

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİYABETİN SIÇAN TESTİSLERİNDE
NEDEN OLDUĞU HİSTOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE
AMİNOGUANİDİN'İN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Doğan ORMAN
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman
Prof. Dr. Nigar VARDİ**

MALATYA – 2012

**T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DİYABETİN SIÇAN TESTİSLERİNDE
NEDEN OLDUĞU HİSTOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE
AMİNOGUANİDİN'İN ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Doğan ORMAN

Danışman Öğretim Üyesi: Prof. Dr. Nigar VARDI

**Bu araştırma İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2010/70 proje numarası ile desteklenmiştir.**

MALATYA – 2012

ONAY SAYFASI

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma jürimiz tarafından Histoloji-Embriyoloji Programında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

İmza

Jüri Başkanı

Prof. Dr. Ali OTLU



Danışman

Prof. Dr. Nigar VARDI



Üye

Doç. Dr. Mehmet GÜL



ONAY :

Bu tez, İnönü Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu...../...../2012 tarih ve 2012/.....sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Yusuf TÜRKÖZ
Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim ve yoğun tez dönemimde, yaptığım deneysel çalışmalar ve bu tezin hazırlanması aşamalarında bana büyük bir titizlik ve sabırla yol gösteren tez danışmanım, değerli hocam Prof. Dr. Nigar VARDI'ya, fikirleri ile bana destek olan Anabilim Dalı Başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Ali OTLU'ya, benden desteklerini esirgemeyen değerli hocalarım Doç. Dr. Meltem KURUŞ ve Doç. Dr. Mehmet GÜL'e, istatistiksel analizlerde yardımlarını esirgemeyen Prof. Dr. Saim YOLOĞLU hocama, bu çalışmanın biyokimyasal analizinde büyük emeği geçen Doç. Dr. Burhan ATEŞ'e ve bütün bölüm arkadaşlarıma sonsuz teşekkürlerimi ve şükranlarımı sunarım.

Ayrıca 2010/70 no'lu bu projeyi maddi yönden destekleyen İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Başkanlığı'na katkılarından dolayı teşekkür ederim.

ÖZET

Bu çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda, testis dokusunda meydana gelen histolojik değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine Aminoguanidin'in (AG) etkilerinin histokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada, İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma Laboratuvarından temin edilen toplam 32 adet sağlıklı Spraque Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Denekler her bir grup 8'er sıçandan oluşmak üzere 4 gruba ayrıldı. 1. Grup: Kontrol grubu 2. Grup: Aminoguanidin (AG) verilen grup 3. Grup: Streptozotosin (STZ) ile diyabet oluşturulan grup 4. Grup: STZ ile diyabet oluşturulan ve AG verilen grup. Sıçanların deney başında ve sonunda kan glikoz seviyeleri ve vücut ağırlıkları ölçüldü. 10 haftalık deney sonunda ketamin/ksilazin anestezisi altında sıçanlar sakrifiye edildi ve testisler alınıp ağırlıkları ölçüldü. Sol testisler biyokimyasal analizlerde, sağ testisler ve pankreas örnekleri histolojik analizlerde kullanıldı. Alınan dokular, rutin doku takip işlemlerinden geçirilerek parafine gömüldü. Parafin bloklardan alınan seri kesitlere Mayer's Hemotoksilen-Eozin, Masson Trikrom, Toluidin mavisi ve kaspaz-3 boyama metodları uygulandı ve Leica DFC-280 ışık mikroskopunda incelendi.

Diyabet grubunda, kontrol grubuna göre kan glikoz seviyelerinde artış ile vücut ve testis ağırlıklarında azalma saptandı. Seminifer tübüllerde şekil ve yapı bozuklukları gözlemlendi. Bu grubun tunika albuginea kalınlıkları diğer gruplara göre anlamlı derecede artmıştı. Ayrıca tunika albuginea içerisindeki mast hücre sayılarının, kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olduğu gözlemlendi. Tübüler germ hücrelerinde dejenerasyon ve kaspaz-3 pozitif boyanan hücreler belirgindi. Biyokimyasal analizlerde, diyabet grubunda kontrol grubuna göre MDA ve NO seviyelerinde artış gözlenirken, CAT, SOD ve GSH aktivitelerinde azalma gözlemlendi. Diyabetik sıçanlara AG verilmesi, testiküler hasarı önemli derecede azalttı. Bu grupta, diyabet grubuna göre kan glikoz seviyelerinde azalma ile vücut ve testis ağırlıklarında artış saptandı. Seminifer tübüllerinin diyabet grubuna göre daha düzgün şekil ve yapıda olduğu gözlemlendi. Bu grubun tunika albuginea kalınlıkları ve mast hücre sayıları kontrol grubuna benzerdi. Tübüler germ hücrelerinde

dejenerasyon ve apoptozun diyabet grubuna göre azalmış olduğu saptandı. Ayrıca biyokimyasal analizlerde ise diyabet grubuna göre MDA ve NO seviyelerinde azalma gözlenirken, CAT, SOD ve GSH aktivitelerinde belirgin bir artış gözlemlendi.

Bu çalışma, sıçanlarda diyabetin neden olduğu testiküler hasarda, oksidatif stres, NO seviyelerinde artış ve apoptotik hücre ölümünün rol oynadığını, diğer yandan AG uygulamasının, oksidatif stres ve apoptotik hücre ölümüne karşı spermatogenik hücreleri korumasında etkili olduğunu göstermiştir.

Sonuç olarak, diyabet tedavisinde kullanılan ilaçlarla birlikte, spermatogenik hücreleri oksidatif hasar ve apoptoza karşı koruyabilecek AG gibi ajanların kullanılmasının, diyabete bağlı infertilitenin önlenmesinde katkıda bulunabileceği kanısındayız. Ancak yine de AG'nin etki mekanizmasının tam olarak anlaşılabilmesi için daha ileri çalışmalara ihtiyaç bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Diyabet, STZ, Aminoguanidin, Histoloji.

ABSTRACT

THE INVESTIGATION OF EFFECTS OF AMINOGUANIDINE ON HISTOLOGICAL CHANGES CAUSED BY DIABETES IN RAT TESTES.

The aim of this study was to investigate histological changes and the effect of Aminoguanidine (AG) on these changes by using histochemical and biochemical methods in STZ induced diabetic rat testes tissues.

In this study, 32 Sprague Dawley species healthy male rats which were provided from İnönü University Laboratory Animals Research Center were used. The experimental subjects were divided into 4 groups and each group contained 8 rats. 1st Group: Control group. 2nd Group: AG treated group 3rd Group: Streptozotocin (STZ) induced diabetic rats. 4th Group: STZ induced diabetic rats treated with AG. Blood glucose levels and the weights of all rats were measured at the beginning and at the end of the study. After 10 weeks of study, rats were sacrificed under ketamine/xylazine anesthesia, testes were removed and weights of testes were measured. Left testes used for biochemical analysis and right testes and pancreas samples used for histological analysis. Removed tissue samples were applied to routine tissue fixation process and embedded in paraffin wax. Mayer's hematoxylin-eosin, Masson's trichrome, Toluidine blue staining and caspase-3 immunohistochemical staining methods were applied to serial sections obtained from paraffin blocks and preparations were examined on Leica DFC-280 light microscope.

In diabetic group, blood glucose levels were increased and the body and testes weights were decreased compared to the control group. In seminiferous tubules, morphological and structural deformities were observed. Thickness of tunica albuginea was significantly increased compared to the other groups. Moreover, number of mast cells in tunica albuginea was increased and had a statistical significance compared to the control group. The degeneration and the caspase-3 positive staining of tubular germ cells was remarkable. Biochemical analysis results of diabetic rats showed that CAT, SOD and GSH activities were decreased while MDA and NO levels were increased compared to the control group. On the other hand, AG treatment to the diabetic rats was significantly reduced testicular damage. In this group, blood glucose levels were decreased and the body and testes weights

were increased compared to the diabetic group. Seminiferous tubules had better morphological and structural compositions. Thickness of tunica albuginea and the number of mast cells were similar to control group. In this group, it's observed that the degeneration and the apoptosis of tubular germ cells was reduced compared to the diabetic group. In addition, biochemical analysis results of AG treated diabetic rats showed that CAT, SOD and GSH activities were increased while MDA and NO levels were decreased compared to the diabetic group.

This study has demonstrated that oxidative stress, increased NO levels and the apoptotic cell death have important roles on rat testicular damage caused by diabetes and on the other hand, AG treatment on diabetic rats is efficient on protection of spermatogenic cells against oxidative stress and apoptotic cell death.

In conclusion, we consider that using regular drugs for diabetes treatment combined with agents like AG; which could protect spermatogenic cells against oxidative stress and apoptosis, may contribute prevention against infertility caused by diabetes. However, further experimental studies and analyses are necessary to understand the effect mechanism of AG on diabetes completely.

Keywords: Diabetes, STZ, Aminoguanidine, Histology.

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

ONAY SAYFASI	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER	ix
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
TABLolar DİZİNİ	xvi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Diyabet Hakkında Genel Bilgiler.....	2
2.2. Aminoguanidin Hakkında Genel Bilgiler.....	9
2.3. Testis Anatomisi	12
2.4. Testis Embriyolojisi	16
2.5. Testis Histolojisi	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	31
3.1. Testislerin Alınması	31
3.2. Histolojik Boyama	32
3.3. İmmünohistokimyasal Boyama	33
3.4. Histolojik Değerlendirme	34
3.5. Biyokimyasal Analizler	34
3.6. İstatistiksel Değerlendirme	37
4. BULGULAR	38
4.1. Vücut Ağırlıkları ve Kan Glikoz Değerleri.....	38
4.2. Testis Ağırlıkları	39
4.3. Hayvanların Su Tüketimi	40
4.4. Işık Mikroskopik Bulgular	41
4.5. Biyokimyasal Bulgular.....	64
5. TARTIŞMA.....	65
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	71

KAYNAKLAR.....	72
EKLER.....	80
ÖZGEÇMİŞ.....	81

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADP:	Adenozin difosfat
AG:	Aminoguanidin
CAT:	Katalaz enzimi
DM:	Diabetes mellitus
DNA:	Deoksiribo nükleik asit
ε:	Epsilon
EDTA:	Etilen diamin tetra asetik asit
FSH:	Folikül uyarıcı hormon
FY:	Fark yok
GSH:	Glutasyon
HCL:	Hidroklorik asit
H-E:	Hematoksilen-Eozin
İGSÜ:	İleri Glikozilasyon Son Ürünleri
iNOS:	İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz enzimi
LH:	Luteinize edici hormon
LPO:	Lipid peroksidasyonu
MDA:	Malondialdehit
mmol:	Milimol
NAD:	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH:	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat
NaOH:	Sodyum hidroksit
NO:	Nitrik oksit
PBS:	Phosphate buffered saline
ROR:	Reaktif Oksijen Radikalleri
rpm:	Revolutions per minute (devir sayısı/dk.)
SE:	Standart hata
SOD:	Süper oksit dismutaz enzimi
Sox-9:	(Sex-determining region Y)-box 9 gene
SRY:	Sex-determining region Y

STZ: Streptozotosin

TBA: Tiyobarbiturik asit

TCA: Trikloroasetik asit

UV: Ultraviyole

w/v: Weight in volume

X: Objektif büyütmesi

μ l, μ L: Mikrolitre

μ m: Mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Grafik 1. Grupların sağ ve sol testis ağırlıkları.

Grafik 2. Grupların ortalama tunika albuginea kalınlıkları ve istatistiksel P değerleri.

Grafik 3. Grupların tunika albuginea tabakasındaki ortalama mast hücre sayıları ve istatistiksel P değerleri.

Şekil 1. iNOS enzimi ve NO ilişkisi.

Şekil 2. AG' nin İGSÜ inhibisyonu.

Şekil 3. Testisin anatomik yapısı.

Şekil 4. Testisin histolojik yapısı.

Şekil 5. Seminifer tübül epiteli.

Resim 1. Kontrol grubunda normal görünümdeki pankreas Langerhans adacığı (oklar). H-E; X40.

Resim 2. Kontrol grubu testis tunika albuginea tabakası (oklar). Masson Trikrom; X40.

Resim 3. Kontrol grubu seminifer tübülünde spermatogonyumlar (oklar), Sertoli hücreleri (ok uçları) ve spermatidler (yıldız). H-E; X40.

Resim 4. Kontrol grubu interstisyel alanındaki eozinofil sitoplazmalı Leydig hücreleri (oklar). H-E; X100.

Resim 5. Kontrol grubu tunika albuginea tabakasındaki mor granüllü mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi; X40.

Resim 6. Kontrol grubunda, interstisyel alanda mast hücreleri izlenmemekte. Toluidin mavisi; X40.

Resim 7. Kontrol grubunda spermatidlerin pozitif boyanan sitoplazmik artıkları (oklar). Kaspaz-3; X20.

Resim 8. AG grubunda pankreas Langerhans adacığı. H-E; X40.

Resim 9. AG grubunda tunika albuginea tabakası (oklar). Masson Trikrom; X40.

Resim 10. AG grubunda spermatogenik hücreler; spermatogonyumlar (ok uçları), primer spermatositler (oklar) ve spermatidler (yıldız). H-E; X40.

Resim 11. AG grubunda tunika albuginea içerisinde mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi; X40.

Resim 12. AG grubunda tübül içerisinde kaspaz-3 pozitif boyanan sitoplazmik artıklar. Kaspaz-3; X20.

Resim 13. D grubunda Langerhans adacığının merkezinde izlenen iri nükleuslu ve şişmiş hücreler (oklar). H-E; X40.

Resim 14. D grubunda kalınlaşmış tunika albuginea tabakası. Masson Trikrom; X40.

Resim 15. D grubunda büzülmüş ve düzensiz seminifer tübülleri (yıldız) izlenmekte. H-E; X10.

Resim 16. D grubunda interstisyel alanda geniş boşluklar (yıldız). H-E; X20.

Resim 17. D grubunda lümende biriken spermatogenik seriye ait hücreler (oklar). H-E; X40.

Resim 18. D grubunda mayoz bölünme sırasında duraksamış germ hücreleri (oklar). H-E; X40.

Resim 19. D grubunda dejenere hücreler (oklar). H-E; X100.

Resim 20. D grubunda dejenere hücreler (oklar). H-E; X100.

Resim 21. D grubunda, spermatogonyumlar dışında diğer spermatogenik hücreler izlenmemekte. H-E; X40.

Resim 22. D grubunda çok nükleuslu dev hücre (ok). H-E; X100.

Resim 23. D grubunda tunika albuginea içinde degranüle olmuş mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi; X100.

Resim 24. D grubunda kaspaz-3 pozitif boyanan kahverengi germ hücreleri (oklar). Kaspaz-3; X40.

Resim 25. D grubunda zayıf boyanan spermatogonyumlar (oklar). Kaspaz-3; X40.

Resim 26. DAG grubunda Langerhans adacığının görünümü. H-E; X40.

Resim 27. DAG grubunda tunika albuginea tabakası (oklar). Masson Trikrom; X40.

Resim 28. DAG grubunda sağlam (oklar) ve büzülmüş (yıldızlar) tübüller. H-E; X10.

Resim 29. DAG grubunda seminifer tübülleri ve interstisyel alanların görünümü. H-E; X10.

Resim 30. DAG grubunda mayoz bölünme sırasında duraksamış germ hücreleri (oklar) ve hemen yanında sağlam bir tübül (yıldız). H-E; X40.

Resim 31. DAG grubunda tunika albuginea tabakasında mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi; X40.

Resim 32. DAG grubunda kaspaz-3 pozitif boyanan germ hücreleri. Kaspaz-3; X40.

Resim 33. DAG grubunda kaspaz-3 orta şiddette boyanan germ hücreleri. Kaspaz-3; X40.

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo I. Grupların başlangıç - final vücut ağırlıkları ve kan-glikoz değerleri.

Tablo II. Grupların sağ ve sol testis ağırlıkları ve istatistiksel P değerleri.

Tablo III. Sıçanların günlük ortalama su ve AG tüketimi ile istatistiksel P değerleri.

Tablo IV. Seminifer tübül çapları ve germinal epitel kalınlıkları ölçümü ve istatistiksel P değerleri.

Tablo V. Histolojik skorelama bulguları ve istatistiksel P değerleri.

Tablo VI. İmmünohistokimyasal analiz bulguları ve istatistiksel P değerleri.

Tablo VII. Biyokimyasal analiz bulguları ve istatistiksel P değerleri.

1. GİRİŞ

Diyabet, insulin yokluğu veya etkisindeki yetersizlik sonucu meydana gelen hiperglisemiye bağlı olarak gelişmektedir. Dünya nüfusunun yaklaşık %3'ü bu hastalıktan etkilenmektedir (1). Çeşitli deneysel ve klinik gözlemler hipergliseminin direkt ya da indirekt olarak serbest radikal oluşumunu arttırdığı ve oksidatif strese neden olduğunu göstermektedir (2, 3). Oksidatif stresin artması ve antioksidan kapasitesindeki değişimler kronik diyabet patogeneğinde önemli bir rol oynamaktadır (4, 5, 6). Ayrıca kanda yüksek seviyelere ulaşan glikoz damar duvarlarında veya interstitiyel dokularda kollajenle ve diğer proteinlerle oluşturduğu glikozilasyon bileşikleri bir seri kimyasal reaksiyon sonrasında geri dönüşümü olmayan glikozilasyon son ürünlerine dönüşmektedir (1, 6). Diğer yandan diyabette üretimi artan NO molekülü, diğer oksidanlarla birlikte nitratlanmış ve oksitlenmiş ara ürünler oluşturmak ve birçok enzimi inhibe etmek suretiyle doku hasarı ve inflamasyona neden olabilmekte ya da yüksek derecede toksik olan peroksinitrit radikalleri oluşumuyla hücreleri nekroz veya apoptoza sürükleyebilmektedir (25, 33).

Klinik ve deneysel çalışmalar; diyabetiklerde spermatogenez olayında bozukluklar, sperm sayısında, sperm hareketi ve seminal sıvı hacminde azalmalar ve testosteron seviyelerinde düşüş gibi değişikliklerin meydana geldiğini ortaya koymuştur (7). Ayrıca diyabete bağlı olarak testislerde, tunika albugineada, seminifer tubüllerde, interstisyel bağ dokusu içinde ve Leydig hücrelerinde histolojik değişiklikler izlenmektedir (6).

Bir phenyl hidrazine bileşiği olan Aminoguanidin (AG) nitrik oksit sentezini (iNOS aracılığıyla) selektif olarak inhibe ederek NO üretimini azaltır. Ayrıca non-enzimatik glikozilasyon bölgelerine bağlanan diamin oksidazı inhibe eder ve reaktif karbonil parçalarını yakalayarak daha ileri glikozilasyon ürünlerinin oluşumunu önler (3). Bunlara ek olarak yapılan bazı çalışmalarda AG' nin peroksinitrit gibi radikalleri süpürücü etkisi ile de antioksidan özellikleri olduğu bildirilmiştir (8, 81).

Bu çalışmada, STZ ile diyabet oluşturulan sıçanlarda testis dokusunda ortaya çıkan histolojik değişiklikler ve bu değişiklikler üzerine AG olası iyileştirici etkilerinin histokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle incelenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Diyabet Hakkında Genel Bilgiler

2.1.1. Tanım

Diabetes mellitus (DM), pankreastan salgılanan ve kan şekerinin kullanımını düzenleyen insülin hormonu yetersizliği sonucunda, karbonhidrat, protein ve yağ metabolizmasındaki bozukluklarla seyreden ve kronik hiperglisemi ile karakterize bir metabolizma ve endokrin sistem hastalığıdır. Diyabetten kaynaklanan hiperglisemi, akut komplikasyonlar ile ölüme yol açabilirken, uzun dönemde gelişen kronik komplikasyonları ile de yaşam kalitesini bozabilmektedir. Hiperglisemi tablosu, göz, böbrek, sinir, kalp ve kan damarları gibi doku ve organlarda hasara neden olan spesifik kronik komplikasyonlarla direkt olarak ilişkilidir (11, 12).

2.1.2. Diabetes Mellitus Epidemiyolojisi

Diyabet prevalans ve insidansı toplumlarda her geçen gün artmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri'nde 1965 yılında 10 milyon diyabetlinin varolduğu bildirilmiştir. 1982 yılında bu sayı %50 artmıştır. Türkiye'de ise 30 yıllık tarama sonuçlarına göre % 1.16 diyabet sıklığı olduğu görülmüştür. Çeşitli ülke ve toplumlarda diyabet epidemiyolojisi, insidans ve prevalans değişiklikleri göstermektedir. Bu durum, etnik gruplarda genetik ve çevre faktörlerinin derece ve etkenliğinin ayrı oluşundan, sosyal ve ekonomik düzeyin değişik olmasından ve kullanılan araştırma yöntemlerinin farklılığından kaynaklanmaktadır (15).

2.1.3. Hastalığın Semptomları

Klasik Semptomlar

- Poliüri
- Polidipsi
- Polifaji veya iştahsızlık
- Halsizlik, çabuk yorulma
- Ağız kuruluğu
- Noktüri

Daha Az Görülen Semptomlar

- Bulanık görme
- Açıklanamayan kilo kaybı
- İnatçı enfeksiyonlar
- Tekrarlayan mantar enfeksiyonları
- Kaşıntı

2.1.4. Tanı ve Sınıflama

DM'nin önceki etyolojik sınıflandırmasında, insüline bağlı diyabet (IDDM) ve insüline bağlı olmayan diyabet (NIDDM) tanımlamaları kullanılmaktaydı. Bu terimler sıklıkla yanlış olarak kullanılmaktadır ve hastalar etyolojik özelliklerinden ziyade tedavi ihtiyaçlarına göre sınıflandırılmaktadır. Bugün bilinen Tip I ve Tip II diyabet terimleri, DM'nin en yaygın formları olup iki ana diyabet grubu için kullanılmaktadır. DM'nin üçüncü grubu, diyabetin özel spesifik durum ve sendromlarla ilişkili, daha az görülen tiplerini kapsamaktadır. DM'nin son grubunu ise, tanısı hamilelik süresince konulabilen ve gestasyonel diyabet (GDM) adı verilen diyabet tipi oluşturmaktadır (16, 17).

2.1.4.1. Tip I Diabetes Mellitus

Tip I DM, diyabetik vakaların %5-10'unu oluşturur ve özellikle pankreas beta hücre yıkımına bağlı olan bir formdur. Bu, genellikle diyabetin hayatta kalabilmek için insülin tedavisi gerektiren tipidir. Tip I DM oluşmasında önemli çevresel etkenlerden biri viral enfeksiyonlardır. Çeşitli virüsler, sitolitik etkileriyle direkt pankreas beta hücrelerine saldırarak veya bu hücrelere karşı otoimmün bir saldırıyı tetikleyerek bu hücre gruplarını yıkıma uğratabilmektedir. Bu viral etki hakkında, çeşitli hayvan modelleri ve insanlarda mevsimsel ve coğrafik farklılıklara dayanan araştırmalar mevcuttur. Ayrıca Tip I diyabetlilerde, hastalığın ilk evrelerinde serolojik viral enfeksiyonlar gözlenmiştir. Retrovirüsler, Coxsackie B, kabakulak, Rubella, Epstein Barr ve sito-megalo virüs gibi virüsler Tip I DM ile ilişkili virüslerdir. Yanmış etlerde bulunan nitrozaminler de pankreas beta (β) hücreleri için toksik etkiye sahip alloksan, streptozotosin (STZ) ve Vacor kimyasalları gibi diyabetojenik etki gösterebilmektedir (13).

Tip I diyabetik bireyler, hastalık belirgin hale gelmeden önce metabolik açıdan normaldir. Fakat beta hücre yıkım süreci bazı antikorların varlığında erkenden tespit

edilebilir. Tip I DM'de genellikle beta hücre yıkımına yol açan otoimmün süreci gösteren anti-glutamik asit dekarboksilaz (GAD) ve anti-insülin antikorları mevcuttur. Bu antikorlardan bir veya birden fazlasına sahip kişiler Tip 1A, immün-aracılı Tip I diyabet olarak alt gruba ayrılabilirler. Tip 1A diyabet, insan lökosit antijen kompleksinin (HLA) DQ-A ve DQ-B lokusundaki alleller ve spesifik haplotipler ile kuvvetli ilişki göstermektedir. Beta hücre yıkım hızı çocuk ve gençlerde hızlı olurken, erişkinlerde bu süreç yavaştır. Bazılarında hafif düzeyde açlık hiperglisemisi varken, bu durum hızla ciddi düzeyde hiperglisemi veya ketoasidoza yol açabilir fakat özellikle erişkinlerde rezidüel beta hücre fonksiyonlarının olması nedeniyle hastalığın belirgin hale gelmesi yıllar içinde olabilmektedir. Bu durum, bazı zamanlar latent otoimmün diyabet olarak adlandırılmaktadır. Tip 1 diyabetli hastalarda insülin ve plazma C-peptid düzeyleri çok düşük ya da tespit edilemez düzeylerdedir. Tip 1A diyabetli hastalarda ayrıca Graves hastalığı, Hashimoto tiroiditi, Addison hastalığı, vitiligo ve pernisiyoz gibi oto-immün hastalıklar da eşlik edebilir (16, 17).

2.1.4.2. Tip II Diabetes Mellitus

Diyabetin en yaygın formudur. Bu tip diyabet, insülin sekresyonunda ya da etkinliğinde bozuklukla karakterizedir ve patogenezi halen kesin olarak bilinmemektedir. Bu tip diyabetik hastalarda, insülin yetmezliğinden ziyade göreceli olarak insülin fazlalığı ve insülin direnci mevcuttur. Hastalar hayatta kalabilmek için insülin tedavisine gereksinim duymayabilirler. Bu hastaların çoğunluğu diyabet ortaya çıktığında obezdirler ve obezite, insülin direncini arttırmaktadır (13).

Tip II DM sıklıkla yıllar boyunca teşhis edilemez, çünkü hiperglisemi kademeli olarak ortaya çıkmaktadır ve yıllar boyunca klinik olarak bulgu vermez. Bu hastalarda, mikrovasküler ve makrovasküler komplikasyon gelişim riski yüksektir. İnsülin direncinden dolayı bu kişilerde insülin seviyesi normal veya yüksek olmasına rağmen, kan şekeri düzeyleri normal sınırlarda tutulamamaktadır. Bu yüzden bu hastalar göreceli olarak insülinopeniktir. İnsülin direnci, kilo kaybı ve farmakolojik ajanlar yardımıyla düzelebilir ve bunun sonucu kan şekeri düzeyleri normal düzeylere gelebilir (16).

Tip II DM gelişme riski, yaş, obezite ve fiziksel inaktivite ile artış göstermektedir. Ailesinde diyabetik bireylerin olması, obezite, hipertansiyon ve

kadınlarda gestasyonel diyabet öyküsü varlığı Tip II diyabet görülme riskini arttırmaktadır. Bu tip diyabet sıklığı, ırk ve etnik alt gruplar arasında değişkenlik göstermektedir. İspanyol ve Afrika kökenli Amerikalılar, Avrupalılara göre daha fazla risk altındadır. Hastalık çoğunlukla erişkinlerde görülmesine rağmen, hastalığın görülme yaşı diğer ırklarda Avrupa kökenlilere göre daha erken yaşlarda olmaktadır (16, 17).

2.1.4.3. Gestasyonel Diabetes Mellitus

Gestasyonel Diabetes mellitus (GDM), gebelik sırasında tespit edilen değişik düzeylerdeki hipergliseminin görüldüğü karbonhidrat intoleransıdır. Tekrarlayan gebeliklerde glikoz intoleransı ve diyabet gelişme olasılığı mevcuttur. Gestasyonel diyabet tanısı, daha önce diyabetik olduğu bilinen kadınların hamileliğinde kullanılan bir terim değildir. Daha önce glikoz intoleransı olan ileri yaştaki kadınlar, daha önceki gebelikte makrozomik bebek doğurmuş kadınlar, Tip II diyabetin sık görüldüğü etnik gruptan olan kadınlar ve açlık glikoz düzeyinin herhangi bir dönemde yüksek bulunduğu kadınlar GDM açısından yüksek risk altındadır (17).

GDM, anne ve fetus için kötü sonuçlar doğurabilir. Gebelik öncesinde veya gebelik sırasındaki yükselmiş açlık glikozu, gestasyondan 4–8 hafta içerisinde konjenital anomalilere ve intrauterin fetal ölüme yol açabilir. Neonatal hipoglisemi, sarılık, polisitemi ve hipokalsemi, GDM’de görülen diğer fetal komplikasyonlardır. Belirgin obezite, önceki gebeliklerde GDM öyküsünün olması, glikozüri veya diyabet yönünden yüklü aile öyküsü gibi risk faktörlerine sahip gebelerde, mümkün olan en uygun zamanda glikoz yüklemesi yapılmalıdır. GDM teşhisi için yapılan test, genellikle hamileliğin 24 ile 28. haftaları arasında uygulanmaktadır (16).

2.1.4.4. Diyabetin Diğer Spesifik Tipleri

Diyabetin diğer spesifik tipleri farklı özelliklerine ve altta yatan sorumlu mekanizmalara göre tanımlanmaktadır. Bu kategoriyi, farklı etyolojiye sahip sendromlar ve hastalıklarla birliktelik gösteren diyabetin değişik formları oluşturmaktadır. Bu grup, beta hücre fonksiyonlarındaki genetik bozuklukları içermekte ve çoğunluğunda erken yaşlarda başlayan hiperglisemi ve dominant kalıtım özelliği göstermektedir. Bu hastaların beta hücrelerinde, hepatik nükleer faktör (HNF) 4 alfa, glukokinaz, HNF1, HNF3 ve insülin promotor faktör 1 (IPF-1) gibi genlerde çeşitli spesifik genetik bozukluklar saptanmıştır. Bu tipte insülin

etkisinde değil, insülin sekresyonunda bozukluk mevcuttur. Beta hücre fonksiyonlarındaki bir başka genetik defekt mitokondrial DNA'daki mutasyona bağlıdır (3243. kodondaki Leu-Ala değişikliği). Bunun dışında, diyabetle birlikte görülen bazı genetik sendromlar (Down, Huntington, Klinefelter, Turner, Wolfram vb.), egzokrin pankreas hastalıkları (pankreatit, fibrokalküloz pankreatopati, kistik fibröz vb.), endokrinopatiler (Cushing sendromu, Akromegali, Hipertroidizm, Feokromasitoma) ve ilaç veya kimyasal kaynaklı (nikotinik asit, glikokortikoidler, tiyazidler, feniton, pentamidin vb.) hastalıklar, bu tip diyabet kapsamında yer almaktadır (13, 16).

2.1.5. Diyabetin Komplikasyonları

2.1.5.1. Diyabetin Akut Komplikasyonları

2.1.5.1.1. Diyabetik Ketoasidoz

Mutlak ya da göreceli glukagon artışı ile birlikte olan ağır insülin yetersizliğinin bir sonucudur. Tip I diyabette görülür. İnsülin yetersizliği; keton cisimciklerinin yapılma hızının, karaciğer ve diğer dokularda yıkılma hızını aşmasına yol açarak ketonemi ve ketonüriye neden olur. Daha sonra sistemik metabolik ketoasidoz gelişir. Kliniğinde hızlı ve derin solunum, nefeste aseton kokusu, belirgin dehidratasyon, ortostatik hipotansiyon, bilinç bulanıklığı görülür. Laboratuvar bulguları arasında hiperglisemi, hiperketonemi, düşük serum bikarbonat düzeyi, idrarda glukoz ve keton cisimleri artışı mevcuttur. Tedavide insülinle birlikte sıvı ve mineral, elektrolit replasmanı yapılır (12, 19).

2.1.5.1.2. Laktik Asidoz

Laktik asidoz kanda laktat konsantrasyonunun arttığı durumlarda görülen bir asidoz durumudur. Genellikle altta yatan ciddi bir hastalığı bulunanlarda görülen ve dokulara oksijen dağılımı ve kullanımının yetersizliğinden kaynaklanan ağır bir metabolik asidoz biçimidir (12).

2.1.5.1.3. Hipoglisemik Koma

İnsülinle tedavi edilen diyabetik hastalarda hipoglisemi, aşırı insülin dozu, yemek gecikmesi ve aşırı fiziki aktivite ile oluşabilir. Adrenerjik uyarı, terleme, tremor, taşikardi ve kas güçsüzlüğüne sebep olur. Hipogliseminin santral sinir sistemi semptomları baş ağrısı, konuşmada güçlük, fokal nörolojik belirtiler, zihin bulanıklığı ve komaya kadar ilerleyebilen bilinç değişikliklerini kapsar (12, 20).

2.1.5.2. Diyabetin Kronik Komplikasyonları

Diyabetik hastalarda, deri, iskelet, kas, gözler, böbreklerin etkilendiği mikrovasküler bozukluklar; orta ve büyük damarların arterosklerotik hastalığı olan makrovasküler hastalıklar ve otonom ve periferik sinir sisteminin anormallikleri ile seyreden diyabetik nöropati oluşur. Kapiller bazal membran ve diğer dokulardaki proteinlerin glikozile hemoglobine benzer bir işlem ile nonenzimatik glikozilasyonu, kan glikoz düzeyleri ile ilişkili olan bu dokularda hasar oluşturabilir. (19, 20).

2.1.5.2.1. Diyabetik Nefropati

Diyabetik nefropati özellikle batı ülkelerinde, böbrek yetmezliğinin esas nedenidir. Diyabetik nefropatinin insidansı Tip I ve Tip II DM’de birbirine yakındır. Tip I DM’li hastaların %30-40’ında diyabetik nefropati görülür. Bu hastaların çoğunda hastalığın başlangıcından itibaren 10 yıl içinde önemli derecede renal hasar saptanmaktadır. Bazı araştırmacılar, bu insidansın son yıllarda glisemik kontrolün daha iyi olması nedeniyle azaldığını ifade etmektedir. Diyabetik nefropatiye sahip hastaların %50-60’ında Tip II DM vardır. Toplumsal verilere dayanan çalışmalara göre, Tip II DM’de nefropati prevalansı %5-10’dur. Bunun nedeni, bu hastaların uzun bir subklinik hiperglisemi yaşamış olmalarıdır. Benzer çalışmalar, diyabetik nefropatinin insidansının, Tip II DM hastalarında 20 yılda %25–60 olduğunu göstermiştir (9, 21).

Diyabete özgü renal lezyon, interkapiller glomerülosklerozdur. Diyabetle birlikte olan diğer böbrek hastalıkları papiller nekroz, kronik interstisyel nefrit ve arterosklerozdur. Hiperglisemi, intraglomerüler basınç artışına sebep olabilir. Bu da bazal membranda hasara ve mezangiumda protein depolanmasına yol açar. İlk belirti genelde proteinüridir. Sıklıkla nefrotik sendroma, son dönem böbrek hastalığına doğru ilerler (19).

2.1.5.2.2. Diyabetik Retinopati

Diyabetik retinopati, hiperglisemi ya da insülin yetersizliği sonucu ortaya çıkan, retinanın perikapiller arteriollerini, kapillerlerini ve venüllerini tutan bir mikroanjiopati tablosudur. Gelişmiş ülkelerde 20–74 yaş arası yaş grubunda görülen en önemli körlük nedeni diyabetik retinopatidir. Hastalığın süresi diyabetik retinopatinin gelişmesinde en önemli rolü teşkil eder. 5 yıl veya daha az süreli Tip I

diyabeti olan hastalarda diyabetik retinopati riski nadirdir. 5–10 yıl arasındaki hastalarda % 27, 10 yıldan daha uzun süreli diyabeti olanlarda ise % 71–90 diyabetik retinopatiye rastlanır (22, 23). Lipid düzeyleri yüksek hastalar, retinopati açısından yüksek risklidir (12).

2.1.5.2.3. Diyabetik Nöropati

Nöropati, diyabetin en sık rastlanan komplikasyonlarından biridir. Diğer periferik nöropati nedenleri dışında; DM seyrinde klinik veya subklinik düzeyde ortaya çıkabilen, periferik, somatik ya da otonom sinir sistemi ile ilgili olarak ortaya çıkar. Diyabet tanısı konduğunda hastaların %10'unda nöropati bulunurken, diyabet yaşının artmasıyla, örneğin 20 yılın sonunda bu oran %50 olmaktadır. Bir başka deyişle, diyabetik nöropati diyabet yaşı ile birlikte görülme sıklığı artan bir komplikasyondur. Cinsiyet, bölge, ırk farklılığı göstermekle beraber, bazılarında kötü kontrole karşın daha geç görülmesi ya da görülmemesi genetik katkının önemli olduğunu göstermektedir (18).

Diyabetik nöropatide, Schwann hücrelerinde fonksiyon değişiklikleri ile birlikte sinir ileti hızının yavaşlaması sonunda segmental demiyelinizasyon ve akson dejenerasyonu oluşur. Periferik nöropati en sık görülen sendromdur. Ayakların nöropatik ülserleri diyabetik nöropatinin en sık belirtisidir. Otonom nöropati daha az görülür. Klinikte önemli sorunlar idrar retansiyonu, seksüel impotans, kabızlık ve ishaldır (19, 22).

2.1.5.3. Diyabetin Vasküler Komplikasyonları

Diyabetik hastalarda aorttan en küçük arteriol ve kapillere kadar tüm büyüklükteki damarlar etkilenir. Büyük ve orta çaplı arterlerde hızlanmış arteroskleroz bulunur. Koroner arteroskleroz sonucu miyokard infarktüsü görülür ve diyabetiklerin en sık ölüm nedenidir. Gangren ve geç iyileşen ülserler sık görülen komplikasyonlardır (17, 19).

2.2. Aminoguanidin Hakkında Genel Bilgiler

Aminoguanidin (AG), ilk kez 1892 yılında nitroguanidinin redüksiyonu ile elde edilmiştir. Molekül ağırlığı (MA) 74.09 g olup, kimyasal formülü CH_6N_4 şeklindedir. AG, pek çok guanidin türevinden biri olmasına rağmen, benzer özellikleri nedeni ile hidrazinlere benzetilmiştir ve sık sık hidrazin bileşikleri sınıfına sokulmaktadır. Güçlü bazik özellikte ve kristal bir yapıya sahip olan AG, su ve alkolde çözülürken eterde çözülmez. AG yapısal olarak L-arjinin aminoasiti ile benzerlik göstermektedir. L-arjinin, nitrik oksit sentaz (NOS) enziminin katalitik etkisiyle nitrik oksit (NO) oluşumunda önemli bir moleküldür. Biyolojik işlevine ilişkin fark edilen ilk bulgu, 1950 yılında biyolojik diaminlerin (histamin, putreskin vs.) oksidatif deaminasyonunu katalizleyen diamin oksidazı (DAO) inhibe ettiğinin gösterilmesi olmuştur (24, 25).

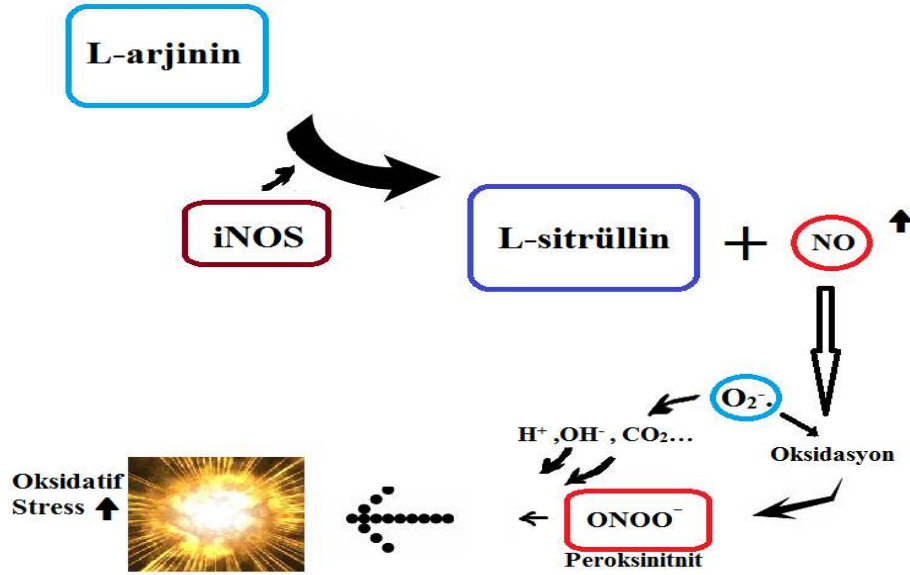
2.2.1. İndüklenebilir Nitrik Oksit Sentaz (iNOS) Enzimi İnhibisyonu

Eskiden, endotel kaynaklı gevşetici faktör (EDRF) olarak bilinen Nitrik Oksit (NO), membran geçebilen bir gazdır ve damar düz kaslarını gevşeterek vazodilatasyon sağlayan bir gevşetici faktördür. NO, biyolojik sistemlerde; düz kasları gevşetme, trombosit agregasyonunu önleme, beyinde nörotransmitter görevi yapma, makrofajların tümör yok edici ve bakteri öldürücü etkilerine aracılık yapma ve vazodilatör etkisi nedeni ile damar basıncını düşürme gibi önemli görevler üstlenir (25–27).

NO, endotel hücrelerde, L-arjinin aminoasitinin endotelyal nitrik oksit sentaz (eNOS) enzimi aracılığı ile sitruline oksitlenmesi sonucu sentezlenir. NO oluşumundan sorumlu enzim nitrik oksit sentaz (NOS) enzimidir ve üç izoformu vardır. Bunlar, endotellerde bulunan eNOS, sinir dokusu ve trombositlerde bulunan nNOS ve hepatosit, makrofaj ve nötrofillerde yer alan iNOS izoformlarıdır. eNOS ve nNOS izoformları kalsiyum ve kalmoduline bağımlı ve indüklenemeyen formlar iken, iNOS izoformu, kalsiyum ve kalmodulinden bağımsızdır ve hepatositlerde endotoksinle indüklenabilmektedir (11, 26).

NO, düşük konsantrasyonlarda vücutta yararlı etki sağlıyor olsa da, yüksek konsantrasyonlarda, artan oksidanlarla birlikte, nitratlanmış ve oksitlenmiş ara

ürünler oluşturmak ve birçok enzimi inhibe etmek suretiyle doku hasarı ve inflamasyona neden olmaktadır (Şekil 1) (33).



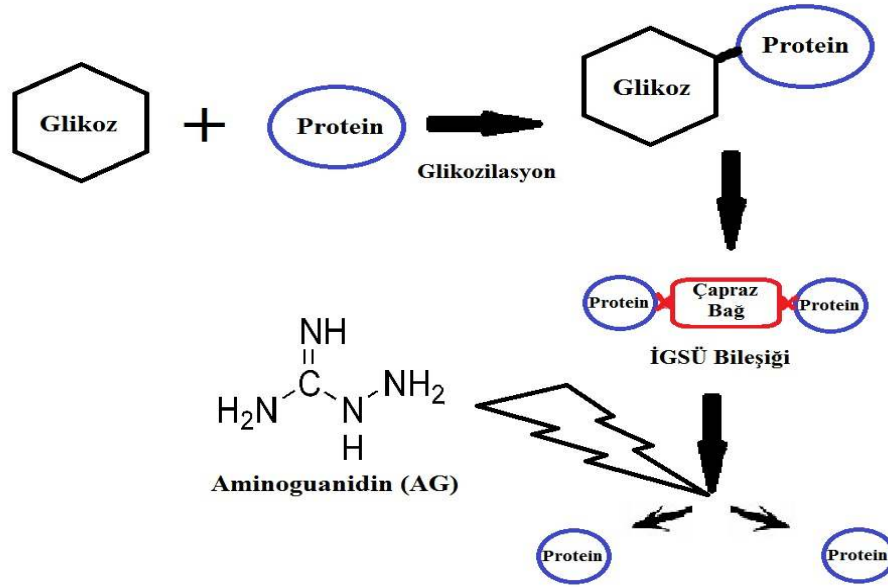
Şekil 1. iNOS enzimi ve NO ilişkisi.

AG'nin, NOS substratı olan L-Arjinine yapısal olarak çok benzediği için, yarışmalı olarak enzim substratı yerine geçip inhibisyon sağladığı düşünülmektedir (25, 29). Bu yüzden, iNOS'u daha selektif olarak inhibe edebilir ve özellikle diğer NOS'lara kıyasla iNOS enzimini 100 kat kadar daha güçlü inhibe ettiği gösterilmiştir (28).

2.2.2. İleri Glikozilasyon Son Ürünleri (İGSÜ) İnhibisyonu

Karbonhidrat kaynaklı karbonil grupları ile proteinlerin amino grupları arasında, enzimatik olmayan glikasyon ve oksidasyon reaksiyonları aracılığıyla oluşan, ileri glikozilasyon son ürünleri (İGSÜ) yüksek reaktif ürünlerdir. Özellikle plazma glikoz oranlarının arttığı durumlarda İGSÜ miktarı da yüksek seviyelere ulaşmaktadır. Bu reaktif ürünlerin makromoleküllere bağlanması, hücrenin normal işlev gösterme yeteneğini bozan büyük, çapraz bağlı moleküllerin oluşmasına neden olur. Bunlardan en çok bilinenleri; glikoz, sorbitol ve fruktoz gibi şekerlerin glikasyon reaksiyonları sonucu fizyolojik sistemlerde oluşan glioksal, metilglioksal ve 3-deoksiglukazon (3-DG) gibi oksoaldehitlerdir (24, 25, 31).

İGSÜ türevi bileşiklerin fizyolojik sistemlerde birikmesi, hücre proteinlerinin yapı ve fonksiyonlarının değişmesinden hücre hasarına kadar çeşitli olaylara sebep olabilmektedir. Yapılan çalışmalar, fizyolojik koşullarda glikozillenmiş proteinlerden reaktif oksijen radikalleri oluştuğunu göstermektedir. AG' nin, reaktif karbonil bileşikleri tarafından oluşturulan glikoz aracılıklı doku hasarını ve diyabetin komplikasyonlarını önlediği gösterilmiştir (Şekil 2) (30–32).



Şekil 2. AG' nin İGSÜ inhibisyonu.

2.2.3. Aminoguanidinin Antioksidan Etkisi

AG'nin, reaktif oksijen radikalleri (ROR) oluşumunu, hücre ve dokudaki lipid peroksidasyonunu (LPO) inhibe ettiği, ayrıca hidrojen peroksit türevi hidroksil radikallerini süpürücü etkisiyle oksidanların indüklediği apoptoza karşı koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir. Ayrıca AG'nin, LPO sonucu oluşan 4-hidroksinonenal (4-HNE) ve malondialdehit (MDA) gibi reaktif aldehydik bileşiklerle kararlı ürünler oluşturmak veya yarışmalı olarak reaksiyona girmek suretiyle bu molekülleri inaktive ettiği gösterilmiştir (24).

2.3. Testis Anatomisi

2.3.1. Skrotum:

Symphysis pubica'nın hemen aşağısında bulunan ve deri, fibröz kılıflar ve bir miktar kas liflerinden oluşmuş bir torbadır. İçerisinde, testis ve funikulus spermatikus bulunur. Embriyolojik olarak sağlı sollu bir çift olan skrotum, gelişim sürecinde orta hat boyunca kaynaşır. Bu kaynaşma yerine *raphe scroti* denir. Sol funikulus spermatikusun daha uzun olması nedeniyle skrotumun sol yarısı, sağ yarısına oranla biraz daha aşağıda bulunur. Skrotumun dış yüzünün şekli bazı şartlara bağlı olarak değişir. Sıcakta ve yaşlılarda kaslar gevşer. Bu nedenle skrotumun yüzeyi genişleyip düzleşir. Soğukta ve gençlerde m. dartos kasının kasılması sonucu, yüzeyi buruşarak küçülür ve testisi sıkıca sarar. Testislerin normal fonksiyon görebilmeleri için vücut sıcaklığından daha düşük bir sıcaklıkta bulunmaları gerekir. Skrotum, yapısındaki özellikler (derisinde bol miktarda ter bezleri, diğer katmanlarında kas lifleri, m. dartos, m. kremaster vb.) sayesinde gerekli düşük sıcaklığı (34–35 derece) sağlamaktadır (34, 40, 41).

2.3.2. Testisler

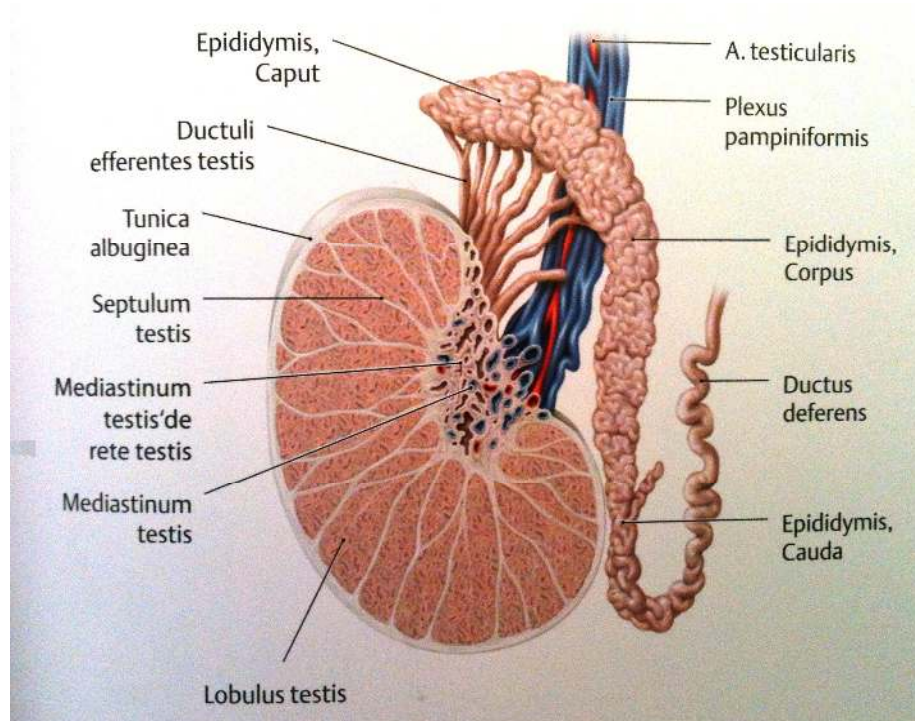
Testisler erkekte temel üreme organı olup, skrotum içinde funikulus spermatikus'a asılı durumda bulunur. Erişkin insan testisi oval şekilli, 4–5 cm uzunlukta, 2.5–3.5 cm genişlikte, anteroposterior yüzeyi 3 cm çapında ve 20–30 g ağırlığındadır ve erkek üreme hücreleri olan spermatozoonlar ile erkek seks hormonları olan androjenleri üretir. Organın ön kenarı, her iki yüzü ve uçları düz ve konveks olup, visseral periton ile kaplıdır. Arka kenarının sadece lateral kısmı peritonla örtülüdür. Peritonsuz olan medial bölümüne *epididimis* tutunur ve buradan damar, sinir ve kanallar geçer. Erken fetal dönemde, karın boşluğunda böbreklere yakın olarak yer alan testisler, fetüs geliştikçe aşağı doğru hareket ederek (descensus) doğumdan hemen önce inguinal kanal aracılığıyla skrotuma inerler. Testislerin normal fonksiyonlarını yapabilmeleri için, karın boşluğundan skrotuma inmeleri zorunludur (34, 39).

Testisler, dıştan içe doğru olmak üzere *tunica vaginalis*, *tunica albuginea* ve *tunica vaskulosa* olmak üzere üç tabaka ile sarılmışlardır.

1. **Tunica vaginalis testis**: Testislerin karın boşluğundan skrotum kesesine doğru inerken, beraberlerinde getirdikleri abdominal periton tabakası olan en dıştaki bu tabaka, mezotelyal hücrelerle döşelidir. İki yapraktan oluşur. İç yaprağı olan lamina visseralis, testis ve epididimisin üzerini örterken; dış yaprağı lamina pariyetalis ise skrotumun iç yüzünü örter (34, 35).

2. **Tunica albuginea**: Testisin anterolateral yüzeyinde bulunan ve düz kas hücreleri içeren yoğun fibroelastik bağ dokusundan oluşmuş, en kalın ve belirgin tabakadır. Bazal lamina ile tunika vaginalisten ayrılır. Testisi saran sıkı yapılı bu tabaka, mavimsi-beyaz renklidir ve bu tabakayı oluşturan beyaz fibröz demetler, farklı yönlere uzanarak birbirlerinin içine girerler. Tunika albuginea, testis arka yüzünde kalınlaşarak **mediastinum testisi** oluşturur. Burada testise ait damar ve sinirler ile beraber, **rete testis** adı verilen kanalcıklar bulunur (34, 37).

Tunica albugineanın iç yüzünden çıkan, bağ dokusundan oluşmuş septula testisler, arkada testis parankimasını 250–300 kadar lobüllere ayırırlar. Koni biçiminde olan bu lobüllerin tabanı testisin dış yüzüne, tepeleride mediastinum testise doğru yönelmiştir (Şekil 3) (34, 36, 41).



Şekil 3. Testisin anatomik yapısı (100).

3. **Tunika vaskulosa:** Tunika albuginea'nın iç yüzünde yerleşmiş bir damar ağı tabakası olup, tüm bölmelerin yüzlerini örter. Böylece, testisin içindeki tüm lobuli testisi de sarmış olur (36, 37). Testis ve epididimis, aorta abdominalisin dalı olan a. testicularisten beslenir. Venleri ise önce funikulus spermatikusunu saran plexus pampiniformisi, daha sonra da birbirleri ile birleşerek vena testicularisi oluştururlar. Sağdaki v. cava inferiora dökülürken sol taraftaki ise v. renalis sinistraya açılır. Sempatik sinir lifleri torakal 10–11 medulla spinalis segmentlerinden, parasempatik lifler ise nervus vagustan gelir (34, 40).

2.3.3. Epididimis

Her bir testisin arka-üst bölümü üzerinde yerleşmiş, 5–6 cm uzunluğunda, üst bölümü geniş, aşağı bölümleri giderek daralan bir eklentidir. Bir kanal sisteminden ibaret olan epididimis, rete testisten, duktuli efferentes testisler ile aldığı spermatozoonları duktus deferens (vas deferens) iletmekle birlikte, spermler için bir olgunlaşma ve depolama yeri olarak da görev yapar. Epididimisin geniş üst kısmına **caput epididimis**, orta parçasına **corpus epididimis**, alt parçasına **cauda epididimis** denir. 5–6 cm uzunluktaki epididimis içinde, kesintisiz şekilde kıvrılmış olan epididimis kanalı (duktus epididimis) gerçekte 5–7 m uzunluktadır (39). Epididimis kanal sistemine kadar olan yollardaki spermler oldukça hareketsiz oldukları halde, epididimis kanalı içindeki asit ortamda 18–20 saat ile 3 hafta bekleyen spermler ovumu döleyebilecek olgunluğa erişirler (40).

2.3.4. Duktus deferens (Vas deferens)

Testisin boşaltma kanalıdır ve cauda epididimisin devamı şeklinde başlayıp duktus ejakulatoryusa kadar uzanır. 40–50 cm uzunluğunda olup, ampulla bölümü hariç sadece spermlerin iletimiyle görevlidir. Duktus deferensin, cauda epididimisten itibaren testisin arka kenarı boyunca yükselen kısmına pars epididimika denir. Bu kısım testisin üst ucuna geldiğinde funikulus spermatikusun içerisine katılır ve pars funikularis adını alır. Kanalis inguinalis içerisinde ilerleyen parçasına pars inguinalis denir. İnguinal kanaldan pelvis içerisine girince funikulus spermatikusunu oluşturan diğer yapılardan ayrılır. Dışa ve aşağıya doğru uzanan bu kısmına pars pelvina denir. Bu yapı, pelvis boşluğunun yan duvarında ilerleyerek mesanenin arkasına ulaşır. Burada mesane tabanı ile rektum arasında yer alır. Duktus deferensin son bölümü genişler ve ampulla duktus deferentis adını alır. Ampullanın

alt ucunda lümen tekrar daralır ve prostatın tabanı yakınında vesikula seminalisin kanalı ile dar bir açığı yapıp birleşerek duktus ejakulatoryusu oluşturur (38).

2.4. Testis Embriyolojisi

İnsanlarda gonadlar, mezonefroz boyunca uzanan mezodermden gelişir. Bu bölgenin kranial kısmındaki hücreler yoğunlaşarak adrenokortikal primordiyayı, kaudal kısmındaki hücreler ise, 5. hafta civarında seçilebilir hale gelen genital kabarıklıkları oluşturmak üzere organize olurlar. Erken evrede bu genital kabarıklıklar, kölomik epitelden köken alan hücreler ve mezonefrik kabarıklıklardan gelişen hücreler olmak üzere iki ana hücre popülasyonu içermektedir. Gonadların köken aldığı doku ve hücreler, posterior karın duvarını döşeyen kölom epiteli (mezotel) ile bunun altındaki mezenkim dokusu ve ilkel cinsiyet hücreleridir (primordial germ hücreleri) (44, 47).

2.4.1. Primordial Germ Hücreleri

Gelişimin 4. haftasında kaudal mezoderm içine giren vitellus kesesinin allantoise yakın bölümünde endodermal hücrelerin farklılaşmasıyla oluşur. Yüksek alkali fosfataz aktivitesi gösteren bu yuvarlak ve büyük hücreler, 19–20. günlerden itibaren ameboid hareketlerle allantois üzerinden ve bağırsağı arkadan geçerek dorsal mezenter yoluyla plika genitalise doğru göç ederler (42, 43).

2.4.2. Gonadlar

Embriyonun cinsiyeti, genetik açıdan daha fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına rağmen, gelişimin 7. Haftasına kadar gonadlar erkek veya dişi morfolojik özelliklerine sahip değildir. Gonadlar başlangıçta bir çift uzunlamasına, kölemik epitelin proliferasyonu ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşmuş genital veya gonadal sırtlar halinde belirirler. Gelişimin 6. Haftasına kadar bu genital sırtlar içinde germ hücreleri yoktur. Primordiyal germ hücreleri, gelişimin erken evrelerinde yolk kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında belirir. Sonbarsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketlerle ilerleyerek 5. haftanın başında primitif gonadlara ulaşır, 6. haftada da genital sırtları işgal ederler. Bu hücreler genital sırtlara ulaşamadıkları takdirde gonadlar gelişemez. Gonadların over veya testise farklılaşmasında primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır. Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara ulaşmasından hemen önce ve ulaşması sırasında, genital sırtın epiteli proliferer olur ve epitel hücreleri altındaki mezenşimin içine gömülürler. Bunlar burada primitif cinsiyet kordonları denilen

irregüler şekilli kordonları oluştururlar. Hem erkek hem de dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve bu dönemde erkek veya dişi gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesi mümkün değildir. İşte bu devredeki gonad, farklanmamış gonad olarak bilinir (44, 46).

İnsanda cinsiyetin belirlenmesi, bazıları otozomal olan, çok sayıda genin rol aldığı kompleks bir süreçtir. Cinsiyet dimorfizminde anahtar rolü, kısa kolunda (Yp11) SRY genini taşıyan Y kromozomu üstlenir. Bu genin protein ürünü, henüz farklılaşma aşamasına geçmemiş cinsiyet organlarının kaderini belirleyen genleri aktive eden bir transkripsiyon faktörüdür. SRY proteini, testis belirleyici faktördür (TBF) ve bunun varlığında fetus erkek tipinde, yokluğunda ise dişi tipinde gelişmektedir (46).

Erkeklerde farklılaşma dönemi başlangıcında SRY geni transkripsiyon ürünlerine ilk olarak genital kabartılarda rastlanır. SRY gen ifadesi veya ileri testis farklılaşması germ hücreleri varlığına bağlı değildir. Cinsiyet belirleyici genler, germ hücrelerinden ziyade, testis somatik hücreleri üzerinde etkilidir. SRY, farklılaşmamış stromal hücrelerin Sertoli hücrelerine farklılaşma işlemini başlatan Sox-9 geninin eksprese edilmesini uyarmaktadır. Bu genin ekspresyonu sonucu erkek gonadal gelişim güçlendirilip hız kazanır. Genital kabarıklıklar, 5. hafta ortalarında kölomik epitel hücrelerinin mezonefrozun medyal sınırlarına doğru göçü ve proliferasyonu ile belirginleşir. Daha sonra primordial germ hücreleri erken genital kabartılar içine girer. 6. hafta başlarında Sox-9 transkripsiyon faktörü etkisiyle genital kabartılar içinde primitif seks kordonları oluşur ve primordial germ hücreleri, bu kordonlar içine göç eder. 6. hafta sonlarında bu kordonlar kalınlaşıp farklılaşır ve farklılaştıkça, tunika albuginea adındaki yoğun bağ dokusu tabakası tarafından yüzey epitelden (germinal epitel) ayrılır. Testiküler seks kordonlarının en derindeki kısımları 5–7 adet mezonefrik tübül ile temas halindedir. Testiküler seks kordonlarının dış kısımları seminifer tübüllerini oluştururken, iç kısımları ise rete testisi oluşturur. Rete testis buradan, mezonefrik tübüllerden köken alan duktuli efferentese katılır (47, 48).

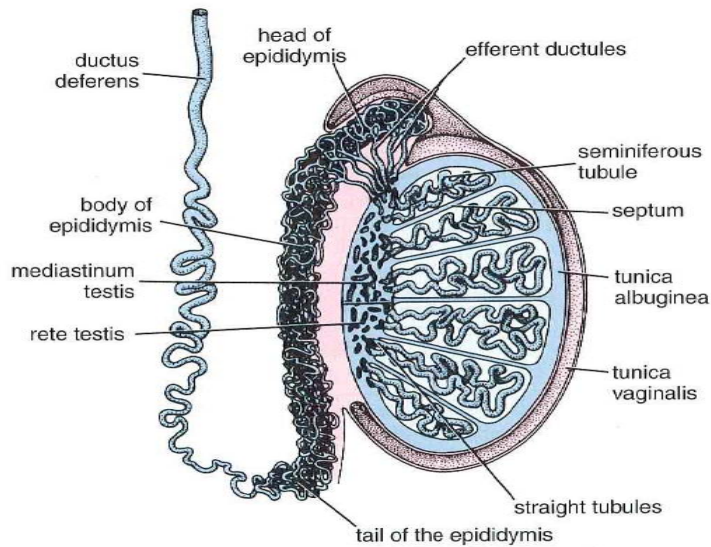
Genital kabartılardan gelişen lokal steroidojenik hücrelere ek olarak, Leydig hücre öncülleri mezonefrozdan testis içine göç edebilir. Bu durum 8. hafta boyunca kayda değer bir şekil alır ve bu hücreler androjenik hormonlar (testosteron ve androstenedion) üretmeye başlar. Bu hormon aktivitesi önemlidir, çünkü erkek

seksüel kanal sistemi ve dış genital organ farklılaşması, fötal testis tarafından salgılanan hormonlara bağlıdır. Fötal Leydig hücreleri, hormona duyarlı genital kanalların farklılaşması döneminde (9–14. haftalar) hormonal salgı ürünlerini salgılar. 17–18. haftalar sonrası fötal Leydig hücreleri baskılanır ve spermatogenezi uyardıkları dönem olan puberteye kadar görülmezler (45, 47).

Embriyolojik Sertoli hücreleri 6–7. haftada Müllerian inhibitör madde (MIS) üretirken, interstisyel hücreler ise, testosteron salgılamaya 8. haftada başlarlar. Testosteron üretimi, insan koryonik gonadotropik hormonu (hCG) tarafından stimüle edilir. Testosteron, erkeklerde mezonefrik duktuslardan erkek genital duktusların oluşumunu uyarırken, MIS, paramezonefrik duktusun kaybolmasına neden olur. Mezonefroz dejenere olduğunda, mezonefrik duktuslardan bazıları kalıcıdır ve duktuli efferentesleri oluştururlar. Bu kanallar, mezonefrik duktusa açılırlar ve mezonefrik duktus bu bölgede duktus epididimise dönüşür. Epididimis distalinde mezonefrik duktus, kalın bir düz kas tabakası kazanır ve duktus deferens oluşur. Mezonefrik duktusların kaudal uçlarının lateralinden dışa doğru seminal veziküller gelişir. Bu çift haldeki bezler, spermilerin beslenmesini sağlayan sekresyon yaparlar. Seminal veziküllerin duktusu ile uretra arasında kalan mezonefrik duktus bölümü, ejakulatuar duktus olarak gelişmektedir (45, 46).

2.5. Testis Histolojisi

Erkek üreme sistemi, testisler, testis içi ve dışı genital kanallar, yardımcı bezler ve penisden oluşur. Bu sistemin önemli bir parçası olan testisler, embriyonik gelişim, seksüel olgunlaşma ve üreme fonksiyonlarını etkileyen, puberteyle birlikte spermatozoonların üretimi ve beslenmesi ile başlıca erkek seks hormonu olan testosteronun sentezinden sorumlu, endokrin ve ekzokrin fonksiyonu olan bir çift organdır. Erişkin erkeklerde sperm üretiminin devam etmesi, sekonder seks karakterlerinin korunması ve yardımcı bezlerin fonksiyonları testise bağımlıdır. Oval şekilde, yanlardan basık, iri bir badem büyüklüğünde (her biri 2,5x3x5 cm boyutlarında, 10–25 g ağırlığında) bir çift organ olan testislerin posterior yüzü epididimis ile bağlantılıdır. Testisi dışardan saran *tunica albuginea* tabakası, testisin posterior tarafında kalınlaşarak *mediastinum testisi* oluşturur ve organ içine sokulur. Testise giren ve çıkan kan ve lenf damarları ve kanallar bu tabaka içinde seyreder. Mediastinumdan testis içine doğru uzanan ince bağ dokusu septumları, testiküler dokuyu, sayıları 250'ye ulaşan lobüllere ayırır. Bu lobüllerde, spermilerin üretildiği, kıvrımlı seminifer tübüller bulunur (Şekil 5). Her bir lobül 1–4 adet seminifer tübülü içermektedir. Seminifer tübüller arasındaki boşluk, kan damarları, sinirleri, lenfatik kanalları, makrofajları ve Leydig hücre gruplarını kuşatan interstisyel doku ile doldurulmuştur (49, 51, 53).



Şekil 5. Testisin histolojik yapısı (49).

2.5.1. Seminifer Tübülleri

Seminifer tübülleri, yaklaşık 150–200 µm çapında ve 30–80 cm uzunluğunda, oldukça kıvrımlı kanallardır. Her bir testiste 250–1000 adet bulunur. Seminifer tübüller, anastomoz gösteren kıvrımlar şeklinde başlar, mediastinuma doğru birbirlerine yaklaşarak kısa ve düz tübüller olan *tubuli rekti*' yi oluştururlar. Bu düz tübüller ise, mediastinumda bulunan ve anastomozlaşan kanallar olan rete testise açılırlar. Seminifer tübülleri, seminifer epitel veya germinal epitel adı verilen çok katlı bir epitel dokuyla döşelidir. Seminifer epiteli, dıştan bazal lamina ile kollajen lifler ve kasılabilir miyoid hücrelerden oluşan özelleşmiş, çok tabakalı bir bağ doku ile sarılmıştır. Bu dokuya peritübüler doku ya da *tunica propria* denir. Bu dokudaki miyoid hücrelerin organizasyonu türlere göre değişiklik gösterir. Kemiricilerde tek tabaka halinde düzenlenme gösterirken, insanlarda ve bazı türlerde 3–5 tabakalıdır. Miyoid hücreler, elektron mikroskopik düzeyde düz kas hücrelerine benzeyen, bazal lamina ile sarılı, aktin filamentlerinden zengin hücreler olarak gözlenir ve kontraksiyon aktiviteleri sayesinde seminifer tübüllerin çapını değiştirerek, hareketsiz spermlerin *rete testise* doğru ilerleyen ritmik hareketini sağlarlar. Seminifer epitelinde yer alan iki ana hücre grubundan biri germ hücreleri olan spermatogenetik hücreler, diğeri ise bu hücrelere destek ve besleme görevi üstlenen Sertoli hücreleridir (51).

2.5.2. Sertoli Hücreleri

Destek hücreleri adını da alan Sertoli hücreleri, bazaldan lümene kadar uzanan büyük, prizmatik hücrelerdir. Bu hücreler, gelişmekte olan sperm hücrelerini besleme, koruma ve destekleme özelliğine sahiptir. Spermatogenetik hücreler gibi bölünme yetenekleri yoktur. Bununla birlikte, tam olarak farklılaşıp olgunlaşmamış spermatogenetik hücreleri fagosit edip ortadan kaldırma yeteneğine sahiptirler. Sertoli hücreleri, puberteye kadar seminifer epitelin dominant hücre tipidir fakat puberteden sonra sayıları azalır. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatogenetik hücre popülasyonu azaldığı zaman, Sertoli hücreleri tekrar seminifer epitelin ana elamanı haline gelir (49).

Bu hücrelerin yuvarlak veya üçgen şekilli, ökromatik nükleusları büyük olup bazal sitoplazmada gözlenir ve 1–2 adet belirgin nükleolus içerir. Nükleuslarının en önemli özelliği bir ya da daha fazla derin invaginasyonlar göstermesidir. Elektron

mikroskopik düzeyde Sertoli hücreleri sitoplazmalarının lipid damlacıkları yönünden zengin oldukları görülür. Ayrıca gelişmiş granüler ve agranüler endoplazmik retikulum, belirgin Golgi kompleksi, bol mitokondriyonlar, dağınık halde serbest ribozomlar, primer ve sekonder lizozomlar, glikojen granülleri, mikrotübüller ve mikrofilamentlere sahiptir (50, 51).

İnsanlarda ayrıca bazal sitoplazmada, çekirdek yakınında yer alan ve Charcot–Böttcher adı verilen inklüzyon cisimcikleri de görülebilir. Mitokondriyonlar, tübüler tipte olup hücrenin bazalinde yer alır ve şekil değiştirirler. Bu hücrelerin sınırları ışık mikroskopik düzeyde zor seçilir. Hücrelerin apikal bölümlerinde, gelişmekte olan spermatozoonların baş kısımları bulunur. Birbirlerine komşu olan Sertoli hücreleri özel bağlantı kompleksleriyle bağlanmıştır ve bu bağlantı bölgelerinde, komşu membranlar arasında 50’den fazla paralel kaynaşma bölgeleri içeren zonula okludens türü bağlantılar bulunmaktadır. Bu bağlantı kompleksleri, seminifer epitelinin bazal ve adluminal kompartmanlara ayırır. Ayrıca, yine Sertoli hücreleri arasında gap junction tipi bağlantı kompleksleri, Sertoli hücreleriyle erken dönem spermatogenetik hücreler arasında dezmozom tipi bağlantı kompleksleri ve Sertoli hücreleriyle bazal membran arasında hemidezmozom tipi bağlantı kompleksleri yer almaktadır (49, 51).

Spermatogenetik hücreler, Sertoli hücrelerinin lateral uzantılarıyla oluşturulan bölmelerde yerleşmişlerdir. Seminifer tübüllerin bazal kısmına yakın bölgelerde Sertoli hücreleri arasında spermatogonyumlar ve erken dönem primer spermatositler yerleşirken, luminal bölgelere doğru ise daha olgun spermatositler ve spermatidler yerleşir. Spermatogenetik hücreler bölünüp olgunlaştıkça lümene doğru ilerlerken, Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı komplekslerinin oluşturduğu bariyeri aşmak zorundadır. Sertoli hücreleri arasındaki bağlantı kompleksleri aynı zamanda kan-testis bariyeri olarak adlandırılan özel bir bariyeri de oluşturmuş olurlar (51).

Sertoli hücreleri, testosteron ve dihidrotestosterona yüksek oranda bağlanma afinitesine sahip androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezler. ABP sayesinde luminal bölgede testosteron hormonu yüksek konsantrasyonlarda tutularak, gelişim ve farklılaşma evrelerinde olan sperm hücrelerinin olgunlaşmaları sağlanır. Bu hücrelerde ayrıca FSH hormonu salınımını baskılayan inhibin, plazminojen aktivatör ve transferin sentezlenir (56).

Sertoli hücrelerinin fonksiyonları:

- 1-Gelişmekte olan spermatogenetik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek,
- 2-Spermiyogenezin sonunda atılan rezidüel cisimcikleri veya gelişimini tamamlayamamış spermatogenetik hücreleri fagosit etmek,
- 3- Kan-testis bariyerini oluşturmak,
- 4-Seminifer tübül lümenine, sperm transportunu kolaylaştıracak, protein ve iyonlardan zengin bir sıvı salgılamak,
- 5-Plazminojen aktivatör ve transferrin gibi molekülleri sentezlemek ve ayrıca folikül stimüle edici hormon (FSH) uyarımıyla, androjen bağlayıcı protein (ABP) sentezlemek. (Bu protein, seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaşmasını sağlar).
- 6-Anterior hipofiz bezinden FSH sentez ve salınmasını önleyen inhibin ve uyarıcı aktivin adı verilen peptidleri salgılamak,
- 7-Anti-Müllerian (Müllerian inhibe edici) hormonu üretmek. (Bu hormon embriyonik gelişim sırasında, erkek fetusta Müller (Parametonefrik) kanallarının gerilemesini sağlamaktadır) (49, 50, 55).

2.5.3. Kan-Testis Bariyeri

Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantı kompleksleri sayesinde, interstisyel dokudaki kan damarları ile seminifer tübüller arasında kan-testis bariyeri oluşturulur. Bu bariyer, germ hücrelerinin kandan gelen ilaçlar, toksik kimyasallar ve mutajenler gibi zararlı ajanlara karşı korunmasını ve seminifer tübüllerin iyon, aminoasit, karbonhidrat ve protein içeriğinin, kan ve lenfin içeriğinden oldukça farklı olmasını sağlamaktadır (50).

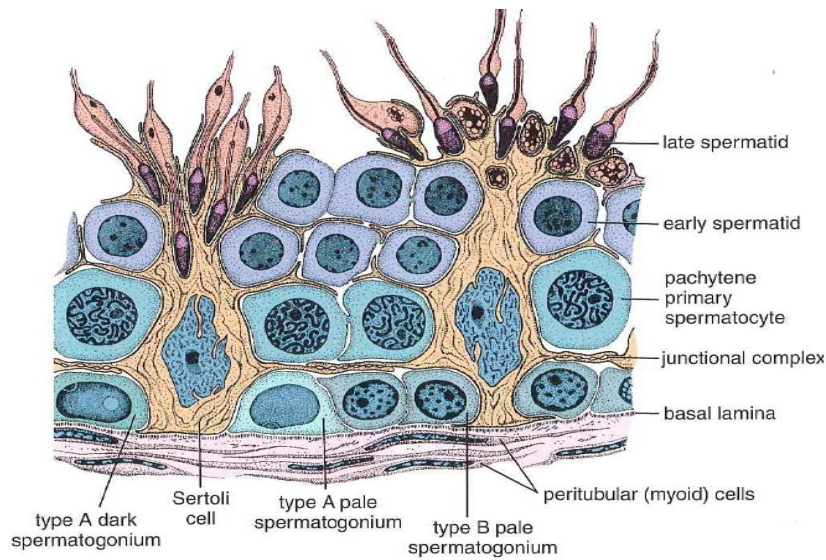
Spermatogonyumların farklılaşması, sperme özgü proteinlerin ortaya çıkmasına yol açar. Seksüel olgunlaşmanın, immünolojik yeteneğin gelişmesinden daha sonra meydana gelmesi sonucu, farklılaşmakta olan sperm hücreleri yabancı olarak algılanmaktadır. Bu durum, germ hücrelerinin ölümüne sebep olabilecek bir immün yanıtı teşvik etmektedir. Bu bariyer sayesinde, seminifer tübüllere immünoglobulinlerin geçmesi önlenerek, immün sistem tarafından haploid germ hücreleri; sekonder spermatosit, spermatid ve spermler ile immün sistem arasında oluşabilecek herhangi bir etkileşim ortadan kaldırılır (49, 55).

2.5.4 Spermatogenetik Hücreler

Primitif erkek germ hücreleri olan spermatogonyumlar, puberteyle birlikte bölünüp farklılaşarak sperm hücrelerini oluştururlar ve bu olaya **spermatogenez** denir. Düzenli olarak bölünerek olgun spermlere farklılaşan spermatogenetik hücreler, 4–8 tabaka hücre içerirler ve bazaldan lümene doğru hücre tipleri; spermatogonyumlar, primer ve sekonder spermatositler, spermatidler ve spermatozoonlardır (54, 56).

2.5.4.1. Spermatogonyumlar

Spermatogonyumlar, Sertoli hücreleri arasındaki **zonula okludens** tipi bağlantıların altında yerleşim gösterdikleri için kan-testis bariyerinin dışında yer alan ve bazal lamina ile direkt bağlantı halinde olan hücrelerdir. Tip A koyu, Tip A açık ve Tip B spermatogonyumlar olmak üzere üç temel morfolojik tipi gözlenir. Bunlardan Tip A koyu spermatogonyumlar, seminifer epitelin kök hücreleridir. Yoğun bazofilik ve ince granüler kromatinli oval çekirdek içerirler. Puberteden itibaren mitotik hücre bölünmeleri geçirerek ya tip A koyu spermatogonyumları, ya da tip A açık spermatogonyumları oluştururlar. Tip A açık spermatogonyumlar, soluk boyanan, ince granüler kromatinli oval çekirdek içerirler. Mitotik bölünmeleri sonucunda farklılaşarak Tip B spermatogonyumları oluştururlar. Tip B spermatogonyumlar, merkezi yerleşimli çekirdekçiğe sahiptir. Çekirdek kromatinini, çekirdekçik çevresinde ve çekirdek kılıfı boyunca yoğunlaşma gösterir (Şekil 6) (49, 54).



Şekil 6. Seminifer tübül epiteli (49).

2.5.4.2. Spermatositler

Tip B spermatogonyumların mitoz bölünmeleri sonucu oluşan **primer spermatositler**, DNA sentezini tamamladıktan hemen sonra mayoz bölünmenin profaz safhasına girerler. Birinci mayoz bölünmenin profazının alt evreleri; leptoten, zigoten, pakiten, diploten ve diyakinez evreleridir. Bu alt evrelerde görülen temel olaylar; zigoten-pakiten evresinde homolog kromozomların eşleşmesini kolaylaştıran sinaptonemal kompleks oluşumu, homolog kromozomların eşleşmesi (sinapsis), homolog kromozomların kardeş olmayan kromatidleri arasında genetik bilgi değişimi (krossing-over) ve eşleşmiş homolog kromozomların ayrılması gibi olaylardır. Profazın yaklaşık 22 gün civarında bir süre alması nedeniyle mikroskopta incelenen hücrelerin büyük çoğunluğu primer spermatosit olarak görülür. Bu uzamış profaz evresinden sonra, kardeş kromatid çiftleri metafaz, anafaz ve telofaz evrelerinden geçer ve yavru hücreler olan **sekonder spermatositlere** dağılırlar. İkinci mayoz bölünme sırasında bu kez profaz, metafaz, anafaz ve telofaz evreleri, kardeş kromatidleri yavru hücreler olan **spermatidlere** dağıtırlar (56).

Spermatogenik seride en büyük hücreler, çekirdeklerindeki sinaptonemal kompleksin varlığıyla karakterize primer spermatositlerdir. Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin görülmesi zordur, çünkü bunlar interfazda kısa süre kalan ve hızla ikinci mayotik bölünmeye giren hücrelerdir (54).

2.5.4.3. Spermatidler

Spermatidler, sekonder spermatositlerin ikinci mayoz bölünmesi ile oluşan haploid kromozomlu hücrelerdir ve seminifer tübülün adluminal bölgelerinde yer alırlar. Bunlar, diğer hücrelerden küçük boyutları, yoğunlaşmış kromatin bölgeleri taşıyan çekirdekleri ve seminifer tübüllerde lümen yakınında Sertoli hücrelerinin derin sitoplazmik çöküntüleri içine yerleşmeleri ile tanınırlar. Bu hücreler, spermiyogenez adı verilen farklılaşma süreci geçirip metamorfoza uğrarlar. Bu süreçte; akrozom oluşur, çekirdek yoğunlaşır ve uzar, kuyruk gelişir ve sitoplazmanın çoğu kaybedilir (49, 56).

Spermatidler, merkezi yerleşimli bir çekirdek, iyi gelişmiş bir Golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondriyonlara ve bir çift sentriyole sahiptir. Spermatidin olgun sperme farklılaşma süreci 4 faz içerir. Bu fazlar, spermatidlerin özel bağlantılarla Sertoli hücre membranına fiziksel olarak bağlandığında oluşurlar (53).

1) Golgi fazı: Çekirdeğin bir kutbuna yerleşen Golgi kompleksi, periyodik asit-Schiff (PAS) pozitif granüller olan proakrozomal granülleri birikimi sergiler. Bu granüller çekirdek kılıfına yakın yerleşim gösteren akrozomal veziküllerle birleşir. Sentriyoller, akrozomal vezikülün şekillendiği çekirdek bölgesinin zıt kutbuna göç ederek sperm kuyruğunun şekillenmesini başlatır (49, 53).

2) Şapka fazı: Akrozomal vezikülün yerleştiği çekirdek yüzeyinde, yarıya kadar yayılmasıyla karakterizedir. Bu yapıya **akrozomal şapka** adı verilir. Akrozomal şapkanın altında yer alan çekirdek kılıfı, porlarını kaybederek kalınlaşır. Çekirdek içeriği yoğunlaşır (51, 53).

3) Akrozomal faz: Bu evrede çekirdek yoğunlaşır ve yassılaşıp uzar. Sitoplazmik kısım posteriorda kalır. Sitoplazmik mikrotübüller silindirik bir kılıf olan manşet şeklinde düzenlenir. Akrozomal yüzeyin zıt kutbuna göç eden ve kuyruğun erken gelişimini başlatan sentrioller, modifiye olarak spermin boyun bölgesini şekillendirir. Plazma membranı arka kısma doğru uzanırken manşet kaybolur ve mitokondriyonlar sitoplazma derininden boyun bölgesi ve uzantısına göç eder ve orta parça şekillendirilmiş olur (53, 56).

4) Olgunlaşma fazı: Sitoplazmik artıkların spermden atıldığı fazdır. Bu yapılar, Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Spermatidler artık birbirleriyle bağlantı halinde değildir ve seminifer tübülün lümenine salınırlar (49, 53).

2.5.4.4. Spermatozoonlar (Spermiler)

Olgunlaşmış erkek germ hücreleridir. İnsanda spermatogonyumdan spermatozoon oluşumu arasında geçen süre yaklaşık 64 gündür. Olgun insan spermatozoonu baş, boyun ve kuyruk bölümlerinden oluşur. Spermin baş ve kuyruk kısımlarını plazma membranı sarar (50).

Baş bölümü, akrozomla sarılmış çekirdekten oluşur. Çekirdek yassılaştırmış şekilde olup, yoğun halde kromatin içermektedir. Çekirdeğin anterior yarısını akrozom örter. Özel bir tip lizozom olarak kabul edilen akrozom, akrozinin denilen tripsin benzeri proteazlar, asit fosfataz, hyalurodinaz ve nöroaminidaz gibi hidrolitik enzimler içerir. Bu enzimlerin, oositleri çevreleyen korona radyata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir. Boyun, baş ve kuyruk arasındaki bağlantıyı sağlayan bir çift sentriolün bulunduğu dar bir parçadır. Distal sentriol, sperm kuyruğunun merkezi parçası olan aksonemaya kaynaklık

yapar. Boyun aksonemi, yoğun fibröz halkalarla kuşatılmıştır. İnsan spermatozoonlarının boyun bölgelerinde genelde belli bir miktar sitoplazma bulunmaktadır (54).

Kuyruk bölümü, yapısal yönden silyuma benzer ve orta parça, esas parça ve son parça olmak üzere üç bölgeye ayrılmıştır. Orta parça, sarmal olarak dizilmiş mitokondriyonların oluşturduğu tabaka, 9+2 mikrotübüler aksonema ve dış yoğun lifler adı verilen sperm boynundaki bağlantı parçasından kuyruk boyunca uzanan dokuz adet uzunlamasına seyreden filamandan oluşur. Esas parça kuyruğun en uzun parçasıdır. Yedi dış yoğun lifle sarılı merkezi aksonema ve bir fibröz kılıftan oluşur. Hem dış yoğun lifler hem de fibröz kılıf, spermin öne hareketi sırasında mikrotübüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturur. Son parça, dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın erken sonlanmasından dolayı sadece aksonem bulunan kuyruğun çok kısa bir parçasıdır (49, 55).

2.5.5. İnterstisyel Doku

Testiste seminifer tübüllerin arası, Leydig hücreleri, gevşek bağ dokusu elemanları, sinirler, kan ve lenf damarlarıyla doldurulmuştur. Testiküler kapillerler pencere tiptedir ve kan proteinleri gibi makromoleküllerin serbestçe geçmesine izin verirler. İnterstisyum, Leydig hücreleri, fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajları içermektedir (49, 52, 55).

2.5.6. Leydig Hücreleri

Leydig veya testisin interstisyel hücreleri, interstisyel alanda kan veya lenf damarlarına yakın bulunan, yuvarlak ya da poligonal şekilli, eozinofilik bir sitoplazmaya sahip büyük hücrelerdir. Merkezi yerleşimli çekirdekleri bir veya iki adet olup, kromatin granülleri ve belirgin çekirdekçik içerir. Steroid sentezleyen hücre özelliklerini taşıyan sitoplazma, yaygın agranüler endoplazmik retikulum, küçük lipid damlacıkları, tübülveziküler kristal mitokondriyonlar, lipofuksin granülleri ile **Reinke kristali** ve prekürsörlerine sahiptir. Leydig hücreleri, sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan **testosteronu** üretirler. Serumda bulunan testosteronun yaklaşık %95'i Leydig hücreleri tarafından, geri kalan kısmı ise adrenal korteks tarafından üretilir. Testosteron sentezi sırasında plazma kolesterolü hücreye girer, asetil koenzim A (CoA) tarafından esterleştirilir ve sitoplazmada lipid damlacıkları şeklinde depolanır. Düz endoplazmik retikulumda

yağ asitleri kolesterole dönüştürülür. Kolesterol, yağ damlacıklarından mitokondriyonlara **steroidogenik akut regülatör protein (StAR)** aracılığıyla taşınır ve mitokondriyonlardaki sitokrom P450 enzimi olan kolesterol dezmolaz enzimi tarafından pregnenolon üretilir. Düz endoplazmik retikulumdaki enzimler, pregnenolonu progesterona ve onu da testosterona dönüştürür (50, 52, 56).

İnterstisyel hücrelerin hem aktiviteleri, hem de miktarları hormonal uyarımlara bağlıdır. Androjenik hormonlar, gelişim sırasında, erkek fetus gonadlarının gelişimi ve genital organların farklılaşması gibi olaylar için gereklidir. İnsanda hamilelik sırasında plasenta tarafından üretilen gonadotropik hormon, anne kanından fetüse geçer ve androjenik hormonları üreten bol miktardaki fetal testis interstisyel hücreleri uyarır. Bu hormonların varlığı, erkek genital organlarının embriyonik farklılaşması için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler hamileliğin 4. ayına kadar tamamen farklılaşmış olarak kalırlar ve sonra testosteron sentezinde bir azalmayla birlikte gerilerler. Daha sonra gebeliğin geri kalanı boyunca hipofizden salgılanan LH hormonu uyarısı altında, testosteron sentezini yeniden yapmaya başladıkları puberte öncesi döneme kadar dinlenme halinde kalırlar (52, 55).

2.5.7. Rete Testis

Damardan çok zengin olan mediastinum içine yerleşmiş, birbirleriyle anastomozlaşan tübüler yapılardır ve bir tubulus ağı oluştururlar. **Tubuli rekti** adı verilen düz seminifer tübüller, mediastinum testiste yer alan bu kanal ağına açılır. Tek katlı kübik veya alçak prizmatik epitelle döşeli, düzensiz bu kanalların epitel hücreleri, tek bir apikal silyum ve birkaç kısa mikrovillus içerir, nükleusları çok koyu boyanır ve bu hücrelerin yaslandığı bazal membran, mediastinumun bol kan damarlı bağ dokusu ile sarılmıştır. Spermiler, tubuli rekti ve rete testisten hızla geçtiğinden, kesitlerde lümende spermilere nadiren rastlanır (51, 53).

2.5.8. Duktuli Efferentes

Rete testisi epididimise bağlayan ve sayıları yaklaşık 20 adet olan bu kıvrımlı kanallar, yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Bu kanallar, testisten çıkarken çok kıvrımlı bir bir şekil alıp, koni vaskulosi adı verilen 6–10 adet konik yapıları oluşturur ve bu konilerin bazal kısımlarında efferent kanallar, epididimis kanalına açılır (49).

Efferent kanalların epitelindeki hücreler prizmatik ve kübik hücrelerdir. Uzun boylu hücrelerinde silyum bulunurken, kısa boylu hücrelerinde silyum yerine çok sayıda mikrovillus, apikal sitoplazmalarında bol miktarda lizozom, mikropinositotik vezikül ve membranla sınırlı yoğun cisimler bulunur. Seminifer tübüllerden salgılanan sıvının büyük bir bölümü, bu hücreler tarafından geri emilir. Bazal membrana komşu yerleşen kübik şekilli bazal hücreler ise, diğer hücrelere dönüşebilen kök hücrelerdir. Ayrıca elastik lif içeren, sirküler ince bir kas tabakası bu kanalı kuşatmaktadır. Bu kas tabakası ve silyumların hareketi, spermilerin bu kanallar boyunca ilerlemesini sağlar (51, 53).

2.5.9. Epididimis

Bu organ duktus efferentes ve duktus epididimisten oluşur. Testislerin arka yüzü boyunca uzanan bu yapı, **baş**, **gövde** ve **kuyruk** olmak üzere üç bölümden oluşur. Baş kısmında efferent duktus bulunur. Duktus epididimis ise, son derece kıvrımlı, uzun bir kanal olup, epididimisin gövde ve kuyruk kısmında bulunmaktadır. Bu kanalı saran sıkı bağ dokusu, kan damarları ve düz kas hücreleri bakımından zengindir. Yalancı çok katlı sterosilyalı prizmatik epitel, **bazal hücreler** ve **esas hücrelerden** oluşur. Esas hücreler, çok sayıda uzun sterosilyalara sahip, uzun boylu prizmatik hücrelerdir. Sitoplazmalarında yaygın granüler ve agranüler endoplazmik retikulum ağı ve belirgin bir Golgi kompleksi bulunur. Bazal hücreleri, kök hücre özelliğindedir. Epitel içinde, **Halo hücreleri** adı verilen lenfositlere rastlanabilir. Baş ve gövde bölümlerinde bağ dokusu dışında sirküler düz kas tabakası bulunur (49, 51).

Duktus epididimis, spermilerin, bu bölümden geçerken hareket ve fertilité yeteneği kazandıkları özel bir kanaldır. Ayrıca, duktuli efferentesten geriye kalan absorbe edilmemiş sıvının geri emilimi ve Sertoli hücreleri tarafından ortadan kaldırılmamış artık cisimlerin ve dejenere spermilerin fagosite edilmesi gibi olaylar burada gerçekleşir. Esas hücreler, sperm olgunlaşmasını sağlayan siyalik asit, gliserofosfokolin ve glikoproteinleri salgılar (51).

2.5.10. Duktus deferens

Epididimisin kuyruğunun devamı olup, kalın duvarlı müsküler bir borudur. Testisin arka yüzünden aşağı doğru uzanıp, spermatik kordonun bir elemanı olarak inguinal kanaldan geçip karın boşluğuna ulaşır. Mesane seviyesinde genişleyerek

ampulla kısmını oluşturur ve bu yapının son kısmında seminal vezikülün kanalları da katılır. Duktus deferens daha sonra prostata girer ve üretraya açılır. Prostata giren segmente ejakulatuvar duktus adı verilir. Epiteli, yalancı çok katlı prizmatik epiteldir ve hücrelerinin çoğunun yüzeyinde sterostilyum bulunur. Epitel altında elastik liflerden zengin lamina propria bulunur. Mukoza, lümene doğru katlantılar yaptığı için lümen düzensiz görülür. Kas tabakası, içte ve dışta longitudinal, ortada sirküler seyreden kas liflerinden oluşmuş kalın bir tabakadır (51).

2.5.11. Duktus ejakulatoryus

Yaklaşık 1 cm uzunluğunda, basit prizmatik epitelle döşeli, kısa ve düz bir kanaldır. Prostat bezine girer ve prostatik üretraya açılır. Mukoza lümenine doğru katlantılar yapar. Duvarında düz kaslar bulunmaz (50).

2.5.12. Vesikula seminalis

Yaklaşık 15 cm uzunluğunda, kıvrımlı ve tübüloalveolar yapıya sahip bir çift bez olan bu bezlerin iç kısmında, lümene doğru uzanan salgı epitelinin döşediği bağ dokusu girinti ve çıkıntıları bulunur. Çok ince katlar oluşturan mukoz, dallı ve birbirine bağlantılar oluşturan petekli bir görünüme sahiptir. Labirent şeklinde izlenen lümeni yalancı çok katlı epitelle döşelidir. Kısa, bazal hücreler ve prizmatik hücreler içerir. Epitelin yüksekliği testosteron hormonuna bağlı olarak değişir. Bazı hücreler mikrovillus içerirken, bazılarında tek bir flagellum vardır. Hücreler bol silindirik mitokondriyon, granüllü endoplazmik retikulum ve golgi kompleksi içerir. Yoğun salgı granülleri vardır. Epitelin altında fibroelastik bağ dokusu ve bu dokunun altında, içte sirküler dışta longitudinal kaslar bulunur. En dış kısımda ise bağ dokusundan bir kapsül yer almaktadır (50, 52, 57).

İnsanda ejakülatın %70'lik bölümü bu bezin salgısıdır. Bu bezler, visköz, sarımsı renkte, spermatozoonları aktive eden sitrat, inozitol, prostoglandinler ve çeşitli proteinler gibi maddeleri içeren bir salgı üretir. Bu salgıda ayrıca bol miktarda fruktoz bulunur ve spermatozoonlar bu monosakkarid sayesinde, hareketleri için gerekli enerjiyi elde ederler (52).

2.5.13. Prostat Bezi

Normal erişkin prostatı kestane boyutunda ve yaklaşık 20 gr ağırlığındadır. Retroperitoneal yerleşim gösteren bu organ, mesane boynu ve üretranın çevresini sarar. Çeperinde ince, belli belirsiz bir fibroelastik bağ dokusu kapsülle karışık düz

kas ve arka tarafında ise ejakülator kanalların girişi bulunur. 30–50 adet dallanmış tübüloalveoler bezden oluşur ve bu bezlerin kanalları prostatik üretraya boşalır. Prostatta bulunan üç ayrı bölgeden **birincisi**, bez hacminin %25'ini kaplayan merkezi bölgedir (santral kuşak). Bu bölgenin epiteli yalancı çok katlı epiteldir. Bezin %70'ini kaplayan **ikinci bölge** periferik bölgedir (perifer kuşak) ve prostat kanseri bu bölgede gelişir. **Üçüncü bölge** geçiş bölgesidir (geçiş kuşağı) ve bu bölge, iyi huylu prostat hiperplazilerinin büyük bir bölümünün kaynaklandığı bölgedir (52, 57).

Prostat bezlerinin lümeninde sıklıkla çapı 0.2–2 mm olan, glikoprotein yapılı, küçük küresel cisimcikler bulunur. Bunlar **prostat taşları** veya korpora amilasea olarak adlandırılır. Önemi anlaşılamamış olmakla birlikte, sayıları ilerleyen yaşla birlikte artmaktadır. Prostat bezi epiteli yalancı çok katlı epiteldir ve bazal hücreler ile salgı yapan hücrelerden oluşur. Prostat salgısı, ejakülat sıvısının yaklaşık %15'ini oluşturur ve asit fosfataz, amilaz ve fibrinolizinden çok zengindir (52, 58).

2.5.14. Bulboüretal Bezler (Cowper Bezleri)

Çapları 3–5 mm olan ve üretranın membranöz kısmının proksimalinde yerleşerek buraya boşalan bezlerdir. Bu bezler, mukus salgılayan tek katlı silindirik epitelle döşeli tübüloalveoler bezlerdir. Fibroblast, düz kas ve çizgili kas içeren bir kapsülü vardır ve kapsülden ayrılan bölmeler bezi loblara ayırır. Bezin salgısı, kayganlaştırıcı işlevi gören berrak bir mukustur (50, 52).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmada, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Araştırma Merkezinden temin edilen Sprague Dawley cinsi, 32 adet erişkin erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar, vücut ağırlıkları ölçüldükten sonra rastgele seçilip dört gruba ayrıldı: Kontrol grubu (K; n=8), sadece AG verilen (AG; n=8), diyabet grubu (D; n=8) ve diyabet oluşturulup, AG ile tedavi edilen grup (DAG; n=8). Sıçanların deney öncesi kan glikoz seviyeleri, kuyruk venlerinden alınan kanlarının el glukometresi (Accu Chek Glukometre - Roche) ile ölçümü sonucu belirlendi. Diyabet oluşturulacak sıçanlar için 450 mg Streptozotosin (STZ) (Sigma, USA), 10 cc distile su içinde iyice çözülüp (45 mg/kg tek doz), hayvan ağırlıklarına göre, intraperitoneal (i.p) olarak insülin enjektörleri ile uygulandı. D ve DAG gruplarına uygulanan STZ enjeksiyonundan 72 saat sonra tekrar kan alınıp, glukometreyle kan glikoz seviyeleri ölçüldü. Kan glikoz seviyeleri 270 mg/dL ve üzerinde olanlar çalışmaya dahil edildi. AG, sıçanlara çeşme suyu içerisinde 1 gr/L doz oranında, iyice çözülerek hazırlandı ve hergün sabah saat 9:00'da deneklere verildi. 10 haftalık deney süresinde; tüm hayvanlar standart sıçan pellet yemi ve AG verilen gruplar dışındakiler normal içme suyu aldılar. Sıçanların günlük içme suyu tüketimleri mezur ile ölçülüp, her sıçanın bir günde tükettiği ortalama AG miktarı mg olarak hesaplandı.

3.1. Testislerin Alınması

Deney sonunda, hayvanların vücut ağırlıkları ve deney sonu kan glikoz seviyeleri ölçüldü. Ketamin ve ksilazin (1.2–1.4 g/kg) anestezisi altında sıçanlar sakrifiye edildi. Hayvanların testisleri alınıp, testis ağırlıkları ölçüldü. Sol testisler biyokimyasal çalışmalar için derin dondurucuya alınırken, sağ testisler histolojik çalışmalar için, %10 formalin solüsyonu içinde tespit edildi (24 saat). Rutin doku takibi (sırasıyla, %70, %80, %96, %100 dereceli alkol serilerinde birer saat, ksilen ve parafinde ikişer saat bekletme) sonrasında parafine gömülen dokulardan mikrotom (Leica RM 2245) cihazıyla 5 µm' lik kesitler lamlara alındı.

3.2. Histolojik Boyama

Lamlara alınan kesitlere, Hematoksilen-Eozin (H-E), Masson trikrom ve Toluidin mavisi boyama yöntemleri uygulandı ve kapatma işlemlerini takiben preparatlar, ışık mikroskobunda (Leica DFC–280) incelendi.

3.2.1. Mayer's Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu

Lamlara alınan doku örnekleri 1 saat etüvde bekletilerek doku çevresindeki parafinin erimesi sağlandı. Daha sonra kesitlere sırası ile aşağıdaki boyama metodu uygulandı.

KsilenI	5 dakika
Ksilen II	5 dakika
Ksilen III	5 dakika
%80 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
Absolü alkol	3 dakika
Absolü alkol	3 dakika
Distile suda yıkama	5 dakika
Mayer's Hematoksilen	5 dakika
Çeşme suyu	25 dakika
Eozin	2 dakika
%96 alkol	3 dakika
%96 alkol	3 dakika
Absolü alkol	3 dakika
Absolü alkol	3 dakika
Ksilen I	5 dakika
Ksilen II	5 dakika
Ksilen III	5 dakika

Bu işlemler uygulandıktan sonra lamların üzerine entellan damlatılarak lamel ile kapatıldı.

3.2.2. Masson Trikrom Boyama Metodu

Lamlara alınan doku örnekleri 1 saat etüvde bekletilerek doku çevresindeki parafinin erimesi sağlandı. Kesitler distile suya gelinceye kadar ksilen ve alkol serilerinden geçirildi. Ardından aşağıdaki işlemler uygulandı.

Demirli Hematoksilen	10 dakika
Çeşme suyunda yıkama	5 dakika
Biebrich scarlet-asit fuksin	15 dakika
Distile suda yıkama	5 dakika
Fosfomolibdik asit &	
Fosfotungustik asit solüsyonu	15 dakika
Light green	1 dakika
Distile suda yıkama	5 dakika
Fosfotungustik asit	15 dakika

Bu işlemler uygulandıktan sonra kesitler distile su ile yıkandı, alkol ve ksilen serilerinden geçirildi ve kapatıldı.

3.2.3. Toluidin Mavisi Boyama Metodu

Lamlara alınan doku örnekleri 1 saat etüvde bekletilerek doku çevresindeki parafinin erimesi sağlandı. Kesitler distile suya gelinceye kadar ksilen ve alkol serilerinden geçirildi. Kesitler Toluidin mavisi solüsyonunda 2-3 dk bekletildikten sonra distile su ile yıkandı, alkol ve ksilen serilerinden geçirildi ve kapatıldı.

3.3. İmmünohistokimyasal Boyama

Testis dokularından alınan 5 µm'lik kesitler, immunohistokimyasal boyama için polilizin kaplı lamlar üzerine alındı. Deparafinizasyon işleminden sonra preparatlar suya getirildi, %0,05 tween 20 - sitrat buffer (pH 7,6) içine alındı ve mikrodalga fırında 30 dk ısıtıldı. Oda sıcaklığında soğutulduktan sonra, kesitler PBS ile yıkandı. Sonra kesitlere %0,3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) uygulandı. Kesitler primer tavşan poliklonal kaspaz 3 antikor ile 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi (NeoMarkers, USA). Sonra PBS ile yıkandı, 30 dk biyotinlenmiş anti-polivalentle ve 30 dk streptoavidin peroksidazla inkübe edildi. Boyanma 15 dakika kromojen + substratta bekletilerek tamamlandı. Boyamanın ardından preparatlar ışık mikroskobu ile incelendi.

3.4. Histolojik Değerlendirme

H-E ile boyanmış preparatlarda seminifer tübül çapları ve germinal epitel kalınlıkları ölçüldü. Ölçümler, her preparattan 100 adet seminifer tübül sayılarak gerçekleştirildi. Histolojik skora, tübüllerin sağlam, dökülmüş, atrofiye, çok çekirdekli dev hücreli ve dejenere hücrelerin varlığına göre, her bir preparattan X20 büyütmede 10 farklı alan incelenerek yapıldı. Trikróm ile boyanmış preparatlarda tunika albuginea tabakası kalınlıkları ölçüldü. Ölçümler X40 büyütmede, her bir preparattaki testis tunika albuginea tabakasının 5 farklı noktasındaki kalınlıkların ölçülmesi ve ortalamalarının alınması sonucu gerçekleştirildi. Toluidin mavisi ile boyanan preparatlarda, X40 büyütmede tunika albuginea içerisinde gözlenen tüm mast hücreleri sayılıp ortalamaları alınarak değerlendirildi.

İmmünohistokimyasal değerlendirmeler, her bir preparattan X20 büyütmede 20 adet tübül sayılarak yapıldı. Kaspaz 3 boyanması, boyama yoğunluğuna ve yaygınlığına göre; boyanma yok (0), zayıf (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak sınıflandırıldı. Tüm preparatların inceleme ve değerlendirmeleri Leica Q Win Image Analiz sistemi (Leica Micros Imaging Solution Ltd, Cambridge, UK) kullanılarak yapıldı.

3.5. Biyokimyasal Analizler

3.5.1. Dokuların Homojenizasyonu

Testis dokusu 1/5 w/v oranında PBS tamponu (pH 7,4) eklenerek buz izolasyonu altında IKA-Werke T25 homojenizatörü ile tüm doku parçalanıncaya kadar homojenize edildi. Elde edilen homojenattan 1 mL MDA ölçümü için ayrıldı. Kalan homojenatlar, Sonics VCX130 sonifikatörde 30 saniyelik aralıklarla 4 defa 15 saniye sonifiye edildi. Sonifiye işlemlerinin ardından 10.000 g'de, +4 °C'de 10 dakika Nüve NF 800R mikrosantrifüj aletiyle santrifüj işlemi yapıldı. Böylece enzim aktiviteleri ve protein tayinin yapılacağı süpernatant elde edildi. Süpernatant örnekleri ölçüm işlemleri yapılmıncaya kadar -70 °C de derin dondurucuda saklandı.

3.5.2. Katalaz (CAT) Aktivite Tayini

Katalaz enziminin aktivite tayini Luck H. yöntemine göre yapıldı (59). Katalaz ölçümünde kullanılmak üzere spektrofotometrede 240 nm'de absorbans 0,7–0,9 oluncaya kadar Na-K-fosfat tampon çözeltisine derişik (% 35 'lik) H₂O₂ ilave edildi.

Numunelerin katalaz içeriğini belirlemek için hazırlanan bu karışımdan 1000 μL alınıp küvete kondu ve üzerine çalışma aralığına bağlı olarak 30 μL 'den başlayarak gittikçe artan konsantrasyonlarda süpernatant eklendi ve bir kez karıştırılıp Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 240 nm dalga boyunda 30 sn süreyle H_2O_2 nin ($\epsilon=0,0396 \text{ cm}^2 \mu\text{mol}^{-1}$) absorbans değişimi okundu. Okunan bu optik dansite farkından mL'deki enzim ünite sayısı hesaplandı.

3.5.3. Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivite Tayini

Süperoksit radikallerinin dismutasyonunda görev alan SOD enziminin aktivite tayini McCord J.M, Fridovich I (60) yöntemine göre yapılmış olup yöntemin esası ksantin-ksantin oksidaz sisteminde üretilen süperoksit radikallerinin sitokrom-C'yi indirgememesinin SOD tarafından inhibisyonu temeline dayanır.

Süperoksit dismutaz çeşitli yollarla ortaya çıkan süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$) radikalının hidrojen peroksite (H_2O_2) dismutasyonu reaksiyonunu katalizler. SOD enzim aktivitesi ksantin-ksantin oksidaz (XO) sistemi ile üretilen $\text{O}_2^{\cdot-}$ radikallerinin sitokrom c okside etmesi sonucu oluşan renk değişimi 550 nm'de takip edilerek belirlendi. Bu reaksiyona dayanan optik dansitedeki azalmadan yararlanarak SOD tarafından reaksiyonun % inhibisyonu belirlendi. Bu reaksiyonu % 50 inhibe eden örneklerdeki SOD miktarı 1 Unite (U) olarak kabul edildi ve sonuçlar U/mg protein olarak verildi.

Gerekli çözeltiler:

A çözeltisi:

- 5 μmol ksantin 0.001 N NaOH'daki çözeltisi: 10 hacim
- 2 μmol sitokrom-C'nin 50 mM pH 7,8 ve 0,1 mM EDTA içeren fosfat tamponundaki çözeltisi: 100 hacim.

B Çözeltisi:

- Ksantin oksidazın 0,1 mM EDTA'daki çözeltisi 0.2 U/mL.

Yöntem :

- 1) 3 mL'lik spektrofotometre küvetine 2,9 mL A çözeltisi eklendi.
- 2) 50 μL örnek ilave edildi.
- 3) Tepkime 50 μL B çözeltisinin eklenmesiyle başlatıldı.
- 4) Daha sonra Shimadzu 1601-UV visible spektrofotometrede 550 nm'deki absorbans değişimi (1 dk.) okundu.

- 5) K r okuması yapılırken örnek yerine 50 L distile su eklendi.
- 6)  rneklerin % inhibisyon değerleri hesaplandı.

3.5.4. Total Glutasyon (GSH)  l m 

5-tio-2-nitrobenzoat (TNB) oluşumu, 412 nm’de spektrofotometrik olarak  l ld . Ekstrakt içindeki GSH miktarı, ticari bir GSH standart olarak kullanılarak, nmol/mg protein cinsinden belirlendi (61).

3.5.5. Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Serbest radikal saldırıları sonucu hücre membranında bulunan lipitlerin peroksidasyonu, son ürün olan malondialdehit (MDA) miktarının Beuge J.A yöntemine göre belirlenmesiyle bulundu (62).

Gerekli  z ltler:

- % 15 ‘lik TCA  z ltisi : 1 hacim
- % 0.375 ‘lik TBA  z ltisi : 1 hacim
- 0.25 N ‘lik HCl  z ltisi : 1 hacim

Yukarıdaki üç  z ltinin hassas bir şekilde hazırlanıp belirtilen hacim oranlarında karıştırılmasıyla bir solüsyon hazırlandı.

Yöntem :

- 1-10 mL’ lik santifüj tüpleri alındı ve bütün tüplere hazırlanan solüsyondan 4 mL kondu.
- 2- K r tüpleri hariç tutularak örnek tüplerine 1 mL homojenat kondu.
- 3- Bir kez şiddetli bir şekilde karıştırıldı.
- 4- Kaynar suda (95–100  C ’de) 20 dk. bekletildi.
- 5- Daha sonra tüpler soęutuldu ve 3500 rpm’de 10 dk. santrifüj edildi.
- 6- Elde edilen süpernatanın Shimadzu 1601 UV-VIS spektrofotometresinde 535 nm’deki MDA-TBA kompleksi ‘nin ($\epsilon : 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$) absorbansı okunarak MDA miktarı hesaplandı.

3.5.6. Nitrik Oksit (NO)  l m 

NO canlı organizmada katıldığı reaksiyonlar ile nitrit (NO^{2-}) ve nitrat (NO^{3-}) son ürünlerini oluşurmaktadır. Bu iki son ürünün oranları değişkendir. Bu nedenle total NO (tNO)  retiminin en iyi göstergesi NO^{2-} ve NO^{3-} ’ n birlikte ölçülmesidir. Çalışmamızda testis dokusundaki tNO düzeyleri, Griess reaksiyonu kullanılarak, nitrat redüktaz ile NO’ın indirgenmesi ile oluşan nitrit (NO^{2-}) ve nitrat (NO^{3-})

düzeylerinin Cayman florometrik kitleri (Cayman Inc. Ann Arbor, MI, USA) kullanılmasıyla belirlendi.

3.6. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 13.0 programı ile Kruskal Wallis ve Mann Whitney-U testi kullanılarak yapıldı. Kruskal Wallis ile grupların ortalama değerleri, Mann-Whitney-U ile gruplar arasındaki farklılığın önemli olup olmadığı test edildi. Grup içindeki değişim testi ise Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi ile yapıldı. Tüm sonuçlar ortalama $\pm$ standart hata (SE) olarak ifade edildi ve $P < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı bulundu.

4. BULGULAR

4.1. Vücut Ağırlıkları ve Kan Glikoz Değerleri

Deney başlangıcı ve deney sonu vücut ağırlık kazanımları bakımından diyabet ve kontrol grubu sıçanları arasındaki fark, istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($P=0.001$). Diyabet grubuna AG verilmesi, vücut ağırlık kaybını azalttı ($P=0.003$). Ancak kontrol grubundaki sıçanlar gibi ağırlık kazanmasını da sağlayamadı. DAG grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemliydi ($P=0.006$).

D grubundaki sıçanlarda STZ enjeksiyonundan (72 saat sonra) deneyin sonuna kadar hiperglisemi gözlemlendi. Diğer yandan DAG grubunda, D grubuna göre final-başlangıç kan glikoz seviyeleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0.001$). Kontrol grubu ile DAG grubu arasında final-başlangıç kan glikoz seviyeleri arasında anlamlı bir fark bulunmadı ($P>0,05$). Sıçanların deneyin başlangıç ve sonundaki vücut ağırlıkları ve kan glikoz değerleri Tablo I’de verildi.

Tablo I. Grupların başlangıç - final vücut ağırlıkları ve kan-glikoz değerleri.

Parametreler	Gruplar			
	K (n=8)	AG (n=8)	D (n=8)	DAG (n=8)
Başlangıç vücut ağırlığı (g)	282.1±4.3	290.6±4.9	319.4±3.7	319.7±3.6
Final vücut ağırlığı (g)	323.9±6.4	326.4±8.18	207.1±6.3	294.6±18.2
Vücut ağırlık farkları (g) ♦	41.7±6.7	45.7±10.9	(-)112.2±7.5	(-)25.1±18.2
Başlangıç kan-glikoz (mg/dl)	128.6±2.5	132.25±6	383.3±14.1	283.58±6.1
Final kan-glikoz (mg/dl)	154.4±3.4	167.0±13.2	587.0±5.0	334.6±7.8
Kan-glikoz farkları (mg/dl) ♦	25.7±3.5	32.7±8.7	203.6±11.9	51.1±8.5
P Değerleri				
Gruplar	Vücut ağırlık farkları		Kan glikoz farkları	
K - D	0.001		0.001	
K - DAG	0.006		> 0.05 (FY)	
D - DAG	0.003		0.001	
AG - DAG	0.009		> 0.05 (FY)	

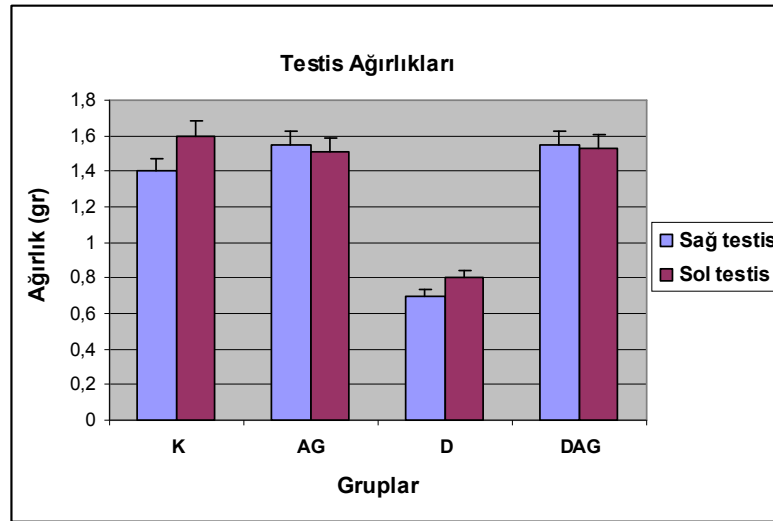
Not: **K:** Kontrol grubu, **AG:** Aminoguanidin grubu, **D:** Diyabet grubu, **DAG:** AG verilmiş diyabet grubu. **n:** Sıçan sayısı ♦: Final-Başlangıç farkları **FY:** Fark yok.

4.2. Testis Ağırlıkları

Sıçanların deney sonu ortalama testis ağırlıkları sağ ve sol testis olarak ölçüldü. Diyabet grubundaki sıçanların testis ağırlıklarında (sağ; 0.7 ± 0.1 g, sol; 0.8 ± 0.1 g) kontrol grubuna göre (sağ; 1.4 ± 0.003 g, sol; 1.6 ± 0.1 g) istatistiksel olarak önemli bir azalma gözlemlendi ($P=0.001$). AG verilmesi diyabetik hayvanlarda izlenen testis ağırlık kaybını önledi. D grubu testis ağırlıkları sağ ve sol 0.7 ± 0.1 g ve 0.8 ± 0.1 g iken DAG grubunda 1.55 ± 0.07 g ve 1.53 ± 0.008 g'a yükseldi. Testis ağırlıkları bakımından DAG grubu ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamsızdı (FY). Nitekim kontrol grubu sıçanların testis ağırlıkları (sağ; 1.4 ± 0.003 g, sol; 1.6 ± 0.1 g) ile DAG grubu sıçanların testis ağırlıkları (sağ; 1.55 ± 0.07 g, sol; 1.53 ± 0.008 g) birbirine yakındı ($P>0.05$). Deney gruplarının testis ağırlıkları ve bu ağırlıkların gruplar arasındaki farklarının istatistiksel değerlendirmeleri **Tablo II**'de ve testis ağırlıkları grafiği **Grafik 1**'de verilmiştir.

Tablo II. Grupların sağ ve sol testis ağırlıkları ve istatistiksel P değerleri.

Gruplar	Sağ Testis Ağırlığı (g)	Sol Testis Ağırlığı (g)
K	1.4 ± 0.003	1.6 ± 0.1
AG	1.55 ± 0.003	1.51 ± 0.008
D	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.1
DAG	1.55 ± 0.07	1.53 ± 0.008
P Değerleri		
Gruplar	P Değeri	
K - D	0.001	
K - DAG	> 0.05 (FY)	
D - DAG	0.001	
AG - DAG	> 0.05 (FY)	

Grafik 1. Grupların sağ ve sol testis ağırlıkları.

4.3. Hayvanların Su Tüketimi

Deney süresince her bir hayvanın tükettiği su miktarı ve aldığı AG miktarı hesaplandı. Buna göre kontrol grubundaki her bir hayvanın günlük su tüketimi ortalama 65.75 ml idi. Diyabet ve DAG grubunda sıçanların günlük su tüketimleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede artmıştı. Diyabet grubunda her bir hayvan 127.87 ml su tüketirken DAG grubunda su tüketimi 144.87 ml'ye ulaştı. Deneyde kullanılan tüm gruplardaki sıçanların günlük su ve AG tüketimi ve gruplar arasındaki günlük su ve AG tüketim farklarının istatistiksel değerlendirmeleri **Tablo III**'de verildi.

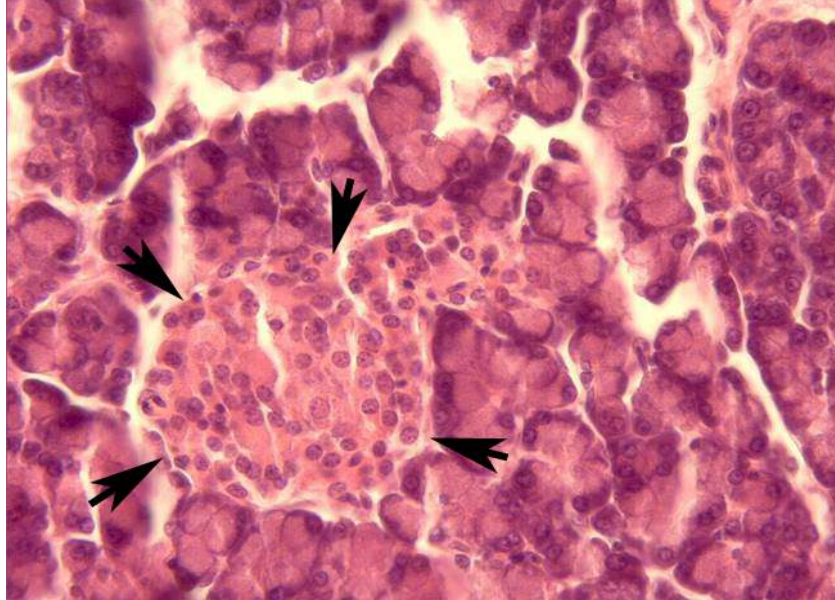
Tablo III. Sıçanların günlük ortalama su ve AG tüketimi ile istatistiksel P değerleri.

Gruplar	Günlük ortalama su tüketimi (ml)	Günlük alınan ortalama AG miktarı (mg)
K	65.75±1.37	---
AG	67.62±1.28	67.62±1.28
D	127.87±1.68	---
DAG	144.87±1.31	144.87±1.31
P Değerleri		
Gruplar	P Değeri	
K - D	0.001	
D - DAG	0.001	

4.4. Işık Mikroskopik Bulgular

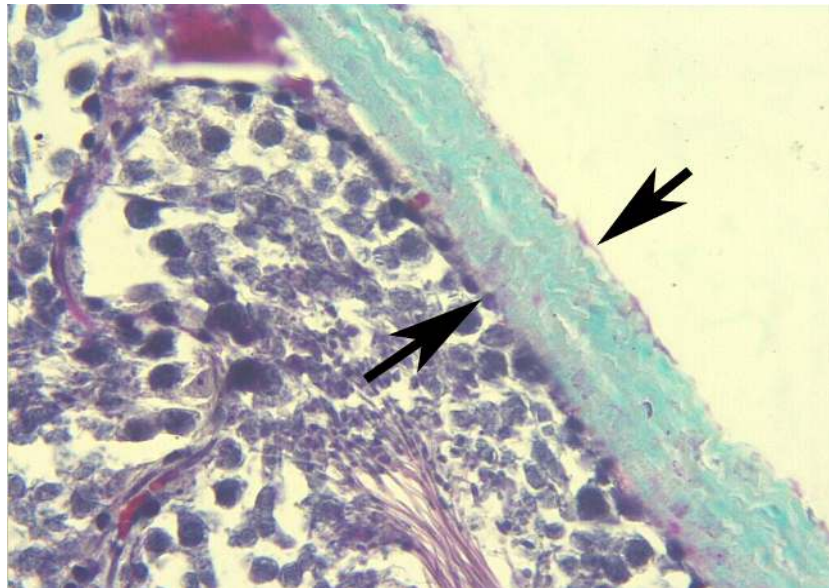
4.4.1. Kontrol Grubu

Kontrol grubu pankreaslarında Langerhans adacıkları oval ve yuvarlak sınırları ile normal görünümdeydi (**Resim 1**).



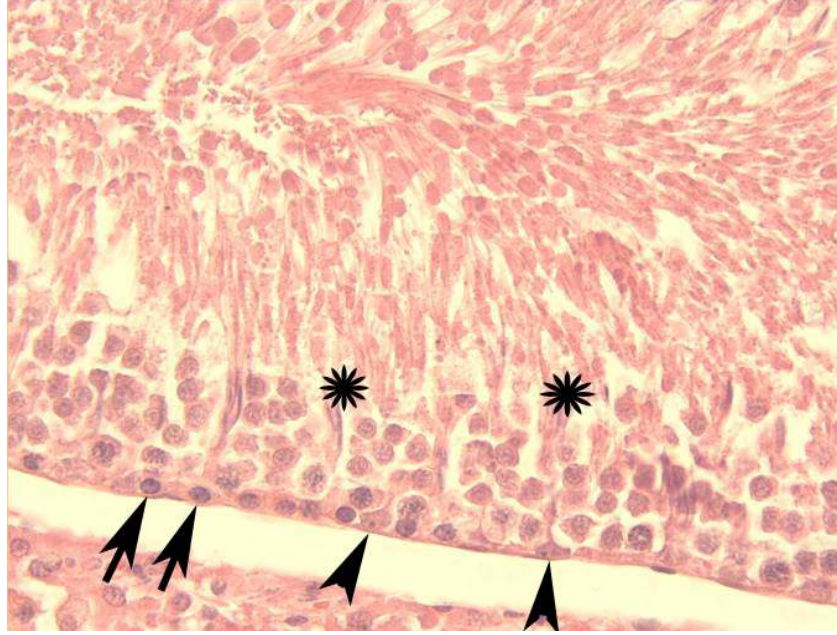
Resim 1. Kontrol grubunda normal görünümdeki pankreas Langerhans adacığı (oklar). H-E; X40.

Testisler, trikrom boyama metodu ile dıştan yeşil renkte ayıt edilen bağ dokusu kapsülü tunika albuginea ile sarılıydı (**Resim 2**).



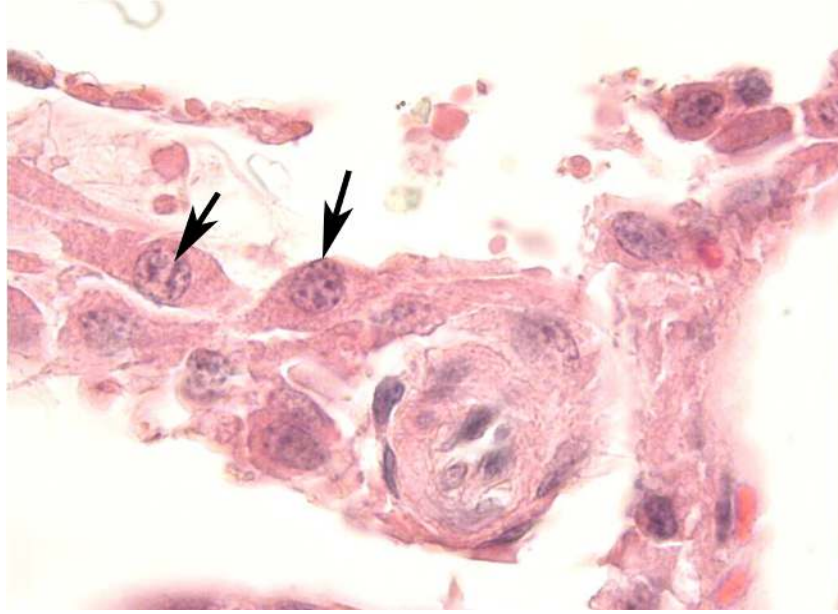
Resim 2. Kontrol grubu testis tunika albuginea tabakası (oklar). Masson Trikrom; X40.

Tunica albuginea bu grupta $33.19 \pm 1.6 \mu\text{m}$ kalınlıkta ölçüldü. Seminifer tübüller normal histolojik görünümdeydi. Tübüller belirgin bir bazal lamina üzerine oturmuş seminifer epitelinden oluşmaktaydı. Seminifer epitelindeki Sertoli hücreleri ve spermatogenik seri hücreleri belirgin olarak ayırt edilmekteydi. Spermatogonyumlar yuvarlak ve oval şekilleriyle bazal membranın hemen üzerinde yer alırken spermatidler lümende izlendi (**Resim 3**).



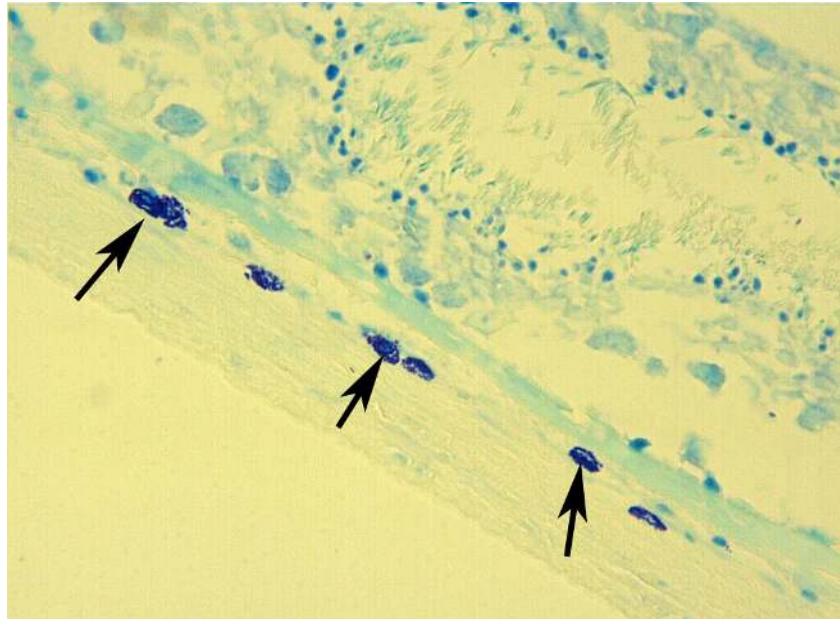
Resim 3. Kontrol grubu seminifer tübülünde spermatogonyumlar (oklar), Sertoli hücreleri (ok uçları) ve spermatidler (yıldız). H-E; X40.

Bu grupta; seminifer tübül çapları $254.6 \pm 5.17 \mu\text{m}$ ve germinal epitel yüksekliği ise $64.5 \pm 0.83 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü. Tübüllerin arasındaki interstisyel bağ doku içerisinde kapiller damarlar ve eozinofilik sitoplazmaları ile ayırt edilen Leydig hücreleri bulunmaktaydı (**Resim 4**).



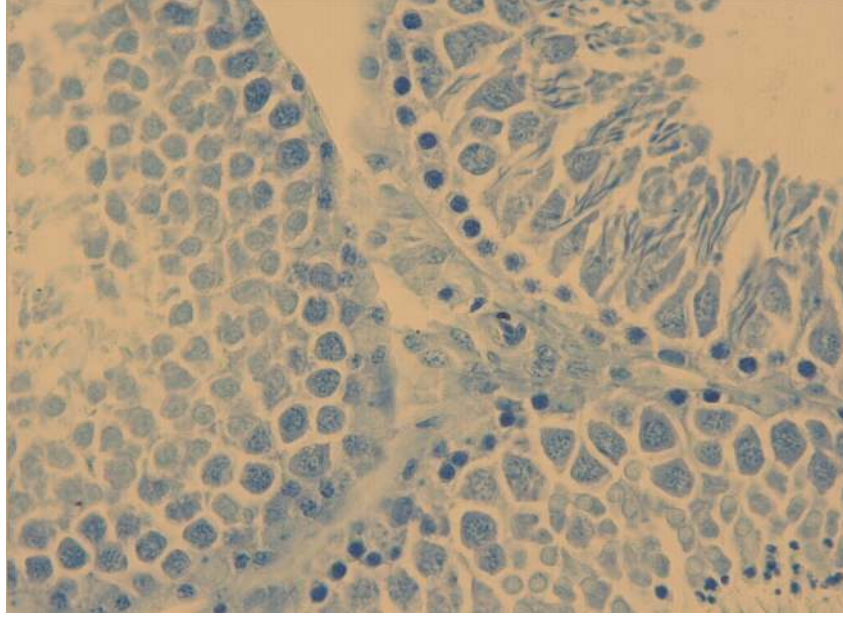
Resim 4. Kontrol grubu interstisyel alanındaki eozinofil sitoplazmalı Leydig hücreleri (oklar). H-E; X100.

Toluidin mavisi boyama metodu ile boyanan kesitlerde, tunika albuginea tabakasında mor granülleri ile mast hücreleri gözlendi (**Resim 5**).



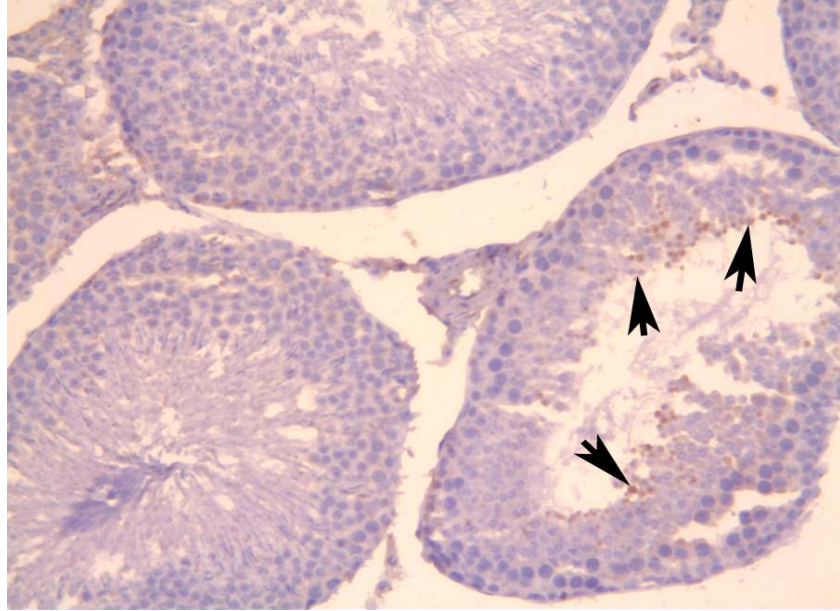
Resim 5. Kontrol grubu tunika albuginea tabakasındaki mor granüllü mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi; X40.

Bu grupta tunika albuginea tabakasındaki mast hücre sayısı 13.4 ± 2.9 olarak tespit edildi. Seminifer tübüller arasındaki bağ dokuda mast hücreleri izlenmedi (**Resim 6**).



Resim 6. Kontrol grubunda, interstisyel alanda mast hücreleri izlenmemekte. Toluidin mavisi; X40.

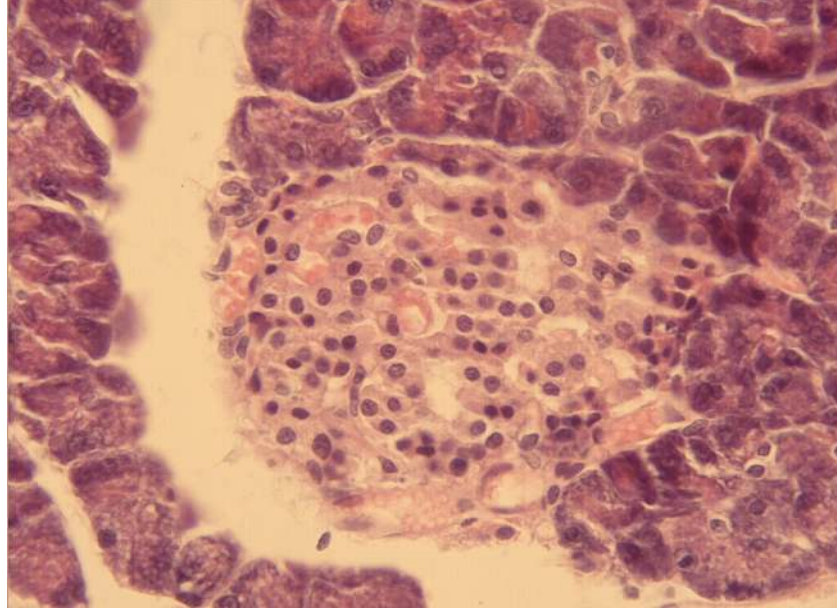
Seminifer tübüllerde özellikle spermatidlerin sitoplazmik artıklarının kaspaz-3 ile pozitif boyandığı görüldü. Bu grupta orta (++) ve şiddetli (+++) pozitif boyanan spermatogenik hücrelere rastlanmadı. (**Resim 7**).



Resim 7. Kontrol grubunda spermatidlerin pozitif boyanan sitoplazmik artıkları (oklar). Kaspaz-3; X20.

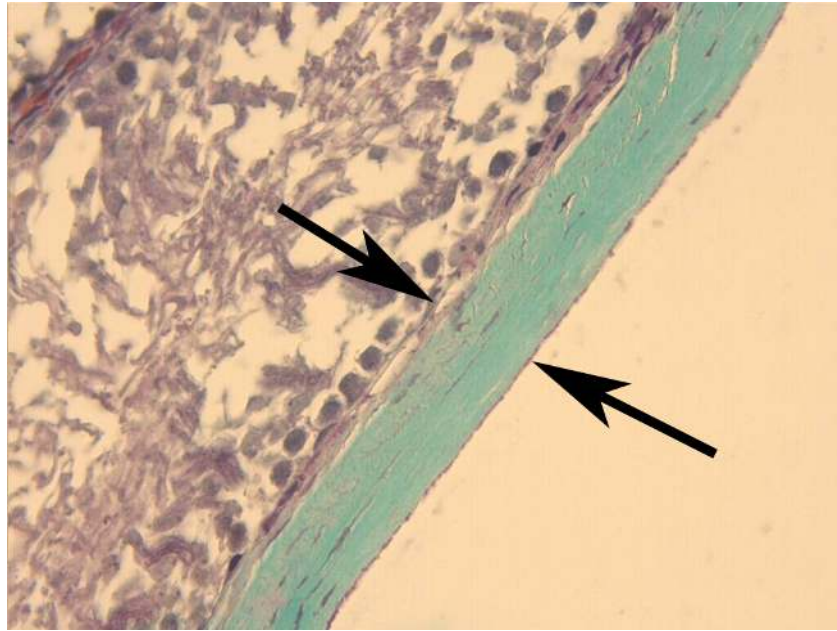
4.4.2. AG Grubu

Bu grupta Langerhans adacıklarının histolojik görünümü kontrol grubuna benzerdi (**Resim 8**).



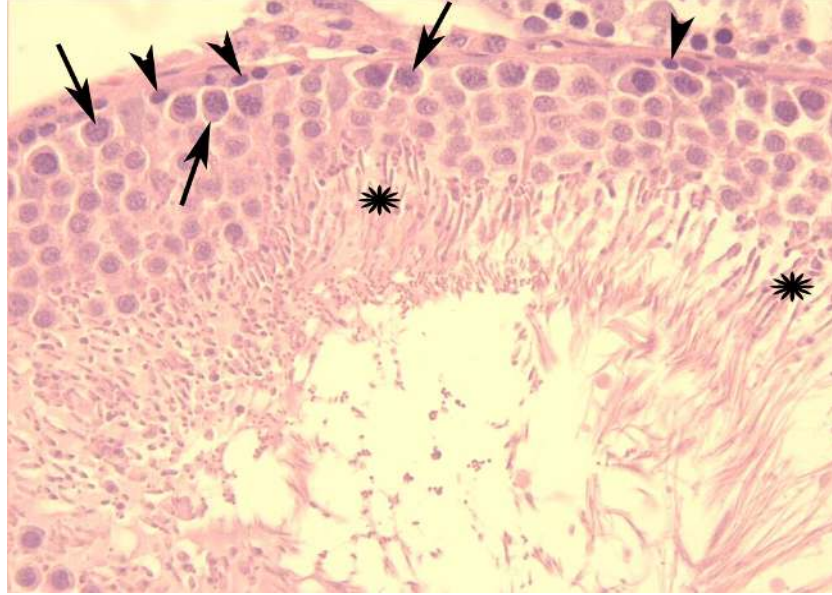
Resim 8. AG grubunda pankreas Langerhans adacığı. H-E; X40.

Tunika albuginea kalınlığı $32.35 \pm 1.1 \mu\text{m}$, Seminifer tübül çapları $233.4 \pm 6.39 \mu\text{m}$ ve germinal epitel yüksekliği $60.1 \pm 2.08 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü. Bu değerler kontrol grubuna benzerdi ($P > 0.05$) (**Resim 9**).



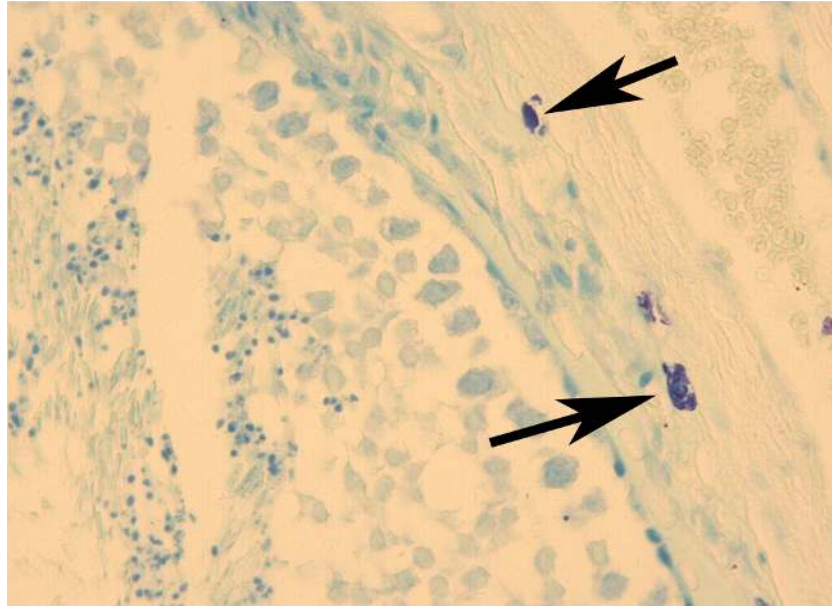
Resim 9. AG grubunda tunika albuginea tabakası (oklar). Masson Trikrom; X40.

Seminifer tübül sınırlarının düzgün olduğu ve spermatogenik germ hücrelerinin düzenli olarak dizildikleri görüldü. Tübüllerde, spermatogonyumlardan spermatide kadar spermatogenezin tüm evrelerindeki germ hücreleri mevcuttu (**Resim 10**).



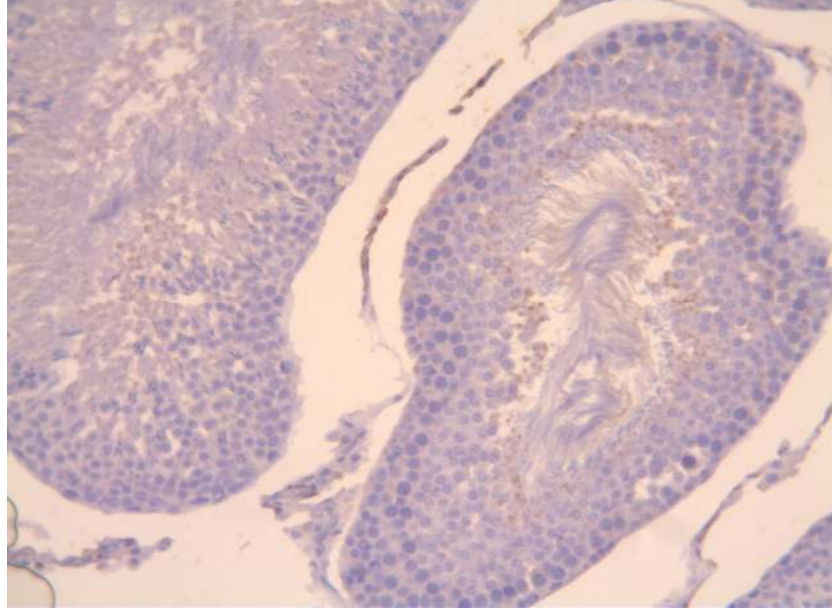
Resim 10. AG grubunda spermatogenik hücreler; spermatogonyumlar (ok uçları), primer spermatositler (oklar) ve spermatidler (yıldız). H-E; X40.

Mast hücreleri tunika albuginea içerisinde tek tek ya da gruplar halinde izlendi (**Resim 11**). Bu grupta mast hücre sayısı 12.2 ± 1.8 olarak tespit edildi.



Resim 11. AG grubunda tunika albuginea içerisinde izlenen mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi; X40.

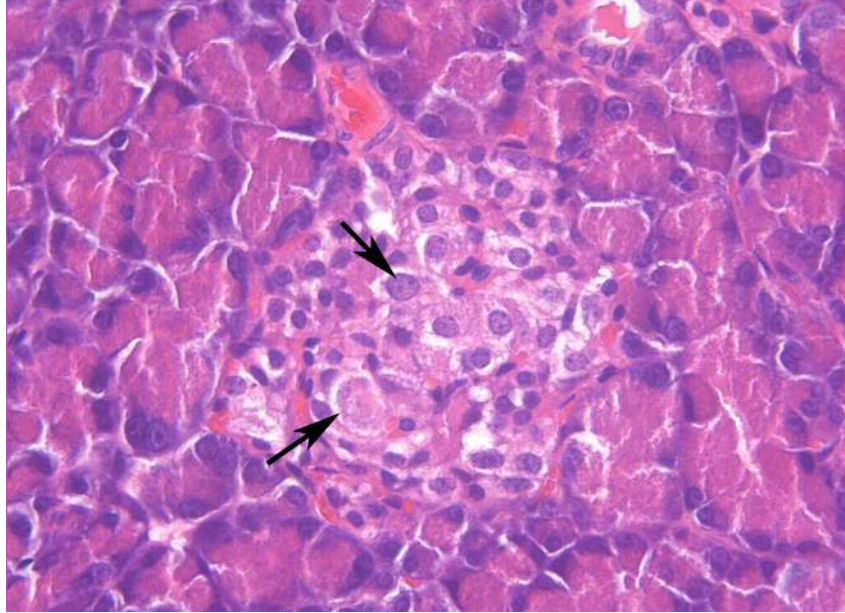
Kaspaz-3 immün boyama yöntemi ile kontrollere benzer olarak, seminifer tübüllerin lümeni içerisinde küçük sitoplazmik parçacıklar pozitif boyanmış olarak izlendi (**Resim 12**). Bu grupta da kontrol grubunda olduğu gibi orta (++) ve şiddetli (+++) boyanan spermatogenik hücrelere rastlanmadı.



Resim 12. AG grubunda tübül içerisinde kaspaz-3 pozitif boyanan sitoplazmik artıklar. Kaspaz-3; X20.

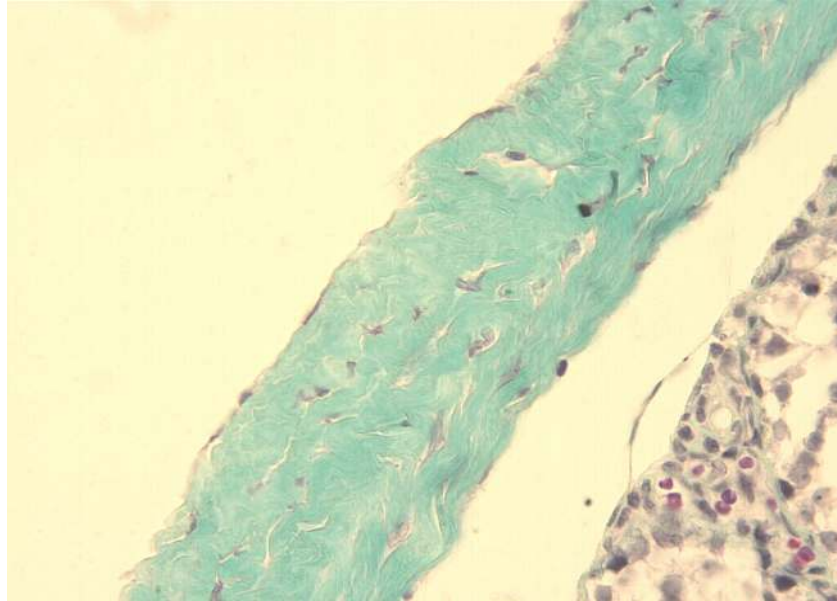
4.4.3. D Grubu

Langerhans adacıklarının çapları küçülmüştü. Adacığın merkezinde yer alan hücrelerin bazıları şişmiş ve nukleusları irileşmişti (**Resim 13**).



Resim 13. D grubunda Langerhans adacığının merkezinde izlenen iri nükleuslu ve şişmiş hücreler (oklar). H-E; X40.

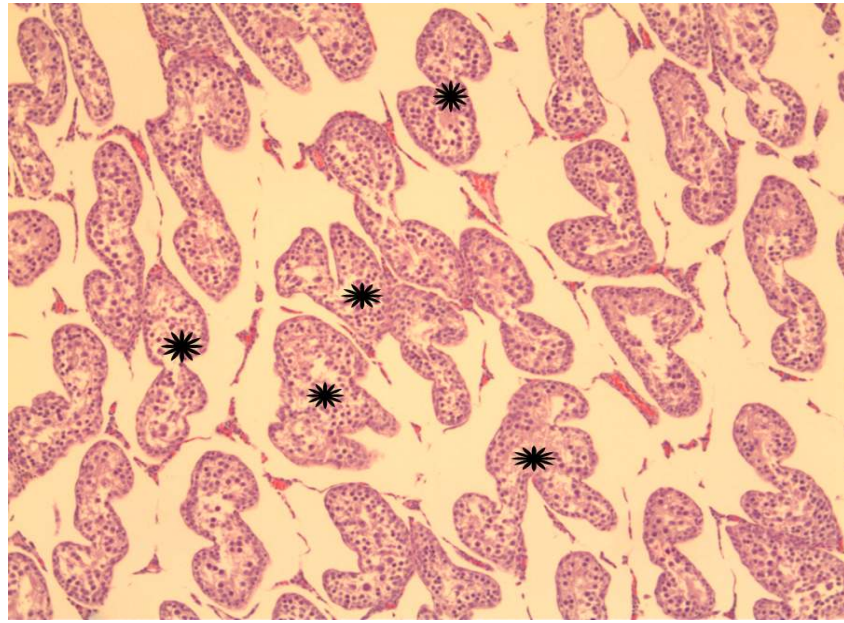
Tunika albuginea bu grupta, belirgin olarak kalınlaşmıştı ($69.5 \pm 4.3 \mu\text{m}$) ve yer yer düzensiz görünümliydi (**Resim 14**).



Resim 14. D grubunda kalınlaşmış tunika albuginea tabakası. Masson Trikrom; X40.

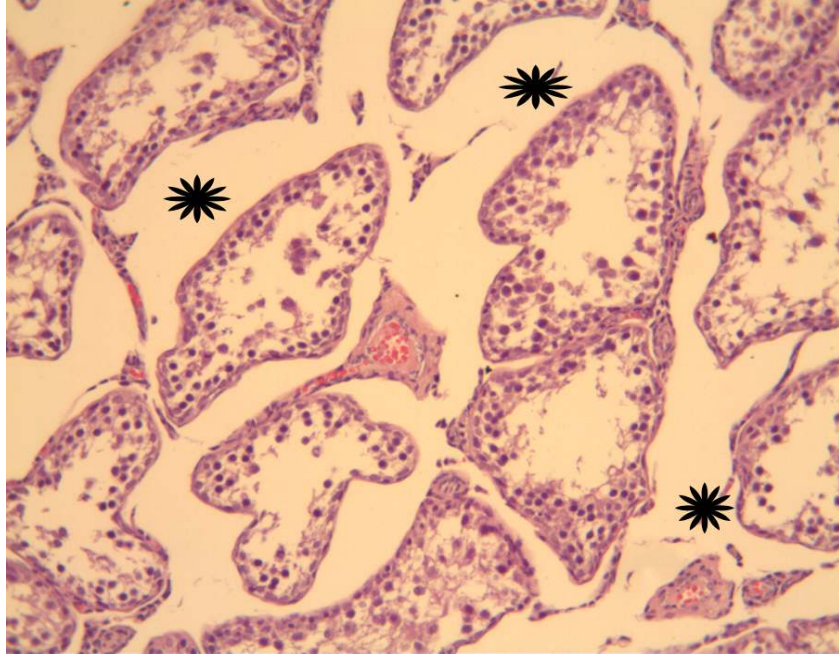
İzlenen bu kalınlaşma kontrol, AG ve DAG grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede anlamlıydı ($P < 0.05$). Seminifer tübüllerin çapları ve germinal epitel yüksekliği kontrol grubuna göre istatistiksel olarak belirgin derecede azalmıştı ($P = 0.009$). 20'lik objektifin gördüğü alanda incelenen seminifer tübüllerin ortalama 3.7 ± 2.1 'nin dejenere, 1.0 ± 1.3 tübülün dökülmüş, 0.7 ± 0.9 'nin dev hücreli, 2.3 ± 1.8 'nin atrofiye ve sadece 0.3 ± 0.8 tübülün sağlam olduğu tespit edildi.

Seminifer tübül yapıları küçülmüş ve birbirlerinden ayrılmış görünümdeydi. Kendilerine özgü şekillerini kaybederek büzülmüş ve düzensizleşmişti (**Resim 15**).



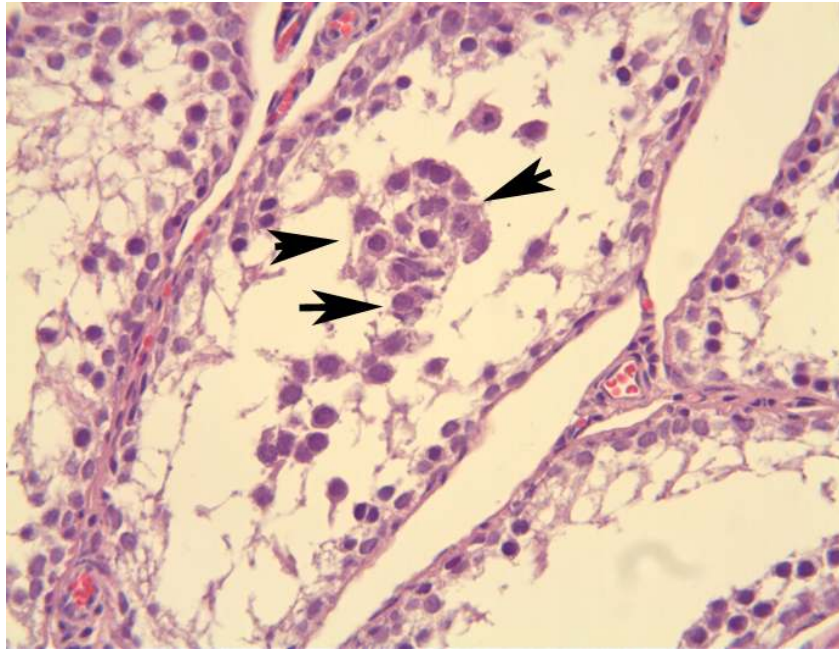
Resim 15. D grubunda büzülmüş ve düzensiz seminifer tübülleri (yıldız) izlenmekte. H-E; X10.

Tübül epitelini oluşturan spermatogenik hücrelerin sayılarının azaldığı, seminifer tübüller arasındaki interstisyel alanda geniş boşluklar oluştuğu ve birbirlerinden ayrıldığı gözlemlendi (**Resim 16**).



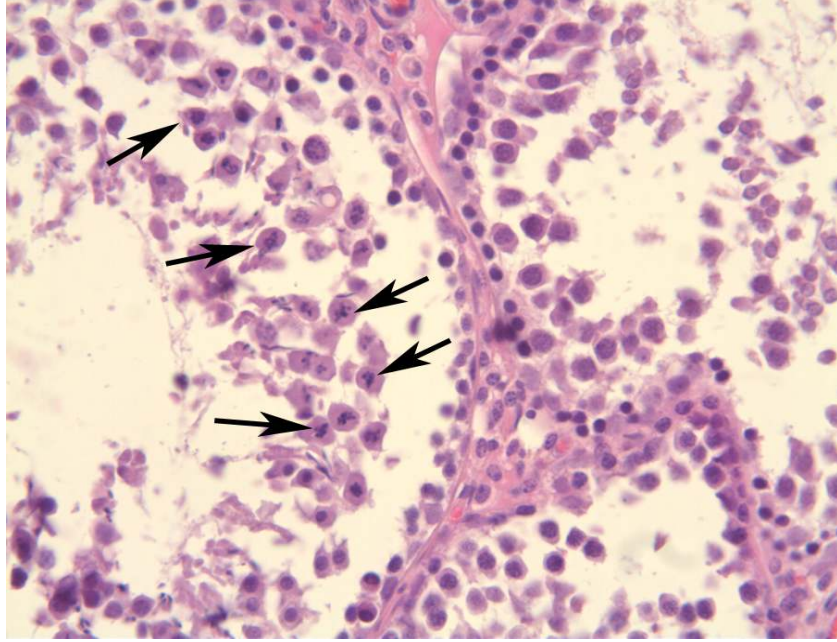
Resim 16. D grubunda interstisyel alanda geniş boşluklar (yıldız). H-E; X20.

Bazı tübüllerde germinatif epitelden ayrılan ve gelişimini tamamlamamış spermatogenik seriye ait hücrelerin lümen içerisinde biriktiği tespit edildi (**Resim 17**).

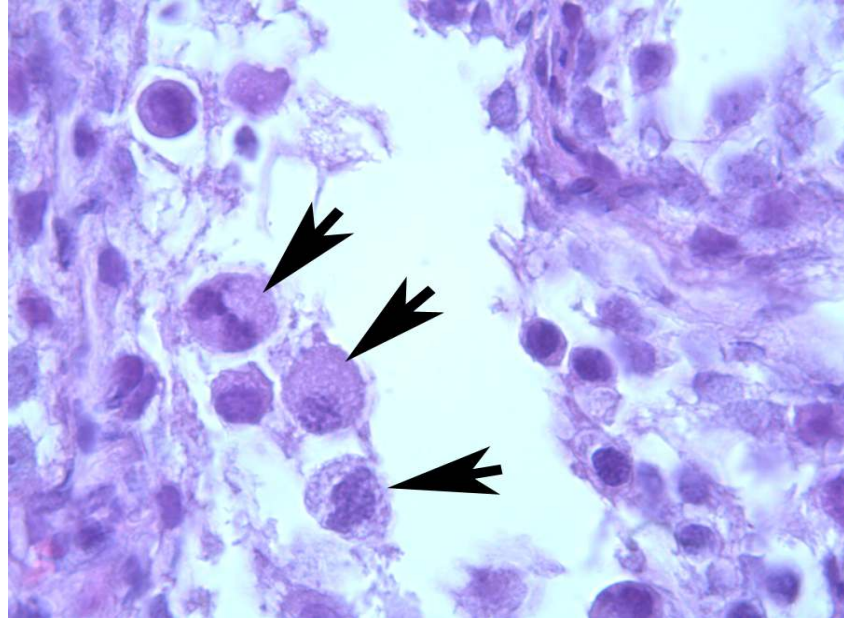


Resim 17. D grubunda lümende biriken spermatogenik seriye ait hücreler (oklar). H-E; X40.

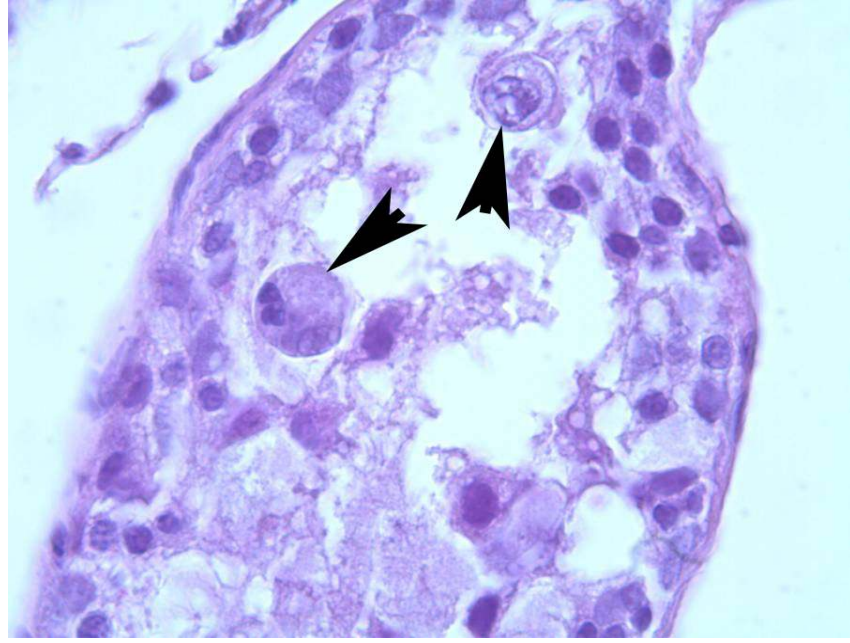
Bazı tübüllerde de eozinofilik sitoplazmalı, mayozun belli aşamalarında duraksamış (**Resim 18**) ve farklı şekillerde izlenen dejenere hücelere rastlandı (**Resim 19, 20**).



Resim 18. D grubunda mayoz bölünme sırasında duraksamış germ hücreleri (oklar). H-E; X40.

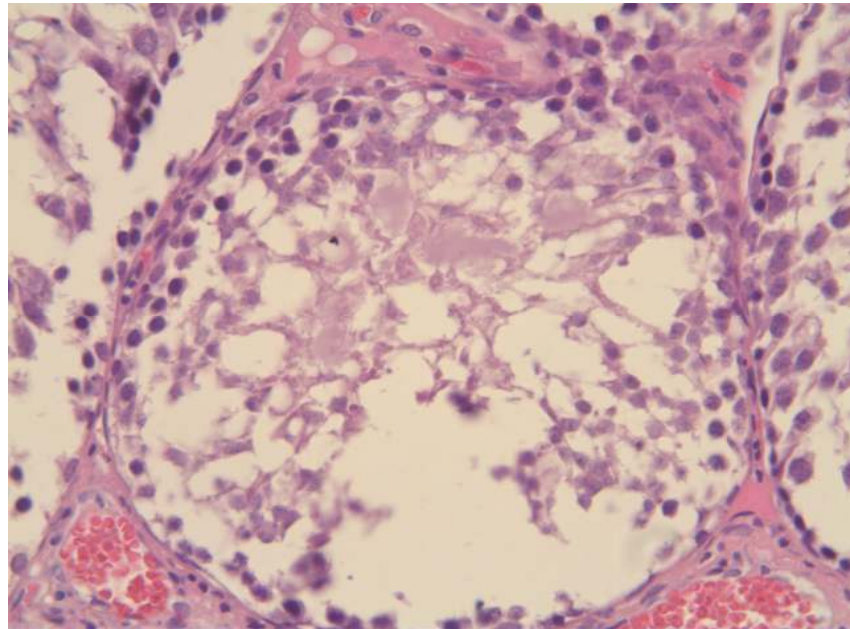


Resim 19. D grubunda dejenere hücreler (oklar). H-E; X100.



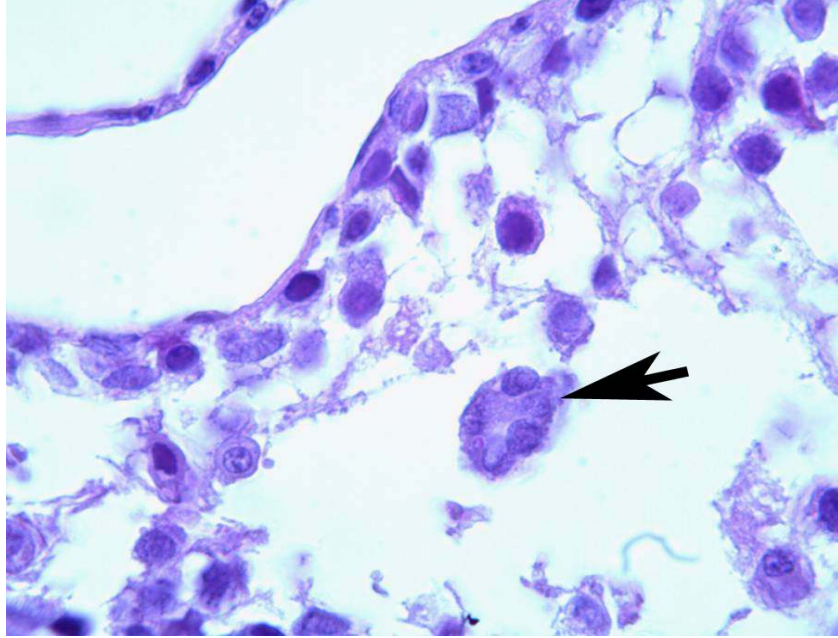
Resim 20. D grubunda dejenere hücreler (oklar). H-E; X100.

Diğer bazı tübüllerde ise germinatif epiteli oluşturan spermatogenik hücreler azalmıştı. Bu seminifer tübüllerde spermatogonyumlar dışında, spermatogenik seriye ait diğer hücrelerin hiçbiri ayırt edilemedi (**Resim 21**).



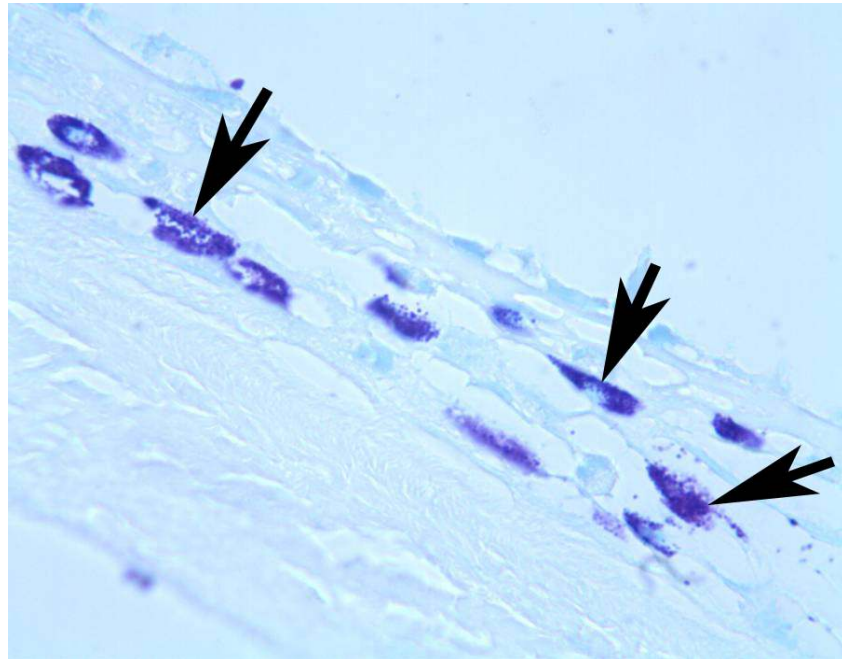
Resim 21. D grubunda, spermatogonyumlar dışında diğer spermatogenik hücreler izlenmemekte. H-E; X40.

Dikkat çeken diğer bir bulgu, birden fazla sayıda nükleus içeren dev hücrelerin görülmesiydi (**Resim 22**).



Resim 22. D grubunda çok nükleuslu dev hücre (ok). H-E; X100.

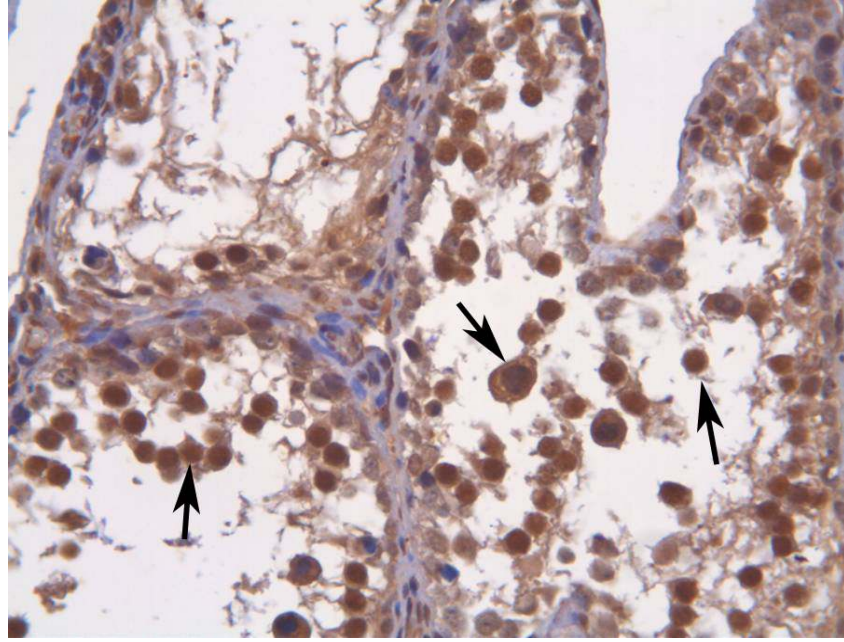
Toluidin mavisi boyama metodu ile mast hücreleri tunika albuginea içerisinde, gruplar halinde ve degranüle olarak gözlemlendi (**Resim 23**).



Resim 23. D grubunda tunika albuginea içinde degranüle olmuş mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi; X100.

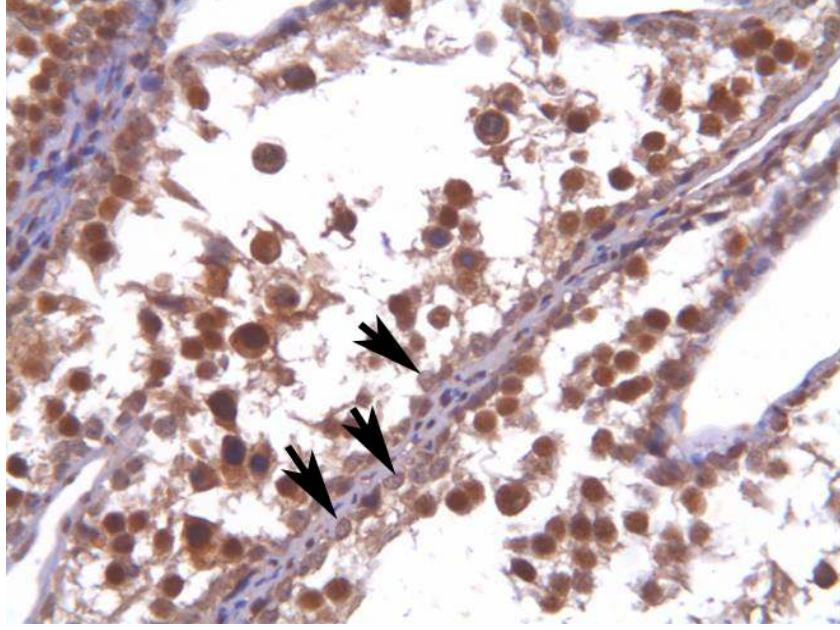
Mast hücre sayısı 24.6 ± 1.8 olarak tespit edildi. Bu gruptaki mast hücre sayısı, diğer bütün gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı ($P<0.05$). Gruplar istatistiksel olarak karşılaştırıldığında mast hücre sayısı en yüksek bu grupta tespit edildi.

Kaspaz-3 immün boyama yöntemiyle boyanan hücrelerin sitoplazmaları boyanmanın şiddetine göre kahverenginin tonlarında boyandı (**Resim 24**).



Resim 24. D grubunda kaspaz-3 pozitif boyanan kahverengi germ hücreleri (oklar). Kaspaz-3; X40.

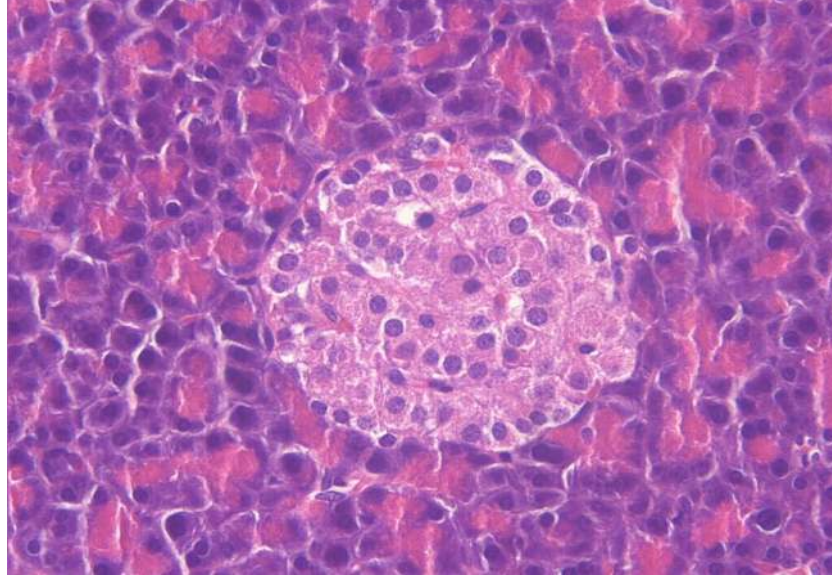
Diyabet grubunda pozitif boyanan hücrelerin yoğunluğu ve sayısı kontrol grubuna göre anlamlı derecede arttı ($P<0.05$). En zayıf boyanma spermatogonyumlarda izlendi (**Resim 25**). Leydig hücreleri, grupların hiçbirinde kaspaz-3 ile pozitif (+) olarak boyanmadı. Seminifer tübüllerin etrafında ve arasında yer alan bağ doku hücreleri de kaspaz-3 ile ayrıca negatif (-) reaksiyon verdiler.



**Resim 25. D grubunda zayıf boyanan spermatogonyumlar (oklar). Kaspaz-3;
X40.**

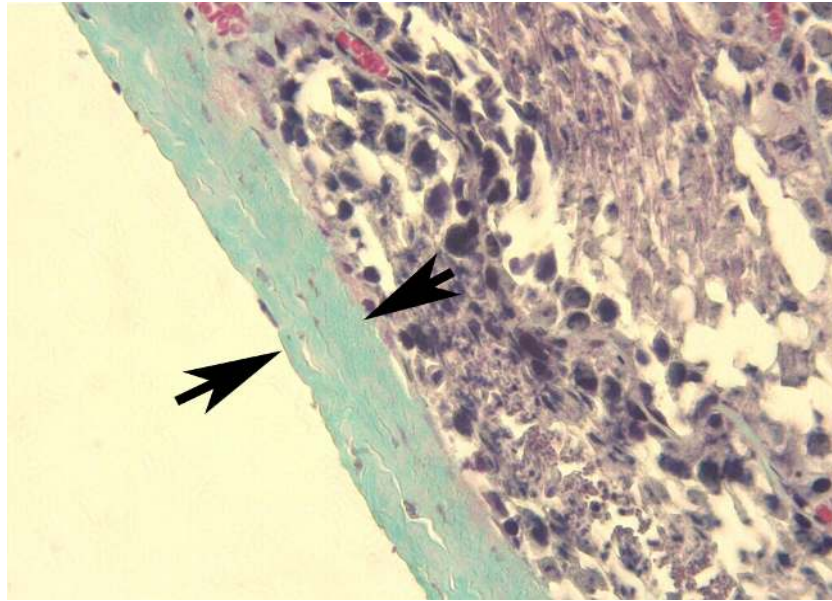
4.4.4. DAG Grubu

Langerhans adacıklarının çapları diyabet grubuna göre daha büyük ve düzenliydi (Resim 26).



Resim 26. DAG grubunda Langerhans adacığının görünümü. H-E; X40.

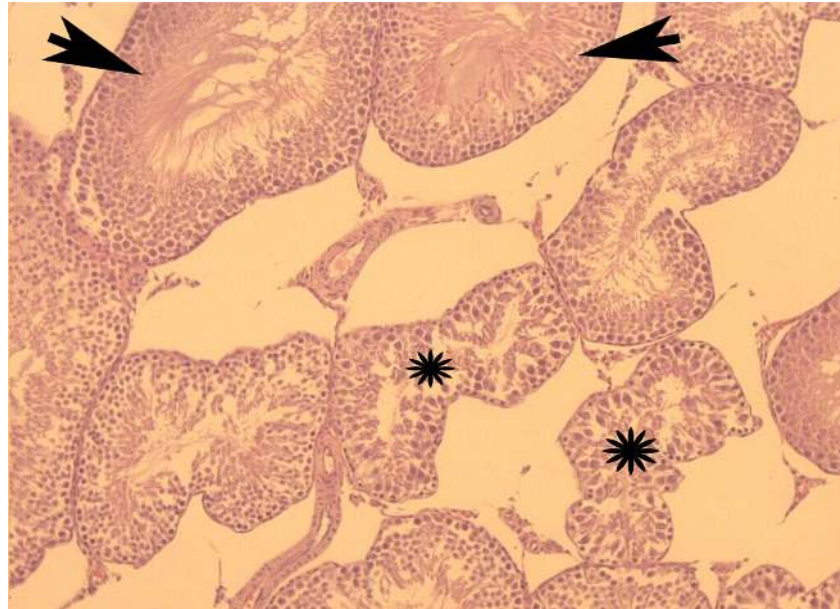
Tunika albuginea kalınlığı 43.03 ± 2.0 μm olarak ölçüldü. Bu grupta tunika albuginea kalınlığı diyabet grubuna göre istatistiksel olarak önemli derecede azalmıştı ($P=0.000$). Ancak kontrol grubu seviyesine ulaşamadı ($P=0.001$) (Resim 27).



Resim 27. DAG grubunda tunika albuginea tabakası (oklar). Masson Trikom; X40.

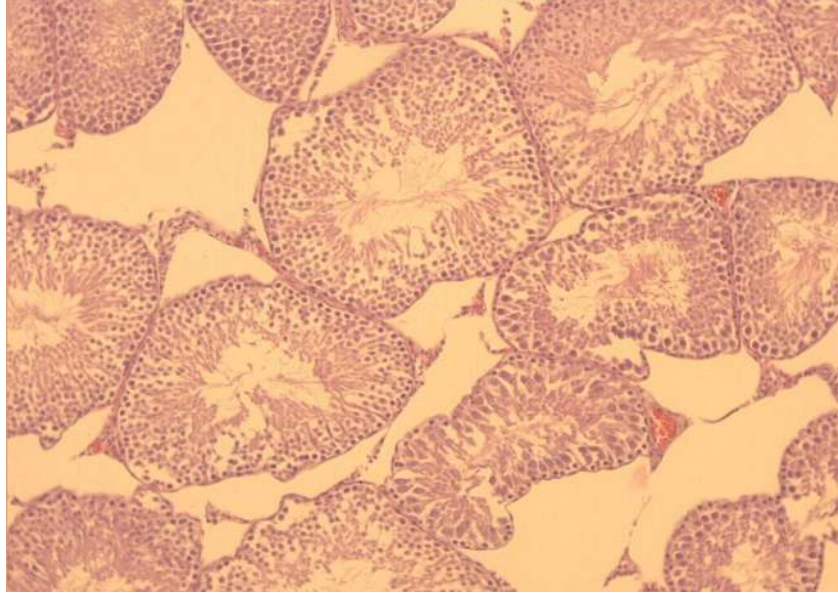
Bu grubun seminifer tübül çapları ($226.3 \pm 8.96 \mu\text{m}$) diyabet grubuna göre artmıştı ve bu artış istatistiksel olarak anlamlıydı ($P=0.009$). Diğer yandan kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, tübül çapları ve germinal epitel yüksekliği bakımından istatistiksel olarak fark anlamsızdı ($P>0.05$). 20'lik objektifin gördüğü alanda incelenen seminifer tübüllerden, ortalama 0.4 ± 0.6 tübülün dejenere, 0.3 ± 0.5 tübülün dökülmüş, 0.04 ± 0.1 'nin dev hücreli ve 0.3 ± 1.0 'nin atrofiye olduğu tespit edildi. Sağlam tübül sayısı 3.8 ± 0.8 'di. Diyabet grubuna göre sağlam tübül sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede artmıştı ($P=0.00$).

Diyabet grubuna göre seminifer tübüllerin çoğu daha düzenli ve sağlamdı. Ancak bazı tübüller normal şekilleri dışında yer yer küçülmüş ve büzülmüş şekilde gözlemlendi (**Resim 28**).



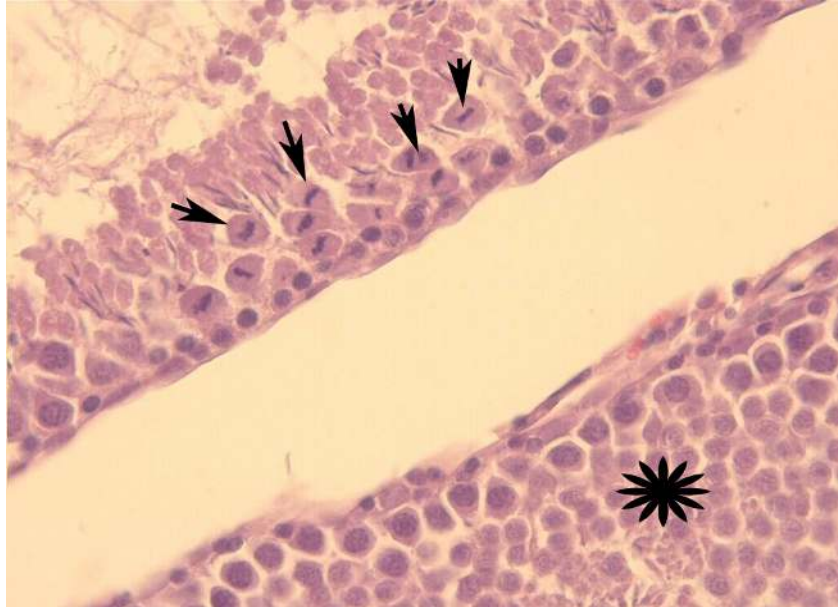
Resim 28. DAG grubunda sağlam (oklar) ve büzülmüş (yıldızlar) tübüller. H-E; X10.

Diyabet grubunda tübüller arasında izlenen geniş interstisyel boşluklar bu grupta izlenmedi (**Resim 29**).



Resim 29. DAG grubunda seminifer tübülleri ve interstisyel alanların görünümü. H-E; X10.

Mayozun belli aşamalarında duraksamış spermatogenik hücelere DAG grubunda da rastlandı. Duraksamış spermatogenik hücelere içeren tübül sayısı diyabet grubuna göre daha seyrek olarak izlendi. Bu tübüllerin etrafında normal gelişimini sürdüren germinatif epitele sahip sağlam tübüller yer almaktaydı (**Resim 30**).



Resim 30. DAG grubunda mayoz bölünme sırasında duraksamış germ hücreleri (oklar) ve hemen yanında sağlam bir tübül (yıldız). H-E; X40.

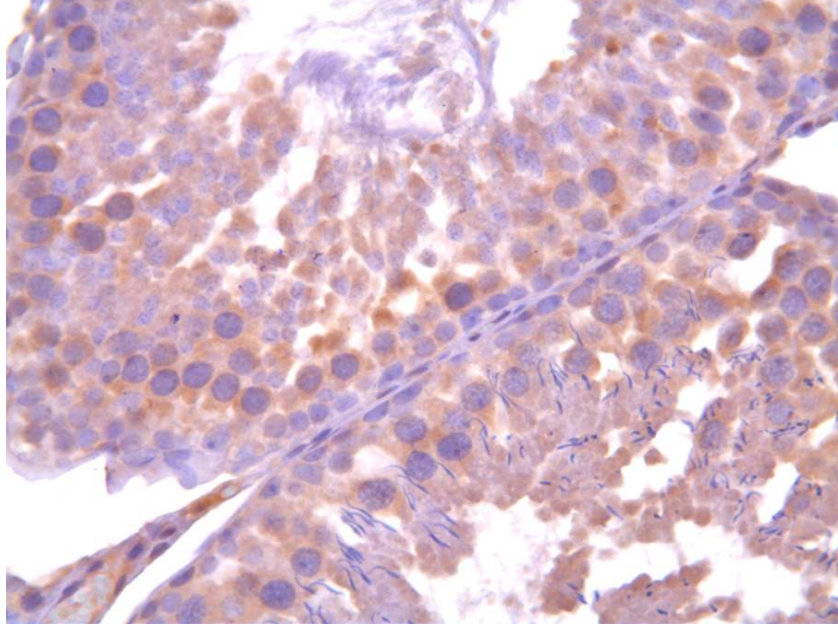
Toluidin mavisi boyama metodu ile bu grupta da mast hücreleri tunika albuginea içerisinde, tek tek veya gruplar halinde gözlemlendi (**Resim 31**).



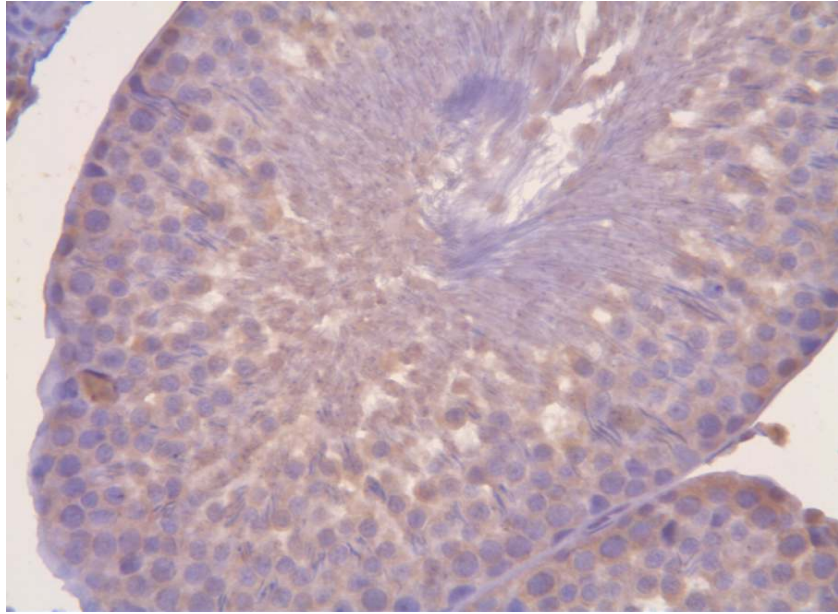
Resim 31. DAG grubunda tunika albuginea tabakasında mast hücreleri (oklar). Toluidin mavisi; X40.

Mast hücre sayısı 18.2 ± 1.9 olarak tespit edildi. Diyabet grubuna göre bu grupta mast hücre sayısı istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı ($P=0.036$). Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise aradaki fark istatistiksel olarak anlamsız bulundu ($P>0.05$).

Kaspaz-3 immün boyama yöntemi ile şiddetli (+++) pozitif boyanan hücrelerin sayısı diyabet grubuna göre anlamlı derecede azaldı ($P=0.004$) (**Resim 32**). Orta şiddette boyanan hücreler ise en çok bu grupta gözlemlendi (**Resim 33**).



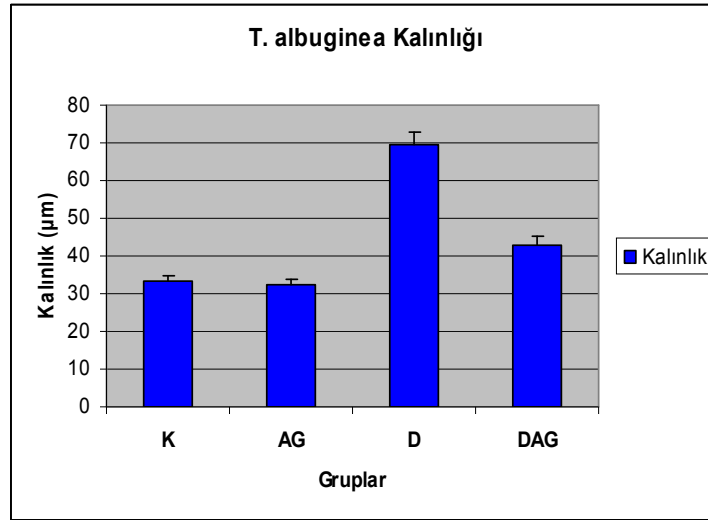
Resim 32. DAG grubunda kaspaz-3 pozitif boyanan germ hücreleri. Kaspaz-3; X40.



Resim 33. DAG grubunda kaspaz-3 orta şiddette boyanan germ hücreleri. Kaspaz-3; X40.

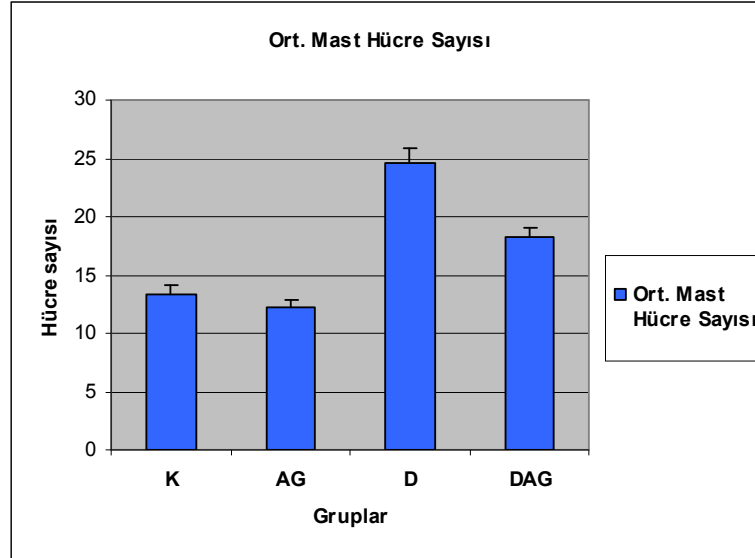
Seminifer tübüllerinin çap-germinal epitel yükseklik ölçümleri **Tablo IV**'de, histolojik skorlama bulguları **Tablo V**'de, kaspaz-3 ile boyanan hücre sayısı-yoğunluğu **Tablo VI**'da verildi. Ayrıca grupların tunika albuginea kalınlık ölçümleri **Grafik 2**'de ve ortalama mast hücre sayıları **Grafik 3**'de gösterildi.

Grafik 2. Grupların ortalama tunika albuginea kalınlıkları ve istatistiksel P değerleri.



Gruplar	P Değeri
K - D	0.000
K - DAG	0.001
D - DAG	0.000
K - AG	> 0.05 (FY)

Grafik 3. Grupların tunika albuginea tabakasındaki ortalama mast hücre sayıları ve istatistiksel P değerleri.



Gruplar	P Değeri
K - DAG	0,17
K - D	0,036
D - DAG	0,036

Tablo IV. Seminifer tübül çapları ve germinal epitel kalınlıkları ölçümü ve istatistiksel P değerleri.

	Gruplar			
Parametre	K	AG	D	DAG
TÇ (µm)	254.6 ± 5.17	233.4 ± 6.39	142.0 ± 19.27	226.3 ± 8.96
GEY (µm)	64.5 ± 0.83	60.1 ± 2.08	38.6 ± 5.42	61.4 ± 1.93
P Değerleri				
Gruplar	TÇ		GEY	
K - D	0.009		0.009	
D - DAG	0.009		0.009	
K - DAG	0.05 (FY)		0.35 (FY)	
K - AG	> 0.05 (FY)		> 0.05 (FY)	

Not: TÇ : Tübül çapı , GEY : Germinal Epitel Yüksekliği.

Tablo V. Histolojik skorlama bulguları ve istatistiksel P değerleri.

Gruplar	Sağlam	Dejenere	Dökülmüş	Dev hücreli	Atrofiye
K	4.4 ± 0.7	0.0 ± 0.0	0.04 ± 0.1	0.0 ± 0.0	0.06 ± 0.0
AG	4.2 ± 0.9	0.06 ± 2.3	0.1 ± 0.3	0.0 ± 0.0	0.06 ± 0.0
D	0,3 ± 0.8	3.7 ± 2.1	1.0 ± 1.3	0.7 ± 0.9	2.3 ± 1.8
DAG	3.8 ± 0.8	0.4 ± 0.6	0.3 ± 0.5	0.04 ± 0.1	0.3 ± 1.0
P Değerleri					
Gruplar	Sağlam	Dejenere	Dökülmüş	Dev hücreli	Atrofiye
D - DAG	0.00	0.00	0.014	0.000	0.000
D - K	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
K - DAG	0.001	0.000	0.000	0.15 (FY)	0.14 (FY)

Tablo VI. İmmünohistokimyasal analiz bulguları ve istatistiksel P değerleri.

Gruplar	KASP 0	KASP +	KASP ++	KASP +++
K	11.3 ± 3.2	8.6 ± 3.2	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
AG	8.6 ± 1.9	11.3 ± 1.9	0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
D	0.0 ± 0.0	0.5 ± 0.5	6.1 ± 1.8	13.1 ± 2.0
DAG	2.3 ± 3.6	7.5 ± 3.1	9.0 ± 3.5	1.1 ± 1.3
P Değerleri				
Gruplar	KASP 0	KASP +	KASP ++	KASP +++
D - DAG	0.14	0.003	0.1	0.004
D - K	0.002	0.003	0.002	0.002
K - DAG	0.004	0.4 (FY)	0.002	0.06 (FY)

Not: **KASP 0:** Kaspaz ile boyanmayan tübül sayısı. **KASP+:** Zayıf boyanan tübül sayısı. **KASP++:** Orta şiddette boyanan tübül sayısı. **KASP+++:** Şiddetli boyanan tübül sayısı.

4.5. Biyokimyasal Bulgular

Diyabet grubundan alınan testis dokularındaki MDA seviyelerinin, kontrol grubuna ait değerler ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde artmış olduğu tespit edildi ($P=0.004$). Diğer yandan, AG verilmesi MDA seviyesini önemli derecede azalttı. DAG grubu MDA seviyesi, D grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı ($P=0.01$). DAG ile kontrol seviyeleri arasındaki istatistiksel fark anlamsızdı ($P>0.05$).

Diyabet grubundaki sıçanların testis dokularındaki SOD, CAT ve GSH aktivitelerinin ise kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü. Ancak DAG grubunda SOD, CAT ve GSH aktiviteleri diyabet grubuna göre artmıştı. Bu artış istatistiksel olarak önemliydi ($P=0.004$). DAG grubunda CAT dışında bütün biyokimyasal parametreler kontrol grubuna benzerdi.

NO seviyesi (nitrat ve nitrit) en yüksek diyabet grubunda (442.256 ± 38.03) sonra sırasıyla kontrol grubu (307.148 ± 37.68), DAG grubu (221.86 ± 21.7) ve en düşük AG grubunda (201.282 ± 22.48) tespit edildi. Diyabet grubundaki NO seviyesi kontrole göre istatistiksel olarak önemli derecede yükselmişti ($P=0.03$). Ancak AG verilmesi NO seviyesini belirgin olarak düşürdü. Nitekim D ile DAG grubu arasındaki fark istatistiksel olarak önemliydi ($P=0.004$). Grupların biyokimyasal analiz bulguları ve istatistiksel P değerleri **Tablo VII**'de verilmiştir.

Tablo VII. Biyokimyasal analiz bulguları ve istatistiksel P değerleri.

Gruplar	CAT (U/mg protein)	SOD (U/mg protein)	MDA (nmol/mg protein)	GSH (nmol/mg protein)	NO (nmol/mg protein)
K	7.704 ± 0.37	34.475 ± 0.92	1.576 ± 0.09	26.472 ± 0.97	307.148 ± 37.68
AG	6.270 ± 0.92	32.275 ± 0.43	1.165 ± 0.08	25.136 ± 2.50	201.282 ± 22.48
D	3.699 ± 0.23	25.428 ± 0.81	2.62 ± 0.24	15.371 ± 1.12	$442,256 \pm 38.03$
DAG	6.196 ± 0.49	32.662 ± 1.10	1.237 ± 0.18	25.490 ± 0.77	221.86 ± 21.7
P Değerleri					
Gruplar	CAT	SOD	MDA	GSH	NO
D - K	0.004	0.004	0.004	0.004	0.03
D - DAG	0.004	0.004	0.01	0.004	0.004
K - DAG	0.003	0.26	0.07	0.7	0.07

5. TARTIŞMA

Diyabetin neden olduğu kronik komplikasyonların patogeneğinde artmış oksidatif stres ve İGSÜ'lerin önemli olduğu bilinmektedir (2). Bu çalışmada; deneysel diyabet oluşturulan sıçanların testislerinde meydana gelen hasar üzerine antioksidan ve İGSÜ oluşumunu engelleyici özellikleri bilinen AG'nin tedavi edici özellikleri araştırıldı.

Tip I deneysel diyabet modelleri, pankreatik β hücrelerine toksik etkisi olan ajanların verilmesi ile oluşturulmaktadır. Bu amaçla en sık kullanılan kimyasallar Alloxan ve STZ'dir. Sıçanlarda diyabet oluşturmak için STZ, 40–60 mg/kg dozunda ve tek enjeksiyon şeklinde uygulanmaktadır (10, 63, 64). Biz bu çalışmada, streptomyces chromogen tarafından üretilen bir antibiyotik olan STZ'yi 45 mg/kg ve tek doz olarak kullandık. STZ enjeksiyonu yapılan sıçanlarda deneyin 3. gününden deneyin sonuna kadar hiperglisemi izlendi. AG ile tedavi edilen grupta ise kan glikoz değerleri diyabet grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmıştı. Bu sonuçlar, diyabetik sıçanlara uygulanan 8 haftalık AG tedavisinin plazma glikoz seviyeleri üzerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğunu bildiren Liptakova ve ark. (2), Vardı ve ark. (65) ve diğer çalışmalar (66, 67) ile uyumludur.

STZ, β hücrelerine glikoz taşıyıcı GLUT-2 ile girer ve DNA alkilasyonuna neden olur (metil-etil gruplarının DNA iskeletindeki fosfatlara bağlanması). Oluşan bu DNA hasarı ADP-ribozilasyonunun aktivasyonuna neden olur. Oluşan bu DNA hasarı Poly ADP-ribozilasyonu (DNA hasarı tespiti ve tamirinde rol oynar, enzimleri PARP'tır ve substrat olarak NAD'a ihtiyaç duyar), hücrel NAD ve ATP yıkımına yol açar. Yükselmiş ATP defosforilasyonu, ksantin oksidaz için substrat vererek süperoksit radikallerinin ($O^{\cdot}$) oluşumuna yol açar. Sonrasında hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hidroksil radikalleri meydana gelir. Çünkü süperoksit radikalleri SOD ile H_2O_2 'ye dönüştürülürler (69). STZ'nin bir NO vericisi olduğu anlaşıldıktan sonra, β hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisinde NO'nun da rolü olduğu birçok çalışma ile doğrulanmıştır (68). Ancak STZ'nin sitotoksik etkisinde tek sorumlu molekülde NO değildir (69). Sonuç olarak; STZ'nin diyabetojenik etkisini β hücrelerinde hem NO hem de reaktif oksijen radikallerinin üretimine neden olarak gösterdiği bilinmektedir.

Nitekim NOS inhibitörleri ve antioksidanlar uygulanmasının STZ'nin neden olduğu hiperglisemiye durdurduğu gözlenmiştir. Kısa ve uzun süreli deneysel diyabet çalışmalarında, diyabetik sıçanların vücut ağırlıkları düzeylerinde kontrol grubuna göre azalma olduğu bildirilmiştir (67, 70–73, 92, 99). Bu çalışmada da diyabet grubundaki sıçanların, kontrol grubundaki sıçanlara göre belirgin oranda kilo kaybettiğini saptadık. Çam ve ark. (71), Aksoy ve ark. (99) ve Ünlüerçi ve ark. (67), antioksidan tedavisinin diyabetiklerde vücut ağırlığı üzerine önemli bir etkisinin olmadığını rapor ettiler. Diğer yandan Güneli ve ark. (73) ve Andallu ve ark. (92) serbest radikal süpürücü özellikteki doğal ya da kimyasal ajanların, diyabetik sıçanlarda kilo kaybını önlediğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda ise AG verilen diyabetik sıçanlar, diyabetik sıçanlara göre istatistiksel olarak anlamlı derecede kilo kazandı. Diyabetik sıçanlarda izlenen vücut ağırlık kaybı hiperglisemik duruma bağlı olarak oluşan doku proteinlerinin aşırı yıkımı sonucu meydana gelen kas kaybına bağlanmıştır (92). AG ile vücut ağırlığının düzelmesinde muhtemelen hipergliseminin belli oranda kontrol altına alınması ve bu şekilde yıkımın azalmasının rolü olabilir.

Ricci ve ark. çalışmalarında, 12 mmol'den yüksek kan glikoz seviyelerine sahip sıçanlarda dramatik olarak vücut ve testis ağırlıklarında azalma izlendiğini, kan glikoz seviyesi 8 ile 12 mmol oranda olan sıçanlarda vücut ağırlığında bir değişiklik gözlenmezken, testis ağırlığının önemli derecede azaldığını bildirmektedir (70). Navarro-Casado, diyabetik sıçanların testis ağırlıklarında kontrollere göre %20 azalma olduğunu rapor etmiştir (91). Bizim de çalışmamızda tespit ettiğimiz diğer bir bulgu, diyabetik sıçanların testis ağırlıklarında, kontrol grubu sıçanlara göre belirgin bir azalmaydı.

Testiküler hacmin %90'nını seminifer tübüller oluşturmaktadır. Seminifer tübüllerdeki hasar testis ağırlığını da etkilemektedir. Erkek fertilitesi, spermatogonyumların devamlı kendini yenilemesi ve spermatogenik hücrelere farklılaşmasına bağlıdır. Birçok araştırmacı tarafından diyabetin seminifer tübül çapında azalma, germinatif epitelde organizasyon bozukluğu ve mayozun farklı basamaklarındaki germ hücrelerinin lümene dökülmesine neden olduğu rapor edilmiştir (70, 91). Bizde çalışmamızda, literatür bilgileriyle uyumlu olarak, diyabetin seminifer tübüllerinde atrofiye, henüz olgunlaşmamış spermatogenik

hücrelerin birbirinden ayrılarak lümene dökülmesine ve apoptoza yol açtığını gözlemledik.

Sayım (74), germinal epitel hücrelerinin birbirinden ayrılması ve lümene dökülmelerinin, hücreler arasındaki bağlantıların bozulmasının bir göstergesi olduğunu bildirmiştir. Nitekim Ricci ve ark. (70), STZ verilen sıçanların testis dokularında okludin dağılımının bazı tübüllerde düzensiz, diğer bazı tübüllerde ise hiç bulunmadığını rapor etmiştir. Ayrıca artmış oksidatif stresin seminifer tübüllerde E-kadherin ve α -katenin ifadelerini önemli derecede azalttığı bildirilmektedir (97). Diğer yandan diyabetin testislerde küçük damar yoğunluğunu arttırdığı ve böylece testiküler ısıyı arttırarak spermatogenik hücre gelişimini olumsuz yönde etkilediği rapor edilmiştir (75).

Kaspazların apoptozis sürecinde proteolitik yarıklanma kaskadını başlattığı ve böylece apoptotik olayların gelişiminde kritik bir rol oynadıkları bilinmektedir. Kaspaz ailesinin 14 üyesinden biri olan kaspaz-3, apoptozun erken basamaklarında aktive olan anahtar bir proteazdır (80). Bu çalışmada testiküler dokudaki apoptotik hücreler, kaspaz-3 aktiviteleri kullanılarak belirlendi.

Diyabetin testis dokusunda oksidatif stresi arttırdığı önceki çalışmalarda gösterildi (4, 76, 77). Artmış oksidatif stres altında, reaktif oksijen radikalleri DNA ve proteinlerin oksidatif hasarı ile membran lipid peroksidasyonunu içeren çeşitli mekanizmalarla hücresel hasara neden olur. Oksidatif stres güçlü bir apoptoz mediyatörü olarak bilinmektedir. Apoptotik süreçte mitokondri önemli bir rol oynar. Oksidatif stresle oluşan mitokondriyal hasar sitokrom C'nin salınımına, ardından da kaspaz aktivasyonuna ve sonuç olarak apoptotik ölümüne neden olur (78). Deneysel diyabette LH ve FSH hormonlarının serumda düşük seviyelerde tespit edilmiştir. Diğer yandan LH ve FSH seviyelerinin azalması, germ hücrelerinin farklı gelişim basamaklarında apoptoza uğramasına neden olmaktadır (79). Diyabette testiküler fonksiyon bozukluklarının apoptotik hücre ölümü nedeniyle olduğu düşünülmektedir (75).

Apoptozu indükleyen moleküllerden biri de NO'dur. NO aracılı apoptozisde bir kaspaz-3 substratı olan poly (ADP-riboz) polimeraz (PARP) enziminin yıkıldığı saptanmıştır. Yani NO oluşumu kaspaz aktivasyonunu arttırır. Bu nedenle NO inhibisyonu sağlanarak kaspaz-3 aracılı apoptotik süreç inhibe edilebilir (80). Bu

çalışmada, diyabetik grupta kaspaz pozitif hücrelerin sayısı ve yoğunluğunun önemli derecede arttığı gözlemlendi. AG verilmesi, apoptotik germ hücrelerinin sayısını ve aktivitelerini azalttı. Hammes ve arkadaşları da *in vivo* olarak diyabetin neden olduğu müller hücre apoptozunu AG tedavisiyle önlediklerini bildirmiştir (96). AG verilmesiyle apoptotik hücrelerin azalmasında, oksidatif stres ve NO inhibisyonunun rolü olduğunu düşünmekteyiz.

Bu çalışmada, diyabet grubunda MDA ve NO seviyeleri artarken SOD, CAT ve GSH aktiviteleri azaldı. Diyabet, serbest radikal üretiminin artması ve antioksidan savunma sisteminin bozulması ile seyreder. Hipergliseminin; glikolizisin artması, intraselüler sorbitol (polyol) yolunun aktivasyonu, glikoz oto-oksidasyonu ve non-enzimatik glikozilasyon gibi 4 farklı yolla serbest radikal oluşumunu arttırdığı bilinmektedir. Glikoz, reaktif ketoaldehit ve süperoksit radikallerine okside olur. Süperoksit anyonları SOD ile H_2O_2 'ye dönüşür. Eğer CAT veya Glutatyon peroksidaz (GPx) ile parçalanmazsa reaktif hidroksil radikallerinin oluşumuna yol açar. Üstelik süperoksit anyonları NO ile de birleşip reaktif peroksinitrit radikallerine de dönüşebilir (83). NO aktivitesinin son ürünü olan nitrat ve nitritin diyabetik sıçanlarda yükseldiği gözlemlendi. Benzer sonuçlar Anwar (93), Angerred (94) ve Welsh (95) tarafından da bildirildi. Her ikiside NO'dan daha güçlü oksidatif ve sitotoksik etkiye sahiptir.

Hücrede ROR'un kontrolü, enzimatik (SOD, CAT) ve non-enzimatik (GSH) antioksidanlardan oluşan antioksidan savunma sistemi tarafından düzenlenir. Aşırı miktarda ortaya çıkan serbest radikaller hücresel proteinlere ve nükleik asitlere bağlanarak zarar verir (83). Ayrıca membrandaki düşük yoğunluklu lipoprotein lipid peroksidasyonunu artırır. MDA dokularda lipid peroksidasyonunu göstermek için kullanılan en yaygın parametredir. MDA seviyelerinde yükselme, serbest radikaller tarafından oluşturulan hücre membran hasarını gösterir. Kanter ve ark. (77) diyabette testis dokusunda MDA seviyesinin yükseldiğini rapor etmiştir. Sperm plazma membranı, polisatüre yağ asitleri ve sfingomiyelin içeriği yüksek spesifik bir lipid kompozisyonuna sahip olduğundan, serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyonuna diğer hücrelere göre daha hassastır (84).

SOD ve CAT enzim aktivitesinde ve GSH seviyesinde azalma, oksidatif stresin artması anlamına gelmektedir. Nitekim hiperglisemi, hücrelerde NADPH'ı azaltarak

GSH seviyesinin azalmasına neden olmakta ve hücreyi ROR'lara karşı zayıflatıp, oksidatif stresi arttırmaktadır. Hücre içerisinde biriken glikoz, polyol yoluyla metabolize edilir. Glikoz, aldoz redüktaz ile sorbitole indirgenir. Aldoz redüktaz aktivitesi için NADPH gereklidir. Polyol yolunun aktifleşmesi, intraselüler NADPH miktarını azaltır. GSH için gerekli olan bu kofaktörün yokluğu, serbest radikal hasarına karşı hücreleri korumada önemli olan GSH seviyesini düşürür (85). Böylece reaktif metabolitler GSH'ye bağlanamaz ve büyük ölçüde doku proteinlerini, lipidleri ve makromolekülleri okside eder (86).

Çalışmamızda AG tedavisinin, diyabetin neden olduğu lipid peroksidasyonunu önemli derecede düşürdüğü gözlemlendi. Ayrıca SOD ve CAT aktivitesi ve GSH seviyesi de diyabetik gruba göre önemli ölçüde yükseldi. Philis-Tsimikas, AG'nin ROR oluşumu ve lipid peroksidasyonunu inhibe ettiğini daha önceki çalışmalarında rapor etmiştir (81). Giardino, AG'nin hidroksi radikalleri üzerine etkisini araştırmıştır. AG konsantrasyonu arttıkça hidroksillenmiş benzoat konsantrasyonunun azaldığını gözlemlemiştir (82). Ayrıca Agardh, AG'nin aynı zamanda hem reaktif okso-gruplarını bloke ederek, hem de dikarboksilleri süpürerek de gliko-oksidasyon sürecini inhibe edebileceğini bildirmiştir (3).

Çalışmamızda diyabet grubundaki sıçanların tunika albuginea kalınlıklarında kontrollere göre belirgin bir artış izledik. Tunika albuginea testisi dışarda saran bir bağ doku kapsülüdür. Diyabette tunika albuginea kalınlaşması, hiperglisemiyle aktive olan bağ doku elemanlarına bağlı olabilir. Yüksek glikoz içeren medyumlarda kültüre edilmiş hücrelerde Tip-IV kollajen, laminin ve fibronektin sentezinin, kontrole göre %50–60 arttığı gösterilmiştir (87).

Karbonhidratların karbonil grupları ile proteinlerin amino grupları arasında non-enzimatik glikoksidasyon reaksiyonları aracılığıyla oluşan reaktif İGSÜ'ler, plazma glikoz oranlarının arttığı durumlarda artar ve makromoleküllere bağlanarak, hücrenin normal işlev gösterme yeteneğini bozan büyük, çapraz bağlı; glioksal, metilglioksal ve 3-deoksiglukazon (3-DG) gibi oksoaldehit moleküllerinin oluşmasına neden olur. İGSÜ türevi bu bileşikler, fizyolojik sistemlerde birikerek, hücre proteinlerinin yapı ve fonksiyonlarını bozar ve glikozillenmiş proteinlerden ROR oluşumuna neden olur (24, 31). Ayrıca hiperglisemide artan İGSÜ modifiye proteinlerin, fare ve insanda Tip-IV kollajen stimülasyonunu aktive ettiği bildirilmiştir (98). Diyabette tunika

albuginea kalınlaşmasında hem yüksek hiperglisemik durum, hem de İGSÜ modifiye proteinlerinin etkisi olabilir.

Çalışmamızda tunika albuginea mast hücreleri sayısının, diyabet grubunda kontrollere göre önemli ölçüde arttığını gözlemledik. Mast hücreleri, sıçan, fare, köpek, kedi, boğa, domuz ve geyik gibi hayvanlarda tunika albuginea içinde veya yakınındaki kan damarlarıyla ilişkili olarak yerleşmektedir. Bu hücrelerin esas salgılama ürünü olan serin proteaz triptaz enzimi, fibroblastlar için potansiyel bir mitojen gibi görev yapmakta ve kollajen sentezini arttırarak fibrozis ve sklerozis gibi erkek infertilitesinde gözlenen histolojik değişikliklere sebep olabilmektedir (88). Bu nedenle diyabette izlenen tunika albuginea kalınlaşmasında mast hücrelerinin de rolü olabileceğini düşünmekteyiz. AG verilen sıçanlarda tunika albuginea kalınlığı diyabet grubuna göre önemli derecede azalmıştı.

Diyabetik sıçanlarda NO üretiminin artması, profibrotik yolları uyarak diyabetik komplikasyonların ilerlemesine neden olmaktadır. AG, NOS inhibisyonu ile profibrotik sitokin üretimini baskılayarak tunika albuginea kalınlaşmasını önlemiş olabilir. Diyabetle ilgili yapılan çalışmalarda, hipergliseminin iNOS enzimini uyarıp NO üretimini arttırdığı bildirilmektedir (89, 90). iNOS ile yüksek miktarda üretilen NO, proinflatuar ve profibrotik yolları uyarak diyabetik komplikasyonların ilerlemesine neden olmaktadır. AG uygulanmasının, gerek NOS inhibisyonu, gerek yüksek profibrotik sitokin üretimini baskılaması sonucu diyabetik komplikasyonları iyileştirdiği düşünülmektedir (66).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmanın sonucunda, STZ ile oluşturulan diyabetin, sıçan seminifer tübüllerinde atrofi, tunika albuginea tabakasında kalınlaşma ve mast hücre sayısında artış, tübül çapları ve germinatif epitel yüksekliklerinde azalma, spermatogenik hücrelerde dökülme, dejenerasyon ve apoptoza neden olduğu gözlemlendi. Ayrıca biyokimyasal analizlerde, MDA ve NO seviyelerinde artış ve CAT, SOD ve GSH aktivitelerinde azalma saptandı.

Diğer yandan diyabetik sıçanlara AG verilmesinin, diyabetin testislerde meydana getirdiği hasarı hafiflettiği gözlemlendi. Nitekim, çalışmamızda AG verilen sıçanlarda diyabet grubuna göre, kan glikoz seviyelerinde azalma gözlenirken, vücut ve testis ağırlıklarında artma gözlemlendi. Bu grupta Seminifer tübülleri daha düzgün yapıda izlendi. Tübül çapları ve germinatif epitel yükseklikleri kontrol grubuna benzerdi. Spermatogenik seri hücrelerinde dökülme, dejenerasyon ve apoptozun diyabet grubuna göre hafiflediği izlendi. Ayrıca diyabet grubuna göre MDA ve NO seviyelerinde azalma gözlenirken, CAT, SOD ve GSH aktivitelerinde belirgin bir artış gözlemlendi.

Sonuç olarak bu çalışma, kronik AG uygulanmasının sıçanlarda, STZ ile oluşturulan diyabetin neden olduğu testiküler hasarı hafiflettiğini göstermektedir. Serbest radikal süpürücü ve iNOS inhibitörü olan AG'nin, diyabetik komplikasyonların önleminde hem antioksidan özelliğinin, hem de NO inhibisyonu özelliğinin etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Bununla birlikte, AG'nin diyabette etkinliği üzerine daha ileri çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

1. Crawford, J.M., Cotran, R.S. (1999). The Pancreas. In: Cotran, R.S., Kumar, V., Collins, T. *Robbins Pathologic Basis of Disease* (6th ed.). Philadelphia: WB Saunders Company. 913-20.
2. Liptakova, A., Carsky, J., Ulicna, O., Vancova, O., Bazek, P. (2002). Influence of β - Resorcyldene aminoguanidine on selected metabolic parameters and antioxidant status of rats with diabetes mellitus. *Physiol Res*; 51, 277–284.
3. Agardh, C.D., Stenram, U., Torffvitt, O., Agardh, E. (2002). Effects of inhibition of glycation and oxidative stress on the development of diabetic nephropathy in rats. *Journal of Diabetes and Its Complications*; 16, 395–400.
4. Baynes, J.W., Thorpe, S.R. (1999). Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes*; 48, 1–9.
5. Wolff, S.P., Jiang, Z.Y., Hunt, J.V. (1991). Protein glycation and oxidative stress in diabetes mellitus and ageing. *Free Radic Biol Med*; 10, 339–52.
6. Armağan, A., Uz, E., Yılmaz, H.R., Soyupek, S., Oksay, T., Özçelik, N. (2006). Effects of melatonin on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Asian J Androl*; 8(5), 595–600.
7. Amaral, S., Oliveira, P.J., Ramalho-Santos, J. (2008). Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. *Curr Diabetes Rev*; 4(1), 46–54.
8. Ihm, S.H., Yoo, H.J., Park, S.W., Ihm, J. (1999). Effect of aminoguanidine on lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetic rats. *Metabolism*; 48, 1141–5.
9. Ritz, E., Rychlik, I. (1999). *Nephropathy in Type 2 diabetes*. Oxford: Oxford Press. 45–50.
10. Maiti, R., Janav, D., Das, U.K. (2004). Antidiabetic effect of aqueous extract of seed of Tamarindus indica in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Ethnopharm*; 92, 85–91.
11. Morris, S.M., Billiar, T.R. (1994). New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. *Am J Physiol*; 266(6), 829–39.

12. Satman, İ., İmamoğlu, Ş., Yılmaz, C. (2009). Diabetes Mellitus ve Komplikasyonlarının Tanı, Tedavi ve İzlem Kılavuzu (4. Baskı). Ankara: Bayt Bilimsel Araştırmalar Basın Yayın Şti. 15–28, 95–126.
13. Scobie, I.N. (2007). *Atlas of Diabetes Mellitus* (3th ed.). UK: Informa UK Ltd. 1–14, 63–69.
14. Belfiore, F., Mogensen, C.E. (2000). *New Concepts in Diabetes and Its Treatment*. Basel: Karger. 3–19.
15. Bağrıaçık, N. (1997). Diabetes Mellitus: Tanımı, Tarihçesi, Sınıflaması ve Sıklığı. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Diabetes Mellitus Sempozyumu. İstanbul–1997, 9–18.
16. Kahn, R., Weir, C., King, L., Jacobson, M., Moses, C., Smith, J. (2008). *Joslin's Diabetes Mellitus* (14.Baskı). (V. Yumuk Çev.). İstanbul: İstanbul Medical Yayıncılık Ltd. Şti. 333–348.
17. Poretsky, L. (2010). *Principles of Diabetes Mellitus* (2nd ed.). London: Springer.
18. Bağrıaçık, N. (1997). Tanı, Komplikasyonlara Yaklaşım, Tedavi Konsensus El Kitabı. İstanbul: Novo Nordisk Diyabet Servisi Yayınları. 3–24.
19. Myers, A.R. (1998). *Endokrin ve Metabolik Hastalıklar-NMS İç Hastalıkları* (3. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 449–92.
20. Robins, C. (1995). *Temel Patoloji. Endokrin Sistem Hastalıkları* (3. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi. 643–80.
21. İliçin, G., Biberoglu, K., Süleymanlar, G., Ünal, S. (2003). *Temel İç Hastalıkları* (2. Baskı). İstanbul: Güneş Kitabevi. 2321–23.
22. Klein, R., Klein, B. (1992). Epidemiology of proliferative diabetic retinopathy. *Diabetes care*;15, 1875–91.
23. Damcı, T. (2000). İnsülin Tedavisi. Diyabet, Obezite ve Metabolizma Hastalıkları Sempozyumu. İstanbul–2000, 37–46.
24. Özgüneş, H., Atasayar, S. (2009). Aminoguanidin ve Hastalıklardaki Önemi. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*; 29(4), 976–86.
25. Nilsson, B.O. (1999). Biological effects of aminoguanidine: An update. *Inflamm Res*; 48(10), 509–15.

26. Türker, K., Kayaalp, S.O. (1998). Eikazonoidler ve diğer otokoidler. (Ed: Kayaalp, S.O.). *Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji* (9. Baskı). Ankara: Hacettepe-Taş Kitapçılık Ltd. Şti. 1513–48.
27. Hayashi, Y., Abe, M., Murai, A., Shimizu, N., Okamoto, I., Katsuragi, T. (2005). Comparison of effects of nitric oxide synthase (NOS) inhibitors on plasma nitrite/nitrate levels and tissue NOS activity in septic organs. *Microbiol Immunol*; 49(2), 139–47.
28. Chen, X.L., Huang, S.S., Li, W.B., Wang, D.H., Wang, X.L. (2001). Inhibitory effect of aminoguanidine on bleomycin-induced pulmonary toxicity in rat. *Acta Pharmacol Sin*; 22(8), 711–5.
29. Corbett, J.A., Tilton, R.G., Chang, K., Hasan, K.S., Ido, Y., Wang, J.L. (1992). Aminoguanidine, a novel inhibitor of nitric oxide formation, prevents diabetic vascular dysfunction. *Diabetes*; 41(4), 552–6.
30. Edelstein, D., Brownlee, M. (1992). Mechanistic studies of advanced glycosylation end product inhibition by aminoguanidine. *Diabetes*; 41(1), 26–29.
31. Singh, R., Barden, A., Mori, T., Beilin, L. (2001). Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia*; 44(2), 129–46.
32. Ünlüçerçi, Y., Koçak, H., Seferoğlu, G., Bekpınar, S. (2001). The effect of aminoguanidine on diabetes-induced inactivation of kidney Na(+), K(+)- ATPase in rats. *Pharmacol Res*; 44(2), 95–98.
33. Eiserich, J.P., Patel, R.P., O'Donnell, V.B. (1998). Pathophysiology of nitric oxide and related species: Free radical reactions and modification of biomolecules. *Molec Aspects Med*; 19, 221–357.
34. Arıncı, K., Elhan, A. (2001). *Anatomi* (3. Baskı). Ankara: Güneş Kitabevi Ltd. Şti.
35. Trainer, T.D. (1987). Histology of the normal testis. *Am J Surg Pathol*; 11, 797–809.
36. Leeson, T.S., Leeson, C.R., Paparo, A.A. (1988). *Text/Atlas of Histology*. Philadelphia: W.B. Saunders Co.
37. Kuran, O. (1993). *Sistematik Anatomi* (3. Baskı). İstanbul: Filiz Kitabevi.
38. Unur, E., Ülger, H., Ekinci, N. (2005). *Anatomi* (2. Baskı). Kayseri: Medical Kitabevi.

39. Yıldırım, M. (1997). *İnsan Anatomisi* (3. Baskı). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 184–190.
40. Gray, H., Standring, S. (2005). *Gray's Anatomy-The Anatomical Basis of Clinical Practise* (39th ed.). London: Elsevier Churchill Livingstone.
41. Dere, F. (1994). *Anatomi Ders Kitabı*. Adana: Okullar Pazarı Kırtasiye ve Tic. Paz. Ltd. Şti.
42. Petorak, İ. (1989). *Medikal Embriyoloji* (2. Baskı). İstanbul: Beta Basın-Yayım-Dağıtım A.Ş. 220–227.
43. Kayalı, H., Şatiroğlu, G., Taşyürekli, M. (1989). *İnsan Embriyolojisi* (6. Baskı). İstanbul: Evrim Basın-Yayım-Dağıtım A.Ş. 207–214.
44. Şeftalioğlu, A. (1998). *Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi* (3. Baskı). Ankara: Tıp&Teknik Yayıncılık Ltd. Şti. 346–354.
45. Moore, K.L, Persaud, T.V.N. (2002). *İnsan Embriyolojisi* (6. Baskı). (H. Dalçık ve M. Yıldırım Çev.) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 323–330.
46. Sadler, T.W. (2005). *Langman's Medikal Embriyoloji* (9. Baskı). (A.C. Başaklar Çev.). Ankara: Palme Yayıncılık. 328–349.
47. Carlson, B.M. (2004). *Human Embryology and Developmental Biology* (3rd ed.). Philadelphia: Mosby-Elsevier. 418–25.
- 48- Schoenwolf, G.C., Bleyl, S.B., Brauer, P.R., Francis-West, P.H. (2008). *Larsen's Human Embryology* (4th ed.). UK: Churchill Livingstone. 503–14.
49. Ross, M.H., Pawlina, W. (2006). *Histology: A Text And Atlas* (5th ed.). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. 728–748.
50. Junquera, L.C., Carneiro, J., Kelley, R.O. (2009). *Temel Histoloji Text ve Atlas*. (S. Solakoğlu Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri. 418–433.
51. Eşrefoğlu, M. (2009). *Özel Histoloji*. Malatya: Medipres Matbaacılık Ltd. Şti. 254–267.
52. Tekelioğlu, M. (2002). *Özel Histoloji, İnce Yapı ve Gelişme*. Ankara: Antıp A.Ş. 231–244.
53. Parker, Ş. (1993). *Histoloji* (2. Baskı). Bursa: Uludağ Üniversitesi Basımevi. 258–278.
54. Young, B., Heat, J.W. (2000). *Wheater's Functional Histology; A Text and Colour Atlas* (4th ed.). London: Churchill Livigstone. 328–339.

55. Cormack, D.H. (2001). *Essential Histology* (6th ed.). USA: Lippincott Williams & Wilkins. 412–426.
56. Kierszenbaum, A.L. (2006). *Histoloji ve Hücre Biyolojisi-Patolojiye Giriş*. (R. Demir Çev.). Ankara: Palme Yayıncılık. 531–560.
57. Ovalle, W.K., Nahirney, P.C. (2009). *Netter Temel Histoloji*. (S. Müftüoğlu Çev.) Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri. 378–395.
58. Gartner, L.P, Hiatt, J.L. (2009). *Renkli Histoloji Atlası* (4. Baskı). (A. Dağdeviren Çev.). Ankara: Güneş Tıp Kitabevleri. 369–382.
59. Luck, H. (1963). *Methods of enzymatic analysis*. New York: Verlag Chemie Academic Press. 885-888.
60. McCord, J.M., Fridovich, I. (1969). Superoxide dismutase: An enzymic function for Erythrocyte hemoglobin (Hemoglobin). *The J of Biological Chemistry*; 244(22), 6049-55.
61. Theodorus, P., Akerboom, M., Sies, H. (1981). Assay of glutathione, glutathione disulfide and glutathione mixed disulfides in biological samples. *Methods Enzymol*; 77, 373-383.
62. Buege, A.J., Aust, S.D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*; 52, 302-310.
63. Usta, M.F., Bivalacqua, T.J., Köksal, I.T., Toptas, B. (2004). The protective effect of aminoguanidine on erectile function in diabetic rats is not related to the timing of treatment. *B J U International*; 94, 429–432.
64. Khaki, A., Fathiazad, F., Nouri, M. (2010). Beneficial Effects of Quercetin on Sperm Parameters in Streptozotocin-Induced Diabetic Male Rats. *Phytother. Res*; 10, 1-7.
65. Vardı, N., Iraz, M., Gül, M., Öztürk, F., Uçar, M., Otlı, A. (2006). Diyabetin Böbreklerde Neden Olduğu Histolojik Değişiklikler Üzerine Aminoguanidinin İyileştirici Etkileri. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*; 26, 599–06.
66. El-Shazly, A.H.M., Mahmoud, A.M, Darwish, N.S. (2009). Potential prophylactic role of aminoguanidine in diabetic retinopathy and nephropathy in experimental animals. *Acta Pharm*; 59, 67–73.
67. Ünlüerçi, Y., Bekpınar, S., Koçak, H. (2000). Testis Glutathione Peroxidase and Phospholipid Hydroperoxide Glutathione Peroxidase Activities in Aminoguanidine-Treated Diabetic Rats. *Academic Press*; 379, 217–220.

68. Turk, J., Corbett, J.A., Ramanadham, S., Bohrer, A., McDaniel, M.L. (1993). Biochemical evidence for nitric oxide formation from streptozotocin in isolated pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun*; 197, 1458–64.
69. Szkudelski, T. (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. *Physiol. Res*; 50, 536–546.
70. Ricci, G., Catizone, A., Esposito, R., Pisanti, F.A., Vietri, M.T., Galdieri, M. (2009). Diabetic rat testes: morphological and functional alterations. *Andrologia*; 41, 361–368.
71. Cam, M., Yavuz, O., Güven, A., Ercan, F., Bukan, N., Üstundag, N. (2003). Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Pineal Res*; 35, 212–20.
72. Sadik, N.A.H., El-Seweidy M., Shaker, O.G. (2011). The Antiapoptotic Effects of Sulphurous Mineral Water and Sodium Hydrosulphide on Diabetic Rat Testes. *Cell Physiol Biochem*; 28, 887–898.
73. Guneli, E., Tugyan, K., Ozturk, H., Gumustekin, M., Cilaker, S., Uysal, N. (2008). Effect of Melatonin on Testicular Damage in Streptozotocin-Induced Diabetes Rats. *Eur Surg Res*; 40, 354–360.
74. Sayim, F. (2007). Histopathological Effects of Dimethoate on Testes of Rats. *Bull Environ Contam Toxicol*; 78, 479–484.
75. Cai, L., Chen, S., Evans, T., Deng, D.X., Mukherjee, K., Chakrabarti, S. (2000). Apoptotic germ-cell death and testicular damage in experimental diabetes: prevention by endothelin antagonism. *Urol Res*; 28, 342–347.
76. Giugliano, D., Ceriello, A., Paolisso, G. (1996). Oxidative stress and diabetic vascular complications. *Diabetes Care*; 19, 257–267.
77. Kanter, M., Aktas, C., Erboga, M. (2012). Protective effects of quercetin against apoptosis and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rat testis. *Food and Chemical Toxicology*; 50, 719–725.
78. Leon, J., Acuna-Castroviejo, D., Escames, G., Tan, D.X., Reiter, R.J. (2005). Melatonin mitigates mitochondrial malfunction. *J Pineal Res*; 38, 1–9.
79. Cai, L., Hales, B.F., Robaire, B. (1997). Induction of apoptosis in the germ cells of adult male rats after exposure to cyclophosphamide. *Biol Reprod*; 56, 1490–1497.

80. Brüne, B., Von-Knethen, A., Sandau, K.B. (1998). Nitric oxide and its role in apoptosis. *Eur J Pharmacol*; 26;351(3), 261–72.
81. Philis-Tsimikas, A., Parthasarathy, S., Picard, S., Palinski, W., Witztum, J.L. (1995). Aminoguanidine has both pro-oxidant and antioxidant activity toward LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 15, 367–376.
82. Giardino, I., Fard, A.K., Hatchell, D.L., Browlee, M. (1998). Aminoguanidine inhibits reactive oxygen species formation, lipid peroxidation, and oxidant-induced apoptosis. *Diabetes*; 47, 1114–20.
83. Maritim, A.C., Sanders, R.A., Watkins, J.B. (2003). Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review. *J Biochem Molecular Toxicology*; 17(1), 24–38.
84. Makker, K., Agarwal, A., Sharma, R. (2009). Oxidative stress & male infertility. *Indian J Med Res*; 129, 357–367.
85. Bonnefont-Rousselot, D., Bastard, J.P., Jaudon, M.C., Delattre, J. (2000). Consequences of the Diabetic status on the oxidant/antioxidant balance. *Diabetes&Metabolism*; 26, 163–176.
86. Kaplowitz, N., (2000). Mechanism of Liver Cell Injury. *J. Hepatol*; 32, 39–47.
87. Ayo, S.H., Radnik, R.A., Garoni, J.A., Gloss, W.F., Kreisberg, J.I. (1990). High glucose causes an increase in extracellular matrix proteins in cultured mesangial cells. *Am J Pathol*; 136, 1339–48.
88. Fijak, M., Meinhardt, A. (2006). The testis in immun privilege. *Immunol. Rev*; 213, 66–81.
89. Noh, H., Choi, K.H., Han, D.S., Lee, H.Y. (2002). High glucose increases inducible NO production in cultured rat mesengial cells. Possible role in fibronectin production, *Nephron*; 90, 78–85.
90. Ahanchi, S.S., Varu, V.N., Tsihlis, N.D., Martinez, J, Pearce, C.G., Kapadia, M. R., Jiang, Q. (2008). Heightened efficacy of nitric oxide-based therapies in type II diabetes mellitus and metabolic syndrome. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol*; 295, 2388–98.
91. Navarro-Casado, L., Juncos-Tobarra, M.A., Cháfer-Rudilla, M., Íñiguez, L., Blázquez-Cabrera, J.A., Miralles-García, J.M. (2010). Effect of experimental diabetes and STZ on male fertility capacity. Study in rats. *Journal of Andrology*; 31, 584–592.

92. Andallu, B., Varadacharyulu, N.C. (2003). Antioxidant role of mulberry (*Morus indica* L. cv. Anantha) leaves in streptozotocin-diabetic rats. *Clinica Chimica Acta*; 338: 3–10.
93. Anwar, M.M., Meki, A.M.A. (2003). Oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats: effects of garlic oil and melatonin. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*; 135, 539–547.
94. Anggered, E. (1994). Nitric oxide: mediator, murderer and medicine. *Lancet*; 343, 1199–1206.
95. Welsh, N., Eizirik, D.L., Sandler, S., (1994). Nitric oxide and pancreatic beta-cell destruction in insulin dependent diabetes mellitus: don't take no for an answer. *Autoimmunity*; 18, 285–290.
96. Hammes, H.P., Federoff, H.J., Brownlee, M. (1995). Nerve growth factor prevents both neuroretinal programmed cell death and capillary pathology in experimental diabetes. *Mol Med*; 1, 527–534.
97. Ha, H.K., Park, H.J., Park, N.C. (2011). Expression of E-cadherin and α -catenin in a varicocele-induced infertility rat model. *Asian J Androl*; 13(3), 470–475.
98. Suzuki, D., Miyata, T., Saotome, N. (1999). Immunohistochemical evidence for an increased oxidative stress and carbonyl modification of proteins in diabetic glomerular lesions. *J Am Soc Nephrol*; 10, 822–32.
99. Aksoy, N., Vural, H., Sabuncu, T., Aksoy, S. (2003). Effects of melatonin on oxidative-antioxidative status of tissues in streptozotocin-induced diabetic rats. *Cell Biochem Funct*; 21, 121–125.
100. Schünke, M., Schulte, E., Schumacher, U., Voll, M., Wesker, K. (2009). *Prometheus Anatomi Atlası* (M. Yıldırım Çev.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

EKLER**EK 1. Etik Kurul Onay Formu**

İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
DENEY HAYVANLARI ETİK KURULU KARARI



Toplantı Tarihi : 28.12.2009
 Toplantı Yeri : Tıp.Fak.Toplantı Salonu-Malatya
 Araştırma Protokol no.su : 2009/47
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Cinsi : Sıçan
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Soyu : Wistar
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Sayısı : 50
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Yaşı : 8-12 haftalık
 Deneyde Kullanılacak Hayvanın Ağırlığı : 250 gram

Tıp Fakültesi Öğretim Üyelerinden Doç. Dr. Nigar VARDI'nın yürüttüğü olduğu "Diyabetin Sıçan Testislerinde Neden Olduğu Histolojik Değişiklikler Üzerine Aminoguanidinin Etkilerinin Araştırılması" isimli 2009/47 Protokol no.lu çalışmanın dosyası incelendi.

Adı geçen araştırmanın; araştırma protokolüne tamamen uyulmak, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurul Yönergesi'nde belirtilen hususlar yerine getirilmek ve sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere çalışmanın yapılmasında herhangi bir etik sakınca bulunmadığına oy birliği ile karar verildi.

Prof.Dr.Yusuf TÜRKÖZ Başkan 	Doç.Dr.Nigar VARDI Başkan Yard. 	Prof.Dr. Yunus KARAKOÇ Raportör katılmadı
Prof.Dr. Ahmet KIZILAY Üye 	Doç.Dr.Abdurrahman KARAMAN Üye 	Yrd.Doç.Dr.M.Arif ALADAĞ Üye
Vetr.Hek.M.Zafer BOZDAĞ Üye 	Bekir ÜNAL Sivil Üye katılmadı	Zafer KIRÇUVAL Sivil Toplum Örgütü Üyesi katılmadı

ÖZGEÇMİŞ

Adı: Doğan

Soyadı: ORMAN

Doğum Yeri: Yeşilyurt/Malatya

Doğum Tarihi: 16. 01. 1983

Eğitim Bilgileri

- Turgut Özal Anadolu Lisesi – Malatya (1997–2001).
- Pamukkale Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Lisans Eğitimi – Denizli (2003–2007).
- İnönü Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Eğitimi – Malatya (2009-2012).

Yabancı Dil: İngilizce

İletişim: doorman1983@hotmail.com