

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
BİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**İYONİZE RADYASYONUN NEDEN OLDUĞU TESTİS
SEMİNİFER TÜBÜL HASARINA KARŞI
L-KARNİTİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN IŞIK VE
ELEKTRON MİKROSKOPİK DÜZEYDE
İNCELENMESİ**

(Doktora Tezi)

Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŞIR

EDİRNE – 2008

**T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MORFOLOJİ ANABİLİM DALI
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ
BİLİM DALI DOKTORA PROGRAMI**

Tez Yöneticisi
Prof. Dr. Mehmet KANTER

**İYONİZE RADYASYONUN NEDEN OLDUĞU TESTİS
SEMİNİFER TÜBÜL HASARINA KARŞI
L-KARNİTİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN IŞIK VE
ELEKTRON MİKROSKOPİK DÜZEYDE
İNCELENMESİ**

(Doktora Tezi)

Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŞIR

Tez No :

EDİRNE – 2008

T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitü Müdürlüğü

O N A Y

Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı doktora programı çerçevesinde ve Prof. Dr. Mehmet KANTER danışmanlığında doktora öğrencisi Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŞIR tarafından tez başlığı “İyonize Radyasyonun Neden Olduğu Testis Seminifer Tübül Hasarına Karşı L-Karnitinin Koruyucu Etkisinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi” olarak teslim edilen bu tezin tez savunma sınavı 13/05/2008 tarihinde yapılarak aşağıdaki jüri üyeleri tarafından “**Doktora Tezi**” olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet KANTER
JÜRİ BAŞKANI

Doç. Dr. Emin ÖZTAŞ
ÜYE

Doç. Dr. M. Cem UZAL
ÜYE

Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK
ÜYE

Yrd. Doç. Dr. Yeşim H. UZ
ÜYE

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylım.

Prof. Dr. İsmet DÖKMECİ
Enstitü Müdürü

TEŐEKKÜR

Tez çalışmam süresince beni yönlendiren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Mehmet KANTER'e, bilimsel katkıları ile desteklerini esirgemeyen sayın hocalarım Doç. Dr. Mustafa Cem UZAL, Doç. Dr. Levent ÖZTÜRK, Yrd. Doç. Dr. Yeşim Hülya UZ ve Yrd. Doç. Dr. Gülnur KIZILAY'a en içten teşekkürlerimi sunarım. Çalışmam esnasında yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Öğr. Gör. Dr. Meryem AKPOLAT, biyolog Tolga MERCANTEPE, uzman biyolog Cevat AKTAŐ, Arş. Gör. Melike SAPMAZ, Arş. Gör. Dr. Bilkay SEREZ, uzman fizikçi Şule PARLAR, Arş. Gör. İmran KURT, Yüksek lisans öğrencileri Yeliz BOZDEMİR ve Ferhat CENGİZ'e teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

GİRİŞ VE AMAÇ	1-3
GENEL BİLGİLER	4-16
İYONİZE RADYASYONLAR VE CANLIDAKİ ETKİ BASAMAKLARI	4-5
RADYASYON HASARINDA SERBEST RADİKALLERİN ROLÜ	5
RADYASYONUN SEMİNİFER TÜBÜLLER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ	6-9
ERKEK İNFERTİLİTESİNDE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİNİN ROLÜ	9-11
L-KARNİTİN	11-16
GEREÇ VE YÖNTEMLER	17-20
BULGULAR	21-71
FERTİLİTE DEĞERLENDİRME BULGULARI	21-22
SPERMATOGENETİK İYİLEŞME BULGULARI	23
MORFOMETRİK BULGULAR	23-26
MORFOLOJİK BULGULAR	27-71
TARTIŞMA	72-83
SONUÇ	84
ÖZET	85-86
SUMMARY	87-88
KAYNAKLAR	89-97
RESİMLEMELER LİSTESİ	98-100
ÖZGEÇMİŞ	101
EK 1 ETİK KURUL KARARI	102

SEMBOL VE KISALTMALAR LİSTESİ

α : Alfa

β : Beta

γ : Gamma

Açil-KoA: Açil-Koenzim A

cGy: Santigray

CAT: Katalaz

ECM: Ekstraselüler matriks

Gy: Gray

H+E: Hematoksilen+Eosin

i.p.: İntraperitoneal

LBNF₁: Lewis-Brown Norway F₁ hibridi

MDA: Malondialdehid

μ mol: Mikromol

mmol: Milimol

μ : Mikron

nm: Nanometre

OCTN2: Organik katyon taşıyıcısı 2

OsO₄: Osmium tetraoksit

PUFA: Poliansature yağ asidi

PAS+HL: Periyodik Asit Schiff + Hemalen

ROS: Reaktif oksijen türleri

RNS: Reaktif nitrojen türleri

SOD: Süperoksit dismutaz

sf: Serum fizyolojik

GİRİŞ VE AMAÇ

İçinde bulunduğumuz yüzyılda, insanlar teşhis ve tedavi amacıyla meslekleri ya da kaza gibi nedenlerle radyasyona maruz kaldıklarında, karşılaşılabilecekleri biyolojik sonuçların ne olacağı endişesini taşırlar (1). Çağdaş toplumlarda, radyasyonların çeşitli şekillerde giderek artan amaçlarla kullanılışı, insanlığı biyolojik bir risk altına sokmaktadır. Bu riski en aza indirebilmenin ilk şartı, radyasyonun biyolojik etkilerini öğrenmek ve bu bilgilerin ışığında korunmaktır (2).

Son zamanlarda radyoaktif izotopların ve radyasyonun temel bilim, tıp, tarım ve endüstri gibi çeşitli uygulama alanlarında kullanılışı çok büyük boyutlara ulaşmıştır. Tıpta radyoaktif izotoplar ve radyasyon çeşitli hastalıkların tanı ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (2, 3).

Radyoterapi ile bazı kanser türlerinin tedavisinde olumlu sonuçlar alınmasının yanı sıra, tedavi sırasında ışınlanan normal dokular üzerindeki radyasyona bağlı riskleri de göz ardı etmemek gerekir. Kanser hastalarına güvenli şekilde uygulanabilen toplam radyasyon dozu, tedavi alanı içine giren normal dokularda ortaya çıkabilecek komplikasyon riski tarafından sınırlandırılmaktadır (4, 5). Radyasyonun çeşitli dokular üzerindeki etkileri; toplam doza, fraksiyon dozu ve sayısına, tedavi süresine, dokuların radyasyona duyarlılığına, yaşa ve cinsiyete bağlıdır. Radyasyon hasarına en fazla hücre yenilenmesi hızlı olan dokularda rastlanmaktadır. Bu nedenle germ hücrelerinin radyasyona duyarlılığı oldukça yüksektir (2, 6). Günümüzde genç insanların, bazı kanserler nedeniyle radyoterapiyle tedavi edilme oranı artmıştır. Kanserli genç erkekler için testiküler fonksiyon üzerine toksik etkileri olan uygulamalarla tedavinin en büyük sorunu infertilitedir. Çünkü bu insanlar, kanser kontrol

altına alındığında, doğal olarak normal bir yaşam sürmeyi ve muhtemelen çocuk sahibi olmayı dilemektedirler (7). Bu nedenle, tedavinin bir sonucu olarak germinal dokuda kalıcı hasar meydana gelme olasılığı ve buna bağlı olarak gelecek kuşaklarda anormal yapılı çocukların dünyaya gelme ihtimali göz ardı edilmemelidir (8). Amerikada, 15-45 yaşlar arasındaki 17.000 erkekte her yıl Hodgkin hastalığı, lenfoma, kemik ve yumuşak doku sarkomaları veya testiküler kanser teşhis edilmektedir. Testiküler tümörler, %83.7 oranında genç erkeği etkileyen en yaygın tümör tipini oluşturmaktadır. Hemen hemen tüm hastalar, etkilenen testisin çıkarılması için cerrahi operasyon geçirirler ve operasyon sonrası radyoterapi ve/veya kemoterapi alırlar. Testiküler kanserli hastaların hayatta kalanları için infertilite temel bir sorundur (7, 9).

Bozulmuş sperm fonksiyonu, insan infertilitesinin önemli nedenlerinden biridir ve henüz fertilizasyon kaybından sorumlu bozuklukların etiyolojisi hakkında çok az bilgi vardır. Son yapılan araştırmalar, sperm disfonksiyonunun nedeninin, oksidatif stres olabileceğini göstermiştir (10-12). Biyolojik materyallerin ışınlanmasının, hedef moleküllerin direkt iyonizasyonu ve indirekt olarak su moleküllerinin iyonizasyonundan dolayı, hızlı bir şekilde reaktif oksijen türlerinin (ROS) artışına neden olduğu bilinmektedir (4, 13). İyonlaştırıcı radyasyon aracılı ROS üretimindeki artış, radyasyona bağlı erkek infertilitesinin patogenezinde oksidatif stresin rolünü kanıtlamaktadır. Oksidatif stresi yok etmek için gerekli stratejilerden biri, seminal plazmanın süpürücü kapasitesini arttırmaktır (14). Kanserli iyonize radyasyon ile tedavisinde terapötik kazancı arttırmamanın bir yolu, antitümöral etkinliği değiştirmeksizin normal dokuları radyasyon hasarından koruyan hücre koruyucu ajanların kullanılmasıdır (15). Bu nedenle son yıllarda antioksidanların, radyasyona bağlı erkek infertilitesini önlemedeki etkileri üzerinde yapılan çalışmalar artmıştır.

L-karnitin, uzun zincirli yağ asitlerinin, hücresel enerji üretimi için β -oksidasyona uğradıkları yer olan mitokondriyal matriks içine taşınması için gerekli bir kofaktördür. Ayrıca, antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkilere sahip olduğu, hücre membranı ve DNA'yı serbest oksijen radikallerine bağlı hasara karşı koruduğu gösterilmiştir (16-18). Çalışmalarda, infertil hastaların seminal sıvısında karnitin konsantrasyonunun azaldığı ve ekzojen karnitin tedavisiyle sperm canlılığının, sperm motilitesinin ve spontan gebelik oranının arttığı gösterilmiştir. Karnitinle antioksidan terapinin, ROS kaynaklı infertiliteye sahip erkeklerde terapötik strateji açısından, hormon tedavisi dışında yeni bir yaklaşım oluşturabileceği fikri yeni dizayn edilen çalışmaların konusunu oluşturmaktadır (19, 20).

Bugüne kadar yapılan çalışmaların çoğunda, farklı patolojik durumlarda L-karnitin antioksidan veya serbest radikal süpürücü etkisi üzerinde durulmuştur. Ancak, iyonize

radasyona karşı koruyucu etkisi ile ilgili sınırlı sayıda çalışma yapılmıştır (17, 21, 22). L-karnitin ve türevleri, son zamanlarda erkek infertilitesinin tedavisi için önerilmekte ve çok sayıda kontrollü insan ve hayvan deneyleri yapılarak, bu alanda kullanılma ihtimali araştırılmaktadır. Daha nceki çalışmalar genellikle azospermili hastalar ve duktus epididimisteki değişikliklerle ilgilidir. Literatür taraması esnasında testisler üzerinde L-karnitinin radyoprotektr etkisini morfolojik yönden inceleyen çalışmaların son derece yetersiz olduğunu gördük. Bu nedenle planladığımız bu çalışmada, sıçanlara uygulanan gamma (γ) radyasyonun, testis seminifer tübüllerinde açığa çıkaracak hasarın boyutunu ışık ve elektron mikroskopik gözlemler ile ortaya koyup, testis morfolojisi, fertilizasyon oranı ve spermatogenezin iyileşmesi zerine L-karnitin ne ölçüde koruma sağlayacağını göstermeyi amaçladık.

GENEL BİLGİLER

İYONİZE RADYASYONLAR VE CANLIDAKİ ETKİ BASAMAKLARI

Radyasyon, yüksek hızda partiküllerin ve elektromanyetik dalgaların enerjisi olarak tanımlanır; iyonize ve iyonize olmayan radyasyon olarak iki gruba ayrılır.

İyonize radyasyonlar, bir atom ya da molekülden bir elektron kopararak iyonlaşmaya yol açarlar. Kütleli yapıya sahip partiküler radyasyon ve foton enerjili dalga karakterinde elektromanyetik radyasyon olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Alfa (α) ve beta (β) partikülleri, elektron, proton ve nötronlar partiküler iyonize radyasyon tiplerini oluşturur. X ve γ ışınları ise, iyonlaştırıcı yeteneğe sahip yüksek enerjili fotonlardan oluşan elektromanyetik radyasyonlardır. Bunlar özellikleri açısından büyük oranda birbirlerine benzerler, ancak meydana geliş şekilleri farklıdır. X ışınları çekirdek dışında oluşan elektron kaynaklı ışınlardır. γ ışınları ise, radyoaktif bir çekirdeğin kararlı hale geçmesi esnasında parçalanarak açığa çıkan fazla enerjinin, çekirdekte dışarı atılması sonucunda oluşur (2, 23).

İyonize radyasyonların canlılarda biyolojik bir etkiye yol açabilmesi için sahip oldukları enerjinin, canlıyı oluşturan hücre ve dokular tarafından absorbe edilmesi ve dokularda dağılması gerekir. İyonlaştırıcı radyasyonların canlıda oluşturduğu etkileri üç basamakta sıralamak mümkündür (2, 3).

İyonize radyasyon enerjisinin canlı dokuya transferi sonucunda, dokuyu oluşturan atom ve moleküllerde meydana gelen iyonlaşma ve uyarılma, radyasyon etkisinin ilk kademesi olan fiziksel kademeyi oluşturur. Bunu izleyen kimyasal kademede, hasar görmüş atom ve moleküller diğer hücreyel yapılar ile reaksiyona girerek serbest radikallerin ortaya

çıkmasına neden olurlar. Organizmada radyasyonun etkisi ile oluşan bu tür moleküler değişiklikler, son kademe olan biyolojik kademeyi başlatır. Bu kademede çeşitli hasarlara yol açan enzimatik reaksiyonlar meydana gelir. İyonize radyasyon, hücre içi moleküllerde ve daha önemlisi genetik materyal olan kromozomlarda hasarlar oluşturur. Mutasyon olarak bilinen bu genetik hasarlar hücre tarafından tamir edilemez ise, hücreyi ölüme götüren süreci başlatan metabolik değişiklikler meydana gelir. Bu etki nedeniyle, iyonize radyasyonlar sürekli hücre çoğalması ile kendini gösteren kanser hastalığının tedavisinde kullanılmaktadır (2, 3).

RADYASYON HASARINDA SERBEST RADİKALLERİN ROLÜ

Serbest radikaller, radyasyonun canlıdaki etki kademelerinin ikincisi olan kimyasal kademede ortaya çıkarlar (2). Bunlar, iyonların veya uyarılmış moleküllerin ayrılmaları sonucunda oluşan, dış yörüngelerinde bir veya daha fazla sayıda çiftleşmemiş elektrona sahip ve genellikle elektriksel açıdan yüksüz atom ya da moleküllerdir (24).

Canlılar %70-90 oranında su içerdiğinden, ışınlandıkları zaman radyasyon enerjisi büyük ölçüde su molekülleri tarafından absorbe edilir. Radyasyonun etkisi ile su moleküllerinin iyonlaşması sonucunda pozitif yüklü bir iyon ve serbest bir elektron oluşur. Bu olayı izleyen çeşitli sekonder reaksiyonlar ile değişik tipte serbest radikaller (hidroksil radikali, hidrojen radikali) meydana gelir. Açığa çıkan bu reaktif radikaller, kendi aralarında reaksiyona girerek hidrojen peroksit gibi çok toksik molekülleri oluştururlar. Suyun hidrolizi ile açığa çıkan serbest radikaller aracılığı ile oluşan radyasyon etkisi, indirekt etki olarak bilinir. Direkt etkide ise, radyasyon enerjisinin su molekülleri yerine direkt olarak biyolojik moleküllere (örneğin; DNA, enzim) transferi ve biyoradikallerin oluşumu söz konusudur (2-4, 17, 21).

X ve γ radyasyonlarının etkisi, daha çok indirekt yolla meydana gelmektedir. Canlılar yüksek oranda su içerdiğinden, indirekt etkilerin direkt etkilerden daha önemli olduğu ve radyasyon hasarlarının büyük ölçüde indirekt yoldan meydana geldiği kabul edilmektedir (2, 13).

RADYASYONUN SEMİNİFER TÜBÜLLER ÜZERİNDEKİ ETKİLERİ

Memeli testisleri, antikanser ajanlar ve radyasyon gibi sperm hücrelerini tüketen ve bu yüzden kemirgenlerde, maymunlarda ve muhtemelen insanlar gibi pek çok türde uzamış azospermiye neden olan çeşitli gonadotoksinlere karşı hassastırlar (25). Radyasyon insanlarda uzun süreli ve zaman zaman geri dönüşümsüz azospermiye neden olmaktadır. Hastaların çoğu, üreme dönemleri boyunca ve öncesinde radyoterapi aldıkları ve bazı kanser tipleri için kür sayısı fazla olduğundan, bu tedaviler nedeniyle meydana gelen sterilite oldukça önemlidir (26).

Hücresele seviyede radyasyonun yan etkileri, hücrenin radyasyon uygulandığı sıradaki bölünme fazına bağlıdır. Radyasyona maruz kalıdıktan sonra hücre ölümü birinci bölünme sırasında ya da daha sonraki bölünme sonunda olmaktadır. Radyasyon özellikle kromozomal bozukluğa yol açarak hücre ölümüne neden olmaktadır. Bunun yanı sıra, hücrenin bölünmesini de engelleyebilmektedir (27).

Bergonié ve Tribondeau yasasına göre; bir doku mitotik açıdan aktif ve fonksiyonel açıdan farklılaşmamış hücrelerden oluşuyor ise radyasyona karşı duyarlı, bunun aksi özelliklere sahip ise dirençlidir. Bu açıdan değerlendirildiğinde testisler, radyasyona duyarlı organlar sınıfına girmektedir (2).

Radyasyonun, erkek infertilitesi üzerindeki etkilerine dair bilgiler üç şekilde elde edilmiştir. Bunlar; insan testislerinin deneysel olarak, radyasyon kazalarına maruziyeti sonucunda ve kötü huylu kanserler nedeniyle radyoterapi esnasında ışınlandığı durumları kapsamaktadır (28).

Radyoterapi, nefroblastoma, nöroblastoma, lösemi gibi çocukluk çağı kanserlerinde, Hodgkin hastalığında, ince bağırsak, anal kanal, kolon ve rektum kanserlerinde, testis ve prostat kanserlerinde uzun dönem kontrolü sağlamaktadır. Bu kanserlerin hemen hepsinde ışın, direkt olarak karın bölgesine verilmekte ve buradan saçılan ışınlar testisi etkilemektedir (29). Direkt testislerin ışınlandığı kanser tipi ise, testisin germ hücreli tümörü olan seminomlardır. Genç erkeklerde sık görülen seminomlar, testis tümörlerinin %60'ını oluşturmaktadır (1).

Testisler sperm üreten seminifer tübüller ile testosteron hormonu üreten Leydig hücrelerinin içinde yer aldığı, tübüller arasındaki interstisyel sahadan oluşur. Seminifer tübüller; spermatogenezin farklı evrelerinde bulunan germinal hücreler ile germ hücre farklılaşmasını düzenleyen ve bu hücreleri destekleyen Sertoli hücrelerini içerir. Germ hücreleri arasında kaynak (kök, farklılaşmamış, A₀ veya Koyu tip A spermatogonyum) ve

farklılaşmış spermatogonyumlar (Açık tip A spermatogonyum), primer ve sekonder spermatositler ve spermatidler bulunur. Spermatidler farklılaşarak spermelere dönüşür. Germ hücrelerinin çoğu aktif şekilde bölünen farklılaşmış spermatogonyumlardır ve sitotoksik ajanlara karşı oldukça duyarlıdırlar. Bunlar, testislerin çok düşük dozlarda ışınlanmasından sonra bile ölürlür. Spermatid ve spermeler ise oldukça dirençlidirler (2, 7, 30). Ancak bu hücrelerde de genetik değişikliklerin meydana gelme olasılığı yüksektir. Germ hücrelerinin aksine, erişkinlerde çoğalmayan Leydig ve Sertoli hücreleri ise en dirençli hücreler olup, çoğu sitotoksik terapi sonrasında hayatta kalır. Ancak bu hücreler fonksiyonel hasara uğrayabilirler (2, 7). Işınlamanın, aylar boyunca uzamadıkça Sertoli hücre sayısı üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığı, buna karşın spermatogonyum üzerinde spesifik bir etkisi olduğu bilinmektedir (31). Oakberg'e göre normal koşullarda mitotik açıdan durağan olan kök spermatogonyumlar, hızlı proliferasyon yapan A₁- A₄, intermedier ve B spermatogonyumlardan daha uzun hücre siklusu süresine sahiptirler, bu yüzden de onlardan daha radyorezistandırlar (8, 32). Testiküler ışınlanmanın sonucunda, radyasyon ile öldürülen spermatogonyumların yerine geçmek için normalde yavaş bölünen kök spermatogonyumların mitotik oranının arttığı, buna karşın hassas olan farklılaşmış spermatogonyumların ise öldüğü bildirilmiştir (8). Radyasyona bağlı spermatogonyum kaybı, daha olgun germ hücrelerinin sayısında progresif bir azalmaya neden olan olgunlaşma-tüketim (maturasyon-depleksiyon) sürecine yol açar (8, 31, 32). Ratlarda ve insanlarda, radyasyonun hayatta kalan tip A spermatogonyumların farklılaşmasını bozarak, spermatogenezin baskılanmasına ve azospermiye neden olduğunu gösteren deliller mevcuttur (25).

5-6 Gy arasındaki kısırlaştırıcı dozlarda ışınlanan insanların testislerinde küçülme ve yumuşama ile birlikte fertilité kaybının meydana geldiği bildirilmiştir (2). Çeşitli deney hayvanı üzerinde yapılan çalışmalarda da ışınlanmanın, testis ağırlığında azalmaya neden olduğu gösterilmiştir (8, 31, 33). Morfolojik çalışmalarda ise ışınlamadan sonra testiste spermatogenezin durduğu, germinal hücre desquamasyonu ve vakuolizasyonu ile birlikte çok nükleuslu dev hücrelerin ortaya çıktığı gözlenmiştir (34-36). Aynı zamanda ışınlanmanın testiküler atrofiye yol açtığı bilinmektedir. Atrofi, seminifer tübül içindeki farklılaşmış germinal hücrelerin kaybıyla karakterize edilmektedir (33, 37).

Testislerde meydana gelen hasarlar ve bunların onarım derecesi, uygulanan doza bağlıdır (2, 36). Farelerde 2-3 Gy gibi düşük dozların uygulanması durumunda bile, spermatogonyumların sayıca azaldıkları saptanmıştır. Bununla birlikte, bu dozlarda onarım tam olarak gerçekleşebilmekte, daha yüksek dozlarda ise bu mümkün olmamaktadır. Testiste radyasyon etkisi ile meydana gelen hasarlar steriliteye yol açar. Ancak bu durum spermatid ve

spermiler dirençli oldukları için ışınlamadan hemen sonra ortaya çıkmaz. Spermatogonyumlardan sperm oluşumuna kadar geçen spermatogenez sürecini kapsayan bir periyodun sonunda ve spermatogonyumlar hasarlandıkları için yeni spermilerin oluşamaması nedeni ile fertilité kaybı şeklinde ortaya çıkar. Bu süre insanda yaklaşık 64 gün, sıçanlarda ise 35 gündür. Fertilité kaybı sürekli ya da geçici olabilir. İnsanlarda 5-6 Gy'lik dozlar sürekli, 2,5 Gy doz ise yaklaşık bir yıllık geçici steriliteye neden olur (2). Radyasyonun testisler üzerindeki etkisi türe göre farklılık gösterdiğinden bu dozların türlere göre değiştiği bulunmuştur. Farelerin radyasyona en dirençli, insan ve LBNF₁ (Lewis-Brown Norway F₁ hibridi) sıçanların en hassas türler olduğu, diğer sıçan soylarının ise bunlar arasında orta derecede hassasiyet gösterdikleri bildirilmiştir (38). Ayrıca fraksiyonlar halinde uygulanan radyasyonun, tek doz uygulamalarına oranla daha yüksek oranda steriliteye yol açtığı saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda, sterilite kriteri açısından genç bireylerin erginlere oranla daha duyarlı oldukları da tespit edilmiştir (2).

Radyasyonun erkek fertilitesi üzerindeki etkilerini gösteren çalışmaların ortak sonuçlarına göre, γ ışınlarına maruziyet sonrası tam düzelme uygulanan ışın dozuna göre farklı zaman sürecinde olmaktadır.

1. Testislerin aldığı 15-30 cGy'lik ışın dozundan sonra, geçici oligospermi gözlenir.
2. Testislerin aldığı 35-100 cGy'lik ışın dozundan sonra, 3-12 ayda geçici aspermi gözlenir. Tam düzelme 9-18 ayda gerçekleşir.
3. Testislerin aldığı 100-200 cGy'lik ışın dozundan sonra, 1-2 ayda geçici aspermi gözlenir. Tam düzelme 20 ayda gerçekleşir.
4. Testislerin aldığı 200-300 cGy'lik ışın dozundan sonra, 1. ayda geçici aspermi gözlenir. Tam düzelme 30 ayda gerçekleşir.
5. Testislerin aldığı 400-600 cGy'lik ışın dozunda tam düzelme 5 yıl ya da daha uzun sürede gerçekleşir (39, 40).

İyonize radyasyona maruziyetten sonra seminifer epitel rejenerasyonunun, hayatta kalan koyu tip A spermatogonyumların, açık tip A spermatogonyum şekline dönüşmesi ile sağlandığı bilinmektedir (7, 27, 39).

Radyasyonun spermiler üzerine etkili olduğu da gösterilmiştir. Farelerde ışınlama esnasında mayoz öncesi dönemde bulunan hücrelerden gelişen spermelerde çeşitli kromozom aberasyonları görülmüştür. Bu durum, tam olarak fertilité kazansalar bile, ışınlanan hayvanların yavrularında çeşitli genetik bozuklukların oluşabileceğini göstermektedir (2, 8). Ayrıca radyasyonun sperm hareketlerini büyük ölçüde azalttığı, dolayısıyla yumurtayı dölleme yeteneklerinin azaldığı bildirilmiştir (2).

Gonadların almış olduğu radyasyon dozu genetik hasar yönünden oldukça önemlidir. Doz ne kadar küçük olursa olsun radyasyonun insanlarda genetik bozukluğa yol açabileceği kabul edilmektedir (1).

ERKEK İNFERTİLİTESİNDE REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİNİN ROLÜ

Testislerde gözlenen radyasyona bağlı hasarların patofizyolojisinde, oksidatif stresin rolünü gösteren çok sayıda çalışma mevcuttur. Işınlamanın, hedef moleküllerin direkt iyonizasyonu ve su moleküllerinin iyonizasyonundan ROS üretiminde hızlı bir artışa neden olduğu bilinmektedir (4, 13). Bu ROS'lar; süperoksit iyonu, hidrojen peroksit, peroksil radikali ve oldukça reaktif bir molekül olan hidroksil radikalini içerir. Ayrıca, nitrik oksit ve peroksinitrit anyonu gibi nitrojen kaynaklı serbest radikaller de mevcut olup, reaktif nitrojen türleri (RNS) olarak bilinirler. Son zamanlarda, üreme ve sperm fonksiyonunda bu nitrojen kaynaklı serbest radikallerin de önemli olduğu gösterilmiştir. Nitrik oksit aracılı sperm hasarının primer mekanizması mitokondriyal respirasyonun ve DNA biyosentezinin inhibisyonudur (24).

Spermatozoa tarafından ROS üretimi, sperm kapasitasyonunun regülasyonu, akrozom reaksiyonunun kolaylaştırılması, sperm-oosit etkileşimi ve sinyal transdüksiyon mekanizmalarında önemli bir mediyatör olarak hizmet eden, normal fizyolojik bir süreçtir. Yapılan birçok çalışmada; ROS' un düşük miktarlarının spermin kapasitasyonunu, hiperaktivasyonunu, akrozom reaksiyonunu ve oosit füzyonunu arttırdığı gösterilmiştir (10, 41-43). Normal durumda ROS, spermin bu fonksiyonlarını gerçekleştirmesine yetecek düzeyde tutulmak üzere sürekli olarak antioksidan mekanizmalar tarafından süpürülmektedir (10, 43). Ancak ROS'un aşırı üretimi, spermatozoa ve seminal plazmanın antioksidan kapasitesinin bozulması ile sonuçlanan oksidatif stres olarak adlandırılan bir duruma yol açmaktadır (10, 44, 45).

Spermatozoa, plazma membranlarının fazla miktarda poliansature yağ asitleri (PUFA) ve sitoplazmalarının düşük oranda süpürücü enzimleri içermesinden dolayı, oksidatif stres aracılı hasara karşı özellikle hassastır. (10, 24, 43, 45). İnsan spermatozoa membranının oksidatif hasarının, erkek infertilitesinde önemli bir patofizyolojik mekanizma olduğunu gösteren çok sayıda delil mevcuttur (41, 42, 46, 47). ROS, sperm membranlarının lipid peroksidasyonunun bir sonucu olarak, sperm fonksiyonunda bozukluğa neden olabilir, sperm morfolojisini bozabilir, efektif olmayan sperm-oosit kaynaşmasına ve azalmış motiliteye neden olabilir (10, 41, 42).

Spermatazoanın, mitokondriyal membranlardan zengin olan orta parçası ROS'un primer hedefidir. Aksonemal hasara neden olan hücre içi ATP' deki hızlı kayıp ile sperm motilitesinde azalma ROS'un majör etki şekli olarak göz önüne alınmaktadır (24).

Erkek germ serisinde, oksidatif stres seviyesi yükseldiğinde sperm plazma membranındaki PUFA'nın peroksidasyonu normal fertilizasyonun gerçekleşmesine engel olur (44). Daha önceki çalışmalarda, ROS üretimi yüksek olan erkeklerde, düşük ROS'lu olanlara göre gebelik şansının 7 kat daha az olduğu gösterilmiştir (42, 47).

Lipid peroksidasyon, hücre membran permeabilitesinde artışla birlikte membran bütünlüğünü bozmak suretiyle enzim inaktivasyonuna, DNA'da yapısal hasarlara ve hücre ölümüne yol açmaktadır (10, 24, 48). Radyasyona maruziyetten sonra testis lipid peroksidasyon seviyesinde anlamlı bir artışın olduğu gözlenmiştir (11, 41). Oksidatif stres saldırısı sadece sperm plazma membranının akıcılığını etkilemez, ayrıca sperm nükleusu ve mitokondrisinde taşınan DNA'nın bütünlüğünü de etkiler (43, 44). İyonize radyasyon gibi ROS üreten ajanlar, bu suretle çeşitli DNA lezyonlarına neden olurlar. Oksidatif hasar; DNA zincir kırılmalarına, baz degradasyonuna, DNA fragmentasyonuna ve protein çapraz bağlarına neden olur (11, 43, 49, 50). DNA fragmentasyon oranının infertil erkeklerin ejakülatında arttığı gösterilmiştir (11). Spermatogenik olaylardaki değişiklikler, ejakülatta olgunlaşmamış anormal spermilerin atılmasına neden olmaktadır. Olgunlaşmamış sperm ise, aşırı ROS üretimine ve dolayısıyla DNA hasarına yol açmaktadır (49).

Spermdeki DNA hasarının orjinini açıklamak için üç farklı teori ortaya atılmıştır. Hasar, spermiogenez (geç spermatid aşamasında) esnasında DNA'nın hatalı paketlenmesinin bir sonucu olabilir. Alternatif olarak DNA fregmantasyonu, serbest radikal aracılı hasardan kaynaklanabilir. Son olarak nükleer hasar apoptozisten dolayı ortaya çıkabilir (49-51).

Apoptozis, bir seri morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerle karakterize edilen, ökaryotik hücre ölüm şeklidir. Hayvan modelleri üzerindeki çalışmalar, apoptozisin normal spermatogenez esnasında germ hücre ölümünün altında yatan mekanizma olduğunu göstermiştir (9, 48, 50, 51). Memeli testislerinde germ hücreleri, olgun spermatozoa oluşumu ile sonuçlanan farklılaşma aşamasını geçirmeden önce birkaç kez mitoz ile klonal olarak çoğalırlar. Bu klonal genişleme fazla olduğundan Sertoli hücrelerinin destekleyici kapasitesi ile germ hücre sayısını denkleştirmek için apoptozis gibi bir mekanizma gerekir. Bu şekilde apoptozis erkek gametlerin aşırı üretimini kontrol eder (43, 50). Bunun yanı sıra, çeşitli derecede testiküler yetmezliği olan infertil erkeklerden alınan testiküler biyopsilerde yüksek apoptozis oranı gözlenmiştir. Erkek infertilitesi, bozulmuş apoptotik süreç ile yakından ilişkilidir (48, 51). Yüksek seviyedeki ROS, mitokondri iç ve dış membranlarını bozar. Bu,

kaspazları aktive eden mitokondrilerden sitokrom c'nin salınımına yol açar ve apoptozise neden olur. Işınlama, aşırı ROS üretimi aracılığı ile testiküler apoptozise neden olan bir uyarandır (43). ROS üretimi ile birlikte görülen artmış sperm hasarı ve erkek kaynaklı infertil hastalarda gözlenen apoptozis arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir (11, 48). Oksidatif stres aracılı DNA hasarı, 20. yüzyılda sıklıkla gözlenen sperm miktarında azalmaya neden olan germ hücre apoptozis sürecini hızlandırabilmektedir (45).

Sperm DNA'sı normalde oksidatif stresten iki faktör aracılığı ile korunmaktadır. Biri seminal plazmada bulunan antioksidanlar, diğeri ise DNA'nın sıkıca paketlenmiş yapısıdır (11, 43, 50).

Seminal plazma, oksidatif strese karşı spermatazoayı korumak için serbest radikal süpürücüsü olarak fonksiyon gören antioksidanlarla donatılmıştır. Bu defans mekanizması, spermiyasyon esnasında spermin fazla sitoplazmasının atılması sırasında, sitoplazmik enzim kaybını kompanse etmektedir (11, 45). Seminal plazma 3 önemli enzimatik antioksidanı; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz/redüktaz sistemi içerir. Ayrıca, askorbat, urat, E vitamini, pruvat, albümin, A vitamini, taurin, ubiquinol gibi enzimatik olmayan antioksidanları içerir. Seminal plazma spermin korunmasında gereklidir, çünkü onlar kendilerini ROS' a karşı defans oluşturmada daha az etkili yapan düşük bir sitoplazma hacmine sahiptirler (11, 46, 48).

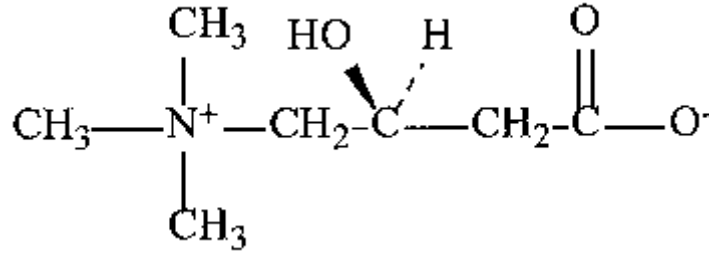
L- KARNİTİN

Karnitin (3-hidroksi 4-N-trimetilamino butirat), yapısal olarak aminoasitlere benzeyen vitamin benzeri bir maddedir. İlk kez 1905'te sığır kasından izole edilmiş olup, yapısı tam olarak 1927'de açıklanmıştır (52-54).

Kırmızı ette ve kümes hayvanlarının etlerinde fazla miktarda bulunan karnitinin, %75'i diyetle alınır. Bu şekilde vücuda alınan karnitin, aktif transport ile duodenum ve jejunumdan emilir. Böbreklerde, glomerüler filtrata geçen kısmın %90'dan fazlası tübüllerden geri emilir, çok az bir kısmı feçes ile atılır. Karnitinin kalan %25'lik kısmı ise vücutta iskelet kası, kalp, beyin, karaciğer ve böbrek gibi organlarda temel aminoasitler olan lizin ve metioninden endojen olarak sentezlenebilmektedir (52, 54, 55). Karnitin biyosentezinde kofaktör olarak vitamin C, nikotinik asit, vitamin B6 ve Fe⁺² gerekmektedir. Sentez işlemi, lizine bir transferaz reaksiyonu aracılığı ile metioninden metil gruplarının transfer edilerek, 6-N-trimetillizin'e dönüştürülmesi ile başlar. Daha sonra bu molekül üzerine hidroksilaz, dehidrojenaz ve aldolaz enzimleri etki göstererek sonuçta karnitin oluşturulur (55, 56).

Lizin + metionin → trimetillizin → trimetilamino butirat → karnitin

Karnitinin sadece L-izomeri biyolojik olarak aktiftir (53). L-karnitin, yağ metabolizmasında önemli rol oynayan, küçük, suda eriyebilen kuaterner bir moleküldür. Hem plazmada hem de dokuda serbest karnitin veya açilkarnitin türevleri şeklinde, yağ asitlerine bağlı olarak bulunur. Açık kimyasal formülü β -hidroksi- γ -trimetilamonyum butirik asit şeklindedir (Şekil 1) (53, 57).



Şekil 1. L-karnitinin kimyasal yapısı.

L- karnitin ve onun kısa zincirli esterleri olan; L-asetil karnitin ve L-propionil karnitin bazı önemli hücre içi fonksiyonlara ve birçok farmakolojik etkiye sahiptirler. Karnitin, karnitin esterleri ve bazı spesifik hücre içi enzimler ve membran taşıyıcılarından oluşan karnitin sistemi, aşağıdaki fonksiyonlarda rol oynamaktadır;

1- Uzun zincirli yağ asitlerinin, β -oksidasyon yeri olan mitokondriyal matriks içine taşınmalarını sağlarlar. Mitokondri iç membranı uzun zincirli yağ asitlerine karşı geçirgen değildir, bu membranı ancak karnitinle birleşerek geçebilmektedirler. Mitokondri iç membranını geçebilen açil-karnitin ester, karnitin palmitoil transferaz I tarafından, karnitin ve açil-Koenzim A (Açil-KoA)'dan sentez edilir. Açil-karnitin ester mitokondride β -oksidasyona uğrar (53, 54, 58).

2- Mitokondri hücre membranlarının stabilizasyonunu sağlamakla birlikte, peroksizomal seviyede lipid peroksidasyonda rol oynamaktadırlar (59, 60).

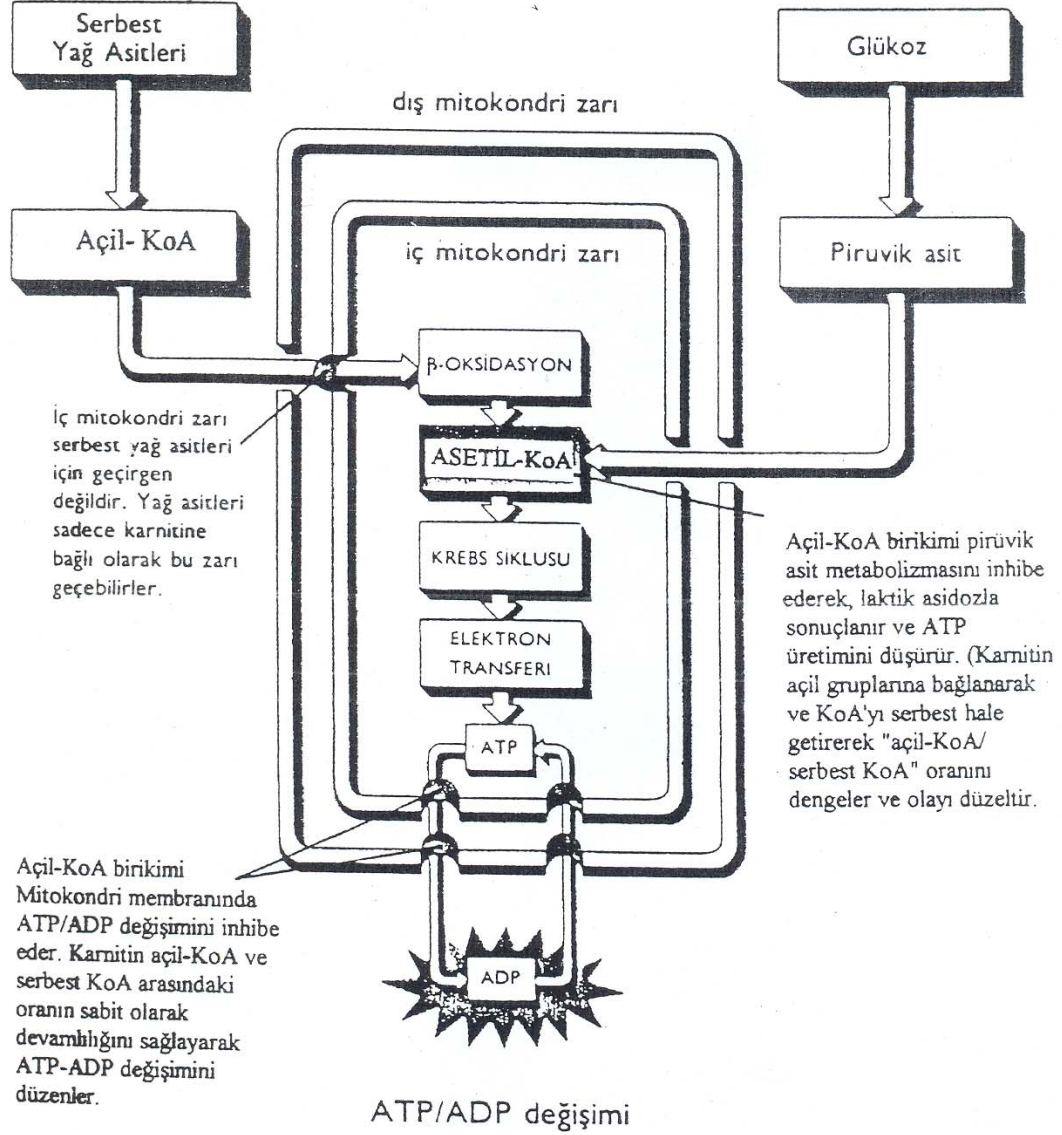
3- Mitokondri içindeki total KoA miktarı sabittir. Ancak, birçok enzimatik reaksiyonda serbest KoA kullanılmaktadır. Karnitin, karnitin asetiltransferaz enzimi ile KoA'dan, karnitine asetil birimlerinin geri dönüşümlü transferini katalizleyerek, serbest KoA miktarını artırır. Serbest KoA miktarının artması ise, α -ketoglutarat dehidrogenaz aktivitesini arttırmak suretiyle Krebs siklusunu hızlandırarak mitokondri içindeki KoA/asetil KoA oranının korunmasını sağlar (61-63).

4- Karnitin, açil gruplarını temizlemek suretiyle detoksifiye edici bir ajan olarak rol oynar. Bu yönüyle hücrenin osmotik dengesinin devamını sağlar. Mitokondri içinde

birikmeleri durumunda birçok enzimin inhibisyonuna neden olan ve yıkıcı etkileri olan açil gruplarının, mitokondri dışına taşınmalarını sağlar. Uzun zincirli açiller düşük dozlarda, adenilat translokaz enzimini inhibe ederek ATP'nin mitokondri dışına taşınmasını durdururlar. Yüksek dozlarda ise, hücre içi membranlarda geri dönüşümsüz hasar oluştururlar. Uzun zincirli açil-KoA miktarını azaltarak, serbest KoA miktarını arttırarak açil-KoA/serbest KoA oranını dengede tutmak suretiyle, bu olumsuz etkileri düzeltir (17, 62, 63). İskemik dokuda, karnitin rezervi hızlı tükenir ve uzun zincirli yağ asitleri okside edilemez, bunun sonucunda da uzun zincirli açil-KoA ve uzun zincirli açil karnitin esterleri birikir. Doku karnitin seviyesinin normale yükseltilmesiyle, uzun zincirli açil-KoA'dan açil grupları ayrılarak intramitokondriyal açil-KoA miktarı normale düşürülür ve yüksek açil KoA seviyelerinin getirdiği olumsuz etkiler geri çevrilir. Ayrıca aerobik piruvat metabolizması uyarılarak, piruvatın laktik asite dönüşmesi baskılanır, böylece hücre içi laktik asit birikimi de önlenir (Şekil 2) (62).

YAĞ METABOLİZMASI

GLÜKOZ METABOLİZMASI



Şekil 2. Hücre enerji metabolizmasında karnitinin rolü (Santa Farma İlaç Firması kataloğundan alınmıştır).

L-karnitinin, anti-radikal, antioksidan ve ROS süpürücü etkileri üzerine kurulmuş çok sayıda çalışma mevcuttur. Lipid peroksidasyondan dolayı malondialdehidde (MDA) yükselmeye neden olan iskemi-reperfüzyon hasarı (64, 65), karbon tetraklorid aracılı karaciğer hasarı (66), kronik böbrek yetmezliği (67), deneysel ülseratif kolit (68), cisplatin ve paklitaksel nörotoksitesisi (69), adriyamisin (70) ve doksorubisin kaynaklı kardiyomyopati ve myokardiyal infarktüs (71) gibi pek çok patolojik durumun karnitin ve türevleri tarafından

önlendiği gösterilmiştir. Ayrıca L-karnitin, membran oluşumu ve bütünlüğü için gerekli fosfolipidlerin sentezini arttırmak ve fosfolipidlerin reaçilasyonu aracılığıyla membran onarımında önemli rol oynamaktadır (14). Bir L-karnitin türevi olan L-propionil karnitin, ROS tarafından oluşturulan peroksidasyona karşı eritrositleri ve düşük dansiteli lipoproteinleri korur. Bunun yanı sıra, son zamanlarda L-karnitinin gastrik mukoza üzerine antioksidatif etkisi olduğu gösterilmiştir (72). Bu etkilerin tam mekanizması henüz bilinmemektedir, fakat L-karnitinin membran üzerine direkt etki gösterebileceği düşünülmektedir. Karnitin, β -oksidasyon için lipidleri sitosolden mitokondri içine taşıyarak, lipid düzeylerini düşürmek suretiyle lipoperoksit üretimini azaltmaktadır (14, 18, 73). Serbest radikal hasarına karşı membranı stabilize ederek hücre hasarını önleyebilir ve ayrıca mitokondriyal hasarı engelleyebilir. Böylece serbest radikal kaçışını azaltarak, enerji üretimini arttırabilir (60, 74). Kumaran ve ark. (75) L-karnitinin yaşlı ratlarda enerji durumunu iyileştirerek elektron transport zincir enzimlerin aktivitelerinde gözlenen yaşa bağlı inhibisyonu düzelttiğini bildirmişlerdir. L-karnitin, hidroksil radikalının üretimi için gerekli demiri şelatlayarak, Fenton reaksiyonunda hidroksil radikal üretimini baskıladığı gösterilmiştir (59, 76). Ayrıca L-karnitin, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen ROS'un oluşumunu önleyici etkiye sahiptir (21, 30). Son zamanlarda, L-karnitinin antiapoptotik aracı olarak etki ettiği de gösterilmiştir (21, 60, 74, 77).

Erkek üreme fonksiyonlarında karnitinlerin etkisi oldukça iyi tanımlanmıştır. Bununla beraber, karnitinin erkek infertilitesinin kontrolünü hangi mekanizma ile yaptığı henüz tam olarak açıklanamamıştır. Karnitinler, spermatogenetik süreci, sperm hareketi ve olgunlaşmasını pozitif olarak etkileyen, spermatozoa tarafından kullanılmak üzere hazır enerji kaynağı sağlayarak sperm metabolizmasında önemli rol oynamaktadırlar (19, 61).

Epididimal plazma insan vücudunda en yüksek karnitin seviyesini içerir. L-karnitin, memeli epitelden epididimal plazma içine salgılanır ve daha sonra da spermatozoa tarafından alınarak, kısmen asetil karnitin şeklinde esterifiye edilir. Sonuç olarak spermatozoa içerisinde serbest ve asetillenmiş L-karnitin şeklinde biriktirilir (53, 78, 79). Epididimal plazma ve spermatozoada, L-karnitin konsantrasyonu dolaşım kanındaki seviyeden (10-50 μ mol) 2000 kat daha fazla olup 2-100 mmol kadar yüksek oranda bulunmaktadır (53, 80). L-karnitin, yüksek affiniteli bir Na^+ -bağımlı organik katyon taşıyıcısı olan OCTN2 vasıtasıyla dolaşımdan, epididimal epitelyumun hücreleri içine taşınır. Karnitin taşıyıcısı 2 olarak isimlendirilen diğer bir karnitin taşıyıcısı ise epididimal epitelyumdan lümen içerisine L-karnitin sekresyonunu sağlar (20, 58).

Karnitinler, sperm maturasyonu ve sperm motilitesine katkıda bulunur. Daha önceki çalışmalar, epididimde L-karnitin, spermatozoanın olgunlaşması ve fertilizasyon kabiliyetinin gelişmesine yardım etmede rol oynadığını göstermişlerdir. Testiste üretilen spermatozoa epididimise girdiğinde hareketsiz ve infertildir, bu esnada L-karnitin içeriği de düşüktür. Fertil hale gelebilmek için epididimal lümen içerisinde postgonadal modifikasyona uğramak zorundadır. Epididimden geçişleri esnasında, epididimal sıvıda L-karnitin artışına paralel olarak spermatozoanın kuyruk hareketi başlar (14, 18, 53, 80).

Erkek germ hücre serisinde oksidatif stres, nükleus ve mitokondride bütünlük kaybına ve spermatozoada hasarın gelişimine neden olur. L-karnitin, antioksidan ve radikal süpürücü özellikleri vasıtası ile oksidatif stres kaynaklı erkek infertilitesini azaltmada faydalı etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (54, 60, 81). İnfertil hastalar üzerindeki bazı deneysel ve klinik çalışmalarda, seminal plazma total karnitin seviyesinin düşük olduğu görülmüş ve karnitin desteğinin üreme fonksiyonunu iyileştirdiği bildirilmiştir (82, 83). İdiyopatik oligoasthenospermili infertil hastalara L-karnitin ve L-asetil karnitin uygulamasının, spermatozoa konsantrasyonunda ve hareketliliğinde artışa neden olduğu gösterilmiştir (18, 74, 83). Son zamanlarda karnitin/asetilkarnitin kompleksinin, bakteriyal prostato-vesikülo-epididimitisli hastalara uygulanmasıyla, ROS üretiminde azalma, sperm hareketliliği ve canlılığında artış ve spontan gebelik oranında yükselme gözlenmiştir (14).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda Trakya Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Birimi'nde üretilen, 5-6 aylık, ağırlıkları 300-400 g arasında değişen 54 adet erkek ve 36 adet dişi Wistar albino sıçan kullanıldı. Aynı biyolojik ve fizyolojik özelliklere sahip erkek deneklerden, vücut ağırlıkları birbirine yakın olanlar aynı grupta olacak şekilde; biri kontrol 2'si deney grubu olmak üzere toplam 3 grup oluşturuldu. Dişi sıçanlar ise çiftleştirme işlemi için ayrıldı. Tüm denekler, deney süresi boyunca optimum laboratuvar koşulları (22 ± 1 °C, 12 saat aydınlık/karanlık siklusunda) altında, günlük içme suyu ve %21 ham protein içeren pelet yemlerle (Purina) beslendi.

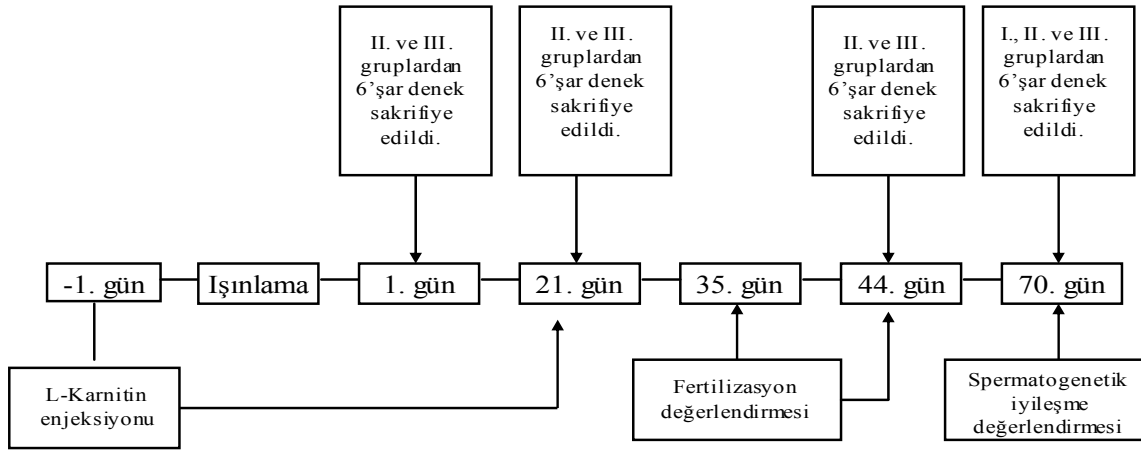
Radyasyon hasarı oluşturmak amacıyla Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyasyon Onkolojisi Anabilim Dalı'nda, kontrol grubu hariç diğer gruplardaki her bir denek, intraperitoneal (i.p.) yoldan 90 mg/kg ketamin (Ketalar-Eczacıbaşı/Türkiye), 10 mg/kg xylazine (Rompun-Bayer/Türkiye) ile anestezi sağlandıktan sonra supin (sırtüstü) pozisyonunda sabitlendi. Mecaserto marka Simics (Fransa) model simülatör kullanılarak, iki testisi içeren skrotal bölge 5x5 cm ebatında bir alan şeklinde simüle edildi. Simüle edilen ilk hayvanın ışın alanı görüntülenmesi için röntgen filmi çekildi (Resim 1). Elde edilen röntgen filmi ile diğer ratların simülasyonu kontrol edildi. Ratların skrotum içindeki testis kalınlıkları cetvelle ölçülerek 1,5 cm yarı kalınlık saptandı. Kaynak-cilt mesafesi 65 cm olmak üzere 1,5 cm derinlikte doz hesaplanarak, belirlenen alana Kobalt-60 teleterapi cihazı (Cirus, Cis-Bio Fransa) ile tek fraksiyonda 105,95 cGy/dk doz hızında 10 Gy ışın uygulandı.

Radyasyon hasarını azaltmak amacı ile III. grup deneklere; ışınlamadan 1 gün önce başlayarak, haftada 3 kez olmak üzere 3 hafta boyunca i.p. yoldan 200 mg/kg L-karnitin (CARNITENE ampule, Sigma-tau, Pomezia, İtalya) verildi.

I. Grup (n=6): Işınlanmayan ve haftada 3 kez olmak üzere, 3 hafta boyunca i.p. yoldan 0,2 ml plasebo serum fizyolojik (sf) verilen kontrol grubu.

II. Grup (n=24): Testisleri 10 Gy γ ışını alan ve ışınlamadan 1 gün önce başlayarak haftada 3 kez olmak üzere 3 hafta boyunca i.p. 0,2 ml plasebo sf verilen radyasyon grubu.

III. Grup (n=24): Testisleri 10 Gy γ ışını alan ve ışınlamadan 1 gün önce başlayarak, haftada 3 kez olmak üzere 3 hafta boyunca i.p. yoldan 200 mg/kg L-karnitin verilen radyasyon + L-karnitin grubu .



Şekil 3. Deney şeması

Erkek sıçanların fertilité değerlendirme için, ışınlamadan 35 gün sonra 3 grubun erkekleri ile ışın almamış erişkin dişi sıçanlar çiftleştirildi. Çiftleştirme için her erkek sıçan, 2 dişiyle 9 gün boyunca kafeslendi ve çiftleştirme süresinin ortası olan 5. günden itibaren 14 gün sonra yani gebeliğin 19. gününde döllenmiş dişilerin uterusları açılarak fetus sayısı ve ağırlığı tespit edilip, fetuslar anormalite açısından eksternal olarak değerlendirildi. İki dişiden herhangi biriyle bir veya daha fazla döl meydana getiren her bir erkek fertil kabul edildi.

II. ve III. grup deneklerin, her kesim gününde 6 tanesinden olacak şekilde, ışınlamadan 1 gün, 21 gün, 44 gün ve 70 gün sonra, kontrol grubu deneklerin ise çiftleşme periyodu

sonunda ketamin-xylazin anestezisi altında, testisleri biyopsi materyali olarak alınıp, ışık ve elektron mikroskopik incelemeler için rutin işlemlere tabi tutuldu.

Tüm deney süresi boyunca ağırlık takibi yapılan deneklerin, deney sonunda testis ağırlıkları ölçülerek, her bir grup için ortalama testis ağırlığı (g)/100 g vücut ağırlığı hesaplandı.

Işık mikroskopik incelemeler için; testis biyopsi materyallerinin yarısı, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Işık Mikroskopi Laboratuvar'ında, Bouin fiksatoründe fikse edilip, parafin inklüzyonu yapılarak bloklandı. Bu bloklardan alınan 5µ kalınlığındaki kesitlere, testisin histolojik yapı özelliklerini ortaya koyacak H+E ve histokimyasal PAS+HL boyaları uygulandı. Işık mikroskopunda (Olympus CX31-Japonya) bulguların fotoğrafları çekildi.

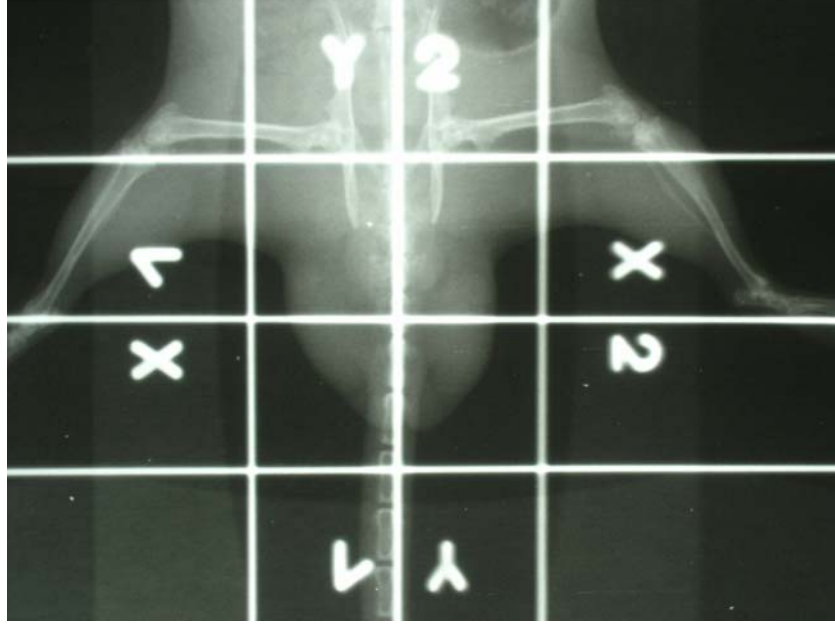
Testislerde seminifer tübül çapı ve seminifer epitel genişliği oküler mikrometre kullanılarak ölçüldü. Bu ölçümler, her hayvan için 3 testis kesiti üzerinde ve her kesitten yuvarlak veya yuvarlağa yakın 10 tübülün enine kesiti olmak üzere toplam 30 tübül değerlendirilerek yapıldı (84).

Spermatogenezdeki iyileşmeyi değerlendirmek için, sıçanlarda iki spermatogenetik siklus süresi sonunda (70. günde) sakrifiye edilen hayvanların testisleri kullanılarak, her hayvan için 200 seminifer tübül skorlandı. Bir tübül üç veya daha fazla B spermatogonyum veya daha ileri dönemde spermatogenetik hücre içeriyorsa yenilenen tübül olarak kabul edildi ve iyileşme gösteren tübüllerin yüzde oranı olan iyileşme indeksi (repopülasyon indeksi) hesaplandı (33).

Elektron mikroskopik incelemeler için; testis dokusundan alınan 1 mm³'lük parçalara pH'sı 7.3 olan, fosfat tamponu ile hazırlanmış %2,5'lük glutraldehitte 1,5 saat prefiksasyon, daha sonra aynı tamponla hazırlanmış %1'lik OsO₄ solüsyonunda 1 saat postfiksasyon uygulandı. Parçalar tamponda çalkalanıp, yükselen alkol derecelerinden geçirilerek dehidrate edildi, propilen oksitte saydamlaştırılıp, araldit inklüzyonu uygulanarak, bloklar hazırlandı. Blokların kesim bölgelerini belirlemek amacıyla, yarı ince kesitler alınarak (RMC-MTX Ultramikrotom-Amerika), azur mavisıyla boyandı. Belirlenen bölgelerden 40-60 nm kalınlığında ince kesitler alınıp, kesitler uranil asetat ve kontrastı artırmak amacı ile Reynold'un kurşun sitrat boyaları ile boyandı. Bu kesitler Jeol 1010 transmisyon elektron mikroskopunda incelenerek, bulgular fotoğraflandırıldı.

Morfometrik ölçümlerden elde edilen veriler ortalama±standart sapma şeklinde gösterildi. Değerlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Ölçülen parametreler bakımından gruplar arasındaki farklılıklar, veriler normal dağılıma

uygun olduğu için Tek Yönlü Varyans Analizi testi ile analiz edildi. Gruplar arasında önemli farklılık bulunduğunda, çoklu karşılaştırmalar için Bonferroni post-hoc testi kullanıldı. $p < 0.05$ olduğunda sonuçlar, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi. İstatistiksel analizler, Statistica 7.0 paket programında yapıldı



Resim 1. Supin pozisyonda simülasyon grafisi.

BULGULAR

Çalışmamızın 35. gününde kontrol ve deney grupları deneklerinin fertilizasyon yetenekleri değerlendirildi. Ayrıca tespit edilen deney süreleri sonunda elde edilen bilateral testis doku örnekleri üzerinde, morfometrik ölçümler ile spermatogenetik iyileşme değerlendirmesi yapıldı ve örnekler, ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde kıyaslanarak incelendi.

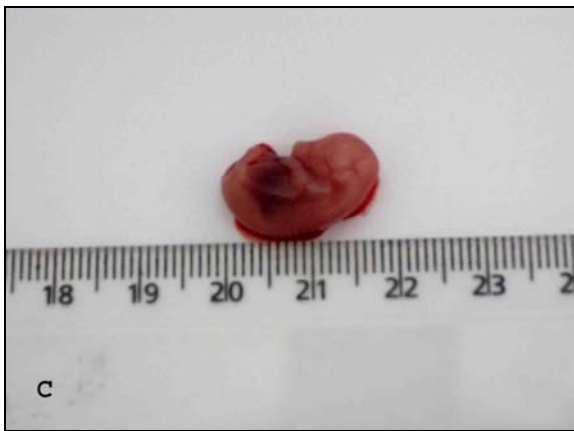
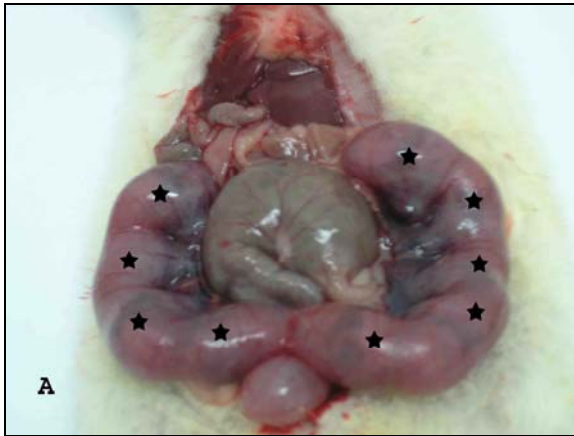
FERTİLİTE DEĞERLENDİRME BULGULARI

Erkek sıçanların fertilité değerlendirilmesi için, ışınlamadan 35 gün sonra 3 grubun erkekleri ile ışınlanmamış erişkin dişi sıçanların 9 günlük çiftleştirme işleminden sonra elde edilen sonuçlar Tablo 1’de gösterildi ve gebe kalan kontrol grubuna ait uteruslar ile fetusları fotoğraflandırıldı (Resim 2).

Fertilité değerlendirilmesi sonucunda; hem sadece radyasyon alan deneklerin hem de ışınlama ile birlikte L-karnitin tedavisi uygulanan deneklerden hiçbirinin fertil olmadığı gözlemlendi. Buna karşın kontrol grubuna ait 6 denekte de fertilité görüldü ve fertilizasyon oranı %100 olarak tespit edildi.

Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarının çiftleştirme deneyi sonuçları.

	Çiftleşmeye katılan/fertil ♂ denek sayısı	Çiftleşmeye katılan ♀ denek sayısı	Gebe denek sayısı	Embriyo sayısı	Fertilizasyon Oranı (%)
Kontrol	6/6	12	10	94	100
Radyasyon	6/0	12	-	-	0
Radyasyon +L- Karnitin	6/0	12	-	-	0



Resim 2. (A) Kontrol grubuna ait gebe kalan bir dişi sıçanın uterus görüntüsü (yıldız; fetus), (B) bu dişinin plasentası (beyaz ok) ile birlikte amnion kesesi (siyah ok) içerisindeki fetusu ve (C) amnion kesesinden çıkarılmış fetusu izlenmektedir.

SPERMATOGENETİK İYİLEŞME BULGULARI

Işınlamadan sonra spermatogenezdeki spontan iyileşme ile L-karnitin tedavisinden sonra spermatogenezdeki iyileşmenin seviyesi, üç veya daha fazla B spermatogonyum veya daha ileri dönemde spermatogenetik hücre içeren tübüllerin yüzde oranı olan iyileşme indeksinin tespit edilmesiyle değerlendirildi. Sıçanlarda iki spermatogenetik siklus süresi olan ışınlamadan sonraki 70. günde sakrifiye edilen, II. ve III. grup deneklerin testislerinde, her hayvan için 200 seminifer tübül analiz edildiğinde; yenilenmenin L-karnitin tedavili sıçanlarda ışınlanan deneklere ait tübüllerin %15'inde belirgin iken, yalnız radyasyon alan II. grup deneklerde tübüllerin sadece %5'inde belirgin olduğu gözlemlendi.

MORFOMETRİK BULGULAR

Deney gruplarına ait testis ağırlığı (g)/100 g vücut ağırlığı ile testis dokusunda oküler mikrometre ile yapılan seminifer tübül çapı ve seminifer epitel genişliği ölçüm sonuçları Tablo 2'de gösterildi.

Işınlamadan sonra seminifer tübül çapı ve seminifer epitel genişliğinde, kontrol grubuna göre 21., 44. ve 70. günlerde anlamlı derecede azalma gözlemlendi. Bu azalma 21. günden itibaren ortaya çıktı ve 44. güne kadar artarak devam etti, 70. günde ise seminifer tübül çapı ve epitel genişliği tekrar artmaya başladı. Radyasyon gruplarına kıyasla ışınlanan deneklerin L-karnitin ile tedavisi, seminifer tübül çapında 21.ve 44. günlerde, seminifer epitel genişliğinde ise 21. günde $p<0.05$ oranında anlamlı bir koruma meydana getirdi. Ancak tedavili gruplar, bu parametreler açısından kontrol grubu ile kıyaslandığında aralarında farklı oranlarda anlamlı bir farkın olduğu tespit edildi (Tablo 2, Şekil 4, 5).

Sıçanlarda testiküler ışınlamanın, vücut ağırlığında değişikliğe neden olmadığı, fakat ışınlamadan 21., 44. ve 70. günlerde kontrol grubuna kıyasla testis ağırlığında azalma meydana getirdiği saptandı. Azalma ışınlamadan sonraki 21. günde başladı ($p<0.01$) ve 44. günde en üst seviyeye ulaştı ($p<0.001$). Deneyin 21. gününde testis ağırlığı kontrol grubunun %50'si, 44. günde ise %32'si kadardı. Işınlamadan sonraki 70. günde çok hafif bir artış gözlenmesine karşın, kontrol grubu ile kıyaslandığında anlamlı derecede farklılık vardı ($p<0.001$). L-karnitin tedavisi, deneklerin testis ağırlığında anlamlı bir koruma sağlamadı (Tablo 2, Şekil 6).

Tablo 2. Kontrol ve deney gruplarının seminifer tübül çapı, seminifer epitel genişliği ve testis ağırlığı (g)/100 g vücut ağırlığı ortalama±standart sapma değerlerinin karşılaştırılması.

Gruplar	Seminifer tübül apı (µ)	Seminifer epitel genişliği (µ)	Testis ağırlığı (gr)/100 gr vücut ağırlığı
Kontrol	255.25±8.48	61.08±1.57	0.49±0.06
Radyasyon 1. Gün	258.78±7.40	58.89±1.51	0.48±0.03
Rad+L-Karnitin 1. Gün	259.70±5.83	59.94±0.99	0.49±0.05
Radyasyon 21. Gün	185.91±14.94*	33.08±3.45*	0.24±0.04*
Rad+L-Karnitin 21. Gün	205.72±10.10*·§	48.83±1.52¶·§	0.26±0.02*
Radyasyon 44. Gün	139.44±4.26†	22.97±1.99‡	0.16±0.01‡
Rad+L-Karnitin 44. Gün	158.61±4.98‡·	28.94±2.60‡	0.17±0.02‡
Radyasyon 70. Gün	147.98±2.50‡	34.97±2.77*	0.18±0.01‡
Rad+L-Karnitin 70. Gün	160.44±6.10‡	39.61±0.99*	0.18±0.02‡

Rad: Radyasyon

*p<0.01 Kontrol grubu ile kıyaslandığında.

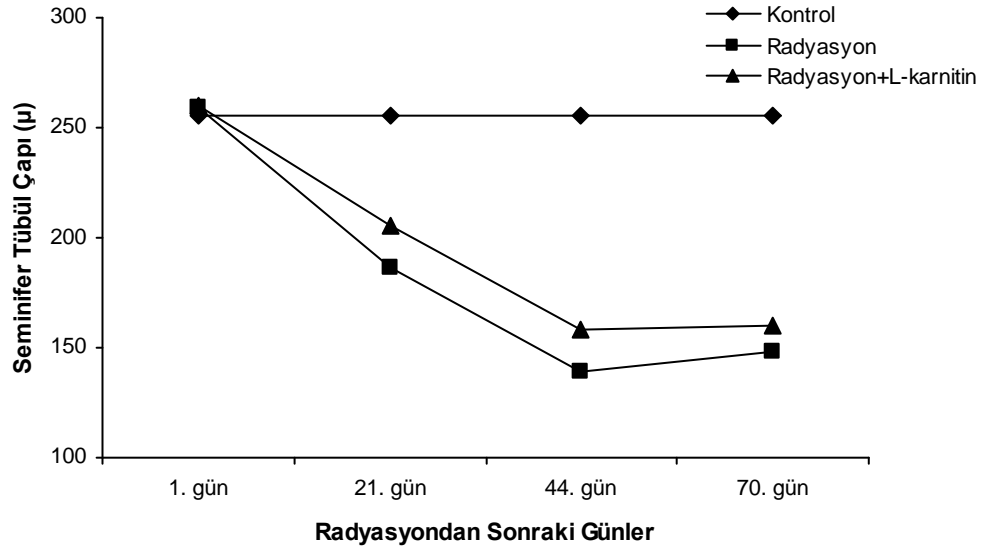
† p<0.0001 Kontrol grubu ile kıyaslandığında.

‡ p<0.001 Kontrol grubu ile kıyaslandığında.

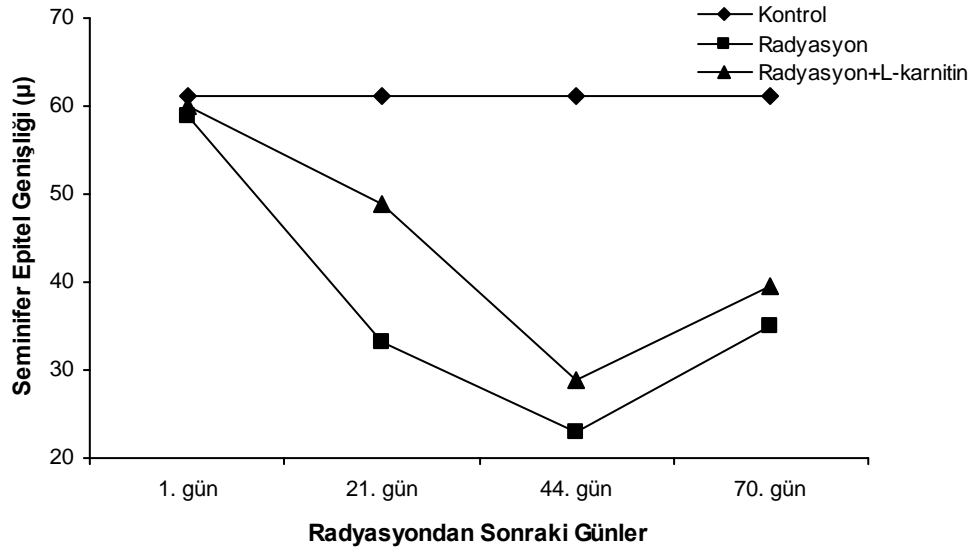
§ p<0.05 Radyasyon 21. gün grubu ile kıyaslandığında.

|| p<0.05 Radyasyon 44. gün grubu ile kıyaslandığında.

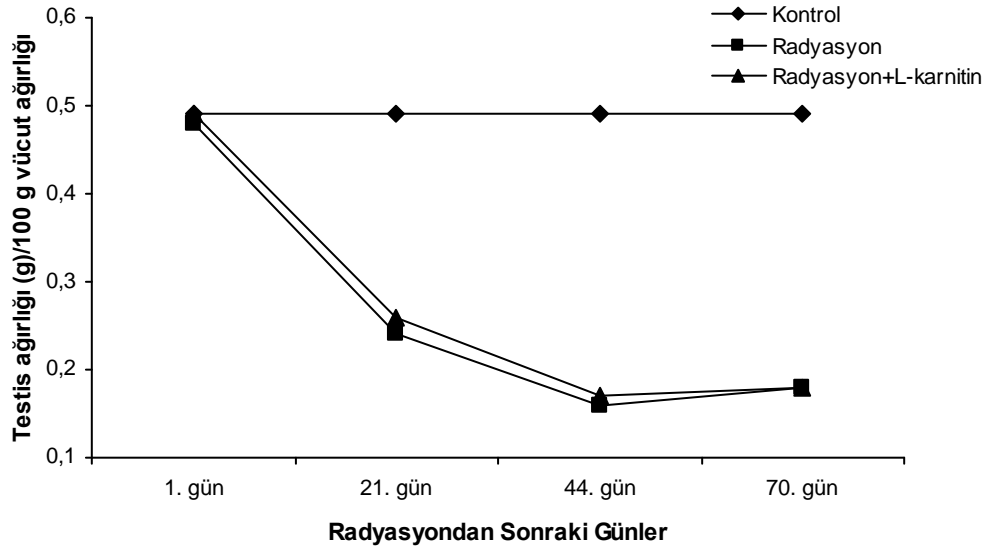
¶ p<0.05 Kontrol grubu ile kıyaslandığında.



Şekil 4. Kontrol ve deney gruplarının ışınlamadan sonraki seminifer tübül çapı değerlerinin zaman içindeki değişimi.



Şekil 5. Kontrol ve deney gruplarının ışınlamadan sonraki seminifer epitel genişliği değerlerinin zaman içindeki değişimi.



Şekil 6. Kontrol ve deney gruplarının ışınlamadan sonraki testis ağırlığı (g)/100 g vücut ağırlığı değerlerinin zaman içindeki değişimi.

MORFOLOJİK BULGULAR

Kontrol Grubuna Ait Işık ve Elektron Mikroskopik Bulgular

Kontrol grubu testis seminifer tübüllerinin ışık mikroskopik incelemesinde, çok sıralı bir epitel tabakası ile döşeli olduğu gözlemlendi. Seminifer tübül epitelinin iki tip hücreden oluştuğu görüldü; bunlardan biri Sertoli hücreleri, diğeri spermatogenik hücrelerdi (Resim 3, 4, 5, 6).

Sertoli hücreleri tunika propriyanın (lamina propria, membrana propria) en iç lameli olan bazal lamina üzerine oturmuştu. Komşu Sertoli hücreleri arasında çok miktarda spermatogenik hücre yer almaktaydı, bu nedenle Sertoli hücrelerinin sınırları belirgin bir şekilde seçilememekte idi. Ancak bu hücreler soluk boyanan ve genellikle farklı şekilde (Piramit, armut, üçgen veya oval) nükleuslarıyla ayırt edildi. Seminifer tübüllerde spermatogenetik seriye ait hücreler normal olarak gözlemlendi. Oval biçimli nükleuslara sahip spermatogonyumlar bazal laminaya yakın olarak izlendi. Spermatozoid ve spermatozoid gibi diğeri spermatogenik hücrelerin gelişme evrelerine bağlı olarak daha üst sıralarda yer aldıkları görüldü. Primer spermatozoidler, spermatogonyumların hemen üzerinde seminifer tübül epitelinin ortalarında gözlemlendi. Birkaç sıra halinde dizilmiş olan bu hücreler, spermatogonyumlardan daha büyük olmaları ile ayırt edildi. Büyüklüklerine ve nükleus şekillerine göre leptoten/zigoten ve pakiten/diploten döneminde olan primer spermatozoidler izlendi. Primer spermatozoidlere göre lümeneye daha yakın ve daha küçük olan sekonder spermatozoidlere daha nadir rastlandı. Sekonder spermatozoidlerden gelişen spermatozoidlerin lümeneye yakın buldukları görüldü. Bunlar; nükleusun üzerine oturmuş kep şeklinde PAS pozitif akrozom yapısıyla erken spermatozoidler ile lümeneye uzanan iplik tarzında kuyrukları ve koyu uzun başlarıyla spermatozoonlara dönüşecek olan geç spermatozoidler şeklinde ayırt edildi. Çoğu seminifer tübül kesitlerinin lümeninde spermatozoidlere rastlandı (Resim 4, 5, 6).

Sertoli hücreleri ve spermatogenik hücreler tarafından meydana getirilen seminifer tübül epiteli en dıştan tunika propria ile sarılmıştı. Tunika propriyanın bazal laminası PAS pozitif olarak izlendi. Myoid hücreler, tunika propriyanın ortasında, bu dokuya paralel uzanan koyu boyanmış iğ şeklindeki uzun nükleuslarıyla tanındı (Resim 5, 6).

Seminifer tübüller arasındaki interstisyel dokuda, kan damarları etrafında yerleşmiş, gevşek kromatinli nükleusa sahip, oval ya da yuvarlak şekilli Leydig hücreleri ile lenf kapillerleri ve bağ doku hücreleri görüldü (Resim 3, 4, 5).

Elektron mikroskobunda seminifer túbüllerin etrafını saran tunika propriyanın dört belirgin tabakadan meydana geldiği görüldü. Bu tabakalar seminifer túbülden interstisyuma doğru aşağıdaki dizilimi göstermekte idi (Resim 7, 8).

- 1- İç Hücresel Olmayan Tabaka
- 2- İç Hücresel Tabaka (Myoid Hücre Tabakası)
- 3- Dış Hücresel Olmayan Tabaka
- 4- Dış Hücresel Tabaka (Endotel Hücre Tabakası)

İç hücresel olmayan tabaka iki lamelden oluşmuştu ve bu iki lamel arasında kollajen iplikçiklerin yer aldığı bir alan bulunmakta idi. Sertoli hücreleri, bu tabakanın en iç lameli olan bazal lamina üzerine oturmuştu. Oldukça büyük ve tek olan çekirdek hücrenin bazalinde, bazal laminaya yakın yerleşim göstermekteydi. Genellikle oval bir biçime ve oldukça derinlere uzanan bir veya daha fazla çentiğe sahipti. Nükleoplazma içerisinde düzenli bir dağılım gösteren kromatinin gevşekçe düzenlenmiş yapısından dolayı, çekirdek homojen görünümdeydi. Kromatin özelliği bakımından ökromatik tip nükleusu anımsatan Sertoli hücresi nükleusunda, yuvarlak şekilli ve genellikle nükleus merkezinde yerleşmiş nükleolus oldukça koyu olarak izlenmekte idi (Resim 8).

Sertoli hücre sitoplazmasının organeller ve inklüzyonlar bakımından zengin olduğu gözlemlendi. Sitoplazmalarında çok sayıda mitokondriyonların olduğu görüldü. Karakteristik olarak pleomorfizm gösteren mitokondriyonlar túbüler, fincan ve veziküler tipte olup, bu tip mitokondriyonlara özellikle steroid salgı yapan hücrelerde rastlanmaktadır. Sertoli hücresi mitokondriyonlarının, spermatogenik hücre mitokondriyonlarına oranla çok daha fazla elektron yoğun oldukları dikkati çekti. Spermatogenik hücrelere kıyasla oldukça yoğun olan sitoplazmalarının iyi gelişmiş Golgi kompleksi, çok sayıda granülsüz endoplazmik retikulum ve her yere dağılmış serbest ribozomlar ile az sayıda granüllü endoplazmik retikulum içerdiği gözlemlendi. Bunların dışında Sertoli hücre sitoplazmasında çok sayıda elektron yoğunluğu değişik lipid damlacıkları ve farklı büyüklüklerde elektron yoğun cisimcikler görüldü (Resim 7, 8).

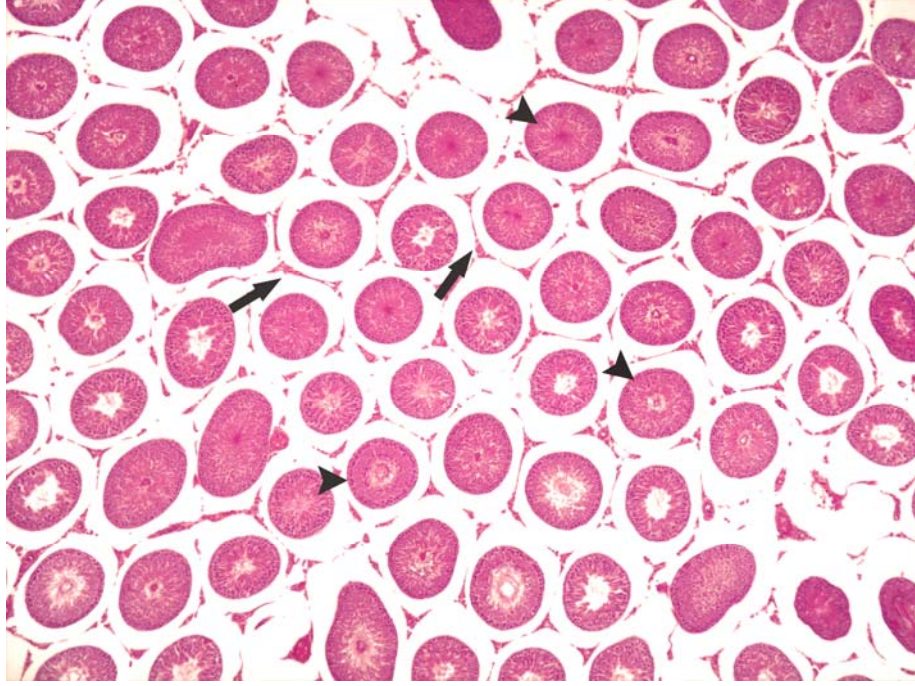
Sertoli hücreleri ile komşu hücreler arasında iki farklı tip bağlantı kompleksi bulunmaktaydı. Bu bağlantılardan biri, Sertoli-Sertoli hücresi, diğeri ise Sertoli-spermatogenik hücreler arasında yer almakta idi (Resim 9A, 9B). Komşu Sertoli hücreleri arasında elektron yoğun olarak izlenen sıkı bağlantı kompleksi kan-testis bariyerini oluşturmakta idi (Resim 9A). Bu bariyer ile seminifer túbül duvarı iki kompartımana ayrılmaktaydı. Sıkı bağlantıların altında kalan spermatogonyumları içeren bazal kısım ile sıkı bağlantıların üstünde kalan diğer spermatogenik hücrelerin yer aldığı lümen altı (adluminal)

kısım ayırt edilmekte idi. Spermatogonyum dışında kalan çeşitli evrelerdeki spermatogenik hücreler Sertoli hücrelerinin lateral girintilerine yerleşmişlerdi. Sertoli hücresi ile gelişen spermatidler dışında kalan spermatogenik hücreler (spermatogonyum, spermatosit, erken devre spermatid) arasında görülen bağlantı kompleksleri ise “zonula adherens”lere benzemekteydi (Resim 9B).

Spermatogenezin kaynak hücresi olan spermatogonyumlar, bazal lamina üzerinde oval yada yuvarlak şekilli hücreler olarak izlendi. Bu hücrelerin koyu veya açık görünümlü oval veya yuvarlak nükleus ile nisbeten hücre organellerinden fakir bir sitoplazmaya sahip olduğu görüldü.

Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmesi sonucu ortaya çıkan primer spermatositler, spermatogonyumlardan daha büyük olarak ve onların hemen üzerinde çoğunlukla yoğunlaşmış kromatinli nükleusları ile tanındı. Bu hücreler granüler kromatin şeklinde dağılmış büyük nükleusa sahipti. Sitoplazmaları çok sayıda serbest ribozom, belirgin bir Golgi aygıtı ve mitokondriyonları içermekte idi.

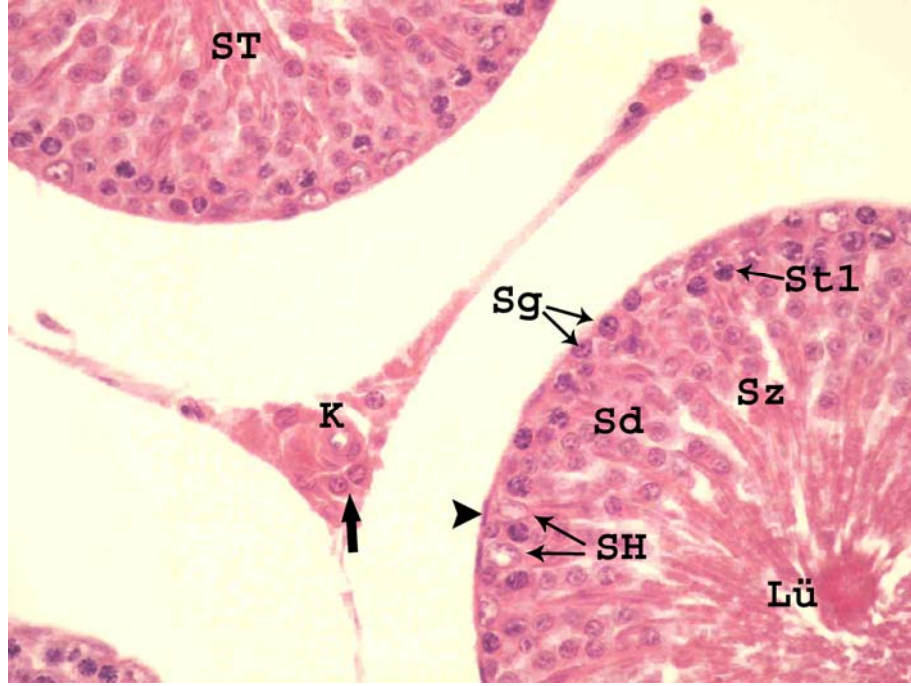
Spermatidler, sentral konumlu, dağınık kromatinli nükleusa sahip gelişimlerine göre küre veya uzamış şekilli hücreler olarak gözlendi. Sitoplazmaları periferik yerleşimli, elektron-saydam (lucent) bir merkeze sahip, küçük ve yuvarlak şekilli mitokondriyonlardan zengin idi. Golgi fazındaki spermatidler nükleusa yakın Golgi aygıtı ile, akrozomal başlık fazındaki spermatidler ise nükleus üzerine hilal şeklinde oturan akrozomu ile tanındı. Lümene daha yakın olan geç spermatidler koyu, uzamış başları ve mikrotübül içeren kuyruk kesitleri ile seçildi. Farklı seviyelerde sperm enine kesitleri sıklıkla gözlendi (Resim 10).



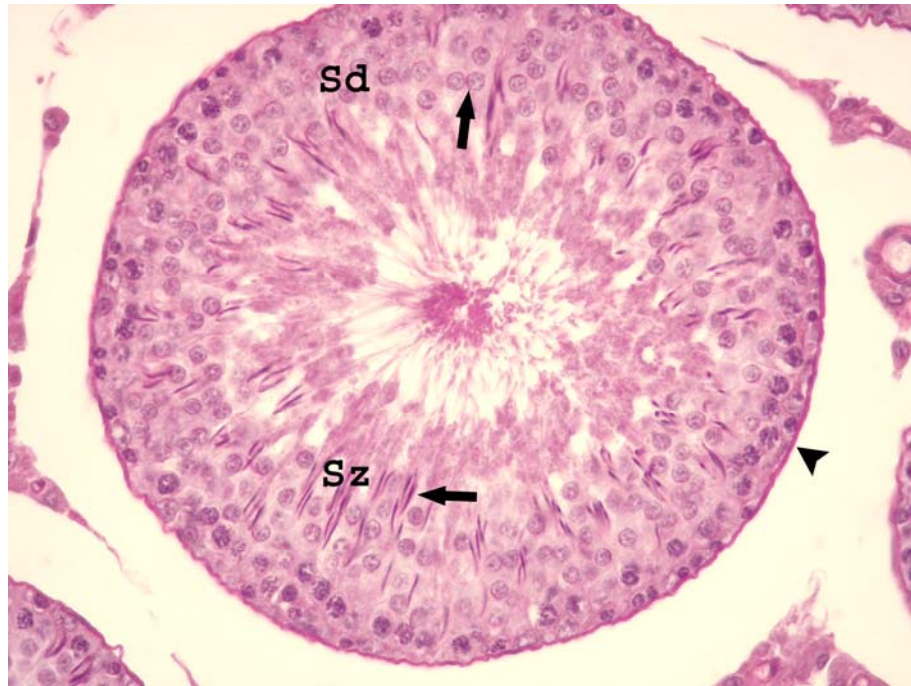
Resim 3. Kontrol grubu sıçan testisinde, çapları birbirine yakın normal yapıda ve spermatogenezin farklı aşamasında olan seminifer tübüller (►) ile aralarındaki interstisyel bağ doku (→) gözlenmektedir. H+E, X40.



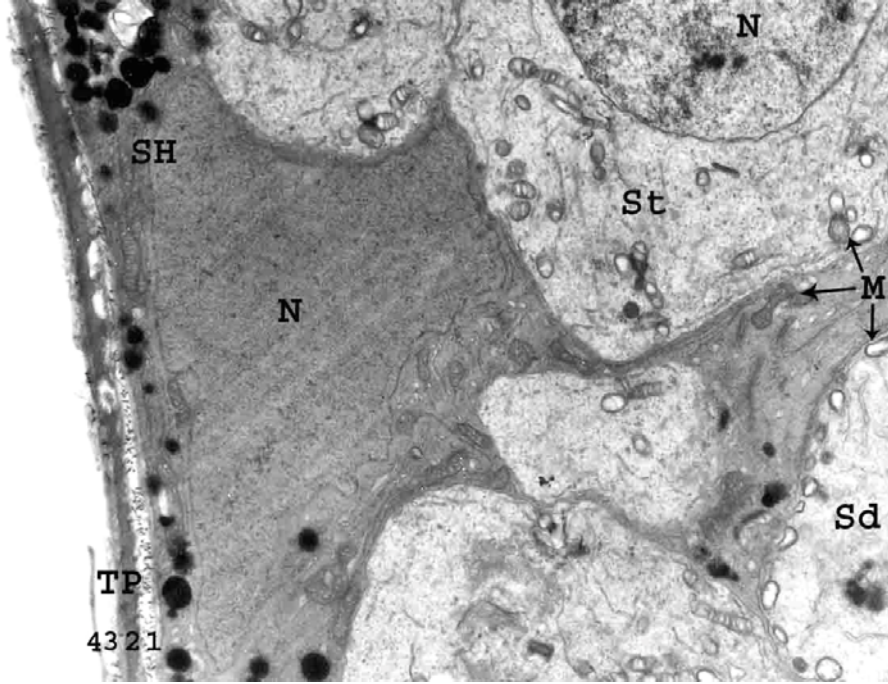
Resim 4. Kontrol grubuna ait normal dağılım gösteren germinal hücrelerin yer aldığı, düzenli sınırlara sahip seminifer tübüller (►) ile aralarındaki interstisyel bağ doku (→) izlenmektedir. H+E, X200.



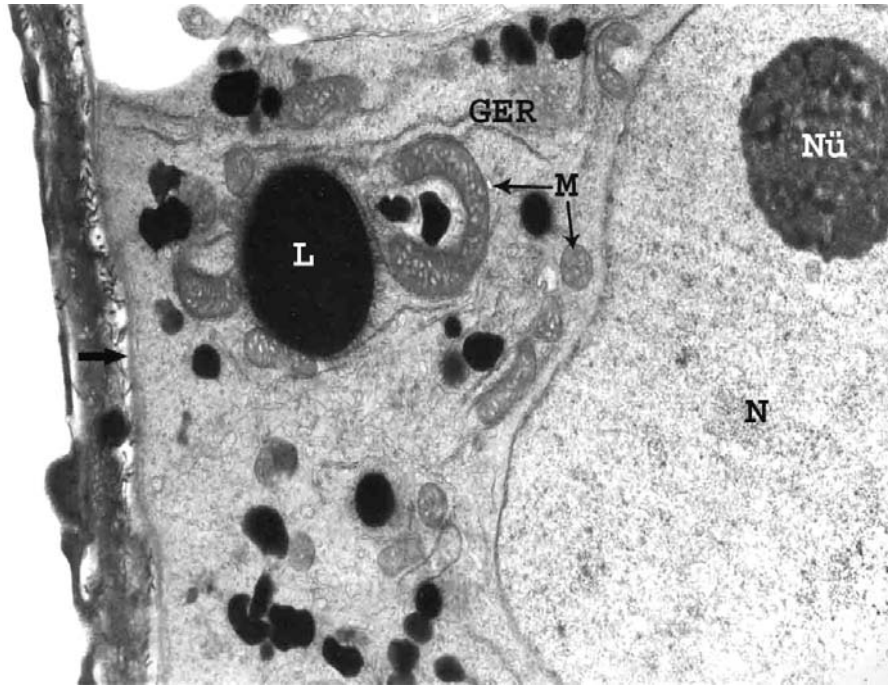
Resim 5. Kontrol grubuna ait seminifer tübül (ST) enine kesitlerinde, germ hücrelerinin tübül lümenine (Lü) doğru, spermatogonyum (Sg), leptoten/zigoten spermatosit-I (St1), erken (Sd) ve geç spermatid (Sz) şeklinde sıralandığı ve Sertoli hücrelerinin (SH) ise tübülün hemen bazal laminası üzerinde yerleştiği gözlenmektedir. Tübüller etrafında iğ şeklinde nükleusları ile tanınan myoid hücreler (►) ve intersitisyel sahada kan kapileri (K) etrafında yerleşmiş Leydig hücreleri (→) izlenmektedir. H+E, X400.



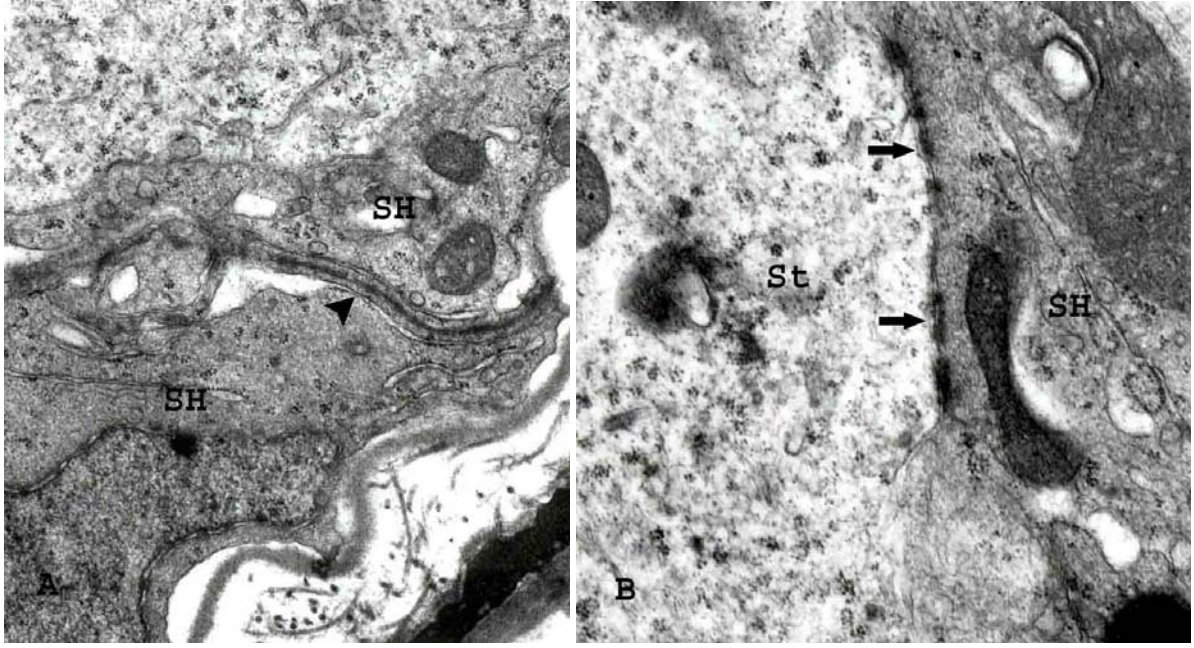
Resim 6. Kontrol grubuna ait bir seminifer tübül etrafında PAS (+) izlenen bazal lamina (►) gözlenmektedir. Düzenli dağılım gösteren germinal epitel içerisindeki erken (Sd) ve geç spermatidler (Sz) nükleus üzerine oturmuş kep şeklindeki PAS (+) akrozom (→) yapıları ile dikkati çekmektedir. PAS+HL, 400.



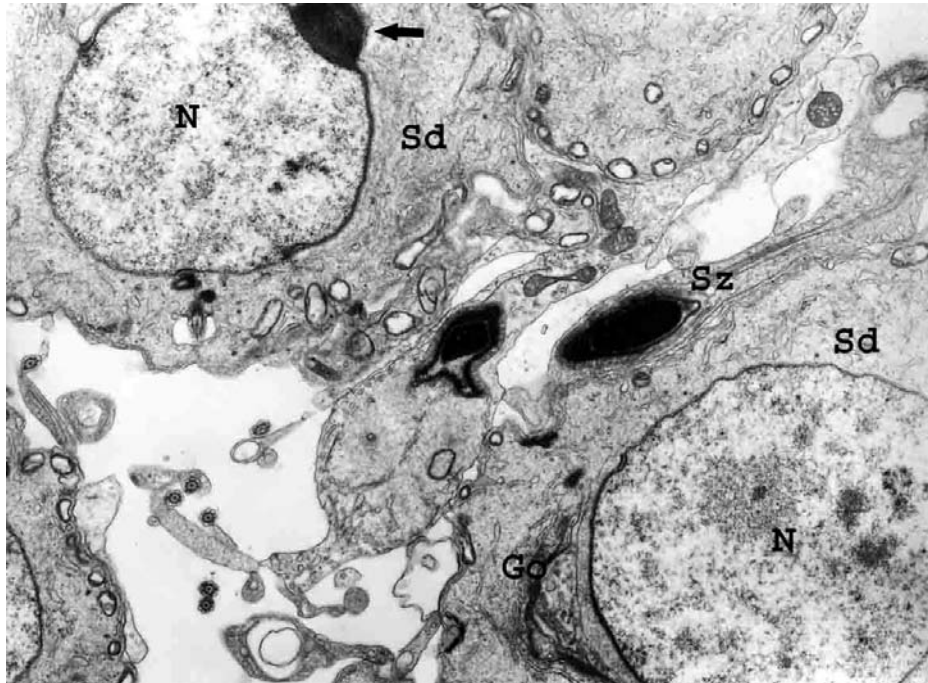
Resim 7. Kontrol grubu sıçan testisinde seminifer tübülün bazal kısmında, tunika propriya (TP) ile ilişkili Sertoli hücresi (SH), daha iç kısımlarda spermatozitler (St) ve erken spermatozidler (Sd) izlenmektedir. Tunika propriyanın; iç hücresel olmayan tabaka (1), iç hücresel tabaka (2), dış hücresel olmayan tabaka (3) ve dış hücresel tabakadan (4) oluştuğu görülmektedir. Nükleus (N), mitokondriyon (M). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X5000.



Resim 8. Seminifer tübülde bazal lamina (→) üzerine oturan Sertoli hücresi nükleusunun (N), belirgin bir nükleolusa (Nü) sahip olduğu görülmektedir. Sitoplazmasında farklı şekillerde mitokondriyonlar (M), bu mitokondriyonlar ile ilişkili granüllü endoplazmik retikulum sisternaları (GER) ve lipid damlacıkları (L) izlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X8000.



Resim 9. Sertoli hücreleri (SH) ile komşu hücreler arasında bulunan bağlantı kompleksleri gözlenmektedir. Kan-testis bariyerini oluşturan sıkı bağlantı komplekslerinin (▶) Sertoli hücreleri arasında (A, X15000), zonula adherenslerin (→) ise Sertoli hücreleri ile bir spermatogonik hücre (spermatosit (St)) arasında (B, X20000) yer aldığı görülmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat.



Resim 10. Seminer tübülün lümen altı bölgesinde yer alan germinal hücrelerden akrozomal (→) başlık fazında ve Golgi (Go) fazındaki spermatidler (Sd) ile spermatozoonlara dönüşecek geç spermatidler (Sz) gözlenmektedir. Nükleus (N). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X5000.

Radyasyon Grubuna Ait Işık ve Elektron Mikroskopik Bulgular

İyonize radyasyonun, 10 Gy γ ışınları ile 1., 21., 44. ve 70. günlerde sıçan testis seminifer tübüllerinin duvarını oluşturan germ hücreleri ve Sertoli hücrelerine olan etkileri değerlendirildi.

Radyasyon grubunun 1. günü:

Deney grubunun 1. gününde ışık mikroskopik incelemede; seminifer tübüllerin çoğunda germinal epitel hücrelerinin birbirlerinden ve tübüler bazal laminadan ayrıldıkları, bu hücrelerin desquamasyonu sonucu germinal epitelde boşluklar şeklinde kısmi kayıpların ortaya çıktığı gözlemlendi. Birçok tübülde belirgin derecede spermatogenik hücre kaybı ve disorganizasyon dikkati çekti (Resim 11, 12, 13). Bazı tübül şekillerinin bozularak, büzüştüğü ve lümenlerinin henüz olgunlaşmasını tamamlamamış germinal hücre döküntüleri içerdiği izlendi (Resim 14, 15). Çeşitli dejenerasyonları içeren seminifer tübüllerin normal kalınlıkta bazal lamina ile çevrili olduğu görüldü. Bu grupta, bazı alanlarda seminifer tübüller etrafında hyalinizasyonun varlığı dikkati çekti (Resim 16).

Elektron mikroskopunda radyasyon grubunun 1. gününe ait testis doku örnekleri incelendiğinde, normal yapıda tunika propriya izlendi (Resim 17). Bazal lamina üzerine oturan Sertoli hücrelerinin düzenli kromatin dağılımı gösteren, hafif çentikli nükleusları içinde oldukça belirgin olan nükleolusları görüldü. Normal elektron yoğunluğuna sahip sitoplazmaları, değişik şekillerde mitokondriyonlar ile kontrol grubuna göre daha fazla miktarda ve iri lipid damlacıkları içermekteydi (Resim 17, 18). Sertoli-Sertoli sıkı bağlantı kompleksi normal yapıda izlendi (Resim 18). Bazı Sertoli hücrelerinde granülsüz endoplazmik retikulum genişlemiş ve farklı büyüklükte yuvarlak keseler şeklini almıştı. Bu hücrelerde yozlaşma apikal sitoplazmada daha belirgindi. Buna bağlı olarak apikal sitoplazmaya gömülü olarak gelişimini sürdüren spermatidlerin de normal yapıda olmadıkları dikkati çekti (Resim 17).

Tübüllerin çoğunda, büzüşmeden dolayı spermatogonyumların bazal laminadan ve Sertoli hücrelerinden uzaklaştıkları görüldü. Çevrelerinde düzensiz boşlukların ortaya çıktığı spermatogonyumlarda kromatin, nükleus içerisinde periferik kümeler şeklinde yoğunlaşmıştı (Resim 18). Spermatogonyumların üzerinde ve onlardan daha büyük olan primer spermatositlerde mitokondriyon gruplaşmaları gözlemlendi. Farklı gelişim evrelerindeki spermatidler, hücre membranı boyunca dizilmiş, yuvarlak mitokondriyonları ile tanındı (Resim 17, 19, 20). Bazı spermatidlerin nükleusları, hafif düzensizlikler gösteren akrozomal vezikül ile sarılmıştı (Resim 19, 20). Bazı tübüllerde Sertoli hücrelerinin spermatogenik

hücreler ile olan bağlantılarındaki zayıflama ve özellikle apikal Sertoli hücre sitoplazmasının lizisi sonucunda, hücreler arasında düzensiz boşluklar oluşmuştu (Resim 19, 20). Spermatogenik hücrelerden bir kısmı bağlantıların kopmasına bağlı olarak seminifer tübül lümenine dökülmüşlerdi.

Radyasyon grubunun 21. günü:

Deney grubunun 21. gününde ışık mikroskopik incelemede; seminifer tübül çaplarının kontrole ve 1. güne kıyasla önemli ölçüde küçülmüş olduğu gözlemlendi. Tübüllerin hemen hemen tümünde spermatogenezin durduğu, ayrıca seminifer epitel tabaka sayısının da azaldığı dikkati çekti. Bazı tübüllerin ise büyük ölçüde germ hücrelerinden yoksun olduğu ve bu nedenle çoğunlukta Sertoli hücreleri olmak üzere az miktarda kaynak spermatogonyumları içerdiği tespit edildi. Bu tübüllerde Sertoli hücre uzantıları arasındaki germinal hücrelerin kaybından dolayı seminifer epitelde vakuolizasyonların ortaya çıktığı gözlemlendi (Resim 21, 22). Hayatta kalan spermatidlerin tübüllerde ya tek tek buldukları ya da kümelenerek çok nükleuslu dev hücreleri oluşturdukları görüldü (Resim 23). Bazı tübüllerin büzüşmeleri sonucu çevredeki interstisyumdan ayrıldıkları gözlemlendi (Resim 24). Dejeneratif tübüllerin etrafını çevreleyen bazal laminadaki kalınlaşma dikkat çekici idi. Işınlamanın etkisi ile bu deney grubunda, peritübüler doku hyalinizasyonu ile birlikte hafif derecede interstisyel hücre yoğunluğunda ve vaskülarizasyonda artış şeklinde değişiklikler saptandı (Resim 25).

Bu grubun elektron mikroskopik incelenmesinde, tunika propriyanın bazı tübüllerde nisbeten normal bir yapıda olduğu, bazılarında ise bazal laminanın seminifer epitele doğru ondülasyonlar yaptığı gözlemlendi. Ayrıca iç hücresel olmayan tabakada hafif kollajen artışı izlendi (Resim 26).

Işık mikroskopik düzeyde tespit edilen germinal hücre kaybı elektron mikroskobu ile de açıkça gözlemlendi. Bazı tübüllerin başta Sertoli hücreleri olmak üzere, birkaç kök spermatogonyum içerdiği tespit edildi (Resim 26). Normale yakın yapıda Sertoli hücrelerin yanı sıra, sitoplazma yoğunluğu azalmış, dejeneratif hücrelere de sıklıkla rastlandı. Bu hücrelerin sitoplazmalarında belirgin granülsüz endoplazmik retikulum dilatasyonu, şişkinleşerek yuvarlaklaşmış mitokondriyonlar ile çok sayıda ve farklı büyüklükte lipid damlacıkları gözlemlendi. Bu hücrelerin nükleus şekillerinin oldukça düzensizleştiği ve belirgin invajinasyonlar sergilediği tespit edildi. Sertoli hücreleri arasındaki bağlantılar normal yapıda izlendi (Resim 26, 27). Bazı tübüllerde Sertoli hücrelerinin yanı sıra, bazal lamina üzerine oturmuş kök spermatogonyumlar, oval nükleusları ile tanındı. Sitoplazmalarında yaygın vakuolizasyon dikkati çekti (Resim 26). Bir çok tübülde, spermatogonyumların kaybından

dolayı bazal kısımda, spermatositlerin kaybından dolayı ise daha iç kısımda Sertoli hücreleri arasında boşluklar ortaya çıkmıştı.

Tübüllerin bir kısmında hayatta kalan spermatidlerin tek tek ya da çok nükleuslu dev hücreler şeklinde buldukları görüldü. Bu hücrelerin, nükleuslarında kromatin kaybına bağlı olarak elektron saydam merkezlerin ortaya çıktığı dikkati çekti (Resim 28, 29). Bazı spermatidlerde akrozomal yapının düzensizleştiği gözlemlendi (Resim 28).

Radyasyon grubunun 44. günü:

Deney grubunun 44. gününde ışınlamaya bağlı olarak hasarın boyutunun zamanla artmış olduğu, ışık mikroskopik incelemede tübül çaplarında küçülme ve tübüler dejenerasyondaki artış ile açıkça gözlenmekte idi. Tübüler vakuolizasyonun sayısı ve vakuollerin büyüklüğü 21. güne kıyasla daha fazlaydı. Ayrıca, spermatidlerin ortadan kaybolmasından dolayı tübüllerde çok nükleuslu dev hücreler gözlenmiyordu (Resim 30, 31, 32). Tübüllerde germ hücrelerinin çoğunun ortadan kaybolduğu, sadece birkaç spermatogonyum ile çok sayıda Sertoli hücresi içerdikleri görüldü (Resim 32, 33, 34). Sertoli hücrelerinin nükleus şekillerinin düzensizleştiği ve zaman zaman bazal membrandan uzakta, tübül lümenine doğru yerleştikleri dikkati çekti (Resim 33). Tübüllerin bir kısmının şeklinin bozulduğu, bazı tübüllerin ise büzüşmeleri sonucu etraflarındaki interstisyel dokudan ayrılarak yarım ay şeklini aldıkları saptandı (Resim 31, 32). Tübüllerin etrafındaki bazal laminadaki kalınlaşmanın şiddeti PAS pozitifitedeki artış ile tespit edildi (Resim 34). İnterstisyel sahada gözlenen hücre yoğunluğunda ve vaskülarizasyonda artış ile peritübüler hyalinizasyonun şiddeti dikkat çekici boyutta idi (Resim 32, 33).

Elektron mikroskopik incelemede 44. günle birlikte dejeneratif değişikliklerin şiddetinde belirgin derecede artış gözlenen seminifer tübülleri çevreleyen tunika propriya oldukça kalınlaşmıştı. Bazal laminadaki belirgin ondülasyonlar dikkati çekti (Resim 35, 36). Seminifer tübüllerde gözlenen en çarpıcı bulgu, vakuolizasyon sayısı ve vakuollerin büyüklüğündeki artış idi (Resim 35, 36). Bu grupta olgunlaşma tüketim sürecinin spermatidlere ulaştığı, bu hücrelerin ortadan kaybolması ile gözlenebilmekte idi. Ayrıca spermatidlerin kaybı dolayısıyla dev hücrelere de rastlanmadı.

Dejeneratif değişiklikler sergileyen tübüllerin çok sayıda Sertoli hücreleri ile az miktarda kök spermatogonyumları içerdiği görüldü (Resim 36, 37). Bu tübüllerde yer alan Sertoli hücrelerinin zaman zaman bazal laminadan uzaklaşarak tübül lümenine doğru yaklaştıkları, bazı bölgelerde bir araya toplandıkları gözlemlendi. Bu hücrelerin nükleus şekillerinde, çok sayıda ve derin invajinasyonların neden olduğu düzensizlik dikkat çekici boyutta idi (Resim 36). Bazı Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarının, hücre organellerinde

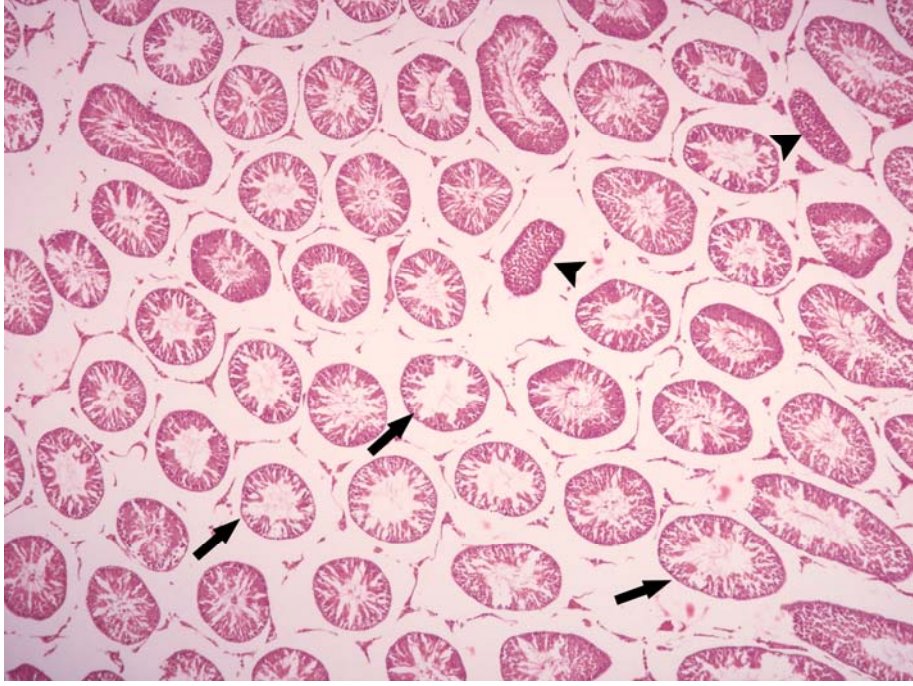
meydana gelen bozulma nedeniyle elektron yoğunluğunda azalma gözlemlendi. Şişmiş mitokondriyonlar, dilate olmuş granülsüz endoplazmik retikulum sisternaları, elektron yoğun yapılar ve oldukça iri lipid damlacıkları dejeneratif Sertoli hücre sitoplazmalarında sıklıkla izlendi. Bazı hücrelerde granülsüz endoplazmik retikulum sisternalarının aşırı dilatasyonu sonucu sitoplazma köpüğümsü bir görünüm kazanmıştı (Resim 35, 36, 38).

Radyasyon grubunun 70. günü:

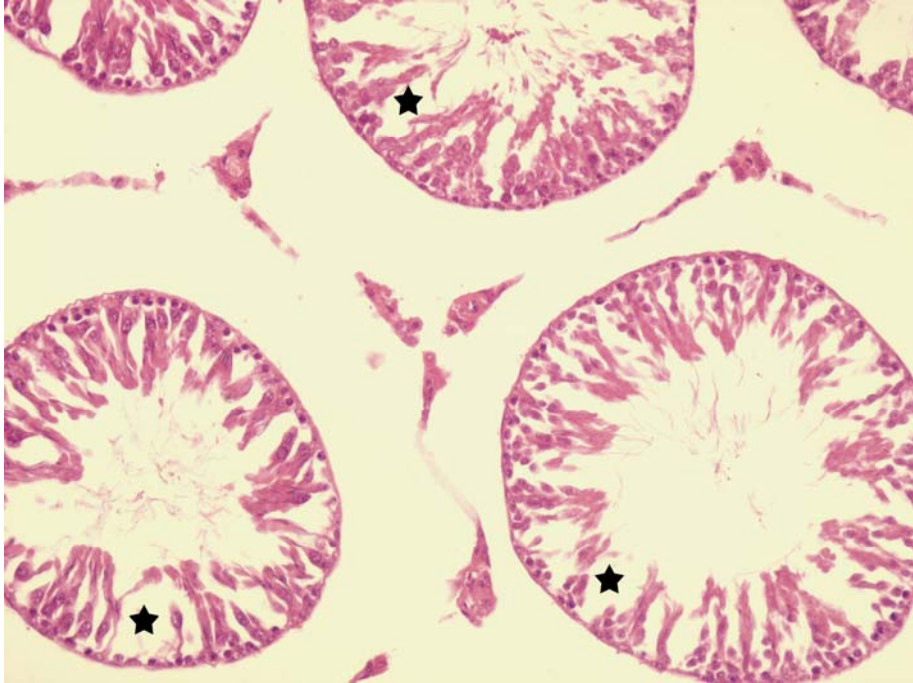
Deney grubunun 70. gününde ışık mikroskopik incelemede, bazı tübüllerde germinal hücrelerin tekrar ortaya çıkmasıyla rejenerasyonun meydana geldiği gözlemlendi. Bu geri dönüş grubunda, tüm germ hücre tiplerinin izlendiği tübüller ile daha az rejenerasyon gösteren tübüller dikkati çekti. Ancak yenilenme göstermeyen tübüllerin sayısı da azımsanamayacak düzeyde idi (Resim 39, 40, 41). Seminifer tübüllerin bazal laminasındaki kalınlaşma ile birlikte ışınlamaya bağlı interstisyumdaki değişiklikler bu grupta da gözlemlendi (Resim 40, 42).

Elektron mikroskopik incelemede 70. günde, seminifer tübüllerini saran tunika propriyada kalınlaşma ile birlikte bazal laminada düzensizlikler gözlemlendi (Resim 43).

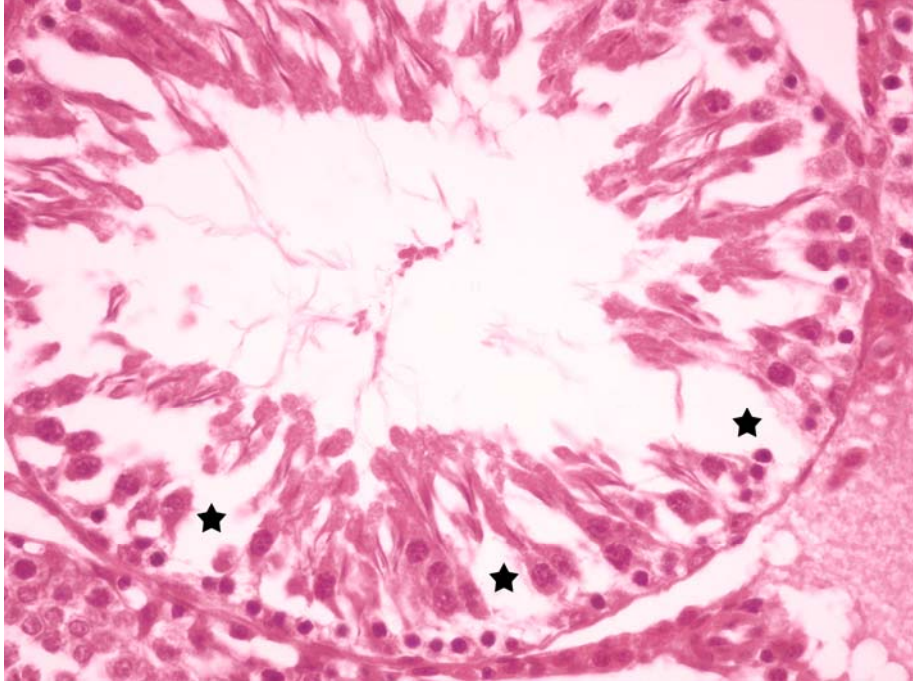
Bu dönemde dejeneratif tübüllerin yanı sıra rejenerasyon gösteren seminifer tübüller tespit edildi. Bu tübüller, Sertoli hücreleri ile hayatta kalan kök spermatogonyumların farklılaşması ile ortaya çıkan B spermatogonyum, spermatositler ve spermatidlerin varlığı ile tanındı (Resim 43, 44). Deneyin 70. gününde Sertoli hücrelerin bir kısmında genel sitoplazmik görünümün nisbeten normale döndüğü izlendi. Bu hücreler hafif invajinasyonlar gösteren tipik nükleusları ile ayırt edildi. Sertoli hücrelerinin bazılarında lipid miktarında ve büyüklüğünde artış varlığını korumaktaydı (Resim 43). Bu hücrelerde lipid damlacıklarında görülen değişiklikler, düzensiz spermatogenik hücre gelişimi ile paralellik göstermekteydi. Tübülde gözlenen B spermatogonyumlarda nükleusun nisbeten normal görünümde olduğu izlendi. Sertoli hücreleri ile spermatogonyumlar arasında küçük boşluklara nadiren rastlandı. Primer spermatositler yuvarlak nükleusları ve sitoplazmaya dağılmış normal yapıda mitokondriyonları ile karakterizeydi (Resim 43). Spermatidler; yuvarlak nükleusları, periferik yerleşimli yuvarlak mitokondriyonları ile tanındı (Resim 44).



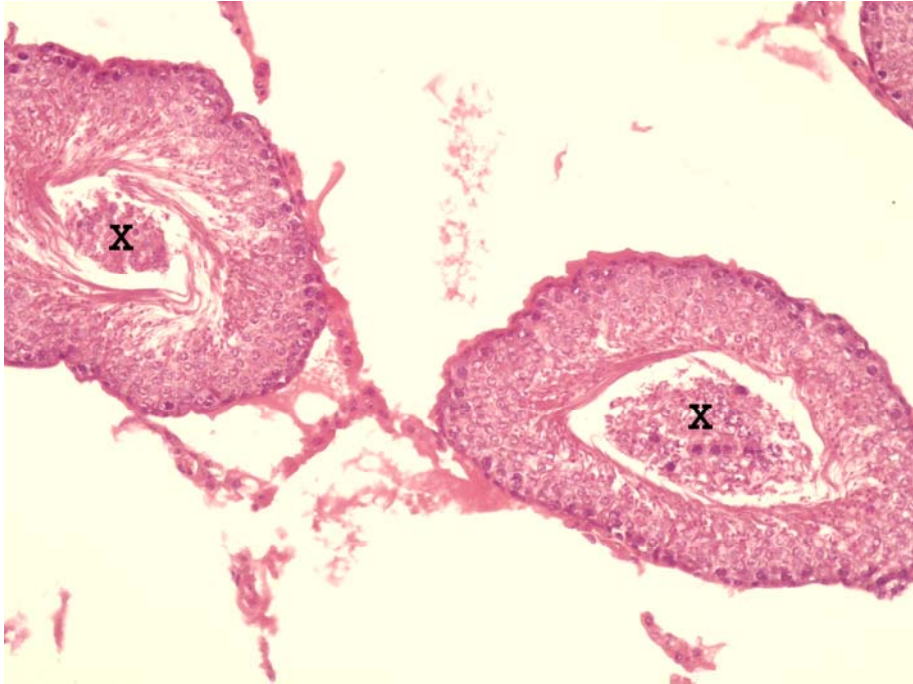
Resim 11. Radyasyon grubunun 1. gününe ait sıçan testisinde, duvarında yer yer germinal hücre kayıpları görülen tübüllerin (→) yanı sıra, kısmen büzüşmüş seminifer tübüller (▶) ile aradaki interstisyel saha gözlenmektedir. H+E, X40.



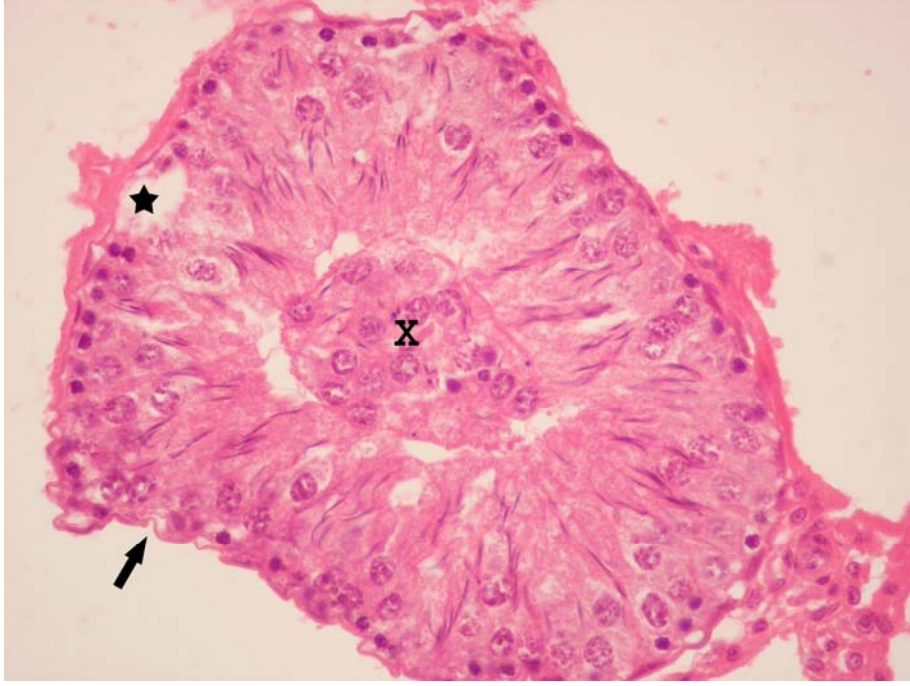
Resim 12. Radyasyon grubunun 1. gününe ait seminifer tübüllerde, germinal epitel hücrelerinin birbirlerinden ve tübüler bazal laminadan ayrılarak dökülmeleri sonucunda epitel içerisinde boşlukların (*) ortaya çıktığı, buna karşın spermatogenezin mevcudiyeti dikkati çekmektedir. H+E, X200.



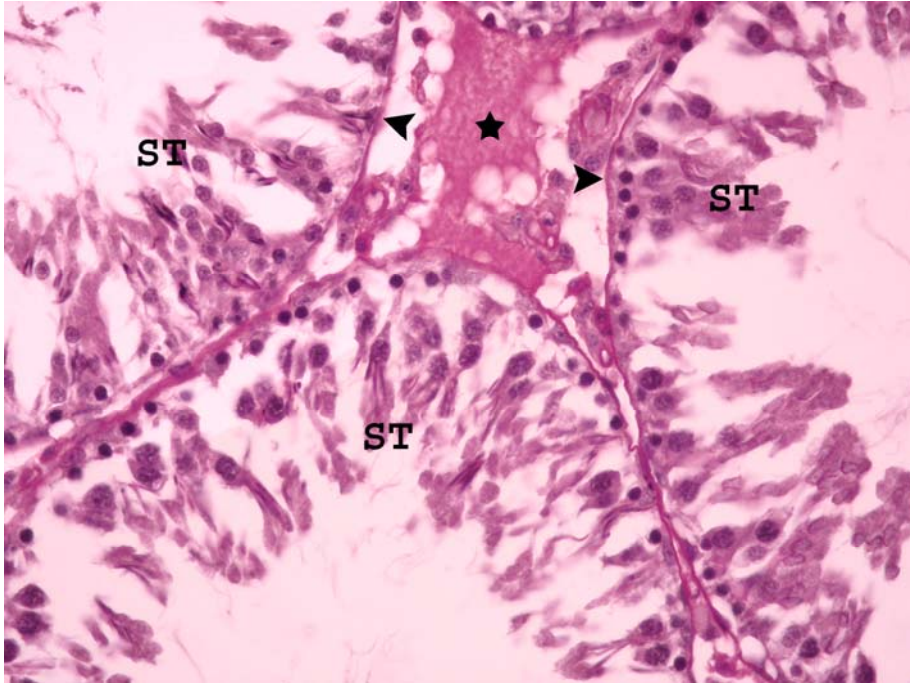
Resim 13. Radyasyon grubunun 1. gününe ait seminifer tübülde, germinal hücreler arasında belirgin ayrılmalar ile birlikte doku kaybı (*) gözlenmektedir. H+E, X400.



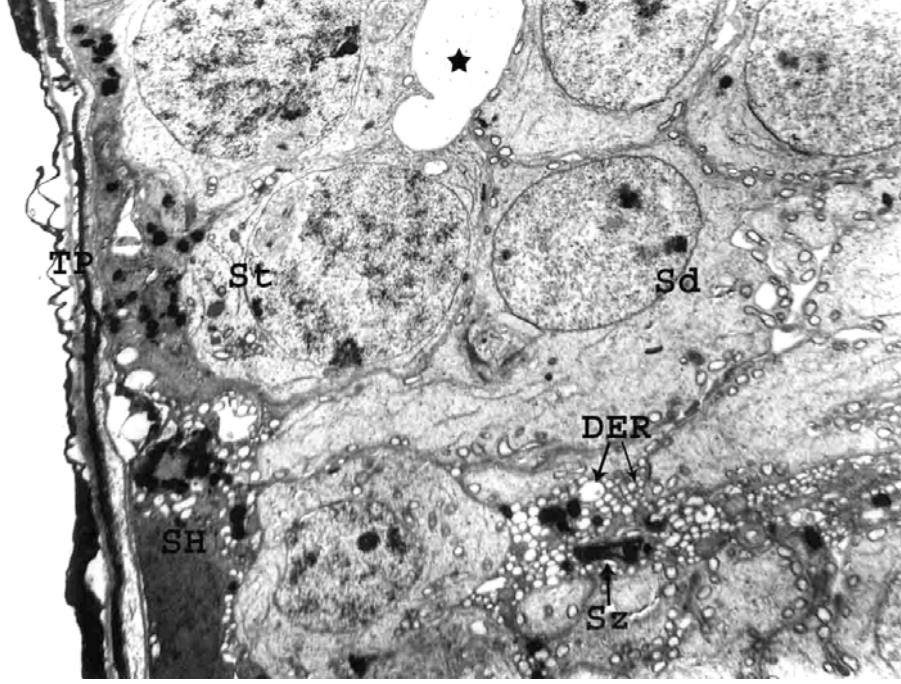
Resim 14. Radyasyon grubunun 1. gününe ait büzüşerek sınırları düzensizleşmiş seminifer tübüllerin lümeninde olgunlaşma sürecini tamamlamamış hücre döküntüleri (X) izlenmektedir. H+E, X200.



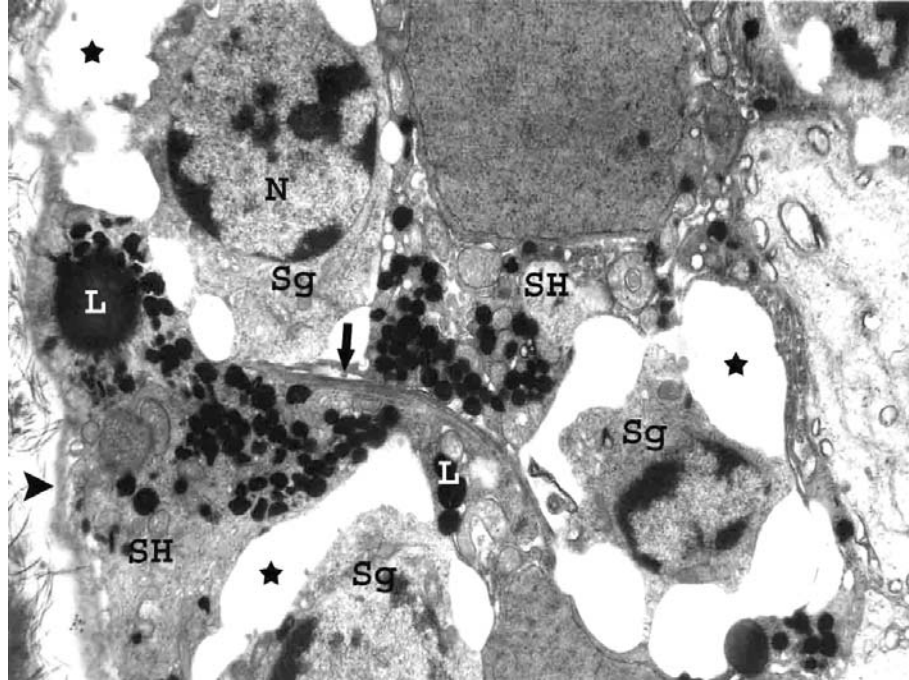
Resim 15. Radyasyon grubunun 1. gününde germinal hücreler arasında ayrılmaların (*) daha az olduğu, ancak lümeninde döküntü hücrelerin (X) yer aldığı, bazal laminasında hafif bir ondülasyon (→) izlenen, düzensiz sınırlara sahip bir seminifer tübül gözlenmektedir. H+E, X400.



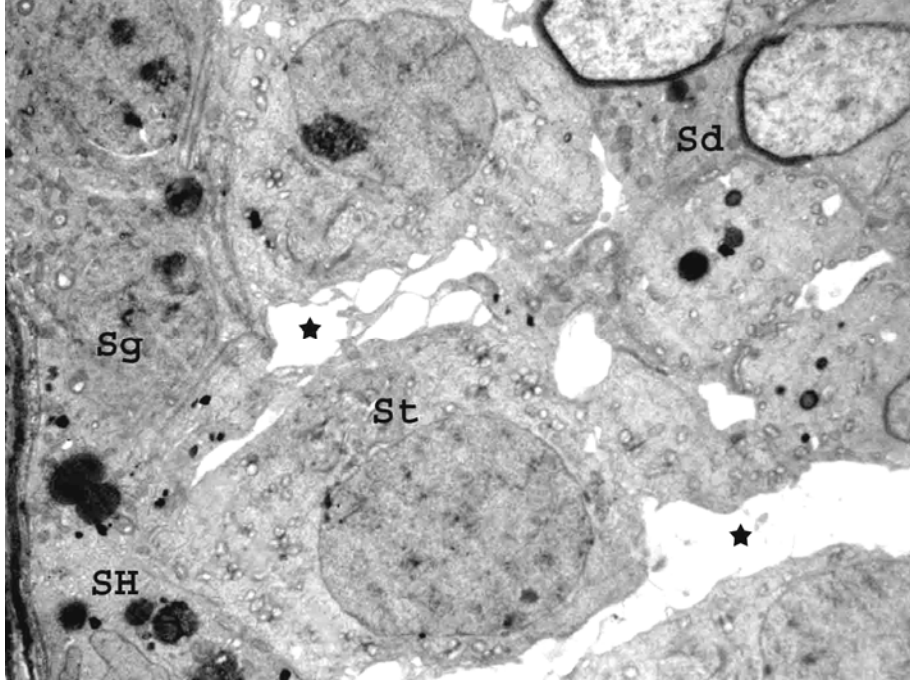
Resim 16. Radyasyon grubunun 1. gününde ışınlamaya bağlı dejenerasyonların gözleendiği seminifer tübüllerin (ST) normal kalınlıkta bazal lamina (▶) ile çevrili oldukları izlenmektedir. Tübüller etrafındaki hyalinizasyon (*) dikkati çekmektedir. PAS+HL, X400.



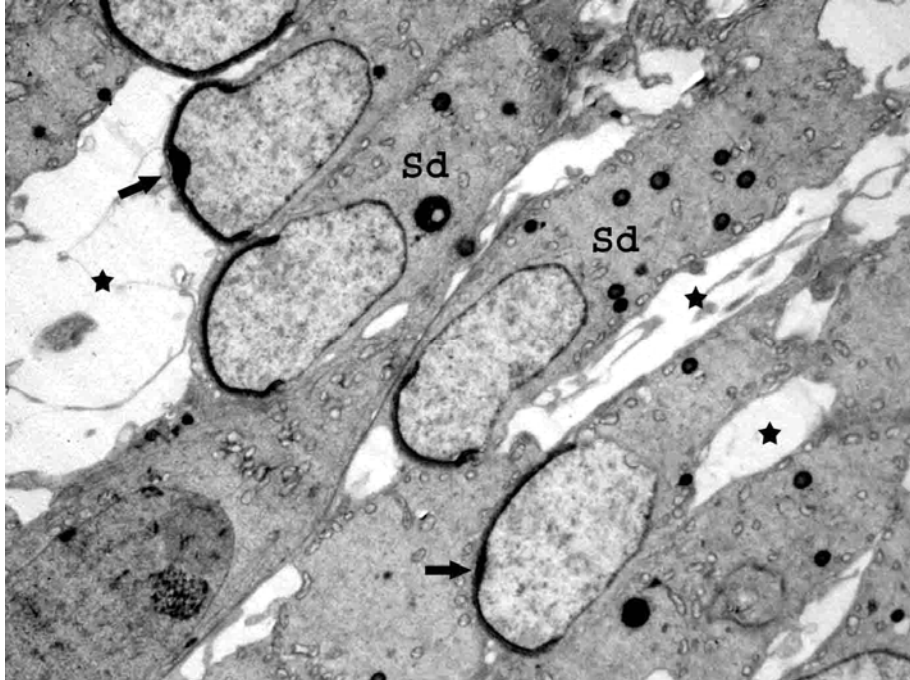
Resim 17. Radyasyon grubunun 1. gününe ait sıçan testisinde normal görünümlü tunika propriya (TP) ile çevrili seminifer tübülde, özellikle apikal sitoplazmasında belirgin derecede granülsüz endoplazmik retikulum dilatasyonları (DER) içeren Sertoli hücresi (SH) ile hücreler arası sahaları genişlemiş (*) spermatogenez hücreler gözlenmektedir. Spermatozoa (Sz), spermatid (Sd), spermatozoa (St). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.



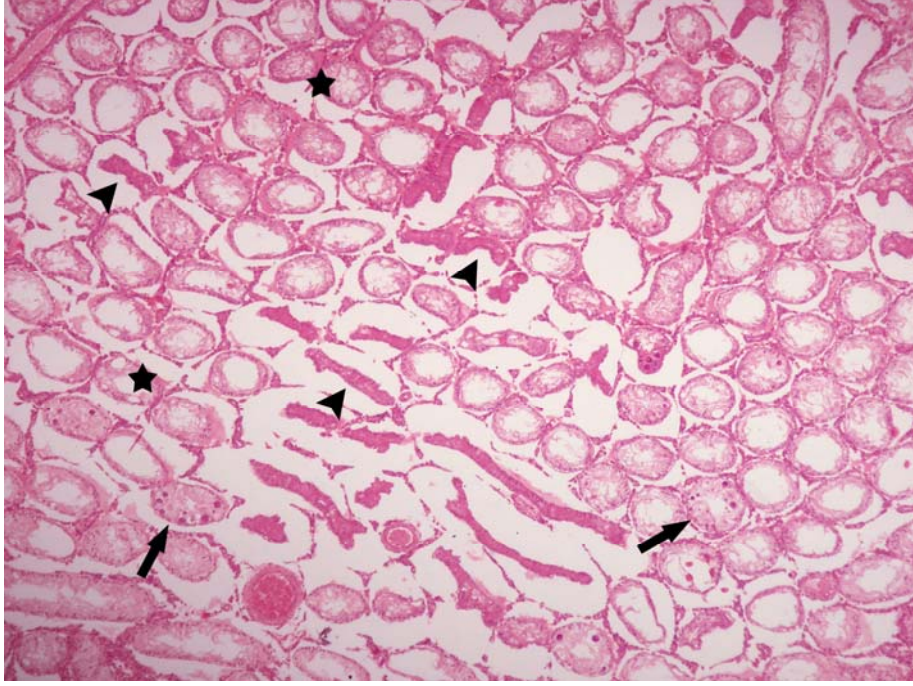
Resim 18. Aralarında normal yapıda Sertoli-Sertoli sıkı bağlantı kompleksi (→) izlenen Sertoli hücrelerinin (SH) sitoplazması içerisinde, çok sayıda ve bazıları irileşmiş lipid damlacıkları (L) görülmektedir. Nükleusu (N) içerisinde kromatini, periferik kümeler şeklinde yoğunlaşmış spermatogonyumların (Sg), büzüşmeleri sonucunda bazal lamina (▶) ve Sertoli hücreleri ile aralarında boşlukların (*) ortaya çıktığı dikkati çekmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X4000.



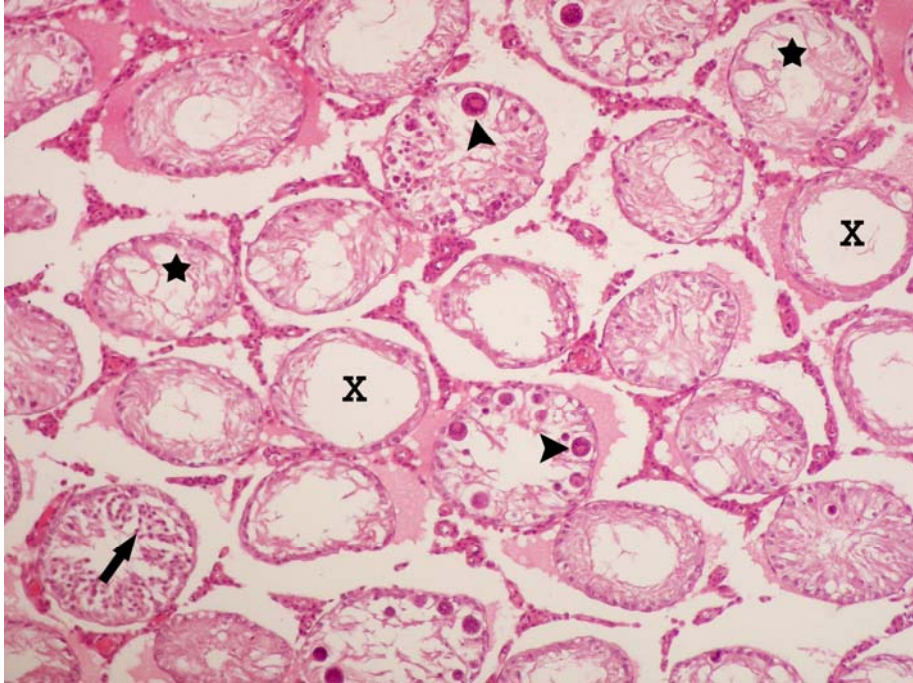
Resim 19. Deneyin 1. gününe ait seminifer tübülde, farklı seviyelerde ortaya çıkan germinal hücreler arasındaki açılmalar (*) izlenmektedir. Sertoli hücresi (SH), spermatogonyum (Sg), spermatosit (St), spermatid (Sd). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.



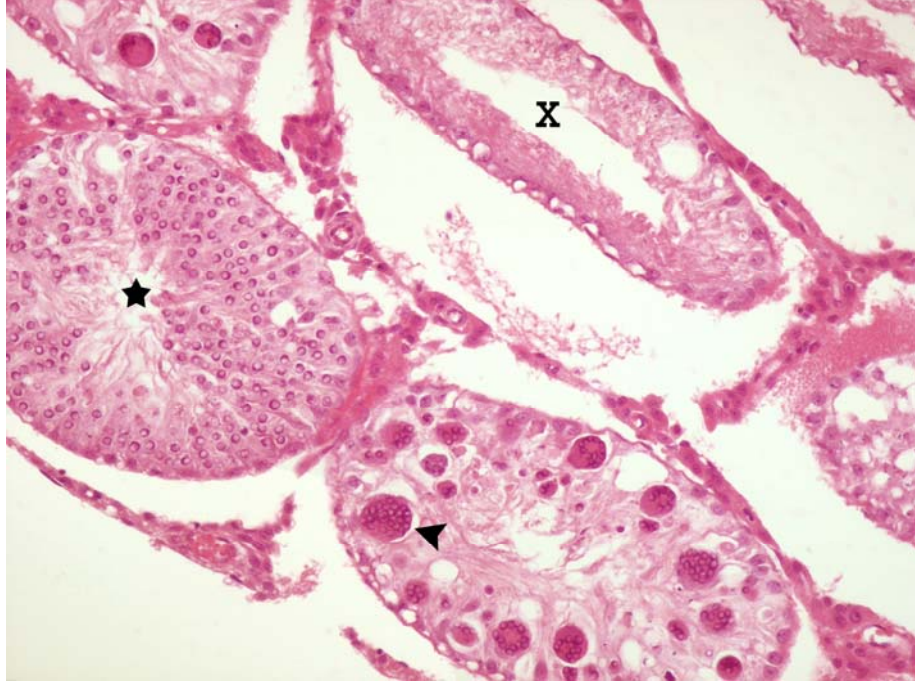
Resim 20. Seminifer tübülün lümene yakın kısmında Sertoli hücresi apikal sitoplazmasının lizisi sonucunda aralarında düzensiz boşluklar oluşan (*) spermatidlerin (Sd), hafif düzensizlikler sergileyen akrozomlara (→) sahip oldukları gözlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.



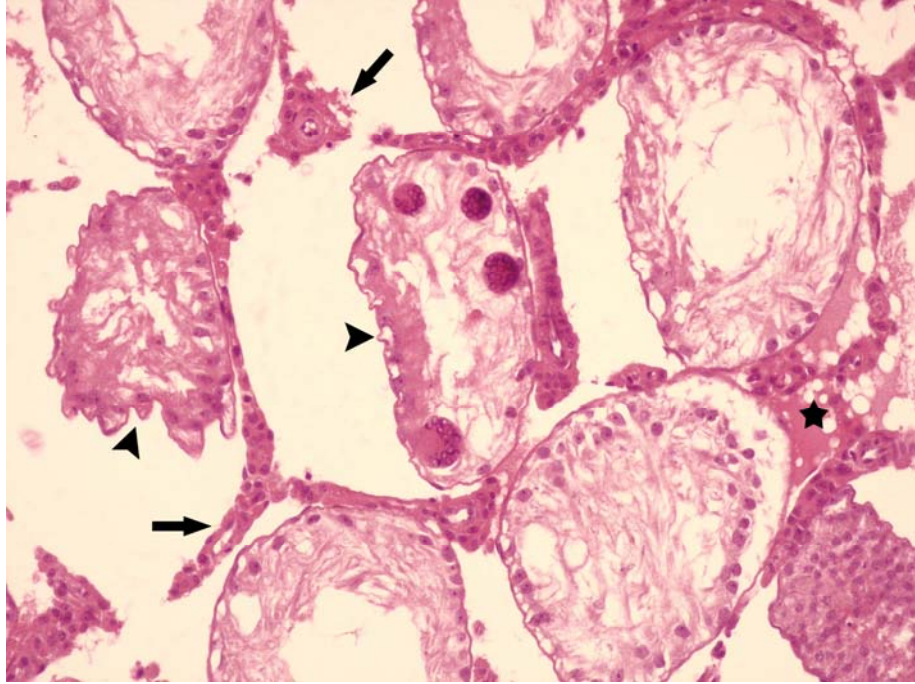
Resim 21. Radyasyon grubunun 21. gününe ait sıçan testisinde seminifer tübül çaplarında azalma, bazı tübüllerde büzüşme (►) ile birlikte tübül duvarında vakuolizasyon (*) ve dev hücre oluşumları (→) dikkati çekmektedir. H+E, X40.



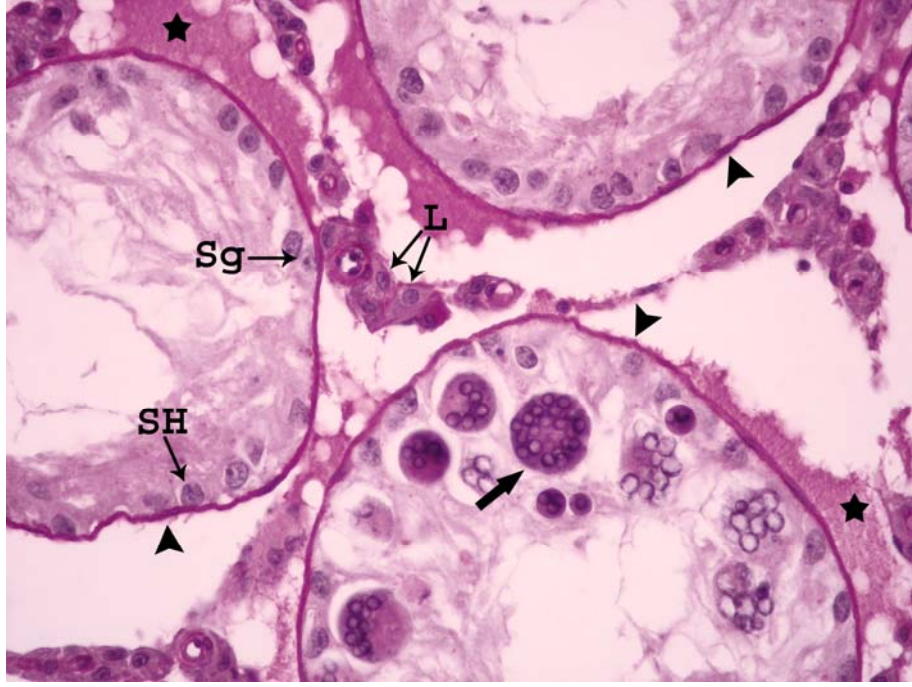
Resim 22. Radyasyon grubunun 21. gününe ait bazı seminifer tübüllerin büyük oranda germ hücrelerinden yoksun olduğu (X) ve bu nedenle tübül duvarında çoğunlukla bulunan Sertoli hücre uzantılarının oluşturduğu vakuolizasyonların (*) ortaya çıktığı, bazı tübüllerde ise hayatta kalan spermatidlerin ya tek tek (→) buldukları ya da bir araya gelerek dev hücreleri (►) oluşturdukları gözlenmektedir. H+E, X100.



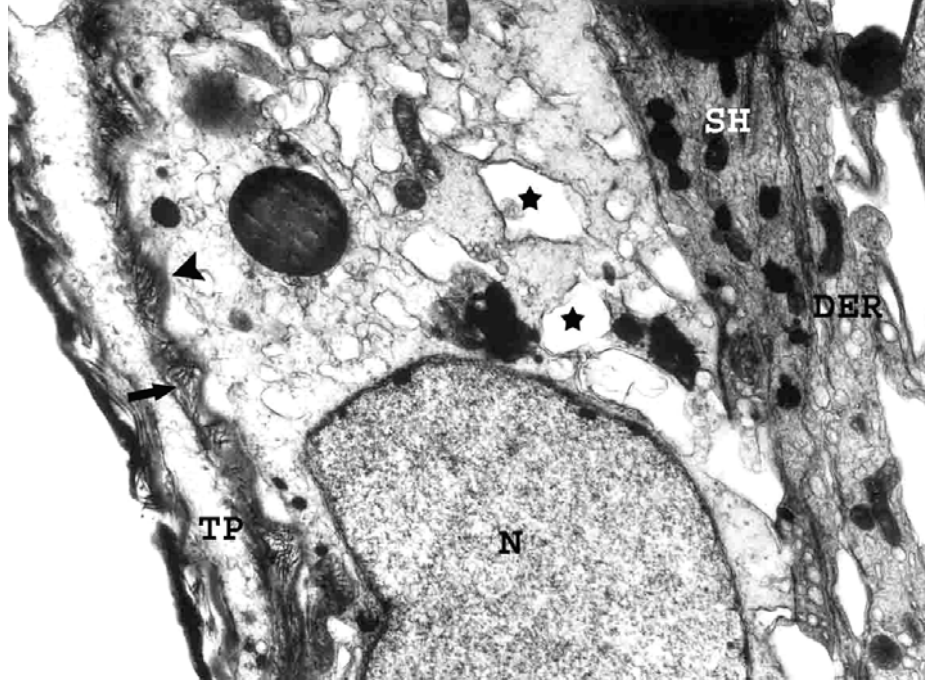
Resim 23. Radyasyon grubunun 21. gününde epitelinin çoğunluğunu Sertoli hücreleri ile az sayıda spermatogonyumun oluşturduğu seminifer tübüllerin (X) yanı sıra, spermadidler dışında diğer germ hücrelerinden yoksun tübüller (*) ve spermadidler kümelenmesi sonucu ortaya çıkmış dev hücreleri (▶) içeren tübüller bir arada gözlenmektedir. Tübüller arasındaki interstisyel dokuda yoğunluk artışı dikkati çekmektedir. H+E, X200.



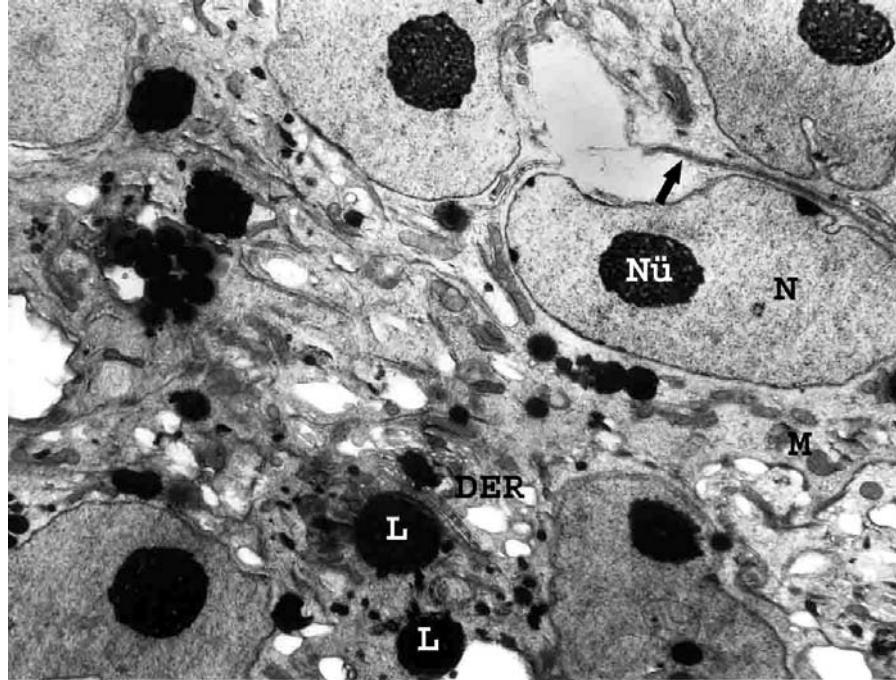
Resim 24. Radyasyon grubunun 21. gününde seminifer tübüllerin büzüşmeleri sonucu sınırlarının düzensizleştiği (▶) ve interstisyel dokudan ayrıldıkları gözlenmektedir. İnterstisyel hücre yoğunluğu ve vaskülarizasyondaki (→) artış ile birlikte peritübüler doku hyalinizasyonu da (*) dikkati çekmektedir. H+E, X200.



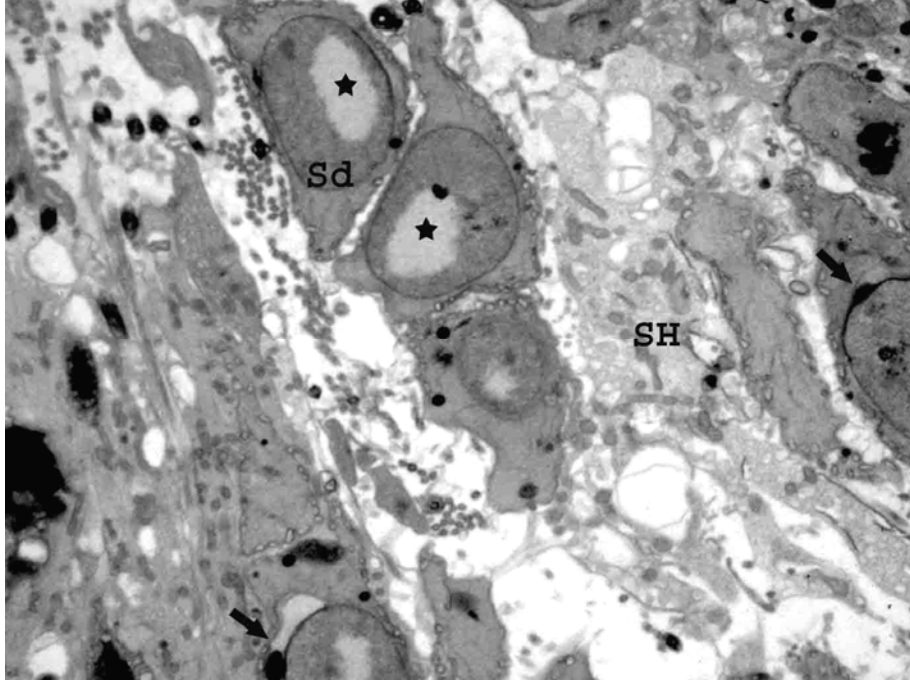
Resim 25. Radyasyon grubunun 21. gününde Sertoli hücreleri (SH) ve birkaç spermatogonyum (Sg) dışında germ hücresi içermeyen seminifer tübüller ve çok nükleuslu dev spermatidlerin (→) bulunduğu dejeneratif tübüllerin etrafında yoğun PAS (+) reaksiyon veren bazal lamina kalınlaşması (►) dikkati çekmektedir. Peritübüler doku hyalinizasyonu (*) ile birlikte interstisyel alanda çok sayıda Leydig hücresi (L) izlenmektedir. PAS+HL, X400.



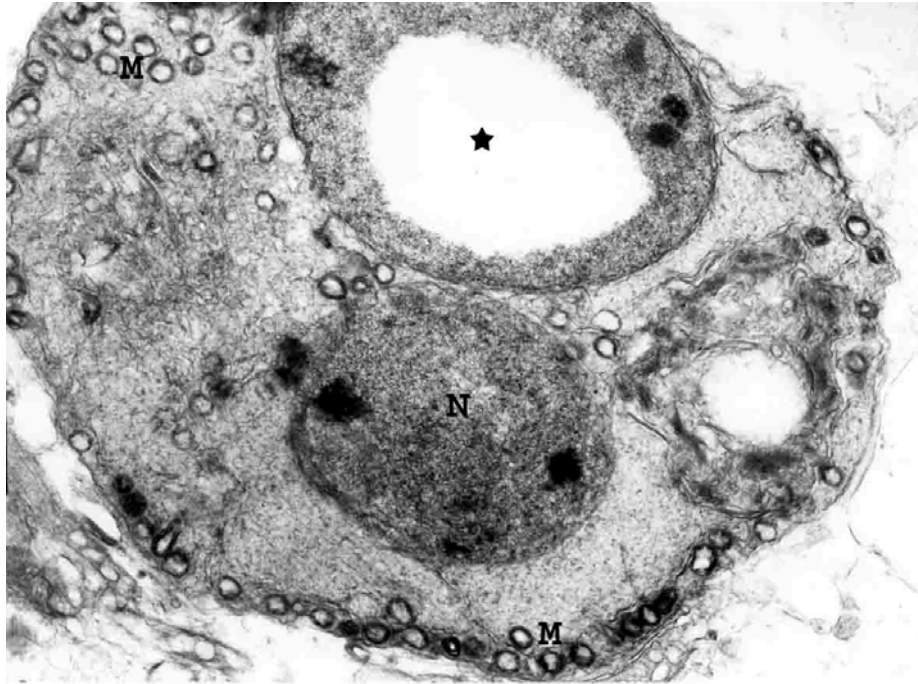
Resim 26. Radyasyon grubunun 21. gününde bazal laminanın düzensizleşerek, kıvrıntılı hal aldığı (▶), miktarı artmış kollajen liflerin iç hüresel olmayan tabakada kümeler (→) oluşturduğu tunika propriya (TP) üzerinde, sitoplazmasında yaygın vakuolizasyon (*) izlenen kök spermatogonyum ile granülsüz endoplazmik retikulum sisternaları (DER) genişlemiş Sertoli hücresi (SH) gözlenmektedir. Nükleus (N). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X5000.



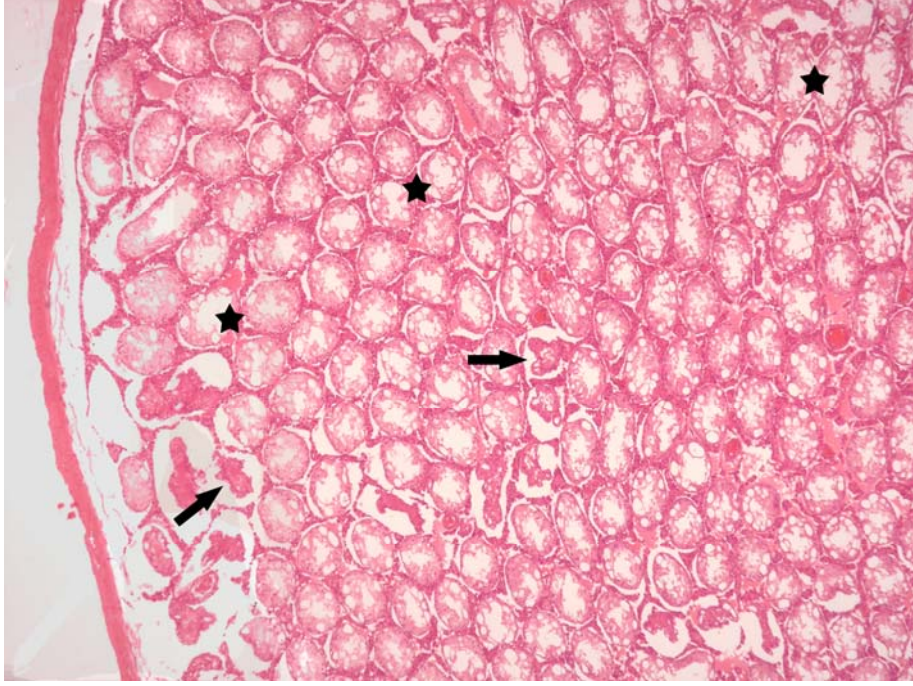
Resim 27. Deneyin 21. gününde, çoğunluğunu Sertoli hücrelerinin oluşturduğu dejeneratif bir tübül izlenmektedir. Nükleus (N) şekilleri düzensizleşmiş Sertoli hücre sitoplazmalarında, sayıları artmış ve irileşmiş lipid damlacıkları (L), şişmiş mitokondriyonlar (M) ile granülsüz endoplazmik retikulum (DER) dilatasyonları gözlenmektedir. Bu hücreler arasındaki sıkı bağlantıların (→) normal olduğu dikkati çekmektedir. Nükleolus (Nü). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3000.



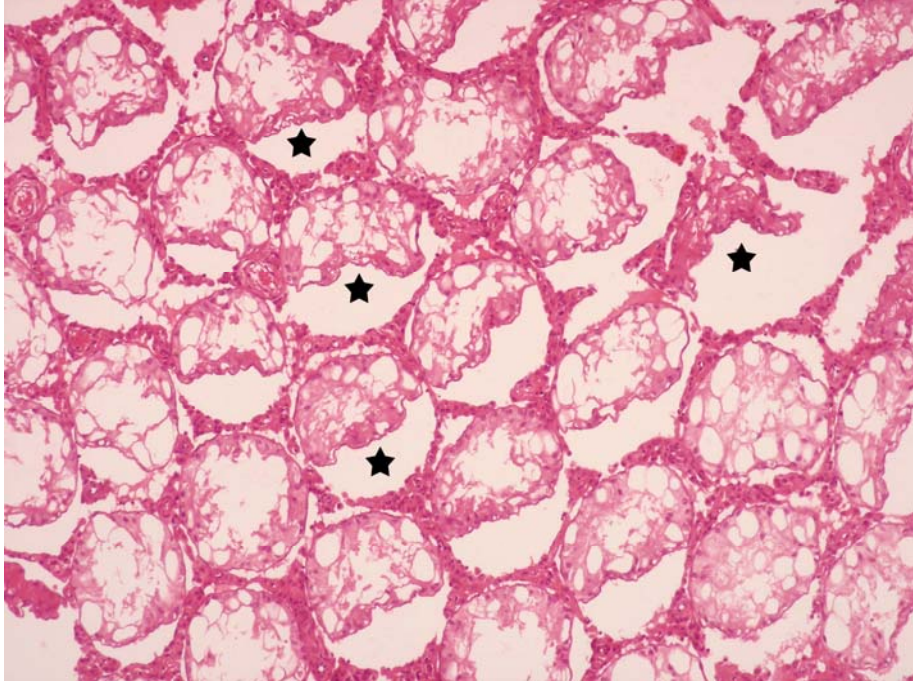
Resim 28. Deneyin 21. gününde, spermatogonyum ve spermatozoidlerin olgunlaşma süreci sonucunda, sadece hayatta kalan spermatozoidlerin (Sd) incelendiği bir seminifer tübül görülmektedir. Dejeneratif Sertoli hücrelerinin (SH) desteklediği spermatozoidlerin, elektron saydam merkezli (*) nükleuslara ve düzensizlikler sergileyen akrozomlara (→) sahip oldukları dikkati çekmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.



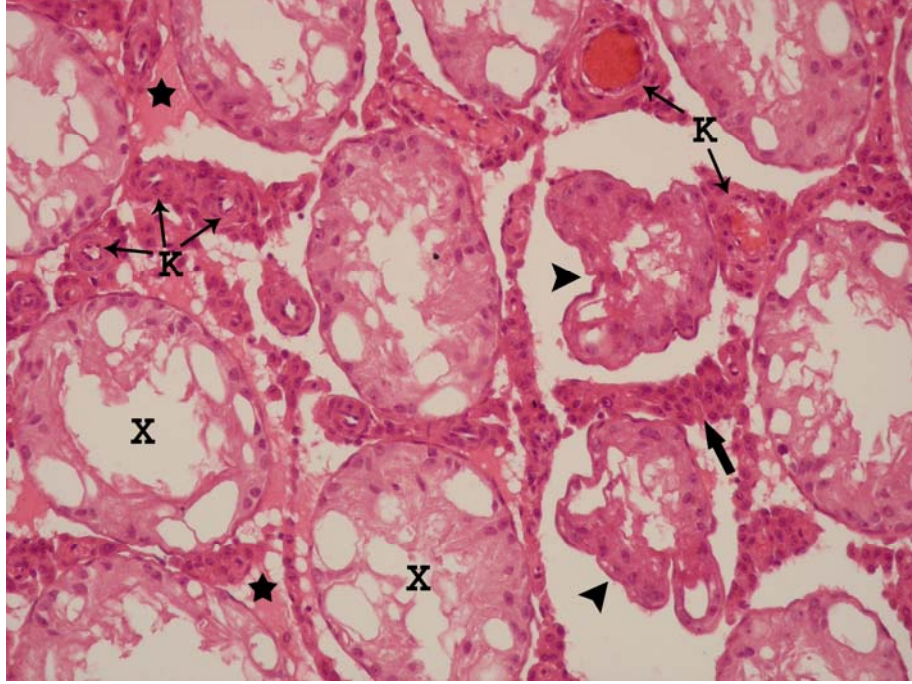
Resim 29. Hayatta kalan spermatozoidlerin birleşmesi sonucunda ortaya çıkmış iki nükleuslu (N) dev bir spermatozoid gözlenmektedir. Nükleuslardan birinin elektron saydam bir merkeze (*) sahip olduğu dikkati çekmektedir. Mitokondriyon (M). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000.



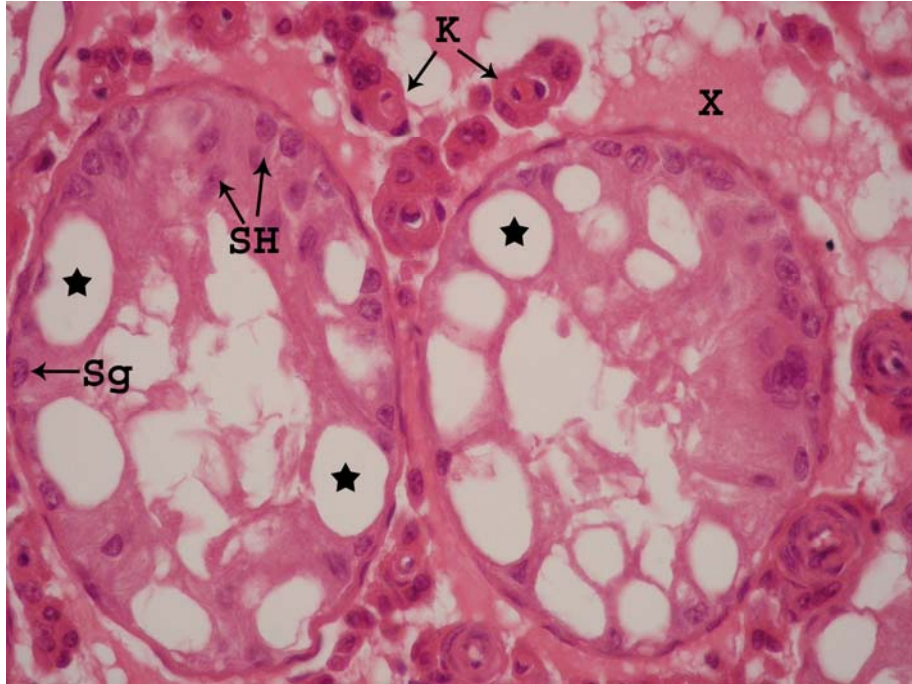
Resim 30. Radyasyon grubunun 44. gününe ait sıçan testisinde seminifer tübül çaplarında azalma ve bazı tübüllerde büzüşme (→) ile birlikte vakuolizasyon sayısında (*) artış gözlenmektedir. Tübüllerde spermatidlerin oluşturduğu dev hücrelerin olmayışı dikkati çekmektedir. H+E, X40.



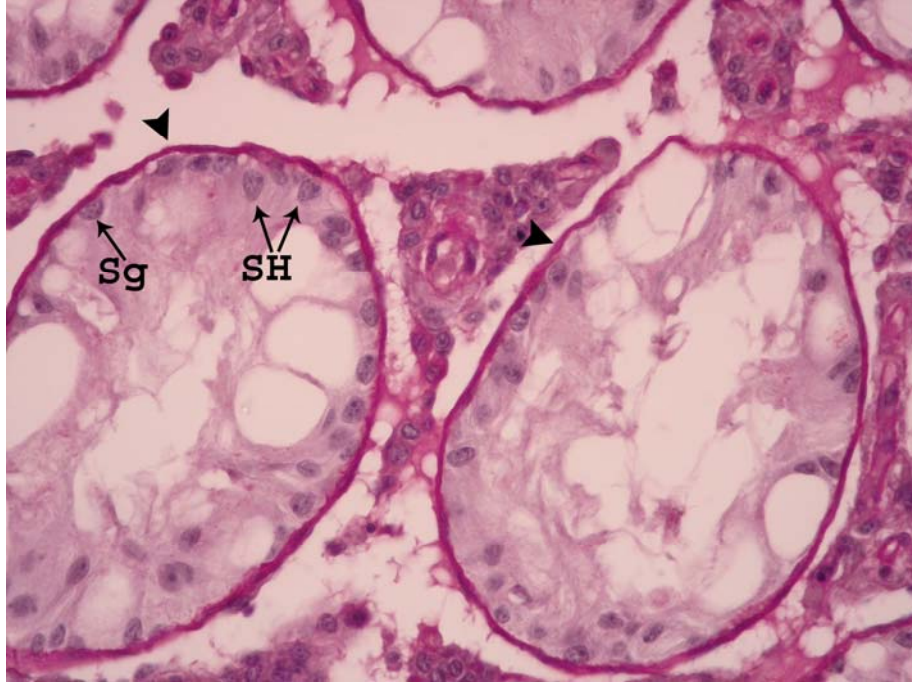
Resim 31. Radyasyon grubunun 44. gününde duvarında çok sayıda vakuolün bulunduğu seminifer tübüllerin büzüşmeleri sonucu interstisyumdan ayrılarak yarım ay şeklini aldıkları (*) izlenmektedir. H+E, X100.



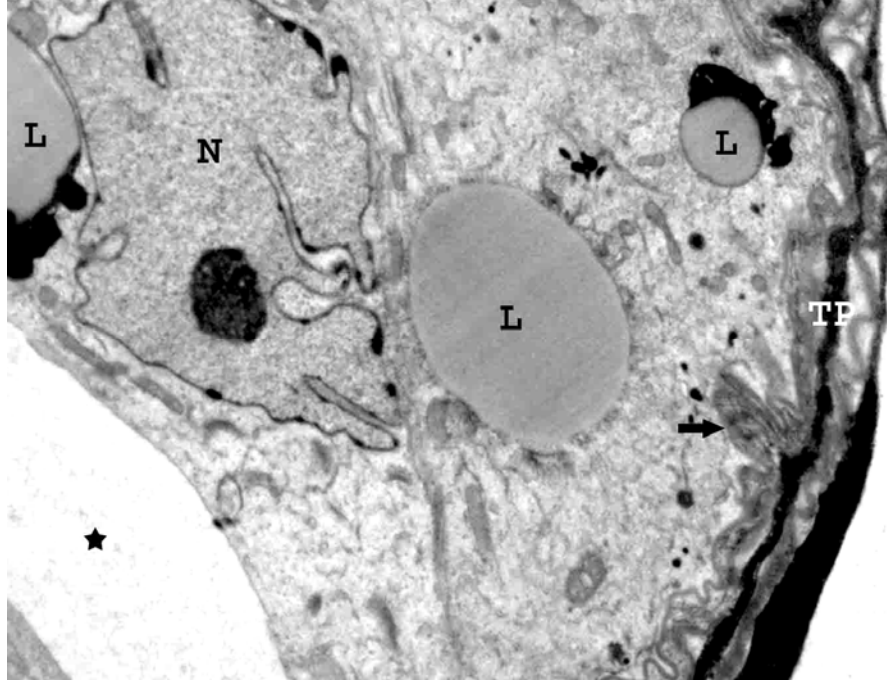
Resim 32. Radyasyon grubunun 44. gününde Sertoli hücreleri ve birkaç spermatogonyum içeren, duvarında vakuolizasyonların yer aldığı tübüller (X) ile ileri derecede büzüşmüş seminifer tübüller (►) ve etraflarındaki hyalinizasyon (*) gözlenmektedir. İnterstisyel sahada yoğunluk artışı (→) ve çok sayıda farklı boyutlarda kan damarının (K) mevcudiyeti dikkati çekmektedir. H+E, X200.



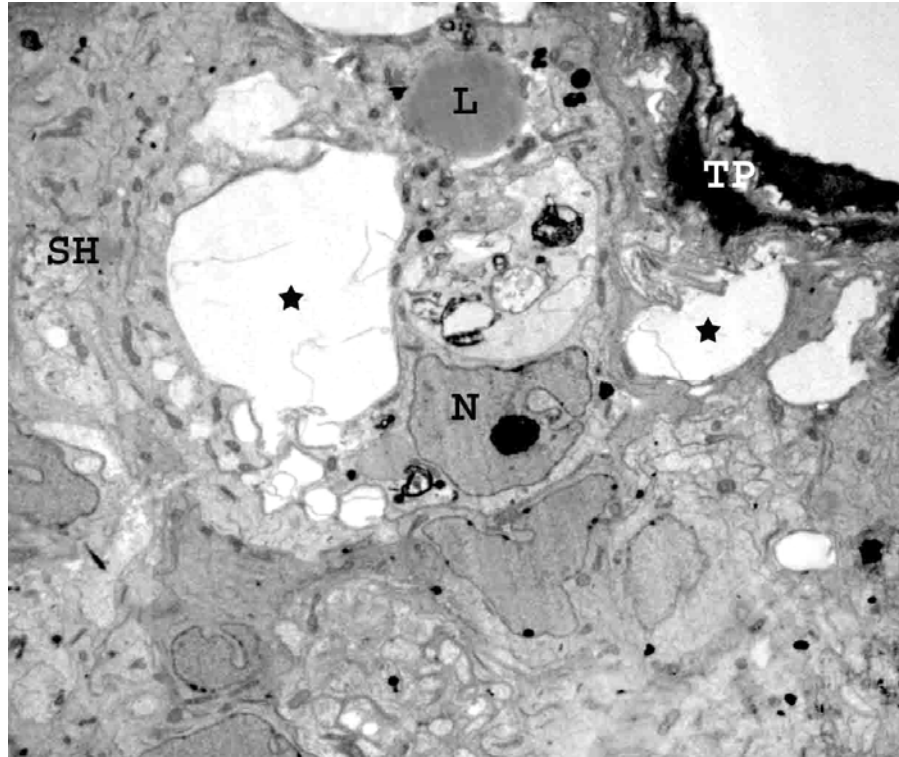
Resim 33. Radyasyon grubunun 44. gününde vakuollü (*) duvara sahip seminifer tübüllerde, birkaç spermatogonyum (Sg) ile nükleus şekilleri düzensizleşmiş, bir kısmı lümeneye yakın yerleşmiş çok sayıda Sertoli hücresi (SH) gözlenmektedir. Bu tübüllerin etrafında hyalinizasyon (X) ve interstisyumda kan damarı artışı (K) izlenmektedir. H+E, X400.



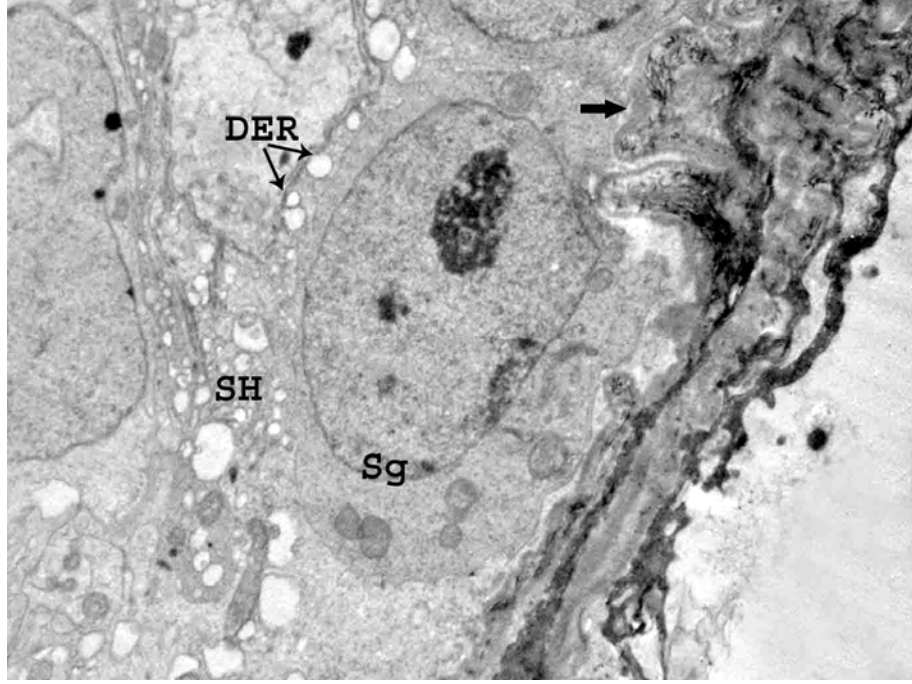
Resim 34. Radyasyon grubunun 44. gününde yoğun PAS (+) reaksiyon veren kalınlaşmış bazal lamina (►) ile çevrili seminifer tübüllerde Sertoli hücreleri (SH) ile hayatta kalan spermatogonyumlar (Sg) izlenmektedir. PAS+HL, X400.



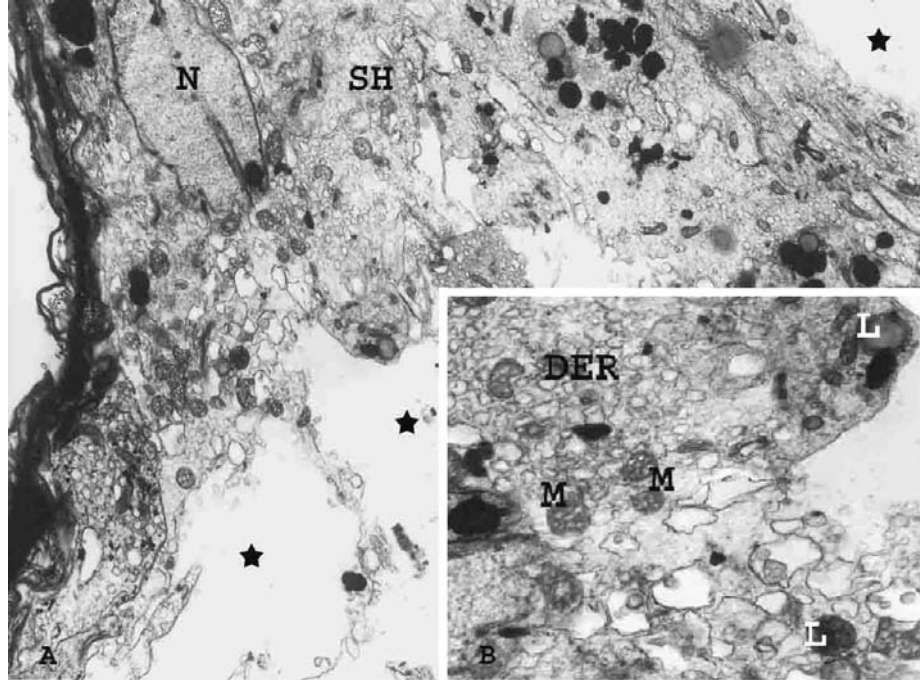
Resim 35. Radyasyon grubunun 44. gününe ait seminifer tübülde, oldukça kalınlaşmış tunika propriyada (TP), bazal laminadaki belirgin ondülasyonlar (→) dikkati çekmektedir. Büyük vakuollerin (*) açığa çıktığı tübülde, çok sayıda ve derin invajinasyonlar sergileyen nükleusa (N) ve çok büyük lipid damlacıklarına (L) sahip dejeneratif bir Sertoli hücresi izlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000.



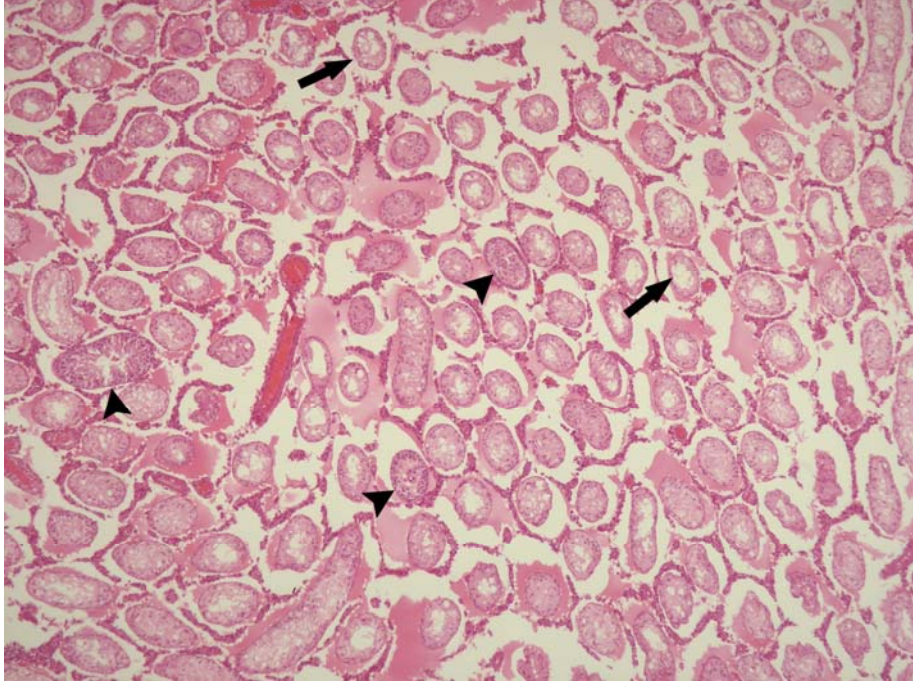
Resim 36. Toplam kalınlığı artmış tunika propriya (TP) ile çevrili tübülde germ hücrelerinin kaybı nedeniyle, aralarında büyük vakuollerin (*) açığa çıktığı Sertoli hücreleri (SH) gözlenmektedir. Düzensiz şekilli nükleuslara (N) sahip dejeneratif hücrelerin, hücre organellerinde meydana gelen bozulma sonucu elektron yoğunluklarında azalma ile birlikte sitoplazmalarındaki iri lipid damlacıkları (L) dikkati çekmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X1500.



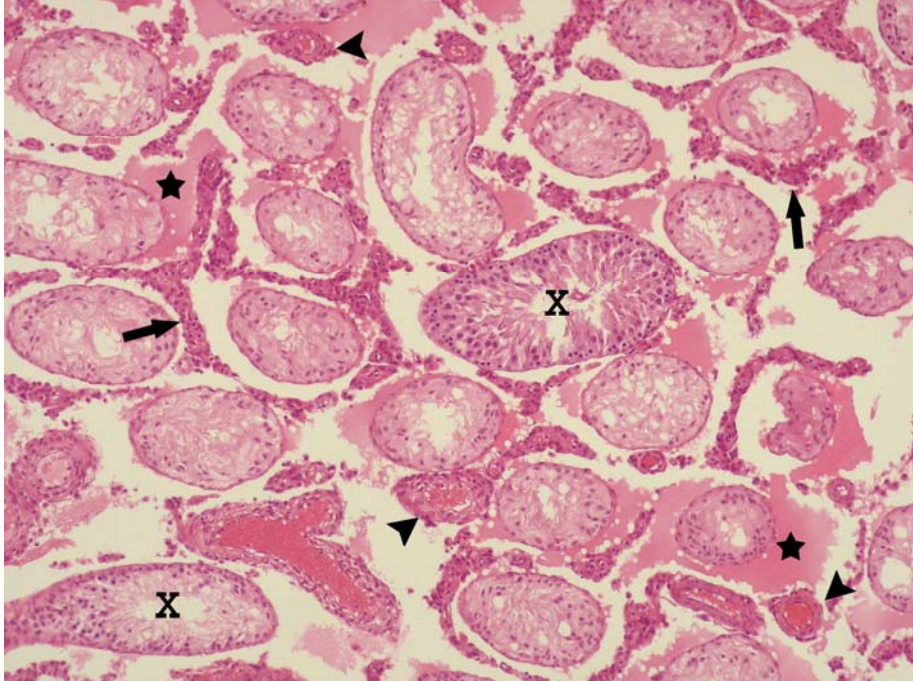
Resim 37. Dejeneratif değişiklikler sergileyen seminifer tübülde, düzensiz bazal lamina (→) üzerine oturmuş kök spermatogonyum (Sg) ile dilate granülsüz endoplazmik retikulum (DER) sisternaları içeren Sertoli hücreleri gözlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000.



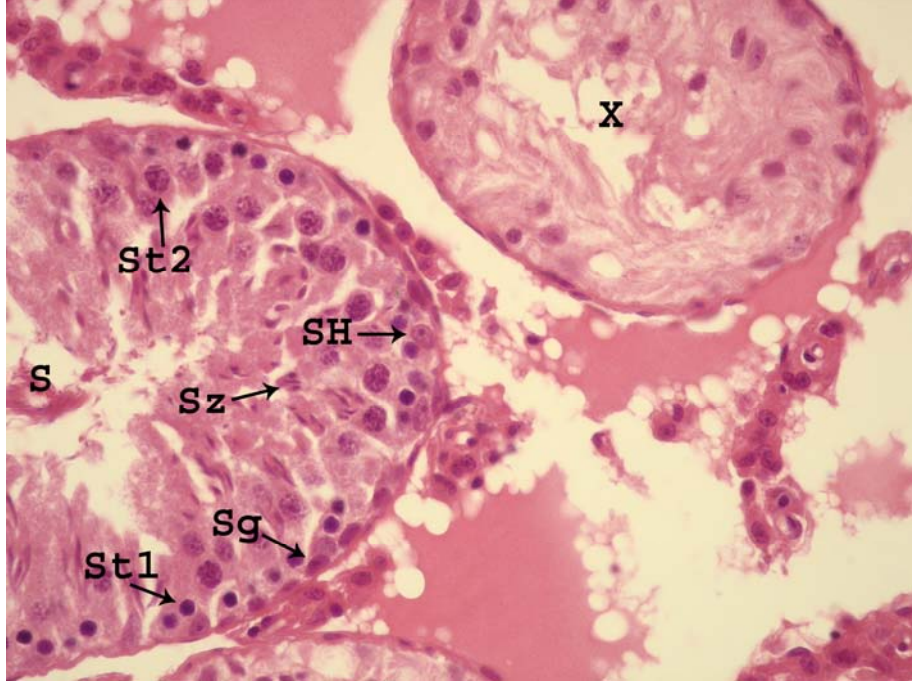
Resim 38. Deneğin 44. gününde, Sertoli hücrelerini (SH) içeren seminifer tübülde, bu hücrelerde gözlenen dejenerasyonların boyutu ve hücreler arasında açığa çıkan büyük boşluklar (*) dikkati çekmektedir (A, X2500). Dejeneratif Sertoli hücrelerinde, yaygın granülsüz endoplazmik retikulum (DER) dilatasyonları, şişmiş mitokondriyonlar (M) ile lipid damlacıkları (L) gözlenmektedir (B, X7000). Uranil asetat-Kurşun sitrat.



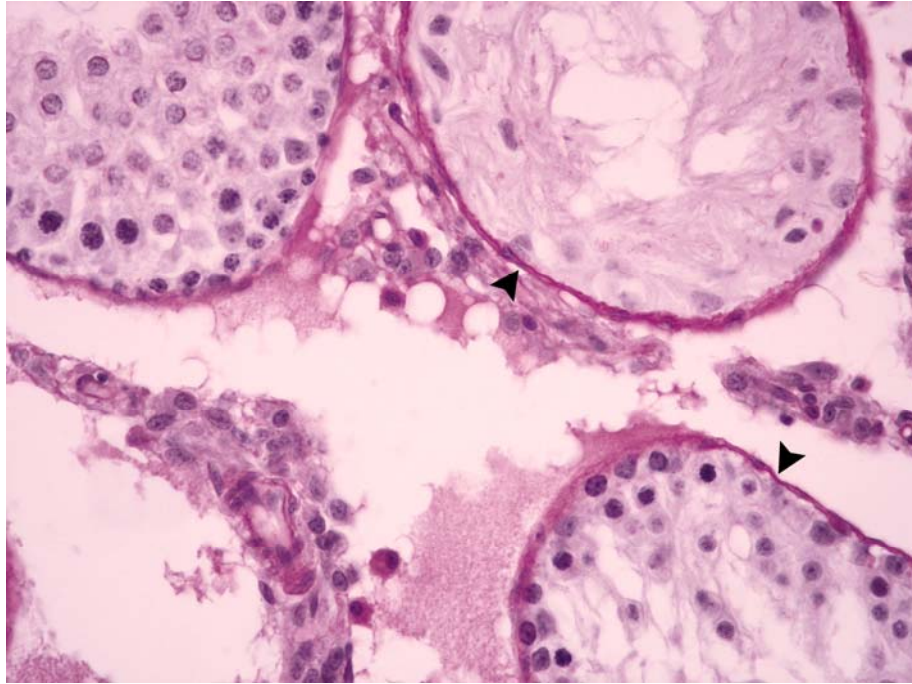
Resim 39. Radyasyon grubunun 70. gününe ait sıçan testisinde rejeneratif tübüllerin (▶) yanı sıra dejeneratif tübüllerin çoğunlukta olduğu (→) gözlenmektedir. Bu tübüllerin çaplarındaki azalmadan dolayı interstisyumdan uzaklaştıkları dikkati çekmektedir. H+E, X40.



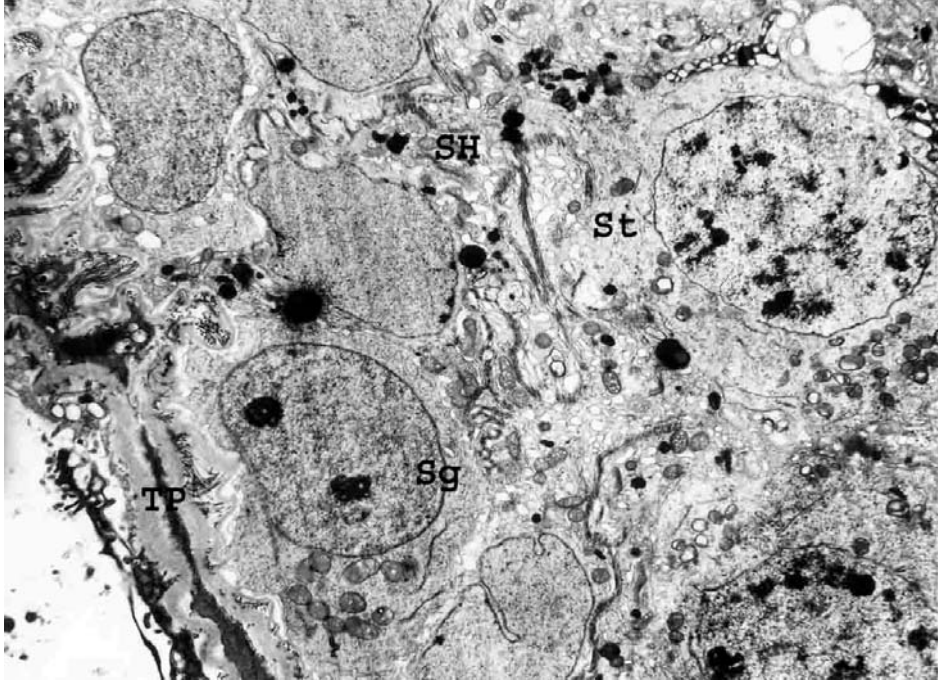
Resim 40. Radyasyon grubunun 70. gününde dejeneratif tübüller arasında farklı derecede yenilenme gösteren tübüller (X) izlenmektedir. İnterstisyumda yoğunluk (→) ve vaskülarizasyon artışı (▶) ile birlikte peritübüler hyalinizasyon (*) gözlenmektedir. H+E, X100.



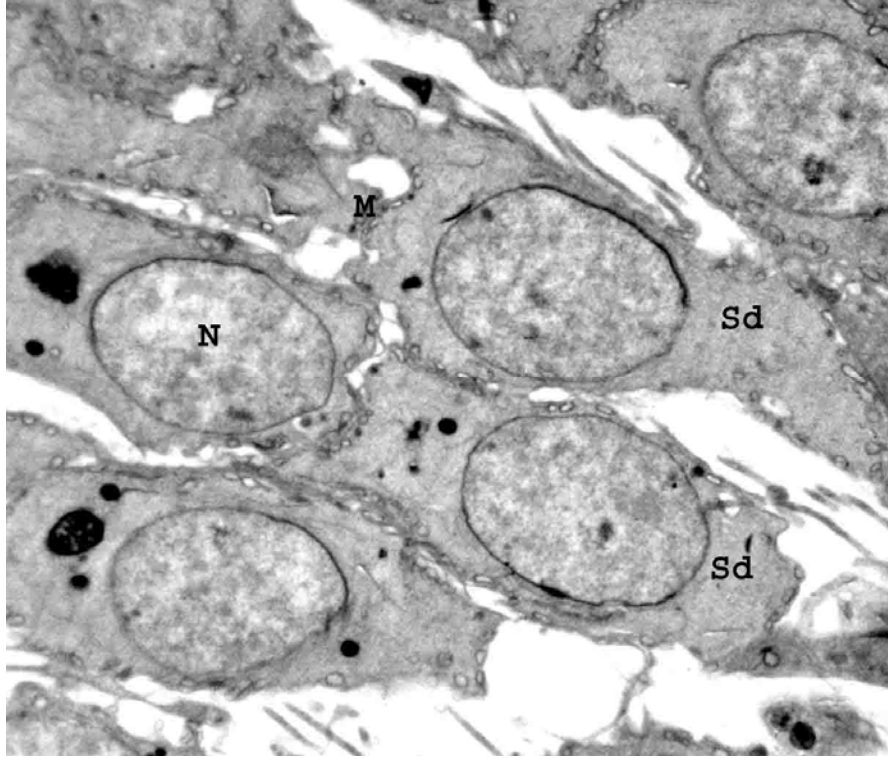
Resim 41. Radyasyon grubunun 70. gününde iyileşme belirtisi göstermeyen bir seminifer tübül (X) ile Sertoli hücreleri (SH) ve germinal epitel hücre tiplerini (spermatogonyum (Sg), leptoten/zigoten spermatosit-I (St1), pakiten/diploten spermatosit-I (St2), geç spermatid (Sz)) içeren, lümeninde ise spermatozoonların (S) izlendiği rejeneratif bir tübül dikkati çekmektedir. H+E, X400.



Resim 42. Radyasyon grubunun 70. gününde seminifer tübüllerin kalınlaşmış bazal lamina (►) ile çevrili olduğu gözlenmektedir. PAS+HL, X400.



Resim 43. Radyasyon grubunun 70. gününe ait seminifer tübülde kalınlaşmış tunika propriyadan (TP) tübül lümenine doğru, granülsüz endoplazmik retikulum dilatasyonları ile dikkati çeken Sertoli hücreleri (SH) arasında, normal görünümde spermatogonyum (Sg) ve spermatositler (St) gözlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3000.



Resim 44. Deneyin 70. gününe ait rejeneratif tübülde, yuvarlak nükleusu (N) ve periferal yerleşimli mitokondriyonları (M) ile tanınan normal yapıda spermatidler (Sd) izlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X4000.

Radyasyon+L-Karnitin Grubuna Ait Işık ve Elektron Mikroskopik Bulgular

L-karnitin tedavisinin, 10 Gy γ ışını ile 1., 21., 44. ve 70. günlerde seminifer tübül epitelinde oluşturulan hasarları önlemedeki etkisi değerlendirildi.

Radyasyon+L-karnitin grubunun 1. günü:

Tedavi grubunun 1. gününde ışık mikroskopik düzeyde, sadece radyasyon alan gruba kıyasla seminifer tübüllerde germinal hücre kayıplarının oldukça azalmış olduğu gözlemlendi. Bir çok seminifer tübülde normal dağılım gösteren germinal epitel hücreleri arasındaki açılmalar da belirgin derecede azalmıştı (Resim 45, 46, 47, 48). Hafif düzensiz sınırlara sahip tübüller ile lümeninde olgunlaşmamış germinal hücre döküntüleri içeren tübüller dikkati çekti. Bu tübüllerin etrafında hafif bir hyalinizasyon tespit edildi (Resim 45). Normal kalınlıkta bazal lamina ile çevrili seminifer tübüllerin arasındaki interstisyel alanın çoğunlukla normal yapıda olduğu görüldü (Resim 47, 48). Nadiren de olsa bazı tübüllerin etrafındaki hyalinizasyon dikkati çekti (Resim 46).

Tedavi grubunun 1. gününe ait testis doku örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde, normal yapıda tunika propriya ile çevrili tübüllerde bazal lamina üzerine oturmuş Sertoli hücrelerinin kontrol grubundakilere benzer özellikler sergilediği gözlemlendi. Hafif çentikli, belirgin nükleoluslu nükleus ile karakterize hücreler normal yapı ve dağılımda hücre organellerini içeren sitoplazmaya sahipti (Resim 49). Bu hücrelerde radyasyona bağlı olarak ortaya çıkan granülsüz endoplazmik retikulum dilatasyonlarına nadiren rastlandı. Sertoli-Sertoli sıkı bağlantı kompleksleri normal yapıda izlendi (Resim 50).

Sertoli hücreleri ile spermatogonyumlar arasındaki boşlukların büyük ölçüde azaldığı dikkati çekti (Resim 50). Buna karşın, diğer spermatogenik hücrelerin birbirleri ve Sertoli hücreleri ile olan bağlantıları çoğunlukla normal görünümüne sahipti (Resim 49). Ancak bazı tübüllerde, bu hücreler arasında küçük açılmalar varlığını korumakta idi. Primer spermatositler ile erken ve geç spermatidler normal olarak izlendi (Resim 49, 51). Tübül lümenlerinde farklı seviyelerde spermatozoon kesitleri sıklıkla gözlemlendi (Resim 51). Nadiren tübül lümenine dökülmüş hücreler de tespit edildi.

Radyasyon+L-karnitin grubunun 21. günü:

Tedavi grubunun 21. gününde ışık mikroskopunda sadece radyasyon alan gruba kıyasla hasarlı tübüllerin sayısının ve hasarın şiddetinin daha az olduğu gözlemlendi (Resim 52). Seminifer tübüllerde germinal hücre kaybındaki korunmaya bağlı olarak vakuolizasyon ve çok nükleuslu dev hücre sayısının önemli derecede azaldığı dikkati çekti (Resim 53). Çok sayıda tübülün normal morfolojiye sahip olduğu gözlemlendi. Tüm spermatogenik seri

hücrelerini içermekte olan bu tübüllerin lümeninde, sıklıkla spermatozoonlar izlendi. Bazı tübüllerde ise spermatositlerin olmadığı buna karşın çok sayıda çeşitli aşamalarda erken ve geç spermatidlerin varlığı dikkati çekti (Resim 54). Ancak bunların bazılarının anormal baş gelişimi gösterdiği tespit edildi. Seminifer tübül şekillerinin daha düzenli olmasına karşın bazal laminadaki kalınlaşma hala dikkat çekici boyutta idi (Resim 55). Seminifer tübüller etrafında hafif bir hyalinizasyon dışında normal yapıda interstisyum izlendi (Resim 53).

Tedavi grubunun 21. gününe ait testis doku örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde, kısmen kalınlaşmış tunika propriyada hafif düzeyde bazal lamina ondülasyonu izlendi. Seminifer tübüllerin çoğunda bazal lamina üzerine oturmuş Sertoli hücrelerinin, nükleuslara ve nisbeten normal sitoplazmik görünümüne sahip olduğu gözlemlendi. Ancak bazı Sertoli hücre sitoplazmalarında hafif derecede granülsüz endoplazmik retikulum dilatasyonları tespit edildi (Resim 56).

Tübüllerin bazal kısmında, Sertoli hücreleri ile spermatogonyumlar arasındaki bağlantıların normal olması nedeniyle bu hücreler arasında küçük boşluklara nadiren rastlandı. Normal dağılım sergileyen diğer spermatogenik hücreler, Sertoli hücrelerinin lateral girintilerine yerleşmişlerdi. Bu nedenle, sadece radyasyon alan grupta, germinal hücre kaybına bağlı olarak tübüllerde açığa çıkan vakuoller, bu grupta oldukça seyrek gözlemlendi. Spermatosit ve spermatidler genellikle kontrol grubundakilere benzer yapıda idi (Resim 56, 57). Ancak bazı spermatositlerin dejeneratif mitokondriyonlara sahip olduğu (Resim 56), bazı spermatidlerin ise anormal baş gelişimi gösterdiği dikkati çekti. Sertoli hücre sitoplazması içine gömülü, farklı seviyede gelişmekte olan spermatozoon kesitleri izlendi.

Radyasyon+L-karnitin grubunun 44. günü:

Tedavi grubunun 44. gününde ışık mikroskopik incelemede ilk göze çarpan seminifer tübüllerde vakuolizasyon sayısının, tedavisiz gruba kıyasla oldukça az olmasıydı. Ayrıca tübüllerde germinal hücre yoğunluğunda belirgin derecede bir artışın olduğu saptandı (Resim 58, 59). Seminifer tübüllerin büyük bir kısmı Sertoli hücreleri ve çok az sayıda hayatta kalan spermatogonyumları içermekteydi. Sadece bazı tübüllerde hafif bir yenilenme belirtilerinin olduğu gözlemlendi. Bu tübüller, içerdikleri spermatogonyum ve spermatosit kolonileri ile fark edildi (Resim 60, 61). Normal görünümlü tübüllerin yanı sıra büzüşmeleri sonucu interstisyumdan ayrılmış tübüller de tespit edildi (Resim 59). Dejeneratif ve rejeneratif tübüllerin kalınlaşmış bazal lamina ile çevrili oldukları dikkati çekti (Resim 61). İnterstisyel sahada yoğunluk ve vaskülarizasyon artışı bu grupta da gözlemlendi (Resim 59, 60).

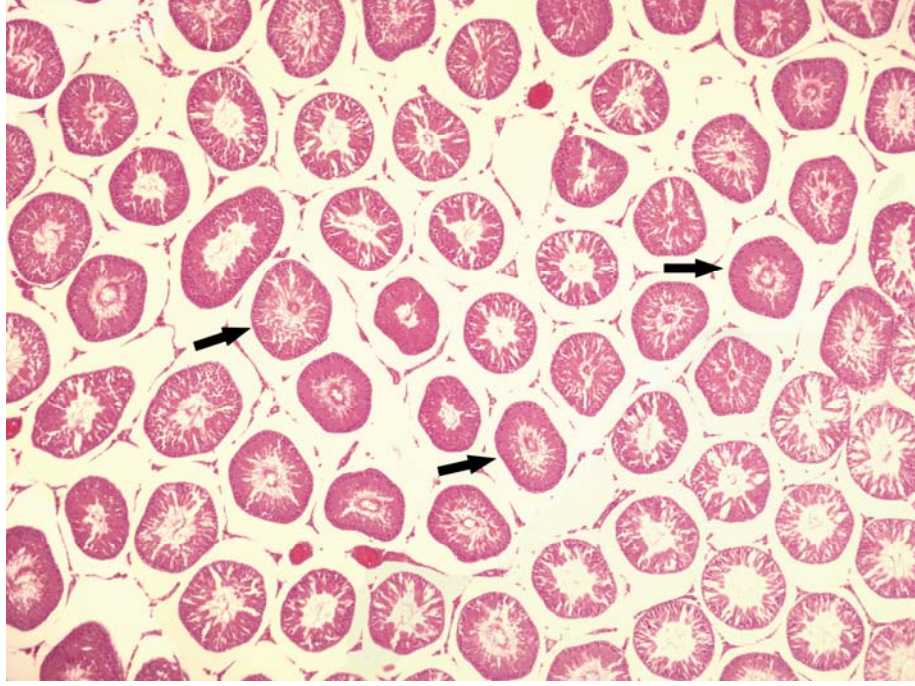
Tedavi grubunun 44. gününe ait testis doku örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde, tunika propriyadaki kalınlaşma ile bazal laminadaki ondüasyonların varlığı dikkati çekti (Resim 62).

Daha çok Sertoli hücrelerini içeren dejeneratif tübüllerde bu hücrelerin zaman zaman bazal laminadan uzaklaştıkları, bu nedenle boşlukların ortaya çıktığı gözlemlendi. Sertoli hücre sitoplazmasında radyasyona bağlı dejeneratif değişikliklerin şiddeti büyük ölçüde azalmıştı. Normal elektron yoğunluğa sahip sitoplazmada granülsüz endoplazmik retikulum dilatasyonları oldukça az sayıda ve daha küçük boyutta idi, çeşitli şekillerdeki mitokondriyonlar normal görünüme sahipti ve lipid damlacıklarının sayısı ve büyüklüğü kontrole benzer şekildeydi. Hücrelerde, fazla sayıda ve derin invajinasyonlar sergileyen nükleuslar dikkat çekici idi. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar normal olarak izlendi ve nadiren hücreler arasında küçük boşluklara rastlandı (Resim 62, 63). Yenilenme belirtisi gösteren tübüller, sayıları oldukça az olduğundan elektron mikroskopunda görüntülenemedi.

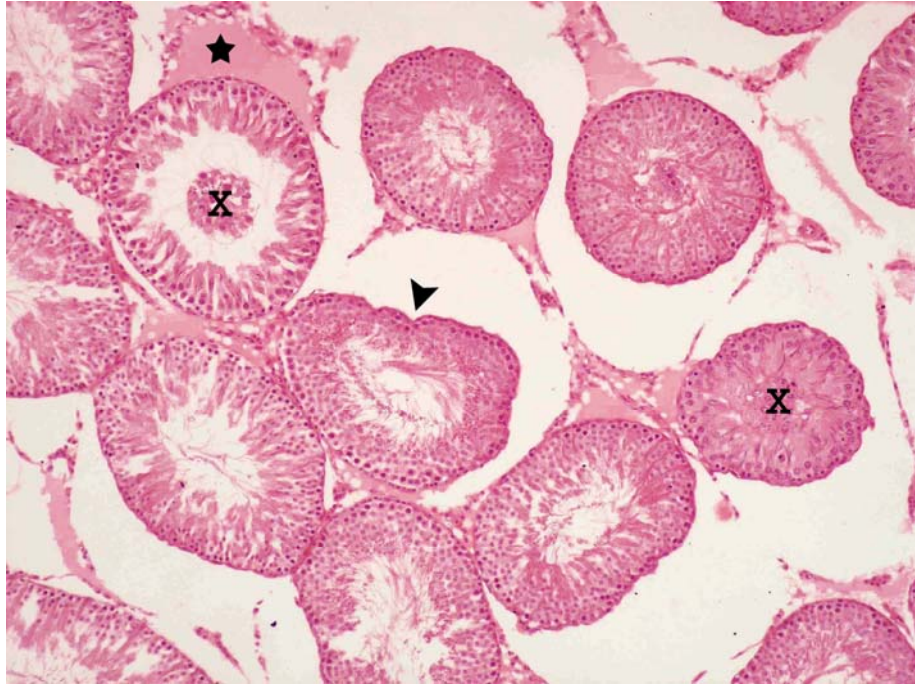
Radyasyon+L-karnitin grubunun 70. günü:

Yetmişinci günde L-karnitin tedavisinin yenilenme oranını arttırdığı, ışık mikroskopunda daha fazla sayıda rejeneratif tübüllerin varlığı ile dikkati çekti (Resim 64). Bu seminifer tübüllerin, spermatogenezin tekrar başlaması ile birlikte spermatogenetik seriye ait bir çok hücreyi içerdiği gözlemlendi (Resim 65, 66, 67). Ancak tübüllerin bir kısmında da olsa yenilenme belirtisi tespit edilmedi (Resim 64, 65). Seminifer tübüllerin etrafını çevreleyen bazal laminadaki kalınlaşmanın kısmen azaldığı, buna karşın interstisyel dokunun hücre yoğunluğundaki artışın devam ettiği dikkati çekti (Resim 65, 67).

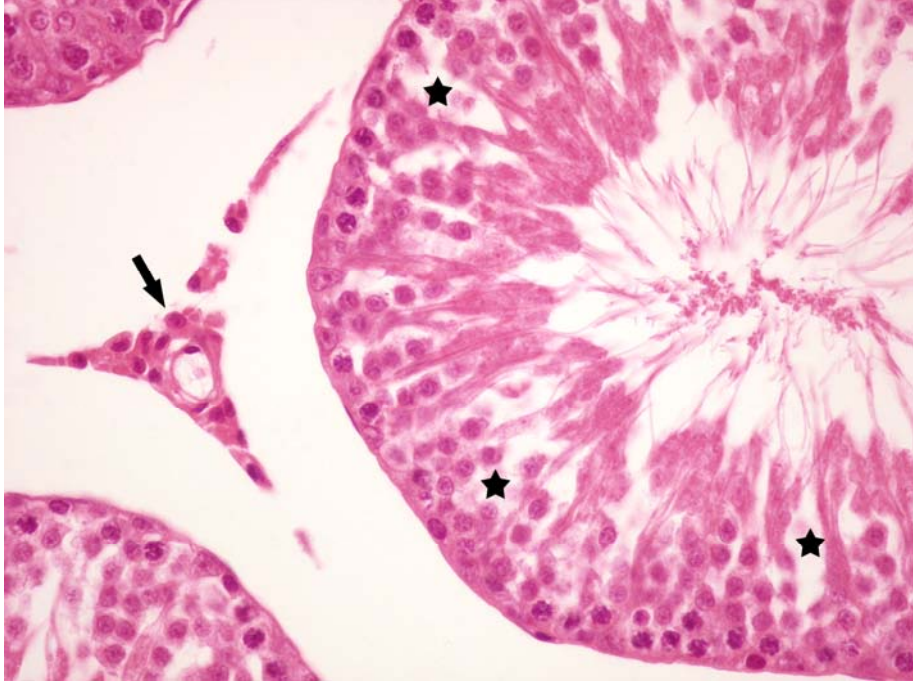
Tedavi grubunun 70. gününe ait testis doku örneklerinin elektron mikroskopik incelemesinde, genellikle normal yapıda tunika propriya izlendi (Resim 68). Bazı tübüllerde sitoplazma elektron yoğunluğu hafifçe artmış Sertoli hücrelerine rastlandı. Tipik invajinasyonlu nükleusları ile tanınan bu hücreler, genel olarak normal görünüme sahipti (Resim 68). Ancak bazı Sertoli hücre sitoplazmalarında sayısı nisbeten artmış lipid damlacıkları dikkat çekiciydi. Bazal lamina üzerinde oturan B spermatogonyumlar, yuvarlak nükleus ile tübüller mitokondriyonları içermekte idi. Spermatogonyumlar ile Sertoli hücreleri arasında nadiren, küçük boşluklar tespit edildi. Daha iç kısımlarda, büyük ve yuvarlak nükleusları ile spermatozoidler ayırt edildi. Karakteristik olarak plazma membranı boyunca dizilmiş, yuvarlak mitokondriyonlara sahip spermatozoidlerin çoğunda, akrozom gelişimi gözlemlendi. Bazı tübüllerin lümenine yakın kısmında gelişmekte olan spermatozoonların farklı bölgelerine ait kesitlere rastlandı (Resim 69).



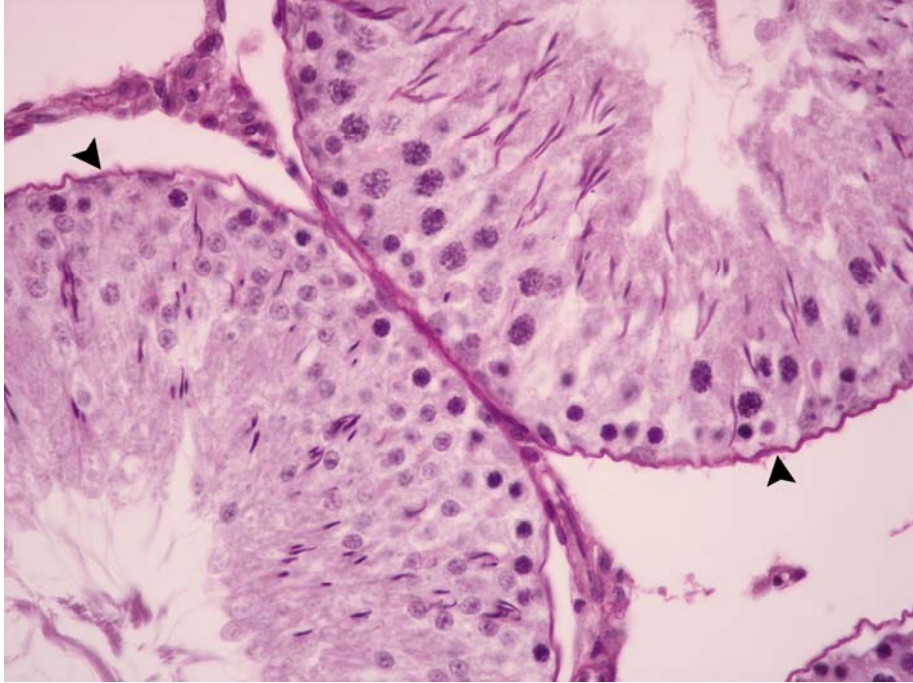
Resim 45. L-karnitin tedavili grubun 1. gününe ait sıçan testisinde germinal hücre kayıplarının oldukça azalmış olduğu seminifer tübüller (→) izlenmektedir. H+E, X40.



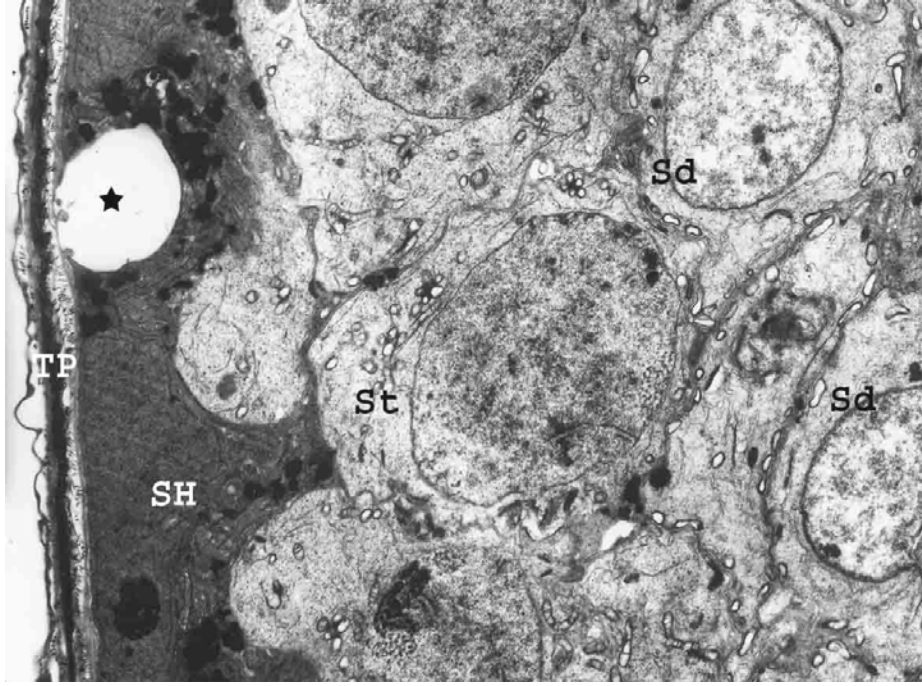
Resim 46. L-karnitin tedavili grubun 1. gününde bazı seminifer tübüllerin sınırlarında hafif düzensizlikler (▶) ile birlikte lümeneye atılmış olgunlaşmamış germ hücreleri (X) gözlenmektedir. Tübüller etrafında hafif bir hyalinizasyon (*) dikkati çekmektedir. H+E, X100.



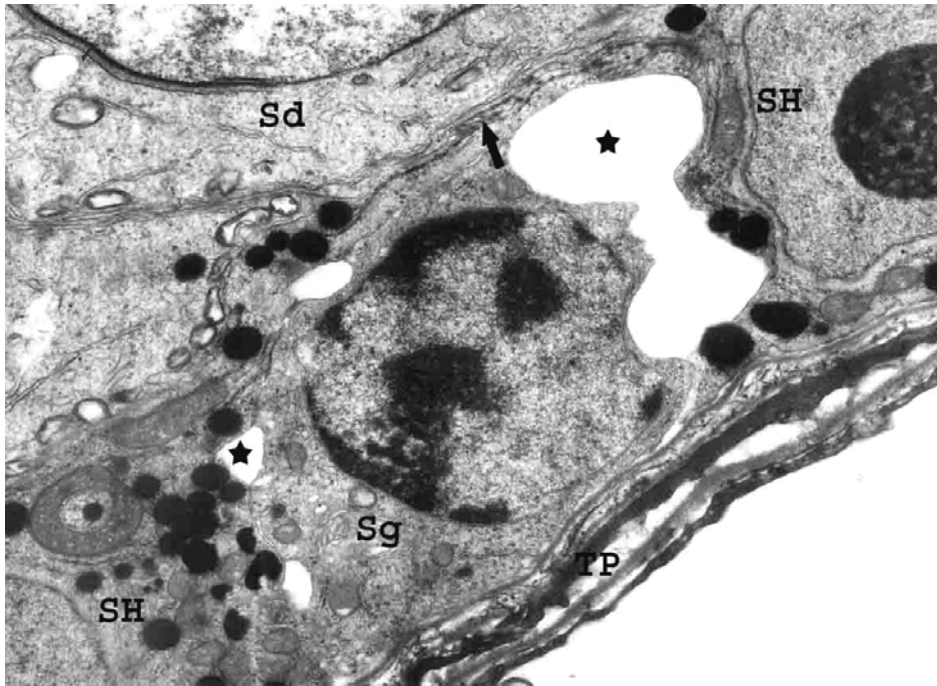
Resim 47. L-karnitin tedavili grubun 1. gününde normal dağılım gösteren germinal epitel hücreleri arasında hafif derecede açılma ve doku kaybının (*) gözleendiği seminifer tübüller ile interstisyel dokuda Leydig hücreleri (→) izlenmektedir. H+E, X400.



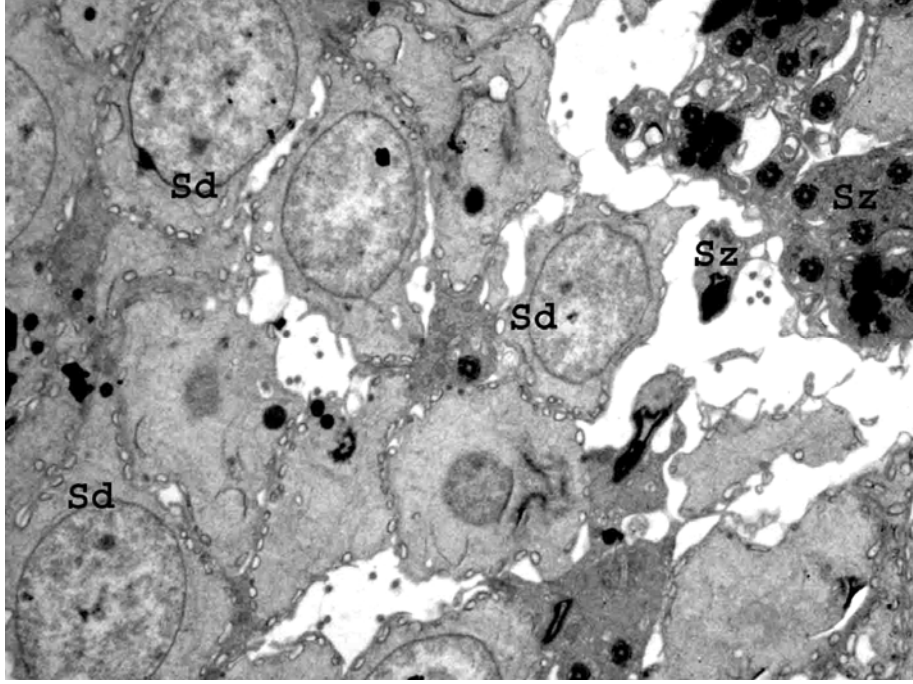
Resim 48. L-karnitin tedavili grubun 1. gününe ait testis kesitinde normal kalınlıkta bazal lamina (►) ile çevrili seminifer tübüller gözlenmektedir. PAS+HL, X400.



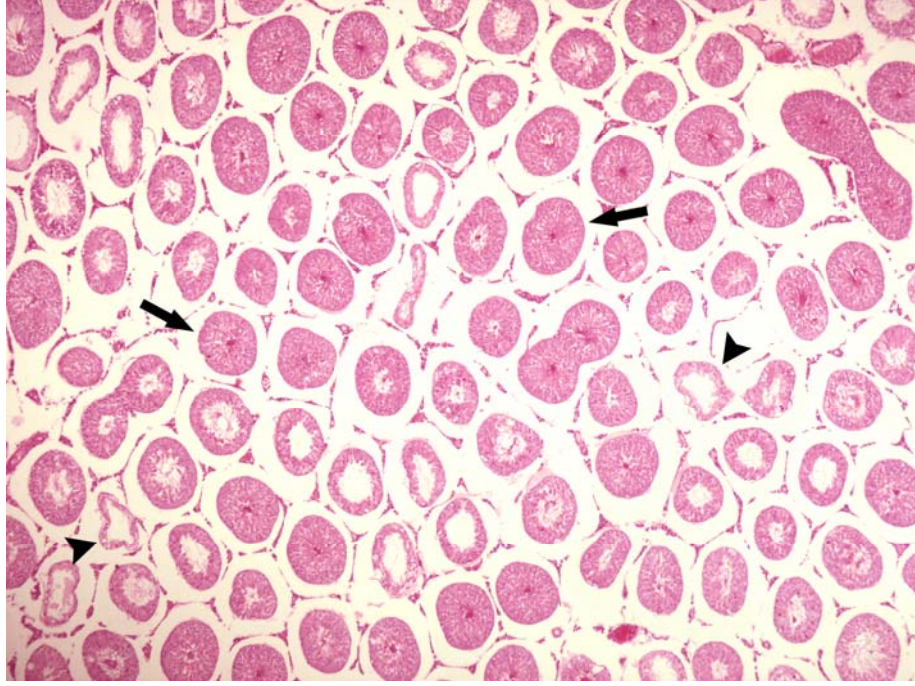
Resim 49. Tedavi grubunun 1. gününde normal görünümlü tunika propriya (TP) üzerinde, bazal lamina ile arasında bir boşluk (*) görülen Sertoli hücrelerinin (SH) ve bu hücrelerin desteklediği germinal hücrelerin normal yapıda oldukları izlenmektedir. Spermatozoid (St), spermatid (Sd). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3000.



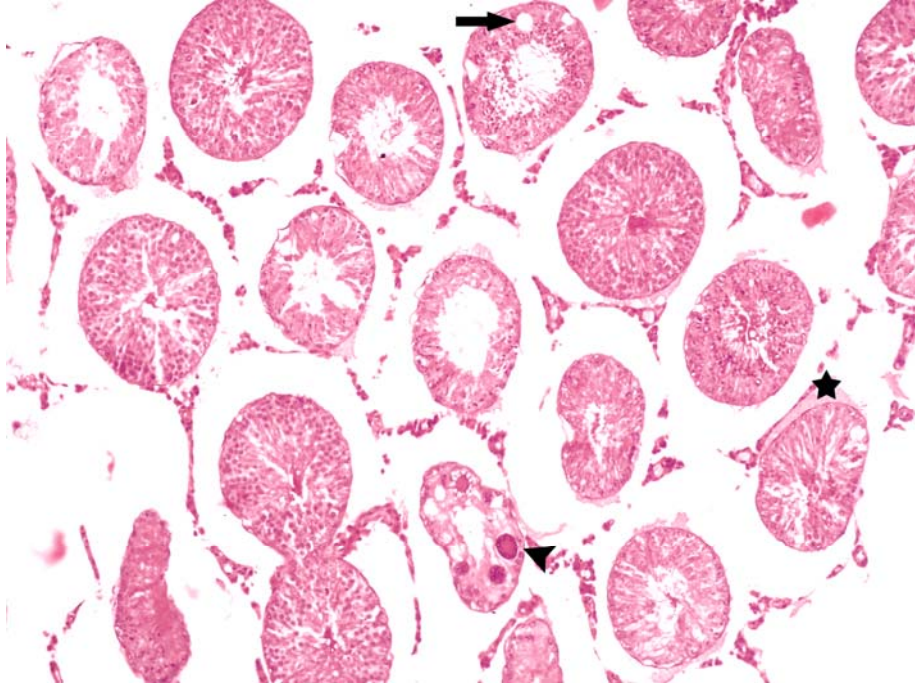
Resim 50. Tedavi grubunun 1. gününe ait seminifer tübülün bazal kısmında, normal yapıda izlenen Sertoli-Sertoli sıkı bağlantılarının (→) altında, Sertoli hücreleri (SH) ile spermatogonyum (Sg) arasında bağlantıların zayıflaması sonucu ortaya çıkmış küçük çaplı boşluklar (*) dikkati çekmektedir. Tunika propriya (TP), Spermatid (Sd). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000.



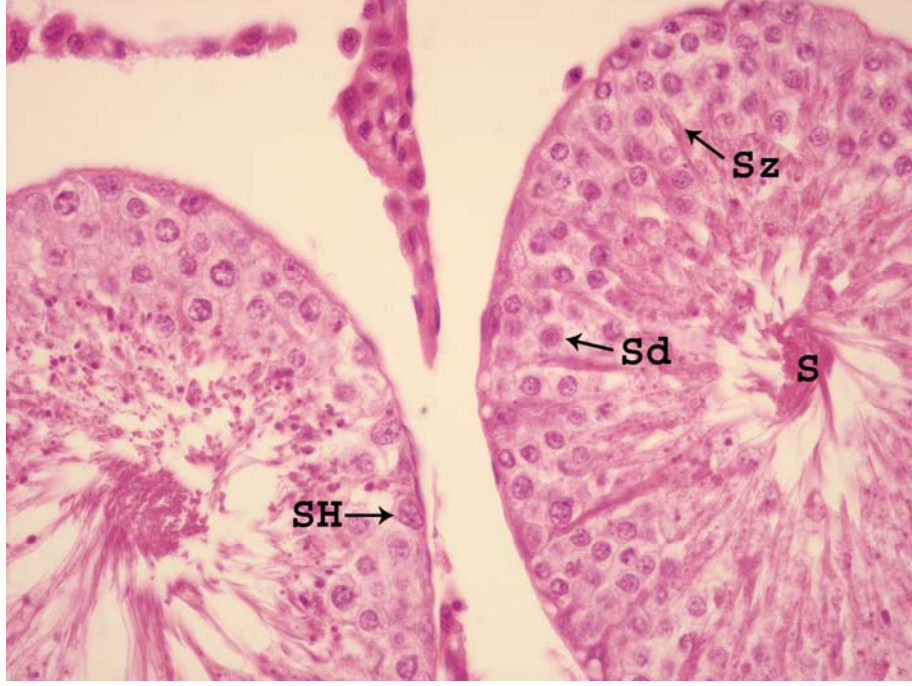
Resim 51. Seminifer tübülün lümene yakın kısmında normal yapıda spermatidler (Sd) ile lümende farklı seviyelerden geçmiş spermatozoon (Sz) kesitleri gözlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X4000.



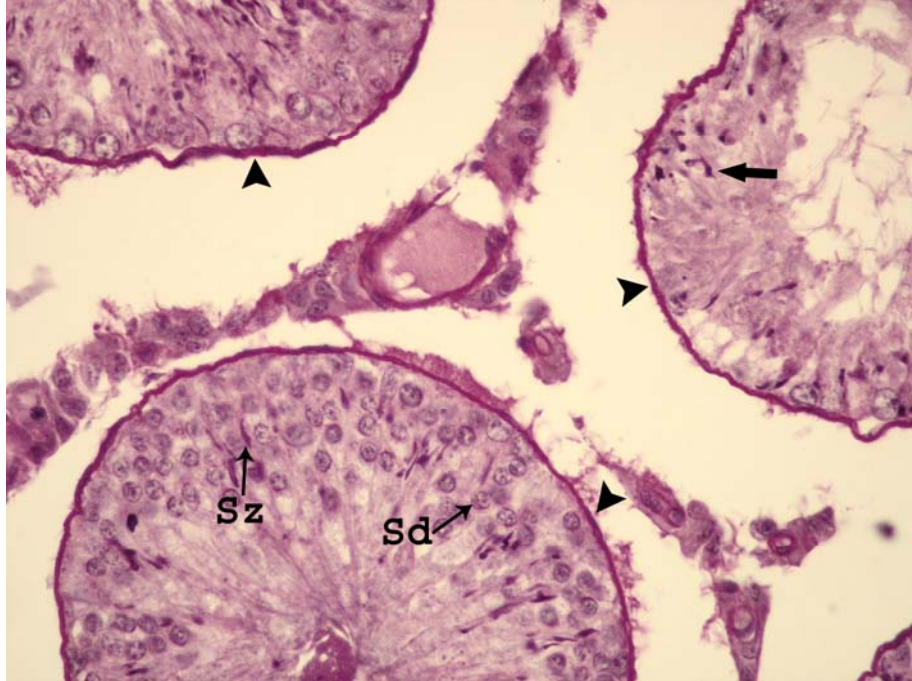
Resim 52. L-karnitin tedavi grubunun 21. gününde spermatogenezin izlendiği normal morfolojiye sahip (→) seminifer tübüllerin hakim olduğu sıçan testisinde yer yer germinal epitel tabaka sayısı azalmış, lümenleri açık, düzensiz sınırlı seminifer tübüller (▶) dikkati çekmektedir. H+E, X40.



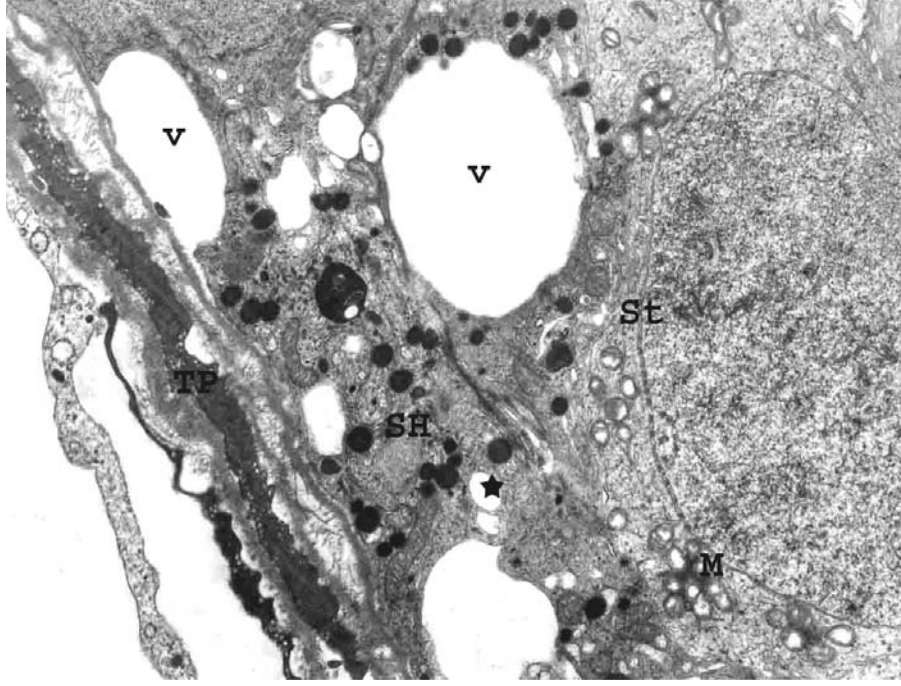
Resim 53. L-karnitin tedavi grubunun 21. gününe ait seminifer tübüllerde germinal hücre artışına bağlı olarak vakuolizasyon (→) ve dev hücre sayısında (▶) belirgin bir azalmanın olduğu gözlenmektedir. Seminifer tübüller etrafında hafif bir hyalinizasyon (*) dışında normal yapıda interstisyum izlenmektedir. H+E, X100.



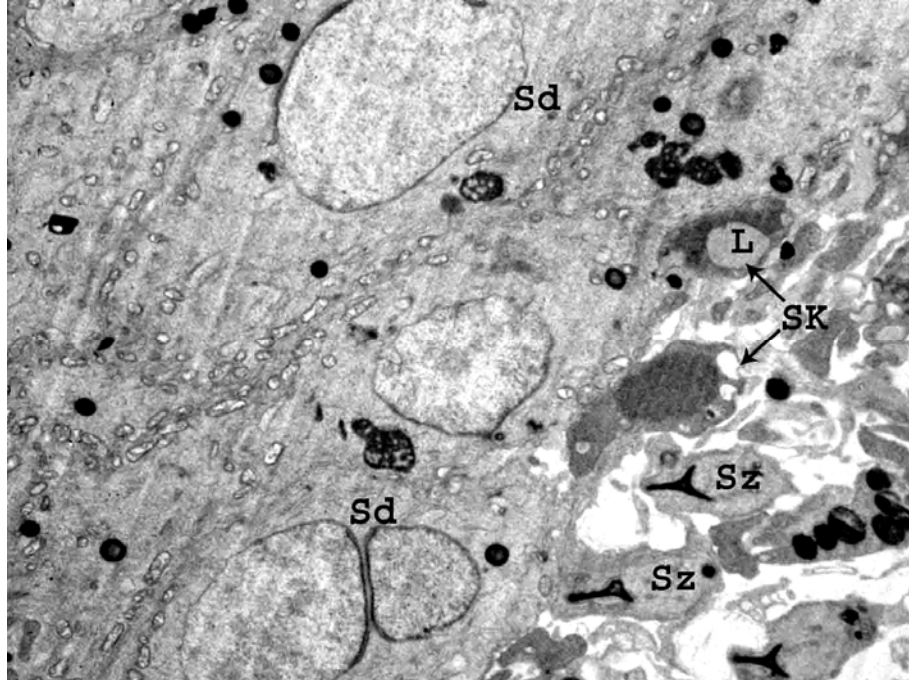
Resim 54. L-karnitin tedavi grubunun 21. gününe ait düzenli sınırlara sahip seminifer tübüllerde Sertoli hücrelerinin (SH) yanı sıra çok sayıda erken (Sd) ve geç spermatidler (Sz) ile lümende spermatozoonlar (S) izlenmektedir. H+E, X400.



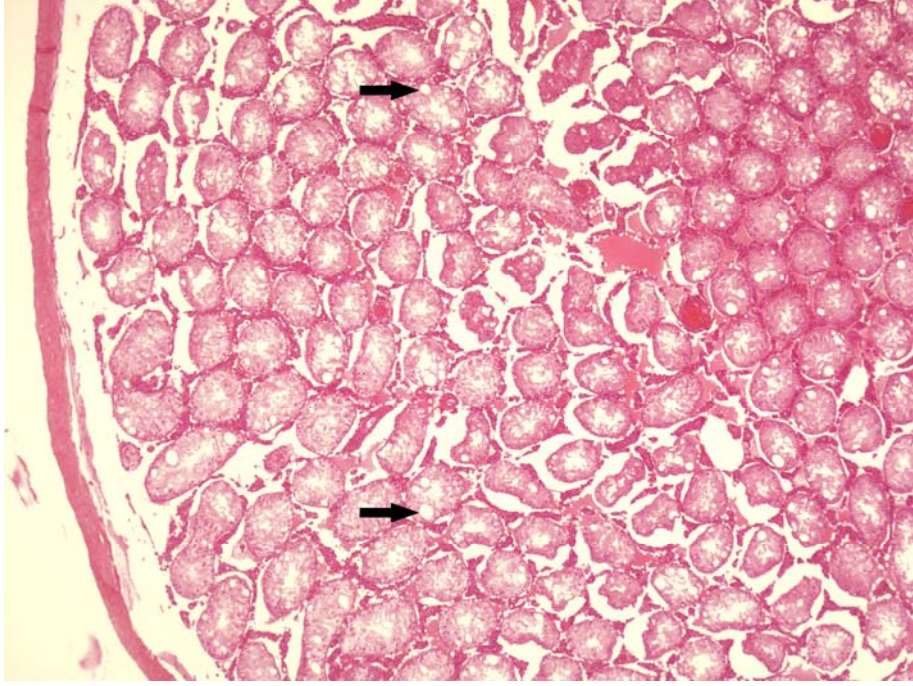
Resim 55. L-karnitin tedavi grubunun 21. gününde kısmen düzenli sınırlara sahip seminifer tübüllerde bazal laminadaki kalınlaşma (►) gözlenmektedir. Tübüllerde PAS (+) akrozom yapıları ile ayırt edilen erken (Sd) ve geç spermatidler (Sz) izlenmektedir. Ayrıca tübüllerde yoğun boyanmış anormal baş gelişimi gösteren geç spermatidler (→) dikkati çekmektedir. PAS+HL, X400.



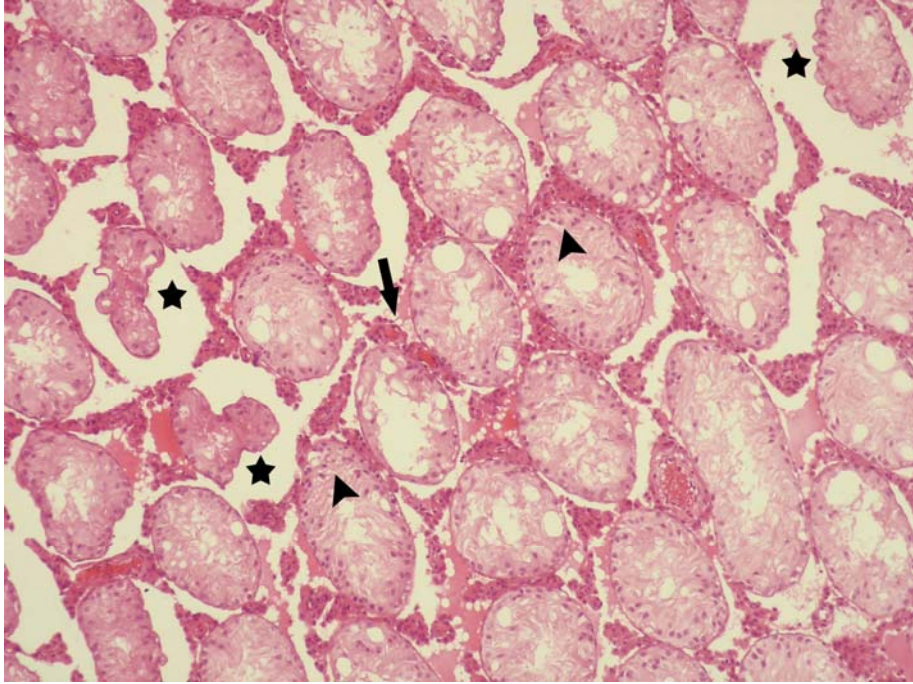
Resim 56. Tedavi grubunun 21. gününe ait nisbeten kalınlaşmış tunika propriya (TP) üzerinde, sitoplazmasında az sayıda granülsüz endoplazmik retikulum dilatasyonu (*) gözlenen Sertoli hücresi (SH) ile dejeneratif mitokondriyonlar (M) içeren spermatosit (St) izlenmektedir. Tübülde seminifer epitel hücreleri arasındaki küçük vakuoller (v) dikkati çekmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000.



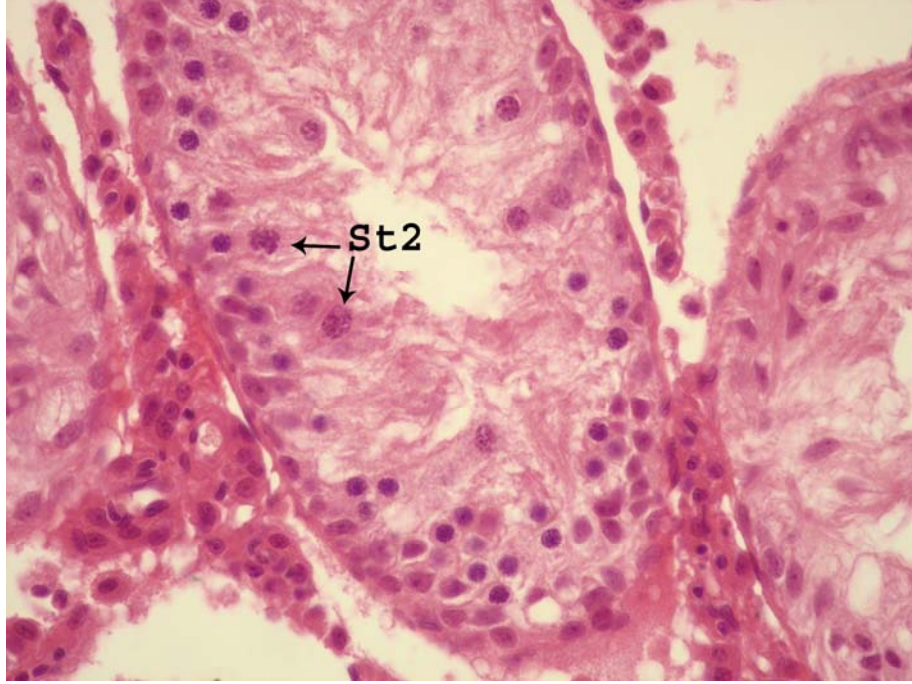
Resim 57. Tedavi grubunun 21. gününe ait seminifer tübülde normal yapı sergileyen spermatidler (Sd) ile lümeninde anormal baş yapısına sahip spermatozoonlar (Sz) ve lipid damlacıkları (L) içeren sitoplazmik kalıntılar (SK) gözlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3500.



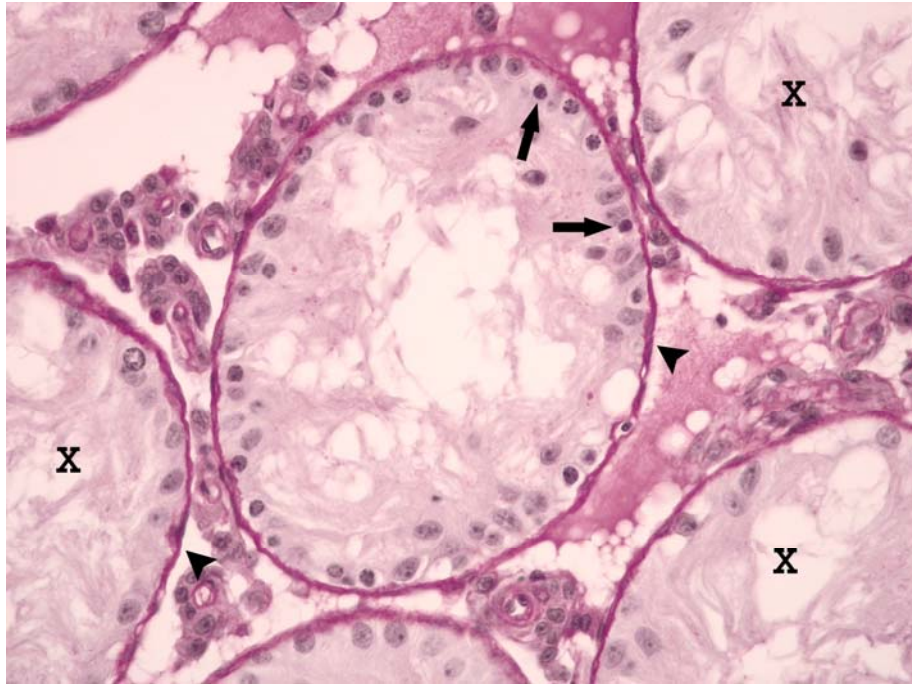
Resim 58. L-karnitin tedavili grubun 44. gününe ait sıçan testisinde seminifer tübüllerde vakuolizasyonların (→) önemli ölçüde azaldığı gözlenmektedir. H+E, X40.



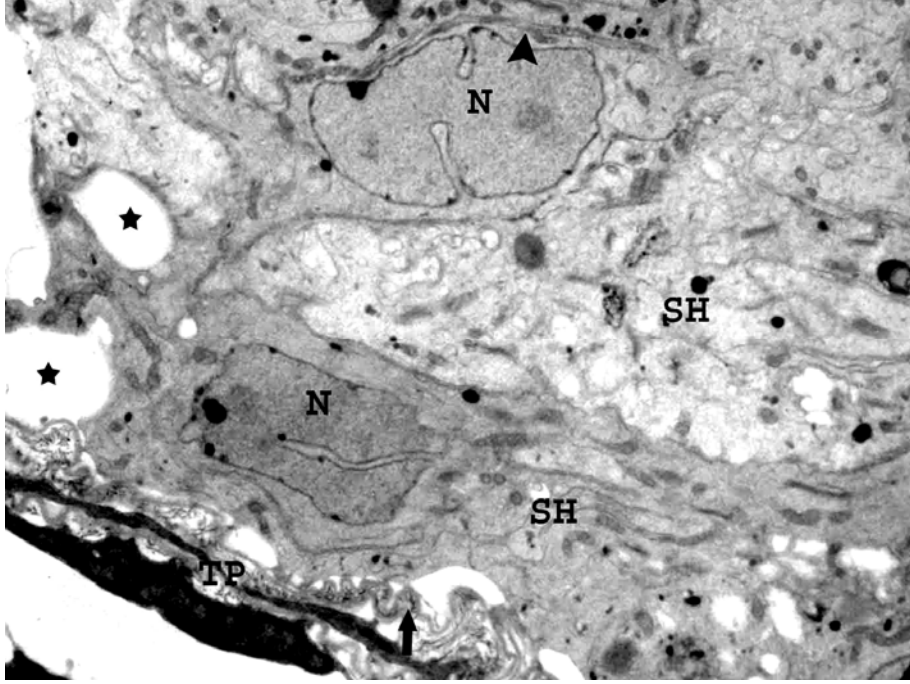
Resim 59. L-karnitin tedavili grubun 44. gününde yer yer büzüşerek interstisyumdan ayrılmış tübüller (*) ile vakuolizasyon sayısı azalmış buna karşın germ hücre yoğunluğunda belirgin bir artış (►) gözlenen tübüller dikkati çekmektedir. İnterstisyel sahada yoğunluk ve vaskülarizasyon artışının (→) mevcudiyetini koruduğu gözlenmektedir. H+E, X100.



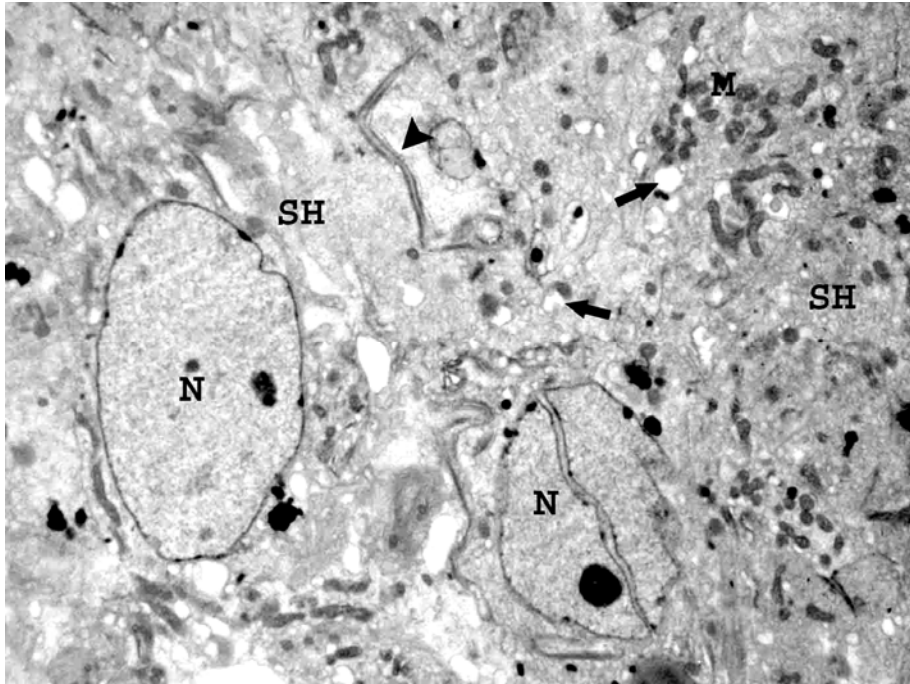
Resim 60. L-karnitin tedavili grubun 44. gününde pakiten/diploten spermatosit-I (St2) aşamasına kadar ilerlemiş bir rejeneratif tübül gözlenmektedir. H+E, X400.



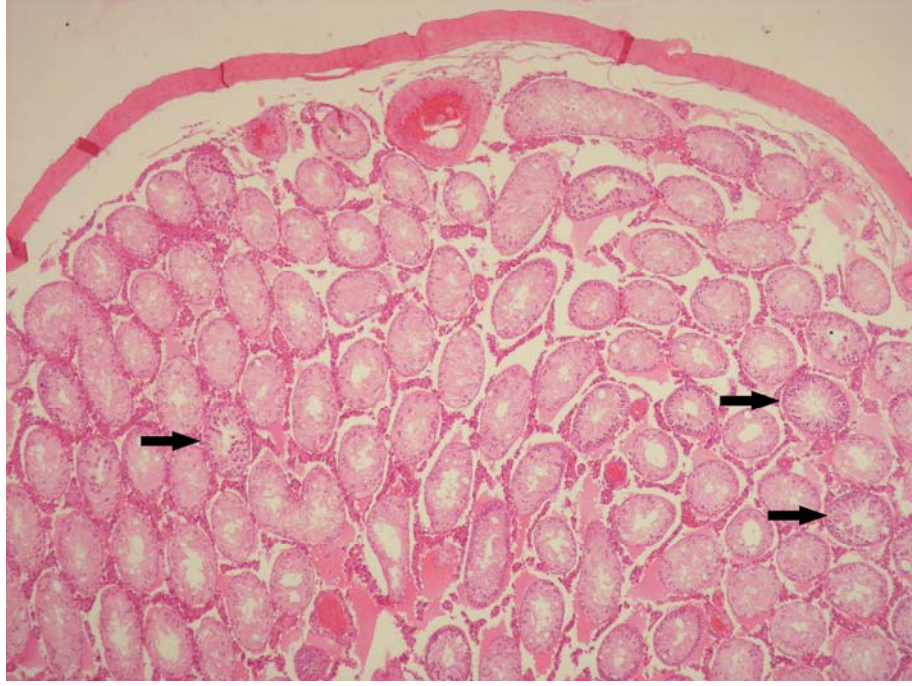
Resim 61. L-karnitin tedavili grubun 44. gününde dejeneratif tübüller (X) arasında Tip B spermatogonyumları (→) içeren yenilenme gösteren bir tübül izlenmektedir. Her iki tip tübülün de kalınlaşmış bazal lamina (►) ile çevrili olduğu dikkati çekmektedir. PAS+HL, X400.



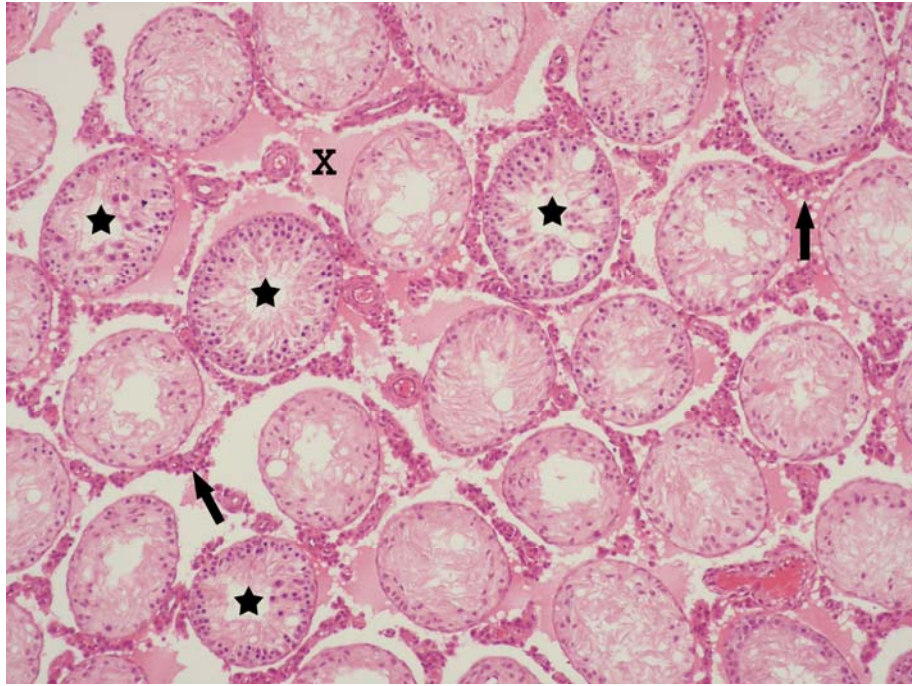
Resim 62. Tedavi grubunun 44. gününde kalınlaşmış tunika propriyada (TP), hafif düzensizlik sergileyen bazal lamina (→) ile Sertoli hücreleri (SH) arasında küçük boşlukların açığa çıktığı (*) gözlenmektedir. Tübülde derin invajasyonlara sahip nükleusları (N) ile ayırt edilen Sertoli hücrelerinin, normal yapıda sıkı bağlantıları (▶) izlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3500.



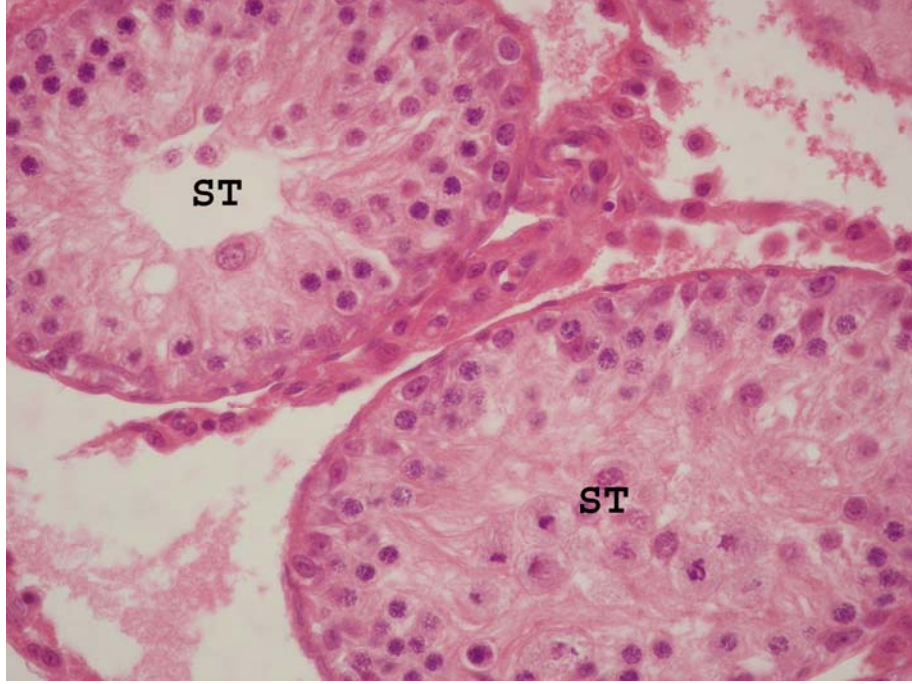
Resim 63. Normal elektron yoğunluğa sahip Sertoli hücre (SH) sitoplazmasında çeşitli şekillerde mitokondriyonlar (M) ile oldukça az sayıda ve küçük çaplı granülsüz endoplazmik retikulum dilatasyonları (→) gözlenmektedir. Nükleus (N), sıkı bağlantı kompleksi (▶). Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.



Resim 64. L-karnitin tedavili grubun 70. gününe ait sıçan testisinde yenilenme gösteren seminifer tübüllerin (→) sayısında artış dikkati çekmektedir. H+E, X40.



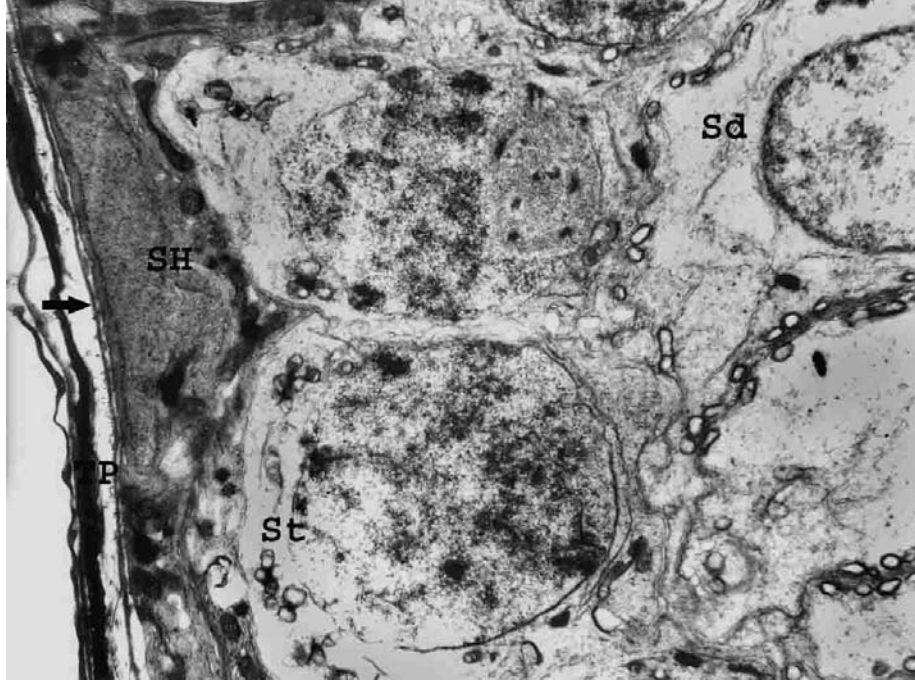
Resim 65. L-karnitin tedavili grubun 70. gününde farklı seviyelerde spermatogenezin gözleendiği rejeneratif tübüller (*) ile aralarında yoğunluğu artmış interstisyum (→) ve peritübüler hyalinizasyon (X) izlenmektedir. H+E, X100.



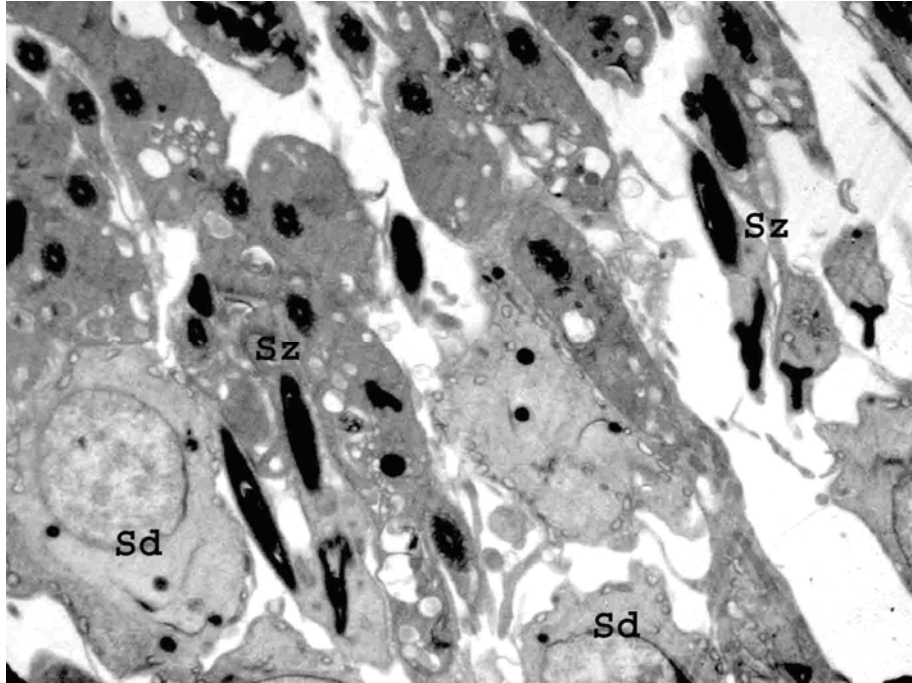
Resim 66. L-karnitin tedavili grubun 70. gününde rejenerasyon gösteren seminifer tübüllerde (ST) spermatogenez serisine ait bazı hücreler ve Sertoli hücreleri izlenmektedir. H+E, X400.



Resim 67. L-karnitin tedavili grubun 70. gününde kısmen kalınlaşmış bazal lamina (►) ile çevrili rejeneratif bir tübülde Sertoli hücrelerinin (SH) yanı sıra spermatogonyum (Sg), spermatosit-I (S1) ve PAS (+) akrozom yapıları ile dikkati çeken spermatidler (Sd) gözlenmektedir. PAS+HL, X400.



Resim 68. Tedavi grubunun 70. gününe ait rejeneratif bir tübülde normal görünümlü tunika propriyanın (TP) düzenli bazal laminası (→) üzerinde, Sertoli hücreleri (SH), spermatositler (St) ve spermatidler (Sd) normal yapıda izlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X4000.



Resim 69. Tedavi grubunun 70. gününde seminifer tübülün lümene yakın kısmında spermatidler (Sd) ile lümeninde spermatozoonlar (Sz) gözlenmektedir. Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.

TARTIŞMA

İyonize radyasyonun terapötik ve diagnostik amaçlı kullanımının üreme sistemi üzerinde zararlı etkiler meydana getirdiği bilinmektedir (36). Testisler radyoterapi ile hasarlanmaya karşı oldukça hassastırlar. Kanseri erkek hastaların ışınlanmasının, spermatogenezin normal siklik proçesini bozarak geçici veya kalıcı infertiliteye neden olduğu bildirilmiştir (8, 30).

Kanser tedavisinden sonra çocuk sahibi olmak isteyen erkeklerde fertilitenin önlenmesi için koruyucu metodların geliştirilmesi oldukça önemlidir. Radyasyona bağlı erkek infertilitesinin patogeneğinde oksidatif stresin önemi kanıtlandıktan sonra, antioksidanların bu alanda koruyucu amaçlı kullanımını cesaretlendirici çok sayıda çalışma dizayn edilmiştir. Bu çalışmaların çoğunda, seminal plazmanın serbest radikal süpürücü kapasitesini arttırmaya yönelik antioksidan desteği yapılmış ve üreme sistemi üzerine faydalı etkileri olduğu gösterilmiştir. Bu sonuçlara rağmen, erkek infertilitesinin tedavisinde antioksidanların klinik kullanımı, çalışmalarda çok fazla değişkenlik olduğundan tartışmalı bir konu olarak kalmıştır.

L-karnitin, uzun zincirli yağ asitlerinin β -oksidasyon için mitokondri içine taşınmasında gerekli bir faktördür. Ayrıca, antioksidatif ve serbest radikal süpürücü etkilere sahip olduğu ve hücre DNA ve membranlarını serbest oksijen radikalleri aracılığıyla oluşturulan hasara karşı koruduğu gösterilmiştir (16-18). İdiyopatik asthenospermili hastalarda L-karnitin uygulamasının etkisini gösteren klinik çalışmalara ve oligoasthenospermik ratlarda L-karnitin, steroidogenez ve spermatogenezini iyileştirdiği

bildirilmesine rağmen, bu ilacın testis düzeyindeki etkisinin moleküler mekanizması tam olarak açık değildir (18, 19, 74).

İnfertil hastaların seminal sıvısında karnitin konsantrasyonunun azaldığı ve ekzojen karnitin tedavisiyle sperm canlılığının, sperm motilitesinin ve spontan gebelik oranının arttırıldığını gösteren çalışmalar temel alınarak, son zamanlarda erkek infertilitesinin tedavisinde L-karnitin ve türevlerinin kullanılma ihtimali araştırılmaktadır. Ancak testisler üzerinde L-karnitin radyoprotektör etkisini morfolojik açıdan inceleyen çalışmaların oldukça yetersiz olduğu göz önünde bulundurulduğunda, çalışmamızın bu eksikliğin giderilmesine katkıda bulunabileceği kanısındayız.

Çalışmamızda skrotal bölgeye uyguladığımız 10 Gy γ ışının, sıçan testis seminifer tübüllerinde çeşitli tipte morfolojik hasarlara neden olduğu görülmüştür. Bu hasarlar; ışık ve elektron mikroskopik düzeyde, bazal laminada kalınlaşma, hücreler arası sahada genişleme, spermatogenezin inhibisyonu, germinal hücre tüketimi, tübül vakuolizasyon, tübül lümeninde gelişme sürecini tamamlamamış germinal hücrelerin varlığı ile birlikte seminifer epitelde ortaya çıkan çok nukleuslu dev hücreler şeklinde gözlenmiştir. Ayrıca elektron mikroskopu ile seminifer tübüllerde, gerek Sertoli hücreleri gerekse spermatogonik hücrelerin ince yapısında bazı değişiklikler tespit edilmiştir. Dejeneratif Sertoli hücrelerinde, çok sayıda ve derin invajinasyonlar sergileyen nukleuslar, sitoplazmada yaygın vakuolizasyon, şişmiş mitokondriyonlar, dilate olmuş granülsüz endoplazmik retikulum sisternaları, elektron yoğun yapılar ile sayı ve hacmi artmış lipid damlacıkları gözlenmiştir. Germinal hücrelerde radyasyona bağlı dejenerasyonlar; spermatogonyumlarda kromatinin nukleus periferinde kümelenmesi ve sitoplazmik vakuolizasyon, primer spermatositlerde mitokondri gruplaşmaları, spermatidlerde ise akrozomal yapıda anormallik, nukleus şeklinde düzensizlik ve elektron saydam merkezlerin oluşumu şeklinde izlenmiştir. Deneyin 1., 21., 44. ve 70. günlerinde yaptığımız incelemeler sonucunda süreye bağlı olarak, bu değişikliklerin tipinde ve yaygınlığında farklılıkların ortaya çıktığı tespit edilmiştir. Bizim bulgularımızın, direkt testislerin veya pelvik alanın ışınlandığı çalışmalarda testiste gözlenen histolojik hasarlar ile uyumlu olduğu görülmüştür (34, 36, 85).

Günümüzde plazma membranının, iyonize radyasyonun hedeflerinden biri olduğu geniş ölçüde kabul görmektedir. Çok sayıda deneysel veri, plazma membranı akıcılığındaki bozulmanın radyasyon hasarının karakteristik bir özelliği olduğunu göstermektedir. İyonize radyasyona karşı hücrel yanıt, hücrelerarası bağlantıların fonksiyon ve yapısının değişmesi ile ortaya çıkmaktadır. İyonize radyasyona akut dönemde yanıtın karakteristik özelliği, dezmozomları, adhrens bağlantıları ve sıkı bağlantıları içeren hücrelerarası bağlantıların

hasarlanmasıdır. X ya da γ ışınlamayı takiben, geri dönüşümlü olarak hücreler arası sahada önemli ölçüde genişlemenin ortaya çıktığı bildirilmiştir (86). Gelişen germ hücreleri, bir koloni içerisindeki hücreler arasında iletişime izin veren hücrelerarası köprüler aracılığı ile sitoplazmik olarak birbirlerine bağlıdır ve her bir koloni içerisindeki germ hücreleri senkronize şekilde farklılaşırlar (87). Bu bilgiler ışığında, çalışmamızın 1. gününde tespit ettiğimiz germ hücreleri arasındaki açılmaların ve seminifer epiteldeki fokal kayıpların, ışınlamanın etkisi ile hücrelerarası bağlantılarda meydana gelen zayıflama nedeniyle ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Işınlama aracılığı ile lipid peroksidlerin birikiminin, hücrel membranları hasarladığı bilinmektedir. Yapılan bir çalışmada gözlenen, prematüre spermiyasyon, spermatozoanın erken salınımı ile spermatozoid ve spermatidlerin kaybı, Sertoli hücre membranının destabilizasyonu nedeni ile bu hücrelerin germ hücreleriyle olan bağlantılarında meydana gelen bozukluklara atfedilmiştir (88). Çalışmamızda özellikle 1. günde seminifer tübül lümeninde gözlediğimiz gelişme sürecini tamamlamamış germinal hücre döküntüleri, Sertoli hücre membranında ışınlamaya bağlı olarak açığa çıkan hasarın bir sonucu olabilir. Erişkinlerde ışınlamanın Sertoli hücre sayısında bir değişikliğe yol açmadığı ancak bu hücrelerde fonksiyonel hasarların meydana geldiği bildirilmiştir (7, 30, 31).

Sundaram ve Panneerselvam (73) karnitin β -oksidasyon için lipidleri sitosolden mitokondri içine taşıyarak lipid düzeyini düşürmek suretiyle, yaşlı ratlarda lipoperoksid üretiminde azalma meydana getirdiğini bildirmişlerdir. Antioksidatif özelliğe sahip karnitin, hücrel membranları iyonize radyasyonun açığa çıkardığı serbest radikal saldırısından korumak suretiyle, seminifer epitel hücreleri arasındaki açılmaları büyük ölçüde azalttığı kanısındayız.

Testis radyosensitivitesi birbirinden farklı hücrelerden oluşur. Farklılaşmış spermatogonyumların radyasyona karşı en hassas hücreler olduğu, spermatozoid ve spermatidlerin onlardan daha dirençli, spermatozoanın ise en dirençli hücreler olduğu tespit edilmiştir (8, 30-32). Yapılan çalışmalar farklılaşmış spermatogonyumların, ışınlamadan sonra hızlı bir şekilde azaldığını göstermektedir. Işınlamayı takiben kök hücrelerin küçük bir kısmı ve diğer olgun germ hücreleri (spermatozoid ve spermatid) hayatta kalır. Spermatozoid ve spermatidler olgunlaşma ile tüketilirken, kök hücrelerde yenilenme (rekolonizasyon) süreci başlar (34, 89). Bu sonuçlar; kobalt 60 ile 3.3-4 Gy ışınlamanın efektif bir şekilde farklılaşmış spermatogonyumları elimine ettiğini, buna karşın normalde testiste durağan olan ancak germ hücre tüketimine cevaben mitotik olarak aktif hale gelen, kök hücre rezervini oluşturan

farklılaşmamış tip A spermatogonyumların küçük bir kısmının hayatta kaldığını bildiren Huckins tarafından desteklenmiştir (89).

İnsanlarda ve çeşitli deney hayvanlarında, radyasyona bağlı spermatogonyumların seçici kaybının, daha olgun germ hücrelerin sayısında progresif bir azalmaya neden olan olgunlaşma-tüketim (maturasyon-deplesyon) sürecine yol açtığı gösterilmiştir (8, 31, 32).

Işınlamanın seminifer tübüller üzerindeki etkisinin zamanla arttığı, deneyin 21. günde açığa çıkan morfolojik hasarın boyutu ile orantılı olduğu tespit edilmiştir. Bu deney gününde, ışınlamanın spermatogenezde meydana getirdiği inhibisyonun ve farklılaşmış spermatogonyumların kaybı ile birlikte, daha ileriki germ hücrelerinin olgunlaşma aracılı tüketiminin bir sonucu olarak, germ hücre sayısında belirgin bir azalmanın olduğu gözlenmiştir. Bu dönemde, farklılaşmış spermatogonyum ve spermatozoidlerin tamamen ortadan kaybolduğu tübüllerde, spermatozoidlerin görülmesi olgunlaşma tüketim sürecinin bu hücrelere kadar ulaştığının bir göstergesi olarak kabul edilmiştir. Hayatta kalan spermatozoidlerin, tübüllerde ya tek tek buldukları ya da kümelenerek çok nükleuslu dev hücreleri oluşturdukları gözlenmiştir. Tübüllerin bir kısmının tüm germ hücrelerinden yoksun olduğu ve ışınlamaya karşı daha dirençli olan Sertoli hücreleri ile az miktarda kök spermatogonyumları içerdiği saptanmıştır. Bu tübüllerde tespit edilen vakuolizasyonların, Sertoli hücre uzantıları arasında olması gereken germ hücrelerinin kaybından dolayı ortaya çıktığı saptanmıştır.

Deneyin 44. gününde, germ hücrelerinin olgunlaşma aracılı tüketimi nedeniyle, morfolojik hasarların şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Germ hücre kaybının büyüklüğüne paralel olarak tübüler vakuolizasyonun sayısında ve vakuollerin büyüklüğünde 21. güne kıyasla artış tespit edilmiştir. Bu günde, spermatozoidlerin tüketimi nedeniyle tübüllerde, çok nükleuslu dev hücrelerin gözlenemediği, ayrıca sadece Sertoli hücresi ile kök spermatogonyumları içeren atrofik tübüllerin sayısının da artmış olduğu saptanmıştır. Bazı tübüllerde nükleus morfolojisi değişmiş Sertoli hücrelerinin, zaman zaman bazal membrandan uzakta tübül lümenine doğru yerleştikleri görülmüştür.

İyonize radyasyonun, hücrelerin ölümünden önce dev hücrelerin gelişimi gibi morfolojik değişiklikleri indüklediği bildirilmiştir. Memeli hücre türlerinde in vivo ve in vitroda yüksek doz iyonize ışınlamaya maruz kaldıktan sonra gözlenen, iki yada çok nükleuslu dev hücre şeklinin, tek nükleuslu hücrelerin kaynaşması sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir (86). Deneyin 21. gününde tespit ettiğimiz çok nükleuslu dev hücre oluşumlarının, hayatta kalan spermatozoidlerin ışınlamaya karşı daha fazla direnç gösterebilmek amacı ile bir araya gelmeleri sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Bizim bulgularımıza benzer olarak, yapılan bir çalışmada 10, 25 ve 63 Gy skrotal ışınlamadan sonra deneklerin tübüllerinde dev hücrelerin varlığı saptanmıştır (85). Bansal ve ark. (36) 10 Gy radyasyon dozunda, ışınlamadan sonra 2. ve 4. haftalarda gözlenen çok nükleuslu dev hücrelerin, spermatidlerin kümelenmesinden dolayı ortaya çıktığını bildirmişlerdir.

Daha önceki çalışmalar, çeşitli dozda ışınlamanın deney hayvanlarında, farklılaşmış spermatogonyumların seçici tahribi ve etkilenmeyen hücrelerin ise maturasyon tüketimi olarak bilinen, bu hücrelerin normal olarak olgunlaşması aracılığı ile tüm germ hücre tiplerinde belirgin derecede azalma meydana geldiğini göstermiştir (31, 34, 36, 90).

Sıçan testislerinin 9 Gy radyasyonla ışınladığı bir çalışmada, başlıca hasarlanan hücre gruplarının ışınlama anında DNA'larını replike eden preleptoten spermatositler ve spermatogonyumlar olduğu, 23. günden itibaren seminifer epiteldeki spermatositlerin tamamen kaybolduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, anormal nükleus morfolojisi gösteren spermatidlerin 50. günden sonra ortadan kayboldukları gözlenmiştir. Bu zamanda tübüllerin büyük bir kısmının sadece Sertoli hücresi içerdiği ve ışınlamadan sonra Sertoli hücre sayısının sabit kaldığı tespit edilmiştir (90).

Jegou ve ark. (31) ışınlamadan sonraki 7-14. günler arasında spermatositlerin sayısında, 17-26. günlerde ise erken spermatidlerin sayısında önemli derecede azalmanın olduğunu, 40-54. günlerde ise olgunlaşma-tüketim sürecinin geç spermatidlere ulaştığını bildirmişlerdir.

İşnlamanın testiküler atrofiye neden olduğu kabul edilen bir gerçektir. Atrofi, seminifer tübül içindeki farklılaşmış germinal hücrelerin kaybıyla karakterize edilmektedir. Atrofik tübüller içerisinde, sadece farklılaşmamış tip A spermatogonyumlar ile Sertoli hücrelerinin gözlemlendiği bildirilmiştir. İnsanlarda ve sıçanlarda radyasyonun, hayatta kalan spermatogonyumların farklılaşmasını bozarak spermatogenezi baskıladığı, bu yüzden de tübüllerde görülen tek germ hücresinin, farklılaşmamış A spermatogonyumlar olduğu gösterilmiştir (33, 37). Ayrıca düşük doz ışınlamanın, Sertoli hücrelerinde çok az bir hasara neden olduğu, buna karşın germ hücrelerini tamamen yok ettiği, bu nedenle de kemirgen testislerinde tübüllerde çoğunlukla gözlenen hücre tipinin Sertoli hücreleri olduğu rapor edilmiştir (24).

Çalışmamızda atrofik tübül sayısında 44. günde gözlediğimiz artışa paralel olarak, bir başka çalışmada atrofik morfolojiye sahip tübüllerin sayısının, ışınlamadan 6 hafta sonra radyasyon dozunun artışı ve geçen süre ile birlikte arttığı bildirilmiştir. Işınlamaya eşlik eden testiküler atrofinin, aktif olarak bölünen germ hücreleri üzerine serbest radikallerin hasarlayıcı

etkisi aracılığı ile meydana geldiğine inanılmaktadır (91). Bu bilgi, antioksidan özellikli L-karnitinin uygulandığı gruplarda tespit ettiğimiz atrofik tübüllerin sayısındaki azalmayı kısmen açıklamaktadır.

Erişkin testisinde Leydig ve Sertoli hücrelerinin ışınlamadan sonra hayatta kaldıkları, ancak fonksiyonel hasara uğradıkları bilinmektedir. Çünkü bu hücreler oldukça farklılaşmışlardır ve dolayısı ile radyasyona karşı dirençlidirler (7, 30, 36). Yapılan çalışmalar ışınlamadan sonra Sertoli hücre sayısının değişmediğini göstermektedir (30, 31, 90). Pinon-Lataillade ve ark. (90) Sertoli hücre sayısının 15 Gy γ ışınlamasından sonra %100 kontrol değerlerinde olduğunu göstermiştir. Ancak ışınlamaya bağlı olarak Sertoli hücrelerinde gözlenen minimal hasar daha önceki çalışmalarda bildirilmiştir (34, 37, 92). Kangasniemi ve ark. (37) ışınlamadan sonra Sertoli hücre nükleus morfolojisi ve çapında değişiklikler olduğunu, ayrıca lokalizasyonlarının değişerek hücrelerin bazal membrandan uzaklaştıklarını bildirmişlerdir. Yine benzer şekilde LBNF₁ sıçanların 6 Gy γ ışını ile ışınlanmaları sonucunda, Sertoli hücre nükleuslarının daha uzun ve düzensiz olduğu ve daha fazla invajinasyona sahip olduğu gözlenmiştir (93). Çalışmamızda 10 Gy γ ışını ile Sertoli hücre morfolojisinde gözlemlediğimiz değişiklikler daha önce yapılan çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Sertoli hücreleri, germ hücrelerinin proliferasyonu, farklılaşması ve metabolizması için gerekli proteinleri üretir. Ayrıca sürekli bir metabolik ve enerjistik destek sağlayarak ve germ hücre fonksiyonlarını düzenleyerek spermatogenezin regülasyonunda önemli rol oynar (19, 30). Sertoli hücreleri tarafından salgılanan transferrin; demir bağlayıcı bir glikoprotein olup, germ hücre maturasyonu ve bölünmesi için gereklidir. Bunun yanı sıra, IL-1 ve 6 gibi sitokinlerin hücresele proliferasyonu ve farklılaşmayı regüle ettikleri bilinmektedir (30).

Guitton ve ark. (30) kobalt 60 γ ışınına karşı Sertoli hücre fonksiyonunda meydana gelen değişiklikleri inceledikleri çalışmalarında, 3-48 Gy arasındaki dozlarda iyonize radyasyona cevaben bu hücrelerin transferrin ve IL-6 sekresyonunun arttığını, IL-1 aktivitesinin ise etkilenmediğini gözlemlemişlerdir. Çalışmada tespit edilen radyasyon aracılı artmış transferin ve IL-6 sekresyonunun, germ hücrelerin korunmasında rol oynayabileceğini ve kısmen radyasyona karşı Sertoli hücre direncini açıklayabileceğini bildirmişlerdir (30).

Testiste steroid hormonların spermatogenez sırasında, germinal hücrelerde gözlenen sitolojik değişiklikler üzerinde önemli rol oynadığı bilinmektedir. Son zamanlarda Sertoli hücrelerinin de Leydig hücreleri gibi steroid hormonları sentez edebileceği fikri giderek önem kazanmaktadır. Sertoli hücrelerinin ince yapı yönünden steroid salgı yapan diğer hücrelere

olan benzerlikleri, testis steroidlerinin bir kısmının bu hücreler tarafından sentezlendiği fikrini güçlendirmiştir (94-96).

Çalışmamızda sıçan Sertoli hücrelerinde tübüler ve veziküler tip mitokondriyonlar, iyi gelişmiş granülsüz endoplazmik retikulum ve çok sayıda lipid damlacıkları gibi steroid sentez eden hücrelere özgü ince yapı özellikleri tespit edilmiştir. Ayrıca Sertoli hücre sitoplazmasında tespit edilen elektron yoğun cisimciklerin, büyük bir kısmının lizozomlar olduğu kanaatindeyiz. Lizozom yapısında olan elektron yoğun cisimciklerin Sertoli hücrelerinde fazla miktarda olması, bu hücrelerde yüksek fagositik aktiviteyi simgelemektedir.

Işınlamaya bağlı olarak Sertoli hücrelerinin ince yapısında tespit ettiğimiz değişikliklerin, ışınlamanın etkisi ile spermatogenezde meydana gelen bozulmaya paralel olarak bu hücrelerin fonksiyonunda ortaya çıkan farklılıklardan kaynaklandığını düşünmekteyiz. Işınlamadan sonra spermatogenik hücrelerin yıkıma uğramaları sonucu bazı tübüllerde spermatogenezin durması, azalan spermatogenez dengelemek için Sertoli hücrelerini uyararak, bu hücrelerde ince yapı değişikliklerine yol açmış olabilir. Bu fikirden yola çıkarak, steroid sentezinde önemli rol oynadığı bilinen granülsüz endoplazmik retikulum sisternalarının genişlemiş kesecikler görünümünü aldığı, özellikle 44. günde genişlemelerin daha da artarak hücreye köpüğümsü görünüm kazandırdığını söyleyebiliriz. Genel olarak, ışınlamanın etkisi ile endoplazmik retikulum sisternalarının fregmentasyonu, vesikülarizasyonu ve dilatasyonu sıklıkla gözlenen değişikliklerdendir (86).

Sıçan Sertoli hücre sitoplazmasında çok sayıda bulunan lipid damlacıklarının içeriklerinden biri olan kolesterolün, steroid sentezi için gerekli olduğu bilinmektedir. Aynı mantıkla spermatogenez etkileyen çeşitli testiküler bozukluklarda, Sertoli hücresi lipid içeriğinde artış olduğu ve bazılarının birleşerek daha iri lipid damlacıklarını oluşturdukları gösterilmiştir (96, 97). Bu çalışmada da ışınlamaya bağlı olarak, Sertoli hücre sitoplazmalarında lipid sayısı ve hacminde artış olduğu gözlenmiştir.

Çalışmamızın 21. ve 44. gününde, 10 Gy γ ışını ile sıçan seminifer tübüllerinde açığa çıkan germinal hücre kayıplarının, vakuolizasyon ve dev hücre oluşumlarının yanı sıra Sertoli hücresi ve spermatogenik hücre sitoplazmalarında, elektron mikroskobunda saptanan hasarların L-karnitin tedavili grupların tübüllerinde büyük ölçüde azaldığı tespit edilmiştir.

Ramadan ve ark. (78) çalışmalarında manyetik alana maruziyetten 1 saat önce L-karnitin pretedavisinin, manyetik alanla oluşturulan azalmış sperm miktarı ve motilitesi şeklinde gözlenen fare testis hasarlarını düzelttiğini göstermişlerdir. Ayrıca testiste yüksek manyetik alanın neden olduğu histopatolojik değişikliklerin (seminifer epitelde dökülme,

spermatogonyumların ortadan kalkması, spermatogenezin inhibisyonu) L-karnitin ile geri döndürüldüğünü bildirmişlerdir.

Yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar; L-karnitin ve türevlerinin radyasyona bağlı olarak, sıçan dokularında MDA ve nitrik oksit seviyelerindeki artışı inhibe etmek ve endojen antioksidan defans mekanizmasını arttırmak suretiyle hücreleri hasara karşı koruduğunu göstermektedir (16, 17). Karnitinin erkek fertilitasını hangi mekanizmayla etkilediği tam olarak bilinmemesine rağmen son çalışmalar, Sertoli hücre metabolizması üzerine karnitinin direkt etkisini göstererek, karnitin aktivitesinin muhtemel testiküler hedefi olarak Sertoli hücrelerini işaret etmektedir. Karnitin yağ asidi oksidasyonu, glukoz alımı ve laktat/prüvat sekresyonunu arttırmak sureti ile Sertoli hücre yağ ve karbonhidrat metabolizmasını etkilemektedir (78). Benzer şekilde Caviglia ve ark. (19) Sertoli hücre kültürüne karnitin ilavesinin, germ hücre maturasyonu için gerekli olduğu bilinen prüvat ve laktat sekresyonunda önemli bir artışa neden olduğunu göstermişlerdir.

İyonize radyasyonun açığa çıkardığı serbest radikaller aracılı DNA hasarı, genellikle ışınlamadan sonraki ilk hücre bölünmesinde veya ilk birkaç bölünme içindeki hücrelerde ölüme yol açar. Hücre ölümü, radyasyona karşı hücresel yanıtın en son aşamasında gerçekleşir. Işınlama sonrası hücre ölümünün mekanizması bilinmemektedir. Son zamanlarda elde edilen pek çok veri, radyasyona bağlı DNA çift zincir kırıklarının pasif tipte hücre ölümü olan nekrozis ile sonuçlandığını göstermiştir. Bununla birlikte ışınlamanın neticesinde aktif apoptotik ölümün de ortaya çıktığı bilinmektedir (98, 99). Erkek üreme sisteminde apoptozis, erkek gametlerin aşırı üretiminin kontrolünden sorumlu olan fizyolojik bir süreçtir. Ancak kemoterapi ve ışınlama gibi eksternal olaylarda meydana getirilen stres, total germ hücre kaybına yol açan testiküler apoptoziste artışa neden olmaktadır (43, 99). Elektron mikroskopi analizleri, ışınlama aracılığı ile meydana getirilen en yaygın ölüm şeklinin apoptozis olduğunu göstermiştir. Apoptozisin morfolojik işaretleri başta spermatogonyumlar olmak üzere tüm germ hücrelerinde oldukça sık gözlenmiştir (99).

Nükleusun büzüşmesi ve fragmantasyonu apoptozis ile ölen hücrelerin temel morfolojik özelliğidir. Kromatinin kondansasyonu ve kümelenmesi, nükleus porlarının yeniden düzenlenmesi ve nükleer laminanın erimesi bu süreçte eşlik eder. Hücre bir bütün olarak büzüşür ve sonunda komşu hücreler tarafından fagosite edilecek halde parçalar şeklinde bozular. Mitokondrilerin yapısında (şişme ve kristallerin silinmesi) ve fonksiyonundaki (mitokondriyal transmembran potansiyelinde azalma) değişiklikler apoptozisin erken safhasında gözlenir. Golgi kompleksinin dağılması ve endoplazmik retikulumun dilatasyonu apoptotik hücrelerde en sık rastlanan değişikliklerdir (86, 100).

Bu bilgiler doğrultusunda, çalışmamızda ışınlanmış grupların elektron mikroskopik incelemesinde, özellikle spermatogonyumlarda gözlemlendiğimiz; büzüşme, kromatinin nükleusta periferik kümeler oluşturması, şişmiş mitokondriyonlar gibi değişiklikler, bu hücrelerin apoptozise uğradığını göstermektedir.

Yapılan çalışmalarda L-karnitin, serbest radikal kaynaklı mitokondriyal ve nükleer DNA hasarına karşı hücreleri koruduğu gösterilmiştir. Karnitin yaşlı ratlarda oksidan üretimini azaltmak ve antioksidan durumunu arttırmak suretiyle, yaşlanma esnasında oluşan oksidatif stres aracılı DNA hasarını indirgeyerek mitokondriyal fonksiyonları iyileştirdiği gösterilmiştir (101). Ishii ve ark. (77) L-asetil karnitin ilavesinin kültüre edilmiş nöronlarda DNA fragmentasyonu ve nükleer kondansasyonu azalttığını bildirmişlerdir. Sundaram ve ark. (73) ise yaşlı ratların iskelet kaslarında artmış olan DNA tek zincir kırıklarının karnitin uygulaması ile azaltılabileceğini göstermişlerdir. Bunların yanı sıra son çalışmalar ile karnitin, DNA onarıcı enzim poly (ADP-ribozil) polimeraz'ın aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (73, 101). Çalışmamızda, spermatogonyumlara ait apoptotik değişikliklerin L-karnitin tedavisi ile azaldığı görülmüştür.

Bu çalışmada, ışınlamaya bağlı olarak seminifer epitelin dışında tunika propriya ve interstisyumda da bazı değişikliklerin ortaya çıktığı gözlenmiştir. Özellikle ışınlamadan sonra 21. ve 44. günlerde daha belirgin olmak üzere, dejeneratif tübüllerin tunika propriyasında kalınlaşma ile bazal laminada ondülasyonlar saptanmıştır. Ayrıca peritübüler hyalinizasyon ile birlikte, intertübüler sahada hücre yoğunluğu ve vaskülarizasyonda artış tespit edilmiştir.

Bazı oluşumlar sıklıkla düzenleyici ve defansif cevaba eşlik eder ve eksternal orjinli toksik maddelere karşı bir bariyer oluşturur. Perivasküler, intertübüler ve peritübüler fibrozis bir defans reaksiyonunu işaret etmektedir. Defansif reaksiyonlardan biri de hasarlı bölgede fibroblastların proliferasyonudur (88). Bizim çalışmamızda, intertübüler sahada gözlediğimiz hücre artışı ve peritübüler doku hyalinizasyonu radyasyona karşı bir cevap olarak değerlendirilebilir.

Bazal lamina, tüm epitellerin bazal yüzeyinde bulunan glikoprotein tabaka olup, hücreler için bir iskelet olarak hizmet eder ve hücre farklılaşmasında çok önemli etkilere sahiptir. Testislerde bazal laminanın üretimi, Sertoli ve peritübüler myoid hücrelerin işbirliği ile olmaktadır. Seminifer tübül bazal laminasının üretimi için germ hücre serisinin katkısı oldukça azdır (35).

Kemirgen testislerinde bazal lamina; tip IV kollajen, laminin, heparan sülfat ve entaktin gibi ekstrasellüler matriks (ECM) proteinlerinden oluşan ince bir tabakadır (102). Glikozaminoglikan ve proteoglikanların artmış üretimi serbest radikallerin hasarlayıcı

aktivitelerine karşı defans reaksiyonu olarak göz önüne alınmaktadır. Glikozaminoglikan ve proteoglikanların koruyucu aktivitesi, oksidasyonun olduğu farklı deneysel modellerde gösterilmiştir (88).

Spermatogenezde bazal laminanın önemi bazı infertil hastaların gözlemlerine dayanmaktadır. İnfertil erkeklerin testislerinde anormal bazal lamina yapısı tespit edilmiştir. Ayrıca kriptorşit, vazektomili ve varikoselli erkeklerin testislerinde bazal laminanın kalınlaştığı bildirilmiştir (102). Çeşitli patolojik durumlarda seminifer tübül bazal laminasında gözlenen kalınlaşma, Sertoli hücreleri ve peritübüler myoid hücrelerin kooperasyonundaki bozukluğun bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (88). İn vitro çalışmalar bazal laminanın yapısını oluşturan ECM'nin Sertoli hücre fonksiyonlarını ve morfolojisini etkilediğini göstermiştir. Ayrıca, seminifer tübül bazal laminasında ortaya çıkan değişikliklerin, sıçanlarda seminifer epitelde fokal dökülmeye neden olduğu bildirilmiştir (102).

Radyasyona karşı spermatogonyumların cevabı, repopülasyon indeksi aracılığı ile histolojik olarak değerlendirilebilmektedir. Çalışmamızda, 70. günde yaptığımız değerlendirme sonucunda 10 Gy γ ışınlamadan sonra testislerde gözlenen %5'lik bir spontan iyileşmeye karşın L-karnitin tedavisi ile bu oranın 3 kat arttığı tespit edilmiştir.

Testislerin spermatogenezini yeniden oluşturabilmesi, hayatta kalan bazı kök spermatogonyumlara ve onların hücre farklılaşması ile germ hücrelerini yeniden oluşturma yeteneğine bağlıdır. İnsanlarda 1-6 Gy ışınlamadan sonra azospermi görülmekte ve ışınlamadan 1 yıl sonra bazı erkeklerde spontan olarak spermatogenez yeniden başlamaktadır. Bu durum, ışınlamadan sonra hayatta kalan kök hücrelere rağmen, onların farklılaşma yeteneklerinin bir süre için etkilendiğini göstermektedir (92).

Farklılaşmamış kök hücrelerden rekolonizasyon sürecinin süresi türlere göre farklılık göstermektedir. Farelerde kök spermatogonyumlar radyasyona karşı dirençlidir ve seminifer epiteli hızlıca yenilerler (38). Bunun aksine insanlarda 2 Gy kadar düşük dozlarda bile yenilenme için, ışınlamadan sonra en az 50 hafta, LBNF₁ ratlarda ise 3,5 Gy radyasyona maruziyetten sonra en az 60 haftalık bir periyod gereklidir (26, 37). Diğer rat soyları, fare ve LBNF₁ sıçanlar arasında orta derecede hassasiyet gösterirler (38). Delic ve ark. (103) tarafından en çok kullanılan iki soy olan Sprague Dawley ve Wistar albino sıçanların testisleri üzerinde yapılan bir çalışmada, Sprague Dawley sıçanların daha fazla yenilenme kapasitesine sahip oldukları bildirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada, farelerde 10 Gy ışınlamadan 45 gün sonra repopülasyon indeksinin %20, LBNF₁ sıçanlarda ise 10 Gy ışınlamadan 10 hafta sonra bile yenilenme indeksinin %0 olduğu tespit edilmiştir (104). Pinon-Lataillade ve ark. (90) Sprague Dawley

sıçanlarda 9 Gy skrotal ışınlatma ile 180 günlük periyod boyunca seminifer epitelde çok az bir yenilenmenin meydana geldiğini bildirmişlerdir. Bu bulgular göz önüne alındığında, 10 Gy γ ışını ile Wistar albino sıçanların testislerinde gözlediğimiz rejenerasyon oranları diğer çalışmalar ile paralellik göstermektedir.

Amendola ve ark. (22) yaptıkları çalışmada farelerde 10 Gy x ışınına maruziyetten sonra ekzojen L-asetil karnitin uygulamasının, spermatogonyal kök hücrelerin rejenerasyonunu arttırmak suretiyle spermatogenezin iyileşme süresinde kısalma meydana getirdiğini göstermişlerdir. L-asetil karnitin'in, yüksek metabolik aktivite gerektiren bu süreçte katılan hücrelerin ihtiyacı olan enerjiyi sağlayacak, asetil gruplarının kaynağını oluşturarak rejenerasyon süresini kısalttığı bildirilmiştir (22, 105). Bu bilgiyi yansıtabilecek biçimde, çalışmamızda L-karnitin tedavisi seminifer epitelin rejenerasyon oranını arttırmıştır.

Radyasyondan sonra gözlenen sperm miktarındaki azalma, premayotik germ hücrelerinin radyasyona bağlı apoptozisinden ve sonrada daha ileri seviyedeki hücrelerin olgunlaşma aracılığı tüketiminden kaynaklanmaktadır (106). Işınlamayı takiben sterilite durumu ve sperm miktarının iyileşme derecesi hayatta kalan spermatogonyal kök hücrelere ve onların farklılaşma yeteneklerine bağlıdır (7, 37).

Çalışmamızda 10 Gy γ ışınının Wistar sıçanların fertilizasyon yetenekleri üzerindeki etkisini değerlendirmek için, 35. günde uyguladığımız çiftleştirme deneyi sonucunda, bu dozda bir ışınlatmanın, tüm deneklerde steriliteye yol açtığı ve L-karnitin tedavisinin bu steriliteyi önlemede yetersiz olduğu görülmüştür.

Yapılan çalışmalarda idiyopatik asthenozoospermik hastalarda spermatozoanın motilitesini düzeltmede karnitin desteğinin etkili olabileceği gösterilmiştir (18, 74). Ayrıca, uzun süreli karnitin tedavisinin sperm fonksiyonu ve fertilizasyon kapasitesi üzerinde yararlı etkilere sahip olduğu bildirilmiştir (18). Bu bulgular doğrultusunda, deneyin 35. gününde deneklerin fertilizasyon kapasitesi üzerinde görmeyi umduğumuz L-karnitinin koruyucu etkisini, uyguladığımız radyasyon dozunun yüksekliği ve/veya yenilenme süreci için gerekli sürenin yetersizliğinden dolayı gözlemleyemediğimizi düşünmekteyiz.

Elde ettiğimiz bu sonuca rağmen, L-karnitinin ışınlanmadan sonra hayatta kalan spermatogonyal kök hücrelerin rejenerasyonunu arttırmak suretiyle spermatogenezin iyileşme süresini kısalttığını göz önüne aldığımızda, ilk genital siklus süresi sonunda meydana gelen sterilitenin bu koruyucu madde tarafından önlenememesine karşın, sterilite süresinin kısaltılabileceği kanısındayız.

Çalışmamızda ışınlamanın testisler üzerindeki etkisini, morfolojik incelemelerin yanı sıra morfometrik ölçümler ile ortaya koymak amacıyla, sıçanların testis ağırlığı (g)/100 g vücut ağırlığı, seminifer tübül çapı ve seminifer epitel genişliği de değerlendirilmiştir.

Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda testiküler ışınlamanın vücut ağırlığı üzerinde hiçbir etki oluşturmadığı, ancak germ hücre tüketimine bağlı olarak testis ağırlığında belirgin derecede bir azalma meydana getirdiği gösterilmiştir (6, 8, 31, 33, 36, 85, 90, 99).

Çalışmamızda 10 Gy skrotal ışınlamanın etkisi ile deneyin 21., 44. ve 70. günlerinde deneklerin testis ağırlığında meydana gelen azalma, seminifer tübüllerde ışınlamaya bağlı germ hücre tüketimini desteklemektedir. En üst seviyede germ hücre kaybının gözleendiği 44. günde testis ağırlığındaki azalma da maksimum seviyede idi. Işınlamadan sonraki 70. günde gözlenen hafif derecedeki artış, ışınlanmış deneklerde tespit edilen spermatogenezde %5'lik spontan iyileşmeyi yansıtmaktadır. L-karnitin tedavisi ile testis dokusunda morfolojik açıdan sağlanan korumanın, testis ağırlığında ışınlamaya bağlı olarak gözlenen azalmayı düzeltecek boyutta olmadığından, bu ajanın testis ağırlığındaki azalmayı önleyemediği kanısındayız.

Daha önceki radyasyon çalışmalarında, ışınlamanın seminifer tübül çapında küçülme ve seminifer epitel genişliğinde azalma meydana getirdiği bildirilmiştir (6, 37). Bizim çalışmamızda da, ışınlamadan sonra seminifer tübül çapı ve seminifer epitel genişliğinde önemli derecede azalma olduğu gözlenmiştir. İlk olarak 21. günde ortaya çıkan ve 44. günde maksimum düzeye ulaşan azalmanın, bu günlerde seminifer tübüllerde gözlenen morfolojik hasarlarla uyumlu olduğu tespit edilmiştir. Deneyin 70. gününde spermatogenezde meydana gelen iyileşmeye bağlı olarak, seminifer tübül çapı ve epitel genişliğinde yeniden bir artış gözlenmiştir. Işınlanan deneklerin L-karnitin tedavisi ile morfolojik düzeyde sağlanan koruma ölçüsünde, seminifer tübül çapı ve epitel genişliğinde anlamlı bir koruma elde edilmiştir.

İnsan ve deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda, antioksidan, antiinflamatuvar ve sitoprotektif bir ajan olarak kanser tedavisine bağlı normal doku hasarına karşı korunmada faydalı etkileri gösterilen L-karnitin, bu çalışmada radyasyona bağlı testiküler hasarı azaltmak ve tübüllerin rejenerasyon hızını arttırmak suretiyle, erkeklerde meydana gelen infertilite süresinin kısaltılmasında etkili olabileceği, yapmış olduğumuz ışık ve elektron mikroskopik incelemeler ile gösterilmiştir.

SONUÇ

İyonize radyasyonun zararlı etkilerinden dokuları koruyan ajanlar, mesleki, kazasal, çevresel ve terapötik radyasyon maruziyetinin hasarlarını minimize etmede önemlidirler.

Radyoterapi esnasında testiste gözlenen ve infertiliteye neden olan normal hücre hasarını önlemede, L-karnitin tedavisinin etkisini morfolojik açıdan incelemek amacı ile planladığımız çalışmada, bu ajanın deneklerimizde radyasyon ile oluşturulan testiküler hasarı büyük ölçüde önlediğini gözlemledik. L-karnitin, antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik etkileri aracılığı ile radyasyona karşı testis morfolojisinde gösterdiği koruyucu etkinin yanı sıra, spermatogenetik iyileşme sürecini hızlandırdığını da tespit ettik. Morfometrik ölçümler ile radyasyonun seminifer tübül çapı ve seminifer epitel genişliğinde meydana getirdiği anlamlı derecede azalmanın, L-karnitin tedavisi ile kısmen önlendiğini gözledik.

Bu bulgular doğrultusunda, radyoterapi esnasında L-karnitin desteğinin, germinal epitel hücreleri korumak ve tübüllerin rejenerasyon hızını arttırmak suretiyle erkeklerde radyasyona bağlı olarak meydana gelen infertilite süresinin kısaltılmasına, dolayısı ile tedaviden sonra hastaların yaşam kalitesinin yükseltilmesine katkıda bulunacağı kanısındayız.

ÖZET

İYONİZE RADYASYONUN NEDEN OLDUĞU TESTİS SEMİNİFER TÜBÜL HASARINA KARŞI L-KARNİTİNİN KORUYUCU ETKİSİNİN IŞIK VE ELEKTRON MİKROSKOPİK DÜZEYLERDE İNCELENMESİ Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŞIR

Testisler radyoterapi ile hasarlanmaya karşı oldukça hassastırlar. Radyasyona bağlı erkek infertilitesinin patogenezinde oksidatif stresin rolü kanıtlandığından, son yıllarda antioksidanların bu infertiliteyi önlemedeki etkileri üzerinde yapılan çalışmalar artmıştır.

Bu çalışmada, γ ışınlama ile sıçan testis seminifer tübüllerinde açığa çıkacak hasarlara karşı L-karnitin muhtemel koruyucu etkisinin ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde gösterilmesi amaçlandı. Hayvanlar biri kontrol 2'si deney grubu olmak üzere toplam 3 gruba ayrıldı. Radyasyon hasarı oluşturmak amacıyla kontrol grubu dışındaki deneklerin skrotal bölgelerine tek fraksiyonda 10 Gy γ ışını uygulandı. Üçüncü grup deneklere; ışınlamadan 1 gün önce başlayarak, haftada 3 kez olmak üzere 3 hafta boyunca intraperitoneal yoldan 200 mg/kg L-karnitin, ikinci grup deneklere ise aynı şekilde 0,2 ml serum fizyolojik verildi.

Işınlamadan 1, 21, 44 ve 70 gün sonra II. ve III. grup deneklerden, deney sonunda kontrol grubu deneklerinden alınan testis biyopsi materyalleri ışık ve elektron mikroskopik gözlemler için işlemlendirildi.

Çalışmada, radyasyonun etkisi ile 1. günde germinal hücrelerin birbirlerinden ayrılarak döküldükleri gözlemlendi. Hasarın zamanla artarak 21. ve 44. günlerde en üst seviyeye

ulaştığı, seminifer tübüllerde spermatogenezin durduğu ve büyük ölçüde germ hücrelerinden yoksun atrofik tübüllerin varlığı tespit edildi. Atrofik tübüllerde 21. günde ortaya çıkan vakuolizasyonlar ve spermatidlerin oluşturduğu dev hücreler dikkat çekiciydi. Seminifer tübüllerde 44. günle birlikte vakuolizasyonların arttığı, dev hücre sayısının ise azaldığı saptandı. Yetmişinci günde bazı tübüllerde rejenerasyonun meydana geldiği gözlemlendi. Elektron mikroskopik düzeyde; bazal lamina ondülasyonu, Sertoli hücrelerinde nükleus invajinasyonlarında artış, mitokondriyonlarda şişme, granülsüz endoplazmik retikulum sisternalarında dilatasyon, lipid damlacıklarının sayı ve hacminde artış tespit edildi. Spermatogonyumlarda büzüşme ve nükleus periferinde kromatin kümelerinin oluşumu, primer spermatositlerde gruplaşmış mitokondriyonlar, spermatidlerde anormal akrozomal yapı germinal hücrelerde gözlenen en belirgin değişiklikler idi.

Radyasyona bağlı hasarların önlenmesinde L-karnitin etkili olduğu ve özellikle seminifer tübüllerin rejenerasyon oranını arttırdığı tespit edildi. Sonuç olarak; radyoterapi esnasında L-karnitin desteğinin, germinal epitel hücreleri korumak ve tübüllerin rejenerasyon hızını arttırmak suretiyle radyasyona bağlı erkek infertilite süresinin kısaltılmasına, dolayısı ile tedaviden sonra hastaların yaşam kalitesinin yükseltilmesine katkıda bulunacağı kanısındayız.

Anahtar Kelimeler: İyonize-radyasyon, L-karnitin, testis, sıçan.

SUMMARY

PROTECTIVE EFFECTS OF L-CARNITINE AGAINST IONIZING RADIATION-INDUCED TESTIS SEMINIFEROUS TUBULES DAMAGE: A LIGHT AND ELECTRON MICROSCOPIC STUDY

Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŞIR

Testes are quite sensitive to radiation damage. Because the role of oxidative stress was known to be implicated in the pathogenesis of male infertility related to radiation, the number of the studies conducted on the effects of antioxidants in the inhibition of the infertility is increasing.

The aim of this study was to show the potential protective effect of L-carnitine against gamma radiation-induced testis seminiferous tubules damage in rats at the light and electron microscopic levels. The animals were divided into 3 groups: the first group was the control and the other two were the experimental groups. 10 Gy gamma ray in a single fraction was applied into the scrotal areas of the subjects except the control group in order to form radiation damage. The rats in the third group were given L-carnitine (a dose of 200 mg/kg body weight) intraperitoneally three times a week during a three-week period, beginning the day before radiation therapy. The rats in the second group received 0,2 ml serum physiologic in the same way.

Testis biopsy samples were taken from the control group at the end of the experiment. Samples from the second and third groups were taken on the 1st, 21st, 44th, and 70th days following radiation. All samples were processed and observed at the light and electron

microscopic levels.

After applying radiation it was observed that germinal cells were separated from each other on the first day. The damage became more important at the 21st day and reached maximum level by the 44th day. Spermatogenesis had arrested in seminiferous tubules and the majority of the tubules were found to be atrophic, absent of germ cells. It was striking to observe giant cells formed by spermatids and vacuolizations formations in the atrophic tubules on the 21st day. Vacuolizations had increased in seminiferous tubules on the 44th day, in contrast the number of the giant cells had diminished. On the 70th day the regeneration had occurred in certain tubules. The undulation of basal lamina, the increase in nucleus invaginations, the swelling in mitochondria, the dilatation in the smooth endoplasmic reticulum cisternae and the increase in the number and size of lipid inclusions in the Sertoli cells were determined at the electron microscopic level. The most distinctive changes observed in germ cells were the formation of chromatin mass in the nucleus periphery, the shrinkage in spermatogonium, the clustered mitochondria in primary spermatocytes, the formation of abnormal acrosomal structure and irregular spermatids.

It was identified that L-carnitine had been effective in the prevention of damages caused by radiation and had increased the regeneration rate of seminiferous tubules. Consequently, we reckon that since L-carnitine supplementation during the radiotherapy protects the germinal epithelial cells and increases the regeneration ratio of tubules, it would shorten the period of radiation-induced male infertility and thereby improve the quality of patient's life after the therapy.

Key Words: Ionizing-radiation, L-carnitine, testis, rat.

KAYNAKLAR

- 1- Türkkani A. Gamma ışınlamasının testis seminifer tübülüsleri üzerindeki etkisinin ışık mikroskobu düzeyinde incelenmesi (tez). Ankara: Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2001.
- 2- Özalpan A. Temel Radyobioloji. 1. Basım. İstanbul: Haliç Üniversitesi Yayınları, 2001: 1-218.
- 3- Steel GG. The Significance of Radiobiology for Radiotherapy. In; Steel GG (Ed.). Basic Clinical Radiobiology. New York: Co-published in the USA by Oxford University Pres; 1997: p.1-7.
- 4- Robbins MEC, Zhao W. Chronic oxidative stress and radiation late normal tissue injury: a review. Int J Radiat Biol 2004; 80(4): 251-9.
- 5- Monobe M, Hino M, Sumi M, Uzawa A, Hirayama R, Ando K et al. Protective effect of melatonin on γ -ray induced intestinal damage. Int J Radiat Biol 2005; 81(11): 855-60.
- 6- Schally AV, Paz-Bouza JI, Schlosser JV, Karashima T, Debeljuk L, Gandle B et al. Protective effects of analogs of luteinizing hormone-releasing hormone against x-irradiation-induced testicular damage in rats. Proc Natl Acad Sci 1987; 84: 851-55.
- 7- Shetty G, Meistrich ML. Hormonal approaches to preservation and restoration of male fertility after cancer treatment. J Natl Cancer Inst Monogr 2005; 34: 36-9.
- 8- Jagetia GC, Jyothi P, Krishnamurthy H. Effect of vindesine sulfate on the radiation-induced alterations in mouse spermatogenesis: a flow cytometric evaluation. Mutat Res 1998; 398: 163-74.
- 9- Simon B, Lee SJ, Partridge AH, Runowicz CD. Preserving fertility after cancer. CA Cancer J Clin 2005; 55: 211-28.

- 10- Koksall IT, Usta M, Orhan I, Abbasoglu S, Kadioglu A. Potential role of reactive oxygen species on testicular pathology associated with infertility. *Asian J Androl* 2003; 5: 95-9.
- 11- Agarwal A, Prabakaran SA. Mechanism, measurement, and prevention of oxidative stress in male reproductive physiology. *Indian J Exp Biol* 2005; 43: 963-74.
- 12- Agarwal A. Role of antioxidants in treatment of male infertility: an overview of the literature. *Reprod Biomed Online* 2004; 8(6): 616-27.
- 13- Murley JS, Kataoka Y, Weydert CJ, Oberley LW, Grdina DJ. Delayed radioprotection by nuclear transcription factor KB-mediated induction of manganese superoxide dismutase in human microvascular endothelial cells after exposure to the free radical scavenger WR1065. *Free Radic Biol Med* 2006; 40: 1004-16.
- 14- Vicari E, Calogero AE. Effects of treatment with carnitines in infertile patients with prostatitis-epididymitis. *Hum Reprod* 2001; 16: 2338-42.
- 15- Karakoyun Çelik Ö, Aras A, Tuğan D, Hekimgil M, Yalman D, Esassolak M et al. Sıçan sperm hücrelerinde radyasyona bağlı apoptoz ve amifostin ile ilişkisi. *T Klin Tıp Bilimleri* 2004; 24: 142-6.
- 16- Dokmeci D, Akpolat M, Aydogdu N, Uzal C, Doganay L, Turan FN. The protective effect of L-carnitine on ionizing radiation-induced free oxygen radicals. *Scand J Lab Anim Sci* 2006; 33: 1-9.
- 17- Mansour HH. Protective role of carnitine ester against radiation-induced oxidative stress in rats. *Pharmacol Res* 2006; 54: 165-71.
- 18- Balercia G, Regoli F, Armeni T, Koverech A, Mantero F, Boscaro M. Placebo-controlled double-blind randomized trial on the use of L-carnitine, L-acetylcarnitine, or combined L-carnitine and L-acetylcarnitine in men with idiopathic asthenozoospermia. *Fertil Steril* 2005; 84: 662-71.
- 19- Caviglia D, Scarabelli L, Palmero S. Effects of carnitines on rat Sertoli cell protein metabolism. *Horm Metab Res* 2004; 36: 221-5. (120)
- 20- Dokmeci D. Oxidative stress, male infertility and the role of carnitines. *Folia Med (Plovdiv)* 2005; 1: 26-30.
- 21- Kocer I, Taysi S, Ertekin MV, Karslioglu I, Gepdiremen A, Sezen O et al. The effect of L-carnitine in the prevention of ionizing radiation-induced cataracts: a rat model. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2007; 245: 588-94.
- 22- Amendola R, Bartoleschi C, Cordelli E, Mauro F, Uccelli R, Spanò M. Effects of L-acetylcarnitine (LAC) on the post-injury recovery of mouse spermatogenesis monitored by flow cytometry. 1. Recovery after X-irradiation. *Andrologia* 1989; 21: 568-75.

- 23- Algüneş Ç. Radyasyon Biyofiziği.1. Basım. Edirne: Trakya Üniversitesi Yayınları No: 51, 2002: 59-62.
- 24- Sikka SC. Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. *Curr Med Chem* 2001; 8: 851-62.
- 25- Shetty G, Weng CC, Bolden-Tiller OU, Huhtaniemi I, Handelsman DJ, Meistrich ML. Effects of medroxyprogesterone and estradiol on the recovery of spermatogenesis in irradiated rats. *Endocrinology* 2004;145: 4461-9.
- 26- Meistrich ML, Wilson G, Huhtaniemi I. Hormonal treatment after cytotoxic therapy stimulates recovery of spermatogenesis. *Cancer Res* 1999; 59: 3557-60.
- 27- Bush DB. Radiation and chemotherapy injury: Pathophysiology, diagnosis and treatment. *Crit Rev Oncol Hematol* 1993; 15: 49-89.
- 28- Ash P. The influence of radiation on fertility in man. *Br J Radiol* 1980; 53: 271-8.
- 29- Rubin P. Radiation and drug toxicity. In: Principles and practice radiation oncology. 3th ed. pp: 155-205, 1997.
- 30- Guitton N, Brouazin-Jousseau V, Dupaix A, Jégou B, Chenal C. Radiation effect on rat Sertoli cell function in vitro and in vivo. *Int J Radiat Biol* 1999; 75: 327-33.
- 31- Jégou B, Pineau C, Velez de la Calle JF, Touzalin AM, Bardin CW, Cheng CY. Germ cell control of testin production is inverse to that of other Sertoli cell products. *Endocrinology* 1993; 132: 2557-62.
- 32- Peltola V, Parvinen M, Huhtaniemi I, Kulmala J, Ahotupa M. Comparison of effects of 0.5 and 3.0 Gy X-irradiation on lipid peroxidation and antioxidant enzyme function in rat testis and liver. *J Androl* 1993; 14: 267-74.
- 33- Shetty G, Wilson G, Hardy MP, Niu E, Huhtaniemi I, Meistrich ML. Inhibition of recovery of spermatogenesis in irradiated rats by different androgens. *Endocrinology* 2006; 143: 3385-96.
- 34- Hussein MR, Abu-Dief EE, Abou El-Ghait A, Adly MA, Abdelraheem MH. Morphological evaluation of the radioprotective effects of melatonin against x-ray-induced early and acute testis damage in Albino rats: animal model. *Int J Exp Path* 2006; 87: 237-50.
- 35- Sawada H, Esaki M. Electron microscopic observation of ¹³⁷Cs-irradiated rat testis: production of basal laminae for germ cells, despite their absence. *J electron Microsc* 2003; 52: 391-7.
- 36- Bansal MR, Kaul A, Tewari M, Nehru B. Spermatogenesis and epididymal sperm after scrotal gamma irradiation in adult rats. *Reprod Toxicol* 1990; 4: 321-4.

- 37- Kangasniemi M, Huhtaniemi I, Meistrich ML. Failure of spermatogenesis to recover despite the presence of A spermatogonia in the irradiated LBNF₁ rat. *Biol Reprod* 1996; 54: 1200-8.
- 38- Shetty G, Wilson G, Huhtaniemi I, Shuttlesworth GA, Reissmann T, Meistrich ML. Gonadotropin-releasing hormone analogs stimulate and testosterone inhibits the recovery of spermatogenesis in irradiated rats. *Endocrinology* 2000; 141(5): 1735-45.
- 39- Hahn EW, Feingold SM, Simpson L, Batata M. Recovery from aspermi induced by low-dose radiation in seminoma patients. *Cancer* 1982; 50: 337-40.
- 40- Johnson L, Petty CS, Neaves WB. A comparative study of daily sperm production and testicular composition in humans and rats. *Biol Reprod* 1980; 22(5): 1233-43.
- 41- Kumar M, Sharma MK, Saxena PS, Kumar A. Radioprotective effect of Panax ginseng on the phosphatases and lipid peroxidation level in testes of Swiss albino mice. *Biol Pharm Bull* 2003; 26: 308-12.
- 42- Sharma RK, Agarwal A. Role of reactive oxygen species in male infertility. *Urology* 1996; 48: 835-50.
- 43- Agarwal A, Saleh RA, Bedaiwy MA. Role of reactive oxygen species in the pathophysiology of human reproduction. *Fertil Steril* 2003; 79: 829-43.
- 44- Aitken RJ, Baker MA. Oxidative stress, sperm survival and fertility control. *Mol Cell Endocrinol* 2006; 250: 66-9.
- 45- Novotný J, Oborná I, Brezinová J, Svobodová M, Hrbác J, Fingerová H. The occurrence of reactive oxygen species in the semen of males from infertile couples. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2003; 147(2): 173-6.
- 46- Lewis SE, Sterling ES, Young IS, Thompson W. Comparison of individual antioxidants of sperm and seminal plasma in fertile and infertile men. *Fertil Steril* 1997; 67: 142-7.
- 47- Pasqualotto FF, Sharma RK, Nelson DR, Thomas AJ, Agarwal A. Relationship between oxidative stress, semen characteristics, and clinical diagnosis in men undergoing infertility investigation. *Fertil Steril* 2000; 73: 459-64.
- 48- Wang X, Sharma RK, Sikka SC, Thomas AJ Jr, Falcone T, Agarwal A. Oxidative stress is associated with increased apoptosis leading to spermatozoa DNA damage in patients with male factor infertility. *Fertil Steril* 2003; 80: 531-5.
- 49- Moustafa MH, Sharma RK, Thornton J, Mascha E, Abdel-Hafez MA, Thomas AJ Jr et al. Relationship between ROS production, apoptosis and DNA denaturation in spermatozoa from patients examined for infertility. *Hum Reprod* 2004; 19: 129-38.

- 50- Agarwal A, Said TM. Role of sperm chromatin abnormalities and DNA damage in male infertility. *Hum Reprod Update* 2003; 9: 331-45.
- 51- Barroso G, Morshedi M, Oehninger S. Analysis of DNA fragmentation, plasma membrane translocation of phosphatidylserine and oxidative stress in human spermatozoa. *Hum Reprod.* 2000; 15: 1338-44.
- 52- Rebouche CJ, Seim H. Carnitine metabolism and its regulation in microorganism and mammals. *Annu Rev Nutr* 1998; 18: 39-61.
- 53- Jeulin C, Lewin LM. Role of free L-carnitine and acetyl-L-carnitine in post-gonadal maturation of mammalian spermatazoa. *HumReprod Update* 1996; 2: 87-102.
- 54- Lenzi A, Lombardo F, Sgrò P, Salacone P, Caponecchia L, Dondero F et al. Use of carnitine therapy in selected cases of male factor infertility: a double-blind crossover trial. *Fertil Steril* 2003; 79: 292-300.
- 55- Coşkun Ö. Yoğun muskuler egzersizde L-karnitinin sıçan karaciğeri, iskelet kası ve testis dokularına etkileri (tez). Kayseri: Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi; 1998.
- 56- Cox RA, Hoppel CL. Carnitine and trimethylaminobutyrate synthesis in rat tissues. *Biochem J* 1974; 142: 699-701.
- 57- Vanella A, Russo A, Acquaviva R, Campisi A, Di Giacomo C, Sorrenti V et al. L-propionyl-carnitine as superoxide scavenger, antioxidant, and DNA cleavage protector. *Cell Biol Toxicol* 2000; 16: 99-104.
- 58- Kobayashi D, Goto A, Maeda T, Nezu JI, Tsuji A. OCTN2-mediated transport of carnitine in isolated Sertoli cells. *Reproduction* 2005; 129: 729-36.
- 59- Gülçin İ. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sci* 2006; 78: 803-11.
- 60- Cavallini G, Ferraretti AP, Gianaroli L, Biagiotti G, Vitali G. Cinnoxicam and L-carnitine/acetyl-L-carnitine treatment for idiopathic and varicocele-associated oligoasthenospermia. *J Androl* 2004; 25: 761-70.
- 61- Stradaioli G, Sylla L, Zelli R, Verini Supplizi A, Chiodi P, Arduini A et al. Seminal carnitine and acetylcarnitine content and carnitine acetyltransferase activity in young Maremmano stallions. *Anim Reprod Sci* 2000; 64: 233-45.
- 62- Önal A, Astarçioğlu H, Örmən M, Atila K, Sarioğlu S. Sıçandaki renal iskemi-reperfüzyon hasarında L-karnitinin koruyucu etkisi. *Ulus Travma Derg* 2004; 10: 160-7.
- 63- Xuan W, Lamhonwah AM, Librach C, Jarvi K, Tein I. Characterization of organic cation/carnitine transporter family in human sperm. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 306: 121-8.

- 64- Kabaroglu C, Akisu M, Habif S, Mutaf I, Turgan N, Parildar Z et al. Effects of L-arginine and L-carnitine in hypoxia/reoxygenation-induced intestinal injury. *Pediatr Int* 2005; 47: 10-4.
- 65- Ergun O, Ulman C, Kiliçalp AS, Ulman I. Carnitine as a preventive agent in experimental renal ischemia-reperfusion injury. *Urol Res* 2001; 29: 186-9.
- 66- Demirdag K, Bahcecioglu IH, Ozercan IH, Ozden M, Yılmaz S, Kalkan A. Role of L-carnitine in the prevention of acute liver damage induced by carbon tetrachloride in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 333-8.
- 67- Goksel S, Paskaloglu K, Satiroglu H, Alican I, Kacmaz A, Sakarcan A. L-carnitine ameliorates oxidative damage due to chronic renal failure in rats. *J Cardiovasc Pharmacol* 2004; 43: 698-705.
- 68- Cetinkaya A, Bulbuloglu E, Kantarceken B, Ciralik H, Kurutas EB, Buyukbese MA et al. Effects of L-carnitine on oxidant/antioxidant status in acetic acid-induced colitis. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 488-94.
- 69- Pisano C, Pratesi G, Laccabue D, Zunino F, Lo Giudice P, Bellucci A et al. Paclitaxel and cisplatin-induced neurotoxicity: A protective role of acetyl-L-carnitine. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 5756-67.
- 70- Sayed-Ahmed MM, Salman TM, Gaballah HE, Abou El-Naga SA, Nicolai R, Calvani M et al. Propionyl-L-carnitine as protector against adriamycin-induced cardiomyopathy. *Pharmacol Res* 2001; 43: 513-20.
- 71- Luo X, Reichetzer B, Trines J, Bensen LN, Lehotay DC. L-carnitine attenuates doxorubicin-induced lipid peroxidation in rats. *Free Radic Biol Med* 1999; 26: 1158-65.
- 72- Dokmeci D, Akpolat M, Aydogdu N, Doğanay L, Turan FN. L-carnitine inhibits ethanol-induced gastric mucosal injury in rats. *Pharmacol Res* 2005; 57: 481-88.
- 73- Sundaram K, Panneerselvam KS. Oxidative stress and DNA single strand breaks in skeletal muscle of aged rats: role of carnitine and lipoic acid. *Biogerontology* 2006; 7: 111-8.
- 74- Garolla A, Maiorino M, Roverato A, Roveri A, Ursini F, Foresta C. Oral carnitine supplementation increases sperm motility in asthenozoospermic men with normal sperm phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase levels. *Fertil Steril* 2005; 83: 355-61.
- 75- Kumaran S, Subathra M, Balu M, Panneerselvam C. Age-associated decreased activities of mitochondrial electron transport chain complexes in heart and skeletal muscle: role of carnitine. *Chem Biol Interact* 2004; 148: 11-8.
- 76- Schlatt S, Foppiani L, Rolf C, Weinbauer GF, Nieschlag E. Germ cell transplantation into X-irradiated monkey testes. *Hum Reprod* 2002; 17: 55-62.

- 77- Ishii T, Shimpo Y, Matsuoka Y, Kinoshita K. Anti-apoptotic effect of acetyl-L-carnitine and L-carnitine in primary cultured neurons. *Jpn J Pharmacol* 2000; 83: 119-24.
- 78- Ramadan LA, Abd-Allah AR, Aly HA, Saad-el-Din AA. Testicular toxicity effects of magnetic field exposure and prophylactic role of coenzyme Q10 and L-carnitine in mice. *Pharmacol Res* 2002; 46: 363-70.
- 79- Bruns KA, Casillas ER. The metabolism of acetylcarnitine and acetate by bovine and hamster epididymal spermatozoa. *Biol Reprod* 1989; 41: 218-26.
- 80- Enomoto A, Wempe MF, Tsuchida H, Shin HJ, Cha SH, Anzai N et al. Molecular identification of a novel carnitine transporter specific to human testis. Insights into the mechanism of carnitine recognition. *J Biol Chem* 2002; 277: 36262-71.
- 81- Gürbüz B, Yalti S, Fiçicioğlu C, Zehir K. Relationship between semen quality and seminal plasma total carnitine in infertile men. *Obstet Gynaecol* 2003; 23: 653-6.
- 82- Zöpfigen A, Priem F, Sudhoff F, Jung K, Lenk S, Loenin SA et al. Relationship between semen quality and the seminal plasma components carnitine, alpha-glucosidase, fructose, citrate and granulocyte elastase in infertile men compared with a normal population. *Hum Reprod* 2000; 15: 840-5.
- 83- Stradaoli G, Sylla L, Zelli R, Chiodi P, Monaci M. Effect of L-carnitine administration on the seminal characteristics of oligoasthenospermic stallions. *Theriogenology* 2004; 62: 761-77.
- 84- de Rooij DG, van de Kant HJ, Dol R, Wagemaker G, van Buul PP, van Duijn-Goedhart A et al. Long term effects of irradiation before adulthood on reproductive function in the male Rhesus monkey. *Biol Reprod* 2002; 66: 486-94.
- 85- Ban Y, Komatsu T, Kemi M, Inagaki S, Nakatsuka T, Matsumoto H. Testicular spermatid and epididymal sperm head counts as an indicator for reproductive toxicity in rats. *Exp Anim* 1995; 44(4): 315-22.
- 86- Somosy Z. Radiation response of cell organelles. *Micron* 2000; 31: 165-81.
- 87- Lui WY, Mruk D, Lee WM, Cheng CY. Sertoli cell tight junction dynamics: their regulation during spermatogenesis. *Biol Reprod* 2003; 68: 1087-97.
- 88- Jedlinska-Krakowska M, Bomba G, Jakubowski K, Rotkiewicz T, Jana B, Penkowski A. Impact of oxidative stress and supplementation with vitamins e and c on testes morphology in rats. *J Reprod Dev* 2006; 52: 203-9.
- 89- Huckins C. Behavior of stem cell spermatogonia in the adult rat irradiated testis. *Biol Reprod* 1978; 19: 747-60.

- 90- Pinon-Lataillade G, Viguier-Martinez MC, Touzalin AM, Maas J, Jegou B. Effect of an acute exposure of rat testes to gamma rays on germ cells and on Sertoli and Leydig cell functions. *Reprod Nutr Dev* 1991; 31: 617-29.
- 91- Richburg JH, Johnson KJ, Schoenfeld HA, Meistrich ML, Dix DJ. Defining the cellular and molecular mechanisms of toxicant action in the testis. *Toxicol Lett* 2002; 135: 167-83.
- 92- Shuttlesworth GA, de Rooij DG, Huhtaniemi I, Reissmann T, Russell LD, Shetty G et al. Enhancement of A spermatogonial proliferation and differentiation in irradiated rats by gonadotropin-releasing hormone antagonist administration. *Endocrinology* 2006; 14: 37-49.
- 93- Cooke BA, De Jong FH, Van der Molen HJ, Rommerts FFG. Endogenous testosterone concentration in rat testis. Interstitial tissue and seminiferous tubules during in vitro incubation. *Nat New Biol* 1972; 237(77): 255-56.
- 94- Lacy D, Pettitt AJ. Sites of hormone production in the mammalian testis and their significance in the control of male sterility. *Br Med Bull* 1970; 26(1): 87-91.
- 95- Elftman H. Sertoli cells and testis structure. *Am J Anat* 1963; 113: 25-33.
- 96- Jansen RP. Electron microscopic observations on the Sertoli in the experimentally cryptorchid rat testis. *J Anat* 1970; 106 (Pt1): 192.
- 97- Gubari S. Karbosulfanla kontamine besin alımının sıçan testis üzerine kronik etkilerinin ince yapı düzeyinde araştırılması (tez). Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2008.
- 98- Dewey WC, Ling CC, Meyn RE. Radiation-induced apoptosis relevance to radiotherapy. *Int J Radiation Oncology Biol Phys* 1995; 33(4): 781-96.
- 99- Ojala M, Suomalainen L, Pentikäinen MO, Kovanen P, Tenhunen M, Erkkilä K et al. Protection from radiation-induced male germ cell loss by sphingosine-1-phosphate. *Biol Reprod* 2004; 70: 759-67.
- 100- Majno G, Joris I. Apoptosis, oncosis and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 1995; 146: 3-15.
- 101- Savitha S, Panneerselvam C. Mitigation of age-dependent oxidative damage to DNA in rat heart by carnitine and lipoic acid. *Mech Ageing Dev* 2007; 128: 206-12.
- 102- Siu MKY, Cheng CY. Extracellular matrix: Recent advances on its role in junction dynamics in the seminiferous epithelium during spermatogenesis. *Biol Reprod* 2004; 71: 375-91.
- 103- Delic JI, Schlappack OK, Harwood JR, Stanley JA. Comparative effects of x irradiation on the testes of adult Sprague-Dawley and Wistar rats. *Radiat Res* 1987; 112: 99-104.
- 104- Kangasniemi M, Dodge K, Pemberton AE, Huhtaniemi I, Meistrich ML. Suppression of Mouse spermatogenesis by a gonadotropin-releasing hormone antagonist and antiandrogen:

failure to protect against radiation-induced gonadal damage. *Endocrinology* 1996; 137(3): 949-55.

105- Amendola R, Cordelli E, Mauro F, Spanò M. Effects of L-acetylcarnitine (LAC) on the post-injury recovery of mouse spermatogenesis monitored by flow cytometry. 2. Recovery after hyperthermic treatment. *Andrologia* 1991; 23: 135-40.

106- Haines GA, Hendry JH, Daniel CP, Morris ID. Germ cell and dose-dependent DNA damage measured by the comet assay in murine spermatazoa after testicular x-irradiation. *Biol Reprod* 2002; 67: 854-61.

RESİMLEMELER LİSTESİ

Sayfa No

Resim 1. Supin pozisyonda simülasyon grafisi.....	20
Resim 2. Gebe bir sıçana ait uterus ve fetus görüntüsü.....	22
Resim 3. Kontrol grubu, H+E, X40.....	30
Resim 4. Kontrol grubu, H+E, X200.....	30
Resim 5. Kontrol grubu, H+E, X400.....	31
Resim 6. Kontrol grubu, PAS+HL, X400.....	31
Resim 7. Kontrol grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X5000.....	32
Resim 8. Kontrol grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X8000.....	32
Resim 9. Kontrol grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, A X15000, B X20000.....	33
Resim 10. Kontrol grubu, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X5000.....	33
Resim 11. Radyasyon grubu 1. gün, H+E, X40.....	38
Resim 12. Radyasyon grubu 1. gün, H+E, X200.....	38
Resim 13. Radyasyon grubu 1. gün, H+E, X400.....	39
Resim 14. Radyasyon grubu 1. gün, H+E, X200.....	39
Resim 15. Radyasyon grubu 1. gün, H+E, X400.....	40
Resim 16. Radyasyon grubu 1. gün, PAS+HL, X400.....	40
Resim 17. Radyasyon grubu 1. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.....	41
Resim 18. Radyasyon grubu 1. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X4000.....	41
Resim 19. Radyasyon grubu 1. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.....	42
Resim 20. Radyasyon grubu 1. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.....	42
Resim 21. Radyasyon grubu 21. gün, H+E, X40.....	43

Resim 22. Radyasyon grubu 21. gün, H+E, X100	43
Resim 23. Radyasyon grubu 21. gün, H+E, X200	44
Resim 24. Radyasyon grubu 21. gün, H+E, X200	44
Resim 25. Radyasyon grubu 21. gün, PAS+HL, X400	45
Resim 26. Radyasyon grubu 21. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X5000	46
Resim 27. Radyasyon grubu 21. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3000	46
Resim 28. Radyasyon grubu 21. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500	47
Resim 29. Radyasyon grubu 21. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000	47
Resim 30. Radyasyon grubu 44. gün, H+E, X40	48
Resim 31. Radyasyon grubu 44. gün, H+E, X100	48
Resim 32. Radyasyon grubu 44. gün, H+E, X200	49
Resim 33. Radyasyon grubu 44. gün, H+E, X400	49
Resim 34. Radyasyon grubu 44. gün, PAS+HL, X400	50
Resim 35. Radyasyon grubu 44. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000	51
Resim 36. Radyasyon grubu 44. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X1500	51
Resim 37. Radyasyon grubu 44. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000	52
Resim 38. Radyasyon grubu 44. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, A X2500, B X8000	52
Resim 39. Radyasyon grubu 70. gün, H+E, X40	53
Resim 40. Radyasyon grubu 70. gün, H+E, X100	53
Resim 41. Radyasyon grubu 70. gün, H+E, X400	54
Resim 42. Radyasyon grubu 70. gün, PAS+HL, X400	54
Resim 43. Radyasyon grubu 70. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3000	55
Resim 44. Radyasyon grubu 70. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X4000	55
Resim 45. Radyasyon + L-karnitin grubu 1. gün, H+E, X40	59
Resim 46. Radyasyon + L-karnitin grubu 1. gün, H+E, X100	59
Resim 47. Radyasyon + L-karnitin grubu 1. gün, H+E, X400	60
Resim 48. Radyasyon + L-karnitin grubu 1. gün, PAS+HL, X400	60
Resim 49. Radyasyon + L-karnitin grubu 1. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3000	61
Resim 50. Radyasyon + L-karnitin grubu 1. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000	61
Resim 51. Radyasyon + L-karnitin grubu 1. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X4000	62
Resim 52. Radyasyon + L-karnitin grubu 21. gün, H+E, X40	63
Resim 53. Radyasyon + L-karnitin grubu 21. gün, H+E, X100	63
Resim 54. Radyasyon + L-karnitin grubu 21. gün, H+E, X400	64
Resim 55. Radyasyon + L-karnitin grubu 21. gün, PAS+HL, X400	64
Resim 56. Radyasyon + L-karnitin grubu 21. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X6000	65

Resim 57. Radyasyon + L-karnitin grubu 21. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3500.....	65
Resim 58. Radyasyon + L-karnitin grubu 44. gün, H+E, X40.....	66
Resim 59. Radyasyon + L-karnitin grubu 44. gün, H+E, X100.....	66
Resim 60. Radyasyon + L-karnitin grubu 44. gün, H+E, X400.....	67
Resim 61. Radyasyon + L-karnitin grubu 44. gün, PAS+HL, X400.....	67
Resim 62. Radyasyon + L-karnitin grubu 44. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X3500.....	68
Resim 63. Radyasyon + L-karnitin grubu 44. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.....	68
Resim 64. Radyasyon + L-karnitin grubu 70. gün, H+E, X40.....	69
Resim 65. Radyasyon + L-karnitin grubu 70. gün, H+E, X100.....	69
Resim 66. Radyasyon + L-karnitin grubu 70. gün, H+E, X400.....	70
Resim 67. Radyasyon + L-karnitin grubu 70. gün, PAS+HL, X400.....	70
Resim 68. Radyasyon + L-karnitin grubu 70. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X4000.....	71
Resim 69. Radyasyon + L-karnitin grubu 70. gün, Uranil asetat-Kurşun sitrat, X2500.....	71

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İstanbul'da doğdum. Orta öğrenimimi Kandilli Kız Lisesi'nde tamamladıktan sonra, 1996 yılında Trakya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitimime başladım. 2000 yılında biyolog ünvanı alarak mezun oldum ve aynı yıl Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Morfoloji Anabilim Dalı, Histoloji ve Embriyoloji Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime başladım. 2001 yılında dekanlık araştırma görevlisi kadrosuna atandım. 2003 yılında "Cisplatinin oluşturduğu böbrek korteks hasarlarında e ve c vitamini etkilerinin ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde incelenmesi" başlıklı tez çalışmam ile bilim uzmanı ünvanı aldım. 2003 yılında Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda doktora eğitimime başladım ve halen araştırma görevlisi olarak çalışmalarımı sürdürmekteyim.



T.C.
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURUL KARARLARI

Oturum Sayısı: 20

Karar Tarihi: 30.11.2006

1-Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu 30.11.2006 tarihinde; “İyonize Radyasyonun Neden Olduğu Testis Seminifer Tübül Hasarına Karşı L-Karnitin’in Koruyucu Etkisinin Işık ve Elektron Mikroskopik Düzeyde İncelenmesi” adlı TÜTFEK-2006/179 protokol no.lu Dr. Yeter TOPÇU TARLADAÇALIŞIR’ın tez çalışmasını incelemek üzere toplandı. Yrd. Doç. Dr. Ümit Nusret BAŞARAN izinli olması nedeniyle katılamadı ve çalışmanın incelenmesine geçildi.

Yapılan inceleme sonunda çalışmanın Fakültemiz Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında yapılacağı, Doç. Dr. Mehmet KANTER’in yürütücüsü olduğu araştırma protokolünün amaç, yaklaşım, gereç ve yöntemler dikkate alınarak incelenmesi sonucunda; Hayvan Hakları Evrensel Bildirgesi ve etik kurallara uygun olarak hazırlandığına ve yapılabileceğine mevcudun oybirliği ile karar verildi.

Ünvanı/Adı/Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Dikmen DÖKMECİ Başkan	Farmakoloji	T.Ü.T.F. Farmakoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ümit N. BAŞARAN Başkan Yardımcısı	Çocuk Cerrahisi	T.Ü.T.F. Çocuk Cerrahisi A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Betül Biner ORHANER Üye	Çocuk Sağ. ve Hst.	T.Ü.T.F. Çocuk Sağlığı ve Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Dilek MEMİŞ Üye	Anesteziyoloji	T.Ü.T.F. Anesteziyoloji A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Betül Uğur ALTUN Üye	Endokrinoloji	T.Ü.T.F. İç Hst. A.D.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Hakan ERBAŞ Üye	Biyokimya	T.Ü.T.F. Biyokimya A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yrd. Doç. Dr. Ufuk USTA Üye	Patoloji	T.Ü.T.F. Patoloji A.D.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Ecz. Emine SAKMAN Üye	Eczacı	T.Ü.T.F. Başhekimliği	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

* Araştırma ile İlişki

** Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Filiz AKATA
Dekan

Posta Adresi:
Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı
Güllapoğlu Yerleşkesi
22030 EDİRNE

Tel : (0284) 235 76 41 (9 Hat) Fax: (0284) 235 76 52