

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

RADYOTERAPİ UYGULANAN RATLARDA TESTİS HASARININ
ÖNLENMESİNDE AMİFOSTİNİN ROLÜ

Arzu GEZER
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI

2015-KARS

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans programı çerçevesinde Arzu GEZER tarafından hazırlanmış olan “*Radyoterapi Uygulanan Ratlarda Testis Hasarının Önlenmesinde Amifostinin Rolü*” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmenliği uyarınca değerlendirilerek oy ..*birliği*..... ile*kabul*..... edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : 28.12.2015

Adı – Soyadı :

Başkan: Prof. Dr. Şahin ASLAN

Üye : Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI

Üye : Doç. Dr. Adem KARA

İmza :

[Signature]

[Signature]

[Signature]

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun *04.01.2016* gün ve*118*..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Ali Rıza AKSOY

Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

	Sayfa No:
Simgeler ve Kısaltmalar	III
Tablolar Dizini	V
Şekiller Dizini	VI
Resim Dizini	VI
Önsöz / Teşekkür	VII
Özet	VIII
Summary	IX
1. GİRİŞ	1
1.1.Giriş ve Amaç	1
2. GENEL BİLGİLER	
2.1. Testis	
2.1.1. Testisin Embriyolojisi	2
2.1.2. Testisin Anatomisi	3
2.1.3. Testisin Histolojisi	4
2.1.4. Seminifer Tübüller ve Hücreleri	5
2.1.5. Sertoli Hücreleri	5
2.1.6. Spermatogonyumlar	6
2.1.7. Primer ve Sekonder Spermatositler	7
2.1.8. Erken ve Geç Dönem Spermatidler	7
2.2. Spermatozoa	7
2.2.1. Baş	8
2.2.2. Boyun	8
2.2.3. Kuyruk	8
2.3. İnterstisyel Alan ve Hücreleri (Leydig Hücreler)	9
2.3.1. Miyoid Hücreler	9
2.4. Spermatogenez	10
2.5. Sperm (Semen, Ejekulat) Analizi	10
2.5.1. Sperm Hücrelerinin Morfolojik Açıdan Sınıflandırması	11
2.5.2. Sperm Hücrelerinin Morfolojik Bozukluklarının Önemi	12

2.6. Radyoterapi	12
2.6.1. İyonize Işınlardan Etki Mekanizması	13
2.6.2. Radyoprotektörler	13
2.7. Amifostin	14
3. MATERYAL VE METOT	16
3.1. Dokuların Alınması	16
3.2. Histolojik İncelemeler	17
3.2.1. TUNEL Yöntemi	17
3.2.2. Tunel Sonuçlarının Değerlendirilmesi	17
3.3.3. Johnsen Kriteri	18
3.3. Sperm Motilite ve Yoğunluk Tayini	18
3.4. İstatiksel Değerlendirme	19
4. BULGULAR	
4.1. Histolojik Bulgular	20
4.2. Tunel Analizi	24
4.3. Sperm Motilite ve Yoğunluk Analizleri	30
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	34
6. KAYNAKLAR	39
7. ÖZGEÇMİŞ	44

SİMGELER VE KISALTMALAR

AI	: Apoptotik İndeks
ALP	: Alkalen Fosfataz
AMF	: Amifostin
AMH	: Antimüllerian Hormon
ATADEM	: Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi
Co	: Kobalt
ÇA	: Çerçeve Alanı
ÇS	: Çerçeve Sayısı
dk	: Dakika
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
GLOBOCAN	: Global Kanser İstatistiği
Gy	: Gray
hCG	: İnsan Koryonik Gonodotropin Hormon
İOH	: Hidroksil
LH	: Luteinizan Hormon
LPO	: Lipid Peroksidasyonu
m	: Kitle

IV

MIS	: Müllerian İnhibitör Madde
OH	: Hidroksil Radikali
O ₂	: Süperoksid
PAS	: Periyodik Asit Schiff
PHS	: Pozitif Hücre Sayısı
PHY	: μm^2 Alana Düşen Pozitif Hücre Yoğunluğu
rad	: Radyasyonun Emilen Dozu
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
RT	: Radyoterapi
SI	: Uluslararası Sistem
SRY	: Sex Belirleyen Bölge Y
TDF	: Testis Belirleyici Faktör
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama

TABLolar DİZİNİ

	Sayfa No:
Tablo 1. Tüm gruplara ait Histolojik Johnsen kriteri skor değeri	26
Tablo 2. Tüm gruplara ait Tunel boyaması Stereolojik pozitif hücre yoğunluğu sonuçları	26
Tablo 3. Tüm gruplara ait motilite ($\times 10^6$), yoğunluk ($\times 10^6$), baş (%) ve total anomalileri (%) değerleri	31

ŞEKİL VE RESİMLER DİZİNİ**ŞEKİL DİZİNİ****Sayfa No:**

Şekil 1. Tüm gruplara ait sperm motilite değerleri	32
Şekil 2. Tüm gruplara ait sperm yoğunluk değerleri	32
Şekil 3. Tüm gruplara ait baş anomalite değerleri	33

RESİM DİZİNİ

Resim 1. Kontrol grubuna ait histolojik kesit görüntüleri	21
Resim 2. Kontrol grubuna ait histolojik kesit görüntüleri	22
Resim 3. AMF grubuna ait histolojik kesit görüntüleri	22
Resim 4. AMF grubuna ait histolojik kesit görüntüleri	23
Resim 5. RT grubuna ait histolojik kesit görüntüsü	23
Resim 6. RT grubuna ait histolojik kesit görüntüsü	24
Resim 7. RT-AMF grubuna ait histolojik kesit görüntüleri	24
Resim 8. RT-AMF grubuna ait histolojik kesit görüntüleri	25
Resim 9. Kontrol grubuna ait Tunel boyası kesit görüntüleri	27
Resim 10. Kontrol grubuna ait Tunel boyası kesit görüntüleri	27
Resim 11. AMF grubuna ait Tunel boyası kesit görüntüleri	28
Resim 12. AMF grubuna ait Tunel boyası kesit görüntüleri	28
Resim 13. RT grubuna ait Tunel boyası kesit görüntüleri	29
Resim 14. RT grubuna ait Tunel boyası kesit görüntüleri	29
Resim 15. RT-AMF grubuna ait Tunel boyası kesit görüntüleri	30
Resim 16. RT-AMF grubuna ait Tunel boyası kesit görüntüleri	30
Resim 17. Stereolojik "Fractinator" metodu ile tunel pozitif hücrelerin hesaplanmasına ait ekran görüntüsü	31
Resim 18. RT grubuna ait Sperma Frotisi. Sperm hücresinde kopuk baş anomalisi	33
Resim 19. Kontrol grubuna ait Sperma Frotisi. Normal sperm hücresi	34
Resim 20. RT-AMF grubuna ait Sperma Frotisi.	34

ÖNSÖZ / TEŞEKKÜR

Eğitimim süresince gerek bilimsel ve gerekse tez çalışmalarımın her aşamasında bilgi ve katkılarıyla çalışmamı destekleyen, birikimlerini esirgemeyen danışmanım değerli hocam Doç. Dr. Ebru KARADAĞ SARI' ya, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şahin ASLAN' a ve kıymetli hocalarım Doç. Dr. Adem KARA, Doç. Dr. Turgay DEPREM ve Yrd. Doç. Dr. Serap KORAL TAŞÇI' ya eğitimim süresince göstermiş olduğu anlayış ve yardımlarından dolayı teşekkürlerimi borç bilirim.

Tez çalışmalarımın deneysel aşamasında laboratuvar imkânlarından yararlanmamı sağlayan ve laboratuvardaki katkılarından dolayı Doç. Dr. Sinan AKTAŞ ve Yrd. Doç. Dr. Orhan AKMAN hocalarıma, çalışmalarım sırasında desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Uz. Dr. M. Emin ÇELİKKAYA ve N.Seçil PARLAK ve emeği geçen bütün arkadaşlarıma, eğitimim süresince her zaman yanımda olduklarını hissettiren aileme, sabırla beni bekleyen eşim ve çocuklarım M.Göktuğ ve E.Göknur'a teşekkür ederim.

Arzu GEZER

ARALIK 2015

VIII

RADYOTERAPİ UYGULANAN RATLARDA TESTİS HASARININ ÖNLENMESİNDE AMİFOSTİNİN ROLÜ

ÖZET

Testis dokusu, radyasyondan oldukça yüksek oranda etkilenen dokulardan biridir. Amifostin radyoterapi ve kemoterapinin yan etkilerinin önlenmesinde kullanılan kimyasal ilaçtır. Bu çalışmayla radyoterapinin testis dokusu ve sperm hücrelerinde yaptığı etkide amifostinin önleyici rolü TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick and labelling assay) yöntemi kullanılarak değerlendirildi.

Ağırlıkları ortalama $245 \pm 22,89$ gr olan 32 adet yetişkin Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan çalışma gruplarında ve kontrol grubunda 8'er adet olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Radyoterapi (RT) testislere 2 Gy dozunda, 3 fraksiyonda uygulandı. Birinci gruptaki (kontrol grubu) sağlıklı sıçanlara ne radyoterapi ne de amifostin uygulandı. İkinci gruptaki (amifostin grubu) sıçanlara 3 gün süresince 200 mg/kg amifostin intraperitoneal yolla uygulandı. Üçüncü gruptaki (RT-salin) sıçanlara deneysel olarak 2 Gy radyoterapi 3 fraksiyonda toplam 6 Gy uygulandı. Dördüncü gruptaki (RT –amifostin) sıçanlara ise toplam 6 Gy radyoterapi ve 3 gün boyunca 200 mg/kg amifostin uygulandı. Sıçanlar radyoterapi uygulamasından 4 hafta sonra histolojik değerlendirmeler için sakrifiye edildi. Apoptozun belirlenmesinde TUNEL yöntemi kullanıldı. Histolojik değerlendirmelerden sonra Apoptotik İndeks (AI) yüzdeleri, hazırlanan her bir kesitte rastgele seminifer tubulün değerlendirilmesiyle elde edildi. Radyoterapi uygulanmasından dört hafta geçmesine rağmen 6 Gy sonrasında RT-salin ve RT-amifostin gruplarında yüksek miktarda apoptotik cevap izlendi. Bu iki çalışma grubunun apoptotik indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğu izlendi. Radyoterapiden 30 dk. önce intraperitoneal olarak uygulanan amifostinin, sıçanlarda radyoterapi uygulanan germ hücrelerinde apoptoza karşı bir koruyuculuk gösterdiği sonucuna varıldı.

Anahtar Kelimeler: Radyoterapi, Amifostin, Testis Dokusu, Germ Hücresi

THE ROLE OF AMIFOSTINE IN PREVENTION OF RADIOTHERAPY OF TESTICULAR TISSUE DAMAGE IN RATS

SUMMARY

Testicular tissue is one of the tissues which are affected by radiation quite highly rate. Amifostine is a chemical drug used in prevention the side affects of radiotherapy and chemotherapy. With this study, the preventive role of amifostine in effect that radiotherapy creates in testicular tissue and spermatogenic cells was assessed by using TUNEL (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP-biotin nick and labeling assay) method.

32 adult, male rats (*Sprague-Dawley*) average weights are 245 ± 22.89 gr are separated into four groups, including eight each in study groups and control group. Three fractions being 2 Gy were applied radiotherapy to testes. Healthy rats in first group (control group) were applied neither radiotherapy nor amifostine. Rats in second group (amifostine group) were applied 200 mg/kg amifostine with intraperitoneal way. Rats in third group (RT-salin) were applied experimentally 2 Gy radiotherapy in 3 fractions, in all 6 Gy. Rats in fourth group were applied total 6 Gy radiotherapy and 200 mg/kg amifostine for 3 days. After four weeks of radiotherapy application, rats were sacrificed for histological examinations. TUNEL method was used in being identified apoptosis. After histological examinations, apoptotic index (AI) percentages were obtained by being evaluated seminiferous tubules in each section prepared randomly. Although it has been four weeks after radiotherapy application, high apoptotic response was observed in RT-salin and RT-amifostine groups. Between these two groups apoptotic index, that there is a meaningful distinction statistically was observed. In conclusion before 30 minutes from radiotherapy, the results was reached that amifostine applied intraperitoneally showed a protection against apoptosis in testes germ cells in rats.

Keywords: Radiotherapy, Amifostine, Testicular Tissue, Germ Cell

1. GİRİŞ

1.1. Giriş ve Amaç

Dünya Sağlık Örgütü'nün (WHO) birimi olan Global Cancer Statistic (GLOBOCAN) kanser araştırma veri tabanının bilgilerine göre Türkiye'nin de içinde bulunduğu 184 ülkede yapılan araştırmalar neticesinde 2011 yılında 14.1 milyon primer kanser vakası oluşmuş ve 8.2 milyon insan bu nedenden hayatını kaybetmiş, 32.6 milyon insan da 5 yıldır kanser tanısı ile yaşamını sürdürmektedir. Akciğer, karaciğer, mide, kolorektal ve meme kanserleri kansere bağlı ölümler bütün kanser nedeniyle ölümlerin yarısından fazlasını oluşturmaktadır (Jemal ve ark. 2011).

Radyoterapi uygulamasından sonra spermatogenezin 0.1-1.2Gy dozları arasında etkilendiği, 4 Gy' den yüksek dozda ise kalıcı hasar oluşturduğu bildirilmiştir. Leydig hücreler ise 30 Gy' den düşük dozlara maruz kaldığı durumlarda canlılığını koruduğu belirtilmiştir (Bujan ve ark. 2013).

Casarett'in doku radyosensitivite (hassasiyet) sınıflandırmasına göre doku hasarı ve hücre ölümü temel alındığında hassasiyet derecesine göre radyosensitivite 3 gruba ayırmıştır. I. grup dokular; radyosensitif (duyarlı) dokular olup, fetus, kan hücreleri, lenf dokusu ve üreme hücrelerini içermektedir. II. grup dokular; radyoresponsif (cevap oluşturabilen) dokular olup, sindirim sistemi epiteli ve deriden oluşmaktadır. III. grup dokular radyorezistif (direnç gösterebilen) dokular olup, kas, kemik, sinir dokularını içerir (Hall ve Giaccia 2006). Testislerin de radyoduyarlı doku olmaları özelliğinden dolayı amifostinin olası koruyucu etkinliğinin daha iyi gözlemlenebileceği düşünülmüştür.

Kanserle mücadeledeki etkinliğinden ötürü radyasyon çok kullanılan bir tedavi yöntemidir. Bu nedenden dolayıdır ki kanser tedavisi gören hastaların yaklaşık yarısı tedavi süresi boyunca radyoterapi (RT) görmektedir (Ringborg ve ark. 2003). Radyasyon tedavisi uygulanması sonucunda tümoral dokunun yanı sıra normal dokuların da etkilenmesi kaçınılmaz bir sonuçtur (Barnett ve ark. 2015). Radyoterapiye maruz kalan hastalarda normal doku yaralanması olarak adlandırılan ve kısa sürede normal dokudaki yara iyileşmesini olumsuz etkileyen ve hücre ölümüne bağlı olarak çeşitli belirtilerle kendini gösteren rahatsızlıklar meydana gelmektedir (Stone ve ark. 2003). Radyoterapiye veya kazara radyasyona maruz kalan kişilerde apopitoz ve nekrozun varlığı tesbit edilmiştir. Uygulanan doz ile

apoptotik indeks arasında bağlantı olduğu ayrıca radyasyonun hücre ölümü mekanizmasını etkilediği bilinmektedir. Bu etkilerin azaltılmasında bir takım sentetik radyoprotektif ajanlar geliştirilmiştir. Radyasyon ışımaya maruz kalınmasından sonra hücrede serbest radikaller olarak bilinen moleküllerin oluştuğu gözlenmiş ve oluşan bu serbest radikallerin indirgenmesinde antioksidanların sentetik radyoprotektiflerle paralel özellikler göstererek DNA üzerinde radyasyonun oluşturduğu oksidatif hasarı indirgediği neticesine varılmıştır (Rinaldi ve ark. 2005).

Bu çalışmada radyoprotektif ajan olan amifostin (WR-2721)'nin radyoterapi sonrasında testis dokusunda meydana getirebileceği hasarın ve sperm motilitesinde oluşturabileceği değişikliklerin deneysel olarak incelenmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis

2.1.1. Testisin Embriyolojisi

Embriyonun cinsiyeti, X kromozomuna sahip ovumu döleyen sperm hücresinin X veya Y kromozomu içermesine bağlıdır. Yedinci haftadan önce genital sistemin görünümü her iki cinste de birbirine benzer. Testis belirleyici faktör için gerekli olan SRY geni (Sex-determining region on Y) Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki cinsiyet belirleyici bölgesinde yer alır. Y kromozomu döllenmede etkin olan kromozom gonadın tipini belirler yani farklılaşmamış gonadın testis ya da ovaryum olarak kimlik kazanmasını sağlar (Moore ve ark. 2008).

Gonadlar;

Mezodermal epitel (arka karın duvarın mezotel epiteli),

Embriyonik bağ dokusu (mezenşim),

Primordial germ hücreleri. Olmak üzere üç kaynaktan gelişir.

Gonadal gelişimin ilk aşamaları gebeliğin 5. haftasında ortaya çıkar. Mezotel epitelin ve altındaki mezenşimin kendini yenilemesiyle mezonefrozun yakınında gonadal (genital) kabartı olarak adlandırılan bir kabarıklık belirir. Epitelyal kordonlar parmak şeklinde bir görünüm sergiler ve mezenşim içerisine doğru kısa zamanda büyürler. Şayet embriyo XX kromozom bulunduruyor ise, farklılaşmamış gonadın medullası geriler, korteksi overe benzer, embriyo XY kromozom bulunduruyor ise, medulla testise benzer, korteks bazı kalıntılar dışında geriler ve kaybolur (Langman 1996).

Y kromozomu içeren embriyolarda testislerin gelişimi planlı bir dizi genin tetiklenmesiyle sağlanır. Primer seks kordonları, testis belirleyici faktör tarafından uyarılarak medulla derinlerine doğru uzarlar ve dallanmalar gösterirler. Daha sonra bu dallanmalar anastomoz yaparak rete testin oluşumunu sağlarlar. Testis, belli aralıklarla yıkıma uğrayan mezonefrozdun ayrılır ve asılı hale geçer. Seminifer kordonlar, seminifer tubullere, *tubuli rekti* ve *rete testise* dönüşürler (Moore ve ark. 2008).

Leydig hücreleri sekizinci haftadan sonra androjen hormonlar olan testosteron ve andosteron üretmeye başlarlar. Bu hormonlar dış genital organların ve mezonefrik kanalların oluşmasına yardımcı olurlar. İnsan koryonik gonodotropin hormonu (hCG), testesteron yapımını uyarır ve hormon miktar olarak 8-12 haftalarda pik yapar. Ayrıca Antimüllerian Hormon (AMH) veya Müllerian İnhibitör Madde (MIS) adı verilen bir hormon da fütal testisler tarafından salgılanır. AMH, paramezonefrik kanalların gelişimini baskılar (Cumhur 2001).

2.1.2. Testisin Anatomisi

Testisler erkek üreme hücrelerinin yapıldığı, sağlı ve sollu, oval şekilli, yetişkin insanlar için sayısal olarak değerlendirmek gerekirse yaklaşık 2,5 cm eninde, 4-5 cm uzunluğunda, 20-30 gr. ağırlığında ve skrotum içinde funiculus spermaticusa asılı olarak yerleşmişlerdir. Skrotumun iç yüzü septum skrotum ile iki ayrı odaya ayrılır ve normalde bu iki bölmede iki testis bulunur. Dış yüzü ise kıvrımlı kese görünümündedir (Moore ve Dalley 2007). Abdominal boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişen testisler erken fetal dönemde böbreklere yakın bir yerleşim gösterirler. Fetus büyüdükçe aşağıya doğru inerler. Doğumdan önce de normalde kanalis inguinalisten skrotuma inmiş olmaları gerekir. Testislerin fonksiyonel olabilmeleri için bu iniş zorunludur. İniş sırasında karın ön duvarı tabakalarını da sürükledikleri için deri, Tunika dartos, Fasia spermatica eksterna, Fasia kremasterika, Fasia spermatica interna, Tunika vaginalis testis tabakalarıyla çepe çevre sarılmıştır (Arıncı ve Elhan 2006).

Testisler içten dışa doğru;

Tunica vasculosa,

Tunica albuginea,

Tunica vaginalis olmak üzere üç tabaka ile çevrilidir (Cumhur 2001, Ozan 2006). Tabakalar arasında kalan boşluk cavum serosum scroti olarak isimlendirilmiştir. Bu boşlukta eklem sıvısına benzeyen, testislerin rahat hareket etmesini sağlayan kaygan bir sıvı bulunur (Arıncı ve Elhan 2006, Moore ve Dalley 2007).

Mediastinum testisten testise doğru giden uzantılara *septula testis* denir (Ozan 2006). Septumlar, testisin derinliklerine doğru uzanarak organı 250-300 adet lobçuğa (lobuli testis) ayırır. Her bir lobçuk 1-4 seminifer tubul adı verilen kıvrıntılı tüplerden oluşur (Ozan 2006, Ross ve Pawlina 2006). Seminifer tubuller testise doğru ilerleyerek birbirleriyle anastomoz yaparlar. Bu anastomozlar rete testisi (Haller ağı) oluştururlar. Mediastinum testisin üst bölümünde sayıları 12-15 arasında değişen rete testisler efferent kanalcıklara açılır ve daha sonra bu efferent kanalcıklar, tunica albuginea'yı delerek testis dışına çıkarlar (Ross ve Pawlina 2006, Gartner ve Hiatt 2007).

2.1.3. Testisin Histolojisi

Testis skrotal kese içinde bulunur. Testislerin bu konumu vücut ısısından 2-3°C daha düşük ısıda olmalarını sağlar (Kierszenbaum 2006).

Kalın bir kapsül halinde olan tunika albuginea yoğun bağ dokusundan oluşur ve her bir testisi bu kapsül içinde bulundurur. Mediastinum testis, tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşmasıyla oluşturduğu bölgedir. Aralarında genellikle iletişim olan lobülden biri gevşek bağ dokuyla çevrelenmiş 1-4 seminifer tubule sahiptir. Bu bağ dokuda çok sayıda lenf ve kan damarları, sinirler, androjen üreten Leydig hücreleri ve makrofajlar gibi interstisyel hücreler vardır (Jangueria ve ark. 1998).

Seminifer tubul; erkek üreme hücresi spermatozoonları oluşturur ve her biri yaklaşık 50 cm uzunlukta ve 150-250 µm çapında, uçları U biçiminde olan ve rete testise açılan tüplerdir. Çok katlı olup, karmaşık ve kıvrımlı bir yapıdadır ve bu yapıdaki ilk aşamalarda kör uçlu olan seminifer tubul daha sonra dallara ayrılır, sonlanırken de lümeni daralır ve düz tubuller halinde bir oluşum sergiler. Bu oluşum ise *tubuli rekti* adını alır. Tubuli rekti, seminifer tubulleri rete testise ulaştırır. Rete testiste spermatozoonu toplayan, epididimisin baş kısmı ile 10-20 sayıda duktuli efferentes bağlayan kanallar topluluğudur (Kierszenbaum 2006, Ross ve ark. 2003).

2.1.4. Seminifer Tubuller ve Hücreleri

Germ ve somatik hücrelerden oluşan özelleşmiş seminifer epitel ile döşeli merkezi lümeden meydana gelen seminifer tubuller 150-200 mikron kalınlığında 30-70 cm uzunluğunda, kıvrıntılı kanalcıklardır. Seminifer epitel, kollajen lifler ile bazal membran, fibroblastlar, kasılabilir miyoid hücrelerden meydana gelen tunika propria ile çevrilidir. Kıvrımlı tubuller lobülün tepesine doğru kıvrımlarını yitirerek düz bir tüp şeklini alır. Bu düz tüp tubuli rekti olarak adlandırılır. Boşaltıcı kanalların ilki tubuli rektilerdir. Tubuli rektiler anostomozlaşarak farklı bir kanal oluşturup rete testis diye isimlendirilir (Jangueria ve ark. 1998, Aktümsek 2004).

Seminifer epitelde germ hücrelerine destek olan ve besleyen sertoli hücreleri ve germ hücreleri olan spermatogenik hücreler vardır. Bazal membrana en yakın olup, birbiri üzerine sıralanmış, gelişim aşamasındaki hücreler spermatogonyumlardır. Lümene en yakın bulunan spermatidler ise, daha olgun hücrelerdir (Jangueria ve ark. 1998, Eşrefoğlu 2009).

2.1.5. Sertoli Hücreleri

Bazal laminadan lümene doğru uzanırlar, tepe kısımdaki uçları ise çoğunlukla tubulün lümenine doğru uzanır. Sitoplazmaları eozinofilik, bazale yerleşmiş, oval biçimli, çentikli çekirdekleri vardır ve çekirdekçik belirgindir. Sertoli hücrelerinin üst ve yan membranlarının sınırları düzensizdir. Elektron mikroskopu ile çekirdekçik geniş, çekirdek heterokromatin bulunduran üçgen biçiminde olukludur. Sitoplazma çok miktarda endoplazmik retikulum içerir. Golgi aygıtı iyi gelişmiş, çok sayıda mitokondrion, vimentin ve lizozomlar, mikrotubul ve aktinlerden oluşan zengin bir hücre iskeleti olarak görüntülenir. Özellikle radyasyon, enfeksiyon, kötü beslenme, gibi olumsuz koşullara karşı oldukça dayanıklıdırlar (Ahmetoğlu 2013).

Yakın sertoli hücrelerinin uzantıları birbirlerine sıkı bağlanmıştır. Bu sıkı bağlantılar kan-testis bariyerini oluşturur. Bu bariyer sayesinde gelişmekte olan spermatidler ve spermatoisitler otoimmün reaksiyonlardan ve kandan gelen ürünlerden korunurlar. Gap- junctionlarla ilişki kuran sertoli hücreleri kimyasal ve iyonik alışverişte etkindirler.

Sertoli hücreleri önemli fonksiyonlara sahiptir. Bunlar;

1. Gelişmekte olan spermatogenik diziyeye ait hücreleri desteklemek, beslemek ve korumak.
2. Sertoli hücrelerinin meydana getirdikleri bariyer ile sperm hücrelerini immünolojik olumsuzluklara karşı korumak.
3. Seminifer tubul lümenine sperm hücrelerinin kolaylıkla taşınması için sıvı salgılamak.
4. Spermatogenez için şart olan testosteronunu kıvamlaştıran Androjen-Bağlayıcı Proteini salgılamak.
5. Testosteronu östradiol'e çevirmek.
6. Spermatidler tarafından atılan artık ürünler, hücrelerin fazla olan kısımlarının fagosite edilmesi.
7. Folikül Stimüle Hormon (FSH) salınması ve sentezi üzerine olumlu etki gösteren aktivini salgılamak.
8. Embriyonun gelişimi sırasında Anti Müllerian Hormon (AMH)'u salgılamak. (Glikoprotein olan Anti Müllerian hormon erkek fetusta, embriyonik gelişme sırasında Müller kanalların gerilemesini sağlar. Testosteron da Wolf kanallardan köken alan oluşumların gelişmesine yardımcı olur.)
9. Erkek üreme hücrelerine demir taşıdığı düşünülen testiküler transferinin salgılanmasında ve sentezlenmesinde görev almak (Bozdoğan ve Uzoğlu 2012, Ahmetoğlu 2013).

2.1.6. Spermatogonyumlar

Spermatogonyumlar bazal tabakada yerleşik bazal lamina ile doğrudan ilişkide olan diploid spermatogenik hücreler olup, ortalama 12 µm çapındadır. Sertoli hücreleri arasında bulunan tıkaçıcı bağlantıların altında olmalarından dolayı kan-testis bariyerinin dışında yer alır. Spermatogonyal kök hücreleri erkek üremesinde etkindir. Kök hücreler kısmen, sessiz hücreler olmaları nedeniyle radyasyon ve kemoterapiye dirençlidirler. Spermatogonyumlar, kromatin dağılımı, çekirdeğin büyüklüğü gibi özelliklerine göre iki tiptir (Gartner ve Hiatt 2003).

1. Tip A (Kök hücre) : Yassı şekilli, çekirdeği seminifer tubulün bazal laminaına oturmuş gibi görünür. Kromatin içeriğine göre açık ve koyu olarak gözlenir. Koyu renkte olanlar rezerv hücreler olarak kabul edilir. Mitozla çoğalırlar, çoğalma

sırasında yarısı Tip A olarak kalır, diğer yarısı büyüyerek Tip B'ye dönüşür. Bunlar spermatogenik serinin kök hücreleridir.

2. Tip B: Ana spermatogonyumlara nisbeten daha büyük hücrelerdir. Çekirdeği, koyu renkte boyanır ve yuvarlak şekillidir. Tip B'de mitozla çoğalır (Yakan ve ark. 2011).

2.1.7. Primer ve Sekonder Spermatisitler

Seminifer tubul epitelinin orta bölümünde bulunan primer spermatisitler, oval veya yuvarlak biçimli, hacim olarak en büyük hücrelerdir. İki tane sekonder spermatisit oluşturmak için birinci mayoz bölünmeye giderler. Bu mayoz bölünme ile oluşan haploid kromozumlu küçük hücreler sekonder spermatisitlerdir. Sekonder spermatisitler hiçbir hücre bölünmesi göstermeden sperm hücresi biçiminde olgunlaşan iki tane spermatid oluştururlar. Oluşan bu spermatidler haploidtirler ve karmaşık bir farklılaşma süreci olan spermiyogenezin başlamasına zemin hazırlarlar (Kierszenbaum 2006).

2.1.8. Erken ve Geç Dönem Spermatidler

Spermatidler seminifer tubulde konumlanmış, mayoz bölünme sonrasında meydana gelen haploid hücrelerdir ve spermatogenez sırasında spermatozoanın oluşumundan önceki hücrelerdir. Erken spermatidler sertoli hücreleri tarafından beslenirler (Kierszenbaum 2006). Poligonal ve yuvarlak şekillidirler ve Golgi aygıtları belirgindir. Akrozom reaksiyonunun kep safhasında Periyodik Asit Schiff (PAS) ile pozitif reaksiyona girerek yuvarlak şekilli görünürken geç spermatidler ise yine PAS pozitif reaksiyona girdiklerinde akrozomlarının uzamış olduğu görülür (Cooper ve ark. 2007).

2.2. Spermatozoa

Görevlerini yerine getirebilmek için oldukça özelleşmiş bir yapıya sahip olan sperm hücresi baş, boyun ve kuyruk olmak üzere üç ana bölümden oluşur (Zhengwei ve ark. 1990).

2.2.1. Baş

Sperm hücresinde başın fonksiyonları; DNA'yı bulundurması, koruması ve fertilizasyon esnasında içeriğini oosite aktarması şeklinde sıralanabilir. Bu görevlerini de ancak baş kısmında bulundurduğu nükleus, akrozom ve postakrozomal

kılıf olarak sıralanan organelleri sayesinde gerçekleştirebilir. Normal bir sperm hücresinde baş yaklaşık 3 µm genişliğinde ve 4–5 µm uzunluğundadır (Siegel 1987).

Akrozom reaksiyonu sonrasında ekvatoryal bölge bozulmadan kalır. Ekvatoryal bölgenin üzerini örten membran, sperm-oosittaninmasının ve füzyonunun olduğu alandır. Bu yüzden akrozomun ekvatoryal bölgesinde yerleşmiş bu önemli membran bölgesi, özellikle zona pellusida penetrasyonu sırasında dikkat çeken yapıdır (Morales 2004).

Plazma membranı sperm hücresinin başının ön tarafını çevreler ve zona pellusidayı tanıma ve bağlanma ile dış akrozomal membranla birleşme gibi iki önemli olayda yer alır. Bu görevlerin her ikisi de kapasitasyonla birlikte gerçekleşir (Elgavish ve Shaanan 1997). Sperm hücresiyle oositin birleşmesinin tek gerçekleştiği bölge ekvatoryal bölgedir ve birleşme sadece akrozom reaksiyonu tamamlandıktan sonra gerçekleşebilir (Yanagimachi 1988).

Sperm hücresinin nükleusunda bulunan kromatini DNA ile arjinin ve sisteinden denilen bazik proteinler içerir (Kolk ve Samuel 1975).

2.2.2. Boyun

Sperm hücresinde baş ve kuyruk arasındaki kısımdır. Yaklaşık 0,5µm uzunluğundadır. Bağlantı parçası olarak da isimlendirilir (Curry 1995).

2.2.3. Kuyruk

Sperm hücresinin enerji üretim bölgesidir ve hareketlilikten sorumludur. Fertilizasyonun gerçekleşmesi için hareketlilik önemli bir kriterdir. Epididimiste hareketli hale gelen sperm hücresi, hareketi sayesinde serviksi, uterusu, tubaların bir kısmını geçerek oosite ulaşır. Dinein kolları adı verilen mikrotubul çiftleri bulunur. Bu kollar filamanlara benzer bir mekanizma göstererek kuyruk hareketinin oluşumunu sağlar (Farrel 1982).

2.3. İnterstisyel Alan ve Hücreleri (Leydig Hücreleri)

Testis yapısının %25-30'unu gevşek bağ dokusu oluşturur. Seminifer tubullerin arasında bulunan interstisyel bağ dokusu; kan ve lenfatik damarlar, kollajen lifler ve sinirlerden zengin gevşek bağ dokusudur. Bu dokuda makrofajlar, mast hücreleri, fibroblastlar ve farklılaşmamış mezenşimal hücreler bulunur.

İnterstisyel hücreler veya Leydig hücreleri olarak ta adlandırılan hücreler yuvarlak, bazende poligonal şekilli, asidofil sitoplazmalı, yuvarlak nükleuslu, hücreler bağ dokusu içerisinde tek tek ya da gruplar halinde gözlenirler (Eşrefoğlu 2009). Leydig hücreleri testosteron hormonunun üretiminden ve salgılanmasından sorumludurlar ve bu hormonun yaklaşık % 95' i Leydig hücreleri tarafından üretilir (Kim ve ark. 2004, Fujisava 2001).

Leydig hücreleri steroid sentezleyen hücre özelliğindedir. Leydig hücrelerinin sitoplazmaları çok miktarda endoplazmik retikulum bulundurur ve eozinofiliktir. Sitoplazmada ayrıca çok sayıda, lipofuksin pigmenti, mitokondri, Reinke Kristalleri görülür. Yaşla birlikte lipokrom pigmentinin ve Reinke kristallerinin miktarı artar (Leeson ve ark. 1988). Leydig hücreleri salgısını, testosteron hormonunun ihtiyacına göre ayarlar ve biriktirmeden salgılar. Bekletilmeden kana salgılandığından salgı granülleri yoktur (Moore 2002, Gartner ve Hiatt 2003).

Leydig hücrelerinin diğer bir görevi; spermatogenezin devamı için ikincil seks karakterlerinin gelişmesini sağlamaktır. Leydig hücrelerinin hem miktarları hem de aktiviteleri hormonal uyarımlara bağlıdır (Guyton ve Hall 1996). Olgun Leydig hücreleri doğumdan sonraki ilk birkaç haftada erkek çocuk testisinde bulunur. Bunun haricinde, 10 yaşına kadar bulunmaz. İnterstisyel hücrelerin sayıları, ergenlikle orantılı olarak artarken, yaşın ilerlemesiyle azalır (Ertuğrul ve Kurtdede 2013).

2.3.1. Miyoid Hücreler

Hareketsiz olan sperm hücrelerinin rete testise doğru ilerletilmesini, kasılma hareketleriyle miyoid hücreleri sağlar. Bu yetenekleri sayesinde hareketsiz haldeki sperm hücreleri önce duktus epididimise ulaşır, daha sonra da hareket etme özelliklerini kazanırlar. Bağ dokusundan oluşan lamina propriya seminifer tubülü çevreler. Lamina propriyanın kemirgenlerde tek katlı miyoid hücrelerden oluştuğu bildirilmiştir (Kierszenbaum 2002).

Elektron mikroskopuyla yapılan çalışmalarda miyoid hücrelerin sitoplazmasında aktin filamentlerinin olduğu ve zarının olması nedeniyle de düz kas hücrelerine benzediği ifade edilmiştir. Granüllü endoplazmik retikulumları arcılığıyla kollajen sentezinde fonksiyoneldirler (Ross ve ark. 2003).

2.4. Spermatogenez

Puberte döneminden sonra erkek germ hücrelerinin oluşmasına *spermatogenez* denir. Spermatogenez; spermatogonyumdan sperm hücresi oluşumu esnasındaki hücresel değişiklikleri ve çoğalmayı kapsamaktadır. Spermatogenez süreci iki aşamada gerçekleşir. İlk aşama olan spermatositogenez spermatogonyumların primer spermatosite dönüşmesi ve mitozla çoğalması dönemine denir (Atabekli 2002, Ross ve ark. 2003). İkinci aşamada da spermatositler peş peşe iki bölünme geçirerek DNA miktarını ve kromozom sayılarını yarıya düşürerek spermatidleri oluşturduğu evre mayoz adını alır. Spermatid hücreler haploid kromozom ve DNA içeriğine sahiptirler. Spermatidin biçim değiştirerek sperm hücresi oluşturmasına ise *spermiyogenez* denir. Sertoli hücreleri spermiyogenezde önemli rol oynar (Eşrefoğlu 2009).

2.5. Sperm (Semen, Ejekulat) Analizi

Semen analizi hem infertiliteyi saptama kriterlerinden hem de tedaviye yön vermek için yapılan bilimsel araştırmadır. Bu araştırma için en az 48 saatlik (insan için) cinsel perhizden sonraki zamanda elde edilen semen mikroskopik ve makroskopik değerlendirmeye tabi tutulur. Değerlendirme sonucunda sperm hücresinin hareketliliği, sayısı ve morfolojisi değerlendirilir. Semen analizi, infertil erkek canlıının fertilitate yeteneğini belirlemede önemlidir ve klinikte tedavinin planlanmasında kullanılmaktadır. Bilimsel incelemelerde sperm hücresinin sayısı, hareketliliği ve şekli ile ilgili detaylı çalışmalar bulunmaktadır (Carrell ve ark. 2003, Irvine ve ark. 2000).

Semen analizinde genellikle, ejakulat alındıktan sonra maksimum 60 dakikaya kadar likefikasyonu (sıvılaşma) için beklenir, daha sonra incelemeye geçilir. World Health Organization (2010) (WHO) 'un manüel değerlendirdiği semen analizinde referans aralıkları aşağıdaki gibidir.

Hacim : $\geq 2,0$ ml

Likefikasyon süresi: 60 dk içinde

Ph: $\geq 7,2$

Sperm konsantrasyonu: ml'de ≥ 20 milyon

Total sperm sayısı: ejakülatta ≥ 40 milyon

Hareketlilik: 30 ve 60 dk sonra hareketlilik oranı sırasıyla, $\geq \%50$, $\geq \%25$

Canlılık : %75 veya daha fazla canlı

Lökosit: ml'de 1 milyondan daha az

Normal morfoloji: en az \geq %30

2.5.1. Sperm Hücrelerinin Morfolojik Açıdan Sınıflandırması

Normal fertil ejakulatta sperm hücreleri büyüklük, şekil, baş ve akrozom şekli bakımından farklılık gösterebilirler (Ombelet ve ark. 1994). Bir spermatozoonun normal veya anormal olduğunu belirleyen kriterleri standardize etmek için birçok çalışma yapılmıştır (Guzick ve ark. 2001). Sperm hücresi morfolojisinin değerlendirilmesinde Dünya Sağlık Örgütü (WHO: World Health Organisation, 1980)'nün sınıflaması yol gösterici olmuştur. Daha sonra Dusseldorf, Haider ve Hofmann (1985) sınıflaması da yeni bir sınıflama tanımlamıştır. 1987'deki WHO'nun ikinci bir sınıflaması ile semen analiz kriterleri yenilenmiştir. 1992'deki üçüncü WHO sınıflamasında da sperm hücresinin morfolojik olarak değerlendirilmesi daha ayrıntılı bir şekilde ele alınmıştır. Kruger ve Menkveld, sperm hücresi morfolojisine yönelik kesin olarak Tygerberg kriterlerini tanımlamıştır (Aydos 2005). Bu sınıflandırmada spermatozoon bütün olarak incelenip ve düzensiz hatları ve çok az derecedeki normal olmayan sperm başları bile anormal olarak değerlendirilir.

Tygerberg kriterlerine göre, morfolojik olarak değerlendirme sonuçları:

1. Normal morfolojiye sahip grup (%14'den fazla normal oluşum var),
2. İyi prognozlu grup (%4-14 arası normal oluşum var),
3. Kötü prognozlu grup (%4'den az normal oluşum var) olmak üzere üç grupta ele alınabilir (Aydos 2005).

2.5.2. Sperm Hücrelerinin Morfolojik Bozukluklarının Önemi

Kruger sınıflamasına göre sperm hücrelerinin kuyruk, orta bölüm ve baş yapısındaki bozuklukları temel ölçü alan bir değerlendirme yapılmaktadır. Özellikle baş yapısındaki çift baş, makrosefali gibi bazı biçimlerin baskın oluşu bu spermelerin mikro enjeksiyon uygulamalarında başarısızlığın yüksek olacağına işaret eder. Çünkü anormal baş bulunan sperm hücrelerinin DNA yapısında da anormallikler olduğu tespit edilmiştir. Sperm hücresinin kuyruk yapısındaki bir takım bozukluklar da (örneğin; kısa kuyruk gibi) sperm hareket yeteneğini bozarak infertiliteye neden

olur. Bu bilgiye paralel olarak kısa kuyruk anomalisi fazla görülenlerde mikroenjeksiyon sonrası başarı şansı düşük olmaktadır. Sperm hücrelerinin morfolojik bozuklukları; küçük başlı, büyük başlı, çift başlı, çift kuyruklu, uzamış başlı gibi anomali ve akrozom hasarları olarak sınıflandırılabilir (Aydos 2005).

2.6. Radyoterapi

Radyoterapi kanser tedavisinde en çok tercih edilen tedavi yöntemlerinden biridir (Steel 2003). Kanser hastalarının %50-60'ı, cerrahi veya kemoterapi tedavisi yanında radyoterapi de görmektedir (Kızılcı 1999). İnvazif kanser teşhisi konulan hastaların %30'u metastatik, %70'i ise lokorejyonel (belli bir alanla sınırlı) evdedir. Radyoterapi esasen 2 hedefe yönelik planlanır. Hastalığı tedavi etmek amacıyla küratif olarak veya hastalığı tamamen yok etmenin mümkün olmadığı durumlarda hastalığın etkilerini mümkün olduğunca azaltmak ve yaşam süresini uzatmak amacıyla palyatif (geçici) olarak kullanılır (Uzal 1995).

Bir molekül veya atomdan, bir veya daha çok sayıda elektronun kopartıldığı işlem *iyonizasyon* olarak isimlendirilir. *Radyasyon* da; ortam ile etkileştiğinde, indirekt veya direkt olarak iyonizasyon meydana getiren partiküller ve fotonlara iyonizasyon yapmasıdır (Yaren ve Karayılanoğlu 2005).

İyonize radyasyonlar, fotonlardan veya partiküllerden oluşmasına göre 2 gruba ayrılır ve bu iki grubun enerji seviyeleri (frekansları) birbirlerinden farklıdır (Cox ve Ang 2010). İyonize radyasyonlar canlı dokularda tahrip edici yapıdadır. Bu etkisini kromozomlarda gösterir (Citrin 2010).

2.6.1. İyonize Işınlardan Etki Mekanizması

İyonize ışın belli bir dokuya nüfuz ettiğinde kimyasal ve fiziksel reaksiyonlar bir zincir halinde gerçekleşir. Bir molekül ya da atom elektronun molekül ya da atom yapısından atılmadan önce üst enerji seviyesine ulaşması olayına *eksitasyon* (uyarılma) denir. Uyarılmış bu molekül ve atomlar kimyasal reaksiyonlara oldukça kolay girebilecek yapıdadırlar. Uyarılmış bu moleküllere *serbest radikaller* denir (Riley 1994). Işıma sonrasında hücre içerisinde kontrolsüz bir şekilde oluşan bu fiziksel olaylar kimyasal ve daha sonra da biyolojik etkilerin oluşmasına zemin hazırlar. Fiziksel etkileşim sonrasında ortaya çıkan kimyasal etkileşim, ortamdaki mevcut sekonder elektronlar ve moleküller arasında gerçekleşir (Uzal 1995).

İyonize radyasyonun hücredeki etkisi direkt ya da indirekt biçimde olur. Bunun yanında DNA üzerinde radyokimyasal lezyonlar aynı biçimde direkt veya indirekt şekilde gerçekleşir (Cox ve Ang 2010). Radyasyona maruz kalma sonucunda lipid peroksidasyonu (LPO) gerçekleşir. Lipid peroksidasyonu kısa zincirli yağ asitlerinin, protein-protein, lipid-lipid ve lipid-protein çapraz bağ oluşumuna ve protein denatürasyonunu, aminoasit oksidasyonu ve proteinlerde bulunan disulfid bağlarının yıkılmasına da sebep olur (Joshi 2010).

2.6.2. Radyoprotektörler

Radyoterapinin amacı; normal hücrelerde oluşabilecek en az hasarı yaparak, kanserli hücrelerin ortadan kaldırılmasıdır. Radyasyon hücre DNA'sına hasar verir ve radyoterapinin kuralı hücreyi öldürebilecek yeterli hasarın oluşturulmasıdır. Eğer hasar görmüş hücre, DNA'sını yenileyemezse yaşamını sürdürmez ve çoğalamaz. Radyasyon, normal hücrelerde de hasara sebep olur ve bu durum istenmeyen yan etkilere yol açabilir (Sancar 2004).

Radyasyon yaralanmalarındaki serbest radikal indirgeyicilerinin etkisi ilk olarak, bilim adamlarının vücut ışımlarında organizmadaki toplam antioksidan bünyesindeki düşüşü, ürik asit ve askorbik asit gibi antioksidanların tükendiğinin fark edilmesiyle anlaşılmıştır (Karbownik ve Reiter 2000).

Radyoprotektif kimyasallar temel olarak dört grupta incelenirler. Bunlar;

1. Anestezik ilaçlar, analjezikler,
2. Thiol ve sülfür bileşikleri, trankilizanlar gibi farmakolojik ajanlar,
3. WR-2721 (amifostin) ve WR-1065 (amifostin benzeri radyoterapinin etkilerini azaltmak için kullanımda olan ajan),
4. Vitamin E ve C ve glutatyon gibi diğer radyoprotektif bileşiklerdir (Benkoviç ve ark. 2009).

En iyi bilinen radyoprotektörler siteamine ve sistein gibi sülfidril içeren bileşiklerdir ama bunlar bulantı, kusma gibi basit yan etkilerine ilaveten daha önemli bir yan etki olan toksik değere sahip olabilmektedirler. Radyoterapi ya da radyasyona maruz kalınması sonucunda ortaya çıkabilecek yan etkilerin azaltılması, kullanılan radyoprotektiflerin özelliklerine ve kullanım şekline bağlıdır (Uzal 2012).

İdeal radyoprotektif ajanın sahip olması gereken kriterler aşağıdaki gibidir;

- (a) Radyasyonun sebep olduğu yan etkilere karşı etkili bir koruma sağlamalıdır.

- (b) Organın genelinde koruyucu özelliği olmalıdır.
- (c) Kabul edilebilir uygulama yöntemi olmalıdır.
- (d) Kabul edilebilir toksisite ve protektif aralık özelliği bulunmalıdır.
- (e) Hesaplanan miktar ve aktif ürün açısından sabit özellik taşımalıdır.
- (f) Hasta ve uygulayan personel için diğer muhtemel ilaçlarla geniş bir uyumlulukta olmalıdır.

2.7. Amifostin

1950' lili yıllarda Amerika Birleşik Devletleri'ne bağlı Walter Reed Ordu Araştırma Enstitüsü'nde keşfedilen Amifostin (WR-2721), nükleer savaş tehdidine karşı toksisitesi ve radyoprotektif etkisi göz önünde bulundurularak, korunma amacı taşıyan bir çalışma neticesinde üretilmiştir. Günümüzde de kemoterapi ve radyasyonun yan etkilerinden korunmada kullanılmaktadır.

Amifostin uygulanan hayvan deneylerinde, amifostinin normal dokularda tümörlü dokuya kıyasla daha hızlı konsantrasyona ulaştığı gösterilmiştir (Peters ve Vjigh 1995). Ayrıca Alkalen Fosfataz (ALP) ekspresyonunun malign dokularda azaldığı bilinmektedir. Ortaya çıkan bu tablo tümör hücrelerinde aktif ilaç emiliminin düşük olmasını sağlamaktadır. Bu sebeple tümörlü dokuya kıyasla normal dokuları 100 kat kadar daha fazla koruyabilmektedir (Yuhas 1980).

Amifostinin oral kullanıldığında etkin olmadığı belirtilmiştir. Normal dokuların korunmasında ideal cevabın alınabilmesi için kemoterapi ya da radyoterapi uygulamasından 20-30 dk. önce uygulanması gerektiğinin altı çizilmiştir (Kouvaris ve ark. 2007).

Amerikan Klinik Onkoloji Derneği, koruyucu olarak kullanılan amifostinin günlük 200 mg/kg dozda, en az 3 dakikada, intravenöz uygulama ile, her radyoterapi veya kemoterapi uygulamasından 15-30 dk. önce verilmesini tavsiye etmişlerdir. Doz ile orantılı olarak görülen geçici yan etkiler; bulantı, kusma, tansiyon düşüklüğü, hıçkırık, uyuşukluk, uygulama esnasında ağızda metalik tat hissi, vücut ısısında artış, döküntü ve anafilaktik şok gibi alerjik reaksiyonlar olarak sıralanmıştır (Radford ve Murphy 1994).

Amifostin genellikle iyi tolere edilmektedir. Preklinik çalışmalar göstermiştir ki; amifostin radyasyon hasarından koruyucu etkisinin yanı sıra nefrotoksik, myelotoksik, nörotoksik etkileri üzerine de aynı koruyucu etkiyi göstermiştir.

Amifostinin kemoterapiye bağlı karsinogen ve mutajen etkilerden de koruyucu olduğu belirtilmiştir (Schuchter 1996).

3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Veterinerlik Fakültesi Etik Kurulu tarafından 2/41 etik kurul numarası ve 27.02.2015 tarihinde onaylanarak, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Araştırma ve Uygulama Merkezi 'inde (ATADEM) yürütülmüştür. Denekler, ATADEM'de yetiştirilen 12 haftalık Sprague-Dawley sıçanlar arasından rastgele seçildi. Bu çalışmada vücut ağırlığı $245 \pm 22,89$ gr ağırlığında toplam 32 adet Sprague-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Çalışma süresince denekler gün ışığı alan bir odada (12 saat ışık, 12 saat karanlık) istedikleri zaman ulaşabilecekleri şekilde (*ad libitum*) pelet yem ve musluk suyu ile beslendi. Deney başlamadan önce ve deney tamamlandıktan sonra tüm gruptaki hayvanlar tartıldı.

Amifostin Uygulaması; Amifostin maddesi, RT-amifostin ve amifostin gruplarına 3 gün boyunca intraperitoneal olarak 200 mg/kg canlı ağırlık dozunda verildi (Andrieu ve ark. 2004).

Çalışma Grupları:

Çalışma Grupları her grupta 8 adet sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı ve gruplar aşağıdaki gibi belirlendi.

Birinci grup (kontrol grubu); Sağlıklı sıçanların oluşturduğu grup. Bu gruptaki sıçanlara herhangi bir uygulama yapılmadı (*n:8*).

İkinci grup (amifostin grubu); Bu gruptaki sıçanlara 3 gün süresince 200mg/kg dozunda sadece amifostin intraperitoneal yolla uygulandı (*n:8*).

Üçüncü grup (RT-salın grubu); Bu gruptaki sıçanlara deneysel olarak günlük tek fraksiyonda 2 Gy olmak üzere 3 günde 3 fraksiyonda toplam 6 Gy dozunda sadece radyoterapi uygulandı (*n:8*).

Dördüncü grup (RT-amifostin grubu); Bu gruptaki sıçanlara deneysel olarak günlük her fraksiyondan yarım saat önce profeksi oluşturmak amacıyla 200 mg/kg miktarında önce amifostin intraperitoneal yolla uygulandı. Bu uygulamadan yarım saat sonra günlük 2 Gy dozunda radyoterapi uygulandı. Bu işlemler 3 gün boyunca aynı miktar ve şekilde tekrarlandı (*n:8*).

3.1. Dokuların Alınması

Tüm gruplardaki sıçanlar 10 mg/kg xylazine (Rompun, Bayer) ve 40 mg/kg ketamine (Ketalar, pfizer) enjeksiyonu ile derin anesteziye alınıp servikal dislokasyon yoluyla testis dokuları iki taraflı olarak alındı. Alınan testislerden sol testis dokuları histolojik incelemeler için % 10'luk formol solüsyonuna alındı. Sağ testis dokuları ise sperma muayenesi için ayrıldı.

3.2. Histolojik İncelemeler

Sol testis, %10'luk formolde tespit edildikten sonra rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafinde bloklandı. Bu bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlerden bir kısmına dokunun genel görünümünü incelemek amacıyla Crossman'nın Modifiye Üçlü Boyaması uygulandı.

3.2.1. TUNEL Yöntemi

Testis doku kesitleri hücrelerindeki kromozom kırıklarını belirlemek amacıyla TUNEL yöntemiyle boyandı. DNA kırıklarını belirlemek amacıyla Roche Applied Science (Penzberg, Germany) marka in-situ hücre ölümünü belirleme kiti kullanıldı. Elde edilen kesitler boyama işlemi öncesi ksilol ve dereceli alkol serilerinden geçirilerek distile suya alındı. Proteinaz K enzimi (Recombinant PCR Grade, Catno: 03.115.844.001, Roche, German) damlatılarak 10 dakika beklenildi ve daha sonra 5 dk süre ile 3 kez PBS solüsyonuyla yıkandı. Endojen peroksitlerin bloklanması için %3'lük H₂O₂ solüsyonunda 10 dk bekletildi ve 5 dk süre ile 3 kez PBS solüsyonuyla yıkandı. Tunel solüsyonunda 60 dakika bekletilerek 5 dk süre ile 2 kez PBS solüsyonuyla yıkandı. Daha sonra Converter-POD solüsyonunda 30 dakika bekletildi ve 5 dk süre ile 3 kez PBS solüsyonuyla yıkandı. DAB kromojende 7 dk bekletildi ve daha sonra 3 kez 5 dk süreli PBS ile yıkandı. Çekirdek boyaması için Harris'in Hematoksilen solüsyonunda 5 dk bekletildikten sonra dereceli alkol ve ksilol serilerinden geçirilip entellan (Merck, Germany) ile kapatıldı.

3.2.2. Tunel Sonuçlarının Değerlendirilmesi

Tunel boyama sonuçlarının gruplar arası kıyaslamalarını yapabilmek için "Stereolojik Fractionator Frame" metodu kullanıldı. Bu analizler stereoloji workstation sistemi (BioPrecision MAC 5000controller system) ve stereoloji software (Stereo Investigator version 9.0, Microbrightfield, Colchester, VT) ataçmanlı ışık mikroskop (Leica DM4000 B, Tokyo, Japan) altında yapıldı.

Çalışmamızda testis dokusu tunel pozitifliği “Unbiased Counting Frame and Fractionator” metodu kullanılarak tüm gruplara ait her bir preparattaki pozitif hücre yoğunluğu aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

$$PHY = PHS / (\text{ÇA} \times \text{ÇS}) \text{ (Ünal ve ark. 2010).}$$

PHY; μm^2 alana düşen pozitif hücre yoğunluğu, PHS; pozitif hücre sayısı, ÇA; çerçeve alanı (μm^2) ve ÇS; çerçeve sayısı.

Elde edilen veriler her bir grup için iki tekrarlı ölçüme dayanmakta olup, her gruptan 2 paralel preparat boyandı.

3.2.3. Johnsen Kriteri

Testis dokuları histopatolojik değerlendirmede Johnsen'nin kriteri uygulanarak spermatogenez durumu belirlendi (Johnsen 1970). Bunun için 1 ile 10 arasında bir skor değeri oluşturuldu. Bu değerlendirmede;

1= Germ hücresi ve sertoli hücresi yok.

2= Germ hücresi yok ama sertoli hücresi var.

3= Sadece spermatogonyum var.

4= Sadece birkaç tane spermatid var.

5= Spermatozoon veya spermatid yok ama birkaç spermatosit var.

6= Sadece birkaç tane spermatid var.

7= Spermatozoon yok ama birkaç spermatid var.

8= Sadece birkaç spermatozoon var.

9= Çok miktarda spermatozoon ve kümelenmemiş germ hücresi var.

10=Tubulus seminiferus kontortuslar normal histolojik yapıdadır.

3.3. Sperm Motilite ve Yoğunluk Tayini

Sperm motilite tayini için bütün gruplardaki hayvanların canlı ağırlık, testis ağırlığı ve kauda epididimal ağırlıkları ölçüldü. Daha sonra diseke edilen testis dokusundan kauda epididimisler etrafındaki yağ yastıkları dikkatlice diseke edilerek ayrıldı ve kurutma kâğıdı ile kurutulup ayrı ayrı tartıldı. Kurutma işlemi testis ağırlığı ölçülürken de yapıldı. Sperma muayenesi için yapılan işlemlerin hepsi $35,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ısıtma tablası üzerinde ve su banyosu içerisinde gerçekleştirdi. Sperm muayenesinde kullanılacak tüm malzemeler ısıtma tablası üzerinde ve solüsyonlar ise su banyosunda ısıtıldı.

Tartım sonrası, ısıtma tablası üzerinde, sperm muayenesinde aksaklıklar yaşanmaması için kauda epididimis'lerin kılcal damarları içerisindeki kan dışarı çıkarılıp kurutma kâğıdı ile uzaklaştırılıp tek kullanımlık plastik petri kutusu içerisine alındı. Kauda epididimisler üzerine 1ml/kauda epididimis olacak şekilde 35°C'deki %0,9'luk fizyolojik tuzlu sudan (FTS) ilave edildi. Kauda epididimisler bir makas yardımıyla 5-7 yerinden kesilerek 15 dk inkübasyona bırakılarak spermatozoonların FTS içerisine diffüze olması beklendi ve bu süre sonunda bir pens yardımıyla parçalanmış kauda epididimis iyice sıkıştırılarak spermanın serum fizyolojik içerisine geçmesi sağlandı. İnkübasyon sonrasında motilite muayenesi için 1 kısım sperma ependorf tüp içerisine alınıp üzerine 4 kısım serum fizyolojik ilave edildi. Kauda epididimal spermanın motilite muayenesi temiz bir lam ve lamel arasında, ısıtma tablası üzerinde x20 objektifte mikroskop (Zeiss AxioScope A1) ile 2 sayım sahasında en az 10'ar bölge motil sperm açısından değerlendirildi. Değerlendirme (Akman ve Aksoy 2008)'ye göre yapıldı.

Ölü ve anormal sperm muayenesi için lam üzerine 5µl eosin boyası, 5µl nigrosin boyası ve 5µl spermadan alınıp lamel yardımıyla nazikçe birbirine karıştırıldı. Zaman kaybetmeden froti çekilerek ısıtma tablası üzerinde kurumaya bırakıldı. Bu preparattan 2 adet hazırlandı ve daha sonra ölü sperm muayenesi Akman ve Aksoy (2008)'de belirtildiği gibi yapıldı. Buna göre baş kısmı tamamen veya postakrozomal bölgeye kadar boya almış rat spermleri ölü olarak değerlendirildi. Hem ölü hem de anormal sperma muayenesi için iki preparatta toplam 200 spermatozoon sayıldı. Yoğunluk muayenesi (Türk ve ark. 2006) yöntemi kullanılarak yapıldı.

3.4. İstatistiksel Değerlendirme

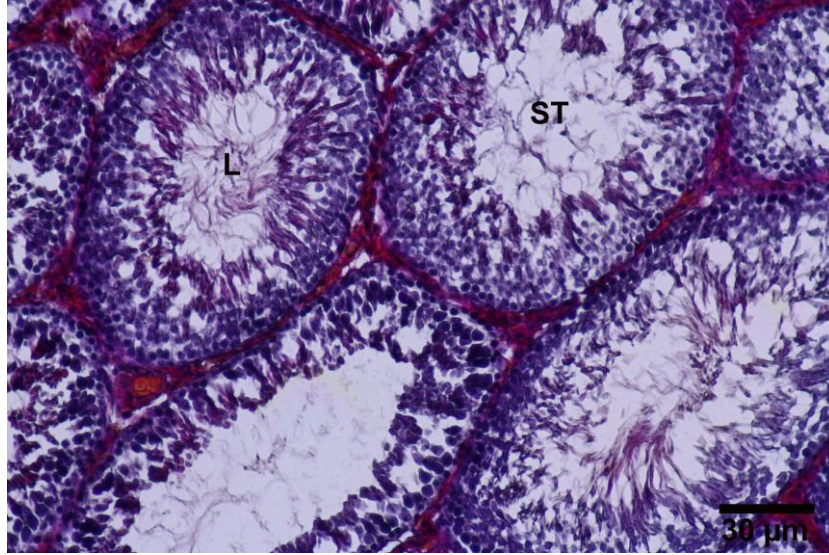
Elde edilen bulguların değerlendirilmesi için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) sonrası Duncan Post hoc testi ile analiz edildi. İstatistiksel önem $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

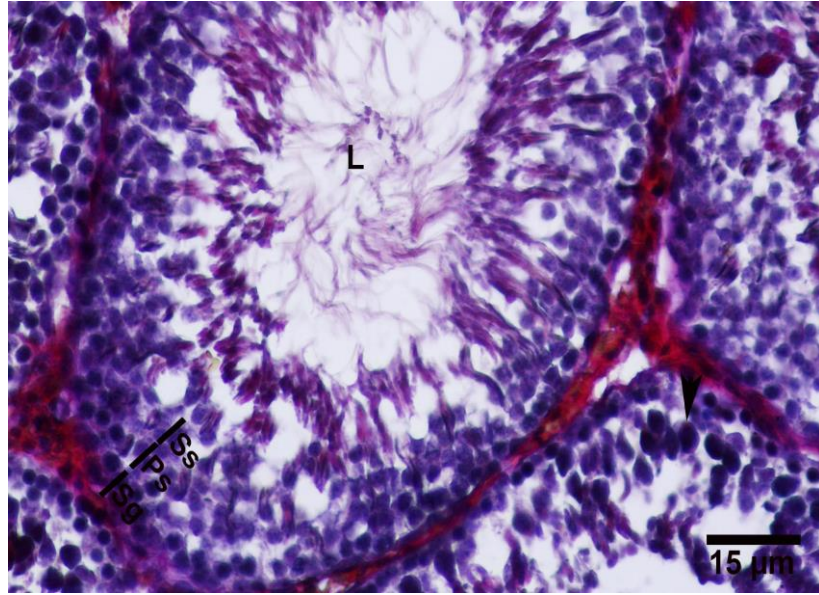
4.1. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grubunun testis dokusu incelendiğinde tubuli seminiferus kontortusun oval ve normal yapıda olduğu görüldü. Tubuli seminiferus kontortusun gevşek bağ doku ile çevrelenmiş olduğu gözlemlendi. Bu bağ dokuda çok sayıda lenf ve kan damarları, sinirler, Leydig hücreleri ve makrofajlar gibi interstisyel hücreler vardı. Karmaşık ve kıvrımlı bir yapı görünümünde olduğu görüldü. Bazı yerlerde dallara ayrıldığını, sonlanırken de lümeninin daralıp düz tubuller halinde olduğunu gözlemlendi.

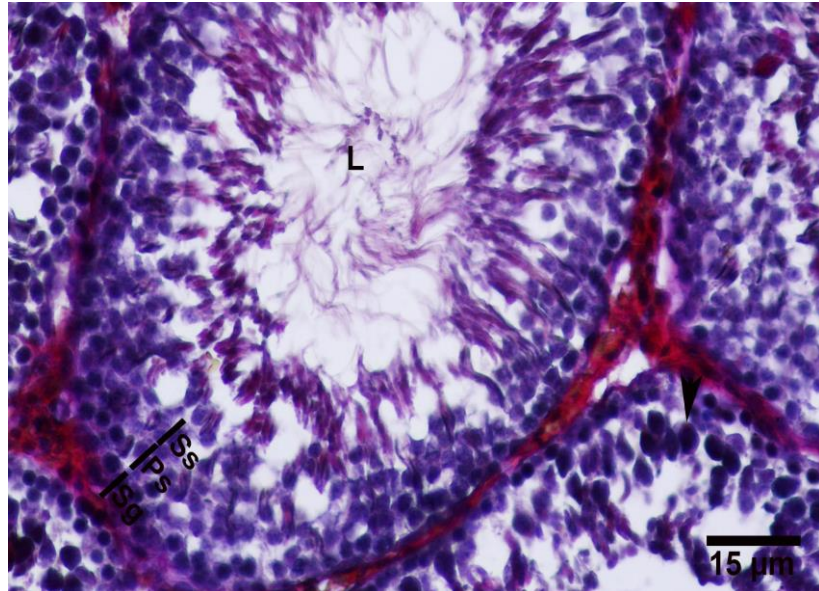
Tüm gruplara ait kesitlerin histolojik değerlendirmesinde Johnsen skorlamasından yararlanıldı. Skorlama değerleri Tablo 1’de sunuldu. Johnsen skorlama sonuçlarına göre hem kontrol grubunda hem de Amifostin grubunda testis dokularının normal histolojik yapıda olduğu görüldü. Radyoterapi-salin grubunun histolojik incelemelerinde ise en düşük skor değerinin bu grupta olduğu belirlenirken Amifostin uygulaması ile testis dokusunda oluşan RT etkisinin azaldığı ve bu farkın skor değerinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($P<0.05$).



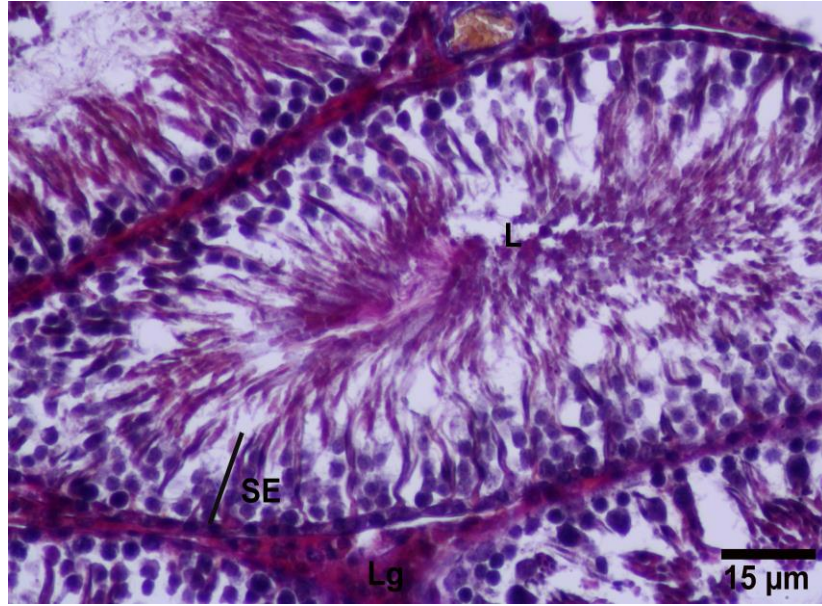
Resim1. Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü, L; Tubulus Seminiferus Kontortus Lumeni, ST; Tubulus Seminiferus Crossman’ın Modifiye Üçlü Boyaması.



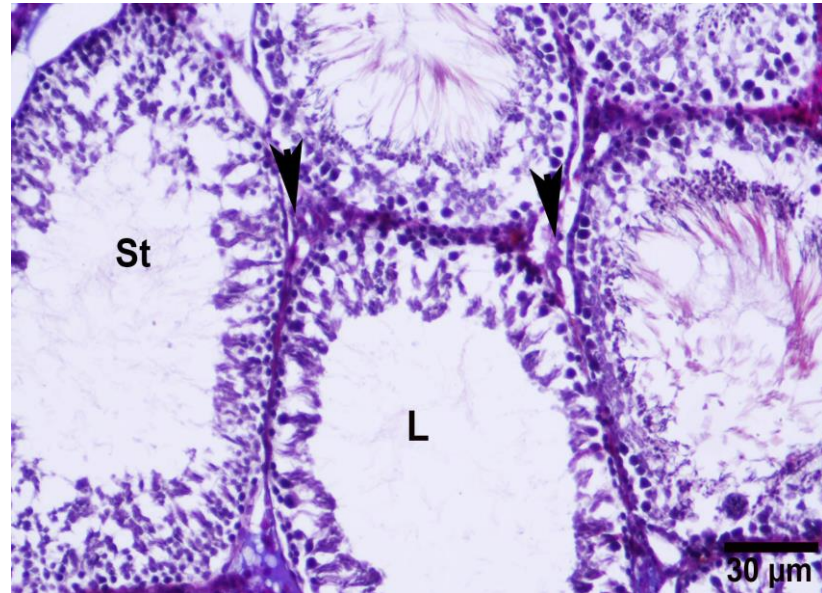
Resim 2. Kontrol grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü,
L; Tubulus Seminiferus Kontortus Lumeni, Sg; Spermatogonyum,
Ps; Primer Spermatozoid, Ss; Sekonder Spermatozoid, Ok başı; Spermatozoid,
Crossman'ın Modifiye Üçlü Boyaması.



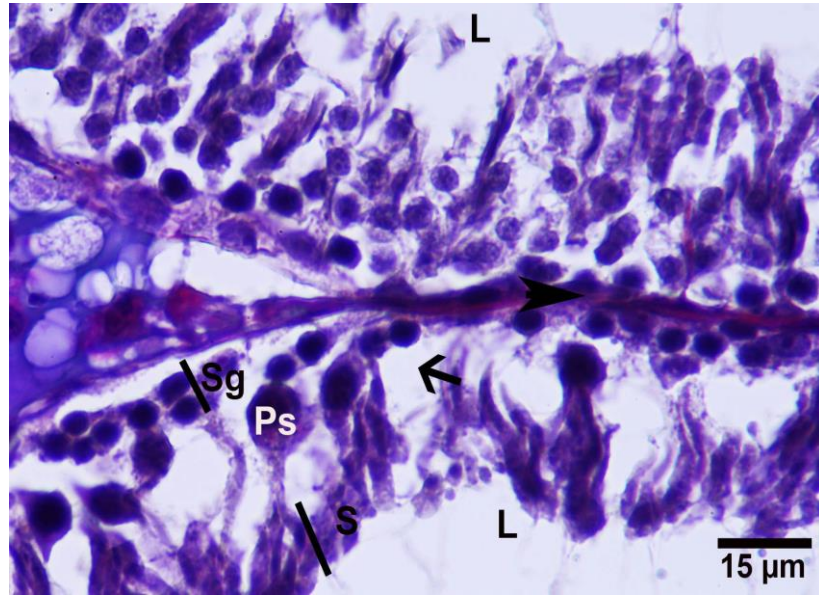
Resim 3. AMF grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü,
L; Tubulus Seminiferus Kontortus Lumeni, Sg; Spermatogonyum,
Ps; Primer Spermatozoid, Ss; Sekonder Spermatozoid, Ok başı; Spermatozoid,
Crossman'ın Modifiye Üçlü Boyaması.



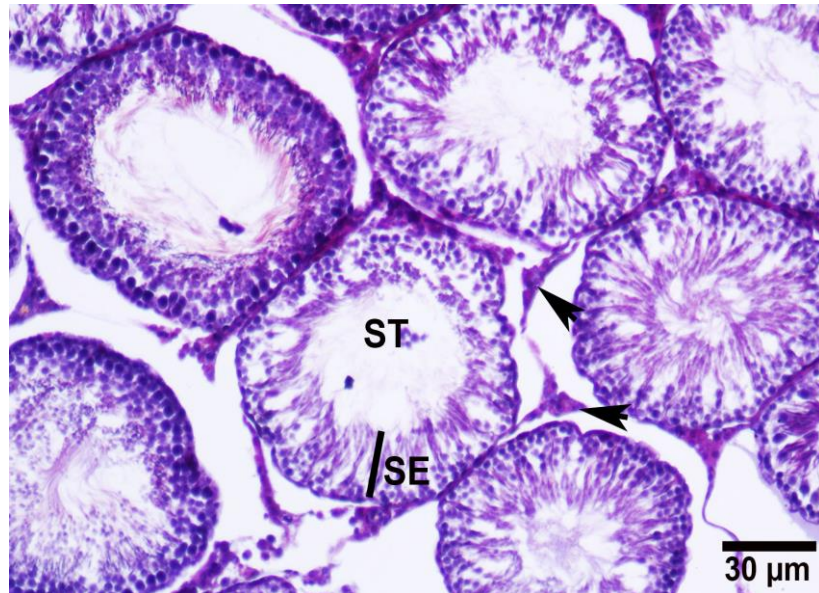
Resim 4. AMF grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü, L; Tubulus Seminiferus Kontortus Lumeni, SE; Tubulus Seminiferus Kontortus Epiteli, Lg; Leydig Hücreleri, Crossman'nın Modifiye Üçlü Boyaması.



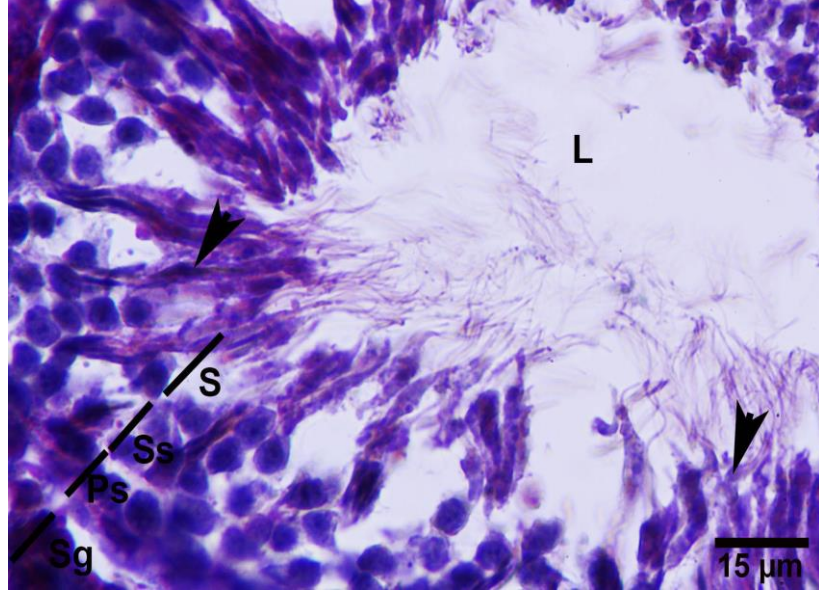
Resim 5. RT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü, L; Tubulü Seminiferus Kontortus Lumeni, St; Tubulus Seminiferus, Ok başı; Leydig hücreleri, Crossman'nın Modifiye Üçlü Boyaması.



Resim 6. RT grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü, L; Tubulus Seminiferus Kontortus Lumeni, Sg; Spermatogonyum, Ps; Primer Spermatosit, S; Spermatid, açık ok; dejenere olmuş alan, Ok başı; bazal membran, Crossman'nın Modifiye Üçlü Boyaması.



Resim 7. RT-AMF grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü, SE; Tubulus Seminiferus Kontortus Epiteli, ST; Tubulus Seminiferus, Ok başı; Leydig Hücreleri, Crossman'nın Modifiye Üçlü Boyaması.



Resim 8. RT-AMF grubuna ait testis dokusunun histolojik görünümü, L; Tubulus Seminiferus Kontortus Lumeni, Sg; Spermatogonyum, Ps; Primer Spermatozit, Ss; Sekonder Spermatozit, S; spermatozit, Ok başı; Spermatozit, Crossman'nın Modifiye Üçlü Boyaması.

4.2. Tunel Analizi

Tunel pozitif hücrelerin stereolojik değerlendirmesi sonucunda kontrol ve Amifostin grupları arasında hücre yoğunluğu bakımından anlamlı bir farklılık görülmezken pozitif hücre yoğunlukları benzerdi ($p < 0.05$). Diğer taraftan RT-Salin grubunun pozitif hücre yoğunluğunun kontrol ve amifostin gruplarına göre anlamlı oranda arttığı görüldü. Ayrıca RT-amifostin grubunda ise Tunel pozitif hücre yoğunluğunun RT-Salin grubuna göre anlamlı oranda azaldığı belirlendi ($P < 0.05$). Tüm gruplara ait Tunel pozitif hücre yoğunluğu ve karşılaştırmaları Tablo 2'de gösterilmiştir.

Tablo 1. Tüm gruplara ait Histolojik Johnsen kriteri skor değeri sonuçları

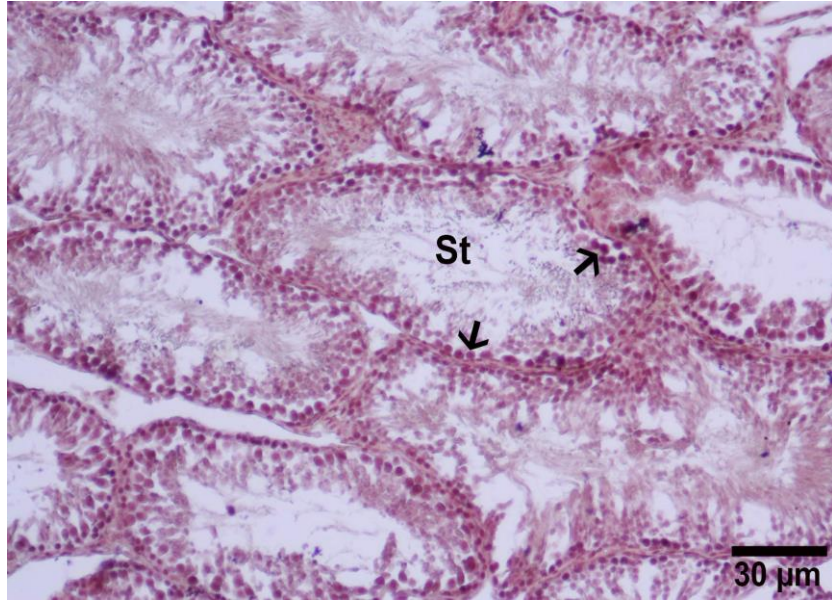
Gruplar	Johnsen's Kriteri
kontrol	8.2±0.8 ^a
amifostin	8.3±.7 ^a
rt-salin	6.5±0.9 ^b
rt-amifostin	7.6±0.9 ^a

Harflendirmeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir. P değeri (p<0.05) olarak kabul edildi.

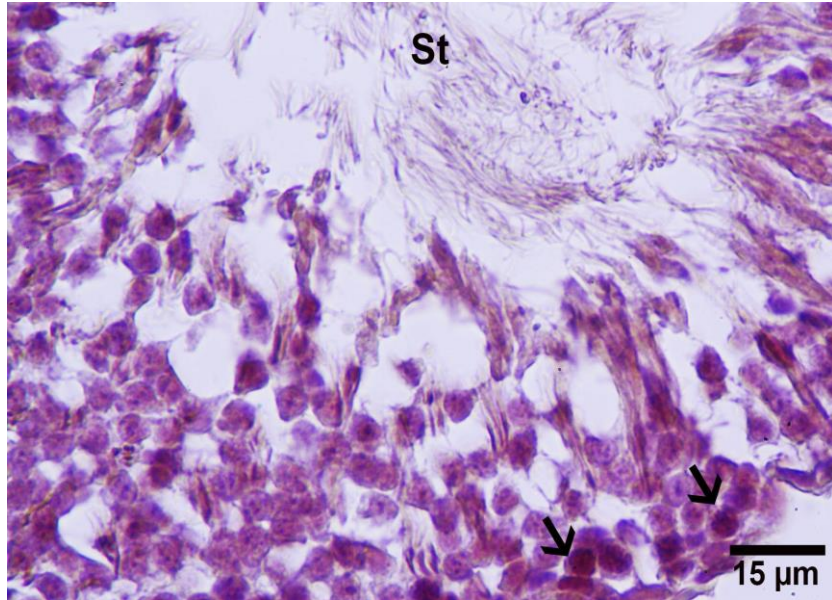
Tablo 2. Tüm gruplara ait Tunel boyaması Stereolojik pozitif hücre yoğunluğu sonuçları

Gruplar	Tunel pozitif hücre yoğunluğu (n/1000 µm ² alan)
kontrol	0,315±0.04 ^a
amifostin	0,301±0.05 ^a
rt-salin	0,543±0.06 ^c
rt-amifostin	0,402±0.06 ^b

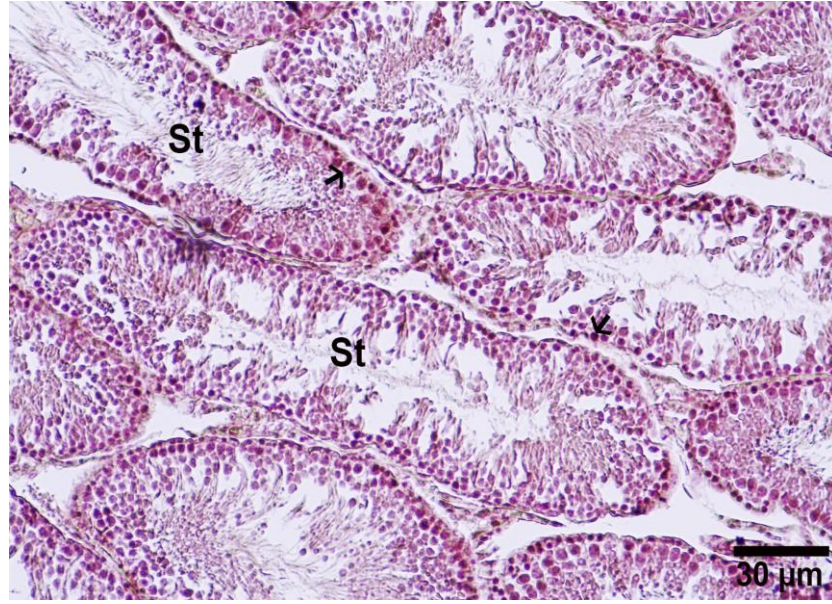
Harflendirmeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir. P değeri (p<0.05) olarak kabul edildi.



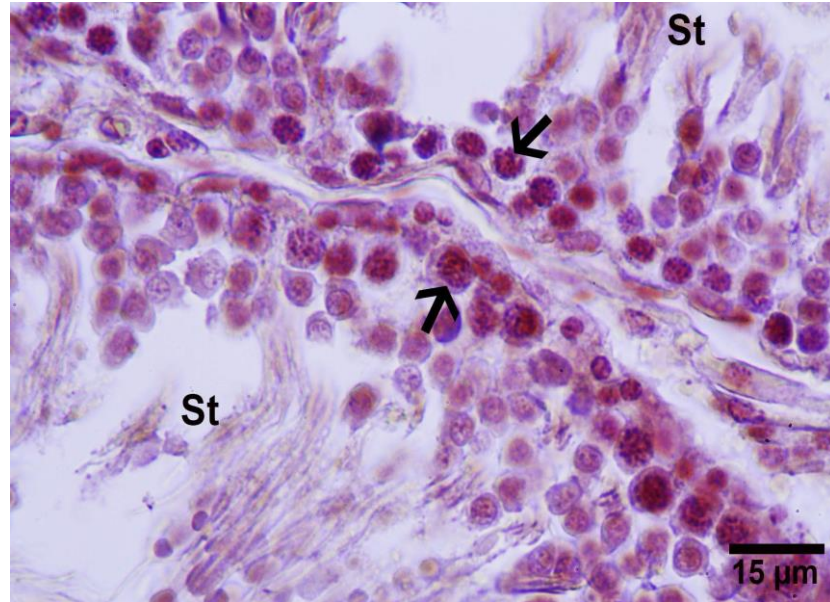
Resim 9. Kontrol grubuna ait testis dokusu TUNEL boyası görünümü, St; Tubulus Seminiferus, Açık ok; TUNEL pozitif hücre, TUNEL Boyaması.



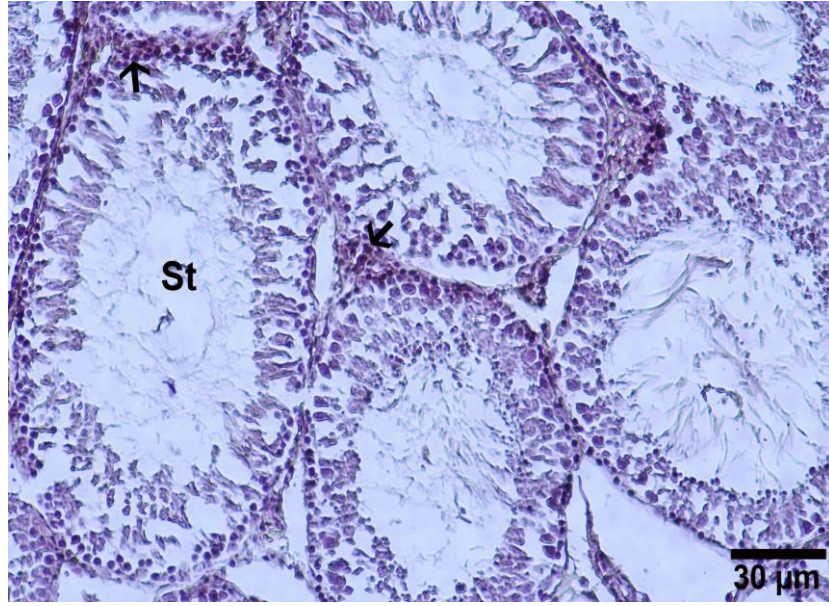
Resim 10. Kontrol grubuna ait testis dokusu TUNEL boyası görünümü, St; Tubulus Seminiferus, Açık ok; TUNEL pozitif hücre, TUNEL Boyaması.



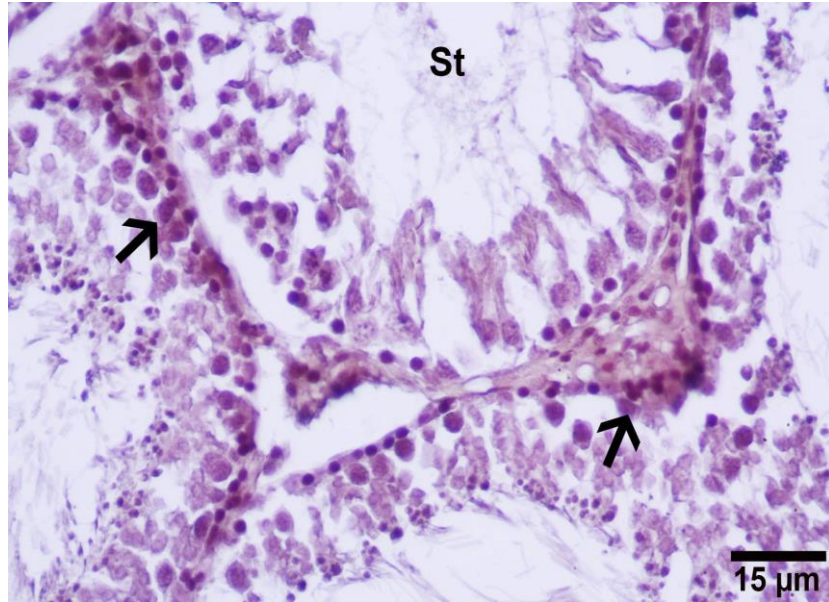
Resim 11. AMF grubuna ait testis dokusu Tunnel boyası görünümü,
St; Tubulus Seminiferus, Açık ok; Tunnel pozitif hücre,
Tunnel Boyaması.



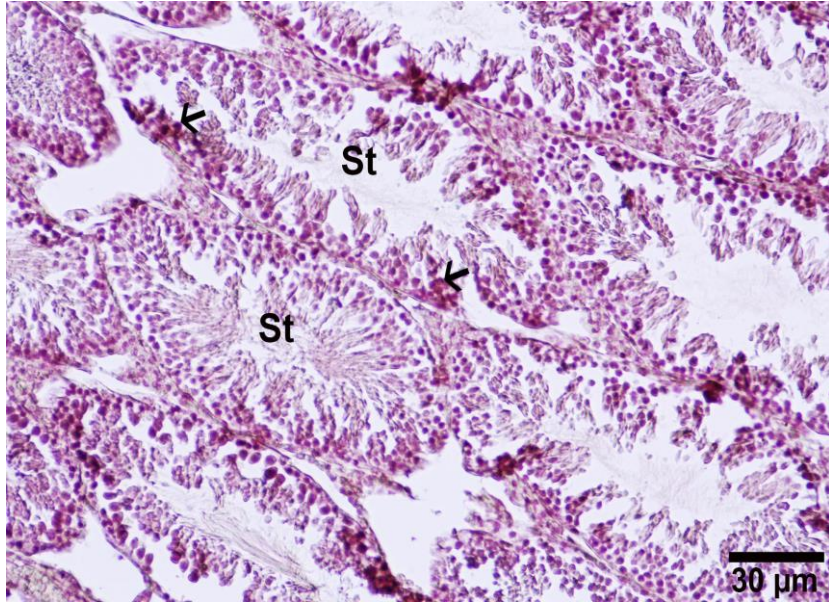
Resim 12. AMF grubuna ait testis dokusu Tunnel boyası görünümü,
St; Tubulus Seminiferus, açık ok; Tunnel pozitif hücre,
Tunnel Boyaması.



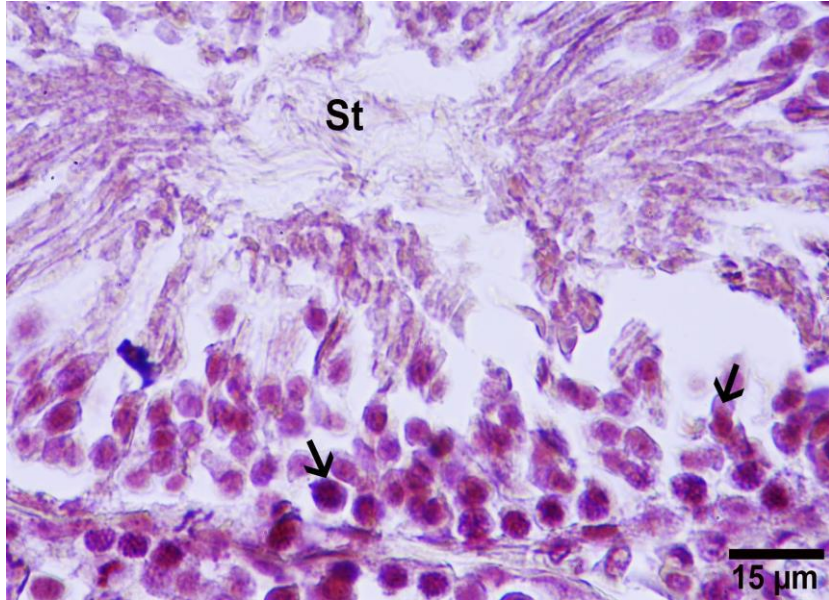
Resim 13. RT grubuna ait testis dokusu TUNEL boyası görünümü,
St; Tubulus Seminiferus, Açık ok; TUNEL pozitif hücre,
TUNEL Boyaması.



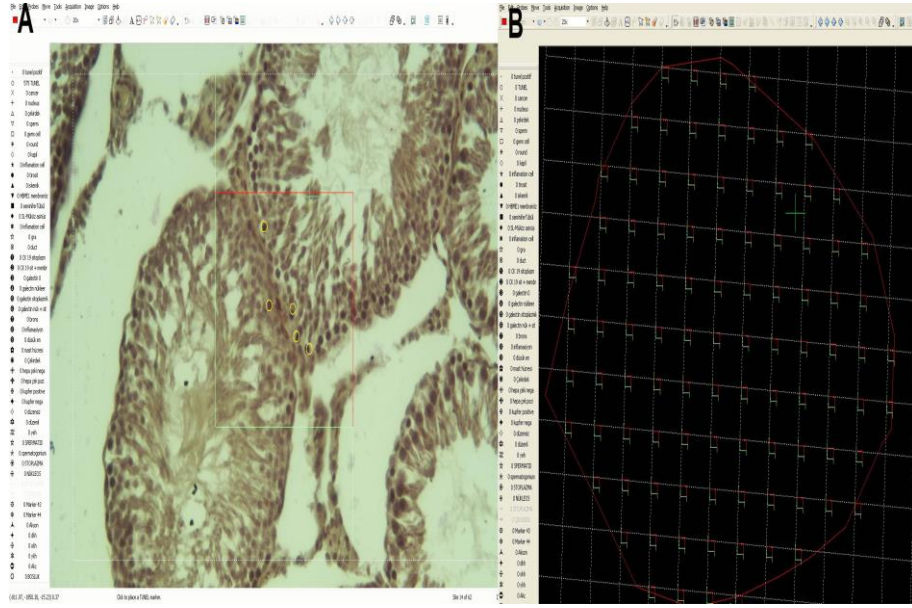
Resim 14. RT grubuna ait testis dokusu TUNEL boyası görünümü,
St; Tubulus Seminiferus, Açık ok; TUNEL pozitif hücre,
TUNEL Boyaması.



Resim 15. RT-AMF grubuna ait testis dokusu TUNEL boyası görünümü, St; Tubulus Seminiferus, Açık ok; TUNEL pozitif hücre, TUNEL Boyaması.



Resim 16. RT-AMF grubuna ait testis dokusu TUNEL boyası görünümü, St; Tubulus Seminiferus, Açık ok; TUNEL pozitif hücre, TUNEL Boyaması.



Resim 17. Stereolojik “Fractinator” metodu ile tunel pozitif hücrelerin hesaplanmasına ait ekran görüntüsü, **A**; Testis dokusu üzerine atılan sistematik kare içerisindeki tunel pozitif hücrelerin sayısı, **B**; Pozitif hücre yoğunluğu hesaplanacak olan testis dokusu içerisine atılan sistematik çerçeveler.

4.3. Sperm Motilite ve Yoğunluk Analizleri

Tablo 3. Tüm gruplara ait motilite ($\times 10^6$), yoğunluk ($\times 10^6$) ve baş (%) değerleri

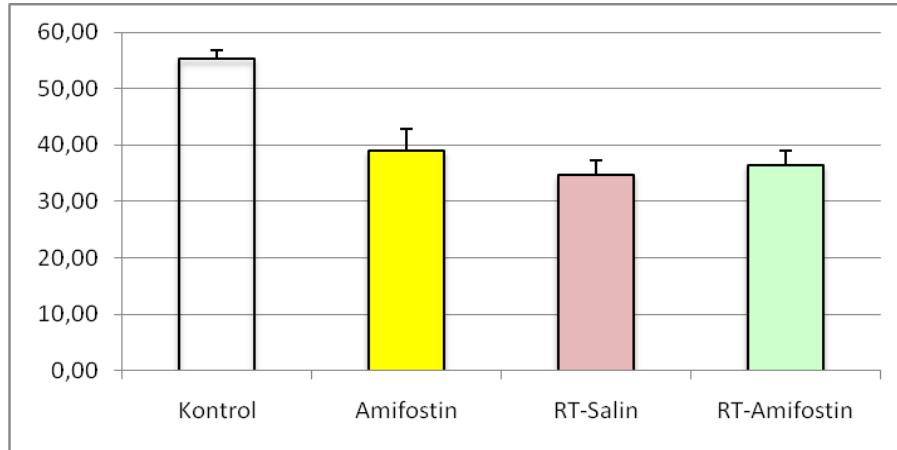
Gruplar	Motilite ($\times 10^6$)	Yoğunluk ($\times 10^6$)	Baş anormalileri (%)
Kontrol	53,80±1,50 ^a	54.93±5.63 ^a	7,00±0,95 ^b
Amifostin	35,17±3,83 ^b	42.35±5.24 ^{ab}	13,57±1,43 ^a
RT-Salin	32,12±2,59 ^b	35.07±2.92 ^b	14,25±1,71 ^a
RT-Amifostin	33,89±2,59 ^b	52.58±4.41 ^{ab}	14,48±1,29 ^a

Harflendirmeler gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı göstermektedir.

($P < 0.05$) olarak kabul edildi.

Motilite (%) :

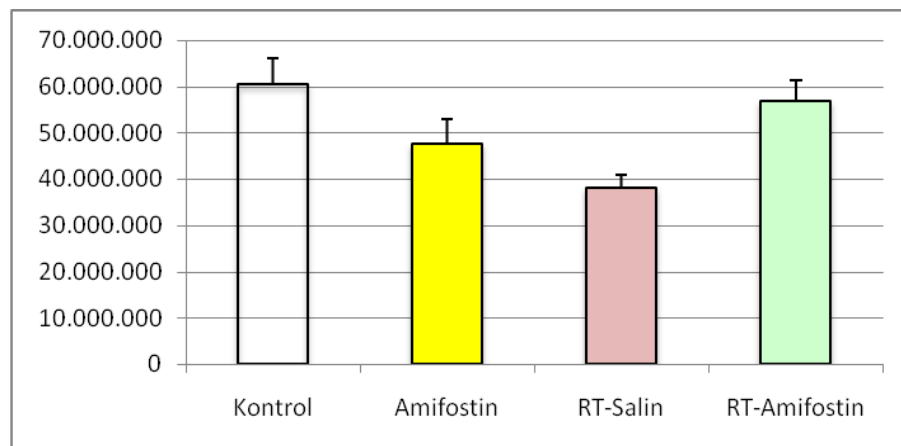
Kontrol grubunda elde edilen motilite (%) diğer gruplardan istatistiki olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.01$).



Şekil 1. Tüm gruplara ait sperm motilite değerleri

Yoğunluk (spermatozoon/ml) :

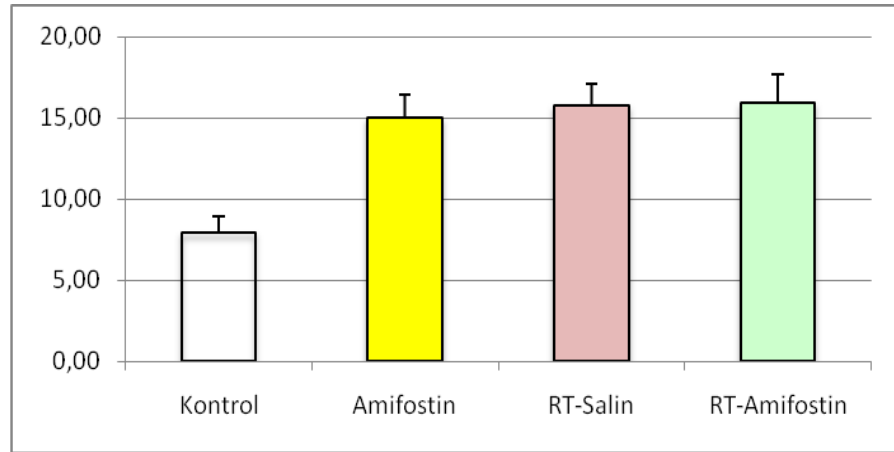
Her kauda epididimis'te bulunan sperm sayısı kontrol grubunda diğer gruplardan yüksek çıkmıştır. Ancak kontrol grubu erkek rat spermatozoon yoğunluğu radyoterapi uygulanan gruptan önemli derecede yüksek çıkmışken ($p<0.01$), diğer gruplarla benzer olarak bulunmuştur ($p< 0.05$).



Şekil 2. Tüm gruplara ait sperm yoğunluk değerleri

Baş anomalisi (%) :

Amifostin, Radyoterapi-Salin ve Radyoterapi-Amifostin gruplarında elde edilen baş anomalisi (%) kontrol grubundan istatistiki olarak önemli derecede yüksek bulunmuştur ($p<0.05$).



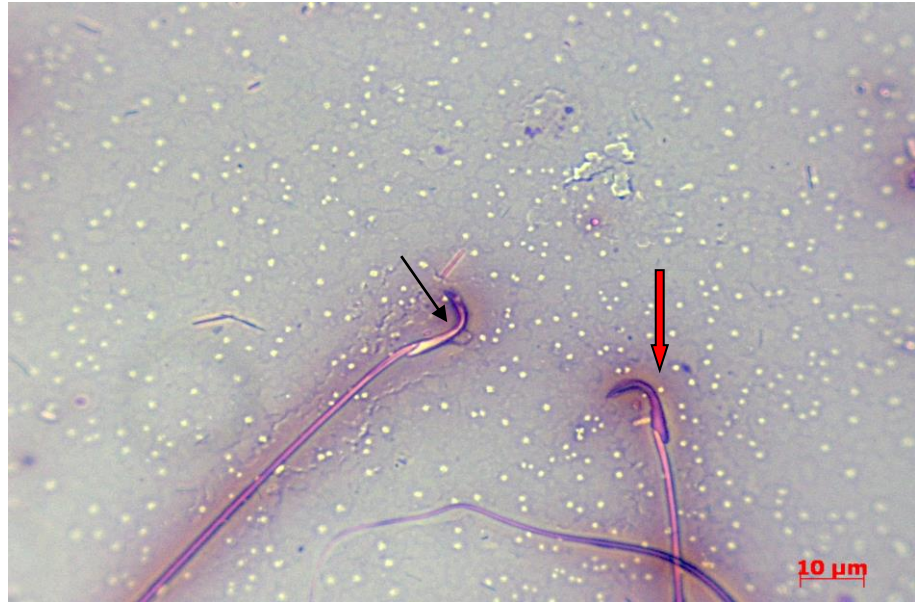
Şekil 3. Tüm gruplara ait baş anomalisi değerleri



Resim 18. RT grubuna ait Sperma Frotisi. Sperm hücresinde kopuk baş anomalisi. Eozin-Nigrosin Boyaması.



Resim 19. Kontrol grubuna ait Sperma Frotisi. Normal sperm hücresi. Eozin-Nigrozin Boyaması.



Resim 20. RT-AMF grubuna ait Sperma Frotisi. Canlı (siyah ok) ve ölü (kırmızı ok) sperm hücresi. Eozin-Nigrozin Boyaması.

5.TARTIŞMA VE SONUÇ

Radyoterapi kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan bir tedavi yöntemi olmakla birlikte tümöral dokuya seçici olmadığından tümör komşuluğundaki sağlıklı dokulara da hasar vermekte, akut ve geç dönemde oluşan yan etkiler yaşam kalitesini etkilemektedir. Sağ kalım sürelerinin giderek uzadığı kanser hastalarında ortaya çıkan bu yan etkileri önlemek için sitoprotektif (hücrelerin zedeleyici ve öldürücü etkenlere karşı direncini artıran hücre koruyucu etken) ajanlar geliştirilmiştir (Cox ve Ang 2010).

Kromozomal mutajen olan radyasyonun fertilité üzerindeki etkileri bilinmektedir. Bu nedenle radyoterapi uygulanan ve uzun süre yaşayan genç erkek hastalarda üreme sisteminde oluşan yan etkiler ayrı bir önem taşımaktadır (Carrel ve ark. 2003).

Bu çalışmada testis dokusunun seçilme nedeni testislerin düşük doz radyasyon uygulamalarına karşı oluşan hasarın saptanmasına olanak sağlayacak kadar radyosensitif duyarlı bir doku olmasıdır. Casarett'in doku radyosensitivite (hassasiyet) sınıflandırmasına göre doku hasarı ve hücre ölümü temel alındığında hassasiyet derecesine göre radyosensitivite 3 gruba ayrılmaktadır. I. grup dokular; radyosensitif (duyarlı) dokular olup, fetus, kan hücreleri, lenf dokusu ve üreme hücrelerini içermektedir. II. grup dokular; radyoresponsif (cevap oluşturabilen) dokular olup, sindirim sistemi epiteli ve deriden oluşmaktadır. III. grup dokular radyorezistif (direnç gösterebilen) dokular olup, kas, kemik, sinir dokularını içerir (Hall ve Giaccia 2006). Testislerin de radyoduyarlı doku olmalarından ötürü amifostinin olası koruyucu etkinliğinin daha iyi gözlemlenebileceği düşünülmüştür.

DNA fragmantasyonu değerlendirmesinin yapıldığı bir çalışmada (Karakoyun-Çelik ve ark. 2004) çalışma gruplarında 12'şer adet sıçan, kontrol grubunda 10 adet olmak üzere toplam 3 grup oluşturmuşlar. Radyasyon testislere 2 Gy dozunda uygulanmış. Birinci gruptaki sıçanlara sadece radyasyon, ikinci gruptaki sıçanlara radyasyondan 15 dk. önce 200 mg/kg amifostin intraperitoneal olarak uygulanmış, kontrol grubundaki sıçanlara ise hiçbir işlem yapılmamış. Sıçanlar radyasyondan 10 hafta sonra histolojik değerlendirme için sakrifiye edilmiş. Aİ saptanmasında TUNEL yöntemini tercih etmişler. Kontrol grubundaki normal seminifer tubullerde apoptozun düşük oranlarda olduğunu belirtmiş ve bunun

spontan apoptoz olduğunu ifade etmişler. Amifostinin, sıçanlarda radyasyonun indüklendiği germ hücresi apoptozuna karşı bir koruyuculuk göstermediği bildirilmiştir. Bu çalışmadan Casarett'in sınıflandırmasına göre grup I'de yer alan yüksek radyosensitif testisteki germ hücrelerinde 2 Gy ışımaya karşın 200 mg/mg amifostin uygulanmasının koruyucu olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

(Andrieu ve ark. 2004) yaptıkları çalışmada; deney hayvanları 4 gruba ayrılmış, kontrol grubuna hiçbir işlem uygulanmamış, 2.grup olan radyoterapi grubuna tek doz 6 Gy testiküler radyasyon, 3. grup olan amifostin grubuna ise sadece 200 mg/kg amifostin uygulanmış ve 4. grup olan rt-amifostin grubuna ise radyoterapiden önce 200 mg/kg amifostin uygulamasından 15 -30 dk. sonra 6 Gy dozunda radyoterapi uygulaması yapılmıştır. Üç hafta sonra sakrifiye edilen dokular tunel yöntemiyle; testis dokusu ağırlık, uzunluk, genişlik yönünden değerlendirilmiş, sonuç olarak vücut ağırlıklarına orantılı olarak kontrol grubuna kıyasla radyoterapi grubunun anlamlı bir şekilde küçülmeye gittiği, radyoterapi-amifostin grubunun da radyoterapi grubuna kıyasla kontrol grubuna daha yakın değerlerde olduğu belirtilmiştir.

Başka bir çalışmada 10 Gy gama ışımaya takiben 72 saat sonra spinal kordta mono-nükleer infiltrasyon, konjesyon, nekroz, hücrel vezikülasyon ve demyelinizasyon (sinir liflerinin etrafını saran myelin tabakasının kaybı) gibi histopatolojik bulgular gözlenmiştir (Aghazadeh ve ark. 2007).

(Çaloğlu ve ark. 2012) ince bağırsakta 20 Gy lik ışımaya sonrası dokularda diffüz hemorajik infiltrasyon, vakuolize ve piknotik çekirdekli hücrelerde artış, fokal nekroz, plazmoliz ve karyoliz gözlemiştir. Ayrıca aynı çalışmada amifostin (200 mg/kg) ön tedavi uygulanan grupta kan damarlarında orta dereceli dilatasyon ve sitoplazmik granüller olduğu, radyasyon grubuna göre morfolojik hasarın azaldığı belirtilmiştir.

Amifostin'in radyoprotektif etkisine yönelik (Segreto ve ark. 1995) yaptıkları çalışma sonucu 7 Gy'lik radyasyon ışımaya yapılan deney hayvanı kemik iliğinde radyoterapiye bağlı parenkimal dejenerasyonlar belirtilmiş amifostin (400 mg/kg) tedavisi uygulanan grupta bu dejenerasyonların azaldığı bildirilmiştir.

18 Gy gama ışınması uygulayan (Serin ve ark. 2007) deney hayvanları akciğerinde makrofaj aktivitesinde artış, intra alveolar ödem, hyalin arteroskleroz ve alveol duvarında kalınlaşma olduğu bildirilmiştir.

Arteriyolar endotel ve böbrek proksimal tubul hücre membranına bağımlı alkalin fosfatazın amifostini defosforile ederek aktif tiyol metaboliti olan WR-1065'e dönüştürdüğü bilinmektedir (Schuchter, 1996).

Bizim çalışmamızda toplam 6 Gy iyonize radyasyonu kullanmış olmamızın nedeni, Kokawa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışma yol gösterici olmuştur. Kokawa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 9 Gy ışına sonrası fragmantasyon oranının pik yaptığını 2 farklı metotla tespit edilmiş, 36.9 Gy ışına yapılan deneklerde ise fragmantasyonun azaldığını nekrozun artış gösterdiğini belirtmişlerdir (Kokawa ve ark. 1999). Ayrıca yüksek dozda radyasyonun apopitotik indeks yerine nekroza neden olduğu bu nedenle DNA fragmantasyonu değerlendirmesinde TUNEL Assay kullanımında hataya sebep olabileceği öne sürülmektedir (Kokawa ve ark. 1999).

Testiküler dokuda hem spontan hem de hasarlanmaya bağlı germ hücresi ölümünde esas mekanizma apopitotik hücre ölümüdür (Sinha Hikim ve ark. 1997).

Çalışmamızda, TUNEL tekniğiyle, radyoterapi uygulanmayan kontrol grubuna ait sıçanlardaki ortalama apopitotik indeks değeri, toplam 6 Gy radyasyon uygulanan çalışma gruplarına göre oldukça farklı bulunmuştur. Altı Gy radyasyon uygulanan sıçanların seminifer tubullerinden elde edilen apopitotik indeks oranları kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Radyasyona bağlı apopitoz sıçan seminifer epitel siklusunun belirli bir evresine özgül olmaksızın spermatogonium, mayotik olarak bölünen spermatosit ve spermatid'lerin tümünde benzer şekilde gözlenmiştir. Amifostin uygulamasının apopitozis yanında testis dokusu üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olabileceği kanısına varılmıştır.

Testiküler germ hücrelerinde apopitotik yanıtın radyoterapi ya da kemoterapötik ilaçlar ile indüksiyonunda saatler sonra maksimum seviyede izlendiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (Yuki ve ark. 2000). Çalışmamızda iyonizan radyasyonu takiben dört hafta sonra radyasyon hasarına bağlı apopitotik ölümler gözlemlenmemiz germ hücrelerinde radyasyona bağlı apopitotik yanıtın yalnız akut dönemde gerçekleşmediğini ortaya koymaktadır. Gözlemlenen bu geç

apoptoz bazı germinal kök hücrelerinin radyasyon hasarından sonra hemen ölmeyip, bunun yerine hücre siklusuna devam ettiğini, potansiyel apoptozun aktivasyonundan önce DNA hasarının tamir edilmeye çalışıldığını ve biriken kromozomal anormallikler nedeniyle bir dizi farklı apoptoz mekanizmaları sonucunda hücrelerin ölümüyle sonuçlandığını düşündürmektedir.

Dewey ve arkadaşları tarafından kromozomal aberasyonlar sonucunda klasik mitozla ilgili apoptoz (MCA: Yalnız kromozomal aberrasyonlara sahip bir hücrede bölünmeden sonra meydana gelen apoptozis) tanımlanmıştır. Geç apoptozda tetiği çeken mekanizmanın kromozomal aberasyonlar olduğu (MCA) ifade edilmiştir (Delanian 2007).

Radford'un açıklamaya çalıştığına benzer şekilde çalışmamızda da oldukça radyoduyarlı olan germ hücrelerinde iyonizan radyasyondan 4 hafta sonra gözlenen apoptotik yanıtın kromozomal aberasyonlar ile tetiklenebileceğini akla getirmektedir (Mitsuhashi ve ark. 1993). Bu görüş için henüz daha ileri araştırmalar yapılmadığından oldukça radyosensitif olan germ hücrelerinde radyasyona bağlı apoptozis mekanizmalarının açığa kavuşmasını sağlamak için daha fazla veriye ihtiyaç vardır.

(Jahnukainen ve ark. 2000) çalışmasında antrasiklinlerin (kemoterapik ajan sınıfıdır) toksik etkilerine karşı amifostinin koruyucu etkinliği apoptozla giden hücrelerin değerlendirilmesiyle kültürde spermatojenik hücreler kullanılarak araştırılmıştır.

Amifostinin tek fraksiyon yüksek doz radyoterapiye karşı testis dokusu üzerindeki protektif etkisi Milas ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir (Milas ve ark. 1982). Ancak araştırmacılar takip eden çalışmalarında düşük radyasyon dozları uyguladıklarında amifostinin koruyucu etkisinin azaldığını görmüşler, 2 Gy ve altındaki dozlarla fraksiyone radyoterapi ile birlikte uygulandığında ise amifostinin germ hücrelerinde sitotoksik etkiye neden olduğunu saptamışlardır (Meistrich ve ark. 1984). İki Gy *eşik tolerans doz* olarak nitelenmiştir (Rubin ve ark. 1998).

Genel anlamda yapılmış çalışmalar ışığında ve bizim bulgularımız doğrultusunda amifostinin koruyucu etkisi dokudan dokuya, uygulanan doz ve fraksiyon sayısına bağlı olarak değişiklik gösterdiği sonucuna varılmıştır.

Randomize kontrollü yürüttüğümüz deneysel çalışmamızda Co60 kaynaklı teleterapi cihazı kullanılarak radyoterapi amaçlı iyonize gama radyasyonu diğer dokularda olduğu gibi testisler üzerinde dejeneratif profilde değişimlere ve DNA fragmentasyonunda artışa neden olmaktadır. Işıma öncesi amifostin uygulamasının bu bozunmayı azalttığı kanısındayız.

Çalışmamızda sıçan testisi germ hücrelerinde radyasyonun oluşturduğu apoptotik ölümlere karşı amifostinin koruyucu etkinlerinin olabileceği düşünülmüştür. Ancak bunun daha ileri çalışmalarla da doğrulanması gereklidir. Eğer radyoterapi sırasında germ hücrelerinde radyasyona bağlı apoptozu önleme yeteneğine sahip hücre koruyucu bir ajan kullanılabilirse radyasyona bağlı azospermi ve infertilitenin önlenebileceği ve definitif radyoterapi alan genç erkek hastalarda yaşam kalitesi üzerinde olumlu bir etki sağlanabileceği düşünülmektedir.

6. KAYNAKLAR

Aghazadeh S, Azarnia M, Shirazi A, Mahdavi S, Zangii BM. Protective effect of melatonin on spinal cord damage after gamma irradiation, Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments. 14: 535-538, 2007.

Ahmetoğlu N. Normospermi Ve Astenospermi Olgularında PLC'nin Fertilizasyondaki Etkisi (İstanbul Bilim Üniversitesi) 2013.

Akman O, Aksoy M. Assessment of sperm quality by hypo-osmotic swelling test (HOST) combined by supravital staining in mice. J Anim Res. 18: 1-6, 2008.

Aktümsek A. Anatomi ve Fizioloji İnsan Biyolojisi, Nobel Yayın Dağıtım, 2.baskı, Ankara; 434,439, 2004.

Andrieu MN, Kurtman C, Hiçsönmez A, Özbilgin K, Eser E, Erdemli E. Ankara Üniversitesi Radyasyon Onkolojisi. 785, 2004.

Arıncı K, Elhan A. Anatomi, 1. Cilt, Güneş Kitabevi, ISBN, 975-7467-294, Ankara, 2006.

Atabeni E. Özel Histoloji ince yapı ve gelişme, (Çev. Tekelioğlu E.) Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara, 2002.

Aydos K. Spermatozoa Metabolizmasına Değişik Bir Bakış: Kompartmantalizasyon. Turkish German Gynecol Assoc, Vol. 6(3); 2005:204-209, 2005.

Barnett GC, Kerns SL, Noble DJ, Dunning AM, West CM, Burnet NG. Clin Oncol (R Coll Radiol). Oct;27(10):579-87, 2015.

Barrat C. Spermatogenesis. In: Grudzinkas JG and Yovich JL (eds): Gametes- the spermatozoon. Cambridge University Press. 250-267, 1995.

Benkoviç V, Knezeviç N, Domagoj D, Duje L, Nada O, Ivan B, Nevenka K. Radioprotective Effects of Quercetin and Ethanolic Extract of Propolis in Gamma-Irradiated Mice, 2009.

Bujan L, Walschaerts M, Moinard N, Hennebicq S, Saias J, Brugnion F, Auger J, Berthaut I, Szerman E, Daudin M, Rives N. Impact of chemotherapy and radiotherapy for testicular germ cell tumors on spermatogenesis and sperm DNA: a multicenter prospective study from the CECOS network. Fertil Steril. Sep;100(3):673-80. doi: 10.1016/j. fertnstert. 2013.

Bozdoğan AE, Uzoğlu M. "The development of a scale of attitudes toward tablet pc." Mevlana International Journal of Education 2012.

Carrell D, Wilcox A, Lowy L, Peterson M, Jones K, Erickson L, Campbell B, Branch W, Hatasaka H. Elevated Sperm Chromosome Aneuploidy and Apoptosis in Patients With Unexplained Recurrent Pregnancy Loss. Obstetrics and Gynecology Vol. 101, No. 6, 2003.

Citrin D. Radioprotectors and Mitigators of Radiation-Induced Normal Tissue Injury, Oncologist. 15(4): 360-371, 2010.

Cumhur M. Temel anatomi, 1. Baskı, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık iletişim A.Ş.-METU Press, Ankara, 2001.

Curry MR. Sperm structure and function, in Gametes- the spermatozoon, I.G.J. a.Y.J. eds, Editor. Cambridge University Press. 45-69. 1995.

Cooper RA. New directions for nurse practitioners and physician assistants in the era of physician shortages. *Academic medicine*, 82(9), 827-828, 2007.

Cox, JD, Ang, KK. *Radiation Oncology: Rationale, Technique, Results*, Amerika, Mosby; 10. Basım, 2010.

Çaloğlu M, Çaloğlu VY, Yalta T, Yalçın O, Uzal C. The histopathological comparison of L-carnitine with amifostine for protective efficacy on radiation-induced acute small intestinal toxicity. *J Can Res Ther*; 8: 260-265, 2012.

Delanian S. Current Management for Late Normal Tissue Injury: Radiation- Induced Fibrosis and Necrosis, *Semin Radiat Oncol*. 17: 99-107, 2007.

Elgavish S, Shaanan B. Lectin-carbohydrate interactions: different folds, common recognition principles. *Trends Biochem Sci*. 22(12): p. 462-7, 1997.

Ertuğrul T, Kurtdele N. Tranzisyonel Epitel. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 8(3), 2013.

Eşrefoğlu M. Özel Histoloji, Medipres Matbacılık, Malatya, 253-260, 2009.

Farrell KW. Purification and reassembly of tubulin from outer doublet microtubules. *Methods Cell Biol*, 24: 61-78, 1982.

Fujisawa M. Cell to cell cross talk in the testis, *Urol. Res*; 29: 144-151. 55, 2001.

Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*, 2nd Edition, 2003.

Gartner LP, Hiatt JL. *Color textbook of histology*, 3. Baskı, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 2007.

Guyton AC, Hall JE. *Textbook of medical physiology*, Harcourt Brace, 9th Edition, 1996.

Guzick DS, Overstreet JW, Factor-Litvak P, Brazil CK, Nakajima ST, Coutifaris C, Carson SA, Cisneros P, Steinkamp MP, Hill JA, Xu D, Vogel DL. Sperm morphology, motility, and concentration in fertile and infertile men. *New Eng J Med* 345,1388–139, 2001.

Hall EJ, Giaccia AJ. Physics and chemistry of radiation absorption. In: *Radiobiology for the Radiologist*. 6th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 5-15, 2006.

Hei TK. Mechanism of radiation-induced bystander effects: a unifying model, *JPP*, 60: 943–950, 2008.

Irvine DS, Twigg JP, Gordon EL, Fulton N, Milne PA, Aitken RJ. DNA integrity in human spermatozoa: relationships with semen quality. *Journal of Andrology* 21 33, 2000.

Jahnukainen K, Hou M, Parvinen M, Eksborg S, Soder O. Stage specific inhibition of deoxyribonucleic acid synthesis and induction of apoptosis by antracyclines in cultured rat spermatogenic cells. *Biol. Reprod*. 63(2): 487-7, 2000.

Jangueria LC, Carneiro J, Kelley OR. *Temel histoloji* (Çev: Aytakin Y, Solakoğlu S, Ahışhalı B.) 407-419, 431-433, Barış kitabevi, 1998.

Jemal A, Bray F, Melissa M, Ferlay J, Ward E, Forman D. Article firstM published online: DOI: 10.3322/caac.20107, 4 FEB, 2011.

Johnsen SG. "Testicular biopsy score counta method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males." *Hormone Research in Paediatrics* 1,1 2-25, 1970.

Joshi YM. Radioprotective-A pharmacological intervention for protection against ionizing radiations: A review. *J. of Int. Med.* 8(2): 5, 2010.

Karakoyun-Çelik Ö, Aras A, Tugan D, Hekimgil M, Yalman D, Esassolak M, Haydaroğlu A. Sıçan Germ Hücrelerinde Radyasyona Bağlı Apoptoz Ve Amifostin İle İlişkisi. *T Klinik Tıp Bilimleri* 24: 142-146, 2004.

Karbownik M, Reiter RJ. Antioxidative Effects of Melatonin in Protection Against Cellular Damage Caused by Ionizing Radiation. *Proceedings of the society for Experimental Biology and Medicine.* 225: 9-22, 2000.

Kızılcı S. Kemoterapi alan kanserli hastalar ve yakınlarının yaşam kalitesini etkileyen faktörler. *Cumhuriyet Üniversitesi Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi*, 3(2): 18-26, 1999.

Kierszenbaum AL. *Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology*, Mosby, 2002.

Kierszenbaum AL. (Çeviri Editörü: Demir R.): *Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş*, Palme Yayıncılık, Ankara, 2006.

Kim BC, Lee HJ, Park SH, Lee SR, Karpova TS, McNally JG, Felici A, Lee DK, Kim SJ. Jab1/CSN5, a component of the COP9 signalosome, regulates transforming growth factor beta signaling by binding to SMAD7 and promoting its degradation. *Mol Cell Biol* 24, 2251-2262, 2004.

Kokawa K, Shikone T, Otani T. Transient increase of apoptosis and Bax expression occurring during radiotherapy in patients with invasive cervical carcinoma. *Cancer*; 86: 79-87, 1999.

Kolk AH, Samuel T. Isolation, chemical and immunological characterization of two strongly basic nuclear proteins from human spermatozoa. *Biochim Biophys Acta*, 393(2): 307-19, 1975.

Kouvaris JR, Kouloulis VE, Vlahos LJ. Amifostine: the first selective-target and broad spectrum radioprotector. *Oncologist*; 12(6);738-47, 2007.

Langman J. *Medical Embryology 4th Edn.* Williams and Wilkins, Baltimore, 1996.

Larsen WJ. *Human Embryology*, Churchill Livingstone, 3rd Edition, 2003.

Leeson T, Leeson R, Paparo A. *Text/Atlas Of Histology*, W.B. Saunders Company, Florida; 150-152, 1988.

Meistrich M, Finch M, Hunter N, Milas L. Protection of spermatogonial survival and testicular function by WR-2721 against high and low doses of radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*; 10(11): 2099-107, 1984.

Milas L, Hunter N, Reid BO, Thames HD. Jr. Protective effects of S-2(3 aminopropylamino) ethylphosphorothioic acid against radiation damage of normal tissues and a fibrosarcoma in a mice. *Cancer Res*; 42: 1888-97, 1982.

Mitsubishi N, Takahashi M. Clinical study of radioprotective effects of amifostine (YM-08310, WR-2721) on long-term outcome for patients with cervical cancer *Int J Radiat Oncol Biol Phys*; 26: 407-411, 1993.

Moore K. Persaud TVN.(Çeviri Editörleri: Yıldırım M, Okar İ, Dağlık H.), *İnsan Embriyolojisi*, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2002.

Moore KL, Dalley AF. *Kliniğe yönelik anatomi*, (Çev. Şahinoğlu K.), 4. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2007.

Moore KL, Harry RU, Behrouz A. "Stem cells for reproductive medicine." *Molecular and cellular endocrinology* 288,1: 104-110, 2008.

Morales P. Extracellular localization of proteasomes in human sperm. *Mol Reprod Dev*, 68(1): 115-24, 2004.

Ombelet W, Fourie F, Vandeput H. Teratozoospermia and invitro fertilization: a randomised prospective study. *Hum. Reprod.*, 9, 1479, 1994.

Ozan H. *Ozan anatomi, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 2006.*

Peters GJ, Vjigh WJF. Protection of Normal Tissues from the Cytotoxic Effects of Chemotherapy and Radiation by Amifostine (WR-2721): Preclinical Aspects. *Eur. J. Cancer*; 31(A): 1-7, 1995.

Radford IR, Murphy TK. Radiation response of mouse lymphoid and myeloid cell lines. Part III. Different signals can lead to apoptosis and may influence sensitivity to killing by DNA double-strand breakage. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*; 65: 229-39, 1994.

Rainaldi G, Ferrante A, Indovina PL, Santini MT. Induction of apoptosis or necrosis by ionizing radiation is dose-dependent in MG-63 osteosarcoma multicellular spheroids, 2005.

Riley PA. Free radicals in biology: oxidative stress and the effects of ionizing radiation. *Int. J. Radiat Biol*; 65(1): 27-33, 1994.

Ringborg U, Bergqvist D, Brorsson B, Cavallin E, Ceberg J, Einhorn N, Frödin JE, Jarhult J, Lamnevik G, Lindholm C, Littbrand B, Norlund A, Nylen U, Rosen M, Svensson H, Möller TR. *Acta Oncologica*, 42:5-6, 357-365, 2003.

Ross HM, Kaye GI, Pawlina W. *Histology: A text and atlas. Section 21: Male reproductive system. 4nd edition. 683-710, 2003.*

Ross MH, Pawlina W. *Histology- a text and atlas with correlated cell and molecular biology, 5. Edition, Lippincott W&W, Philadelphia, 2006.*

Rubin P, Constine LS, Williams JP. Late effects of cancer treatment: Radiation and drug toxicity. In: Perez CA, Brady LW, editors. *Principles and Practice of Radiation Oncology. 3rd Edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 155-9, 1998.*

Sancar A. Molecular Mechanisms of Mammalian DNA Repair and the DNA damage checkpoint. *Annual Review of Biochemistry*; 73: 39-85, 2004.

Schuchter LM. Guidelines for the administration of amifostine. *Semin in Oncol*; 23(4Suppl 8):40-3, 1996.

Segreto HRC, Segreto RA, Silva MRR, Egami MI, Ghiraldini M. WR2721 Bone marrow radioprotection: Light and electron microscope study, *Interciencia*; 20(4): 215-221, 1995.

Serin M, Gülbaş H, Gürses I, Erkal HS, Yücel N. The histopathological evaluation of the effectiveness of melatonin as a protectant against acute lung injury induced by radiation therapy in a rat model, *Int J Radiat Biol*; 83(3): 187-93, 2007.

Siegel MS. Partial purification and characterization of human sperminogen. *Biol. Reprod*; 36(4): 1063-8, 1987.

Sinha Hikim AP, Rajavashisth TB, Sinha Hikim I. Significance of apoptosis in the temporal and stage-specific loss of germ cells in the adult rat after gonadotropin deprivation. *Biol. Reprod*; 57: 1193- 201, 1997.

Steel GG. Basic Clinical Radiobiology, Third edition, Londra, Edward Arnold Publishers. British Journal of Cancer; 88, 1659, 2003.

Stone HB. Effects of radiation on normal tissue: consequences and mechanisms. Lancet Oncol; 4: 529–36, 2003.

Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Yüce A, Ceribasi AO. Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. Theriogenology, 67, 778-785. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.

Uzal C. Kanserde Işınlama Teknikleri, Ankara, 1995.

Uzal C. The Protective Effect of Amifostine on Radiation-Induced Proctitis: Systemic Versus Topical Application. Balkan Med J; 29: 32-8, 2012.

Ünal B, Kara A, Aksak S, Ünal D. A stereological assessment method for estimating the surface area of cycloids. The Eurasian Journal of Medicine, 42(2): 66-73, 2010.

Yakan B, Yay A, Doğanyığıt Z, Rıhtım T. Analysis of effects of ovariectomy on ghrelin expression in female rat stomach. Anat Histol Embryol, 2011.

Yanagimachi R. Mammalian fertilization. In: Knobil E, Neill JD. In The Pysiology of Reproduction, Raven Press: New York. 135-185, 1988.

Yaren H, Karayılanoğlu T. Radyasyon ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri, TSK Koruyucu Hekimlik Bülteni; 4(4): 199-208, 2005.

Yuhas JM. Active versus passive absorption kinetics as the basis for selective protection of normal tissues by S-2-(3-aminopropylamino)-ethylphosphorothioic acid. Cancer Res; 40: 1519–1524, 1980.

Yuki H, Fujimura M, Yamakawa Y. Detection of apoptosis and expression of apoptosis associated proteins as early predictors of prognosis after irradiation in stage IIIb uterine cervical cancer. Jpn J Cancer Res; 91: 127-134, 2000.

Zhengwei Y, Wreford NG, Royce P, Kretser DM. A Quantitative Study of Spermatogenesis in the Developing Rat Testis, Biology of Reproduction, 43, 629-635, 1990.

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Arzu GEZER

Doğum Tarihi : 16.12.1976

Doğum Yeri : Erzurum

Medeni Hali : Evli

Öğrenim Durumu : Lisans

Derece Bölüm / Program Üniversite:

Lisans Ebelik / 19 Mayıs Üniversitesi

Yüksek Lisans / Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı (Halen Devam)

Görev Ünvanı Görev Yeri:

Atatürk Üniversitesi Araştırma Hastanesi'nde Klinik Sorumlu Hemşiresi