

EBUBEKİRACAR	DİCLE ÜNİVERSİTESİ SAĞ. BİL. ENST.	YÜKSEK LİSANS TEZİ	DİYARBAKIR-2023
--------------	------------------------------------	--------------------	-----------------



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PUBERTA ÖNCESİ VE SONRASI DÖNEMDEKİ KEDİLERİN
TESTİSLERİNDE İNTERLÖKİN-33 VE RESEPTÖRÜ ST2'NİN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK GÖSTERİLMESİ**

Ebubekir ACAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet Erdem AKBALIK

DİYARBAKIR-2023



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**PUBERTA ÖNCESİ VE SONRASI DÖNEMDEKİ KEDİLERİN
TESTİSLERİNDE İNTERLÖKİN-33 VE RESEPTÖRÜ ST2'NİN
İMMUNOHİSTOKİMYASAL OLARAK GÖSTERİLMESİ**

Ebubekir ACAR
YÜKSEK LİSANS TEZİ

VETERİNER HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Prof. Dr. Mehmet Erdem AKBALIK

Bu tez Dicle Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri tarafından SBE.21.018
numaralı proje olarak desteklenmiştir.

DİYARBAKIR-2023



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Veteriner Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Ebubekir ACAR'ın hazırladığı “Puberta Öncesi ve Sonrası Dönemdeki Kedilerin Testislerinde İnterlökün-33 ve Reseptörü ST2'nin İmmunohistokimyasal Olarak Gösterilmesi”başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

TARİH:28/04/2023

İmza

Danışman Prof. Dr. Mehmet Erdem AKBALIK

Jüri Üyeleri

Başkan Prof. Dr. Sema USLU

Üye Prof. Dr. Mehmet Erdem AKBALIK

Üye Dr. Öğr. Üyesi Uğur TOPALOĞLU

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun/.../.... tarih vesayılı kararıyla onaylanmıştır.

...../...../.....

Prof. Dr. Mahmut BALKAN

Dicle Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

28/04/2023

Ebubekir ACAR

TEŞEKKÜR

Büyük bir emek ve özveri ile hazırladığım yüksek lisans tezimi tamamlamanın heyecanını yaşamakta ve Allah'ın izni ile bu kıymetli aşamaya gelmeyi başarmış bulunmaktayım.

Tezimde beni yönlendiren, destek ve emeklerini esirgemeyen, öğrencisi olmaktan her zaman gurur duyacağım tez danışmanım Prof. Dr. M. Erdem AKBALIK'a,

Eğitimim boyunca yardımlarını esirgemeyen Anabilim Dalındaki Prof. Dr. M. Aydın KETANİ, Prof. Dr. Berna GÜNEY SARUHAN ve Prof. Dr. Hakan SAĞSÖZ hocalarıma,

Tezimin uygulama sürecinde ve son şeklini almasında her türlü yardımı yapan Anabilim Dalındaki Dr. Öğr. Üyesi Uğur TOPALOĞLU hocama,

Hayatım boyunca haklarını ödeyemeyeceğim, maddi ve manevibütün desteklerini her daim hissettiğim sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	v
TABLO VE ŞEKİLLER LİSTESİ	vi
1. TEZ METNİ	1
1.1. Türkçe Özet	1
1.2.İngilizce Özet	2
2. GİRİŞ VE AMAÇ	3
3. GENEL BİLGİLER.....	4
3.1 Testisin Embriyolojisi	4
3.2 Testisin Anatomik Yapısı	6
3.3 Testisin Histolojik Yapısı	8
3.3.1 Ductus epididymis.....	10
3.3.2 Ductus deferens.....	10
3.4 Sitokinler	11
3.4.1 İnterlökinler.....	12
3.4.2 IL-1 Aile üyelerinin fonksiyonları	13
3.4.3 İnterlökin-33 (IL-33).....	14
3.4.4 IL-33'ün biyolojik fonksiyonları	16
3.4.5 IL-33'ün ekspresyonu, konumu ve salınımı.....	17
3.4.6 IL-33 reseptörleri	17
3.4.7 ST2.....	18
3.4.8 ST2 geni	18
4. GEREÇ VE YÖNTEM.....	21
4.1 Deney Hayvanları.....	21
4.2 Doku Örnekleri	21
4.3 Yöntem	21
4.4 Histolojik Boyama.....	22
4.5 İmmunohistokimyasal Boyama	22

4.6 Boyama Sonuçlarının Değerlendirilmesi	23
5. BULGULAR	24
5.1 Histolojik Bulgular	24
5.2 İmmunohistokimyasal Bulgular	27
6. TARTIŞMA	31
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	35
8. KAYNAKLAR	36
9. ÖZGEÇMİŞ.....	47
10. EKLER.....	48
10.1. Etik Kurul İzni.....	48
11. ORJİNALLİK RAPORU	49

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

IL: İnterlökin

AMH: Antimüllerian Hormon

MIF: Müllerian İnhibitör Faktör

TBF: Testis Belirleyici Faktör

PTMC: Peritübüler Miyoid Hücreler

DD: Duktus Deferens

TNF: Tümör Nekrotize Edici Faktörler

IFN: İnterferonlar

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

IL-1Ra: IL-1 Reseptör Antagonisti

IL-18BP: IL-18 Bağlayıcı Protein

NF-HEV: Yüksek Endotelli Venüllerden Gelen Nükleer Faktör

IL1RL1: İnterleukin 1 Receptor-Like 1

BTB: Kan Testis Bariyeri

LPS:Lipopolisakkaridler

TABLOVE ŞEKİLLER LİSTESİ

Tablo 1. IL-1 Aile Üyeleri, Reseptörleri ve Özellikleri	14
Tablo 2. Yavru ve yetişkin kedi testislerinde IL-33 ve reseptörü ST2 immunoreaktiviteleri için yoğunluk dağılımı	29
Şekil 1. İç Genital Kanalların Gelişimi	6
Şekil 2. Testisin Anatomik ve Histolojik Genel Görüntüsü.....	8
Şekil 3. Testis Histolojisinin Şematik Gösterimi	9
Şekil 4. Puberta Öncesi ve Yetişkin Testis Dokularındaki Doğal Testis Yapılarının ve Hücre Yönelimlerinin Şematik Bir Gösterimi	10
Şekil 5. İnterlökin-33 (IL-33)'ün Bağışıklık Hücreleri Üzerinden Sinyali.....	17
Şekil 6. Yavru ve Yetişkin Testis Dokusunda Tubulus Seminiferous Contortus Görüntüsü.....	25
Şekil 7. Yavru ve Yetişkin Testis Dokusunda Ductus Epididymis Görüntüsü.....	26
Şekil 8. Yavru ve Yetişkin Testis Dokusunda Ductus Deferens Görüntüsü.....	26
Şekil 9. Yavru ve Yetişkin Testis Dokusunda Seminifer Tübüllerdeki IL-33 İmmunoreaktivitesi	27
Şekil 10. Yavru ve Yetişkin Testis Dokusunda Ductus Epididymis'deki IL- 33 İmmunoreaktivitesi	28
Şekil 11. Yavru ve Yetişkin Testis Dokusunda Ductus Deferens'deki IL-33 İmmunoreaktivitesi	29
Şekil 12. Yavru ve Yetişkin Testis Dokusunda Seminifer Tübüllerdeki ST2 İmmunoreaktivitesi	30
Şekil 13. Yavru ve Yetişkin Testis Dokusunda Ductus Epididimis'deki ST2 İmmunoreaktivitesi	31
Şekil 14. Yavru ve Yetişkin Testis Dokusunda Ductus Deferens'deki ST2 İmmunoreaktivitesi	31

1. TEZ METNİ

Puberta Öncesi ve Sonrası Dönemdeki Kedilerin Testislerinde İnterlökin-33 ve Reseptörü ST2'nin İmmunohistokimyasal Olarak Gösterilmesi

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Ebubekir ACAR

Danışmanı: Prof. Dr. Mehmet Erdem AKBALIK

Anabilim Dalı: Veteriner Histoloji ve Embriyoloji

1.1. Türkçe Özet

Amaç: Bu çalışmanın amacı sitokinlerin molekül gruplarından olan IL-1 aile üyesi interlökin-33 (IL-33) ve reseptörü ST2'nin kedi testislerindeki lokalizasyonu ile ekspresyonlarında puberta (cinsel olgunluk) öncesi ve sonrası değişimlerin ortaya konmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Bu çalışma Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Polikliniği'ne kısırlaştırma amacıyla getirilen, farklı yaşlarda ve ırklarda sağlıklı erkek kedilerde yapılmıştır. Bu amaçla puberta öncesi ve sonrası dönemlerdeki kedilerden elde edilen testis dokuları kullanılmıştır. Dokular % 10 nötral tamponlu formalin içinde + 4°C'de 24 saat fikse edilmiş ve rutin doku takibi işleminden geçirildikten sonra parafin bloklar elde edilmiştir. Kesitlere genel histolojik değerlendirme için Crossman'ın üçlü boyama yöntemi, immunohistokimya değerlendirmesi için ise IL-33 ve ST2 antikorları uygulanmıştır.

Bulgular: Yavruya ait testis dokusu yoğun bağ dokusundan oluşan (tunica albuginea) kapsülle çevriliydi ve burada yoğun kan damarları gözlendi. Yetişkin testis dokusu incelendiğinde seminifer tübüllerin lümenli bir yapıda olup seminifer epitel katmanında spermatogenik hücre serisindeki hücrelerin varlığı gözlendi. İmmunohistokimyasal boyama sonucunda IL-33 ve reseptörü ST2'nin seminifer tübüllerdeki hücrelerde ve değişen yoğunluklarda boyandığı gözlendi.

Sonuç: Bu sonuçla IL-33 ve reseptörü ST2'nin kedilerdeki gelişim sürecinde fonksiyonel rollerinin olabileceği düşünülmektedir.

Anahtar Sözcükler: kedi, testis, interlökin, IL-33, ST2

Immunohistochemical Demonstration of Interleukin-33 and its Receptor ST2 in the Testis of Pre- and Post-Pubertal Cats

Student's Surname and Name: ACAR Ebubekir

Adviser of Thesis: Prof. Mehmet Erdem AKBALIK

Department: Veterinary Histology and Embryology

1.2. İngilizce Özet

Aim: The aim of this study is to reveal the changes before and after puberty in the localization and expression of IL-1 family member interleukin-33 (IL-33) and its receptor ST2, which are among the molecular groups of cytokines.

Material and Method: This study carried out in healthy male cats of different ages and breeds, brought to Dicle University Veterinary Faculty Polyclinic for castration. For this purpose, testicular tissues obtained from cats before and after puberty used. Tissues were fixed in 10% neutral buffered formalin at +4°C for 24 hours and paraffin blocks were obtained after routine tissue follow-up. Crossman's triple staining method was used the sections for general histological evaluation, and IL-33 and ST2 antibodies were applied for immunohistochemistry evaluation.

Results: The testicular tissue of the juvenile was surrounded by a capsule of dense connective tissue (tunica albuginea) and dense blood vessels were observed. When the adult testicular tissue was examined, the seminiferous tubules had a luminal structure and the presence of cells in spermatogenic cell line in the seminiferous epithelial layer was observed. As a result of immunohistochemical staining, it was observed that IL-33 and its receptor ST2 were stained in cells of the seminiferous tubules and with varying intensities.

Conclusion: This result suggests that IL-33 and its receptor ST2 may have functional roles in the developmental process in cats.

Key Words: cat, testis, interleukin, IL-33, ST2

2. GİRİŞ VE AMAÇ

Evcil erkek kedilerin üreme sistemi üzerine yapılan çalışmalarda; üreme fizyolojisini anlamak, biyomedikal araştırmalara katkı sunmak ve nesli tükenmekte olan türlerin yanı sıra tehdit altında olan yabani kedigillerin devamlılığını sağlamak gibi konularda veri elde edildiği ve sonuçların önemli olduğu bildirilmiştir (1).

Erkek kedi üreme sisteminin; spermatogenez aşamasında spermatozoon üretmek, üretilen spermiyumların canlı kalmasına katkıda bulunan sıvıları salgılamak ve dişinin ürettiği yumurtayı döllemek amacıyla spermiyumları dişi üreme sistemine taşımak gibi birden çok fonksiyonu bulunmaktadır. Spermatogenezin gerçekleşmesini sağlayan testis; spermatozoon üretiminden sorumlu seminifer tübüllerden, spermiyumların canlılığını sürdürmek için gerekli olan besin maddelerini salgılayan sertoli hücrelerinden ve seminifer tübül aralarında testosteron hormonu salgılayan Leydig/interstisyel hücrelerden meydana gelir. Kıvrımlı seminifer tubüllerin birleşmesi sonucu üretilen spermatozoonların olgunlaşması, depolanması ve taşınması epididimis ve deferens kanalları vasıtasıyla gerçekleşir (2).

Sitokinler, uyaran etkisi ile immün ve non-immün hücrelerden sentezlenen medyatörlerdir ve mitoz, farklılaşma, hücre göçleri, hücre yaşamı ve hücre ölümü olaylarında düzenleyicidirler. Glikoprotein yapısındaki bu medyatörlerden hücreler arası uyarıcı veya baskılayıcı uyarılar taşıyanlar interlökin (IL) olarak adlandırılır. Bu protein moleküllerinden IL-1 sitokinleri, hedef hücrelerdeki etkisini plazma membranında bulunan reseptörler üzerinden gösterir (3,4,5,6).

Bu amaçla çalışmanın amacı, sitokinlerin molekül gruplarından olan IL-1 aile üyesi interlökin-33 (IL-33) ve reseptörü ST2'nin kedi testislerindeki lokalizasyonu ile ekspresyonlarında puberta (cinsel olgunluk) öncesi ve sonrası değişimlerin ortaya konmasıdır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Testisin Embriyolojisi

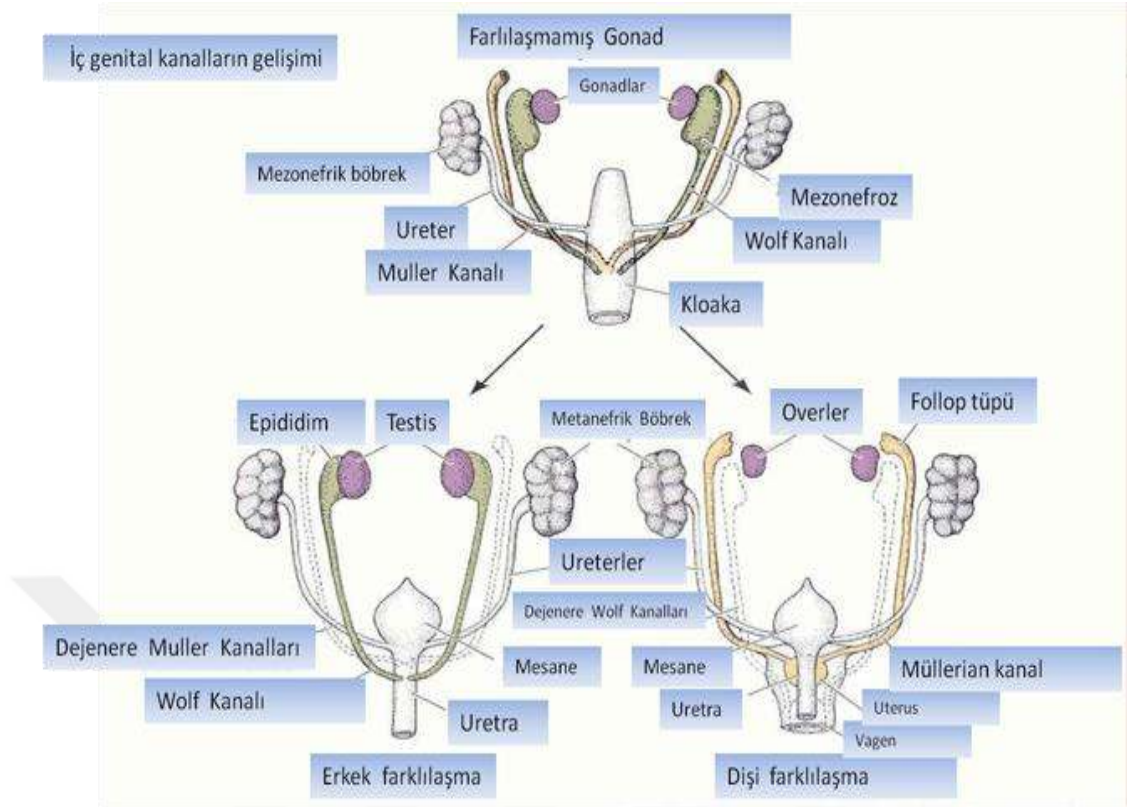
Organa genitalia masculina olarak isimlendirilen erkek üreme organları, spermatozoa'nın gelişimi, olgunlaşması, taşınması ve depolanması gibi görevleri yerine getiren organlardan oluşmaktadır. Bu organlar bir çift testis, epididymis, ductus deferens ve uretra'nın pars pelvinasından meydana gelmektedir. Testis'ler spermatozoa ve hormon üretiminden sorumludurlar. Spermatozoa'lar olgunlaşma sürecinde epididymiste depo edilirken, ductus deferens ile taşınarak üretraya akıtılması gerçekleşir (7).

Genital sistem embriyolojik olarak mezodermden köken alır. Cinsiyetin daha farklılaşmamış olduğu embriyolarda iki çift paramezonefrik (Müllerian) ve mezonefrik (Wollfian) kanallar yer almaktadır. Mezonefrik kanallar erkek üreme sisteminin gelişiminde kritik öneme sahip iken, paramezonefrik kanallar ise dişi üreme sistemi için kritik öneme sahiptir. Dişi embriyoları da testosteron hormonu salgılanmadığından mezonefrik kanalların gerilemesine yol açar. Ayrıca Sertoli hücrelerinden salgılanan Müller inhibe edici madde yokluğundan paramezonefrik kanal (Müller kanalı) gelişir (8).

Embriyo gelişiminin 5. haftasında gonadal gelişimin ilk aşamaları ortaya çıkar. Mezonefrozun medialinde, mezotelde bir kalınlaşma görülmeye başlanır. Bu epitelin ve altındaki mezenşimin proliferasyonu ile mezonefrozun medialinde bir kabarıklık-gonadal (genital) kabartı meydana gelir. Parmak şeklindeki epitelyal kordonlar - primer seks kordonları - altındaki mezenşim içerisine doğru en kısa zamanda gelişme gösterirler. Bununla birlikte daha farklılaşmaya uğramayan gonad, dışta yer alan bir medulladan meydana gelmektedir. Burada embriyo XX seks kromozomuna sahip ise, farklılaşmayan gonadın korteksi ovaryuma diferansiye olur ve medullası geriler. Embriyo XY seks kromozomunu taşıyorsa medulla testisi oluşturacak şekilde farklılaşır ve bununla birlikte kortekste bazı kalıntıları dışında küçülme ve dejenerasyon şekillenir (9).

Testisler genellikle Y kromozomu bulunduran embriyolarda gelişim göstermektedir. Testislerin gelişimi bir biri ile uyumlu bir seri genin indüksiyonu ile

gerçekleşir. Y kromozomunun kısa kolu üzerindeki yer alan testis belirleyici faktörler için SRY geni, farklılaşmamış gonadın testis olarak gelişiminde kritik bir rol almaktadır. Testis belirleyici faktör (TBF), primer seks kordonlarını uyararak, farklılaşmamış gonadın medullasının içine doğru uzamasına yardımcı olur. Burada dallanarak birbirleriyle anastomoz oluşturan kordonlar rete testisi meydana getirmiş olur. Kalın bir fibröz kapsül olan tunica albuginea şekillendikten sonra seks kordonlarının (seminifer- testiküler -kordonların), yüzey epiteli ile olan bağlantıları ortadan kalkmış olur. Hacimsel olarak büyüyen testis kademe kademe olacak şekilde dejenere olan mezonefroza ayrılır. Daha sonra da seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tübüli rekti ve rete testisi oluşturacak şekilde farklılaşır. Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) meydana getiren mezenşimden köken alırlar. Leydig hücreleri, gebeliğin sekizinci haftasını takiben androjenik hormonlar salgılamaya başlarlar. Bunu takiben testosteron ve andosteron mezonefrik duktusların ve dış genitalerin maskulin olarak farklılaşmasını indüklerler. Testosterona ilaveten fetal testisler glikoprotein bir hormon olan antimüllerian hormon (AMH) veya Müllerian İnhibitör Faktör (MIF) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. Sertoli hücreleri tarafından sentezlenen Antimüllerian hormon salgılanması puberteye kadar devam eder ve zaman ilerledikçe salgı düzeyi azalır. Bununla birlikte AMH, paramezonefrik duktusların gelişimini baskılar (10, 11).



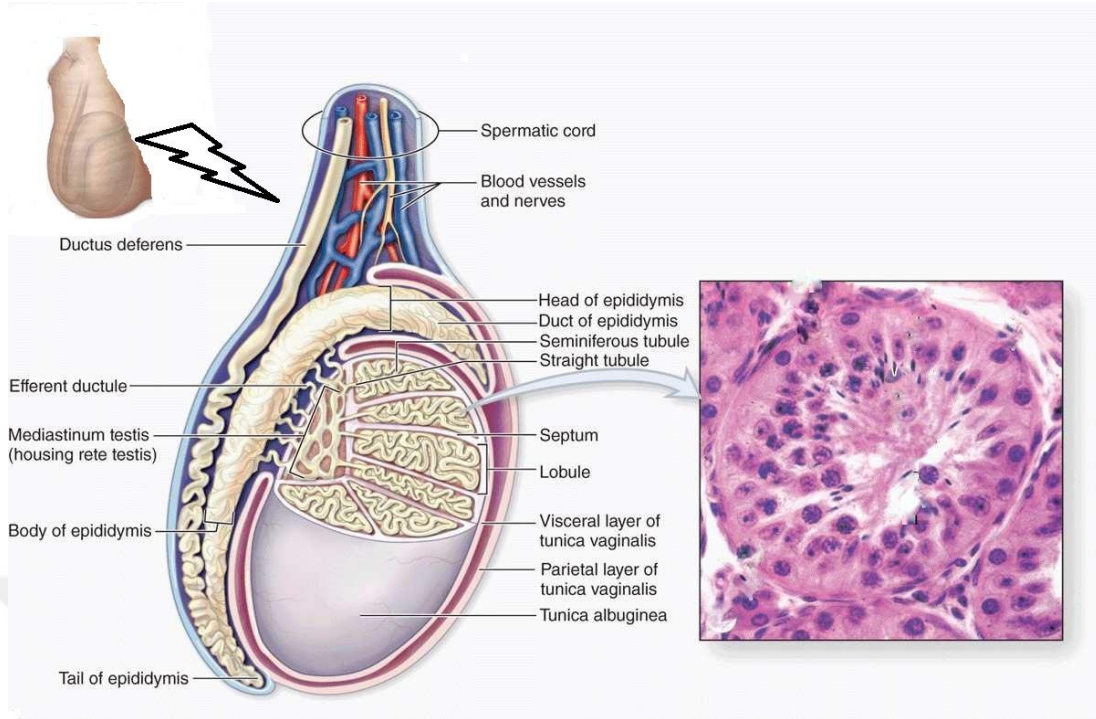
Şekil 1. İç genital kanalların gelişimi (12)

3.2 Testisin Anatomik Yapısı

Testisler (Grek dilinde ‘‘Orchis’’, latince ‘‘testis’’) erkek gonadları olarak bilinen bir çift organdır. Embriyolojik gelişim evrelerinden sonraki safhada testisler (gonadlar), cavum abdominis (karın boşluğu) içerisindeki bel bölgesinden scrotum tarafından çevrelenen proc. vaginalis içerisine göç eder ve bu olaya descensus testis adı verilir. Descensus testis’in ilk evresinde gubernaculum testis’in çapı ve uzunluğunda artış görülür ve canalis inguinalise doğru uzama gösterir. İkinci evrede ise bu yapıların boyu kısılması sonucu testisler processus vaginalis içerisinde toplanmış olur. Testislerin göç olayında karın içi basıncın artmasının da etkisi ile guberniculum aşağı doğru çekilir ve testisler inguinal bölgeye hareket etmiş olur. Descensus testis’in gerçekleşmesi spermatozoon üretimi açısından evcil memeli hayvanlarda kritik bir öneme sahiptir. Bunun nedeni testis’lerin scrotum içerisinde maruz kaldığı sıcaklık karın içi sıcaklığa göre daha az olmasından kaynaklanmaktadır. Testis’lerden birinin veya ikisinin descensus testisi tamamlayamamasına kriptorşidizim adı verilir. Bunlarla birlikte testis’ler fil, balina ve foklarda yaşamları süresince karın içinde kalıp, bu sıcaklıkta spermatozoon

retme özelliğine sahiptir. Kemiricilerde ise testis'ler çiftleşme esnasında scrotum içerisinde iken diğer geri kalan zamanlarda karın içinde kalacak şekilde periyodik bir yerleşme gösterirler (7, 13).

Testisler, birbirini tam anlamıyla örten ve yine bir birinin içinde yer alan tabakalar ile örtülüp çevrelenmiştir. Bu rtleri oluşturan yapıların tamamına tunika testis adı verilir. Bu rtler dıştan içeriye doğru; skrotum, tunika dartos, fascia spermatika eksterna, fascia kremastika ve musculus kremaster, fascia spermatika interna, tunika vaginalis testis ve tunika albuginea şeklinde sıralanır. Testisler, funikulus spermaticus vasıtası ile skrotum'da asılı şekilde görülür. Funikulus spermaticusda, ductus deferens, a. ductus deferentis, plexus ductus deferentis, arteria (a). testicularis, plexus testicularis, plexus pampiniformis, a. kremasterika, nervus (n). genitofemoralisin ramus genitalisi ve lenf damarları bulunur. Kıvrımlı bir deri kesesi olan skrotumun i yüzü, septum skroti (skrotal septum) ile ikiye ayrılır. Scrotum içinde asılı olarak yerleşim gösteren testis'ler; büyük baş hayvanlarda mavimtrak-beyaz, küçük hayvanlarda ise kırmızımsı renge sahiptir. Scrotum (cutis scroti) derisi ince ve elastikli bir yapıya sahiptir. Türlere göre seyrek veya sık kıllarla örtülü olup ter ve yağ bezlerinden zengindir. Scrotum at ve sığırılarda kasık bölgesinde, köpeklerde perianal bölgede, domuz ve kedilerde ise anüse çok yakın olacak şekilde görülür. Kedi ve köpeklerde skrotum derisi komşu bölgelerden belirgin olarak ayrılmamıştır (14, 15).

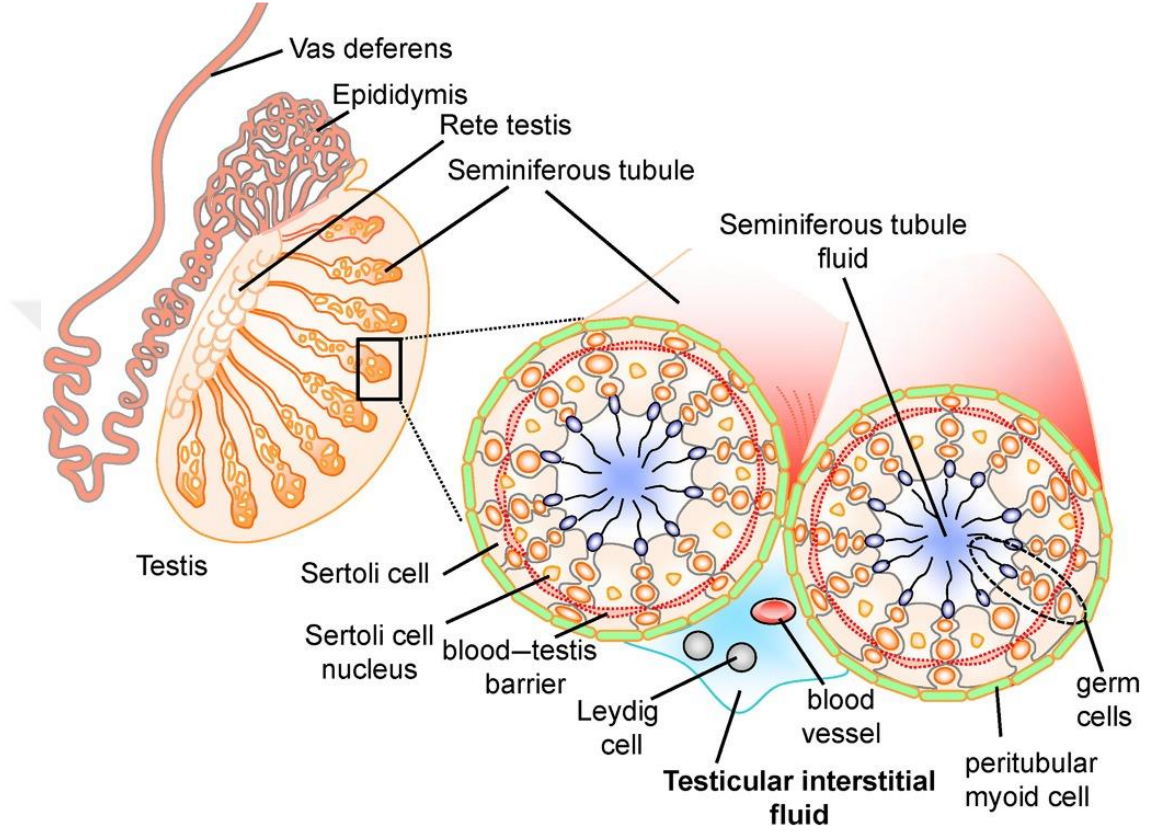


Şekil 2. Testisin anatomik ve histolojik genel görüntüsü. Spermatic cord (spermatik kord), Blood vessels and nerves (kan damarları ve sinirler), Head, Body, Tail of epididymis (Caput, corpus, cauda epididymis) Visceral and Parietal layer of tunica vaginalis (Tunica vaginalisin visseral ve pariyetal yaprakları) (16).

3.3 Testisin Histolojik Yapısı

Testislerin yüzeyi, kollajen lifler ve büyük kan damarlarını (a. ve v. testicularis) içeren 1-2 mm kalınlığında ve tunika albuginea olarak isimlendirilen fibromusküler kapsül ile sarılmıştır. Tunika albuginea bağ dokusu testisin arka yüzünden testis içine doğru uzanarak mediastinum testisi meydana getirir. Daha sonra ince bağ dokusundan meydana gelen septum, mediastinum testisten içeriye doğru uzanır ve her bir testisten, her biri 1-4 sarmal yapıları seminifer tübülleri içeren ortalama 250 adet bölmeye ya da testiküler lopçuklar meydana getirir. Burada şekillenen seminifer tübülleri, çoğalma gösteren spermatogenik (germ) hücrelerden, destek veya Sertoli hücrelerini barındıran çok katlı germinal epitel tabakasından oluşur. Burdaki tübüllerin bazal kısmında Sertoli hücrelerinin bazal tarafı ile spermatogonyumlar yer alır. Lümeneye doğru olan kısımda ise Sertoli hücrelerinin apikal kısımları, primer spermatositler, sekonder spermatositler, spermatidler ve sperm bulunur. Seminifer tübülleri; fibroblast, kas hücrelerine benzer miyoid hücreler, sinirler, kan damarları ve lenfatik damarlar ile

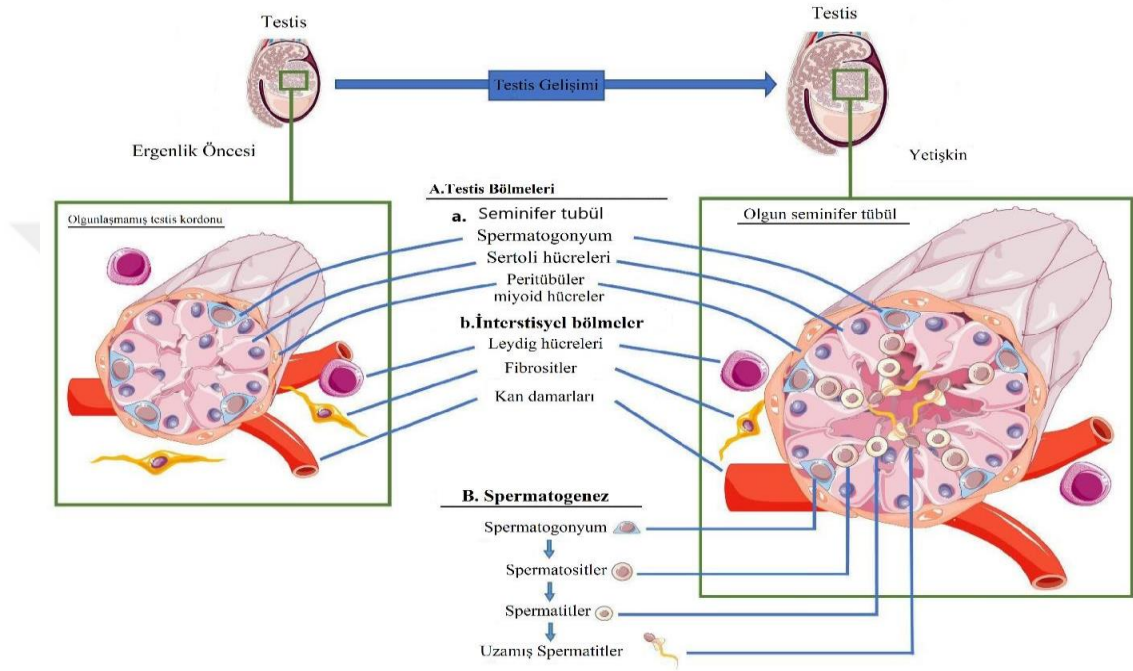
çevrelenmiştir. Bunların yanı sıra tübüller etrafında gevşek yapıda, bol damarlı bağ dokusu yerleşmiştir. Burada küçük gruplar halinde, vakuollu görünüme sahip endokrin hücreler görülür. Normal hücre boyutlarından büyük olan bu hücelere interstisyel (ara) veya Leydig hücreleri denir. Bu hücreler de testosteron hormonu üretir ve salgılarlar (7, 17, 18).



Şekil 3. Testis Histolojisinin Şematik Gösterimi. Sertoli cell (sertoli hücreleri), Sertoli cell nucleus (Sertoli hücre çekirdeği), Blood-testis barrier (kan testis bariyeri), Leydig cell (Leydig hücresi), blood vessel (kan damarı), germ cell (germ hücresi), peritubular myoid cell (peritübüler hücre), Seminiferous tubule fluid (seminifer tübül sıvısı) (19).

Testis immatür halden seksüel olarak olgun hale geçerken, immatür testis kordları seminifer tübülleri içeren lümende gelişir ve fonksiyonel sperm üretmek için spermatogenez geçirir. Testis dokusu (a) tübüler ve (b) interstisyel bölmelerden oluşur (Şekil 4). Testis kordları ve seminifer tübüller dahil olmak üzere tübüler bölme, Sertoli hücreleri ve peritübüler miyoid hücreler (PTMC'ler) gibi testis somatik hücreleri tarafından yapılır ve erkek germ hücrelerini (örn. spermatogonia) içerir (a). Tübüller arası hücreler; Leydig hücreleri, kan damarları ve bağ dokularından (fibroblastlar, fibrositler ve kollajen lifleri) oluşur. (B) Spermatogenez,

spermatogonia'nın (spermatogoniyal kök hücreler veya SSC'ler), spermatositler (birincil ve ikincil spermatositler), yuvarlak spermatitler ve daha sonra uzamış spermatitlere farklılaşan yuvarlak spermatitler dahil olmak üzere daha gelişmiş germ hücrelerine bölünmesi ve farklılaşmasıyla başlar (b). Olgun spermium daha sonra testis dışına taşınmak üzere seminifer tübülün merkezi lümenine salınır (20).



Şekil 4.Ergenlik öncesi ve yetişkin testis dokularındaki doğal testis yapılarının ve hücre yönelimlerinin şematik bir gösterimi(20).

3.3.1 Ductus epididymis

Testis kenarını sıkıca saran epididimis, bağ doku tarafından bir arada tutulan ince, uzun kıvrımlı halkalardan meydana gelmiştir. Testisin kapsülüne sıkıca yapışmış olup testisten gelen ductuli efferentes testisi alan kısmı caput edididymis daha sonra corpus ve cauda kısımlarından oluşmaktadır. Yalancı çok katlı sterosilyalı epitele sahip olan edididimiste; spermatoza olgunlaşır, testis sıvısı emilir, hücresel artıklar fagositte edilir ve spermatozoa için gerekli olan besinler sağlanarak ejakülasyona kadar spermatozoalar cauda bölümünde depolanır (7, 17).

3.3.2 Ductus deferens

Epididimisin devamı şeklinde olan Duktus deferens (DD) erkek üreme sisteminde ejakülasyon kanalına epididimisten spermi taşıyan kas yapılı küçük bir boru şeklinde olup ve kordon benzeri yapısından dolayı damara benzetilmektedir. Spermatozoaların taşınması için yalnız bir geçit olamamakla birlikte spermatozoa'nın yapısı, olgunlaşması, canlılığının korunması ve hayatta kalmasına pozitif katkıda bulunarak erkek doğurganlığında da kritik bir role sahiptir (21).

3.4 Sitokinler

Sitokinler, organizmada immun sisteminin düzenlenmesinde ve inflamatuvar olaylarda kritik öneme sahiptir. Lenfositlerin meydana getirdiği sitokinlere lenfokin, monositlerin meydana getirdiği sitokinlere ise monokin adı verilmektedir. Sitokinler yabancı antijenlere ve ajanlara karşı verilen yanıtların kontrol ve düzenlenmesinde kritik fonksiyonlar alırken aynı zamanda hücreler arası ilişkilerin düzenlenmesi, kontrol edilmesi gibi lokal ve sistemik inflamatuvar cevap oluşturmada değerli rollere sahiptirler. Hormonlara benzemekle beraber sitokinler özelleşmiş bir dokudan değil de birçok hücreden üretildiklerinden hormon olarak kabul edilmezler. Otokrin ve parakrin şekilde etkilerini gösterirler. Normalde hücreler istirahat ve olağan zamanlarda sitokin üretmez iken hücre aktivasyonundan sonra salgılama yapmaktadırlar (22). Sitokinler koordineli bir ağ gibi davranırlar ve büyük olasılıkla her biyolojik süreci, özellikle homeostaz, bağışıklık ve hastalıkta önemli etkilere sahiptirler (23).

Sitokinler; enfeksiyon hastalıklarında, hematopoezde, hücreler arası etkileşimde, hücre farklılaşması ve aktivasyonunda, embriyogenez-organ gelişiminde ve immün yanıtın düzenlenmesinde önemli biyolojik fonksiyonlara sahiptirler. Ayrıca sitokinler mitoz, farklılaşma, hücre göçleri, hücre yaşamı ve hücre ölümü olaylarında kontrol edicidirler. Sitokinler kondrosit bölünmesini, matriks sentezini ve yıkımını yavaşlatabilir veya hızlandırabilmekle birlikte, tek bir sitokin diğerinin etkisini başlatabilir veya antagonize etkisi yaratabilir. Sitokinler karakteristik olarak çoklu ve birbirlerinin içine geçen biyolojik aktiviteye sahip olup kendileri ve diğer sitokinler için reseptörlerin yapımı ve ekspresyonunu oluştururlar. Sitokinler

lenfositler, makrofajlar ve lökositler başta olmak üzere bağışıklık sistemi hücreleri tarafından sentezlenmektedir. Bunlarla birlikte endotel hücreleri ve fibroblastlar gibi diğer hücre tipleride sitokin sentezlemektedir. Sitokinler özellikle doğal bağışık yanıtta makrofajlar tarafından, kazanılmış immün yanıtta ise T hücreleri tarafından salgılanırlar (24-27).

Genel olarak sitokinlerin üretildikleri yer olan kaynaklarıve işlevleri dikkate alınarak aşağıdaki şekilde gruplandırılmıştır (27):

1. İnterlökinler (Lenfokinler, IL)
2. Koloni stimüle edici faktörler
3. Tümör nekrotize edici faktörler (TNF)
4. İnterferonlar (IFN)
5. Diğer sitokinler

3.4.1 İnterlökinler

"İnterlökin" (lökositler arasında) terimi ilk olarak 1979'da İsviçre'de ikinci uluslararası lenfokin çalıştayında lökositlerin işlevini etkileyen faktörleri tanımlamak için kullanılmıştır. Burada sekans homolojisi, yapısal benzerlik, bağlı reseptörler ve ayrıca üreten hücrelere dayalı olarak interlökinleri sınıflandırmak için bir dizi terminoloji önerilmiştir. Bu terminolojiler Dünya Sağlık Örgütü/Uluslararası İmmünoloji Dernekleri Birliği (WHO/IUIS) tarafından 1990'larda kabul edilmiştir (31). İnterlökinler (IL), ilk zamanlar yalnızca lökositler tarafından ifade edildiği düşünülen ancak daha sonra diğer birçok vücut hücresi tarafından üretildiği bulunan bir sitokin türüdür. IL'ler bağışıklık hücrelerinin aktivasyonu ve farklılaşmasının yanı sıra çoğalma, olgunlaşma, göç ve yapışmada önemli roller oynarlar. Ayrıca proinflamatuvar ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptirler. Bu nedenle, interlökinlerin birincil işlevi, inflamatuvar ve immün yanıtlar sırasında büyümeyi, farklılaşmayı ve aktivasyonu modüle etmektir. Ayrıca interlökinler, hücre yüzeylerindeki yüksek afiniteli reseptörlere bağlanarak hücre ve dokularda birçok reaksiyona neden olabilen geniş bir protein grubundan oluşur. Bunların dışında hem parakrin hem de otokrin fonksiyona sahip olan interlökinler, klinik tıpla ilgili yönleri araştırmak içinde deney hayvan çalışmalarında da kullanılmaktadır (29, 30).

Son yıllarda, yeni nesil dizilimlerinin ortaya çıkışı ve ek interlökinlerin sürekli keşfi, mevcut terminolojilerin karmaşıklığını arttırmaktadır. Buna dayanarak daha sonradan sunulan bir çalışmada, mevcut interlökin faktörlerinin kapsamlı bir incelemesi yapılmıştır. Bunlar sekans homolojisi, evrimsel ilişki, ortak reseptör zincirleri ve immünolojik fonksiyona dayalı olarak çeşitli ailelerde sınıflandırılmıştır. Yapısal bir yaklaşım açısından interlökinler; sınıf I, (IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-9, IL13, IL-15 ve IL21, IL-6, IL-11, IL-12, IL-23, IL-27, IL-3) 4 alfa sarmallı veya sınıf II, (IL-10, IL-19, IL-20, IL-22, IL-24, IL26, IL-28, IL-29) 6-7 alfa sarmallı proteinler ve β Trefoil protein yapısında IL-1 ailesi olarak sınıflandırılmıştır (28, 31, 32, 33).

IL-1 ailesi; IL-1 α , IL-1 β , IL-1R α , IL-18, IL-33, IL-36 α , IL-36 β , IL-36 γ , IL-36R α , IL-37 ve IL-38 dahil olmak üzere yaklaşık 11 üyeden oluşur (34) (Tablo 1). Bu sitokin ailesi, IL-1 benzeri sitokin alanının derlenen β -trefoil yapılarını içermesiyle karakterize edilirler (35-37). IL-1 ailesi üyelerinin birkaç önemli özelliği vardır. Hepsi IL-1 benzeri alana sahiptir (37). Proteinleri endoplazmik retikulum ve Golgi yoluna yönlendiren bir sinyal peptidi bulundurmazlar. Bundan dolayı da salınımları salgı lizozomları, eksozomlar veya ekzositoz vezikülleri yoluyla (38) veya hücreler nekroza maruz kaldığında (39) gerçekleşir. Ayrıca tüm üyeler, bir reseptör ve bir ko-reseptörden oluşan bir heterodimer reseptör kompleksi aracılığıyla sinyal verir (40). Bunlarla birlikte bazı üyeler, örneğin IL-1 α , IL-33 ve IL-37, hem çekirdekte bir transkripsiyon faktörü olarak hem de salındığında bir sitokin olarak ikili işlevlere sahiptir (40-42).

3.4.2 IL-1 Aile üyelerinin fonksiyonları

Bu interlökin ailesi normal bağışıklıkta ve hastalıkta farklı ama önemli rollere sahiptirler (43). IL-1 işlevi, IL-1 reseptör antagonisti (IL-1R α) tarafından düzenlenebilmektedir (44, 45). IL-18, esas olarak IL-18 bağlayıcı protein (IL-18BP) tarafından inhibe edilebilen IL-12'nin etkisini güçlendirmektedir (46, 47). IL-36, ortak reseptör kompleksini paylaşan ve dermatit ve akciğer iltihabında patojenik bir rol oynayan IL-36 α , IL-36 β ve IL-36 γ izoformlarından oluşur (48, 49). IL-36'nın işlevleri, hem IL-36 reseptör antagonisti (IL-36R α) hem de IL-36 bağlayıcı protein IL-38 tarafından kontrol edilir (34). IL-37, inflamatuvar yanıtı inhibe eden yakın

zamanda tanımlanmış bir immün düzenleyicidir (50). Son olarak, IL-33; ST2 ve IL-1RAcP aracılığıyla sinyal verir ve ağırlıklı olarak bağışıklıkta ve hastalıkta çözünür ST2 (sST2) reseptörü tarafından düzenlenebilen bir Th2 tepkisini indükler (51, 52, 53).

Tablo 1. IL-1 Aile Üyeleri, Reseptörleri ve Özellikleri (53)

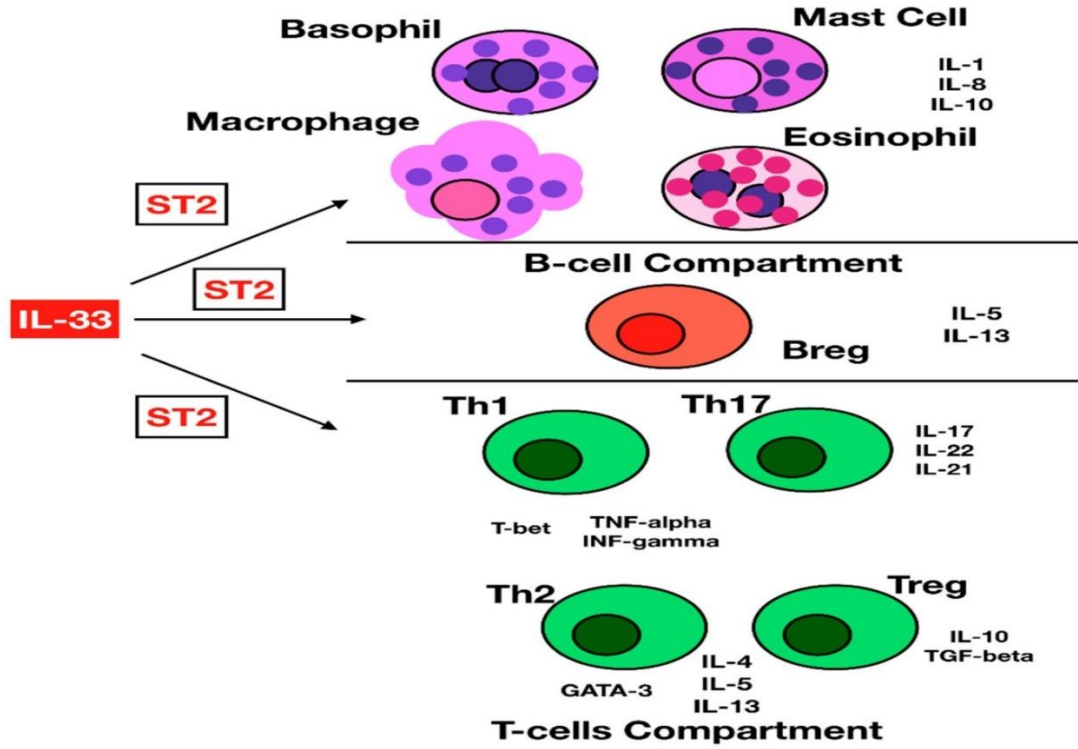
Sitokin	Aile ismi	Reseptör/Koreseptör	Özellik
IL-1 α	IL-1F1	IL-1RI, IL-1RAcP	Pro-inflamatuar
IL-1 β	IL-1F2	IL-1RI, IL-1RAcP	Pro-inflamatuar
IL-1Ra	IL-1F3	IL-1RI	IL-1 α,β için antagonist
IL-18	IL-1F4	IL-18R α , IL-18R β	Pro-inflamatuar
IL-33	IL-1F11	ST2, IL-1RAcP	Pro-inflamatuar
IL-36Ra	IL-1F5	IL-1Rrp2	IL-36 için antagonist
IL-36 α	IL-1F6	IL-1Rrp2, IL-1RAcP	Pro-inflamatuar
IL-36 β	IL-1F7	IL-1Rrp2, IL-1RAcP	Pro-inflamatuar
IL-36 γ	IL-1F8	IL-1Rrp2, IL-1RAcP	Pro-inflamatuar
IL-37	IL-1F7	IL-18R α , IL-18BP	Anti-inflamatuar
IL-38	IL-1F10	IL-1Rrp2	Antagonist

3.4.3 İnterlökin-33 (IL-33)

İnterlökin-33 (IL-33), IL-1 ailesinin bir üyesi olup endotel hücreleri, epitel hücreleri ve fibroblast tarafından ifade edilen bir sitokindir (54, 55). İlk olarak 1999'da köpek arterlerinde eksprese edilen DVS27 proteini (56) ve daha sonra 2003'te insan endotel hücrelerinde eksprese edilen “yüksek endotelli venüllerden gelen nükleer faktör” (NF-HEV) olarak tanımlandı (57). Son olarak, IL-33, 2005

yılında IL-1 ailesinin yeni bir üyesi olarak tanımlanmasının yanında Interlökin-1 reseptörü benzeri 1 (IL-1RL1, ST2L) ligandı olarak da kabul edildi (51). O zamandan beri, IL-33'ün doğuştan gelen bağışıklık, iltihaplanma ve atopik hastalıklardaki rolü geniş çapta kanıtlanmıştır (58).

IL-33'ün bağlanması, membran ST2'nin (ST2L olarak da adlandırılır) diğer IL-1 familyası üyeleriyle (IL1 α , IL1 β , IL-36) paylaşılan bir ko-reseptör olan IL-1RAcP ile etkileşime girer. IL-33/ST2/IL1RAcP kompleksi daha sonra MyD88 adaptörü, IRAK1 ve IRAK4 kinazları ve TRAF6 aracılığıyla MAP kinazlarının ve NF κ B transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonu ile sonuçlanan sinyalleşmeyi indükler. Hedef hücrelerde IL-33 tarafından aktive edilen sinyal yolları; IL-1 ve IL-18 tarafından aktive edilenlere çok benzer. ST2, IL-1R ve IL-18R'nin hedef hücreler üzerindeki farklı ifadesi, IL-33'ün benzersiz biyolojik etkilerini açıklamaya destek olacaktır. Yapısal olarak ST2'yi eksprese eden dokuda yerleşik bağışıklık hücreleri, IL-33'ün ana hedefleridir. Bunlara mast hücreleri, doğuştan gelen lenfoid hücrelerinde (ILC2'LER) grup 2 ve doku düzenleyici T (treg) hücreleri dahildir. Mast hücrelerinin, ILC2'lerin ve doku treg hücrelerinin çoğu (tümü değil) yüksek seviyelerde ST2'ye baskı yapar ve IL-33'ün bu dokuda yerleşik bağışıklık hücrelerinin kritik bir düzenleyicisi olduğuna dair destekleyici kanıtlar birçok çalışmada sağlanmıştır (59).



Şekil 5.İnterlökin-33 (IL-33) bağışıklık hücreleri üzerinden sinyal verir. Doku ve hücre hasarında, bu hücrelerden IL-33'ün salınmasına yol açar. IL-33 daha sonra birçok farklı bağışıklık hücrelerine sinyal göndererek işlevlerini geliştirir ve bağışıklık düzenlemesinde yer alan birkaç bağışıklık aracısını aktive eder. Macrophage (Makrofaj), Basophil (Bazofil), Mast cell (Mast hücresi), Eosinophil (Eosinofil), B-cell compartment (B hücresi bölümü), T-cell compartment (T hücresi bölümü) (60)

3.4.4 IL-33'ün biyolojik fonksiyonları

Esas olarak IL-33 hücre içinde bir transkripsiyon düzenleyici olarak veya hücre dışında bir sitokin olarak çalışabilir. IL-33 yapısal olarak eksprese edilmesine ve proteinin çekirdekte lokalize olmasına rağmen, nükleer fonksiyonu iyi anlaşılmamıştır. IL-33'ün, transfekte edilmiş hücrelerde (61) kromatin sıkışmasını (62) ve NF-κB transkripsiyonel aktivitesini düzenlediği gösterilmiştir (63).

Epitel hücreleri gibi doku hücreleri, IL-33'ün ana kaynağı olmakla birlikte, bu hücreler ayrıca IL-33 reseptörü ST2'yi eksprese eder ve IL-33'e yanıt verir. Örneğin, IL-33'ün goblet hücreleri tarafından CXCL8/IL-8 üretimini uyardığı gösterilmiştir (64). Bronş epitel hücrelerinde ve endotel hücrelerinde, IL-33'ün IL-8 ve IL-17F ekspresyonunu indüklediği ve rinovirüs kaynaklı CXCL10 üretiminde yer aldığı gösterilmiştir (65-67). Bu nedenle, IL-33, bu dokuda yerleşik hücrelerde kendi

kendini çoğaltan bir döngü içinde hareket edebilir (68). Bunlarla birlikte doğuştan bağışıklığa dahil olan birçok bağışıklık hücresi, mast hücreleri (69), grup 2 doğuştan gelen lenfoid hücreler (ILC2'ler) (70, 71), makrofajlar (72), DC'ler (73), eozinofiller (74), bazofiller, NK hücreleri (75, 76) ve NK T hücreleri (77) dahil olmak üzere ST2'yi eksprese eder. Ek olarak, adaptif bağışıklıkta yer alan hücreler, hem CD4+ T hücreleri (78) hem de CD8+ T hücreleri (68) dahil olmak üzere ST2'yi eksprese eder. IL-33'ün en iyi karakterize edilen işlevi, ILC2'ler ve CD4+ T hücrelerinin aracılık ettiği doğuştan gelen ve kazanılan tip 2 bağışıklık tepkilerinin başlatılması ve geliştirilmesidir (77).

3.4.5 IL-33'ün ekspresyonu, konumu ve salınımı

IL-33, beyin, akciğer, kalp, bağırsak, eklemler, deri, dalak ve lenf düğümleri dahil olmak üzere çeşitli dokularda yaygın olarak dağılım göstermektedir. IL-33; başta fibroblastlar, adipositler, düz kas, endotel ve epitel hücreler, makrofajlar ve dendritik hücreler dahil olmak üzere doğuştan gelen bağışıklık hücreleri olmak üzere çeşitli hematopoietik olmayan hücrelerde de eksprese edilir (79).

IL-33 çok düşük düzeyde sentezlenir ve homeostatik koşullarda serumda saptanması zordur. Fakat travma sırasında, enfeksiyöz ve enflamatuar durumlarında enfeksiyonun olduğu doku, organ ve serumda kolayca tespit edilebilir, böylece IL-33'ün inflammatuar gibi durumlarla yakından ilişkili olduğunu düşündürür (52, 80-83). Yapılan bir çok araştırmada IL-33'ün ekspresyonunun hücrelerin çekirdeğinde lokalize olduğu gösterilmiştir (84). Bunun nedeni, N-terminalinde IL-33'ün çekirdeğe yer değiştirmesine izin veren HTH ve NLS alanlarını içeren fl-IL-33 proteinidir. Bu, IL-33'ün yüksek endotelli venüllerden kaynaklanan bir nükleer faktör olduğunun erken bulgusu ile tutarlıdır (85, 86).

3.4.6 IL-33 reseptörleri

IL-33, ST2 ve IL-1RAcP'den oluşan reseptör kompleksi aracılığıyla sinyal verir.

3.4.7 ST2

IL-33 reseptörü ST2 (soluble interleukin 1 receptor-like 1, IL1RL1 (Interleukin 1 receptor-like 1), ilk olarak bir fare fibroblast hücre hattı, 3T3 üzerinde bağımsız olarak çalışan iki ayrı grup tarafından tanımlanmıştır. ST2, bu hücre hattında serum, onkoproteinlerin varlığında ve proliferasyon sırasında indüklenmiştir (87, 88). İlginç bir şekilde, bir grup proteini T1 olarak adlandırırken, insan karsinoembriyonik antijeni ile benzerliğine odaklandılar (89). Tominaga ve arkadaşları proteini ST2 olarak adlandırmış ve ST2 yapısının immünoglobulin (Ig) ailesininkiyle benzerliğini tanımladılar. Dahası, ST2 proteini aminoasit dizisinin daha fazla değerlendirilmesi, ST2'nin murin interlökin-1 (IL-1) reseptörünün hücre dışı kısmına benzer olduğu sonucuna yol açtı (88). Ancak bu proteinde hücre içi kısım bulunamadı. ST2'nin keşfini, her ikisi de bu proteinlerin IL-1 reseptörleri ile benzerliğini gösteren insan interleukin 1 receptor-like 1 (IL1RL1) (90) ve sıçan ortologlarının (91) tanımı takip etti.

Fare fibroblastlarındaki proliferasyonun daha sonra ST2/T1 geninden iki benzer transkript ürettiği, kısa ve daha bol bir form ve uzun, daha seyrek bir form olduğu gösterildi (92). Ayrıca, kısa form IL-1 reseptörüne (IL-1R) benzese de, daha uzun proteinin hem hücre içi hem de hücre dışı alana sahip olduğu gösterildi ve bunun muhtemelen bir hücre içi sinyali indükleyebileceğini düşündürdü. Bunlar o zamandan beri sırasıyla çözünür ST2 (sST2) ve daha uzun ST2 (ST2L) olarak adlandırılmıştır. Bu tanımlamadan itibaren ST2L formu ST2 olarak tanımlanacaktır. ST2 ligandı, 2005 yılında Schmitz ve arkadaşları tarafından IL-33'ün keşfine kadar bilinmiyordu (51). Aradan geçen yıllarda ise IL-33/ST2 ekseninin anlaşılması ST2 odaklı çalışmalarla ilerlemiştir.

3.4.8 ST2 geni

Keşfedilen ST2 geni, hücre döngüsüne giren fare fibroblastlarında eksprese edilen son bir gen olarak tanımlandı ve sadece büyüme sırasında bulunan bu gen yapısal olarak açıklanamadı (88, 93). ST2'nin varlığı, bir insan T hücre hattında tanımlandı ve murin geni ile %68 homolojiye sahip olduğu bulundu (90). ST2 geninin farelerde daha fazla klonlanması çalışmaları, onu, bu IL-1 süper ailesi ile bir

bağlantı olduğunu düşündüren IL1R1 yerinin yakınında, kromozom 1 ile eşledi (94). İnsanlarda, ST2 geni, yine IL1R1 yerine yakın kromozom 2 ile eşlenmiştir (95). ST2 geninin tavuk, balık ve sıçan (96, 97) dahil olmak üzere bir dizi başka türde homolog olduğu gösterilmiştir ve Drosophila'dan yüksek oranda korunarak IL-1 reseptör ailesi sinyalleme ile tutarlıdır (98).

IL-1; IL-1 tip I reseptörünü paylaşan iki farklı protein olan IL-1 alfa ve IL-1 beta'dan oluştuğu bilinen bir proinflatuar sitokindir. Şu anda IL-1 ailesi, IL-1 reseptör antagonisti (IL-1Ra) olarak bilinen doğal olarak oluşan bir inhibitörün yanı sıra yakın zamanda keşfedilen ST2 gibi birkaç başka üyeyi de içerir. IL-1 alfa, bir sistein proteazı olan kalpain tarafından 17 kDa'lık olgun bir proteine bölünen 31 kDa'lık bir öncü protein olarak sentezlenir. IL-1 beta'dan farklı olarak, hem öncü hem de olgun IL-1 alfa biyolojik olarak aktiftir. Erişkin testisin seminifer epitelinde bulunan hücrelerin farklı (8 ile 11) aşamalar sırasında yüksek seviyelerde IL-1 biyoaktivitesi tespit edildiği, aynı zamanda spermatozoanın salınması ve spermatositlerin kan testis bariyerinin (BTB) pozitif etki ettiği bildirilmiştir. Buna ek olarak, spermatositler ve yuvarlak spermatidlerin hem IL-1 alfa mRNA hem de protein ürettikleri ve ayrıca Sertoli hücreleri tarafından IL-1 alfa sentezini düzenledikleri bilinmektedir. Örneğin, germ hücreleri testiste tükendiğinde ve radyasyona maruz kalma veya busulfan tedavisi ile spermatogenez durduğunda Sertoli hücrelerinde IL-1 alfa ekspresyonu saptanmadığı ifade edilmiştir. Bunlar doğrultusunda IL 1 alfa'nın sertoli hücreleri tarafından üretilmediği ve kan testis bariyerinde kritik rol alabildiği gösterilmiştir (35, 99, 100). Bunlara ek olarak IL-1 alfa'nın immatur testiste Leydig hücrelerine etki ederek bazal düzeyde testosteron salgıladığı ancak erişkin Leydig hücrelerinde gözlenmediği belirtilmiştir (101). Yine benzer şekilde IL-1'in hem germ hücre hem de immatür Leydig hücre proliferasyonu ve erişkin Leydig ve Sertoli hücre fonksiyonunun ayarlanmasında kritik fonksiyonel roller aldığı bildirilmiştir (102, 103). Leydig hücreleri ve testiküler makrofajların genelde IL-1'in beta formunu ürettiği bilinmektedir. Sertoli hücrelerinin ise özellikle IL-1'in alfa formunu salgıladığı görülmekle birlikte, germ hücreleri ve Sertoli hücrelerinde IL-1Ra varlığı tespit edilmiştir. Gonadotropin ve steroid hormonların yanı sıra lipopolisakkaridler (LPS) gibi enfeksiyon stimulan maddeler seminifer tubular hücrelerde IL-1 seviyesinin değiştiği gösterilmiştir. Böylece IL-1'in

fizyolojik ve enfeksiyon düzenleyici otokrin ve parakrin fonksiyonlara katıldığı düşünülmüştür(104-109).

Evcil kedilerin, spermatogenez düzenlemesinin temel mekanizmalarını incelemek için uygun bir model olduğu bilinmektedir. Bu da, suni tohumlama, gametlerin korunması ve tüp bebek (IVF) gibi yardımcı üreme tekniklerinin geliştirilmesi ve uygulanması için gereklilik arz etmektedir. Birçok türde sitokinlerin erkek germ hücre gelişiminin ve hem Sertoli hem de Leydig hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde önemli roller oynadığı gösterilmiş, bunun aksine sitokin ağının spermatogenez ve spermiyogenez düzenlenmesini engellediği ileri sürülürken bu faktörlere ilişkin çalışmalar daha çok insan ve laboratuvar hayvanları üzerine yoğunlaşmıştır. Kedilerde bu konuya ait çalışmaların sınırlı olması ve tüm türlerde detaylı bir bilgi içermemesi bu araştırmayı güncel kılmaktadır. Tüm bu veriler doğrultusunda; sunulan çalışma sitokinlerin moleköl gruplarından olan interlökin-1 aile üyesi interlökin-33 (IL-33) ve reseptörü ST2'nin kedi testislerindeki lokalizasyonu ile ekspresyonlarında puberta (cinsel olgunluk) öncesi ve sonrası değişimlerin ortaya konmasını amaçlamıştır.

4. GEREÇ VE YÖNTEM

4.1 Deney Hayvanları

Çalışmada Ankara, İran ve Van kedilerinden elde edilen toplam 18 çift testis kullanıldı. Testisler, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Polikliniği ve Diyarbakır'da bulunan bazı özel veteriner hekimliklerine kısırlaştırılmak amacı ile getirilen kedilerden elde edildi. Yine testisler, kedilerin yaşları dikkate alınarak 9 adet yavru (dokuz aydan küçük) ve 9 adet yetişkin (dokuz aydan büyük) olmak üzere iki grup şeklinde sınıflandırıldı.

Çalışma, etik kurul onayına ihtiyaç duyulmayan prosedürkapsamında olup bu amaçla Dicle Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan izne gerekli olmadığına dair yazı alınmıştır.

4.2 Doku Örnekleri

Dokulara tespit solüsyonunun daha iyi nüfus etmesi amacıyla tespitte kısa süre bırakılıp hafif bir sertlik hissedilir hissedilmez ortadan ikiye kesilmiştir. Her iki gruptaki testis dokuları 24 saat boyunca %10'luk nötral tamponlu formalin solüsyonunda tespit edildi. Ardındandokular bir gün boyunca çeşme suyu altında yıkanmaya bırakıldı. Yıkama işleminin ardından doku örnekleri sırasıyla %70, %80, %96, Absol I, II ve IIIalkol serilerinde 1'er saat tutuldu. Bunu takiben 48 saat metilbenzoatta tutulduktan sonra 1,5 saat benzolde bekletildi. Paraplasta gömülmeden önce 15 dk benzol-paraplastta bekletildi ve yaklaşık 3 saat sıvı parafin içerisine gömülerek blok şekline getirildi. Daha sonra elde edilen parafin bloklardan rotary mikrotomunda (Leica RM-2125, Germany) 5 µm kalınlığında seri kesitler alındı.

4.3 Yöntem

Kesitlerin bir serisi Crossman'ın üçlü boyama yöntemi ile boyanarak gelişim dönemindeki testisin yapısal özellikleri belirlenirken diğer serileri çalışmada belirtilen faktörlere özgü antikorlarkullanılarak immunohistokimyasal yöntemle boyandı.

4.4 Histolojik Boyama

Parafin kesitler deparafinizasyon amacıyla 2x5 dk ksilolde tutuldu. Daha sonra derecesi azalan alkol serilerinde (%100-70 alkol) 3'er dakika bekletildi. Distile suda 1 dk boyunca çalkalandıktan sonra iodin de 3 dk bekletildi. Kırmızılık geçinceye kadar birkaç dk. sodyum tiyosülfat ile muamele edildi. Distile suda 1 dk. beklenip akar suda 4 dk yıkandıktan sonra çekirdek boyaması için 8 dk. Weigert'in hemotoksilen solüsyonunda bekletildi. Daha sonra su berraklaşınca kadar yaklaşık 5dk. süreyle akan çeşme suyunda yıkandı. Metil karbonatta 1 dk. çalkalamadan sonra 4 dk. akan çeşme suyunda, 3 dk. distile su içerisinde bekletildi. Kesitler bu kez sitoplazma boyaması için asit fuksin'de 1 dk. tutulduysa su berraklaşınca kadar distile suda çalkalandı. Bağ doku beyazlaşınca kadar önce 6 dk. fosfotungstik asit I, daha sonra 8 dk. fosfotungstik asit II'de bekletildi ve 5 dk. distile suda yıkandı. Kesitler yine bağ doku boyaması için 1 dk. anilin blue'da bekletildi ve su berraklaşınca kadar yaklaşık 5dk. distile suda çalkalandı. Kesitler %2'lik asetik asitte 7-8 kez çalkalandıktan sonra, distile sudan ve %96 alkolden hızlıca geçirildi. %100 alkol I'de 2 dk., %100 alkol II'de 3 dk. tutulduktan sonra 15 dk. Ksilol I'de ve 30 dk. Ksilol II'de bekletilip entellan ile kapatıldı.

4.5 İmmunohistokimyasal Boyama

İmmunohistokimyasal boyamada, seri kesitlere deparafinizasyon ve dehidrasyon işlemlerini takiben, antigen retrieval (Antijenlerin açığa çıkarılması) işlemi uygulandı. Daha sonra, dokulardaki endojen peroksidaz aktivitesini engellemek için metanolde hazırlanmış % 3'lük H₂O₂'de 15 dk. inkube edildi ve takiben fosfatlıtuz solüsyonu (PBS) ile 2x5 yıkandı. Kesitler spesifik olmayan boyanmayı önlemek üzere protein blocking çözeltisi (Ultra V Block) ile oda ısısında 5 dk. inkübasyona bırakıldı. Daha sonra örnekler, 5 µg/ml'lik bir konsantrasyonda anti-IL33 (Rabbit polyclonal, Abcam, cat no: ab118503) ve 2 µg/ml'lik bir konsantrasyonda anti-ST2 (Rabbit polyclonal, Abcam, cat no: ab25877) primer antikorlarıyla +4 C'de 1 gece inkübe edildi. Preparatlar, PBS ile yıkandıktan (4x5 dakika) sonra biotinlenmiş sekonder antikor ve streptavidin peroksidaz enzim kompleksi ile muamele edildi. Dokularda şekillenmiş olan antijen-antikor reaksiyonlarını göstermek amacıyla da kromojen olarak 3,3'-diaminobenzidine hydrochloride (DAB) substrate ile 5-10 dk.

inkübe edildi. Zıt boyama için Mayer's hematoxileni kullanıldı. Hazırlanan preparatlar entellan ile kapatıldı ve ışık mikroskobu altındareaksiyonların yerleşim yerleri ve şiddeti değerlendirildi.

4.6. Boyama Sonuçlarının Değerlendirilmesi

İmmünohistokimyasal boyanmanın değerlendirilmesi, hücrelerin sitoplazma ve çekirdeklerindeki pozitif boyanma yoğunluğuile semikantitatif olarak yapıldı. Hücrelerin boyanma yoğunluğu; (-) boyanma yok, (+)zayıf, (++) orta derecede, (++++) kuvvetli boyanma şeklindebelirlendi ve bu yoğunluk en az 100 hücre içeren rastgeleseçilmiş üç farklı alan olmak üzere testis, ductus epididymis ve ductus deferensde bulunan hücelere uygulandı (Tablo 2).

Tablo 2.Yavru ve yetişkin kedi testislerinde IL-33 ve reseptörü ST2 immunoreaktiviteleri için yoğunluk dağılımı

Dönem	Organ/Kanallar	Hücreler	IL-33	ST2
Puberta öncesi	Testis	Germ	+ / ++	+++
	Ductus epididymis	Epitel	++	++
	Ductus deferens	Epitel	+	+
Puberta sonrası	Testis	Spermatogonya	+	+
		Spermatosit	+ / ++	+++
		Sertoli	++	++
		Leydig	++	+
	Ductus epididymis	Epitel	++	++ / +++
	Ductus deferens	Epitel	++ / +++	++ / ++

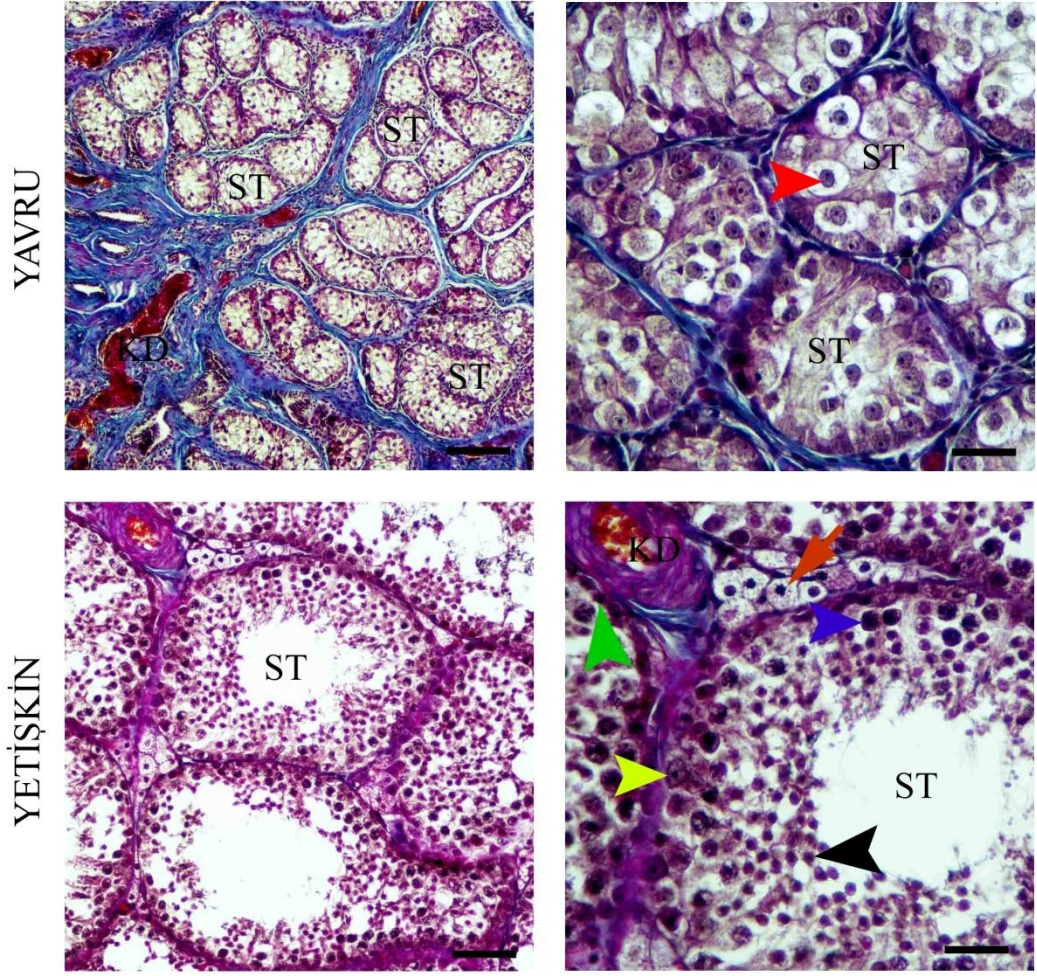
5. BULGULAR

5.1 Histolojik Bulgular

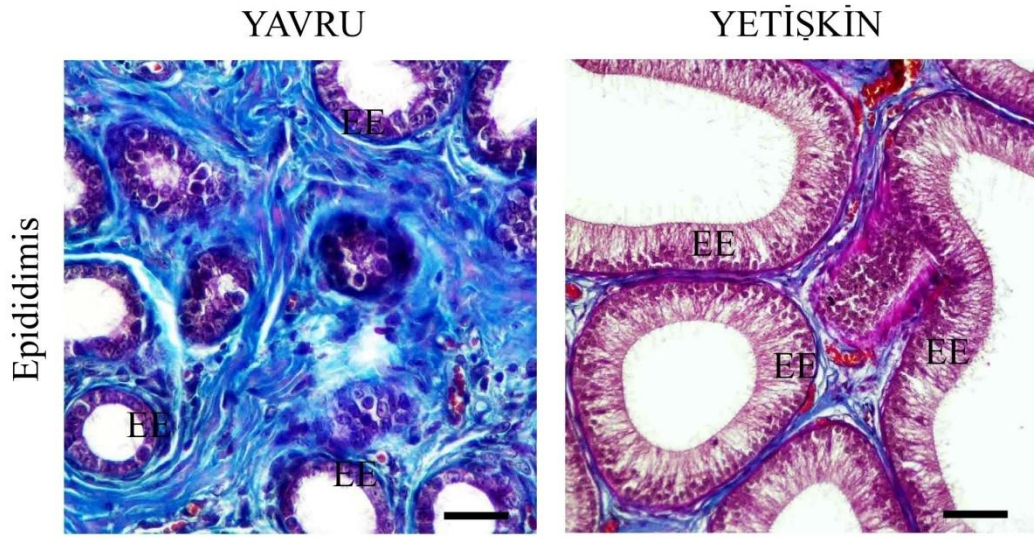
Puberta öncesi ve sonrası dönemdeki kedilerin testisinden seri kesitler hazırlandı ve bu kesitler, gelişim dönemine göre testisin yapısal özelliklerini ortaya koymak için Crosman'ın üçlü boyama yöntemi ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi. Mikroskopik incelemede tubulus seminiferus konturtuslar, lümenlerin varlığı, seminifer epitel katmanı, Sertoli hücreleri, Leydig hücreleri ve kapillar damar yapısı göz önünde bulunduruldu.

Yavruya ait testis dokusu yoğun bağ dokusundan oluşan (tunica albuginea) kapsülle çevriliydi ve burada yoğun kan damarları gözlendi. Organ içerisine girerek bağ doku bölmeleri ile parankimada çok sayıda lopçuklanma meydana getirdi. Testis parankimasında bulunan seminifer tübüllerin lümeninden yoksun olgunlaşmamış germ hücrelerinden kurulu olduğu gözlendi. Ayrıca bağ doku içerisinde epididimal ve deferens kanallarının şekillendiği tespit edildi (Şekil 6, 7, 8).

TESTİS

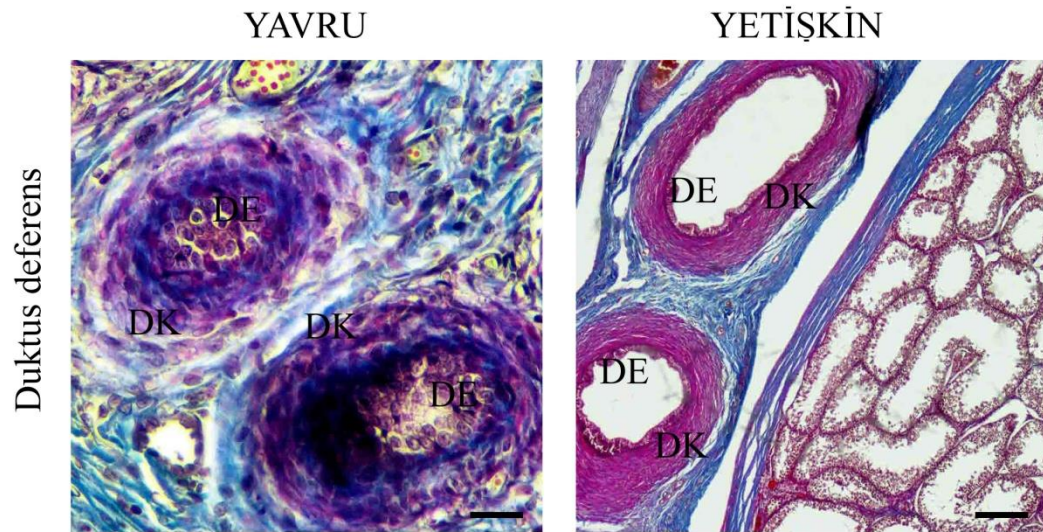


Şekil 6. Yavru ve yetişkin testis dokusunda Tubulus Seminiferous Contortus görüntüsü. Yavruya ait testis dokusunda bol miktarda bağ doku (tunica albuginea) ve kan damarı görülmekte. ST: Seminifer Tübül, KD: Kan Damarı, kırmızı okbaşı: Olgunlaşmamış Germ Hücreleri, yeşil okbaşı: Spermatogonya, mavi okbaşı: Spermatosit, siyah okbaşı: Spermatid, sarı okbaşı: Sertoli hücreleri, turuncu ok: Leydig hücreleri. Üçlü boyama yöntemi.



Şekil7. Yavru ve yetişkin testis dokusunda Ductus Epididymis görüntüsü. EE: Epididimis Epitel Hücreleri. Üçlü boyama yöntemi.

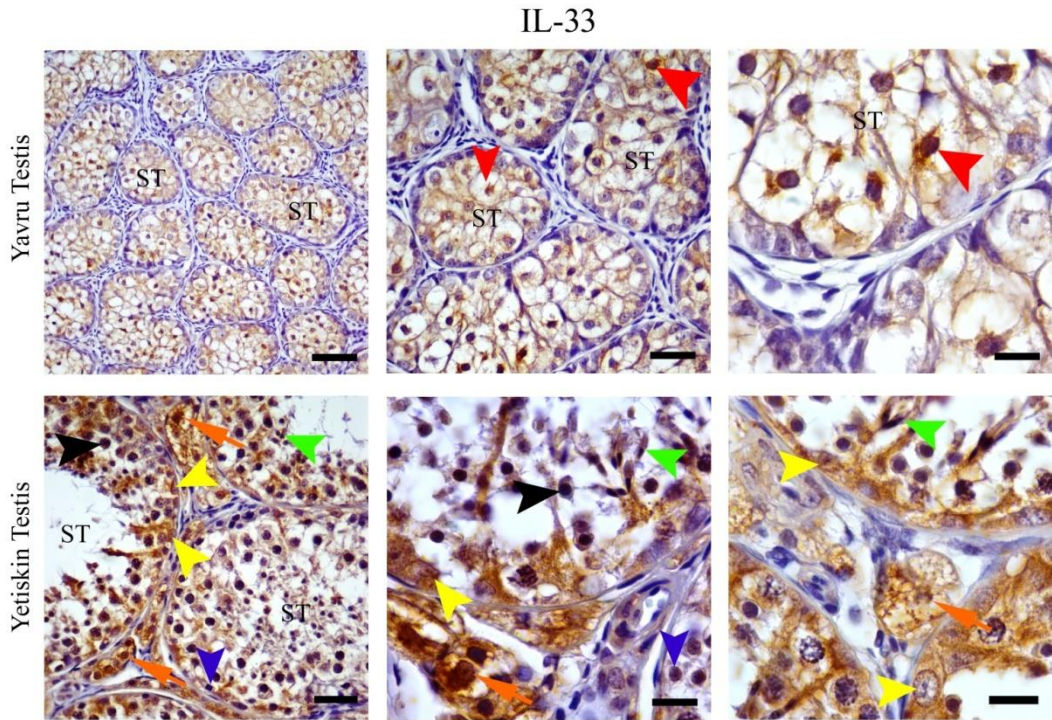
Yetişkin testis dokusu incelendiğinde seminifer tübüllerin lümenli bir yapıda olup seminifer epitel katmanında spermatogenik hücre serisine ait hücrelerin varlığı gözlemlendi. Seminifer epitelin bazal kısmında bulunan sertoli hücreleri daha az belirgin, açık sitoplazmalı, belirgin bir nükleolus ile diğer spermatogenik hücrelerden ayırt edildi. Seminifer tübüller arasındaki boşluğu dolduran bağ doku ve bu alanda oval ya da poligonal şekilli Leydig hücreleri ile kapilar damarlar saptandı (Şekil 6, 7, 8).



Şekil8. Yavru ve yetişkin testis dokusunda Ductus Deferens görüntüsü. DE: Deferens Epitel Hücreleri, DK: Deferens Düz Kas Hücreleri. Üçlü boyama yöntemi.

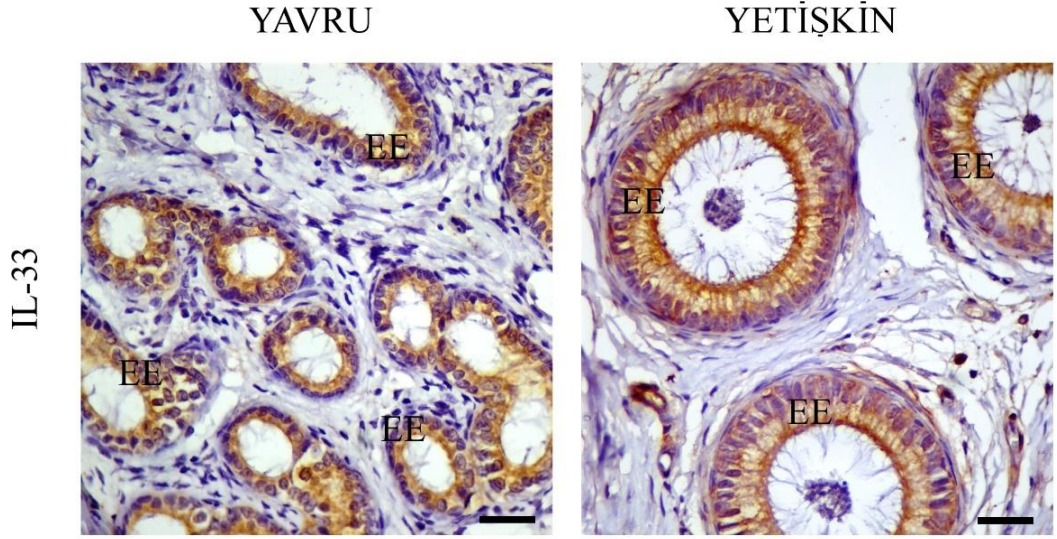
5.2 İmmunohistokimyasal Bulgular

Yetişkin kedi testisinde intertübüler alandaki Leydig hücrelerinde orta yoğunlukta ve bazı hücrelerde de çekirdeğe lokalize IL-33 immunoreaktivitesi gözlemlendi. Bununla birlikte seminifer tübül içerisinde bulunan bazı spermatogonyalarda zayıf, sertoli hücrelerinde orta, spermatositlerde ise zayıftan ortaya doğru yoğunlukta bir immunreaksiyon meydana geldiği belirlendi. Bunların yanı sıra IL-33'ün yetişkin ductus epididymis'in epitel hücrelerinde orta, ductus deferens'in epitel katmanındaki prizmatik hücrelerde orta yoğunlukta, bazaldeki hücrelerde ise güçlü bir immunreaksiyon şekillendirdiği görüldü. IL-33'ün yavru kedi testisindeki gelişmekte olan seminifer tübül içerisinde bulunan bazı germ hücrelerinde zayıftan ortaya doğru yoğunlukta bir immunreaksiyon olduğu gözlemlendi. Benzer şekilde yavru ductus epididymis epitel hücrelerinde orta yoğunlukta IL-33 immunoreaktivitesi görüldü (**Resim 9, 10, 11**).



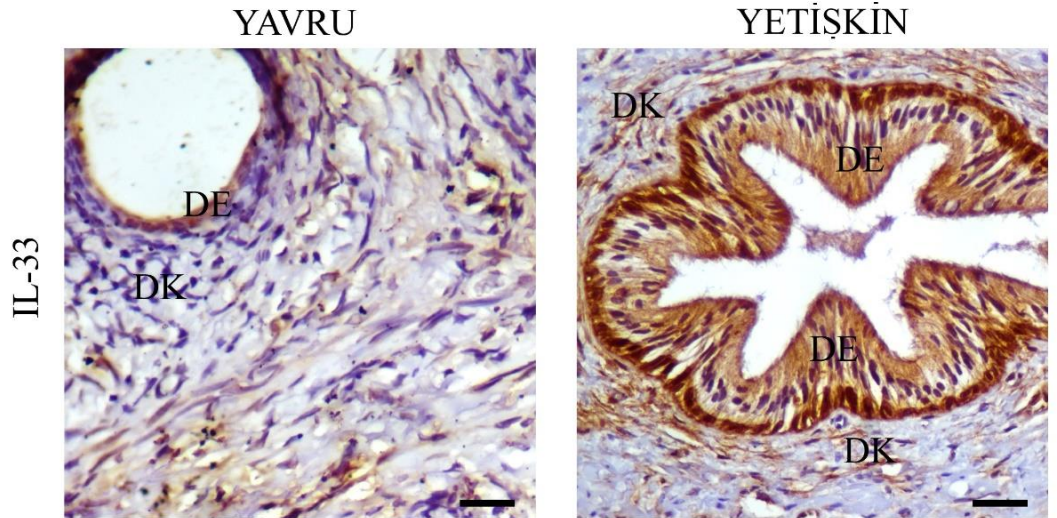
Şekil9. Yavru ve yetişkin testis dokusunda seminifer tübüllerdeki IL-33 immunoreaktivitesi. ST: Seminifer Tübül, kırmızı okbaşı: IL-33 Pozitif Germ Hücreleri, mavi okbaşı: IL-33 Pozitif Spermatogonya, siyah okbaşı: IL-33 Pozitif Spermatosit, yeşil okbaşı: IL-33 Pozitif Spermatid, sarı okbaşı: IL-33 Pozitif Sertoli hücreleri, turuncu ok: IL-33 Pozitif Leydig hücreleri. sABC boyama yöntemi.

Epididimis



Şekil10. Yavru ve yetişkin testis dokusunda Ductus Epididimis'deki IL-33 immunoreaktivitesi. EE: IL-33 Pozitif Epididimis Epitel Hücreleri. sABC boyama yöntemi.

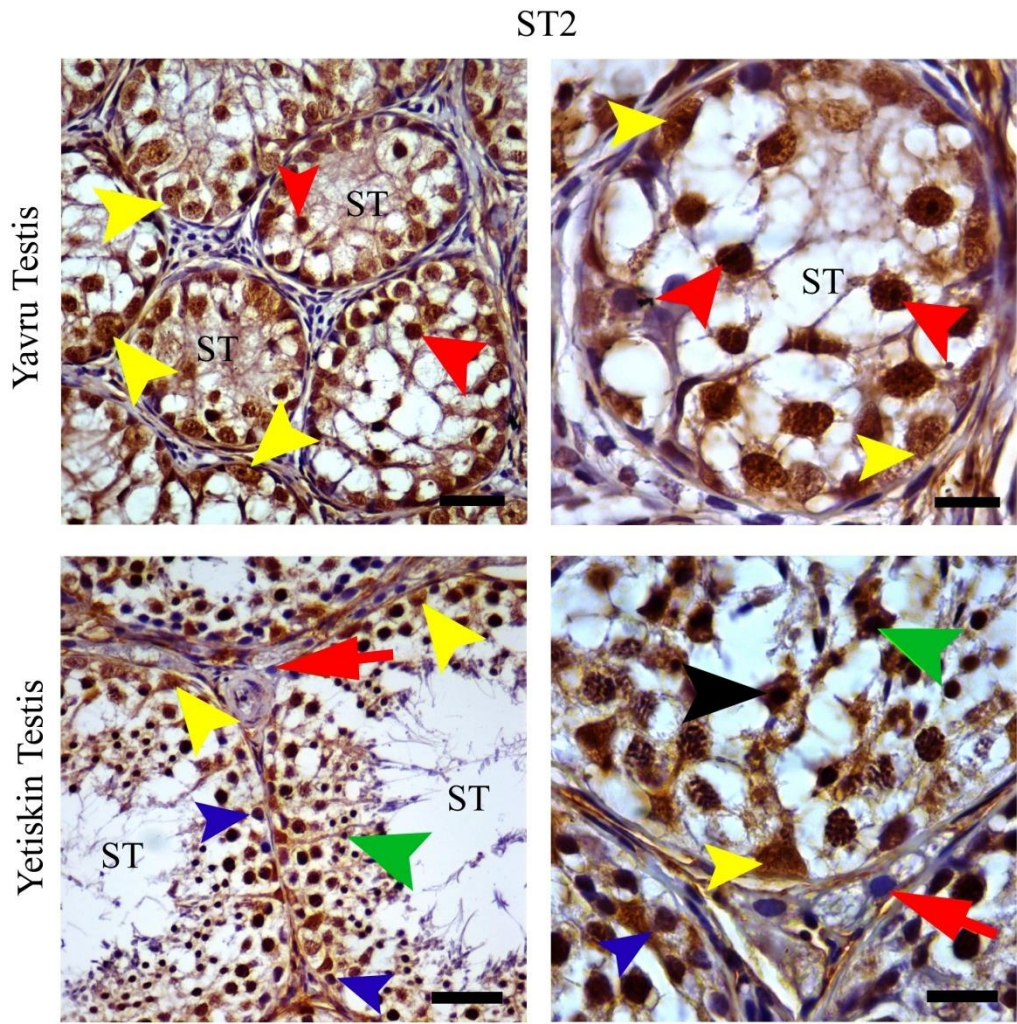
Duktus Deferens



Şekil11. Yavru ve yetişkin testis dokusunda Duktus Deferens'deki IL-33 immunoreaktivitesi. DE: IL-33 Pozitif Deferens Epitel Hücreleri, DK: IL-33 Pozitif Deferens Düz Kas Hücreleri. sABC boyama yöntemi.

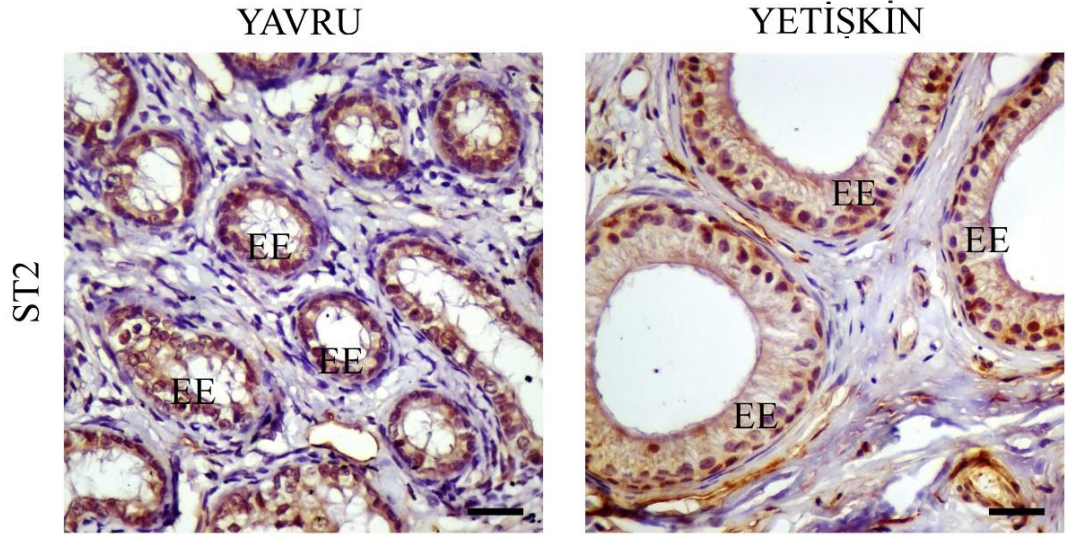
Yetişkin kedi testisindeki reseptör ST2'nin intertübüler alandaki tek tük Leydig hücrelerinde zayıf yoğunlukta ve bazı hücrelerde çekirdeğe lokalize ST2 immunoreaktivitesi gözlemlendi. Bununla birlikte seminifer tubülüçerisinde bulunan bazı spermatogonyalarda zayıf, Sertoli hücrelerinde orta, spermatositlerde ise güçlü bir

immunreaksiyon meydana geldiği belirlendi. Ayrıca yetişkin ductus epididymis epitel hücrelerinde ortadan güçlüye değişen yoğunlukta ve bazı hücrelerde nükleer yerleşimli, ductus deferens'in epitel katmanındaki bazal hücrelerde orta düzeyde bir immunreaksiyonun şekillendiği görüldü. Yavru kedi testisinde gelişmekte olan seminifer tubüllerinde bulunan olgunlaşmamış germ hücrelerinde güçlü ve nükleer yerleşimli ST2 immunoreaktivitesi görüldü. Ayrıca ductus epididymis epitel hücrelerinde zayıftan ortaya değişen, ductus deferens epitel hücrelerinde ise zayıf ST2 immunoreaktivitesi tespit edildi (Şekil 12, 13, 14).



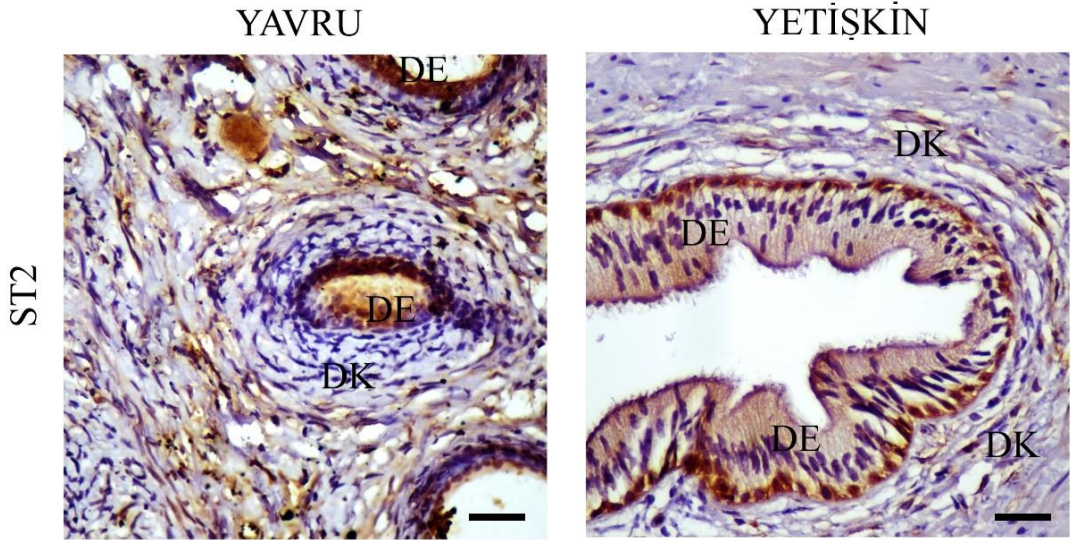
Şekil12. Yavru ve yetişkin testis dokusunda seminifer tübüllerdeki ST2 immunoreaktivitesi. ST: Seminifer Tübül, kırmızı okbaşı: ST2 Pozitif Germ Hücreleri, mavi okbaşı: ST2 Pozitif Spermatogonya, siyah okbaşı: ST2 Pozitif Spermatosit, yeşil okbaşı: ST2 Pozitif Spermatid, sarı okbaşı: ST2 Pozitif Sertoli hücreleri, turuncu ok: ST2 Negatif Leydig hücreleri. sABC boyama yöntemi.

Epididimis



Şekil13. Yavru ve yetişkin testis dokusunda Ductus Epididymis'deki ST2 immunoreaktivitesi. EE: ST2 Pozitif Epididimis Epitel Hücreleri. sABC boyama yöntemi.

Duktus Deferens



Şekil14. Yavru ve yetişkin testis dokusunda Duktus Deferens'deki ST2 immunoreaktivitesi. DE: ST2 Pozitif Deferens Epitel Hücreleri, DK: ST2 Pozitif Deferens Düz Kas Hücreleri. sABC boyama yöntemi.

6. TARTIŞMA

Sitokinlerin yapısı, sinyal yolları ve işlevi hakkındaki bilgilerimizin çoğu, immün hücre aktivitesine katılımları ile ilgilidir. İnterlökinler gibi birçok faktör testis içindeki immün hücre fonksiyonunu kontrol ederken, spermatogenezi uyarmak ve sürdürmek için immün olmayan hücreler tarafından da üretilirler. Testis çalışmacılarının sitokinlerin rollerine olan ilk ilgisi, sıçan testiküler ekstraksiyonlarının interlökin-1 (IL-1) içerdiğinin keşfedilmesiyle ortaya çıkmış ve daha sonra bunun testis içindeki lökositlerden ziyade Sertoli hücreleri tarafından üretildiği gösterilmiştir (110). Bu keşif, geleneksel olarak immün reaksiyonlarla ilişkilendirilen inflamatuvar bir sitokinin, immün stimülasyona dair hiçbir kanıt yokken erkek üreme sisteminin somatik bir hücresi tarafından üretildiğine dair ilk göstergeyi sağlamıştır. Daha sonra, pro-inflamatuvar ve immünoregülatör sitokin olarak adlandırılan birçok sitokinin hem normal koşullar altında hem de inflamatuvar uyaranlara yanıt olarak testiküler somatik ve spermatogenik hücreler tarafından üretildiği anlaşılmıştır (111).

IL-1 ailesi üyesi IL-33, vücuttaki çeşitli hücreler üzerinde pleiotropik etkileri olan güçlü bir sitokindir (112). Başlangıçta endotel hücresi kaynaklı bir faktör olarak tanımlanan IL-33, epitel hücreleri, fibroblastlar, kas hücreleri, nöronlar ve immün hücrelerdahi olmak üzere çok çeşitli hücre tipleri tarafından üretildiği ortaya konmuştur. IL-33, hem transkripsiyonel düzenlemede rolleri tam olarak anlaşılmamış bir nükleer faktör hem de salgılanan bir sitokin olarak rolü bakımından sıra dışıdır (113). Fare dokusunda IL-33, mide, akciğer, omurilik, beyin, deri, lenf dokusu, dalak, pankreas, böbrek ve kalpte bulunmuşken insan dokusunda IL-33'ün, düz kas hücrelerinde ve bronş epitel hücrelerinde yüksek oranda eksprese edildiği ve ayrıca aktive edilmiş makrofajlarda mevcut olduğu bildirilmiştir (51). Bizim çalışmamız, IL-33 ve reseptörü ST2'nin somatik (Leydig, Sertoli) ve germ hücreleri ile ductus epididymis ve ductus deferens'in epitel hücrelerinde lokalize olduğunu, fakat boyanma yoğunlukları bakımından farklılıklar bulunduğunu ortaya koymuştur.

Yapılan çalışmada histolojik bulgular göz önünde bulundurulduğunda yavru ve yetişkine ait testis dokusunda spermatogenik hücrelerin ayrılmadığı, taşıyıcı

kanallarda bütünlüğün bozulmadığı, dolayısıyla histolojik görünümünün normal testiküler yapıya sahip olduğu tespit edildi.

Normal testis gelişimi ve fonksiyonunun önemli yönleri, sitokin aktiviteleri tarafından modüle edilir veya yönlendirilir. Seminifer epitelinin karmaşık ve dinamik ortamında testis homeostazını koruyan fertilite için gerekli olan immün hücre ile ilişkili sitokinler hakkında bilgi birikimi vardır. Testis, sitokin işlevlerinin spermiyum üretimini korumak ve buna izin vermek için sıkı bir şekilde düzenlendiği bir doku olduğundan, testislerde bulunanları ve nasıl çalıştıklarını belirlemek için güçlü bir motivasyon vardır (110). Bir dizi in vitro çalışma, somatik (Leydig, Sertoli veya peritübüler) ve germ hücrelerinin de testiste sitokin üretiminin bir kaynağı olduğunu göstermiştir. Bu sitokinlerin birçoğunun normal spermatogenezdeki kesin biyolojik rolü henüz tanımlanmamış olsa da, hepsinin testisin immünolojik ve patojenik zorluklara verdiği yanıtta rol oynayabileceği aşıkardır (114). Bu amaçla yaptığımız çalışmada IL-33'ün yavru ve yetişkin testisindeki Leydig hücrelerinde ekprese edildiği ve bazı hücrelerde de nükleer yerleşimli olduğu izlendi. Böylece ligandın Leydig hücre gelişimi, aynı zamanda steroid sentezinde otokrin/parakrin etkiye sahip olabileceği varsayılabilir. Bununla birlikte IL-33'ün yavru ve yetişkin testisindeki spermatogenik hücrelerde immunoreaktivite göstermesi; germ hücre farklılaşmasına ve spermiyumların gelişimine katkı sunabileceğini akla getirdi.

IL-33'ün bir nükleer faktör olarak fizyolojik rolü tam olarak anlaşılamamıştır; ancakleri analizler, IL-33'ün kromatine bağlanma açısından Kaposi sarkomu herpesvirüsünü taklit ettiğini ve kısa bir kromatin bağlayıcı peptit aracılığıyla H2A-H2B histonları tarafından oluşturulan asidik bir cebe kenetlendiğini ortaya koymuşturve böylece IL-33'ün in vivo kromatin ilişkili bir sitokin olduğu sonucuna varılmıştır(115, 116). Bu çalışmada da farklı hücre tiplerinde IL-33 immunoreaktivitesinin nükleer yerleşimli olduğunu görmekteyiz.

Epitel hücreleriözellikle bariyer dokuların epitel hücreleri (bronş, nazofarinks, deri, mide, tükürük bezi, vagina, vb.), IL-33 proteininin ana kaynaklarını oluşturduğu bildirilmiştir(117). Sunulan çalışmada da IL-33'ün yavru ve yetişkin ductus epididymis'indeki epitel hücrelerindeortadan güçlüye doğru bir şekilde ekprese olması bu epitel hücrelerinin bölünüp çoğalmasında ve protein

salgılamada rol alabileceğini düşündürdü. Ayrıca yavru ductus deferens epitel hücrelerinde lokalize olan IL-33'ün bu hücrelerin çoğalması ve bölünmesinde etkili olabileceğini, yetişkinlerde de bazı düz kas hücrelerindeki varlığı spermatozoonların taşınmasında önemli roller üstlenebileceğini akla getirdi.

ST2 (T1, FIT-1 veya DER-4 olarak da bilinir), IL-33'ün hedef hücrelerdeki reseptörüdür. ST2, yapısal olarak benzer reseptörler IL-1R1 ve IL-18R α gibi Toll-IL-1 reseptör (TIR) süper ailesine ait üç hücre dışı immünoglobülin tekrarına sahip IL-1 ailesi reseptörüdür. ST2 ilk olarak 1989 yılında fibroblastlarda serumla indüklenip salgılanan bir protein olarak tanımlanmış ve daha sonra östrojen ile indüklenbilir transkripsiyon faktörü Fos tarafından düzenlendiği bildirilmiştir. Ayrıca esas olarak Th2 hücreleri ve mast hücrelerinde hücre membranlarına sabitlenen uzun bir varyanta sahip olduğu ortaya konmuştur (118).

Bizim çalışmamızda ST2'nin yavru kedi testisindeki germ hücrelerinde güçlü aynı zamanda nükleer yerleşimli immunoreaktivite oluşturduğu, yetişkin kedi testisinde ise tek tük Leydig hücrelerinde var olduğu görüldü. Bu veriler doğrultusunda ST2'nin germ hücre çoğalması ve farklılaşmasında önemli roller oynayabileceği ancak yetişkinlerin Leydig hücrelerinde zayıf immunoreaktivite göstermesi; erkek üreme fonksiyonlarının düzenlenmesinde çok etkili olamayacağını düşündürdü.

Yavru ductus epididymis ve ductus deferens epitel hücrelerindeki ST2 immunoreaktivitesi orta düzeyde ve yetişkinlerdeki ile benzerdi. Ayrıca ductus deferens'in düz kas hücrelerindeki ST2 immunoreaktivitesinin yok denecek kadar az olduğu görüldü. Böylece ST2'nin spermatozoonları ileten kanallardaki fizyolojik fonksiyonlarının yerine getirilmesinde rollerinin olabileceğini düşündürmüştür.

Spermatogenezisin başlatılması ve sürdürülmesi esasen işlevsel bir spermatogoniyal kök hücre popülasyonuna bağlıdır; bu da çalışan bir kök hücre nişi, kendini yenileme ve germ hücre farklılaşmasını dengeleyen ve destekleyen bir mikroçevre gerektirir. Bu mikroçevrede germ hücre bakımı ve olgunlaşması, Sertoli hücreleri tarafından salınan çeşitli sitokinler, hormonlar ve metabolitler aracılığıyla düzenlenir (119). Sunulan çalışmada Sertoli hücrelerinde IL-33 ve reseptörü ST2 immunoreaktivitesinin gözlenmesi; bu hücrelerin çoğalması ve farklılaşmasında rol

oynayabileceği, aynı zamanda steroidogenez ve protein salgılamaya katkı sunabileceği düşünölmektedir.



7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sitokinler hücre büyümesi, farklılaşma ve immun cevap olaylarının düzenleyicisidirler ve hücreler arası etkileşimde, hücre aktivasyonunda ve embriyogenez-organ gelişiminde önemli biyolojik rollerinin olduğu bilinmektedir. Bu sitokinlerden IL-1 'in hem germ hücre hem de immatür Leydig hücre proliferasyonu, aynı zamanda erişkin Leydig ve Sertoli hücre fonksiyonunun ayarlanmasında etki gösterdiği, aksine bazı çalışmalarda ise spermiyogenezin düzenlenmesini engellediği gösterilmiştir. Bununla birlikte IL-1 reseptörlerinin de fare testisinde tespit edildiği ve lokalize olduğu bildirilmiştir.

Çalışmamız, kedi testisinin yapısal özellikleri ile bu özelliklere bağlı olarak IL-1 ailesine ait IL-33 ve reseptörü ST2'nin testisteki lokalizasyonlarının immunohistokimyasal yöntemle belirlenmesini ve bu moleküllerin ekspresyonlarındaki gelişim sürecine bağlı değişiklikleri ortaya koymuştur.

Sonuç olarak; yavru ve yetişkin erkek kedi testisindeki seminifer tübül hücrelerinde, ductus epididymis ve ductus deferens'in epitel hücrelerinde ve ductus deferens'in düz kas hücrelerinde IL-33 ve reseptörü ST2'nin değişen boyanma yoğunluklarında eksprese olduğu ve kedi ırkları arasında farklılığın olmadığı tespit edilmiştir. İmmunohistokimyasal veriler, Leydig hücrelerinde özellikle IL-33'ün, olgunlaşmamış germ hücrelerinde ise ST2'nin daha etkili olduğunu destekler niteliktedir.

Sunulan çalışmanın başta erkek genital sistemde bu faktörlere bağlı patolojik durumların ya da kanser gibi çeşitli hastalıkların daha iyi anlaşılması ve bu hastalıklara karşı tedavi stratejilerinin geliştirilmesine katkı sunacağı düşünülmektedir.

8. KAYNAKLAR

1. Akimoto M, Hayashi JI, Nakae S, Saito H, Takenaga K. Interleukin-33 enhances programmed oncosis of ST2L-positive low-metastatic cells in the tumour microenvironment of lung cancer. *Cell Death Dis.* 2016; 7(1): 2057-67.
2. Ali S, Mohs A, Thomas M, Klare J, Ross R, Schmitz ML, Martin MU. The dual function cytokine IL-33 interacts with the transcription factor NF- κ B to dampen NF- κ B-stimulated gene transcription. *J Immunol.* 2011; 187(4): 1609-16.
3. Ali S, Nguyen DQ, Falk W, Martin MU. Caspase 3 inactivates biologically active full length interleukin-33 as a classical cytokine but does not prohibit nuclear translocation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2010; 391(3): 1512-16.
4. Alves-Filho JC, Sônego F, Souto FO, Freitas A, Verri WA, Auxiliadora-Martins M, et al. Interleukin-33 Attenuates Sepsis by Enhancing Neutrophil Influx to the Site of Infection. *Nat. Med.* 2010; 16(6): 708-12.
5. Andronicos NM, McNally J, Kotze AC, Hunt PW, Ingham A. *Trichostrongylus colubriformis* larvae induce necrosis and release of IL33 from intestinal epithelial cells in vitro: Implications for gastrointestinal nematode vaccine design. *Int J Parasitol.* 2012; 42(3): 295-304.
6. Baekkevold ES, Roussigné M, Yamanaka T, Johansen FE, Jahnsen FL, Amalric F, et al. Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules. *Am J Pathol.* 2003; 163(1): 69-79.
7. Liebich HG, Maierl J, König HE. *Anatomie der Haussäugetiere-Lehrbuch und Farbatlas für Studium und Praxis.* Herausgegeben von König HE, Liebich HG, Schattauer GmbH, Stuttgart, 6. Auflage, 2015, p:163-168.
8. Şeker U. Ratlarda Testiküler Torsiyon/Detorsiyon Hasarına Karşı Allopurinol ve Troloxun Koruyucu Etkinliğinin İncelenmesi. D.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 2019, Diyarbakır (Danışman: Prof. Dr. Yusuf NERGİZ).
9. Atal S. Erişkin Erkek Sıçanlarda Metotreksat Kaynaklı Testis Hasarında Kurkuminin Etkisi. O.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 2014, Eskişehir (Danışman: Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK).

10. Moore KL, TVN P. İnsan Embriyolojisi (Türkçe Çeviri) 6. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul; 2002.
11. Sadler TW. Langman's Medikal Embriyoloji. Çeviren: Doç. Dr. Can Başaklar 9. basım, Palme Yayıncılık, Ankara;2005;s: 156-8.
12. <https://www.tjodistanbul.org/egitim/istanbul-kliniklerinden/endokrinoloji/interseks-anomalileri/>Erişim Tarihi:20.03.2022
13. Chaudhary AK, Purohit GN, Mehta JS, Ravi SK, Talluri TR. 144 Serum testosterone profile in Marwari stallions and its relationship with testicular parameters, semen characteristics, reaction time, stallion age, bodyweight, and height. Reprod Fertil Dev.2020; 32(2): 198.
14. Dere F. Anatomi (Cilt I). Okullar Pazarı Kitabevi, 1988.
15. Dursun N. Veteriner Anatomi II. Medisan Yayınevi. Ankara. 2008, s: 128-63.
16. <https://basicmedicalkey.com/male-reproductive-system-2/>Erişim Tarihi:20.03.2022
17. Eroschenko V. diFiores Atlas of histology with functional correlation. 12th. edition, USA: Watters Klower, 2017.
18. Gartner LP, Hiatt JL. Color atlas of histology. Lippincott Williams & Wilkins, 2009.
19. O'Donnell L, Stanton P, de Kretser DM. Endocrinology of the male reproductive system and spermatogenesis. In: FeingoldKR, Anawalt B, Boyce A, eds. Endocrinology of Male Reproduction, 2017, p:1-69.
20. Cham TC, Chen X, Honaramooz A. Current progress, challenges, and future prospects of testis organoids. BiolReprod.2021; 104(5): 942-61.
21. Saruhan BG, Topaloğlu U, Akbalık ME, Ketani MA, Sağsöz H. Boğalarda ve koçlarda duktus deferensin ilk bölümü: Morfolojik, histolojik ve histokimyasal görünüm. Dicle Üniv Vet Fak Derg.2016; (1): 35-41.
22. Baykal Y, Sağlam K, Yılmaz MI, Taslipinar A, Akinci SB, Inal A. Serum sIL-2r, IL-6, IL-10 and TNF- α level in familial mediterranean fever patients. Clin Rheumatol.2003; 22: 99-101.
23. Dinarello CA. Historical insights into cytokines. Eur J Immunol. 2007; 37(S1): 34-45.

24. Le Poole C, Denman CJ, Arbiser JL. Immunosuppression may be present within condyloma acuminata. *JAAD*.2008; 59(6): 967-74.
25. Suzuki T, Fujisawa JI, Toita M, Yoshida, M. The trans-activator tax of human T-cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) interacts with cAMP-responsive element (CRE) binding and CRE modulator proteins that bind to the 21-base-pair enhancer of HTLV-1. *PNAS*.1993; 90(2): 610-14.
26. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology. E-book. Elsevier Health Sciences, 2014.
27. Garg G, Muschawekh A, Moreno H, Vasanthakumar A, Floess S, Lepenietier G, et al. Blimp1 prevents methylation of Foxp3 and loss of regulatory T cell identity at sites of inflammation. *Cell Rep*.2019; 26(7): 1854-68.
28. Turchin I, Bourcier M. The role of interleukins in the pathogenesis of dermatological immune-mediated diseases. *Adv Ther*. 2022; 39(10): 4474-4508.
29. Vaillant AAJ, Qurie A. Interleukin. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing, 2021.
30. Akdis M, Burgler S, Cramer R, Eiwegger T, Fujita H, Gomez E, et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : Receptors, functions, and roles in diseases. *J Allergy Clin Immunol*. 2011; 127: 701-21.
31. Bakiş, I. Allerjik Rinit Patogeneğinde IL-21 ve IL-33'ün Rolünün Araştırılması AM.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi,2016, Aydın (Danışman: Prof. Dr. Neriman AYDIN).
32. Brocker C, Thompson D, Matsumoto A, Nebert DW, Vasiliou V. Evolutionary divergence and functions of the human interleukin (IL) gene family. *Hum Genomics*.2010; 5(1): 1-26.
33. Hymowitz SG, Filvaroff EH, Yin J, Lee J, Cai L, Risser P, et al. IL-17s adopt a cystine knot fold: structure and activity of a novel cytokine, IL-17F, and implications for receptor binding. *The EMBO J*.2001; 20(19): 5332-41.
34. Van de Veerdonk FL, Stoeckman AK, Wu G, Boeckermann AN, Azam T, Netea MG, et al. IL-38 binds to the IL-36 receptor and has biological effects on immune cells similar to IL-36 receptor antagonist. *PNAS*.2012; 109(8): 3001-05.
35. Dinarello CA. The biological properties of interleukin-1. *Eur Cytokine Netw*.1994; 5(6): 517-31.

36. Dinarello CA. Keep up the heat on IL-1. *Blood*, J Am Soc Hematol. 2012; 120(13): 2538-39.
37. Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: Back to the future. *Immunity*. 2013; 39(6): 1003-18.
38. Carruth LM, Demczuk S, Mizel SB. Involvement of a calpain-like protease in the processing of the murine interleukin 1 alpha precursor. *JBC*.1991; 266(19): 12162-67.
39. Hogquist KA, Nett MA, Unanue ER, Chaplin DD. Interleukin 1 is processed and released during apoptosis. *PNAS*.1991; 88(19): 8485-89.
40. Gabay C, Lamacchia C, Palmer G. IL-1 pathways in inflammation and human diseases. *Nat Rev Rheumatol*.2010; 6(4): 232-41.
41. Boraschi D, Lucchesi D, Hainzl S, Leitner M, Maier E, Mangelberger D, et al. IL-37: a new anti-inflammatory cytokine of the IL-1 family. *Eur Cytokine Netw*.2011; 22(3): 127-47.
42. Roussel L, Farias R, Rousseau S. IL-33 is expressed in epithelia from patients with cystic fibrosis and potentiates neutrophil recruitment. *J Allergy Clin Immunol*.2013; 131(3): 913-16.
43. Mills KH, Dungan LS, Jones SA, Harris J. The role of inflammasome-derived IL-1 in driving IL-17 responses. *J Leukoc Biol*.2013; 93(4): 489-97.
44. Joosten LA, Helsen MM, van de Loo FA, van den Berg WB. Anticytokine treatment of established type II collagen-induced arthritis in DBA/1 mice: a comparative study using anti-TNF α , anti-IL-1 α/β , and IL-1Ra. *ArthritisRheumatol*.1996; 39(5): 797-809.
45. Palmer G, Talabot-Ayer D, Szalay-Quinodoz I, Maret M, Arend WP, Gabay C. Mice transgenic for intracellular interleukin-1 receptor antagonist type 1 are protected from collagen-induced arthritis. *Eur J Immunol*.2003; 33(2): 434-40.
46. Sedimbi SK, Hagglof T, Karlsson MC. IL-18 in inflammatory and autoimmune disease. *Cell Mol Life Sci*.2013; 70(24): 4795-808.
47. Dinarello CA, Novick D, Kim S, Kaplanski G. Interleukin-18 and IL-18 binding protein. *Front Immunol*.2013; 4: 289.

48. Vigne S, Palmer G, Martin P, Lamacchia C, Strebel D, Rodriguez E, et al. IL-36 signaling amplifies Th1 responses by enhancing proliferation and Th1 polarization of naive CD4+ T cells. *Blood*.2012; 120(17): 3478-87.
49. Tripodi D, Conti F, Rosati M, Maccauro G, Saggini A, Cianchetti E, et al. IL-36 a new member of the IL-1 family cytokines. *J Biol Regul Homeost Agents*.2012; 26(1): 7-14.
50. Nold MF, Nold-Petry CA, Zepp JA, Palmer BE, Bufler P, Dinarello CA. IL-37 is a fundamental inhibitor of innate immunity. *Nat Immunol*.2010; 11(11): 1014-22.
51. Schmitz J, Owyang A, Oldham E, Song Y, Murphy E, Mcclanahan TK, et al. IL-33, an interleukin-1-like cytokine that signals via the IL-1 receptor-related protein ST2 and induces T helper type 2-associated cytokines. *Immunity*. 2005; 23: 479-90.
52. Liew FY. IL-33: a Janus cytokine. *Ann Rheum Dis*. 2012; 71(2): i101-4.
53. Carta S, Laveri R, Rubartelli A. Different members of the IL-1 family come out in different ways: DAMPs vs. cytokines? *Front Immunol*.2013; 4: 123.
54. Yang N, Li Z, Jiao Z, Gu P, Zhou Y, Lu L, et al. A Trichosanthin-derived peptide suppresses type 1 immune responses by TLR2-dependent activation of CD8+ CD28-Tregs. *Clin Immunol*.2014; 153(2): 277-87.
55. Vuddamalay Y, Van Meerwijk JP. CD28- and CD28^{low}CD8⁺ regulatory T cells: of mice and men. *Front Immunol*.2017; 8: 31.
56. Wei S, Kryczek I, Zou L, Daniel B, Cheng P, Mottram P, et al. Plasmacytoid dendritic cells induce CD8⁺ regulatory T cells in human ovarian carcinoma. *Cancer Res*.2005; 65(12): 5020-26.
57. Rostamzadeh D, Yousefi M, Haghshenas MR, Ahmadi M, Dolati S, Babaloo Z. mTOR signaling pathway as a master regulator of memory CD8⁺ T-cells, Th17, and NK cells development and their functional properties. *J Cell Physiol*.2019; 234(8): 12353-68.
58. Cayrol C, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is inactivated after maturation by caspase-1. *PNAS*.2009; 106(22): 9021-26.
59. Dreis C. Role of Interleukin-33 in the Activation, Differentiation and Migration of CD8⁺ T Lymphocytes. Justus-Liebig Giessen Üniversitesi, Doktora Tezi, 2019.

60. Allegra A, Innao V, Tartarisco G, Pioggia G, Casciaro M, Musolino C, et al. The ST2/interleukin-33 axis in hematologic malignancies: the IL-33 paradox. *Int J Mol Sci.*2019; 20(20): 5226.
61. Ali S, Mohs A, Thomas M, Klare J, Ross R, Schmitz ML, et al. The dual function cytokine IL-33 interacts with the transcription factor NF- κ B to dampen NF- κ B–stimulated gene transcription. *J Immunol.*2011; 187(4): 1609-16.
62. Roussel L, Erard M, Cayrol C, Girard JP. Molecular mimicry between IL-33 and KSHV for attachment to chromatin through the H2A–H2B acidic pocket. *EMBO Rep.*2008; 9(10): 1006-12.
63. Gautier V, Cayrol C, Farache D, Roga S, Monsarrat B, Burlet-Schiltz O, et al. Extracellular IL-33 cytokine, but not endogenous nuclear IL-33, regulates protein expression in endothelial cells. *Sci Rep.*2016; 6(1): 34255.
64. Tanabe T, Shimokawaji T, Kanoh S, Rubin BK. IL-33 stimulates CXCL8/IL-8 secretion in goblet cells but not normally differentiated airway cells. *Clin Exp Allergy.*2014; 44(4): 540-52.
65. Fujita J, Kawaguchi M, Kokubu F, Ohara G, Ota K, Huang SK, et al. Interleukin-33 induces interleukin-17F in bronchial epithelial cells. *Allergy.* 2012; 67(6): 744-50.
66. Ganesan S, Pham D, Jing Y, Farazuddin M, Hudy MH, Unger B, et al. TLR2 activation limits rhinovirus-stimulated CXCL-10 by attenuating IRAK-1-dependent IL-33 receptor signaling in human bronchial epithelial cells. *J Immunol.*2016; 197(6): 2409-20.
67. Yagami A, Orihara K, Morita H, Futamura K, Hashimoto N, Matsumoto K, et al. IL-33 mediates inflammatory responses in human lung tissue cells. *J Immunol.*2010; 185(10): 5743-50.
68. Bonilla WV, Frohlich A, Senn K, Kallert S, Fernandez M, Johnson S, et al. The alarmin interleukin-33 drives protective antiviral CD8⁺ T cell responses. *Science.*2012; 335(6071): 984-89.
69. Moritz DR, Rodewald HR, Gheyselinck J, Klemenz R. The IL-1 receptor-related T1 antigen is expressed on immature and mature mast cells and on fetal blood mast cell progenitors. *J Immunol.*1998; 161(9): 4866-74.

70. Moro K, Yamada T, Tanabe M, Takeuchi T, Ikawa T, Kawamoto H, et al. Innate production of TH2 cytokines by adipose tissue-associated c-Kit⁺ Sca-1⁺ lymphoid cells. *Nature*.2010; 463(7280): 540-44.
71. Price AE, Liang HE, Sullivan BM, Reinhardt RL, Eisley CJ, Erle DJ, et al. Systemically dispersed innate IL-13 expressing cells in type 2 immunity. *PNAS*.2010; 107(25): 11489-94.
72. Brint EK, Xu D, Liu H, Dunne A, McKenzie AN, O'Neill LA, et al. ST2 is an inhibitor of interleukin 1 receptor and Toll-like receptor 4 signaling and maintains endotoxin tolerance. *Nat Immunol*.2004; 5(4): 373-79.
73. Rank MA, Kobayashi T, Kozaki H, Bartemes KR, Squillace DL, Kita H. IL-33-activated dendritic cells induce an atypical TH2-type response. *J Allergy Clin Immunol*.2009; 123(5): 1047-54.
74. Cherry WB, Yoon J, Bartemes KR, Iijima K, Kita H. A novel IL-1 family cytokine, IL-33, potently activates human eosinophils. *J Allergy Clin Immunol*.2008; 121(6): 1484-90.
75. Pecaric-Petkovic T, Didichenko SA, Kaempfer S, Spiegl N, Dahinden CA. Human basophils and eosinophils are the direct target leukocytes of the novel IL-1 family member IL-33. *Blood*. 2009; 113(7): 1526-34.
76. Smithgall MD, Comeau MR, Park Yoon BR, Kaufman D, Armitage R, Smith DE. IL-33 amplifies both Th1-and Th2-type responses through its activity on human basophils, allergen-reactive Th2 cells, iNKT and NK cells. *Int Immunol*.2008; 20(8): 1019-30.
77. Drake LY, Kita H. IL-33: biological properties, functions, and roles in airway disease. *Immunol Rev*.2017; 278(1): 173-84.
78. Xu D, Chan WL, Leung BP, Huang FP, Wheeler R, Piedrafita D, et al. Selective expression of a stable cell surface molecule on type 2 but not type 1 helper T cells. *J Exp Med*.1998; 187(5): 787-94.
79. Sattler S, Smits HH, Xu D, Huang FP. The evolutionary role of the IL-33/ST2 system in host immune defence. *Arch Immunol Ther Exp*.2013; 61(2): 107-17.
80. Miller AM, Liew FY. The IL-33/ST2 pathway a new therapeutic target in cardiovascular disease. *Pharmacol Ther*.2011; 131(2): 179-86.

81. Hu LA, Fu Y, Zhang DN, Zhang J. Serum IL-33 as a diagnostic and prognostic marker in non-small cell lung cancer. *Asian Pac J Cancer Prev.*2013; 14(4): 2563-66.
82. Januzzi JL. ST2 as a cardiovascular risk biomarker: from the bench to the bedside. *J Cardiovasc Transl Res.*2013; 6(4): 493-500.
83. Pastorelli L, De Salvo C, Vecchi M, Pizarro TT. The role of IL-33 in gut mucosal inflammation. *Mediators Inflamm.* 2013; 1-11.
84. Pichery M, Mirey E, Mercier P, Lefrancais E, Dujardin A, Ortega N, et al. Endogenous IL-33 is highly expressed in mouse epithelial barrier tissues, lymphoid organs, brain, embryos, and inflamed tissues: in situ analysis using a novel IL-33–LacZ gene trap reporter strain. *J Immunol.*2012; 188(7): 3488-95.
85. Baekkevold ES, Roussigne M, Yamanaka T, Johansen FE, Jahnsen FL, Amalric F, et al. Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules. *Am J Pathol.* 2003; 163(1): 69-79.
86. Moussion C, Ortega N, Girard JP. The IL-1-like cytokine IL-33 is constitutively expressed in the nucleus of endothelial cells and epithelial cells in vivo: a novel ‘alarmin’? *PloS One.*2008; 3(10): e3331.
87. Klemenz R, Hoffmann S, Werenskiold AK. Serum-and oncoprotein-mediated induction of a gene with sequence similarity to the gene encoding carcinoembryonic antigen. *PNAS.* 1989; 86(15): 5708-12.
88. Tominaga SI. A putative protein of a growth specific cDNA from BALB/c-3T3 cells is highly similar to the extracellular portion of mouse interleukin 1 receptor. *FEBS Lett.*1989; 258(2): 301-4.
89. Mirchandani A. IL-33-induced innate lymphoid cells and airway inflammation. *Glasgow Üniversitesi, Doktora Tezi*,2012.
90. Tominaga SI, Yokota T, Yanagisawa K, Tsukamoto T, Takagi T, Tetsuka T. Nucleotide sequence of a complementary DNA for human ST2. *Biochim Biophys Acta-Gene Struct Expression.*1992; 1171(2): 215-18.
91. Bergers G, Reikerstorfer A, Braselmann S, Graninger P, Busslinger M. Alternative Promoter Usage of the Fos-Responsive Gene Fit-1 Generates mRNA Isoforms Coding For Either Secreted or Membrane-Bound Proteins Related To The IL-1 Receptor. *EMBO J.* 1994; 13(5): 1176-88.

92. Gachter T, Werenskiold AK, Klemenz R. Transcription of the interleukin-1 receptor-related T1 gene is initiated at different promoters in mast cells and fibroblasts. *J Biol Chem.*1996; 271(1): 124-29.
93. Murphy GEJ. IL-33 and ST2 in innate and adaptive airway inflammation. Glasgow Üniversitesi, Doktora Tezi,2015.
94. Tominaga SI, Jenkins NA, Gilbert DJ, Copeland NG, Tetsuka T. Molecular cloning of the murine ST2 gene. Characterization and chromosomal mapping. *Biochim Biophys Acta-Gene Struct Expression.*1991; 1090(1): 1-8.
95. Tominaga SI, Inazawa J, Tsuji S. Assignment of the human ST2 gene to chromosome 2 at q11.2. *Hum Genet.*1996; 97: 561-63.
96. Iwahana H, Hayakawa M, Kuroiwa K, Tago K, Yanagisawa K, Noji S, et al. Molecular cloning of the chicken ST2 gene and a novel variant form of the ST2 gene product, ST2LV. *Biochim Biophys Acta-Gene Struct Expression.*2004; 1681(1): 1-14.
97. Stansberg C, Subramaniam S, Olsen L, Secombes CJ, Cunningham C. Cloning and characterisation of a putative ST2L homologue from Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Fish Shellfish Immunol.*2003; 15(3): 211-24.
98. Mitcham JL, Parnet P, Bonnert TP, Garka KE, Gerhart MJ, Slack JL, et al. T1/ST2 Signaling establishes it as a member of an expanding interleukin-1 receptor family. *J Biol Chem.*1996; 271(10): 5777-83.
99. Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood.* 1996; 87(6): 2095-147.
100. Dinarello CA. Immunological and inflammatory functions of the interleukin-1 family. *Annu Rev Immunol.*2009; 27: 519-50.
101. Haider SG. Cell biology of Leydig cells in the testis. *Int Rev Cytol.*2004; 233(4): 181-241.
102. Khan SA, Khan SJ, Dorrington JH. Interleukin-1 stimulates deoxyribonucleic acid synthesis in immature rat Leydig cells in vitro. *Endocrinology.*1992; 131(4): 1853-57.
103. Jegou B, Cudicini C, Gomez E, Stephan JP. Interleukin-1, interleukin-6 and the germ cell-Sertoli cell cross-talk. *Reprod Fertil Develop.*1995; 7(4): 723-30.

104. Cudicini C, Lejeune H, Gomez E, Bosmans E, Ballet F, Saez J, et al. Human Leydig cells and Sertoli cells are producers of interleukins-1 and-6. *J Clin Endocrinol Metab.*1997; 82(5): 1426-33.
105. Gerard N, Syed V, Bardin W, Genetet N, Jegou B. Sertoli cells are the site of interleukin-1 α synthesis in rat testis. *Mol Cell Endocrinol.*1991; 82(1): R13-R16.
106. Wang JE, Josefsen GM, Hansson V, Haugen TB. Residual bodies and IL-1 α stimulate expression of mRNA for IL-1 α and IL-1 receptor type I in cultured rat Sertoli cells. *Mol Cell Endocrinol.*1998; 137(2): 139-44.
107. Söder O, Syed V, Callard GV, Toppari J, Pollanen P, Parvinen M, et al. Production and secretion of an interleukin-1-like factor is stage-dependent and correlates with spermatogonial DNA synthesis in the rat seminiferous epithelium. *Int J Androl.*1991; 14(3): 223-31.
108. Stephan JP, Syed V, Jegou B. Regulation of Sertoli cell IL-1 and IL-6 production in vitro. *Mol Cell Endocrinol.*1997; 134(2): 109-18.
109. Takao T, Mitchell WM, Tracey DE, De Souza EB. Identification of interleukin-1 receptors in mouse testis. *Endocrinology.*1990; 127(1): 251-58.
110. Loveland KL, Klein B, Poeschl D, Indumathy S, Bergmann M, Loveland BE, et al. Cytokines in male fertility and reproductive pathologies: Immunoregulation and beyond. *Front Endocrinol.* 2017; 8: 307.
111. Hedger MP, Meinhardt A. Cytokines and the immune-testicular axis. *J Reprod Immunol.* 2003; 58:1-26.
112. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A nuclear cytokine from the IL-1 family. *Immunol Rev.* 2018; 281: 154-68.
113. Haraldsen G, Balogh J, Pollheimer J, Sponheim J, Kuchler AM. Interleukin-33-cytokine of dual function or novel alarmin? *Trends Immunol.* 2009;30: 227-33.
114. O'Bryan MK, Gerdprasert O, Nikolic-Paterson DJ, Meinhardt A, Muir JA, Foulds LM, et al. Cytokine profiles in the testes of rats treated with

- lipopolysaccharide reveal localized suppression of inflammatory responses. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*.2005; 288: R1744-R1755.
115. Roussel L, Erard M, Cayrol C, Girard JP. Molecular mimicry between IL-33 and KSHV for attachment to chromatin through the H2A-H2B acidic pocket. *EMBO Rep*. 2008; 9 (10): 1006-12.
116. Pichery M, Mirey E, Mercier P, Lefrancais E, Dujardin A, Ortega N, et al. Endogenous IL-33 is highly expressed in mouse epithelialbarrier tissues, lymphoid organs, brain, embryos, and inflamed tissues: In situ analysis using a novel IL-33–LacZ gene trap reporter strain. *J Immunol*. 2012; 188: 3488-95.
117. Cayrol C, Girard JP. Interleukin-33 (IL-33): A critical review of its biology and the mechanisms involved in its release as a potent extracellular cytokine. *Cytokine* 2022; 156: 155891.
118. Nunes T, Bernardazzi C, de Souza HS. Interleukin-33 and inflammatory bowel diseases: Lessons from human studies. *Mediators Inflamm*. Volume 2014; 1-10.
119. Pohl E, Gromoll J, Wistuba J, Laurentino S. Healthy ageing and spermatogenesis. *Reproduction* 2021; 161: R89-R101.

9. ÖZGEÇMİŞ



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

ÖZGEÇMİŞ

Adı	Ebubekir	Soyadı	ACAR
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
Uyruğu	T.C.	Tel-GSM	
E-posta			

EĞİTİM DÜZEYİ

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Doktora/Uzmanlık		
Tezli Yüksek Lisans		
Tezsiz Yüksek Lisans		
Lisans	Atatürk Sağlık Yüksek Okulu Hemşirelik Bölümü	2013
Lise	Diyarbakır Anadolu Lisesi	2008

İŞ DENEYİMİ

Görevi	Kurum	Süre (Yıl - Yıl)
Hemşire	Dicle Üniversitesi Hastanesi	2013-

Yabancı Dil Sınav Notu

ÜDS/YDS	YÖKDİL	TIPDİL	TOEFL IBT	TOEFL PBT	TOEFL CBT	FCE	CAE	CPE

	Sayısal	Eşit Ağırlık	Sözel
ALES Puanı			
(Diğer) Puanı			

10. EKLER

10.1. Etik Kurul İzni



T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu



Sayı : 35582840-604.01.02-112096
Konu : Değerlendirme ve Onay

23/11/2020

Sayın Doç. Dr. Mehmet Erdem AKBALIK

Tez Danışmanı olduğunuz Ebubekir ACAR ile birlikte yapmayı planladığınız "Puperta öncesi ve sonrası dönemdeki kedilerin testislerinde interlökin-33 ve resptörü ST2'nin İmmunohistokimyasal olarak gösterilmesi" adlı araştırmada, Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Polikliniğine karşılaştırma amacıyla getirilen, farklı yaşlarda ve ırklarda sağlıklı erkek kedilerden elde edilen testis dokuları kullanılacağımız belirtilmektedir. Bu kapsamda, "teşhis ve tedavi amaçlı klinik uygulama sonrası doku örnekleri (Testis) kullanılacağından" bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.

Prof. Dr. Beran YOKUŞ
Başkan

Evrakı Doğrulamak İçin : https://ebelge.dicle.edu.tr/en/Vision/Validate_Doc.aspx?V=BEND63L4L

Dicle Üniversitesi Rektörlüğü, 21280-Diyarbakır
Telefon: +90 412 248 84 31 Faks: +90 412 248 82 16
e-Posta : dusam@dicle.edu.tr Elektronik Ağ: <http://www.dicle.edu.tr>

Ayrıntılı bilgi için irtibat: Beran Yokuş
Evrak Pın Kodu: 44891

11. ORJİNALLİK RAPORU

Turnitin Orijinallik Raporu

Doküman Görüntüleyici

İşleme kondu: 28-Nis-2023 12:32 +03

NUMARA: 2078109283

Kelime Sayısı: 6620

Gönderildi: 1

Benzerlik Endeksi

%17

Kaynağa göre Benzerlik

Internet Sources: %17

Yayınlar: %3

Öğrenci Ödevleri: %4

Puberta Öncesi ve Sonrası Dönemdeki

Kedilerin... Ebubekir Acar tarafından

alıntılar çıkar

bibliyografyayı çıkar

küçük eşleşmeleri çıkar

mod: rapor hızlı görüntüle (klasik)

yazdır

yenile

İndir

3% match (25-Eyl-2022 tarihli internet)

https://acikbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/404545/yokAcikBilim_10057168.pdf?isAllowed=v&sequence=-1

2% match (25-May-2022 tarihli internet)

https://acikbilim.yok.gov.tr/bitstream/handle/20.500.12812/645230/yokAcikBilim_10068081.pdf?isAllowed=v&sequence=-1

2% match (04-Ara-2021 tarihli internet)

<http://acikerisim.dicle.edu.tr>

1% match (04-Ara-2021 tarihli internet)

<http://acikerisim.dicle.edu.tr>

1% match (10-Kas-2021 tarihli internet)

<http://adudspace.adu.edu.tr:8080>

1% match ()

[Yıldız, Mustafa, "The changes in reproductive system of female rats with experimentally induced diabetes and the effects of lycopen on these changes", 'Adnan Menderes Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi', 2014](#)

1% match (14-Tem-2021 tarihli öğrenci ödevleri)

[Submitted to Marmara University on 2021-07-14](#)

1% match (21-Ağu-2022 tarihli internet)