



**ERKEK SIÇANLARDA SİKLOFOSFAMİDİN NEDEN
OLDUĞU REPRODÜKTİF HASARA KARŞI
DEKSPANTENOLÜN ETKİLERİ**

Cemre Zeynep HARMAN

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Aşlı TAŞLIDERE**

Yüksek Lisans Tezi – 2024

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

**ERKEK SIÇANLARDA SİKLOFSFAMİDİN NEDEN OLDUĞU
REPRODÜKTİF HASARA KARŞI DEKSPANTENOLÜN ETKİLERİ**

Cemre Zeynep HARMAN

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Ashı TAŞLIDERE**

Bu araştırma inönü üniversitesi bilimsel araştırma projeleri birimi tarafından TYL-2022-2870 proje numarası ile desteklenmiştir.

**MALATYA
2024**

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne

ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak Prof. Dr. Aslı TAŞLIDERE danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “ERKEK SIÇANLARDA SİKLOFOSFAMİDİN NEDEN OLDUĞU REPRODÜKTİF HASARA KARŞI DEKSPANTENOLÜN ETKİLERİ” başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim. 14/02/2024

Cemre Zeynep HARMAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
TABLolar DİZİNİ	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Testis Embriyolojisi	4
2.2. Testis Anatomisi	7
2.3. Testis Histolojisi	11
2.3.1. Seminifer Tübüller	13
2.3.2. Sertoli Hücreleri	14
2.3.3. Spermatogenik Hücreler	15
2.3.4. Spermatogenez	16
2.3.5. Spermatogonyumlar	16
2.3.6. Primer ve Sekonder Spermatositler	17
2.3.7. Spermatidler	17
2.3.8. Spermiyogenez	17
2.3.9. Spermatozoonlar (Spermiler)	20
2.3.10. İnterstisyel Doku Histolojisi	21
2.3.11. Leydig Hücreleri	21
2.3.12. Testis İçi Boşaltım Kanalları	22
2.3.13. Testis Dışı Boşaltım Kanalları	23
2.3.14. Yardımcı Üreme Bezleri Histolojisi	24
2.4. Testis Fizyolojisi	26
2.4.1. Spermatogenez	26
2.4.2 Testosteron ve Diğer Erkek Cinsiyet Hormonları	28
2.5. Siklofosfamid	30
2.6. Dekspantenol	31
3. MATERYAL ve METOT	33

3.1. Kimyasallar	33
3.2. Deney Hayvanları	33
3.3. Etik Beyan.....	33
3.4. Deneysel Tasarım	33
3.5. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması.....	34
3.6. Histolojik Doku Takip, Boyama ve İnceleme	34
3.6.1. Histolojik Doku Takip İşlemleri	34
3.6.2. Mayer's Hematoksilen-Eozin Metodu.....	35
3.6.3 Histolojik Değerlendirme	36
3.6.4. Histolojik İnceleme İçin İstatistiksel Değerlendirme	36
3.6.5. İmmünohistokimya Boyama Metodu	36
3.7. Biyokimyasal Yöntemler	37
3.7.1. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması	37
3.7.2. Homojenatların Hazırlanması	37
3.7.3. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü	38
3.7.4. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü.....	38
3.7.5. Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Ölçümü	38
3.7.6. Doku Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü	39
3.7.7. Redükte Glutasyon (GSH) Ölçümü	39
3.7.8. Doku Protein Ölçümü	39
3.8. Organ Ağırlıkları ve Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi.....	39
3.9. Biyokimyasal Analizler İçin İstatistiksel Değerlendirme.....	40
3.10. Sperm Analizleri İçin İstatistiksel Değerlendirme	40
4. BULGULAR.....	41
4.1. Işık Mikroskopik Bulgular	41
4.1.1. Kontrol Grubu.....	41
4.1.2. Siklofosfamid Grubu.....	42
4.1.3. Siklofosfamid + Dekspantenol Grubu	47
4.1.4. Dekspantenol Grubu	52
4.1.5. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	53
4.2. Biyokimyasal Bulgular	55
4.3. Spermatolojik Bulgular.....	56
5. TARTIŞMA	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67

KAYNAKLAR	68
EKLER.....	83
EK-1. Özgeçmiş.....	83
EK-2. Etik Kurul Kararı.....	84



TEŞEKKÜR

Lisansüstü eğitimimin başından sonuna kadar sabır ve özveriyle bana yol gösteren sevgili tez danışmanım saygıdeğer hocam Prof. Dr. Aslı TAŞLIDERE başta olmak üzere, bilgi ve deneyimleri ile hayatımda her zaman büyük desteği olan Anabilim Dalı Başkanımız saygıdeğer hocam Prof. Dr. Nigar VARDI'ya, eğitimim süresince desteklerini esirgemeyen hocalarım Prof. Dr. Mehmet GÜL'e, Prof. Dr. Elif KARACA'ya ve Dr. Öğr. Üyesi Azibe YILDIZ'a

Çalışmamın spermatolojik analizlerinde büyük emeği geçen Prof. Dr. Muhterem AYDIN'a, çalışmamın biyokimyasal analizinde yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Neşe BAŞAK TÜRKMEN'e ve tezimin laboratuvar kısmında bana yardımcı olan Biyolog Leyla YURTSEVEN'e,

Ayrıca lisansüstü eğitimim süresince beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum Uzm. Dr. Rümeyza Hilal DATLI'ya, Dr. Öğr. Üyesi Semir GÜL'e, Arş. Gör. Elif KAYHAN'a, Arş. Gör. Belemir GÜLHAN'a, Arş. Gör. Dr. Zeynep Büşra KESER'e, Eda Nur ÖZSOY'a, Nuray TEPE'ye, Ayşe Betül LEVENT'e,

TYL-2022-2870 nolu projeme maddi katkılarından dolayı İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne,

Hayatım boyunca hoşgörü ve anlayış ile desteğini esirgemeyen, hiçbir fedakarlıktan kaçınmayıp büyük emeklerle bugünlere gelmemde katkısı olan biricik annem Ayşen HARMAN'a ve canım babam Turgay HARMAN'a en içten duygularıyla teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Cemre Zeynep HARMAN

ÖZET

Erkek Sıçanlarda Siklofosfamidin Neden Olduğu Reprodüktif Hasara Karşı Dekspantenolün Etkileri

Amaç: Çalışmamızda siklofosfamidin neden olduğu reprodüktif hasara karşı dekspantenolün etkilerini histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle araştırmayı amaçladık.

Materyal ve Metot: Çalışmamızda 32 adet *Wistar Albino* cinsi sıçan kullanıldı (n=8). Gruplar; Kontrol, Siklofosfamid (CP), Siklofosfamid+Dekspantenol (CP+Dex), Dekspantenol (Dex) olarak belirlendi. Deneyin sonunda testis dokuları standart doku takip işlemleri sonrası parafine gömüldü. Elde edilen 5 µm kalınlığında kesitlere Hematoksilen-Eozin (H-E) ve kaspaz-3 boyama metotları uygulandı ve kesitler, Leica DFC 280 ışık mikroskobu ve Leica Qwin Plus analiz sistemi kullanılarak incelendi.

Bulgular: Hematoksilen-Eozin boyama yöntemiyle kontrol ve Dex gruplarına ait testis dokuları normal histolojik yapıda gözlemlendi. CP grubunun testis dokusunda vasküler konjesyon, interstisyel alanda belirgin hemoraji, spermatogenik seri hücrelerde azalma, tübül lümenine dökülme, interstisyel alanda vakuolizasyon, ödem, tübül epitelinde bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış hücreler olduğu gözlemlendi. Diğer yandan dekspantenol ise bu histopatolojik hasarları azalttı. Bulgularımız CP uygulamasının seminifer tübül çaplarında ve epitel kalınlıklarında azalmaya neden olduğunu göstermiştir. CP uygulanan grupta yoğun boyanmış kaspaz-3 pozitif hücreler olduğunu, CP+Dex grubunda ise boyanma yoğunluğunda belirgin düzeyde azalma olduğunu gözlemledik. CP uygulamasının sperm motilitesi, konsantrasyonu ve anormal sperm miktarında (kafa, kuyruk, total) önemli derecede artışa neden olduğunu saptadık. Bu artışın dekspantenol tedavisi ile azaldığını gözlemledik. Biyokimyasal analizlerde ise CP uygulamasıyla MDA, GSH, SOD, GPx ve CAT düzeylerinde azalma gözlemlerken, dekspantenol uygulaması ile bu değerlerin arttığını gözlemledik.

Sonuç: Bu çalışma siklofosfamid ile oluşturulan reprodüktif hasara karşı dekspantenolün iyileştirici etkileri olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: Dekspantenol, Kaspaz-3, Sıçan, Siklofosfamid, Testis.

ABSTRACT

Effects of Dexpanthenol Against Cyclophosphamide-Induced Reproductive Damage in Male Rats

Aim: In our study, we aimed to investigate the effects of dexpanthenol against cyclophosphamide-induced reproductive damage by histopathologic, immunohistochemical and biochemical methods.

Material and Methods: 32 *Wistar Albino* rats were used in our study (n=8). The groups were designated as Control, Cyclophosphamide (CP), Cyclophosphamide+Dexpanthenol (CP+Dex), and Dexpanthenol (Dex). At the end of the experiment, testicular tissues were embedded in paraffin after standard tissue processing procedures. Sections with a thickness of 5 μ m were obtained and stained with Hematoxylin-Eosin (H-E) and caspase-3 staining methods. The sections were examined using a Leica DFC 280 light microscope and Leica Qwin Plus analysis system.

Results: Testicular tissues of Control and Dex groups were observed to have a normal histological structure with Hematoxylin-Eosin staining method. In the CP group, testicular tissue exhibited vascular congestion, significant hemorrhage in the interstitial area, reduction in spermatogenic series cells, shedding into tubular lumen, vacuolization, edema in the interstitial area, and cells arrested at any stage of division in tubular epithelium. On the other hand, dexpanthenol reduced these histopathological damages. Our findings indicated that CP administration led to a decrease in seminiferous tubule diameters and epithelial thicknesses. We observed intense Caspase-3 positive cells in the CP treated group, while there was a significant decrease in staining intensity in the CP+Dex group. We found that CP administration significantly increased sperm motility, concentration, and abnormal sperm count (head, tail, total), which decreased with dexpanthenol treatment. Biochemical analyses revealed a decrease in MDA, GSH, SOD, GPx, and CAT levels with CP administration, whereas these values increased with dexpanthenol treatment.

Conclusion: This study demonstrated the therapeutic effects of dexpanthenol against reproductive damage induced by cyclophosphamide.

Key words: Caspase-3, Cyclophosphamide, Dexpanthenol, Rat, Testis.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ADHD	: Dikkat Eksikliği ve Hiperaktivite Bozukluğu
agER	: Agranüler Endoplazmik Retikulum
AMH	: Antimüllerian Hormon
ATP	: Adenozin Trifosfat
B₅	: Pantotenik Asit
CAT	: Katalaz
CoA	: Koenzim A
CP	: Siklofosfamid
Dex	: Dekspantenol
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DTNB	: 5,5 -Ditiyobis-(2-Nitrobenzoik Asit)
FGF9	: Fibroblast Büyüme Faktörü 9
FSH	: Folikül Uyarıcı Hormon
gER	: Granüler Endoplazmik Retikulum
GPx	: Glutasyon Peroksidaz
GSH	: Glutasyon
GSSG	: Okside Glutasyon
HE	: Hematoksilen-Eozin
LH	: Luteinizan Hormon
MDA	: Malondialdehit
MIF	: Müllerian İnhibitör Faktör
NADPH	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat Oksidaz
NBT	: Nitroblue Tetrazolium
PGH	: Primordial Germ Hücreleri
PMS	: Premenstrüel Sendrom
PSA	: Prostat Spesifik Antijen
ROS	: Serbest Oksijen Radikalleri
SOD	: Süperoksit Dismutaz
SOX9	: SRY-Box Transkripsiyon Faktörü 9
SRY	: Y Kromozomu Üzerinde Cinsiyeti Belirleyen Bölge
TBF	: Testis Belirleyici Faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. A. Testis organogenezisi sırasında hücre farklılaşmalarının şematik gösterimi. B. Fötal testis organizasyonu	5
Şekil 2.2. Testisin anatomik yapısı	8
Şekil 2.3. Testisin şematik görünümü ile seminifer tübülün histolojik görünümü.....	12
Şekil 2.4. Spermatogenik seri hücrelerin seminifer tübül içindeki yerleşimleri	14
Şekil 2.5. Spermiyogenez sürecinin şematik gösterimi	18
Şekil 2.6. Spermatozoonun şematik gösterimi	20
Şekil 2.7. Seminifer tübül ve intertisyel alanın şematik gösterimi	21
Şekil 2.8. Siklofosfamidin kimyasal yapısı.	30
Şekil 4.1. Kontrol grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü	42
Şekil 4.2. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	43
Şekil 4.3. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	44
Şekil 4.4. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	45
Şekil 4.5. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	46
Şekil 4.6. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	47
Şekil 4.7. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	48
Şekil 4.8. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	49
Şekil 4.9. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	50
Şekil 4.10. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	51
Şekil 4.11. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	52
Şekil 4.12. Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü.....	53
Şekil 4.13. Deney gruplarına ait Kaspaz-3 aktiviteleri.....	54

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 3.1. Histolojik doku takip işlemleri sıralaması	35
Tablo 3.2. Mayer's Hematoksilen-Eozin metodu	35
Tablo 3.3. İmmünohistokimya boyama metodu	37
Tablo 4.1. Deney gruplarına ait seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığı bulguları.	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Tablo 4.2. Deney gruplarına ait seminifer tübül histolojik skollama bulguları	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
Tablo 4.3. Deney gruplarına ait MDA, GSH, CAT, SOD ve GPx düzeyleri	55
Tablo 4.4. Deney gruplarına ait testis, epididimis, seminal vezikül ve prostat ağırlıkları	56
Tablo 4.5. Deney gruplarına ait sperm motilitesi, epididimal sperm konsantrasyonu ve anormal sperm bulguları	57

1. GİRİŞ

Kanser, vücuttaki normal hücrelerin genetik değişikliklere uğraması sonucu kontrolsüz bir şekilde çoğalmasıyla ortaya çıkan bir hastalıktır. Bu anormal hücre çoğalması genellikle tümör oluşturur ve zamanla çevre dokulara yayılabilir. Kanser tedavisi multidisipliner bir yaklaşım gerektirir ve çeşitli yöntemleri içerir. Cerrahi, kanserli dokunun çıkarılmasında etkili bir yöntemdir. Kemoterapi, kanser hücrelerini hedefleyen ilaçların kullanımını içerirken, radyoterapi yüksek enerjili ışınlar aracılığıyla kanser hücrelerini hedef almaktadır. İmmünoterapi, bağışıklık sistemini güçlendirerek vücudun kendi savunma mekanizmasını kullanmayı amaçlar. Hormon tedavisi ise belirli kanser türlerinin büyümesini kontrol etmek amacıyla hormon seviyelerini düzenler. Kanser tedavisinde bu yöntemler genellikle bir arada kullanılarak hastanın durumuna ve kanserin özelliklerine uygun bir tedavi planı oluşturulur (1).

Kemoterapi, kontrolsüz çoğalan hücrelere karşı etkili bir tedavi yöntemidir ve bu tedavi, doğal, kimyasal, biyolojik yöntemler ve hormonlar kullanılarak gerçekleştirilir. Kemoterapötik ajanlar hücrelere proliferatif dönemdeyken etki göstermektedir (2). Çoğu kemoterapi ilacı hızlı büyüme ve çoğalma kapasitesine sahip kanserli hücrelere etki edecek şekilde üretilmiştir. Bazı normal hücrelerde de benzer özellikler bulunmakta olup, kemoterapötik ilaçlardan doğrudan etkilenebilmektedir. Bu nedenle kemoterapi ilaçlarının yan etkileri oldukça fazladır. Bu yan etkiler, genellikle gastrointestinal sistemde bulunan hücreler, kan hücreleri, sperm hücreleri ve kıl folikülleri gibi hızlı bölünebilme kapasitesine sahip hücrelerde görülmektedir. Ayrıca, çoğu kemoterapi ilacı hayati organlar üzerinde olumsuz etkiler oluşturarak birçok sistemi etkilemektedir (3).

Kemoterapi, hızlı çoğalma ve farklılaşma özelliklerine sahip sağlıklı hücrelere yönelik primer yan etkileri nedeniyle, özellikle sitotoksik etkisi dolayısıyla doğrudan gonadal hasara yol açar.. Bu hasarın şiddeti, kullanılan ilacın verilmiş şekli, dozu ve hastanın yaşı gibi faktörlere bağlı olarak değişir. Özellikle kemoterapi tedavisi sırasında radyoterapi de uygulandığında, düşük dozda bile olsa, spermatogenezis üzerinde ciddi etkiler görülür. Spermatogenezis, sperm hücrelerinin oluşumu sürecidir ve bu süreç, kemoterapiye bağlı gonadal hasar nedeniyle olumsuz etkilenir. Bu durum, genellikle kısırlık veya fertilite üzerinde geçici veya kalıcı etkilerle sonuçlanır. Bu nedenle, kemoterapi ve radyoterapi uygulamalarında, hastaların üreme sağlıklarını korumak için uygun önlemler alınması ve bu konuda bilinçli bir tedavi yaklaşımı benimsemek

önemlidir. Spermatogenezisteki olaylar, sperm parametrelerindeki değişiklikler ve ejakülasyon bozuklukları kemoterapi ilaçlarının üreme sistemi üzerinde meydana getirdiği olumsuz etkiler arasında bulunmaktadır. Köken spermatogonyumlar proliferasyon ve farklılaşma göstermedikleri için proliferasyon ve farklılaşma gösterenlere göre kemoterapinin direkt etkilerine karşı daha dirençli olan hücrelerdir. Ancak çoğalma ve farklılaşma sergileyen spermatogonyumlar, spermatositler ve spermatidler ise kemoterapinin direkt etkilerine karşı daha duyarlıdırlar. Bu nedenle kemoterapi tedavisine başladıktan yaklaşık 4-6 hafta sonra infertilite belirtileri önemli ölçüde artmaktadır (3, 4).

Siklofosfamid, alkilleyici bir kimyasal ajan olarak görev yapan antineoplastik kemoterapötik bir ajandır ve yaygın kullanılan antikanser ve immünoşüpresör ilaçlardan biridir. Siklofosfamid; meme kanseri, lösemi, multipl myeloma, romatoid artrit, lenfoma ve kemik iliği nakillerinde sıkça kullanılmaktadır. DNA'da Guanin içeren kısımları alkilleyip yüksek dozlarda kullanıldığında etki göstermektedir. Kemoterapi tedavisi, hematotoksisite, ürotoksisite ve hepatotoksisite gibi yan etkilere sahip olması nedeniyle kısıtlı bir şekilde kullanılmalıdır (5, 6).

Yapılan çalışmalar, alkilleme özelliklerine sahip ajanların özellikle erkek üreme sistemi organları üzerinde yüksek toksisiteye neden olduğunu göstermektedir. Siklofosfamid (CP) de alkilleyici ajanlardan biridir. Kemoterapi tedavisinde tek veya diğer ilaçlarla birlikte kullanıldığında, çocuklarda ve erkeklerde testis fonksiyonlarını azaltarak infertiliteye yol açabilmektedir. CP'nin sperm üretimini etkileyerek testiküler fonksiyonları olumsuz yönde etkilediğine dair bulgular, bu kemoterapi ajanının erkek üreme sağlığı üzerindeki potansiyel risklerini vurgulamaktadır (7).

Pantotenik asit, adını Yunanca "pantos" kavramından alarak "her yer" veya "her yandan" anlamında kullanılan bir terimdir. Bu önemli B₅ vitamini, bitki ve hayvan dokularında bulunur ve bir dizi biyolojik süreçte kritik bir rol oynar. Pantotenik asit, çeşitli besin kaynaklarında bulunur ve vücut için hayati öneme sahiptir. Özellikle, karaciğer, yumurta, mantar, maya, fındık, pekmez, pirinç kepeği, kepekli tahıllar, fıstık, süt ve patates pantotenik asitin zengin kaynaklarıdır. Bu vitamini içeren besinler, vücutta enerji üretimi, yağ asidi sentezi ve hormon üretimi gibi temel metabolik süreçlerde rol oynar. Pantotenik asitin biyolojik olarak aktif olan alkol formu, dekspantenol olarak adlandırılır. Dekspantenol, genellikle kozmetik ürünlerde ve cilt bakımında kullanılan bir bileşen olarak da önem taşır. Dekspantenol, memeli canlıların dokusunda pantenole dönüşmektedir. Pantenol, hücre içinde Koenzim A (CoA), ATP ve redükte glutatyon

(GSH) sentezini artırarak etki göstermektedir. Bu unsurlar, hücre savunmasının oksidatif stres içinde temel bileşenlerini oluşturmaktadır (8, 9). Polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonu ve lokal infiltrasyonu, inflamatuvar işlemin başlamasında önemli bir rol oynar. Bu süreç, serbest radikallerin dolaylı olarak tetiklediği bir mekanizma içerir. Dekspantenol pantotenik asitin bir türevi olup, B kompleks vitaminlerinin bir üyesidir (10). Dekspantenol, antioksidan özelliklere sahip olarak bilinir ve inflamatuvar süreçleri düzenleyebilir. Özellikle, polimorfonükleer lökositlerin aktivasyonunu ve lokal infiltrasyonunu azaltarak inflamatuvar yanıtı kontrol altına alabilir. Bu özellikleri sayesinde dekspantenol, hücresel düzeyde antiinflamatuvar etkiler sergileyebilir. Dekspantenolün rejeneratif özellikleri, epitelin tekrar şekillenmesinde önemli bir rol oynar. Bu özellikler, hasar görmüş dokuların iyileşmesini destekleyerek antiinflamatuvar etkileri pekiştirir (8, 9). Bu nedenle, dekspantenol içeren ürünler, cilt bakımı ve yara iyileşmesi gibi uygulamalarda kullanılarak inflamatuvar süreçlerin kontrol altına alınmasına ve dokuların sağlıklı bir şekilde iyileşmesine katkıda bulunabilir (10–12).

Biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada siklofosfamidin neden olduğu reproduktif hasara karşı dekspantenolün etkilerini histopatolojik, immünohistokimyasal ve biyokimyasal yöntemlerle araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

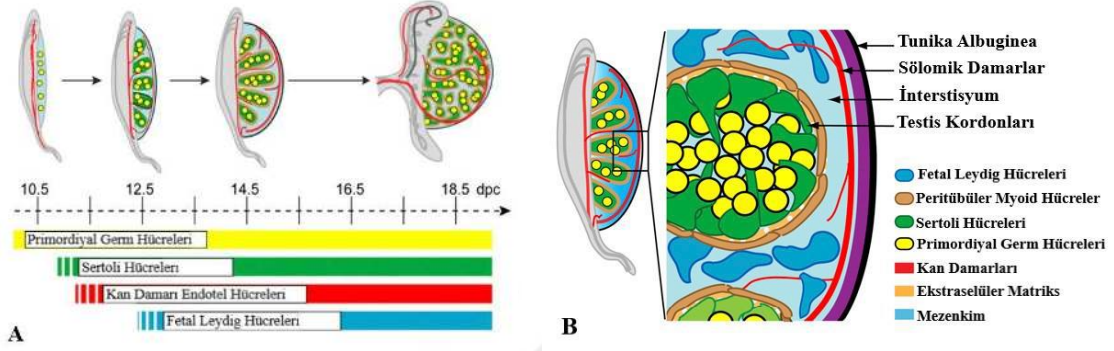
2.1. Testis Embriyolojisi

Embriyonun genetik ve kromozomal cinsiyeti, döllenmiş oositin içerdiği X veya Y kromozomuna bağlıdır. Bu, spermin taşıdığı kromozomun belirleyici rol oynadığı bir süreçtir. Embriyonik gelişimde cinsiyetle ilgili morfolojik değişiklikler, genellikle embriyonik gelişimin 7. haftasından itibaren ortaya çıkar. Bu dönemde, embriyo üzerindeki belirgin farklılaşmalar ve gelişim izleri gözlemlenebilir. Bu süreç, embriyonik gelişimin ilk 7 haftası boyunca gerçekleşen dönemi tanımlamak için "farklanmamış dönem" olarak adlandırılır. Farklanmamış dönemde, embriyo hücre tabakalarının organizasyonu, organ sistemlerinin temelleri ve temel vücut planı oluşmaya başlar. Bu erken evrelerde, cinsiyetle ilgili belirgin morfolojik özellikler henüz belirgin değildir. Ancak, 7. haftadan itibaren embriyo, cinsiyetle ilgili belirgin farklılaşmalar göstermeye başlar ve bu süreç, gelişim sürecinin devamı boyunca embriyonun erkek veya dişi olma yolunda ilerlemesini sağlar (13).

Hem erkek hem de dişi gonadlar, mezotel adı verilen bir yapı tarafından döşenen posterior abdominal duvardan, altında bulunan mezenkimal doku ve primordial germ hücrelerinden (PGH) köken alır. Mezodermal epitel proliferasyonu ve mezenkimal dokunun yoğunlaşması, gonadal yapılanma ve farklılaşma sürecinin başlangıcını oluşturur. Bu süreç, "gonadal kabartı" olarak adlandırılan bir çift kabartının ortaya çıkmasıyla karakterizedir. Gonadal kabartılar, embriyonik gelişimin yaklaşık 5. haftasında mezonefrozun medialinde şekillenir (14). Yüzeyde bulunan epitel, gonadal kordonları oluşturmak üzere parmaklı uzantılara dönüşür ve iç kısımdaki mezenkim içine doğru büyür. Bu evrede, gonadın iç kısmında medulla, dış kısımda ise korteks olmak üzere bir organizasyon gerçekleşmiştir. Eğer embriyo, XY kromozomlarını taşıyorsa, gonad testis olarak gelişir. Bu süreçte, korteks büyük ölçüde dejenerasyona uğrar ve medulla testiküler kordonlara dönüşür (15).

Epiblast kökenli primordial germ hücreleri, gestasyonun 4. haftasının başında ekstraembriyonik mezoderm kaynaklı yolk kesesi duvarında belirir. Bu hücreler allantois yakınında ve endodermal hücreler arasında gelişir. Embriyonun 4. ile 6. haftaları arasındaki embriyonal katlanmalar esnasında, umbilikal kordonun dorsal bölümü vücut içine alındığında primitif barsağa, ardından primitif barsak mezenterisi aracılığıyla dorsal

vücut duvarına ulaşırlar. Yaklaşık 5. haftada ise gonadal kabartılara ulaşırlar. 6. haftanın primordial germ hücreleri, primer cinsiyet kordonlarına katılarak primer germ hücreleri haline gelir. Primordial germ hücrelerinin gonadlara ulaşması, gonadların farklanması üzerinde indükleyici bir etkiye sahiptir; bu da cinsiyet gelişimini başlatan önemli bir adımdır (16).



Şekil 2.1. A. Testis organogenezisi sırasında hücre farklılaşmalarının şematik gösterimi. B. Fötal testis organizasyonu (17).

Cinsiyet farklanması, bir dizi genin karmaşık bir işbirliği içinde görev aldığı önemli bir süreçtir. Fertilizasyon esnasında, döllenmiş oositi oluşturan spermin taşıdığı X veya Y kromozomuna bağlı olarak genetik cinsiyet belirlenir. Erkek embriyo, XY kromozomlarına sahip olup, bu kromozomlardan gelen genetik bilgi cinsiyetin belirlenmesini yönlendirir. Erkeklerde, cinsiyet belirleyici proteinlerin üretimini başlatan ve cinsiyeti belirleyen önemli bir gen olan SRY (Y kromozomunda cinsiyeti belirleyen bölge) bulunmaktadır. SRY geni, Testis Belirleyici Faktör (TBF) olarak adlandırılan bir proteini aktive eder ve testislerin gelişimini başlatır. Bu gen, Y kromozomunun kısa kolunda bulunur ve testis tayini için gereklidir. SRY geninin yokluğu durumunda, embriyo dişi yönde gelişir (15, 16).

Testiküler farklılaşma, Testis Belirleyici Faktör (TBF) adı verilen bir molekül tarafından kontrol edilmektedir. Bu faktörün etkisiyle gonadal kordonlar testis kordonlarına dönüşür. Erkeklerde, SRY geni, ilgili bir otozomal gen olan SOX9 (SRY-Box Transkripsiyon Faktörü 9) genini aktive eden bir transkripsiyon faktörünü kodlar. SOX9 ve FGF9 (Fibroblast Büyüme Faktörü 9) gen ekspresyonlarının primitif kordonların oluşumunda önemli bir rol oynadığı bilinmektedir. SOX9 geni, özellikle Sertoli hücrelerinin farklılaşmasını başlatmak için kritik bir rol oynar. SOX9 geni aktivasyonu olmadığında, Sertoli hücreleri folikül hücrelerine farklılaşır. SRY ve SOX9

genleri ayrıca interstisyel hücrelerin Leydig hücrelerine ve miyoid hücrelere farklılaşmasını, germ hücrelerinin mitotik duraklamasını ve testiküler kordonların oluşumunu da yönlendirir. Bu genlerin etkileşimi, testiküler farklılaşmanın ve erkek üreme sistemine özgü yapıların oluşumunun temelini oluşturur (18–20).

Fötal dönemde gelişen testislerdeki Leydig hücrelerinin ürettiği testosteron, dihidrotestosteron ve Anti-Müllerian Hormon (AMH), embriyo gelişiminin belirlenmesinde kritik bir rol oynar. Bu hormonlar, özellikle 7. haftadan itibaren erkek embriyonun cinsiyetinin belirlenmesinde etkilidir. Testosteron, dış genital organların gelişimini yönlendirirken, dihidrotestosteron cinsel karakterlerin gelişimine katkıda bulunur ve Anti-Müllerian Hormon, dişi üreme organlarının gerilemesini sağlar. Y kromozomu yokluğunda ise, 12. haftadan itibaren over gelişimi başlar. Bu durumda, hormonal sinyallerin eksikliği nedeniyle dişi cinsiyet karakteristikleri belirginleşir ve embriyo dişi yönde gelişmeye başlar (21, 22).

Gelişen embriyonun cinsiyeti erkek ise, primordial germ hücreleri XY cinsiyet kromozomunu taşır. Bu süreç, SRY geninin etkisiyle primitif cinsiyet kordonlarının, meduller sahadaki testislerin, seminiferöz veya meduller kordonlarının oluşumunu içerir. Oluşan bu kordonlar, hücrelerin medulla derinliklerine doğru proliferasyon göstererek gelişimlerini sürdürür (23). Hilus bölgesinde anastomozlaşarak rete testis tübüllerini oluşturan hücre dizileri, testisin iç yapısını organize eder. Gelişimin ilerleyen aşamalarında, testis kordonları, yoğun fibröz bağ dokusu tabakası olan tunika albuginea tarafından yüzey epitelinden ayrılır. Tunika albuginea geliştikçe, testis genişleyerek karakteristik bir görünüm kazanır. Genişleyen testis, mezonefroza ayrılarak kendi mezenteri olan mezorşiyum ile asılı bir şekilde gelişimini sürdürür. Bu aşamada testis kordonlarından seminifer tübüller, tübüli rekti ve rete testis gibi yapılar oluşur. 4. ay civarında testis kordonları, at nalını andıran bir şekil alır. Bu nal yapısının, açık uçları rete testis ile devamlılık gösterir. Bu kompleks süreç, erkek üreme sisteminin organogenezinde ve organizasyonunda temel adımları temsil eder (16, 24).

Testis tübüllerinde, puberteye kadar lümen adı verilen iç boşluk bulunmaz. Ancak, puberte döneminden itibaren testis tübüllerinde lümen oluşumu gözlemlenir. Bu aşamadan sonra, seminifer tübüller, rete testisin tübüllerleriyle birleşir ve duktuli efferenteslere girer. Duktuli efferentesler, mezonefrik sistemle ilişkili boşaltım kanallarının geride kalan parçalarıdır. Bu kanallar daha sonra rete testis ile duktus deferens arasında bağlantı kurarak, mezonefrik veya Wolffian kanallarını birbirine

bağlarlar. Bu gelişim süreci, erkek üreme sistemine özgü yapıların oluşumunda ve fonksiyon kazanmasında önemli bir rol oynar.

Fötal testiste, çoğunluğu oluşturan hücreler Sertoli hücreleridir. Bu hücreler, testis tübüllerinde yerleşim gösterir ve glikoprotein karakterli bir hormon olan Anti-Müllerian Hormon (AMH) salgırlar. AMH, özellikle dişi genital organlarının gelişiminde rol oynayan paramezonefrik kanalın (Müllerian kanal) gelişimini baskılamak üzere Sertoli hücreleri tarafından üretilir. Pubertede, AMH üretimi azalır ve bu süreçte hormonun aktivitesi düşer. AMH'nin varlığı, dişi genital organlarının fötal dönemdeki gelişimini engelleyerek, erkek üreme sistemine özgü yapıların oluşumunu destekler (22).

Testis kordonları arasındaki mezenkimal dokuda, Leydig hücreleri de bulunmaktadır. Gestasyonun 8. haftasında, Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteron ve androstenedion gibi androjenik hormonlar salgılanmaya başlar. Salgılanan hormonlar, mezonefrik kanalların ve dış genital organların erkek cinsiyeti gelişiminde etkili rol oynar. Ayrıca, Sertoli hücrelerinin ürettiği Anti-Müllerian Hormon (AMH) ile birlikte, Leydig hücrelerinin salgıladığı androjenik hormonlar erkek cinsiyet karakterinin gelişimine katkıda bulunur (18, 19).

Testis gelişiminin son aşamasında, yassılaştan yüzey epiteli tek katlı mezotele farklılaşır. Bu farklılaşma süreci, testisin ardından gelişen genital kanalların oluşumunu içerir. Gelişimin ilk 6 haftası içinde, dişi ve erkek embriyolarda, bir çift mezonefrik kanal ve bir çift paramezonefrik kanal (Müller kanalları) bulunmaktadır. Bu genital kanallar, cinsiyet gelişimi açısından kritik bir rol oynar. Erkek embriyoda mezonefrik kanallar, testislerin normal gelişiminde ve erkek üreme sistemine özgü yapıların oluşumunda önemli bir işleve sahiptir (14, 16).

2.2. Testis Anatomisi

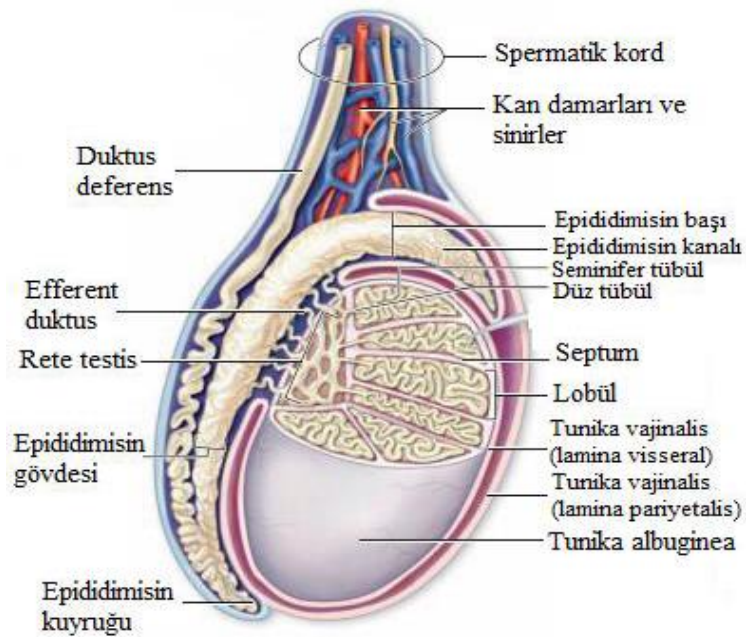
Erkek üreme sistemi, temelde üç ana bileşenden oluşur: testisler, iletici yollar ve yardımcı üreme bezleri. Testisler, üreme hücreleri olan spermatozoon ve cinsiyet hormonu testosteronu üretir. İletici yollar, bu üreme hücrelerinin testislerden dışarı çıkmasını ve üreme sistemine iletilmesini sağlar. Yardımcı üreme bezleri ise spermatozoonun beslenmesine ve hareket kabiliyetinin artmasına yardımcı olur.

Testisler, erkek üreme sisteminin önemli organları olup, bir çift halinde bulunurlar. Bu organlar, abdomenin altında, skrotum adı verilen özel bir kese içinde bulunur ve spermatik kord ile asılı durumdadır. Spermatik kordlar, testisleri vücuda bağlar ve içinde çeşitli yapıları barındırır. Bu yapılar arasında kan damarları, sinirler, kas

fibrilleri ve duktus deferens bulunur. Kan damarları, testislere gerekli olan oksijen ve besinleri taşıırken, sinirler ise hormonal ve sinirsel sinyallerin iletiminden sorumludur. Aynı zamanda, kas fibrilleri skrotumu çeşitli koşullara karşı korur ve kontrol eder.

Erişkin erkekte testisler, her biri yaklaşık 4-5 cm uzunluğunda, 2-3 cm kalınlığında, 2,5 cm genişliğinde ve 10-15 gr ağırlığındadır. Bu organlar, benzer boyutlara sahip olmalarına rağmen yapısal farklılıklar gösterir. Sol testis, sağ testise oranla daha aşağıda konumlanmıştır. Ek olarak sağ testis, sol testise kıyasla %10 daha ağırdır. Testislerin sıcaklıkları, vücut sıcaklığının 3-4°C daha düşük seviyesindedir. Bu düşük sıcaklık, spermatogenezis sürecinin etkinliği için önemlidir. Her testis, üst kısmından spermatik kord ile bağlantılıdır. Testisin alt kısmında ise gubernakulumun bir artığı olan skrotal ligament, testisin skrotuma bağlanmasını sağlar. Skrotal ligament, testisin inişine ve yukarı çıkmasına olanak tanır. Bu durum testisin vücut sıcaklığından biraz daha düşük bir ortamda bulunmasını sağlar (25).

Fötusta, testisler gelişimlerinin erken aşamalarında karın boşluğu içinde yer alırlar. Bu durum, 28. haftaya kadar devam eder ve bu süreçte testisler, karın arka duvarında anulus inguinalis profundusa kadar gelir. Ancak, testislerin temel fonksiyonlarını etkili bir şekilde yerine getirebilmeleri için karın boşluğundan skrotuma inmeleri gereklidir. Bu iniş, genellikle 28. haftadan sonra gerçekleşir ve testisler skrotuma doğru hareket eder. Bu esnada, testisler karın ön duvarı tabakalarını da beraberinde sürüklerler. Bu anatomik değişiklikler, erkek üreme sisteminin doğru şekilde gelişmesini ve işlevsel olmasını sağlar (26).



Şekil 2.2. Testisin anatomik yapısı (27).

Testis dıştan içe doğru; deri, tunica dartos, fascia spermatica externa, fascia cremasterica, m. cremaster, fascia spermatica interna ve periorchium tabakalarından oluşan kompleks bir yapıya sahiptir. Skrotum olarak adlandırılan deri ve tunica dartos, testisin en dış katmanını oluşturur. Bu tabaka, testisi çevreleyen koruyucu bir kılıf görevi görür. Fascia spermatica interna ise iç yapıya destek sağlayan bir diğer katmandır. Tüm bu tabakalar bir araya gelerek genelde skrotum olarak adlandırılan kompleks bir yapı oluşturur ve testisi çevreleyerek korur. Bu katmanlar, testisin sağlığını ve optimal işlevselliğini sürdürebilmesi için önemli bir rol oynar (28).

Testis derisi, skrotal bölgede özel bir yapının bir parçası olarak farklılık gösterir. Bu bölgedeki deri, ince yapısı ve yüksek pigment içeriği nedeniyle koyu renkli ve buruşuk bir görünüme sahiptir. Kıl kökleri, ter bezleri ve yağ dokusunu içeren bu deri bölgesi, testisin dış katmanını oluşturur. Tunica dartos adı verilen düz kas liflerini içeren bir tabaka, derinin altında bulunur ve skrotumun buruşukluğunu sağlar. Bu tabaka, penisin alt yüzeyinde bulunan rephe penis'e tutunarak skrotumu destekler. Tunica dartos, damarlarla zengin bir yapıya sahip olup, yağ dokusundan yoksundur. Skrotumun iç yapısında yer alan septum scroti, deri dışında skrotumun tüm tabakalarını içerir. Fascia spermatica externa ile m. obliquus externus abdominis aponevrozundan türeyen fascia spermatica externa arasında bir fascial boşluk bulunur. Daha iç kısımda, m. obliquus internus abdominis tarafından gelişen fascia cremasterica ve m. cremaster bulunur. Fascia spermatica interna, fascia cremasterica'nın dış tarafına sıkıca tutunurken, iç tarafında periorchium'a gevşek bir şekilde bağlanır. Periorchium, cavum scroti'yi dıştan sınırlayan, skrotumun en iç tabakasıdır. Bu tabaka, içten sınırlayan epiorchium adı verilen peritoninin lamina visceralisidir (29).

Testisler dıştan içe doğru; tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunika vasculosa olmak üzere üç tabaka ile sarılmıştır.

Tunika vaginalis, testislerin karın boşluğundan skrotuma inişleri sırasında beraberlerinde sürükledikleri abdominal periton tabakasını içeren testiküler zarın en dış tabakasıdır. Bu yapı, skrotumun iç yüzünü döşeyen iki yapraktan oluşur: lamina parietalis (periorchium) ve lamina visceralis (epiorchium). Bu iki yaprak arasındaki kılcal aralığa cavum serosum scroti adı verilir. Cavum serosum scroti, içerisinde bir miktar kaygan sıvı bulunduran bir boşluktur. Tunica vaginalis, testislerin anatomik konumunu düzenlerken aynı zamanda skrotumun iç yapısını oluşturan bu tabakalar aracılığıyla testisleri korur ve destekler.

Tunica albuginea, testisi dıştan saran sıkı fibröz bir tabaka olup lamina visceralis'in altında bulunan mavimsi beyaz renkli bir yapıdır. Bu tabaka, sıkı beyaz fibröz demetlerin farklı yönlerde uzanarak birbirlerinin içine girdiği bir yapı oluşturur. Tunica albuginea'nın arka kısmında içeriye doğru kalın bir vertikal uzantı bulunur, bu yapı mediastinum testis olarak adlandırılır. Mediastinum testis, organa damarlar, sinirler ve kanalların giriş ve çıkış yaptığı, rete testis adı verilen kanalcıkların bulunduğu bölgedir. Testisin üst kısmından alt kısmına kadar uzanan mediastinum testisten çıkan uzantılar septula testis olarak isimlendirilir. Septula testis, testisi piramidal şekilli 200-300 kadar lobüle bölen septula testisi oluşturur. Her bir lobül, tubuli seminiferi contorti adı verilen sıkışık kıvrıntılı tübüllerden oluşur. Tubuli seminiferi contorti, 150 ila 250 µm çapında ve 30 ila 70 cm uzunluğunda olan yapısal özelliklere sahiptir. Lopçukların mediastinum testise bakan tepe kısmında bu kıvrımlı tübüller düzleşir. Düzleşen tübüller birbirleriyle birleşerek tubuli seminiferi recti olarak tanımlanan 20-30 kadar kanalı meydana getirirler. Bu kanallar, mediastinum testise girerek arka, yukarı doğru uzanır. Birbirleriyle anastomoz yapan kanallar, rete testis adı verilen ağı oluştururlar. Rete testis, mediastinum testisin üst kısmında duktuli efferentes denilen 12-15 kadar kanala dönüşür. Bu kanallar, testisin üst arka kısmında tunica albuginea'dan testisin dışına çıkar ve duktus epididymis'e açılır. Epididymis, duktus epididymis'in oluşturduğu yumağı ifade eder ve bu yapı, testisin arka medial kenarına periton plikasıyla bağlıdır. Bu karmaşık yapılar, spermatogenezis sürecinin gerçekleşmesi için uygun bir ortam sağlar.

Tunica vasculosa, testisin iç yüzeyinde yer alan damar ağlarından oluşan bir tabakadır. Bu tabakada, damarlar arasında gevşek bağ dokusu bulunur. Tunica vasculosa, testisin dolaşım sistemiyle yakından ilişkilidir ve testisin iç yapısına oksijen ve besin sağlayan damarları içerir. Bu damar ağı, testisin sağlıklı fonksiyonları için gerekli olan kan akışını düzenler ve testisin iç ortamının stabilitesine katkıda bulunur. Tunica vasculosa, testisin anatomik yapısının korunması ve fonksiyonlarının sürdürülmesinde önemli bir rol oynar.

Skrotumun kanlanması, ön taraftan arteria pudenda externa'nın dalı olan aa. scrotales anteriores ve arka taraftan arteria pudenda interna'nın dalı olan aa. scrotales posteriores tarafından sağlanır. Skrotumun venleri, bu arterlere eşlik ederek venöz dolaşım ile beraber çalışır. Tunica dartos'ta bulunan yoğun ven damar ağı, bölgenin ısısını düzenleyerek optimal koşullar sağlar. Skrotumun kanlanması ve venöz drenajı, testislerin sıcaklık kontrolü ve sağlıklı fonksiyonları için kritik bir rol oynar. Bu kompleks damar

ağı, testislerin ihtiyaç duyduğu oksijen, besin ve hormonal dengenin korunmasına katkıda bulunur.

Testislerin kanlanması, abdominal aortanın dalı olan arteria testicularis'ler aracılığıyla gerçekleşir. Arteria testicularis, testise ulaşmak için karın boşluğunun büyük bir kısmını geçerek inguinal kanalı aşmak durumundadır. Bezin arka kenarından girerek, mediastinum testiste birçok dal verir. Bu dallar, bezin her yanına dağılır ve zengin kapiller ağ oluşturarak testis kanalcıklarını sarar. Arteria testicularis, arteria vesicalis superior'un bir dalı olan arteria deferentialis ve arteria femoralis kaynaklı, skrotumda dağılan arteria pudendae externa ile anastomoz yapar. Ancak, arteria testikularis'in bağlanması veya kesilmesi durumunda testiste hasar meydana gelebilir.

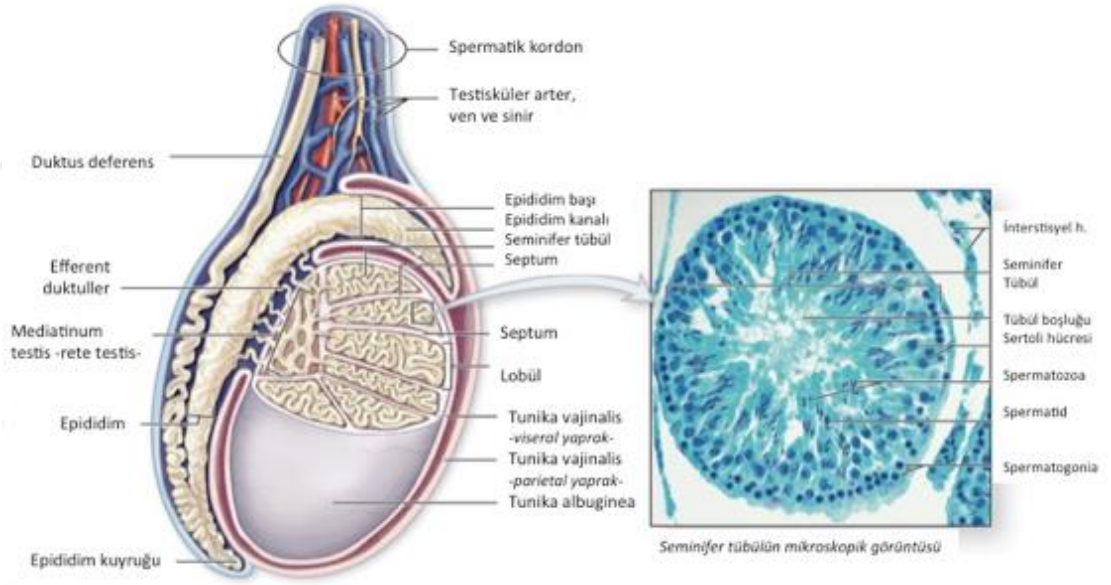
Testislerin venöz drenajı, duktus deferens etrafında oluşturulan pleksus pampiniformis adı verilen bir ven ağı ile sağlanır. Bu ağ, ilk olarak iki adet, ardından ise birer tane vena testikularis oluşturur. Sağ taraftaki vena testikularis vena cava inferior'a, sol taraftaki ise vena renalis'e dökülerek venöz kanın ana dolaşıma geri dönüşünü sağlar. Pleksus pampiniformis, testislerin sıcaklığını düzenleyerek spermatogenezis için uygun ortamı sağlamak amacıyla kanın serbestçe dolaşmasına izin verir.

Testislerin sinirsel kontrolü, sempatik ve parasempatik lifler aracılığıyla gerçekleşir ve bu sinirler arteria testicularis çevresinde bulunan pleksus testicularis aracılığıyla sağlanır. Sempatik sinirler ve parasempatik sinirler, bezlerin çalışmasını düzenleyerek testis fonksiyonları üzerinde etki sağlarlar. Ayrıca, testislerde bulunan 4-8 adet lenfatik damar, funikulus spermaticus'u izleyerek nodus lenfaticus aorticus lateralis ve preasortis ile birleşir. Lenfatik sistem, testislerden kaynaklanan lenf sıvısını taşıyarak bağışıklık sistemiyle ilişkilidir ve bu şekilde lenf düğümleri aracılığıyla vücudun savunma mekanizmalarına katılır (30).

2.3. Testis Histolojisi

Erkek genital sistemi, temel görevi spermatozoon (sperm) üretimi olan bir yapıdır. Bu sistem; testisler, testis içi ve dışı kanallar, yardımcı bezler ve penisten oluşur. Genital kanal sistemi; tübülü rekti, rete testis, duktuli efferentes, duktus epididimis, duktus deferens ve duktus ejakulatoryus gibi bileşenleri içerir. Yardımcı bezler arasında seminal vezikül, prostat ve bulboüretral bezler yer alır. Bu sistemdeki organlar, spermatozoonların üretilmesi, depolanması ve taşınması gibi üreme fonksiyonlarını yerine getirir. Ayrıca, yardımcı bezlerin salgıları, spermatozoonların taşınması için bir ortam sağlar ve ejakülasyon sıvısının oluşumuna katkıda bulunur (13).

Testisler, bileşik tübüler bez yapısına sahip olan ve hem endokrin hem de ekzokrin fonksiyonları yerine getiren bir çift organdır. Ekzokrin fonksiyonları, spermiyumların kanallar aracılığıyla atılmasını içerirken, endokrin fonksiyonları testosteron salgılamasını kapsar. Testosteron, sperm oluşumunun ba lamasına ve erkeklerde sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişimine katkıda bulunan bir hormondur. Erişkin erkeklerde, sperm üretiminin devam etmesi, sekonder seks karakterlerinin sürdürülmesi ve yardımcı bezlerin fonksiyonları, testislerden salgılanan hormonlara bağlıdır. Bu şekilde, testisler hem üreme sistemi hem de endokrin sistem üzerinde önemli bir rol oynarlar (31, 32).



Şekil 2.3. Testisin  ematik görünümü ile seminifer tübülün histolojik görünümü (27).

Testisler skrotum içinde yer alır ve dıştan içe doğru sırasıyla; tunica vaginalis, tunica albuginea ve tunica vasculosa olarak adlandırılan üç tabakalı kalın bir kapsülle çevrilmiştir.

Tunica vaginalis, testislerin gelişimi sırasında karın bo lu undan skrotuma doğru inerken, bu organlarla beraber sürüklenen iki katlı periton tabakasını temsil eder. Bu periton katmanı, testislerin anatomik konumu ve gelişim sürecindeki bu özel ini in bir yansımasıdır. Tunica vaginalis, testisleri çevreleyen ve onları dış etkenlere karşı koruyan bir kese görevi görür.

Tunica albuginea, testisleri çevreleyen üç katlı kapsülün en kalın tabakasıdır. Bu tabaka yoğun fibroelastik ba  dokusundan meydana gelir ve testisin arka bölümünde kalınla arak mediastinum testisi meydana getirir. Tunica albuginea içinde, testise giden ve çıkan kan damarları, lenf damarları ve çeşitli kanallar bu kalın tabaka içinde seyreder.

Yoğun yapısıyla testisleri koruyan bu tabaka, aynı zamanda içindeki yapıları düzenli bir şekilde destekler ve testislerin sağlıklı fonksiyonlarını sürdürebilmeleri için önemli bir rol oynar.

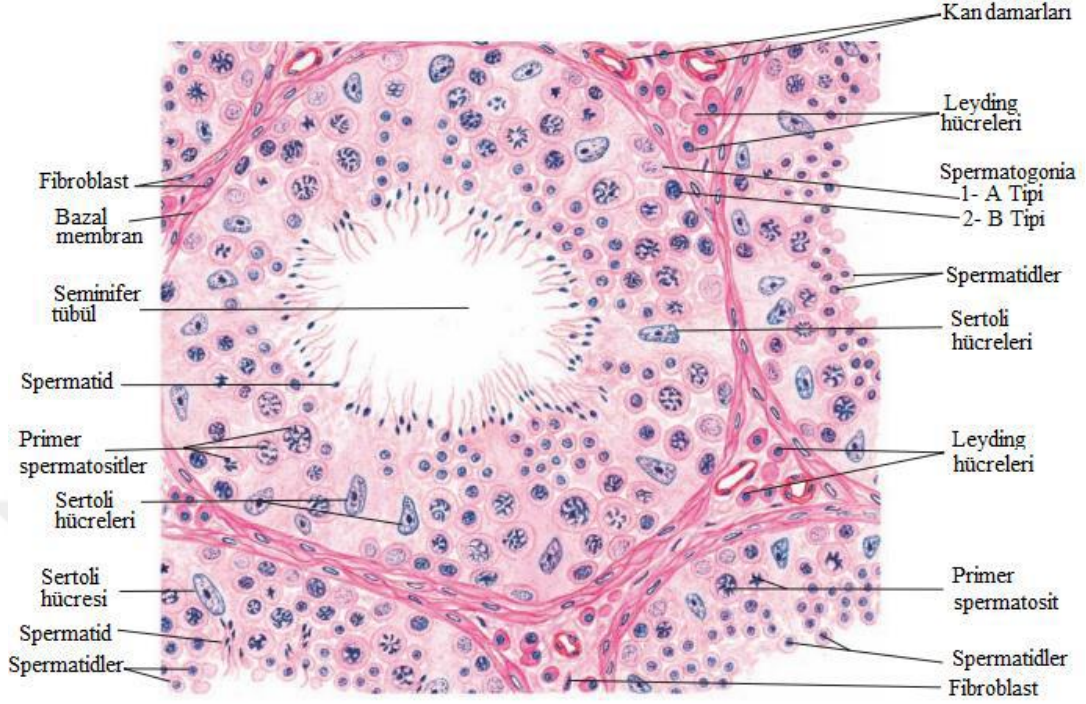
Tunica vasculosa, testisin en içte bulunan tabakasıdır ve içerisinde çok sayıda damar içeren gevşek bağ dokusundan oluşur. Bu tabaka, testisin vasküler yapısına katkıda bulunarak kan damarlarını içerir ve testis dokusunun oksijen ve besin maddeleri ile sağlıklı bir şekilde beslenmesini sağlar. Tunica vasculosa, testisin iç yapısındaki dolaşım sistemine entegre olarak, optimal koşullarda fonksiyon göstermesine yardımcı olur.

Testisler, üç tabakalı kapsülle çevrili ve içe doğru uzanan ince bağ dokusu uzantılarıyla 250'ye ulaşan lobüllere ayrılmıştır. Her testis lobülü, seminifer tübüllerin yanı sıra kan damarları, sinirler ve interstisyel hücreleri içeren gevşek bağ dokusuyla çevrilmiştir. Spermiyumların üretildiği bu kıvrımlı tübüller, her bir lobülde 1 ila 4 arasında değişen sayıda bulunur; bu da her testiste toplamda 250 ila 1000 arasında seminifer tübül anlamına gelir. Lobüllerin uç kısımlarında düz seyreden tübüllere "tübüli rekti" denir ve bu tübüller, birbiriyle anastomozlaşan ve mediastinumda bulunan rete testis ile devamlılık gösterirler. Rete testis, epididimisin baş kısmına duktuli efferentes ile bağlanmaktadır. Duktus epididimis, duktus deferense bağlanır ve duktus deferensin devamı da duktus ejakulatoryustur. Bu kompleks yapı, spermiyum üretimini, depolanmasını ve taşınmasını sağlayarak erkek üreme sisteminin temel işlevini yerine getirir (13, 32) .

2.3.1. Seminifer Tübüller

Seminifer tübüller, testis hacminin önemli bir kısmını oluşturan, kıvrımlı bir şekilde seyreden 50-60 cm uzunluğunda ve 150-250 µm kalınlığındaki kanallardır. Bu tübülleri döşeyen çok katlı epitel, seminifer epitel veya germinal epitel olarak adlandırılır. Epitel, spermatogenik seri hücreler ve Sertoli hücreleri olmak üzere iki farklı hücre grubunu içerir. Tunika propriya, özel bir bağ dokusu olup epitelin altında bulunmaktadır. Bu bağ dokusunun en iç katmanı, düz kas özellikleri sergileyen miyoid hücreleri içerir. Miyoid hücreler, hareketsiz spermleri rete testise iletmek ve bu işlem için gerekli olan ritmik kasılmaları sağlamak üzere özel bir fonksiyona sahiptir. Miyoid hücreleri ve kolajen lifleri içeren bu dokuya aynı zamanda peritübüler doku da denir. Bu özel bağ dokusunda fibroblast bulunmaması nedeniyle kolajen lifler, miyoid hücreler tarafından üretilir. Seminifer tübüllerin bu yapısal özellikleri, spermatogenez ve spermiyumların iletimi için uygun bir mikroçevre sağlar.

Seminifer epitel çok katlı bir epitel olup destek hücreleri olarak bilinen Sertoli hücreleri ve spermatogenik seri hücreleri içermektedir (33).



Şekil 2.4. Spermatogenik seri hücrelerin seminifer tübül içindeki yerleşimleri (34).

2.3.2. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri, sustentaküler hücreler veya destek hücreleri olarak da bilinir ve İtalyan bilim insanı Enrico Sertoli tarafından 1865 yılında keşfedilmiştir. Bu hücreler, seminifer epitelin tüm kalınlığı boyunca yaygın apikal ve lateral uzantılara sahip, seminifer tübülü destekleyen önemli hücrelerdir (13). Gelişmekte olan spermatogenik hücreleri destekleyen, koruyan ve besleyen bu hücreler aynı zamanda olgunlaşmamış spermatogenik hücreleri fagosite etme yeteneğine sahiptirler. Sertoli hücreleri, bölünme yeteneğinden yoksun olup aktif hücrelerdir; bu nedenle ökromatik bir nükleusa ve belirgin nükleolusa sahiptirler. Nükleusları genellikle oval veya üçgen şekillidir ve bazen bir veya daha fazla içeri katlanma gösterir. Bu özellikleri, Sertoli hücrelerini spermatogenez sürecinde önemli destekleyici ve koruyucu hücreler haline getirir (35).

Sertoli hücreleri organelden zengin olup, iyi gelişmiş granüler endoplazmik retikulum (gER), agranüler endoplazmik retikulum (agER), belirgin Golgi kompleksi, bol mitokondriyon, lizozom, lipid damlaları ve glikojen granülleri içerirler. İnsanlarda, bu hücrelerin bazal sitoplazmasında Charcott-Böttcher cisimleri olarak adlandırılan inklüzyonlar mevcuttur. Elektron mikroskopik incelemede, yoğun ve paralel seyreden

filamentler olarak görünen bu cisimciklerin kimyasal içerikleri ve fonksiyonları henüz tam olarak bilinmemektedir (24, 32).

Sertoli hücreleri, düzensiz hücre membranı sınırlarına sahip olup, spermatogenik seri hücreleri çevreleyen çok sayıda lateral uzantıya sahiptir. Zonula okludens tipi sıkı bağlantı kompleksleri aracılığıyla birbirlerine bağlanmışlar ve 50'den fazla paralel kaynaşma bölgesi içermektedir. Ayrıca, gap junction tipi bağlantı kompleksleri, desmozom benzeri bağlantı kompleksleri ve hemidesmozom tipi bağlantı kompleksleri ile de birbirlerine ve diğer hücelere bağlanmışlardır. Spermatogenik hücreler, Sertoli hücrelerinin oluşturduğu intersellüler bölmelerde yerleşmişlerdir ve lümene ulaşabilmek için bu hücreler arasındaki bariyeri aşmalıdırlar. Bu bağlantı kompleksleri, aynı zamanda kan-testis bariyerini oluşturarak seminifer epitelde kan ve lenf sıvısından farklı bir mikroçevre oluşturur. Kan-testis bariyeri, plazma proteinleri ve antikorları seminifer tübül lümeninin dışında tutarak erkek germ hücrelerini zararlı maddelere karşı korur. Sertoli hücreleri ayrıca hem ekzokrin hem de endokrin salgı fonksiyonlarına sahiptir. Ekzokrin olarak, spermatid sitoplazmasının fazla parçalarını ve gelişimini tamamlayamamış spermatogenik hücreleri fagosite ederek temizlerler. Endokrin olarak, FSH ve testosteron reseptörleri taşıyan bu hücreler, inhibin ve aktivin gibi hormonları salgılar. İnhibin, ön hipofiz bezinden FSH salınmasını inhibe ederken, aktivin bu salınımı aktive eder. Ayrıca, Sertoli hücreleri, yüksek konsantrasyonda testosteron içeren bir mikroçevrenin devamlılığını sağlayarak farklılaşmakta olan spermatogenik hücreler için gerekli olan ideal ortamı yaratırlar. Bu hücreler aynı zamanda plazminojen aktivatör, seruloplazmin, transferrin, müllerian inhibe edici faktör (MIF), kök hücre faktörü ve nörotropik faktör gibi glikoproteinlerin salgılanmasına da katkıda bulunurlar (36, 37).

2.3.3. Spermatogenik Hücreler

Seminifer epitel, spermatogonyumdan başlayarak olgun spermatozoon aşamasına kadar çeşitli gelişim aşamalarını içeren bir hücre grubunu barındırır. Bu hücreler, periferden lümene doğru maturasyon kazanan, belirgin olmayan tabakalar halinde Sertoli hücreleri arasında sıralanmışlardır. Spermatogenik hücrelerin gelişimi sırasıyla; spermatogonyum, primer spermatosit, sekonder spermatosit, erken spermatid ve geç spermatid aşamalarını içerir. Bu hücreler, bazalden lümene doğru ilerleyerek olgun spermatozoon halini alırlar. Geç spermatidler, Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazmasına tutunmuş bir şekilde bulunurlar. Seminifer tübül lümenine salındıklarında, artık serbest hale gelmiş olan bu hücelere spermatozoon denir (13, 38, 39).

2.3.4. Spermatogenez

Spermatogenez, erkek üreme sisteminde gerçekleşen bir süreçtir ve öncü hücreler olan spermatogonyumların puberte döneminde bölünerek farklılaşıp spermatozoonları oluşturması anlamına gelir. Bu süreç, puberteye kısa bir süre kala, ön hipofiz bezinden salgılanan gonadotropinlerin seviyesinin yükselmesiyle başlar. Gonadotropinler, özellikle FSH (Folikül Uyarıcı Hormon) ve LH (Luteinizan Hormon) gibi hormonlar, spermatogenezin başlamasını ve düzenlenmesini sağlar. Spermatogenez, yaşam boyu devam eden bir süreçtir ve olgunlaşan spermatozoonların üretilmesini içerir, bu da erkeklerin üreme yeteneğini sürdürebilmelerini sağlar (38–41).

2.3.5. Spermatogonyumlar

Seminifer tübül epitelinde bazal membranın hemen üzerinde yer alan, 12 µm çapındaki ve diğer spermatogenik hücelere kıyasla daha küçük olan spermatogonyumlar, diploid sayıda kromozoma sahip hücrelerdir. Bu hücreler, kan-testis bariyeri dışında yer alır ve bazal lamina ile doğrudan bağlantı kurarlar. Testosteron etkisiyle birlikte, mitoz bölünme ile çoğalmaya başlarlar. Spermatogonyumların nükleer görünüşleri arasında farklılık gösteren üç ana tip bulunmaktadır (40).

Tip A koyu spermatogonyumlar; yoğun bazofilik boyanan, ince granüler kromatinli ve oval nükleuslu hücrelerdir. Bu hücreler, seminifer epitelin kök hücreleri olarak görev yaparlar. Hücre döngüsüne girmeyerek düzensiz aralıklarla mitotik bölünme gerçekleştirirler. Bu bölünme sonrasında bir çift Tip A koyu spermatogonyum ile bir çift Tip A açık spermatogonyum oluşur. Tip A koyu spermatogonyumlar kök hücre olarak kalırlar. Tip A açık spermatogonyumlar farklılaşıp maturasyon kazanarak spermiyum haline gelirler.

Tip A açık spermatogonyumlar; soluk bazofilik boyanan, ince granüler kromatinli ve oval nükleuslu hücrelerdir. Testosteron uyarısıyla aktive olarak birçok kez mitoz bölünme geçirerek sayılarını arttıırırlar. Bölünmelerini tamamladıktan sonra farklılaşarak Tip B spermatogonyumlarına evrilirler. Bu süreç, spermatogenezin devam etmesi ve sperm üretimindeki çeşitlenmenin sağlanması için önemlidir. Tip B spermatogonyumlarının daha sonraki aşamalarda spermatositlere dönüşmesi, spermatogenezin ilerlemesini sürdüürerek olgun sperm hücrelerinin oluşumunu sağlar.

Tip B spermatogonyumlar; yuvarlak nükleuslu hücreler olup kromatini nükleolus çevresinde kaba kümeler oluştururlar. Spermatogonyumların en yaygın bulunan tipi olan

Tip B spermatogonyumların görülmesi, spermatogonyal dönemin sonunu temsil etmektedir. Bu aşama, spermatogenezin ilerlemesini gösterir ve spermatositlere dönüşme sürecini başlatır.

Spermatogonyumlar, erkek üremesinde önemli bir rol oynarlar. Kısmen sessiz olan bu hücreler, radyasyon ve kanser kemoterapisine karşı oldukça dirençlidirler. Ancak, spermatositler ve farklılaşmakta olan spermatogonyumlar, radyasyon ve kanser kemoterapisine karşı benzer dirence sahip değildirler. Kanser kemoterapisi sona erdikten sonra, spermatogonyal kök hücrelerin yeniden spermatogenik sürece girebildiği gözlemlenmiştir. Bu özellik, erkek üreme sistemindeki bu kök hücrelerin sağlamlığını ve potansiyelini vurgular, ancak tedavi sonrası süreçlerin karmaşıklığını da gösterir (13, 24, 32, 38, 39).

2.3.6. Primer ve Sekonder Spermatositler

Tip B spermatogonyumların mitotik bölünmesiyle, primer spermatositler ortaya çıkar. Primer spermatositler, DNA sentezini tamamlarlar ve ardından mayoz bölünmenin profaz aşamasına geçerler. İnsanlarda, birinci mayoz profaz dönemi yaklaşık olarak 22 gün sürer.

Birinci mayoz bölünmenin sonucunda oluşan küçük hücrelere ise sekonder spermatositler denir. Sekonder spermatositler, interfaz aşaması ve DNA replikasyonu olmadan hızla ikinci mayoz bölünmeye girerler. Bu nedenle, ikinci mayoz bölünme, birinciye kıyasla daha kısa bir sürede tamamlanır (24, 42).

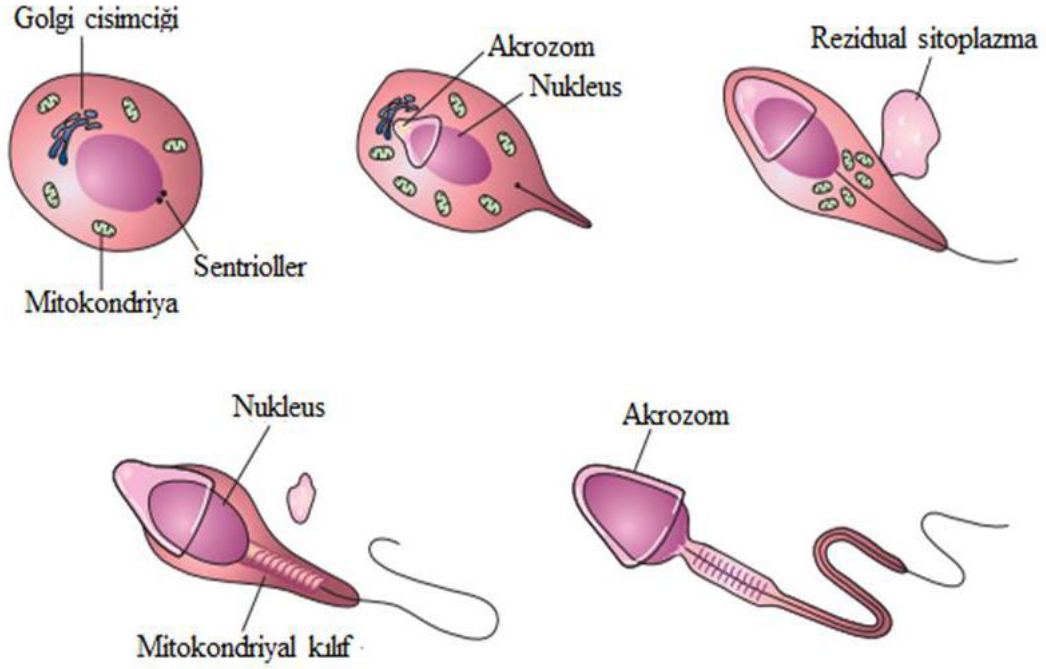
2.3.7. Spermatidler

Sekonder spermatositlerin bölünmesiyle, her biri 23 kromozoma sahip iki adet spermatid oluşur. Bu spermatidler, spermiyogenez olarak adlandırılan bir değişim dönemine girerler. Yuvarlak veya poligonal şekilli olan spermatidler, yoğun nükleuslarıyla dikkat çekerler.

2.3.8. Spermiyogenez

Spermiyogenez, spermatidlerin spermiyum olarak adlandırılan olgun sperm hücrelerine dönüştüğü bir süreçtir. Bu dönemde, erken aşamada yuvarlak olan spermatidler, kuyruklu ve bir ölçüde hareketli olan spermiyuma dönüşmek üzere çeşitli değişimlere uğrar. Spermatidlerin bu değişim sürecinin son aşamasında, başları Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazmasına gömülü olarak bir süre kalırlar.

Spermiyogenez, genel olarak dört faza ayrılabilir ve bu aşamalarda spermatidlerin morfolojik ve sitoplazmik değişimleri gerçekleşir (13, 24).



Şekil 2.5. Spermiyogenez sürecinin şematik gösterimi (14).

Golgi Dönemi

Spermiyogenezin bu evresinde, çok sayıda Golgi kompleksi bulunan bölgede, glikoproteinden zengin proakrozomal granüller, nükleus membranının yakınında bulunan membranla sınırlı akrozomal vezikülle birleşir. Bu akrozomal vezikül, nükleer zarfa yakın bir konumda yer alır ve membranla çevrilmiş bir yapıdır. Bu bölgedeki gelişmekte olan spermiyumun ön kutbunu belirler. Akrozomal vezikülün içeriği bu süreçte artar ve genişler. Aynı dönemde, sentriyoller spermatidin arka kutbuna doğru göç eder ve spermin kuyruğunun aksonemini oluşturmaya başlar (13, 24).

Kep Dönemi

Spermiyogenezin bu evresinde, akrozomal vezikül nükleusun ön yarısını tamamen saracak şekilde genişleyip, şapka benzeri bir yapı oluşturarak bu bölümü kuşatır; bu oluşuma "akrozomal kep" adı verilir. Nüklear membranın, akrozomal kepe bakan bölümünde porlar kaybolur ve membran kalınlaşır. Bu dönemde, nükleer içerik yoğunlaşarak belirginleşir. Akrozomal kepin oluşumu, spermin baş kısmının morfolojik özelliklerini belirleyen önemli bir aşamadır (13, 24).

Akrozom Dönemi

Bu aşamada, spermatidde belirgin bir şekil değişikliği meydana gelir. Spermatidin baş bölgesi, Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazmasının derinlerine gömülürken, oluşan flagellum ise seminifer tübül lümenine uzanır. Yoğunlaşan nükleus, yassılaşıp uzar. Nükleus ve nükleusu saran akrozom, apikal sitoplazma membranına taşınır. Bu esnada sitoplazma da posteriora doğru yer değiştirir. Sitoplazmik mikrotübüller, akrozomdan spermatidin arka kutbuna doğru uzanarak bir manşet oluştururlar.

Flagellumun gelişiminden sorumlu olan sentriollerden kaynaklanan kalın lifler, flagellumun mikrotübül çiftlerinin etrafında dış kalın lifleri oluştururlar. Bu liflerin başlangıç noktasına boyun veya bağlayıcı parça denir. Boyun bölgesi, flagellumun temel yapı taşlarından biridir ve spermin hareketini sağlayan önemli bileşenlerden biridir.

Plazma membranı, büyüyen flagellumu sarmak üzere arkaya doğru uzanır, bu sırada manşet kaybolur. Mitokondriyonlar, boyun bölgesinde ve distale uzanan bölgede dış kalın liflerin etrafını kılıf gibi sararlar. Mitokondriyonlardan oluşan bu kılıfla karakterize edilen bu bölge, kuyruğun orta parçasını oluşturur. Bu yapı, spermin enerji ihtiyacını karşılayan mitokondriyonları içerir ve flagellumun düzgün çalışmasına katkı sağlar.

Orta parçanın distalinde iki longitudinal fibröz kolon ve bir dizi fibröz halkayı içerir. Bu kılıf, esas parçanın dışındaki yoğun lifleri çevreler ve flagellumun ucuna kadar ilerleyerek esas parça olarak tanımlanır. Esas parça, kuyruğun uzun ve ana kısmını oluştururken, distaldeki kısa segment ise son parçayı oluşturur. Sperm hücresinin kuyruğunun bu kompleks yapısı, ileri hareket kabiliyetini sağlamak üzere özenle düzenlenmiştir (13, 24).

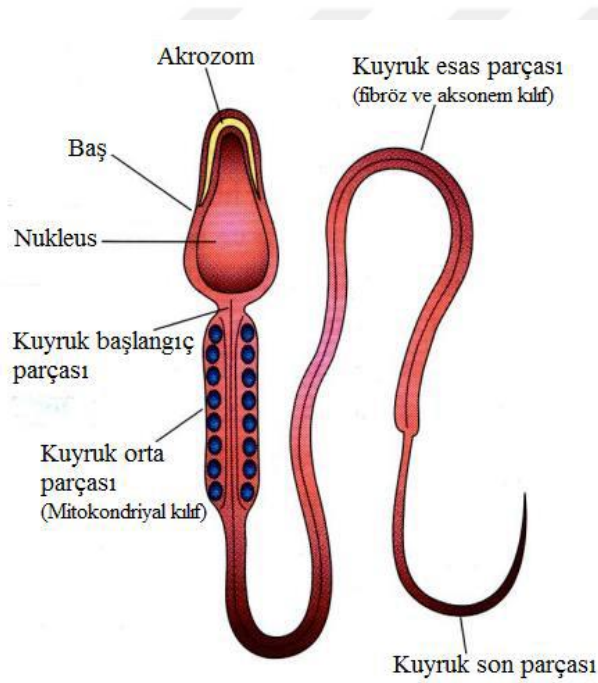
Olgunlaşma Dönemi

Spermiyogenezin son aşamasıdır. Bu evrede, flagellayı çevreleyen fazla sitoplazma atılır ve sonuçta olgun sperm hücresi meydana gelir. Geriye kalan sitoplazmik kalıntılar, rezidüel cisimcik olarak bilinir ve bu kalıntılar Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir. Spermatidler, birbirleriyle olan bağlantılarını kaybeder ve Sertoli hücrelerinden ayrılarak seminifer tübül lümenine düşerler (13, 24).

2.3.9. Spermatozoonlar (Spermiler)

İnsanlarda, spermatogonyumdan spermatozoon oluşumu yaklaşık olarak 64 gün süren karmaşık bir süreçtir. Olgun insan spermatozoonu, baş, boyun ve kuyruk olmak üzere üç ana bölümden oluşur (24).

Sperm başı, yaklaşık olarak 4.5-5 μm uzunluğunda, 3 μm genişliğinde ve 1 μm kalınlığında bir yapıya sahiptir. Bu bölge, akrozomla sarılmış yassılaştırmış heterokromatik bir nükleustan oluşur. Nükleusun ön yarısı, lizozomlarda bulunan çeşitli hidrolitik enzimleri içeren akrozom tarafından örtülür. Akrozom, proteazlar, asit fosfatazlar, hyaluronidaz, akrozin, nöraminidazlar gibi enzimleri içerir. Bu enzimler, spermatozoonun yumurta hücresiyle etkileşime geçmesi için gereken enzimatik aktiviteyi sağlar (13, 32).



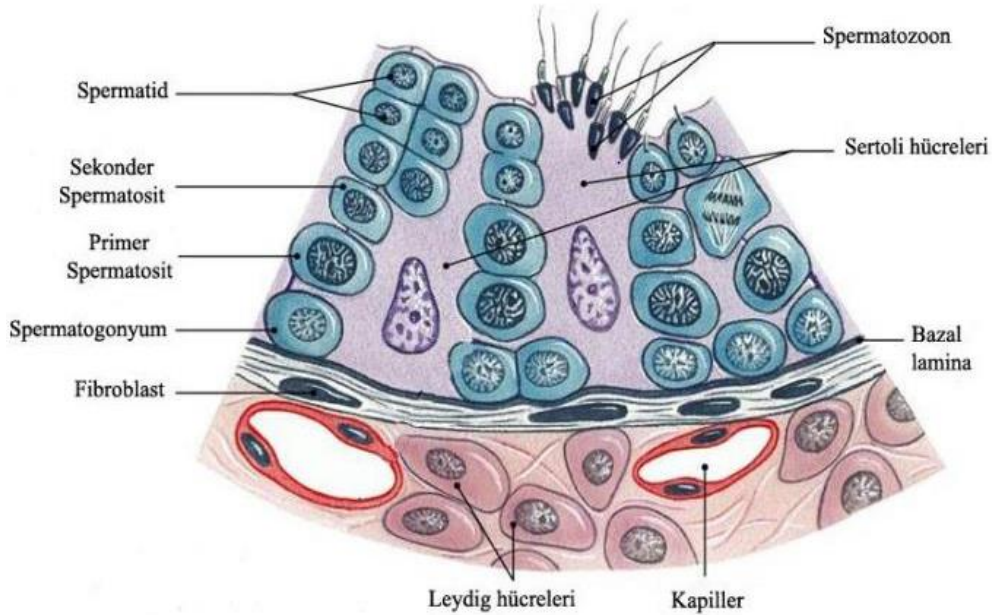
Şekil 2.6. Spermatozoonun şematik gösterimi (14).

Sperm kuyruğu; boyun, orta parça, esas parça ve son parça olmak üzere dört ana bölümden oluşur. Boyun bölgesi yaklaşık olarak 5 μm uzunluğundadır ve esas parça ile boyun arasında bulunan orta parça yaklaşık olarak 5 μm uzunluğundadır. Orta parça, 9+2 mikrotübül yapısındaki flagellumu içerir. Kuyruğun en uzun bölümü esas parçadır ve yaklaşık olarak 45 μm uzunluğundadır. Esas parça aksonemal kompleks, kalın fiberler ve dışındaki fibröz kılıfı içerir. Kuyruğun en kısa bölümü olan son parça ise yaklaşık olarak 5 μm uzunluğundadır. Bu bölge, sadece aksonemi içerir. Bunun nedeni dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın erken sona ermesidir (13, 24, 27).

Seminifer tübüllerde olgunlaşan sperm hücreleri, lümene atıldıklarında hareketsiz durumdadır. Ancak, bu olgunlaşma süreci epididimiste gerçekleşir. Epididimis, sperm hücrelerinin depolandığı ve olgunlaştığı bir yapıdır. Spermatozoonlar burada hareket kazanır ve ileri olgunlaşma aşamalarına geçerler. Epididimis, sperm hücrelerine çevresel koşullara uyum sağlamaları ve diğer üreme organlarına taşınmaları için gerekli olan optimal çevresel şartları sağlar.

2.3.10. İnterstisyel Doku Histolojisi

Seminifer tübüller arasında bulunan gevşek bağ dokusuna interstisyel doku denir. Bu alan, kan damarlarını, lenf damarlarını, sinir liflerini ve çeşitli hücreleri içeren zengin bir yapıya sahiptir. Testiküler kapillerler, pencereci bir yapıya sahiptir ve bu özellikleriyle kan proteinleri gibi makromoleküllerin serbestçe geçişine izin verirler. İnterstisyel dokuda, fibroblastlar, mast hücreleri, makrofajlar gibi çeşitli hücre tiplerinin yanı sıra testosteron salgılayan Leydig hücreleri (interstisyel hücreler) de bulunur (31, 32).



Şekil 2.7. Seminifer tübül ve interstisyel alanın şematik gösterimi (43).

2.3.11. Leydig Hücreleri

Leydig hücreleri, testiküler interstisyel alanda tek veya gruplar halinde bulunurlar. Endokrin fonksiyonları nedeniyle kan veya lenf damarlarına yakın konumlanmışlardır. Yuvarlak veya poligonal şekilli, eozinofilik sitoplazmalı ve ökromatik nükleusa sahip büyük hücrelerdir. Leydig hücreleri, içerdikleri lipit damlacıkları, lipofuskin pigmenti ve Reinke kristalleri adı verilen sitoplazmik kristallerle belirgindir. Bu hücreler,

kolesterolden testosteron sentezledikleri için granülsüz endoplazmik retikulum ve mitokondriyonlardan zengin bir yapıya sahiptirler (44–46).

Leydig hücreleri, ürettikleri testosteron hormonunu endokrin sekresyon yaparak kana veya lenf damarlarına salgırlar. Bu hücreler, erken ftal dönemde testosteron salgılamaya başlarlar. Fötal hayatın 5. ayından puberteye kadar inaktif hale gelirler. Leydig hücreleri, pubertede artan LH (luteinizing hormone) seviyeleri ile birlikte yeniden aktive olur ve androjen sentezine başlarlar. Testosteron, embriyoda gonadların ve dış genital organların gelişimi için kritik bir rol oynarken, pubertede spermatogenezin başlatılması ve sekonder seks karakterlerinin gelişimi için önemlidir. Yetişkinlik döneminde ise testosteron, bezlerin salgı aktivitelerinin, spermatogenezin ve sekonder seks karakterlerinin sürdürülmesi için gereklidir.

Olgun Leydig hücreleri genellikle çocuklarda 10 yaşına kadar bulunmaz. Leydig hücreleri, bireyin ergenlik dneimine girmesiyle birlikte sayılarını arttırır. Ergenlik, Leydig hücrelerinin hormonal aktivitesinin ve testosteron üretiminin önemli bir artışını tetikler. Ancak, ilerleyen yaşlarla birlikte, genellikle orta yaşlardan itibaren, Leydig hücrelerinin sayısında ve faaliyetinde bir azalma gözlemlenir. Bu azalma, yaşla birlikte testosteron seviyelerindeki düşüşle ilişkilidir (45, 46).

2.3.12. Testis İçi Boşaltım Kanalları

Tbli Rekti – Düz Tübüller

Seminifer tübüllerin devamı olan düz ve kısa seyirli kanallardır. Seminifer tübüllerden tübüli rektile doğru ilerledikçe, spermatogenik hücrelerin sayısı azalırken, Sertoli hücre sayısı artar. Rete testise yakın son bölümü, kısa mikrovilluslu tek silyaya sahip, tek katlı kübik epitelle döşenmiştir. Bu yapılar, mediastinum testise girerek rete testise açılırlar (13, 32).

Rete Testis

Mediastinum, testisin bağ dokusu içinde bulunan ve birbirleriyle anastomozlaşan yapıları ifade eder. Bu tübüler ağ, rete testis adı verilen bir yapı oluşturur. Rete testis, etrafındaki bağ dokusu içinde büyük Leydig hücrelerini barındırır. Lmeni düzensizdir ve tek katlı yassı ya da tek katlı kübik epitel ile döşelidir. Epitel hücreleri, apikal bir silya ve kısa mikrovillusa sahiptir. Spermatozoonlar, tübüli rekti ve rete testisten hızla geçtikleri için lümen içinde nadiren spermatozoon gözlenir. Rete testis, spermatozoonun olgunlaşma sürecinde geçiş yolu olarak önemli bir rol oynar (13, 32, 47).

2.3.13. Testis Dışı Boşaltım Kanalları

Duktuli Efferentes

10-20 adet her biri 2 cm uzunlukta kısa ve kıvrımlı tüplerdir. Tunika albugineayı delerek rete testisi epididimise bağlar. Epiteli prizmatik ve kübik hücrelerden oluşur. Ayrıca lümene ulaşmayan bazal yuvarlak hücreler bulunur. Bu nedenle yalancı çok katlı epitel de denilebilir. Prizmatik hücreler koyu boyanan lümene bakan kısımlarında kinosilya bulunan hücrelerdir. Kübik hücreler sitoplazmalarında yağ içerdiğinden soluk boyanırlar. Sitoplazmalarında bol pinositotik vezikül ve lizozom, yüzeylerinde ise çok sayıda mikrovillus bulunur. Hücrelerin bu organel yapısı absorpsiyon özelliğini gösterir. Kübik hücreler kısa, kinosilyalı hücreler yüksek boylu olduğundan lümen düzensiz girintili çıkıntılı görülür. Testislerde, bazal lamina altında yer alan ince sirküler seyirli düz kas içeren bağ dokusu, boşaltıcı kanalların çevresinde düz kasın görülmeye başladığı ilk yeri oluşturan duktuli efferentesleri içerir. Bu düz kas tabakası, peristaltik hareketler gerçekleştirerek spermatozoonların epididimise iletilmesine yardımcı olur. Prizmatik hücrelerin silya vuruş yönü epididimise doğrudur (13, 32).

Epididimis

Testisin arka yüzü boyunca uzanan, 4-6 cm uzunluğunda, kıvrımlı, uzun tek kanaldır. Baş, korpus ve kuyruk olmak üzere üç ana kısmı vardır. Yüksek kıvrım oranı, enine kesitlerde bir dizi epididimis kanalına rastlanmasına neden olur. Duktuli efferenteslerden ayırt edici en önemli özellik, dış ve iç sınırlarının düzenli oluşudur. Duktus deferens ile devam eden bu tüp, spermatozoonların olgunlaştığı ve depolandığı bir bölge olarak görev yapar. Yalancı çok katlı prizmatik epitel ile döşenmiştir, epitelde kısa bazal hücreler ve uzun stereosilyalı prizmatik hücreler (esas hücreler) bulunur. Epididimis boyunca epitelde sıklıkla lenfositlerin (Halo hücreleri) görülmesi bu yapıya özgü bir özelliktir. Bazal hücreler küçük, yuvarlak, bazal laminaya oturmuş, lümene ulaşmayan hücrelerdir. Bu hücrelerin esas hücreler için kaynak olduğu düşünülmektedir.

Prizmatik hücreler (esas hücreler), hepsi aynı boyda olup lümene ulaştığından lümen düzgün görünür. Lüminal yüzeylerinde sterosilya içerir. Sitoplazmalarında lipit damlaları, çok sayıda kaplı vezikül ve lizozom bulunur. Sterosilya ve lizozomlar hücrelerin emilim ve fagositoz olaylarına işaret eder. Duktuli efferentes tarafından geri emilmeyen sıvının büyük bir kısmı, epididimisin proksimal bölgesinden emilir. Fagosit edilememiş artık cisimleri ve kanalda dejenere olmuş spermatozoonları fagosit ederler. Epididimise giren spermatozoonlar duktus boyunca hareket ve oositi fertilize etme

yeteneği kazanırlar. Bu kanalda dişi genital sisteme girene kadar spermatozoonun fertilize etme yeteneğini engelleyen gliserofosfokolin eklenir. Epididimisin baş ve gövde bölümünde sirküler kas tabakası, kuyruk bölümünde ise longitudinal kas tabakası bulunur. Spermatozoonların epididimisten geçiş süresi yaklaşık 12 gündür (13, 32, 48, 49).

Duktus Deferens (Vas Deferens)

Boşaltım kanal sisteminin en uzun segmentidir ve epididimisin kuyruk bölümünden kalınlaşarak oluşur. Dar bir lümene sahip olan bu kanal, içten dışa doğru  tabakadan oluşan bir duvar yapısına sahiptir. Tunika mukoza, lümene doğru kıvrımlar yaparak yıldız şeklinde bir lümen oluşturur. Epitel sterosilyalı yalancı çok katlı prizmatik epitelden oluşurken, altında elastik liflerle zenginleştirilmiş lamina propriya bulunur. Bu tabakanın altında 1-1,5 mm kalınlığında, ite ve dışta longitudinal, ortada sirküler seyirli düz kas liflerinden oluşan tunika mskularis yer alır. En dış tabaka ise kan damarları ve sinir liflerini içeren tunika adventisyayı içerir.

Duktus deferensin genişleyen ve mukozası daha katmanlı olan terminal kısmına ampulla denir. Ampulla, veziküla seminalis kanalıyla birleşerek ejaklator kanalı oluşturur ve bu kanal, prostat bezi içinde üretraya doğru devam eder. Bu genişleme bölgesi, seminal sıvının depolanması ve taşınması için önemli bir rol oynar, ve ejakülasyon sırasında spermatozoon ve diğer meni bileşenlerinin atılmasına katkıda bulunur (13, 32).

Duktus Ejeklatoryus

1-2 cm uzunluğunda kısa, düz bir kanaldır. Epiteli yalancı çok katlı prizmatik veya basit prizmatik epiteldir. Epitelin altında elastik liflerden zengin bağ dokusu bulunur. Mukoza, lümen içine doğru katlantılar oluşturur. Duvarında düz kas bulunmaz. Kanal prostat bezine girer ve prostatik üretraya açılır (13, 32).

2.3.14. Yardımcı reme Bezleri Histolojisi

Vezikla Seminalisler

Sağda ve solda ampulla duktus deferens ile duktus ejaklatoryusun birleşme yerinde duktus ejaklatoryusa açılan, 4 cm uzunlukta, 2 cm eninde oldukça kıvrımlı tübüler bir çift organdır. Mukozada çok sayıda kıvrımları ve dallanmaları bulunması lümenin düzensiz labirent şeklinde izlenmesine neden olur. Lmeni yalancı çok katlı prizmatik epitle döşelidir. Epitel kısa, yuvarlak şekilli bazal hücreler ve prizmatik hücreleri içerir. Epitel ykseklıği testosterona bağlı olarak yükselir. Epitelin altında

elastik liflerden ve damardan zengin gevşek bağ dokusubunun da altında içte sirküler sısta longitudinal seyreden kas tabakası bulunur. İnsanda ejakülatın %50-70'lik bölümü bu bezin salgısıdır. Seminal bezler fruktozdan zengin visköz, sarımsı bir sıvı salgılar. Ayrıca sıvı içerisinde C vitamini, aminoasitler ve prostaglandinler bulunur (13, 32).

Prostat Bezi

Erkek üreme sisteminin en büyük ve tek bezi olan prostat, üretranın mesaneye yakın bölümünü kuşatır. Dıştan düz kas, kolajen ve elastik liflerdene oluşan fibromüsküler bir kapsül ile sarılıdır. Kapsülden organ içerisine giren septalar parankima arasında yayılan interstisyel dokuyu oluşturur. Parankimayı 30-50 bileşik tübülo-alveolar bez oluşturur. Bezler üretra çevresinde konsantrik olarak yerleşmesi nedeniyle üç zon şeklinde ayırt edilir:

Merkezi Zon: Üretra çevresindeki 30-40 adet kısa mukozal bezler içerir. Bez dokusunun %25'ini oluşturur. Prostatın, enflamasyona ve karsinoma dayanıklı bölgesidir. Bu zondaki hücreler geniş bir nükleusa ve hafif bazofilik sitoplazmaya sahiptir.

Orta (Transizyonel) Zon: Mukozal bezlerin periferinde yer alır, onlara göre daha uzun submukozal bezlerdir. Prostatik bez dokusunun yaklaşık %5'ini oluşturur.

Periferik Zon: Uzun tübüloalveolar bezlerin bulunduğu en geniş bölümdür (%70). Prostat salgısının büyük bir bölümü periferik bezlerde yapılır. Prostatik karsinom ve enflamasyonun çoğu bu zonda gelişir.

Epitel, altındaki bağ dokusu ile birlikte lümen içerisine papiller uzantılar yapar. Bu özellik bezi tanımada önmelidir. Epiteli lümen dolu olduğunda boyu azalan tek kalı prizmatik epiteldir. Bazı alanlarda yalancı çok katlı epitele de rastlanabilir. Hücreler protein sentezleyen hücrelere özgü organelleri ve salgı granülleri taşır. Salgı maddesinin lümen içerisinde yoğunlaşmasıyla prostat taşları denen eozinofilik boyanan konsantrik cisimler oluşur. Ortalama 250 µm çapındadır, bazıları 1 mm çapa bile ulaşabilir. Bezleri düz kastan zengin bir fibroelastik interstisyel doku çevreler.

Prostat salgısı sitrik asitten zengin olup asit fosfataz, prostat spesifik antijen (PSA) ve aktif fibrinolizin içerir. Prostat karsinomlarında prostatik asit fosfataz ve PSA salınımında artış izlenir. Fibrinolizin semenin pıhtılaşmasına engel olur (32).

Bulboüretal Bezler – Cowper Bezleri

Her biri 1 cm'den küçük olan bu bileşik tübüloalveolar çift bez, testis dokusunda bulunan önemli bir yapıdır. Bezler, fibroblast ve düz kas içeren bağ dokusu kapsülü ile çevrilmiş ve aynı zamanda çizgili kas lifleri de içermektedir. Kapsül tarafından oluşturulan septumlar, bezin içerisine sokularak organı lobüllere böler. Bu bölgelerdeki

epitelyum, testosterona bağı olarak kübik veya prizmatik bir şekil alır ve nükleuslar genellikle bazalde konumlanır. Bezlerin salgısı berrak, kaygan, akıcı ve mukusa benzer bir görünüme sahiptir (13, 32).

2.4. Testis Fizyolojisi

Erkek üreme işlevleri, temel olarak üç ana grupta incelenir. İlk olarak, spermatogenez adı verilen süreçle sperm oluşumu gerçekleşir. Bu, testislerdeki spermatogonyum hücrelerinin olgun spermatozoona dönüşümünü içerir. İkinci olarak, erkek cinsel davranışların düzenlenmesi, çeşitli hormonların etkisiyle gerçekleşir. Bu süreç, hormonal düzenlemelerle birlikte sinirsel sinyallerin koordinasyonunu içerir ve üreme davranışlarını etkiler. Son olarak, erkek cinsiyet hormonlarının yardımcı seks organları, hücre metabolizması, büyüme ve vücudun diğer işlevleri üzerinde çeşitli etkileri bulunmaktadır (50, 51).

2.4.1. Spermatogenez

Embriyonik gelişim sürecinde, primordial germ hücreleri testislere doğru göç eder. Bu hücreler, seminifer tübüllerin iç yüzeyinde yer alan spermatogonyum adlı olgunlaşmamış germ hücrelerine dönüşür. Puberte döneminde spermatogonyumlar, mitotik bölünmeye uğrayarak sürekli bir çoğalma gösterirler. Bu süreç, spermatogonyumların sperm oluşturmak için gerekli olan basamakları tamamlamalarını sağlar. Mitotik bölünmelerle çoğalarak farklılaşan bu hücreler, olgun spermatozoona dönüşerek erkek üreme sistemine katkıda bulunurlar.

Spermatogenez, yaşam döngüsü boyunca devam eden karmaşık bir süreçtir ve bu sürecin başlangıcı genellikle 13 yaş civarında gerçekleşir. Bu önemli üreme olayı, hipofiz bezinin ürettiği gonadotropik hormonların uyarısıyla seminifer tübüllerde başlar (52).

Spermatogenezin ilk evresinde spermatogonyumlar seminifer tübüllerin lümenine doğru Sertoli hücrelerinin arasına göç ederler. Sertoli hücreleri, gelişmekte olan spermatogonyumlar için sitoplazmatik çevre sunan ve bu sürecin sağlıklı ilerlemesini destekleyen hücrelerdir. Sertoli hücreleri, spermatogonyumları çevreleyen sitoplazmatik ortamı oluşturarak, spermatogenezin ilk evrelerindeki hücresel etkileşimleri düzenlerler.

Spermatogonyumlar, spermatogenez sürecinde önemli bir evreyi temsil eder. Bu hücreler, mayoz bölünme geçiren primer spermatositlere dönüşürler. Primer spermatositler, mayoz bölünme sonucunda iki adet sekonder spermatosite ayrılır ve bu hücreler daha sonra bölünerek spermatidleri oluşturur. Spermatidler, nihayetinde

spermatozoon veya kısaca sperm adı verilen olgun hücrelere dönüşürler. Bu karmaşık dönüşüm süreci, spermatogonyumdan spermatozoona kadar olan evrelerde toplamda yaklaşık 74 gün süren bir zaman alır.

Sperm, epididim tübüllerinden geçiş sürecinde önemli değişikliklere uğrar. İlk olarak, seminifer tübül ve epididimisin başlangıç kısımlarından geçen sperm, hareketsizdir ve henüz fertilizasyon yeteneğine sahip değildir. Sperm, epididimde yaklaşık olarak 18-24 saat boyunca bulunduktan sonra hareket yeteneğini kazanır, ancak bu süre zarfında epididim tarafından salgılanan baskılayıcı proteinlerin etkisi altında ejakülasyona kadar hareketleri engellenir. Ejakülasyon anında, sperm hareketleri serbest bırakılarak fertilizasyon için uygun hale gelir.

Genç erişkinlerin her iki testisi, günlük olarak yaklaşık 120 milyon sperm üretebilen aktif bir üreme sistemine sahiptir. Bu büyük sayıdaki sperm hücrelerinin bir kısmı epididimde, ancak çoğunluğu vas deferens adı verilen kanalda depolanır. Sperm hücreleri, fertilizasyon yeteneklerini koruyarak en az bir ay boyunca baskılanmış ve inaktif bir durumda depolanabilir. Ancak, bu süre zarfında ejakülasyon olmadığı takdirde depolama süresi birkaç günden uzun sürmez. Ejakülasyon sırasında, depolanan sperm hücreleri serbest bırakılarak hareket etmeye başlar ve böylece üreme sürecinde rol oynarlar.

Normal, olgun, hareketli ve fertilizasyon yeteneğine sahip sperm, sıvı ortamda dakikada 1-4 mm hızında ilerleyebilirler. Bu hız, genellikle hafif alkali bir ortamda artarken, hafif asidik bir ortamda baskılanarak azalma gösterir. Sperm hareketleri ayrıca sıcaklık artışıyla da artar. Testis kanallarında birkaç hafta yaşayabilen sperm hücreleri, kadın genital kanallarında ise daha sınırlı bir süre olan 1-2 gün boyunca yaşayabilirler.

Ejakülasyonla atılan semen; vas deferensten yaklaşık %10, vesikula seminalisten yaklaşık %60, prostat bezinden ise yaklaşık %30 oranında gelen sıvıları ve spermeleri içerir. Semen, içeriğindeki farklı bileşenler sayesinde spermelerin taşınmasını, korunmasını ve doğal üreme sürecinin gerçekleşmesini sağlar. Sperm, erkek genital kanallarında birkaç hafta süreyle yaşayabilirler. Ancak, semenle atıldıktan sonra dışı genital kanallarında yalnızca 1-2 gün boyunca canlı kalabilirler. Bu süre zarfında sperm, uygun bir zamanda yumurta hücresi ile birleşmek üzere hareket ederler. Semen, içeriğindeki besleyici sıvılar ve diğer yardımcı maddeler sayesinde spermelerin hareket kabiliyetini artırarak, fertilizasyon sürecini destekler.

Sperm epididimden ayrıldıklarında henüz olgunlaşmamışlardır ve dölleme yeteneğine sahip değildirler. Dölleme yeteneğine kavuşabilmeleri için dışı genital

kanallarındaki sıvılarla temas etmeleri gerekmektedir. Bu temasın ardından spermi aktive eden bir dizi olay meydana gelir ve bu olaylara "spermin kapasitasyonu" denir. Kapasitasyon süreci, sperm hücrelerinin dölleme yeteneğine ulaşabilmeleri için gerekli olan değişiklikleri içerir. Bu süreç genellikle 1-10 saat arasında sürer. Sperm, kapasitasyonun tamamlanmasından önce fertilizasyon sürecini gerçekleştiremez (53).

2.4.2 Testosteron ve Diğer Erkek Cinsiyet Hormonları

Testisler, erkek cinsiyet hormonları olarak bilinen testosteron, dihidrotestosteron ve androstenedion gibi androjenleri üreterek erkek üreme sistemi ve sekonder seks karakterlerinin gelişiminde önemli rol oynarlar (54).

Testosteron

Testosteron, erkek üreme sistemini düzenleyen ve sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişimine etki eden en önemli testis hormonu olarak bilinir. Testosteron, seminifer tübüller arasındaki interstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri tarafından sentezlenir. Leydig hücreleri testis kütlesinin yaklaşık olarak %20'sini oluştururlar. Çocukluk döneminde, testosteron salgılanması çok düşük düzeydedir ve bu nedenle Leydig hücreleri çocuklukta genellikle etkili bir şekilde faaliyet göstermez. Ancak, yeni doğan erkek çocuklarda ve özellikle puberte dönemi sonrasında Leydig hücreleri aktifleşir ve testosteron salgılamaya başlar (55, 56).

Testosteron, erkeklerde belirgin cinsiyet özelliklerinin gelişiminden sorumlu olan kilit bir hormondur. Embriyonik dönemin yaklaşık 7. haftasında erkek fötüs, testosteron üretimine başlar. Genellikle gestasyonun son 2-3 ayında, testisler yeterli miktarda testosteron salgılanmasıyla skrotuma inerler. Ancak bazı durumlarda, testisler skrotuma inmemiş olabilir. Bu durumda, testosteron tedavisi kullanılarak testisler skrotuma indirilebilir.

Puberte sonrasında artan testosteron salgılanması, erkek cinsiyet organlarının büyümesine ve sekonder erkek cinsiyet özelliklerinin gelişimine öncülük eder. Penis, skrotum ve testislerde gözlemlenen büyüme, testosteronun etkisi altında gerçekleşir. Bu hormon, vücut kıllarının dağılımını düzenler, erkek tipi kelliğe ilişkilidir, ses tonunu derinleştirir ve deri kalınlığını artırır. Ayrıca, testosteron protein sentezini ve kas gelişimini artırır. Pubertede artan testosteron seviyeleri, kemikleri kalınlaştırır ve önemli miktarda kalsiyum tuzlarının depolanmasına katkıda bulunur. Bu hormon, bazal metabolizma hızını yaklaşık olarak %15 artırabilir ve eritrositlerin üretimini destekleyerek kan hacmini artırır (52, 57).

Gonadotropik Hormonlar: LH ve FSH

Cinsel işlevlerin kontrolü, erkek ve dişi her iki cinsiyette de hipotalamustan salgılanan Gonadotropin Serbestleştirici Hormon (GnRH) tarafından başlar. GnRH, ön hipofiz bezini uyararak Luteinizan Hormon (LH) ve Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) adı verilen iki önemli hormonun salgılanmasını sağlar. LH ve FSH, aynı hücrelerden salgılanan gonadotropolar tarafından üretilir. Bu hormonlar, glikoprotein yapılarına sahiptirler (58).

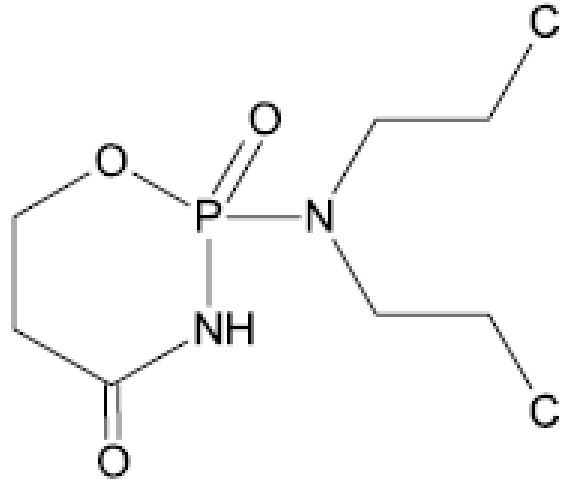
Testislerdeki Leydig hücreleri tarafından salgılanan testosteron, hipofiz bezinden salgılanan luteinizan hormon (LH) tarafından uyarılır. Salgılanan testosteron miktarı ile uyarıcı LH miktarı arasında doğru orantılı bir ilişki vardır. LH uyarısı ile salgılanan testosteron hormonu, ön hipofizden LH salgısını baskılar. Ancak, testosteron miktarının gereğinden fazla artması durumunda negatif geri bildirim etkisi devreye girer. Bu etkiyle, hipotalamus ve ön hipofizin etkisi azaltılarak testosteron salınımı bastırılır, bu da testosteron hormonu düzeyinin normale getirilmesini sağlar (54).

Hipofiz bezinden salgılanan folikül uyarıcı hormon (FSH), seminifer tübüllerdeki özgül reseptörlere bağlanarak spermatogenez sürecini başlatır. Bu bağlanma, hücre büyümesini ve çeşitli spermatogenik maddelerin salgılanmasını tetikler. Aynı zamanda, Leydig hücreleri tarafından sentezlenen testosteron, spermatogenez üzerinde güçlü bir etki gösterir. Testosteron, FSH'nin uyarısıyla başlayan bu süreçte önemli bir rol oynar. Spermatogenez sürecinin başlaması için hem FSH'nin hem de testosteronun koordineli bir şekilde çalışması gereklidir.

Sperm üretiminin azalması, ön hipofiz bezinden folikül uyarıcı hormon (FSH) salgısının büyük oranda artmasına neden olur. Bu durum, spermatogenezin hızlı bir şekilde artmasıyla birlikte FSH salgısının da arttığını gösterir. Ancak, bu artışın aksine, spermatogenezin hızlı bir şekilde artması, Sertoli hücrelerinden salgılanan inhibin hormonu aracılığıyla negatif bir geri bildirim neden olur. İnhibin, ön hipofiz bezini etkileyerek FSH salgısını baskılayan güçlü bir etkiye sahiptir. Bu negatif geri bildirim mekanizması, testislerdeki sperm üretimi arttıkça FSH salgısının düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Bu, testislerin kendilerinin hormonal düzenlemesinin yanı sıra hipofiz bezinin de bu süreçte etkili olduğunu gösterir (59).

2.5. Siklofosfamid

Siklofosfamid, 1958 yılında sentezlenmiş ve günümüzde Dünya Sağlık Örgütü'nün temel ilaçlar listesinde yer alan sitotoksik özelliklere sahip kemoterapötik bir ajandır (60). Bu etkisi sayesinde, solid tümörler ve lenfomaların antineoplastik tedavisinde yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Siklofosfamid, bağışıklık sistemi üzerinde baskılayıcı bir etkiye de sahiptir, bu nedenle organ nakillerinde immünsupresif etki sağlamak amacıyla tercih edilir (61). Ayrıca, kronik hastalıkların tedavisinde de kullanılan siklofosfamid, romatoid artrit, sistemik lupus eritematozus ve pulmoner fibrozis gibi durumlarla mücadelede etkili olabilir. Kimyasal olarak asit özellikte ve azotlu hardallar kategorisinde yer alan bu alkilleyici madde, geniş bir terapötik yelpazede kullanılmakta ve hastalıkların tedavisinde önemli bir rol oynamaktadır (62).



Şekil 2.8. Siklofosfamidin kimyasal yapısı.

Siklofosfamid, neoplastik ve non-neoplastik hastalıkların tedavisinde geniş bir kullanım alanına sahip olmakla birlikte, bu etkinliği bazı yan etkilerle sınırlanmaktadır. Özellikle gözlenme sıklığına göre belirlenen yan etkiler arasında hemorajik sistit (63), hepatotoksisite (64), akciğer hasarı (65), böbrek toksisitesi (66), testiküler toksisite (67) ve kardiyomiyopati (68) bulunmaktadır. Siklofosfamidin, hızlı proliferasyon gösteren testis hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisi nedeniyle oligospermi ve azospermi gibi durumlarla ilişkilendirilen bir dizi yan etkisi rapor edilmiştir. Bu etkiler, özellikle fertilité üzerinde olumsuz yönde bir etki yapabilir (69).

2.6. Dekspantenol

Dekspantenol, provitamin B₅ olarak da bilinen bir bileşiktir ve kimyasal olarak pantotenik asitin bir alkol türevidir. Pantotenik asit (PA), adını "her yerde" anlamına gelen pantostan alır ve canlı hücrelerde, bitki ve hayvan dokularında geniş bir dağılıma sahiptir. Dekspantenol, (R)-2,4-Dihidroksi-N-(3-hidroksipropil)-3,3-Dimetilbutiramid kimyasal yapısına sahiptir (70, 71). Bu bileşik, Koenzim A'nın biyosentezi için kritik bir rol oynar. Enzimatik olarak Koenzim A ile oksitlenir ve bu işlem sonucunda pantotenik aside dönüşerek çeşitli dokulara dağılır. Dekspantenol, suda ve alkolde kolayca çözünürken, yağlarda hemen hemen çözünmez ve sıvılardaki en stabil pantotenik asit formunu oluşturur. Bu özellikleri, dekspantenolu çeşitli kozmetik ve farmasötik ürünlerde kullanılmak üzere uygun hale getirir (72).

Dekspantenol, ilk kez Roger Williams tarafından 1933 yılında mayaların büyüme faktörü olarak tanımlanmıştır. Koenzim A'nın bir alkol türevidir ve biyosentezde önemli bir rol oynar. Bu bileşik, yağ asitleri, karbonhidratlar, piruvat, laktat, keton gövdeleri ve aminoasitlerin oksidasyonunda, aynı zamanda birçok sentetik reaksiyonda enzimatik bir kofaktör olarak görev yapar. Hücre içindeki pantotenik asitin, redüksiyonlu glutatyon (GSH), mitokondrial koenzim A (CoA) ve adenosin-5'-trifosfat (ATP) sentezini arttırdığı kanıtlanmıştır. Bu etkiler, hücrel savunma, oksidatif stres ve enflamasyon etkisi üzerindeki onarım sistemlerinde önemli bir rol oynadığını göstermektedir. Dekspantenol, epitelizasyonu hızlandırarak mitotik bölünmeyi azaltma yeteneği sayesinde hızlı anti-enflamatuar etki gösterir (12, 73).

B₅ vitamini, yaşamsal bir molekül olup kolesterol, esansiyel yağlar ve steroid hormonlarında önemli rol oynayan bir moleküldür (74). Enerji elde edilmesi ve kan hücrelerinin üretilmesi gibi temel süreçlerde kritik bir rol oynayan pantotenik asit, aynı zamanda hücrel antioksidan etkileriyle serbest oksijen türlerinin neden olduğu fizyopatolojik durumlarla da bilinir. Pantotenik asit, D vitamininin, büyüme hormonlarının ve bazı sinir iletim mekanizmalarının sentezine ve metabolizmasına yardımcı olur. Buna ek olarak, pantotenik asit, yorgunluk ve halsizlik durumlarını azaltmaya katkıda bulunur. B₅ vitamini eksikliği genellikle nadir görülür; ancak yetersiz ve dengesiz beslenen bireylerde ortaya çıkabilir. Bu eksiklik, baş ağrısı, sindirim sorunları, bozulmuş kas koordinasyonu, yorgunluk, depresyon, yanan ayaklar, mide bulantısı ve üst solunum yolu enfeksiyonları gibi sorunlara neden olabilir. B₅ vitamini takviyesi bu belirtileri genellikle ortadan kaldırabilir (75).

Vitamin B₅'in vücuda alınması, hayati öneme sahip bir besin ögesi olup en etkili biçimi, yeterli ve dengeli bir beslenme düzenine sahip olmaktır. B₅ vitamini birçok gıdada bulunur ve günlük beslenme alışkanlıklarıyla kolayca yeterli miktarda alınabilir. Ayrıca, kolon içinde bulunan sağlıklı bakteriler tarafından da üretilir. Pantotenik asidi sağlıklı yollardan alabileceğimiz kaynaklar arasında fındık, tam tahıllar, besin mayaları, tatlı patates, baklagiller, brokoli, kırmızı et, süt ürünleri, kümes hayvanları, domates, yumurta ve mantar bulunmaktadır. Bu çeşitli gıda kaynakları, vücudun günlük B₅ vitamini ihtiyacını karşılamak için önemli bir rol oynar (72).

Dekspantenol (B₅ vitamini) ve onun türevlerinden elde edilen takviye preparatları, çeşitli sağlık sorunlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Bu preparatlar, akne, astım, dikkat dağınıklığına bağlı hiperaktivite (ADHD), karpel tünel sendromu, alkol bağımlılığı, kellik, kepek, alerjiler, yanan ayak sendromu, çölyak, kolit, diyabet kaynaklı ağrılar, kronik yorgunluk, konjonktivit, kistler, depresyon, baş dönmesi, baş ağrıları, osteoartrit, romatoid artrit, kalp yetmezliği, büyüyen prostat, uykusuzluk, düşük tansiyon, bacak krampları, düşük kan şekeri, obezite, multiple skleroz (MS), solunum problemleri, Parkinson hastalığı, premenstrüel sendrom (PMS), yara iyileşmesi, dil enfeksiyonları ve mantar enfeksiyonları gibi çeşitli belirtilerin hafifletilmesine veya ortadan kaldırılmasına yardımcı olabilir (10).

3. MATERİYAL ve METOT

3.1. Kimyasallar

Siklofosfamid için Eczacıbaşı'ndan Endoxan 500 mg ve dekspantenol için Bayer'den 500 mg/2 ml ampul kullanılmıştır.

3.2. Deney Hayvanları

250 – 300 gr ağırlığında 12 haftalık toplam 32 adet *Wistar Albino* cinsi erkek sıçan Malatya İnönü Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi'nden temin edildi. Sıçanlar, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık döngüde, sabit oda sıcaklığı (23°C- 24°C) ve bağıl nem (%50-55) koşullarında bulunan temiz plastik kafeslerde barındırıldı. Yem ve su, sıçanlara günlük değiştirilerek *ad libitum* olarak verildi.

3.3. Etik Beyan

Bu çalışma, İnönü Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 15213 HAYBİS kayıt numarası ile onaylanmış olup İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projesi Koordinasyon Birimi tarafından TYL-2022-2870 proje koduyla finanse edilmiştir.

3.4. Deneyisel Tasarım

Hayvanlar her grupta 8 adet olacak şekilde randomize olarak dört gruba ayrıldı. Hayvanların deney başlangıcındaki ağırlıkları kaydedildi ve 14 gün süren deney aşamasında, gruplara aşağıda belirtilen uygulamalar yapıldı:

1. **Kontrol grubu (K)**: Deney süresince her gün 500 mg/kg/i.p. serum fizyolojik uygulandı (76).
2. **Siklofosfamid grubu (CP)**: 7. gün tek doz 200 mg/kg/i.p. siklofosfamid ve 7. gün hariç her gün 500 mg/kg/i.p. serum fizyolojik uygulandı (76, 77).
3. **Dekspantenol grubu (Dex)**: Deney süresince her gün 500 mg/kg/i.p. dekspantenol uygulandı (78).
4. **Siklofosfamid + Dekspantenol grubu (CP+Dex)**: 7. gün tek doz 200 mg/kg/i.p. siklofosfamid ve her gün 500 mg/kg/i.p. dekspantenol uygulandı (76, 78, 79).

3.5. Doku ve Kan Örneklerinin Toplanması

14 gün süren çalışmanın sonunda, sıçanların vücut ağırlıkları ölçüldü. Ardından 50 mg/kg/i.p. ketamin ile 5 mg/kg/i.p. xylazine uygulandı. Genel anestezi uygulanarak, orta hatta yapılan bir insizyon ile sıçanların karınları açıldı ve kan örnekleri Vena Cava inferiordan alındı. Aynı gün 3000 rpm’de 10 dakika santrifüj uygulanan kan örneklerinden elde edilen serum eppendorf tüplerine konuldu. Tüpler, biyokimyasal analizlerde kullanılmak amacıyla -80°C’de saklandı. Sıçanlardan alınan sağ ve sol testis dokusu tartıldı. Sol testis %10’luk formaldehit solüsyonuna alınarak histolojik analizler için hazırlandı. Sağ testis ise daha sonra biyokimyasal analizlerde kullanmak amacıyla -80°C’de saklandı. Spermatolojik analizler epididimisin kauda kısmından sperm örnekleri toplandı. Kan ve doku örneklerinin toplanmasının ardından, yüksek doz anestezi verilen sıçanlara ötenazi uygulandı.

3.6. Histolojik Doku Takip, Boyama ve İnceleme

Histopatolojik analizler için sıçanlardan alınan testis dokuları, tespit ve doku takip işlemlerine tabi tutuldu. Dokuların fiksasyonu %10’luk formaldehit ile gerçekleştirildi. Testis dokuları trimlendi ve örnekler plastik doku takip kasetlerine alındı. Doku takip kasetlerinin konulduğu formaldehit solüsyonu tekrardan hazırlandı. 24 saat süren fiksasyondan sonra Tissue-Tek VIP/SAKURA marka doku takip cihazında rutin histolojik doku takip prosedürü uygulandı. Ardından testis dokuları parafin bloklara gömüldü ve Leica RM2145 marka mikrotom ile 5 µm’lik kesitler alındı. Testis dokusundaki genel histolojik yapıyı incelemek için, lamlara alınan kesitlere Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi uygulandı. Kesitler kaspaz-3 antikoru ile immunohistokimyasal olarak boyandı. Leica DFC280 ışık mikroskobu ve Leica Q (Leica Micros Imaging Solution Ltd, Cambridge, UK) görüntü analiz sistemi kullanılarak incelenen preparatlar ardından skorlandı ve fotoğrafları çekildi. Hücrelerin antioksidan düzeyini değerlendirmek için biyokimyasal analizler yapıldı ve antioksidan enzim düzeyleri (MDA, SOD, CAT, GPx, GSH) tespit edildi. Spermatolojik incelemeler kapsamında epididimal sperm konsantrasyonu, sperm motilitesi ve anormal sperm oranları (baş, kuyruk, toplam) tespit edildi.

3.6.1. Histolojik Doku Takip İşlemleri

Tablo 3.1. Histolojik doku takip işlemleri sıralaması

Histolojik Doku Takip İşlemleri Sıralaması	
1. Çeşme suyu	40 dakika
2. %10 Formalin	40 dakika
3. %80 Alkol	1 saat
4. %96 Alkol	1 saat
5. %96 Alkol	1 saat
6. Absolü Alkol	1 saat
7. Absolü Alkol	1 saat
8. Ksilen	1 saat
9. Ksilen	1 saat
10. Ksilen	1 saat
11. Parafin	1 saat
12. Parafin	1 saat
13. Parafin	1 saat
14. Parafin	1 saat

3.6.2. Mayer's Hematoksilen-Eozin Metodu

Tablo 3.2. Mayer's Hematoksilen-Eozin metodu

Mayer's Hematoxylen-Eozin Metodu Sıralaması	
1. İnkübasyon (60 °C)	1 saat
2. Ksilen	5 dakika x 3
3. Absolü Alkol	3 dakika
4. %96 Alkol	3 dakika x 4
5. %80 Alkol	3 dakika
6. %70 Alkol	3 dakika
6. Çeşme suyu	5 dakika
7. Distile Su	5-10 saniye
8. Mayer's Hematoksilen	15 dakika
9. Çeşme suyu	5 dakika x 3
10. Eozin	2 dakika
11. %96 Alkol	3 dakika x 4
12. Absolü Alkol	3 dakika x 2
13. Ksilen	5 dakika x 3

3.6.3 Histolojik Değerlendirme

Seminifer Tübüllerin Çap Ölçümü

H-E ile boyanmış her bir preparattan seçilen 20 seminifer tübülde X20 büyütme altında ölçümler gerçekleştirildi. Her bir tübül için kısa ve uzun kenar ölçülüp elde edilen değerlerin ortalaması alınarak kaydedildi.

Seminifer Tübüllerin Epitel Kalınlığı

HE ile boyanmış preparatlarda germinal epitel kalınlıkları ve seminifer tübül çapları ölçüldü. Her bir preparattan seçilen 100 adet seminifer tübül üzerinde ölçümler gerçekleştirildi. Seminifer tübülün en ince ve en kalın noktaları dahil olmak üzere üç farklı yerden ölçüm yapıldı. Her bir seminifer tübül için bu üç ölçümün ortalaması hesaplanarak kaydedildi (Tablo 4.1). Tübüllerin normal, mitotik arrest, atrofiye ve dejenere hücrelerin varlığına göre yapılan histolojik skora, her preparattan seçilen 100 adet seminifer tübül üzerinde X20 büyütme altında gerçekleştirildi (Tablo 4.2).

3.6.4. Histolojik İnceleme İçin İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler MedCalc ve SPSS 13 programları kullanılarak gerçekleştirildi. Nonparametrik Kruskal-Wallis testi ile grupların ortalama değerleri karşılaştırıldı. Mann-Whitney U testi kullanılarak gruplar arasındaki farklılığın önemliliği ikili karşılaştırmalar ile değerlendirildi. Elde edilen tüm sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata (SE) olarak ifade edildi ve $p < 0.01$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.6.5. İmmünohistokimya Boyama Metodu

Testis dokularından alınan 5 μ m'lik kesitler, immünohistokimyasal boyama için polilizinli lamalar üzerine alındı.

Tablo 3.3. İmmünohistokimya boyama metodu

İmmünohistokimya Boyama Metodu Sıralaması	
1. İnkübasyon (60 °C)	1 saat
2. Ksilen	5 dakika x 3
3. %96 Alkol	3 dakika x 4
4. Distile su	1 dakika
5. Antijen Geri Kazanımı	Sitrat Tamponunda, 121 °C, 15 dakika
6. Distile Su	1 dakika
7. PBS	1 dakika
8. Hidrojen Peroksit Blok	15 dakika
9. PBS	1 dakika
10. Protein Blok (UV Block)	5 dakika
11. PrimerAntikor	60-90 dakika
12. PBS	1 dakika
13. Sekonder Antikor	15 dakika
14. PBS	1 dakika
15. Streptevadin Peroksidaz	15 dakika
16. PBS	1 dakika
17. AEC Kromojen	10 dakika
18. PBS	1 dakika
19. Distile Su	1 dakika
20. Mayer's Hemotoksilen	5 dakika
21. Çeşme Suyu	1 dakika
22. Distile Su	1 dakika

3.7. Biyokimyasal Yöntemler

3.7.1. Örneklerin Alınması ve Hazırlanması

Deneyin 14. gününde dekapite edilen sıçanlardan alınan testis dokuları -20 °C'de muhafaza edildi ve daha sonra SOD, CAT, GPx, GSH, MDA ölçümleri yapılarına kadar bekletildi.

3.7.2. Homojenatların Hazırlanması

-20 °C'den alınan dokuların tartımları yapılarak cam tüplere konuldu. Üzerine %1.15'lik potasyum klorür ilavesi yapılacak şekilde 1/10 (g/h) oranında dilüsyon gerçekleştirildi. Daha sonra, soğuk koşullar altında 16.000 devir/dakika hızında 3 dakika süreyle cam-teflon homojenizatör kullanılarak homojenize edildi. Hazırlanan homojenatlarda dokuların MDA düzeyleri belirlendi. Geriye kalan homojenat, +4°C'de 45

dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatantlarda CAT, GSH ve GPx enzim aktiviteleri belirlendi. Daha sonra geriye kalan süpernatanta, kloroform/etanol (3/5, h/h) solüsyonundan 1/1 (h/h) oranında ilave edilen ayıraç ile vorteks kullanılarak karıştırıldı. 45 dakika 3500 rpm'de santrifüj edildi. Üst kısımdaki kloroform/etanol fazında SOD enzim aktivitesi belirlendi.

3.7.3. Doku Malondialdehit (MDA) Düzeylerinin Ölçümü

Doku MDA düzeyleri, Ohkawa ve arkadaşları (80) tarafından önerilen spektrofotometrik bir yöntem kullanılarak belirlendi. Bu yöntem, aerobik koşullarda ve pH 3.5'te gerçekleştirildi. Dokudan elde edilen homojenat, 1 saat kaynar su banyosunda inkübe edildi. Bu süreçte lipid peroksidasyonunun sekonder ürünü olan MDA ile TBA reaksiyona girdi. Bu reaksiyon sonucunda pembe renkli bir kompleks oluştu. Bu kompleksin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü yapılarak doku MDA düzeyleri belirlendi.

3.7.4. Doku Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesi Ölçümü

Dokulardaki süperoksit dismutaz (SOD) enzim aktivitesi, Sun ve arkadaşlarının (81) önerdiği bir yöntemle ölçüldü. Bu yöntem, ksantin/ksantin oksidaz tarafından üretilen süperoksitin, nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgenmesiyle meydana gelmektedir. Süperoksit radikallerinin ortaya çıkması ve NBT'yi indirgemesi ile ortaya çıkan formazon, 590 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek maksimum düzeyde absorbanş gösterir. Enzim olmayan ortamlarda indirgenme gerçekleşerek mavimsi bir renk ortaya çıkar. Ancak, SOD bulunması durumunda indirgenme gerçekleşmez ve mavi-mor renk ortaya çıkmaz; bu durumda, enzim aktivitesinden kaynaklanan daha açık bir renk gözlemlenir.

3.7.5. Doku Glutasyon Peroksidaz (GPx) Aktivite Ölçümü

Dokulardaki glutasyon peroksidaz (GPx) aktiviteleri, Weissman (82) tarafından tarif edilen yöntemle göre belirlendi. GPx tayini; H_2O_2 'nin varlığında, redükte glutasyonu kullanarak H_2O_2 'nin suya dönüşümünü katalize eder. GPx, H_2O_2 bulunan ortamda GSH'yi okside glutasyona (GSSG) dönüştürür. Ardından, GPx tarafından oluşturulan GSSG, NADPH ve glutasyon redüktaz ile yeniden GSH'ye dönüştürülür. GPx aktivitesi, NADPH'ın NADP+'ya dönmesi sırasında oluşan optik dansitedeki absorbanş farkının 340 nm'de spektrofotometrik yöntemle ölçülmesi ile belirlenir.

3.7.6. Doku Katalaz (CAT) Enzim Aktivitesinin Ölçümü

Dokulardaki katalaz (CAT) enzim aktiviteleri, Aebi (83) tarafından geliştirilen metoda göre belirlendi. Katalaz, katalitik özelliği sayesinde H_2O_2 'yi su ve oksijene parçalayarak bozar. Hidrojen peroksit, spektrofotometrik olarak 240 nm'de maksimum absorbansta ölçülür. H_2O_2 'nin eklenmesi ve CAT enzimi ile parçalanması, ultraviyole spektrumda absorbanstaki düşüşü ile izlenir. Absorbanstaki bu düşüş, enzim aktivitesi ile ilişkilidir.

3.7.7. Redükte Glutasyon (GSH) Ölçümü

Dokulardaki glutasyon (GSH) aktiviteleri, Ellman (84) tarafından önerilen yöntem ile belirlendi. Bu prosedür ditiyonitrobenzoik asit geri çevirim yöntemi olarak tanımlanmaktadır. Bu prosedüre göre, 5,5'-ditiyo-bis[2-nitrobenzoik asit] (DTNB), sülfhidril bileşikler yardımıyla redükte edilerek disülfid bileşiği oluşturur. Oluşan bileşik sarı renklidir ve 412 nm'de spektrofotometrik yöntemle ölçülerek GSH aktivitesi belirlenir.

3.7.8. Doku Protein Ölçümü

Dokulardan elde edilen homojenat ve süpernatantlardaki protein miktarları, Lowry ve arkadaşlarının (85) geliştirdiği prosedüre göre belirlendi. Bu yöntemde, alkali bakır ayırıcısındaki Cu^{++} iyonları peptid bağları ile kompleks oluşturur. Folin-fenol reaktifi, bakır ile işlenmiş karışıma eklendiğinde mavi-mor bir renk oluşturur ve 650 nm dalga boyunda ölçülerek protein miktarları belirlenir.

3.8. Organ Ağırlıkları ve Sperm Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Sıçanlardan alınan testis, epididimis, seminal veziküller ve prostat ağırlıkları ölçülerek kaydedildi ve spermatolojik parametreler değerlendirildi.

Epididimal sperm konsantrasyonu, Türk ve arkadaşlarının (86) modifiye hemositometre yöntemi kullanılarak ölçüldü. Sperm süspansiyonu seyreltildikten sonra yaklaşık olarak 10 µl hacmindeki sayım alanına damlatıldı. 5 dakika bekletildi ve ardından her iki kuyucuktaki sperm hücreleri ışık mikroskopunda X20 büyütme altında sayıldı. Sperm motilite yüzdesi, Sönmez ve arkadaşları (87) tarafından önerilen yöntemle uygulanarak ışık mikroskopunda değerlendirildi. Sperm motilite yüzdesi, ışık mikroskopunda X40 büyütme altında analiz edildi. Motilite analizleri, her örnek için üç farklı alan esas alınarak değerlendirildi. Ardışık ölçümlerin ortalaması sonuç motilite

skoru olarak kaydedildi. Anormal sperm oranını morfolojik olarak belirlemek için, Eozin-Nigrosin (%1.67 eozin, %10 nigrosin ve 0,1 M sodyum sitrat) boyama uygulandı. Preparatlar ışık mikroskopunda X40 büyütme altında incelendi. Her bir preparat için toplam 300 spermatozoa baş, kuyruk ve toplam sperm anormallik oranları yüzde cinsinden hesaplanarak ifade edildi (88).

3.9. Biyokimyasal Analizler İçin İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler, "SPSS for Windows 12.0" paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin non-parametrik test varsayımlarına uyduğu normallik testi sonrasında, gruplar arasındaki karşılaştırmalarda Kruskal-Wallis H varyans analizi tercih edildi. Mann-Whitney U testi ile ikili karşılaştırmalar uygulanarak önemlilik düzeyleri tespit edildi. Elde edilen sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata olarak ifade edildi ve $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3.10. Sperm Analizleri İçin İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analizler, "SPSS/PC (Version 22; SPSS)" paket programı kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen sonuçlar, ortalama $\pm$ standart hata (SEM) olarak ifade edildi ve $p < 0.05$ değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi One-way ANOVA varyans analizi, gruplar arasındaki sperm karakteristiklerinin karşılaştırılmasında kullanıldı. Tukey-HSD testi ile ikili karşılaştırmalar yapılarak önemlilik düzeyleri tespit edildi.

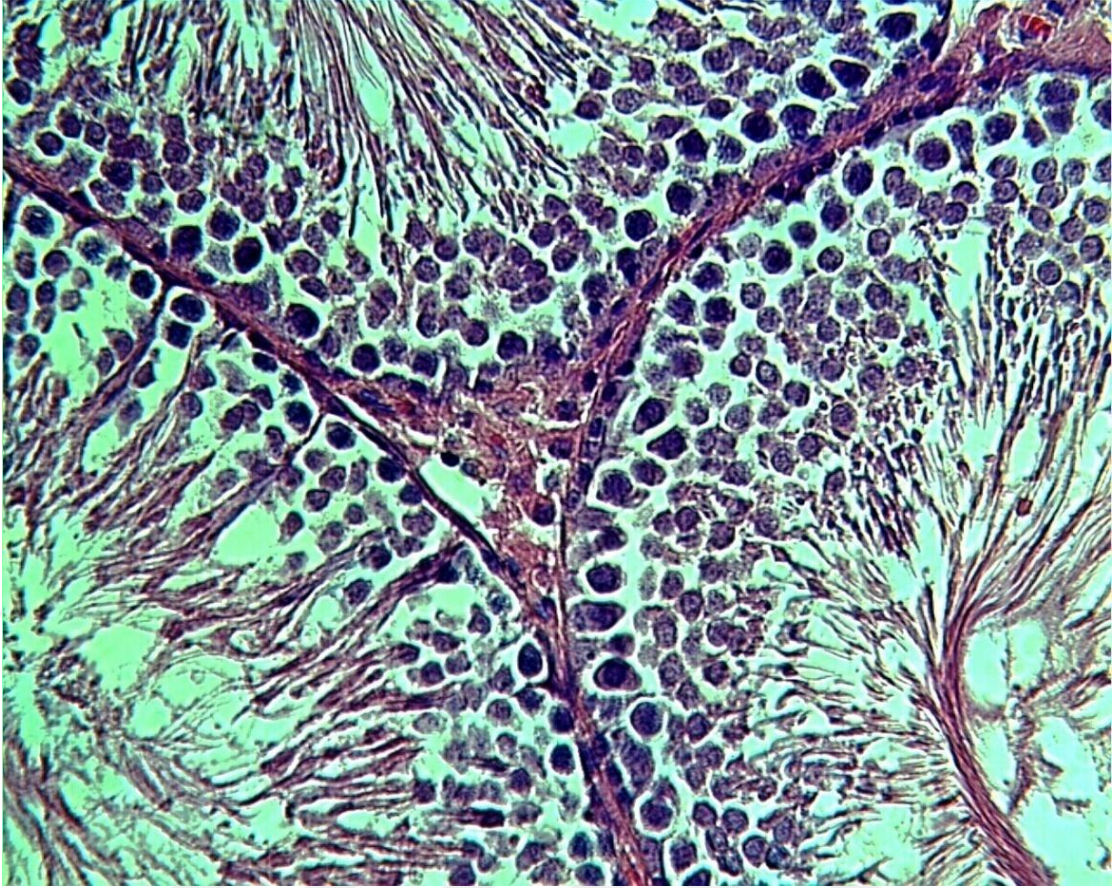
4. BULGULAR

4.1. Işık Mikroskopik Bulgular

Deney gruplarındaki sıçanların testis dokularının genel histolojik görünümünü ışık mikroskopik olarak incelemek amacıyla H-E boyama yöntemi uygulanmıştır.

4.1.1. Kontrol Grubu

Kontrol grubu sıçanların testis dokularına ait yapılan ışık mikroskopik değerlendirmelerde, testis dokusunun normal histolojik görünümde olduğu gözlemlendi. Seminifer tübül yapısının korunduğu, tübül bazal membranının ve interstisyel alan bağ dokusunun normal histolojik özellikler gösterdiği belirlendi. Seminifer tübül germinal epitelinde yer alan spermatogenik seriye ait hücrelerin ve Sertoli hücrelerinin yapısal organizasyonunu koruduğu görüldü (Şekil 4.1). Sertoli hücrelerinin arasına yerleşik olarak görünen spermatogenik seriye ait hücrelerin normal yapıda olduğu görülürken, spermatidlerin baş kısımlarının germinal epitel duvarına, kuyruk kısımlarının ise lümene doğru yerleşmiş olduğu tespit edildi. Bu grupta; seminifer tübül çapları $309.12 \pm 2.56 \mu\text{m}$ ve germinal epitel yüksekliği ise $74.20 \pm 0.64 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü.



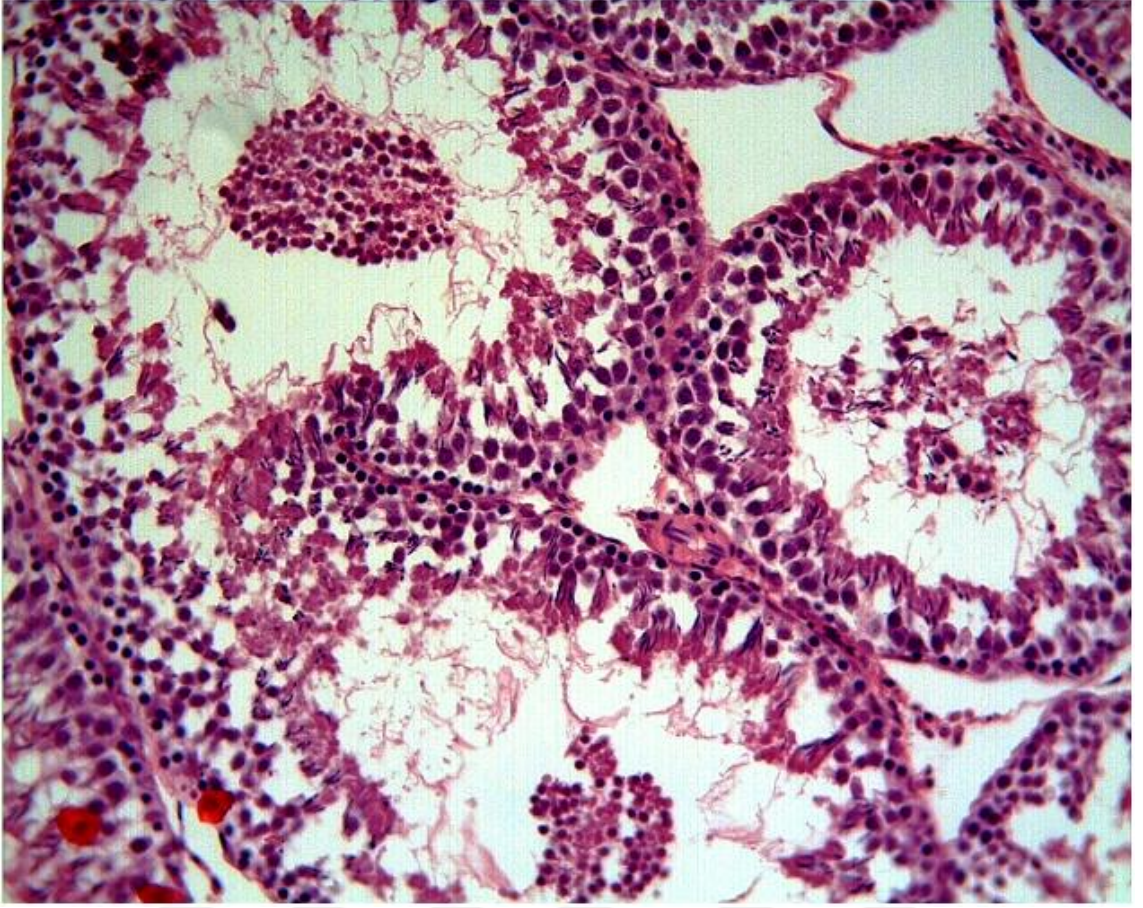
Şekil 4.1. Kontrol grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. Kontrol grubuna ait normal yapıdaki testis dokusunda seminifer tübüller, spermatogenik seriye ait hücreler, interstisyel bağ dokusu ve Leydig hücreleri izlenmekte. H-E; X40.

4.1.2. Siklofosfamid Grubu

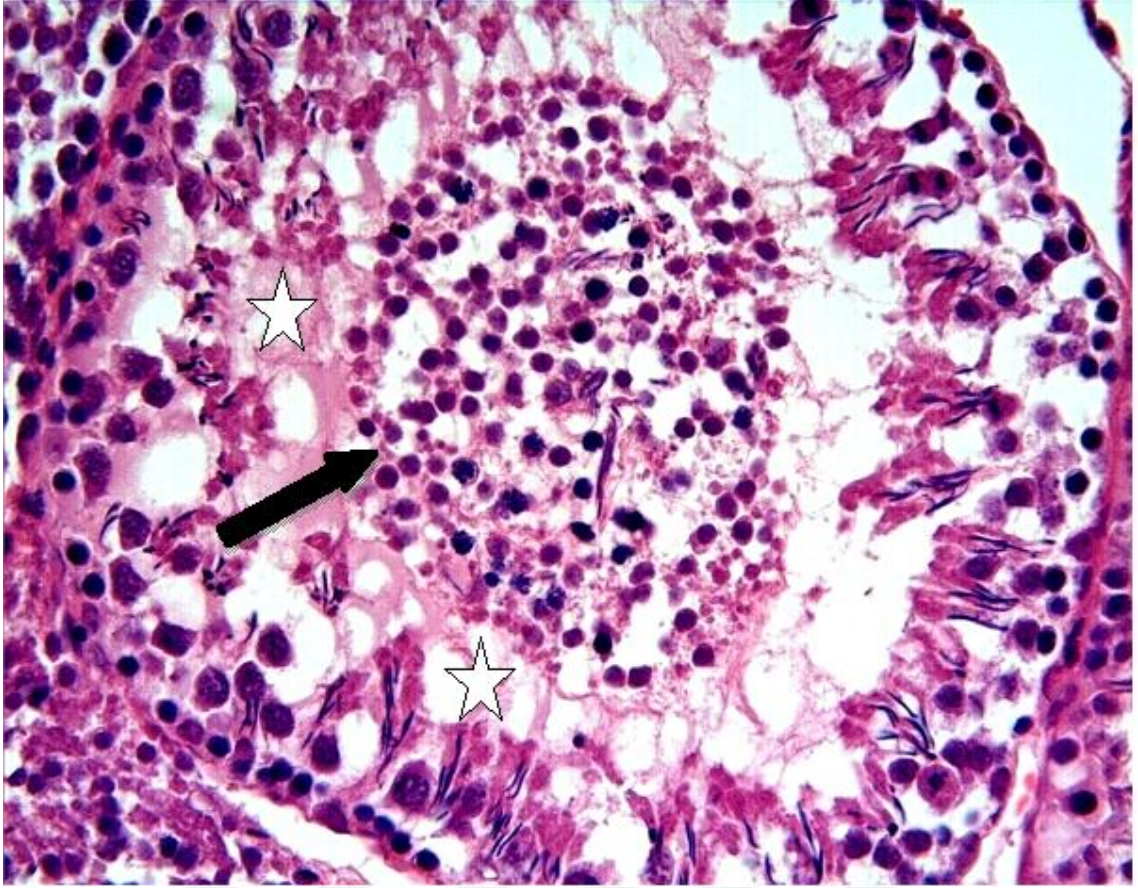
Siklofosfamid uygulanan sıçanların testis dokularına ait yapılan ışık mikroskopik değerlendirmelerde, hücresel boyutta meydana gelen dejenerasyonlar ile birlikte seminifer tübüllerin histolojik organizasyonunda bozulma ve hasar gözlemlendi. Testis dokusunda vasküler konjesyon ve interstisyel alanda belirgin hemoraji izlendi (Şekil 4.2). Seminifer tübül yapılarına bakıldığında bazı tübüllerde spermatogenik seri hücrelerin azaldığı, bazılarında ise spermatogenik seriye ait olgunlaşmamış germinal hücrelerin lümene döküldüğü gözlemlendi (Şekil 4.3, 4.4). İnterstisyel alanda vakuolizasyon ve interstisyel ödem oluşumu belirgin olarak gözlemlendi (Şekil 4.5). Ayrıca seminifer tübül germinal epitelinde bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış spermatogenik seriye ait hücrelerin olduğu tespit edildi (Şekil 4.6). Bu grupta; seminifer tübül çapları $265.25 \pm 2.65 \mu\text{m}$ ve germinal epitel yüksekliği ise $55.53 \pm 0.49 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü.



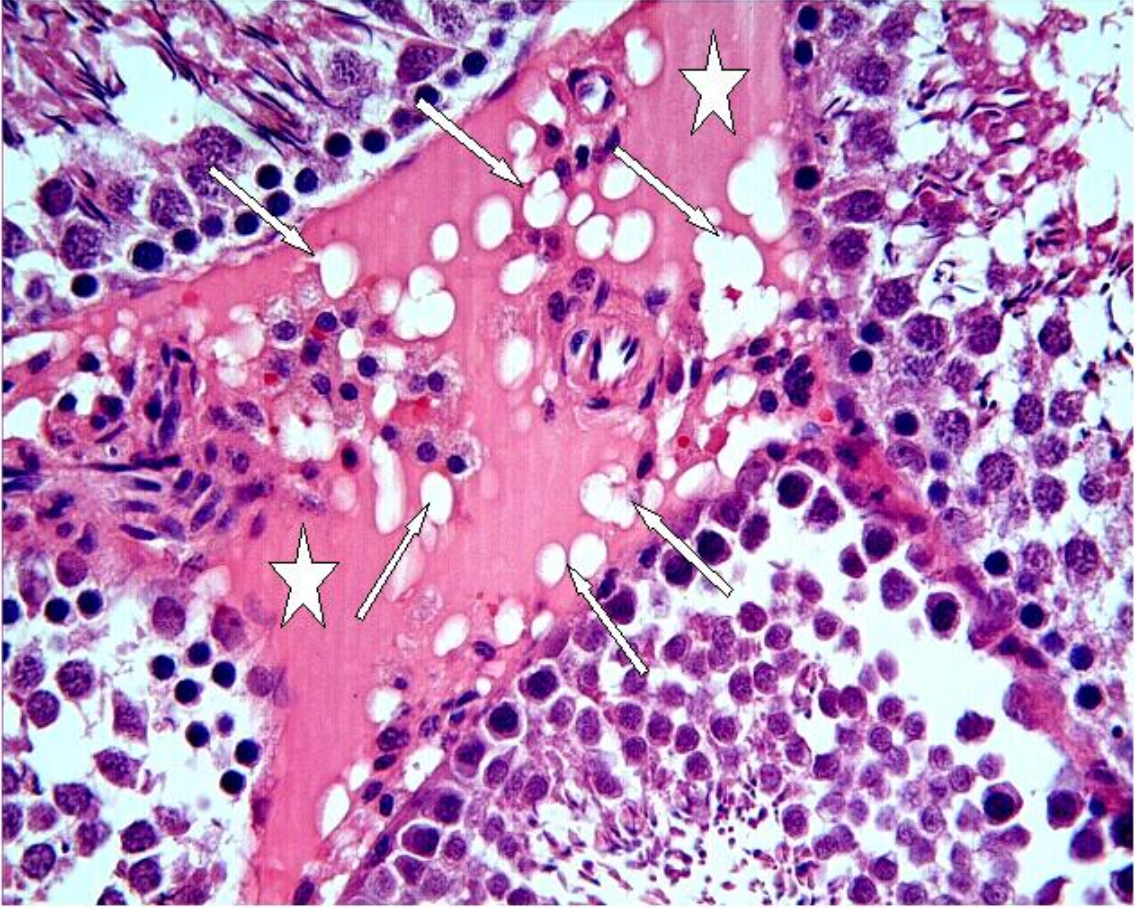
Şekil 4.2. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. İnterstisyel alanda vasküler konjesyon (siyah ok) ve belirgin hemoraji (siyah yıldızlar) dikkat çekmekte. H-E; X10.



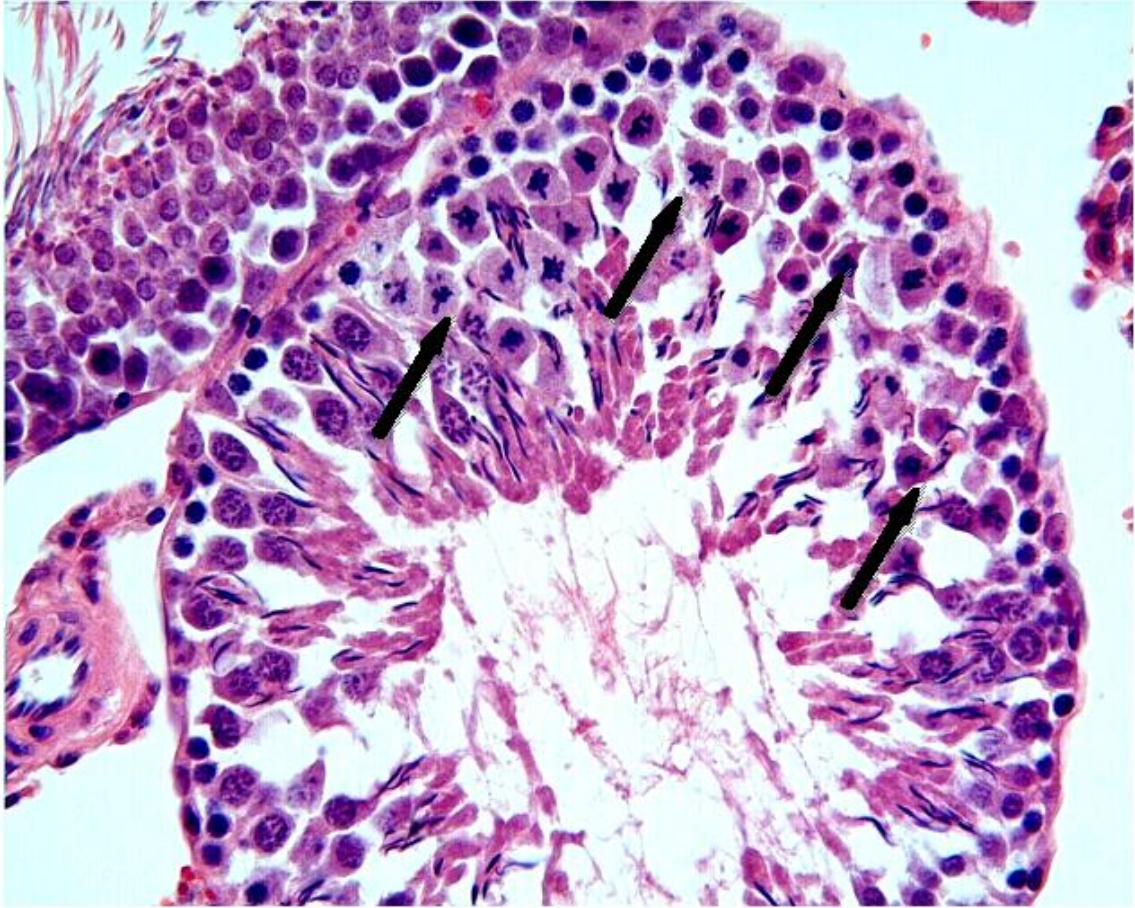
Şekil 4.3. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. Seminifer tübül germinal epitelinde dejenerasyon ve lümene dökülen spermatogenik seriye ait olgunlaşmamış germinal hücrelerin olduğu görülmekte. H-E; X20.



Şekil 4.4. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. Seminifer tübül germinal epitelinde dejenerasyon ile birlikte lümene dökülen spermatogenik seriye ait olgunlaşmamış germinal hücreler (siyah oklar) ve ödem (beyaz yıldız) izlenmekte.
H-E; X40.



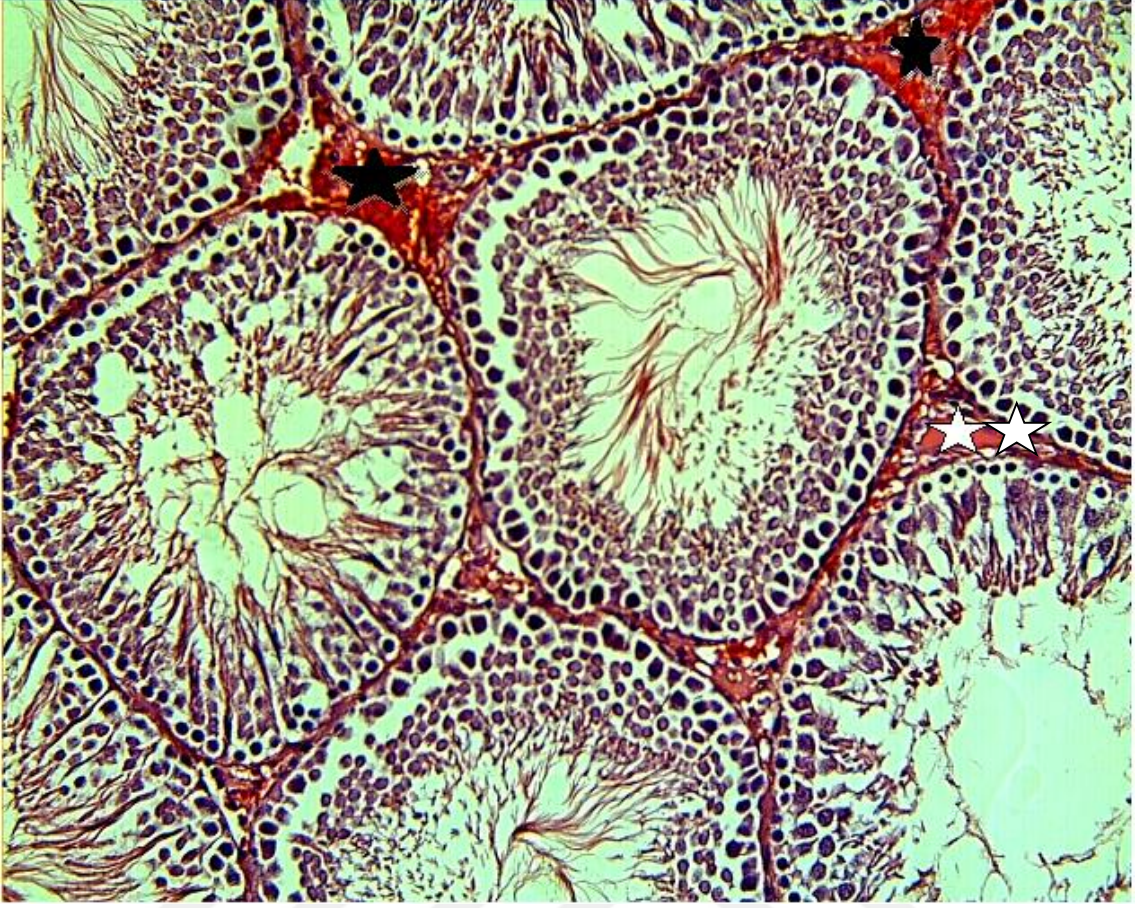
Şekil 4.5. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. İnterstisyel alanda belirgin ödem (beyaz yıldızlar) ile birlikte vakuolizasyon (beyaz oklar) görülmekte. H-E; X40.



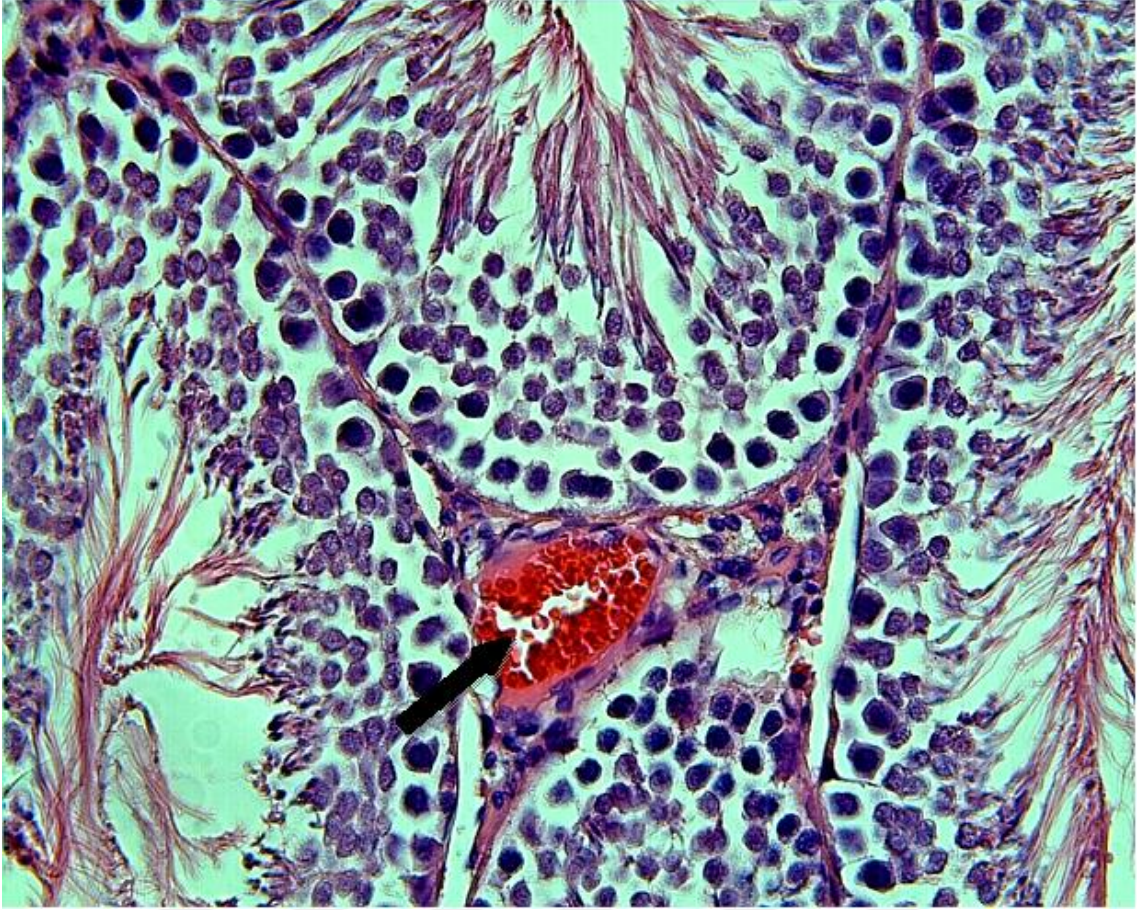
Şekil 4.6. CP grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. Seminifer tübül germinal epitelinde, bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış spermatogenik seriye ait hücreler (siyah oklar) izlenmekte. H-E; X40.

4.1.3. Siklofosfamid + Dekspantenol Grubu

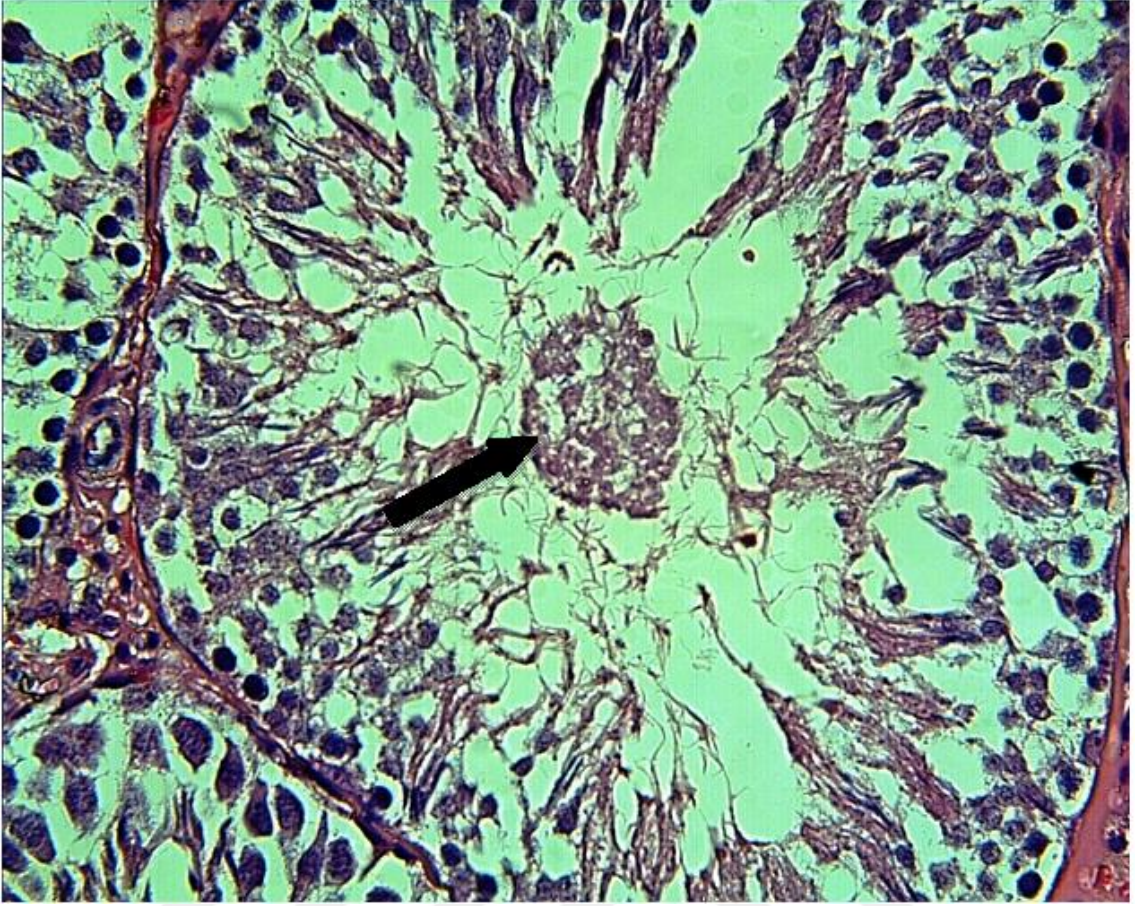
Siklofosfamid + Dekspantenol uygulanan sıçanların testis dokularına ait yapılan ışık mikroskopik değerlendirmelerde, siklofosfamid grubuna göre histopatolojik hasarın belirgin düzeyde azaldığı tespit edildi. CP+Dex grubuna bakıldığında seminifer tübüllerde görülen hasarda azalma meydana geldiği, spermatogenik seriye ait hücrelerde ise artış olduğu gözlemlendi (Şekil 4.7). İnterstisyel alandaki hemoraji, ödem (Şekil 4.7, Şekil 4.11) ve vasküler konjesyonda (Şekil 4.8) belirgin azalma olduğu gözlemlendi. Buna ek olarak, seminifer tübül lümenine dökülen olgunlaşmamış germ hücrelerinde (Şekil 4.9), germinal epitelde bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış spermatogenik seriye ait hücrelerde (Şekil 4.10) ve interstisyel bağ dokusunda belirgin olarak görülen vakuolizasyonda (Şekil 4.11) önemli düzeyde azalma olduğu gözlemlendi. Bu grupta; seminifer tübül çapları $285.59 \pm 3.44 \mu\text{m}$ ve germinal epitel yüksekliği ise $63.75 \pm 0.58 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü.



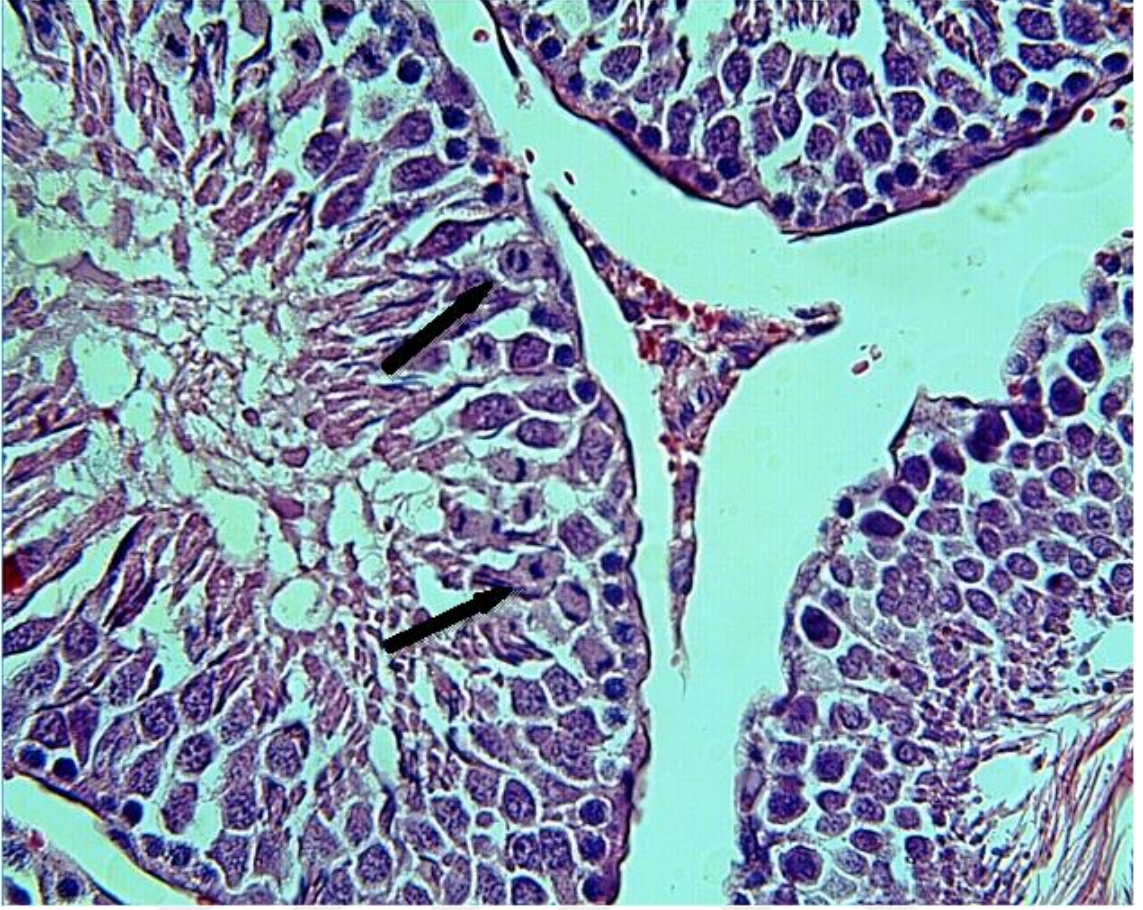
Şekil 4.7. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. Seminifer tübüllerde görülen hasarda azalma, spermatogenik seriye ait hücrelerde artış, interstisyel alanda birkaç ödemli alan (beyaz yıldız) ve vasküler konjesyonda belirgin azalma (siyah yıldız) meydana geldiği görülmekte. H-E; X20.



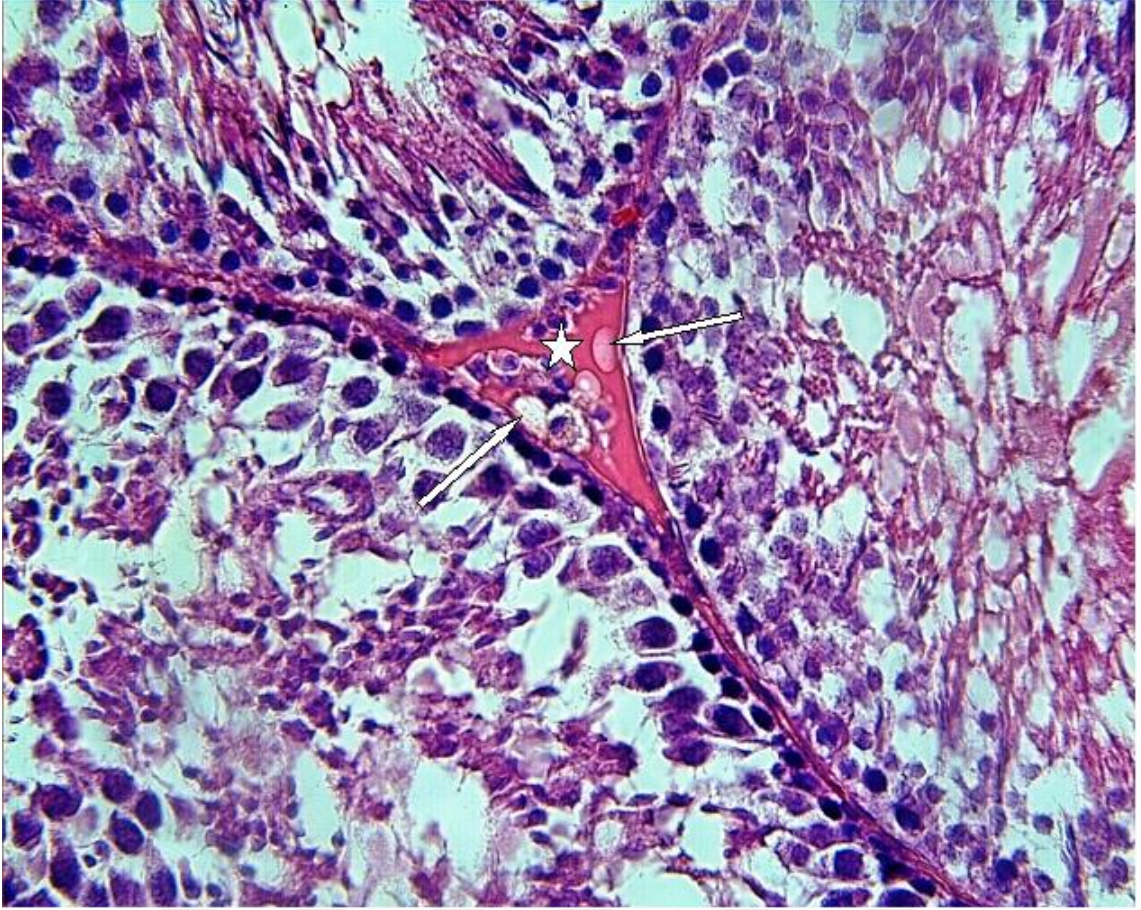
Şekil 4.8. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. İnterstisyel alanda görülen vasküler konjesyonda azalma (siyah ok) izlenmekte. H-E; X40.



Şekil 4.9. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. Seminifer tübül lümenine dökülen olgunlaşmamış spermatogenik seriye ait hücrelerde anlamlı derecede azalma (siyah ok) meydana geldiği görülmekte. H-E; X40.



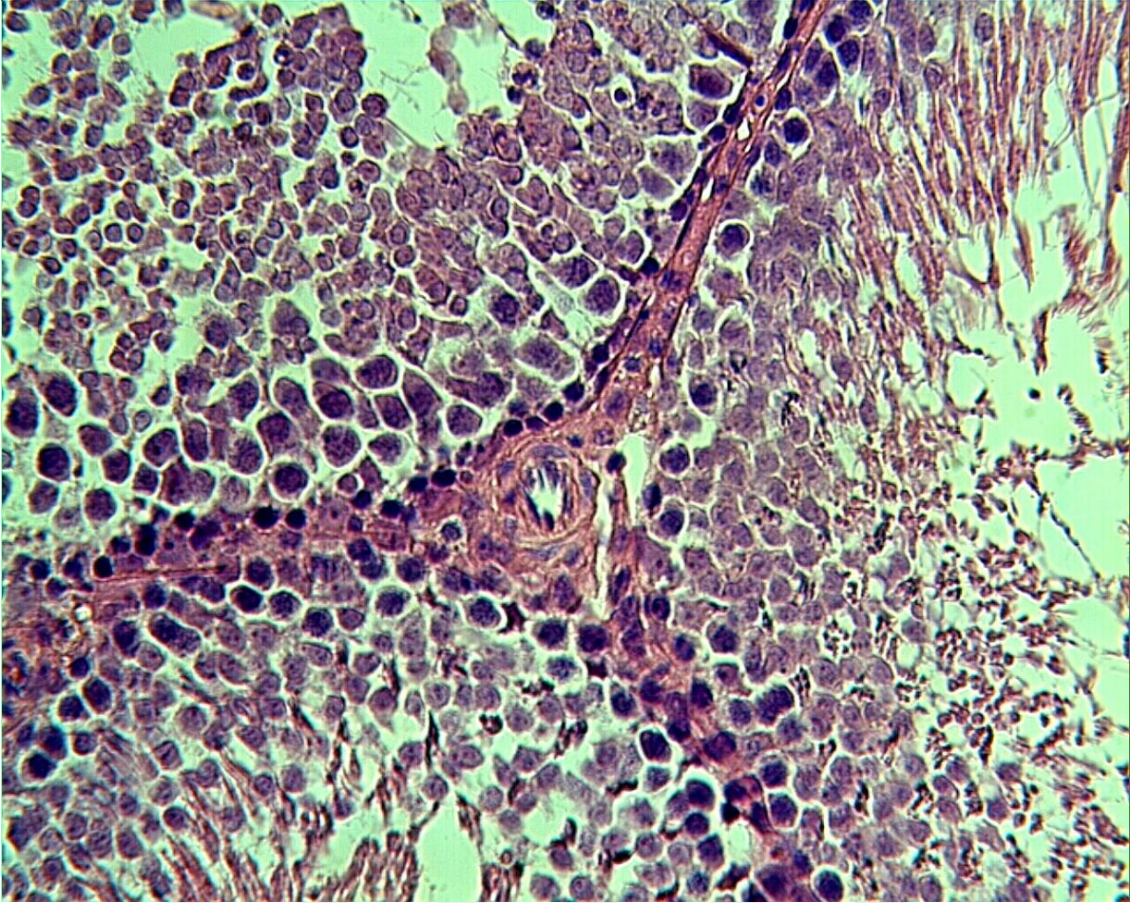
Şekil 4.10. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. Seminifer tübül germinal epitelinde bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış spermatogenik seriye ait hücrelerde azalma (siyah oklar) olduğu izlenmekte. H-E; X40.



Şekil 4.11. CP+Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. İnterstisyel alanda görülen ödem (beyaz yıldız) ve vakuolizasyonda (beyaz oklar) azalma meydana geldiği görülmekte. H-E; X40.

4.1.4. Dekspantenol Grubu

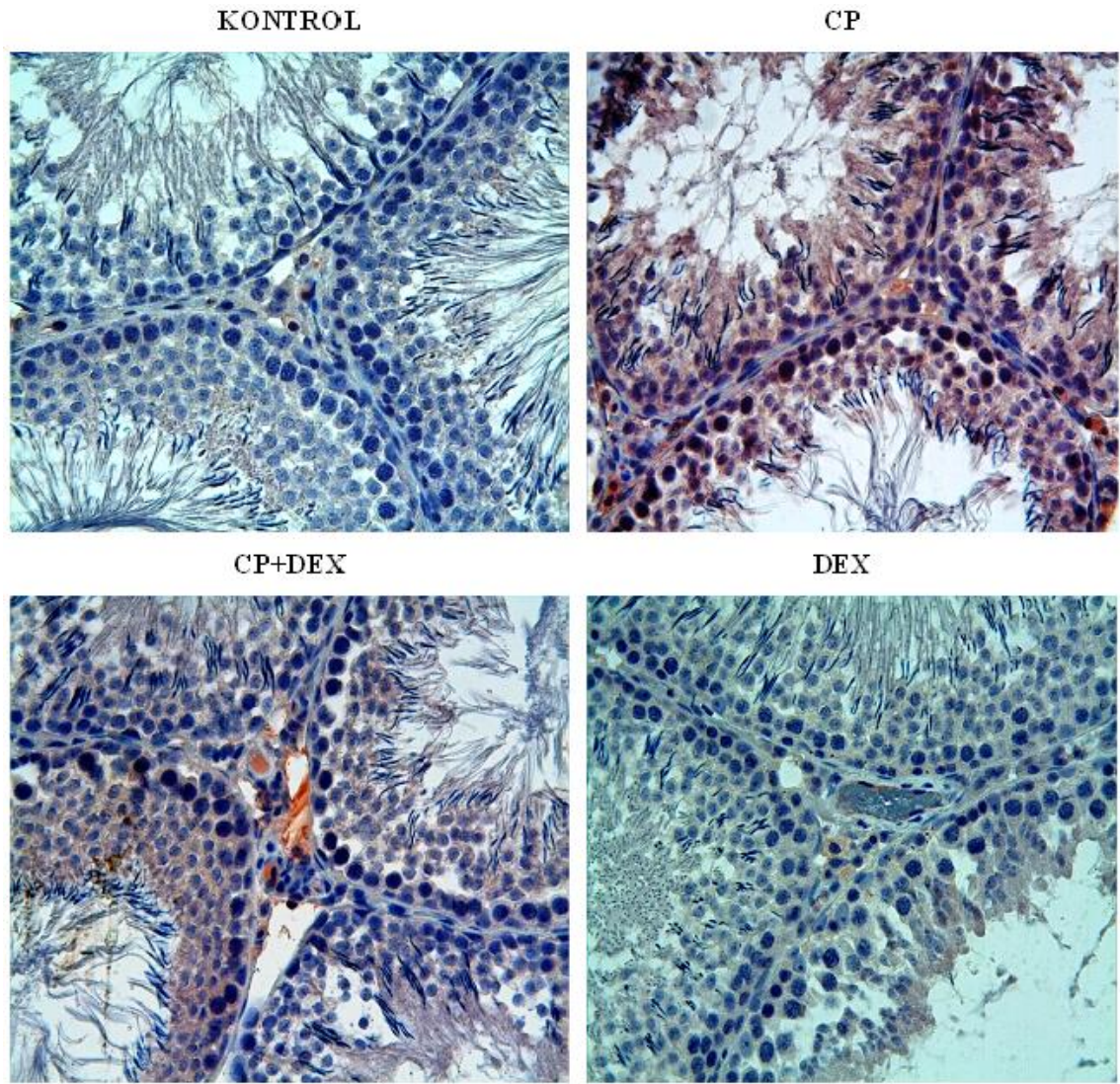
Dekspantenol grubu sıçanların testis dokularına ait yapılan ışık mikroskopik değerlendirmelerde, seminifer tübül organizasyonunun, bazal membran yapısının ve interstisyel alan bağ dokusunun kontrol grubuna benzer şekilde olduğu görüldü. Seminifer tübül germinal epitelini meydana getiren spermatogenik seriye ait hücreler olan spermatogonyum, primer spermatosit ve spermatidler ile bu hücrelerin aralarına yerleştiği destek hücreleri olan Sertoli hücrelerinin normal histolojik yapısını koruduğu tespit edildi. İnterstisyel alanın da yine normal histolojik yapıda olduğu tespit edildi (Şekil 4.12). Bu grupta ise seminifer tübül çapları $299.80 \pm 3.14 \mu\text{m}$ ve germinal epitel yüksekliği $70.68 \pm 0.69 \mu\text{m}$ olarak ölçüldü.



Şekil 4.12. Dex grubu sıçanlara ait testis dokusunun görüntüsü. Seminifer tübüllerin, germinal epiteli meydana getiren spermatogenik seriye ait hücrelerin ve interstisyel alan bağ dokusunun normal histolojik yapıda olduğu görülmekte. H-E; X40.

4.1.5. İmmunohistokimyasal Bulgular

Kontrol (Şekil 4.13A), CP (Şekil 4.13B), CP+Dex (Şekil 4.13C) ve Dex (Şekil 4.13D) gruplarına ait spermatogenik seriye ait hücrelerde kaspaz- 3 immunreaktivite değerlendirilmesi sonuçlarına göre, kontrol ve Dex gruplarında kaspaz-3 immunreaktivitesi gözlenmezken, CP grubunda anlamlı seviyede yoğun boyanmış kaspaz-3 pozitif hücreler olduğu belirlendi. CP+Dex grubunda ise, kaspaz-3 pozitif hücrelerin sayısında ve boyanma yoğunluğunda belirgin düzeyde azalma olduğu tespit edildi.



Şekil 4.13. Deney gruplarına ait kaspaz-3 aktiviteleri. Kontrol (A), CP (B), CP+Dex (C), Dex (D). Kaspaz-3; X40.

Tablo 4.1. Deney gruplarına ait seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığı bulguları (ort±SEM n=7).

Gruplar	Tübül çapı	Tübül epitel kalınlığı
Kontrol	309.12 ± 2.56 ^a	74.20 ± 0.64 ^a
CP	265.25 ± 2.65 ^b	55.53 ± 0.49 ^b
CP+Dex	299.80 ± 3.14 ^c	70.68 ± 0.69 ^c
Dex	285.59 ± 3.44 ^a	63.75 ± 0.58 ^a

Aynı sütundaki a,b,c küçük harfleri gruplar arasındaki farklılıkları göstermektedir. (P<0.0001)

Tablo 4.2. Deney gruplarına ait seminifer tübül histolojik skorum bulguları (ort±SEM n=7).

Gruplar	Normal	Dejenere	Atrofik	Mitotik arrest
Kontrol	81.71 ± 1.77 ^a	12.43 ± 1.25 ^a	4.43±0.90 ^a	1.43±0.37 ^a
CP	25.86 ± 4.74 ^b	33.00 ± 1.79 ^b	31.57±2.87 ^b	9.57±2.10 ^b
CP + Dex	57.29 ± 1.81 ^c	28.43 ± 1.45 ^c	11.00±1.15 ^c	6.29±1.17 ^c
Dex	75.57 ± 1.76 ^a	14.71±1.39 ^a	7.00±0.62 ^a	2.71±0.42 ^a

Aynı sütundaki a, b, c küçük harfleri gruplar arasındaki farklılıkları göstermektedir. (P<0.0001)

4.2. Biyokimyasal Bulgular

Tablo 4.3'te yer alan MDA, GSH, CAT, SOD ve GPx düzeylerine ait değerler incelendiğinde, CP uygulamasının ardından oksidatif hasarın bir göstergesi olan MDA düzeyinde CP grubu ile kontrol grubu kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış meydana geldiği görüldü. Ancak deksantenolün, CP uygulamasının MDA düzeyinde meydana getirmiş olduğu artışı istatistiksel olarak anlamlı seviyede azalttığı görülürken, CP+Dex grubunun MDA düzeyinin kontrol grubuna yakın bir değere sahip olduğu izlendi. Dex grubu ile kontrol ve CP+Dex grubu kıyaslandığında MDA düzeylerinde rakamsal olarak fark olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı görüldü. Bu verilere ek olarak CP'nin antioksidan savunma sistemine ait olan GSH, SOD, GPx ve CAT seviyelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olduğu, Dex uygulamasının ise CP'nin neden olduğu bu azalmayı normal değerlere yakın bir seviyeye getirdiği belirlendi. Kontrol grubu ile Dex grubuna tüm parametreler kıyaslandığında ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi.

Tablo 4.3. Deney gruplarına ait MDA, GSH, CAT, SOD ve GPx düzeyleri (ort±SEM n=7).

Gruplar	MDA (nmol/mg protein)	GSH (nmol/mL)	CAT (U/mg protein)	SOD (U/mg protein)	GPx (U/mg protein)
Kontrol	0.30±0.037 ^a	10.80±1.44 ^a	0.034±0.002 ^a	0.92±0.052 ^a	0.27±0.016 ^a
CP	0.39±0.024 ^b	7.71±0.81 ^b	0.029±0.004 ^{a,b}	0.73±0.121 ^b	0.24±0.022 ^b
CP + Dex	0.30±0.031 ^a	8.79±1.24 ^{b,c}	0.027±0.004 ^b	0.89±0.066 ^a	0.26±0.030 ^{a,b}
Dex	0.33±0.065 ^{a,b}	9.49±0.75 ^a	0.027±0.003 ^b	0.92±0.051 ^a	0.26±0.026 ^{a,b}

Aynı sütundaki a,b ve c harfleri gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı (p≤0.01) göstermektedir.

4.3. Spermatolojik Bulgular

Gruplar arasında testis, epididimis, seminal vezikül ve prostat ağırlıkları açısından yapılan istatistiksel karşılaştırmalara yönelik Tablo 4.4 incelendiğinde, siklofosfamid uygulaması ve dekspantenol tedavisinin üreme sistemi organ ağırlıklarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak herhangi bir anlamlı değişime neden olmadığı gözlemlendi.

Tablo 4.4. Deney gruplarına ait testis, epididimis, seminal vezikül ve prostat ağırlıkları (ort $\pm$ SEM n=7).

Gruplar	Testis ağırlıkları		Epididimis ağırlıkları		Seminal vezikül ağırlıkları	Prostat ağırlıkları
	Sağ	Sol	Sağ	Sol		
Kontrol	1.78 $\pm$ 0.043	1.8 $\pm$ 0.057	0.73 $\pm$ 0.037	0.72 $\pm$ 0.025	1.44 $\pm$ 0.26	0.68 $\pm$ 0.10
CP	1.74 $\pm$ 0.035	1.79 $\pm$ 0.045	0.66 $\pm$ 0.031	0.75 $\pm$ 0.028	1.43 $\pm$ 0.085	0.79 $\pm$ 0.078
CP+Dex	1.65 $\pm$ 0.094	1.7 $\pm$ 0.073	0.71 $\pm$ 0.037	0.72 $\pm$ 0.038	1.31 $\pm$ 0.19	0.68 $\pm$ 0.074
Dex	1.94 $\pm$ 0.062	1.97 $\pm$ 0.081	0.76 $\pm$ 0.034	0.8 $\pm$ 0.037	1.75 $\pm$ 0.15	0.84 $\pm$ 0.098

Tablo 4.5'te verilen sperm motilitesi, anormal sperm miktarı ve sperm konsantrasyonlarını içeren sperm özelliklerine ait bulgular incelendiğinde CP grubunun sperm motilitesi ve konsantrasyonunda kontrol grubu ve Dex grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir azalma meydana geldiği tespit edildi. CP+Dex grubunda ise Dex'in kombine tedavisi ile CP'nin sebep olduğu bu azalmanın tersine çevrildiği ve sperm motilitesi ile konsantrasyonun sadece CP uygulanan gruba göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artış meydana geldiği görüldü. Değerler kontrol grubuna yaklaşıırken, iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın bulunmadığı tespit edildi. Bu bulgulara ek olarak, CP grubuna ait anormal sperm miktarında (baş, kuyruk, toplam) istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu görülürken, meydana gelen bu artışın Dex tedavisi ile azaldığı belirlendi. Söz konusu azalma rakamsal olarak önemli düzeyde olsa dahi kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi.

Tablo 4.5. Deney gruplarına ait sperm motilitesi, epididimal sperm konsantrasyonu ve anormal sperm bulguları (ort $\pm$ SEM n=7).

Gruplar	Sperm motilitesi (%)	Epididimal sperm konsantrasyonu (milyon/ gram doku)	Anormal sperm oranı (%)		
			Baş	Kuyruk	Total
Kontrol	88.91 $\pm$ 2.04 ^a	312.57 $\pm$ 2.34 ^a	3.85 $\pm$ 0.26 ^a	3.42 $\pm$ 0.20 ^a	7.28 $\pm$ 0.35 ^a
CP	66.14 $\pm$ 2.45 ^b	152.14 $\pm$ 10.29 ^b	10.71 $\pm$ 0.42 ^b	11.28 $\pm$ 0.28 ^b	22.00 $\pm$ 0.37 ^b
CP+Dex	76.31 $\pm$ 2.11 ^{ad}	229.28 $\pm$ 7.94 ^{ad}	8.00 $\pm$ 0.48 ^{ad}	8.57 $\pm$ 0.64 ^{ad}	16.57 $\pm$ 0.86 ^{ad}
Dex	90.94 $\pm$ 0.88 ^{ac}	312.14 $\pm$ 2.028 ^{ac}	3.14 $\pm$ 0.26 ^{ac}	3.28 $\pm$ 0.28 ^c	6.42 $\pm$ 0.48 ^{ac}

Aynı sütundaki a,b,c,d harfleri gruplar arasındaki istatistiksel farklılığı (p $\leq$ 0.05) göstermektedir.

5. TARTIŞMA

Kanser, vücuttaki hücrelerin kontrolsüz ve anormal bir şekilde çoğalması sonucu oluşan hayati tehlike arz eden bir hastalıktır. Kanser, vücuttaki normal hücrelerin genetik yapısında meydana gelen değişikliklerle başlar. Bu değişiklikler, hücrelerin kontrolsüz çoğalmasına, tümör oluşturmaya ve çevre dokulara yayılmasına neden olabilir. Siklofosfamid, çeşitli kanser tedavilerinde yaygın olarak kullanılan bir ilaçtır ve oksazosfosforin sınıfına aittir (89). Bağışıklık sistemini baskılayıcı etkisi ve antitümör özellikleri ile bilinen CP'nin, kanser üzerinde inhibe edici etki gösterebilmesi için metabolik olarak aktive olması gerekmektedir. Yapılan çalışmalarda, CP'nin humoral ve hücrel bağışıklığı baskılayarak etki gösterdiği bildirilmiştir (89, 90).

CP, antineoplastik ve immünosupresif etkileriyle bilinen, yaygın olarak kullanılan bir kemoterapötik ajandır. Bu ilacın organ ve doku düzeyinde meydana gelebilecek olumsuz etkileri arasında nörotoksisite, nefrotoksisite, kardiyotoksisite, hepatotoksisite ve gonadotoksisiteye bağlı olarak gelişen testis disfonksiyonu önemli bir yer tutmaktadır (91–93).

CP, Hodgkin lenfoma, lösemi, Wegener granülomatozu, şiddetli romatoid artrit ve lupus eritematosus gibi hastalıkların tedavisinde tek başına veya meme kanseri, lösemi ve over kanseri gibi durumlarda diğer ilaçlarla birlikte kullanılan bir ajan olarak kullanılmaktadır (94, 95). Ancak, bu tür kanser tedavisi amaçlı kullanılan ilaçlar, kanser hücrelerini öldürürken aynı zamanda normal dokular üzerinde olumsuz etkiler gösterebilmektedir. Özellikle yüksek doz alkileyici ajanlar, DNA üzerinde etki göstererek benzer yan etkilere neden olabilmektedir. Bu bağlamda, CP'nin terapötik etkileriyle birlikte potansiyel toksisitesi de dikkate alınmalıdır (96).

CP'nin üreme toksisitesi üzerine yapılan çalışmalar, deney hayvanları ve insanlar üzerinde pek çok olumsuz etkiye işaret etmektedir (97). CP ile tedavi edilen yetişkin erkek hastalarda sperm sayısında azalma, testis dokusunda spermatogenik seri hücre döngüsünde eksiklikler ve özellikle uzun süreli CP uygulanarak yapılan çalışmalarda üreme organlarının ağırlığında belirgin bir azalma tespit edilmiştir. Bu durumun fertilité üzerinde olumsuz etkileri olduğu gösterilmiştir (98).

CP'nin neden olduğu testis toksisitesinin kesin mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ancak, özellikle oksidatif stres ve reaktif oksijen türlerinin üretimi, CP toksisitesinin patofizyolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (99). Siklofosfamidin

kemoterapötik etkileri ve sağlıklı dokulardaki toksik etkileri, akrolein ve fosforamid hardalı aracılığıyla meydana gelen aktif metabolitleri ile gerçekleşir.

Fosforamid hardalı, pozitif yüklü reaktif bir ara bağ aracılığıyla DNA'ya bağlanarak DNA sarmalında geri alınamaz çapraz bağlantılara sebep olur. Bu durum, DNA'nın sentezlenememesine, DNA kırılmalarına ve nihayetinde hücre ölümüne yol açabilir. Siklofosfamidin bir diğer metaboliti olan akrolein, DNA onarım proteini olan O₆-metilguanin-DNA metiltransferaz'ını inaktive ederek hasara neden olabilir. Bu iki etki, özellikle kanser hücreleri üzerinde etkili olup, hücre ölümünü teşvik ederek kanser tedavisine katkıda bulunabilir (93).

Yapılan çalışmalar, serbest radikallerin ve reaktif oksijen türlerinin CP tedavisiyle ilişkili olduğunu göstermiştir. CP'nin dokuların redoks dengesini bozarak oksidatif strese neden olduğu bilinmektedir. Oksidatif DNA hasarının, CP'nin hidrojenperoksit (H₂O₂) üretimi yoluyla meydana geldiği rapor edilmiştir. Akroleinin, doku antioksidan savunma sistemine müdahale ettiği ve memeli hücrelerine mutajenik olan oldukça reaktif oksijensiz radikaller ürettiği bulunmuştur (100).

CP'nin çeşitli deneysel ve klinik çalışmalarda gösterdiği olumsuz etkiler arasında gonadal yetmezlik, renal yetmezlik ve hemorajik sistit bulunmaktadır (101–103). Özellikle CP tedavisi gören meme kanseri hastalarında amenore sıkça gözlemlenirken, erkeklerde ise genellikle azospermi gelişmektedir (104). CP'nin ovarium foliküllerinde ve spermatogenik hücrelerde toksisite oluşturduğu çalışmalarda belirtilmiştir.

Dişi sıçanlarla yapılan bir çalışmada, 40 mg/kg CP uygulamasının ovaryum foliküllerinin normal gelişimini baskıladığı tespit edilmiştir (105). CP'nin emziren annelerin sütleri aracılığıyla bebeklerde gelişme geriliği ve karsinogenez gibi toksik etkilere neden olabileceği bilinmektedir (106). CP metabolitleri arasında yer alan akrolein, özellikle mesane mukozası için toksik bir etkiye sahiptir. Erkek Swiss fareler üzerinde gerçekleştirilen çalışmada, 200 mg/kg siklofosfamidin hemorajik sistit oluşturduğu kanıtlanmıştır (107).

Ayrıca, CP'nin insanlarda ve deney hayvanlarında mesane kanserine sebep olduğunu gösteren araştırmalar bulunmaktadır (108). Kemik iliği üzerine yapılmış çalışmalarda, siklofosfamidin insanlarda ve sıçanlarda hematopoietik sistemde kanserojen etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (109). Farelerde gerçekleştirilen bir çalışmada, 100 mg/kg intraperitoneal siklofosfamid uygulamasının hematopoietik sistemde tümör gelişimini tetiklediği gösterilmiştir (110).

Siklofosfamidin en önemli yan etkilerinden biri, hayvanlarda ve insanlarda reproduktif toksisiteye neden olmasıdır. CP ile tedavi edilen erişkin erkeklerde yapılan çalışmalarda, testis dokusunda spermatogenezin durduğu ve sperm sayısında azalma olduğu gösterilmiştir (111). Ayrıca, epididimal sperm sayısı ve hareketliliğinde önemli bir azalmaya yol açtığı ve anormal sperm oranını artırdığı belirlenmiştir (112, 113).

CP'nin testiste meydana getirdiği hasara karşı çeşitli önlemler alınmaktadır, bu önlemler arasında antioksidan, antiinflamatuvar ve antiapoptotik maddelerin kullanımı yer almaktadır (114–120). Bu bağlamda, güçlü bir antioksidan olan dekspanenol, hücre içinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumunu engelleyerek hücreyi lipid peroksidasyonundan korur. Bu sayede oksidatif stres, enflamasyon ve apoptoz gibi etkilerin önlenmesine yardımcı olabilir (121, 122).

Anan ve arkadaşları (123) siklofosfamidin testis üzerine etkisini araştırdıkları bir çalışmada sıçanlara dört hafta boyunca 5 mg/kg dozda intraperitoneal olarak CP uyguladıklarında testis dokusunda germinal epitel kalınlığında belirgin azalma, lümenlerinde birkaç spermatozoon bulunan küçük, düzensiz seminifer tübüller, bazal membran ile germ hücreleri arasında belirgin ayrılma ve boşluklar, tübüllerin duvarında vakuolizasyon ve koyu boyanmış nükleusa sahip germ hücreleri, tübüllerin lümeninde asidofilik materyal birikimi, interstisyel alanda vasküler konjesyon, koyu boyanmış sitoplazma ve nükleusa sahip Leydig hücreleri olduğunu göstermişlerdir.

Mohammadi ve arkadaşları (124) intraperitoneal olarak 100 mg/kg tek doz CP uyguladıkları sıçanların testislerinde seminifer tübüllerin çapında, epitel kalınlığında ve hücre sayısında azalma, seminifer epitel germ hücrelerinde dejenerasyon, vakuolizasyon ve dökülme olduğunu göstermişlerdir. Bununla birlikte CP uygulanan sıçanlara zencefil verildiğinde, bu histopatolojik hasarların önemli ölçüde iyileştiğini göstermişlerdir.

Alkhalaf ve arkadaşları (125) ise çalışmalarında siklofosfamidin testis dokusunda vakuolizasyon, dejenerasyon, seminifer tübül germ hücre dizilerinde nekroz olduğunu, ayrıca seminifer tübüllerde koyu boyanmış piknotik nükleuslu germ hücrelerinin bulunduğunu göstermişlerdir.

Torabi ve arkadaşları (126) intraperitoneal olarak 60 mg/kg CP uyguladıkları sıçanların testis dokusunda spermatogenezin farklı evrelerindeki germ hücresi sayısında azalma, dejenerasyon, dökülme, düzensizlik, çok nükleuslu dev hücre oluşumu ve tübül lümeninde spermatozoonlarda azalma olduğunu göstermişlerdir.

Cengiz ve arkadaşları (127) ise çalışmalarının dördüncü gününde 200 mg/kg CP uyguladıkları sıçanların testis dokusunda, seminifer tübüllerde spermatogenik seri hücre

kaybı, seminifer tübül duvarında incelme tübül lümeninde genişleme ve bazı tübüllerin normal histolojik yapılarını tamamen kaybettiğini göstermişlerdir.

Watcho ve arkadaşları (128) ise dört hafta boyunca 5 mg/kg dozda oral yoldan CP uyguladıkları sıçanların testis dokusunda, epitelyal aralıkta kalınlaşma, interstisyel hücrelerde azalma, spermatozoonlarda farklılaşmada bozulma, dejenerasyon ve anormal şekilli seminifer tübüller ve bu tübüller arasındaki bağ dokusunda azalma olduğunu tespit etmişlerdir.

Başka bir araştırmada ise dört hafta boyunca 150 mg/kg CP uygulanan sıçanların testis dokusunda germinal epitelde hasar, germ hücre kaybı, seminifer epitelde vakuolizasyon olduğu gösterilmiştir (129).

Oyagbemi ve arkadaşları (130)  alışmanın ilk günü tek doz 200 mg/kg intraperitoneal olarak CP uyguladıkları sıçanların testis dokusunda spermilerin hafif matürasyon gösterdiklerini, epididimiste ise kolumnar epitel kalınlığında artış ile belirgin yaygın atrofi olduğunu ve lümen içinde sperm bulunmadığını tespit etmişlerdir.

Anan ve arkadaşları (131) yaptıkları bir diğer çalışmada ise hayvanlara 5 mg/kg olarak oral yoldan 28 gün boyunca CP uyguladıklarında sıçanların testis dokusunda, seminifer tübüllerin küçüldüğünü, interstisyel alanın genişlediğini, germinal epitel kalınlığında belirgin bir azalma olduğunu, tübüllerin boş geniş bir lümene sahip olduğunu göstermişlerdir. Bir kısım germ hücrelerinin koyu boyanmış nükleusa sahip olduğunu ve bir kısmının ise dev hücreleri oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

XY ve arkadaşları (132) yaptıkları çalışmada on hafta boyunca 15 mg/kg haftada bir kez CP uyguladıkları farelerin testis dokusunda, seminifer tübüllerdeki spermatogenik hücre tabakalarının oldukça ince olduğunu, yer yer tamamen hücrelerin döküldüğünü, seminifer tübül lümeninin oldukça geniş olduğunu, Leydig hücrelerinin oldukça azaldığını, bazı alanlarda da kaybolduğunu göstermişlerdir.

Can ve arkadaşları (133) intraperitoneal olarak tek doz 150 mg/kg CP uyguladıkları sıçanların testis dokusunda seminifer tübüller arasında yoğun hemoraji, spermatogenik seri hücrelerde ayrılma ve tübül içinde dağıldıkları gösterilmiştir. Ayrıca bu çalışmada apoptozisin belirteci olan Bax, kaspaz-3 ve Bcl-2 immünohistokimyasal değerlendirmeler de yapılmıştır. Yapılan çalışmanın sonucuna göre CP uygulanan sıçanların testis tübüllerinde kaspaz-3 ve Bax pozitif hücrelerin yoğun olarak bulunduğu, Bcl-2 pozitif hücre sayısının az olduğu rapor edilmiştir.

Abd El Tawab ve arkadaşları (134) intraperitoneal olarak tek doz 200 mg/kg CP uyguladıkları çalışmada seminifer tübüllerde atrofi, dejenerasyon, spermatogenik seri

hücrelerde azalma, interstisyel alanda eozinofilik materyal birikimi ve ödem olduğunu tespit etmişlerdir.

Çeribaşı ve arkadaşları (135) sekiz haftalık deney süresince haftada tek doz 15 mg/kg CP uyguladıklarında germinal hücrelerde nekroz, dejenerasyon, dökülme, düzensizlik ve azalma, tübüllerde atrofi, Sertoli hücrelerinde vakuolizasyon, multinükleer dev hücre oluşumu, interstisyel ödem ve konjesyon gibi histopatolojik değişiklikler gözlemlemişlerdir.

Pavin ve arkadaşları (136) tek doz 100 mg/kg CP uyguladıkları farelerde ise spermatogenik epitelde dağılma, seminifer tübüllerin lümeninde germ hücreleri, interstisyel alanda vasküler konjesyon olduğunu göstermişlerdir.

Çalışmamızın bulguları, diğer literatür bilgileriyle tutarlı olarak, testis dokusunda çeşitli histopatolojik değişiklikleri ortaya koymaktadır. Bu değişiklikler arasında vasküler konjesyon, interstisyel alanda belirgin hemoraji, spermatogenik seri hücrelerde azalma, tübül lümenine dökülme, interstisyel alanda vakuolizasyon, ödem ve seminifer tübül epitelinde bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış hücreler bulunmaktadır.

Aydın ve arkadaşları (137) 2 saatlik iskemi modelinde testis detorsiyonu sonrası 500 mg/kg Dex uyguladıkları sıçanların testis dokusunda torsiyon grubuna göre nekrozun, konjesyonun, interstisyel ödemin, fibrozis ve apoptozisin azaldığını göstermişlerdir.

Yapılan farklı bir çalışmada iskemi-reperfüzyon sonrası 500 mg/kg Dex uygulanan sıçanların testis dokusunda lipid peroksidasyonunu ve doku hasarını önemli derecede hafiflettiği gösterilmiştir. Bu etkisi indüklenmiş glutatyon, koenzim-A ve ATP artışını sağlayan antioksidan etkisi ile ilişkilendirilmiştir Dex'in iskemi reperfüzyon hasarı üzerindeki etkisi ilk kez deneysel olarak bu çalışma ile testis torsiyonunda gösterilmiştir (138).

Ayrıca bir diğer çalışmada da deneysel testis torsiyonu sonrası 60. günde detorsiyondan yarım saat önce intraperitoneal olarak 500 mg/kg dozda dekspantenol uygulamasının testis atrofisine koruyucu etkisi incelenmiş, dekspantenolün testis atrofisini önemli ölçüde engellediği, torsiyon detorsiyon grubunda azalmış olan testis ağırlığını ve hacmini olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (78).

Altıntaş ve arkadaşları (139) çalışmalarında renal iskemi reperfüzyon modelinde üç farklı dönemde (iskemiden önce, iskemi sırasında ve geç reperfüzyon sırasında) intraperitoneal olarak 500 mg/kg Dex uygulamış ve dekspantenolün tübüler nekrozu, glomerüler hasarı ve apoptozu azalttığını göstermişlerdir.

Çalışmamızın sonuçları, CP+Dex grubundaki sıçanların testis dokularının ışık mikroskopik analizlerinde, CP grubuna kıyasla histopatolojik hasarın belirgin bir şekilde azaldığını ortaya koymaktadır. Bu grup içinde seminifer tübül hasarında gözlenen azalma, spermatogenik seri hücrelerde ise artışla birlikte dikkat çekmektedir. İnterstisyel alanda gözlenen hemoraji, vakuolizasyon, ödem, vasküler konjesyon, lümene dökülen spermatogenik seriye ait olgunlaşmamış germinal hücreler ve bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış hücreler belirgin bir azalma göstermiştir. Bu bulgular, Dex'in CP'nin neden olduğu histopatolojik değişimleri önlemede veya hafifletmede potansiyel bir koruyucu rol oynayabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızın, CP ile oluşan toksik etkilerin hafifletilmesine yönelik tedavi stratejilerinde önemli bir katkı sağladığı söylenebilir.

Yapılan araştırmalarda seminifer tübül çaplarında ve germinal hücre tabakalarında azalma olduğu tespit edilmiştir (123, 124, 140). Bu bağlamda, kendi çalışmamızın bulguları da bu araştırmaların sonuçlarıyla uyumludur. Özellikle 200 mg/kg 7. gün tek doz intraperitoneal Siklofosfamid uygulamasının seminifer tübül çaplarında ve epitel kalınlıklarında belirgin bir azalmaya neden olduğunu göstererek, Siklofosfamid'in üreme sistemi üzerindeki etkilerini desteklemiştir.

CP uygulanan sıçan deneylerinde sperm motilitesinde azalma, anormal ve ölü sperm sayısında artma, testiküler yapı bozuklukları (112, 141, 142), testosteron seviyesinde azalma (112, 142, 143), tip A spermatogonyum, spermatosit ve spermatid sayısında azalma (143), sperm kromozom ve nükleer matriks içeriğindeki protein yapısında değişiklik (144) ve spermatosit DNA yapısında kırılmalar tespit edilmiştir (145, 146). Benzer şekilde, yetişkin erkek sıçanlar kullanılarak yapılan birçok çalışmada kemoterapötik ajanlardan biri olan sisplatinin testis üzerinde sperm konsantrasyonu ve motilitesinde azalmaya, normal sperm miktarında azalmaya, seminifer tübül çapında daralmaya, epididimis, seminal vezikül ve prostat ağırlığında azalmaya, testiküler doku dejenerasyonuna, nekroza ve ödeme sebep olduğu gösterilmiştir (147–151). Bu bulgular, kemoterapötik ajanların üreme sistemi üzerindeki geniş kapsamlı toksik etkilerini vurgulamaktadır.

Birçok araştırmacı çalışmalarında CP'nin sperm anomalilerine, özellikle baş ve kuyruk yapısında bozulmalara neden olduğunu göstermişlerdir. Kuyruk anomalileri orta parçanın kıvrık olması, kıvrık kuyruk ve uzamış kuyruk şeklinde gözlenirken, kafa anomalileri ise çekiç biçimli kafa, muz biçimli kafa ve başsız kuyruk şeklinde gözlenmiştir (123, 128, 135). Bir diğer çalışmada anormal sperm şekillerindeki artış CP

ile tedavi edilen sıçanların spermatozoonlarında görülen yüksek DNA hasarı ile açıklanmıştır (152). Bunların dışında CP uygulaması sonucunda sperm sayısında, sperm canlılığında ve hareketliliğinde önemli azalmalar olduğunu, sperm anomalilerinde önemli artış olduğunu göstermişlerdir (125, 126, 130, 132, 136, 153, 154). Çalışmamızın sonuçlarına göre, CP uygulamasının testis, epididimis, seminal vezikül ve prostat ağırlıklarında değişime sebep olmadığını tespit ettik. Ancak, CP uygulamasının sperm motilitesi ve konsantrasyonunda, anormal sperm miktarında (kafa, kuyruk, total) önemli derecede artışa neden olduğunu ve Dex tedavisi ile bu artışın azaldığını gözlemledik. Bu azalmanın önemli derecede olduğunu, ancak kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir farkın olmadığını tespit ettik. Bu bulgular, CP'nin üreme sistemine olan olumsuz etkilerini ve Dex'in bu etkileri hafifletme potansiyelini vurgulamaktadır.

Apoptoz, programlanmış hücre ölümü sürecidir. Bu süreç hücrenin sağlığı tehlikeye girdiğinde veya belirli bir sinyal aldığı anda kendini kontrollü bir şekilde öldürmesini içerir. Apoptoz, hücrelerin normal gelişiminde, dokuların şekillenmesinde ve bağışıklık sisteminin düzenlenmesinde önemli bir rol oynar. Kaspazlar, hücre içindeki sinyal transdüksiyon yollarında yer alır ve hücre ölümü sinyallerini algılar, işler ve uygularlar. Apoptoz sırasında kaspazlar hedef proteinleri keserek hücrede programlanmış bir ölüm sürecini başlatırlar.

Kaspaz-3 apoptoz sürecinde önemli rol oynayan bir kaspazdır. Kaspaz-3, apoptozun yürütme aşamasında etkin hale gelir. Aktive edilmiş kaspaz-3, bir dizi hedef proteini keser ve bu proteinlerin işlevlerini bozarak hücrenin yapısal bütünlüğünü ve işlevini bozar. Kaspaz-3'ün aktivasyonu apoptozun hücresel düzeyde gerçekleşmesini sağlar. Bu, hücrenin çeşitli fizyolojik durumlar veya hasarlı koşullar altında kontrollü bir şekilde ölmesini sağlayarak doku homeostazının ve organizma sağlığının korunmasına katkıda bulunur.

Çalışmamızda apoptotik hücrelerin belirlenmesinde kaspaz-3 aktivitesini kullanarak apoptoz sürecini değerlendirdik. Apoptozis, kaspaz ailesinin proteolitik yarıklanma kaskadını başlatarak erken aşamada gerçekleşen bir olaydır ve kaspaz-3, bu süreçte önemli bir rol oynayan bir proteazdır (155). Önceki çalışmalarda, renal iskemi modeli oluşturulan sıçanlarda Dex'in kaspaz-3 pozitif boyanmış tübüler hücre sayısını azalttığı gösterilmiştir (139). Cengiz ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada CP uygulanan sıçanlarda testis tübüllerinde kaspaz-3 ve Bax pozitif hücrelerin yoğun olarak bulunduğu, Bcl-2 pozitif hücre sayısının az olduğu rapor edilmiştir (127).

Ayrıca, başka bir çalışmada CP ile oluşturulan testiküler hasar modelinde CP grubunda kaspaz-3 ve Bax pozitif boyanmış hücre sayısında artış, Bcl-2 pozitif hücre sayısında ise azalma olduğu gösterilmiştir (133). Bu önceki çalışmalarla uyumlu olarak, biz de çalışmamızda CP uygulanan grupta yoğun boyanmış kaspaz-3 pozitif hücrelerin varlığını tespit ettik. CP+Dex grubunda ise, kaspaz-3 pozitif hücrelerin sayısında ve boyanma yoğunluğunda belirgin düzeyde azalma olduğunu gözlemledik. Kontrol ve Dex gruplarında ise kaspaz-3 immünreaktivitesi gözlemlenmedi.

Organizmanın oksidatif stresle mücadeledeki başlıca savunma mekanizmaları enzimatik ve nonenzimatik antioksidan sistemleri içerir. Antioksidan enzimler, vücudun serbest radikallerle mücadele etmek için kullandığı enzimatik sistemlerdir. Serbest radikaller, hücresel oksidatif stresin bir sonucu olarak oluşan ve hücrelere zarar verebilen reaktif moleküllerdir. Antioksidan enzimler, bu serbest radikallerin zararlı etkilerini nötralize ederek hücrelerin sağlığını korur. SOD ve GPx gibi enzimatik antioksidanlar, hücre düzeyinde etkili bir koruma sağlar. Çalışmamızda, biyokimyasal analizlerle total oksidan seviyelerini belirlemek için MDA, antioksidan enzim aktivitelerini ölçmek için SOD, CAT, GSH ve GPx düzeylerini değerlendirdik.

Elde ettiğimiz sonuçlara göre, CP uygulamasının ardından oksidatif hasarın bir göstergesi olan MDA düzeyinde CP grubu ile kontrol grubu kıyaslandığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlendi. Dex uygulamasının, CP'nin neden olduğu MDA artışını istatistiksel olarak anlamlı derecede düşürdüğü ve CP+Dex grubundaki MDA düzeyinin kontrol grubundaki değerlere yaklaştığı belirlendi.

Antioksidan savunma sistemine ait olan GSH, SOD, GPx ve CAT seviyelerinde CP uygulamasının istatistiksel olarak anlamlı bir azalmaya neden olduğu gözlemlendi. Bununla birlikte, Dex uygulamasının bu antioksidan düzeylerini CP'ye bağlı azalmayı normal değerlere yaklaştırdığı tespit edildi.

Birçok araştırmacı (123, 125, 127, 133–135, 140, 153) CP ile yaptıkları testis çalışmalarında çoklu doymamış yağ asitinin son ürünü ve genellikle lipid peroksidasyon belirteci olan MDA'nın diğer gruplara oranla önemli ölçüde arttığını tespit etmişlerdir. CP ile yapılan bazı çalışmalarda ise SOD (130, 133, 140) ve CAT (130, 133, 135, 140, 153) aktivitelerinin azaldığını göstermişlerdir. Çeribaşı ve arkadaşları (135) ise çalışmalarında SOD değerinde önemli derecede artış gözlemlemişlerdir. CP uygulanan diğer çalışmalarda (127, 133, 134) toksik metabolitlere karşı temel detoksifikasyon rolü olan, enzimatik olmayan bir antioksidan madde olan GSH düzeylerinde belirgin derecede azalma olduğu gösterilmiştir. Bunun dışında Oyagbemi ve arkadaşları (130), Çeribaşı ve

arkadaşları (135) ise CP ile yapmış oldukları çalışmalarında GSH düzeylerinin değişmediğini tespit etmişlerdir. GPx düzeylerinin incelendiği CP uygulanan araştırmalara bakıldığında (134, 153) aktivitesinin azaldığı, bir diğer çalışmada ise (135) aktivitenin değişmediği gözlemlenmiştir.

Çalışmamızda, CP grubuna kıyasla CP ile kombine olarak uygulanan Dex grubunda histopatolojik hasarın önemli düzeyde azaldığı gözlemlendi. CP grubunda baskın bir şekilde gözlenen tübül hasarının CP+Dex grubunda azaldığı, spermatogenik seri hücrelerin korunduğu görüldü. İnterstisyel alanda görülen vasküler konjesyon, ödem ve vakuolizasyonun anlamlı düzeyde azaldığı gözlemlendi. Ayrıca seminifer tübül lümenine dökülen olgunlaşmamış spermatogenik seri hücrelerde ve mitotik bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış hücrelerde azalma tespit edildi.

Ayrıca, yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz bulgular, Dex'in sperm motilitesi ve konsantrasyonunu anlamlı bir şekilde artırdığını göstermiştir; bu artış, sadece CP uygulanan gruba kıyasla daha belirgin bir iyileşmeye işaret etmektedir. Bunun yanı sıra, CP uygulamasının anormal sperm miktarında (kafa, kuyruk, toplam) anlamlı bir artışa neden olduğu ve bu artışın Dex uygulamasıyla düşüş gösterdiği gözlemlenmiştir. Literatürde, CP ve Dex'in birlikte üreme sistemi üzerindeki etkilerini inceleyen herhangi bir araştırmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu konuda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Elde edilen bulgular, Dex'in CP'ye bağlı üreme sistemi hasarını azaltma konusunda potansiyel bir koruyucu rol oynayabileceğini göstermektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Çalışmamızın sonuçları, erkek sıçanlarda siklofosfamid kaynaklı reproduktif hasara karşı dekspantenolün koruyucu etkilerini göstermektedir. Histopatolojik incelemelerde, CP uygulanan grubun testis dokusunda belirgin vasküler konjesyon, interstisyel alanda hemoraji, spermatogenik seri hücrelerde azalma, tübül lümenine dökülme, vakuolizasyon ve ödem oluşumu gözlemlendi. Ayrıca, germinal epitelde mitotik bölünmenin herhangi bir evresinde duraksamış hücreler saptandı. CP+Dex grubunda ise bu histopatolojik bulgulara belirgin düzeyde azalma gözlemlendi.

İmmünohistokimyasal değerlendirmelerimizde, CP grubunda yoğun bir şekilde boyanmış kaspaz-3 pozitif hücreler belirlendi. Ancak, CP+Dex grubunda pozitif hücre sayısında ve boyanma yoğunluğunda belirgin bir azalma gözlemlendi. Kontrol ve Dex gruplarında ise kaspaz-3 immünreaktivitesi gözlemlenmedi.

Biyokimyasal analizlerimizde, CP uygulanan sıçanlarda MDA seviyesinde önemli bir artış tespit edilmiştir. Bununla birlikte, Dex uygulamasının bu artışı anlamlı bir şekilde azalttığı gözlemlenmiştir. CP uygulamasının GSH, SOD, GPx ve CAT düzeylerinde azalmaya sebep olduğu görülürken, Dex uygulamasının ise bu değerleri artırdığı belirlenmiştir. CP uygulamasının sperm motilitesi, konsantrasyonu ve sperm oranında önemli bir azalmaya yol açtığı saptanırken, Dex uygulamasının bu değerlerde artışa neden olduğu, ancak istatistiksel olarak sadece sperm konsantrasyonunda anlamlılık gösterdiği gözlemlenmiştir.

Sonuç olarak, yapmış olduğumuz bu çalışma Dex uygulamasının sıçanlarda CP ile oluşturulan reproduktif hasarı azalttığını göstermektedir. Literatürde benzer histopatolojik çalışmalara rastlanmamış olması projemizin gelecekteki çalışmalara katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

1. Cohen SM, Ellwein LB. Cell proliferation in carcinogenesis. *Science* 1990, 249(4972): 1007-11.
2. Pizzo PA, Poplack DG. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2001.
3. Sabanegh ES, Ragheb AM. Male fertility after cancer. *Urology* 2009, 73(2): 225-31.
4. Himpe J, Lammerant S, Van den Bergh L, Lapeire L, De Roo C. The Impact of Systemic Oncological Treatments on the Fertility of Adolescents and Young Adults-A Systematic Review. *Life* 2023, 13(5).
5. Senthilkumar S, Yogeeta SK, Subashini R, Devaki T. Attenuation of cyclophosphamide induced toxicity by squalene in experimental rats. *Chemico-Biological Interactions* 2006, 160(3): 252-60.
6. Kumar KBH, Kuttan R. Chemoprotective activity of an extract of *Phyllanthus amarus* against cyclophosphamide induced toxicity in mice. *Phytomedicine* 2005, 12(6-7): 494-500.
7. Gobbi PG, Broglia C, Levis A, La Sala A, Chisesi T, Sacchi S. MOPPEBVCAD Chemotherapy with Limited and Conditioned Radiotherapy in Advanced Hodgkin's Lymphoma: 10-Year Results, LateToxicity, and Second Tumors. *Clinical Cancer Research* 2006, 12(2): 529-35.
8. Slyshenkov VS, Piwocka K, Sikora E, Wojtczak L. Pantothenic acid protects Jurkat cells against ultraviolet light-induced apoptosis. *Free Radic Biol Med* 2001,30(11): 1303-10.
9. Slyshenkov VS, Dymkowska D, Wojtczak L. Pantothenic acid and pantothenol increase biosynthesis of glutathione by boosting cell energetics. *FEBS Lett* 2004,569(1-3): 169-72.
10. Proksch E, de Bony R, Trapp S, Boudon S. Topical use of dexpanthenol: a 70th anniversary article. *Journal of Dermatological Treatment* 2017, 28(8): 766-73.

11. Slyshenkov VS, Omelyanchik SN, Moiseenok AG, Trebukhina R V., Wojtczak L. Pantothenol protects rats against some deleterious effects of gamma radiation. *Free Radic Biol Med* 1998, 24(6): 894-9.
12. Karadag A, Ozdemir R, Kurt A, Parlakpınar H, Polat A, Vardi N, et al. Protective effects of dexpanthenol in an experimental model of necrotizing enterocolitis. *J Pediatr Surg* 2015, 50(7): 1119-24.
13. Ross MH, Pawlina W. *Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas*. Baykal B. (Çeviren). 7. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık, 2014: 784-829.
14. Moore KL, Persaud TVN. *Klinik Yönleri ile İnsan Embriyolojisi*. Yıldırım M (Çeviren). 2. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: 263-5.
15. Wilson JD. Sexual differentiation. *Annu Rev Physiol* 1978, 40: 279-306.
16. Sadler TW, Thomas W. *Langman Medikal Embriyoloji*. Başaklar AC (Çeviren). 13. Baskı, Ankara: Palme Yayınevi, 2020: 261-276.
17. Svingen T, Koopman P. Building the mammalian testis: origins, differentiation, and assembly of the component cell populations. *Genes Dev* 2013, 27(22): 2409.
18. Titi-Lartey OA, Khan YS. Embryology, Testicle. *StatPearls* 2023.
19. Demirtaş A, Pişkin İ. Memelilerde cinsiyet gelişimi ve hormonal kontrolü. *Veteriner Hekimler Derneği Dergisi* 2009, 80(3): 23-8.
20. Lucas-Herald AK, Bashamboo A. Gonadal development. *Endocr Dev* 2014, 27: 1-16.
21. Rey R, Picard JY. Embryology and endocrinology of genital development. *Baillieres Clin Endocrinol Metab* 1998, 12(1): 17-33.
22. Gell JS. Müllerian anomalies. *Semin Reprod Med* 2003, 21(4): 375-88.
23. Ostrer H. Sexual differentiation. *Semin Reprod Med* 2000, 18(1): 41-9.
24. Eşrefoğlu M. *Embriyoloji*, 1. Baskı. İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevleri, 2017: 119-149.
25. Major AT, Estermann MA, Smith CA. Anatomy, Endocrine Regulation, and Embryonic Development of the Rete Testis. *Endocrinology* 2021, 162(6).

26. Hutson JM, Li R, Southwell BR, Newgreen D, Cousinery M. Regulation of testicular descent. *Pediatr Surg Int* 2015, 31(4): 317-25.
27. Junqueira LC, Carneiro J. *Temel Histoloji Text & Atlas*. Aytekin Y (Çeviren). 10. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, 2009: 135.
28. Arifoğlu Y. *Her Yönüyle Anatomi*, 3.Baskı. İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevleri, 2021: 480-500.
29. Putz R, Pabst R. *Sobotta İnsan Anatomisi Atlası*. Karahan ST (Çeviren). İstanbul: Beta Basım Yayım Dağıtım, 2001: 190.
30. Richard S. Snell. *Clinical Anatomy by Regions*, 9th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2011.
31. Kierszenbaum AL, Tres LL. *Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş*. Demir R (Çeviren). 14. Baskı, Ankara: Palme Yayınevi, 2021: 618-20.
32. Eşrefoğlu M. *Özel Histoloji*, 3. Baskı. İstanbul, İstanbul Tıp Kitabevleri, 2021: 300-10.
33. Gartner LP, Hiatt JL. *Color Textbook of Histology*, 3th ed. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2007: 458-68.
34. Eroschenko VP. *diFiore's Atlas of Histology with Functional Correlations*, 11th ed. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2008: 409-431.
35. O'Donnell L, Smith LB, Rebourcet D. Sertoli cells as key drivers of testis function. *Semin Cell Dev Biol* 2022, 121: 2-9.
36. Griswold MD. The central role of Sertoli cells in spermatogenesis. *Semin Cell Dev Biol* 1998, 9(4): 411-6.
37. Ravel C, Jaillard S. The Sertoli cell. *Morphologie* 2011, 95(311): 151-8.
38. Mäkelä JA, Koskenniemi JJ, Virtanen HE, Toppari J. Testis Development. *Endocr Rev* 2019, 40(4): 857-905.
39. Yoshida S. Spermatogenic stem cell system in the mouse testis. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 2008, 73: 25-32.
40. De Kretser DM, Loveland KL, Meinhardt A, Simorangkir D, Wreford N. Spermatogenesis. *Hum Reprod* 1998, 1: 1-8.

41. Hess RA, De Franca LR. Spermatogenesis and cycle of the seminiferous epithelium. *Adv Exp Med Biol* 2008, 636: 1-15.
42. Griswold MD. Spermatogenesis: The Commitment to Meiosis. *Physiol Rev* 2016, 96(1): 1-17.
43. Erkoçak A. *Özel Histoloji*, 2. Baskı. Ankara, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 1990: 166-194.
44. Shima Y, Morohashi K. Leydig progenitor cells in fetal testis. *Mol Cell Endocrinol* 2017, 445: 55-64.
45. Zirkin BR, Papadopoulos V. Leydig cells: formation, function, and regulation. *Biol Reprod* 2018, 99(1): 101-11.
46. Haider SG. Cell Biology of Leydig Cells in the Testis. *Int Rev Cytol* 2004, 233: 181-241.
47. Major AT, Estermann MA, Smith CA. Anatomy, Endocrine Regulation, and Embryonic Development of the Rete Testis. *Endocrinology* 2021, 162(6).
48. Jones RC, Dacheux JL, Nixon B, Ecroyd HW. Role of the epididymis in sperm competition. *Asian J Androl* 2007, 9(4): 493-9.
49. Amann RP, Hammerstedt RH, Veeramachaneni DNR. The epididymis and sperm maturation: a perspective. *Reprod Fertil Dev* 1993, 5(4): 361-81.
50. Lara NLM, Costa GMJ, Avelar GF, Lacerda SMSN, Hess RA, França LR. Testis physiology-overview and histology. *Encyclopedia of Reproduction* 2018, 105-16.
51. Virtanen HE, Cortes D, Rajpert-De Meyts E, Ritzén EM, Nordenskjöld A, Skakkebaek NE. Development and descent of the testis in relation to cryptorchidism. *Acta Paediatrica, International Journal of Paediatrics* 2007, 96(5): 622-7.
52. Shalet SM. Normal testicular function and spermatogenesis. *Pediatr Blood Cancer* 2009, 53(2): 285-8.
53. Ilacqua A, Francomano D, Aversa A. The Physiology of the Testis. In: Belfiore A, LeRoith D (eds). *Principles of Endocrinology and Hormone Action*, Cham, Springer, 2018: 455-91.

54. Sofikitis N, Giotitsas N, Tsounapi P, Baltogiannis D, Giannakis D, Pardalidis N. Hormonal regulation of spermatogenesis and spermiogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2008, 109(3-5): 323-30.
55. Nassar GN, Leslie SW. *Physiology, Testosterone*, Island, StatPearls Publishing, 2023.
56. Walker WH. Androgen Actions in the Testis and the Regulation of Spermatogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2021, 1288: 175-203.
57. Koskenniemi JJ, Virtanen HE, Toppari J. Testicular growth and development in puberty. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes* 2017, 24(3): 215-24.
58. O'Shaughnessy PJ, Fowler PA. Development of the human fetal testis. *Ann Endocrinol* 2014, 75(2): 48-53.
59. Recchia K, Jorge AS, Pessôa LV de F, Botigelli RC, Zugaib VC, de Souza AF, et al. Actions and Roles of FSH in Germinative Cells. *Int J Mol Sci* 2021, 22(18).
60. de Jonge ME, Huitema AD, Rodenhuis S, Beijnen JH. Clinical pharmacokinetics of cyclophosphamide. *Clin Pharmacokinet* 2005, 44(11): 1135-64.
61. Uber WE, Self SE, Van Bakel AB, Pereira NL. Acute Antibody-Mediated Rejection Following Heart Transplantation. *American Journal of Transplantation* 2007, 7: 2064-74.
62. Sinanoglu O, Yener AN, Ekici S, Midi A, Aksungar FB. The protective effects of spirulina in cyclophosphamide induced nephrotoxicity and urotoxicity in rats. *Urology* 2012, 80(6): 1392.
63. Hamzeh M, Hosseinimehr SJ, Khalatbary AR, Mohammadi HR, Dashti A, Amiri FT. Atorvastatin mitigates cyclophosphamide-induced hepatotoxicity via suppression of oxidative stress and apoptosis in rat model. *Res Pharm Sci* 2018, 13(5): 440.
64. El-Naggar SA, Abdel-Farid IB, Germoush MO, Elgebaly HA, Alm-Eldeen AA. Pharmaceutical Biology Efficacy of Rosmarinus officinalis leaves extract against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity Efficacy of Rosmarinus officinalis leaves extract against cyclophosphamide-induced hepatotoxicity. *Pharm Biol* 2016, 54(10): 2007-16.

65. Pugh D, Farrah TE, Gallacher PJ, Kluth DC, Dhaun N. Cyclophosphamide-Induced Lung Injury. *Kidney Int Rep* 2018, 4(3): 484-6.
66. Tian S, Jiang X, Tang Y, Han T. Laminaria japonica fucoidan ameliorates cyclophosphamide-induced liver and kidney injury possibly by regulating Nrf2/HO-1 and TLR4/NF- κ B signaling pathways. *J Sci Food Agric* 2022, 102(6): 2604-12.
67. Ebokaiwe AP, Obasi DO, Njoku RC, Osawe S. Cyclophosphamide-induced testicular oxidative-inflammatory injury is accompanied by altered immunosuppressive indoleamine 2, 3-dioxygenase in Wister rats: Influence of dietary quercetin. *Andrologia* 2022, 54(3).
68. Iqbal A, Iqbal MK, Sharma S, Ansari MA, Najmi AK, Ali SM. Molecular mechanism involved in cyclophosphamide-induced cardiotoxicity: Old drug with a new vision. *Life Sci* 2019, 218: 112-31.
69. Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998, 27(4): 927-43.
70. Biro K, Thaçi D, Ochsendorf FR, Kaufmann R, Boehncke WH. Efficacy of dexpanthenol in skin protection against irritation: a double-blind, placebo-controlled study. *Contact Dermatitis* 2003, 49(2): 80-4.
71. Slyshenkov VS, Omelyanchik SN, Moiseenok AG, Trebukhina RV, Wojtczak L. Pantothenol Protects Rats Against Some Deleterious Effects of Gamma Radiation. *Free Radic Biol Med* 1998, 24(6): 894-9.
72. Moiseenok AG, Komar VI, Khomich TI, Kanunnikova NP, Slyshenkov VS. Pantothenic acid in maintaining thiol and immune homeostasis. *BioFactors* 2000, 11(1-2): 53-5.
73. Ucar M, Aydogan MS, Vardı N, Parlakpınar H. Protective Effect of Dexpanthenol on Ischemia-Reperfusion-Induced Liver Injury. *Transplant Proc* 2018, 50(10): 3135-43.
74. Bayrak O, Seckiner I, Solakhan M, Karakok M, Erturhan SM, Yagci F. Effects of intravesical dexpanthenol use on lipid peroxidation and bladder histology in a chemical cystitis animal model. *Urology* 2012, 79(5): 1023-6.

75. Ozdemir R, Demirtas G, Parlakpınar H, Polat A, Tanbag K. Dexpanthenol therapy reduces lung damage in a hyperoxic lung injury in neonatal rats. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine* 2016, 29(11): 1801-7.
76. Abd El Tawab AM, Shahin NN, Abdelmohsen MM. Protective effect of Satureja montana extract on cyclophosphamide-induced testicular injury in rats. *Chem Biol Interact* 2014, 224: 196-205.
77. Şengül E, Gelen V, Gedikli S, Özkanlar S, Gür C, Çelebi F, et al. The protective effect of quercetin on cyclophosphamide-Induced lung toxicity in rats. *Biomed Pharmacother* 2017, 92: 303-7.
78. Etensel B, Özkisacık S, Özkara E, Serbest YA, Öztan O, Yazıcı M, et al. The protective effect of dexpanthenol on testicular atrophy at 60th day following experimental testicular torsion. *Pediatr Surg Int* 2007, 23(3): 271-5.
79. Nagi MN, Al-Shabanah OA, Hafez MM, Sayed-Ahmed MM. Thymoquinone supplementation attenuates cyclophosphamide-induced cardiotoxicity in rats. *J Biochem Mol Toxicol* 2011, 25(3): 135-42.
80. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979, 95(2): 351-8.
81. Sun Y, Oberley LW, Li Y. A simple method for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin Chem* 1988, 34(3): 497-500.
82. Weissman SM. Red Cell Metabolism. A Manual of Biochemical Methods. *Yale J Biol Med* 1976, 49(3): 310.
83. Aebi H. Oxygen Radicals in Biological Systems - Catalase in Vitro. *Methods Enzymol* 1984, 105(1947): 121-6.
84. Ellman GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys* 1959, 82(1): 70-7.
85. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 1951, 193: 265-75.
86. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Yüce A, Çeribaşı AO. Lycopene protects against cyclosporine A-induced testicular toxicity in rats. *Theriogenology* 2007, 67(4): 778-85.

87. Sönmez M, Türk G, Yüce A. The effect of ascorbic acid supplementation on sperm quality, lipid peroxidation and testosterone levels of male Wistar rats. *Theriogenology* 2005, 63(7): 2063-72.
88. Sönmez M, Yüce A, Türk G. The protective effects of melatonin and Vitamin E on antioxidant enzyme activities and epididymal sperm characteristics of homocysteine treated male rats. *Reprod Toxicol* 2007, 23(2): 226-31.
89. Pool BL, Bos RP, Niemeyer U, Theuws JLG, Schmähl D. In vitro/in vivo effects of Mesna on the genotoxicity and toxicity of cyclophosphamide - a study aimed at clarifying the mechanism of Mesna's anticarcinogenic activity. *Toxicol Lett* 1988, 41(1): 49-56.
90. Bramwell VHC, Mouridsen HT, Santoro A, Blackledge G, Somers R, Verwey J, et al. Cyclophosphamide versus ifosfamide: final report of a randomized phase II trial in adult soft tissue sarcomas. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987, 23(3): 311-21.
91. Zhai J, Zhang F, Gao S, Chen L, Feng G, Yin J, et al. Schisandra chinensis extract decreases chloroacetaldehyde production in rats and attenuates cyclophosphamide toxicity in liver, kidney and brain. *J Ethnopharmacol* 2018, 210: 223-31.
92. Abdallah HMI, Abdel-Rahman RF, El Awdan SA, Allam RM, El-Mosallamy AEMK, Selim MS, et al. Protective effect of some natural products against chemotherapy-induced toxicity in rats. *Heliyon* 2019, 5(5).
93. Abd El Tawab AM, Shahin NN, Abdelmohsen MM. Protective effect of Satureja montana extract on cyclophosphamide-induced testicular injury in rats. *Chem Biol Interact* 2014, 224: 196-205.
94. Kirkland RT, Bongiovanni AM, Cornfeld D, McCormick JB, Parks JS, Tenore A. Gonadotropin responses to luteinizing releasing factor in boys treated with cyclophosphamide for nephrotic syndrome. *J Pediatr* 1976, 89(6): 941-4.
95. Masala A, Faedda R, Alagna S, Satta A, Chiarelli G, Rovasio PP, et al. Use of testosterone to prevent cyclophosphamide-induced azoospermia. *Ann Intern Med* 1997, 126(4): 292-5.
96. Ozyazgan Y, Yurdakul S, Yazici H, Tüzün B, Işçimen A, Tüzün Y, Aktunç T, Pazarlı H, Hamuryudan V, Müftüoğlu A. Low dose cyclosporin A versus pulsed

- cyclophosphamide in Behçet's syndrome: a single masked trial. *Br J Ophthalmol* 1992, 76(4): 241-3.
97. Badkoobeh P, Parivar K, Kalantar SM, Hosseini SD, Salabat A. Effect of nano-zinc oxide on doxorubicin- induced oxidative stress and sperm disorders in adult male Wistar rats. *Iran J Reprod Med* 2013, 11(5): 355.
 98. Yuan D, Wang H, He H, Jia L, He Y, Wang T, et al. Protective Effects of Total Flavonoids from Epimedium on the Male Mouse Reproductive System Against Cyclophosphamide-Induced Oxidative Injury by Up-Regulating the Expressions of SOD3 and GPX1. *Phytotherapy Research* 2014, 28(1): 88-97.
 99. Kim SH, Lee IC, Baek HS, Moon C, Kim SH, Kim JC. Protective effect of diallyl disulfide on cyclophosphamide-induced testicular toxicity in rats. *Lab Anim Res* 2013, 29(4): 204-11.
 100. Rezvanfar MA, Sadrkhanlou RA, Ahmadi A, Shojaei-Sadee H, Rezvanfar MA, Mohammadirad A, et al. Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, and DNA damage by an herbal source; Evidence for role of free-radical toxic stress. *Hum Exp Toxicol* 2008, 27(12): 901-10.
 101. Ataya K, Rao L V, Kimmel R. Luteinizing Hormone-Releasing Hormone Agonist Inhibits Cyclophosphamide-Induced Ovarian Follicular Depletion in Rhesus Monkeys. *Biol Reprod* 1995, 52: 365-72.
 102. Kreuser ED, Klingmuller D, Thiel E. The role of LHRH-analogues in protecting gonadal functions during chemotherapy and irradiation. *Eur Urol* 1993, 23(1): 157-64.
 103. Warne GL, Fairley KF, Hobbs JB, Martin FIR. Cyclophosphamide-induced ovarian failure. *N Engl J Med* 1973, 289(22): 1159-62.
 104. Koyama H, Wada T, Nishizawa Y, Iwanaga T, Aoki Y. Cyclophosphamide-induced ovarian failure and its therapeutic significance in patients with breast cancer. *Cancer* 1977, 39(4): 1403-9.
 105. Burkl W, Schiechl H. The growth of follicles in the rat ovary under the influence of busulphan and endoxan. *Cell Tissue Res* 1978, 186(2): 351-9.

106. Morris ID. Protection against cytotoxic-induced testis damage--experimental approaches. *Eur Urol* 1993, 23(1): 143-7.
107. Cavalletti E, Tofanetti O, Zunino F. Comparison of reduced glutathione with 2-mercaptoethane sulfonate to prevent cyclophosphamide-induced urotoxicity. *Cancer Lett* 1986, 32(1): 1-6.
108. Pool BL, Bos RP, Niemeyer U, Theuws JLG, Schmähl D. In vitro/in vivo effects of Mesna on the genotoxicity and toxicity of cyclophosphamide--a study aimed at clarifying the mechanism of Mesna's anticarcinogenic activity. *Toxicol Lett* 1988, 41(1): 49-56.
109. Bramwell VHC, Mouridsen HT, Santoro A, Blackledge G, Somers R, Verwey J, et al. Cyclophosphamide versus ifosfamide: final report of a randomized phase II trial in adult soft tissue sarcomas. *Eur J Cancer Clin Oncol* 1987, 23(3): 311-21.
110. Inagaki T, Ebisuno S. Cyclophosphamide induced urinary bladder and renal pelvic tumor: A case report. *Japanese Journal of Urology* 1998, 89(7): 674-7.
111. Howell S, Shalet S. Gonadal damage from chemotherapy and radiotherapy. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1998, 27(4): 927-43.
112. Çeribaşı AO, Türk G, Sönmez M, Sakin F, Ateahin A. Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant-antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010, 107(3): 730-6.
113. Sakr S, Mahran HA, Basily NS, Saif ME. Effect of Ginkgo biloba extract on cyclophosphamide-induced reproductive toxicity and oxidative stress in male albino mice. *World Journal of Pharmaceutical Sciences* 2015, 16-25.
114. Dallak M. Crataegus aronia enhances sperm parameters and preserves testicular architecture in both control and non-alcoholic fatty liver disease-induced rats. *Pharm Biol* 2018, 56(1): 535-47.
115. Lu WP, Mei XT, Wang Y, Zheng YP, Xue YF, Xu DH. Zn(II)-curcumin protects against oxidative stress, deleterious changes in sperm parameters and histological alterations in a male mouse model of cyclophosphamide-induced reproductive damage. *Environ Toxicol Pharmacol* 2015, 39(2): 515-24.

116. Zhu B, Zheng YF, Zhang YY, Cao YS, Zhang L, Li XG, et al. Protective effect of L-carnitine in cyclophosphamide-induced germ cell apoptosis. *J Zhejiang Univ Sci B* 2015, 16(9): 780-7.
117. Motawi TMK, Sadik NAH, Refaat A. Cytoprotective effects of DL-alpha-lipoic acid or squalene on cyclophosphamide-induced oxidative injury: an experimental study on rat myocardium, testicles and urinary bladder. *Food Chem Toxicol* 2010, 48(8-9): 2326-36.
118. Arena AC, Jorge BC, Silva MC, de Barros AL, Fernandes AAH, Nóbrega RH, et al. Acrocomia aculeata oil: Beneficial effects on cyclophosphamide-induced reproductive toxicity in male rats. *Andrologia* 2018, 50(6).
119. Iqbal A, Syed MA, Najmi AK, Ali J, Haque SE. Ameliorative effect of nerolidol on cyclophosphamide-induced gonadal toxicity in Swiss Albino mice: Biochemical-, histological- and immunohistochemical-based evidences. *Andrologia* 2020, 52(4).
120. Cao Y, Wang X, Li S, Wang H, Yu L, Wang P. The Effects of l-Carnitine Against Cyclophosphamide-Induced Injuries in Mouse Testis. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2017, 120(2): 152-8.
121. de Oliveira MR, Nabavi SM, Braidly N, Setzer WN, Ahmed T, Nabavi SF. Quercetin and the mitochondria: A mechanistic view. *Biotechnol Adv* 2016, 34(5): 532-49.
122. Baltaci BB, Uygur R, Caglar V, Aktas C, Aydin M, Ozen OA. Protective effects of quercetin against arsenic-induced testicular damage in rats. *Andrologia* 2016, 48(10): 1202-13.
123. Anan HH, Zidan RA, Abd EL-Baset SA, Ali MM. Ameliorative effect of zinc oxide nanoparticles on cyclophosphamide induced testicular injury in adult rat. *Tissue Cell* 2018, 54: 80-93.
124. Mohammadi F, Nikzad H, Taghizadeh M, Taherian A, Azami-Tameh A, Hosseini SM, et al. Protective effect of Zingiber officinale extract on rat testis after cyclophosphamide treatment. *Andrologia* 2014, 46(6): 680-6.
125. Alkhalaf MI, Alansari WS, Alshubaily FA, Alnajeebi AM, Eskandrani AA, Tashkandi MA, Babteen NA. Chemoprotective effects of inositol hexaphosphate against cyclophosphamide-induced testicular damage in rats. *Sci Rep.* 2020, 10(1): 12599.

126. Torabi F, Shafaroudi MM, Rezaei N. Combined protective effect of zinc oxide nanoparticles and melatonin on cyclophosphamide-induced toxicity in testicular histology and sperm parameters in adult Wistar rats. *Int J Reprod Biomed* 2017, 15(7): 403.
127. Cengiz M, Sahinturk V, Yildiz SC, Şahin İK, Bilici N, Yaman SO, Altuner Y, Appak-Baskoy S, Ayhanci A. Cyclophosphamide induced oxidative stress, lipid peroxidation, apoptosis and histopathological changes in rats: Protective role of boron. *J Trace Elem Med Biol* 2020, 62:126574.
128. Watcho P, Mpeck IR, Deeh Defo PB, Wankeu-Nya M, Ngadjui E, Bonsou Fozin GR, et al. Cyclophosphamide-induced reproductive toxicity: Beneficial effects of *Helichrysum odoratissimum* (Asteraceae) in male Wistar rats. *J Integr Med* 2019, 17(5): 366-73.
129. Oliveira RJ, Cunha-Laura AL, Gonçalves CA, Monreal ACD, Costa DS, Meza A, et al. Effects of 3-Heptyl-3,4,6-trimethoxy-3H-isobenzofuran-1-one alone or/in association with cyclophosphamide on testicular function. *Andrologia* 2020, 52(7).
130. Oyagbemi AA, Omobowale TO, Saba AB, Adedara IA, Olowu ER, Akinrinde AS, Dada RO. Gallic acid protects against cyclophosphamide-induced toxicity in testis and epididymis of rats. *Andrologia* 2016, 48(4): 393-401.
131. Anan HH, Wahba NS, Abdallah MA, Mohamed DA. Histological and immunohistochemical study of cyclophosphamide effect on adult rat testis. International Journal of Scientific Reports *Anan HH et al Int J Sci Rep* 2017, 3(2): 39-48.
132. Le XY, Luo P, Gu YP, Tao YX, Liu HZ. Interventional effects of squid ink polysaccharides on cyclophosphamide-associated testicular damage in mice. *Bratisl Lek Listy* 2015, 116(5): 334-9.
133. Can S, Çetik Yıldız S, Keskin C, Şahintürk V, Cengiz M, Appak Başköy S, et al. Investigation into the protective effects of *Hypericum Triquetrifolium* Turra seed against cyclophosphamide-induced testicular injury in Sprague Dawley rats. *Drug Chem Toxicol* 2022, 45(4): 1679-86.

134. Abd El Tawab AM, Shahin NN, Abdelmohsen MM. Protective effect of Satureja montana extract on cyclophosphamide-induced testicular injury in rats. *Chem Biol Interact* 2014, 224: 196-205.
135. Çeribaşı AO, Türk G, Sönmez M, Sakin F, Ateahin A. Toxic effect of cyclophosphamide on sperm morphology, testicular histology and blood oxidant-antioxidant balance, and protective roles of lycopene and ellagic acid. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2010, 107(3): 730-6.
136. Pavin NF, Izaguirry AP, Soares MB, Spiazzi CC, Mendez ASL, Leivas FG, et al. Tribulus terrestris Protects against Male Reproductive Damage Induced by Cyclophosphamide in Mice. *Oxid Med Cell Longev* 2018, 2018: 5758191.
137. Aydın A, Sönmez MG, Ecer G, Kılınç F, Kocabaş R, Atılğan AE, Oltulu P, Balasar M. The effect of intratesticular dexpanthenol on experimentally-induced testicular ischaemia/reperfusion injury. *J Pediatr Urol* 2021, 17(4): 440-7.
138. Etensel B, Özkisacık S, Özkara E, Karul A, Öztan O, Yazıcı M, et al. Dexpanthenol attenuates lipid peroxidation and testicular damage at experimental ischemia and reperfusion injury. *Pediatr Surg Int* 2007, 23(2): 177-81.
139. Altıntaş R, Parlakpınar H, Beytur A, Vardi N, Polat A, Sagır M, et al. Protective effect of dexpanthenol on ischemia-reperfusion-induced renal injury in rats. *Kidney Blood Press Res* 2012, 36(1): 220-30.
140. Sakr SA, Mahran HA, Abo-El-Yazid SM. Effect of fenugreek seeds extract on cyclophosphamide-induced histomorphometrical, ultrastructural and biochemical changes in testes of albino mice. *Toxicol Ind Health* 2012, 28(3): 276-88.
141. Alam SS, Hafız NA, Abd El-Rahim AH. Protective role of taurine against genotoxic damage in mice treated with methotrexate and tamoxifen. *Environ Toxicol Pharmacol* 2011, 31(1): 143-52.
142. İlbey YO, Özbek E, Simsek A, Otunctemur A, Çekmen M, Somay A. Potential chemoprotective effect of melatonin in cyclophosphamide- and cisplatin-induced testicular damage in rats. *Fertil Steril* 2009, 92(3): 1124-32.
143. Ghosh D, Das UB, Misro M. Protective Role of α -tocopherol-succinate (Provitamin-E) in Cyclophosphamide Induced Testicular Gametogenic and Steroidogenic

Disorders: A Correlative Approach to Oxidative Stress. *Free Radic Res* 2002, 36(11): 1209-18.

144. Codrington AM, Hales BF, Robaire B. Exposure of male rats to cyclophosphamide alters the chromatin structure and basic proteome in spermatozoa. *Hum Reprod* 2007, 22(5): 1431-42.
145. Coddington AM, Hales BF, Robaire B. Spermiogenic germ cell phase-specific DNA damage following cyclophosphamide exposure. *J Androl* 2004, 25(3): 354-62.
146. Aguilar-Mahecha A, Hales BF, Robaire B. Effects of Acute and Chronic Cyclophosphamide Treatment on Meiotic Progression and the Induction of DNA Double-Strand Breaks in Rat Spermatocytes. *Biol Reprod* 2005, 72(6): 1297-304.
147. Beytur A, Ciftci O, Oguz F, Oguzturk H, Yilmaz F. Montelukast attenuates side effects of cisplatin including testicular, spermatological, and hormonal damage in male rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 2012, 69(1): 207-13.
148. Türk G, Ateşşahin A, Sönmez M, Çeribaşı AO, Yüce A. Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. *Fertil Steril* 2008, 89(5): 1474-81.
149. Ateşşahin A, Şanna E, Türk G, Çeribaşı AO, Yilmaz S, Yüce A, et al. Chemoprotective effect of melatonin against cisplatin-induced testicular toxicity in rats. *J Pineal Res* 2006, 41(1): 21-7.
150. Ilbey YO, Ozbek E, Simsek A, Otunctemur A, Cekmen M, Somay A. Potential chemoprotective effect of melatonin in cyclophosphamide- and cisplatin-induced testicular damage in rats. *Fertil Steril* 2009, 92(3): 1124-32.
151. Ateşşahin A, Karahan I, Türk G, Gür S, Yilmaz S, Çeribaşı AO. Protective role of lycopene on cisplatin-induced changes in sperm characteristics, testicular damage and oxidative stress in rats. *Reprod Toxicol* 2006, 21(1): 42-7.
152. Qiu J, Hales BF, Robaire B. Damage to rat spermatozoal dna after chronic cyclophosphamide exposure. *Biol Reprod* 1995, 53: 1465-73.
153. Zanchi MM, Manfredini V, Brum D dos S, Vargas LM, Spiazzi CC, Soares MB, et al. Green tea infusion improves cyclophosphamide-induced damage on male mice reproductive system. *Toxicol Rep* 2015, 2: 252-60.

154. Cao C, Yu M, Chai Y. Pathological alteration and therapeutic implications of sepsis-induced immune cell apoptosis. *Cell Death Dis* 2019, 10(10).
155. Yang GS, Wang W, Wang YM, Chen ZD, Wang S, Fang JJ. Effect of cocaine on germ cell apoptosis in rats at different ages. *Asian J Androl* 2006, 8(5): 569-75.



EKLER

EK-1.



EK-2. Etik Kurul Kararı

