

T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

**CİSPLATİN İLE TESTİS HASARI OLUŞTURULAN YETİŞKİN
ERKEK SIÇANLARDA PANAX GİNSENG'İN HÜCRE ÖLÜMÜ
ÜZERİNE ETKİSİ**

KÜBRA KUMALAR

**HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN
Öğr. Gör. Dr. Esra ASLAN**

**Bu Tez Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu
tarafından 17.SAĞ. BİL. 25 proje numarası ile desteklenmiştir.**

Tez No:2019/017

2019-AFYONKARAHİSAR

KABUL ve ONAY

Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı

çerçevesinde yürütülmüş bu çalışma, aşağıdaki jüri üyeleri tarafından

Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi : / /

Prof. Dr.  Murat TOSUN

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Tolga ERTEKİN

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL

Üye

Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Kübra KUMALAR'ın "Cisplatin ile Testis Hasarı Oluşturulan Yetişkin Erkek Sıçanlarda Panax Ginseng'in Hücre Ölümü Üzerine Etkisi" başlıklı tezi .../.../..... günü saat 'da Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Özal ÖZCAN

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Yüksek lisans eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerini bana aktaran, tez konumun seçilmesi, yürütülmesi ve tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Görevlisi Sayın Dr. Esra ASLAN'a; Tez sürecimde Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki çalışmalarına katkıda bulunan Veteriner Sağlık Bölümü hocalarından Dr. Öğr. Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL'e; Yüksek lisans eğitimim ve tez süreci içinde karşılaştığım soru ve sorunların çözümü için elinden gelen desteği gösteren Hocam Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Murat TOSUN' a, çalışmanın istatistiksel değerlendirilmesinde yardımlarından dolayı İstatistik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Sayın Prof. Dr. İsmet DOĞAN'a, hayatım boyunca maddi manevi desteğini benden esirgemeyen, emeklerinin karşılığını asla ödeyemeyeceğim değerli aileme, her zaman yanımda olacağına inandığım Sevgili eşim Hüseyin KUMALAR'a, ilk gözümün ağrısı Defne'me ve yakın zamanda ailemize katılan, ışıltı ve sıcaklığı ile mutluluğumuzu çoğaltan Güneş'ime verdikleri manevi güç ve sevgileri için en içten duygularıyla teşekkür ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL ve ONAY.....	ii
ÖNSÖZ.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER	viii
RESİMLER	ix
TABLolar.....	x
1.GİRİŞ.....	1
1.1. Testis Anatomisi	2
1.2. Testislerin Histolojisi	5
1.2.1. Seminifer Tübül	7
1.2.2. Leydig Hücreleri	10
1.3. Testis Embriyolojisi	15
1.3.1. Gonadların Gelişimi.....	15
1.3.2. Testis Gelişimi	17
1.3.3. Genital Kanalların Gelişimi	18
1.4. Testisin Histofizyolojisi	18
1.5. Kanser ve Kemoterapi	21
1.6. Cisplatin (CDDP)	23
1.6.1. Cisplatin'in Moleküler Yapısı ve Özellikleri	24
1.6.2. Cisplatin'e Ait Farmokinetik Özellikler	25
1.6.3. Cisplatin'in Toksisitesi	25
1.7. Apoptotik Hücre Ölümü	27
1.7.1. Spermatogenezde Apoptozisin Rolü	29
1.8. Antioksidanlar	30
1.9. Panax Ginseng.....	31
2.GEREÇ VE YÖNTEM	33
2.1. Etik Kurul.....	33

2.2. Kimyasallar	33
2.3. Deney Hayvanları	33
2.4. Histolojik Doku Takibi.....	35
2.5. Dokuların Boyanması	36
2.5.1. Histokimyasal Boyama	36
2.5.2. İmmunohistokimyasal Boyama	37
2.6. Görüntü Analizi	38
2.7. Biyokimyasal Yöntemler.....	39
2.7.1. Total ve Serbest Testosteron Ölçümü.....	39
2.7.2. TAS-TOS Ölçümü	39
2.8. İstatistiksel Analiz.....	40
3.BULGULAR.....	41
3.1. Vücut ve Testis Ağırlığı Ölçümleri	41
3.2. Johnsen Skorlama Sonuçları	43
3.3.Seminifer Tübül Çapı Sonuçları	43
3.4. Apoptotik Hücre Ölümü Boyama Sonuçları	46
3.4.1. Spermatogenetik Hücre Sayımı.....	46
3.4.2. Leydig Hücre Sayımı	49
3.5. Biyokimyasal Analizler.....	51
3.5.1. Testosteron Ölçümleri	51
3.5.2.TAS-TOS Ölçümleri	53
4.TARTIŞMA.....	56
5.SONUÇ VE ÖNERİLER.....	64
ÖZET	65
SUMMARY	67
KAYNAKLAR	69
ÖZGEÇMİŞ	81

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat derece
ABP	Androjen bağlayıcı protein
AMH	Antimüllerian hormon
C	DNA miktarı
cAMP	Döngüsel adenosin trifosfat
cm	Santimetre
CP	Cisplatin
CSF	Koloni uyarıcı faktörler
CTR1	Copper transporter 1
dk	Dakika
DNA	Deoksiribonükleik asit
FDA	Amerikan gıda ve ilaç idaresi
FSH	Folikül uyarıcı hormon
g	Gram
Hcg	İnsan koryonik gonadotropin
H-E	Hemotoxilen-eozin
IGF	İnsülin benzeri büyüme faktörü
i.p	Periton içi
im	İntramüsküler
kg	Kilogram
LH	Luteinizan hormon
MİM	Müllerian inhibitör madde
ml	Mililitre
MTBS	Johnsen'in ortalama testiküler biyopsi skoru
NGF	Nöron büyüme faktörü
OSİ	Oksidatif stres indeksi
PG	Panax Ginseng
pt	Platin
RNA	Ribonükleik asit

ROS	Reaktif oksijen türleri
SRY	Y'nin cinsiyeti belirleyen bölgesi
STÇ	Seminifer tübül çapı
TAS	Total antioksidan seviyesi
TBF	Testis belirleyici faktör
TBP	TATA bindig protein
TNF	Tümör nekroz faktör
TOS	Total oksidan seviyesi
µm	Mikrometre



ŞEKİLLER

Şekil 1.1 Testisin Anatomik Yapısı	3
Şekil 1.2 Erkek Genital Organları	6
Şekil 1.3 Spermatogenezin Şeması.	14
Şekil 1.4 Primordial Germ Hücrelerinin Genital Kabrtıya Göçü	16
Şekil 1.5 Apoptotik Hücre Ölümü Ana Yolakları	28
Şekil 3.1 Grupların Deney Öncesi ve Deney Sonrası Vücut Ağırlık Ortalamaları ...	42
Şekil 3.2 Grupların Sağ Testis ve Sol Testis Ağırlık Ortalamaları	42
Şekil 3.3. Grupların Seminifer Tübül Çap Ortalamaları	44
Şekil 3.4 Gruplararası TUNEL Pozitif Spermatogenetik Seri Hücre Sayıları.	47
Şekil 3.5 Grupların TUNEL Pozitif Leydig Hücre Sayıları.....	50
Şekil 3.6 Grupların Serbest Testosteron ve Total Testosteron Düzeyi Ortalamaları	52
Şekil 3.7 Grupların TAS, TOS ve OSI Değerlerinin Ortalamaları.	55

RESİMLER

Resim 1.1 Seminifer Tübülün Genel Histolojik Görüntüsü	8
Resim 2.1.Ratların Aneztezi Altında Uyutulup Karın Bölgesinin Açılması	35
Resim 2.2.Ratlardan Testis Dokusunun Çıkarılması	35
Resim 2.3 Ratlara Ait Sağ ve Sol Testis Ağırlıklarının Ölçülmesi.....	36
Resim 2.4.Testislerin Fiksatif İçerisine Alınması	36
Resim 3.1 Kontrol Grubuna Ait Testis Dokusu.X200,H-E..	45
Resim 3.2 Gruplardan Alınan Testis Dokularının Histolojik Görüntüsü, X200,H-E.	46
Resim 3.3 A: Kontrol, B: Panax Gruplarının Tunel Boyamaları, X200.	48
Resim 3.4 Gruplardan Alınan Testis Dokularının Tunel Boyamaları. A: CP x100, B: CP x200, C: Doz 1 x200, D: Doz2 x200	49
Resim 3.5 Gruplara Ait Leydig Hücre Boyamaları. A: Kontrol Grubu, B: CP Grubu.X200.....	51

TABLÖLAR

Tablo 1.1 CP'e Bağlı İstenmeyen Etkiler	26
Tablo 3.1 Grupların Deney Öncesi Vücut Ağırlığı, Deney Sonrası Vücut Ağırlığı, Sağ Testis Ağırlığı, Sol Testis Ağırlığı Değerleri.....	41
Tablo 3.2 Grupların Johnsen Skoru ve Seminifer Tübül Çapı Değerleri.....	44
Tablo 3.3 Gruplararası Karşılaştırmalar Sonucu Elde Edilen Johnson Skoru, STÇ p Değerleri.....	44
Tablo 3.4 TUNEL Pozitif Spermatogenik Seri Hücrelerinin İkili Karşılaştırma Sonuçları.	48
Tablo 3.5 Grupların Spermatogenetik Seri Hücreleri, Leydig Hücreleri Değerleri...	50
Tablo 3.6 TUNEL Pozitif Leydig Hücrelerinin İkili Karşılaştırma Sonuçları.....	51
Tablo 3.7 Grupların Total Testosteron, Serbest Testosteron Değerleri	53
Tablo 3.8 Gruplararası Karşılaştırmalar Sonucu Elde Edilen T.Testosteron ve S.Testosteron p Değerleri.....	53
Tablo 3.9 Grupların TAS, TOS, OSİ Değerleri	54
Tablo 3.10 Gruplararası Karşılaştırmalar Sonucu Elde Edilen TAS, TOS ve OSİ p Değerleri	55

1.GİRİŞ

İnfertilite genetik, ailevi, hormonal nedenler, doğumsal anormallikler, çevresel ve kimyasal nedenlerle günümüzde artmakta olan önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bu hastalıkla ilgili medikal tedaviler yanında alternatif tıp ile koruyucu veya tedavi edici etkileri konusunda değişik araştırmalar mevcuttur. Panax Ginseng (Korean red ginseng) Doğu Asya’ da 2000 yıldan daha fazla süredir kullanılan bir bitkidir (Baeg ve So., 2013). Panax Ginseng’in (P.G) birçok hastalıklara karşı koruyucu etkisi olduğu bilinmektedir. Bu ilacın hipertansiyona, diabetes mellitusa, kansere ve zayıflığa karşı etkili farmakolojik etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Jung ve Jin, 1996; Ko., 1998).Ginseng, ginsenosidler, polisakkaritler, peptidler, yağ asitleri ve mineral yağlar gibi bir çok aktif bileşen içermektedir (Kim ve ark., 2005; Kang ve Min, 2012). P.G’le ilgili birçok makale olmasına karşın yaptığımız çalışmada testis hasarı oluşmadan önce 4 hafta süreyle koruyucu olarak değişik dozlarda bitki özütü verilmesinin testis hasarını hangi düzeyde koruyabildiği incelenmiştir. Bu bakımdan diğer çalışmalar daha çok tedavi yönünde olmasına karşın bizim çalışmamız orijinal olarak daha az çalışılmış koruyucu etki değerlendirme üzerine olmuştur. Kanser, vücuttaki bir hücre grubunun farklılaşarak, anormal ve kontrolsüz bir şekilde çoğalması ile yaygın özellik kazanıp, uzak organlara kan veya lenf yolu ile yayılması (metastaz) sonucu ortaya çıkan bir hastalık olarak bilinmektedir (Brooks ve ark.,2009). Kanser; çeşidine ve gelişim evresine bağlı olarak cerrahi, radyoterapi ve kemoterapi yöntemlerinin tek başına ya da kombineli şekilde uygulanmalarıyla tedavi edilmektedir (Rang ve Dale, 1993).

Kemoterapötik ajanlar çeşitli kanser türlerinin tedavisinde kullanılmakta olup; alkilleyiciler, antimetabolitler, mitotik inhibitörler, antibiyotikler, enzimler, hormonlar ve hormon antagonistleri gibi çeşitli gruplara ayrılırlar. Bu ajanların etki mekanizmaları birbirinden farklılık gösterir (Kayaalp, 1994).

Antineoplastik kemoterapi, tümör hücrelerinin büyüme ve çoğalmasını durdurarak tamamen yok edebilen bir tedavi yöntemi olmasına rağmen, normal hücre

ile tümör hücresi arasındaki yapısal benzerlikler sebebiyle normal hücrelere de zarar verebilmektedir (Kayaalp, 1998).

Cisplatin (CP), testis, bağırsak, mide, kafa, boyun, servikal, yumurtalık, germ hücreli tümörler gibi çeşitli kanserlere karşı önleyici olarak kullanılmakta olan platin türevi bir anti-neoplastik, DNA alkilasyon maddesidir (Yıldırım ve ark., 2011). CP'nin testis kanseri tedavisinde, ileri aşamalarındaki kullanımı bile olumlu sonuçlar verirken, istenmeyen etkileri testiküler ağırlık, azospermi ve geçici veya kalıcı erkek üreme yeterliliğindeki azalmadır (Schilsky ve ark., 1980; Türk ve ark., 2008).

CP'e bağlı testiküler hasar, direkt olarak spermatogenik hücreler ve Sertoli hücreleri üzerinde görülmektedir. CP Leydig hücrelerinde de fonksiyon bozukluğu yaratmaktadır (Dilek, 2010).

İnfertilite oranının gittikçe artması sebebiyle bu konuyla ilgili yeni tedavi ve koruma yöntemleri geliştirilmesi gerekmektedir. Aksi takdirde insan neslinin üremesi ciddi sorunlarla karşı karşıya kalacaktır. Bu nedenle toplumda oluşacak sosyal, psikolojik sorunlar toplum huzurunun dahada bozulmasına neden olarak daha ciddi toplumsal sorunlar oluşmasına neden olabilecektir. Bizde bu çalışmamızda bu sorunun temelini oluşturan etkenlerden biri olan testis hasarında alternatif tıp ürünü olan Panax Ginseng'in koruyucu etkinliğini belirlemeyi amaçladık.

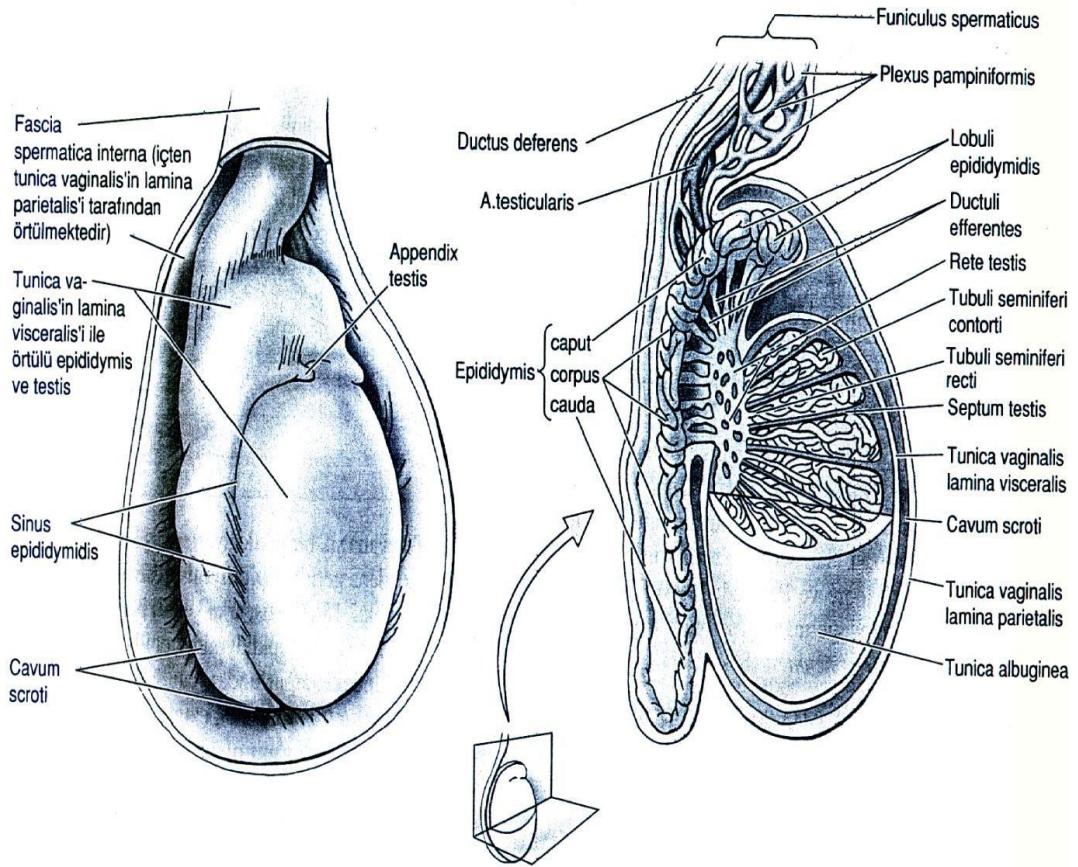
1.1. Testis Anatomisi

Testis skrotum içinde yer alan, erkek üreme hücrelerinin üretildiği bir çift organdır. Testisler oval şekilli olup skrotumun içinde oblik pozisyonda dururlar. Alt ucu arkaya ve içeri doğru, üst ucu ise öne ve dışarıya doğru bakar. Testisler funikulus spermatikus aracılığıyla skrotum içinde asılı olarak bulunurlar. Bir çift testisin her biri yaklaşık 10-15 g ağırlıkta, 4.5-5 cm uzunluğunda ve 2.5 cm enindedir. Testislerden sol taraftaki testis sağa göre genellikle 1 cm daha aşağıda bulunur. Testislerin temel fonksiyonlarını yerine getirebilmeleri için karın boşluğundan skrotuma inmeleri zorunludur. Testisler bu inişleri sırasında karın ön duvarı

tabakalarını da beraberinde sürüklerler (Arıncı ve Elhan, 2006; Aktümsek, 2012; Sancak ve Cumhuriyet, 2004).

Bu yüzden şu tabakalarla kaplıdır: (Şekil 1.1).

- a. Skrotum (Deri)
- b. Tunika dartos
- c. Fasia spermatika eksterna
- d. Fasia kremasterika
- e. Fasia spermatika interna
- f. Tunika vaginalis testis (Arıncı ve Elhan, 2006).



Şekil 1.1 Testisin Anatomik Yapısı. <http://anatomytopics.wordpress.com/2009/01/04/the-anatomy-histology-and-development-of-the-testis-epididymis-and-ductus-deferens/>)

Her bir testisin facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü; margo anterior ve margo posterior olmak üzere iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior olmak üzere de iki ucu vardır (Cumhur, 2001; Hatipoğlu, 2006; Usta, 2005).

Testis; lamina visseralis, tunika albuginea ve tunika vaskulosa olmak üzere dıştan içe doğru üç tabaka ile sarılıdır. Tunika vajinalis testis, fasia spermatika internanın iç, testisin de dış yüzünü saran seröz bir zardır. Embriyolojik dönemde karın boşluğunu döşeyen parietal periton skrotuma doğru bir cep şeklinde Tunika vajinalis denilen çıkıntı gönderir. Bu çıkıntı, skrotumun tabakalarından en içte bulunan fasia spermatika internaya gevşek olarak yapışır. Daha sonra periton kesesinin dışında skrotuma inen testis, sakkus vajinalis'e arka kısmından gömülerek peritonla kaplanır. Böylece Tunika vajinalisin, bir testisi örten lamina visseralis kısmı, bir de fasia spermatika interna'ya yapışan lamina parietalis kısmı oluşur. Erişkinlerde bulunan bu iki yaprağa “**tunika vajinalis**” testis denir. Sinus vajinalisde bulunan az miktardaki sıvı parietal ve visseral yaprakları birbirinden ayırarak testisin skrotum içinde serbestçe hareket etmesini sağlar (Arıncı ve Elhan, 2006; Hatipoğlu, 2006).

Tunika albuginea, testisleri örten kalın, fibröz bir tabakadan oluşmaktadır. Elastikiyet ve genişleme özelliği bulunmayan bu tabaka, arka kenardan testis içine doğru sokularak vertikal bir bölme oluşturur. Bu bölmeye mediastinum testis denilmektedir. Mediastinum testis, testisin extremitas superiorundan ekstremitas inferior yakınına kadar uzanır. Mediastinum testisin ön ve yan kısmından çıkan uzantılar septula testis adını alır. Bu uzantılar, testis parankiminden geçerek tunika albugineanın iç yüzüne kadar ulaşır ve testisi koni biçiminde lobuluslara ayırır. Testis parankimini, lobuli testis içinde bulunan ve kıvrımlı yapısından dolayı tubuli seminiferi kontorti denilen kanalcıkları meydana getirir. Her bir testis kanalcığı, mediastinum testis yakınında tubuli seminiferi rekti adı verilen düz bir kanalcıkla uzanır. Bütün lobuluslardan gelen bu kanalcıklar mediastinuma sokulur ve burada rete testis denilen ağı oluşturur. Lobuli testislerde yapılan spermiumlar rete testisten duktus efferent testis adı verilen kanallar aracılığıyla epididimise gelir (Arıncı ve Elhan, 2006; Sancak ve Cumhur 2004).

Testisin Damarları, Lenf Dolaşımı ve Sinirleri

Tunika vaskulosa, damar ağından oluşan ve tunika albugineanın iç yüzünü saran testis tabakasıdır. Bu tabaka, tunika albugineanın uzantısı olan septula testislerin iç yüzünü sardığı için lobuli testislerin etrafında bir tabaka meydana getirir (Arıncı ve Elhan, 2006; Hatipoğlu,2006) Epididimis ve testis, aortanın dalı olan arteria testikularisten beslenirler. Testis ve epididimisin venleri, önce funiculus spermatikusu saran bir ağ plexus pampiniformisi, sonra da birbirleriyle bir araya gelerek vena testikularisi meydana getirirler. Bunlar da sağ tarafta vena cava inferior, sol tarafta ise vena renalis sinistraya açılır (Hartley ve ark., 1983; Masuzawa ve ark., 2003). Yüzeyel lenf damarları tunika vajinalis testisin altında, derin lenf damarları ise testis ve epididimis içerisinde bulunur. Bu damarlar ise funikulus spermatikus ile beraber karın boşluğuna geçer (Sadler, 2005). Testis ve epididimisin sinirleri arteria testikularisin çevresindeki plexus testikularisten gelir. Sempatik sinirler ise testise torakal 10-11 den gelir ve bu yapıların duyusunu taşırlar (More ve ark., 2007).

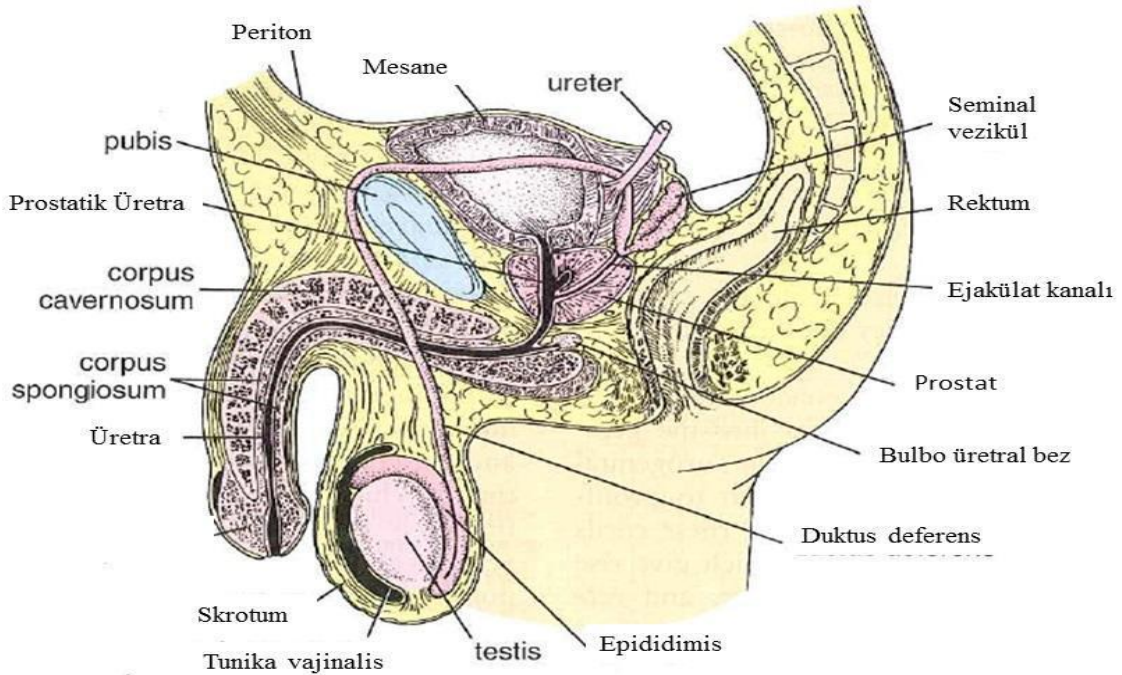
1.2. Testislerin Histolojisi

Erkek üreme sistemi; sperm üreten ve sentezleyen ve androjenleri salgılayan, testislerden, dışarıya spermatozoa taşınmasından sorumlu olan, dış kanallar sistemini oluşturan; epididimis, vazdeferens, ejakülatuar kanal ve erkek üretrasının bir parçasından, salgıları semen kitlesini oluşturan ve ejeküle spermatozoaya besinler sağlayan aksesuar bezler; seminal vezikül, prostat bezi ve bulbo üretral bezlerden ve erektil dokudan oluşan çiftleşme organı olan penisten oluşmaktadır (Abraham, 2006; Ovalle ve Nahrney, 2009). (Şekil 1.2).

Testisler hem endokrin, hem de ekzokrin fonksiyon yapan bir çift bezdir. Endokrin olarak testosteron hormonu üretirken, ekzokrin olarak ise erkek olgun gamet hücresi olan spermatozoonu üretir (Ovalle ve Nahrney, 2009). Testisler karın boşluğunun dışında skrotum içinde yer alan çift organlardır. Bu yerleşimleri testislerin vücut ısısından 2-3⁰C derece düşük bir ısıda olmalarını sağlar. Normal spermatogenez için 34-35⁰ C gereklidir. Testisler canlıda beyaz görünüm sergilemesi

nedeniyle tunika albuginea adı verilen sıkı fibroelastik bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsülle sarılmıştır. Daha dış kısımdaki visseral katman olan tunika vajinalis kapsülü dıştan sarar. Testisin arka kenarında kapsül kalın bir katlanma şeklinde içeriye doğru uzanır, bu kısım mediastinum testis adını alır (Abraham, 2006; Ovalle ve Nahirney, 2009).

Olgun testisin posteriyor yüzü epididimis ile ilişkilidir. Hem testis hem de epididimis skrotal kese içerisinde vaz deferens, spermatik arter, venöz ve lenfatik pleksusları içeren spermatik kordon ile asılı haldedir. Testis rete testisin yer aldığı yerde kalınlaşarak mediastinumu oluşturan tunika albuginea ile çevrelenir. Mediastinumdan testiküler kitleye doğru uzanan fibröz septumlar dokuyu 250 ile 300 lopçuğa böler. Herbir lopçuk bir ile dört seminifer tübülü içermektedir. Her bir seminifer tübül yaklaşık 150 µm çapta ve 80 cm uzunluktadır; iki ucu U şeklinde olup, rete testise açılan tüplerdir. Rete testis, seminifer epitelyumun ürünlerini (testiküler sperm, salgısal proteinler ve iyonlar) toplayan kanallar ağıdır (Ovalle ve Nahirney, 2009; Junguiera, 2006).



Şekil 1.2 Erkek Genital Organları (Ross ve Pawlina, 2011).

1.2.1. Seminifer Tübül

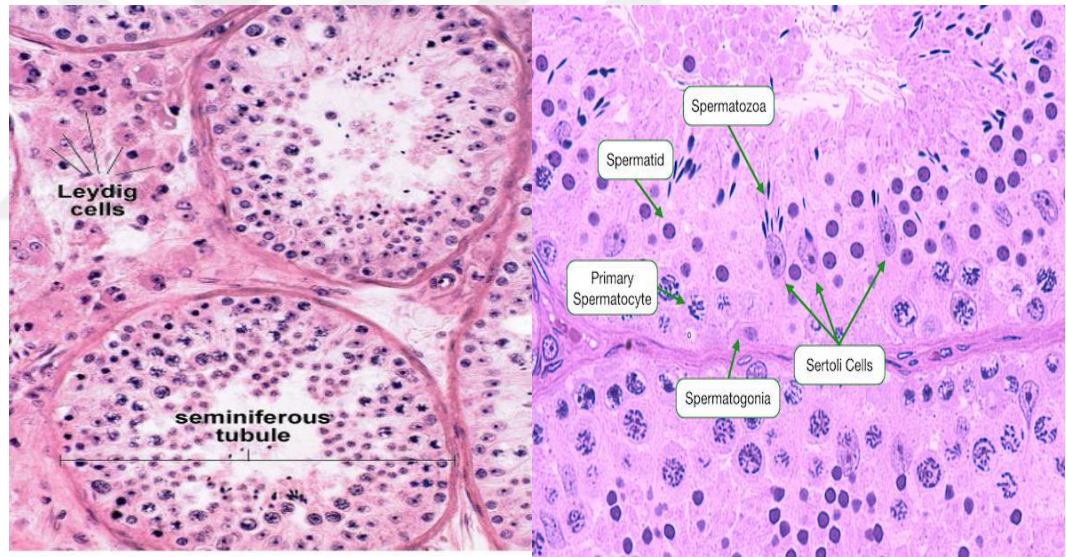
Spermatozoidler, seminifer tübüllerde üretilir ve erişkindeki yapım hızı günde yaklaşık 2×10^8 'dir. Her testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül bulunur. Her seminifer tübül karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşeli olup, çapları yaklaşık 150-250 μm ve boyları 30-70 cm'dir. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu 250 m'dir. Tübüller kıvrımlıdır ve uçlarına doğru lümeni daralarak düz tübüller ya da tubuli rekti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eden kanallar şeklinde uzanırlar. Bu düz tübüller, seminifer tübülleri rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlar. Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık 10-20 adet duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanır (Gartner ve Hiatt, 2003; Jungueira ve Carneiro, 2003; Kierszenbaum, 2002). Seminifer tübüller Sertoli hücreleri ve Spermatogenik hücreler olmak üzere iki belirgin hücre popülasyonunu içeren özelleşmiş seminifer epitelyum ile döşeli merkezi bir lümenden oluşmaktadır. Seminifer epitel bir bazal membran ile kollajen lifler, fibroblastlar ve kasılabilir miyoid hücrelerden oluşan bir duvarla çevrelenmiştir. Miyoid hücreler hareketsiz spermleri rete testise ilerleten ritmik kasılma aktivitelerinden sorumludur. Spermler epididimal kanaldan geçtikten sonra ileri motilite özelliklerini kazanırlar. Seminifer tübüller arasındaki boşluk kan damarları, lenfatik kanallar veya sinüzoidler, makrofajlar ve androjen üreten Leydig hücre grupları tarafından doldurulmuştur (Gartner ve Hiatt, 2007). (Resim 1.1).

Sertoli Hücreleri;

Sertoli hücreleri seminifer tübüller içinde spermatosit serisinin değişik hücreleri ile sıkı sıkıya bağlı hücrelerdir (Resim 1.1). Görevleri arasında;

- Gelişen spermatozoonları destekler, korur ve besler.
- Spermatidlerin olgunlaşmasında ortaya çıkan fazla stoplazma parçalarını fagozite eder.
- Seminifer tübüllerden genital kanallar boyunca spermatozoonların taşınmasını kolaylaştıran ve besleyen fruktozca zengin olan salgıyı lümene salgılar.

- FSH'nın etkisi altında **Androjen Bağlayıcı Protein (ABP)** sentezlerler. ABP ise seminifer tübülde gerekli testosteron konsantrasyonunu sağlayarak spermatogenezin ilerlemesine yardımcı olur.
- Önhipofiz tarafından salgılanan **FSH**' in sentezini ve salınımını durduran **inhibin** hormonu salgılar. Aynı zamanda ön hipofizden FSH hormonunu yüksek miktarda salgılatan **aktivin** sekresyonu yaparlar.
- Kan- testis bariyerini oluşturur.
- Fetal gelişim döneminde **antimüllerian hormon** sentez ve sekresyonu yaparak erkek özelliklerin belirmesini sağlar.
- Spermatogonik hücreleri olgunlaştırmak üzere demirin **serum transferrininden** taşınımını kolaylaştırıcı protein olan **testiküler transferrini** üretir ve salgılar (Gartner ve Hiatt, 2016).



Resim 1.1 Seminifer Tübülün Genel Histolojik Görüntüsü (Gartner ve Hiatt, 2009)

Spermatogonyumlar;

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

başlayan başarılı mitotik hücre bölünmeleri geçirirler (Abraham, 2006; Junguiera, 2006).

İki temel morfolojik spermatogonyal hücre tipi gözlenmektedir;

- 1) Tip A spermatogonyum (insan testislerinde koyu A ve açık A olarak gözlenir)
- 2) Tip B spermatogonyum (Abraham, 2006).

Spermatositler, başarılı mitotik bölünmeler geçirdikten sonra, tip B spermatogonyumlar, son S fazını (DNA sentezi) tamamlandıktan sonra mayoz bölünmenin profaz safhasına girerler. Spermatogenik hücrelerin yaşam süresindeki esas DNA sentez aktivitesinin bu son turu, mayozun profaz-1 aşamasına başlayan bir primer spermatositin spermatogonyuma göre iki kat DNA miktarına sahip olacağını belirler. Primer spermatosit 4C DNA miktarına sahiptir. Spermatositler iki başarılı mayoz hücre bölünmesi geçirdikten sonra sertoli hücreleri arasındaki tıkalı bağlantıların üzerinde, seminifer tübülün adluminal kompartmanında yer alırlar. Dolayısıyla, mayoz bölünmeler kan-testis bariyerinin içinde gerçekleşmektedir (Ross ve Pawlina, 2011; Gartner ve Hiatt, 2007).

Bir primer spermatosit iki adet sekonder spermatositi oluşturmak için birinci mayoz bölünmeye (redüksiyon bölünmesi) gider. Sekonder spermatositler hızlı bir şekilde interfaz aşaması ve belirgin bir DNA sentezi olmayan (sadece tamir DNA sentezi meydana gelir) ikinci mayoz bölünmeye (eşitleme bölünmesi) giderler. Her bir sekonder spermatosit hücre bölünmesi göstermeden sperm şeklinde olgunlaşan iki adet spermatid meydana getirmektedir. Birinci mayoz bölünmenin sonunda, primer spermatositin 4C DNA miktarı sekonder spermatositte 2C'ye düşer. İkinci mayoz bölünmenin sonunda 2C DNA miktarı 1C'ye düşer ve meydana gelen spermatidler haploid spermatidlerdir ve spermiyogenez denilen karmaşık bir farklılaşma sürecini başlatırlar.

Birinci mayoz bölünme uzun bir sürede olup, ikinci mayoz bölünme çok kısa sürede olduğundan primer spermatositler seminifer tübüllerde en bol gözlemlenen hücrelerdir (Ross ve Pawlina, 2011; Gartner ve Hiatt, 2007). Birinci mayoz bölünme, yaklaşık 10 gün süren uzun bir profaz evresi ile karakterizedir. Birinci mayoz bölünmenin profazının alt evreleri; leptoten, zigoten, pakiten, diploten ve diyakinez evreleridir (Abraham, 2006).

Bu alt evrelerde dört temel olay gerçekleşir.

- 1) Zigoten-Pakiten evresinde, homolog kromozomların eşleşmesini ya da sinapsını kolaylaştıran sinaptonemal kompleks oluşumu.
- 2) Homolog kromozomların eşleşmesi (sinapsis).
- 3) Kross over (homolog kromozomların kardeş olmayan kromatidleri arasında genetik bilgi değişimi).
- 4) Ayrılma (disjunction) (eşleşmiş homolog kromozomların ayrılması).

Uzamış profaz evresinden sonra, kardeş kromatid çiftleri metafaz, anafaz ve telofaz evrelerinden geçer ve yavru hücrelere sekonder spermatositlere dağılırlar. İkinci mayoz bölünme sırasında profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri kardeş kromatidleri yavru hücrelere (spermatidlere) dağıtırlar (Abraham, 2006).

1.2.2. Leydig Hücreleri

Leydig hücreleri, kıvrımlı seminifer tübüller arasındaki üçgenlerde yerleşmişlerdir. Ergenlik sırasında belirgin hale gelen, yuvarlak, poligonal şekilli merkezi bir nükleusları vardır. Küçük lipid damlacıklarından oluşan zengin eozinofilik bir sitoplazması bulunmaktadır. Golgi kompleksi çekirdeğe yakın konumdadır. Salgısını, testosteron ihtiyacına göre sentezler ve biriktirmeden salgılar. Daha sonra bekletilmeden kana verildiğinden salgı granülleri bulunmaz. Çok sayıda tübüler kristal mitokondriyonlara sahiptir ve asidofil sitoplazmalarında yağ damlacıkları içerirler. Dikkat çekici özelliği geniş granülsüz endoplazmik retikulumlarıdır. Granülsüz endoplazmik retikulumun sitoplazmasında androjenik steroidlerin biyosentezi için gerekli enzimler bulunur. Sitoplazmalarında bu enzimlerin yanında

peroksizom, lizozomlar ve yağla artan miktarlarda lipokrom pigment birikintileri de bulunur. Leydig hücreleri bu özellikleri ile steroid salgısı yapan hücrelere benzemektedirler (Fawcett ve Jensch, 2002; Jungueira ve Carneiro, 2009; Moore, 2003). Leydig hücreleri, ikincil seks hareketlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üreterek spermatogenezisin devam etmesini sağlar. Testosteron, mitokondri ve granülsüz endoplazma retikulumunda bulunan enzimlerce sentezlenmektedir.

İnterstisyel hücrelerin hem aktiviteleri, hem de miktarları hormonal uyarılara bağlıdır. Embriyonik gelişim sırasında, plasental gonadotropik hormon anne kanından fetusa geçer, androjenik hormonları üreten fetal testiküler interstisyel hücreleri uyarır. Hormonlar, embriyonik farklılaşmada erkek genital organlarının gelişmesi için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler insan hamileliğinin 4,5 ayna kadar farklılaşmış olarak kalırlar. Daha sonra ise testosteron sentezindeki azalmaya bağlı olarak gerilerler. Hücreler, gebelik boyunca ve hipofizden salınan luteinizan hormon (LH) uyarımı altında testosteron sentezini yeniden yapmaya başladıkları ergenlik öncesi döneme kadar dinlenmede kalırlar (Guyton ve Hall, 1996; Kierzenbaum, 2006).

Myoid Hücreler

Seminifer tübül epitelini çevreleyen lamina propriya bağ dokusundan oluşur. Myoid hücreler (peritübüler kontraktıl hücreleri) ve kollajen lifler seminifer epitelin dış bazal laminasında yer almaktadır. Myoid hücreler ultrastrüktürel olarak incelendiğinde, sitoplazmasında aktin filamentlerini içerdiği ve bazal zarının olmasından dolayı düz kas hücrelerine benzediği gösterilmiştir. Fibroblastlarda bulunan granüllü endoplazma retikulumları sayesinde kollajen sentezinde görev almaktadırlar (Ross ve ark., 2003). Myoid hücreler, hareketsiz spermleri rete testise iletken ritmik kasılma hareketlerini yaparlar. Spermler bu sayede duktus epididimise ulaşır ve burayı geçtikten sonra hareket etme özelliklerini kazanırlar.

Spermatogenez:

Spermatozoon üretim sürecine **spermatogenez** denir (Jungueiro ve Carneiro, 2009). Bu işlem, hipofiz gonodotropinleri etkisiyle ergenlikten hemen önce başlayıp, bütün yaşam boyunca devam etmektedir (Hassa, 2003; Zhengwei ve ark., 1997; Zhengwei ve ark.,1990). Spermatogenez olayı, spermatogonyumdan sperm oluşumu sırasındaki çoğalma ve hücrel değişiklerden meydana gelir. Bu 3 dönemde incelenir (Atabenli, 2002). (Şekil 1.3).

1) Spermatositogenez

Spermatogonyumların mitozlarla çoğalarak, primer spermatosite farklılaşmasıdır (Atabenli, 2002). İlkel Tip A spermatogonyumlar, 4 kez mitoz bölünme geçirir ve 16 adet daha ileri farklılaşmış Tip B spermatogonyumları meydana getirir. Bu evrede spermatogonyuya Sertoli hücrelerine doğru ilerler, Sertoli hücreleriyle birlikte taban ve yan yüzlerinden sıkı bir bariyer oluştururlar. 24 gün sonra, Sertoli bariyerinden geçen her spermatogonyum büyür ve daha büyük yuvarlak hücreler olan primer spermatositler halini alır. Tip B spermatogonyumdan oluşan primer spermatositler, birinci mayozun profaz safhasına girerler (Ross ve ark. .2003; Cheng ve Dolares, 1997).

2) Mayoz Bölünme

Primer spermatositin birinci mayoz bölünmesini tamamladıktan sonra iki sekonder spermatosit oluşur. Bu sırada diploid sayıda kromozom içeren primer spermatositlerden haploid sayıda kromozom içeren sekonder spermatositler meydana gelir. Sekonder spermatositlerden ise mayozun ikinci bölünmesiyle spermatidler meydana gelir. Böylece oluşan hücreler haploid sayıda kromozom ve haploid DNA içeriğine sahip olurlar. Bu da döllenme olursa yeni oluşacak olan zigotta türe özgü kromozom sayısının korunmasını sağlar (Ross ve ark. .2003; Cheng ve Dolares, 1997).

3) Spermiyogenez

Haploid spermatidler seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanda yerleşmiş durumdadır. Spermatidler Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içinde gömülü vaziyettedirler. Spermatidler, spermiyogenez adı verilen oldukça farklılaşmış bir hücre işleminden geçerler. Spermiyogenez, spermatogenezin son aşamasıdır (Abraham, 2006).

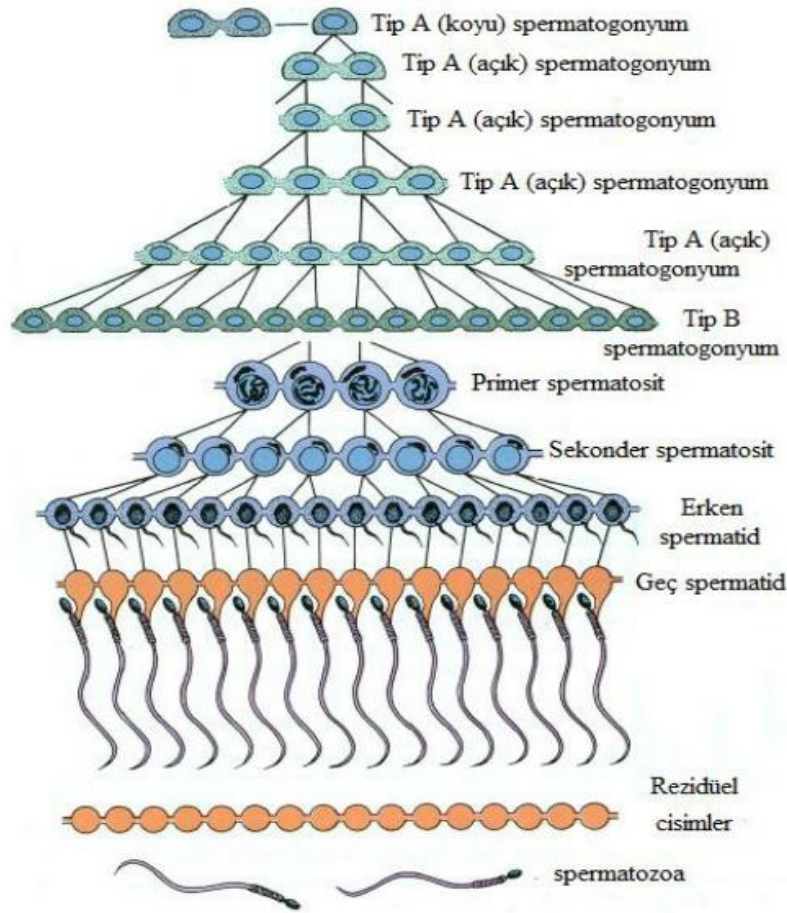
Spermiyogenez üç ana olay ile karakterizedir.

- Flagellumun gelişmesi; flagellum, distal sentriyolden gelişmektedir. Keratin içeren dış yoğun lifler ve bir fibröz kılıf ile çevrili bir aksonemden meydana gelir. Mitokondriyonlar kuyruğun proksimal bölümü (orta parça)  evresinde sarmalımsı bir kılıf oluşturur.
- Akrozom gelişmesi; Döllenme için gerekli olan hidrolitik enzimlerin depolanması ve sürekli sentezinin gerçekleştiği akrozomal keseyi içermektedir. Akrozomun gelişimi dört ardışık evreden oluşur: Golgi evresi, kep/şapka evresi, akrozomal evre ve olgunlaşma evresi.
- Nüklear yoğunlaşma; Somatik histonlar (H1, H2A, H2B, ve H4) lizin ve arjinin zengin protaminlerle yer de i tirdi inde nüklear yoğunlaşma oluşur (Abraham, 2006).

Bu somatik histonlar protaminlere d n  d kten sonra, nükleozomlar kaybolur ve çekirdek materyalini yo unla tırmak için düz kromatin lifler yan yana dizilirler. Spermiyogenezin olgunlaşma aşamasından sonra belirgin bir RNA sentezi görülmez (Abraham, 2006; Buruko lu ve Bayçu, 2007).

Spermiyogenez tamamlanırken; Spermatid olgunlaşma evresi sırasında mitokondriyonlar gelişen flagellum boyunca dizilimlerini tamamlarlar. Flagellum keratin içeren dış yoğun liflerle sarılı bulunan merkezi bir aksonemden meydana gelir. Çekirdek uzar ve yoğunlaşır. Olgunlaşma işlemi, çekirdeğin son uzamış, yoğunlaşmış şeklini aldığında ve dış yoğun lifler tamamen organize olduğunda tamamlanır. Kuyruk iki ana parçadan oluşmaktadır. Biri mitokondriyonların

bulunduğu orta parçadır diğeri ise kuyruğun fibröz bir kılıfla sarılı olduğu, esas parçadır (Abraham, 2006). Bir annulus (son halka) sperm kuyruğunun orta parça ana parça geçişinin sınırlarını belirler. Olgun spermatidden bir sitoplazma artığı olan artık cisimcik, spermleşme oluşurken, spermiyogenez sonunda Sertoli hücreleri tarafından fagosit edilmektedir. Somatik histonların arjininin ve lizin gibi zengin protaminlerle yer değişmesi olayı, çekirdek yoğunlaşması, spermiyogenezin son basamağını oluşturur. Bu yer değiştirme sperm genomik DNA'sını stabilize eder ve korur (Abraham, 2006; Burukoğlu ve Bayçu, 2007).



Şekil 1.3 Spermatogenezin Şeması (Ross ve ark., 2011).

1.3. Testis Embriyolojisi

1.3.1. Gonadların Gelişimi

Embriyonun cinsiyeti, daha fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar dişi veya erkek morfolojik özelliklerine sahip değildirler. Genital sistem erken dönemde her iki cinsten de birbirine benzer özellikler gösterir. Bu nedenle genital sistemin gelişmesinin başlangıç dönemine seksüel gelişimin farketilmemiş evresi olarak adlandırılır (Moore, 2002).

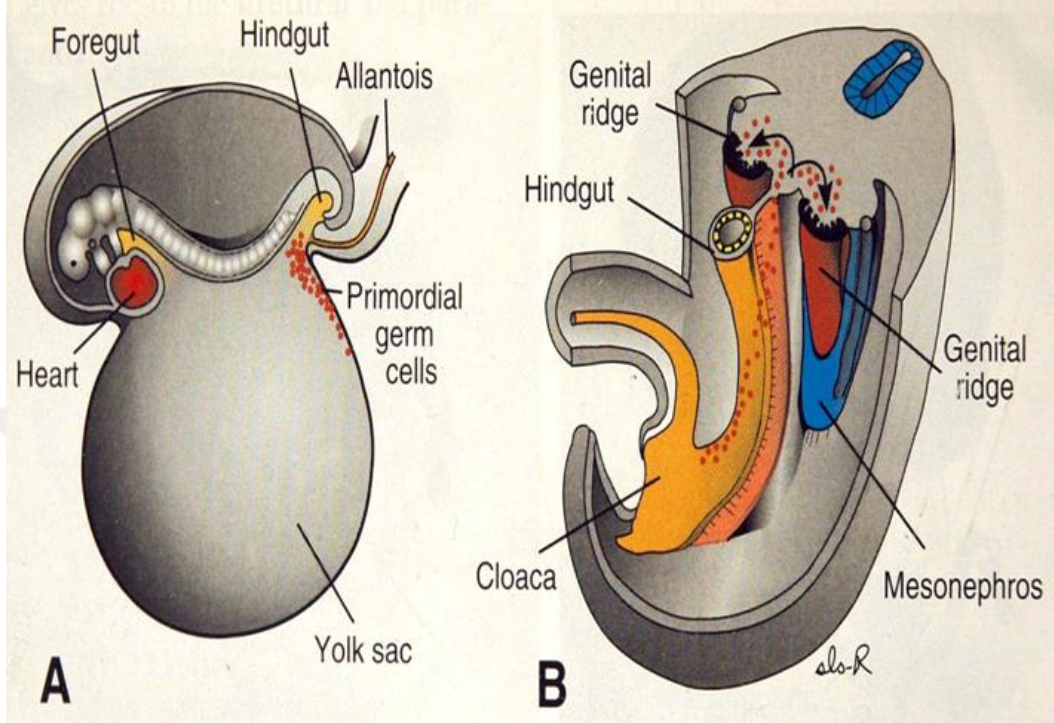
Gonadlar (testisler ve overler) üç kaynaktan köken alırlar;

- Posterior abdominal duvarı döşeyen mezotel (mezodermal epitel)
- Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
- Primordiyal germ hücreleri (Moore, 2002).

Gonadların ortaya çıkışı bir çift uzunlamasına genital veya gonadal kabartı şeklindedir. Epitel proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşurlar. Gelişimin 6. Haftasına gelene kadar genital kabartılar içinde germ hücreleri bulunmaz. Primordiyal germ hücreleri, epiblasttan köken alır, primitif çizgi boyunca göç eder ve üçüncü haftada yolk kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücrelerinin arasına yerleşirler (Şekil 1.4). Son bağırsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketlerle ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır. 6. haftada ise genital kabartıları işgal ederler. Primordiyal germ hücrelerinin bu göçü, *stella*, *fragilis* genleri ve BMP-4 tarafından düzenlenir. Bu hücreler genital kabartılara ulaşamadıkları takdirde gonadlar gelişemez. Gonadların over veya testise farketilmesinde primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır (Moore, 2002).

Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmadan önce ve ulaştıkları sırada, genital kabartıda epitel hücreleri proliferasyon olarak altlarındaki mezenşimin içine gömülürler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen düzensiz kordonları oluştururlar. Hem dişi hem de erkek embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır. Bu dönemde erkek veya dişi gonadlarını birbirinden ayırt

edilebilmek mümkün değildir. Bu evredeki gonada farklanmamış gonad denilmektedir (Moore, 2002).



Şekil 1.4 Primordial Germ Hücrelerinin Genital Kabırtıya Göçü (Sadler, 2005).

Kromozomal ve genetik cinsiyet, X kromozomuna sahip ovumun X veya Y kromozomu taşıyan sperm ile fertilizasyonuna bağlı olarak oluşur. 7. haftadan önce gonadların görünümü her iki cinsten de birbirine benzerdir, dolayısıyla ‘farklanmamış gonadlar’ olarak adlandırılırlar. Erkek fenotipinin gelişimi için bir Y kromozomu gerekirken, Testis belirleyici faktör (TBF) için gerekli olan SRY geninin, Y kromozomunun kısa kolunda, cinsiyet belirleyici bölgesinde yerleşmiş durumdadır. Y kromozomu tarafından düzenlenen, testis belirleyici faktör, testiküler farklılaşmayı sağlar. Bu organizatörün etkisi altında gonadal kordonlar, seminiferöz kordonlara (seminiferöz tübül primordiyumlarına) farklılaşırlar. Seminiferöz kordonların oluşumu SOX9 ve FGF9 ekspresyonları ile sağlanır. Y kromozomunun yokluğunda ise over gelişimi görülür (Sadler, 2005; Moore, 2002).

1.3.2. Testis Gelişimi

Y kromozomunun kısa kolu üzerinde bulunan testis belirleyici faktör (TBF) için SRY geni, farklanmamış gonadın testis olarak gelişiminde bir anahtar fonksiyonu görür. Transkripsiyon faktörü SOX9 da testiküler farklılaşma için esas rol oynar. Testis belirleyici faktör, gonadal kordonları uyararak, onların farklanmamış gonadın medulla derinlerine doğru uzamasına neden olmaktadır. Kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomoz yapar ve böylece rete testis oluşur. Gonadal kordonların kalın bir fibröz kapsül olan, tunika albuginea geliştikten sonra yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. Genişleyen testis kademeli olarak dejenere olan mezonefrozdaki ayrılır ve kendi mezenterisi olan, mezorçiyum ile asılı hale geçer. Seminiferöz kordonlar, seminiferöz tübüllere, tubuli rekti ve rete testise farklılaşırlar (Sadler, 2005).

Seminiferöz tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenşim ile ayrılırlar. 8. haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonları (testosteron ve androstenedion) salgılamaya başlar ve bu hormonlar mezonefrik kanalların ve dış genitalerin maskülen olarak farklılaşmasını uyarırlar. Testosteron üretimini, insan koryonik gonadotropin (hCG) hormonu stimüle etmektedir. Hormonun miktarı, 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşır. Testosterona ek olarak, fetal testisler, glikoprotein bir hormon olan antimüllerian hormon (AMH) veya müllerian inhibitör madde (MIM) adı verilen bir hormonu da salgılar. Antimüllerian hormon, Sertoli hücreleri tarafından salgılanır ve hormonun salınması puberteye kadar devam etmektedir. Daha sonra seviyesi azalır. Antimüllerian hormon, uterus ve tuba uterinalara farklılaşan, paramezonefrik (müllerian) kanalların gelişimini baskılamaktadır (Sadler, 2005; Moore, 2002).

Seminiferöz tübüller, puberteye kadar solid halde kalırlar (lümensiz). Puberteden itibaren ise lümen gelişir. Seminiferöz tübül duvarında iki tip hücre bulunmaktadır;

-**Sertoli hücreleri**, destek hücreleri olan bu hücreler, testisin yüzey epitelinden gelişirler.

-**Spermatogonia**, primordiyal sperm hücreleri olan bu hücreler, primordiyal germ hücrelerinden farklıdır (Sadler, 2005; Moore, 2002).

Fetal testiste, Sertoli hücreleri, seminifer tübüllerde çoğunluğu oluştururlar. Daha sonraki fetal gelişme sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşerek yetişkin testisin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, efferent duktuliyi oluşturan 15-20 adet mezonefrik tübüller ile devam etmektedir. Bu duktuli, duktus epididimisi oluşturan mezonefrik kanal ile bağlanır (Sadler, 2005).

1.3.3. Genital Kanalların Gelişimi

Mezonefroz gerilerken epigenital tübüller adı verilen birkaç boşaltım kanalı rete testis kordonlarıyla ilişki kurar ve duktuli efferentesleri oluştururlar. Testisin kaudal kutbundaki boşaltım kanalları ve paragenital tübüller, rete testis kordonlarıyla birleşmezler. Bunların kalıntıları topluca paradidimis olarak adlandırılır (Moore, 2002). Mezonefrik kanallar, apendiks epididim adıyla bilinen en kranial parçası dışında seyrederek, ana genital kanalları oluştururlar. Mezonefrik kanallar efferent duktusların giriş kısmının hemen altından itibaren uzayıp, kıvrıntılı bir hal alarak epididimi meydana getirir. Mezonefrik kanal, epididimin kaynağından seminal vezikül tomurcuğuna kadar kalın bir kas kılıfına bürünerek duktus deferensi oluşturur. Duktus deferensin seminal vezikülden sonraki parçasına ejakulatuar kanal adı verilir. Paramezonefrik kanallar erkeklerde kranial uçlarındaki küçük bir kısım hariç (appendiks testis) dejenere olurlar (Moore, 2002).

1.4. Testisin Histofizyolojisi

Spermatogenezin düzenlenmesinde sıcaklığın rolü oldukça önemlidir. Spermatogenez, 37°C olan vücut iç sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda meydana gelmektedir. Testis sıcaklığı yaklaşık olarak 35°C'dir. Zengin bir venöz ağ olan

pampiniform pleksus testis arterlerinin etrafını sarar ve bu ağlar testis sıcaklığının sürdürülmesinde önemlidir. Sıcaklığı dağıtmak için ters yönlü akımla sıcaklık değişimini ayarlamaktadır. Soğuk günlerde, skrotum kası refleks olarak kasılarak testisleri yukarı doğru çeker, testislerin vücuda yaklaştırılması ile 2°C'lik farkın sürekliliği sağlanmaktadır. Bu şekilde, skrotum teorik olarak, testislere özgül soğutma mekanizması olarak görev yapmaktadır (Ganong, 1995; Seeley ve ark.,1999).

Spermatogenez üzerinde etkin endokrin faktörler içerisinde başlıca hormonlar gelmektedir. Bu hormonlar;

Testosteron: Testosteron üretimi adenohipofizden salgılanan LH etkisiyle gerçekleşmektedir. LH, Leydig hücrelerinde kendisine ait reseptörlere bağlanarak etkisini göstermektedir. Her ne kadar Leydig hücreleri testisin genel hacminde küçük bir yer kaplasa da steroidojenik potansiyelleri oldukça yüksektir. Adenohipofizden LH salgısı sürekli değildir. Esas olarak geceleri 90 dakikalık aralıklar şeklinde olur. LH dışında prolaktin ve LH-RH (LH-releasing hormon) da doğrudan Leydig hücrelerini etkiler ve testosteron salgılanmasına etki eder. Testosteronun yükselmesi LH salgısını durdurur. LH dışında spermatogenezin başlaması ve devam etmesinde adenohipofizden salgılanan bir diğer hormon olan FSH da etki eder (Arıncı ve Elhan, 2006; Ganong, 1995).

Testosteron salınımı Leydig hücreleri tarafından yapılır ve spermatogenik hücrelerin gelişmesi için gereklidir. Testosteron testislerin ana androjeni olup spesifik testosteron bağlayıcı globülin ve aynı zamanda diğer plazma proteinleri ile kanda taşınır. Erkek üreme organlarının farklılaşmasını başlatarak işlevlerinin devam ettirilmesini sağlar. Erkek ikincil cinsiyet karakterlerinin oluşmasını sağlar. Meme dokusu üzerine östrojene zıt yönde etki gösterir. Aynı zamanda protein metabolizmasını ve kemik gelişiminide uyarır (Ackerman, 2006). Testosteron bazal membrandan sızar ve sertoli hücrelerine girer. Bu hücreler yüksek derişimde androjen almaçlarına sahiptirler. Spermatogenezin tamamlanabilmesi için Sertoli hücrelerinin üzerinde testosteronun etkisi yüksektir (Ackerman, 2006).

Folikül Uyarıcı Hormon (FSH): Ön hipofizden salgılanan FSH, Sertoli hücrelerini etkiler. Adenil siklaz yapımını, döngüsel adenzin trifosfat (cAMP) artışını uyarır. Bununla birlikte ABP'nin (androjen bağlayıcı protein) sentez ve salgılanmasını uyarır. Daha sonra ABP testosterona bağlanarak bu hormonu seminifer tübül lümenine taşır. Böylece spermatogenez uyarılmış olur. Germ hücrelerinin azalması FSH salgısını uyarmaktadır. FSH salgılanması, Sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin hormonuyla durdurulur. Östrojenler, kadın cinsiyet hormonları ABP'ı bağlayarak spermatogenezisi azaltıcı etki gösterir.

Östrojen: FSH sonucunda uyarılan Sertoli hücresinde testosterondan yapılmaktadır.

Luteinleştirici Hormon (LH): Leydig hücreleri üzerine etki eder ve normal spermatogenik hücrelerin gelişimi için gerekli olan testosteron yapımını uyarmaktadır. Hipofizden LH salgılanması negatif geri besleme ile düzenlenir. Testosteron sentezinin artması LH salınımını baskılar.

İnhibin: Bu hormon Sertoli hücrelerinde yapılır ve FSH salınımını geri besleme mekanizmasıyla düzenler. İnhibin sürekli salınırsa FSH baskılanır ve üreme hücresi sayısı azalınca da FSH artar.

Testisin dış salgı işlevi, kıvrıntılı seminifer tübüllerin holokrin salgı ürünü spermatozoondur. Günlük ortalama spermatozoon yapımı insanda iki testisten ortalama 200 milyon kadardır. 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 içermektedir. Bu sayı 20 milyonun altına düştüğünde kısırlıktan (infertilite) söz edilir (Ackerman, 2006; Bloom ve Fawcett, 1994).

1.5. Kanser ve Kemoterapi

Tarih boyunca kanser insan ve hayvanlarda sık görülen bir problem haline gelmiştir. Kanser hakkında bilinen en eski veriler MÖ 3000 yılına kadar uzanmaktadır. Kanser kelimesi Latince yengeç anlamına gelen “canker” veya “carcinoma” kelimelerinden türemektedir. Tümör terimi ise ilk defa MÖ 3. yüzyılda tümörün etrafındaki şişmiş damarları bir yengecin bacaklarına benzettiği için Hippokrat tarafından kullanılmış, daha sonra Yunan doktor Galen tarafından şişme anlamına gelen “oncos” terimini kullanmıştır (Baykara, O., 2016).

Kanser, vücuttaki bir hücre grubunun farklılaşarak, anormal ve kontrolsüz bir şekilde çoğalması ile yaygın özellik kazanıp, uzak organlara kan veya lenf yolu ile yayılması (metastaz) sonucu ortaya çıkan bir hastalık olarak bilinmektedir (Brooks ve ark.2009). Kanser hücreleri kaynaklandıkları normal hücrelere göre daha kısa sürede ölmelerine rağmen yeni hücre oluşumu o kadar hızlı olur ki, sonuçta hücreler devamlı olarak birikme gösterir. Bu aşırı hücre birikimi, hem kanser hücrelerindeki genetik anormalliklerden hem de organizmanın bu hücreleri tanıma ve yok etmedeki güçlüğünden kaynaklanmaktadır (Barry ve ark.; Cabadak, 2008; Gartner ve Hialth, 2007).

Kanserin oluşumunda en büyük role sahip 3 gen grubu bulunmaktadır. Bunlar onkogenler, tümör baskılayıcı genler ve DNA tamir genleridir. Hücre büyümesini ve farklılaşmasını sağlayan normal genler olan proto-onkogenler, mutasyonlar, artmış gen ifadesi, gen duplikasyonları ve/veya kromozal yeniden düzenlemeler nedeniyle etkin hale geçip onkogen haline dönüşebilmektedirler. En çok bilinen onkogenlere örnek ise RAS, Erk, MYC gibi genler örnek verilebilir. Hücrenin bölünmesini ve çoğalmasını kontrol eden, hasar durumunda ise DNA tamirini başlatan, tamir girişiminin başarısız olması durumunda apoptozu tetikleyen gen gruplarına ise tümör baskılayıcı genler denir. Bunlardan en sık rastlanana ve en çok çalışılanı TP53 genidir. Delesyonlar, nokta mutasyonları, epigenetik susturmalar, kromozomların düzgün ayrılamaması ve mitotik rekombinasyonlar tümör baskılayıcı genin işlevinin kaybolmasına yol açar ve hücre döngüsündeki kontrol kaybolmasına ve sonuçta da

karsinogeneze neden olabilirler. Bir diğ er önemli gen grubunda, hasarlı DNA'yı tamir ederek gerekli proteinleri o bölgeye çeken ve böylece genin işlevini yeniden kazanmasını sağlayan DNA tamir genleridir. DNA tamir genlerinin bir diğ er önemli görevi ise tamirin başarısız olduğu durumlarda hücrenin apoptotik veya nekrotik yola ok yok edilmesini sağlamaktır. Ancak bu önemli gen grubundaki işlev kayıpları hücrenin kanserle mesinde sıklıkla karşılaşılan bir problemdir. En çok bilinen DNA tamir genlerinden biri olan, işlevinin bozulması nedeniyle meme kanserinin oluşmasına neden olan BRCA (breast cancer) genidir (Baykara, O., 2016).

Kanserin ortaya çıkmasında tütün ve tütün ürünlerinin kullanımı, alkol, kötü beslenme, obezite, virüsler, iyonizan ı ınlara maruziyet, mesleki hastalıklar ve çevresel kirleticiler gösterilebilir. Hepatit B, Hepatit C ve HPV (Human Papilloma Virus) gibi virüsler karsinogeneze çok çalışılan vir slerdendir (Blackadar, 2016). Hem erkeklerde hem de kadınlarda en sık görülen ve  l me neden olan kanser türü akciğer kanseridir. 2. sırada ise erkeklerde prostat kanseri, kadınlarda ise meme kanseri gelmektedir (Siegel ve ark. 2015).

Kanser tedavisinde kullanılmakta olan belli ba lı tedavi yöntemleri şunlardır; cerrahi, radyoterapi, kemoterapi ve yeni tedavi yöntemleri (hormon tedavisi, immünoterapi- biyolojik tedavi, anjiogenez inhibitörleri, sinyal ileti sistemi inhibitörleri, gen tedavisi, kemik iliği transplantasyonu) dir. Bu yöntemlerden biri ya da birkaçı birlikte uygulanarakta kanser tedavisi yapılmaktadır (Türker ve Kayaalp, 2002; Akyol, 2004). Kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılan kemoterapinin temelinde; hastanın normal hücrelerine zarar vermeden özellikle kontrolsüz çoğalan hücelere karşı seçici öldürücü etkileri olan, tümör hücrelerinin büyümesini, çoğalmasını durdurmak veya yok etmek amacı ile doğal veya sentetik kimyasal maddeler, biyolojik ajanlar veya hormonlarla yapılan tedavilerin tümü yer alır (Akyol, 2004). Son yıllarda kanser tedavisinde meydana gelen gelişmelerle birlikte, kanser tedavisinin temelini oluşturan çok sayıda kemoterapötik ajan ke fedilmi  olup kullanıma girmiştir (Bysal ve Criss, 2004). Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ajanlar sayesinde kansere bağlı ölüm oranlarında azalma görülse de, uzun dönemler sonunda, büyüme problemleri, kardiovasküler problemler, ikincil

malign tümörler gibi yaşam kalitesini olumsuz etkileyen çok ciddi endikasyonlar gözlenmiştir. Folikülleri depolayan overler ve sperm üreten testisler, kemoterapötik ilaçlara karşı son derece duyarlılık gösterirler. Tedavi sonrasında görülen reproduktif yetmezlik oranlarının artışı, üreme sağlığını etkileyen komplikasyonları da beraberinde getirmektedir. Yüksek kemoterapi ve radyoterapi ya da kemik iliği transplantasyonuna bağlı sitotoksik tedaviler over rezervini ve testiküler sperm üretimini baskılayan ya da geri dönüşümsüz hasara sebep olan tedavi seçeneklerindendir (Familiari ve ark.,1993; Sönmezer ve Oktay, 2004). Kemoterapi sonrası testislerde spermatosit, spermatogonyum ve spermatitlerde görülen apoptoz, gonadal işlevi ve fertilitiyi etkiler. Siklofosfamid, chlorambucil, melphalan, busulfan, nitrogen mustard, procarbazine, ifosfamid ve thiotepa gibi bazı kemoterapötik ajanlar çoğunlukla geri dönüşümsüz fertilitiyeye sebep olurken, CP ve adriamisin kısmen, bleomisin, actinomisin D, vincristin, methotrexate ve 5-fluorouracil ise daha az oranda gonadotoksik etki göstermektedir (Kutluk ve Kars, 1992; Gengelen, 2002; Türkiye İstatistik Yıllığı, 2004). Kemoterapötik ajanlar, hücredeki işlevleri ve kimyasal yapılarına göre; antimetabolitler, alkilleyiciler, antitümör antibiyotikler, enzimler, alkaloidler, kortikosteroidler olmak üzere birbirinden farklı etkilere sahip 6 sınıfa ayrılmaktadır (Akyol, 2004). CP alkilleyici ajanlar arasında yer alır. Alkilleyiciler; hızlı çoğalan hücrelere etki ederek, yapısında bulundukları alkil kökü ile makromoleküllerin nükleofilik kısımlarına geri dönüşümsüz olarak bağlanırlar. DNA zincirlerinde çapraz bağların kırılmasına neden olduklarından DNA'yı etkilerler (Akyol, 2004).

1.6. Cisplatin (CDDP)

CP, tek başına veya diğer antineoplastik ajanlar ile (siklofosfamid, bleomisin, etoposid) beraber sık görülen ağız, baş, boyun, endometriyum, akciğer kanserlerinde kullanıldığı kadar ileri over ve testis kanserlerinde de sık kullanılmaktadır (Bogin ve ark.,1994; Florea ve Bisselberg, 2009). Aynı zamanda özofagus, lokalize servikal kanser ve baş-boyun kanserlerinde radyoterapiyle beraber kullanılır. CP'in terapötik etkisi doz artışıyla bariz derecede artış göstermektedir (Hanigan ve Devarajan, 2003). Fakat, nefrotoksisite başta olmak üzere, yan etkileri klinik kullanımında sorunlara

neden olmaktadır. Bu yüzden, CP ile yapılan kanser kemoterapisinde nefrotoksisitenin engellenmesi klinikte hasta yararına olacaktır (Bompart, 1990; Borch ve Pleasants, 1979; Sadzuka ve ark.,1991; Theneshkumar ve ark.,2009). CP nefrotoksisitesinin işleyiş mekanizması tam olarak aydınlanmasada, CP'in neden olduğu süperoksit ve hidroksil radikali gibi serbest oksijen radikalleri oluşumu, nefrotoksisitesini açıklayan mekanizmalardan biri olarak gösterilmiştir. Bu görüşten yola çıkarak, antioksidanların CP nefrotoksisitesine karşı koruyuculuğu araştırılıp, gerçekten bazı antioksidanların böbrek dokusunu CP'e bağlı nefrotoksisiteden koruduğu görülmüştür (Sheikh ve ark., 2004; Appenroth ve ark.,1997; Ateşşahin ve ark., 2005). Günümüzde ise daha az toksik ve daha etkin olan CP'in analogları araştırılmaktadır (Uehara ve ark., 2005). CP'in doz kısıtlayıcı nefrotoksisitesi nedeniyle karboplatin gibi platin kökenli ve nefrotoksik olmayan türevleri geliştirilmiştir. Ancak, CP platin içeren ajanlar arasında en sık tercih edilen ve kullanılan kemöterapötiklerden olmaya devam etmektedir. Karboplatin de CP'in olduğu gibi DNA'ya bağlanır ve çoğalmakta olan tümör hücrelerini öldürür. Karboplatin, CP'in nefrotoksisite ve nörotoksisite gösterdiği teröpatik dozdan beş kat daha fazla dozda kullanılabilir. Ancak, karboplatin kemik iliği depresyonu ve anemiye yol açabilir (Goyer ve ark., 2001).

1.6.1. Cisplatin'in Moleküler Yapısı ve Özellikleri

CP, hücre DNA'sında oluşturduğu sitotoksik etkilerle birlikte hücre mitokondrion işlevi üzerinde de etki göstermektedir. Mitokondriondan kalsiyum O_2 çıkışını artırır, aynı zamanda oksijen taşınmasını da artırarak solunum hızında artışa, dolayısı ile hipoksiye sebep olur. Bununla birlikte ATPaz aktivitesini engeller. Tüm bu olaylar hücre ölümü ile sonuçlanır. Makrofaj ve lenfosit infiltrasyonunda ilacın etkisi ile artış gözlenir ve fibrozise neden olur (Wang ve Lippart, 2005). CP, tümör nekroz alfa'nın (TNF- α) ekspresyonunu artırır ve TNF- α hücrede inflamasyona yol açarak apoptozis'i indükler ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimine katkıda bulunur (Akşit ve Bildik, 2008). CP'in hücre içine alınışına yönelik mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Yapılan ilk çalışmalarda CP'in pasif difüzyon ile hücre içine girdiği öne sürülmektedir. Son zamanlarda yapılan çalışmalar ise bakır transport

proteini olan *copper transporter 1* 'in (CTR1) CP'in hücre içine aktif olarak alınmasında etkili olduğunu göstermektedir (Wang ve Lippert, 2005; Holzer ve ark., 2004).

1.6.2. Cisplatin'e Ait Farmokinetik Özellikler

CP'in oral emilimi kötü olup, mide barsak kanalından absorbe olmadığından sadece intravenöz veya intraperitoneal olarak kullanılmaktadır. İlacın % 90'dan fazla bir kısmı plazma proteinlerine bağlanır. Hidrofilik olması nedeniyle vücut içindeki dağılımı oldukça iyidir. En çok karaciğer, böbrek ve prostatta birikir. Anne sütüne geçer, asit, plevral sıvı gibi üçüncü boşluk sıvılarına geçer. Plasentayı geçer fakat kan-beyin bariyerinden geçişi iyi olmayıp eser miktardadır.

Enzimatik olmayan yollarla aktif ve inaktif metabolitlere dönüştürülebilir. Çoğunlukla böbreklerden idrarla birlikte (%90) atılır. İlk altı saatte ilacın çok az bir kısmı böbreklerden atılırken, yirmidört saate kadar %25'i elimine olur. Beş güne kadar ise alınan dozun %43 kadarı idrarda bulunabilir. İlaç enjeksiyon yerine infüzyon şeklinde verilirse, plazma yarılanma ömrü kısa olup, elimine edilen ilaç miktarı daha fazla olur. Platin dokuda 180 güne kadar görülebilir (<http://www.cancercare.on.ca/pdf> drugs/Cisplatin; Chabner ve ark., 2001).

1.6.3. Cisplatin'in Toksisitesi

CP, organizma üzerinde birçok toksik etkilere neden olmaktadır. CP'in neden olduğu bu etkiler tablo1.1 de gösterilmektedir.

Tablo 1.1. CP'e Bağlı İstenmeyen Etkiler ([http:// www.cancercare.on.ca/pdf drugs/Cisplatin](http://www.cancercare.on.ca/pdf/drugs/Cisplatin)).

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

Antineoplastik ilaçların kemoterapide kullanılması sonucunda, hızlı bir biçimde çoğalmakta olan gastrointestinal, hematopoietik sistem hücreleri ve testiste önemli toksik etkilerin olduğu bilinmektedir (Kantar ve ark., 2007). Testis germinal epitel hücreleri, yüksek mitotik aktiviteye sahip olmaları nedeniyle sitotoksik kemoterapötiklere duyarlıdırlar. Hematolojik malignitelerin tedavisi sırasında gonad fonksiyonları hastanın yaşı, kümülatif doz ve kullanılan her bir ajana bağlı olarak değişik biçimlerde etkilenir. Kemoterapötikler gonadal hormon kaybına, germ hücrelerinde mutojenik değişikliklere ve fetus üzerine teratojen etkiye sebep olabilirler (Dilek, 2010). Gonadları en çok suprese eden kemoterapötik ilaçlar alkile ediciler (mekloreタミン gibi, prokarbazin hariç) ve CP'dir. İlaç kombinasyonları da değişik oranda gonadal toksisite göstermektedir. Kümülatif doz sperm üretiminin

yeniden başlayıp başlamayacağı açısından oldukça önemlidir. Klorambusil ve siklofosfamid tek başına verildiklerinde uzamış azospermiye sebep olmaktadır. Prokarbazin ve CP ise yüksek dozlarda steriliteye neden olur (Dilek, 2010).

CP'e bağlı testiküler hasar direkt olarak spermatogenik hücelere ve Sertoli hücelerine olmaktadır ve Leydig hücelerinde de fonksiyon bozukluğuna neden olmaktadır (Azu ve ark., 2010). CP uygulanan sıçanlarda sperm üretiminin, seminifer tübül çapının ve intratestiküler testosteronun azaldığı ve seminifer tübülde TUNEL pozitif hücelerde artış olduğu belirtilmiştir (Favareto ve ark., 2011). Testiküler hasarın birçok belirtisi bulunmasına rağmen, uzun süreli sonuçları; kalıcı testiküler atrofi gelişmesi ve buna bağlı infertilitedir (Azu ve ark., 2010). Tam olarak etki mekanizması belirsiz olsada, artmış olan serbest radikal oluşması ve antioksidanların azalması buna sebep olabilir (Azu ve ark., 2010).

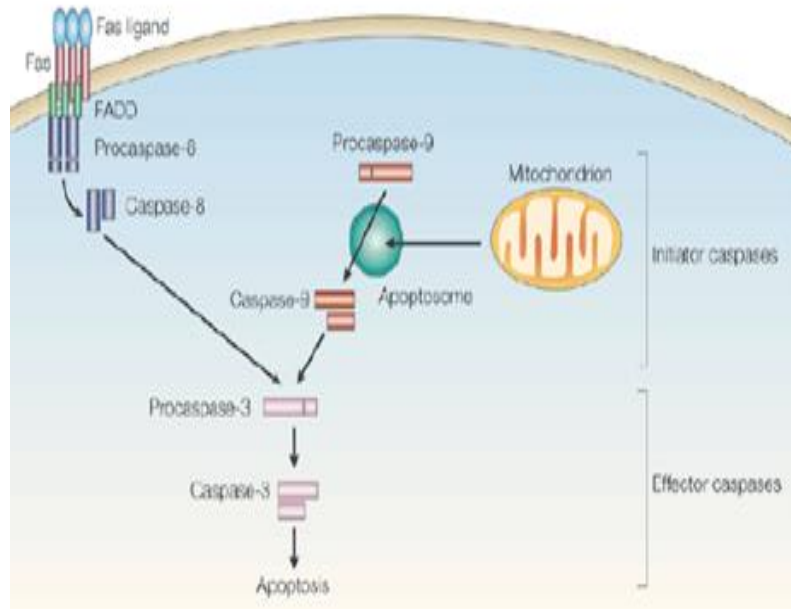
CP ve karboplatin spermatotoksiktir. Leydig hücelerine olası direkt etkisinden dolayı CP kullanımı serum testosteron ve intratestiküler P-450 seviyelerinde azalmaya sebep olmaktadır. CP temelli kemoterapide hastaların çoğu azospermik olmakla birlikte bunların çoğunda spermatogenez 4 yıl içinde geri dönmektedir (Perk ve ark., 2005).

1.7. Apoptotik Hücre Ölümü

Bütün hüceler yaşamı boyunca doğar, çoğalır, farklılaşır ve ölür (apoptozis). Bütün bu olaylar doğal bir denge halinde devam etmektedir. Dokudaki yapım ve yıkım olaylarının belli bir düzen etrafında işlemesi apoptozis/proliferasyon dengesinin kusursuz bir şekilde işleyişine bağlıdır (Erdoğan, 2003; Hıkım ve ark., 1995). Organizmada hasar gören veya organizma için hasar oluşturabilecek hücelerin ortadan kaldırılmasında da apoptozis görev üstlenir. Virüsle enfekte hücelerin ortadan kaldırılması, hasarlı DNA'nın ortadan kaldırılmasında yine bu yolla olur (Nagata, 1997).

Apoptozis önceden hazır olan hücrelerde primer olarak başlatılabilirken, bir uyarın sonucu sekonder olarakta gerçekleşebilmektedir. Hücre dışı uyarınlar arasında; tümör nekroz faktörü (TNF), nöron büyüme faktörü (NGF), koloni uyarıcı faktörler (CSF), insülin benzeri büyüme faktörü (IGF 14), IL-2 gibi maddelerin ortamda azalması, radyasyon, ilaçlar, glukokortikoidler, çeşitli antijenler önemli yere sahiptir. Otoimmün hastalık gelişiminde rol üstlendiği bilinen Fas/FasL (3) sFas proteinleri, virüsler de (HIV gp120 proteini, influenza virüsü TNF resöptörü üzerinden; adenovirüs hücre genetik yapısını bozarak) hücreyi apoptozise götürür (Erdoğan, 2003). Organizmada apoptozisi uyarın ve engelleyen birçok genin bulunduğu bilinmektedir (Öktem ve ark., 2001).

Apoptozisi etkileyen hücre içi uyarınlar ise, sitokinler, hücre içi kalsiyum miktarındaki artış, tümör nekroz faktör, tümör süpressör gen olan p53'ün aktive olması, viral-bakteriyel enfeksiyonlar, onkojenler ve glukokortikoidlerdir. Apoptozda hücre ölümü çevreyi rahatsız etmeden gelişede bazen apoptozis dolaylı olarak çevredeki dokuda nekrozu başlatabilir veya nekroz apoptozis gelişmesine neden olabilir (Öktem ve ark., 2001). (Şekil 1.5).



Şekil 1.5 Apoptotik Hücre Ölümü Ana Yolakları (Nature Reviews/Molecular Cell Biology)

Apoptozis süreci; DNA hasarına genlerin yanıtı, hücre membranı tarafından ölüm sinyallerinin alınması, (Fas ligandı), hücreye doğrudan proteolitik enzim girişi (granzim) olarak 3 farklı şekilde olabilir (Roshal ve ark., 2001). Apoptoz sürecinde görev alan 3 temel bileşen vardır. Bunlar; Bcl-2 ailesi proteinleri, kaspazlar ve Apaf-1 (Apoptotic protease activating factor-1) proteinidir (Staley ve ark., 1977).

1.7.1. Spermatogenezde Apoptozisin Rolü

Spermatogenez sırasında, hücre gelişimi ve farklılaşmasına ek olarak germ hücre ölümü de görülür ve bu sperm oluşumunda önemli bir rol oynar. Apoptozis, spermatogenezde çoğunlukla spermatositler ve spermatogonyada hücre ölümüne yol açmaktadır. Germ hücrelerindeki bu ölüm spermatozoanın gelişimi için kesin gerekmektedir. Testiste sürekli olarak kendiliğinden apoptozis gerçekleştiği belirlenmiştir (Yılmaz, 2005).

Apoptozisin, spermatogenez sırasında bilinen iki görevi vardır; germ hücre sayısını Sertoli hücrelerinin destekleyebileceği sayıda tutmak ve oluşabilecek anormal spermatozoonları azaltmaktır (Sakkas ve ark., 2003). Fakat hasarlı apoptotik germ hücrelerinin uzaklaştırılmasında bir sorun oluşursa semen içerisinde anormal sperm sayısı yükselir ve bu da düşük fertilitateye sebep olur (Anzar ve ark., 2002). Spermatogenezde testiküler germ hücre apoptozisinin hormonal kontrol altında gerçekleştiği bildirilmiştir (Tapanainen ve ark., 1993; Yin ve ark., 1997). Gonadotropin ya da testosteron eksikliği dışında maturasyon arresti ve hipospermatogeneze neden olan tüm klinik durumlarda da apoptozis meydana gelebilir (Lin ve ark., 1999). Seminifer tübül epitelinin ısı, radyasyon, kemoterapi veya soğutma gibi faktörlere karşı olan hassaslığında germ hücrelerinin programlanmış hücre ölümlerini artıran diğer bir faktördür (Blanco-Rodriguez ve ark., 1998). Sonuçta, testiküler fizyolojiyi bozan ekzojen uyarıcıların varlığında fizyolojik olmayan düzeyde apoptozis gerçekleşir ve klinik olarak spermatogenezde

bozulma ve infertilite görülebilir (Cohen, 1993; Kerr ve ark., 1972; Korsmeyer, 1995).

1.8. Antioksidanlar

İnsan vücudunun serbest radikaller tarafından oluşturulabilecek oksidatif stresi yok etmek için en önemli silahı antioksidanlardır. İnsanda bulunan antioksidanlar vücut tarafından üretilir ya da dışarıdan takviye olarak alınır. Hem eksojen hemde endojen antioksidanlar serbest radikalleri süpürücü olarak etki gösterirler. Bu sebeple savunma sisteminin etkisini artırarak, hastalık riskini de azaltmış olurlar (Shinde ve ark., 2012). Antioksidanlar, hücre metabolizmasının toksik yan ürünü olan serbest radikalleri etkisiz hale getirerek, koruyuculuk sağlarlar (Sen ve ark., 2010). Reaktif oksijen türlerinin oluşumunu engellemek, bu maddenin oluşturduğu hasarı engellemek ve detoksifikasyonu sağlamak için vücutta görev yapan savunma sistemine “antioksidan savunma sistemleri” yada “antioksidanlar” denir (Şener ve Yeğen Berrak, 2009). Antioksidanlar, radikallerle hızlı bir şekilde reaksiyona girerek otooksidasyon/peroksidasyonun ilerlemesine engelleyen maddelerdir (Dündar ve Aslan, 1999). Antioksidanların etkileri arasında serbest radikallerin fazlasını etkisiz hale getirmek, serbest radikallerin toksik etkilerine karşı hücreleri korumak ve hastalıkları önlemede katkı sağlamak bulunur (Pham-Huy ve ark., 2008). Antioksidanlar, endojen ve eksojen olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır (Aydemir ve Karadağ, 2009; Sen ve Chakraborty, 2011). Endojen ve eksojen antioksidanlar, oksidan/antioksidan dengesini korumak için serbest radikallerden vücudu koruyarak, serbest radikalleri etkisiz hale getirmek için kullanılırlar (Sen ve Chakraborty, 2011). Antioksidanların oksidatif hasarlara karşı dokuları veya hücreleri koruyucu özellikleri göz önüne alındığında, yaşlanmaya, doku hasarlarına ve toksik ajanlar ile zehirlenmeye karşı koruyucu ajanlar olarak gösterilebilirler (Ito ve Hirose, 1989).

1.9. Panax Ginseng

Ginseng, Doğu Asya'da 2000 yılı aşkın bir süredir ilaç olarak kullanılmaktadır. Dünyada popüler bir bitkidir ve 35'ten fazla ülkede gıda, sağlık takviyesi ve doğal ilaç olarak kullanılmaktadır (Baeg ve So, 2013). Ginseng'in üreme, kardiyovasküler, endokrin ve bağışıklık sistemleri üzerinde geniş bir alanda farmakolojik etkileri olduğu gösterilmiştir. Bazı ülkelerde yorgunluğu azaltma, kan dolaşımını artırma, menopoz semptomlarına yardımcı olma, immün fonksiyonunu artırma ve konsantrasyonu artırma özelliği ispatlanmıştır (Park ve ark., 2012). Ginsenosidler, polisakaritler, peptitler, poliasetlenik alkoller ve yağ asitleri gibi bir çok ginseng bileşeni izole edilerek karakterize olmuştur (Kim ve ark., 2005; Kang ve Min, 2012). Çin'de P.G'in "her şeyi iyileştiren insan otu" olarak kabul edildiği bilinmektedir (Chan ve ark., 2011). Halk arasında kanserden korunmak içinde bitki yaygın olarak kullanılmaktadır (Bacanlı ve ark., 2012; Izzo ve ark., 2005).

Ginseng'in, fiziksel performansı arttırarak, stres ve yaşlanmaya karşı direnç oluşturan, dolayısıyla yaşam kalitesini arttıran adaptojen bir madde olduğu bilinmektedir (O'hara ve ark., 1998). Nonspesifik olarak vücudun direncini arttıran maddelere adaptojenik madde adı verilir (Barkhe ve Morgan, 1994). Adaptojenler vücuda zararı olmayan, fizyolojik bozukluklara yol açmayan çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerin yan etkilerine karşı nonspesifik dayanıklılığı arttırıcı etki gösterirler. Böylece kişinin fiziksel ve zihinsel kapasitesinin arttırılmasında önemli katkı sağlamaktadırlar (Courth, 1975). Ginseng'in özellikle stresli durumlar altında adrenal ve tiroid fonsiyonlarını onardığı düşünülmektedir (Siegel, 1979). P.G hiperglisemi, hiperlipidemi ve hepatosteatoz gibi metabolik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Huang ve ark., 2017). Ginseng'in etkileri kişinin sağlık durumuyla yakından ilgi göstermektedir (Barkhe ve Morgan, 2000). Ginseng'in etkilerinin bireysel farklılıklardan dolayı değişiklik gösterebileceği de belirtilmektedir. Bunun diyet, egzersiz, yaşam tarzı, bireyin kullandığı ilaçlarla ilgili olabileceği belirtilmiştir (Fulder, 1981). Liu ve Xiao (1992), ginsengin merkezi sinir sisteminin merkezlerini etkileyerek vücut metabolizması üzerinde düzenleyici etkilerinin olduğunu ve böylece mental ve fiziksel aktiviteleri kolaylaştırdığını

bildirmişlerdir (Liu ve ark 1992). İn vitro çalışmalar ve hayvan çalışmaları ginsengin bağışıklık sistemi ve endokrin fonsiyonlar üzerinde faydalı etkilerinin olmasına rağmen insanlar üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar sınırlı ve tartışmalıdır (O'hara ve ark., 1998).

Ginsengin bağışıklık sistemi üzerinde de etkili olduğu ve bu sistemi kuvvetlendirdiği belirtilmiştir (Shin ve ark., 2006). Sadece antibiyotik ve antibiyotikle karıştırılarak ginseng ile tedavi edilen ağır kronik bronşitli 75 hastanın ginseng grubunda daha hızlı iyileşme görüldüğü, ginsengin bağışıklık sistemini güçlendirdiği ve vücudun savunma direncini arttırdığı vurgulanmıştır (Scaglione ve ark., 2001). Brekhan ve Dardymoy, ginseng'in glikojen ve yüksek enerjili fosfat bileşiklerinin sentezini artırdığını belirterek, ginsengin bu fonksiyonlarının özellikle fiziksel stres şartlarında daha belirgin olduğunu vurgulamaktadırlar. Egzersiz sırasında ginsengin hipotalamus-hipofiz sistemi aracılığı ile adrenokortikotropik hormon dolayısıyla stres hormonu olan kortizol miktarını arttırdığı, adrenal medullada da adrenalin salgılamasını tetikleyerek fiziksel gücü arttırdığı kaydedilmektedir. Bunun yanı sıra Humphreys, ginsengin adaptojen olarak, maksimal oksijen tüketimine neden olan egzersiz stresi altındaki kişilerde daha belirgin olduğunu bildirmiştir (Humphreys, 2001).

Bu bulgular gözönüne alındığında çalışmamızda panax ginseng'in cisplatin kemoterapisi alan hastalarda meydana gelebilecek testiküler hasarı ne düzeyde azaltılabileceğini veya engelleyebileceğini ortaya koymak amaçlanmıştır. Bu çalışmada ginseng'in tedavi yönünden etkisi değil koruyucu bakımdan etkisi incelendiği için bu konularla ilgili çalışmalara farklı bir bakış açısı getirilecektir.

2.GEREÇ VE YÖNTEM

2.1. Etik Kurul

Çalışmamız kapsamında öncelikle Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulu'ndan (AKÜHADYЕК) 23.08.2017 tarihli, 268-17 referans numaralı etik kurul onayı alındı.

2.2. Kimyasallar

Cisplatin, (LRAB7778, Sigma)

Panax Ginseng, (Aksu Vital Doğal Ürünler Gıda SANAYİ ve TİC. A.Ş' nin %99,9 saflıktaki 2018040200019 lot numaralı toz ürünü)

Hydrogen Peroxide % 35, (Merck Millipore, Almanya)

Hydrophobic PAP PEN, (Japonya)

PBS, (Sigma, USA)

Hematoksilen, (Sigma, USA)

Eozin, (Thermo, USA)

TUNEL Kit(Millipore, Apop Tag Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit)

2.3. Deney Hayvanları

Çalışmamızda 35 adet erişkin, erkek Wistar-Albino türü rat (250-300 g) kullanılmıştır. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi laboratuvarında uygun kafesler içinde barındırılarak standart sıçan pelleti ve çeşme suyu ile serbestçe beslendi. Deney öncesi her hayvanın vücut ağırlıkları tek tek tartıldı ve kaydedildi.

Deneyde kullanılacak ratlar rastgele her grupta 7 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı. Bu gruplar ve deney boyunca uygulanan işlemler aşağıda verilmiştir.

Grup:1 Kontrol grubu; Bu gruba 4 hafta boyunca günde birkez ratların vücut ağırlıklarına göre hacmi hesaplanarak (kg başına 1 cc) belirlenen dozda serum fizyolojik (Panax ginseng'i çözmek için kullandığımız sıvı) oral yolla uygulandı.

Grup:2 P.G grubu; Bu gruba 4 hafta boyunca günde 1 kez 200 mg/kg PG oral yolla uygulandı. (Jung ve ark., 2015; Lee ve ark., 2007).

Grup:3 CP grubu; Bu gruba çalışmanın son gününde, CP(CDDP) tek doz (7 mg/kg) intraperitoneal (i.p) uygulandı. (Fallahzadeh ve ark., 2017; Ateşşahin ve ark.).

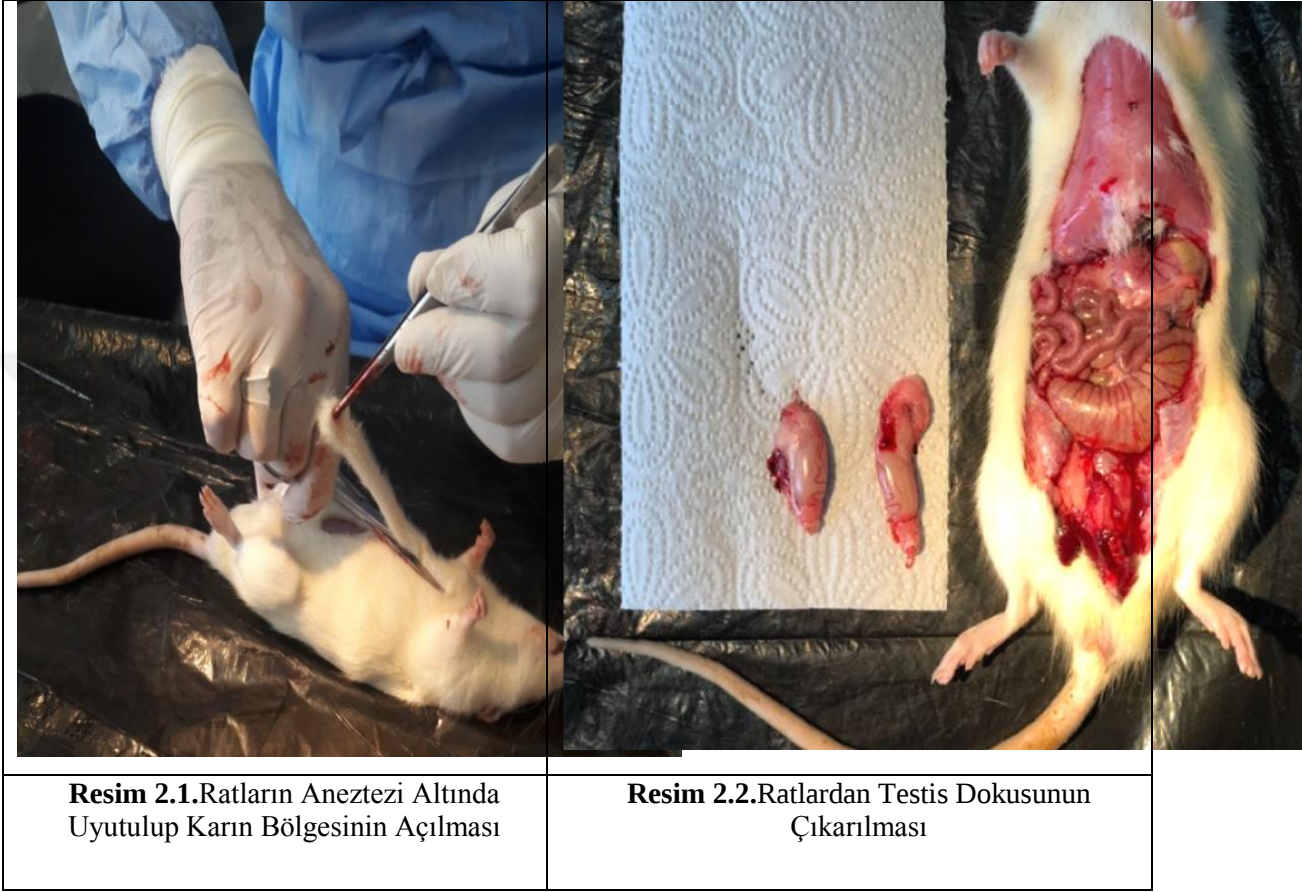
Grup:4 CP+P.G (doz1); Bu gruba 4 hafta boyunca günde 1 kez 200 mg/kg PG oral yolla, son gün CP (CDDP) tek doz(7mg/kg) intraperitoneal (i.p) uygulandı.

Grup:5 CP+P.G (doz 2); Bu gruba 4 hafta boyunca günde 1 kez 300 mg/kg PG oral yolla, son gün CP(CDDP) tek doz(7mg/kg) intraperitoneal (i.p) uygulandı.

Deney uygulaması tamamlandıktan sonra tüm hayvanlar 4. hafta sonunda tartıldı. Cerrahi işlemten 12 saat öncesinden itibaren aç bırakılan hayvanlar, 5 mg/kg Xylazine ve ketamin flakon 40 mg/kg intramuskuler (im) yoldan verilerek uyutuldu ve hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı (Resim 2.1, 2.2). Ayrıca sakrifikasyon öncesi ratların kalplerinden biyokimyasal değerlendirme için kan örnekleri alındı ve hayvanlar sakrifiye edildi. Sakrifiye edilen hayvanlardan arta kalan vücut parçaları Deney hayvanları Ünitesi kurallarına göre ortadan kaldırıldı.

Çevre dokularından temizlenen testislerin her biri hassas terazide tartıldı. Testis ağırlıkları her sıçan için sağ ve sol olmak üzere ayrı ayrı tartıldıktan sonra, testisler Bouin tespiline alındı (Russel ve ark., 1990; Şahintürk ve ark., 2007). (Resim 2.3, 2.4). Bu örneklerde sol testisler çalışmada kullanılırken sağ testisler ilerleyen dönemde gereksinim duyulabileceği düşünülerek arşive kaldırıldı. Çalışmada sadece sol testislerin kullanılma nedeni her ne kadar her iki testis histomorfolojik özellikleri

benzer olsa da řu an için bilinmedik olası farklılıkların ortaya konması durumunda çalışmamızın sonuçlarının uzun dönemdeki güvenilirliğini sağlamak ve çalışma materyallerini homojenize etmek içindi.



2.4. Histolojik Doku Takibi

Operasyon sonucu çıkarılan sol testislerin uzun eksenlerine dik olacak şekilde enjektör ucu ile testislerin kapsüllerine karşılıklı birkaç delik açıldı ve Bouin tespit solüsyonuna konuldu. Bu şekilde 2 gün fikse edilen testisler daha sonra transvers ekseninde önce ortadan iki eşit parçaya ve daha sonra bu parçalar da yeniden ikiye bölünerek kasetlendi ve otomatik doku takip cihazında (Leica TP1050) histolojik olarak takip edilerek parafin bloklara gömüldü. Bu bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Kesitler hematoksilin eozin boyama için normal lam üzerine, apoptotik hücreleri gözlemlemek amacıyla polilizinli lamalar üzerine alındı.



Resim 2.3 Ratlara Ait Sağ ve Sol Testis Ağırlıklarının Ölçülmesi



Resim 2.4. Testislerin Fiksatif İçerisine Alınması

2.5. Dokuların Boyanması

2.5.1. Histokimyasal Boyama

Bu amaçla normal lam üzerine alınan kesitler Hematoksilen Eozin boyama ile boyandı. Bu boyama için aşağıdaki işlemler uygulandı.

Deparafinizasyon

Dokular parafinden temizlenmeleri için bir gece 65 °C lik etüvde bekletildi.

2 saat Xylene solüsyonunda bekletilerek preparatlar temizlendi.

Rehidratasyon

Saf alkolde 1 dakika

%90 alkolde 1 dakika

%80 alkolde 1 dakika

%70 alkolde 1 dakika

Çeşme suyunda yıkama

Boyama

Hematoksilen 4 dakika

Akarsuda bolca yıkandı.
Eozin 1,5 dakika
Dehidratasyon
%70 alkolde yıkama
%80 alkolde yıkama
%90 alkolde yıkama
Saf alkolde yıkama
Xylene solüsyonunda bekletildi.
Entellan ile kapatıldı.

2.5.2. İmmunohistokimyasal Boyama

Seminifer tübüllerdeki apoptotik hücreleri tespit etmek amacıyla ticari TUNEL kiti alınarak boyama yapıldı. Boyamada firmanın tavsiye ettiği prosedür uygulandı.
Buna göre;

1. Örnekler deparafinize edildi ve 5 dk PBS'te yıkandı.
2. Örnekler taze hazırlanmış Proteinase K (20 µg / mL) ile 15 dakika muamele edildi.
3. Örnekler 2x 2 dk dH₂O'da yıkandı.
4. PBS içinde hazırlanmış % 3'lük hidrojen peroksit(H₂O₂) ile oda sıcaklığında 5 dakika süreyle endojen preoksidaz blokajı yapıldı.
5. Örnekler 2 x 5 dk. PBS ile yıkandı.
6. Ardından dengeleme tamponu uygulandı.
7. Kesitin etrafındaki fazla sıvı hafifçe çekildi
8. Örneğin üzerine 75 µL EQUILIBRATION BUFFER uygulandı.
9. Oda sıcaklığında en az 10 saniye inkübe edildi.
10. Kesitlerin üzerine 55 µL TdT ENZYME damlatıldı.
11. 37 ° C' de nemli bir etüv içerisinde 1 saat inkübe edildi.
12. Durdurma/ Yıkama Tamponu Uygulandı.15 saniye çalkalandı ve 10 dakika oda sıcaklığında inkübe edildi.
13. İstenen sayıda örneği işlemek için yeterli miktarda ANTI-DIGOXIGENIN CONJUGATE çıkarılıp, oda sıcaklığında ısıtıldı.

14. Anti-Digoksigenin Konjugatı uygulandı. Kesitler 3x1 dk PBS ile yıkandı.
15. Fazla sıvı hafifçe çekildi ve etrafı dikkatlice kurutuldu.
16. Herbir kesite 65 µL ANTI-DIGOXIGENIN CONJUGATE uygulandı.
17. Oda sıcaklığında 30 dakika nemli bir odada inkübe edildi.
18. 4 x 2 dk PBS ile yıkandı.
19. Kesitler yıkanırken PEROXIDASE SUBSTRATE hazırlandı.
20. Örnekleri tamamen kaplayacak kadar PEROXIDASE SUBSTRATE uygulandı (75 µL / 5 cm²).
21. Oda sıcaklığında 3 ila 6 dakika boyunca beklendi.
22. Optimum boyama süresini belirlemek için mikroskop altındaki slayta bakarak renk gelişimi izlendi.
23. 3x1 dk dH₂O su ile yıkandı.
24. Oda sıcaklığında 10 dakika boyunca metil yeşili ile zıt boyama yapıldı.
25. Saf alkolde 10 dip yapıldı ardından Xyleneden geçirilerek kapatma solüsyonuyla kapatıldı.

2.6. Görüntü Analizi

Boyamalar sonunda tüm kesitler ışık mikroskobu (Nikon Eclipse E600) altında değerlendirildi. Her bir hayvana ait kesitlerden Hematoksilen Eozin Boyaması yapılarak 50 farklı seminifer tübül çapı ölçümü yapıldı. Ölçümler yapılırken Nikon NIS Elements. 4.2 Görüntü Analiz programı kullanıldı. Ayrıca yine her kesitten 25 farklı tübül seçilerek Johnsen skorlaması uygulandı. Daha sonra elde edilen bu veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Görüntü Analizi sırasında kesitlerdeki testiküler yarananma ve spermatogenezis, Johnsen'in ortalama testiküler biyopsi skoru (MTBS) kriterleri kullanılarak histopatolojik olarak değerlendirildi (S.G., Johnsen, 1970). Johnson skorlaması spermatogenetik sürecin değerlendirilmesinde kullanılan güvenilirliği yüksek bir skorlamadır. Bu skorlamaya göre;

- 10: Tübüller mükemmel ve tam spermatogenez.
- 9: Çok sayıda spermatozoa var, düzensiz spermatogenez.
- 8: Sadece birkaç sperm var.
- 7: Spermatozoa yok, fakat birçok spermatid var.
- 6: Sadece birkaç spermatid.
- 5: Spermatozoa veya spermatid yok, ancak birçok spermatosit var.
- 4: Sadece birkaç spermatosit mevcut.
- 3: Sadece spermatogonia mevcut.
- 2: Hiç germ hücresi yok.
- 1: Ne germ hücreleri nede sertoli hücreleri yok.

Diğer yandan TUNEL metodu ile boyanan preparatlar yine ışık mikroskobu altında incelendi. Her bir rata ait testis dokularına tunel boyaması yapılarak her bir preperat için 20 farklı seminifer tübül içerisinde tunel pozitif boyanan spermatogenik seri hücreleri sayıldı. Koyu kahverengi boyanan hücreler pozitif olarak kabul edildi.

2.7. Biyokimyasal Yöntemler

2.7.1. Total ve Serbest Testosteron Ölçümü

Deneyin sonunda ratlardan alınan kan örnekleri santrifüj edilerek serumun ayrılması sağlandı. Serumda total testesteron düzeyleri, Afyon Sağlık Bilimleri Üniversitesi Hastanesi Biyokimya laboratuvarında kemiluminesans yöntemi ile serbest testesteron düzeyleri ise, DiaMetra marka kit ile ELİSA yöntemi ile ölçüldü.

2.7.2. TAS-TOS Ölçümü

Toplam antioksidan seviye (TAS) serumdaki antioksidan durumunun tüm aktivitesini gösterir (Lebel ve Bondy., 1991). Biz de çalışmamızda Cisplatin'in yarattığı oksidan etkiye karşı Panax'ın antioksidan özelliğinden faydalandığımız için TAS, TOS ve OSİ ölçümlerinin yapılmasını uygun bulduk. Ratlardan alınan kan örnekleri serumlarına ayrılıp, biont'un (YLA1389RA) katalog nolu ürünü ile TAS ölçümü ve

yine biont marka (YLA1392RA) katalog nolu ürünü ile TOS ölçümleri Erel'in geliştirdiği metoda göre gerçekleştirilmiştir.

TAS ve TOS ölçümleri yapıldıktan sonra, oksidan ve antioksidan dengeye ilişkin daha net yorum yapılmasına olanak veren oksidatif stres indeksi (OSI) kit (rel assay diagnostics) kataloğunda belirtilen aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır.

$$OSI = [(TOS, \mu\text{mol/L}) / (TAS, (\text{mmolTroloxEquiv/L}) \times 100]$$

2.8. İstatistiksel Analiz

Tüm veriler SPSS for Windows 21.0 ticari istatistik analiz yazılımı ile analiz edildi. Tüm verilerin değerlendirilmesinde verilerin normal dağılıma sahip olup olmadığının belirlenmesi için Kolmogorov-smirnov testi uygulandı. Normal dağılım tespit edilmediği için gruplar arası farklılığın belirlenmesinde Kruskal Wallis testi, Kruskal Wallis testi sonucunda farklılığı yaratan grup ya da grupların belirlenmesinde ise çoklu karşılaştırma testlerinden Dunn testi kullanıldı. Grupların kendi içinde deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarının karşılaştırılmasında Wilcoxon testi kullanıldı. P <0,05 değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

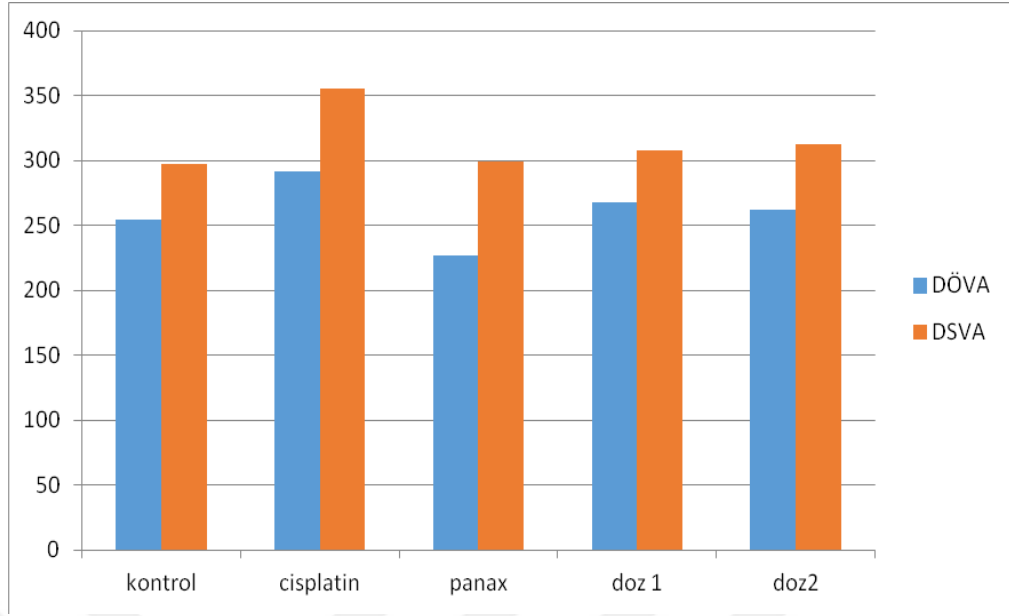
3.BULGULAR

3.1. Vücut ve Testis Ağırlığı Ölçümleri

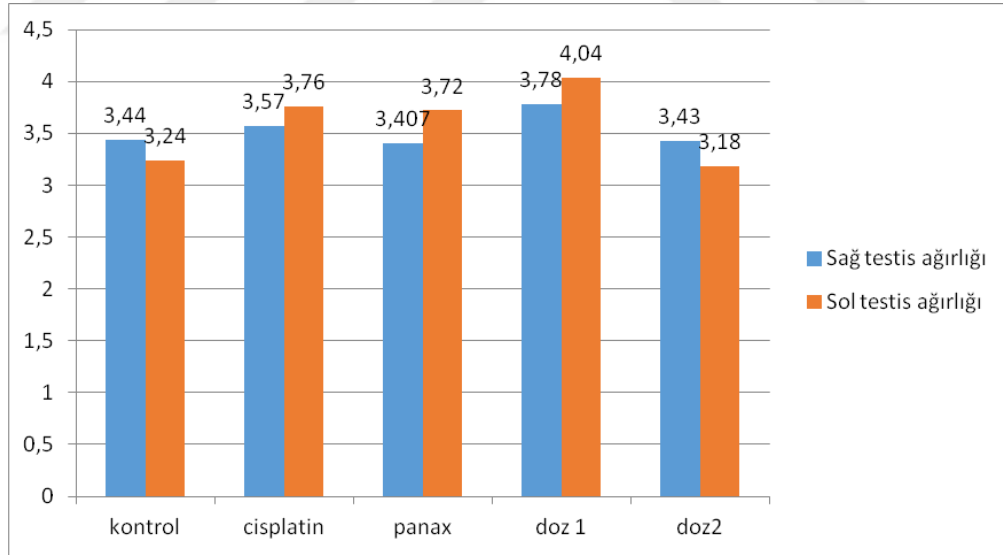
Gruplara ait vücut ve testis ağırlık ölçümleri tabloda gösterilmiştir (Tablo 3.1.). En yüksek vücut ağırlığının CP grubunda olduğu gözlemlendi. Bununla beraber hiçbir grup arasında hem vücut ağırlığı hem de testis ağırlıkları bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık olmadığı tespit edildi ($p>0,05$). Grup içi deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında; istatistiksel olarak kontrol grubunda anlamlı fark olmadığı ($p=0,128$), CP ve panax grubunda anlamlı artışlar olduğu (sırasıyla $p=0,018$, $p=0,028$), doz 1 grubunda anlamlı değişim olmadığı ($p=0,176$), doz 2 grubunda ise anlamlı bir artış olduğu ($p=0,018$) saptandı.

Tablo 3.1. Grupların Deney Öncesi Vücut Ağırlığı (DÖVA), Deney Sonrası Vücut Ağırlığı (DSVA), Sağ Testis Ağırlığı, Sol Testis Ağırlığı Değerleri (Değerler ortalama±standart sapma (median) değeri şeklinde verilmiştir. n: Gruplardaki toplam hayvan sayısı. Her satırda aynı harflere sahip gruplar arasındaki fark anlamlıdır).

GRUPLAR					
	Kontrol (n=7)	CP (n=7)	Panax (n=7)	Doz 1 (n=7)	Doz 2 (n=7)
DÖVA (g)	254,85±30,44(268,00)	291,57±38,50 (302,00) ^a	227,14±37,72 (210,00) ^a	267,85±37,53 (282,00)	262,0±45,28(269,00) ^a
DSVA (g)	297,0±51,07 (329,00)	355,0±37,59 (362,00) ^b	299,57±39,77 (293,00) ^b	307,71±40,79 (324,00)	312,85±51,07(316,00) ^b
Sağ Testis Ağırlığı (g)	3,44±0,56 (3,50)	3,57±0,47 (3,37)	3,407±0,14 (3,42)	3,78±0,46 (3,91)	3,43±0,79 (3,15)
Sol Testis Ağırlığı (g)	3,24±0,61 (3,30)	3,76±0,35 (3,83)	3,72±0,70 (3,52)	4,04±0,61 (4,30)	3,18±0,58 (3,12)



Şekil 3.1 Grupların Deney Öncesi ve Deney Sonrası Vücut Ağırlık Ortalamaları (Değerler gram olarak verilmiştir).



Şekil 3.2 Grupların Sağ Testis ve Sol Testis Ağırlık Ortalamaları (Değerler gram olarak verilmiştir).

3.2. Johnsen Skorlama Sonuçları

Testiküler yaralanma ve spermatogenezis, Johnsen'in ortalama testiküler biyopsi skoru (MTBS) kriterleri kullanılarak histopatolojik olarak değerlendirildi (S.G., Johnsen, 1970). Her gruba ait ratlardan elde edilen kesitlerden her preparat için 25 farklı tübül Johnsen skorlamasına dahil edildi.

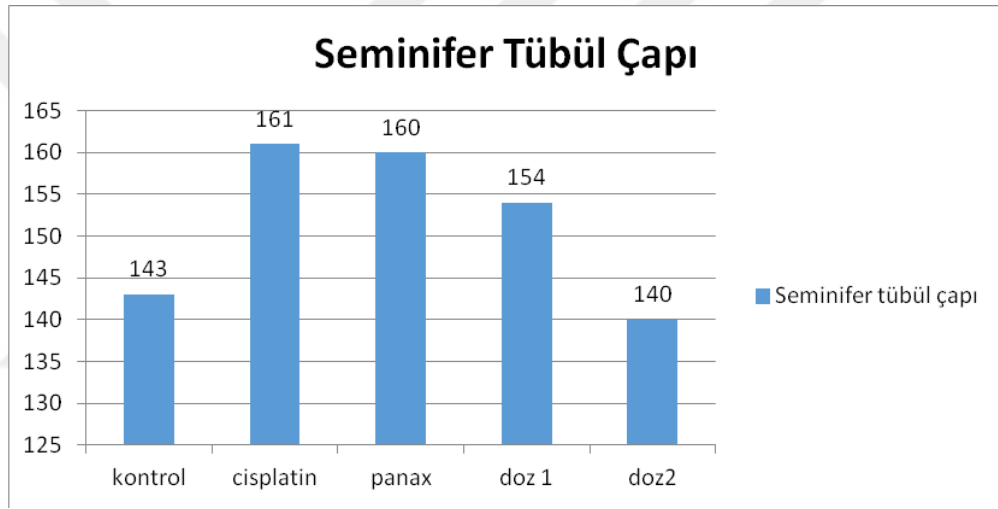
Yapılan analiz sonucu kontrol grubunun çoğunda skor sonucu 10 olarak tespit edildi. CP grubunda skor ortalama 7 olarak tespit edildi ve spermatozoa olmadığı fakat spermatid bulunduğu gözlemlendi. CP grubunun Johnsen skorunun diğer tüm gruplardan (kontrol, panax, doz 1 ve doz 2) istatistiksel olarak anlamlı düşüklük gösterdiği tespit edildi ($p<0,05$). Panax grubu skorlaması, diğer tüm gruplardan yüksek olarak değerlendirildi (Tablo 3.2.) ve bu değer diğer tüm gruplardan anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Doz 1 ve doz 2 gruplarında kontrol grubuna yakın skorlamalar tespit edildi. Kontrol, doz 1 ve doz 2 grupları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0,05$). (Tablo 3.3, Resim 3.1, 3.2.).

3.3. Seminifer Tübül Çapı Sonuçları

Her gruptan elde edilen kesitlerden preparat başına 50 farklı seminifer tübül çapı ölçüldü. Gruplara ait ortalama ve standart sapmalar tabloda verilmiştir (Tablo 3.2.). CP grubunun seminifer tübül çaplarında artış olduğu ve bu artışın diğer tüm gruplarla karşılaştırıldığında anlamlı olduğu tespit edildi. ($p<0,05$). Panax grubundaki seminifer tübül çapları da artmış olup diğer tüm gruplardan anlamlı bir farklılık olduğu tespit edildi ($p<0,05$). (Tablo 3.3). Doz 1 grubunun seminifer tübül çapının kontrol ve doz 2 gruplarına göre anlamlı olarak geniş olduğu tespit edildi. ($p<0,05$). Kontrol grubu ve doz 2 arasında anlamlı bir farklılık bulunamadı. ($p>0,05$). (Resim 3.1, 3.2.).

Tablo 3.2 Grupların Johnsen Skoru ve Seminifer Tübül Çapı Değerleri (Değerler ortalama±standart sapma (median) değeri şeklinde verilmiştir. n: Gruplardaki toplam hayvan sayısı. Her satırda aynı harflere sahip gruplar arasındaki fark anlamlıdır).

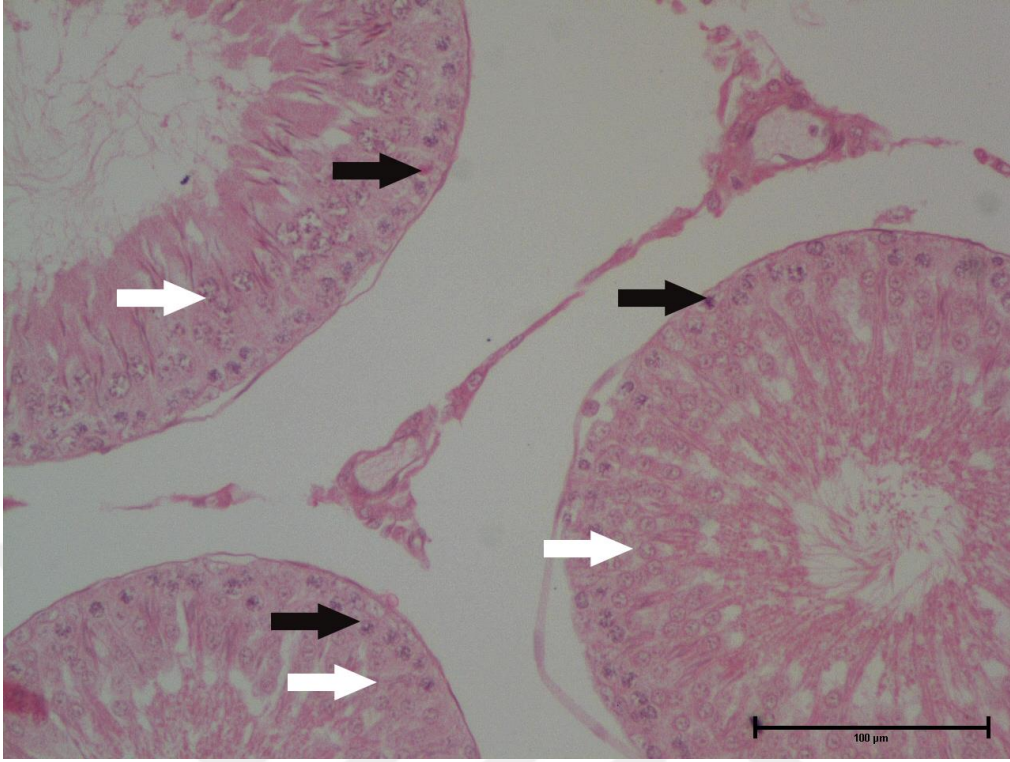
GRUPLAR					
	Kontrol (n=7)	CP (n=7)	Panax (n=7)	Doz 1 (n=7)	Doz 2 (n=7)
Johnsen Skoru	9,58±0,49 (10,00) ^{a,b}	7,14±0,98 (7,00) ^a	9,98±0,130 (10,00) ^{b,c,d}	9,66±0,64 (10,00) ^c	9,59±0,802 (10,00) ^d
Seminifer tübül çapı (µm)	143,15±30,10 (137,04) ^{a,b,c}	161,81±26,69 (160,67) ^{a,d,e,f}	160,31±32,19 (152,05) ^{b,d,h,i}	154,49±29,73 (149,31) ^{c,e,g,h}	140,11±19,5 (137,36) ^{f,g,i}



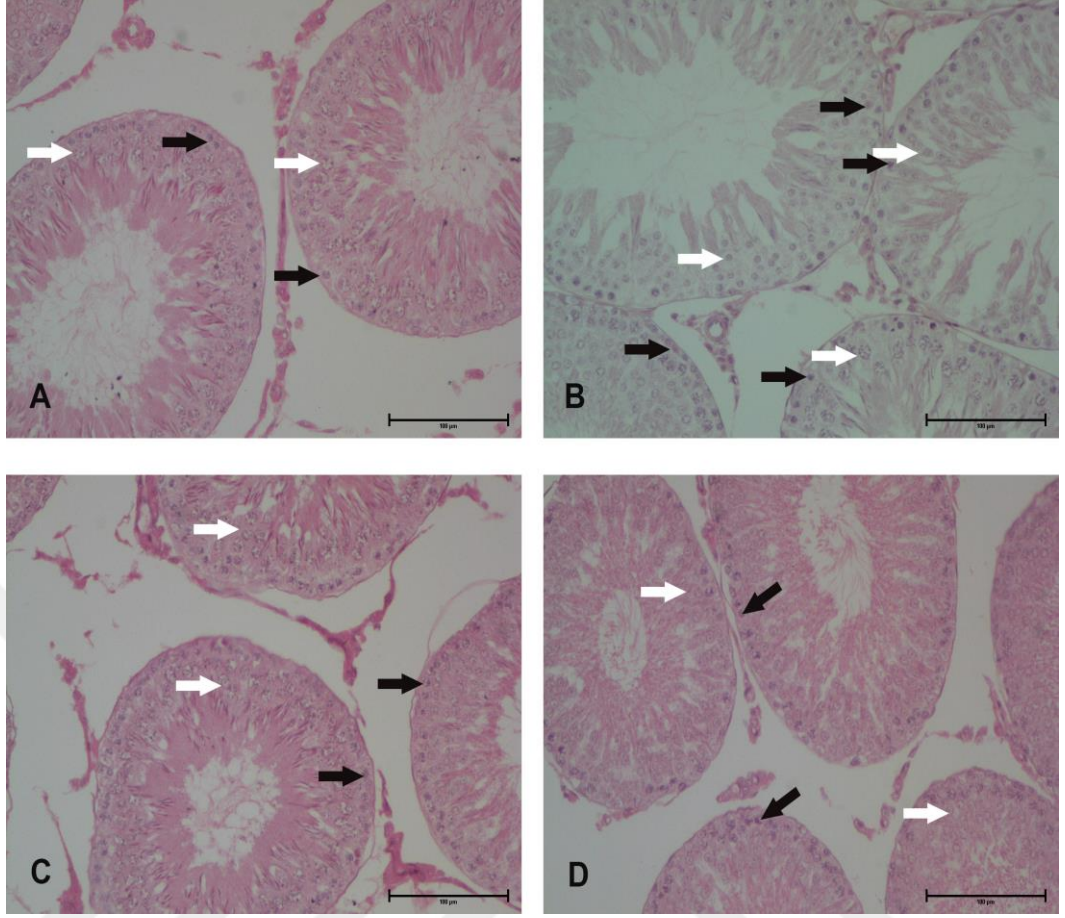
Şekil 3.3. Grupların Seminifer Tübül Çap Ortalamaları (Değerler mikrometre olarak verilmiştir).

Tablo 3.3. Gruplararası Karşılaştırmalar Sonucu Elde Edilen Johnson Skoru, STÇ p Değerleri.(p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş olup, anlamlı fark çıkanlar * işareti ile gösterilmiştir).

	Kontr ol CP	Kontr ol Panax	Kontr ol Doz1	Kontr ol Doz2	CP- Panax	CP- Doz1	CP Doz2	Doz 1- Doz 2	Doz 1- Panax	Doz 2- Panax
Johnsen Skoru	0,00 *	0,00 *	-	-	0,00 *	0,00 *	0,00 *	-	0,00 *	0,00 *
STÇ	0,00*	0,00*	0,00*	-	0,044 *	0,00*	0,00*	0,00*	0,033 *	0,00*



Resim 3.1 Kontrol Grubuna Ait Testis Dokusu.X200,H-E.(Siyah oklar spermatogonyum, beyaz oklar primer spermatositleri göstermektedir).



Resim 3.2 Gruplardan Alınan Testis Dokularının Histolojik Görüntüsü, X200,H-E.

A:Panax grubu, **B:**CP grubu, **C:** Doz 1 grubu, **D:**Doz 2 grubu. (Siyah oklar spermatogonyum, beyaz oklar primer spermatositleri göstermektedir).

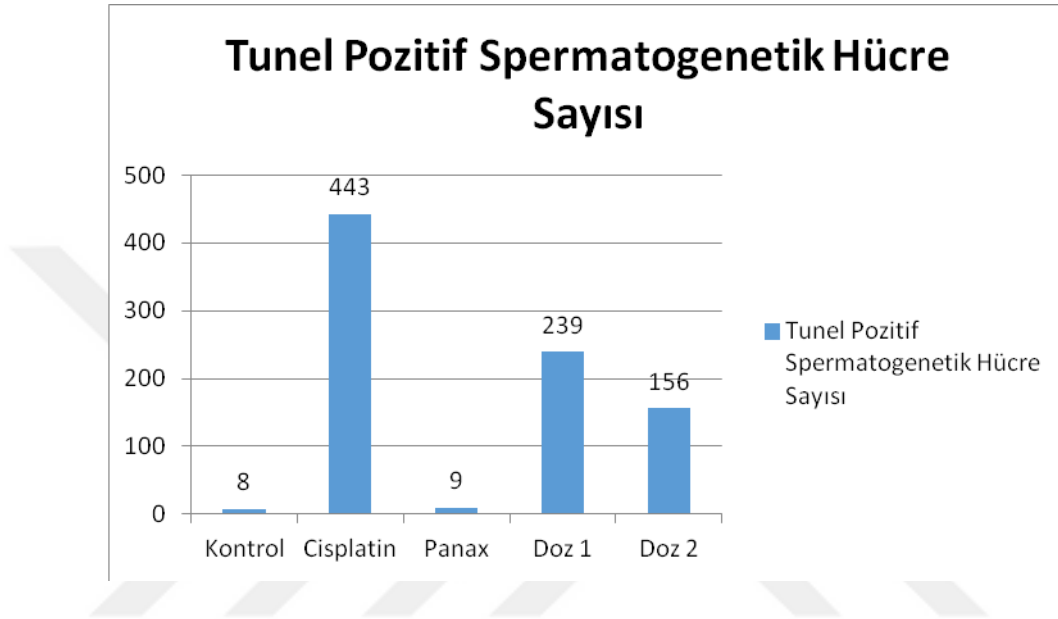
3.4. Apoptotik Hücre Ölümü Boyama Sonuçları

Bu amaçla TUNEL metoduyla apoptotik hücre ölümünü gösteren ticari kit kullanıldı.

3.4.1. Spermatogenetik Hücre Sayımı

Kontrol grubunda boyanan hücre sayısı çok az olarak tespit edildi. Panax grubunda da kontrol grubuna benzer şekilde çok az boyanmış hücre görüldü. Kontrol ve Panax grubu arasında tunel pozitifliği açısından anlamlı bir farklılık yoktu ($p>0,05$).CP

verilen grupta yoğun boyanma olduğu tespit edildi. Boyanma genel olarak spermatogonyumlarda belirgin olarak tespit edildi. Nadiren de olsa spermatosit, spermatid ve spermelerde de pozitifliklere rastlandı. CP grubunda hem kontrol hem de panax grubu arasında tunel pozitif hücreler açısından anlamlı bir artış tespit edildi ($p<0,05$).

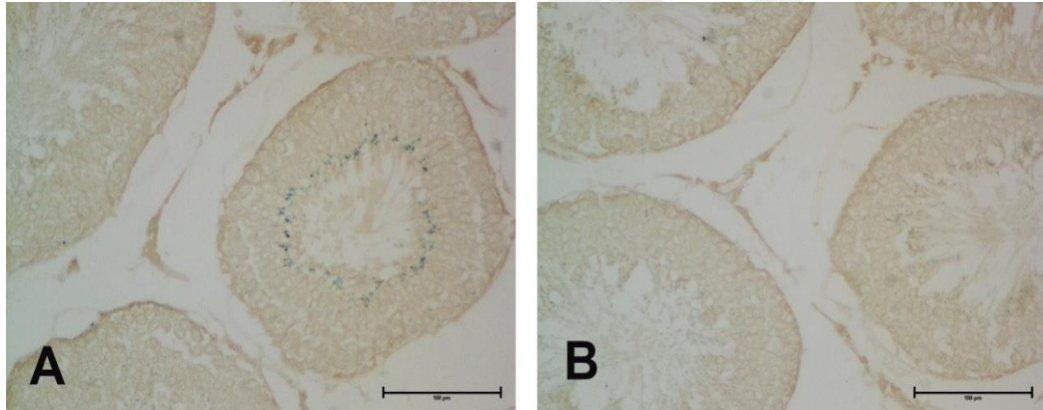


Şekil 3.4 Gruplararası TUNEL Pozitif Spermatogenetik Seri Hücre Sayıları.

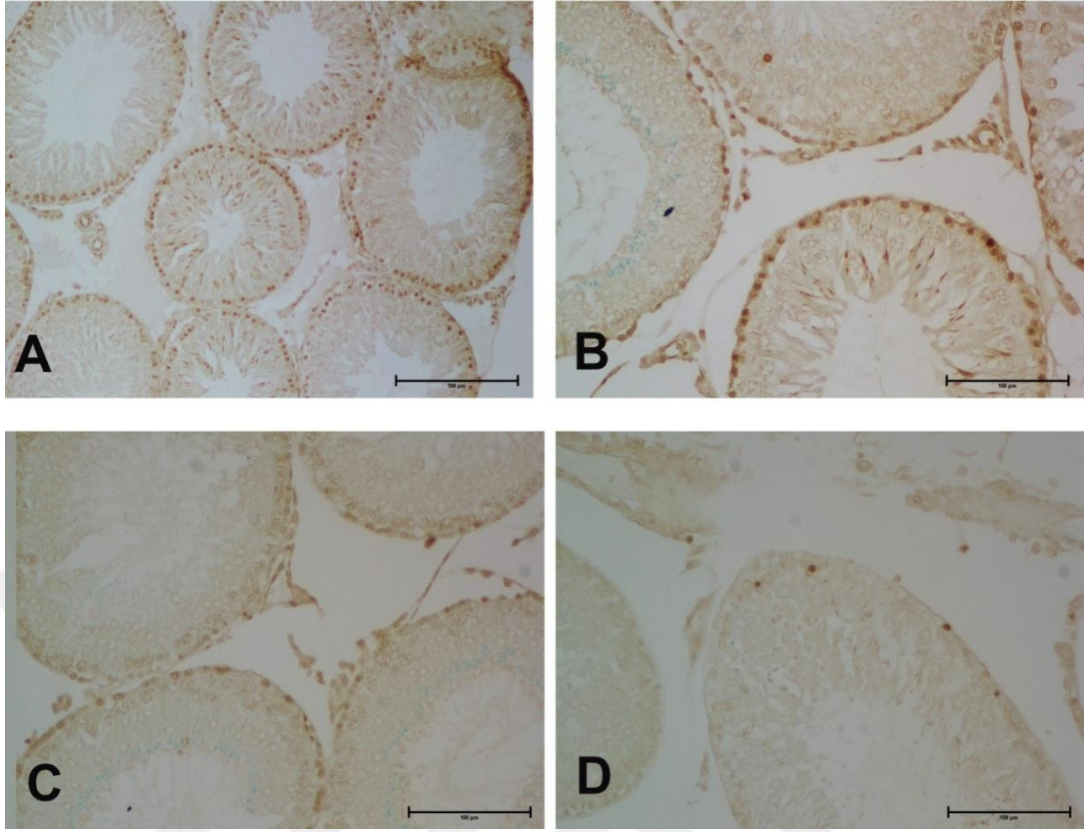
Doz1 ve doz 2 gruplarında pozitif boyanan hücre sayısında CP grubuna göre bir azalma olduğu tespit edildi. Bu azalma doz 1 ve CP grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı değil iken ($p>0,05$), doz 2 ve CP grubu arasında anlamlı olarak tespit edildi ($p<0,05$). Bununla beraber doz 1 ve doz 2 grupları arasında anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$). Hem Doz 1 hemde doz 2 grupları kontrol grubuna göre anlamlı bir artış sergilerken ($p<0,05$), doz 1 grubundaki artış panax grubuna göre anlamlı ($p<0,05$), doz 2 grubundaki artış anlamlı değildir ($p>0,05$). (Resim 3.3, 3.4.).

Tablo 3.4 TUNEL pozitif Spermatogenik Seri Hücrelerinin İkili Karşılaştırma Sonuçları.

GRUPLAR	p Değeri
Kontrol-doz1	,001
Kontrol-cis	,000
Panax-doz 1	,002
Panax-cis	,000



Resim 3.3 A: Kontrol, **B:** Panax Gruplarının Tunel Boyamaları, X200.



Resim 3.4 Gruplardan Alınan Testis Dokularının Tunel Boyamaları. **A:** CP x100, **B:** CP x200, **C:** Doz 1 x200, **D:** Doz2 x200 (Koyu kahverengi boyanan hücreler pozitif kabul edilmiştir).

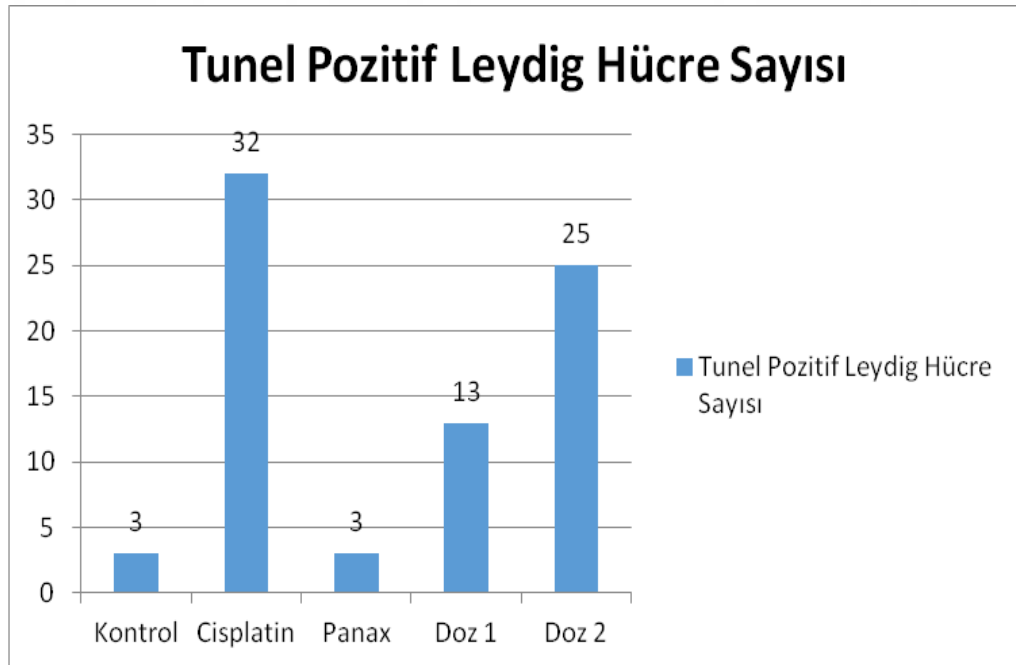
3.4.2. Leydig Hücre Sayımı

Tunel boyaması sonucunda her preparattan 10 farklı alanda tunel pozitif boyanmış olan leydig hücreleri sayıldı. Kontrol ve panax grubunda az sayıda leydig hücresinin apoptozise gittiği tespit edildi. CP grubunda apoptozise giden hücre sayısının oldukça arttığı görüldü. Kontrol ve panax grupları arasında anlamlı bir fark tespit edilemezken ($p>0,05$), CP grubunda tunel pozitif leydig hücre sayısının bu iki gruba göre anlamlı bir artış gösterdiği tespit edildi ($p<0,05$). Doz 1 grubunda apoptozise giden leydig hücre sayısının azaldığı ve bu azalmanın CP grubuna göre anlamlı olduğu tespit edildi. ($p<0,05$). Yine doz 1 grubunun, kontrol grubu ile arasında anlamlı bir fark oluşmadığı ($p>0,05$) fakat panax grubuna oranla anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi ($p<0,05$). Doz 2 grubunda tunel pozitif boyanan leydig hücre sayısı CP

grubuna göre azalmış olsada bu azalmanın anlamlı bir fark oluşturmadığı gözlemlendi ($p>0,05$). Doz 2 de bulunan pozitif boyanmış leydig hücre sayısı panax ve kontrol gruplarından anlamlı bir artış gösterdiği tespit edildi ($p<0,05$). Fakat doz 2 grubu ile doz 1 grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p>0,05$).

Tablo 3.5 Grupların Spermatogenetik Seri Hücreleri, Leydig Hücreleri Değerleri (Değerler ortalama±standart sapma (median) değeri şeklinde verilmiştir. n: Gruplardaki toplam hayvan sayısı. Her satırda aynı harflere sahip gruplar arasındaki fark anlamlıdır).

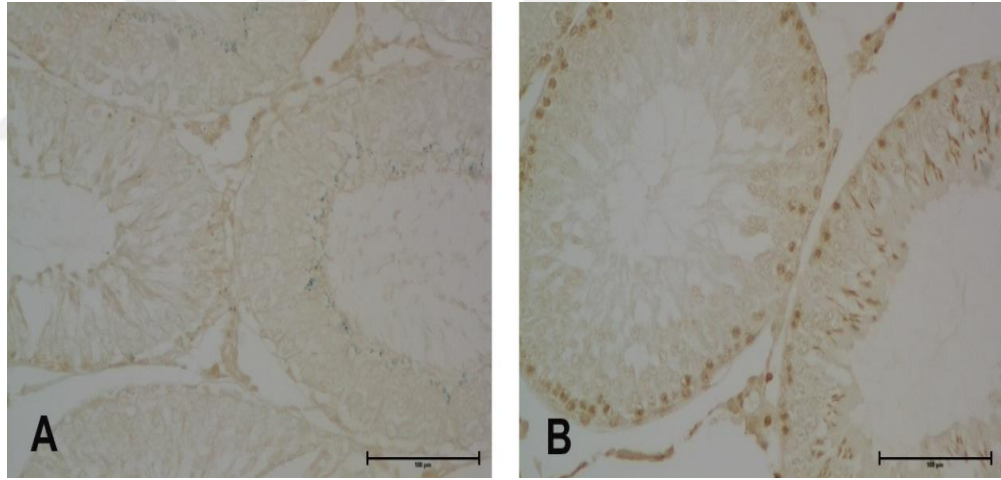
Tunel Pozitif Hücre Sayısı	Kontrol (n=7)	CP (n=7)	Panax (n=7)	Doz1 (n=7)	Doz2 (n=7)
Spermatogenik Seri Hücreleri	8,71±2,49 (8) ^{a,b}	462,85±59,4 (443) ^{b,d}	8,42±1,13 (9) ^{c,d}	238,71±42,44 (239) ^{a,c}	159±20,73 (156)
Leydig Hücreleri	3,42±0,53 (3) ^{c,d}	32,57±3,64 (32) ^{b,d}	3,28±0,48 (3) ^{a,b}	12,85±2,67 (13)	24,28±2,28 (25) ^{a,c}



Şekil 3.5 Grupların TUNEL Pozitif Leydig Hücre Sayıları.

Tablo 3.6. TUNEL Pozitif Leydig Hücrelerinin İkili Karşılaştırma Sonuçları.

GRUPLAR	p Değeri
Panax-doz 2	,001
Panax-cis	,000
Kontrol-doz 2	,002
Kontrol-cis	,000



Resim 3.5 Gruplara Ait Leydig Hücre Boyamaları. **A:**Kontrol Grubu, **B:**CP Grubu.X200.

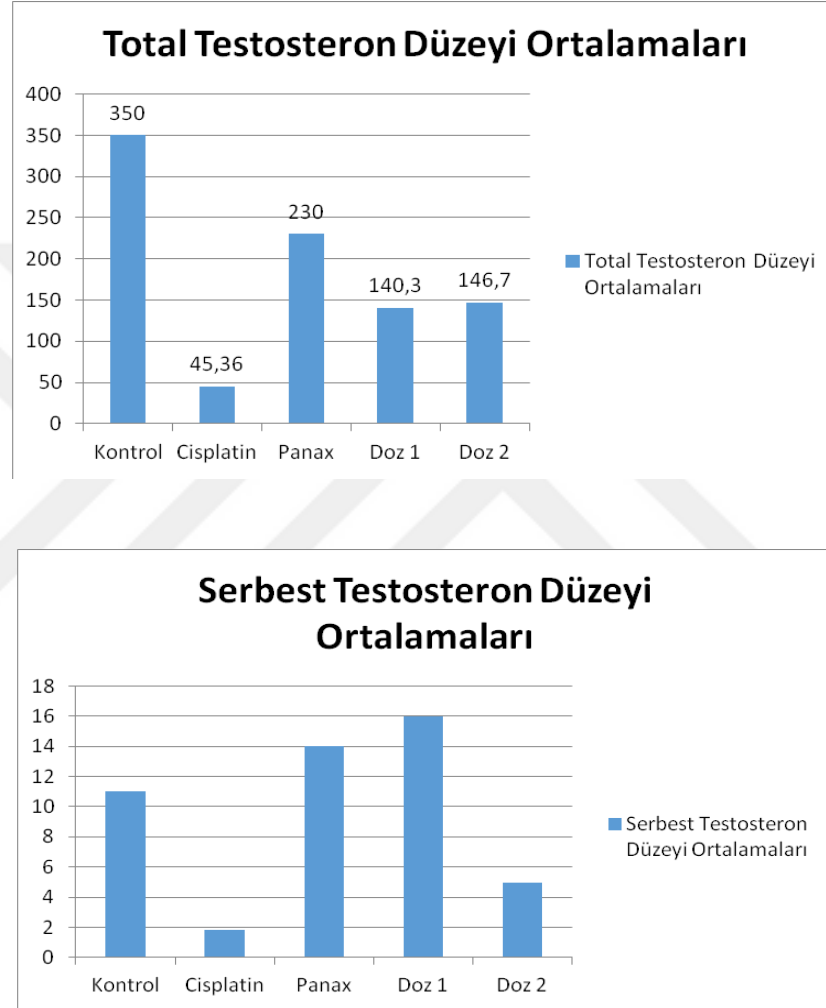
3.5. Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Testosteron Ölçümleri

Ratlardan alınan kanların serumu ayrılarak total ve serbest testosteron ölçümleri yapıldı. Sonuç olarak total testosteron seviyesi, CP grubunda kontrol ve panax

grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi. Doz 2 grubunda da kontrol grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 3.7) (Şekil 3.6).

Serbest testosteron seviyelerinin CP ve doz 2 gruplarında kontrol ve panax gruplarına göre anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 3.7) (Şekil 3.6). Grupların ortalama ve standart sapmaları tabloda verilmiştir (Tablo 3.7).



Şekil 3.6 Grupların Serbest Testosteron ve Total Testosteron Düzeyi Ortalamaları.

Tablo 3.7 Grupların Total Testosteron, Serbest Testosteron Değerleri (Değerler ortalama±standart sapma (median) değeri şeklinde verilmiştir. n: Gruplardaki toplam hayvan sayısı. Her satırda aynı harflere sahip gruplar arasındaki fark anlamlıdır).

GRUPLAR					
	Kontrol (n=7)	CP (n=7)	Panax (n=7)	Doz 1 (n=7)	Doz 2 (n=7)
T.testosteron	334,95±41,4 (350,00) ^{a,b,c}	37,14±24,88 (45,36) ^{a,d}	355,39±200, 48(230,09) ^d	286,76±414, 91(140,30) ^b	169,36±113, 8 (146,70) ^c
S.testosteron	11,66±1,94 (12,45) ^{a,b}	1,82±2,33 (0,74) ^{a,c}	14,38±9,65 (9,61) ^{c,d}	16,54±33,21 (3,92)	4,93±4,74 (3,16) ^{b,d}

Tablo 3.7 Gruplararası Karşılaştırmalar Sonucu Elde Edilen Total Testosteron ve Serbest Testosteron p Değerleri (p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş olup anlamlı fark çıkanlar * işareti ile gösterilmiştir.)

	Kontr ol- CP	Kontr ol- Panax	Kontr ol- Doz1	Kontr ol- Doz2	CP- Panax	CP- Doz1	CP- Doz2	Doz1- Doz 2	Doz1- Pana x	Doz2- Pana x
T. Testost eron	0,00*	-	0,05*	0,047*	0,00*	-	-	-	-	-
S. Testost eron	0,001*	-	-	0,032*	0,001*	-	-	-	-	0,042 *

3.5.2.TAS-TOS Ölçümleri

Ratlardan alınan kan serumundan elisa yöntemiyle TAS ve TOS ölçümleri yapıldı ve OSİ hesaplandı. TAS seviyesinin en yüksek CP grubunda olduğu ve bu grubun TAS seviyesinin kontrol, panax, doz 2 gruplarından anlamlı olarak yüksek olduğu, Panax ve Doz 1 gruplarında kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu tespit edildi (p<0,05) (Tablo 3.9)

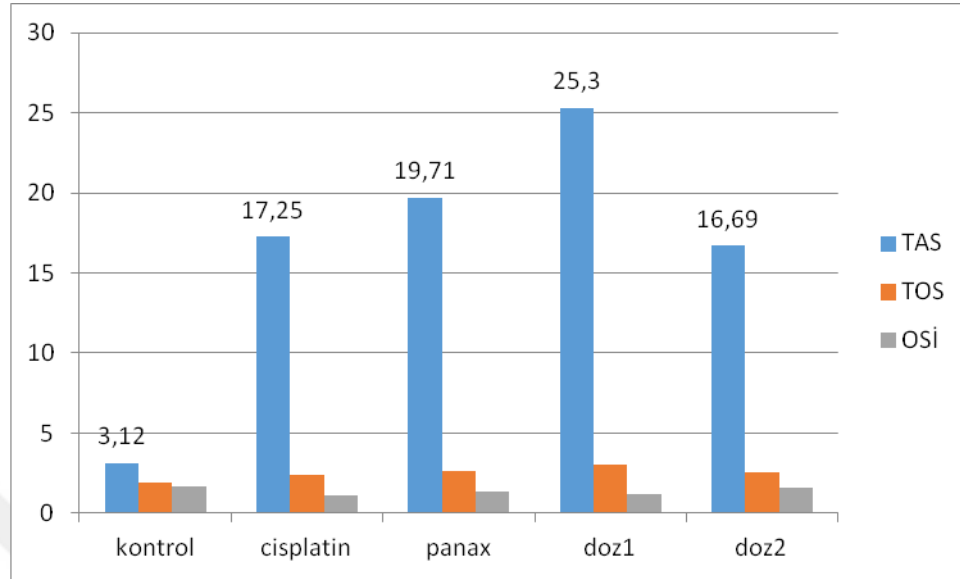
Kontrol grubunun en düşük TOS seviyesine sahip olduğu tespit edildi. CP ve panax grubunun TOS seviyelerinin kontrol grubuna göre yüksek olduğu fakat

istatistiksel olarak anlamlı olmadığı tespit edildi ($p>0,05$) (Tablo 3.9). Doz 1 grubunda ise kontrol grubuna göre anlamlı bir artış olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Diğer gruplar arasında anlamlı bir farklılık tespit edilemedi ($p>0,05$).

CP grubunun OSİ değerinin; kontrol, panax ve doz 2 gruplarının değerlerinden anlamlı olarak düşük olduğu, doz 1 değerinin de kontrol grubunun değerinden anlamlı olarak düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$) (Tablo 3.9).

Tablo 3.8 Grupların TAS, TOS, OSİ Değerleri (Değerler ortalama±standart sapma (median) değeri şeklinde verilmiştir. n: Gruplardaki toplam hayvan sayısı. Her satırda aynı harflere sahip gruplar arasındaki fark anlamlıdır).

Gruplar					
	Kontrol (n=7)	CP (n=7)	Panax (n=7)	Doz 1 (n=7)	Doz 2 (n=7)
TAS	13,17±2,27 (13,12) ^{a,b,c}	27,70±4,72 (17,25) ^{a,d,e}	19,71±2,59 (19,71) ^{b,d}	23,99±8,95 (25,30) ^c	17,89±3,23 (16,69) ^e
TOS	2,02±0,507 (1,94) ^a	2,82±0,786 (2,35)	2,65±0,288 (2,65)	3,16±0,507 (2,99) ^a	2,62±0,449 (2,52)
OSİ	1,53±0,296 (1,68) ^{a,b}	1,02±0,219 (1,13) ^{a,c,d}	1,35±0,204 (1,33) ^c	1,03±0,529 (1,17) ^b	1,50±0,282 (1,58) ^d



Şekil 3.7 Grupların TAS, TOS ve OSİ Değerlerinin Ortalamaları.

Tablo 3.9. Gruplararası Karşılaştırmalar Sonucu Elde Edilen TAS, TOS ve OSİ p Değerleri (p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiş olup anlamlı fark çıkanlar * işareti ile gösterilmiştir.)

	Kont rol CP	Kont rol- Pana x	Kont rol- Doz1	Kont rol- Doz2	CP- Pana x	CP- Doz1	CP- Doz2	Doz 1- Doz 2	Doz 1- Pana x	Doz 2- Pana x
TAS	0,00*	0,047*	0,001*	-	0,027*	-	0,006*	-	-	-
TOS	-	-	0,001*	-	-	-	-	-	-	-
OSİ	0,002*	-	0,031*	-	0,043*	-	0,009*	-	-	-

4.TARTIŞMA

İnfertilite genetik, ailevi, hormonal nedenler, doğumsal anormallikler, çevresel ve kimyasal nedenlerle günümüzde artmakta olan önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir. Bu hastalıkla ilgili medikal tedaviler yanında alternatif tıp ile koruyucu veya tedavi edici etkileri konusunda değişik araştırmalar mevcuttur. Ginseng, Doğu Asya'da 2000 yılı aşkın bir süredir ilaç olarak kullanılmaktadır. Dünyada popüler bir bitkidir ve 35'ten fazla ülkede gıda, sağlık takviyesi ve doğal ilaç olarak kullanılmaktadır (Baeg ve So, 2013). Ginseng'in üreme, kardiyovasküler, endokrin ve bağışıklık sistemleri üzerinde geniş bir alanda farmakolojik etkileri olduğu gösterilmiştir. Bazı ülkelerde yorgunluğu azaltma, kan dolaşımını artırma, menopoz semptomlarına yardımcı olma, immün fonksiyonunu artırma ve konsantrasyonu artırma özelliği ispatlanmıştır (Park ve ark., 2012). Ginsenosidler, polisakkaritler, peptitler, poliasetlenik alkoller ve yağ asitleri gibi bir çok ginseng bileşeni izole edilerek karakterize olmuştur (Kim ve ark., 2005; Kang ve Min, 2012). P. ginseng'in cinsel fonksiyon üzerinde güçlü etkileri olduğu bilinmekte ve erektil disfonksiyonu (Choi ve ark.,1995), senil testiküler fonksiyon bozukluğunu (Kopalli ve ark.,2015; Hwang ve ark., 2010) ve dioksin kaynaklı testiküler hasarı (Hwang ve ark.,) azalttığı öne sürülmüştür.

Erkek üreme sisteminin spermatozoonların üretilmesinden sorumlu olan testislerin yapı ve işlevlerinin bilinmeyen taraflarını açıklığa kavuşturmak için yapılan çalışmalar çok uzun yıllar öncesinde başlamış ve günümüzde de devam etmektedir. İnsanlarda spermatazoon üretiminin pnömoni sebebiyle durduğunun tespit edilmesiyle çok sayıda araştırmacı farklı toksik ajanların testiste oluşturduğu değişiklik ve hasarı araştırmaya başlamışlardır (Mills, 1919).

Apoptozis, bir takım morfolojik ve biyokimyasal değişikliklerle karakterize olmuş ökaryotik hücre ölümüdür. Spermatogenez sırasında apoptozisin bilinen iki görevi vardır; germ hücre sayısını Sertoli hücrelerinin destekleyebileceği sayıda tutmak ve oluşabilecek anormal spermatozoonları azaltmaktır (Sakkas ve ark., 2003). Fakat hasarlı apoptotik germ hücrelerinin uzaklaştırılmasında bir sorun oluşursa semen

içerisinde anormal sperm sayısı yükselir ve buda düşük fertiliteye sebep olur (Anzar ve ark., 2002).

CP tek başına veya diğer antineoplastik ajanlar ile (siklofosfamid, bleomisin, etoposid) beraber sık görülen ağız, baş, boyun, endometriyum, akciğer kanserlerinde kullanıldığı kadar ileri over ve testis kanserlerinde de sık kullanılmaktadır (Goren, 2003; Hanneman ve Baumann, 1988; Zunino ve ark.,1989). CP, aynı zamanda özofagus, lokalize servikal kanser ve baş-boyun kanserlerinde radyoterapiyle beraber kullanılır. CP'in terapötik etkisi doz artışıyla bariz derecede artış göstermektedir (Florea ve Bisselberg, 2009).

CP uzun yıllardır kanser tedavisinde başarılı bir şekilde kullanılmasına rağmen biyokimyasal etki mekanizması henüz kesin olarak aydınlatılamamıştır. İlacın sitotoksik özelliklerini nükleer DNA'ya bağlanıp transkripsiyon ve DNA replikasyonunu bozduğu ve çeşitli sinyal iletim yollarını aktive ederek sağladığı düşünülmektedir. CP hücrede mitokondrilere zarar vererek, hücre siklusunu duraklatır, ATP'az aktivitesini engeller, hücrede transport sistemini değiştirerek, apoptoz, nekroz, inflamasyon ve hücre ölümüne neden olur (Mansour ve ark.,).

P.G ile ilgili birçok makale olmasına rağmen bizim çalışmamızda testis hasarı oluşmadan önce Panax verilmesinin testis hasarını hangi düzeyde koruyabileceği incelenmiştir. Diğer çalışmalar daha çok tedaviye yönelik iken, bizim çalışmamız daha az çalışılmış koruyucu etkiyi değerlendirme üzerine yapılmıştır.

O' Hara ve ark., Ginseng'in fiziksel performansı arttıran, stres ve yaşlanmaya karşı direnç sağlayan, buna bağlı olarak yaşam kalitesini yükselten bir madde olduğunu bildirmişlerdir (O'Hara ve ark.1998). Siegel (1979), ginseng'in özellikle stresli durumlarda adrenal ve tiroid fonksiyonlarını düzelttiğini bildirmiştir.

Liu ve Xiao ginseng'in merkezi sinir sistemini etkileyerek metabolizma üzerinde düzenleyici etki gösterdiğini ve mental ve fiziksel aktiviteleri kolaylaştırdığını bildirmişlerdir (Liu ve Xiao 1992).

Kim ve arkadaşları 1999 yılında yaptığı bir çalışmada sıçanlarda 2, 3, 7, 8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin'inin oluşturduğu testiküler hasara karşı P.G'in koruyucu etkisini araştırılmıştır. Çalışmada 28 gün boyunca haftada bir defa P.G gruplara 100 mg/kg ve 200 mg/kg verilmiştir. Bunun sonucunda grupların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında P.G verilen grupta kontrol grubuna göre vücut ağırlığı artışı tespit edilmiştir. Testis hasarına sebep olan grup ile P.G'in birlikte verildiği gruptaki vücut ağırlığı ise; tek başına zarar veren madde uygulanan gruptaki hayvanların ağırlıklarına göre normale yakın sonuçlar görülmüştür. Testis ağırlıkları karşılaştırıldığında yalnız P.G verilen gruplardaki deney hayvanlarının ağırlıklarının kontrol grubundaki deney hayvanlarının ağırlıklarına göre anlamlı düzeyde artış gösterdiği görülmüştür. Zararlı madde ile birlikte verildiğinde ise ağırlıkları kontrole yakın seyretmiştir. Zararlı grubun anlamlı düzeyde testis ağırlığında azalma meydana gelmiştir. Testis/vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark ortaya çıkmıştır. Çalışmamızda sadece panax verilen ve CP'e ek olarak panax verilen (doz 2) grubunda deney sonunda deney öncesine göre anlamlı artışlar olduğu tespit edildi.

Deney hayvanları üzerinde yapılan çalışmalarda CP'nin vücut ağırlığı üzerinde hiçbir etki oluşturmadığı, fakat germ hücre tüketimine bağlı olarak, testis ağırlığında önemli derecede bir azalma görüldüğünü bildirmişlerdir (Agarwal ve Said 2003; Otalla ve ark., 2004). Yeon ve arkadaşlarının 2004 yılında yapmış olduğu bir diğer çalışmada, sıçanlarda 2, 3, 7, 8 tetrachlorodibenzo-p-dioxin'in (TCDD) sperm kalitesine olan etkisi ve P.G'in koruyucu etkisi araştırılmıştır. Bu çalışmada 40 gün süreyle tek doz verilen TCDD'nin öncesinde günlük 200 mg/kg ve 100 mg/kg lık P.G uygulanan gruplar oluşturulmuştur. Çalışmada sperm sayımı yapıldığında P.G uygulanan gruplarda spermilerin motilitesi ve hareket yüzdesinin, TCDD ve kontrol gruplarındaki spermilere göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir. Testis ağırlıkları

karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark görülmemiştir (Yeon ve ark.,2004). Bizim çalışmamızda hem vücut ağırlığı hem testis ağırlığı bakımından bir farklılık oluşmadığı görüldü.

Shin ve arkadaşları 2010 yılında yaptığı bir diğer çalışmada torsiyon sonrası testis dokusunda P.G in etkisi araştırmışlardır. Sıçanlarda torsiyon sonrası 4 hafta boyunca günlük 100 mg/kg P.G oral olarak uygulanmıştır. Çalışmanın sonucunda P.G uygulanan grup ile Kontrol grubu ve P.G ile torsiyon grubu ve sadece torsiyon grubu arasında testis ağırlıklarında farklılıklar olduğu gözlenmiştir. Bununla birlikte histolojik bulgular incelendiğinde torsiyon grubunda düzensiz tübül yapıları, bağımsız hücre azlığı, germinal hücrenin dejenarasyonu görülürken torsiyon sonrası P.G uygulanan grupta testiküler hücrelerin normale yakın görünümlü olduğu gözlemlenmiştir (Shin ve ark., 2010). Kim ve arkadaşları yaptıkları bir toksisite çalışmasında ışık mikroskopik incelemeleri sonucunda toksik grubun spermatozoa oluşumunu durdurduğunu ve seminifer tübül çapının diğer gruplara oranla azaldığını tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da Cisplatin ile P.G beraber uygulanan grupta olgun sperm yapıları gözlenirken, piknotik hücre görülmemiştir. Cisplatin ile birlikte P.G uygulandığında ise; olgun sperm sayısının arttığı tespit edilmiştir (Kim ve ark., 1999). Yapılan bir çalışmada CP maruziyetinden sonra sertoli hücresinin yapısında değişiklikler meydana gelmiş, bu da hücrelerin toksisite için hedef hücre haline geldiğini göstermiştir. 5 günlük 2 mg/kg intraperitoneal CP enjeksiyonundan 24 saat sonra kan-testis bariyerinde parçalanmalar izlenmeye başlanmış ve bu etki en az 40 gün devam etmiştir (Pogach ve ark., 1989; Gotoh ve ark., 1990). Spermatogenez sertoli hücreleri tarafından gerçekleştirilmektedir. Sertoli hücrelerinin önemli görevlerinden biri de germ hücrelerinin farklılaşması için kan-testis bariyerini oluşturmaktır. Yapılan bir çalışmada, CP'nin sertoli hücreleri arasındaki zonula okludens tipi bağlantılara etki ettiği gösterilmiştir. Bu da CP'nin kan-testis bariyerini bozduğunu göstermektedir (Erdemli ve ark., 1999). Çalışmamızda CP verilen gruptaki seminifer tübüllerde görülen dağınık görüntünün hücreler arası bağlantıya hasar verme sonucu ortaya çıkmış olabileceğini düşünmekteyiz ve çalışmamızın bir sonraki basamağında bu kriterlerin değerlendirilmesi gerekliliğini planlamış bulunmaktayız.

Lirdi ve ark. 2008 yılında yaptıkları bir çalışmada 30 günlük sıçanların CP'e maruz kalmaları sonucunda, seminifer epitelde bulunan germ hücrelerinde dejenerasyon görüldüğünü, lümendeki hücrelerde dökülmelerin meydana geldiğini ve peritübüler dokuda yer alan hücrelerin de anormal nükleer morfolojiye sahip olduğunu göstermişlerdir (Lirdi ve ark., 2008). Favareto ve ark.'nın 2011'de yaptığı başka bir çalışmada yine CP uygulamasının, testislerde hücre kayıplarına ve dökülmelere yol açtığı, germ hücrelerinin olgunlaşmadan lümene bırakıldığı bildirilmiştir (Favareto ve ark., 2011). Yapılan çoğu çalışmada, erişkin dönemde CP uygulamasının, sperm sayısı ve hareketinde azalmaya sebep olurken, anormal morfolojiye sahip sperm sayısının arttığı bildirilmiştir (Ateşşahin ve ark., 2006; Türk ve ark., 2008; Rezvanfar ve ark., 2013; Salem ve ark., 2012). Wahhab ve arkadaşları 2008 yılında yaptığı bir çalışmada EDTA uygulanmış erkek sıçanların testis dokusunda P.G'in etkisini araştırmışlardır. Çalışmada 1 hafta boyunca 20 mg/kg lık doz günlük olarak sıçanlara uygulanmıştır. Çalışmanın sonunda EDTA uygulanan grubun testis histolojisi incelendiğinde seminifer tübül içerisinde spermatogonyumların ve Sertoli hücrelerinin dejenarasyona uğradığı, seminifer tübül duvarının incelendiği ve döküntüler görülmüştür. Tek başına P.G uygulanan grupta ve EDTA ile beraber P.G uygulanan grupta testisin histolojik görünümü incelendiğinde normal yapının bozulmadığı gözlemlenmiştir (Wahhab ve ark., 2008). Çalışmamızda da CP grubunda Johnsen skorlaması düşük bulunmuş olmasına karşın panax verilen gruplarda da normal yapıya yakın görüntüler tespit edilmiş olması panaxın testis dokusu üzerine toksik olmadığını göstermektedir.

Yapılan çalışmalar CP'nin kök hücrelerde total öldürücü etki yaratmadığını göstermektedir. CP'nin B spermatogonyumları ve lümene komşu olan germ hücrelerini etkilediği gösterilmiştir. Bu da CP'nin lümene girebilme yeteneğine bağlı ilaç etkisi olabileceği gibi, ilacın sertoli hücrelerine verdiği zarardan dolayı oluşabileceğini göstermişlerdir (Russel, 1991; Nonomura ve ark., 1991). Bizim çalışmamızda apoptozisin daha çok spermatogonyumlar üzerinde etkili olduğu tespit edildi. Bununla birlikte, CP uygulanan gruptaki hayvanların testislerinde Johnsen skoru ortalamasının 7 civarında olması beklenenden daha düşük bir toksisiteye neden olduğunu göstermektedir.

Amin ve ark.'nın CP hasarının sebep olduğu hücre ölümü üzerinde, bitki özlerinin etkilerinin araştırdığı çalışmada ise, CP'in TUNEL (+) germ hücre sayısında önemli ölçüde artışa neden olduğu bildirilmiştir (Amin ve ark., 2008). CP'in oluşturduğu testiküler morfolojik hasar ve sperm yapımındaki azalma, ilacın germ hücrelerinde apoptoza yol açtığını doğrular niteliktedir (Lee ve ark., 1999). Lin ve ark. germ hücre apoptozunun infertiliteye olan etkisini araştırdığı hastalarda, artmış seminifer tübül apoptozisi ile infertilite arasında doğrudan bir bağlantı olduğu bildirilmiştir (Lin ve ark., 1999).

Testislerde, germ hücrelerinin gelişimi esnasında, homeostazisin sağlanması ve hasarlı germ hücrelerinin yok edilmesi amacıyla apoptoz kompensatuvar olarak gerçekleşmektedir. Kemoterapi, radyoterapi, hormon uygulamalarında apoptoza neden olan dış etmenlerdendir (Majino, 1995). Lirdi ve ark. 30 günlük erkek ratlara CP uygulamasının germ hücre apoptozisini belirlemek amacıyla uyguladıkları TUNEL yöntemi sonucunda, CP grubunda TUNEL (+) hücre sayısının kontrol ve tedavi grubuna kıyasla artmış olduğunu gözlemlemişlerdir (Lirdi ve ark., 2008). Zhang ve ark.'nın yaptığı çalışmada ise, CP maruziyeti sırasında, doza bağlı olarak germ hücrelerinde apoptozun indüklendiği bildirmişlerdir (Zhang ve ark., 2001). Bulgularımız, önceki çalışmalarla benzer olup, CP grubunda apoptozisin oldukça fazla arttığı, bununla birlikte panax ile birlikte CP verilen rat testislerinde apoptozisin, sadece CP verilen gruba göre azaldığı tespit edildi. Bu bulgu panax'ın CP toksisitesine karşı koruyucu etkisini gösteren bir bulgu olarak yorumlandı.

Yang ve arkadaşlarının 2011 yılında yapmış olduğu bir diğer çalışmada P.G'in spermatogenezis üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Sıçanlara 56 gün boyunca 1gr/kg günlük gavaj ile P.G uygulanmıştır. Deney sonrası vücut ağırlıklarında kontrol grubu ile P.G uygulanan grup arasında az bir değişiklik gözlemlenmiştir. Testis ağırlıklarında ise P.G uygulanan grup ile kontrol grubu kıyaslandığında anlamlı düzeyde artış görülmüştür. Sperm sayımı yapıldığında ise kontrol grubuna kıyasla P.G uygulanan grubun sperm sayısının anlamlı düzeyde arttığı görülmüştür. Serumdaki testosteron seviyelerine bakıldığında ise kontrol grubuna oranla P.G uygulanan grubun testosteron seviyesinin daha yüksek olduğu

görülmüştür (Yang ve ark., 2011). Bizim çalışmamızda ise testis ağırlıkları açısından gruplar arasında anlamlı farklılık olmadığı tespit edildi.

Aydiner ve ark.'nın yapmış olduğu bir çalışmada CP'in testisin morfolojik yapısında meydana getirdiği değişiklikler ile hormon seviyeleri arasındaki ilişki araştırılmış, tek doz 5 mg/kg CP uygulamasının, erişkin sıçanlarda 3.ve 21. günlerde, testiküler hasar ve serum testosteron düzeyinde belirgin bir düşmeye sebep olduğu bildirilmiştir (Aydiner ve ark., 1995). Bizim çalışmamızda da hem total hem de serbest testosteron düzeylerinin CP verilen grupta belirgin düşüş gösterdiği tespit edildi.

Maines ve ark. CP maruziyetinin erişkin sıçanlarda serum testosteron düzeyinde neden olduğu azalmaya, Leydig hücre LH reseptör sayısındaki azalmanın neden olduğunu ve gonadotropin-salgılatıcı hormon (GNRH) uygulaması ile bu etkinin geri dönüşümlü olabileceğini bildirmişlerdir (Maines ve ark., 1990). Yine aynı araştırmacılar, CP'in neden olduğu serum testosteron düşüklüğünün, LH reseptörleri ve stromal P-450 bağımlı steroid biyosentezinin baskılanmasıyla ilgili olduğunu göstermişlerdir (Maines ve ark., 1985). Azouri ve arkadaşları, Leydig hücrelerinde mikrozomal P-450 konsantrasyonundaki azalmanın, serum testosteron düzeylerindeki azalmayla paralel olduğunu bildirmişlerdir (Azouri ve ark.,1989). Çalışmamızda CP grubunda Leydig hücrelerinde görülen yüksek apoptozis oranının CP verilen gruplardaki testosteron düşüklüğünün sebebi olabileceğini düşünmekteyiz. CP verilen grupta apoptotik Leydig hücre sayısının oldukça fazla olduğu, bunun yanı sıra Doz 1'de daha belirgin olmak üzere Doz 1 ve Doz 2 gruplarında apoptotik Leydig hücre sayısında kısmen de olsa bir azalma olduğu tespit edilmiştir ki bu bulgular panax'ın hücre ölümüne karşı koruyucu etkisinin olduğunu bize gösterdiği şeklinde yorumlandı. Vücuda bir oksidan madde olan ozon verildiğinde super oksit dismutaz , GSH- peroksidaz, GSH –redüktaz ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin üretimi artar (Snyder ve ark., 2001). Yapılan bir çalışmada da yine bir kemoterapötik ajan olan Metotreksat ile oluşturulan testis hasarında serumda bakılan TAS ve TOS seviyelerinin çalışmamıza benzer şekilde hasar oluşturulan grupta arttığı tespit edilmiştir (Pınar, N.ve ark., 2018). Çalışmamızda CP verilen grupta TAS miktarının artma sebebinin bu antioksidan mekanizmaların aktif hale gelmesi olabileceğini düşünüyoruz. CP ile birlikte Panax verilen doz 1 grubunda

antioksidan mekanizma yine etkili çalışmış ve TAS düzeyleri CP grubuna yakın değerler olarak bulunmuştur. Bu da Panaxın özellikle 1. dozunda oksidan ajanlara karşı daha etkin korunma sağladığını göstermektedir.



5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızda uygulanan CP, testis dokusunda önemli hasarlar oluşturmuştur. Oluşan hasara bağlı olarak seminifer tübül çapları genişlemiştir. Apoptotik hücre sayısı hem spermatogenik seri hem de Leydig hücrelerinde oldukça artış göstermiştir. Total ve serbest testosteron seviyeleri de bu grupta azalmıştır. Panax verilip, CP uygulanan gruplarda ise özellikle Doz 1 grubunda hem apoptozisin azaldığı, hem de testosteron seviyesinin arttığı gözlenmiştir. Doz 2 grubunda spermatogenik seri hücrelerinde apoptozis belirgin olarak azalmasına rağmen Leydig hücrelerinde apoptozis Doz 1 deki kadar belirgin olarak azalmamıştır. Ayrıca testosteron seviyeleri de kısmi olarak bir artış göstermiştir. TAS seviyeleri de Doz 1 de, Doz 2 den daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Sonuç olarak; çalışmamızda Panax'ın CP'ne bağlı oluşan hasarı belirli bir doz eşiğine kadar belirgin şekilde koruduğu belirlenmiş olmakla birlikte bu antioksidan maddenin özellikle koruyucu etkisinin araştırılması için daha geniş vaka gruplu ve moleküler düzeyde çalışmalara gereksinim vardır.

ÖZET

Cisplatin ile Testis Hasarı Oluşturulan Yetişkin Erkek Sıçanlarda Panax Ginseng'in Hücre Ölümü Üzerine Etkisi

İnfertilite genetik, ailevi, hormonal nedenler, doğumsal anormallikler, çevresel ve kimyasal nedenlerle günümüzde artmakta olan önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir.

Biz çalışmamızda cisplatin tarafından oluşturulan testis hasarının değişik panax dozlarında hangi düzeyde korunabildiğini değerlendirmeyi amaçladık. Çalışmada toplam 35 rat kullanılmış olup, Gruplar; Kontrol grubu, CP grubu (7mg/kg), Panax grubu (200 mg/kg), Doz:1 (CP+Panax (200mg/kg)), Doz:2 (CP+Panax (300mg/kg)) olmak üzere, her grupta 7 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrılmıştır.

Deney sonunda, gruplara ait vücut ve testis ağırlığı ölçümleri yapıldı. Histopatolojik olarak, Johnsen skorlaması yapıldı ve seminifer tübül çapları ölçüldü. TUNEL boyaması yapılarak, apoptotik hücreler işaretlendi. Biyokimyasal olarak, serbest testosteron, total testosteron, TAS, TOS seviyeleri ölçüldü ve OSİ hesaplandı.

Sonuç olarak, CP testis dokusunda önemli hasarlar oluşturmuştur. Oluşan hasara bağlı olarak seminifer tübül çapları genişlemiş, apoptotik hücre sayısı oldukça artış göstermiştir. Total ve serbest testosteron seviyeleri de bu grupta azalmıştır. Panax verilip, CP uygulanan gruplarda ise özellikle Doz 1 grubunda hem apoptozisin azaldığı, hem de testosteron seviyesinin arttığı gözlenmiştir. Doz 2 grubunda spermatogenik seri hücrelerinde apoptozis belirgin olarak azalmasına rağmen Leydig hücrelerinde apoptozis Doz 1 deki kadar belirgin olarak azalmamıştır. Ayrıca testosteron seviyeleri de kısmi olarak bir artış göstermiştir. TAS seviyeleri de Doz 1 de, Doz 2' den daha yüksek olarak tespit edilmiştir.

Çalışmamızda Panax'ın CP'ne bağlı oluşan hasarı belirli bir doz eşiğine kadar belirgin şekilde koruduğu belirlenmiş olmakla birlikte bu antioksidan maddenin özellikle koruyucu etkisinin araştırılması için ileri düzey çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler:

- Antioksidan, Cisplatin, Testiküler Toksisite, Panax Ginseng.



SUMMARY

The Effect of Panax Ginseng on Cell Death in Adult Male Rats with Testis Injury with Cisplatin

Infertility has become an important health problem which is increasing due to genetic, familial, hormonal causes, congenital abnormalities, environmental and chemical reasons.

In our study, we aimed to evaluate the degree of preservation of testicular damage induced by cisplatin in different panax doses. A total of 35 rats were used in the study. Control group, CP group (7 mg / kg), Panax group (200 mg / kg), Dose: 1 (CP + panax (200 mg / kg)), Dose: 2 (CP + panax (300 mg / kg)), In each group 7 animals were divided into 5 groups.

At the end of the experiment, body and testis weight measurements of the groups were performed. Histopathologically, Johnsen scoring was performed and seminiferous tubule diameters were measured. Apoptotic cells were stained by TUNEL staining. Biochemical test, free testosterone, total testosterone, TAS, TOS levels were measured and OSI was calculated.

As a result, CP has caused significant damage to the testicular tissue. Seminiferous tubule diameters were enlarged and the number of apoptotic cells increased. Total and free testosterone levels were also decreased in this group. Panax administration and CP administered groups showed that both apoptosis decreased and testosterone level increased especially in the Dose 1 group. Apoptosis was significantly decreased in spermatogenic series cells in dose 2 group, but apoptosis in Leydig cells was not significantly decreased as in dose 1. Testosterone levels also increased partially. TAS levels were also higher in Dose 1 than Dose 2.

In our study, it is determined that Panax significantly protects CP related damage up to a certain dose threshold, but further studies are needed to investigate the protective effect of this antioxidant.

Keywords:

- Antioxidant, Cisplatin, Testicular Toxicity, Panax Ginseng.



KAYNAKLAR

- ABRAHAM, L.K., (2006). Histoloji ve Hücre Biyolojisi, (Çev.Ed.: Demir, R.), Palme Yayıncılık, ISBN, 9944-341-02-9, Ankara.
- ACKERMAN, U., (2006). PDQ Fizyoloji, (Çev.Ed.: Alican İ.), İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 438-446s.
- AGARWAL, A., SAİD, TM. Role of Sperm Chromatin Abnormalities and DNA Damage in Male Infertility. Hum Reprod. Update (2003); 9: 331-345.
- AKŞİT, H., BİLDİK, A., (2008). Apoptosis, YYÜ Vet. Fak. Dergisi, 19, 1: 55-63 s.
- AKTÜMSEK, A., (2012). Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi Nobel Yayıncılık , ISBN, 978-605-133 Ankara.
- AKYOL, H., (2004). Kemoterapinin Temel İlkeleri, Dokuz Eylül Üniv. Onk. Ens., 18-22 Mayıs XIII, TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Hemşire Programı.
- AMİN, A., HAMZA, AA., KAMBAL, A., DAOUD, S. Herbal Extracts Counteract Cisplatin-mediated Cell Death in Rat Testis. Asian J. Androl (2008); 10(2):291-297.
- ANZAR, M., He L., BUHR, M.M., KROETSCH, T.G., and PAULS, K.P., (2002). Sperm Apoptosis in Fresh and Cryopreserved Bull Semen Detected by Flow Cytometry and its Relation Ship With Fertility. Biology of Reproduction .66,354-360 .
- APPENROTH, D., FRÖB, S., KERTSEN, L., SPLINTER, FK., WİNNEFWLD, K., Protective Effects of Vitamin E and C on Cisplatin Nephrotoxicity in Developing Rats. Arch Toxicol (1997), 71, 677-683.
- ARINCI, K.ve ELHAN A., (2006). Anatomi, 1.Cilt Güneş Kitabevi, ISBN, 975- 7467-29-4-Ankara.
- ATABENLİ, E., (2002). Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme, (Çev.Ed.: Tekelioğlu, E.).Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara.
- ATEŞŞAHİN, A., KARAHAN, İ., TÜRK, G., GÜR , S., YILMAZ, S., CERİBAŞI, AO. Protective Role of Lycopene on Cisplatin-induced Changes in Sperm Characteristics, Testicular Damage and Oxidative Stress in Rats. Reprod Toxicol (2006); 21(2): 42-47.
- ATEŞŞAHİN, A., YILMAZ, S., KARAHAN, İ., ÇERİBAŞI, AO., KARAOĞLU, A., Effects of Lycopene Againsts Cisplatin –Induced Nephrotoxicity and Oxidative Stress In Rats. Toxicology (2005); 212:116-123 s.
- AYDEMİR, B., KARADAĞ, SARI, E., Antioksidanlar ve Büyüme Faktörleri ile İlişkisi. Kocatepe Veterinary Journal (2009); 2(2):56-60.

- AYDINER, A., AYTEKİN, Y., SAYIN. Ü., KUNTAL. L., TOPUZ, E. Cisplatin'in Testis Dokusuna Etkisi: Ultrastrüktürel ve Biyokimyasal Bir Çalışma. Türk J. Pathol (1995); 11(1):5-9.
- AZOURİ, H., BİDART, JM., BOHUON, C. In Vivo Toxicity of Cisplatin and Carboplatin on the Leydig Cell Function and Effect of the Human Choriogonadotropin. Biochem Pharmacol (1989); 38(4): 567-571.
- AZU, O.O., DURU, F.I.O., OSİNUBİ, A.A., OREMOSU, A.A., NORONHA, C.C., ELESHA, S.O. AT OKANLAWON, A.O., (2010). Histomorphometric Effects of Kigelia Africana (Bignoniaceae) Fruit Extract on the Testis Following Short-Term Treatment With Cisplatin In Male Sprague-Dawley Rats, Middle East Fertility Society Journal, Department of Anatomy, Nigeria, 200-208 p.
- BACANLI, M., BAŞARAN, N., BAŞARAN, AA.:İlaç-Bitkisel İlaç Kullanımının Toksikolojik Sonuçları.Türkiye Klinikleri Journal of Pharmacy Sciences (2012), 1(2):83-94.
- BAEG, IH., SO, SH., The World Ginseng Market and the Ginseng (Korea). J. Ginseng Res (2013); 37: 1-7.
- BARKHE, M., & MORGAN, W., (1994). Evaluation of the Ergogenic Properties of Ginseng. Sports Medicine, 18(4):229-248.
- BARKHE, M., & MORGAN, W., (2000). Evaluation of the Ergogenic Properties of Ginseng : An Update. Sports Medicine, 29(2):113-133.
- BARRY, B., LOWİTZ and DENNİZ, A., CASCIATO, Medical Oncology & Principles of Cancer Biology.
- BAYKARA, O., (2016). Current Modalities in Treatment of Cancer. Balıkesir Health Sciences Journal.
- BLACKADAR, C.B., Historical Review of the Causes of Cancer.World J., Clin Oncol (2016); 7(1): 54-86.
- BLANCO-RODRİGUEZ, J., GARCİA MARTİNEZ, C., (1998). Apoptosis Pattern Elicited by Several Apoptogenic Agents on the Seminiferous Epithelium of the Adult Rat Testis, J Androl, 19:487-497 p.
- BLOOM and FAWCETT, (1994). A Textbook of Histology, Champman and Hall, USA, 31p.
- BOGİN, E., MAROM, M., LEVİ, Y., Changes in Serum, Liver and Kidney of Cisplatin Treated Rats, Effect of Antioxidants, Eur J.,Clin Chem Clin Biochem (1994); 32: 43-51.

- BOMPART, G., Cisplatin İnduced Changes on Cytochrome P-450, Lipid Peroxidation and Some P-450 Related Specific Catalytic Activities in Rat Liver. J Toxicol Clin Exp. (1990); 10: 375-383.
- BORCH, RF., PLEASANTS, ME., Inhibition of Cis-Platinum Nephrotoxicity by Diethyldithiocarbamate Rescue in Rat Model.Proc.Natl Acad Sci 1979; 76: 6611-6614.
- BROOKS, S.A., HANNAH, L.B., KINCH, C., NASH, G., KIEDA, C., (2009). Altered Cell Surface Glycosylation Function in Mechanisms of Cancer Cell Metastasis, Anadolu University Journal of Science and Technology, 10 , 1: 91-101 p.
- BURUKOĞLU, D. ve BAYÇU, C, (2007). Protective Effects of Zinc on Testes of Cadmium Treated Rats, Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 81(6):521-4.
- BYSAL, A., CRİSS, W., (2004). Kanseri Tanıyalım, Hatiboğlu Yayınları, Ankara, 9-13 s.
- CABADAK, H., (2008). Hücre Siklusu ve Kanser, ADÜ Tıp Fak Der, 9, 3: 51-61 s.
- CHAN, P., PECKHAM, JC., MALARKEY, DE., KİSSLİNG, GE., TRAULOS, GS.: Two-Year Toxicity and Carcinogenicity Studies of Panax Ginseng in Fischer 344 Rats and B6C3F1 Mice. National Institute of Environmental Health Sciences Research Triangle Park (2011), 39(4): 779-788.
- CHENG, C.Y. at DOLORES, D. M., (1997). Quantitative (stereological) Study of Normal Spermatogenesis in the Adult Monkeys (Macaca Fascicularis), Journal of Andrology, 18, 681-687 p.
- CHOİ, H.K., SEONG, D.H., RHA, K.H.Clinical Efficacy of Korean Red Ginseng for Erectile Dysfunction.Int J. Impot Res. (1995); (7): 181-186.
- COHEN, J.J., (1993). Overview: Mechanisms of Apoptosis, Immunol Today, 14:126-130 p.
- COURTH, W., (1975). Ginseng a Chinese Folk Medicine of Current Interest. The Pharmaceutical Journal, 214:180-181.
- CUMHUR, M., (2001). Temel Anatomi, 1.Baskı, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.-METU Press, Ankara.
- DİLEK, Ş., (2010). Kemoterapide Toksikite Değerlendirilmesi, TCSB Ankara Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi, XXXVI. Ulusal Hematoloji Kongresi, Ankara.
- DÜNDAR, Y., ASLAN, R., Hücre Moleküler Statüsünün Anlaşılması ve Fizyolojik Önem Açısından Radikaller, Antioksidanlar, İnsizyon Cerrahi Tıp Bilim Dergisi.(1999); 2(2):.134-142.

- ERDEMLİ, E., ERGENECİ D, ATAHAN Ş , IŞIKAY, L. Cisplatini Sıçan Böbrek ve Testisleri Üzerine Etkileri. Ankara Üniversitesi Tıp Mecmuası (1999); 52: 3.
- ERDOĞAN, B.B., (2003). Apoptozis Mekanizmaları: Tümör Gelişiminde Fas-Faslı Bağımlı Apoptozis. Akciğer Arşivi, 4. 165-174 s.
- FALLAHZADEH A.R., REZAEİ, Z., RAHİMİ, H.R., BARMAK, N.U., SADEGHİ, I.T., MEHRABİS, RABANİ, S.M., KASHANİ, I.R., BARATİ, V., MAHMOUDİ R., (2017). Evaluation of the Effect of Pextoxifyline on Cisplatin-Induced Testicular Toxicity in Rats. 33(3):255-263
- FAMİLİARİ, G., CAGGIATİ, A., NOTTOLA, S.A., ERMİNİ, M.D., BENEDETTO, M.R., MOTTA, P.M., (1993). Ultrastructure of Human Ovarian Primordial Follicles After Combination Chemotherapy for Hodgki's Disease, Hum Reprod 8; 2080 p.
- FAVARETO, AP., FERNANDEZ, CD., da SİLVA, DA., ANSELMO-FRANCİ, JA., KEMPİNAS WDE, G. Persistent Impairment of Testicular Histology and Sperm Motility in Adult Rats Treated With Cisplatin at Peri-puberty. Basic Clin Pharmacol Toxicol (2011); 109(2): 85-96.
- FAWCETT, D.W. at JENSH, R.P., (2002). Concise Histology, Arnold Publisher, 2nd Edition, New York.
- FLOREA, AM., BİSSELBERG, D., Anti-Cancer Drugs İnterfere With İntracellular Calcium Signaling. NeuroToxicology (2009); 30: 803-810.
- FULDER, S., (1981). Ginseng And The Hypot Halamicpitvitary Control of Stress. The Americal Journal of Chinese Medicine, 9(2), 112-118.
- GANONG, W.F., (1995), GANONG Tıbbi Fizyoloji, (Çev.Ed.: Doğan, A.), Barış Kitabevi, İstanbul.
- GARTNER, L.P. at HİATT, J.L., (2003). Color Textbook of Histology, 2nd Edition.
- GARTNER, L.P., at HİATT, J.L., (2016). Hücre Biyolojisi ve Histoloji(Çev.Ed.: Hürdağ C.) ISBN 978-605-4949-52-6 İstanbul Tıp Kitabevi.
- GARTNER, L.P., HİATT, J.L., (2009). (Çev. Ed.: DAĞDEVİREN A., MÜFTÜOĞLU, F.S., KARABAY, G.,). Renkli Histoloji Atlası, 4.Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- GARTNER, L.P., HİATT, J.L., (2007). Color Textbook of Histology, 3. Baskı, W.B., Saunders Company, Philadelphia.
- GENGELEN, M., (2002). Türkiye'de Kanser İstatistikleri, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- GOREN, MP., Cisplatin Nephrotoxicity Affects Magnesium and Calcium Metabolism. Med Pediatr Oncol (2003); 41:186-189.

GOTOH S, MİNE M, İSHİZAKA K, KANEOYA H, YOKOKAWA M. Changes in Lanthanum Permeability of Rat Sertoli Cell Tight Junction After CDDP Administration [in Japanese]. Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi (1990); 81: 45-48.

GOYER, RA: CLARKSON, TW., (2001). Carasett and Doull's Toxicology, The Basic Science of Poisons, 6.baskı, Mc Graw-Hill Companies Inc., Medical Publishing Division USA.

GUYTON, A.C. at HALL, J.E., (1996). Textbook of Medical Physiology, Harcourt Brace, 9th Edition.

HANİGAN, MH., DEVARAJAN, P., Cisplatin Nephrotoxicity Molecular Mechanisms. Cancer Ther (2003); 1:47-61.

HANNEMAN, J., BAUMAN, K., Cisplatin Induced Lipid Peroxidation and Decrease of Gluconeogenesis in Rat Kidney Cortex :Different Effect of Antioxidant and Radical Scavengers.Toxicology (1988), 51:119-132.

HARTLEY, D. and KİDD, H., (1983). The Agrochemicals Handbook. Nottingham, England, Royal Society of Chemistry.

HASSA, H., (2003). İnfertil Olgulara Klinik Yaklaşım ve IVF Laboratuvar Uygulamaları, ESOĞÜ Basımevi, Eskişehir.

HATİPOĞLU, M.T. ve HATİPOĞLU, M.G., (2006). Anatomi Ders Kitabı, Selvi Yayınevi, ISBN, 975-7711-38-1, Ankara.

HIKIM, A.P.S., WANG, C., LEUNG, A.R., SWERDLOFF, S., (1995). Involvement of Apoptosis in the İnduction of Germ Cell Degerneration in Adult Rats After Gonadotropinreleasing Hormone Antogonist Treatment Endocrinology, 136 (6): 2770-2775

HOLZER, A.K., SAMİMİ, G., KATANO, K., Et Al., (2004). The Copper İnflux Transporter Human Corper Transport Protein 1 Regulates the Uptake of Cisplatin İn Human Ovarian Carcinoma Cells, Mol Pharmacol, 66: 817-823 p.

<http://anatomytopics.wordpress.com/2009/01/04/the-anatomy-histology-and-development-of-the-testis-epididymis-and-ductus-deferens/>.

<http://www.cancercare.on.ca/pdfdrugs/CISPLATI.pdf>

HUANG, Q., Wang, T., Yang, Lİ., & Wang, H., (2017). Ginsenoside Rb2 Alleviates Hepatic Lipid Accumulation by Restoring Autophagy Via induction of Sirt 1 and Activation of AMPK. International Journal of Molecular Sciences, 18(5):1063-1078.

HUMPHREYS, DJ., (2001). Nort American Ginseng and the Stress Response During Acute Exercise. Edmonton, Alberta.

- HWANG, S.Y., KİM, W.J., WEE, J.J., CHOI J.S., KİM, S.K. Panax Ginseng Improves Survival and Sperm quality in Guinea Pigs Exposed to 2,3,7,8 Tetrachlorodibenzo-p-dioxin.BJU Int 204; 94:663-668.
- HWANG, S.Y., SOHN, S.H., WEE, J.J., YANG, J.B., KYUNG, J.S., KWAK, Y.S., KİM, S.W., KİM, S.K. Panax Ginseng Improves Senile Testicular Function in Rats.J.Ginseng Res (2010); (34): 327-335 s.
- ITO, N., HİROSE, M., (1989). Antioxidants - Carcinogenic and Chemopreventive Properties, Adv Cancer Res, 53: 247-302 p.
- IZZO, AA., CARLO, GD., BORRELI, F., ERNST, E. : Cardiovascular Pharmacotherapy and Herbal Medicines: The Risk of Drug Interaction. International Journal of Cardiology (2005), 98(1):1-14.
- JUNG, N.P., JİN, S.H., Studies On the Physiological and Biochemical Effects of Korean Ginseng.Korean J. Ginseng Sci.(1996); 20:431-471.
- JUNG, S.W., KİM, H.J., LEE, B.H., CHOI, S.H., KİM, H.S., CHOI, Y.K., KİM, J.Y., KİM, E.S., HWANG, S.H., LİM, K.Y., KİM, H.C., JANG, M., PARK, S.K., CHO, I.H., NAH, S.Y. Effect of Korean Red Ginseng Extract on Busulfan-Induced Dysfunction of the Male Reproductive System.J.Ginseng Res. (2015) J-1; 39(3):243-249.
- JUNQUEİRA, L.C. at CARNEİRO, J.,(2003). Basic Histology Text&Atlas, 10th Edition, Mc Graw Hill Company.
- JUNQUEİRA, L.C., CARNEİRO, J., (2009). Temel Histoloji, (Çev.Ed.: Aytekin Y., Solakoğlu, S.,) 10. Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- JUNQUEİRA, L.C., (2006). Erkek Üreme Sistemi, Temel Histoloji, (Çev.Ed.: Aytekin, Y.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 512-547 s.
- KANG, S., MİN, H., Ginseng, the “Immunity Boost”: the Effects of Panax Ginseng on Immune System. J. Ginseng Res (2012); 36: 354-368.
- KANTAR, M., TARLADAÇALIŞIR, Y. VE UYGUN, M., (2007). Cisplatin Nefrotoksitesinde E Vitaminin Koruyucu Etkileri; Işık ve Elektron Mikroskopik Çalışma, Tıp Araştırma Dergisi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne, 83-90 s.
- KAYAALP, O., (1994). Tıbbi Farmakoloji, 4. Cilt, Feryal Matbaası, Ankara 1047 s.
- KAYAALP, SO., (1998). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 8.Baskı, Cilt 1-2, Hacettepe - Taş Kitapçılık Ltd. Şirketi, Ankara
- KERR, J.F.R., WYLLİE, A.H., CURRIE, A.R., (1972). Apoptosis, A Basic Biological Phenomenon With Wide Ranging Implications in Tissue Kinetics, Br J Cancer, 26: 239-245 p.
- KİERSZENBAUM, A.L., (2002). Histology and Cell Biology An Introduction to Pathology, Mosby.

- KİERSZENBAUM, A.L., (2006). Histoloji ve Hücre Biyolojisi, (Çev.Ed.: Demir, R.), Palme Yayıncılık, Ankara, 618 s.
- KİM, MK., LEE, JW., LEE, KY., YANG, DC., Microbial Conversion of Major Ginsenoside Rb (1) to Pharmaceutically Active Minor Ginsenoside Rg. J. Microbial (2005); 43: 456-462.
- KO, R.J., Adulterants In Asian Patent Medicines. N Engl J. Med.(1998); 339:847.
- KOPALLI, S.R., HWANG, S.Y., WON, Y.C., KİM, S.W., CHA, K.M., HAN, C.K., HONG, J.Y., KİM, S.K., Korean Red Ginseng Extract Rejuvenates Testicular Ineffectiveness and Sperm Maturation Process in Aged Rats by Regulating Redox Proteins and Oxidative Defense Mechanisms. Exp. Gerontol (2015); 69: 94-102.
- KORSMEYER, S.J., (1995). Regulators of Cell Death, Reviews, 11: 101-105 p.
- KUTLUK, T., KARS, A., (1992). Kanser Konusunda Genel Bilgiler, Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları, Ankara.
- LEBEL, CB., BONDY, SC., Oxygen Radicals: Common Mediators of Neurotoxicity. Neurotoxicol Teratol (1991); 13:341-346.
- LEE, J., RICHBURG, JH., SHIPP, EB., MEISTRICH, ML, BOEKELHEIDE, K. The Fas System a Regulator of Testicular Germ Cell Apoptosis, is Differentially Up Regulated in Sertoli Cell Versus Germ Cell Injury of the Testis. Endocrinology (1999); 140(2): 852-858.
- LEE, J.H., SUL, D., OH, E., JUNG, W.W., HWANG, K.W., HWANG, T.S., LEE, K.C., WON, N.H. Panax Ginseng Effects on DNA Damage, CYP1A1 Expression and Histopathological Changes in Testes of Rats Exposed to 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin. Food Chem Toxicol. (2007). Nov; 45(11): 2237.
- LIN, WW., LAMB, DJ., LIPSHULTZ, LI., KİM, ED. Demonstration of Testicular Apoptosis in Human Male Infertility States Using a DNA Laddering Technique. Int Urol Nephrol (1999); 31(3): 361- 70.
- LİRDİ, LC., STUMPP, T., SASSO-CERRİ, E., MİRAGLIA, SM. Amifostine Protective Effect on Cisplatin-Treated rat Testis. Anat Rec (2008); 291(7): 797-808.
- LIU, C., & XIAO, P., (1992). Recent Advances on Ginseng Research In China. Journal of Ethnopharmacology, 36(1), 27-38.
- MAİNES, MD., MAYER, RD. Inhibition of Testicular Cytochrome P-450-dependent Steroid Biosynthesis by Cis-platinum. J Biol Chem (1985); 260(10): 6063-6068.
- MAİNES, MD., SLUSS, PM., ISCAN, M. Cisplatin-mediated Decrease in Serum Testosterone is Associated With Depression of Luteinizing Hormone Receptors and Cytochrome P-450 scc in Rat Testis. Endocrinology (1990); 126(5): 2398-2406.
- MAJİNO, G., JORİS, I. Apoptosis, Oncozsis and Necrosis. An Overview of Cell Death. Am J Pathol (1995); 146(1): 3-13.

- MANSOUR, MA., MOSTAFA, AM., NAGİ, MN., KHATTAB, MM., AL-SHABANAH, OA.,
Protective Effect of Aminoquanidine Againts Nephrotoxicity İnduced By Cisplatin İn Normal Rats.
- MASUZAWA, M., NAKAO, S., MİYAMOTO, E., YAMADA, M., MURAO, K., NİSHİ, K. at SHİNGU, K.,(2003). Pentobarbital Inhibits Ketamine-Induced Dopamine Release İn The Rat Nucleus Accumbens: a Microdialysis Study, *Anesth Analg*; 96, 148 –52 s.
- MİLLS, R.G.The Pathological Changes in the Rat Testes in Epidemic Pneumonia.*J.Exp.Med*,(1919); 30:505-529.
- MOORE, K.L., (2002). İnsan Embriyolojisi, (Çev.Ed.: Yıldırım, M.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 560 s.
- MOORE, K.L., (2003). The Developing Human Clinically Oriented Embryology, the Beginning of Human Development: First Week, Seventh Edition, 15-41 p.
- MOORE, L.K., DALLAY, F.A., (2007). Kliniğe Yönelik Anatomi, (Çev.Ed.:Şahinoğlu, K.).Nobel Yayıncılık, ISBN, 975-420-542-6, USA.
- NAGATA, S., (1997). Apoptosis By Deah Factor.*Cell*, 88: 355-365 .
- NONOMURA, M., OKADA, K., HİDA, S., YOSHİDA, O., Does a gonodotropin-Releasing Hormone Analogue Provent Cisplatininduced Spermatogenic İmpairment? *Urol Res*.(1991); 19: 135-140.
- O'HARA, MA., KİEFER, D., FARRELL, K., KEMPER, KA. 1998, Review of 12 Commonly Used Medicinal Herbs, *Arch Fam Med*, 7(6): 523-536
- OTALLA, M., SUOMALAİNEN, L., PENTİKAINEN, MO., KOVANEN, P., TENHUNEN, M., ERKKİLA, K. Et Al. Protection From Radiation-induced MaleGgerm Cell Loss by Sphingosine-1-Phosphate. *Biol Reprod*. (2004); 70: 759-767.
- OVALLE, W.K., NAHİRNEY, P.C., (2009). Netter Temel Histoloji, (Çev.Ed.: Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla P.), Güneş Tıp Yayınevi, İstanbul.
- ÖKTEM, S., ÖZHAN, M.H., ÖZOL, D., (2001). Apoptozisin Önemi.*Toraks Dergisi*.2(1): 91-95.
- PARK, HJ., KİM, DH., PARK, SJ., KİM, JM., RYU, JH., Ginseng in Traditional Herbal Prescriptions. *J. Ginseng Res* 2012; 36: 225-241.
- PERK, H., SOYUPEK, S., OKSAY, T., (2005). Erkek İnfertilitesine Neden Olan Fiziksel Ajanlar, İlaçlar ve Toksinler. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Üroloji ABD., İnfertilite Dergisi; 23, 305-310.
- PHAM-HUY, LA., He, H., PHOM-HUY, C., Free Radicals, Antioxidants in Disease and Health. *Int J Biomed Sci*. (2008); 4(2):89-96.
- PINAR, N., ÇAKIRCA, G., ÖZGÜR, T., KAPLAN, M.The Protective Effects of Alpha Lipoic Acid on Methotrexate İnduced Testis İnjury in Rats.*Biomed Pharmacother*.(2018); 97:1486-1492.

- POGACH, LM, LEE, Y., GOULD, S. ve ark. Characterization of Cis-platinum-İnduced Sertoli Cell Dysfunction in Rodents. *Tox App Pharm.* (1989); 98:350-361.
- RANG, H.P., DALE, M.M., (1993). Cancer Chemotheraphy, In: *Pharmacology ELBS*, Hong-Kong, 781-803 p.
- REZVANFAR MA, SHAHVERDİ, AR., AHMADİ, A., BAEERİ, M., MOHAMMADİRAD, A., ABDOLLAHİ, M. Protection of Cisplatin-induced Spermatotoxicity, DNA Damage and Chromatin Abnormality by Selenium Nano-particles. *Toxicol Appl Pharmacol* (2013); 266(3):356-365.
- ROSHAL, M., ZHU, Y., PLANELLES, V., (2001). Apoptosis in AIDS. *Apoptosis* ,6:103-116 .
- ROSS, H.M., and PAWLİNA, W., (2011). *Histology a Text and Atlas*, ISBN, 978-1-4511-0150-8, USA.
- ROSS, M.H., KAYE, G.I. at PAWLİNA, W., (2003). *Histology a Text and Atlas*, 4th Edition, Lippincott Williams &Wilkins.
- RUSSEL, L.D., RUSSEL, J.A., Short-term Morphological Responce of the Rat Testis to Administration of Five Chemotherapeutic Agents. *Am J. Anat.*(1991); 192: 142-168.
- RUSSELL, L.D., ETLİN, A.R., HİKİM, A.P.S. at CLEGG E.D., (1990). *Histological and Histopatological Evaluation of the Testis*, Cache River Press, St. Louis, 286 s.
- S.G., JOHNSEN, Testicular Biopsy Score Count –a Method for Registration of Spermatogenesis in Human Testes: Normal Values and Results in 335 Hypogonodal Males, *Hormones*1 (1970):2-25.
- SADLER, T.W., (2005). *Langman Medikal Embriyoloji*, (Çev.Ed.: Başaklar, C.A.). Palme Yayıncılık, ISBN, 975-8982-12-5, Ankara.
- SADZUKA, Y., SHOJİ, T., TAKİNO, Y., Change of Lipid Peroxide Levels in Rat Tissues After Cisplatin Administration. *Tox Lett.* (1991); 57:159-166 s.
- SAKKAS, D., SELİ, E., BİZZARO, D., TAROZZİ, N., and MANİCARDİ, G.C., (2003). Abnormal Spermatazoa in the Ejaculate: Aborti ve Apoptosis and Faulty Nuclear Remodelling During Spermatogenesis. *Reprod Biomed Online*.7,428-432 .
- SALEM, EA., SALEM, NA., MAAROUF, AM., SEREFOGLU, EC., HELLSTROM, WJ. Selenium and Lycopene Attenuate Cisplatin-induced Testicular Toxicity Associated With Oxidative Stress in Wistar Rats. *Urology* (2012); 79(5): 1184-1186.
- SANCAK ,B., CUMHUR, M., (2004). *Fonksiyonel Anatomi (Baş-Boyun ve İç Organlar)*,.ODTÜ Yayıncılık, ISBN, 975, 7064-14-9 Ankara.
- SCAGLİONE, F., WEİSER, K., &ALESSANDRİA , M.,(2001). Effects of Thestandardised Ginseng Extract G115® In Patients With Chronic Bronchitis. *Clinical Drug Investigation*, 21(1), 41-45.

- SCHILSKY, R.L., LEWIS, B.J., SHERINS, R.J., YOUNG, R.C., Gonadal Dysfunction In Patients Receiving Chemotherapy for Cancer. *Ann Intern Med.* (1980); 93(1-part-1):109-114.
- SEELEY, R.R., STEPHENS, T.D. at Tate, P., (1999). *Essential of Anatomy and Physiology*, 3rd Edition, MC Graw Hill, North America.
- SEN, S., CHAKRABORTY, R., SRIDHAR, C., REDDY, YSR., De, B., Free Radicals, Antioxidants, Diseases and Phytomedicines: Current Status and Future Prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* (2010); 3(1):91-100.
- SEN, S., CHAKRABORTY, R., The Role of Antioxidants in Human Health. *American Chemical Society, Oxidative Stres: Diagnostics, Prevention and Therapy*, (2011). Chapter 1: 1-37.
- SHEIK-HAMOND, D., CACINI, W., BUCKLEY, AR, ISAAC, J., TRUONG, LD., TSAO, CC., KISHORE, BK. Cellular and Molecular Studies on Cisplatin – Induced Apoptotic Cell Death in Rat Kidney. *Arch Toxicol* (2004); 78: 147-155.
- SHIN, J.H., KIM, G.H., KIM, Y.H., KIM, K.S., LIM, J.S., Effect of Korean Red Ginseng on Testicular Tissue Injury after Torsion and Detorsion, (2010), *Korean Journal of Urology*, 51.11.794.
- SHIN, H.Y., JEONG, H.J., AN, H.J., HONG, S.H., UM, J.Y., SHIN, T.Y., KUSON, S.J., JEE, S.Y., SEO, B.II, SHIN, S.S., YANG, D.C., & KIM, H.M., (2006). The Effect of Panax Ginseng On Focedim Mobility Time ve Immune Function In Mice, *Indian Journal of Medical Reseach*, 124(2), 199-206.
- SHINDE, A., GANU, J., NAIK, P., Effect of Free Radicals & Antioxidants on Oxidative Stres: A Review, *J Dent Allied Sci.* (2012); 1(2):63-66.
- SIEGEL, R.K., (1979). Ginseng Abuse Syndrome, Problems With the Panacea. *Jama*, 241(15):1614-1615.
- SIEGEL, R.L., MILLER, K.D., JEMAL, A., Cancer Statistics, (2015), *CA Cancer J., Clin* (2015); 65(1): 5-29.
- SNYDER, SH., BARANANO, D.E., Heme Oxygenase: A Font of Multiple Messengers. *Neuropsychopharmacology.* (2001); 25(3):294-298.
- SÖNMEZER, M., OKTAY, K., (2004). Fertility Preservation in Female Patients, *Hum Reprod Update* 10; 251-266 p.
- STALEY, K., BLASCHKE, A.J., CHUN, J., (1997). Apoptotic DNA Fragmentation is Detected by a Semiquantitative Ligation-Mediated PCR of Blunt DNA Ends. *Cell Death and Differentiation*, 4: 66-75 .
- ŞAHİNTÜRK, V., GÜÇLÜ, C. at BAYCU, C., (2007). Protective Effects of Vitamin E on Ethane Dimethane Sulfonate-Induced Testicular Toxicity In Rats, *Asian J. Androl.*, 9, 1, 117–124 s.
- ŞENER G., YEĞEN BERRAK Ç., İskemi Reperfüzyon Hasarlı Klinik Gelişim Dergisi. 2009; 22: 5-13.

- TAPANAINEN, J.S., TILLY, J.L., VÍHKO, K.K., HSUEH, A.J.W., (1993). Hormonal Control of Apoptotic Cell Death in the Testis: Gonadotropins and Androgens as Testicular Cell Survival Factors, *Mol Endocrinol*, 7: 643-650 p.
- THENESHKUMAR, S., LORITO, G., GIORDANO, P., PETRUCCELLI, J., MARTINI, A., HATZOPOULOS, S., Effect of Noise Conditioning on Cisplatin-Induced Ototoxicity : A Pilot Study. *Med Sci Monit* (2009); 15: BR173-177.
- TÜRK, G., ATEŞŞAHİN, A., SÖNMEZ, M., ÇERİBAŞI, A.O., YÜCE, A., Improvement of Cisplatin-Induced Injuries To Sperm Quality, the Oxidant-Antioxidant System, and the Histologic Structure of the Rat Testis By Ellagic Acid. *Fertil Steril*.(2008); 89(5):1474-1481.
- TÜRKER, F.A., KAYAALP, S.O., (2002). *Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar*, (Editör: Kayaalp, S.O.) Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Feryal Matbaacılık, Ankara, 380-415 s.
- TÜRKİYE İSTATİSTİK YILLIĞI, (2004). T.C. Başbakanlık Devlet İstatistik Enstitüsü.
- UEHARA, T., WATANABE, IT., ITOH, F., INOVNE, S., KOSHIDA, H., NAKAMURA, M., YAMATE, J., MARUYAMA, T., Nephrotoxin of a Novel Anti Neoplastic Platinum Complex, Nedaplatin: a Comparative Study With Cisplatin in Rats. *Arch Toxicol* (2005); 79: 451-460.
- USTA, A., (2005). *Leptinin Yenidoğan Sıçanların Testis Germ Hücrelerine Etkisinin Işık Mikroskopi Düzeyinde İncelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Denizli.
- WAHHAB, A.A., KHALİL, W.K.B., AHMED, A.K., PARK, H.M., The Inhibitory Effects of Garlic and Panax Ginseng Extract Standardized With Ginsenoside Rg3 on the Genotoxicity, Biochemical, and Histological Changes Induced by Ethylenediaminetetraacetic Acid in Male Rats, (2008), *Genotoxicity and Carcinogenicity*, 82, 183-195p.
- WANG, D., LIPPART, S.J., (2005). Cellular Processing of Platinum Anticancer Drugs, *Nat Rev Drug Discov*, 4: 307-320 p.
- YANG, W., PARK, S.Y., KİM, H.M., PARK, E.H., PARK, S.K. and Chang M.S., (2011). Effects of Panax Ginseng on Glial Cell-derived Neurotrophic Factor (GDNF) Expression and Spermatogenesis in Rats, *Phytotherapy. Research*, 25, 308–311p.
- YEON, S., KİM, W., WEE, J., CHOİ, J. AND KİM, S.K., 2004, Panax Ginseng Improves Survival and Sperm Quality in Guinea Pigs Exposed to 2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo-p-dioxin, *Bju International*, 94 , 663 – 668p.
- YILDIRIM, N.C., KANDEMİR, F.M., BENZER, F., Benefical Effects of Grape Seed Extract Againsts Cisplatin-Induced Testicular Damage In Rabbits. *Dig J Nanomater Biostruct*. (2011); 6(1):155-159.
- YILMAZ, İ., ÇEK, M., (2005). *Erişkin Ratlarda Deneysel Varikozel Oluşturulması Sonrası Testislerde Germ Hücrelerinde Apoptozis Düzeylerinin Yükselmesi ve Yükselmiş Olan Apoptozisin Varikoselektomi Sonrası Gerileme Düzeyi ve Süresinin TUNEL Yöntemi ile Değerlendirilmesi*. Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Taksim Eğitim ve Araştırma Hastanesi Üroloji Kliniği, İstanbul.

YIN, Y., HAWKINS, K.L., DEVVOLF, W.C., MORGANTALER, A., (1997). Heat Stress Causes Testicular Germ Cell Apoptosis in Adult Mice, *J Androl.*, 18:159-165 p.

ZHANG, X., YAMOMATO, N., SORAMATO, S., TAKENAKA, I. Cisplatin-induced Germ Cell Apoptosis in Mouse Testes. *Arch Androl* (2001); 46(1): 43-49.

ZHENGWEI, Y., MCLACHLAN, R.I., WILLIAM, J.B. at WREFORD, N.G., (1997). Quantitative (Stereological) Study of Normal Spermatogenesis in the Adult Monkey (*Macaca fascicularis*), *Journal of Andrology*, 18, 681-687p.

ZHENGWEI, Y., WREFORD, N.G., ROYCE, P. at KRETZER, D.M., (1990). A Quantitative Study of Spermatogenesis in the Developing Rat Testis, *Biology of Reproduction*, 43, 629-635 p.

ZUNINO, F., PRATESI, G., MICHELONI, A., CAVALETTI, E., SALA, F., TOFANETTI, O., Protective Effect of Reduced Glutathione Against Cisplatin Induced Renal and Systemic Toxicity and Its Influence on the Therapeutic Activity of the Antitumor Drug. *Chem Biol Interact* (1989); 70:89-101.

ÖZGEÇMİŞ

1991 yılında Afyonkarahisar ilinde doğdum. İlk ve Ortaokul eğitimimi Erkmen kasabası, Erkmen İlköğretim Okulunda, lise eğitimimi, Afyonkarahisar Atatürk Lisesinde tamamladım. 2009 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölüm'ünde üniversite eğitime başladım. 2012-2013 yılları arasında Afyon Kocatepe Üniversitesi mikrobiyoloji laboratuvarında staj eğitimi alarak, 2014 yılında lisans eğitimimi bitirdim. Aynı yıl Afyonkarahisar Özel Telek Tüp Bebek Merkezinde Biyolog olarak çalışma hayatına başladım. 2015-2016 yılları arasında Pedagojik Formasyon Eğitimini tamamlayarak, 2016 yılında Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'ne bağlı Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim dalında yüksek lisans eğitime başladım.

