

**FOTOTERAPİ UYGULANAN RATLARIN
TESTİSLERİNDE MEYDANA GELEN HİSTOPATOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERİN VE UYGULANAN E VİTAMİNİ NİN
BU DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ
Arş. Grv. Dr. Evrim ÖZKARACA BOYACI

DANIŞMAN
Doç. Dr. Didem BASKIN EMBLETON

ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

AFYONKARAHİSAR 2012

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

FOTOTERAPİ UYGULANAN RATLARIN TESTİSLERİNDE
MEYDANA GELEN HİSTOPATOLOJİK
DEĞİŞİKLİKLERİN VE UYGULANAN E VİTAMİNİNİN BU
DEĞİŞİKLİKLER ÜZERİNE ETKİLERİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Arş. Grv. Dr. EVRİM ÖZKARACA BOYACI

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Didem BASKIN EMBLETON

AFYONKARAHİSAR 2012

T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI

Tez başlığı : Fototerapi uygulanan ratların testislerinde meydana gelen histopatolojik değişikliklerin ve uygulanan E vitamininin bu değişiklikler üzerine etkilerinin değerlendirilmesi

Tezi hazırlayan : Arş. Gör. Dr. Evrim ÖZKARACA BOYACI

Tez Savunma Tarihi : 17.08.2012

Tez Kabul Tarihi : 17.08.2012

Tez Danışmanı : Doç.Dr. Didem BASKIN EMBLETON

İş bu çalışma jürimiz ÇOCUK CERRAHİSİ ANABİLİM DALI'nda
TIPTA UZMANLIK TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Başkan

Doç.Dr. Didem BASKIN EMBLETON

Üye

Doç.Dr.Tolga Altuğ ŞEN

Üye

Doç.Dr. Yüksel ELA

DEKAN

Prof.Dr.Ahmet SONGUR

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen, çocuk cerrahisinin tüm inceliklerini öğreten başta tez danışmanım Doç. Dr. Didem BASKIN EMBLETON olmak üzere Prof. Dr. Salih ÇETİNKURŞUN ve Doç. Dr. Adnan NARCI hocalarıma,

Kısa süre çalışmamıza rağmen önemli tecrübeler kazandıran Yrd. Doç. Dr. Mevlit KORKMAZ hocama,

Tezimin hazırlanmasında yardımcı olan Doç. Dr. Murat TOSUN ve Doç. Dr. Murat YAĞMURCA ve Yrd. Doç. Dr. Ramazan UYGUR hocalarıma, AKÜ Deney Hayvanları Uyg. ve Araşt. Merk. çalışanlarına, BAP komisyonuna ve çalışanlarına,

Desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili asistan arkadaşlarım Dr. Ahmet Ali TUNCER , Dr. Serdar MINGİR ve Dr. Altınay BAYRAKTAROĞLU'na,

Bu günlere gelmemi sağlayan, herkonuda destek olan, çok sevdiğim annem, rahmetli babam ve ailemin diğer üyelerine, hayatıma renk katan yaşama sevincim haline gelen biricik kızım Elif'e ve değerli eşim M. Gazi BOYACI'ya sonsuz şükranlarımı sunarım.

*Dr. Evrim ÖZKARACA BOYACI
Afyonkarahisar 2012*

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1 YENİDOĞAN SARILIĞI	2
2.1.1 TARİHÇE VE GİRİŞ	2
2.1.2 TANIM	3
2.1.3 BİLİRUBİN METABOLİZMASI	4
2.1.4 FİZYOLOJİK SARILIK	7
2.1.5 PATOLOJİK SARILIK	7
2.1.6 YENİDOĞAN SARILIĞI TEDAVİSİ	9
2.2 FOTOTERAPİ	11
2.2.1 TARİHÇE	11
2.2.2 TANIM	12
2.2.3 ETKİ MEKANİZMASI	12
2.2.4 FOTOTERAPİ ETKİNLİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	15
2.2.5 FOTOTERAPİ KOMPLİKASYONLARI	20
2.3 TESTİS	27
2.3.1 TESTİS EMBRİYOLOJİSİ	27
2.3.2 TESTİS ANATOMİSİ	29
2.3.3 TESTİS HİSTOLOJİSİ	31
2.4 E VİTAMİNİ	33
2.5 APOPTOZİS	34
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	35
3.1 ANESTEZİ VE OPERASYON	37
3.2 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME	37
3.2.1 SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPI ÖLÇÜMÜ	39
3.2.2 JOHNSEN SKORLAMASI	39
3.2.3 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME	40
3.3 TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated dUTP Nick End Labeling) Yöntemi	40
3.3.1 TUNEL Yöntemi ile Apoptotik İnceleme	41
3.3.2 TUNEL Boyama Protokolü	41
4. BULGULAR	43
4.1 SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPLARI	43
4.2 SPERMATOGENEZİS DEĞERLENDİRİLMESİ	46
4.3 TUNEL Bulguları	49
4.3.1 Grup 1'e ait TUNEL bulguları	50
4.3.2 Grup 2'ye ait TUNEL bulguları	51
4.3.3 Grup 3'e ait TUNEL bulguları	52
5. TARTIŞMA	53
6. SONUÇLAR	61
7. ÖZET	62
8. SUMMARY	64
9. KAYNAKLAR	66

KISALTMALAR DİZİNİ

AKÜHADYEK : Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu

cm² : Santimetre-kare

dl : Desilitre

DNA : Deoksiribo nükleik asit

FSH : Folikül stimüle edici hormon

GH : Growth hormon

GPx : Glutasyon peroksidaz

HE : Hematoksilen-Eozin

IL : İnterlökin

İM : İntramusküler

LED : Light emitting diode-based

LH : Lüteinizan hormon

MDA : Malonildialdehit

mg : Miligram

MIF : Müllarian inhibe edici faktör

nm : Nanometre

NO : Nitrik oksit

PDA : Patent duktus arteriosus

RES : Retikülo endotelyal sistem

SOD : Süperoksit dismutaz

TdT : Terminal deoksinükleotidil transferaz

Th: : T-helper

TNF : Tümör nekroz faktör

TSB : Total serum bilirubini

TUNEL : Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated dUTP Nick End Labeling

UDPGT : Üridildifosfat glukuronil transferaz

UV : Ultraviyole

VEGF : Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

VIP : Vazointestinal peptid

µW : Mikrovat

TABLolar DİZİNİ

Tablo I.	Yenidoğanda indirekt hiperbilirubinemi nedenleri
Tablo II.	Preterm yenidoğanlarda gestasyon yaşına göre fototerapi ve kan değişimi endikasyonu için ölçütler
Tablo III.	İndirekt hiperbilirubinemide yaş ve doğum ağırlığına göre tedavi tablosu (bilirubin mg/dl)
Tablo IV.	Histolojik takip basamakları
Tablo V.	Hematoksilen-Eozin boyama protokolü
Tablo VI.	Johnsen Skorlaması
Tablo VII.	Çalışma gruplarının tablo şeklinde açıklaması
Tablo VIII.	Grupların seminifer tübül çapı ile ilgili verilerin tanımlayıcı değerleri
Tablo IX.	Grupların seminifer tübül çapı ile ilgili verilerin analizi
Tablo X.	Grupların spermatogenez ile ilgili tanımlayıcı verileri
Tablo XI.	Grupların spermatogenez ile ilgili verilerin analizi
Tablo XII	Deney gruplarına ait TUNEL pozitif boyanan hücrelerin semikantitatif değerlendirilmesi.

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Bilirubin metabolizması

Şekil 2. Bhutani nomogramı

Şekil 3. ≥ 35 haftalık yenidoğanlarda fototerapi endikasyonu

Şekil 4. Bilirubinin fotokimyasal reaksiyonları

Şekil 5. Bilirubinin 4Z,15Z ve 4E,15E izomerleri

Şekil 6. Fototerapinin etki mekanizmaları

Şekil 7. Ortalama spektral irradiyans ile serum bilirubin konsantrasyonlarındaki düşüş arasındaki ilişki

Şekil 8. Testis ve skrotum

Şekil 9. Testis ve skrotum

Şekil 10. Testis, Epididimis ve Duktus deferens

Şekil 11. Skrotum ve testisten geçen enine kesit

Şekil 12. Spermatogenez.

Şekil 13. Grupların seminifer tübül ortalamalarında görülen değişikliklerin grafikte görünümü

Şekil 14. Grup 1'in seminifer tübül çapının mikroskopik görünümü

Şekil 15. Grup 2'nin seminifer tübül çapının mikroskopik görünümü

Şekil 16. Grup 3'ün seminifer tübül çapının mikroskopik görünümü

Şekil 17. Grupların spermatogenezis ortalamalarında görülen değişikliklerin grafikte görünümü

Şekil 18. Grup 1'in seminifer tübüllerindeki spermatogenezisin mikroskopik değerlendirilmesi (HEx20)

Şekil 19. Grup 2'nin seminifer tübüllerindeki spermatogenezisin mikroskopik değerlendirilmesi

Şekil 20. Grup 3'ün seminifer tübüllerindeki spermatogenezisin mikroskopik değerlendirilmesi

Şekil 21. Grup 1'e ait TUNEL boyama görüntüsü

Şekil 22. Grup 2'ye ait TUNEL boyama görüntüsü

Şekil 23. Grup 3'e ait TUNEL boyama görüntüsü

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Yenidoğan döneminde indirekt hiperbilirubinemi çok sık görülür, uygun yaklaşım ve tedavi yapılmadığı takdirde kalıcı nörolojik sekele neden olan kernikterusa sebep olabilmektedir. Bu yüzden acil tedavi yaklaşımı gerektirir. Tedavide ise en sık kullanılan yöntem fototerapidir. Fototerapi uzun yıllardır yenidoğan yoğun bakım ünitelerinde hiperbilirubinemi tedavisinde en sık kullanılan tedavi yöntemi olma özelliğini korumuştur. Bu yaygın kullanımın yan etkilerine ait in vivo ve in vitro yapılmış çok sayıda çalışma mevcuttur. Özellikle retinal hasar, sıvı-elektrolit dengesinde bozulma, döküntü gibi yan etkileri sık görülen yan etkilerindendir. Bunlar hafif yan etkilerdir ve birçoğu fototerapi kesildikten sonra kendiliğinden geçer. Ancak fototerapinin DNA düzeyinde olan daha ağır yan etkileriyle ilgili özellikle son yıllarda birçok çalışma yapılmıştır. Fototerapinin erkek yenidoğanların testislerinde ne gibi etkiler oluşturduğu ile ilgili ise oldukça az sayıda yayın mevcuttur. Bu yayınlarda testisi koruyucu olarak gonadları örtme dışında ne yapılabileceği ile ilgili veri yoktur.

E vitamini, yağda çözünebilen önemli antioksidanlardan biridir ve yaklaşık %90'ından sorumlu en aktif ve en yaygın formu α - tokoferol'dür. E vitamini birçok önemli çalışmada kullanılmıştır. Bununla birlikte E vitamininin testisler üzerine etkisi ile ilgili literatürde çok sayıda yayın mevcuttur.

Amacımız az sayıdaki yayınlara ortaya konulmuş olan fototerapinin testislere etkilerini histopatolojik olarak görmek ve E vitaminin muhtemel koruyucu etkilerini değerlendirip literatür eşliğinde tartışmaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1 YENİDOĞAN SARILIĞI

2.1.1 TARİHÇE VE GİRİŞ

Yeni doğmuş bebeklerdeki sarılık durumuna dair ilk bilgi Metlinger tarafından 1473 yılında yazılmış olan *Ein Regiment der Kinder* adlı kitapta yer almaktadır. Michael Ettmuler, doğumdan kısa süre sonraki sarılık durumundan 1708 yılında yayınladığı "*De Infantum Morbis*" adlı bilimsel araştırma yazısında bahsetmiştir. Yine yenidoğan sarılığı ile ilgili ilk kayıtlardan biri de, John Burton tarafından 1742 yılında yayınladığı "*A Full view of All the Diseases Incident to Children*" (Çocuklar üzerinde etkili olan tüm hastalıkların tam bir incelemesi) başlıklı bilimsel araştırma yazısında bulunmaktadır. Bu araştırmasında, Burton, sarılığın bağırsaklardaki hassas bir durumla ilgili olduğu tezini ortaya atmıştır. Bunun bir benzeri yaklaşım, 1853 yılında, Condie tarafından Philadelphia'da desteklenmiştir. Condie, yenidoğan sarılığının mekonyumun serbestçe boşaltılmasına duyulan gereksinimle ilgili olduğunu farzetmiştir. Hintyağı veya küçük bir miktar calomel (tatlı sülümen) veya ışığın faydalı olacağını öne sürmüştür. İlginç olanı ise o zamanlarda sarılığın uyku durumu ile ilgili olduğunu belirtmiş olmasıdır (1).

Yine 18. yüzyılın sonlarında ve 19. yüzyılın başlarında Fransa'da basılmış birçok yayın vardır ve bunlardan biri 1847 yılında, Jacques Francois Hervieux tarafından doktora tezi olarak Paris Üniversitesinde sunulmuş olanıdır. Tezin başlığı "*De l'ictère des nouveau-nés*" (Yenidoğanlardaki sarılık üzerine) dir Hervieux, yenidoğan sarılığından etkilenmiş bir bebeğin beynindeki sarı lekelenmeden bahseden ilk bilimadamı olmuştur (1).

Yenidoğan döneminde sarılık ile çok sık karşılaşılmaktadır (1-12). Genellikle tedavi gerektirmeden kendiliğinden gerilemektedir (1,6).

Sağlıklı term bebeklerin %50-70'inde sarılık görülürken, bu oran preterm bebeklerde %80'lere çıkmaktadır. Bununla beraber yüksek bilirubin seviyelerinin erken tanı ve tedavisinin yapılmadığı durumlarda bilirubin ensefalopatisinin (kernikterus) gelişmesi tüm çocuk hekimlerini korkutmaktadır (1). Dünyada kernikterus bildirilen ülkeler arasında ilk sırada Amerika Birleşik Devletleri (%27), ikinci sırada Singapur (%19) ve üçüncü sırada Türkiye'nin (%16) bulunması ülkemizde yenidoğan sarılığı üzerinde daha fazla araştırma yapılması gerektiğini göstermektedir (1,7,10) .

Hiperbilirubinemi, ölümler ve ciddi sekellere de neden olabilir. Erken tanınip tedavi edildiği zaman ise bu sonuçlar engellenebilir. Bundan dolayı sarılık, uzun yıllar olduğu gibi günümüzde de önemini korumaktadır (1).

2.1.2 TANIM

Sarılık kimyasal hiperbilirubineminin (kan bilirubin düzeyinin artması) gözle görülen belirtisidir, bilirubin vücudun epidermal dokularında birikerek deri, sklera ve mukoza sarıya boyanır (1,3,12). Burada hemoglobinin katabolizmasının son ürünü olan bilirubin deride birikir (3,5). Serum total bilirubin (STB) seviyesi yenidoğanlarda 5–7 mg/dl'yi aştığında sarılık gözle görünür hale gelir (2,13).

Yenidoğan sarılıkları biriken bilirubinin cinsine göre ikiye ayrılır.

1) İndirekt bilirubin artışı: Yenidoğanda en sık görülen sarılık şeklidir. Fizyolojik yada patolojik olabilir.

2) Direkt bilirubin artışı: Yenidoğan döneminde nadirdir, her zaman patolojiktir (1). Safra yollarında tıkanıklığa veya karaciğer fonksiyonlarında ciddi bozukluğa işaret eder.

Sarılıklı bir bebek ile karşılaşıldığında fizyolojik mi, incelemeye gerek var mı, hangi tetkikler istenmeli, tehlike var mı, potansiyel tehlike nasıl saptanabilir, tehlike varsa nasıl tedavi edilmelidir gibi sorulara cevap aranmalıdır (2).

2.1.3 BİLİRUBİN METABOLİZMASI

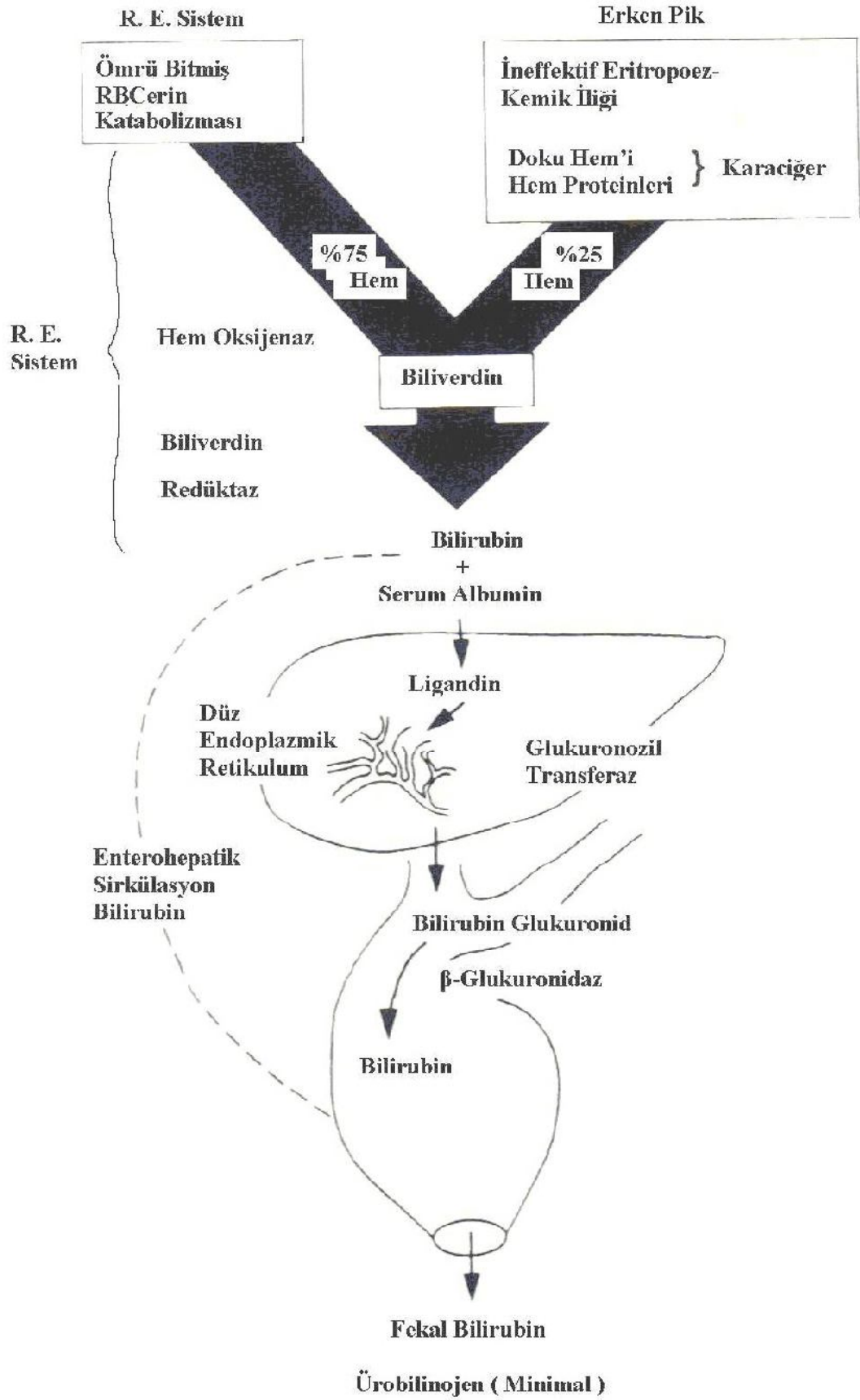
Bilirubin, hemoglobinin oksijen taşıyan bölümü olan hem (demir protoporfirin) katabolizmasının bir ürünüdür ve üretim hızı 6-10 mg/kg/gün (erişkin 3-4 mg/kg/gün) olarak değişmektedir. Oluşan bilirübinin %75 yaşam süresi dolmuş eritrositlerin retikülo endotelial sistemde (RES) parçalanmasıyla, %25'i ise myoglobin, sitokromlar, katalaz, peroksidaz yoluyla parçalanmasıyla ortaya çıkar. Bir gram hem' den ortalama 34 mg bilirubin meydana gelmektedir.

Retiküloendotelial sistemde toplanan ve parçalanan eritrositlerden önce globin zincirleri ayrılır. Daha sonra hem halkasındaki x-karbon atomu ayrılır ve karbonmonoksit olarak atılır. Demir tekrar kullanıma girerken, hem önce biliverdine daha sonra bilirubine dönüşür. 1 gram bilirubin içindeki intramoleküler hidrojen bağları, polar grupları molekül içinde tutulduğundan dolayı suda çözünmez haldedir. Bilirubin zayıf asidik olduğu ve suda çözünmediği için, safraya atılmadan önce konjuge edilmesi gerekir.

Bilirubin, üç tek karbon köprüsüyle birbirine bağlanmış dört pirol halkasından oluşur. Bilirubin IX alfa olarak da adlandırılan bu moleküldeki IX terimi, protoporfirin IX kaynaklı olduğunu, alfa terimi ise kapalı protoporfirin halkasının alfa karbon köprüsünde açık olduğunu belirtir. Ortadaki karbon köprüsü, orta 2 pirol halkasına tek olarak bağlanır, yanlardaki 2 karbon köprüsü ise diğer iki pirol halkasına çift bağla bağlanır. Bu çift bağlarda 2 farklı konfigürasyon olabilir. Bunlardan birine Z (Almanca zusammen=beraber), diğerine E (Almanca entgegen=karşılıklı) denir. Ana molekül olan Hem de bu çift bağlar Z konumunda olduğu için bilirubin de 4Z,15Z bilirubin IX alfa adını alır. Bu molekülün 3 boyutlu yapısında, bütün polar gruplar molekül içinde bulunduğu için hidrofobik ve lipofilik bir özellik kazanır. Membranlardan geçişi kolaylaştıran bu özellik, intrauterin dönemde plasenta yoluyla temizlenmeyi sağlarken postnatal dönemde kan-beyin bariyerini kolayca geçebilmesine ve zararlı etkilerin ortaya çıkmasına neden olur. Bilirubinün bu zararlı etkilerini azaltmanın bir yolu albumine bağlanmasıdır. Bu şekilde karaciğere taşınan bilirubin orada glukuronik asit ile konjuge hale gelince suda çözünürlüğü artar,

membranlardan atılması kolaylaşır. Karaciğere gelen albumine bağlı bilirubin, karaciğer hücre yüzeyinde albuminden ayrılır ve membran reseptörlerine bağlanır. Hepatosit içine geçen bilirubin ligandin veya Y proteini adı verilen intraselüler reseptöre bağlanarak düz endoplazmik retikuluma taşınır ve burada üridildifosfat glukuronil transferaz (UDPGT) enzimi yardımıyla suda eriyen iki glukuronil grubunun eklenmesi ile mono ve diglukuronid şekline dönüşür. Glukoronidle konjugasyon, bilirubin atılımının %90'ını oluşturur. Konjuge edilen bilirubin kanaliküler membrandan bir taşıyıcı yardımı ile safra içine atılır.

Barsağa geçen konjuge bilirubin tekrar emilmez ancak konjuge olmamış bilirubin, safra tuzları, fosfolipidler, kolesterol, tiroksin ve diğer bazı maddeler ile birlikte enterohepatik dolaşıma girer. Bilirubinin monoglukuronid ve diglukuronid formları stabil moleküller olmadığı için bağırsaktaki alkali ortamda non-enzimatik olarak, mukoza yüzeyindeki alfa- glukuronidaz ile de enzimatik olarak konjuge olmamış bilirubin haline dönüşür. Bu bilirubin de karaciğere geri döner. Konjuge bilirubinin büyük bir kısmı sterkobilin şeklinde barsak yoluyla az bir kısmı ise ürobilinojen şeklinde böbrekler yoluyla atılır (Şekil1) (2,5,14,15,16).



Şekil 1. Bilirubin metabolizması (17)

2.1.4 FİZYOLOJİK SARILIK

Yenidoğan bebeklerde eritrosit kitlesinin fazla, eritrosit yaşam süresinin kısa olması (90 gün) ve hemoglobin dışı proteinlerin artmış olmasından dolayı bilirubin yapımı artmıştır. Ayrıca enterohepatik dolaşım, beta-glukuronidaz aktivitesinin ve bilirubin monoglukuronid yapımının artmış olması, intestinal floranın yetersizliği, barsak motilitesinin azalması ve az gaita çıkarma gibi nedenlerden dolayı artmıştır. Yenidoğan bebeklerde bilirubin uptake düşüklüğü (ligandin azlığı), konjugasyon yetersizliği (düşük UDPG-T aktivitesi), bilirubinin hepatik ekskresyonunun azlığı da sarılık oluşumunu kolaylaştıran nedenlerdendir (2).

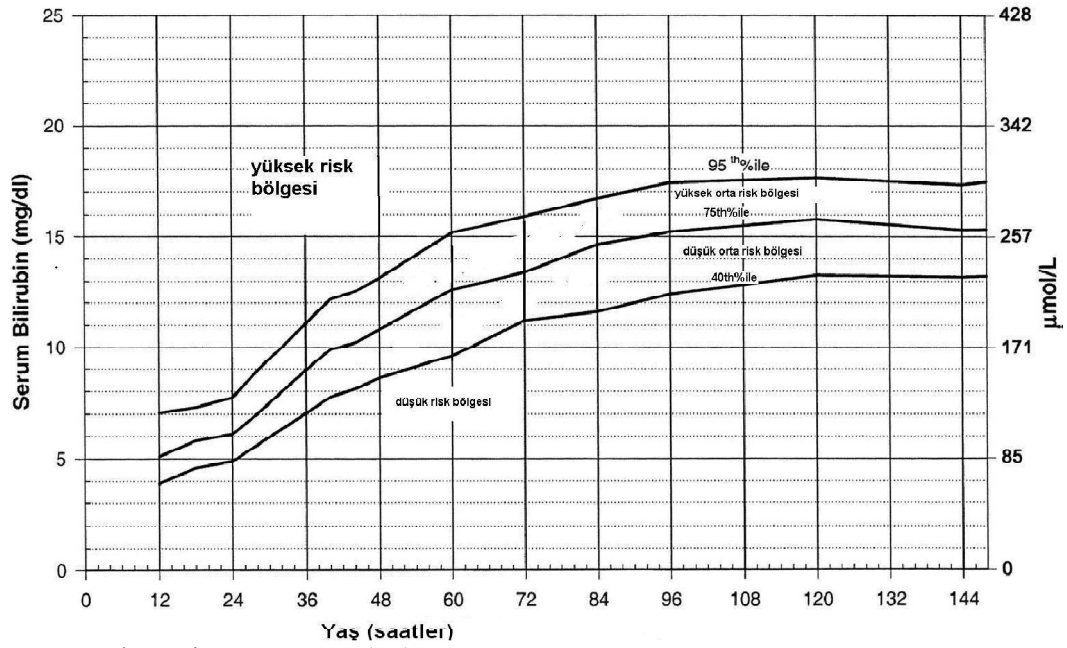
Fizyolojik sarılığın başlıca özellikleri;

- İlk 24 saatten sonra başlaması,
- Bilirubin artışının günlük 5 mg/dl' yi geçmemesi,
- Direkt bilirubin düzeyinin 1.5- 2 mg/dl'yi geçmemesi,
- Term bebekte maksimum 1 hafta, preterm bebekte maksimum 2 hafta sürmesi,
- Term bebekte maksimum 12-13 mg/dl, preterm bebekte 15 mg/dl'ye kadar yükselmesi,
- Tedavi gerektirmemesidir.

2.1.5 PATOLOJİK SARILIK

Patolojik sarılığın başlıca özellikleri;

- İlk 24 saatte sarılık görülmesi
- Hasta bir yenidoğanda sarılık görülmesi
- Total serum bilirubin (TSB) düzeyinin günde 5 mg/dL'den fazla artması
- Bilirubin nomogramlarına göre TSB düzeyinin 95. Persentil üzerinde olması (örnek:48.saatte $\geq$ 13mg/dL, 96 saat ve sonrasında $\geq$ 17.5 mg/dL olması) (Şekil 2)



Şekil 2. Bhutani nomogramı (16).

- Klinik olarak sarılığın term yenidoğanda 14 günden, pretermde 21 günden daha uzun süre devam etmesi
- Direkt bilirubin düzeyi TSB ≤ 5 mg/dL olanlarda 1mg/dL üzerinde, TSB>5 mg/dl olanlarda TSB'nin %20'sinden fazla olması
- Dışkının renksiz ve idrarın koyu renkte olması (16).

Tablo I. Yenidoğanda indirekt hiperbilirubinemi nedenleri (2, 9, 14, 16).

A-) Bilirubin yapımında artış

1) Hemolitik hastalık

İmmün Mekanizmalar

Rh alloimmünizasyonu

ABO ve diğer kan grubu uyumsuzlukları

Hereditör

Eritrosit membran defektleri

(Sferositoz, eliptositoz, stomatositoz, piknositoz)

Eritrosit enzim defektleri (Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz enzim eksikliği)

Hemoglobinopatiler (Alfa Talasemi, beta-γ-talasemi)

2) Bilirubin yapındaki artışla ilgili diğer sebepler

Sepsis

Dissemine intravasküler koagülopati

Ekstravazasyon (Hematom, pulmoner kanama, serebral kanama)

Polisitemi

Diabetik annenin makrozomik bebeği

3) Bilirubin enterohepatik dolaşımında artış

Anne sütü sarılığı

Pilor stenozu

İnce ya da kalın barsak obstrüksiyonu yada ileus

B-) Klerenste azalma

1) Prematürite

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliği

2) Yenidoğanın metabolik hastalıkları

Crigler-Najjar Sendromu

Gilbert Sendromu

Tirozinemi

Hipermetioninemi

3) Metabolik

Hipotiroidizm

Hipopitüitarizm

2.1.6 YENİDOĞAN SARILIĞI TEDAVİSİ

Bilirubin toksisitesinin geçici ve kalıcı etkilerini ortadan kaldırılması için hiperbilirubineminin zamanında tedavisi büyük önem taşır. Ancak hangi bilirubin düzeylerinde hangi tedavilerin uygulanması gerektiği konusu tartışmalıdır. Sarılığın epidemiyolojisi ve sağlık sistemindeki farklılıklar nedeniyle her bölgede veya ülkede farklı tedaviler ve tedavi eşikleri ön plana çıkabilir.

Hiperbilirubinemi tedavisinde kullanılan başlıca yöntemler şunlardır (Tablo II,III,Şekil 3)(15).

- 1.Fototerapi
- 2.Kan değişimi
- 3.Farmakolojik ajanlar

Tablo II. Preterm yenidoğanlarda gestasyon yaşına göre fototerapi ve kan değişimi endikasyonu için ltler** (16).

TSB (mg/dl)			
Gestasyon yařı,hafta	Fototerapi	Kan değişimi	
		Hasta*	Sağlıklı
36	14.6	17.5	20.5
32	8.8	14.6	17.5
28	5.8	11.7	14.6
24	4.7	8.8	11.7

* Rh uyurşmazlığı, asfiksi, hipoksi, asidoz, hiperkapni

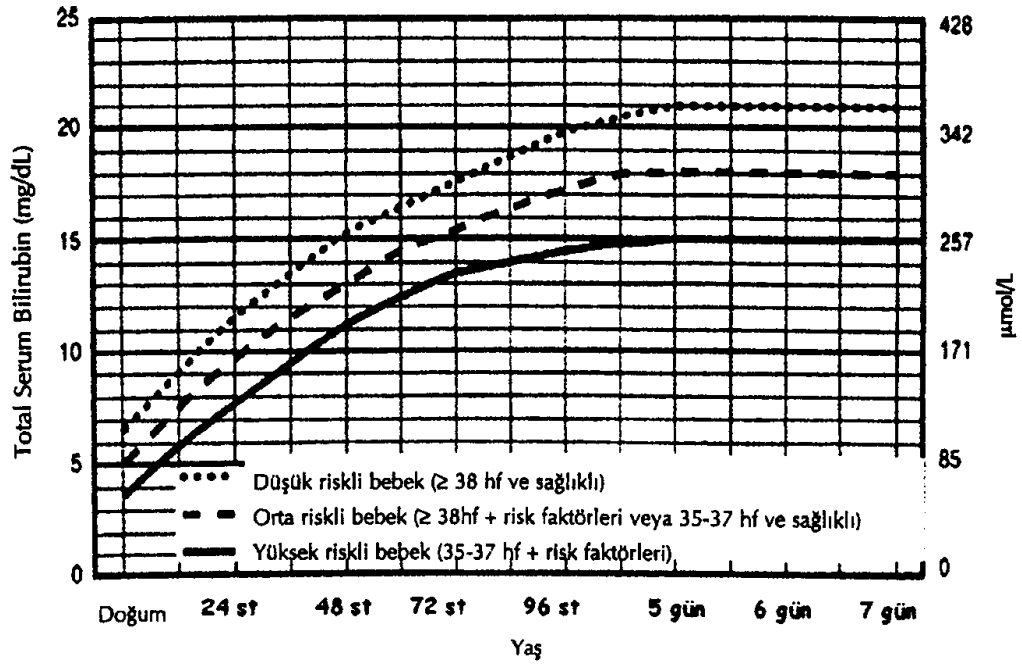
** Kan değişimi kararında total bilirubin/albümin oranları da dikkate alınır.

Tablo III. İndirekt hiperbilirubinemide yaş ve doğum ağırlığına göre tedavi tablosu (bilirubin mg/dl) (14)

Ağırlık (gr)	24-48 saat	49-72 saat	>72 saat
< 1000	4 (10)*	5(11)	6(12)
1000-1500	5 (12)	7(14)	8(16)
1500-2000	7(15)	9(16)	10(17)
2000-2500	8(17)	12(18)	14(19)
>2500	12(20)	15(23)	17(25)

*İlk rakam fototerapi, parantez içindeki rakam kan değişim sınırını göstermektedir.

> Hasta bebek, perinatal asfiksi, asidoz, hipoglisemi, hipotermi, sepsis, menenjit gibi tanılarla izlenen bebektir. Hasta bebeklerde fototerapi ve kan değişimi, tabloda verilen değerlerden 2 mg/dl daha düşük düzeylerde uygulanmalıdır.



ŞEKİL 3. ≥ 35 haftalık yenidoğanlarda fototerapi endikasyonu (TSB düzeylerine göre) (16).

Yenidoğan sarılığı yaygın bir problem olsa da, tedavisi karmaşıktır ve sağlıklı bakımın sağlanması için çeşitli yollar mevcuttur (2). Sonuç olarak izlenmeyen ve tedavi edilmeyen hiperbilirubinemi değişmez bir şekilde sonradan postikterik sekellerle seyreden akut bilirubin ensefalopatisine neden olabilir (18). Sarılıklı bir bebekte erken tanı, uygun yaklaşım, doğru takip ve yeterli tedavi sağlanması durumunda komplikasyon oranı oldukça düşmektedir (2).

2.2 FOTOTERAPİ

2.2.1 TARİHÇE

Helioterapi (güneş tedavisi), antik Mısır medeniyetinden beri çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmıştır (15,19). Fototerapinin sarılık üzerine etkisi ilk olarak 1956 yılında İngiltere Essex’de Rochford Hastanesi’nde sorumlu hemşire olan Miss Jean Ward tarafından tesadüfen fark edilmiştir. Miss Jean Ward güneşli havalarda pencere kenarına bırakılan sarılıklı yenidoğanların, güneş ışığına maruz kalan açık kısımlarında sarılığın azaldığını fark etmiştir. Bu konuyla ilgili ilk tıbbi yayın ise 1958 yılında Cremer ve arkadaşları tarafından yapılmıştır.

Rochford Hastanesi'nin doktorları olan Cremer ve arkadaşları kan değişimi yapmadan önce aldıkları kan örneğinin güneş ışığına bırakılınca bilirubin düzeyinin belirgin azaldığını tespit etmişlerdir ve sarılık tedavisinde ilk kez fototerapiyi kullanmaya başlamışlardır (20,21,22). Fototerapinin yaygın olarak kullanılması ise 1968'de Lucey ve arkadaşlarının fototerapinin etkinliği ve güvenilirliği ile ilgili yayınlarından sonra olmuştur (23).

2.2.2 TANIM

Fototerapi, yenidoğan döneminde serum indirekt bilirubin düzeylerini azaltarak bilirubin toksisitesine bağlı olarak gelişebilecek akut ve geri dönüşümlü 'akut bilirubin ensefalopatisi' ve kalıcı 'kernikterus' oluşmasını engellemede kullanılan etkili bir tedavi yöntemidir (16,24).

2.2.3 ETKİ MEKANİZMASI

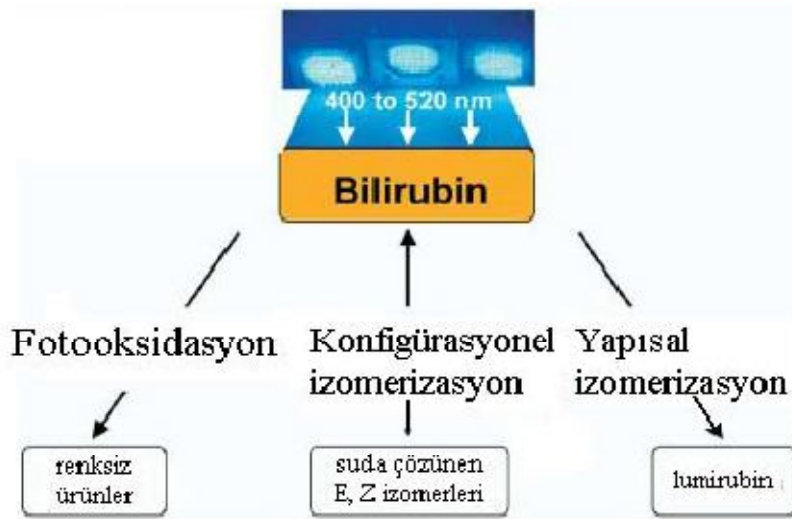
Fototerapi, bilirubini daha az lipofilik olan fotoürünlerine çevirerek detoksifiye eder, karaciğerin konjuge eden sistemini devre dışı bırakır ve bilirubinin başka metabolik olaya gereksinim olmadan vücuttan atılmasını sağlar (16). Fototerapi ile bilirubin etkileşiminin tam nerede gerçekleştiği bilinmemekle birlikte büyük olasılıkla bu ışınların etkilerinin deri hücreleri üzerine değil, yüzeysel kapillerlerde veya interstisyel boşlukta albumine bağlı bilirubin üzerine olduğu düşünülür (16,25).

Fototerapide esas meydana gelen olay, bilirubinin bir foton absorbe etmesidir. En fazla absorbe edilen fotonlar 450 nm dalga boyundaki mavi fotonlardır. Daha sonra, 510 nm dalga boyundaki yeşil fotonlar gelir. Kırmızı fotonlar (ışık) hiç absorbe edilmez. Absorbe edilen foton ile bilirubin uyarılmış hale dönüşür ancak bu durumda fazla kalmaz ve tekrar eski haline dönebilmek için enerji kaybeder. Bu enerji kaybı 3 şekilde olabilir:

- 1) Foton emisyonu (floresans): Çok nadir olur.
- 2) Isı üretimi: En sık olan olaydır.
- 3) Fotokimyasal reaksiyon

İlk iki olay sonucunda bilirubin molekülünde herhangi bir değişiklik olmazken, fotokimyasal reaksiyonlar sonucu bilirubin molekülü değişir. Bu değişiklik 3 şekilde meydana gelebilir: (Şekil 4)

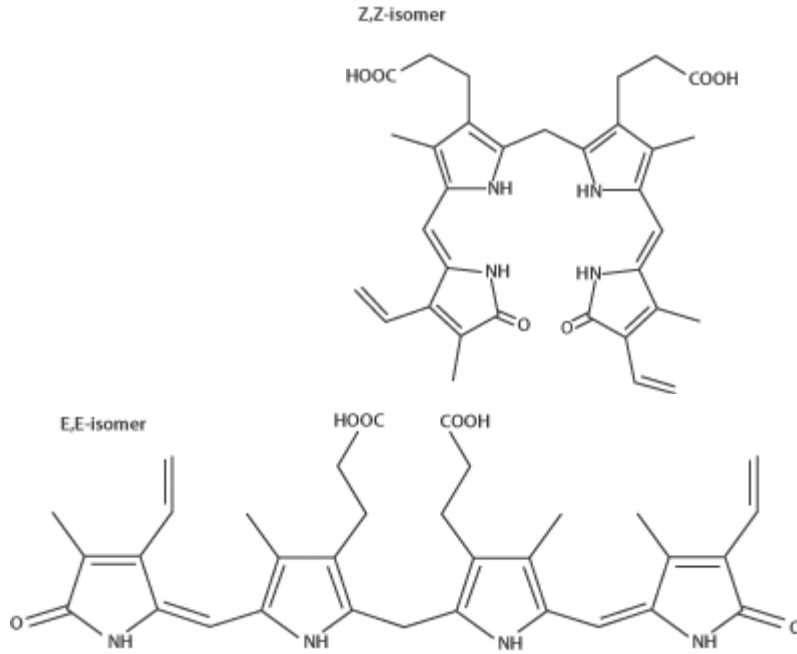
- 1) Konfigürasyonel (geometrik) izomerizasyon
- 2) Yapısal izomerizasyon
- 3) Foto oksidasyon



ŞEKİL 4. Bilirubinun fotokimyasal reaksiyonları (16).

Geometrik izomerizasyon sırasında, dış pirol halkalarını ortadaki halkalara bağlayan çift bağlardan biri çözülür, dıştaki halka 180 derece döner ve yeniden çift bağ oluşur (Şekil 5). Bu şekilde oluşan izomere E izomeri adı verilir. İzomerize olabilecek 2 çift bağ bulunduğu ve herbiri de Z ve E konumunda olabileceği için 4 değişik izomer oluşabilir. 4Z 15Z esas formdur. Diğerleri 4Z 15E, 4E 15Z ve 4E 15E olarak adlandırılır. Bu izomerler fotokimyasal olarak reversibldır ve birbirlerine dönüşebilir. İzomerlerin hemen hepsi deri, derialtı ve kapillerler içinde oluşur. E konumunda çift bağ taşıyan izomerlerin suda çözünürlükleri fazladır, çift E taşıyan izomerlerin çözünürlüğü çok daha fazladır.

Bilirubin albumine bağılı olduğu halde bile bu izomerizasyon devam eder. Suda erir hale gelen bu izomerler plazma ile karaciğere, oradan safraya taşınır. Safra asitleri ile tekrar eski formuna dönerler ve bağırsaklara ZZ şeklinde atılırlar. Serumdaki 4Z 15E izomerin miktarı, kullanılan ışığın rengi ile ilişkili olup yoğunluğuyla ilişkili değildir. Diğer bir deyişle ışık rengini değiştirmeden yalnızca yoğunluğunu arttırmak dengelenmiş serum 4Z 15E izomer miktarını değiştirmez. Bilirubin eliminasyonunun %80'i geometrik izomerasyon yolu ile olur.



ŞEKİL 5. Bilirubin 4Z,15Z ve 4E,15E izomerleri (15).

Yapısal izomerizasyonda pirol halkası üzerindeki CH=CH₂ (vinil) grubu, komşu diğer pirol halkası ile birleşerek 7 karbonlu yeni bir halka oluşturur. Bu yapıya lumirubin, siklobilirubin veya fotobilirubin II adı verilir. Daha polar olan bu izomerin de suda çözünürlüğü daha fazladır. Lumirubin önemli bir özelliği irreversibl olması, yani esas bilirubine geri dönememesidir. Bu özelliği nedeniyle, fototerapinin yoğunluğu arttıkça oluşan lumirubin miktarı da artar. Dolayısıyla uzun süreli fototerapi sırasında bilirubin esas atılma yolu lumirubin olur. Lumirubin oluşumu, bilirubin eliminasyonunda hız kısıtlayıcı basamaktır.

Fotooksidasyon, in vitro ortamda oldukça etkili olmasına rağmen sarılıklı bir yenidoğandaki etkisi oldukça sınırlıdır. Tek bir oksijen atomu içeren bu

reaksiyon sonucunda biliverdin, dipirol ve monopirol gibi ürünler açığa çıkar ve konjugasyona gerek kalmaksızın karaciğer ve dalaktan atılır. Fototerapinin etki mekanizmaları Şekil 6'da özetlenmiştir (15).

Şekil 6. Fototerapinin etki mekanizmaları (15).

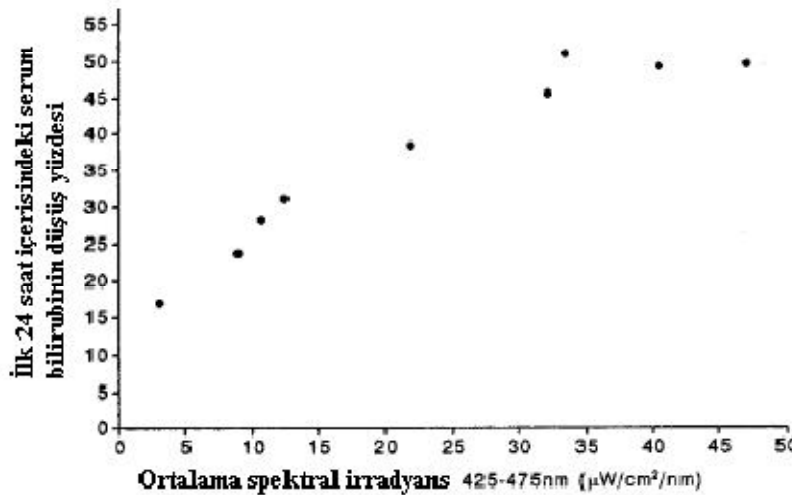
Günümüzde hala standart bir fototerapi yöntemi oluşturulabilmiş değildir (16,24). Fototerapi uygulama esnasında etkinliğinin değerlendirilmesi aşağıdaki faktörlere bağlıdır:

Fototerapi için kullanılan ışıkların yeterli fotoizomerizasyon yapabilecek dalga boyuna sahip olması gerekir. Bilirubin en fazla 440-460 nm dalga boyundaki mavi ışığı absorbe eder. Gün ışığının dalga boyu 550-600 nm arasında olduğundan etkisi daha azdır. Mavi ışık kaynağı olarak 420-480 nm arasında ışık yayan özel mavi lambalar kullanılır. F20T12/BB olarak adlandırılan bu lambalar, F20T12/B olarak tanınan normal mavi lambalardan daha etkilidir (15,26,27).

Mavi ışık altındaki yenidoğanların cilt rengini değerlendirmek zor olabileceği ve bazen mavi ışığın sağlık personelinde baş dönmesi ve bulantı gibi yan etkilere yol açabileceği göz önüne alınarak, fototerapi ünitelerine beyaz ışık da eklenmiştir. Böylece bir fototerapi ünitesi 2 mavi 2 beyaz veya 4 mavi 4 beyaz lambadan oluşmuş olur (15). Yapılan çalışmalarda 525 nm dalga boyuna sahip yeşil ışığın da en az mavi ışık kadar etkili olduğu, hatta beyaz ışıktan daha etkili olduğu gösterilmiştir. 490 nm dalga boyuna sahip yeşil-mavi (turkuaz) ışık da bu amaçla kullanılabilir (15). Bununla ilgili olarak pretermelerde yapılan bir çalışmada turkuaz renginde floresan lambaların mavi renkteki floresan lambalara göre bilirubin miktarını düşürmede daha etkili olduğu gösterilmiştir (28).

2) IŞIĞIN İRRADİYANSI

Fototerapinin enerji yoğunluğu veya irradiyans miktarı da etki göstermesinde önemli rol oynar (29). İrradiyans, fototerapi ışığına maruz kalan vücut yüzeyinde 1 cm² lik alana düşen foton sayısıdır. Birimi $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ (mikrovat/santimetrekare/nanometre)' dir (27). Yapılan çalışmalarda irradiyans miktarıyla bilirubinin degradasyon hızı arasında 30-40 $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ 'ye kadar doğru orantı olduğu gösterilmiştir (Şekil 7) (30). Bu şu şekilde de açıklanabilir; bir çok araştırmacı tarafından irradiyansın artmasıyla bilirubin miktarında daha hızlı bir düşüş meydana geldiği gösterilmiştir (29,31).



Şekil 7. Ortalama spektral irradiyans ile serum bilirubin konsantrasyonlarındaki düşüş arasındaki ilişki (30).

Etkili fototerapinin en az 5 $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$, ortalama 6-12 $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ enerji vermesi gerekir. Yoğun fototerapi de en az 30 $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ enerji verilir (15).

3) HASTANIN IŞIK KAYNAĞINDAN UZAKLIĞI

Fototerapi sırasında kullanılan ışık kaynağının cinsine göre değişmekle beraber hastanın ışık kaynağından uzaklığı ortalama 30-40 cm kadar olmalıdır (15). Işık kaynağını yenidoğana yaklaştırmak irradiyansı artırır (29). Tüm lambalar emniyet açısından mutlaka pleksiglas bir koruyucu içine alınmalıdır. Halojen fototerapi lambalarının ısı yanıklarına yol açma riski daha fazla olduğu için hastaya olan uzaklığına dikkat etmek gerekir. Yeni teknoloji ürünü LED (light emitting diode-based) lambalı fototerapi cihazlarında ise, soğuk ışık kullanıldığı için bebeğin ısınma veya yanma riski yoktur (15,26).

4) IŞIĞA MARUZ KALAN YÜZEY ALANI VE KULLANILAN IŞIK KAYNAĞININ TÜRÜ

Fototerapinin etkili olmasında rol oynayan bir diğer faktör, bebeğin yüzey alanıdır. Işınlanan vücut alanı arttıkça bilirubin düşme hızı artar (16, 31). Tek başına yenidoğana üstten veya alttan fototerapi uygulamak total vücut yüzeyinin % 35'ine yeterli fototerapi verilmesini sağlar. Gonadların kapatılması ile ilgili birçok değişik görüş mevcuttur. Pretermelerde baş vücut oranı daha yüksek olduğu için ışıktan etkilenen vücut yüzey alanı daha geniştir. Bu yüzden yan etki açısından retina ve erkek gonadların korunduğundan emin olunmalıdır (32). Bir kısım kaynakta ise tedavinin tam etkili olabilmesi için bebeğin tamamen çıplak olması ve mümkün olduğunca geniş vücut yüzeyinin ışıkla temas etmesi gerekir görüşü yer almıştır (15,16). Bir kısım çalışmada da çoğunlukla alt bezinin kaldırılması gerekmezse de kan değişimine yakın TSB (total serum bilirubin) değerlerinde, bilirubin değerlerinde önemli bir azalma elde edilinceye kadar bez çıkarılabilir görüşü vardır (26). Bir görüşe görede hijyen açısından alt bezi yerleştirilmesi önerilmektedir (32).

Kullanılan ışık kaynağının tipi de ısınlanan vücut yüzey alanı miktarını değiştirmektedir. Mavi veya özel mavi floresan tüplü ışık kaynakları, halojen spot lambalar, fiberoptik ışık düzeniyle birlikte kullanılan halojen lambalar ve yüksek yoğunluklu LED lambalar günümüzde kullanılmakta olan ışık kaynaklarıdır (33).

Floresan tüp fototerapi cihazları birkaç tane floresan lambadan oluşur. Bu fototerapi ünitelerinde gün ışığı, mavi, süper (özel) mavi veya kombine şekilde bulunur. Özel mavi floresan lambalar F20T12/BB (General Electric, Westinghouse, Sylvania) veya TL52/20W (Phillips, Eindhoven, The Netherlands) damgası taşımakta olup regüler mavi lambalara (F20T12/B) göre daha fazla ısınım sağlamaktadırlar. Özel mavi lambalar mavi-yeşil spektrumunda ışık sağladıklarından daha etkindirler ve cilde daha iyi penetre olup bilirubin tarafından üst düzeyde emilebilirler. Beşikteki term bebeğe 10 cm mesafeden uygulandığında hem normal vücut ısı korunmakta, hem de $50 \mu\text{W}/\text{cm}^2$ gibi yüksek irradiyans değerlerine ulaşılabilir. Fototerapide esas etkiyi floresan tüplerden yayılan mavi ışık oluşturmakta, mavi ışık bebeğe bakım verenleri rahatsız ettiği için mavi lambaların yanında beyaz lambalar da konulmaktadır.

Halojen spot ışık sistemlerinde tek veya çoklu metal halojenik asitli lambalar ışık kaynağı olarak kullanılır ve $20 \mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ 'yi aşan oldukça yüksek bir irradiyans sağlayabilir. Ancak önemli derecede ısı oluştuğu için bebekte bu yüksek ısıya bağlı yanıklar oluşabilir. Bu nedenle personelin uygulama mesafesi açısından dikkatli olması gerekir.

Fiberoptik fototerapi 1980'lerin sonlarından beri kullanılmaktadır. Burada yüksek yoğunluklu bir lambadan fiberoptik bir battaniyeye ışık verilmektedir. Battaniye ısınmadığından direkt olarak bebeğin altına konulabilir veya battaniyeye sarılabilir. Bu sistemin en önemli avantajı fototerapi sırasında bebek tutulabilir hatta beslenebilir ve infantın gözlerinin kapatılması gerekmez. Ancak fiberoptik sistem düşük spektral güce sahiptir ve vücut yüzey alanının küçük bir kısmını etkiler. Bu yüzden bu sistemin daha etkili olması için ikili fototerapi uygulanabilir.

LED (Light Emitting Diodes) son zamanlarda kullanıma giren yarı iletken fototerapi aletidir. Bu alette yüksek yoğunluklu galyum nitrat LED kullanılır. Bu fototerapi sisteminin bir çok avantajı vardır. Özellikle mavi ışık spektrumunda yüksek irradiyansa sahiptir. Elektrik enerjisi ışık enerjisine çevrildiği için standart ışık aletlerinden daha etkilidir. Kullanım ömürleri daha uzundur (>20 000 saat) ve ayrıca düşük ısı ve güçle çalışabilme özelliğine sahiptirler (27).

5) FOTOTERAPİ UYGULAMA SÜRESİ

Fototerapinin sürekli veya aralıklı verilmesi konusu tartışmalıdır. Deride, fotoizomerizasyon yoluyla uzaklaştırılan bilirubin yerine yeni bilirubinin oturması için 1-3 saat gerektiği göz önüne alınırsa, 1 saatten fazla fototerapiye ara vermenin çok fazla anlamlı olmadığı ortaya çıkar. Bu dönemde fototerapinin kapatılması ve göz bandlarının çıkarılması hem bebeğin rahatlamasını sağlar hem de fototerapinin etkinliğini azaltmaz. Ancak TSB değerleri kan değişimi sınırına yakınsa sürekli fototerapi uygulanması gerekebilir (15, 24, 26).

FOTOTERAPİ SIRASINDA DİKKAT EDİLMESİ GEREKEN UNSURLAR

- Bebek hergün tartılmalı ve tartı kaybı değerlendirilmelidir. Fototerapi sırasında buharlaşma ile olan sıvı kaybı artacağı için bebeğin aldığı sıvı miktarının %10-25 arasında artırılması gerekebilir.
- Fototerapi sırasında bebeğin vücut ısısı en fazla 4 saat aralıklarla kontrol edilmelidir. Küvöz içindeki bebeklerde, küvöz içi ısının 1-2 derece düşük ayarlanması faydalıdır.
- Bebeğe takılan ısı problemlerinin ışıktan korunması gerekir. Yine bebeğe takılı bulunabilecek pulse oksimetre problemlerinin üzerinin alüminyum folyo ile kapatılması yanlış ölçümleri önler.
- Gözlerle beraber gonadlar da ışıktan korunmalı ve üstleri örtülmelidir. Ancak bu konuyla ilgili farklı görüşler mevcuttur.
- Bilirubinin etkisiz hale getirilmesi esas olarak deride olduğu için bebeğin pozisyonu 6 saat arayla değiştirilmelidir.
- Serum bilirubin düzeyi belirli aralıklarla incelenmelidir. Yalnızca cilt rengine bakarak karar vermek hatalıdır.

- Serum bilirubin düzeyini değerlendirmek amacıyla yenidoğandan kan alınırken fototerapi lambaları söndürülmelidir, aksi halde ışık etkisiyle laboratuvar sonuçları etkilenebilir.
- Fototerapi kesildikten sonra da en az bir gün daha bilirubin düzeyleri rebound etki açısından takip edilmelidir (15).

2.2.5 FOTOTERAPİ KOMPLİKASYONLARI

Elli yılı aşkın bir süreden beri çok yaygın olarak kullanılan fototerapi genel olarak etkili ve güvenilir bir tedavi olarak kabul edilmesine rağmen bazı yan etkileri de bulunur.

RETİNAL HASAR: Gözler kapatılmadan yapılan fototerapinin retinal dejenerasyona yol açma tehlikesi vardır ve bunun için gözlerin kapatılması gerekir (15). Yenidoğan domuz yavrularında yapılan bir çalışmada mavi floresan ışığın retinada hasara yol açtığı gösterilmiştir (34). Preterm bebeklerde parlak mavi ışıkla tedavi sonrasında prematüre retinopatisi sıklığında artış olabileceği düşünülmüş ancak bu düşünce yapılan kontrollü çalışmalarda ispatlanamamıştır (35).

İSHAL: Fototerapi sırasında bebeklerde sulu, yeşilimsi ve sık miktarda gaita yapma sık görülen bir komplikasyondur. Fototerapi ile oluşan foton yıkım ürünlerinin ve fazla miktarda indirekt bilirubinin safra yoluyla bağırsağa geçmesi sonucunda intestinal sekresyonların artması ve geçici laktoz eksikliğinin ishale neden olduğu kabul edilmektedir. Özellikle intestinal sekresyonlardan VIP (vazoaktif intestinal peptid)'in artmış olduğu öne sürülmektedir (15, 36,37, 38).

DEHİDRATASYON: Fototerapi sırasında bebeklerde gerek buharlaşma yoluyla, gerekse dışkı kıvam ve miktarının artması nedeniyle sıvı kaybı artar. Bağırsaklardan transit geçiş arttığından azot ve elektrolit dengesi bozulur (37). Bir çalışmada fototerapi alan ve intravenöz sıvı desteği verilen, serum osmolalitesi >290 mOsmol/kg olan term yenidoğanların bilirubin değerlerinin sıvı desteği almayan ve fototerapi alan term yenidoğanların bilirubin değerlerine göre anlamlı derecede hızlı düştüğü gösterilmiştir (39).

DÖKÜNTÜ: Fototerapi alan bebeklerde geçici, küçük boyutta eritematöz döküntüler oluşabilir. Bu döküntüler fotosensitizasyon hasarı sonucu deri mast hücrelerinden salınan histamin nedeniyle meydana gelir (40). Ayrıca bu lezyonlar daha büyük, annüler plak şeklinde de olabilir (41). Bunların dışında yenidoğan mavi ışık fototerapisinin displastik nevüs gelişme riskini arttırabileceği görüşü öne sürülmüştür (42).

BRONZ BEBEK SENDROMU: Bronz bebek sendromunda serum, idrar ve deri rengi kahverengi-bronz bir renk alır. Patogeneizde kolestatik bir karaciğer zemininde fototerapinin etkisi ile oluşan fotoderivelerin ve fotodegradasyon sonucu oluşan bakır-protoporfirinlerinin vücutta birikmesinin rol oynadığı varsayılmaktadır. Lumirubinin yıkılmasıyla ortaya çıkan kahverengi pigmentler, tipik deri rengini verir. Kolestazi bulunan veya belirgin konjuge hiperbilirubinemi gelişen bebeklere fototerapi yapılması önerilmez. Fototerapi kesildikten sonra bebeğin rengi yavaş yavaş doğal rengine döner ancak bazı durumlarda serumda yıllarca safra pigmentleri bulunabilir (15,43).

BATINDA DİSTANSİYON VE İLEUS : Fototerapi sırasında bebeklerde sık olarak batın distansiyonu görülebilir. Nedeni tam olarak bilinmemekle beraber mezenterik kan akımındaki değişiklikler ile ilgili olabileceği öne sürülmüştür(44). İlginç olarak Preis ve Rudolph yaptıkları bir çalışmada, fototerapi sırasında gözleri örtülen bebeklerde örtülmeyenlere göre daha fazla batında distansiyon geliştiği, fototerapi uygulanmayanlara göre çok daha yüksek sıklıkta ileusun olduğu gösterilmiştir (45).

KONJENİTAL ERİTROPOETİK PORFİRİ: Hemoliz, splenomegali ve kırmızı renkli idrarın bulunduğu bu hastalıkta ışık, ağır büllöz lezyonlara ve hemolize yol açarak ölüme neden olabilir. Konjenital porfiri veya ailede porfiri hikayesi olan yenidoğanlara fototerapi uygulanması kontrendikedir (15).

HİPOKALSEMİ: Fototerapi ile ilgili özellikle prematüre yenidoğanlarda hipokalsemi görülebilir. Bunun nedeni olarak pineal bezin doğrudan ışık ile

uyarılması sonucu melatonin sekresyonunun azalması gösterilir. Fototerapi D vitamini sentezini etkilemez. Hakanson ve Bergstrom yenidoğan ratlarında yaptıkları çalışmada fototerapi sonrası melatonin sekresyonunun azalması sonucunda kemik tarafından kalsiyum Emilimi artarak hipokalsemi oluşur sonucuna varmışlardır. Ayrıca bu yan etkiden eksojen melatonin ile korunulabileceğini belirtmişlerdir (46).

PATENT DUKTUS ARTERİÖZUS (PDA): Fototerapi alan 1000 gr altındaki bebeklerde PDA (patent duktus arteriozus) riski artmıştır. Bu bebeklerde PDA'nın cerrahi olarak kapatılması da, fototerapi almayanlara kıyasla 2 kat daha fazla gözlenir. Bunun nedeni tam olarak belli olmamakla beraber, duktustaki düz kasların içindeki kontraktıl proteinlerin oksidasyonu, direkt nitrik oksit benzeri etki ve oksijene bağlı kontraksiyonun önlenmesi gibi mekanizmalar öne sürülmüştür (15,47).

Fototerapi uygulanan fizyolojik sarılıklı yenidoğanlarda yapılan bir çalışmada aktif uyku dönemi boyunca kardiyorespiratuar aktivitenin etkilendiği (solunum hızında azalma, kalp atış hızında artma gibi) bulunmuştur (48).

YAĞ ASİTLERİ ÜZERİNE ETKİSİ: Fototerapinin yağ asitleri ve membran lipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin fotooksidasyonuna neden olduğu öne sürülmüştür (43).

Hadigeorgio ve arkadaşları yaptıkları çalışmada sarılıklı bebeklerde fototerapi esnasında esterleşmemiş yağ asitlerinde belirgin bir düşüş olduğunu göstermişlerdir. Bu yağlar hücre membranı ve prostoglandin sentezinde görev aldıkları için klinik öneme sahiptirler (49).

HEMOLİZ: Fototerapi ile eritrosit membranında oksidasyona bağlı hasar oluşur ve bunun sonucunda lipid peroksidasyonu ve hemoliz oluşma eğilimi artar. (27). Bu hemolizin riboflavin eksikliği ile ilişkili olduğu öne sürülmüş ve az miktarda riboflavin verilmesiyle hemolizin engellenebileceği belirtilmiştir (50).

TROMBOSİTOPENİ: Fototerapinin trombositler üzerine etkisi ile ilgili olarak Khera ve Grupta'nın 100 yenidoğanla yaptığı çalışmada, 48 saat fototerapiden sonra trombositopeni insidansı % 35 olarak bulunmuştur (51).Yapılan bazı çalışmalar sonucunda yenidoğana fototerapi uygulamasının, trombosit sayısını azalttığını ve trombosit yıkımını arttırarak trombositopeniye neden olabileceği görüşü öne sürülmüştür (52,53,54).

DERİ YANIKLARI: Uzun süreli fototerapiye bağlı kısa dalgalar sonucu deri yanıkları oluşabilir (15).

ANNE-BEBEK İLİŞKİSİNİN BOZULMASI: Neonatal fototerapi sırasında bebek anneden ayrılır. Bu da anne-çocuk bağının kurulmasını engeller. Fototerapi yenidoğanın görsel ve işitsel oryantasyon ve uyanıklığını etkiler (55,56). Ayrıca ebeveyn anksiyetesine ve ağır medikal endişelerin doğmasına neden olur (57). Bu yüzden sarılık çok ağır değilse fototerapiye, beslenme zamanlarında, ebeveyn ziyaretlerinde ebeveyn ile bebek arasındaki dokunarak bağlanmayı sağlamak için ara verilebilir (21).

SİRKADİYEN RİTMİN BOZULMASI: Fototerapinin sarılıklı yenidoğanların periferik kanlarındaki mononükleer hücrelerdeki sirkadiyen gen ekspresyonunu etkilediğine dair çalışma yapılmıştır. Özellikle Cry1 (cryptochrome bir) gen ekspresyonu artmıştır ve plazma melatonin düzeyleri azalmıştır. Buna bağlı olarak normal gündüz- gece sirkadiyen ritminin bozulduğu ve anormal davranışların ortaya çıktığı belirtilmiştir (sık ağlama ve huzursuzluk gibi) (58).

ALLERJİK HASTALIKLAR: Fototerapi yenidoğanda, sitokinlerden Tümör nekroz faktör (TNF-alfa) , İnterlökin-1-beta (IL-1 beta), İnterlökin 8 (IL-8) düzeylerini arttırabilir ve IL-6 düzeyini azaltabilir (59,60). Ayrıca fototerapi sarılıklı yeni doğanlarda lenfositlerde direk olarak deoksiribo nükleik asit (DNA) hasarına neden olur. Bu hasarlanma sırasıyla hümmoral immünite ve hücreyel

immüniteden sorumlu olan T-helper 2/T hepler 1(Th-2/Th-1) değişimine neden olur (61,62). Ultraviyole ışık (UV), fototerapinin çok küçük bir parçası olmasına rağmen inflamatuvar yolları aktive ederek allerji ve otoimmün hastalıklara neden olabilir (63). Sonuç olarak fototerapi uygulanan yenidoğanlarda oksidatif stres artar ve immüniteden sorumlu olan sitokinlerdeki değişiklikler ve inflamatuvar sistemin aktive olmasıyla hayatlarının ileriki dönemlerinde astım, allerjik rinit ve konjunktivit gibi allerjik hastalıklar görülebilir (64).

MELANOSİTİK NEVÜS, MELANOMA, DERİ KANSERİ, MYELOİD LÖSEMİ: Mavi ışığın %60'ının epidermis tarafından emilebildiği tahmin edilmektedir. Melanositik hücreler epidermiste bulunur ve mavi ışıktan etkilenebilirler. Yenidoğan derisi azalmış enzimatik aktiviteye, tamamlanmamış immünolojik savunma sistemine, düşük metabolik detoksifikasyona sahip olduğu için fototerapiye hassasiyeti artar ve fototerapiden zarar görme olasılığı yükselir(65). Mavi ışık mitokondriyal ve nükleer DNA hasarına neden olarak, serbest radikal üretimini indükleyerek epitelyal hücrelere toksik etki gösterir ve bu da deri kanseri gelişimini kolaylaştırır (66,62). Mavi ışığın yaklaşık olarak %0.3'ü UV radyasyon içerir (42). Yoğun UV uygulama malign melanom riskini belirgin olarak arttırır (67). Ancak birçok modern fototerapi aletlerinde (LED ve fiber optik ışık gibi) UV ışık bulunmaz (68,69,70). En son yapılan klinik çalışmalar göstermiştir ki fototerapinin bu konuyla ilgili potansiyel etkisi özellikle melanositik nevüsün sayısını arttırması yönündedir. Melanositik nevüs sayısının artışı, melanomayı önceden bilmek için kullanılan en güçlü faktördür (65). Berg ve arkadaşlarının yaptığı klinik bir çalışmada fototerapi ile melanoma arasındaki ilişki incelenmiştir. Fototerapinin melanoma için bir risk faktörü olduğu yönündeki düşünce doğrulanamamıştır (71). Fototerapinin malign melanom için önemli bir risk faktörü olduğunu göstermek için istatistiksel bir kanıt yoktur (72). Bir çalışmada da yenidoğan döneminde fototerapi tedavisi gören çocuklarda myeloid lösemi riskinin arttığı gösterilmiştir (73).

YARA İYİLEŞMESİ: Fototerapinin yara iyileşmesi üzerine olumsuz etkisi ile ilgili Soyer ve arkadaşları deneysel bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmaya

göre Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) fototerapi uygulanan ratların endotelyal hücrelerinde azalmış olarak bulunmuştur. Yara iyileşmesinde görevli olan bu büyüme faktörünün azalması fototerapinin yenidoğanlarda yara iyileşmesini olumsuz etkileyebileceği düşüncesini doğurmuştur (74).

BÜYÜME GERİLİĞİ: Fototerapinin büyüme ve gelişme üzerine olan etkileri ile ilgili birçok çalışma yapılmıştır. Drew ve arkadaşları fototerapi alan bebeklerde almayanlara oranla gelişimlerinde aksaklık olduğunu belirtmişlerdir (36). Romagnoli ve arkadaşları düşük doğum ağırlıklı fototerapi alan bebeklerde ağırlık artışının daha az olduğunu belirtmişlerdir (75). Atabek ve arkadaşlarının yaptığı deneysel çalışmada ise fototerapinin yeni doğan ratlarının büyüme plağı yapısında bozulmayı ve büyüme plağındaki bu hasarlanmanın en büyük risk faktörünün ise oksidatif stresin olabileceğini göstermişlerdir. Daha sonra ise pentoksifilin, fototerapinin büyüme plağında oluşturduğu hasarlanma üzerine etkisini araştırmışlardır ve bazı potansiyel koruyucu etkilerini tespit etmişlerdir (76,77).

FOLİKÜL STİMÜLE EDİCİ HORMON (FSH), LÜTEİNİZAN HORMON(LH), BÜYÜME HORMONU (GH), NİTRİK OKSİT (NO) ÜZERİNE ETKİSİ: Nedeni tam bilinmemekle beraber, fototerapi alan bebeklerde 24-48 saat sonra LH ve FSH düzeyleri düşer. Fototerapi kesildikten sonraki 1 hafta içinde ise kızlarda LH ve FSH, erkeklerde yalnız LH düzeyleri tekrar yükselir . Ayrıca riboflavin düzeyinin azaldığı, büyüme hormonunun normal gecelik yükselmesinde blokaj olduğu, fototerapi kesildikten sonra bunun normale döndüğü gösterilmiştir (15,78). Bir çalışmada da fototerapinin in utero selektif serotonin geri alım inhibitörüne maruz kalmış yenidoğanda uygunsuz antidiüretik hormon salınımı oluşmasında aracı olabileceği gösterilmiştir (79). Bir başka çalışmada da fototerapi tedavisi alan yenidoğanlarda , bir vazodilatör olan ve immünolojik savunma mekanizmasında, sitotoksitede, nörotransmisyonunda etkisi alan nitrik oksitin arttığı belirtilmiştir (80).

OKSİDATİF STRES VE GENOTOKSİTE: Fototerapi oksidatif hasar ve genotoksitede yaratabilir. Fototerapiye bağlı potansiyel toksik etkiler, indirek

bilirubinin fotodinamik reaksiyonları, fotooksidasyonla hidrojen peroksit ve süperoksit radikalleri gibi serbest radikaller ve bunların metabolitlerinin oluşması sonucunda gelişebilir. Bu metabolitlerin oluşturduğu oksidatif stres sonucunda lipid peroksidasyonu olur. Bu olay doymamış yağlardaki çift bağlarda gerçekleşir. Işık reaksiyonları, UV ışıklarını absorbe eden polipeptit zincirlerdeki aromatik amino asitlerde serbest radikal oluşumuna yol açar. Sonunda hücre zarları ve nükleik asitler gibi önemli organik bileşikler zarar görür ve kromozomlar olumsuz etkilenir (81,82,83). Bir çalışmada hücre kültürlerinde, mavi ışık fototerapisinin genotoksik etkileri olduğu, DNA'da tek zincir kırılmalarını indüklediği, mavi ve yeşil ışığın ise uzun yaşam süreli toksik ışık ürünlerinin oluşumuna neden olduğu gösterilmiştir (84).

Kumar ve arkadaşları neonatal hiperbilirubinemi bilirubinin antioksidan olarak rolünü araştırmışlardır. Bu çalışmada 70 sarılıklı yenidoğan grubu ile 20 sağlıklı yenidoğan grubu kullanılmıştır. Oksidatif stresin işareti olan malondialdehit (MDA) ve antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz (GPx) çalışılmış. Sarılıklı yenidoğanlarda MDA düzeyi düşük, SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz yüksek bulunmuştur ve neonatal hiperbilirubineminin düşük oksidatif stres ile ilişkili olduğu sonucuna varılmıştır (85).

Ayçiçek ve arkadaşları hem konvansiyonel hem de yoğun fototerapinin DNA hasarına neden olduğunu rapor etmişlerdir (61). Ancak bir kısım çalışmada da fototerapinin DNA yapısını etkilemediği ve DNA oksidasyonunu arttırmadığı veya bilirubinin genotoksik etkilerini indüklemediği sonucuna varılmıştır (66,86).

El-Abdin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada fototerapi öncesi ve sonrası yenidoğanların dolaşımındaki lenfositlerde mikronükleus sıklığının ve DNA fragmentasyonunun arttığını bulmuşlardır. Ayrıca apoptozis ile ilişkili olan plazma BCL2 proteininin belirgin olarak azaldığını, BAX gen ekspresyonunun belirgin olarak arttığını bulmuşlardır. Sonuç olarak fototerapinin ve bilirubinin genotoksik

etkilerinin olduğunu, DNA hasarını indüklediği, etkilenen hücrelerde apoptozisi arttırdığı görüşüne varmışlardır (87)

GONADLAR ÜZERİNE ETKİSİ: Fototerapinin gonadlar üzerine etkisi ile ilgili literatürde çok az sayıda çalışma yapılmıştır. Speck ve arkadaşları deniz kestanesi oosit ve spermatozoolarında, doza bağlı fertilizasyon ve embriyonik gelişme anormallikleri yaptığını tespit etmişlerdir. Fototerapinin bu yan etkilerinin riboflavin varlığında, daha düşük ışın dozlarında bile katlanarak arttığını gözlemlemişler, bunu muhtemelen ışığın aktif hale getirdiği riboflavinin intrasellüler DNA üzerine olan etkisine bağlamışlardır. Bebeklerin gonadlarının bu dönemde immatür olması ve bazı fototerapi ışınlarının derin dokulara penetre olabileceği bilindiğinden dolayı, ışığın bu immatür germ hücrelerine olan etkisi ile üreme potansiyeli ve embriyonik gelişmenin etkilenebileceğini belirten araştırmacılar, fototerapinin bu teratojenik ve gametosidal etkilerinden gonadları korumak için fototerapi sırasında gonadların opak bir materyal ile örtülmesini önermişlerdir (17,88,89).

Koç ve arkadaşları 1999'da, fototerapiye maruz kalan yenidoğan ratlarda testiküler değişiklikler olabileceğini göstermişlerdir (90). Ayrıca Çetinkurşun ve arkadaşları 2006'da yenidoğan rat testislerine fototerapinin olumsuz etkileri ile ilgili deneysel çalışma yapmışlar ve fototerapinin yenidoğan ratlarda histopatolojik değişiklikler yaptığını bulmuşlardır (91).

2.3 TESTİS

2.3.1 TESTİS EMBRİYOLOJİSİ

Gestasyonun 3. haftasında mezonefronun ön kranialinde kölom epiteli kalınlaşarak, gonadal köşeleri oluştururlar. Gestasyonun 3- 6. haftalarında primordial germ hücreleri son bağırsağın dorsal mezenterisi aracılığı ile genital katlantılara göç ederler. Hamileliğin ilk 6 haftasında gonadlar her iki cinsiyette de benzerdir. Eğer genetik bir müdahale olursa, bu gonad testise farklılaşır. Genetik müdahale Y kromozomundaki sex determining gene (SR-Y geni) (Seks belirleyici

gen) ile olmaktadır. Testise farklılaşan gonadda önce sertoli hücreleri belirlemektedir. Sertoli hücreleri 48. gün civarında MIF salgılamaya başlayarak müllerian yapıların regresyonunu sağlarlar. Testiste daha sonra Leydig hücreleri gelişerek, 56. gün civarında testosteron salgılamaya başlarlar. Testosteron wolffian kanalından, epididim, vas deferens ve seminal vezikül gelişimini sağlar (92).

Cinsiyet normal olarak konsepsiyon esnasında cinsiyet kromozomları ile belirlense de gelişen gonadlar 7-8. gestasyonel haftaya kadar morfolojik olarak cinsiyet açısından farklılık göstermezler (farklanmamış evre). Gonadlar, lumbal bölgede retroperitoneal alanda böbreğin yanında gelişirler.

Gonad oluşumu 3 taslağa bağlıdır:

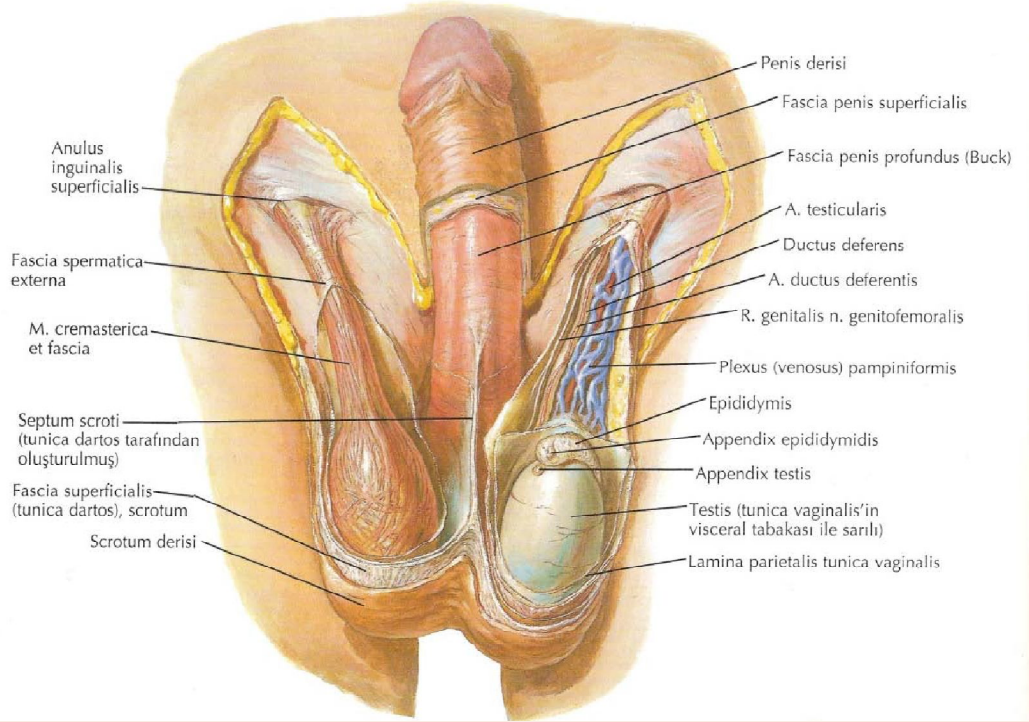
- Primordial germ hücreleri
- Genital tümsek; Mezenter kökü yakınında bulunan mezonefrozun ventromedial mezenşiminden gelişir.
- Mezeşimi örten kolomik epitelyum

Yolk kesesinden genital tümseğe doğru göç eden primitif germ hücreleri 6.haftanın sonunda hedeflerine hemen hemen ulaşmış durumdadırlar. Yedinci haftanın sonu veya 8. haftanın başında, muhtemelen hormonal bir etkiyle, farklılaşma evresine girilir. Bu evre boyunca testisler, çift katlı bir peritoneal katlantı olan mezorşiumda asılı durumdadırlar. Alt katlantı Hunterian gubernakülumu (18. yüzyılın efsanevi İngiliz cerrahı John Hunter tarafından tanımlanmış olduğu için) oluşturur, üst katlantıdan spermatik damarlar geçer. Testisin inişi gestasyonun 3. ayında başlar. İniş yolu retroperitoneumdan geçer. Testisler 7. ayda spina iliaca anterior superior seviyesindedir. Epididim de posterolateral pozisyonundadır. Gubernakülum yaklaşık 1.8 cm uzunluğundadır. Periton testislerin önünde, inguinal kanala girer, gubernakülum içinde kısmen uzanır. Testis ve gubernakülum kanala girerler. Gubernakülum skrotum tabanına ulaştığında, alt 2/3'lük kısmı tümüyle yok olana kadar kısalmaya başlar. 7. ayın sonuna doğru testisler inguinal kanalı geçerler. Kanaldan geçiş birkaç gün sürse de, testisin eksternal halkadan skrotum derinliğine kadar inmesi 4 hafta sürebilir (93).

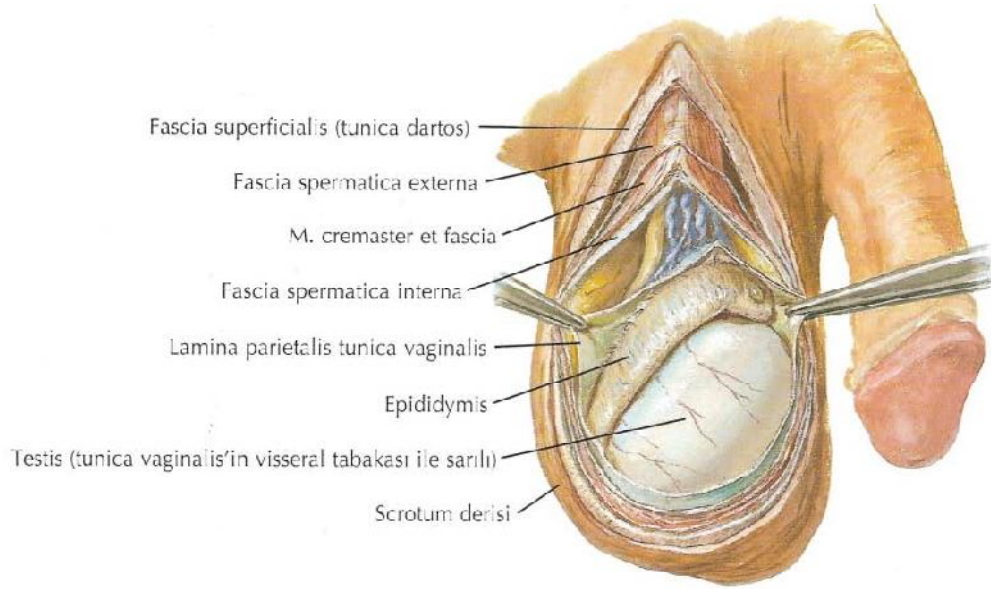
2.3.2 TESTİS ANATOMİSİ

Bebeklerde normal bir testisin boyutları ortalama 16 x14 mm'dir. Testis puberteye kadar yavaş bir hızla büyür ve uzun eksenini çocuk 12 yaşına geldiğinde 3-4 cm'i bulabilir. Büyüme puberteye girildiğinde belirgin hızlanır (94).

Skrotuma inmiş normal bir testis ovoid ve 4-6 cm uzunluğunda bir yapıdır. Peritonun uzantısı olan tunika vajinalis testisi arka sınırı ve üst kutbu dışında bir çorap gibi sarar. Testisin kendisi, tunika albuginea adı verilen kalın, düzensiz bir bağ dokusu kapsülüyle sarıdır. Tunika arkada bir median septum oluşturur. Bu septuma testisin mediasteni denir. Bu yapıdan köken alan daha ince ve narin bağ dokuları, parankimi içinde seminifer tübüllerin bulunduğu 200-300 bölmeye ayırır. Bu kıvrıntılı tübüller birbirleriyle rete testisi oluşturmak üzere testisin mediasteninde anastomozlar yaparlar. Rete testisten ayrılan 6 ile 12 duktuli efferentis epididimis başına doğru devam ederler (93).



Şekil 8. Testis ve skrotum (95).

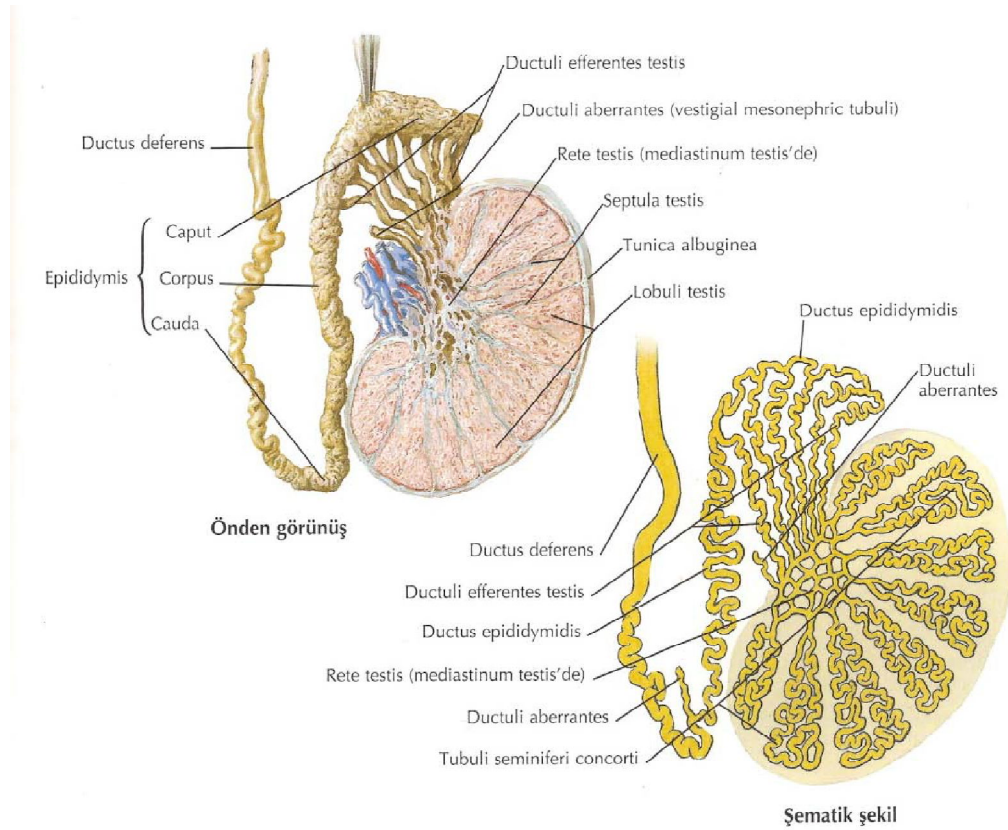


Şekil 9. Testis ve skrotum (95).

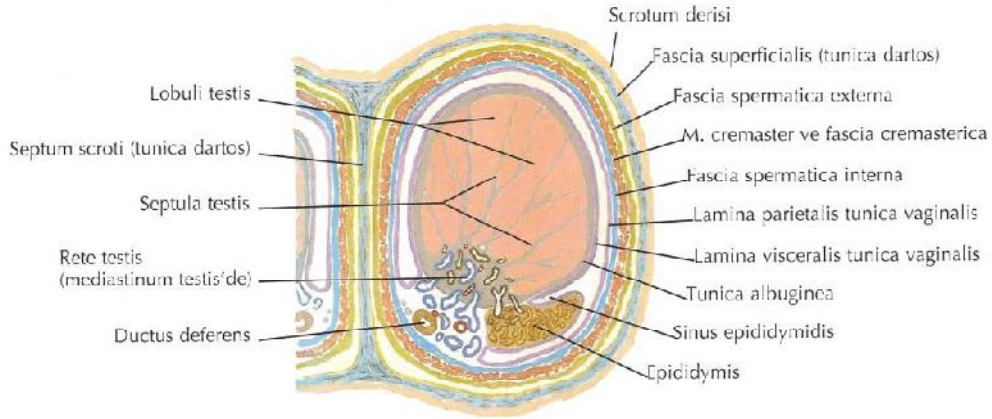
Testisin median ve lateral olmak üzere 2 serbest yüzeyi, anterior ve posterior olmak üzere de 2 sınırı vardır. Posterior sınırın üst parçası epididimin başıyla, alt parçası da epididimin gövde ve kuyruk kısmıyla ilişkilidir (93). Epididim virgül şeklindedir. Testisin superior ve posterolateral yüzeyinde bulunur. Superior kesimi baş olarak isimlendirilir. Bu kısım efferent kanalların sarılı uçlarının meydana getirdiği epididim lobüllerinden oluşur. Gövde bölümü epididim kanallarından oluşur. Spermiler burada depolanarak son gelişme evrelerinden geçerler. Epididimin kuyruğu spermileri ejakülatör kanala taşıyan duktus deferens (vas deferens) ile devamlılık gösterir. Vas deferens spermatik kord yapıları içinde ilerleyerek inguinal kanaldan geçer. Eksternal iliak damarları üstünden çaprazlayarak, peritonun dışında ama peritona yapışık olarak damar ve sinirlerin medialinde kalacak şekilde pelvisin lateral duvarını izler. Mesanenin posterolateral köşesinde üreteri çaprazlar, üreter ve periton arasında ilerleyerek mesane tabanına ulaşır. Önce seminal vezikül superiorunda iken, mediale doğru alçalarak seminal vezikül kanalı ile birleşerek ejakülatör kanalı oluşturur. Seminal vezikül mesane tabanı ile rektum arasında yerleşen, seminal sıvının çoğunluğunu oluşturan koyu, alkali bir sıvı salgılayan bir bezdir. Ejekülatör kanallar prostatın posterior kısmını anteroinferior doğrultuda geçerek prostatik üretranın posterior duvarında, prostatik utrikülün her iki yanındaki orifisler ile üretraya açılırlar (96).

2.3.3 TESTİS HİSTOLOJİSİ

Dışarıdan içeriye doğru tanımlanacak olursa Tunika vajinalis 2 seröz tabakaya (parietal ve visseral) sahip peritoneal bir ceptir. Visseral tabakanın altındaki Tunika albuginea testis parankimini saran kalın bir bağ dokusudur. Testis içine doğru verdiği fibröz septumlar yaklaşık 300 adet piramit şekilli lobülleri oluşturur. Piramitlerin tabanları tunika albugineaya, tepeleri testis mediastenini oluşturan tunika albugineanın posterior kısmına bakar. Her lobülün içinde spermatozoa yapımından sorumlu 2-4 adet kıvrıntılı seminifer tübül bulunur. Bu kıvrıntılı tübüller posteriorda düzleşip birbiriyle anastomoz yapar ve 10-12 efferent duktustan meydana gelen rete testisi oluştururlar. Efferent duktuslar tunika albugineayı delerek epididimin başına ulaşırlar. Tübüllerin arasındaki interstisyel dokuda testosteron ve diğer steroid hormonların üretildiği Leydig hücreleri bulunur. Seminifer tübüllerin lümenini döşeyen Sertoli hücreleri epitelial hücrelerdir ve germinal hücreler üzerinde bazı metabolik etkilere sahiptirler (93).



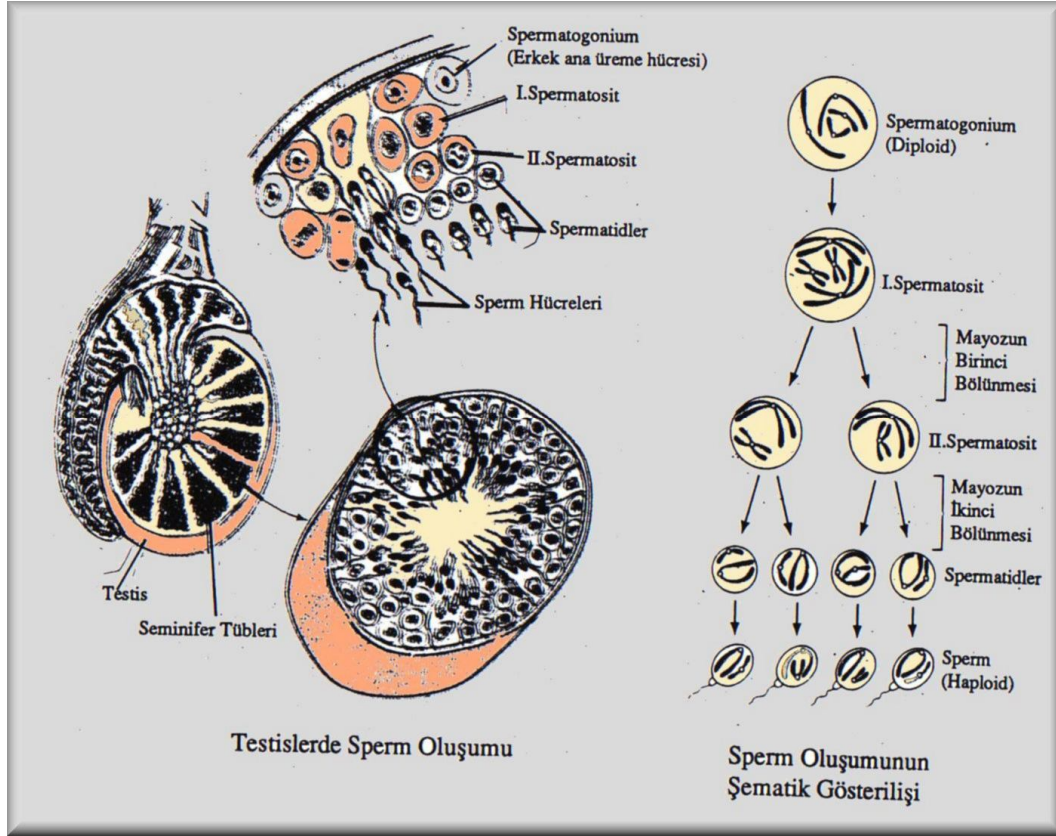
Şekil 10. Testis, Epididimis ve Duktus deferens (95).



Şekil 11. Skrotum ve testisten geçen enine kesit (95).

Testisin doğum sonrasındaki gelişimi

Bebeklerin testisleri hormonal ve hücre aktivitesi bakımından eskiden sanıldığı gibi aksine yaşamın ilk 3-6 ayı içinde epeyce aktiftirler. Bu aktivite testislerin ileride normal erişkin fonksiyonlarını kazanabilmeleri için şarttır. 60-90 günler arasında tepe yapan postnatal gonadotropin artışı 3. ayda Leydig hücrelerinin proliferasyonu ile sonuçlanır. Leydig hücrelerinden salgılanan testosteron da germ hücrelerini gelişmeleri yönünde uyarır. Böylece germ hücrelerinin normal gelişim sürecinin birinci aşaması başlamış olur ve altıncı ayda gonositler erişkin koyu (adult dark, Ad) spermatogoniumlar haline dönüşürler. İşte yaşam boyunca germ hücrelerinin üretildiği kök hücre havuzu bu Ad spermatogoniumlardır. Germ hücre gelişiminin ikinci evresi de 3 yaş civarında tamamlanır. Bu evrede Ad spermatogoniumlar primer spermatositler haline dönüşürler. Çocuk büyüdükçe seminifer tübüllerin tabanında spermatogoniumların sayısı giderek çoğalır. Spermatogenez pubertede başlar (94).



Şekil 12. Spermatogenez (97)

2.4 E VİTAMİNİ

Vitamin E, lipit fazda çözünen zincir kırıcı etkiye sahip bir antioksidandır. E vitamini aktivitesine sahip 4 tokoferol ve 4 tokotrienol bulunmaktadır. Dokularda Vitamin E aktivitesinin yaklaşık %90'ından sorumlu en aktif ve en yaygın formu α -tokoferol'dür. Yapısında izoprenoid yan zinciri bulunan vitaminin aktif kısmını fenolik hidroksil grubuna sahip olan aromatik halka oluşturur ve antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır (98,99).

Güçlü bir antioksidan olan E vitamini hücre membran fosfolipitlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma hattını oluşturur. Vitamin E; süperoksit, hidroksil radikali, singlet oksijen, lipit peroksi radikali ve diğer radikalleri indirger. Vitamin E peroksitlerin yapımını engellerken, GSH-Px ise oluşan peroksitleri ortadan kaldırdığı için bu iki

antioksidan birbirini tamamlayıcı etkiye sahiptir. Alfa-tokoferol lipit peroksil radikalleri ile reaksiyona girerek lipit hidroperoksid ve tokoferoksil radikalini oluşturur. Böylece lipit peroksidasyonunun ilerleme ve yayılmasını önler. Bu sırada oluşan tokoferoksil radikali stabil bir moleküldür. Lipit peroksidasyonunu başlatacak kadar reaktif olmayan bu radikal glukuronik asit ile konjuge edilerek safra yoluyla atılmaktadır (100,101).

E vitamini birçok araştırmacı tarafından deneysel çalışmalarda kullanılmıştır. E vitamininin ürogenital sistemdeki, sindirim sistemindeki, solunum sistemindeki ve diğer sistemlerdeki olumlu etkileri gösterilmiştir. Kılınç ve arkadaşları deneysel olarak farelere bleomisin vererek akciğer fibrozisi oluşturmuşlar ve E vitaminin bu fibrozis üzerine etkisini araştırmışlardır. Sonuçta da yüksek doz E vitamininin deneysel olarak bleomisinin akciğer fibrozisi etkisini azalttığını bulmuşlardır (102). Momeni ve arkadaşları sodyum arsenite maruz bırakılmış rat testislerinde E vitamininin testisteki hasar üzerinde iyileştirici etkisi olduğunu bulmuşlardır (103).

2.5 APOPTOZİS

Apoptoz, organizmanın ihtiyaç duymadığı, biyolojik görevini tamamlamış veya hasarlanmış hücrelerin, zararsız bir şekilde ortadan kaldırılmasını sağlayan ve genetik olarak kontrol edilen programlı hücre ölümüdür. Apoptoz terimi ilk kez 1972 yılında Kerr, Wyllie ve Currie tarafından kullanılmış olup ağaç yapraklarının gövdeden ayrılması anlamına gelmektedir. İnsan organizmasında apoptoz çok sayıda fizyolojik, adaptif ve patolojik olayda izlenebilmektedir (104,105).

1- Apoptozun homeostazis içindeki yeri

- a) Metamorföze uğramış veya yaşlanmış ve bu nedenle fonksiyonlarını kaybetmiş hücrelerin ortadan kaldırılması
- b) Hormona bağlı involüsyon
- c) Sürekli çoğalan hücre gruplarının azaltılması
- d) İmmün hücrelerin seçimi

2- Apoptozun patolojik olaylardaki rolü

- a) Tümörlerde hem büyüme hem de regresyonda hücre ölümü
- b) Hormona bağımlı dokularda patolojik atrofi
- c) Parankimatöz organlarda duktus tıkanmasına bağlı patolojik atrofi
- d) Sitotoksik T lenfositleri ile oluşturulan hücre ölümü
- e) Bazı viral hastalıklarda hücre ölümü
- f) Çeşitli zedeleyici etkenlerle oluşan hücre ölümü

Apoptotik hücre ölümü, nekrotik hücre ölümünden farklı olup hücrelerin kontrollü otosindirimi ile karakterizedir ve tipik olarak dağınık tek hücreleri etkiler. Morfolojik değişiklikler, nükleer membran dışında kromatin yoğunlaşması ve ayrışması ile oluşan iyi sınırlı, üniform, ince granüler kitleler ve sitoplazmik yoğunlaşmalar şeklindedir. Nekrotik hücre ölümü, hızlı hücre şişmesi ve lizisi ile karakterli akut hücre hasar sonucu görülür. Nekrozlu vakalarda hücre gruplaşması mevcuttur.

Morfolojik özellikler:

Hücre büzülmesi: Hücre daha küçük boyuttadır, sitoplazma yoğundur, organeller göreceli olarak normal olmalarına rağmen daha sıkı paketlenmiştir.

Kromatin kondansasyonu: Bu, apoptozun en karakteristik özelliğidir. Kromatin periferde nükleer membranın altında çeşitli şekil ve büyüklüklerde, iyi sınırlı, yoğun kitleler olarak kümelenir. Nükleus ise iki veya daha fazla parçaya ayrılabilir.

Sitoplazmik baloncuklar veya apoptotik cisimlerin oluşumu: Apoptotik hücre ilk önce sitoplazmik baloncuklar gösterir. Daha sonra ise çok sayıda nükleer parça içerebilen membranla çevrili sitoplazma ve organel parçacıklarına dönüşür. Apoptotik cisimler ve hücrelerin fagositozu: Yakındaki komşu hücreler, parankimal hücreler ve makrofajlar, apoptotik cisimleri fagosite eder. Apoptotik cisimler hızla lizozomlar içinde parçalanır, komşu hücreler migrasyonla veya proliferasyonla apoptotik hücrenin boşluğunu doldurur (106).

3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

Çalışmamız Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (AKÜHADYЕК) tarafından onaylanmıştır ve çalışma süresince AKÜHADYЕК'in belirlediği etik kurallara uygun olarak çalışılmıştır (Sayı: B.30.2.AKÜ.0.8Z.00.00/38 Tarih: 04.05.2009).

Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezinden temin edilen 15 Wistar albino gebe ratla çalışmaya başlandı. Gebe ratlar 3 eşit gruba ayrıldı. Daha sonra yenidoğan ratlarla birlikte gruplar tanımlandı. Yenidoğan ratlar şeffaf tabanlı, akrilik plastikten yapılmış özel kafeslere yerleştirildi. Fototerapi uygulaması için 3 mavi ışık 3 beyaz ışık yayan floresan lambalar kullanıldı. Ratlara fototerapi uygulama uzaklığı 42 cm' di ve irradiyansı 12 $\mu\text{W}/\text{cm}^2/\text{nm}$ olarak ölçüldü. Fototerapi doğumdan 12 saat sonra uygulandı ve 72 saat boyunca sürekli devam etti. Çalışma boyunca tüm ratlar 24°C oda sıcaklığında ve %35 nemli ortamda korundu. Deney süresince ratların beslenmesi için hazır pellet yem ve çeşme suyu kullanıldı. Hergün ratların kafes temizliği yapılarak annelerin yemleri ve içme suları değiştirildi. Fototerapi sırasında etkinliği arttırmak için kafeslerin altı temizlendi ve fototerapi her yönden verildi.

Grup 1: **Kontrol grubu-** 28 yenidoğan rat kullanıldı. Bu gruba sadece E vitamini ile aynı dozda intramusküler serum fizyolojik uygulandı.

Grup 2: **Fototerapi grubu-** 23 rat kullanıldı. Bu gruba sadece fototerapi uygulandı.

Grup 3: **E vitamini ve fototerapi uygulanan grup-** 34 yenidoğan rat kullanıldı. Bu gruptaki tüm ratlara 30 mg/kg dozunda intramusküler E vitamini sonrası fototerapi uygulandı.

Tüm yenidoğan ratlar kafeslerinde 1. ayın sonuna kadar anneleri ile kaldılar. İlk bir ay annelerini emerek süt ile beslendiler daha sonra standart rat yemi ve suyu ile beslendiler. Birinci ayın sonunda yavrular annelerinden ayrıldılar. İkinci ayın sonunda ise cinsiyetler belirlendi.

Grup 1: Kontrol grubu; 14 erkek rat, 14 diři rat olarak belirlendi.

Grup 2: Sadece fototerapi uygulanan grup; 14 erkek rat, 9 diři rat olarak belirlendi

Grup 3: E vitamini ve fototerapi uygulanan grup; 19 erkek rat, 15 diři rat olarak belirlendi.

Ratlar 16 haftalık iken her gruptan 10 erkek rat rastlantısal olarak seçilerek tek tek kafeslere yerleştirildi. 24 haftalık oluncaya kadar takip edildi.

Ratlar 24 haftalık iken testisleri alınmak üzere operasyon için hazırlandılar.

3.1 ANESTEZİ VE OPERASYON

Tüm ratlara 10 mg/kg dozunda ksilazin intramusküler (İM) yoldan verilerek yapılan premedikasyondan 5 dakika sonra, anestetik ilaç olarak ketamin 90 mg/kg dozunda İM verilerek tek tek uyutuldu. Ardından sırayla tüm ratların bölge temizliğini ve örtülenmesini takiben sol skrotumdan vertikal insizyon ile girilerek testisleri eksplore edildi. Künt ve keskin diseksiyonlarla testis etraf dokularından ayrıldı. Testis dokusuna zarar vermeden sol testisler bütünüyle çıkartıldı. Tüm ratlara aynı işlem uygulandı. Çıkarılan testis dokuları %10'luk formolin solüsyonuna konularak fikse edildi.

3.2 HİSTOPATOLOJİK İNCELEME

Mikroskopik incelemeler için alınan testis doku örnekleri % 4'lük paraformaldehit solüsyonunda tespit edilerek trimleme işlemi yapıldı. Elde edilen doku trimleri 1 gece çeşme suyunda yıkandıktan sonra rutin histolojik takip serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü (Tablo 3).

Tablo IV. Histolojik takip basamakları

Sıra No	Kullanılan madde	Süre
1	% 70 Alkol	1 saat
2	%90 Alkol 1	1 saat
3	%90 Alkol 2	1 saat
4	%96 Alkol 1	1 saat
5	%96 Alkol 2	1 saat
6	%100 Alkol 1	45 dakika
7	%100 Alkol 2	45 dakika
8	%100 Alkol 3	45 dakika
9	Ksilol 1	1 saat
10	Ksilol 2	1 saat
11	Ksilol 3	1 saat
12	Yumuşak parafin	1 saat
13	Yumuşak+Sert parafin	1 saat
14	Sert parafin	3 saat

Histopatolojik inceleme için parafin bloklardan normal lamalar üzerine alındı.

Testislerin normal histolojik özelliklerini değerlendirmek ve spermatogenezis belirlenmesi için Johnson skorlaması yapabilmek için kesitler Hematoksilen Eozin boyası ile boyandı (Tablo4).

Tablo V Hematoksilen-Eozin boyama protokolü

Kullanılan madde	Süre
Ksilen (1)	10 dakika
Ksilen (2)	10 dakika
Ksilen (3)	10 dakika
% 100 (Absolü) Alkol	2 dakika
% 96 Alkol	2 dakika
% 80 Alkol	2 dakika
% 70 Alkol	2 dakika
Çeşme suyu	2 dakika
Hematoksilen	5 dakika
Çeşme suyu	4 dakika
Eozin	30 saniye
% 80 Alkol	2 kez daldır çıkar
% 96 Alkol	2 kez daldır çıkar
% 100 (Absolü) Alkol	5 dakika
Ksilen(1)	10 dakika
Ksilen(2)	10 dakika
Ksilen(3)	10 dakika
Entellan ile kapat	

3.2.1 SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPI ÖLÇÜMÜ

Seminifer tübül çapları Image J Image Analysis Software kullanılmak suretiyle ölçüldü. Ölçme sırasında x10 objektif büyütmede olmak üzere her testis dokusunun birbirinden farklı 6 bölgesinde yer alan tübüllerden esas olarak yuvarlak ve hafif oval olanların çapları ölçülmek suretiyle istatistiksel analizde kullanıldı. Bu sayede toplam her gruptan toplam 60 seminifer tübül ölçümü yapıldı.

3.2.2 JOHNSEN SKORLAMASI

Johnsen skorlaması testislerde seminifer tübüller içinde yer alan spermatogenezis sürecini değerlendirmek için kullanılan bir skorlama metodudur. Değerlendirme sırasında seminifer tübül içinde yeralan spermatojenik hücre seri

varlığı ve/veya yoğunlukları gözönüne alınır. Buna göre skarlama, aşağıda belirtilen kriterler gözönüne alınarak yapılır (107).

Tablo VI Johnsen Skarlaması

SKOR	HİSTOLOJİK DEĞERLENDİRME
10	Tam spermatogenezis görülür
9	Birçok spermatozoa görülür, ancak disorganize spermatogenezis vardır
8	Sadece birkaç spermatozoa görülür
7	Spermatozoa yoktur, çok sayıda spermatid vardır
6	Birkaç spermatid vardır
5	Spermatozoa ve spermatid yoktur, çok sayıda spermatosit vardır
4	Sadece birkaç spermatosit vardır
3	Sadece spermatogonia vardır
2	Germ hücresi yok
1	Germ hücresi veya sertoli hücresi yok

Çalışmamızda her lam üzerinde bulunan tüm boyanmış testis preparatları içindeki seminifer tübüllerde spermatogenezis değerlendirilmesi yapıldı. Değerlendirme sırasında x20 objektif büyütmede olmak üzere her testis dokusunun birbirinden farklı 6 bölgesinde yer alan tübüllerde Johnsen skarlaması yapıldı ve istatistiksel analiz sırasında bu veriler kullanıldı. Buna göre her grupta toplam 60 ayrı tübül içinde spermatogenezis değerlendirmesi yapıldı.

3.2.3 İSTATİSTİKSEL DEĞERLENDİRME

Elde edilen değerler SPSS for Windows 16.0 istatistiksel analiz programında One way ANOVA metodu ile değerlendirildi. PostHoc test olarak Tukey HSD testi kullanıldı. Tübül çaplarının ölçümü için Image J Image Analysis Software kullanıldı.

3.3 TUNEL (Terminal Deoxynucleotidyl Transferase Mediated dUTP Nick End Labeling) Yöntemi

Apoptozis rutin histolojik teknikler ile gösterilebilir. TUNEL yöntemi bu yöntemlerin başında gelmektedir. Çalışmamızda apoptozisin belirlenmesi amacı ile TUNEL yönteminden yararlanıldı; boyamalarda TUNEL kiti (GenScript, TUNEL Universal Apoptosis Detection Kit (Biotin labeled POD), Cat.No. L00290, USA) kullanıldı.

3.3.1 TUNEL Yöntemi ile Apoptotik İnceleme

TUNEL tekniğinde apoptotik hücreler şu şekilde belirlenir; apoptotik sinyaller DNA üzerinde kırıklar oluşturmaktadır. Açığa çıkan DNA parçacıklarının serbest 3'-OH uçlarına terminal deoksinnükleotidil transferaz (TdT) aracılığı ile biotin ile işaretlenmiş ve işaretlenmemiş deoksinnükleotidler eklenir. Daha sonra biotin ile işaretlenmiş nükleotidler, streptavidin-horseradish peroksidaz konjugatı ile tespit edilir. Diaminobenzidine, işaretlenmiş örnek ile tepkimeye girerek DNA kırığı bölgesinde çözünemeyen bir substrat oluşturur. Metil yeşili ile ters boyama yapılarak işlem sonlandırılır. Böylelikle dokulardaki apoptotik hücreler mikroskopik olarak görüntülenebilir.

3.3.2 TUNEL Boyama Protokolü

- Parafine gömülü dokular 5 µm kalınlığında kesilerek polilizin kaplı lamlara alındı.
- Doku kesitleri 60 °C etüvde 30 dakika bekletildi.
- Toluolde (ya da ksilende) 2 defa 5'er dk. bekletilerek parafin uzaklaştırıldı.
- %100, %95, %90, %80, %70 alkol serilerinde 5'er dk inkübe edilerek rehidrasyon sağlandı.
- PBS ile 3x2 dk yıkandı.
- 0.1M Citrate Buffer, pH 6.0 solüsyonu içinde 5 dk 370 W (low) mikrodalga
- Aşamalı distile su ile soğutma
- 1 dk distile ile suda yıkama
- 5 dk PBS de yıkama
- Kesitlerin etrafı bu aşamada hidrofobik kalemle çizildi
- Proteinaz K ile 37 °C etüvde 15 dk inkübe edildi

- PBS ile 3x2 dk yıkandı.
- %3 lük H₂O₂ ile 10 dk oda ısısında inkübe edildi.
- PBS ile 3x2 dk yıkandı.
- Triton solüsyonu içinde 15 dk oda ısısında bekletildi.
- Preparatlar tritondan iyice arındırıldı.
- PBS ile 3x2 dk yıkandı.
- 37 °C etüvde 60 dk TUNEL karışımıyla inkübe edildi.
- PBS ile 3x2 dk yıkandı.
- 37 °C etüvde 30 dk Streptavidin-HRP ile inkübe edildi.
- PBS ile 3x2 dk yıkandı.
- DAB ile 5 dk inkübe edildi.
- Distile su ile yıkandı.
- Metilen green ile 1 dk inkübe edildi.
- Kesitler distile suya daldırıp çıkarılarak hızlıca yıkandı.
- 70, 80, 90, 96 ve 100 lük alkole daldırıp çıkarıldı.
- 100 lük alkole daldırıp birkaç saniye bekletildi.
- Ksilende 2 kez 5'er dk bekletildi.
- Entellan ile kapatıldı.

Bu prosedür takip edilerek boyanan testis kesitleri Olympus CX31 araştırma mikroskobu ile değerlendirildi. Gruplardaki TUNEL pozitif hücre sayıları semikantitatif olarak saptandı. Semikantitatif değerlendirme aşağıdaki biçimde yapıldı;

Apoptozis yok	(-),
Apoptozis nadir	(±),
Apoptozis az	(+),
Apoptozis orta	(++),
Apoptozis fazla	(+++),
Apoptozis çok fazla	(++++).

4. BULGULAR

Tablo VII. Çalışma gruplarının tablo şeklinde açıklaması

GRUP 1	Kontrol grubu
GRUP 2	Sadece fototerapi uygulanan grup
GRUP 3	E vitamini ve fototerapi uygulanan grup

4.1 SEMİNİFER TÜBÜL ÇAPLARI

Elde edilen verilere göre seminifer tübül çapları arasında tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir değişim gözlenmedi. Her ne kadar Grup 2’de seminifer tübül çapı diğer gruba göre daha azalmış olsa da aralarında anlamlı bir azalma mevcut değildi. (Grup 1 için $p=0,435$, Grup 3 için $p=0.633$). Benzer şekilde Grup 1 ve Grup 3 arasında da tübül çapı açısından anlamlı değişiklik olmadığı tespit edildi ($p=0.945$).

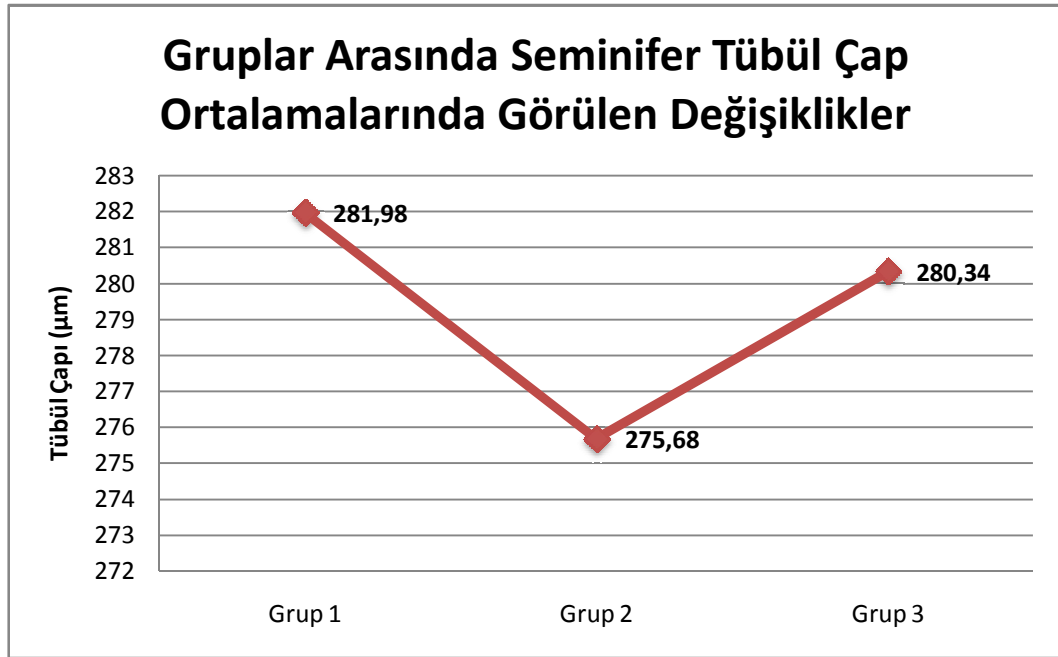
Tablo VIII. Grupların seminifer tübül çapı ile ilgili verilerin SPSS 16.0 programında değerlendirilmesinde elde edilen tanımlayıcı değerleri

Tübül Çapları						
Gruplar	N	Ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	Maksimum
Grup 1	60	2,8198E2	29,01211	3,74545	221,57	348,46
Grup 2	60	2,7568E2	28,70820	3,70621	222,41	332,99
Grup 3	60	2,8034E2	26,1633	3,37767	229,13	335,44
Total	180	2,7933E2	27,96207	2,08417	221,57	348,46

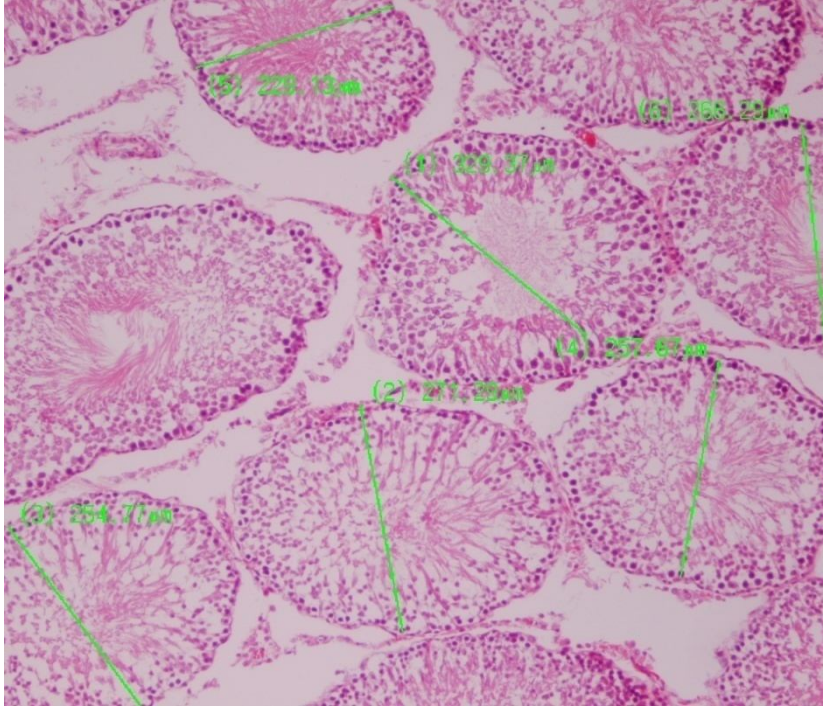
Tablo IX. Grupların seminifer tübül çapı ile ilgili verilerin SPSS 16.0 programından One Way Anova metodu ile analizi sonucu elde edilen değerler.

Tübül Çapı		p (Anlamlılık)
Grup 1	Grup 2	0,633
	Grup 3	0,945
Grup 2	Grup 1	0,435
	Grup 3	0,633
Grup 3	Grup 1	0,945
	Grup 2	0,633

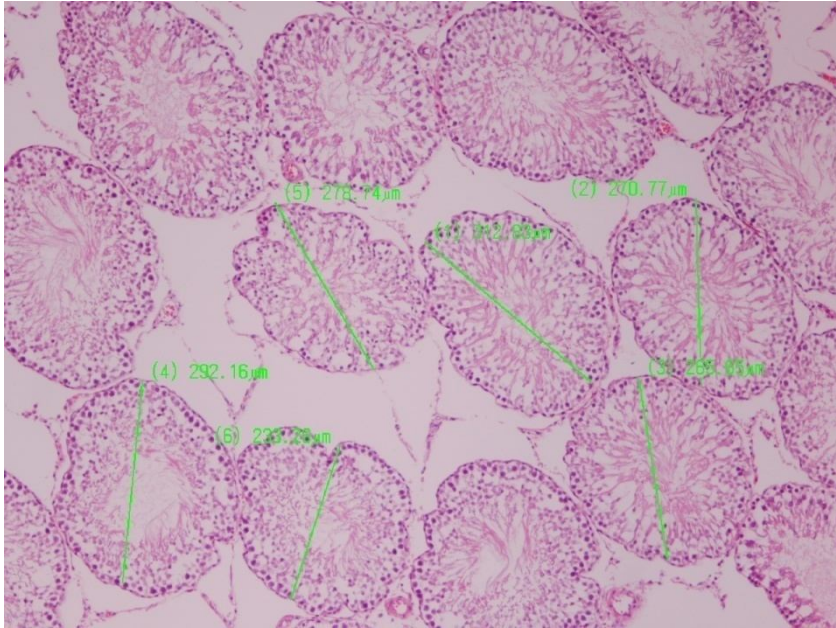
. Tüm gruplarda $p > 0.05$, Tukey's post hoc test



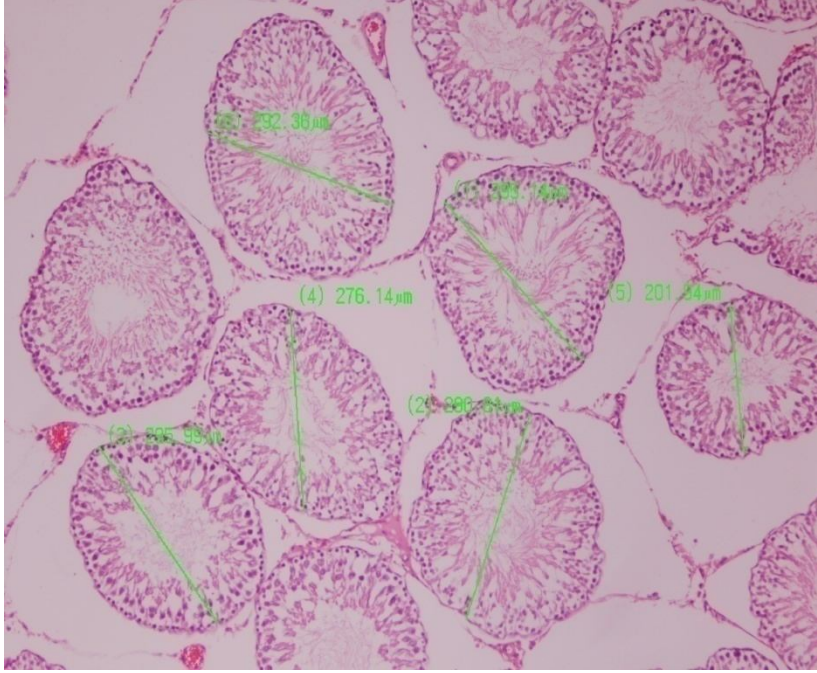
Şekil 13. Grupların seminifer tübül ortalamalarında görülen değişikliklerin grafikte görünümü



Şekil 14. Grup 1'in seminifer tübül çapının mikroskopik görünümü (HEx10)



Şekil 15. Grup 2'nin seminifer tübül çapının mikroskopik görünümü (HEx10)



Şekil 16. Grup 3'ün seminifer tübül çapının mikroskopik görünümü (HEx10)

4.2 SPERMATOGENEZİS DEĞERLENDİRİLMESİ

Spermatogenez değerlendirmesinde, Grup 2'de spermatogenezde Grup 1 ve Grup 3'e göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde azalma olduğu tespit edildi (sırasıyla $p=0.000$ ve $p=0.000$). Bununla birlikte Grup 1 ve Grup 3 arasında anlamlı bir farklılık yoktu ($p=0,398$).

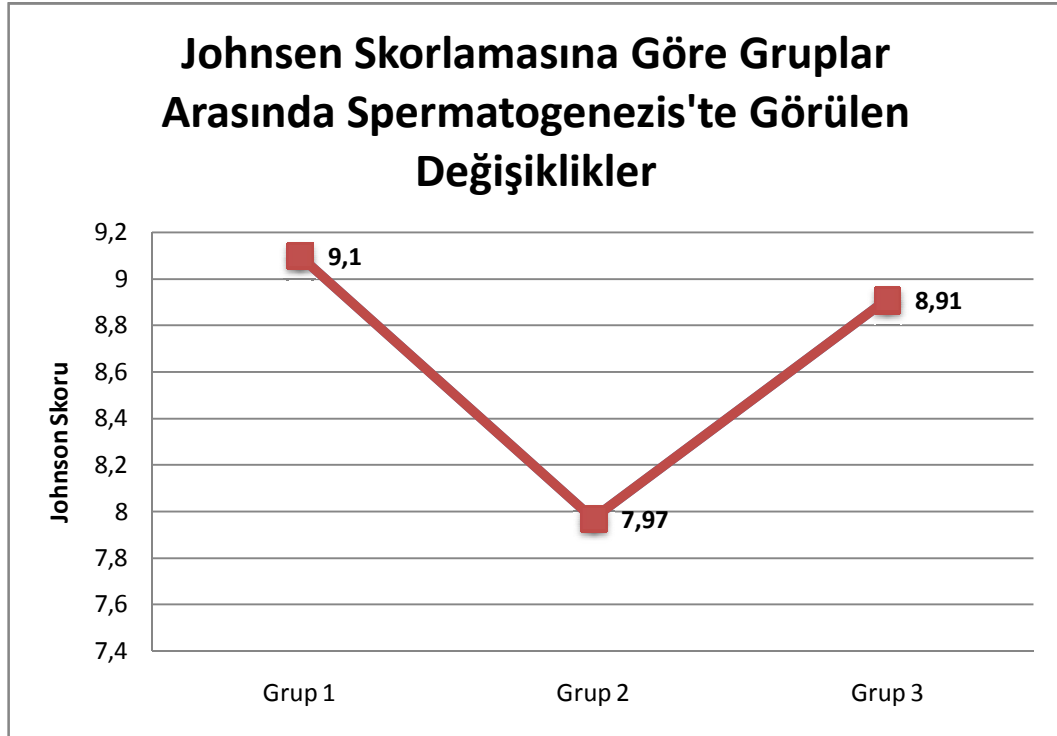
Tablo X. Grupların spermatogenez ile ilgili verilerin SPSS 16.0 programında değerlendirilmesinde elde edilen tanımlayıcı değerleri

Spermatogenez						
Gruplar	N	Ortalama	Standart sapma	Standart hata	Minimum	Maksimum
Grup 1	60	9,1000	0,70591	0,09113	8,00	10,00
Grup 2	60	7,9667	0,86292	0,11140	6,00	10,00
Grup 3	60	8,9176	0,74314	0,09594	8,00	10,00
Total	180	8,6611	0,91642	0,06831	6,00	10,00

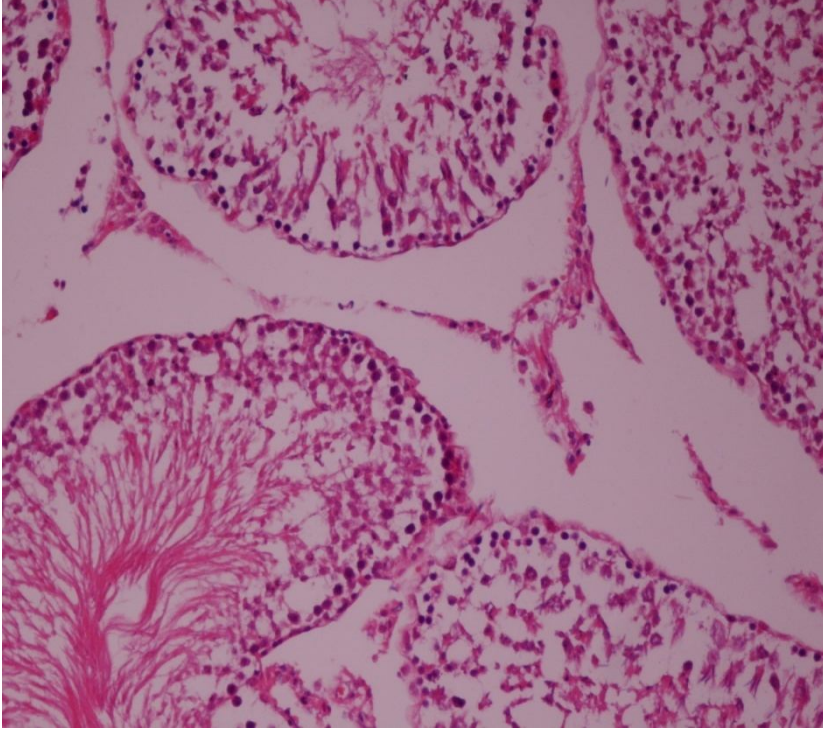
Tablo XI. Grupların spermatogenez ile ilgili verilerin SPSS 16.0 programından One Way Anova metodu ile analizi sonucu elde edilen değerler

Tübül Çapı		p (Anlamlılık)
Grup 1	Grup 2	0,398
	Grup 3	0,000*
Grup 2	Grup 1	0,000*
	Grup 3	0,000*
Grup 3	Grup 1	0,398
	Grup 2	0,000*

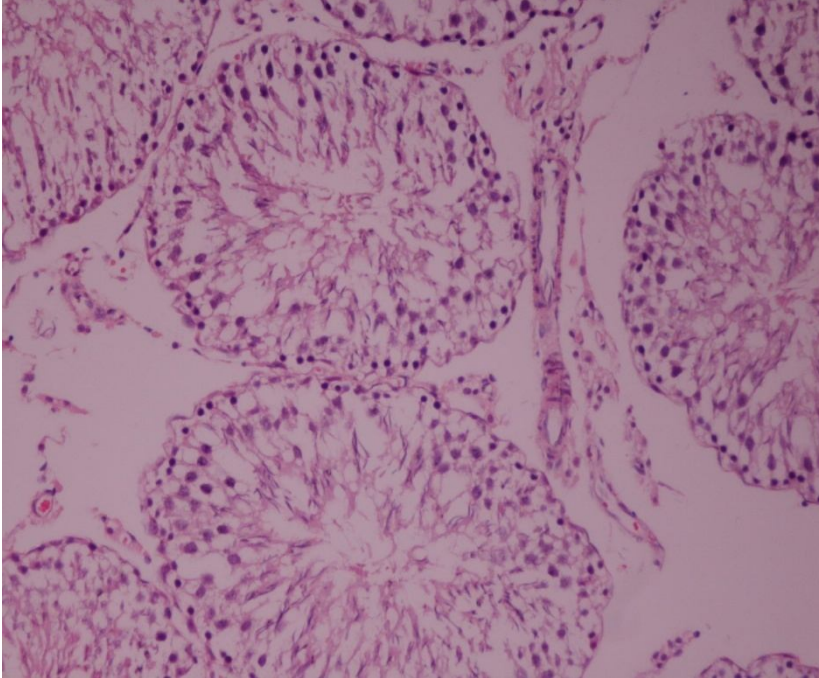
*p<0.05,Tukey's post hoc test



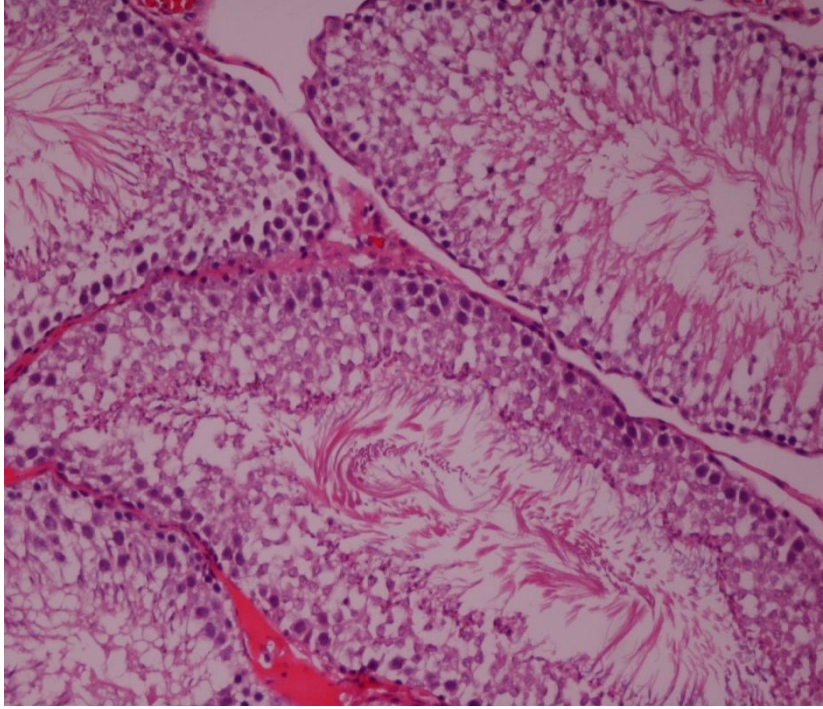
Şekil 17. Grupların spermatogenezis ortalamalarında görülen değişikliklerin grafikte görünümü



Şekil 18. Grup 1'in seminifer tübüllerindeki spermatogenezisin mikroskopik değerlendirilmesi (HEx20)



Şekil 19. Grup 2'nin seminifer tübüllerindeki spermatogenezisin mikroskopik değerlendirilmesi (HEx20) (Spermatogonia sayısındaki azalma dikkati çekmektedir)



Şekil 20. Grup 3'ün seminifer tübüllerindeki spermatogenezisin mikroskopik değerlendirilmesi (HEX20) (Spermatogonia sayısındaki artış ve Grup 1 ile benzerliği dikkat çekmektedir)

4.3 TUNEL Bulguları

Çalışmamızda TUNEL metodu apoptozisi belirlemek için kullanıldı. TUNEL pozitif boyanan hücreler semikantitatif olarak değerlendirildi. Çalışmamızın sonucunda kontrol grubunda orta (+), deney grubunda fazla (+++) ve tedavi grubunda az (+) düzeyde TUNEL pozitif boyanan hücre belirlendi.

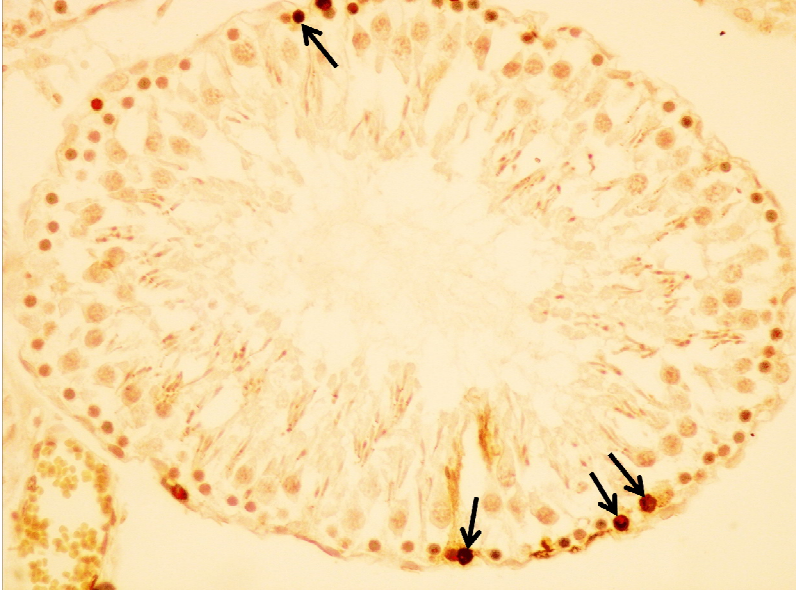
Tablo XII. Deney gruplarına ait TUNEL pozitif boyanan hücrelerin semikantitatif değerlendirilmesi.

GRUPLAR	Grup 1	Grup 2	Grup 3
TUNEL	++	+++	+

Hücre sayısı: yok (-), nadir ($\pm$), az(+), orta (++), fazla (+++), çok fazla (++++)).

4.3.1 Grup 1'e ait TUNEL bulguları

Grup 1'in testislerinde seminifer tübüllerdeki germinal seriye ait hücrelerde TUNEL pozitif boyanan hücre sayısının Grup 2'ye oranla kısmen az olduğu gözlemlendi (Şekil21).

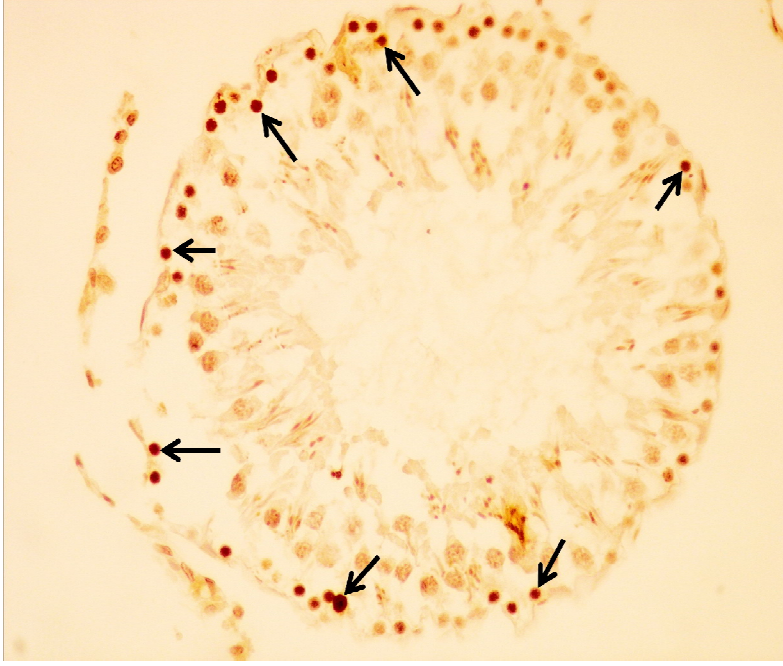


Şekil 21. Grup 1'e ait TUNEL boyama görüntüsü.

(—→ : TUNEL pozitif işaretlenen apoptotik hücreler). X400.

4.3.2 Grup 2'ye ait TUNEL bulguları

Deney grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında seminifer tübüllerdeki germinal seriye ait hücrelerde TUNEL pozitif boyanan hücre sayısında belirgin bir şekilde artış olduğu tespit edildi (Şekil 22).

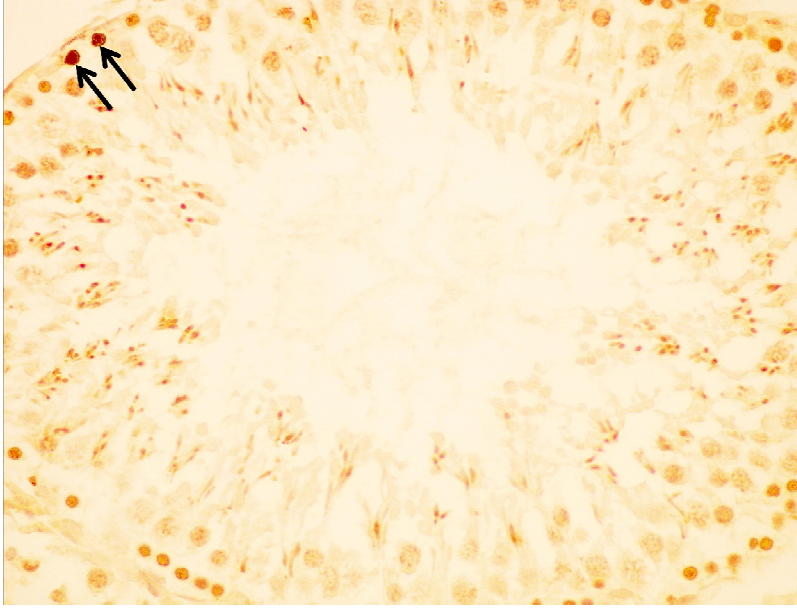


Şekil 22. Grup 2'ye ait TUNEL boyama görüntüsü.

(—→ : TUNEL pozitif işaretlenen apoptotik hücreler). X400.

4.3.3 Grup 3'e ait TUNEL bulguları

Grup 3'e ait testislerin seminifer tübüllerinde bulunan germinal seriye ait hücrelerin çok azında TUNEL pozitif boyanma saptandı. TUNEL pozitif hücrelerin koyu kahverengi renkte boyandığı gözlemlendi (Şekil 23).



Şekil 23. Grup 3'e ait TUNEL boyama görüntüsü.

(—→ : TUNEL pozitif işaretlenen apoptotik hücre). X400.

5. TARTIŞMA

Yenidoğan sarılığı hiperbilirubinemi nedeniyle sklera ve derinin sarı renk almasıdır ve neonatologların günlük olarak çok sık karşılaştığı durumlardan birisidir. Hayatın ilk haftasında term yenidoğanların % 60'ında, preterm yenidoğanların ise %80'inde sarılık gelişir (108). Sarılık, zamanında ve uygun bir şekilde tedavi edilmediği takdirde bilirubin ensefalopatisi gibi çok ciddi kalıcı nörogelişimsel bozukluklara yol açan yıkıcı beyin hasarı meydana gelebilir (40). Bu yüzden yenidoğan sarılığı tedavisi çok büyük önem taşır. En sık başvuru olan tedavi seçeneği ise fototerapidir. Fototerapi yenidoğan sarılığı tedavisinde noninvazif ve kolay ulaşılabilir tedavi seçeneği olarak yarım asırdan fazla süredir kullanılmaktadır (47). 1985'de Ulusal Çocuk Sağlığı ve İnsan Gelişim Enstitüsü yenidoğan fototerapisinin nörolojik sekelleri önlemede kan değişimi tedavisi kadar etkili olduğunu rapor etmiştir (109). Fototerapinin bu etkinliğine bağlı olarak yenidoğan sarılığında kan değişimi tedavisi oranları belirgin olarak azalmıştır. Fototerapi, serum bilirubini yapısal fotoizomerizasyon ve fotooksidasyon yoluyla atılabilir ürünlere dönüştürerek serum bilirubin düzeyini düşürür. Fototerapinin temel etki yeri sadece deride lokalize değildir derinin altındaki kapiller sirkülasyona da etki eder (110). Peki bu kadar geniş kullanım alanına sahip olan fototerapinin yan etkisi var mıdır? Maalesef fototerapinin bilinen ve üzerinde çalışılan birçok yan etkisi mevcuttur. İşte bu çalışmanın temelini oluşturan konu da fototerapinin testisler üzerine olan yan etkisidir.

Fototerapinin testisler üzerine yan etkileri ile ilgili literatürde çok sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Ayrıca bu yan etkisine karşı koruyucu veya tedavi edici özelliği olan herhangi bir madde ile ilgili çalışma da yoktur. Bu yüzden eldeki bu sınırlı bilgiyle birlikte, fototerapinin testisler üzerindeki yan etkisi yenidoğan rat testisleri üzerinde araştırıldı ve bu yan etkisine karşı koruyucu veya tedavi edici bir madde olarak da önemli antioksidanlardan biri olan E vitaminini bu çalışmada kullanıldı. Testis hasarını göstermede iyi bir model olması, seksüel matürasyona kısa sürede ulaşması ve daha önce ratlarda gerçekleştirilen çalışmalar ile karşılaştırma yapabilmek açısından da denek olarak yenidoğan ratları seçildi..

Fototerapinin testisler üzerindeki etkisi ile ilgili yapılan ilk çalışmalardan biri Speck ve arkadaşlarının deniz kestanesi oosit ve spermatozoolarında yaptığı deneysel çalışmadır. Speck ve arkadaşları fototerapinin deniz kestanesi oosit ve spermatozoolarında, doza bağlı fertilizasyon ve embriyonik gelişme anormallikleri yaptığını tespit etmişlerdir. Aynı zamanda orta düzeyde riboflavin varlığında yan etkilerin arttığını ve ışıkla aktive olan riboflavinin muhtemelen DNA'yı etkilediği ve genetik hastalıkları tetiklediği görüşünü savunmuşlardır. Ayrıca bazı fototerapi ışıklarının derin dokulara penetrasyonunu ve yenidoğanlarda gonadların immatür olmasından dolayı üreme potansiyelini ve embriyonik gelişimin etkilenebileceği görüşünü tartışmışlardır (111,112).

Bu çalışmada özellikle fototerapinin testiste yaptığı hasar ile ilgili olarak özellikle seminifer tübül çapındaki değişiklik, spermatogenezise etkisi ve apoptotik etkisi üzerinde duruldu. Fototerapinin seminifer tübül çapında meydana getirdiği değişiklikle ilgili 1999'da Koç ve arkadaşları bir çalışma yapmışlardır. Fototerapiye maruz kalan yenidoğan ratlarda testiküler değişiklikler adlı çalışmalarında 72 saat sürekli fototerapi uygulanan yenidoğan ratların seminifer tübül çapının kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığını bulmuşlardır ancak fertilizasyon oranlarında anlamlı bir farklılık saptamamışlardır (90). Daha sonra 2006'da Çetinkurşun ve arkadaşları, yenidoğan rat testisleri üzerinde fototerapinin etkileri adlı çalışmalarında 72 saat fototerapi uygulanan yenidoğan ratların testislerinde birçok parametrede değişiklik saptamışlardır. Çetinkurşun ve arkadaşları, fototerapi uygulanan ratların testislerinin seminifer tübül çaplarında kontrol grubuna göre belirgin azalma saptamışlardır. Ayrıca gelecekteki fertilité potansiyelini etkileyebilecek olan histolojik olarak belirlenen tübüllerdeki spermatogonia sayısında, tübüler fertilizasyon indeksinde ve sperm sertoli hücre indeksinde azalma olduğunu tespit etmişlerdir (91). Bu iki çalışmada da fototerapinin testiste oluşturduğu hasara karşı tedavi edici bir madde kullanılmamıştır. Bu çalışmada, kontrol ve fototerapi grubuna ek olarak protektif veya tedavi edici özelliği olabileceği düşünülen E vitaminini kullanarak üçüncü bir grup olan tedavi grubu oluşturuldu. Seminifer tübül çapı ile ilgili sonuçlar

karşılaştırılacak olursa daha önce yapılan iki çalışmada da fototerapi uygulanan ratların testislerinin seminifer tübül çapları azalmasına karşın bu çalışmada kontrol grubu, fototerapi grubu ve E vitamini+fototerapi grubundaki seminifer tübül çapları arasında anlamlı bir farklılık saptanamamıştır. Her ne kadar fototerapi grubunda seminifer tübül çapı diğer gruba göre daha azalmış olsa da aralarında anlamlı bir azalma bulunamamıştır.

Çalışmada fototerapinin testisler üzerindeki etkisini değerlendirilen bir başka histopatolojik bulgu ise spermatogenezisdir. Spermatogenezis, spermatogoniumlardan sperm oluşumuna kadar geçen hücresel döngüyü ifade eder ve pubertede başlar (94). Bu çalışmada spermatogenezis histopatolojik olarak kullanılan Johnsen skorlaması ile değerlendirildi. Fototerapinin testislerde spermatogenezise olan etkilerinin Johnsen skorlaması ile değerlendirildiği bir başka çalışma yoktur. Çetinkurşun ve arkadaşları fototerapinin testislere olan etkisi ile ilgili yaptıkları çalışmada, sertoli hücreesindeki değişikliklere bağlı olarak puberteden sonra germ hücre sayısında belirgin artış olmamasının spermatogenezisi olumsuz etkileyebileceğini belirtmişlerdir. (91). Literatürde Johnsen skorlaması ile spermatogenezisin değerlendirilmesi başka konularda sık olarak kullanılmıştır. Yurtçu ve arkadaşları, deneysel testiküler torsiyon sonrası iskemi-reperfüzyon hasarı ve spermatogenezis üzerine melatoninin koruyucu etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada spermatogenezisi Johnsen skorlamasıyla değerlendirmişlerdir (113). Ayrıca Saygın ve arkadaşları elektromanyetik alanın testiküler apoptozise etkisini ve testiste meydana gelen histopatolojik değişiklikleri ile ilgili yaptıkları çalışmada, spermatogenezisi değerlendirmek için Johnsen skorlamasını kullanmışlardır (114). Bu çalışmada Johnsen skorlaması ile yapılan spermatogenezis değerlendirilmesinde fototerapi grubunda spermatogenezisde diğer gruplara göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma saptandı. E vitamini+ fototerapi grubuyla kontrol grubu arasında ise anlamlı bir farklılık saptanmadı. Bu nedenle fototerapinin spermatogenezis üzerine olumsuz etkisi olduğu ve infertilite açısından predispozan olabileceği söylenebilir. Diğer yandan E vitamini uygulaması sonrası yapılan

değerlendirmede elde edilen verilerin kontrol grubuna yakın değerlere ulaşması bu vitaminin protektif etkisini belirgin derecede ortaya koymaktadır.

Bu çalışmada histopatolojik olarak etkisi belirlenmeye çalışılan bir diğer bulgu de apoptozisdir. Apoptotik sürecin başlamasında hücre içi ve hücre dışı kökenli ölüm sinyalleri etkili olur. Bu uyarılara maruz kalan hücrede, ilgili genetik mekanizma harekete geçer ve apoptozis başlar. Metabolizma ve siklus bozuklukları, hiperkalsemi, pH değişiklikleri gibi etkiler hücre içinden kaynaklanan sinyallerdir. Hücre dışından gelen sinyaller ise ultraviyole ışınları, hipoksi, ısı değişiklikleri, antikanser ilaçlar ve toksik maddelerdir (115). Apoptozisin belirlenmesinde son zamanlarda en sık kullanılan histolojik yöntemlerden biri bu çalışmada da kullanılan TUNEL yöntemidir. TUNEL yöntemi DNA kırıklarının in situ olarak tanınmasını sağlar (116). TUNEL yöntemi veya diğer yöntemler (immünohistokimyasal olarak Bax boyamaları) kullanılarak apoptozisin değerlendirilmesi semikantitatif olarak yapılabilir. Kuş ve arkadaşları deneysel formaldehit zehirlenmesinde Omega-3 yağ asitlerinin testislerdeki antiapoptotik etkileri ile ilgili yaptıkları çalışmada omega-3 yağ asitlerinin apoptozisi azalttığını semikantitatif olarak değerlendirmişlerdir (115). Bu çalışmada fototerapinin rat testisindeki apoptotik etkisi ve E vitamini uygulamasıyla apoptozisdeki değişiklik TUNEL yöntemi ile semikantitatif olarak değerlendirildi. Literatürde fototerapi ile apoptozis arasındaki ilişkiyi TUNEL yöntemi ile gösteren başka bir çalışma yoktur. Ancak El-Abdin ve arkadaşları yaptıkları çalışmada fototerapi öncesi ve sonrası yenidoğanların dolaşımındaki lenfositlerde mikronükleus sıklığının ve DNA fragmentasyonunun arttığını bulmuşlardır. Ayrıca apoptozisle ilişkili olan plazma BCL2 proteininin belirgin olarak azaldığını, BAX gen ekspresyonunun belirgin olarak arttığını tespit etmişlerdir. Sonuç olarak fototerapinin ve bilirubinin genotoksik etkilerinin olduğu, DNA hasarını indüklediği, etkilenen hücrelerde apoptozisi arttırdığı görüşüne varmışlardır (87). Fototerapi ile testis ilişkisini apoptozis düzeyinde gösteren bir çalışma olmamasına karşın başka nedenlerle testislerde yapılan çalışmaların birçoğunda TUNEL yöntemi kullanılmıştır. Villasenor ve arkadaşları ratlarda deneysel olarak oluşturulan kriptorşidizmin rat testisi üzerindeki hasarı

üzerine E vitamininin koruyucu etkisi ile ilgili bir çalışmada TUNEL yöntemini kullanmışlardır ve E vitamininin apoptozisi azalttığını göstermişlerdir (117). Greco ve arkadaşları ise oral E vitamini tedavisi ile TUNEL yöntemi kullanılarak DNA fragmentasyonunun azaldığını ve bu yönüyle fertilitiyi olumlu yönde etkilediğini bulmuşlardır (118). Literatürde testis ve TUNEL ile ilgili E vitamini dışında da yapılan çalışmalar mevcuttur. Gencoğlu ve Tosun, A vitamininin ratların spermatogenezisi üzerine etkileri ile ilgili yaptıkları çalışmada da apoptozisin arttığını TUNEL yöntemi ile göstermişlerdir (119). Taneli ve arkadaşları rat testisinde spermatik damar ligasyonunun testiküler nitrik oksit düzeyini arttırdığını ve buna bağlı germ hücre apoptozisini indüklediğini TUNEL yöntemi kullanarak belirtmişlerdir. (120). Bu çalışmada da fototerapi uygulanan yenidoğanların testislerindeki meydana gelen apoptotik değişiklikler TUNEL yöntemi kullanılarak gösterildi. Apoptozisin semikantitatif olarak değerlendirilmesinde fototerapi grubunda apoptozisin belirgin arttığını, E vitamini grubunda ise literatürle uyumlu olarak apoptozisin azaldığı görüldü. Ancak ilginç olarak kontrol grubundaki apoptozisin değerlendirilmesinde tedavi grubundan daha yüksek sayıda apoptotik hücrelerin olduğu görüldü. Kontrol grubundaki bu farklılığın, normal hücrelerde de apoptozis görülmesi nedeniyle kontrol grubunda rastlantısal olarak apoptotik hücrelerin fazla olmasına bağlı olabileceği düşünüldü. Ayrıca apoptozisin semikantitatif değerlendirme yerine belli alanlarda hücre sayılarak ve istatistik eklenerek değerlendirilmesi daha doğru sonuç verebilirdi. Ancak bu çalışmaların hepsini değerlendirdiğimizde, fototerapinin testislerdeki hasarı göstermede apoptozisin güvenilir bir histolojik bulgu olduğu söylenebilir.

Bu çalışmada, protektif veya tedavi edici madde olarak neden E vitamini kullanıldı sorusunun cevabı literatürdeki E vitamini ile yapılmış çalışmalarda gizlidir. Vitamin E, hücre membranında bulunan, yağda eriyen bir vitamin olup bir çok çalışmada kullanılmıştır. E vitamini, lipid peroksidasyonuna neden olan serbest radikalleri tutarak, kuvvetli antioksidan etki gösterir. E vitamininin sadece ürogenital sistemdeki değil tüm sistemlerdeki koruyucu etkisi ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur. Nemmiche ve arkadaşları ratlarda kadmiyumla kan, karaciğer

ve beyinde oluşturulan oksidatif stres üzerine E vitaminin etkisi ile ilgili çalışma yapmışlardır ve sonuçta E vitamininin oksidatif stresi azalttığını bulmuşlardır (121). Bir başka çalışmada da Özcan ve arkadaşları deneysel olarak rektal yoldan asetik asit verilerek kolit oluşturulan sıçanlarda, E vitamini uygulamasından sonra kolitte belirgin iyileşme gözlemlemişlerdir (122).

E vitamininin üreme sistemindeki etkisi ile ilgili uzun yıllardır çalışmalar yapılmaktadır. Akawaza ve arkadaşları E vitamininin sıçanların hipofiz-gonad eksenine olan etkisini araştırmışlardır. Bu çalışmada E vitamini eksikliğinin, gonad işlevini durduran bir etki göstererek Leydig hücrelerinde hormon sentezini azalttığı ve feedback mekanizması yoluyla hipofizden LH salınımını arttırdığı saptanmıştır (123). Mather ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada domuz Leydig hücrelerinin kültür ortamına E vitamini eklendiğinde, hücrelerin yaşam süresi ve steroidojenik etkinliğinin arttığı görülmüştür (124). Bu çalışmalar bize E vitamini eksikliğinde üreme sisteminin birçok yönde etkilenebileceğini gösterir. E vitamininin üreme sistemi ile ilgili hastalıklar üzerindeki koruyucu etkisi bilim adamları için merak konusu olmuş ve bu konuyla ilgili de çalışmalar yapılmıştır. Villasenor ve arkadaşları ratlarda deneysel olarak oluşturulan kriptorşidizmin rat testisi üzerindeki hasarı üzerine E vitamininin koruyucu etkisi ile ilgili bir çalışma yapmışlardır. Çalışma sonucunda E vitamini tedavisi ile lipoperoksidasyonunda azalma, inmemiş testis oluşturulduktan sonra üretilen serbest radikallerde stabilizasyon, seminifer tübül epitelyum matürasyonunda artış, TUNEL yöntemi ile gösterilen apoptozisde azalma, histolojik değişiklikler ve fertilitede artış gözlemlenmiştir (117). Ranede ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada da, deneysel olarak oluşturulan testis torsiyonunda, E vitamini uygulamasının koruyucu etkileri araştırılmıştır ve sonuçta torsiyon öncesi verilen E vitamininin standart tübül çapında ve epitel boyunda iyileşme sağladığı gösterilmiştir (125). Yine yeni yapılan bir çalışmada Han ve arkadaşları neonatal ve pubertal dönemde hemikastrasyon uygulanan ratların karşı testislerindeki oksidatif stres üzerine E vitaminin etkisini incelemişlerdir. E vitaminin oksidatif hasarı azalttığını ve reaktif oksidatif stresten koruduğunu göstermişlerdir (126).

Bir başka çalışmada da Krakowska ve arkadaşlarının havayı kirleten en önemli toksik gazlardan olan ozonun DNA hasarına, spermatozoa hareketliliğinde azalmaya ve spermatozoa ile oosit birleşmesinde güçlükler yol açıcı etkisi üzerine E vitamininin etkisi ile ilgili ratlar üzerinde araştırma yapılmıştır. Ozon ile birlikte E vitamini verilen vakalarda spermatogenezin normal olarak gerçekleştiğini bulmuşlardır (127). İşte literatürdeki bu bilgiler ve çalışmalar ışığında fototerapinin testiste meydana getirdiği hasar üzerine koruyucu etkilerini araştırmak üzere bu çalışmada tedavi grubuna E vitamini verildi. Sonuçta da literatürle uyumlu olarak apoptozis ve spermatogenezis ile ilgili E vitamininin olumlu etkilerinin olduğu tespit edildi.

Bu çalışmayla ilgili akılda bulundurulması gereken bir nokta da yenidoğan ratların testisleri doğumdan sonraki ilk 3 haftada abdomende yerleşimli olmasıdır ve fototerapi boyunca ışık gonadlara ulaşmadan önce deri ve abdomenin diğer katlarını geçmelidir. Ancak karın katları ince olduğu ve yenidoğan testisi immatür olduğu için fototerapinin etkisinin değişmeyeceği düşünülebilir.

Sonuç olarak bu çalışma değerlendirildiğinde 72 saat sürekli fototerapi uygulanan yenidoğan ratların testislerinde meydana gelen histopatolojik değişikliklerden seminifer tübül çapı, Johnsen skorlaması ile spermatogenezis ve TUNEL yöntemi ile apoptozis incelendi. Tüm gruplarda seminifer tübül çapı ile ilgili istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı. TUNEL yöntemi ile apoptozisin semikantitatif değerlendirilmesinde, fototerapi grubunda apoptozisin arttığı, E vitamini grubunda ise apoptozisin azaldığı bulundu. Spermatogenezis değerlendirmesinde ise fototerapi grubunda spermatogenezisin istatistiki olarak anlamlı olacak şekilde azaldığı ve E vitamini uygulanan grupta ise spermatogenezisin arttığı bulundu. Çalışmadaki bulgular değerlendirildiğinde seminifer tübül çapı ile ilgili daha önceki çalışmalardan farklı bir sonuç bulunması fototerapinin testisler üzerindeki hasarının belirlenmesinde seminifer tübül çapının yetersiz kalabileceği düşüncesini doğurmuştur. Bununla birlikte fototerapinin rat testislerindeki spermatogenezis ve apoptozis üzerine olan olumsuz etkileri nedeniyle yenidoğan fototerapisi sırasında gonadların mutlaka

korunması gerekebilir. Ayrıca fototerapinin rat testislerinde apoptozisi arttırıcı etkisi ve E vitamini ile apoptozisin azaldığının TUNEL yöntemi ile gösterilmesi ve spermatogenezisin Johnsen skorlaması kullanılarak azaldığının ilk defa bu çalışmada gösterilmesi de bu çalışmaya ayrı bir önem ve özellik katmaktadır. Bu çalışmada ki sonuçlar fototerapinin testise olan yan etkileri ve E vitamininin koruyucu etkisi ile ilgili gelecekteki çalışmalara ışık tutabilir.

6. SONUÇLAR

Fototerapi uygulanan ratların testislerinde meydana gelen histopatolojik değişikliklerin ve uygulanan E vitamininin bu değişiklikler üzerine etkisinin sonuçları

- 1) Fototerapi uygulanan grupta testis seminifer tübül çapı diğer gruplara göre azalmış olsa da aralarında anlamlı bir azalma mevcut değildi ($p>0.05$).
- 2) Kontrol grubu ile E vitamini grubu arasında da testis seminifer tübül çapı açısından anlamlı bir fark gözlenmedi ($p>0.05$).
- 3) Testislerin spermatogenezis değerlendirilmesinde, fototerapi grubunda spermatogeneziste Kontrol ve E vitamini grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi ($p<0.05$).
- 4) Testislerin spermatogenezis değerlendirilmesinde, Kontrol grubu ile E vitamini grubu arasında anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$).
- 5) Apoptozisin semikantitatif değerlendirilmesinde kontrol grubunun testislerinde seminifer tübüllerdeki germinal seriye ait hücrelerde apoptozisin fototerapi grubuna oranla kısmen az olduğu gözlemlendi.
- 6) Apoptozisin semikantitatif değerlendirilmesinde fototerapi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında apoptozisin belirgin arttığı tespit edildi.
- 7) Apoptozisin semikantitatif değerlendirilmesinde E vitamini grubunda, kontrol ve fototerapi grubuna göre apoptozisin azaldığı gözlemlendi.

7. ÖZET

GİRİŞ

Yenidoğan döneminde indirekt hiperbilirubinemi çok sık görülür. Tedavisinde en sık kullanılan yöntem fototerapidir. Çok yaygın bir şekilde kullanılan fototerapinin bilinen birçok yan etkisi mevcuttur. Ancak fototerapinin testisler üzerine olan yan etkileri ile ilgili az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalarda koruyucu olarak kullanılmış olan bir madde yoktur.

Bu çalışmanın amacı fototerapinin rat testislerinde oluşturduğu histopatolojik değişiklikleri saptamak ve önemli antioksidanlardan olan E vitamininin bu değişiklikler üzerine etkisini değerlendirmektir.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmaya 15 Wistar albino gebe ratla başlandı. Gebe ratlar doğurduktan sonra gruplar oluşturuldu. Gruplar kontrol grubu (n:28), fototerapi grubu (n:23) ve E vitamini + fototerapi grubu (n:34) olarak belirlendi. Deney doğumdan 12 saat sonra gerçekleştirildi. Önce fototerapi grubuna 72 saat sürekli fototerapi uygulandı. E vitamini grubuna ise önce 30 mg/kg dozunda intramusküler E vitamini ve ardından 72 saat sürekli fototerapi uygulandı. İkinci ayın sonunda cinsiyetler belirlendi. Her gruptan 10 erkek rat 24 haftalık oluncaya kadar takip edildi. 24. haftada tüm ratların sol testisleri alındı.

Alınan testislerden histopatolojik olarak hematoxilen- eozin ile boyama ile seminifer tübül çapları ve Johnsen skorlaması ile de spermatogenezis istatistikî olarak değerlendirildi. Ayrıca TUNEL yöntemi ile apoptozis semikantitatif olarak değerlendirildi.

BULGULAR

Çalışmada elde edilen veriler değerlendirildiğinde seminifer tübül çaplarında gruplar arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0.05$). Spermatogenezis sonuçlarında ise fototerapi grubunda spermatogeneziste, kontrol ve E vitamini grubuna göre anlamlı bir azalma olduğu tespit edildi ($p<0.05$). Ayrıca kontrol grubu ile E vitamini grubu arasında spermatogenezis değerlendirilmesinde anlamlı bir fark yoktu ($p>0.05$). Apoptozis verilerine göre fototerapi grubunda kontrol grubu ile karşılaştırıldığında apoptozisin belirgin

arttığı tespit edildi. Bununla birlikte E vitamini grubunda, kontrol ve fototerapi grubuna göre apoptozisin azaldığı gözlemlendi.

SONUÇ

Fototerapinin, rat testislerinde spermatogenezi azalttığı ve apoptozisi ise arttırdığı gösterildi. Kullanılan E vitamininin ise fototerapinin rat testisinde oluşturduğu olumsuz etkilere karşı koruyucu özelliği olduğu tespit edildi.

8. SUMMARY

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN TESTES OF RATS EXPOSED TO PHOTOTHERAPY AND EFFECTS OF VITAMIN E ADMINISTRATION ON THESE CHANGES

INTRODUCTION

Indirect hyperbilirubinemia is present very often in the neonatal period. Phototherapy is the most common method for treatment. Although it is widely used it has many side effects. However, there are only a few studies associated with the side effects of phototherapy on the testes. In these studies, no protective substance was used to protect the testes.

The aim of this study was to determine the histopathological changes in rat testes after and exposure to phototherapy and evaluate the effects of Vitamin E on testes which is one of the important antioxidants.

MATERIAL AND METHODS

The study was started with providing fifteen pregnant Wistar albino rats. After birth, rats were separated into three groups. The groups were determined as control (n:28), phototherapy (n = 23) and vitamin E + phototherapy (n:34). Experimental study was performed 12 hours after the birth. Phototherapy was applied to phototherapy group and Vitamin E + phototherapy group for 72 continuous hours. IM Vitamin E (30 mg/kg) was injected to Vitamin E + phototherapy group just before the application of phototherapy. At the end of the second month, genders were separated. Then, 10 male rats per each group were observed until all rats reached the age of 24 weeks. At the age of 24 weeks, all the rats were operated on and the left testicles were removed. Specimens were evaluated histopathologically with hematoxyline-eosine staining, seminiferous tubule diameters, Johnsen spermatogenesis scoring and apoptosis detected with TUNEL method. Statistical analysis of seminiferous tubule diameters and spermatogenesis scores were performed but semi-quantitative evaluation was done for apoptosis.

RESULTS

There was no statistically significant difference in seminiferous tubule diameters between groups ($p > 0.05$). There was statistically significant decrease in spermatogenesis at the phototherapy group compared to other groups ($p < 0.05$). Also, there was no statistically significant difference in spermatogenesis between control and vitamin E groups ($p > 0.05$). According to results of apoptosis, apoptosis significantly increased at the group of phototherapy when compared with group of control. However, apoptosis significantly decreased at the group of group of vitamin E when compared with other groups.

CONCLUSION

In conclusion, it was shown that in rat testes exposed to phototherapy spermatogenesis was decreased and apoptosis was increased. Vitamin E was protective against the adverse effects of phototherapy on testes.

9. KAYNAKLAR

1. Açık Y, Deveci SE, Ulutasdemir N, İpekçi N. Yenidoğan Sarılığı ve Aile Eğitimi. Fırat Sağlık Hizmetleri Dergisi 2010; Cilt:5, Sayı:13: 62-77
2. Çetinkaya M, Köksal N, Özkan H. Yenidoğan Sarılıklarında Tedavi Yaklaşımları. Güncel Pediatri 2006; 3: 118-123
3. Kahveci M, Çeltik C, Acunaş B. Yenidoğan Dönemindeki Patolojik Sarılıklı Olguların Değerlendirilmesi. STED 2004; cilt 13, sayı 6:215-219
4. Bolat F, Uslu S, Bülbül A, Cömert S, Can E, Nuhoğlu A. Yenidoğan Ünitimizde İndirekt Hiperbilirubinemi Tanısı ile Yatırılan Term Yenidoğan Bebeklerin Değerlendirilmesi. Çocuk Dergisi 2010;10(2):69-74
5. Moerschel SK, Cianciaruso LB, Tracy LR. A Practical Approach to Neonatal Jaundice. American Family Physician 2008; 9:1255-1262 www.aafp.org/afp
6. Tan İ, Salihoğlu Ö, Demirelli Y, Hatipoğlu S. Clinical and laboratory characteristics and associated risk factors of infants hospitalized in neonatal unit due to indirect hyperbilirubinemia. Journal of Clinical and Experimental Investigations 2012; 3 (1): 38-43
7. Çayönü N, Bülbül A, Uslu S, Bolat F, Güran Ö, Nuhoğlu A. Yenidoğan bebeklerde son on yılda indirekt hiperbilirubinemi değişimi. Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni 2011;45(3):85-93
8. Stevenson DK, Vreman HJ, Wong RJ. Bilirubin Production and the Risk of Bilirubin Neurotoxicity. Seminars in Perinatology 2011; 35:121-126
9. Ives NK. Management of neonatal jaundice. Pediatrics and Child Health 2011 ;21:6:271:276
10. Bülbül A, Okan F, Uslu S, İşçi E, Nuhoğlu A. Term bebeklerde hiperbilirubineminin klinik özellikleri ve risk etmenlerinin araştırılması. Türk Pediatri Arşivi 2005; 40: 204- 210
11. Waldrop JB, Anderson CK, Brandon DH. Guideline-based Educational Intervention to Decrease the Risk for Readmission of Newborns With Severe Hyperbilirubinemia. Journal of Pediatric Health Care 2011;1-11 www.jpahc.org

12. Evans D. Neonatal jaundice. Clinical Evidence 2007;06:319:1-10
13. Madan A, MacMahon JR. Neonatal hyperbilirubinemia. In Taeush HW, Ballard RA, Gleason CA, eds. Avery's Diseases of the Newborn. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2005:1226-1256
14. Alpay F. Sarılık. Yurdakök M, Erdem G (eds). Neonatoloji. 2.Baskı. Ankara, Alp Ofset I. 2004.p.559-78.
15. Ovalı F. İndirekt Hiperbilirubinemi. Ed: Dağoğlu T, Ovalı F. Neonatoloji, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi , 2007: 516-535.
16. Can G, Çoban A, İnce Z. Yenidoğanda Sarılık . Ed: Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri.İstanbul:Nobel Tıp Kitapevi 2010:467-490
17. Maisels MJ. Jaundice. In MacDonald MG, Seshia MMK, Mullett MD, eds. Avery's Neonatology Pathophysiology and Management of the Newborn. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins, 2005:68-784.
18. Çoban A.İndirekt Hiperbilirubinemi Tedavisi.Güncel Pediatri 2006; 4 (1) :114-117
19. McDonagh AF. Phototherapy: From Ancient Egypt to the New Millennium. Journal of Perinatology 2001; 21: 7–12.
20. Cremer RJ, Perryman PW, Richards DH. Influence of light on the hyperbilirubinemia of infants. Lancet. 1958; 7030:1094-1097.
21. Stokowski LA. Fundamentals of phototherapy for neonatal jaundice. Adv Neonatal Care. 2006;6(6):303-312.
22. Dobbs RH, Cremer RJ: Phototherapy. Arch Dis Child 50:833-836, 1975
23. Lucey J, Ferreiro M, Hewitt J. Prevention of hyperbilirubinemia of prematurity by phototherapy. Pediatrics 1968;41:1047-1054
24. American Academy of Pediatrics: Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. Pediatrics. 2004; 114:297-316
25. Maisels MJ, Watchko JF. Treatment of jaundice in low birth weight infants. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed. 2003;88:459-563.
26. Acunaş B. Hiperbilirubinemi Tedavi. Güncel Pediatri 2008;6(1):114-118
27. Vreman HJ, Wong RJ, Stevenson DK. Phototherapy: Current methods and future directions. Seminars In Perinatology 2004;28(5):326-333.

28. Ebbesen F, Madsen P, Stovring S, Hundborg H, Agati G. Therapeutic effect of turquoise versus blue light with equal irradiance in preterm infants with jaundice, *Acta Paediatrica* 2007;96:837-841
29. Hart G, Cameron R. The importance of irradiance and area in neonatal phototherapy. 2005;90:437-440
30. Tan KL. The pattern of bilirubin response to phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia. *Pediatr Res* 1982;16:670-674
31. Maisels MJ. Why use homeopathic dose of phototherapy? *Paediatrics* 1996;98:283–7.
32. Bhutani VK. Performance Evaluation for Neonatal Phototherapy. *Indian Pediatrics* 2009;46:19-21
33. Bhutani VK, Cline BK, Donaldson KM, Vreman HJ. The Need to Implement Effective Phototherapy in Resource-Constrained Settings. *Seminars in perinatology* 2011;35:192-197
34. Sisson TR, Glauser SC, Glauser EM, Tasman W, Kuwabara T. *J Pediatr* 1970;77:221-7
35. Reynolds JD, Hardy RJ, Kennedy KA, Spencer R, van Heuven WA, Fielder AR. Lack of efficacy of light reduction in preventing retinopathy of prematurity. Light Reduction in Retinopathy of Prematurity Cooperative Group. *N Engl J Med* 1998;338: 1572–6
36. Drew JH, Marriage KJ, Bayle VV, Bajraszewski E, Mcnamara JM. Phototherapy Short and long-term complications. *Archives of Disease in Childhood* 1976;51:454-458
37. Wu PYK, Hodgman JE, Kirkpatrick BV, White NB, Bryla DA. Metabolic aspects of phototherapy. *Pediatrics* 1985;175:427-33
38. Tan KL. Phototherapy for neonatal jaundice. *Clin. Perinatol.* 1991; 18: 423–39
39. Mehta S, Kumar P, Narang A. A randomized controlled trial of fluid supplementation in term neonates with severe hyperbilirubinemia. *J Pediatr.* 2005 Dec;147(6):781-5.
40. Maisels MJ, McDonagh AF. Phototherapy for neonatal jaundice. *N. Engl. J. Med.* 2008; 358: 920–8

41. Boz J, Serrano MM, Martin T. Annular Lesions Following Phototherapy in a Newborn Infant. *Actas Dermosifiliogr.* 2008;99:487-8
42. Csoma Z, Hencz P, Orvos H et al. Neonatal Blue-Light Phototherapy Could Increase the Risk of Dysplastic Nevus Development. *Pediatrics* 2007;119:1036-1037
43. Cohen AN, Ostrow JD. New concepts in phototherapy: photoisomerization of bilirubin IX alpha and potential toxic effects of light. *Pediatrics.* 1980;65(4):740-50.
44. Yurdakök M, Yiğit Ş. Yenidoğan sarılıkları. *Katkı Pediatri Dergisi* 1995;5:681-743
45. Raghavan K, Thomas E, Patole S, Muller R. Is phototherapy a risk factor for ileus in high-risk neonates? *J Matern Fetal Neonatal Med.* 2005;18(2):129-131
46. Hakanson DD, Bergstrom WH. Phototherapy-induced hypocalcemia in newborn rats: prevention by melatonin. *Science* 1981;214:807-809
47. Xiong T, Tang J, Mu DZ. Side effects of phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* 2012;14(5):396-400
48. Bader D, Kugelman A, Blum DE, Riskin A, Tirosh E. Effect of phototherapy on cardiorespiratory activity during sleep in neonates with physiologic jaundice. *Isr Med Assoc J.* 2006;8:12-6
49. Hadjigeorgiou E, Triliouri D, Trichopoulou A, et al. Influence of Phototherapy on the Serum Lipids of Jaundiced Newborn Infants. *Pediatric Research* 1978; 12:690–694
50. Speck VT, Chen CC, Rosenkranz HS. In Vitro Studies of Effects of Light and Riboflavin on DNA and HeLa Cells. *Pediat. Res* 1975; 9: 150-153
51. Khera MS, Grupta CR. Incidence of thrombocytopenia following phototherapy in hyperbilirubinemic neonates. *MJAFI* 2011;67:329–332
52. Maurer HM, Fratkin M, McWilliams NB, Kirkpatrick B, Draper D, Haggins JC, Hunter CR. Effects of phototherapy on platelet counts in low-birthweight infants and on platelet production and life span in rabbits. *Pediatrics.* 1976;57(4):506-12

53. Maurer HM, Haggins JC, Still WJ. Platelet injury during phototherapy. *Am J Hematol.* 1976;1(1):89-96
54. Pishva N, Pishva H. Incidence of thrombocytopenia in hyperbilirubinemic neonates during phototherapy. *Acta Medica Iranica* 2000;38:7-9
55. Abrol P, Sankarasubramanian R. Effect of phototherapy on behaviour of jaundiced neonates. *Indian J Pediatr* 1998;65(4):603-607
56. Ju SH, Lin CH. The effect of moderate non-hemolytic jaundice and phototherapy on newborn behavior 1991. *Zhonghua Min Guo Xiao Er Ke Yi Xue Hui Za Zhi* 32:31-41.
57. Usatin D, Liljestrand P, Kuzniewicz MW et al .Effect of neonatal jaundice and phototherapy on the frequency of first-year outpatient visits. *Pediatrics* 2010; 125:729-734
58. Chen A, Du L, Xu Y et al .The effect of blue light exposure on the expression of circadian genes: *bmal1* and *cryptochrome 1* in peripheral blood mononuclear cells of jaundiced neonates. *Pediatr Res* 2005;58:1180-1184
59. Kurt A, Aygun AD, Kurt AN, Akarsu S, Yılmaz E . Use of phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia affects cytokine production and lymphocyte subsets. *Neonatology* 2009 95:262-266
60. Procianoy RS, Silveira RC, Fonseca LT et al .The influence of phototherapy on serum cytokine concentrations in newborn infants. 2010; *Am J Perinatol* 27:375-379
61. Aycicek A, Kocyigit A, Erel O, Senturk H .Phototherapy causes DNA damage in peripheral mononuclear leukocytes in term infants. *J Pediatr (Rio J)* 2008; 84:141-146
62. Tatli MM, Minnet C, Kocyigit A, Karadag A .Phototherapy increases DNA damage in lymphocytes of hyperbilirubinemic neonates. *Mutat Res* 2008; 654:93-95
63. Maverakis E, Miyamura Y, Bowen MP et al. Light, including ultraviolet. *J Autoimmun* 2010;34: 247-257
64. Gloria-Bottini F, Bottini E .Is there a role of early neonatal events in susceptibility to allergy? *Int J Biomed Sci* 2010; 6:8-12

65. Matichard E, Le Henanff A, Sanders A et al .Effect of neonatal phototherapy on melanocytic nevus count in children. *Arch Dermatol* 2006;142:1599–1604
66. Karadag A, Yesilyurt A, Unal S et al.A chromosomaleffect study of intensive phototherapy versus conventional phototherapy in newborns with jaundice. *Mutat Res* 2009; 676:17–20
67. Leiter U, Garbe C .Epidemiology of melanoma and nonmelanoma skin cancer—the role of sunlight. *Adv Exp Med Biol* 2008; 624:89–103
68. Maisels MJ, Kring EA, DeRidder J .Randomized controlled trial of light-emitting diode phototherapy. *J Perinatol* 2007; 27:565–567
69. Seidman DS, Moise J, Ergaz Z et al .A new blue lightemittingphototherapy device: a prospective randomized controlled study. *J Pediatr* 2000; 136:771–774
70. Seidman DS, Moise J, Ergaz Z et al .A prospectiverandomized controlled study of phototherapy using blue andblue-green light-emitting devices, and conventional halogenquartz phototherapy. *J Perinatol* 2003; 23:123–127
71. Berg P, Lindelof B .Is phototherapy in neonates a riskfactor for malignant melanoma development? *Arch Pediatr Adolesc Med* 1997, 151:1185–1187
72. Brewster DH, Tucker JS, Fleming M et al Risk of skincancer after neonatal phototherapy: retrospective cohort study.*Arch Dis Child* 2010; 95:826–831
73. Cnattingius S, Zack M, Ekblom A, Gunnarskog J, Linet M, Adami HO. Prenatal and neonatal risk factors for childhood myeloid leukemia. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 1995;4:441-5.
74. Soyer T, Ayva Ş, Aliefendioğlu D et all. Effect of phototherapy on growth factor levels in neonatal rat skin. *Journal of Pediatric Surgery* 2011;46: 2128–2131
75. Romagnoli C, Polidori G. Growth and Phototherapy. *J Pediatr* 1977;91:164-5
76. Atabek ME, Pirgon O, Kurtoglu S et all. Effects of phototherapy on the growth plate in newborn rats. *J Pediatr Orthop* 2006; 26(1):144-7

77. Atabek ME, Pirgon O, Esen HH. Protective effect of pentoxifylline on growth plate in neonatal rats following long-term phototherapy. *Pediatr Res.* 2007;62(2):163-6.
78. Kehyayan E, Galdi I, Pellicciotta G, Girardi AM, Caviezel F. Effect of phototherapy on plasma levels of GH, LH and FSH in the newborn. *J Endocrinol Invest.* 1985;8:561-565.
79. Vanhaesebrouck P, De Bock F, Zecic A, De Praeter C, Smets K, De Coen K, et al. Phototherapy-mediated syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone in an in utero selective serotonin reuptake inhibitor-exposed newborn infant. *Pediatrics.* 2005;115:508-11.
80. Ergenekon E, Gucuyener K, Dursun H, Erbas D, et al. Nitric oxide production in newborns under phototherapy. *Nitric Oxide.* 2002;6:69-72.
81. Whittington PR, Alanso EM. Disorders of Bilirubin Metabolism. In Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. Nathan DG, Orkin SH, eds. Philadelphia: W.B.Saunders, 1988:79-113
82. Sola A. Turn off the lights and the oxygen, when not needed: phototherapy and oxidative stress in the neonate. *J Pediatr (Rio J).* 2007;83(4):293-296
83. Aycicek A, Erel O. Total oxidant/antioxidant status in jaundiced newborns before and after phototherapy. *J Pediatr (Rio J).* 2007;83(4):319-322.
84. Christensen T, Reitan JB, Kinn G. Single-strand breaks in the DNA of human cells exposed to visible light from phototherapy lamps in the presence and absence of bilirubin. *J Photochem Photobiol B.* 1990;7:337-46
85. Kumar A, Pant P, Basu S, Rao GR, Khanna HD. Oxidative stress in neonatal hyperbilirubinemia. *J Trop Pediatr.* 2007;53:69-71
86. Karakukçu Ç, Ustdal M, Ozturk A, et al. Assessment of DNA damage and plasma catalase activity in healthy term hyperbilirubinemic infants receiving phototherapy. 2009;680:12-16
87. El-Abdin MYZ, El-Salam MA, et al. Phototherapy and DNA changes in full term neonates with hyperbilirubinemia. *The Egyptian Journal of Medical Human Genetics* 2012; 13: 29–35
88. Altunhan H, Koç H, Topgâç Z. Fototerapinin kısa ve uzun süreli yan etkileri. *Genel Tıp Derg* 1997;7(1):47-50

89. Cohen SM. Jaundice in the full-term newborn. *Pediatr Nurs*. 2006;32:202-208.
90. Koç H, Altunhan H, Dilsiz A, et al. Testicular Changes in Newborn Rats Exposed To Phototherapy. *Pediatric and Developmental Pathology* 1999;2:333-336
91. Cetinkursun S, Demirbağ S, Cincik M, Baykal B, Gunal A Effects of Phototherapy on Newborn Rat Testicles. *Archives of Andrology* 2006;52:61-70
92. Sadler TW: Urogenital system. *Langman's medical embryology*.1993 VI. Baskı. 260-96
93. Başaklar AC. Skandalakis cerrahi anatomi. Ankara: Palme yayıncılık, 2008
94. Başaklar AC. İnmemiş testis. *Bebek ve Çocukların Cerrahi ve Ürolojik Hastalıkları 2. cilt*. Ankara. Palme Yayıncılık, 2006:1717-1752
95. Cumhuriyet M. Netter insan anatomisi atlası 3. Baskı. İstanbul : Nobel Tıp Kitabevleri, 2005
96. Moore KL. Clinically oriented anatomy. Lippincott and Wilkins, 1992
97. Spermatogenezin şekil ile açıklaması.1 www.ossbiyoloji.net
98. Duke J. B. The biology of oxygen radicals. *Science*. 1978; 201:875-880
99. Halliwell B , Gutteridge J M. Free radicals in Biology and Medicine. Third edition, Oxford University Press, New York. , 1999; 36-225
100. Akkus i. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Mimoza Yayınları, 1. Baskı. Konya 1995; 1-84.
101. Seven A, Candan G. Antioksidant defense systems. *Cerrahpasa J Med*. 1996; 27: 41-50.
102. Kılınç C, Özcan O, Karaöz E. Vitamin E reduces bleomycin-induced lung fibrosis in mice: biochemical and morphological studies. *Journal of Basic&Clinical Physiology&Pharmacology*. 1993;4(3):249-269
103. Momeni HR, Oryan S, et al. Effect of vitamin E on sperm number and testis histopathology of sodium arsenite-treated rats. *Reproductive Biology* 2012;12(2):171-181
104. Tomatır AG. Apoptoz: programlı hücre ölümü. *T Klin Tıp Bilimleri* 2003;23:499-508

105. Öztürk F. Apoptoz. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2002;9:143-148
106. Kumar V. Abbas A, Fausto N. Cellular Adaptations, Cell injury and Cell Death. In: Kumar V., Abbas A., Fausto N., eds. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease. 7th ed. Elsevier Philadelphia, 2005:26-32.
107. Johnsen SE. Testicular biopsy score count- a method for registration of spermatogenesis in human testis: normal values and results in 335 hypogonadal males. Hormones 1970;1:2-25
108. Rennie J, Burman-Roy S, Murphy MS .Neonatal jaundice: summary of NICE guidance. BMJ 2010; 340:c2409
109. Bryla DA .Randomized, controlled trial of phototherapy for neonatal hyperbilirubinemia. Development, design, and sample composition. Pediatrics 1985; 75:387–392
110. Hansen TW Twists and turns in phototherapy for neonatal jaundice. Acta Paediatr 2010; 99:1117–1118
111. Speck WT, Behrman AJ, Rosenkranz PG, Gordon D, Rosenkranz HS. Abnormal embryonic development of the American sea urchin following illumination of gametes with visible light from a phototherapy unit. Photochem Photobiol 1980;31:513–517
112. Speck WT. Effect of phototherapy on fertilization and embryonic development. Pediatr Res 1979;13:506
113. Yurtçu M, Abasiyanik A, Avunduk MC, Muhtaroglu S. Effects of melatonin on spermatogenesis and testicular ischemia-reperfusion injury after unilateral testicular torsion-detorsion. Journal of Pediatric Surgery 2008;48:1873-1878
114. Saygın M, Çalışkan S, Karahan N ve ark. Testicular apoptosis and histopathological changes induced by a 2.45 GHz electromagnetic field. Toxicol Ind Health. 2011;27(5):455-63
115. Kuş İ., Zararsız İ., Akpolat N ve arkadaşları. Deneysel Formaldehit Zehirlenmesinde Omega-3 Yağ Asitlerinin Testislerdeki Antiapoptotik Etkileri: İmmunohistokimyasal Bir Çalışma. Fırat Tıp Dergisi 2008, 13(3): 162-166

116. Gavrieli Y, Sherman Y, et all. Identification of Programmed Cell Death In Situ via Specific Labeling of Nuclear DNA Fragmentation J Cell Biol.1992 ;119(3):493-501.
117. Villaseñor RM, Ojeda I, et all. Protective effect of a-tocopherol on damage to rat testes by experimental cryptorchidism. Int. J. Exp. Path. 2011; 92:131–139.
118. Greco E, Iacobelli M, et all. Reduction of the Incidence of Sperm DNA Fragmentation by Oral Antioxidant Treatment. Journal of Andrology 2005;26(3):349-353
119. Gençoğlu G, Tosun M.Effects of isotretinoin on spermatogenesis of rats.Cutaneous and Ocular Toxicology 2010;Early Online:1-6
120. Taneli F, Vatansever S ve ark. The effect of spermatic vessel ligation on testicular nitric oxide levels and germ cell-specific apoptosis in rat testis.Acta histochemica 2005;106:459-466
121. Nemmiche S, Chabane-Sari D, Guiraud P. Role of alphetocopherol in cadmium-induced oxidative stress in Wistar rat's blood, liver and brain. Chem. Biol. Interact. 2007;170, 221–230
122. Özcan O, Karaöz E, Dağdeviren A.Sıçanlarda rektal yoldan uygulanan asetik asitin neden olduğu deneysel kolit ve buna e vitamininin etkisi.Gata Bülteni.1993;35:29-37
123. Akazawa N, Mikami SI, Kimura SI.Effects of vitamin e deficiency on the hormone secretion of the pituitary-gonadal axis of the rat.Tohoku J Exp Med.1987;152:221-229
124. Mather JP, Saez JM, Dray F.Vitamin e prolongs survival and function of porcine leydig cells in culture.Acta Endocrinologica.1983;102:470-475
125. Ranade AV, Tripathi Y, et all. Effect of vitamin E administration on histopathological changes in rat testes following torsion and detorsion. Singapore Med J.2011;52(10):742-6
126. Han WK, Jin MH, Han SW. Effect of vitamin E on oxidative stress in the contralateral testis of neonatal and pubertal hemicastrated rats. J Pediatr Urol. 2012 ;8(1):67-71

- 127.** Krakowska MJ, Bomba G, Jakubowski K. Impact of oxidative stress and supplementation with vitamins e and c on testes morphology in rats. *Journal of Reproduction and Development*. 2006;52(2):203-209