



**T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ
ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**SİSPLATİNİN TESTİS ÜZERİNDEKİ HÜCRESEL
HASARINA KARŞI THERANEKRONUN
KORUYUCU ETKİSİ**

Ahmet DEMİREL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Mahmud Mustafa ÖZKUT

2024 - AFYONKARAHİSAR

**T.C.
AFYONKARAHİSAR SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ**

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

**SİSPLATİNİN TESTİS ÜZERİNDEKİ HÜCRESEL HASARINA KARŞI
THERANEKRONUN KORUYUCU ETKİSİ**

**Ahmet DEMİREL
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Mahmud Mustafa ÖZKUT**

2024 - AFYONKARAHİSAR

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK

Bu çalışmadaki tüm bilgilerin, akademik ve etik kurallara uygun bir şekilde elde edildiğini beyan ederim. Aynı zamanda bu kural ve davranışların gerektirdiği gibi, bu çalışmanın özünde olmayan tüm materyal ve sonuçları tam olarak aktardığımı ve referans gösterdiğimi belirtirim.

Yüksek Lisans Öğrencisinin

Adı Soyadı: Ahmet DEMİREL

İmza:

Danışmanın

Ünvanı Adı Soyadı:

Dr. Öğr. Üyesi Mahmud Mustafa ÖZKUT

İmza:

KABUL VE ONAY

Dr. Öğr. Üyesi Mahmud Mustafa ÖZKUT danışmanlığında Ahmet DEMİREL tarafından hazırlanan “Sisplatinin Testis Üzerindeki Hücresel Hasarına Karşı Theranekronun Koruyucu Etkisi ” adlı bu çalışma jürimiz tarafından Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans** tezi olarak kabul edilmiştir.

..... / /

(Tez savunma sınav tarihi yazılacaktır.)

JÜRİ:

Başkan :.....(..... Üniversitesi)

Üye :.....(..... Üniversitesi)

Üye :.....(..... Üniversitesi)

ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulunun tarih ve sayılı kararı ile onaylanmıştır.

..... / /

.....

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim sırasında bilgi ve deneyimlerini bana aktaran, tezimin yürütülmesi ve tamamlanmasında yardımlarını esirgemeyen Danışman Hocam Histoloji-Embriyoloji Ana Bilim Dalı Dr. Öğretim Üyesi Mahmud Mustafa ÖZKUT'a; Tez sürecimde Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi'ndeki çalışmalarına katkıda bulunan Dr. Öğr. Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL'e; Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini bize aktaran Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı Doçent Dr. Fatma FIRAT'a, araştırma görevlisi Tuğçe ALADAĞ'a, İrem Simge ÖZGÜL'e labarotuvarda yaptığımız çalışmalarda yardımcı olan arkadaşlarıma ve aileme teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Ahmet DEMİREL
Afyonkarahisar, Kasım 2024

SİSPLATİNİN TESTİS ÜZERİNDEKİ HÜCRESEL HASARINA KARŞI THERANEKRONUN KORUYUCU ETKİSİ

Ahmet Demirel

**Afyonkarahisar Sağlık Bilimleri Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans**

Tezi

Kasım 2024

Danışman: Dr. Öğretim Üyesi Mahmud Mustafa Özkut

ÖZET

İnfertilite; çevresel ve kimyasal etmenler, obezite ve kemoterapi gibi nedenlerle günümüzde erkeklerde artış gösteren önemli bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır.

Çalışmamızda sisplatin tarafından oluşturulan erken dönemde testisteki spermatogenik seriye ait hücrelerde meydana gelen hasarın Theranekron tarafından düzeltilebileceğini amaçladık. Deneyimizde toplam 30 rat kullanılmış olup, Gruplar; TH grubu (0.3mg/kg), CP grubu (1.5 mg/kg), TH+CP grubu(0.3mg/kg;1.5mg/kg), Sham grubu, Kontrol grubu olmak üzere, her grupta 6 hayvan olacak şekilde 5 gruba ayrıldı.

Hücrelerin morfolojisini değerlendirmek için hematoksilen eozin boyaması, inflamasyon ve hücre rejenerasyonu için TNF α , NF κ B, IL-1 β , IL-6 erken dönem DNA kırıklarını göstermek için γ H2AX immünoaktivitesine bakıldı. Apoptotik hücreleri göstermek için de TUNEL tekniği kullanıldı.

CP grubunda inflamasyon ve hücre rejenerasyonu markırlarında azalma gözlemlendi. γ H2AX immünoaktivitesinin yüksek olduğu izlendi, apoptotik hücrelerde de artış olduğu görüldü. TH+CP grubunda ise bu ifadelerin tam tersi izlendi. TH grubu ise Sham ve Kontrol grubuna yakın immünoaktivite gösterdi. Bu ifadeler istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). CP grubunda meydana gelen spermatogenik seri hücrelerindeki hasar ve intersisyal alanda meydana gelen inflamasyon görünür derecede CP+TH grubunda azaldığı izlendi. TH grubunda ise herhangi bir şekilde hücrelerde morfolojik değişiklik ve inflamasyon izlenmedi.

Sonuç olarak erken dönem Sisplatin uygulamasından doğan hücre hasarında Theranekronun olumlu sonuçlar verdiği görüldü. Theranekronun İnflamatik alanları özellikle baskılayarak spermatogenik seriye ait hücrelerdeki rejenerasyonda rol aldığı görüldü. Çalışmamızın özellikle testis üzerinde yapılacak deneyler için iyi bir referans olduğunu düşünmekteyiz. Yeni gelen çalışmalarla beraber özellikle erkek infertilitesinde Theranekronun bir ilaç olarak kullanılabilirliğinin gösterileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Gamma (γ)H2AX, İnflamasyon, Sisplatin, Testis, Theranekron

PROTECTIVE EFFECT OF THERANEKRON AGAINST CELLULAR DAMAGE OF CISPLATHIN ON THE TESTIS

Ahmet Demirel

Afyonkarahisar University of Health Sciences
Institute of Graduate Education Department of Histology and Embryology
Master's Thesis
November 2024

Supervisor: Dr. Öğretim Üyesi Mahmud Mustafa Özkut

ABSTRACT

Infertility is an important health problem that is increasing in men today due to environmental and chemical factors, obesity and chemotherapy.

In our study, we aimed to correct the damage caused by cisplatin in the early period in spermatogenic cells in the testis with Theranekron. A total of 30 rats were used in our experiment and the groups were divided into 5 groups, 6 animals in each group, as TH group (0.3mg/kg), CP group (1.5mg/kg), TH+CP group (0.3mg/kg;1.5mg/kg), Sham group, and Control group.

Hematoxylin and eosin staining was used to evaluate the morphology of the cells, TNF α , NF κ B, IL-1 β , IL-6 for inflammation and cell regeneration, and γ H2AX immunoreactivity was examined to show early stage DNA breaks. The TUNEL technique was also used to show apoptotic cells.

In the CP group, a decrease in markers of inflammation and cell regeneration was observed. High γ H2AX immunoreactivity was observed, and an increase in apoptotic cells was also observed. The exact opposite of these statements was observed in the TH+CP group. The TH group showed immunoreactivity close to the Sham and Control groups. These statements were found to be statistically significant ($p<0.05$). In the CP group, the damage in spermatogenic series cells and the inflammation in the interstitial area were observed to be visibly reduced in the CP+TH group. In the TH group, no morphological change or inflammation was observed in the cells.

As a result, it was observed that Theranekron gave positive results in cell damage resulting from early cisplatin application. It was observed that Theranekron played a role in the regeneration of spermatogenic series cells by suppressing inflammatory areas in particular. We think that our study is a good reference for experiments to be conducted especially on the testicles. We think that with the new studies, the usability of Theranekron as a drug especially in male infertility will be demonstrated.

Keywords: Gamma (γ)H2AX, Inflammation, Cisplatin, Testis, Theranekron

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BİLİMSEL ETİĞE UYGUNLUK	ii
KABUL VE ONAY	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xi
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Erkek Genital Sistem Anatomisi	3
2.1.1. İç Genital Organlar	3
2.1.1.1. Testis	3
2.1.1.2. Epididimis	4
2.1.1.3. Duktus Deferens.....	4
2.1.1.4. Vesikula Seminalis.....	4
2.1.1.5. Duktus Ejakulatorius.....	5
2.1.1.6. Prostat (Glandula Prostatica)	5
2.1.1.7. Glandula Bulbourethralis (Cowper Bezleri)	5
2.1.2. Dış Genital Organlar.....	5
2.1.2.1. Penis	5
2.1.2.2. Üretra Maskulina	6
2.1.2.3. Skrotum.....	6
2.2. Erkek Genital Sistem Embriyolojisi.....	6
2.2.1. Testis Gelişimi	7
2.2.2. Genital Kanalların Embriyonik Dönemde Gelişimi	8
2.2.2.1. Farklanmamış Evre	8
2.2.2.2. Erkek Genital Kanalları	9
2.2.2.3. Erkek Dış Genital Organların Gelişimi.....	10
2.3. Erkek Genital Sistem Histolojisi	10

2.3.1. Testislerin Histolojisi:	10
2.3.2. Erkek Genital Sisteminin İletici Kısımlarının Histolojisi	17
2.3.2.1. Tubuli Rekti	17
2.3.2.2. Rete Testis	18
2.3.2.3. Duktuli Efferentes	18
2.3.2.4. Duktus Epididimis	18
2.3.2.5. Duktus Deferens	19
2.3.2.6. Duktus Ejakulatoryus	19
2.3.2.7. Üretra	19
2.3.3. Yardımcı Genital Bezler	20
2.3.3.1. Veziküla Seminalis	20
2.3.3.2. Prostat Bezi	20
2.3.3.3. Bulboüretal Bezler	21
2.3.3.4. Penis	21
2.4. Sisplatin	22
2.5. Ternekron	23
2.6. Homeopati	24
2.6.1. Homeopatinin Prensipleri	24
2.7. İnflamasyon	25
2.7.1. İnflamasyon ve Rejenerasyonda Kullanılan Markırlar	28
2.7.1.1. İnterlökin-1 beta (IL-1 β)	28
2.7.1.2. İnterlökin 6 (IL-6)	28
2.7.1.3. Nükleer faktör kappa B1 (NF- κ B1)	29
2.7.1.4. Tümör Nekroz Faktörü α (TNF- α)	30
2.7.1.5. Gamma H2AX (γ H2AX)	30
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Etik Kurul	32
3.2. Deney Hayvanları ve Grupları	32
3.3. Kimyasallar	33
3.4. Histolojik Doku Takibi	33
3.5. Dokuların Boyanması	34
3.5.1. Histokimyasal Boyama	34
3.5.2. İmmünohistokimyasal Boyama	34

3.5.3. Tunel Yöntemi	36
3.5.4. İstatiksel Analiz	38
4. BULGULAR	39
4.1. Testis Histoloji Değerlendirme	39
4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular	41
4.2.1. γ H2AX İmmünreaktivitesi.....	41
4.2.2. TNF- α İmmünoreaktivitesi	43
4.2.3. NF- κ B1 immünoreaktivitesi	45
4.2.4. IL-1 β İmmünoreaktivitesi	47
4.2.5. IL-6 immünoreaktivitesi	49
4.3. Tunel Sonuçları	51
5. TARTIŞMA	54
6. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	61
7. KAYNAKLAR	62

KISALTMALAR VE SİMGELER DİZİNİ

°C	: Santigrad derece
ABP	: Androjen bağlayıcı protein
AHM	: Antimüllerian Hormon
cm	: Santimetre
CP	: Cisplatin
DNA	: Deoksiribonükleik asit
FSH	: Folikül stimulan hormon
gr	: Gram
H-E	: Hemotoxilen-eozin
İP	: İntraperitoneal
İM	: İntramüsküler
İL-1B	: İnterlökin 1 beta
İL-6	: İnterlökin 6
MAPK	: Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz
MİH	: Müller inhibe edici hormon
NF-Kb1	: Nükleer faktör kappa B1
PAF	: Prostatik asit fosfataz
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
PSA	: Prostat spesifik antijen
SRY	: Y'nin cinsiyeti belirleyen bölgesi
TDF	: Testis belirleyici faktör
TH	: Theranekron
TNF	: Tümör nekroz faktör

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1: Erkek genital sistemi organları.....	3
Şekil 2.2: Penis	6
Şekil 2.3: 3 haftalık embriyoda primordiyal germ hücreleri ve bu hücrelerin genital kabartıya göçü.	9
Şekil 2.4: Testis.....	12
Şekil 2.5: İnterstisyel dokuda Leydig hücreleri	13
Şekil 2.6: Sertoli hücresi mikroskopik görünümü	13
Şekil 2.7: Seminifer Tübülün Genel Histolojik Görüntüsü	14
Şekil 2.8: Spermatogenezin Şeması.....	17
Şekil 2.9: Sitokinler ve salgılandıkları kaynaklar.....	27
Resim 4.1: Testis Hematoksilen&Eozin boyama görüntüsü, histopatolojik skorlama görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.	40
Şekil 4.2: Hematoksilen-eozin istatistiksel sonuçlarının grafiği (p<0.05).	41
Şekil 4.3: Testis γ H2AX immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.	42
Şekil 4.4: Testis γ H2AX immünohistokimyasal boyama sonuçları istatistiksel analizi (p<0.05).....	43
Şekil 4.5: Testis TNF- α immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.....	44
Şekil 4.6: Testis TNF- α immünohistokimyasal sonuçları istatistiksel analizi (p<0.05). ..	45
Şekil 4.7: Testis NFkB1 immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.	46
Şekil 4.8: Testis dokusu NFkB1 immünohistokimyasal sonuçları istatistiksel analizi (p<0.05).....	47
Şekil 4.9: Testis dokusu IL-1 β immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.	48
Şekil 4.10: Testis IL-1 β immünohistokimyasal sonuçları istatistiksel analizi(p<0.05).	49
Şekil 4.11: Testis IL-6 immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.	50

Şekil 4.12: Testis IL-6 immünohistokimyasal boyama sonuçları istatistiksel analizi (p<0.05).....	51
Şekil 4.13: Testis Tunel boyaması görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu, F.Negatif kontrol grubu.....	52
Şekil 4.14: TUNEL boyama sonuçları istatistiksel analizi (p<0.05).....	53



1. GİRİŞ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz proliferasyonunun yanı sıra, programlanmış hücre ölümü olarak adlandırılan apoptoz gibi önemli basamakların bozulması sonucu ortaya çıkan çok aşamalı bir patolojik oluşum olarak tanımlanmıştır. Testis tümörlerinin tedavisi hastalığın evresi ve tümörün alt tipine göre, ameliyat, kemoterapi ve radyoterapi gibi tedavi yöntemleri kullanılmaktadır. Sisplatin (CP), kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötiklerden biridir.

CP veya (SP-4-2)-diamindikloridoplatin(II), testis, yumurtalık, baş ve boyun, mesane, akciğer, rahim ağzı kanseri, melanom gibi çeşitli solid ve hematolojik kanserlerin tedavisi için en potansiyel ve yaygın olarak kullanılan kemoterapi ajanıdır. CP, çoklu mekanizmalar yoluyla antikanser aktivite uygular, ancak en kabul edilebilir mekanizması, Deoksiribonükleik asit (DNA) üzerindeki pürin bazları ile etkileşerek DNA lezyonlarının oluşmasını ve ardından apoptoza yol açan çeşitli sinyal iletim yollarının aktivasyonunu içerir. Ne yazık ki, sisplatinin klinik kullanımı şiddetli doza bağımlı toksik yan etkileri nedeniyle sınırlıdır. CP'in yaklaşık 40 spesifik toksisitesi vardır ve bunların arasında nefrotoksisite en yaygın olanıdır. Diğer yaygın yan etkiler arasında ototoksisite, nörotoksisite, gastrointestinal toksisite, hematolojik toksisite, kardiyotoksisite ve spermatogenik seriye ait hücre kayıpları görülmektedir. Bu yan etkiler birlikte hastaların yaşam kalitesini düşürmekte ve ilacın dozunun düşürülmesini, hatta kesilmesini gerektirmekte, dolayısıyla tedavi etkisini zayıflatmaktadır. Sisplatinden kaynaklanan çeşitli yan etkilerin kesin mekanizmaları hala belirsiz olduğundan, bu yan etkilere karşı klinik olarak çok az etkili önlem mevcuttur. Bu nedenle, toksisitesini azaltmanın veya yok etmenin etkili yollarını belirlemeyi amaçlayan sisplatinin toksikolojisinde yer alan karmaşık biyokimyasal süreçleri araştırmak için önemli çaba sarf edilmiştir (Sumit Ghosh, 2019; Luyu Qi ve ark., 2019). Sisplatinin testis üzerindeki hücresel hasarına karşı Theranekron (TH) ilacının koruyucu etkisinin olabileceğini düşündük.

'Theranekron' adıyla bilinen bu ilaç veteriner hekimler tarafından bazı hastalıkların iyileşmesinde kullanıldığı bilinmektedir. Bu ilacın tesir ettiği düzen tam açıklığa kavuşmamış olup bununla birlikte bağışıklık sistemini güçlendirdiği, hayat enerjisini açığa çıkardığı ve inflamasyonu spontan olarak baskıladığı düşünülmektedir. TH'un köpeklerde meme kanserinin ilerlemesini durdurduğu sığırlarda tırnak lezyonlarını tedavi

ettiği değişik çalışmalarda izlenmiştir. Ayrıca iftlikte yaşayan canlının her türlü nekrotik, inflamatuvar ve proliferatif hastalıklarının iyileşmesinde olumlu sonuçlar alınmaktadır (Akdağ, 2020).

Therane kron'un dört tane özelliği vardır. Demarkasyon bu özelliklerden birincisidir. Demarkasyon sebebiyle sağlıksız alanda canlı ve cansız dokular birbirinden uzaklaşır ve sağlıksız doku alanı vücuttan ayrılır. Tümörlerde ve nekrotik dokularda bu özelliğinden faydalanılır. İkinci özelliği ise rejenerasyondur. Bu zellik epitelizasyonu sağlayarak sağlıksız alanda onarma ve tedavi işlevini yerine getirir. Bu yenileyici özelliğinden geçmeyen yaralar ve doğum kanalında oluşabilecek yaralanmalarda faydalanılır. Therane kron'un diğer bir özelliği ise rezorpsiyondur. TH, dokularda oluşan her çeşit dem, şişlik gibi durumlarda iyileşmeyi hızlandırır ve tedavi eder. Bu ilacın son özelliği, ekstraktın anti-inflamatuvar nitelikte olmasıdır (aycı, 2006).

Çalışmamızda sisplatinin üreme hücreleri üzerindeki olumsuz etkisinin therane kronla inhibe edilmesi, ilacın spermatogenik seriye ait hücre rejenerasyonunu arttırması, inflamasyonu baskılaması dşnld. Özellikle Nükleer faktör kappa beta (NF-κB1), İnterlökin altı (IL-6), İnterlökin bir beta (IL-1β) ve Tümör nekroz faktör alfa (TNF-α) markırları kullanılarak tedavi öncesi ve tedavi sonrası inflamasyon ve rejenerasyon karşılaştırılması yapıldı. Tedavi ncesi ve tedavi sonrası CP etkisinin spermatogenik seriye ait hücrelerde meydana getirdiği DNA kırığı için Gamma H2AX (γH2AX) immnoreaktivitesine bakıldı. Ayrıca ilaca bağlı olarak DNA kırığı çok fazla olan hücrelerdeki apoptozu göstermek için TUNEL metodu yapıldı. TH etkisinin özellikle Sisplatin verilen grupta DNA kırığını azalttığı ve apoptozu azalttığı gözlemlendi. Bazal kompartmanda meydana gelen inflamasyonun da TH grubunda baskılandığı izlendi. Yaptığımız araştırmanın özellikle TH'un üreme sistemi üzerinde klinik amaçlı kullanımı açısından referans niteliği olacağını ve bilime önemli katkılar yapacağını düşünmekteyiz.

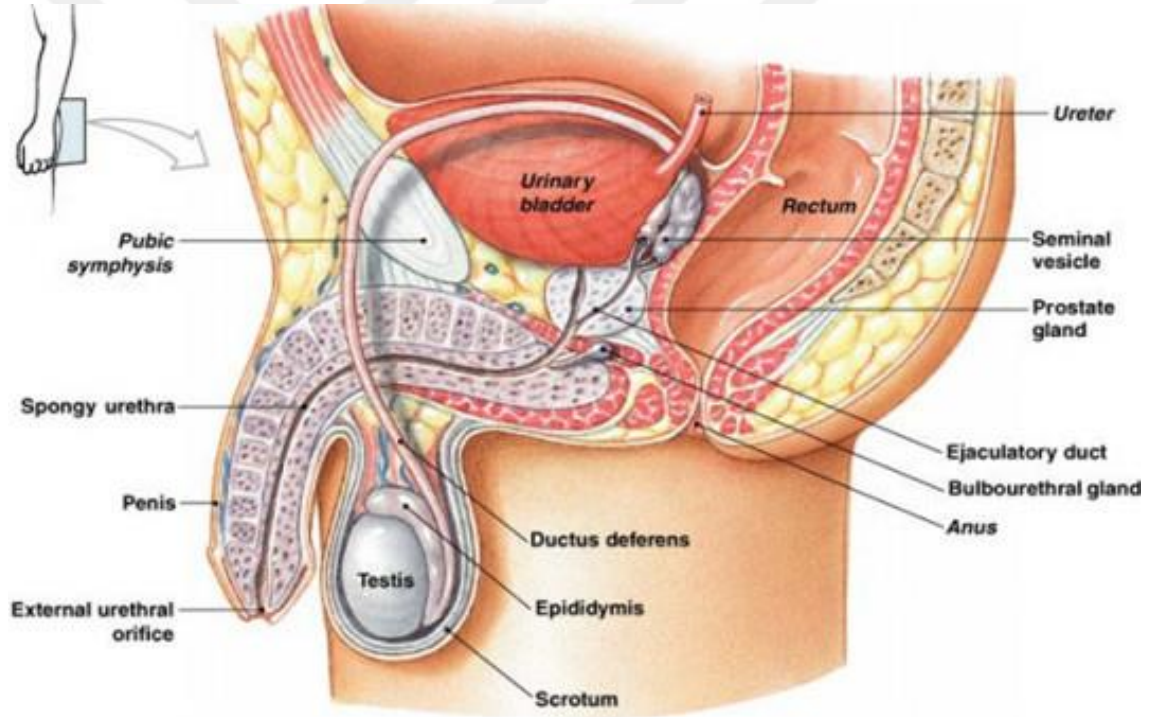
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Erkek Genital Sistem Anatomisi

Erkek genital sistemi iç genital organlar (organa genitalia masculina interna) ve dış genital organlar (organa genitalis masculina externa) olmak üzere bulundukları yerler göz önüne alınarak iki gruba ayrılarak incelenir (Şekil 2.1).

2.1.1. İç Genital Organlar

Testis (orchis), epididimis, duktus deferens, vesikula seminalis, duktusejaculatorius, prostat (glandula prostatica) , glandula bulbourethralis (cowper bezi) 'ten meydana gelir.



Şekil 2.1: Erkek genital sistemi organları (Marieb, 2000).

2.1.1.1. Testis

Primer üreme organı olan testisler skrotum içinde bulunan sperm ve cinsiyet hormonlarının yapıldığı bir çift organdır. Her biri 4-5 santimetre (cm) uzunluğunda 2,5 cm genişliğinde 3 cm kalınlığında ve 10-15 gram (gr) ağırlığına sahiptirler. Skrotum içinde funiculus spermaticusa asılı konumda bulunan testisler, dış ve iç (facies l lateralis, facies medialis) iki yüze, ön ve arka (margo anterior, margo posterior) iki kenara, alt ve üst (extremitas inferior, extremitas superior) iki uca sahiptir. Testisler peritoneumun

arkasında, karın arka duvarında gelişir ve sol testis sağ testisin konumuna göre biraz daha aşağıda bulunur ve arka kenarına epididimis tutunmuştur. Fetal hayatta karın boşluğu içinde retroperitonel olarak fascia transversalis ile periton arasında gelişim göstermektedirler. Doğumdan önce gubernaculum denen şerit şeklindeki oluşumla testisin alt kutbunu canalis inguinalis'ten geçerek skrotum derisine bağlar. Testislerde hem spermium üretimi hem de testosteron gibi erkek üreme fizyolojisini yöneten hormonları salgılayan endokrin hücreleri bulunur. Testosteron hormonu, embriyonik gelişim ve fetal gelişim sırasında cinsel farklılaşma, spermatogenez ve hipofizden gonadotropin salgılanmasının kontrolü için büyük öneme sahiptir.

Testis, tunika albuginea denen mavi-beyaz renkte sıkı bir bağ doku kılıfı ile çevrelenmiştir. Bu kılıf arka kenarda, testisin iç kısmına doğru vertikal bölümler şeklinde uzantılar gönderir ve bu yapı, testisin damar, sinir ve spermium kanallarının geçtiği kısımdır. Bu kısma mediastinum testis adı verilir. Bu yapının ön ve yan kısımlarından oluşan septula testis adındaki bölmeler, dışarıdan testisi saran tunika albuginea denen yapıya tutunup, testisi piramit biçimindeki lobüllere ayırırlar.

2.1.1.2. Epididimis

Testislerin arka-dış yüzeyinde yer alıp spermleri ileten yolun testislerden sonra gelen ve yaklaşık 6 metre uzunluğunda duktus epididimis kanalının oluşturduğu bir kanal yumağıdır. Epididimisin genişlemiş kalın kısmına üst kaput, orta parça kısmına korpus ve alt parça kısmına kauda epididimis denir. Üretilen spermlerin olgunluğa ulaşması, hareket yeteneğini kazanması ve bir miktarında depo edilmesinin gerçekleştiği kısımdır.

2.1.1.3. Duktus Deferens

İletim ile görevli olup yaklaşık 45 cm uzunluğuna sahip bir kanaldır ve spermleri ileten yolun kauda epididimisten sonra gelen kısımdır.

2.1.1.4. Vesikula Seminalis

Mesane ve rektum arasına konumlanmış tubuler yapıda bir çift bezdir ve komşu yapılara bağ dokusu ile tutunmuştur. Bu bezlerin salgısı semenin büyük bir kısmını oluşturarak ve

spermilerin beslenmesinde, hareketlerinde, ovuma ulaşmasında ve fertilizasyonda önemli bir role sahip olmuştur.

2.1.1.5. Duktus Ejakulatorius

Vesikula seminalisin boşalma kanalı olana duktus excretorius ile duktus deferensin birleşmesi ile oluşmuş bir kanaldır. 2 cm uzunluğuna sahip dar ve ince duvarlı bir kanaldır. Utriculus prostaticusun yan taraflarından prostatik uretraya açılır (Marieb, 2000).

2.1.1.6. Prostat (Glandula Prostatica)

Erkek genital sisteminin en büyük yardımcı bezi olup yüksekliği 3cm, genişliği 4 cm ve kalınlığı 2 cm olan kapsüllü bir bezdir. Ortalama ağırlığı 20 gram olan prostat, küçük pelviste, symphysis pubicanın arkasında, rektumun önünde, mesanenin altında, diaphragma urogenitalenin üstünde konumlanmıştır. Prostat bezi bileşik tubuloalveoler bez yapısında olup çok sayıda kanala sahiptir.

2.1.1.7. Glandula Bulbourethralis (Cowper Bezleri)

Bulboüretal bezler yuvarlak, 1 cm çapında diaphragma urogenitale içinde üretranın arka dış tarafında yer alan küçük sarı renkli bir çift bezdir. Yaklaşık olarak 2,5 cm uzunluğuna sahiptir.

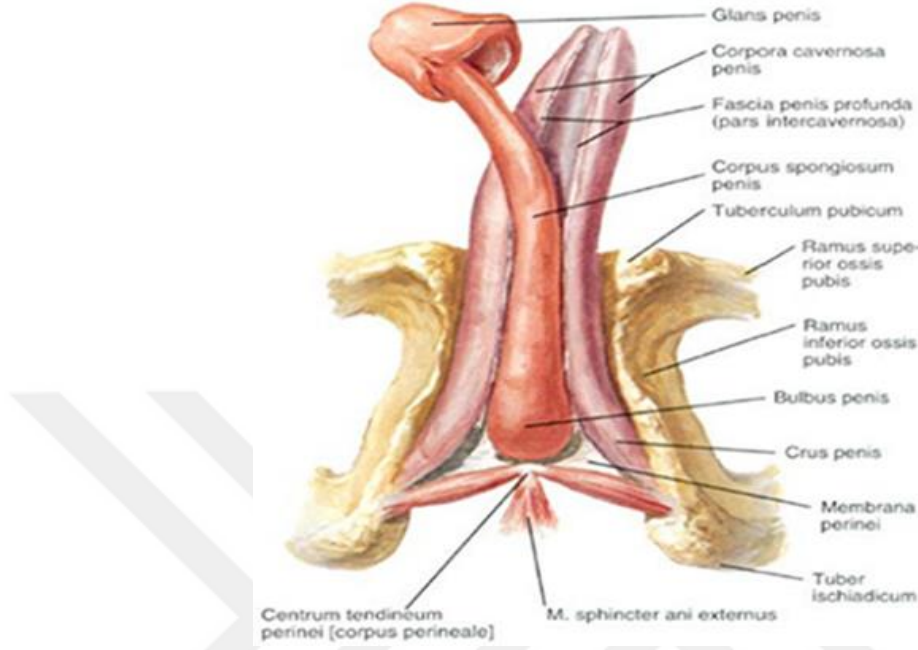
2.1.2. Dış Genital Organlar

Penis, üretra maskulina, skrotum'dan oluşur.

2.1.2.1. Penis

Penis, erkek çiftleşme ve idrarın dışarı atılmasında görevli olan boşaltım organıdır. Yetişkinlerde penis uzunluğu yaklaşık olarak 8-10 cm uzunluğunda, 3 cm çapında iken ereksiyon halindeyken boyutları 12-15 cm uzunluğuna 4 cm çapına çıkar. Radix penis (kök kısmı) ve Corpus penis (gövde kısmı) olmak üzere iki bölümden meydana gelir. Perineum'da bulunan sabit kısım olan Radix penis dışardan görünmeyen kısımdır. Dışardan görülen ve çiftleşmeye yarayan serbest kısmı ise corpus penistir ve penis

ucundan pubise kadar uzanır. Şişkince bir yapıya sahip uç kısmına ise glans penis denir. Ve penis başı olarak da adlandırılır (Şekil 2.2).



Şekil 2.2: Penis (Netter, 2015).

2.1.2.2. Üretra Maskulina

Mesane'nin dip kısmındaki ostium üretra internumdan başlayarak, penis ucundaki ostium üretra externum'da sonlanır ve 18- 20 cm uzunluğuna sahiptir. Skene kanalları olarak adlandırılan Üretra maskulina'nın mukozasında Littre bezleri ve bu bezlere ait kanalları bulunur. Üretra maskulina, Pars prostatica, Pars membranacea ve Pars spongiosa olmak üzere üç kısımdan oluşmuştur (Ozan, 2014; Aktümsek, 2016).

2.1.2.3. Skrotum

Skrotum Testis, funikulus spermaticusun alt bölümünü ve epididimisin içinde bulunduğu bir torbadır. Penis ve symphysis pubica'nın hemen altında, uyluğun üst kısmının ön tarafında yer alır ve sol yarısı sağ yarısına göre biraz daha aşağıda konumlanmıştır (Arıncı ve Elhan, 2006; Ozan, 2014).

2.2. Erkek Genital Sistem Embriyolojisi

Embriyonun genetik cinsiyeti fertilizasyon sırasında belirlenmiş olmasına karşın, 7. haftadan önce embriyo, dişi ya da erkek morfolojisine sahip değildir. Genital sistemin bu

başlangıç dönemi, farklılaşmamış (indifferent) safha olarak adlandırılmaktadır (Moore ve Persaud, 2002). Cinsiyetin belirlenmesi otozomal olan çok sayıda genin görev aldığı kompleks bir süreçtir. Eşeyssel dimorfizmin anahtarı, kısa kolunda bulunan (Yp11) Sry genini (sexdetermining region on Y) taşıyan Y kromozomudur. Bu genin protein ürünü rudimenter durumdaki cinsiyet organlarının oluşumunun belirlenmesinde genleri aktive eden Testis Belirleyici Faktör (TDF)'ün gonadal kabartının testis yönünde farklılaşmasını sağlamasıdır. Bu faktörün yokluğunda ise gonad ovaryuma farklılaşır (Moore ve Persaud, 2002; Yakışık ve ark., 2005; Sadler, 2011).

Gonadlar üç kaynaktan köken alırlar;

- 1) Ara mezoderm:** İnterstisyel (Leydig) hücrelerinin ve peritübüler kontraktıl yapılar olan myoid hücrelerinin de kaynağı olup Posterior abdominal duvarda ürogenital kabartılar yapar.
- 2) Mezodermal epitel:** Ürogenital kabartıları döşeyen ve Sertoli hücrelerinin kaynağı olan epiteldir.
- 3) Primordiyal germ hücreleri:** Gelişmekte olan gonadlara göç ederek, bölünüp spermatogonyumlara farklılaşan ve spermatonyumların kaynağı olan hücrelerdir.

2.2.1. Testis Gelişimi

Eğer embriyonun genetik cinsiyeti erkekse, primordiyal germ hücreleri XY kromozomlarını taşır. Bu hücreler, SRY geninin etkisiyle, testislerin ya da medüller kordonların gelişimini başlatan bir süreçle medullaya göç eder. Burada, kordonlar medullanın derinliklerine doğru dallanarak ilerler ve testisin hilus bölgesine yakın kısımlarda birleşerek rete testis tübüllerini oluşturur. Gelişimin ilerleyen dönemlerinde, bu kordonların yüzey epiteline olan etkileşimi, tunika albuginea adı verilen yoğun fibröz bağ dokusunun oluşumu ile sonuçlanır. Embriyonik gelişimin dördüncü ayında, testis kordonları atnalı bir yapı kazanır ve uçları rete testis ile birleşerek devam eder. Bu dönemde, testis kordonları hem primitif germ hücrelerinden hem de testisin yüzey epiteline türeyen Sertoli hücreleri gibi destek hücrelerinden oluşmaktadır. Testis kordonlarının arasında ise gonadal sırtın mezenşiminden köken almış Leydig hücreleri bulunmakta ve kordonların farklılaşmasının ardından gelişmeye başlar. Koryonik

gonadotropin hormonu (hCG) olan intrauterin 8-12 haftalık dönemde en yüksek seviyeye ulaşarak Leydig hücrelerinden testosteron ve androstenodion üretimini uyarır. Leydig hücrelerinden salgılanan testosteron ve androstenodion hormonları, hamileliğin 8. haftasından itibaren dış genitallerin ve mezonefrik kanalın erkek cinsiyet yönünde farklılaşmasını uyararak, penisin büyümesini, penil üretranın gelişmesini, skrotum bezlerinin birleşmesini gerçekleştirir. Fetal dönemde Sertoli hücrelerinden salgılanan Müller inhibe edici hormon (MİH) ise paramezonefrik (Müllerian) kanalın gelişimini inhibe ederek erkek dış genital organların gelişimi göstermesini sağlar.

2.2.2. Genital Kanalların Embriyonik Dönemde Gelişimi

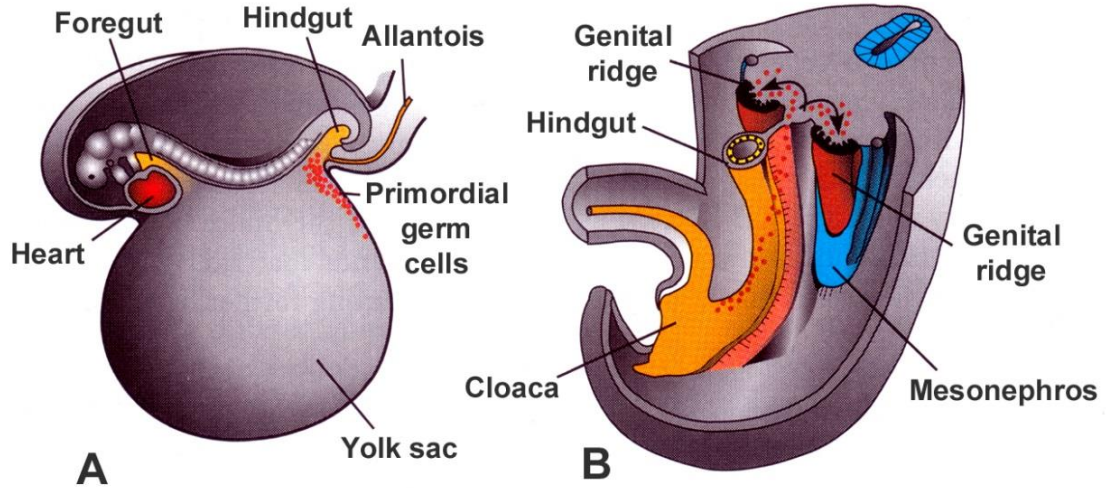
2.2.2.1. Farklanmamış Evre

Gonodal kabartıların oluşumunu, mezonefronun ventromedial yüzeyinde bulunan sölomik epitelin hücre proliferasyonu başlatır. Mezonefroz, Wolff kanal olarak da bilinen mezonefrik kanal içerir. Bu yapı, erkek cinsiyet belirlendikten sonra epididim, seminal veziküller ve vas deferens oluşumunda etkisi olan ilkel bir ürogenital kısımdır.

Epiblast kökenli primordiyal germ hücreleri 4.haftanın başında yolk kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında görülmeye başlar. Sonbarsağın mezenterinin dorsali boyunca ameboid hareketlerle ilerleyerek 5. haftanın başında her iki yanda bulunan primitif gonadlara ulaşmış olur ve 6. haftanın sonunda primordiyal germ hücreleri primer cinsiyet kordonlara kadar ilerlemiş olur (Şekil 2.3).

Gonadların over ya da testis olarak farklılaşmasında, primordiyal germ hücrelerinin etkisi belirleyici bir rol oynar. Bu hücreler, primitif gonadlara ulaşmadan hemen önce ve bu bölgede bulunduklarında, genital sırtın epitel proliferasyona uğrar ve burada primitif cinsiyet kordonları adı verilen düzensiz şekilli kordonlar oluşur. Hem erkek hem de dişi embriyolar için bu kordonlar, yüzey epiteline bağlanmış olup, gonadların henüz birbirinden ayırt edilemediği aşamadır. Bu aşamada gonadlar farklanmamış gonad olarak kabul edilir. Başlangıçta, hem erkek hem de dişi embriyosunda iki çift genital kanal bulunur; bunlar, mezonefrik (Wolffian) kanallar ve paramezonefrik (Müllerian) kanallarıdır. Embriyo, ilk etapta dişi gonadlarını geliştirmek üzere programlanmışken, ilerleyen süreçte paramezonefrik kanalların gelişim yönü, cinsiyetin belirlenmesinde

kritik bir rol oynamaktadır (Moore ve Persaud, 2002; Sadler, 2005; Dağdeviren ve Biricik, 2007).



Şekil 2.3: 3 haftalık embriyoda primordiyal germ hücreleri ve bu hücrelerin genital kabartıya göçü (Sadler, 2011).

2.2.2.2. Erkek Genital Kanalları

Puberteye kadar sağlam olarak kalan testis kordonları pubertede tüp içerisindeki geçitler açılarak seminifer tübüller haline dönüşürler. Seminifer tübüller rete testis tübülleriyle birleşerek, duktuli efferenteslere giriş yaparlar. Duktuli eferentes, rete testislerin ve epididimisin arasında bulunan spermatozoidin aktarıldığı testisin dışında bulunan bir boşaltım yoludur ve rete testisi ve wolffian(mezonefrik) kanalları birbirine bağlar. Gebeliğin 26.haftasında ise testisler karın boşluğunda kasık kanalından geçerek penisin hemen altında bulunan, deriyle kaplı olan yumurta biçimindeki skrotuma iner. Duktus deferensin yapısında bulunan kan damarları, sinirler ve lenfler kendisiyle beraber aşağıya iner. Testisin skrotumdaki sıcaklığı, bireyin vücut sıcaklığından yaklaşık 3 derece daha düşük sıcaklığa sahiptir. Mezonefrik kanallar en kranialdeki kısımları, apendiks epididimisi oluştururlar. Mezonefrik kanallar duktuli eferentlerin giriş yerinin hemen altından itibaren uzayıp, kıvrıntılı bir yapı halini alarak, duktus epididimin oluşumunu sağlar. Bu kısım spermlerin depolanıp, ve spermlerin büyük ölçüde hareket yeteneği kazandığı kısımdır. Mezonefrik kanalın, epididimin kuyruğundan, seminal vezikül tomurcuğuna kadar, kalın bir kas kılıfına bürünmesi ile duktus deferens oluşur. Seminal vezikül (glandula vezikuloza) duktus deferensin kaudal ucundan yanlara doğru çıkmasıyla oluşur. Seminal vezikülde, sarı renkte yapışkan, fruktozdan zengin, hafif

alkali bir yapıya ve spermilerin beslenmesi için önemli içeriğe sahip salgı bulunmaktadır. Duktus deferensin seminal vezikülden sonra üretra arasındaki parçasına ejakulatuar kanal olarak adlandırılır. Erkeklerde Paramezonefrik kanallar kranial uçlarındaki küçük bir kısım dışında dejenere olur ve kalan küçük kısım appendiks testis olarak adlandırılır. Paramezonefrik kanalların dejenere olmasını MİH sağlar.

2.2.2.3. Erkek Dış Genital Organların Gelişimi

Erkek dış genital organlar fetal testisler tarafından üretilen testosteron hormonun etkisiyle erkek yönünde gelişim gösterir. Gebeliğin 3. haftasında kloaka membranını saran mezenşim dokusu proliferer olur ve kloaka katlantılar oluşur. Sonra bu kalıntılar kranialde genital tüberkülü oluşturmak için birleşip uzayarak genital tüberkül fallusu meydana getirir. İçte üretral katlantılar, dışta genital şişkinliklerde oluşur. Kloaka membranıyla birleşip gelişen ürorektal septum, anal ve ürogenital membranın ayrılmasını sağlar. Takip eden hafta sonunda membranlar anal ve ürogenital orifisi oluşturmak için yırtılır. Genital tüberkül penisi oluşturmak için uzarken üretral katlantılar üretral yarığı oluşturmak için birbirlerine yaklaşmış olur. Spongiyöz üretranın meydana gelmesi için, üretral katlantılar gelişmekte olan penisin ön yüzünde birleşir. Glans penisin ucunda, beliren ektoderm hücre, glandüler üretrayı oluşturacak ve spongiyöz üretraya doğru büyüme gerçekleşecektir. Genital şişkinlikler de skrotumu oluşturmak üzere birbirlerine doğru büyüyecektir. Dişi embriyoda genital tüberkül çok daha az uzayarak klitorisi meydana getirir. Erkek ve dişi cinsiyet karakteristiklerinin ayrılması embriyo gelişiminin 9. Haftasında oluşmaya başlamasına rağmen, 12. haftaya kadar dış genital organlar belirgin bir şekilde ayırt edilemez (Tekelioğlu, 1995; Sadler, 2005; Karateke, 2013).

2.3. Erkek Genital Sistem Histolojisi

Erkek genital sistemi histolojisi dört ana bölümden oluşur: Testisler, genital kanallar, aksesuar bezler (seminal vezikül, prostat bezi, bulbouretral bezler) ve penis. Her bir bölüm, üreme fonksiyonlarını yerine getiren özel yapı ve işlevlere sahiptir.

2.3.1. Testislerin Histolojisi:

Testisler, hem **endokrin** hem de **ekzokrin** fonksiyonlara sahip olan çift organlardır. Endokrin işlevi sırasında, testisler **testosteron** hormonu üretirken, ekzokrin işlevinde ise

erkek üreme hücresi olan **spermatozoa** üretimi gerçekleşir (Ovalle ve Nahirney, 2009). Testislerin spermatogenez için gerekli olan 34°C-35°C santigrad derece (°C)' lik sıcaklık ortamını sağlaması amacıyla, vücut ısısından 2°C-3°C daha düşük bir pozisyonda yer almaları gerekmektedir. Bu durum, testislerin karın boşluğu dışında, **skrotum** içinde bulunmasını zorunlu kılar. Testisler, **spermatik kordonlar** aracılığıyla vücuda asılı şekilde konumlanmışlardır. Testis kapsülü ise üç ana katmandan oluşur (Şekil 2.4).

Tunika Vaginalis

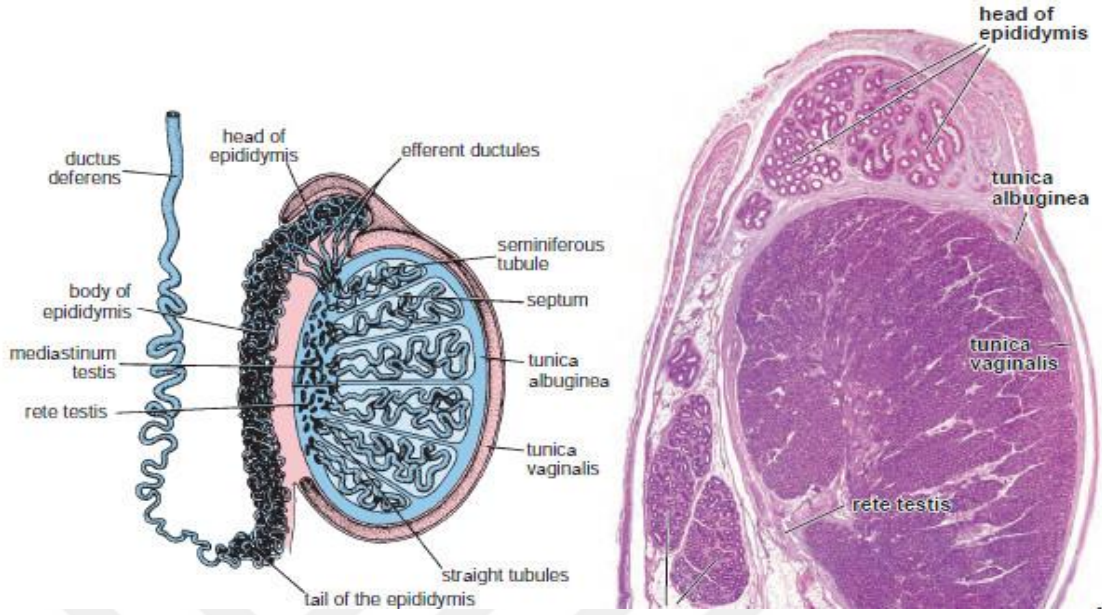
Tunika vaginalis, testisi çevreleyen ve mezotelyal hücrelerden oluşan ince bir zar tabakasıdır. Peritonun visseral tabakasından türetilen bu seröz kese, testisin ön ve yan yüzeylerine yapışırken, skrotumda da uzanarak paryetal tabakasını oluşturur. Tunika vaginalis'in visseral tabakası, bir bazal lamina üzerine yerleşir ve bu iki tabaka arasındaki seröz boşluk, testisin serbest hareket etmesine imkan tanır.

Tunika Albuginea

Testislerin en belirgin kapsül tabakası olan tunika albuginea, yoğun fibroelastik bağ dokusu ve düz kas hücreleri içerir. Bu tabaka, bazal lamina ile tunika vaginalisten ayrılır. Düz kas hücreleri, özellikle epididimisi çevreleyen posterior yüzeyde yoğunlaşır. Tunika albuginea, testise giren kan damarları, lenf damarları ve kanal sistemleri ile zenginleşmiştir. Ayrıca, testisin arka yüzeyinde kalınlaşarak mediastinum testisi adı verilen yapıyı oluşturur.

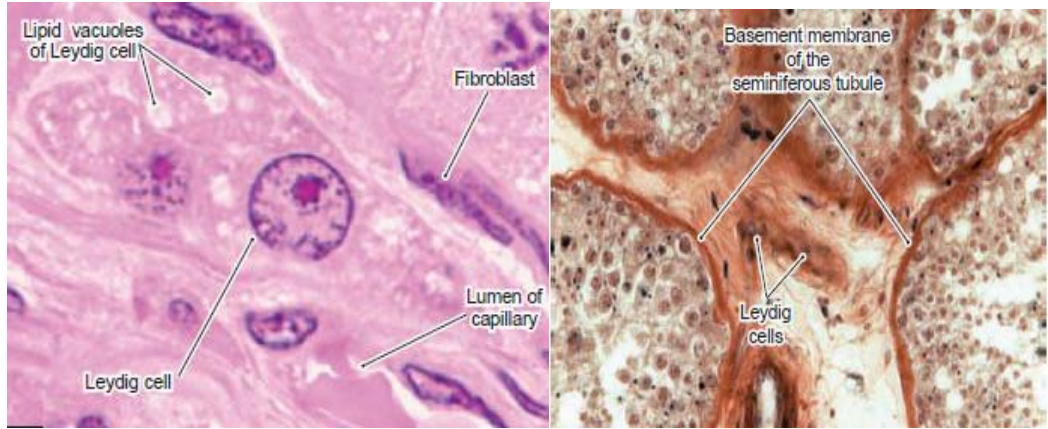
Tunika Vasküloza

Testisin en iç tabakasını oluşturan tunika vasküloza, ince areolar bağ dokusuyla çevrelenmiş yoğun bir kan damarları ağı içerir. Bu damar ağı, testisin beslenmesinde önemli bir işlev üstlenir ve testiküler kan akışının düzenlenmesine katkıda bulunur (Erkoçak, 1982; Eşrefoğlu, 2009).



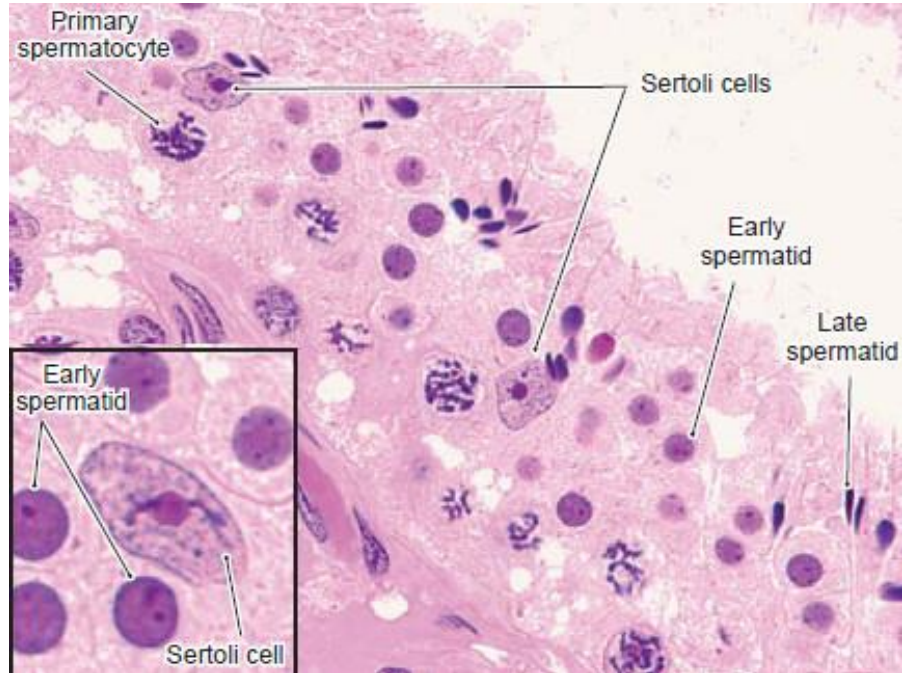
Şekil 2.4: Testis (Ross ve pawlina, 2014).

Testisin iç yapısında, kapsülden yayılan ince fibröz uzantılar, testisin çeşitli bölümlerini ayıran 250 kadar piramidal şekilli lobülleri oluşturur. Bu lobüllere lobuli testis (testis lobülleri) denir. Testis lobülleri, birbirinden tamamlanmamış septalarla ayrılır, ancak bu septalar, lobüller arasında sürekli bir iletişimi mümkün kılarak piramidal şekilli bir yapı oluşturur. Her bir lobülde, kan damarları, sinirler ve interstisyel (Leydig) hücreleriyle zenginleşmiş gevşek bağ dokusu bulunur. Leydig hücreleri, büyük boyutları ve grup halinde düzenlenmiş yapıları ile dikkat çeker. Endokrin işlevleri nedeniyle oldukça önemlidirler ve esas olarak testosteron üretirler (Şekil 2.5). Her bir lobül, birkaç seminifer tübül içerir; bu tübüller, seminiferöz tübüller olarak adlandırılır ve testisin mediastinum bölgesinde düz hat boyunca uzanır. Bu düz kısımlar tubulus recti (düz tübüller) olarak bilinir ve burada başlayan tübüller, testisin merkezine doğru ilerler ve rete testis adı verilen kanal ağına bağlanır. Bu kanal ağı, tübüller arasında anastomoz yaparak sperm taşınmasını sağlar (Tekelioğlu, 2002; Kierszenbaum, 2006). Seminifer tübüllerinin iç kısmı, karmaşık bir yapıya sahip olan seminiferöz epitel (ya da germinal epitel) ile döşelidir. Bu epitel, bazal membran üzerinde iki temel hücre tipini barındırır: Sertoli Hücreleri; Bu hücreler, besleyici ve destekleyici rol oynayarak spermatogenezi destekler. Spermatogenik Hücreler; Bu hücreler, sperm üretimi için gerekli olan germ hücreleridir (Junquera ve Carneiro, 2006; Gartner ve Hiatt, 2009).



Şekil 2.5: İnterstisyel dokuda Leydig hücreleri (Cui ve ark, 2011).

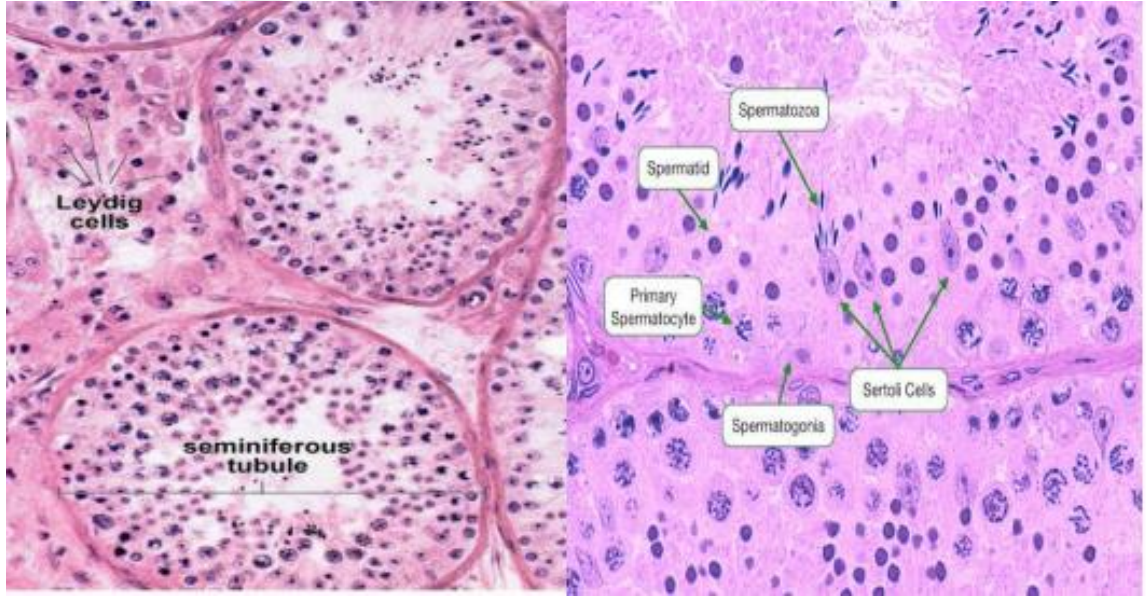
Sertoli hücreleri, prizmatik hücrelerden oluşan sertoli hücreleri bazal laminadan seminide tübül lümenine kadar uzanırlar (Şekil 2.6). Bu hücreler puberteden sonra mitoz girmezler. Bu hücreler seminifer tübüllerinde bulunan spermatosit serisinin çeşitli hücreleriyle sıkı bir şekilde ilişki içindedir. Çekirdekleri oval ve soluk boyanır ve büyük bir nükleolus içerirler. Bazal kısımlarında zonula okludensler (sıkı bağlantılar) yer alır. Bu bağlantılar kan-testis bariyerini oluşturmaktan sorumludurlar. Az sayıda granüllü endoplazmik retikulum içerirken düz yüzü endoplazmik retikulumu iyi geliştirmiştir. Golgi kompleksleri gelişmiştir, fazla sayıda mitokondri ve lizozomları vardır.



Şekil 2.6: Sertoli hücresi mikroskopik görünümü (Cui ve ark, 2011).

Görevleri;

1. Gelişen spermatozooları beslemek, korumak, desteklemek
2. Kan-testis bariyerini oluşturmak
3. Erkek özelliklerin belirmesini sağlamak
4. Testiküler transferrini üretir ve salgılar
5. Spermatidlerin olgunlaşması sırasında, fazla sitoplazma, bu hücreler tarafından yutulur ve sindirilir.
6. Seminifer tübüllerinden salgılanan, spermatozooların genital kanallarda ilerlemesini kolaylaştıran ve onları besleyen, fruktoz yönünden zengin bir sıvıdır.
7. Androjen bağlayıcı proteini (ABP), Folikül stimülan hormon (FSH)'un etkisi altında sentezlerler. ABP ise spermatogenezin ilerlemesini sağlar (Gartner ve Hiatt, 2009).



Şekil 2.7: Seminifer Tübülün Genel Histolojik Görüntüsü (Gartner ve Hiatt, 2009).

Spermatogenik hücreler (germ hücreleri), seminifer tübüllerini döşeyen çok katmanlı epitelin bir bileşeni olarak 4 ile 8 arasında değişen hücre sayısına sahip gruplardan oluşur. Bu hücreler, tübülün bazal kısmından başlayarak çoğalır ve lümen yönüne doğru hareket eder (Şekil 2.7). Hücre çoğalması, spermatogenik hücreleri lümen içine doğru iter. Lümen yakınında yer alan hücreler, olgunlaşarak spermatozoonlara dönüşür, epitelden ayrılır ve

lümen içinde serbestleşir. Bu süreç **spermatogenez** olarak adlandırılır. Spermatogenez seride yer alan hücreler aşağıda sıralanmıştır:

Spermatogoniumlar: Bu hücreler, tüpün bazal membranı üzerine yerleşmiştir. Ergenlik dönemine kadar, seminifer tüpün duvarında yalnızca spermatogoniumlar bulunur. Ergenlikle birlikte, hormonal etkilerle çoğalır ve farklı hücre tiplerine dönüşürler. Spermatogoniumların üç ana türü vardır:

Tip A (stem cell) koyu spermatogoniumlar: Bu hücrelerin çekirdekleri oval şekildedir ve koyu renklenir. Genellikle, spermatogonium havuzunu koruyan rezerv hücreleri olarak işlev görürler. Bölünerek, tip A açık spermatogoniumlarını oluştururlar.

Tip A açık spermatogoniumlar: Bu hücrelerin oval şekilli çekirdekleri vardır ve çekirdekleri daha açık renkte boyanmıştır. Mitotik bölünmelerle, tip B spermatogoniumlarını ve diğer açık spermatogoniumları meydana getirirler.

Tip B spermatogoniumlar: Bu hücrelerin çekirdekleri yuvarlak şekildedir. Çekirdek içinde, nükleer zarın yakınında bulunan koyu renkli kromatin kümeleri yer alır. Tip B spermatogoniumlar mitoz ile bölündüklerinde meydana gelen yavru hücrelerin hepsi primer spermatositlere farklılaşırlar.

a) Primer spermatositler: Duvardaki en büyük hücre olup küre veya oval biçimlidir. Birinci mayotik bölünmenin profaz evresine geçiş yaparak bu evrede uzun bir süre kalabilirler. Bu durum, kesitlerde bu hücrelerin daha sık görülmesine neden olur. Hücrelerde 46 kromozom (diploid) bulunur.

b) Sekonder spermatositler: 23 kromozomlu(haploid) hücreler olup, Primer spermatositin mayotik bölünmesi sonucu oluşurlar. Kısa bir süre sonra, hemen ikinci mayotik bölünmeye uğrayarak kesitlerde daha az gözlemlenirler. Bu bölünme sonucu spermatidler oluşur.

Spermatid: Sekonder spermatositin yarı büyüklüğünde olan ve haploid kromozom içeren bu hücreler, birbirleriyle sitoplazmik bağlar kurarak sinsityal bir hücre kümesi oluştururlar.

Buraya kadar geçen sürece spermatogenezis adı verilir (Tosun, 1998; Junquera ve Carneiro, 2006; Eşrefoğlu, 2009; Karateke, 2013).

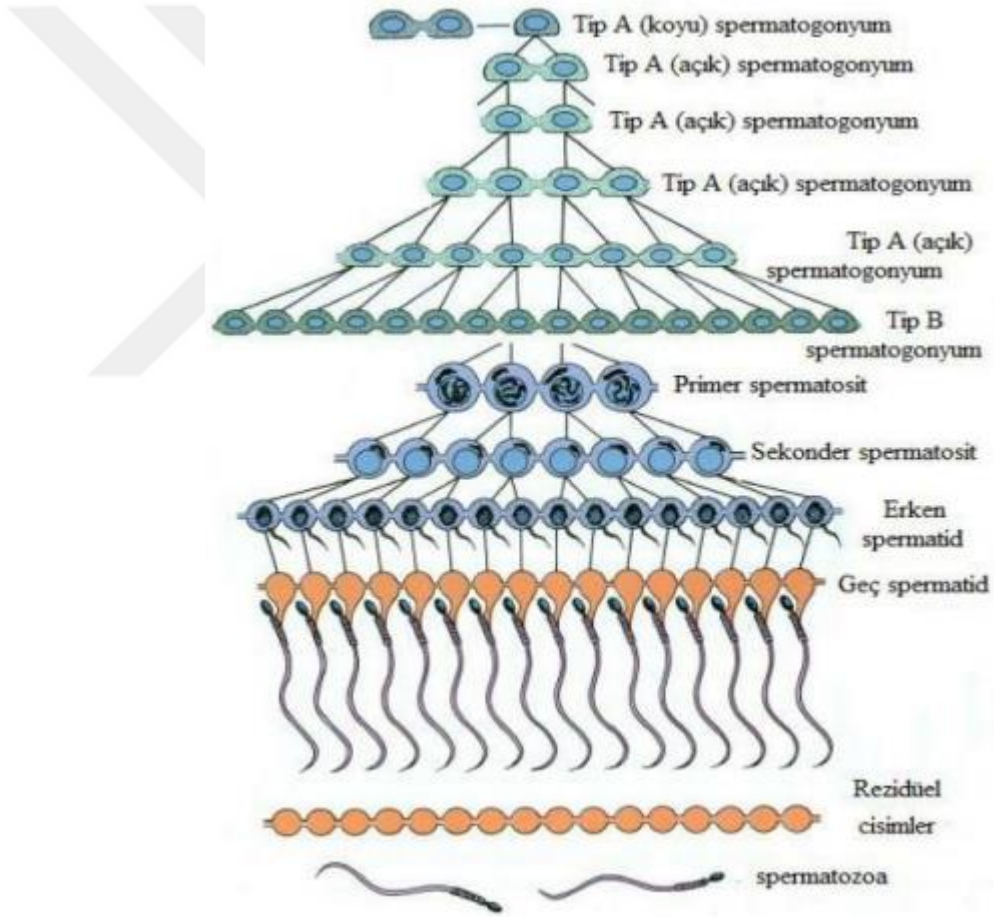
Sonrasında ise spermatidler spermatozoonları oluşturmak üzere başkalaşma safhasına girer. Bu olay 4 evrede gerçekleşir. Bu evreler şu kısımlardan oluşur; Golgi Evresi, Kep Evresi, Akrozom Evresi ve Matürasyon (Olgunlaşma) Evresi (Kierszenbaum, 2006; Ross ve Pawlina, 2014)(Şekil 2.8).

1. Golgi dönemi; Golgi aygıtı tarafından üretilen, glikoprotein açısından zengin preakrozomal granüller, bir araya gelerek çevreleri membranla sarılı büyük bir granül oluşturur. Bu yapı, akrozomal granül ya da akrozomal vezikül olarak adlandırılır. Akrozomal vezikül, çekirdek dış zarına bağlanarak onu bir kep gibi sarar ve böylece akrozom meydana gelir. Spermin baş kısmı, akrozomal veziküllerin bulunduğu bölümle şekillenir. Akrozom, fertilizasyon sırasında birçok hidrolitik enzim içerir ve bu enzimler, korona radiata hücrelerini ayırmak ve zona pellusida üzerinde yumuşatıcı etki sağlamak için görev yapar.

2. Kep dönemi; Akrozomal vezikül, nükleusun ön kısmında genişleyerek şapka şeklini alır ve bu bölümü çevreler (akrozomal kep). Çekirdeğin bir kutbunda, sentriol çiftleri bölünerek proksimal ve distal sentriol çiftlerini oluşturur. Diğer kutbunda ise akrozom şekillenir. Kalın fibriler kılıf, proksimal sentriolden gelişen flagellum uzaması sonucu oluşum gösterir. Bunun sonucunda da spermatozoonun kuyruk kısmını oluşturur. Orta parçanın sonlarına doğru göç eden distal sentriol ise, kuyruğun başlangıcında flagellumu bir halka gibi sarar.

3. Akrozom dönemi; Akrozom şeklinde yoğunlaşan vezikül, çekirdek üzerinde baş şapkasını oluşturur. Katmanları arasında akrozom vardır. Akrozomun içeriğinde çeşitli enzimler vardır. Akrozom, hyaluronidaz, asit fosfataz, nöraminidaz ve tripsin benzeri proteaz olan akrozin gibi hidrolitik enzimler içerir. Spermatid sitoplazmasının bir kısmı, kuyruk yönünde kayarak orta parçayı çevrelerken, geri kalan kısmı hücreden atılır. Dışarı atılan sitoplazma, Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilerek yok edilir. Bu süreç, farklılaşma ilerledikçe devam eder. Sonunda, sitoplazma yalnızca çekirdek, orta parça ve kuyruğun pars prensipalisini çevreleyecek kadar kalır. (Beresford, 1977; Erbeni, 1985; Demir, 1995; Ovalle ve Nahirney, 2009).

Olgunlaşma dönemi(maturasyon): Çekirdek kromatini yoğunlaşarak, çekirdek yassı ve oval bir şekil alır, bu yapı spermatozoonun baş kısmını oluşturur. Spermatidler olgunlaşarak spermatozoon (spermium) halini alır ve tübülün lümenine serbest bırakılır. Bu hücreler morfolojik olarak olgun olsa da, fonksiyonel olarak henüz tam olgunlaşmamışlardır; hareketsizdirler ve dölleme yetenekleri yoktur. Olgunlaşma süreçlerinin bir kısmı epididimiste gerçekleşir. Kapasitasyon; olgunlaşmanın son aşamasıdır ve fertilizasyondan hemen önce dişi vücudunda enzimatik değişiklikler sonunda tamamlanır. Olgun spermatozoonlar baş-boyun, orta parça ve kuyruk gibi kısımlardan oluşurlar (Beresford, 1977; Erbenği, 1985; Demir,1995).



Şekil 2.8: Spermatogenezin Şeması (Ross ve ark., 2011).

2.3.2. Erkek Genital Sisteminin İletici Kısımlarının Histolojisi

2.3.2.1. Tubuli Rekti

Seminifer tübüllerden sonraki düz kanallardır. Bu kanallar rete testise kadardır. Sadece Sertoli hücreleri gözlemlenir. Tubuli rektusunun basit prizmatik epitelini Sertoli hücreleri

oluşturur ve bu hücreler, yağ damlacıkları bakımından zengindir. Epitel, bir bazal lamina üzerinde yer alır. Epiteli çevreleyen gevşek bağ dokusunda ise düz kas hücreleri bulunmaz.

2.3.2.2. Rete Testis

Düz tübüller, mediastinum testisin yoğun bağ dokusuna doğru ilerler ve burada anastomoz yapan kanallar oluştururlar. Bu yapıya rete testis denir. Rete testis, düzensiz boşluklar şeklinde görünür. Yassı veya basit kübik epitel ile döşelidir.

2.3.2.3. Duktuli Efferentes

Rete testisten, sayıları yaklaşık 10-20 arasında değişen duktuli efferentes çıkar. Bu duktuliler, rete testisi duktus epididimise bağlar (Eşrefoğlu, 2018) ve epididimis baş kısmının bir parçasını oluştururlar. Duktuli efferentes, bağ dokusu ile sarılmış olup, ince bir sirküler düz kas tabakasına sahiptir. Epitel yapıları ise kısa kübik hücreler ve uzun prizmatik hücrelerden oluşur. Uzun prizmatik hücrelerde ise silya kısa kübik hücrelerde mikrovillus bulunur. Lümeninin düzensiz görülür. Bunun sebebi epiteldeki hücrelerin uzunluğunun ve yüzey özelleşmelerinin farklı olmasıdır. Spermatozoonların epididimise doğru ilerlemesini silyalı hücreler sağlar. Seminifer tübülden gelen sertoli hücrelerinin salgısının emilimini ise mikrovilluslu hücreler yapar (Junqueira ve Carneiro, 2009; Eroschenko, 2016).

2.3.2.4. Duktus Epididimis

Efferent duktuliler birleşerek bir tane duktus epididimisi oluştururlar. Oldukça kıvrıntılı olan bu duktus bağ dokusu ile sarılmıştır. Duktus epididimis bir depo duktusudur ve uzunluğu 5-6 metredir. Spermatozoonlar hareketliliğini ve fertilizasyon yeteneklerini burada sağlarlar. Uzun prizmatik hücrelerden ve epitel bazal hücrelerden meydana gelmiş olup psödostrafiye tiptir (Yalancı çok katlı stereosilyalı epitel). Her iki hücre tipinde de lipid damlacıkları görülür. Bunlardan prizmatik olan hücreler ekstradan salgı damlacıklarına, pigment granülleri ve lizozom içerir. Yine prizmatik hücrelerde lümene bakan serbest yüzlerinde hareketsiz stereosilya kümeleri vardır; bunlar ince, uzun hücresel uzantılardan oluşmuş olup tabanlarına yakın sürekli dallanma gösterirler, bu sebepten mikrovilluslardan farklılık gösterir. Epitel ince bir lamina propria ve bazal lamina ile çevrelenmiştir. Bunun dışında sirküler düzenlenmiş kas liflerinden oluşan ince bir katman yer alır. Kas tabakası epididimisin kaudaline doğru giderek kalınlaşır ve üç

tabaka şekline gelir. Bu tabakalar; iç longitüdinal, orta sirküler ve dış longitüdinal olarak sınıflandırılır (Tekelioğlu, 2002; Ovalle ve Nahirney, 2009; Gartner ve Hiatt, 2009).

2.3.2.5. Duktus Deferens

Duktus deferens, testiküler damarlara ve sinirlere yakın olup epididimisin kuyruğunun devamıdır (Eşrefoğlu, 2018). Dar bir lümene ve kalın duvaradan oluşur. Epiteli yalancı çok katlı prizmatik epitel olup, uzun prizmatik hücrelerin lümene bakan yüzeylerinde sterosilyalar bulunur. Lamina propria, içinde birçok elastik lif barındıran bir yapıya sahiptir. Submukoza, lamina proprianın hemen altında yer alır ve yoğun kan damarları içerdiği için musküler tabakadan ayrılmasına olanak tanır. Musküler tabaka, üç düz kas katmanından oluşur. Bu katmanlar arasında, en ince olanı longitudinal yönlü düz kas liflerinden oluşur, orta tabaka ise daha kalın olup sirküler düzeni takip eden düz kas liflerinden yapılmıştır. En dıştaki tabaka, fibröz adventisya ile çevrilidir ve longitudinal yönde düzenlenmiş kas liflerine sahiptir (Junqueira ve Carneiro, 2009; Ross ve Pawlina, 2014; Eroschenko, 2016). Duktus, sonlanmadan önce genişler ve bu genişleme, duktus deferensin ampullasında görülür. Ampulla, dallanmış uzun mukozal katlantılardan oluşur. Duktus deferensin diğer bölgelerine kıyasla, kas tabakası daha ince olup epiteli kıvrımlı ve kalındır. (Eşrefoğlu, 2018).

2.3.2.6. Duktus Ejakulatoryus

Seminal vezikül ampullanın son kısmında ampullaya katılır ve birleşerek duktus ejakulatoryusu meydana getirirler. Bu yapı yalancı çok katlı prizmatik epitel ya da tek katlı prizmatik epitel ile döşelidir. Hücrelerinde sarı pigment granülleri vardır ve epiteli salgı özelliğine sahiptir. Yalnızca fibröz bağ dokusundan oluşan bir duvar ile desteklenmiştir ve duktusun ejakulotorusun duvarında kas katmanı bulunmaz (Junqueira ve Carneiro, 2009; Ross ve Pawlina, 2014).

2.3.2.7. Üretra

Üretra idrarı mesaneden vücut dışına iletme fonksiyonuna sahiptir. Üretra erkeklerde ek olarak ejakülasyon sırasında semenin boşaltılması işlevini de yerine getirir. İki kas tabakasından oluşur. Bu tabakalar dışta dairesel (sirküler) ve içte uzunlamasına (longitudinal) olmak üzere iki tabakadır. Belli bir yerden sonra çizgili kas olan eksternal

sfinkter ile sarılıdır. Erkek üretrası 20 cm uzunluğunda olup 3 bölüme ayrılır. Bu kısımlar; prostatik, membranöz ve kavernöz olarak adlandırılır. Membranöz ve kavernöz kısımda yalancı veya çok katlı prizmatik epitel ile döşeliyken, prostatik kısımda değişken epitel ile döşelidir. Mukus sekresyonu yapan Littre bezleri ise lamina propriasında görülür (Gartner ve Hiatt, 2009).

2.3.3. Yardımcı Genital Bezler

2.3.3.1. Veziküla Seminalis

Duktus deferensin ampullasına paralel olarak yerleşmiş, mesanenin arkasında yer alan, yüksek düzeyde kıvrıntılar içeren, ortalama 15 cm uzunluğundaki bir çift tübüler bezden oluşan yapıdır. Bunlar androjene bağımlı organlardır. Üç kısımdan oluşurlar. Dışta bir bağ dokusu kapsülü, orta düz kas katmanı (iç dairesel ve dış longitudinal tabakalar) ve basit bir küboidal ya da yalancı çok katlı prizmatik epitel ile kaplanmış bir iç yüksek katlanmış mukozodan oluşur. İçerisinde fazlaca sarı lipokro pigment granülleri ve salgı granülleri, büyük golgi kompleksi, çok sayıda mitokondri ve fazla miktarda granüllü endoplazmik retikulum vardır. Sarı kaygan bir sıvı salgılar ve bu spermi aktifleştirmede rol oynar. Bu sıvı insan ejakulatının %70 ini oluşturur. Duktus deferensin ampullasında seminal vesikül kanalı birleşir, böylece prostata giren üretra ile devam eden sağ ve sol ejakulator kanalları oluşmuş olur (Gartner ve Hiatt, 2009; Kuruş, 2022).

2.3.3.2. Prostat Bezi

En büyük yardımcı bez olan prostat Üretra ve Duktus ejakulatorisden oluşur. Prostatik üretraya drene olan 30-50 kadar bileşik tübüloalveolar bezler ile boşaltıcı duktusların bir araya gelmesi ile meydana gelir (Eşrefoğlu, 2018). Bezler 3 konsantrik katman şeklinde düzenlenmiştir; içte bir mukozal tabaka, arada submukozal tabaka ve esas prostatik bezleri kapsayan bir periferik tabakadan oluşur. Submukozal ve periferik bezler prostatik sinüslara salgı yaparken, mukozal bezler direkt üretraya açılıp salgı yaparlar. Yetişkin prostat parankiması 4 farklı kısımdan oluşur. Bunlar; Santral zon, Periferik zon, Transitional zon ve Periüretral zondur. Santral zon prostat bezi dokusunun yaklaşık %25 ini oluşturur ve ejakülatör kanalı sarar. Enflamasyona ve karsinoma karşı dirençli kısımdır. Epitel hücrelerinin belirgin olması ve hafif bazofili gösteren büyük nükleuslu hücreler içermesi diğer zonlardan ayırt eder. Periferik bölge; merkezi bölgeyi çevreler ve

prostat bezinin yaklaşık %70 ini oluşturur. Prostatik kanserlerin çoğu bu bölgeden kaynaklanır ve enflamasyona en yatkın olan bölgedir. Transizyonel bölge bez dokusunun %5 ini oluşturur ve prostatik üretrayı sarar. Bu bölgede daha çok mukozal bezler vardır. Periüretal bölgede ise submukozal ve mukozal bezler içeren bölümdür (Eşrefoğlu, 2018; Kuruş, 2022). Prostatın stroması düz kas lifleri içeren düzensiz sıkı bağ dokusundan oluşmaktadır. Prostat salgısının boşalması kas liflerinin ejakülasyon anında kasılmasıyla gerçekleşir. Periferde fibromusküler bir kapsülle devam eden stroması vardır. Tek katlı prizmatik epitelden oluşsa da arada yalancı çok katlı epitel de görülebilir. Epitel hücreleri GER, Golgi, salgı granülleri içerirler ve protein sentezi yaparlar. Yaşla beraber artan, kalsifiye olabilen, çeşitli şekil ve boylarda prostat taşlarına (Korpora amilasea) bez lümenlerinde rastlanabilir. Testosteron prostat bezini gelişiminde ve fonksiyonel aktivitesinde önemlidir. Fibrinolizin, sitrik asit, prostatik asit fosfataz (PAF) ve prostat spesifik antijen (PSA) Prostat bezi tarafından salgılanır. Semen akışkan hale gelmesini sağlayan fibrinolizindir. Bez epitelindeki hücrelerin büyümelerinde ve metabolizmalarında ise Prostatik asit fosfataz (PAF) rol oynar. PSA ise; seminal sıvının yapısına katılır ve önemli bir tümör ayırıcısıdır. Kandaki PSA miktarı prostat kanserinde artar ve dolaşıma prostatik epitel aracılığıyla katılır (Gartner ve Hiatt, 2016).

2.3.3.3. Bulboüretal Bezler

Penis kökünün başlangıcında yerleşmiş iki adet bezelye şeklinde, membranöz üretranın arkasında, birleşik tübüloalveolar yapıda bezlerden oluşur. Bu bezler tek katlı kübik ya da prizmatik hücrelerle döşeli olup yapının etrafı düz ve çizgili kaslar içeren fibroelastik bir kapsül ile sarılıdır. Kapsülden ayrılan septumlar organı lobüllere böler. Seminal plazmanın geçişinden önce membranöz üretra lümenini kayganlaştırmak için müköz yapıda, visköz, saydam salgının boşaltılmasını bulboüretal bezler sağlar. Bu sıvı preseminal sıvı olarak isimlendirilir. Ve içeriğinde galaktoz, siyalik asit, galakturonik asit, metilpentoz ve galaktozomin vardır. Bu sıvı seksüel uyarılma ile salgılanır ve penil üretranın kayganlaşmasına yardımcı olur (Kuruş, 2022).

2.3.3.4. Penis

Dıştan deri ile sarılmış olup başlıca üç silindirik ve erektile doku kitlesi ve üretradan oluşur. Silindirlerden ikisi penisin kovernozomları olarak adlandırılır ve dorsal olarak yerleşim gösterir. Üçüncüsü ise ventral olarak yerleşen ve üretrayı saran, üretranın korpus

kavernozumu ya da korpus spongiyozumu olarak adlandırılır. En sonunda genişleyerek bu yapı glans penisi meydana getirir. Glans penis çok katlı prizmatik epitel ile döşeliyken Penil üretranın büyük bölümü yalancı çok katlı silindirik epitel ile döşelidir. Penil üretra boyunca mukus salgılayan Littre bezleri bulunur. Penisin baş kısmını çevreleyen geri çekilebilir deri katlantısı olan prepüsyum, düz kas lifleri ve bağ dokusu içerir. Glansı çevreleyen deride ve prepüsyum katlantısında yağ bezleri bulunur. Korpus kavernozumları, bağ dokusundan oluşan sağlam bir katman olan tunika albuginea ile sarılmıştır. Üretra ve penisin korpus kavernozumları, erektile dokudan oluşur. Erektile doku, trabeküllerle ayrılan birçok venöz boşluktan oluşur ve bu boşluklar, endotel hücreleri ve bağ dokusu lifleriyle desteklenen düz kas hücrelerinden oluşur. Penisin arteriyel kan akımı, internal ve pudental arterler tarafından sağlanır. Penisin derin ve dorsal arterleri, bu arteriyel akışın ana damarlarıdır. Derin arterler, besleyici ve helisin arterlerini oluşturarak dallanır. Helisin arterleri doğrudan korpus kavernozumların boşluklarına açılırken, besleyici arterler trabeküllalara oksijen ve besin sağlar. Ayrıca, arteriyovenöz şantlar helisin arterleri ve derin dorsal venler arasında yer alır. Penisteki vasküler boşlukların duvarlarındaki düz kaslar ve arteriyel kaslar, sinirsel uyarılarla kontrol edilen ereksiyon mekanizmasını düzenler ve bu süreç hemodinamik bir olaydır. Penis, kan akımı minimum seviyeye indiğinde yumuşak durumda kalır. Ereksiyon, parasempatik sistemden gelen vazodilatör uyarılarla başlar ve bu uyarılar penil damarların ve kavernöz düz kasın gevşemesini sağlar. Ayrıca, sempatik sistemden gelen vazokonstriktör uyarıların baskılanması, vazodilatasyonu tetikler. Penisin sertleşmesi, kavernöz boşluklar ve penil arterlerdeki genişleme ile gerçekleşir; bu da kan akımının artmasına ve boşlukların kanla dolmasına neden olur (Junqueira ve Carneiro, 2006).

2.4. Sisplatin

Sisplatin, baş-boyun, mesane, prostat, testis, serviks, özofagus, germ hücreli tümörler, osteojenik sarkom ve nöroblastoma gibi birçok kanser türünün tedavisinde yaygın olarak kullanılan platin bazlı bir kemoterapötik ajandır (Kayaalp, 1998; Azu ve ark., 2010). Moleküler ağırlığı 300.045 dalton olan Sisplatin, merkezindeki iki değerlikli platin atomuna bağlı iki amonyum ve iki klor iyonu içerir. Bu bileşik, cis ve trans olmak üzere iki izomere sahiptir; ancak yalnızca cis izomeri sitotoksiktir. Sisplatin, platin türevi ilaçlar arasında geliştirilmiş ilklerden biridir (Kayaalp, 1994; Akşit ve Bildik, 2008). Sisplatin yaygın olarak kullanılmasına rağmen, pek çok sistemde toksik etkiler gösterir.

Nefrotoksisite ve ototoksisite, doz sınırlayıcı etkiler arasında yer alırken; nörotoksisite, kardiyotoksisite, miyelosupresyon ve gonadotoksisite gibi yan etkiler de klinik açıdan önem taşır. Sisplatin metabolizması sırasında ortaya çıkan reaktif oksijen metabolitlerinin dokuya zarar verdiği düşünülmektedir (Kantar ve ark., 2007; Florea ve Bisselberg, 2009). Sisplatin toksisitesinin tam mekanizması henüz netleşmemiş olmakla birlikte, hipoksi, serbest radikaller, inflamasyon ve apoptoz gibi çeşitli mekanizmaların bu süreçte yer aldığı öne sürülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda, sisplatin ve onun sperm üzerindeki toksik etkilerinin, DNA hasarı ve kromatin anomalilerine yol açtığı, ayrıca süperoksit anyon, hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi serbest radikallerin aşırı üretimi nedeniyle oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun arttığı gösterilmiştir (Appenroth ve ark., 1997; Sheikh ve ark., 2004).

2.5. Theranekron

İsmi İtalya'daki Taranto şehrinden alan tarantula örümceği farklı isimlerle de bilinmektedir. Bu isimler arasında *Mygale cubensis*, Küba tarantula, *Aranea pedula*, tüylü örümcek ve kahverengi örümcek yer almaktadır. Büyük, koyu kahverengi ve zehirli bir örümcek olan tarantula, özellikle Güney Karolina, Küba ve Teksas'ta yaygındır. Vücudu tüylerle kaplıdır. Tarantula örümceğinin ısırıldığı bölgede giderek büyüyen kırmızı bir alan (areola) oluşur ve bu durumu, şişlik takip eder. Birkaç gün içinde, bu şişlik sertleşip ağrılı bir apse dönüşebilir. Apsenin açılmasıyla birlikte içinden kanlı bir madde çıkar ve geriye büyük bir boşluk kalır. Isırmadan sonra ikinci veya üçüncü günlerde ateş gelişir. Ayrıca, deliryum, anksiyete, huzursuzluk, baş ağrısı, susuzluk, terleme ve idrar retansiyonu gibi belirtiler de görülebilir. Sonraki aşamalarda, ülserler oluşur ve ishal, bitkinlik, aralıklı ateş gibi durumlar başlar. Çoğu vakada 3 ila 6 hafta içinde iyileşme görülse de, bazı durumlarda ölüm riski de bulunmaktadır (Richardson-Boedler, 2002; Yiğit, 2003; Çaycı, 2006; Akdağ, 2020). *Tarantula cubensis* örümceğinin zehirinden alkol ekstraksiyonu ile hazırlanan bir ekstrakt, homeopatik bir ilaç olarak kullanılmaktadır. Bu ilaç, "Theranekron" (Richter Pharma, Wels, Avusturya) adıyla veteriner kliniklerinde mevcuttur ve birçok önemli hastalığın tedavisinde başarıyla uygulanmaktadır. Etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, bu ilaç immün sistemi uyardığı, yaşam gücünü artırdığı ve proliferatif lezyonlarda inflamasyonu doğal olarak baskıladığı düşünülmektedir. Theranekron, köpeklerde meme tümörlerini sınırlamakta, sığırlarda ise tırnak lezyonlarını iyileştirmekte etkili olmuştur. Ayrıca, çiftlik hayvanlarında her türlü

nekrotik, inflamatuvar ve proliferatif hastalığın tedavisinde başarılı sonuçlar alınmıştır (Akdağ, 2020).

Therane kronun öne çıkan başlıca **özellikleri** şunlardır:

Demerkasyon; Ölü, yabancı ya da patolojik dokuların vücuttan atılmasını ve hasar görmüş bölgelerdeki canlı ve ölü hücresel elementlerin ayrılmasını sağlar. Rejenerasyon; Atılan dokuların yerine ya da çevresinde hızlı bir iyileşme ve epitelizeasyon ile hastalıklı bölgenin yenilenmesini teşvik eder. Rezorpsiyon; Dokularda oluşan ödem, şişlik, sıvı birikintileri ve pürülan akıntıların elimine edilmesini sağlayarak tedavi sürecini hızlandırır. Bu özellik, ödem ve yangıların iyileşmesinde kritik öneme sahiptir. Antiflojistik Etki; Şiddetli yangıların oluşumunu engeller ve dokuda meydana gelen belirtileri minimize ederek tedavi sürecini optimize eder (Çaycı, 2006).

2.6. Homeopati

Canlının kendi iyileşme gücünün uyarılmasıyla vücudun kendi kendini tedavi etme sürecine homeopati denir. Homeopatik tedavi yönteminde, bir maddeden yüksek dozda alınanlar tarafından oluşturulan belirtiler, aynı maddenin düşük dozda verilmesiyle iyileştirilir. Homeopati, milattan önceki dönemlerde de hekimler tarafından tercih edilen bir tedavi şekliydi. Ancak homeopatinin günümüzdeki sistematik hale gelmesi ve tanınması, Alman hekim, eczacı ve kimyacı Samuel Hahnemann'a aittir; bu yüzden homeopatinin babası olarak kabul edilir (Özyurtlu, 2004). Dünyada homeopatiyi ilk kez yasal olarak tanıyan ülke 1950 yılında İngiltere olmuştur (Özpek ve Altıntaş, 2019). Türkiye ise 2014 yılında, "Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği"nin Resmi Gazete'de yayınlayarak homeopatiyi resmi bir tedavi yöntemi olarak kabul etmiştir (Resmi Gazete, 2014).

2.6.1. Homeopatinin Prensipleri

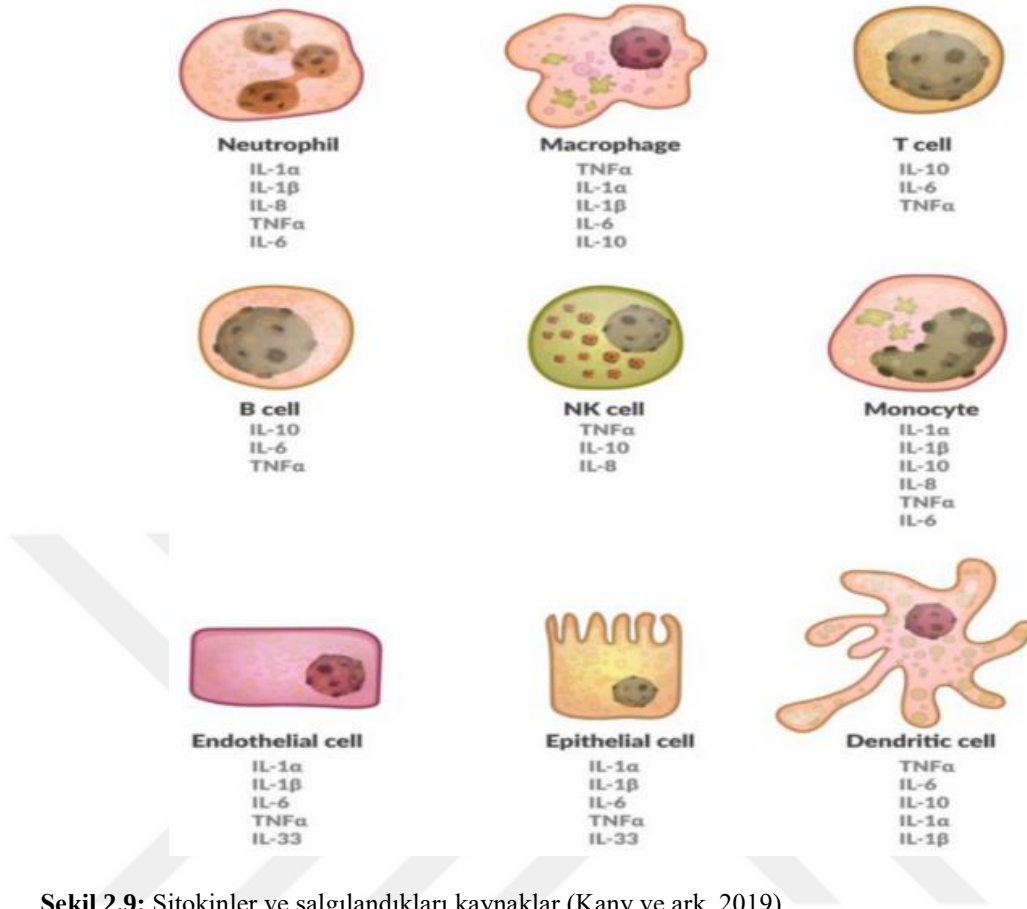
Homeopatinin temel prensiplerinden birincisi Benzerlik İlkesi'dir. Bu ilkeye göre, benzer benzeri tedavi eder. Yüksek dozda verilen bir madde hangi semptomları yaratıyorsa, aynı madde düşük dozda verildiğinde o semptomları tedavi eder. Modern tıptaki aşı uygulamaları buna örnek olarak gösterilebilir. İkinci prensip yaşam enerjisidir. Homeopatik tedavide, her canlıda bulunan yaşam enerjisi, benzer ilaçların verilmesiyle

uyarılır ve hasta tedavi edilir. Üçüncü prensip ise tek ilaç kuralı'dır. Bu ilkeye göre, hasta sadece tek bir ilaçla tedavi edilmelidir. Birden fazla ilaç verilmesi, birbirlerinin etkilerini zayıflatabilir veya tamamen yok edebilir. Son olarak, homeopatinin dördüncü prensibi minimum doz kuralı'dır. Bu kurala göre, ilaç ne kadar seyrettilirse etkisi o kadar artar. Yaşam enerjisini uyandıracak maddenin en düşük dozda verilmesi, hem tedaviye etkinlik kazandırır hem de olası yan etkilerden hastayı korur (Canooğlu ve ark., 2010; Pekmezci ve Gültiken, 2015).

2.7. İnflamasyon

İnflamasyon, canlı organizmada patojenler, hasarlı hücreler, metabolik stres gibi iç ve dış uyaranlara karşı verdiği tepkinin bir parçasıdır. İnflamasyon, doku ve hücrede oluşacak hasarlara karşı koruyucudur ve aynı zamanda zedelenme sonucu oluşan nekrotik hücre ve doku artıklarını ortadan kaldırmaktadır. İnflamasyon, virüs, bakteri ve mantar gibi mikrobiyal ajanların oluşturduğu hastalıklarla tetiklenebildiği gibi kanser, Alzheimer, Crohn, Ülseratif kolit, romatoid artrit gibi otoimmün hastalıkların patogeneğinde de rol oynamaktadır. Canlı organizmada koruyucu cevaplar oluşmazsa, hasarlar devam eder ve ölümle sonuçlanır. İnflamasyon, dokuda hemostaz bozulduğunda, histamin, makrofaj, mast hücreleri, sitokin ve kemokin gibi hücreleri ve maddeleri serbest bırakarak dokuda lökosit mobilizasyonuna neden olurlar. İnflamasyonun başlangıcında, uyaranlar (stimulus) kan plazmasından ve hücrelerden birçok kimyasal aracın (medyatorların) salınımına yol açar. Bu medyatorlar, sırasıyla vasküler ve hücrel tepkilerin ortaya çıkmasını tetikler. Ancak inflamasyonun uzun süre devam etmesi, kronik inflamasyona yol açabilir (Visser ve ark., 2006). Hasarlara karşı gelişen inflamasyon cevabı, kan plazması, hücreler, damarlar, bağ dokusu ve bu yapıların hücrel ve ekstrasellüler bileşenlerini içeren bir süreçtir. İnflamasyonun iki temel tipi vardır. Bunlardan ilki akut inflamasyondur, bu süreç genellikle birkaç dakika ile birkaç gün arasında sürer. Akut inflamasyonun temel özelliği, damarların plazma proteinleri ve sıvılarının sızması (eksüdasyon) ile lökositlerin damar dışına çıkmasıdır. İkincisi ise daha uzun süreli olan kronik inflamasyondur ve günlerce hatta yıllarca devam eden bir süreçtir. Yapılan birçok çalışmada kronik inflamasyon ile kanser arasında güçlü bir bağ olduğu gözlenmiştir. Kanser gibi ciddi otoimmün hastalıkların ortaya çıkması, ilerlemesi ve yayılmasının nedenlerinden biri olarak vücudun immün tepkilerini azaltan, immün hücre etkileşimlerini bozan inflamasyon gösterilmektedir (De Visser ve ark., 2006). Karaciğer kanserinde rol

oynayan hepatit b ve c, mide kanseri gelişiminde rol oynayan helicobacter pylori, anal kanser oluşumunda rol oynayan human papilloma virüs (HPV) inflamasyon ve kanser arasındaki bağlantıya örnektir. Yapılan çalışmalarda sistemik inflamasyon sürecinde salınan sitokin ve kemokinlerin, tümörün büyümesini, angiogenezi ve yayılımını artırdığı gösterilmiştir (Larson SD ve ark., 2007). İnflamatuvar süreci, makrofajların patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP) ve doku kaynaklı hasar ilişkili moleküler paternleri (DAMP) tanınması ile başlayan bir süreçtir. Makrofajların patojen ilişkili moleküler paternler (PAMP), Gram (+) bakterilerin hücre duvarı bileşeni peptidoglikanlar (PGN), Gram (-) bakterilerin hücre duvarı bileşeni lipopolisakkaritler (LPS) ısı şok proteinleri (Heat Shock Protein-HSP), gibi yapıları içermektedir. Doku kaynaklı hasar ilişkili moleküler paternleri (DAMP) kapsamında ise, normalde hücre dışında bulunmayan hücre içi proteinler veya nükleik asitler, adenosin trifosfat (ATP), ürik asit, deoksiribonükleik asit (DNA) gibi hücre hasarları sonucu sitozol dışına çıkan yapılar yer almaktadır (Fajgenbaum ve June, 2020). Patojene sebep maddelerin vücutta oluşumu ile beraber bazı reseptörler uyarılmaya başlanmaktadır. Bu reseptörler, patojen molekülleri tanımak için bağışıklık hücreleri tarafından üretilen proteinlerdir ve PRR olarak adlandırılmaktadır (Schumacher D ve ark.,2013). PRR'lerin uyarılmasıyla birlikte inflamatuvar süreç başlamakta ve reseptörlerin aktive olmasıyla birlikte, hücre içindeki sinyal iletim yolu aktive olmaktadır. Örnek olarak mitojenle aktive olan protein (mitogen-activated protein-MAP) kinaz sinyal yolları, NF κ B gibi çeşitli transkripsiyon faktörlerinin aktivasyonunu tetiklemektedir. Bu süreç çoğunlukla bağışıklık sistemi hücrelerinin damar duvarından geçişini (diapedezini) ve hücreler arası yapışmayı artıran adezyon moleküllerinin üretimini içermektedir. Bununla birlikte tümör nekroz faktörü-alfa (TNF- α), interleokinler (IL-1, IL-6, ve IL-10) ve tip 1 interferonlar (IFN'ler) gibi proinflamatuvar sitokinlerin de üretilmesini ve salınmasını da tetiklemektedir. Makrofajlar, lenfositler, polimorfonükleer lökositler (PMNL), endotel ve epitel hücreleri, adipositler ve bağ dokusu başlıca sitokin kaynaklarıdır. Sitokinlerin salınımı, makrofajların işlevi için mutlaka gereklidir (Duque ve Descoteaux 2014). Sitokinler, salgılandıkları kaynaklara göre gruplandırılmıştır (Kany ve ark. 2019)(Şekil 2.9).



Şekil 2.9: Sitokinler ve salgılandıkları kaynaklar (Kany ve ark. 2019).

Sitokinler, uyarılma noktasına göre; proinflamatuar, antiinflamatuar özellikte olabilirler. İnflamasyon sürecinde proinflamatuar ve antiinflamatuar sitokinler eş zamanlı olarak salgılanmaktadır (Kany ve ark. 2019). Anti-inflamatuar sitokinler IL-4, IL-10, IL-13 ve TGF- β , pro-inflamatuar sitokinler ise IL-1, IL-6, IL-15, IL-17, IL-23, TNF- α ve IFN- γ olarak bilinmektedir (Chaudhry ve ark. 2013). Sitokinlerin salınmasındaki amaç patojenleri ortadan kaldırmaktır. Ancak gereğinden fazla sitokin salınımının sonucunda organ disfonksiyonu, inflamatuvar hastalıklar hatta ölüm bile gerçekleşebilmektedir (Chauhan ve ark. 2021). Tüm bunlar, sitokinlerin ve diğer haberci moleküllerin, organizmada doku hasarına neden olacak hem içerden hem de dışarıdan gelen tehlikelere karşı inflamatuvar yanıtın düzenlenmesinde önemli bir role sahip olduğunu göstermektedir (Benveniste 2014; Duque ve Descoteaux, 2014; Zhao ve ark. 2021).

2.7.1. İnflamasyon ve Rejenerasyonda Kullanılan Markırlar

2.7.1.1. İnterlökin-1 beta (IL-1 β)

Proinflamatuvar sitokin olarak bağışıklık sisteminde anahtar rol oynayan bir protein olan İnterlökin-1 beta (IL-1 β), enfeksiyon, yaralanma veya inflamasyona yanıt olarak aktive edilmiş makrofajlar, monositler ve dendritik hücreler tarafından üretilir. Bu sitokin, iltihaplanma, bağışıklığın düzenlenmesi ve ateş indüksiyonu dahil olmak üzere çeşitli fizyolojik etkisi vardır. IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi diğer sitokinlerin üretimini uyatarak ve bağışıklık hücrelerini enfeksiyon veya yaralanma bölgesine toplayarak iltihabın oluşmasına katkıda bulunur. Enfeksiyonlar sırasında vücut ısısını artırmak için hipotalamusa etki ederek patojenlerle savaşmaya yardımcı olur. IL-1 β , T lenfositlerini aktive eder ve doğal öldürücü hücrelerin fonksiyonunu geliştirerek genel bağışıklık tepkisine destek olur. Epitelyal hücreler ve fibroblastlar da dahil olmak üzere belirli hücre türlerinin büyümesini ve farklılaşmasını etkileyebilir. IL-1 β üretiminin veya sinyalleşmesinin düzensizliği, romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalığı ve gut gibi çeşitli otoimmün ve inflamatuvar durumlarla ilişkilidir (Dinarello ve Charles, 2011).

2.7.1.2. İnterlökin 6 (IL-6)

T hücrelerinin genişlemesi ve aktivasyonu, B hücrelerinin farklılaşması ve akut faz tepkisinin indüksiyonu yoluyla inflamatuvar olayları destekleyen en güçlü sitokinlerden bir İnterlökin-6 (IL-6)'dır (Kamimura ve arkadaşları, 2003). İnterlökin-6 (IL-6), reseptörüne (IL-6R veya gp80) bağlanarak gp130/IL-6R'nin dimerizasyonuna, hücre büyümesi ve farklılaşması veya büyümenin durması ve apoptoz gibi fonksiyonel olarak farklı ve bazen zıt tepkiler gösteren sinyal iletim yollarının aktivasyonuna neden olur (Oritani ve ark., 1999; Kamimura ve ark., 2003).

Sıçan testisinde IL-6, interstisyel makrofajlar, Leydig ve Sertoli hücreleri tarafından üretilir (Cudicini ve ark., 1997). Yapılan çalışmalarda germ ve peritübüler hücrelerde de IL-6 ekspresyonunu olduğu gözlemlendi (Potashnik ve ark., 2005). Çeşitli sitokinler (TNF- α , interlökin-1, sinir büyüme faktörü- β) ve lipopolisakkarit (LPS), Leydig ve Sertoli hücreleri tarafından IL-6 sentezini uyarımını sağlar (Syed ve arkadaşları, 1993). Son yıllarda yapılan çalışmalarda, LPS'nin neden olduğu sistemik inflamasyon nedeniyle testiküler IL-6 üretiminde önemli bir artışın olduğunu gösterilmiştir (Elhija ve

arkadaşları, 2005). IL-6'nın spermatogenezi ve steroidogenezi düzenleyeci bir otokrin-parakrin faktör olarak görev yaptığı ve IL-6'nın spermatositlerde ve spermatogoniada DNA sentezini inhibe ettiği ileri sürülmüştür (Hedger ve Meinhardt, 2003).

IL-6 gibi birçok proinflamatuvar sitokin, klinik ve deneysel otoimmün hastalıkların gelişiminde rol oynamaktadır (Barak ve Shoenfeld, 1999). Farede deneysel otoimmün orşitinde (EAO), IL-6'nın eksojen uygulaması hastalığın gelişmesini engellemiştir (Li ve ark., 2002).

2.7.1.3. Nükleer faktör kappa B1 (NF-κB1)

NF-κB1 proteinleri, iltihaplanma, bağışıklık, çoğalma, hücre ölümü gibi önemli fizyolojik süreçleri ve hücrel homeostazın düzenleyeci sipoteinler olarak bilinmektedir (Cogswell PC ve ark., 2000). NF-κB1'nin önemli işlevlerinden biri, çeşitli aşamalarda bağışıklık tepkisini kontrol etmektir. Bağışıklık, inflamasyonla ilişkilidir ve her iki sürecin de uyumlu ve entegre işleyişi önemlidir (Bullani ve ark., 2001). NF-κB1 proteinlerinin ana aktivitelerinden biri iltihaplanma sürecini kontrol ederek iltihaplanma koşulları altında vücudun karmaşık savunma mekanizmalarını hedef aldıklarını göstermektedir (Finco ve ark., 1997). Bu şekilde kemokinler ve proinflamatuvar sitokinler dahil olmak üzere temel süreçteki birçok önemli genin ekspresyonlarının pozitif ve negatif olarak düzenlenmesi gerçekleştirilmektedir. Tümör nekroz faktörü alfa (TNF-α) ve interlökin 1 beta (IL-1β) gibi sitokinler de NF-κB1'in güçlü indükleyicileri arasındadır (Gilmore TD, 1999). NF-κB1 transkripsiyon faktörü ailesi, NF-κB1 (p50/p105), NF-κB2 (p52/p100), RelA (p65), c-Rel ve RelB'yi gibi beş farklı proteinden oluşur (Bash ve ark., 1997). Bu beş genin dimerizasyonuna, spesifik inhibitörleriyle etkileşimine ve DNA bağlanmasına aracılık eden bir rel homoloji alanına (RHD) sahiptirler. Bu alan, embriyonik lenfatik tümöre neden olan retiküloendoteliyoz virüsünün (REV) T-suşundaki v-rel onkogeniyle sekans benzerliğinden dolayı adlandırılmıştır (Caamano ve ark., 1996). RelA, RelB ve c-Rel, transkripsiyon aktivasyon alanına (TAD) sahipken, p100 ve p105'te TAD'ler bulunmamaktadır. Bu proteinler, proteolizden sonra p52 ve p50 alt birimlerini üreten NF-κB'nin üretim öncü proteinleridir (Canoz ve ark., 2004; Charalambous ve ark., 2003). Bundan dolayı NF-κB1 genel bir isimdir ve farklı bileşikler tarafından üretilen bir dimerik protein ailesine dahil edilmektedir (Chen F ve ark., 2001; Chen QM ve Tu VC, 2002). Üstelik hepsinde p50, p52, RelA, RelB ve c-Rel alt birimleri

bulunur ve yaygın olarak incelenen NF- κ B1 dimerlerinden biri, çoğu hücrede ifade edilen p50/RelA proteinidir (Chen F ve ark., 2003).

2.7.1.4. Tümör Nekroz Faktörü α (TNF- α)

Tümör Nekroz Faktörü α (TNF- α), akut inflamasyon sırasında makrofajlar/monositler tarafından üretilen inflamatuvar ve immün yanıtları düzenleyen önemli bir sitokindir (Feldmann M ve Maini RN, 2001). Hücreler içinde nekroz veya apoptoza yol açan çeşitli sinyal olaylarından sorumlu ve aynı zamanda enfeksiyona ve kansere karşı direnç açısından da önemli bir proteindir (Bradley JR ve ark.,1990; Bradley JR, 2008). TNF- α , yalnızca pro-inflamatuvar sitokin olarak görev yapmakla kalmaz, aynı zamanda tümör gelişimini de indükleyebilen bir sitokindir (Georgopoulos ve ark., 1996). TNF-alfa'nın çözünür formu ile transmembran TNF- α birbirinden ayrılır ve biyolojik aktivitelerine, TNF-alfa'nın Tip 1 ve Tip 2 TNF reseptörlerine (TNF-R1 ve -R2) bağlanarak aracılık ederler (Eissner ve ark., 2004). Yapılan çalışmalar, yalnızca çözünür TNF- α değil, aynı zamanda transmembran TNF- α 'nında inflamatuvar yanıtta rol oynadığını göstermektedir. Transmembran TNF- α , sinyalleri hem bir ligand hem de bir reseptör olarak hücreden hücreye temas şeklinde ileten iki kutuplu bir molekül görevi görür (Alexopoulou ve ark., 1997). TNF- α üreten hücreler üzerindeki zar-ötesi TNF- α , TNF-R1 ve -R2'ye bağlanıp ve bir ligand olarak hedef hücrelere sinyaller iletirken; zar ötesi TNF- α aynı zamanda dışarıdan içeriye (ters) iletim yapan bir reseptör olarak da görev yapar ve doğal reseptörlerine bağlandıktan sonra hücrelere geri sinyal verir. (Mitoma ve ark., 2004). Anti-TNF ajanları olan infliksimab, adalimumab ve etanersept, çözünür TNF- α 'ya bağlanır ve nötralize edilir, fakat transmembran TNF- α eksprese eden hücreler (TNF- α üreten hücreler) üzerinde farklı etkiler göstermektedir (Kaymakcalan ve ark., 2009).

2.7.1.5. Gamma H2AX (γ H2AX)

Bir histon proteini çeşidi olan H2AX histon H2A ailesindendir. Hücre çekirdeğinde bulunan Histonlar, DNA'nın etrafında paketlenmiş olan proteinler olarak adlandırılırlar. Gamma ışınları veya diğer DNA hasarları (örneğin, çift zincir kırıkları) hücrede DNA hasarını tetikler. Bu hasar, özellikle H2AX proteininde belirli bir bölgede fosforilasyon yoluyla işaretlenir. Hücre biyolojisi ve biyomedikal araştırmalarda önemli bir rol oynayan protein H2AX'in fosforile (fosfat grupları eklenmiş) formunu hedefleyen Gamma H2AX (γ H2AX) antikorlarıdır. H2A'nın bir türevi olan H2AX, hücre DNA hasarına yanıt veren

bir histon proteinidir. H2AX'in fosforile olması, gamma ışınlama gibi DNA hasarına neden olan olaylar gerçekleştiğinde olur. Sonuç olarak γ H2AX olarak isimlendirilir. Bu fosforilasyon olayını tespit etmek için γ H2AX antikorları kullanımı olur. Spesifik olarak DNA hasarı tespiti, onarım mekanizmalarının araştırılması ve kanser araştırmalarında sık kullanımı vardır. Bu antikor, DNA hasarının nasıl onarıldığını anlamak, hücre döngüsü düzenlemesi, apoptoz, kanser tedavisi ve radyasyon biyolojisi gibi birçok alanda önemli bilgiler sağlar (Kuo ve ark., 2008; Zhang ve Junlin,2016).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul

Deneyimiz için gerekli olan etik kurulu onayı için Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Etik Kurulundan (AKÜHADYEK) 18.04.2023 tarihli, 33-23 referans numaralı etik kurul onayı alındı.

3.2. Deney Hayvanları ve Grupları

Bu çalışmada, 30 adet erişkin erkek Wistar-Albino türü sıçan (250-300 g) kullanılmıştır. Hayvanlar, Afyon Kocatepe Üniversitesi Deney Hayvanları Ünitesi laboratuvarında uygun kafesler içinde barındırılmış ve 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüsüne tabi tutulmuştur. Hayvanlar, standart sıçan pelleti ve çeşme suyu ile serbestçe beslenmiştir. Deneyde kullanılacak sıçanlar, her bir grupta 6 hayvan olacak şekilde rastgele 5 gruba ayrılmıştır. Deney süresince uygulanan işlemler ve gruplar aşağıda detaylı olarak açıklanmıştır.

Grup 1: TH grubu; Bu gruba çalışmanın 1,3 ve 5.günlerinde TH 0.3mg/kg İntraperitoneal (İP) uygulandı.

Grup 2: CP grubu; Bu gruba çalışmanın 1,3 ve 5.günlerinde CP 1.5mg/kg İntraperitoneal (İP) uygulandı.

Grup 3: (TH+CP) grubu; Bu gruba çalışmanın 1,3 ve 5.günlerinde TH 0.3mg/kg İntraperitoneal (İP) ve CP 1.5mg/kg İntraperitoneal (İP) uygulandı.

Grup 4: Sham grubu; Bu gruba çalışmanın 1,3 ve 5.günlerinde Serum Fizyolojik (SF) 0,3mg/kg İntraperitoneal (İP) olarak uygulandı.

Grup 5: Kontrol grubu; Bu gruba hiçbir uygulama yapılmadı.

Cerrahi işlemden 12 saat önce aç bırakılan hayvanlara, 5 mg/kg Xylazine ve 40 mg/kg ketamin intramusküler (IM) yolla uygulanarak anestezi sağlandı. Ardından, hayvanların karın bölgesi açılarak testisler çıkarıldı. Hayvanlar sakrifiye edildi ve sakrifiye edilen hayvanlardan geriye kalan vücut parçaları, Deney Hayvanları Ünitesi'nin protokollerine

uygun şekilde imha edildi. Çevre dokulardan temizlenen testisler, her biri Bouin solüsyonu içinde saklandı.

3.3. Kimyasallar

Cisplatin: Sigma (USA)

Theranekron D6: Richter Pharma, Avusturya

Hidrojen Peroksit (%35): Merck Millipore, Almanya

Hidrofobik PAP PEN: Japonya

Fosfat Büferli Salin (PBS): Sigma (USA)

Hematoksilen: Sigma (USA)

Eozin: Thermo (USA)

TUNEL Kit: Millipore, ApopTag Peroxidase In Situ Apoptosis Detection Kit

3.4. Histolojik Doku Takibi

Operasyon sırasında çıkarılan testislerin kapsüllerine, enjektör ucu kullanılarak uzun eksenlerine dik şekilde birkaç delik açıldı ve ardından Bouin fikse solüsyonuna yerleştirildi. Testisler, bu şekilde 48 saat boyunca sabitlenerek tespit işlemi tamamlandı. Fiksasyonun ardından, testisler yatay ekseninde ortadan ikiye bölündü ve her bir parça yeniden ikiye ayrılarak kasetlere yerleştirildi. Histolojik işlem için otomatik doku işleme cihazı (Leica TP1050) kullanılarak doku işleme yapıldı ve dokular parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alındı. Bu kesitler, hematoksilin-eozin boyaması için standart lamalar üzerine yerleştirildi ve apoptotik hücrelerin tespiti amacıyla polilizin kaplı lamalar üzerine alındı.

3.5. Dokuların Boyanması

3.5.1. Histokimyasal Boyama

Lam üzerine alınan kesitler Hematoksilen Eozin (HE) boyama ile boyandı. Bu boyama için aşağıdaki işlemler uygulandı. Deparafinizasyon için dokular parafinden temizlenmeleri için bir gece 65 °C'lik etüvde bekletildi. 2 saat Ksilen solüsyonunda bekletilerek preparatlar temizlendi. Daha sonra rehidratasyon yapıldı. Saf alkolde 1 dakika bekletildi. Sırasıyla %90, %80, %70 alkolde 1 dakika bekletildi. Çeşme suyunda yıkama yapıldı. Hematoksilenle 4 dakika boyandı. Akarsuda bolca yıkandı. Eozin 1,5 dakika boyandı. Dehidratasyon işlemi sırasıyla %70 alkolde yıkama, %80 alkolde yıkama, %90 alkolde yıkama yapıldı. Saf alkolde yıkama yapıldı. Ksilen solüsyonunda bekletildi. Son olarak Entellan ile kapatıldı.

3.5.2. İmmünohistokimyasal Boyama

Kullanılan Antikorlar:

IL-6: Sc-28343 (Santa Cruz)

IL-1 β : Sc-52012 (Santa Cruz)

NF- κ B1: Sc-8008 (Santa Cruz)

TNF- α : Sc-130349 (Santa Cruz)

γ H2AX: Sc-517336 (Santa Cruz)

Deparafinizasyon:

- Numuneler, parafinden arındırılması amacıyla 65°C'de bir gece süreyle etüvde bekletildi.
- Ertesi gün, preparatlar 2 saat boyunca ksilen solüsyonunda bekletilerek parafin temizliği yapıldı.

Rehidratasyon:

- Numuneler sırasıyla saf alkolde 1 dakika, %90 alkolde 1 dakika, %80 alkolde 1 dakika ve %70 alkolde 1 dakika süreyle işlem gördü.

- Son olarak, preparatlar çeşme suyu ile yıkandı.

Antijen Retrieval:

- Antikorlar için önerilen protokole göre, her iki boyama lamı sitrat tamponu (pH 6.0) içinde mikrodalgada 20 dakika ısıtıldı.
- Sonrasında, bu lamlar sitrat tamponunda dış ortamda 20 dakika soğutuldu.

Yıkama ve Deaktivasyon:

- Lamlar, TBS çözeltisi ile iki kez yıkandı.
- Preparatlardaki peroksidaz aktivitesinin ortadan kaldırılması için %3 metanol ve hidrojen peroksit karışımında 12 dakika bekletildi.
- Yıkama işlemi TBS çözeltisi ile tekrar iki kez yapıldı.

Sekonder Blokaj:

- Hidrofobik kalemle dokuların etrafı çizildi.
- Sekonder HRP kitinden protein blok çözeltisi, lamların üzerine damlatılarak 10 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi ve bu işlem, zemin boyamasının önlenmesini sağladı.
- Sonrasında preparatlar tekrar TBS ile yıkandı.

Antikor Uygulama ve İnkübasyon:

- Her bir primer antikor 1:50 oranında sulandırıldı ve lamların üzerine damlatıldı.
- Parafilm ile kapatılan lamlar, 1 gece boyunca buzdolabında inkübe edildi.
- İnkübasyon süresinin ardından, parafilm çıkarıldı ve lamlar oda sıcaklığında 10 dakika bekletildi.
- Sonrasında, lamlar TBS ile üç kez yıkandı.

Antijen-Antikor Reaksiyonunun Gözlemlenmesi:

- Complement solüsyonu, lamların üzerine damlatılarak 10 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi.
- Ardından, preparatlar TBS çözeltisi ile iki kez yıkandı.
- HRP konjugat çözeltisi lamların üzerine damlatılarak 30 dakika süreyle inkübe edildi.
- Son olarak, lamlar TBS ile dört kez yıkandı.

Renklendirme:

- DAB kromojeni lamların üzerine damlatıldı ve 10-12 dakika süreyle oda sıcaklığında bekletildi.
- Renklendirme işleminden sonra preparatlar, distile su ile iki kez yıkandı.

Zıt Boyama:

- Preparatlar, Mayers'in Hematoksilen çözeltisinde 45 saniye süreyle zıt boyama işlemine tabi tutuldu.
- Ardından, çeşme suyu ile iki kez yıkandı.

Kapatma:

- Numuneler, su bazlı kapama solüsyonu ile kapatıldı.

3.5.3. Tunel Yöntemi

Seminifer tübüllerdeki apoptotik hücreleri tespit etmek için ticari TUNEL kiti kullanılarak boyama işlemi gerçekleştirilmiştir. Uygulanan prosedür, üreticinin önerileri doğrultusunda adım adım izlenmiştir:

Deparafinasyon ve Yıkama: Parafinle örtülmüş kesitler, xilol ile deparafinize edilerek, ardından 5 dakika boyunca Fosfatlı Salin (PBS) ile yıkandı.

Proteinaz K Uygulaması: Kesitler, taze hazırlanan %20 µg/mL Proteinase K çözeltisiyle 15 dakika süreyle inkübe edilmiştir.

Yıkama: Ardından, kesitler 2 kez 2 dakika boyunca distile su (dH₂O) ile yıkandı.

Endojen Peroksidaz Engelleme: PBS içinde hazırlanan %3'lük hidrojen peroksit (H₂O₂) çözeltisiyle, oda sıcaklığında 5 dakika boyunca endojen peroksidaz aktivitesi engellenmiştir.

Yıkama: Örnekler, 2 kez 5 dakika süreyle PBS ile yıkanarak fazla H₂O₂ çözeltisi uzaklaştırılmıştır.

Dengeleme İşlemi: Örnekler, dengeleme tamponu ile işlenmiştir.

Fazla Sıvı Alımı: Kesitlerin etrafındaki fazla sıvı dikkatlice çekilmiştir.

Dengeleme Tamponu Uygulaması: Her bir örneğe 75 µL dengeleme tamponu uygulanarak, çözeltinin tüm yüzeyini kaplaması sağlanmıştır.

İnkübasyon: Örnekler, oda sıcaklığında en az 10 saniye süreyle inkübe edilmiştir.

TdT Enzim Uygulaması: Kesitlerin üzerine 55 µL TdT (Terminal deoxynucleotidyl transferase) enzimi damlatılmıştır.

İnkübasyon (TdT Enzimi ile): Örnekler, 37°C'de nemli bir ortamda 1 saat süreyle inkübe edilmiştir.

Durdurma ve Yıkama: Durdurma tamponu eklenerek, örnekler 15 saniye çalkalanmış ve sonra oda sıcaklığında 10 dakika inkübe edilmiştir.

Anti-Digoksinin Konjugat Hazırlığı: İşlem yapılacak yeterli sayıda örnek için, anti-digoksinin konjugat çözeltisi çıkarılıp oda sıcaklığında ısıtılmıştır.

Anti-Digoksinin Konjugat Uygulaması: Anti-Digoksinin konjugatı örneklerin üzerine uygulanmış ve kesitler, 3 x 1 dakika boyunca PBS ile yıkanmıştır.

Fazla Sıvı Alımı ve Kurulama: Örnekler üzerindeki fazla sıvı dikkatlice çekilmiş ve etrafları kurutulmuştur.

Anti-Digoksinin Konjugat Uygulaması (Tekrar): Her bir kesite 65 µL anti-digoksinin konjugat çözeltisi uygulanmıştır.

İnkübasyon: Kesitler, oda sıcaklığında 30 dakika süreyle nemli bir ortamda inkübe edilmiştir.

Yıkama: Örnekler, 4 kez 2 dakika boyunca PBS ile yıkanmıştır.

Peroksidaz Substratının Hazırlanması: Kesitler yıkandıktan sonra, peroksidaz substrat çözeltisi hazırlanmıştır.

Peroksidaz Substrat Uygulaması: Peroksidaz substratı, her örneğe 75 µL (yaklaşık 5 cm² için) miktarında uygulanmıştır.

Boyama Süresi: Örnekler, oda sıcaklığında 3 ila 6 dakika arasında, renk gelişimini izleyerek inkübe edilmiştir.

Optimum Boyama Süresi Tespiti: Boyama süresi sırasında, mikroskop altında gözlemler yapılarak optimal renk gelişimi sağlanmıştır.

Yıkama: Boyama tamamlandıktan sonra, kesitler 3 x 1 dakika boyunca distile su ile yıkanmıştır.

Zıt Boyama: Boyama sonrasında, kesitler Mayers Hematoksilen ile 1 dakika süreyle kontrast boyama işlemine tabi tutulmuştur.

Dehidratasyon ve Kapatma: Kesitler saf alkolde 10 dakika süreyle dehidrate edilmiş ve ardından ksilol ile işlemi tamamlanıp montaj solüsyonu ile kapatılmıştır.

3.5.4. İstatiksel Analiz

Tüm istatistiksel analizler Mac için GraphPad Prism sürüm 7.00 (GraphPad Yazılımı, La Jolla, CA) kullanılarak gerçekleştirildi. Verilerin normal dağılımını belirlemek için D'Agostino Pearson omnibus testi kullanıldı. Normal dağılım durumunda, nicel değişkenler tek yönlü varyans analizi ve Tukey'nin posthoc testi kullanılarak karşılaştırıldı. Veriler, normalleştirilmiş verilerin ortalaması $\pm$ ortalama standart sapması olarak ifade edildi. $P < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

4. BULGULAR

4.1. Testis Histoloji Değerlendirme

Deneklerden alınan testis dokuları histopatolojik değerlendirme için Bouin solüsyonunda tespit edildi. Daha sonra doku takibi ve parafine gömme işlemi uygulandı. Parafin bloklardan 5 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler Hematoksilen&Eozin ile boyandı. Görüntüler (Olympus BX53; Olympus, Tokyo, Japan) mikroskobu altında analiz edildi (1). 10 farklı alanda histopatolojik skor verildi. Bu skora 0: hasar yok, 1: az hasarlı, 2: orta şiddetli, 3: çok hasarlı olarak değerlendirildi. Skora kriterlerinde hemoraji, hücresel dökülme ve spermatogenik seriye ait hücrelerdeki değişimler kriter olarak alındı. Bu değerlendirme 10 farklı alan içinde yapıldı.

Grup 1: Hemoraji ve vakuolizasyona rastlanmadı. Spermatogenik seriye ait hücrelerin herhangi bir ayrılmaya uğramadığı gözlemlendi. Hasarlanmış tübül ve hücre kayıplarının oluşmadığı izlendi (Şekil 4.1.A.).

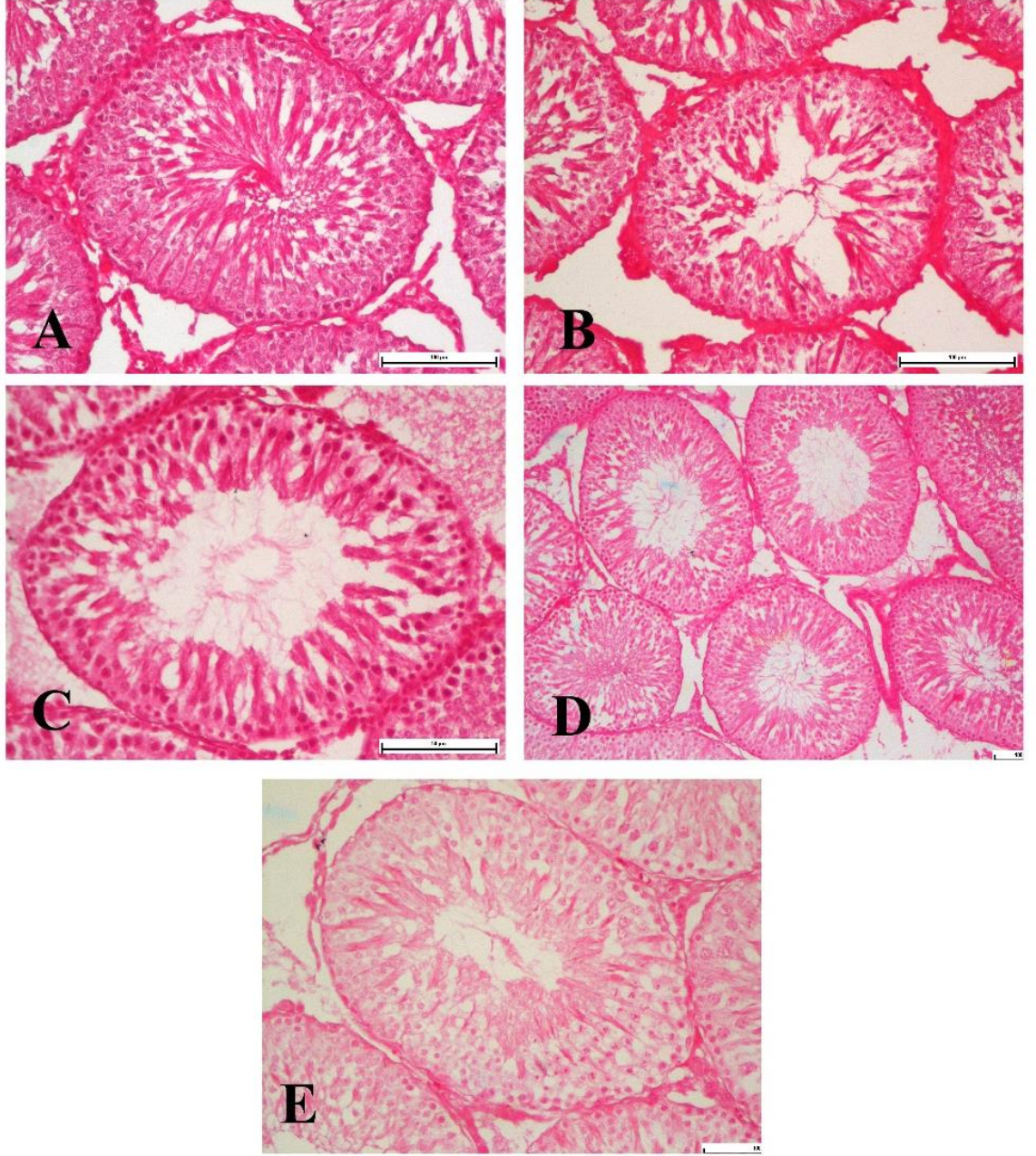
Grup 2: Sisplatin grubu testis dokusunda hasarlanmış seminifer tübül duvarları izlendi. İntersisyal alanda hemoraji gözlemlendi. Germinal hücrelerin birbirinden ayrıldığı bunun sonucunda hücre kayıplarının yaşandığı, az da olsa vakuolizasyon olduğu görüldü (Şekil 4.1.B.).

Grup 3: Sisplatin grubuna kıyasla bazal kompartmandaki hücre ayrımlarının ve hücre kayıplarının dökülmelerinin azaldığı intersisyal alandaki kanlanmanın azaldığı seminifer epiteldeki boşluk ve ayrılmaların azaldığı gözlemlendi. Sham grubuna yakın bir testis histolojisi gözlemlendi (Şekil 4.1.C.).

Grup 4: Kontrol grubuna yakın bir şekilde spermatogenik seriye ait hücrelerin hasarlanmadan ilgili alanda olduğu gözlemlendi. intersisyal alan da herhangi bir doku hasarı gözlemlenmedi (Şekil 4.1.D.).

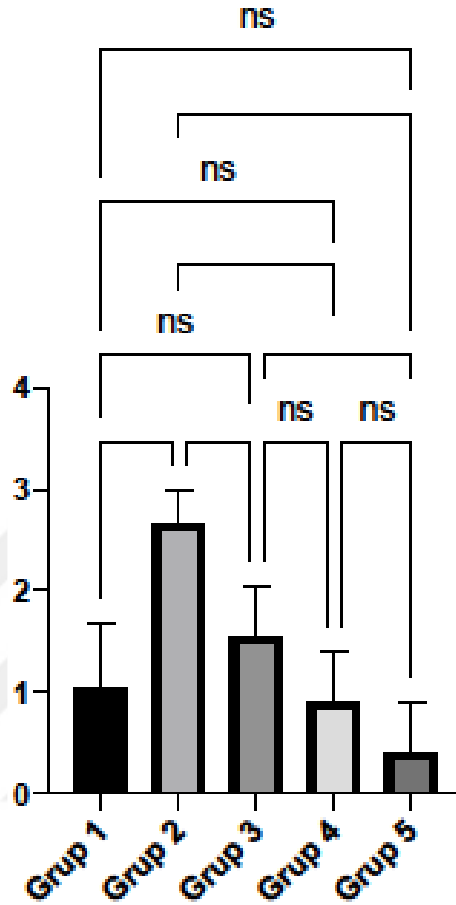
Grup 5: Seminifer tübüllerin epitelini düzenli bir şekilde izlendi. Spermatogenezin farklı aşamasındaki hücreler bazaldan lümene doğru aktif bir spermatogenezin mitozunu göstermektedir. Bazal kompartman hücrelerinin hasar almadığı izlendi (Şekil 4.1.E.).

İstatiksel olarak da TH+CP grubunun diğer gruplarla anlamlı farklılık gösterdiği görüldü ($p<0.05$) (Şekil 4.2).



Şeki 4.1: Testis Hematoksilen&Eozin boyama görüntüsü, histopatolojik skarlama görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.

Hematoksilen-Eosin

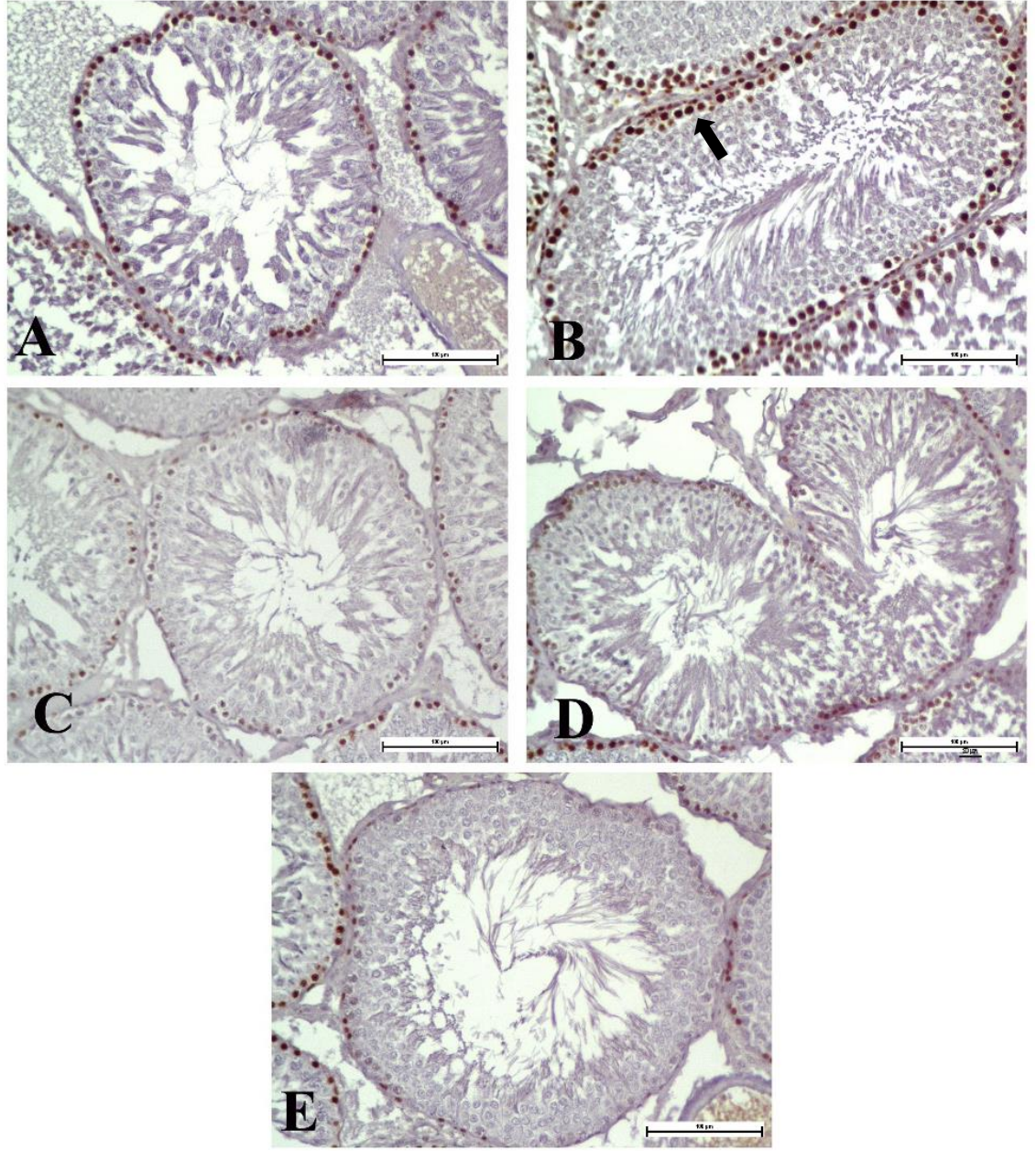


Şekil 4.2: Hematoksilen-eozin istatistiksel sonuçlarının grafiği ($p < 0.05$).

4.2. İmmünohistokimyasal Bulgular

4.2.1. γ H2AX İmmünreaktivitesi

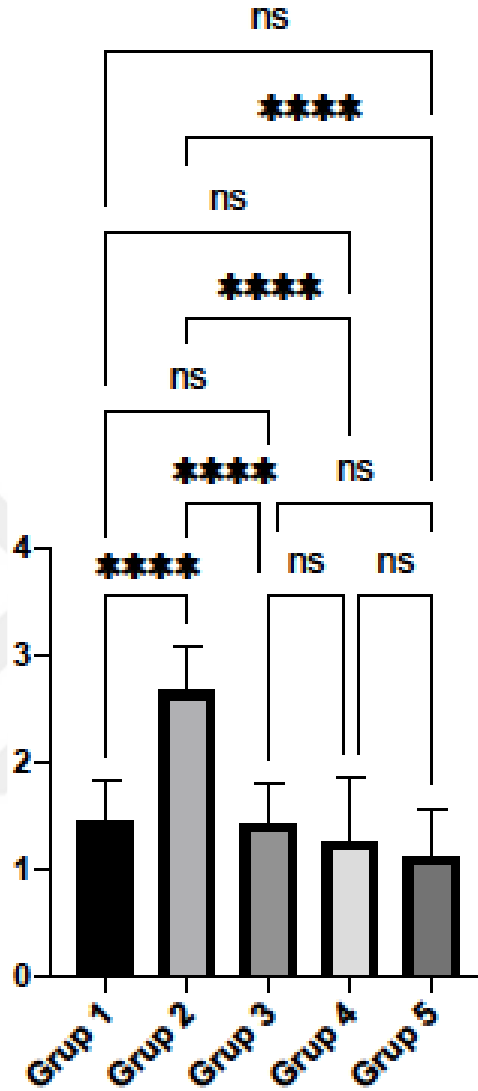
Özellikle Sham ve kontrol grubuna göre Sisplatin grubunda daha fazla pozitif hücre sayısının arttığı anlamlı bir şekilde görüldü (Şekil 4.3.B). TH+CP grubunda ise kontrol grubuna yakın bir anlamlı şekilde immünoreaktivitede azalış gözlemlendi (Şekil 4.3.C.). Spermatogenik seriye ait hücrelerdeki çekirdek boyamaları gruplar arasında farklılık gösterdi. Özellikle sisplatin grubundaki immünoreaktivitedeki artış DNA kırıklarının bu grupta ne kadar yoğun olduğunu gösterdi. TH+CP grubundaki γ H2AX immünoreaktivitedeki azalma TH'un Sisplatine bağlı olan hasarda DNA kırıklarını biraz da olsa onardığı yönünde bulgular gösterdi. Theranekron grubunda ise ilacın akut etkisine bağlı olarak hafif bir immünoreaktivite izlendi (Şekil 4.3.A.).



Şekil 4.3: Testis γ H2AX immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.

➡ : Pozitif boyanan hücreler

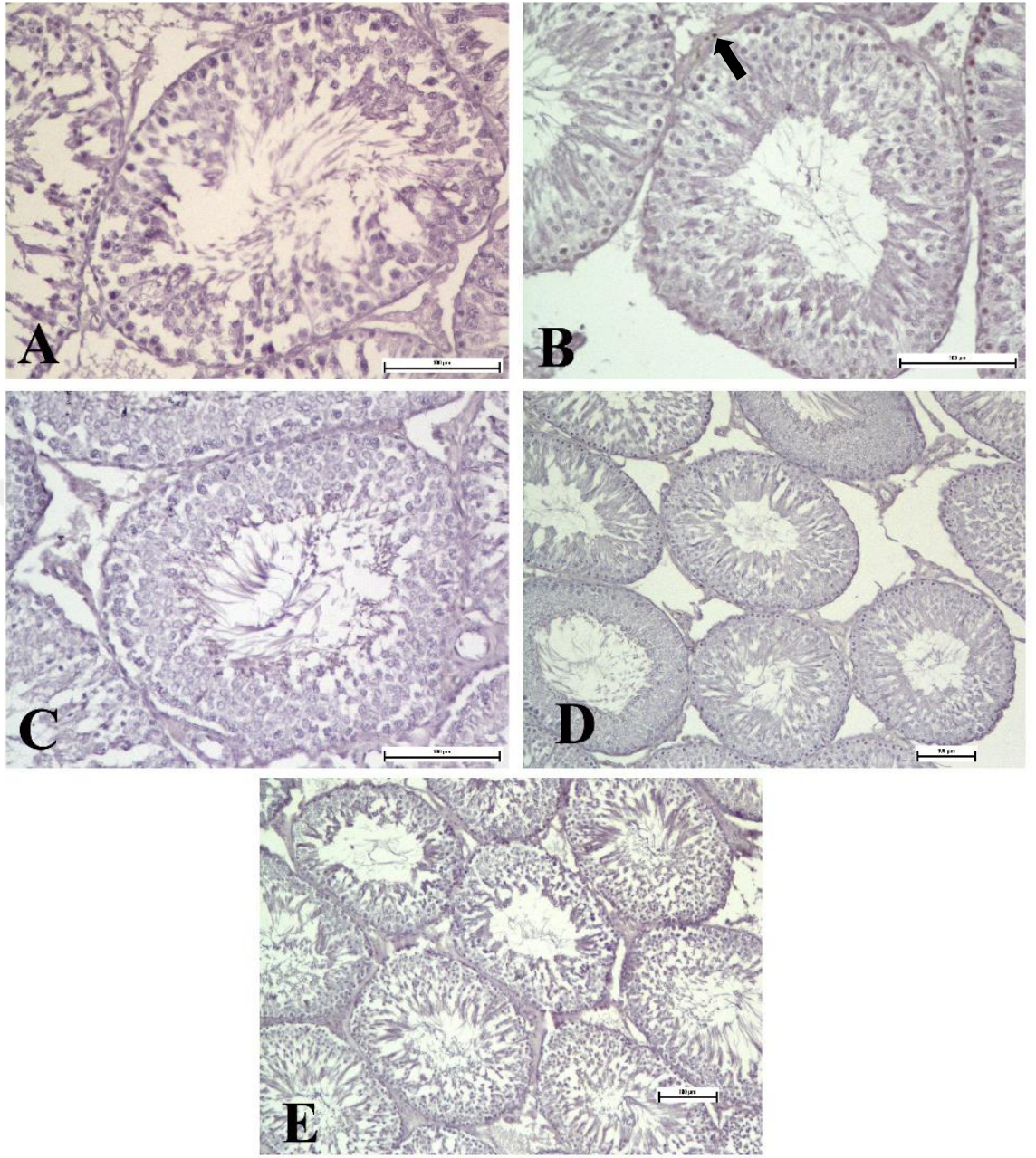
Gamma-H2AX



Şekil 4.4: Testis γ H2AX immünohistokimyasal boyama sonuçları istatistiksel analizi ($p < 0.05$).

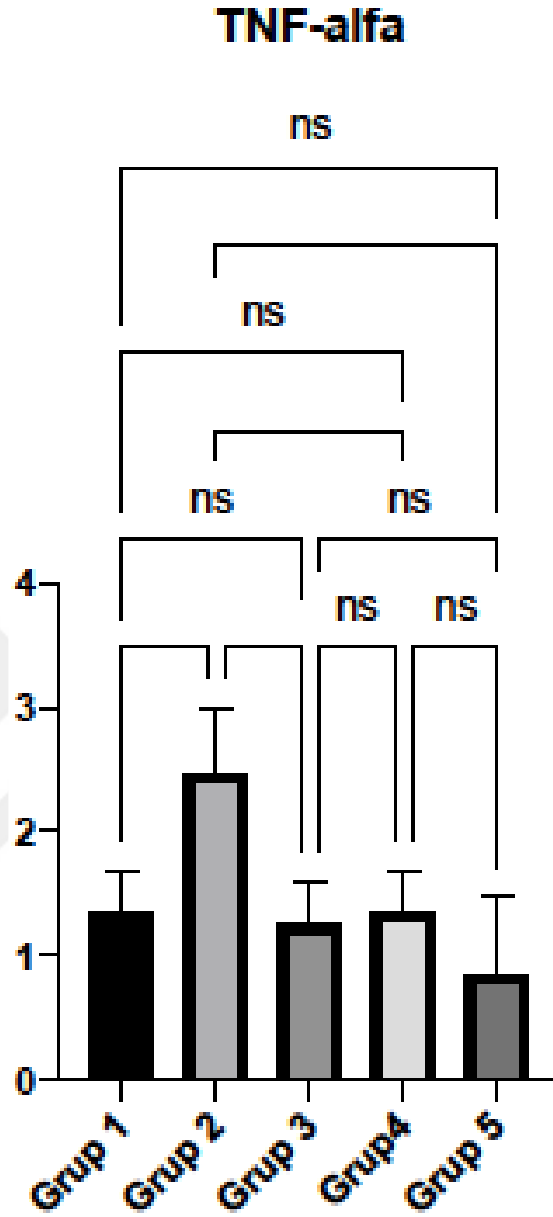
4.2.2. TNF- α İmmünoreaktivitesi

Sisplatin grubunda özellikle intersisyonel alan ve spermatogenik seriye ait hücrelerde pozitif olarak izlendi (Şekil 4.5.B). CP+TH grubunda ise bu etkinin anlamlı bir şekilde azaldığı görüldü (Şekil 4.5.C). İstatistiksel olarak da sham ve kontrol grubuyla anlamlı bir fark olduğu gösterildi (Şekil 4.6). İnflamasyonda artan TNF- α , sisplatin grubunda özellikle artışı, Theranekron'un bunu baskılaması Theranekron'un intersisyonel alandaki inflamasyonu da düşürdüğünü bize gösterdi. Theranekron grubunda ise hafif şiddetli immünoreaktivite izlendi (Şekil 4.5.A).



Şekil 4.5: Testis TNF- α immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.

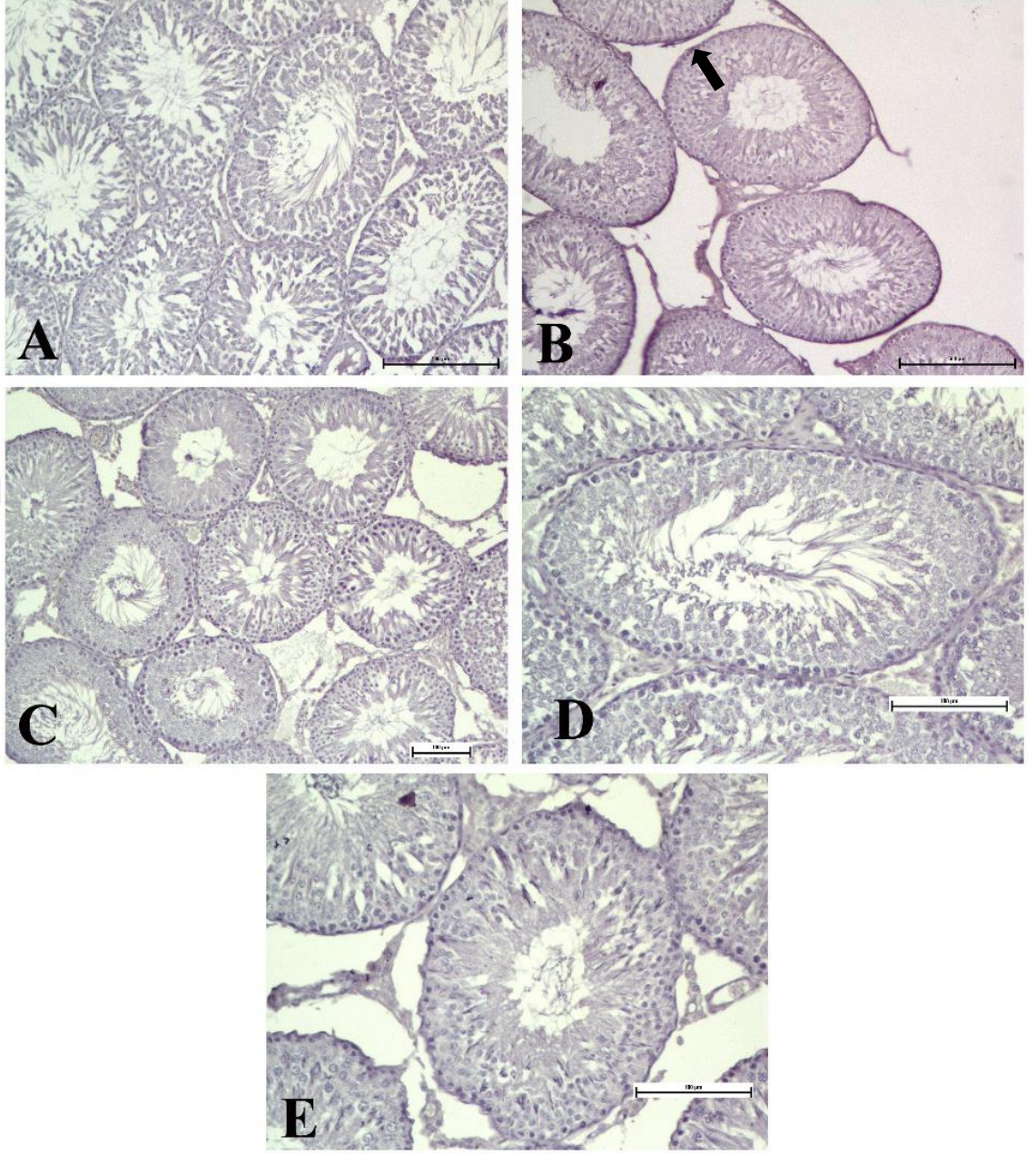
➡ : Pozitif boyanan hücreler



Şekil 4.6: Testis TNF- α immünohistokimyasal sonuçları istatistiksel analizi ($p<0.05$).

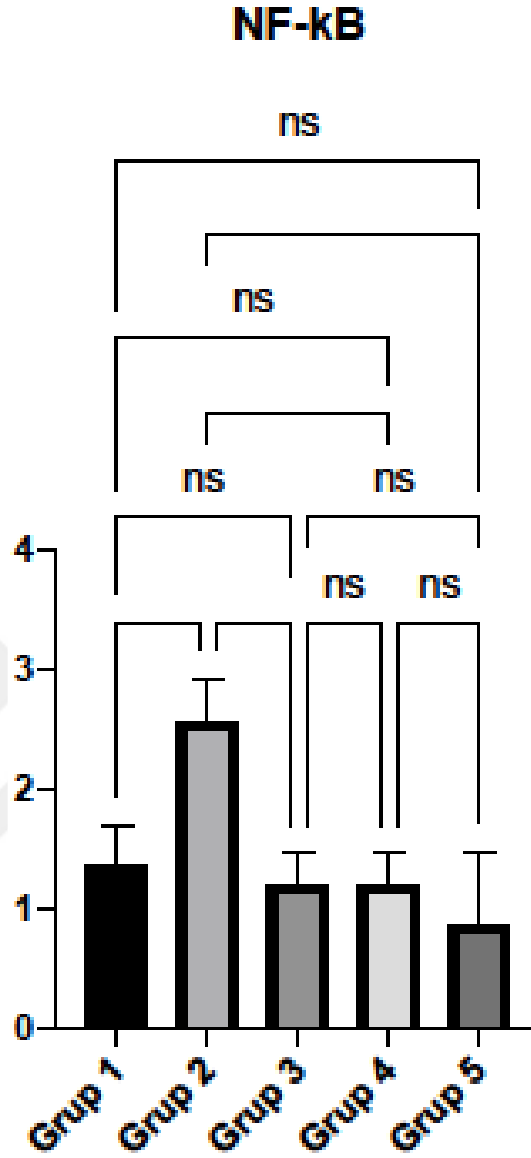
4.2.3. NF- κ B1 immünoreaktivitesi

Kontrol grubu ve sham grubunda normal şiddette görülen immünoreaktivite Sisplatin grubunda şiddetini artırarak devam etti (Şekil 4.7.B). Buradaki hücrelerin apoptotik sürece girdiklerini göstermiş oldu. TH+CP grubundaki NF- κ B immünoreaktivitesindeki azalış apoptotik sürece giren spermatogoniaların tekrardan yenilendiğini gösterdi(Şekil4.7.C). TH grubunda ise hafif seyirli bir immünoreaktivite izlendi. Dokuda beklenen bazal bir immünoreaktivite gözlemlendi (Şekil 4.7.A.).



Şekil 4.7: Testis NF- κ B1 immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.

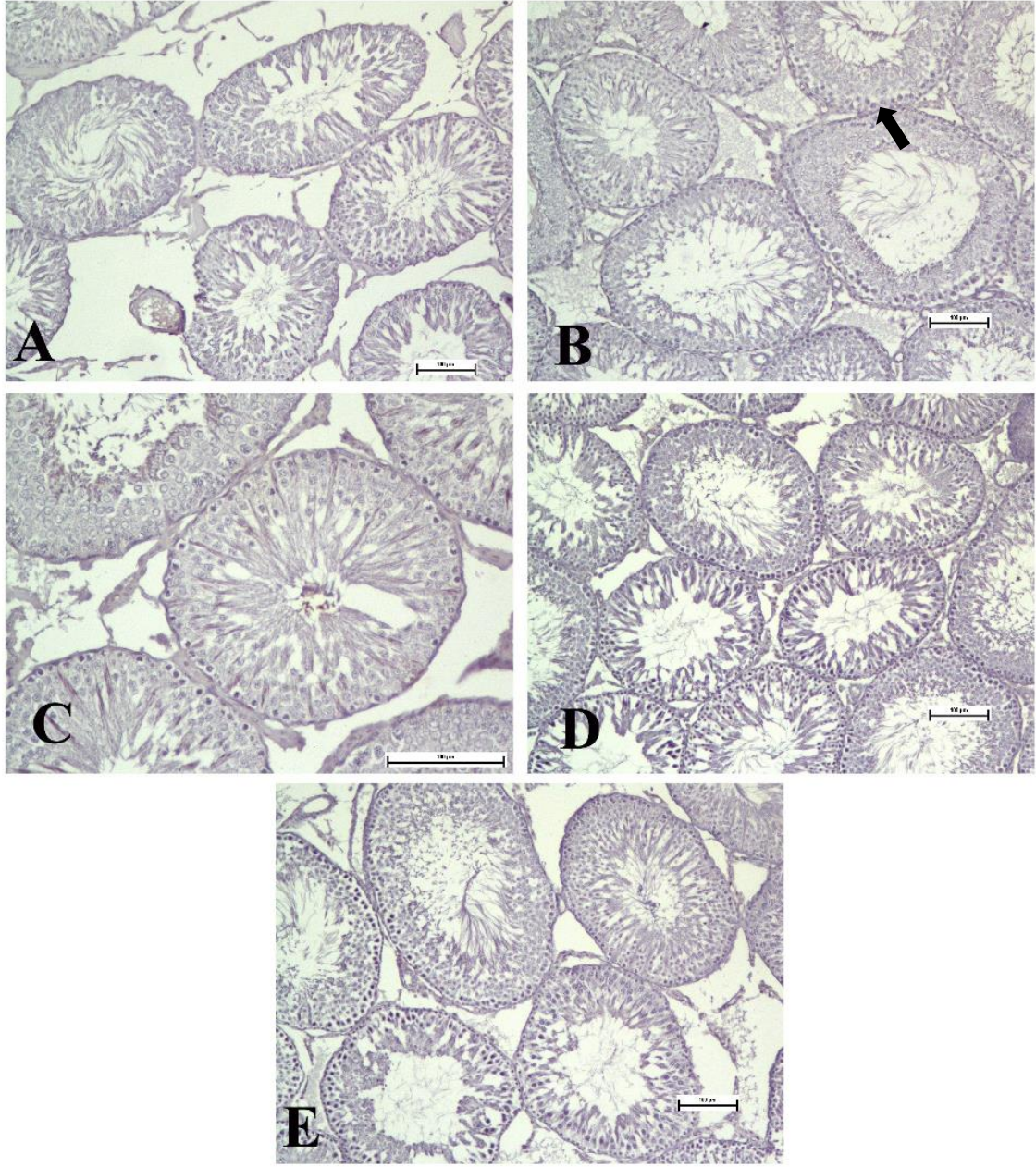
➡ : Pozitif boyanan hücreler



Şekil 4.8: Testis dokusu NF-κB1 immünohistokimyasal sonuçları istatistiksel analizi ($p < 0.05$).

4.2.4. IL-1 β İmmünoreaktivitesi

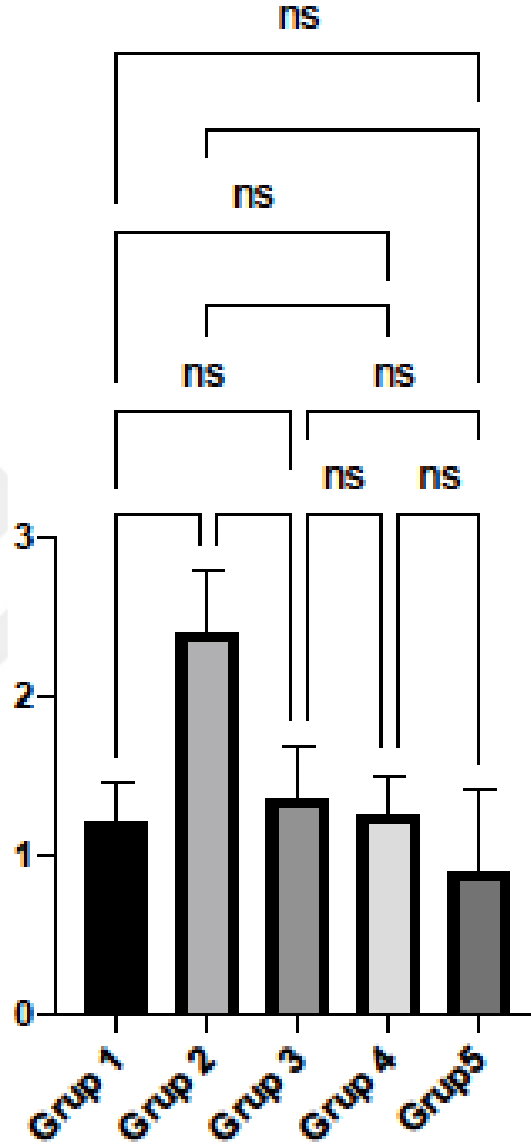
İnflamasyon markırlarından olan IL-1 β immünoreaktivitesi, özellikle Sisplatin grubunda fazla olduğu gözlemlendi. CP grubunda, intersiyel alandaki hemoraji ve seminifer tübülllerdeki hücreler arası açılmanın arttığı izlendi (Şekil 4.9.B). Kontrol ve sham grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (Şekil 4.10) Siplatin+Therane kron grubunda ise immünoreaktivitedeki azalış Sham ve Kontrol grubuna göre anlamlı olduğu görüldü (Şekil 4.9.C). Therane kron grubunda ise hafif bir immünoreaktivite izlendi (Şekil 4.9.A).



Şekil 4.9: Testis dokusu IL-1 β immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.

➡ : Pozitif boyanan hücreler

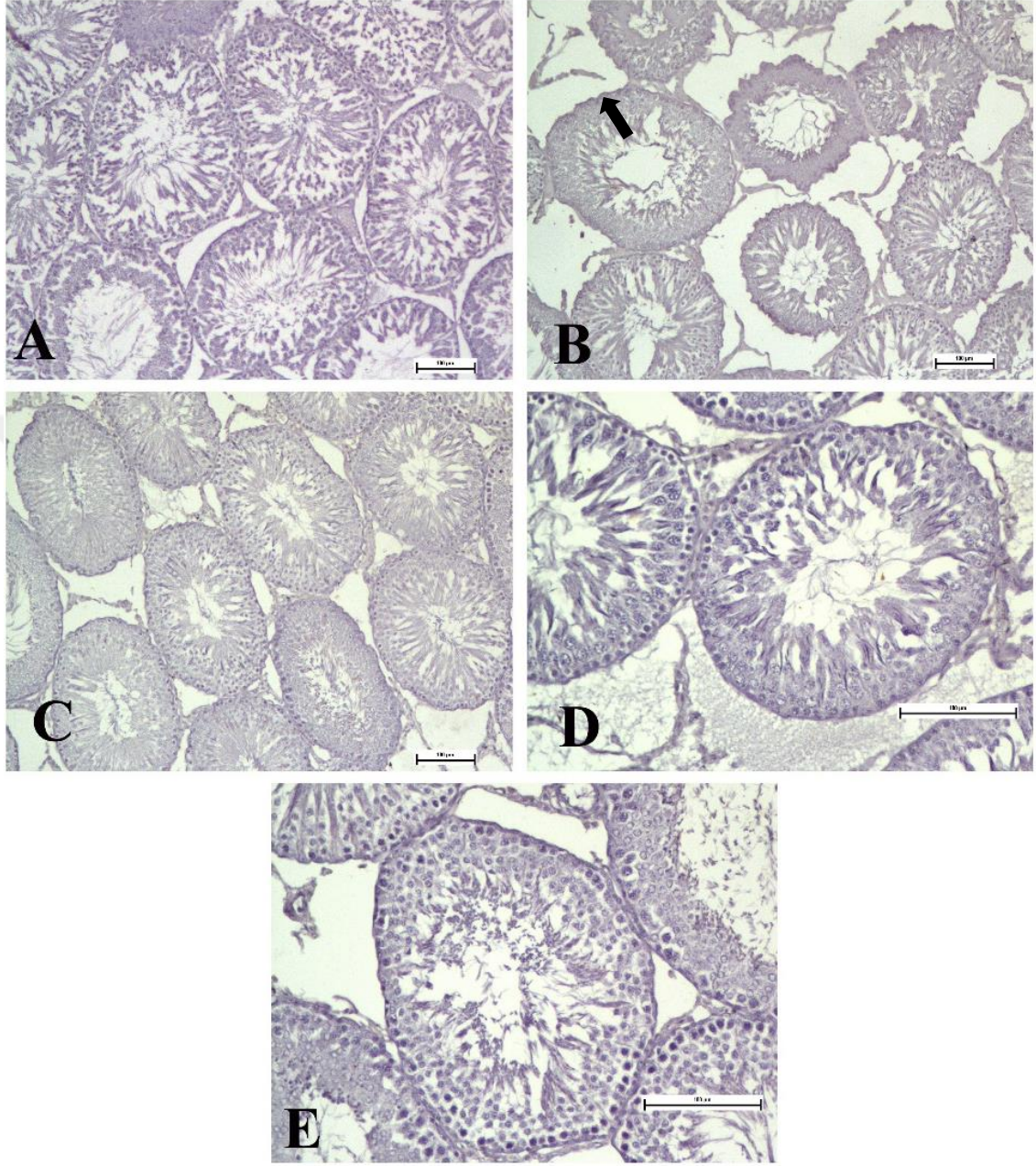
IL-1Beta



Şekil 4.10: Testis IL-1 β immünohistokimyasal sonuçları istatistiksel analizi(p<0.05).

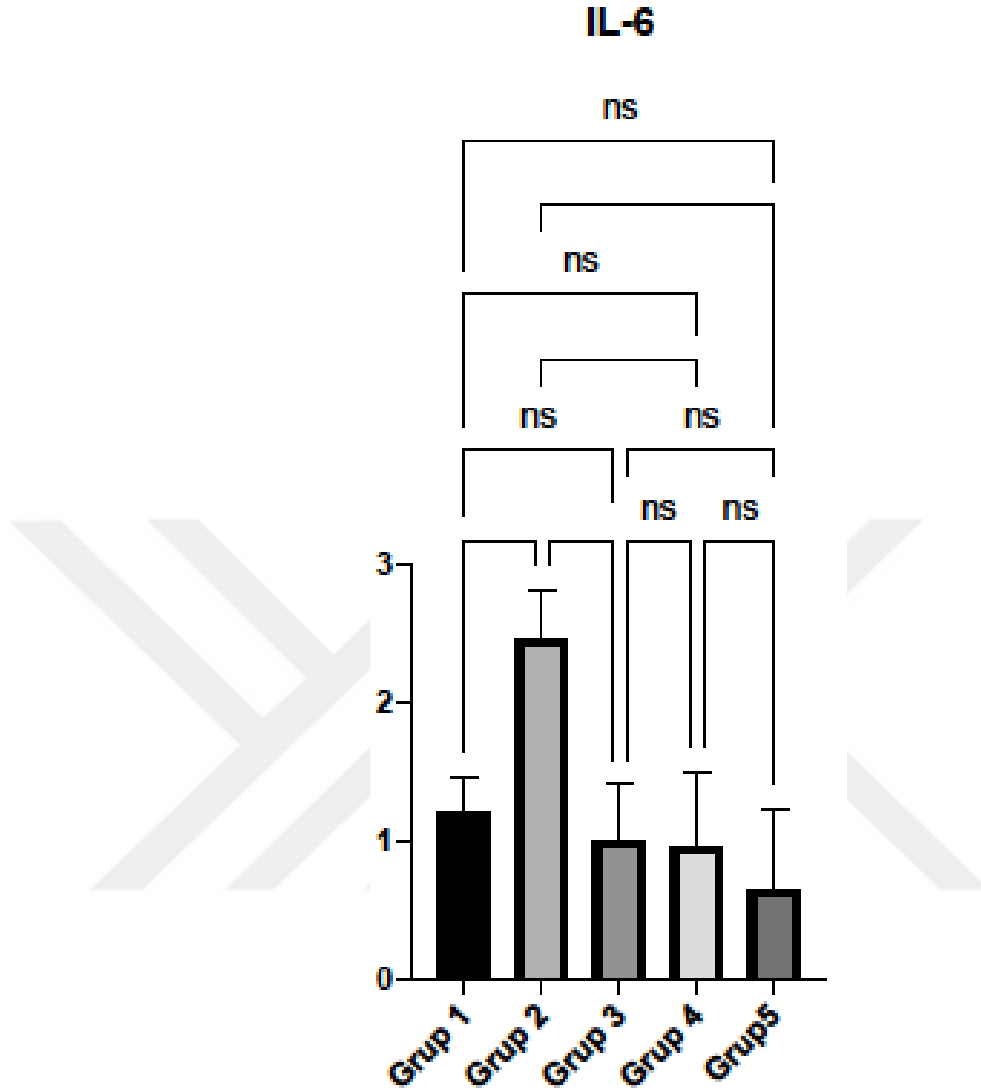
4.2.5. IL-6 immünoreaktivitesi

Sham ve kontrol grubuna göre Sisplatin grubundaki immünoreaktivitedeki anlamlı artış; inflamasyonun ve hemorajinin intersisyonel alan ve abdominal kompartmanda olduğunu gösterdi (Şekil 4.11.B). Sisplatin+Theranekron grubundaki immünoreaktivitesi kontrol ve sham grubuna yakın bir şekilde izlendi (Şekil 4.11.C.). Theranekron grubunda ise hafif bir immünoreaktivite izlendi (Şekil 4.11.A.).



Şekil 4.11: Testis IL-6 immünohistokimya görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu.

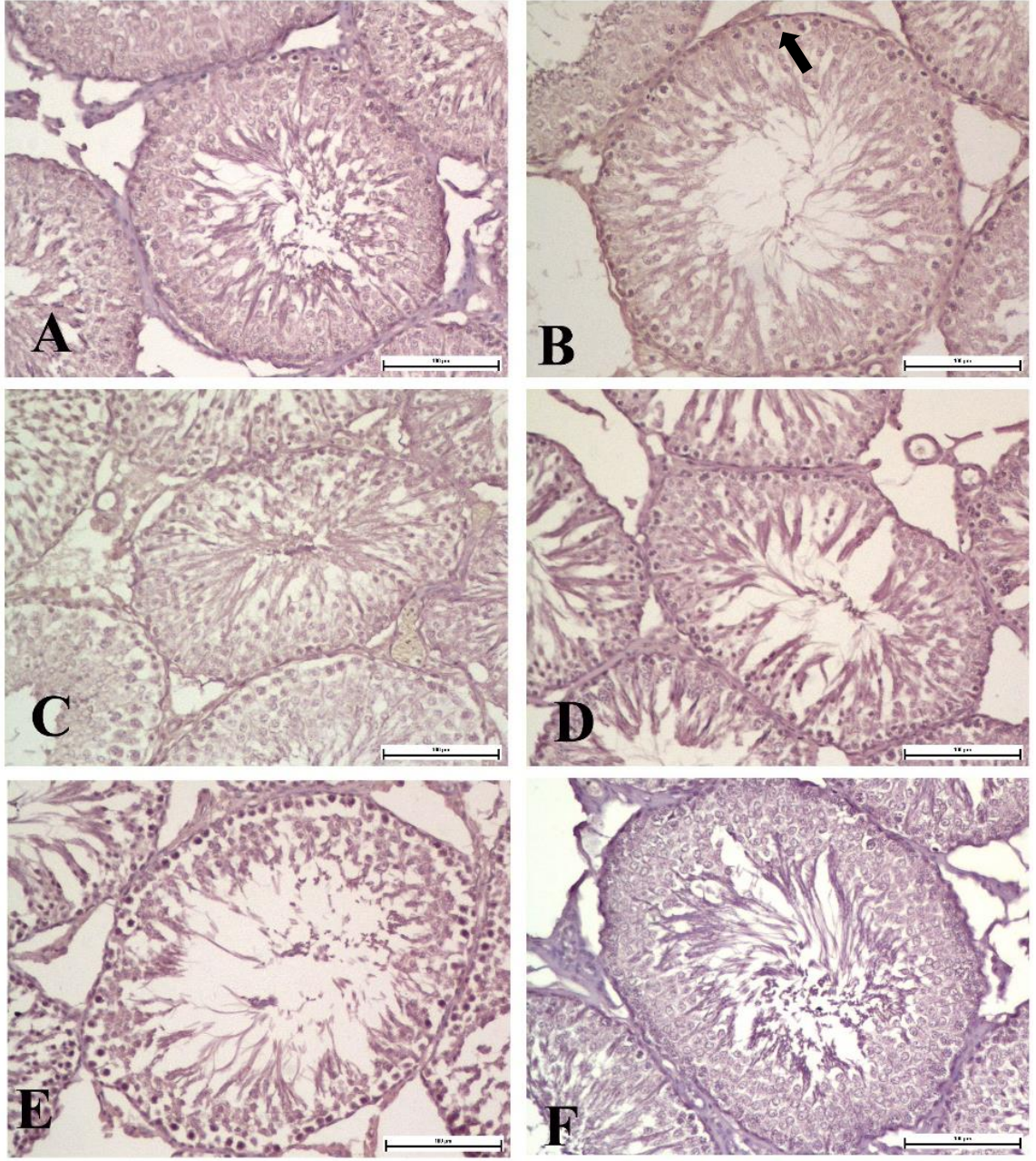
➡ : Pozitif boyanan hücreler



Şekil 4.12: Testis IL-6 immünohistokimyasal boyama sonuçları istatistiksel analizi ($p < 0.05$).

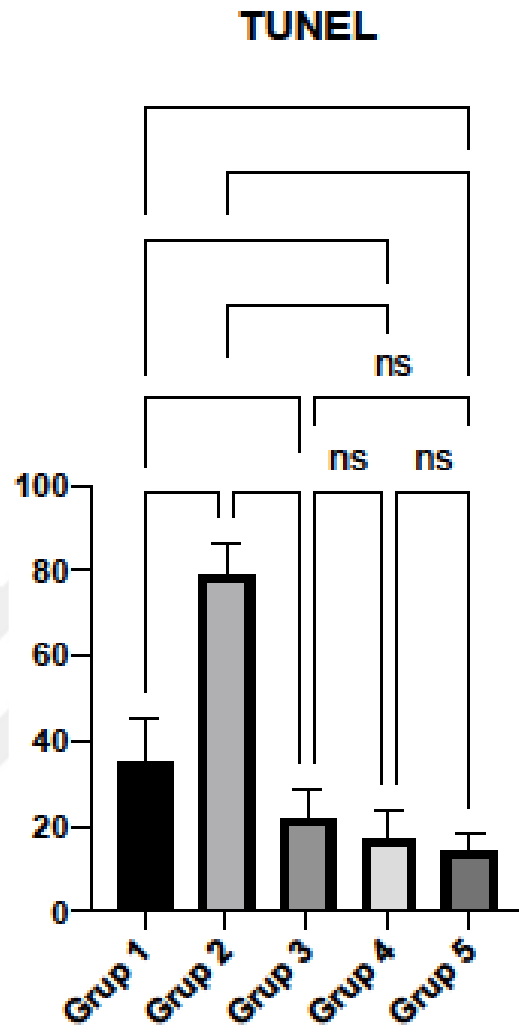
4.3. Tunel Sonuçları

Sisplatin grubunda özellikle spermatogenik seriye ait hücreler ve intersisyel alanda bulunan Leydig, bağ doku hücrelerinde apoptoz ileri bir şekilde izlendi. Böylelikle Sisplatinin akut etkisinin de apoptozu tetikleyebileceği görüldü (Şekil 4.13.B.). Sisplatin+Therane kron grubunda ise bu apoptotik hücrelerin sayılarının azaldığı istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde gösterildi (Şekil 4.14). Sham ve kontrol grubuna yakın bir apoptotik süreç izlendi (Şekil 4.13.C.). Therane kron grubunda ise Sham ve Kontrol grubuna nazaran biraz daha fazla apoptotik hücre izlendi (Şekil 4.13.A.). Negatif kontrol TUNEL boyamamız ise hiç boyanma göstermedi (Şekil 4.13.F.). Böylelikle yaptığımız TUNEL metodunun kontrollü bir şekilde olduğu gösterildi.



Şekil 4.13: Testis Tünel boyaması görüntüleri A. TH grubu, B. CP grubu, C. TH+CP grubu D. Sham grubu, E. Kontrol grubu, F. Negatif kontrol grubu.

➡ : Pozitif boyanan hücreler



Şekil 4.14: TUNEL boyama sonuçları istatistiksel analizi ($p<0.05$)

5. TARTIŞMA

Testis hasarı; çevresel ve kimyasal etmenler, obezite ve kemoterapi gibi nedenlerle günümüzde erkeklerde artış gösteren önemli bir sağlık problemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Bu problemle ilgili çok sayıda koruyucu ve önleyici çalışmalar ve araştırmalar mevcuttur.

Bu çalışmada koruyucu ajan olarak homeopatik bir ilaç olan TH kullanılmıştır. TH, *Tarantula cubensis* adı verilen, koyu kahverengi tüylü bir Küba tarantulasının zehrinden elde edilen homeopatik bir ilaçtır (Richardson Boedler, 2002). Bu ekstrakt, homeopatik ilaçlar arasında yer almakta olup, *Tarantula cubensis* örümceğinin zehrinden alkol ekstraksiyonu yöntemiyle hazırlanır. Veteriner kliniklerinde Theranekron (Richter Pharma, Wels, Avusturya) adıyla satılmakta ve veteriner hekimler tarafından birçok önemli hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Theranekron'un etki mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, immün sistemi uyararak organizmanın yaşama gücünü harekete geçirdiği ve proliferatif lezyonlarda inflamasyonu spontan olarak baskıladığı düşünülmektedir. TH köpeklerde meme tümörünü sınırlandırdığı, sığırlarda tırnak lezyonlarını iyileştirdiği ve çiftlik hayvanlarında meydana gelen nekrotik, inflamatuvar ve kanser gibi hastalıkların tedavisinde başarılı sonuçlar verdiği çalışmalarda gösterilmektedir (Akdağ, 2020).

CP tedavisinden sonra şiddetli dejenerasyon, belirgin atrofi, nekroz gibi ciddi klinik tablolar karşımıza çıkmaktadır. Bu nedenle alternatif kemoterapotikler ve homeopatik ilaçlar yoğun bir şekilde araştırılmaktadır. Bu çalışmalara eşlenik olarak homeopatik ilaç grubuna ait olan TH'un Sisplatinin sebep olduğu hücre ve doku hasarlarına karşı koruyucu etkisini inceledik. Bu amaçla çalışmamızda sıçanlar ile oluşturulan grupları tercih ettik. Ancak literatürde yaptığımız geniş çaplı araştırmada TH ve Sisplatinin kombine kullanılmış olduğu çalışmalara rastlayamadık. Bundan dolayı çalışmamızdaki doz belirlemesini başka çalışmalarda kullanılan dozları göz önünde bulundurarak TH'un dozunu 0,3mg/kg, Sisplatinin dozunu ise 1,5mg/kg olarak belirledik. Sonrasında immünohistokimyasal olarak elimizdeki dokularda, interlökin-1 β , interlökin-6, NF- κ B1, TNF- α , γ H2AX gibi markerların dokulardaki ekspresyonlarını belirlendi ve bu öğeler göz önünde tutulduğunda, yaptığımız çalışmada yepyeni bir yaklaşım gerçekleştirmiş olduk.

TH ve CP kombinasyonu ile parametreler kullanılmak suretiyle çok önemli sonuçlar elde ettik.

Homeopatik ilaçların Sisplatin kaynaklı testis toksisitesine karşı koruyucu ajanlar olarak kullanımı hakkında çok az şey bilinmektedir. Homeopatik ilaç gurubuna ait olan TH'un, Sisplatinin testislerde neden olduğu yaralanmalara karşı etkinliğine ilişkin veri çalışmalarına literatürde rastlanmadığından, Sisplatinin sıçanların seminifer epiteli üzerindeki apoptotik etkisine karşı TH'un sitoprotektif etkisini araştıran bir çalışma yürüttük. Yaptığımız çalışmada, CP tedavisinden sonra şiddetli dejenerasyon, belirgin atrofi, nekroz ve Seminifer tübül çapında ve germinal hücre kalınlığında azalmaları, immün-histokimyasal boyamaların ve istatistiksel verilerin sonuçlarına göre gözlemlemiş ve bu zararın hastaların yetişkin evrelerinde seminal kalitenin bozulması ve üreme kapasitesinin zarar görmesi gibi risklerin olacağı yorumunu yaptırmıştır. TH kullanılan grupta ise, Sisplatinin sebep olduğu toksisiteyi sıçanlarda kısmen önlediği elde ettiğimiz veriler ile göstermektedir. Sonuçlarımız ayrıca TH'un sitotoksik kemoterapötikler tarafından indüklenen testis fonksiyonunun bozulması gibi klinik uygulamalar için önemli bir etkiye sahip olabileceğini de düşündürmektedir.

Bizim çalışmamızda da yalnızca CP kullanılan grupta inflamasyonu ve hücre rejenerasyonu markırlarında artış gözlemlendi. Ayrıca bu grupta hemorajinin ve atrofinin de fazla olduğu ve Seminifer tübüllerin çaplarında daralma olduğu mikroskopik incelemelerde görüldü.

Yapılan bir çalışmada TH'un deneysel sıçan modelin femur kırığı üzerindeki iyileşmesi incelenmiş olup olumlu sonuçlar alınmıştır. Theranekron ile tedavi edilen grubun kontrol grubuna kıyasla radyolojik, biyomekanik, histopatolojik ve immünohistokimyasal olarak daha etkili kırık iyileşmesi gösterilmiştir. Çalışmada özellikle inflamasyonun Theranekron grubunda kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu kaydedilmiştir. Böylece anjiyogenez, fibrozis, osteoblast proliferasyonu, kırıkta ve kemik oluşumu gibi kemik iyileşmesiyle ilgili diğer bulguların Theranekron grubunda daha belirgin olduğu görülmüştür. Bu durum inflamasyon sürecinin Theranekron grubunda daha erken tamamlandığını ve daha hızlı kemik iyileşmesine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (Güven ve ark., 2022). Bizim çalışmamızda TH+CP grubunda sisplatinin olumsuz etkisinin iyileşme yönünde anlamlı bir şekilde arttığı testis

dokusunda görüldü. İnflamasyonun ise CP grubunda belirgin bir şekilde arttığı tedavi grubunda ise bu çalışmayla paralel olarak azaldığı görüldü.

Deneysel olarak oluşturulan yüzeysel dijital fleksör tendonu (SDFT) rüptürü olan tavşanlarda, TH tedavisi inflamasyonu etkili bir şekilde hafifletmiş, klinik semptomları iyileştirmiş ve yaralanan tendonun yapısal organizasyonunu ve biyomekanik özelliklerini olumlu yönde etkilemiştir (Oryan ve ark., 2012). TH ayrıca NF κ B1- sinyal yolu aracılığıyla asetik asit kaynaklı kolon inflamasyonu üzerinde dikkate değer bir anti-inflamatuar ve anti-apoptotik etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Savran ve ark., 2022). Bizim çalışmamızda da NF- κ B1 değerlerinin tedavi grubumuzda aynı şekilde etkilerinin olduğu gözlemlendi ve antiapoptatik etkisini testis dokusu içinde olduğu görüldü.

Başka bir sıçan interstisyel sistit modelinde, intravezikal TH damlatılması, mesane dokusunda IL-6, TNF- α ve MPO gibi inflamatuvar parametreleri azalttığı gösterildi ve TH'un hidrokspirolin ve fibroblast proliferasyonunu artırarak doku iyileşmesini hızlandırdığı görülmüştür (Abdullah ve ark., 2023). Sırt derisinde deneysel olarak oluşturulan yaralara sahip sıçanlarda TH'un epitelizasyonu hızlandırarak yara iyileşmesinin hızlanmasını sağlamıştır (Gul satar ve ark., 2017). Yanık yaralanmaları bağlamında, TH'un staz bölgesinin yaşayabilirliğini artırdığı ve yara iyileşmesini desteklediği gösterilmiştir (Torun ve ark., 2023). Çalışmamızda IL-6 ve TNF- α CP grubunda anlamlı bir şekilde arttığı sham ve kontrol gruplarında normal şekilde kaldığı tedavi grubunda ise bu iki antikorun azaldığı görüldü. Spermatogenik seriyeye ait hücrelerde iyileşme ve intersissiyel alanda meydana gelen kanlanmalarda tedavi grubunda önemli azalmalar görüldü.

Cisplatin (cis-diamminedichloroplatinum-II, CP); yumurtalık, testis, mesane, baş, boyun, akciğer, serviks ve endometriyum kanserleri dahil olmak üzere çeşitli tümörlerin tedavisinde etkili bir antineoplastik ajandır (Chirino ve ark., 2004). Ancak, dozla ilişkili yan etkileri, başlıca reaktif oksijen türlerinin üretimi ve hücre apoptozunun indüklenmesi, tedavinin amacı olmayan hedef olmayan dokulara olumsuz zarar verebilir (Jordan, Carmo-Fonseca, 2000). Cisplatin, birçok kötü huylu tümör türü için önemli bir kemoterapötik ajan olarak kullanılmıştır. Testis kanseri için standart tedavidir ve ayrıca yumurtalık, mesane, serviks, baş, boyun, özofageal ve küçük hücreli akciğer kanseri için de etkilidir (Boulikas ve Vougiouka, 2003; Galluzzi ve ark., 2012). Cisplatinin kötü huylu

tümörleri ortadan kaldırmak için başlıca sitotoksik etkisi, hızla büyüyen hücrelerin DNA' sını bozarak hücre bölünmesine müdahale eder (Cohen ve lippard 2001; Victoria ve ark 2007). Çalışmamızda sisplatin grubunda özellikle γ H2AX immünoaktivitesinin artması testisteki bazal kompartman hücrelerindeki DNA kırıklarıyla korele bir şekilde kendini göstermektedir. Özellikle TH grubundaki γ H2AX immünoaktivitesinin azlığı ilacın hücre DNA'sına etkisini göstermektedir. Ayrıca bize çift iplik DNA kırıklarından bazı hücrelerin geri dönebileceği hissini de uyandırmaktadır.

İnsan üreme sistemi hücrelerinden spermatogoninin sisplatine ve diğer farklı kemoterapi ilaçlarına duyarlılığı bilinmektedir (Meistrich ve ark., 1982). Sisplatin germ hücrelerinin nükleik asit sentezini inhibe ederek spermatogenezi etkilemektedir (Adler ve Tarras, 1990). Sisplatin, Leydig hücrelerinden testosteron salgılanmasını da engellemektedir (Vawda, 1994; Malarvizhi ve Mathur, 1995). Çalışmamızda CP grubunda spermatogenik seriye ait hücrelerde ve intersisyel alanlardaki Leydig hücrelerinde inflamasyonun yoğun olduğu ve spermatogenik seriye ait hücrelerin az olduğu görüldü. Sham ve kontrol grubu değerleri ise tedavi grubuyla yakın bir şekilde olduğu izlendi. TH'un hücre rejenerasyonunu artırdığı izlendi. Ayrıca inflamasyona bağlı hücre kayıplarını azalttığı anlamlı bir şekilde görüldü.

Sisplatin tedavisi sırasında gözlemlenen hormonal düzeylerdeki olağan değişiklikler Leydig hücrelerinde meydana gelen apoptazla ilişkili olduğu görülmüştür (Aydiner ve ark., 1997) ve germ hücrelerinde meydana gelen apoptozun da arttığı izlenmektedir (Zhang ve ark., 2001; Seaman ve ark., 2003). Çalışmamızda özellikle CP grubunda TUNEL pozitif hücrelerin fazla olması hormonal olarak yayınlarla paralel bir şekilde bir yol izlediğimizi göstermektedir. Özellikle tedavi grubundaki TUNEL pozitif hücre sayısı azlığı; TH'un leydig ve germ hücrelerindeki proglamlanmış hücre ölümünü ortadan kaldırdığını göstermekte ve sisplatine bağlı hormonal değişikliklerinde TH ile düzeltilebileceği düşüncesini gösterdi. Bu da ilerdeki çalışmalarda özellikle kadınlar üzerinde kullanımının gerekliliğini bize düşündürdü.

Hastalıklarda meydana gelen inflamasyon birçok doku ve organın işlevini kaybetmesine neden olur. Lokal ve sistemik inflamasyonun ana sitokini olan IL-1 giderek artan hastalığın patolojisinde rol oynadığı bilinmektedir. IL-1 α ve IL-1 β kodlayan iki ilişkili farklı IL-1 geni vardır. IL-1 ler, hemen hemen tüm hücrelerde bulunan IL-1 reseptörü tip

1 (IL-1RI) olarak adlandırılan benzer hücre yüzey reseptörüne bağlanma yapar. IL-1 reseptörüne bağlandıktan sonra, bir dizi inflamatuvar medyatör, kemokin ve diğer sitokinleri tetiklediği bilinmektedir. Sağlıklı bireylerin hücrelerinde IL-1 β bulunmaz ve sitokinin inflamasyonu tetikleyebilmesi için bir dizi hücre içi olaya ihtiyaç vardır. Kan monositleri, doku makrofajları ve dendritik hücreler gibi sınırlı sayıda hücrenin ürünü olan IL-1 β , üretimindeki hız sınırlayıcı adım transkripsiyonu olduğu bilinmektedir. IL-1 β tip 2 diyabet, gut, romatoid artrit, osteoartrit gibi hastalıklarda artış gösterir. IL-1 β , uyarıcı bir mikrobiyal ürün olabilir fakat tümör nekroz faktörü (TNF), IL-18, IL-1 α veya IL-1 β 'nin kendisi gibi sitokinler IL-1 β transkripsiyonunu indüklediği düşünülmektedir (Dinarelli ve ark., 2012). Çalışmamızda TNF- α artışı ve buna bağlı olarak indüklenen interlökin-1 ailesinden olan IL-1 β 'nin artışı özellikle CP grubunda gözlemlenmiştir. Bu da ortamda monositlerin makrofajların ve dentritik hücrelerinin varlığı ile karakterizedir. Sham ve kontrol gruplarında bazal düzeyde görülmektedir. Tedavi grubunda ise özellikle TNF- α nın az olarak boyanması TH'un kan hücreleri üzerindeki olumlu etkilerini göstermekte ve IL-1 β 'ninde salınımını baskıladığını anlamlı bir şekilde göstermektedir.

Yapılan bir tez çalışmasında Hidradenitis Süpürativa'lı hastalarda interlökin-6 ve interlökin-8 düzeyi lezyonel alanda arttığı, sağlıklı gönüllülerde ise azalmış olduğu aynı zamanda bunları indükleyen tümör nekroz faktörün sağlıklı bireylerde azaldığı hastalarda ise apoptozu indüklediği gösterilmiştir (İlyas, 2024). Çalışmamızda TNF- α 'nın özellikle CP grubunda göstermiş olduğu artış TNF'ün indüklediği diğer interlökinlerinde artabileceğini de göstermiş ve buna bağlı olarak hücre ölümünü de arttıracaklarını anlamlı bir şekilde göstermektedir.

Başka bir tez çalışmasında ise endometriyozis olan hastalarda yaptıkları çalışmada TNF- α ve IL-6 ekspresyonlarının, kontrol endometriyumlarında zayıf olarak işaretlenmesine karşın, ektopik endometriyal dokuda, epitel hücreleri ile stromal hücreler ve makrofajlarda güçlü olarak eksprese olması, her iki sitokin de hastalığın oluşumu ve gelişimi sürecinde, birbirleriyle paralel etkilere sahip olabileceklerini düşündürmüştür ve sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde, TNF- α ve IL-6'nın endometriyozis oluşumu ve patogenezinde rol alan önemli sitokinler oldukları kanaatine varmışlardır (Furucu, 2015). Çalışmamızda artış gösteren TNF- α 'nın intersisyel hücreler, bağ doku hücreleri ve spermatogenetik serilerdeki hücrelerdeki artışı CP'e bağlı patogenezlere önemli bir

faktör olduğu görülmüştür. Bu faktöre bağılı olarakta interlökin artışını baskılayan TH'un endometrioziste de baskılayıcı bir etken olabileceğı düşünölmektedir.

Yapılan bir çalışmada Sisplatinle hasarlanan testis dokularında spermatogenik seri hücrelerinde artan şekilde bozulma, seminifer tübüllerin bazal membranlarında bozulma, interstisyel alandaki Leydig hücrelerinde kısmen hasarlanma ve testis tübülleri içerisinde ödem görüldü (Ceylan ve ark., 2018). Çalışmamızda CP grubunda seminifer tübüllerde dejenerasyon ve leydig hücrelerinde hasarlanma aynı şekilde görüldü. TH+CP grubunda bu hücrelerdeki hasarın bazal ölçüde düzeldiğı ve ortamdaki ödemin azaldığı gözlemlendi. Bu da TH'un hücre yenilenmesinde ve ödemin ortadan kalkmasında rol oynadığını bize düşündürdü.

Bostancıeri ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CP uygulanan gruplarda özellikle seminifer tübölün çapı ve germinal epitel kalınlığının arttığı izlenmiş ve buna bağılı olarak germinal epitel dejenerasyonu bazal membranda hücre ayrılması, dev hücre oluşumu, atrofi ve vakuolizasyon gözlemlenmiştir. Sisplatin+Kuersetin grubunda ise kuersetinin atrofiyi, dev hücre oluşumunu ve vakuolizasyonunun önemli ölçüde azalttığını gözlemlemişlerdir (Bostancıeri ve ark., 2021). Kuersetin gibi TH'unda bu yukarıda saydığımız iyileştirici etkileri gösterdiğini düşünmekteyiz. Çalışmamızda özellikle inflamasyonun baskılanmasıyla ortamdaki hasarın azaldığı ve hücre yenilenmesinin arttığını gözlemledik.

Fang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada Sisplatin kaynaklı nefrotoksisitenin inflamatuvar yanıtla ilişkili olduğı gösterilmiştir. Deney grubu böbreklerdeki TNF- α ekspresyonu şiddetli bir şekilde artmış böbrek hasarını daha da ileri götürüp böbrek yetmezliği sonuçlarını doğurmuştur (Fang ve ark., 2021). Bizim çalışmamızda da CP grubu TNF- α ekspresyonu şiddetli bir şekilde artış göstermiş ve spermatogenik seri hücre hasarına neden olmuştur. Özellikle TNF- α artışının meydana getirdiğı hasar Fang ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla korele bir sonuç vermiştir. TH'un TNF- α ekspresyonunu baskılamasıyla bu hasar kısmen ortadan kalkmaktadır. Bu da TH'un inflamasyonu baskıladığının ana göstergelerinden biri olduğunu bize düşündürmektedir.

YU ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CP kaynaklı böbrek hasarında meydana gelen NF- κ B1 artışı hücre ölümüyle sonuçlanmaktadır. Çalışmada verilen tedavi grubundaki Celastrolün NF- κ B1'yı baskıladığı gözlemlenmiş ve bunun bir ilaç olarak

kullanılabileceği sonuçlarına varılmıştır (Yu ve ark., 2018). TH'unda NF- κ B1'yı baskılayarak hücre ölümünü azalttığı çalışmamızda izlenmiş ve TUNEL metoduyla gösterilmiştir, böylelikle TH'unda Celastrol gibi tedavi edici bir ilaç olarak kullanılabileceğini düşünmekteyiz.

Erdemli ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada özellikle CP grubunda Sertoli hücrelerindeki zonula okludens tipi bağlantıların hasarlanmasıyla kan testis bariyer hasarı meydana gelmiştir (Erdemli ve ark.,1999). Çalışmamızda CP grubunda meydana gelen hasarın buna benzer olduğu izlenmiştir ve TH tedavisiyle bu hasarın azaldığı görülmüştür. Bu da TH'un özellikle sertoli hücre-hücre bağlantılarında etkili rol oynayabileceği bize düşündürmektedir.

Zhang ve arkadaşları IL-6 'nın aşırı salgılanmasının; Sertoli hücrelerinin oluşturduğu kan testis bariyerinin bütünlüğünü bozabileceğini ve inflamasyonla birlikte spermatogenezi etkileyebileceğini deneysel olarak göstermişlerdir. Bunu gösterirken de, Mitojenle Aktive Edilen Protein Kinaz (MAPK) 14 sinyal yolağının bozularak hücreler arası sıkı bağlantıların ortadan kalktığını görmüşlerdir (Zhang ve ark., 2014). Çalışmamızda CP grubunda IL-6'nın artışı hücreler arası bağlantıların ortadan kalktığını gösterdi. Bu sonuç bize MAPK sinyal yolağının etkilendiğini düşündürdü. TH+CP grubundaki IL-6 ekspresyonlarındaki azalma kontrol ve sham grubuna yakın olarak bulunmuştur. Bu da bize TH'un MAPK sinyal yolağına bağlı inflamasyonda da etkili bir rol oynayabileceğini düşündürdü.

6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışma sisplatinin üreme hücreleri üzerindeki akut etkisinin Theranekron ile baskılanabileceğini bize gösterdi. Özellikle γ H2AX boyamasının TH+CP grubundaki azalışı ve diğer inflammatik markırların bu gruptaki azalması ilacın ileride tedavi amaçlı da kullanılabileceğini bize düşündürdü. Bunun için daha fazla çalışma yapıp ilacın desteklenmesi gerekmektedir. Ayrıca CP'in üreme hücrelerini apoptotik sürece sürüklediği açıkça görülmekte ve yine bir inflamasyon baskılayıcı olan TH'un bu süreci durdurabileceğini bize düşündürdü. Sisplatinin akut etkisine bağlı olarak dokuda meydana gelen hasarın yine Theranekron ile doku yenilenmesi ve buna bağlı olarak hücre yenilenmesiyle devam etmesi ilacın en olumlu etkileri arasında yer almaktadır. Belki ileriki çalışmalarda infertiliteye olan etkisinin de araştırılması gerekmektedir. Çok yönlü araştırmalar sonucu TH'un kullanım alanının genişleyebileceğini düşünmekteyiz. Bu yönde olan çalışmalarımızda özellikle üreme sağlığı ve kanser konuları olarak devam edecektir.

7. KAYNAKLAR

- Abdullah, A., Cigdem, Y., Tugrul, E., Erhan, A.. (2023). Effect of intravesical tarantula cubensis extract (Theranekron) on inflammation in an interstitial cystitis rat model. *Low Urin Tract Symptoms* 15:63-67.
- Adler ID, El Tarras A. (1990). Clastogenic effects of cis-diamminedichloroplatinum II. Induction of chromosomal aberrations in primary spermatocytes and spermatogonial stem cell of mice. *Mutat Res* 243:173–178.
- Akdağ A. (2020). İnterstisyel sistit rat modelinde intravezikal tarantula cubensis ekstraktının inflamasyona etkisi. *Uzmanlıktezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi.*
- Akşit, H. Bildik, A. (2008). Apoptozis, *YYÜ Vet. Fak. Dergisi*, 19, 1: 55-63 s.
- Aktümsek, A. (2016). *Anatomi ve Fizyoloji-İnsan Biyolojisi. Gözden Geçirilmiş 10. Basım. Nobel Akademik Yayıncılık.*
- Alexopoulou, L., Pasparakis, M., Kollias, G. (1997). Bir fare transmembran tümör nekroz faktörü (TNF) transgeni, kooperatif p55/p75 TNF reseptör sinyalleme yoluyla artriti indükler. *Eur J Immünol.* 27 :2588–92.
- Appenroth, D., Fröb, S., Kertsen, L., Splinter, Fk., Winnefeld, K. (1997). Protective Effects of Vitamin E and C on Cisplatin Nephrotoxicity in Developing Rats. *Arch Toxicol* 71, 677-683.
- Arıncı, K., Elhan, A. (2006). *Kemikler, Eklemler, Kaslar, İçorganlar. Anatomi 1. Cilt. Güneş Kitabevi. Ankara.*
- Arifoğlu, Y. (2017). *Her Yönüyle Anatomi Bölüm 11, 1.Baskı, İstanbul Tıp Kitabevi*
- Aydiner, A., Aytekin, Y., Topuz, E. (1997). Effects of cisplatin on testicular tissue and the Leydig cell-pituitary axis. *Oncology* 54:74–78.
- Azu, O., Duru, F.I.O., Osinubi, A.A., Oremosu, A.A., Noronha, C.C., Elesha, S.O. At Okanlawon, A.O., (2010). Histomorphometric Effects of Kigelia Africana (Bignoniaceae) Fruit Extract on the Testis Following Short-Term Treatment With Cisplatin In Male Sprague-Dawley Rats, *Middle East Fertility Society Journal, Department of Anatomy, Nigeria*, 200-208 p.
- Bash, J., Zong, Wx., Gelinis, C. (1997). c-Rel, HeLa hücrelerinin çoğalmasını durdurur ve G1/S fazı geçişinin kritik düzenleyicilerini etkiler. *Mol Hücre Biol* 17:6526–6536.
- Benveniste, En. (2014). Cytokines. In: *Encyclopedia of the Neurological Sciences.* Elsevier Inc. 921–925.
- Beresford, Wa., (1977). *Lecture Notes On Histology, Blackwell Scientific Publ. Oxford.*
- Bonizzi, G., Karin, M. (2004). İki NF-kappaB aktivasyon yolu ve bunların doğal ve uyarlanabilir bağışıklıktaki rolleri. *Trends Immunol* 25:280–288.
- Bostancıeri, N., Taşlıdere, A., Elbe, H., & Taşlıdere, E. (2021). Protective effects of quercetin against testis damage caused by cisplatin. *Biotechnic & Histochemistry*, 97(3),180–184.
- Boulikas, T., Vougiouka, M.(2003). Cisplatin and platinum drugs at the molecular level. *Review Oncol Rep.* 10 (6): 1663-1682.

- Bradley, Jr. (2008). TNF aracılı inflamatuvar hastalık. *J Pathol*. 214 :149–60.
- Bradley, Jr., Albert, I., Defay, K., Zachariades, N., Gooding, L., Kriegler, M. (1990). Tümör nekroz faktörünün (TNF) salgılanamayan bir hücre yüzeyi mutanti, hücreden hücreye temas yoluyla öldürür. *Hücre*. 63 :251–8.
- Bullani, Rr., Huard, B., Viard-Leveugle, I., Byers, Hr., Irmiler, M., Saurat, Jh., Tschopp, J., French, Le. (2001). Malign melanositik cilt lezyonlarında FLIP'in seçici ifadesi. *J Invest Dermatol* 117:360–364.
- C. Cudicini ve ark.(1997).Çift kültürlü bölme sisteminde kültürlenmiş sıçan Sertoli hücreleri tarafından interlökin 1 ve interlökin 6'nın vektörel üretimi *Endokrinoloji*.
- Caamano, Jh., Perez, P., Lira, Sa., Bravo, R. (1996). Timositlerde Bcl-2'nin yapısal ifadesi, NF-kappaB1 (p50) homodimerlerinin in vivo DNA bağlanmasını artırır. *Mol Hücre Biol* 16:1342–1348.
- Cabannes, E., Khan, G., Aillet, F., Jarrett, Rf., Hay, Rt. (1999). Hodgkin hastalığında Ikbα genindeki mutasyonlar, Ikbα için bir tümör baskılayıcı rolü olduğunu düşündürmektedir. *Onkogen* 18:3063–3070.
- Canooğlu, E., Atatuş, Y., Bekyürek (2010). Organik Hayvancılıkta Veteriner Homeopati, Türkiye 1. Organik Hayvancılık Kongresi, Kelkit.
- Canoz, O., Rassidakis, Gz., Admirand, Jh., Medeiros, Lj. (2004). Lenfoid neoplazmlarda BCL-2'nin immünohistokimyasal tespiti: 353 vakanın incelenmesi. *Mod Pathol* 17:911–917.
- Ceylan, T., Kaymak, E., Yalçın, B., Tan, F.C., Yakan, B. (2018). Sisplatinin oluşturduğu testis hasarı üzerine fenetil esterinin koruyucu etkisinin incelenmesi. 14.ulusal histoloji ve embriyoloji kongresi, Antalya, 10-13 mayıs.
- Charalambous, Mp., Maihofner, C., Bhambra, U., Lightfoot, T., Gooderham, Nj. (2003) Siklooksijenaz-2'nin yukarı regülasyonuna, insan kolorektal kanser epitel hücrelerinde nükleer faktör-kappa B ve I kappa B kinaz-alfanın artan ekspresyonu eşlik eder. *Br J Kanser* 88:1598–1604.
- Chaudhry, H., Zhou, J., Zhong, Y., Ali, M., Mcguire, F., Nagarkatti, Ps., Nagarkatti, M. (2013). Role of Cytokines as a Double-edged Sword in Sepsis. *In Vivo*, 27: 669.
- Chauhan, P., Nair, A., Patidar, A., Dandapat, J., Sarkar, A., Saha, B. (2021). A primer on cytokines. *Cytokine*, 145: 155458.
- Chen, F., Castranova, V., Shi, X. (2001). Nükleer faktör-kappaB'nin hücre büyümesinin düzenlenmesindeki rolüne ilişkin yeni görüşler. *Am J Pathol* 59:387–397.
- Chen, F., Wang, M., O'connor, Jp., He, M., Tripathi, T., Harrison, Le. (2003). PARgamanın aktif ERK1/2 yoluyla fosforilasyonu, bunun p65 ile fiziksel ilişkisine ve NF-kappaB'nin inhibisyonuna yol açar. *Hücre Biyokimyası* 90:732–744.
- Chen, Qm., Tu, Vc. (2002). Apoptoz ve kalp yetmezliği: mekanizmalar ve terapötik çıkarımlar. *Am J Kardiyovasküler İlaçlar* 2:43–57.
- Chirino, Y., Hernandez-Pando, R., Pedraza-Chaverri, J. (2004). Peroxynitrite decomposition catalyst ameliorates renal damage and protein nitration in cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *BMC Pharmacol*. 4:20–29.

- Cogswell, Pc., Guttridge, Dc., Funkhouser, Wk., Baldwin, As Jr. (2000). İnsan meme kanserinde NF-kappa B alt birimlerinin seçici aktivasyonu: NF-kappa B2/p52 ve Bcl-3 için potansiyel roller. *Onkogen* 19:1123–1131.
- Cohen, Sm., Lippard, Sj. (2001). Cisplatin: from DNA damage to cancer chemotherapy. *Prog Nucleic Acid Res* 2001; 67: 93-130.
- Cui, D., Naftel, J., Daley, W., Lynch, J., Hagnes, D., Yang, G., Fratkin, J. (2011). *Atlas of Histology with Functional and Clinical Correlations*. 1rd Ed. Lippincott Williams & Wilkins a Wolters Kluwer Business.
- Çaycı, M.K. (2006). *Hypericum perforatum ve Tarantula cubensis Özülerinin Sıçanlarda Oluşturulan Deneysel Mide Mukozası Hasarına Etkilerinin Histopatolojik Olarak İncelenmesi*. Doktora tezi, Dumlupınar Üniversitesi
- Dağdeviren, A., Biricik, S. (2007). *Fizyoloji Histoloji-Embriyoloji*, 3. Baskı, Klinisyen, İstanbul Tıp Kitabevleri.
- Datta, Sr., Brunet, A., Greenberg, Me. (1999). Hücresel hayatta kalma: Üç Akt'lık bir oyun. *Genler Dev* 13:2905–2927.
- De Visser, Ke., Eichten, A., Coussens, Lm. (2006). Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat. Rev.* (1):24-37. doi:10.1038/nrc1782.
- Demir, R. (1995). *İnsanın Gelişimi Ve İmplantasyon Biyolojisi*, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Deveraux, Ql., Roy, N., Stennicke, Hr., Van, Arsdale T., Zhou, Q., Srinivasula, Sm., Alnemri, Es., Salvesen, Gs., Reed, Jc. (1998). IAP'ler, farklı kaspazların doğrudan inhibisyonu yoluyla kaspaz-8 ve sitokrom c tarafından indüklenen apoptotik olayları bloke eder. *EMBO J* 17:2215–2223.
- Dinarello, C. A., Simon, A., & Van Der Meer, J. W. (2012). Treating inflammation by blocking interleukin-1 in a broad spectrum of diseases. *Nature reviews. Drug discovery*, 11(8), 633–652. <https://doi.org/10.1038/nrd3800>.
- Dinarello, Charles A. (2011). “Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases.” *Blood* vol. 117,14 (2011): 3720-32. doi:10.1182/blood-2010-07-273417.
- Duque, Ga., Descoteaux, A. (2014). Macrophage cytokines: Involvement in immunity and infectious diseases. *Front Immunol*, 5: 117833.
- Duyao, Mp., Kessler, Dj., Spicer, Db., Bartholomew, C., Cleveland, Jl., Siekevitz, M., Sonenshein, Ge. (1992). C-myc promotörünün insan T hücresi lösemi virüsü tip 1 vergisi tarafından transaktivasyonuna NF kappa B aracılık eder. *J Biol Chem* 267 :16288–16291.
- Eissner, G., Kolch, W., Scheurich, P. (2004). Reseptör olarak çalışan ligandlar: TNF süper ailesinin üyelerinin ters sinyalleme, bağışıklık sisteminin esnekliğini artırır. *Sitokin Büyüme Faktörü Rev.* 15 :353–66.
- Erbengi T, (1985). *Histoloji Iı*, Beta Basım Yayın Dağıtım A.Ş, Ankara.
- Erdemli, E., Ergeneci, D., Atahan, Ş., Işıkkay, L. (1999). Cisplatinin Sıçan Böbrek ve Testisleri Üzerine Etkileri. *Ankara Üniversitesi Tıp Mecmuası*. 52: 3.
- Erkoçak, A. (1982). *Özel Histoloji*, 4.Baskı, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Basımevi, Ankara.

- Eroschenko, V. (2016). DiFiore'nin Histoloji Atlası. 12. Baskıdan Çeviri. Palme Yayıncılık.
- Eşrefoğlu, M. (2009). Özel Histoloji, Medipress Matbaacılık, Malatya.
- Eşrefoğlu, M. (2018). Histoloji Atlası. 1.Baskı. İstanbul Tıp Kitabevleri.
- Fajgenbaum, D.C. & June, C. H. (2020). Cytokine Storm. The New England journal of medicine, 383(23), 2255–2273. <https://doi.org/10.1056/NEJMra2026131>.
- Fang, C. Y., Lou, D. Y., Zhou, L. Q., Wang, J. C., Yang, B., He, Q. J., Wang, J. J., & Weng, Q. J. (2021). Natural products: potential treatments for cisplatin-induced nephrotoxicity. *Acta pharmacologica Sinica*, 42(12), 1951–1969. <https://doi.org/10.1038/s41401-021-00620-9>.
- Feldmann, M., Maini, Rn. (2001). Romatoid artrit anti-TNF alfa tedavisi: ne öğrendik? *Annu Rev Immunol.* 19 :163–96.
- Finco, Ts., Westwick, Jk., Norris, Jl., Beg, Aa., Der, Cj., Baldwin, As Jr. (1997) Onkogenik Ha-Ras kaynaklı sinyalleme, hücrel dönüşüm için gerekli olan NF-kappaB transkripsiyonel aktivitesini aktive eder. *J Biol Kimya* 272:24113–24116.
- Florea, Am., Bisselberg, D. (2009). Anti-Cancer Drugs İnterfere With İntracellular Calcium Signaling. *NeuroToxicology.* 30: 803-810.
- Frank, H.Netter., (2015) Atlas Of Human Anatomy 6th Edition.
- Furucu, N.F. (2015). Endometriyotik Dokularda İnterlökin 6 Ve Tümör Nekroz Faktör Alfa Ekspresyonunun İmmünohistokimyasal Olarak Gösterilmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Galluzzi, L., Senovilla, L., Vitale, I., Michels, J., Martins, I., Kepp, O., Castedo, M., Kroemer, G. (2012). Molecular mechanisms of cisplatin resistance. *Oncogene* 2012; 31 (15): 1869-1883.
- Gartner, L.P. At Hiatt, J.L. (2016). Hücre Biyolojisi ve Histoloji(Çev.Ed.: Hürdağ C.) ISBN 978-605-4949-52-6 İstanbul Tıp Kitabevi.
- Gartner, L.P., Hiatt, J.L., (2009). (Çev. Ed.: Dağdeviren A., Müftüoğlu, F.S., Karabay, G.). Renkli Histoloji Atlası, 4.Baskı, Güneş Tıp Kitabevleri, Ankara.
- Georgopoulos, S., Ploughs, D., Kollias, G. (1996). Transmembran TNF, transgenik farelerde lokalize doku toksisitesini ve kronik inflamatuvar aritri indüklemek için yeterlidir. *J Inflamm.* 1996; 46 :86–97.
- Ghosh, S. (2019). Cisplatin: The first metal based anticancer drug. *Bioorganic chemistry*, 88, 102925. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.102925>.
- Gilmore, Td. (1999). Çoklu mutasyonlar, retroviral onkoprotein v-Rel'in onkogenitesine katkıda bulunur. *Onkogen* 18:6925–6937.
- Grivennikov, Sı., Greten, Fr., Karin, M. (2010). Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.* 2010;140 (6):883-99.
- Gul, S., Ny, Cangul, It., Topal, A., Kurt, H., Ipek, V., Onel, Gı.(2017). The effects of Tarantula cubensis venom on open wound healing in rats. *J Wound Care* 26:66-71.

- Güven, N., Özkan, S., Türközü, T., Koç, S., Keleş, Ö. F., Yener, Z., & Karasu, A. (2022). The effect of theranekron on femur fracture healing in an experimental rat model. *Joint diseases and related surgery*, 33(2), 374–384. <https://doi.org/10.52312/jdrs.2022.640>.
- İlyas, H. (2024). Hidradenitis Süpürativalı Hastalarda Dokuda İnterlökin-6, İnterlökin-8 Ve Tümör Nekroz Faktör Benzeri Zayıf Apoptoz İndükleyici (Tweak) Ekspresyonlarının Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi , Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Deri Ve Zührevi Hastalıklar Anabilim Dalı, Edirne.
- Jordan P, Carmo-Fonseca M. (2000). Molecular mechanisms involved in cisplatin cytotoxicity. *Cell Mol Life Sc* 2000; 57 (8-9): 1229-1235.
- Junqueira, L.C. At Carneiro, J.,(2003). Basic Histology Text&Atlas, 10th Edition, Mc Graw Hill Company.
- Junqueira, L.C., (2006). Erkek Üreme Sistemi, Temel Histoloji, (Çev.Ed.: Aytekin, Y.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 512-547 s.
- Junqueira, L.C.Carneiro, J.(2009). Temel Histoloji, (Çev.Ed.: Aytekin Y., Solakoğlu, S., 10. Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul.
- Kamimura, D., Ishihara, K., & Hirano, T. (2003). IL-6 signal transduction and its physiological roles: the signal orchestration model. *Reviews of physiology, biochemistry and pharmacology*, 149, 1–38.
- Kantar, M., Tarladaçalışır, Y. Ve Uygun, M., (2007). Cisplatin Nefrotoksisitesinde E Vitaminin Koruyucu Etkileri; Işık ve Elektron Mikroskopik Çalışma, Tıp Araştırma Dergisi, Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Edirne, 83-90 s.
- Kany S, Vollrath Jt, Relja B (2019). Cytokines in inflammatory disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 20: 6008.
- Karateke, H., (2013). Ratlarda Postnatal Dönemde Testis Dokusu İle Kan Testis Bariyerinin Gelişiminin Histomorfometrik Ve İmmunohistokimyasal Değerlendirilmesi, Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Anatomi (Tıp) Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi-Afyonkarahisar.
- Kayaalp, O., (1994). Tıbbi Farmakoloji, 4. Cilt, Feryal Matbaası, Ankara 1047 s.
- Kayaalp, So., (1998). Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 8.Baskı, Cilt 1-2, Hacettepe - Taş Kitapçılık Ltd. Şirketi, Ankara
- Kaymakçalan Z, Sakorafas P, Bose S, Et Al. (2009). Adalimumab, infliximab ve etanerseptin çözünebilir ve membran tümör nekroz faktörüne bağlanmadaki afiniteleri, aviditeleri ve kompleman aktivasyonunun karşılaştırılması. *Clin Immunol*. 2009; 131 :308–16.
- Kierszenbaum, A. (2006). Histoloji Ve Hücre Biyolojisi. Palme Yayıncılık.
- Kuo, Linda J and Li-Xi Yang.(2008). “Gamma-H2ax - A Novel Biomarker For Dna double-strand breaks.” *In vivo (Athens, Greece)* vol. 22,3 (2008): 305-9.
- Kuruş, M. (2022) Histoloji Kitabı , Akademisyen Kitap
- Larson, Sd., Jackson, Ln., Riall, Ts. (2007). Increased incidence of well-differentiated thyroid cancer associated with Hashimoto thyroiditis and the role of the PI3k / 47 Akt pathway. *Journal of the American College of Surgeons*. 2007; 204.5: 764- 73.

- Lu Li Bir, Masahiro Itoh B, Maila Ablake B, Battesimo Macrì C, Klaus Bendtzen D, Ferdinando Nicoletti. (2002). Rekombinant İnsan İnterlökin-6 ile Fare Deneysel Otoimmün Orşitinin Önlenmesi Cilt 102, Sayı 2, Şubat 2002, Sayfa 135-137, <https://doi.org/10.1006/clim.2001.5155>
- Mahmoud Abu Elhija 1, Hadas Potashnik, Eitan Lunenfeld, Gad Potashnik, Stefan Schlatt, Eberhard Nieschlag, Mahmoud Huleihe. (2005) Testicular interleukin-6 response to systemic inflammation, Jun;16(2):167-72. PMID: 15941689.
- Malarvizhi D, Mathur Pp. (1995). Effect Of Cisplatin On Testicular Function In Rats. Indian J Exp Biol 34:995–998.
- Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. (2008). Cancer-related inflammation. Nature. 2008;454 (7203):436-444.
- Marieb, E. (2000). Essentials Of Human Anatomy And Physiology. 6rd Ed. Addison Welsey Longman Inc.
- Mark P Hedger, Andreas Meinhardt. (2003). Cytokines and the immune-testicular axis, Feb;58(1):1-26. DOI: 10.1016/s0165-0378(02)00060-8.
- Meistrich Ml, Finch M, Cunha Mf, Hacker U, Au Ww. (1982). Damaging effects of fourteen chemotherapeutic drugs on mouse testis cell. Cancer Res 42:122–131.
- Mitoma H, Horiuchi T, Tsukamoto H. (2004). İnfliximab ve etanerseptin transmembran tümör nekroz faktörü-a Gastroenterolojiye bağlanma aktiviteleri. 2004; 126 :934–5.
- Moore Kl, Persaud Tvn, (2002). İnsan Embriyolojisi, 6. İngilizce Baskıdan Çeviri, (Çev. Ed: Yıldırım M., Dalçık H., Okar İ.), Nobel Tıp Kitapevleri, İstanbul.
- Oritani, K., Tomiyama, Y., Paulw. Kincade, Keisuke Aoyama, Takafumi Yokota, Itaru Matsumura, Yuzuru Kanakura, Koichi Nakajima, Toshio Hirano, Yuji Matsuzawa (1999). Hem Stat3 Aktivasyonu hem de Stat3'ten Bağımsız BCL2 Aşağı Regülasyonu, 1A9-M Hücrelerinin İnterlökin-6'nın İndüklediği Apoptozunda Önemlidir. 15 Şubat 1999, Sayfa 1346-1354, <https://doi.org/10.1182/blood.V93.4.1346>.
- Oryan A, Moshiri A, Raayat Ar. (2012). Novel application of Theranekron® enhanced the structural and functional performance of the tenotomized tendon in rabbits. Cells Tissues Organs 196:442-455.
- Ovalle, W.K. Nahırney, P.C. (2009). Netter Temel Histoloji, (Çev. Ed.: Müftüoğlu, S. Kaymaz, F. Atilla P.), Güneş Tıp Yayınevi, İstanbul.
- Ozan, H. (2014). Ozan Anatomi. Klinisyen Tıp Kitabevleri. Ankara.
- Özpek, A. Ö., Altıntaş, L. (2019). Homeopatik remediler. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Bülteni, 10(1), 31-39.
- Özyurtlu, N. (2004). Dişi köpeklerde yalancı gebeliğin sağaltımında homeopati uygulamasının etkisi (Doctoral dissertation, Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü). Palme Yayıncılık.
- Partin, Aw., Dmochowski, Rr., Kavoussi, Lr Pc. (2020). Editör. Campbell-Walsh-Wein Urology. Twelfth Ed. Elsevier; 2020. 6334–6346 s.
- Pekmezci, D., Gültiken, N. (2015). Homeopatinin Prensipleri ve Veteriner Hekimlikte Kullanımı. Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 12(1), 49-56.

- Potashnik H., Mahmoud Abu Elhija, Eitan Lunenfeld, Gad Potashnik, Stefan Schlatt, Eberhard Nieschlag, Mahmoud Huleihel, (2005). Jun;16(2):161-5., Interleukin-6 expression during normal maturation of the mouse testis, PMID: 15941688.
- Qi, L., Luo, Q., Zhang, Y., Jia, F., Zhao, Y., & Wang, F. (2019). Advances in Toxicological Research of the Anticancer Drug Cisplatin. Chemical research in toxicology, 32(8), 1469–1486. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00204>.
- Rao, P., Burnett, A. (2013). Development of the Male Reproductive System. Chapter 2. Springer-Verlag London.
- Resmi Gazete (2014). Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamaları Yönetmeliği Erişim Adresi: <https://www.resmigazete.gov.tr/eskiler//2014/10/20141027-3.htm>.
- Richardson-Boedler, C. (2002). The brown spider *Loxosceles laeta*: source of the remedy *Tarentula cubensis*? Homeopathy, 91(03), 166-170.
- Ross, H.M., and Pawlina, W., (2011). Histology a Text and Atlas, Isbn, 978-1-4511-0150-8, Usa.
- Ross, M. Pawlina, W. (2014). Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas. 6. Baskıdan Çeviri.
- Sadler Tw, (2005). Langman Medikal Embriyoloji, 9. Baskı, (Çev. Ed: Başaklar Ac.), Palme Yayıncılık, Ankara.
- Sadler, T. (2011). Langman Medikal Embriyoloji. 11. Baskıdan Çeviri. Palme Yayıncılık. Ankara.
- Savran, M., Asci, H., Erzurumlu, Y., Ozmen, O., Ilhan, I., Sırın, Mc., Karakuyu, Nf., Karaibrahimoglu, A.(2022).“Theranekron: A novel anti-inflammatory candidate for acetic acid-induced colonic inflammation in rats”. Mol Biol Rep 49:8753-8760.
- Schumacher, D., Strilic, B., Sivaraj, Kk., Wettschureck, N., Offermanns, S.(2013). Plateletderived nucleotides promote tumor-cell transendothelial migration and metastasis via P2Y2 receptor. Cancer cell. 2013;24 (1):130-137.
- Schünke, M., Schulte, E., Schumacher, U. (2007). Prometheus Anatomi Atlası-1. 2007; Cilt, 1. Baskıdan çeviri. Çeviri Editörü Yıldırım M. Nobel Tıp Kitabevi. İstanbul
- Seaman, F., Sawhney, P., Giammona, Cj., Richburg, Jh. (2003). Cisplatin-induced pulse of germ cell apoptosis precedes long-term elevated apoptotic rates in C57/BL/6 mouse testis. Apoptosis 8:101–108.
- Seftalioglu, A. (2003). Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. Dördüncü B. Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi. Tıp Teknik Yayıncılık; 2003. 354–360 s. 26.
- Sheik-Hamond, D., Cacini, W., Buckley, Ar, Isaac, J.,Truong, Ld., Tsao, Cc., Kishore, Bk. (2004). Cellular and Molecular Studies on Cisplatin – İnduced Apoptotic Cell Death in Rat Kidney.Arch Toxicol. 78: 147-155.
- Syed, V., N Gérard, A, Kaipia, C W Bardin, M, Parvinen, B Jégou,(1993). Jan;132(1):293-9.Identification, ontogeny, and regulation of an interleukin-6-like factor in the rat seminiferous tubule, doi: 10.1210/endo.132.1.8380379.
- Tekelioğlu M, (1995). İnsan Üremesi Ve Gelişmesi, Dumat Ofset Matbaacılık.
- Tekelioğlu M, (2002). Özel Histoloji, İnce Yapı Ve Gelişme, Antıp A.Ş. Yayınları.

- Torun, Karadere, M., Acuner, B., Isiktekin, E., Kaymaz, E., Gorgulu, T.(2023). The effect of *Tarantula cubensis* D6 on zone of stasis in a rat burn model. *Burns* 49:444-454.
- Tosun, M. (1998). İnsan Gonadlarının İntrauterin Gelişiminin Histolojik Değerlendirilmesi. Selçuk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi. Konya.
- Vawda A1. (1994). Effect of testosterone on cisplatin-induced testicular damage. *Arch Androl* 32:53–57.
- Victoria Cepeda, Miguel A. Fuertes, Josefina Castilla, Carlos Alonso, Celia Quevedo And Jose M. Pérez(2007). Biochemical Mechanisms of Cisplatin Cytotoxicity. *Anticancer Agents Med Chem* ; 7 (1): 3-18.
- Visser Ke, Eichten A, Coussens Lm.(2006). Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nat Rev Cancer* ; 6: 24-37.
- Vivian Barak , Yehuda Shoenfeld (1999). Cytokines in Autoimmunity, Pages 313-322, <https://doi.org/10.1016/B978-044482824-8/50038-5>.
- Yakışık, M., Özfiliz, N., Erdost, H., Zık, B. (2005). Veteriner Embriyoloji. Genişletilmiş 2. Baskı. Uludağ Üniv. Veteriner Fakültesi Yayınları. Bursa.
- Yiğit, N. (2003). Örümcek zehirlerinin antimikrobiyal aktivitesi. *Mikrobiyo. Derg*, 1(3), 1-9.
- Yu, X., Meng, X., Xu, M., Zhang, X., Zhang, Y., Ding, G., Huang, S., Zhang, A., & Jia, Z. (2018). Celastrol ameliorates cisplatin nephrotoxicity by inhibiting NF-κB and improving mitochondrial function. *EBioMedicine*, 36, 266–280. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2018.09.031>.
- Zhang X, Yamamoto N, Soramoto S, Takenaka I. (2001). Cisplatininduced germ cell apoptosis in mouse testes. *Arch Androl* 46:43–49.
- Zhang, H., Yin, Y., Wang, G., Liu, Z., Liu, L., & Sun, F. (2014). Interleukin-6 disrupts blood-testis barrier through inhibiting protein degradation or activating phosphorylated ERK in Sertoli cells. *Scientific reports*, 4, 4260. <https://doi.org/10.1038/srep04260>.
- Zhang, Junlin Et Al.(2016). “γ-H2AX responds to DNA damage induced by long-term exposure to combined low-dose-rate neutron and γ-ray radiation.” *Mutation research. Genetic toxicology and environmental mutagenesis* vol. 795 (2016): 36-40. doi:10.1016/j.mrgentox.2015.11.004.
- Zhao H, Wu L, Yan G, Chen Y, Zhou M, Wu Y, Li Y (2021). Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 6: 1–46.

ÖZGEÇMİŞ





T.C.
AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu
(AKUHADYEK)

Sayı: 49533702/ 39

Tarih : 18/04/2023

Konu: AKUHADYEK-33-23 Referans nolu araştırma
Dr. Öğr. Üyesi Mahmut Mustafa ÖZKUT
AFSÜ, Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji AD.

Üniversitemiz Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'na sunmuş olduğunuz "*Sisplatinin Testis Üzerindeki Hücresel Hasarına Karşı Theranekromin Koruyucu Etkisi*" isimli araştırma projesi AKUHADYEK yönetmeliğine ve evrensel etik ilkelere uyumlu olduğuna karar verilmiş ve onaylanmıştır.

Görevi	Adı	İmza	Görevi	Adı	İmza

SİSPLATİNİN TESTİS ÜZERİNDEKİ HÜCRESEL HASARINA KARŞI THERANEKRONUN KORUYUCU ETKİSİ

ORJİNALLİK RAPORU

% 17	% 16	% 3	% 2
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	acikbilim.yok.gov.tr İnternet Kaynağı	% 8
2	iksadyayinevi.com İnternet Kaynağı	% 2
3	adudspace.adu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
4	acikerisim.aku.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
5	www.dicle.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	ihslc.mehmetakif.edu.tr İnternet Kaynağı	% 1
7	libratez.cu.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
8	dergipark.org.tr İnternet Kaynağı	<% 1
9	veteriner.fusabil.org İnternet Kaynağı	<% 1

10	dspace.ankara.edu.tr İnternet Kaynağı	<% 1
11	core.ac.uk İnternet Kaynağı	<% 1
12	Dinçel, Seher. "Tüp Bebek Laboratuvar Uygulamalarında Sperm Hazırlama Yöntemlerinin IVF Başarısı Üzerine Etkileri", Sakarya Üniversitesi (Turkey), 2022 Yayın	<% 1
13	Submitted to İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
14	Submitted to The Scientific & Technological Research Council of Turkey (TUBİTAK) Öğrenci Ödevi	<% 1
15	docplayer.biz.tr İnternet Kaynağı	<% 1
16	www.slideshare.net İnternet Kaynağı	<% 1
17	link.springer.com İnternet Kaynağı	<% 1
18	tur.bizdeekspres.com İnternet Kaynağı	<% 1
19	9lib.net İnternet Kaynağı	<% 1

Submitted to Aksaray Aniversitesi

20	Öğrenci Ödevi	<% 1
21	Submitted to Gaziantep Aniversitesi Öğrenci Ödevi	<% 1
22	TOPAL, Turgut, UÇAR, Muharrem, GÜÇGELDİ, Ercan, YAREN, Hakan, KURT, Bülent, OĞUR, Recai and KORKMAZ, Ahmet. "Bir kimyasal savaş ajanının böbrekler üzerindeki akut toksitesinin araştırılması", Türk Silahlı Kuvvetleri, 2007. Yayın	<% 1
23	www.em-consulte.com İnternet Kaynağı	<% 1
24	Baran, Burcu. "Metotreksatin Neden Olduğu Testis Hasarında Quercetin'in Etkilerinin Histolojik Olarak İncelenmesi", Dokuz Eylül Üniversitesi (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
25	Durmuş, Elif. "Sperm Hareketliliğinin Belirlenmesinde Makler Sayım Kamarası ve Islak Preparat ile Elde Edilen Sonuçların Tutarlılık Düzeyleri", Balıkesir University (Turkey), 2024 Yayın	<% 1
26	Genç, Yavuz. "Deneysel Olarak oluşturulan Diyabet Modelinde Etil pirüvat'ın sıçan	<% 1

Testisine Etkisinin İncelenmesi", Dokuz Eylül
Universitesi (Turkey), 2024

Yayın

- | | | |
|----|--|------|
| 27 | dspace.balikesir.edu.tr
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 28 | Avcı, Filiz. "Adenin indüklediği kronik böbrek yetmezliğinde adropin ve speksinin inflamatuvar yollara etkisinin belirlenmesi", Amasya University (Turkey), 2024
Yayın | <% 1 |
| 29 | as-proceeding.com
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 30 | openaccess.ogu.edu.tr:8080
İnternet Kaynağı | <% 1 |
| 31 | Atasoy, Nureddin. "Cinko Oksit Nanopartikülleri Ve Siklofosfamidin SiCanlarda Testis Histolojisi, Apoptozis Ve Oksidan-Antioksidan Degerler Uzerine Etkisi", Necmettin Erbakan University (Turkey)
Yayın | <% 1 |
| 32 | Coskun, Melis Debreli. "NF-κB ve oksidatif stresin inhibisyonu ile peripheral noropatinin iyileştirilmesi ve kanser kemoterapi sonuçlarının geliştirilmesi", Bursa Uludag University (Turkey), 2021
Yayın | <% 1 |

- 33 Gündüz, Gizem. "Hiperglisemi Modeli Oluşturulmuş Zebra Balıklarında Porphyromonas Gingivalis'in Virulans Faktörlerinin İnflamatuvar Yanıt Üzerine Etkilerinin İncelenmesi", Marmara Üniversitesi (Turkey), 2023
Yayın <%1
-
- 34 apk.kku.edu.tr
İnternet Kaynağı <%1
-
- 35 patents.google.com
İnternet Kaynağı <%1
-
- 36 pdffox.com
İnternet Kaynağı <%1
-
- 37 sen, Esra. "Sican Ovaryum Dokusunda Doksorubisin İle İnduklenmiş Folliküler Apoptotik Aktivasyonda Dialil Disulfit'in Koruyucu Etkisi", Bursa Uludag University (Turkey), 2021
Yayın <%1
-

Alıntıları çıkart

üzerinde

Eşleşmeleri çıkar

Kapat

Bibliyografayı Çıkart

üzerinde