

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
BİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARIN TESTİS DOKULARINDA p38 MAPK
İMMÜNREAKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Zeynep FİDANOL

Referans no:431278

EDİRNE – 2012

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
BİLİM DALI YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**DENEYSEL DİYABET OLUŞTURULMUŞ
SIÇANLARIN TESTİS DOKULARINDA p38 MAPK
İMMÜNREAKTİVİTESİNİN İNCELENMESİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Zeynep FİDANOL

Destekleyen Kurum : TÜBAP-2011/126

Tez No :

EDİRNE – 2012


T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü


O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı yüksek lisans programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Mehmet KANTER danışmanlığında yüksek lisans öğrencisi Zeynep FİDANOL tarafından tez başlığı "Deneysel Diyabet Oluşturulmuş Sıçanların Testis Dokularında p38 MAPK İmmünreaktivitesinin İncelenmesi" olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 30/05/2012 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından "Yüksek Lisans Tezi" olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Mehmet KANTER

JÜRİ BAŞKANI


Doç. Dr. Tunç KUTOĞLU
ÜYE


Doç. Dr. Turan KARACA
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Levent ÖZTÜRK
Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Eğitimim süresince, yetiŐmemde büyük emeği olan ve benden hiçbir fedakârlığı esirgemeyen aileme minnettarım. Lisansüstü eğitimim boyunca beni yetiŐtiren, bilgi ve tecrübelerini bana aktaran, çalıŐmam sırasında bilimsel katkıları ve yardımlarını esirgemeyen, danışman hocam sayın Prof. Dr. Mehmet KANTER'e, araŐtırmam süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım sayın hocalarım Doç. Dr. Turan KARACA, Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN ve Yrd. Doç. Dr. YeŐim Hülya UZ'a ve çalıŐmam boyunca yardımlarını esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı asistanlarına, özellikle Uzm. Biol. Mustafa ERBOĞA ve Biol. Soner UYSAL'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
TESTİSİN HİSTOLOJİSİ	3
SPERMATOGENEZ	5
DİABETES MELLİTUS	7
DİABETES MELLİTUS VE ERKEK İNFERTİLİTESİ	10
DENEYSEL DİYABET MODELLERİ	11
MİTOJENLERİN AKTİVE ETTİĞİ PROTEİN KİNAZLAR	13
GEREÇ VE YÖNTEMLER	18
BULGULAR	22
TARTIŞMA	37
SONUÇLAR	43
ÖZET	45
SUMMARY	46
KAYNAKLAR	48
ŞEKİLLER LİSTESİ	56
ÖZGEÇMİŞ	58
EKLER	

SİMGE VE KISALTMALAR

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gamma
δ	: Delta
DM	: Diabetes mellitus
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ERK	: Extracellular signal regulated kinase
FSH	: Follicle stimulating hormone
GnRH	: Gonadotropin releasing hormone
H&E	: Hematoksilen eozin
İp.	: İntraperitoneal
JNK	: c-Jun NH2-terminal kinaz
LH	: Lüteinleştirici hormon
MAPK	: Mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz
MAPKK	: Mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz kinaz
MAPKKK	: Mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz kinaz kinaz
PBS	: Phosphate buffered saline
STZ	: Streptozotosin

GİRİŞ VE AMAÇ

Diabetes mellitus (DM), insülin salgılanması ya da insülinin etkisindeki tam veya kısmi yetersizlikle ilişkili olarak ortaya çıkan kronik hiperglisemi; karbonhidrat, yağ ve protein metabolizmasındaki bozukluklar ve bu bozuklukları takiben ileri dönemde ortaya çıkan çeşitli komplikasyonlarla (anjiyopati, kardiyomyopati, nöropati, nefropati ve retinopati gibi) karakterize bir sendromdur (1).

Diyabetin erkeklerde sıkça rastlanan etkilerine bakıldığında testislerde seminifer tübüllerde atrofi, tübüllerin duvarını döşeyen germ epitelinde düzensizlik ve hücre kaybı, bazal membranda kalınlaşma ile interstisyel dokunun Leydig hücrelerinde histolojik değişiklikler meydana getirdiği bilinmektedir (2-6). Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda, diyabetli testis dokusunda apoptozisin arttığı ve buna bağlı olarak spermatogenezde bozulmaların olduğu insan ve deney hayvanlarında yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (4,7-9)

Protein kinaz çeşitlerinden biri olan mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz (MAPK); embriyogenezis, hücre proliferasyonu, hücre farklılaşması ve hücre ölümü ile ilgili çeşitli sinyallerin düzenlenmesinde büyük rol oynarlar (10). MAPK'lar sinyal iletimi sırasında protein fosforilasyonunda görev alırlar. Bu proteinler membran yerleşimli olanlar ve sitoplazmik tirozin kinazlar olarak iki kısma ayrılır ve fosforilasyona uğrayan aminoasit türüne göre ise tirozin ve serin/treonin kinazlar olarak sınıflandırılırlar. Bu sınıflandırmada MAPK'lar serin/treonin kinazlar arasında bulunmaktadır (11,12).

Çok hücreli organizmalarda MAPK'lar; 3 alt grubu ile (Ekstraselüler sinyal düzenleyici kinazlar (ERK), c-jun NH₂-terminal kinaz (JNK) ve p38 MAPK) hem fizyolojik

hem de patolojik birçok hüresel olayı kontrol ederler (12,13). MAPK'lar sinyalin hücre içerisine reseptörler vasıtasıyla iletiminden sorumludur. Hücre içi sinyal iletiminde başlıca bileşen olarak görev alırlar ve gelen uyarıları nükleusa iletirler (14,15). MAPK enzimleri, mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz kinaz kinaz (MAPKKK)- mitojenler tarafından aktive edilen protein kinaz kinaz (MAPKK)- MAPK olarak yukarıdan aşağıya reseptör-hedef şeklinde bağlantılıdır. Bu iletim G-proteininin aktivasyonu ile başlar. MAPKKK'ın aktive olmasıyla sırasıyla MAPKK ve MAPK aktivasyona uğrarlar. Sonuç olarak MAP kaskatı olur (16). MAPKKK'lar dışarıdan gelen sinyallerle aktif hale geldikten sonra MAPKK'ı serin/treonin motifinden fosforile eder. Aktif hale gelen MAPKK, substratı olan MAPK'ın treonin ve tirozin aminoasitlerini fosforile ederek MAPK'ı aktif hale getirir. Aktive olan MAPK ise sitoplazmik substratlarını veya nükleusta transkripsiyon faktörlerini fosforilasyon yoluyla aktive eder. Bunun sonucunda, hücrenin gelen sinyale karşı vereceği biyolojik cevap oluşur (12,14,15). p38 MAPK birçok yerde bulunabilen, apoptoziste ve inflamatuvar cevap oluşmasında önemli rolü olan, yüksek derecede koruma sağlayan bir protein kinazdır. Çevresel strese karşı cevap oluşturmasından dolayı "stresin aktive ettiği kinaz" olarak isimlendirilir ve çoğunlukla apoptozis ve inflamasyon ile ilişkilidir. p38'in aktivitesi ultraviyole ışınlar, bakteriyel lipopolisakkarit, sodyum arsenat, ısı, osmotik şok ve proinflamatuvar sitokinler gibi birçok çevresel faktöre bağlı olarak gelişir. Hücre döngüsündeki ilerleyişi, apoptozis, diferansiyasyon (farklılaşma) ve inflamatuvar cevap gibi fizyolojik süreçlerde de önemli rol oynamaktadır (15,16).

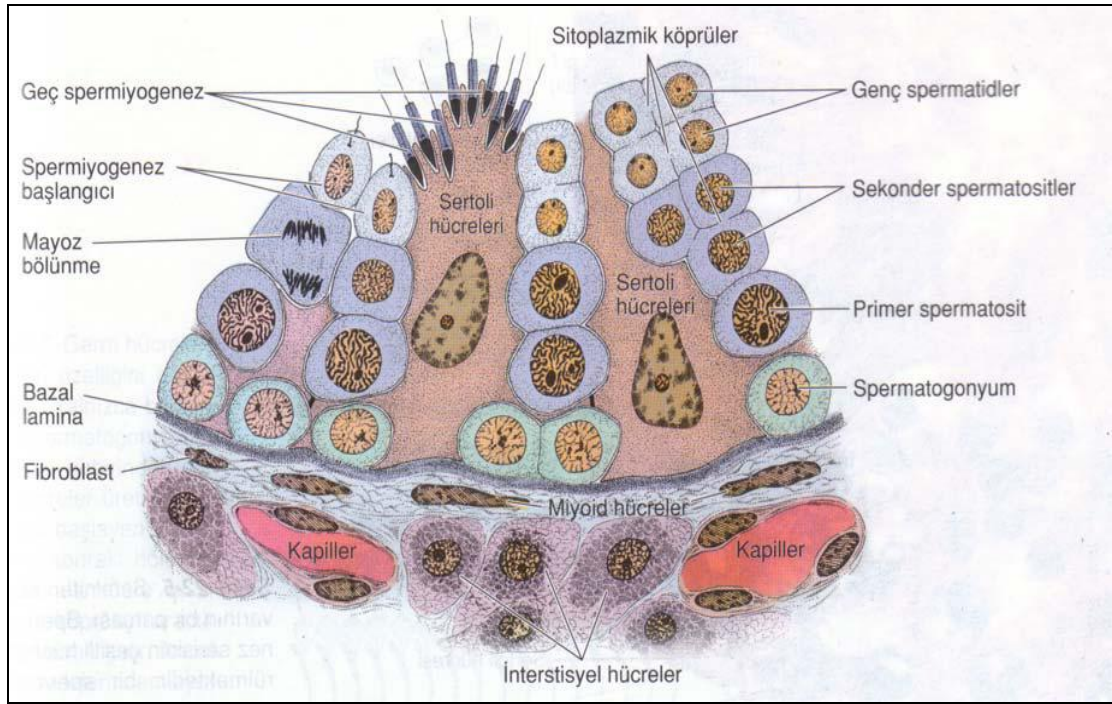
Biz bu çalışmada; streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulmuş erkek sıçanların testis dokularında, DM' nin komplikasyonlarına bağlı olarak; MAPK'ların bir çeşidi olan p38'in aktivasyonunda ortaya çıkacak değişiklikleri immunohistokimyasal tekniklerle değerlendirmeyi ve böylece diyabetli testis dokusunda görülen normal olmayan spermatogenezisin aydınlatılmasına destek olmayı planladık.

GENEL BİLGİLER

TESTİSİN HİSTOLOJİSİ

Erkek üreme sisteminin bir bölümünü oluşturan testisler, puberteyle birlikte spermatozoonların üretimi, beslenmesi ve geçici olarak depolanmasından ve başlıca erkek seks hormonu olan testosteronun sentezinden sorumlu olan endokrin ve ekzokrin fonksiyon gösteren bir çift organdır (17,18). Testisler skrotum içine yerleşmiş oval bir yapıda olan organlardır. İnsanda bir testis 15 gr ağırlığındayken sıçanlarda ise bu ağırlık vücut ağırlığının %1'ini oluşturur (19,20). Testisler dıştan içe doğru üç tabakadan meydana gelen kalın bir kapsül ile kaplıdır. Bunlar tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vasküloza olarak adlandırılır (18). Tunika vaginalis; testislerin skrotuma doğru göç etmesi sırasında her bir testis yapısının kendisiyle beraber götürdüğü abdominal periton tabakasıdır. Bu tabaka dışta pariyetal ve içte visseral yapraklara ayrılır ve testisin tunika albuginea kısmını örter (17,18). Tunika albuginea; kalın bir fibroelastik bağ dokudan meydana gelmiştir. Testisin en belirgin tabakasını oluşturur (18). Bu bağ doku testisin arka tarafında kalınlaşarak mediastinum testisi meydana getirir. Mediastinum testisten çıkan septumlar her bir testis yapısını 1-4 adet seminifer tübül içeren yaklaşık 250 adet lopçuklara ayırır (17,20,21). Tunika vasküloza; testisin en iç tabakasını oluşturur, kan damarlarından zengindir ve gevşek bir bağ dokusu yapısındadır. Bu kısımdan çıkan interstisyel bağ doku uzantıları her bir seminifer tübül yapısını sarar ve birbirlerine bağlanmasını sağlar (22).

Seminifer tübüller bir bağ doku tabakası, yassı myoid hücre tabakası ve bir bazal membran tarafından çevrilidir. Şekil 1’de gösterildiği gibi seminifer tübül duvarı çok katlı kompleks bir epitel ile döşelidir ve bu epitel başlıca şekil ve fonksiyon bakımından iki gruba ayrılır. Bunlar bölünme özelliği olmayan Sertoli veya destek hücreleri ile germ veya spermatogonik (spermatogonyumlar, spermatosit-I, spermatosit-II ve spermatid) hücreler olarak adlandırılır (19,20).



Şekil 1. Seminifer tübül ve çevresindeki dokunun bir bölümü (17)

Sertoli hücreleri, seminifer tübülde tabanları bazale oturmuş lümeneye kadar uzanan büyük, prizmatik hücrelerdir. Bu hücrelerin çok sayıdaki yan uzantıları spermatogonik seri hücrelerini sardığı için hücre sınırları ışık mikroskopuyla iyi belirlenemez (17). Sertoli hücrelerinin görevleri;

1- Gelişmekte olan spermatozoonların korunmasında, desteklenmesinde ve beslenmesinde görev alır.

2- Spermiyogenez sırasında fazla sitoplazma Sertoli hücrelerindeki lizozomlar tarafından fagosite edilir.

3- Dişi ve erkek üreme organlarının gelişimi esnasında Müller kanallarının gelişimini engelleyen glikoprotein yapısındaki anti-müllerian hormonu üretirler ve böylelikle embriyonun erkek olarak gelişimi sağlanır (20,21).

4- Hipofizden folikül uyarıcı hormon (FSH) salınımını engelleyen inhibin hormonunu salgılar (21).

5- FSH ve testosteron kontrolü altında androjen-bağlayıcı proteini (ABP) üretir ve salgılar (21). Bu protein de seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaşmasını sağlar (17,22).

6- Spermin boşaltım kanalları içerisinde taşınması ve beslenmesi için gerekli olan fruktozdan zengin testiküler sıvıyı salgılar (21).

7- Komşu Sertoli hücrelerinin sitoplazmaları sıkı bağlantı kompleksleriyle birbirine tutunurlar ve kan-testis bariyerini oluştururlar. Kan-testis bariyeri, gelişen spermler ile immün sistem arasındaki doğrudan etkileşimi engeller. Aynı zamanda kan dolaşımından antijenlerin geçişini önler ve lümene yakın bölgede yerleşmiş spermatogonyumların immün sistemin etkilerinden korunmasını sağlar. Böylece kan-testis bariyeri kişinin kendi spermine karşı otoimmün cevap oluşumunu, antikör oluşumunu ve sonuç olarak steriliteyi önler (21).

SPERMATOGENEZ

Spermatogenez, spermatogonyumların olgun hücreler olan spermlere dönüştüğü, apoptozisi de içeren, hormon bağımlı kompleks bir hücre gelişim sürecidir. Bu olayda; çoğalma evresi (Spermatositogenez), büyüme evresi (Mayoz) ve olgunlaşma evresi (Spermiyogenez) görülür (23,24).

Spermatositogenez safhasında spermatogonyumlar mitozla bölünerek spermatositler oluşur. Mayoz evresinde spermatositler ardı ardına 2 bölünme geçirir, kromozom sayıları ve DNA miktarları yarıya düşer ve spermatidler oluşur. Spermiyogenez safhasında ise spermatidler hücre farklılaşma süreci geçirerek spermatozoonları meydana getirirler (17).

Çoğalma Evresi

Spermatogonyumlar, bazal kompartmanda bazal lamina ile direkt ilişkide olan hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki okludens tipi bağlantıların altında yerleşim gösterdikleri için kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar. İki temel morfolojik spermatogonyum tipi gözlenir: Tip A koyu spermatogonyumlar, germinal epitelin kök (stem) hücreleridir. Yoğun bazofilik ve ince granüler kromatinli oval çekirdek içerirler. Puberteden itibaren mitotik hücre bölünmeleri geçirerek ya tip A koyu spermatogonyumları ya da tip A açık spermatogonyumları oluştururlar. Tip A açık spermatogonyumlar, soluk boyanan, ince granüler kromatinli oval çekirdek içerirler. Mitotik bölünmeleri sonucunda

farklılaşarak tip B spermatogonyumları oluştururlar. Tip B spermatogonyumlar, merkezi yerleşimli çekirdekçiğe sahip küresel çekirdek içerirler. Çekirdek kromatini çekirdekçiğ çevresinde ve çekirdek kılıfı boyunca yoğunlaşma gösterir (22).

Büyüme Evresi

Tip B spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan öncül hücrelerdir. Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayotik bölünmenin profazına girerler. Bu sırada primer spermatositin 46 (44+XY) kromozomu vardır ve DNA'sı da 4 N'dir. Profaz evresinde hücreler leptoten, zigoten, pakiten ve diploten evrelerini geçirerek diakinez safhasına ulaşırlar ve sonuçta kromozomlar ayrılır. Genlerdeki "krossing over" mayozun bu safhalarında meydana gelir. Daha sonra hücre metafaza girer ve metafazı takip eden anafazda kromozomlar zıt kutuplara doğru çekilirler. Bu bölünmede profazın yaklaşık 22 gün sürmesi nedeniyle incelenen hücrelerin büyük çoğunluğu bu fazda görülürler. Spermatogenik seride en büyük hücreler primer spermatositlerdir ve bunlar çekirdeklerinde kangal yapma sürecinin değişik evrelerinde kromozomların bulunması ile tanınırlar (17).

Yirmi üç kromozoma sahip olan sekonder spermatositler, primer spermatositlerin mayoz bölünmesi sonucu oluşurlar. Hacim olarak daha küçük olan sekonder spermatositler kısa süre içerisinde ikinci mayoz bölünmeye girdiklerinden kesitlerde görülmeleri oldukça güçtür. Sonuçta bu hücrelerin bölünmeleriyle spermatidler oluşur (17,25).

Olgunlaşma Evresi

Spermatidler, diğer hücrelerden daha küçük boyutları (7-8 µm çapında), yoğunlaşmış kromatin bölgeleri taşıyan çekirdekleri ve tübül lümenine yakın yerleşimleri ile tanınırlar. Spermatidler spermiyogenez denilen akrozom şekillenmesini içeren karmaşık bir farklılaşma süreci geçirirler. Spermiyogenezde bu hücrelerin nükleusları yoğunlaşır, uzar, kuyruk oluşur ve sitoplazmanın çoğu kaybolur. Sonuçta seminifer tübülün lümenine salgılanan olgun spermatozoon meydana gelir (17).

Spermiyogenez; Golgi fazı, akrozomal faz ve matürasyon fazı olmak üzere üç faza ayrılmaktadır.

1. Golgi Fazı: Spermatidlerin sitoplazması, çekirdeğin yakınında belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriler, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz endoplazmik retikulum tübülleri içerir. Küçük Periyodik Asit Schiff pozitif proakrozomal granüller Golgi

kompleksinde birikirler ve daha sonra birleşerek membranla sınırlanmış bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granül oluştururlar. Sentriyoller göç ederek akrozomun olduğu bölgenin karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksonem oluşmaya başlar ve sentriyoller yeniden nükleusa doğru geri dönerken hareket ettikçe aksonemal komponentleri çevresine sarar (17,26).

2. Akrozomal Faz: Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan nükleusun son yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra ‘akrozom’ adını alır. Akrozom; hyaluronidaz, nöraminidaz ve asit fosfataz gibi bazı hidrolitik enzimler içermektedir. Akrozom bu yüzden lizozomun özelleşmiş bir tipi gibi iş görür. Bu enzimlerin, korona radyata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir. Spermatozoonlar ovumla karşılaştığında akrozomun dış membranı birçok bölgede plazma membranı ile kaynaşarak akrozomal enzimlerin boşalmasına yol açmaktadır. Bu işlem akrozomal reaksiyon olarak bilinir ve fertilizasyonun ilk basamaklarından birini oluşturmaktadır (17).

Akrozomal faz sırasında hücrenin akrozomu içeren ön kutbu, seminifer tübülün tabanına doğru yönelmektedir. Buna ek olarak nükleus uzar ve daha yoğun bir hale gelir. Aynı zamanda sentriyollerden bir tanesi gelişerek flagellumu oluşturur. Mitokondriler de flagellumun proksimal parçası etrafında toplanarak ‘orta parça’ adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur. Bu bölge spermatozoa hareketlerinin kaynağını aldığı yerdir (10). Mitokondrilerin bu şekilde yerleşmesi, bu organellerin hücre hareketi ve yüksek enerji tüketimi ile ilgili olan bölgelerde toplanmasına örnek teşkil etmektedir. Flagellum hareketi, mikrotübüller, ATP ve dynein denilen ATPaz aktivitesine sahip bir proteinin etkileşmesi sonucunda oluşmaktadır (17).

3) Matürasyon fazı: Geriye kalan artık sitoplazma Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve spermatozoonlar tübülün lümenine doğru salınırlar. Spermatogonyumların bölünmesi sırasında ortaya çıkan hücreler tamamen ayrılmaz ve sitoplazmik köprülerle birbirlerine bağlı kalırlar. Sonuçta seminifer tübülün lümenine salınan olgun spermatozoonlar oluşur (17,22).

DIABETES MELLİTUS

Diabetes Mellitus, en belirgin özelliği hiperglisemi olan heterojen bir metabolizma bozukluğudur. Yalnızca hiperglisemi değil, aynı zamanda hiperaminoasidemi, hiperlipidemi

ve aterosklerosis gibi birçok komplikasyona neden olan karbonhidrat, lipid ve protein metabolizmasındaki bozukluklar ile karakterize sistemik bir hastalıktır (27,28). Klinik belirtileri arasında çok su içmek (polidipsi), çok yemek yemek (polifaji), çok idrar yapmak (poliüri), halsizlik, zayıflama ve daha seyrek olarak da deri infeksiyonları, bulantı ve baş ağrısı bulunmaktadır. Bu belirtilerin nedeni glikoz kullanımının azalması sonucunda kan glikoz seviyesinin yükselmesi (hiperglisemi), idrarda glikoz bulunması (glikozüri), derinin kuruması (dehidratasyon) ve diğer biyokimyasal değişimlerdir. Kronik ve devamlı yüksek kan glikozu (hiperglisemi) nedeniyle yüksek oksidatif stres görülmektedir (29,30).

Diyabet kelimesi Yunanca “sifon” anlamına gelir ve bu hastalığı karakterize eden aşırı idrar oluşumunu gösterir. Mellitus kelimesi de yine Yunanca “bal” anlamına gelen “mel” kelimesinden türetilmiştir (31).

Birçok ülkede ölüme neden olan hastalıklar içinde diyabet beşinci sırada yer almaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tahminlerine göre 2009 sonu itibarı ile tüm dünyadaki diyabet nüfusu 285 milyon iken bu sayının 2030 yılında 438 milyona ulaşması beklenmektedir. Bunun başlıca nedenleri nüfus artışı, yaşlanmanın ve kentleşmenin getirdiği yaşam tarzı değişimi sonucu obezite ve fiziksel inaktivitenin artmasıdır (32,33).

Diyabetin birçok değişik tipi olup, bu tiplerin oluşmasında genetik, çevresel faktörler ve hayat tarzının rolü vardır. Geniş ölçüde kabul gören ilk DM sınıflaması 1980 yılında DSÖ tarafından yayınlanmış ve 1985 yılında yapılan değişikliği takiben yakın zamana kadar geçerliliğini korumuştur. 1980 DSÖ Uzmanlar Komitesi, DM’yi insüline bağımlı DM (Tip 1 DM) ve insüline bağımlı olmayan DM (Tip 2 DM) olarak adlandırdıkları iki grupta sınıflamayı önermiştir (34).

Tip 1 Diabetes Mellitus

İnsüline bağımlı diyabet ya da juvenil diyabet olarak da adlandırılmaktadır ve tüm diyabet olgularının % 5-10’unu oluşturur. Pankreas β hücrelerinin otoimmün aracılıklı yıkımıyla oluşan insülin yetmezliği ile karakterizedir (35). Bu hastalarda insülin yokluğuna bağlı olarak dolaşımda aşırı miktarda glukoz ve yağ asidi birikir. Glukoz ve yağ asitleri hiperozmolarite ve hiperketonemiye neden olur. İnsülin eksikliğinin şiddeti ve ortaya çıkış hızı hastalığın şiddetini belirler. Kanda artan glukoz glomerüler reabsorbsiyon sınırını geçtiğinde idrarla atılmaya başlar. Glukoz ozmatik etkiyle beraberinde sıvı çıkısını artırır. Aşırı susama ve çok su içme meydana gelir. İştahın normal olması ve aşırı yemeye rağmen kilo kaybı meydana gelir (28,34).

Tip 2 Diabetes Mellitus

Tip 2 DM karaciğerde glukoz yapımında artma, bozulmuş insülin sekresyonu, insülin direnci, hiperinsülinemi ile seyreden ve diyabet olgularının %90'ından fazlasını oluşturan metabolik bir hastalıktır. Glukoza cevaptaki zayıflık, reseptör bozukluğuna bağlı olarak glukozu tanıma veya algılamadaki bozukluktan kaynaklanmaktadır (27,36).

Tip 2 diyabet genellikle obezite ve fiziksel inaktiviteye bağlı olarak görülmektedir. Hastalığın temelinde genetik olarak yatkın kişilerde yaşam tarzı ile tetiklenen insülin direnci ve zamanla azalan insülin sekresyonu söz konusudur (37). Gelişmiş ülkelerde toplumun %5-10'u tip 2 diyabetlidir. Yakınmalar tip 1 diyabete benzemekle birlikte daha hafiftir. Bu sebeple hastalık gerçek başlangıcından yıllar sonra (ortalama 5 yıl sonra) fark edilir, hatta bazen komplikasyonları nedeniyle tanı konabilir. Tip 2 diyabet genellikle 40 yaşından sonra ortaya çıkar ve yaşlanma ile sıklığı artar. Bununla beraber, son yıllarda obezitenin çocukluk çağında da artması ile birlikte çocuk ve adölesan çağda da tip 2 diyabet görülmeye başlamıştır. Gelişmiş ülkelerde 15 yaş altında görülen diyabet vakalarının yarısına yakınının tip 2 diyabetli olduğu bildirilmektedir. (36,38).

Diabetes Mellitus'un Komplikasyonları

Gerek Tip 1 gerekse Tip 2 diyabette akut ve kronik dönem komplikasyonları görülmektedir.

1- Akut komplikasyonlar: Akut olarak gelişen ve hayatı tehdit eden, mental ve fiziki bozukluklara neden olabilen ve acil tedaviyi gerektiren komplikasyonlardır. Diyabetin akut dönemdeki en önemli komplikasyonları hiperglisemi ile hipoglisemi ve bunlara bağlı olarak meydana gelen koma durumlarıdır. Akut hipoglisemide otonomik sendromlar (terleme, titreme, çarpıntı, açlık gibi) veya nöroglükopenik sendromlar (koordinasyon ve konsantrasyon zorluğu gibi) gelişmektedir (39).

2- Kronik komplikasyonlar: Diabetes Mellitus'un çeşitli organ ve sistemlerde oluşturduğu değişikliklere DM'nin kronik komplikasyonları denmektedir. Belirgin morbidite ve mortaliteye yol açtıklarından dolayı önemlidirler. Başlıca kronik komplikasyonlar üç ana kategoride sınıflandırılır. Bunlar makrovasküler komplikasyonlar, mikrovasküler komplikasyonlar ve diyabetik nöropatidir. Makrovasküler tanımı ile beyindeki serebral damarlar, kalpteki koroner damarlar ve alt ekstremitede bulunan büyük arterlerden söz

edilmektedir. Makrovasküler komplikasyonlara baktığımızda ise ateroskleroz, felç, miyokard infarktüsü, gangrendir. Mikrovasküler hastalıklar nefropati, retinopatiyi de içine alan ve tüm vücutta bulunan kapiller damarları etkileyen komplikasyonları tanımlamak için kullanılır (40,41).

Diyabetik nöropati ise diffüz ya da fokal, periferik, somatik ya da otonomik sinir liflerinde oluşan hasar ile karakterize olan bir nöropati tablosudur (42).

DİABETES MELLİTUS VE ERKEK İNFERTİLİTESİ

Erkek infertilitesi pek çok değişik nedene bağlı olarak ortaya çıkar. Geçirilmiş enfeksiyonlar, genetik sebepler, hormonal bozukluklar, diyabet, böbrek yetmezliği gibi metabolik hastalıklar infertilitenin başlıca sebeplerindedir. İnmemiş testis gibi patolojiler de çevresel etkenlerden bağımsız olarak erkek infertilitesinin başlıca nedenleri arasında yer alır. Bunların yanı sıra beslenme, çevre kirliliğinin artması, radyasyon, kimyasal maddelere maruz kalma, sigara tüketiminin artması, alkol ve bağımlılık yapıcı maddelerin kullanımı gibi çevresel sebepler de son dönemde erkek infertilitesinin görülme sıklığını artıran diğer nedenlerdendir (43,44).

Diyabet, insanlarda ve deney hayvanlarında fonksiyonel ve yapısal değişikliklere neden olmaktadır. Testislerde meydana gelen değişiklikler; seminifer tübüllerde atrofi, tübüllerin duvarını döşeyen germ epitelinde düzensizlik ve hücre kaybı, spermatogenez ve spermiyogenezin durması, bazal membranda kalınlaşma ile interstisyel dokunun Leydig hücrelerinde yapısal ve fonksiyonel bozuklukları kapsamaktadır (2-6).

Diyabetik sıçanlarda, hipofiz duyarlılığının azalması ve efektör hücelere anormal steroid transportu olmasına bağlı olarak hipotalamus-hipofiz yolunda anormal seksüel steroid geri bildirim sergilenmektedir. Sıçan diyabet modellerinde gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) hipofiz cevabının azaldığı gösterilmektedir. Diyabetik bireylere GnRH uygulandığında LH ve FSH cevaplarında dalgalanmalar olduğu bildirilmektedir. Bu hipotez, STZ ile diyabet oluşturulmuş koyunların lateral ventrikülüne insülin verilmesi sonucunda LH salınma sıklığının artmasıyla desteklenmektedir. Laboratuvar hayvanlarında diyabetteki gibi karbonhidrat dengesindeki yükselme, üreme sisteminin fonksiyonel aktivite bozukluklarının hipotalamus-hipofiz yolu ve gonadlar ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Diyabetiklerde olgunlaşmamış ve apoptozise giden, az hareketli, anormal akrozoma ve morfolojiye sahip sperm yüzdesi oldukça yüksektir (45).

Memelilerde spermatogenik seri hücrelerinin ortaya çıkması esnasında, farklılaşmış spermatogenik hücrelerin yarısından fazlası sperme dönüşmeden önce ölür, büyük olasılıkla bu apoptozisten dolayıdır. Apoptoziste en önemli değişiklikler hücrelerin nükleusunda izlenir. Kromatin nükleus membranına yakın kısımlarda yoğunlaşarak, değişik şekil ve büyüklüklerde çökerek kondanse olur. Elektron mikroskobu ile incelendiğinde; kromatinin yoğun granüler yarım ay, hilal veya yüzük şeklinde, nükleus membranının iç yüzünde yerleştiği izlenir. Nükleus da hücre gibi büzüşür. Bazen membranla sarılı olarak birkaç parçaya ayrılabilir. Işık mikroskobik seviyede apoptozis, hematoksilen eozinle (H&E) boyanmış kesitlerde; hücreler koyu eozinofilik, sitoplazmik tomurcuklu, bir veya birkaç parçalı piknotik nükleuslu olarak izlenebilir. Nükleus kromatininin nükleus membranının iç yüzüne yerleşmesi nedeniyle hilal veya yarım ay şeklinde izlenebilir (46,47).

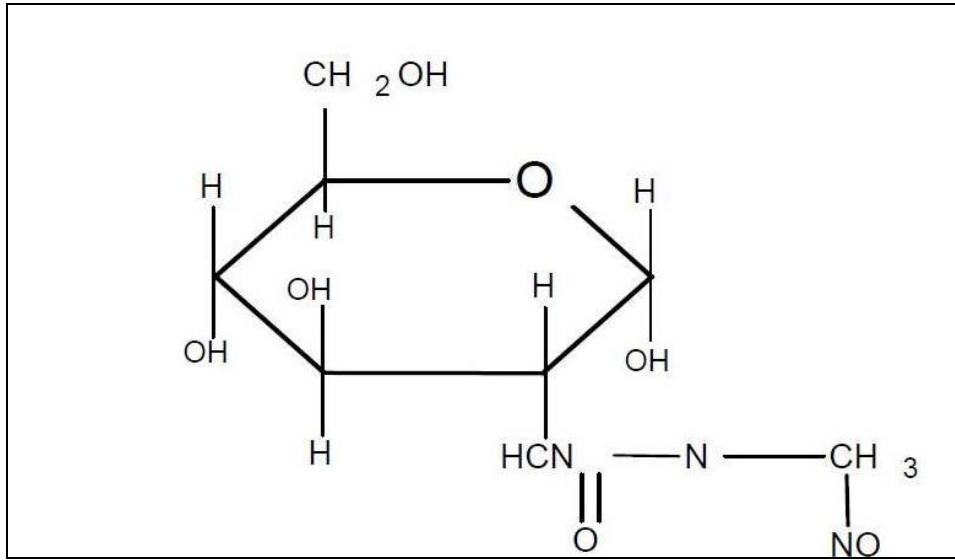
Diyabetik insan ve deney hayvanı testiküler biyopsilerinde; tübül duvarında kalınlaşma, germ hücrelerinde tükenme ve Sertoli hücrelerinde vakuolizasyon gözlemlenmiştir (48). Ayrıca DM'nin; spermatogenez, penil ereksiyon ya da ejakulattaki bozulma ile spermatogenezin endokrin kontrolünü etkileyerek, erkek üreme fonksiyonlarını azalttığı ileri sürülmüştür (49).

DENEYSEL DİYABET MODELLERİ

Deneysel diyabet modelleri, diyabete bağlı komplikasyonların tanı ve tedavisinde yaklaşımların belirlenmesi amacıyla sıklıkla kullanılmaktadır. İnsanlardaki insülin bağımlı DM'nin oluşum mekanizmalarını anlayabilmek, engelleyebilmek ve kronik diyabetin neden olduğu yan etkileri ortaya koyabilmek amacıyla deney hayvanlarında çeşitli kimyasalların veya ilaçların kullanılmasıyla deneysel diyabet modelleri oluşturulmaktadır (50,51). Bunlar arasında en yaygın olanı kimyasal ajanlarla diyabet oluşturulmasıdır. Laboratuvar hayvanlarında kimyasal diyabet yaygın olarak STZ veya alloksan enjeksiyonuyla oluşturulmaktadır. STZ veya alloksan pankreatik β hücrelerine karşı olan spesifik toksisiteleri nedeniyle diyabetojenik ajan olarak kabul edilmektedirler. Bu maddelerin mekanizmaları birbirinden farklıdır ancak her iki kimyasal da pankreas β hücrelerinde deformasyona neden olmaktadır. STZ'nin pankreas β hücrelerinde yarattığı hasar sonucu gelişen hipoinsülinemi, hiperglisemi ve doku hasarı Tip 1 ve Tip 2 diabetes mellitus için model oluşturmaktadır (52,53).

Streptozotosin

Streptozotosin insülin salgılayan β hücrelerine toksik etkisi nedeniyle diyabet modelleri oluşturmak amacıyla araştırmalarda kullanılan kimyasal bir ajandır. STZ ilk kez 1960 yılında *Streptomyces achromogenes* kültüründen elde edilmiş olup, dar spektrumlu bir antibiyotik olarak kullanılırken diyabetojenik özelliği ortaya çıkmıştır (47). Farklı doz ve uygulama biçimlerinde kullanılarak değişik diyabet modelleri oluşturulmaktadır. Şekil 2’de kimyasal yapısı gösterilen, moleküler ağırlığı 265,2 kilodalton ve formülü $C_8H_{15}N_3O_7$ olan STZ, Langerhans adacıklarının β hücreleri için özgün toksik etki gösteren bir maddedir (29).



Şekil 2. Streptozotosin’in kimyasal yapısı (54)

Streptozotosin açık sarı renkte, suda ve alkolde kolayca çözünebilen, nem ve ışığa duyarlı bir maddedir. Suda 4,5 pH’da çözünüp sabit kalmakta, bu pH’nın dışında derhal parçalanmaktadır. Önceleri antibiyotik olarak kullanılırken antitümoral etkiye sahip olduğu ve kanserojen rol oynadığı bulunmuştur. Bugün ise diyabetojenik etkisinden yararlanılmakta ve deneysel diyabet çalışmalarında kullanılmaktadır. Kan glikoz düzeyini en yüksek düzeye çıkaran STZ dozu genellikle 60-65 mg/kg’dır. Ayrıca 0 °C’de alkalın solüsyonlarda diazometana yıkılır (55). STZ’nin β hücrelerindeki etkisi kan insülin ve glikoz konsantrasyonlarındaki karakteristik değişikliklerle bir arada görülmektedir. STZ uygulandıktan sonra kan glikozunda trifazik bir yanıt oluşur. İlk 2 saat içinde kan şekeri yükselir. Bu geçici hiperglisemi karaciğerde glikojenin ani yıkımına bağlıdır ve diyabetojenik ajanı uygulamadan önce hayvan 12-18 saat süreyle aç bırakılırsa azaltılabilir veya ortadan kaldırılabilir. Hiperglisemik dönemde plazma insülin düzeyleri düşüktür. Hepatik oksijen

yıkımının epinefrin salıverilmesinin bir sonucu olabileceği düşünülmektedir. İkinci faz yaklaşık 6 saat sonra başlar ve şiddetli hipoglisemi ile karakterizedir. Genellikle diyabetojenik ilaç uygulamasını izleyen ilk 24 saat içindeki ölümlerden bu hipoglisemi sorumludur ve bu dönemde hayvana şekerli sıvı verilmesi önerilmektedir. Hipoglisemi β hücrelerinin ölümüyle birlikte aşırı miktarda insülin salıverilmesine bağlıdır; bu dönemde plazma insülin düzeyleri çok yükselmiştir. Üçüncü faz 10-12. saatlerde başlar ve bu dönem hiperglisemi dönemidir. Plazma insülin seviyeleri artık düşmüştür ve aylarca düşük olarak seyreder (30,56).

Streptozotosin ile oluşturulan diyabet sonucu fertilité, libido, proliferasyon yeteneği, testiküler sperm sayısı, hareketliliği ve testiküler ağırlık belirgin olarak azalır (45,48,57). STZ uygulamasıyla testiste germ hücre sayısında azalma, Sertoli ve Leydig hücre vakoulizasyonu, Leydig hücrelerinin sayısında ve fonksiyonunda azalma gözlenir (48). Aynı zamanda STZ uygulanması sonucu seminifer tübüllerdeki FSH, insülin, insülin benzeri büyüme faktörü-1 reseptörlerinin dağılımı da etkilenmektedir. Serum lüteinleştirici hormon (LH), FSH ve testosteron düzeyleri belirgin olarak azalmaktadır. İnsüline bağlı diyabette; insüline duyarsız hale gelen hücrelerde insüline bağlı olarak gelişen FSH azalması sonucu Leydig hücrelerinin fonksiyon ve testosteron üretiminde ve devamında LH düzeylerinde azalma gözlenir. Ayrıca sperm atımı ve fertilitesi de FSH'a bağlı olarak azalır (57).

Sonuç olarak, yapılan çalışmalarda deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiyolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir. Ayrıca uzamış oksidatif stresin ve antioksidan kapasitede görülen değişikliklerin diyabetin kronik komplikasyonlarının ortaya çıkışı ile de ilişkili olabileceği araştırmacılar tarafından vurgulanmaktadır (29,30,50,58).

MİTOJENLERİN AKTİVE ETTİĞİ PROTEİN KİNAZLAR

Sinyal ileti mekanizması; hücrenin normal işlevlerinin devamlılığı için gerekli iletişim ve etkileşimden sorumludur. MAPK'lar ekstrasellüler sinyal düzenleyici kinaz ailesinin bir üyesidir. İnsan, hayvan, böcek, bitki, mantar, tek hücreli ve mayalarda bulunan bu proteinler hücre membranından nükleusa bilgi aktarılmasında büyük önem taşımaktadır. Bu sinyal iletim kaskadları, embriyogenezis, yaşama, çoğalma, diferansiyasyon ve apoptozis işlevlerinin düzenlenmesinde rol alır (59-62).

Mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz sinyal ileti yolu hücre içerisinde birçok merkezi role sahiptir. 1987 yılında mikrotübül düzenleyici faktör olarak kısaltılan MAPK

daha sonra major aktivatörünün mitojenik büyüme faktörü olduğu ve mikrotübül düzenleyici protein dışında substratlarının olduğunun saptanmasıyla mitojenle aktive olan protein kinazlar olarak tanımlanmıştır (63).

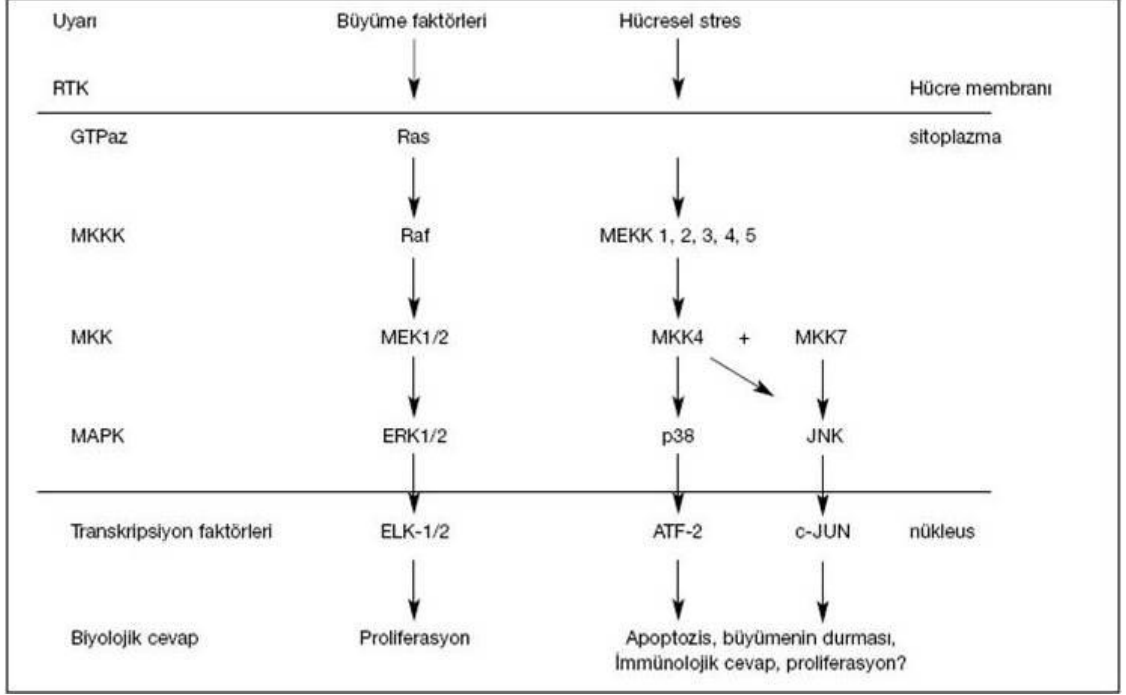
Genel olarak MAPK'lar, çekirdekte özgül genlerin transkripsiyonu ve/veya ribozomlarda gerçekleşen translasyonu stimüle edebilirler, bazı yapısal faktörlerin aktivasyonunu sağlayabilirler. Bu etkileriyle hedef hücrelerde proliferasyon, farklılaşma, hipertrofi, morfolojik değişimler, apoptozis hücre ölümünün engellenmesi, glikojen ve küçük ısı şok proteinlerinin sentezinin artırılması ve enerji metabolizmasının düzenlenmesi gibi olaylara aracılık ederler (64).

Mitojenlerin aktive ettiği protein kinazların da aralarında bulunduğu protein kinazlar sinyal iletimi sırasında protein fosforilasyonunu (aktivasyonunu) sağlarlar. Membran yerleşimli olanlar ve sitoplazmik tirozin kinazlar olarak iki kısma ayrılan bu proteinler fosforilasyona uğrayan aminoasit türüne göre ise tirozin ve serin/ treonin kinazlar olarak sınıflandırılırlar (11). Bu sınıflandırmada MAPK'lar serin/ treonin kinazlar arasında yer almaktadır (12,65).

Mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz sinyal yolu tüm ökaryotik organizmalarda üçlü kinaz şeklinde bulunur ve kısaca; MAPKKK-MAPKK-MAPK şeklinde ifade edilmektedir. Şekil 3'te gösterildiği gibi MAPK enzimleri MAPKKK-MAPKK-MAPK olarak yukarıdan aşağıya reseptör hedef şeklinde bağlantılıdır (16,66). MAPKKK'lar dıştan gelen sinyallerle aktif hale gelir ve MAPKK'ı serin/treonin motifinden fosforile eder. Aktif hale gelen MAPKK, substratı olan MAPK'nın treonin ve tirozin aminoasitlerini fosforile ederek MAPK'ı aktif hale getirir. Bu özelliklerinden dolayı MAPKK enzim ailesi treonin ve tirozini fosforile edebilen çift spesifiteye sahip kinazlar olarak da adlandırılmaktadırlar. Aktif MAPK'lar, sitoplazma ve çekirdekteki ilgili substratların serin/treonin'lerini fosforile etmek suretiyle onları aktif veya inaktif hale getirerek dışarıdan gelen sinyale göre transkripsiyon, translasyon, hücre metabolizması gibi hücrel mekanizmaların çalışmasıyla hücrel cevabın oluşturulmasını sağlarlar (67). MAPK sinyal transfer yolu enzimleri, ökaryotik hücrelerdeki gen ekspresyonunun düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadırlar. Bu protein fosforilasyon enzimleri, hücre içi iletişim ve hücre dışı uyarıların arttırılmasında ve sonuçta uygun biyokimyasal ve fizyolojik hücrel cevabın oluşturulmasında arabuluculuk yapmaktadırlar (66,68).

Mitojenlerin aktive ettiği protein kinazlar üç ana gruba ayrılır (14);

- 1- p38 sinyal iletim yolu
- 2- JNK sinyal iletim yolu
- 3- ERK sinyal iletim yolu



ATF: Activating transcription factor, **ERK:** Extracellular signal regulated kinase, **GTP:** Guanosine triphosphate, **JNK:** c-Jun N-terminal kinase, **MAPK:** Mitogen-activated protein kinase, **MEK:** Mitogen extracellular signal regulating kinase, **MEKK:** MAPK/ERK kinase kinase, **MKK:** MAPK kinase, **MKKK:** MAPK kinase kinase, **p38:** p38 kinase, **RTK:** Receptor tyrosine kinase.

Şekil 3. Mitojenlerin aktive ettiği protein kinaz ailesi ve sinyal iletimi (58)

p38 Sinyal İleti Yolu

p38; çevresel strese karşı cevap oluşturan önemli bir protein kinazdır. p38'in hedefleri arasında, transkripsiyon faktörleri, translasyon mekanizmasının komponentleri ve serin/treonin kinazlar bulunur (69). p38 yolları oksidan, ultraviyole ışın, hiperozmolarite, inflamatuvar sitokinler gibi birçok stres faktörü tarafından aktive hale gelir ve hücre döngüsünün ilerleyişi, diferansiyasyon, apoptozis ve inflamatuvar cevap gibi fizyolojik süreçlerde önemli rol oynamaktadır. Genellikle JNK ile beraber aktifleştiği bilinmektedir (70). Memeli hücrelerinde 4 tip p38 tanımlanmıştır. Bunlar; p38 α , p38 β , p38 γ ve p38 δ 'dir. Bu enzimler MAPKK3 ve MAPKK6 tarafından fosforile ve aktive edilir. MAPKK3 ve

MAPKK6; p38-MAPK aktivasyonu vasıtasıyla proapoptotik sinyaller ortaya çıkarabilir ve bu da apoptozise neden olur (71).

İnsanda p38 α öncelikle interlekin-1 (IL-1) gibi inflamatuvar sitokinlerin biyosentezini durduran piridinil imidazol sınıfı bileşenlerin ve insan monositinde uyarılmış lipopolisakkaritlerdeki tümör nekroz faktörlerin moleküler hedefleri olarak tanımlanmışlardır. İnsanlarda p38 MAPK enzim aktivasyonunun apoptozise neden olduğu ve bu durumun kanser terapisi çalışmalarında tümör hücrelerinin programlı olarak yok edilmesinde kullanılabilecekleri ileri sürülmüştür (12,72).

JNK Sinyal İletimi Yolu

Hücrel birçok olayda önemli roller oynayan JNK, hücre gelişimi, büyümesi, apoptozis ve immün cevaptan sorumludur. Hiperozmolarite, ultraviyole ışınlar ve inflamatuvar sitokinler gibi birçok stres faktörü tarafından aktive hale gelir ve hücre gelişimi, büyümesi, apoptozis ve immün cevap ile ilişkilidirler (73).

Stres faktörlerine cevap sırasında aktive olduğu için stres ile aktive olan protein kinaz (Stresin aktive ettiği protein kinase (SAPK)) olarak da bilinir. Hücre, hücre dışından gelen strese karşı, JNK'nın sağladığı bağlantı sayesinde cevap oluşturur. JNK1, JNK2, JNK3 genleri tarafından kodlanır (73). JNK sinyal ileti yolu; MKK4 ve MKK7 tarafından aktif hale getirilirler. Ayrıca hücre içerisinde birtakım zıt fonksiyonlara sahiptirler. Bu fonksiyonlardan en bilineni gerek hücrel ve gerekse çevresel birtakım stres faktörlerine maruz kaldığında apoptozisi tetiklemeleridir. Bu yolda sinyal, c-Jun'u fosforile ederek transkripsiyon faktörlerini aktive eden protein AP-1 (Aktivatör protein-1)'i etkin hale getirir. Sonuç olarak hücre proliferasyonu artar (74).

ERK Sinyal İletimi Yolu

ERK memeli hücrelerinde ilk olarak tanımlanan MAPK üyesidir ve bilinen sitoplazmik sinyal iletim yollarından birisidir. Ökaryotik hücrede hayatta kalım, proliferasyon ve diferansiyasyonu yönetir ERK yolağı ekstraselüler büyüme faktörleri tarafından aktive olup hem hücre yaşamı hem de hücre ölümü ile ilişkilidir (75,76).

İleti zinciri üç seri fosforile protein kinazdan meydana gelir; RAF, MEK, ERK. Büyüme faktörleri ve mitojenler hücre yüzey reseptörlerine bağlanarak bu yolağı aktive eder. Bu sırada GDP/GTP değişimiyle RAS ve sonrasında bir serin/treonin protein kinaz olan RAF'ın RAS tarafından aktivasyonu meydana gelir. RAF bundan sonra MEK-1 ve MEK-2'yi

aktive eder. Bu basamakların ardından ERK-1 ve ERK-2'nin aktivasyonu gerçekleşir (77). ERK fosforilasyonu sonucunda, sitoplazmik ERK nükleusa geçer ve Elk-1, Rsk, ERF, c-Myc ve Cbfa1 gibi transkripsiyon faktörleriyle kompleks oluşturur ve hücrede gen aktivasyonu oluşur (78).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

DENEKLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilen, ağırlıkları 250-300 g arasında değişen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip 30 adet Sprague Dawley erkek sıçan kullanıldı. Deney süresi boyunca, tüm deneklerimiz, optimum laboratuvar koşulları (22 ± 1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve %21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina) beslendi. Aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip deneklerimizden, vücut ağırlıkları birbirine yakın olanlar aynı grupta olacak şekilde; biri kontrol grubu (n=10), diğeri diyabet grubu (n=20) olmak üzere 2 farklı grup oluşturulmuştur. Çalışma için Trakya Üniversitesi Etik Kurulu'ndan (Ek 1) 06.08.2011 tarihinde onay alındı.

Deney hayvanları 2 gruba ayrıldı;

Kontrol grubu: Bu gruptaki sıçanlara pH'sı 4,2 olan 0,1M'lık sitrat tamponu verildi.

Diyabet grubu: Bu gruptaki sıçanlara 5 gün süre ile günlük 40 mg/kg STZ (pH' sı 4,2 olan; 0,1M'lık sitrat tamponunda çözülerek) verildi. (Deneyimizin devam ettiği sürede diyabet grubundan 6 adet denek kaybedilmiştir.)

Kimyasal yolla deneysel diyabet oluşturabilmek amacıyla STZ (Sigma Aldrich Chemicals, USA) kullanıldı. Diyabet grubunu oluşturacak olan 20 adet sıçana sitrat tamponu içerisinde eritilen STZ 5 gün süre ile günlük 40 mg/kg dozunda intraperitoneal (ip) olarak enjekte edilmiştir. STZ'nin rahat çözünebildiği ve stabilitesini koruduğu bir solüsyon olan sitrat tamponu; 4,1543 gr sodyum sitrat tribazik dihidrat (Merc, A419548, Germany) ve 2,284 gr sitrik asit monohidrat'ı (J.T. Baker, A18592, Austria) 250 ml steril distile suda çözerek hazırlanmış ve pH'sı 4.2'ye ayarlandı. STZ enjeksiyonu bittikten 2 gün sonra glukometre ile

kan glukoz düzeyleri kuyruk veninden alınan kan örnekleriyle ölçülerek hayvanların diyabet olup olmadıkları tespit edildi. Kan glukoz değerleri 250 mg/dl ve üzeri olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi. Ayrıca deneklerin kan-glukoz düzeylerine; deneye başlamadan öncesinde de kuyruk veninden alınan kan örneğiyle glukometre ile bakıldı. Aynı zamanda deneyin başında ve sonunda tüm deneklerimizin vücut ağırlıkları ile yine deney sonunda, her iki testis ağırlıkları ölçüldü.

Diyabet oluşturulduktan 4 hafta sonra, Alfamine (Ketamidol, Alfasan, Hollanda) ve Rompun (Rompun, Bayer, Türkiye) anestezisi altında, tüm deneklerin testisleri total olarak çıkarıldı ve ağırlıkları ölçüldü. Alınan testis örnekleri Bouin fiksatifinde (75 cc pikrik asit+25 cc formalin+5 cc Asetik asit) tespit edildi. Dokuların ışık mikroskopik incelemeleri için işlemlendirilmeleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarı'nda gerçekleştirildi.

IŞIK MİKROSKOBİK İNCELEME

Işık mikroskopik incelemeler için alınan testis dokuları, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvarı'nda işlemlendirildi. Bu amaçla testis dokuları Bouin fiksatoründe 4 gün fikse edildikten sonra yıkama işlemine geçildi. Dokular 2 gün %70'lik alkolde yıkanarak, dehidratasyon işlemine geçildi. Dokular artan alkol serilerinde (%70, 90, 96, 100) 1'er saat tutuldu. Dehidratasyon aşamasından sonra saydamlaştırma basamağı için dokular 3 seri 15'er dk toluol ile muamele edildi. Gömme işleminden önce dokular yumuşak parafinde 1 gece tutuldu. Bir sonraki gün testis dokuları yumuşak parafinden alınarak 1 saat sıvı sert parafinde tutularak bloklandı. Bu bloklardan Leica RM-2245 silindirik mikrotom kullanılarak 5 mikrometre (μm) kalınlığındaki kesitler alındı. Testisdeki histolojik yapı değişikliklerini ortaya koyabilmek amacıyla alınan kesitler hematoksilin eozinle (H&E) ile boyandı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japan) incelenerek bulguların fotoğrafları çekildi.

Aynı preparatların kullanımıyla, tüm deneklerin testis biyopsi materyallerinde seminifer tübül çapları, X20'lik büyütmede, oküler mikrometre kullanılarak ölçümlenmiş ve bu ölçümler, her hayvandan alınan testis kesitlerinde, yuvarlak veya yuvarlağa yakın rastgele seçilmiş 10 tübülün enine kesiti alınarak gerçekleştirildi (50).

Ayrıca hazırlanan preparatlardan 10'ar adet seminifer tübül gelişimi güzel seçilerek Olympus CX31 marka mikroskopta X40'luk büyütmede germinal epitelin düzenli olup

olmadığına ve spermatogenetik faaliyetin hangi aşamasında olduğuna bakıldı. Bunun için Tablo 1’de gösterilen Johnson Skoru kullanıldı (79).

Tablo 1. Johnson Skorlaması (79)

Skor 1	Seminifer tübüllerde hücre yok.
Skor 2	Spermatogenik hücreler yok, yalnızca Sertoli hücreleri var.
Skor 3	Sadece spermatogonyumlar var.
Skor 4	Spermatozoa veya spermatid yok, 5’ten az spermatosit var.
Skor 5	Spermatozoa veya spermatid yok; ancak spermatositler var.
Skor 6	Spermatozoa yok, 10’dan az spermatid mevcut.
Skor 7	Bol spermatid mevcut; ancak spermatozoa yok.
Skor 8	Germinal epitel çok sıralı; ancak lümende 10’dan az sayıda spermatozoa var.
Skor 9	Germinal epitelde çok sıralı; ancak düzgün olmayan görünüm mevcut, lümende obliterasyona yol açan hücre dökülmesi var.
Skor 10	Çok sıralı, bol spermatozoa ve santralde açık lümen içeren tübüller var.

İMMÜNOHİSTOKİMYASAL İNCELEME

Yapılan immünohistokimyasal incelemeler Hsu ve ark. (80) tarafından açıklanan metoda göre yapıldı. İnceleme için testis dokusundan 5 µm kalınlığında kesitler alındı ve deparafinizasyon işlemini takiben kesitler suya indirildi. Suya indirilen kesitler antijen retrieval içinde mikrodalga fırında 20 dk kaynatıldı. Oda ısısında 20 dk soğumaya bırakıldıktan sonra kesitler phosphate buffered saline (PBS) (pH 7.6) ile yıkandı. Bu aşamadan sonra hidrojen peroksidaz aktivitesinin giderilmesi için metanolde (Riedel-de Hæn 24229) hazırlanan %3’lük hidrojen peroksit (H₂O₂) ile 20 dk muamele edildi. Distile su içinde çalkalanarak kesitler PBS ile yıkandı. Özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloklamak üzere kesitlere %1 preimmün rabbit serum (Ultra V Block, LabVision, TA-015-UB) uygulandı. Daha sonra kesitler nemli chamber içinde 1/100 oranında sulandırılmış primer antikor ile 1 saat süre ile inkübe edildi. Kullanılan antikor, rabbit monoclonal total-p38 MAPK antibody (Cell Signaling, USA) ve rabbit monoclonal phospho-p38 MAPK antibody (Thr180/Tyr182 (12F8), Cell Signaling, USA) idi. Kesitler 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 20 dk sekonder antikor solüsyonunda (Biotinylated Goat Anti-Mouse, LabVision, TM-015-BN) tutuldu. 3 kez PBS’de yıkanan kesitlere 20 dk streptavidin peroksidaz solüsyonu (Streptavidin Peroxidase, LabVision, TS-015-HR) uygulandı. Kesitlere 3 kez PBS ile yıkama sonrasında 10 dk 3-amino

9-etil karbazol (AEC) kromojen solüsyonu (LabVision, TA-002-HAC) uygulaması yapıldı. Kesitler distile su ile yıkandıktan sonra 5 dk Mayer hematoksilen uygulanarak zıt boyama yapıldı. Akarsuda 5 dk yıkanan kesitler kapatma solüsyonu (Mounting Medium, LabVision, TA-060-UG) konarak lamel ile kapatıldı ve ışık mikroskobunda değerlendirmeye alındı.

Yapılan immühistokimyasal işlemlerin değerlendirilmesi; p38 boyanma indeksi oluşturarak yapıldı. İmmünohistokimyasal tekniklerle boyanan kesitler özel bir oküler skalası kullanılarak ışık mikroskobunda (Olympus CX31-Japan) değerlendirildi. Tüm gruplar için her preparatta 10 seminifer tübül seçilerek değerlendirme yapıldı. Nükleusu kırmızı boyanan hücreler pozitif olarak değerlendirildi. Boyanan ve boyanmayan hücreler sayılarak her seminifer tübül için p38 indeksi yüzde (%) olarak hesaplandı. Daha sonra tüm tübüllerin indekslerinin ortalamaları hesaplanarak her grup için p38 indeksi bulundu. Tüm bu değerlendirmeler birbirinden bağımsız iki gözlemci tarafından uygulandı.

İSTATİSTİKSEL ANALİZ

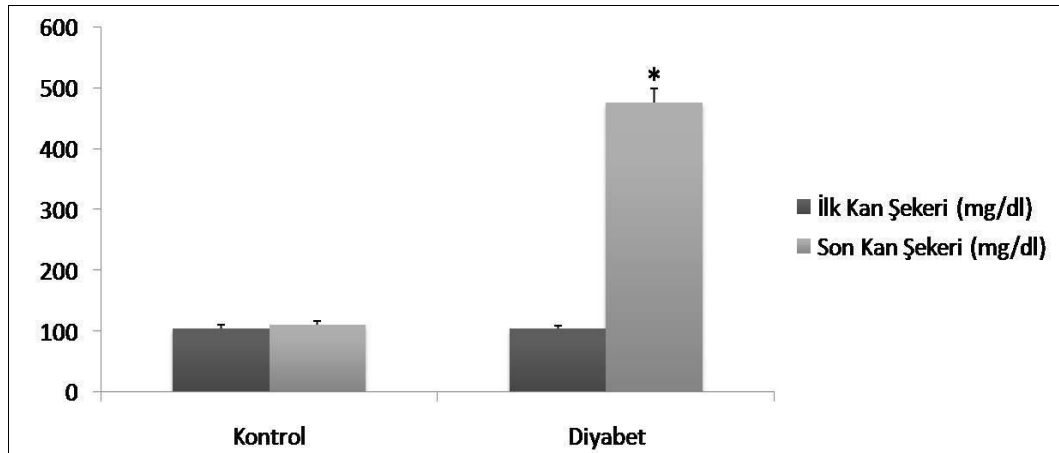
İstatistiksel analizler için, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı Bilgi İşlem Merkezi'ndeki S0064 Minitab Release 13 programı (Lisans No: WCP1331.00197) kullanıldı. Tüm veriler ortalama (\pm) standart sapma (S.S) olarak ifade edildi. Gruplar arasındaki sonuçların farklılıkları Kruskal-Wallis varyans analizi ile değerlendirildi. Anlamli fark bulunan gruplar arasındaki karşılaştırmalar için ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. $p < 0,05$ olması durumunda fark istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

BULGULAR

MORFOMETRİK BULGULAR

Kan Glukoz Düzeyleri

Hayvanlara STZ uygulaması öncesi ve sonrasında, glukometre ile kan glukoz değerleri ölçülmüştür. Kontrol ve diyabet gruplarına ait deneklerin; kan-glukoz düzeyleri değerlendirildiğinde başlangıçta tüm grupların kan glikoz seviyesinin 99-110 mg/dl arasında olduğu belirlenmiştir. Kontrol grubunun kan glikoz seviyesinde deney başlangıcından bitimine kadar istatistiksel olarak anlamlı derecede farklılık bulunmamıştır. Deney sonrası, yani STZ uygulandıktan 2 gün sonra diyabet grubunda bulunan deneklerin kan glukoz seviyesinin, diyabet oluşumunu doğrulayacak şekilde (>250 mg/dl), kontrole göre anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır ($p<0,0001$) (Şekil 4).

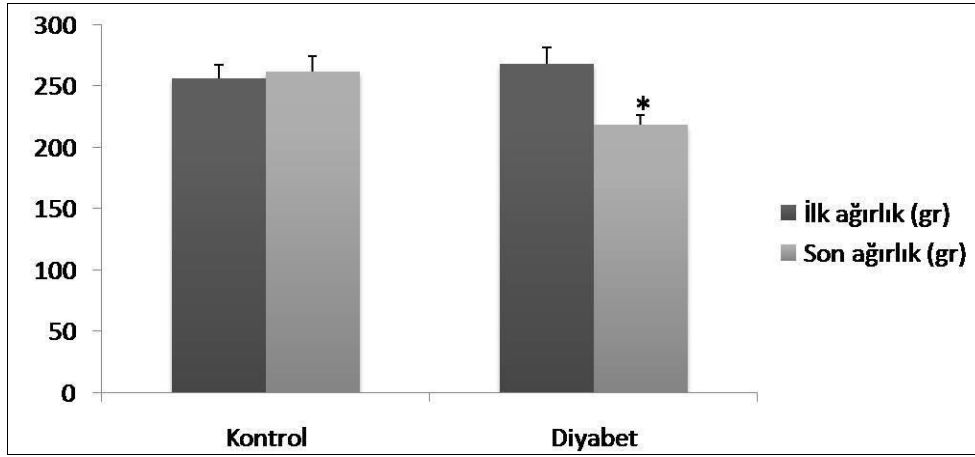


* $p<0,0001$ kontrol son kan şekeri ve diyabet ilk kan şekeri ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

Şekil 4. Kontrol ve diyabet gruplarına ait kan glukoz düzeyleri

Ağırlık Bulguları

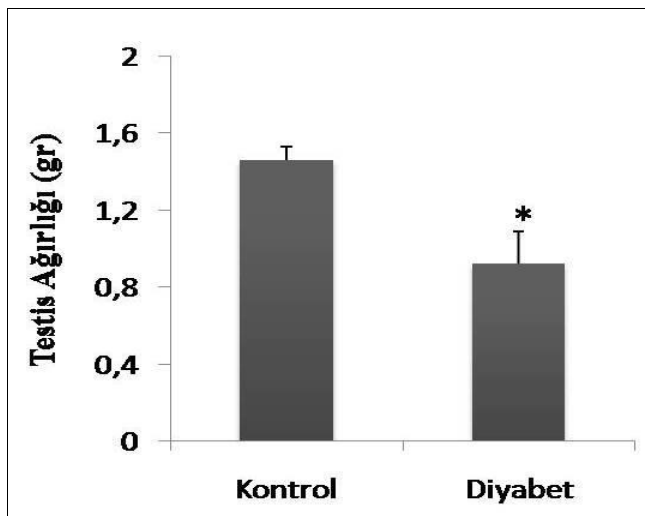
Kontrol ve diyabet gruplarına ait sıçanların ilk ve son vücut ağırlıklarının karşılaştırılması Şekil 5’de gösterilmiştir. Deney sonundaki vücut ağırlıkları kıyaslandığında kontrol grubundaki sıçanların vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmezken, diyabet grubunda ise istatistiksel açıdan anlamlı derecede azalma olduğu gözlemlenmiştir ($p<0,05$).



* $p<0,05$ diyabet grubu ilk ağırlığı ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

Şekil 5. Kontrol ve diyabet gruplarına ait vücut ağırlıkları.

Kontrol ve diyabet gruplarına ait sıçanların testis ağırlıklarının karşılaştırılması Şekil 6’da gösterilmiştir. Deney sonunda deneklerin testis ağırlıkları ölçüldüğünde diyabet grubu deneklerde kontrole göre anlamlı derecede düşüş belirlenmiştir ($p<0,01$).

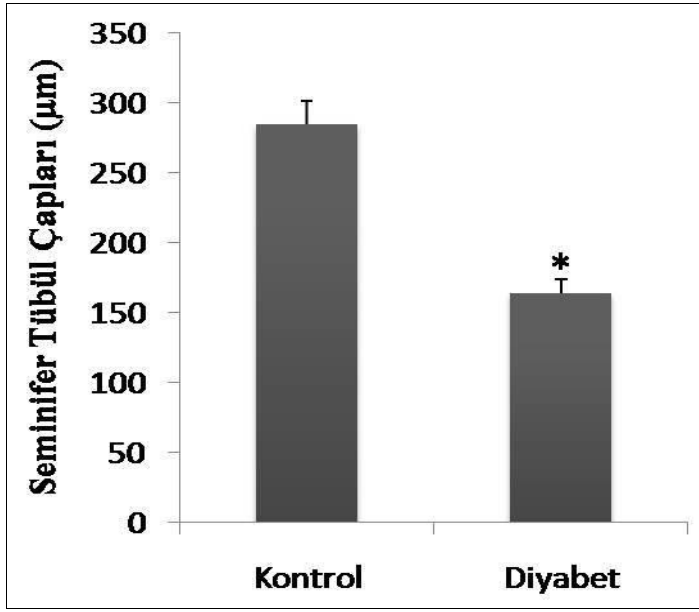


* $p<0,01$ kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

Şekil 6. Kontrol ve diyabet gruplarına ait testis ağırlıkları

Seminifer Tübül Çapları

Diyabete bağlı meydana gelen seminifer tübüllerdeki değişiklikler tübül çaplarının ölçülmesi ile gösterilmiştir. Deney sonrası kontrol ve diyabet grubu deneklerimizin seminifer tübül çapları karşılaştırıldığında; diyabet grubu deneklerimizin seminifer tübül çap değerleri, kontrol grubu değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır ($p<0,001$) (Şekil 7).

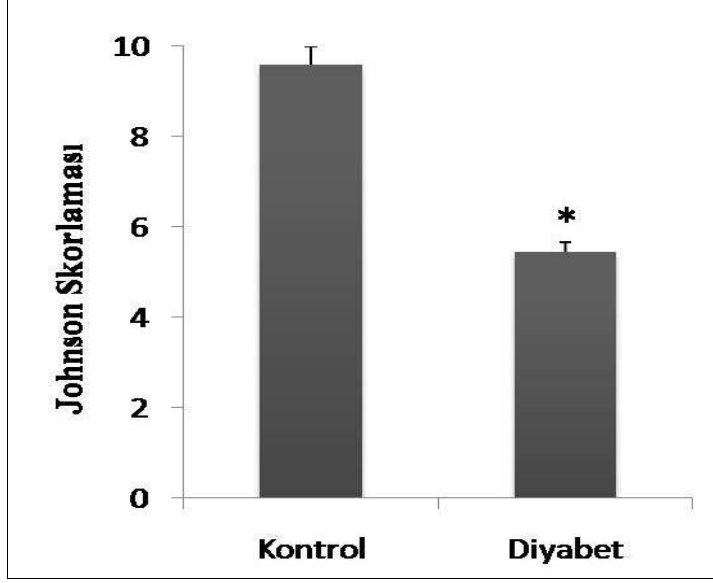


* $p<0,001$ kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

Şekil 7. Kontrol ve diyabet gruplarına ait seminifer tübül çapları

Johnson Skoruması

Kontrol ve diyabet gruplarının testis dokuları histopatolojik olarak incelenirken; seminifer tübüllerin genel yapısı, tübül içerisindeki spermatogenik seri hücrelerinin varlığı ve interstisyel alanın görünümü göz önünde bulunduruldu. Bunları değerlendirirken Johnson skoruması yöntemi kullanıldı. Her grupta rastgele 10 seminifer tübül içerisindeki spermatogenetik seri hücrelerinin hangi aşamada olduğuna ve tübüllerin yapısına bakılarak her bir tübül için ayrı bir skor verildi ve bunların istatistiksel olarak hesaplanan ortalaması ile grupların ortalama Johnson skorları belirlendi. Diyabet grubu deneklerimizin Johnson skor değerleri, kontrol grubu değerlerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştır ($p<0,001$) (Şekil 8).



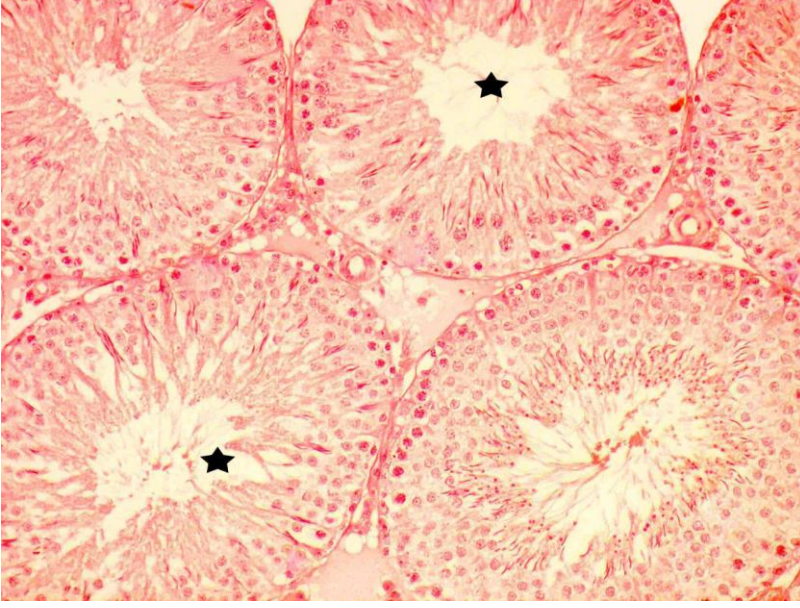
*p<0,001 kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

Şekil 8. Kontrol ve diyabet gruplarına ait Johnson Skorları

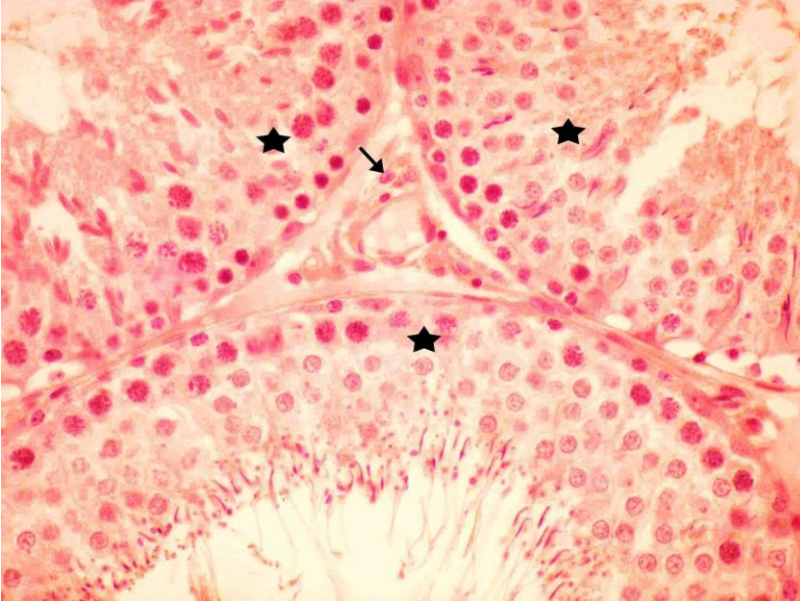
MORFOLOJİK BULGULAR

Histolojik Bulgular

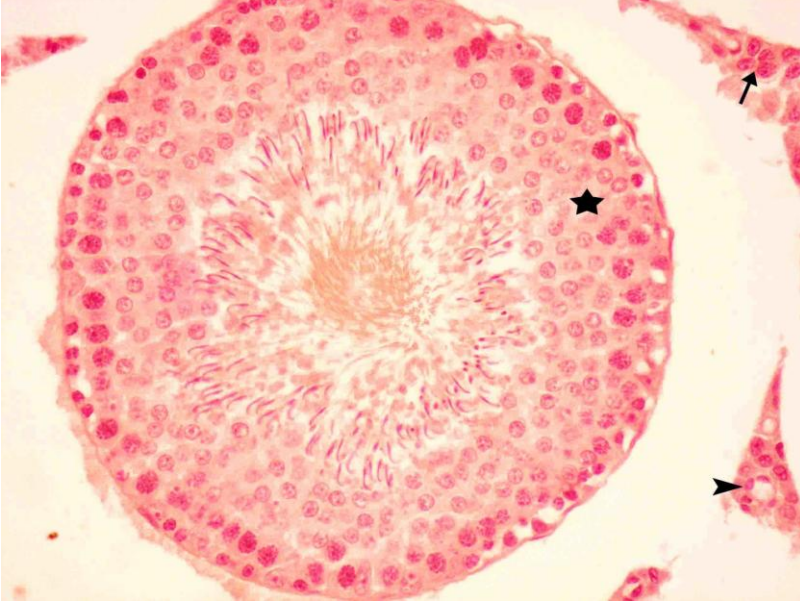
Kontrol grubuna ait ışık mikroskopik bulgular: Kontrol grubuna ait deneklerden alınan ve H&E ile boyanan testis doku kesitleri incelendiğinde dıştan bağ dokusundan tunika albuginea ile sarılı olduğu ve seminifer tübül sınırlarının düzgün olduğu gözlemlendi. Bazal membran üzerinde ise Sertoli hücreleri ile spermatogenik seri hücrelerinin varlığı belirlendi. Bu tübüllerin duvarında bazal membrandan itibaren spermatogonyumlar ile bunların üzerinde mayoz bölünme aşamasında spermatositler ile spermatidler ve lümene doğru spermiyogenezi belirleyen şekillenmekte olan ve şekillenmiş spermiyumlar izlendi. Ayrıca seminifer tübüllerin çevresinde myoid hücreler bulunmaktaydı. Seminifer tübüllerin aralarında interstisyel bağ doku yaygındı ve bu alandaki Leydig hücrelerinin normal histolojik yapıda oldukları görüldü. Çoğunlukla poligonal şekilli olan Leydig hücreleri, düzgün yuvarlağa yakın oval biçimli çekirdeği ve normal sınırlar içinde eozinofilik boyanan sitoplazması ile ayırt edildi (Şekil 9-11).



Şekil 9. Kontrol grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması. Seminifer tübüller (yıldız) yuvarlak yapıda ve bir bütün halinde görülmekte. Tübüllerin aralarındaki interstisyel alanda ise Leydig hücreleri ve kan damarları yer almakta. X200.



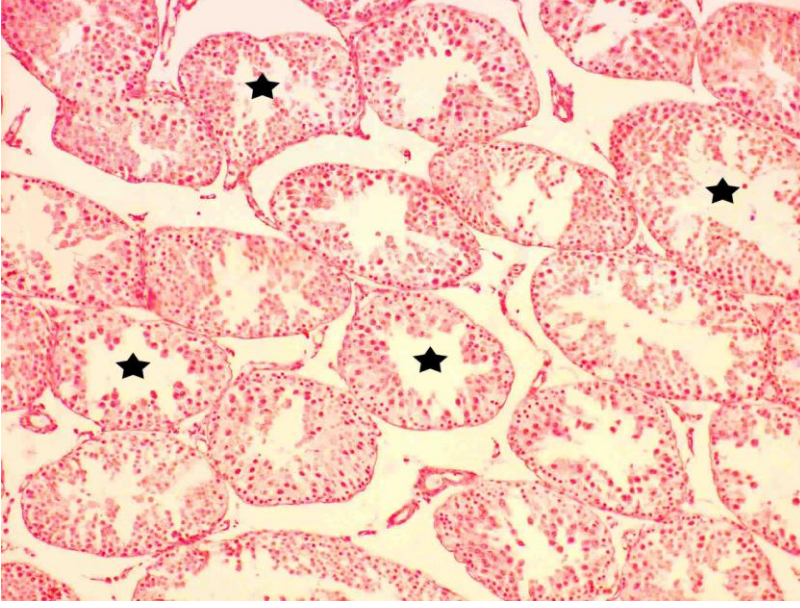
Şekil 10. Kontrol grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması. Düzgün sınırlara sahip seminifer tübüllerde düzenli dizilim gösteren spermatogenik hücreler görülmekte (yıldız). İnterstisyel alanda yerleşmiş olan poligonall şekilli Leydig hücrelerinin (ok) oval biçimli nükleusu ve eozinofilik boyanan sitoplazması dikkati çekmekte. X400.



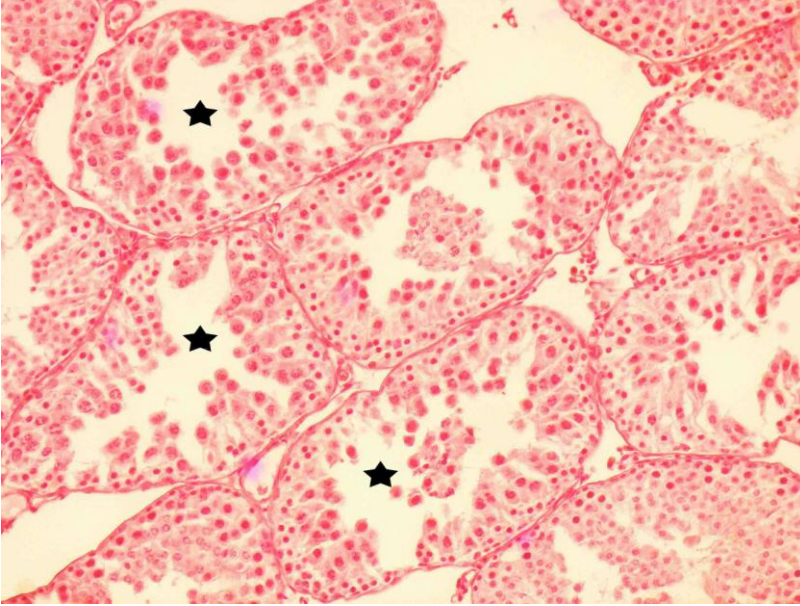
Şekil 11. Kontrol grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması. Düzgün sınırlı bir seminifer tübül ve bu tübül epitelini oluşturan spermatogenik hücreler görülmekte (yıldız). Ayrıca interstisyel alandaki düzgün, oval çekirdeğe sahip Leydig hücreleri (ok) ve kan damarları (okbaşı) izlenmekte. X400.

Diyabet grubuna ait ışık mikroskopik bulgular: Diyabet grubuna ait deneklerden alınan ve H&E ile boyanan testis doku kesitleri incelendiğinde seminifer tübüller ve interstisyel alanda kontrole göre diyabet oluşumuna bağlı bir takım değişiklikler görüldü. Bu grupta incelenen tüm testis kesitlerinde, normal seminifer tübüller yanında, hücresel yapının bozulduğu atrofik tübüller bir arada izlendi. Bu atrofik değişiklikler arasında tübüllerdeki şekil ve boyut farklılıkları en göze çarpan özellikti. Hücre tabakaları arasında boşluklar bulunmaktaydı. Primer spermatositlerden sonra hücrelerin düzeni bozulmuştu ve hücre katman sayısı azalmıştı. Ayrıca hücrelerin bazal membranlarından ayrılarak lümene döküldüğü görüldü. Bazı tübüllerde, Sertoli hücreleri ile spermatogenik seri hücrelerinin tübül duvarında var olduğu ancak bunların birbirlerinden ayrıldıkları belirlendi. Bazı Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında vakuoller gözlemlendi. Ayrıca tübüllerde invaginasyon ile birlikte primer spermatositlerden itibaren hücreler arasında boşluklar görülmekteydi. Çoğu tübülde sperm yok denecek kadar azdı. Bazı alanlarda normale yakın boyutlarda tübüller mevcut olup bunların lümeninde spermatozoa da tespit edildi.

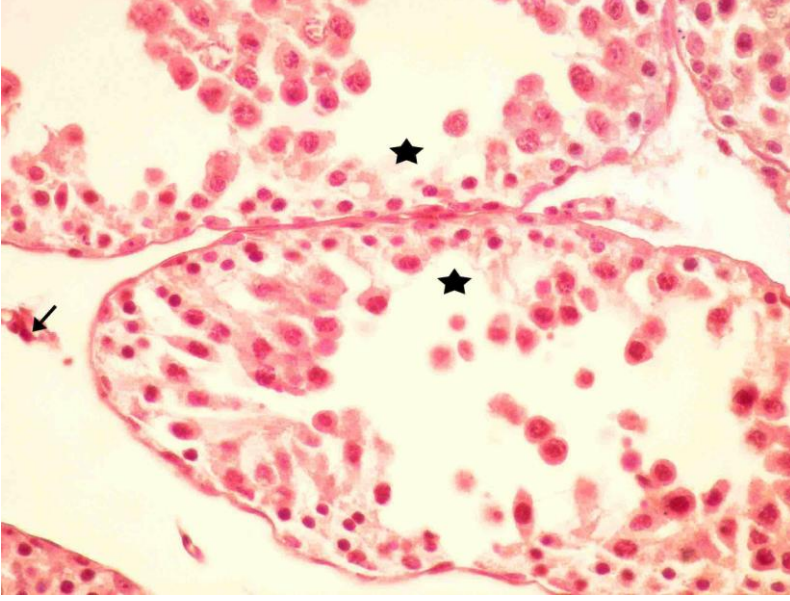
Tübül çaplarının azalmasına bağlı olarak interstisyel alandaki boşlukların arttığı gözlemlendi ve buradaki bağ dokuda parçalanmalar görüldü. İnterstisyel alandaki Leydig hücrelerinin normal poligonal yapılarının bozulduğu ve sitoplazmik kayıplarının yanında çekirdek yapılarının da düzensizleştiği izlendi (Şekil 12-15).



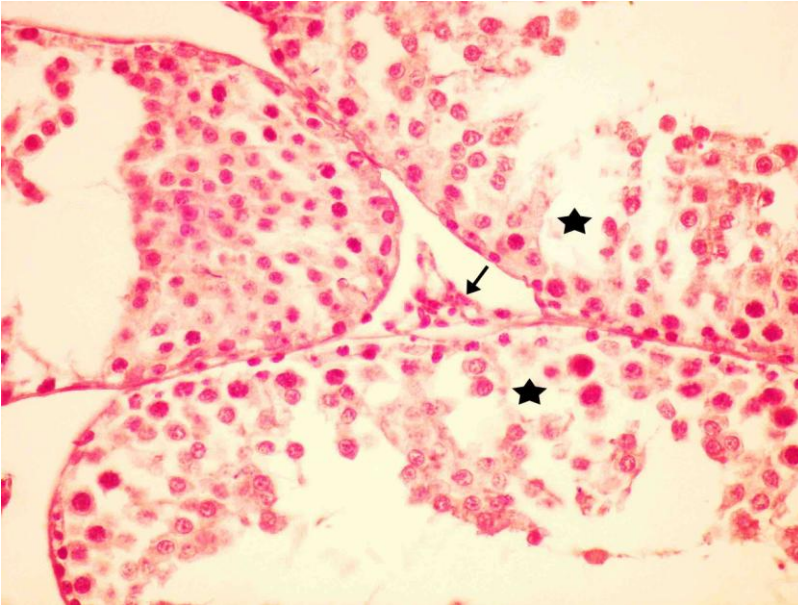
Şekil 12. Diyabet grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması. Küçük büyültmede çapları küçülmüş ve şekilleri bozulmuş seminifer tübüller (yıldız) görülmekte. Ayrıca tübül çaplarının azalmasına bağlı olarak interstisyel alandaki boşlukların arttığı da görülmekte. X100.



Şekil 13. Diyabet grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması. Çapları küçülmüş ve şekilleri bozulmuş seminifer tübüllerde (yıldız) spermatogenik hücre serilerinde belirgin kayıplar görülmekte. X200.



Şekil 14. Diyabet grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması. Seminifer tübüllerdeki (yıldız) spermatogenik hücre diziliminin bozulduğu, hücrelerin bazal membranlarından ayrıldığı, Sertoli hücreleri arasında boşlukların görüldüğü ve kopan bazı hücrelerin lümeneye döküldüğü görülmekte. Leydig hücrelerinin sitoplazmalarındaki kayıp ve çekirdek yapılarındaki düzensizlikler dikkati çekmekte (ok). X400.



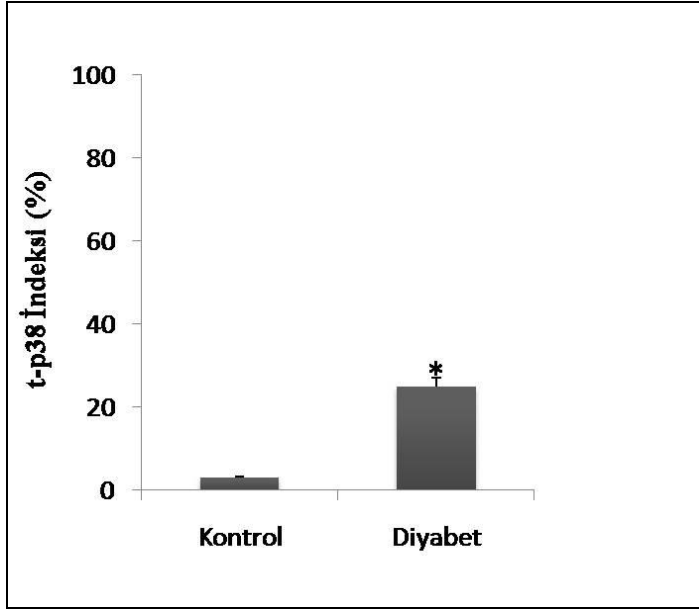
Şekil 15. Diyabet grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması. Spermatogenik seri hücre diziliminin ciddi derecede hasar gördüğü seminifer tübüllerde hücre tabakaları arasında boşluklar görülmekte (yıldız). Leydig hücrelerinin de şeklinin bozulduğu dikkati çekmekte (ok). X400.

İmmünohistokimyasal Bulgular

Kontrol ve diyabet gruplarının testis bloklarından hazırlanan kesitlere immunohistokimyasal yöntemle t-p38 ve f-p38 antikoları uygulanarak dağılımları araştırıldı. Bu kesitler incelendiğinde kontrol ve diyabet grupları arasında belirgin farklılıklar olduğu görüldü.

t-p38 İmmünboyanması: t-p38 immünboyanmaları hücrelerin nükleuslarında gerçekleşti.

Kontrol ve diyabet gruplarına ait testis dokularında t-p38 immünboyanma pozitif hücre sıklığı t-p38 indeksine göre değerlendirildiğinde diyabet grubunda kontrol grubuna göre bir artış olduğu görüldü ($p<0,001$) (Şekil 16).

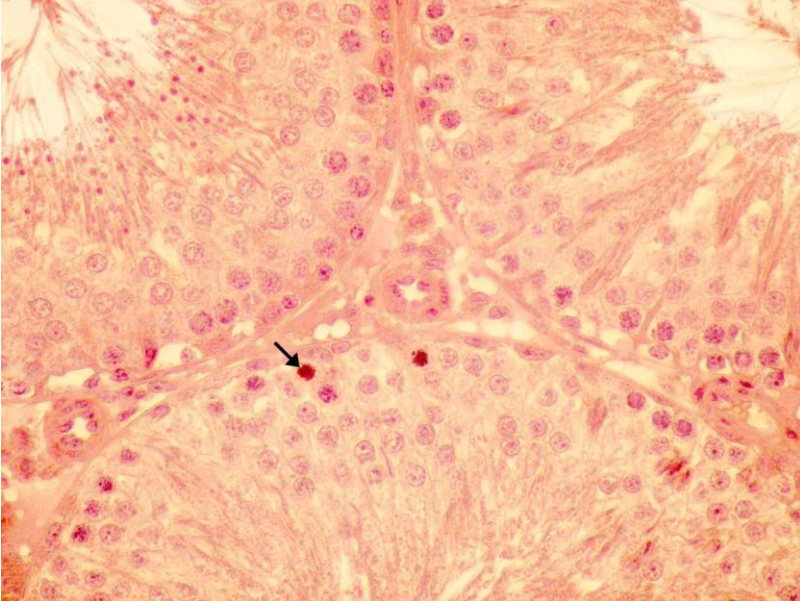


* $p<0,001$ kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

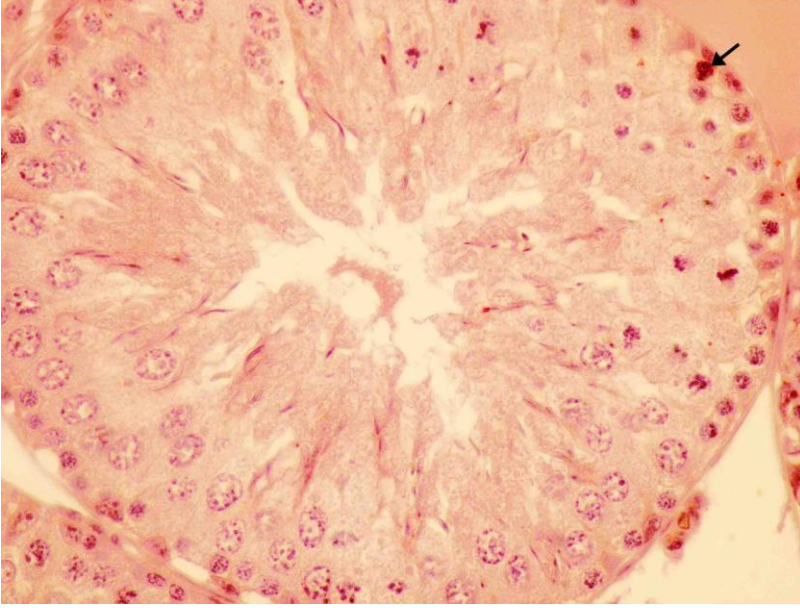
Şekil 16. Kontrol ve diyabet gruplarında t-p38 indeks değerleri

Kontrol grubuna ait sıçanların testis kesitleri incelendiğinde; seminifer tübüllerdeki az sayıda primer spermatositte düşük yoğunlukta t-p38 immünboyanması gözlemlendi. Sertoli hücreleri, spermatogonyumlar ve spermatidler ile interstisyel alandaki Leydig hücrelerinde ise boyanma gözlemlenmedi (Şekil 17,18).

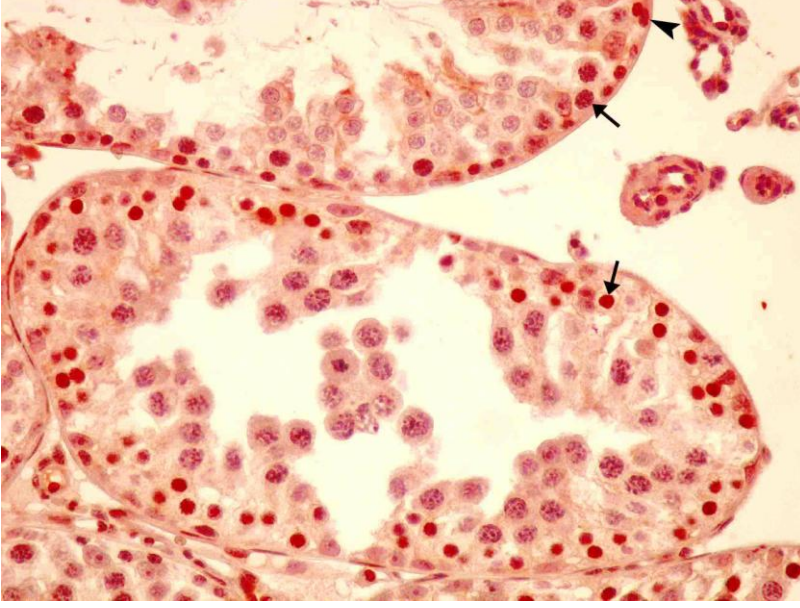
Diyabet grubuna ait sıçanların testis kesitleri incelendiğinde ise; kontrol grubuna oranla daha fazla hücrede t-p38 immünboyanması saptandı. Sertoli hücreleri, spermatidler ve Leydig hücrelerinde pozitifite görülmezken, primer spermatositler ve az sayıda spermatogonyumda pozitifite saptandı (Şekil 19,20).



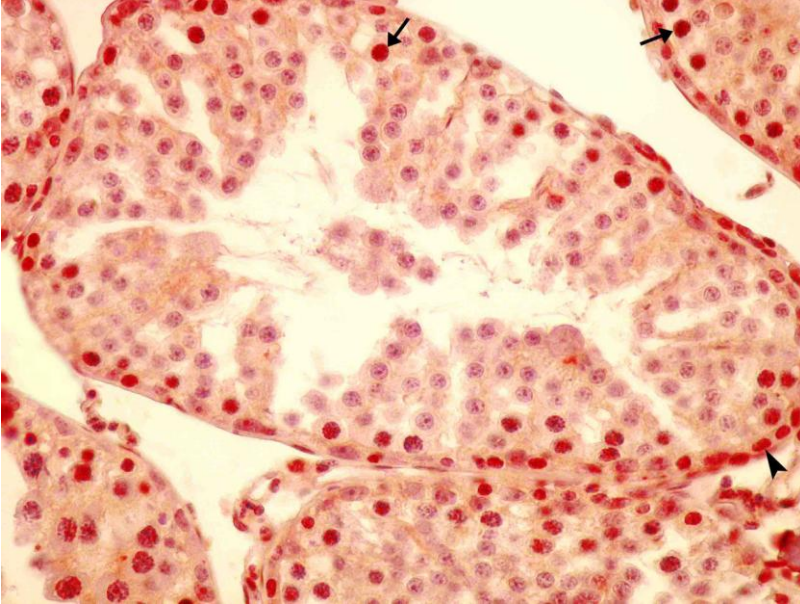
Şekil 17. Kontrol grubuna ait testis kesitinde t-p38 immünboyaması. Seminifer tübüllerdeki az sayıda t-p38 pozitif primer spermatozitler (ok) görülmekte. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması. X400.



Şekil 18. Kontrol grubuna ait testis kesitinde t-p38 immünboyaması. Seminifer tübüllerde az sayıda t-p38 pozitif primer spermatozit (ok) görülmekte. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması. X400.



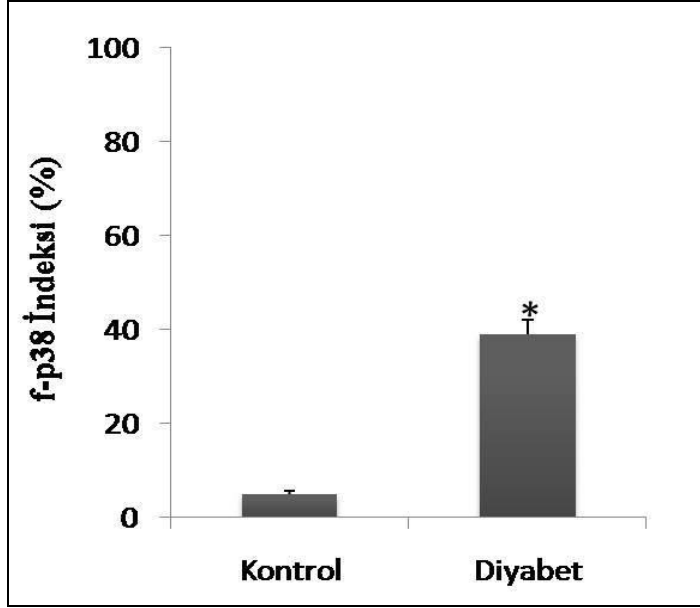
Şekil 19. Diyabet grubuna ait testis kesitinde t-p38 immünboyaması. Seminifer tübüllerde kontrole göre fazla sayıda t-p38 pozitif primer spermatozoid (ok) ve spermatozoid (okbaşı) görülmekte. İmmünoperoksidaz, hematozilen zıt boyaması. X400.



Şekil 20. Diyabet grubuna ait testis kesitinde t-p38 immünboyaması. Seminifer tübüllerde kontrole göre fazla sayıda t-p38 pozitif primer spermatozoid (ok) ve spermatozoid (okbaşı) görülmekte. İmmünoperoksidaz, hematozilen zıt boyaması. X400.

f-p38 İmmünboyanması: f-p38 immünboyanmaları hücrelerin nükleuslarında gerçekleşti.

Kontrol ve diyabet gruplarına ait testis dokularında f-p38 immünboyanma pozitif hücre sıklığı f-p38 indeksine göre değerlendirildiğinde diyabet grubunda kontrol grubuna göre bir artış olduğu görüldü ($p<0,0001$) (Şekil 21).

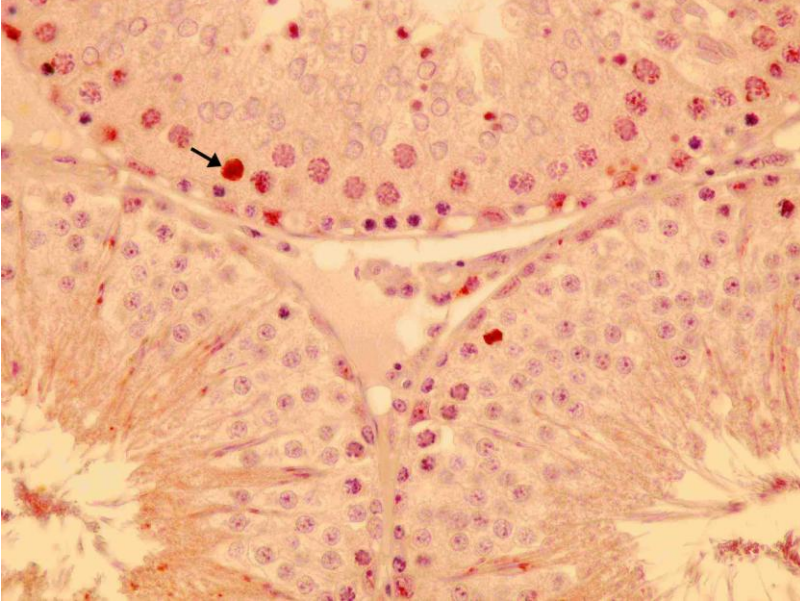


* $p<0,0001$ kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı farklılık belirlenmiştir.

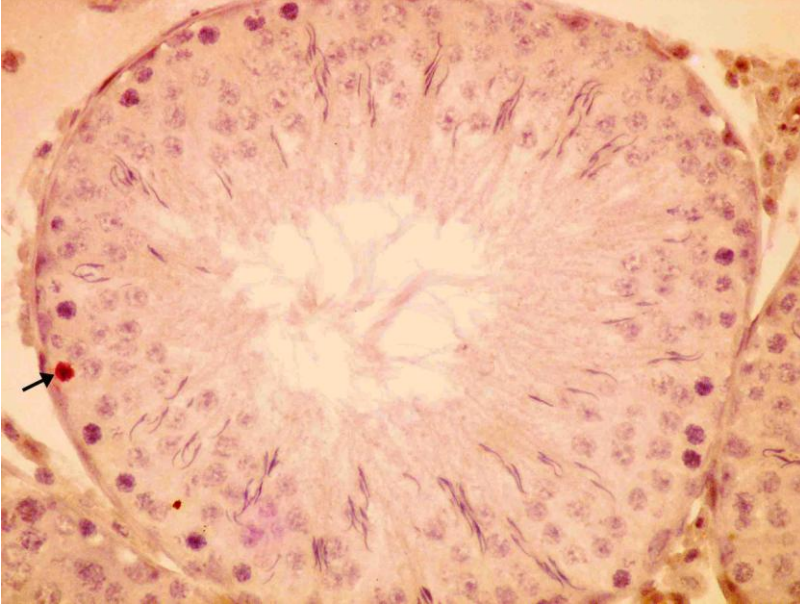
Şekil 21. Kontrol ve diyabet gruplarında f-p38 indeks değerleri

Kontrol grubuna ait sıçanların testis kesitleri incelendiğinde; seminifer tübüllerdeki az sayıda primer spermatozitte düşük yoğunlukta f-p38 immünboyanması görüldü. Ancak pozitif hücre sayısı t-p38 immünboyanmasına oranla daha fazla idi. Sertoli hücreleri, spermatogonyumlar, spermatidler ve Leydig hücrelerinde ise boyanma saptanmadı (Şekil 22,23).

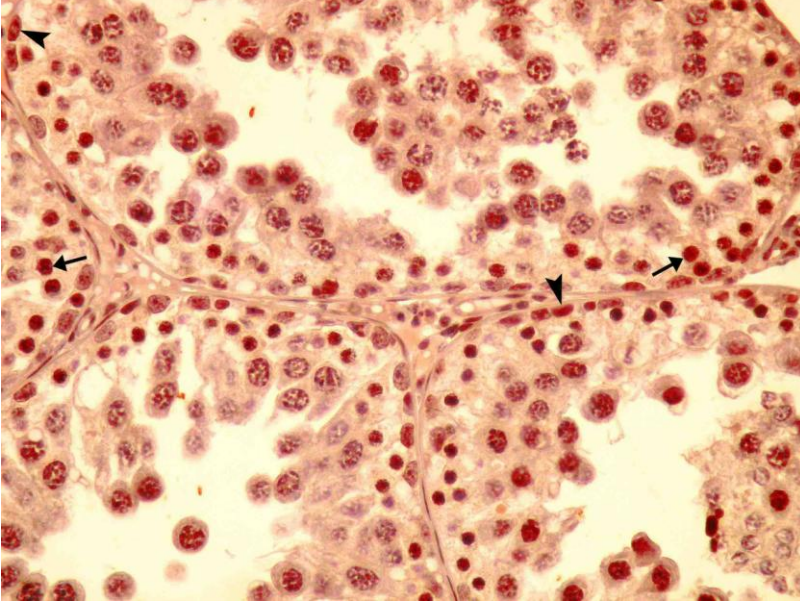
Diyabet grubuna ait sıçanların testis kesitleri incelendiğinde ise; hem kontrol hem de t-p38'in diyabet grubu immünboyanmasına göre daha fazla hücrede f-p38 immünboyanması saptandı. Pozitivite daha çok primer spermatozitler olmak üzere spermatogonyumlarda da gözlemlendi. Sertoli hücreleri, spermatidler ve Leydig hücrelerinde ise herhangi bir boyanma gözlenmedi (Şekil 24,25).



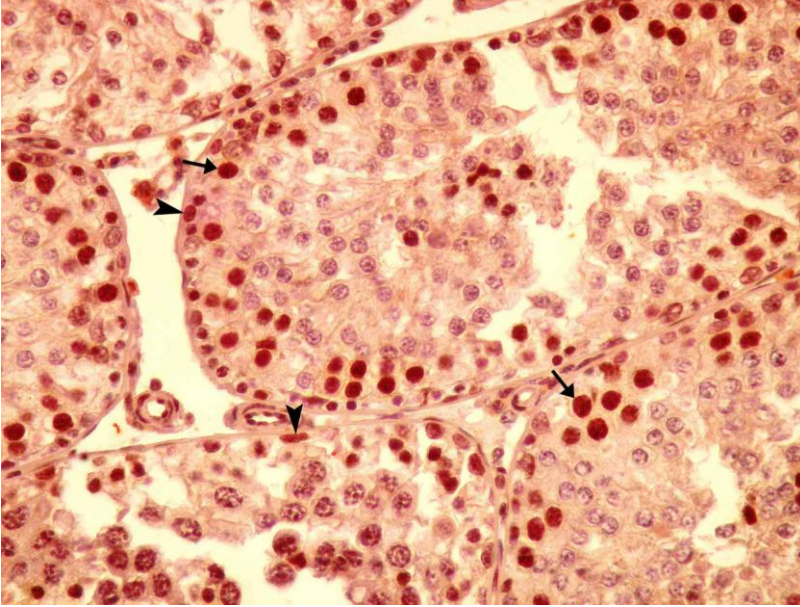
Şekil 22. Kontrol grubuna ait testis kesitinde f-p38 immünboyaması. Seminifer tübüllerdeki az sayıda f-p38 pozitif primer spermatozitler (ok) görülmekte. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması. X400.



Şekil 23. Kontrol grubuna ait testis kesitinde f-p38 immünboyaması. Seminifer tübüllerde az sayıda f-p38 pozitif primer spermatozit (ok) görülmekte. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması. X400.



Şekil 24. Diyabet grubuna ait testis kesitinde f-p38 immünboyaması. Seminifer tübüllerde kontrole göre fazla sayıda f-p38 pozitif primer spermatozit (ok) ve spermatozonyum (okbaşı) görülmekte. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması. X400.



Şekil 25. Diyabet grubuna ait testis kesitinde f-p38 immünboyaması. Seminifer tübüllerde kontrole göre fazla sayıda f-p38 pozitif primer spermatozit (ok) ve spermatozonyum (okbaşı) görülmekte. İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması. X400.

TARTIŞMA

Diabetes Mellitus, hiperglisemi, ve glukozüri ile kendini gösteren, hem akut hem de kronik komplikasyonlarla seyreden, dünyada ve ülkemizde giderek artan, sürekli kontrol ve tedavi gerektiren bir hastalıktır. DM'nin etiopatogenezi ile ilgili araştırmalar, hastalığın hiperglisemi ile karakterize pek çok durumu içine alan bir sendrom olduğunu ortaya koymuştur (35).

Diyabetin vücudun tüm organlarına primer ya da sekonder dönemlerde olmak üzere zarar verdiği bilinmektedir. Görülen bu erken ve geç dönem komplikasyonlar genelde diyabetli hastalarda kardiyomiyopati, retinopati, nefropati ve nöropatilerdir. Bunlarla birlikte diyabetin hem erkek hem de dişi bireylerde üremeyle ilgili rahatsızlıklara da neden olduğu bilinmektedir (81).

Deneysel hayvan çalışmalarında, insandakine benzer diyabet oluşturmak için kullanılan N-nitroso türevi D-glukozamin yapısındaki STZ, oksidan maddeler meydana getirerek Langerhans adacıklarını selektif olarak tahrip ederek diyabeti başlattığı düşünülmektedir. DM'li insanlarda olduğu gibi, STZ diyabetik sıçanlarda da gözler, böbrekler, kan damarları ve sinir sisteminde hasarlar oluşturur (82).

Oksidatif stres pek çok hastalığın patogenezinde rol oynadığı gibi diyabet ve komplikasyonlarının oluşumunda da önemli rol oynar (83). Oksidatif stres serbest oksijen radikallerinin oluşumu ve bunları ortadan kaldırmakla görevli enzimlerin aktivitelerinin bozulması sonucu meydana gelmekte, dolayısıyla hücrenin enerji metabolizmasının en önemli üyesi olan mitokondri başta olmak üzere tüm hücre organellerinin ve hücrenin kalıtsal materyali olan DNA'nın zarar görmesine sebep olmaktadır (58). Oksidatif stresin hücrenin genetik materyalinde meydana getirmiş olduğu bu zarar, DNA'nın kendini replike etmesinde

dolayısıyla hücre bölünmesinde bir engel teşkil etmekle kalmayıp, çoğu zaman hücreyi apoptozise kadar götüren bir süreci başlatmaktadır. Bu durum diyabetin üremeyle ilgili fonksiyonların gerçekleştiği dişi ve erkek ürogenital sistemlerinde disfonksiyona sebep olmaktadır (84). Yapılan çalışmalarda deneysel olarak diyabet oluşturulan sıçanlarda ve diyabetik hastalarda serbest oksijen radikallerinin ve lipid peroksidasyonunun önemli derecede arttığı ve oksidatif stresin diyabet etiolojisinde ve ilerlemesinde rolü olduğu bildirilmiştir. (29,30,50,58).

Araştırmacılar deneysel diyabet oluşturmak için STZ ya da alloxan gibi farklı ajanları, farklı doz ve sürelerde kullanmışlardır. Yetişkin sıçanlarda insüline bağımlı diyabet, çoğunlukla, 40-60 mg/kg STZ'nin tek doz intravenöz (i.v) veya en az 40 mg/kg i.p olacak şekilde enjeksiyonu yapılarak oluşturulmaktadır (85,86). Pek çok araştırmacı tarafından subdiyabetojenik tekrarlayan STZ uygulamaları (5 gün süreyle 40 mg/kg intraperitoneal), deneysel Tip I diyabet modeli olarak kabul görmüştür (48,87). Yine yapılan araştırmalarda STZ uygulaması bittikten 2 gün sonra kan glukoz değerleri ölçülen ve 250 mg/dl üzeri olanlar diyabetik denekler olarak kabul edilmiştir (88,89). Biz de çalışmamızda literatürlere uygun olarak 5 gün süreyle günlük 40 mg/kg STZ'yi i.p olarak uygulamış olup, STZ uygulaması bittikten 2 gün sonra model oluşum kontrolü amaçlı kuyruk veninden kan örnekleri alındı ve kan glukoz düzeyleri 250 mg/dl üzeri olan hayvanlar diyabetik olarak kabul edildi.

Erkek üreme sisteminin bir organı olan testisin başlıca görevi cinsiyet hormonları ile üreme hücreleri olan spermeleri üretmektir. Testis fonksiyonları, sinirsel, hormonal ve bu organda üretilen hormonların miktarlarına bağlı olarak düzenlenmektedir. STZ ile diyabet oluşturulan modellerde androjen reseptörlerinin testiste, epididimide ve prostat bezinde azaldığı gösterilmiştir. Androjen reseptörlerinin azalmasının da, diyabetik sıçanlarda hormon sentezinde ve seksüel fonksiyonlarda bozukluklara neden olduğu söylenmiştir (90). Yapılan çalışmalarda, diyabetik bireylerde ereksiyon bozukluğu ile birlikte birlikte, sperm sayısında, hareketliliğinde ve kalitesinde, ayrıca, testis ağırlığında azalma gibi anormallikler olduğu gösterilmiştir (48). Koh ve ark. (8,9)'nın yaptıkları çalışmalarda diyabet grubunda bulunan sıçanların deney sonlandırıldıktan sonra testis ağırlıklarının anlamlı derecede azaldığı gösterilmiştir. Yine yapılan başka çalışmalarda diyabetten sonra vücut ve testis ağırlıklarında anlamlı derecede değişimler rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda da, literatürler ile uyumlu olarak diyabet sonrasında hem vücut ağırlıklarında hem de testis ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmalar saptanmıştır (91-93).

Diyabetin testisteki seminifer tübül çaplarına etkisi daha önce yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (91-93). Bizim alışmamızda da diğer araştırmalarla uygun olarak kontrol grubu seminifer tübül çapları ile diyabet grubundaki seminifer tübül çapları arasında anlamlı derecede fark olduğu grlmştir. Ayrıca diyabetin seminifer tübüllerdeki germinal epiteli nasıl etkilediği Johnson skoru ile gösterilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalara (91,92,94,95) uyumlu olarak bizim çalışmamızda da diyabetik sıçanların Johnson skoru ortalamasının kontrol grubunun ortalamasına göre azalmış olduğu bulunmuştur. Johnson skoru ortalamasındaki bu düşüş, diyabetin testis dokusuna verdiği hasarı histolojik olarak göstermektedir.

Diyabetin, gonadal fonksiyonları etkileyerek, düşük testosteron düzeyleri, testiküler disfonksiyon ve yetersiz spermatogenez oluşturduğu insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir (2-6). Diyabete bağlı olarak testislerde, tunika albugineada, seminifer tübüllerde, interstisyel bağ dokusu içinde ve Leydig hücrelerinde histolojik değişiklikler izlenmektedir (4,7). Bunlara ek olarak diyabetik testislerin seminifer tübüllerinin duvarlarında kalınlaşmaların, Sertoli hücrelerinde vakuolizasyonun olduğu, üreme hücrelerinin sayıca azaldığı gösterilmiştir (48). Yine yapılan başka çalışmalarda STZ ile oluşturulmuş deneysel diyabette testiste tübüler atrofi izlenmiştir (3,4,7,91,92,96).

Kara (95)'nin yapmış olduğu çalışmada, diyabetik testis dokusunda seminifer tübüllerin çoğunda atrofik değişiklikler gözlenmiştir. Ayrıca hücrelerin bazal membrandan ayrılarak lümene döküldüğü grlmştir. Tübüllerin bazılarında spermatozoa bulunduğu bazılarında ise bulunmadığı bildirilmiştir. Kapucu (97)'nin yapmış olduğu bir başka çalışmada ise diyabet grubuna ait hayvanların testislerinde, bağ dokusunda azalma meydana geldiği, seminifer tübüllerde invaginasyon ile tübülün tabakalaşma düzeninin bozulduğu, tübülün hücre tabakaları arasında boşluklar oluştuğu ve bazı hücrelerin lümene atıldığı rapor edilmiştir. Ricci ve ark (93), kontrol grubunda görülen Sertoli hücrelerinin bazal membran üzerindeki normal diziliminin diyabet grubunda görülmediğini belirtmişlerdir. Ayrıca spermatogenetik hücrelerin sağlıklı hayvanlarda düzgün bir yapılanmaya sahipken, diyabetik hayvanlarda bu düzgün yapının bozulduğunu göstermişlerdir. Öztürk ve ark. (98)'nin yapmış olduğu çalışmada diyabet grubu sıçanlarda, testiküler atrofisinin olduğu ve seminifer tübüllerdeki spermatogenik seri hücreleri ile Sertoli hücrelerinde değişik derecelerde kayıplar izlendiği bildirilmiştir. Ayrıca bazı seminifer tübüllerde çok çekirdekli dev hücrelerin izlendiği belirtilmiştir. Kanter ve ark. (91,92) yaptıkları çalışmalarda da diyabet sonucunda seminifer tübül çapındaki azalmayla birlikte tübül yapısının bozulduğu ve spermatogenik seri hücreleri

arasında kopmaların meydana geldiğini bildirmişlerdir. Yapılan diğer çalışmalarda da diyabete bağlı olarak seminifer tübüllerde meydana gelen hasarlar gösterilmiştir (3,94).

Bizim çalışmamızda da literatürlerle benzer olarak kontrol grubuna ait sıçanların seminifer tübülleri normal ve düzenli olarak bulunurken, diyabet grubunda atrofik değişikliklere rastlanmıştır. Seminifer tübüllerin yapısında bozulmaların olduğu, germinatif epitelin bağ dokudan ayrıldığı, tübül duvarında invaginasyonların görüldüğü, primer spermatozoidlerden itibaren seminifer tübül epitel hücreleri arasında boşluk oluştuğu görülmüştür. Tüm bu değişiklikler diyabetin testiste oluşturduğu hasarı göstermektedir.

İnsülinin testosteron salınımını hormonal olarak düzenlediği, kan insülin düzeyinin azalmasının testosteron düzeyinin düşmesine neden olduğu, insanlarda ve deney hayvanlarında gösterilmiştir (99,100). İnsülinin testostere etkisi, LH ve FSH salgılanmasını baskılayarak olmaktadır (3). Testosteron, Leydig hücreleri tarafından sentezlenerek salgılanır. LH, Leydig hücrelerinin reseptörlerine bağlanır ve bu salgılanmayı uyarır. Testosteron hem Sertoli hücrelerinin fonksiyonlarının gerçekleşebilmesi için, hem de spermatogenezin oluşabilmesi için gereklidir. Sertoli hücrelerinden FSH stimülasyonu ile salgılanan androjen bağlayıcı protein, seminifer tübüllerde testosteronun tutulmasını sağlar (101). Testosteron düzeyinin düşmesi diyabette izlediğimiz testiküler atrofiyi açıklamaktadır. Leydig hücrelerindeki fonksiyon bozukluğunun, STZ'nin doğrudan toksik etkisi sonucu oluşabileceği üzerinde de durulmuştur. Ancak STZ uygulanmayan, spontan diyabetik sıçanlarda da Leydig hücre disfonksiyonu geliştiği izlenmiştir (102). Ayrıca, STZ ile diyabet yapılmış sıçanlara dışarıdan insülin verildiğinde testosteron düzeylerinde artış saptanmıştır (7). Tüm bunlara bağlı olarak diyabette seminifer tübüllerdeki dejenerasyon yanında interstisyel dokunun Leydig hücrelerinde de diyabete bağlı olarak morfolojik ve fonksiyonel değişiklikler meydana geldiği bildirilmektedir (4,103). Ancak Foglia ve ark. (104) ise diyabetin spermatogenez ve spermiyogenezini engellemesinin yanında Leydig hücrelerinde bir farklılık oluşturmadığını belirtmektedir. Sunulan bu çalışmada ise literatürlerin çoğu ile uyumlu olarak interstisyel alandaki Leydig hücrelerinin yapılarının bozulduğu, sitoplazmalarında kayıpların ve çekirdek yapılarında ise düzensizliklerin olduğu izlendi.

MAPK'lar, "Mitojen aktive edici protein kinaz" süper ailesinde yer alırlar (59). Ökaryotik hücrelerin tümünde mevcut olan bu proteinler hücre membranından çekirdeğe bilgi aktarılmasında çok önem taşımaktadır. Genel olarak MAPK'lar çekirdekte özgül genlerin transkripsiyonu ve/veya ribozomlarda gerçekleşen translasyonu stimüle edebilirler, bazı yapısal faktörlerin aktivasyonunu sağlayabilirler. Bu sinyal iletim kaskadları hedef hücrelerde,

morfolojik değişimler, yaşama, proliferasyon, diferansiyasyon ve apoptozis işlevlerinin düzenlenmesinde rol alır (64). Üç alt tipinden birisi olan p38; çevresel strese karşı cevap oluşturan önemli bir düzenleyicidir (14,69). p38, ultraviyole ışınları, sodyum arsenat, ısı şoku, bakteriyel lipopolisakkarit, proinflamatuvar sitokinler gibi birçok çevresel faktöre bağlı olarak aktive olur (105).

Daha önce yapılan deneysel diyabet çalışmalarında p38'in rolü ortaya konulmuştur. Ancak p38'in diyabetik testis üzerindeki etkileri bu zamana kadar immünohistokimyasal olarak gösterilmemiştir. Bununla birlikte Zhao ve ark. (96) 2011 yılında yaptıkları bir çalışmada, diyabetik testiste p38 dağılımını western blot tekniğiyle göstermişlerdir ve diyabet sonucunda hem t-p38 hem de f-p38 düzeyinin arttığını bildirmişlerdir. Komers ve ark. (106)'nın yaptıkları bir çalışmada, diyabetik böbrekte immünohistokimyasal olarak total ve fosfo p38 dağılımı gösterilmiştir. Diyabet nedeniyle artan oksidatif stres sonucunda p38 dağılımında kontrole göre bir artış görülmüştür. Bununla beraber f-p38 boyanma yoğunluğunun hem proksimal ve distal tübüllerde hem de malpigi cisimciğindeki hücrelerde t-p38 boyama yoğunluğundan fazla olduğu gösterilmiştir. Yine yapılan başka çalışmalarda deneysel nefropati sonucunda p38 düzeylerinde kontrole göre bir artış gösterilmiştir (107,108). Bu çalışmalardan başka doksorubisinin indüklediği testiküler hasarda seminifer tübüllerde yoğun bir p38 immünboyanması gösterilmiştir (109). Yine sisplatin sonucu oluşan testis hasarında seminifer tübüllerdeki germinal epitelde p-38 immünboyanması gösterilmiştir (65). Ranawat ve Bansal (110)'ın yaptığı bir çalışmada selenyum eksikliğinde spermatogonyumlarda, primer spermatozoidlerde, yuvarlak ve uzun spermatidlerde yoğun bir p38 immünboyanması görülmüştür. Lizama ve ark. (111)'nin çalışmasında hipertermi sonucunda f-p38 aktivitesinin bazı spermatogonyumlar ve lümene yakın pakiten evresindeki spermatozoidlerde olduğu bildirilirken, Johnson ve ark (112) ile Jia ve ark (113)'nin yaptıkları çalışmalarda f-p38 pozitifitesinin sadece pakiten spermatozoidlerde olduğu gösterilmiştir ve bu hücrelerin apoptozise gittiği söylenmiştir. Vera ve ark. (114)'nin yaptıkları çalışmada ise p38 inhibitörü kullanılmasıyla testiste p38 yoğunluğunun ve apoptozise giden hücre sayısının azaldığı bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da, çoğu literatürle benzer olarak t-p38 aktivitesi seminifer tübüllerdeki primer spermatozoidler ve az sayıda spermatogonyumlarda görülmüştür. f-p38 aktivitesi ise t-p38'e göre daha yaygın olarak spermatogonyum ve primer spermatozoidlerde görülmüştür.

Çalışmamızdan elde edilen veriler sonucunda, MAPK ileti yolu üyelerinden olan p38'in diyabet sonucu oluşan hücresel strese karşı cevap oluşturduğunu ve artmış p38 düzeyleri sonucunda testis dokusunda apoptozise giden hücrelerin arttığını söyleyebiliriz.

SONUÇLAR

Diabetes mellitus, çok uzun yıllar öncesinden beri bilinen ve toplumda görülme sıklığı ve sebebiyet verdiği ölümler giderek artan, kandaki glukoz konsantrasyonunun kontrol edilemediği metabolik bir hastalıktır. Diyabet ve komplikasyonlarının tedavisi için yapılan harcamalar dikkate alındığında ekonomik anlamda da bu hastalığın dünyada ve ülkemizde yarattığı sorunun büyüklüğü anlaşılmaktadır. Bu nedenle diyabetin tedavisi için sayısız araştırmalar yapılmış ve halen yapılmaya devam etmektedir.

Histoloji ve Embriyoloji AD yapılan bu çalışmada; STZ ile diyabet oluşturulmuş sıçanların testis dokularında, diyabetin komplikasyonlarına bağlı olarak meydana gelen histolojik değişiklikleri ve p38'in aktivasyonunda ortaya çıkacak değişiklikleri göstermeyi ve böylece diyabetli testis dokusunda görülen normal olmayan spermatogenezin aydınlatılmasına destek olmayı planladık. Tüm bu değerlendirmeler sonucunda aşağıdaki bulgulara ulaşıldı.

1- Kan glukoz değerleri incelendiğinde diyabet grubunun kontrole göre anlamlı derecede yükseldiği, vücut ve testis ağırlıkları, seminifer tübül çapları ve Johnson skorunda ise anlamlı derecede azalma olduğunu gözlemledik.

2- Kontrol grubunda bulunan sıçanların testis dokuları histolojik olarak değerlendirildiğinde normal testis dokusuyla aynı olduğunu gözlemledik.

3- Diyabet grubunda bulunan sıçanların testis dokuları histolojik olarak değerlendirildiğinde ise seminifer tübüllerin normal histolojik görünümde olmadığı, hücreler arasında boşlukların bulunduğu, hücre tabaka sayısı azaldığı ve bazı Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında vakuoller olduğu gözlemledik.

4- İmmünohistokimyasal olarak değerlendirildiğimizde kontrol grubunda az sayıda hücrede pozitif t-p38 immünboyanması gözlenirken deney grubunda pozitif hücre sayısının arttığı tesbit edildi.

5- Kontrol grubunda az sayıda hücrede pozitif f-p38 immünboyanması gözlenirken deney grubunda ise pozitif hücre sayısının arttığı saptandı. t-p38 boyanmasıyla kıyaslandığında ise pozitivitenin daha fazla olduğu görülmüştür.

Sonuç olarak çalışmamız; diyabet sonucu oluşan oksidatif stres mekanizmasına bağlı olarak p38 düzeylerinin artmış olduğunu ve bu sebeple de apoptozisin ortaya çıkabileceğini ve bu durumun da infertiliteye sebep olabileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızdan elde edilen verilerin literatüre kazandırılmasının, sonraki yapılacak çalışmalara da katkı sağlayacağı kanaatindeyiz.

ÖZET

Diyabet hiperglisemi, hiperlipidemi ve hiperinsülinemi gibi birçok komplikasyona neden olan karbonhidrat, lipid ve lipoprotein metabolizmasındaki bozukluklar ile karakterize olan sistemik bir hastalıktır. Hastalığın komplikasyonlarının patogenezinde oksidatif strese bağlı oluşan apoptozis önemli bir rol oynamaktadır.

Bu çalışmada, diyabet sonucunda ortaya çıkan infertilitenin aydınlatılması amacıyla mitojenlerin aktive ettiği protein kinazların bir çeşidi olan p38'in aktivasyonunda ortaya çıkacak değişiklikleri immünohistokimyasal tekniklerle göstermeyi amaçladık.

Çalışmamızda ağırlıkları 250-300 gr arasında değişen, aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip 30 adet Sprague Dawley erkek sıçan kullanıldı. Kontrol grubu ve 5 gün süre ile 40mg/kg streptozotosin uyguladığımız diyabet grubu olmak üzere 2 farklı grup oluşturduk. Dört hafta süren deneyimiz sonunda deneklerimizin testis dokuları alınarak histolojik ve immünohistokimyasal boyamalar uygulandı. Morfometrik olarak da; vücut ve testis ağırlıkları, kan-glukoz düzeyi, seminifer tübül çapları ve Johnson Skoru ölçüldü.

Çalışmamızdaki bulgularda diyabete bağlı olarak vücut ve testis ağırlığı, seminifer tübül çapları ve Johnson skorunda azalmanın meydana geldiği tesbit edildi. Ayrıca testis dokusunda normal hücresel yapının bozulduğu, hücrelerin bazal membranlarından ayrılarak lümene döküldüğü ve bazı Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında vakuollerin gözlendiği saptandı. İmmünohistokimyasal olarak hem t-p38 hem de f-p38 immünopozitivitelerinde diyabete bağlı bir artış meydana gelmiştir. Ancak bu artış f-p38 immünboyanmasında daha fazla idi. Bu sonuçlar diyabet modeli yapılmış benzer çalışmalarla desteklenmiştir.

Sonuç olarak, diyabetin sebep olduğu infertilitede mitojenlerin aktive ettiği protein kinazların bir çeşidi olan p38'in aktivasyonundaki artışın rol oynayabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Diabetes mellitus, erkek infertilitesi, p38 MAPK, sıçan

**p38 MITOGEN-ACTIVATED PROTEIN KINASES
IMMUNOREACTIVITY iN STREPTOZOTOCIN INDUCED DIABETIC
RAT TESTIS
SUMMARY**

Diabetes is a systemic disease characterized with disorders in carbohydrate, lipid and lipoprotein metabolism and which could have many complications like hyperlipidemia and hyperinsulinera oxidative stres-induced apoptosis plays an important role in the pathogenesis of the complizations of the disease.

In this study, we investigated changes in p38 activation, which is a type of mitogen-activated protein kinases, by immunohistochemical techniques in order to reveal the cause for infertility induced by diabetes.

In our study, we used 30 Sprague Dawley male rats with similar biologic and physicologic characteristics and which were between 250-300 gr. The two different groups were the control group and the diabetes group which was induced by the injection of 40 mg/kg Streptozotocin for five days. At the end of four weeks, the rats testicular tissues were obtained, histological and immunohistochemical stains were performed. The morphometric tests were: body and testicular weights, blood glucose levels, the diameters of seminiferus tubules and Johnson score.

The findings in our study, showed that diabetes induced reduction in body and testicular weights, diameters of seminiferus tubules and in the Johnson score. In addition it was observed that the normal cellular structure of testicular tissues was disturbed, the cells seperated from their basal membranes and sloughed into lumins and there were vacuoles in

cytoplasms of some Sertoli cells. Immunohistochemically, there was an increase in the immunopositivity for both t-p38 and f-p38 secondary to diabetes. However, this increase was more pronounced in the immunostaining for f-p38. These results have been supported in similar diabetic models.

As a result, we think that the increase in the activation of p38, a type of mitogen-activated protein kinases, might be playing a role in infertility caused by diabetes.

Key words: Diabetes mellitus, male infertility, p38 MAPK, rats

KAYNAKLAR

1. Avcı A. Diyabet oluşturulmuş ratlarda böbrek antioksidan savunma sistemi ve E vitaminin etkileri (tez). Ankara: Ankara Üniversite Tıp Fakültesi; 2001.
2. Steger RW, Rabe MB. The effect of diabetes mellitus on endocrine and reproductive function. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997;214(1):1-11.
3. Cai L, Chen S, Evans T, Deng DX, Mukherjee K, Chakrabarti S. Apoptotic germ-cell death and testicular damage in experimental diabetes: prevention by endothelin antagonism. *Urol Res* 2000;28(5):342-7.
4. Cameron DF, Murray FT, Drylie DD. Interstitial compartment pathology and spermatogenic disruption in testes from impotent diabetic men. *Anat Rec* 1985;213(1):53-62.
5. Alexopoulou O, Jamart J, Maiter D, Hermans MP, De Hertough R, De Nayer et al. Erectile dysfunction and lower androgenicity in type 1 diabetic patients. *Diabetes Metab* 2001;27(3):329-36.
6. Sanguinetti RE, Ogawa K, Kurohmaru M, Hayashi Y. Ultrastructural changes in mouse Leydig cells after streptozotocin administration. *Exp Anim* 1995;44(1):71-3.
7. Anderson JE, Thliveris JA. Morphometry and cytochemistry of Leydig cells in experimental diabetes. *Am J Anat* 1987;180(1):41-8.
8. Koh P. Streptozotocin-induced diabetes increases apoptosis through JNK phosphorylation and Bax activation in rat testis. *J Vet Med Sci* 2007;69(9):969-71.
9. Koh P. Streptozotocin-induced diabetes increases the interaction of Bad/Bcl-XL and decreases the binding of pBad/14-3-3 in rat testis. *Life Sci* 2007;81(13):1079-84.
10. Stambe C, Atkins RC, Tesch GH, Kapoun AM, Hill PA, Schreiner GF et al. Blockade of p38alpha MAPK ameliorates acute inflammatory renal injury in rat anti-GBM glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(2):338-51.

11. Doğan L, Gc D. Sinyal iletimi mekanizmaları ve kanser. Hacettepe Tıp Dergisi 2004;35:34-42.
12. Poyraz İ. Origanum Onites L.'de Mitojenler Tarafından Aktive Edilen Protein Kinaz Kinaz (MAPKK) Enzim Ailesi Üyelerinden Birinin Klonlanması ve Enzimatik Olarak Tanımlanması (tez). Eskişehir: Anadolu Üniversitesi; 2007.
13. Cho JW, Park K, Kweon GR, Jang BC, Baek WK, Suh MH et al. Curcumin inhibits the expression of COX-2 in UVB-irradiated human keratinocytes (HaCaT) by inhibiting activation of AP-1: p38 MAP kinase and JNK as potential upstream targets. Exp Mol Med 2005;37(3):186-92.
14. Kolch W. Meaningful relationships: the regulation of the Ras/Raf/MEK/ERK pathway by protein interactions. Biochem J 2000;351(2):289-305.
15. Köksal G. Östrojen ve Progesteronun Endometriyum Hücrelerinde Mitojenle Aktive Olan Protein Kinazlar Üzerine Etkisi (tez). İstanbul: İstanbul Bilim Üniversitesi; 2009.
16. Nakagami H, Pitzschke A, Hirt H. Emerging MAP kinase pathways in plant stress signalling. Trends Plant Sci 2005;10(7):339-46.
17. Junqueira LC, Carneiro J (Çeviri: Y. Aytekin, S. Solakoğlu). Temel Histoloji. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi; 2009:418-34.
18. Eşrefoğlu M. Özel Histoloji. Malatya: Pelikan Yayıncılık, 2004:253-69.
19. Ovalle WK, Nahirney P, (Çeviri: S. Müftüoğlu, P. Atilla, F.Kaymaz). Netter Temel Histoloji. Ankara: Güneş kitabevi; 2009.
20. Drews U (Çeviri: Y. Aytekin, E. Gürsoy, S. Solakoğlu). Renkli Embriyoloji Atlası. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2000:16-20.
21. Eroschenko VP (Çeviri: R. Demir). di Fiore Histoloji Atlası. Ankara: Palme Yayıncılık; 2001:351-374.
22. Ross HM, Pawlina W. Histology A Text And Atlas. 5th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins, 2006:728-48.
23. Chen C, Ouyang W, Grigura V, Zhou Q, Carnes K, Lim H et al. ERM is required for transcriptional control of the spermatogonial stem cell niche. Nature 2005;436(7053):1030-4.
24. Maclean JA 2nd, Wilkinson MF. Gene regulation in spermatogenesis. Curr Top Dev Biol 2005;71:131-97.
25. Moore KL, Persaud TVN. (1993). The developing human, clinically oriented embriyology. 5th ed. Philadelphia: WB Saunders Co, 1993:
26. Gartner L, Hiatt JL. Color Textbook of Histology. 2nd ed. WB Saunders Company, 2001.

27. Chang KC, Tseng CD, Wu MS, Liang JT, Tsai MS, Cho YL et al. Aminoguanidine prevents arterial stiffening in new rat model of type 2 diabetes. *Eur J Clin Invest* 2006;36(8):528-35.
28. Özata M, Yöner A. *Endokrinoloji Metabolizma ve Diabet*. İst Med Yay 2006;1:275-343.
29. Coşkun O, Kanter M, Korkmaz A, Oter S. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat panceas. *Pharmacol Res* 2005;51(2):117-23.
30. Rajasekaran S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of Aloe vera gel extract in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Pharmacol Rep* 2005;57(1):90-6.
31. Sodeman WA, Sodeman TM (Çeviri: kurul) *Sodeman's Pathologic Physiology Mechanisms of Disease*. Türkçe 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri Yayınevi, 2. Cilt; 1992:1154-5.
32. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*. 3rd. Brussels: International Diabetes Federation; 2006.
33. International Diabetes Federation. *Diabetes Atlas*, 4th ed, Brussels, 2009.
34. Bağrıaçık N. *Diabet ve Metabolizma Hastalıkları*. İstanbul: Türk Diabet ve Obezite Vakfı Yay, 1999;1:57-73, 120-43.
35. İliçin G, Ünal S, Biberöğlü K, Akalın S, Süleymanlar G. *Temel İç Hastalıkları*, Cilt 2. 1. Baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 1997:1-5
36. World Health Organization. *Diabetes mellitus*. Geneva. 1985. Technical Report Series: 727.
37. International Diabetes Federation, World Diabetes Foundation. *Diabetes Atlas*. 2nd ed, Brussels, International Diabetes Federation, 2003.
38. The Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus: Report on the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1998;21(Suppl. 1):5-19.
39. Scobie IN. *Acute complications of diabetes an atlas of diabetes mellitus*, The Parthenon publishing. Newyork, p.22-29, 1998
40. Calder RA, Alexander CM. Cardiovascular disease in people with diabetes mellitus. *Pract Diabetes* 2000;19(4):7-10, 12-4, 16-8.
41. İlokova H, editör. *Diabetes Mellitus*. İ.Ü.Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi komisyonu Yayın No:4, İstanbul, 1997
42. Pfeifer M, Schumer MP. Clinical trials of diabetic neuropathy. *Diabetes* 1995;44(12):1355-60.
43. Ramlau-Hansen CH, Thulstrup AM, Aggerholm AS, Jensen MS, Toft G, Bonde JP. Is smoking a risk factor for decreased semen quality? A crosssectional analysis. *Hum Reprod* 2007;22(1):188-96.

44. Kort HI, Massey JB, Elsner CW, Mitchell-Leef D, Shapiro DB, Witt MA et al. Impact of body mass index values on sperm quantity and quality J Androl 2006;27(3):450-2.
45. Baccetti B, Marca A, Piomboni P, Capitani S, Bruni E, Petraglia F Et al. Insulin-dependent diabetes in men is associated with hypothalamo-pituitary derangement and with impairment in semen quality. Hum Reprod 2002;17(10):2673-7.
46. Öztürk F. Apoptoz. İnönü Üniv Tıp Fak Derg 2002;9(2):143-8.
47. Cabadak H. Hücre siklusu ve kanser. ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi 2008;9(3):51-61.
48. Altay B, Çetinkalp S, Doğanavşargil B, Hekimgil M, Semerci B. Streptozotocin-induced diabetic effects on spermatogenesis with proliferative cell nuclear antigen immunostaining of adult rat testis. Fertil Steril 2003;80(2):828-31.
49. Agbaje IM, Rogers DA, Mccicar CM, McClure N, Atkinson AB, Mallidis C et al. Insulin dependent diabetes mellitus: implications for male reproductive function. Hum Reprod 2007;22(7):1871-7.
50. Altan N, Sepici-Dincel A, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. Turk J Biochem 2006;31(2):51-6.
51. Aughsteen AA. An ultrastructural study on the effect of streptozotocin on the islets of Langerhans in mice. J Electron Microsc (Tokyo) 2000;49(5):681-90.
52. Kanter M, Uysal H, Karaca T, Ozdemir Sagmangil H. Depression of glucose levels and partial restoration of pancreatic β -cell damage by melatonin in streptozotocin-induced diabetic rats. Arch Toxicol 2006;80(6):362-9.
53. Dinçer S. Leptin ve Oksidatif Stres. Çocuk ve Ergen Obezite Derneği II. Leptin Kongresi Özet Kitabı s.56-8, Ankara, 2004.
54. Bolzan AD, Bianchi MS. Genotoxicity of Streptozotocin. Mutation Research 2002;512(2-3):121-34.
55. HSDB (Hazardus Substances Data Bank), 2001, Online database produced by the National Library of Medicine, Streptozotocin, August, 9.
56. Arulselvan P, Subramanian SP. Beneficial effects of *Murraya koenigii* leaves on antioxidant defense system and ultra structural changes of pancreatic β - cells in experimental diabetes in rats. Chem Biol Interact 2007;165(2):155-64.
57. Ballester J, Munoz M, Dominguez J, Guinovart JJ, Rodriguez-Gill JE. Insulin dependent diabetes affects testicular function by FSH- and LH-linked mechanisms. J Androl 2004;25(5):706-1.
58. Shrilatha B, Muralidhara. Early oxidative stress in testis and epididymal sperm in streptozotocin-induced diabetic mice: Its progression and genotoxic consequences. Reprod Toxicol 2007;23(4):578-87.
59. Liem AA, Chamberlain MP, Wolf CR, Thompson AM. The role of signal transduction in cancer treatment and drug resistance. EJSO 2002;28(6):679-84.

60. Ortiz-Masia D, Perez-Amador MA, Carbonell J, Marcote MJ. Diverse stress signals activate the C1 subgroup MAP kinases of Arabidopsis. *FEBS Lett* 2007;581(9):1834-40.
61. Noguchi R, Banno S, Ichikawa R, Fukumori F, Ichiishi A, Kimura M et al. Identification of OS-2 MAP kinase-dependent genes induced in response to osmotic stress, antifungal agent fludioxonil, and heat shock in *Neurospora crassa*. *Fungal Genet and Biol* 2007;44(3):208-18.
62. Sharma P, Mondal AK. Evidence that the MAPK-docking site in MAPKK Dpbs2p is essential for its function. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;346(2):562-6.
63. Boulton TG, Nye SH, Robbins DJ, Ip NY, Radziejewska E, Morgenbesser SD et al. ERKs: A family of protein serine/ threonine kinases that are activated and tyrosine phosphorylated in response to insulin and NGF. *Cell* 1991;65(4):663-75.
64. Kayaalp SO. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 10. baskı. Ankara: Hacettepe Taş kitapçılık, 2002:270,1169.
65. Ilbey YO, Ozbek E, Cekmen M, Simsek A, Otunctemur A, Somay A. Protective effect of curcumin in cisplatin-induced oxidative injury in rat testis: mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B signaling pathways. *Hum Reprod* 2009;24(7):1717-25.
66. Mishra NS, Tuteja R, Tuteja N. Signaling through MAP kinase networks in plants. *Arch Biochem and Biophys* 2006;452(1):55-68.
67. Rakwal R, Agrawal GK. Wound signaling-coordination of the octadecanoid and MAPK pathways. *Plant Physiol Biochem* 2003;41:855-61.
68. Lin HH, Chen JH, Kuo WH, Wang CJ. Chemopreventive properties of *Hibiscus sabdariffa* L. on human gastric carcinoma cells through apoptosis induction and JNK/p38 MAPK signaling activation. *Chem Biological Interact* 2007;165(1):59-75.
69. Seternes OM, Bjarne J, Hegge B, Johannessen M, Keyse SM, Moens U. Both binding and activation of p38 mitogen-activated protein kinase (MAPK) play essential roles in regulation of the nucleocytoplasmic distribution of MAPK-activated protein kinase 5 by cellular stress. *Mol Cell Biol* 2002;22(20):6931-45.
70. Nebreda AR, Porras A. p38 MAP kinases: beyond the stress response. *Trends Biochem Sci* 2000;25(6):257-60.
71. Wada T, Penninger JM. Mitogen-activated protein kinases in apoptosis regulation. *Oncogene* 2004;23(16):2838-49.
72. Olson JM, Hallahan AR. P38 MAP kinase: a convergence point in cancer therapy. *Trends Mol Med* 2004;10(3):125-9.
73. Ikezumi Y, Hurst L, Atkins RC, Nikolic-Paterson DJ. Macrophage-mediated renal injury is dependent on signaling via the JNK pathway. *J Am Soc Nephrol* 2004;15(7):1775-84.
74. Reno EM, Haughian JM, Jackson TA, Thorne AM, Bradford AP. c-Jun N-terminal kinase regulates apoptosis in endometrial cancer cells. *Apoptosis* 2009;4(6):809-20.

75. Cooper GM, Hausman RE (Çeviri: M. Sakızlı, N. Atabey). Hücre. Moleküler Yaklaşım. İzmir: İzmir Tıp Kitabevi; 2006:565-70.
76. Ozaki T, Takahashi K, Kanasaki H, Miyazaki K. Expression and activation of mitogen activated protein kinase in the human endometrium during the menstrual cycle. *Am J Obstet Gynecol* 2006;195(5):1343-50.
77. Hilger RA, Scheulen ME, Strumberg D. The Ras-Raf- MEK-ERK pathway in the treatment of cancer. *Onkologie* 2002;25(6):511-8.
78. Weinstein-Oppenheimer CR, Blalock WL, Steelman LS, Chang F, Mc Cubrey JA. The Raf signal transduction cascade as a target for chemotherapeutic intervention in growth factor-responsive tumors. *Pharmacol Ther* 2000;88(3):229-79.
79. Johnsen SG. Testicular biopsy score count – a method for registration of spermatogenesis in human testes. Normal values and results of 335 hypogonadal males. *Hormones* 1970;1(1):2-25.
80. Hsu SM, Raine L, Fanger H. Use of avidin-biotin-peroxidase complex (ABC) in immunoperoxidase techniques: a comparison between ABC and unlabeled antibody (PAP) procedures. *J Histochem Cytochem* 1981;29(4):577-80.
81. Enzlin P, Mathieu C, Van den Bruel A, Bosteels J, Vanderschueren D, Demyttenaere K. Sexual dysfunction in women with type 1 diabetes: a controlled study. *Diabetes Care* 2002;25(4):672-7.
82. Altan N, Bugdaycı G, Tutkun-Kosova F, Sancak-Çaycı B, Nazaroğlu NK. The influence of the sulfonylurea glyburide on nitric oxide in streptozotocin induced diabetic rat. *Gen Pharmacol* 1998;31(2):319-21.
83. Öztürk H. Diabetes Mellitus’da Paraoksonaz Aktivitesi Ve AOPP Düzeyleri (tez). İstanbul: Haseki Eğitim ve Araştırma Hastanesi; 2008.
84. Sexton WJ, Jarrow JP. Effect of diabetes mellitus upon male reproductive function. *Urology* 1997;49(4):508-13.
85. Ganda OP, Rossi A, Like A. Studies on streptozotocin diabetes. *Diabetes* 1976;25(7):595-603.
86. Katsumata K, Katsumata A, Katsumata Y. Protective effect of diltiazem hydrochloride on the occurrence of alloxan-or streptozotocin- induced diabetes in rats. *Horm Metab Res* 1992;24:508-10.
87. Mensah-Brown EP, Shahin A, Al-Shamisi M, Wei X, Lukic ML. IL-23 leads to diabetes induction after subdiabetogenic treatment with multiple low doses of streptozotocin. *Eur J Immunol* 2006;36(1):216-23.
88. Jedlinska-Krakowska M, Bomba G, Jakubowski K, Rotkiewicz T, Jana B, Penkowski AJ. Impact of oxidative stress and supplementation with vitamins E and C on testes morphology in rats. *Reprod Dev* 2006;52(2):203-9.

89. Hajer GR, Haften TW, Visseren FLJ. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J* 2008;29(24):2959–71.
90. Lin SH, Wang, ZS. Study on the expression of androgen receptor in testis, epididymis and prostate of adult rats with diabetes. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2005;11(12):891-4.
91. Kanter M, Aktas C, Erboga M. Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food Chem Toxicol* 2012;50(3-4):719-25.
92. Kanter M, Aktas C, Erboga M, Timurkan H. Effects of experimental diabetes on testis proliferations and apoptosis in rats. *J Exp Clin Med* 2011;28:1-5.
93. Ricci G, Catizone A, Esposito R, Pisanti FA, Vietri MT, Galdieri M. Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. *Int J Androl* 2009;41(6):361-8.
94. Gunel E, Tugyan K, Ozturk H, Gumustekin M, Cilaker S, Uysal N. Effect of melatonin on testicular damage in streptozotocin-induced diabetes rats. *Eur Surg Res* 2008;40(4):354-60.
95. Kara İ. Streptozotocin İle Diyabet Oluşturulmuş Sıçanlarda Alfa Lipoik Asidin Testis Dokularına Etkisinin Histolojik Yönden İncelenmesi (tez.) Konya: Selçuk Üniversitesi; 2010.
96. Zhao Y, Tan Y, Dai J, Li B, Guo L, Cui J et al. Exacerbation of diabetes-induced testicular apoptosis by zinc deficiency is most likely associated with oxidative stress, p38 MAPK activation, and p53 activation in mice. *Toxicol Lett* 2011;200(1-2):100-6.
97. Kapucu A. Normal Ve Diyabetik Sıçanlarda Leptin Uygulanmasının Testis Üzerine Etkisi Ve Nitrik Oksit (No) İle Olan İlişkisi (tez). İstanbul: İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2006.
98. Öztürk F, Gül M, Ağkadir M, Yağmurca M. Deneysel diyabetin sıçan testislerinde meydana getirdiği histolojik değişiklikler. *T Klin Tıp Bilimleri* 2002;22(2):173-8.
99. Stellato RK, Feldman HA, Hamdy O, Horton ES, McKinlay JB. Testosterone, sex hormone-binding globulin, and the development of type 2 diabetes in middle-aged man. *Diabetes Care* 2000;23(4):490-4.
100. Sudha S, Valli G, Julie PM, Arunakaran J, Govindarajulu P, Balasubramanian K. Influence of streptozotocin-induced diabetes and insulin treatment on the pituitary-testicular axis during sexual maturation in rats. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000;108(1):14-20.
101. Carlson B. *Human Embryology & Developmental Biology*. Edition 2. USA: Mosby Inc, 1999:20-1.
102. Wright JR, Yates AJ, Sharma HM, Shim C, Tigner RL, Thibert P. Testicular atrophy in the spontaneously diabetic BB Wistar rat. *Am J Pathol* 1982;108(1):72-9.
103. Benitez A, Perez D. Effect of streptozotocin diabetes and insulin treatment on regulation of Leydig cell function in the rat. *Hor Metab Res* 1985;17(1):5-7.

104. Foglia VG, Rosner JM, Ramos M, Lema BE. Sexual disturbances in the male diabetic rat. *Horm Metab Res* 1969;1(2):72-7.
105. Lee JC, Laydon JT, McDonnell PC, Gallagher T.F, Kumar S, Green D et al. A protein kinase involved in the regulation of inflammatory cytokine biosynthesis. *Nature* 1994;372(6508):739-46.
106. Komers R, Lindsley JN, Oyama TT, Cohen DM, Anderson S. Renal p38 MAP kinase activity in experimental diabetes. *Laboratory Investigation* 2007;87(6):548-58.
107. Dai T, Natarajan R, Nast CC, LaPage J, Chuang P, Sim J et al. Glucose and diabetes: effects on podocyte and glomerular p38MAPK, heat shock protein 25, and actin cytoskeleton. *Kidney Int* 2006;69(5):806-14.
108. Adhikary L, Chow F, Nikolic-Paterson DJ, Stambe C, Dowling J, Atkins RC et al. Abnormal p38 mitogen activated protein kinase signalling in human and experimental diabetic nephropathy. *Diabetologia* 2004;47(7):1210-22.
109. Trivedi PP, Tripathi DN, Jena GB. Hesperetin protects testicular toxicity of doxorubicin in rat: Role of NFκB, p38 and caspase-3. *Food Chem Toxicol* 2011;49(4):838-47.
110. Ranawat P, Bansal MP. Apoptosis induced by modulation in selenium status involves p38 MAPK and ROS: implications in spermatogenesis. *Mol Cell Biochem* 2009;330(1-2):83-95
111. Lizama C, Lagos CF, Lagos-Cabr e R, Cantuarias L, Rivera F, Huenchunir P et al. Calpain inhibitors prevent p38 MAPK activation and germ cell apoptosis after heat stress in pubertal rat testes. *J Cell Physiol* 2009;221(2):296-305.
112. Johnson C, Jia Y, Wang C, Lue YH, Swerdloff RS, Zhang XS et al. Role of caspase 2 in apoptotic signaling in primate and murine germ cells. *Biol Reprod* 2008;79(5):806-14.
113. Jia Y, Castellanos J, Wang C, Sinha-Hikim I, Lue Y, Swerdloff RS et al. Mitogen-activated protein kinase signaling in male germ cell apoptosis in the rat. *Biol Reprod* 2009;80(4):771-80.
114. Vera Y, Erkkila K, Wang C, Nunez C, Kytanen S, Lue Y et al. Involvement of p38 mitogen-activated protein kinase and inducible nitric oxide synthase in apoptotic signaling of murine and human male germ cells after hormone deprivation. *Mol Endocrinol* 2006;20(7):1597-609.

ŞEKİLLER LİSTESİ

	Sayfa No
Şekil 1. Seminifer tübül ve çevresindeki dokunun bir bölümü	4
Şekil 2. Streptozotosin'in kimyasal yapısı.....	12
Şekil 3. MAPK ailesi ve sinyal iletimi	15
Şekil 4. Kontrol ve diyabet gruplarına ait kan glukoz düzeyleri	22
Şekil 5. Kontrol ve diyabet gruplarına ait vücut ağırlıkları	23
Şekil 6. Kontrol ve diyabet gruplarına ait testis ağırlıkları.....	23
Şekil 7. Kontrol ve diyabet gruplarına ait seminifer tübül çapları	24
Şekil 8. Kontrol ve diyabet gruplarına ait Johnson skorları	25
Şekil 9. Kontrol grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması, X200	26
Şekil 10. Kontrol grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması, X400	26
Şekil 11. Kontrol grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması, X400	27
Şekil 12. Diyabet grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması, X100	29
Şekil 13. Diyabet grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması, X200	29
Şekil 14. Diyabet grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması, X400	30
Şekil 15. Diyabet grubuna ait testis kesitinde H&E boyaması, X400	30
Şekil 16. Kontrol ve diyabet gruplarına ait t-p38 indeks değerleri.....	31
Şekil 17. Kontrol grubuna ait testis kesitinde t-p38 immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400	32
Şekil 18. Kontrol grubuna ait testis kesitinde t-p38 immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400	32

Şekil 19. Diyabet grubuna ait testis kesitinde t-p38 immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400	33
Şekil 20 Diyabet grubuna ait testis kesitinde t-p38 immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400	33
Şekil 21. Kontrol ve diyabet gruplarına ait f-p38 indeks değerleri	34
Şekil 22. Kontrol grubuna ait testis kesitinde f-p38 immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400	35
Şekil 23. Kontrol grubuna ait testis kesitinde f-p38 immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400	35
Şekil 24. Diyabet grubuna ait testis kesitinde f-p38 immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400	36
Şekil 25. Diyabet grubuna ait testis kesitinde f-p38 immünboyaması, İmmünoperoksidaz, hematoksilen zıt boyaması, X400	36

Tablolar

Tablo 1. Johnson Skorlaması	20
--	----

ÖZGEÇMİŞ

1985 yılında İstanbul'da doğdum. Ortaöğretimimi İstanbul Eyüp Lisesi'nde tamamladıktan sonra 2005 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Ebelik Bölümü'nde lisans eğitimime başladım. 2010 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. Halen aynı Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime devam etmekteyim.

EKLER

Ek 1



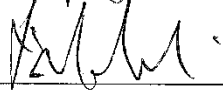
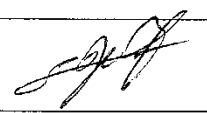
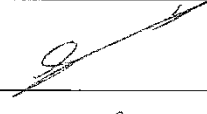
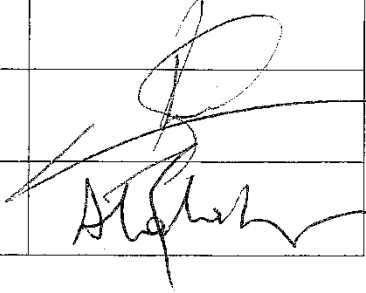
T.C.

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ

HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU KARARLARI

KARAR NO: 2011.06.08

Yürütcülüğünü Tıp Fakültesi öğretim üyesi Doç. Dr. Gülnur KIZILAY ÖZFİDAN'ın yaptığı Zeynep FİDANOL Yüksek Lisans tezi olarak planlanan TÜHDYEK-2011/39 protokol nolu "Deneysel Diabet Oluşturulmuş Sıçanların Testis Dokularında p38 MAPK İmmünreaktivitesinin İncelenmesi" başlıklı çalışma hakkında görüşüldü; araştırmanın amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda: Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve çalışmanın yapılabileceğine mevcudun oy birliği ile karar verilmiştir.

Ünvanı/Adı/Soyadı	Araştırma ile İlişki	Toplantı Katılımı	İmza
Doç.Dr. Burhan AKSU Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç. Dr. Hayati ARDA Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Vet.Hek. Ziya ÇUKUR Veteriner Hekim	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Hüseyin KOÇ Sivil Toplum Örgütü Üyesi Sivi Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
İlyas ÖZMEN Sivil Üye	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Beytullah ÖZKAN Fen-Edebiyat Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç.Dr. S. Arzu VARDAR Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Doç. Dr. Nilda TURGUT Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input type="checkbox"/> evet <input checked="" type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Ruşen COŞAR-ALAŞ Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	
Yrd.Doç.Dr. Y. Atakan SEZER Tıp Fakültesi Öğretim Üyesi	<input type="checkbox"/> var <input checked="" type="checkbox"/> yok	<input checked="" type="checkbox"/> evet <input type="checkbox"/> hayır	