



T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA SİSPLATİN İLE OLUŞTURULAN TESTİKÜLER
HASAR ÜZERİNE VİBURNUM OPULUS'UN OLASI ETKİSİNİN
HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

Dr. HASAN SALİH KÖSE

UZMANLIK TEZİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. HACI İBRAHİM ÇİMEN

2025-SAKARYA

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**RATLARDA SİSPLATİN İLE OLUŞTURULAN TESTİKÜLER
HASAR ÜZERİNE VİBURNUM OPULUS'UN OLASI ETKİSİNİN
HİSTOLOJİK VE BİYOKİMYASAL OLARAK İNCELENMESİ**

Dr. HASAN SALİH KÖSE

UZMANLIK TEZİ

ÜROLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN

Doç. Dr. HACI İBRAHİM ÇİMEN

2025-SAKARYA

ONAY

Kurum : Sakarya Üniversitesi/Tıp Fakültesi

Program türü : Uzmanlık Tezi

Anabilim Dalı : Üroloji A.B.D.

Tez Sahibi : Dr. Hasan Salih KÖSE

Sınav Tarihi : **Saat:**

Tez Başlığı : Ratlarda sisplatin ile oluşturulan testiküler hasar üzerine Viburnum Opulus'un olası etkisinin histolojik ve biyokimyasal olarak incelenmesi.

Bu çalışma, içerik ve kalite bakımından Uzmanlık Tezi olarak Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

	Ünvan, Adı-Soyadı (Kurum adı)	İmza	Kabul/Red*
Danışman (Üye)			
Üye			
Üye			

* Red kararının gerekçesi onay sayfasının arkasında belirtilmelidir.

ONAY

“Bu tez ../../202.. tarihinde yukarıdaki jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.”

../../202..

Tıp Fakültesi Dekanı

BEYAN

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

*Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'ndan 19/02/2024 tarihinde onay alarak hazırlanmıştır.

*Bu çalışma, Sakarya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Komisyonu Başkanlığı tarafından 2024-26-61-101 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Tarih:

.../.../...

HASAN SALİH

KÖSE

İmza

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım çok kıymetli hocalarım Prof. Dr. Hasan Salih SAĞLAM, Prof. Dr. Osman KÖSE, Prof. Dr. Fikret Halis ve Prof. Dr. Ahmet GÖKÇE'ye; asistanlığımın başından itibaren benim için hem bir hoca hem de bir ağabey olan tez danışmanım Doç. Dr. Hacı İbrahim ÇİMEN'e; bilgileri ve tecrübeleriyle bana her zaman destek olan Doç. Dr. Hüseyin AYDEMİR, Doç. Dr. Salih BUDAK ve Op. Dr. Yusuf Önder ÖZSAĞIR'a; asistanlık eğitim sürecinde desteğini hep hissettiğim Dr. Öğr. Üyesi Recep Burak Değirmen-tepe'ye; tez yazım sürecinde hiçbir yardımı esirgemeyen Op. Dr. Deniz GÜL ve Op. Dr. Kemal DEMİRHAN'a; asistanlığım boyunca bilgi ve becerilerimin gelişmesinde katkıda bulunan Op. Dr. Yavuz Tarık ATİK, Op. Dr. Anıl ERDİK ve Op. Dr. Burak UYSAL'a; asistanlığım boyunca varlığı bana güven veren hem kıdemli ağabeyim hem de dostum Op. Dr. Safa ARSLAN'a; zorlu asistanlık sürecinde daima arkamda olan Dr. Yasir Muhammed AKÇA'ya ve tüm bu süreçte beraber çalışmaktan hep keyif aldığım, her birini kardeşim gibi gördüğüm kliniğimiz asistan hekimlerine; kliniğimizin tüm hemşire, sekreter ve sağlık personeline; tez sürecinde verdikleri katkılarından ötürü Doç. Dr. Özcan BUDAK ve Doç. Dr. Erdem ÇOKLUK'a;

Tüm hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hep hissettiğim, kazandığım tüm başarıların asıl mimarları olan canım annem, babam ve varlıklarıyla güven veren kardeşlerime;

Verdiği destek ve güveni kelimeler ile tarif edemeyeceğim, asistanlık hayatımın tüm zorlu süreçlerinde her zaman yanımda olan, bana hep inanan ve güvenen sevgili eşim, yol arkadaşım Dr. Beyza AKSOY KÖSE'ye; ve hayatı bizim için anlamlı kılan kızım İpek ve oğlum Mert'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
TEŞEKKÜR.....	ii
KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ	vii
ŞEKİL LİSTESİ	viii
TABLO LİSTESİ	ix
RESİM LİSTESİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT.....	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Testis	2
2.1.1. Testis anatomisi	2
2.1.1.1. Epididimis anatomisi ve histolojisi.....	2
2.1.2. Testis histolojisi.....	3
2.1.2.1. Sertoli hücresi	4
2.1.2.2. İnterstisyel doku ve leydig hücresi	5
2.2. Spermatogenez.....	6
2.2.1. Spermatid oluşum süreci	6
2.2.2. Spermiyogenez.....	7
2.2.2.1. Golgi fazı.....	7
2.2.2.2. Akrozomal faz	8
2.2.3. Spermatogenezin hormonal kontrolü.....	9
2.2.3.1. Hipotalamus ve hipofiz düzeyinde düzenleme.....	9

2.2.3.2. Testis düzeyinde düzenleme	9
2.2.3.3. Geri bildirim mekanizması	10
2.3. Testiküler Hasar Mekanizmaları.....	10
2.3.1. Oksidatif stres ve testiküler hasar.....	10
2.3.2. Apoptoz.....	11
2.3.3. Antioksidan mekanizmalar.....	12
2.4. Sisplatin.....	13
2.4.1. DNA hasarı oluşturma mekanizması	15
2.4.2. ROS üretimi ve oksidatif stres.....	16
2.5. Viburnum Opulus	17
2.5.1. Genel tanım	17
2.5.2. Kimyasal bileşeni	19
2.5.3. Farmakolojik etkileri.....	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
3.1. Etik Kurul Onayı.....	20
3.2. Deney Protokolü	20
3.2.1. Deney grupları	20
3.2.2. İlaç hazırlama.....	20
3.2.3. Deney süreci.....	21
3.3. Histolojik İnceleme	21
3.3.1. Sperm parametreleri	21
3.3.2. Testislerin doku takibi	21
3.3.3. Testislerden kesit alma ve değerlendirilmesi	22
3.3.4. Johnsen skorlaması.....	22
3.3.5. Seminifer tübül çapı ve germinal epitel kalınlığı	23
3.4. Biyokimyasal İnceleme.....	23

3.4.1. Kan ve doku örneklerinin alınması ve hazırlanması.....	23
3.4.2. ELISA kitlerinin çalışılması.....	23
3.5. İstatistiksel Yöntem.....	26
4. BULGULAR	27
4.1. Sperm Parametreleri.....	27
4.1.1. Sperm sayısı ölçümlerinin istatistiki sonuçları.....	27
4.1.2. İleri hareket yüzdelerinin istatistiki sonuçları.....	28
4.1.3. Sperm morfolojisi istatistiki sonuçları.....	29
4.2. Histometrik Veri Sonuçları	30
4.2.1. Johnsen skoru istatistiki sonuçları.....	30
4.2.2. Seminifer tübül çapı değerlerinin istatistiki sonuçları.....	31
4.2.3. Germinal epitel kalınlığı ölçümü ve istatistiksel analiz	32
4.3. Biyokimyasal Bulgular	35
4.3.1. Total testosteron sonuçları	35
4.3.2. Serum inhibin-b sonuçları	36
4.3.3. Doku katalaz (CAT) sonuçları.....	37
4.3.4. Doku glutatyon peroksidaz (GPx) sonuçları.....	38
4.3.5. Doku süperoksit dismutaz (SOD) sonuçları	39
4.3.6. Doku 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin sonuçları (8-OHdG).....	40
4.3.7. Serum malondialdehit (MDA) sonuçları.....	41
4.3.8. Doku myeloperoksidaz (MPO) sonuçları.....	42
4.3.9. Serum total antioksidan (TAS) sonuçları	43
4.3.10. Serum total oksidan (TOS) sonuçları	44
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	45
6. KAYNAKLAR.....	51
7. EKLER	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.

7.1. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Onayı	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZGEÇMİŞ	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.



KISALTMA VE SİMGELER LİSTESİ

ABP: Androjen Bağlayıcı Protein
AMH: Antimüllerien Hormon
CAT: Katalaz
ER: Endoplazmik Retikulum
FUH: Folikül Uyarıcı Hormon
GnRH: Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GPx: Glutatyon Peroksidaz
H₂O₂: Hidrojen Peroksit
LH: Luteinizan Hormon
MDA: Malondialdehit
MPO: Myeloperoksidaz
ROS: Reaktif Oksijen Türleri
SOD: Süperoksit Dismutaz
TAS: Total Antioksidan Seviyesi
TOS: Total Oksidan Seviyesi
8-OHdG: 8-Hidroksiguanozin

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1 Testis ve Epididimis anatomisi	2
Şekil 2.2. Testis histolojisi ve kan-testis bariyeri	4
Şekil 2.3. Spermatogenez aşamaları	7
Şekil 2.4. Spermatidin olgunlaşma süreci ve akrozom fazı	8
Şekil 2.5. Hipotalamik-hipofizer-gonadal aks	9
Şekil 2.6. Apoptoz yolağı	12
Şekil 2.7. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve metabolizmasının ana yolları	13
Şekil 2.8. Sisplatinin kimyasal konfigürasyonu.....	14
Şekil 2.9. Sisplatinin özellikle Adenin-Guanin ve Guanin-Guanin zincirlerine bağlanarak çapraz bağlar oluşturması	15
Şekil 2.10. Sisplatinin yaptığı oksidatif hasar ve apoptoz süreci.....	16
Şekil 4.1 Sperm sayılarının gruplar arası dağılımı	27
Şekil 4.2 İleri hareketli sperm yüzdelерinin gruplar arası karşılaştırılması	28
Şekil 4.3 Gruplara göre sperm morfoloji değeri dağılımı.....	29
Şekil 4.4 Johnsen skorlamasının gruplara göre dağılımı	30
Şekil 4.5 Seminifer tübül çapı gruplara göre dağılımı	31
Şekil 4.6 Germinal epitel kalınlığı gruplara göre dağılımı	32
Şekil 4.7 Serum total testosteron gruplar arası dağılımı	35
Şekil 4.8 Serum inhibin-b seviyesi gruplar arası dağılımı	36
Şekil 4.9 Doku katalaz seviyesi gruplar arası dağılımı.....	37
Şekil 4.10 Doku GPx seviyesi gruplar arası dağılımı	38
Şekil 4.11 Doku SOD seviyesi gruplar arası dağılımı	39
Şekil 4.12 Doku 8-OHdG seviyesi gruplar arası dağılımı	40
Şekil 4.13 Serum MDA seviyesi gruplar arası dağılımı	41
Şekil 4.14 Doku MPO seviyesi gruplar arası dağılımı	42
Şekil 4.15 Serum TAS seviyesi gruplar arası dağılımı	43
Şekil 4.16 Serum TOS seviyesi gruplar arası dağılımı	44

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1. Johnsen skorlaması.....	22
Tablo 4.1 Toplam sperm sayısı	27
Tablo 4.2 Sperm ileri hareket yüzdeleri	28
Tablo 4.3 Normal sperm morfolojisi	29
Tablo 4.4 Johnsen skoru değerleri.....	30
Tablo 4.5 Seminifer tübül çapı ölçümleri.....	31
Tablo 4.6 Germinal epitel kalınlığı ölçümleri	32
Tablo 4.7 Total testosteron değerleri.....	35
Tablo 4.8 Serum inhibin-b değerleri	36
Tablo 4.9 Doku Katalaz sonuçları	37
Tablo 4.10 Doku GPx değerleri	38
Tablo 4.11 Doku SOD değerleri.....	39
Tablo 4.12 8-OHdG değerleri	40
Tablo 4.13 Serum MDA değerleri.....	41
Tablo 4.14 Doku MPO değerleri	42
Tablo 4.15 Serum TAS sonuçları	43
Tablo 4.16 Serum TOS sonuçları	44

RESİM LİSTESİ

Resim 2.1 Epididimin anatomik yapısı ve testisle ilişkisi	3
Resim 2.2. Sertoli hücresi.....	5
Resim 2.3. Işık mikroskopunda testis histolojisi	6
Resim 2.4. Viburnum Opulus’a ait (A) Yaprak (B-C) Çiçek (D) Meyve E) Kabuk formu	18
Resim 4.1 KON grubuna ait seminifer tübül enine kesit görüntüsü.....	33
Resim 4.2 V.O grubuna ait seminifer tübül enine kesit görüntüsü.....	33
Resim 4.3. CIS grubuna ait seminifer tübül enine kesit görüntüsü.	34
Resim 4.4. CIS+V.O grubuna ait seminifer tübül enine kesit görüntüsü	34

ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Sisplatin, birçok kanserde kullanılan platin bazlı bir kemoterapötiktir ve testislerde doğrudan toksisite ve oksidatif stresle hasar oluşturarak infertiliteye yol açabilir. Bu hasar çoğu zaman geri dönüşümlüdür. Çalışmamızda, bu hasarın antioksidan özellikli Viburnum Opulus ile önlenip önlenemeyeceğini araştırdık. Amacımız, sisplatin tedavisi sonrası genç erkeklerde görülen infertilite riskini azaltmaktır.

YÖNTEM: Çalışmamızda 32 adet 241 ± 26 gr ağırlığında Wistar Albino cins erişkin erkek rat kullanıldı. Ratlar rastgele 8'er adetten 4 farklı deney grubuna ayrıldı. Kontrol grubuna işlem yapılmadı. İkinci gruba 12 gün boyunca 100mg/kg oral Viburnum Opulus verildi. Üçüncü gruba tek doz 7mg/kg sisplatin (i.p) uygulandı. Dördüncü gruba 7mg/kg sisplatin (i.p) uygulamasının ardından 12 gün boyunca 100mg/kg oral Viburnum Opulus verildi. Tüm ratlara 12 günün sonunda 40mg/kg %10 ketamin hidroklorür ve 8mg/kg ksilazin yapılarak anestezi uygulandı. Cerrahi olarak testisler çıkarıldı, kan örnekleri alındı ve ratlar sakrifiye edildi.

BULGULAR: Gruplar arası johnsen skorlaması, germinal epitel kalınlığı ve seminifer tübül çapı ölçümü yapıldı. CIS grubunda diğerlerine göre istatistiksel anlamlı ($p < 0,05$) düşüş saptanırken CIS+V.O gruplarında diğerlerine göre istatistiksel anlamlı ($p < 0,05$) yükselme görüldü. Semen analizinde toplam sperm konsantrasyonu, ileri hareket yüzdeleri ve normal morfoloji yüzdeleri karşılaştırıldı. CIS grubunda her 3 değerinde anlamlı şekilde ($p < 0,05$) düşüş saptanırken CIS+V.O grubunda CIS grubuna göre 3 değerinde de anlamlı ($p < 0,05$) yükseliş izlendi. Biyokimyasal analizde total testosteron, inhibin-b, CAT, SOD, GPx, 8-OHdG, MPO, MDA, TAS ve TOS ölçümleri yapıldı. GPx dışında ($p > 0,05$) tüm bulgularda gruplar arası anlamlı farklılık ($p < 0,05$) saptandı.

SONUÇ: Sisplatinin testiküler dokuda hasar yaptığına ve birçok molekülün bu hasarı önlemede etkili olup olmadığına dair literatürde çalışmalar mevcut. Çalışmamızda, sisplatine bağlı oluşan histometrik hasarın ve artan oksidatif stresin Viburnum Opulus ile önlenebildiğini gösterdik.

Anahtar Kelimeler: Sisplatin, testis, Viburnum Opulus

ABSTRACT

Histological and biochemical investigation of the possible effect of *Viburnum Opulus* on cisplatin-induced testicular damage in rats

AIM: Cisplatin is a platinum-based chemotherapeutic used in many cancers and can cause infertility by inducing testicular damage through direct toxicity and oxidative stress. This damage is often reversible. In our study, we investigated whether this damage can be prevented with the antioxidant *Viburnum Opulus*. Our aim was to reduce the risk of infertility seen in young men after cisplatin treatment.

MATERIALS AND METHODS: Thirty-two adult male Wistar Albino rats (241 ± 26 g) were randomly allocated into four groups ($n=8$). The control group received no treatment. Group 2 received 100 mg/kg oral *Viburnum opulus* for 12 days. Group 3 received a single intraperitoneal dose of cisplatin (7 mg/kg). Group 4 received cisplatin (7 mg/kg, i.p.) followed by oral *Viburnum opulus* (100 mg/kg) for 12 days. At the end of the experimental period, anesthesia was achieved with ketamine (40 mg/kg) and xylazine (8 mg/kg). Testes were surgically removed, blood samples were collected, and the animals were sacrificed.

RESULTS: Histometric evaluations (Johnsen score, germinal epithelium thickness, and seminiferous tubule diameter) revealed significant reductions in the cisplatin group ($p<0.05$), whereas the cisplatin + *Viburnum Opulus* group demonstrated significant improvement ($p<0.05$). Semen parameters, including total sperm concentration, progressive motility, and normal morphology, were significantly decreased in the cisplatin group and significantly restored in the cisplatin + *Viburnum Opulus* group ($p<0.05$). Biochemical analyses showed significant intergroup differences in testosterone, inhibin-B, CAT, SOD, 8-OHdG, MPO, MDA, TAS, and TOS, with no significant change in GPx.

CONCLUSION: Our findings indicate that *Viburnum Opulus* effectively reduces cisplatin-induced testicular damage and oxidative stress, suggesting its potential as a protective agent against chemotherapy-related male infertility.

Key Words: Cisplatin, testis, *Viburnum Opulus*

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sisplatin testis, yumurtalık, mesane ve baş-boyun kanseri gibi çeşitli kanser tedavilerinde kullanılan platin türevi bir ilaçtır. İlk olarak 1960’larda sitotoksik olduğu keşfedilmiş ve 1970’lerden itibaren germ hücreli tümörlerin tedavisinin ana bileşeni olmuştur (Kelland, 2007).

Sisplatinin etki mekanizması, DNA hasarı yaparak kanser hücrelerini öldürmek ve DNA sentezlerini engellemektir (Basu ve Krishnamurthy, 2010).

Sisplatinin nefrotoksite, ototoksite, nörotoksite, gastrointestinal toksite ve gonadal hasar yaptığı bilinmektedir (Barabas ve ark., 2008). Yapılan çalışmalar sisplatinin, testislerde sertoli ve leydig hücreleri üzerine hasar yaptığı, doza bağımlı olarak seminifer tübüllerde hasar yaptığı ve apoptozisi artırarak oligo-azospermiye yol açtığını göstermiştir (Howell, 2005; Meistrich, 2013). Sisplatin doğrudan toksitesinin yanında, ayrıca aşırı reaktif oksijen türlerinin üretimini de artırır. Sisplatine bağlı aşırı artan oksidatif stres, hücrenin antioksidan kapasitesini aşmakta olup, sperm sayısını, hareketliliğini ve şeklini bozarak infertiliteye sebep olmaktadır. Testislerde enzimatik antioksidan mekanizma için Glutatyon Peroksidaz (GPx), Süperoksit Dismutaz (SOD) ve Katalaz (CAT) özellikle büyük öneme sahiptir (Bansal ve Bilaspuri, 2011; Kao ve ark., 2008; Sies, 2015).

Sisplatinin testis hasarının önlenmesinde antioksidan ajanların etkinliği ile ilgili birtakım çalışmalar mevcuttur. Örnek olarak bir antioksidan ajan olan Kuversetin ile yapılan bir çalışmada sisplatinin testis dokularında hasar meydana getirdiği ve Kuversetin bu hasarı önlediği gösterilmiştir (Bostancı ve ark., 2022).

Viburnum Opulus (gilaburu) doğu Avrupa’da ve ülkemiz coğrafyasında yetişen, antioksidan içeriği kanıtlanmış bir meyve türüdür. Yapılan çalışmalarda bu meyvenin oksidatif stres yükünü azalttığı gözlenmiştir (Rop ve ark., 2010a).

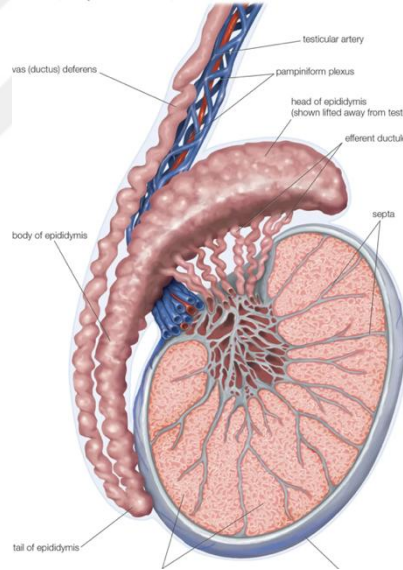
Biz çalışmamızda, sisplatinin testis üzerine olan etkisine, *Viburnum Opulusun* koruyucu etkisini göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis

2.1.1. Testis anatomisi

İnsan testisi, skrotum içerisinde, birbirleriyle septa ile ayrılmış 2 adet oval şekilli, endokrin ve ekzokrin görevi olan organdır. Genel olarak fasülye benzeri şekli, 5cm uzunluğu, 3cm genişliği ve 2cm kalınlığı vardır. Skrotum cildinden palpe edildiğinde yumuşak kıvrımlı ve düzgün şekilli ele gelir. Inferiorunda gubernaculum denilen bir skrotal bağ ile skrotuma bağlıdır. Süperiorunda ise epididim ve onun devamı şeklinde vas deferens vardır. Sağ testise kıyasla sol testis genel olarak daha inferior yerleşimlidir. (Şekil 2.1.) (Tiwana ve Leslie, 2023).

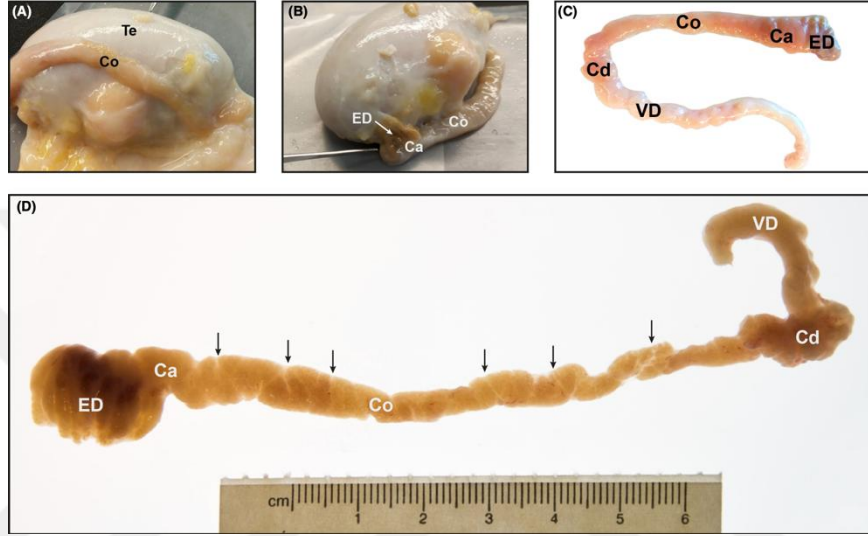


Şekil 2.1 Testis ve Epididimis anatomisi (Utiger, t.y.)

2.1.1.1. Epididimis anatomisi ve histolojisi

Epididim, testisin süperioruna komşudur ve baş, gövde ve kuyruktan oluşur. Kıvrımlı yapısından ötürü epididimin boyu yaklaşık 6 metre uzunluğa erişmektedir. Bu yapısı sayesinde testiste üretilen spermlerin depolanması ve olgunlaşmasında görev almaktadır (Tiwana ve Leslie, 2023). Epididim yalancı çok katlı silindirik epitel ile döşeli olup, hücre yüzeylerinde uzun, dallanmış stereosilyalar bulunur. Bu hücreler,

peristaltik kasılmalarla spermin ilerlemesini sağlar. Ayrıca, artık cisimciklerin ortadan kaldırılmasına katılır. Duktus epididimisin devamında duktus deferens vardır. Duktus deferens, kalın kas tabakalı bir kanal olup, uzunlamasına ve sirküler kas katmanlarından oluşur. Bu kas tabakası, ejakülasyon sırasında spermatozoonları fıskırtan peristaltik kasılmalar sağlar (Resim 2.1.) (Sullivan ve ark., 2019).

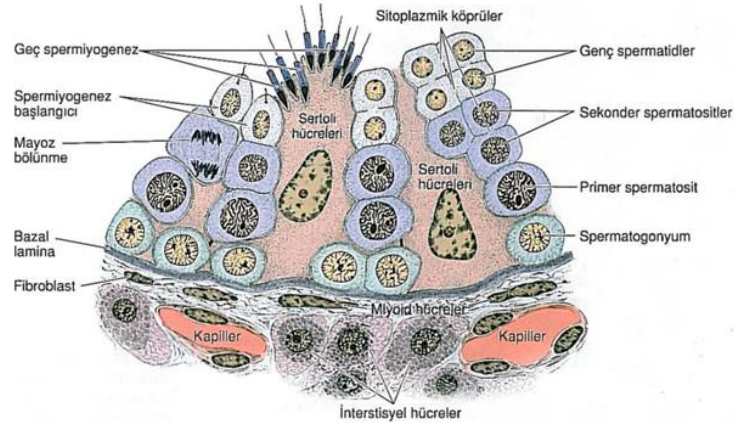


Resim 2.1 Epididimin anatomik yapısı ve testisle ilişkisi (A), epididimin testisten parsiyel diseksiyon ile ayrılması (B), epididimin komplet ayrılmış hali (C), epididimin tunikadan sıyrılmış tam hali (D). ED, efferent duktus; Te, testis; Ca, kaput; Co, korpus; Cd, kauda epididimis; VD, vas deferens. Epididimal septalar oklar ile gösterilmekte (Sullivan ve ark., 2019)

2.1.2. Testis histolojisi

Histolojik olarak testis incelendiğinde, dıştan içe doğru üç tabaka hâlinde organize olduğu görülür: tunika vaginalis, tunika albuginea ve tunika vasküloza. Tunika albuginea, testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Mediastinumdaki bezin içine uzanan fibröz trabeküller, testisi lobüllere ayırır ve her testiste yaklaşık 250 lobül bulunur. Her lobül, gevşek bağ dokusu ile çevrili 1–4 seminifer tübül içerir. Bu bağ dokusunda interstisyel (Leydig) hücreler ve kan damarları yer alır. Seminifer tübüller spermatozoa üretiminden sorumluyken, Leydig hücreleri testiküler androjen salgılar. Seminifer tübüller, fibröz bir bağ dokusu kılıfı,

belirgin bir bazal lamina ve seminifer epitelden oluşur. Seminifer epitelde iki ana hücre tipi bulunur: germ hücreleri ve Sertoli hücreleri. Sertoli hücreleri, kan-testis bariyerini oluştururken, germ hücreleri spermatogenez sürecinde rol oynar (Şekil 2.2.) (Trainer, 1987).



Şekil 2.2. Testis histolojisi ve kan-testis bariyeri (Junqueira 2006)

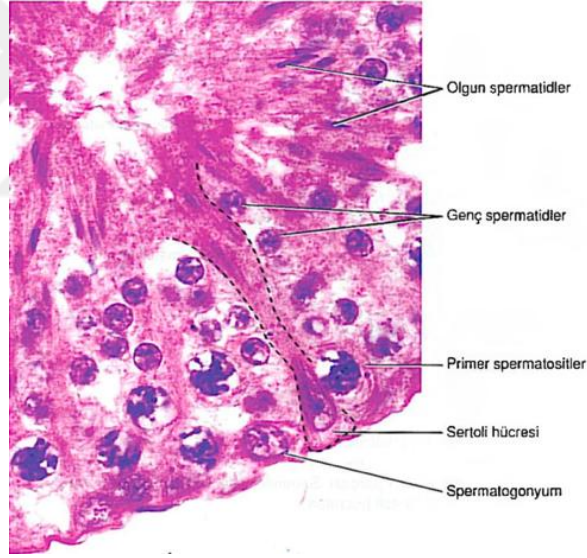
2.1.2.1 Sertoli hücresi

Sertoli hücreleri, testiste spermatogenez sürecinin düzenlenmesinde kritik bir rol üstlenir. Sitoplazmik köprülerle birbirine bağlanarak fiziksel destek sağlar. Elektron mikroskobu incelemeleri, sertoli hücrelerinin yoğun endoplazmik retikulum (ER), az granüllü ER, iyi gelişmiş golgi kompleksi, mitokondri ve lizozom içerdiğini ortaya koymaktadır. Hücrelerin nükleer yapıları üçgen şekilli olup, belirgin nükleolus ve heterokromatin içeren girintili yapılar gösterir.

Sertoli hücreleri, spermatogenez sürecinde germ hücrelerini besler, korur ve immünolojik saldırılara karşı bariyer işlevi görür (Resim 2.2.). Spermatogenez sırasında, fazlalık sitoplazması olan spermatidler, sertoli hücreleri tarafından fagosite edilip sindirilir. Ayrıca, sertoli hücreleri seminifer tübüllerinde bulunan sıvıyı salgılar; bu sıvı, spermatogenez için gerekli testosteronun yoğunlaştırılmasında ve spermlerin taşınmasında rol oynar. Sertoli hücreleri, folikül uyarıcı hormon (FUH) ve testosteron etkisiyle androjen-bağlayıcı protein (ABP) üretir, böylece intratestiküler testosteron yoğunluğunu artırır.

Sertoli hücreleri aynı zamanda östradiol üretiminde görev alır ve testosteronu östradiole dönüştürebilir. İnhibin salgılayarak hipofizden FUH üretimini negatif geri besleme mekanizmasıyla düzenler. Ayrıca, Sertoli hücreleri testislerdeki kan-testis bariyerinin oluşumunda kritik rol oynar; bu bariyer, germ hücrelerini kan yoluyla taşınan zararlı maddelerden korur. Hücreler arasındaki sıkı bağlantılar, büyük moleküllerin geçişini engelleyerek gelişmekte olan germ hücrelerini dış etkenlerden izole eder.

Sertoli hücreleri, embriyonik dönemde anti-müllerian hormon (AMH) üretir ve bu hormon, erkek fetusunda müller (paramezonefrik) kanallarının gerilemesini sağlar. Sertoli hücreleri, testisin üreme fonksiyonlarını sürdürürken, enfeksiyon, kötü beslenme veya iyonize radyasyona karşı yüksek direnç gösterir (Junqueira ve Carneiro, 2006).

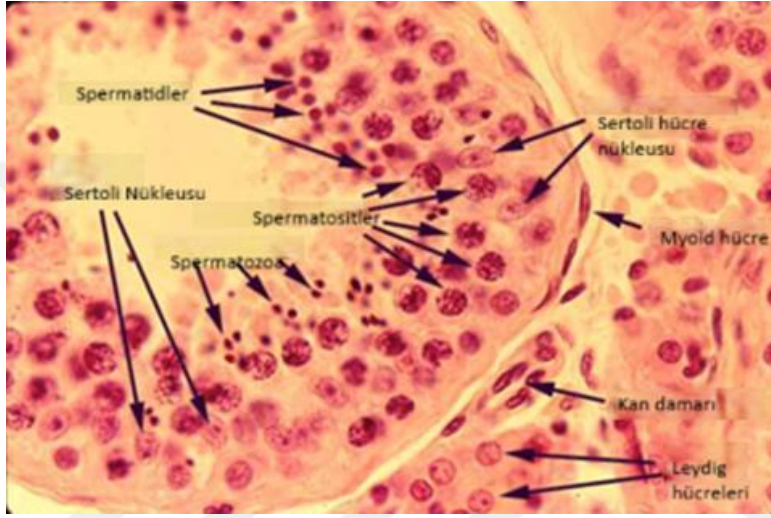


Resim 2.2. Sertoli hücresi (Junqueira 2006)

2.1.2.2. İnterstisyel doku ve leydig hücresi

Testisin interstisyel dokusu, androjen üretimini gerçekleştiren leydig hücreleri ve bağ dokusu, kan ve lenf damarları ile doludur (Resim 2.3.). Bu bağ dokusu seminifer tübüllerin arasındaki boşlukları doldurur. Testiküler kapillerler pencereci olup, makromoleküllerin geçişine izin verir. İnterstisyel alanda leydig hücreleri bulunur; bu

hücreler testosteron üretir ve sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumludur. Testosteron sentezi, mitokondriler ve düz ER'deki enzimlerle gerçekleşir. Leydig hücrelerinin sayısı ve fonksiyonu, hormonal uyarılara bağlıdır. Hamilelikte, gonadotropik hormonlar fetal testiküler hücreleri uyarak erkek genital organlarının embriyonik farklılaşmasını sağlar. Bu hücreler, gebeliğin 4. ayında gerileyip puberteye kadar dinlenme dönemine girer (Junqueira ve Carneiro, 2006).



Resim 2.3. Işık mikroskopunda testis histolojisi (Southern Illinois University arşivinden değiştirilerek kullanılmıştır)

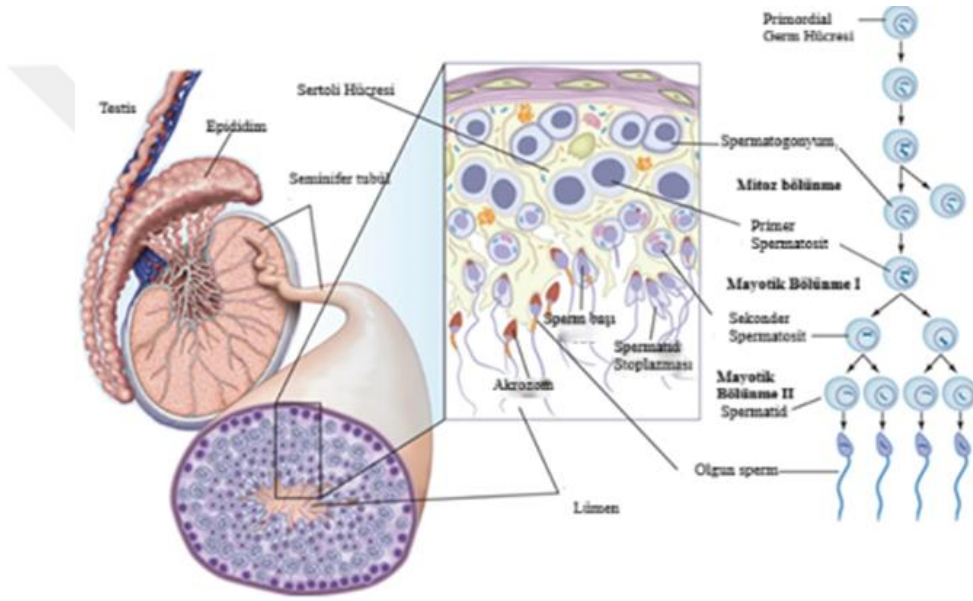
2.2. Spermatogenez

2.2.1. Spermatid oluşum süreci

Spermatogenez, primordiyal germ hücresinden olgun sperm hücresinin (spermatid) oluşumunu ifade eder. Spermiyogenez ise olgun sperm hücresinin hareket kazanarak işlevsel hale gelmesini tanımlar. Olgun sperm hücresinin oluşumu ortalama 74 gün sürer (Mäkelä ve Toppari, 2017).

Spermatogonyum, yaklaşık 12 μm çapında ve bazal laminanın hemen üstünde konumlanan görece küçük hücredir. Mitoz bölünme ile çoğalarak 2 farklı hücreye dönüşür. Bunlar; A tipi spermatogonyum ve B tipi spermatogonyumdur. A tipi spermatogonyumlar bölünme yeteneğine sahip kök hücreler iken, B tipi spermatogonyumlar primer spermatozoidlere farklılaşan öncül hücrelerdir. Primer

spermatozit 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içerir ve spermatogenezis sürecinin en büyük hücreleridir. Oluşmalarından hemen sonra 1.mayoz bölünmenin profaz evresine girerler. Primer spermatozit, 1.mayoz bölünme sonucu 23 kromozomlu (22+X veya 22+Y) daha küçük olan sekonder spermatozidlere dönüşür. Kromozomda bu azalmaya her hücredeki DNA sayısının eksilmesi (2N) eşlik eder. Sonuç olarak 23 kromozomlu 2N diploid hücreler oluşur. İkinci mayoz bölünme sonucu DNA miktarı yarıya iner ve haploid (N) hücreler meydana gelir. Oluşan bu 23 kromozomlu haploid hücreler spermatid adını alır (Şekil 2.3.) (Maynard ve Downes, 2019).



Şekil 2.3. Spermatogenez aşamaları (Encyclopaedia Britannica, Inc. 2013)

2.2.2 Spermiyogenez

Spermatogenezin son aşaması olan spermiyogenez kısmında, oluşan olgun spermatid hareket ve dölleme yeteneği kazanarak olgun spermatozooya dönüşür. Bu aşama 3 fazdan oluşur. Golgi fazı, akrozomal faz ve maturasyon fazı (Nishimura ve L'Hernault, 2017).

2.2.2.1 Golgi fazı

Oluşan spermatid hücresi, sitoplazma, golgi kompleksi, mitokondriler, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz ER tübüllerinden oluşur. Proakrozomal granüller

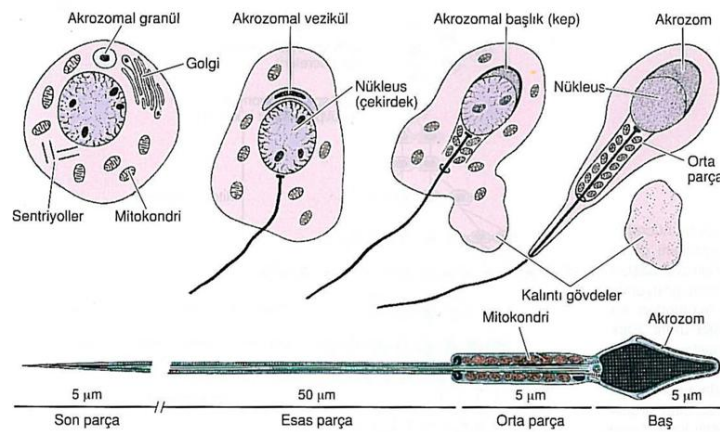
golgi kompleksinde birleşir ve akrozomal granül oluşturur. Sentriyoller, akrozomun karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma göç eder. Flagellar aksonem gelişmeye başlarken, sentriyoller nükleusa doğru hareket eder ve bu esnada aksonemal bileşenlerin etrafını sarar (Junqueira ve Carneiro, 2006).

2.2.2.2 Akrozomal faz

Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan nükleusun ön kısmını kaplayarak akrozom adını alır. Akrozom, hidrolitik enzimler içerir ve bu enzimler, döllenme sırasında oositi çevreleyen korona radyata ve zona pellusida katmanlarını parçalayarak sperm hücresinin yumurtaya ulaşmasını sağlar. Bu süreç, akrozom reaksiyonu olarak tanımlanır ve fertilizasyonun ilk aşamalarından biridir. Spermiyogenez sırasında spermatid, seminifer tübülün tabanına yönelirken, uzayan nükleus yoğunlaşır ve sentriyollerden biri flagellumu meydana getirir. Flagellumun proksimalinde toplanan mitokondriler enerji üreten orta parçayı oluşturur. Sperm hareketi, mikrotübüller, ATP ve dinein proteini etkileşimi ile sağlanır (Şekil 2.4) (Junqueira ve Carneiro, 2006).

2.2.2.3. Maturasyon fazı

Sertoli hücreleri artık stoplazmaları fagosite eder ve olgunlaşan spermatozoonlar seminifer tübül lümenine salınır (Junqueira ve Carneiro, 2006).



Şekil 2.4. Spermatidin olgunlaşma süreci ve akrozom fazı (Junqueira 2006)

2.2.3. Spermatogenezin hormonal kontrolü

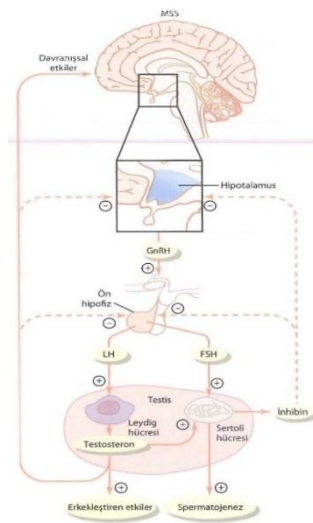
Spermatogenez, hipotalamus-hipofiz-testis aksı tarafından düzenlenen hormonal sinyallerin kontrolü altındadır. Bu süreçte gonadotropin-salgılatıcı hormon (GnRH), luteinizan hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FUH), testosteron ve inhibin B gibi hormonlar temel rol oynar (Şekil 2.5)(Oduwole ve ark., 2021).

2.2.3.1. Hipotalamus ve hipofiz düzeyinde düzenleme

GnRH; hipotalamustan pulsatil olarak salgılanır ve hipofiz ön lobundaki gonadotrop hücrelerini LH ve FUH salınımı için uyarır. LH; leydig hücrelerinde bulunan LH reseptörlerine bağlanarak testosteron sentezini stimüle eder. FUH; sertoli hücrelerindeki FUH reseptörlerine bağlanarak, spermatogenez için gerekli hücresel desteği sağlar ve testosteron etkilerini artırır (Oduwole ve ark., 2021).

2.2.3.2. Testis düzeyinde düzenleme

Testosteron; LH tarafından uyarılan leydig hücreleri tarafından üretilir. Sertoli hücrelerindeki androjen reseptörüne bağlanarak spermatogenez destekler. İnhibin B; sertoli hücrelerinden salgılanarak FUH sekresyonunu baskılar, böylece GnRH ve gonadotropinlerin negatif geri bildirimi sağlanır (Oduwole ve ark., 2021).



Şekil 2.5. Hipotalamik-hipofizer-gonadal aks (Guyton ve Hall 2013)

2.2.3.3 Geri bildirim mekanizması

Testosteron; hipotalamus ve hipofiz üzerine negatif geri bildirimde bulunarak GnRH, LH ve FUH salınımını baskılar. İnhibin B; FUH salınımını spesifik olarak inhibe ederek sertoli hücre aktivitesinin optimal seviyede tutulmasını sağlar.

Bu hormonal düzenleme, spermatogenezin sürekliliğini ve homeostazını koruyarak, sperm üretiminin kantitatif ve kalitatif olarak optimal seviyede kalmasını sağlar (Oduwole ve ark., 2021).

2.3. Testiküler Hasar Mekanizmaları

Testiküler hasar mekanizmaları, özellikle oksidatif stres, apoptoz ve inflamasyon süreçleriyle yakından ilişkilidir. Bu süreçler, testis dokusunun yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünü bozarak spermatogenez olumsuz etkileyebilir (Wang ve ark., 2022).

2.3.1. Oksidatif stres ve testiküler hasar

Oksidatif stres, testis fonksiyonları ve spermatogenez üzerinde ciddi etkilere sahip olan biyokimyasal bir süreçtir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) aşırı üretimi, testiküler hücreler üzerinde toksik etkilere yol açarak hücresel yapı ve işlevlerin bozulmasına neden olur. Testislerde oksidatif stresin artması, özellikle lipit peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarı gibi mekanizmalar yoluyla hücresel hasara sebep olur. Bu durum, Leydig hücrelerinin testosteron üretim kapasitesini azaltarak hormonal dengenin bozulmasına neden olabilir. Sertoli hücrelerinin fonksiyonlarının zarar görmesi, kan-testis bariyerinin geçirgenliğini artırabilir ve germ hücrelerinin korunmasını engelleyebilir. Spermatogenezin devamlılığı için optimal hücresel çevre büyük önem taşır. Ancak oksidatif stres, spermatositlerin apoptotik yıkımını hızlandırarak sperm üretiminin azalmasına yol açar. Spermatozoaların motilitesi ve morfolojisi, ROS seviyelerinin artışı nedeniyle bozulabilir, bu da fertilizasyon kapasitesini doğrudan etkileyebilir. Ayrıca, testis mikroçevresinde inflamatuvar sitokinlerin artışı, germ hücrelerinde DNA hasarına neden olarak spermatogenez sürecini daha da zayıflatır. Testiküler oksidatif stresin kronikleşmesi, sperm

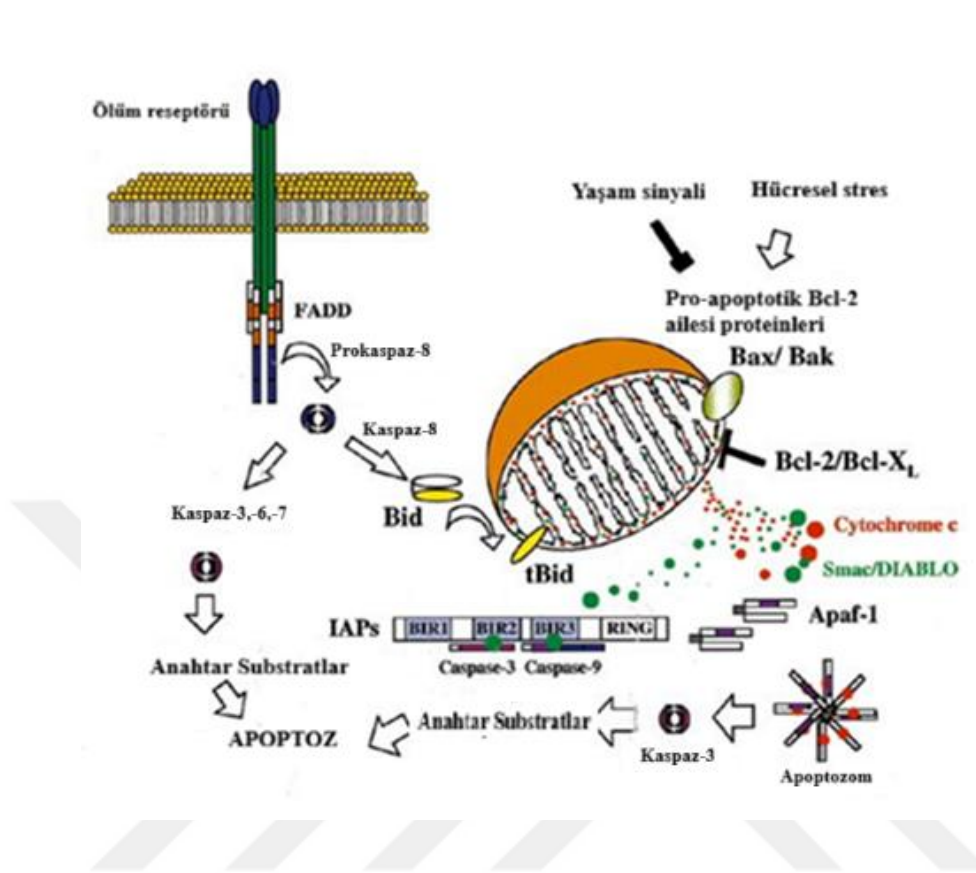
kalitesinde düşüşe ve erkek infertilitesinin gelişmesine katkıda bulunabilir (Turner ve Lysiak, 2008).

2.3.2. Apoptoz

Apoptoz, testiküler oksidatif stresin önemli bir sonucu olup, germ hücre kaybına ve spermatogenezin bozulmasına yol açmaktadır. Oksidatif stresin tetiklediği apoptoz mekanizması, hücrel redoks dengesizliği nedeniyle mitokondriyal ve hücre yüzeyi reseptörleri aracılığıyla iki temel yol üzerinden gerçekleşir (Şekil 2.6).

Mitokondriyal yol, oksidatif stresin doğrudan mitokondriyal membran bütünlüğünü bozmasıyla başlar. Bu süreçte ROS, Bax/Bcl-2 dengesini bozarak proapoptotik bax'ın mitokondriyal dış membrana translokasyonuna neden olur. Bax'ın aktivasyonu, sitokrom c salınımını tetikleyerek apoptozom oluşumuna ve kaspaz-9 aktivasyonuna yol açar. Sonuç olarak, kaspaz-3 aktivasyonu gerçekleşir ve DNA fragmentasyonu gibi apoptoz ile ilişkili olaylar tetiklenir.

Hücre yüzeyi reseptör yolunda, özellikle Fas/FasL sistemi devreye girer. Oksidatif stres, testiküler hücrelerde FasL ekspresyonunu artırarak Fas aracılı ölüm reseptör sinyallerini aktive eder. Bu süreç, kaspaz-8 aktivasyonu ile sonuçlanarak mitokondriyal yolu da tetikleyebilir veya doğrudan kaspaz-3'ü aktive ederek hücre ölümüne yol açar (Turner ve Lysiak, 2008).

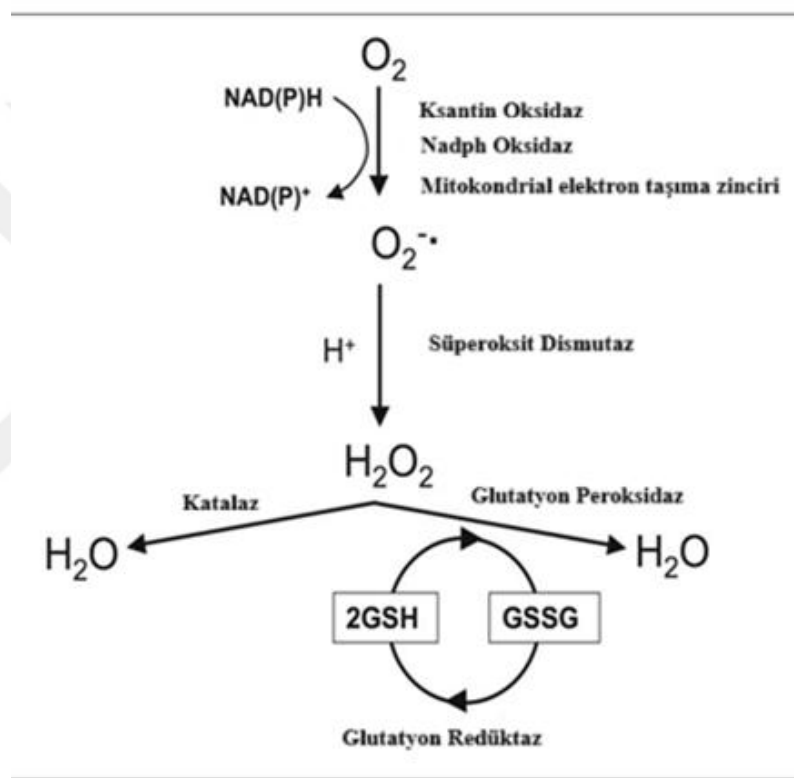


Şekil 2.6. Apoptoz yolağı (Zimmermann ve Green, 2001'den değiştirilerek kullanılmıştır)

2.3.3. Antioksidan mekanizmalar

Testisleri oksidatif stresten koruyan antioksidan sistemler, enzimatik ve non-enzimatik olarak ikiye ayrılır. Enzimatik olarak SOD, GPx ve CAT rol oynar. SOD, süperoksit anyonlarını hidrojen perokside (H₂O₂) çevirerek oksidatif hasarı önler. Oluşan H₂O₂, GPx ve CAT aracılığıyla suya ve oksijene dönüştürülerek hücre zarları ve DNA üzerindeki olumsuz etkileri azaltır. Glutatyon-S-transferaz ise oksidatif stres kaynaklı toksik bileşikleri detoksifiye ederek hücresel dengeyi korur.

Non-enzimatik olarak ise C vitamini, E vitamini, melatonin, çinko ve flavonoidler rol oynar. Vitamin E, sperm zarlarındaki çoklu doymamış yağ asitlerini oksidatif hasardan koruyarak lipid peroksidasyonunu engeller. Vitamin C, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek E vitamininin aktif kalmasını sağlar ve antioksidan savunmayı destekler. Melatonin, mitokondrilerde ROS üretimini azaltırken, çinko SOD aktivitesini artırarak DNA hasarına karşı koruyucu bir rol oynar (Şekil 2.7) (Aitken ve Roman, 2009).

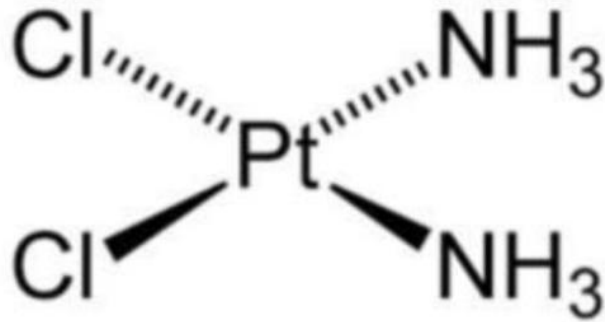


Şekil 2.7. Reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşumu ve metabolizmasının ana yolları(Aitken ve Roman, 2009’dan değiştirilerek kullanılmıştır)

2.4. Sisplatin

Sisplatin, platin bazlı antineoplastik bir ajandır. İlk defa 1844’te Michele Peyrone tarafından üretilmiş, ancak antikanser özellikleri 1960’lı yıllarda Barnett Rosenberg ve ekibi tarafından keşfedilmiştir. Bu keşif, platin bileşiklerinin hücre bölünmesini inhibe edebileceğini göstermiş ve 1978’de FDA (Food and drug administration) tarafından

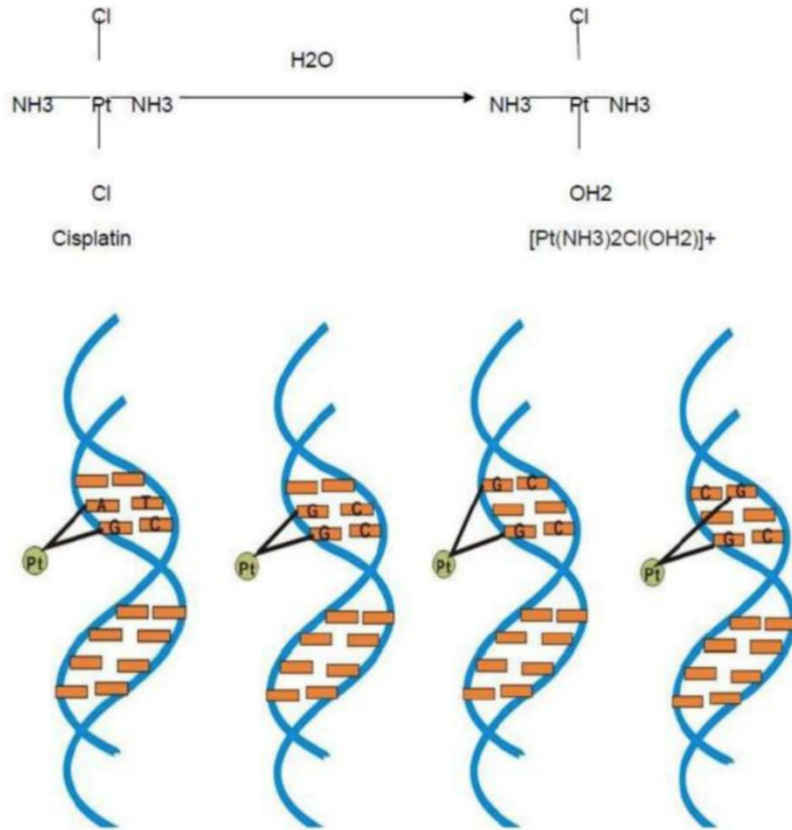
onaylanarak testis ve over kanseri tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır. Sisplatin, kare düzlemsel bir geometriye sahip olup, merkezi platin atomuna iki klor ve iki amonyak grubu bağlıdır (Şekil 2.8). Moleküler ağırlığı 301.1 g/mol olup, suda çözünürlüğü oldukça düşüktür. Etki mekanizması, hücre içine girdikten sonra klor gruplarının yerini su moleküllerinin alması ve DNA ile etkileşime girerek özellikle guanin bazlarıyla çapraz bağlar oluşturmaktadır. Bu çapraz bağlar, DNA replikasyonunu engelleyerek hücre bölünmesini durdurur ve DNA tamir mekanizmalarının yetersiz kaldığı durumlarda hücre apoptoza yönlendirilir. Ayrıca, ROS üretimini artırarak oksidatif strese neden olur ve mitokondriyal disfonksiyonu tetikler. Sisplatin, başta testis, over, mesane, akciğer, baş ve boyun kanserleri olmak üzere birçok solid tümörün tedavisinde kullanılır ve diğer kemoterapötik ajanlarla kombinasyon tedavilerinde de önemli bir rol oynar. Bununla birlikte, sisplatinin kullanımına bağlı çeşitli yan etkiler gözlenmektedir. En önemli yan etkileri arasında nefrotoksisite, ototoksisite, gastrointestinal toksisite, miyelosupresyon, gonadal hasar ve nörotoksisite yer almaktadır (Dasari ve Bernard Tchounwou, 2014a).



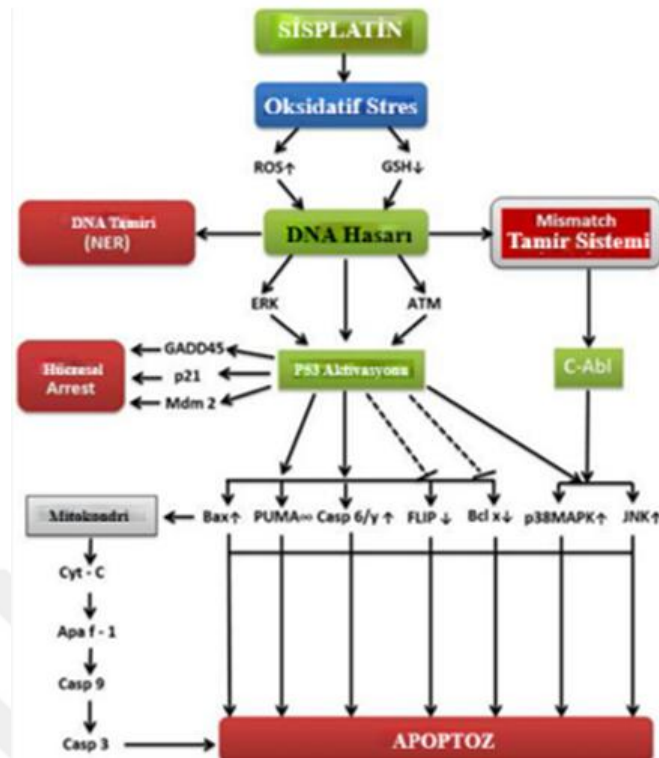
Şekil 2.8. Sisplatinin kimyasal konfigürasyonu (Dasari ve Bernard Tchounwou, 2014b)

2.4.1. DNA hasarı oluşturma mekanizması

Sisplatin, intraselüler alana girmesinin ardından, klor ligandlarını kaybederek aktifleşir ve DNA'nın pürin bazlarının N7 pozisyonuna bağlanır. Bu bağlanma, DNA'da intra-zincir (özellikle guanin-guanine [1,2-GpG] ve adenin-guanin [1,2-ApG]) ve inter-zincir çapraz bağlarının oluşumuna yol açar (Şekil 2.9). Bu çapraz bağlar, DNA'nın üç boyutlu yapısını bozar ve replikasyon ve transkripsiyon süreçlerini engeller. Sonuç olarak, hücrede DNA hasar yanıtı mekanizmaları tetiklenir; bu mekanizmalar hücre döngüsünün durmasına, DNA onarım süreçlerinin başlamasına veya hasarın onarılamaması durumunda apoptoza yol açabilir (Zhu ve ark., 2015).



Şekil 2.9. Sisplatinin özellikle Adenin-Guanin ve Guanin-Guanin zincirlerine bağlanarak çapraz bağlar oluşturma (Zhu ve ark., 2015)



Şekil 2.10. Sisplatinin yaptığı oksidatif hasar ve apoptoz süreci (Dasari ve Bernard Tchounwou, 2014b’den değiştirilerek kullanılmıştır)

2.4.2. ROS üretimi ve oksidatif stres

Sisplatinin hücre içine girmesiyle birlikte mitokondriyal membranlarla etkileşime girmesi ve mitokondriyal DNA'ya zarar vermesi, enerji metabolizmasını olumsuz etkiler. Elektron taşıma sisteminde kompleks I ve kompleks III seviyesinde elektron kaçakları meydana gelir ve bu durum süperoksit birikimine yol açar. Oluşan süperoksit molekülleri, SOD tarafından H₂O₂'ye dönüştürülür fakat antioksidan savunma elemanlarının yetersiz kalması halinde oksidatif stresin ortaya çıkması kaçınılmaz olur.

Mitokondriyal membranda oksidatif stresin artması, lipid peroksidasyonuna ve mitokondri membran potansiyelinin hasarlanmasına neden olur. Bu süreç, Bax/Bcl-2 dengesini değiştirerek proapoptotik Bax proteininin mitokondriyal dış membrana translokasyonuna yol açar. Bax'ın aktivasyonu, sitokrom c'nin mitokondriyal matriksten sitozole salınmasını tetikleyerek apoptozom oluşumuna ve kaspaz-9'un

aktivasyonuna neden olur. Bunun sonucunda kaspaz-3 aktivasyonu gerçekleşir ve DNA fragmantasyonu gibi apoptoza özgü hücresel değişiklikler meydana gelir.

Sisplatinin yol açtığı ROS artışı yalnızca mitokondriyal DNA'yı hedef almakla kalmaz, aynı zamanda hücre membranlarındaki lipitleri ve proteinleri okside ederek sitozolik stres mekanizmalarını da aktive eder. Mitokondriyal disfonksiyonun ilerlemesiyle birlikte glutatyon (GSH) seviyelerinde ciddi düşüş meydana gelir. Bu düşüş, hücrel redoks dengesini bozarak hücre içi kalsiyum dengesizliği ve mitokondriyal permeabilite artışına yol açar. Sonuç olarak, hücrel bütünlük kaybolur ve sisplatinin neden olduğu mitokondriyal hasar, hücre ölümüne neden olan temel mekanizmalardan biri haline gelir (Şekil 2.10)(Marullo ve ark., 2013).

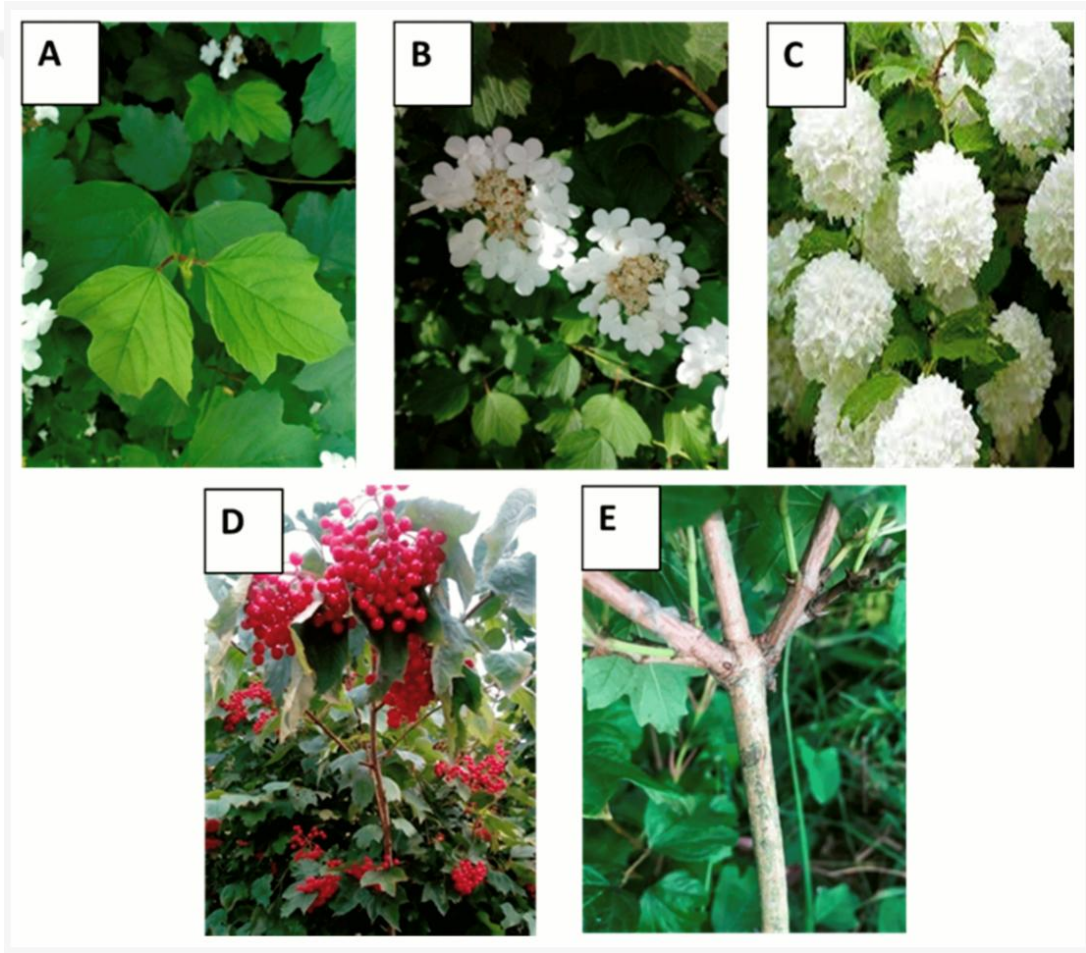
2.5 Viburnum Opulus

2.5.1. Genel tanım

Viburnum Opulus, *L. Caprifoliaceae* ailesine ait yaprak döken bir çalı olup, Avrupa, Kuzey Afrika ve Kuzey Asya kökenlidir. Bununla birlikte, Batı Rusya'nın orta bölgelerinde de doğal yayılım göstermektedir. Farmakolojik ve besinsel açıdan değerli olan bu bitki, dünya genelinde süs bitkisi olarak da yetiştirilmekte olup, farklı bölgelerde European cranberrybush, guelder rose, snowball bush ve crampbark tree gibi çeşitli isimlerle anılmaktadır. Sonbaharın ilerleyen dönemlerinde salkım şeklinde kırmızı renkli meyveler vermekte olup, bu meyveler tek bir çekirdek içermektedir (Resim 2.4).

Viburnum Opulus'un kabukları ve meyveleri asırlardır tamamlayıcı tıp alanında birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Avrupa, Asya ve Amerika'da bağımsız olarak antispazmodik özellikleri keşfedilmiş olup, bu özellikleri nedeniyle astım, soğuk algınlığı, ateş, ödem, öksürük, gastrointestinal spazmlar, dismenore, uterus enfeksiyonları, hipertansiyon ve infertilite gibi çeşitli patofizyolojik durumların yönetiminde destekleyici ajan olarak kullanıldığı bildirilmiştir. Ayrıca, yapılan fitokimyasal analizler ve in vitro çalışmalar, meyve özleri ve tohum yağlarının belirgin antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu ortaya koymuştur (Kajszczak ve ark., 2020).

Türkiye’de “*Gilaburu*” olarak bilinen ve özellikle Kayseri ili çevresinde yetişen *Viburnum Opulus* meyveleri, geleneksel olarak fermente edilerek tüketilmektedir. Sonbaharın sonlarına doğru toplanan meyveler, yıkandıktan sonra su dolu plastik kaplara yerleştirilerek oda sıcaklığında üç ila beş ay boyunca spontan fermantasyona bırakılmaktadır. Fermantasyon süreci tamamlandıktan sonra meyveler ezilerek meyve suyu elde edilmekte olup, karakteristik buruk ve ekşi tadı nedeniyle genellikle su ve/veya şeker eklenerek tüketilmektedir. Uzun süreli fermantasyonun organoleptik özellikleri iyileştirdiği ve biyoyararlanımı artırdığı öne sürülmektedir (Sagdic vd., 2014).



Resim 2.4. *Viburnum Opulus*’a ait (A) Yaprak (B-C) Çiçek (D) Meyve (E) Kabuk formu (Kajszezak vd., 2020)

2.5.2. Kimyasal bileşeni

Viburnum Opulus, biyolojik aktiviteye sahip birçok sekonder metabolit içermekte olup, bu bileşenler farmakolojik etkilerinden sorumludur. Bitkinin içerdiği başlıca biyoaktif bileşenler arasında fenolik bileşikler, flavonoidler, iridoid glikozitler, karotenoidler, tanenler ve esansiyel yağlar bulunmaktadır. Fenolik bileşikler, özellikle klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit ve p-kumarik asit içeriği ile antioksidan, antiinflamatuvar ve antimutajenik etkilere sahiptir. Flavonoidler, kersetin, luteolin, apigenin ve kaempferol gibi bileşenlerden oluşur ve serbest radikalleri temizleyerek inflamasyon sürecini düzenler. Iridoid glikozitler arasında bulunan viburnin, swerosid ve loganin, kas gevşetici ve analjezik etkilere sahip olup, spazmların azaltılmasında rol oynar. Karotenoidler, β -karoten, likopen ve lutein içererek lipid peroksidasyonunu inhibe eder ve hücre zarlarını oksidatif strese karşı korur. Tanenler, antioksidan ve antiinflamatuvar özellikleriyle bağ dokusunu güçlendiren etkilere sahiptir. Esansiyel yağlar ise terpenoidler ve monoterpenler bakımından zengin olup, antimikrobiyal ve kas gevşetici etkilere sahiptir (Kajszyzak ve ark., 2020)(Yang ve ark., 2018).

2.5.3. Farmakolojik etkileri

Viburnum Opulus'un farmakolojik etkileri geniş bir yelpazeye yayılmaktadır. Antioksidan etkisi, fenolik bileşenler ve flavonoidler aracılığıyla SOD, CAT ve GPx gibi enzimleri aktive ederek oksidatif stresin baskılanmasını sağlar. Antiinflamatuvar etkisi, siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin inhibisyonu ile inflamatuvar yanıtın baskılanmasını sağlar ve nükleer faktör kappa B yollarını düzenleyerek proinflamatuvar sitokinlerin üretimini azaltır. Kas gevşetici ve analjezik etkisi, iridoid glikozitler ve flavonoidler tarafından sağlanarak düz kas tonusunu azaltır ve opioid reseptörleri üzerinden analjezik etki gösterir. Diüretik etkisi, renin-anjiyotensin-aldosteron sistemini modüle ederek böbrek fonksiyonlarını destekler ve sıvı-elektrolit dengesini düzenler. Nöroprotektif etkisi, oksidatif strese bağlı nöronal hasarı önleyerek Alzheimer ve Parkinson gibi nörodejeneratif hastalıkların ilerlemesini yavaşlatabilir. Bu biyolojik etkiler, *Viburnum Opulus*'u farmakolojik açıdan değerli bir fitoterapötik ajan haline getirmektedir (Rop ve ark., 2010b).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Bu tez çalışması, Sakarya Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 19.02.2024 tarihinde 14 numaralı karar ile etik ilkelere uygun bulunarak onaylanmıştır.

3.2. Deney Protokolü

3.2.1. Deney grupları

Örneklem büyüklüğü için literatür taranmış olup, çalışmamız ile ilişkili benzer effect size değerinin görüldüğü “Apocynin alleviates cisplatin-induced testicular cytotoxicity by regulating oxidative stress and apoptosis in rats” adlı çalışma referans alınmıştır (Köroğlu ve ark., 2019).

Deneyimizde 32 adet yaklaşık ağırlıkları 250-300 gr arası değişen, ortalama 10 haftalık, yetişkin Wistar Albino cinsi rat kullanıldı. Ratlar rastgele olmak üzere 4 eşit gruba ayrıldı; Kontrol (KON), Viburnum Opulus (V.O), Sisplatin (CIS) ve Sisplatin + Viburnum Opulus (CIS+V.O).

3.2.2. İlaç hazırlama

Viburnum Opulus dozu için Sariözkan ve arkadaşlarının (2017) deneysel modeli esas alınarak, hayvanlara 100 mg/kg dozunda ve her gün oral gavaj yoluyla uygulama yapılmıştır (Sariözkan ve ark., 2017). Ticari toz formda temin edilen Viburnum Opulus (Gilaburu PP, NHP İlaç San. Tic. A.Ş.), çeşme suyunda çözündürülerek her gün ratların ağırlıklarına göre yeniden dozlanmıştır.

Sisplatin uygulamasında ise Türk ve arkadaşlarının (2008) çalışması temel alınmıştır. Bu doğrultuda, 7 mg/kg dozunda, tek seferlik intraperitoneal (i.p.) enjeksiyon yapılmıştır (Türk ve ark., 2008). Klinik kullanıma uygun formda temin edilen sisplatin dozu (Cipintu 100 mg/100 ml İnfüzyon İçin Konsantre Çözelti, Koçsel İlaç San. ve Tic. A.Ş.), her rat için ayrı ayrı hesaplanarak uygulanmıştır.

3.2.3. Deney süreci

Kontrol grubuna deney süresi boyunca manipölasyon yapılmadı. V.O grubuna 12 gün boyunca gavaj yolu ile 100mg/kg dozda Viburnum Opulus verildi. CIS grubuna ilk gün i.p 7mg/kg dozda sisplatin uygulandı. CIS+V.O grubuna ise ilk gün i.p yoldan 7mg/kg dozda sisplatin uygulandı ve ardından 100mg/kg dozda Viburnum Opulus, 12 gün boyunca gavaj yöntemi ile verildi.

Tüm ratlara 12. gün sonunda ketamin ve ksilazin ile anestezi uygulandı. Anestezi altında ratların sağ ve sol testisleri alındı. Sperm sayımı incelemesi için sol epididimler ayrıca alındı. Sağ testisler biyokimyasal inceleme için ayrı tüplere alındı ve -20 santigrat derece dolapta muhafaza edildi. Sol testisler ise histolojik inceleme için Bouin solüsyona alındı. Biyokimyasal analizler için intrakardiyak kan örnekleri alındı ve biyokimya tüplerine konularak 3000 devirde 15 dk santrifüj edildi. Serum örnekleri daha sonra çalışılmak üzere ependorf tüplere alındı ve -80 santigrat derecede muhafaza edildi.

3.3. Histolojik İnceleme

3.3.1. Sperm parametreleri

Deneyin sonunda PBS (Phosphate-Buffered Saline) içerisine alınan epididimal sperm süspansiyonundan 10 µl örnek alınarak Makler sayım kamerasında sperm sayımı gerçekleştirildi. Elde edilen değerler, seyreltme oranı dikkate alınarak hesaplandı ve konsantrasyonlar belirlendi. Makler sayım kamerasında 10 kare incelenerek spermatozoaların ileri hareketli, yerinde hareketli ve hareketsiz formları kaydedildi. Gruplar arasında toplam motilite ile ileri hareketlilik parametreleri karşılaştırıldı. Ayrıca, ışık mikroskobu altında 40X büyütme ile yapılan incelemelerde her gruptaki ratlara ait örneklerde 200 sperm değerlendirilerek normal ve anormal morfoloji oranları hesaplandı.

3.3.2. Testislerin doku takibi

Testisler, +4°C'de Bouin's fiksatifine yerleştirilerek 20 saat bekletildi. Daha sonra vertikal düzlemden ikiye ayrılan dokuların fiksasyonu 24 saat sonunda tamamlandı. Fiksasyon aşamasını takiben, dokular herhangi bir yıkama yapılmadan sırasıyla %70, %80, %90 ve %100'lük etil alkol serilerinde 24'er saat bekletilerek dehidratasyon

gerçekleştirildi. Ardından üçlü aseton serilerinde her birinde 15 dakika tutulmak suretiyle şeffaflaştırma işlemi uygulandı. Şeffaflaştırmanın ardından dokular, 60°C'deki etüvde üçlü parafin serilerinde her birinde 1 saat bekletilerek parafin infiltrasyonuna tabi tutuldu. Son aşamada, erimiş parafine gömülen dokular bloklanarak işlem tamamlandı.

3.3.3. Testislerden kesit alma ve değerlendirilmesi

Kesit alma işleminden önce örnekler -20°C'de soğutularak bekletildi. Daha sonra Thermo Scientific Microm HM40E (Otto-Hahn-Strasse 1a, 69190 Walldorf, Germany) marka mikrotom kullanılarak 3–5 µm kalınlığında kesitler hazırlandı. Alınan kesitler, jelatinli sıcak su banyosunda (Gelatine, Foodland, Ewald-Gelatine GmbH, Meddersheimer Str. 50, 55566 Bad Sobernheim, Germany) açıldıktan sonra lamlara yerleştirildi. Histolojik inceleme amacıyla kesitler Hematoksilen-Eosin (Merck KGaA, 64271 Darmstadt, Germany) ile boyandı.

3.3.4. Johnsen skorlaması

Testiküler biyopsi örneğinin bir bölümündeki tüm seminifer tübül kesitleri sistematik olarak incelenir ve her kesit belirli kriterlere göre 1–10 arasında puanlanır. Ortalama skorun hesaplanmasında, her puan için o skora sahip tübül sayısı ile puan çarpılır; elde edilen 10 çarpımın toplamı, tüm kaydedilen tübül sayısına bölünerek ortalama değer bulunur (Johnsen, 1970) (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Johnsen Skorlaması

Skor	Açıklama
10	Germinal epitel düzgün ve spermatogenez normal
9	Çok sayıda spermatozoa mevcut, ancak spermatogenez düzensiz
8	Sadece birkaç spermatozoa var
7	Spermatozoa yok, yalnızca spermatid mevcut
6	Sadece birkaç spermatid mevcut
5	Spermatozoa ve spermatid yok, ancak çok sayıda spermatosit var
4	Sınırlı sayıda spermatosit mevcut
3	Sadece spermatogonya mevcut
2	Germ hücresi mevcut değil
1	Ne germ hücresi ne de Sertoli hücresi mevcut

3.3.5. Germinal epitel kalınlığı ve seminifer tübül çapı

Testisten alınan doku örnekleri, %10 nötralize tamponlu formalin kullanılarak fiksasyon ve doku tayininden sonra parafine gömüldü. Seminifer tübül çaplarını morfometrik olarak değerlendirmek için doku bloklarından 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Her bloktan 20'den fazla kesit alındı. Seminifer tübüllerin germinal tabakası, NIS-Element (USA) kamera ve yazılımı kullanılarak ölçüldü. Seminifer tübüllerin germinal tabakasının (μm) ortalama çapları her testis için ölçüldü (Jalili vd., 2015).

3.4. Biyokimyasal İnceleme

3.4.1. Kan ve doku örneklerinin alınması ve hazırlanması

Ratlardan testis dokusu ve venöz kan örnekleri toplandı. Alınan kan, antikoagülan ihtiva etmeyen serum ayrıştırma tüplerine alınarak pıhtılaşmasının tamamlanmasının ardından 20 dakika süreyle 2000 rpm'de santrifüj edilip serumları ayrıldı. Kan ve doku örnekleri ayrı porsiyonlar hâlinde -80°C sıcaklıkta saklandı. Analiz günü, serum ve doku örnekleri oda sıcaklığına getirildikten sonra dokulardan hassas terazi ile parçalar alındı. Bu parçalar, 100 mg doku/mL konstantasyonda olacak şekilde, 50 mmol/L fosfat tamponu (pH 7,4) içeren cam tüplere yerleştirildi. Homojenizasyon, buz üzerinde mekanik homojenizatör (Isolab, Laborgerate GmbH, Germany) kullanılarak gerçekleştirildi. Elde edilen homojenatlar, 2000 rpm'de, 4°C 'de ve 20 dakika süreyle santrifüj edilerek debris ve diğer partiküllerden ayrıldı. Tüm analizler, santrifüj sonrası elde edilen süpernatantlar üzerinden yapıldı.

3.4.2. ELISA kitlerinin çalışılması

Hem doku hem de serum Rat Super Oxidase Dimutase (SOD), Rat Malondialdehyde (MDA), Rat Glutathione Peroxidase (GPX), Rat 8-Hydroxy-desoxyguanosine(8-OHdG), Rat Myeloperoxidase (MPO), Rat Testosterone, Rat Inhibin (INH), Rat Catalase (CAT), SUNLOG (Sunlog Biotech Co. Ltd, Hangzhou, China) marka ticari ELISA kiti, rat serum örneklerinde Total Oksidan Seviyesi (TOS) , Total Antioksidan Seviyesi (TAS) Elabscience (Elabscience Biotechnology Inc. Wuhan, China) marka ticari ELISA kiti ile enzim bağlı immünoabsorbent yöntemi ile çalışıldı.

SUNLOG marka kitlerle çalışma aşamaları şu şekilde yapıldı;

1- İçerisinde monoklonal antikorların bulunduğu kuyucuklara uygun ölçeklerde çalışma nümuneleri ve seyreltme solüsyonları pipetlendi.

2- Kitler 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.

3- Nümuneler inkübe edildikten sonra numuneye bağlanamayan antikorlar için yıkama yapıldı.

4- Kör kuyucuğu dışındaki tüm kuyucuklara HRP konjugatı eklendi

5- Tekrar 37°C'de 30 dakika inkübe edildi.

6- Yıkama işlemi tekrar uygulandı.

7- Renklendirme işlemi için önce kromojen A ardından kromojen B solüsyonu ilave edilerek 37°C'de 15 dakika inkübe edildi.

8- Reaksiyon sonucunda mavi renk oluştuğu görüldü. Reaksiyonu durdurmak için her bir kuyucuğa ayrı ayrı eklenen stop solüsyonu sonucu renk maviden sarıya döndü. Renk değişikliği ile reaksiyonun tamamlandığı görüldü. Elde edilen sarı rengin yoğunluğu ise uygun dalga boyuna ayarlanmış mikro-ELISA okuyucusunda kolorimetrik olarak değerlendirildi.

9- Standart değerler ile karşılık gelen optik yoğunluk değerleri eşleştirildikten sonra kit insertlerine göre standart grafiği oluşturuldu. Numunelerin optik yoğunluk değerleri, standart grafikteki konsantrasyonlarla karşılaştırılarak numune konsantrasyonları otomatik olarak belirlendi. Sonuçlar Rat Süperoksit Dissmutaz (SOD) için pg/ml, Rat Malondialdehyde (MDA) için ng/mL, Rat Glutathione Peroxidase (GPX) için pg/ml, Rat 8-Hydroxy-desoxyguanosine(8-OHdG) için ng/L, Rat MPO (myeloperoxidase) için ng/ml, Rat testosteron için ng/ml, Rat Inhibin (INH) için ng/L, Rat Catalase (CAT) için pg/ml olarak verildi.

Rat Süperoksit dissmutaz (SOD) için Range 80-5000 pg/ml sensitivite 22 pg/ml, Rat Malondialdehyde (MDA) range 6-350 ng/mL sensitivite 1,2 ng/mL, Rat Glutathione Peroxidase (GPX) range 35-2000 pg/mL sensitivite 8 pg/mL , Rat 8-Hydroxy-desoxyguanosine(8-OHdG) range 3-70 ng/L sensitivite 0,5 ng/L, Rat MPO

(myeloperoxidase) range 0,06-4 ng/ml sensitivite 0,01 ng/mL, Rat testosteron range 0,1-3,8 ng/ml sensitivite 0,01 ng/mL, Rat Inhibin (INH) range 5-160 ng/L sensitivite 1 ng/L, Rat Catalase (CAT) range 1-36pg/m sensitivite 0,25 pg/mL olarak belirlendi.

Üretici firma tarafından yapılmış presizyon çalışmasında kitlerin çalışma içi ve çalışmalar arası %CV'si <%12 olarak verilmiştir.

ELABSCIENCE marka kitler için çalışma şu şekilde yapıldı;

1-İçerisinde monoklonal antikorların bulunduğu kuyucuklara uygun ölçeklerde çalışma nünuneleri pipetlendi.

2- Her kuyucuğa uygun özelliklerde hazırlanmış olan tampon solüsyonu eklendi

3- Bu aşamada uygun dalga boyuna ayarlanan mikroelisa okuyucuda kolorimetrik olarak bir ölçüm yapıldı ve A1 olarak kaydedildi.

4- Kromojen solüsyonları eklendi.

5- 37°C'de 5 dakika inkübe edildi.

6- Uygun dalga boyunda tekrar kolorimetrik bir ölçüm yapıldı ve A2 olarak kaydedildi.

7- $\Delta A = A2 - A1$ olarak hesaplandı

8- Standart değerler ile bunlara karşılık gelen optik yoğunluklar eşleştirildikten sonra, kitin kullanım kılavuzuna uygun olarak standart eğri oluşturuldu. Numunelerin optik yoğunlukları bu eğriye göre değerlendirilerek konsantrasyon değerleri otomatik olarak hesaplandı. Rat TAS için ölçüm duyarlılığı 0,25 mmol Trolox Equiv./L, Rat TOS için ise 2,5 μ mol H₂O₂ Equiv./L olarak bildirildi. Üretici firmanın gerçekleştirdiği presizyon analizinde, kitlerin hem çalışma içi hem de çalışmalar arası %CV değerinin <%10 olduğu rapor edilmiştir.

3.5. İstatistiksel Yöntem

Çalışmamızda elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) Version 30.0 programı kullanılarak gerçekleştirildi. Gruplar arasındaki sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında tek yönlü varyans analizi (ANOVA) uygulandı. Alt grup analizlerinde, ikili grup karşılaştırmaları için Mann-Whitney U testi kullanıldı. P değeri 0,05'ten küçük olan sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Sperm Parametreleri

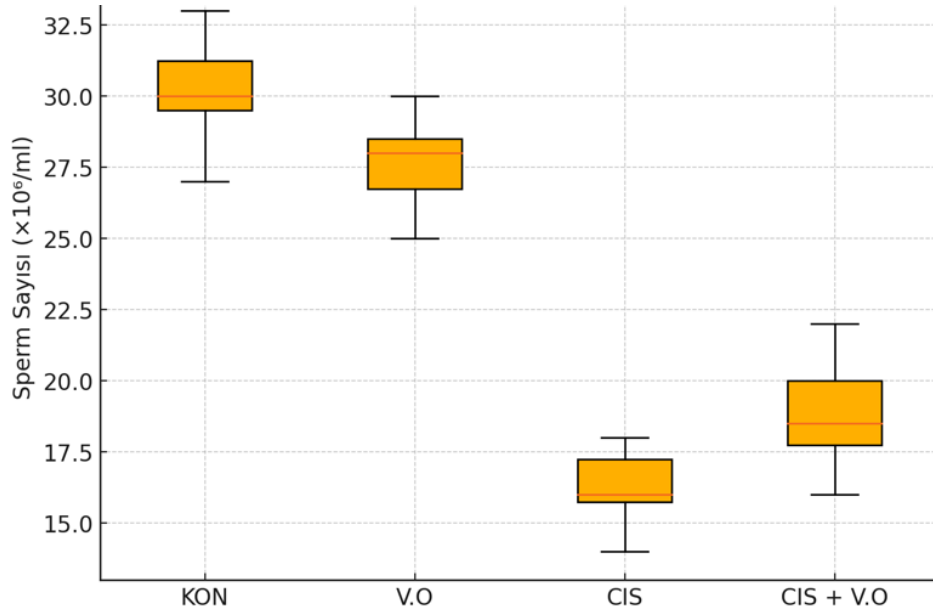
4.1.1. Sperm sayısı ölçümlerinin istatistiki sonuçları

Alınan sperm örnekleri, Makler sayım kamerasında değerlendirildi ve her grubun toplam sperm sayısı ölçüldü. Bulgular tablo ve grafik halinde aşağıda gösterildi.

Tablo 4.1 Toplam sperm sayısı ($\times 10^6/\text{ml}$)

	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	30,12	27	33	1,95
V.O	28,25	25	34	2,76
CIS	16,25	14	18	1,38
CIS + V. O	18,75	16	22	1,90

KON ile V.O grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p=0,105$). Bununla birlikte, diğer grup karşılaştırmalarında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı ($p<0,05$). Özellikle KON ile CIS grubu ($p<0,001$) ve V.O ile CIS grubu ($p<0,001$) arasında belirgin farklar bulundu (Şekil 4.1). CIS ile CIS+V.O grupları arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,015$)(Tablo 4.1).



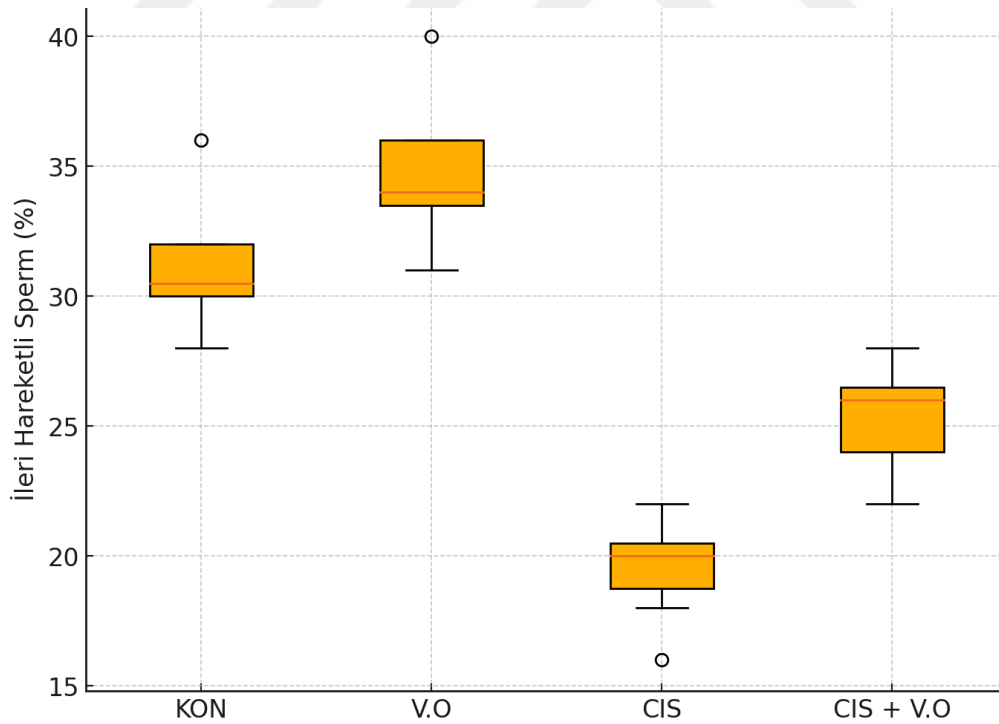
Şekil 4.1 Sperm sayılarının gruplar arası dağılımı

4.1.2. İleri hareket yüzdelerinin istatistiki sonuçları

Tablo 4.2 Sperm ileri hareket yüzdeleri (%)

	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	31,12	28	36	2,35
V.O	34,62	31	40	2,77
CIS	19,60	16	22	1,99
CIS + V. O	25,50	22	28	2,07

Gruplar karşılaştırıldığında istatistiksel açıdan anlamlı farklılıkların bulunduğu belirlendi. V.O grubunda elde edilen değerler, KON grubuna göre daha yüksek saptandı (Tablo 4.2) ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p=0,015$). CIS grubunun değerlerinin diğer tüm gruplardan düşük olduğu saptandı ve bu farklılık istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,001$). Ayrıca, CIS ile CIS+V.O grupları arasındaki karşılaştırmada da anlamlı farklılık gözlemlendi ($p<0,001$)(Şekil 4.2).



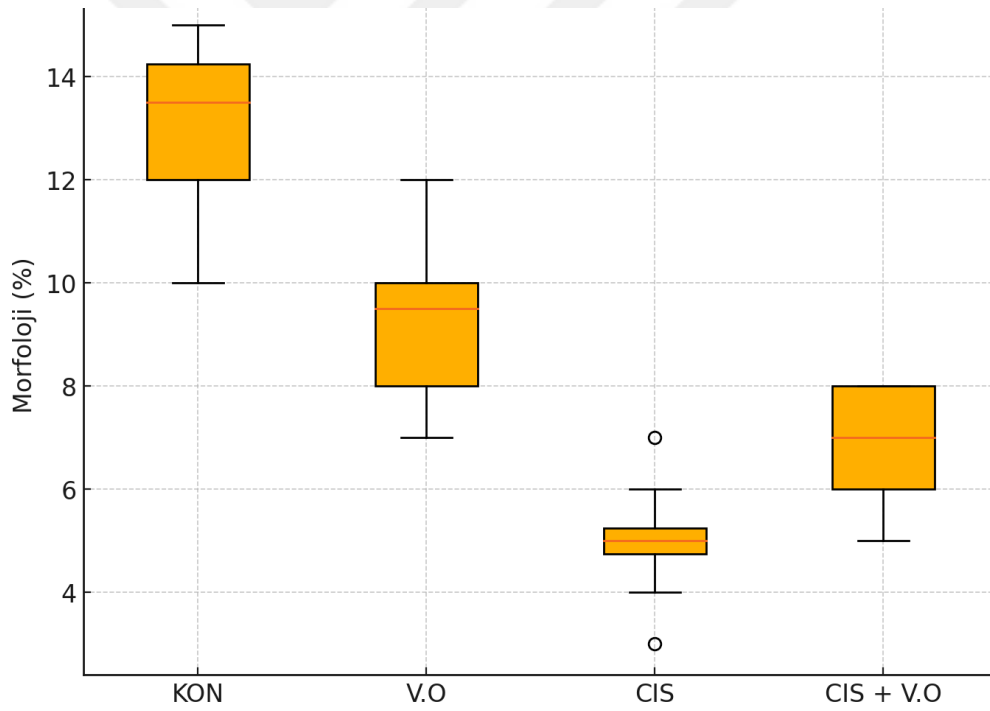
Şekil 4.2 İleri hareketli sperm yüzdelerinin gruplar arası karşılaştırılması

4.1.3. Sperm morfolojisi istatistiki sonuçları

Tablo 4.3 Normal sperm morfolojisi (%)

	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	13,12	10	15	1,72
V.O	9,25	7	12	1,58
CIS	5	3	7	1,19
CIS + V. O	6,87	5	8	1,12

En yüksek değerler KON grubunda gözlenirken, en düşük değerler CIS grubuna aitti (Tablo 4.3). CIS ile CIS+V.O grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p=0,01$)(Şekil4.3).



Şekil 4.3 Gruplara göre sperm morfoloji değerleri dağılımı

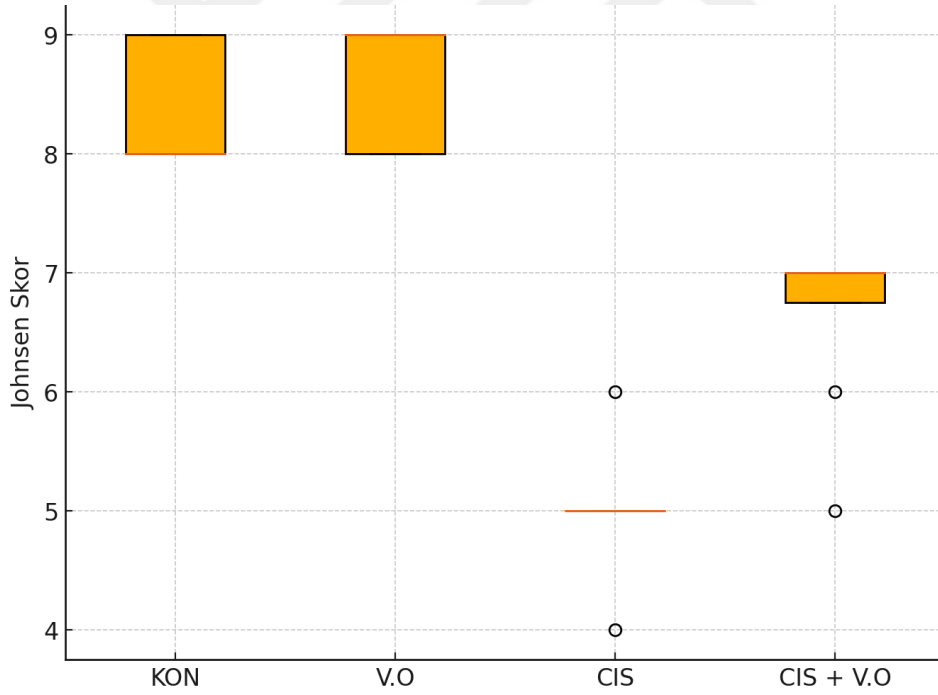
4.2. Histometrik Veri Sonuçları

4.2.1. Johnsen skoru istatistiki sonuçları

Tablo 4.4 Johnsen skoru değerleri

	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	8,30	8	9	0,51
V.O	8,60	8	9	0,51
CIS	5	4	6	0,53
CIS + V. O	6,60	5	7	0,74

KON ile V.O grubu arasındaki fark istatistiksel anlamlı saptanmadı ($p=0,442$). Diğer grup karşılaştırmalarında ise farklar istatistiksel olarak anlamlıydı (Tablo 4.4). KON ile CIS grubu ($p<0,001$), V.O ile CIS grubu ($p<0,001$) ve CIS ile CIS+V.O grubu ($p<0,001$) arasındaki farklar anlamlı bulundu (Şekil4.4).



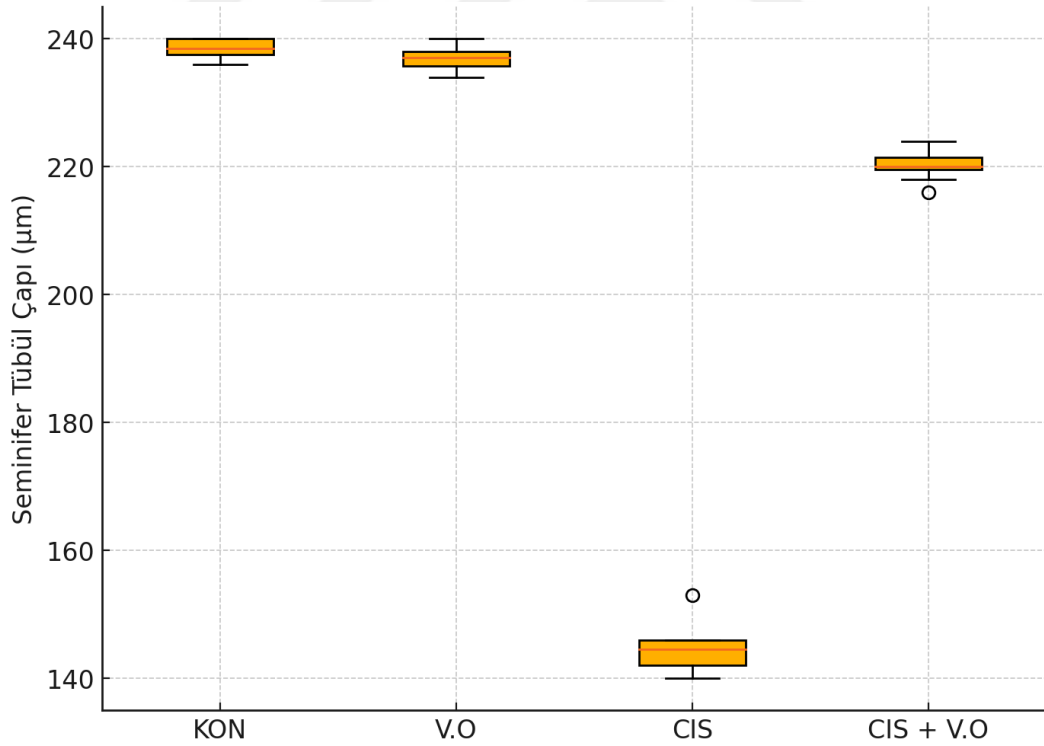
Şekil 4.4 Johnsen skorlamasının gruplara göre dağılımı

4.2.2. Seminifer tübül çapı değerlerinin istatistiki sonuçları

Tablo 4.5 Seminifer tübül çapı ölçümleri (μm)

	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	238,37	236	240	1,68
V.O	236,87	234	240	1,95
CIS	144,75	140	153	3,95
CIS + V. O	220,25	216	224	2,54

CIS grubunda yalnızca sisplatin uygulanan ratların seminifer tübül çapı ortalamaları, diğer tüm gruplara kıyasla anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,001$)(Tablo 4.5). KON ile V.O grupları karşılaştırıldığında ise aralarında anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p=0,130$). CIS grubu ile CIS+V.O grubunun karşılaştırılmasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark izlendi ($p<0,001$)(Şekil 4.5).



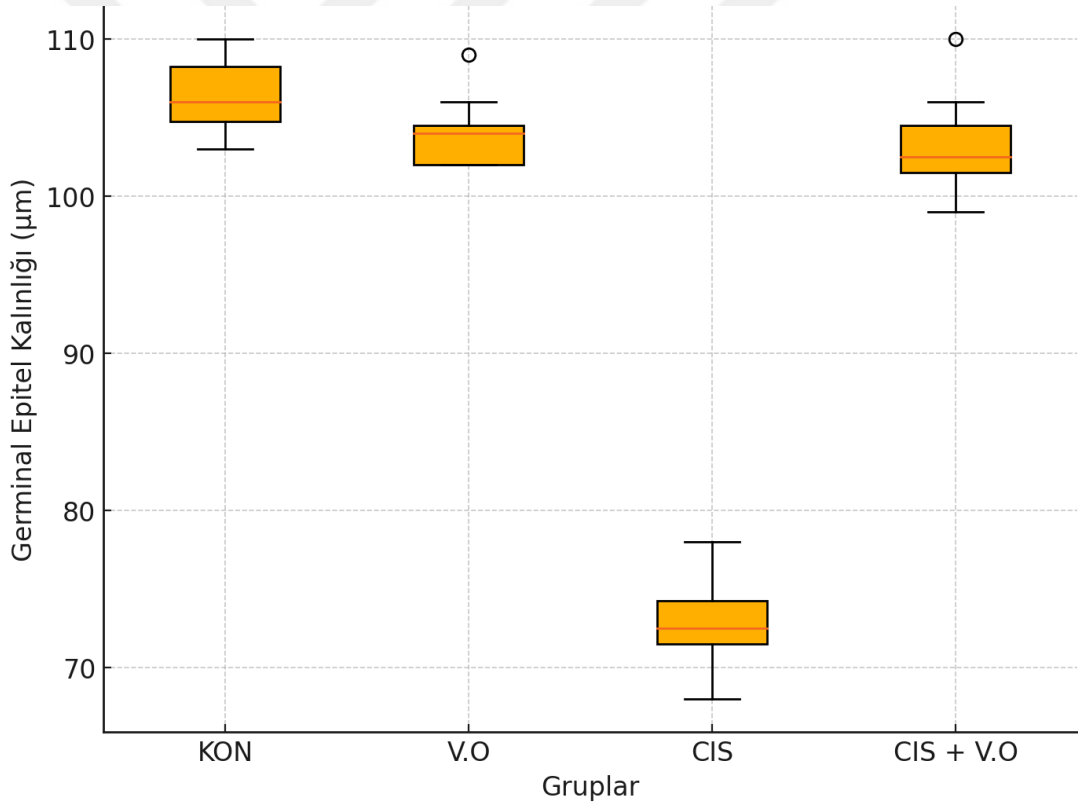
Şekil 4.5 Seminifer tübül çapı gruplara göre dağılımı

4.2.3. Germinal epitel kalınlığı ölçümü ve istatistiksel analiz

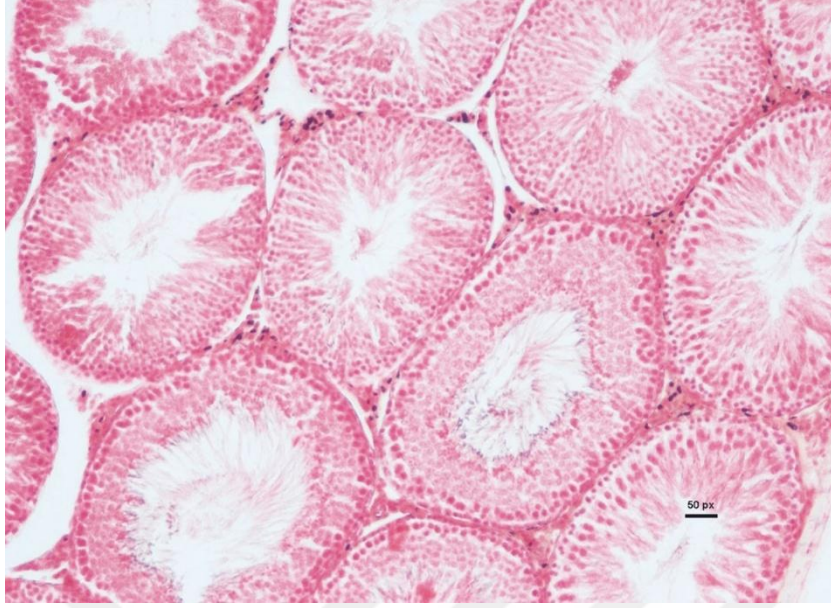
Tablo 4.6 Germinal epitel kalınlığı ölçümleri (μm)

	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	106,37	103	110	2,44
V.O	104,12	102	109	2,41
CIS	72,75	68	78	3,05
CIS + V. O	103,25	99	110	3,49

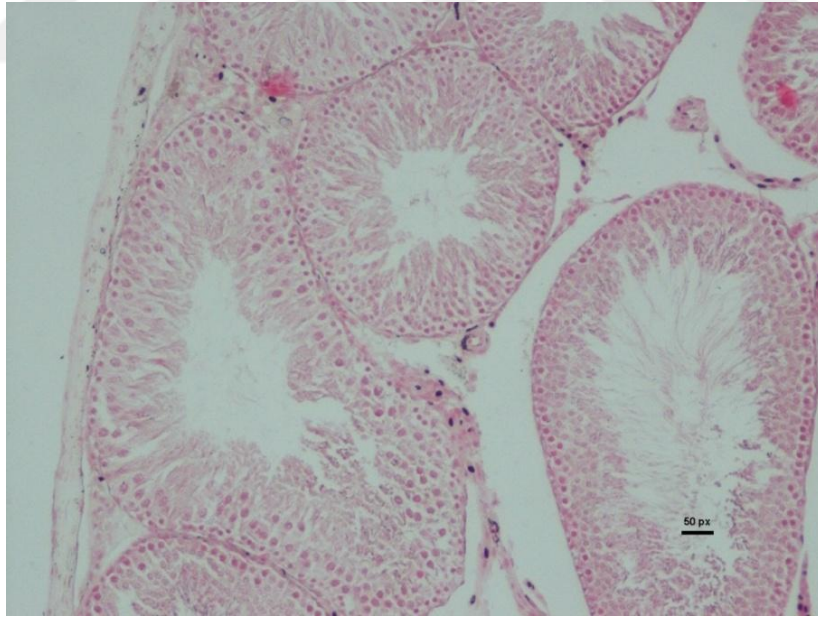
En düşük ortalama değerler CIS grubunda tespit edildi (Tablo 4.6) ve bu düşüklük diğer gruplara göre istatistiksel açıdan anlamlı bulundu ($p<0,05$). Ancak, kalan gruplar arasında yapılan karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p>0,05$)(Şekil 4.6)



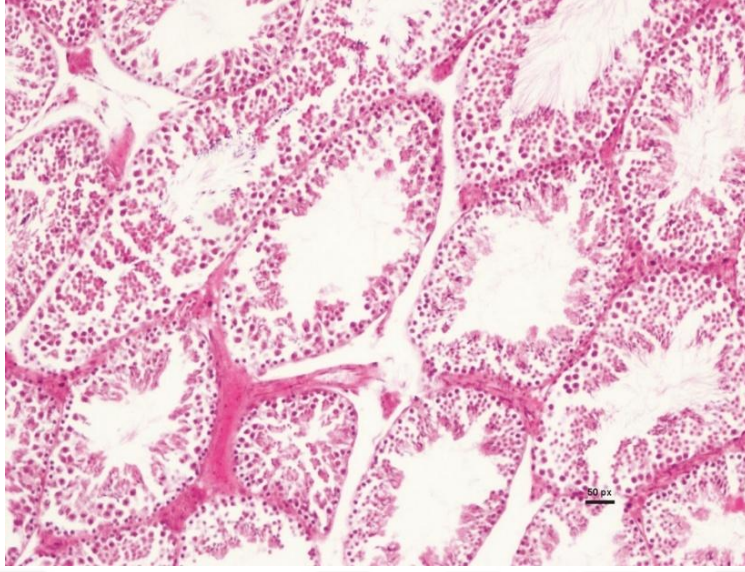
Şekil 4.6 Germinal epitel kalınlığı gruplara göre dağılımı



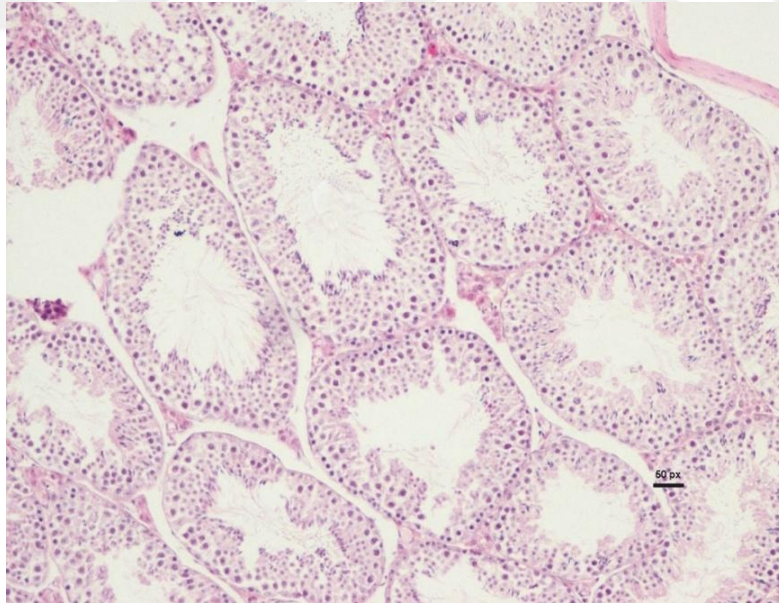
Resim 4.1 KON grubuna ait seminifer tübül enine kesit görüntüsü. Seminifer tübül çapları ve germinal epitel tabakası normal görünümde. Spermatozoa ayrımı ve interstisyel alandaki doku bütünlüğü net şekilde görülmekte. (H.E. X100, 50 scale bar)



Resim 4.2 V. O grubuna ait seminifer tübül enine kesit görüntüsü. KON grubuna benzer bulgular izlenmekte. (H.E. X100, 50 scale bar)



Resim 4.3. CIS grubuna ait seminifer tübül enine kesit görüntüsü. Seminifer tübüllerin bazı alanlarında vakuolizasyon ve spermatogenetik tabakalarda parçalanma görüldü. Tübül yapısında atrofide görülmekte. Bu durumun sonucu olarak az sayıda spermatozoa görülmekte. (H.E. X100, 50 scale bar).



Resim 4.4. CIS+V.O grubuna ait seminifer tübül enine kesit görüntüsü. Seminifer tübüllerde atrofi azalmış, tübüller arası alan azalmış, genel olarak histolojik yapıda düzelme görülmüş. Kontrol grubuna benzer spermatogenetik tabakalar ve seminifer tübül lümeninde birikmiş spermatozoalar görülmekte.

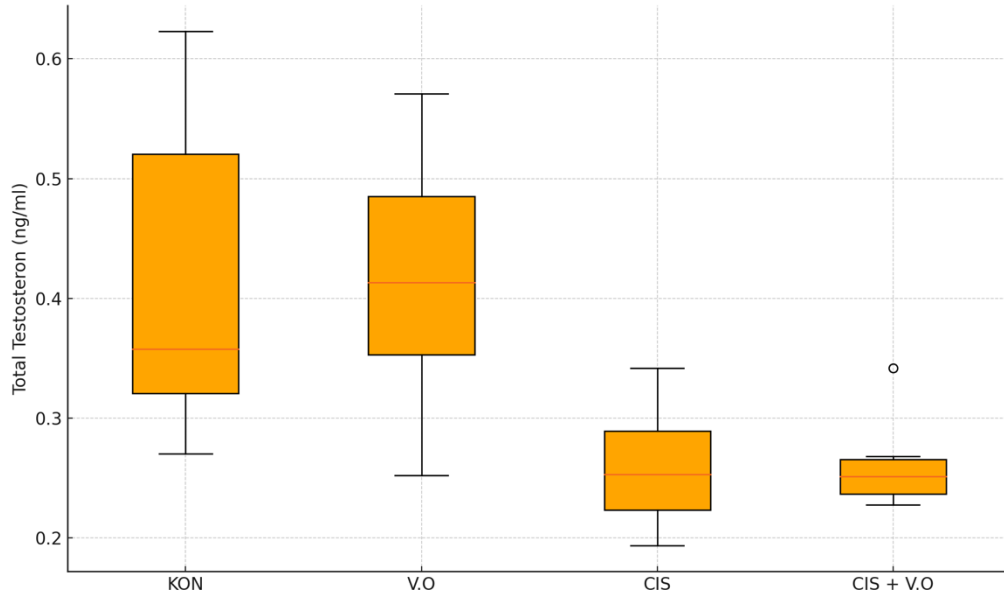
4.3. Biyokimyasal Bulgular

4.3.1. Total testosteron sonuçları

Tablo 4.7 Total testosteron değerleri (ng/ml)

ng/ml	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	0,41	0,27	0,62	0,13
V.O	0,41	0,25	0,57	0,10
CIS	0,25	0,19	0,34	0,05
CIS + V. O	0,25	0,22	0,34	0,03

KON ile CIS grubu ($p=0,007$), KON ile CIS+V.O grubu ($p=0,001$), V.O ile CIS grubu ($p=0,002$) ve V.O ile CIS+V.O grubu ($p=0,002$) arasında yapılan karşılaştırmalarda istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar izlendi (Tablo 4.7). Bunun dışında kalan grup karşılaştırmalarında anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p>0,05$)(Şekil4.7).



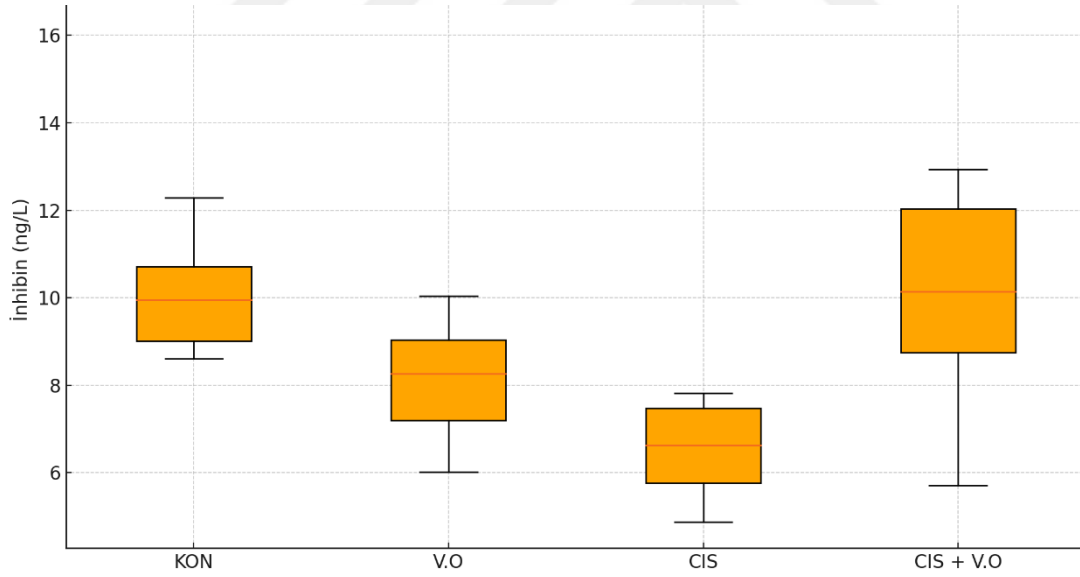
Şekil 4.7 Serum total testosteron gruplar arası dağılımı (ng/ml)

4.3.2. Serum inhibin-b sonuçları

Tablo 4.8 Serum inhibin-b değerleri

Ng/L	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	10,05	8,60	12,29	1,30
V.O	9,01	6,01	16,87	3,41
CIS	6,55	4,87	7,82	1,06
CIS + V. O	9,81	5,70	12,93	2,77

CIS ile CIS+V.O grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulundu ($p=0,038$). Ayrıca CIS grubunun, KON ($p<0,001$) ve V.O ($p=0,028$) grupları ile karşılaştırmalarında da anlamlı fark tespit edildi (Tablo 4.8). Kalan grup karşılaştırmalarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık izlenmedi ($p>0,05$)(Şekil 4.8).



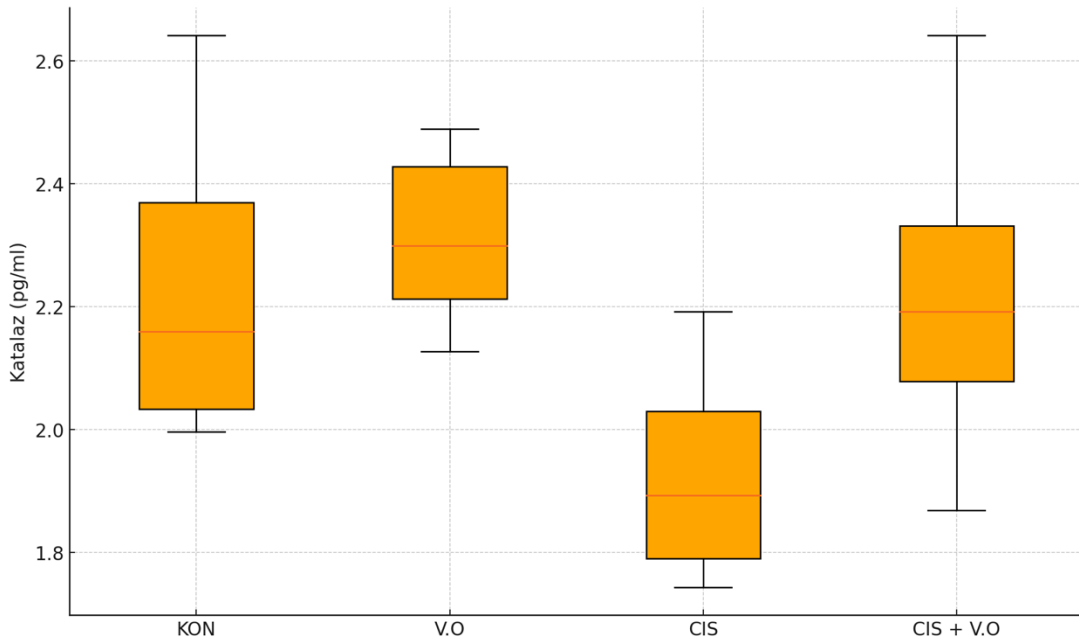
Şekil 4.8 Serum inhibin-b seviyesi gruplar arası dağılımı

4.3.3. Doku katalaz (CAT) sonuçları

Tablo 4.9 Doku Katalaz sonuçları (pg/ml)

pg/ml	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	2,22	1,99	2,64	0,24
V.O	2,31	2,12	2,49	0,13
CIS	1,91	1,74	2,19	0,16
CIS + V. O	2,20	1,86	2,64	0,24

KON ile CIS grubu ($p=0,015$), V.O ile CIS grubu ($p<0,001$) ve CIS ile CIS+V.O grubu ($p=0,021$) arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4.9). Diğer grup karşılaştırmalarında ise anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$)(Şekil 4.9).



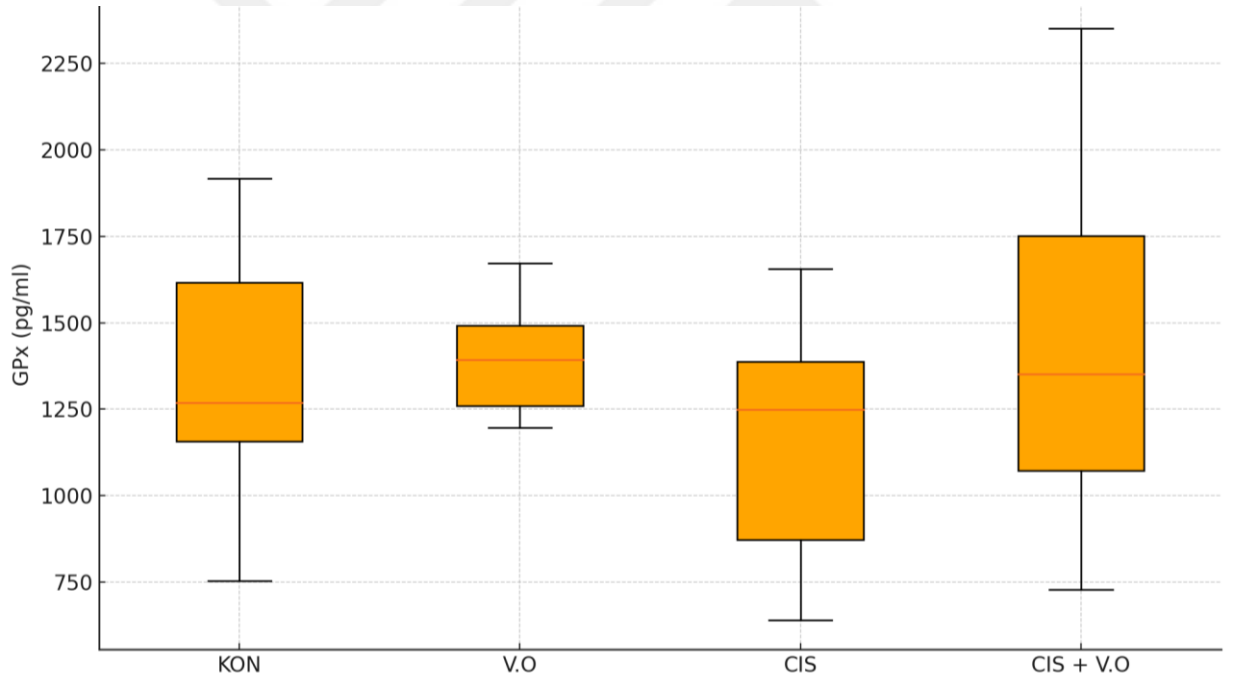
Şekil 4.9 Doku katalaz seviyesi gruplar arası dağılımı (pg/ml)

4.3.4. Doku glutatyon peroksidaz (GPx) sonuçları

Tablo 4.10 Doku GPx değerleri

pg/ml	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	1356,77	754,20	1917	385,30
V.O	1402	1197	1672	172,94
CIS	1169,23	640,60	1656	344,49
CIS + V. O	1432,52	728,20	2352	523,69

Gruplar arasında yapılan analizlerde istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$)(Şekil 4.10). CIS ile CIS+V.O grubu ($p=0,382$) ve CIS ile V.O grubu ($p=0,195$) arasında ortalama değerler açısından sayısal farklılıklar gözlemlendi; ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (Tablo 4.10).



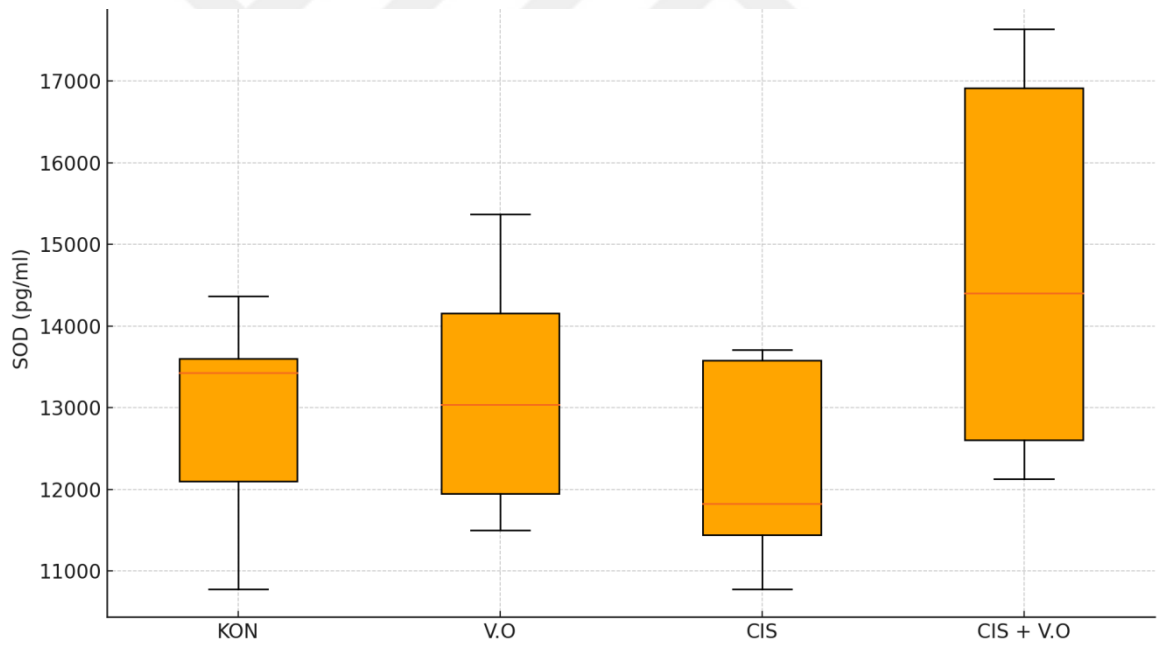
Şekil 4.10 Doku GPx seviyesi gruplar arası dağılımı

4.3.5. Doku süperoksit dismutaz (SOD) sonuçları

Tablo 4.11 Doku SOD değerleri

pg/ml	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	12933,75	10780	14370	1181,54
V.O	13175	11500	15370	1465,03
CIS	12263,75	10780	13710	1187,61
CIS + V. O	14750	12130	17640	2339,68

CIS grubunun tüm gruplar arasında en düşük değerlere sahip olduğu gözlemlendi (Tablo 4.11); ancak gruplar arası yapılan istatistiksel analizlerde yalnızca CIS ile CIS+V.O grubu arasındaki fark anlamlı bulundu ($p=0,038$). Diğer grup karşılaştırmalarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$)(Şekil 4.11).



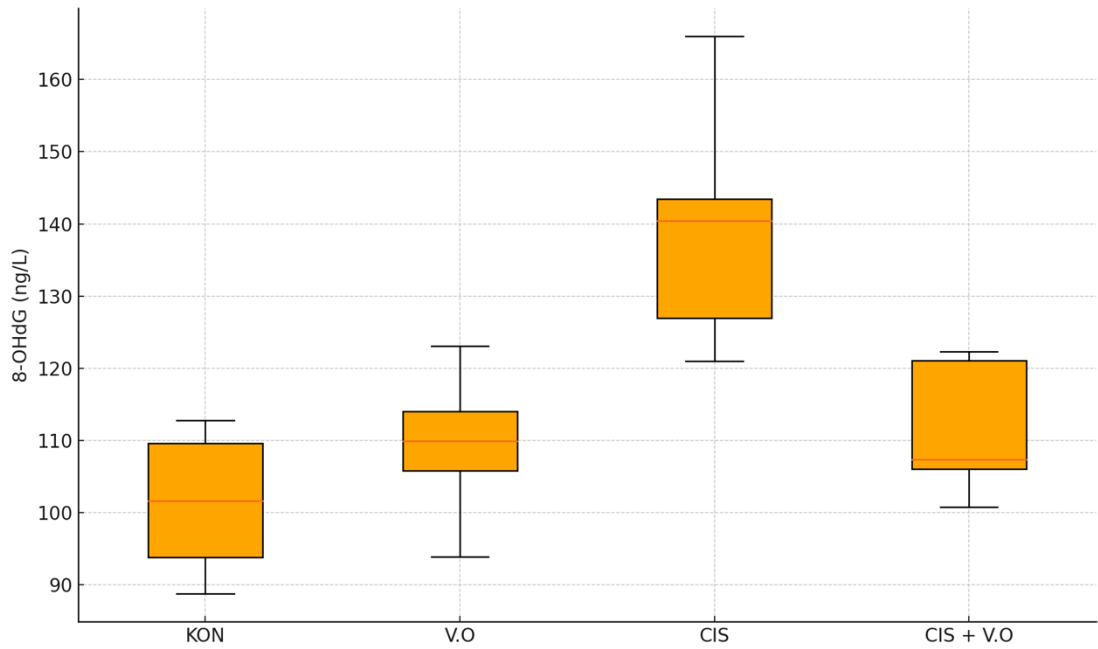
Şekil 4.11 Doku SOD seviyesi gruplar arası dağılımı

4.3.6. Doku 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin sonuçları (8-OHdG)

Tablo 4.12 8-OHdG değerleri

Ng/L	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	101,35	88,75	112,80	9,46
V.O	109,46	93,91	123,10	8,81
CIS	138,88	121	166	14,31
CIS + V. O	111,31	100,80	122,30	8,79

KON ile CIS grubu ($p<0,001$), V.O ile CIS grubu ($p<0,001$) ve CIS ile CIS+V.O grubu ($p<0,001$) arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4.12). Diğer grup karşılaştırmalarında ise anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$)(Şekil 4.12).



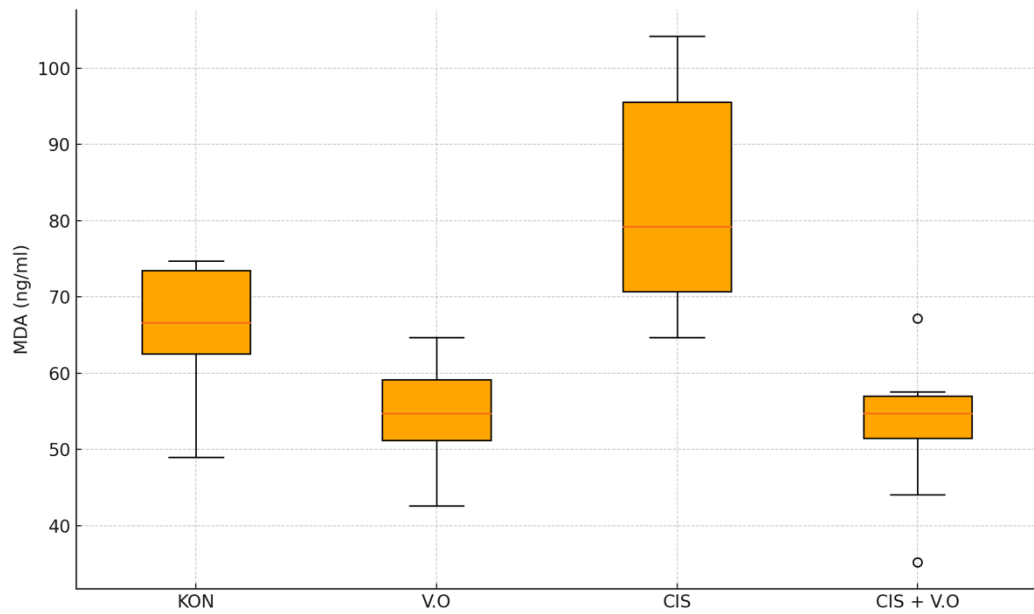
Şekil 4.12 Doku 8-OHdG seviyesi gruplar arası dağılımı (ng/L)

4.3.7. Serum malondialdehit (MDA) sonuçları

Tablo 4.13 Serum MDA değerleri

Ng/ml	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	66,08	49	74,72	8,65
V.O	54,12	42,61	64,69	7,87
CIS	82,39	64,69	104,2	14,82
CIS + V. O	53,01	35,18	67,19	9,58

V.O ile CIS+V.O grubu arasında anlamlı fark gözlenmezken ($p=0,878$)(Tablo4.13), diğer grup karşılaştırmalarında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Ayrıca CIS ile CIS+V.O grubu arasındaki fark da anlamlı saptandı ($p<0,001$)(Şekil 4.13).



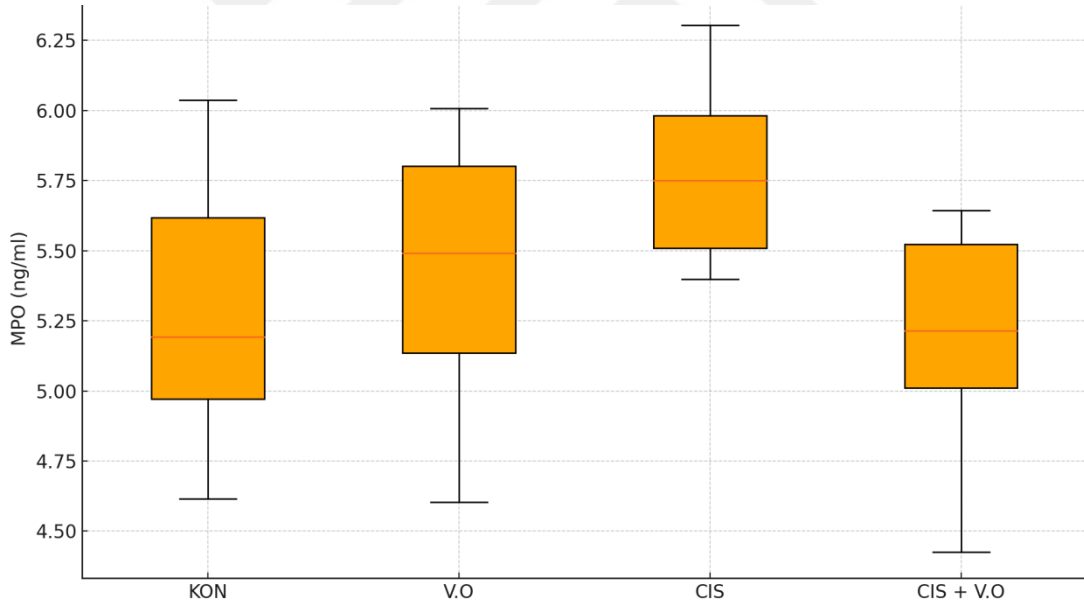
Şekil 4.13 Serum MDA seviyesi gruplar arası dağılımı

4.3.8. Doku myeloperoksidaz (MPO) sonuçları

Tablo 4.14 Doku MPO değerleri

Ng/ml	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	5,30	4,61	6,03	0,50
V.O	5,42	4,60	6,00	0,47
CIS	5,77	5,39	6,30	0,31
CIS + V. O	5,17	4,42	5,64	0,42

CIS ile CIS+V.O grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı ($p<0,001$), diğer grup karşılaştırmalarında ise anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$)(Şekil4.14). Ayrıca CIS grubunun ortalama değerlerinin en yüksek olduğu dikkat çekti (Tablo 4.14).



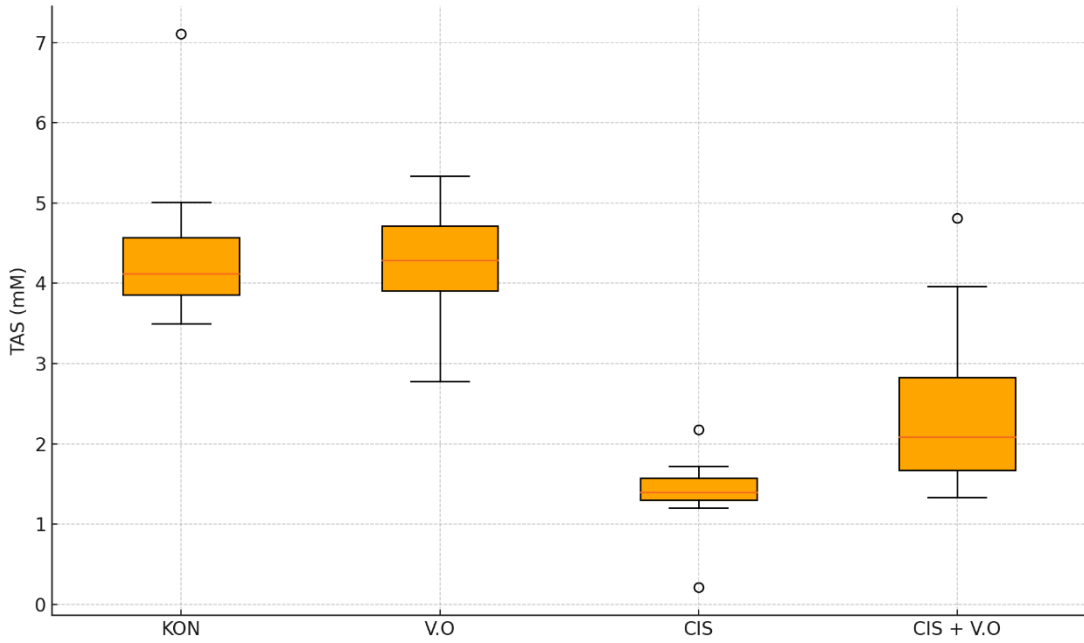
Şekil 4.14 Doku MPO seviyesi gruplar arası dağılımı

4.3.9. Serum total antioksidan (TAS) sonuçları

Tablo 4.15 Serum TAS sonuçları

mM	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	4,49	3,50	7,11	1,15
V.O	4,23	2,78	5,34	0,81
CIS	1,37	0,21	2,18	0,55
CIS + V. O	2,49	1,33	4,81	1,25

KON ile V.O grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p=0,959$). Diğer grup karşılaştırmalarında ise CIS ile CIS+V.O grubu ($p=0,021$), CIS ile V.O grubu ($p<0,001$) ve CIS ile KON grubu ($p<0,001$) arasındaki farklar istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 4.15)(Şekil 4.15).



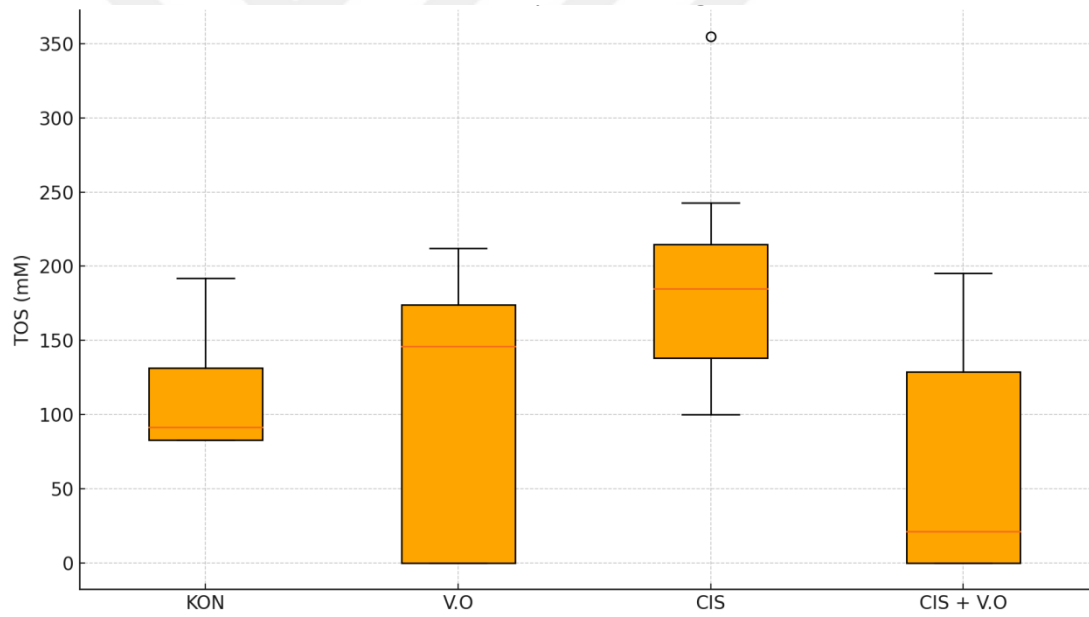
Şekil 4.15 Serum TAS seviyesi gruplar arası dağılımı

4.3.10. Serum total oksidan (TOS) sonuçları

Tablo 4.16 Serum TOS sonuçları

mM	Ort.	Min.	Maks.	Std.sapma
KON	114,43	82,99	191,77	44,16
V.O	107,10	0	212,17	91,13
CIS	190,49	100	354,93	82,98
CIS + V. O	66,81	0	195,17	85,75

KON ile CIS grubu ($p=0,015$) ve CIS ile CIS+V.O grubu ($p=0,021$) arasındaki farklar (Tablo 4.16) istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Diğer grup karşılaştırmalarında ise anlamlı fark gözlenmedi ($p>0,05$)(Şekil 4.16).



Şekil 4.16 Serum TOS seviyesi gruplar arası dağılımı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Sisplatin, günümüzde halen pek çok solid tümörün tedavisinde kullanılan etkin bir kanser ilacıdır. Ancak sistemik kullanımı, başta nefrotoksisite, ototoksisite ve nörotoksisite olmak üzere çeşitli organ toksisiteleriyle ilişkilidir (Florea ve Büsselberg, 2011).

Yapılan çalışmalar, sisplatinin ayrıca testiküler toksisite oluşturduğunu ve bu etkinin hem sperm parametrelerini olumsuz etkilediğini hem de oksidatif stres artışı ve apoptoz indüksiyonu yoluyla doku hasarına neden olduğunu ortaya koymuştur (Fung ve ark., 2018).

Bu durum özellikle testis kanseri gibi genç erişkin erkeklerde görülen tümörlerin tedavisinde klinik olarak önem taşımaktadır. Zira bu yaş grubunda fertilitate kaybı, yaşam kalitesini doğrudan etkileyebilecek önemli bir problem olarak karşımıza çıkmaktadır.

Sisplatinin testiküler hasar yaptığına dair pek çok çalışmaya rastlamak mümkün. İlk defa 1983'te yapılmış prospektif bir çalışmada testis kanseri nedeni sisplatin tedavisi verilen 69 hasta incelenmiş ve neredeyse tüm hastalarda azoospermi görülmüş (Drasga ve ark., 1983). Sisplatinin hücrel oksidatif stresi artırdığı ve antioksidan mekanizmaya zarar verdiği ise ilk olarak 1986 yılında, in vitro yapılan çalışmada gösterilmiş (Sodhi ve Gupta, 1986).

Viburnum Opulus ile ilgili yapılan literatür taramasında, bu molekülün antioksidan içeriğinin oksidatif hasarı engellediği görüldü. Karaçelik ve ark. çalışmalarında bu molekülün antioksidan içeriğini tanımlamıştır (Karaçelik ve ark., 2015). Viburnum Opulus ile ilgili yapılan çalışmalarda, distal üreter taşını düşürmede tamsulosin kadar etkili olduğu gösterilmiş (Gok ve ark., 2021). Sarıözkan ve ark. yaptıkları çalışmada, taksan sınıfı kemoterapötikler ile testis hasarı oluşturmuş ve bu hasarı önlemede Viburnum Opulus'u kullanmıştır (Sarıözkan ve ark., 2017).

Yapılan çalışmalar, sisplatinin testiküler dokularda toksik etki oluşturduğunu ve spermatogenezi bozduğunu ortaya koymuş; bu hasarı önlemek amacıyla farklı moleküllerin koruyucu etkileri araştırılmıştır. Ancak, özellikle testis tümörlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılan sisplatine bağlı testis hasarını önlemede,

Viburnum Opulus'un kullanıldığı bir çalışma bulunamamıştır. Bu sebeple, yaptığımız çalışmada Viburnum Opulus'un sisplatine bağlı testiküler hasara karşı olası koruyucu etkilerini değerlendirmeyi amaçladık.

Aldemir ve ark. Kuersetin kullanarak gerçekleştirdikleri bir deneyde, sisplatin verilen grup ile sisplatin+Kuersetin uygulanan grup arasında sperm sayısı açısından anlamlı bir fark saptamamıştır (Aldemir ve ark., 2014). Benzer şekilde, Türk ve ark. Ellajik asit kullanarak yürüttükleri bir çalışmada, toplam sperm sayısı ve motilitenin en düşük olduğu grubun yalnızca sisplatin uygulanan grup olduğunu belirlemişlerdir. Sisplatin ile birlikte Ellajik asit verilen grupta ise, sisplatin grubuna kıyasla sperm sayısı ve motilitesinde istatistiksel olarak anlamlı artış gözlenmiştir (Türk ve ark., 2008). Bir başka çalışmada sisplatinin testiküler toksitesine karşı L-karnitin kullanılmış ve deney sonucunda sperm sayısında sisplatin verilen gruba göre L-karnitin+sisplatin grubunun değerleri daha yüksek saptanmış fakat yine de kontrol grubuna göre düşük izlenmiş. Çalışmada sperm motilitesi de değerlendirilmiştir. Sisplatin uygulanan grupta, kontrol grubuna göre motilitenin düştüğü görülmüştür. L-karnitin ile birlikte sisplatin verilen grupta ise, sisplatin grubuna kıyasla motilitede istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir (Yaman ve Topcu-Tarlacalisir, 2018).

Bizim çalışmamızda sperm konsantrasyonu, ileri hareket yüzdeleri ve normal morfoloji yüzdeleri incelendiğinde, sisplatin verilen ratlarda bu değerlerde düşüş olduğu ve sisplatin ile Viburnum Opulus verilen ratlarda, sisplatin grubuna göre yükselme olduğu görüldü. Her üç değerde de bu iki grup (CIS ile CIS+V.O) arasında istatistiksel anlamlı fark izlendi. Sisplatin verilen tüm gruplarda beklenildiği gibi tüm değerlerde düşüş izlendi. Sperm konsantrasyonları karşılaştırıldığında KON ile V.O gruplarının değerleri benzer izlendi fakat ileri hareket değerinde V.O grubu değerleri; normal morfolojide ise KON grubu değerlerinin yüksekliği istatistiğe anlamlı olarak yansdı. Bu bulgularla Viburnum Opulusun spermiogram parametreleri üzerine olumlu etkisinin olduğu söylenebilir.

Histometrik ölçümlerimizde seminifer tübül çapı, germinal epitel kalınlığı ölçümü ve johnsen skorlama sistemini kullandık. Soni ve ark. Motiliperm kullanarak bir deney modeli yapmışlar ve sisplatin verilen grupta johnsen skorunun en düşük değer

olduğunu saptamışlar. Motiliperm verilen grup ile kontrol grubu arasında benzer sonuç almışlar. Sisplatin+Motiliperm verilen grupta johnsen skoru sadece sisplatin alan gruba göre artmış fakat kontrol grubuna göre halen düşük izlenmiş (Soni ve ark., 2015).

Farklı bir çalışmada sisplatin ile Gum Acacia (GA) kullanılmış. Johnsen skoru kontrol ve GA kullanılan gruplarda benzer izlenirken, en düşük skor sisplatin grubunda izlenmiş. GA+sisplatin grubunda ise skor sisplatin grubundan yüksek fakat kontrol grubundan düşük izlenmiş. Tüm farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ($p<0,05$). Aynı çalışmada seminifer tübül çapları da değerlendirilmiş ve kontrol ve GA gruplarında benzer sonuç izlenmiş. Sisplatin ve sisplatin+GA gruplarında diğer gruplara göre düşüş izlenmiş. Bu iki grubun arasında yapılan istatistiksel analizde farkın anlamlı olmadığı görülmüş (Nofal ve ark., 2023). Bizim çalışmamızda en yüksek johnsen skorları KON ve V.O gruplarına aitti. CIS grubunda en düşük johnsen skoru görüldü. CIS+V.O grubunda johnsen skorunun yükseldiği fakat KON grubuna göre yine düşük kaldığı görüldü. Tüm bu farklar istatistiksel olarak anlamlı izlendi ($p<0,05$). Viburnum Opulusun johnsen skorunda iyileşme sağladığı fakat bu iyileşmenin kontrol grubuna göre yine de düşük kaldığı görüldü. Histolojik incelemelerde de CIS grubunda seminifer tübüllerde vakuolizasyon artışı, spermatogenetik yapılarda parçalanma ve tübül yapısında atrofi gözlemlendi ve CIS+V.O grubunda bu bulguların azaldığı ve genel olarak histolojik iyileşme olduğu görüldü. Ayrıca germinal epitel kalınlığı ve seminifer tübül çaplarının en düşük CIS grubunda olduğu ve CIS+V.O grubunda, bu gruba göre istatistiksel anlamlı bir yükseliş olduğu görüldü.

Serum testosteron ve inhibin-b düzeyleri testiste leydig ve sertoli hücre fonksiyonları hakkında bilgi verir. Düşük testosteron seviyesi leydig hücre hasarı veya yetersizliği ile, düşük inhibin-b seviyesi sertoli hücre hasarı veya yetersizliği ile ilişkilidir. İlbey ve ark. (2009) sisplatin verilen grupta total testosteron seviyesinin kontrol grubuna göre düştüğünü, sisplatin ile Kurkumin verilen grupta ise istatistiksel anlamlı artış olduğunu göstermişler (İlbey ve ark., 2009). Sisplatin ve Taurin ile yapılan bir çalışmada ratlara sisplatin ile düşük, orta ve yüksek dozda Taurin verilmiş. Sadece

sisplatin alan grupta total testosteron seviyesi en düşük seviyede izlenmiş. Taurin alan tüm gruplarda ise bu gruba göre anlamlı bir yükseliş saptanmış fakat hiçbir grup kontrol grubu seviyesine gelememiş ve bu fark istatistiğe anlamlı olarak yansımış (Azab ve ark., 2020). Çalışmamızda, total testosteron seviyesinin en düşük CIS grubunda olduğu gözlemlendi. KON ile V.O grupları arasında anlamlı bir fark saptanmazken, CIS+V.O grubunun değerleri CIS grubuna göre daha yüksek bulundu; ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildi. Selenyum ile yapılan bir çalışmada serum inhibin-b seviyelerinin sispaltin verilen grupta anlamlı düştüğü ve sispaltin ile Selenyum verilen grupta ise anlamlı yükseliş olduğu görülmüş (Abusoglu ve ark., 2025). Bizim çalışmamızda da benzer şekilde en düşük inhibin-b seviyesi CIS grubunda izlendi. CIS+VO grubunda CIS grubuna göre istatistiksel anlamlı yüksek değer izlendi ve bu yüksek değer diğer çalışmaların aksine KON grubuna yakın bir değerdedi. Çalışmamızda KON grubu ile CIS+V.O grubu arasında istatistiksel fark saptanmadı.

Pek çok çalışmada sispaltinin testiküler dokuda oksidatif hasarı artırdığı ve antioksidan enzimleri baskıladığı görülmekte. Ve yine birçok molekül ile yapılan çalışmada bu antioksidan enzimlerin aktivitesinin artabileceği gösterilmekte. CAT, SOD ve GPx bu antioksidan enzimlerin başlıcalarıdır. Ellajik asit ile yapılan bir çalışmada testiküler dokuda sispaltinin GPx ve CAT seviyesini azalttığı, Ellajik asitin ise bu seviyeyi anlamlı derecede artırdığı gösterilmiş (Türk ve ark., 2008). Kuersetin ile yapılan bir çalışmada sispaltinin CAT düzeyini düşürdüğü ve Kuersetinin bu düşüşü anlamlı derecede artırdığı gösterilmiş (Bostancı vd., 2022). Salem ve ark. yaptıkları çalışmada ratlarda sispaltinin testis hasarına karşın Likopen ve Selenyum kullanmışlar. Testis dokusundan bakılan CAT, SOD ve GPx düzeylerinin en düşük sispaltin verilen grupta olduğunu görmüşler. Her üç antioksidan enzim düzeyinin de Likopen ve Selenyum verilen gruplarda ayrı olarak sispaltin verilen gruplara göre anlamlı miktarda yükseldiğini göstermişler (Salem ve ark., 2012). Bizim çalışmamızda CAT, SOD ve GPx değerlerinin en düşük olduğu grubun sispaltin verilen grup olduğu görüldü. Diğer çalışmalara benzer olarak CAT ve SOD değerlerinin sispaltin + Viburnum Opulus verilen grupta, sadece sispaltin verilen gruba göre anlamlı oranda yükseldiği görüldü. GPx değerinde ise gruplar arasındaki sayısal fark istatistiğe anlamlı olarak yansımadı.

Hücrel oksidatif stresin biyokimyasal göstergeleri arasında malondialdehit (MDA), miyeloperoksidaz (MPO), ve 8-hidroksidezoksiguanozin (8-OHdG) önemli yer tutar. Artan oksidatif stres, lipid peroksidasyonunun son ürünü MDA'nın düzeylerinde ve inflamatuvar yanıtla ilişkili MPO aktivitesinde yükselmeye yol açar (Frijhoff ve ark., 2015). Ayrıca DNA hasarının bir biyobelirteci olan 8-OHdG seviyesinde de oksidatif stresin etkisiyle yükselme izlenmektedir (Wu ve ark., 2004). Bu biyobelirteçlerdeki artış, sisplatinin hücrel düzeyde oluşturduğu oksidatif hasarın göstergesi olarak değerlendirilebilir. Literatür taraması yaptığımızda bu parametrelerin, pek çok çalışmada serum/plazma ve doku düzeyinde çalışıldığını gözlemledik.

Üzüm çekirdeği prosiyanidin özütü (GSPE) ile yapılan bir çalışmada ratlara sisplatin ve koruyucu olarak GSPE verilmiş ve 8-OHdG serum düzeyleri bakılmış. Sisplatin verilen grupta en yüksek değerler saptanırken, sisplatin+GSPE verilen gruplarda bu değerlerde istatistiksel anlamlı ölçüde düşüş izlenmiş (Tian ve ark., 2018). Aposinin ve sisplatin ile yapılan bir çalışmada doku MDA, MPO ve 8-OHdG düzeylerine bakılmış. Her üç parametre de sisplatin alan grupta yüksek saptanmış ve bu yükseklik istatistiksel anlamlı bulunmuş. Yine her üç parametrede de sisplatin+Aposinin alan grupta, sadece sisplatin alan gruba göre istatistiksel anlamlı düşüş izlenmiş (Köroğlu ve ark., 2019). Ellajik asit ile yapılan bir çalışmada; sadece sisplatin verilen grupta en yüksek plazma MDA seviyesi saptanırken, sisplatin ile Ellajik asitin beraber verildiği grupta ölçülen MDA seviyesinde düşüş gözlenmiş. İki grup arasındaki bu fark istatistiksel olarak anlamlı saptanmış (Türk ve ark., 2008).

Biz çalışmamızda 8-OHdG seviyesini doku düzeyinde çalıştık. Tüm gruplar içinde en yüksek değerler CIS grubunda saptandı ve diğer tüm gruplarda anlamlı derecede CIS grubuna göre daha düşük değerler saptandı.

Çalışmamızda diğer çalışmalara benzer olarak doku MPO düzeyleri en yüksek CIS grubunda saptandı. CIS+V.O grubunda CIS grubuna göre düşüş gözlemlendi. İki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı.

Plazma MDA ölçümlerinde en yüksek değerler CIS grubunda görüldü. CIS+V.O grubunda CIS grubuna göre istatistiksel anlamlı düşüş saptandı.

Yücel ve ark. sisplatin ile All-Trans Retinoik Asit (ATRA) kullanarak yaptıkları çalışmada TAS ve TOS değerlerini incelemişler. Ortalama değer olarak en yüksek değer ATRA grubunda, en düşük değer ise kontrol grubunda izlenmiş. TOS seviyesinde en yüksek değer sisplatin alan grupta izlenmiş. TAS değeri için gruplar arası anlamlı fark saptanmamış. TOS değerinde ise sadece sisplatin grubunun değeri diğer gruplara göre istatistiksel anlamlı yüksek izlenmiş (Yucel ve ark., 2019).

Bizim çalışmamızda en düşük TAS değeri CIS grubunda görüldü. CIS+V.O grubunda CIS grubuna göre istatistiksel anlamlı yükseliş görüldü. TOS değerlerine baktığımızda ise sisplatin alan grupta en yüksek değerler görüldü ve CIS+V.O grubunda CIS grubuna göre istatistiksel anlamlı düşüş görüldü.

Sonuç olarak bu deneyde sisplatinin testiküler dokuda oksidatif stresi artırarak hücrel hasar yaptığı ve spermiyogram değerlerini bozduğunu gördük. Viburnum Opulus kullanımının bu hasarı önlemede etkili olabileceğini düşünmekteyiz. Yine de bu çalışmada elde edilen bulgular deneysel düzeyde anlamlı olmakla birlikte, klinik uygulamalardaki etkinliğinin ve güvenilirliğinin değerlendirilmesi için daha kapsamlı ve ileri düzey çalışmalara ihtiyaç vardır.

6. KAYNAKLAR

Abusoglu, G., Altunkaya, M., & Ozturk, B. (2025). Effect of selenium on reproductive function and oxidative stress in male rats with cisplatin-induced testicular damage. *Reproductive and Developmental Medicine*. <https://doi.org/10.1097/RD9.0000000000000135>

Aitken, R. J., & Roman, S. D. (2009). *Antioxidant Systems and Oxidative Stress in the Testes* (ss. 154-171). https://doi.org/10.1007/978-0-387-09597-4_9

Aldemir, M., Okulu, E., Kösemehmetoğlu, K., Ener, K., Topal, F., Evirgen, O., Gürleyik, E., & Avcı, A. (2014). Evaluation of the protective effect of quercetin against cisplatin-induced renal and testis tissue damage and sperm parameters in rats. *Andrologia*, 46(10), 1089-1097. <https://doi.org/10.1111/AND.12197>

Azab, S. S., kamel, I., Ismail, N. N., El Din Hosni, H., & El Fatah, M. A. (2020). The defensive role of taurine against gonadotoxicity and testicular apoptosis effects induced by cisplatin in rats. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 26(1), 51-57. <https://doi.org/10.1016/J.JIAC.2019.07.004>

Bansal, A. K., & Bilaspuri, G. S. (2011). Impacts of Oxidative Stress and Antioxidants on Semen Functions. *Veterinary Medicine International*, 2011, 1-7. <https://doi.org/10.4061/2011/686137>

Barabas, K., Milner, R., Lurie, D., & Adin, C. (2008). Cisplatin: a review of toxicities and therapeutic applications. *Veterinary and Comparative Oncology*, 6(1), 1-18. <https://doi.org/10.1111/j.1476-5829.2007.00142.x>

Basu, A., & Krishnamurthy, S. (2010). Cellular Responses to Cisplatin-Induced DNA Damage. *Journal of Nucleic Acids*, 2010(1). <https://doi.org/10.4061/2010/201367>

Bostancıeri, N., Taşlıdere, A., Elbe, H., & Taşlıdere, E. (2022). Protective effects of quercetin against testis damage caused by cisplatin. *Biotechnic & Histochemistry*, 97(3), 180-184. <https://doi.org/10.1080/10520295.2021.1924405>

Dasari, S., & Bernard Tchounwou, P. (2014a). Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*, 740, 364-378. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>

Dasari, S., & Bernard Tchounwou, P. (2014b). Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*, 740, 364-378. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>

Drasga, R. E., Einhorn, L. H., Williams, S. D., Patel, D. N., & Stevens, E. E. (1983). Fertility after chemotherapy for testicular cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 1(3), 179-183. <https://doi.org/10.1200/JCO.1983.1.3.179>

Florea, A. M., & Büsselberg, D. (2011). Cisplatin as an Anti-Tumor Drug: Cellular Mechanisms of Activity, Drug Resistance and Induced Side Effects. *Cancers* 2011, Vol. 3, Pages 1351-1371, 3(1), 1351-1371. <https://doi.org/10.3390/CANCERS3011351>

Frijhoff, J., Winyard, P. G., Zarkovic, N., Davies, S. S., Stocker, R., Cheng, D., Knight, A. R., Taylor, E. L., Oettrich, J., Ruskovska, T., Gasparovic, A. C., Cuadrado, A., Weber, D., Poulsen, H. E., Grune, T., Schmidt, H. H. H. W., & Ghezzi, P. (2015). Clinical Relevance of Biomarkers of Oxidative Stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, 23(14), 1144-1170. <https://doi.org/10.1089/ars.2015.6317>

Fung, C., Dinh, P., Ardeshir-Rouhani-Fard, S., Schaffer, K., Fossa, S. D., & Travis, L. B. (2018). Toxicities Associated with Cisplatin-Based Chemotherapy and Radiotherapy in Long-Term Testicular Cancer Survivors. *Advances in Urology*, 2018(1), 8671832. <https://doi.org/10.1155/2018/8671832>

Gok, B., Tarik Atik, Y., Uysal, B., Koc, E., Tastemur, S., & İbrahim Cimen, H. (2021). Gilaburu extract (*Viburnum opulus* Linnaeus) is as effective as Tamsulosin in medical expulsive therapy of distal ureteral calculi. *International journal of clinical practice*, 75(12). <https://doi.org/10.1111/IJCP.14950>

Howell, S. J. (2005). Spermatogenesis After Cancer Treatment: Damage and Recovery. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*, 2005(34), 12-17. <https://doi.org/10.1093/jncimonographs/lgi003>

Ilbey, Y. O., Ozbek, E., Cekmen, M., Simsek, A., Otunctemur, A., & Somay, A. (2009). Protective effect of curcumin in cisplatin-induced oxidative injury in rat testis: mitogen-activated protein kinase and nuclear factor-kappa B signaling pathways. *Human reproduction (Oxford, England)*, 24(7), 1717-1725. <https://doi.org/10.1093/HUMREP/DEP058>

Jalili, C., Salahshoor, M. R., & Naderi, T. (2015). The effect of hydroalcoholic extract of *P. crispum* on sperm parameters, testis tissue and serum nitric oxide levels in mice. *Advanced Biomedical Research*, 4(1), 40. <https://doi.org/10.4103/2277-9175.151249>

Johnsen, S. G. (1970). Testicular biopsy score count--a method for registration of spermatogenesis in human testes: normal values and results in 335 hypogonadal males. *Hormones*, 1(1), 2-25. <https://doi.org/10.1159/000178170>

Junqueira ve Carneiro, J. ve A. Y. ve S. S. (2006). *Temel histoloji: text & atlas*. Nobel Tıp Kitabevleri.

Kajszczak, D., Zakłós-Szyda, M., & Podsędek, A. (2020). *Viburnum opulus* L.—A Review of Phytochemistry and Biological Effects. *Nutrients*, 12(11), 3398. <https://doi.org/10.3390/nu12113398>

Kao, S.-H., Chao, H.-T., Chen, H.-W., Hwang, T. I. S., Liao, T.-L., & Wei, Y.-H. (2008). Increase of oxidative stress in human sperm with lower motility. *Fertility and Sterility*, 89(5), 1183-1190. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.05.029>

Karaçelik, A. A., Küçük, M., Iskefiyeli, Z., Aydemir, S., De Smet, S., Miserez, B., & Sandra, P. (2015). Antioxidant components of *Viburnum opulus* L. determined by on-line HPLC-UV-ABTS radical scavenging and LC-UV-ESI-MS methods. *Food chemistry*, 175, 106-114. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2014.11.085>

Kelland, L. (2007). The resurgence of platinum-based cancer chemotherapy. *Nature Reviews Cancer*, 7(8), 573-584. <https://doi.org/10.1038/nrc2167>

Köroğlu, K. M., Çevik, Ö., Şener, G., & Ercan, F. (2019). Apocynin alleviates cisplatin-induced testicular cytotoxicity by regulating oxidative stress and apoptosis in rats. *Andrologia*, 51(4), e13227. <https://doi.org/10.1111/AND.13227>

Mäkelä, J.-A., & Toppari, J. (2017). *Spermatogenesis* (ss. 417-455). https://doi.org/10.1007/978-3-319-44441-3_13

Marullo, R., Werner, E., Degtyareva, N., Moore, B., Altavilla, G., Ramalingam, S. S., & Doetsch, P. W. (2013). Cisplatin Induces a Mitochondrial-ROS Response That Contributes to Cytotoxicity Depending on Mitochondrial Redox Status and Bioenergetic Functions. *PLoS ONE*, 8(11), e81162. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081162>

Maynard, R. L., & Downes, N. (2019). Chapter 18 - Male Reproductive System. İçinde R. L. Maynard & N. Downes (Ed.), *Anatomy and Histology of the Laboratory Rat in Toxicology and Biomedical Research* (ss. 207-217). Academic Press. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811837-5.00018-6>

Meistrich, M. L. (2013). Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertility and Sterility*, 100(5), 1180-1186. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2013.08.010>

Nishimura, H., & L'Hernault, S. W. (2017). Spermatogenesis. *Current Biology*, 27(18), R988-R994. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.07.067>

Nofal, A. E., Okdah, Y. A., Rady, M. I., & Hassaan, H. Z. (2023). Gum Acacia attenuates cisplatin toxic effect spermatogenesis dysfunction and infertility in rats. *International journal of biological macromolecules*, 240. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.124292>

Oduwole, O. O., Huhtaniemi, I. T., & Misrahi, M. (2021). The Roles of Luteinizing Hormone, Follicle-Stimulating Hormone and Testosterone in Spermatogenesis and Folliculogenesis Revisited. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12735. <https://doi.org/10.3390/ijms222312735>

Rop, O., Reznicek, V., Valsikova, M., Jurikova, T., Mlcek, J., & Kramarova, D. (2010a). Antioxidant Properties of European Cranberrybush Fruit (*Viburnum opulus* var. *edule*). *Molecules*, 15(6), 4467-4477. <https://doi.org/10.3390/molecules15064467>

Rop, O., Reznicek, V., Valsikova, M., Jurikova, T., Mlcek, J., & Kramarova, D. (2010b). Antioxidant Properties of European Cranberrybush Fruit (*Viburnum opulus* var. *edule*). *Molecules*, 15(6), 4467-4477. <https://doi.org/10.3390/molecules15064467>

Sagdic, O., Ozturk, I., Yapar, N., & Yetim, H. (2014). Diversity and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from gilaburu, a traditional Turkish fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit drink. *Food Research International*, 64, 537-545. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.07.045>

Salem, E. A., Salem, N. A., Maarouf, A. M., Serefoglu, E. C., & Hellstrom, W. J. G. (2012). Selenium and Lycopene Attenuate Cisplatin-induced Testicular Toxicity Associated With Oxidative Stress in Wistar Rats. *Urology*, 79(5), 1184.e1-1184.e6. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2011.12.006>

Sarıözkan, S., Türk, G., Eken, A., Bayram, L. Ç., Baldemir, A., & Doğan, G. (2017). Gilaburu (*Viburnum opulus* L.) fruit extract alleviates testis and sperm damages induced by taxane-based chemotherapeutics. *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, 95, 1284-1294. <https://doi.org/10.1016/J.BIOPHA.2017.09.057>

Sies, H. (2015). Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine. *Redox Biology*, 4, 180-183. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2015.01.002>

Sodhi, A., & Gupta, P. (1986). Increased release of hydrogen peroxide (H₂O₂) and superoxide anion (O₂⁻) by murine macrophages in vitro after cis-Platin treatment. *International Journal of Immunopharmacology*, 8(7), 709-714. [https://doi.org/10.1016/0192-0561\(86\)90006-8](https://doi.org/10.1016/0192-0561(86)90006-8)

Soni, K. K., Zhang, L. T., You, J. H., Lee, S. W., Kim, C. Y., Cui, W. S., Chae, H. J., Kim, H. K., & Park, J. K. (2015). The effects of MOTILIPERM on cisplatin induced testicular toxicity in Sprague-Dawley rats. *Cancer Cell International*, 15(1), 1-11. <https://doi.org/10.1186/S12935-015-0274-1/FIGURES/8>

Sullivan, R., Légaré, C., Lamontagne-Proulx, J., Breton, S., & Soulet, D. (2019). Revisiting structure/functions of the human epididymis. *Andrology*, 7(5), 748-757. <https://doi.org/10.1111/andr.12633>

Tian, M., Liu, F., Liu, H., Zhang, Q., Li, L., Hou, X., Zhao, J., Li, S., Chang, X., & Sun, Y. (2018). Grape seed procyanidins extract attenuates Cisplatin-induced oxidative stress and testosterone synthase inhibition in rat testes. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, 64(4), 246-259. <https://doi.org/10.1080/19396368.2018.1450460>

Tiwana, M. S., & Leslie, S. W. (2023). *Anatomy, Abdomen and Pelvis: Testes*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). <http://europepmc.org/abstract/MED/29261881>

Trainer, T. D. (1987). Histology of the Normal Testis. *The American Journal of Surgical Pathology*, 11(10). https://journals.lww.com/ajsp/fulltext/1987/10000/histology_of_the_normal_testis.7.aspx

Turner, T. T., & Lysiak, J. J. (2008). Oxidative Stress: A Common Factor in Testicular Dysfunction. *Journal of Andrology*, 29(5), 488-498. <https://doi.org/10.2164/jandrol.108.005132>

Türk, G., Ateşşahin, A., Sönmez, M., Çeribaşı, A. O., & Yüce, A. (2008). Improvement of cisplatin-induced injuries to sperm quality, the oxidant-antioxidant system, and the histologic structure of the rat testis by ellagic acid. *Fertility and Sterility*, 89(5), 1474-1481. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2007.04.059>

Utiger, R. D. (t.y.). *testis*.

Wang, K., Gao, Y., Wang, C., Liang, M., Liao, Y., & Hu, K. (2022). Role of Oxidative Stress in Varicocele. *Frontiers in Genetics*, 13. <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.850114>

Wu, L. L., Chiou, C. C., Chang, P. Y., & Wu, J. T. (2004). Urinary 8-OHdG: A marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clinica Chimica Acta*, 339(1-2), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.cccn.2003.09.010>

Yaman, O., & Topcu-Tarladacalisir, Y. (2018). L-carnitine counteracts prepubertal exposure to cisplatin induced impaired sperm in adult rats by preventing germ cell apoptosis. *Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission*, 93(3), 157-167. <https://doi.org/10.1080/10520295.2017.1401661>

Yang, C. S., Ho, C.-T., Zhang, J., Wan, X., Zhang, K., & Lim, J. (2018). Antioxidants: Differing Meanings in Food Science and Health Science. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(12), 3063-3068. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05830>

Yucel, C., Arslan, F. D., Ekmekci, S., Ulker, V., Kisa, E., Yucel, E. E., Ucar, M., Ilbey, Y. O., Celik, O., Basok, B. I., & Kozacioglu, Z. (2019). Protective Effect of All-Trans Retinoic Acid in Cisplatin-Induced Testicular Damage in Rats. *The world journal of men's health*, 37(2), 249-256. <https://doi.org/10.5534/WJMH.180105>

Zhu, S., Pabla, N., Tang, C., He, L., & Dong, Z. (2015). DNA damage response in cisplatin-induced nephrotoxicity. *Archives of Toxicology*, 89(12), 2197-2205. <https://doi.org/10.1007/s00204-015-1633-3>

Zimmermann, K. C., & Green, D. R. (2001). How cells die: Apoptosis pathways☆☆☆. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 108(4), S99-S103. <https://doi.org/10.1067/mai.2001.117819>