalık kanserleri ile mesane, prostat, serviks, özefagus, osteojenik sarkom, nöroblastoma ve küçük hücreli akciğer tümörleri gibi birçok solid tümörün tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (13,40, 109).

Antineoplastik ilaçların kemoterapide kullanılması sonucu, özellikle hızlı bir biçimde çoğalmakta olan gastrointestinal, hematopietik sistem hücreleri ve testiste önemli toksik etkilerin oluştuğu bilinmektedir (101).

Testis germinal epitel hücreleri, yüksek mitotik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle sitotoksik kemoterapötiklere duyarlıdır. Gonadları en çok suprese eden kemoterapötik ilaçlar alkile ediciler (mekloreteamin gibi, prokarbazin hariç) ve cisplatindir (55).

Cisplatine bağlı testiküler hasar, direkt olarak spermatogenik hücreler ve Sertoli hücreleri üzerinde olmaktadır aynı zamanda cisplatin Leydig hücrelerinde de fonksiyon bozukluğu yaratmaktadır (55).

Spermatogenik hücreler, kemoterapötik ilaçların zararlı etkilerine çok duyarlıdır. Bu ilaçlar, kök hücre topluluğunda onarılamayan hasara yol açarak kalıcı infertiliteye yol açabilir. En duyarlı hücreler aktif bölünen spermatogonyum ve preleptoten fazına kadar ki spermatositlerdir (160).

Cisplatin spermatotoksiktir ve Leydig hücrelerine olası direkt etkisinden dolayı, cisplatin kullanımı serum testosteron ve intratestiküler P 450 seviyelerinde azalmaya yol açmaktadır. Cisplatin kullanılan kemoterapide, hastaların çoğu azospermik olmakta, fakat bunların çoğunda spermatogenez 4 yıl içinde geri dönmektedir (160).

Selenyum (Se), periyodik cetvelin 6A alt grubunda yer alan bir elementtir. Havada, toprakta, kayalarda ve suda erimiş olarak bulunur (103).

Se, insan sağlığı için gerekli olan önemli bir iz elementtir. Çalışmalarda Se'nin normal erkek üreme işlevleri için gerekli olduğu gösterilmiştir. Testisteki Se içeriğinin, hayvanlarda spermatogenezin başlamasıyla birlikte arttığı görülmüştür. Sıçanlarda, Se'nin testisteki yoğunluğu homeostaz mekanizmaları tarafından düzenlenmektedir (103).

Se, yiyeceklerde esas olarak selenometiyonin, metilselenometiyonin, selenosistin ve selenosistein gibi organik bileşikler halinde bulunur ve dışarıdan alındığı durumlarda kullanılan bileşiğinin sodyum selenit (Na_2SeO_3) olması nedeniyle, özellikle deneysel Se

çalışmaları selenit metabolizması üzerinde yoğunlaşmıştır (103).

Se'nin memelilerde büyüme ve fertilité için gerekli bir eser element olduğu ve E-vitamini ile birlikte kullanıldığında, laboratuvar hayvanlarında çeşitli hastalıklar ve kanser oluşumunu engellediği bildirilmektedir (157).

Se'nin esansiyel bir element olarak antioksidan rol oynayan glutatyon peroksidaz aktivitesi için gerekli olduğu, antioksidan gibi davrandığı ve insülin benzeri etki oluşturduğu gösterilmiştir (208).

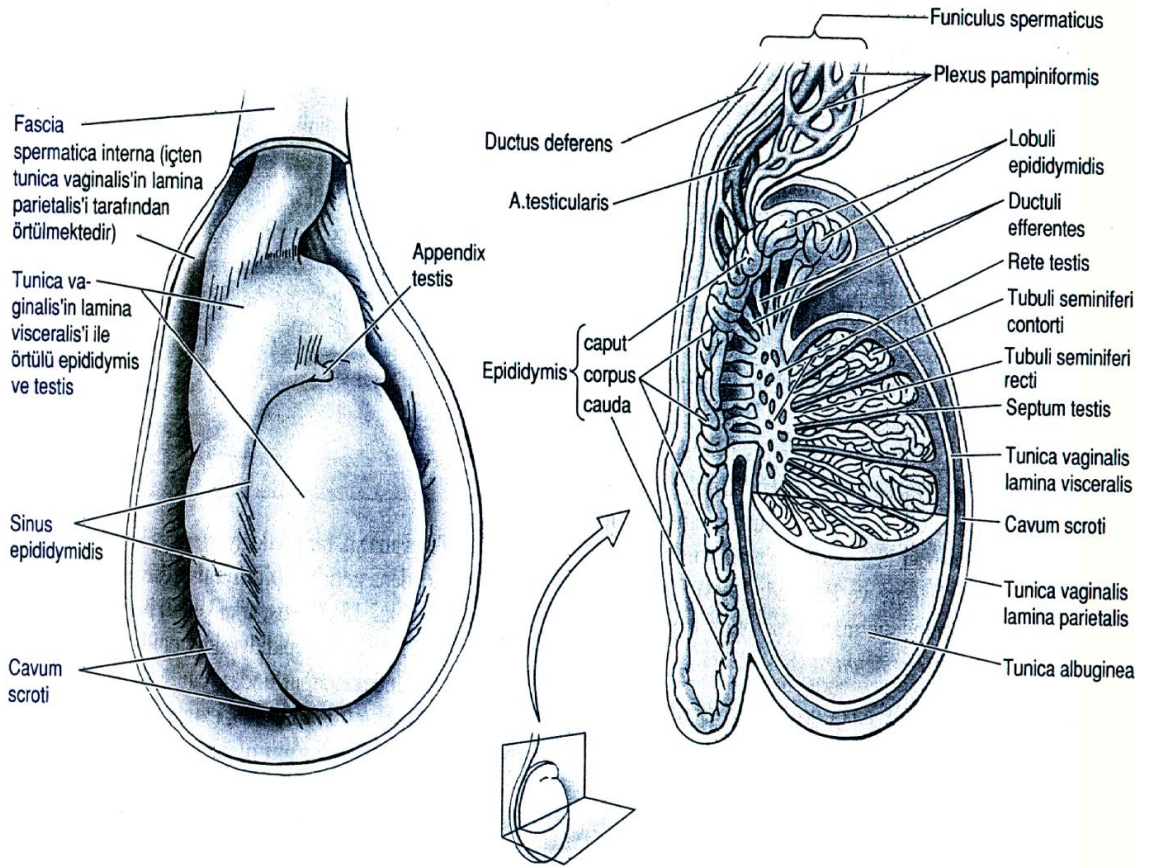
Cisplatin içeren kemoterapi alan hastaların kanındaki Se seviyesi düşmektedir ve Se'nin cisplatin ve nitrite karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (93).

Cisplatin ve Se'nin bilinen bu özelliklerinden yola çıkarak biz bu çalışmada, cisplatin ile hasara uğramış sıçan testis dokusunda, Se'nin koruyucu bir etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testisin Anatomisi

Testisler, oval şekilli olup yetişkin insanlarda yaklaşık 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm eninde ve 20-30 g ağırlığında, funiculus spermaticusa asılı olarak skrotum içinde yerleşmiş, erkek üreme hücrelerinin (sperm) yapıldığı bir çift organdır (7, 14, 33, 49, 81, 142,143, 155, 209, 219, 224). Kıvrımlı bir deri kesesi olan skrotumun iç yüzü, skrotal septum (septum scrotum) ile iki ayrı bölüme ayrılır. Testisler bu boşluklarda bulunur (49).



Şekil 1. Testisin anatomik yapısı

Testisler, karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişirler (14, 100, 111, 151, 195, 219). Erken fetal dönemde karın boşluğunda böbreklere yakın olarak yer alan testisler fetus geliştikçe aşağıya doğru hareket ederek doğumdan hemen önce kanalis ingunalis aracılığıyla skrotuma inerler. Testislerin temel fonksiyonlarını yapabilmeleri için karın boşluğundan skrotuma inmeleri zorunludur. Testisler bu inişleri sırasında karın ön duvarı tabakalarını da sürüklerler. Bu yüzden şu tabakalarla kaplıdırlar:

- | | | |
|------------------------------|---|---------|
| a. Deri | } | Skrotum |
| b. Tunika dartos | | |
| c. Fasia spermatika eksterna | | |
| d. Fasia kremasterika | | |
| e. Fasia spermatika interna | | |
| f. Tunika vaginalis testis | | (34). |

Testislerin skrotum içindeki duruşları vertikal olmayıp, organın uzun eksenini yukarıdan aşağı ve önden arkaya eğik, biri (genellikle sol testis) diğerine göre 1 cm kadar daha aşağıda bulunur (57, 73, 189).

Her bir testisin facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü; margo anterior ve margo posterior olmak üzere iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere de iki ucu vardır (14, 49, 81, 209, 219, 224).

Testis dıştan içe; tunica vaginalis'in lamina visceralis'i (epiorchium), tunica albuginea ve tunica vasculosa olarak üç tabaka ile sarılıdır (14, 80, 219, 224)

Tunica vaginalis, testisin büyük bölümünü saran periton katlantısı olup, embriyonik processus vaginalis'in distal kalıntısıdır (49, 79, 142, 143, 155, 209). Tunica vaginalis; skrotum'un iç yüzünü döşeyen lamina parietalis (periorchium) ve testisi saran lamina visceralis (epiorchium) olarak iki katmandan oluşur (49, 155, 209). 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 (14, 79). Tunica vaginalis'in iki katmanı arasında kalan aralığa cavum serosum scroti denir ve içinde eklem sıvısına benzer, testislerin serbest hareketini sağlayan kaygan bir sıvı bulunur (14, 142, 143).

Tunica albuginea, lamina visceralis'in altında testis'i dıştan saran mavimsi beyaz renkli, fibröz bir katmandır (14, 49, 81, 155, 209). Tunica albuginea, arka kenarında mediastinum testis adı verilen kalın ve vertikal bir bölme oluşturur (14, 49, 155, 209, 219). Mediastinum testis, organa damar, sinir ve kanalların girip çıktığı bölgedir (14, 81). Mediastinum testis'den testis içine giren uzantılara septula testis denir (14, 49, 155, 209, 219). Septumlar, testisin derinliklerine doğru ışımsal uzanarak organı piramidal şekilli 250-300 lobçuğa (lobuli testis) ayırır (14, 49, 155, 189, 209, 219, 224). Lobuli testislerin taban kısımları perifere, tepe kısımları ise mediastinum testis'e yönelmiştir (14). Her lobçuk 1-4 tubuli seminiferi contorti (seminifer tübül) denilen kıvrıntılı tüplerden oluşmaktadır (14, 49, 70, 84, 155, 170, 189, 219). Testisteki 250-300 lobçukta yaklaşık 600-1000 adet seminifer tübül bulunmaktadır (219). Bu tübüllerin uzunlukları 30-70 cm, çapları 150-250 µm'dir (70, 84, 170).

Kıvrıntılı seyir gösteren seminifer tübüller kör bir uçla başlar, lobçukların mediastinum testis'e bakan kısımlarında düzleşip, birbirleriyle birleşerek sayıları 20-30'a iner (14, 155, 224). Tubuli seminiferi recti denilen bu kısa düz kanalların çapları genişleyerek 0,5 mm olur (14). Tubuli seminiferi recti'ler mediastinum testis'e uzanarak ve birbirleriyle anastomoz yaparak rete testis'i (Haller ağı) oluştururlar. Rete testis, mediastinum testisin üst bölümünde sayıları 12-15 arasında değişen efferent kanalcık'lara açılır. Efferent kanalcıklar, tunica albuginea'yı delerek testis dışına çıkarlar (14, 155, 224).

Tunica vasculosa, tunica albuginea'nın iç yüzünü ve lobçukları döşeyen damar ağı katmanıdır (14, 175, 219, 224). Damarlar arasında gevşek bağ doku bulunur (14).

Testis ve epididimis, aortanın dalı olan arteria testikularisten beslenirler. Testis ve epididimisin venleri, önce funiculus spermaticusu saran bir ağ şeklinde pleksus pampiniformisi, daha sonra da birbirleriyle birleşerek vena testikularisi oluştururlar. Bunlar da sağ tarafta vena cava inferior, sol tarafta vena renalis sinistraya açılır (14, 54, 107, 151, 219).

2.2. Testisin Embriyolojisi

Embriyonun cinsiyeti döllenme 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 adı verilir (141, 172).

Gonadlar (testisler ve overler) üç kaynaktan köken alırlar: (140, 141, 195)

Karın arka duvarını döşeyen mezotel (mezodermal epitel)

Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)

Primordiyal germ hücreleri

Boyutları ve kromatin içerikleri soma hücrelerinden farklı olan insan primordiyal germ hücreleri 4. hafta başında kaudalde allantois çıkışının önündeki vitellüs kesesi içinde yer alır. Embriyonun katlanmasıyla beraber vitellüs kesesinin arka bölümü embriyonun içerisine geçer. Bu sırada primordiyal germ hücreleri amipsi hareketlerle arka mezenter üzerinden geçerek vitellüs kesesinden gonad kıvrımına göç ederler. 6. haftada da birincil cinsiyet kordonlarına yerleşmiş olurlar (129, 140, 141, 173).

Gonadal gelişimin ilk evreleri 5. haftada ortaya çıkar, mezonefrozun mediyalinde, mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin çoğalması ile mezonefrozun mediyalinde bir kabarıklık (gonadal kabartı) oluşur. Parmak

şeklindeki epitel kordonları (gonadal kordonlar) altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklılaşmamış gonad, dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulla'dan oluşmaktadır. Eğer embriyo XX seks kromozom kompleksine sahip ise, farklılaşmamış gonad'ın korteksi ovaryuma farklılaşır, medullası geriler. Embriyo XY seks kromozom kompleksini içermekteyse, medulla testise farklılaşır, korteks bir takım kalıntıları bırakarak geriler, dejenere olur (34, 37, 75, 78, 117, 140, 141, 173, 195).

Seks kromozom kompleksinin tipi, fertilizasyonla sağlanır, bu da farklılaşmamış gonadın hangi yönde gelişeceğini belirlemektedir. Mevcut gonadın tipi, daha sonra dış genitalerde ve genital kanallarda oluşan cinsiyet farklılaşmasını belirlemektedir. Fetal testisler tarafından üretilen testosteron, dihidrotestosteron ve antimülleriyan hormon (AMH) normal erkek cinsiyet gelişimini belirlemektedir (141).

Erkek fenotipinin gelişimi için bir Y kromozomu gereklidir. Testis belirleyici faktör (TBF) için gerekli olan SRY geninin, Y kromozomunun kısa kolunda, cinsiyet belirleyici bölgesinde yerleştiği saptanmıştır. Y kromozomu tarafından düzenlenen, TBF, testiküler farklılaşmayı sağlamaktadır. Bu organizatör faktörün etkisi altında, gonadal kordonlar, seminifer kordonlara (seminiferöz tübül primordiyumlarına) farklılaşır. Seminifer kordonların oluşumu, bir dizi genin uyarılmasıyla sağlanır. TBF, gonadal kordonları uyararak, onların farklılaşmamış gonadın medullasında derinlerine doğru uzamasına neden olur. Kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomoz yaparlar ve böylece rete testis oluşur. Kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea geliştikten sonra, gonadal kordonların yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. Yoğun bir yapısı olan tunika albuginea'nın gelişimi, testiküler gelişim için oldukça karakteristiktir. Genişleyen testis aşamalı olarak dejenere olan mezonefrozdaki ayrılr ve kendi mezenterisi olan, mesonefrium ile aslına hale geçer. Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tubuli rekti ve rete testise farklılaşır (34, 75, 78, 117, 140, 141, 172, 173, 195).

Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenşim ile ayrılırlar. 8. haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonları (testosteron

ve androstenediyon) salgılamaya başlarlar. Bu hormonlar mezonefroz kanalların (Wolff) ve dış genitalerin erkek tipinde farklılaşmasını uyarırlar. Testosteron üretimini, insan koryonik gonadotropin (hCG) hormonu uyarır. Bu hormonun miktarı, 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşır. Testosterona ek olarak, fetal testisler, glikoprotein yapıda bir hormon olan antimülleryan hormon (AMH) veya mülleryan inhibitör madde (MİM) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. AMH, Sertoli hücreleri (destek hücreleri) tarafından salgılanır. Bu hormonun salınması ergenliğe kadar devam eder, daha sonra ise seviyesi azalır. AMH, uterus ve tuba uterinalara farklılaşan, paramezonefroz kanallarının (Müller) gelişimini baskılar (34, 37, 75, 78, 117, 140, 141, 173, 195). Seminifer tübüller, ergenliğe kadar katı halde kalırlar, ergenlikten itibaren lümen gelişir. Seminifer tübül duvarında iki tip hücre bulunur:

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

Spermatogonyum: Sperm hücrelerinin öncüleri olan bu hücreler, primordiyal germ hücrelerinden farklılaşırlar (34, 37, 75, 78, 117, 140, 141, 173, 195).

Fetal testiste, Sertoli hücreleri, seminifer tübüllerde çoğunluğu oluşturur. Daha sonraki fetal gelişme sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve yetişkin testisin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, eferent kanalcıkları (duktuli eferentes) oluşturan, 15-20 adet mezonefroz tübüller ile devam eder. Bu kanalcıklar, duktus epididimisi oluşturan mezonefroz kanalı ile bağlanırlar (34, 37, 78, 140, 141, 173, 195).

2.3. Testisin Histolojisi

20-30 g ağırlığında oval bir bez olan testis, canlıda beyaz görünüm sergilemesi nedeniyle tunika albuginea adı verilen sıkı fibroelastik bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsülle sarılmış durumdadır (154). Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testis adı verilen yapıyı oluşturur. Buradan bezin içine giren fibröz uzantılar (septum), bezi testis lobçukları/bölmeleri denilen yaklaşık 250 adet piramidal

bölmeye ayırır. Bu uzantılar kesintisiz değildir ve çoğunlukla bölmeler birbirleriyle 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, interstisyel hücreler de testis androjenlerini salgılar (39, 45, 60, 61, 64, 68, 69, 74, 99, 116, 130, 144, 148, 169, 192, 194).

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. Skrotuma doğru gerçekleştirdikleri bu göç nedeniyle her bir testis kendisiyle birlikte peritonu, tunika vajinalis adı verilen seröz bir kese şeklinde skrotum içine sürükler. Tunika vajinalis dışta parietal, içte ise visceral bir tabakadan oluşur ve testisin ön ve yan kısımlarında tunika albugineayı örter (39, 45, 64, 68, 69, 99, 194).

2.3.1. Seminifer tübül epiteli

Spermatozoidler, seminifer tübüllerde üretilir ve erişkindeki yapım hızı günde yaklaşık 2×10^8 'dir. Her testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül bulunur. Her seminifer tübül karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşeli olup, çapları yaklaşık 150-250 μm ve boyları 30-70 cm'dir. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 m'dir. Tübüller kıvrımlıdır ve uçlarına doğru lümeni daralarak düz tübüller ya da tubuli rekti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eden kanallar şeklinde uzanır. Bu düz tübüller, seminifer tübüleri rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlar. Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık 10-20 adet duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmaktadır (69, 98, 116, 130, 144, 169, 192, 194).

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 boşluğun büyük bir bölümünü interstisyel (Leydig) hücreleri doldurur (69, 99, 116, 130, 144, 169).

Seminifer epitelde Sertoli ya da destek hücreleri ile spermatogenez serisini oluşturan hücreler vardır (99).

2.3.1.1. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri ergenliğe kadar seminifer epitelin dominant hücre tipidir. Ergenlikten sonra, tübüllerini döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluşturur. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatogenez hücre popülasyonu düştüğü zaman, Sertoli hücreleri tekrar epitelin ana elemanı haline gelir (39, 45, 69, 99, 116, 130, 144).

Sertoli hücreleri bazal laminadan seminifer tübül lümenine doğru uzanan prizmatik hücrelerdir. Tübüller arası boşluk ve seminifer tübül lümeni arasında köprü hücreler olarak görev yaparlar. Sertoli hücrelerinin apikal ve lateral hücre membranlarının düzensiz sınırları vardır çünkü gelişmekte olan spermatogenez hücrelere kriptalar sağlayarak ev sahipliği yaparlar (39, 45, 69, 99, 116, 130, 144, 192).

Çekirdek olukludur ve heterokromatin kitleleri ile ilişkili geniş bir çekirdekçik içerir. Sitoplazma, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum, mitokondriyonlar, lizozomlar, lipid damlacıkları, yaygın bir Golgi aygıtı ve zengin bir hücre iskeleti (vimentin, aktin, mikrotübüller) içerir. Bazolateral bölgelerinde, Sertoli hücreleri komşu Sertoli hücreleri ile sıkı bağlantıları oluştururlar (39, 45, 60, 61, 130, 144, 192).

Bazolateral sıkı bağlantılar, seminifer epiteli bir bazal ve bir adluminal kompartmanlara bölerler ve gelişmekte olan spermatositleri ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan koruyan kan-testis bariyeri olarak adlandırılan elemanları belirlerler (39, 45, 60, 61, 130, 144, 192)

Sertoli hücrelerinin işlevleri :

- Gelişmekte olan spermatogonik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek.
- Oluşturdukları bariyer ile gelişen sperm hücrelerini immünolojik saldırıdan korumak.
- Seminifer tübül lümenine genital kanallar yönünde akan ve sperm taşınması için kullanılan bir sıvı salgılamak.
- Seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronunun yoğunlaşmasını sağlayan androjen-bağlayıcı proteini (ABP) salgılamak.
- Testosteronu östradiol haline çevirmek.
- Ön hipofiz bezinden Folikül uyarıcı hormon (FSH) sentez ve salınmasını önleyen inhibin adlı peptidi ve FSH salınımı üzerine olumlu bir etki gösteren aktivini salgılamak.
- Embriyo gelişimi sırasında erkek fetüste Müller (paramezonefroz) kanallarının gerilemesini sağlayan bir glikoprotein olan AMH'yi salgılamak.
- Üreme hücrelerine demir taşıdığına inanılan testiküler transferrinin sentezlenmesi ve salgılanmasında görev almak (48).

2.3.1.2. Spermatogonyumlar

Spermatogonyumlar, bazal kompartmanda bazal lamina ile direkt ilişkide olan diploid spermatogonik hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların altında yer alırlar ve bu nedenle kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar.

Spermatogonyumlar, spermatogonyal kök hücrelerden köken alırlar ve ergenlikte başlayan başarılı mitotik hücre bölünmeleri geçirirler.

İki temel morfolojik spermatogonyal hücre tipi gözlenebilir: (1) tip A spermatogonyum (insan testislerinde A koyu ve A açık spermatogonyumlar olarak gözlenir); (2) tip B spermatogonyum (64, 69, 99, 116, 226, 227).

Spermatogonyal kök hücrelerin erkek fertilitesinde önemli etkileri vardır. Bu hücreler kısmen sessiz hücrelerdir ve bu nedenle radyasyon ve kanser kemoterapisine dirençlidirler. Mitotik olarak 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 (64, 69, 99, 116).

2.3.1.3. Primer ve sekonder spermatositler

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. Primer spermatosit 4C DNA miktarına sahiptir ve 1C hücre başına yaklaşık 1.5 pg DNA'ya eşdeğerdir (64, 69, 99, 116, 226, 227).

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 (38, 45, 226, 227).

Bir primer spermatosit iki adet sekonder spermatositi oluşturmak üzere birinci mayoz bölünmeye (veya redüksiyon bölünmesi) gider. Sekonder spermatositler çok hızlı bir şekilde interfaz aşaması ve belirgin bir DNA sentezi olmayan (sadece tamir DNA sentezi meydana gelir) ikinci mayoz bölünmeye (veya eşitlenme bölünmesi) giderler. Her bir sekonder spermatosit artık herhangi bir hücre bölünmesi göstermeden sperm şeklinde olgunlaşan iki adet spermatid meydana getirir (117).

Birinci mayoz bölünmenin sonunda, primer spermatositin 4C DNA miktarı sekonder spermatositte 2C'ye düşer. İkinci mayoz bölünmenin sonunda 2C DNA miktarı 1C'ye düşer. Meydana gelen spermatidler haploid spermatidlerdir ve spermiyogenez denilen karmaşık bir farklılaşma sürecini başlatırlar (117).

2.3.1.4. Erken ve geç dönem spermatidler

Mayoz bölünme sonucunda oluşan, haploid spermatidler seminifer tübül lümenine yakın adlüminal kompartımda bulunan hücrelerdir. Spermatogenez aşamasında, spermatozoonun oluşumundan önceki en son hücrelerdir. Sertoli hücreleri tarafından beslenerek yeniden şekillenirler (117).

Erken spermatidler, yuvarlak ve poligonal şekillidirler. Çekirdeklerinde kaba heterokromatin bulunmaz. Belirgin bir golgi kompleksleri bulunur. Akrozom gelişmesinin kep aşamasında Periyodik asit Schiff (PAS) ile pozitif reaksiyon göstererek yuvarlak şekilli gözüklümler (38, 45, 226, 227).

Geç spermatidler ise yine PAS pozitif reaksiyon göstererek akrozomlarının uzamış haliyle görünürler.

2.3.2. İnterstisyel alan

2.3.2.1. Leydig hücreleri

Leydig hücreleri, kıvrıntılı seminifer tübüller arasındaki üçgenlerde gruplanırlar. Ergenlik sırasında belirgin hale gelen, yuvarlak, poligonal şekilli merkezi bir nükleusu vardır. Küçük lipid damlacıklarından oluşan zengin eozinofilik bir sitoplazması bulunmaktadır. İki çekirdekli hücreler olağandır. Golgi kompleksi çekirdeğe yakındır. Salgısını, testosteron ihtiyacına göre sentezler ve biriktirmeden salgılar. Daha sonra bekletilmeden kana verildiğinden salgı granülleri yoktur. Çok sayıda tübüler kristal mitokondriyonlara sahiptir ve asidofil sitoplazmalarında yağ damlacıkları içerirler. Dikkat çekici özelliği geniş granülsüz endoplazma retikulumudur. Granülsüz endoplazmik retikulum sitoplazmalarında androjenik stereoidlerin biyosentezi için gerekli enzimler bulunur. Sitoplazmalarında, ayrıca peroksizom, lizozomlar ve yaşla artan miktarlarda lipokrom pigment birikintileri de mevcuttur. Leydig hücreleri bu özellikleri ile steroid salgısı yapan hücrelere benzerler (64, 69, 99, 140).

Leydig hücrelerinde insana özgü olan renksiz, azokarmin ile boyanan ve büyüklükleri değişebilen Reinke kristalleri bulunmaktadır. İşlevleri bilinmemektedir. Bu kristaller, elektron mikroskobunda düzgün kristal kafesler şeklinde izlenir (64, 69).

Leydig hücreleri, ikincil seks hareketlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üreterek spermatogenezisi devam ettirir. Testosteron, mitokondri ve granülsüz endoplazma retikulumunda bulunan enzimlerce sentezlenir. İnterstisyel hücrelerin hem aktiviteleri, hem de miktarları hormonal uyarımlara bağlıdır. Embriyonik gelişim sırasında, plasental gonadotropik hormon anne kanından fetusa geçerek, androjenik hormonları üreten fetal testiküler interstisyel hücreleri uyarır. Hormonlar, embriyonik farklılaşmada erkek genital organlarının gelişmesi için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler insan hamileliğinin 4,5 ayına kadar farklılaşmış olarak kalırlar. Daha sonra ise testosteron sentezindeki azalmaya bağlı olarak gerilerler. Hücreler, gebelik boyunca ve hipofizden salınan luteinizan hormon

(LH) uyarımı altında testosteron sentezini yeniden yapmaya başladıkları ergenlik öncesi döneme kadar dinlenmede kalırlar (64, 74, 99, 117).

Olgun Leydig hücreleri, doğumdan sonraki birkaç hafta dışında, 10 yaşına kadar erkek çocuk testisinde bulunmaz. Leydig hücrelerinin sayıları, ergenlikle birlikte artarak ileri yaşlarda azalır. Leydig hücre sayısı, 60 yaşındaki bir erkekte 20 yaşındaki bir erkekteki sayının yarısından da az sayıdadır (64, 74).

2.3.2.2. Myoid hücreler

Seminifer tübül epitelini çevreleyen lamina propriya bağ dokusundan oluşmaktadır. Myoid hücreleri (peritübüler kontraktıl hücreleri) ve kollajen lifler seminifer epitelin dış bazal laminasında yer alır. Spermatogenez ile ilgili olarak kemirgenlerde yapılan çalışmalarda lamina propriyanın tek katlı myoid hücrelerden oluştuğu bildirilmiştir (116, 169).

Myoid hücreler ultrastrüktürel olarak incelendiğinde, sitoplazmasında aktin filamentlerini içerdiği ve bazal zarının olmasından dolayı düz kas hücrelerine benzediği gösterilmiştir. Fibroblastlarda bulunan granüllü endoplazma retikulumları sayesinde kollajen sentezinde görev almaktadırlar (64, 116, 169).

Myoid hücreler, hareketsiz spermleri rete testise ilerleten ritmik kasılma hareketlerinden sorumludur. Spermler bu sayede duktus epididimise ulaşır ve burayı geçtikten sonra hareket etme özelliklerini kazanırlar.

2.3.3. İnterstisyel bağ dokusu

Testis kütlelerinin %25-30'unu gevşek bağ dokusu oluşturur. Bu ara doku içerisinde Leydig hücreleri, fibroblastlar, mast hücreleri, Leydig hücrelerine dönüşebilen farklılaşmamış mezenkimal kökenli hücreler, kılcal damarlar, lenf damarları

ve sınırlar bulunur (15, 130, 169, 189).

2.3.4. Spermatogenez

Spermatogenez, spermatozoon üretim sürecidir (99). Bu işlem, hipofiz gonodotropinleri etkisiyle ergenlikten hemen önce başlayarak, bütün yaşam boyunca devam etmektedir (78, 117, 169, 226, 227).

Spermatogenez olayı, spermatogonyumdan sperm oluşumu sırasındaki çoğalma ve hücrel değişiklikleri kapsamaktadır. Bu süreç 3 döneme bölünür (15) :

2.3.4.1. Spermatisitogenez

Spermatogonyumların mitozlarla çoğalması ve primer spermatisite farklılaşması dönemidir (15).

İlkel Tip A spermatogonyumlar, 4 kez mitoz bölünme geçirerek 16 adet daha ileri farklılaşmış Tip B spermatogonyumları meydana getirir. Bu evrede spermatogonyya Sertoli hücrelerine doğru ilerleyerek, Sertoli hücreleriyle taban ve yan yüzlerinden sıkı bir bariyer oluşturur. 24 günlük bir zamandan sonra, Sertoli bariyerinden geçen her spermatogonyum büyüyerek, daha büyük yuvarlak hücreler olan primer spermatisitler halini alır. Tip B spermatogonyumdan oluşan primer spermatisitler, birinci mayozun profazına girerler (38, 69, 78, 117, 169, 226, 227).

2.3.4.2. Mayoz bölünme

Primer spermatisitin birinci mayoz bölünmeyi geçirmesiyle iki sekonder spermatisit oluşur. Bu sırada diploid sayıda kromozom içeren primer spermatisitlerden haploid sayıda kromozom içeren sekonder spermatisitler oluşur. Sekonder spermatisitlerden ise mayozun ikinci olgunluk bölünmesiyle spermatidler meydana

gelir. Böylece oluşan hücreler haploid sayıda kromozom ve haploid DNA içeriğine sahiptir. Bu da döllenme olursa yeni oluşacak olan zigotta türe özgü kromozom sayısının korunmasını sağlar (15, 38, 78, 169, 226, 227).

2.3.4.3. Spermiyogenez

Spermatidin spermatozoaya dönüştüğü mayoz sonrasındaki geçirdiği değişiklikleri içermektedir. Haploid spermatidler seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanında yerleşmişlerdir. Spermatidler, Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içinde gömülüdürler.

Spermatidlerin sitoplazmasında mitokondri, bir sentriyol çifti, serbest ribozomlar ve granülsüz endoplazma retikulumu bulunur, çekirdeğinin hemen yanında ise Golgi kompleksi yer almaktadır.

Spermatidler, spermiyogenez adı verilen hücrenin spermatozoaya dönüştüğü süreçten geçerler. Spermiyogenez, spermatogenezin son aşamasıdır.

Spermiyogenez dört faza ayrılabilir (38, 78, 117, 129, 169, 226, 227)

2.3.4.3.1. Golgi fazı

Küçük, yuvarlak şekilli spermatidlerin sitoplazmalarında bulunan iyi gelişmiş granüllü endoplazma retikulumunda üretilen hidrolitik enzimler, Golgi kompleksinin trans yüzünden zarla çevrili küçük proakrozomal granüller olarak sitoplazmaya verilirler (PAS+ boyanır). Bu granüller birleşerek akrozom vezikülünü yaparlar. İçlerindeki yoğun olarak boyanan enzimler ise akrozom granülünü oluşturur. Bu vezikül çekirdek zarına yapışır. Bu yapışma yeri ileride oluşacak olan spermatozoonun çekirdeğinin tepesini işaret eder. Bu sırada sentriyoller hücrenin ters kutbuna doğru hareket eder. Arka arkaya durarak proksimal ve distal sentriyolleri yaparlar (15).

2.3.4.3.2. Başlık (Cap) fazı

Akrozom kesesi büyüyerek çekirdek zarına tutunan bir kep oluşturur ve bu kep çekirdeğin çevresini sarmaya başlar. Bu arada çekirdekteki yoğunlaşma devam eder (48).

2.3.4.3.3. Akrozom fazı

Akrozom granülü vezikülün içini doldurur ve akrozomun yapımı tamamlanır. Çekirdek koyu kromatinli, küçük ve türe özgü şeklini alır. Örneğin kobayda diskoid, insanda armut şeklindedir. Distal sentriyolden çıkan ve uzayan fibril demeti gittikçe uzayarak aksonemi yapar. Buna uyarak hücre şekli uzar ve mitokondriyonlar çekirdeğin hemen altında aksonemi silindir şeklinde sarar. Flagellum şekillenir (15).

2.3.4.3.4. Olgunlaşma fazı

Sinsityum bozulur ve spermatozoonlar serbestleşir. Lümene verilir. Artan sitoplazma fazlalıkları Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir (15).

Seminifer epitelde belirli spermatogenik hücreler sadece diğer belirli spermatogenik hücrelerle bağlantılıdır. Seminifer tübül şeridinde farklı hücre gruplarının bir serisi bir döngü tamamlanıncaya kadar devam eder.

Belirgin bir seminifer tübül alanında, aynı hücresel gruplaşmanın, iki defa ortaya çıkması arasındaki ardışık basamaklar serisi, seminifer tübül döngüsüdür. İnsanda bir döngü 6 evreden oluşur ve her döngü 16 gün sürer. Bir spermatogonyumun olgun bir sperm haline gelebilmesi için 4 döngü sonunda 64 gün geçirmesi gereklidir. Canlı sıçanda ise bir seminifer tübül şeridi boyunca bir döngü 14 basamaktan oluşur ve 12–14 gün sürer. 3H timidin ile yapılan çalışmalar sonucunda spermatogonyumdan spermin meydana gelme süresi toplam 54 gün olarak hesaplanmıştır (38, 78, 117, 129, 169, 226,

227).

2.4. Testisin Histofizyolojisi

Spermatogenezin düzenlenmesinde sıcaklık çok önemlidir. Spermatogenez, 37°C olan vücut içi sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda meydana gelir. Testis sıcaklığı yaklaşık olarak 35°C'dir. Zengin bir venöz ağ olan pampiniform pleksus testis arterlerinin etrafını sarar. Bu ağlar testis sıcaklığının sürdürülmesinde önemlidir ve sıcaklığı dağıtmak için ters yönlü akımla sıcaklık değişimini sağlamaktadır. Soğuk günlerde, skrotum kası refleks olarak kasılarak testisleri yukarı doğru çeker, testislerin vücuda yaklaştırılması ile 2°C'lik farkın sürekliliği sağlanabilir. Bu şekilde, skrotum teorik olarak, testislere özgül soğutma mekanizması olarak görev yapar (68, 74, 117, 180).

Spermatogenez üzerinde endokrin faktörler de etkilidir (38, 68, 72, 74, 78, 129, 169).

- ❖ Testosteron: Leydig hücreleri tarafından salınır ve spermatogenik hücrelerin gelişmesi için gereklidir.
- ❖ Folikül Uyarıcı Hormon (FSH): Ön hipofizden salınır. Sertoli hücrelerini etkiler. Adenil siklaz yapımını, döngüsel adenozin trifosfat (cAMP) artışını uyarır. Aynı zamanda ABP'nin (androjen bağlayıcı protein) sentez ve salgılanmasını harekete geçirir. Daha sonra ABP testosterona bağlanarak bu hormonu seminifer tübül lümenine taşır. Böylece spermatogenez uyarılmış olur. Bu uyarı olmazsa spermatidlerin sperme dönüşmesi gerçekleşmez.
- ❖ Östrojen: FSH sonucunda uyarılan Sertoli hücresinde testosterondan yapılmaktadır.

- ❖ Luteinleştirici Hormon (LH): Leydig hücreleri üzerine etki ederek normal spermatogenik hücrelerin gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını uyarır. Hipofizden LH salgılanması negatif geri besleme ile düzenlenir. Testosteron sentezinin artması LH salımını baskılar.
- ❖ İnhibin: Bu hormon Sertoli hücrelerinde yapılır ve FSH salımını geri besleme mekanizmasıyla düzenler. İnhibin sürekli salınırsa FSH baskılanır. Üreme hücresi sayısı azalınca da FSH artar.

İnsanda günlük sperm üretimi testis başına 94,6 milyon olarak hesaplanmıştır. Spermier dişi üreme yollarında normalde mevcut olan sıvı akıntısına karşı hareket etme yeteneğine sahiptir ve bu özelliğine pozitif reotaksis denir. Spermier dişi üreme yollarında bazı kimyasal maddeler tarafından ise kendisine doğru çekilir ve bu özelliğe de pozitif kemotaksis denir (64, 68, 74, 78).

Kan ve seminifer tübüllerin iç bölgesi arasında bir bariyerin olması, testiküler sıvı içinde kandan birkaç maddenin bulunduğu anlamına gelmektedir. Kan testis bariyerinden Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar sorumludurlar ve erkek germ hücreleri kandan gelecek zararlı maddelere karşı bu şekilde korunurlar (64, 68, 117, 144).

Sertoli hücrelerinin farklılaşması sperme özgü proteinlerin ortaya çıkmasına yol açar. Cinsel olgunlaşmanın immünokompetansın gelişmesinden uzun bir süre sonra ortaya çıkması sebebiyle farklılaşan sperm hücreleri yabancı olarak tanınabilir ve germ hücrelerinin ölümüne sebep olabilecek bir bağışıklık yanıtını tetikleyebilirler. Kan-testis bariyeri, gelişen spermier ve bağışıklık sistemi arasındaki herhangi bir etkileşimi önler. Bu bariyer seminifer tübüllere immünoglobulinlerin geçmesini önler, bu da serumlarında çok yüksek düzeylerde sperm antikorları bulunan hastalarda döllenmedeki bozukluğu açıklar. Sertoli hücre bariyeri böylece seminifer epiteli herhangi bir otoimmün tepkiden de korumuş olur (1, 38, 117, 144, 169).

2.5. Testiste Atrofi ve Rejenerasyon

İnsanda ergenlikle başlayan spermatogenez devamlıdır ve ölene kadar azalarak devam eder (14, 67, 78, 107, 219). Seminifer tübül epiteli toksik ajanlar, alkol, çeşitli enfeksiyon hastalıkları ve beslenme yetersizliklerine (vitamin A ve E eksikliği) hassastır. Az dozlarda verilen X-ışınları dahi dejenere hücre sayısını artırır, yüksek dozlarda ise kısırlığa neden olur. Spermatogenik hücreler yüksek ısıdan da etkilenir. Bu nedenle testisin skrotum içinde ve vücut dışında yer alması gerekir. Testisin skrotuma inmediği hallerde (kriptorşidizim) seminifer borucuklar atrofik kalır. Sadece Sertoli hücreleri ve çok az miktarda da spermatogonyum izlenir (15).

2.6. Kanser ve Kemoterapi

Kanser, sık görülmesi ve öldürücü etkisinin yüksek olması bakımından günümüzde önemi giderek artan sağlık ve yaşam sorunlarından biri haline gelmiştir. İstatistiklere göre kanser, özellikle gelişmekte olan ülkelerde kalp ve damar hastalıklarından sonra ölüme yol açan nedenler arasında ikinci sırada yer almaktadır (32, 35, 105, 127).

Kanser, vücuttaki bir hücre grubunun farklılaşarak, kontrolsüz ve anormal bir şekilde çoğalması ile yaygın özellik kazanarak uzak organlara kan veya lenf yolu ile yayılması (metastaz) sonucu ortaya çıkan bir hastalıktır (32).

Kanser hücreleri kaynaklandıkları normal hücrelere göre daha kısa zamanda ölmelerine rağmen yeni hücre oluşumu o kadar hızlıdır ki, sonuçta hücreler devamlı birikir. Bu dengesizlik (aşırı hücre birikimi), hem kanser hücrelerindeki genetik anormalliklerden hem de organizmanın bu hücreleri tanımada ve yok etmedeki başarısızlığından kaynaklanmaktadır (24, 32, 36, 70, 99, 205, 207, 218).

Dünyada her yıl 12,7 milyon kişiye kanser tanısı konulduğu ve 7,6 milyon kişinin kanserden öldüğü bildirilmiştir (92). Dünya Sağlık Örgütü 2005 yılında tüm dünyada

görülen 58 milyon ölümün %13'ünün kanser nedeni ile olduğunu bildirmiştir (196). Önlem alınmadığı takdirde, dünya genelinde kanser yükünün artacağı ve 2030 yılında 26 milyon yeni tanı kanser vakasına ve 17 milyon ölüme ulaşacağı sanılmaktadır (92).

Ülkemizde ise Devlet İstatistik Enstitüsünün, sağlık istatistikleri raporunda, toplam ölümler arasında % 12,9 (23.775 kişi) ile en sık ikinci ölüm sebebinin kanser olduğu belirtilmiştir (206). Sağlık Bakanlığı'nın 2000-2006 yıllarını kapsayan son çalışmasına göre, Türkiye'de 396 bin kanser olgusu bulunmakta ve her yıl, 140 bin kişi kanserden ölmektedir. Türkiye'deki hasta sayısının önümüzdeki 20 yıl içerisinde 1,5 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (46). Kanser olguları tüm dünyada olduğu gibi Türkiye'de de en önemli halk sağlığı sorunlarının başında gelmektedir (35).

Kanser tedavisinde kullanılan belli başlı tedavi yöntemleri şunlardır; cerrahi (bölgesel), radyoterapi, kemoterapi ve yeni tedavi yöntemleri (hormon tedavisi, immünoterapi- biyolojik tedavi, anjiogenez inhibitörleri, sinyal ileti sistemi inhibitörleri, gen tedavisi, kemik iliği transplantasyonu) 'dir. Bu yöntemlerden birisi ya da birkaçı birlikte uygulanarakta kanser tedavisi sağlanmaktadır (8, 205).

Kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan kemoterapinin ana ilkesi; hastanın normal hücrelerine zarar vermeden özellikle kontrolsüz çoğalan hücrelere karşı seçici öldürücü etkileri olan, tümör hücrelerinin büyümesini, çoğalmasını durdurmak veya yok etmek amacı ile doğal veya sentetik kimyasal maddeler, biyolojik ajanlar veya hormonlarla yapılan tedavilerin tümünü içine alan bir tedavi şeklidir (8).

Son yıllarda kanser tedavisinde meydana gelen gelişmelere bağlı olarak, modern kanser tedavisinin temelini oluşturan çok sayıda kemoterapötik ajan keşfedilmiş ve kullanıma girmiştir (35).

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar sayesinde kansere bağlı ölüm oranlarında azalma gözlenirse de, uzun dönem sağ kalımlarda, büyüme problemleri, kardiovasküler problemler, nöron gelişimsel problemler, ikincil malign tümörler gibi

yaşam kalitesini etkileyen çok ciddi endikasyonlar gözlenmiştir. Eşsiz değerdeki folikülleri depolayan overler ve sperm üreten testisler, kemoterapötik ilaçlara son derece duyarlıdır. Tedavi sonrası görülen reproduktif yetmezlik oranlarının artışı, üreme sağlığını etkileyen komplikasyonları da beraberinde getirmektedir. Yüksek kemoterapi ve radyoterapi ya da kemik iliği transplantasyonuna bağlı sitotoksik tedaviler, gerek over rezervini, gerekse testiküler sperm üretimini baskılayan ya da geri dönüşümsüz hasar oluşturan tedavi seçenekleridir (62, 190).

Kemoterapi sonrası testislerde spermatogonyum, spermatozoid ve spermatidlerde görülen apoptoz, gonadal işlevi ve fertilitiyi etkilemektedir. Siklofosfamid, chlorambucil, melphalan, busulfan, nitrogen mustard, procarbazine, ifosfamid, ve thiotepa gibi bazı kemoterapötik ajanlar çoğunlukla geri dönüşümsüz fertilitiyeye sebep olurken, cisplatin ve adriamisin kısmen, bleomisin, actinomisin D, vincristin, methotrexate ve 5-fluorouracil ise daha az oranda gonadotoksiktir (127, 196, 206).

Kemoterapötik ajanlar, kimyasal yapılarına ve hücredeki aktivitelere göre; alkilleyiciler, antimetabolitler, antitümör antibiyotikler, alkaloidler, enzimler, kortikosteroidler (hormonlar ve hormon antagonistleri) olmak üzere etki mekanizmaları birbirinden tamamen farklı çeşitli kategorilere ayrılırlar (8).

Alkilleyici ajanlar; özellikle hızlı çoğalan hücrelere etki ederler. Yapısındaki alkil kökü ile makromoleküllerin nükleofilik kısımlarına geri dönüşümsüz olarak bağlanırlar ve özellikle DNA zincirlerinde çapraz bağlantıların kırılmasına neden olarak doğrudan DNA'yı etkilerler. Busulfan, Melphalan, Karmustin, Lomustin, Klorambucil, Karboplatin, Cisplatin, Dakarbazine, Siklofosfamid, Procarbazine, İfosfamid, Nitrojen mustard alkilleyici ajanlar arasında yer alır (8).

Anti-metabolitler; hücredeki normal metabolitler ile benzerlik gösterdikleri için hücre içine girerler burada metabolitlerin yerine geçerek aktiviteyi bloke eder, azaltır ya da makromoleküllerin içine girerek, işlevi olmayan bir makromolekül yaratırlar. DNA sentezi gibi hücrenin metabolik süreçlerini bozarak hücre gelişimini bloke ederler. Bu

gruptaki ilaçlar hücreyi S fazında etkilerler. Allopürinal, Fluorourasil, Metotreksat, 6-Merkaptopürin, Hidroksiürea, Floksüridin, Gemsitabin, Fludarabin, 6-Tioguanin, Pentostatin anti-metabolit ajanlar arasında yer alır (8).

Antibiyotikler; farklı yapıda bir grup olup, hücre siklusuna özgü olmayan bu ilaçlar hücrede DNA ve RNA replikasyonunu durdurur, dokularda uzun süre kaldıklarından DNA sentezi boyunca hücre ölümüne yol açarlar. Radyasyonla birlikte verildiklerinde toksisiteleri artar. Bleomisin, Aktinomisin, Daktinomisin, Adriyamisin, Doksorubisin, Epirubicine, Daunorubicin, Mitomycin-c, Mitoxantrone, İdarubisin antibiyotik ajanlar arasında yer alır (8).

Alkoloidler; hücreyi mitoz bölünme evresinde iplikçiklerin oluşmasına engel olarak hücre bölünmesini bloke eden ilaçlardır. Podofilotoksinler'den ve vinca alkoloidlerinden semisentetik olarak elde edilirler. Etoposid, Teniposid, Vinkristin, Vinblastin, Vinerabin, Paklitaksel, Doketaksel alkoloid ajanlar arasında yer alır (8).

Enzimler; protein sentezini ve hücre metabolitlerini inhibe ederler. L-asparaginase bu grupta yer alan ajanlardandır (8).

Kortikosteroidler; pasif difüzyon ile hücre içine girer, glukokortikoid reseptörleri ile bağlanarak çekirdeğe geçer, orada DNA 'ya bağlanarak DNA'nın transkripsiyonunu engeller. Özellikle hormon bağımlı kanserlerin büyümesini, çoğalmasını önler, protein sentezini inhibe eder. Prednisone, Dexamethasone kortikosteroidler grubunda yer alan ajanlardır (8, 218).

Kemoterapötik ilaçlar oluşturduğu etkiye göre iki gruba ayrılırlar;

1) Hücre döngüsüne bağımlı ilaçlar; S evresine dönük ilaçlar; antimetabolitler, M evresine dönük ilaçlar; alkoloidler ve G2 evresine dönük ilaçlar; antibiyotikler.

2) Hücre döngüsüne bağımsız ilaçlar; hormonlar, antibiyotikler ve alkilleyici ajanlar (8).

Kanserli hücreler gelişmeye başladığı dönemlerde aktif halde bölünürler. Eğer tam bu evrede sitotoksik ajanlar uygulanırsa iyileşme şansı yüksektir; aksi takdirde tümör büyüklüğü arttıkça oksijen ve besin gereksinimini karşılayabilmek için kanser hücresinin bölünme hızı yavaşlar ve inaktif G₀ fazına girer; çoğu kemoterapötik ajan, replikasyon ve proliferasyon dönemlerinde hücreler üzerine etkili olduğundan, G₀ fazındaki kanser hücreleri kemoterapötik ajanların sitotoksik etkilerinden korunurlar ve malign aktivitelerini sürdürürler, bu durum kanser tedavisindeki başarısızlığı açıklamaktadır. Ek olarak tümör hücrelerinde ilaçlara karşı oluşan kalıtsal veya kazanılmış direnç oluşumu da kanser tedavisinde başarısız olunmasına sebep olur. Tümörler kemoterapiye kısa bir duyarlılık döneminden sonra sık sık karşılaşılması sonucu dirençli hale gelebilirler. Dirençli hücredeki çeşitli proteinler ilacın hücre içi etkinliğinin kaybolmasına ve ilacın hızla hücre dışına atılmasına neden olur. Kanser kemoterapisine dirençli genler arasında en bilineni mdr-1 genidir (36, 70).

2.7. Apoptozis

Organizma sürekli bir denge halindedir. Yeni hücreler sentez edilirken, var olan hücrelerin bir kısmı hücre ölümü ile ortadan kaldırılmakta ve böylece denge korunmaktadır. Hücre ölümünün iki tipi vardır, bunlar apoptozis ve nekrozdur (12, 199). Her ikisinde de düzenli olarak birbirini izleyen biyokimyasal ve morfolojik olaylar sonucu hücre ölümü meydana gelir (118). Apoptozis Yunanca, 'apo' (ayrı) ve 'ptosis' (düşmek) sözcüklerinin birleşmesiyle oluşmuştur. Düşmek, dökülmek anlamına gelmektedir. Sonbahardaki yaprak dökümünü andırdığı için, hücre yitimini belirtmek amacıyla bu terim ilk kez 1972 yılında İskoçyalı patolog John Kerr ve arkadaşları tarafından kullanılmıştır (158, 201). Kerr, fizyolojik olarak ölen hücrelerin çekirdeklerinde yoğunlaşmış kromatin parçalarını gözlemlemiş ve organellerin iyi korunduğunu fark ederek bu olayı büzüşme nekrozu olarak adlandırmıştır. Hücre proliferasyonu nasıl ki mitoz ile belirlenmekte ise belirli bir dokuda olması gereken

hücre sayısı da apoptozis ile belirlenir (27, 50). Apoptozis ve mitoz dokuda sürekli bir denge halindedir. Programlanmış hücre ölümü, hücre intiharı, fizyolojik hücre ölümü apoptozis ile aynı anlamda kullanılan terimlerdir (27, 136, 178). Wyllie, 1980 yılında deneysel apoptozisi, glukokortikoidlere maruz bırakılan olgunlaşmamış timus hücrelerinde gerçekleştirmiş ve apoptotik hücre DNA'sının elektroforetik jel ayrımını yaparak, hücrede DNA bütünlüğünün kalmadığını, apoptotik hücre için karakteristik olan merdiven tarzında DNA bantlarının oluştuğunu göstermiştir (215). 1993 yılında Cohen yüksek dozda kullanılan steroidlerin timus hücreleri üzerine etkilerini incelemiş ve timus hücrelerinin direkt olarak apoptozisi seçmediğini, hücre ölümüne neden olacak genleri oluşturarak hücreleri apoptozise yönlendirdiğini bildirmiştir (43). Böylece apoptozisin genler tarafından düzenlenen bir hücre ölümü olduğu ortaya çıkmıştır (42). Apoptozis genetik olarak kontrol edilen fizyolojik mekanizmalarla regüle edilir (42). Nekrozda hücre şişer, mitokondri genişler, organeller çözünür, plazma membranı yırtılır. Sitoplazma materyali hücre dışına geçerek inflamasyona neden olur. Apoptozis sırasında ise plazma membranı yırtılmaz. Apoptozisin gerçekleşebilmesi için yüksek ATP seviyelerine ihtiyaç vardır. Hücre içi ATP seviyesi hücrenin apoptozis veya nekroz ile öleceğine yön verir. Bu da mitokondrinin önemini apoptozisin erken fazında göstermektedir. Eğer hücre ciddi olarak yaralanırsa apoptotik yol için gerekli olan enerjiyi sağlayamayacak ve nekroz ile ölecektir (134). Apoptozis, hücre intihar şeklidir ve hücre kendi kendisini aktif olarak yok eder. Bu olay nükleer büzülme ve DNA fragmantasyonu ile karakterizedir (71, 134).

Tüm hayvan hücrelerinde apoptozisle yükümlü hücre içi düzenek, evrimsel olarak birbirine akraba olan genlerce yürütülmektedir. Bu genlerin ürünü olan proteinler etkin bölgelerinde bir sistein kalıntısı içeren ve hedef proteinlerini aspartik asit kalıntılarından kesen proteaz ailesi üyeleri olan kaspazlardır. Kaspazlar birbirlerini aktifleştirerek proteolitik bir tepkime dizisi başlatırlar. Bu gen ailesinin 2, 8, 9, 10 numaralı üyeleri başlatıcı kaspazlar olarak bilinirken 3, 6, 7 ise efektör kaspazlar olarak bilinir. Başlatıcı kaspazlar apoptotik uyarıyla başlayan ölüm sinyallerini efektör kaspazlara iletirler. Efektör kaspazlar ise hedefledikleri proteinlerin kesilmesi aracılığıyla çoğu geri dönüşsüz olan süreçleri başlatırlar (9, 114, 211).

Apoptozisin hücre içi uyarımında stres uyarıcı bir sinyal içsel ya da mitokondriyal yolağı etkinleştirirken hücre dışı uyarımında bir ligand dışsal ya da ölüm alması yolağını uyarır. Hücre içi yolda herhangi bir nedenle mitokondriyon zar yapısı bozulur, Sitokrom C salınımı artar. Sitokrom C, apoptozis proteaz aktive edici faktöre (APAF-1) bağlanarak apoptotik yolağın esas elemanı olan kaspaz ailesi üyelerinden kaspaz-9'u etkinleştirir. Aynı zamanda kaspaz da sitokrom C'nin salınımına neden olabilirler. Hücre dışı yolda ise Fas ve Tümör Nekroz Faktör Reseptör (TNFR) gibi alması hücre dışından gelen ölüm sinyalini hücre içinde Kaspaz-8'e aktarırlar (9, 114, 211).

Kaspaz şalesinin herhangi bir üyesi bir kez etkinleştikten sonra diğer önkaspazı etkinleştirerek proteoliz silsilesinin şiddetlenmesine neden olur. Kaspazlar hücredeki yapısal ve işlevsel temel molekülleri (DNA, Laminler gibi) keserek hücrenin kendisini hızla yıkmasına ve makrofajlarca sindirilmesine yol açan bir dizi olayı başlatırlar. Hücre, yıkım yolunda bir kez kritik noktaya ulaştıktan sonra bundan geri dönüş yapamaz (9, 114, 211).

2.7.1. Spermatojenizde apoptozisin rolü

Doku canlılığında ve devamında, enfekte hücrelerin ortadan kaldırılmasında ve normal fizyolojik ortamın korunmasında etkin olan apoptozis, testiküler dokuda da sık saptanan bir fenomendir. Spermatojeniz, spermatojenik kök hücreden mitotik ve mayotik bölünmeler sonucu hücre farklılaşması ile olgun sperm oluşmasıdır. Normal spermatojeniz içinde, hücre gelişimi ve farklılaşmasına ilave olarak germ hücre ölümü de görülür ve bu sperm oluşumunda kritik rol oynar (183, 186). Apoptozis, spermatojenizde genellikle spermatositler ve spermatojenyumda programlı hücre ölümüne yol açar (28). Germ hücrelerindeki bu ölüm spermatozoanın normal gelişimi için mutlaka gereklidir (97). Kerr tarafından yapılan bir çalışmada testiste devamlı olarak spontan apoptozis gerçekleştiği bildirilmiştir (113). Testiste, defektif germ hücrelerinin yok edilmesine yönelik bu işlemden erkek germ hücrelerinin % 75'i apoptozise maruz kalır (88). Erken gelişimsel evrede başlayan bu apoptotik hücre

eliminasyonu, olgunlaşmakta olan germ hücreleri ile Sertoli hücreleri arasında uygun sayısal oranı sağlamaya yönelik fizyolojik bir yanıt olarak tanımlanmıştır (18, 85, 168, 216). Androjen eksikliğinde, azospermik ya da oligospermik hastalarda, deneysel kriptorşidizm oluşturulan hayvanlarda, ısı artışının olduğu olgularda testislerde oluşan programlı hücre ölümlerinde artma gözlenebilir (51, 83, 95, 97, 197, 223). Spermatogenezde testiküler germ hücre apoptozisinin hormonal kontrol altında gerçekleştiği bildirilmiştir (197, 223). Hipofizektomize immatür sıçanlarda hem germinal hem de somatik hücrelerde masif apoptozis ortaya çıktığı ve bu olgularda FSH ya da hCG tedavileri ile bu yoğun programlanmış hücre ölümünün engellenebildiği gösterilmiştir (83, 223). Ayrıca, gonadotropin ya da testosteron eksikliği dışında maturasyon arresti ve hipospermatogeneze yol açan tüm klinik durumlarda da apoptozis görülebilir (132). Seminifer tübül epitelinin ısı, radyasyon, kemoterapi veya soğutma gibi faktörlere olan sensitivitesi de germ hücrelerinin programlanmış hücre ölümlerini artıran diğer bir faktördür (29). Sonuçta, testiküler fizyolojiyi bozan ekzojen stimulanların varlığında fizyolojik olmayan düzeyde apoptozis gerçekleşir ve klinik olarak spermatogenezde bozulma ve infertilite oluşabilir (44, 114, 123).

2.8. Cisplatin (CDDP)

Cisplatin, 1970'li yıllardan sonra kanser tedavisinde kullanılan en önemli antineoplastik ilaçlardan biridir. Erişkin çağda görülen pek çok tümörün yanı sıra, nöroblastom, Wilms tümörü, hepatoblastom, beyin tümörleri, germ hücreli tümör, osteosarkom gibi pek çok çocukluk çağı tümörünün tedavisinde yer alan cisplatin, kemoterapi protokollerinin vazgeçilmez bir elemanıdır (112).

Cisplatinin biyolojik özellikleri 1960'lı yıllarda biyofizikçi Barnett Rosenberg tarafından tesadüf eseri keşfedilmiştir. Elektromanyetik radyasyon uygulamasının bakteri ve memeli hücrelerinin bölünmesi üzerine etkisini araştıran Rosenberg, Escherichia Coli ile yaptığı ilk deneylerde büyüme alanında platin elektrodları kullanmaktaydı. Platin elektrodlarının bulunduğu bu büyüme alanında bakterinin normalden 300 kat daha uzun olan filamanlara sahip olduğunu gözledi. Kısa sürede bu

etkinin elektromanyetik alandan değil, platin elektrodlarından ortaya çıkan elektroliz ürünlerinden kaynaklandığını gösterdi. Ayrıntılı kimyasal analiz sonucunda bu biyolojik etkiye yol açan bileşenin ilk olarak 1845 yılında Peyron tarafından sentezlenip tanımlanan ve Peyron kloridi olarak da bilinen ve sonradan cisplatin adını alan platinin nötral bir *cis* izomeri olduğu saptandı. Bu bileşenin bakterinin hücre bölünmesini engellediği ancak diğer büyüme yapılarını engellemediği için çok uzun filamanların ortaya çıktığı gösterildi. Cisplatin'e ait bu bulgular 1965 yılında yayınlandı ve 1968 yılında sarkomlu bir farede intraperitoneal cisplatin uygulaması sonucunda tümör boyutunda belirgin gerileme olduğu gözlemlendi. İlk kez 1971 yılında kanser hastalarında başarı ile uygulanmaya başlanan ilaç Amerikan Gıda ve İlaç kurumundan 1978 yılında onay almıştır (112).

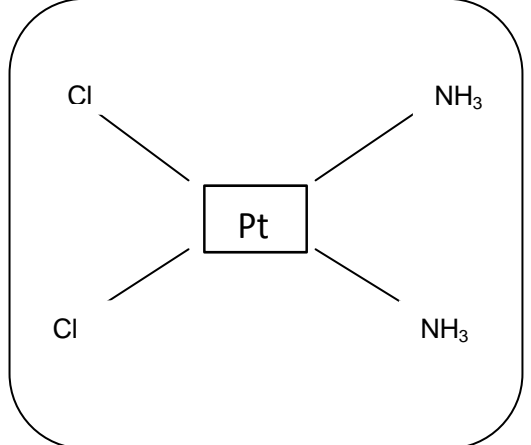
2.8.1. Cisplatinin moleküler yapısı ve özellikleri

Cisplatin (*cis*-diaminodikloroplatinum (II), *cis*-platinum (II), *cis*-DDP, CDDP) yatay düzlemde *cis* pozisyonda ortada platin atomu etrafında klor ve amonyum atomları ile çevrili inorganik bir platin kompleksidir (Tablo 1, Şekil 2) (204, 46)

Tablo 1: Cisplatinin kimyasal özellikleri

Sistemik ad: <i>cis</i> diaminodikloroplatinum
Moleküler formül: Cl ₂ H ₆ N ₂ Pt
Moleküler ağırlık: 300.1 g/mol
Renk: Koyu sarı (kristal katı) ve berrak (çözelti)
Yapı: Tetragonal (kare) düzlemsel
Erime noktası: 270°C

Şekil 2: Cisplatinin moleküler yapısı



Cisplatin uzun yıllardır başarı ile kanser tedavisinde kullanılmasına rağmen biyokimyasal etki mekanizması henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. İlacın sitotoksik özelliklerini nükleer DNA'ya bağlanıp transkripsiyon ve DNA replikasyonunu bozarak ve çeşitli sinyal iletim yollarını aktive ederek sağladığı düşünülmektedir (112, 212).

Cisplatin'in hücre DNA'sında oluşturduğu sitotoksik etkilerin yanı sıra hücre mitokondrion işlevi üzerinde de etkilidir. Mitokondriondan kalsiyum O_2 çıkışını artırır, aynı zamanda oksijen taşınmasını da artırarak solunum hızında artışa, dolayısı ile hipoksiye neden olur. Bunun yanı sıra ATPaz aktivitesini engeller. Tüm bu olaylar hücre ölümü ile sonuçlanır. Makrofaj ve lenfosit infiltrasyonunda ilacın etkisi ile artış gözlenir ve fibrozise neden olur (212).

Cisplatin, tümör nekroz faktör'ün (TNF- α) ekspresyonunu artırır, TNF- α hücrede inflamasyona yol açar, aynı zamanda apoptozis'i indükler ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine katkıda bulunur (6).

Cisplatin sitotoksitesinde oksidatif stres hasarı, ROS üretiminde önemli bir rol oynamaktadır. Oksidatif stres hasarında ortaya çıkan reaktif oksijen türleri; mitokondrion, ksantin-ksantin oksidaz ve nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz) tarafından üretilir. Cisplatinin etkisi ile tüm bu yollarca üretilen reaktif oksijen türleri proteinlere, lipidlere, DNA'ya etki ederek yapılarına zarar verir. İlaç aynı zamanda glikoz-6 fosfat dehidrogenaz ve hekzokinaz aktivitesinin artışına sebep olarak reaktif oksijen radikallerinin oluşumunu tetikler ve glutatyon peroksidaz, süperoksid dismutaz, katalaz gibi aktif antioksidan enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek antioksidanların üretimini azalmasına yol açar. Antioksidan sistemlerinin hasar görmesi sonucunda lipit peroksidasyon ürünü, malondialdehid (MDA) düzeyi artar. Oluşan serbest radikaller, hücre membranında bulunan lipidlerin peroksidasyonuna sebep olarak hücre membranının lipid yapılarına zarar verir, proteinlerin denatürasyonuna yol açar, bu da enzimatik inaktivasyona ve mitokondrial disfonksiyona neden olur (6, 161).

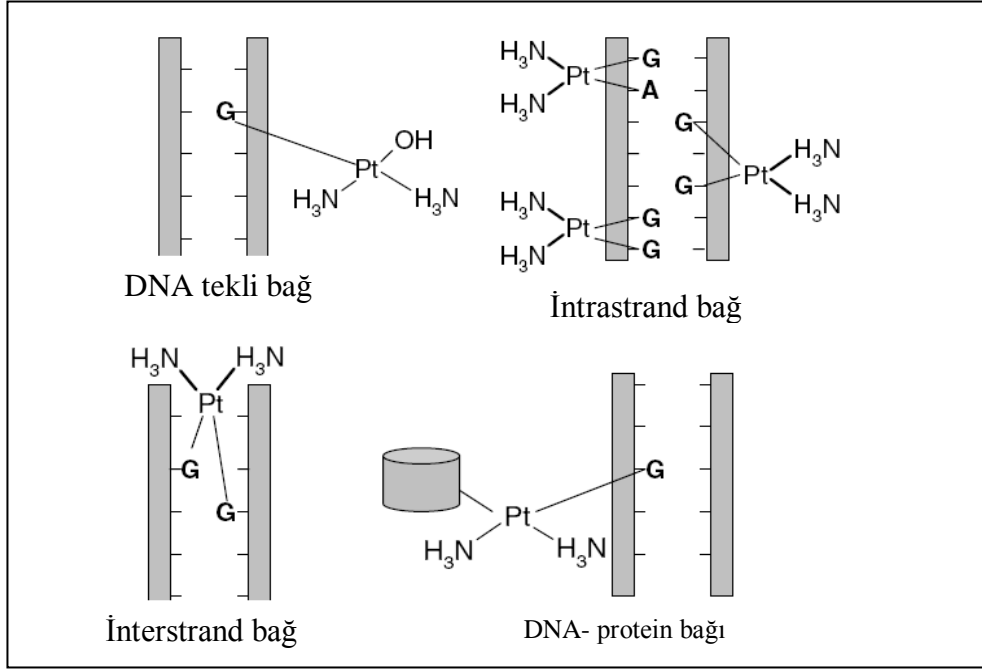
Sonuçta serbest oksijen radikallerinin artışına bağlı olarak serbest yağ asitleri ve özellikle karaciğer ve böbrek dokusunda lipid peroksidasyonu artar, fosfolipidler ve antioksidan üretimi azalır, mitokondrideki voltaj bağımlı kanallarla reaksiyona girerek membran permeabilitesinin değişmesine ve sitokrom C'nin mitokondriden salınmasına yol açar, birçok sinyal ileti yolağını aktive hale getirerek hücrede apoptozisi başlatır ve hücre ölümüne sebep olur (159, 163, 177, 212).

2.8.2. Cisplatinin hücre içine alınışı

Cisplatinin hücre içine alınışına yönelik mekanizmalar tam olarak anlaşılammıştır. Yapılan ilk çalışmalarda cisplatinin pasif difüzyon ile hücre içine girdiği öne sürülmüştür. Son zamanlarda yapılan çalışmalar ise bakır transport proteini olan '*copper transporter 1*'in (CTR1) cisplatinin hücre içine aktif olarak alınmasında etkili olduğunu göstermektedir (87, 212).

2.8.3. Biyotransformasyon ve DNA- platin bağlarının oluşması

Cisplatin hücre içine girdikten sonra su ile reaksiyona girerek iki klor iyonunu kaybeder ve iki su molekülü kazanır. Oluşan bu yeni pozitif yüklü molekül, hücre içindeki DNA, RNA ve proteinler gibi nükleofilik moleküllerle reaksiyona girme özelliğini kazanır. Bunlar arasında DNA, ilacın sitotoksik özelliklerini göstermedeki birinci hedefidir. İlaç DNA'da N7 pozisyonundaki pürin bazlarıyla reaksiyona girerek; tekli bağ, DNA-protein bağı, interstrand (iki DNA zinciri arasında) ve intrastrand (tek DNA zincirinde bazlar arasında) kovalent çapraz bağlar oluşturur. Bu bağların çoğu intrastrand bağlardır (Şekil 3) (87, 163, 185).



Şekil 3: Cisplatinin DNA ile oluşturduğu bağlar

DNA ile kovalent bağların oluşması sonucunda DNA'nın yapısı bozulur ve sarmal üzerindeki bu bozulan yerlere hasarı farkeden hücre içi proteinler bağlanır. Bu proteinler arasında en önemlileri; yanlış eşleşme tamir '*mismatch repair*'(MMR) kompleksi yapısında olan hMSH2 ve hMutS α proteinleri, histon olmayan kromozomal yüksek mobilite grup 1 ve 2 '*nonhistone chromosomal high-mobility group*' (HMG1 ve HMG2) proteinleri, insan RNA polimeraz 1 transkripsiyon yukarı bağlanma proteini '*human RNA polimerasa 1 transcrption upstream binding factor*' (hUBF) ve transkripsiyonel faktör bağlanma proteini '*TATA binding protein*' (TBP) dir (185).

DNA hasarını fark eden ve sarmal üzerine bağlanan proteinler birçok sinyal ileti yolağını aktive hale getirmek sureti ile hücre hasarı ve ölümüne yol açarlar.

2.8.4. Cisplatinin farmakokinetiği

Cisplatinin farmakokinetik özellikleri Tablo 2’de gösterilmiştir.

Tablo 2: Cisplatine ait farmakokinetik özellikler (90)

Oral emilim	Hayır
Dağılım	<p>Böbrek, karaciğer ve prostatta en yüksek seviyelere ulaşır.</p> <p>Anne sütüne geçer, plevral sıvı gibi üçüncü boşluk sıvılarına geçer.</p> <p>Plasentayı geçer.</p> <p>Kan beyin bariyer geçişi bilinmiyor. (Eser miktarda geçiştten bahsedilmiştir)</p>
Metabolizma	Enzimatik olmayan yollarla aktif ve inaktif metabolitlere dönüştürülür.
Atılım	<p>Çoğunlukla idrar ile (%90)</p> <p>Renal sekresyon ve atılıma uğrar.</p> <p>Platin dokularda 180 güne kadar bulunur.</p> <p>Yarılanma ömrü: Cisplatin: 30 dakika Serbest kompleksler: \geq 5 gün</p>

2.8.5. Cisplatinin toksisitesi

Cisplatin organizma üzerinde birçok toksik etkilere neden olmaktadır. Cisplatinin neden olduğu bu etkiler tablo 3 te gösterilmektedir.

Tablo 3: Cisplatine bağılı istenmeyen etkiler (90)

ORGAN	YAN ETKİ
Kardiyovasküler	Bradikardi, hipertansiyon, serebral arterit, serebrovasküler olay (nadir)
Nörolojik	İşitme kaybı, tinnitus * (%31), vertigo otonomik nöropati (nadir), nöbet (nadir), arka kolon nöropatisi (nadir), hıçkırık, periferik nöropati, optik nörit, görme bulanıklığı, renk algısında değişiklik, akut ensefalopati (nadir)
Gastrointestinal	Bulantı ve kusma* , diyare/ishal* , anoreksi/iştahsızlık* , tat duyusunda bozukluk
Hematolojik	Miyelosüpresyon * (%25-30, nadir dönemi 18-23 gün) anemi, hemolitik anemi (Coombs pozitif), trombositik mikroanjyopati (nadir)
Neoplastik	Akut lösemi
Dermatolojik	Alopesi/saç dökülmesi, döküntü
Hepatik	Karaciğer fonksiyon testlerinde yükselme, bilirubin yüksekliği (geçici, nadir)
Hipersensitivite	Tip 1 (anafilaktik) Tip 2 (hemolitik anemi)
Renal/metabolik	Toksik nefropati * (%28-36), hipomagnezemi, hipokalsemi, hipokalemi, hiponatremi, hipofosfatemi, hiperürisemi, uygunsuz ADH sendromu
Reproduktif	İnfertilite
Diğer	Kas krampları, serum demir düzeyinde yükselme

*: Doz sınırlayıcı etki

Cisplatin uygulamalarından sonra oluşan bu yan etkileri önlemek için, cisplatin hızlı enjeksiyon yerine uzun süreli infüzyon şeklinde uygulanabilir bu sayede elimine edilen ilaç miktarı azaltılır ve toksisite minimuma düşürülür. Toksisite bu şekilde kesilemezse doz azaltılır veya ilaç kesilir (6).

İlacın tedaviye devamı için kullanımı zorunlu olduğu durumlarda ise yalnızca tümörlü hücreyi hedef alarak, ilacın antitümöral etkinliğini engellemeden, cisplatinin istenmeyen yan etkilerinden korunmak amacı ile koruyucu ajanlar cisplatin gibi kemoterapötik ilaçlarla birlikte kullanılarak oluşan toksisite minimuma indirilmeye çalışılır (204).

Antineoplastik ilaçların kemoterapide kullanılması sonucu, özellikle hızlı bir biçimde çoğalmakta olan gastrointestinal, hematopoietik sistem hücreleri ve testiste önemli toksik etkilerin olduğu bilinmektedir (101).

Testis germinal epitel hücreleri, yüksek mitotik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle sitotoksik kemoterapötiklere duyarlıdır. Hematolojik malignitelerin tedavisi sırasında gonad fonksiyonları hasta yaşı, kümülatif doz ve kullanılan her bir ajana bağlı olarak değişik şekillerde etkilenir. Kemoterapötikler gonadal hormon kaybına, germ hücrelerinde mutajenik değişikliklere ve fetus üzerine teratojen etkiye yol açabilmektedirler (55).

Gonadları en çok suprese eden kemoterapötik ilaçlar alkile ediciler (mekloreタミン gibi, prokarbazin hariç) ve cisplatin'dir. İlaç kombinasyonları da değişik oranda gonadal toksisite gösterirler. Kümülatif doz sperm üretiminin yeniden başlayıp başlamayacağı açısından çok önemlidir. Klorambusil ve siklofosfamid tek başına verildiklerinde uzamış azospermiye neden olurlar. Prokarbazin ve cisplatin yüksek dozlarda steriliteye neden olur (55).

Farelere 7–9 mg/kg intravenöz cisplatin verilmesi sonrası 1. haftada testosteron seviyesinin düştüğü ancak LH ve FSH düzeylerinin bundan etkilenmediği gösterilmiştir

(135).

Cisplatine bağlı testiküler hasar direkt olarak spermatogenik hücrelere ve Sertoli hücrelerine olmaktadır aynı zamanda Leydig hücrelerinde de fonksiyon bozukluğu yaratmaktadır (22).

Cisplatin uygulanan sıçanlarda sperm üretiminin, seminifer tübül çapının ve intratestiküler testosteronun azaldığı ve seminifer tübülde TUNEL pozitif hücrelerde artış olduğu belirtilmiştir (63).

Testiküler hasarın birçok belirtisi olmasına rağmen, uzun dönem sonuçları; kalıcı testiküler atrofi gelişmesi ve buna bağlı infertilitedir (22).

Tam olarak etki mekanizması belirsizliğini korusa da, artmış olan serbest radikal oluşması ve antioksidanların azalması buna neden olabilir (22).

Spermatogenik hücreler kemoterapotik ilaçların zararlı etkilerine çok duyarlıdır. Kök hücre topluluğunda onarılamayan hasara yol açarak kalıcı infertiliteye yol açabilir. En duyarlı hücreler aktif bölünen spermatogonyum ve preleptoten fazına kadar ki spermatositlerdir. Kemoterapotik ajanlardan en gonodotoksik olanları alkilleyiciler (siklofosamid, mustin, klorambusil, melfelan, busulfan, lamustin, karmustin), antimetobolitler (sitarabin), vinka alkaloidler (vinblastin) ve diğerleri (prokarbazin, cisplatin, nitrojen mustart) olarak bilinir (160).

Cisplatin ve karboplatin spermatotoksiktir. Leydig hücrelerine olası direkt etkisinden dolayı cisplatin kullanımı serum testosteron ve intratestiküler P 450 seviyelerinde azalmaya yol açmaktadır. Cisplatin temelli kemoterapide hastaların çoğu azospermik olmakta, fakat bunların çoğunda spermatogenez 4 yıl içinde geri dönmektedir (160).

2.9. Antioksidanlar

Tüm hücrelerde normal metabolik faaliyetler sonucu aerobik hücre metabolizmasının bir ürünü olarak serbest radikaller (SR) meydana gelir. SR'lerin ömürleri çok kısa olsa da yüksek derecede reaktiftir. Canlı sistemindeki protein, lipid, DNA, karbonhidrat ve nükleotid koenzimler gibi birçok biyolojik materyalle kolayca reaksiyona girerek hücre yapı ve işlevlerine zarar verebilmektedir (119).

SR'ler canlı metabolizmasının doğal bir ürünü olarak ortaya çıkabildiği gibi çevre kirliliği, radyasyon, pestisitler, kontamine sular, ısı, ağır egzersiz, inflamasyon, enfeksiyon, ateşli hastalıklar, hava kirliliği, sigara dumanı, kemoterapötik ajanlar gibi vücut dışından gelen pek çok faktörün etkisi ile de oluşabilir (119, 125).

Açığa çıkan SR'lerin vücutta meydana getireceği zararlı etkilerden korunmak ve oluşabilecek hasarı azaltmak için SR'lerle reaksiyona girerek onları nötralize eden çeşitli savunma sistemleri gelişmiştir. Bunlara antioksidan savunma sistemleri veya anti-oksidanlar denir (119, 198).

Özel bir maddenin oksidasyonunu engelleyen ya da geciktiren maddeler olarak da tanımlanan antioksidanlar SR'leri yakalar ve SR'lerin neden olduğu oksidasyonları önler (119, 198).

SR'lerin oluşum hızı ile bunların anti-oksidanlar tarafından nötralize edilme hızı arasında bir denge bulunmaktadır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, SR'den etkilenmemektedir. Oluşan SR'ler belirli bir düzeyin üzerinde oluşursa veya antioksidanlar yetersiz olduğu takdirde ikisi arasında var olan denge bozulur. Oksidan-antioksidan dengesinin oksidanlar lehine bozulması sonucu hücre yapı ve işlevlerinde protein, lipid, karbonhidrat, nükleik asit ve yararlı enzimler üzerine etki ederek hücrelerde olumsuz gelişmelere yol açar. Bu meydana gelen oksidatif hasara 'oksidatif stres' denir. Oksidatif stres patofizyolojik olayların ve birçok dejeneratif hastalıkların gelişmesinde önemli rol oynar. Bu sebeple organizmanın canlılığının ve hücre

homeostazinin sürdürülmesinde antioksidanlar SR'lerin meydana getireceği kimyasal hasarlara karşı hücreyi koruduğu için SR ve antioksidanlar arasındaki dengenin korunması son derece önemlidir (198).

Antioksidanlar genelde, radikal oluşumunu önleyen (metal şelatörler, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz) ve oluşan radikallerin dokudaki etkilerini önleyen (E vitamini, ubikinon, retinoik asit, betakaroten, glutatyon, urat) antioksidanlar olarak iki kategoride incelenirler. Ayrıca enzim ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar. Hücrelerin hem sıvı hem de membran kısımlarında bulunabilirler (Tablo-4) (217).

Tablo 4: Biyolojik sistemlerde antioksidan savunma sistemi (217)

Enzimatik	Nonenzimatik	
Süperoksit dismutaz (SOD) Katalaz (KAT) Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) Fosfolipid hidroperoksit glutatyon peroksidaz (PLGSH-Px) Glutatyon S-transferaz (GST) Glutatyon reduktaz (GSSG-R)	Glutatyon (GSH) α -Tokoferol (vit E) Askorbat (vit C) β -Karoten Flavonoidler Urat Bilirubin	Albumin Seruloplazmin Transferrin Ferritin Laktoferrin Melatonin Sistein

Antioksidanlar etkilerini, şimdiye kadar tespit edilebilen altı değişik mekanizma ile gösterirler (47, 77); Bu mekanizmalar, birbirinden bağımsız veya bir arada işleyebilmektedirler.

1. Oksijen ile reaksiyona girerek ya da onun yerini alarak lokal oksijen konsantrasyonunu azaltabilirler.

2. Hidroksil (OH) radikali yapısında yer alan hidrojen atomları bağ oluşturabilecek yapıdaki ürünleri temizleyerek peroksidasyonun başlamasını

önleyebilirler.

3. Membran lipidlerine direkt etkiyerek peroksit oluşturabilen singlet oksijeni ($1O_2$) baskılayabilir ya da temizleyebilirler (127).

4. Metal iyonlarını bağlamak yoluyla reaktif grupların (OH, ferril ya da $Fe^{+2}/Fe^{+3}/O_2$ kompleksleri gibi) ve /veya lipid peroksitlerden peroksil ve alkoksil radikallerinin oluşumunu önleyebilirler. Membranlarda LPO'nun başlamasına hangi reaktif ürünlerin neden olduğu tartışılmaktadır, ancak hem başlangıç için ve hem de oluşan lipid peroksitlerinin dekompozisyonu için transisyonel metal iyonlarına ihtiyaç olduğu konusunda genel bir kanı vardır.

5. Peroksitleri, alkol gibi nonradikal ürünlere çevirebilirler. Örneğin; GSH-Px, peroksitleri bu yolla temizleyen bir antioksidandır.

6. Zinciri kırabilirler yani; zincir oluşumuna neden olabilen serbest radikallerle reaksiyona girebilirler ve yağ asidi zincirlerinden sürekli hidrojen iyonu salınımını önleyebilirler. Zincir kırıcı antioksidanlar için de fenoller, aromatik aminler ve en yaygın olanı α -tokoferol yer almakla birlikte başka lipid solubl zincir kırıcı antioksidanlar da vardır (77).

Antioksidanların oksidatif hasarlara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri göz önüne alındığında, yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilmektedir (96).

2.9.1. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px)

Hücrelerde oluşan hidroperoksitlerin uzaklaştırılmasından sorumlu olan bir enzimdir. Molekül ağırlığı ise yaklaşık olarak 85000 Dalton'dur. Birbirinin aynı dört subünitten oluşan 20 tetramerik bir enzimdir. Her subünit bir Se atomu içerir. Bu

nedenle hücreleri çeşitli hasarlara karşı koruyan bir selenoenzim olduğu düşünülür (65, 145).

Bu enzimin varlığı ilk defa Mills tarafından 1957 yılında memeli eritrositlerinde saptanmıştır. Endotel hücrelerinde özellikle akciğerde en etkili enzimidir (145). Enzim aktivitesinin % 60-75'i ökaryot hücrelerin sitoplazmasında bulunur. % 25-40'ı ise mitokondridedir. Enzim aktivitesinin en fazla olduğu dokular ise eritrositler ve karaciğerdir (65). GSH-Px, intrasellüler mesafede lipidleri peroksidasyondan koruyan en önemli enzimidir. Bu nedenle hücrenin özellikle sitozolik kompartmanında yer alan bu enzim hücrenin yapısını ve fonksiyonunu korur (65, 127).

Membran fosfolipid hidroperoksitlerini alkole indirgeyen fosfolipid hidroperoksit glutasyon peroksidaz (PLGSH-Px) da Se atomu içerir ve monomerik yapıdadır. Ayrıca sitozolik bir enzimidir. Membrana bağlı antioksidan olan vitamin E'nin yetersiz olduğu durumlarda PLGSH-Px membranın peroksidasyonuna karşı korunmasını sağlar (77).

2.10. Selenyum (Se)

Se, periyodik cetvelin 6A alt grubunda yer alan bir elementtir. Havada, toprakta, kayalarda ve suda erimiş olarak bulunur (181).

Memelilerde, Se'ye bağlı glutasyon peroksidaz yoluyla fonksiyon gören, karsinojen maddeleri detoksifiye eden bazı enzimlerin sentezinde rol oynayan hayati bir elementtir (156).

Se'nin diyetle alınmasının antikarsinojenik, antioksidan ve antitümöral etkisi olduğu bilinmektedir (156).

Yıllar boyunca, sadece yüksek derecede toksik ve kanser yapıcı özelliğiyle bilinen Se, daha sonra yapılan çalışmalar sonucunda biyolojik sistemler için önemli ve faydalı

bir eser element olarak değerlendirilmiştir (17, 53, 210). 1957 yılında Se'nin hayvanlar için önemli bir eser element olduğunun bulunmasının ardından, deneysel olarak oluşturulan karaciger tümörlerinde Se uygulanarak % 50 oranında iyileşme sağlanmıştır (210).

Se yiyeceklerde esas olarak selenometiyonin, metilselenometiyonin, selenosistin ve selenosistein gibi organik bileşikler halinde bulunur ve dışarıdan alındığı durumlarda kullanılan bileşiğinin sodyum selenit (Na₂SeO₃) olması nedeniyle, özellikle deneysel Se çalışmaları selenit metabolizması üzerinde yoğunlaşmıştır (82, 181, 188, 202, 210).

Se, glutatyon peroksidazın (GSH-Px) etkin merkezini oluşturur (2, 108, 188, 222) ve olasılıkla hücrenin antioksidan dengesini etkileyen her besin ile bağlantıya girer (17, 26, 53, 66, 108, 115).

Se, bazı metabolizma hastalıklarının ve kanser türlerinin önlenmesinde de rol oynayan bir antioksidandır. Yükseltgenme stres patolojisi ve lipid peroksidasyonu ile ilişkilidir (104, 222). Reaktif oksijen parçaları hücrede neredeyse tüm büyük moleküller üzerinde hasar verici etkiye sahiptir. Her alt biriminde selenosistein şeklinde bir adet Se atomu içeren GSH-Px, hücre içinde hidrojen peroksit (H₂O₂) gibi potansiyel zarar verebilecek reaktif oksijen parçacıklarının suya indirgenmelerini sağlar (17, 53, 106, 108, 203, 210, 222).



Se içeren birbirinden farklı 4 GSH-Px belirlenmiştir. Bunlar;

1. Hücresel veya klâsik GSH-Px
2. Plazma veya hücre dışı GSH-Px
3. Fosfolipit hidroperoksit GSH-Px
4. Mide-bağırsak GSH-Px

Her bir GSH-Px farklı bir selenoprotein olmasına karşın hepsi antioksidan enzimlerdir.

Se'nin biyolojik önemi, yapısına katıldığı enzimin bir eş etkeni olmasından dolayıdır. Se dokuların yükseltgenme nedeniyle zarar görmesini engeller (122). Bu sayede erken yaşlanmanın önlenmesi üzerine de olumlu etkileri vardır (17, 106, 188, 210). Se, E vitamini ile etkileşerek lipid metabolizması sonucu oluşan peroksitlerin neden olduğu yükseltgenme hasarlarından hücre zarını korumaktadır (17, 53, 106).

Se düşük oranda kullanıldığında insan ve hayvanların büyümesi için gerekli ve faydalıdır, ancak yüksek oranda kullanıldığında toksik bir etkiye sahiptir (solunum sistemi tahrişi, ağızda metalik tat, akciğer ödemi, solukta sarımsak kokusu, terleme vs.) (53, 108, 115, 210).

Hayvanlar üzerindeki araştırmalar Se'nin, E vitamininin yerine kullanılması sonucunda, yükseltgenme hasar modellerinde vitamin E eksikliğinden kaynaklanabilen bazı hasarları engelleyebileceğini göstermiştir (2, 41, 106, 126).

Se, E vitamini ile birlikte antioksidan ve hücre koruyucu olarak çalışmaktadır. Bu özelliği ile kalp krizlerini önlemede de yardımcıdır. Hücre zarlarını ve hücrelerin bir arada tutulmasını sağlayıp antioksidan sistemini lipid peroksidasyonunun zararlarından korumaktadır (53).

Se, ağır metallere ve diğere zararlı maddelerden vücudu korumakla birlikte, insan vücuduna zararlı maddelerin (sigara, alkol, oksitlenmiş yağlar, civa, kadmiyum (Cd) etkilerini azaltmaktadır (89, 91, 149). Protein sentezine, büyüme ve gelişmeye yararlıdır. Kan hücrelerinin kromozomlarının zarar görmesini önler. Spermilerin üretimine ve canlılığına olumlu etki yapar. Serbest radikallerin arttığı durumlarda bunların indirgenme sürecine katılarak (sigara içilmesi, hava kirliliği, ultraviyole ışınları ve radyasyona maruz kalma) vücudu bu radikallere karşı korur (26, 89, 91, 149, 214).

Se, sindirim ve solunum sistemiyle vücuda alınabilir. Daha sonra, hemoglobin veya plazma proteinlerine (albumin, globülin, lipoprotein, immünoglobulin) bağlanır ve dokulara taşınır. Se'nin çoğu karaciğere, böbrek ve testiste birikir. Se'nin fazlası idrarla, Se içeren dimetil selenit molekülü ise solunum yoluyla dışarı atılır (106).

İnsanlarda görülen ve Se eksikliği ile ilişkili daha pek çok hastalık vardır. Bunlar arasında artrit, katarakt, kistik fibrozis, kas distrofisi, fenilketonüri, Down Sendromu, bronkopulmoner displazi, hemolitik anemi, multipl skleroz, gece körlüğü, bağışıklık yanıtı eksikliği, malarya, Kwashiorkor ve çocuklarda ani ölüm sendromu sayılabilir (2, 41, 53, 106, 167, 191).

Birçok araştırma göstermiştir ki Se, erkek üreme sistemi sürecinde etkilidir ve sodyum selenit şeklinde farelere, sıçanlara ve koçlara uygulanmasından sonra önemli bir kısmının gelişmekte olan spermatozoaların bulunduğu testiste biriktiği anlaşılmıştır. Bu birikme özellikle Se eksikliği yüksek olan hayvanlarda olmuştur (25).

Uzun bir süre boyunca Se eksik diyetle beslenen sıçanlar, bozulmuş motiliteli ve karakteristik orta parça hasarlı sperm üretmiştir. Bu da normal sperm gelişimi için Se'nin gerekliliğine işaret olduğu düşünülmüştür (25).

Cisplatin içeren kemoterapi alan hastaların kanındaki Se seviyesi düşmektedir ve Se'nin cisplatin ve nitrite karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (10, 93).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın yazımı sırasında kullandığımız biyolojik ve tıp terimlerinin yazımı ve Türkçeleştirilmesinde Histoloji ve Embriyoloji Terimleri Sözlüğü kullanılmıştır (76).

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 26.04.2011 tarihli ve 211 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

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

- 1) Kontrol grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, 7 gün boyunca günde 1 kez sıçanların vücut ağırlıklarına göre hacmi hesaplanarak belirlenen dozda serum fizyolojik (Cisplatin çözücüsü olduğundan) i.p olarak verildi.
- 2) Cisplatin grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, 1. gün tek doz cisplatin 7 mg/kg i.p. olarak verildi.(16, 30, 104, 220)
- 3) Selenyum grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, 7 gün boyunca günde 1 kez 1 mg/kg Se i.p. olarak verildi (103, 115).
- 4) Cisplatin+Selenyum grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, 1. gün tek doz cisplatin 7 mg/kg ve 7 gün boyunca günde 1 kez 1 mg/kg Se i.p. olarak verildi.

3.2. Kimyasallar

Cisplatin olarak, ONCO-TAIN[®] firmasının Cisplatin DBL 50mg/ 50ml Enjektabl Solüsyon adlı ürünü kullanıldı. Selenyum olarak, Acros Organics (New Jersey, USA) firmasının Sodium selenite 44-46% Se Anhydrous 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. İyice çözdürülmesine dikkat edilerek gerekli miktarda pikrik asit kullanıldı.

Çözelti kullanılmadan önce süzüldü. Bouin çözeltisini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi ile formaldehit karıştırıldı, daha sonra üzerine yavaşça glasiyal asetik asit ilave edilerek çözelti karıştırıldı (23).

3.5. Dokuların Alınması

Hayvanlar 7. günün sonunda vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedildikten sonra ketamin (Ketalar 90 mg/kg) + ksilazin (Alfazyne 10 mg/kg) i.p. olarak verilerek servikal dislokasyon ile öldürüldü (86, 138, 146, 182). Hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı.

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 ve sağ testisler ise %10'luk nötral formalin içerisine alındı.

3.7. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Çıkarılan sol testislerin üzerine Bouin çözeltisi, sağ testislerin üzerine ise %10'luk nötral formalin 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.

Parafin bloklar hazırlamak için kullanılan doku takip yönteminin basamakları Tablo 5'de gösterilmiştir. Doku takip yöntemine ait süreler her basamağa ait zaman birimi aksi belirtilmediği durumda saat olarak anlaşılmalıdır.

Tablo 5: Doku takip yöntemine ait süreler

Kimyasal	Uygulama Süresi (saat)
Bouin Çözeltilisi	48
%70 Alkol	1
%80 Alkol	1
%90 Alkol	1
%95Alkol I	1
%95 Alkol II	1
%100Alkol I	1
%100Alkol II	1
Ksilol I	1
Ksilol II	1
%50 Parafin - %50 Ksilol	1
Parafin I	1
Parafin II	1
Parafin III	1
Bloklama	

%10'luk nötral formalin ile tespit edilen kontrol ve deney gruplarına ait dokular rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafin blok haline getirildi.

3.8. Boyaların Hazırlanması

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

Kesitlerin boyanmasında kullanılacak boya çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı (23).

A- Periyodik asit	1 g
Saf su	200 ml
B- Schiff çözeltisi;	
Bazik fuksin	1 g
Saf su	200 ml
C- Potasyum metabisülfid	2 g
D- Hidroklorik asit	2 ml
E- Aktif kömür	2 g

Schiff çözeltisi boyama yapılmadan 1 gün önce hazırlandı. 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 ve 2 g aktif kömür eklenip yeniden karıştırıldıktan sonra karanlık ortamda oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü.

3.8.2. TUNEL yöntemi

Hücrelerde DNA parçalanması ve apoptotik hücre ölümünün belirlenebilmesi amacıyla in situ apoptozis belirleme kiti (Apoptag Plus Peroxidase In Situ Apoptozis

Detection Kit, Lot: PSO1514711, Chemicon) kullanıldı.

3.9. Kesitlerin Alınması ve Boyanması

Her bloktan 60 µm trim aralığı ile 3 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) ışık mikroskopunda inceleme için H-E boyası, PAS+H ile boyandı ve apoptotik hücreleri gözlemek amacıyla TUNEL yöntemi uygulandı.

Boyama yönteminin basamakları ve uygulama süreleri Tablo 6, Tablo 7, Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 6: 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	

Tablo 7: PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri

Kimyasal madde	Uygulama 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
Distile Su	1
Periyodik asit	5
Distile Su	2
Schiff çözeltisi	15
Çeşme suyu	2
Hematoksilen	1,5
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 8: TUNEL yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri

Kimyasal madde	Uygulama süresi (dk)
Ksilol I	5
Ksilol II	5
Ksilol III	5
%100 Alkol I	3
%100 Alkol II	3
%95 Alkol	3
%70 Alkol	3
Fosfat buffer solüsyonu (PBS)	5
Proteinaz K solüsyonu	15
Distile su I	2
Distile su II	2
% 3'lük hidrojen peroksit	5
PBS	5-10 dk çalkala
Eguilibration buffer	5
TdT enzimi 37°C'de nemli ortamda	60
Working Stop/ Wash buffer I	1/5 çalkala
Working Stop/ Wash buffer II	10
PBS I	1
PBS II	1
PBS III	1

Anti- digoxigenin peroksidaz damlatılır üzerlerine plastik coverslip ile kapatılır nemli ortamda	30
PBS I	2
PBS II	2
PBS III	2
PBS IV	2
DAB solüsyonu	10
Distile su I	1
Distile su II	1
Distile su III	5
Metil green	15
Distile su I	1/10
Distile su II	1/10
Distile su III	1/10
Bütanol	1/10
Ksilol I	2
Ksilol II	2
Ksilol III	5
Lamların Kapatılması	

3.10. Histolojik Değerlendirme

H-E ve PAS+H ile boyanan ve TUNEL yöntemi uygulanan kesitlerin histolojik değerlendirmesi için DP 70 dijital kamera ile donatılmış Olympus BX51 ışık

mikroskobu (Olympus Corp. Tokyo, Japonya) kullanıldı. Tüm preparatlar bu mikroskopta incelenerek grupları temsil eden görüntüler elde edildi.

3.11. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi SigmaStat 3,5 paket programında yapıldı. Sürekli ölçümlü değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile araştırıldı. Normalite testinin sonuçlarına göre parametrik veya non parametrik testler uygulandı.

Vücut ağırlığı düzeyleri iki yönlü tekrarlı ölçümler (tek faktör tekrarlı) varyans analizi ile karşılaştırıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Holm-Sidak testi kullanıldı.

Toplam testis ağırlıkları tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı.

Histolojik skorlamalar ise Kruskal-Wallis tek yönlü varyans analizi ile karşılaştırıldı. Çoklu karşılaştırma testi olarak Tukey testi kullanıldı.

Tüm analizlerde $p < 0,05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

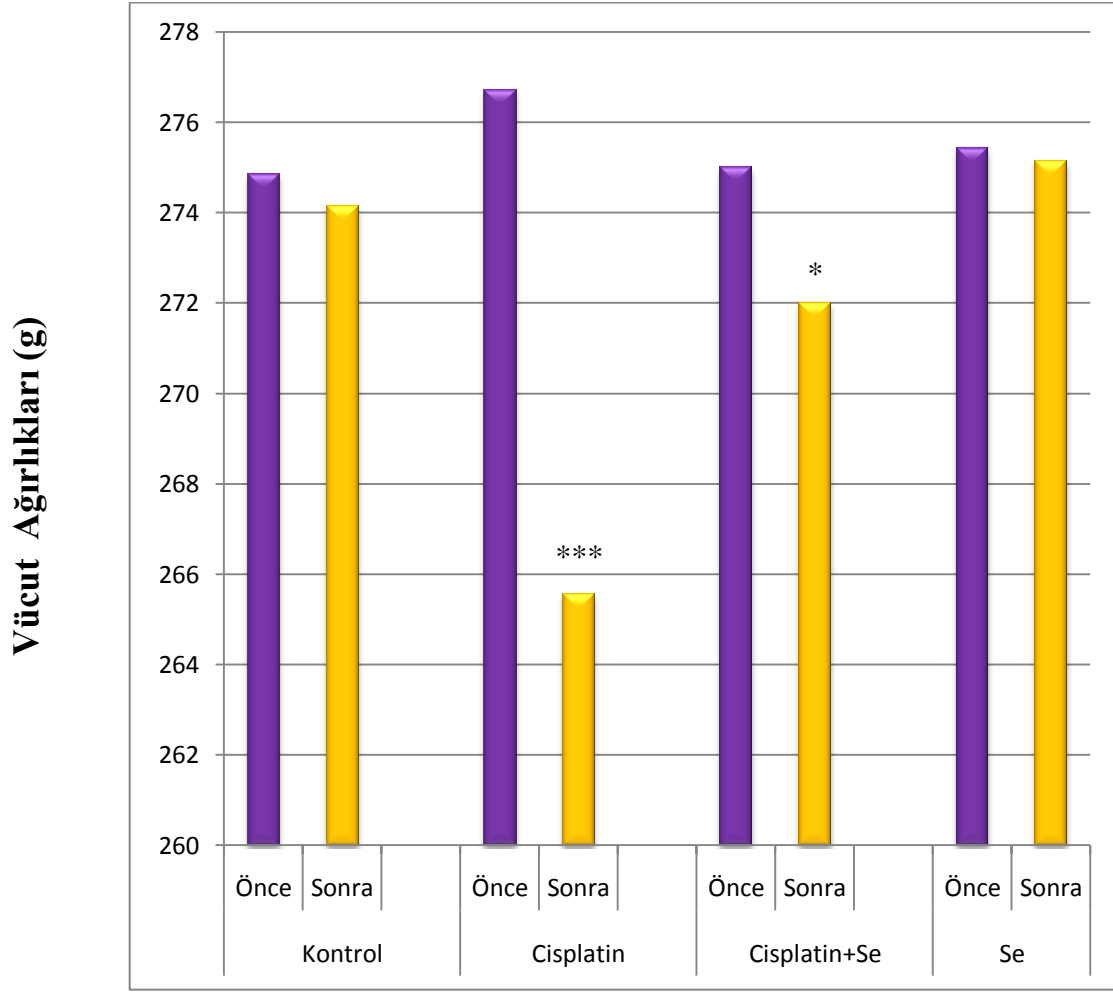
4.1. İstatistiksel Bulgular

4.1.1. Vücut ağırlıkları analizi

Kontrol grubunda deney öncesi ve deney sonrası sıçanların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$). Cisplatin uygulanan grupta deney öncesi vücut ağırlığı deney sonrasından yüksek saptanmış, istatistiksel olarak önemli fark gözlenmiştir ($p< 0,05$). Cisplatin+Se uygulanan grupta deney sonrası vücut ağırlığı deney öncesinden düşük saptanmış, istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p< 0,05$). Se uygulanan grupta deney öncesi ve deney sonrası sıçanların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 9, Şekil 4).

Tablo 9: Gruplara göre deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları (g) ($p<0.05$ *) ($p<0.00$ ***) (NS= Not Significant) (Anlamlı Değil)

Deney Öncesi ve Sonrası Vücut Ağırlıkları			
Gruplar	Ortalamalarının Farkı	p	Önemlilik
Kontrol	0.714	0.54	NS
Cisplatin	11.143	<0.001	***
Cisplatin- Se	3	0.01	*
Se	0.286	0.8	NS

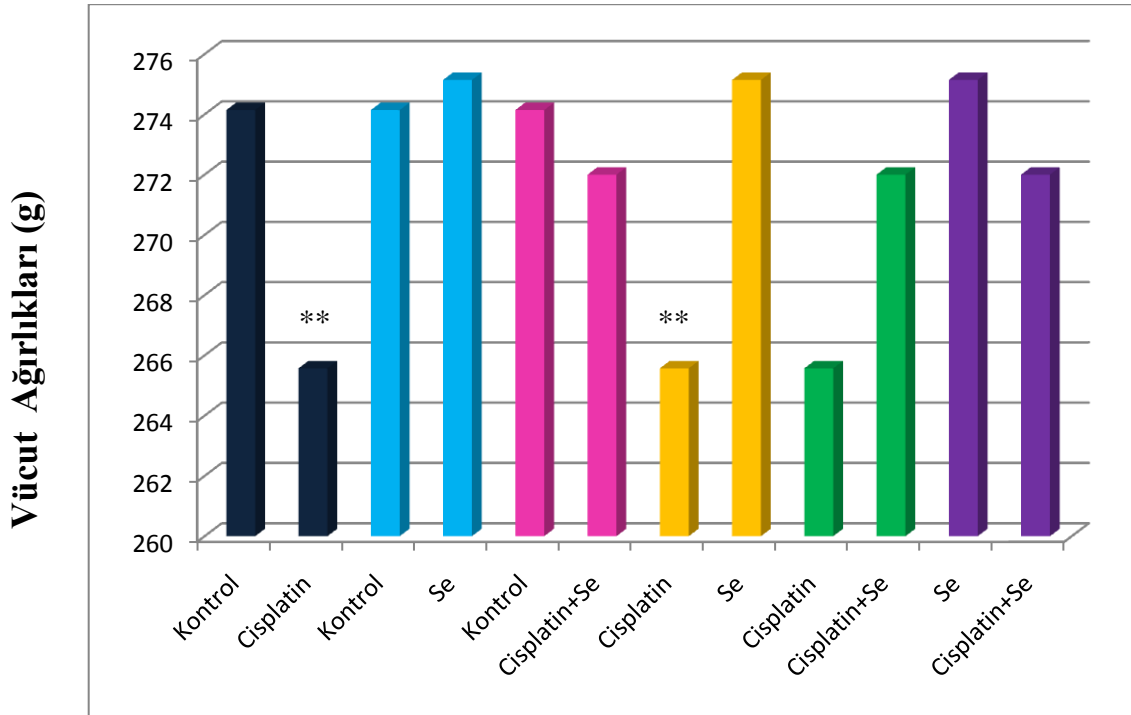


Şekil 4: Sıçanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları ($p < 0.05^*$) ($p < 0.001^{***}$)

Deney sonrası vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, Se ile cisplatin ve kontrol ile cisplatin grupları arasında önemli derecede fark saptanmıştır ($p < 0,05$). Cisplatin+Se ile cisplatin grupları arasında da fark yüksekti ancak istatistiksel olarak anlam gözlenmemiştir ($p > 0,05$). Cisplatin+Se ile Se, cisplatin+Se ile kontrol, Se ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p > 0,05$) (Tablo 10, Şekil 5).

Tablo 10: Gruplar arasında deney sonu vücut ağırlığı farkları (g) ($p < 0.01^{**}$) (NS= Not Significant) (Anlamli Değil)

Deney Sonrası Vücut Ağırlıkları			
Gruplar	Ortalamalarının Farkı	p	Önemlilik
Se-Cisplatin	9.571	0.002	**
Kontrol-Cisplatin	8.571	0.005	**
Cisplatin+Se -Cisplatin	6.429	0.032	NS
Se- Cisplatin+Se	3.143	0.278	NS
Kontrol -Cisplatin+Se	2.143	0.457	NS
Se-Kontrol	1	0.727	NS



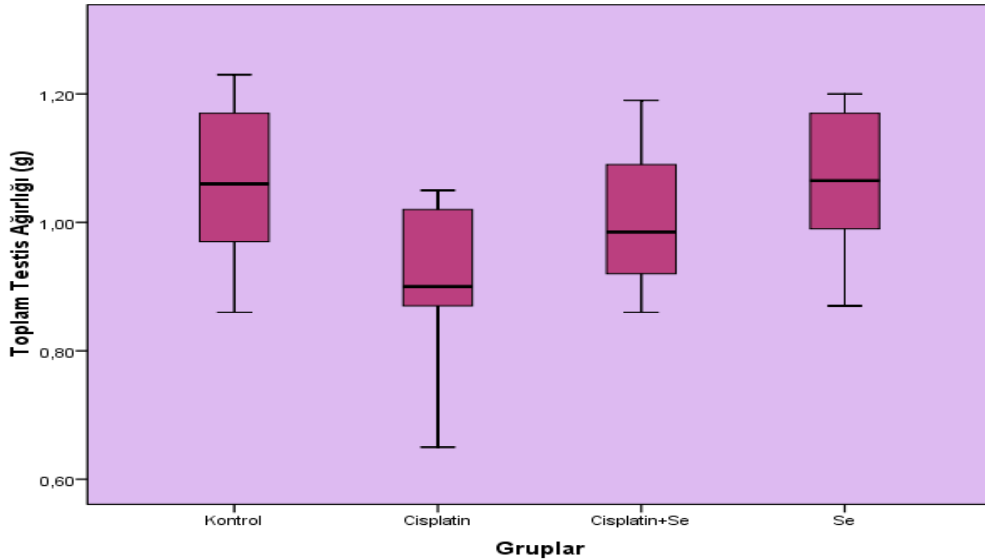
Şekil 5: Şiçanların deney sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması ($p < 0.01^{**}$)

4.1.2. Toplam testis ağırlıkları analizi

Gruplar arasında toplam testis ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir. Buna karşın cisplatin grubunun kontrol, cisplatin+Se ve Se gruplarına göre daha düşük bir toplam testis ağırlığına sahip olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür ($p=0.073$) (Tablo 11, Şekil 6).

Tablo 11: Sıçanların gruplarına göre toplam testis ağırlıkları (g, Ortalama \pm Standart Sapma)

Toplam Testis Ağırlığı	
Gruplar	Ortalama \pm Standart Sapma
Kontrol	2.121 \pm 0.229
Cisplatin	1.817 \pm 0.266
Cisplatin+Se	2.02 \pm 0.22
Se	2.129 \pm 0.23



Şekil 6: Sıçanların toplam testis ağırlıklarının deney gruplarına göre karşılaştırılması

4.1.3. Histolojik skorlama analizi

4.1.3.1. Bazal membran kalınlaşması

Bazal membran kalınlaşması açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.2. Bazal membran ayrılması

Bazal membran ayrılması açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.3. Multinükleer hücre yapısı

Multinükleer hücre yapısı açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - Se, cisplatin - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile cisplatin, cisplatin+Se ile Se, cisplatin+Se ile kontrol, Se- kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.4. Hücre nekrozu

Hücre nekrozu açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se -

kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.5. Hücresel dejenerasyon

Hücresel dejenerasyon açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.6. Tübül duvarı incilmesi

Tübül duvarı incilmesi açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.7. Epitelyal hücre dökülmesi

Epitelyal hücre dökülmesi açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.8. Tübüler atrofi

Tübüler atrofi açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.9. Vakuolizasyon

Vakuolizasyon açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.10. Kongesyon

Kongesyon açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

4.1.3.11. İnterstisyel alanda ödem

İnterstisyel alanda ödem açısından gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında cisplatin - kontrol, cisplatin - Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0,05$). Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol, cisplatin+Se ile Se ve Se - kontrol karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir ($p>0,05$) (Tablo 12).

Tablo 12: Histolojik skorlama

Histolojik Skorlama				Histolojik Skorlama			
	Medyan	25%	75%		Medyan	25%	75%
Bazal Membran kalınlaşması				Tübül Duvarı İncelmesi			
Kontrol	0	0	0	Kontrol	0	0	0
Cisplatin	3	2.25	3	Cisplatin	2	1	2
Cisplatin+Se	0	0	0.75	Cisplatin+Se	0	0	0
Se	0	0	0	Se	0	0	0
Bazal Membran Ayrılması				Epitelyal Hücre Dökülmesi			
Kontrol	0	0	0	Kontrol	0	0	0
Cisplatin	3	2	3	Cisplatin	3	2.25	3
Cisplatin+Se	0	0	0.75	Cisplatin+Se	0	0	1
Se	0	0	0	Se	0	0	0
Multinükleer Hücre Yapısı				Tübüler Atrofi			
Kontrol	0	0	0	Kontrol	0	0	0
Cisplatin	2	2	3	Cisplatin	2	2	3
Cisplatin+Se	0	0	1	Cisplatin+Se	0	0	0
Se	0	0	0	Se	0	0	0
Hücre Nekrozu				Vakuolizasyon			
Kontrol	0	0	0	Kontrol	0	0	0.75
Cisplatin	3	2.25	3	Cisplatin	3	2.25	3
Cisplatin+Se	0	0	0.75	Cisplatin+Se	0	0	1
Se	0	0	0	Se	0	0	0.75
Hüresel Dejenerasyon				Kongesyon			
Kontrol	0	0	0	Kontrol	0	0	0
Cisplatin	3	2.25	3	Cisplatin	2	2	2.75
Cisplatin+Se	0	0	1	Cisplatin+Se	0	0	0
Se	0	0	0.75	Se	0	0	0
				İnterstisyel Alanda Ödem			
				Kontrol	0	0	0
				Cisplatin	2	1.25	2
				Cisplatin+Se	0	0	0
				Se	0	0	0

4.2. Histolojik Bulgular

Işık mikroskopik olarak kontrol ve deney gruplarını oluşturan sıçan testislerinin genel görünümü saptamak için Hematoksilen-Eozin (H-E), Periyodik Asit Schiff (PAS)+Hematoksilen (H) boyası ve TUNEL yöntemi uygulanmıştır.

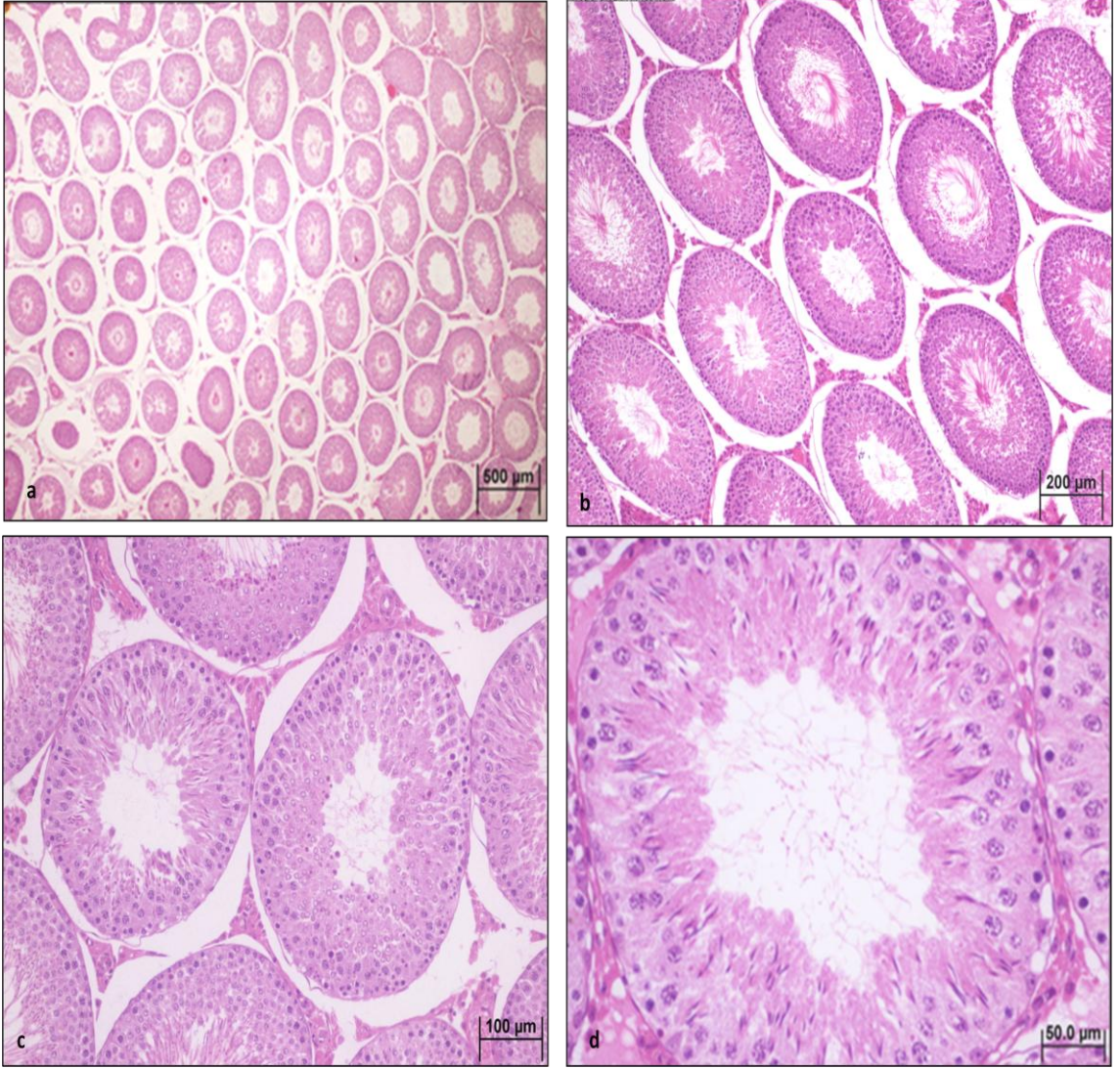
1) Kontrol grubu: Kontrol grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, bazal membran, seminifer tübül yapıları ve interstisyel alan normal yapıda gözlendi (Şekil 7a-d – 10a-d). İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, eksantrik yerleşimli nükleusları ve tipik yerleşim yerleriyle oldukça düzgün gözlendi (Şekil 8a-d, 10a-d). İnterstisyel alandaki damarlar normal yapıda gözlendi (Şekil 8a,c, 10b,d). PAS + H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran ve tunika albuginea yapısı normal yapıda gözlendi (Şekil 9c,d, 10a-d). Düzgün bir spermatogenezin olduğu tübül duvarı, Sertoli hücreleri, oldukça belirgin spermatogonyumları ve spermatogenik seri hücreleri ile normal yapıda gözlendi (Şekil 7a-d – 10a-d). Gelişmekte olan spermatidler, klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümende, baş tübül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş şekilde gözlendi (Şekil 8a-d, 10a-d). DNA fragmantasyonunu belirlemek için yapılan TUNEL boyaması sonucu kontrol grubunda normal değerlerde tutulum gözlendi (Şekil 11a,b).

2) Cisplatin grubu: Cisplatin grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, seminifer tübül duvarında dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar gözlendi (Şekil 12a-d – 14a-d). Spermatogenik hücrelerde özellikle spermatosit hücrelerinde yoğun dejenerasyonlar gözlendi (Şekil 12d, 13a-d, 14b,d). Bazı tübüllerin duvarındaki primer spermatosit hücrelerinde multinükleer yapı (Şekil 13d) ve eozinofilik sitoplazmalı, piknotik çekirdekli nekrotik spermatogenik hücreler gözlendi (Şekil 13b, 14d). Ayrıca incelmış tübül duvarı (Şekil 12a-d) ile bazal membranın tübül duvarından ayrıldığı gözlendi (Şekil 13a,b, 14b,d). Tübül duvarında vakuolizasyon (Şekil 13b-d) ve tübüller atrofi gözlendi (Şekil 14a). Ayrıca interstisyel alanda damar kongesyonu gözlendi (Şekil 12b,c, 14a). Apoptotik hücrelerin

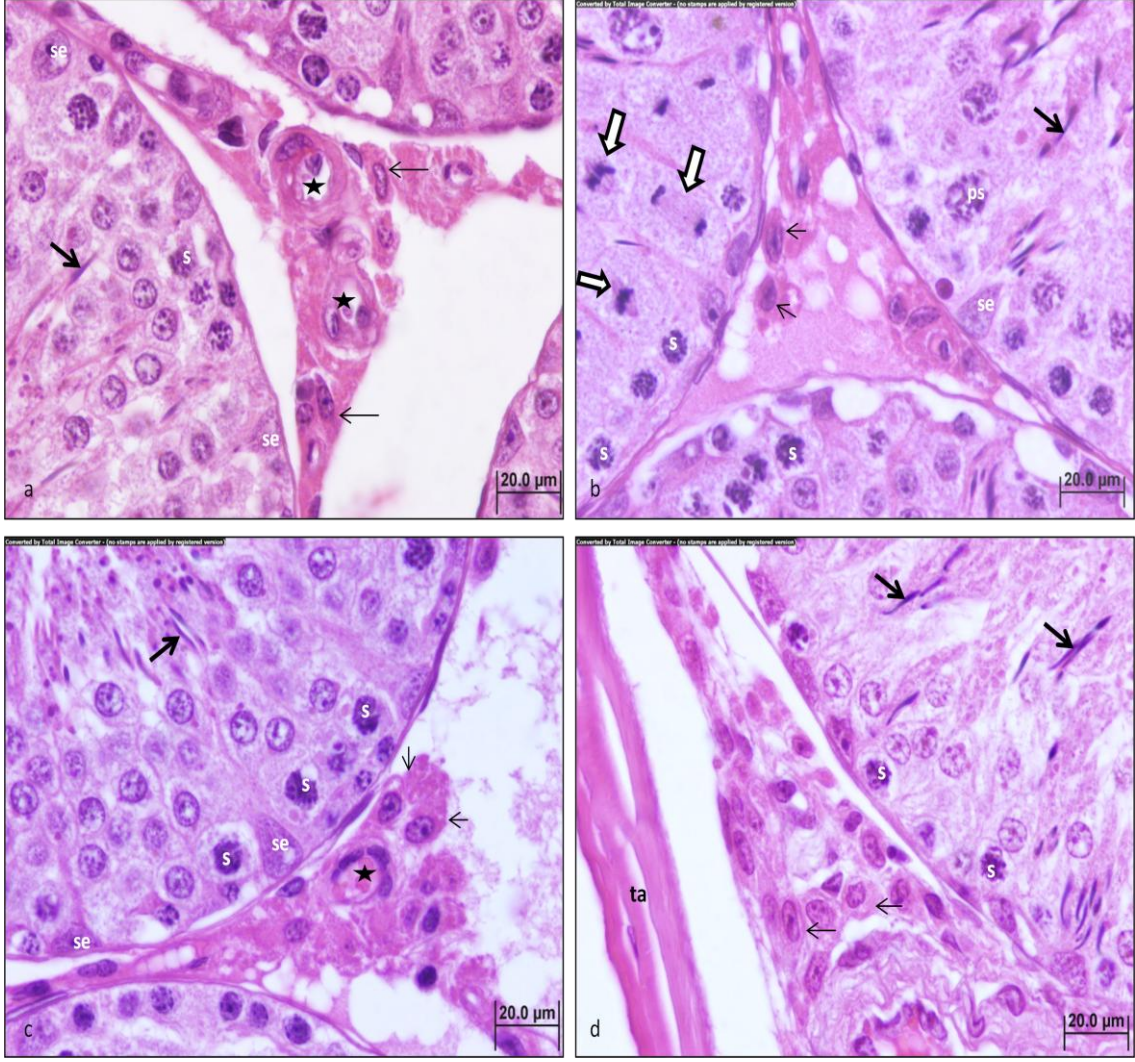
belirlenmesi amacıyla TUNEL yöntemi uygulanan preparatlarda yapılan incelemelerde ise, TUNEL pozitif boyanma gösteren spermatogonyum, primer spermatosit ve spermatid hücreleri gözlemlendi. (Şekil 15a-d).

3)Se grubu: Se grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, seminifer tübül, bazal membran ve interstisyel alan kontrol grubuna benzer bir yapı gösteriyordu (Şekil 16a-d – 18a-d). Spermatogenezin normal devam ettiği gözlemlendi (Şekil 16d, 17a-d, 18d). PAS pozitif boyanmış normal bazal membran yapısı görüldü (Şekil 18c,d). Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri, spermatogonyum, primer spermatosit, spermatid hücresi ve Sertoli hücresi normal olarak görüldü (Şekil 16d, 17a-d, 18d). İnterstisyel alanda bulunan Leydig hücreleri ve damar yapıları normal olarak gözlemlendi (Şekil 17c,d). Apoptotik hücrelerin belirlenmesi amacıyla uygulanan TUNEL yöntemiyle boyanan preparatlarda ise, TUNEL reaksiyonu açısından kontrol grubuyla benzer olduğu gözlemlendi (Şekil 19a,b).

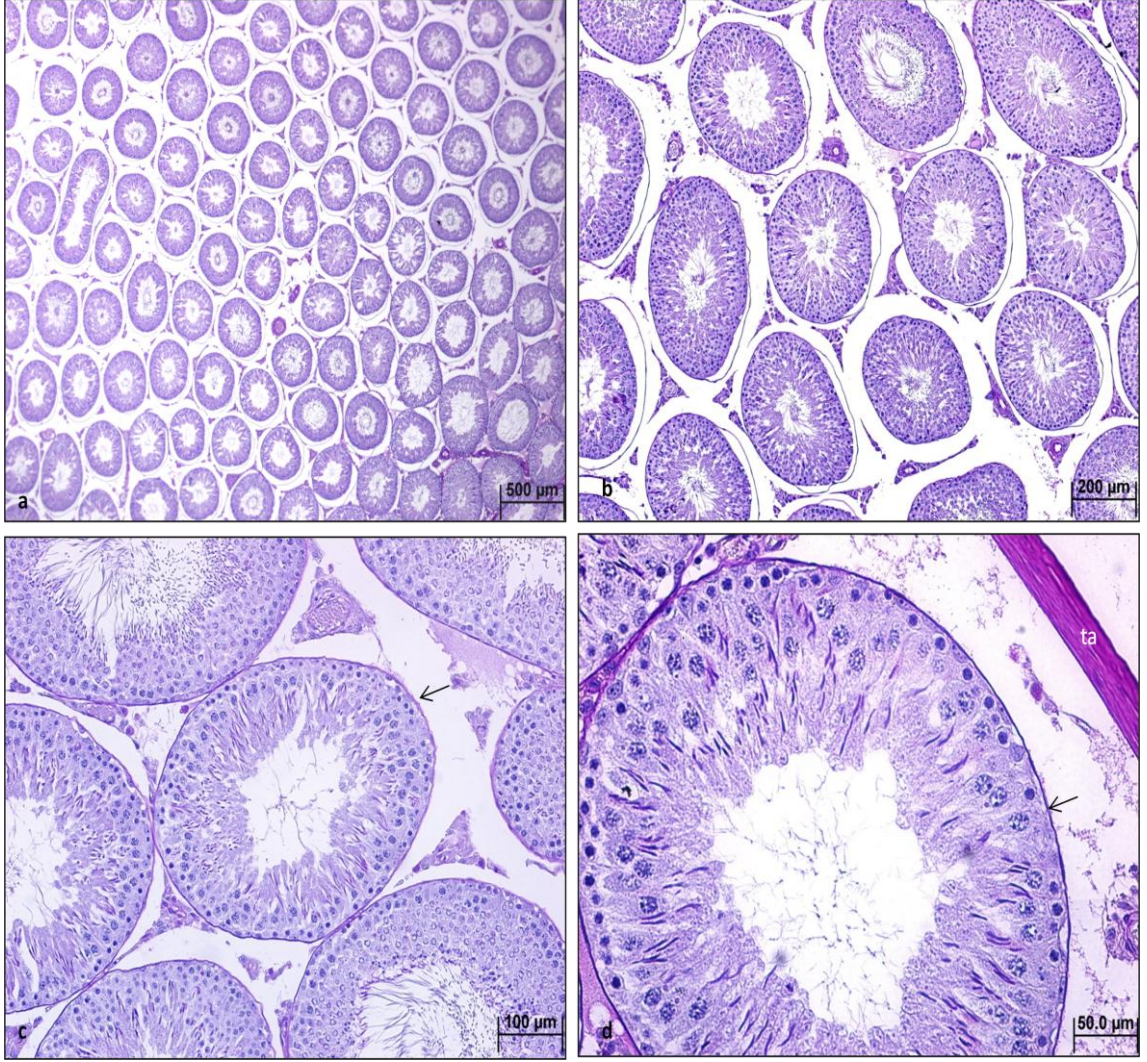
4)Cisplatin + Se grubu: Cisplatin ile birlikte Se verilen grupları oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde ise, birkaç tübülde hasarın az da olsa devam ettiği görülmekle birlikte, azalmış tübüller hasar, korunmuş spermatogenik hücreler ile spermatogenezin devam ettiği görüldü (Şekil 20a-d, 21a-d). Tek başına cisplatin verilen gruplarda, özellikle spermatositlerde görülen dejeneratif değişikliklerin, cisplatin + Se verilen gruplarda düzeldiği gözlemlendi (Şekil 20d, 21d). Ayrıca tübül etrafında PAS pozitif boyanmış bazal membran yapısı normal görüldü (Şekil 21a-d). İnterstisyel alanda normale yakın görünümlü Leydig hücreleri gözlemlendi (Şekil 20d, 21c). Apoptotik hücrelerin belirlenmesi amacıyla TUNEL yöntemi uygulanan preparatlarda TUNEL reaksiyonunun yalnızca cisplatin uygulanan gruba karşı azaldığı, seminifer tübül epitelinin görünüm açısından kontrol ve Se uygulanan gruplara benzediği tespit edilmiştir (Şekil 22a,b).



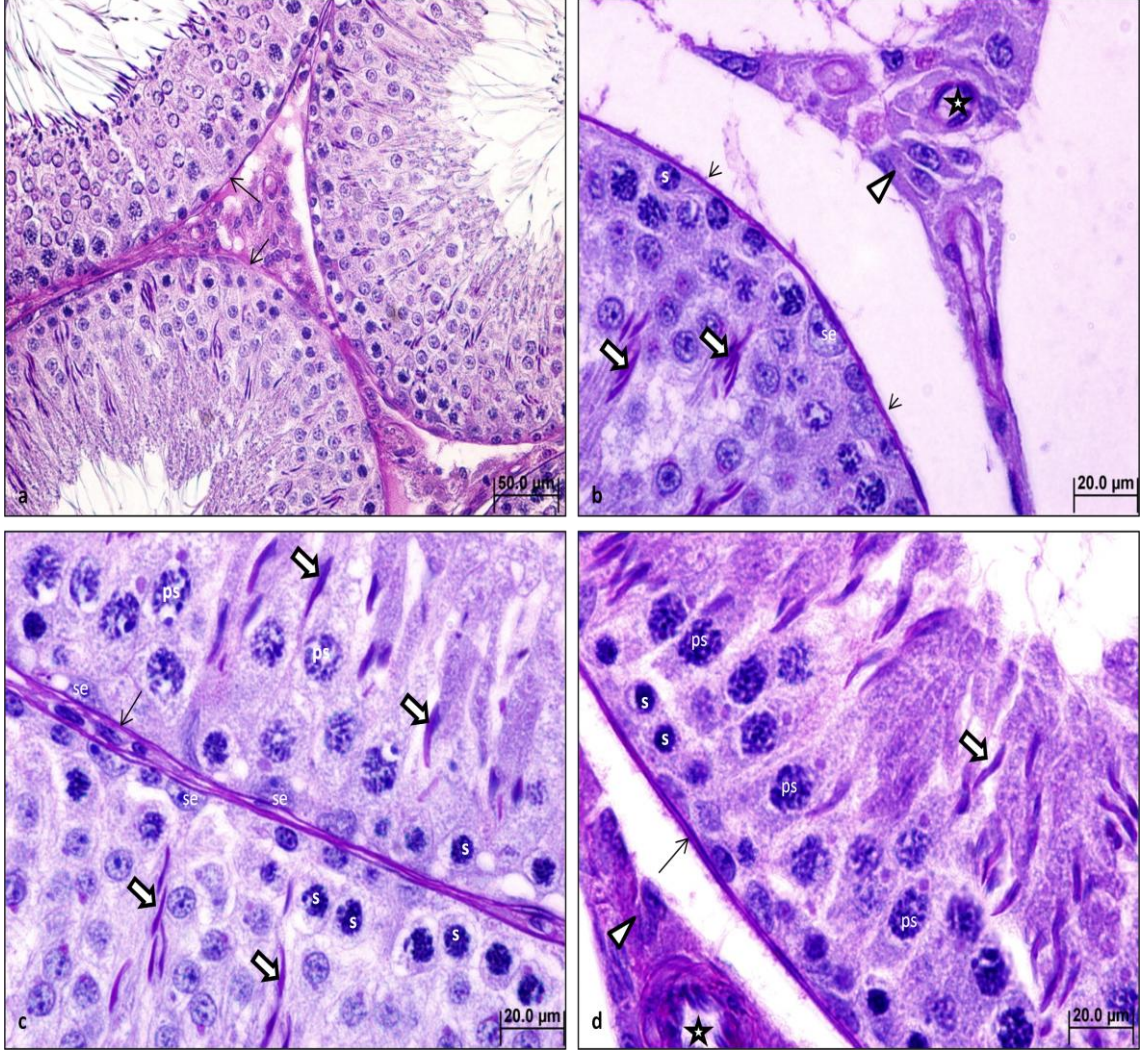
Şekil 7. Kontrol grubu: Kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan, spermatogenik hücreler ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte (bar: 500µm, bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, HE)(a-d).



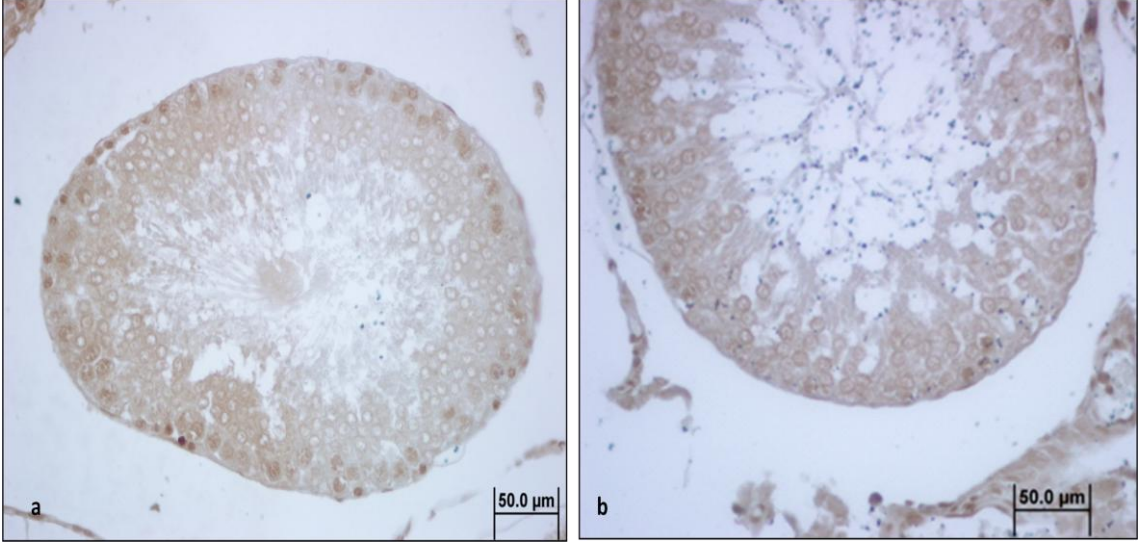
Şekil 8. Kontrol grubu: Kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin ışık mikroskobik görüntüsü. İnterstisyel alanda normal yapıdaki Leydig hücreleri (→) ve damar yapısı (*), seminifer tübül duvarında normal yapıdaki spermatogenik hücre serileri; Sertoli hücresi (se), spermatogonyum (s), primer spermatozoid (ps) ve spermatid (➡) görülmekte (a-d). Özellikle hücrelerin bölünme aşamaları dikkat çekmekte (⇨) (b) (bar: 20.0µm, HE).



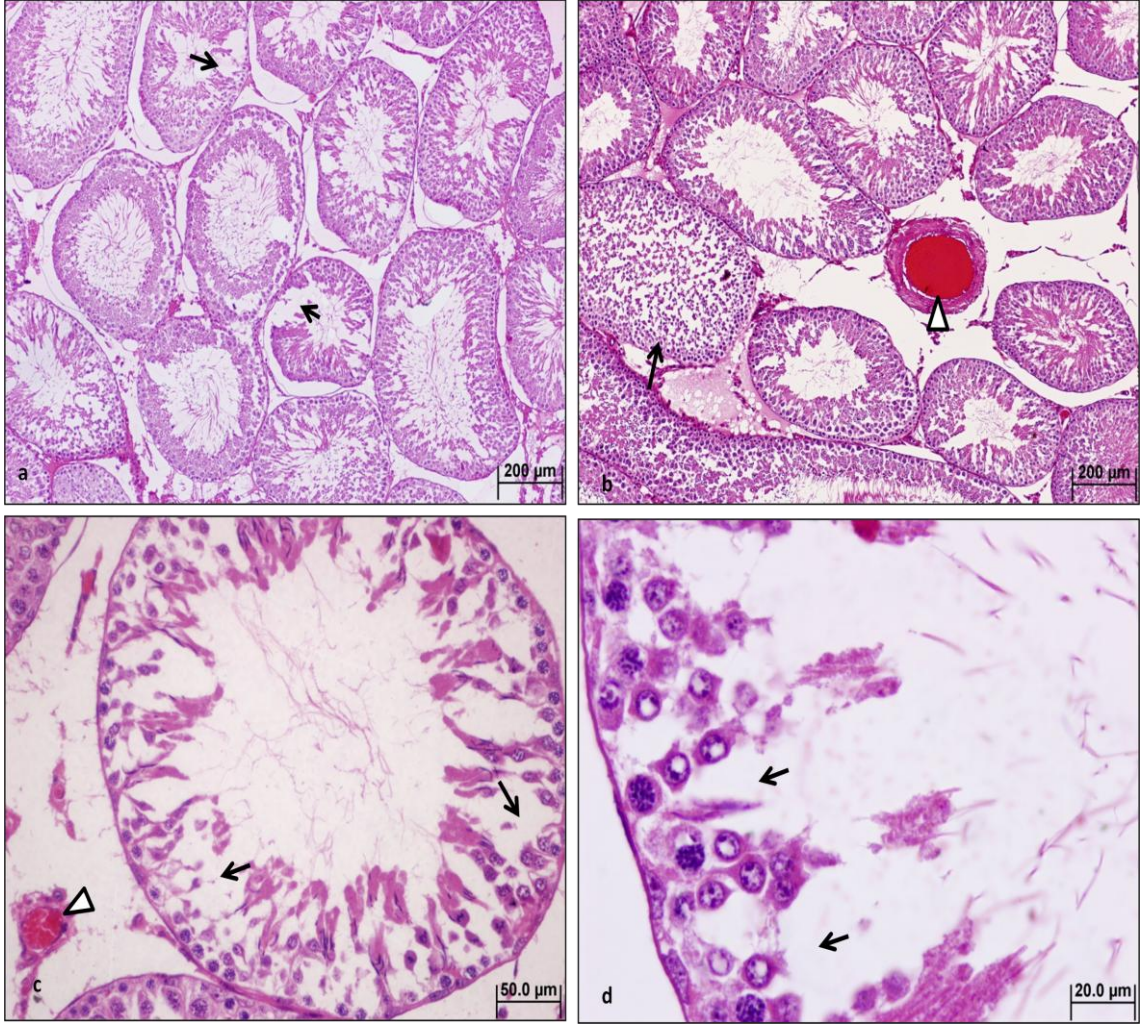
Şekil 9. Kontrol grubu: Kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan, spermatogenik hücreler ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. Ayrıca PAS pozitif bazal membran yapısı (→) ve tunika albuginea (ta) yapısı izlenmekte (bar: 500µm, bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, PAS+H)(a-d).



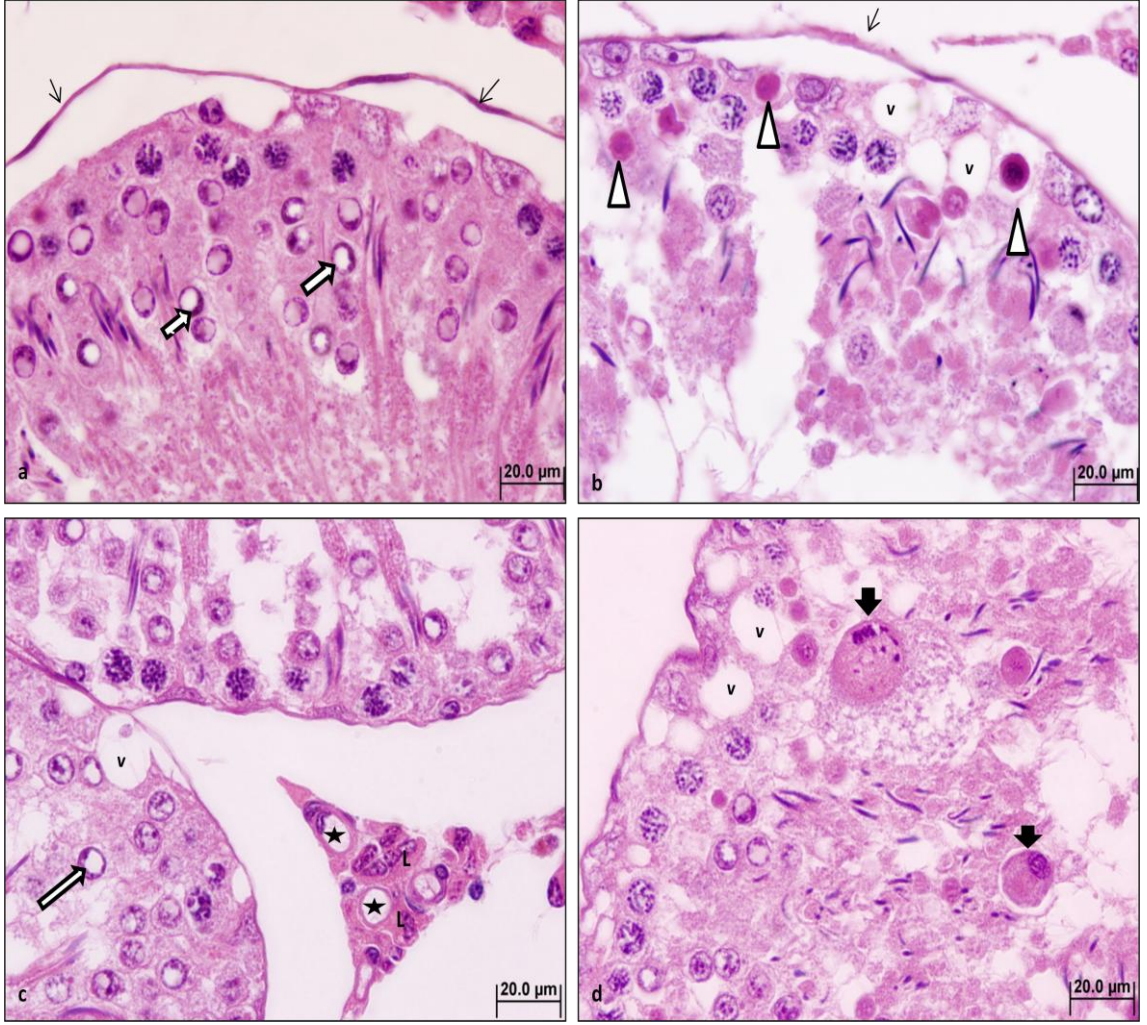
Şekil 10. Kontrol grubu: Kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyültmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatogenik hücreler; Sertoli hücresi (se), spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), spermatid (⇔), interstisyel alanda normal görünümlü Leydig hücreleri (▶) ve damar yapısı (*) ile tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. Ayrıca PAS pozitif bazal membran yapısı (→) gözlenmekte (bar: 50.0µm, bar: 20.0µm, PAS+H)(a-d).



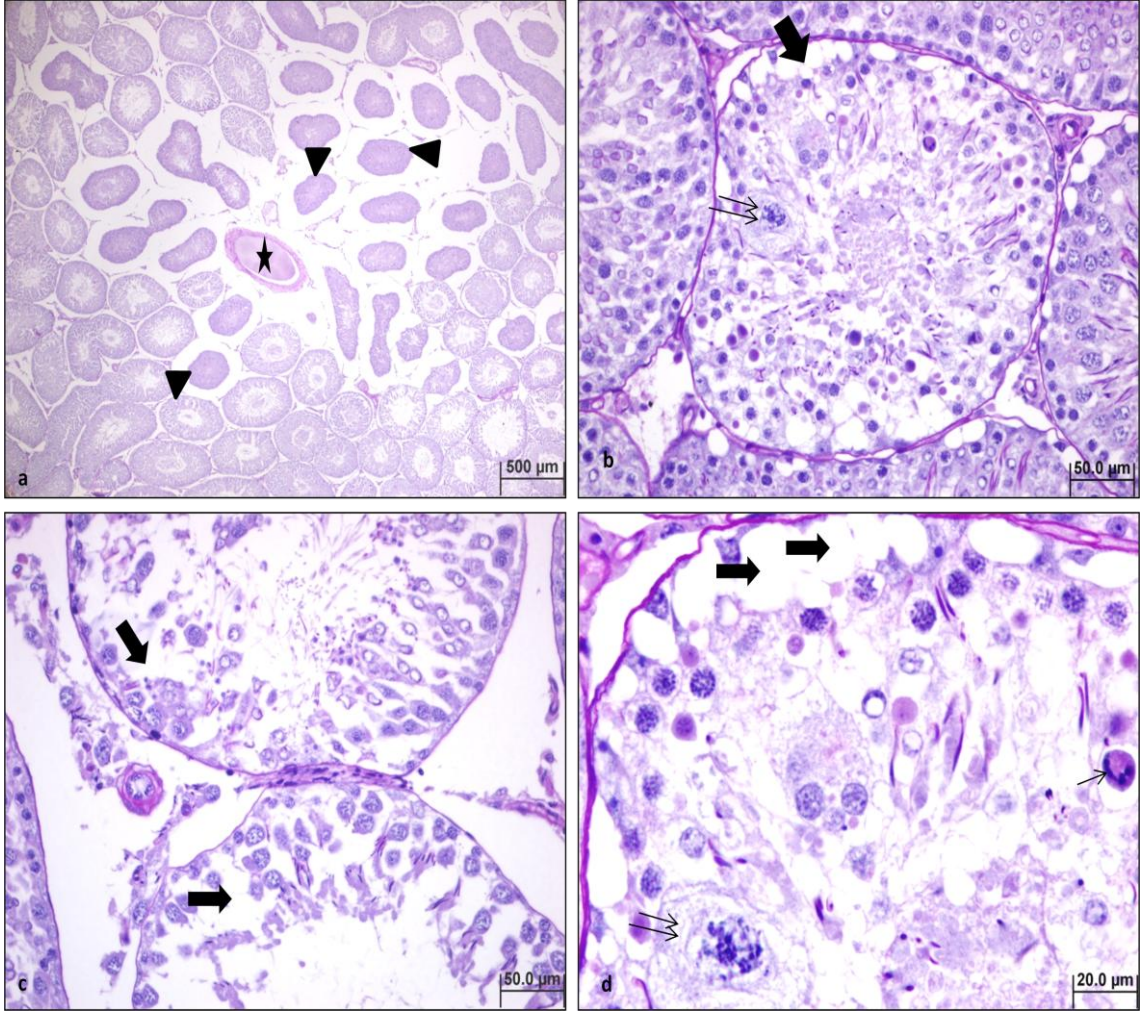
Şekil 11. Kontrol grubu: Kontrol grubuna ait testiste TUNEL negatif boyanma gözlenmekte (bar: 50.0µm) (a,b).



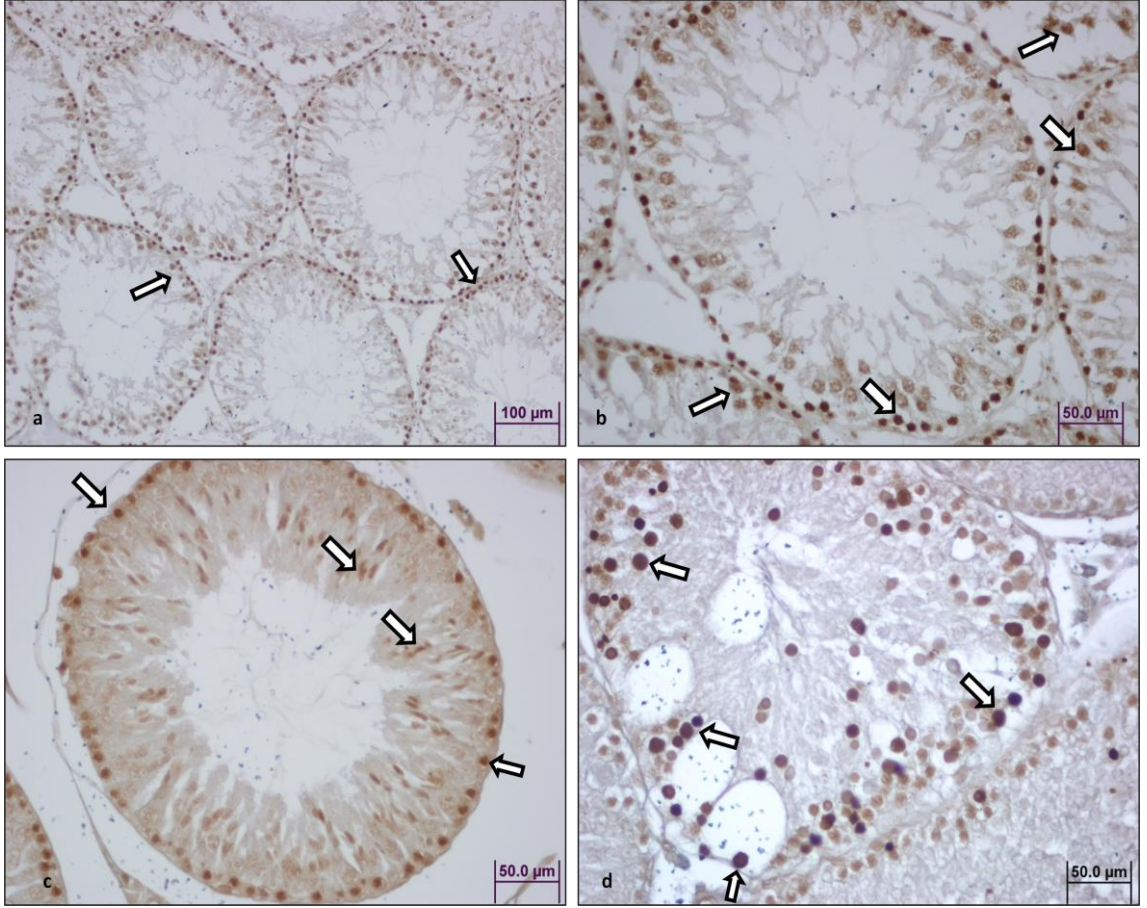
Şekil 12. Cisplatin grubu: 7 mg/kg cisplatin verilen testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve hücresel kayıplar (→) ile birlikte incelmış tübül duvarı görülmekte. İnterstisyel alanda ise damar kongesyonu (▶) dikkat çekmekte (bar: 200µm, bar: 50.0µm, bar: 20.0µm, HE)(a-d).



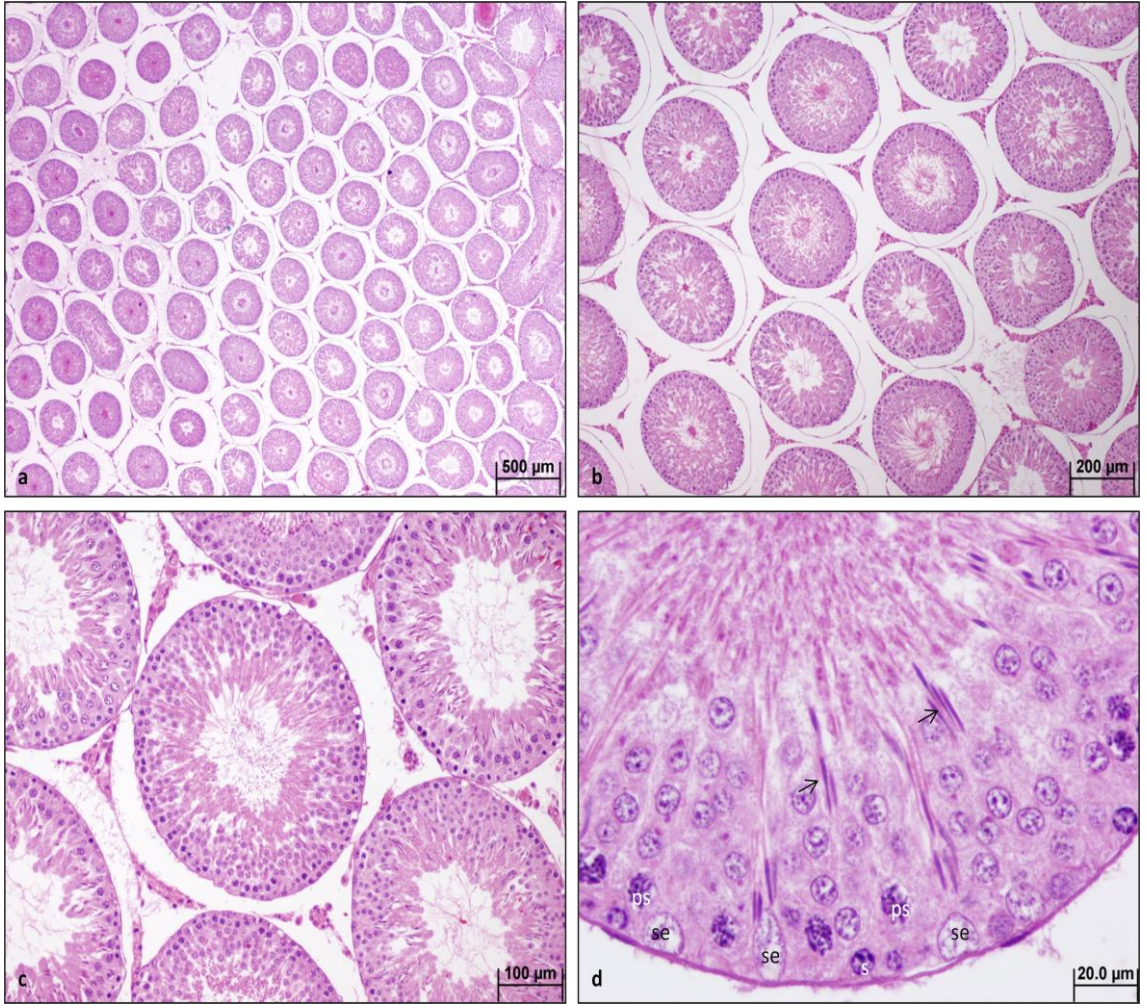
Şekil 13. Cisplatin grubu: 7 mg/kg cisplatin verilen testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde yoğun dejenerasyonlar özellikle spermatosit hücrelerinde dejeneratif değişiklikler (⇨), eozinofilik sitoplazmalı, piknotik çekirdekli nekrotik spermatogenik hücreler (★), tübül duvarında vakuolizasyon (v) ve özellikle bazı tübüllerin duvarındaki primer spermatosit hücrelerinde multinükleer yapı ve dejeneratif değişiklikler (▶) ile bazal membranda ayrılmaları (⇨) dikkat çekmekte. (bar: 20.0µm, HE)(a-d).



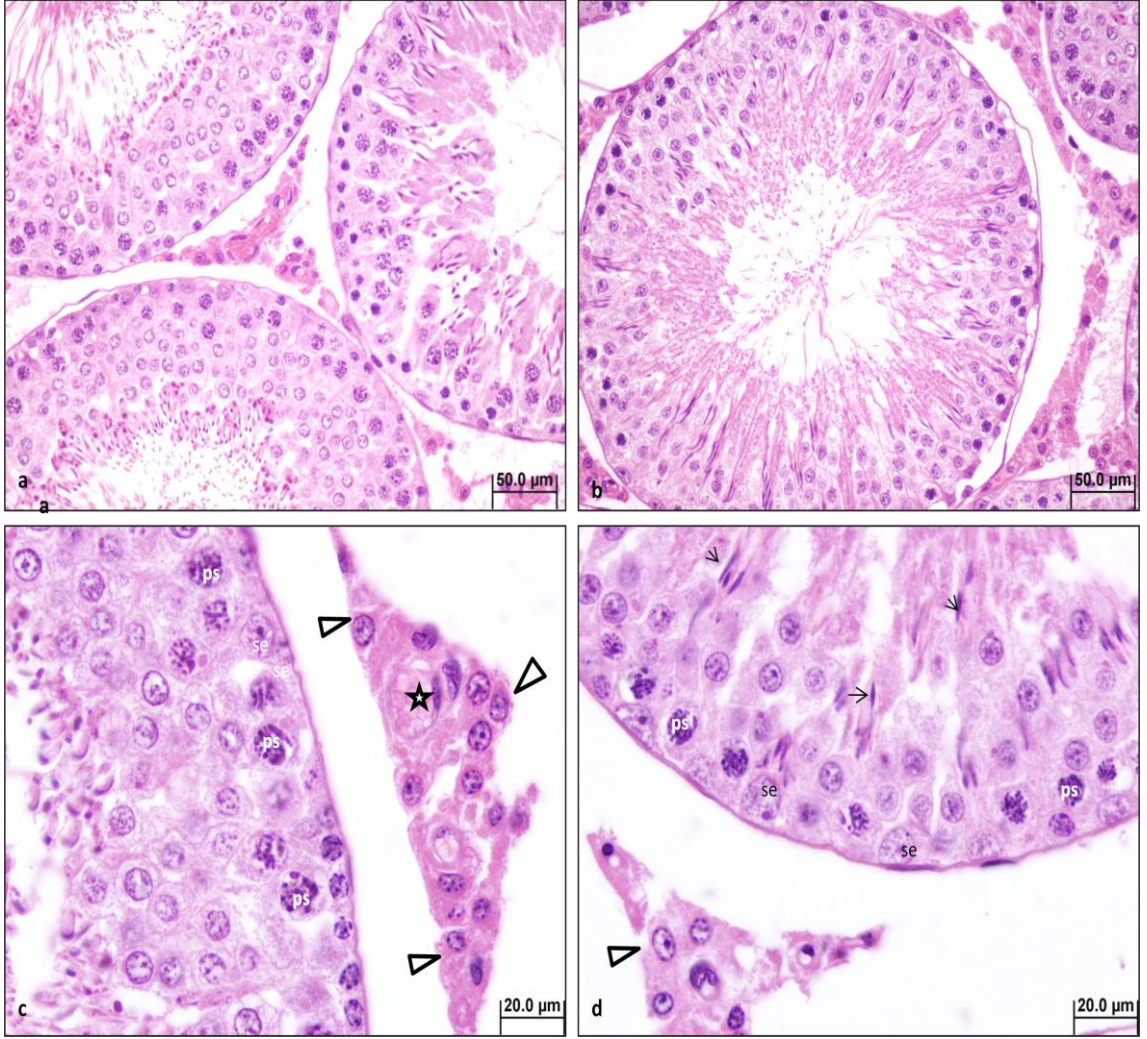
Şekil 14. Cisplatin grubu: 7 mg/kg cisplatin verilen testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde yoğun dejenerasyonlar ve tübüler atrofi (►), tübül duvarında hüresel kayıplar ve bazal membrandan koparak ayrılmalar (■) görülmekte. Ayrıca intersitisyel alanda damar kongesyonu (*) dikkat çekmekte. Özellikle bazı tübüllerde yer alan primer spermatozit hücresinde dejeneratif değişiklikler izlenmekte (⇒) ve piknotik nükleuslu eozinofilik sitoplazmalı nekrotik hücre yapısı (→) dikkat çekmekte (bar: 500µm, bar: 50.0µm, bar: 20.0µm, PAS+H)(a-d).



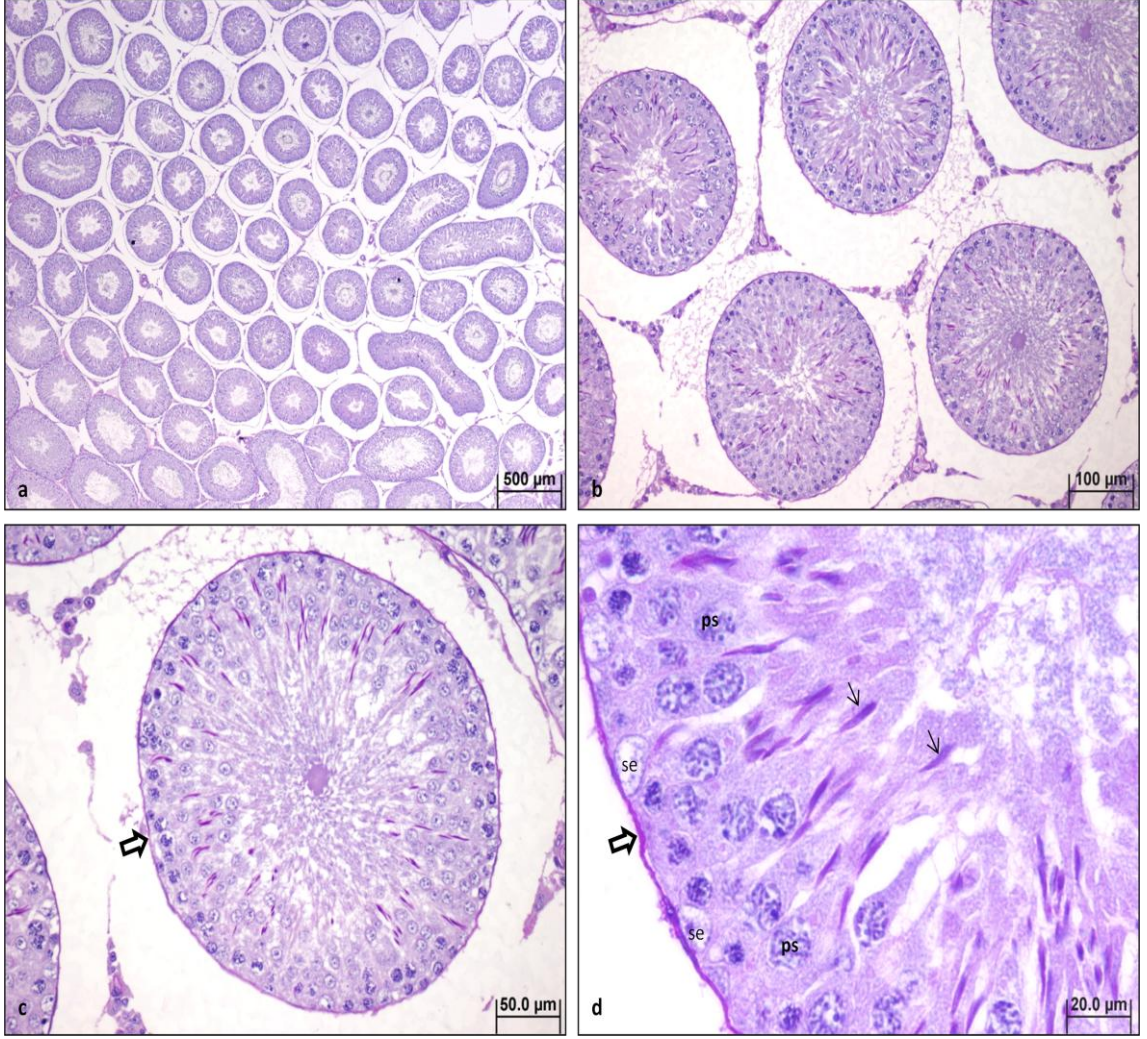
Şekil 15. Cisplatin grubu: Cisplatin grubuna ait testiste TUNEL pozitif işaretlenmiş sayısı artmış apoptotik hücreler (kahverengi) (⇨) görülmekte (bar: 100µm, bar: 50.0µm) (a-d).



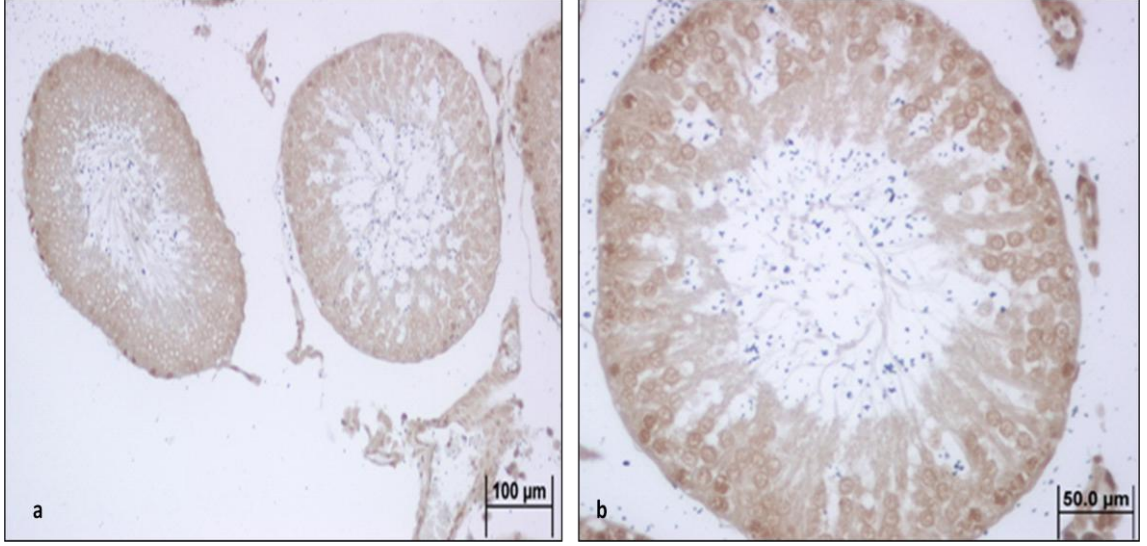
Şekil 16. Selenyum grubu: 1 mg/kg Se verilen testis dokusunun farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan, spermatogenik hücreler; Sertoli hücresi (se), primer spermatosit (ps), spermatogonyum (s) ve spermatid hücresi (→) ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte (bar: 500µm, bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 20.0µm, HE)(a-d).



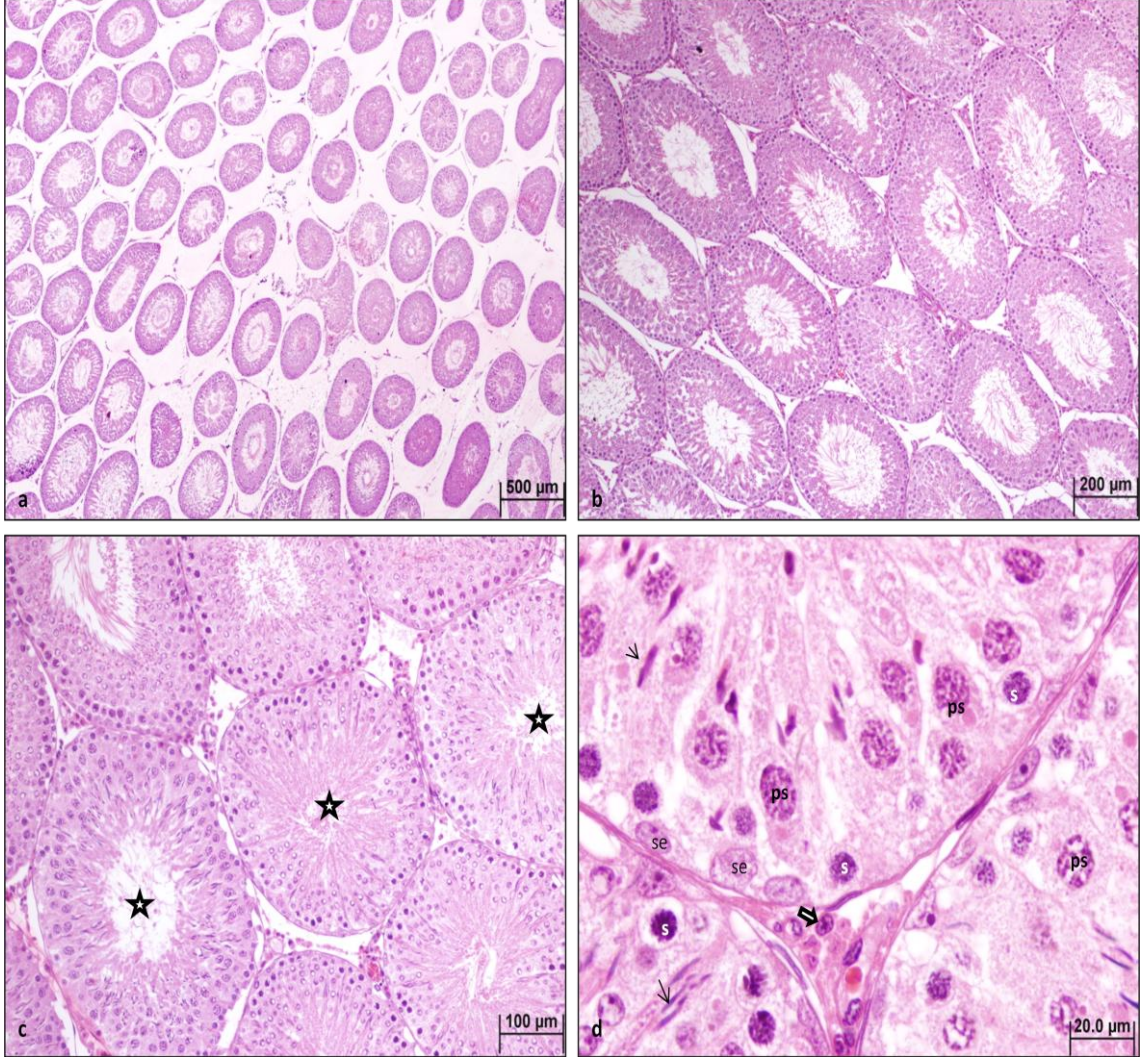
Şekil 17. Selenyum grubu: 1 mg/kg Se verilen testis dokusunun farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan, spermatogonik hücreler; Sertoli hücresi (se), spermatogonyum (s), primer spermatozit (ps), spermatid hücresi (→) ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. İnterstisyel alanda normal Leydig hücreleri (▶) ve damar yapısı (*) izlenmekte (bar: 50.0µm, bar: 20.0µm, HE)(a-d).



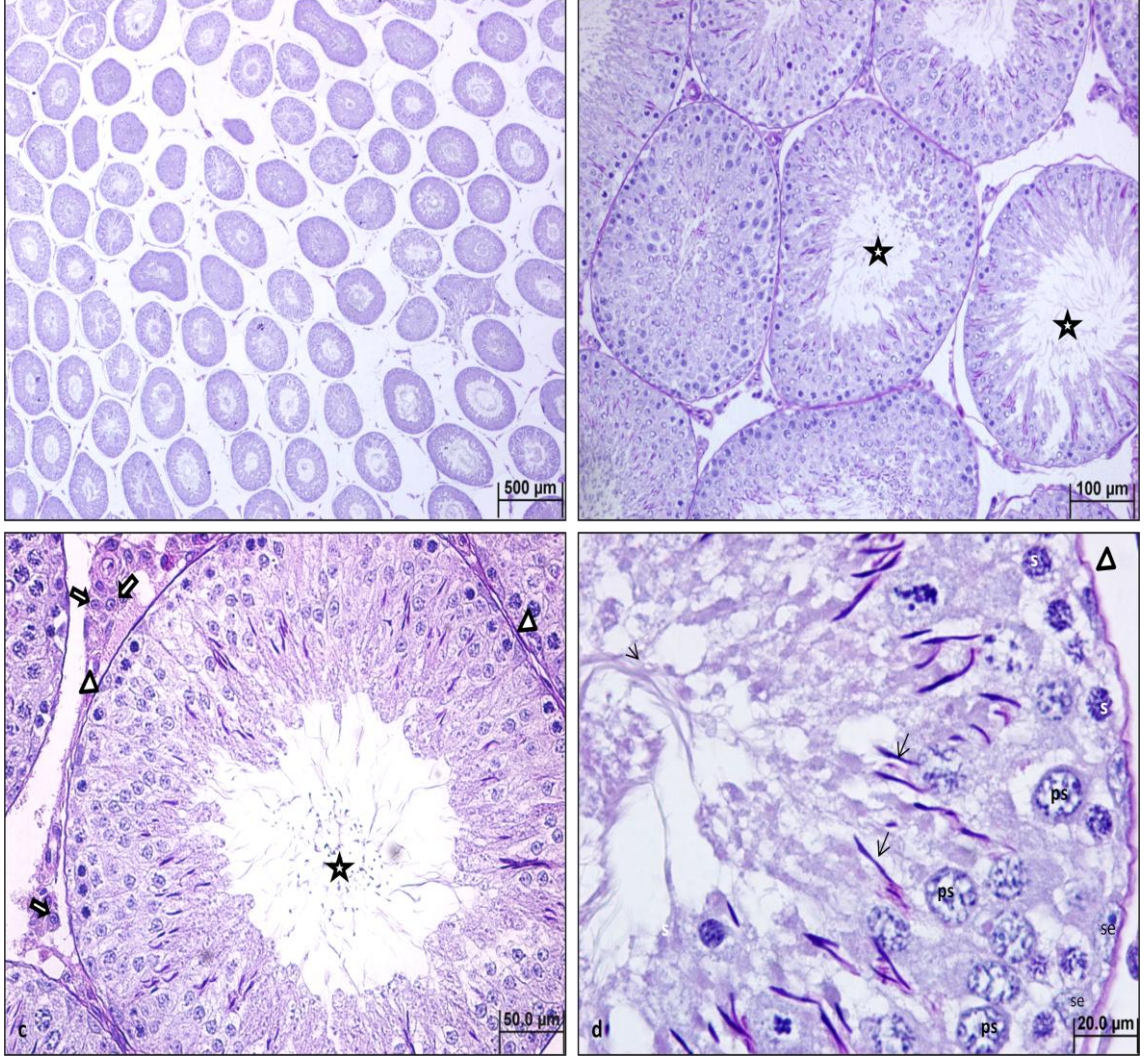
Şekil 18. Selenyum grubu: 1 mg/kg Se verilen testis dokusunun farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan, spermatogenik hücreler; Sertoli hücresi (se), primer spermatosit (ps), spermatid hücresi (→) ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmekte. Ayrıca PAS pozitif bazal membran yapısı (⇨) gözlenmekte (bar: 500µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, bar: 20.0µm, PAS+H)(a-d).



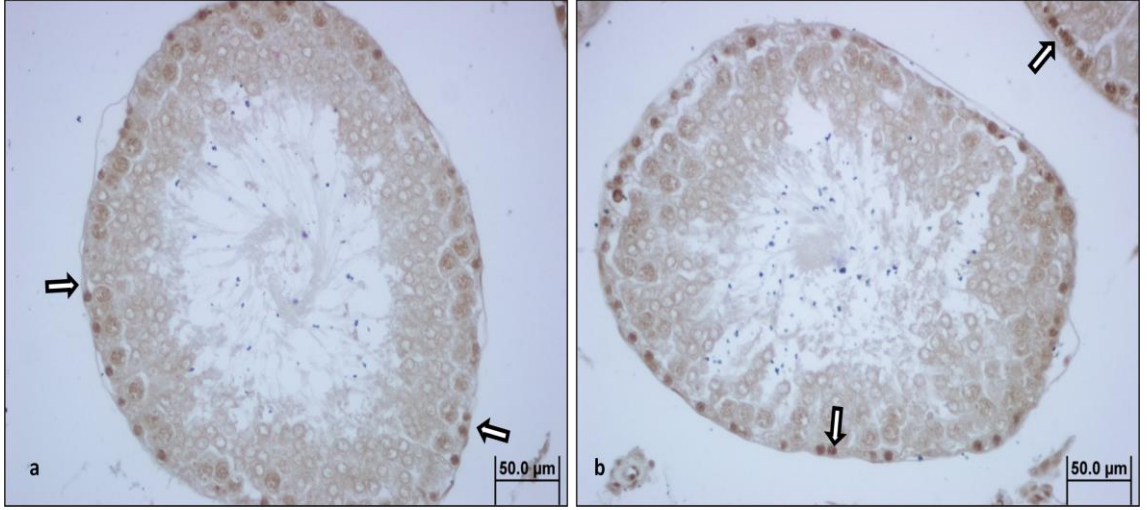
Şekil 19. Selenyum grubu: Se grubuna ait testiste TUNEL negatif boyanma gözlenmekte (bar: 100µm bar: 50.0µm) (a,b).



Şekil 20. Cisplatin +Selenyum grubu: 7 mg/kg cisplatin ve 1 mg/kg Se verilmiş testis dokusunda normale yakın korunmuş seminifer tübül yapıları, spermatogenik hücreler; Sertoli hücresi (Se), spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), spermatid (→) hücresi ile birlikte birçok tübülde devam eden spermatogenez (*) dikkat çekmekte. Ayrıca intersitisyel alanda da korunmuş Leydig hücreleri görülmekte (★). (bar: 500µm, bar: 200µm, bar: 100µm, bar: 20.0µm, HE)(a-d).



Şekil 21. Cisplatin +Selenyum grubu: 7 mg/kg cisplatin ve 1 mg/kg Se verilmiş testis dokusunda normale yakın korunmuş seminifer tübül yapıları, spermatogenik hücreler; Sertoli hücresi (Se), spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), spermatid (→) hücresi ile birlikte birçok tübülde devam eden spermatogenez (*) dikkat çekmekte. İntersitisyel alanda da korunmuş Leydig hücreleri görülmekte (Δ). Ayrıca PAS pozitif bazal membran yapısı (▶) gözlenmekte (bar: 500µm, bar: 100µm, bar: 50.0µm, bar: 20.0µm, PAS)(a-d).



Şekil 22. Cisplatin + Selenyum grubu: Cisplatin + Selenyum grubuna ait testiste cisplatin grubuna göre sayıca azalmış TUNEL pozitif işaretlenmiş apoptotik hücreler (kahverengi) (⇨) gözlenmekte (bar: 50.0µm) (a,b).

5. TARTIŞMA

Gonadotoksinler, erkeklerde görülen infertiliteye neden olan önemli ajanlardan birisidir. Gonadotoksinler, zararlı etkilerini testisteki germ hücrelerini doğrudan etkileyerek veya destek sağlayan Sertoli hücre işlevlerini baskılayarak yaparlar (56).

Spermatogenik hücreler, kemoterapötik ilaçların zararlı etkilerine oldukça duyarlıdır ve kök hücre topluluğunda onarılamayan hasara yol açarak kalıcı infertiliteye yol açabilirler. En duyarlı hücreler aktif bölünen spermatogonyumlar ve preleptoten fazına kadarki spermatositlerdir. Kemoterapötik ajanlardan gonadlar üzerinde en toksik olanları alkilleyiciler (siklofosfamid, mustin, klorambusil, melfelan, busulfan, lamustin, karmustin), antimetabolitler (sitarabin), vinka alkaloidler (vinblastin) ve diğerleri (prokarbazine, cisplatin, nitrojen mustart) olarak bilinir (105). Spermatogenezisteki bozulmanın ciddiyeti ve düzelebilirliği kullanılan ajanların yapısına, toplam dozuna ve tedavi şekline bağlıdır (56, 160).

Alkilleyici ajanların ve prokarbazinin testiküler hasar yaptığı saptanmıştır. Siklofosfamid içeren birden fazla kemoterapötik ajanın bulunduğu ilaçlarla tedavi sonrasında, hastaların %35-100'ünde uzun süreli azospermi görülmüştür. Spermatogenezisin tekrar normale dönmesinin ortalama 2 yıl sürdüğü gözlenmiştir. Birden fazla kemoterapötik ajanla tedavi edilen testis kanserli hastalarda %17-68 arasında değişen uzun süreli azospermi görülmektedir. Testiküler kanserli hastalarda %25 oranında spermatogenik hasar tespit edilmiştir. Testis tümörlü hastaların kemoterapi sonrası gebe bırakma oranlarının %13-31 arasında olduğu belirtilmiştir (56, 160, 200).

Testis kanseri için verilen kemoterapinin spermatogenez ve Leydig hücre işlevleri üzerinde akut etkileri vardır; kemoterapi germinal epiteli direkt olarak etkilemektedir ve Leydig hücre yetersizliği sık görülmektedir. Hastaların büyük çoğunluğunda tedaviyi izleyen ilk 12 ay süresinde yükselmiş serum gonadotropin düzeyleri ile beraber azospermi gözlenir. Bu toksik etkiler çoğu hastada geri dönüşlüdür, bununla beraber

hastaların yaklaşık %50'sinde tedaviden sonraki 2 yıl içinde spermatogenez ve Leydig hücre işlevlerinin düzeldiği görülmüştür. Spermatogenezin düzelme ihtimalini azaltan bazı faktörler vardır; bunlar 30 yaşın üzerinde olmak, tedavi süresinin 6 aydan uzun sürmesi ve abdominal radyoterapi almış olmasıdır. Kemoterapi sonrası kalıcı oligospermi, anormal formlar ve motilite bozukluğu bildirilmiştir (5, 30, 56, 153, 187).

Roth ve arkadaşlarının 229 hastayı içeren retrospektif çalışmasında, sadece kemoterapiyle tedavi edilen hastaların en az 1/3'ünün sağlıklı çocuk sahibi olduğu belirtilmiştir (171).

Platin içerikli ilaçlar; ovarian, testiküler, akciğer ve karaciğerdeki solid tümör tedavilerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle testis kanserinin kemoterapisinde 1970'lerde cisplatinin kullanıma girmesi en önemli aşamayı oluşturmaktadır (56, 59, 153).

Bohlen ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, yüksek riskli evre I germ hücreli tümörü olan hastalara uygulanan 2 siklus cisplatin bazlı kemoterapinin, fertilitate ve seksüel işlevleri olumsuz etkilemediği bildirilmiştir (31).

Lampe ve arkadaşlarının 170 hasta ile yaptıkları çalışmada, orşiyektomi ve cisplatin bazlı kemoterapi sonrasında, spermatogenez ihtimalinin 2 yıl içinde %48'e, 5 yıl içinde ise %80'e yükseldiği bildirilmiştir (128).

Birçok çalışmada cisplatinin spermatotoksik olduğu bildirilmiştir. Leydig hücrelerine olası direkt etkisinden dolayı cisplatin kullanımı serum testosteron seviyelerinde azalmaya yol açmaktadır. Cisplatin bazlı kemoterapide hastaların çoğunda azospermi gözleendiği, fakat bunların çoğunda spermatogenezin 4 yıl içinde geri döndüğü gösterilmiştir (58).

Zhang ve arkadaşlarının Balb/c fareler ile yaptıkları çalışmada, uyguladıkları cisplatin sonrasında germ hücrelerinde doza bağlı olarak apoptozisin indüklendiği

bulunmuştur. Yine aynı çalışmada cisplatinin spermatogenik serideki hücrelerin olgunlaşma süreçlerini etkilediği, spermatogenezisi azalttığı ve azospermiye sebep olarak fertilitiyi etkiledikleri gözlemlenmiştir (225).

Oldukça geniş kullanım alanına sahip olan cisplatin; ürogenital sistem kanserleri, merkezi sinir sistemi tümörleri, ilerlemiş yumurtalık kanserleri, nonseminomatöz testis tümörleri, mesane, prostat, serviks, özefagus, meme ve baş-boyun kanserleri gibi erişkin çağda görülen birçok kanser türünün yanı sıra, nöroblastom, Wilms tümörü, hepatoblastoma, beyin tümörleri, germ hücreli tümör, osteosarkom gibi pek çok çocukluk çağı tümörünün de tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (150).

Cisplatin gibi kemoterapötik ilaçlar, kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını durdurarak güçlü antitümöral aktivite göstermekte, böylece tedavi edici etkide bulunmaktadır. Ancak bu ilaçlar, normal hücre ile tümör hücreleri arasındaki yapısal benzerlikten dolayı normal hücrelerin de kemoterapi ile hasarlanmasına neden olmaktadır. Ayrıca bu ilaçların gonadotoksisite, nefrotoksisite ve nörotoksisite gibi sık görülen ve istenmeyen, doz sınırlayıcı yan etkileri belirtilmiştir (102, 163).

Cisplatin hücre içerisine girdikten sonra birçok sinyal ileti yolağını aktive ederek hücrede apoptoz, nekroz, oksidatif stres, fibrojeniz, inflamasyon, hipoksi ve mitokondriyal hasara yol açarak sitotoksik etki gösterir (160).

Kemoterapinin testislerin endokrin işlevi üzerine etkileri tartışmalıdır. Sertoli ve Leydig hücrelerinin nispeten yavaş bölünen hücreler olduğu ve kemoterapötik ilaçların etkilerine dirençli oldukları bildirilmektedir. Leydig hücreleri dirençli olmasına rağmen tedavi sonrasında bu hücrelerde disfonksiyon oluştuğu, LH seviyelerinde yükselme ve testosteron düzeylerinde düşme görüldüğü saptanmıştır. Kemoterapi tedavisini takiben oluşan en sık hormonal değişiklik FSH yükselmesidir. Serum FSH seviyeleri tedavi sonrası spermatogenezisin takibinde bir göstergedir (3, 5, 11, 56, 153).

Aydiner ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sıçanlara tek doz 5 mg/kg cisplatin verilmesinin, 3. ve 21. günlerde plazma testosteron düzeyinde belirgin düşmeye ve LH düzeyinde ise yükselmeye neden olduğu belirtilmiştir (20).

Elektron mikroskop incelenmesinde ise, Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantı komplekslerinin bozulmadığı gözlemlenmiştir. Ayrıca Sertoli hücrelerinde görülen granüllü endoplazmik retikulum dilatasyonları, lipid birikimi, lipofuskin inklüzyonlarında artma, Sertoli hücrelerinin katılmış olduğu steroid biyosentezinin etkilenmesinin morfolojik bulguları olarak değerlendirilmiştir. İnterstisyumda yer alan Leydig hücrelerinde de sitoplazmik lipid inklüzyonlarında artma, endoplazmik retikulumda dilatasyonlar, mitokondriyalarda ve membranlarda yapısal bozukluklar gözlenmiştir (20). Yine aynı çalışmada, ışık mikroskopik incelemede 3. günde germ hücrelerinde belirgin hasar görülmüştür. 12. ve 21. günlerde bu hasarın devam ettiği, 28. günde ise düzelme olduğu gözlenmiştir. Sertoli ve Leydig hücrelerinin ışık mikroskopik olarak incelenmesinde ise önemli bir değişiklik bulunmamıştır (20). Bizim yaptığımız çalışmada da bu çalışmaya paralel olarak cisplatin verilen hayvanlarda 7. günde spermatogenik seri hücrelerinde hasar gözlenmiştir.

Maines ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sıçanlara cisplatin verilmesi ile gonadotropinler ve steroid hormonlarda hızlı bir artışın olduğu bildirilmiştir (135). Yine aynı çalışmada, cisplatine bağlı serum testosteron düşüklüğünün, sıçan testislerindeki LH reseptörlerinin ve sitokrom P-450'nin depresyonuna bağlı olduğu gösterilmiştir (135).

Azouri ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sıçan testislerinde mikrozomal P-450 konsantrasyonunda benzer azalma rapor edilmiştir (21).

Spermatogenez süresince germinal hücreler Sertoli hücreleri ile devamlı ilişki halinde pasif olarak bazalden lümeneye doğru ilerler. Bu spermiyasyon olayında Sertoli hücrelerinin önemli bir katkısı vardır. Sertoli hücreleri endoplazma retikulumu ve miyofibril yapıları ile kasılma-gevşeme hareketi yaparak olgunlaşma süreci içindeki

germinal hücreleri (spermatidleri) lümene taşırken, membran ilişkisinin sağlıklı olmasını da sağlamaktadır. Sertoli hücrelerinde membran bozukluğunda, bu ilişki bozulacağından, bizim çalışmamızda da gözleendiği gibi germinal hücreler olgunlaşmadan kontrolsüz olarak lümene dökülmüştür.

Azu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, cisplatin uygulamasının seminifer tübül epitelinde spermatogenik hücre kaybı oluşturduğu gösterilmiştir. Bunun yanında vücut ağırlığı ve testiküler ağırlıkta da düşme olduğu belirtilmiştir (22).

Çalışmamızda, erişkin erkek sıçanlarda cisplatin ile oluşturulan testis hasarı üzerine sodyum selenitin etkisi araştırılmıştır ve çalışmamızın sonuçlarına göre, deney hayvanlarının testis ağırlığı ve vücut ağırlığı bulguları incelendiğinde cisplatinin testis ve vücut ağırlığında düşüşe neden olduğu görülmüştür.

Boekelheide ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, cisplatine maruz kalmış Sertoli hücrelerinin yapısındaki ve fonksiyonundaki değişiklikler bu hücrenin toksisite için hedef bir hücre olduğunu göstermiştir (30). Bu sonuca paralel olarak bizim yaptığımız çalışmada da lümeninde görülen olgunlaşmamış germinal hücrelerin varlığı, Sertoli hücrelerinde membran bozukluğu olduğu sonucunu çıkarmaktadır.

Pogach ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sıçanlara 5 gün boyunca günde 2 mg/kg intraperitoneal olarak verilen cisplatinin kan-testis bariyerinde (Sertoli-Sertoli hücreleri) çatlaklar oluşturduğu ve bu etkinin en az 40 gün devam ettiği gözlemlenmiştir. Sertoli hücre bağlantılarındaki bu değişikliklerin, seminifer tübüldeki sıvı elektrolitte gözlenen değişimleri açıkladığı düşünülmüştür (162).

Huang ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, serum ve epididimis androjen bağlayıcı protein seviyelerindeki düşüş, cisplatinin Sertoli hücre fonksiyonları üzerindeki etkilerini kanıtladığı düşünülmüştür (94).

Nambu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, cisplatine etkin kalmış Sertoli hücrelerinin primer kültürlerinde transferin, androjen bağlayıcı proteinler, laktein, östradiol üretiminin düştüğü gözlenmiştir (147).

Toksisiteye bağlı erkek infertilitesinin patogeneğinde oksidatif stresin önemi kanıtlandıktan sonra, antioksidanların bu alanda koruyucu amaçlı kullanımını ile çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların çoğunda, seminal plazmanın serbest radikal süpürücü kapasitesini arttırmaya yönelik antioksidan desteği yapılmış ve üreme sistemi üzerine faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir (198). Buna paralel olarak bizde çalışmamızda cisplatinin zararlı etkilerine karşı, glutatyon peroksidazın (GSH-Px) etkin merkezini oluşturan Se'nin koruyucu etkilerini araştırdık ve testis üzerinde yararlı etkilerini gözlemledik.

Serbest oksijen radikallerinin hasar yapıcı özelliklerine karşı hücreler doğal olarak oksidatif hasarı azaltmaya veya sınırlamaya yeteneklidirler. Bu hücre koruyucu mekanizmalar, oksijen radikallerini gidermek ve detoksifiye etmek üzere düzenlenmiş birkaç enzim sistemini içerir. Ancak bu savunma sistemleri yetersiz kalınca, serbest oksijen radikalleri zararlı etkiler yapabilirler. Serbest oksijen radikali temizleyicilerinin deneysel ve klinik kullanımının etkinliğini gösteren çalışmalardan özellikle önemi anlaşılan antioksidanlar son zamanlarda en yaygın yapılan çalışmalar arasına girmiştir (52, 120, 125).

Ateşşahin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, cisplatin indüksiyonu ile oluşturulan toksisiteye karşı melatoninin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Cisplatin uygulanan gruplarda sperm konsantrasyonunda ve sperm motilitesinde azalma, abnormal sperm oranında artış bulunmuştur. Cisplatin uygulanan sıçanların seminifer tübül epitelinde incelme, seminifer tübül çapında azalma, epitelde desquamasyon sonucu lümende germinal hücre döküntüleri görülmüş ve interstisyel alanda ödem gözlenmiştir (16). Bu sonuca paralel olarak bizim çalışmamızda da, seminifer tübül epitelinde incelme, seminifer tübül çapında azalma, lümende germinal hücre döküntüleri ve interstisyel alanda ödem gözlenmiştir. Bunlara ek olarak spermatogenik hücrelerde

dejenerasyon, tübül duvarında vakuolizasyon ve tübüler atrofi gözlenmiştir.

Yine aynı çalışmada, cisplatin gruplarında lipid peroksidasyonunda artış olduğu ve GSH-Px aktivitesinde azalma olduğu gözlenmiştir. Cisplatin verilmiş sıçanlara uygulanan melatonin sonrasında ise GSH-Px antioksidan savunma sisteminde artış olduğu, melatoninin oluşan reaktif oksijen radikallerine karşı koruyucu rol oynadığı, abnormal sperm oranında azalma olduğu, sperm motilitesinde, epididimal sperm konsantrasyonunda cisplatin grubuna göre artış olduğu, interstisyel ödemin ise azalmış olduğu bulunmuştur (16).

Apoptozis vücudumuzda birçok dokuda düzenleyici rolü olan fizyolojik bir olaydır. Normal spermatogenezin gerçekleşebilmesi için de belli bir oranda gereklidir. Spermatogenez insanda 8 aşamada, sıçanlarda ise 14 basamakta gerçekleşmektedir (4). Bu basamakların bazılarında apoptozis çeşitli oranlarda gerçekleşmekte ve germ hücrelerinin sayısı ve kalitesi kontrol altında tutulmaktadır (221). TUNEL yöntemi ise apoptozis tayininde kullanılan bir yöntemdir. Apoptozisin karakteristiği olan DNA fragmatasyonunun, TUNEL yöntemi ile gösterilmeye başlanması, toksisite çalışmalarında bu tekniğin kullanılmasını sağlamıştır. TUNEL apoptozisin erken aşamasındaki apoptotik hücrelerin tanımlanmasını sağlayan özel bir yöntemdir (46).

İlk olarak 1993 yılında Gorczyca ve arkadaşları, anormal sperm hücrelerinde somatik hücrelerin apoptozu için karakteristik olan DNA zincir kırıklıklarını ve DNA in-situ denatürasyonunda sensitivite artışını göstermişlerdir. Somatik hücrelerde DNA hasarına yol açan endojen endonükleaz aktivitesinin, reproduktif havuzdan hasarlı germ hücrelerinin elenmesinden sorumlu olabileceğini düşünmüşlerdir (166).

Sinha ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, apoptozun normal spermatogenezis sırasında germ hücre ölümünün mekanizmasının altında yatan nedenlerden biri olup insanları da kapsayan pek çok memeli türünde spermatogenezisi düzenleyen önemli mekanizmalardan biri olduğunu göstermektedir (184).

Koçyiğit ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, testiste devamlı olarak kendiliğinden apoptoz gerçekleştiği ve defektif germinal hücrelerin yok edilmesine yönelik bu işlemde erkek germinal hücrelerinin % 75'inin apoptoza maruz kaldığı bildirilmiştir. Spermatogonyumların erken gelişim evresinde başlayan apoptotik eliminasyon, olgunlaşmakta olan germinal hücreleri ile Sertoli hücreleri arasında uygun sayısal oranı sağlamaya yönelik fizyolojik bir yanıt olarak tanımlanmıştır (121).

Ok ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada apoptoz yoğun olarak testiste spermatogonyumlarda, spermatositlerde ve spermatidlerde incelenmiş ve pek çok apoptotik faktör tanımlanmıştır (152). Bizim çalışmamızda da Ok ve arkadaşlarının yaptıkları TUNEL çalışmasına paralel olarak, cisplatin grubunda spermatogonyumlarda, spermatositlerde ve spermatidlerde apoptozis görülmüştür.

Favareto ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, cisplatin uygulanan sıçanlarda sperm üretiminin, seminifer tübül çapının ve intratestiküler testosteronun azaldığı ve seminifer tübülde TUNEL pozitif hücrelerde artış olduğu belirtilmiştir (63).

Lin ve arkadaşları infertil hastalarda yaptıkları TUNEL çalışmaları sonucunda, seminifer tübülde apoptozisin arttığını göstermişlerdir. Bizim yaptığımız çalışmada da, cisplatinin üreme hücrelerinin her evresinde apoptozisi uyardığı ve buradan yola çıkarak cisplatin uygulamalarının infertilite nedeni olabileceği düşünülmektedir (137).

Seaman ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 5 mg/kg cisplatin verilen grupta apoptozis hedefinin spermatositler olduğu gösterilmiştir (179). Bizim yaptığımız çalışmada ise, 7 mg/kg verilen cisplatin grubunda apoptozisin seminifer tübülde spermatogonyumlar, spermatositler ve spermatidlerde yaygın olduğu gözlemlenmiştir.

Lirdi ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise, cisplatin uygulanan sıçanlarda amifostinin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Cisplatin uygulanan gruplarda tübül çapının azaldığı, interstisyel ödemin arttığı, lenfatik alan hacminin arttığı, abnormal morfolojiye sahip spermiumların olduğu gözlemlenmiştir (133). Abnormal nükleer morfolojiye

sahip hücrelerin TUNEL yöntemi uygulanarak TUNEL pozitif hücrelerin artmış olduğunu gözlemlenmiştir. Seminifer tübül epitelinin dejenere olduğu, lümende hücresel debrislerin olduğu, germinal hücrelerin periferinde fragmente ve kondanse kromatinlerin olduğu, germinal hücre katmanında azalma olduğu, tübül duvarının incelendiği, spermatogonyumların ve primer spermatositlerin TUNEL pozitif olduğu, tübül duvarında kalan spermatogonyumların, dev (giant) spermatogonyum formunda olduğu belirtilmiştir (133).

Yine aynı çalışmada cisplatin sonrası uygulanan amifostin sonrası, lenfatik doku hacminin azaldığı, seminifer tübül epitelinin kalınlığının artmış olduğu, seminifer tübül çapında artma olduğu, abnormal nükleer morfolojideki hücrelerde, TUNEL pozitif hücrelerin oranında ve interstisyel ödemde azalma olduğu, bu sebeple cisplatin sonrası tedavi edici olduğu belirtilmiştir (133).

Lirdi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya paralel olarak bizim çalışmamızda da cisplatin uygulanan sıçanlarda tübül çapında azalma, spermatogenik hücre serisinde kayıplar ve dejenerasyon, interstisyel ödemde artma ve spermatogonyum, primer spermatosit ve spermatidlerde TUNEL pozitif hücreler gözlenmiştir. Cisplatin'in ardından verilen Se uygulamasından sonra ise, seminifer epitel kalınlığında artma, spermatogenik hücre serisindeki kayıpların önlendiği, interstisyel ödemde ve TUNEL pozitif hücrelerde azalma olduğu gözlemlenmiştir.

Cisplatin içeren kemoterapi alan hastaların kanındaki Se seviyesi düşmektedir ve Se'nin, cisplatin ve nitrite karşı koruma sağladığı gösterilmiştir (10, 93).

Se, periyodik cetvelin 6A alt grubunda yer alan bir elementtir. Havada, toprakta, kayalarda ve suda erimiş olarak bulunur (181).

Memelilerde, Se'ye bağlı glutatyon peroksidaz yoluyla fonksiyon gören, karsinogen maddeleri detoksifiye eden bazı enzimlerin sentezinde rol oynayan hayati bir elementtir (156).

Wu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, Se'den fakir diyetle beslenen sıçanlarda testis ağırlığında önemli derecede azalma olduğu gösterilmiştir. Ancak bu çalışmada testis ağırlığındaki azalma 4 aylık beslenme süresinden sonra ölçülmüştür (213). Oysa bizim çalışmamızda deney süremiz 7 gün olarak belirlenmiştir.

Swathy ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada ise, etanol verilen sıçanlarda testis ağırlığının kontrole göre azaldığı, etanol ile birlikte Se verilmesi durumunda ise testis ağırlığındaki azalmanın yavaşladığı gösterilmiştir (193). Her ne kadar Se testis ağırlığını kontrol grubu düzeyine yükseltmemiş ise de bunda araştırmacıların Se dozunu bizim kullandığımızdan daha düşük bir dozda kullanmalarının etkisinin olabileceği düşünülebilir.

Alhazza ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, kadmiyum'un (Cd) testis ağırlığında yol açtığı azalmanın, Cd ile birlikte Se verilmesi durumunda kısmen engellenebildiği gösterilmiştir (10).

Sánchez-Gutiérrez ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, relatif testis ağırlığının, Se'den fakir ve yeterli yemlerle beslenen hayvanlarda önemli bir değişiklik göstermediği bildirilmiştir (176).

Behne ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, Se'den fakir ve yeterince Se içeren diyet uygulanan sıçanlar karşılaştırıldığında testis ağırlıkları arasında önemli bir fark saptanmamıştır (26).

Bütün bu verilere göre Se çeşitli zararlı maddelerin kullanıldığı durumlarda bu zararlı maddelerin testis ağırlığını azaltıcı etkilerini kısmen veya tamamen önleyebilmektedir. Aynı şekilde, eksik Se içeren diyet ile beslenen hayvanlarda testis ağırlığının azaldığı dikkati çekmektedir. Bu da bize Se'nin testis ağırlığının korunmasındaki önemini açıkça göstermektedir.

Wu ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, Se yetersizliği oluşturulan ana hayvanlardan doğan, Se bakımından yetersiz olan yavruların vücut ağırlığında %33, testis ağırlığında % 41 oranında azalma olduğu gözlemlenmiştir (213).

Sánchez-Gutiérrez ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, yeterli Se içeren ve içermeyen yemlerle beslenen farelerde vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında, yeterli Se içermeyen yemle beslenen farelerin vücut ağırlığında önemli derecede azalma olduğu belirlenmiştir (176).

Matsumoto ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, Se'den eksik diyet ile beslenen sıçanlarda vücut ağırlığının kontrole göre düşük olduğu gösterilmiştir (139).

Swathy ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, etanol etkisi ile vücut ağırlığının azaldığı, etanol ile birlikte Se verilen grupta ise vücut ağırlığı azalmasının önlenildiği gösterilmiştir (193). Se'nin vücut ağırlığını kontrol grubu düzeyine yükseltmemiş olması, bu çalışmada araştırmacıların Se dozunu bizim kullandığımızdan daha düşük bir dozda kullanmalarının etkisinin olabileceği düşünülebilir.

Ayaz ve arkadaşlarının streptozotosin ile oluşturulmuş Tip 1 diyabetli sıçanlara ve normal sıçanlara 4 hafta boyunca 5 µmol/kg/gün Se uygulanarak yaptıkları çalışmalarında, Tip 1 diyabetli hayvanların vücut ağırlığında kontrol grubundaki sıçanlara göre bir azalma olduğu gözlemlenmiştir. Buna karşın Tip 1 diyabetli hayvanlara Se uygulandıktan sonra vücut ağırlığındaki azalmanın önlenildiği gösterilmiştir. Sadece Se uygulanan deney grubunda ise vücut ağırlığında kontrol grubundakine benzer bir yönde artış saptanmıştır (19).

Bütün bu verilerden açıkça görüldüğü üzere, Se eksikliği vücut ağırlığının azalmasına yol açmakta, eksiklik tamamlandığında ise vücut ağırlığı farklı deney koşullarında bile normale dönmektedir. Bu bilgilere paralel olarak bizim yaptığımız çalışmada da, cisplatin verilen hayvanların vücut ağırlığının düştüğü, ancak cisplatin ile birlikte Se verilen hayvanların vücut ağırlığındaki düşüşün ise engellendiği

gözlenmiştir.

Ranawat ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, fare testislerinden elde edilen testis hücrelerinin in vitro kültüründe glutatyon düzeyleri ölçülerek Se'nin glutatyon düzeyinin azalması durumunda apoptozu uyardığı gösterilmiştir (164). Ancak bu çalışmada testisteki hücreler kültür ortamında çalışılmamıştır.

Yiin ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sıçanlara Cd verilerek testislerde oluşturulan lipid peroksidasyonu biyokimyasal yöntemlerle çalışılmış ve Se eklenmesinin Cd'nin oluşturduğu lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (222). Her ne kadar bu çalışmada testis histolojisi incelenmemiş olsa da biyokimyasal bozulmaların bir süre sonra testis histolojisinde de bozukluklara yol açacağı öngörülebilir.

Avlan ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, torsiyon ve detorsiyon işlemi uygulanarak Se verilen sıçanlarda, testis histolojisindeki hasarın önemli derecede düzeltilebildiği gösterilmiştir (17). Aynı çalışmada biyokimyasal olarak Se'nin lipid peroksidasyonu üzerindeki olumlu etkisi de gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda Se'nin, cisplatin'in oluşturduğu testis histolojisindeki bozulmaları belirgin bir biçimde önlediği açıkça görülmüştür.

Bütün bu bilgiler ışığında, Se eksikliğinin testis histolojisi üzerinde apoptozu uyararak ve lipid peroksidasyonunu dengeleyememesi sonucunda testis histolojisinde bozulmalara yol açtığı anlaşılmaktadır (103).

Li ve arkadaşlarının Cd ile yaptıkları çalışmada, Cd nedenli apoptoziste Se uygulamasının Cd'nin neden olduğu testis hasarı ve apoptozisi giderdiği gösterilmiştir (131).

Zhou ve arkadaşlarının Cd ile yaptıkları apoptozis çalışmasında, Se'nin ROS üretimini bloklayarak, mitokondri membran bütünlüğünü devam ettirerek, sitokrom

C'nin salınımını engelleyerek ve kaspaz aktivasyonunu inhibe ederek apoptozisi engellediği gösterilmiştir (228). Bizim çalışmamızda da Zhou ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya paralel olarak, cisplatin nedenli apoptozisin Se ile engellenebildiği gösterilmiştir.

Sánchez-Gutiérrez ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptıkları çalışmada, yeterli Se içeren yemle beslenen hayvanlarda Se'den fakir yemle beslenen hayvanlara göre fertilizasyon oranının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (176). Bu çalışmanın bulguları Se'nin üreme işlevi üzerindeki olumlu etkisini ortaya koymaktadır.

Koyutürk ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, kadmiyum klorür'ün ($CdCl_2$) oluşturduğu testis hasarına karşı, $CdCl_2$ ile birlikte verilen Se, C ve E vitaminlerinin koruyucu etki gösterdiği histolojik düzeyde gösterilmiştir. Bu çalışmada C ve E vitaminlerinin Se ile sinerjik davrandığı sonucuna varılmıştır (124).

Alhazza ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, sıçanlara Cd verilerek oluşturulan testis hasarı sonucunda ölçülen serum testosteron düzeylerinin önemli derecede azaldığı, Cd ile birlikte Se verilmesi durumunda ise testosteron düzeyindeki azalmanın yavaşladığı gösterilmiştir (10).

Çalışmamızın bir başka sonucu da her ne kadar literatürde Se'nin seminifer tübüller üzerindeki doğrudan etkisine dair bir veri olmasa da, seminifer tübüllerin korunmasının nedeninin kan testis bariyeri ile ilişkili olabileceğini düşünüyoruz. Se, cisplatinin kan testis bariyerini bozucu etkisini engellemiş olabilir.

Bütün bu bilgiler ışığında, cisplatinin testislerde yaptığı hasar spermatogenik hücreler ve Sertoli hücreleri üzerinde olmaktadır aynı zamanda cisplatin Leydig hücrelerinde de fonksiyon bozukluğuna sebep olmaktadır, Se'nin ise cisplatin gibi çeşitli toksik maddelerin testiste oluşturduğu hücrel bozulmaları önleyebildiği veya iyileştirdiği görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, cisplatinin sıçan testisi üzerinde nasıl bir toksik etki oluşturduğu ve selenyumun ise bu toksik etkide nasıl bir görev üstlendiği ışık mikroskopik düzeyde araştırılmıştır.

Deney süreci sonunda yapılan istatistiksel analizlere göre;

Deney hayvanlarının deney başlangıcında ve deney sonunda ölçülen vücut ağırlıklarıyla ilgili olarak, cisplatin ve cisplatin+Se verilen deney grubuna ait sıçanların deney sonrası vücut ağırlıklarında deney öncesine göre azalma görüldü. Dolayısıyla cisplatinin vücut ağırlığında önemli bir azalmaya sebep olduğu tespit edildi.

Deney sonrası vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, Se ile cisplatin ve kontrol ile cisplatin grupları arasında önemli derecede fark saptanmıştır. Cisplatin+Se ile cisplatin grupları arasında da fark yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlam gözlenmemiştir. Cisplatin+Se ile Se, cisplatin+Se ile kontrol, Se ile kontrol grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Gruplar arasında toplam testis ağırlıkları değerlendirildiğinde anlamlı bir fark olmadığı gözlenmiştir. Buna karşın cisplatin grubunun kontrol, cisplatin+Se ve Se gruplarına göre daha düşük bir toplam testis ağırlığına sahip olduğu ancak bunun istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görülmüştür.

Grupların birbirleri arasında yapılan karşılaştırmalarında, testiste gözlenen, bazal membran kalınlaşması, bazal membran ayrılması, hücre nekrozu, hücresel dejenerasyon, tübül duvarı incelmeleri, epitelyal hücre dökülmesi, tübüler atrofi, vakuolizasyon, kongesyon, interstisyel alanda ödem ile ilgili olarak yapılan değerlendirmelerde, cisplatin ile kontrol, cisplatin ile Se, cisplatin ile cisplatin+ Se karşılaştırmalarında anlamlı fark gözlenmiştir. Buna karşın cisplatin+Se ile kontrol,

cisplatin+Se ile Se ve Se ile kontrol grubu karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir. Multinükleer hücre yapısı ile ilgili yapılan değerlendirmede ise, cisplatin ile Se, cisplatin ile kontrol grubu karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmiştir. Buna karşın cisplatin+Se ile cisplatin, cisplatin+Se ile Se, cisplatin+Se ile kontrol, Se ile kontrol grubu karşılaştırılmalarında anlamlı fark gözlenmemiştir.

Sonuç olarak, bu çalışmada cisplatinin, uygulanan süre ve doz göz önüne alındığında testis dokusu için oldukça toksik olduğu ve histolojik yapıyı bozduğu saptandı. Esansiyel bir mineral olan ve antioksidan etkiye sahip selenyumun ise cisplatinin testiste oluşturduğu bu hasarı önemli ölçüde önlediği görüldü.

Selenyum ve cisplatin arasındaki bu ilişkinin daha ayrıntılı olarak incelenmesi ve mekanizmalarının daha net bir şekilde açığa çıkarılmasının, biyokimyasal analizler, ileri enzimatik ve immunohistokimyasal düzeyde yapılacak olan çalışmalar ile mümkün olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Abdelmassih, V., Balmececa, J. P., Tesarik, J. at Nagy, P., 2002, Relationship between time period after vasectomy and the reproductive capacity of sperm obtained by epididymal aspiration, *Human Reproduction*, 17, 3, 736-740 p.
2. Abney, T.O., 1999, The potential roles of estrogens in regulating Leydig cell development and function, A review, *Steroids*, Vol. 64, 9, 610-617 p.
3. Agarwal, A., Said, T.M., Oxidative stress, DNA damage and apoptosis in male infertility, A Clinical Approach, *BJU Int.*, 95: 503-507 p.
4. Aitken, R.J., and Krausz, C., 2001, Oxidative stress, DNA damage and the Y chromosome. *Reproduction*, 122: 497.
5. Aitken, R.J., Baker, M.A., 2006, Oxidative stress, sperm survival and fertility control, *Mol. Cell Endocrinol*, 250: 66- 69 p.
6. Akşit, H., Bildik, A., 2008, Apoptozis, *YYÜ Vet. Fak. Dergisi*, 19, 1: 55-63 s.
7. Aktümsek , A., 2006, *Anatomi ve fizyoloji insan biyolojisi*, 3. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
8. Akyol, H., 2004, Kemoterapinin temel ilkeleri, *Dokuz Eylül Üniv. Onk. Ens.*, 18-22 Mayıs XIII, TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Hemşire Programı.
9. Alberts, B., Jonhson Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., Walter, P., 2002, *Hücrenin moleküler biyolojisi*, (Çev.: Buyru, N., Dalay, N., Özgüç, M.) 4. Baskı, Garland Science Taylor and Francis Group ,USA.
10. Alhazza, I.M., 2005, Effect of selenium on cadmium induced gonadotokxicity in male rats, *Journal of Biological Sciences*, Saudi Arabia, 243-249 p.
11. Allamaneni, S.S., Agarwal, A., Nallella, K.P., Sharma, R.K., Thomas, A.J., Sikka, S.C., 2005, Characterization of oxidative stress status by evaluation of reactive oxygen species levels in whole semen and isolated spermatozoa, *Fertil Steril*, 83: 800- 803 p.
12. Ameisen, J.S., 1996, The origin of programmed cell death, *Science* 272: 1278-1282 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

13. Antunes, L.M., Darin, J.D., Bianchi, N.D., 2001, Effects of the antioxidants curcumin or selenium on cisplatin-induced nephrotoxicity and lipid peroxidation in rats, *Pharmacol Res*, 43, 2: 145-150 p.
14. Arıncı, K. ve Elhan, A., 2006, *Anatomi*, 1. Cilt, Güneş Kitabevi, ISBN, 975-7467-29-4, Ankara.
15. Atabenli, E., 2002, *Özel histoloji ince yapı ve gelişme*, (Çev.: Tekelioğlu, E.) Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.
16. Ateşşahin, A., Şahna, E., Türk, G., Çeribaşı, A., Yılmaz, S., Yücei A., Bulmuş, Ö., 2006, Chemoprotective effect of melatonin against cisplatin-induced testicular toxicity in rats, *Journal Of Pineal Research*, 41: 21-27 p.
17. Avlan, D., Erdoğan, K., Çimen, B., Düsmez Apa, D., Cinel, I. at Aksöyek, S., 2005, The protective effect of selenium on ipsilateral and contralateral testes in testicular reperfusion injury, *Pediatr Surg. Int.*, 21, 274–278 p.
18. Ayaşhoğlu, E., 2001, Apoptoz, *T Klin Tıp Bilimleri Dergisi*, 21: 57-62 p.
19. Ayaz, M., Çelik, H., Aydın, H.H. at Turan, B., 2006, Sodium selenite protects against diabetes-induced alterations in the antioxidant defense system of the liver, *Diabetes/Metabolism Research And Reviews*, 22, 295–299 p.
20. Aydın, A., Aytekin, Y., Sayın, Ü., Kuntal, L., Topuz, E., 1995, Cisplatin'in testis dokusuna etkisi ultrastrüktürel ve biyokimyasal bir çalışma, *Türk Patoloji Dergisi*, 11-1: 5-9 s.
21. Azouri, H., Bidart, J.M., Bohuon, C., 1989, *İnvivo* toxicity of cisplatin and carboplatin on the Leydig cell function and effect of the human choriogonadotropin, *Biochem Pharmacol*, 38: 567-571 p.
22. Azu, O.O., Duru, F.I.O., Osinubi, A.A., Oremosu, A.A., Noronha, C.C., Elesha, S.O. at Okanlawon, A.O., 2010, Histomorphometric effects of *Kigelia africana* (Bignoniaceae) fruit extract on the testis following short-term treatment with cisplatin in male Sprague-Dawley rats, *Middle East Fertility Society Journal*, Department of Anatomy, Nigeria, 200-208 p.
23. Bancroft, J.D. at Stevens, A., 1977, *Theory and practice of histological techniques*, Churchill, Livingstone, Edinburgh, London and New York.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

24. Barry, B., Lowitz and Denniz, A., Casciato, medical oncology & principles of cancer biology.
25. Behne, D., Duk, M., at Elger, W., 1986, Selenium content and glutathione peroxidase activity in the testis of the maturing rat, Germany, 1442-1447 p.
26. Behne, D., Hafer, T., Vonberswordt-Wallrabe, R. at Elger, W., 1982, Selenium in the testis of the rat: studies on its regulation and its importance for the organism, J. Nutr., 112, 1682-1687 p.
27. Bellamy, C.O., Malcomson, R.D., Harrison, D.J., Wyllie, A.H., 1995, Cell death in health and disease: the biology and regulation of apoptosis, Cancer Biology, 6: 3-16 p.
28. Beumer, T.L., Roepers, L.H., Gademan, S.U., Lock, M.T.W., Tycho, K.B., Kal, H.B., Rooij, D.G., 2000, Apoptosis regulation in the testis: Involvement of Bcl-2 family members, Mol Repr Development, 56: 353-359 p.
29. Blanco-Rodriguez, J., Garcia Martinez, C., 1998, Apoptosis pattern elicited by several apoptogenic agents on the seminiferous epithelium of the adult rat testis, J Androl, 19:487-497 p.
30. Boekelheide, K., 2005, Mechanisms of toxic damage to spermatogenesis, Journal of the National Cancer Institute Monographs, No: 34.
31. Bohlen, D., Burkhard, F., Mills, R., Sonntag, R., et al., 2001, Fertility and sexual function following orchiectomy and 2 cycles of chemotherapy for stage I high-risk nonseminomatous germ cell cancer, J Urol., 165: 441-444 p.
32. Brooks, S.A., Hannah, L.B., Kinch, C., Nash, G., Kieda, C., 2009, Altered cell surface glycosylation function in mechanisms of cancer cell metastasis, Anadolu University Journal of Science and Technology, 10 , 1: 91-101 p.
33. Bullock, J., Boyle, J., Wang, M.B., 1994, Fizyoloji, (Çev.: Hariri, N.), 2.Baskı, Saray Tıp Kitabevleri, İzmir.
34. Burukoğlu, D., 2007, Kadmiyumun sıçan testisinde oluşturduğu toksisitede çinkonun koruyucu etkilerinin ışık ve elektron mikroskop ile incelenmesi, Doktora Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
35. Bysal, A., Criss, W., 2004, Kanseri tanıyalım, Hatiboğlu yayınları, Ankara, 9-13 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

36. Cabadak, H., 2008, Hücre siklusu ve kanser, ADÜ Tıp Fak Der, 9, 3: 51-61 s.
37. Carlson, B.M., 1996, Pattern's Foundations of Embriyology, sixth edition, McGraw Hill, Inc., New York, 752 p.
38. Cheng, C.Y. at Dolores, D. M., 1997, Quantitative (stereological) study of normal spermatogenesis in the adult monkeys (*Macaca fascicularis*), *Journal of Andrology*, 18, 681-687 p.
39. Cheng, C.Y. at Dolores, D. M., 2002, Cell Junction Dynamics in the Testis: Sertoli-Germ Cell Interactions and Male Contraceptive Development, *Physiol Rev*, 82: 825-874 p.
40. Choei, D.D., Longnecker, D.S., del Campo, A.A., 1981, Acute and chronic cisplatin nephropathy in rats, *Lab Invest* 44: 397-402 p.
41. Chung, A.S., Maines, M.D., 1987, Differential effect of cadmium on GSH peroxidase activity in the Leydig and the Sertoli cells of rat testis suppression by selenium and the possible relationship to heme concentration, *Biochem Pharmacol.*, 36, 8:1367-1372 p.
42. Cohen, J.J., 1993, Apoptosis, *Immunol Today*, 14: 126-130 p.
43. Cohen, J.J., 1993, Apoptosis: The physiological pathway of cell death, *Hosp Pract*, 15: 35-43 p.
44. Cohen, J.J., 1993, Overview: Mechanisms of apoptosis, *Immunol Today*, 14:126-130 p.
45. Cooper, G.M. at Hausman, E., 2007, *The Cell A Molecular Approach*, ASM Press, 4th Edition, USA.
46. Coşkun, N., 2011, Gonadotoksisite de Asetil L- Carnitin'in testisteki koruyucu etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Histoloji Embriyoloji A.B.D., Gazi Üniversitesi, Ankara.
47. Cross, C.E., Halliwell, B., Borish, E.T., 1987, Oxygen radicals and human disease, *Ann Intern Med*, Oct; 107, 4: 526-545 p.
48. Cumbul, A., 2008, Deneysel vazokteminin farklı süreler sonrasında erişkin sıçan testisinde oluşturduğu morfolojik değişikliklerin stereolojik yöntemlerle incelenmesi, Doktora Tezi, ESOĞÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

49. Cumhur, M., 2001, Temel anatomi, 1. Baskı, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.-METU Press, Ankara.
50. Cummings, M.C., Winterford, C.M., Walker, N.I., 1997, Apoptosis, Am J Surg Pathol, 21: 88-101 p.
51. Davis, J.R., Firlit, C.F., 1986, The germinal epithelium of cryptorchid testes, experimentally induced in prepubertal and adult rats, Fertil Steril, 17: 187-200 p.
52. Delibaş, N., Özçankaya, R., 1995, Serbest radikaller, SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi, 2, 3: 11-17 s.
53. Demiralp, A.S., 2001, Deneysel diyabetiklerde selenyumun dış çekim yarasının iyileşmesi üzerine etkisinin incelenmesi.
54. Dere, F., 1988, Anatomi ders kitabı, cilt 1-2, Adana.
55. Dilek, İ., 2010, Kemoterapide toksisite değerlendirilmesi, TCSB Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, XXXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi, Ankara.
56. Dohle, G., 2010, Male infertility in cancer patients, Review Of The Literature, International Journal Of Urology, 10:11-11 p.
57. Drake, R.L., Vogl, W. at Mitchell, A.W.M., Gray's Anatomy, 38th Edition, Churchill Livingstone.
58. Drasga, R.E., Einhorn, L.H., Williams, S.D., et al., 1983, Fertility after chemotherapy for testicular cancer, J Clin. Oncol., 1: 179-183 p.
59. Elvan, O., Öz, Z., Sperm hücrelerinde apoptoz, Zonguldak Karaelmas Üniv., Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji ADB Tıbbi Biyoloji, İnfertilite Dergisi.
60. Enders, G.C., Henson, J.H. at Millette, C.F., 1986, Sertoli Cell Binding to Isolated Testicular Basement Membrane, The Journal of Cell Biology.
61. Erkoçak, A., 1975, Genel Histoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 4.Baskı.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

62. Familiari, G., Caggiati, A., Nottola, S.A., Ermini, M.D., Benedetto, M.R., Motta, P.M., 1993, Ultrastructure of human ovarian primordial follicles after combination chemotherapy for Hodgki's disease, Hum Reprod 8; 2080 p.
63. Favareto, A.P.A., Fernandez, C.D.B., Silva, D.A.F., Anselmo-Franci, J.A., Kempinas, W.G., 2011, Persistent impairment of testicular histology and sperm motility in adult rats treated with cisplatin at peri-puberty, Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology, 109, 85–96 p.
64. Fawcett, D.W. at Jensh, R.P., 2002, Concise histology, arnold publisher, 2nd Edition, New York.
65. Fırat, S., 1997, Kobaylarda radyasyonla oluşan akciğer hasarında doku glutatyon, glutatyon peroksidaz, glutatyon- S-transferaz düzeyleri ve N-asetil sistein'in bu sistem üzerindeki etkisi, Uzm.Tezi, Gazi Üni. Tıp Fak., Biyokimya A.B.Dalı, Ankara, 95 s.
66. Flohé, L., 2005, Selenium in mammalian spermiogenesis, Annual Review of Nutrition, Vol. 25, 215-235 p.
67. Friberg, L., 1984, Cadmium and the kidney, Environ Health Perspect, 54, 1–11p.
68. Ganong, W.F., 1995, Ganong Tıbbi Fizyoloji, (Çev.: Doğan, A.), Barış Kitapevi, İstanbul.
69. Gartner, L.P. at Hiatt, J.L., 2003, Color Textbook of Histology, 2nd Edition.
70. Gartner, L.P., Hiatt, J.L., 2007, Color textbook of histology, 3. Baskı, W.B., Saunders Company, Philadelphia.
71. Gavrieli, Y., Sherman, Y., Ben-Sasson, S.A., 1992, Identification of programmed cell death in situ via specific labeling of nuclear DNA fragmentation, J Cell Biol, 119: 493-501 p.
72. Gnessi, L., Fabbri, A. at Spera, G., 1997, gonadal peptides as mediators of development and functional control of the testis: an integrated system with hormones and local environment, Endocrin Review.
73. Gökmen, G., 2003, Sistemik Anatomi, İzmir Güven Yayınevi, İzmir.
74. Guyton, A.C. at Hall, J.E., 1996, Textbook of medical physiology, Harcourt Brace, 9th Edition.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

75. Gürsoy, E. ve Koptagel, E., 1997, Embriyoloji atlası, Esnaf Ofset Matbaacılık, Sivas, 222.
76. Güven, C. ve Tekelioğlu, M., 2004, Histoloji - Embriyoloji Terimleri Sözlüğü, Sendrom III, Logos tıp yayıncılığı, cilt 2-5.
77. Halliwell, B., 1987, Free radicals and metal ions in health and disease, Proc Nutr Soc., Feb; 46, 1: 13-26 p.
78. Hassa, H., 2003, İnfertil olgulara klinik yaklaşım ve IVF laboratuvar uygulamaları, ESOGÜ Basımevi, Eskişehir.
79. Hatiboğlu, M.T., 2005, Anatomi sözlüğü, 6. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara.
80. Hatiboğlu, M.T., Turgut, H.B., 1996, Anatomi ve histoloji terimleri söyleyiş ve yazım kılavuzu, 1. Baskı, SBAD Yayınları, Ankara.
81. Hatipoğlu, M.T., 2006, Hatipoğlu HG. Yüksekokullar anatomi ders kitabı, 1. Baskı, Selvi Yayınevi, Ankara.
82. Hawkes, W.C. and Turek, P.J., 2001, Effects of dietary selenium on sperm motility in healthy men Journal of Andrology, Vol. 22, No. 5, 764-772 p.
83. Heiskanen, P., Billig, H., Toppari, J., Kaleva, M., Arsalo, A., Rapola, J., Dunkel, L., 1996, Apoptotic cell death in the normal and cryptorchid human testis: the effect of human chorionic gonadotropin on testicular cell survival, pediatric research, 40: 351-356 p.
84. Henrikson, R.C., Kaye, G.I., Mazurkiewicz, J.E., 1997, NMS histology, 1. Baskı, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
85. Hikim, S., Amiya, P., Wang, C., Leung, A., Swerdloff, R.S., 2000, Involvement of apoptosis in the induction of germ cell degeneration in adult rats after gonadotropin releasing hormone antagonist treatment, 57: 136-141 p.
86. Hirsch, I., Huang, B. at Chancellor, M.B., 1999, Spermatogenesis in early and chronic phases of experimental spinal cord injury in the rodent model, Journal of Andrology, 20, 1: 63-71 p.
87. Holzer, A.K., Samimi, G., Katano, K., et al., 2004, The copper influx transporter human copper transport protein 1 regulates the uptake of cisplatin in human ovarian carcinoma cells, Mol Pharmacol, 66: 817-823 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

88. Hsueh, A.J.W., Eisenhauer, K., Chun, S., Hsu, S., Billig, H., 1996, Gonadal cell apoptosis, Recent Progress in Hormone Research, 51: 432-457 p.
89. http://dietarysupplements.info.nih.gov/Health_Information/Vitamin_and_Mineral_Supplement_Fact_Sheets.aspx
90. <http://www.cancercare.on.ca/pdfdrugs/CISPLATI.pdf>
91. <http://www.nutrifarma.com.tr/index.asp?s=vitamin&id=selenyum>
92. <http://www.turkkanser.org.tr>
93. Hu, Y., Chan, Y., Zhang, Y., Zhou, M., Song, X., Zhang, B., Luo, L., Xu, P., Zhao, Y., Zhao, Y. at Cheng, G., 1995, The protective role of selenium on the toxicity of cisplatin contained chemotherapy regimen in cancer patients, China.
94. Huang, H.F., Pogach, L.M., Nathan, E., Giglio, W., 1990, Acute and chronic effects of cisplatin upon testicular function in the rat, J Androl, 11 : 436 –445 p.
95. Ikeda, M., Kodama, H., Fukuda, J., Shimizu, Y., Murata, M., Kumagai, J., Tanaka, T., 1992, Role of radical oxygen species in rat testicular germ cell apoptosis induced by heat stress, Biol Repr, 61: 393-399 p.
96. Ito, N., Hirose, M., 1989, Antioxidants--carcinogenic and chemopreventive properties, Adv Cancer Res, 53: 247-302 p.
97. Jefferson, K.P., Persad, R.A., Holly, M.P., 2000, apoptosis and relevance to urologists, Br J Urol., 86: 598-606 p.
98. Junqueira, L.C. at Carneiro, J., 2003, Basic histology text&atlas, 10th Edition, Mc Graw Hill Company.
99. Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2009, Temel Histoloji, (Çeviri: Aytekin ,Y., Solakoğlu, S.,) 10. Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
100. Kalaycı, S.,1986, Histoloji, Uludağ Üniversitesi Basımevi.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

101. Kantar, M., Tarladaçalışır, Y. ve Uygun, M., 2007, Cisplatin nefrotoksisitesinde E vitaminin koruyucu etkileri; ışık ve elektron mikroskopik çalışma, Tıp Araştırma Dergisi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne, 83-90 s.
102. Kanter, M., Topçu, Y., Uygun, M., 2007, Cisplatin nefrotoksisitesinde E vitamininin koruyucu etkileri, ışık ve elektron mikroskopik çalışma, Tıp Araştırmaları Dergisi 5, 3: 83-90 s.
103. Karaaslan, F.J., 2009, Erişkin erkek sıçanlarda etan dimetan sülfonat ile oluşturulan testis hasarı üzerine sodyum selenitin etkisi, Yüksek Lisans Tezi, ESOGÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji- Embriyoloji A.B.D., Eskişehir.
104. Karahan, İ., Yılmaz, S., Ateşşahin, A., 2006, Ratlarda cisplatin ve gentamisin kan ile karaciğerde oluşturdukları oksidatif stres üzerine likopenin etkileri, Fırat Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Elazığ, F.Ü. Sağlık Bil. Dergisi 20, 1, 39-43 s.
105. Karakurt, Ö., Melli, M., 2005, Antineoplastik kemoterapinin bireyselleştirilmesi ve farmakogenetik, Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi; 15, 3:156-164 s.
106. Karataş, F., Aşkın, U., Halifeoğlu, İ. ve Dönder, E., 2006, Guatr'lı hastalarda antioksidan vitaminler (A, E ve C), selenyum ve glutatyon peroksidaz (GSHPX) düzeylerinin araştırılması, F.Ü. Sağlık Bil. Der., 20, 4, 277-280 s.
107. Karataş, S., 1998, Sıçanlarda Kadmiyum Klorür'ün (CdCl₂) testis dokusuna etkisi, Yüksek Lisans Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
108. Kaur, P at. Bansal, M.P., 2005, Effect of selenium-induced oxidative stress on the cell kinetics in testis and reproductive ability of male mice, Nutrition, 21, 351-357 p.
109. Kayaalp, O., 1994, Tıbbi Farmakoloji, 4. Cilt, Feryal Matbaası, Ankara 1047 s.
110. Kayaalp, O., 1998, Kanseri kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 8. Baskı, Ankara, 376-390 s.
111. Kayalı, H., Şatıroğlu G., Taşyürekli G., 1992, İnsan embriyolojisi, 7. Baskı, Alfa Basım Yayım Dağıtım, İstanbul.
112. Kelland, L., 2007, The resurgence of platinum based cancer chemotherapy, Nat Rev Cancer, 7: 573-584 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

113. Kerr, J.B., 1992, Spontaneous degeneration of germ cells in normal rat testis: assessment of cell types and frequency during the spermatogenetic cycle, *J Reprod Fertil*, 95: 825-830 p.
114. Kerr, J.F.R., Wyllie, A.H., Currie, A.R., 1972 Apoptosis, A basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics, *Br J Cancer*, 26: 239-245 p.
115. Khattab, F. K. I., 2007, Effects of sodium selenite on the ultrastructure of the kidney cortex in normal rats, *Journal of Applied Sciences Research*, 3, 9, 803- 810 p.
116. Kierszenbaum, A.L., 2002, *Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology*, Mosby.
117. Kierszenbaum, A.L., 2006, *Histoloji ve hücre biyolojisi*, (Çev.: Demir, R.), Palme Yayıncılık, Ankara, 618 s.
118. Kiess, W., Gallaher, B., 1998, Hormonal control of programmed cell death apoptosis, *Eur J Endocrin*, 18: 482-491 p.
119. Koca, N., Karadeniz, F., Serbest radikal oluşum mekanizmaları ve vücuttaki antioksidan savunma sistemleri, *Gıda Mühendisliği Dergisi*: 32-36 s.
120. Koç, A., 2008, Antioksidanların cep telefonu ile oluşturulmuş testiküler apoptozis ve oksidatif stres üzerine etkileri, *Uzmanlık Tezi*, Fatih Üniversitesi, Ankara.
121. Koçyiğit, A., Çevik, M., 2011, Memeli reproduktif dokuları, gamet hücreleri ve embriyolarında apoptozis, *Erciyes Üniv. Vet. Fak. Derg.*, 8,1, 33-41 s.
122. Kołodziejczyk, L., Put, A. at Gizela, P., 2000, Liver morphology and histochemistry in rats resulting from ingestion of sodium selenite and sodium fluoride, *Fluoride*, Vol.33, No.1, 6-16 p.
123. Korsmeyer, S.J., 1995, Regulators of cell death, *Reviews*, 11: 101-105 p.
124. Koyutürk, M., Yanardağ, R., Bolkent, S. at Tunali, S., 2006, Influence of combined antioxidants against cadmium induced testicular damage, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21, 235-240 p.
125. Kozluca, O., 1993, Serbest radikaller ve kanser, *Kartal Eğitim ve Araştırma Klinikleri*.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

126. Köhrle, J., Jakob, F., Contempre', B., at Dumont, J. E., 2005, Selenium, the thyroid, and the endocrine system, *Endocrine Reviews*, 26, 7: 944–984 p.
127. Kutluk, T., Kars, A., 1992, Kanser konusunda genel bilgiler, Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları, Ankara.
128. Lampe, H., Horwich, A., Norman, A., et al., 1997, Fertility after chemotherapy for testicular germ cell cancers, *J Clin. Oncol.*, 15: 239-245 p.
129. Larsen, W.J., 2003, *Human Embryology*, Churchill Livingstone, 3rd Edition.
130. Leesen, T.S., Leesen, C.R. at Paparo, A.A., 1988, *Text/Atlas of Histology*, W.B.Saunders Company.
131. Li, J., Gao, R., Li, S., Wang, J., Tang, Z., Xu., S., 2010, Testicular toxicity induced by dietary cadmium in cocks and ameliorative effect by selenium, *Biometals*, 23:695–705 p.
132. Lin, W.W., Lamb, D.J., Lipshultz, L.I., Kim, E.D., 1999, Demonstration of testicular apoptosis in human male infertility states using a DNA laddering technique, *Int UrolNephro*, 31,3: 361-370 p.
133. Lirdi, L., Stumpp, T., Cerri, E., Miraglia, S., 2008, Amifostin protective effect on cisplatin-treated rat testis, *The Anatomical Record* 291: 797-808 p.
134. Lu, J., Ashwell, K., Ken, W.S., Waite, P., 2000, Advances in spinal cord injury: Role of apoptosis, *spine*, 25: 1859-1866 p.
135. Maines, M.D., Sluss, P.M., Iscan, M., 1990, Cis-platinummediated decrease in serum testosterone is associated with depression of luteinizing hormone receptors and cytochrome P-450scc in rat testis, *Endocrinology*, 126, 5: 2398-2406 p.
136. Majno, G., Torisl, A., 1995, Apoptosis oncosis and necrosis, *Am J Pathol*, 146: 3-15 p.
137. Martincic, D.S., Klun, I.V., Zorn, B., Vrtovec, H.M., 2001, Germ cell apoptosis in the human testis, *Pfliigers Arch - Eur J Physiol*, 442, 159-160 p.
138. Masuzawa, M., Nakao, S., Miyamoto, E., Yamada, M., Murao, K., Nishi, K. at Shingu, K., 2003, Pentobarbital inhibits ketamine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens: a microdialysis study, *Anesth Analg*; 96:148 –52 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

139. Matsumoto, K.I., Takuwa, A., Terashi, A., U, I., Okajo, A., at Endo, K., 2005, Correlation between keton body level in selenium-deficient rats and oxidative damages, *Biol. Pharm. Bull.*, Vol. 28, No., 728, 7, 1142—1147 p.
140. Moore, K.L., 2003, The developing human clinically oriented embryology, the beginning of human development: first week, Seventh edition, 15-41 p.
141. Moore, K.L., 2009, İnsan embriyolojisi, (Çev.: Dalkılıç, H., Yıldırım, M.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 262-265 s.
142. Moore, K.L., Agur, A.M.L., 2006, Temel klinik anatomi, (Çev.: Elhan, A.), 2. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara.
143. Moore, K.L., Dalley, A.F., 2007, Kliniğe yönelik anatomi, (Çev.: Şahinoğlu, K.), 4. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.
144. Mruk, D.D. at Cheng, C.Y., 2004, Sertoli-Sertoli and Sertoli-germ cell interactions and their significance in germ cell movement in the seminiferous epithelium during spermatogenesis, *Endocrine Reviews*.
145. Mungan, G., 1996, Kan bankalarında CPDA-1 (Citate Phosphate Dextrose Adenine) ile saklanan kanlarda allopürinölün lipid peroksidasyonu ve biyokimyasal parametrelere etkisinin incelenmesi, *Uzm. Tezi*, Ankara Hastanesi Biyokimya ve Klinik Biyokimya, 67 s.
146. Murono, E.P., Derk, R.C., de Leo'n, J.H., 2001, Differential effects of octylphenol, 17b-estradiol, endosulfan, or bisphenol A on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells, *Reproductive Toxicology*, 15, 551–560 p.
147. Nambu, A., Kumamoto, Y., Mikuma, N., 1995, Effects of anti-cancer agents on cultured rat Sertoli cells, *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*, 86 : 113 –116 p.
148. Neaves, W.B., 1973, Permeability of sertoli cell tight jencntion to Lanthanum after ligation of ductus deferens and ductuli efferentes , *The Journal of Cell Biology*, 59, 559-572 p.
149. Newairy, A.A, El-Sharaky, A.S., Badreldeen, M.M., Eweda, S.M. at Sheweita, S.A., 2007, The hepatoprotective effects of selenium against cadmium toxicity in rats, *Toxicology*, 242, 23–30 p.
150. Nozaki, Y., Furubo, E., Matsuno, T., Fukui, R., Kizawa, K., Kozaki, T., Sanzen, T.. 2009, Calloborative work on evaluation of ovarian toxicity two or four week repeated-dose studies and fertility study of cisplatin in female rats, *J Toxicol Sci*, 34: 73-81 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

151. Odar, İ.V., 1986, Anatomi, Hacettepe Kitapçılık Ltd. Şti, Ankara, 458 s.
152. Ok, E., Öz, Z., Sperm hücrelerinde apoptoz, Zonguldak Karaelmas Ün. Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji AD, Tıbbi Biyoloji AD, Zonguldak.
153. Okutur, K., Demir, G., Testis tümörlerinin sistemik kemoterapisine bağlı erken ve geç yan etkiler, İstanbul Bilim Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Tıbbi Onkoloji Bilim Dalı, İstanbul.
154. Ovalle, W., Nahirney, P., 2009, Netter Temel Histoloji, (Çev.: Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla, P.) Güneş Tıp Kitabevleri.
155. Ozan, H., 2006, Ozan anatomi, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara.
156. Özdemir, S. ve Dursun, Ş., 2007, Testis dokusunda kurşun toksisitesi ve eser element ilişkisi üzerine selenyum ve kateşinin rolü, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul, 95-98 s.
157. Özkartal, A., 1993, Deneysel diabette testis histolojisi ve selenyum ile E vitaminin yarattığı düzeltici etkiler, Ankara Üniversitesi Tıp Bülteni, 871-880 s.
158. Öztürk, F., 2002, Apoptoz, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi, Malatya, 9, 2: 143-148 s.
159. Patrick, J., Loehrer, M.D., Lawrence, H., Einhorn, M.D., 1984, Cisplatin, Annals of Internal Medicine, 100: 704-713 p.
160. Perk, H., Soyupek, S., Oksay, T., Erkek infertilitesine neden olan fiziksel ajanlar, ilaçlar ve toksinler. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD., İnfertilite Dergisi.
161. Pil, P., Lippard, S., 1997, Cisplatin and related drugs, massachusetts institute of technology, Elsevier Science.
162. Pogach, L.M., Lee, Y., Gould, S., Giglio, W., Meyenhofer, M., Huang, H.F., 1989, Characterization of cis-platinum-induced Sertoli cell dysfunction in rodents, Toxicol Appl Pharmacol, 98 : 350 – 361 p.
163. Rabik, C.A., Dolan, M.E., 2007, Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents, Cancer Treat Rev, 33: 9-23 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

164. Ranawat, P. at Bansal, M.P., 2008, Decreased glutathione levels potentiate the apoptotic efficacy of selenium: possible involvement of P38 and JNK mapks in vitro studies, *Mol. Cell Biochem*, 309: 21–32 p.
165. Rang, H.P., Dale, M.M., 1993, Cancer chemotherapy, In: *Pharmacology ELBS*, Hong-Kong, 781-803 p.
166. Ricci, G., Perticarari, S., Fragonas, E., Giolo, E. et al., 2002, Apoptosis in human sperm: its correlation with semen quality and the presence of leukocytes, *Human reproduction* 17: 2665-2672 p.
167. Richburg, J.H., Johnson, K.J., Schoenfeld, H.A., Meistrich, M.L., Dix, D.J., 2002, Defining the cellular and molecular mechanisms of toxicant action in the testis, *Toxicology Letters*, 135167_/183 p.
168. Rodriguez, I., Christiane, O., Araki, K., Garcia, I., Vassali, P., 1997, An early and massive wave of germinal celi apoptosis is required for the development of functional spermatogenesis, *Embo J*, 24: 2262-2270 p.
169. Ross, M.H., Kaye, G.I. at Pawlina, W., 2003, *Histology a text and atlas*, 4th Edition, Lippincott Williams &Wilkins.
170. Ross, M.H., Pawlina, W., 2006, *Histology- a text and atlas with correlated cell and molecular biology*, 5. Edition, Lippincott W&W, Philadelphia.
171. Roth, B.J., Greist, A., Kubilis, P.S., et al., 1988, Cisplatin based combination chemotherapy for disseminated germ cell tumors: long-term follow-up, *J Clin Oncol*, 6:1239-1247 p.
172. Sadler, T.W., 1990, *Langman's medikal embriyoloji*, Palme Yayıncılık, Ankara.
173. Sadler, T.W., 2000, *Langman's medical embryology*, Eight Edition, Lippincott Williams & Wilkins.
174. Salmon, S.E., Sartorelli, A.C., 2001, *Cancer chemotherapy*, (Eds:Katzung, B.G.) *Basic & Clinical Pharmacology*, San Francisco, 923-958 p.
175. Sancak, B., Cumhuri, M., 2002, *Fonksiyonel anatomi baş-boyun ve iç organlar*, 2. Baskı, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.-METU Press, Ankara.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

176. Sánchez-Gutiérrez, M., García-Montalvo, E.A., Izquierdo-Vega, J.A. at Del Razo, L.M., 2008, Effect of dietary selenium deficiency on the in vitro fertilizing ability of mice spermatozoa, *Cell Biol Toxicol*, 24: 321–329 p.
177. Sastry, J., Kellie, S.J., 2005, Severe neurotoxicity, ototoxicity and nephrotoxicity following high-dose cisplatin and amifostine, *Pediatric Hematology And Oncology*, 22: 441–445 p.
178. Schwartzman, R.A., Cidloski, J.A., 1993, Apoptosis; the biochemistry and molecular biology of programmed cell death, *Endocrine Reviews*, 14: 133-144 p.
179. Seaman, F., Sawhney, P., Giammona, C.J., Richburg, J.H., 2003, Cisplatin-induced pulse of germ cell apoptosis precedes long-term elevated apoptotic rates in C57/BL/6 mouse testis, *Apoptosis*, 8: 101–108 p.
180. Seeley, R.R., Stephens, T.D. at Tate, P., 1999, *Essential of Anatomy and Physiology*, 3rd Edition, MC Graw Hill, North America.
181. Selenium and Selenium Compounds, www.oehha.ca.gov/air/chronic_rels/pdf/selenium.pdf
182. Senel, O.N., Yazar, S., Çetinkale, O., Bulan, R., Konukoglu, D. ve Özdemir, S., 2007, Elektrik yaralanması sonrası kan akışkanlığındaki değişiklikler ve serbest oksijen radikallerinin kan akışkanlığı üzerine etkileri, *türk plastik rekonstrüktif ve estetik, Cerrahi Dergisi*, Cilt15 / Sayı 1 Say 40-46 s.
183. Sharpe, R.M., 1994, Regulation of spermatogenesis, in *The Physiology of Reproduction*, (Edited by Knobil, E., Neill, J.D.) Raven Press. New York, 1364-1434 p.
184. Shinha, A.P., Swerdloff, R.S., 1999, Hormonal and genetic control of germ cell apoptosis in the testis, *Reviews of Reproduction*, USA, 4, 38–47 p.
185. Siddik, Z.H., 2003, Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance, *Oncogene*, 22: 7265-7279 p.
186. Sinha, A.P., Wang, C., Lue, Y., Johnson, L., Wang, X-H., Swerdloff, R.S., 1998, Spontaneous germ celi apoptosis in humans: evidence for ethnic differences in the susceptibility of germ cells to programmed celi death, *J Clin Endoc and Metab*, 83: 152 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

187. Sjoëblom, T., West, A, and Laëhdetie, J., 1998, Apoptotic response of spermatogenic cells to the germ cell mutagens etoposide, adriamycin, and diepoxybutane, Department Of Medical Genetics and Center For Reproductive and Developmental Medicine (CREDE), University Of Turku, Finland Environmental and Molecular Mutagenesis, 31:133-148 p.
188. Skowerski, M., Konecki, J., Czechowicz, K. at Glowacka, M., 1997, Effects of interaction between cadmium and selenium on hepatic metabolism in mice. Part I: The study on DNA, RNA and protein synthesis activities in Mouse hepatocytes, Med. Sci. Monit., 3, 5, 642-647 p.
189. Snell, R.S., 1998, Klinik Anatomi, (Çev.:Yıldırım, M.) Nobel &Yüce, 5. Baskı.
190. Sönmezer, M., Oktay, K., 2004, Fertility preservation in female patients, Hum Reprod Update 10; 251-266 p.
191. Sriraman, V., Sairam, M.R. at Rao, A.J., 2003, Evaluation of relative roles of LH and FSH in regulation of differentiation of Leydig cells using an ethane1,2- dimethylsulfonate-treated adult rat model, Journal of Endocrinology, 176, 151– 161 p.
192. Stevens, A. at Lowe, J., 2005, Human Histology, Elsevier Mosby, 3rd Edition.
193. Swathy, S.S., Panicker, S. at Indira, M., 2006, Effect of exogenous selenium on the testicular toxicity induced by ethanol in rats, Indian J Physiol Pharmacol, 50, 3: 215–224 p.
194. Şahintürk, V. ve Erçakır, M., 1999, Histoloji ve Embriyoloji Laboratuar Kılavuzu, Osmangazi Üniversitesi Yayınları, Eskişehir.
195. Şeftalioğlu, A., 1998, Genel ve özel insan embriyolojisi, Üçüncü Baskı, Tıp ve Teknik Yayıncılık Ltd. Şti., Ankara, 620 s.
196. Şengelen, M., 2002, Türkiye’de kanser istatistikleri, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
197. Tapanainen, J.S., Tilly, J.L., Vihko, K.K., Hsueh, A.J.W., 1993, Hormonal control of apoptotic cell death in the testis: gonadotropins and androgens as testicular cell survival factors, Mol Endocrinol, 7: 643-650 p.
198. Tekcan, M., Oksidatif stres-antioksidan sistemler ve testis, İnfertilite Dergisi.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

199. Thompson, C.B., 1995, Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease, *Science*, 267: 1456-1462 p.
200. Thompson, S.T., 1994, Prevention of male infertility: an update, *Urol. Clin. North*, 21: 365-376 p.
201. Tomatır, A.G., 2003, Apoptoz: Programlı hücre ölümü, *T Klin Tıp Bilimleri*, 23: 499-508 s.
202. Tos-Luty, S., Obuchowska-Przebirowska, D., Latuszynska, J., Musik, I. At Tokarska-Rodak, M., 2003, Comparison of histological and ultrastructural changes in mice organs after supplementation with inorganic and organic selenium, *Ann Agric Environ Med.*, 10, 87–91 p.
203. Turna, G., 2008, Ehrlich asit solid tümör modeli oluşturulmuş farelerde thymus sipyleus ve taurinin karaciğer MDA, Glutatyon, AOPP düzeylerine ve SOD aktivitesine etkileri, Yüksek Lisans Tezi, T.C. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Biyokimya Anabilimdalı, 72 s.
204. Tüfekçi, Ö., Güneş, D., Özoğul, C., Kolatan, E., Altun, Z., Yılmaz, O., Aktaş, S., Erbayraktar, Z., Kırkım, G., Mutafoğlu, K., Soylu, A., Şerbetçioğlu, B., Güneri, E.A., Olgun, N., 2009 Evaluation of the effect of acetyl L -Carnitine on experimental cisplatin nephrotoxicity, *Chemotherapy*, 55: 451–459 p.
205. Türker, F.A., Kayaalp, S.O., 2002, Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar, (Editör: Kayaalp, S.O.) *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji*, Feryal Matbaacılık, Ankara, 380-415 s.
206. Türkiye istatistik yılı, 2004, T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü.
207. Ulukaya, E., Akciğer Kanseri tanı ve tedavide temel ilkeler ve uygulamalar bölüm III, (Editörler: Engin, K., Özyardımcı, N.,).
208. Ulusoy, E., Cinel, İ., Öztürk, B., Memiş, L., Memiş, A. ve Çetinkaya, M., 1998, Diabetik ratlarda selenyumun spermatogenezi koruyucu etkisi, *Ankara Patoloji Bülteni*, 25-28 s.
209. Usta, A., 2005, Leptinin yenidoğan sıçanların testis germ hücrelerine etkisinin ışık mikroskopi düzeyinde incelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
210. Vernie, L.N., 1984, Selenium in carsinogenesis, *Biochim., Biophys. Acta.*, 738, 203-217 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

211. Walker, N.I., Harmon, B.V., Gobe, G.C., Kerr, J.F.R., 1988, Patterns of cell death, *Methods Achiev Exp Pathol*, 13: 18-32 p.
212. Wang, D., Lippart, S.J., 2005, Cellular processing of platinum anticancer drugs, *Nat Rev Drug Discov*, 4: 307-320 p.
213. Wu, A.S.H., Oldfield, J.E., Shull, L.R. at Cheeke, P.R., 1979, Specific effect of selenium deficiency on rat sperm, *Biology of Reproduction*, 20, 793-798 p.
214. Wu, S.H., Oldfield, J.E., Whanger, P.D. at Weswig, P.H., 1973, Effect of selenium, vitamin E, and antioxidants on testicular function in rats, *Biology of Reproduction*, 8, 625-629 p.
215. Wyllie, A.H., 1980, Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation, *Nature*, 284: 555-556 p.
216. Wyllie, A.H., 1997, Apoptosis: an overview, *Br Med Bull*, 53: 451-465 p.
217. Yanbeyi, S., 1999, Aspirin ve antioksidant butylated hydroxyanisole'ün tavşanlarda eritrosit total katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri üzerine etkileri, *Doktora Tezi, Ondokuz Mayıs Üni., Biyoloji Anabilim Dalı, Samsun*, 88 s.
218. Yeter, K., 2006, Kemoterapi alan hastalara verilen eğitimin yaşam kalitesi üzerine etkisi, *Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir*.
219. Yıldırım, M., 1999, İnsan anatomisi, *Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara*.
220. Yılmaz, H.R., Söğüt, S., Özyurt, H., Iraz, M., Yıldırım, Z., Akyol, Ö., 2004, Sıçanlarda sisplatinle oluşturulan nefrotoksisitede metabolik enzim aktivitelerine Kafeik asit Fenetil Ester'in etkisi, *Van Tıp Dergisi*: 11, 1, 1-6 s.
221. Yılmaz, İ., 2005, Erişkin ratlarda deneysel varikozel oluşturulması sonrası testislerde germ hücrelerinde apoptozis düzeylerinin yükselmesi; ve yükselmiş olan apoptozisin varikoselektomi sonrası gerileme düzeyi ve süresinin TUNEL yöntemi ile değerlendirilmesi, *Uzmanlık Tezi, Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Üroloji Kliniği, İstanbul*.
222. Yiin, S.J., Chern, C.L., Sheu, J.Y. at Lin, T.H., 1999, Cadmium induced lipid peroxidation in rat testes and protection by selenium, *Bio Metals*, 12, 353-359 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

223. Yin, Y., Hawkins, K.L., Devvolf, W.C., Morgantaler, A., 1997, Heat stres causes testicular germ celi apoptosis in adult mice, *J Androl.*, 18: 159-165 p.
224. Yücel, H.A., 2003, Erkek genital sistemi, (Çev.: Gökmen, Gövsa, F.) Sistematik anatomi, İzmir Güven Kitabevi, İzmir, 549-551 s.
225. Zhang, X., Yamamoto, N., Soramoto, S., Takenaka, I., 2001, Cisplatin-induced germ cell apoptosis in mouse testes, *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 46, 1: 43-49 p.
226. Zhengwei, Y., Mclachlan, R.I., William, J.B. at Wreford, N.G., 1997, Quantitative (Stereological) Study of Normal Spermatogenesis in the Adult Monkey (*Macaca fascicularis*), *Journal of Andrology*, 18, 681-687p.
227. Zhengwei, Y., Wreford, N.G., Royce, P. at Kretser, D.M., 1990, A Quantitative Study of Spermatogenesis in the Developing Rat Testis, *Biology of Reproduction*, 43, 629-635 p.
228. Zhou, Y., Zhang, S., Liu, C., Cai, Y., 2009, The protection of selenium on ROS mediated-apoptosis by mitochondria dysfunction in cadmium-induced LLC-PK1 cells, *Toxicology in Vitro* 23, 288–294 p.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Seren BOZDOĞAN

Doğum tarihi ve yeri : 11-02-1985 Gürün

Uyruğu : T.C

Medeni durumu : Bekar

İletişim adresleri : serenbozdogan@hotmail.com

Eğitim Durumu

2004-2009 : ESOGÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (İngilizce Hazırlık)

1996-2003 : Çankaya Anadolu Lisesi- Ankara

Yabancı dil : İngilizce

Mesleki deneyim

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar

Yayımlar

Bilimsel Etkinlikler

ESOGÜ Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 2010, Eskişehir

I. Kök Hücre Kursu ve V. Kök Hücre Sempozyumu, 25-26 Haziran 2010, Ankara