



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL KRİPTORŞİDİZM OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
MORİNGA OLEİFERA LAM EKSTRAKTININ (MOLE)
TESTİS ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Muhammetnur TEKAYEV
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ

İKİNCİ DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Abu Shameem MD. Saadat KHANDAKAR

Gaziantep

2018



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**DENEYSEL KRİPTORŞİDİZM OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA
MORİNGA OLEİFERA LAM EKSTRAKTININ (MOLE)
TESTİS ÜZERİNDEKİ ETKİSİ**

Muhammetnur TEKAYEV
YÜKSEK LİSANS TEZİ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ

İKİNCİ DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Abu Shameem MD. Saadat KHANDAKAR

Gaziantep

2018

DENEYSEL KRİPTORŞİDİZM OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA

MORİNGA OLEİFERA LAM EKSTRAKTININ (MOLE)

TESTİS ÜZERİNDEKİ ETKİSİ

Muhammetnur TEKAYEV

Tez Savunma Tarihi : 23.02.2018

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı

Prof. Dr. Mehmet TARAKÇIOĞLU

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Bu çalışmanın bir “Yüksek Lisans” derecesi için uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ

Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Yrd. Doç. Dr. Nuray BOSTANCİERİ

Tez Danışmanı

Yrd. Doç. Dr. Abu Shameem MD. Saadat KHANDAKAR

İkinci Tez Danışmanı

Bu tez tarafımda okunmuş, kapsamı ve niteliği açısından bir “Yüksek Lisans” tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Jürisi

İmzası

Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ

.....

Yrd. Doç. Dr. Nuray BOSTANCİERİ

.....

Prof. Dr. Şahin A. SIRMALI

.....

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazılması sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

23.02.2018

Muhammetnur TEKAYEV

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın yürütülmesi, değerlendirilmesi ve yorumlanmasındaki her aşamada bilgi ve tecrübeleriyle bana daima destek olan danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ'ye ve Western Blot çalışmasının değerlendirilmesinde bana destek olan ikinci danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Abu Shameem MD. Saadat KHANDAKAR'a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Tezimde sıçanlara kriporşit modelini oluşturmak ve tüm histolojik çalışmalarda bilgi ve tecrübeleriyle bana destek olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet TÜRKER'e teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim boyunca bana emek ve değer veren kıymetli hocalarım: Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ'ye ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Ayhan ERALP'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım boyunca daima yanımda olup bana destek veren tüm Histoloji - Embriyoloji ABD öğrencilerine ve tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nin Veteriner Hekimi Sayın Ahmet Sarper BOZKURT'a, Zootechnist Sayın Ahmet Faruk DEMİR'e ve tüm çalışanlarına teşekkür ederim.

Tezimin biyokimyasal çalışmalarında bana yardımcı olan Gaziantep Üniversitesi Tıbbi Biyokimya ABD öğretim üyesi Doç. Dr. Hülya ÇİÇEK ve Araştırma Görevlisi Hasan ULUSAL'a teşekkür ederim.

Tezimi maddi olarak destekleyen Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi Komisyonu Başkanlığı'na teşekkür ederim.

Bu tezimi rahmetli babam Muhammetnazar TEKAYEV'a ithaf ediyorum. Ayrıca hayatımın her aşamasında maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili annem Ogultaş TEKAYEV'a ve abim Annanur TEKAYEV'a çok teşekkür ederim.

Son olarak da tüm kalbiyle bana hep destek olan, kararlarımda beni yüreklendiren, tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve varlığı beni mutlu eden hayatımın en değerli parçası olan eşim Betül TEKAYEV'a fedakarlığı, sevgisi ve kuşkusuz güveni için teşekkür etmeyi bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

BEYAN.....	i
TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
SİMGE VE KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
TABLolar DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ	xi
ÖZET	1
ABSTRACT.....	2
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
2. GENEL BİLGİLER	4
2. 1. Testis Anatomisi	4
2. 2. Testis Embriyolojisi.....	6
2. 3. Testis Histolojisi	12
2. 3. 1. Seminifer tübül epitel	12
2. 3. 1. 1. Miyoid hücreler.....	14
2. 3. 1. 2. Sertoli hücreleri.....	14
2. 3. 1. 3. Spermatogonyumlar	16
2. 3. 1. 4. Primer ve sekonder spermatositler.....	16
2. 3. 1. 5. Spermatidler	17
2. 3. 2. İnterstisyel alan.....	17
2. 3. 2. 1. İnterstisyel bağ dokusu	18
2. 3. 2. 2. Leydig hücreleri.....	18
2. 3. 3. Spermatogenez	18
2. 3. 3. 1. Spermatositogenez	19
2. 3. 3. 2. Mayoz bölünme	20
2. 3. 3. 3. Spermiyogenez.....	20
2. 4. Testis Histofizyolojisi	21
2. 5. Kriptorşidizm	25

2. 5. 1. Kriptorşidizmin infertilite ile ilişkisi	27
2. 5. 2. Kriptorşidizmin testis kanseri ile ilişkisi	27
2. 6. Oksidatif Stres.....	28
2. 7. Serbest Radikaller	28
2. 8. Reaktif Oksijen Türleri (ROT/ROS).....	29
2. 9. Apoptozis	30
2. 10. Isı Şok Protein (İŞP/HSP).....	32
2. 11. Antioksidanlar.....	33
2. 12. Moringa Oleifera.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3. 1. Araştırmanın Amacı.....	36
3. 2. Deney Hayvanları	36
3. 3. Grupların Oluşturulması	37
3. 4. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü.....	37
3. 5. Cerrahi Yöntem.....	38
3. 6. Dokuların Alınması.....	42
3. 7. Testis Ağırlıklarının Ölçümü	43
3. 8. Testis Ağırlık İndeksinin Hesaplanması	43
3. 9. Biyokimyasal Analizler	43
3. 9. 1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini.....	43
3. 9. 2. Malondialdehit (MDA) aktivite tayini.....	45
3. 9. 3. Total protein (TP) aktivite tayini	46
3. 10. Histopatolojik İncelemeler	46
3. 10. 1. Bouin çözeltilisinin hazırlanması	46
3. 10. 2. Işık mikroskobu için dokuların hazırlanması	47
3. 10. 3. Kesitlerin alınması ve boyanması.....	48
3. 11. İmmünohistokimyasal İncelemeler	49
3. 11. 1. Apoptozisin değerlendirilmesi.....	49

3. 12. Western Blot	50
3. 13. Tübül Çapı (TÇ) ve Tübül Epitel Kalınlığının (TEK) Ölçümü	57
3. 14. İstatistiksel Analizler	57
4. BULGULAR.....	58
4. 1. Işık Mikroskobu Bulguları.....	58
4. 2. İmmünohistokimya Bulguları	68
4. 3. Western Blot Bulguları	74
4. 4. Biyokimyasal Bulgular	78
4. 4. 1. SOD (Süperoksit Dismutaz)	78
4. 4. 2. MDA (Malondialdehit).....	80
4. 4. 3. TP (Total Protein).....	83
4. 5. Morfometrik Bulgular.....	85
4. 5. 1. Vücut ağırlığı.....	85
4. 5. 2. Testis ağırlığı.....	87
4. 5. 3. Testis ağırlık indeksi (TAİ)	89
4. 5. 4. Seminifer tübül çapı	91
4. 5. 5. Seminifer tübül epitel kalınlığı.....	96
4. 5. 6. Perivasküler fibrozis	100
4. 5. 7. Apoptozisin değerlendirilmesi.....	104
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	107
KAYNAKLAR	115
EKLER.....	120
ÖZGEÇMİŞ	121

SİMGİ VE KISALTMALAR

ABP: Androjen Bağlayıcı Protein

aER: Granülsüz Endoplazmik Retikulum

AİF: Apoptoz İndükleyici Faktör

APAF-1: Apoptotik Proteaz Aktive Edici Faktör

CAD: Kaspazla–Aktifleşen Deoksiribonükleaz

CAT: Katalaz

DHT: Dihidrotestosteron

DNA: Deoksiribo Nükleik Asit

FSH: Folikül Uyarıcı Hormon

GNDF: Gliyal Hücre Hattı Türevli Nörotrofik Faktör/Glial Cell Line-Derived Neurotrophic Factor

gER: Granüllü Endoplazmik Retikulum

Gn-RH: Gonadotropin-Serbestletici Hormon

GPx: Glutasyon Peroksidaz

GR: Glutasyon Redüktaz

H-E: Hematoksilen-Eozin

HSP70/İŞP70: Heat Shock Protein 70/Isı Şok Protein 70

ICAD: Kaspazla–Aktifleşen Deoksiribonükleaz İnhibitörü

kDa: Kilodalton

LH/ICSH: Luteinizan Hormon–Luteinleştirici Hormon /İnsterstisyel Hücre Uyarıcı Hormon

MDA: Malondialdehit

MIF: Müllerian-İnhibe Edici Faktör

MOLE: Moringa Oleifera Lam Ekstraktı

nm: Nanometre

nmol/mg: Nanomol/Milligram

PAS: Periyodik Asit - Schiff

PBS: Fosfat Tamponlu Solüsyonu

RNS/RNT: Reactive Nitrogen Species/Reaktif Nitrojen Türleri

ROS/ROT: Reactive Oxygen Species/Reaktif Oksijen Türleri

rpm: Rotations Per Minute/Dakikadaki Devir Sayısı

SCF: Kök Hücre Faktörü/Stem Cell Factor

SOD: Süperoksit Dismutaz

SRY: Sex-Determining Region/Cinsiyet-Belirleyici Bölge

TAİ: Testis Ağırlık İndeksi

TDF: Testis Belirleyici Faktör

TP: Total Protein

TRI: Masson's Trikróm

u/g: Unit/Gram

u/mg: Unit/Milligram

µg/mL: Mikrogram/Mililitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2. 1. Erkek üreme sistemi (8).....	4
Şekil 2. 2. Testisin anatomik yapısı (10).	5
Şekil 2. 3. Erkek (D, F) ve dişi (C, E) embriyonun 6. Haftadaki gonadal gelişimi (8)	7
Şekil 2. 4. Testisin iniş basamakları (14).....	11
Şekil 2. 5. Seminifer tübül epitel yapısı (10).	13
Şekil 2. 6. Sertoli hücresinin ve komşu spermatogenik hücreler (10).	15
Şekil 2. 7. Spermatidlerin lokalizasyonu (10).....	17
Şekil 2. 8. Spermatogenik hücre serisini gösteren diyagram (10).	19
Şekil 2. 9. Farklı yaş dönemlerinde testosteron ve sperm konsantrasyonu (16).....	23
Şekil 2. 10. Erkek hipotalamus - hipofiz - testis ekseninde geri bildirim düzenlenmeleri (16).	25
Şekil 2. 11. Nekroz ve Apoptozis arasındaki farklar (52).	31
Şekil 4. 1. HSP70 ekspresyon değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	77
Şekil 4. 2. SOD değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik	80
Şekil 4. 3. MDA değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	83
Şekil 4. 4. Testis TP değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	84
Şekil 4. 5. Kan TP değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	85
Şekil 4. 6. Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik	86
Şekil 4. 7. Testis ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	89
Şekil 4. 8. Testis ağırlık indeksinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	90
Şekil 4. 9. Sol testis tübül çapının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik....	94
Şekil 4. 10. Sağ testis tübül çapının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik .	94
Şekil 4. 11. Grup içi sol ve sağ testis tübül çapının karşılaştırılmasını gösteren grafik .	95
Şekil 4. 12. Sol testis tübül epitel kalınlığının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	99
Şekil 4. 13. Sağ testis tübül epitel kalınlığının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	99
Şekil 4. 14. Grup içi sol ve sağ testis tübül epitel kalınlıklarının karşılaştırılmasını gösteren grafik	100
Şekil 4. 15. Sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik.....	103
Şekil 4. 16. Sol ve sağ testis apoptozisin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik	106

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa No

Tablo 2. 1. Nekroz ve Apoptozisin karşılaştırılması (48, 53).....	32
Tablo 2. 2. Antioksidanların sınıflandırılması (67).	34
Tablo 3. 1. Sıçanlara MOLE Uygulama Programı	37
Tablo 3. 2. Doku takibi cihazının protokolü	47
Tablo 3. 3. Hematoksilen - Eosin (H-E) Protokolü	48
Tablo 3. 4. Masson's Trikrom (TRI) Boya Solüsyonu.....	48
Tablo 3. 5. Masson's Trikrom (TRI) Protokolü	49
Tablo 3. 6. Sample Buffer.....	51
Tablo 3. 7. Running Buffer (ph 8,3)	52
Tablo 3. 8. Transfer Buffer	53
Tablo 3. 9. 10X TBS - TBST	54
Tablo 3. 10. Blocking Buffer	55
Tablo 4. 1. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis dokularının HSP70 ekspresyon değerleri (Ortalama $\pm$ SD)	75
Tablo 4. 2. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis dokularının HSP70 ekspresyon değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması	76
Tablo 4. 3. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis SOD değerleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri	78
Tablo 4. 4. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis SOD değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	79
Tablo 4. 5. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis MDA değerleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri	81
Tablo 4. 6. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis MDA değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması.....	82
Tablo 4. 7. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis TP değerleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri	84
Tablo 4. 8. Deney gruplarına ait kan örneklerinin TP değerleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri	85
Tablo 4. 9. Deney gruplarına ait sıçanların vücut ağırlıkları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri.....	86
Tablo 4. 10. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis ağırlıkları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri	87
Tablo 4. 11. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılması.....	88
Tablo 4. 12. Deney gruplarına ait sıçanların testis ağırlık indeksi (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değeri	89
Tablo 4. 13. Testis ağırlık indeksinin gruplar arası karşılaştırılması.....	90

Tablo 4. 14. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis tübül çapları.....	91
Tablo 4. 15. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis tübül çaplarının gruplar arası ve grup içi karşılaştırılması	93
Tablo 4. 16. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis tübül epitel kalınlığı (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası kar�ıla�tırmanın P değerleri	96
Tablo 4. 17. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis tübül epitel kalınlığının gruplar arası ve grup içi karşılaştırılması.....	98
Tablo 4. 18. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıkları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası kar�ıla�tırmanın P değerleri	101
Tablo 4. 19. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılması	102
Tablo 4. 20. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis apoptozis değerleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası kar�ıla�tırmanın P değerleri	104
Tablo 4. 21. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis apoptozisin gruplar arası ve grup içi karşılaştırılması.....	105

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa No

Resim 2. 1. Tek taraflı kriptorşidizm (18).	26
Resim 2. 2. Moringa Oleifera bitkisi ve yaprağı.....	35
Resim 3. 1. Çalışmada kullanılan sıçanlardan örnekler.	36
Resim 3. 2. Deride kesi yapıldıktan sonra ortaya çıkan gubernakulum.	38
Resim 3. 3. İzole edilen gubernakulum.	39
Resim 3. 4. Gubernakulumun abdominal kavite içine ters-yüz edilip itildikten sonraki görünümü.	39
Resim 3. 5. Gubernakulum dikildikten sonraki görünüm.	40
Resim 3. 6. İnguinal bölgedeki kesi kapatıldıktan sonraki görünüm.....	40
Resim 3. 7. “İnguinoskrotal yöntemle” oluşturulmuş tek taraflı kriptorşidizm modeli sonrasında annesinin yanına bırakılmış yavru sıçanlar.....	41
Resim 3. 8. “İnguinoskrotal yöntemle” oluşturulmuş kriptorşidizm modelinde sağ testisin inmiş görünümü. (Tam çekim).....	41
Resim 3. 9. “İnguinoskrotal yöntemle” oluşturulmuş kriptorşidizm modelinde sağ testisin inmiş görünümü. (Testise odaklanmış çekim).....	42
Resim 3. 10. NanoDrop cihazı.....	51
Resim 3. 11. SensoQuest Labcycler cihazı.....	52
Resim 3. 12. Proteinlerin yürütülmesi.	53
Resim 3. 13. Jeldeki proteinlerin PVDF (polyvinylidenedifluoride) membrana aktarılması (transferi).....	54
Resim 3. 14. Fusion FX VİBER LOURMAT cihazı.....	56
Resim 3. 15. ImageJ 1.51K Analiz Programı.	57
Resim 4. 1. Kontrol grubu sol testis ışık mikroskopik görüntüsü (H-E, 20×).....	60
Resim 4. 2. Kontrol grubu sağ testis ışık mikroskopik görüntüsü (H-E, 20×)	60
Resim 4. 3. Kripto Kontrol grubu sol testis (* interstisyel ayrılma, ▲ ödem, ↔ bazal membrandan ayrılma) H-E, 20×	61
Resim 4. 4. Kripto Kontrol grubu sol testis (* interstisyel ayrılma, → lümene hücre dökülmesi) H-E, 20×.....	61
Resim 4. 5. Kripto Kontrol grubu sol testis (→ perivasküler fibrozis) TRI, 20×.....	62
Resim 4. 6. Kripto Kontrol grubu sağ testis (* interstisyel ayrılma, ▲ ödem, ↔ bazal membrandan ayrılma) H-E, 20×	62
Resim 4. 7. Kripto Kontrol grubu sağ testis (→ perivasküler fibrozis) TRI, 20×.....	63
Resim 4. 8. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sol testis (▲ ödem) H-E, 20×	63
Resim 4. 9. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sol testis (→ perivasküler fibrozis)	64
Resim 4. 10. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sağ testis (▲ ödem) H-E, 20×.....	64
Resim 4. 11. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sağ testis (→ perivasküler fibrozis)	65
Resim 4. 12. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sol testis (H-E, 20×)	65

Resim 4. 13. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sol testis (TRI, 20×)	66
Resim 4. 14. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sağ testis (H-E, 20×)	66
Resim 4. 15. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sağ testis (TRI, 20×).....	67
Resim 4. 16. Tonsil Negatif Kontrol boyama (Caspase 3, 20×)	69
Resim 4. 17. Tonsil Pozitif Kontrol boyama (Caspase 3, 20×)	69
Resim 4. 18. Kontrol grubu sol testis (Caspase 3, 20×).....	70
Resim 4. 19. Kontrol grubu sağ testis (Caspase 3, 20×).....	70
Resim 4. 20. Kripto Kontrol grubu sol testis (Caspase 3, 20×)	71
Resim 4. 21. Kripto Kontrol grubu sağ testis (Caspase 3, 20×)	71
Resim 4. 22. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sol testis (Caspase 3, 20×).....	72
Resim 4. 23. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sağ testis (Caspase 3, 20×)	72
Resim 4. 24. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sol testis (Caspase 3, 20×).....	73
Resim 4. 25. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sağ testis (Caspase 3, 20×)	73
Resim 4. 26. HSP70/IŞP70 ve GAPDH Protein bantları.....	75

ÖZET

DENEYSEL KRIPTORŞİDİZM OLUŞTURULMUŞ SIÇANLARDA MORİNGA OLEİFERA LAM EKSTRAKTININ (MOLE) TESTİS ÜZERİNDEKİ ETKİSİ.

Muhammetnur TEKAYEV

Yüksek Lisans Tezi, Histoloji - Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ

İkinci Tez Danışmanı: Yrd. Doç. Dr. Abu Shameem MD. Saadat KHANDAKAR

Şubat 2018, 124 sayfa

Moringa Oleifera Lam Ekstraktı (MOLE) *Moringaceae* ailesine ait antioksidan açısından çok zengin bir bitkidir. Ayrıca bu bitki antimikrobiyal, antidiyabetik, antikanserojenik, hepatoprotektif, hipotansif ve kardiyoprotektif etkilerinin yanı sıra bitkinin cinsel potansiyeli arttırdığı da bilinmektedir. Kriptorşidizm sonucu ROS'un üretilmesiyle ve oksidatif stresin artmasıyla beraber sperm DNA bozukluğu ve germ hücre apoptozisi ile sonuçlanarak infertiliteye neden olmaktadır. Hücreyi stresin zararlı etkilerine karşı korumak için birçok yolaklar vardır. Bunlardan biri de protein ailesi olan Isı Şok Proteinlerin (İŞP/HSP) sentezidir. HSP sentezi, ısı şoku, kimyasal toksisite, çevresel ve fizyopatolojik streslerden etkilenen hücrelerde artmaktadır. Ayrıca kriptorşidizm sonucu HSP70 protein düzeyinin arttığı da bilinmektedir. Bu çalışmada, deneysel kriptorşidizm oluşturulmuş sıçan testislerinde Moringa Oleifera Lam Ekstraktının (MOLE) iki farklı dozda antioksidan etkileri araştırıldı.

Çalışmamızda 15-17 günlük 42 adet erkek Sprague Dawley cinsi sıçan 4 gruba ayrıldı. Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE. Sıçanlar 15. gün sakrifiye edildi. Alınan testis dokularında ışık mikroskopik incelemelerin yanı sıra SOD, MDA ve TP biyokimyasal parametrelerine bakıldı. Ayrıca Western Blot yöntemi ile HSP70 konsantrasyonuna ve immünohistokimya yöntemi ile apoptozise bakıldı.

Çalışmamızın sonucunda elde edilen bulgular kriptorşidizm sonrasında interstisyel alandan kopma, germ hücrelerin bazal membrandan ayrılması, germ hücrelerin lümene dökülmesi, perivasküler fibrozis, ödem, HSP70 ve apoptozisin arttığını gösterdi ancak tedavi amaçlı verdiğimiz Kripto + 800mg/kg MOLE grubunda ise bu patolojik hasarların azaldığı gözlemlendi.

Anahtar kelimeler: Kriptorşidizm, Moringa Oleifera, HSP70, Caspase 3

ABSTRACT

EFFECTS OF MORINGA OLEIFERA LAM EXTRACT (MOLE) IN EXPERIMENTALLY INDUCED CRYPTORCHIDISM RAT TESTIS.

Muhammetnur TEKAYEV

Master of Science Thesis, Department of Histology - Embryology

Supervisor: Asis. Prof. Dr. Nuray BOSTANCIERI

Second Supervisor: Asis. Prof. Dr. Abu Shameem MD. Saadat KHANDAKAR

February 2018, 124 pages

Moringa Oleifera Lam Extract (MOLE) is a member of *Moringaceae* family. Also the plant known as to have a high antioxidant potency and have included like antimicrobial, antidiabetic, hypocholesterolemic, anticancer, hepatoprotective, hypotensive and cardioprotective activities. It has been also known that the plant increases a sexual potential. Reactive Oxygen Species (ROS) were increased in cryptorchidism and therefore cause infertility by damaging sperm DNA and germ cell apoptosis. There are several pathways to protect cells against the deleterious effects of cellular stress. One of them is the synthesis of a protein family called by Heat Shock Proteins (HSP). HSP synthesis is increased in cells, which is affected by heat shock, chemical toxicity, environmental and pathophysiological stress. Additionally, it is also known that HSP70 protein levels are increased due to cryptorchidism. In the present study was investigated the antioxidant effects of two different doses of Moringa Oleifera Lam Extract (MOLE) on experimental induced cryptorchit testes of rats.

In our study 15-17 days old 42 Sprague Dawley male rats were used and separated into the 4 groups. Control, Crypto Control, Crypto + 400mg/kg MOLE, Crypto + 800mg/kg MOLE. Rats were sacrificed in 15'th day. Beside the light microscopic examinations we analysed the SOD, MDA and TP biochemical parameters. Also we analysed the concentration of the HSP70 with Western Blot and for apoptosis with immunohistochemistry technique.

The result of the our study are show that after the cryptorchidism there is ruptures from interstitial spaces, separation of the germ cells from basal membrane, falls of the germ cells to the lumen of tubule, perivascular fibrosis, oedema, increasing of the HSP70 and apoptosis. Also in the Crypto + 800mg/kg MOLE treated group we investigated that all the patologic damages were decreased.

Key Words: Cryptorchidism, Moringa Oleifera, HSP70, Caspase 3

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kriptorşidizm, testislerin doğumda skrotuma inmemesi ile karakterize olan konjenital bir defekt olup genellikle infertilite sorunu ile birlikte seyretmektedir. Kriptorşidizm sonucu sperm konsantrasyonunda ve motilitesinde azalma olduğu; ve "Reactive Oxygen Species / Reaktif Oksijen Türlerinin" (ROS) üretilmesi ve buna bağlı oksidatif stresin artmasıyla beraber germ hücre apoptozisi ile sonuçlandığı bildirilmiştir (1, 2).

Hücrel stresin zararlı etkilerine karşı hücreyi korumak için birçok süreç vardır. Bunlardan biri de protein ailesi olan "Heat Shock Proteins/Isı Şok Proteinleri" (HSP) sentezidir. HSP, sitoplazmada, mitokondride ve endoplazmik retikulumda lokalizedir. HSP sentezi, ısı şoku, kimyasal toksisitesi, çevresel ve fizyopatolojik streslerden etkilenen hücrelerde artmaktadır. Yapılan çalışmalarda, kriptorşidizm sonucu HSP70 protein düzeyinin arttığı gösterilmektedir (3).

Günümüzde bitkilerin tıp alanında tedavi amaçlı kullanılması ile ilgili birçok çalışma bulunmaktadır. *Moringaceae* ailesine ait *Moringa Oleifera* Lam bitkisi çoğunlukla tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişmekte olan değerli bir bitki türü olup Tayland'da yaygın olarak tüketilen bir bitkidir. Yaprakları son derece besleyici ve β -karoten, riboflavin, nikotinik asit, folik asit, piridoksin, protein, vitamin A, B, C ve E, amino asitler, çeşitli fenolik bileşikler ve mineraller açısından zengin bir kaynaktır (4, 5). Yüksek antioksidan potansiyeli olan bu bitki diğer in vivo çalışmalarda antimikrobiyal, antidiyabetik, antikanserojenik, hepatoprotektif, hipotansif ve kardiyoprotektif etkiler gösterdiği bildirilmiştir (2, 5-7). Ayrıca bu bitkinin cinsel potansiyeli arttırdığı da bildirilmiştir (4).

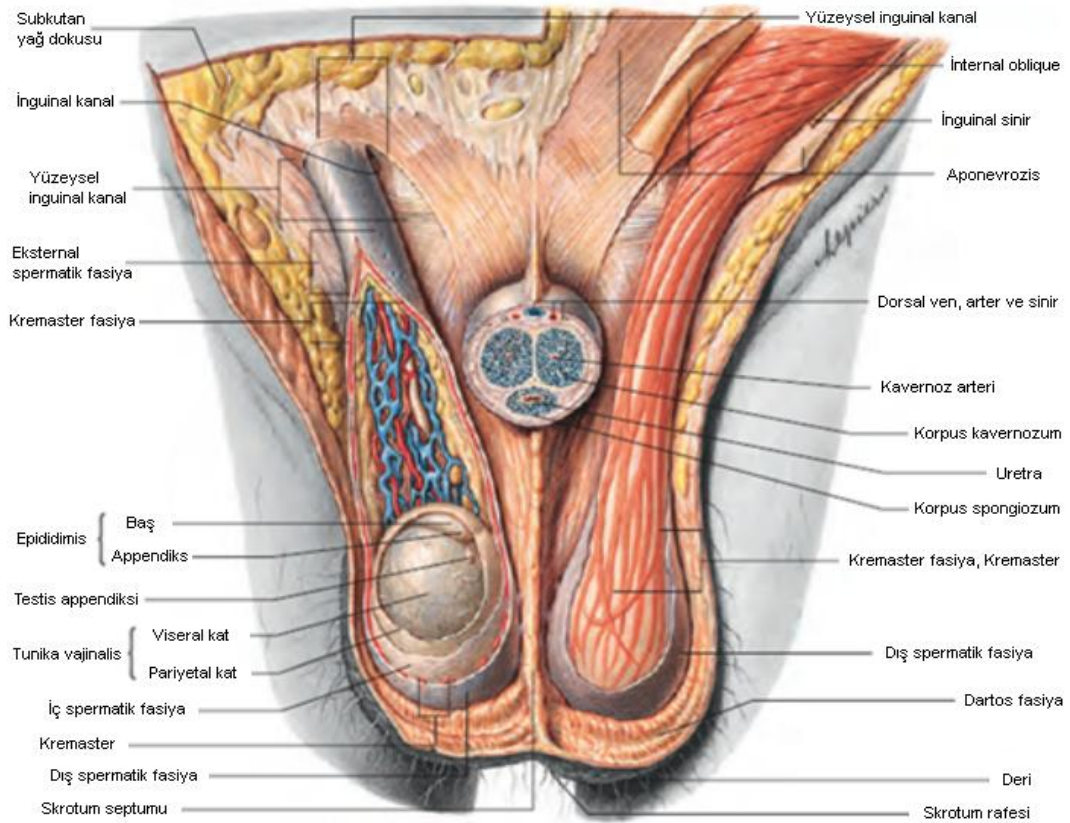
Bu çalışmada, deneysel yöntemle oluşturduğumuz tek taraflı kriptorşidizmin testiste oluşturduğu hasara karşı iki farklı dozdaki *Moringa Oleifera* Lam Ekstraktının (MOLE), HSP70 ekspresyonu ve germ hücre apoptozisi üzerindeki antioksidan etkileri histopatolojik, biyokimyasal ve Western Blot yöntemleri ile araştırılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. Testis Anatomisi

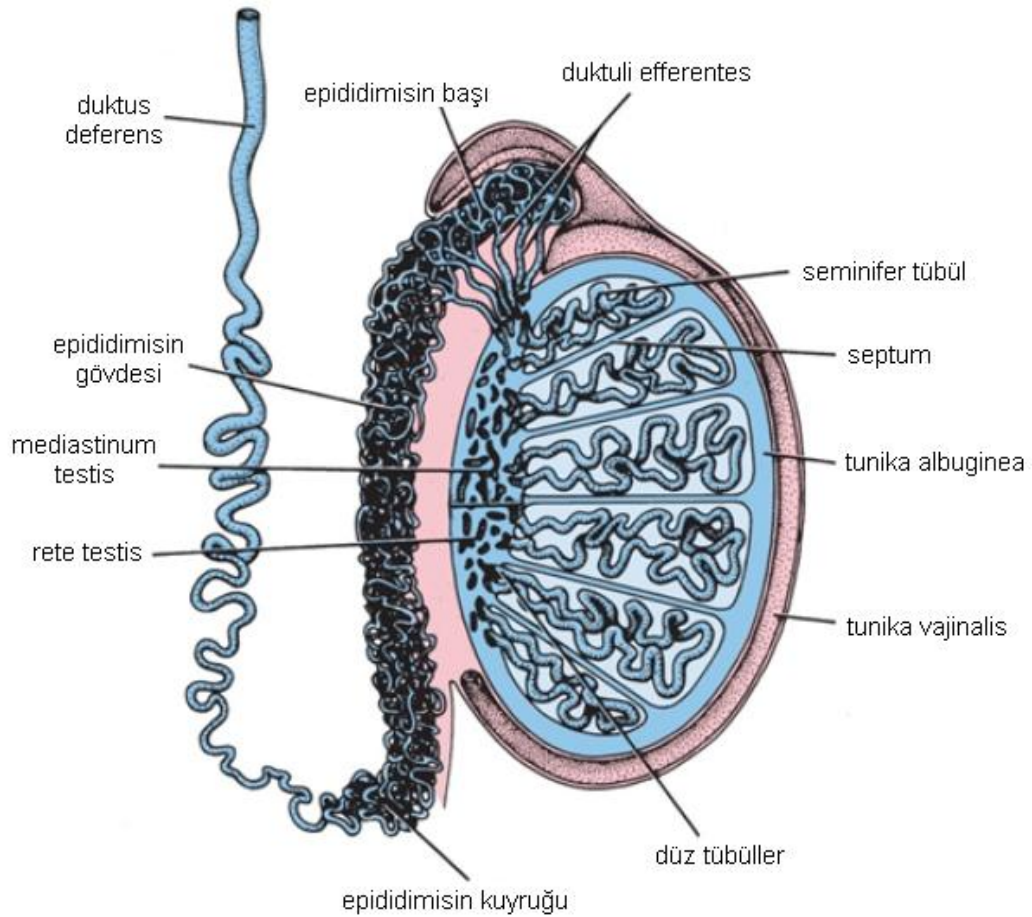
Yetişkin bir erkekte her bir testis 4-5 cm uzunlukta, 2-3 cm genişlikte, 3-4 cm (anteroposterior) ön-arka çapında ve 12-20 g. aralığında değişen ağırlıkta ovoid şekle sahip, sperm ve testosteron üretilmesinden sorumlu bir organdır. Testisler skrotumda spermatik kord aracılığıyla asılı vaziyette bulunmaktadır. Sol testis genellikle sağ testise göre daha aşağıda yerleşmektedir ve testislerin gündelik aktiviteleri esnasında çarpışmasını önlemektedir (8, 9).

Testislerin skrotumda yerleşimi skrotal derinin özellikleri ile ilişkilidir. Yanı sıra testiküler pampiniform pleksusun karşı-akım ısı değiştirme/ters yönde ısı değişim (termoregülasyon) mekanizması, testisleri 2-3 °C vücut sıcaklığının altında tutmaktadır (10).



Şekil 2. 1. Erkek üreme sistemi (8).

Testislerin çevresi üç kat sıkı kapsül ile sarılıdır: en içte tunika vasküloza, ortada tunika albuginea ve en dışta tunika vajinalis. Testisin arka kısmı epididimis ile bağlantı yapmaktadır ve bu nedenle sadece kısmen seroza ile kaplıdır. Burada tunika albuginea mediastinum testis oluşturmak için içeriye girinti yapmaktadır ve tunika vajinalis epididimisi sarmak için dışarı doğru çıkıntı yapmaktadır. Kan damarları, lenf damarları ve genital boşaltım kanalları testise mediastinumun içinden giriş ve çıkış yapmaktadır. Skrotum içerisinde testisler, fibröz medyan septumlar ile yaklaşık 250 adet piramidal bölmeye ayrılmaktadır. Bu piramidal bölmelere lobül adı verilmektedir ve her bir lobül, kıvrımlı birkaç seminifer tübüllerden oluşmaktadır. Her bir testiste toplamda uzunluğu 280 - 400 m. arasında olan 600-1200 seminifer tübül bulunmaktadır. (8, 10, 11).



Şekil 2. 2. Testisin anatomik yapısı (10).

2. 2. Testis Embriyolojisi

Kromozomal ve genetik cinsiyet, fertilizasyon (döllenme) ile belirlenir. X kromozomu taşıyan ovumun X veya Y kromozomu taşıyan sperm ile döllenmesine bağlıdır. X veya Y kromozomu taşıyan sperm fertilizasyonu sonucunda XX veya XY cinsiyet kromozomu kompleksi taşıyan embriyolar gelişir. Gelişimin 7. haftasına kadar gonadlar morfolojik olarak farklılaşmazlar. Yedinci haftaya kadar gonadların görünümü her iki cinsten de benzer izlenmektedirler ve bu nedenle gonadlar farklılaşmamış gonadlar olarak adlandırılır (12, 13).

Cinsiyetin belirlenmesi ve erkek fenotipinin gelişimi için Y kromozomu son derece önemlidir. Y kromozomunun kısa kolundaki "Cinsiyet Belirleme Bölgesi"nde (Sex-Determining Region) bulunan SRY geni Testis Belirleyici Faktör (TDF-Testis Determining Factor) için son derece önemlidir. SRY geni tarafından kodlanan Testis Belirleyici Faktör (TDF) testis gelişiminden ve farklılaşmasından sorumludur. Bu düzenleyici faktörün etkisi altında, gonadal kordonlar seminifer tübül primordiyumlarına farklılaşır. Cinsiyet belirlenmesinde Y kromozomunun yokluğu over gelişimi ile sonuçlanır (12).

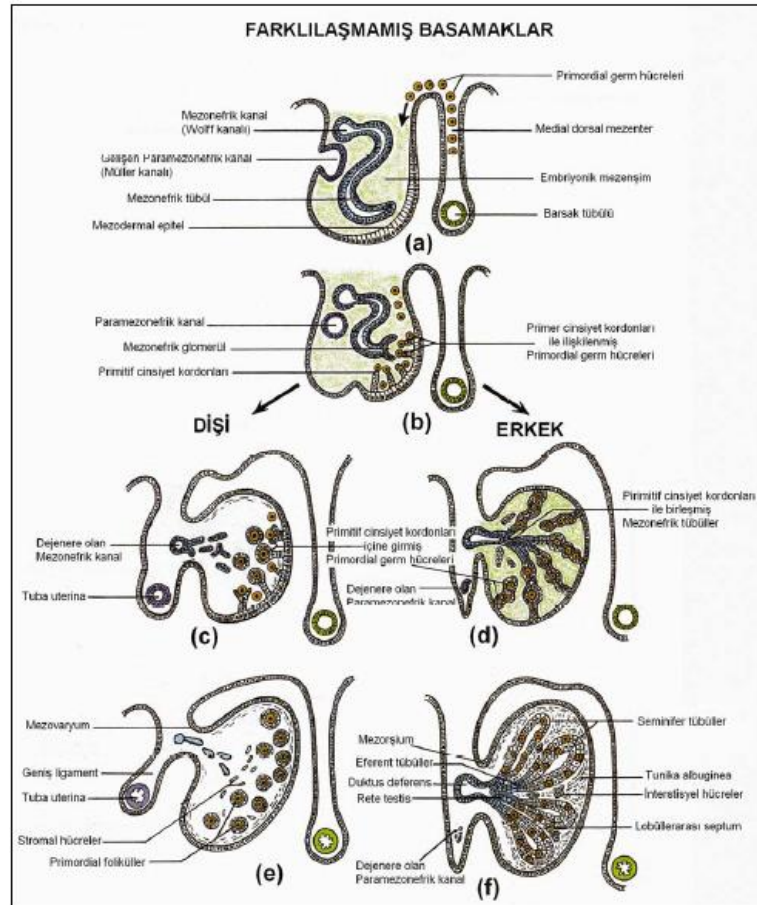
Testisler abdominal kavitenin posterior duvarında retroperitoneal olarak ürener sistem ile yakın ilişki halinde gelişirler. Gonadlar gelişirken üç kaynaktan köken alırlar:

- Ara mezoderm (mezenkimal doku), posterior abdominal duvardaki ürogenital kabartıları oluşturur, Leydig ve Miyoid hücrelerinin köken aldığı yerdir.
- Mezodermal epitel (mezotel), posterior abdominal duvardaki ürogenital kabartıları döşer; Sertoli hücrelerinin köken aldığı yerdir.
- Primordial germ hücreleri (en erken dönemdeki farklılaşmamış cinsiyet hücreleri), umbilikal keseden gelişmekte olan gonadlara göç ederler ve burada bölünerek spermatogonyumlara farklılaşırlar (10, 12).

Yuvarlak primitif cinsiyet hücreleri 3. haftanın sonları ve 4. haftanın başları arasında umbilikal kese duvarında, allantoisin başlangıç yerine yakın, endodermal hücreler arasında ortaya çıkarlar. Embriyonun katlanması sırasında, umbilikal kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine dahil olur. Bu sırada, primordial germ hücreleri, arka barsağın dorsal mezenterisi boyunca gonadal kabartılara göç ederler. 6. haftada

primordiyal germ hücreleri gonadal kabartı mezenşimi içerisine girerler ve gonadal kordonlara dahil olurlar (12).

Gonadal gelişimin başlangıç safhaları 5. haftada mezonefrozun medialinde mezotelyal kalınlaşmanın gelişiminden sonra ortaya çıkar. Bu epitelin ve altındaki mezenkimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde bir gonadal kabartı meydana gelir. Mezodermal epitelden gelişen parmak şeklindeki epitelyal kordonlar yani gonadal kordonlar, alttaki mezenkim içerisine doğru büyürler. Farklılaşmamış gonad artık, dışta yer alan korteks ve içte yer alan medulla'dan oluşmaktadır (12).



Şekil 2. 3. Erkek (D, F) ve dişi (C, E) embriyonun 6. Haftadaki gonadal gelişimi (8)

Embriyo genetik olarak erkekse, Testis Belirleyici Faktörü kodlayan Y kromozomunun kısa kolundaki SRY geninin etkisiyle, primitif cinsiyet kordonları testis ve meduller kordonları sağlamak amacıyla çoğalmaya devam ederek medullanın iç kısımlarına

doğru ilerlerler. Bu kordonlar bezin hilusuna doğru, daha sonra rete testis tübüllerini oluşturacak olan küçük hücre sıraları halinde bir ağ oluşturarak dağılırlar. Gelişimin ileri evrelerinde yoğun bir bağ dokusu tabakası, yani tunika albuginea testis kordonlarını yüzey epitelinden ayırır (12, 13).

Gelişimin 4. ayında, testis kordonları atnalı şeklini alır ve bu nalın açık uçları rete testisle devam ederek testis kordonları artık primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden gelişen sertoli destek hücreleri meydana gelir (12, 13).

Gonadal sırtın mezenkiminden köken alan interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) testis kordonlarının arasında bulunurlar. Bu kordonların farklılaşmaya başlamasından sonra gelişmeye başlarlar. Gestasyonun 8. haftasında, Leydig hücreleri artık testosteron üretmeye başlarlar. Testisler bu safhadan sonra genital kanal ve dış genital organların cinsiyetini etkileyecek hale gelirler (12, 13).

Testis kordonları puberteye kadar sabit kalmaktadır ve pubertede lümenleri açılarak seminifer tübüllere dönüşürler. Seminifer tübüller kanalize olduktan sonra rete testis tübülleriyle birleşerek duktuli eferenteslere girerler. Bu eferent duktuslar mezonefrik sisteme ait boşaltım tübüllerinin kalan parçalarıdır. Bu duktuslar rete testis ile, daha sonra duktus deferens adını alacak olan mezonefrik veya wolffian kanalları bağlarlar (12, 13).

Mezonefroz gerilirken, epigenital tübüller adı verilen birkaç boşaltım kanalı rete testis kordonu ile bağlantı kurarak duktuli efferentesleri oluştururlar. Testisin kaudal kutbundaki bulunan boşaltım kanalları, paragenital tübüller, rete testis kordonları ile birleşmezler. Bunların kalıntıları topluca paradidimis olarak bilinir. Mezonefrik kanallar appendiks epididim adıyla bilinen en kranial parçası dışında devamlılık göstererek ana genital kanalları oluştururlar. Mezonefrik kanallar efferent duktusların giriş yerinin hemen altından uzayıp karmaşık kıvrıntılı hal alarak (duktus) epididimisi oluşturur. Mezonefrik kanal epididimisin kuyruğundan vesika seminalise kadar kalın bir kas tabakası ile sarılarak duktus deferensi oluşturur. Duktus deferensin vesika seminalisten sonraki bölümüne ejakulatuar kanal denir. Sertoli hücreleri tarafından salgılanan anti-müllerian hormon (AMH) etkisi altında paramezonefrik kanallar erkeklerde kranial uçlarındaki küçük bir kısım dışında (appendiks testis) dejenere olurlar (12, 13).

Erkek dış genital organların gelişimi, fetal testisler tarafından salgılanan androjenlerin etkisi altındadır ve artık fallus olarak adlandırılan genital tüberkülün hızlı uzaması ile karakterizedir. Bu uzama esnasında, fallus üretral katlantıları ileri doğru çekerek üretral oluğun lateral duvarlarını oluştururlar. Bu oluk, uzayan fallusun kaudal kısmına kadar uzanır ancak glansa ulaşamaz. Endodermden köken alan oluğun epitel tabakası üretral plağı oluşturur (12, 13).

Üçüncü ayın sonunda iki üretral kıvrımlar üretral plak üzerinde kapanarak penil üretrayı oluştururlar. Bu kanal fallusun ucuna kadar uzanmaz. Üretranın en distal kısmı 4. ayda glansın ucundaki ektodermal hücrelerin içeri doğru penetre olarak, kısa bir epitelyal kordon oluşturmasıyla tamamlanır. Bu kordonun daha sonra lüminalize olmasıyla eksternal uretral meatus oluşur (12, 13).

Erkeklerde skrotal kabarıklık olarak bilinen genital kabarıklıklar, önce inguinal bölgede yerleşmiştir. Gelişimin ileri safhasında kaudal yönde ilerleyerek her bir kabarıklık kendi tarafındaki hemiskrotumu oluşturur. Bu iki hemiskrotum birbirinden skrotal septum ile ayrılmıştır (12, 13).

İnguinal kanallar, testislerin intraabdominal yerleşim bölgelerinden, anterior karın duvarı boyunca skrotuma kadar olan inişlerinde bir yol oluşturmaktadır. İnguinal kanallar, seksüel gelişimin morfolojik olarak farklılaşmamış safhası nedeniyle her iki cinsten de gelişirler. Mezonefrozun dejenerasyonu ile beraber, abdomenin her iki tarafında, gubernakulum adı verilen bir ligament, gonadların inferior kısımlarından aşağı doğru uzanır. (Gubernakulum kızlarda da oluşur ancak rudimenter kalır). Gubernakulum, anterior abdominal duvarın, gelecekte inguinal kanalı oluşturacak bölgesinden oblik olarak geçer. Gubernakulum daha sonra kaudal bölgede, labioskrotal kabarıklıkların (skrotumun gelecekteki yarımları) iç yüzeylerine yapışır (12).

Testislerin inişi aşağıdaki faktörler ile ilişkilidir:

- Testislerin büyümesi ve mezonefrik böbreklerin atrofisi, testislerin posterior abdominal duvar boyunca kaudal yönde hareket etmesine müsaade etmektedir.
- MIS (Müllerian inhibitör madde) ile uyarılan paramezonefrik kanalların atrofisi, testislerin transabdominal olarak derin inguinal halkaya doğru hareketini sağlamaktadır.

- Prosessus vajinalisin büyümesi, testislerin inguinal kanal boyunca skrotuma ilerlemelerinde rehberlik etmektedir (12).

26. haftada, testisler superior abdominal bölgeden retroperitoneal olarak yani peritonun dışında posterior abdominal duvara, derin inguinal halkaya doğru inerler. Testislerdeki bu pozisyon değişikliği fetal pelvisin genişlemesi ve embriyonun boyutlarında uzama ile beraber olmaktadır. Testislerin transabdominal hareketleri büyük oranda rölatif bir harekettir ve abdomenin kraniyal kısmının büyüyerek kaudal kısmından uzaklaşmasına bağlıdır (12).

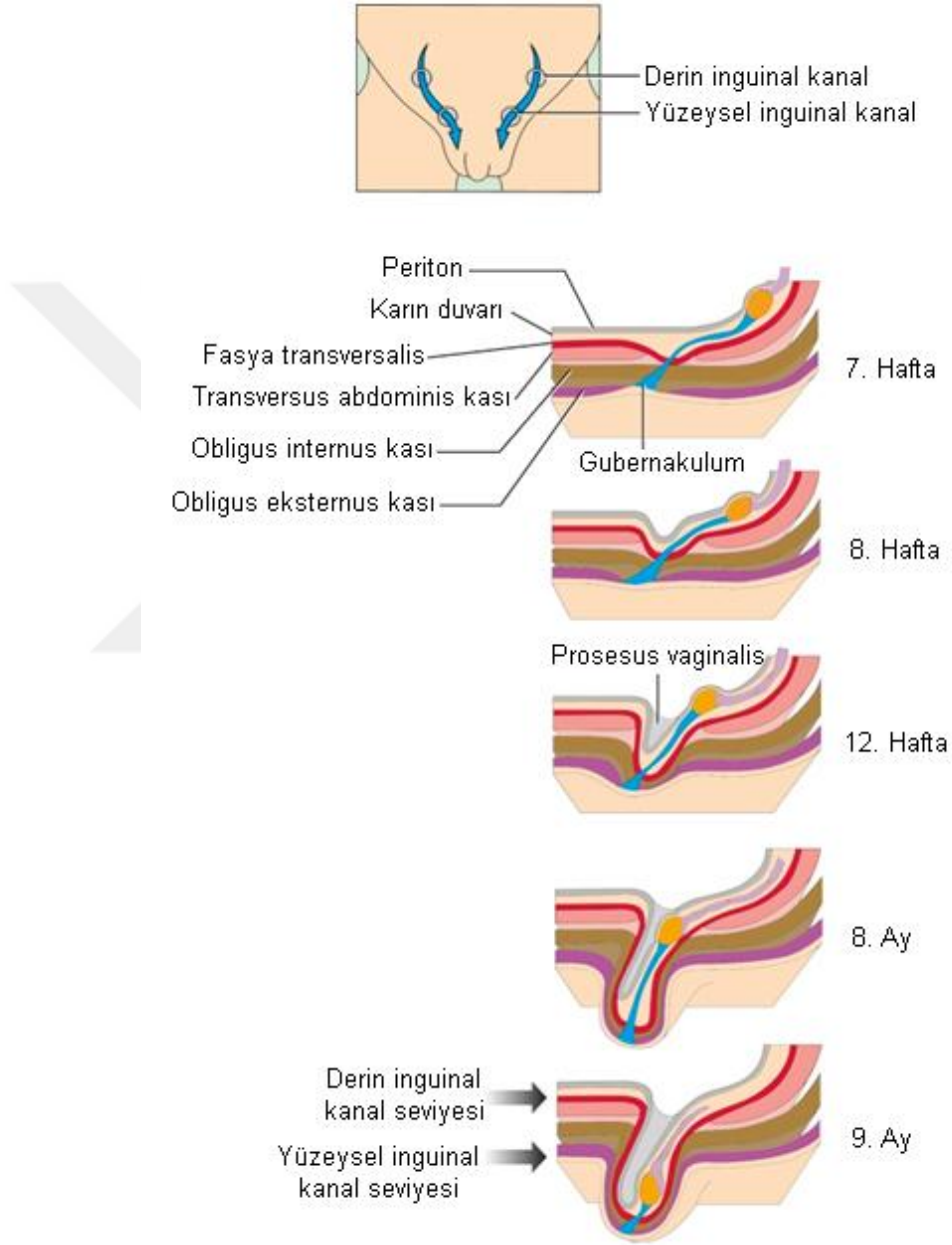
Testislerin inguinal kanallardan skrotuma inmeleri fetal testislerde salgılanan androjenlerle kontrol edilmektedir. Gubernakulum, prosessus vajinalisin inguinal kanalları oluşturmaları sırasında, prosessus vajinalise, anterior karın duvarı boyunca bir yol oluşturur. Gubernakulum aynı zamanda testisleri skrotuma bağlar ve testislerin skrotuma inişinde rehberlik eder. Testislerin inguinal kanallara inmelerinde aynı zamanda, karın içi organların büyümesine bağlı olarak intraabdominal basınç artışının da etkisi olduğu düşünülmektedir (12).

Testislerin inguinal kanallardan skrotuma inişi genellikle 26. haftada gerçekleşmektedir ve bu iniş bazı fetuslarda 2-3 gün devam eder. Testisler genelde 32. haftada skrotum içine inmiş vaziyette bulunurlar. Testisler, periton ve prosessus vajinalis dışından geçerler. Testisler skrotuma indikten sonra, inguinal kanallar spermatik kord etrafına kasılır. Genelde bebeklerin %97'den fazlasında testisler skrotum içine yerleşmiş bulunurlar. Doğumdan sonra ilk 3 ay içerisinde, inmemiş testislerin çoğu skrotuma iner (12).

Testisler skrotuma inişi esnasında, ana boşaltıcı kanalları olan duktus deferensi ve damarları da beraberinde taşınırlar. Testisler ve duktus deferens aşağı indiklerinde, abdomen duvarının fasyal uzantıları ile örtülüdürler. Transvers fasyanın uzantısı, internal spermatik fasyayı; internal oblik kas ve fasya uzantıları, kremasterik kası ve fasyayı ve eksternal oblik aponevroz uzantıları, eksternal spermatik fasyayı oluşturur (12).

Skrotum içerisinde testisler, prosessus vajinalisin distal ucu içerisine doğru uzanır. Perinatal süreçte vajinal prosesin bağlayıcı sapı genellikle oblitere olarak, testis ile ilişkili izole bir peritoneal kese olan tunika vajinalis olarak kalır (12).

Testislerin skrotum içerisindeki sıcaklığı vücut sıcaklığın 2°C - 3°C altındadır. Bu düşük sıcaklık spermatogenez için önemlidir. Eğer testisler yüksek sıcaklıkta kalırlarsa ya da skrotuma inmezlerse yüksek sıcaklığa maruz kaldıkları için sperm üretimi gerçekleşemez (10, 12).



Şekil 2. 4. Testisin iniş basamakları (14).

2. 3. Testis Histolojisi

Testisler vücut boşluğu dışında skrotum içerisinde yerleşmiş bir çift oval şekilli organdır. Testisler anterior abdominal duvarın tabakalarıyla devamlılık gösteren ve skrotum içerisine uzanan bir muskulofasiyal kesenin ucunda asılı vaziyette bulunmaktadır. Testisler spermatik kordonlar aracılığıyla abdominal duvara bağlıdırlar ve skrotal ligamentler ile skrotuma bağlanmışlardır (8, 10).

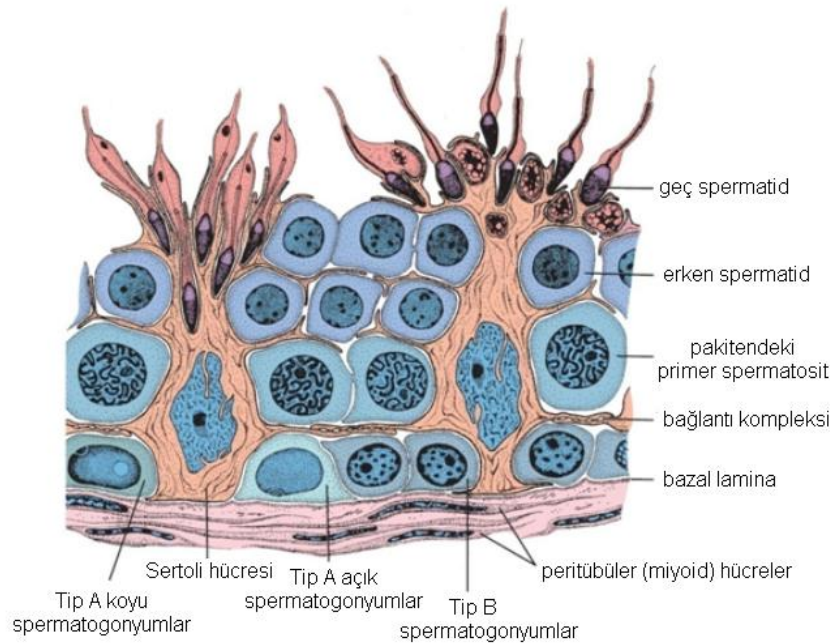
Testisler, oldukça kalın bağ dokusu yapısındaki kapsül olan tunika albuginea ile çevrilidir. Tunika albugineanın iç kısmı kan damarlarından zengin gevşek lifli bir bağ dokusu olan tunika vasküloza bulunmaktadır. Her bir testis, bu kapsülden uzanan bağ dokusu yapısındaki septumlar ile yaklaşık 250 adet piramidal bölmeye (lobüllere) ayrılmaktadır. Testisin posterior yüzeyi boyunca tunika albuginea kalınlaşarak içeriye doğru mediastinum testis olarak uzanır. Genital boşaltım kanalları ile kan ve lenf damarları testise giriş ve çıkışta mediastinumun içinden geçer (8, 10, 11).

Her bir lobül içinde sperm üretilen 1-4 seminifer tübülünden ve testosteron salgılayan leydig (interstisyel) hücrelerini içeren bağ dokusu yapısındaki stromadan meydana gelmektedir. Lobülün içindeki her bir tübül bir halka yapar ve uzun olması sebebiyle oldukça kıvrımlıdır ve lobül içinde kendi üzerine katlanır. Halkanın uçları testisin mediastinumuna yakındır ve burada kısa, düz bir seyir izler. Seminifer tübülün bu bölümü tubulus rektus ya da düz tübül olarak adlandırılmaktadır. Bu bölüm, mediastinumun içinde anastomozlaşan kanallar sistemi olan rete testis ile birleşerek sayısı 10-20 olan duktuli efferentesi oluşturur ve epididimisin proksimal bölümüne bağlanır. Bu kanallar testis sıvısını ve spermatozoonları epididimisin proksimal bölümüne aktarır (10, 15).

2. 3. 1. Seminifer tübül epitel

Seminifer tübüller, tunika propriya ile çevrelenmiş bir seminifer epitelden meydana gelmektedirler. Her bir testiste yaklaşık olarak 250-1000 seminifer tübül bulunmaktadır ve her bir seminifer tübül yaklaşık 30-50 cm uzunlukta ve 150-250 µm çapındadır. Seminifer tübül epiteli iki temel hücre grubundan oluşan kompleks, çok katlı, sıra dışı bir epitelidir. Epiteli oluşturan hücreler:

- Sertoli hücreleri, çoğalma özelliğine sahip olmayan destek hücreleri ya da sustentaküler hücreler olarak da bilinmektedirler. Bu hücreler puberte sonrası çoğalmazlar. Sertoli hücreleri, komşu spermatogenik hücreleri çevreleyen ve onların arasındaki boşlukları dolduran yaygın apikal ve lateral uzantılara sahip prizmatik hücrelerdir. Bununla beraber, Sertoli hücrelerinin bu karmaşık düzenlenmeleri rutin hematoksil-eozin (H-E) preparatlarında net olarak gözlenemez. Sertoli hücreleri, seminifer epitelin tüm kalınlığı boyunca uzanarak tübüllere yapısal düzen verirler.
- Spermatogenik hücreler, germ hücreler olarak da bilinmektedirler. Bu hücreler düzenli olarak çoğalan ve olgun sperme farklılaşan hücrelerdir. Bu hücreler testisin erken gelişim evresinde gonadal yolk kesesinden köken alan ve gonadal kabartılarda kolonize olan primordiyal germ hücrelerinden gelişirler. Spermatogenik hücreler Sertoli hücrelerinin arasında ilerleyici gelişim sergileyen ve belirgin olmayan tabakalar şeklinde düzenlenmişlerdir. Spermatogonyumlar yani olgunlaşmamış spermatogenik hücreler bazal laminanın üzerinde uzanırlar. Spermatidler, yani olgun hücreler ise Sertoli hücresinin apikal bölümüne tutunmuşlardır ve seminifer tübül lümeninin sınırını oluştururlar (10).



Şekil 2. 5. Seminifer tübül epitel yapısı (10).

2. 3. 1. 1. Miyoid hücreler

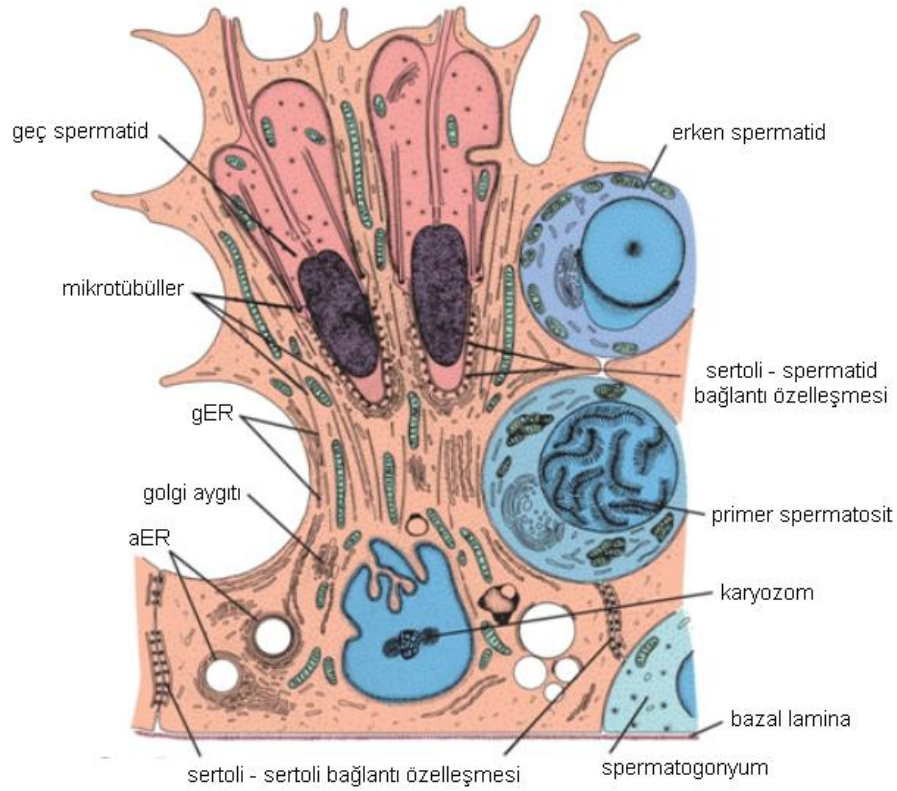
Seminifer tübüller tunika ya da lamina propria denilen seminifer bir epitelden meydana gelmektedirler. Peritübüler doku olarak da adlandırılan tunika propria insanda seminifer tübülün bazal laminasının dışında 3-5 tabaka miyoid hücreden ve bol miktarda kollajen fibrillerinden oluşmaktadır. Miyoid hücreler oldukça ince yapıya sahip düzeyde bazal lamina ve bol miktarda aktin filamentleri içermeleriyle düz kas hücrelerine benzer özellik gösterirler. Bu hücreler, belirgin miktarda granüllü endoplazmik retikulum (gER) içermeleri sayesinde tipik fibroblastların yokluğunda kollajen sentezinde görev almaktadırlar (10).

Miyoid hücrelerin ritmik kasılmaları sonucu oluşan peristaltik dalgalanmalar sayesinde spermatozoa ve testiküler sıvı seminifer tübüllerden boşaltım kanal sistemine iletilirler. Miyoid hücrelerin bulunduğu tabakanın dışında Leydig hücreleri, kan damarları ve yaygın lenf damarları bulunmaktadır (10).

2. 3. 1. 2. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri seminifer tübüllerin gerçek epitelini oluşturan hücrelerdir. Sustentaküler hücreler olarak da adlandırılan bu hücreler uzun, prizmatik, replike olmayan ve seminifer tübül epitelin çok tabakalı bazal laminası üzerinde uzanmış şekildedir. Sertoli hücreleri gelişmekte olan spermlerin mayozdan sonra yüzeyine tutundukları destek hücreleridir. Sertoli hücresinin ökromatik nükleusu genellikle oval ya da üçgen şekilli olup ve hücrenin bazal kısmına yakın uzanabilir (10, 11).

Sitoplazmada mikrotübüller ve ara filamentlerden oluşan gelişmiş bir hücre iskeletinin yanı sıra, yassı mitokondriyumlar, çok belirgin olmayan bir düz endoplazmik retikulum, çok sayıda lipid damlacığı ve lipofuskin içeren lizozomlar bulunmaktadır. Bitişik hücreler apikal ve lateral yüzlerindeki sıkı bağlantı kompleksleriyle birbirine tutunmaktadır. Bu tutunma kompleksleri epiteli bazal epitelyal kompartman ve luminal kompartman olmak üzere iki kompartmana ayırmaktadır. Buna bağlı olarak oluşan kan-testis bariyeri spermatogonyumlarla primer spermatositleri daha tepedeki sekonder spermatositler ve spermatidlerden ayırmaktadır. Seminifer tübül lümeninin içindeki yapılar dolaşım sistemindeki antijenlerden yalıtılır, dolayısıyla spermatositler ve spermatidler otoimmün bağışıklık reaksiyonlarından ve kanda bulunan maddelerden korunmaktadır (10, 11).



Şekil 2. 6. Sertoli hücresinin ve komşu spermatogenik hücreler (10).

Sertoli hücreleri, spermatogonyumların spermatozoaya başarılı bir şekilde ilerlemesinde de önemli rol üstlenir (10).

Sertoli hücreleri spermatid artıklarını fagosite eder ve spermin yaşaması için önemli olan androjen bağlayıcı protein (ABP) gibi pek çok maddeyi ve sıvıyı salgılamaktadır. ABP, gelişmekte olan spermlerin normal olgunlaşmaları için mühim olan testosteronu seminifer tübüllerin luminal kompartmanında yoğunlaştırır (10, 11).

Sertoli hücrelerinde FSH ve testosteron reseptörleri bulunmaktadır. Böylece bu hücrelerin salgılama fonksiyonları hem FSH hem de testosteron tarafından düzenlenir. Sertoli hücreleri inhibin gibi bazı endokrin maddeleri de salgılar. Bunun yanında sertoli hücreleri, Müllerian-inhibe edici faktör (MIF), kök hücre faktörü/stem cell factor (SCF) ve gliyal hücre hattı türevli nörotrofik faktör/gliyal cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) gibi büyüme faktörleri ya da parakrin faktörler olarak fonksiyon gören diğer glikoproteinleri de salgılamaktadırlar (10).

2. 3. 1. 3. Spermatogonyumlar

Spermatogenik hücreler; germ hücreler olarak da bilinmekte olan bu spermatogonyal kök hücreler düzenli olarak çoğalan ve olgun sperme farklılaşan hücrelerdir. Bu hücreler testisin erken gelişim evresinde gonadal yolk kesesinden köken alan ve gonadal kabartılarda kolonize olan primordiyal germ hücrelerinden gelişirler. Spermatogenik hücreler Sertoli hücrelerinin arasında ilerleyici gelişim sergileyen ve belirgin olmayan tabakalar şeklinde düzenlenmişlerdir (10). Spermatogonyumlar yani olgunlaşmamış spermatogenik hücreler 12 µm çapında, bazal laminanın hemen üstünde yer alan küçük hücrelerdir. Puberte sonrası spermatogonyumlar mitoz bölünme ile çoğalırlar ve yeni hücreleri oluşturur. Spermatogonyumlar rutin histolojik preparatlarda nükleusların görünümü temel alınarak 3 tip olarak sınıflandırılır:

- **Tip A koyu/Type A dark** spermatogonyumlar, ince granüllü kromatinli, yoğun bazofilik oval nükleuslara sahiptirler. Tip A koyu spermatogonyumların seminifer epitelin kök hücreleri olduğu düşünülmektedir. Düzensiz aralıklarla bölünerek ya kök hücre olarak kalan bir çift Tip A koyu spermatogonyum ya da bir çift Tip A açık spermatogonyum oluşturur (10).
- **Tip A açık/Type A pale** spermatogonyumlar, açık renk boyanan ince granüllü kromatinli oval nükleuslara sahiptirler. Tip A açık spermatogonyumlar spermi üreten farklılaşma sürecine yönlendirilmişlerdir. Ardışık birkaç mitotik bölünme geçirerek sayılarını artırırlar (10).
- **Tip B** spermatogonyumlar, genel olarak nüklear zarf boyunca ve merkezi bir nükleolusun çevresinde geniş kümeler oluşturacak şekilde yoğunlaşmış kromatini bulunan yuvarlak nükleuslara sahiptirler (10).

Birkaç bölünmeden sonra, Tip A spermatogonyumlar Tip B spermatogonyumlara farklılaşırlar. Tip B spermatogonyumların görünümü spermatogonal fazdaki son olayı ifade eder (10, 15).

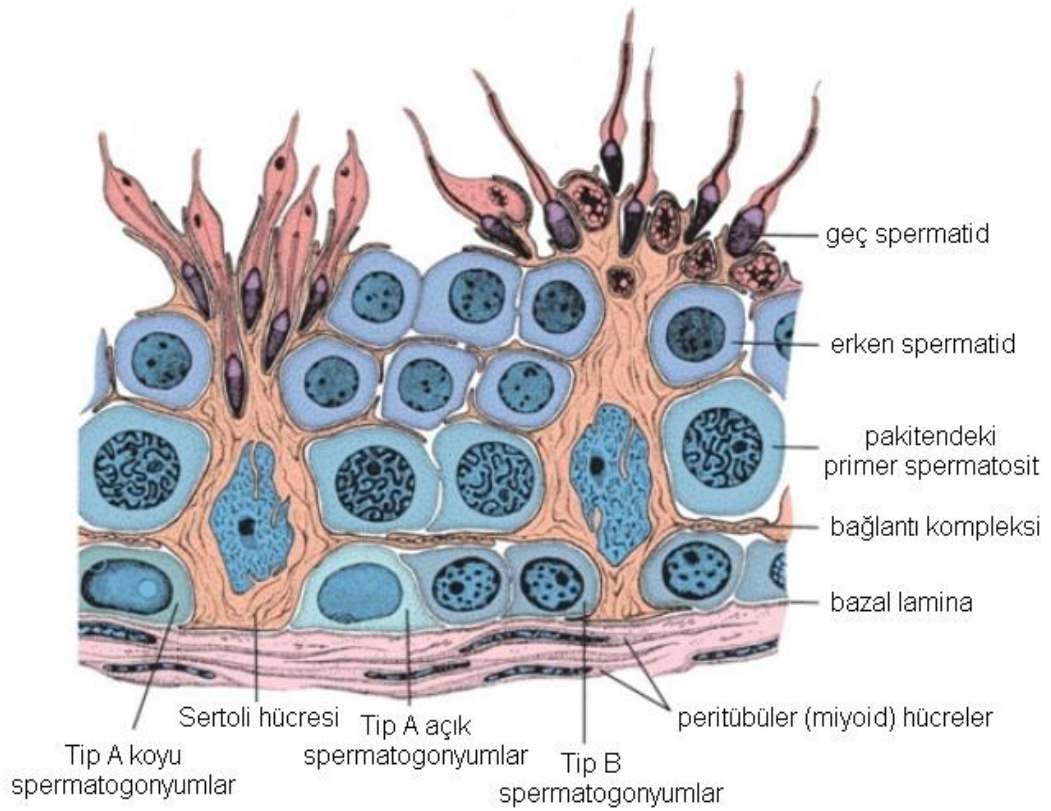
2. 3. 1. 4. Primer ve sekonder spermatositler

Tip B spermatogonyumların mitotik bölünmesi sonucunda yuvarlak ve ökromatik çekirdekli primer spermatositleri oluşturur. Primer spermatositler 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içerir. Birinci mayoz bölünmeden sonra sekonder spermatositler olarak adlandırılan ve yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük

hücreler oluşur. Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin gözlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve hemen ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir (15).

2. 3. 1. 5. Spermatidler

Sekonder spermatositlerin bölünmesi sonucunda 23 kromozom içeren, iki spermatid hücre oluşur. Oluşan bu haploid spermatidler Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içinde gömülü, 7-8 µm çaplık küçük boyutlarıyla seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanında yerleşmişlerdir (15).



Şekil 2. 7. Spermatidlerin lokalizasyonu (10).

2. 3. 2. İnterstisyel alan

Testislerde seminifer tübüllerin arasındaki boşluğu dolduran interstisyel doku androjen üretimi açısından oldukça önemli bir alandır. Bu alanlarda bağ dokusu, sinirler, kapillerler ve lenf damarları bulunur (10).

2. 3. 2. 1. İnterstisyel bağ dokusu

Testisin interstisyel bağ dokusunda fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Puberte sonrasında başka bir tip hücre daha fonksiyonel olarak belirgin hale gelir. Bu hücreler interstisyel ya da Leydig hücreleri olarak adlandırılır (10, 15).

2. 3. 2. 2. Leydig hücreleri

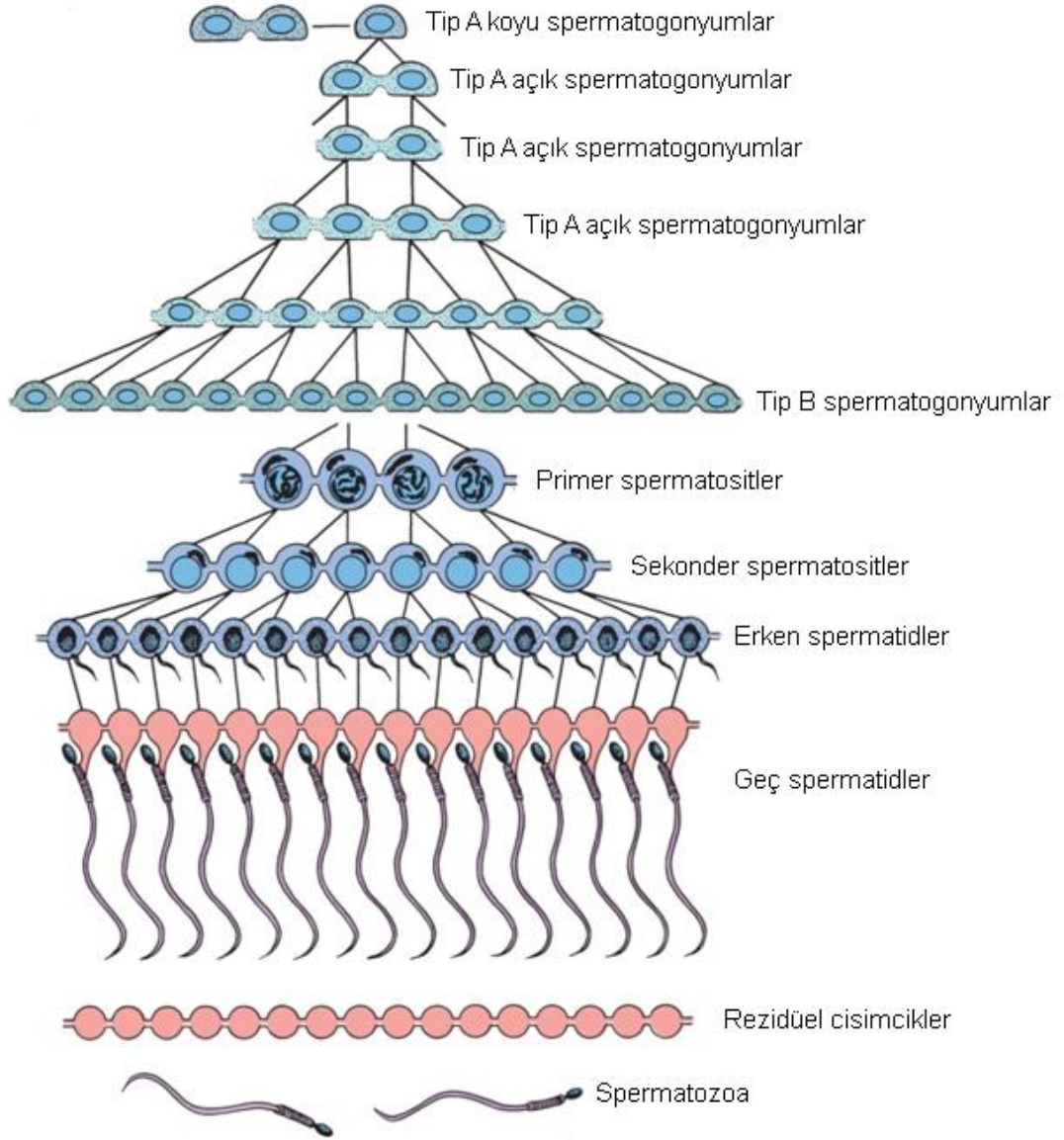
Leydig hücreleri, büyük yuvarlak ya da poligonal, eozinofilik hücrelerdir ve tipik lipid damlacıkları içerirler. Bu hücrelerde lipofuskin pigmenti ve çubuk şekilli ayırt edilen sitoplazmik kristaller olan Reinke kristalleri bulunmaktadır. Rutin histolojik preparatlarda bu kristaller refraktirdirler ve yaklaşık 3×20 μm boyutlarındadır. Bu kristallerin kesin yapıları ve fonksiyonları bilinmemekle beraber hücrenin bir protein ürünü olduğu düşünülmektedir. Diğer steroid salgılayıcı hücrelerde olduğu gibi Leydig hücrelerinde de bol miktarda granülsüz endoplazmik retikulum (aER) bulunmaktadır. Steroid salgılayan hücrelerin bir diğer karakteristiği olan tübülomeziküler kristal mitokondriyonlar, Leydig hücrelerinde de bulunmaktadır. Leydig hücreleri erken fetal yaşam sırasında farklılaşarak testosteron salgırlar. Leydig hücreleri erkek fetusun erken farklılaşmasında aktiftirler ve daha sonra fetal hayatın yaklaşık 5. ayından başlayarak inaktif oldukları bir evreye girerler. Leydig hücreleri puberte sonrası gonadotropik stimülasyona maruz kaldıklarında, yeniden androjen salgılayan hücreler olurlar ve yaşam boyunca aktif kalırlar (10).

2. 3. 3. Spermatogenez

Spermatogonyum hücrelerinden sperm hücrelerinin üretildiği süreç olan spermatogenez oldukça karmaşık bir süreçtir. Puberteden kısa bir süre önce hipofiz bezinden salgılanan gonadotropin hormon seviyesinin artması sonucu başlayarak yaşam boyunca devam eder (10).

Spermatogenez süreci aşamalı olarak üç fazda gözlenir:

- Spermatogonyal faz (Spermatositogenez)
- Spermatosit faz (Mayoz)
- Spermatid faz (Spermiyogenez)



Şekil 2. 8. Spermatogenik hücre serisini gösteren diyagram (10).

2. 3. 3. 1. Spermatositogenez

Spermatogonyal fazda spermatogonyumlar mitoz ile bölünerek primer spermatositlere farklılaşırlar. Bu farklılaşma beraberinde tip A ve tip B spermatogonyumlarını meydana getirir (10, 15). Spermatogenik serisinin kök hücreleri olan Tip A spermatogonyumlar bir ya da daha fazla mitotik bölünmeden sonra Tip B spermatogonyumları oluştururlar. Sertoli hücresinin bariyerinden geçen Tip B spermatogonyumlar büyüyerek daha büyük ve yuvarlak olan primer spermatositlere dönüşürler. Tip B spermatogonyumdan oluşan primer spermatositler birinci mayozun profazına girerler (15).

2. 3. 3. 2. Mayoz bölünme

Spermatosit fazda primer spermatositler 2 mayotik bölünmeye uğrayarak kromozom sayılarını ve DNA miktarlarını azaltırlar ve spermatid adı verilen haploid hücreleri oluştururlar (10, 15).

2. 3. 3. 3. Spermiyogenez

İkinci mayotik bölünme sonrasında oluşan her spermatid DNA içeriği olarak haploiddir. Haploid spermatidler, matür yani olgun spermi oluşturan bir farklılaşma sürecine girerler. Spermatidlerin sperme farklılaşması esnasında spermatidler fiziksel olarak Sertoli hücresinin plazma membranına özel bağlantılarla tutunmuş haldedir (10, 15).

Spermatid hücresinin olgun bir sperme farklılaşması dört fazdan oluşmaktadır:

- Golgi fazında; proakrozomal granüller olarak adlandırılan Periyodik Asit - Schiff (PAS) pozitif küçük granüllerin Golgi cisimciğinde birikir. Biriken bu içerik daha sonra birleşerek zarla sınırlı bir akrozom vezikülünün içinde lokalize olan tek bir akrozom granülü oluşturur. Sentriyoller göç ederek akrozomun olduğu bölgenin karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Sentriyol, flagellum yani sperm kuyruğunun aksonemini oluşturan dokuz periferik mikrotübül çiftinin ve iki merkezi mikrotübülün parçalarının bir araya gelmesini başlatır.
- Kep fazında; akrozomal vezikül çekirdeğin ön kısmının yarısından fazlasını sarar. Bu yeniden şekillenmiş yapıya akrozomal kep adı verilmektedir. Çekirdek etrafını saran akrozomal kep kalınlaşırken nüklear içerik de yoğunlaşır.
- Akrozom fazında; spermatid hücresi kendisini yeniden düzenleyerek başını Sertoli hücresinin içerisine doğru gömülü bir şekilde tutunur. Bu esnada gelişmekte olan flagellum da da seminifer tübül lümenine uzanır. Spermatidin yoğunlaşan çekirdeği yassılaşp uzayarak akrozom hücre zarının ön kısmına yönelir. Sitoplazmik mikrotübüller organize olarak silindir haline gelirler. Nükleusu çevreleyen bu yapı spermatidin arka kısmına doğru ilerlerler. Sentriyollerden biri gelişerek flagellum oluşumunu tamamlar. Hücre zarı gelişen flagellumu da sarar. Mitokondriler de flagellumun proksimal parçası etrafında toplanarak bağlantı parçası adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur. Bu bölge spermatozoonların hareketlerinin kaynağını aldığı kısımdır.

- Olgunlaşma (maturasyon) fazında; spermatidin yeniden oluşumunun bu son fazında flagellum etrafındaki fazla sitoplazma azaltılarak olgun yani matür spermatozoon oluşur. Olgun insan spermi yaklaşık olarak 60 µm uzunluktadır. Sperm başı yassı, sivri ve 4,5 µm uzunlukta, 3 µm genişlikte ve 1 µm kalınlıktadır (10, 15).

2. 4. Testis Histofizyolojisi

Erkeklerde üreme fonksiyonu 3 büyük alt grupta sıralanabilir:

- Spermatogenez (sperm oluşumu)
- Erkek cinsel davranışlarının gerçekleştirilmesi
- Birçok hormonlar ile erkek üreme fonksiyonunun düzenlenmesi

Bu üreme fonksiyonları, erkek cinsiyet hormonlarının yardımcı seks organları, hücre metabolizması, büyüme ve vücudun diğer fonksiyonları üzerindeki etkileri ile de ilişkisi vardır (16).

Testisler, testosteron, dihidrotestosteron (DHT) ve androstenedion gibi genelde androjenler olarak tanımlanan pek çok erkek cinsiyet hormonları salgılar. Testosteron diğer androjenlere göre daha fazla miktarda salgılandığından en önemli testis hormonu olarak kabul edilir. Ancak testosteronun büyük bir kısmı, hedef dokularda daha aktif olan dihidrotestosterona dönüşür (16).

Testosteron, testis seminifer tübülleri arasında yani interstisyel alanlarda bulunan Leydig hücrelerinden salgılanır. Leydig hücreleri erişkin testis kitlesinin %20 kısmını oluştururlar. Leydig hücreleri testislerin testosteron salgılamadığı çocukluk döneminde hemen hemen hiç görülmezler. Yanı sıra, yeni doğan erkek çocuklarda yaşamın ilk aylarında ve puberte sonrası erişkin dönemde bol miktarda testosteron salgırlar. Ayrıca testis tümörlerinin geliştiği durumlarda da interstisyel Leydig hücrelerinden bol miktarda testosteron salgılanır. X ışınlarıyla tedavi sırasında ya da aşırı sıcaklık nedeniyle testisin germinal epiteli hasar görmesine rağmen, kolay haraplanmayan Leydig hücreleri, testosteron salgılamaya devam ederler (16).

Testosteron ve dihidrotestosteron gibi androjenlerin hepsi steroid yapıda bileşiklerdir. Androjenler testislerde sentezlendiği gibi adrenal bezlerde kolesterolden ya da doğrudan asetil koenzim A'dan sentezlenirler. Testosteron testislerde salgılandıktan sonra %97'lik

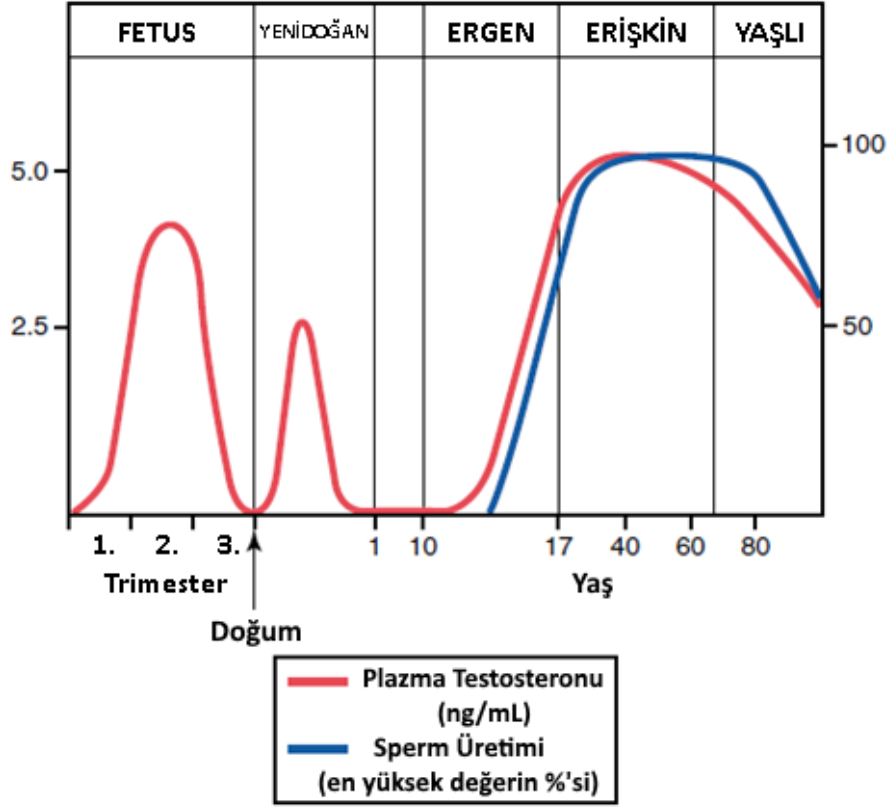
kısmı zayıf bağlarla plazma albumini ya da daha sıkı bir şekilde, seks hormonu bağlayan globulin olarak bilinen bir beta globulin ile bağlanırlar. Bağlı hormonun dolaşım sistemde kalış süresi 30 dakika, 1 saat ya da bazen daha uzun süre kalabilir. Bu süre sonunda testosteron dokularda fikse olurlar ya da inaktif ürünlere dönüşerek vücuttan atılırlar (16).

Dokularda fikse olan testosteronun çoğunluk kısmı hücre içinde dihidrotestosterona dönüşür. Bu olayın gerçekleştiği hedef organlar ise erişkin kişilerde özellikle prostat bezi ve erkek fetüste dış genital organlardır (16).

Dokularda fikse olmayan testosteron genelde karaciğerde androsteron ve dehidroepiandrosterona dönüşür. Aynı zamanda sülfatlara ve özellikle glukuronidlerle birleşerek bağlı hale getirilir. Bunlarda karaciğer safrası içinde sindirim kanalı yolu ile ya da böbreklerden idrar aracılığı ile atılırlar (16).

Erkeklerde testosterona ek olarak, az miktarda östrogen de sentezlenmektedir. Bu miktar, gebe olmayan bir kadındaki miktarının yaklaşık 1/5'lik kısmı kadardır. Erkeklerin idrarında ölçülebilir miktarda östrojenler bulunur. Erkeklerde östrojenlerin gerçek kaynağı tam olarak bilinmemektedir. Ancak seminifer tübül sıvılarında oldukça yüksek konsantrasyonda östrojen bulunmaktadır ve olasılıkla bu hormonların spermatogenezde önemli rolü bulunmaktadır. Östrojenin Sertoli hücrelerinde testosteronun östradiole dönüştürülmesiyle oluşturulduğu düşünülmektedir. Ancak vücudumuzdaki diğer organların dokularında da, özellikle karaciğerde testosteron ve androstanediol'den oluşan östrojen yüksek miktarda sentezlenir. Bu organlardan sentezlenen östrojenler erkekteki toplam östrojen miktarının %80'lik kısmını oluşturmaktadır (16).

Testosteron, vücuttaki belirgin erkek özelliklerinin gelişmesinden sorumludur. Fetal yaşamda, testisler plasentada oluşan koryonik gonadotropinler aracılığı ile uyarılarak, orta düzeyde testosteron salgırlar. Bu hormon fetal gelişim döneminde ve doğumdan sonra 10 ya da daha fazla hafta vücutta bulunur. Daha sonra çocukluk döneminde yaklaşık 10-13 yaşına kadar testosteron üretimi olmaz. Puberte dönemine girilmesi ile adenohipofizden salınan gonadotropik hormonların uyarısı ile testosteron üretimi hızla artar ve yaşamın devamı boyunca testosteron üretimi devam eder. 50 yaşın sonrasında testosteron üretimi hızla düşmeye başlar ve 80 yaşın sonrasında en üst düzeye göre %20-50 oranında azalır (16).



Şekil 2. 9. Farklı yaş dönemlerinde testosteron ve sperm konsantrasyonu (16).

Testosteron embriyonik dönemin yaklaşık 7. haftasında erkek fetüs testislerinde işlenmeye başlar. Erkek ve kadın seks kromozomu arasında önemli işlevsel farklılıkların biri, erkek kromozomunda bulunan SRY genidir. SRY geni, testis belirleyici faktör (TDF ya da SRY proteini olarak da bilinir) olarak adlandırılan proteini kodlar. TDF genital çıkıntı hücrelerinin testosteron salgılayan hücrelerle ve sonrasında da testislere farklılaşmasına neden olan gen aktivasyon zincirini başlatır (16).

Testisler genelde gebeliğin son 2-3 ayında testosteron düzeyinin yeterli salgılanmasıyla skrotuma inerler. Eğer yeni doğan bebeklerin testisleri normal olduğu halde skrotuma inmemişse, testosteron verilerek testisler skrotuma indirilebilir. Ancak testislerin skrotuma inebilmeleri için inguinal kanalların yeterince geniş olmaları gereklidir (16).

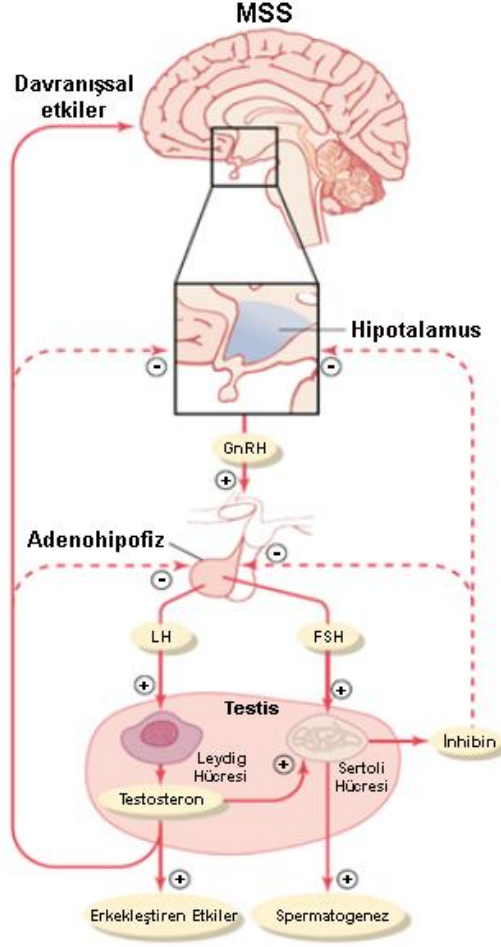
Yeni doğmuş çocuklara gonadotropik hormonların uygulanması, testislerin Leydig hücrelerini uyararak testosteron üretimini sağlar ve bu da, testislerin skrotuma inmelerini sağlayabilir. Bu nedenlerle, testislerin inmesini uyaran faktörün testosteron

olması, testosteronun fetal yaşam döneminde, erkekte seksüel gelişme için önemli bir hormon olduğunu göstermektedir (16).

Puberte sonrasında, testosteron salgı miktarının artması sonucu penis, skrotum ve testislerde 20 yaşından önce yaklaşık 8 kat büyüme görülür. Aynı zamanda testosteron erkeğe özgü sekonder erkek cinsiyet özelliklerinin yani kıllanma, sakal-bıyık, erkeğe özgü ses, kemiklerin büyümesi ve kaslı vücut şekli gibi özelliklerin gelişmesinden de sorumludur (16).

Cinsel işlevlerin kontrolü büyük oranda hipotalamustan gonadotropin-serbestletici hormon (Gn-RH) salgısıyla başlar. Gn-RH adenohipofiz bezini uyararak gonadotropik hormonlar olarak adlandırılan Luteinizan Hormon/İnsterstisyel Hücre Uyarıcı Hormon (LH/ICSH) ve Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) hormonlarının salgılanmasına neden olur. Testislerde interstisyel Leydig hücrelerinden testosteronun salgılanması, hipofiz bezinden salgılanan LH hormonun uyarısı sonucu gerçekleşir. FSH hormonu ise özellikle seminifer tübüllerde, özgül FSH reseptörleri ile Sertoli hücrelerine bağlanır. Bu da hücrelerin büyümesine ve çeşitli spermatogenik maddelerin salgılanmasına neden olur. Aynı zamanda, interstisyel Leydig hücrelerinden seminifer tübüllere difüze olan testosteron ve dihidrotestosteron spermatogenez üzerinde güçlü bir etkiye sahiptir. Dolayısıyla spermatogenezin başlaması için, FSH ve testosteron ikisi de gereklidir (16).

Seminifer tübüllerde sperm üretiminin azalması durumunda, adenohipofizden FSH salgısı belirgin bir şekilde artar. Aksine sperm üretiminin artması durumunda FSH salgısı azalır. Adenohipofiz üzerindeki bu negatif geri bildirim etkisinin sebebi, Sertoli hücrelerinden salgılanan, inhibin olarak adlandırılan bir hormon olduğu düşünülmektedir. Bu hormon adenohipofiz üzerinde, FSH salgısını baskılayan bir etkiye sahiptir. 10.000-30.000 molekül ağırlığı arasında değişiklik gösteren inhibin, LH ve FSH gibi glikoprotein yapısında bir hormondur. Adenohipofiz üzerindeki baskılayıcı etkisi, spermatogenezin kontrolünde önemli bir negatif geribildirim mekanizmayı oluşturur. Buna eş zamanlı olarak testosteron salgısının düzenlenmesinde de yardım etmektedir (16).



Şekil 2. 10. Erkeklerde hipotalamus - hipofiz - testis ekseninde geri bildirim düzenlenmeleri (16).

2. 5. Kriptorşidizm

Kriptorşidizm, Yunanca "cryptos" (saklı, gizli) ve "orchis" (testis, gonad) kelimelerinin birleşmesinden oluşan bir kelimedir. Kriptorşidizm, testislerden birinin ya da her ikisinin de embriyonik hayatta oluştuğu abdomen boşluğundan skrotum içine inmemesi ile karakterize (Resim 2. 1.) bir defekt olup genellikle infertilite sorunu ile birlikte seyreder (2, 17).



Resim 2. 1. Tek taraflı kriptorşidizm (18).

İnsanlarda testislerin skrotuma inişi, normalde gebeliğin 28. haftasında başlamaktadır ve bu nedenle kriptorşidizm vakalarının çoğunluğu doğumda veya erken çocukluk çağında tespit edilebilmektedir. Kriptorşidizm vakalarının %85'i "unilateral" yani tek taraflı seyretmektedir. Testislerin skrotuma inişi diğer biyolojik süreçler gibi zaman açısından farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenle kriptorşit sorunu ile doğmuş bebeklerin yaklaşık olarak %50'si doğumdan sonra yaklaşık ilk 3 ay içerisinde kendiliğinden skrotuma inmektedir. Prematüre doğumlar da hesaba katılırsa, kriptorşidizm yeni doğan erkek çocukların yaklaşık %4-5'lik kısmını etkileyen, en çok rastlanan rahatsızlıktır. Testislerin skrotuma inişi doğumdan önce gerçekleştiğinden dolayı prematüre bebeklerde kriptorşidizm görülme sıklığı miyadında doğmuş bebeklere nazaran daha yüksektir. Normal doğumdan 12 hafta sonra bebeklerin %1-2'sinde hala kriptorşidizm görülmektedir. Bunlar skrotuma göç fazını tamamlayamamış gonadlardır ve konjenital kriptorşidizm olarak adlandırılmaktadır (1, 19-24).

Kriptorşidizm vakalarının bir diğer grubu daha tanımlanmaktadır ve daha çok 5-10 yaş arası çocuklarda görülmektedir. Çocukluk çağı boyunca vücut büyüklüğünün önemli ölçüde artmasıyla beraber aynı zamanda inguinioskrotal bölgede de gelişim önemli ölçüde artmaktadır. İnguinal halka ile skrotum arasındaki mesafe çocukluk çağı boyunca büyümektedir ve bebeklerde 5 cm büyüklükte iken 10 yaşındaki çocuklarda 10

cm' ye kadar ulaşmaktadır. Bu durum spermatik kordonun da aynı şekilde doğumdan sonraki 10 yıl içinde iki katı kadar büyümesini gerektirmektedir ve spermatik kordonun bu uzaması yetersiz olduğu durumlarda kriptorşidizm ortaya çıktığı düşünülmektedir (1, 19, 25).

2. 5. 1. Kriptorşidizmin infertilite ile ilişkisi

İnfertilite birçok faktöre bağlı olarak gelişebilmektedir. Bu faktörler, %35 kadına bağlı faktörler, %35 erkeğe bağlı faktörler, %15'lik oranda hem kadına hem erkeğe bağlı faktörler olarak sıralanmaktadır. Üreme çağındaki çiftlerin yaklaşık %15'i infertiliteye maruz kalmakta ve görülme sıklığı gitgide artmaktadır. Erkek infertilitesinin %42,6 oranında varikozel, kriptorşidizm ya da hipogonadizm gibi nedenlerden kaynaklandığı bilinmektedir. Ancak etiyojisi ve patogenezi hala tam olarak anlaşılmamakta ve bu vakalar idiyopatik infertilite olarak adlandırılmaktadır. İdiyopatik erkek infertilitesi için deneysel tedaviler uygulanmakta ve çeşitli farmakolojik ajanlar kullanılmaktadır. Bazı çalışmalarda, reaktif oksijen türlerin (ROT/ROS); sperm hareketliliğini azaltarak, sperm membranını bozarak, direk sperm DNA hasarını oluşturarak infertiliteye yol açtığı bildirilmiştir. Çeşitli besin takviyeleri ve bitkisel ilaçların antioksidan aktiviteleri kanıtlanmış ve sperm fonksiyonu üzerindeki faydalı etkileri tespit edilmiştir (26, 27).

Kriptorşidizm ve varikozel gibi durumların germ hücre ölümü ile sonuçlandığı yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Kriptorşidizm sperm üretimini etkileyerek sperm konsantrasyonunun düşüşüne neden olur ve infertilite ile sonuçlanmaktadır (27, 28).

2. 5. 2. Kriptorşidizmin testis kanseri ile ilişkisi

Kriptorşit testislerdeki yüksek sıcaklık reaktif oksijen türlerinin (ROT/ROS) üretimiyle beraber testislerde superoksit dismutaz (SOD) aktivitesinin azalmasına neden olur. Kriptorşit testislerdeki yüksek ROS konsantrasyonu testis tümörlerinin oluşumu ve gelişimi için önemli bir risk faktörüdür. Isı şok proteini (İŞP/HSP), ısı stresine maruz kalan dokularda bol miktarda sentezlenir ve bazı tümörlerin gelişimine neden olur (27, 29).

2. 6. Oksidatif Stres

Serbest radikaller organizmalarda sürekli olarak oluşturulan ve antioksidan savunma mekanizması tarafından düzenli olarak ortadan kaldırılan moleküllerdir. Serbest radikallerin oluşumu ve antioksidan savunma mekanizması tarafından bu serbest radikallerin kaldırılması arasında bir denge söz konusudur ve bu dengeye oksidatif denge adı verilir. Oksidatif denge devam ettiği müddetçe organizmalar serbest radikallerin zararlı etkilerine maruz kalmazlar. Serbest radikallerin artması sonucu ya da antioksidan savunma mekanizmasının eksik kalması sonucunda oksidatif stres ortaya çıkar (30, 31). Serbest radikallerin artması sonucunda oluşan oksidatif stres ile hücre yapısının bozulmasına, nükleik asit, lipid, protein, enzim ve DNA'nın değişmesine ve zarar görmesine neden olur (32).

Hücre içerisinde serbest radikallerin artmasıyla yada antioksidanların inhibe edilmesiyle beraber oksidatif stres ortaya çıkar. Serbest radikaller organizmada sürekli artar ve antioksidan savunma mekanizması tarafından ortadan kaldırılır (33).

Serbest radikaller, reaktif oksijen türleri (ROS/ROT), reaktif nitrojen türleri (RNS/ROS) ve diğer reaktifler olmak üzere üç gruba bölünür ve bunların içerisinde en önemli olan serbest radikaller oksijenden oluşan reaktif oksijen türleridir (34). Reaktif oksijen türleri (ROT/ROS); hidroksil radikali, superoksit anyonu, peroksil radikali ve radikal olmayan hidrojen peroksit gibi serbest radikaller oksidatif stresin en önemli nedenlerini oluştururlar (35, 36).

2. 7. Serbest Radikaller

Yapılarında bir veya daha fazla sayıda eşlenmemiş elektron içeren atom veya moleküller serbest radikaller olarak tanımlanmaktadır (37). Hücreler enerji üretmek için oksijen kullanırken, serbest radikaller mitokondriyumdan ATP'nin (adenozin trifosfat) üretimini sonucu oluşur. Bu yan ürünler genellikle hücresel redoks işleminden kaynaklanan Reaktif Oksijen Türleri (ROT/ROS) ve Reaktif Nitrojen Türleridir (RNT/RNS). Bu türler hem toksik hem de faydalı bileşenler olarak ikili bir rol oynamaktadırlar. Reaktif Oksijen Türleri (ROT/ROS) ve Reaktif Nitrojen Türleri (RNT/RNS) düşük ya da orta seviyelerde hücresel yanıtlar ve bağışıklık fonksiyonu üzerinde faydalı etkiler gösterir. Yüksek konsantrasyonlarda, oksidatif stres üretirler ve tüm hücre yapılarına zarar verirler (35, 37-41).

Organizmada serbest radikallerin kaynakları biyolojik ve intrasellüler kaynaklar şeklinde iki grupta toplanabilir (42, 43).

Biyolojik kaynaklar: Aktifleşmiş fagositozlar, antineoplastik ilaçlar (bleomisin, doxurobisin gibi kanser ilaçları), radyasyon, bağımlılık yapan maddeler (alkol, uyuşturucu), çevresel ajanlar (hava kirliliği yapan fotokimyasallar, pestisitler, sigara dumanı), yüksek sıcaklık ve stres (stres sonucu artan katekolaminlerin oksidasyonu), bunlara örnek olarak verilebilir (42, 43).

İntrasellüler Kaynaklar: Küçük moleküllerin oksidasyonu (tiyoller, hidrokarbonlar, katekolaminler, flavinler), enzimler ve proteinler (ksantin oksidaz, triptofan dehidrojenaz, hemoglobin), mitokondriyal elektron transport zinciri, endoplazmik retikulum (ER) ve nükleer membran transport sistemi (sitokrom P450, sitokrom b5), peroksizomlar (oksidazlar, flavoproteinler), plazma membranı (lipid peroksidasyonu, fagositlerde NADPH oksidaz), oksidatif stres oluşturan durumlar (iskemi, travma) bunlara örnek olarak verilebilir (42, 43).

2. 8. Reaktif Oksijen Türleri (ROT/ROS)

Oksijen, canlı organizmayı teşkil eden moleküllerin yapısına yerleşmesi ve besin kaynağı olan maddelerde temel element olması, aerobik organizmalardaki oksidasyon redüksiyon reaksiyonları ve solunumda önemli rol oynaması nedeniyle çok önemlidir. Reaktif oksijen türleri (ROT/ROS) oksidatif etkisi olan hem oksijen türlerini hem de bazı non-radikal bileşikleri ifade eden terimdir. Tüm oksijen radikalleri reaktif oksijen türüdür (ROT/ROS) ancak tüm ROT'lar oksijen radikali değildir. Reaktif oksijen türleri (ROT/ROS), normal oksijen metabolizması sırasında az miktarda oluşan superoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), peroksil radikali ($ROO^{\cdot}$), hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikali ($OH^{\cdot}$)'dir (35, 42-44).

ROT'ların üretimi genellikle hücrelerin mitokondri ve peroksizomlarında meydana gelir. Vücuttaki moleküller, oksijenin büyük kısmını enzimatik yollarla suya çevirir ve geri kalan kısmı elektron eklenmesinden sonra hücre içi organellerin yapılarını ve fonksiyonlarını bozan yada değiştiren, membranda oksidatif yıkıma sebep olan reaktif oksijen türlerini oluşturur. Hücre içi miktarları arttıkça hücrelerin lipid, protein, karbohidrat ve DNA gibi yapılarına zarar verirler ayrıca hücre hasarlara, mutagenezise, karsinogenezise ve koroner kalp hastalıkları gibi birçok hastalığa neden olmaktadır (35, 42-44).

2. 9. Apoptozis

Vücudumuzdaki bütün hücreler belli bir süre yaşamına devam eder ve zamanı geldiğinde ölür. Hücre ölümüyle hücre proliferasyonu (çoğalması) arasında kontrollü bir denge vardır. Hücre ölümü tiplerinden biri olan apoptozis, organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış ya da fonksiyonunu yitirmiş hücrelerin, fazla üretilmiş ya da düzensiz olarak gelişmiş hücrelerin güvenli bir şekilde ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı bir hücre ölümü tipidir (45-47).

Apoptozis ya da Apoptoz, Yunanca apo (ayrılarak) ve ptosis (düşmek) kelimelerinden türeyen ve ilk olarak 1972 yıllarda Kerr, Wyllie ve Currie adlı patologlar tarafından kullanılmaya başlanmış bir terimdir (45, 47).

Apoptotik hücreler vücudumuzun bazı dokularında sürekli olarak oluşur ve bu oluşum ömür boyu devam eder. Böylece apoptozis ve mitozis dokularda doku homeostazisi oluşturmak üzere sürekli bir denge halindedir (47-49).

Apoptozis mekanizması karmaşık bir durumdur. Yapılan çalışmalar sonucunda apoptozis mekanizması iki temel yolla düzenlendiğini göstermektedir:

- 1) Hücre dışından (ekstrinsik) kaynaklanan ölüm reseptörleri ile düzenlenen apoptozis
- 2) Hücre içinden (intrinsik) kaynaklanan mitokondriyal yolla düzenlenen apoptozis (48).

Ekstrinsik ölüm reseptörleri Tümör Nekrozis Faktör Reseptör (TNFR) süper ailesine ait proteinlerinin üyesidir. Bu reseptörler ekstrinsik bölgelerde sistein açısından zengin bölgelerde yerleşirler. Ölüm bölgesi (death domain), hücre dışından hücre içine ölüm sinyalini iletmekte önemli bir rol alır (48).

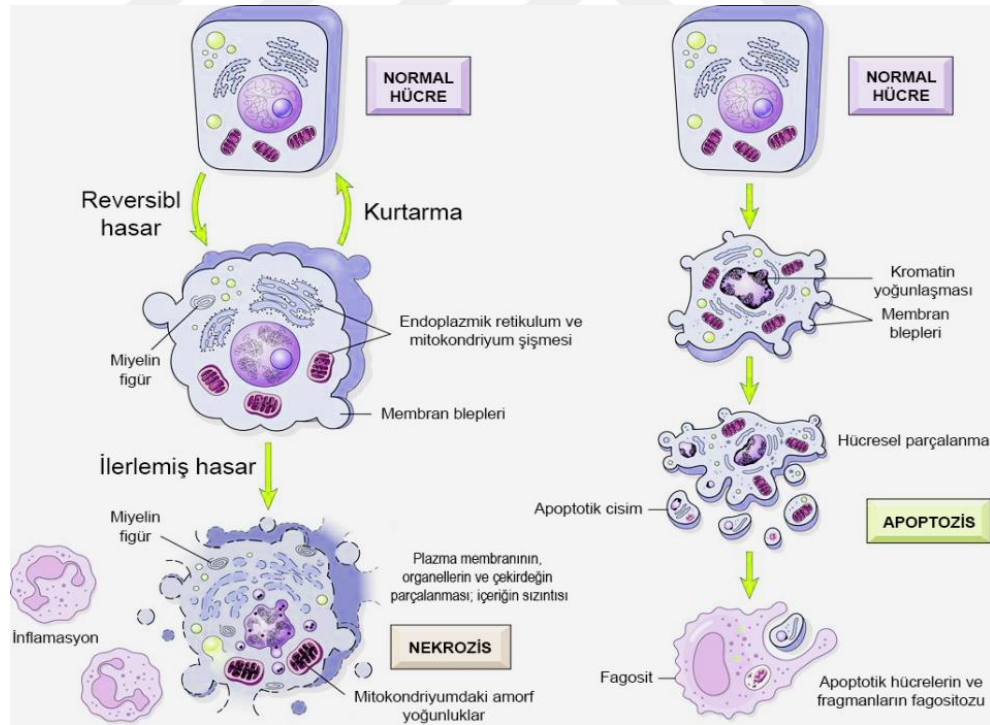
Mitokondrinin aktivasyonu ile sitokrom-c'nin dışarı salınması sonucunda apoptozis geri dönüşümsüz bir şekilde başlatılır. Mitokondrinin aktivasyonuna neden olan en önemli faktör Bcl-2 ailesidir. Mitokondriler, hücrelerdeki apoptotik sürecin kontrolünde önemli bir rol üstlenir. Apoptozis sürecinde görev alan başlıca moleküller: Bcl-2, Bax ve Bcl-X molekülleridir. Bcl-2 ailesi:

Proapoptotik (Bax, Bak, Bad, Bik, Bim, Bid, Bcl-Xs, Noxa) üyelerini içerir.

Antiapoptotik (Bcl-2, Bcl-XL, Bcl-W, Mcl-1, A1, Nr-13, Ced-9) üyelerini içerir (48).

Sitokrom-c, apoptoz indükleyici faktör (AİF) ile beraber mitokondriden sitoplazmaya salınır ve sitoplazmik bir protein olan apoptotik proteaz aktive edici faktör (APAF-1)'e bağlanarak aktif olur. ATP'nin de katılımıyla beraber 'Apoptozom' olarak bilinen bir kompleks oluşur. Bu kompleks inaktif prokaspaz-9'un aktif kaspaz-9'a dönüşmesini sağlar ve aktif kaspaz-9 da kaspaz-3'ü aktive eder. Aktif olan kaspaz-3, kaspaz ile aktifleşen deoksiribonükleaz inhibitörü (ICAD) inaktif hale getirir. ICAD'ın bağlandığı kaspazla aktifleşen deoksiribonükleaz (CAD) serbest hale gelir ve kromatin kondensasyonuna ve oligonükleozomal DNA fragmentasyonuna sebep olur (48-51).

Canlı organizmada hücre ölümü, uyarının türüne ya da uyarının derecesine göre apoptoz ya da nekroz ile gerçekleşir. Düşük dozlarda ısı, radyasyon, hipoksi ve sitotoksik antikanser ajanları gibi zararlı uyaranlar sonucu apoptozis indüklenir ancak aynı uyaranlar yüksek dozlarda olduğunda nekroz ile sonuçlanır (48).



Şekil 2. 11. Nekroz ve Apoptozis arasındaki farklar (52).

Tablo 2. 1. Nekroz ve Apoptozisin karşılaştırılması (48, 53).

ÖZELLİKLER	NEKROZİS	APOPTOZİS
Nedenler	İskemi Hipertermi Hipoksi Litik viral enfeksiyon Toksik maddeler Ağır metaller Şiddetli oksidatif stres Yüksek ısı	Büyüme faktörü (GF) eksikliği Hücre yaşlanması HIV Kanser ilaçları Radyasyon Yüksek doz glukokortikoid Sitotoksik T lenfositler Çok şiddetli olmayan oksidatif stres Isı
Morfolojik Özellikler	Hücre membran bütünlüğü kaybolur Hücre şişer Organeller parçalanır Hücrede büyük vakuoller oluşur Endoplazmik retikulum (ER) dilatasyonu Hücre membran bütünlüğü kaybolur Hücre lizisi	Hücre büzüşür Organeller bütündür Kromatin nükleer membran civarında toplanır ve yoğunlaşır Hücre zarında cepçikler oluşur Hücre membranı intakttır Apoptotik cisimciklerin oluşur
Biyokimyasal Özellikler	İyon dengesi bozulur ATP gerekmez DNA rastgele parçalanır (smear)	Programlıdır ATP gerektirir DNA kırıkları merdiven şeklini alır (ladder)
Diğer Özellikler	Hücreler gruplar halinde ölür Patolojik etkiler sonucu gerçekleşir Lizozomal enzimler salınır İnflamasyon görülür	Hücreler tek tek yada birkaçı bir arada ölür Fizyolojik şartlarda da gerçekleşebilir Komşu hücreler ya da makrofajlar tarafından fagosite edilirler İnflamasyon görülmez

2. 10. Isı Şok Protein (İŞP/HSP)

1962 yılında Ferruccio Ritossa adlı bilim adamı yaptığı çalışmada *Drosophila melanogaster*'ın tükürük salgısında yüksek ısıya bağlı bir protein grubunun sentezlendiğini gözlemlemiş ve bu proteinleri "Isı Şok Proteinleri/Heat Shock Proteins" (İŞP/HSP) olarak tanımlamıştır (54).

Hücresel stresin zararlı etkilerine karşı hücreyi korumak için birçok süreç vardır. Bunlardan biri de protein ailesi olan "Isı Şok Proteinlerin/Heat Shock Proteins (İŞP/HSP) sentezidir (55).

HSP'lerin moleküler ağırlıkları 7 ile 110 kDa arasındadır ve sitoplazmada, mitokondride ve endoplazmik retikulumda lokalizedir. Aşırı ısı, kimyasal toksisite, çevresel ve fizyopatolojik stres gibi pek çok stres faktörleri bütün hücrelerde HSP'nin artmasına neden olur ve bu nedenle bu proteinler "stres proteinleri" olarak da adlandırılmaktadır (55-60).

HSP'lerin bazıları hücrede sürekli olarak sentezlenirken, bazıları stres etkisi sonucunda sentezlenir (60, 61).

HSP'ler ayrıca stres veya hasar sonucunda oluşan hasarları ve stresi azaltır ya da yapısı bozulmuş proteinleri onarır. Bu fonksiyonundan dolayı "moleküler şaperonlar" olarak da adlandırılır (59).

HSP proteinleri moleküler ağırlıklarına göre isimlendirilmektedir ve 70-kDa moleküler ağırlıkta olan HSP70 proteinin kriptorşidizm sonucu ya da gelişmekte olan tümörlü hücrelerde fazla sentezlenir (26, 62, 63).

2. 11. Antioksidanlar

Reaktif oksijen türlerinin (ROT/ROS) oluşturduğu hasarları önlemek ve detoksifikasyonu sağlamak üzere görev yapan savunma sistemi "antioksidan savunma sistemi" yada "antioksidanlar" olarak adlandırılır (64, 65).

Antioksidanlar, serbest radikallerin oluşturduğu hasarları temizleyebilen ve hücreleri koruyabilen maddelerdir. Antioksidanlar hem eksojen hem de endojen olabilir (66).

Tablo 2. 2. Antioksidanların sınıflandırılması (67).

ENDOJEN ANTİOKSİDANLAR		
ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	NON-ENZİMATİK ANTİOKSİDANLAR	
	METABOLİK ANTİOKSİDANLAR	BESLEYİCİ ANTİOKSİDANLAR
Süperoksit dismutaz (SOD)	Glutasyon	Selenyum
Katalaz (CAT)	Melatonin	Vitamin E
Glutasyon peroksidaz (GPx)	Ürik asit	Vitamin C
Glutasyon redüktaz (GR)	Bilirubin	Karotenoidler
	Lipoid asit	Çinko
	Transferrin	Omega-3
	Koenzim Q ₁₀	Omega-6
EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR		
VİTAMİN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	İLAÇ OLARAK KULLANILAN EKSOJEN ANTİOKSİDANLAR	
α -tokoferol (Vitamin E)	NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezikler, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar)	
β -karoten (Vitamin A)	Rekombinant süperoksit dismutaz	
Askorbik asit (Vitamin C)	Demir redoks döngüsü inhibitörleri (desferroksamin)	
Folik asit (Vitamin B9)	Nötrofil adezyon inhibitörleri	
Proantosiyanidin	Nonenzimatik serbest radikal toplayıcılar (mannitol, albümin)	
Flavonoid	Trolox-C (vitamin E analogu)	
Lutein	Barbitüratlar	
	Demir şelatörleri	
	Sitokinler (TNF ve IL-1)	

2. 12. Moringa Oleifera

Moringa Oleifera çeşitli kullanım olanakları olan besleyici bir sebze ağacıdır. Moringa Oleifera, çeşitli dillerde farklı şekilde adlandırılan genellikle "Hayat Ağacı" veya "Mucize Ağaç" olarak adlandırılan bir bitki olup, *Moringaceae* ailesine ait en çok yetiştirilen ve bilinen türüdür. Bunun sebebi ise tohumundan köküne, yapraklarına kadar bitkinin her parçasından yararlanılması ve hemen hemen her parçasının ayrı bir değerinin olmasıdır (68, 69).



Resim 2. 2. Moringa Oleifera bitkisi ve yaprağı

Moringa Oleifera birçok Güneydoğu Asya ülkelerinde yaygın olarak özellikle Tayland, Hindistan, Filipinler ve Pakistan ülkelerinde yetiştirilmektedir (70).

Bitki Afrika geleneksel tıpta kabızlık, baş ağrısı, romatizma, diyabet, üriner sistem hastalıklarında, hipertansiyon, solunum yolu hastalıklarında ve diğer ülkelerde (Filipin) metabolik ve endokrin sistem hastalıklarında kullanılmaktadır. Ayrıca doğum sonrası laktasyonu indüklemek için ve bağışıklık sistemini güçlendirmek için de kullanılmaktadır. Yapraklarının ise afrodizyak fonksiyonu olduğu ve cinsel potansiyeli arttırdığı bildirilmiştir (4, 71-73).

Yaprakları son derece besleyici ve β -karoten, riboflavin, nikotinik asit, folik asit, piridoksin, protein, vitamin A, B, C ve E, amino asitler, çeşitli fenolik bileşikler ve mineraller açısından zengin bir kaynaktır (4, 74-76).

Moringa Oleifera ağacının yaprakları ve tohumları antioksidanlardan çok zengin mükemmel bir kaynak olarak bilinmektedir ve diğer in vivo çalışmalarda Moringa'nın antimikrobiyal, antidiüretik, antidiyabetik, hepatoprotektif, hipotansif, kardiyoprotektif, antiepileptik ve antikanserojenik gibi etkiler gösterdiği bildirilmiştir (2, 4, 6, 7, 75, 77).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 1. Araştırmanın Amacı

Bu çalışmada, deneysel tek taraflı kriptorşidizm oluşturulmuş sıçanların testislerinde oluşan hasarlar ve bu hasarlara karşı Moringa Oleifera bitkisinden hazırlanan iki farklı dozdaki ekstraktının etkilerinin histopatolojik, immünohistokimyasal, biyokimyasal ve western blot yöntemleri ile araştırılması amaçlanmıştır.

3. 2. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezi'nden (GAÜN-DAM) elde edilen 42 adet 15-17 günlük erkek Sprague Dawley cinsi sıçanlar kullanıldı. Sıçanlar ortam ışığının 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ayarlandığı ve ortam ısısının $21\pm1^{\circ}\text{C}$ 'ye sabitlendiği odalardaki tel kafeslerde barındırıldı. Deney süresi boyunca tüm sıçanların ad libitum beslenmeleri sağlandı. Tüm sıçanlar çalışma başlangıcından çalışmanın bitimine kadar tartılarak ağırlıkları kayıt altına alındı. Çalışmamızda yapılan tüm işlemler Gaziantep Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (HADYEK) tarafından **05.12.2016** tarihli ve **2016/16** sayılı kararı ile onaylandı. Proje Gaziantep Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi (BAPYB) tarafından (**BAP No: TF.YLT.17.10**) desteklendi.

Deneyde kullanılan Voonka Moringa Green adlı Moringa Oleifera Lam Ekstraktı Eczacıbaşından temin edilmiştir.



Resim 3. 1. Çalışmada kullanılan sıçanlardan örnekler.

3. 3. Grupların Oluşturulması

Bu alışmada, yapılan g analizine gre toplamda 42 adet 15-17 gnlk erkek Sprague Dawley sıanlar kullanıldı.

Sıanlar, kontrol grubunda 9 diğr deney gruplarında 11 adet olmak zere Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grubu olarak toplam 4 gruba blnd (Tablo 3. 1.).

Grup I. **Kontrol** grubu (n=9): Bu gruptaki sıanlara hibir operasyon yapılmadan MOLE zcs po olarak 2 hafta boyunca verildi.

Grup II. **Kripto Kontrol** grubu (n=11): Bu gruptaki sıanlara tek taraflı kriptorşidizm uygulanarak MOLE zcs po olarak 2 hafta boyunca verildi.

Grup III. **Kripto + 400mg/kg MOLE** grubu (n=11): Bu gruptaki sıanlara tek taraflı kriptorşidizm uygulanarak MOLE 400mg/kg/po 2 hafta boyunca verildi.

Grup IV. **Kripto + 800mg/kg MOLE** grubu (n=11): Bu gruptaki sıanlara tek taraflı kriptorşidizm uygulanarak MOLE 800mg/kg/po 2 hafta boyunca verildi.

Tablo 3. 1. Sıanlara MOLE Uygulama Programı

Gruplar	1 - 14. gnler arası	15. gn
Kontrol	MOLE zcs (dH ₂ O)	KESİM
Kripto Kontrol	MOLE zcs (dH ₂ O)	KESİM
Kripto + 400mg/kg MOLE	MOLE 400mg/kg/po	KESİM
Kripto + 800mg/kg MOLE	MOLE 800mg/kg/po	KESİM

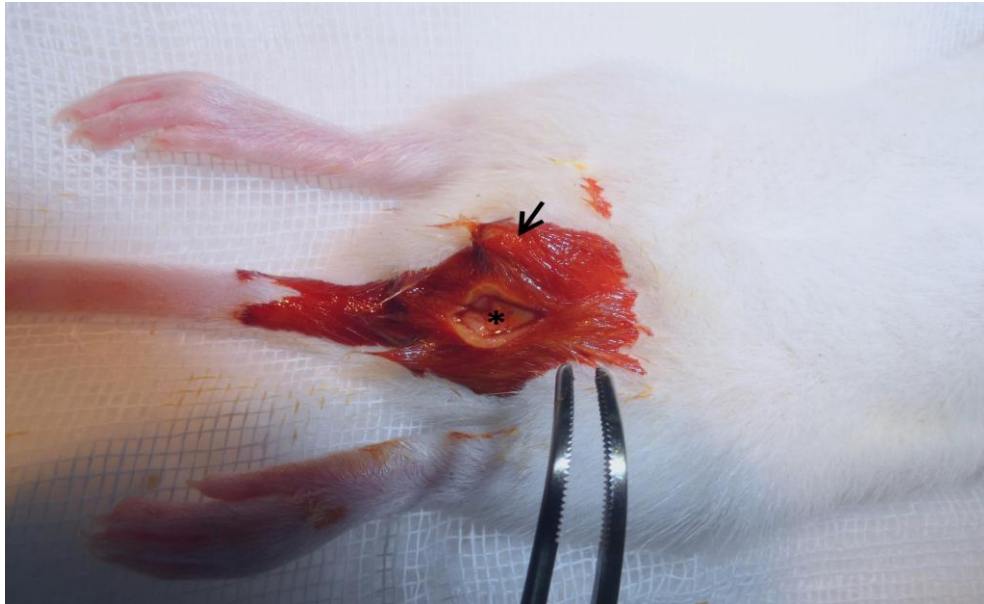
3. 4. Vct Ağırlıklarının lm

Deney başından itibaren hayvanların vct ağırlıkları uygulanacak MOLE dozlarını belirlemek zere gnlk olarak tartıldı ve kaydedildi. Ayrıca deney sonunda da sıanlar sakrifiye edilmeden nce ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

3. 5. Cerrahi Yöntem

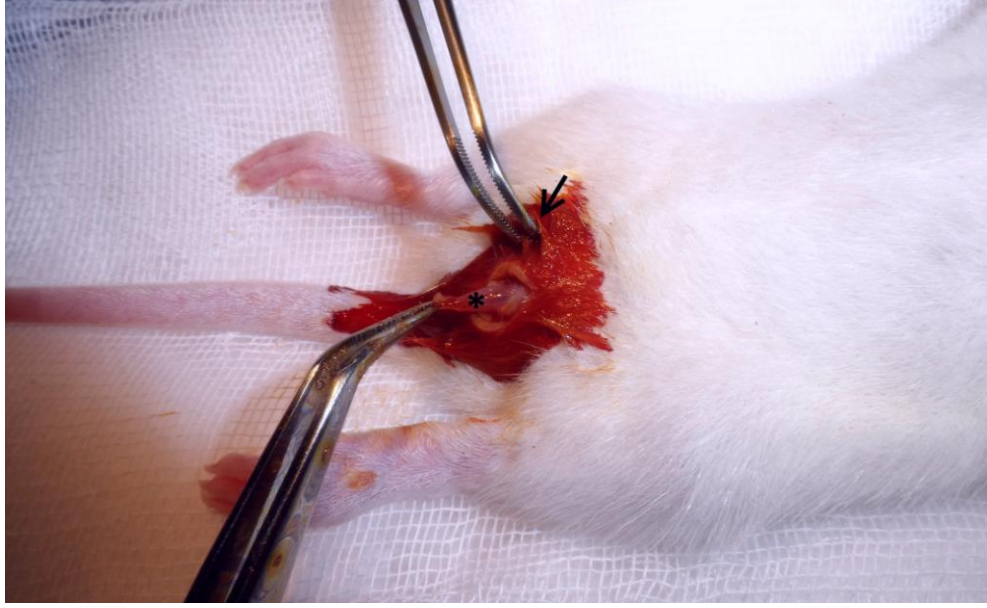
Tek taraflı kriptorşidizm modeli uygulanacak sıçanlar öncelikle, intraperitoneal olarak uygulanan ketamin hidroklorür (Ketalar, 50 mg/ml) ve xylazine hidroklorür (Rompun, 100 mg/ml) karışımı ile genel anesteziye alındı. Anestezi 10 ml steril tüp içinde 5.75 ml distile su, 3.75 ml Ketalar (50 mg/ml) ve 0.5 ml Rompun (100 mg/ml) iyice karıştırıldı ve bu karışımdan her bir hayvan için 0.2 ml/100 gr IP olarak kullanıldı. Hayvanların anestezi etkisinin altında olup olmadıklarını arka ayaklarının pensetle sıkıştırılmasına verdikleri tepki ile test edildi. Anestezi etkisi altına alındıktan sonra hayvanların inguino-skrotal bölgesi povidon iyotla temizlendi. İnguinal bölgede yapılan yüzeysel kesi ile deri açıldı ve künt diseksiyonla sol gubernakulumu ulaşıldı (**Şekil 3. 2.**). Bitişik dokulardan izole edilen sol gubernakulum kendi içine ters-yüz edilerek eksternal inguinal halkadan abdominal boşluk içine geri itildi (**Şekil 3. 3.**) ve ardından sol gubernakulum eksternal inguinal halka ile birlikte, absorbe olmayan 7/0 ipek iplikle dikiş atılarak sabitlendi (**Şekil 3. 4.**). Daha sonra deri 5/0 absorbe olabilen iplikle dikilerek kapatıldı (**Şekil 3. 5.**). Her bir operasyon yaklaşık 15-20 dakika sürdü.

Operasyon sonrasında yavru sıçanlar henüz süt emme döneminde olduklarından dolayı annelerinin yanına bırakıldı (**Resim 3. 7.**).



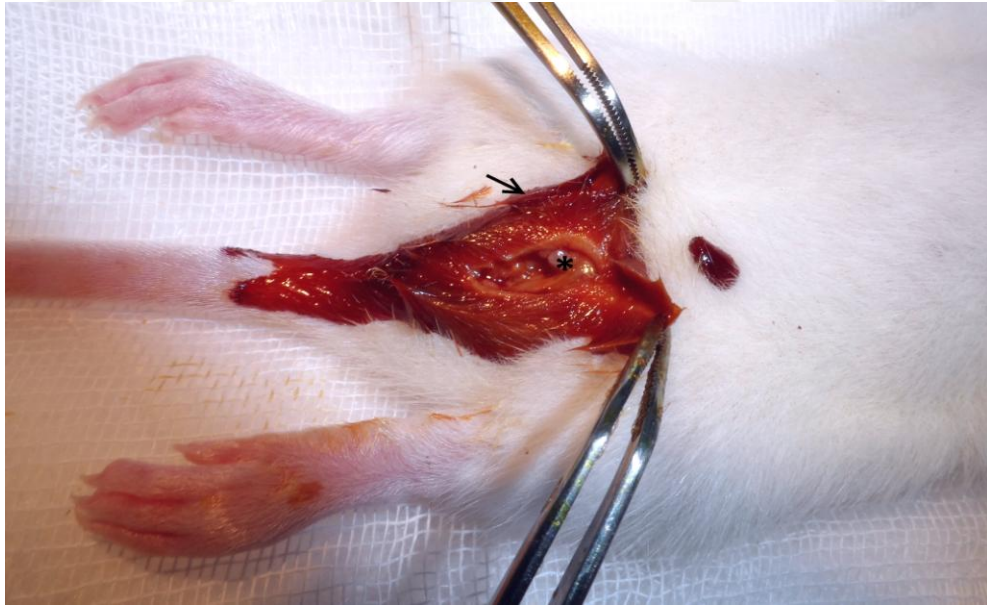
Resim 3. 2. Deride kesi yapıldıktan sonra ortaya çıkan gubernakulum.

(*): Gubernakulum, (Ok): Penis



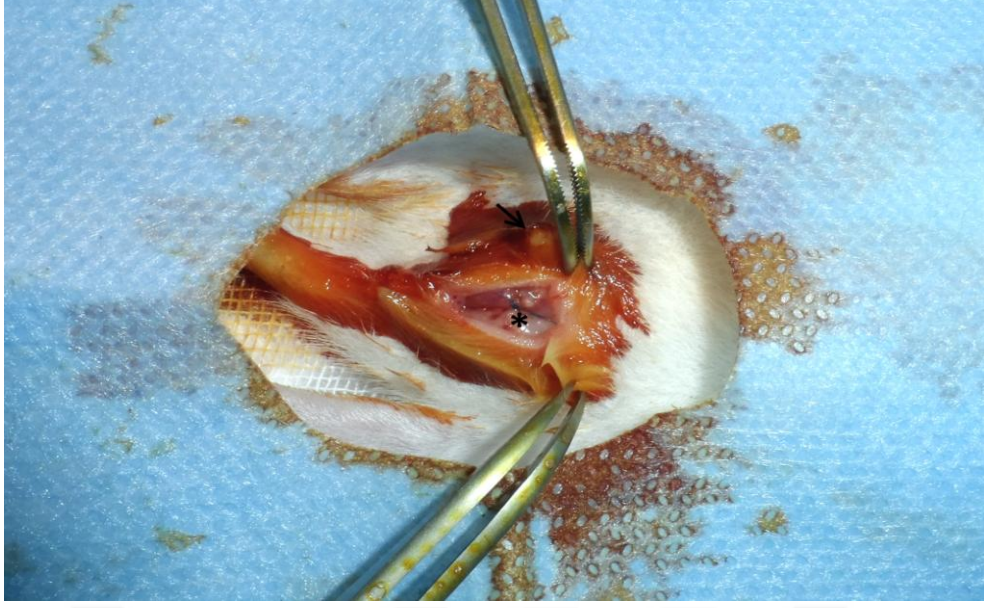
Resim 3. 3. İzole edilen gubernakulum.

(*): Gubernakulum, (Ok): Penis



Resim 3. 4. Gubernakulumun abdominal kavite içine ters-yüz edilip itildikten sonraki görünümü.

(*): Gubernakulum, (Ok): Penis



Resim 3. 5. Gubernakulum dikildikten sonraki görünüm.

(*): Gubernakulum, (Ok): Penis



Resim 3. 6. İnguinal bölgedeki kesi kapatıldıktan sonraki görünüm.



Resim 3. 7. “İnguinoskrotal yöntemle” oluşturulmuş tek taraflı kriptorşidizm modeli sonrasında annesinin yanına bırakılmış yavru sıçanlar.



Resim 3. 8. “İnguinoskrotal yöntemle” oluşturulmuş kriptorşidizm modelinde sağ testisin inmiş görünümü. (Tam çekim)

(*): Boş olan sol skrotum, (Ok): Sağ inmiş testis



Resim 3. 9. “İnguinoskrotal yöntemle” oluşturulmuş kriptorşidizm modelinde sağ testisin inmiş görünümü. (Testise odaklanmış çekim)

(*): Boş olan sol skrotum, (Ok): Sağ inmiş testis

3. 6. Dokuların Alınması

15. gün biyokimyasal incelemeler için kullanılacak deney hayvanları tartıldı ve ardından intraperitoneal yolla (Ketalar, 50 mg/ml) ve xylazine hidroklorür (Rompun, 100 mg/ml) karışımı ile genel anesteziye alındı. Daha sonra Serum Total Protein (TP) ölçümü için kalplerinden kan alındı ve SOD, MDA, TP ölçümü ve Western Blot çalışması için testisleri çıkartıldı. Testis dokuları ve kan örnekleri -80 °C dondurucuda muhafaza edildi.

Histopatolojik incelemeler için kullanılacak deney hayvanlarına ise yine aynı anestezi yöntem kullanıldıktan sonra doku fiksasyonu için perfüzyon fiksasyonu uygulanıp testis dokuları çıkartıldı. Bu hayvanlar diseksiyon masasında sırtüstü yatırılarak göğüs kafesi açılıp sabitlendi. Perfüzyon setinin iğnesi sol ventriküle yerleştirilerek ucu pens yardımıyla sabitlendi ve sağ atrium parçalandıktan sonra perfüzyon pompası çalıştırıldı.

Damarlardaki kanın temizlenmesi için laktatlı ringer çözeltisi ile perfüzyona başlandı. Kanın uzaklaştırılmasından sonra formalin çözeltisi ile perfüzyon fiksasyonu işlemine geçildi.

Perfüzyon fiksasyonu tamamlanmasından sonra sıçanların testisleri epididimleriyle beraber alındı. Epididimlerinden ayrılan testislerin ağırlıkları tartıldı.

Daha sonra bütün dokular nötral tamponlanmış %10'luk formalin fiksativi içine konuldu.

3. 7. Testis Ağırlıklarının Ölçümü

Deney sonunda çevre dokularından iyice temizlenen testislerin her biri RADWAG AS 220.R2 marka hassas terazi ile tartıldı. Testis ağırlıkları her sıçan için ayrı ayrı sol ve sağ olmak üzere tartılarak kaydedildi.

3. 8. Testis Ağırlık İndeksinin Hesaplanması

Deneyin sonunda ölçülen vücut ağırlıkları ile aynı sıçanlara ait sağ ve sol testis ağırlıklarının toplamı aşağıdaki formüle göre hesaplanarak her bir sıçan için Testis Ağırlık İndeksi (TAİ) değerleri belirlendi.

TAİ: [(sağ + sol testis ağırlıklar toplamı) / vücut ağırlığı] × 100

3. 9. Biyokimyasal Analizler

Testislerden alınan doku parçaları 0,20 g olacak şekilde tartıldı. Üzerine 10 katı kadar serum fizyolojik eklendi. Daha sonra dokular homojenizatör yardımı ile parçalandı. Parçalanmış dokular santrifüje edildi ve supernatant kısımları alınarak -20 °C'de muhafaza edildi. Enzim aktivite tayini için kullanılacağı zaman dondurulmuş dokular oda sıcaklığında çözülerek SOD, MDA ve TP tayinleri yapıldı.

Ayrıca sıçanlardan alınan kanlar ise 15000 rpm'de 15 dakika 4 °C'de santrifüje edilerek serum kısımları alındı ve gerekli işlemlerden geçirilerek Total Protein (TP) değerlerine bakıldı.

3. 9. 1. Süperoksit dismutaz (SOD) aktivite tayini

Reaktifler

- 0,3 mmol/L Ksantin: 9,13 mg ksantin bir miktar dH₂O'da çözülerek son hacim 200 mL'ye tamamlandı.
- 0,6 mmol/L EDTA: 25 mg EDTA bir miktar dH₂O'da çözülerek son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

- 150 mmol/L Nitrobluetetrazoltum (NBT): 12,3 mg NBT bir miktar dH₂O'da çözülerek son hacim 100 mL'ye tamamlandı.
- 400 mmol/L Na₂CO₃: 2,54 g Na₂CO₃ bir miktar dH₂O'da çözülerek son hacim 60 mL'ye tamamlandı.
- 1 g Bovin Serum Albumin (BSA): 30 mg BSA üzerine yaklaşık 15 mL dH₂O ilave edildi. Köpürme önlenerek şekilde alt üst edilerek karıştırıldı. Son hacim distile su ile 30 mL'ye tamamlandı. Işık geçirmeyen şişede +4 °C' de saklandı.

İlk beş çözeltinin yukarıda belirlenen miktarları karıştırılarak ölçüm reaktifi hazırlandı. Hazırlanan karışım +4 °C' de koyu renkli şişede saklandı.

- 2 mol/L (NH₄)₂SO₄: 2,64g (NH₄)₂SO₄ alınıp 10 mL dH₂O'da çözüldü.
- 167 U/L Ksantin Oksidaz (XO): 10 µL XO alınıp üzerine 2 mol/L'lik (NH₄)₂SO₄ çözeltisinden 1 mL eklendi. Tüp birkaç kez altüst edilerek karıştırıldı. (Enzim çözeltisi çalışma esnasında hazırlandı)
- 0,8 mmol/L CuCl₂: 10,8 mg CuCl₂ bir miktar dH₂O içinde çözüldükten sonra son hacim 100 mL'ye tamamlandı.

İşlemler

2,5 ml doku numuneleri üzerine 2,5 mL reaktif ve 1 mL'lik enzim çözeltisi eklenip absorbanslar 560 nm' de spektrofotometre cihazında okutuldu.

SOD aktivitesini hesaplamak için aşağıdaki formüller kullanıldı:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(A_{\text{kör}} - A_{\text{numune}}) / A_{\text{kör}}] \times 100$$

A_{kör}: Kör Absorbansı, A_{numune}: Numune Absorbansı

Ünite: %50'lik NBT inhibisyonuna 1 U diyoruz

$$\text{Aktivite (U/mL)} = [\% \text{ inhibisyon} / 50 \times \text{Dilüsyon Faktörü}]$$

$$\text{Spesifik Aktivite (U/mg protein)} = [\text{U/mg/ml protein}]$$

3. 9. 2. Malondialdehit (MDA) aktivite tayini

Lipid peroksidasyonunun ürünü olan MDA'nın Tiobarbütirik Asit (TBA) ile verdiği reaksiyonun sonucunda oluşan rengin 532 nm dalga boyunda maksimum absorbans vermesi esasına dayanır.

Reaktifler

- Fosfat tamponu ile tamponlanmış serum fizyolojik: 8,1 g NaCl, 2,302 g Na₂HPO₄ tartılıp dH₂O'da eritildikten sonra son hacim 1 L'ye tamamlandı ve pH 7,4 olacak şekilde ayarlandı.
- BHT çözeltisi (%0.88): 88 mg BHT tartılıp, 10 mL absolüt alkol içinde eritildi.
- TCA çözeltisi (%30): 30 g TCA tartılıp bir miktar dH₂O'da eritilerek 100 mL'ye tamamlandı.
- EDTA çözeltisi (0,1 M): 37,224 g EDTA-Na₂H₂O tartılıp dH₂O ile 1 L'ye tamamlandı.
- TBA çözeltisi (%1): 1 g Tiyobarbitürik Asit tartılıp, 100 mL 0,05 N NaOH içinde çözüldü.
- NaOH çözeltisi (0,05 N): 2 g NaOH tartılıp bir miktar dH₂O'da çözülerek hacim 1 L'ye tamamlandı.

İşlemler

0,2 mL numune üzerine 0,8 mL PBS (Fosfat Tamponlu Solüsyonu), 0,025 mL BHT ve 0,5 mL TCA eklendi. Tüpler vorteks yardımıyla karıştırıldıktan sonra 2 saat buzda bekletildi. Daha sonra 2000 rpm/dk da 15 dk santrifüje edildi. Supernatanttan 1 mL alınarak yeni tüplere aktarıldı. Üzerine 0,075 mL EDTA ve 0,25 mL TBA eklendi. Tüpler karıştırılıp kaynar su banyosunda 15 dk bekletildi. Oda ısısına soğutulduktan sonra absorbanslar spektrofotometrede 532 nm'de okutuldu.

Hesaplamalar absorbans değerlerinin molar ekstinksiyon katsayısıyla ($1.56 \times 10^5 \text{ cm}^{-1}$) çarpılarak nmol/L değerler elde edildi. Daha sonra bu değerler 10^9 ile çarpılarak doku ağırlığına (mg) bölündü. Değerler nmol/mg olarak ifade edildi.

3. 9. 3. Total protein (TP) aktivite tayini

Protein Tayini

Testis dokusunda protein tayini Bradford yöntemiyle yapıldı. Standart eğri için BSA (Sığır Serum Albumini) içeren, 25-300 µg'lık seri çözeltiler hazırlandı. 0,1 mL çözelti, 5 mL Coomassie Blue boya reaktifine eklendi. 5 dk bekletildikten sonra absorbanslar spektrofotometrede 595 nm'de okutuldu.

Coomassie Blue boya reaktifi

100 mg Coomassie Blue G alındı, 50 mL %95'lik etil alkol içinde çözüldü. Bu solüsyona 100 mL (% 85'lik) fosforik asit (H₃PO₄) ilave edildi ve toplam hacim distile su 1L'ye tamamlandı.

Hesaplamalar standart eğriye göre yapıldı ve değerler µg/mL olarak ifade edildi.

3. 10. Histopatolojik İncelemeler

3. 10. 1. Bouin çözeltilisinin hazırlanması

Testis dokuları nötral tamponlanmış %10'luk formalin fiksatif ile tespit edildiğinden dolayı Masson's Trikróm boyama yönteminde kesitler Bouin'de 56 °C'de 1 saat bekletildi (**Tablo 3. 5.**). Bouin fiksatif aşağıdaki şekilde hazırlandı;

- Doymuş pikrik asit: 75 mL
- Formaldehit (%40): 25 mL
- Glasiyal asetik asit: 5 mL

Molekül ağırlığı kadar tartılan pikrik asit (12,2 g) 1000 mL saf su içerisinde çözüldü. İyice çözdürülmesine dikkat edilerek gerekli miktarda pikrik asit kullanıldı. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü. Bouin fiksatifini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi ile formaldehit karıştırıldı, daha sonra ise üzerine yavaşça glasiyal asetik asit eklenerek çözelti karıştırıldı.

3. 10. 2. Işık mikroskobu için dokuların hazırlanması

Işık mikroskobu çalışmalarının yapılacağı zamana kadar testis dokuları %10'luk formaldehit çözeltisi içinde fikse edildi. Fikse olup sertleşen testis dokuları enine olacak şekilde önce ortadan iki eşit parçaya bölündü ve daha sonra bu parçalar uygun boyutlara getirilerek kasetlere alındıktan sonra kodlandı. Doku takip aşaması Leica TP 1010 doku takip cihazı kullanarak gerçekleştirildi (**Tablo 3. 2.**). Cihazdan alınan dokular parafin bloklara gömüldü.

Tablo 3. 2. Doku takibi cihazının protokolü

İŞLEM VE KİMYASAL	SÜRESİ
Akar su	1 gece
%60' lık Alkol	1 saat
%70' lik Alkol	1 saat
%80' lik Alkol	1 saat
%96' lık Alkol	1 saat
%100' lük Alkol	1 saat
Ksilen I	1 saat
Ksilen II	1 saat
Parafin I	1 saat
Parafin II	1 saat
Gömme	

3. 10. 3. Kesitlerin alınması ve boyanması

Leica RM 2245 mikrotomunda parafin bloklardan 4-5µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitler 1 gece etüvde bekletildikten sonra Hematoksilen - Eozin / H-E (**Tablo 3. 3.**) ve Masson's Trikróm / TRI (**Tablo 3. 4. - Tablo 3. 5.**) boyama yöntemleri uygulandı.

Tablo 3. 3. Hematoksilen - Eosin (H-E) Protokolü

İŞLEM VE KİMYASAL	SÜRESİ
Ksilen	30 dk - 1 saat
Azalan alkol serileri (%100, %90, %80, %70)	5'er dakika
Distile suyu	3 dakika
Hematoksilen	20 dakika
Akar çeşme suyu	15 dakika
Asit - Alkol	1-2 kere batır çıkar
Çeşme suyu	Çalkala
Akar çeşme suyu	15 dakika
Distile suyu	2 dakika
Eozin	7 saniye
Distile suyu	Çalkala
Artan alkol serileri (%90, %96, %100)	2'er dakika
Ksilen	1 saat
Kapatma	

Tablo 3. 4. Masson's Trikróm (TRI) Boya Solüsyonu

A Solüsyonu	Asit Fuksin: 0,5 g Xylidine Ponceau: 0,5 g Distile Su: 99 mL Glasiyal Asetik Asit: 1 mL
B Solüsyonu	Fosfomolibdik Asit: 1 g Distile Su: 100 mL
C Solüsyonu	Light Green SF Yellowish: 400 mg Distile Su: 100 mL Glasiyal Asetik Asit: 0,2 mL
D1 - D2 Solüsyonlar	Asetik Asit: 1 mL Distile Su: 99 mL

Tablo 3. 5. Masson's Trikróm (TRI) Protokolü

İŞLEM VE KİMYASAL	SÜRESİ
Etüv	1 gece
Ksilen	1 saat
Azalan alkol serileri (%100, %90, %70, %50)	3'er dakika
Distile suyu	Çalkala
(Eğer Boin dışındaki fiksatifler ile fikse edildiyse) Boin'de 56 °C'de	1 saat
Musluk suyu	Sarı rengi gidene kadar yıka
Distile suyu	Çalkala
Demirli Hematoksilen	1 - 2 saat
Akar çeşme suyu	20 dakika
%1 hidroklorik asit + %70 etanol	Batır çıkar
Akar çeşme suyu	20 dakika
Distile suyu	Batır çıkar
A Solüsyonu	5 - 10 dakika
Distile suyu	Batır çıkar
B Solüsyonu	5 - 15 dakika
D1 Solüsyonu	Birkaç kere çalkala
C Solüsyonu	5 - 10 dakika
D2 Solüsyonu	1 dakika çalkala
Distile suyu	Birkaç kere çalkala
Alkol serileri (%50, %70)	2'er dakika
Alkol serileri (%90, %96)	1'er dakika
Ksilen	1 saat
Kapatma	

3. 11. İmmünohistokimyasal İncelemeler

3. 11. 1. Apoptozisin değerlendirilmesi

Testis dokusunda apoptotik hücreleri saptamak için bloklanmış dokulardan Leica RM 2245 (Almanya) mikrotomunda 4-5 µm kalınlığında kesitler alınarak pozitif şarjlı lamlara yerleştirildi ve bir gece 60 °C etüvde bekletildi. Lamlar 2x5 dk ksilende bekletildikten sonra azalan alkol serilerinden geçirildi. Bu aşamada antijen kurtarma basamağı için Caspase-3 uygulanacak olan lamlar %10 sitratlı tampon çözeltisi ile 700 watta 7 dk ve 400 watta 7 dk olmak üzere 2 defa kaynatıldı. Tüm lamlar aynı solüsyonlar içerisinde 15 dk soğutuldu daha sonra 3x2 dk PBS ile yıkandı. Yıkama sonrası dokular Pap Pen ile çerçevelendi. Sonra %3 H₂O₂ (Hidrojen Peroksit)'te 20 dk bekletildi. Ardından tekrar 3x2 dk PBS ile yıkandı sonra 5 dk UV (Ultra Vision) blokta bırakıldı ve 1/100 sulandırılmış primer antikorla (Anti-Phospho-CASPASE 3,

SAB4504123, Lot: 110835 PSER150) 2 saat sıcak su dolu küvette inkübe edildi. Ardından yine 3x2 dk PBS ile yıkandı ve 10-20 dk (ortalama 15 dk) biyotinlenmiş sekonder antikor uygulandı, sonrasında yine 3x2 dk PBS ile yıkandı ve 15 dk 100 µL streptavidine maruz bırakıldı. Yıkama sonrası (3x2 dk PBS) lamlardaki dokular 5-10 dk (ortalama 5 dk) 100 µL DAB kromojen (kahverengi renk görülene kadar) ile boyandı. Daha sonra lamlar musluk suyunda yıkandı ve 10 saniye Mayers Hematoksilen ile boyandı. Ardından lamlar tekrar musluk suyu ile yıkandı ve artan alkol serilerinden geçirildi ve ksilende bırakılıp kapama işlemleri yapıldı. Antikor için negatif ve pozitif kontrol boyaması da yapıldı.

(Caspase 3 antikor için pozitif kontrol doku: Tonsil, negatif kontrol için ise PBS kullanıldı.)

Tüm gruplara ait deney hayvanlarının testis doku kesitlerinde apoptozisin değerlendirilmesi, Leica DM 750 marka ışık mikroskopunda 20× büyütmede rastgele seçilen 10 alanda H Skorlaması yapıldı.

3. 12. Western Blot

Sıçanlar sakrifiye edildikten sonra testis dokuları çıkartıldı. Daha sonra 15 mL falkon tüplere konuldu ve 3 kez soğuk PBS ile yıkandıktan sonra -80 °C'de muhafaza edildi.

Protein İzolasyonu

Testis dokuları 15 mL cam tüplere alındı ve üzerine %1 protein inhibitör kokteyl ile 2 mL soğuk PBS eklendi ve homojenizatör yardımı ile parçalandı. Parçalanmış dokular 14000 rpm +4°C'de 15 dk santrifüje edildi ve supernatant kısımları eppendorf tüplere alınarak -80 °C'de muhafaza edildi.

Protein Ölçümü

Protein konsantrasyonların ölçümü için NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer cihazı kullanıldı (**Resim 3. 10.**).



Resim 3. 10. NanoDrop cihazı.

Protein Denatürasyonu (Denaturation)

Jele yüklenecek her protein örneğinin yoğunluğu 20 μg olacak şekilde ayarlandı. 25 μL 'lik toplam hacim; 5 μL %5 β -merkaptoetanollü Laemmli / Sample Buffer (**Tablo 3. 6.**) ile tamamlandı. Hazırlanan örnekler yüklenmeden önce SensoQuest Labcycler cihazında (**Resim 3. 11.**) 95°C'de 5 dk bekletildi ve her kuyucuğa 25 μL örnek yükleme yapıldı.

Tablo 3. 6. Sample Buffer

Sample Buffer	
1 M Tris-HCl (ph=6.8)	2,4 mL
SDS	0,8 g
Bromophenol blue	40 mg
H ₂ O	3,1 mL
Glycerol	4 mL
Muhafaza	Oda sıcaklığı



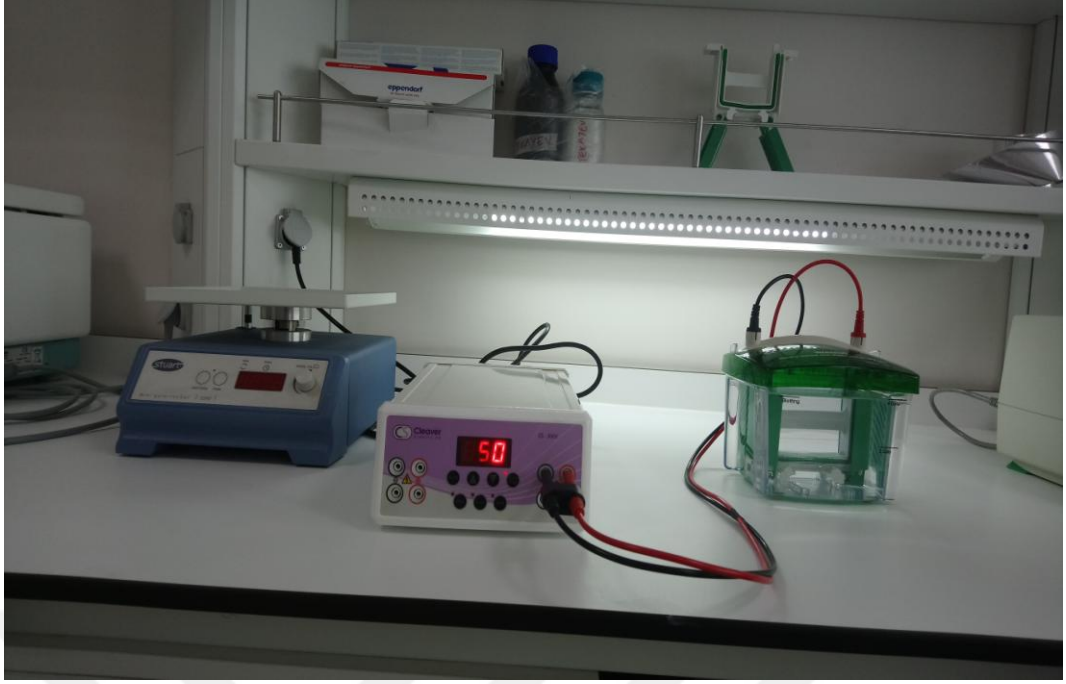
Resim 3. 11. SensoQuest Labcycler cihazı.

Jele Proteinlerin Yüklmesi ve Yürütülmesi

Proteinlerin yürütülmesi için %7,5 Mini-PROTEAN® TGX Stain-Free™ hazır jeller kullanıldı. Protein denatürasyonu için SensoQuest Labcycler cihazında 95°C’de 5 dk bekletilen protein örnekleri buz üzerine alındı ve jele yüklendi. Daha sonra Running Buffer / Yürütme Solusyonu (**Tablo 3. 7.**) tanka döküldü ve 50 V’da yaklaşık 5-6 saat yürütüldü (**Resim 3. 12.**).

Tablo 3. 7. Running Buffer (ph 8,3)

Running Buffer (ph 8,3)	10X	1X
Tris-Base 25 mM	30.3 g	3.03 g
Glycin 192 mM	144.1 g	14.41 g
SDS %0.1	10 g	1 g
Muhafaza: 4°C	Distile su ile 1L’ye tamamlanır	



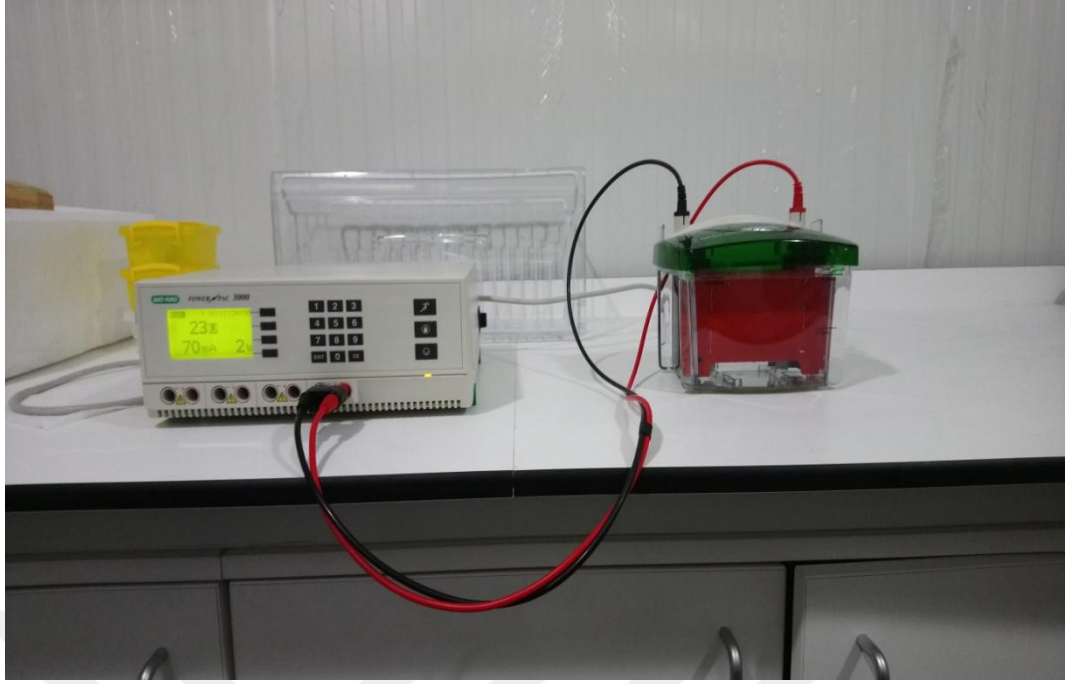
Resim 3. 12. Proteinlerin yürütülmesi.

Jeldeki Proteinlerin PVDF (polyvinylidenedifluoride) membrana Aktarılması (Blotting)

Membran jel boyutunda kesildi ve 1 dk metanolde bekletildi. Daha sonra metanol döküldü ve distile suyu ile yıkandı. Distile suyu ile yıkandıktan sonra membran Transfer Buffer'da bekletildi. Sandviç metoduyla jel ve membran üst üste getirildi, sünger ile 2'şer filtre kağıtları arasında sıkıştırıldı ve kaset kapatıldı. Kaset elektroforez tankına yerleştirildikten sonra Transfer Buffer (**Tablo 3. 8.**) eklendi. 23 V'da 4°C'de 1 gece aktarma (transfer) yapıldı (**Resim 3. 13.**).

Tablo 3. 8. Transfer Buffer

Transfer Buffer (10X)		Transfer Buffer (1X)	
Tris 25 Mm	30.3 g	10X TowbinBuffer	100 mL
Glycin 195 mM	146.3 g	Methanol	200 mL
		H ₂ O	700 mL
Toplam hacim	Distile su ile 1L'ye tamamlanır	Toplam hacim	1L
Muhafaza	4°C	Muhafaza	4°C



Resim 3. 13. Jeldeki proteinlerin PVDF (polyvinylidenedifluoride) membrana aktarılması (transferi).

PVDF membrandaki Proteinlerin Kapatılması (Blocking with dry milk)

%5'lik yağsız süt tozu (**Tablo 3. 10.**) membranı kaplayacak miktarda hazırlandı. Membranın üzerine eklendikten sonra 1,5 saat oda sıcaklığında çalkalayıcıda bırakıldı. Daha sonra membran 3 kez 5'er dk TBST (**Tablo 3. 9.**) ile yıkandı.

Tablo 3. 9. 10X TBS - TBST

Tris-Buffered Saline (10X TBS)		Tris Buffered Saline Tween (TBST)	
NaCl	175,3 g	10X TBS	200 mL
Tris-Base	48,5 g	H ₂ O	1800 mL
		10% Tween-20	10 mL
Toplam hacim	Distile su ile 2L'ye tamamlanır	Toplam hacim	2L
Muhafaza	Oda sıcaklığı	Muhafaza	Oda sıcaklığı

Tablo 3. 10. Blocking Buffer

Blocking Buffer (%5)	
Yağsız Süt Tozu	5 g
TBST	100 mL
Muhafaza	4°C

Membranın Birincil Antikora Maruziyeti

HSP70 primer antikoru (Santa Cruz: sc-32239) 1/200 oranında, sekonder antikor 1/2000 oranında, kontrol amaçlı kullanılacak Anti-GAPDH antikoru (abcam: ab70699) 1/2000 oranında TBST/Blocking Buffer içinde hazırlandı. HSP70 ve GAPDH antikorları ayrı-ayrı kesilmiş olan membranlar üzerine eklendi ve oda sıcaklığında 1 saat çalkalayıcıda maruz bırakıldı.

Membranların İkincil Antikora Maruziyeti

HSP70 için Goat Anti-Mouse IgG H&L Horse Radish Peroxidase (HRP) ikincil antikoru (abcam: ab97023) 1/2000 oranında, Anti-GAPDH için Goat Anti-Rabbit IgG H&L Horse Radish Peroxidase (HRP) ikincil antikoru (abcam: ab97051) 1/2000 oranında TBST/Blocking Buffer içinde hazırlandı. Hazırlanan antikorlar ayrı-ayrı kesilmiş membranların üzerine eklendi ve 1 saat oda sıcaklığında çalkalayıcıda maruz bırakıldı. Sonra mebranların üzerindeki antikor çözeltileri alındı ve 3 kez 5'er dk TBST ile yıkandı.

Görüntüleme

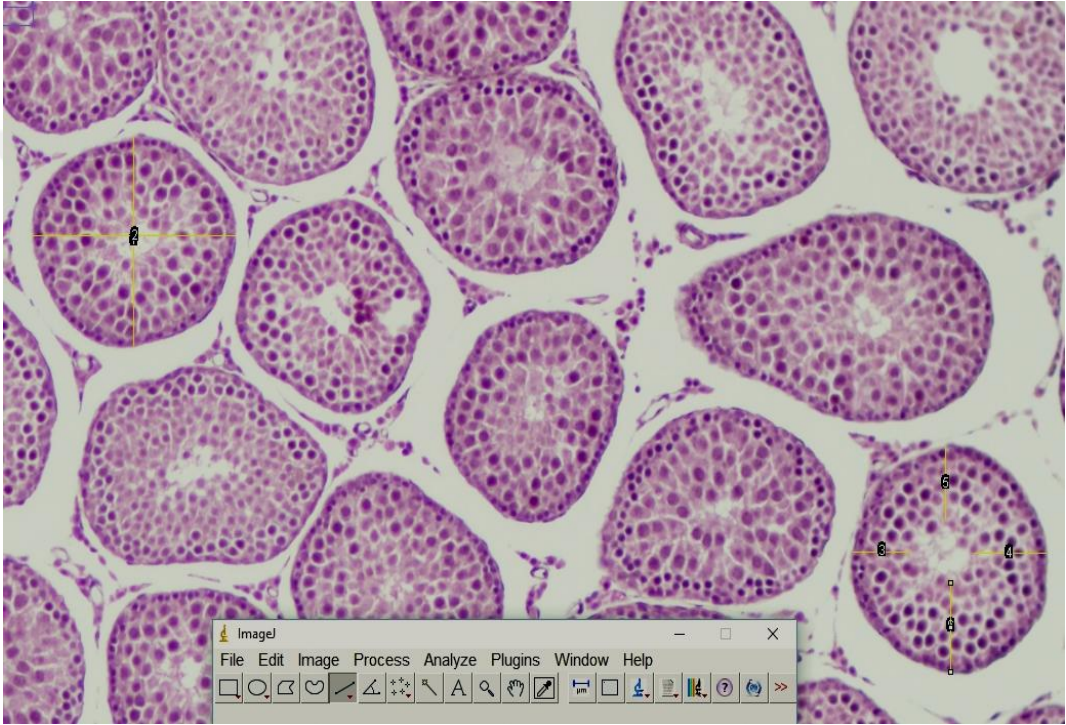
Yıkanan membranlardaki TBST uzaklaştırıldı. Clarity™ Western ECL Substrate (Thermo Scientific™ Cat. NO: 32106) solüsyonları 1:1 oranında karıştırıldı. Membranın üzerine eklendi ve 5 dk sonrasında Fusion FX VİBER LOURMAT cihazında görüntü alındı (**Resim 3. 14.**).



Resim 3. 14. Fusion FX VİBER LOURMAT cihazı.

3. 13. Tübül Çapı (TÇ) ve Tübül Epitel Kalınlığının (TEK) Ölçümü

Seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığı ImageJ 1.51K Analiz Programı yardımı ile ve Leica DM 750 ışık mikroskobu ile incelenerek ölçüldü. Her grupta 10× büyütmede, her bir hayvan başına 10 seminifer tübülün çapı, tübülün başına 2 ölçüm yapılarak ve aynı tübülün 4 farklı bölgesinden germinal epitel kalınlığı ölçülüp ortalamaları alınarak morfometrik ölçümler yapıldı (**Resim 3. 15.**).



Resim 3. 15. ImageJ 1.51K Analiz Programı.

3. 14. İstatistiksel Analizler

Çalışmadan elde edilen veriler IBM SPSS 22.0 Statistics (Statistical Package for Social Sciences) paket programı kullanılarak analiz edildi. Sayısal verilerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro Wilk testi ile test edildi. Normal dağılıma uyan değişkenlerin gruplar arasında farklılık olup olmadığını karşılaştırmak için ANOVA ve LSD testleri kullanıldı. Gruplar arasında anlamlı bir farklılık çıkan parametrelerde hangi gruplar arasında farklılık olduğunu değerlendirmek için ise post-hoc testi yapıldı. Sonuçlar %95'lik güven aralığında, $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4. 1. Işıık Mikroskobu Bulguları

Çalışmada Kontrol ve Deney gruplarını oluşturan sıçan testislerinin ışık mikroskobik görünümlerini değerlendirmek için Hematoksilen-Eozin (H-E) ve Masson's Trikrom (TRI) boyama yöntemleri kullanılmıştır.

Kontrol Grubu; sıçan sol ve sağ testis örneklerinin ışık mikroskobik incelemelerinde, interstisyel alan ve seminifer tübüller normal histolojik yapıda izlendi. Seminifer tübüller bütünlüğünü korumuş, germinatif epitel bazal membran üzerinde ve seminifer tübül epitel kalınlığı ($38,64 \pm 1,40$; $38,47 \pm 1,53$), seminifer tübül çapı ($141,37 \pm 5,57$; $142,98 \pm 4,64$) değerlerde bulundu (Resim 4. 1., Resim 4. 2., Tablo 4. 14., Tablo 4. 16.).

Kripto Kontrol Grubu; sıçan sol kriptorşidizm oluşturulmuş testis örneklerinin ışık mikroskobik incelemesinde, seminifer tübül epitel kalınlığında ($p=0,001$) ve seminifer tübül çaplarında ($p=0,001$) azalma, germinatif epitelin bazal membrandan ayrılması, lümene hücre dökülmesi ve hücreler arası vakuolizasyon, interstisyel alanda tübüllerin birbirinden ayrılması, ödem (Resim 4. 3., Resim 4. 4.), perivasküler fibrozis ($p=0,001$) artışı ve konjesyon tespit edildi (Resim 4. 5., Tablo 4. 15., Tablo 4. 17., Tablo 4. 19.).

Aynı grubun inmiş sağ testis örneklerinde sol kriptorşit oluşturulmuş testis örneklerine göre daha az olmakla birlikte benzer bulgulara rastlandı. Sağ seminifer tübül epitel kalınlığı ($p=0,001$) ve tübül çapı ($p=0,001$) artmış (Resim 4. 6.), perivasküler fibrozis ($p=0,001$) azalmış bulundu (Resim 4. 7., Tablo 4. 15., Tablo 4. 17., Tablo 4. 19.).

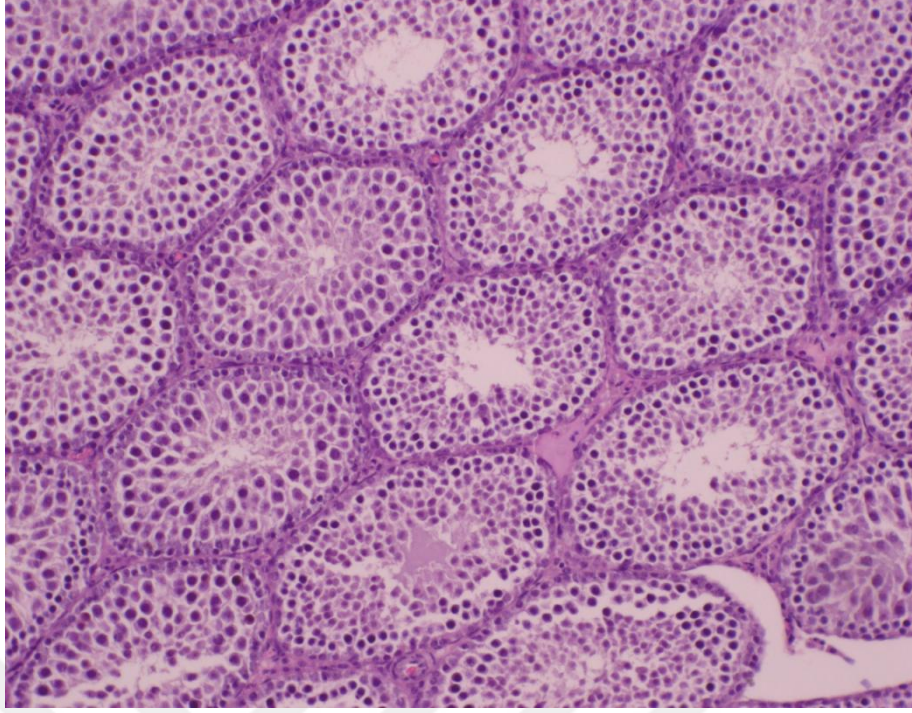
Kripto +400mg/kg MOLE Grubu; sıçan sol kriptorşidizm oluşturulmuş testis örneklerinde, Kripto Kontrol grubuna göre seminifer tübül epitel kalınlığında ve seminifer tübül çaplarında artış gözlemlendi ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,001$, $p=0,001$). Kontrol grubuna göre ise bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,001$). Perivasküler fibroziste kontrol grubuna göre azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,001$). Kripto Kontrol grubuna göre ise perivasküler fibroziste azalma tespit edildi ancak bu azalma istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,001$). İnterstisyel alanda tübüller arası ayrılma gözlenmezken ödemin

artarak devam ettiği izlendi (Resim 4. 8., Resim 4. 9., Tablo 4. 15., Tablo 4. 17., Tablo 4. 19.).

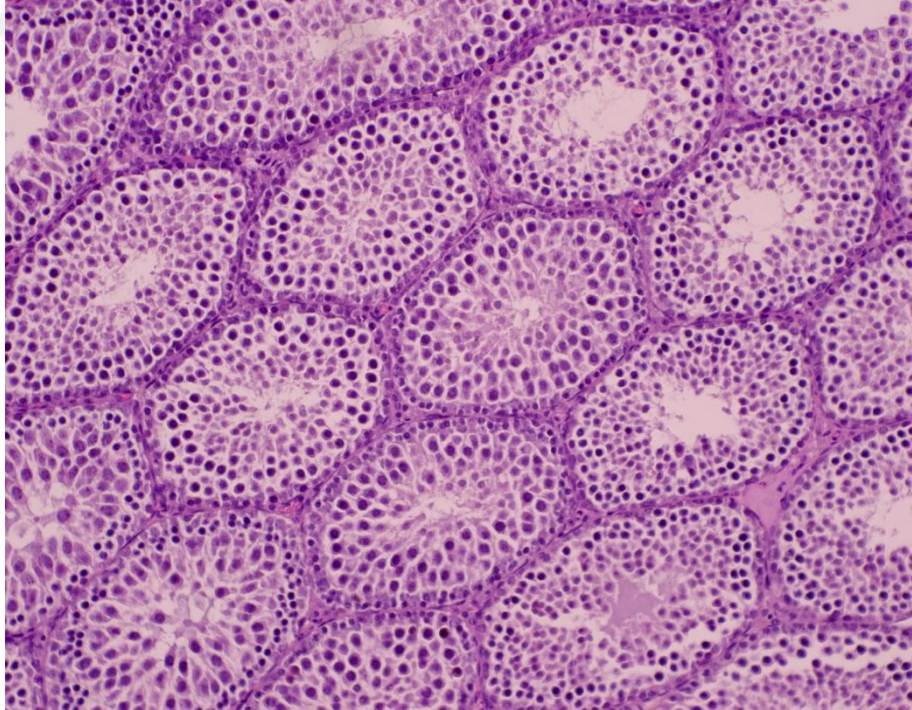
Aynı grubun inmiş sağ testis örneklerinde sol kriptorşit oluşturulmuş testis örneklerine göre interstisyel alandaki ödemde azalma görüldü. Seminifer tüböl epitel kalınlığı ($p=0,001$) ve tüböl çapı ($p=0,001$) artmıştı (Resim 4. 10.). Perivasküler fibrozis de ($p=0,191$) ise azalma tespit edildi (Resim 4. 11., Tablo 4. 15., Tablo 4. 17., Tablo 4. 19.).

Kripto + 800mg/kg MOLE Grubu; sıçan sol kriptorşidizm oluşturulmuş testis örneklerinde, Kripto Kontrol grubuna göre seminifer tüböl epitel kalınlığında ($p=0,998$) ve seminifer tüböl çaplarında ($p=0,999$) istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlendi. Perivasküler fibroziste Kripto Kontrol grubuna göre azalma ($p=0,001$) izlendi. İnterstisyel alanda tübüller arası ayrılma ve ödem gözlemlenmedi (Resim 4. 12., Resim 4. 13., Tablo 4. 15., Tablo 4. 17., Tablo 4. 19.).

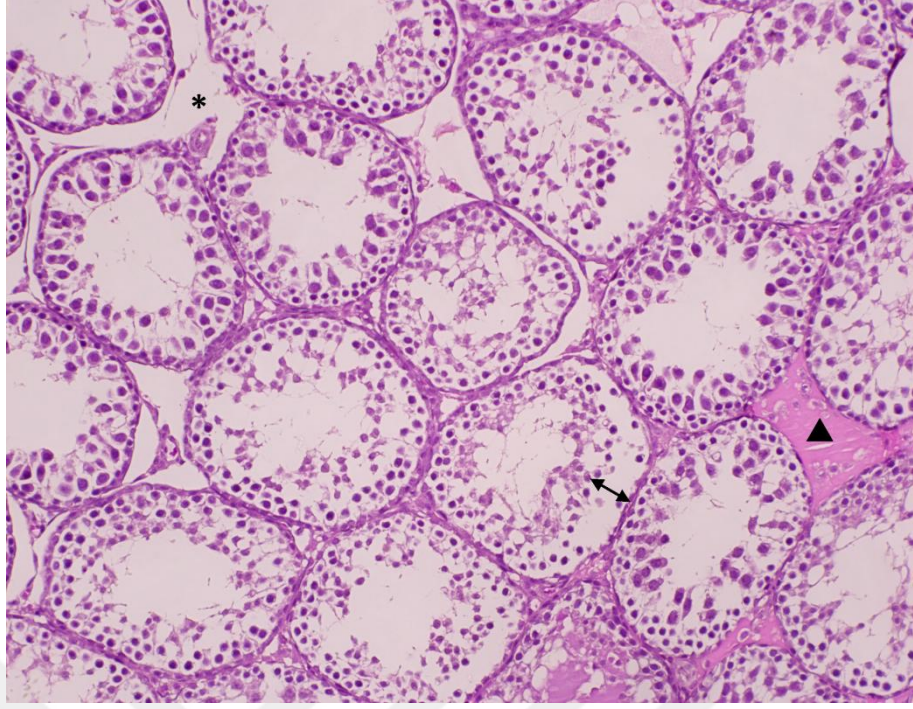
Aynı grubun inmiş sağ testis örnekleri Kontrole benzer histolojik yapıda izlendi. Sağ seminifer tüböl epitel kalınlığı ($p=0,987$) ve tüböl çapı ($p=0,568$) Kripto Kontrol grubuna göre artmıştı, perivasküler fibroziste ($p=0,001$) ise azalma tespit edildi (Resim 4. 14., Resim 4. 15., Tablo 4. 15., Tablo 4. 17., Tablo 4. 19.).



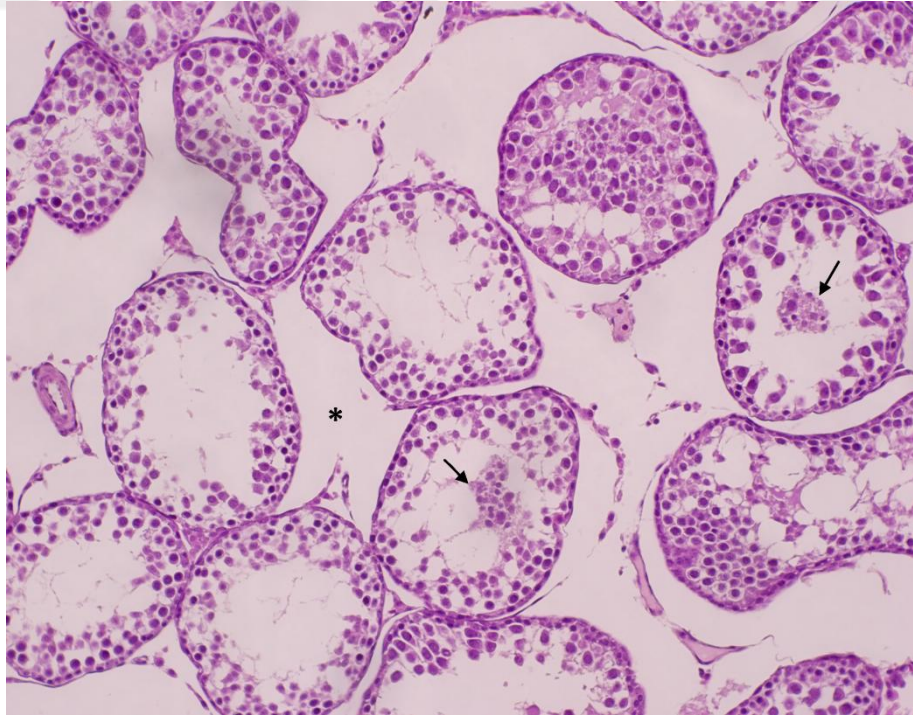
Resim 4. 1. Kontrol grubu sol testis ışık mikroskopik görüntüsü (H-E, 20×)



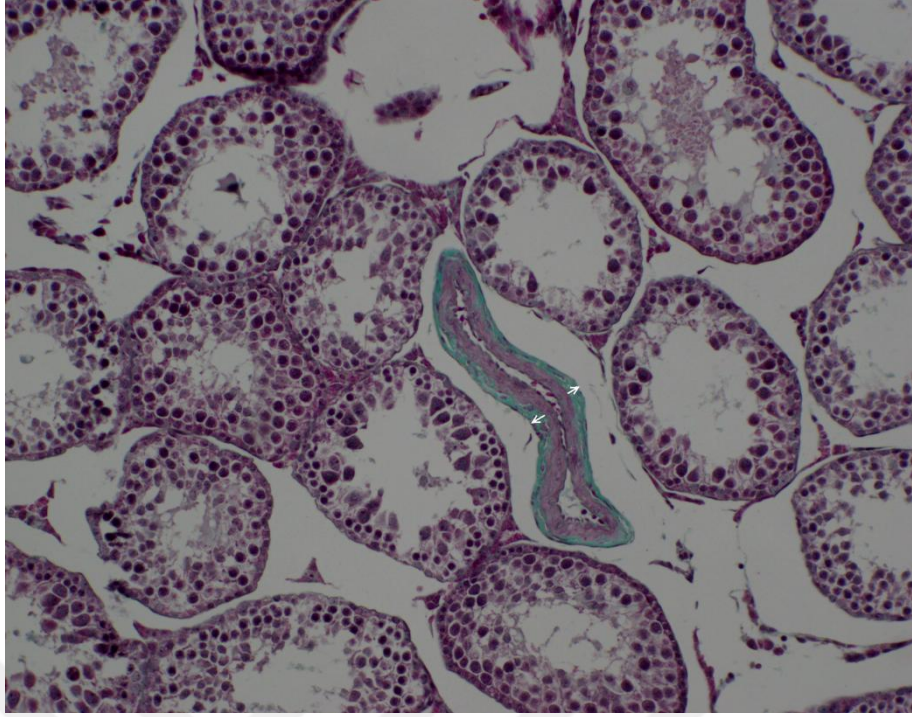
Resim 4. 2. Kontrol grubu sağ testis ışık mikroskopik görüntüsü (H-E, 20×)



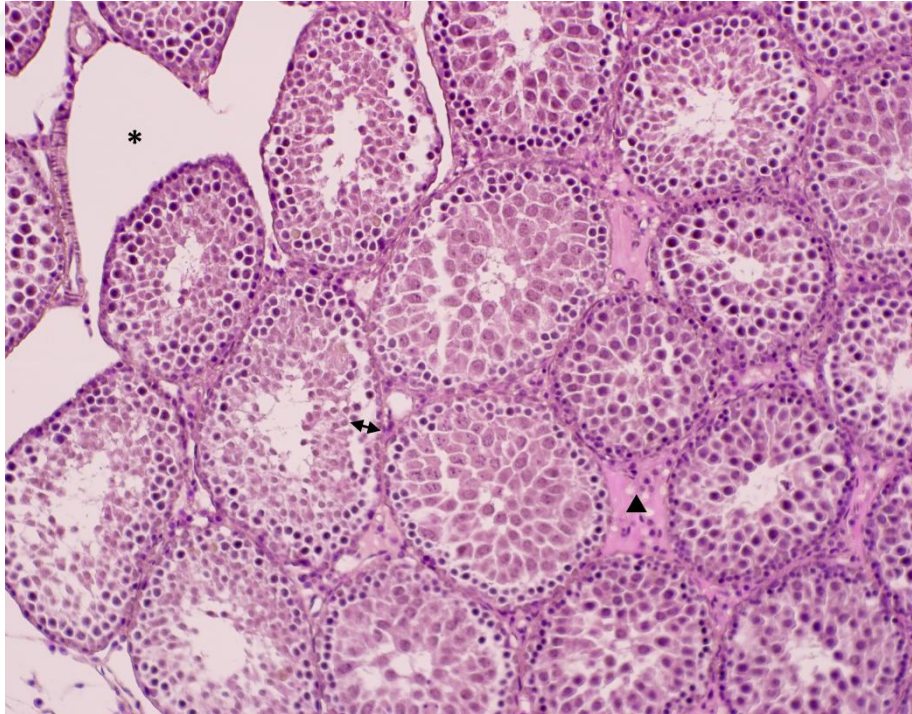
Resim 4. 3. Kripto Kontrol grubu sol testis (* interstisyel ayrılma, ▲ ödem, ↔ bazal membrandan ayrılma) H-E, 20×



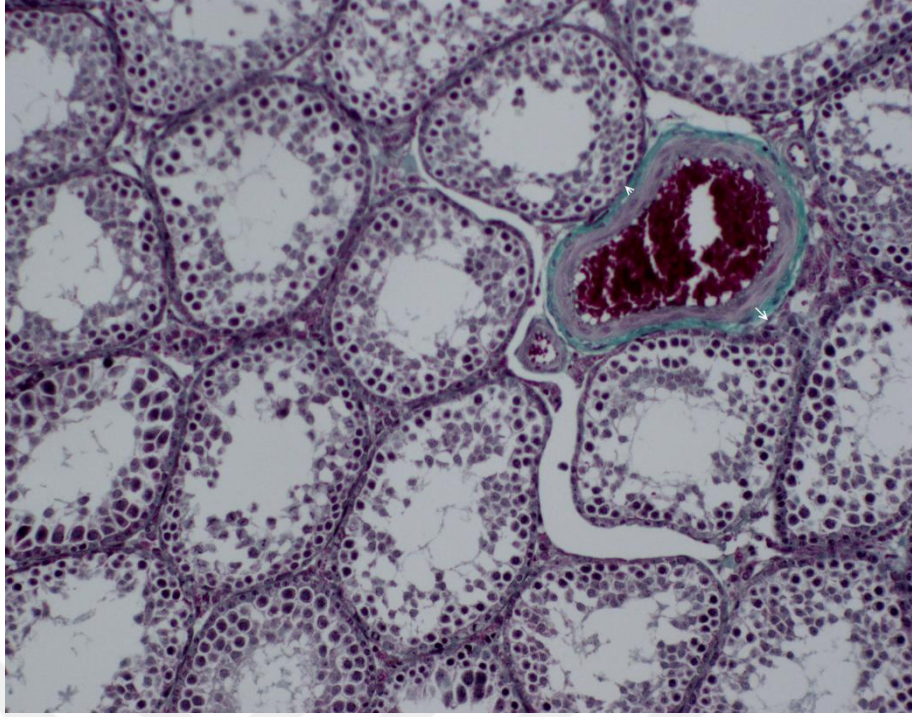
Resim 4. 4. Kripto Kontrol grubu sol testis (* interstisyel ayrılma, → lümene hücre dökülmesi) H-E, 20×



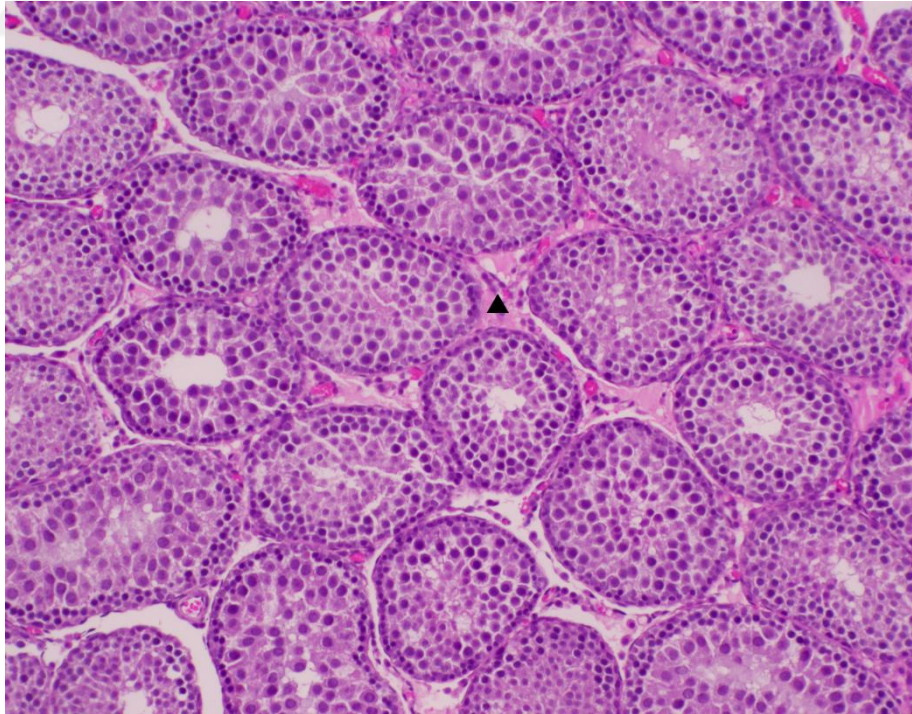
Resim 4. 5. Kripto Kontrol grubu sol testis (→ perivasküler fibrozis) TRI, 20×



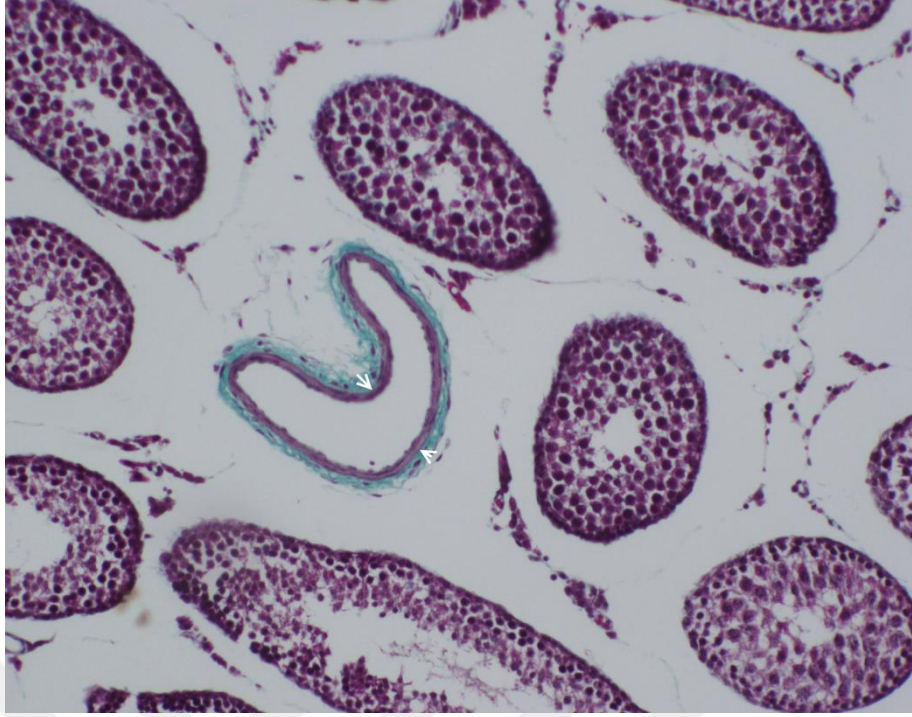
Resim 4. 6. Kripto Kontrol grubu sağ testis (* interstisyel ayrılma, ▲ ödem, ↔ bazal membrandan ayrılma) H-E, 20×



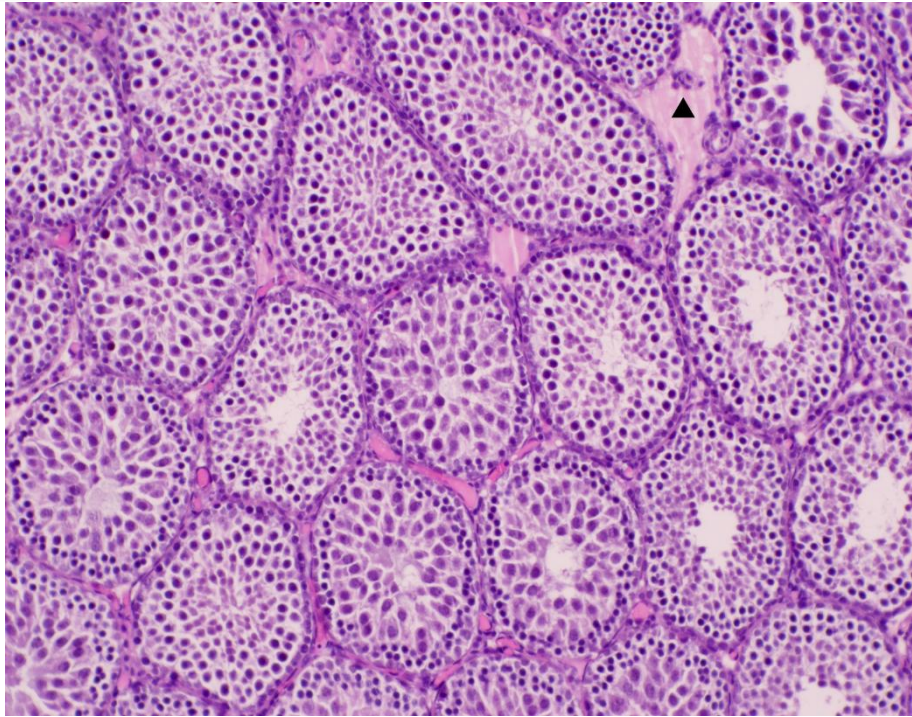
Resim 4. 7. Kripto Kontrol grubu sağ testis (→ perivasküler fibrozis) TR1, 20×



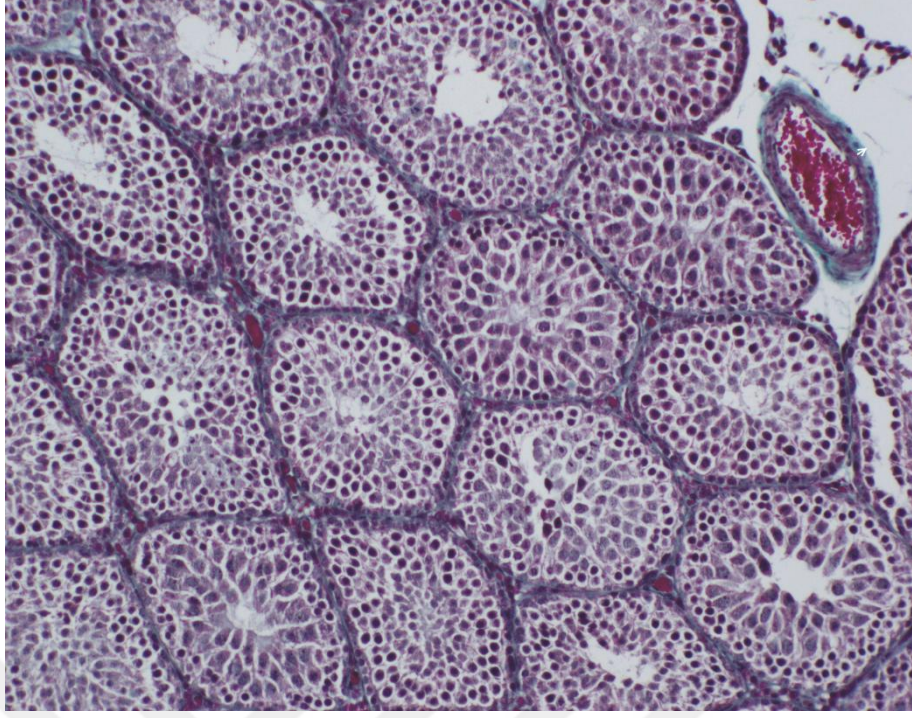
Resim 4. 8. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sol testis (▲ ödem) H-E, 20×



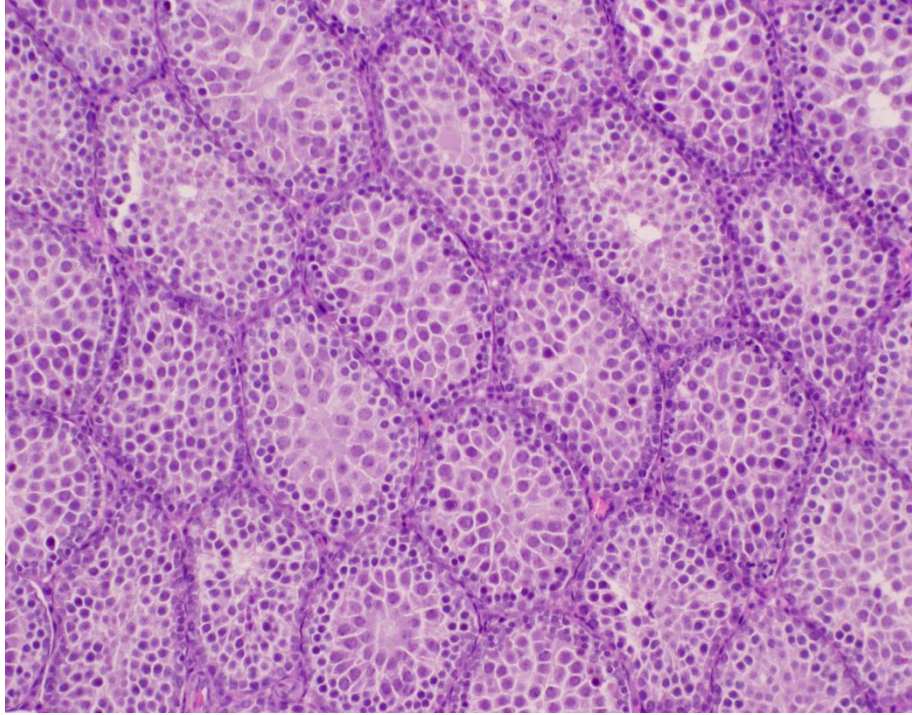
Resim 4. 9. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sol testis (→ perivasküler fibrozis)
TRI, 20×



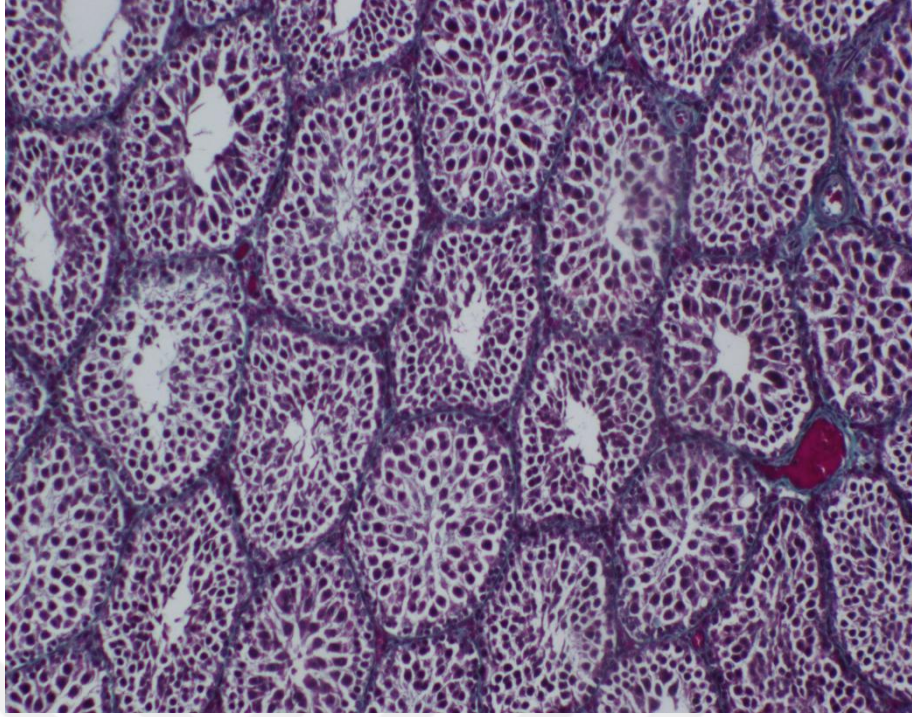
Resim 4. 10. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sağ testis (▲ ödem) H-E, 20×



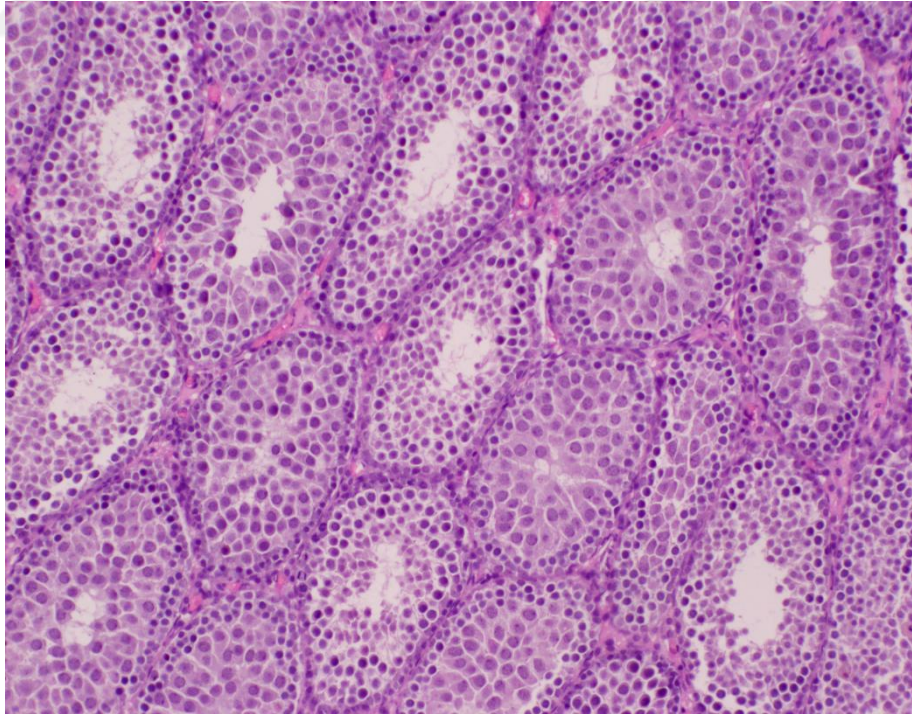
Resim 4. 11. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sağ testis (→ perivasküler fibrozis)
TRI, 20×



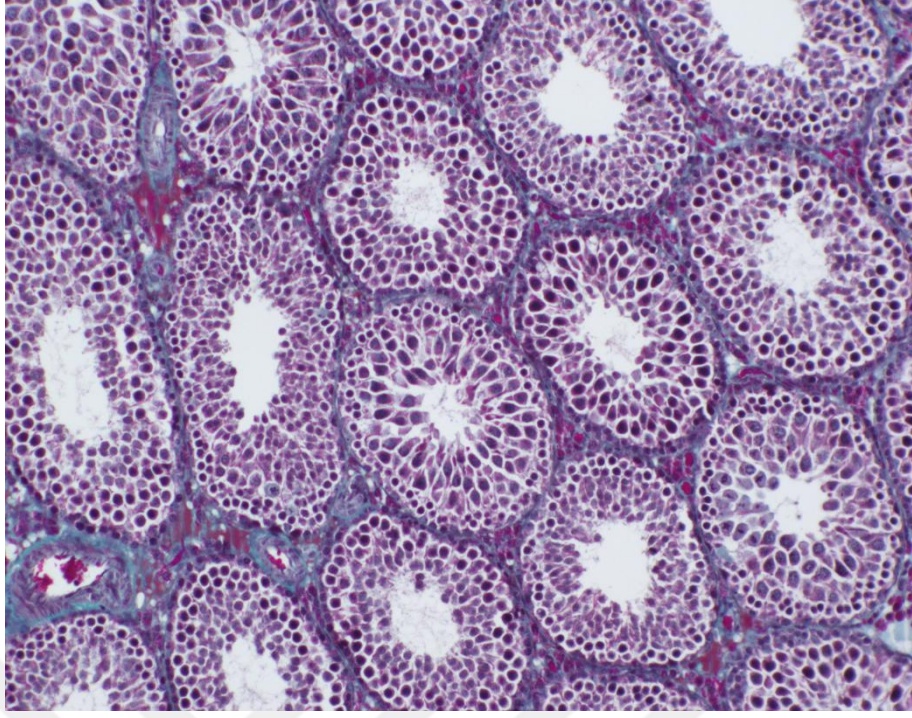
Resim 4. 12. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sol testis (H-E, 20×)



Resim 4. 13. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sol testis (TRI, 20×)



Resim 4. 14. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sağ testis (H-E, 20×)



Resim 4. 15. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sağ testis (TRI, 20×)

4. 2. İmmünohistokimya Bulguları

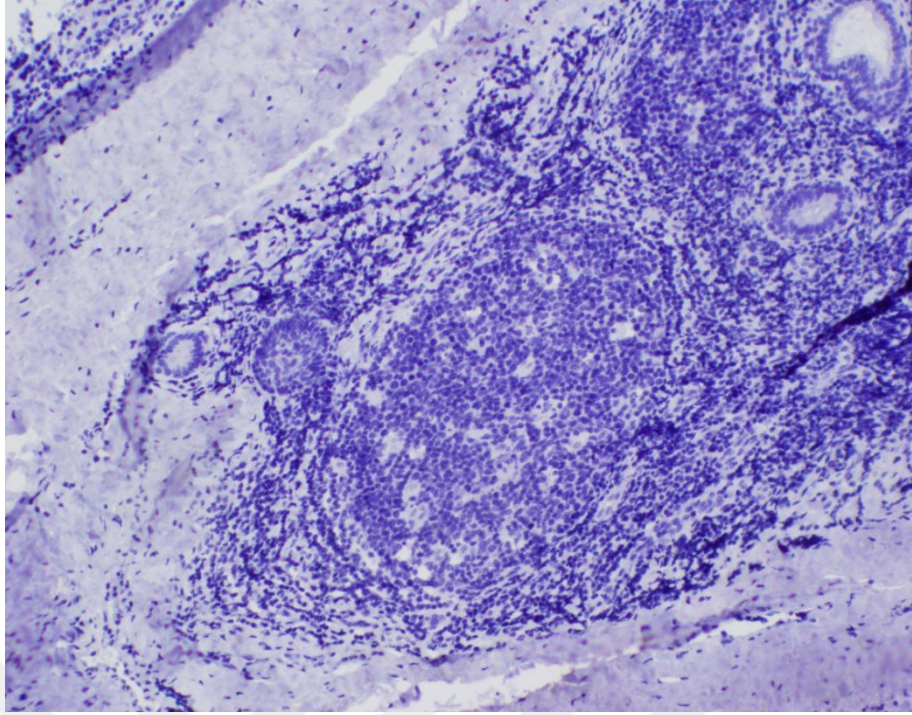
İmmün boyamada apoptozisi göstermek için kullanılan Caspase 3 antikorunun pozitif kontrol dokusu olarak tonsil kullanıldı (Resim 4. 16.). Antikorun negatif kontrol boyaması için PBS kullanıldı (Resim 4. 17.). Apoptozis değerlendirilmesi için ise H skorlaması yapıldı.

Kontrol grubun sol ve sağ testis apoptozis değerlendirilmesinde; her iki testiste de apoptozis izlenmedi ($p=0,849$) (Resim 4. 18., Resim 4. 19., Tablo 4. 21.).

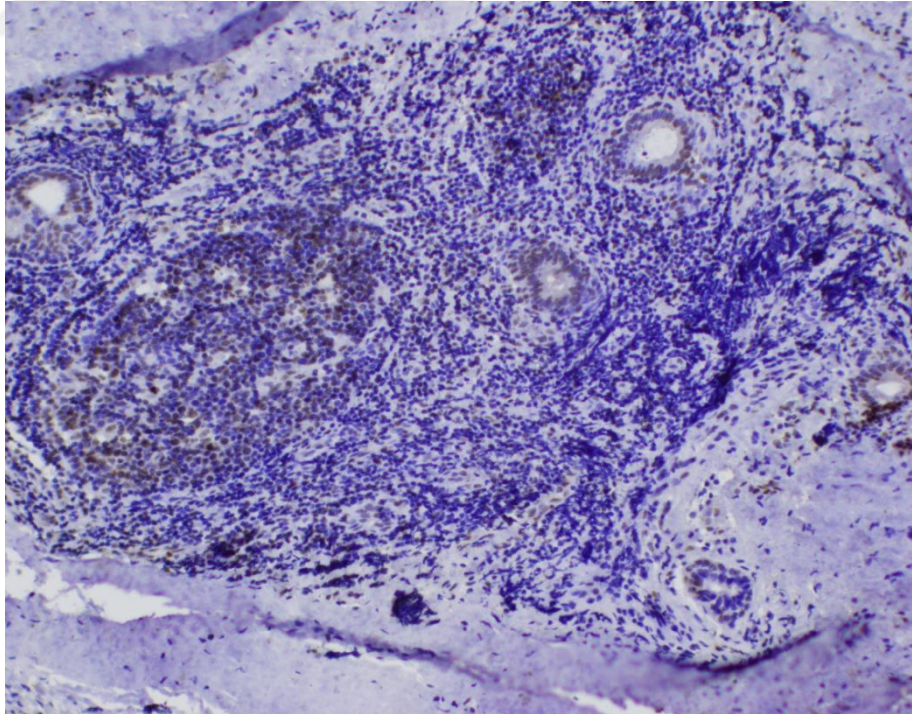
Kriptorşidizm oluşturulmuş grubun apoptozis değerlendirilmesinde ise; Kontrol grubuna göre sol kript testiste apoptozis artarken ($p=0,001$) sağ inmiş testiste apoptozis izlenmedi ($p=0,096$). Kriptorşidizm oluşturulmuş sol kript ve sağ skrotal testis karşılaştırılmasında da sol krito testiste apoptozis artarken sağ skrotal testiste apoptozis izlenmedi ($p=0,001$) (Resim 4. 20., Resim 4. 21., Tablo 4. 21.).

MOLE uygulanan 1. dozda (400mg/kg) apoptozis; sol kript testiste Kontrol grubuna göre artarken ($p=0,001$) sağ skrotal testiste apoptozis izlenmedi ($p=0,411$). Kript + 400mg/kg MOLE sol kript ve sağ skrotal testis karşılaştırılmasında ise sol krito testiste apoptozis artarken sağ skrotal testiste apoptozis izlenmedi ($p=0,001$) (Resim 4. 22., Resim 4. 23., Tablo 4. 21.).

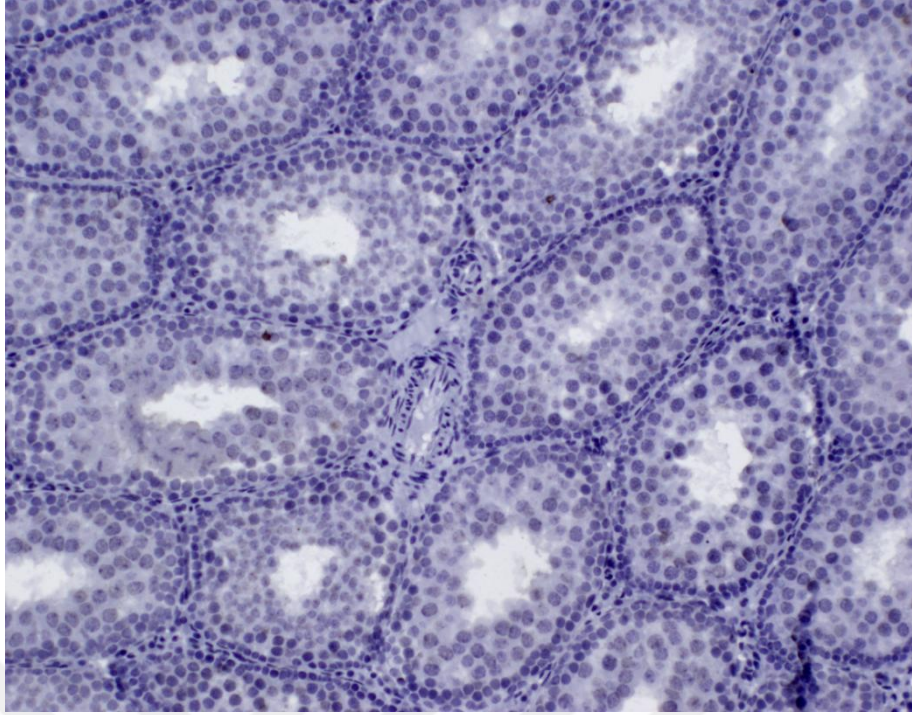
MOLE uygulanan 2. dozda (800mg/kg) apoptozis; sol kript testiste Kontrol grubuna göre apoptozis izlenmedi ($p=0,684$), benzer şekilde sağ skrotal testiste de apoptozis izlenmedi ($p=0,994$). Kript + 800mg/kg MOLE sol kript ve sağ skrotal testis karşılaştırılmasında ise her iki testiste de apoptozis izlenmedi ($p=0,182$) (Resim 4. 24., Resim 4. 25., Tablo 4. 21.).



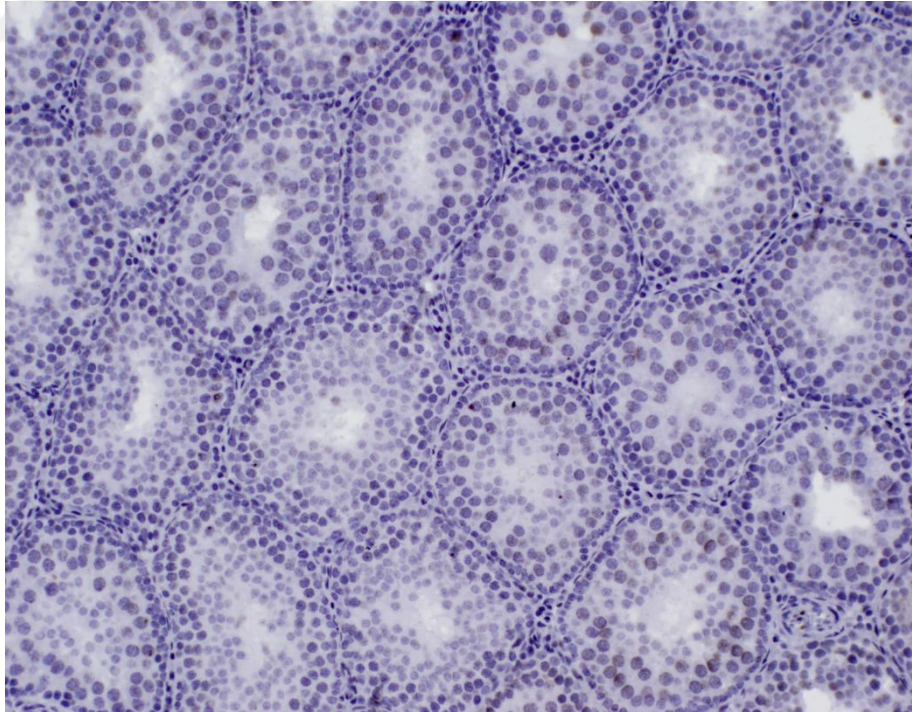
Resim 4. 16. Tonsil Negatif Kontrol boyama (Caspase 3, 20×)



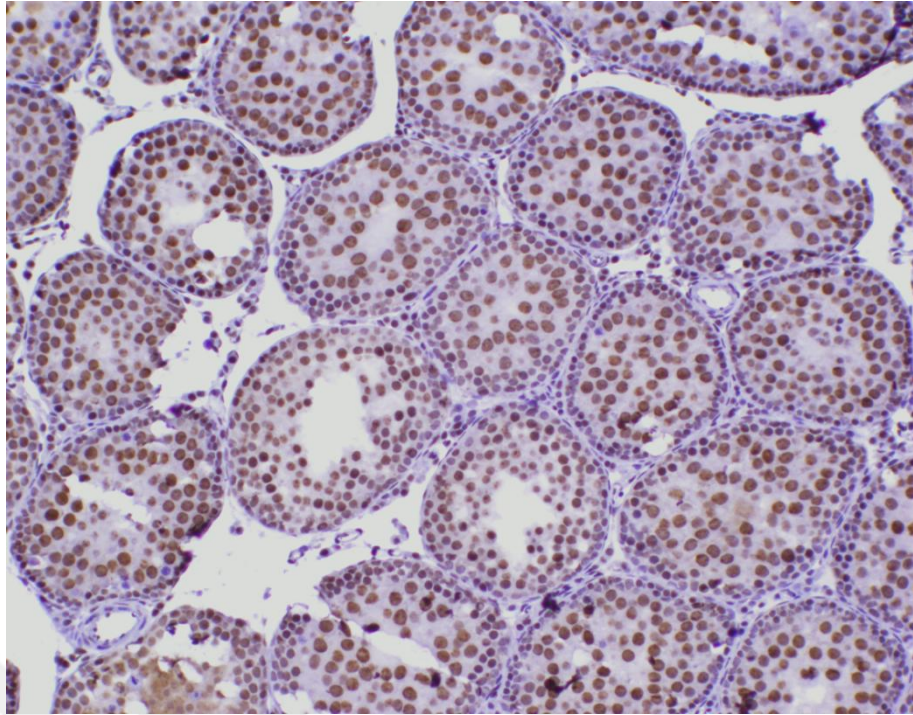
Resim 4. 17. Tonsil Pozitif Kontrol boyama (Caspase 3, 20×)



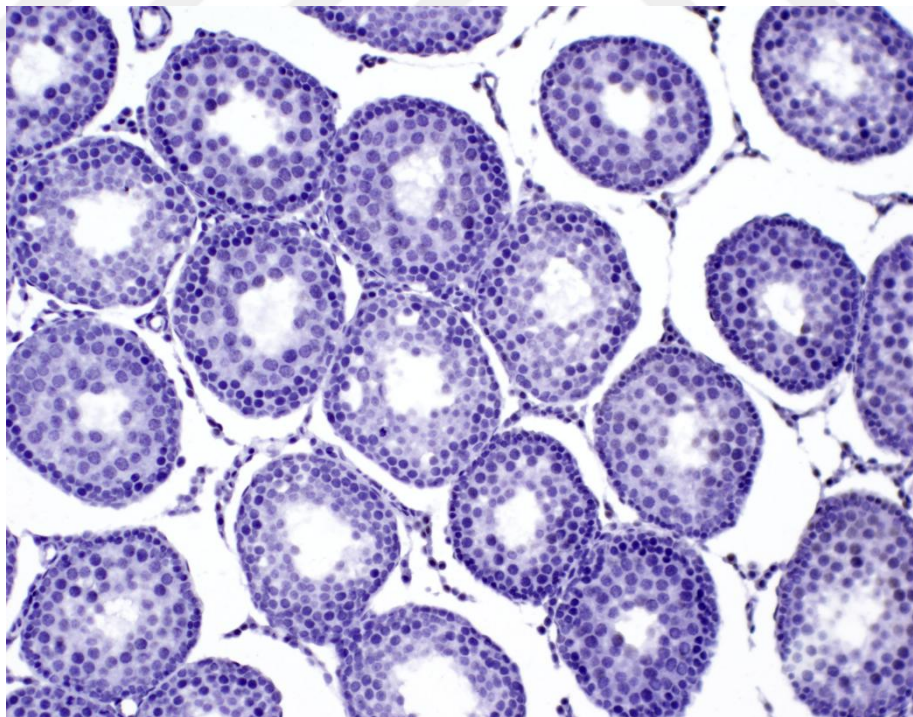
Resim 4. 18. Kontrol grubu sol testis (Caspase 3, 20×)



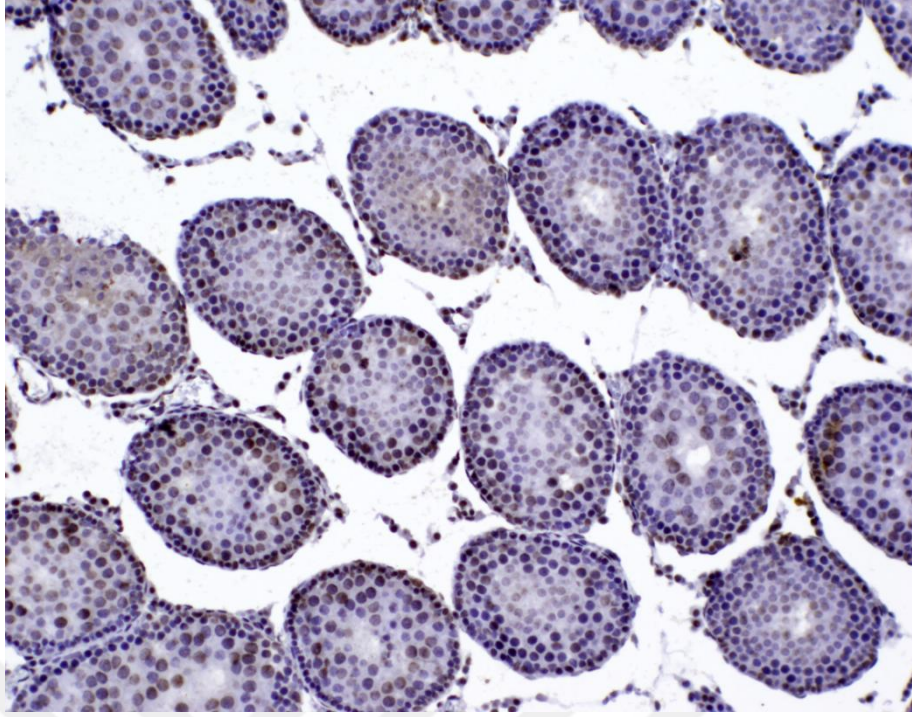
Resim 4. 19. Kontrol grubu sağ testis (Caspase 3, 20×)



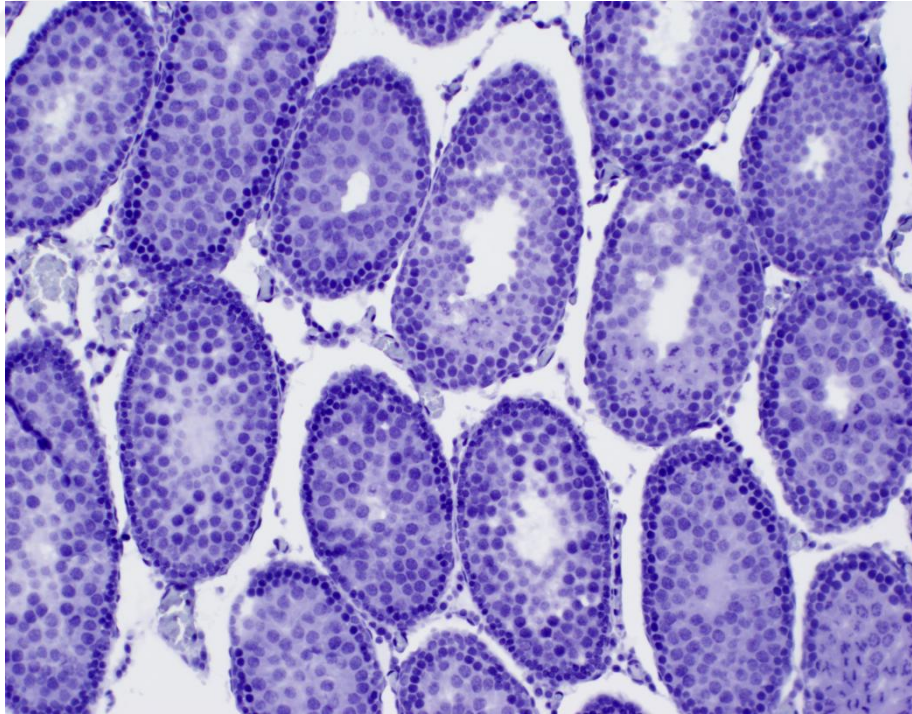
Resim 4. 20. Kripto Kontrol grubu sol testis (Caspase 3, 20×)



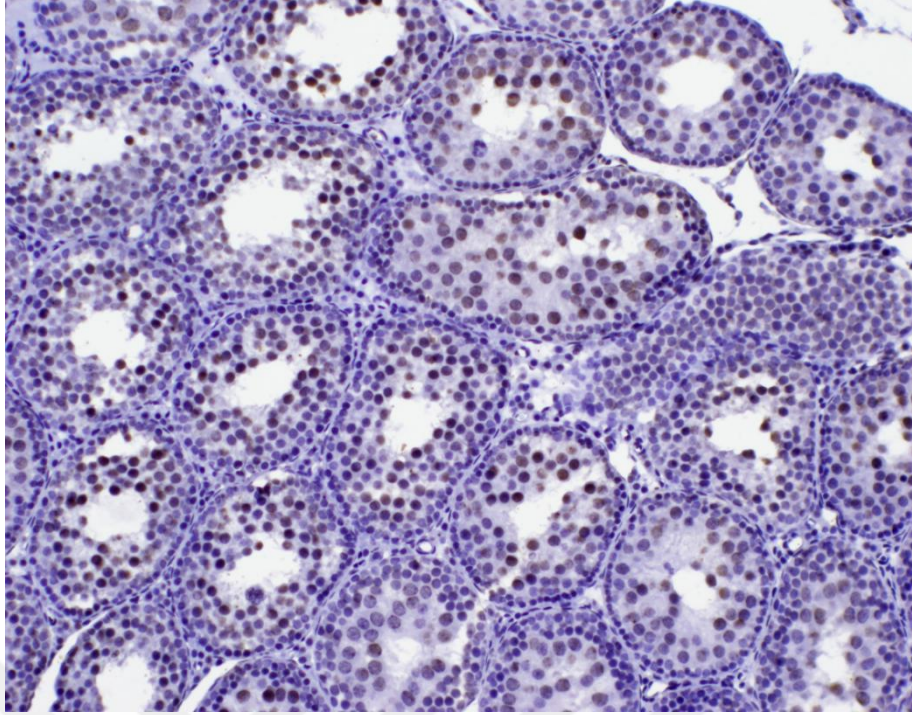
Resim 4. 21. Kripto Kontrol grubu sağ testis (Caspase 3, 20×)



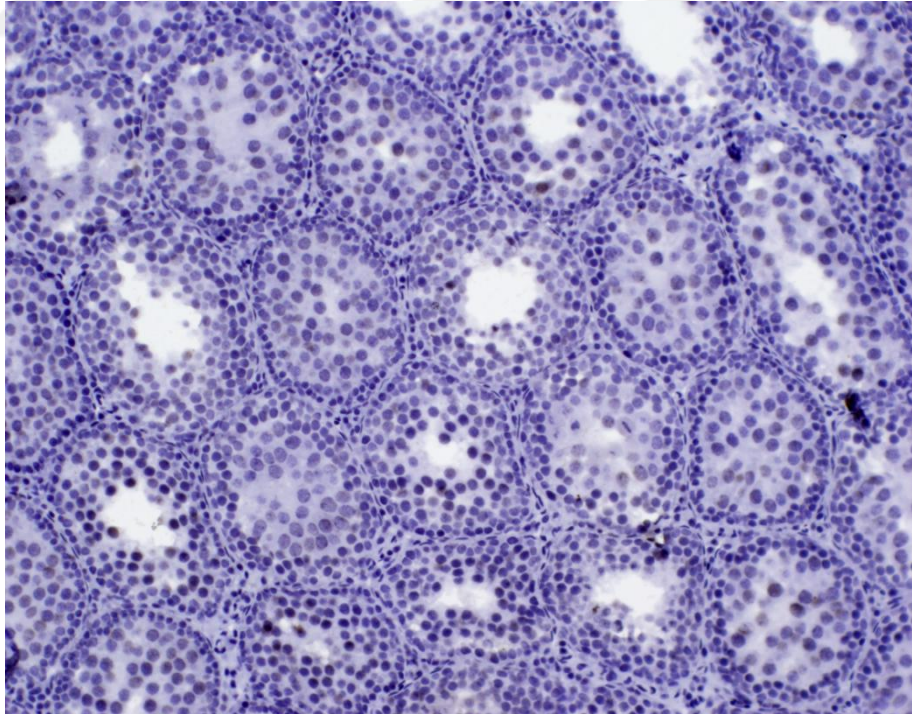
Resim 4. 22. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sol testis (Caspase 3, 20×)



Resim 4. 23. Kripto + 400mg/kg MOLE grubu sağ testis (Caspase 3, 20×)



Resim 4. 24. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sol testis (Caspase 3, 20×)



Resim 4. 25. Kripto + 800mg/kg MOLE grubu sağ testis (Caspase 3, 20×)

4. 3. Western Blot Bulguları

Western Blot yöntemi kullanılarak Kriptorşidizm sonucu ve Kriptorşidizm modeli oluşturulmuş sıçanlarda Moringa Oleifera Lam Ekstraktının iki farklı doz ile tedavi sonrasında testis dokularındaki HSP70 ekspresyonunun değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların sol ve sağ testis dokularının HSP70 ekspresyonu ölçmek için Western Blot yöntemi ile elde ettiğimiz bantların (Şekil 4.0.) dansimetrik analizleri yapılarak HSP70 ekspresyon düzeyleri elde edildi. Elde edilen sonuçlara göre gruplar arası sol ve sağ testis dokuların HSP70 ekspresyonunda istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). **(Tablo 4. 1.)**.

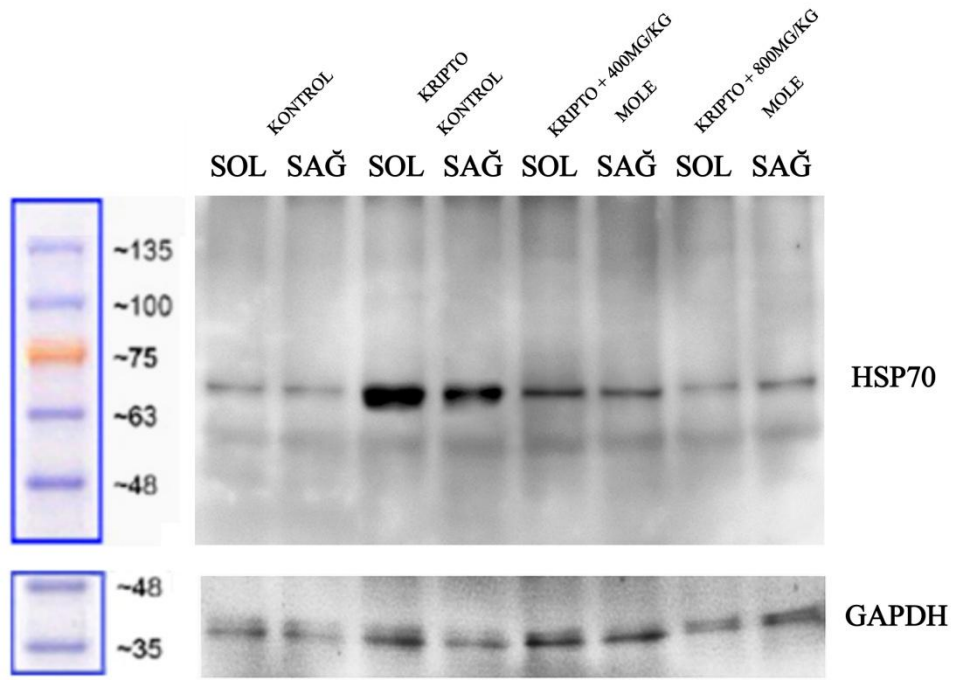
Deney hayvanlarının sol ve sağ testis dokularında HSP70 ekspresyonunun Kripto Kontrol grubunda Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde aşırı eksprese olduğu tespit edildi ($p=0,001$ - $p=0,001$). **(Tablo 4. 2.), (Resim 4. 31.) , (Şekil 4. 1.)**.

Kripto + 400mg/kg grubunun sol ve sağ testis dokularında Kontrol grubuna göre HSP70 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde aşırı eksprese olduğu tespit edildi ($p=0,001$ - $p=0,006$) **(Tablo 4. 2.), (Resim 4. 31.), (Şekil 4. 1.)**.

Bu da Moringa Oleifera Lam Ekstraktının 400mg/kg dozunda Kriptorşidizm sonucu artmakta olan HSP70 üzerinde istatistiksel olarak etkisi olmadığını göstermektedir.

Ancak Kripto + 800mg/kg grubunun sol ve sağ testis dokularında Kontrol grubuna göre HSP70 değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi ($p=0,843$ - $p=0,937$). **(Tablo 4. 2.), (Resim 4. 31.), (Şekil 4. 1.)**.

Bu da Moringa Oleifera Lam Ekstraktının 800mg/kg dozunda Kriptorşidizm sonucu artmakta olan HSP70 üzerinde istatistiksel olarak azaltıcı etkisi olduğunu göstermektedir.



Resim 4. 26. HSP70/IŞP70 ve GAPDH Protein bantları

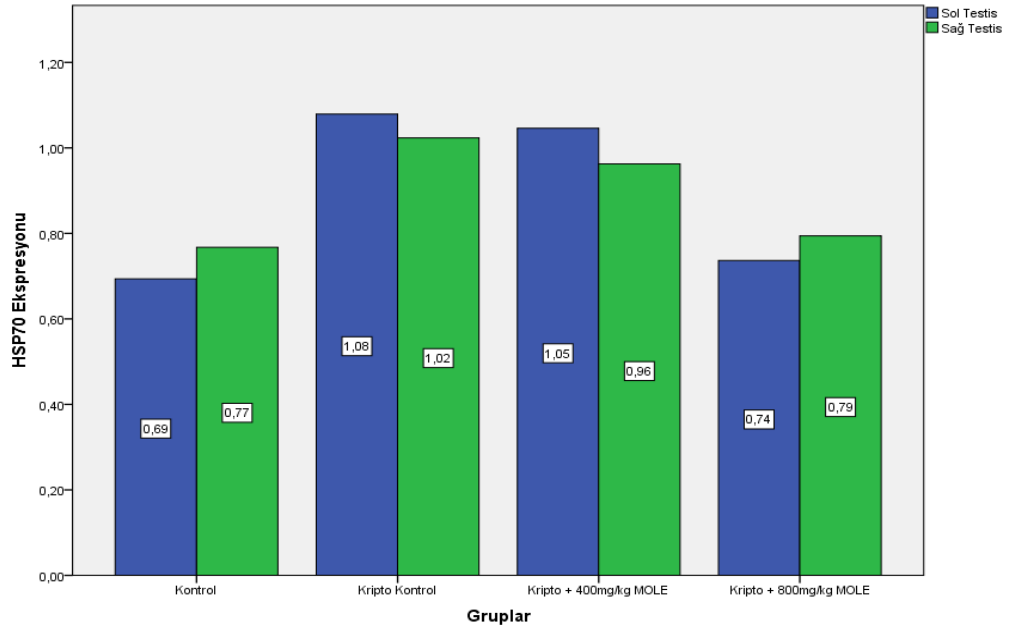
Tablo 4. 1. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis dokularının HSP70 ekspresyon değerleri (Ortalama $\pm$ SD)

Gruplar	Sol Testis	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	0,69 $\pm$ 0,06	0,001
Kripto Kontrol	1,08 $\pm$ 0,05	
Kripto + 400mg/kg MOLE	1,05 $\pm$ 0,11	
Kripto + 800mg/kg MOLE	0,74 $\pm$ 0,06	
Gruplar	Sağ Testis	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	0,77 $\pm$ 0,02	0,001
Kripto Kontrol	1,02 $\pm$ 0,03	
Kripto + 400mg/kg MOLE	0,96 $\pm$ 0,05	
Kripto + 800mg/kg MOLE	0,79 $\pm$ 0,12	

Tablo 4. 2. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis dokularının HSP70 ekspresyon değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Sol Testis HSP70 Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,843
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,920
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,001
	Kripto Kontrol	0,920
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,843
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
Sağ Testis HSP70 Ekspresyon Değerlerinin Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,006
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,937
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,579
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,002
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,006
	Kripto Kontrol	0,579
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,016
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,937
	Kripto Kontrol *	0,002
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,016

* İstatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4. 1. HSP70 ekspresyon değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 4. Biyokimyasal Bulgular

4. 4. 1. SOD (Süperoksit Dismutaz)

Deneyin sonunda Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların sol ve sağ testis dokularında SOD değerleri ölçüldü. Bu sonuçlara göre sol ve sağ testis dokularının gruplar arası SOD değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). (Tablo 4. 3.).

Tablo 4. 3. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis SOD değerleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

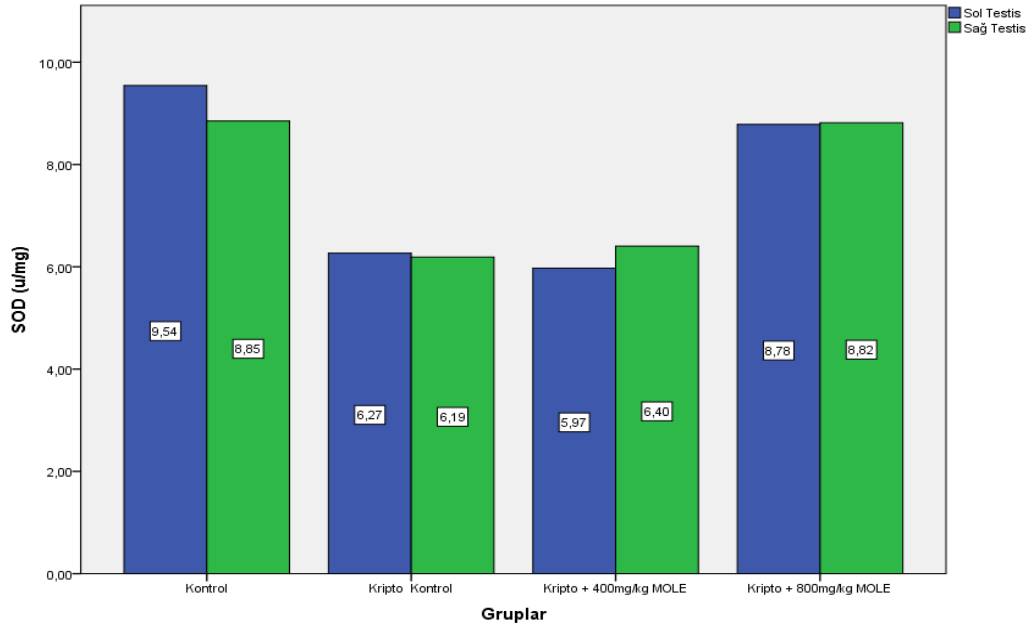
Gruplar	Sol Testis SOD Değerleri (u/mg)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	9,54 $\pm$ 0,87	0,001
Kripto Kontrol	6,27 $\pm$ 0,81	
Kripto + 400mg/kg MOLE	5,97 $\pm$ 0,69	
Kripto + 800mg/kg MOLE	8,78 $\pm$ 1,05	
Gruplar	Sağ Testis SOD Değerleri (u/mg)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	8,85 $\pm$ 0,65	0,001
Kripto Kontrol	6,19 $\pm$ 0,26	
Kripto + 400mg/kg MOLE	6,40 $\pm$ 0,52	
Kripto + 800mg/kg MOLE	8,82 $\pm$ 1,20	

Deney gruplarındaki sıçanların sol ve sağ testis SOD değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında; Kripto Kontrol ve Kripto + 400mg/kg MOLE grupların SOD düzeyleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$, $p=0,001$ - $p=0,003$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu Kripto Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise SOD düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0,007$ - $p=0,002$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu ile Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak her iki grubun SOD düzeylerinde azalmanın olmadığı saptandı ($p=0,615$ - $p=1,000$). (Tablo 4. 4.), (Şekil 4. 2.).

Tablo 4. 4. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis SOD değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Sol Testis Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,615
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,963
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,007
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,001
	Kripto Kontrol	0,963
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,003
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,615
	Kripto Kontrol *	0,007
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,003
Sağ Testis Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,003
	Kripto + 800mg/kg MOLE	1,000
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,967
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,002
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,003
	Kripto Kontrol	0,976
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,003
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	1,000
	Kripto Kontrol *	0,002
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,003

* İstatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4. 2. SOD değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 4. 2. MDA (Malondialdehit)

Deneyin sonunda Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların sol ve sağ testis dokularında MDA değerleri ölçüldü. Bu sonuçlara göre sol testis dokularının gruplar arası MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,001$). Ancak sağ testis dokularının gruplar arası MDA değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,828$). (Tablo 4. 5.).

Tablo 4. 5. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis MDA değerleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	Sol Testis MDA Değerleri (nmol/mg)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	2,38 $\pm$ 0,08	0,001
Kripto Kontrol	3,73 $\pm$ 0,19	
Kripto + 400mg/kg MOLE	2,72 $\pm$ 0,16	
Kripto + 800mg/kg MOLE	2,36 $\pm$ 0,05	
Gruplar	Sağ Testis MDA Değerleri (nmol/mg)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	2,32 $\pm$ 0,08	0,828
Kripto Kontrol	2,27 $\pm$ 0,29	
Kripto + 400mg/kg MOLE	2,38 $\pm$ 0,11	
Kripto + 800mg/kg MOLE	2,33 $\pm$ 0,08	

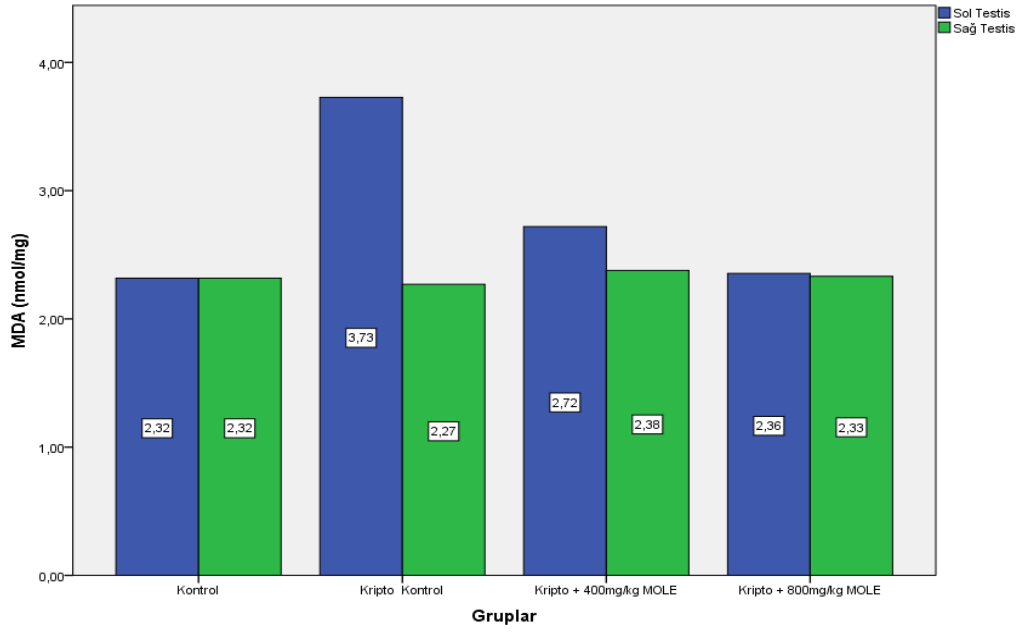
Deney gruplarındaki sıçanların sol testis MDA değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında; Kripto Kontrol ve Kripto + 400mg/kg MOLE grupların MDA düzeyleri Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı saptandı ($p=0,001$ - $p=0,005$). Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları Kripto Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak MDA düzeylerde anlamlı bir azalma saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu ile Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise istatistiksel olarak her iki grubun MDA düzeylerinde artışın olmadığı saptandı ($p=0,977$ - $p=0,999$). (Tablo 4. 6.), (Şekil 4. 3.).

Deney gruplarındaki sıçanların sağ testis MDA değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak MDA düzeylerinde bir değişimin olmadığı saptandı ($p=0,828$). (Tablo 4. 6.), (Şekil 4. 3.).

Tablo 4. 6. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis MDA değerlerinin gruplar arası karşılaştırılması

Sol Testis Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,005
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,977
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,005
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,977
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
Sağ Testis Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol	0,975
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,953
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,999
Kripto Kontrol	Kontrol	0,975
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,789
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,947
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol	0,953
	Kripto Kontrol	0,789
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,979
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,999
	Kripto Kontrol	0,947
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,979

* İstatistiksel olarak anlamlı



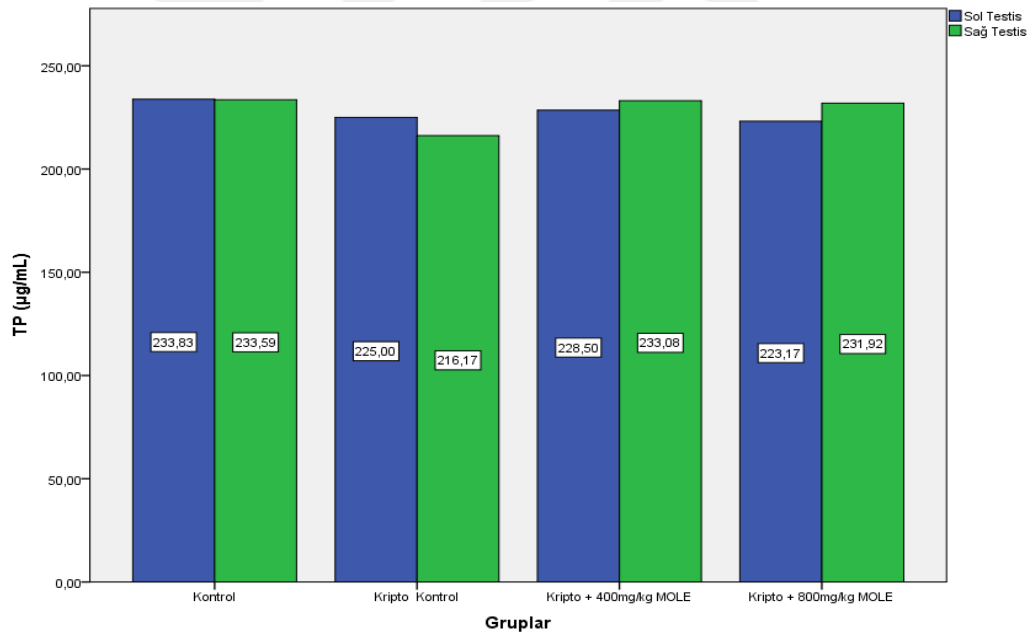
Şekil 4. 3. MDA değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 4. 3. TP (Total Protein)

Deneyin sonunda Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların sol ve sağ testis dokularında TP değerleri ölçüldü. Bu sonuçlara göre sol ve sağ testis dokularının gruplar arası TP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,981$ - $p=0,917$). (Tablo 4. 7.), (Şekil 4. 4.).

Tablo 4. 7. Deney gruplarına ait sol ve sağ testis TP değerleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	Sol Testis TP Değerleri ($\mu\text{g/mL}$)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	233,84 $\pm$ 39,82	0,981
Kripto Kontrol	225,00 $\pm$ 47,58	
Kripto + 400mg/kg MOLE	228,50 $\pm$ 33,28	
Kripto + 800mg/kg MOLE	223,17 $\pm$ 35,74	
Gruplar	Sağ Testis TP Değerleri ($\mu\text{g/mL}$)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	233,59 $\pm$ 63,01	0,917
Kripto Kontrol	216,17 $\pm$ 34,12	
Kripto + 400mg/kg MOLE	233,08 $\pm$ 37,51	
Kripto + 800mg/kg MOLE	231,92 $\pm$ 14,27	

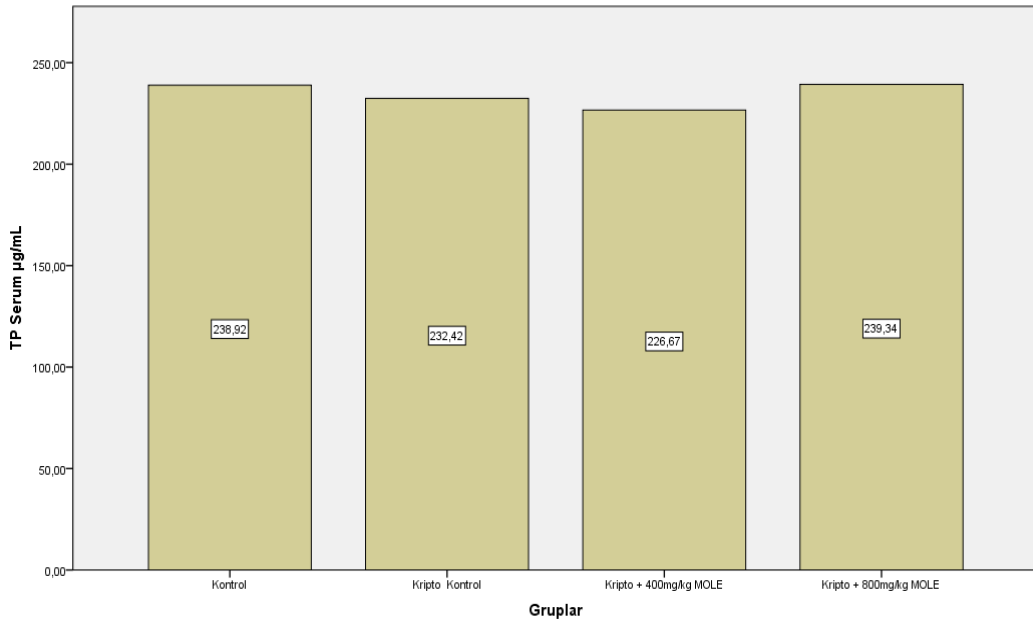


Şekil 4. 4. Testis TP değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

Deneyin sonunda Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların kan örneklerinde TP değerleri ölçüldü. Bu sonuçlara göre gruplar arası TP değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,583$). (Tablo 4. 8.), (Şekil 4. 5.).

Tablo 4. 8. Deney gruplarına ait kan örneklerinin TP değerleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	TP Serum ($\mu\text{g/mL}$)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	238,92 $\pm$ 21,31	0,583
Kripto Kontrol	232,42 $\pm$ 15,08	
Kripto + 400mg/kg MOLE	226,67 $\pm$ 11,73	
Kripto + 800mg/kg MOLE	239,34 $\pm$ 06,03	



Şekil 4. 5. Kan TP değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 5. Morfometrik Bulgular

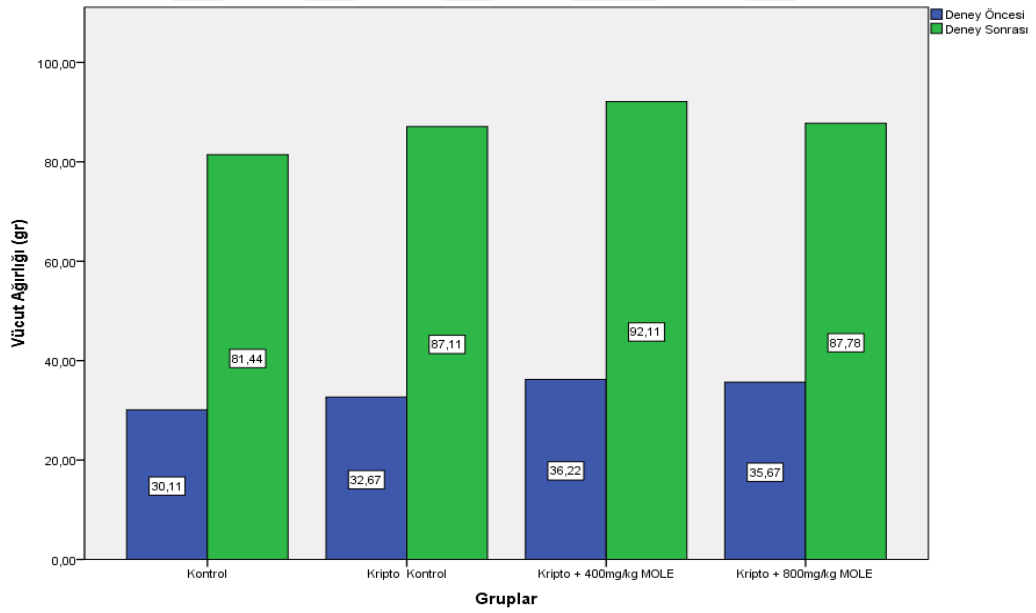
4. 5. 1. Vücut ağırlığı

Deneyin başlangıcında ve sonunda olmak üzere; Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların vücut ağırlıkları tartıldı. Bu sonuçlara göre; deney öncesi gruplar arası vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı.

Deney süresi toplam 14 gün devam ettiğinden dolayı bütün sıçanların vücut ağırlıkları artmaktadır. Bu yüzden deney sonrası vücut ağırlıkları da karşılaştırıldı ve bu sonuçlara göre gruplar arası vücut ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,189$ - $p=0,507$). (Tablo 4. 9.), (Şekil 4. 6.).

Tablo 4. 9. Deney gruplarına ait sıçanların vücut ağırlıkları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	Deney Öncesi Ağırlık (gr)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	30,11 $\pm$ 6,77	0,189
Kripto Kontrol	32,67 $\pm$ 7,50	
Kripto + 400mg/kg MOLE	36,22 $\pm$ 7,33	
Kripto + 800mg/kg MOLE	35,67 $\pm$ 4,00	
Gruplar	Deney Sonrası Ağırlık (gr)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	81,44 $\pm$ 16,80	0,507
Kripto Kontrol	87,11 $\pm$ 15,81	
Kripto + 400mg/kg MOLE	92,11 $\pm$ 11,97	
Kripto + 800mg/kg MOLE	87,78 $\pm$ 13,97	



Şekil 4. 6. Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 5. 2. Testis ağırlığı

Deneyin sonunda Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların sol ve sağ testis ağırlıkları tartıldı. Bu sonuçlara göre gruplar arası sol ve sağ testis ağırlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,001$ - $p=0,010$). (**Tablo 4. 10.**)

Tablo 4. 10. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis ağırlıkları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	Sol Testis (mg)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	373,33 $\pm$ 83,69	0,001
Kripto Kontrol	295,55 $\pm$ 55,93	
Kripto + 400mg/kg MOLE	411,11 $\pm$ 92,66	
Kripto + 800mg/kg MOLE	444,44 $\pm$ 75,85	
Gruplar	Sağ Testis (mg)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	353,33 $\pm$ 97,08	0,010
Kripto Kontrol	350,00 $\pm$ 51,96	
Kripto + 400mg/kg MOLE	448,89 $\pm$ 83,88	
Kripto + 800mg/kg MOLE	463,33 $\pm$ 87,18	

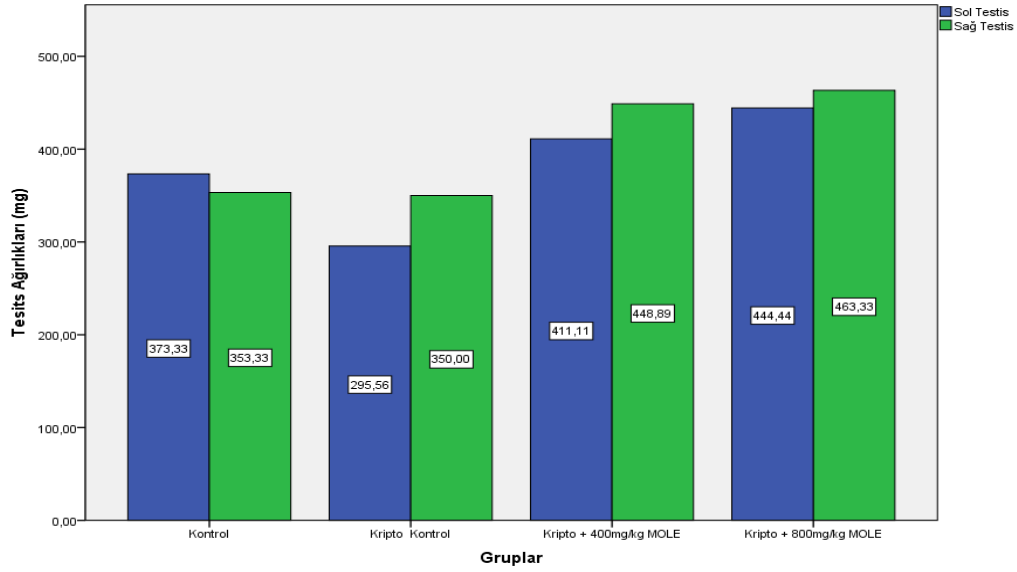
Deney gruplarındaki sıçanların sol testis ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasında Kontrol ile Kripto Kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,005$). Tedavi amaçlı oluşturduğumuz Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise testis ağırlıkları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı saptandı ($p=0,012$ - $p=0,001$). (**Tablo 4. 11.**), (**Şekil 4. 7.**).

Deney gruplarındaki sıçanların sağ testis ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasında ise Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise yine testis ağırlıkları istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı saptandı ($p=0,032$ - $p=0,011$). (**Tablo 4. 11.**), (**Şekil 4. 7.**).

Tablo 4. 11. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılması

Sol Testis Ağırlıklarının Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,005
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,985
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,930
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,005
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,012
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol	0,985
	Kripto Kontrol *	0,012
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,775
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,930
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,775
Sağ Testis Ağırlıklarının Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol	0,412
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,547
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,310
Kripto Kontrol	Kontrol	0,412
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,032
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,011
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol	0,547
	Kripto Kontrol *	0,032
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,974
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,310
	Kripto Kontrol *	0,011
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,974

* İstatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4. 7. Testis ağırlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 5. 3. Testis ağırlık indeksi (TAİ)

Deney gruplarındaki sıçanların TAİ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p=0,001$). (**Tablo 4. 12.**).

Tablo 4. 12. Deney gruplarına ait sıçanların testis ağırlık indeksi (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değeri

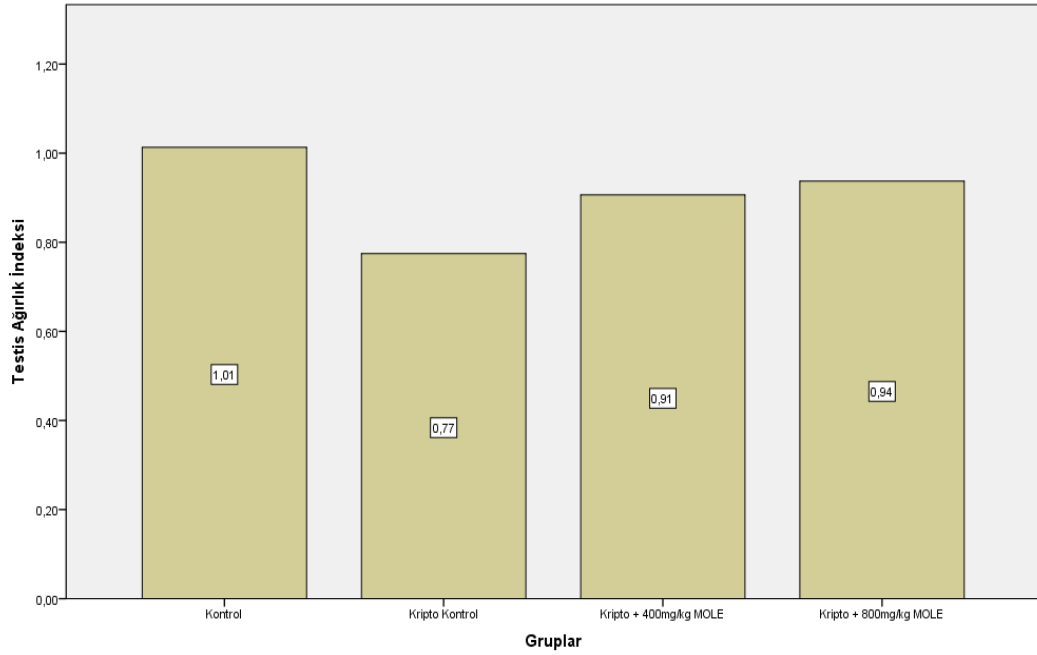
Gruplar	Testis Ağırlık İndeksi	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	1,01 $\pm$ 0,11	0,001
Kripto Kontrol	0,77 $\pm$ 0,12	
Kripto + 400mg/kg MOLE	0,91 $\pm$ 0,12	
Kripto + 800mg/kg MOLE	0,94 $\pm$ 0,90	

Deney gruplarındaki sıçanların TAİ değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında TAİ istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde arttığı saptandı ($p=0,001$ - $p=0,043$ - $p=0,009$). (**Tablo 4. 13.**), (**Şekil 4. 8.**).

Tablo 4. 13. Testis ağırlık indeksinin gruplar arası karşılaştırılması

Testis Ağırlık İndeksinin Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,167
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,445
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,043
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,009
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol	0,167
	Kripto Kontrol *	0,043
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,917
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,445
	Kripto Kontrol *	0,009
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,917

* İstatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4. 8. Testis ağırlık indeksinin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 5. 4. Seminifer túbül çapı

Deneyin sonunda Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların sol ve sağ testis túbül çapları ölçüldü. Bu sonuçlara göre gruplar arası sol ve sağ testis túbül çaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). (**Tablo 4. 14.**)

Tablo 4. 14. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis túbül çapları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	Sol Testis Túbül Çapı (μ)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	141,37 $\pm$ 5,57	0,001
Kripto Kontrol	113,71 $\pm$ 6,93	
Kripto + 400mg/kg MOLE	125,39 $\pm$ 7,94	
Kripto + 800mg/kg MOLE	141,23 $\pm$ 8,91	
Gruplar	Sağ Testis Túbül Çapı (μ)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	142,98 $\pm$ 4,64	0,001
Kripto Kontrol	133,52 $\pm$ 4,62	
Kripto + 400mg/kg MOLE	138,45 $\pm$ 6,15	
Kripto + 800mg/kg MOLE	141,79 $\pm$ 8,52	

Deney gruplarındaki sıçanların sol testis túbül çaplarının gruplar arası karşılaştırılmasında Kripto Kontrol ve Kripto + 400mg/kg MOLE grupları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında seminifer túbül çaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). Kontrol ve tedavi amaçlı oluşturduğumuz Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise seminifer túbül çaplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$ - $p=0,001$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu ile Kripto + 400mg/kg MOLE grubu karşılaştırıldığında ise Kripto + 800mg/kg MOLE grubunun seminifer túbül çapları Kontrol grubuna benzerdi ($p=0,999$). Ancak Kripto + 400mg/kg MOLE grubundaki seminifer túbül çaplarında Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p=0,001$). (**Tablo 4. 15.**), (**Şekil 4. 9.**)

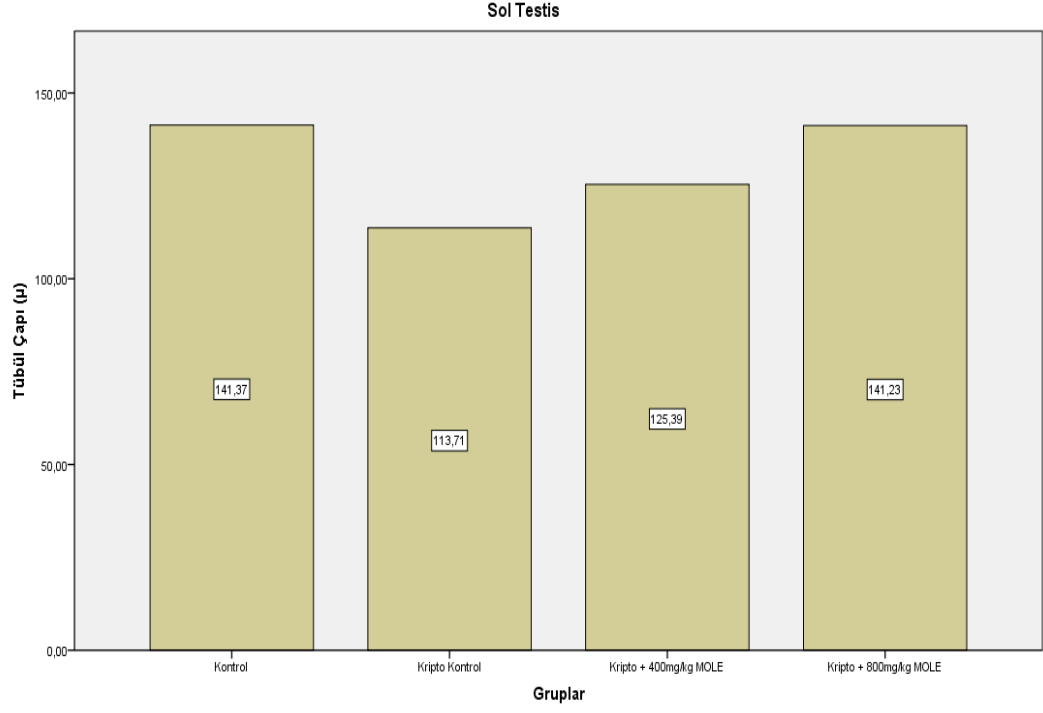
Deney gruplarındaki sıçanların sağ testis tübül çaplarının gruplar arası karşılaştırılmasında da yine Kripto Kontrol ve Kripto + 400mg/kg MOLE grupları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında seminifer tübül çaplarda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). Kontrol ve tedavi amaçlı oluşturduğumuz Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise seminifer tübül çaplarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$ - $p=0,001$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu ile Kripto + 400mg/kg MOLE grubu karşılaştırıldığında ise Kripto + 800mg/kg MOLE grubunun seminifer tübül çapları Kontrol grubuna benzerdi ($p=0,568$). Ancak Kripto + 400mg/kg MOLE grubundaki seminifer tübül çaplarında Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p=0,001$). (**Tablo 4. 15.**), (**şekil 4. 10.**).



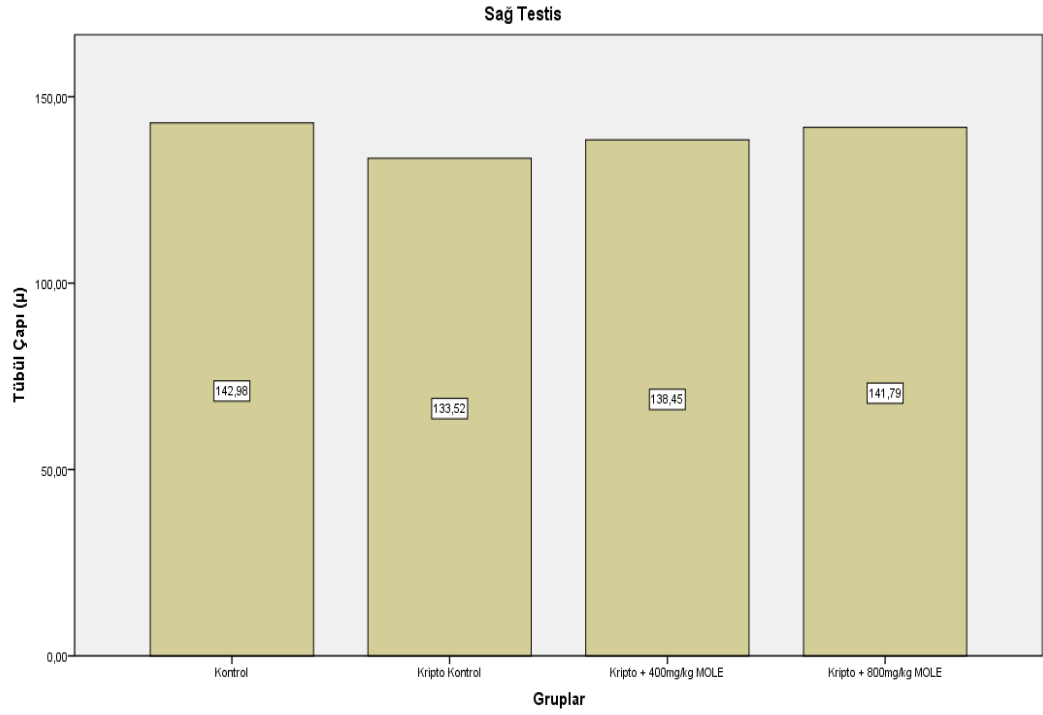
Tablo 4. 15. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis tübül çaplarının gruplar arası ve grup içi karşılaştırılması

Sol Testis Tübül Çapının Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,999
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,001
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,999
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
Sol Testis Tübül Epitel Kalınlığının Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,998
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,001
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,998
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
Grup içi sol ve sağ testis tübül çapının karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol		0,114
Sol Testis	Sağ Testis	
Kripto Kontrol		0,001
Sol Kriptorşit Testis	Sağ Skrotal Testis *	
Kripto + 400mg/kg MOLE		0,001
Sol Kriptorşit Testis	Sağ Skrotal Testis *	
Kripto + 800mg/kg MOLE		0,584
Sol Kriptorşit Testis	Sağ Skrotal Testis	

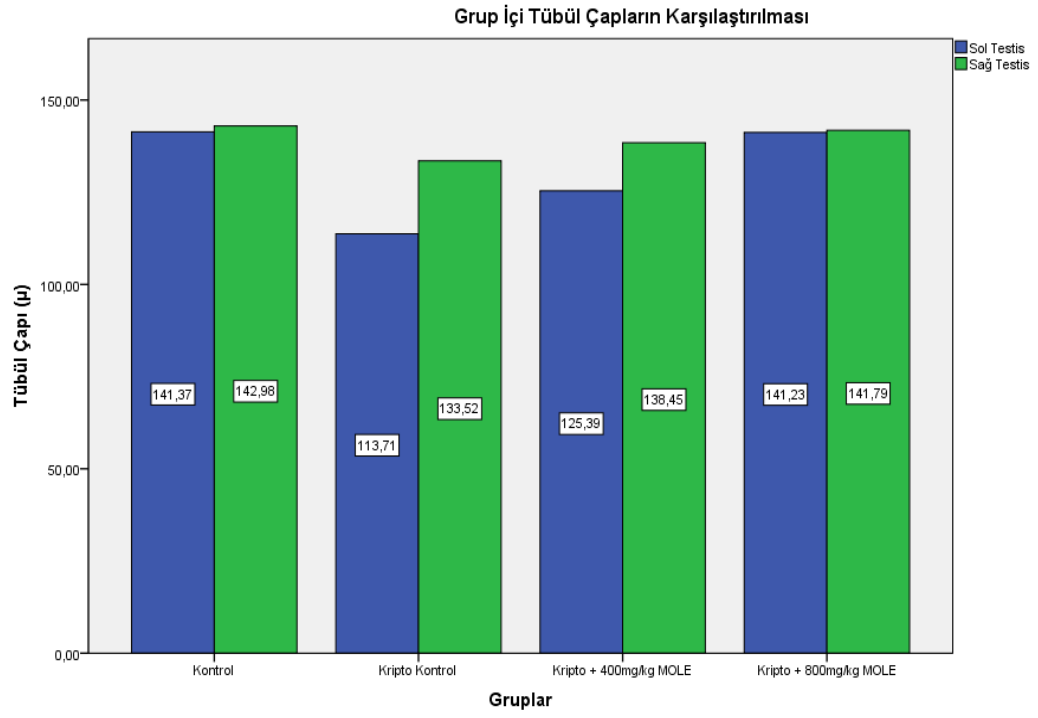
* İstatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4. 9. Sol testis tübül çapınının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik



Şekil 4. 10. Sağ testis tübül çapınının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik



Şekil 4. 11. Grup içi sol ve sağ testis tübül çapının karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 5. 5. Seminifer tübül epitel kalınlığı

Deneyin sonunda Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların sol ve sağ testis tübül epitel kalınlıkları ölçüldü. Bu sonuçlara göre gruplar arası sol ve sağ testis tübül epitel kalınlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). (Tablo 4. 16.).

Tablo 4. 16. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis tübül epitel kalınlığı (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	Sol Testis Tübül Epitel Kalınlığı (μ)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	38,64 $\pm$ 1,40	0,001
Kripto Kontrol	27,33 $\pm$ 2,02	
Kripto + 400mg/kg MOLE	30,06 $\pm$ 0,55	
Kripto + 800mg/kg MOLE	37,06 $\pm$ 1,23	
Gruplar	Sağ Testis Tübül Epitel Kalınlığı (μ)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	38,47 $\pm$ 1,53	0,001
Kripto Kontrol	31,97 $\pm$ 1,55	
Kripto + 400mg/kg MOLE	34,00 $\pm$ 2,16	
Kripto + 800mg/kg MOLE	38,55 $\pm$ 1,26	

Deney gruplarındaki sıçanların sol testis tübül epitel kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasında Kripto Kontrol ve Kripto + 400mg/kg MOLE grupları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında seminifer tübül epitel kalınlıklarda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). Kontrol ve tedavi amaçlı oluşturduğumuz Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise seminifer tübül epitel kalınlıklarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$ - $p=0,001$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu ile Kripto + 400mg/kg MOLE grubu karşılaştırıldığında ise Kripto + 800mg/kg MOLE grubunun seminifer tübül epitel kalınlıkları Kontrol grubuna benzerdi ($p=0,998$). Ancak Kripto + 400mg/kg MOLE grubunun seminifer tübül epitel

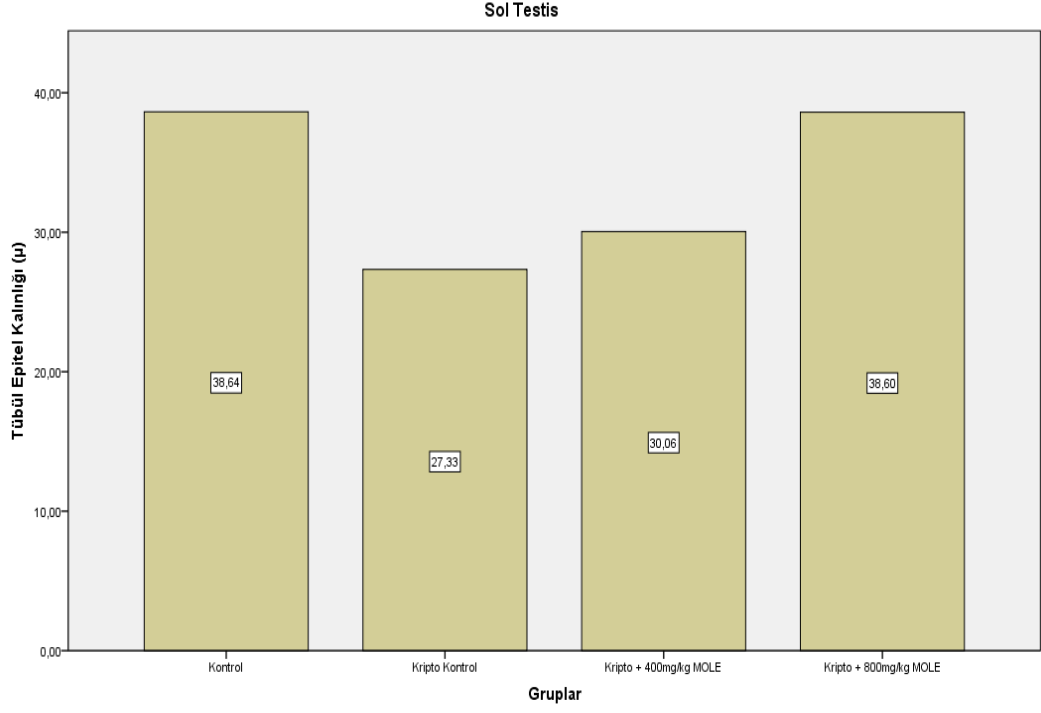
kalınlıklarında Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p=0,001$). (Tablo 4. 17.), (Şekil 4. 12.).

Deney gruplarındaki sıçanların sağ testis tübül epitel kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasında da yine Kripto Kontrol ve Kripto + 400mg/kg MOLE grupları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında seminifer tübül epitel kalınlıklarda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). Kontrol ve tedavi amaçlı oluşturduğumuz Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise seminifer tübül epitel kalınlıklarda istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$ - $p=0,001$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu ile Kripto + 400mg/kg MOLE grubu karşılaştırıldığında ise Kripto + 800mg/kg MOLE grubunun seminifer tübül epitel kalınlıkları Kontrol grubuna benzerdi ($p=0,987$). Ancak Kripto + 400mg/kg MOLE grubundaki seminifer tübül epitel kalınlıklarında Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma vardı ($p=0,001$). (Tablo 4. 17.), (Şekil 4. 13.).

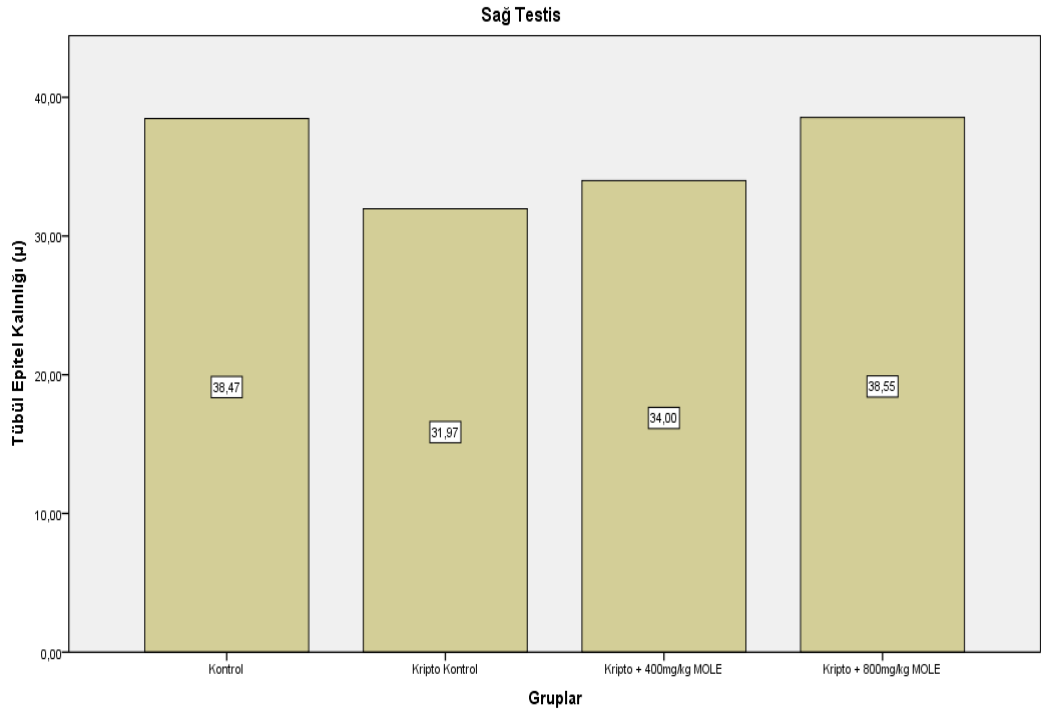
Tablo 4. 17. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis tübül epitel kalınlığının gruplar arası ve grup içi karşılaştırılması

Sağ Testis Tübül Çapının Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,568
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,001
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,002
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,568
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,002
Sağ Testis Tübül Epitel Kalınlığının Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,987
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,001
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,987
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
Grup içi sol ve sağ testis tübül epitel kalınlığının karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol		0,404
Sol Testis	Sağ Testis	
Kripto Kontrol		0,001
Sol Kriptorşit Testis	Sağ Skrotal Testis *	
Kripto + 400mg/kg MOLE		0,001
Sol Kriptorşit Testis	Sağ Skrotal Testis *	
Kripto + 800mg/kg MOLE		0,825
Sol Kriptorşit Testis	Sağ Skrotal Testis	

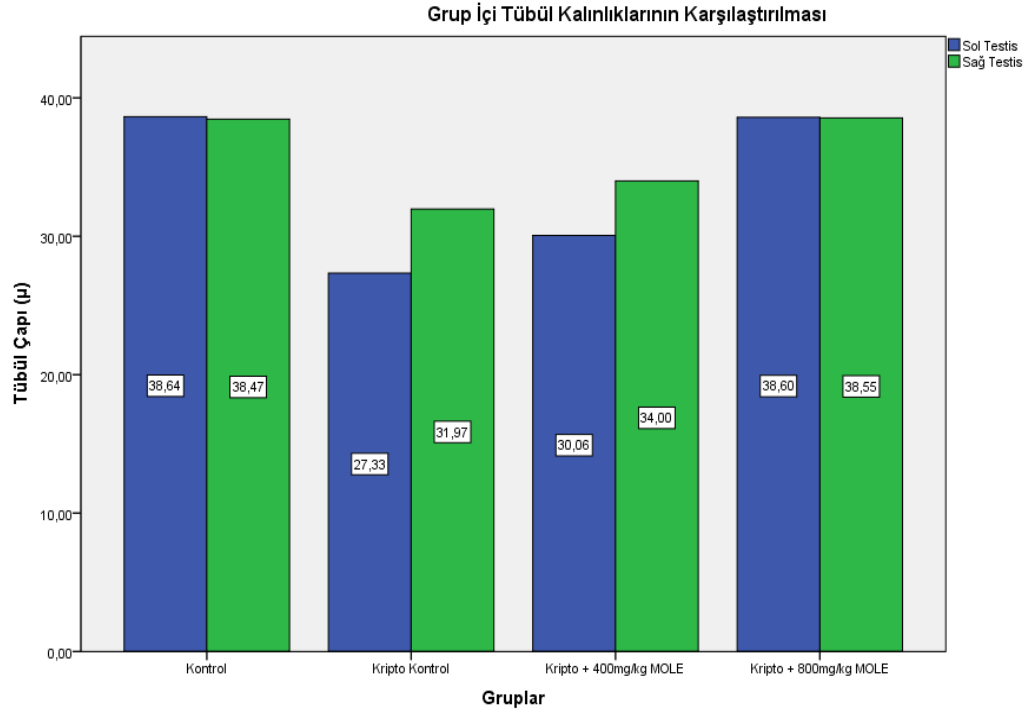
* İstatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4. 12. Sol testis tübül epitel kalınlığının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik



Şekil 4. 13. Sağ testis tübül epitel kalınlığının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik



Şekil 4. 14. Grup içi sol ve sağ testis tübül epitel kalınlıklarının karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 5. 6. Perivasküler fibrozis

Deneyin sonunda Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıkları ölçüldü. Bu sonuçlara göre gruplar arası sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıklarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). (**Tablo 4. 18.**).

Tablo 4. 18. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıkları (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değerleri

Gruplar	Sol Testis (μ)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	1,32 $\pm$ 1,02	0,001
Kripto Kontrol	6,15 $\pm$ 3,17	
Kripto + 400mg/kg MOLE	4,22 $\pm$ 1,44	
Kripto + 800mg/kg MOLE	1,92 $\pm$ 0,81	
Gruplar	Sağ Testis (μ)	P Değeri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	1,67 $\pm$ 1,09	0,001
Kripto Kontrol	5,74 $\pm$ 2,37	
Kripto + 400mg/kg MOLE	2,41 $\pm$ 0,83	
Kripto + 800mg/kg MOLE	1,63 $\pm$ 0,83	

Deney gruplarındaki sıçanların sol testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasında Kripto Kontrol ve Kripto + 400mg/kg MOLE grupları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında damar etrafındaki fibroziste istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). Kontrol ve tedavi amaçlı oluşturduğumuz Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise damar etrafındaki fibroziste istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$ - $p=0,001$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu ile Kripto + 400mg/kg MOLE grubu karşılaştırıldığında ise Kripto + 800mg/kg MOLE grubunun damar etrafındaki fibrozisi Kontrol grubuna benzerdi ($p=0,595$). Ancak Kripto + 400mg/kg MOLE grubunun damar etrafındaki fibroziste Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p=0,001$). **(Tablo 4. 19.), (Şekil 4. 15.).**

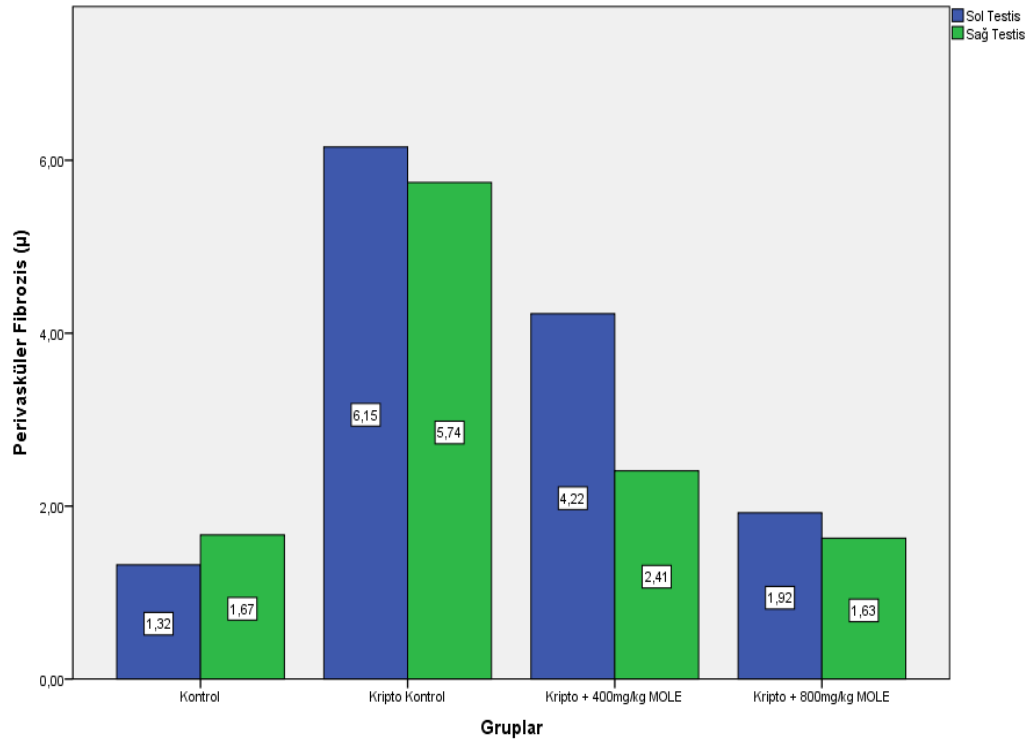
Deney gruplarındaki sıçanların sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasında ise Kripto Kontrol ve Kripto + 400mg/kg MOLE grupları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında damar etrafındaki fibroziste istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). Kontrol ve tedavi amaçlı oluşturduğumuz Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise damar etrafındaki fibroziste istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$ - $p=0,001$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu ile Kripto + 400mg/kg MOLE grubu karşılaştırıldığında ise Kripto +

800mg/kg MOLE grubunun damar etrafındaki fibrozis Kontrol grubuna benzerdi ($p=0,830$). Ancak Kripto + 400mg/kg MOLE grubunun damar etrafındaki fibroziste Kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p=0,001$). (**Tablo 4. 19.**), (**Şekil 4. 15.**).

Tablo 4. 19. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılması

Sol Testis Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,595
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,001
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,595
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
Sağ Testis Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,830
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,001
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,025
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,830
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,025

* İstatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4. 15. Sol ve sağ testis damar etrafındaki fibrozis kalınlıklarının gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

4. 5. 7. Apoptozisin değ erlendirilmesi

Deneyin sonunda Kontrol, Kripto Kontrol, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluş an sıç anların sol ve sağ testis dokularındaki apoptozisi değ erlendirmek için H Skoru yapıldı. Bu sonuçlara gre gruplar arası sol testis apoptozis değ erlerinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptandı ($p=0,001$).

Ancak sağ testis apoptozis değ erlerinde ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,069$). (Tablo 4. 20.).

Tablo 4. 20. Deney gruplarına ait sıç anların sol ve sağ testis apoptozis değ erleri (Ortalama $\pm$ SD) ve gruplar arası karşılaştırmanın P değ erleri

Gruplar	Sol Testis H Skoru Değ erleri	P Değ eri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	0,10 $\pm$ 0,30	0,001
Kripto Kontrol	3,64 $\pm$ 0,61	
Kripto + 400mg/kg MOLE	2,25 $\pm$ 0,84	
Kripto + 800mg/kg MOLE	0,22 $\pm$ 0,42	
Gruplar	Sağ Testis H Skoru Değ erleri	P Değ eri
	Ortalama $\pm$ Standart Sapma	
Kontrol	0,08 $\pm$ 0,28	0,069
Kripto Kontrol	0,24 $\pm$ 0,43	
Kripto + 400mg/kg MOLE	0,19 $\pm$ 0,39	
Kripto + 800mg/kg MOLE	0,10 $\pm$ 0,30	

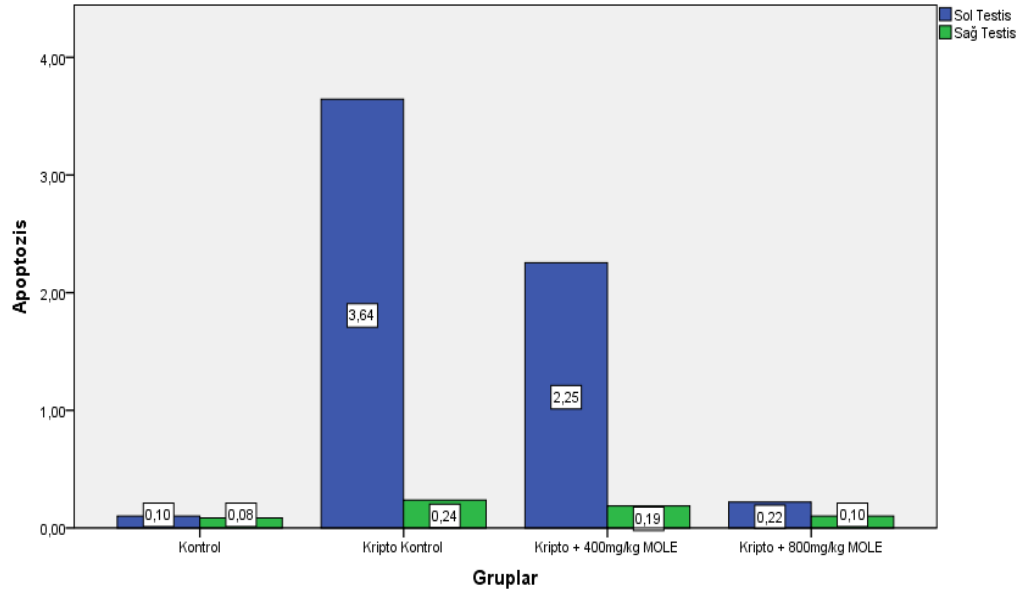
Deney gruplarındaki sıç anların sol testis apoptozis değ erlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında; Kripto Kontrol ve Kripto + 400mg/kg MOLE grupları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında apoptoziste istatistiksel olarak anlamlı bir artış saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$). Kontrol ve tedavi amaçlı oluş turduğ umuz Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE grupları ile Kripto Kontrol grubu karşılaştırıldığında ise apoptoziste istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı ($p=0,001$ - $p=0,001$ - $p=0,001$). Kripto + 800mg/kg MOLE grubu ile Kripto + 400mg/kg MOLE grubu karşılaştırıldığında ise Kripto + 800mg/kg MOLE grubundaki apoptozis Kontrol grubuna benzerdi ($p=0,684$). Ancak Kripto + 400mg/kg MOLE grubundaki apoptoziste Kontrol grubuna gre istatistiksel olarak anlamlı bir artış vardı ($p=0,001$).

(Tablo 4. 21.), (Şekil 4. 16.). Deney gruplarındaki sıçanların sağ testis apoptozis değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında ise apoptozis bütün gruplarda izlenmedi.

Tablo 4. 21. Deney gruplarına ait sıçanların sol ve sağ testis apoptozisin gruplar arası ve grup içi karşılaştırılması

Sol Testis Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,684
Kripto Kontrol	Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol *	0,001
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 800mg/kg MOLE *	0,001
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,684
	Kripto Kontrol *	0,001
	Kripto + 400mg/kg MOLE *	0,001
Sağ Testis Gruplar Arası Karşılaştırılması		P Değeri
Kontrol	Kripto Kontrol	0,096
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,411
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,994
Kripto Kontrol	Kontrol	0,096
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,866
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,169
Kripto + 400mg/kg MOLE	Kontrol	0,411
	Kripto Kontrol	0,866
	Kripto + 800mg/kg MOLE	0,571
Kripto + 800mg/kg MOLE	Kontrol	0,994
	Kripto Kontrol	0,169
	Kripto + 400mg/kg MOLE	0,571

* İstatistiksel olarak anlamlı



Şekil 4. 16. Sol ve sağ testis apoptozisin gruplar arası karşılaştırılmasını gösteren grafik

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kriptorşidizm erkek çocuklarda en yaygın görülen gelişimsel bir bozukluktur. Kriptorşidizm genelde %85 tek taraflı olarak gelişmektedir. Kriptorşit testis histolojik çalışmalarında, gonositlerin olgunlaşmasındaki bozukluk sonucu germ hücrelerin sayısı, erkek çocukta 2 yaşından sonra anlamlı düzeyde azalmaya başladığını ve infertilite ile sonuçlandığını göstermektedir. Ayrıca bu çalışmalar kriptorşidizm sorunu olan erkeklerde sperm sayılarının azaldığını da göstermektedir. Kriptorşidizm sonucu spermin azalma mekanizması hala net bir şekilde bilinmemektedir. Ancak bazı çalışmalarda; kriptorşidizm sonucu ROS artmasının, sperm hareketliliğinin azalmasının, sperm DNA hasarının oluşmasının, hücre proliferasyonunun azalmasının ve germ hücrelerinin apoptoza uğramasının sperm sayısının azalmasında etkili bir mekanizma olabileceği öne sürülmüştür (1, 26-28).

Yapılan çalışmalarda oksidatif stresin kriptorşidizm sonucu oluşan testiküler hasar patogenezisinde önemli bir rol oynadığı bildirilmiştir. Seminifer tübül atrofisi ve apoptozisinin, ROS'un artışı ile bağlantılı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca oksidatif stresin artması sonucunda oluşan hasarı azaltmak için SOD düzeyinin azaldığı, MDA düzeyinin arttığı ve HSP70 proteinlerinin arttığı da bildirilmiştir. Son yıllarda kriptorşidizm sonucu oluşan hasarları azaltmak amacıyla antioksidan maddelerin kullanımı üzerinde bolca çalışmalara rastlanmaktadır (26, 27, 78).

Antioksidan maddelerin kullanımı ile ilgili yapılan çalışmalarda ayrıca antioksidan maddelerin doza bağlı olarak toksik etkileri üzerinde de çalışmalar yapılmıştır. Ve bu çalışmalarda antioksidan maddelerin doza bağlı olarak hücrede veya dokuda toksik etkilere sahip olabileceği de gösterilmiştir. Ayrıca antioksidan maddelerin zararlı olup olmadığını değerlendirmek için SOD, MDA ve TP gibi birçok biyokimyasal parametrelere bakılmıştır (2, 79).

Literatür taramasında Moringa Oleifera bitkisinin antioksidan etkilerine dair bir takım çalışmalar mevcuttur. Ancak bu bitkinin testis hasarı üzerindeki etkisi veya doza bağlı olarak antioksidan ya da oksidan etkisi olduğuna dair çalışmalar kısıtlı kalmaktadır.

Chaki ve arkadaşları (2005) her grupta 12 adet sıçan olmak üzere kriptorşidizm modeli oluşturulduktan sonra 1., 3., 5., 7. ve 15. günlerde sakrifiye ederek kriptorşidizmin güne

bağlı olarak testis üzerindeki etkilerini incelemişler ve kriptorşidizm sonucu 1. ve 3. günlerde sakrifiye edilen sıçan testislerinde piknotik ve dev hücrelerin arttığını, 5. günde sakrifiye edilen sıçan testislerinde ise aynı şekilde piknotik ve dev hücrelerin artışının devam ettiğini ve germ hücrelerin dağılmasını ve azalmasını, 7. ve 15. günlerde sakrifiye edilen sıçan testislerinde ise tamamen germ hücre kaybının olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca güne bağlı olarak sıçan testislerinin seminifer tübüllerinde apoptozisin anlamlı düzeyde arttığını göstermişlerdir (80).

Bizim çalışmamızda; Tek taraflı kriptorşidizm oluşturulmuş grubun sol testis örneklerinde; seminifer tübül epitel kalınlığında ($p=0,001$) ve tübül çaplarında ($p=0,001$) azalma, germinatif epitelin bazal membrandan ayrılması, lümene hücre dökülmesi ve hücreler arası vakuolizasyon, interstisyel alanda tübüllerin birbirinden ayrılması ve ödem gibi histopatolojik bulgular tespit edildi. Kriptorşidizm vakalarındaki literatür taramamızda daha önce seminifer tübül epitel kalınlığının ve çapının ölçülmediği gözlemlendi. Seminifer tübül çapı ve epitel kalınlığındaki bu azalmanın germ hücrelerinin bazal membrandan ayrılması, hücre sıralanmasının bozulmasına ve lümene hücre dökülmesi ile ilişkili olabileceği kanısına varıldı.

Çalışmamızın ilk dozu olan 400mg/kg MOLE grubunun sol kriptotestis örneklerinde, Kripto grubuna göre seminifer tübül epitel kalınlığında ve tübül çaplarında artış gözlemlendi ($p=0,001$, $p=0,001$) ve interstisyel alanda seminifer tübüller arası ayrılma gözlenmezken ödemin devam ettiği izlendi. Aynı tedavi grubunun sağ skrotal testis örneklerinde ise sol kriptotestis örneklerine nazaran interstisyel alandaki ödemde azalma ve seminifer tübül epitel kalınlığında ($p=0,001$) ve tübül çapında ($p=0,001$) anlamlı bir artış tespit edildi.

Çalışmamızın ikinci dozu olan 800mg/kg MOLE grubunun sol kriptotestis örneklerinde, Kripto grubuna göre seminifer tübül epitel kalınlığında ($p=0,001$) ve tübül çaplarında ($p=0,001$) anlamlı bir artış ve diğer histopatolojik hasarlarda belirgin bir azalma gözlemlendi. Aynı tedavi grubunun sağ skrotal testis örneklerinde ise sol kriptotestis örnekleri arasında herhangi bir fark saptanmadı ve Kontrol grubunun testis örneklerine benzer histolojik yapıda izlendi.

Tao ve arkadaşları (2006) 5-8 yaş arası *Cynomolgus macaque* türü maymunlarda her grupta 3 adet olacak şekilde; 1 adet kontrol, 6 adet kriptorşidizm oluşturulmuş toplam 7 grup kullanmışlardır. Bu çalışmada maymunları izleyen 1., 3., 5., 7., 10. ve 15. günlerde

sakrifiye ederek kriptorşidizmin güne bağlı olarak testis üzerindeki etkilerini incelemişler ve hiçbir işlem yapılmamış kontrol grubu ile kıyaslamışlar. Kriptorşidizm sonucu güne bağlı olarak seminifer tübül epitel yapısının 5. günden sonra bozulmaya başladığını, çok çekirdekli dev hücrelerinin 10. günden sonra artmaya başladığını ve 15. günde ise seminifer tübül germ hücre kaybının arttığını göstermişler. Ayrıca güne bağlı olarak apoptozisin arttığını, Western Blot ve İmmünohistokimya çalışmalarında ise yine güne bağlı olarak HSP60 protein konsantrasyonunun arttığını göstermişlerdir (28).

Bizim çalışmamızın apoptozis H skorlamasının değerlendirilmesinde ise Kontrol grubun sol ve sağ testisleri arasında ($p=0,849$) anlamlı bir fark saptanmadı. Kripto oluşturulmuş sol testis apoptozisinde ise Kontrol gruba göre ($p=0,001$) anlamlı bir artış bulunurken sağ inmiş testiste ($p=0,096$) bir fark saptanmadı. Kripto grubunun sol ve sağ testis karşılaştırılmasında ise ($p=0,001$) sol testiste apoptozisin arttığı, sağ skrotal testiste ise bu artışın olmadığı tespit edildi.

MOLE uygulanan 1. dozda (400mg/kg) kripto sol testiste Kontrol ($p=0,001$) ve Kripto grubuna ($p=0,001$) göre apoptozisin azaldığını tespit etmemize rağmen bu azalma istatistiksel olarak anlamı bulunmadı. MOLE'nin bu dozunun apoptozis üzerinde yeterli etkisi olmadığına karar verildi. Aynı tedavi grubunun sağ skrotal testis örneklerinde ise sol kripto testise göre apoptozisin olmadığı saptanırken ($p=0,001$), Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında bu dozda bir fark bulunamadı. ($p=0,411$).

MOLE uygulanan 2. dozda (800mg/kg) ise sol kripto ($p=0,684$) ve sağ skrotal testiste ($p=0,994$) Kontrol grubuna benzer şekilde apoptozis görülmedi. Kripto + 800mg/kg MOLE sol kripto ve sağ skrotal testis karşılaştırılmasında ise apoptozis yönünden bir birine benzer bulundu ($p=0,182$). Apoptozis açısından MOLE'nin 2. dozu daha etkin bulundu.

Erata ve arkadaşları (2007) infertilite sorunu için androloji laboratuvarına başvuran 37 ve ayrıca 13 fertil olan toplam 50 erkek donörlerden semen örneklerini elde etmişlerdir. İnfertil örneklerdeki semen analizinde; 17'si astenospermik, 13'ü oligoastenospermik ve 7'si azospermik olarak tespit edilen spermelerde ayrıca HSP70 protein konsantrasyonuna bakmışlardır. Azospermik örneklerde HSP70 ekspresyonun olmadığını ancak astenospermik ve oligoastenospermik örneklerde HSP70 ekspresyonunun arttığını saptamışlardır (81).

Bizim çalışmamızda ise Kripto grubunun sol kripto ($p=0,001$) ve sağ skrotal testis ($p=0,001$) örneklerinde HSP70 ekspresyonunun Kontrol grubuna göre anlamlı bir artış saptandı. Bu sonuç bize oksidatif hasar açısından tek taraflı kriptorşidizm gelişmiş testislerde diğer inmiş testisin de etkilendiğini gösterdi.

Kripto + 400mg/kg grubunun sol kripto ($p=0,001$) ve sağ skrotal testis ($p=0,006$) örneklerinde de Kontrol gruba göre HSP70 ekspresyon değerlerinde anlamlı bir artış saptanmıştır. Bu sonuçla MOLE'nin 1. dozunun oksidatif stresi azaltmakta etkin doz olmadığı kanaatine varıldı.

Kripto + 800mg/kg grubunun sol kripto ($p=0,843$) ve sağ skrotal testis ($p=0,937$) örneklerinde Kontrol gruba göre HSP70 ekspresyon değerlerinde anlamlı bir artış saptanmadı. HSP70 protein ekspresyonunun artırmaması MOLE'nin 2. dozunun oksidatif stresi azaltmakta etkin doz olduğu sonucuna varıldı.

Afolabi ve arkadaşları ise (2013); 20 adet Wistar Albino cinsi sıçan testisleri üzerinde yaptıkları 15 günlük bir çalışmada 200 mg/kg Moringa oleifera bitkisinin yapraklarından metanolik ekstrakt elde ederek ve bu ekstraktın kriptorşidizm sonucu azalmakta olan, testis ağırlıklarını ve sperm sayısını arttırdığını göstermişlerdir. Ayrıca biyokimyasal parametrelerde kriptorşidizm sonucu azalmakta olan SOD düzeylerinin ekstrakt sonucu arttığını, artmakta olan MDA düzeyinin ekstrakt sonucu azaldığını ve kriptorşidizm sonucu TP düzeyinin istatistiksel olarak değişmediğini ancak ekstrakt ile tedavi sonrasında TP düzeyinde anlamlı bir artış göstermişlerdir (2).

Bizim SOD değerlendirmemizde ise; Kontrol sol ve sağ testis ile Kripto grubunun sol kripto ($p=0,001$) ve sağ skrotal testis ($p=0,001$) karşılaştırılmasında anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi.

MOLE'nin 1. doz SOD ölçümünde; sol kripto ($p=0,001$) ve sağ skrotal testis ($p=0,003$) örneklerinin Kontrol gruba göre anlamlı düzeyde azaldığı tespit edildi. Ayrıca Kripto grubunun sol kripto ($p=0,963$) ve sağ skrotal testis ($p=0,967$) SOD değerleri arasında herhangi bir fark saptanmadı. MOLE'nin bu dozu dahi SOD için etkin bulundu.

MOLE'nin 2. doz SOD ölçümünde; sol kripto ($p=0,007$) ve sağ skrotal ($p=0,002$) testis örneklerinin Kripto grubuna göre anlamlı bir azalma saptandı. Aynı dozun Kontrol grubu ile karşılaştırılmasında sol kripto ($p=0,615$) ve sağ skrotal testis ($p=1,000$) SOD

değerlerinde herhangi bir fark saptanmadı. SOD değerleri açısından MOLE'nin bu 2. dozu da etkin bulundu.

MDA değerlerinde ise; Kontrol sol ile Kripto grubunun sol kriptotestis ($p=0,001$) karşılaştırılmasında anlamlı düzeyde arttığı ancak sağ skrotal testis ($p=0,975$) karşılaştırılmasında ise artmadığı tespit edildi.

MOLE'nin 1. doz MDA ölçümünde; sol kriptotestisinde ($p=0,001$) Kontrole göre anlamlı bir artış tespit edilirken sağ skrotal testise ($p=0,789$) anlamlı bir fark saptanmadı. MOLE'nin bu dozu sol kriptotestisi etkilerken sağ testiste stabil seyretmesi ile bu dozun etkinliği gösterilmiş oldu.

MOLE'nin 2. doz MDA ölçümünde; sol kriptotestis ile Kripto grubunun MDA değerleri karşılaştırıldığında kriptotestis sonrası artmakta olan MDA değerlerinin ($p=0,001$) anlamlı düzeyde azalırken sağ skrotal testiste ($p=0,789$) bir fark saptanmadı. Aynı dozun Kontrol grubu ile karşılaştırılmasında sol kriptotestis ($p=0,977$) ve sağ skrotal testis ($p=0,999$) MDA değerlerinde herhangi bir fark saptanmadı. Bu dozda MOLE her iki testiste MDA açısından benzer etkinlikte saptandı.

Testis dokularındaki TP değerlerinin gruplar arası karşılaştırılmasında; sol kriptotestis ($p=0,981$) ve sağ skrotal testis örneklerinde ($p=0,917$) istatistiksel olarak herhangi bir fark saptanmadı. Kriptotestisden etkilenmeyen TP değerlerinin bizim çalışmamızda kullandığımız MOLE'nin sulu ekstraktının her iki dozu sonrası da değişmediğini saptadık. Böylece MOLE'nin sulu ekstraktının Afolabi ve arkadaşlarının kullandığı MOLE'nin 200mg/kg metanolik ekstraktına göre daha etkili olduğunu saptadık. Ayrıca çalışmamızda kandaki TP değerlerine ($p=0,583$) baktığımızda dokudaki gibi TP değerlerinin değişmediği tespit edildi. Bu kan TP sonuçları da dokudaki TP değerlerinin doğruluğunu desteklemiş oldu.

Çalışmamızın testis ağırlıklarının değerlendirilmesinde ise; Kontrol sol ile Kripto grubunun sol kriptotestis ($p=0,005$) ağırlıkları arasında anlamlı bir azalma saptandı ancak Kontrol sağ ile Kripto sağ skrotal testis ($p=0,412$) ağırlıkları arasında ise herhangi bir fark saptanmadı.

MOLE'nin 1. ve 2. doz uygulamalarında sırasıyla sol kriptotestis ($p=0,012$, $p=0,001$) ve sağ skrotal testis ($p=0,032$, $p=0,011$) ağırlıkları Kripto grubu ile karşılaştırıldığında bu gruptaki her iki testislerinin ağırlığının anlamlı olarak arttığı saptandı.

Ancak bu her iki dozdaki sol kriptu ($p=0,985$, $p=0,930$) ve sağ skrotal testis ($p=0,547$, $p=0,310$) ağırlıklarının artışı Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yine anlamlı bir artış tespit edildi. Bu yüzden bütün gruplara testis ağırlık indeksi (TAİ) yapılarak değerlendirildi ve elde ettiğimiz sonuçlara göre Kontrol ile Kripto grubu karşılaştırıldığında Kripto grubundaki TAİ değerlerinde azalma tespit edildi ($p=0,001$). MOLE'nin 1. ve 2. dozunun Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında herhangi bir fark saptanmadı ($p=0,167$, $p=0,445$). Afolabi ve arkadaşları çalışmalarında sadece testis ağırlıklarını kıyaslamış ve tedavi sonrası ağırlık artışı tespit etmişler. Biz ise testis ağırlıklarının değerlendirilmesinde testis ağırlık indeksini kullanarak daha doğru sonuca varıldığını göstermiş olduk.

Awodele ve arkadaşları (2011) ortalama 100 gr ağırlıkta olan 24 adet yetişkin sıçan kullanmışlar ve 60 gün boyunca gñnlük 250, 500 ve 1500mg/kg dozlarda evaporasyon (buharlaştırma) yöntemi ile elde ettikleri moringa ekstraktını oral olarak vermişler ve hiç bir işlem yapılmamış kontrol grubu ile subkronik toksisite çalışmasını yapmışlar. Deney sonunda sıçanların vñcut ağırlıklarına bakmışlar ve gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamamışlardır. Ayrıca SOD, CAT, MDA ve GSH gibi biyokimyasal parametrelerde de gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptamamışlardır (82).

Deneyimizin başlangıcında ve sonunda olmak üzere; Kontrol, Kripto, Kripto + 400mg/kg MOLE ve Kripto + 800mg/kg MOLE deney gruplarından oluşan sıçanların vñcut ağırlıkları tartıldı ve bu sonuçlara göre, deney öncesi gruplar arası vñcut ağırlıklarında anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,189$). Ayrıca deney sonrası vñcut ağırlıkları da karşılaştırıldı ve deney sonrasında da vñcut ağırlıklarında gruplar arası anlamlı bir farkın olmadığı saptandı ($p=0,507$). Böylece Awodele ve arkadaşlarının ve bizim çalışmamızın sonuçları MOLE'nin kullanılan dozlarda zayıflatıcı etkisinin olmadığını göstermiş oldu. Her bir hayvanın deney sonundaki ağırlık artışı hayvanların deney süresince büyümesine bağlandı.

Francavilla ve arkadaşları (1979); 7 adet ergen erkekte (7-12 yaşlarında çift taraflı kriptorşidizm tanısı konulmuş ve cerrahi yöntemle indirilmiş), 5 adet yetişkin erkekte (7-15 yaşlarında çift taraflı kriptorşidizm tanısı konulmuş ancak kendiliğinden inmiş yada farmakolojik ajanlarla indirilmiş), 8 adet yetişkin erkekte (6-16 yaşlarında cerrahi yöntemle indirilmiş) ve 5 adet 16-40 yaş arasında olan erkeklerde hala kriptorşidizm

sorunu olan testislerinde kriptorşidizm ve tedavi sonrasında seminifer tübül yapılarını ve damar yapıları incelemişler. Kriptorşit testislerdeki seminifer tübül arasındaki damarlarda bağ dokunun arttığını göstermişlerdir (83).

Bizim çalışmamızda da Kripto testislerde interstisyel alanda vasküler fibrozis izlendiği için dokulara TRI boyaması yapılarak fibrozis kalınlığı ölçüldü. Kontrol sol testis ile Kripto grubunun sol kripto testisi arasında vasküler fibroziste artış gözlemlendi ($p=0,001$). MOLE'nin 1. dozunun sol kripto testisinde vasküler fibroziste azalma gözlemlenmesine rağmen bu azalış Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ($p=0,001$). Kontrol sağ testis ile Kripto grubunun sağ skrotal testisi arasında vasküler fibroziste artış gözlemlendi ($p=0,001$). MOLE'nin 1. dozunun sağ skrotal testisinde vasküler fibrozis Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında vasküler fibrozisteki azalmanın anlamlı olmadığı bulundu ($p=0,001$). MOLE'nin 2. dozunun sağ skrotal testis ile Kontrol sağ testis karşılaştırıldığında vasküler fibrozis Kontrole benzer bulundu ($p=0,830$).

Sonuç olarak çalışmamızda; deneysel kriptorşidizm oluşturulmuş sıçan testislerinde ortaya çıkan hasarın histomorfolojik, biyokimyasal, immünohistokimyasal ve western blot yöntemleri ile gösterilmesini ve bu hasarlar üzerinde MOLE'nin doza bağlı iyileştirici etkisini göstermeyi amaçladık. Elde ettiğimiz sonuçlara göre:

Kriptorşit testislerde histomorfolojik olarak; Seminifer tübül epitelde germ hücrelerinin bazal membrandan ayrılması, epitel kalınlığında incelme, tübül çapında azalma, lümene hücre dökülmesi ve germ hücre sıralanmasında bozulma, tübüller arası ödem, damarlarda konjesyon ve perivasküler fibrozis izlendi. MOLE'nin 1. dozu (400mg/kg) ve MOLE'nin 2. dozunun (800mg/kg) bu hasarlar üzerinde anlamlı olarak iyileştirici etkisi gözlemlendi. Ancak tübül epitel kalınlığı ve çapındaki azalmanın, tübüller arası ödemin, perivasküler fibrozisin düzelmesinde MOLE'nin 2. dozunun daha etkin olduğu saptanmıştır. Ayrıca MOLE'nin popüler olan zayıflatıcı etkisi her iki dozda da gözlenmemiştir.

Literatür taraması sonucunda deneysel testiküler çalışmalarda sadece testis ağırlıklarının kıyaslandığını gözlemledik. Biz de bu çalışmamızda testis ağırlıklarını kıyasladığımızda MOLE'nin 2. dozunu daha etkin bulduk. Ancak Testis Ağırlık İndeksini (TAİ) uyguladığımızda MOLE'nin her iki dozunun da eşit derecede etkili olduğunu saptadık

ve çalışmalarda ağırlık kıyaslaması için TAI formülünün uygulanmasının daha doğru sonuca ulaştırdığına karar verdik.

Apopitozis ve Isı Şok Proteini (HSP70/IŞP70) düzeylerini saptamak için yaptığımız immün boyama ve western blot çalışmalarında MOLE'nin iyileştirici etkisini saptadık ve 2. dozunun daha etkili olduğunu tespit ettik.

Biyokimyasal çalışmalarımızdan olan SOD parametreleri üzerine 1. dozunun etkisiz, MDA üzerinde ise 2. dozun daha etkili olmasına rağmen her iki dozda da anlamlı bir artış tespit ettik. Kan ve doku TP miktarında ise MOLE'nin etkisinin bulunmadığını tespit ettik.

Bu çalışmayı planlarken Moringa Oleifera bitkisinin antioksidan etkisinin doz artımı ile oksidan etkiye dönüşebileceğini öngörerek (400-800mg/kg) iki farklı doz kullandık. Ancak MOLE her iki dozda da antioksidan etkimeye devam etti. Bundan sonraki çalışmalarda antioksidan maddelerin yüksek dozda kullanıldığında oksidan etkiye dönüştüğünü gösterebilmek için MOLE'nin daha yüksek dozlarda da çalışılması gerektiğine karar verdik.

KAYNAKLAR

1. Ofordeme, K.G., A.R. Aslan, T.M. Nazir, A. Hayner-Buchan, and B.A. Kogan, *Apoptosis and proliferation in human undescended testes*. BJU international, 2005. **96**(4): p. 634-638.
2. Afolabi, A.O., H.A. Aderoju, and I.A. Alagbonsi, *Effects of methanolic extract of Moringa Oleifera leave on semen and biochemical parameters in cryptorchid rats*. African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines, 2013. **10**(5): p. 230-235.
3. Erata, G.Ö., N.K. Toker, Ö. Durlanık, A. Kadioğlu, G. Aktan, and G.A. Toker, *The role of heat shock protein 70 (Hsp 70) in male infertility: is it a line of defense against sperm DNA fragmentation?* Fertility and sterility, 2008. **90**(2): p. 322-327.
4. Prabsattroo, T., J. Wattanathorn, S. Iamsaard, P. Somsapt, O. Sritragool, W. Thukhummee, and S. Muchimapura, *Moringa oleifera extract enhances sexual performance in stressed rats*. Journal of Zhejiang University-SCIENCE B, 2015. **16**(3): p. 179-190.
5. Bin-Meferij, M.M. and A.F. El-Kott, *The radioprotective effects of Moringa oleifera against mobile phone electromagnetic radiation-induced infertility in rats*. International journal of clinical and experimental medicine, 2015. **8**(8): p. 12487.
6. Pal, S.K., P.K. Mukherjee, K. Saha, M. Pal, and B. Saha, *Antimicrobial action of the leaf extract of Moringa oleifera Lam*. Ancient Science of Life, 1995. **14**(3): p. 197.
7. Rodriguez-Perez, C., J. Mendiola, R. Quirantes-Pine, E. Ibanez, and A. Segura-Carretero, *Green downstream processing using supercritical carbon dioxide, CO₂-expanded ethanol and pressurized hot water extractions for recovering bioactive compounds from Moringa oleifera leaves*. The Journal of Supercritical Fluids, 2016. **116**: p. 90-100.
8. Standring, S., *Gray's Anatomy (The Anatomical Basis of Clinical Practice)*. Publication Data: British Library & Library of Congress, 2016. **Forty-first edition**(© 2016, Elsevier Limited. All rights reserved.).
9. Carola, R., *Human Anatomy*. New York-USA: McGraw-Hill, 1992.
10. Ross, M.H., *HISTOLOGY (A Text and Atlas with Correlated Cell and Molecular Biology)*. Library of Congress Cataloging-in-Publication, 2011. **Sixth Edition**.
11. Frank H. Netter, *NETTER'S CLINICAL ANATOMY*. Copyright © 2010 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc., 2010. **2. Edition** (Elsevier's Health Science Licensing Department in Philadelphia PA, USA).
12. Moore, K.L., *The Developing Human (Clinically Oriented Embryology)*. Copyright © 2016 by Elsevier, 2016. **10th Edition**(1600 John F. Kennedy Blvd. Ste 1800 Philadelphia, PA 19103-2899).
13. Sadler, T.W., *Langman's Medical Embryology*. Copyright © 2012 Lippincott Williams & Wilkins, a Wolters Kluwer business. Printed in China, 2012. **12th ed.**(351 West Camden Street Two Commerce Square Baltimore, MD 21201 2001 Market Street Philadelphia, PA 19103).
14. Livingstone, C., *Larsen's Human Embryology*. 1600 John F. Kennedy Blvd. Ste 1800 Philadelphia, PA 19103-2899 Printed in China, 2015. **5th Edition**(Library of Congress Cataloging-in-Publication Data).
15. Mescher, A.L., *Junqueira's Basic Histology (Text & Atlas)*. Copyright © 2013 by McGraw-Hill Education. All rights reserved. Except as permitted under the

- United States Copyright Act of 1976, 2013. **Thirteenth Edition**(McGraww Hill LANGE).
16. Guyton, A.C., *Textbook of Medical Physiology*. 1600 John F. Kennedy Blvd. Ste 1800 Philadelphia, PA 19103-2899 Printed in the United States of America, 2016. **Eleventh Edition**(Copyright © 2016 by Saunders, an imprint of Elsevier Inc.).
 17. Wagner-Mahler, K., J.Y. Kurzenne, I. Delattre, E. Bérard, J.C. Mas, L. Bornebush, C. Tommasi, M. Boda-Buccino, B. Ducot, and C. Boullé, *Prospective study on the prevalence and associated risk factors of cryptorchidism in 6246 newborn boys from Nice area, France*. International journal of andrology, 2011. **34**(5pt2).
 18. Thomas, D.F., *Essentials of Paediatric Urology*. 2002. **Second Edition**.
 19. Hutson, J.M. and S. Hasthorpe, *Abnormalities of testicular descent*. Cell and tissue research, 2005. **322**(1): p. 155-158.
 20. Koçak, I., M. Dundar, M. Hekimgil, and P. Okyay, *Assessment of germ cell apoptosis in cryptorchid rats*. Asian journal of andrology, 2002. **4**(3): p. 183-186.
 21. MacKinnon, A., *The undescended testis*. The Indian Journal of Pediatrics, 2005. **72**(5): p. 429-432.
 22. D'Cruz, A.J. and K. Das, *Undescended testes*. The Indian Journal of Pediatrics, 2004. **71**(12): p. 1111-1115.
 23. Virtanen, H.E., R. Bjerknes, D. Cortes, N. Jørgensen, R.D. Meyts, A.V. Thorsson, J. Thorup, and K.M. Main, *Cryptorchidism: classification, prevalence and long-term consequences*. Acta Paediatrica, 2007. **96**(5): p. 611-616.
 24. Ivell, R. and S. Hartung, *The molecular basis of cryptorchidism*. Molecular human reproduction, 2003. **9**(4): p. 175-181.
 25. Türker, M., *Deneyisel tektaraflı kriptorşidizm oluşturulmuş ratlarda sertoli hücreleri ve bağlantı komplekslerindeki değişikliklerin histolojik yöntemlerle incelenmesi. 2010, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 234 sayfa, (Prof. Dr. Faruk Alkan) (260993). 2010*.
 26. Bae, W.J., U.S. Ha, K.S. Kim, S.J. Kim, H.J. Cho, S.H. Hong, J.Y. Lee, Z. Wang, S.Y. Hwang, and S.W. Kim, *Effects of KH-204 on the expression of heat shock protein 70 and germ cell apoptosis in infertility rat models*. BMC complementary and alternative medicine, 2014. **14**(1): p. 367.
 27. Fawzy, F., A. Hussein, M.M. Eid, A.M.E. Kashash, and H.K. Salem, *Cryptorchidism and fertility*. Clinical Medicine Insights: Reproductive Health, 2015. **9**: p. CMRH. S25056.
 28. Tao, S., J. Guo, X. Zhang, Y. Li, Z. Hu, C. Han, and Y. Liu, *Germ cell apoptosis induced by experimental cryptorchidism is mediated by multiple molecular pathways in Cynomolgus Macaque*. Front Biosci, 2006. **11**(3): p. 1077-1089.
 29. Kawakami, E., T. Hirano, T. Hori, and T. Tsutsui, *Testicular superoxide dismutase activity, heat shock protein 70 concentration and blood plasma inhibin- α concentration of dogs with a Sertoli cell tumor in a unilateral cryptorchid testis*. Journal of Veterinary Medical Science, 2007. **69**(12): p. 1259-1262.
 30. Sanchez-Valle, V., N. C Chavez-Tapia, M. Uribe, and N. Mendez-Sanchez, *Role of oxidative stress and molecular changes in liver fibrosis: a review*. Current medicinal chemistry, 2012. **19**(28): p. 4850-4860.
 31. Hermes-Lima, M. and T. Zenteno-Savín, *Animal response to drastic changes in oxygen availability and physiological oxidative stress*. Comparative

- Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2002. **133**(4): p. 537-556.
32. Serafini, M., D. Villano, G. Spera, and N. Pellegrini, *Redox molecules and cancer prevention: the importance of understanding the role of the antioxidant network*. Nutrition and cancer, 2006. **56**(2): p. 232-240.
 33. Muriel, P., *Role of free radicals in liver diseases*. Hepatology international, 2009. **3**(4): p. 526-536.
 34. Li, S., H.-Y. Tan, N. Wang, Z.-J. Zhang, L. Lao, C.-W. Wong, and Y. Feng, *The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases*. International journal of molecular sciences, 2015. **16**(11): p. 26087-26124.
 35. Agarwal, A., S. Gupta, and R.K. Sharma, *Role of oxidative stress in female reproduction*. Reproductive biology and endocrinology, 2005. **3**(1): p. 28.
 36. Del Rio, L.A. and E. Lopez-Huertas, *ROS generation in peroxisomes and its role in cell signaling*. Plant and Cell Physiology, 2016. **57**(7): p. 1364-1376.
 37. Pham-Huy, L.A., H. He, and C. Pham-Huy, *Free radicals, antioxidants in disease and health*. International journal of biomedical science: IJBS, 2008. **4**(2): p. 89.
 38. Halliwell, B., *Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life*. Plant physiology, 2006. **141**(2): p. 312-322.
 39. Halliwell, B., *Biochemistry of oxidative stress*. 2007, Portland Press Limited.
 40. Valko, M., M. Izakovic, M. Mazur, C.J. Rhodes, and J. Telser, *Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence*. Molecular and cellular biochemistry, 2004. **266**(1-2): p. 37-56.
 41. Droge, W., *Free radicals in the physiological control of cell function*. Physiological reviews, 2002. **82**(1): p. 47-95.
 42. Lobo, V., A. Patil, A. Phatak, and N. Chandra, *Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health*. Pharmacognosy reviews, 2010. **4**(8): p. 118.
 43. Vishal-Tandon, M., B. Gupta, and R. Tandon, *Free radicals/reactive oxygen species*. JK Practitioner, 2005. **12**(3): p. 143-148.
 44. Wickens, A.P., *Ageing and the free radical theory*. Respiration physiology, 2001. **128**(3): p. 379-391.
 45. Kerr, J.F., A.H. Wyllie, and A.R. Currie, *Apoptosis: a basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics*. British journal of cancer, 1972. **26**(4): p. 239.
 46. Fadeel, B. and S. Orrenius, *Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in human disease*. Journal of internal medicine, 2005. **258**(6): p. 479-517.
 47. Arnoult, D., K. Akarid, A. Grodet, P. Petit, J. Estaquier, and J. Ameisen, *On the evolution of programmed cell death: apoptosis of the unicellular eukaryote Leishmania major involves cysteine proteinase activation and mitochondrion permeabilization*. Cell death and differentiation, 2002. **9**(1): p. 65.
 48. Elmore, S., *Apoptosis: a review of programmed cell death*. Toxicologic pathology, 2007. **35**(4): p. 495-516.
 49. Wright, S.C., Q.S. Wei, D.H. Kinder, and J.W. Larrick, *Biochemical pathways of apoptosis: nicotinamide adenine dinucleotide-deficient cells are resistant to tumor necrosis factor or ultraviolet light activation of the 24-kD apoptotic protease and DNA fragmentation*. Journal of Experimental Medicine, 1996. **183**(2): p. 463-471.

50. Ashkenazi, A., *Targeting the extrinsic apoptotic pathway in cancer: lessons learned and future directions*. The Journal of clinical investigation, 2015. **125**(2): p. 487-489.
51. Shih, H.-J., J.-C. Yen, A.W. Chiu, Y.-C. Chow, W.H. Pan, and C.-J. Huang, *FTY720 inhibits germ cell apoptosis in testicular torsion/detorsion*. journal of surgical research, 2016. **202**(1): p. 155-164.
52. Kumar, V., A.K. Abbas, N. Fausto, and J.C. Aster, *Robbins and Cotran pathologic basis of disease, professional edition e-book*. 2014: elsevier health sciences.
53. Proskuryakov, S.Y., A.G. Konoplyannikov, and V.L. Gabai, *Necrosis: a specific form of programmed cell death?* Exp Cell Res, 2003. **283**(1): p. 1-16.
54. De Maio, A., *Extracellular heat shock proteins, cellular export vesicles, and the Stress Observation System: a form of communication during injury, infection, and cell damage. It is never known how far a controversial finding will go! Dedicated to Ferruccio Ritossa*. Cell Stress Chaperones, 2011. **16**(3): p. 235-49.
55. Verghese, J., J. Abrams, Y. Wang, and K.A. Morano, *Biology of the heat shock response and protein chaperones: budding yeast (Saccharomyces cerevisiae) as a model system*. Microbiol Mol Biol Rev, 2012. **76**(2): p. 115-58.
56. Lomiwes, D., M. Farouk, E. Wiklund, and O. Young, *Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review*. Meat Science, 2014. **96**(1): p. 26-40.
57. Clark, J.I. and P.J. Muchowski, *Small heat-shock proteins and their potential role in human disease*. Curr Opin Struct Biol, 2000. **10**(1): p. 52-9.
58. Park, C.-J. and Y.-S. Seo, *Heat shock proteins: a review of the molecular chaperones for plant immunity*. The plant pathology journal, 2015. **31**(4): p. 323.
59. Whitley, D., S.P. Goldberg, and W.D. Jordan, *Heat shock proteins: a review of the molecular chaperones*. J Vasc Surg, 1999. **29**(4): p. 748-51.
60. De Maio, A., *Extracellular Hsp70: export and function*. Current Protein and Peptide Science, 2014. **15**(3): p. 225-231.
61. Samali, A. and S. Orrenius, *Heat shock proteins: regulators of stress response and apoptosis*. Cell Stress Chaperones, 1998. **3**(4): p. 228-36.
62. Volloch, V.Z. and M.Y. Sherman, *Oncogenic potential of Hsp72*. Oncogene, 1999. **18**(24): p. 3648-51.
63. Li, C.Y., J.S. Lee, Y.G. Ko, J.I. Kim, and J.S. Seo, *Heat shock protein 70 inhibits apoptosis downstream of cytochrome c release and upstream of caspase-3 activation*. J Biol Chem, 2000. **275**(33): p. 25665-71.
64. Pham-Huy, L.A., H. He, and C. Pham-Huy, *Free radicals, antioxidants in disease and health*. Int J Biomed Sci, 2008. **4**(2): p. 89-96.
65. Young, I.S. and J.V. Woodside, *Antioxidants in health and disease*. J Clin Pathol, 2001. **54**(3): p. 176-86.
66. Nimse, S.B. and D. Pal, *Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms*. Rsc Advances, 2015. **5**(35): p. 27986-28006.
67. Sen, S. and R. Chakraborty, *The Role of Antioxidants in Human Health*. Vol. 1083. 2011. 1-37.
68. Abe, R. and K. Ohtani, *An ethnobotanical study of medicinal plants and traditional therapies on Batan Island, the Philippines*. J Ethnopharmacol, 2013. **145**(2): p. 554-65.
69. Bakre, A.G., A.O. Aderibigbe, and O.G. Ademowo, *Studies on neuropharmacological profile of ethanol extract of Moringa oleifera leaves in mice*. J Ethnopharmacol, 2013. **149**(3): p. 783-9.

70. Charoensin, S., *Antioxidant and anticancer activities of Moringa oleifera leaves*. Journal of Medicinal Plants Research, 2014. **8**(7): p. 318-325.
71. Manaheji, H., S. Jafari, J. Zaringhalam, S. Rezazadeh, and R. Taghizadfarid, *Analgesic effects of methanolic extracts of the leaf or root of Moringa oleifera on complete Freund's adjuvant-induced arthritis in rats*. Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao, 2011. **9**(2): p. 216-22.
72. Semanya, S., M. Potgieter, and L. Erasmus, *Ethnobotanical survey of medicinal plants used by Bapedi healers to treat diabetes mellitus in the Limpopo Province, South Africa*. J Ethnopharmacol, 2012. **141**(1): p. 440-5.
73. Anwar, F., S. Latif, M. Ashraf, and A.H. Gilani, *Moringa oleifera: a food plant with multiple medicinal uses*. Phytother Res, 2007. **21**(1): p. 17-25.
74. Stohs, S.J. and M.J. Hartman, *Review of the Safety and Efficacy of Moringa oleifera*. Phytother Res, 2015. **29**(6): p. 796-804.
75. Bin-Meferij, M.M. and A.F. El-Kott, *The radioprotective effects of Moringa oleifera against mobile phone electromagnetic radiation-induced infertility in rats*. Int J Clin Exp Med, 2015. **8**(8): p. 12487-97.
76. Lamou, B., G.S. Taiwe, A. Hamadou, J. Houlay, M.M. Atour, and P.V. Tan, *Antioxidant and antifatigue properties of the aqueous extract of Moringa oleifera in rats subjected to forced swimming endurance test*. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2016. **2016**.
77. Sadek, K.M., *Chemotherapeutic efficacy of an ethanolic Moringa oleifera leaf extract against chromium-induced testicular toxicity in rats*. Andrologia, 2014. **46**(9): p. 1047-54.
78. Kawakami, E., T. Hirano, T. Hori, and T. Tsutsui, *Testicular superoxide dismutase activity, heat shock protein 70 concentration and blood plasma inhibin-alpha concentration of dogs with a Sertoli cell tumor in a unilateral cryptorchid testis*. J Vet Med Sci, 2007. **69**(12): p. 1259-62.
79. Adedapo, A., O. Mogbojuri, and B. Emikpe, *Safety evaluations of the aqueous extract of the leaves of Moringa oleifera*. Vol. 3. 2009. 586-591.
80. Chaki, S.P., M.M. Misro, D. Ghosh, D.K. Gautam, and M. Srinivas, *Apoptosis and cell removal in the cryptorchid rat testis*. Apoptosis, 2005. **10**(2): p. 395-405.
81. Erata, G.O., N. Kocak Toker, O. Durlanik, A. Kadioglu, G. Aktan, and G. Aykac Toker, *The role of heat shock protein 70 (Hsp 70) in male infertility: is it a line of defense against sperm DNA fragmentation?* Fertil Steril, 2008. **90**(2): p. 322-7.
82. Awodele, O., I.A. Oreagba, S. Odoma, J.A. da Silva, and V.O. Osunkalu, *Toxicological evaluation of the aqueous leaf extract of Moringa oleifera Lam. (Moringaceae)*. J Ethnopharmacol, 2012. **139**(2): p. 330-6.
83. Francavilla, S., V. Santiemma, F. Francavilla, C. De Martino, R. Santucci, and A. Fabbrini, *Ultrastructural changes in the seminiferous tubule wall and intertubular blood vessels in human cryptorchidism*. Arch Androl, 1979. **2**(1): p. 21-30.

EKLER



T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
UNIVERSITY OF GAZİANTEP
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU BAŞKANLIĞI
LOCAL ETHICS COMMITTEE OF ANIMAL EXPERIMENTS
ARAŞTIRMA BAŞVURU ONAYI
RESEARCH APPLICATION CONSENT



TOPLANTI TARİHİ (Meeting Date)	TOPLANTI SAYISI (Meeting No)	TOPLANTI YERİ (Meeting Place)
05.12.2016	7	Temel Tıp Bilimleri

BAŞVURU BİLGİLERİ Application Information	Araştırmannın Başlığı Research Title	Deneysel kriptorşidizm oluşturulmuş sıçanlarda <i>Moringa oleifera</i> Lam ekstraktının (MOLE) testis üzerindeki etkisi
	Başvuru Tarihi Application Date	25.11.2016
	Protokol no Protocol no	16

KARAR BİLGİLERİ Decision	Karar No: 2016/16 Decision No: 2016/16
	☒ Kabul (Accepted) ☐ Red (Not Accepted) Yrd. Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ'nin yürütücüsü olduğu ve uygunluk kararı alınan (Etik kurul karar no: 2016/12) daha önceki başvurusu ile ilgili değişiklik önerisi incelenmiş, değişiklik başvurusunun "uygun" olduğuna toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile karar verilmiştir.

Yürütücü Coordinator	Yrd. Doç. Dr. Nuray BOSTANCIERİ Gaziantep Üniversitesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
-------------------------	---

ETİK KURUL BİLGİLERİ	
ÇALIŞMA ESASI	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU YÖNERGESİ

Ünvanı/Adı/Soyadı	Kurumu	İlişki	Katılım	İmza
Prof. Dr. A. Tuncay Demiryürek (Başkan)	GAÜN Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Davut Sinan Kaplan (Başkan Yardımcısı)	GAÜN Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.	H	E	
Prof. Dr. Behçet Al (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Acil Tıp AD.	H	E	
Doç. Dr. İbrahim Halil Kılıç (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Biyoloji	H	H	KATILMADI
Doç. Dr. Mehmet Kahraman (Üye)	GAÜN Fen Edebiyat F. Kimya	H	H	KATILMADI
Yrd. Doç. Dr. Ebru Deniz Karslı (Üye)	GAÜN Diş Hekimliği F. Çene Cerrahisi AD.	H	E	
Yrd. Doç. Dr. Berna Kaya Uğur (Üye)	GAÜN Tıp Fakültesi Anestezi ve Reanimasyon AD	H	E	
Öğr. Gör. Ahmet Sarper Bozkurt (Üye)	GAÜN Teknik Bilimler MYO Bitkisel ve Hayvansal Üretim	H	E	
Veteriner Hekim Celal Özsöyler (Üye)	Gaziantep Büyükşehir Belediyesi Hayvanat Bahçesi	H	E	
Tekniker Ahmet Özkul (Üye)	Serbest, Dernek Üyesi	H	E	

E: Evet, H: Hayır

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER	
Ad Soyadı	TEKAYEV MUHAMMETNUR MUHAMMETNAZAROVICH
Cinsiyet	Bay
Doğum Tarihi	20.11.1991
Medeni Durum	Evli
Memleket	TÜRKMENİSTAN, MARY, BAYRAMALY
Uyruk	TÜRKMENİSTAN
Sürücü Belgesi	Var (B Tipi)
Kan Grubu	O Rh (+)
Askerlik Durumu	MUAF (Yedek Asker)



İLETİŞİM BİLGİLERİ	
Adres Bilgileri	İSTASYON MAHALLESİ
İl / İlçe	KÜÇÜKÇEKMECE/İSTANBUL
Cep Telefonu	+905535456988
E-Posta	1: daking91@mail.ru 2: daking91.tm@gmail.com
Website/Blogger	http://www.medarchives.tk

EĞİTİM BİLGİLERİ	
1998 - 2003	ORTA OKULU (RUS OKULU) NO: 4 (Diploma Notu: 5 Üzerinden 5)
2003 - 2008	BTTM LİSESİ (Diploma Notu: 5 Üzerinden 4.8)
2010 - 2015	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ (Diploma Notu: 100 Üzerinden 71.3)
2015 - 2018	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ TEMEL TIP BİLİMLERİ HİSTOLOJİ - EMBRİYOLOJİ ABD (Diploma Notu: 100 Üzerinden 96.4)

SERTİFİKA BİLGİLERİ	
BİLGİSAYAR	BİLGİSAYAR SERTİFİKASI (5 Yıllık Eğitim)
TÜRKÇE	TÜRKÇE DİL SERTİFİKASI (5 Yıllık Eğitim) ve GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ TÜRKÇE TÖMER - YÜKSEK SEVİYE
İNGİLİZCE	İNGİLİZCE DİL SERTİFİKASI (5 Yıllık Eğitim)
SENARYO	SENARYO YAZMA TÜRKMENİSTAN 3'si
DENEY HAYVANI KULLANIM SERTİFİKASI	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ VE TÜRK FİZYOLOJİK BİLİMLER DERNEĞİ “DENEY HAYVANI KULLANIM VE ETİK KURSU” SERTİFİKASI. Eğitim Programı, Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına Dair Genelgesi'ne ve Avrupa Laboratuvar Hayvanları Dernekleri Federasyonu (FELASA) eğitim programına uygun olarak hazırlanmış.
ULUSAL VE ULUSLARARASI PROJE YAZMA İLKELERİ	9-11 Şubat 2017: SAĞLIK ALANINDA PROJE YAZIMI VE HÜCRE ÖLÜMÜ ARAŞTIRMALARINDA YENİ TEKNİKLER ÇALIŞTAYI, GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, GEBZE/KOCAELİ
HÜCRE ÖLÜMÜNDE YENİ TEKNOLOJİLER	9-11 Şubat 2017: SAĞLIK ALANINDA PROJE YAZIMI VE HÜCRE ÖLÜMÜ ARAŞTIRMALARINDA YENİ TEKNİKLER ÇALIŞTAYI, GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, GEBZE/KOCAELİ
HÜCRE ÖLÜMÜNE BİYOİNFORMATİK YAKLAŞIMLAR	9-11 Şubat 2017: SAĞLIK ALANINDA PROJE YAZIMI VE HÜCRE ÖLÜMÜ ARAŞTIRMALARINDA YENİ TEKNİKLER ÇALIŞTAYI, GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, GEBZE/KOCAELİ

DİLLER	
TÜRKMENÇE	ANA DİL
TÜRKÇE	İYİ
İNGİLİZCE	İYİ
RUSÇA	İYİ

BİLGİSAYAR BİLGİSİ	
Microsoft Office	
Adobe Macromedia	
Video Editing Software's	
SPSS Statistical Analysis Software	
ImageJ 1.51K	
GPower 3.1	
Computer Maintenance & Repair	
Etc.	

İŞ TECRÜBESİ	
2008 - 2009	Reklamcı Designer - Maketçi
2012 - 2015	İstanbul Gemi Tersanesi (Kontrat, Çizim, Kılavuz Çevirileri)
2013 - 2015	İnternet Reklamcılık
2014 - 2015	GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ ŞAHİNBEY ARAŞTIRMA VE UYGULAMA HASTANESİ - INTERN

KATILDIĞI KONGRELER
12 - 14 Mayıs 2017: 4. KLİNİK EMBRİYOLOJİ DERNEĞİ KONGRESİ - BODRUM TITANIC DELUXE HOTEL
28 - 30 NİSAN 2017: IV. ULUSLARARASI KATILIMLI DENEYSEL HEMATOLOJİ KONGRESİ - GAZİANTEP TUĞCAN HOTEL
21 - 22 December 2017: "Cancer Disease From Basic Science To Clinic" The 7th Annual Meeting of the Middle-Eastern Association for Cancer Research at the University of Gaziantep, TURKEY

KATILDIĞI KURSLAR, KONFERANSLAR, SEMPOZYUMLAR
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ VE TÜRK FİZYOLOJİK BİLİMLER DERNEĞİ “DENEY HAYVANI KULLANIM VE ETİK KURSU” Eğitim Programı, Orman ve Su İşleri Bakanlığı Doğa ve Milli Parklar Genel Müdürlüğü'nün Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası Eğitim Programına Dair Genelgesi'ne ve Avrupa Laboratuvar Hayvanları Dernekleri Federasyonu (FELASA) eğitim programına uygun olarak hazırlanmış.
9-11 Şubat 2017: SAĞLIK ALANINDA PROJE YAZIMI VE HÜCRE ÖLÜMÜ ARAŞTIRMALARINDA YENİ TEKNİKLER ÇALIŞTAYI - GEBZE TEKNİK ÜNİVERSİTESİ, GEBZE/KOCAELİ
31 Mart 2017: KANSER TEDAVİSİNDE İMMÜNÖTERAPİ - GAZİANTEP SANKO ÜNİVERSİTESİ
7 Mayıs 2017: PKOS VE İNFERTİLİTEDE GÜNCEL YAKLAŞIMLAR KURSU - GAZİANTEP DİVAN OTEL

ULUSAL VE ULUSLARARASI BİLİMSEL TOPLANTILARDA SUNULAN VE BİLDİRİ KİTABINDA BASILAN BİLDİRİLER
Wistar Albino Sıçanlarda Sisplatinin İndüklediği Testis Hasarına Karşı Kurkuminin Koruyucu Etkisi. Nuray Bayat, Hülya Birinci, Muhammetnur Tekayev, Mehmet Yüncü. Uluslararası Katılımlı XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, İzmir, 30 Nisan – 3 Mayıs 2016. (Cell & Tissue Biology Research Turkish Histology and Embryology Society; www.ctbiol.com) (http://www.thed.org.tr/Eklenti/114,xiii-thedctbrabstractkitabi.pdf?0)
Preeklampsili Gebelerin Göbek Kordonunda Anjiyogenezisin Araştırılması. Emel Uçar, Mehmet Yüncü, Mete Gürol Uğur, Nuray Bayat, Ayhan Eralp, Muhammetnur Tekayev. Uluslararası Katılımlı XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, İzmir, 30 Nisan – 3 Mayıs 2016. (Cell & Tissue Biology Research Turkish Histology and Embryology Society; www.ctbiol.com) (http://www.thed.org.tr/Eklenti/114,xiii-thedctbrabstractkitabi.pdf?0)