

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

SİKLOFOSFAMİDE BAĞLI SIÇAN TESTİS HASARINDA E
VİTAMİNİNİN ROLÜNÜN HİSTOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İNÇİ YETİM

YRD.DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU

ARALIK 2011

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

SİKLOFOSFAMİDE BAĞLI SIÇAN TESTİS HASARINDA E
VİTAMİNİNİN ROLÜNÜN HİSTOLOJİK OLARAK
İNCELENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İNÇİ YETİM

DANIŐMAN : YRD.DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU

ARALIK 2011

KABUL VE ONAY SAYFASI

İnci YETİM'in Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Siklofosfamide bağlı sıçan testis hasarında E vitamininin rolünün histolojik olarak incelenmesi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih

09.12.2011

Üye : Prof.Dr.Cengiz BAYÇU

Üye : Prof.Dr.Varol ŞAHİNTÜRK

Üye : Prof.Dr.Fatma Sultan KILIÇ

Üye : Doç.Dr.Gül GÜVEN

Üye : Yrd.Doç.Dr.Dilek BURUKOĞLU

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 16.12.2011 tarih ve 897/1.4167 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof.Dr.Kazım ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

ÖZET

Siklofosfamide bağlı sıçan testis hasarında E vitamininin rolünün histolojik olarak incelenmesi.

Kemoterapötik bir madde olan siklofosfamid (CP), testis dokusu ve hücreleri üzerinde toksik etki göstermektedir. Hücre ve dokular, meydana gelen bu toksik etkilerden E vitamini (E vit) gibi antioksidan sistemlerle korunabilirler. Bu çalışmamızda CP'nin sıçan testisleri üzerindeki toksik etkisi üzerine E vit'nin rolünü araştırmayı amaçladık. Çalışmamızda, 32 adet Spraque-Dawley türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar her grupta 8 erişkin erkek sıçan olacak şekilde kontrol, 20 mg/kg siklofosfamid, 20 mg/kg siklofosfamid + 200 mg/kg E vitamini ve 200 mg/kg E vitamini verilen grup olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deney sonunda vücut ve testis ağırlıkları ölçüldü ve karşılaştırmalar yapıldı. Sol testisler doku takip işlemi için Bouin çözeltisi içerisine alındı ve rutin histolojik işlemlerden sonra bloklandı. Elde edilen parafin bloklardan 3 µm kalınlığında seri kesitler alındı ve kesitler Hematoksilen, Periyodik Asit-Schiff + Hematoksilen ve Toluidin mavisi ile boyanarak mikroskopik incelemeleri yapıldı. Vücut ve testis ağırlıkları açısından gruplar arasında önemli fark gözlemlendi. Mikroskopik incelemeler CP'nin testislerde hasara yol açtığını ve bu hasarın CP+E vit verilen gruplarda azaldığını gösterdi. Elde edilen bulgulara göre, CP'ye bağlı olarak testis dokusunda meydana gelen hasarın E vit verilmesiyle önlenebileceği sonucuna varıldı.

Anahtar Sözcükler : Siklofosfamid, E vitamini, Sıçan, Testis.

SUMMARY

Histological examination of the role of the vitamin E in cyclophosphamide-induced testicular injury.

Cyclophosphamide (CP) is a chemotherapeutic agent but has also toxic effect on testes. Testicular tissue and cells can be protected from toxic effects by antioxidant systems, including vitamin E (vit E). Total 32 Sprague-Dawley rats were used in the present study. Rats were divided into 4 groups as control, 20 mg/kg cyclophosphamide, 20 mg/kg cyclophosphamide + 200 mg/kg vitamin E and 200 mg/kg vitamin E, with 8 adult male rats in each. At the end of the treatment period, body weight and testes weight were measured and comparisons were made. Left testes put into Bouin solution for tissue tracking process and were blocked after the routine histological procedures. Serial sections with a 3 μ m thickness were obtained from that paraffin blocks, and microscopical evaluations were made on sections stained with hematoxyline, periodic acid-sciff + hematoxyline and toluidine blue. There was significant difference in body weights and testes weights between the groups. Microscopical evaluation revealed that CP induced an injury in testes and that injury was less in the groups of animals treated with CP + vitamin E. Results of the present study indicate that the testicular injury induced by CP can be prevented by administration of vitamin E.

Key words : Cyclophosphamide, vitamin E, rat, testis.

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET	ii
SUMMARY.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
TABLO DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	vii
1.GİRİŞ VE AMAÇ	1
2.GENEL BİLGİLER.....	4
2.1.Testis Anatomisi.....	4
2.2 Testisin Embriyolojisi	6
2.3. Testisin Histolojisi	8
2.3.1.Seminifer tübüller.....	9
2.3.2.Sertoli hücreleri.....	10
2.3.3.Leydig hücreleri	13
2.3.4.Spermatogenez	15
2.3.5.Spermiyogenez.....	17
2.4.Testisin Histofizyolojisi	19
2.5. Siklofosfamid (Cyclophosphamide = CP).....	21
2.5.1.Genel özellikleri.....	21
2.5.2.Kullanım alanları	24
2.5.3.Yan Etkileri	24
2.6. E Vitamin (α -Tokoferol).....	27
2.6.1. Genel özellikleri.....	27
2.6.2.Emilimi	28
2.6.3. Antioksidan özelliği.....	29
2.6.4.Eksikliği.....	30
3.GEREÇ VE YÖNTEM.....	33
3.1.Deney Hayvanları	33
3.2.Kimyasallar	34
3.3.Vücut Ağırlıklarının Ölçümü	34
3.4.Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması	34
3.5.Dokuların Alınması.....	35
3.6.Testis Ağırlıklarının Ölçümü.....	35
3.7.Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması	35

3.8.Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) Boyasının Hazırlanışı	37
3.9.Toluidin Mavisi Boyasının Hazırlanışı.....	37
3.10.Kesitlerin Alınması ve Boyanması	37
3.11.Histolojik Değerlendirme	40
3.12.İstatistiksel Analiz	41
4.BULGULAR	42
4.1.İstatistiksel Bulgular	42
4.1.1.Vücut ağırlıkları	42
4.1.2.Toplam testis ağırlıkları	43
4.2.Histolojik İnceleme	44
5.TARTIŞMA.....	67
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	75
KAYNAKLAR DİZİNİ	77
ÖZGEÇMİŞ	89

TABLO DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1. Grupların deney sonu vücut ağırlıklarının karşılaştırılması.....43

Tablo 2. Grupların toplam testis ağırlıklarının karşılaştırılması.....44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1. Testisin anatomisi.....	4
Şekil 2. Siklofosfamidin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 3. Siklofosfamidin metabolizması.....	23
Şekil 4. E vitamininin kimyasal yapısı.....	27
Şekil 5. E vitamininin serbest olmayan radikalının yapısı.....	30
Şekil 6. Kontrol grubuna ait testis kesiti.....	46
Şekil 7. Kontrol grubuna ait testis kesiti.....	46
Şekil 8. Kontrol grubuna ait testis kesiti.....	47
Şekil 9. Kontrol grubuna ait testis kesiti.....	47
Şekil 10. Kontrol grubuna ait testis kesiti.....	48
Şekil 11. Kontrol grubuna ait testis kesiti.....	48
Şekil 12. Kontrol grubuna ait testis kesiti.....	49
Şekil 13. Kontrol grubuna ait testis kesiti.....	49
Şekil 14. Kontrol grubuna ait testis kesiti.....	50
Şekil 15. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	50
Şekil 16. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	51
Şekil 17. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	52
Şekil 18. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	53
Şekil 19. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	53
Şekil 20. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	54
Şekil 21. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	54
Şekil 22. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	55
Şekil 23. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	55
Şekil 24. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	56
Şekil 25. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	56
Şekil 26. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	57
Şekil 27. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	57
Şekil 28. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	58
Şekil 29. 20 mg/kg siklofosfamid verilen gruba ait testis kesiti.....	58
Şekil 30. 200 mg/kg E vitamini verilen gruba ait testis kesiti.....	59

Şekil 31. 200 mg/kg E vitamini verilen gruba ait testis kesiti.....	59
Şekil 32. 200 mg/kg E vitamini verilen gruba ait testis kesiti.....	60
Şekil 33. 200 mg/kg E vitamini verilen gruba ait testis kesiti.....	60
Şekil 34. 200 mg/kg E vitamini verilen gruba ait testis kesiti.....	60
Şekil 35. 200 mg/kg E vitamini verilen gruba ait testis kesiti.....	61
Şekil 36. 200 mg/kg E vitamini verilen gruba ait testis kesiti.....	61
Şekil 37. 20 mg/kg CP+200 mg/kg E vit verilen gruba ait testis kesiti.....	62
Şekil 38. 20 mg/kg CP+200 mg/kg E vit verilen gruba ait testis kesiti.....	62
Şekil 39. 20 mg/kg CP+200 mg/kg E vit verilen gruba ait testis kesiti.....	63
Şekil 40. 20 mg/kg CP+200 mg/kg E vit verilen gruba ait testis kesiti.....	63
Şekil 41. 20 mg/kg CP+200 mg/kg E vit verilen gruba ait testis kesiti.....	64
Şekil 42. 20 mg/kg CP+200 mg/kg E vit verilen gruba ait testis kesiti.....	64
Şekil 43. 20 mg/kg CP+200 mg/kg E vit verilen gruba ait testis kesiti.....	65
Şekil 44. 20 mg/kg CP+200 mg/kg E vit verilen gruba ait testis kesiti.....	65

SİMGELER VE KISALTMALAR

CP	Siklofosfamid
E vit	E vitamini
DNA	Deoksiribonükleik asit
TBF	Testis Belirleyici Faktör
SRY	Cinsiyet Belirleyici Gen
AMH	Antimüllerian Hormon
MIS	Müllerian İnhibitör Madde
hCG	İnsan Koryon Gonadotropin Hormonu
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
ABP	Androjen Bağlayıcı Protein
ACK-2	Anti-C-Kit Monoklonal Antikor
cAMP	Siklik Adenozin Monofosfat
LH	Luteinleştirici Hormon
11 β -HSD	11 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz
μ m	Mikrometre
cm	Santimetre
m	Metre
i.p	Periton İçi
PAS+H	Periyodik Asit Schiff + Hematoksilen Boyası
°C	Santigrat Derece
FAM	Fosforamid Mustard
RNA	Ribonükleik Asit
SLE	Sistemik lupus eritematozus
LDL	Düşük Dansiteli Lipoproteinler
α	Alfa
H-E	Hematoksilen-Eozin boyası

I.GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser veya tümör; normal hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalması, yaygın nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren ölümcül bir hastalıktır.

Bakteri ve protozoon infeksiyonlarında kemoterapinin başarılı sonuçlar vermesi, kötü huylu (malign) neoplazmaların da kimyasal etkenler tarafından iyileştirilebileceği olasılığını düşündürmüştür. Bu fikirden yola çıkarak antineoplastik ilaçlar üzerinde bir çok çalışma yapılmış, bu türde çok sayıda ilaç tedaviye sokulmuştur. Antineoplastik kemoterapi; tümör hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını durduran veya onları tamamen yok eden tedavi olmanın yanı sıra, normal hücre ile tümör hücresi arasında yapı bakımından fazla fark olmaması nedeniyle normal hücrelere de zarar verebilen bir tedavidir (76).

Antineoplastik ilaçların kemoterapide kullanılması sonucu, normal hücrelerin harabiyetine bağlı olarak, gastrointestinal sistem, hematopoietik sistem hücreleri ve testis üzerinde, oldukça önemli toksik etkilerin oluştuğu bilinmektedir (76).

Genç hastalarda kötü huylu (malign) hastalıkların tedavisinin artması ile yaşam beklentisi hayli artmıştır. Erişkin nüfusun yaklaşık 1/1000'ini çocukluk çağında kötü huylu (malign) hastalıklar nedeniyle tedavi alanları oluşturmaktadır. Gelişen tedavi yöntemleri hastaların yaşam kalitelerini de artırarak hastalıktan kurtulmalarını sağlamaktadır. Fakat kemoterapide kullanılan ilaçların yan etkileri de çok fazladır. Bu yan etkilere karşı yapılabilecek şeyler kısıtlı ve cevap oranı beklenenden azdır.

Siklofosamid (CP), kemoterapi tedavisinde sık kullanılan bir ilaçtır. DNA'da guanin içeren kısımları alkilleyerek etki eden bir kemoterapötik ajandır, en sık kullanılan anti-kanser ve immünosüpresan ilaçlardandır. Alkilleyici bir ajan olan CP'nin yüksek dozlarda kullanılması gereklidir. Ancak bu yaklaşım hematotoksisite, ürotoksisite ve hepatotoksisite gibi yan etkilerden dolayı kullanımı sınırlıdır. CP, akut lenfositik lösemi ve akut miyelositik lösemi, kronik lenfositik lösemi, kronik

miyelositik lösemi, over kanseri ve meme kanserini içeren birçok durumda kullanılan bir ilaçtır. Bunların dışında immünolojik böbrek hastalıkları, bazı granülatöz hastalıklar veya vaskülit tipleri ve klasik tedaviye dirençli romatoid artrit CP ile etkin biçimde tedavi edilmektedir (112).

CP'nin en büyük yan etkisi hayvanlarda ve insanlarda reproduktif toksisitedir. Erişkin erkek hastalarda CP ile tedavi sonucu testiküler dokuda spermatogenez siklusu durmakta ve sperm sayısı azalmaktadır (65).

CP, spermatogenik hücreler kemoterapötik ilaçların zararlı etkilerine oldukça duyarlıdır. Stem hücre topluluğunda onarılamayan hasara yol açarak kalıcı infertiliteye yol açabilir. En duyarlı hücreler aktif bölünen spermatogonyum ve preleptoten fazına kadarki spermatositlerdir (94).

Erkek reproduktif fonksiyonlarında alkilleyici ajanların toksisiteye neden olduğu bilinmektedir. Bu alkilleyici ajanlardan birisi olan CP, kemoterapi tedavisinde renal hastalıklar ve bazı kanser türlerinde, yalnız başına veya kombine şekil kullanıldığında erkeklerde ve çocuklarda infertiliteye sebep olduğu ve testiküler fonksiyonları azalttığı gösterilmiştir. CP'nin erkek rodentlerin üreme fonksiyonlarına olan etkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (29). Kanserli erkek hastalarda CP ile tedavinin azospermi ve oligospermiye neden olduğu gösterilmiştir (65).

Ayrıca CP'nin uzun dönem tedavide kullanımı, fertilitenin azalmasına ve reproduktif organların ağırlığının azalmasına yol açmaktadır (140).

E vitamini (E vit), 8 tokoferolden oluşan ve yağda eriyen bir vitamindir. Bu 8 tokoferol içinde doğada en çok bulunanı ve en aktif olanı alfa-tokoferoldür. E vit biyolojik sistemler için önemli bir antioksidandır ve dokularda özellikle membrandan zengin kısımlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu membran bölgelerinde lipit peroksidasyonu zincirini kırarak hücre hasarını önler ve ayrıca hücre içi iletişimin normal şekilde gerçekleştirilmesi bu vitaminin varlığı ile mümkün olur (104).

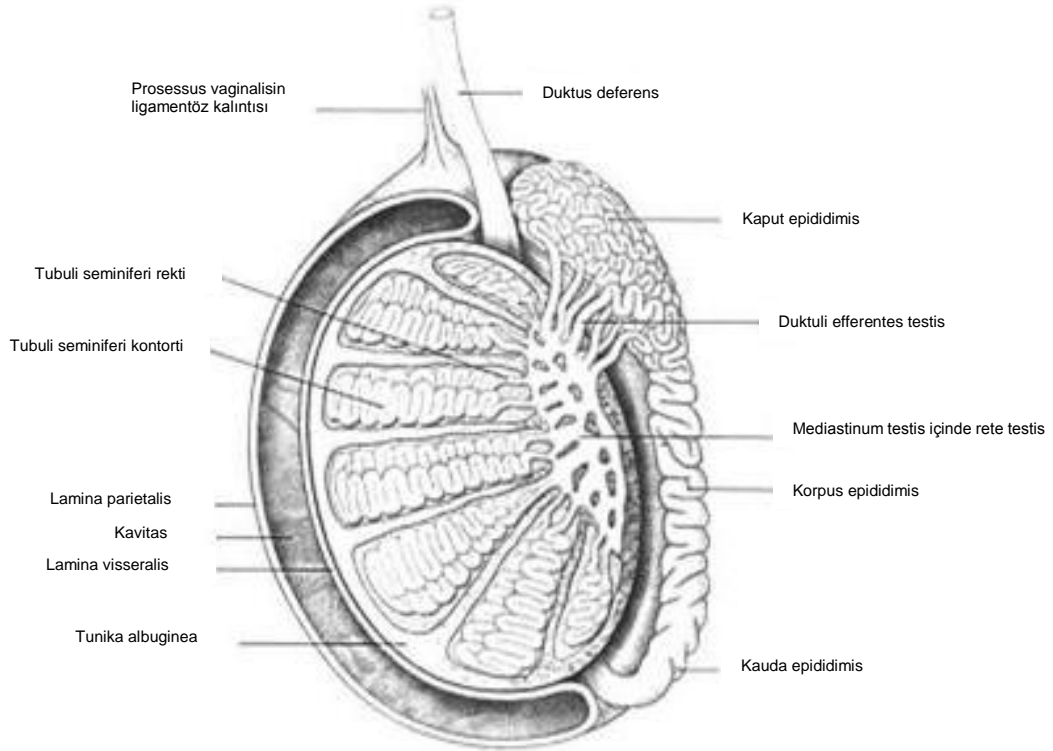
Oksidatif enzimlerin normal aktivitesi esnasında ve moleküler oksijenin univalent indirgenmesi esnasında serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Bu radikaller eğer tek başına ayrılmazsa, spermilerin mitokondrilerinde fosfolipitlerin peroksidasyonu sonucu spermilerin hareketsizliğine sebep olmaktadır (37, 111). E vit ise serbest radikallerin bu etkisini önlemektedir. Ayrıca yapılan çalışmalarda sperm ve testislerin bazı kimyasallar ve radyasyon hasarında E vit'nin bu toksik hasarı önlediği ve E vit'nin eksikliğinde testis dokusu germinal epitelinde dejenerasyonlar olduğu gösterilmiştir (129, 153).

E vit enzim sistemleri ve DNA molekülün dayanıklılığını arttırdığı için deri, karaciğer, meme ve testis gibi oksidasyona hassas dokuları ve hücreleri korur (110).

Bütün bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı; sıçan testis dokusunda deneysel olarak oluşturulmuş CP toksisitesi üzerine E vit'in nasıl bir etki göstereceğini ortaya koymaktır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Testis Anatomisi



Şekil 1. Testisin Anatomisi (41).

Testisler sağlı sollu yaklaşık olarak 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm genişliğinde 3 cm kalınlığında ve 10-14 gr ağırlığında bir çift organ olup skrotumun içinde bulunurlar. Aynı büyüklükte olmalarına karşın yapısal olarak sol testis sağ testise göre biraz daha aşağıda yer alır. Ayrıca, sağ testis sol testise göre %10 daha ağırdır. Testislerin sıcaklıkları vücut sıcaklığından 3-4 derece daha düşüktür. Testisin anatomisi Şekil 1’de gösterilmiştir (41).

Fetüste testisler karın boşluğu içindedirler. 28. haftaya kadar karın arka duvarından anulus inguinalis profundusa gelir. Dört hafta sonra skrotuma inerler. Bu iniş sırasında karın ön duvarını da beraberinde sürüklerler.

Testisleri saran; tunika vaginalis testisin visseral yaprağı (epiorchium), tunika albuginea ve tunika vaskülosa, birlikte testiküler kapsül olarak bilinir. Tunika vaskülosa, tunika albugineanın altındaki damar ağı tabakasıdır.

Tunika vaginalis, processus vaginalis'in alt ucunun kalıntısıdır. Tunika vaginalis testis, iki tabakalıdır. Testisin tüm yüzeyini örtenine lamina visseralis (epiorchium), testis üzerinden skrotumun iç yüzüne atlayanına lamina paryetalis (periorchium) adı verilir. İki tabaka arasında bulunan boşluğa tunika vaginalis boşluğu denir. Bu boşlukta sıvı birikmesi hidrosel olarak bilinir.

Tunika albuginea, lamina visseralis'in altındaki tabakadır. Bu tabaka, testisin arka-dış tarafından içeri doğru mediastinum testis (Highmore korusu) adı ile girer. Testisin üst ucundan alt ucuna kadar uzanan mediastinum testisten çıkan uzantılara septula testis denir. Bu uzantılar aracılığı ile testis, 200-300 tane lobçuğa (lobuli testis) ayrılır.

Her bir lobulus testis içinde, 1-3 tane tübülü seminiferi kontorti denilen kıvrıntılı tüpler bulunur. Her bir testiste toplam 400-600 tane olan bu tüplerin gevşek bağ dokusunda, interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) vardır. Bu hücreler, sekonder seks karakterlerinin gelişiminden sorumlu testosteronu salgılar. Reinke kristalleri, bu hücrelerin sitoplazmalarında görülen karakteristik protein kristalleridir.

İnterstisyel hücreler (Leydig hücreleri), spermatogenik hücreler (primordiyal germ hücreleri) ve Sertoli hücreleri (sustentakular hücreler, destek hücreler) tübülü seminiferi kontorti'lerdedir.

Tübülü seminiferi kontortiler, testisin arka bölümünde birleşerek, 20-30 tane tübülü seminiferi rekti denilen kısa ve düz kanalları oluşturur. Bu kanallar, mediastinum testise girer ve burada rete testis (Haller ağı) denilen bir kanal ağı yapar. Mediastinum testisin üst ucunda, bu ağdan başlayan 12-20 tane duktuli efferentes testis isimli küçük kanallar, tunika albugineadan geçerek, epididimis denilen kanalı oluşturur (73, 107, 108).

Testisler arterlerini aorta abdominalisten alırlar. Arteria testikularis testise varıncaya kadar karın boşluğunun büyük bir kısmını ve inguinal kanalı geçmek zorundadır. Arteria testikularis, testisin arka kenarından bezin içine sokulur ve mediastinum testiste bir çok dallar verir. Bu dallar septula testisleri izleyerek bezin her tarafına dağılırlar ve zengin kapiller ağı yaparak testis kanalcıklarını sararlar. Arteria testikularis ile arteria vesikalis superior'un bir dalı olan arteria defferentialis ve arteria femoralisten gelen ve skrotumda dağılan arteria pudendae eksterna arasında anastomozlar var ise de arteria testikularis'in bağlanması veya kesilmesi, testiste hasara neden olur.

Venler duktus deferensin etrafında plexus pampiniformis denilen bir ven ağı meydana getirirler. Bu ağdan önce iki, sonra birer tane vena testikularis meydana gelir. Vena testikularis dekstra, vena kava inferior'e, vena testikularis sinistra, vena renalis'e dökülür.

Sinirler, sempatik ve parasempatik lifler, plexus çöliakustan arteria testikularis çevresinde bulunan plexus testikularis ile gelirler. Bu sinirler bezlerin çalışmasını kontrol ederler.

Testislerin lenf damarları funikulus spermatikus'u izler ve nodus lenfatikus aorticus lateralis ve preaortisi'lerle birleşirler (10, 38, 73, 107, 150).

2.2 Testisin Embriyolojisi

Her ne kadar embriyonun genetik ve kromozomal cinsiyeti, ovumu dölleyen sperm çeşidi ile dölleme sırasında belirleniyorsa da erkek ve dişi morfoloji özellikleri, embriyonel döneminin 7. haftasına kadar gelişime başlayamazlar. Bu dönem her iki cinsten birbirine benzeyen genital sistemin "farklılaşmamış dönemi" olarak adlandırılır (98, 127).

Gonadlar üç kaynaktan gelişir.

- Karın arka duvarını döşeyen mezotel (mezoderm epiteli)
- Mezoderm epitelinin altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
- Primordiyal germ hücreleri

Gonad, gelişimin 5. haftasında ortaya çıkar ve mezonefrozun mediyalinde mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin çoğalması ile mezonefrozun mediyalinde genital kabartı oluşur. Parmak şeklindeki epitel kordonları (gonadal kordonlar), altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklılaşmamış gonad dışta yer alan korteks ve içte bulunan medulladan oluşur. Eğer embriyo XX cinsiyet kromozom yapısına sahip ise, farklılaşmamış gonadın korteksi ovaryuma farklılaşır ve medullası geriler. Embriyo XY cinsiyet kromozomu yapısına sahip ise medulla testise farklılaşır, korteks bir takım kalıntılar bırakarak geriler ve dejenere olur (24, 25, 58, 60, 77, 98, 99, 127, 128, 135).

Testislerin gelişimi, ilişkili bir dizi genin uyarılmasıyla sağlanır. Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki testis belirleyici faktörler için cinsiyet belirleyici gen (SRY), farklılaşmamış gonadın testis olarak gelişiminde anahtar işlev görmektedir. Testis belirleyici etken (TDF) birincil cinsiyet kordonlarını uyarır ve farklılaşmamış gonadın medullasının derinlerine doğru uzamasına neden olur. Kordonlar burada dallanır ve anastomoz yaparlar. Böylece ağsı yapıdaki rete testis gelişir. Cinsiyet kordonlarının (seminifer kordonların) kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea geliştikten sonra, yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. 12. haftada yoğun tunika albugineanın gelişimi testis gelişimi için oldukça belirleyicidir. Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tübüli rekti ve rete testise farklılaşırlar (58, 60, 77, 127, 135, 137).

Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenkimden ayrılırlar. 8. haftadan başlayarak Leydig hücreleri, androjen hormonlarını (testosteron ve androstenediyon) salgılamaya başlarlar. Bu hormonlar dış üreme organlarının erkek yönünde farklılaşmasını uyarmaktadır. İnsan koryon gonadotropin

hormonu (hCG) testosteron üretimini uyarır. Testosteron hormonunun miktarı 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşır. Testosterona ek olarak fetal testisler glikoprotein yapısında bir hormon olan antimüllerian hormon (AMH) veya müllerian inhibitör madde (MIS) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır (25, 54, 73, 98, 111).

Seminifer tübüllerin, ergenliğe kadar olan dönem boyunca lümenleri bulunmaz. Ergenlikten başlayarak lümen gelişir ve seminifer tübülleri oluştururlar (98).

2.3. Testisin Histolojisi

Testis, epididimis ve vas deferensin başlangıç kısmı tunika vaginalis denilen mezotelyum döşeli boşluğu içine alan deriyle kaplı bir cep olan skrotal kese içinde yer alırlar. Bu yerleşimleri testislerin vücut ısısından 2 - 3°C düşük bir ısıda olmalarını sağlar. Normal spermatogenez için 34 - 35°C gereklidir.

Olgun testisin arka yüzü epididimis ile ilişkidir. Hem testis hem de epididimis skrotal kese içerisinde vas deferens, spermatik arter, venöz ve lenfatik pleksusları içeren spermatik kordon ile asılıdır (70).

Testisler, tunika albuginea adı verilen yoğun bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsül ile çevrilidir. Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testis adı verilen yapıyı oluşturur. Buradan bezin içine giren fibröz uzantılar (septum), bezi testis lobçukları denilen yaklaşık 250 adet piramidal bölmeye ayırır. Bu uzantılar kesintisiz değildir ve çoğunlukla bölmeler birbiriyle bağlantılıdır. Her lobülde gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 adet seminifer tübül yer alır. Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve Leydig hücreleri adı verilen interstisyel hücreleri içerir. Seminifer tübüller erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretirken, interstisyel hücreler de testis androjenlerini salgılar (25, 58, 60, 70).

Testisler, yapı ve işlev bakımından gametlerin üretildiği seminifer tübüller ve androjenlerin üretiminden sorumlu interstisyel doku olmak üzere birbirinden farklı iki

bölümden oluşmaktadır. Seminifer tübüllerde iki farklı hücre topluluğu bulunur, bunlar spermatogenik hücreler ve Sertoli hücreleridir. Androjenler Sertoli hücrelerinin olgunlaşması ve spermatogenez için gereklidir. Leydig hücresinin gelişimi ve işlevi, seminifer tübülden salgılanan faktörler tarafından ayarlanmaktadır (53, 70, 121, 125).

2.3.1.Seminifer tübüller

Her testiste yaklaşık 250-1000 kadar seminifer tübül bulunur. Her seminifer tübül karmaşık yapıda çok katlı bir epitelyum ile döşeli olup yaklaşık 150-250 µm çapında ve 30-70 cm uzunluğundadır. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu 250 m kadardır. Tübüller kıvrımlıdır ve uçlarına doğru lümenleri daralarak düz tübüller, ya da tübülü rekti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eden kangallar şeklinde uzanır. Bu düz tübüller seminifer tübülleri rete testis denilen, epitelyum ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlar. Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık 10-20 adet duktuli efferentes ile epididimin baş kısmına bağlanmaktadır.

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve germinal ya da nongerminal hücreler epitelden oluşur. Seminifer tübülü saran fibröz tunika propriya birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas özellikleri de gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir. Bu yassı hücreler, her bir tübülün çevresinde devamlı bir tabaka oluştururlar ve düz kas hücrelerinin ultrastrüktür özelliklerini gösterirler. Miyoid hücreler, seminifer tübüllerde gözlemlenen ritmik kasılmalardan sorumludur. Aynı zamanda kan-testis bariyerinin önemli bir bileşenidir. Yaşın ilerlemesiyle bu tabaka kalınlaşır (17, 53, 69, 125, 134).

İnsan testisinde peritübüler hücreler gebeliğin 14. haftasında farklılaşırlar ve seminifer tübülün çevresinde 4-5 tabaka oluştururlar. İçteki ilk 2 tabakada miyoid hücreler bulunurken, dıştaki iki tabakada fibroblast benzeri hücreler bulunur (119).

2.3.2.Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri testislerin işlevi açısından çok önemlidir. Bu hücrelerin yan sınırları ışık mikroskobunda görülemediğinden ilk zamanlarda bazı araştırmacılar bu hücrelerin sinsisyum oluşturduklarına inanmışlardır. İlk kez 1865'te fizyolog Enrico Sertoli tarafından tanımlanmıştır (80). Sertoli hücreleri spermatogenez serisindeki hücreleri saran uzun, piramidal hücrelerdir. Bu hücrelerin tabanları bazal laminaya tutunur, tepe kısımları ise çoğunlukla seminifer tübülün lümenine uzanır. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda, bu hücrelerin çok sayıda düz endoplazma retikulumu, az granüllü endoplazma retikulumu, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondri ile lizozomlar içerdiği gösterilmiştir. Sıklıkla üçgen biçiminde olan uzamış çekirdeğinde çok sayıda girintiler, belirgin çekirdekçik ve az miktarda heterokromatin bulunur (25, 60).

Yan yana bulunan Sertoli hücreleri, hücrenin alt yan yüzlerinde (bazolateral) engelleyici sıkı bağlantılarla birbirlerine tutunarak kan-testis bariyerini oluştururlar. Spermatogonyumlar bu bariyerin altında yer alan bazal kompartmanda yerleşmiştir. Spermatogenez sırasında spermatogonyumların bölünmesi sonucu oluşan bazı hücreler bu bağlantı noktalarından bir şekilde geçerek, bariyerin üzerinde yer alan adluminal kompartmana ulaşırlar. Spermatozoidler ve spermatidler bariyerin üzerinde, Sertoli hücrelerinin yan ve üst kenarlarındaki derin girintilerde yerleşmişlerdir. Spermatozoidlerin kuyrukları geliştikçe, bunlar Sertoli hücrelerinin üst uçlarından çıkan saçaklar halinde görülürler.

Sertoli hücreleri “aralık bağlantıları” (gap junction) denilen birleşmelerle de bağlanmıştır. Bu yolla hücrelerin iyon ve kimyasal madde alışverişi sağlanır. Sertoli hücrelerinde aralıklı bağlantılara ek olarak bazal kısmında hemidesmozomlar, Sertoli hücreleri ile gelişimin erken dönemindeki spermatogonik hücreler arasında desmozom benzeri kompleksler gözlenmektedir (25, 70).

Bazolateral bölgelerinde, Sertoli hücreleri komşu Sertoli hücreleri ile sıkı bağlantı bölgeleri oluştururlar. Bazolateral okludens bağlantıları, seminifer epitelyumu bir bazal ve bir adluminal kompartmana bölerler ve geliştirmekte olan spermatozoidleri ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan koruyan kan testis bariyerinin elemanlarını belirler (70).

Sertoli hücrelerinin çeşitli işlevleri vardır. Geliştirmekte olan spermatozoidlerin desteklenmesi, korunması ve beslenmesinin düzenlenmesinde görev alırlar. Spermatogenez serisindeki hücreler birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlanmışlardır. Bu hücre ağı, Sertoli hücrelerinin yaygın sitoplazmik dallanmaları ile fiziksel olarak desteklenir. Spermatozoidler, spermatidler ve spermatozoidler kan-testis bariyeri ile kan akımından izole edildiği için, bu spermatogonik hücreler besin maddelerinin ve metabolitlerin alınıp verilmesinde Sertoli hücrelerine bağımlıdır. Sertoli hücrelerinin bariyeri gelişen sperm hücrelerini immünolojik saldırıdan da korur (25, 58, 60).

Spermiyogenez sırasında fazla spermatid sitoplazması artık cisimcikler şeklinde atılır. Bu sitoplazmik parçacıklar Sertoli hücrelerindeki lizozomlar tarafından fagosite edilir ve sindirilir.

Sertoli hücreleri sürekli olarak seminifer tübüllere genital kanallar yönünde akan ve spermaların taşınması için kullanılan bir sıvı salgılar. Androjen bağlayıcı protein üretimi Sertoli hücreleri tarafından folikül uyarıcı hormon (FSH) ve testosteron kontrolü altında gerçekleştirilir ve seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaştırılmasını sağlar. Sertoli hücreleri testosteronu östradiole çevirebilir. Bu hücreler aynı zamanda inhibin ve aktivin adı verilen alt ünitelerini salgılar. İnhibin, hipotalamustan ve ön hipofizden salınan gonadotropin salgılatıcı faktör ve FSH üzerine negatif feedback bir etki gösterir. Aktivin FSH salınımı üzerine pozitif feedback bir etki gösterir.

Sertoli hücrelerinden salgılanan FSH, aynı zamanda androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezini ve sekresyonunu düzenler. ABP testosteron ve dihidrotestosteron

androjenlerine yüksek bağlanma afinitesi olan salgısal bir proteindir.

Hem ABP hem de androjen reseptörü androjenler için bağlanma afinitesine sahip olsalar da bunların farklı proteinler olduğunu belirtmek gerekir. ABP salgısal bir protein iken, androjen reseptörü sitoplazmik ve nükleer bir proteindir (48, 70).

Müller kanalını baskılayıcı hormon olarak da adlandırılan AMH hormonu embriyonun gelişimi sırasında erkek fetüste parametonefroz kanallarının (Müller) gerilemesini sağlayan bir glikoproteindir. Testosteron ise metonefroz kanallarından (Wolf) köken alan yapıların gelişmesini sağlar.

Sertoli hücreleri insanda ve diğer hayvanlarda üreme çağı süresince bölünmezler. Enfeksiyon, kötü beslenme, X ışınlarına maruz kalma gibi olumsuz koşullara karşı oldukça dayanıklı hücrelerdir ve bu zararlı etkilere maruz kaldıklarında sağ kalım oranları spermatogenik seri hücrelerine göre çok daha yüksektir. Memelilerde spermatozoonlar büyük olasılıkla Sertoli hücresinin üst sitoplazmasında bulunan mikrotübüller ve mikrofilamentlerin katılımıyla, hücre hareketleri sonucu salınırlar (47, 48, 70, 71, 138, 151).

Seminifer tübüllerin iç kısmıyla kan arasında bir bariyerin bulunması testis sıvısında kandan gelen çok az madde bulunmasına yol açar. Testisin kılcal damarları pencere tiptedir ve büyük moleküllerin geçişine izin verir. Spermatogonyumlar kanda bulunan maddelere kolayca ulaşabilir. Ancak, Sertoli hücreleri arasında bulunan sıkı bağlantılar bir bariyer oluşturarak büyük moleküllerin Sertoli hücreleri arasındaki boşluğa taşınmasını engeller. Böylece spermatogenezin daha ileriki aşamalarındaki germ hücreleri kandaki zararlı maddelere karşı korunmuş olur.

Sıçan testisinde kök hücre faktörü Sertoli hücreleri tarafından üretilir, germ hücreleri ve Leydig hücrelerindeki c-kit reseptörüne bağlanır. Bu kök hücre faktörü ile c-kit reseptörü arasındaki ilişki germ hücrelerinin çoğalması, farklılaşması ve apoptozisinde rol oynar. C-kit reseptörü spermatogonyum, spermatozoid ve spermatozoidler

üzerinde bulunur. Anti-c-kit monoklonal antikor ACK-2 gibi bir antikor ile kök hücre faktörünün bloke edilmesi çoğalan tip A spermatogonyumların azalmasına, spermatid matürasyonunun gecikmesine, in vitro ortamda tüm germ hücre tiplerinin apoptozisinde artmaya neden olurken, Leydig hücre fonksiyonunda anlamlı bir değişiklik yapmaz (48, 57, 70, 71).

2.3.3.Leydig hücreleri

Testisin interstisyel dokusu, androjen üretimi açısından önemlidir. Testislerde seminifer tübüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, kan ve lenf damarlarıyla doldurulmuştur. Bağ dokusu değişik tipte hücreler içerir; bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte başka bir tip hücre daha işlevsel olarak belirgin hale gelir. Bu, yuvarlak ya da çokgen şekilli, çekirdeği merkezde ve küçük lipit damlacıklarından zengin eozinofilik sitoplazması bulunan bir hücredir. Bu hücreler, testisin interstisyel veya Leydig hücreleridir ve steroid salgılayan hücre özelliklerini gösterir.

Bu hücreler mitokondriyumlarında ve düz endoplazmik retikulumlarında bulunan enzimler tarafından erkeklik hormonu olan testosteronu üretirler. Testosteron spermatogenez, embriyonal ve fötal yaşam sırasındaki cinsiyet farklılaşması ve gonadotropin salgısının kontrolü açısından önemlidir. Testislerden az miktarda salgılanan ve testosteronun metaboliti olan dihidrotestosteron, bazı dokularda testosteronun enzimatik dönüşümü ile üretilir. Ergenlikte ve erişkinde vücuttaki çoğu organ ve dokuda etki gösterir. Androjen üreten interstisyel hücreli tümörler erkeklerde erken puberteye yol açabilir (57, 71, 87, 138).

Fetal Leydig hücreleri gebeliğin 8 ve 18. haftaları arasında steroidojenik olarak aktiftirler. Gebeliğin 18. haftasından itibaren, testiste Leydig hücre popülasyonu baskındır. Bu dönemde fetal Leydig hücreleri tarafından üretilen androjenler erkek üreme kanalının gelişiminde kritiktir. Leydig hücreleri, gebeliğin 8. ayında, fötal testis

içinde ilk defa belirirler ve birkaç haftada sayıları artar. Sonra doğuma çok az kalana dek sayıları azalır (17, 57, 99, 154). Yeni doğanda testiküler steroidogenez doğumdan sonraki 2 ile 3 ay içinde üst seviyelere ulaşır ve sonra azalır. Pubertede bir LH artışı androjen seviyesini aktive edene kadar, androjen seviyeleri düşük kalır. (70).

Puberteden sonra, bir siklik adenozin monofosfat (cAMP) aracılı mekanizma tarafından lüteinleştirici hormon ile uyarılmanın ardından Leydig hücreleri, 5 alfa-redüktaz enzimi ile dihidrotestosterona dönüştürülebilen testosteron üretir. Serumda bulunan testosteronun yaklaşık % 95'i Leydig hücreleri tarafından sentezlenir, kalan testosteron adrenal korteks tarafından üretilir. İlerleyen yaşla birlikte Leydig hücre sayısı yavaş yavaş azalır. 60 yaşındaki bir erkek, genellikle 20 yaşındaki bir erkeğin sahip olduğu Leydig hücrelerinin yarısından daha az Leydig hücresi bulundurmaktadır. (17, 57, 87, 98).

LH ve prolaktin Leydig hücre fonksiyonunu düzenler. Prolaktin, LH reseptörünün gen ekspresyonunu düzenler. LH, testosteron üretiminden sorumludur. Hiperprolaktinemi, gonadotropin salınımını ve testisteki etkisini azaltarak, üreme fonksiyonunu baskılar. Aşırı prolaktin, Leydig hücrelerinden androjenlerin üretimini azaltabilir, spermatogenezi zayıflatabilir ve erektil disfonksiyon ve infertiliteye yol açabilir (70).

Testosteron başta adipoz doku olmak üzere, birçok dokuda östrojenlere aromatize edilebilir. FSH üretiminden sonra Sertoli hücrelerince üretilen ABP, gelişen spermatogenez hücrelerinin çevresinde yüksek bir testosteron yoğunluğu sağlar (70).

Doğumdan sonra sıçanlarda Leydig hücreleri 3 farklı işlevsel safhada görülürler (78);

- 1-Farklılaşmamış (köken) Leydig hücreleri
- 2-Olgunlaşmamış Leydig hücreleri
- 3-Olgun Leydig Hücreleri

11 β -Hidroksisteroid dehidrogenaz (11 β -HSD) enzimi sıçan testisinde biyolojik tutucu 11 β -dehidrokortikosteronu fizyolojik olarak etkin kortikosterona geri dönüşümlü olarak katalizler ve Leydig hücrelerini glukokortikoidlerin baskılayıcı etkisine karşı korur. Olgun Leydig hücre topluluğunun ileri gelişiminde 11 β -HSD etkinliği çoğalır. Ayrıca 11 β -HSD, Leydig hücreleri üzerindeki glukokortikoidlerin olumsuz etkilerinin kontrolünde görevlidir (17, 57, 132).

Leydig hücrelerinde 11 β -HSD etkinliği açısından yapılan incelemelerde hem yükseltgenme hem de indirgenme etkinlikleri bakımından, farklılaşmamış Leydig hücrelerinde ancak yetecek kadar, olgunlaşmamış Leydig hücrelerinde orta düzeyde, olgun Leydig hücrelerinde ise en yüksek düzeyde enzim etkinliği olduğu görülmüştür. İki etkinlik bakımından incelendiğinde, farklılaşmamış Leydig hücrelerinin ve olgunlaşmamış Leydig hücrelerinin indirgenmeyi, olgun Leydig hücrelerinin ise yükseltgenmeyi tercih ettiği görülmüştür. Olgun Leydig hücrelerinin olduğu toplulukta 11 β -HSD-1'in yükseltgenme etkinlik düzeyinin yüksek olduğu bildirilmiştir (78).

Leydig hücrelerinin 11 β -HSD etkinliğinin olgunlaşma ile arttığı görülmüştür. Bu sayede Leydig hücrelerinin işlevsel olgunluğa ulaşmasında işaretleyici olarak bu enzim kullanılabilir (78).

Cinsiyet hücre serileri vitamin eksiklikleri gibi beslenme yetersizliklerine, alkole ve çeşitli enfeksiyon hastalıklarına karşı oldukça hassastır. Düşük dozdaki radyasyon (X-ışınları gibi), hücrelerin dejenerasyonuna sebep olurken, yüksek dozlarda infertilite bile gelişebilir (10, 49, 60, 150).

2.3.4.Spermatogenez

Spermatogenez, spermatozoon üretim sürecidir. Süreç ilkel bir üreme hücresi olan spermatogonyum ile başlar. Spermatogonyum, yaklaşık 12 μ m çapında, bazal kompartmanda bazal lamina ile direkt ilişki içinde olan diploid spermatogonik

hücrelerdir (70). Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların arasında ve bu nedenle de kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar.

Spermatogonyal kök hücrelerin erkek fertilitesinde önemli etkileri vardır. Bu hücreler kısmen sessiz hücrelerdir ve bu nedenle radyasyon ve kanser kemoterapisine dirençlidirler. Mitotik olarak bölünen spermatogonyumlar, mayotik bölünen spermatositler ve farklılaşmakta olan spermatidler kanser kemoterapisine ve radyasyona duyarlıdır. Radyoterapi veya antikanser kemoterapisinin sonlandırılmasından sonra, spermatogonyal kök hücreleri spermatogenik süreci yeniden oluşturabilirler. Post mitotik Sertoli hücreleri bu tedavilere yüksek oranda dirençlidirler (17, 70).

Spermatogonyumlar, spermatogonyal kök hücreden köken alırlar ve pubertede başlayan başarılı mitotik hücre bölünmeleri geçirirler ve yeni hücreler oluşmaya başlar. Yeni oluşan hücreler iki yoldan birini izleyebilir : A tipi spermatogonyumlar olarak da adlandırılan kök hücreler olarak bölünmeyi sürdürebilir ya da sürmekte olan mitoz döngüleri boyunca farklılaşarak B tipi spermatogonyumları oluştururlar. B tipi spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan öncül hücrelerdir. Primer spermatositler 46 kromozom ve 4N DNA içerir. Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayoz bölünmenin profazına girerler. Bu bölünmenin profaz aşaması yaklaşık 22 gün sürdüğünden, kesitlerde görülen spermatositlerin çoğu bu aşamada izlenir. Primer spermatositler spermatojen serinin en büyük hücreleridir ve çekirdeklerinde, sarmalanma sürecinin değişik aşamalarındaki kromozomların bulunması ile tanınırlar (57, 71, 87, 138).

Birinci mayoz bölünmeden sonra sekonder spermatositler olarak adlandırılan ve yalnızca 23 kromozom içeren daha küçük hücreler oluşur. Kromozomların sayısındaki bu azalmaya her hücredeki DNA miktarının eksilmesi eşlik eder. Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin gözlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve çabucak ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir. Sekonder spermatositlerin bölünmesi 23 kromozom içeren iki hücrenin, spermatidlerin oluşmasıyla sonuçlanır. Spermatositlerde birinci ve ikinci mayoz bölünmeler arasında S

fazı (DNA sentezi) görülmediği için, ikinci bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid (1N) hücreler meydana gelir. Böylece, mayoz bölünme sürecinin sonunda haploid sayıda kromozom içeren hücreler oluşur. Döllenmeyle bunlar diploid sayıya dönerler (17, 57, 71, 87,138).

2.3.5.Spermiyogenez

Spermiyogenez, spermatozoon üretiminin son aşaması ve spermatidlerin, erkek DNA'sını ovuma aktarmak için son derece özelleşmiş hücreler olan spermatozoona dönüşme sürecidir. Bu süreçte hücre bölünmesi gerçekleşmez.

Spermatidler, küçük boyutları (7-8 µm çapta) ve yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren nükleusları ile ayırt edilebilirler. Haploid spermatidler seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanda yerleşmişlerdir. Spermatidler, Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içinde gömülüdürler (17, 57, 71, 87, 138). Spermiyogenez, akrozom oluşumunu, çekirdek yoğunlaşmasını ve uzamasını, kamçı gelişmesini ve sitoplazmanın büyük bir bölümünün kaybolmasını içeren karmaşık bir süreçtir. Sonuçta, daha sonra seminifer tübül lümenine bırakılan olgun spermatozoon oluşur.

Spermiyogenez üç faza ayrılabilir (48, 62, 71, 132, 136, 138).

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

Akrozomal Faz: Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve bundan sonra akrozom adını alır. Akrozom, hyaluronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içerir. Akrozom bu yüzden lizozomun özelleşmiş bir tipi gibi iş görür. Bu enzimlerin, korona radiata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir. Bunlar henüz ovulasyona uğramış yumurtayı çevreleyen yapılardır. Spermatozoonlar ovumla karşılaştığında akrozomun dış membranı birçok bölgede plazma membranı ile kaynaşarak akrozomal enzimlerin boşalmasına yol açar. Bu işlem akrozomal reaksiyon olarak bilinir ve fertilizasyonun ilk basamaklarından biridir (62, 71, 132, 136).

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

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

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

Matürasyon Fazı: Geriye kalan artık sitoplazma, Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve spermatozoonlar tübülün lümenine doğru salınırlar.

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

Testislere deneysel ³H-timidin enjeksiyonu ile gönüllüler üzerinde yapılan araştırmalarda insanda spermatogonyum safhası ile spermatozoon oluşumu arasındaki sürenin yaklaşık 64 gün olduğu gösterilmiştir (48, 62, 71, 132, 136, 138). Sürecin yavaş olmasının yanısıra, spermatogenez, eş zamanlı olarak her seminifer tübülde aynı anda gerçekleşmez; bu olay bir dalgalanma biçiminde olur. Bu durum her bölgesinde spermatogenezin farklı bir safhasının izlendiği seminifer tübüllerin düzensiz görünümünü açıklar. Aynı zamanda neden seminifer tübüllerin bazı bölgelerinde spermatozoonlar bulunduğu halde diğer bölgelerde sadece spermatidlerin bulunduğunu da açıklamaktadır. Seminifer epitel siklusu germinal epitelde belli bir hücre evresinin ardışık iki görünümü arasında oluşan matürasyon değişiklikleri dizisini ifade eder. İnsanda her bir siklus yaklaşık 16±1 gün sürer ve spermatogenez 4 siklustan sonra biter (64±4,5 gün).

2.4. Testisin Histofizyolojisi

Testis ekzokrin ve endokrin fonksiyonlu bileşik tübüler bir bezdir (18, 34, 57, 63). Testisin iç salgılama işlevini Leydig hücrelerinin salgıladığı testosteron meydana getirir. Testosteron yüksek lokal etkiyle seminifer tübüllerdeki spermatogenezini etkilerken, kana geçerek erkek üreme sistemine yardımcı bezlerin (prostat, vezikula seminalisler, bulboüretal bezler) işlevini de etkiler. Erkeğe özgü ikincil cinsiyet özelliklerinin (pubik kıllanma, sakal-bıyık, erkeğe özgü ses, kaslar vücut şekli) ortaya çıkmasından sorumludur. Testosteron üretimi adenohipofizden salgılanan LH (lüteinleştirici hormon)

etkisiyle gerçekleşir. LH, Leydig hücrelerinde kendisine ait reseptörlere bağlanarak etki gösterir. Her ne kadar Leydig hücreleri testisin genel hacminde küçük bir yer tutsa da steroidojenik potansiyelleri çok yüksektir. Adenohipofizden LH salgısı sürekli değil esas olarak geceleri 90 dakikalık aralıklar şeklinde olur. LH dışında prolaktin ve LH-RH (LH-releasing hormon)'da doğrudan Leydig hücrelerini etkileyerek testosteron salgılanmasını etkiler. Testosteronun yükselmesi LH salgılanmasını durdurur. LH dışında spermatogenezin başlaması ve devam etmesinde adenohipofizden salgılanan bir diğer hormon FSH (folikül uyarıcı hormon)'da etkilidir. FSH Sertoli hücrelerini etkileyerek ABP salgılanmasını sağlar böylece spermatogenez için gerekli oranda testosteronun yerel etkisi sağlanır. Bu etki spermatogenezin başlaması için gereklidir. Germ hücrelerinin azalması FSH salgısını uyarır. FSH salgılanması, Sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin hormonuyla durdurulur. Östrojenler, kadın cinsiyet hormonları ABP'ı bağlayarak spermatogenezisi azaltır (10, 49, 73, 149).

Testisin dış salgı işlevi, kıvrıntılı seminifer tübüllerin holokrin salgı ürünü spermatozoondur (10, 49, 73, 149). Günlük ortalama spermatozoon yapımı insanda iki testisten ortalama 200 milyondur. Bu büyük bir miktar gibi görünse de diğer türlerle karşılaştırıldığında düşük bir sayıdır. Oluşan ejakulat miktarı ise 2-5 ml'dir. Bu ejakulat 40-100 milyon/ml spermatozoon içerir. Bu sayı 20 milyonun altına düşerse kısırlıktan (infertilite) söz edilir.

37°C olan vücut içi sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda oluşan spermatogenezin regülasyonunda ısı çok önemlidir. Testiküler ısı 35 °C'dir, bu birkaç mekanizma ile kontrol edilir (10, 49, 60, 73, 149). Zengin bir venöz pleksus (pampiniform pleksus) her bir testiküler arterin etrafını sarar, testiküler ısının sürdürülmesinde önemli olan bir karşı ısı akımı sağlar. Diğer faktörler; skrotumdaki terin buharlaşması ile ısı kaybı ve spermatik kordondaki krameter kaslarının kasılması ile testislerin daha yüksek bir ısıda kalabileceği inguinal kanallara çekilmesidir.

Testisin inişindeki bozukluk olan kriptorşidizmde (Yun.kryptos, gizli+orchis, testis), testisler 37°C'ta kalır ve spermatogenez inhibe olur. Çok ileri olmayan vakalarda

testisler cerrahi olarak skrotuma indirildikleri takdirde spermatogenez normal olarak devam edebilir. Karın içi sıcaklığında kalan testislerde germ hücrelerinin çoğalması inhibe olur fakat testosteron sentezi devam eder. Bu da kriptorşidizimli seks karakterlerinin gelişmesinin ve ereksiyon oluşmasının nedenini açıklar.

Kötü beslenme, alkolizm ve bazı ilaçların etkisi ile spermatogonyumlarda değişiklikler ve sonuçta spermatozoon yapımında bir azalma ortaya çıkar. X-ışını ve kadmiyum tuzları spermatogenik seri hücrelerine oldukça toksiktirler ve bu hücrelerin ölümüne sebep olarak hayvanda steriliteye yol açarlar (10, 49, 60, 73, 149). Bisülfan germinal hücreler üzerinde etkilidir, gebe sığanlara verildiğinde bunların erkek yavrularının germinal hücrelerini öldürür. Bu nedenle yavru steril kalır ve seminifer tübülleri sadece Sertoli hücrelerini içerir. Androjen üreten interstisyel hücre tümörleri erkeklerde erken puberteye yol açabilir.

İnsanda ergenlikle başlayan spermatogenez devamlıdır ve ölene kadar azalarak devam eder. Germ hücre epiteli toksik ajanlar, alkol, çeşitli enfeksiyon hastalıkları ve beslenme yetersizliklerine (vitamin A ve E eksikliği) hassastır. Düşük dozlarda bile X-ışınları dejenere hücre sayısını arttırır, yüksek dozlarda kısırlığa neden olur. Germ hücreleri yüksek ısıdan da etkilenir. Bu nedenle testisin skrotum içinde ve vücut dışında yer alması gerekir. Testisin skrotuma inmediği hallerde (kriptorşidizm) seminifer tübüller atrofik kalır sadece Sertoli hücreleri, çok az miktarda da spermatogonyum izlenir (10, 49, 60, 73, 149).

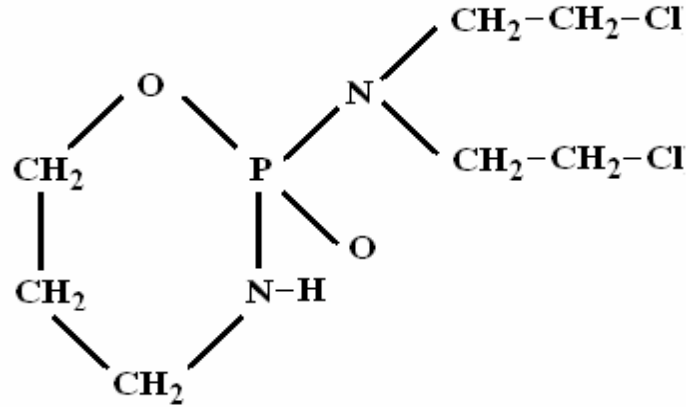
2.5. Siklofosfamid (CP)

2.5.1. Genel özellikleri

CP, nitrojen mustard grubundan alkilleyici antineoplastik bir ilaçtır. Alkilleyici antineoplastik ajanlar genel olarak hücre fonksiyonlarını amino, karboksil, sülfidril ve fosfat gruplarına kovalent bağlanarak bozarlar. En sık bağlandıkları hücre bölgeleri

hücrenin deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) ve protein kısımlarıdır. Etkili olabilmeleri için hücre proliferasyonu gerekirken faz spesifik etki göstermezler. Glutasyon konjugasyonu ve DNA tamir mekanizmalarındaki değişiklikler ilaç rezistansında önemlidir (147).

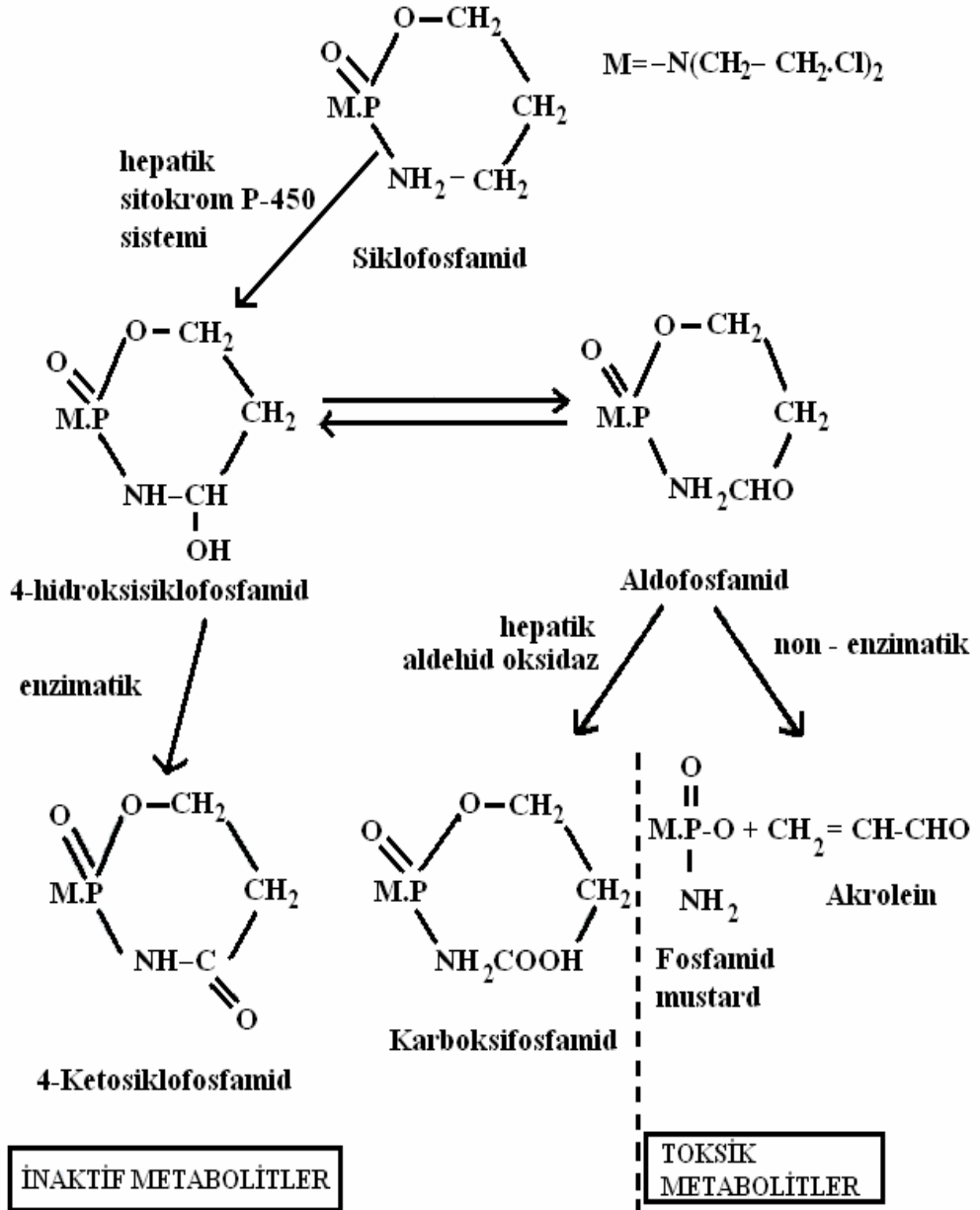
CP bir oksazofosforindir. Bağışıklık baskılayıcı ve bir antitümör ajan olan siklofosfamidin onkosidal etki gösterebilmesi için metabolik olarak aktive edilmesi gerekir. Hem humoral hem de hücresel bağışıklığın CP ile baskılandığı bildirilmektedir. CP'nin kanserostatik aktivitesi fosforamid mustard (FAM) oluşumunu veren hepatik mikrozomal karma fonksiyon oksidaz sistemi ile metabolizmasına bağlıdır. CP'nin kimyasal yapısı şekil 2'de gösterilmiştir (22).



Şekil 2. Siklofosfamid; 2-bis (kloroetil) amino tetrahidro-2H-1,2,3- oksazofosforin 2-oksit (22).

CP tarafından oluşturulan bağışıklık baskılayıcılık, ana ilaçtan ziyade onun metabolitlerinden kaynaklanmaktadır. P-450 monooksijenaz sisteminin etkisi altında siklofosfamid, 4-hidroksi siklofosfamide metabolize olur. Bu metabolit enzimatik olmayan bir yolla aldofosfamide yeniden düzenlenir. Bu da FAM ve akroleine ayrılır. FAM'ın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı, CP'nin bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkilerine aracı olduğu düşünülmektedir. Öte yandan akroleinin önemli makromoleküllerinin sulfidril gruplarıyla çabucak reaksiyona girdiği böylece

bağışıklığın baskılanmasında rol oynadığı düşünülmektedir. Oluşan ara ürünler veya son metabolitlerin; kanser seçiciliği, sistemik toksisite, mutajenite, teratojenite, genotoksisite ve kanserojenite gibi farklı etkileri olabileceği ileri sürülmektedir. CP'nin metabolizması şekil 3'te gösterilmiştir (55).



Şekil 3. CP'nin metabolizması (55).

2.5.2.Kullanım alanları

Hematolojik ve solid tümörlerin tedavisinde başarılı bulunan CP, hem oral hem de parenteral olarak kullanılır. CP' nin plazmadaki yarılanma ömrü 6,5 saattir. Parenteral olarak verildiğinde aktif metabolitlerin plazma konsantrasyon pikine ulaşması 2-3 saat sürer (7). CP' nin kullanıldığı alanlar şunlardır:

- Hodgkin dışı lenfomalar (56).
- Çocukların akut lenfositik lösemisi (19).
- Küçük hücreli olan veya olmayan akciğer kanseri (139).
- Pediatrik solid tümörler (21).

CP, onkolojide hematolojik kötü huylu (malign) ve solid tümörlerin tedavisinde kullanılan bir ilaç olmakla birlikte bağışıklık baskılayıcı etki göstermesi nedeni ile özellikle vaskülitler, Behçet hastalığı, SLE (Sistemik lupus eritomatozus), Sjögren, Skleroderma, Romatoid artrit gibi otoimmün hastalıklarda ve nefrotik sendromda da kullanılmaktadır. (76, 79, 109).

2.5.3.Yan etkileri

CP'nin yan etkileri arasında;

- Miyelosüpresyon
- Bulantı-kusma
- Reprodüktif sistem yan etkileri (amenore, oligomenore, azospermi, infertilite)
- Hiperürisemi
- Allerjik reaksiyon
- Alopesi
- Sekonder lösemi bulunmaktadır (42).

Çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarda CP'nin gonadal yetmezlik, renal yetmezlik ve özellikle hemorajik sistit oluşturduğu rapor edilmiştir. CP terapisi gören meme kanserli hastalarda çoğu zaman amenore oluşmaktadır. Erkeklerde sık sık azospermi gelişmektedir. CP, ovaryum foliküllerinde epitel doku için toksiktir. Dişi sıçanlara 40 mg/kg CP verildiğinde ovaryum foliküllerinin normal gelişimini inhibe ettiği gözlenmiştir. CP spermatojenik epitelyumda da toksisite oluşturmaktadır. Bir CP metaboliti olan akrolein de 3-10 mg/L arasındaki konsantrasyonlarının 12 günlük fare embriyosunda anormal gelişmelere neden olduğu gözlenmiştir (13).

CP, emziren kadınlarda süte geçerek bebekte immunosupresyon, gelişme geriliği ve karsinogenezis gibi toksik etkiler yapmaktadır. Ayrıca fizyolojik olarak uygun olmayan antidiüretik hormon salgısını artırarak hipernatremiye yol açar. Bu durum ise hemorajik sistit riskini artırır. CP metabolitleri, özellikle akrolein, mesane mukozası için toksiktir. Erkek Swiss farelerde yapılan deneysel çalışmalarda 200 mg/kg CP'nin hemorajik sistit oluşturduğu rapor edilmiştir (26). CP'nin insanlarda ve deney hayvanlarında mesane kanseri yaptığı yönünde raporlarda bulunmaktadır (7, 114). Kemik iliği mutajenitesi konusunda yapılan çalışmalarda ise bu maddenin insanlarda ve sıçanlarda hematopoietik sistemde kanserojen olduğunu göstermiştir. Farelerde yapılan bir deneysel çalışmada 100 mg/kg intraperitoneal CP uygulamasının hematopoietik sistemde tümör gelişimini uyardığı gözlenmiştir. Sıçanlarda yapılan diğer bir deneysel çalışmada 20 ve 40 mg/kg intraperitoneal CP uygulamasının dalakta ve kemik iliğinde mutajen olduğu gösterilmiştir. Hodgkin lenfomalı hastalara CP verildiğinde, hastalarda üreterik tümörlerin geliştiği rapor edilmiştir (13).

Spermatojenik hücreler kemoterapötik ilaçların zararlı etkilerine çok duyarlı olduğu için stem hücre topluluğunda onarılamayan hasara yol açarak kalıcı infertiliteye yol açabilir. En duyarlı hücreler aktif bölünen spermatogonyum ve preleptoten fazına kadarki spermatositlerdir (94).

Kemoterapi tedavisinde renal hastalıklar ve bazı kanser türlerinde, yalnız başına veya kombine şeklinde kullanıldığında erkeklerde ve çocuklarda infertiliteye sebep

olduğu ve testiküler fonksiyonları azalttığı gösterilmiştir. Kanserli erkek hastalarda CP ile tedavide azospermi ve oligospermiye neden olduğu gösterilmiştir (29).

Erişkin erkek hastalarda CP ile yapılan tedavinin testiküler dokuda spermatogenez siklusunun durmasına ve sperm sayısının azalmasına neden olur (65).

Aynı şekilde CP ile uzun dđnem tedavide fertilitenin azalmasına ve reproduktif organların ağırlığının azalmasına yol açmaktadır (140).

CP içeren birden fazla kemoterapik ajanın bulunduğu şemalarla tedavi edilen Hodgkin lenfomalı hastaların % 35 -100'ünde uzun sđreli azospermi gđrđlebilir. Spermatogenezin tekrar normale dđnmesi ortalama 2 yıl sđrmektedir (18).

CP kđtđ huylu (malign) olmayan hastalıkların tedavisinde tek ilaç olarak kullanıldığı için gonadotoksik etkisi kesin saptanmıştır. CP, özellikle hızlı bđlđnen hđcreler üzerine etkili olur, en bđyđk etkisini testisin germinal epiteli üzerinde gđsterir (4).

Watson ve arkadaşları, nefrotik sendrom nedeni ile çocukluk ağında CP kullanan 30 erkek hastanın tedaviden 12.8 yıl sonra % 43'ünde azospermi saptamıştır. Toplam 5-45 gr CP kullanmış olan bu hastalarda ilaç dozu ve sperm dansitesi arasında direkt bir korelasyon bildirilmiştir. Hastalarda puberte normal olarak ilerlemiş sadece hormonal olarak kendini gđsteren kompanse bir Leydig hđcre yetersizliği gđrđlmüřtđr (146).

2.6. E Vitamini (α -Tokoferol)

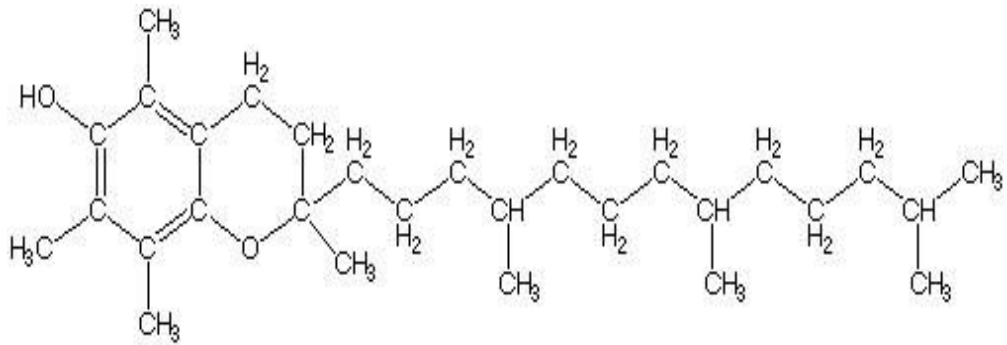
2.6.1. Genel özellikleri

1925 yılında Evans ve Bioshop isimli araştırmacılar bazı lipidlerin eksikliğine bağlı olarak üreme yetersizliği olduğunu keşfetmişler ve bu eksik olan maddeye de D vitamininden sonra alfabetik sıraya göre E vitamini adını vermişlerdir (46).

1936 yılında ise Evans tarafından buğday tohum yağından ekstrakte edildikten sonra tokoferol olarak tanımlanmıştır. (16).

Tokoferol, fareler bu madde olmadan canlı yavru dünyaya getiremedikleri için verilen isimdir. Latince tocos-doğum ve pherin-meydana getirmek sözcüklerinden oluşur (20).

E vit “Tokoferoller” ve “Tokotrienoller” olarak iki ana grupta toplanabilen, 6 kromonal türevleri olan 8 doğal bileşiği içerir. Kimyasal formülü aşağıda verilmiş olan tokoferoller; üçü asimetrik, onaltı karbonlu bir isoprenoid lateral zincir içeren, 6-hidroksi kroman (tokol) türevleridir (15, 40, 74, 143). E vit’in kimyasal yapısı şekil 4’te gösterilmiştir (50).



Şekil 4. E vit’in kimyasal yapısı (50).

Bu bileşikler molekülün kromonal halkasındaki metil gruplarının sayı ve pozisyonuna göre α , β , γ ve δ tokoferoller olarak adlandırılır. Ayrıca, besinler içinde yer alan tokotrienoller de düşük derecede E vit etkinliği gösterirler (50).

Tokoferoller, oda sıcaklığında açık kahverengi veya sarı renkte yapışkan kıvamda, ancak yüksek saflıkta renksiz ve kokusuz olan yağlardır. Suda çözünmezler, alkol, hekzan, benzen, kloroform gibi organik çözücülerde çözünürler. Alkali, ısı (200°C ve daha yüksek) ve ışığa özellikle ultraviyoleye karşı dayanıksızdır. Buna karşın asitlere karşı dayanıklıdır. Vitaminlerden A, Be, B₁₂, C ve K ile ayrıca folik asit, östradiyol, testosteron, çinko, somatotropik hormon ve oksidantlar ile de antagonisttirler (85, 93).

E vit'in hidrofobik özelliği vardır. E vit, az miktarda da olsa biyolojik zarlarda bulunur. Yağda çözünen bir vitamin olmasına karşın taşıdığı hidroksil grubu nedeniyle zayıf amfipatik özellik gösterir. Bu yönüyle kolesterole benzer (144).

α -Tokoferol için önerilen günlük gereksinim erkeklerde 10 mg, kadınlarda 8 mg'dır. E vit gereksinimi, çoklu doymamış yağ asiti alımı arttığında yükselir (27, 72).

2.6.2.Emilimi

Diyetle yağda çözünmüş olarak alınan E vit, yağ sindirimi sırasında açığa çıkar ve enterositler tarafından intestinal kanaldan absorbe edilir. Absorbe edilen E vit, şilomikron adı verilen damlacıklar halinde lenfe, oradan da venöz kana geçer. Şilomikronlarla karaciğere taşınır, özellikle de düşük dansiteli lipoproteinler (LDL) ile perifer dokulara dağılır. Vücutta karaciğerden ziyade yağ dokusunda depolanır. Depolanan miktarı azdır. Dokularda, mitokondri ve mikrozoimler gibi membrandan zengin hücre fraksiyonlarında, yağ hücreleri, bazı endokrin bez hücreleri ve trombositlerde yüksek konsantrasyonda E vit'e rastlanır (40, 76, 90, 102).

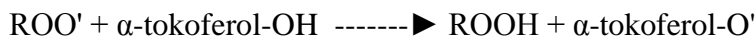
Tokoferolün diyetteki yağda çözülmüş olması ve yağ sindirimi sırasında serbestleşip emilmesi nedeniyle, yağ emiliminde bozukluk olması durumunda E vit eksikliği görülür (102).

E vit, A vit ile yakın ilişki içerisinde olup mide-bağırsak sisteminden emilimini arttırarak karaciğer ve diğer organlarda A vit konsantrasyonunun mümkün olan en üst düzeyde tutulmasını sağlar. Bu sırada A vit'in de oksidatif stresten korunmasına yardımcı olur (20).

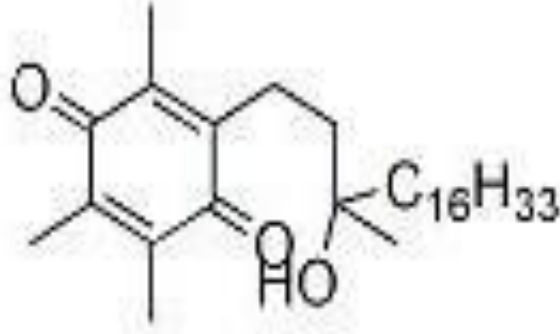
2.6.3. Antioksidan özelliği

Sellüler ve subsellüler membranlardaki fosfolipidlerin, alfa-tokoferole karşı afiniteleri yüksektir. Bu membranlarda E vit, süperoksit ve hidroksil radikalini, singlet oksijeni, lipid peroksidlerini ve diğer radikalleri daha az aktif formlara dönüştürerek, membranları lipid peroksidasyonuna karşı koruyan güçlü bir antioksidandır (15, 95, 120, 131).

Bu antioksidan etkisiyle hücre membranındaki değişiklikleri önler (40). Ayrıca, molekül, lipid peroksit radikalini (ROO') ortadan kaldırarak da lipid peroksidasyon reaksiyonlarını sona erdirdiğinden, zincir kırıcı antioksidan olarak bilinir (30). E vit, peroksitler üzerindeki nötralize edici etkisini, bir fenolik hidrojen atomunu peroksit radikaline transfer etmek suretiyle yapar (76, 95). Serbest radikali ortadan kaldırırken; kendisi, normal şartlarda tek başına lipid peroksidasyonunu başlatamayacak kadar inaktif bir form olan, tokoferoksil radikaline (α -tokoferol-O') dönüşür.



Oluşan tokoferoksil radikali, glutatyon ve C vit ile tekrar aktif hale getirilir veya yeni bir peroksit radikali ile reaksiyona girerek stabil quinone formuna (serbest olmayan radikal) okside olur (15, 39). E vit'in serberst olmayan radikalinin yapısı şekil 5'te gösterilmiştir (95).



Şekil 5. E vitamininin serbest olmayan radikalinin yapısı (95).

Bu oksidasyon ürünü, karaciğerde glukuronik asid ile konjugasyona uğrayarak, glukuronidasyon yoluyla metabolize olur ve büyük oranda safra ile atılır (95).

Oksidasyon sırasında ortaya çıkan süperoksit, diğer radikaller ve peroksit, membran enzimlerinden sitokrom P-450 oksidaz ve ksantin oksidaz tarafından katalizlenerek diğer proteinlerle serbest radikalleri oluştururlar. Bu serbest radikaller daha sonra mitokondri, mikrozom ve hücre zarlarında bulunan fosfolipidlerin doymamış yağ asitlerini oksitleyerek bozuklukların ortaya çıkmasına neden olur (76, 90).

2.6.4.Eksikliği

Çeşitli hayvan türlerinde ve insanlarda E vit eksikliğine bağlı bozukluklar çok farklıdır. Laboratuvar hayvanlarındaki E vit eksikliği, üreme sistemlerinde bozukluklar oluşturur. Erkeklerde testis atrofisi, testiküler dejenerasyon ve sterilite (seminifer tübüllerin dejenerasyonu ve spermatogenezis yetersizliği) dişilerde ise; ovaryum fonksiyonunun normal kalmasına rağmen uterus fizyolojisinin bozulması sonucu fetal rezorbsiyon ya da ölü yavru doğumlar meydana gelir (9, 32, 93, 106).

Ayrıca karaciğer nekrozu, gelişmede yavaşlama, kas distrofi, böbreklerde tübül dejenerasyon ve embriyoda vasküler dejenerasyonlar şekillenmektedir (106, 115, 123).

Yetersiz E vitamini alan ratların lizozomlarının fragilitelerindeki artış nedeniyle bunlardan serbestlenen hidrolitik enzimlerin dokularda ayrı ayrı substratlara etkiyerek nükleik asit, protein, karbonhidrat, mukopolisakkarit ve öteki hücre komponentlerinin genel bir yıkımına neden olduğu bunun sonucunda da tipik bir kas distrofisine, özellikle vücudun savunma sisteminde rol oynayan fagositik hücrelerin tahribinden dolayı fagositik aktivitede bozukluklar ve ayrıca immun cevapta yetersizlikler görüldüğü bildirilmiştir (124, 142).

İnsanlarda uzun süren E vitamini yetersizliği, eritrositlerde hemoliz artışı, pulmoner hipertansiyon, immun cevapta ve fagositik fonksiyonlarda azalma (50), düşük doğum ağırlığındaki bebekler, irritabilite, hemolitik anemi, yeni doğanların kalbinde intraventriküler kanama, eritrositlerin yaşama sürelerinde kısalma ve fragilitelerinde artışa neden olmaktadır (123, 141).

Son yıllarda E vitamini noksanlığının bağışıklık sistemini de önemli derecede etkilediği bilinmektedir. Besinlere E vitamini ilave edildiği zaman çoğu enfeksiyon hastalıklarına direnç artar. E vitamini, T lenfositlerin aktivitelerini artırarak hücrel immüniteyi stimüle eder.

Bunun yanısıra A ve E vitaminleri yüksek oranlarda bir arada alınırlarsa E vitamini, A vitamini'nin hücrelere girişini engellemek suretiyle miktarını azaltabilir.

E vitamini yetersizliği, değişik türlerde değişik olmakla birlikte genellikle esas lezyon hücre duvarındaki yapılarda görülen bozukluklardır. Eğer bu dejenerasyon kan damarlarındaki yapılarda ise kanamaya kadar varan bozukluklar görülür. Çoğu klinik ve histopatolojik değişiklikler E vitamini ile ilgilidir. Besinlerde bulunan Se, E vitamini'nin emilmesinde etkili bir maddedir (123).

E vit'den yoksun büyüyen çeşitli türdeki hayvanlarda geri dönüşü mümkün olmayan infertilite ortaya çıkmıştır (148).

Sığır Leydig hücrelerinin kültür ortamına E vit eklendiğinde, hücrelerin yaşam süresi ve steroidojenik etkinliğinin arttığı görülmüştür (92).

E vit'in sıçanların hipofiz-gonad eksenine olan etkisinin araştırıldığı bir çalışmada E vit eksikliğinin, gonad işlevini durduran bir etki göstererek Leydig hücrelerinde hormon sentezini azalttığını feedback mekanizması yoluyla hipofizden LH salınımını arttırdığı saptanmıştır (5).

Oksidatif hasar spermleri direkt olarak etkileyebileceği gibi spermatogenezi etkileyerek de sperm fonksiyonunu bozabilir. İnfertil erkeklerde hasarlı sperm fonksiyonu, lipid oksidasyonu ve spermatozoadaki antioksidan enzimlerin işlev bozukluğu ile ilişkilidir. E vit dokulardaki antioksidan sistemlerde serbest radikalleri temizleyen önemli bir maddedir. Kronik demir intoksikasyonuna bağlı testis oksidasyonu E vit verilerek azaltılabilir (89).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın yazımı sırasında kullandığımız biyolojik ve tıp terimlerinin yazımı ve Türkçeleştirilmesinde Histoloji ve Embriyoloji Terimleri Sözlüğü kullanılmıştır (59).

3.1.Deney Hayvanları

Çalışmamızda, 4 aylık 220-320 gr ağırlığında toplam 32 adet erişkin erkek Sprague-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda anabilim dalımız hayvan odasında, uygun kafesler içinde barındırılarak serbestçe beslenmeleri ve su içmeleri sağlandı. Çalışmamızda yapılan tüm işlemler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 02.02.2011 tarihli ve 185-1 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Deney hayvanları ;

- 1) Kontrol grubu : Kontrol grubu sıçanlarına, 7 gün boyunca günde 1 kez sıçanların vücut ağırlıklarına göre hacmi hesaplanarak belirlenen dozda serum fizyolojik (CP çözücüsü olduğundan) ve zeytinyağı (E vit çözücüsü olduğundan) i.p olarak verildi.
- 2) CP grubu : Bu gruba 7 gün boyunca günde 1 kez 20 mg/kg CP serum fizyolojik içinde çözdürülerek verilmiştir. Daha sonra zeytinyağı, hayvanların ortalama vücut ağırlıklarına göre hacmi hesaplanarak yine i.p yolla verilmiştir.
- 3) CP + E vitamin grubu : Bu gruba 7 gün boyunca günde 1 kez 20 mg/kg CP (86) uygulanmış ve uygulamadan hemen sonra 200 mg/kg E vit (126, 129) i.p olarak verilmiştir.

- 4) E vit grubu : Bu gruba 7 gün boyunca günde 1 kez 200 mg/kg E vit verilmiş ve uygulamadan hemen sonra belirlenen dozda serum fizyolojik i.p olarak verilmiştir.

3.2.Kimyasallar

CP olarak, Eczacıbaşı-Baxter firmasının Endoxan® 1 g adlı ürünü kullanıldı. E vit olarak Aksu Farma (İstanbul/Türkiye) firmasının Evigen adlı ürünü kullanıldı. Zeytinyağı olarak Karden firmasının naturel sızma zeytinyağı kullanıldı.

3.3.Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

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

3.4.Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması

Dokuların tespitinde kullanılacak Bouin çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı;

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

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

Çözelti kullanılmadan önce süzöldü. Bouin çözeltisini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi ile formaldehit, daha sonra üzerine yavaşça glasiyal asetik asit ilave edilerek karıştırıldı (14).

3.5.Dokuların Alınması

Hayvanlar 7. günün sonunda vücut ağırlıkları ölçölüp kaydedildikten sonra ketamin (Ketalar 90 mg/kg) + ksilazin (Alfazyme 10 mg/kg) i.p. olarak verilerek servikal dislokasyon ile öldüröldü. Hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı.

3.6.Testis Ağırlıklarının Ölçümü

Çevre dokularından iyice temizlenen testislerin her biri Ohaus (Adventurer Pro AV264C) marka hassas terazi ile tartıldı. Testis ağırlıkları her sıçan için ayrı ayrı sağ ve sol olmak üzere tartılarak kayıt edildikten sonra, sol testisler Bouin çözeltisine alındı. Sağ testisler ise yedek dokular olarak ayrıldı.

3.7.Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Çıkarılmış testislerin üzerine Bouin çözeltisi dököldükten sonra testislerin uzun eksenlerine dik olacak şekilde enjektör ucu ile testislerin kapsüllerine karşılıklı birkaç delik açıldı. Dokuların tamamı Bouin çözeltisine alındıktan sonra ve testis dokuları sertleştikten sonra testisler enine olacak şekilde önce ortadan iki eşit parçaya ve daha sonra bu parçalar da yeniden ikiye bölünerek kasetlere alındı. Dokular Bouin çözeltisinde toplam yirmi dört saat bekletildi ve daha sonra doku takibi uygulanarak her hayvana ait parafin bloklar hazırlandı. Her testisten 2 blok elde edildi.

Parafin bloklar hazırlamak için kullanılan doku takip yönteminin basamakları aşağıda gösterilmiştir.

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

Kimyasal	Uygulama Süresi (saat)
Bouin Çözeltilisi	24
%70 Alkol	1
%80 Alkol	1
%95 Alkol I	1
%95 Alkol II	1
%100 Alkol I	1
%100 Alkol II	1
Ksilol I	1
Ksilol II	1
%50 Parafin - %50 Ksilol	1
Parafin I	1
Parafin II	1
Parafin III	1
Bloklama	

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

Kesitlerin boyanmasında kullanılacak boya çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı (14).

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

Schiff çözeltisi boyama yapılmadan 1 gün önce hazırlandı. Periyodik asit saf suda çözdürüldü ve kaynatıldı. Kaynatılan çözeltiliye bazik fuksin eklenerek karıştırıldı ve 50°C'ye kadar soğutuldu. Daha sonra 2 g potasyum metabisülfid eklenerek karıştırıldı. Oda sıcaklığına geldiğinde 2 ml hidroklorik asit eklenerek karıştırıldı, sonra 2 g aktif kömür eklenip yeniden karıştırıldıktan sonra karanlık ortamda oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü.

3.9.Toluidin mavisi boyasının hazırlanışı

1 gr toluidin mavisi, 100 cc distile su içinde çözdürüldü. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü.

3.10.Kesitlerin Alınması ve Boyanması

Her bloktan 60 µm trim aralığı ile 3 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Her lam üzerinde 2 kesit olacak şekilde ve kesitin alınma sırasına göre lamalar numaralandı. Her

bloktan alınan 3 µm kalınlığındaki seri kesitlerden oluşan 2 adet lam (64 kesit) mikroskopik inceleme için PAS+H boyası, H-E ve Toluidin mavisi ile boyandı.

Boyama yönteminin basamakları ve uygulama süreleri aşağıda gösterilmiştir.

1) PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri :

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

2) Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri :

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

3) Toluidin mavisi boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri :

Kimyasal madde	Uygulama süresi (dk)
Ksilol I	15
Ksilol II	15
%96 Alkol I	5

%96 Alkol II	5
%90 Alkol	5
%80 Alkol	5
%70 Alkol	5
Distile Su	5
Toluidin mavisi	10
%70 Alkol	2
%80 Alkol	2
%90 Alkol	2
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	2
Ksilol I	10
Ksilol II	10
Lamların kapatılması	

3.11.Histolojik Değerlendirme

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

Kesitler incelenirken, interstisyel alanlar ve seminifer tübüller ayrı ayrı olarak değerlendirildi. Leydig hücre hasarı, seminifer tübül hasarı ve mast hücre yoğunluğu dikkate alındı.

3.12.İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi Windows için SPSS 18.0 paket programında yapıldı. Sürekli ölçümlü değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Normalite testinin sonuçlarına göre parametrik veya non parametrik testler uygulandı.

Vücut ağırlığı düzeyleri ve testis ağırlıkları var olabilecek farkın önemliliği açısından parametrik (paired samples t-test) ve non-parametrik testler (Kruskal Wallis ve Wilcoxon testi) ile araştırıldı.

$p<0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmamızdan elde edilen ve hesaplanan ağırlık verileri Tablo 1 ve 2’de verilmiştir. Işık mikroskopik gözlemlere ait veriler ise mikrograflar eşliğinde aşağıda ilgili bölümde yer almaktadır.

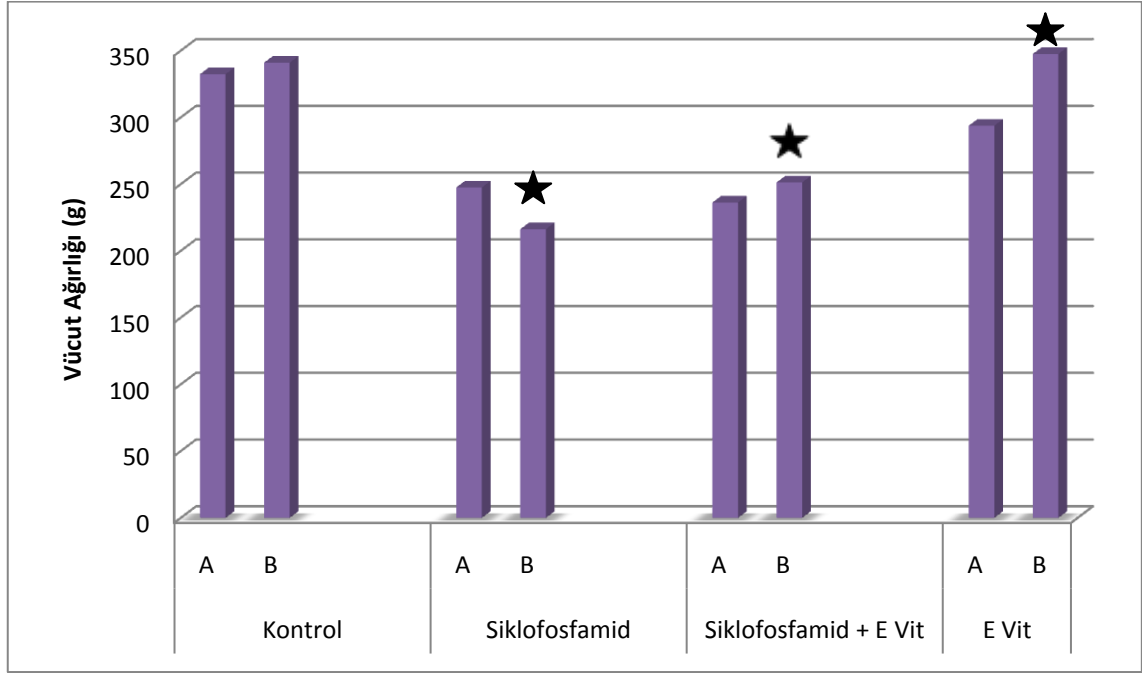
4.1.İstatistiksel Bulgular

Çalışmamızda deney grupları arasında vücut ağırlıkları ve testis ağırlıklarının değişim gösterip göstermediği istatistiksel olarak değerlendirildi. Sürekli ölçümlü değişkenlerin dağılımının normale uygun olup olmadığı Shapiro Wilk testi ile araştırıldı. Normalite testinin sonuçlarına göre parametrik (paired samples t-test) ve non parametrik testler (Kruskal Wallis ve Wilcoxon testi) uygulandı. $p < 0.05$ için sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4.1.1.Vücut ağırlıkları

Kontrol grubunda deney öncesi ve deney sonrası deneklerin vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmedi ($P > 0,05$). CP uygulanan grupta deney öncesi vücut ağırlığı deney sonrasında yüksekti, önemli derecede anlamlıydı ($P < 0,05$). CP + E vit uygulanan grupta deney sonrası vücut ağırlığı deney öncesinden yüksekti, önemli derecede anlamlıydı ($P < 0,05$). E vit uygulanan grupta deney sonrası vücut ağırlığı anlamlı olarak deney öncesinden yüksekti ($P < 0,05$).

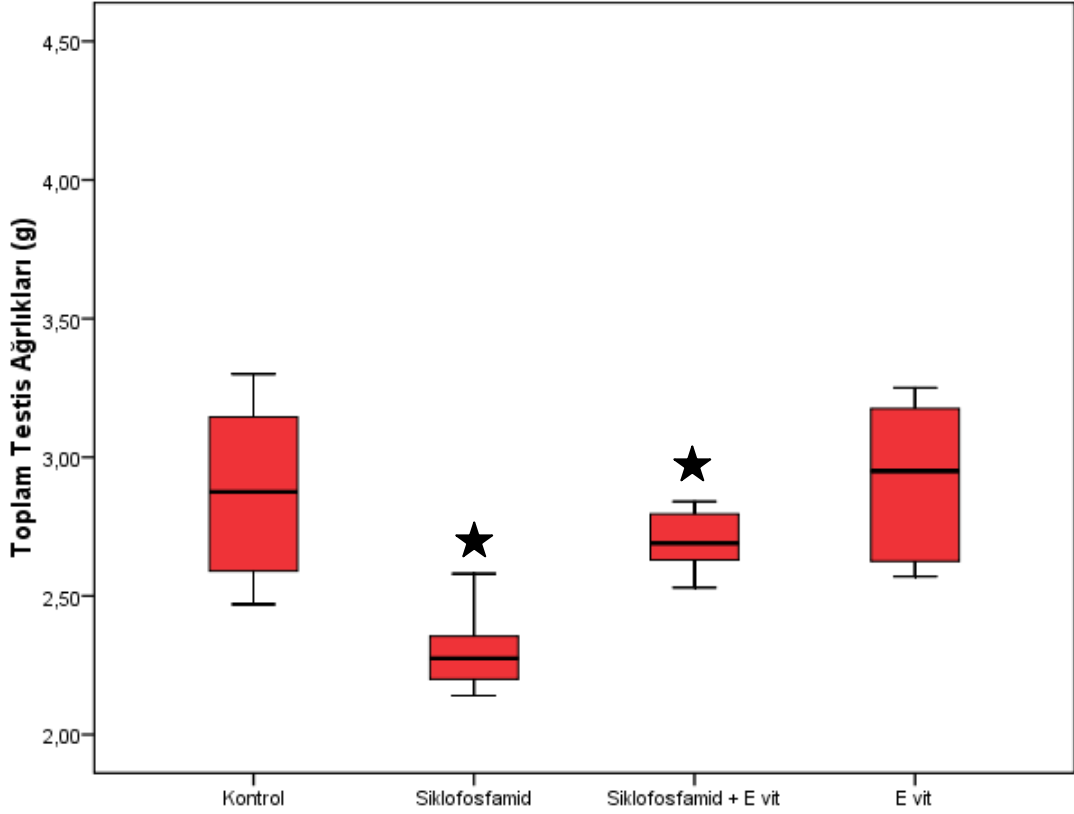
Tablo 1. Grupların deney sonu vücut ağırlıkları (ortalama ± standart sapma) **A:** Deney öncesi vücut ağırlıkları **B:** Deney sonrası vücut ağırlıkları (★ : p<0,05).



4.1.2. Toplam testis ağırlıkları

Kontrol grubu testis ağırlığı düzeyi CP uygulanan gruba karşın daha yüksekti ve önemli derecede anlamlıydı ($P < 0,05$). CP grubu testis ağırlığı düzeyi CP + E vit uygulanan grupla karşılaştırıldığında CP + E vit uygulanan grubun testis ağırlığı, CP uygulanan gruba göre daha yüksekti, önemli derecede anlamlıydı ($P < 0,05$). Ancak kontrol grubu ile E vit uygulanan grubun testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($P > 0,05$).

Tablo 2. Grupların toplam testis ağırlıkları (ortalama \pm standart sapma) (★ : p <0,05)



4.2.Histolojik İnceleme

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

Boyanan preparatlardan elde edilen bulgulara göre; kontrol grubunun yapılan mikroskopik incelemelerinde testiste, bazal lamina yapısı, seminifer tübül yapıları ve interstisyel alan normal yapıda gözlemlendi (Şekil 6-14). İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, eksentrik yerleşimli mor nükleusları ve tipik yerleşim yerleriyle oldukça düzgün görüldü (Şekil 9, 13). PAS + H ile boyadığımız kontrol grubu testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran ve tunika albuginea yapısı normal yapıda gözlemlendi (Şekil 10). Düzgün bir spermatogenezin

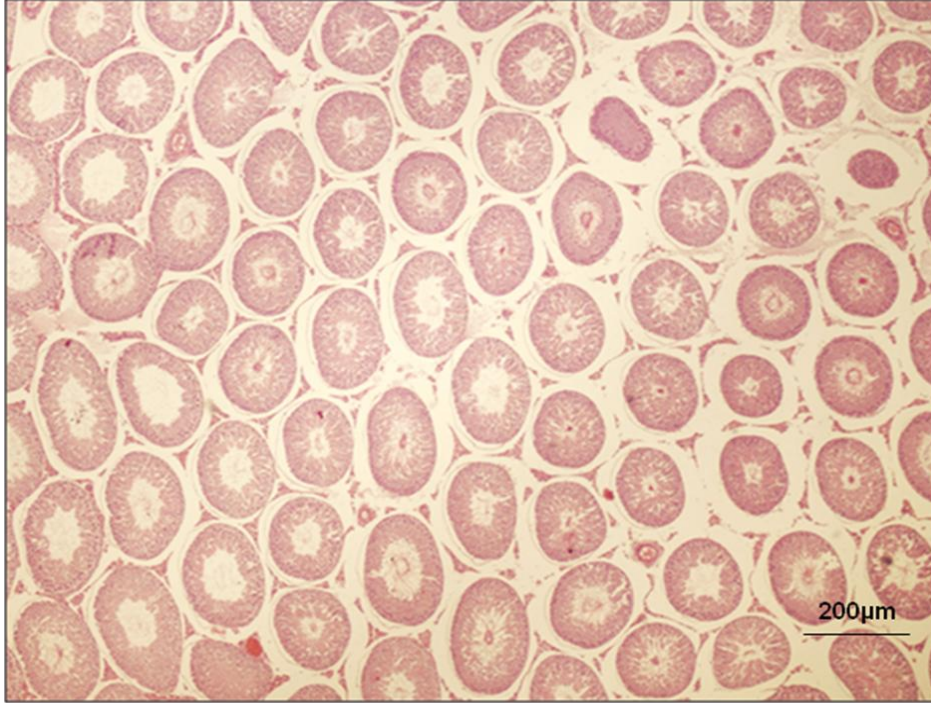
olduğu túbül duvarı, Sertoli hücreleri, çok belirgin spermatogonyumları ve spermatogenik seri hücrelerini içeriyordu (Şekil 9, 11, 12, 13). Gelişmekte olan spermatidler klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümende, baş túbül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş durumdaydı (Şekil 11, 12, 13). İnterstisyel alandaki damarlar normal görünümdeydi (Şekil 13). İnterstisyel alandaki mast hücreleri de normal histolojik yapıda gözlemlendi (Şekil 14).

CP verilen deney grubunu oluşturan sıçan testis dokusu örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde ise seminifer túbüllerde yoğun hasar, hücrel dejenerasyon (Şekil 15, 16) ve túbüler atrofi ortaya çıktığı gözlemlendi (Şekil 15-29). Bu grupta testis dokusunda seminifer túbül duvarındaki spermatogenik hücrelerde yoğun dejenerasyonlar ve hücrel kayıplar ile birlikte incelmış túbül duvarı gözlemlendi (Şekil 15-17, 19-27). Ayrıca bazal laminanın túbül duvarından ayrıldığı görüldü (Şekil 18,21). Túbül duvarında, spermatogenik hücreler ve spermatogenezin hiçbir evresi ayırt edilmiyordu. Ayrıca interstisyel alanda ödem ve damar konjesyonu gözlemlendi (Şekil 17, 19, 26). Túbül duvarında hücrel dökülmeler (Şekil 26, 27), túbüler nekroz (Şekil 24) ve bazal laminada kalınlaşma elde ettiğimiz diğer bulgulardandı (Şekil 24, 25). İnterstisyel alanda bulunan makrofaj ve Leydig hücreleri normal yapıda görüldü (Şekil 27, 28), mast hücrelerinin ise sayıca artmış olduğu dikkat çekti (Şekil 29).

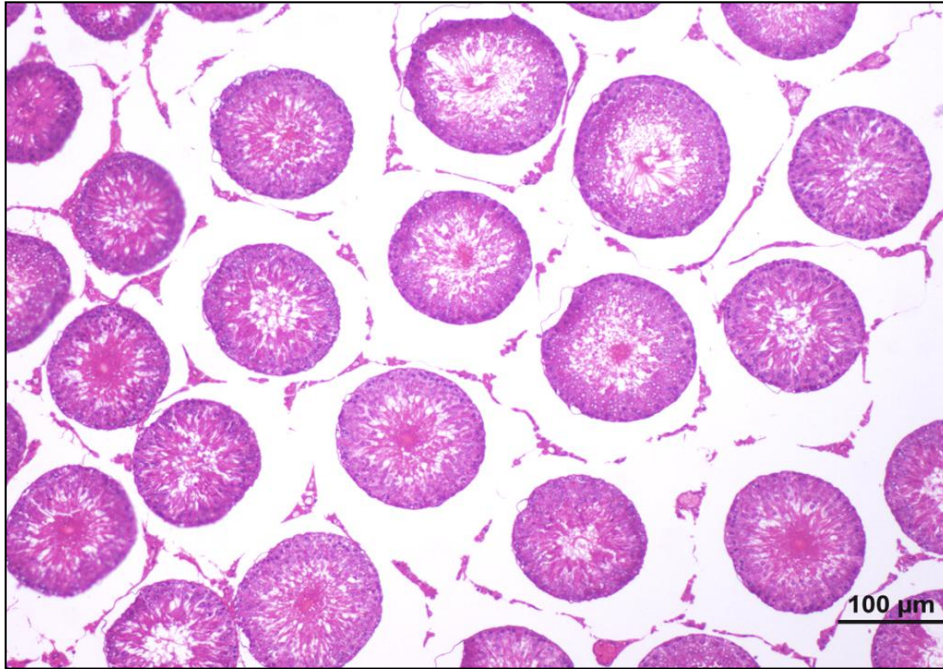
E vit deney grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde ise, gerek bazal lamina ve gerekse seminifer túbül yapıları kontrol grubuna benzer bir yapı gösteriyordu (Şekil 30-33). Spermatogenezin normal devam ettiği gözlemlendi (Şekil 33). PAS pozitif boyanmış normal bazal lamina yapısı görüldü (Şekil 33). Seminifer túbül duvarındaki spermatogenik hücre serileri; spermatogonyum, primer spermatosit, spermatid hücresi ve Sertoli hücresi normal olarak görüldü (Şekil 34). İnterstisyel alandaki hücre yapılarıyla birlikte Leydig hücreleri, damar yapıları ve mast hücreleri normal görünümdeydi (Şekil 35, 36).

CP ile birlikte E vit verilen grupları oluşturan sıçan testis örnekleri üzerinde yapılan ışık mikroskopik incelemelerde, birkaç túbülde hasarın az da olsa devam ettiği

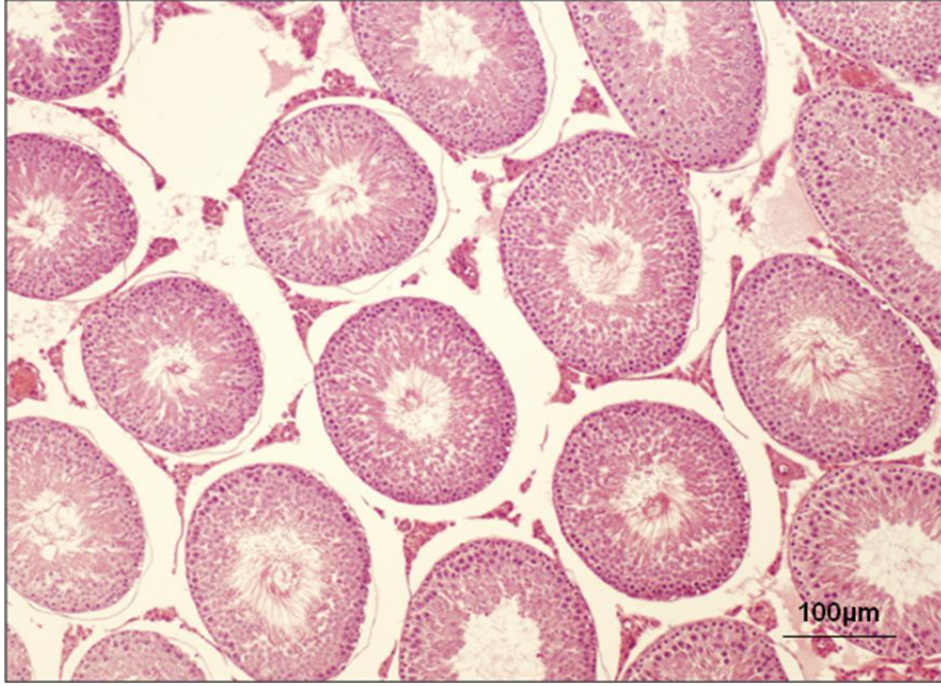
görülmekle birlikte, azalmış tübüler hasar, korunmuş spermatogenik hücreler ile spermatogenezin devam ettiği görüldü (Şekil 37-43). Tek başına CP verilen gruplarda spermatogonyum ve yer yer primer spermatositlerde görülen hücresel bozukluklar, CP+E vit verilen gruplarda ender olarak görüldü. Ayrıca tübül etrafında PAS pozitif boyanmış bazal lamina yapısı normal görüldü (Şekil 39, 42). Normale yakın korunmuş spermatogenik hücreler ile birlikte devam eden spermatogenez dikkat çekmekteydi (Şekil 38, 39, 41, 42, 43). İnterstisyel alanda normale yakın görünümlü Leydig hücreleri ve Toluidin mavisi ile boyanmış mast hücreleri gözlemlendi (Şekil 41, 44).



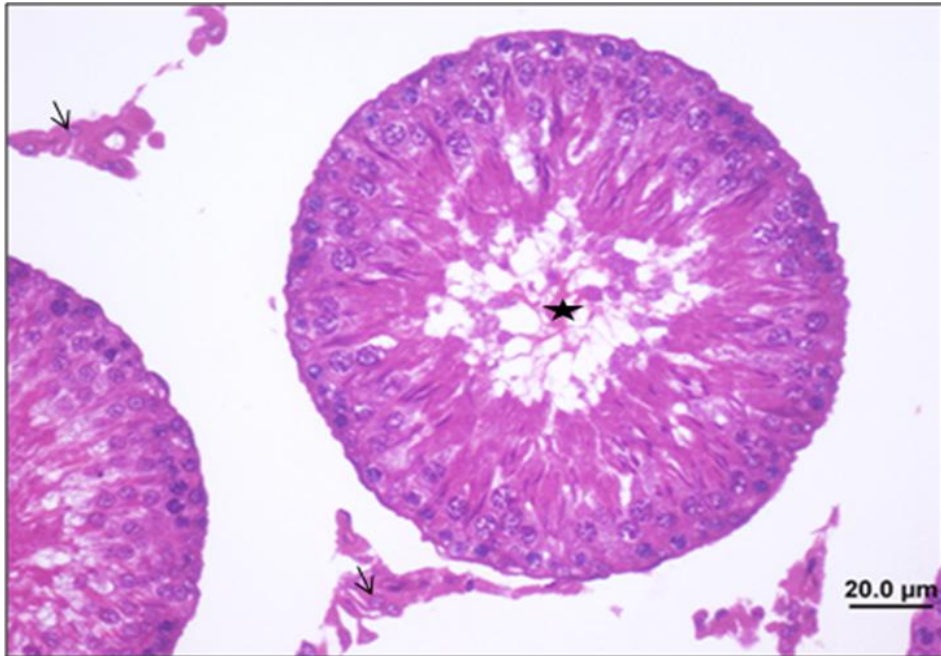
Şekil 6. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve spermatogenik hücreler görülmekte (bar: 200µm, H-E).



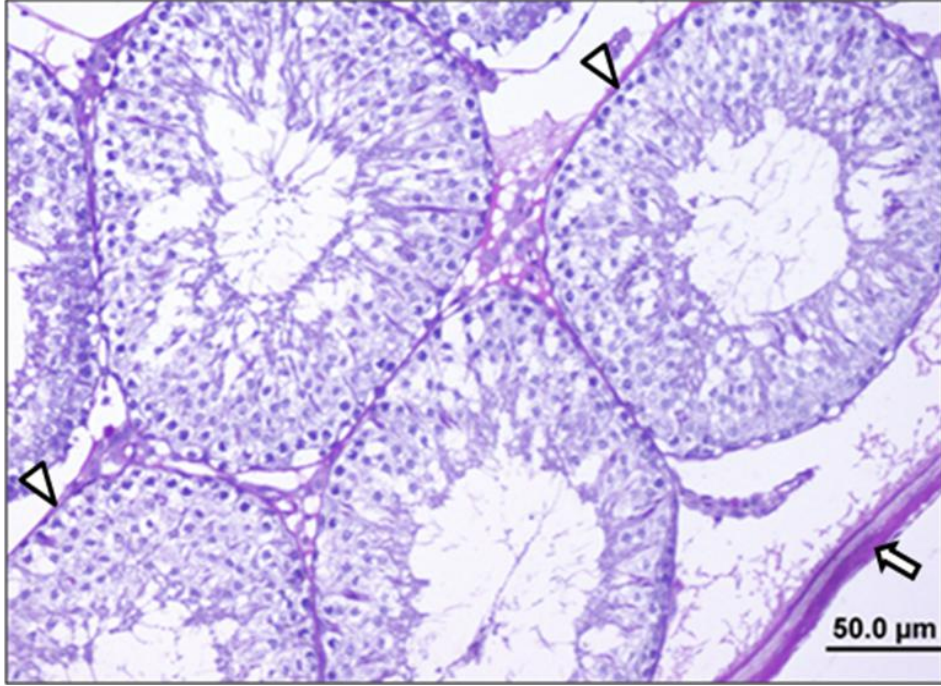
Şekil 7. Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve spermatogenik hücreler görülmekte (bar: 100µm, PAS+H).



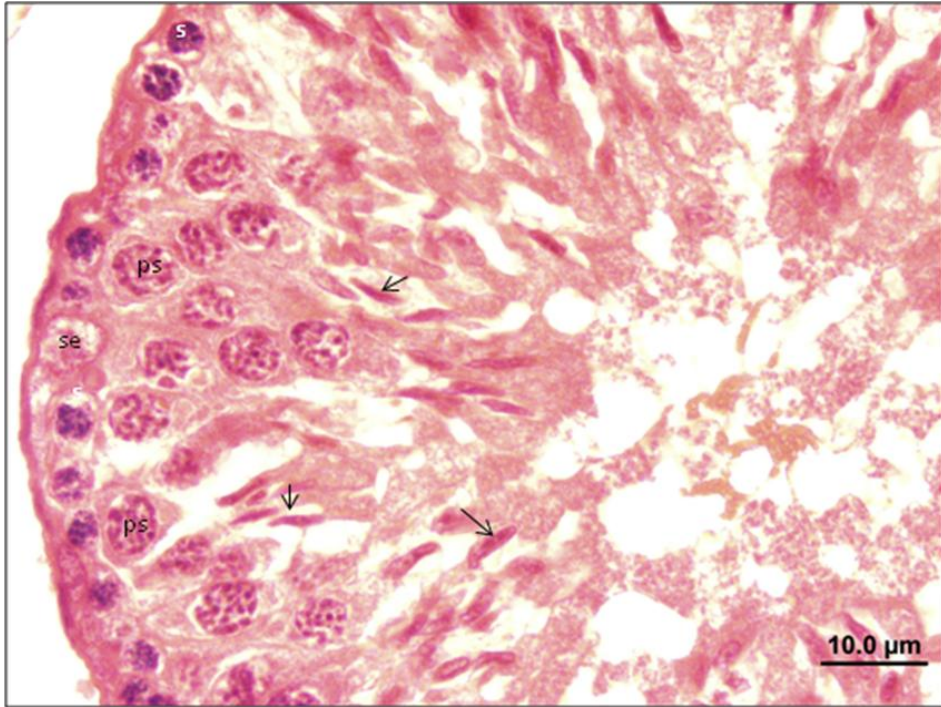
Şekil 8. Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve spermatogenik hücreler görülmekte (bar: 100μm, H-E).



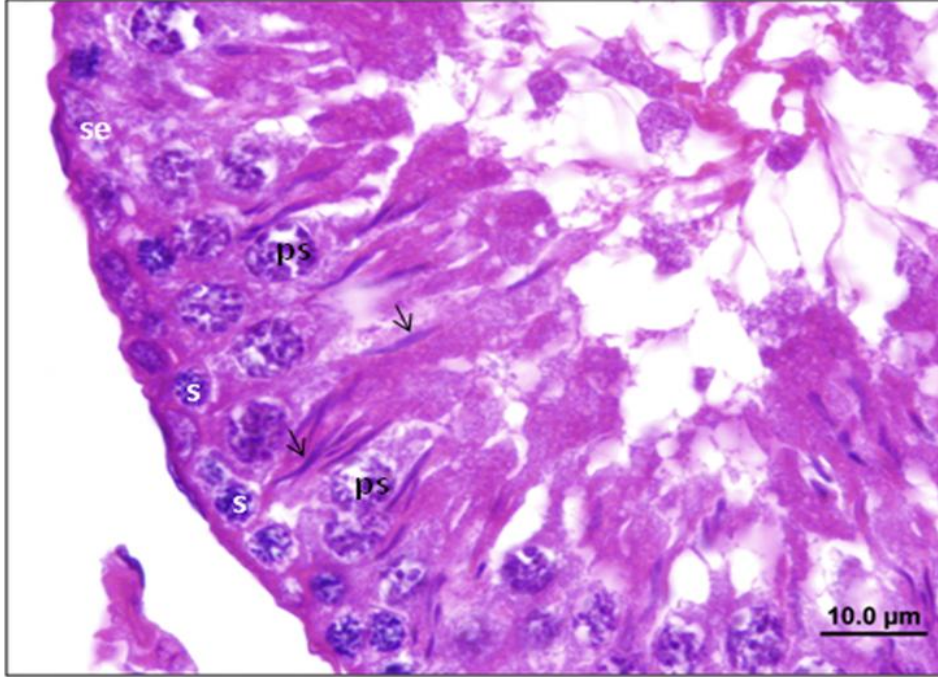
Şekil 9. Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarında normal yapıdaki spermatogenik hücre serileri ve spermatogenez (*) görülmekte. Ayrıca interstisyel alandaki normal yapıdaki Leydig hücreleri (→) ve damar yapıları gözlenmekte (bar: 20.0μm, PAS+H).



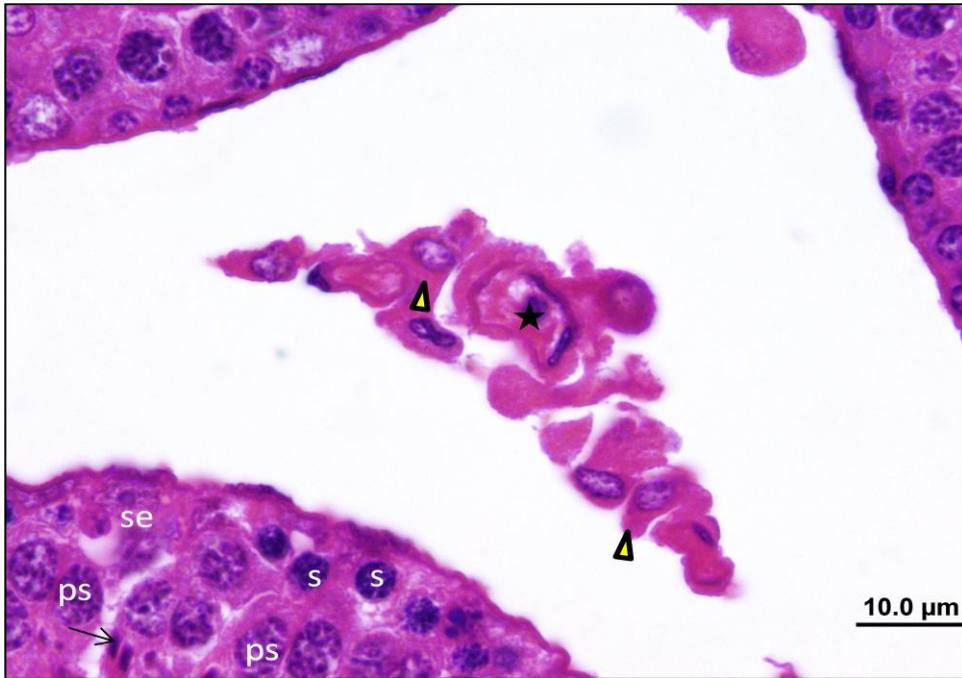
Şekil 10. Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarında normal görünümlü spermatogenik hücreler, bazal lamina (\triangle) ve tunika albuginea yapısı görülmekte (\square) (bar: 50.0µm, PAS+H).



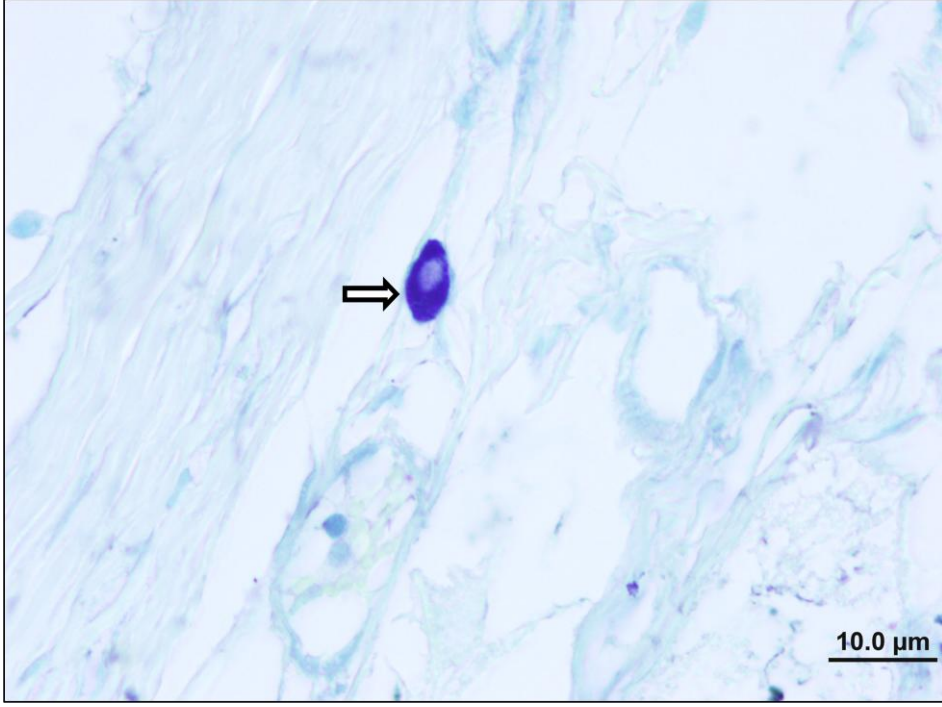
Şekil 11. Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarında normal histolojik yapıdaki Sertoli hücresi (se), spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), spermatid (→) hücreleri ile normal devam eden spermatogenez görülmekte (bar: 10.0µm, H-E).



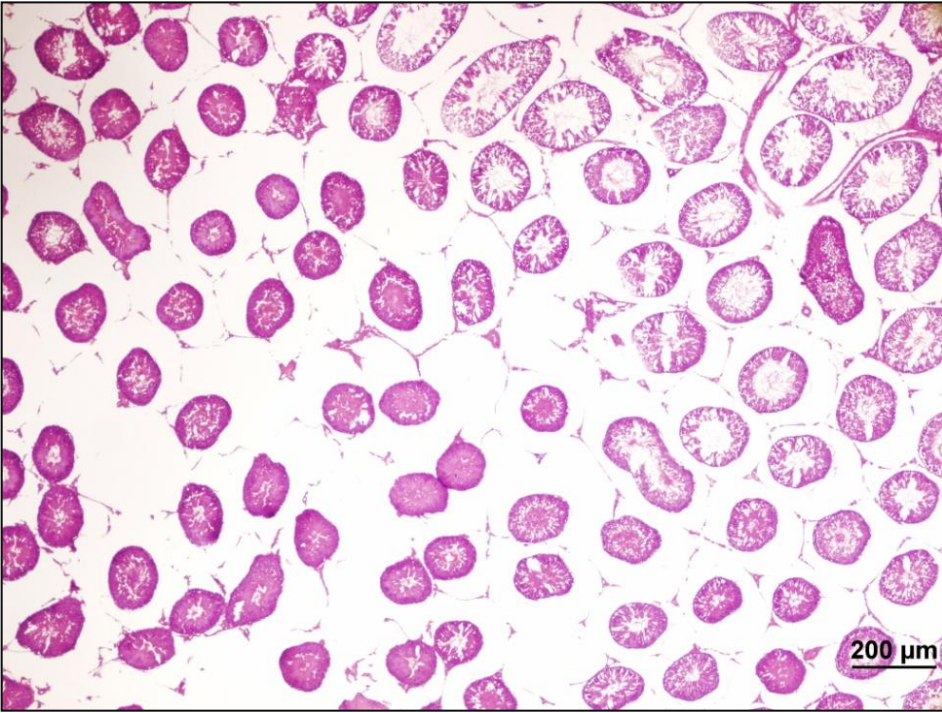
Şekil 12. Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarında normal histolojik yapıdaki Sertoli hücresi (se), spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), spermatid (→) hücreleri ile normal devam eden spermatogenez görülmekte (bar: 10.0μm, PAS+H).



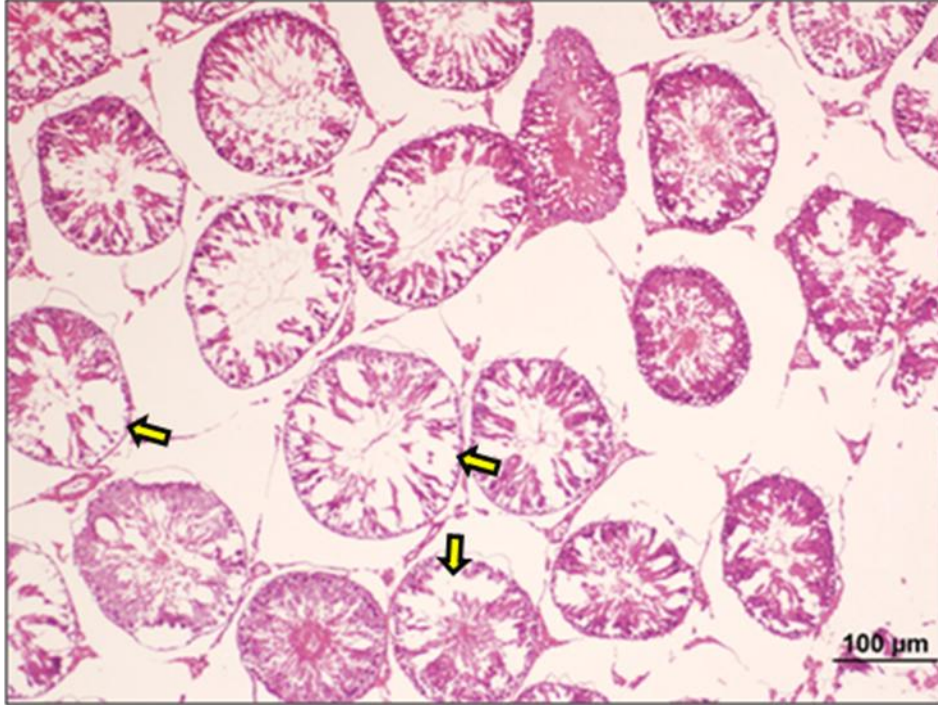
Şekil 13. Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. İnterstisyel alanda normal yapıdaki Leydig hücreleri (▶) ve damar yapısı (*), seminifer tübül duvarında normal yapıdaki spermatogonik hücre serileri spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps) ve spermatid (→) ile Sertoli hücresi (se) görülmekte (bar: 10.0μm, PAS+H).




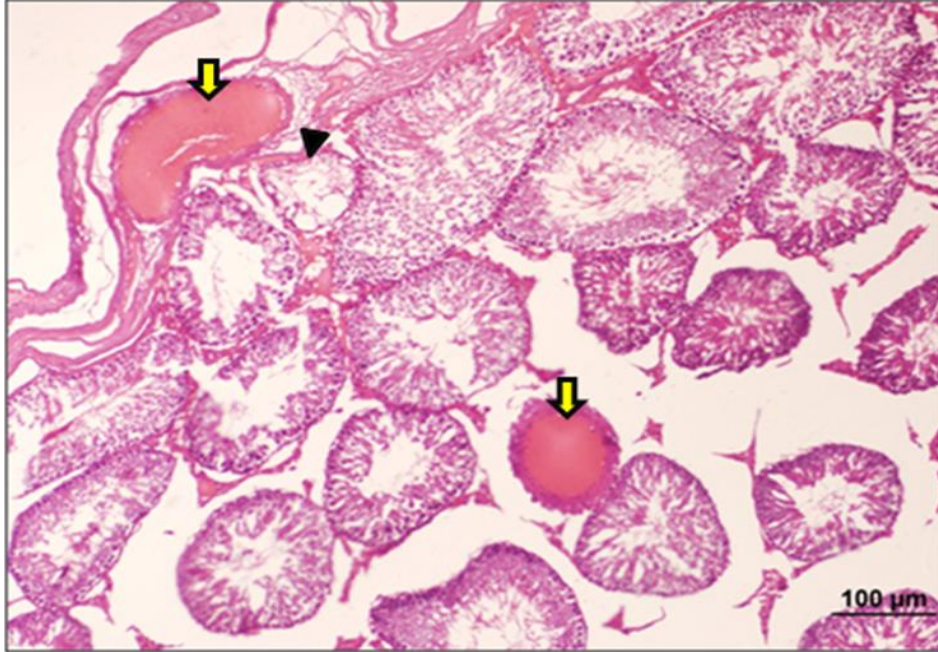
Şekil 14. Kontrol grubuna ait sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. İnterstisyel alandaki mast hücresi (\Rightarrow) görülmekte (bar: 10.0µm, Toluidin mavisi).





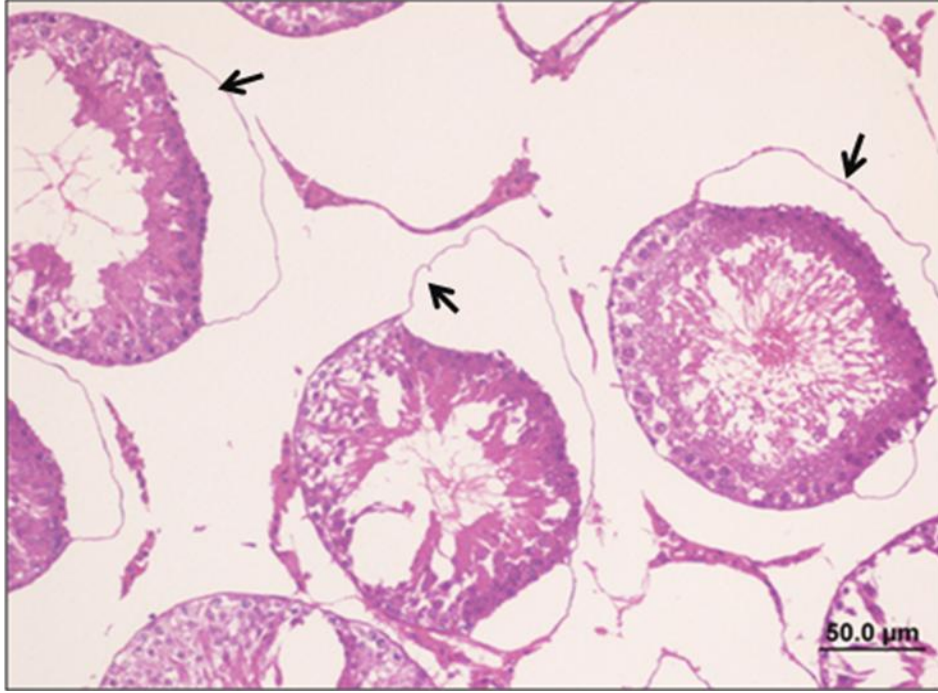
Şekil 15. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübüllerde yoğun hasar ve hücresel dejenerasyonlar dikkat çekmekte (bar: 200µm, H-E).



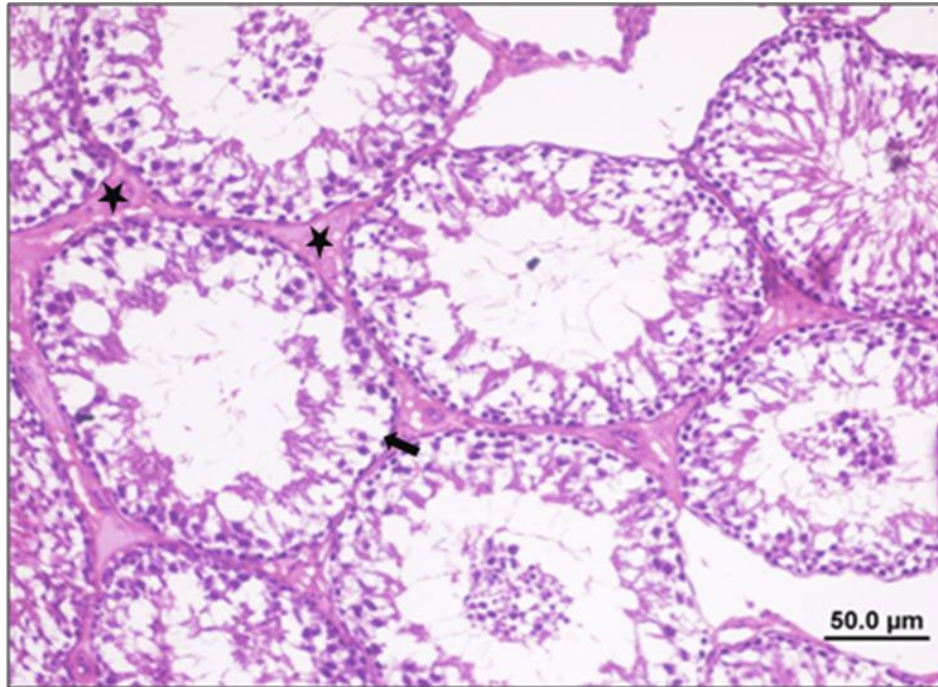
Şekil 16. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde yoğun dejenerasyonlar ve hüresel kayıplar () ile birlikte incelmış tübül duvarı dikkat çekmekte (bar: 100µm, H-E).



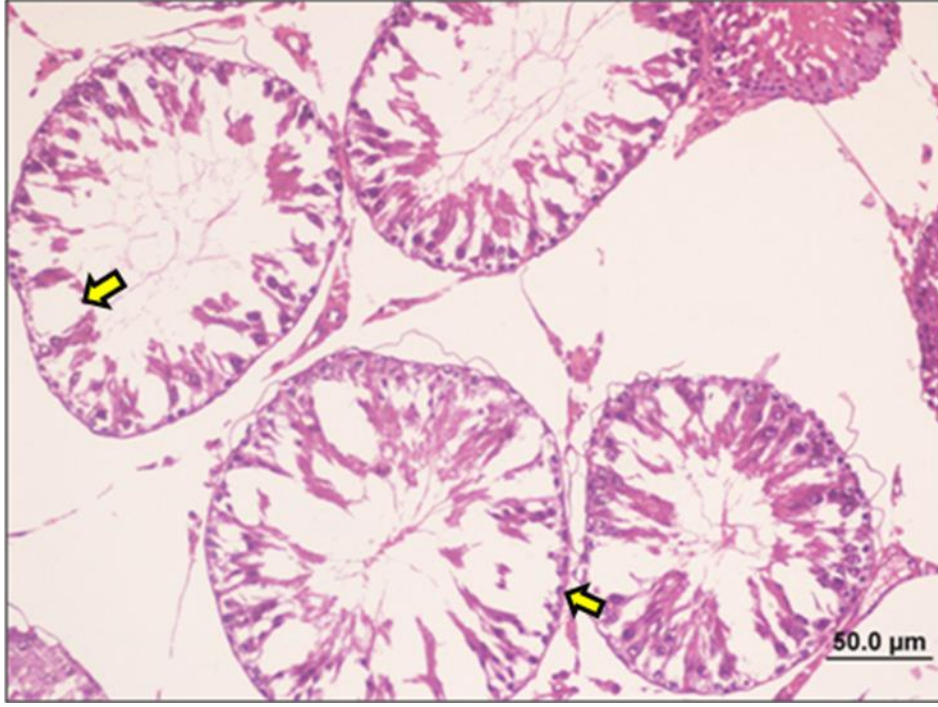
Şekil 17. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde yoğun dejenerasyonlar, tübüler atrofi () ve interstisyel alanda damar konjesyonu () dikkat çekmekte (bar: 100µm, H-E).




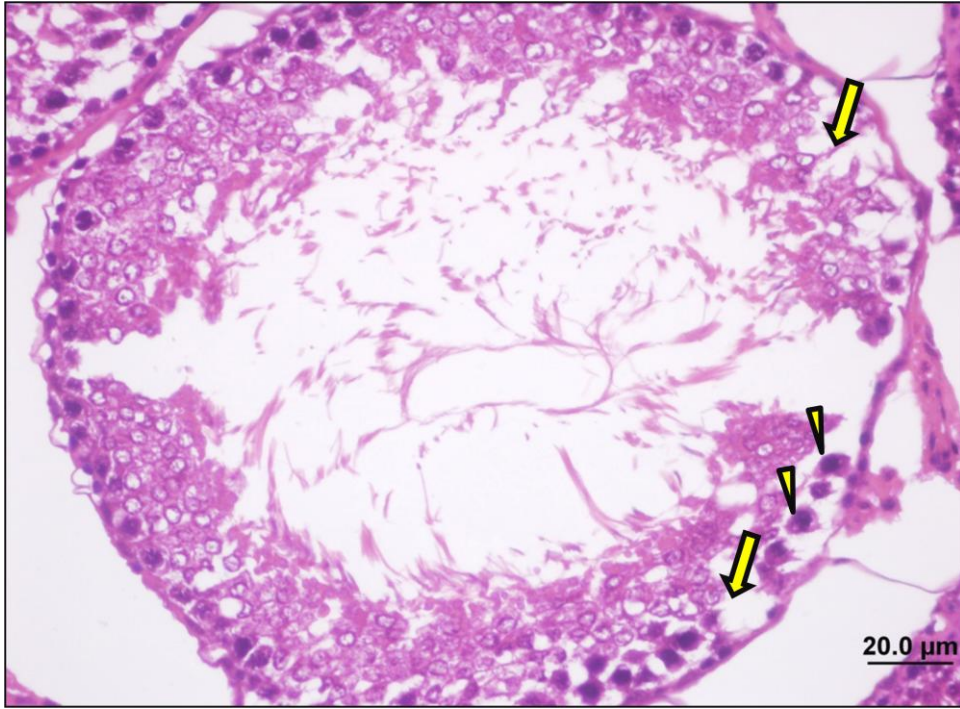
Şekil 18. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde yoğun dejenerasyonlar ve ayrılmış bazal lamina (→) dikkat çekmekte (bar: 50.0 µm, H-E).





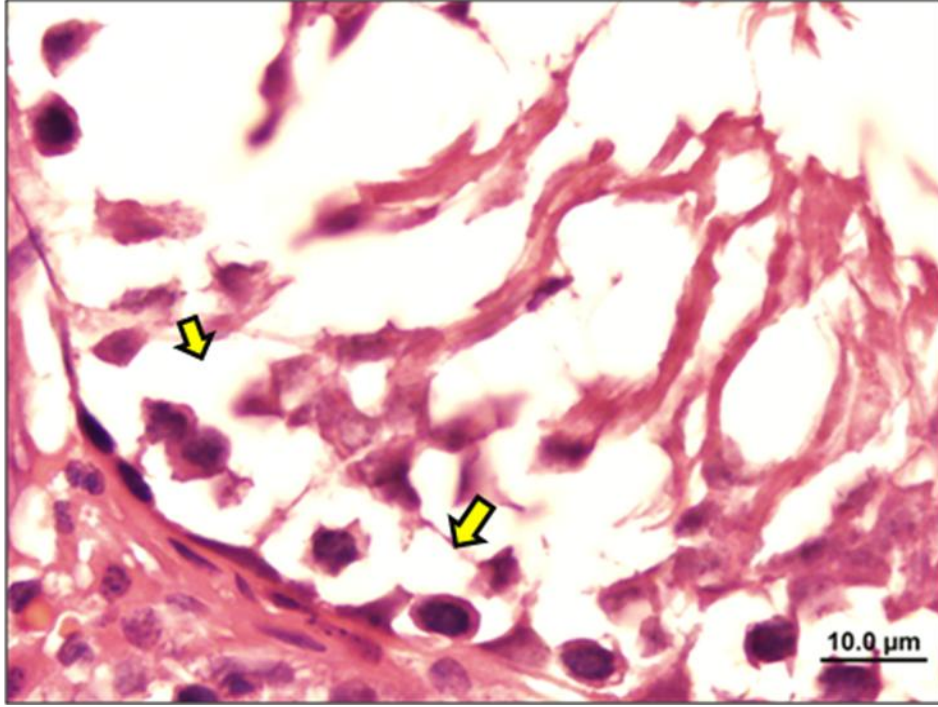
Şekil 19. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Bazal laminadan koparak ayrılmış hasarlı spermatogenik hücreler (→) ve interstisyel alanda ödem (*) dikkat çekmekte (bar: 50.0µm, H-E).



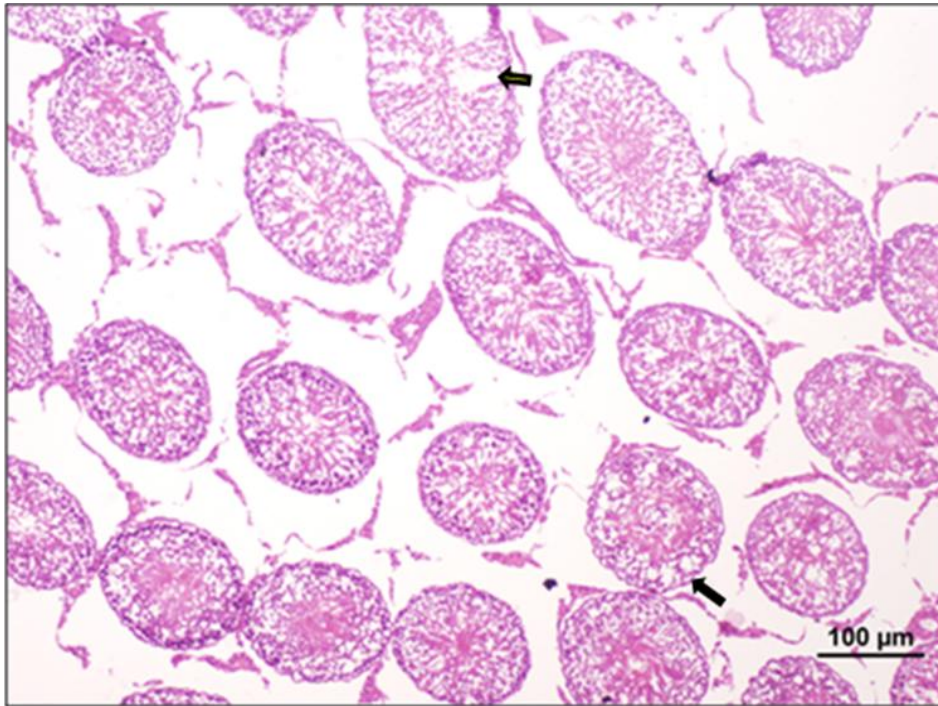
Şekil 20. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde yoğun dejenerasyonlar ve hüresel kayıplar () dikkat çekmekte (bar: 50.0μm, H-E).



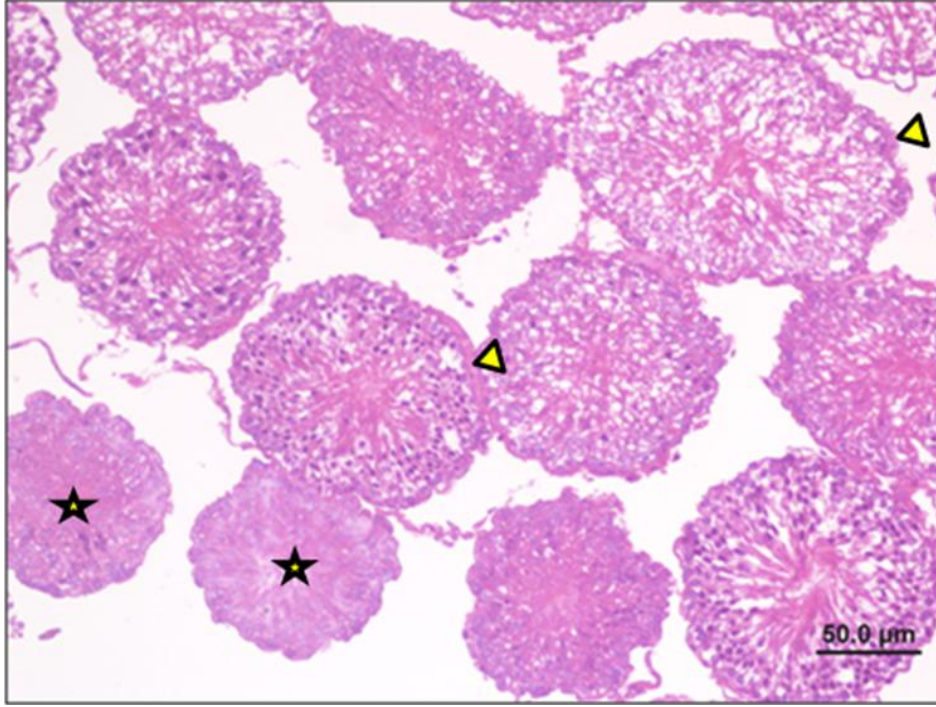
Şekil 21. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Bazal laminadan ayrılmış spermatogenik hücreler () ve dejenerasyon gösteren spermatogonyum hücreleri () dikkat çekmekte (bar: 20.0μm, H-E).



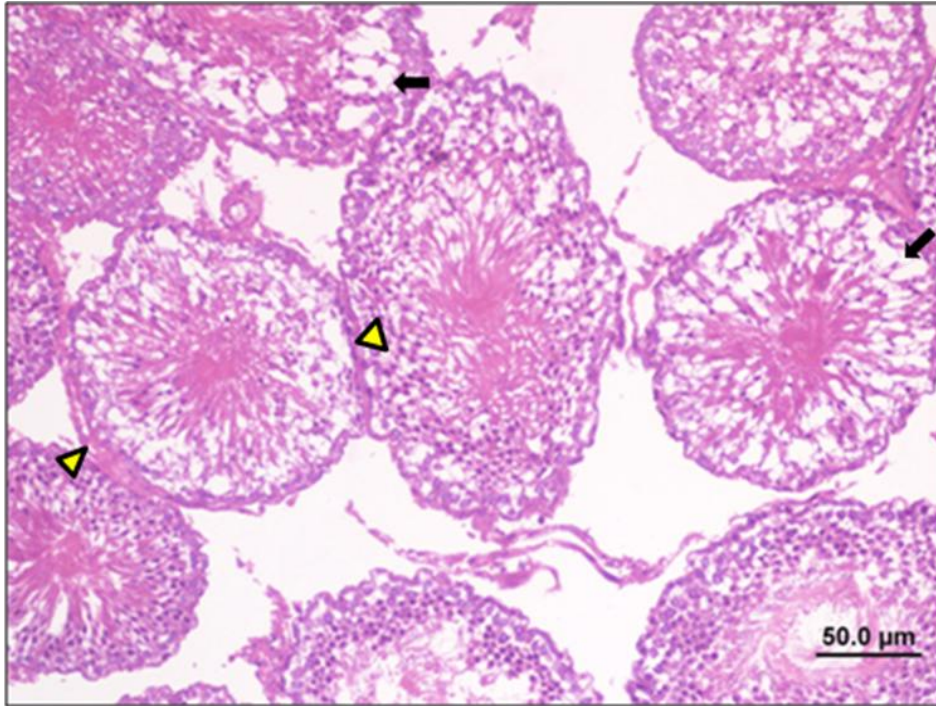
Şekil 22. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde kayıplar ve yoğun dejenerasyonlar (**→**) dikkat çekmekte (bar: 10.0µm, H-E).



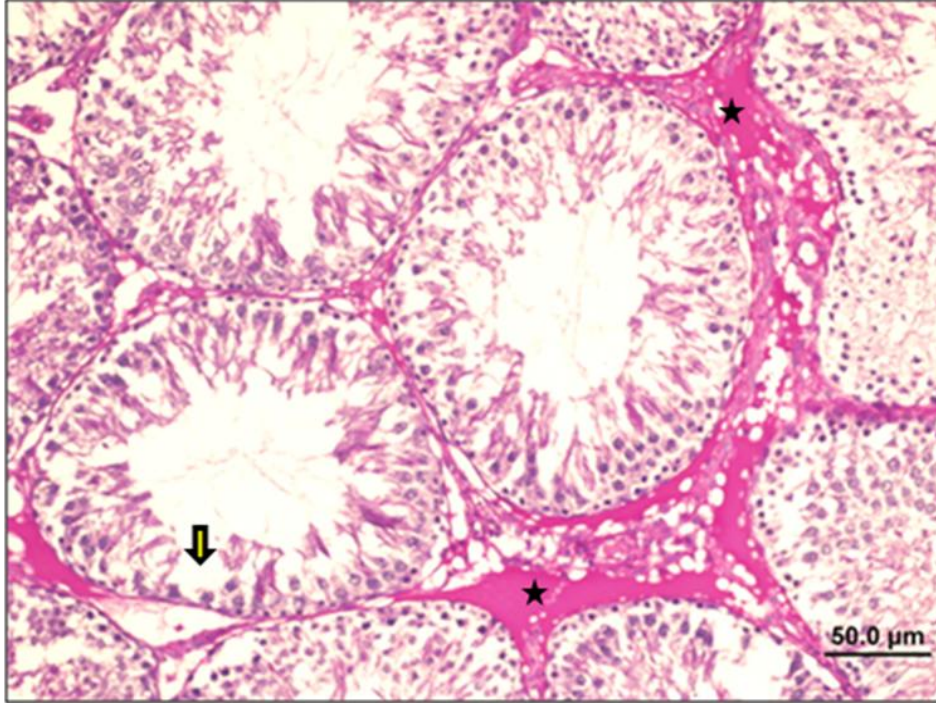
Şekil 23. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde kayıplar ve dejenerasyonlar (**→**) dikkat çekmekte (bar: 100µm, PAS+H).



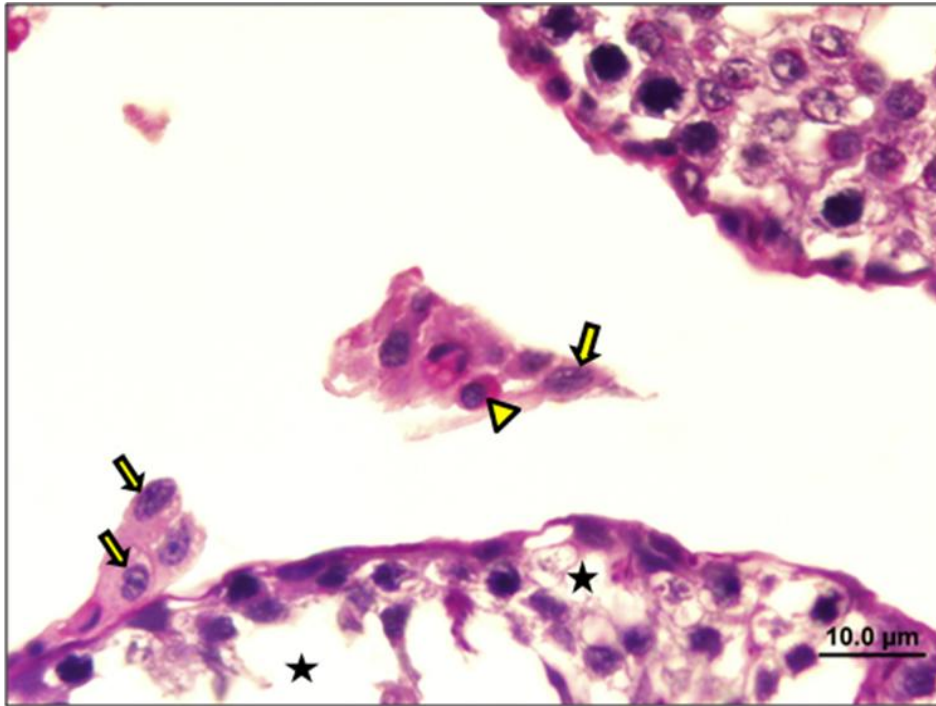
Şekil 24. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde yoğun dejenerasyonlar ve tübüler nekroz (*) ile bazal laminada kalınlaşma (▶) dikkat çekmekte (bar: 50.0 μm , PAS+H).



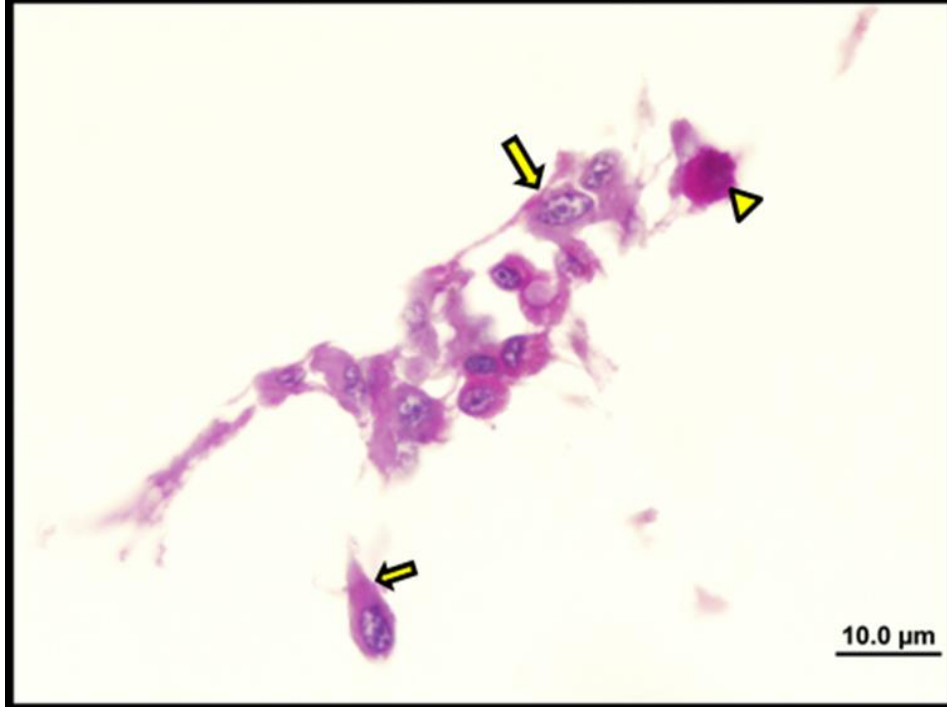
Şekil 25. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde yoğun hasar (➡) ve bazal laminada kalınlaşma (▶) dikkat çekmekte (bar: 50.0 μm , PAS+H).



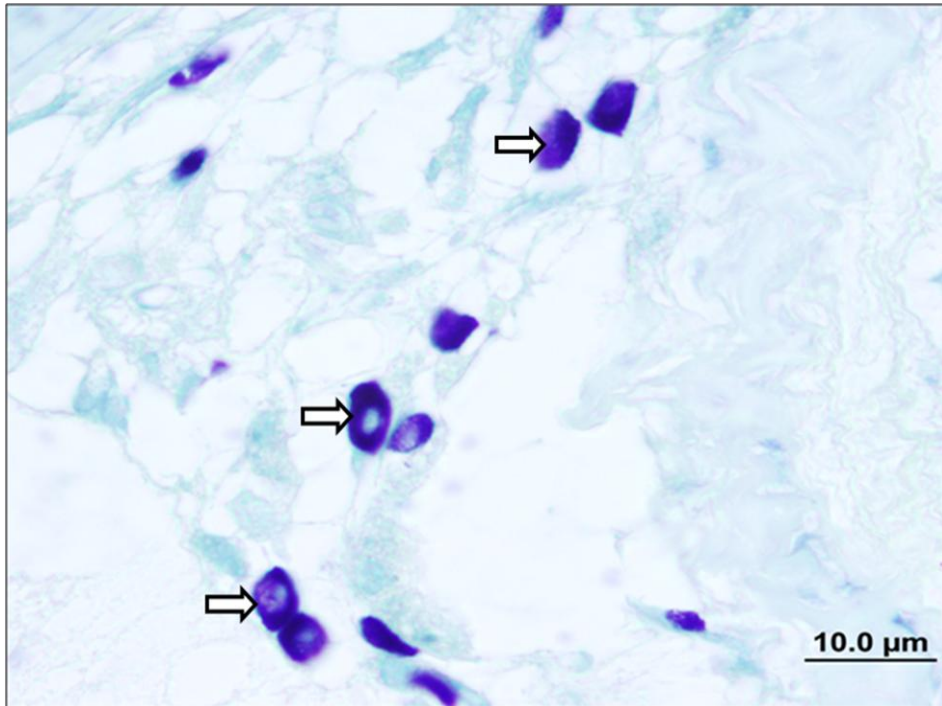
Şekil 26. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde hasar ve hüresel dökülmeler (→) ile interstisyel alanda ödem (*) dikkat çekmekte (bar: 50.0µm, PAS+H).



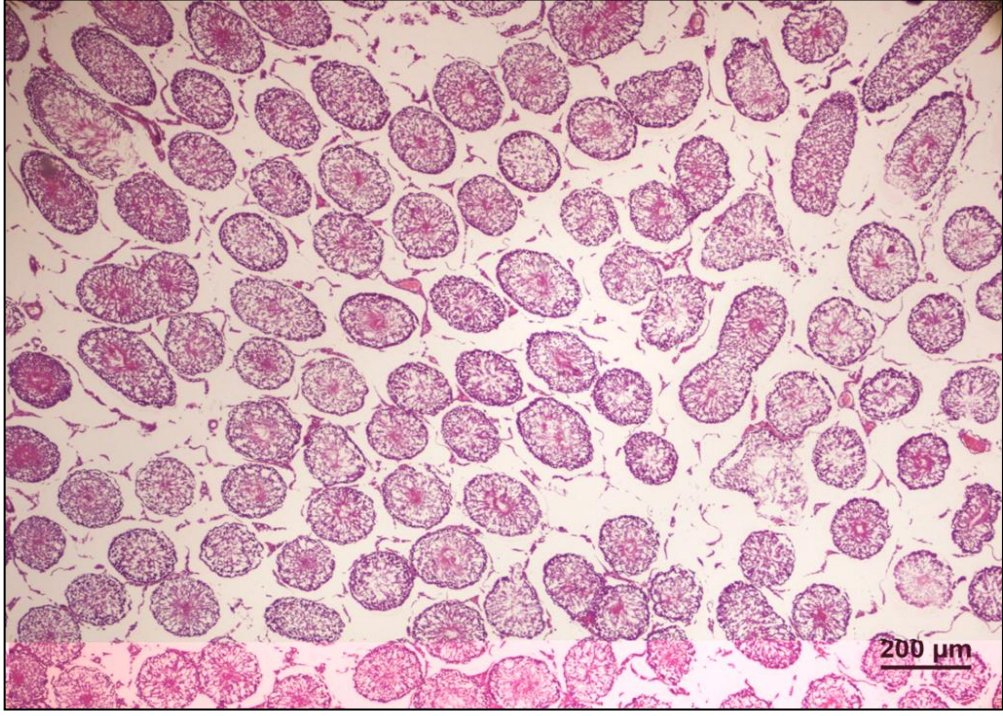
Şekil 27. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde koparak ayrılmalar, hüresel dökülmeler (*), interstisyel alanda makrofaj (▶) ve Leydig hücreleri (→) görülmekte (bar: 10.0µm, PAS+H).



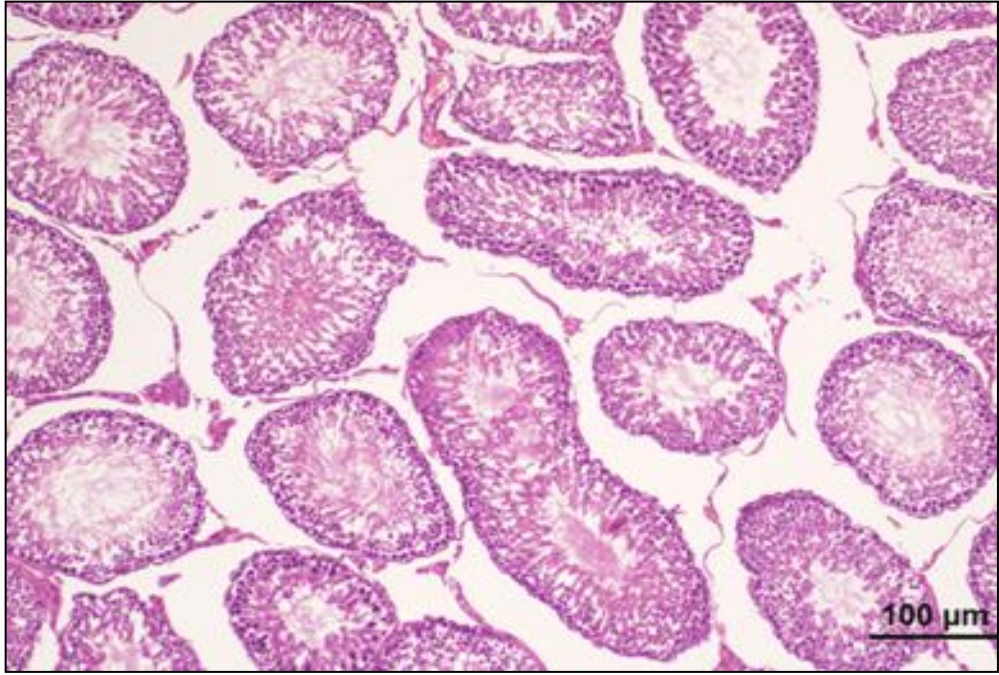
Şekil 28. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. İnterstisyel alanda normal yapıda makrofaj (▶) ve Leydig hücreleri (→) görülmekte (bar: 10.0μm, PAS+H).



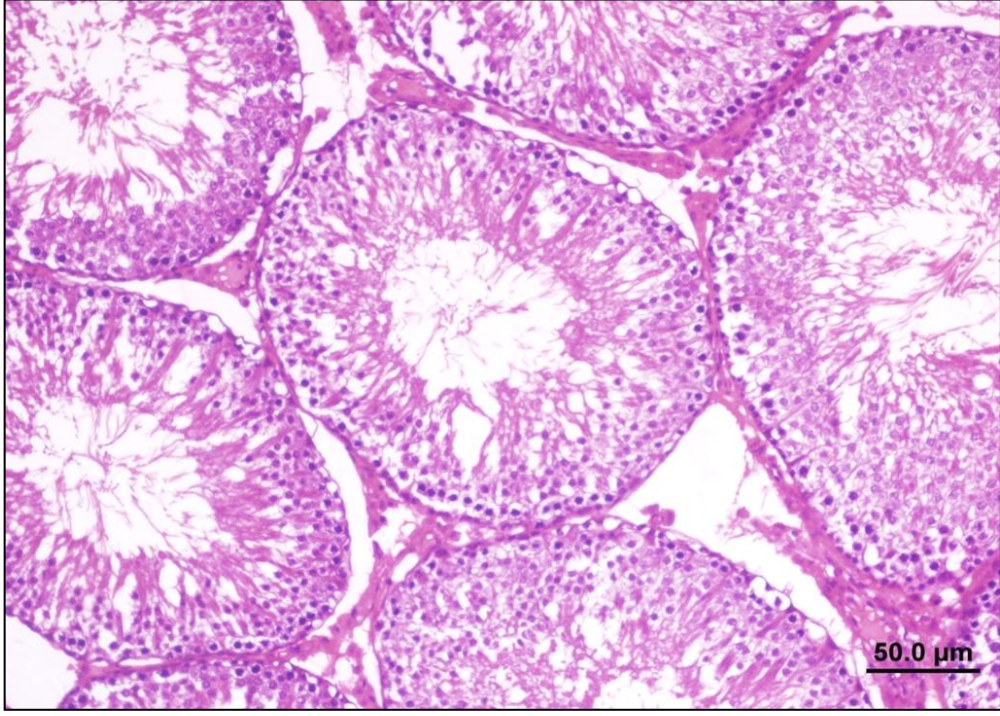
Şekil 29. 20 mg/kg siklofosfamid verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. İnterstisyel alanda artmış mast hücreleri (⇨) görülmekte (bar: 10.0μm, Toluidin mavisi).



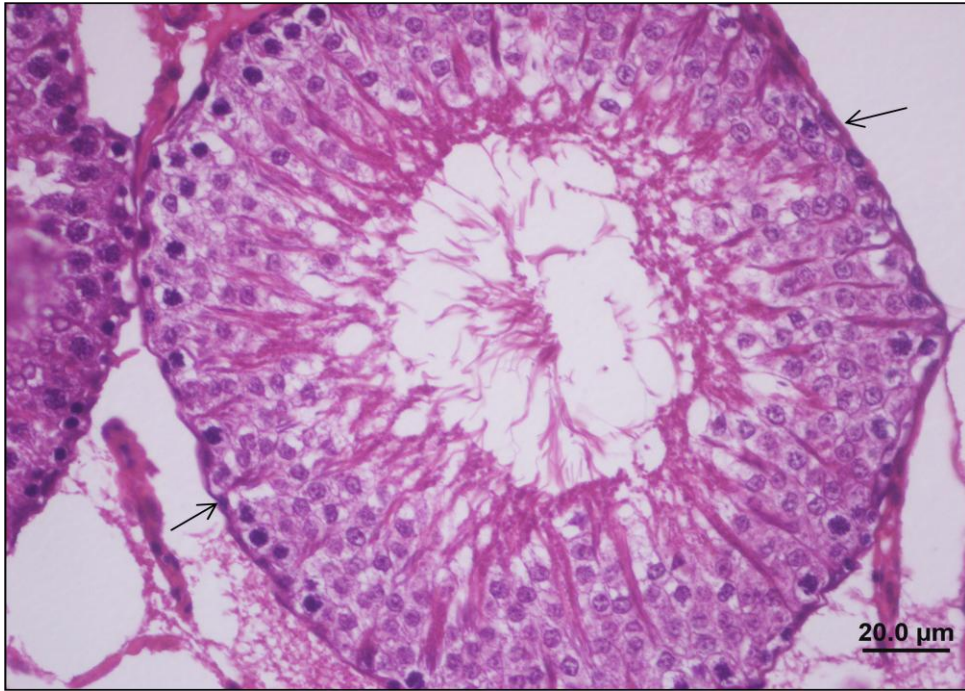
Şekil 30. 200 mg/kg E vitamini verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogonik hücreler ve interstisyel alandaki hücre yapılarıyla birlikte testis dokusu normal histolojik yapıda görülmekte (bar: 200µm, H-E).



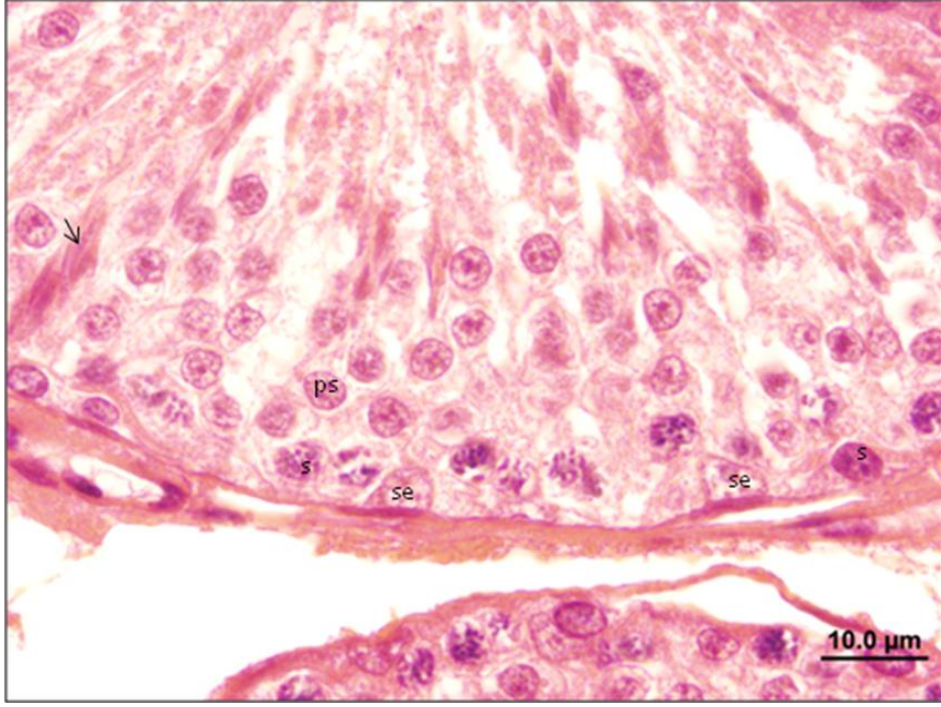
Şekil 31. 200 mg/kg E vitamini verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogonik hücreler ve interstisyel alandaki hücre yapılarıyla birlikte testis dokusu normal histolojik yapıda görülmekte (bar: 100µm, H-E).



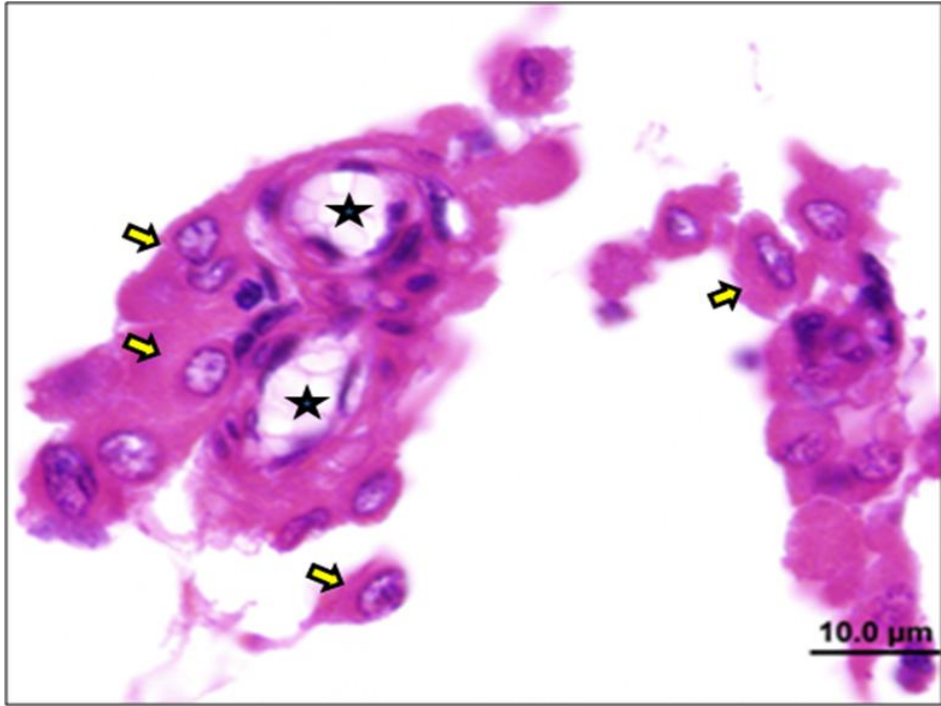
Şekil 32. 200 mg/kg E vitamini verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücreler ve interstisyel alandaki hücre yapılarıyla birlikte testis dokusu normal histolojik yapıda görülmekte (bar: 50.0μm, PAS+H).



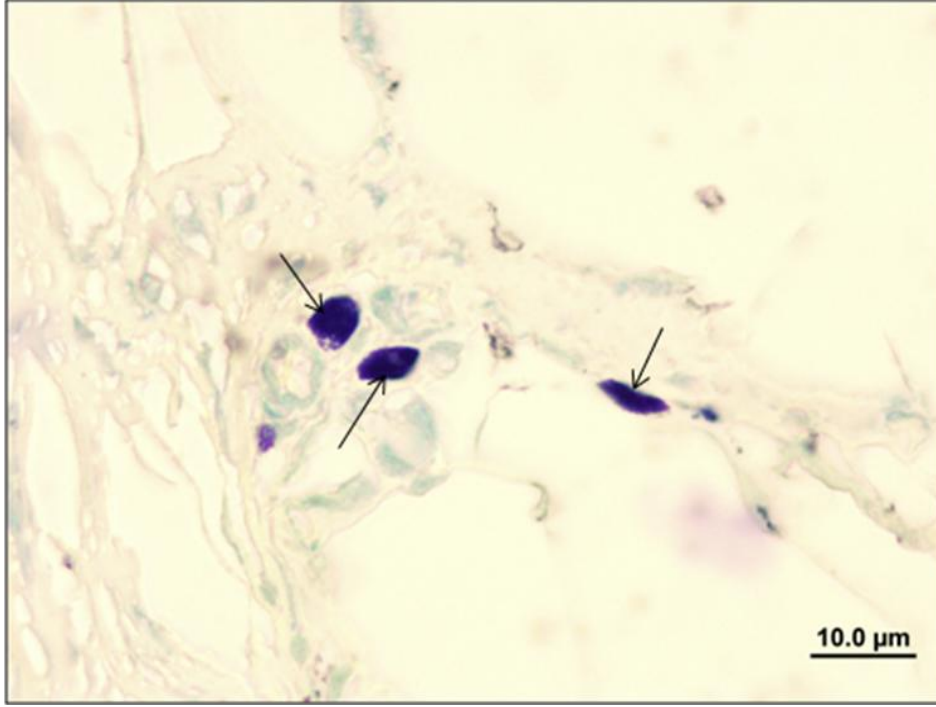
Şekil 33. 200 mg/kg E vitamini verilen testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. PAS pozitif bazal lamina yapısı (→), seminifer tübüldeki normal yapıdaki spermatogenik hücre serileri ve spermatogenez görülmekte (bar: 20.0μm, PAS+H).



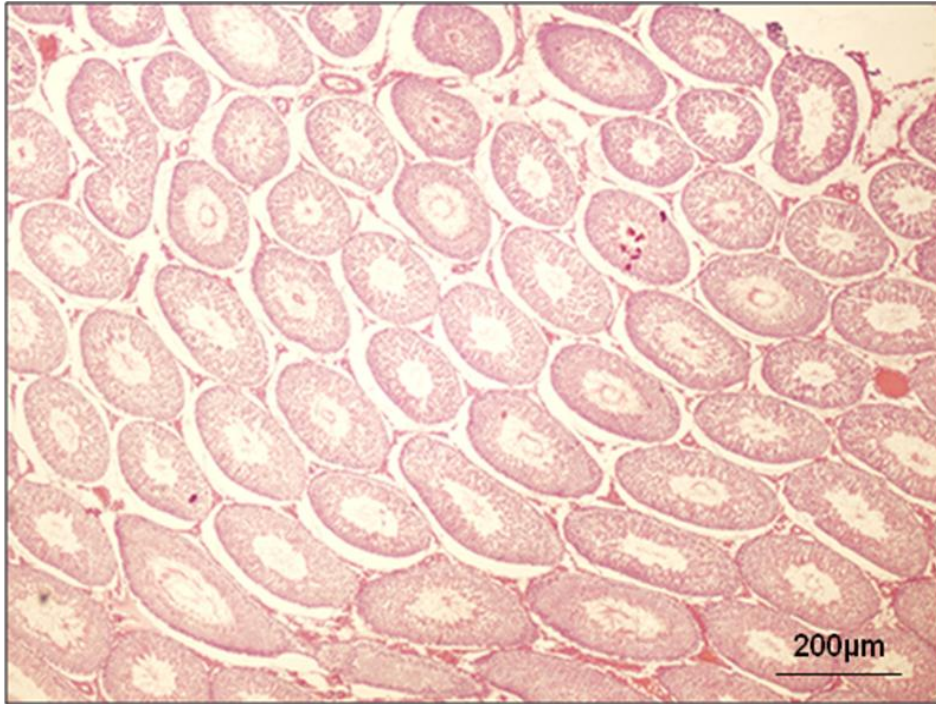
Şekil 34. 200 mg/kg E vitamini verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücreler normal histolojik yapıda görülmekte (spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), Sertoli hücresi (se) ve spermatid (→) hücresi) (bar: 10.0µm, HE).



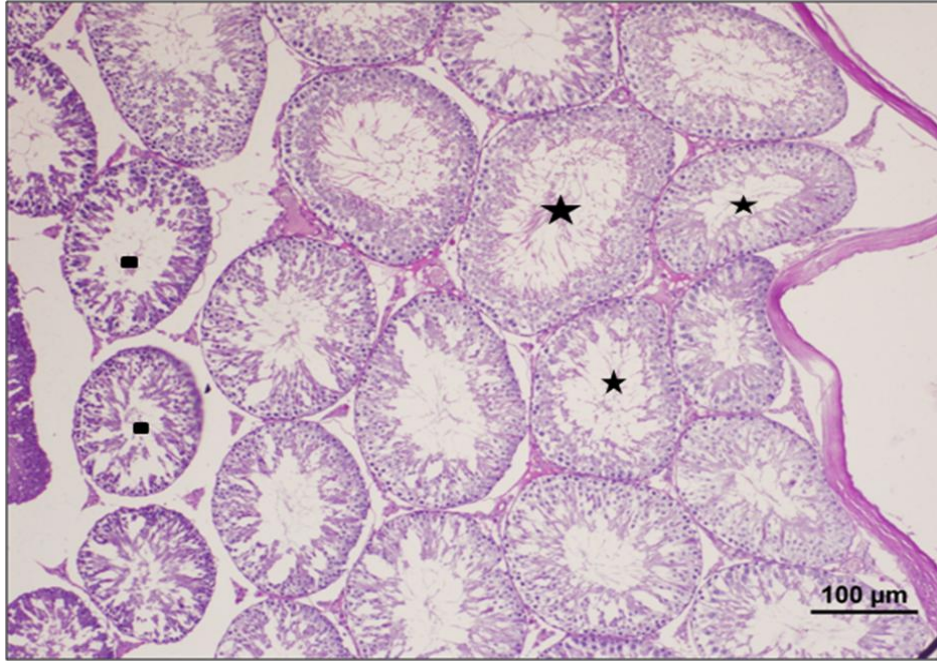
Şekil 35. 200 mg/kg E vitamini verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. İnterstisyel alandaki normal görünümlü Leydig hücreleri (→) ve damar yapıları (*) görülmekte (bar: 10.0µm, PAS+H).



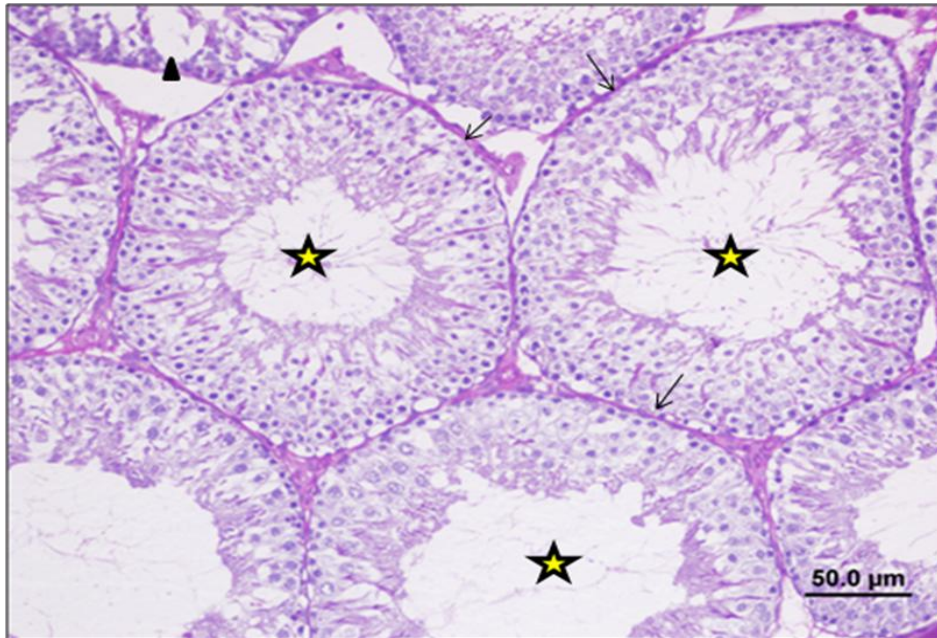
Şekil 36. 200 mg/kg E vitamini verilen testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. İnterstisyel alandaki mast hücreleri (→) görülmekte (bar: 10.0µm, Toluidin mavisi).



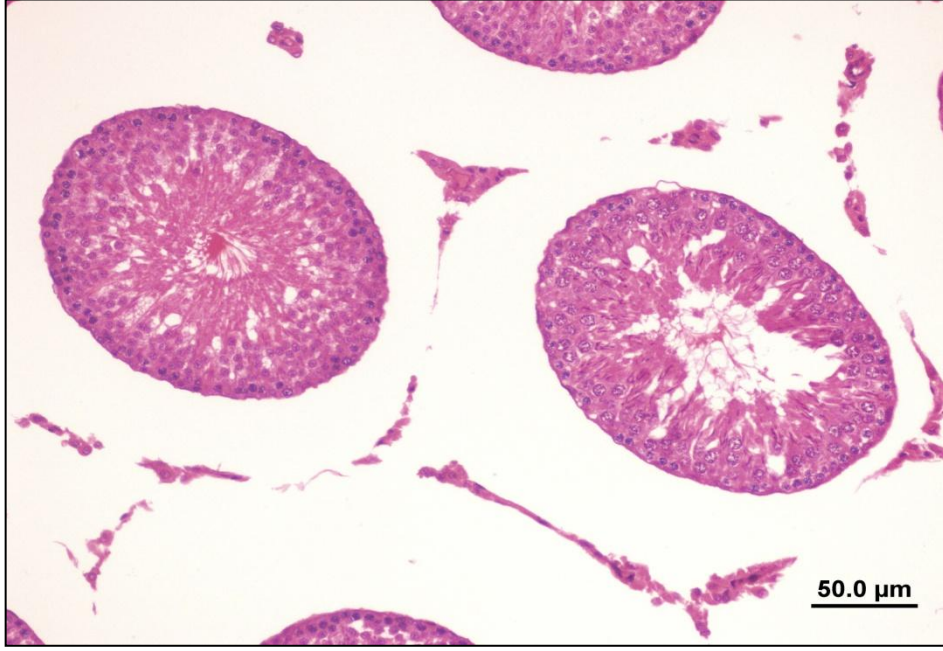
Şekil 37. 20 mg/kg siklofosfamid ve 200 mg/kg E vitamini verilmiş sıçan testis dokusunda azalmış tübüler hasar dikkat çekmekte (bar: 200µm, H-E).



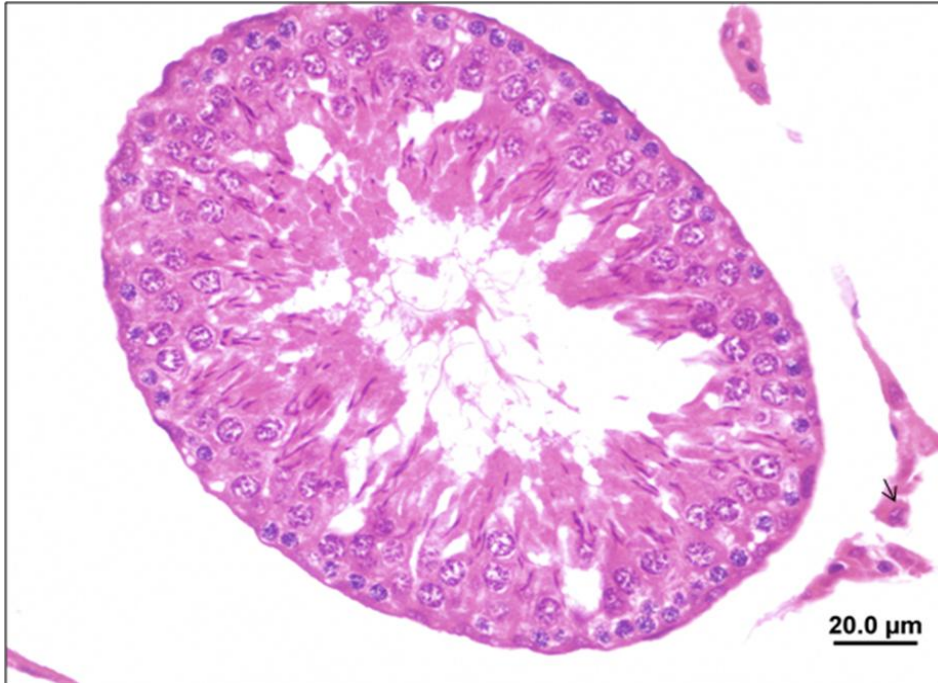
Şekil 38. 20 mg/kg siklofosfamid ve 200 mg/kg E vitamini verilmiş sıçan testis dokusunda resmin sol tarafında birkaç tübülde hasarın (■) az da olsa devam ettiği görülmekle birlikte resmin sağ tarafında azalmış tübüller hasar ve işaretli tübüllerde devam eden spermatogenez (*) dikkat çekmekte (bar: 100µm, PAS+H).



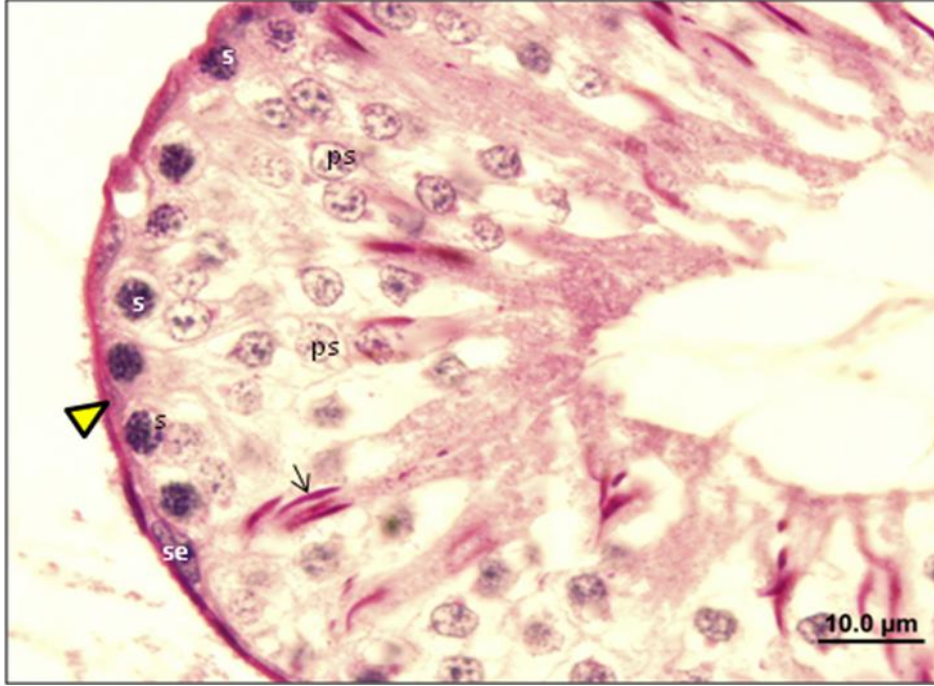
Şekil 39. 20 mg/kg siklofosfamid ve 200 mg/kg E vitamini verilmiş testis dokusunda birkaç tübülde hücresel hasarın (►) az da olsa devam ettiği görülmekle birlikte işaretli tübüllerde azalmış tübüller hasar ve devam eden spermatogenez (*) dikkat çekmekte. Ayrıca tübül etrafında PAS pozitif normal görünümlü bazal lamina yapısı (→) görülmekte (bar: 50.0µm, PAS+H).



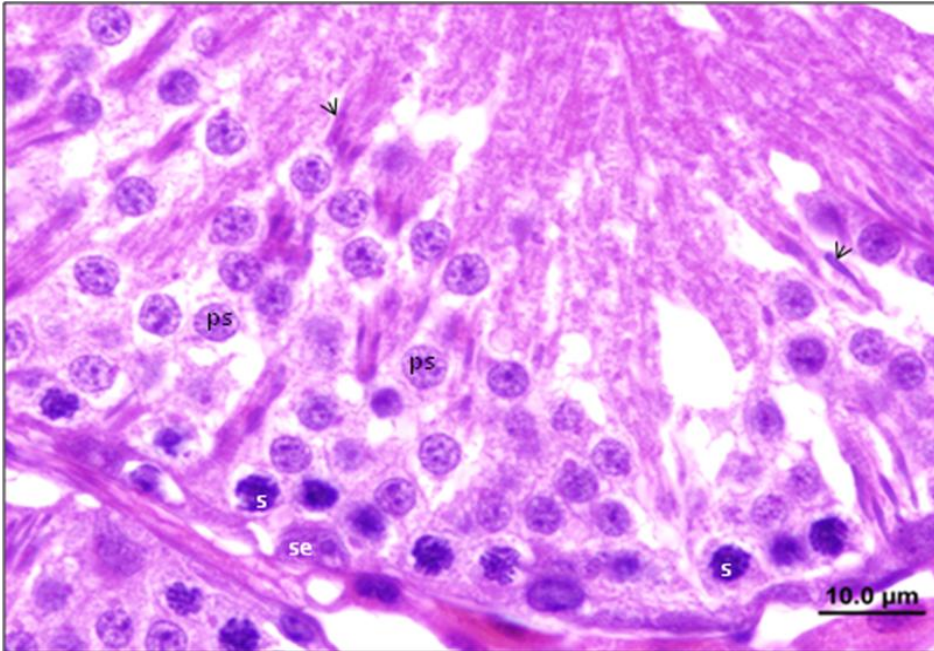
Şekil 40. 20 mg/kg siklofosfamid ve 200 mg/kg E vitamini verilmiş sıçan testis dokusunda azalmış tübüler hasar korunmuş spermatogenik hücreler ile birlikte devam eden spermatogenez dikkat çekmekte (bar: 50.0μm, H-E).



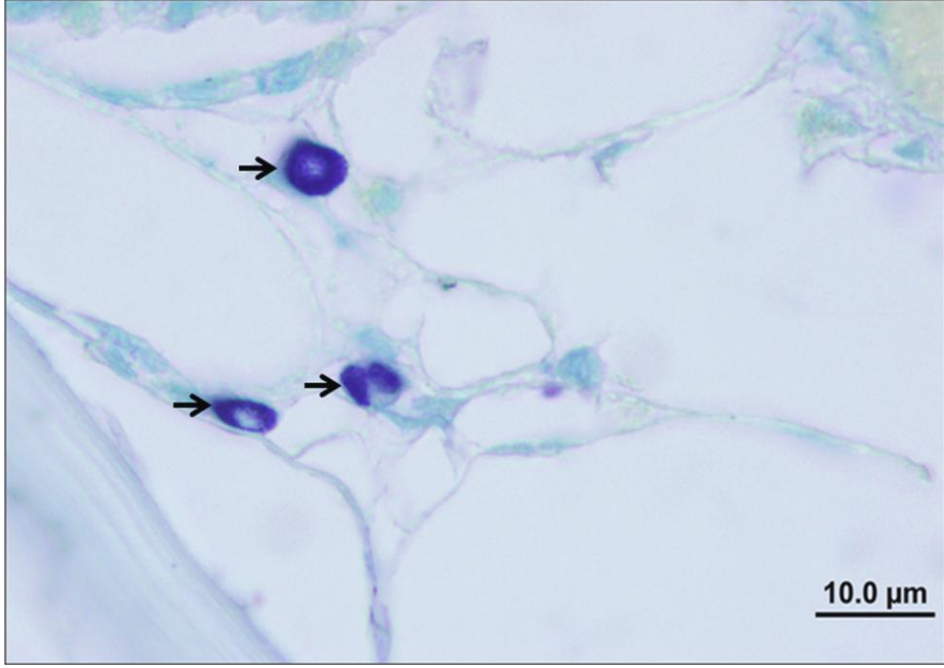
Şekil 41. 20 mg/kg siklofosfamid ve 200 mg/kg E vitamini verilmiş sıçan testis dokusunda azalmış tübüler hasar, korunmuş spermatogenik hücreler ile birlikte devam eden spermatogenez ve interstisyel alandaki normal yapılı Leydig hücreleri (→) dikkat çekmekte (bar: 20.0μm, H-E).



Şekil 42. 20 mg/kg siklofosfamid ve 200 mg/kg E vitamini verilmiş sıçan testis dokusunda normale yakın korunmuş spermatogenez hücreleri (spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), spermatid (→) hücreleri ile birlikte devam eden spermatogenez ile Sertoli hücreleri (se), PAS pozitif bazal lamina yapısı (▶ dikkat çekmekte) (bar: 10.0µm, PAS+H).



Şekil 43. 20 mg/kg siklofosfamid ve 200 mg/kg E vitamini verilmiş sıçan testis dokusunda normale yakın korunmuş spermatogenez hücreleri (Spermatogonyum (s), primer spermatosit (ps), spermatid (→) hücreleri ile birlikte devam eden spermatogenez ve Sertoli hücreleri (se) dikkat çekmekte) (bar: 10.0µm, HE).



Şekil 44. 20 mg/kg siklofosfamid ve 200 mg/kg E vitamini verilmiş sıçan testis dokusunda interstisyel alandaki mast hücreleri (→) görülmekte (bar: 10.0μm, Toluidin mavisi).

5.TARTIŞMA

Kanser veya tümör; normal hücrelerin kontrolsüz şekilde çoğalması, yaygın nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren ölümcül bir hastalıktır.

CP, kanser tedavisinde yaygın kullanılan ilaçlardan birisi olup bir oksazosfosforindir (114). Bağışıklık baskılayıcı ve bir antitümör ajan olan CP'nin onkosal etki gösterebilmesi için metabolik olarak aktive edilmesi gerekir (21, 114). Humoral ve hücrel bağışıklığın CP ile baskılandığı bildirilmektedir. CP'nin kanserostatik aktivitesi fosforamid mustard (FAM) oluşumunu veren 'hepatik mikrozomal karma fonksiyon oksidaz' sistemi ile metabolizmasına bağlıdır (147).

CP, etkili bir kemoterapötik ajandır. Kanser kemoterapisinde kullanılan ilaçlar kanser hücrelerini yok ederken, normal dokuları olumsuz biçimde etkileyebilmektedir. CP gibi yüksek doz alkilleyici (DNA' yı etkileyen) ajanlarda da bu durum benzer olarak görülmektedir (109).

Çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarda CP'nin gonadal yetmezlik, renal yetmezlik ve hemorajik sistit oluşturduğu rapor edilmiştir (11, 82, 145). CP terapisi gören meme kanserli hastalarda çoğu zaman amenore oluşmaktadır. Erkeklerde sık sık azospermi gelişmektedir (79). CP, ovaryum foliküllerinde epitel doku için toksiktir. Araştırmalarda dişi sıçanlara 40 mg/kg CP verildiğinde ovaryum foliküllerinin normal gelişiminin inhibe olduğu gözlenmiştir (23). CP spermatojenik epitelyumda da toksisite oluşturmaktadır (100). Bir CP metaboliti olan akrolein de 3-10 mg/l arasındaki konsantrasyonlarının 12 günlük fare embriyosunda anormal gelişmelere neden olduğu gözlenmiştir (133).

CP, emziren kadınlarda süte geçerek bebekte immunosupresyon, gelişme geriliği ve karsinogenezis gibi toksik etkiler yapmaktadır. Ayrıca fizyolojik olarak uygun olmayan antidiüretik hormon salgısını arttırarak hipernatremiye yol açar. Bu durum ise hemorojik sistit riskini arttırır. CP metabolitleri, özellikle akrolein, mesane mukozası

için toksiktir. Erkek Swiss farelerde yapılan deneysel çalışmalarda 200 mg/kg CP'nin hemorajik sistit oluşturduğu rapor edilmiştir. (26). CP'nin insanlarda ve deney hayvanlarında mesane kanseri yaptığı yönünde raporlarda bulunmaktadır. (8, 67, 114). CP'nin kemik iliği mutajenitesi konusunda yapılan çalışmalar, bu maddenin insanlarda ve sıçanlarda hematopoietik sistemde kanserojen olduğunu göstermiştir (21, 68). Farelerde yapılan bir deneysel çalışmada 100 mg/kg i.p CP uygulamasının hematopoietik sistemde tümör gelişimini uyardığı gözlenmiştir (17). Sıçanlarda yapılan diğer bir deneysel çalışmada 20 ve 40 mg/kg intraperitoneal CP uygulamasının dalakta ve kemik iliğinde mutajen olduğu gösterilmiştir (98). Hodgkin lenfomalı hastalara CP verildiğinde, hastalarda üreterik tümörlerin geliştiği rapor edilmiştir (113).

CP'nin en büyük yan etkisi hayvanlarda ve insanlarda reproduktif toksisitedir. Erişkin erkek hastalarda CP ile tedavide testiküler dokuda spermatogenez siklusunun durması ve sperm sayısının azalmasına neden olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (65).

CP'nin, kemoterapi tedavisinde renal hastalıklar ve bazı kanser türlerinde, yalnız başına veya kombine şekilde kullanıldığında erkeklerde ve çocuklarda infertiliteye sebep olduğu ve testiküler fonksiyonları azalttığı gösterilmiştir. CP'nin erkek rodentlerin üreme fonksiyonlarına olan etkisi yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (29). Kanserli erkek hastalarda CP ile tedavinin azospermi ve oligospermiye neden olduğu gösterilmiştir.

CP'nin uzun dönem tedavide fertilitenin azalmasına ve reproduktif organların da ağırlığının azalmasına yol açtığı da yapılan bazı araştırmalarla gösterilmiştir (140).

Çalışmamızda, CP'ye bağlı sıçan testis hasarında E vit'in etkisi araştırılmıştır ve çalışmamızın sonuçlarına göre, deney hayvanlarının testis ağırlığı ve vücut ağırlığı bulguları incelendiğinde CP'nin testis ve vücut ağırlığında düşüğe neden olduğu görülmüştür.

Ayrıca çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara göre, CP'nin testisler üzerinde hasara sebep olduğu ve CP ile birlikte E vit verilmesi durumunda testislerdeki bu hasarın belli bir ölçüde düzelme sağladığı gösterilmiştir. Çalışmamızın bulguları ile benzer bulgular taşıyan; Selvakumar E. ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, 4 gruba ayırdıkları sıçanlara serum fizyolojik içinde çözdükleri 15 mg/kg CP'yi, 10 hafta boyunca gavaj ile haftada bir kez vermişler ve deney sonunda testis ağırlıklarında ve vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre düşüş gözlemişlerdir. Hem CP hem de 10 hafta boyunca haftada bir kez 35 mg/kg DL-alfa-lipoik asit verilen grupta ise, CP grubuna göre testis ve vücut ağırlıklarında bir iyileşme görüldüğü belirtilmiştir. CP verilen grupta, sperm kalitesi parametrelerinin bozulduğu, testosteron seviyesinin düştüğü, spermatogenezin değişmesiyle oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu görüldüğü, testis histolojisinde ve germ hücrelerinde apoptoz sıklığı arttığı, CP'nin testiküler androjenik ve gametojenik olarak fonksiyon bozukluğunu indüklediği bildirilmiştir (130). Yaptığımız çalışmada da CP grubunda testis ve vücut ağırlıklarının düştüğü, CP + E vit grubunda ise vücut ve testis ağırlıklarında bir iyileşme görülmüştür.

Çoğu deneysel çalışma kanıtlamıştır ki, CP ile tedavi reproduktif sistem hasarına neden olmaktadır. CP ile tedavi sonrası vücut, epididimis ve testis toplam ağırlığının, kandaki testosteron seviyesinin, sperm sayısı ve motilitesinin önemli derecede azaldığı, sperm ölümlerinin ve anormal sperm oluşumunun arttığı bildirilmiştir (44, 152).

Kronik düşük doz CP verilmesinin, reproduktif organ ağırlığında düşüğe (35) ve erkek fertilitesinde bozukluğa (63) neden olduğu, gelecek nesillerin gelişmesini ve büyümesini olumsuz yönde etkilediği bildirilmiştir.

Namasivayam E. ve arkadaşlarının fareler üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada, sıçanların vücut ağırlıklarına göre 5 hafta boyunca haftada bir kez i.p olarak 50, 100, 150, 200 mg/kg CP verilmiş ve sıçanlar 5. haftaya kadar kendi aralarında tekrar gruplandırılmıştır. 1.haftada 100 mg/kg CP verilen grupta seminifer tübülde görülen sperm sayısı azalmıştır. 200 mg/kg CP verilen grupta ise yaptığımız çalışmada olduğu gibi, seminifer tübüllerde şiddetli hasar görülmüştür. 5 hafta boyunca 100 mg/kg CP

verilen grupta, 1 haftalık olan gruba göre seminifer túbüllerdeki spermeler daha fazla hasar görmüştür. 1 hafta boyunca 200 mg/kg CP verilen deney grubunda spermatogonyum ve spermatidler tamamen hasar görmüştür. 100 mg/kg CP grubunda 1. ve 5. haftalar arasında spermatogonyumda önemli bir fark görülmemiştir. 200 mg/kg CP grubunda 1. ve 5. haftalarda da hasar görülmüştür ve testisteki spermatogonyum hücrelerin sayısında belirgin şekilde düşüş gözlenmiştir. Ayrıca CP konsantrasyonu arttıkça seminifer túbül çapı azaldığı görülmüştür. Farelerin vücut ve testis ağırlıklarında da bir farklılık gözlenmiştir. Doza bağlı 1 hafta CP verilen deney grubunda testis ağırlıklarında ve vücut ağırlıklarında önemli ölçüde düşüş gözlenmiştir.

Ghosh ve ark. sıçanlarla yaptıkları bir çalışmada, kontrol grubuna 5 mg/kg su, diğer iki gruba ise gavaj yolu ile 5 ml su içinde çözdürülmüş 5 mg/kg CP, 28 gün boyunca verilmiştir. CP verilen ikinci gruba, madde verildikten 4 saat sonra 50 mg/kg provitamin-E subkutanöz olarak verilmiştir. CP verilen grupta, seminifer túbül çapında önemli derecede azalma görülmüştür. Hem CP hem de provitamin-E verilen grupta ise seminifer túbül çapının normal olduğu gözlenmiştir. Sonuç olarak, CP ile indüklenen testiküler steroidojenik ve gametojenik disfonksiyonda, CP ile tedavi edilen sıçanlara göre provitamin-E'nin yararlı bir etkisi olduğu görülmüştür (36). Sunulan bu çalışmada da túbüler çapın CP verilen gruplarda azaldığı, CP + E vit verilen grupta ise normal olduğu gözlenmiştir.

Rezvanfar M.A. ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada, sıçanlara 28 gün boyunca her gün 6 mg/kg i.p olarak verilen CP'nin spermatogenezi olumsuz yönde etkilediğini, sperm kalitesinin düştüğünü, seminifer túbüllerin yoğun hasara uğradığını gözlemişlerdir. Leydig hücrelerinde dağılma ve hipoplazi, interstisyel ödem, sperm sayısı ve hareketliliğinin azaldığı da gösterilmiştir (122). Sunulan bu çalışmada da seminifer túbüllerde yoğun hasar ve interstisyel alanda ödem gözlenmiştir. Ancak Leydig hücrelerinde hasara rastlanmamıştır.

Ali Osman Çeribaşı ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, 8 hafta boyunca haftada bir kez i.p olarak CP verilen sıçanlarda, fazla sayıda çekirdek içeren dev

hücrelerin oluştuğu, germinal hücrelerde düzensizlik, dejenerasyon, fokal nekroz, Sertoli hücrelerinde vakuolizasyon, damar konjesyonu ve testiküler dokuda atrofi görüldüğü bildirilmiştir (34).

Çalışmamızla benzer bulgular içeren, Sabik ve Abd el-Rahman'ın sıçanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada 7 gün boyunca her gün 20 mg/kg CP verilen gruplarda, seminifer tübüllerde spermatogenik hücrelerin dejenere olduğu, spermatogonyum hücre tabakasında dağılma, hücresel dejenerasyon ve nekroz ile seminifer tübüllerde atrofik değişiklikler gözleendiği, spermatogenezin engellendiği ve seminifer tübüllerde fazla sayıda çekirdek içeren dev hücrelerin görüldüğü bildirilmiştir. Hem E vit hemde CP verilen grupta ise spermatogenezin normale döndüğü ve hücresel hasarın azaldığı bildirilmiştir (86).

Yapılan diğer bir çalışmada da CP alan hastalarda testis büyümesiyle karakterize edilen gonadal hasar, düşük sperm sayısı, Leydig hücre hasarı görüldüğü bildirilmiştir (52, 61).

Elangovan S. ve arkadaşları, 10 hafta boyunca haftada bir kez 15 mg/kg gavaj yoluyla CP verdikleri sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, Leydig hücre hiperplazisi gözlemlenmişlerdir. Ayrıca spermatogenezin bozulduğunu ve bazal membranın kalınlaştığı bildirilmiştir (43). Bizim çalışmamızdaki bulgular incelendiğinde de, spermatogenezin bozulduğu ve bazal membran kalınlaşması olduğu görülmüştür.

CP ile indüklenmiş oksidan mekanizmasında, CP'nin ve onun metaboliti akrolein, serbest radikalleri ve lipit peroksidasyonunu artırarak mikrozomal enzimlerin inaktivasyonuna neden olduğu bildirilmiştir (88, 105).

E vit, 8 tokoferolden oluşan ve yağda eriyen bir vitamindir. Bu 8 tokoferol içinde doğada en çok bulunanı ve en aktif olanı alfa-tokoferoldür. E vit, biyolojik sistemler için önemli bir antioksidandır ve dokularda özellikle membrandan zengin kısımlarda yüksek konsantrasyonlarda bulunur. Bu membran bölgelerinde lipit peroksidasyonu

zincirini kırarak hücre hasarını önler ve ayrıca hücre içi iletisinin normal şekilde gerçekleştirilmesi bu vitaminin varlığı ile mümkün olur (104).

Oksidatif enzimlerin normal aktivitesi esnasında ve moleküler oksijenin univalent indirgenmesi esnasında serbest radikaller ortaya çıkmaktadır. Bu radikaller spermeleri direkt olarak etkileyebileceği gibi spermatogenezi etkileyerek de sperm fonksiyonunu bozabilir. İnfertil erkeklerde hasarlı sperm fonksiyonu, lipid oksidasyonu ve spermatozoadaki antioksidan enzimlerin işlev bozukluğu ile ilişkilidir. E vit dokulardaki antioksidan sistemlerde serbest radikalleri temizleyen önemli bir maddedir. Yapılan çalışmalarda E vit'in, sperm ve testislerin bazı kimyasallar ve radyasyon hasarında bu toksik hasarı önlediği ve ayrıca E vit'in eksikliğinde testis dokusu germinal epitelinde dejenerasyonlar olduğu gösterilmiştir (129, 153).

E vit'in testisler üzerinde toksik etkisi olan çeşitli maddelere karşı koruyucu veya iyileştirici etkilerinin olup olmadığı pek çok çalışmada incelenmiştir. Şahintürk V. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada, 3-7 gün boyunca 100 mg/kg E vit verilen gruplarda E vit'in etan dimetan sülfonata (EDS'ye) karşı koruyucu etkisinin bulunduğu ortaya konulmuştur (129).

Chandra A.K. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış oldukları bir çalışmada da 26 gün boyunca, 50 ve 100 mg/kg E vit verilen gruplarda E vit'in vanadium maddesinin zararlı etkilerine karşı testislerde koruyucu etkisinin olduğu saptanmıştır (28).

El-Demerdash F.M. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerine yaptıkları bir çalışmada 100 mg/kg E vit'in, kadmiyum kloritin toksik etkisini azalttığı ortaya konulmuştur (45).

Hsu P.C. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada 6 hafta boyunca içme suyunda 150 mg/kg E vit + 500 mg/kg C vit verilen grupta sperm hareketliliğinde artış gözlenmiştir (66). Sarkar D. ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada da 28 gün sonunda E vit'in testis dokusu üzerinde florür maddesinin zararlı

etkilerine karşı koruyucu etkisinin olduğu bildirilmiştir (126).

Aydilek N. ve arkadaşlarının tavşanlar üzerine yaptığı bir çalışmada 6 hafta boyunca 100 mg/kg E vit verilen gruplarda E vit'in tavşan testislerini oksidatif strese karşı koruduğu ortaya konulmuştur (12).

Kumar J. S. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerine yaptığı bir çalışmada da 30 gün boyunca verilen 50 mg/kg E vit'in Sertoli hücreleri üzerinde meydana gelen oksidatif stresi iyileştirdiği bildirilmiştir (83).

Koyuturk M. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada 8 gün boyunca deney hayvanlarına C vit ve sodyum selenit ile birlikte 250 mg/kg E vit'in verilmesiyle testis dokusu üzerinde koruyucu etkinin sağlandığı belirlenmiştir (81).

Sarkar D. ve arkadaşlarının testisler üzerinde yaptığı çalışmada 28 gün boyunca günde 200 mg/kg E vit verilen gruplarda E vit'in testis dokusu üzerinde koruyucu etkisi olduğu da ortaya konulmuştur (126).

Lucesoli F. ve Fraga C.G.'nin sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada, 6 hafta boyunca yem içerisinde 200 mg/kg E vit verilen deney gruplarında testiste meydana gelen hasarın E vit ile engellenebileceği gösterilmiştir (89).

Acharya U.R. ve arkadaşlarının fareler üzerinde yapmış oldukları çalışmada, 5 ve 8 hafta boyunca i.p. olarak 100 mg/kg E vit verilen gruplarda sperm sayısının arttığı gözlenmiştir (2).

Rajeswary S. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada 48 gün boyunca E vit verilen gruplarda herhangi bir değişme gözlenmese de carbendazim+E vit verilen gruplarda E vit'in testis dokusu üzerinde koruyucu etkisinin olduğu ortaya konulmuştur (117).

Chen H. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada 7 gün boyunca 40 mg/kg verilen E vit'in Leydig hücrelerinde meydana gelen steroidogenez üzerinde koruyucu etkisinin olduğu ortaya konulmuştur (31).

Kutlubay R. ve arkadaşlarının sıçan testisi üzerinde yaptığı çalışmada 5 mg/kg alüminyum verilen sıçanlara, 500 mg/kg E vit de i.p. olarak 2 hafta boyunca haftada 3 kez uygulanmıştır. Uygulanan bu gruplarda E vit'in testis histolojisini düzeltici etki gösterdiği ortaya konulmuştur (84).

Çalışmamızın bulgularına göre, E vit verilmiş sıçanlarda vücut ağırlıklarında deney öncesi ve sonrası karşılaştırıldığında bir artış görülmüştür. Fakat El-Demerdash F. M. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada 30 gün boyunca 100 mg/kg E vit verilen gruplarda E vit'in vücut ağırlığında değişikliğe yol açmadığı, 5 mg/kg kadmiyumun ise vücut ağırlıklarını düşürdüğü gözlenmiştir (45).

Rajeswary S. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada 48 gün boyunca 20 mg/kg E vit verilen gruplarda ve diğer gruplarda vücut ağırlıklarında önemli bir fark görülmemiştir (117).

Rao M.V. ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada gavaj yöntemi ile 45 gün boyunca 2 mg/kg E vit verilen gruplarda vücut ağırlıklarında önemli bir değişme görülmemiştir (118).

Hsu P.C. ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yapmış olduğu çalışmada yem içerisinde 6 hafta boyunca 150 ve 300 mg/kg E vit verilen gruplarda vücut ağırlıklarında bir değişme gözlenmemiştir (66).

Çalışmamızın bulgularına göre, bu çalışmada CP'nin uygulanan süre ve doz göz önüne alındığında testis dokusu için oldukça toksik olduğu ve histolojik yapıyı bozduğu saptandı. Antioksidan etkiye sahip E vit'in ise CP'nin testiste oluşturduğu bu hasarı önemli ölçüde azalttığı görüldü.

Bütün bu bilgiler ışığında CP'nin testislerde bulunan bazı germ hücreleri üzerinde bozukluklara yol açtığı, E vit'in ise çeşitli toksik maddelerin testiste oluşturduğu hücresel bozulmaları önleyebildiği veya iyileştirdiği görülmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. CP bir hafta süreyle her gün 20 mg/kg dozunda verildiğinde, vücut ağırlığında ve toplam testis ağırlığında önemli bir düşüşe yol açmaktadır.
2. CP, testis üzerinde oldukça toksik etki göstermektedir. Spermatogenik hücrelerde yoğun hasar ve hücresel dökülmelere neden olarak spermatogenezi olumsuz yönde etkiler, bazal laminada kalınlaşmaya, tübüllerde yoğun hasara ve atrofiye neden olur. İnterstisyel dokuda bulunan Leydig hücreleri üzerinde önemli bir değişikliğe yol açmamaktadır.
3. Bir hafta süreyle her gün 20 mg/kg CP ile 200 mg/kg E vit verilen grupta, CP + E vit'in toplam testis ağırlığı ve vücut ağırlığında artışa yol açtığı gözlenmiştir.
4. Bir hafta süreyle her gün 200 mg/kg verilen E vit, testis ağırlığında önemli bir değişikliğe yol açmazken, vücut ağırlığında artışa yol açtığı gözlenmiştir.
5. E vit'in CP toksitesini nasıl önlediğinin ortaya konmasında ileri enzimatik, biyokimyasal ve immünohistokimyasal düzeyde yapılacak araştırmalar bu konuda ek bilgiler ve kanıtlar sağlayabilir.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Acharya, U.R., Mishra, M., Mishra, I. at Tripathy, R.R., 2004, Potential role of Vitamins in chromiuminduced spermatogenesis in swiss mice, Environmental Toxicology and Pharmacology, 15, 53-59 p.
2. Acharya, U.R., Mishra, M., Patro, J. at Panda, M.K., 2008, Effect of vitamins C and E on spermatogenesis in mice exposed to cadmium, Reproductive Toxicology, 25, 84-88 p.
3. Afify, Z., Shaw P.J., Clavano-Harding A., Cowell C.T., 2000, Growth and endocrine function in children with acute myeloid leukaemia after bone marrow transplantation using busulfan/cyclophosphamide, Bone Marrow Transplant, 25, 10, 1087-92 p.
4. Akazawa, N., Mikami, S.I., Kimura S.I., 1987, Effects of vitamin e deficiency on the hormone secretion of the pituitary-gonadal axis of the rat, Tohoku J Exp Med., 152, 221-229 p.
5. Akçasu, A., Banoğlu, N., Berkarda, Ş., 1992, Farmakoloji, İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar, Nobel Tıp Kitabevi, 822 s.
6. Akçasu, A., Banoğlu, N., Berkarda, Ş., 1992, Farmakoloji, İlaç Uygulamalarında Temel Kavramlar, Nobel Tıp Kitabevi, 830 s.
7. Al-Safi, S.A., and Maddocks, J.L., 1986, Does 2 - Mercaptoethane Sulphonate Prevent Cyclophosphamide and Azathioprine Induced Immunosuppression In Vitro Studies. Br. J. Clin. Pharmac., 21, 267 – 270 p.
8. Aras, K., Erşen, G., Karahan, S., 1976, Vitaminler, Tıbbi Biyokimya, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 161-169 s.
9. Aras, K., Erşen, G., Karahan, S., 1976, Vitaminler, Tıbbi Biyokimya, Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 169-175 s.
10. Arıncı, K. ve Elhan, A., 1999, Anatomi, Cilt 1-2, Güneş Kitabevi, Ankara, 390 s.
11. Ataya, K..M., Mckanna, J.A., Weintraub, A.M., Clark, M.R., Lemaire, J.W., 1985, A luteinizing hormone releasing hormone agonist fort he prevention of chemotherapy induced ovarian follicular loss in rats, Cancer Research 45, 3651-3656 p.
12. Aydılek, N., Aksakal, M. at Karakılçık, A.Z., 2004, Effects of testosterone and vitamin E on the antioxidant system in rabbit testis, Andrologia, 36, 277-281 p.
13. Ayhancı, A., 1997, Siklofosfamid sitotoksitesinin çinko ile etkileşimi, Doktora tezi Osmangazi

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

14. Bancroft, J.D. at Stevens, A., 1977, Theory and Practice of Histological Techniques, Churchill Livingstone Edinburgh London and New York.
15. Barber, D.A., Harris, S., 1994, Oxygen free radicals and antioxidants: a review, Am. Pharm., 34, 9, 26-35 p.
16. Bjorneboe, A., Bjorneboe, G.E., Drevon, C.A., 1990, Absorption, transport and distribution of vitamin E, J Nutr, 120, 3, 233-42 p.
17. Bloom E.R., Fawcett, D.W., 1994, A text book of histology, Twelfth edition, Chapman&Hall, London.
18. Bokemeyer, C., Schmoll, H.J., Van Rhee, J., et al., 1994, Long-term gonadal toxicity after therapy for Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma, Ann Hematol, 68, 105–110 p.
19. Bokser, L., Szende, B., Schally, A.V., 1990, Protective Effects of D-Trp-luteinising Hormone-Releasing in Female Microcapsules Against Cyclophosphamide- Induced Gonadotoxicity in Female Rats. Br. J. Cancer, 61, 861-865 p.
20. Boydağ, B.S., 1998, Deneysel diabetes mellitusta gelişen hemodinamik değişiklikler üzerine vitamin E'nin etkisi, ESOGÜ Tıp Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, Uzmanlık Tez Çalışması.
21. Bramwell, V.C.H., Mourisden, H.I., Santaro, A., 1987, Cyclophosphamide versus Ifosfamide: Final Report of a Randomized Phase 2 Trial in Adult Soft Tissue Sarcomas, Eur. J. Cancer Clin. Oncol, 23, 3, 311-321 p.
22. Budavari, S., 1987, An Encyclopedia of Chemicals, Drugs and Biologicals, The Merck Index. Eleventh Edition Centennial Edition, USA, 429-430 p, 1563 p.
23. Burkl, W., Schiechl, H., 1978, The Growth of Follicles in the Rat Ovary Under the Influence of Busulfan and Endoxan, Cell Tiss. Res., 186, 351–359 p.
24. Burukoğlu, D., Bayçu, C., 2008, Protective Effects of Zinc on Testes of Cadmium-Treated Rats, Bull Environ Contam Toxicol, 81, 521–52 p.
25. Carlson, B.M., 1996, Patten's Foundations of Embryology, sixth edition, McGraw Hill Inc, New York, 752 p.
26. Cavalletti, E., Tofanetti O., Zunino F., 1986, Comparison of Reduced Glutathione with 2–

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- Mercaptoethane Sulfonate to Prevent Cyclophosphamide Induced Urotoxicity, *Cancer letters*, 32, 1-6 p.
27. Champe, P.C., 1997, *Biyokimya 2. Baskı*, Lippincotts illustrated reviews serisinden, (Çev.: Gür, E.), Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 438 s.
28. Chandra, A.K., Ghosh, R., Chatterjee, A. at Sarkar, M., 2007, Amelioration of vanadium-induced testicular toxicity and adrenocortical hyperactivity by vitamin E acetate in rats, *Mol Cell Biochem*, 306:189-200 p.
29. Chapman, R.M., 1983, Gonadal injury resulting from chemotherapy, *Am J Indust Med*, 4, 149-161 p.
30. Cheeseman, K.H., Slater, T.F., 1993, An introduction to free radical biochemistry, *Br. Med BuII*, 49, 3, 481-493 p.
31. Chen, H., Liu, J., Luo, L., Baig, M.U., Kim, J.M. at Zirkin, B.R., 2005, Vitamin E, aging and Leydig cell steroidogenesis, *Experimental Gerontology*, 40, 728-736 p.
32. Chow q, C.K., 1985, Vitamin E and Blood Wld. *Rev. Nutr. Diet.*, 45, 133-166 p.
33. Claveria, C., Corbella, R., Martin, D., Diaz, C., 2000, Protective effects of zinc on cadmium toxicity in rodents, *Biol Trace Elem Res*, 75, 1-3, 1-9 p.
- 34.Çeribaşı, A.O., Türk, G., Sönmez, M., Sakin, F., Atessahin, A., 2010, Toxic Effect of Cyclophosphamide on Sperm Morphology, Testicular Histology and Blood Oxidant-Antioxidant Balance, and Protective Roles of Lycopene and Ellagic Acid, 107, 730–736 p.
35. Das, S., Maiti, R., Ghosh, D., 2006, Management of fluoride induced testicular disorders by calcium and Vitamin-E co-administration in the albino rat, *Reproductine Toxicology*, 22, 606-612 p.
36. Ghosh, D., Das, U.B., Misro, M., 2002, Protective role of a-tocopherol-succinate (Provitamin-E) in cyclophosphamide induced testicular gametogenic and steroidogenic disorders: A correlative approach to oxidative stress, 36, 11, 1209-18 p.
37. De Lamirande, E., Gagnon, C., 1992, Reactive oxygen species and human spermatozoa II. Depletion of adenosine triphosphate plays an important role in the inhibition of sperm motility, *J Androl b*, 13, 379-386 p.
38. Dere, F., 1988, *Anatomi ders kitabı*, Cilt 1-2, Adana.

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

39. Diplock, A.T., 1990, The role of antioxidants in clinical practice, *Br. J Clin. Pract.*, 44, 7-8, 257-258 p.
40. Dökmeci, İ., 2000, Vitaminler, *Farmakoloji-Temel kavramlar*, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd, İstanbul, 815-817 s.
41. Drake, R.I., Vogl, W. at Mitchell, A.W.M., 2007, *Grays Anatomi*, (Çev:Yıldırım, M.), Güneş kitabevleri, Ankara, 1058 s.
42. Edward Chu, 2007, *Physicians' Cancer Chemoterapy Drug Manual*, 98-102 p.
43. Elangovan, N., Chiou, T.J., Tzeng, W.F., Chu, S.T., 2006, Cyclophosphamide treatment causes impairment of sperm and its fertilizing ability in mice, *Toxicology*, 222, 60–70 p.
44. Elangovan, S., Chidambaram, P., Periyasamy, T.S., Palaninathan, V., 2006, Protective effect of lipoic acid on cyclophosphamide-induced testicular toxicity, *Dr. ALM. Post Graduate Institute of Basic Medical Sciences, University of Madras, India*, 114-119 p.
45. El-Demerdash, F.M., Yousef M.I., Kedwany, F.S. at Baghdadi, H.H., 2004, Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology, biochemical parameters and semen quality of male rats: protective role of vitamin E and b-carotene, *Food and Chemical Toxicology*, 42, 1563-1571 p.
46. Evans, H.M., Bioshop, K.S., 1922, On the existance of a hiterto unrecognized dietary factor essential forreproduction, *Science*, 56, 650 p.
47. Fawcett, D.W., 1994, *Bloom and Fawcett, A textbook of histology*, Twelfth edi., Chapman & Hall Newyork, London.
48. Fawcett, D.W., 1997, *Bloom and Fawcett: Concise Histology*, Chapman and Hall, U.S.A.
49. Friberg, L., 1984, Cadmium and the kidney, *Environmental Health Perspectives*, Vol.54, 1-11 p.
50. Fritsma, G.A., George, A., Fritsma, M.S., 1983, Vitamin E and autoxidation, *American Journal of Medical Technology*, 49, 6, 453-456 p.
51. Fukushima, T., Yamamoto, T., Kikkawa, R., et al., 2005, Effects of male reproductive toxicants on gene expression in rat testes, *J Toxicol Sci*, 30, 195–206 p.
52. Garolla, A., Pizzato, C., Ferlin, A., Carli, M.O., Selice, R., Foresta, C., 2006, *Progress in development*

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- of childhood cancer therapy, *Reprod Toxicol*, 22, 126–32 p.
53. Gartner, L.P., Hiatt, 1997, *J.Colour Text Book of Histology*; First Edition, W. B.Saunders Company, Philadelphia.
54. Giakoustidis, D., Papageorgiou, G. at Iliadis, S., 2002, Intramuscular administration of very high dose of alpha-tocopherol protects liver from severe ischemia/reperfusion injury, *World Journal of Surgery*, 26, 7, 872-877 p.
55. Gilman, A.G, Goodman, A., 1999, *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 2-17 p.
56. Glode, M., Robinson, J., Gould, FS, 1981, Protection from Cyclophosphamide-Induced Testicular Damage with an Analogue of Gonadotropin-Releasing Hormone, *The Lancet*, 1132-1136 p.
57. Gülbahçe, H.E., Lindeland, A.T., Engel, W., 1999, Metastatic leydig cell tumor with sarcomatoid differentiation, *Arch Pathol Lab Med*, 123, 1104-1107 p.
58. Gürsoy, E., Koptagel, E., 1997, *Embriyoloji atlası*, Esnaf ofset matbaacılık, Sivas, 222 s.
59. Güven, C. ve Tekelioğlu, M., 2004, *Histoloji - Embriyoloji Terimleri Sözlüğü*, Sendrom III, Logos tıp yayıncılığı, cilt 2-5.
60. Hassa, H., 2003, *İnfertil olgulara klinik yaklaşım ve IVF laboratuvar uygulamaları*, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Basımevi, Eskişehir.
61. Haubitz, M., Ehlerding, C., Kamino, K., Koch, K.M., Brunkhorst, R., 1998, Reduced gonadal toxicity after i.v. cyclophosphamide administration in patients with non malignant diseases, *Clin Nephrol*, 49, 19–23 p.
62. Henriksen, K., Kangasniemi, M., Parvinen, M., 1996, In vitro, follicle-stimulating hormone prevents apoptosis and stimulates deoxyribonucleic acid synthesis in the rat seminiferous epithelium in a stage-specific fashion, *Endocrinology*, 137, 5, 2141-2149 p.
63. Higuchi, H., Nakaoka, M., Katsuda, Y., Kawamura, S., Kato, T., Matsuo, M., 1995, Collaborative assessment of optimal administration period and parameters to detect effects on male fertility in the rat: effects of cyclophosphamide on the male reproductive system, *J Toxicol Sci*, 20, 239–49 p.
64. Hirsch, I., Huang, B. at Chancellor, M.B., 1999, Spermatogenesis in early and choronic phases of experimental spinal cort injury in the rodent model, *Journal of Andrology*, 20, 1, 63-71 p.

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

65. Howell, S., Shalet, S., 1998, Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy, *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am.*, 27, 927-43 p.
66. Hsu P.C., Liu, M.Y., Hsu, C.C, Chen, L.Y. at Guo Y.L., 1998, Effects of vitamin E and/or C on reactive oxygen species-related lead toxicity in the rat sperm, *Toxicology*, 128, 169-179 p.
67. Iarc, 1981, Monographs on the evaluation on the carcinogenic risk of chemical to humans, Vol.26, Some Antineoplastic and Immunosuppressive Agent, IARC, Lyon, 165-208 p.
68. Iarc, 1981, Monographs on the evaluation on the carcinogenic risk of chemical to humans, Vol.26, Some Antineoplastic and Immunosuppressive Agent, IARC, Lyon, 356-385 p.
69. Junqueira, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O., 1998, Ninth Edition, Appleton&Lange, Stamford.
70. Junquiera, L.C., 2006, Erkek Üreme Sistemi, Temel Histoloji, (Çev.: Aytakin, Y.), Nobel tıp kitabevleri, İstanbul, 512-547 s.
71. Kalaycı, Ş., 1986, Histoloji, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa.
72. Kalaycıoğlu, L., 2006, Biyokimya 3. Basım, Ekim Nobel Yayımevi, Ankara, 654 s.
73. Karataş S., 1998, Sıçanlarda kadmiyum klorür'ün ($CdCl_2$) testis dokusuna etkisi, Yüksek Lisans Tezi. Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
74. Kayaalp O., 1997, Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Feryal Matbaacılık, Ankara, 1, 376-390 s.
75. Kayaalp, O., 1997, Yağda çözünen vitaminler, E vitamini, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 3.Cilt, Feryal Matbaası, Ankara, 2890-2896 s.
76. Kayaalp, O., 1998, Vitaminler, E vitamini, Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji cilt 2. Ankara, Hacettepe-Taş Kitapçılık, 1547-1550 s.
77. Kayalı, H., Şatıroğlu, G., Taşyürekli, G., 1992, İnsan embriyolojisi, Alfa Basım Yayım Dağıtım, İstanbul.
78. Koeva, Y., Bakalska, M., Atanassova, N., Georgieva, K. at Davidoff, M., 2007, 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 2 expression in the newly formed Leydig cells after ethane

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- dimethanesulphonate treatment of adult rats, *Folia Histochemica Et Cytobiologica* Vol. 45, No. 4, 381-386 p.
79. Koyoma, H., Wada, T., Nishizawa, Y., Iwanaga, T., 1977, Cyclophosphamide-Induced Ovarian Failure and its Therapeutic Significance in Patients with Breast Cancer, *Cancer*, 39, 1403-1409 p.
80. Koyuncu, D., 1995, Erişkin Sıçan Testisindeki Parakrin Etkileşimlerin Değişik Yöntemlerle Araştırılması, Doktora Tezi, ESOGÜ, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir.
81. Koyuturk, M., Yanardag, R., Bolkent, S. at Tunali, S., 2006, Influence of combined antioxidant against cadmium induced testicular damage, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21, 3, 235-240 p.
82. Kreuser, E.D., Klingmuller, D., Thiel, E., 1993, The role of LHRH-Analogues in protecting gonadal functions during chemotherapy and irradiation, *Eur. Urol.*, 23, 157-164 p.
83. Kumar, J.S., Banudevi, S., Sharmila, M., Murugesan, P., Srinivasan, N., Balasubramanian, K., Aruldas, M.M. at Arunakaran J., 2004, Effects of Vitamin C and E on PCB (Aroclor 1254) induced oxidative stress, androgen binding protein and lactate in rat Sertoli cells, *Reproductive Toxicology*, 19, 201-208 p.
84. Kutlubay, R., Oğuz, E.O., Can, B., Güven M.C., Smık, Z. at Tuncay, Ö.L., 2007, Vitamin E protection from testicular damage caused by intraperitoneal aluminium, *International Journal of Toxicology*, 26, 4, 297 -306 p.
85. Kutsky, R.J., 1981, *Handbook of Vitamins, Minerals and Hormones*, New York, 2 nd ed.VNR, 157-207 p.
86. Laila, M.E.Sabik., Sahar, S.Abd.El-Rahman., 2009, Alpha-tocopherol and ginger are protective on cyclophosphamide-induced gonadal toxicity in adult male albino rats, *Basic and Applied Pathology*, 2, 21-29.
87. Larsen, W.J., 1993, *Human Embryology*, First Edition, Churchill Livingstone Inc., Singapore.
88. Lear L., Nation R.L., Stupans I., 1992, Effects of cyclophosphamide and adriamycin on rat hepatic microsomal glucuronidation and lipid peroxidation, *Biochem Pharmacol*, 44, 747– 53 p.
89. Lucesoli, F. at Fraga, C.G., 1999, Oxidative stress in testes of rats subjected to chronic iron intoxication and α -tocopherol supplementation, *Toxicology*, 132, 179-186 p.

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

90. Marcus, R., Coulston, A.M., 1996, Vitamin, In, Gilman AG, editors. Goodman & Gilman's ,The pharmacological basis of therapeutics, 9 th, New York, Mc Graw-Hill Companies, 1585-1590 p.
91. Masuzawa, M., Nakao, S., Miyamoto, E., Yamada, M., Murao, K., Nishi, K. at Shingu, K., 2003, Pentobarbital inhibits ketamine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens: A microdialysis study, *Anesth Analg*, 96, 148-52 p.
92. Mather, J.P., Saez, J.M., Dray, F., 1983, Vitamin E prolongs survival and function of porcine leydig cells in culture, *Acta Endocrinologica*, 102, 470-475 p.
93. McDowell, L.R., 1989, Vitamins in Animal Nutrition Comparative Aspects to Human Nutrition, San Deigo, California, Academic Press Inc, 93-131 p.
94. Meistrich, M.L., Wilson G., Kangasniemi M., et al., 2000, Mechanism of protection of rat spermatogenesis by hormonal pretreatment: stimulation of spermatogonyuml differentiation after irradiation, *Journal of Andrology*, Vol 2.
95. Menteş, G., Ersöz, B., 1993, Yağda çözünen vitaminlerin yapı ve fonksiyonu, *Harper's Biyokimyası*, 22. Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul, 395-399 s.
96. Montz, F.I., Wolff, A.J., Gambone, J.C., 1991, Gonodal Protection and Fecundity Rates in Cyclophosphamide-Treated Rats, *Cancer Research*, 2124-2126 p.
97. Moore, F.R., Urda, G.A., Krishna, G., Theiss, J.C., 1995, An in vivo/in vitro Method for Assessing Micronucleus and Chromosome Aberration Induction in Rat Bone Morrow and Spleen 1. Studies with Cyclophosphamide, *Mutat. Res.*, 335, 2, 191-199 p.
98. Moore, K.L., 2002, İnsan embriyolojisi, (Çev.: Yıldırım, M.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 560 s.
99. Moore, K.L., 2003, The developing human clinically oriented embryology, the beginning of human development: first week, seventh edition, 15-41 p.
100. Morris, I.D., 1993, Protection against cytotoxic induced testis damaged experimental approach, *Eur. Urol.*, 23, 143-147 p.
101. Murray, R.K., Mayes, P.A., Granner, D.K., Rodwell W.V., 1993, *Harper's Biyokimyası*, 22. Baskı, Barış Kitabevi, İstanbul, 711-712 s.
102. Murray, R.K., *Harper'in Biyokimya*, Nobel Tıp Kitapevleri, (Çev.: Dikmen, N.), İstanbul, 928 s.

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

103. Muthusamy, T., Balasubramanian, K., Arunakaran, J., 2005, Studies on the protective role of vitamin C and E against polychlorinated biphenyl (Aroclor 1254) - induced oxidative damage in Leydig cells, *Free Radical Research*, 39, 11, 1259-1272 p.
104. Nagel, E., zu Vilsendorf, A.M., Bartels, M., Pichlmayr, R., 1997, Antioxidative vitamins in prevention of ischemia/reperfusion injury, *Internat J Vit Nutr Res.*, 67, 298-306 p.
105. Namasivayam, E., Tzeon-Jye, C., Woan-Fang, T., Sin-Tak, C., 2006, Cyclophosphamide treatment causes impairment of sperm and its fertilizing ability in mice, *Toxicology*, 222, 60-70 p.
106. Nevberne, P.M. and Corner, M.W., 1989, The Vitamins, J.J. In: "Clinical Biochemistry of Domestic Animals". 4 th ed, Acedemic Press Inc. New York, 796-834 p.
107. Odar, İ.V., 1986, Anatomi, Hacettepe Kitapçılık Ltd. Şti.
108. Ozan, H., 2004, Ozan Anatomi, Nobel matbaacılık, Ankara, 511 s.
109. Ozyazgan, Y., Yurdakul, S., Yazıcı, S., Tuzun, B., 1992, Low Dose Cylosporin A Versus Pulsed Cyclophosphamide in Behçet's Syndrome: A Single Masked Trial, *British Journal of Ophthalmology*, 76, 4, 241-243 p.
110. Öz, M., 2003, DL-alfa-lipoik asit ve DL-alfa-tokoferol asetat'ın yaşlı albino sıçanların eritrosit membran lipidleri ile karaciğer ve beyin dokularındaki bazı metabolik değişimler üzerindeki düzenleyici etkileri, *Fırat Üniv. Biyoloji Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Elazığ.*
111. Palamanda, J.R., Kehrer, J.R., 1993, Involvement of vitamin E and protein thiols in the inhibition of microsomal lipid peroxidation by glutathione, *Lipids*, 28, 427-431 p.
112. Papageorgio, C., McLeod, HL., 2002, Chemoterapy: Principles and Pharmacology, *The Washington Manual of Oncology*, Philadelphia, 11-49 p.
113. Ponsot, Y., Guerin, J.G., Carmel, M., 1995, Transitional Cell Carcinoma of the Ureter and Cyclophosphamide: A Propos of a Case *Prog Urol.*, 5, 4, 578-579 p.
114. Pool, B.L., Bos R.P., Niemeyer, U., Theuws J.L.G., Schmahl D., 1988, In vitro/ In vivo Effect of Mesna on the Genotoxicity and Toxicity of Cyclophosphamide A Study Aimed at Clarifying the Mechanism of Mesna's Anticarsinogenic Activity, *Toxicology Letters*, 41, 49-56 p.
115. Putnam, M.E., Comben, N., 1987, Vitamin E, *The Veterinary Record*, 12, 530-540 p.

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

116. Putnam, M.E., Comben, N., 1987, Vitamin E, The Veterinary Record, 12, 541-545 p.
117. Rajeswary, S., Mathew, N., Akbarsha, M.A., Kalyanasundram, M. at Kumaran, B., 2007, Protective effect of vitamin E against carbendazim-induced testicular toxicity-histopathological evidences and reduced residue levels in testis and serum, Arch Toxicol, 81, 813-821 p.
118. Rao, M.V. at Sharma, P.S.N., 2001, Protective effect of vitamin E against mercuric chloride reproductive toxicity in male mice, Reproductive Toxicology, 15, 705-712 p.
119. Regadera, J., Martinez-Garcia, F., Paniagua, R., Nistal, M., 1999, Androgen Insensitivity Syndrome, Arch. Pathol. Lab. Med., 123, 225-233 p.
120. Reilly, P.M., Schiller, H.J., Bulkley, G.B., 1991, Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites, Am. J. Surg, 161, 4, 488-503 p.
121. Rey, R., 1999, The pubertal testis: A quiescent or a silently anctive organ, Histopathology, 14 , 991-1000 p.
122. Rezvanfar, M.A., Sadrkhanlou, R.A., Ahmadi, A., Shojaei-Sadee, H., 2008, Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress, Hum Exp Toxicol, 27, 901 p.
123. Rice, D., Kendy, S., 1988, Vitamin E: Function and Effects of Deficiency. Br. Vet. J., 144, 482-496 p.
124. Roels, O.A., 1967, Present Knowledge of Vitamin E. Nutrition. Reviews, 25, 33-39 p.
125. Ross, M.H., Romrell, L.J., Kaye, G.I., 1995, Histology - A text and atlas, Third edition, Williams & Wilkins Company, Baltimore.
126. Sarkar, D., Maiti, R. at Ghosh, D., 2006, Management of fluoride induced testicular disorders by calcium and Vitamin-E co-administration in the albino rat, Reproductive Toxicology, 22, 606-612 p.
127. Sadler, T.W., 1990, Langman's medikal embriyoloji, (Çev.: Başaklar, C.), Palme Yayıncılık, Ankara.
128. Sadler, T.W., 2000, Langman's medical embryology, Eight Edition, Lippincott Williams & Wilkins.
129. Şahintürk, V., Güçlü, C., Bayçu, C., 2007, Protective effects of vitamin E on ethane dimethane

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

- sulfonate-induced testicular toxicity in rats, *Asian J Androl*, 9, 117–24 p.
130. Selvakumar, E., Prahalthan, C., Mythili, Y., Varalakshmi, P., 2004, Protective effect of DL-alpha-lipoic acid in cyclophosphamide induced oxidative injury in rat testis, *Reprod Toxicol*, 19, 163-167 p.
131. Senyelli, B., 1999, Mitomisin C ile geliştirilen deneysel kolitte antioksidanların etkisi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Edirne.
132. Sriraman, V., Sairam, M.R. at Rao, A.J., 2003, Evaluation of relative roles of LH and FSH in regulation of differentiation of Leydig cells using an ethane 1,2-dimethylsulfonate-treated adult rat model, *Journal of Endocrinology*, 176, 151–161 p.
133. Stahlmann, R., Bluth, U., Neubert, D., 1985, Effect of the Cyclophosphamide Metabolite Acrolein in Mammalian Limb Bud Cultures, *Arch Toxicol*, 57, 163-167 p.
134. Stevens , A., Lowe, J.S., 1997, *Human Histology*, Second Edition, Times Mirror Int. Publishers Ltd. (Mosby), Barcelona.
135. Şeftalioğlu, A., 1998, Genel ve özel insan embriyolojisi, Üçüncü Baskı, Tıp ve teknik yayıncılık Ltd. Şti., Ankara, 620 s.
136. Tarka-Leeds, D.K., Suarez, J.D., Roberts, N.L., Rogers, J.M., Hardy, M.P., Klinefelter, GR., 2003, Gestational exposure to ethane dimethane sulfonate permanently alters reproductive competence in the cd-1 mouse, *Biology of Reproduction*, 69, 959-967 p.
137. Taylor, M.F., Boer-Brouwer., M., Woolveridge, I., Teerds, K.J. at Morris, I.D., 1999, Leydig cell apoptosis after the administration of ethane dimethanesulfonate to the adult male rat is a fas-mediated process, *Endocrinology*, 140, 3797–3804 p.
138. Tekelioğlu, M., 1989, Genel tıp histolojisi, Beta Basım Yayım Dağıtım, Ankara.
139. Thatcher, N., Smihth, D.B., Lind, M.J., Anderson, H., Barclay, J., Chopra, M.P., Fitzgerald, M.D., 1988, Double Alkylating Agent Therapy with Ifosfamide and Cyclophosphamide for Advanced Non-Small Cell Lung Cancer from the Manchester Lung Tumour Group, *Cancer*, 61, 14-18 p.
140. Trasler, J.M., Hales, B.F., Robaire, B., 1986, Chronic low dose cyclophosphamide treatment of adult male rats : Effect on fertility, pregnancy outcome and progeny, *Biol Reprod*, 34, 275–83 p.
141. Turner, R.J. and Finch, J.M., 1991, Selenium and the Immune Response, *Proceed Nutr Soc.*, 50, 275-285 p.

KAYNAKLAR (Devam ediyor)

142. Ulrey, D.E., 1981, Vitamin E for Swine, *J. Anim. Sci.*, 53, 4, 1039-1055 p.
143. Uz Y.H., 2000, Siklosporin-A verilen sıçanların böbrek korteksleri üzerine E vitamini etkilerinin ışık ve elektron mikroskopik düzeylerde incelenmesi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Edirne.
144. Wang, X., Quinn, P.J., 2000, The location and function of vitamin E in membranes, *Molecular Membrane Biology*, 17, 143-156 p.
145. Warne, G.L., Fairley, K.F., Hobbs, J.B., Martin, F.I.R., 1973, Cyclophosphamide-Induced Ovarian Failure, *The New England Journal of Medicine*, 1159-1162 p.
146. Watson, A.R., Rance C.P., Bain J., 1985, Long term effects of cyclophosphamide on testicular function, *Br Med J (Clin Res Ed)*, 291, 6507, 1457-60 p.
147. Yagoda, A., Mukherji, B., Young, C., Etcubanas, E., Lamonte, C., Smith, J.R., Tan, C.T., Krakoff, I.H., 1972, Bleomycin an antitumor antibiotic, Clinical experience in 274 patients, *Ann Intern Med*, 77, 6, 861-870 p.
148. Yardımoğlu, M., Mısırlıoğlu D., 2001, Histological effects of ethanol and protective effects of vitamin e on the morphology of seminiferous tubules of mice, *Anadolu Tıp Dergisi.*, 3, 3, 155-159 p.
149. Yıldırım M., 1999, İnsan anatomisi, 4. Baskı, Tayf Ofset, İstanbul.
150. Yıldırım, M., 1999, İnsan anatomisi, Beşinci Baskı, Nobel tıp kitabevleri, Ankara, 351 p.
151. Young, B. at Heath, J.W., 2000, Functional histology, Churchill Livingstone.
152. Zhang Z.B., Yang Q.T., 2006, The testosterone mimetic properties of icariin, *Asian J Androl*, 8, 601-5 p.
153. Zhou, D.X., Qiu, S.D., Zhang, J., Tian, H., Wang, H.X., 2006, The protective effect of vitamin E against oxidative damage caused by formaldehyde in the testes of adult rats, *Asian J Androl*, 8, 584-8 p.
154. Zikrin, B.R., Chen, H., 2000, Regulation of Leydig Cell Steroidogenic Function During Aging, *Biology of Reproduction*, 63, 977-981 p.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı	İnci Yetim
Doğum Tarihi ve Yeri	25.08.1986-ESKİŞEHİR
Uyruğu	T.C
Medeni Durumu	Bekar
İletişim Adresi	inci_pearl_11@hotmail.com

Eğitim Durumu

2004-2008	Pamukkale Üniversitesi Biyoloji Bölümü, DENİZLİ
2000-2004	Bozüyük Mustafa Şeker Anadolu Lisesi, Bozüyük/BİLECİK
1997-2000	Cumhuriyet İlköğretim Okulu, Bozüyük/BİLECİK
1992-1997	Atatürk İlk Okulu, Bozüyük/BİLECİK
Yabancı Dil	İngilizce

Mesleki Deneyim

Eskişehir Özel Sakarya Hastanesi Laboratuvarında 15.02.2009-14.03.2010 / Biyolog.

Üye Olunan Bilimsel Kuruluşlar

Türk Histoloji-Embriyoloji Derneği (THED)

Yayımlar

Bilimsel Etkinlikler

II.Tüba Kök Hücre Kursu ve VI.Kök Hücre Sempozyumu, ANKARA, Haziran, 2011

Uygulamalı Temel Hücre Kültürü Teknikleri Kursu, DENİZLİ, Şubat, 2011

X.Uluslararası Katılımlı Histoloji-Embriyoloji Kongresi, İZMİR, Mayıs, 2010

Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Kursu, (ESOGÜ), Eylül, 2010