

**T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜŐÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ERİŞKİN ERKEK SIÇANLARDA METOTREKSAT KAYNAKLI
TESTİS HASARINDA KURKUMİNİN ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEZEN ATAL

DANIŐMAN: PROF. DR. VAROL ŞAHİNTÜRK

OCAK 2014

T.C.
ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜŐÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

ERİŞKİN ERKEK SIÇANLARDA METOTREKSAT KAYNAKLI
TESTİS HASARINDA KURKUMİNİN ETKİSİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

SEZEN ATAL

DANIŐMAN: PROF. DR. VAROL ŞAHİNTÜRK

OCAK 2014

KABUL VE ONAY SAYFASI

Sezen ATAL'ın Yüksek Lisans/Doktora Tezi olarak hazırladığı "Erişkin Erkek Sıçanlarda "Metotreksat Kanynaklı Testis Hasarında Kurkuminin Etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirerek "KABUL" edilmiştir.

17.01.2014

Üye : Prof. Dr. Cengiz BAYÇU

Üye : Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK

Üye : Prof. Dr. Kubilay UZUNER

Üye : Prof. Dr. Emel ULUPINAR

Üye : Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 24.01.2014 tarih ve ...9871...4580 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof Dr. Kazım ÖZDAMAR
Enstitü Müdürü

ÖZET

Erişkin erkek sıçanlarda metotreksat kaynaklı testis hasarında kurkuminin etkisi

Metotreksat, kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan kemoterapotik bir maddedir. Ayrıca testis üzerinde de toksik bir etki göstermektedir. Hücre ve dokular, meydana gelen bu toksik etkilerden kurkumin gibi antioksidan sistemlerle korunabilirler. Bu çalışmada, metotreksat ile oluşturulan sıçan testis hasarına karşı kurkuminin etkilerinin ortaya konulması amacıyla 28 adet Spraque-Dawley türü sıçan kullanıldı. Sıçanlar her grupta 7 erişkin erkek sıçan olacak şekilde kontrol, 20 mg/kg metotreksat, 200 mg/kg kurkumin, 20 mg/kg metotreksat+200 mg/kg kurkumin verilen grup olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Deney sonunda sıçanların vücut ve testis ağırlıkları ölçüldü ve karşılaştırmalar yapıldı. Sol testisler doku takip işlemi için Bouin çözeltisi içerisine, sağ testisler ise %10' luk formaldehit içerisine alındı ve rutin histolojik işlemlerden sonra bloklandı. Elde edilen parafin bloklardan 3 µm kalınlığında seri kesitler alındı ve testislerden alınan kesitler Hematoksilin + Eozin ve Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilin ile boyanarak mikroskopik incelemeleri yapıldı.

Çalışmanın sonucunda elde ettiğimiz bulgulara göre, metotreksatın vücut ağırlığını azalttığı, testiste seminifer tübüllerde ve hücrelerde hasara yol açarak spermatogenezi etkilediği gözlemlendi. Metotreksat ile birlikte verilen kurkuminin ise testiste oluşan bu hasarı azalttığı gözlemlendi.

Anahtar Sözcükler : Metotreksat, Kurkumin, Sıçan, Testis

SUMMARY

Effect of curcumin on methotrexate induced testicular injury in adult male rats.

Methotrexate is a frequently used chemotherapeutic agent, it also has toxic effect on testes. Cells and tissues may be protected from these toxic effects by antioxidant substances like curcumin. In this study, 28 Sprague - Dawley rats were used to determine the effects of curcumin on methotrexate induced testicular damage in rats. Rats were divided into 4 groups as control, 20 mg/kg methotrexate, 200 mg/kg curcumin, 20 mg/kg methotrexate + 200 mg/kg curcumin, including 7 adult male rats in each group. At the end of administration period, body and testes weights were measured and compared to each other. Left testes were put into Bouin solution, right testes were put into 10% formaldehyde for tissue processing and blocked after the routine histological procedures. Serial sections with 3 μ m thickness were obtained from those paraffin blocks and microscopical examinations were performed on sections of testes after stained by Hematoxyline + Eosine and Periodic Acid- Schiff + Hematoxyline.

Results showed that methotrexate causes the loss of body weight in rats. Methotrexate also affects the spermatogenesis by damaging the seminiferous tubule and cells. On the other hand, it was observed that administration of curcumin together with methotrexate might reduce this damage in rat testicle.

Key words : Methotrexate, Curcumin, Rat, Testes

İÇİNDEKİLER	SAYFA
KABUL VE ONAY SAYFASI	İV
ÖZET	V
SUMMARY	VI
TABLolar DİZİNİ	XI
ŞEKİLLER DİZİNİ	XII
SİMGELER VE KISALTMALAR	XIV
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. TESTİS ANATOMİSİ	4
2.2. Testisin Embriyolojisi	8
2.3. Testisin Histolojisi	12
2.3.1. Seminifer tübüller	13
2.3.1.1. Miyoid hücreler	14
2.3.1.2. Sertoli hücreleri	15
2.3.1.3. Spermatogonyumlar	17
2.3.1.4. Primer ve sekonder spermatositler	17
2.3.1.5. Erken ve geç dönem spermatidler	18
2.3.1.6. Spermatozoon (olgun spermatozoa)	19
2.3.2. İnterstisyel alan	20
2.3.2.1. İnterstisyel bağ dokusu	20
2.3.2.2. Leydig hücreleri	20
2.3.3. Spermatogenez	21
2.3.3.1. Spermatositogenez	22

	SAYFA
2.3.3.2. <i>Mayoz bölünme</i>	23
2.3.3.3. <i>Spermiyogenez</i>	23
2.3.3.3.1. <i>Golgi fazı</i>	24
2.3.3.3.2. <i>Başlık (Cap) fazı</i>	25
2.3.3.3.3. <i>Akrozom fazı</i>	25
2.3.3.3.4. <i>Olgunlaşma fazı</i>	26
2.4. Testisin Histofizyolojisi	27
2.5. Kanser ve Kemoterapi	28
2.5.1. Antineoplastik (Antikanser) İlaçlar	30
2.5.2. Antimetabolitler	33
2.6. Metotreksat	35
2.6.1. Metotreksatın Etki Mekanizması	35
2.6.1.1. <i>Metotreksatın antiproliferatif etkisi</i>	37
2.6.1.2. <i>Metotreksatın antiinflamatuar etkisi</i>	38
2.6.1.3. <i>Metotreksatın immunmodülatör etkisi</i>	38
2.6.2. Metotreksatın Farmakokinetik Özellikleri	38
2.6.3. Metotreksatın Endikasyonları	41
2.6.4. Metotreksatın Yan etkileri	41
2.7. Serbest Radikaller	43
2.8. Oksidatif Stres	45
2.9. Antioksidanlar	46
2.10. Kurkumin	47
2.10.1 Kurkuminin Fonksiyonel Özellikleri	48
2.10.2 Kurkuminin Antioksidan Etkisi	52

	SAYFA
3. GEREÇ VE YÖNTEM	54
3.1. Deney Hayvanları	54
3.2. Kimyasallar	55
3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü	55
3.4. Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması	56
3.5. Dokuların Alınması	56
3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü	56
3.7. Testis Ağırlık İndeksinin Hesaplanması	57
3.8. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması	57
3.9. Boyaların Hazırlanması	59
3.9.1. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilin (PAS+H) boyasının hazırlanışı	59
3.10. Kesitlerin Alınması ve Boyanması	59
3.11. Histolojik Değerlendirme	62
3.12. İstatistiksel Analiz	62
4. BULGULAR	63
4.1. Vücut Ağırlığı	63
4.1.1 Başlangıç vücut ağırlığı	63
4.1.2 Deney sonu vücut ağırlığı	64
4.2. Sağ Testis Ağırlığı	67
4.3. Sol Testis Ağırlığı	69
4.4. Toplam Testis Ağırlığı (TTA)	70
4.5. Testis Ağırlık İndeksi (TAİ)	71
4.6. Mikroskopik İnceleme	72
4.6.1. Kontrol grubu	72

	SAYFA
4.6.2. Metotreksat grubu	73
4.6.3. Kurkumin grubu	74
4.6.4. Metotreksat + Kurkumin grubu	74
5. TARTIŞMA	86
5.1. Vücut Ağırlığı	86
5.2. Testis Ağırlığı	87
5.3. Mikroskobik İnceleme	89
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	93
KAYNAKLAR DİZİNİ	96
ÖZGEÇMİŞ	105

TABLolar DİZİNİ**SAYFA**

Tablo 1. Antimetabolit ilaçlar	33
Tablo 2. Doku takip yöntemine ait süreler	58
Tablo 3. Hematoksilin Eozin boyama yöntemi basamakları süreleri	60
Tablo 4. PAS+H boyama yöntemi basamakları süreleri	61
Tablo 5. Gruplara göre deney öncesi vücut ağırlıkları farkları	63
Tablo 6. Gruplara göre deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları farkları	65
Tablo 7. Gruplar arasında deney sonu vücut ağırlıkları farkları	66
Tablo 8. Sıçanların gruplarına göre sağ testis ağırlıkları	68
Tablo 9. Sıçanların gruplarına göre sol testis ağırlıkları	69
Tablo 10. Sıçanların gruplarına göre toplam testis ağırlıkları	70
Tablo 11. Sıçanların gruplarına göre testis ağırlık indeksi	71

ŞEKİLLER DİZİNİ

SAYFA

Şekil 1. Erkek üreme sistemi	4
Şekil 2. Testisin anatomik yapısı	6
Şekil 3. Yolk kesesi duvarında oluşan primordial germ hücreleri	9
Şekil 4. Seminifer tübül epiteli	13
Şekil 5. Olgun spermatozoon.....	19
Şekil 6. Germ hücrelerinin geçirdiği evreler	22
Şekil 7. Spermiyogenezin aşamaları.....	24
Şekil 8. Metotreksatın kimyasal yapısı.....	35
Şekil 9. Folik asitin kimyasal yapısı	35
Şekil 10. Dihidrofolatın molekül yapısı	36
Şekil 11. Kurkuminin moleküler yapısı.....	47
Şekil 12. Demetoksikurkuminin moleküler yapısı	48
Şekil 13. Bisdemetoksikurkuminin moleküler yapısı.....	48
Şekil 14. Kurkuminin keto enol form molekül yapısı	49
Şekil 15. Kurkumin ve tetrahidrokurkuminin moleküler yapıları	50
Şekil 16. Kurkumin ve metabolitlerinin moleküler yapıları.....	51
Şekil 17. Sıçanların deney öncesi vücut ağırlıkları	64
Şekil 18. Sıçanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları.....	65
Şekil 19. Sıçanların deney sonrası vücut ağırlıkları	67
Şekil 20. Sıçanların sağ testis ağırlıkları.	68
Şekil 21. Sıçanların sol testis ağırlıkları	70
Şekil 22. Sıçanların toplam testis ağırlıkları.....	71
Şekil 23. Sıçanların gruplarına göre testis ağırlık indeksi	72
Şekil 24. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü..	75
Şekil 25. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü..	76
Şekil 26. Metotreksat verilen gruba ait testis kesiti.....	77
Şekil 27. Metotreksat verilen gruba ait testis kesiti.....	78
Şekil 28. Metotreksat verilen gruba ait testis kesiti.....	79
Şekil 29. Kurkumin verilen gruba ait testis kesiti	80

Şekil 30. Kurkumin verilen gruba ait testis kesiti	81
Şekil 31. Kurkumin verilen gruba ait testis kesiti	82
Şekil 32. Metotreksat+Kirkumin grubuna ait testis kesiti	83
Şekil 33. Metotreksat+Kirkumin grubuna ait testis kesiti	84
Şekil 34. Metotreksat+Kirkumin grubuna ait testis kesiti	85

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat Derece
µm	Mikrometre
ABP	Androjen bağlayıcı protein
AMH	Antimüllerian hormon
ATP	Adenozin tri fosfat
cAMP	Döngüsel adenozin monofosfat
cm	Santimetre
CMN	Kurkumin
DHFR	Dihidrofolat redüktaz
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
FA	Folik asit
FH ₂	Dihidrofolat
FH ₄	Tetrahidrofolat
FSH	Folikül stimulan (uyarıcı) hormon
g	Gram
H	Hematoksin
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
hCG	İnsan koryonik gonadotropin hormonu
H-E	Hematoksin-Eozin
i.p.	İntraperitoneal (periton içi)
KAT	Katalaz
Kg	Kilogram
LH	Luteinizan hormon
MDA	Malondialdehit
mm	Milimetre
MTX	Metotreksat
NADPH oksidaz	Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz
O ²⁻	Süperoksit anyonu

OH	Hidroksil
PAS	Periyodik asit Schiff
RA	Romatoid artrit
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
SRY	Y kromozomunun cinsiyeti belirleyen bölgesi
TAİ	Testis ağırlık indeksi
TBF	Testis belirleyici faktör
THF	Tetrahidrofolat

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser dünyada en önemli insan sağlığı problemlerinden birisidir. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2001 kayıtlarına göre dünyada her yıl 10 milyon kişi kanser tanısı almakta ve 6 milyon kişi de kanserden ölmektedir. Kanseri; hücrelerin çoğalmasını (proliferasyonunu), farklılaşmasını (differansiyasyonunu) ve ölümünü kontrol eden genlerin hastalığı olarak tanımlamak mümkündür (77, 86).

Kanserin vücuda verdiği zararların yanı sıra kanser tedavi yöntemlerinin de vücut üzerine yan etkileri vardır. Kanserin tedavi yöntemleri kemoterapi, kemik iliği transplantasyonu (KİT), kök hücre nakli, cerrahi tedavi ve radyoterapi olup, kanser tanısı konan hastaların bireysel özellik ve hastalık durumuna göre bu yöntemlerden bir veya birkaçı tedavide kullanılmaktadır (121).

Kemoterapi ilaçlarının verilmiş amacı, hızla bölünen kanserli hücrenin bölünmesini engellemektir. Ancak ilaç, hızlı olarak bölünen malign hücreler ile bağırsak ve ağız mukoza epiteli, kemik iliğinin hematopoietik hücreleri ve kıl folikülü hücreleri, testisin germinatif epiteli, embriyo ve fetüs hücreleri gibi bulunan normal hücreler arasında bölünmeyi engelleme açısından da bir ayırım yapmaz. Bu nedenle kemoterapi ilaçları tedavi etmenin yanı sıra ağrı, yorgunluk, bulantı-kusma, ruhsal değişiklikler, iştahsızlık, nefes darlığı, cilt ve tırnaklarda değişiklikler, ağızda yara, ellerde uyuşma gibi yan etkilere de yol açar (14, 121).

Kemoterapi ilaçlarının; spermatogenez, sperm kalitesi, germ hücreleri ve kan-testis bariyerine verdiği zararlar ile erkek bireylerde infertiliteye neden olduğu bilinmektedir (91).

Kemoterapötik ajanlar çeşitli kanser tiplerinin tedavisinde kullanılmakta olup; alkilleyiciler, antimetabolitler, mitotik inhibitörler, antibiyotikler, enzimler, hormonlar ve hormon antagonistleri gibi çeşitli kategorilere ayrılırlar ve bu ajanların etki mekanizmaları birbirinden farklıdır (60).

Antimetabolit ilaçlar; folik asit, pürin ve pirimidin antagonistleri olup, hücre döngüsünde “S” fazına etkilidirler. Bu da şu demektir; kemik iliği, kıl kökleri ve spermatojenik hücreler gibi hızlı bölünen hücrelerde görülen çoğalma kapasitesi yüksek tümörlerde etkilidirler (16).

Bir folik asit (FA) antagonisti olan metotreksat (MTX); lösemi, lenfoma, osteosarkom, baş ve boyun tümörleri, akciğer kanseri, meme kanseri ve bazı diğer kanser tiplerinde kemoterapotik ajan olarak kullanıldığı gibi; antimetabolit özelliğinden başka antiinflamatuvar, antiproliferatif, immünosupresif, antipsöriatik etkinlikleri de bulunmakta ve klinikte halen bu endikasyonlarda kullanılmaktadır (37).

Metotreksatın neden olduğu oksidatif strese bağlı testiküler hasar, direkt olarak spermatojenik hücreler ve Sertoli hücreleri üzerinde olmakta, aynı zamanda Leydig hücrelerinde de fonksiyon bozukluğu ve bağlı olarak testosteron seviyesinde azalma yaratmaktadır. Kemoterapotik ilaçların zararlı etkilerine çok duyarlı olan spermatojenik hücrelere verdiği zararlar nedeni ile metotreksat; infertiliteye yol açabilecek ajanlar arasında belirtilmiştir (76, 126).

Kemoterapi uygulanan hastalarda, kemoterapinin oksidatif stres artışına ve ayrıca, antioksidanlarda kayba yol açabildiği bildirilmiştir. Antioksidanların, kemoterapi ile ilgili bazı toksik etkileri azaltabileceği ileri sürülmüştür. Birçok yayında antioksidanların kemoterapiye bağlı toksisite şiddetini ve sıklığını azalttığı bildirilmektedir (92). Antioksidanlar, serbest oksijen radikallerinin etkilerini ortadan kaldırmak için çeşitli savunma mekanizmaları geliştirmiştir. Antioksidanlar lipid peroksidasyonunu engellemeleri yanında protein, nükleik asitler ve karbonhidratların korunmasını sağlarlar. Serbest radikaller ve reaksiyon ürünleri biyomoleküller, fagositler ve myofibroblastların aktivitelerini artırır (43).

Kurkumin, genellikle literatürde turmeric (*Curcuma longa*) ya da halk arasında zerdeçal veya safran olarak bilinen antioksidan bir maddedir. Klinikteki etkileri çok popüler bir ajan olan kurkuminin antioksidan, antikanserojen, antidiyabetik, antiviral,

antibakteriyel, antiinflamatuvar, antinosiseptif ve antimutajenik etkileri ile ilgili çok sayıda çalışma mevcuttur (43, 65, 68).

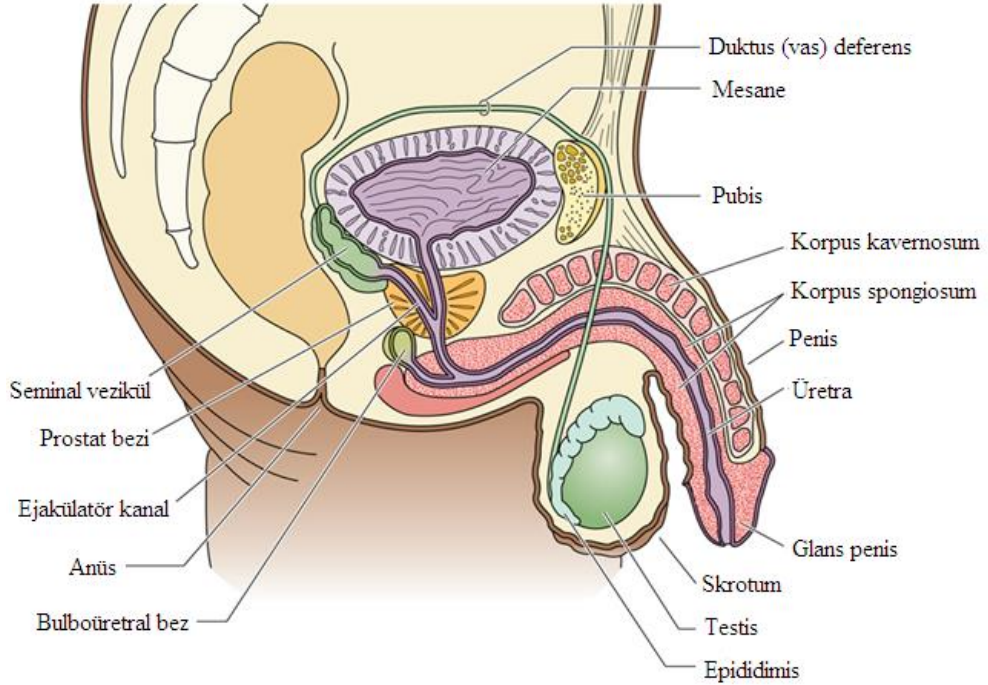
Yapılan çalışmalarda kurkuminin; antioksidan özelliği sayesinde testiküler hasarın onarılmasında rol aldığı, spermatojenik hücre korunmasında ve testosteron hormon seviyesine olumlu etkileri ile infertilite tedavisinde yararlı olabileceği belirlenmiştir (50, 94).

Yapılan literatür taramasında testis dokusunda metotreksat tarafından oluşturulan toksisite üzerine, gonadlara olumlu etkilerinin olduğu bilinen kurkumin etkisini ortaya koyan bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu çalışmanın amacı; sıçan testis dokusunda deneysel olarak oluşturulmuş metotreksat toksisitesi üzerine kurkuminin nasıl bir etki göstereceğini ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis Anatomisi

Testisler karın boşluğunun dışında skrotum içinde oblik pozisyonda yer alan ovoid şekilli bir çift organ olup funiculus spermaticus'a asılıdırlar. İnsanlarda yaklaşık 4-5 cm uzunluğunda, 2,5 cm eninde ve 20-30 g ağırlığındadırlar. Büyüklükleri yaklaşık olarak aynı olsa da sola göre sağ testis % 10 kadar daha ağırdır. Genellikle sol testis sağa göre 1 cm daha aşağıdadır. Sıcaklıkları vücut sıcaklığından 3-4°C daha düşüktür. Kıvrımlı bir deri kesesi olan skrotumun iç yüzü skrotal septum (septum scrotum) ile iki ayrı bölüme ayrılır (Şekil 1). Testisler bu boşluklarda bulunurlar. Testisler, testosteron hormonu ile erkek üreme hücresi olan sperm üretiminden sorumludurlar (11, 32, 71, 95, 113).

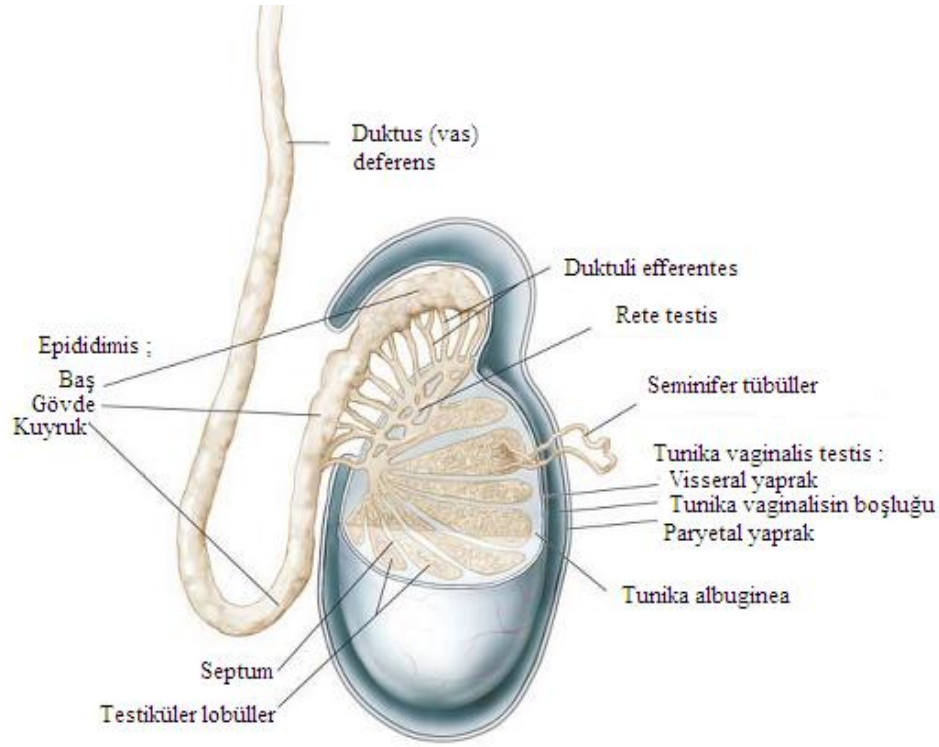


Şekil 1. Erkek üreme sistemi (39).

Testislerin facies medialis ve facies lateralis adı verilen iki yüzü, margo anterior ve margo posterior adı verilen iki kenarı, extremitas superior ve extremitas inferior adı verilen iki ucu vardır. Testislerin arka kenarının dış kısmı boyunca epididimis yer alır; funiculus spermaticus da, epididimisin medyalinde olmak üzere, margo posterior'da bulunur. Testislerin ön kenarı her iki yüzü ve uçları visseral periton (epiorchium) ile örtülüdür. Periton, arka kenarın sadece yan kısmını örtmektedir (11, 32, 113).

Testisler fetal hayatta karın boşluğu içinde, fascia transversalis ile periton arasında gelişir, ancak doğumdan önce canalis inguinalis'ten geçerek skrotum içine iner. Karın ön duvarından skrotuma doğru giderken karın ön duvarı tabakalarını da birlikte sürüklediği için testislerin dış tarafında, karın ön duvarı tabakalarına da uzantıları olan tabakalar yer alır. Bu tabakalar şunlardır :

- a) Deri
 - b) Tunika dartos
 - c) Fasia spermatika eksterna
 - d) Fasia kremasterika
 - e) Fasia spermatika interna
 - f) Tunika vaginalis testis (6, 11, 24, 25, 71)
- } Skrotum



Şekil 2. Testisin anatomik yapısı (109).

Testis dıştan içe; tunika vaginalis' in lamina visceralis' i (epiorchium), tunika albuginea ve tunika vasculosa olarak üç tabaka ile sarılıdır (Şekil 2) (11, 95).

Karın boşluğundan skrotum içine geçiş yolu olan canalis inguinalis, fetal hayatta testisten skrotumun iç yüzüne uzanan ve gubernaculum testis adı verilen fibröz bir yapı ile belirlenir. Fetal gelişimin daha sonraki dönemlerinde peritonun parmak şeklinde bir çıkıntısı olan processus vaginalis, gubernaculum testis'i izleyerek karın ön duvarından geçer ve skrotuma inişine öncülük eder. Processus vaginalis bu geçiş sırasında karın ön duvarı tabakalarını da birlikte sürükler. Normal durumda testisler doğumdan hemen önce bu yolu takip ederek canalis inguinalis'ten geçer ve skrotuma iner. Processus vaginalis ise doğumdan kısa bir süre sonra kapanır. Bu nedenle testisin etrafında processus vaginalis'in kalıntısı olan bir tabaka kalır. Bu tabakaya tunika vaginalis testis adı verilir (6, 11, 113).

Tunika vaginalis testisin lamina visceralis (epiorchium) ve lamina parietalis (periorchium) olmak üzere iki yaprağı vardır. Lamina visceralis, sadece testisin ön

kenarını ve iki yüzünü örter; arka kenarın medyal ve lateral taraflarında ise kendi üstüne kıvrılarak lamina parietalis ile devam eder. Lamina parietalis ise testisin alt kısmından üst kısmına doğru, hatta funiculus spermaticus'un ön ve iç tarafının da kaplayacak şekilde, bir miktar yukarıya doğru uzanır. Tunika vaginalis testisin lamina parietalis ve lamina visceralis'i arasında potansiyel bir boşluk ve bu boşluk içinde de çok az miktarda seröz bir sıvı bulunur (32, 71, 113). Sinus vaginalis'teki az miktardaki sıvı parietal ve visseral yaprakları birbirinden ayırarak testisin skrotum içinde serbestçe hareketini sağlar (6, 11).

Tunica albuginea, testisleri örten kalın, fibröz bir tabaka olup, elastikiyeti ve genişleme özelliği olmayan bu tabaka, arka kenardan testis içine sokulur ve vertikal bir bölme oluşturur. Bu bölmeye mediastinum testis adı verilir. Mediastinum testis, testis'in extremitas superior'undan extremitas inferior yakınına kadar uzanır. Mediastinum testis'in ön ve yan kısmından çıkan uzantılara septula testis adı verilir. Bu uzantılar, testis parankiminden geçerek tunika albuginea'nın iç yüzüne ulaşır ve böylece testisi koni biçiminde lobüllere böler (lobuli testis). Testis parankimini lobuli testis içinde bulunan ve kıvrımlı şeklinden dolayı tubuli seminiferi contorti adı verilen kanalcıklar oluşturur. Her biri testis kanalcığı, mediastinum testis yakınında tubuli seminiferi recti adı verilen düz bir kanalcıkla uzanır. Bütün lobüllerden gelen bu kanalcıklar mediastinum'a sokulur ve burada rete testis denilen ağı oluşturur. Lobuli testislerde yapılan spermiumlar rete testis'ten ductuli efferentes testis adı verilen kanallar aracılığı ile epididimise gelir (6, 11, 71, 95, 113). Spermiler, kısa düz borucuklarla (tubuli seminiferi recti) rete testis'e bağlanan tubuli seminiferi contorti'lerde oluşur (11).

Tunica vasculosa, testisin damar ağından oluşan ve tunika albuginea'nın iç yüzünü örten tabakasıdır. Bu tabaka tunika albuginea'nın uzantısı olan septula testislerin iç yüzünü kapladığı için lobuli testis'lerin de etrafında bir tabaka oluşturur (71).

Arterleri: Sağ ve sol a. testicularis'ler (aorta abdominalis'in dalı) (71). Uzun ve ince aa. testiculares aorta abdominalis'in anterolateral yüzünden a. renalis'in hemen

altından çıkar. Eğik bir seyirle retroperitoneal bölgeye (peritoneum'un dışı veya arkası) geçerek üreter ve aa. iliacaе externaе'in alt bölümünü çaprazlayarak anulus inguinalis profundus'a ulaşır. Aa. testiculares, anulus inguinalis profundus'lardan kanala girip burada ilerler. Sonra anulus inguinalis superficialis'ler aracılığıyla kanaldan çıkıp testisleri beslemek için funiculus spermaticus'a girer. A. testicularis veya dallarından biri a. ductus deferentis ile anastomoz yapar (6, 11, 71).

Venleri: Her bir testisin arka tarafından çıkan küçük 8 ila 12 ven birleşerek plexus pampiniformis adı verilen venöz ağı oluştururlar (6, 11). Plexus pampiniformis testisin termoregülatör sisteminin bir bölümü olarak bezi sabit ısıda tutar (95). Plexus pampiniformis, funiculus spermaticus içinde yükselir ve canalis inguinalis'ten geçerek karın boşluğuna ulaşır. Plexus pampiniformis'i oluşturan venler daha yukarıda birleşerek v. testicularis'i oluşturur. v. testicularis dextra, v. cava inferior'a; v. testicularis sinistra ise v. renalis sinistraya dökülür (11, 32, 95, 113).

Lenfatikleri: Yüzeysel lenf damarları tunika vaginalis testis'in altında, derin lenf damarları ise testis ve epididimisin içinde yer alır. Bu damarlar funiculus spermaticus ile birlikte karın boşluğuna geçer. Sonuçta nodi aortici laterales ve nodi preaortici'ye açılır (71, 95).

Sinirleri: Testisleri inerve eden sinirler medulla spinalis'in 10-11. torakal segmentlerinden gelir. Bu sinirler plexus aorticus ve plexus renalis içinden geçer ve testisleri besleyen damarların çevresinde organa ulaşır (11, 32). Testis otonom sinirlerle vagal parasempatik ve sempatik lifler a. testicularis etrafında plexus testicularis'i oluşturur (11, 113).

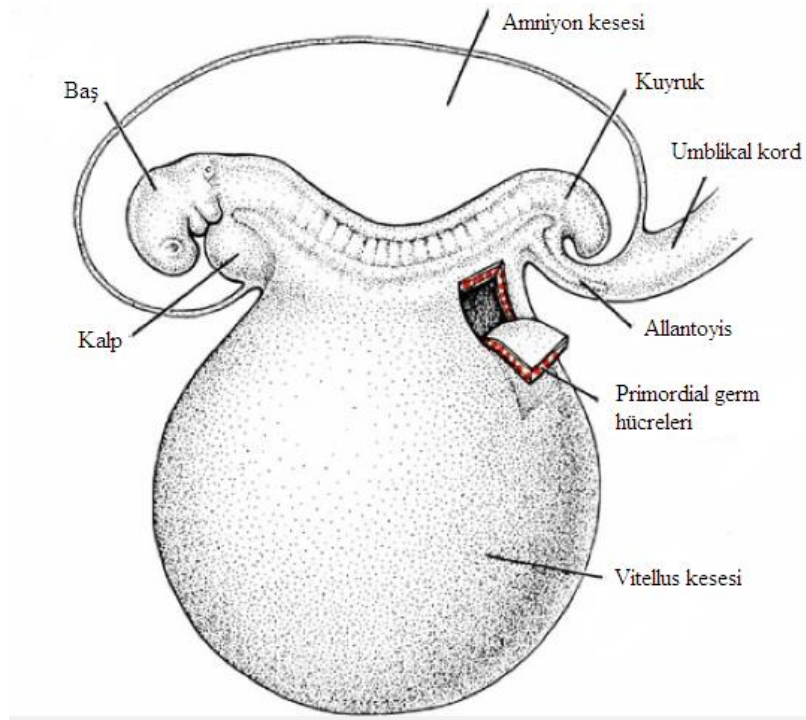
2.2. Testisin Embriyolojisi

Embriyonun cinsiyeti, ovumu dölleyen sperm çeşidi ile dölleme sırasında belirlenmiş olsa da, morfolojik özellikleri, embriyo döneminin 7. haftasına kadar

gelişime başlayamazlar. Genital sistem erken dönemde her iki cinstede birbirine benzer, bu nedenle genital sistemin bu aşaması “seksüel gelişimin farklanmamış safhası” olarak adlandırılır ve gonadlara da “farklanmamış gonadlar” adı verilir (17, 54).

Gonadlar (testisler ve overler) üç kaynaktan köken alırlar (Şekil 3) :

- Karın arka duvarını döşeyen mezotel (mezodermal epitel)
- Altındaki mezenşim (embriyonik bağ dokusu)
- Primordial germ hücreleri (54)



Şekil 3. Yolk kesesi duvarında oluşan primordial germ hücrelerinin konumunu gösteren üçüncü haftanın sonunda bir embriyo (93).

Gonadal gelişimin ilk safhaları 5. haftada ortaya çıkar, mezonefrozun medyalinde, mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Bu epitelin altındaki mezenşimin çoğalması ile mezonefrozun medyalinde bir kabarıklık (gonadal kabartı) oluşur. Parmak şeklindeki epitelyal kordonlar (gonadal kordonlar) altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyürler. Farklanmamış gonad, dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulladan oluşmaktadır. Eğer embriyo XX seks kromozom kompleksine sahip ise, farklanmamış gonadın korteksi ovaryuma farklılaşır, medullası geriler. Embriyo XY seks kromozom kompleksini içermekteyse, medulla testise farklılaşır, korteks bir takım kalıntıları bırakarak geriler, dejenere olur (54, 66, 112).

Primordial germ hücreleri 4. hafta başında vitellüs kesesi duvarında, allantoyisin başlangıç yerine yakın, endodermal hücreler arasında ortaya çıkarlar. Embriyonun katlanması sırasında, vitellüs kesesinin dorsal parçası embriyo içerisine dahil olması ile, primordial germ hücreleri de arka bağırsağın dorsal mezenteri boyunca gonadal kabartılara göç ederler. 6. hafta sırasında primordial germ hücreleri altındaki mezenşim içerisine girerler ve gonadal kordonlara dahil olurlar (25, 54).

Eğer embriyo genetik olarak erkekse, primordial germ hücrelerinin cinsiyet kromozomları XY'dir. Testis belirleyici faktörü kodlayan Y kromozomu üzerindeki SRY geninin etkisiyle, primitif cinsiyet kordonları testis veya medüller kordonları oluşturmak üzere, çoğalmaya devam edip medullanın derinliklerine doğru ilerler. Bu kordonlar bezin hilusuna doğru, daha sonra rete testis tübüllerini oluşturacak ince hücre sıralarından ibaret bir ağ şeklinde dağılırlar. Gelişimin daha ileri evrelerinde testis kordonlarının yüzey epiteli ile olan ilişkileri tunika albuginea adlı yoğun fibröz bir bağ dokusunun araya girmesiyle sona erer (24, 66, 93).

Gonadal sırtın orjinal mezenşiminden köken alan interstisyel Leydig hücreleri testis kordonlarının arasında bulunur ve bu kordonların farklanmaya başlamasından hemen sonra gelişmeye başlarlar. Embriyo gelişiminin 8. haftasında, Leydig hücreleri testosteron üretmeye başlarlar. İnsan koryon gonadotropin hormonu (hCG) testosteron üretimini uyarır. Testisler artık genital kanal ve dış genital organların cinsiyetini etkileyecek hale gelmiştir (93, 112).

Testosterona ek olarak, fetal testisler, glikoprotein yapıda bir hormon olan antimülleryan hormon (AMH) veya mülleryan inhibitör madde (MİM) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. AMH, Sertoli hücreleri (destek hücreleri) tarafından salgılanır ve hormonun salınması ergenliğe kadar devam eder, daha sonra ise seviyesi azalır. AMH, uterus ve tuba uterinalara farklılaşan, paramezonefroz kanallarının (Müller) gelişimini baskılar (54).

Dördüncü ayda, testis kordonları at nalı şeklini alır ve bu at nalının uçları rete testis ile devam eder. Bu durumda testis kordonları artık primitif germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken almış Sertoli destek hücrelerinden meydana gelmiştir (66, 93).

Puberteye kadar solid halde kalan testis kordonları pubertede lümenleri açılarak seminifer tübüller haline gelirler. Seminifer tübül duvarında iki tip hücre bulunur :

- Sertoli hücreleri, destek hücreleri olan bu hücreler, testisin yüzey epitelinden gelişir.
- Spermatogonia, primordial sperm hücreleri olan bu hücreler, primordial germ hücrelerinden farklıdır (54).

Seminifer tübüller kanalize olur olmaz rete testis tübüleriyle birleşir ve duktuli eferenslere girerler. Bu eferent duktuslar mezonefrik sistemin geride kalmış boşaltım tübülleridir. Duktus deferens olarak bilinen bu kanallar, rete testis ile mezonefrik veya Wolffian kanallarını birbirine bağlarlar (93).

Testisler, genellikle 26. haftada başlayan ve 2-3 gün devam eden, inguinal kanallardan geçerek skrotuma iniş süreci yaşamaktadırlar. Testisler, periton ve processus vaginalis dışından geçerler, skrotuma girdikten sonra, inguinal kanal, spermatik kord etrafında kasılır. Terminde doğmuş yeni doğanların %97'sinden fazlasında, her iki testis de skrotum içerisinde. Doğumdan sonraki ilk üç ay içerisinde, inmemiş testislerin çoğu skrotuma iner. Testislerin skrotuma inişinde, fetal testislerce üretilen androjenler sayesinde kontrol edilmesinin yanında; fetal pelvisin

genişlemesi, embriyonun boyutlarının uzaması, karın içi organların büyümesi ve karın içi basıncın artmasının rol oynadığı düşünülmektedir (54, 66).

2.3. Testisin Histolojisi

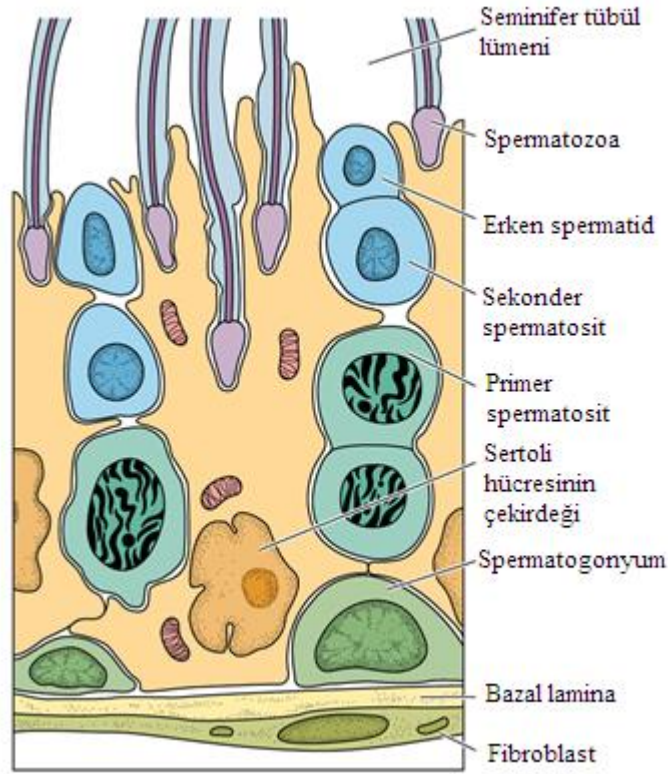
Testisler, epididimis ve vaza deferensin başlangıç kısmı tunika vaginalis denilen mezotelyum boşluğu içine alan deriyle kaplı bir cep olan skrotal kese içinde yer alırlar (1). Testisler, embriyolojik gelişim sırasında karın boşluğunun arka duvarında retroperitoneal olarak gelişirler. Fetüsün gelişmesi sırasında göç ederler ve skrotum içinde spermatik kordonların uçlarında asılı olarak bulunurlar. Skrotuma doğru gerçekleştirdikleri bu göç nedeniyle her bir testis kendisiyle birlikte peritonu, tunika vaginalis adı verilen seröz bir kese şeklinde skrotum içine sürükler. Tunika vaginalis dışta parietal, içte visseral bir tabakadan oluşur ve testisin ön ve yan kısımlarında tunika albugineayı örter (40, 54).

Testisler, tunika albuginea adı verilen yoğun bağ dokusundan oluşan kalın bir kapsül ile çevrilidir (54, 90). Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testis adı verilen yapıyı oluşturur. Buradan bezin içine giren fibröz uzantılar(septum), bezi testis lopçukları / bölmeleri denilen yaklaşık 250 adet piramidal bölmeye ayırır. Bu uzantılar kesintisiz değildir ve çoğunlukla bölmeler birbiriyle bağlantılıdır. Her lobülde gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 adet seminifer tübül yer alır (82). Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler, makrofajlar ve Leydig hücreleri adı verilen interstisyel hücreleri içerir. Seminifer tübüller erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretirken, interstisyel hücreler testis androjenlerini salgılar (1, 40, 54, 90).

Tunika albugineanın altında damardan zengin gevşek bir bağ dokusu olan tunika vasküloza yer alır (90). Tunika vasküloza, tunika albugineanın testis içindeki uzantılarının iç yüzeyini örter ve tunika vasküloza bütün tübülleri dıştan sarar (40).

2.3.1. Seminifer tübüller

Her testiste yaklaşık 250-1000 seminifer tübül bulunur (54). Her bir seminifer tübül; çapları yaklaşık 150-250 μm ve boyları 30-70 cm olan; iki ucu U şeklinde ve rete testise açılan tüplerdir (40, 54, 90). Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 metredir (54). Tübüller kıvrımlıdır ve uçlarına doğru lümeni daralarak düz tübüller ya da tubuli rekti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eden kangallar şeklinde uzanır. Bu düz tübüller, seminifer tübülleri rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlar (54). Rete testis, seminifer epitelin ürünlerini (testiküler sperm, salgısal proteinler ve iyonlar) toplayan kanallar ağıdır (1). Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık 10-20 adet duktuli efferentes ile epididimin baş kısmına bağlanmaktadır (Şekil 4) (54, 110).



Şekil 4. Seminifer tübül epiteli (39).

Seminifer túbüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal membran ve karmaşık bir germinal ya da seminifer epitelden oluşur. Seminifer túbülü saran fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal membrana yapışık olan en içteki katman, düz kas özellikleri de gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir. Seminifer túbüllerin arasındaki boşluğu kan damarları, lenfatik kanallar veya sinüzoidler, makrofajlar ve androjen üreten hücre grupları olan interstisyel (Leydig) hücreleri doldurur (1, 40, 54).

Seminifer epitelde iki tip hücre vardır: Sertoli ya da destek hücreleri ile spermatogenez serisini oluşturan hücreler (spermatogonyumlar, spermatositler ve spermatidler). Spermatogenez serisinin hücreleri 4-8 tabaka halinde düzenlenmiştir; fonksiyonları spermatozoonları üretmektir. Spermatozoonlar üretimi spermatogenez olarak adlandırılır. Bu süreç, mitoz ve mayoz hücre bölünmeleri içerir ve hücreler sonunda spermatozoonlara farklılaşır; bu aşama spermiyogenez olarak adlandırılır (54, 109).

2.3.1.1. Miyoid hücreler

Miyoid hücreler hareketsiz spermleri rete testise ilerleten ritmik kasılma aktivitelerinden sorumludurlar. Spermler epididimal kanaldan geçtikten sonra ileri motilite özelliklerini kazanırlar (1).

Peritübüler doku olarak da adlandırılan tunika propria, esas olarak fibroblast içeren çok katlı bir bağ dokusudur. Seminifer túbül etrafını çevreleyen 3-5 kat miyoid hücre ve kollajen fibril katmanından oluşmaktadır (90).

Bazı hayvanlarda miyoid hücreler ultrastrüktüel olarak incelendiği zaman, sitoplazmasında çok sayıda aktin filamentleri içermesi ve bazal membrana sahip olması ile düz kas hücrelerine benzediği ortaya konmuştur. Fibroblastlarında bulunan düz endoplazmik retikulum içermeleri sayesinde kollajen sentezinde görev almaktadır (40, 90).

Spermatozoon ve testiküler sıvının seminifer túbüllerden duktus epididimise ulaşması miyoid hücrelerin ritmik kasılma hareketi ile peristaltik hareketin sağlanması ile gerçekleşir (90).

2.3.1.2. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri; spermatogenez serisindeki hücreleri saran, bazal membrandan seminifer túbül lümenine doğru uzanan uzun, piramidal hücreler olup, túbüller arası boşluk ve seminifer túbül lümeni arasında köprü hücreler olarak görev yaparlar (1, 54, 90).

Sertoli hücreleri puberteye kadar seminifer epitelin dominant hücre tipidir. Puberteden sonra postmitotiktir, seminifer túbülleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluşturur. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatojenik hücre popülasyonu düştüğü zaman, Sertoli hücreleri tekrar epitelin ana elemanı haline gelir. Erişkin testisinde mitotik hücre bölünmesi gözlenmez (1, 90).

Işık mikroskopunda, gelişmekte olan spermatojenik hücelere kriptalar sağlayarak ev sahipliği yapmak için çok sayıda yan uzantı bulundurması nedeniyle, Sertoli hücrelerinin sınırları iyi belirlenemez. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda, bu hücrelerin genişlemiş düz endoplazmik retikulum ve dar granüllü endoplazmik retikulumu, iyi gelişmiş Golgi kompleksi, mitokondri, lizozomlar ve lipid damlacıkları ve zengin bir hücre iskeleti (vimentin, aktinimikrotübüller) içerdiği gösterilmiştir. Sıklıkla üçgen biçiminde olan uzanmış çekirdeğinde çok sayıda girinti, belirgin çekirdekçik ve az miktarda heterokromatin bulunur (1, 40, 54, 90).

Bazolateral bölgelerinde, Sertoli hücreleri komşu Sertoli hücreleri ile okludens bağlantıları oluştururlar. Bu bağlantılar; seminifer epiteli bir bazal ve adluminal kompartımana böler ve gelişmekte olan spermatojenik hüceleri otoimmün reaksiyonlardan koruyan kan-testis bariyeri olarak da adlandırılan elemanları belirlerler (1).

Sertoli hücrelerinin şu fonksiyonları vardır :

- Gelişmekte olan spermatojenik hücrelerin desteklenmesi, korunması ve beslenmesinin düzenlenmesi,
- Spermiyogenezin sonunda spermatidler tarafından atılan rezidüel (artık) cisimcikler olarak adlandırılan fazla hücre kısımlarını fagositoz ile elimine edilmesi,
- Olgun spermatidlerin aktin-aracılı kasılmalarla, spermiyasyon denilen bir süreç, seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaştırılması,
- Gelişmekte olan spermatozoidler ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan koruyan kan-testis bariyeri olarak da adlandırılan bazolateral (alt yan yüz) bağlantılar ile kandaki zararlı maddelere karşı korunması,
- Seminifer tübül lümenine genital kanallar yönünde akan ve sperm taşınması için kullanılan bir sıvı salgılanması,
- Anti-Müllerian hormon üretimi sayesinde erkek fetüste Müller kanallarının gerilemesinin sağlanması,
- Seminifer tübül içinde spermatogenez için gerekli olan testosteronunun yoğunlaşmasını sağlayan androjen-bağlayıcı proteinin (ABP) salgılanması.,
- İnhibin ve aktivin altünitelerini (α ve β alt üniteleri) salgılayarak hipotalamus ve ön hipofizden salınan gonadotropin salgılatıcı faktör ve FSH salınımı üzerine negatif ve pozitif feedback (geri etkili) bir etki gösterilmesi,
- Üreme hücrelerine demir taşıdığına inanılan testiküler transferrinin sentezlenmesi ve salgılanmasında görev alınması (1, 22, 40, 54).

2.3.1.3. Spermatogonyumlar

Spermatogonyumlar bazal kompartmanda bazal membran ile direkt ilişkide olan yaklaşık 12 µm çapında diploid spermatojenik hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların altında yer alır ve bu nedenle kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar.

Spermatogonyumlar; spermatogonyal kök hücreden köken alır ve puberte çağında mitoz bölünmeyle çoğalmaya başlar ve yeni hücreler oluşur (1, 54).

Yeni oluşan hücreler iki yoldan birini izleyebilir: A tipi spermatogonyumlar (insan testislerinde A koyu ve A açık spermatogonyumlar olarak gözlenir) olarak da adlandırılan kök hücreler olarak bölünmeyi sürdürebilir ya da sürmekte olan mitoz döngüleri boyunca farklılaşarak B tipi spermatogonyumları oluştururlar. B tipi spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan öncül hücrelerdir (1, 40, 54, 90).

Spermatogonyal kök hücrelerin erkek fertilesinde önemli etkileri vardır. Bu hücreler kısmen sessiz hücrelerdir ve bu nedenle radyasyon ve kanser kemoterapisinde dirençlidirler. Mitotik olarak bölünen spermatogonyumlar, mayotik bölünen spermatositler ve farklılaşmakta olan spermatidler kanser kemoterapisine ve radyasyona duyarlıdırlar (1, 110).

2.3.1.4. Primer ve sekonder spermatositler

Başarılı mitotik bölünmeler geçirdikten sonra, tip B spermatogonyumlar, son S fazını (DNA sentezi) tamamladıktan sonra mayoz bölünmenin profaz aşamasına girerler. Spermatojenik hücrelerin yaşam süresindeki esas DNA sentez aktivitesinin bu son turu, mayozun profaz I aşamasına başlayan bir primer spermatositin spermatogonyuma göre iki kat DNA miktarına sahip olacağını belirler. Primer spermatositler 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA (N haploid kromozom sayısını [insanlarda 23 kromozom] ya da bu kromozom takımındaki DNA miktarını gösterir)

içerir (1, 54). Spermatozitler iki başarılı mayotik hücre bölünmesi geçirirler ve Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların hemen üzerinde, seminifer tübülün adluminal kompartmanında yer alırlar. Dolayısıyla, mayoz bölünmeler kan-testis bariyeri içinde gerçekleşir (1, 40).

Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayoz bölünmenin profazına girerler. Bir primer spermatozit iki adet sekonder spermatoziti oluşturmak üzere birinci mayoz bölünmeye gider. Bu bölünmenin profaz aşaması yaklaşık 22 gün sürdüğünden, kesitlerde görülen spermatozitlerin çoğu bu aşamada izlenecektir. Primer spermatozitler spermatojen serinin en büyük hücreleridir ve çekirdeklerinde, sarmalanma sürecinin değişik aşamalarında kromozomların bulunması ile tanınırlar. Birinci mayoz bölünmeden sonra sekonder spermatozitler olarak adlandırılan ve yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler oluşur. Sekonder spermatozitler çok hızlı bir şekilde interfaz aşaması ve belirgin bir DNA sentezi olmayan ikinci mayoz bölünmeye giderler. Testis kesitlerinde sekonder spermatozitlerin gözlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve çabucak ikinci mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir. Her bir sekonder spermatozit artık herhangi bir hücre bölünmesi göstermeden sperm şeklinde olgunlaşan iki adet haploid spermatid meydana getirir. Döllenmeyle bunlar diploid sayıya dönerler (1, 54, 90, 109).

2.3.1.5. Erken ve geç dönem spermatidler

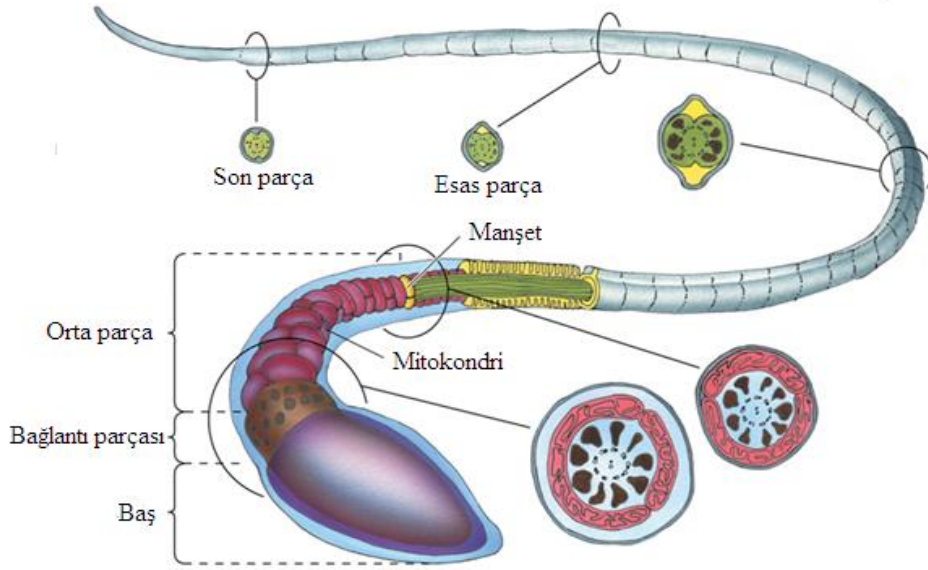
Haploid spermatidler seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanda yerleşen, Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içinde gömülü, küçük boyutları (7-8 µm çapta), yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren çekirdekleri ile ayırt edilebilir hücrelerdir (1, 54).

Spermatidin sitoplazması, çekirdeğin yakınında yer alan belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondriyumlar, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz endoplazmik retikulumu tübüllerini içerir. Proakrozomal granüller olarak adlandırılan PAS-pozitif

küçük granüller Golgi kompleksinde birikir ve daha sonra birleşerek zarla sınırlı bir akrozom vezikülünün içinde yer alan tek bir akrozom granülü oluştururlar (54, 112).

2.3.1.6. Spermatozoon (olgun spermatozoa)

Olgun bir insan spermatozoonu yaklaşık 60 µm uzunlukta olup; baş ve kuyruktan oluşur (Şekil 5) (22).



Şekil 5. Olgun spermatozoon (39).

Baş : Yaklaşık 4.5-5 µm uzunluğunda, 3 µm genişliğinde ve 1 µm kalınlığındadır. Çekirdek başın büyük kısmını oluşturur ve 2/3 ön kısmı hidrolitik enzimleri içeren akrozomla örtülüdür. Akrozomal enzimler oositi saran korona radyata ve zona pellusida'ya spermatozoon girişini kolaylaştırmak için döllenme anında salınır (109).

Kuyruk : Sperm kuyruğu, bağlantı parçası, orta parça, esas parça ve son parça olmak üzere dört kısımdan oluşur. Bağlantı parçası yaklaşık 5 µm uzunluğunda, çekirdeğe tutunmuş proksimal sentriyol ve aksoneme kaynaklık eden distal sentriyolü bulunduran dar bir parçadır. Orta parça yaklaşık 7 µm uzunluğunda olup spermatozoonun dairesel düzenlenmiş mitokondrisini içeren kuyruk bölümüdür. Esas parça, kuyruğun en uzun parçasıdır ve yaklaşık 45 µm uzunluğundadır. Dış yoğun lifle sarılı merkezi aksonem ve fibröz bir kılıftan oluşur. Son parça yaklaşık 5 µm uzunluğundadır. Dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın erken sonlanması nedeniyle sadece aksonemi kapsar ve kuyruğun en kısa parçasıdır (22, 109).

2.3.2. İnterstisyel alan

2.3.2.1. İnterstisyel bağ dokusu

Testisin interstisyel dokusu, androjen üretimi açısından önemlidir. Testislerde seminifer tübüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, kapillerler ve lenf damarları ile doludur. Bağ dokusu değişik tipte hücreler içerir; bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte başka bir tip hücre daha fonksiyonel olarak belirgin hale gelir. Bu hücreler testisin interstisyel ya da Leydig hücreleridir (1, 54).

2.3.2.2. Leydig hücreleri

Leydig hücre toplulukları, kan damarları ve lenfatik kanal veya sinüzoidler yakınında, intertübüler alanda yerleşmiştir. Yuvarlak ya da çokgen şekilli, çekirdeği merkezde ve küçük lipid damlacıklarından zengin, tübüler kristalli mitokondriyumlar ve iyi gelişmiş bir düz endoplazmik retikulumu içeren, eozinofilik sitoplazması bulunan bir hücredir. Bazıları, henüz kesin yapısı bilinmeyen sarı-kahverengi bir pigment olan

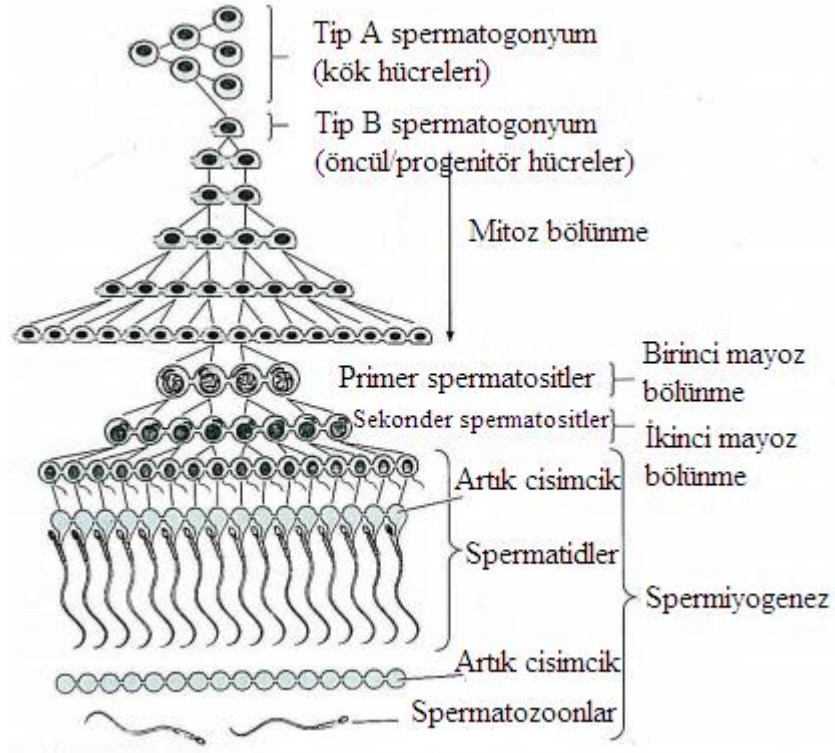
lipokrom pigmenti içerir. Sitoplazmalarında insana özgü, özellikle elektron, bazen de ışık mikroskopunda belirgin olarak görülen ve henüz fonksiyonları bilinmeyen renksiz Reinke kristalleri bulunur (1, 40, 54, 90).

Bu hücreler, mitokondriyumlarında ve düz endoplazmik retikulumlarında bulunan enzimler tarafından erkeklik hormonu olan testosteronu üretirler. Testosteron spermatogenez, embriyonal ve fetal yaşam sırasındaki cinsiyet farklılaşması ve gonadotropin salgısının kontrolü açısından önemlidir. Serumda bulunana testosteronun yaklaşık % 95'i Leydig hücreleri tarafından sentezlenir, kalan testosteron adrenal korteks tarafından üretilir. Ergenlikte ve erişkinde vücuttaki çoğu organ ve dokuda etki gösterir (1, 54).

İnterstisyel hücrelerin hem fonksiyonları ve hem de sayıları hormonal uyarılara bağlıdır. İnsanda gebelik sırasında plasentadan üretilen gonadotropik hormon, anne kanından fetüse geçer ve androjenik hormonları üreten bol miktardaki fetal testis interstisyel hücreleri uyarır. Bu hormonların varlığı, erkek genital organlarının embriyonik farklılaşması için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler hamileliğin 4. ayına kadar tamamen farklılaşmış olarak kalırlar ve sonra testosteron sentezinde bir azalmayla birlikte gerilerler. Daha sonra gebeliğin geri kalanı boyunca ve hipofizden salgılanan luteinizan hormon (LH) uyarısı altında testosteron sentezini yeniden yapmaya başladıkları puberte öncesi döneme kadar dinlenmede kalırlar (54, 109).

2.3.3. Spermatogenez

Spermatogenez, spermatogonyumdan olgun sperme dönüşme aşamasındaki bir dizi olaylar sürecini kapsamaktadır (Şekil 6) . Puberteden kısa bir süre önce, hipofizden salınan gonadotropinler sayesinde başlar ve hayat boyu devam eder (109).



Şekil 6. Germ hücrelerinin geçirdiği evreleri gösteren çizim (54).

Spermatogenez süreci üç bölümde incelenmektedir:

- 1) Spermatisitogenez
- 2) Mayoz
- 3) Spermioyenez (109)

2.3.3.1. Spermatisitogenez

Spermatogonyumların mitozla çoğalarak ve primer spermatisite farklılaşmasını içermektedir.

Tip A spermatogonyumlar spermatojenik serinin kök hücreleridir. Bir ya da daha fazla mitotik bölünmeden sonra farklılaşmamış kök hücreler olan tip A

spermatogonyumlar olarak devam ederler ya da süregelen mitotik sikluslar boyunca farklılaşarak tip B spermatogonyumları oluştururlar. Sertoli bariyerinden geçen her bir B tip spermatogonyum büyüyerek, daha büyük yuvarlak hücreler olan primer spermatosit halini alır. Tip B spermatogonyumdan oluşan primer spermatositler, birinci mayozun profazına girerler (40, 54, 90, 111).

2.3.3.2. *Mayoz bölünme*

Bir primer spermatosit iki adet sekonder spermatositi oluşturmak üzere birinci mayoz bölünmeye gider. Sekonder spermatositler çok hızlı bir şekilde interfaz aşaması ve belirgin bir DNA sentezi olmayan ikinci mayoz bölünmeye giderler. Her bir sekonder spermatosit artık herhangi bir hücre bölünmesi göstermeden sperm şeklinde olgunlaşan iki adet spermatid meydana getirir (1).

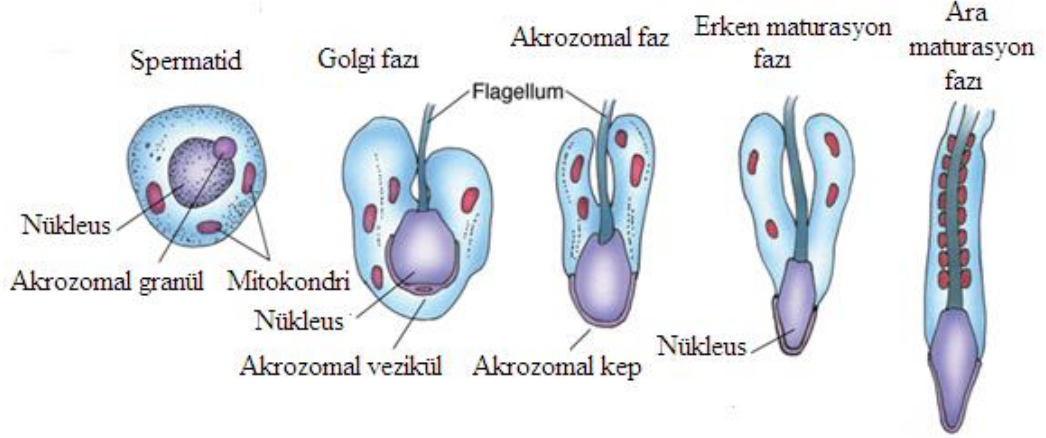
Birinci mayoz bölünmenin sonunda, primer spermatositin 4N DNA miktarı sekonder spermatositte 2N'ye düşer. İkinci mayoz bölünmenin sonunda 2N DNA miktarı 1N'ye düşer. Meydana gelen spermatidler haploid spermatidlerdir ve spermiyogenez denilen bir farklılaşma sürecini başlatırlar.

Birinci mayoz bölünmenin profazında eşleşmiş homolog kromozomlar ayrılırken, ikinci mayotik bölünme sırasında interfaz safhasının S aşamasında DNA miktarı iki katına çıkarılmaması sebebi ile, sırası ile; profaz, metafaz, anafaz ve telofaz aşamalarından sonra kardeş kromatidler yavru hücreler olan haploid spermatidlere dağılırlar (1, 40, 54, 90).

2.3.3.3. *Spermiyogenez*

Haploid spermatidler seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanında yerleşmiş ve Sertoli hücre sitoplazma kriptaları içinde

gömülüdürler. Spermiyogenez spermatidlerin hücre bölünmesi gerçekleşmeden spermatozoona dönüştüğü süreç olup spermatogenezin son aşamasıdır (Şekil 7) (1, 54).



Şekil 7. Spermiyogenezin aşamaları (39).

Spermatidler, küçük boyutları (7-8 μm çapta), yoğunlaşmış kromatin bölgeleri içeren çekirdekleri ile ayırt edilebilirler. Spermatidlerin sitoplazmasında mitokondriyumlar, bir sentriyol çifti, serbest ribozomlar ve granülsüz endoplazmik retikulumu bulunur, çekirdeğinin hemen yanında ise Golgi kompleksi yer almaktadır (40, 54).

Spermiyogenez dört faza ayrılır (1, 40, 90) :

2.3.3.3.1. Golgi fazı

Proakrozomal granüller olarak adlandırılan PAS-pozitif küçük granüller Golgi kompleksinde birikir ve daha sonra birleşerek zarla sınırlı bir akrozom vezikülünün içinde yer alan tek bir akrozom granülü oluştururlar. Sentriyoller göç ederek akrozomun olduğu bölgenin karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Flagellar aksonem oluşmaya başlar ve sentriyoller yeniden çekirdeğe doğru göç ederken hareket

ettikçe aksonem komponentleri çevresine sarılır (40, 54, 90).

2.3.3.3.2. *Başlık (Cap) fazı*

Bu aşamada, akrozom vezikülü çekirdeğin ön yarısından fazlasını sarar. Bu yeniden şekillenen yapı akrozomal kep olarak adlandırılır. Çekirdek etrafını saran akrozomal kep kalınlaşır. Bu arada çekirdekteki yoğunlaşma devam eder (40, 90).

2.3.3.3.3. *Akrozom fazı*

Akrozom hyaluronidaz, nörominidaz, asit fosfataz ve tripsin benzeri aktivitesi olan proteaz gibi bazı hidrolitik enzimleri içerir. Bu yüzden akrozom lizozomun özelleşmiş bir tipi gibidir. Bu enzimlerin, yumurtayı çevreleyen korona radiata hücrelerini birbirinden ayırdığı ve zona pellusidayı sindirdiği bilinmektedir. Bu işlem akrozom reaksiyonu olarak bilinir ve fertilizasyonun ilk basamaklarından biridir (54).

Bu fazda spermatid kendisini yeniden düzenleyerek başını Sertoli hücresine doğru gömülü bir biçimde tutar. Gelişmekte olan kamçı seminifer tübül lümenine uzanır. Spermatidin yoğunlaşan çekirdeği yassılaşır ve uzar. Aynı zamanda akrozom hücre zarının ön kısmına hareket eder. Sitoplazmik mikrotübüller organize olarak silindir haline gelirler ve çekirdeği çevreleyen manşet meydana gelerek spermatidin arka kısmına doğru ilerlerler (40).

Sentriyollerden biri gelişerek kamçıyı oluşturur. Hücre zarı gelişen flagellumu da sarar. Mitokondriler de flagellumun proksimal parçası etrafında toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur. Bu bölge spermatozoonların hareketlerinin kaynağını aldığı yerdir (40, 54, 90).

Çekirdekdeki kromatin yoğunlaşır. Somatik histonlar arjinin ve lizinden zengin protaminlerle yer değiştirerek sperme özel histonlara dönüşür (1).

2.3.3.3.4. Olgunlaşma fazı

Spermatid sitoplazmasında oluşan artık cisimler spermiyasyon aşamasında bırakılır ve Sertoli hücrelerince fagosite edilir. Sonuncu spermatid olgunlaşma evresi sırasında mitokondriyumlar gelişen flagellum (kamçı) boyunca dizilmelerini tamamlarlar. Flagellum keratin içeren dış yoğun lifler ve bir fibröz kılıf ile çevrilidir. Aksonem eş merkezli 9 + 2 mikrotübül çiftinden oluşur. Çekirdek uzar yoğunlaşır ve manşetin kaudaline ilerler. Olgunlaşma işlemi, çekirdek son uzamış, yoğunlaşmış şeklini aldığı anda, manşet dağılmaya başladığında ve dış yoğun lifler tamamen organize olduğunda tamamlanır (22, 109).

Spermatidler tübülün lümenine doğru hareket ederler. Sertoli hücreleri ile aralarındaki sitoplazmik köprüler varlığını sürdürmektedir. Seminifer epitelde belirli spermatogonik hücreler sadece diğer belirli spermatogonik hücrelerle bağlantılıdır. Seminifer tübül şeritinde farklı hücre gruplarının bir serisi bir döngü tamamlanıncaya kadar devam eder. Spermatogenez süreci tamamlandığında sitoplazma ve sitoplazmik köprülerin artık cisimcikler olarak dökülmesi ile spermatidler arasında bir ayrılma olur (54, 57, 109).

Deneysel olarak H³-timidin enjeksiyonu ile gerçekleştirilen araştırmalarda, insanda spermatogonyum aşaması ile spermatozoon oluşumu arasındaki sürenin 6 evreden oluştuğu ve her döngünün 16 gün sürdüğünü, böylece; yaklaşık 64 gün olduğu gösterilmiştir. Tübül kesitinin farklı alanlarında ve farklı tübül kesitlerinde, spermatogenezin farklı aşamalarının izlenmesi üzerine, spermatogenezin, tüm seminifer tübüllerde ve her seminifer tübül içinde aynı anda ya da zaman uyumlu olarak gerçekleşmediği ortaya konulmuştur. Bu durum, tübül duvarının ayrı ayrı her bölgesinde spermatogenezin komşu bölgelerden az çok bağımsız olarak ilerlediği

anlamına gelir. Bu, aynı zamanda, spermatozoonların neden seminifer túbüllerin bazı bölgelerinde bulunduğunu, diğer bölgelerin de yalnızca spermatidlerin görüldüğünü açıklar. Bu durum, seminifer epitel döngüsü olarak adlandırılmaktadır (54, 22, 109).

2.4. Testisin Histofizyolojisi

Spermatogenez üzerinde en önemli uyarıcı etkiyi hormonlar yapar. Bunlar (2, 85, 111) :

1. Testosteron : Testisin interstisyel dokusunda yer alan Leydig hücreleri tarafından salgılanır ve spermatojenik hücrelerin büyümesi ve bölünmesi için gereklidir. Ayrıca ikincil cinsiyet karakterlerinin devam ettirilmesinden de sorumludur (111).

2. Luteinizan hormon (LH) : Ön hipofizden salgılanır, Leydig hücrelerini uyarak testosteron salgılatır. Hipofizden LH salgılanması negatif geri besleme ile düzenlenir. Testosteron sentezinin artmasıyla LH salınımı baskılanır ve tersine testosteron düşük ise LH salınımı artar (85, 111).

3. Folikül stimulan hormon (FSH) : Ön hipofizden salgılanır, Sertoli hücrelerini uyarır. Adenil siklaz yapımını, döngüsel adenozin monofosfat (cAMP) artışını uyarır. Ayrıca ABP' nin sentez ve salgılanmasını harekete geçirir. Daha sonra ABP testosterona bağlanarak bu hormonu seminifer túbül lümenine taşır. Böylece spermatogenez uyarılmış olur. Bu uyarı olmazsa spermatidlerin sperme dönüşmesi gerçekleşmez (85, 111).

4. Östrojenler : FSH sonucunda uyarılan Sertoli hücresinde testosterondan yapılmaktadır (2, 111).

5. Büyüme hormonu (GH) : Diğer hormonlar gibi testisin metabolik fonksiyonlarının kontrolü için gereklidir. GH özgül olarak spermatogonyumun erken bölünmesini destekler, yokluğunda ise spermatogenez durur ya da sekteye uğrar (85, 111).

6. İnhibin ve Aktivin : Adenohipofizden FSH salgılanması inhibinler tarafından baskılanırken, aktivinler tarafından uyarılır (85).

37°C olan vücut sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda oluşan spermatogenezin regülasyonunda sıcaklık çok önemlidir. Testislerdeki sıcaklık yaklaşık 35°C'dir ve bu birkaç mekanizma ile kontrol edilir. Zengin bir venöz ağ olan pampiniform pleksus testis arterlerinin etrafını sararak testis sıcaklığının sürdürülmesini sıcaklığı dağıtmak için ters yönlü akımla sıcaklık değişimi yaparak sağlamaktadır. Diğer bir faktör ise, düşük sıcaklıklarda spermatik kordondaki krameter kaslarının kasılması ile testislerin daha yüksek bir ısıda kalabileceği inguinal kanallara çekilmesidir (2, 85).

İnsanda günlük sperm üretimi testis başına 94.6 milyon olarak hesaplanmıştır. Sperm, dişi üreme yollarında normalde mevcut olan sıvı akıntısına karşı hareket etme yeteneğine sahiptir ve bu özelliğine pozitif reotaksis denir. Sperm, dişi üreme yollarında bazı kimyasal maddeler tarafından ise kendisine doğru çekilir ve bu özelliğe de pozitif kemotaksis denir (85, 111).

Sertoli hücreleri arasındaki özel bağlantı kompleksleri olan kan-testis bariyeri ise; üreme hücrelerine hormon ve metabolitlerin alınmasını ayarlar, interstisyel sıvının seminifer tübüllere girmesini engelleyerek erkek germ hücrelerini kandan gelecek zararlı maddelere karşı korurlar. Puberteden sonra oluşan kan-testis bariyeri, gelişen sperm ve bağışıklık sistemi arasında oluşabilecek etkileşimleri önler. Böylece seminifer epiteli herhangi bir otoimmün tepkiden de korumuş olur (2, 57, 85, 111).

2.5. Kanser ve Kemoterapi

Kanser büyüme özellikleri bozulmuş hücrelerin klonal yayılımıdır ve somatik genetik hastalıkların en sık, en yaygın ve aynı zamanda en komplike olanıdır (38).

Hücre proliferasyonu, diferansiyasyonu ve ölümünü regüle eden genlerde bozukluk sonucu oluşan kanser, dünyada en çok ölüme neden olan hastalıklardan biridir (77).

Kanser, hem çevresel hem de kalıtsal etkenlerin oluşturduğu değişiklikler kaynaklı olup, hücrenin genetik materyalini ilgilendirdiği için, genetik bir hastalık olarak kabul edilmektedir (70).

Kanser hücrelerini karakterize eden altı özellik tanımlanmıştır. Bunlar, büyüme sinyalleri oluşturabilme, büyümeyi durdurabilecek sinyallere duyarsızlaşma, programlanmış hücre ölümünden (apoptoz) kaçabilme, sınırsız bölünme, çoğalma potansiyeline sahip olma, anjiogenezi sürekli destekleyebilme, invazyon ve metastaz yapabilme özellikleridir (77).

Günümüzde en yaygın olarak kullanılan tedavi yöntemleri ise cerrahi, radyoterapi, immünoterapi ve kemoterapidir (78).

Kemoterapi, hastanın normal hücrelerine zarar vermeden özellikle kontrolsüz çoğalan hücrelere karşı seçici öldürücü etkileri olan, tümör hücrelerinin büyümesini, çoğalmasını durdurmak veya yok etmek amacı ile doğal veya sentetik kimyasal maddeler, biyolojik ajanlar veya hormonlarla yapılan tedavilerin tümünü içine alan bir tedavi şeklidir (7).

Kemoterapötik ajanlar en fazla hücreler proliferatif dönemde iken etkilidirler. Kanserli hücrelerin normal hücrelere göre hızlı büyümesi ve çoğalması nedeniyle çoğu kemoterapötik ilaç bu tür özellik taşıyan hücrelerin tahrip edilmesi için geliştirilmiştir. Ancak bazı normal hücrelerde de benzer özellikler bulunmakta ve bu hücreler de kemoterapiyle doğrudan etkilenmektedir. Bu etkilenmeler yan etkileri de doğurmaktadır. Bu nedenle yan etkiler daha çok kan hücreleri gastrointestinal sistemdeki hücreler, kıl folikülleri ve spermiler gibi hızlı bölünebilen hücreler üzerinden olmaktadır. Bunun dışında bazı kemoterapötikler kalp, böbrekler, mesane, akciğerler ve

sinir sistemi organları gibi hayati organlar üzerinde de olumsuz etkiler oluşturabilmektedir (7, 120, 127).

Kemoterapotikler kanserli olmayan normal doku ve hücrelerde de çeşitli düzeylerde yan etkilere sahip olduğu için erkek infertilitesi hatta sterilitesi kemoterapotik ilaçların üreme sisteminde meydana getirdiği olumsuz faktörlerden biridir. Spermatogenezdeki aksaklıklar, sperm kalite parametrelerindeki bozukluklar, ejakülasyon bozukluğu, hipotalamus-hipofiz-gonad eksenindeki fonksiyon bozukluğu, cinsel fonksiyon bozukluğu gibi olumsuz durumlar kemoterapotiklerin üreme sisteminde meydana getirdiği yan etkiler arasında gösterilmektedir. Testisteki Leydig ve Sertoli hücreleri kısmen kemoterapotiklere dirençli iken, germinal epitel bu ilaçlara son derece duyarlıdır. Ancak kullanılan kemoterapi protokolünün ilaç sayısı, dozları ve uygulama sürelerine bağlı olmakla birlikte, eğer germinal epiteldeki kök hücreler sağlam kalırsa, tedavinin sonlandırılmasından sonra belli zaman periyodunda spermatogenez geriye dönebilmektedir (88, 91, 119, 127).

Kanserli insan ve hayvanlarda yapılan pek çok çalışmada hormon uygulamalarının, sperm ve testiküler doku kriyoprezervasyonunun, testiküler biyopsi aracılığıyla in vitro spermatogenezin, testis transplantasyonunun ve çeşitli antioksidan maddeleri ihtiva eden tamamlayıcı ve alternatif uygulamaların kemoterapiden önce ya da kemoterapi esnasında ilaçların erkek üreme sistemindeki yan etkilerinin azaltılması veya önlenmesinde etkili olduğu belirtilmektedir. Bu çalışmaların pek çoğunda kemoterapotiklerin genellikle oksidatif stresle ilişkili veya ilişkisiz DNA hasarı oluşturma mekanizmasıyla erkek üreme sisteminde yan etkilere sebep olduğu, dolayısıyla da farklı yapıdaki birçok antioksidan maddenin koruyucu rollere sahip olduğu bildirilmektedir (28, 69, 88, 101, 116).

2.5.1. Antineoplastik (Antikanser) İlaçlar

Kemoterapotik ajanlar, kimyasal yapılarına ve hücredeki aktivitelerine göre;

alkilleyiciler, antimetabolitler, sitotoksik antibiyotikler, alkaloidler, enzimler, kortikosteroidler (hormonlar ve hormon antagonistleri) olmak üzere etki mekanizmaları birbirinden tamamen farklı çeşitli kategorilere ayrılırlar (79).

- *Alkilleyici ajanlar ve ilgili bileşikler*, DNA ile kovalent bağlar oluşturarak etki ederler ve böylece replikasyonu engellerler. Busulfan, Melphalan, Karmustin, Lomustin, Klorambusil, Karboplatin, Cisplatin, Dakarbazin, Siklofosfamid, Prokarbazin, İfosfamid, Nitrojen mustard alkilleyici ajanlar arasında yer alır.

-*Antimetabolitler*, DNA senteziyle ilgili bir veya daha fazla yolu bloke eder ve yıkarlar. Allopürinal, Fluorourasil, Metotreksat, 6-Merkaptopürin, Hidroksiürea, Floksüridin, Gemsitabin, Fludarabin, 6-Tioguanin, Pentostatin anti-metabolit ajanlar arasında yer alır.

-*Sitotoksik antibiyotikler*, memelilerde hücre bölünmesini engelleyen mikrobiyal kaynaklı maddelerdir. Bleomisin, Aktinomisin, Daktinomisin, Adriyamisin, Doksorubisin, Epirubicine, Daunorubicin, Mitomycin-c, Mitoxantrone, İdarubisin antibiyotik ajanlar arasında yer alır.

-*Alkaloidler*, bunların çoğu mikrotübül fonksiyonlarını ve bundan dolayı mitotik iğleri etkilerler. Etoposid, Teniposid, Vinkristin, Vinblastin, Vinerabin, Paklitaksel, Doketaksel alkaloid ajanlar arasında yer alır.

-*Enzimler*, protein sentezini inhibe ederek lösemik hücre proliferasyonunu engeller. L-asparaginase bu grupta yer alan ajanlardandır.

-*Kortikosteroidler*, hormon sekresyonlarını baskılayan veya antagonist hormon etkisi gösteren ilaçlardır ve tümörün büyümesini geciktirici etkileri vardır. Prednisone, Dexamethasone kortikosteroidler grubunda yer alan ajanlardır (21, 64, 79, 107).

Kemoterapotik ilaçlar oluşturduğu etkiye göre iki gruba ayrılırlar;

1- Hücre siklusuna bağımlı ilaçlar:

- S fazına dönük ilaçlar (Antimetabolitler): Hücre metabolizmasını ve DNA sentezini bozarak etki ederler. Methotrexate, 5Flourouracil, Cytarabine, Procarbazine, 6 Tyoguanin, 6 Mercaptopurine gibi.
- M fazına dönük ilaçlar (Bitki alkaloidleri): Ana hücreden iki yavru hücre oluşmasını engellerler. Vincristine, Vinblastine bu gruptandır.
- G2 fazına dönük ilaçlar (Antitümör antibiyotikler): RNA, DNA ve protein sentezini etkilerler. Bleomisin, Acytinomycin-D, Daunorubisin gibi.

2- Hücre siklusundan bağımsız ilaçlar:

- Alkilleyici ajanlar: Hücre çekirdeğini, DNA ve RNA sentezini etkilerler. Hızlı çoğalan hücrelerin ölümüne yol açarlar. Nitrojen mustard, Cisplatin, Cyclophosphamide, Procarbazine gibi
- Hormonlar: Tümör ortamını değiştirerek büyüme ve çoğalmayı engellerler, protein sentezini bloke ederler. Estrojenler, Kortikosteroidler gibi.
- Antibiyotikler: DNA replikasyonunu bozarlar. Adriamisin gibi (7, 56, 79)

2.5.2. Antimetabolitler

Antimetabolit ilaçlar, hücrenin normal metabolitleri ile benzerlik gösterdiklerinden dolayı, enzimler için benzerlik gösterdikleri metabolitlerin yerine geçer veya aynı rolü alarak aktiviteyi bloke eder, azaltır yada makromoleküllerin içine girerek, fonksiyonu olmayan bir makromolekül yaratırlar (Tablo 1) (7).

Tablo 1. Antimetabolit ilaçlar

ANTİMETABOLİT İLAÇLAR		
<i>FOLİK ASİT METABOLİTLERİ</i>	<i>PÜRİN ANTİMETABOLİTLERİ</i>	<i>PIRİMİDİN ANALOGLARI</i>
Metotreksat Raltireksed Pemetreksed	6-Merkaptopurin Tioguanin Fludarabin Kladribin	5-Fluorourasil Kapesitabin Sitozin Arabinozid Gemsitabin

Antimetabolit ilaçlar ya çeşitli enzimleri inhibe ederek folik asit, pürin ve pirimidinlerin yapılmasını durdurur veya onların gerekli nükleosid ve nükleik asit kompleksleri içine girmelerine engel olarak DNA ve RNA sentezini önler. Döneme özgü ilaçlar olup özellikle hücre döngüsünde “S” fazına etkilidirler. Bu da şu demektir; kemik iliği, kıl kökleri ve spermatojenik hücreler gibi hızlı bölünen hücrelerde görülen çoğalma kapasitesi yüksek tümörlerde etkilidirler. Yine bunlardan bazıları kimyasal yapılarının farklı oluşu (merkaptu grubu, flor ihtiva etmeleri gibi) nedeni ile nükleosid ve nükleik asit birleşimlerine girmekte ve toksik etki göstermektedirler (21, 64).

Başlıca kullanım alanları :

- Akut Lenfositik Lösemi
- Akut Mielojenik Lösemi
- Göğüs Kanseri
- Lenfoma
- Osteosarkom
- Ewing's Sarkomu
- Hodgkin ve Hodgkin Dışı Lenfoma
- Küçük Hücreli Akciğer Kanseri
- Prostat Karsinoması
- Testiküler Karsinoma
- Wilms Tümörü

En önemli yan etkileri :

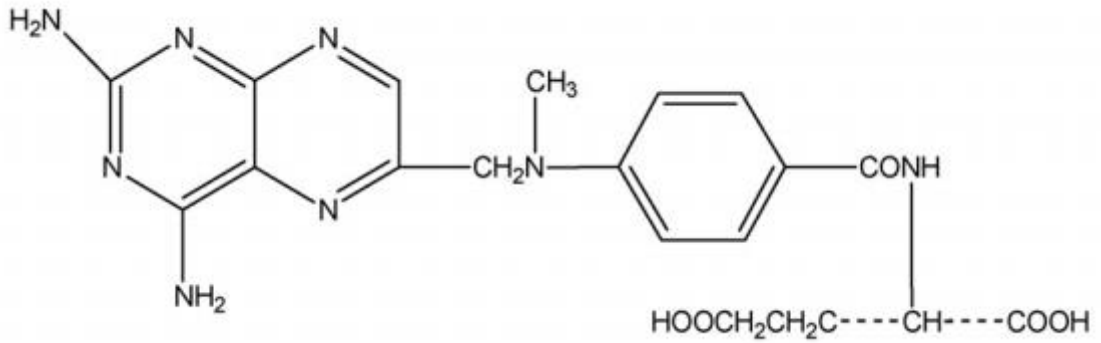
- Kemik İliği Supresyonu
- Hepatotoksisite
- Nefrotoksisite
- Nörotoksisite
- Enfeksiyonlar
- Sindirim Sistemi İrritasyonu
- Alopesi
- Dermatit
- Konjuktivit (10, 33, 56)

2.6. Metotreksat

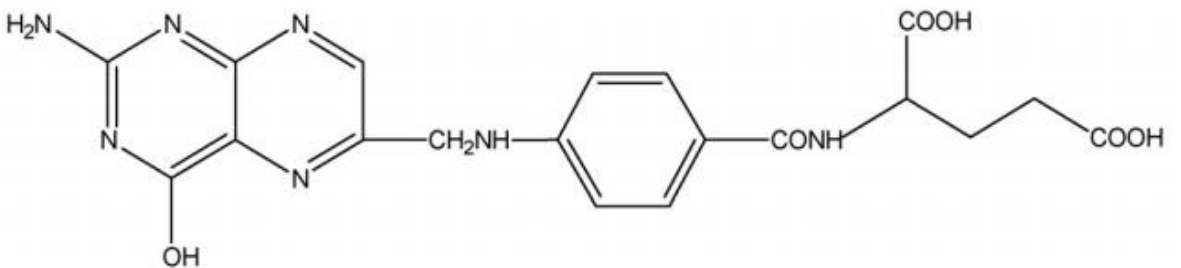
Bir folik asit antagonisti olan metotreksat (Şekil 8), kanser kemoterapisinde en yaygın olarak kullanılan antimetabolitlerden olup; dihidrofolik asit (Şekil 10) analogudur (37). İlk kez 1948 yılında çocukların lösemilerini tedavi etmek amacıyla kullanılmıştır (33).

2.6.1. Metotreksatın Etki Mekanizması

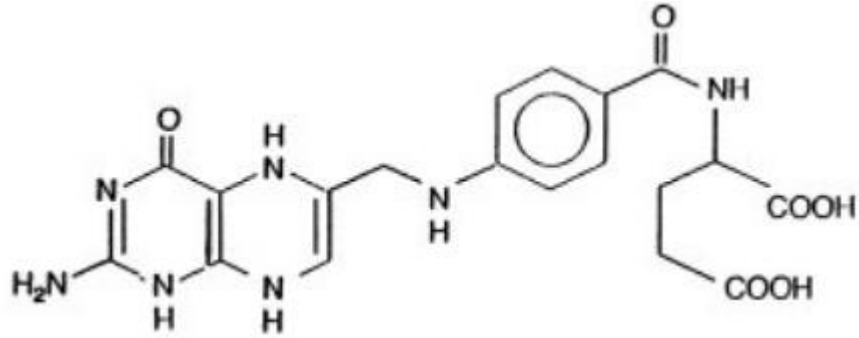
Bir folik asit antagonisti olarak bilinen Metotreksat (MTX), kimyasal olarak folik asidin (Şekil 9) 4-aminoN¹⁰-metil analogu olup dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimi inhibitörüdür (60).



Şekil 8. Metotreksatın kimyasal yapısı (81).

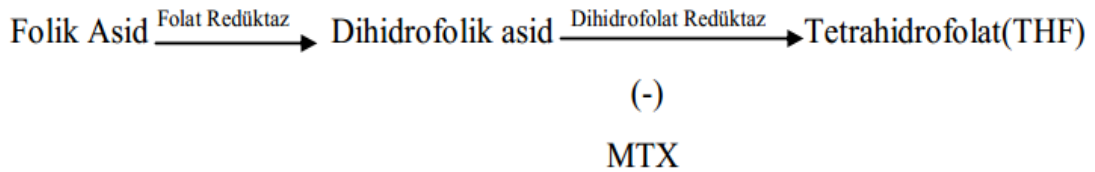


Şekil 9. Folik asitin kimyasal yapısı (81).



Şekil 10. Dihidrofolatın molekül yapısı (124).

Vitamin şeklinde besinler içinde alınan folik asidin vücuttaki yararlı şekli, folik asit ve diğer tetrahidrofolat türevi koenzimlerdir. Bu koenzimler, timidilatın, pürinlerin, metionin ve glisinin sentezinde rol oynayan tek-karbon transferi reaksiyonları için gereklidir. Folik asidin, dihidrofolat (FH₂) üzerinden tetrahidrofolat (FH₄)'a dönüşümü şu şekilde olur (56) :



(16)

Metotreksat, dihidrofolat redüktaz (DHFR) enzimine bağlanarak enzimi geri dönüşlü bir şekilde inhibe eder. THF sentezinin inhibisyonu, pirimidin timidilat ve pürin nükleotidlerinin biyosentezinin durmasına yol açar. Bu yapı taşlarının üretilmemesi hücre çoğalması için gerekli olan DNA ve RNA'nın sentezini ve enerji için gerekli olan ATP yapımını inhibe eder (16). Metotreksat, S dönemindeki hücreler üzerinde sitotoksik etki yapar. Ayrıca FH₄'e dönüşmeden kalan FH₂, dihidrofolatpoliglutamalar (8FH₂Glu_n) ve metotreksatın poliglutamat türevleri (metotreksat Glu_n) şeklinde hücrede birikir; kanser hücresi içinde timidilat sentetaz ve transformilaz enzimlerinin

inhibisyonundan poliglutamam metabolitleri sorumludur. Metotreksatın hücrelerdeki toksik etkileri folinik asid (N⁵-formiltetrahidrofolat) tarafından antogonize edilir. Folik asidin kendisi, THF'a dönüşemediğinden antidot olarak kullanılamaz (56, 60, 74).

MTX, DHFR'ı inhibe eder bu yüzden THF'ın azalmasına neden olur. MTX poliglutamamları 5,10 metilen THF redüktaz, glisinamid ribozil 5 fosfat (GAR) formiltransferaz ve aminoimidazol karbokzamid ribozil 5 fosfat (AICAR) formiltransferaz enzimlerini doğrudan inhibe eder. Bu enzimlerdeki inhibisyon pürin ve primidin metabolizmasında inhibisyonla sonuçlanır. Takiben DNA ve RNA sentezini inhibe eder. 5-metil THF'ın azalması homosisteinin remisyonunda azalmaya ve homosistein ile adenosin düzeylerinde artmaya neden olur. MTX, SAM miktarındaki azalmaya ek olarak doğrudan metionin sentetazı ve metionin transportunu inhibe edebilir. Transmetilasyonun azalmasını takiben poliaminlerin sentezini de azaltır (124).

2.6.1.1. Metotreksatın antiproliferatif etkisi

MTX, yüksek dozlarda lösemi, lenfoma, osteosarkom, baş ve boyun tümörleri, akciğer kanseri, meme kanseri gibi kanserlerin tedavisinde antiproliferatif olarak kullanılır. Bununla birlikte, Romatoid artrit'de (RA) düşük doz MTX tedavisinin mekanizması antiproliferatif etki ile açıklanamamasın; endotel hücre proliferasyonunun doğrudan inhibe olduğu görüşünde olmakla birlikte bazı araştırmacılar lenfosit proliferasyonunun inhibisyonu hakkında zıt görüşler bildirmişlerdir (75, 124). Antiproliferatif ve immünomodülatör etkilerinin aktive T hücrelerinde ve keratinositlerde nükleik asit sentezinin inhibisyonuna bağlı olduğu düşünülmektedir (115).

2.6.1.2. Metotreksatın antiinflamatuvar etkisi

MTX, RA'da ve psöriatik artrit tedavisinde antiinflamatuvar etkisi nedeniyle kullanılmaktadır. Tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- α), interlökin 1-beta gibi sitokinler ile metaloproteinazlar gibi inflamasyonun mediatörlerinin RA'da MTX tedavisi ile azaldığı gösterilmiştir (23, 117). Adenozinin antiinflamatuvar etkisinin başlıca nötrofiller üzerinde olduğu, nötrofil adezyonunu ve serbest oksijen radikallerinin üretimini engellediği gösterilmiştir. Bu MTX' in gösterdiği antiinflamatuvar etkisini açıklamaktadır (63, 128).

2.6.1.3. Metotreksatın immunmodülatör etkisi

İmmün mekanizmalar RA'nın patogenezinde önemli rol oynarlar. B ve T lenfositlerdeki aktivite artışının MTX ile baskılandığı gösterilmiştir. RA'lı hastaların idrar, sinovyal sıvı ve lenfositlerinde poliamin seviyeleri yüksek bulunduğu için, poliaminlerin RA'nın patogenezinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Poliaminlerin hücre proliferasyonu, farklılaşması ve immün yanıtta önemli görevleri vardır. MTX' in immünmodülatör etkisi poliaminlerin sentezindeki inhibisyon ile ilişkili olabilir (15, 55, 124, 128).

2.6.2. Metotreksatın Farmakokinetik Özellikleri

MTX, folatların hücre içine aktif transportu ile rekabete girerek hücre içine folatın yerine kendi girer. Karaciğerde diğer folatlarda olduğu gibi poliglutamasyona uğrar. Poliglutamasyon sonrası MTX intrasellüler olarak uzun süre kalabilir. Hidrolitik enzimlerle bu halinden tekrar eski haline yeniden dönebildiğinden haftalık tek doz şeklinde kullanım önerilmektedir (34).

MTX' in gastrointestinal sistemden emilimi doza bağımlı olup gıdaların emilim üzerine etkileri hakkındaki bilgiler çelişkilidir. Serum pik seviyesine emilimden 1-2 saat sonra ulaşır. Genel kullanım dozu 7,5-25 mg/hafta olup bu dozun haftada bir gün tek seferde alınması önerilmektedir. Ancak bu dozun 2-3 eşit miktara bölünerek alınması klinik etkinlik açısından fark oluşturmadığı için hasta toleransına göre tercih edilmelidir. 5-25 mg arasındaki dozları iyi emilir ve % 60 oranında biyoyararlanım gösterir. Doz artırıldığında intestinal flora tarafından metabolize edilerek atılımının sağlanması nedeniyle emilimi azalır. Yaklaşık % 50'si serum proteinlerine bağlanır ve diğer albümine bağlanan maddelerle rekabete girer. Verilen dozun %60-90'a kadar olan kısmı, 48 saat içinde, en çok da ilk 8- 12 saat içinde değişmeden idrarla atılır. MTX' in böbreklerden atılımı, glomerüler filtrasyon ve tübüler sekresyonla böbreklerden ve az bir kısmında safra yolları ile olur. Bu yüzden, renal kan akımını azaltan, nefrotoksik ya da zayıf organik asit yapısındaki ilaçlarla birlikte kullanımı, renal atılımı azaltarak daha ciddi myelosupresyona neden olabilir. MTX metabolizması, insanlarda genellikle minimal düzeydedir ancak yüksek doz ilaç uygulaması ardından 7- hidroksi-MTX gibi metabolitler belirlenebilir. MTX' in santral sinir sistemine, sistemik dolaşımdaki dozunun yaklaşık %3' ü kadar geçer (34, 96, 97).

Metotreksat oral yolla (30 mg / m²) alındığında gastrointestinal sistemden tama yakın oranda absorbe olduğu halde, artan dozlarda bu oran azalmaktadır. Çocukların akut lenfosit lösemilerinin nükslerinde absorpsiyonunun bozulduğu bildirilmiştir. Metotreksat 3 yarı ömürlüdür (5 dakika, 2-3 saat, 8-10 saat) ve son ikisi böbrek yetmezliği durumunda ya da retansiyonu (tutulması) durumunda uzar. Eliminasyonun bu son döneminde, böbrek hasarı yüzünden meydana gelecek uzama, ilacın kemik iliği, gastrointestinal epitel ve cilt üzerindeki toksik etkilerinin artmasına neden olur. MTX' in plevral ya da peritoneal kavite gibi vücut boşluklarına dağılımı yavaştır. Ancak, asit ya da plevral efüzyon gibi nedenlerle meydana gelecek genişlemelerde, bu bölgeler ilaç deposu gibi davranıp ilacın yavaş salınımına neden olurlar. Bu nedenle plazma konsantrasyonundaki artış devam eder ve daha ciddi toksisite bulguları gelişebilir. Plazma-BOS konsantrasyon oranına göre metotreksatın SSS' ine geçişi düşüktür (33, 97).

Romatolojik olgularda genel kullanım dozu 10 mg/m²/hafta olup, bu dozun haftada bir gün ve tek dozda alınması önerilmektedir. Ancak bu dozun 2-3 eşit miktara bölünerek alınması klinik etkinlik açısından fark oluşturmadığı için hasta toleransına göre tercih edilebilir. Bu dozda emilimi iyidir ve %60 oranında biyoyararlanım gösterir. Doz arttırıldığında intestinal flora tarafından metabolize edilerek atılımının sağlanması nedeniyle emilimi azalır (58).

Kanser hücreleri membranından geçişi kolaylaştırmak düşüncesiyle metotreksatın yüksek dozlarda uygulanması önerilmektedir. Hücre içinde ilacın konsantrasyonunun artması, DHFR artışından ya da metotreksata DHFR'in afinitesinin azalmasından kaynaklanan direnci de yeneceği belirtilmektedir. Metotreksatın bu yüksek dozları hücrede poliglutamatların oluşumunu ve dolayısıyla ilacın etki süresini arttırmaktadır. Ancak bu yüksek dozların etkinliği konvansiyonel (normal) dozlarla karşılaştırıldığında önemli bir farklılık ortaya çıkmamaktadır. Yüksek doz tedavisine 5-formil-tetra folik asit (lökovorin) eklenmesi yararlı olmaktadır. Ayrıca metotreksatın yüksek dozlarının uygulanmasında timidin ve 1-asparaginazla hücre siklusu bloku yapılması da denenmiştir (33, 61, 63).

Birçok ilaç MTX ile etkileşime girebilmekte ve emilimi, yapısı ve atılımı etkilenebilmektedir. Diğer antifolat ajanlardan olan trimetoprim-sulfametoksazol ile birlikte alımı aşırı folat yetersizliğine, salisilatlarla alımı kan serumundaki serbest ilaç oranını artıracığından toksik etkilerde artışa neden olabilmektedir. Ayrıca non-steroid antiinflamatuvar ilaçlarla alındığında böbreklerle atılımının etkilendiği yönünde çelişkili yayınlar vardır, ancak renal fonksiyonları iyi olanlarda rahatlıkla kombine edilebilmektedir. Yaşlı ve renal fonksiyonları iyi olmayan hastalarda dikkatli olmak gerekir (34, 58).

Bunun yanında ilacın etkileri dışardan verilen folinik asit tarafından antagonize edilir (42).

2.6.3. Metotreksatın Endikasyonları

Onkolojide yüksek dozda (3-10g/m²/gün) kullanılan metotreksat; koriyokarsinomlar, lösemiler, lenfomalar, osteosarkomlar, KBB kanserleri ve meme kanseri, baş ve boyun kanseri, ovaryum ve mesane kanserlerinde; diğer antineoplastiklerle kombine edilerek de kullanılmaktadır (13, 33, 74, 131). Onkolojide uygulanan dozların 100-1000 kez daha azaldığı düşük dozda (1,000–33,000 mg/m²) uygulanan metotreksat ise; antiinflamatuvar ve hücre bölünmelerini inhibe edici etkileri nedeniyle psöriyazis, romatoid poliartritler, testis kanseri, sindirim kanalının, karaciğerin bazı inflamatuvar hastalıkları ve bazı şiddetli şiddetli astımlarda kullanılabilir (13, 27, 33, 53, 74, 81).

2.6.4. Metotreksatın Yan etkileri

MTX' in yan etkileri fazla ve şiddetlidir. MTX kullanımı sırasında gelişebilecek yan etkiler şunlardır:

-Toksitenin ilk belirtileri ağızdaki ağrı ve ülserasyonlardır (10, 56).

-Kemik iliği depresyonu sonucu lökopeni, trombositopeni, agranülozitoz görülebilmektedir (10, 55, 107).

-Sindirim mukozalarında inflamasyon oluşturmasıyla bulantı, kusma, anoreksi, karın ağrısı oluşabilir (10, 21).

-Enfeksiyonlara karşı duyarlılık artabilmektedir (33).

-Radyoterapi ile birlikte, intraketal yolla uygulandığında, baş ağrısı, ateş ve ensede sertlik gibi belirtilerle karakteristik kimyasal bir araknoidit tablosu ortaya çıkar. Uygulamadan 2-3 hafta sonra motor paralizi, kraniyal sinirlerin paralizi, konvülsiyonlar ve koma görülebilir (SSS ile ilgili yan etkiler, radyoterapi ile şiddetlenebilir) (21, 33).

-Teratojen etki; metotreksat kullanımı gebeliğin bütün dönemlerinde zarar verebilmektedir (10, 56).

-Gonadlar üzerinde toksik etkilir, spermazoidlerde değişme ve oligospermiye neden olmaktadır (10, 33).

-Uzun süreli oral tedaviler siroz ve vena porta fibrozuna neden olabilir. Kimyasal hepatit kolin uygulanmasıyla giderilebilmektedir (56).

-Düşük dozlarda sık olarak saçların incelmesi gözlenmektedir (10).

-Yüksek dozlar alopesi ve deride pigmentasyon ve fotosansibiliteye sebep olur (10).

-Nefrotoksik etkileri vardır. Bu nedenle tedaviye başlanmadan ince hasta hidrate edilmeli, lökovorin ile idrar alkalileştirilmelidir (56, 107).

-Akciğerlerde infiltrasyon yapabilir (56).

Metotreksat bazı ilaçlarla zararlı etkileşimler yapmaktadır. Metotreksat yüksek oranlarda plazma proteinlerine bağlandığından asit yapılı ilaçlar MTX-protein bağını bozarlar. Fenitoin, NSAİİ ilaçlar, salisilatlar, sülfonamidler, tetrasiklinler, tiazid diüretikler ve probenesid böbrek tubülüslerinde MTX transportunu bozarak eliminasyonunu azaltmakta, dolayısıyla toksisitesini artırmaktadırlar (33).

MTX gibi anti-kanser ilaçlarının, hücreler üzerindeki sitotoksik etkisi kanser hücreleri için selektif değildir. Bu nedenle yüksek proliferasyon oranına sahip olan kemik iliği, bağırsak mukozası ve saç folikülleri gibi sağlam dokular içinde toksik olan bir ajandır. Antikanser ajanlar gonadları da etkiler (126).

Yapılan çalışmalar MTX' ın, antioksidan enzim sisteminin etkinliğini azaltarak, hücreleri reaktif oksijen partiküllerine (ROP)'ne karşı hassas duruma getirip hasara neden olduğunu göstermektedir. Oksidatif stres testis dokusunda ve germ hücrelerinde

hasara yol açmaktadır. MTX' in seminifer tübüllerde atrofiye, germinal hücrelerin dökülmesine ve apoptosize yol açtığını gözlemlenmiştir (126).

MTX oksidatif stres ya da doğrudan toksik etkisi ile testiküler hasara yol açarak üremeyi etkilemektedir. Fareler üzerinde çalışılan MTX uygulamasında seminifer tübül atrofisi, vakualizasyon, hücresel deskuamasyon ve morfolojik değişiklikler görülmüştür (76).

Fareler üzerinde yapılan bir araştırmaya göre; MTX' in; testis ağırlığında azalma, sperm sayısında azalma, sperm baş anormallikleri arttırdığı, seminifer tübül ve sperm DNA' sında hasar meydana getirdiği rapor edilmiştir (80).

MTX, birincil ve ikinci spermatosit boyutlarında değişiklik, kromatin kitle yoğunlaşması ve vakuolizasyon, spermatid ve Leydig hücre büyüklüklerinde farklılığa neden olmaktadır. MTX, hücresel ve kromozomal değişiklikler ile oligospermiye yol açmaktadır (98).

2.7. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, elektronlarını paylaşabilmek için diğer moleküllerle hızla reaksiyona giren, dış orbitalinde tek sayıda elektron bulunan atom veya moleküllerdir. Genellikle radikal olmayan herhangi bir molekül veya atoma elektronun girmesi çıkması ile meydana gelirler. İnsan vücudunda bütün hücrelere hiçbir zorlukla karşılaşmadan giren ve en çok kullanılma özelliğine sahip olan moleküler oksijen (O₂), yapısı itibariyle radikal olmaya çok uygun olduğundan serbest radikal denilince aslında serbest oksijen radikalleri (SOR) akla gelmektedir (9, 31, 92).

Eğer elektron çiftleşmemişse molekül daha reaktif duruma gelir ve kararsızlaşır. Reaktif oksijen türleri (ROS), reaktif nitrojen türleri (RNS) ve sülfür merkezli radikaller oksidan sınıfına girer. Reaktif oksijen molekülleri, tek elektronunu bir başka moleküle

verebilenler (radikaller) ve elektron eksikliği olmadığı halde başka moleküller ile radikallerden daha zayıf bir şekilde birleşebilenler (radikal olmayanlar) olmak üzere iki gruba ayrılmaktadırlar. Canlılarda toksik olan moleküller oksijenin tam olmayan indirgenmesi ile oluşan oksijen radikalleridir (9, 118).

Polimorf çekirdekli lökositler (PMNL)'in aktive olması ile ortaya çıkan solunum patlamasında rol alan Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz (NADPH oksidaz), süperoksit dismutaz (SOD), nitrik oksit sentaz (NOS) ve MPO gibi enzimler süperoksit anyonu (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), nitrik oksit (NO) ve hidroklorik asit (HOCl) gibi reaktif ürünlerin ortaya çıkmasına yol açar. Aşırı reaktif bu maddeler diğer atom ve moleküllerle elektron alışverişine girerek, onların kimyasal yapılarını değiştirip kararsız (reaktif) bir atom haline getirme eğilimindedirler (31).

Serbest radikaller elektron transferi, enerji üretimi ve diğer metabolik fonksiyonlarda temel oluştururlar. Ancak radikallerle reaksiyona giren moleküllerin bir elektronu azaldığı için onlar da reaktif bir hale gelir ve bu reaksiyon zincirleme olarak devam ederken kontrolsüz bir davranış gösterirse hücrede hasarlara neden olurlar (49).

Serbest radikaller hem normal metabolizmanın yan ürünü olarak, hem de toksik maddelerin etkisiyle oluşabilmektedir. Serbest radikal yaratan kaynaklar radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliğini yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları ve birçok başka etkenlerdir. İçinde bulunduğumuz çevrede çeşitli fiziksel ve kimyasal olaylar nedeniyle devamlı bir radikal yapımı vardır, hücresel koşullarda da ciddi miktarda ve çeşitlilikte radikal üretilmektedir (49).

Serbest oksijen radikallerinin endojen kaynakları ise; mitokondriyal elektron transport sistemi, oksidatif stres durumları (iskemi, travma, intoksikasyon gibi durumlara bağlı olarak), peroksisomlarda bulunan enzimler, enzimler ve proteinler;

triptofan dioksijenaz, hemoglobin vb., küçük moleküllerin otooksidasyonu; tioller, katekolaminler, hidrokinonlar, flavinler, tetrahidroproteinler, antibiotikler vb., endoplazmik retikulum ve çekirdek membran elektron transport sistemleri (sitokrom p-450), makrofaj gibi fagositik hücrelerin aktivasyonu ile meydana gelen solunumsal patlama olarak sıralanabilmektedir (31).

Yapılan çalışmalarla, çeşitli kategorideki sitostatik ajanların hem in vivo hem de in vitro olarak serbest radikal üretimine neden oldukları gösterilmiştir (26, 35).

2.8. Oksidatif Stres

Fizyolojik şartlarda insan vücudunda oluşan SOR ile antioksidan defans sistemi bir denge halindedir. Yoğun SOR üretimi ya da antioksidan defansın azalması, biyomoleküllerde yapısal ve fonksiyonel modifikasyonlara yol açarak oksidatif strese neden olur (9, 31).

Temel olarak oksidatif stres, biyolojik sistemde prooksidanlarla antioksidanlar arasındaki dengenin, prooksidanlar lehine bozulması olarak tanımlanır. Hücreler hafif oksidatif stresi tek başlarına tolere edebilseler de genellikle antioksidan enzim sistemlerini aktive ederler. Ancak, hücre içi savunma sistemlerinin yeterli olmadığı durumlarda, oksidatif stresin tanımında belirtildiği üzere, reaktif oksijen bileşikleri (ROB) ile antioksidanlar arasındaki denge bozulur, dolayısıyla oksidan hasara duyarlı DNA, protein, karbonhidratlar ve lipitler gibi hücresel makromoleküller zarar görür (20, 45, 89, 133).

Lipid peroksidasyonu serbest oksijen radikalleri tarafından başlatılan ve zar yapısındaki doymamış yağ asitlerinin oksidasyonunu içeren kimyasal bir olaydır. Lipid peroksidasyonu, organizmada oluşan kuvvetli oksitleyici bir radikalın zar yapısındaki doymamış yağ asidi zincirinin α -metilen gruplarındaki hidrojen atomunun uzaklaştırılmasıyla başlar. Yağ asidi zincirinden serbest radikal etkisi ile hidrojen atomu uzaklaştırılırsa yağ asidi zinciri radikal özelliği kazanır. Lipid peroksidasyonunun; zar lipid yapısındaki değişiklikler nedeniyle zar fonksiyonunun bozulması, oluşan serbest radikallerin enzimler ve diğer hücre bileşenleri üzerine etkisi, son ürünler olan aldehitlerin sitotoksik etkileri gibi farklı yollarla hücre hasarına neden olduğu düşünülmektedir. Malondialdehit, oksidatif stres sonucu gelişen lipidlerin peroksidasyon hasarının son ürünü olarak lipid hasarı göstergesi, luminol, oksidatif stresin hücre sitoplazma düzeyi göstergesi, lusigenin ise oksidatif stresin hücre mitokondriyal düzey hasar göstergesi olarak kullanılmaktadır (20, 43).

2.9. Antioksidanlar

Antioksidan ise; okside olabilen substrata göre ortamda daha az derişimde bulunan ve bu substratın oksidasyonunu belirgin şekilde geciktiren veya engelleyen madde olarak tanımlanabilir. Bu tanıma göre antioksidanların fizyolojik rolü, serbest radikalleri içeren kimyasal tepkimelerin sonucunda hücrenel bileşenlere gelebilecek zararı önlemektir (129).

Antioksidanlar lipid peroksidasyonunu engellemeleri yanında protein, nükleik asitler ve karbonhidratların korunmasını sağlarlar. Serbest radikaller ve reaksiyon ürünleri biyomoleküller, fagositler ve myofibroblastların aktivitelerini artırırılar. Lipid peroksidasyonu ve lipid peroksidasyon ürünleri ile oluşturulan fibrozun, bazı hayvan modellerinde antioksidanların kullanımı ile azaldığı gösterilmiştir (4, 43).

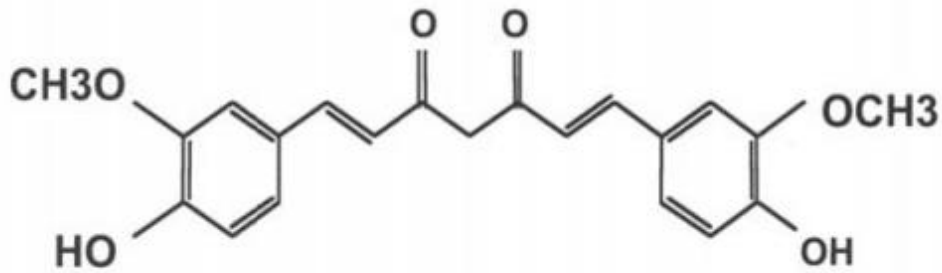
Antioksidan sistemler enzimatik ve nonenzimatik olmak üzere iki kısma ayrılırlar. Başlıca antioksidan enzimler; Glutatyon peroksidaz (GPX), katalaz (KAT) ve süperoksit dismutaz (SOD)'dır. Nonenzimatik antioksidan sistem

içerisinde; E vitamini, C vitamini, seruloplazmin, transferrin, ürik asit, albumin, bilirubin, glukoz, piruvat, taurin, β -Karoten, melatonin, glutatyon ve sistein gibi moleküller yer alır (122).

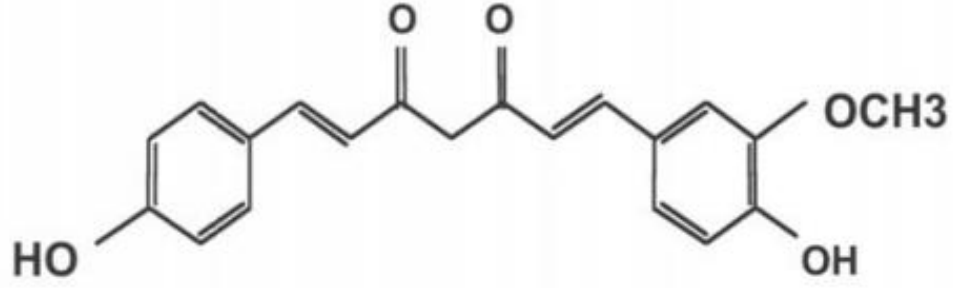
2.10. Kurkumin

Yaygın olarak gıda renklendirici ve baharat olarak kullanılan; Zencefilgiller ailesine (Zingiberaceae) ait zerdeçal (*Curcuma longa*, turmeric, zerdeçöp, safran kökü, sarıboya, zerdeçav, hint safranı) bitkisinin köklerinden elde edilen polifenolik bir bileşik olan Kurkumin, sarı-turuncu pigmentli bir maddedir (112, 130). Başta Pakistan, Hindistan, Çin ve Bangladeş olmak üzere Asya'nın tropik bölgelerinde yetişmekte olup; bitkinin rizomlarından elde edilen tozunun yaklaşık 1:30 - 1:100 kadarını kurkumin oluşturur. 1 silme tatlı kaşığı zerdeçal (~3 gram), ortalama 30-90 mg kurkumin içerir (5, 48).

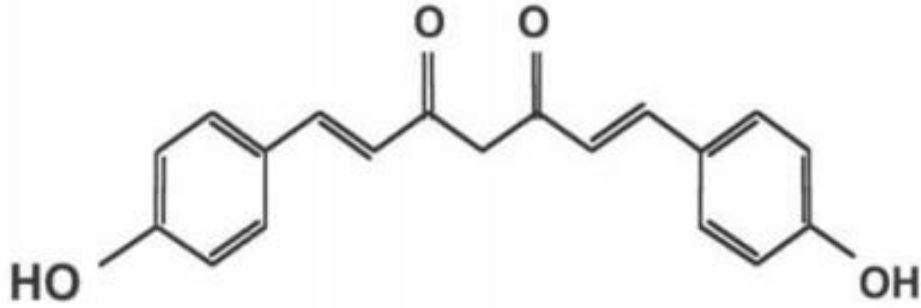
Zerdeçalın aktif bileşenleri kurkuminoit olarak adlandırılır; ve doğal *Curcuma longa* bitkisinde 3 önemli kurkuminoit bulunmaktadır. Bunlar; kurkumin (%75) (Şekil 11), demetoksikurkumin (%20) (Şekil 12) ve bisdemetoksikurkumindir (%5) (Şekil 13) (65). Aktif bileşenlerinde ayrıca ve tumerone, atlantane ve zingiberone dahil olmak üzere çeşitli uçucu yağlar bulunmaktadır. Diğer bileşenleri ise şekerler, proteinler ve reçineleri içerir. Ham zerdeçalın içerisinde % 0,3-5,4 oranında kurkuminoit bulunmaktadır (19, 30, 73).



Şekil 11. Kurkuminin moleküler yapısı (3)



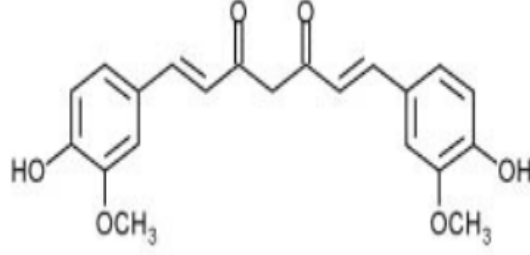
Şekil 12. Demetoksikurkuminin moleküler yapısı (3).



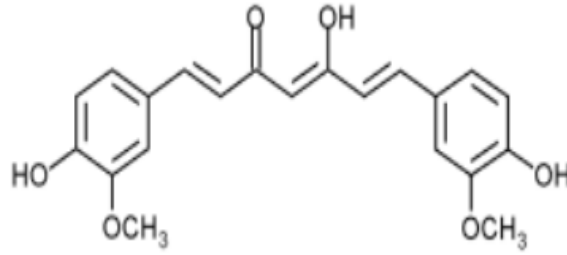
Şekil 13. Bisdemetoksikurkuminin moleküler yapısı (3).

2.10.1 Kurkuminin Fonksiyonel Özellikleri

Kurkuminin (Diferuloylmethane), sistematik kimyasal adı (1*E*,6*E*)-1,7-bis (4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,6-heptadien-3,5-dion olup keto ve enol olmak üzere iki tautomerik şekli bulunmaktadır (Şekil 14). Keto formu asidiktir ve nötral sıvı solüsyonlarda ve hücre membranlarında bulunmaktadırlar. pH 3-7 aralığında kurkumin güçlü bir H atom donörüdür. Buna karşın pH 8'in üzerinde enol form hakimdir ve kurkumin bir elektron donörü gibi hareket etmektedir ki bu fenolik antioksidanların bağlanma aktivitesi için tipik bir mekanizmadır. Kurkumin bazik pH'a karşı dayanıksızdır ve 30 dakika içinde trans-6-(4'-hidroksi-3'metoksifenil)-2-4-diokso-5-hekzanal, ferulik asit, feruloilmetan ve vanilline indirgenir. pH 7'nin üzerinde rengi sarıdan kırmızıya doğru döner. Molekül formülü $C_{21}H_{20}O_6$ olan kurkuminin molekül ağırlığı : 368,38 g/mol olup; erime noktası 183°C (361°F) (456.15°K)'dir. Kurkumin suda çözünmeyen, ancak etanol; Dimetil sülfoksit (DMSO) ve asetonda çözünebilen bir moleküldür. Bilinen bir yan etkisi yoktur (30, 68, 103).



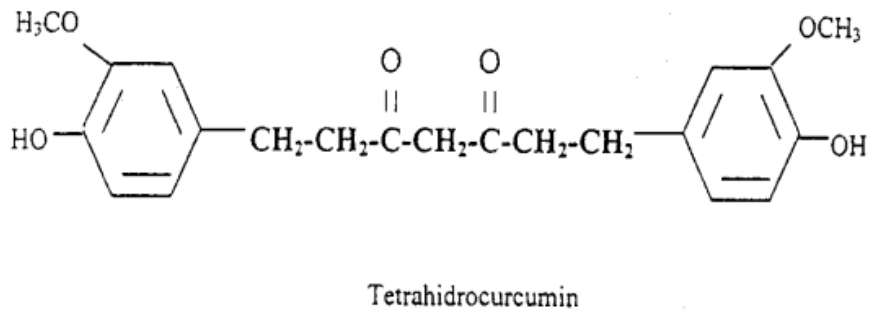
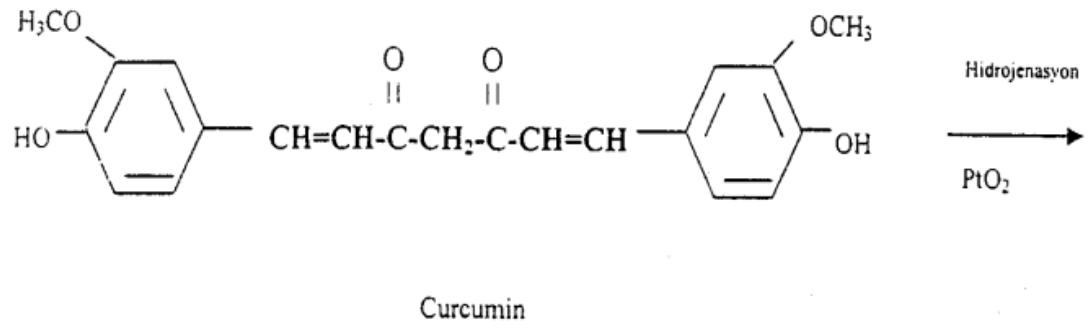
Kurkumin keto form



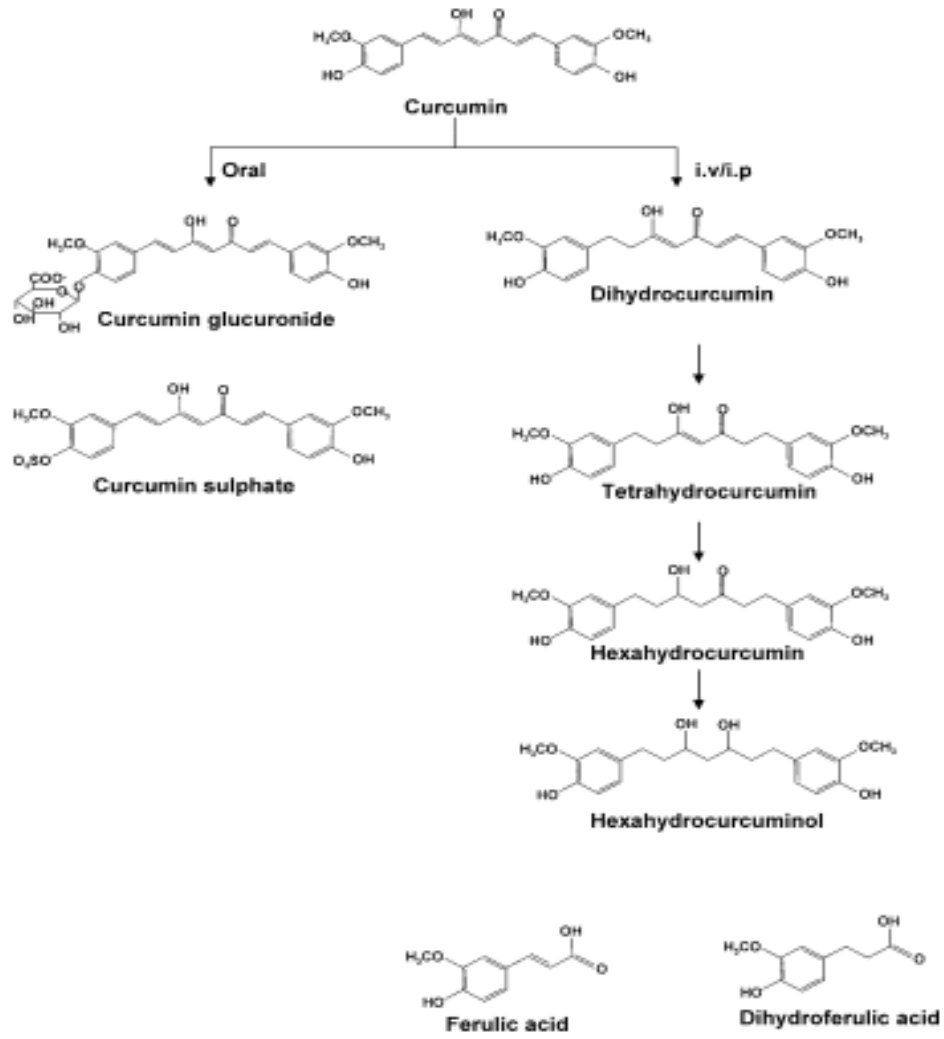
Kurkumin enol form

Şekil 14. Kurkuminin keto enol form molekül yapısı (65).

Sıçanlarla yapılan bir çalışmada, oral olarak verilen kurkuminin %60 oranda absorbe edildiği, geri kalan büyük kısmına gaitada ve glukuronid ve sülfat konjugatları halinde idrarda görüldüğü gösterilmiştir (103). Bağırsak ve karaciğerde kurkumin glukuronid ve kurkumin sülfata konjuge edilir yada heksahidrokurkumine indirgenir (43). Bağırsaklarda hidrojenasyon ile tetrahidrokurkumin (THC)'e dönüşür (Şekil 15). Fakat metabolitleri kurkumin ile aynı biyolojik aktiviteye sahip değildir. Ancak THC'nin kurkuminin fizyolojik aktiviteleri üzerinde rol sahip olabileceği düşünülmektedir. Kurkumin, bağırsaklardan emilerek, kana ve böylece dokulara dağılmakta, safra ile atılmaktadır. Safrada ise ferulik asit ve dehidroferulik asit formlarında bulunmaktadır (Şekil 16) (8, 82).



Şekil 15. Kurkumin ve tetrahidrokurkuminin moleküler yapıları (5).



Şekil 16. Kurkumin ve metabolitlerinin moleküler yapıları (8).

Kurkumin biyoyararlanım potansiyelini artırmak için yapılan bir çalışmada piperin ile kullanımında %154 artış gözlenmiştir (103).

Zerdeçalın tıbbi olarak 6000 yıldır kullanıldığı Ayurveda'da (Hint Tıp Sistemi) belgelenmiştir (3). Kurkumin; antioksidan, antikanserojen, antimutajenik, antidiyabetik, antibakteriyel, antiviral, antiinflamatuvar, antinosiseptif etkileri ile geniş bir biyolojik ve farmakolojik etki skalasına sahiptir (108, 114).

Asidik ve nötral pH'da antioksidan etkisi yanında siklooksijenaz, glutatyon-s-transferaz üzerine etkileri, immun modulasyon etkisi, angiogenesis ve hücre-hücre adezyon etkisi vardır. Gen transkripsiyonu ve apoptozisi indükleyerek kanser hastalarında olumlu etkileri görülmüştür. In vivo ve in vitro çalışmalarla inhibitör etkisini karsinogenezin üç basamağında da; tümör artışı, angiogenesis ve tümör büyümesinde etkilidir. Kurkumin mitogen-uyarımlı kan mononükleer hücrelerinin çoğalmasını baskılamakta; nötrofil aktivasyonunu inhibe etmekte, lenfositik reaksiyonlarda ve serumla uyarılmış veya trombosit kaynaklı büyüme faktörlerine bağlı düz kas hücrelerindeki mitogenezi baskılamaktadır. Son çalışmalarla kurkuminin doza bağımlı birçok hayvanda tümöre karşı kimyasal koruyucu olduğu gösterilmiştir. Bu koruyucu etkisi; kolon, duodenum, mide, ösefagus, prostat ve oral kanserlerinde gösterilmiştir. Kurkuminin antikarsinogenik ve kimyasal koruyucu etkisinin moleküler temeli; transkripsiyon faktörleri, büyüme düzenleyicileri, adhezyon molekülleri, apoptotik genler, angiogenesis düzenleyicileri ve hücrel sinyal molekülleri üzerinden olduğu kabul edilmektedir (43, 59).

Keto grupları ve çift bağların varlığı inflamasyon, kanser ve antimitagen etkinliklerde rol oynamaktadır. Kurkumin ile lipid peroksidasyonunun bastırılması inflamasyonun baskılanmasına yol açabilir. Antiinflamatuvar etkisini, Fosfolipaz A-2 (Pla2), siklooksijenaz-2 (Cox-2) ve 5-lipoksijenaz (5-Lox) enzimlerini inhibe ederek gösterir. Ayrıca 5-Lox'ın katalitik etkisini direkt olarak da inhibe edebilir. Kurkumin, inflamatuvar hastalıkları belli oranda kontrol edebildiğinden tedavide yaygın olarak kullanılmaktadır (47, 51, 83, 104).

Uzun yıllardır yara iyileşmesinde alternatif tıpta destek olarak kullanılmakta olan kurkuminin fibronektin (FN) ve kollagen ekspresyonu arttırdığı, insan keratinositlerinde ve fibroblastlarında hidrojen peroksida bağlı hasarı azalttığı ve yara iyileşme zamanını kısalttığı gösterilmiştir (125).

2.10.2 Kurkuminin Antioksidan Etkisi

Kurkumin, β pozisyonunda bağlanmış 2 keton grubu içerir. Fenil halkası

üzerindeki hidroksil gruplarının varlığı, tipik bir radikal tutma özelliği göstererek antioksidan olmasında rol oynar. Birçok reaktif oksijen radikallerini özellikle de süperoksit anyon radikallarının, nitrojen dioksit radikallerinin ve hidroksil radikallerinin atımını kolaylaştırır. Genel olarak, oksijen radikali reaksiyonlarında ikili etkiye sahiptir; ya hidroksil radikallerini tutarak hareket eder ya da hidroksil radikallerinin oluşumunu katalize eder. Kurkuminin antioksidan aktivitesi, süperoksit dismutaz, katalazlar ve glutasyon peroksidaz gibi antioksidan enzimler aracılığı ile olabilir. Ayrıca oksidatif enzimlerin inhibisyonu, oksidatif kaskad ile etkileşimde olarak sonuçlarının önlenmesi, demir gibi metal iyonlarına bağlanarak ya da devreden çıkararak antioksidan özelliğini sürdürmektedir (82, 83, 125).

Kurkuminin antioksidan özelliği, in vivo da görüldüğü gibi, in vitro PtO_2 katalizörlüğünde THC'e dönüştürülerek de gösterilmiştir. Her iki maddenin de lipid peroksidasyonu üzerinde inhibe edici etkileri araştırılmış, THC'nin antioksidan mekanizmasının, β -diketon türevinden kaynaklandığı görülmüştür. Kurkumin, kuvvetli hidroksil radikal temizleyicisi olduğu gibi, süperoksit radikallerini de yakalar. Serbest radikalleri tutma özelliğinden dolayı DNA'yı oksidatif hasarlardan korur. Radyasyona karşı koruyucu etkisi, antioksidan özelliğinden kaynaklanır (82, 84, 99).

Lipid peroksidasyonu inhibisyonu; nitrik oksit sentetaz aktivitesi; reaktif oksijen türevlerinin üretimi; protein kinaz C aktivitesi; Nükleer faktör-kappa B (NF- κ B) aktivitesi ile güçlü bir antioksidan etki göstermektedir. NF- κ B bağlı gen transkripsiyonunu inhibe edip Cox-2 indüksiyonunu inhibe etmiş olur. Cox-2 aşırı ekspresyonunda kolon, rektum, meme, baş-boyun, akciğer, pankreas, mide ve prostat tümörlerinde karsinogenezis gözlenebilmektedir. Cox-2 uyarımı baskılanması ile inflamatuvar prostaglandinlerin sentezi baskılanmaktadır. Kurkuminin direkt antioksidan etkisi yanında inflamatuvar enzimlerin aktivitelerini inhibe ederek ve önemli bir intrasellüler antioksidan olan glutasyonun sentezini artırarak dolaylı antioksidan etkisi de vardır. Bunu da glutamat sistein ligaz geninin transkripsiyonunu artırarak yapar (87, 125, 132).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmada kullanılan gereç ve yöntemler aşağıda açıklanmıştır.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, 3 aylık, 200-290 g ağırlığında, toplam 28 adet, erişkin Spraque-Dawley cinsi erkek sıçan kullanıldı. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda anabilim dalımız hayvan laboratuvarında, uygun kafesler içinde barındırılarak serbestçe beslenmeleri ve su içmeleri sağlandı. Tüm grupları oluşturan sıçanlar deney süresi boyunca normal pelet yem ve su ile beslendi. Çalışmamızda yapılan tüm işlemler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 27.03.2013 tarihli ve 329 sayılı kararı ile onaylanmıştır. Deney hayvanları her bir grupta 7 adet sıçan olacak şekilde Kontrol, Metotreksat, Kurkumin ve Metotreksat+Kurkumin grubu olarak 4 gruba ayrıldı.

1) Kontrol grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, 5 gün boyunca günde bir kez sıçanların vücut ağırlıklarına göre belirlenen hacimde DMSO (Kurkumin çözücüsü olduğundan) (2 cc/kg) intraperitoneal olarak verildi.

2) Metotreksat grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, birinci gün tek doz Metotreksat 20 mg/kg/ip verildi (12, 71, 76, 124).

3) Kurkumin grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, 5 gün boyunca günde bir kez 200 mg/kg/ip kurkumin verildi (14, 36, 50).

4) Metotreksat+Kurkumin grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, birinci gün tek doz Metotreksat 20 mg/kg/ip ve bu uygulamadan yarım saat önce ve devam eden 5 gün boyunca günde bir kez 200 mg/kg/ip kurkumin verildi.

Tablo 2. Enjeksiyon programı ; Metotreksat : 20 mg/kg, Kurkumin : 200 mg/kg, DMSO(+) : 2 cc/kg

DENEY GRUPLARI	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün
Kontrol Grubu (DMSO)	+	+	+	+	+	<i>Kesim</i>
Metotreksat Grubu	20 mg/kg	-	-	-	-	<i>Kesim</i>
Metotreksat + Kurkumin Grubu	20 mg/kg + 200mg/kg	200mg/kg	200mg/kg	200mg/kg	200mg/kg	<i>Kesim</i>
Kurkumin Grubu	200mg/kg	200mg/kg	200mg/kg	200mg/kg	200mg/kg	<i>Kesim</i>

3.2. Kimyasallar

Metotreksat olarak, Koçak Farma firmasının Methotrexate 50 mg/5 ml Enjektabl solüsyon içeren flakon adlı ürünü kullanıldı. Kurkumin olarak, Sigma firmasına ait C1386 SIGMA Curcumin from Curcuma longa (Turmeric), powder adlı ürünü kullanıldı ve -20 °C'lik buzlukta saklandı.

3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Deney başından itibaren hayvanların vücut ağırlıkları uygulanacak madde dozlarını belirlemek üzere günlük olarak tartıldı. Deney sonunda ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

3.4. Bouin Çözeltisinin Hazırlanması

Dokuların tespitinde kullanılacak Bouin çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı;

- ❖ Doymuş pikrik asit çözeltisi 75 ml
- ❖ Formaldehit (% 40) 25 ml
- ❖ Glasiyal asetik asit 5 ml

Molekül ağırlığı kadar tartılan pikrik asit (12.2 g) 1000 ml saf su içerisinde çözüldü. İyice çözdürülmesine dikkat edilerek gerekli miktarda pikrik asit kullanıldı. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü. Bouin çözeltisini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi ile formaldehit karıştırıldı, daha sonra üzerine yavaşça glasiyal asetik asit ilave edilerek çözelti karıştırıldı (18).

3.5. Dokuların Alınması

Hayvanlar 6. günde vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedildikten sonra ketamin (90 mg/kg) + ksilazin -hidroklorür (10 mg/kg) i.p. olarak verilerek servikal dislokasyon ile öldürüldü (46, 67, 72, 102). Hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı.

3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü

Çevre dokularından iyice temizlenen testislerin her biri Ohaus (Adventurer Pro AV264C) marka hassas terazi ile tartıldı. Testis ağırlıkları her sıçan için ayrı ayrı sağ ve sol olmak üzere tartılarak kaydedildikten sonra, sol testisler Bouin çözeltisine ve sağ testisler ise %10'luk formaldehit içerisine alındı.

3.7. Testis Ağırlık İndeksinin Hesaplanması

Deneyin son günü ölçülen vücut ağırlığı ile aynı hayvana ait sağ ve sol testis ağırlığı toplamı aşağıdaki formüle göre hesaplanarak her bir hayvan için TAI değerleri belirlendi (79);

$$\text{TAI: } [(\text{sağ} + \text{sol testis ağırlıkları toplamı}) / \text{vücut ağırlığı}] \times 100$$

3.8. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Çıkarılan sol testislerin üzerine Bouin çözeltisi, sağ testislerin üzerine ise %10'luk formaldehit döküldükten sonra testislerin uzun eksenlerine dik olacak şekilde enjektör ucu ile testislerin kapsüllerine karşılıklı birkaç delik açıldı. Fiksatif içerisindeki testis dokuları sertleştikten sonra testisler enine olacak şekilde önce ortadan iki eşit parçaya ve daha sonra bu parçalar da yeniden ikiye bölünerek kasetlere alındı ve etiketlenerek kodlandı. Dokular Bouin fiksatifi içinde 24 saat bekletildi ve daha sonra rutin doku takibi işlemi uygulanarak her hayvana ait parafin bloklar hazırlandı. Her testisten iki blok elde edildi.

Parafin bloklar hazırlamak için kullanılan doku takip yönteminin basamakları Tablo 2' de gösterilmiştir.

Tablo 2. Doku takip yöntemine ait süreler

Kimyasal	Uygulama süresi (saat)
Bouin Çözeltisi	24 saat
%50 Alkol	çalkalama
%70 Alkol	1 saat
%80 Alkol	1 saat
%90 Alkol	1 saat
%96 Alkol I	1 saat
%96 Alkol II	1 saat
%100 Alkol	15-20 dk
Ksilol I	10 dk
Ksilol II	10 dk
%50 Parafin - %50 Ksilol	30 dk
Parafin I	45 dk
Parafin II	1 saat
Parafin III	1 saat
Bloklama	

%10' luk formaldehit ile tespit edilen kontrol ve deney gruplarına ait dokular rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafin blok haline getirildi.

3.9. Boyaların Hazırlanması

3.9.1. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksin (PAS+H) boyasının hazırlanışı

Kesitlerin boyanmasında kullanılacak boya çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı (18).

A- Periyodik asit	1 g
Saf su	200 ml
B- Schiff çözeltisi;	
Bazik fuksin	1 g
Saf su	200 ml
C- Potasyum metabisülfid	2 g
D- Hidroklorik asit	2 ml
E- Aktif kömür	2 g

Schiff çözeltisi boyama yapılmadan bir gün önce hazırlandı. Periyodik asit saf suda çözdürüldü ve kaynatıldı. Kaynatılan çözeltiye bazik fuksin eklenerek karıştırıldı ve 50°C' ye kadar soğutuldu. Daha sonra 2 g potasyum metabisülfid eklenerek karıştırıldı. Oda sıcaklığına geldiğinde 2 ml hidroklorik asit eklenerek karıştırıldı ve 2 g aktif kömür eklenip yeniden karıştırıldıktan sonra karanlık ortamda oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü.

3.10. Kesitlerin Alınması ve Boyanması

Her bloktan 60 µm trim aralığı ile 3 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Her lam üzerinde 2 kesit olacak şekilde ve kesitin alınma sırasına göre lamalar numaralandı. Her bloktan alınan 3 µm kalınlığındaki seri kesitler ışık mikroskopunda inceleme

için Hematoksilin-Eozin (H-E) ve Periyodik Asit Schiff (PAS)+Hematoksilin (H) ile boyandı. Boyama yönteminin basamakları ve uygulama süreleri Tablo 3 ve Tablo 4’ de gösterilmiştir.

Tablo 3. Hematoksilin Eozin boyama yöntemi basamakları süreleri

Kimyasal madde	Uygulama süresi (dk.)
Ksilol I	10 dk
Ksilol II	10 dk
%96 Alkol I	5 dk
%96 Alkol II	5 dk
%90 Alkol	5 dk
%80 Alkol	5 dk
%70 Alkol	5 dk
Distile Su	5 dk
Hematoksilin	1 dk
Çeşme suyunda yıkama	Suyun rengi şeffaf olana kadar
Eozin	5 dk
%70 Alkol	2 dk
%80 Alkol	2 dk
%90 Alkol	2 dk
%96 Alkol I	2 dk
%96 Alkol II	2 dk
Ksilol I	10 dk
Ksilol II	10 dk
Lamların kapatılması	

Tablo 4. PAS+H boyama yöntemi basamakları süreleri.

Kimyasal madde	Uygulama süresi (dk)
Ksilol I	10 dk
Ksilol II	10 dk
%96 Alkol I	5 dk
%96 Alkol II	5 dk
%90 Alkol	5 dk
%80 Alkol	5 dk
%70 Alkol	5 dk
Distile Su	5 dk
Periyodik asit	5 dk
Distile Su	2 dk
Schiff çözeltisi	15 dk
Çeşme suyu	2 dk
Hematoksin	1,5 dk
Çeşme suyu	2 dk
%70 Alkol	2 dk
%80 Alkol	2 dk
%90 Alkol	2 dk
%96 Alkol I	2 dk
%96 Alkol II	2 dk
Ksilol I	10 dk
Ksilol II	10 dk
Lamların kapatılması	

3.11. Histolojik Değerlendirme

H-E ve PAS+H ile boyanan kesitlerin histolojik değerlendirmesi için DP 70 dijital kamera ile donatılmış Olympus BX51 ışık mikroskobu (Olympus Corp. Tokyo, Japonya) kullanıldı. Tüm preparatlar bu mikroskopta incelenerek grupları temsil eden görüntüler elde edildi.

3.12. İstatistiksel Analiz

Verilerin analizi IBM Statistics 20 ve SigmaStat 3,5 paket programında yapıldı. Başlangıç vücut ağırlığı, deney sonu vücut ağırlığı, sağ testis ağırlığı, sol testis ağırlığı, toplam testis ağırlığı ve testis ağırlık indeksi değerleri ortalama \pm standart sapma olarak hesaplandı. Deneklere ait verilerin öncelikle normal dağılıp dağılmadıkları ve varyanslarının homojenliği test edildi. Grupların karşılaştırılmasında veriler normal dağılıyor ise tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen çoklu grupların testinde ise Kruskal-Wallis H testi kullanılmıştır. Verilerin normal dağılım varsayımına uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile test edilmiştir. Başlangıç vücut ağırlıkları ile deney sonu vücut ağırlıkları kıyaslanırken normal dağılıma uygunluk olan verilerde Paired t Test, normal dağılıma uygunluk göstermeyen verilerde Wilcoxon Rank Test ile test edilmiştir. İstatistik anlamlılık değeri $p < 0,05$ olarak alınmıştır.

4. BULGULAR

Bulgularımız, deney sonu vücut ağırlığı farkı, toplam testis ağırlığı, testis ağırlık indeksi ve histopatoloji bulguları olmak üzere 4 alt başlıkta değerlendirildi.

4.1. Vücut Ağırlığı

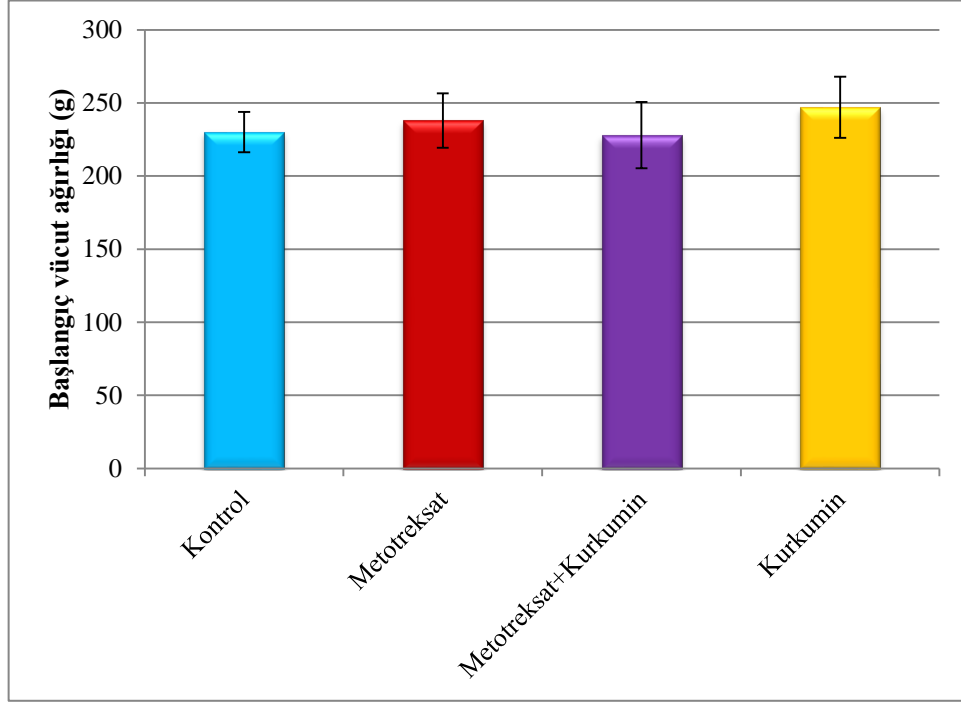
4.1.1 Başlangıç vücut ağırlığı

Çalışmamızda hayvanların ilk ölçülen vücut ağırlıklarına ilişkin bulguları Tablo 5’de verilmiştir.

Hayvanların ilk ağırlıklarının istatistiksel olarak karşılaştırılması sonucunda gruplar arasında önemli bir fark saptanmamıştır ($p=0,204^{ns}$) (Şekil 17).

Tablo 5. Gruplara göre deney öncesi vücut ağırlıkları farkları (g) (NS= Not Significant) (Anlamlı Değil).

Gruplar	Medyan(25-75)	p
Kontrol	230,000 (221,500-233,500)	0,204 ^{ns}
Metotreksat	238,000 (236,250-249,500)	
Metotreksat+Kurkumin	228,000 (217,750-257,500)	
Kurkumin	247,000 (227,000-249,500)	



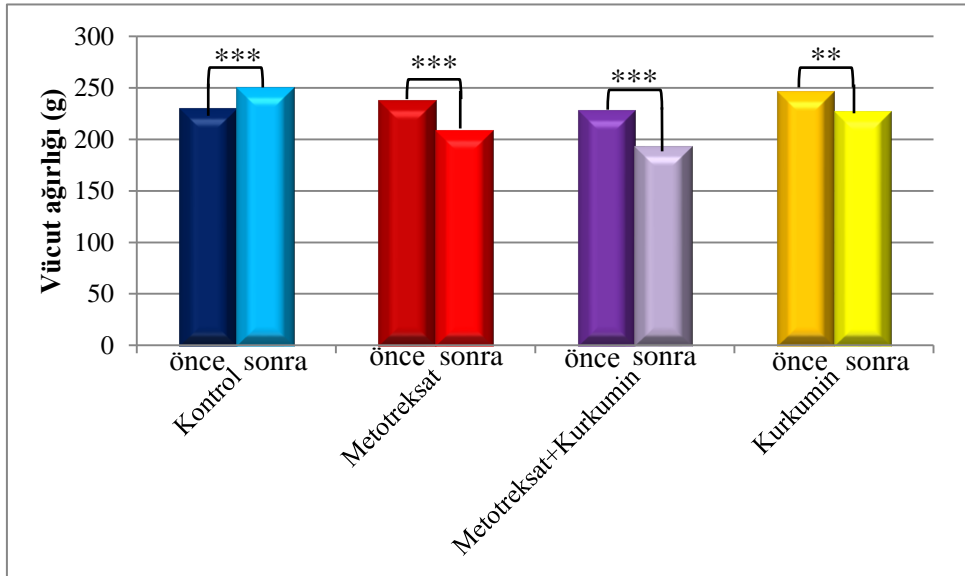
Şekil 17. Sıçanların deney öncesi vücut ağırlıklarının karşılaştırılması.

4.1.2 Deney sonu vücut ağırlığı

Kontrol grubunda deney öncesi ve deney sonrası sıçanların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında sıçanların vücut ağırlıklarında artış görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ($p < 0,001^{***}$). Metotreksat uygulanan grupta deney öncesi ve deney sonrası sıçanların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında sıçanların vücut ağırlıklarında düşüş görüldü ve istatistiksel olarak önemli fark gözlemlendi ($p < 0,001^{***}$). Metotreksat+Kurkumin uygulanan grupta deney sonrası vücut ağırlığı deney öncesinden düşük saptandı, istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ($p < 0,001^{***}$). Kurkumin uygulanan grupta deney öncesi ve deney sonrası sıçanların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında sıçanların vücut ağırlıklarında düşüş görüldü ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlemlendi ($p = 0,004^{**}$) (Tablo 6, şekil 18).

Tablo 6. Gruplara göre deney öncesi ve sonrası vücut ağırlıkları farkları (g).

Deney Öncesi ve Sonrası Vücut Ağırlıkları Farkı		
Gruplar	Ortalamalarının Farkı	p
Kontrol	+17,87	<0,001***
Metotreksat	-37,71	<0,001***
Metotreksat + Kurkumin	-57,15	<0,001***
Kurkumin	-25,93	0,004**

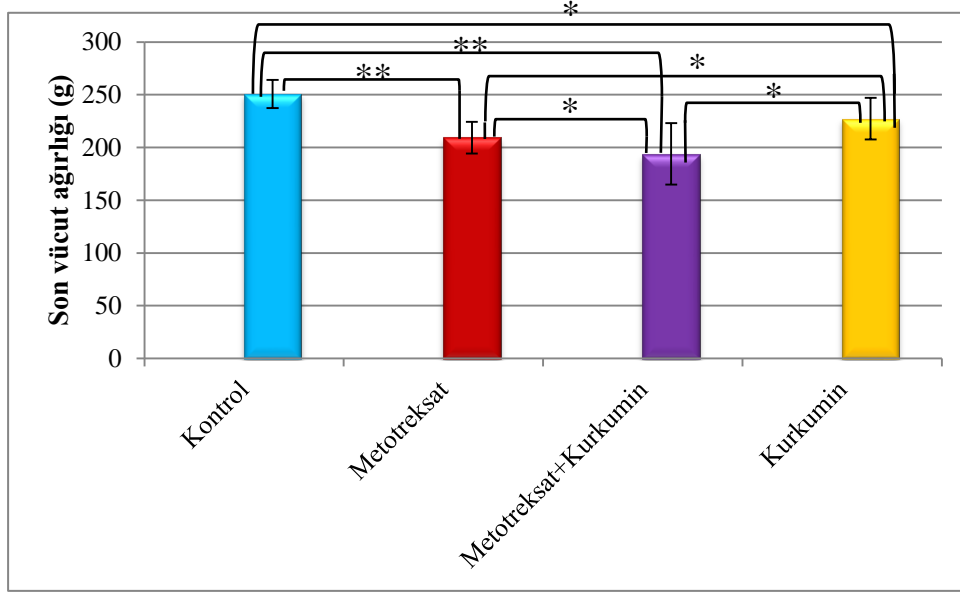


Şekil 18. Sıçanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farklarının karşılaştırılması.

Deney sonu vücut ağırlıkları istatistiksel olarak karşılaştırıldıklarında gruplar arası vücut ağırlıklarının birbirinden önemli derecede farklı olduğu saptandı ($p<0.001^{***}$). DMSO grubundaki sıçanlar ortalama 20 g kilo alırken diğer gruplar kilo kaybetmişti. En az kilo kaybı kurkumin grubunda iken en fazla kilo kaybı metotreksat+kurkumin grubunda saptandı. Yapılan ikili karşılaştırmalarda da kontrol grubunun metotreksat ($p=0,010^{**}$), metotreksat+kurkumin ($p=0,009^{**}$) ve kurkumin ($p=0,017^*$) gruplarından; metotreksat+kurkumin grubunun kurkumin ($p=0,013^*$) grubundan; metotreksat grubunun kurkumin ($p=0,025^*$) ve metotreksat+kurkumin ($p=0,050^*$) gruplarından önemli derecede farklı olduğu belirlendi (Tablo 7, Şekil 19).

Tablo 7. Gruplar arasında deney sonu vücut ağırlıkları farkları (g).

Deney Sonrası Vücut Ağırlıkları		
Gruplar	Ortalamalarının Farkı	p
Kontrol-Metotreksat	41,429	0,010**
Metotreksat-Kurkumin	18,000	0,025*
Metotreksat - Metotreksat+Kurkumin	15,429	0,050*
Metotreksat+Kurkumin- Kontrol	56,857	0,009**
Kontrol-Kurkumin	23,429	0,017*
Metotreksat+Kurkumin- Kurkumin	33,429	0,013*



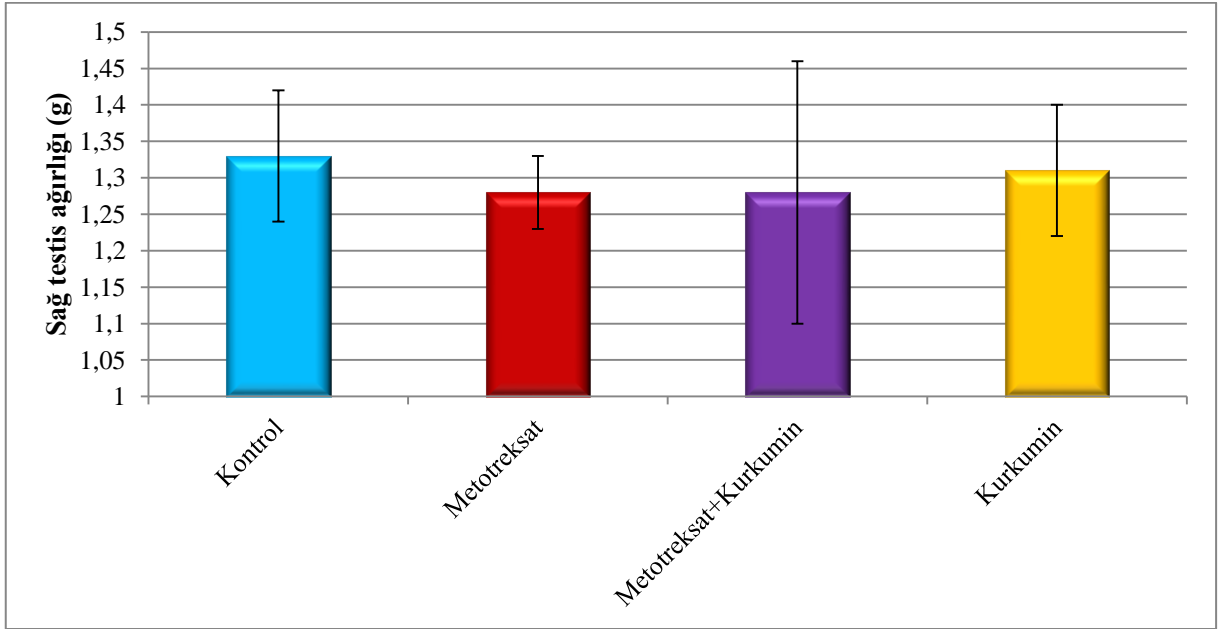
Şekil 19. Sıçanların deney sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması.

4.2. Sağ Testis Ağırlığı

Gruplar arasında sağ testis ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p=0,832^{ns}$). En yüksek sağ testis ağırlığı kontrol grubunda görülürken; en düşük sağ testis ağırlığı ise metotreksat ve metotreksat+kurkumin gruplarında gözlemlendi. Ancak gruplar arası ikili karşılaştırmada anlamlı bir fark belirlenmemiştir.

Tablo 8. Sıçanların gruplarına göre sağ testis ağırlıkları (g).

Gruplar	Ortalama ± Standart Sapma	p
Kontrol	1,33±0,09	0,832 ^{ns}
Metotreksat	1,28±0,05	
Metotreksat+Kurkumin	1,28±0,18	
Kurkumin	1,31± 0,09	



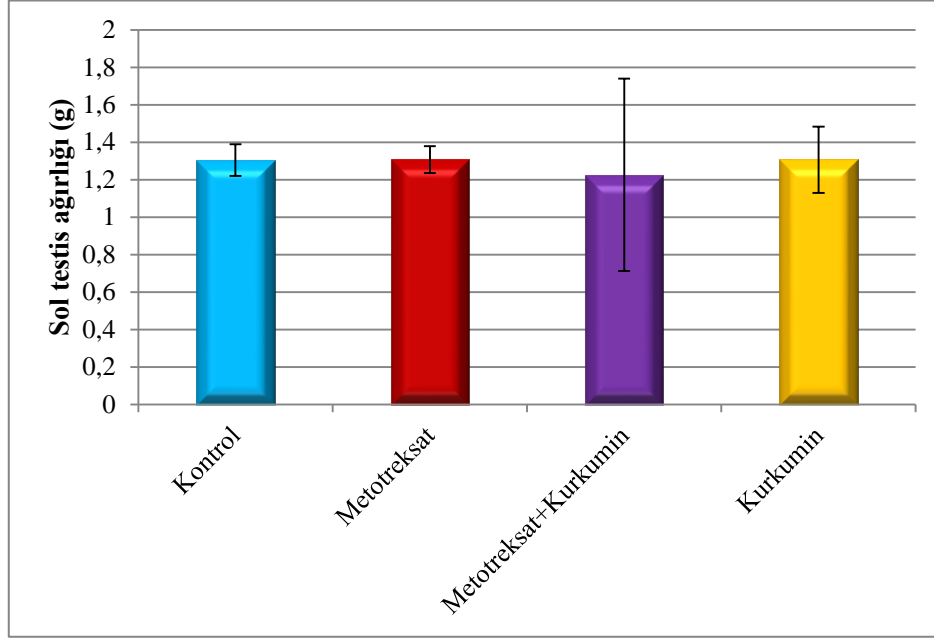
Şekil 20. Sıçanların sağ testis ağırlıklarının deney gruplarına göre karşılaştırılması.

4.3. Sol Testis Ağırlığı

Gruplar arasında sol testis ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p=0,820^{ns}$). En yüksek sol testis ağırlığı metotreksat grubunda görülürken; en düşük sol testis ağırlığı ise metotreksat+kurkumin grubunda gözlemlendi. Ancak gruplar arası ikili karşılaştırmada anlamlı bir fark belirlenmemiştir.

Tablo 9. Sıçanların gruplarına göre sol testis ağırlıkları (g).

Gruplar	Medyan(25-75)	p
Kontrol	1,305 (1,217-1,376)	0,820 ^{ns}
Metotreksat	1,307 (1,283-1,397)	
Metotreksat+Kurkumin	1,226 (1,192-2,047)	
Kurkumin	1,306 (1,297-1,393)	



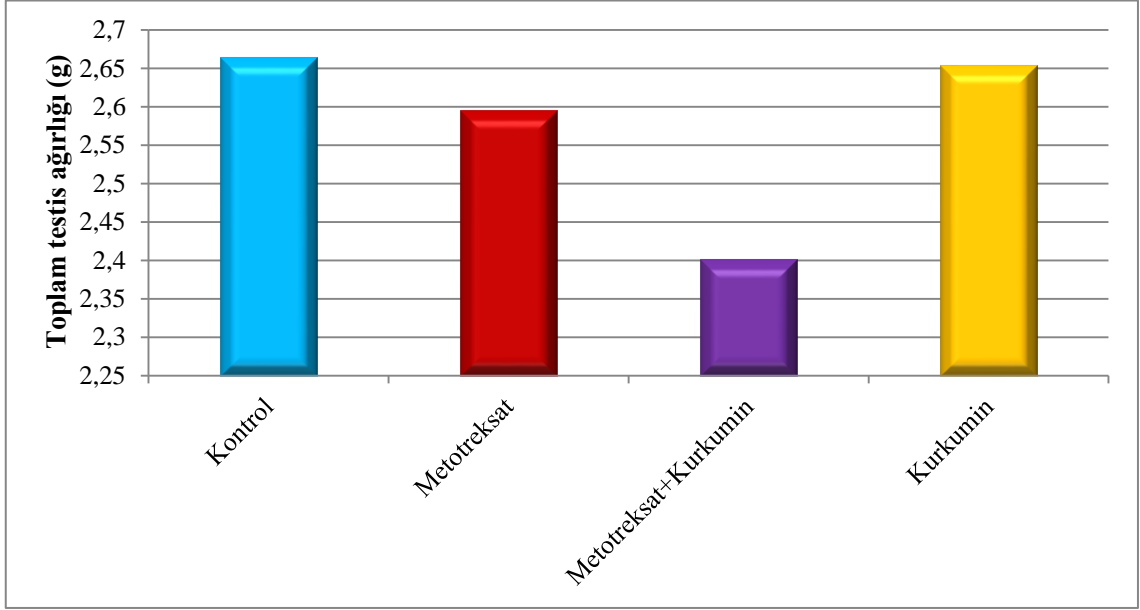
Şekil 21. Sıçanların sol testis ağırlıklarının deney gruplarına göre karşılaştırılması.

4.4. Toplam Testis Ağırlığı (TTA)

Gruplar arasında toplam testis ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir fark olmadığı gözlemlendi ($p=0,932^{ns}$). En yüksek TTA kontrol grubunda görülürken; en düşük TTA ise metotreksat+kurkumin grubunda gözlemlendi. Ancak gruplar arası ikili karşılaştırmada anlamlı bir fark belirlenmemiştir (Şekil 22).

Tablo 10. Sıçanların gruplarına göre toplam testis ağırlıkları (g, NS= Not Significant) (Anlamlı Değil).

Gruplar	Medyan(25-75)	p
Kontrol	2,664 (2,527-2,748)	0,932 ^{ns}
Metotreksat	2,595 (2,517-2,717)	
Metotreksat+Kurkumin	2,401 (2,344-3,389)	
Kurkumin	2,654 (2,552-2,800)	



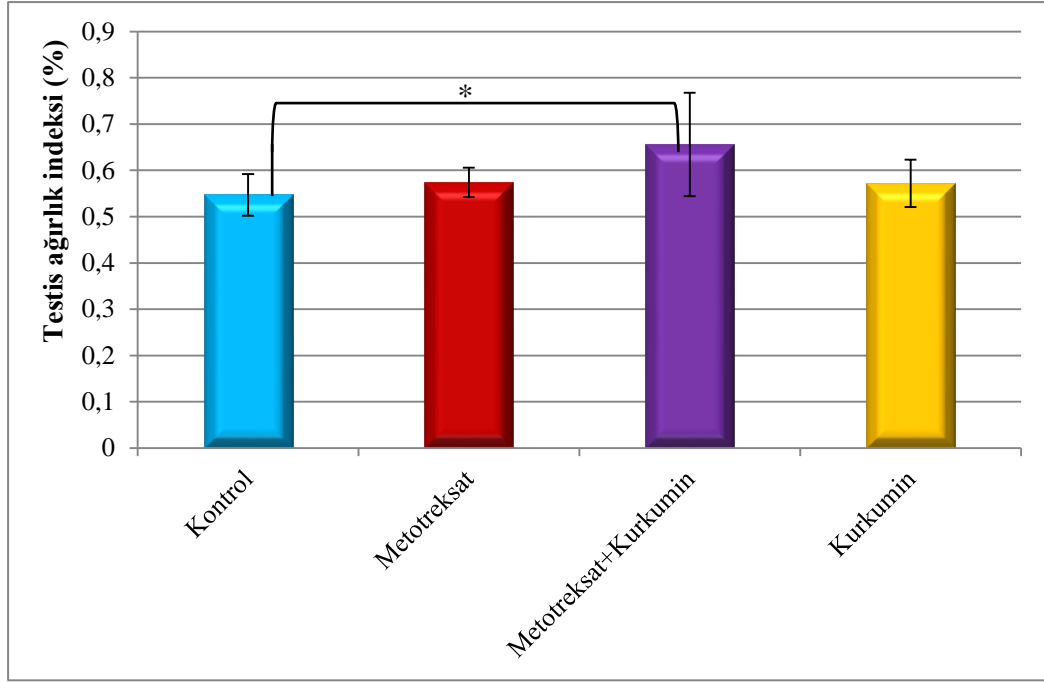
Şekil 22. Sıçanların toplam testis ağırlıklarının deney gruplarına göre karşılaştırılması.

4.5. Testis Ağırlık İndeksi (TAİ)

Gruplar arasında yapılan istatistiksel analiz ile belirlenen TAİ değerleri arasında anlamlı derecede farklılık gözlemlendi ($p=0,030^*$). En yüksek TAİ değerine metotreksat+kurkumin grubunda iken, en düşük TAİ değeri kontrol grubunda görülmüştür. Yapılan ikili karşılaştırmada kontrol grubunun metotreksat+kurkumin ($p=0,009^{**}$) grubundan anlamlı derecede farklı olduğu saptanmıştır (Tablo 11, Şekil 23).

Tablo 11. Sıçanların gruplarına göre testis ağırlık indeksi (%)

Gruplar	Ortalama \pm Standart Sapma	p
Kontrol	0,55 \pm 0,05	0,030*
Metotreksat	0,57 \pm 0,032	
Metotreksat +Kurkumin	0,66 \pm 0,112	
Kurkumin	0,57 \pm 0,05	



Şekil 23. Sıçanların gruplarına göre testis ağırlık indeksi (%).

4.6. Mikroskopik İnceleme

Işık mikroskopik olarak kontrol ve deney gruplarını oluşturan sıçan testislerinin genel görünümü saptamak için Hematoksilin-Eozin (H-E), Periyodik Asit Schiff (PAS)+Hematoksilin (H) boyaları uygulanmıştır.

4.6.1. Kontrol grubu

Kontrol grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, gerek interstisyel alan gerekse seminifer tübüller normal histolojiye sahipti. İnterstisyel alanda özellikle damarlar etrafında gruplar halinde bulunan Leydig hücreleri, koyu boyanan çok sayıda çekirdekçik içeren oval şekilli çekirdekleri ile belirgindi (Şekil 24). İnterstisyel alandaki damarlar normal yapıda

gözlendi. PAS+H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran ve tunika albuginea yapısı normal yapıda gözlendi. Düzgün bir spermatogenezin olduğu tübül duvarı, Sertoli hücreleri, belirgin spermatogonyumları ve spermatojenik seri hücreleri ile normal yapıda gözlendi. Gelişmekte olan spermatidler, klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümende, baş tübül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş şekilde gözlendi (Şekil 25).

4.6.2. Metotreksat grubu

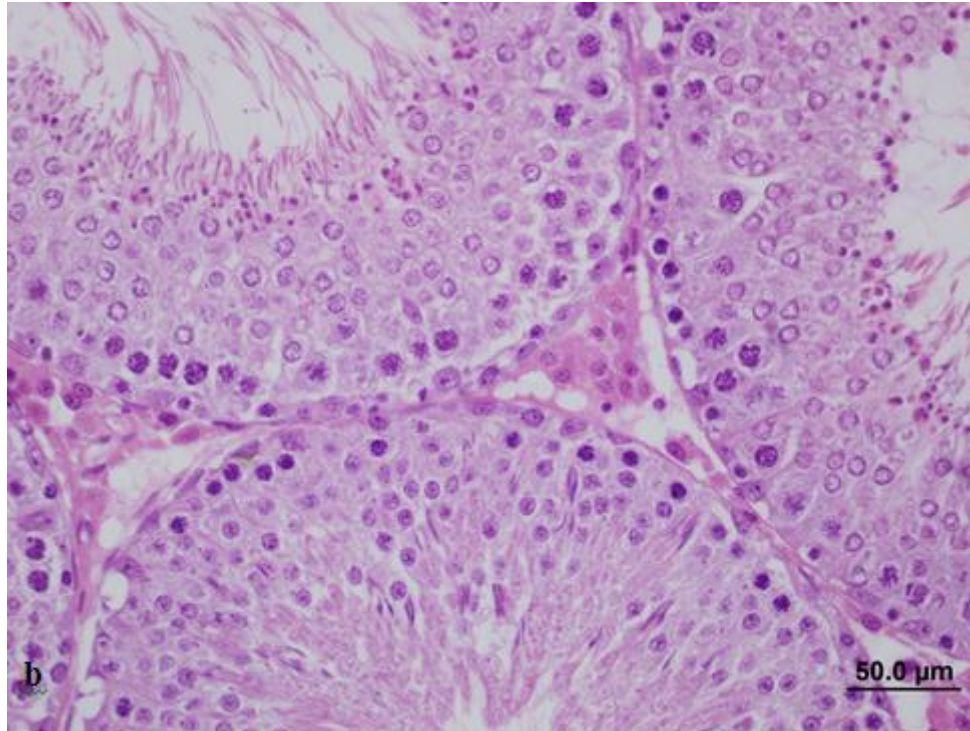
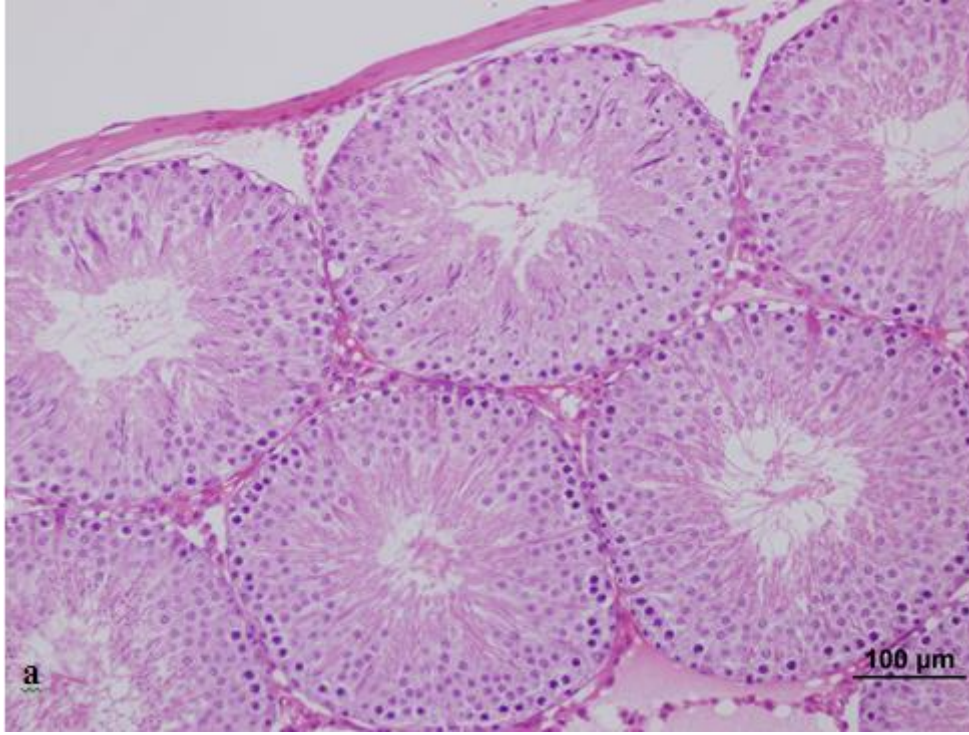
Metotreksat uygulanan grupta, interstisyel alanda ödem olduğu ve interstisyel alanın genellikle genişlediği saptandı. Ayrıca damarlarda dilatasyon ve konjesyon gözlendi (Şekil 26). Testislerde seminifer tübül çapında azalma, seminifer epitelde incelme gibi daha önceki çalışmalarda bildirilen bulgulara rastlandı (Şekil 27). Seminifer tübüllerdeki en belirgin değişiklik; spermatogonyumlarda hiperkromazi, çekirdek şeklinde düzensizlik ve tübüllerde yer yer vakuoller görülmesidir. Seminifer tübüllerdeki bazal membranda ondülasyon gözlendi (Şekil 28). Sertoli hücrelerinin yapısı ve sayısı bakımından bir farklılık gözlenmedi. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, eksantrik yerleşimli çekirdekleri ve tipik yerleşim yerleriyle normal yapıda izlendi. Kanama ve PMNL artışı ise saptanmamıştır.

4.6.3. Kurkumin grubu

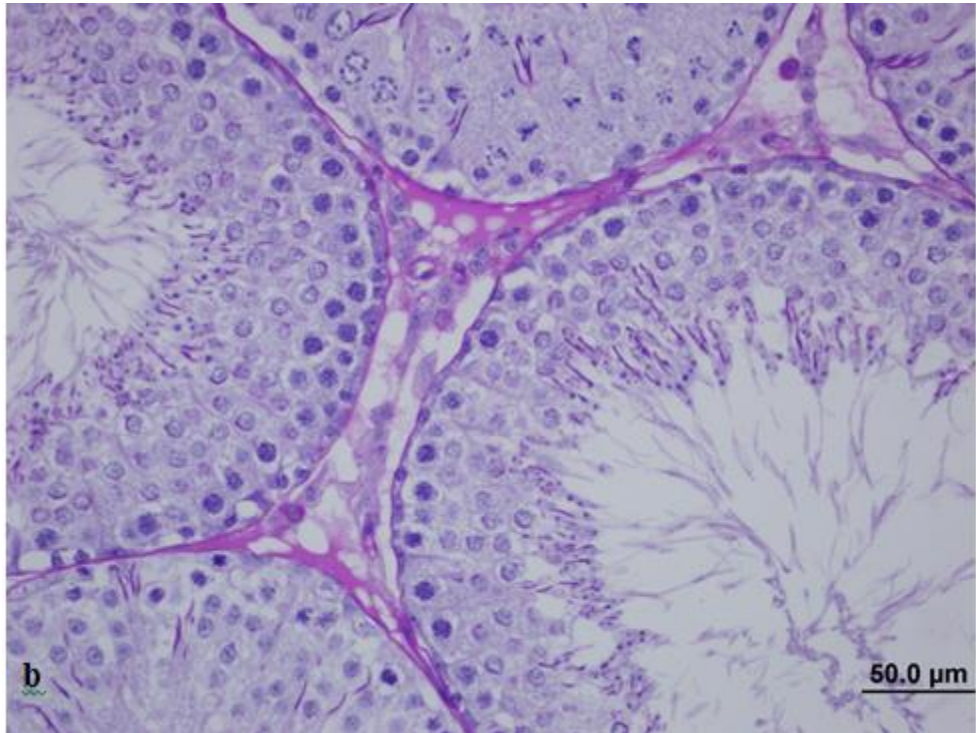
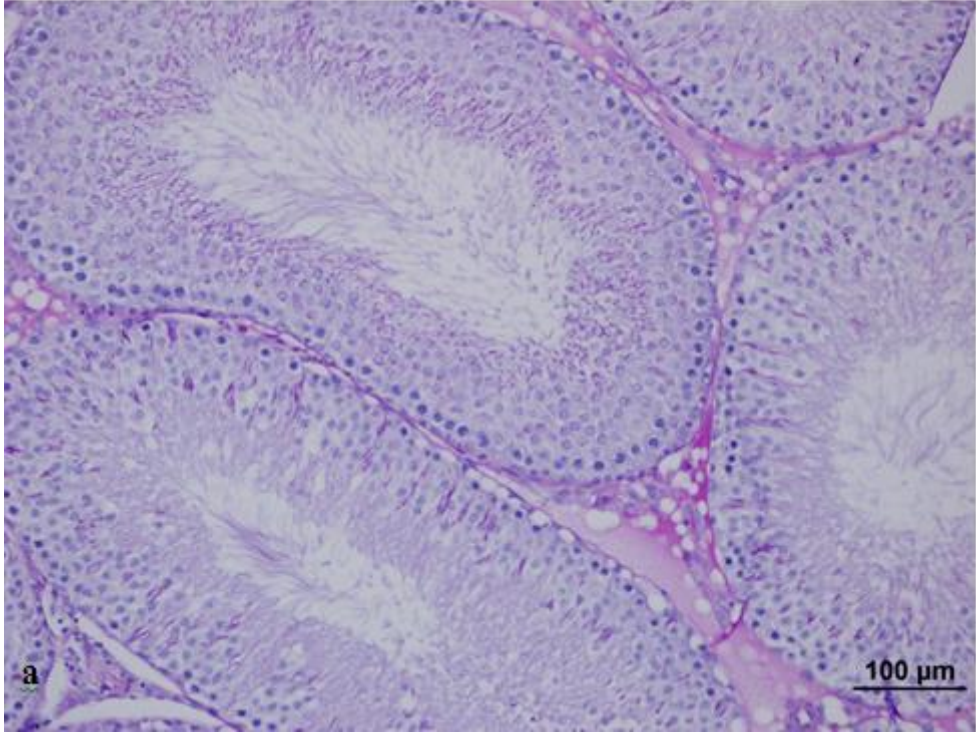
Kurkumin grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, seminifer tübül, bazal membran ve interstisyel alan kontrol grubuna benzer bir yapı gösteriyordu. Spermatogenezin normal devam ettiği gözlemlendi (Şekil 29). Seminifer tübül duvarındaki spermatogonyum, primer spermatosit, spermatid hücresi ve Sertoli hücresi normal olarak görüldü (Şekil 30). PAS pozitif boyanmış normal bazal membran yapısı görüldü. İnterstisyel alanda bulunan Leydig hücreleri ve damar yapıları normal olarak gözlemlendi (Şekil 31).

4.6.4. Metotreksat + Kurkumin grubu

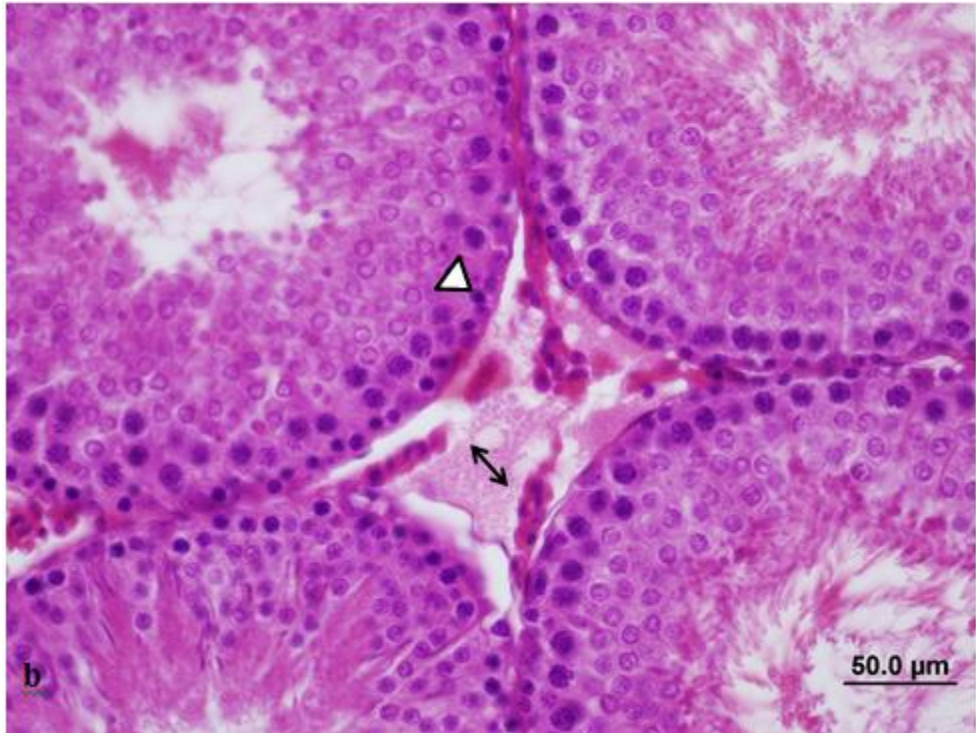
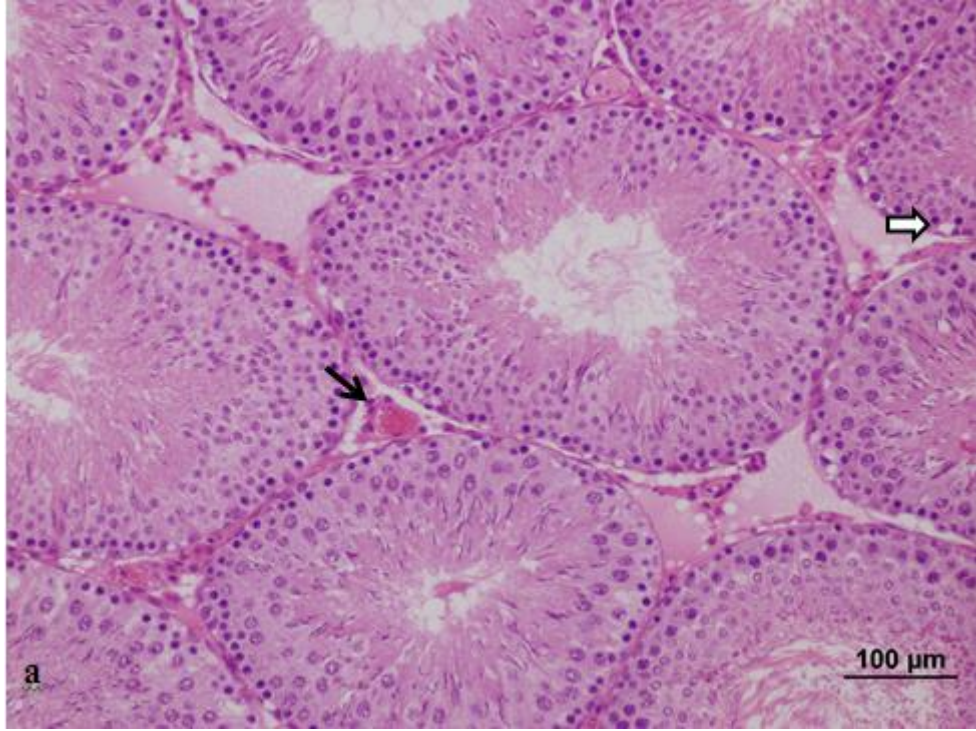
Metotreksat+Kurkuminin birlikte verildiği grupların sıçan testis örnekleri üzerinde yapılan ışık mikroskopik incelemelerde, birkaç tübülde hasarın az da olsa devam ettiği görülmekle birlikte, azalmış tübüler hasar, korunmuş spermatogonyum ile spermatogenezin devam ettiği, ayrıca; spermatogonyumlardaki değişimin metotreksat verilen gruptaki kadar yoğun olarak bulunmadıkları saptandı (Şekil 32). İnterstisyel alanda ise az miktarda ödem görülmesine rağmen, konjesyon ve dilatasyona rastlanmadı, Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi (Şekil 33). Tübüllerde gelişmekte olan spermatidler, klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümende, baş tübül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş, normale yakın yapıda görülmüştür (Şekil 34).



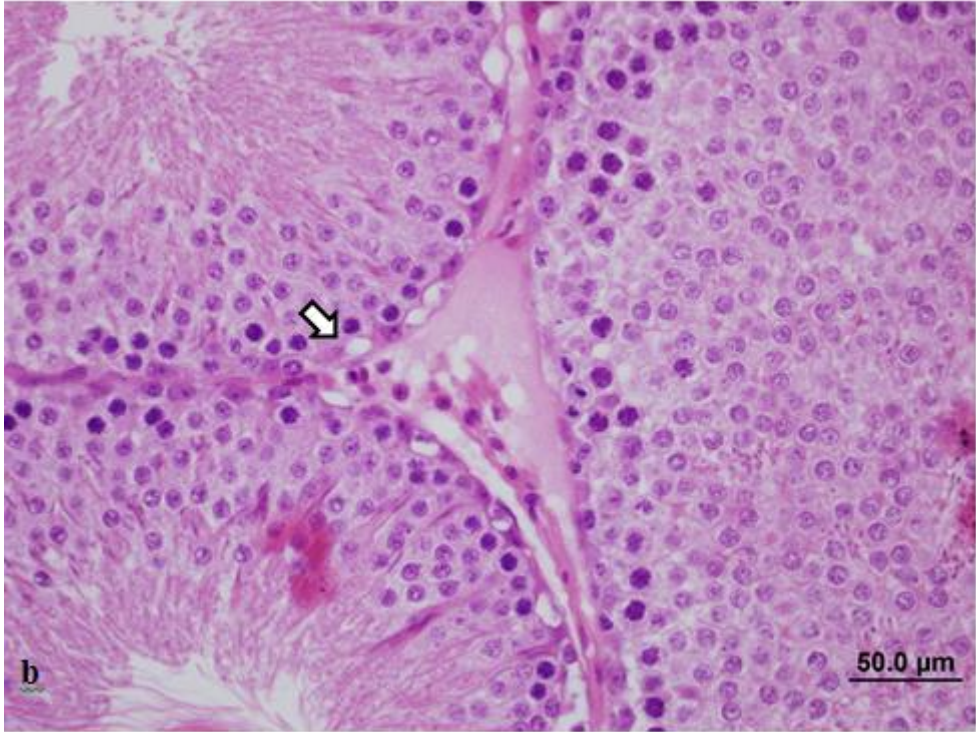
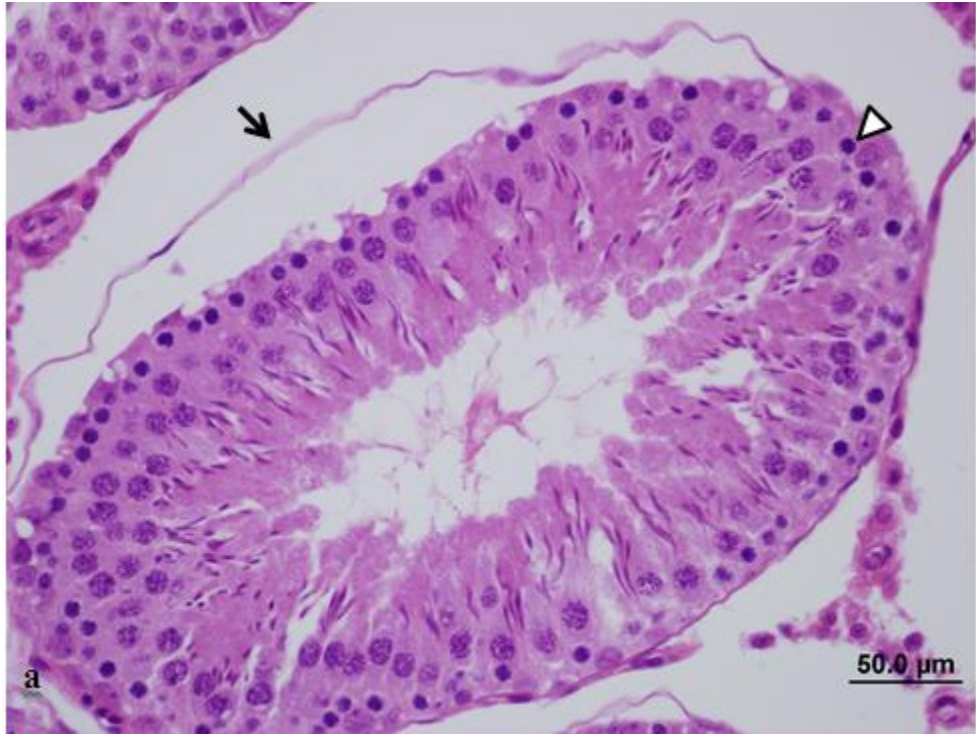
Şekil 24. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. İnterstisyel alanda normal yapıdaki Leydig hücreleri, seminifer tübül duvarında normal yapıdaki spermatojenik hücre serileri görülmektedir (bar: 100µm, bar: 50.0µm, H-E) (a-b).



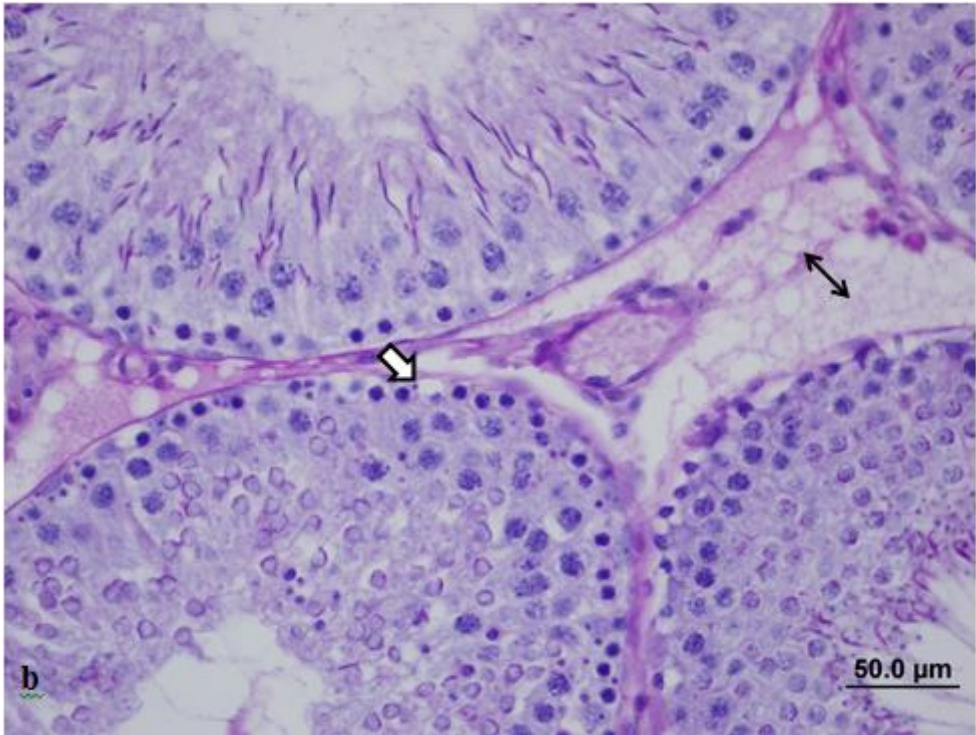
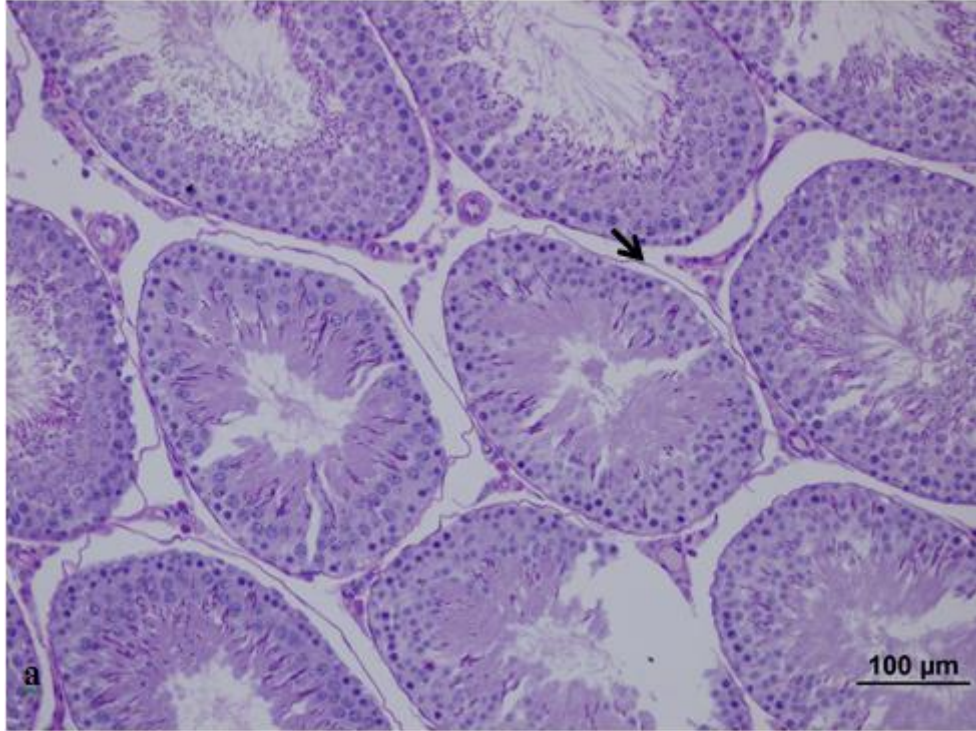
Şekil 25. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ve tübül duvarındaki spermatojenik hücreler , interstisyel alanda normal görünümlü damar yapısı ile PAS pozitif bazal membran yapısı gözlenmektedir (bar: 100µm, bar: 50.0µm, PAS+H)(a-b).



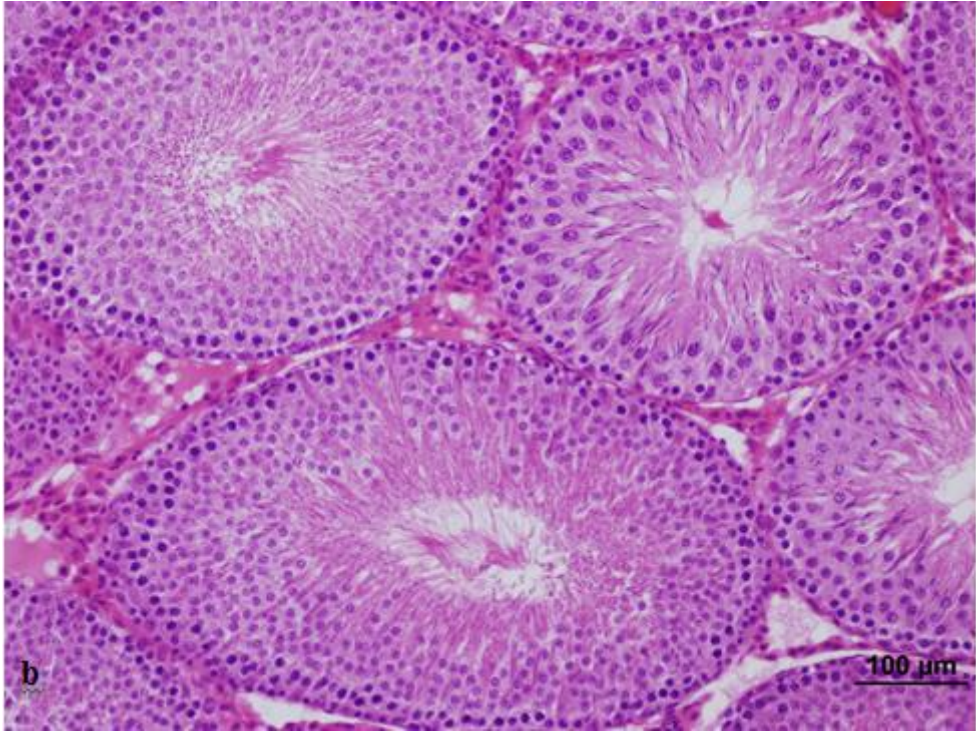
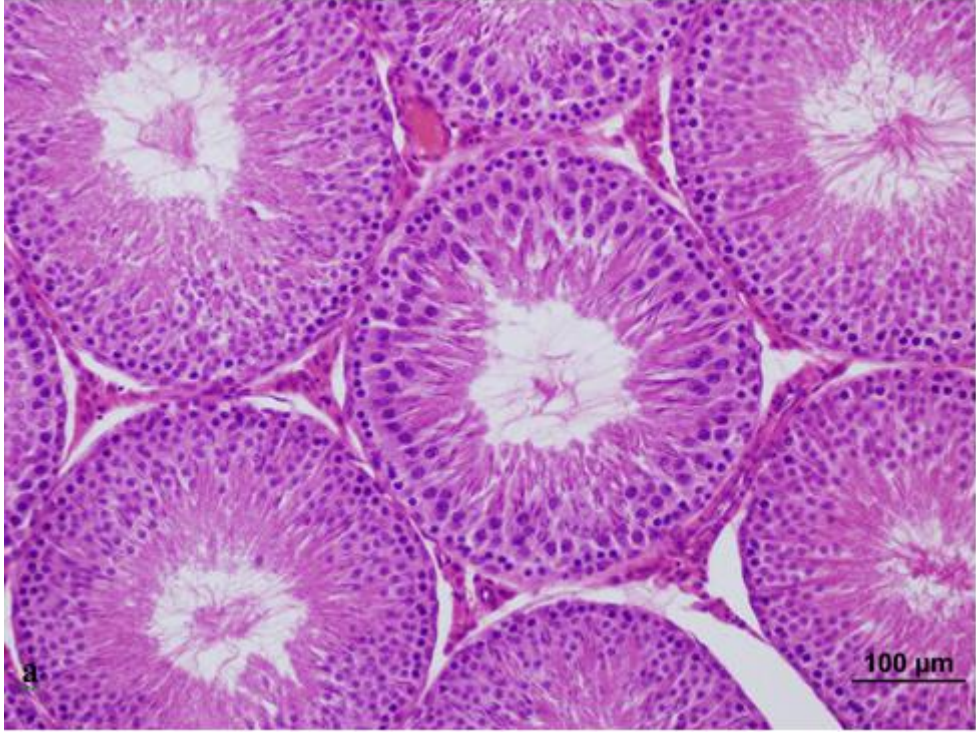
Şekil 26. 20 mg/kg metotreksat verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. İnterstitial alanda ödem (↔) ve damarlarda dilatasyon ve konjesyon (→) dikkat çekmekte, seminifer tübül duvarında vakuolizasyon (⇨), seminifer tübül duvarındaki spermatojenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler ve spermatogonyumların çekirdeklerinin yoğunlaştığı ve küçüldüğü (▷) görülmektedir (bar: 100μm, bar: 50.0μm, H-E)(a-b).



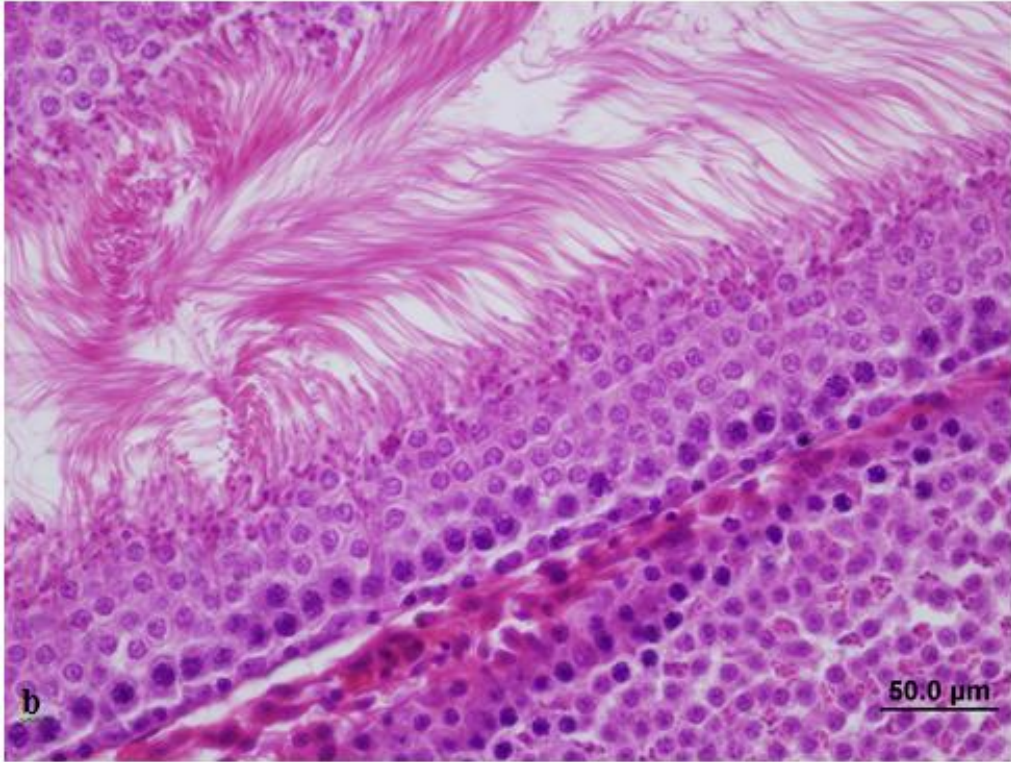
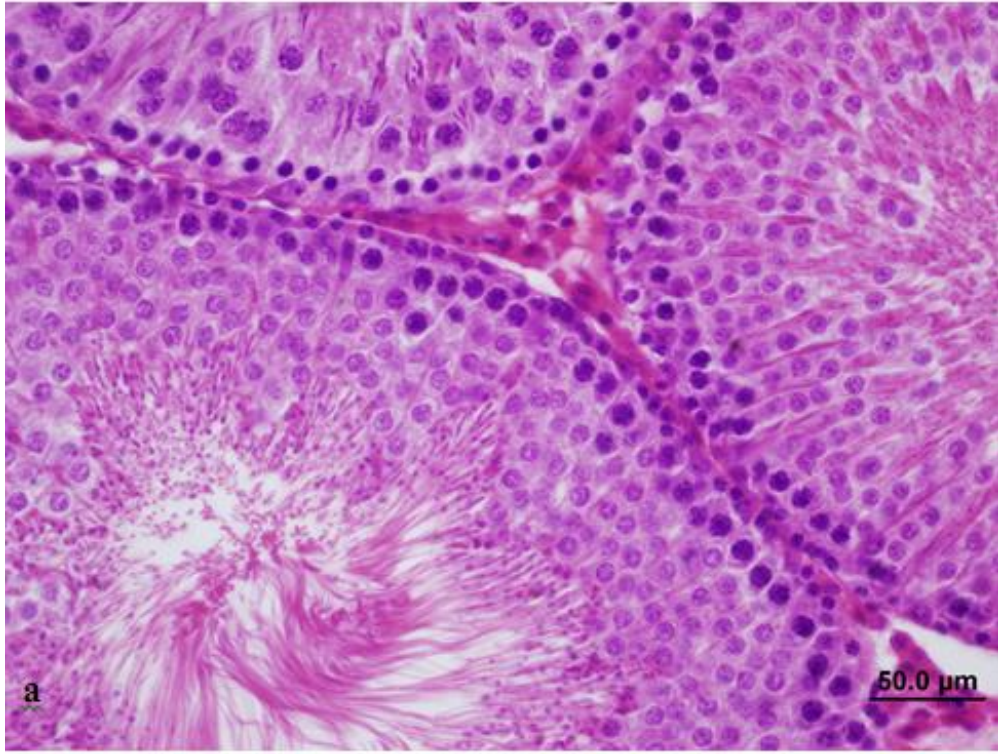
Şekil 27. 20 mg/kg metotreksat verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer epitel boyunda kısalma ve spermatojenik hücrelerde dejeneratif değişiklikler, tübül duvarında vakuolizasyon (\square), spermatogonyumların çekirdeklerinin yoğunlaştığı ve küçüldüğü (\blacktriangleright), bazal membranda ondülasyon (\rightarrow) görülmektedir (bar: 50.0µm, bar: 50.0µm, H-E)(a-b).



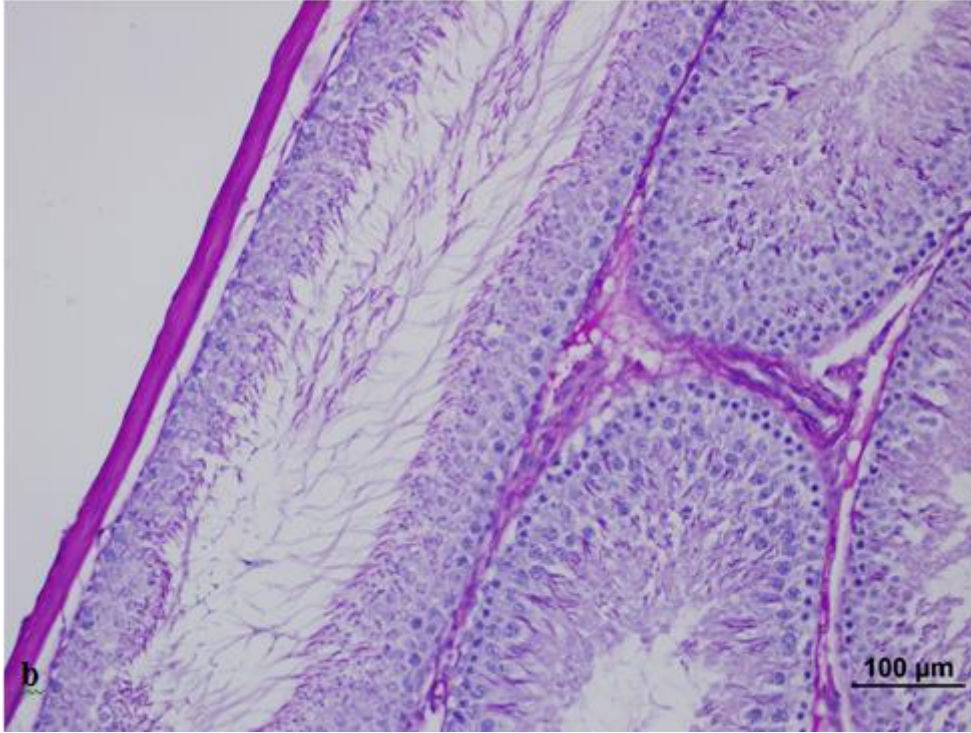
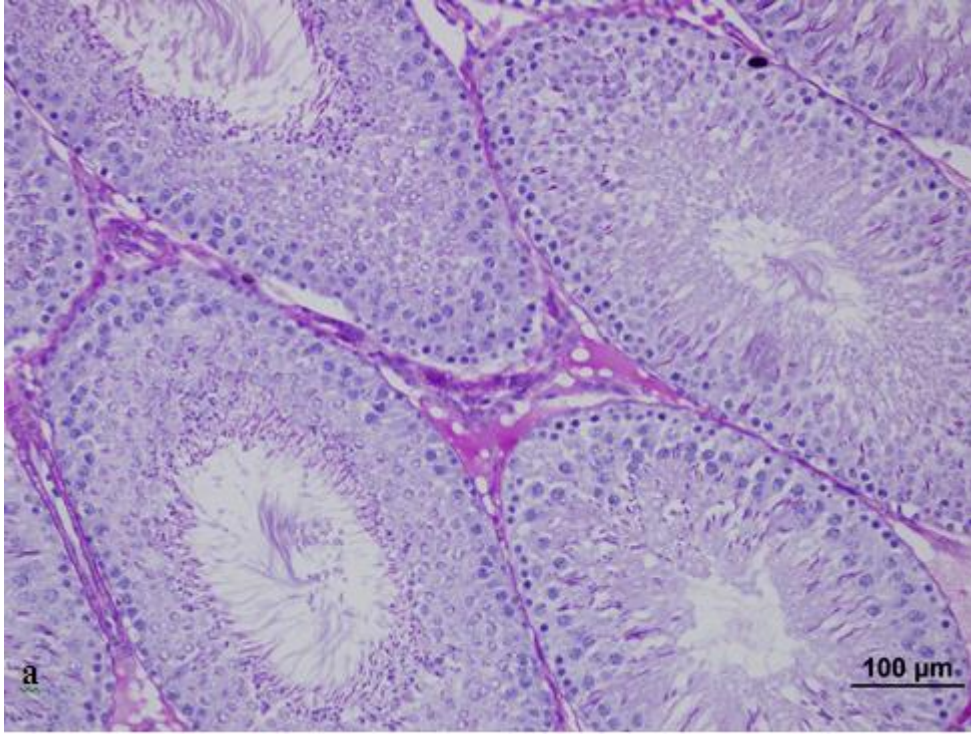
Şekil 28. 20 mg/kg metotreksat verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. İnterstisyel alanda ödem (\longleftrightarrow), seminifer epitel boyunda kısalma, bazal membranda ondülasyon (\rightarrow), seminifer tübül duvarında vakuolizasyon (\Rightarrow) görülmektedir (bar: 100µm, bar: 50.0µm PAS+H).



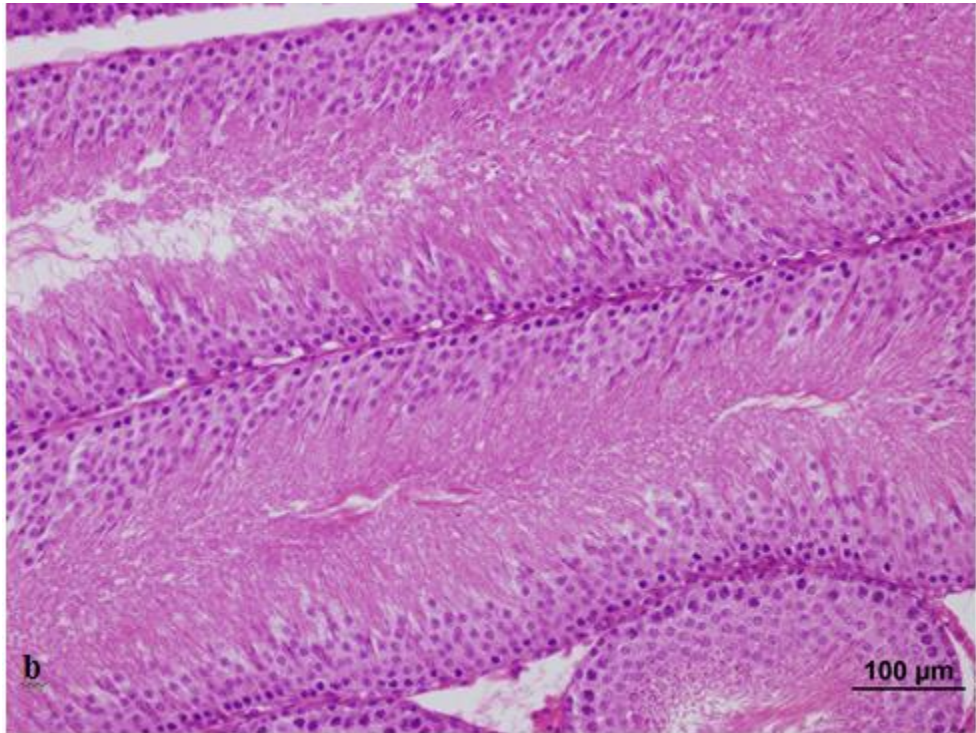
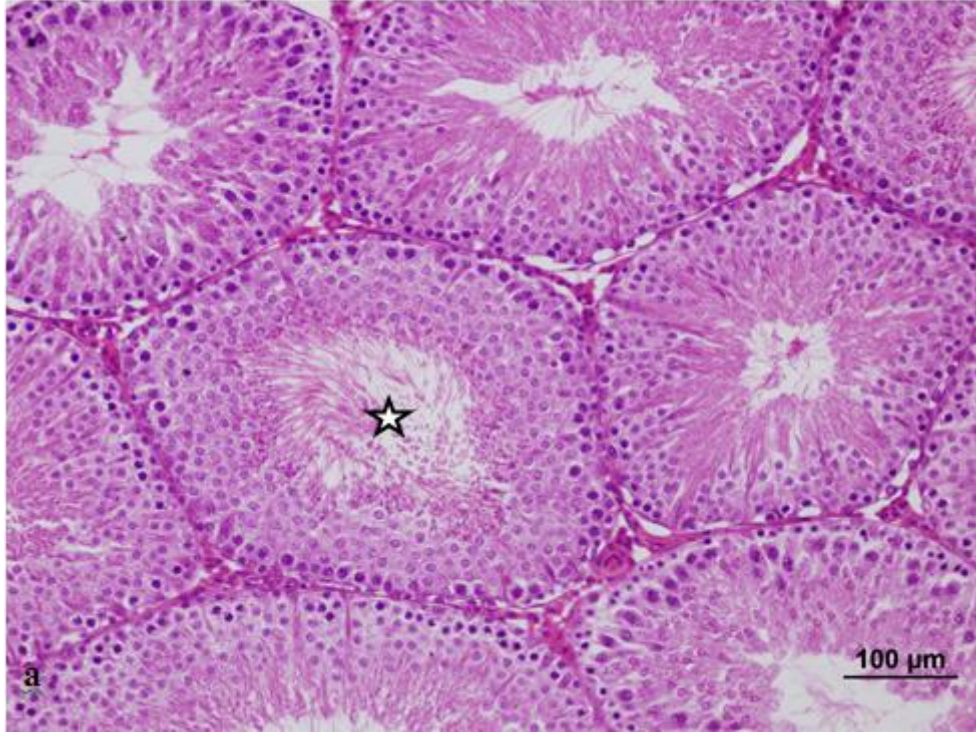
Şekil 29. 200 mg/kg kurkumin verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ve interstisyel alan, spermatojenik hücreler ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmektedir (bar: 100µm, bar: 100µm, H-E)(a-b).



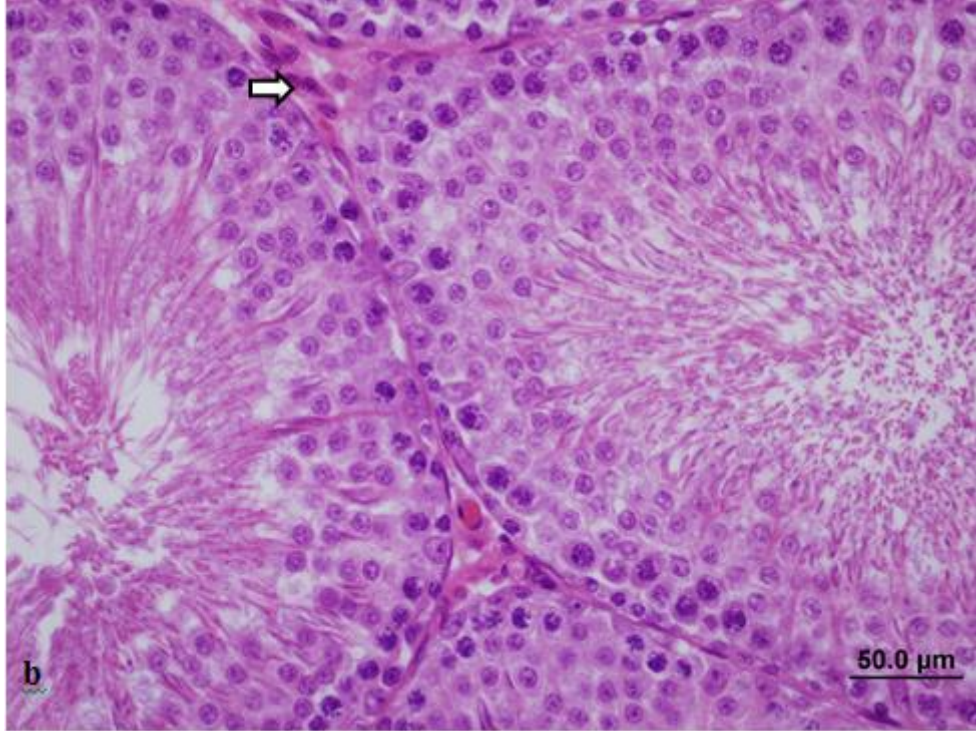
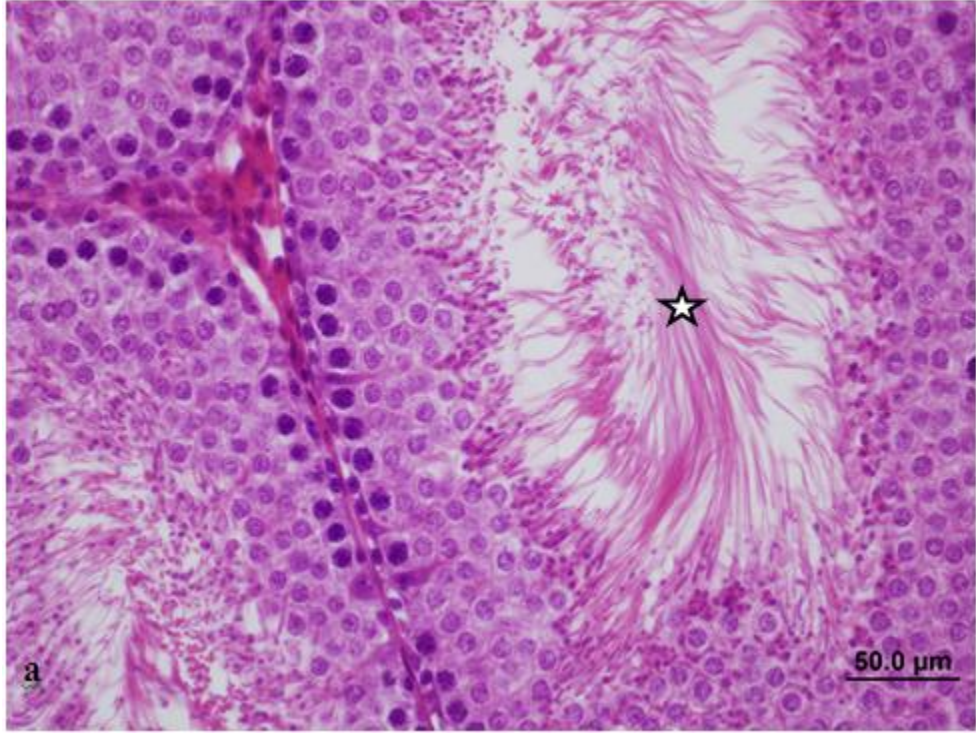
Şekil 30. 200 mg/kg kurkumin verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ve tübüllerde devam eden spermatogenez, spermatojenik hücreler ve interstisyel alan görülmektedir (bar: 50.0µm, bar: 50.0µm, H-E)(a-b).



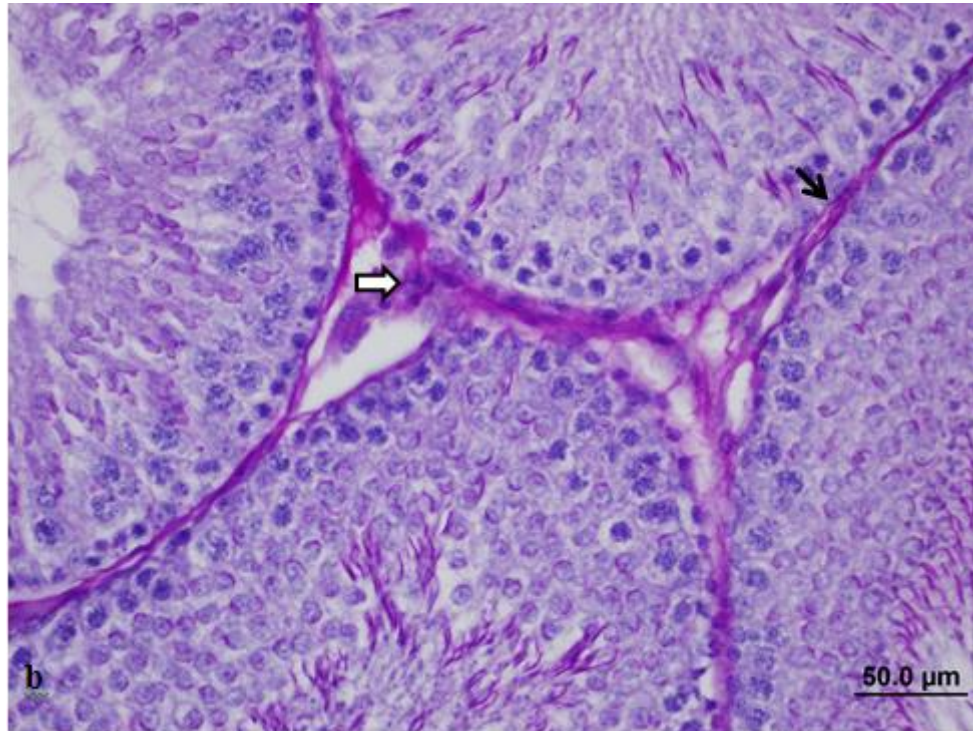
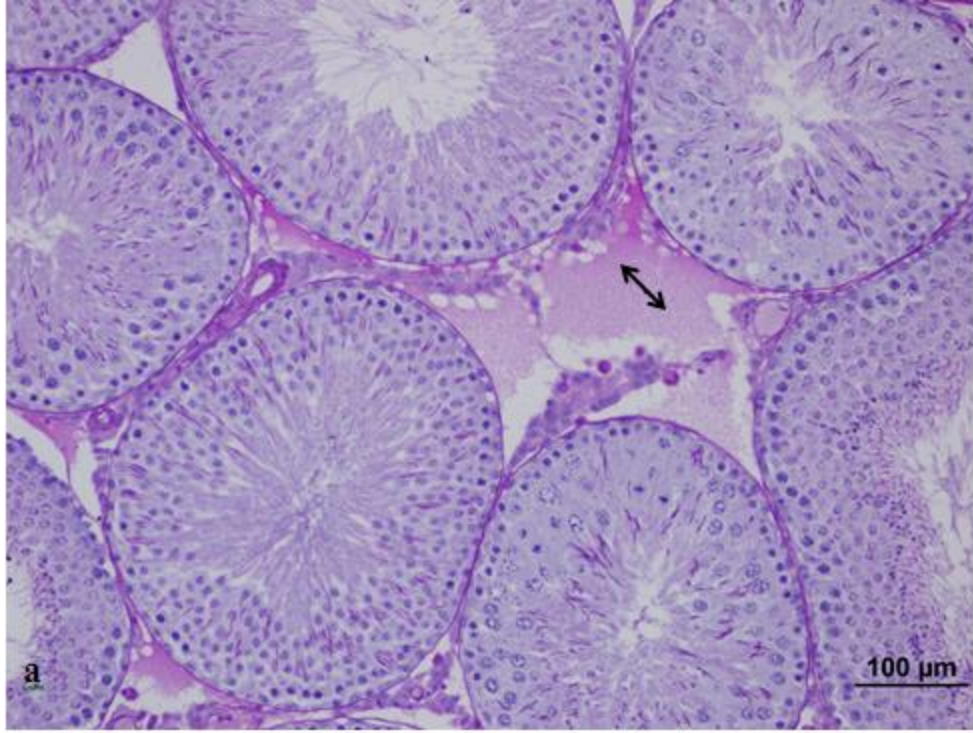
Şekil 31. 200 mg/kg kurkumin verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan, spermatojenik hücreler ve tübüllerde devam eden spermatogenez görülmektedir. Ayrıca PAS pozitif bazal membran yapısı gözlenmektedir (bar: 100µm, PAS+H)(a-b).






Şekil 32. 20 mg/kg metotreksat ve 200 mg/kg kurkumin verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın görümlü seminifer tübül yapıları, korunmuş spermatojenik hücreler ile birlikte devam eden spermatogenez ve tübül lümeninde spermatozoonlar (★) görülmektedir (bar: 100µm, bar: 100µm, H-E)(a-b).



Şekil 33. 20 mg/kg metotreksat ve 200 mg/kg kurkumin verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın görünümlü seminifer tübül yapıları ve devam eden spermatogenez, spermatojenik hücreler, spermatozoonlar (☆) dikkat çekmektedir. Ayrıca interstisyel alanda da Leydig hücreleri (⇒)görülmektedir (bar: 50.0μm, bar: 50.0μm, H-E)(a-b).



Şekil 34. 20 mg/kg metotreksat ve 200 mg/kg kurkumin verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın korunmuş seminifer tübül yapıları ile tübüllerde devam eden spermatogenez, spermatojenik hücreler dikkat çekmektedir. İntersitisyel alanda da korunmuş Leydig hücreleri () ve az miktarda ödem görülmektedir (). Ayrıca PAS pozitif bazal membran yapısı () normal olarak gözlenmektedir (bar: 100µm, bar: 50.0µm, PAS+H)(a-b).

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular metotreksatın testisler üzerinde bazı olumsuz etkilerinin olduğunu ve metotreksat ile birlikte kurkumin verilmesi durumunda testislerde belirli ölçüde düzelme sağlandığını göstermiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların var olan literatür eşliğinde yapılan tartışması ve yorum ve önerilerimiz aşağıda yer almaktadır.

5.1. Vücut Ağırlığı

Çalışmamızın vücut ağırlığı bulguları incelendiğinde DMSO verilen kontrol grubunda ortalama 20 g vücut ağırlığı artışı görülürken diğer gruplarda kilo kaybı gözlemlendi. En az kilo kaybı kurkumin grubunda iken en fazla kilo kaybı metotreksat+kurkumin grubunda saptandı. Deney sonu vücut ağırlıklarının karşılaştırmasında DMSO grubunun metotreksat, metotreksat+kurkumin ve kurkumin gruplarında; metotreksat grubunun metotreksat+kurkumin ve kurkumin gruplarında; kurkumin grubunun metotreksat+kurkumin grubu arasında anlamlı miktarda farklı olduğunu gözlemledik. En yüksek TTA metotreksat+kurkumin grubunda görülürken; en düşük TTA ise metotreksat grubunda gözlenmiş; ancak gruplar arası ikili karşılaştırmada anlamlı bir fark belirlenmemiştir. 5 günlük gruplar kendi içinde karşılaştırıldığında metotreksat+kurkumin grubu diğer gruplara göre daha yüksek bir TAI' ne sahipken en düşük TAI değeri kontrol grubunda gözlenmiş ve iki grup arasında anlamlı derecede bir farklılık saptanmıştır. Metotreksat grubu ile kurkumin grubu arasında fark saptanamamasının nedeni olarak, antioksidanların yapmış olduğu iyileşmenin testis ağırlığına kısıtlı deney süresi içinde tam olarak yansımaması olarak düşündük. Çalışmamızda hayvanların ağırlıklarında genel bir azalma gözledik. Bunu kısmen metotreksat ve kurkuminin peritonu irrite etmesi sonucu sıçanların yeterince beslenememesine bağladık. Bizim çalışmamıza benzer çalışmalarda bildirilen bazı bulgular aşağıda sıralanmıştır.

Padmanabhan ve arkadaşlarının (2008) fareler üzerinde yaptığı çalışmada; 10 hafta boyunca haftada bir 10 ve 20 mg/kg dozlarında uygulanan MTX grubu ve kontrol grubu vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında; vücut ağırlığının MTX gruplarında azaldığı ve iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlemlendiği ortaya konulmuştur (80).

Padmanabhan ve arkadaşlarının (2009) fareler üzerinde yaptığı diğer bir çalışmada 10 hafta boyunca haftada bir uygulanan 20 mg/kg MTX' in vücut ağırlığını hafif derecede azalttığı; ancak diğer tedavi grupları ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir (81).

Armağan ve arkadaşlarının (2008) sıçan testisi üzerinde yaptığı 6 günlük bir çalışmada ilk gün verilen tek doz 20 mg/kg MTX ve ilk gün 20 mg/kg MTX ve 6 gün boyunca 10 µmol/kg kafeik asit fenil ester (CAPE) grubundaki vücut ağırlığında görülen azalmanın yapılan istatistiksel analizler sonucunda kontrol grubu arasında anlamlı derecede farklılık bulunduğu ortaya konulmuştur. Bizim çalışmamızda da Armağan ve arkadaşlarının çalışmasına paralel olarak, MTX grubunda vücut ağırlığı azalmış ve istatistiksel olarak anlamlı fark görülmüştür (12).

Nouri ve arkadaşlarının (2008) sıçanlar üzerinde yaptığı 28 günlük bir çalışmada haftada bir 1 mg/kg dozda uygulanan MTX' in vücut ağırlığını azalttığı; 14. ve 28. gün vücut ağırlığı karşılaştırılmasında istatistiksel olarak kontrol grubundan anlamlı derecede farklı bulunduğu gösterilmiştir (74).

5.2. Testis Ağırlığı

Çalışmamızda testis ağırlıklarına bakıldığında kontrol grubunda sağ testis ağırlıklarının sol testis ağırlıklarından fazla olduğu, ancak metotreksat, metotreksat+kurkumin ve kurkumin gruplarında sağ testis ağırlıklarının sol testis ağırlıklarından düşük olduğu görülmüştür. En yüksek TTA metotreksat+kurkumin

grubunda görülürken; en düşük TTA ise metotreksat grubunda gözlemlendi. Ancak sağ ve sol testis ile gruplar arası TTA değerlerinin ikili karşılaştırılmasında anlamlı bir fark görülmemiştir.

Padmanabhan ve arkadaşlarının (2008) fareler üzerinde yaptığı çalışmada; 5 ve 10 hafta boyunca haftada bir 5, 10, 20 and 40 mg/kg dozlarında uygulanan MTX grubu ve kontrol grubu testis ağırlıkları/100 g vücut ağırlığı karşılaştırıldığında; bulunan değerlerin MTX gruplarında azalmasına rağmen; iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmediği ortaya konulmuştur (80).

Padmanabhan ve arkadaşlarının (2009) fareler üzerinde yaptığı diğer bir çalışmada 10 hafta boyunca haftada bir uygulanan 20 mg/kg MTX' in testis ağırlığını hafif derece azalttığı ancak istatistiksel olarak bir anlam ifade etmediği gösterilmiştir (81).

Armağan ve arkadaşlarının (2008) sıçan testisi üzerinde yaptığı 6 günlük bir çalışmada; ilk gün verilen tek doz 20 mg/kg MTX ve ilk gün 20 mg/kg MTX ve 6 gün boyunca 10 µmol/kg CAPE grubundaki testis ağırlığında görülen azalmanın yapılan istatistiksel analizler sonucunda kontrol grubu arasında anlamlı derecede farklılık bulunmadığı gözlemlendi. Ancak yapılan ölçümler ile testis hasarının MTX' in yol açtığı oksidatif hasardan kaynaklandığı ortaya konulmuştur (12).

Nouri ve arkadaşlarının (2008) sıçanlar üzerinde yaptığı 28 günlük bir çalışmada haftada bir 1 mg/kg dozda uygulanan MTX' in testis ağırlığını azalttığı; 14. ve 28. gün testis ağırlığı karşılaştırılmasında istatistiksel olarak kontrol grubundan anlamlı derecede farklı bulunduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da Nouri ve arkadaşlarının çalışmasına paralel olarak, MTX' in TTA' nı azalttığı görülmüş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamıştır (74).

İlbey ve arkadaşlarının (2009) sıçan testisi üzerinde yaptığı bir çalışmada; 1. gün tek doz 7 mg/kg sisplatin (CIS) uygulanması ile ilk gün ve devam eden 10 gün boyunca 200 mg/kg dozunda uygulanan CMN' in; testis ağırlığında CIS+CMN grubunda anlamlı

derece koruduğu ve artırdığı belirlenmiştir. CMN grubu testis ağırlığının CIS grubu testis ağırlığına göre daha fazla olduğu; ancak istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir (50).

Salama ve arkadaşlarının (2007) yaptığı 2 aylık bir çalışmada 15 mg/kg dozunda verilen CMN' in; kontrol grubu ile en yüksek testis ağırlıklarına sahip olmalarına rağmen; istatistiksel olarak önemli bir değişim oluşturmadığı gösterilmiştir (94).

Gruplar arasında yapılan istatistiksel analiz ile belirlenen TAI değerleri arasında önemli derecede farklılık gözlendi. En yüksek TAI değerine metotreksat+kurkumin grubunda iken, en düşük TAI değeri kontrol grubunda görülmüştür. Yapılan ikili karşılaştırmada kontrol grubunun metotreksat+kurkumin ($p=0,009^{**}$) grubundan anlamlı derecede farklı olduğu saptanmıştır.

5.3. Mikroskopik İnceleme

Padmanabhan ve arkadaşlarının (2008) fareler üzerinde yaptığı çalışmada; 5 ve 10 hafta boyunca haftada bir 5, 10, 20 and 40 mg/kg dozlarında uygulanan MTX' in; seminifer tübüllerde düzensizlik, vakuolizasyon gibi morfolojik değişiklikler ve spermatogonial seri ve spermatid sayılarında azalmaya neden olduğu belirlenmiştir. MTX' in neden olduğu seminifer tübül hasarına dayalı yapılan istatistiksel skorlama analizinde MTX grupları ve kontrol grubu arasında anlamlı derecede fark olduğu gözlenmiştir. 5 hafta boyunca haftada bir 10 mg/kg dozunda uygulanan MTX anlamlılık derecesi $p<0.010^{**}$ iken, diğer gruplarda $p<0.001^{***}$ olarak belirlenmiştir (80).

Padmanabhan ve arkadaşlarının (2009) fareler üzerinde yaptığı diğer bir çalışmada 10 hafta boyunca haftada bir uygulanan 20 mg/kg MTX' in seminifer tübül hasarına yol açtığı ve diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlendiği ve sperm sayısında önemli bir azalma görüldüğü gösterilmiştir (81).

Nouri ve arkadaşlarının (2008) sıçanlar üzerinde yaptığı 28 günlük bir çalışmada haftada bir 1 mg/kg dozda uygulanan MTX' in; 14. günde bazı bölgelerde seminifer tübüller arası mesafeyi arttırdığı ve nekrotik alanlar oluşmasına neden olduğu gözlenmiştir. Spermatogonyum, primer spermatosit ve Sertoli hücrelerinde değişim olmadığı kaydedilmiştir. Ancak 28. günde atrofik seminifer tübüllerin belirgin derecede görülmekte olduğu ve seminifer tübül çapının kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı belirtilmiştir. 14. ve 28. günlerde epitel kalınlığının azaldığı, interstisyel alan kalınlığının arttığı ve 28. günde kapsül kalınlığının kontrol grubu ile karşılaştırılmasında önemli derecede arttığı bulunmuştur. Sperm sayısının önemli derecede azaldığı ortaya konulmuştur (74).

Vardı ve arkadaşlarının (2010) sıçanlar üzerinde yaptığı 24 günlük bir çalışmada 21. günde tek doz 20mg/kg MTX uygulanan grupta; incelenen tübüllerden 43.5-24.2' sinin germinatif epitelinin lümenine döküldüğü, 27.5-30.2' sinin atrofik ve 1.0-2.0' inin ise dejeneratif olduğu tespit edildi. MTX' in seminifer tübüllerde atrofiye, germinal hücrelerin dökülmesine ve apoptozise yol açtığı; ancak Sertoli hücrelerine zarar vermediği gözlenmiştir. Bizim çalışmamızda da Vardı ve arkadaşlarının çalışmasına paralel olarak, MTX grubunda seminifer tübüllerde atrofi izlenirken; Sertoli hücrelerinde hasar görülmemiştir (126).

Işık ve arkadaşlarının (1997) sıçan testisi üzerinde MTX' in etkilerini incelediği bir araştırmada; 2, 4 ve 6 hafta süresinde haftada bir 0.7 mg/kg dozunda uygulanan MTX' in; özellikle spermatosit ve spermatidlerde öldürücü hasar yarattığı, ancak; germinal epitelin kök hücrelerini oluşturan spermatogonyumların en az etkilenen hücre grubunu oluşturdukları, böylece; MTX' in testis dokusu üzerindeki etkilerinin geri dönüşümlü olduğu düşüncesini ortaya koymuşlardır. 2. haftadan başlamak üzere 6. haftada daha fazla olmak üzere tubuli seminiferi duvarlarında bazal membranlarında kalınlaşma, germ hücrelerinde maturasyon ve sıralanma bozukluğu, lümeninde spermatozoon azlığı veya yokluğu dikkat çekmiştir. Spermatosit ve spermatidler ile spermatogonyumlarda kromatin yoğunlaşması, parçalanması, hücrede vakuolizasyonla tanımlanan apoptozisle hücre ölümü, dejenere spermatidlerin lümenine döküldüğü tespit etmişlerdir. MTX sonrası spermiyogenezde bozukluğa bağlı spermatidlerde akrozomlar

ters duruşlu olarak izlenmiştir. Azalmış sayıdaki spermatozoonlarda lümeneye verilmiş bozukluğuna bağlı spermatozoonların derinlerde yerleşimi dikkat çekmiştir. Sertoli hücre sitoplazmalarında yağ birikimi artmıştı, interstisyel dokuda ödem ve makrofajlarda artış izlenmiştir. Bizim çalışmamızda da Işık ve arkadaşlarının çalışmasına paralel olarak, MTX grubunda spermatogonyumlarda kromatin yoğunlaşması ve vakuolizasyon, spermatozoon azlığı ve interstisyel alanda ödem görülmüştür (52).

Oktar ve arkadaşlarının (2010) fare testisi üzerinde yaptıkları 7 günlük bir çalışmada; birinci günde 10 mg/kg dozunda uygulanan MTX' in ; seminifer tübül atrofi, vakuolizasyon, hücresel deskuamasyona neden olduğu gözlenirken; interstisyel alan ve Leydig hücrelerinde değişimin söz konusu olmadığı bildirilmiştir. Yapılan analizler ile MTX' in; nötrofil aracılı inflamatuvar hasarı ve oksidatif stresin yükselmesine neden olarak testis toksisitesine neden olduğu gösterilmiştir (76).

Shrestha ve arkadaşlarının (2007) sıçan testisi üzerinde yaptıkları bir çalışmada 60 gün boyunca 25 µg ve 50 µg dozlarında uygulanan MTX' in; seminifer epiteli bazal membranında düzensizliğe neden olduğu, yapılan istatistik değerlendirmelerinde anlamlı derecede; seminifer tübül çapında daralma, interstisyel alan çapında artış, primer spermatosit ve spermatidlerin çapında azalma görülürken Leydig hücrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalma gözlenmemiş ancak morfolojik olarak yuvarlak veya oval olarak değişebilen farklılıklar belirlenmiştir (105).

Yuluğ ve arkadaşlarının (2013) yaptıkları 10 günlük bir çalışmaya göre; 7. günde tek doz 30 mg/kg dozunda uygulanan MTX' in; plazma malondialdehit (MDA) konsantrasyonunu anlamlı derecede artırırken SOD ve CAT aktivitesini anlamlı derecede düşürdüğü belirlenmiştir. Ayrıca; seminifer tübül lümeninde spermatozoon sayısında azalma ve olgunlaşmamış germinal hücreler gözlenmiştir (130).

Kumar ve arkadaşlarının (2011) fareler üzerinde yaptıkları 20 günlük bir çalışmada; birinci gün tek doz 20 mg/kg uygulanan MTX grubunda; anormal spermatid ve olgunlaşmamış spermaların belirgin görülmekte olduğu belirtilmiştir. Yapılan

histopatolojik ve morfometrik araştırmalar ile; seminifer tübül çapının azaldığı ve seminifer duvarı boyunda kısıalma olduğu ve testosteron lmnde MTX grubunda en az değere sahip olduğu gösterilmiştir (62).

Saxena ve arkadaşlarının (2004) sıçan testisi üzerinde yaptıkları 17 günlük bir çalışmada; her gün 12.5 microgram dozunda uygulanan MTX' ın; anlamlı derecede seminifer tübül çapında azalma ve interstisyel alan çapında artış, büyüklükleri değişmiş primer ve sekonder spermatositler ile spermatidler, şekilleri ovalden yuvarlağa değişen ve vakuolizasyon görülen spermatositler, Sertoli ve Leydig hücresi boyutlarında önemli derecede azalma ve bazal membranda yer yer incelme ve düzensizlik grldğu belirtilmiştir (98).

Gökçe ve arkadaşlarının (2011) yaptıkları 4 günlük bir çalışmada; ilk gün tek doz 20 mg/kg dozunda uygulanan MTX' ın; seminifer tübül epitel boyunda kısıalma, interstisyel alanda dilatasyon ve ödem, spermatogonyum sayısında azalma ve birkaç seminifer tübülde bazal membran kalınlaşması grldğu belirtilmiştir. Bizim alışmamızda da Gökçe ve arkadaşlarının çalışmasına paralel olarak, MTX grubunda interstisyel alanda ödem ve dilatasyon grlmştir (41).

İlbey ve arkadaşlarının (2009) sıçan testisi üzerinde yaptığı bir çalışmada; birinci gün tek doz 7 mg/kg sisplatin uygulanması ile ilk gün ve devam eden 10 gün boyunca 200 mg/kg dozunda uygulanan kurkuminin; spermatogenezi anlamlı derece koruduğu ve sisplatin+kurkumin grubunun morfolojik olarak testis özelliklerinin kontrol grubuna benzer olduğu belirlenmiştir. Sisplatin grubunda; interstisyel bağ dokusunda perivasküler fibrozis ve hiyalinizasyon görülürken; kontrol ve sisplatin+kurkumin grubunda gözlenmemiştir. Germ hücre tabakası sayısı, seminifer tübül çapı ve testosteron düzeyleri; sisplatin grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede azalmış iken; sisplatin+kurkumin grubunda anlamlı derecede artmış olduğu, kurkumin grubunda da artış gözlenmesine rağmen anlamlı derecede fark belirlenmediği gözlenmiştir (50).

Salama ve arkadaşlarının (2007) sıçanlar üzerinde yaptığı 2 aylık bir çalışmada günlük 15 mg/kg dozunda verilen kurkuminin; sperm motilitesi ve sayısını artırdığı, sperm anomalilerini azalttığı, ancak bu etkilerin istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı gösterilmiştir. Yapılan ikili karşılaştırmalarda; 2 ay boyunca günlük 25 mg/L Kadmiyum+15 mg/kg CMN ve 25 mg/L Kadmiyum grupları karşılaştırıldığında; sperm motilitesi ve sayısının anlamlı derecede arttığı, sperm anomalilerinin ise anlamlı derecede azaldığı görüldüğü yanı sıra; testis ağırlıklarında değişim olmadığı belirtilmiştir. Yapılan testosteron ölçümlerinde ise; en yüksek testosteron seviyesi CMN' de anlamlı miktarda artış göstermiştir (94).

Singh ve arkadaşlarının (2012) fareler üzerinde yaptığı 15 günlük bir çalışmada; her gün 10 mg/kg dozunda uygulanan CMN grubunun histolojik olarak kontrol grubu ile benzer özellikler gösterdiği belirtilmiştir. 15 gün boyunca 50 mg/kg kadmiyum klorit ($CdCl_2$)+10 mg/kg CMN uygulanan grup ise; primer ve sekonder spermatositler, olgunlaşan spermatid ve Sertoli hücrelerine gömülü spermatozoonları ve piknotik çekirdekli Leydig hücreleri ile hafif histopatolojik hasar göstermiştir (106).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, metotreksatın sıçan testisi üzerinde nasıl bir toksik etki oluşturduğu ve kurkuminin ise bu toksik etkide nasıl bir görev üstlendiği ışık mikroskopik düzeyde araştırılmıştır.

Deney süreci sonunda yapılan istatistiksel analizlere göre;

1. Metotreksat, 5 günlük deney sürecinin birinci gününde tek doz 20 mg/kg verildiğinde, vücut ağırlığında önemli bir düşüşe yol açmaktadır.
2. Metotreksat, testis üzerinde toksik etki göstermektedir. Bazal membranda ondülasyon, seminifer tübüllerde vakuolizasyon, tübüller ve spermatojenik hücrelerde yoğun hasar, spermatogonyumlarda kromatin yoğunlaşmasına bağlı piknotik çekirdek, interstisyel alanda ödem oluşumu ve damarlarda konjesyon ve dilatasyona neden olarak spermatogenezi olumsuz yönde etkilemektedir. İnterstisyel dokuda bulunan Leydig hücreleri ve makrofajlar üzerinde ise değişikliğe yol açmamaktadır.
3. 5 günlük deney sürecinin birinci gününde tek doz 20 mg/kg metotreksat ile 5 gün boyunca her gün 200 mg/kg kurkumin verilen grupta, metotreksat+kurkuminin vücut ağırlığında düşüşe yol açtığı gözlenmiştir. Kurkuminin kullandığımız doz ve süreler içinde metotreksatın vücut ağırlığını azaltıcı etkisini önleyemediği gözlenmiştir.
4. Metotreksat ile kurkuminin birlikte verildiği grupta, kurkuminin verilmesi, testisteki hücresel ve seminifer tübül yapısındaki bozuklukların önlenmesine katkıda bulunmaktadır.
5. 5 gün boyunca her gün 200 mg/kg verilen kurkumin, testis ağırlığında önemli bir değişikliğe yol açmazken, vücut ağırlığında düşüşe yol açtığı gözlenmiştir.

6. Sonuç olarak, bu çalışmada metotreksatın, uygulanan süre ve doz göz önüne alındığında testis dokusu için toksik olduğu ve histolojik yapıyı bozduğu saptandı. Antioksidan etkiye sahip kurkuminin ise metotreksatın testiste oluşturduğu bu hasarı önemli ölçüde önlediği görülmektedir.
7. Kurkumin ve metotreksat arasındaki bu ilişkinin daha ayrıntılı olarak incelenmesi ve mekanizmalarının daha net bir şekilde açığa çıkarılmasının, biyokimyasal analizler, ileri enzimatik ve immunohistokimyasal düzeyde yapılacak olan çalışmalar ile mümkün olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Abraham, L., 2006, Üreme Sistemi, Histoloji ve Hücre Biyolojisi, (Çev.: Demir, R.), 1. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 531-564 s.2.
2. Ackermann, U., 2006, Pdq fizyoloji, İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul.
3. Aggarwal, .BB., Kumar, A., Bharti, A.C., 2003, Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies, *Anticancer Research* 23:363-398.
4. Agarwal, A., Sekhon, L.H., 2010, The role of antioxidant therapy in the treatment of male infertility, *Human Fertility*,13(4): 217–225.
5. Akpolat, M., 2007, Gamma Radyasyonun İleum Kadehsi Hücrelerinde Oluşturduğu Hasarlara Karşı Curcumin Ve C Vitamininin Koruyucu Etkilerinin Işık Ve Elektron Mikroskopik Düzeylerde İncelenmesi, Doktora Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Morfoloji Anabilim Dalı Histoloji Ve Embriyoloji Bilim Dalı.
6. Aktümsek , A., 2006, Anatomi ve fizyoloji insan biyolojisi, 3. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.
7. Akyol, H., 2004, Kemoterapinin temel ilkeleri, XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi,Hemşire Programı.
8. Anand, P., Kunnumakkara, A.B., Newman, R.A., Aggarwal, B.B., 2007, Bioavailability of Curcumin: Problems and Promises, *Molecular Pharmaceutics*,4 (6), 807-818.
9. Antmen, Ş.E., 2005, Beta Talasemide Oksidatif Stres, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı.
10. Aran, M., 1974, Klinikte kanser kemoterapisi, Sermet matbaası, İstanbul, 36-37.
11. Arıncı, K. ve Elhan, A., 2006, Anatomi, 1. Cilt, Güneş Kitabevi, ISBN, 975-7467-29-4, Ankara.
12. Armağan, A., Uzar, E., Uz, E., Yılmaz, H.R., Kutluhan, S., Koyuncuoğlu, H.R., Soyupek, S., Cam, H., Serel, T.A., 2008, Caffeic acid phenethyl ester modulates methotrexate-induced oxidative stress in testes of, *Human & Experimental Toxicology* 27: 547.
13. Arora, V., Kuhad, A., Tiwari, V., Chopra,K., 2011, Curcumin ameliorates reserpine-induced pain—depression dyad: Behavioural, biochemical, neurochemical and molecular evidences, *Psychoneuroendocrinology* 36, 1570—1581 p.
14. Aslan, Ö., Vural, H., Kömürcü, Ş., Özet, A., 2006, Kemoterapi alan Kanser Hastalarına Verilen Eğitimin Kemoterapi Semptomlarına Etkisi, C.Ü. Hemşirelik Yüksekokulu Dergisi 2006, 10(1), s 16.
15. Aslankara, N., Aksel, N., Çakan, A., Özsöz, A., Yener, A.G., 2007, Plevral Tutulum Gösteren Bir Romatoid Artrit Olgusu, İzmir Göğüs Hastanesi Dergisi, Cilt XXI, Sayı 3.
16. Aşçı, H., 2010, Metotreksat Kaynaklı Karaciğer Ve Böbrek Hasarında Misoprostolün Koruyucu Etkisi, Tıpta Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi,Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

17. Ata, C., 2009, Erişkin Erkek Sıçanlarda Deneysel Olarak Oluşturulmuş Bor Toksisitesi Üzerinde E Vitamininin Rolü, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
18. Bancroft, J.D. at Stevens, A., 1977, Theory and practice of histological techniques, Churchill, Livingstone, Edinburgh, London and New York.
19. Bansal, S.S., Goel, M., Aqil, F., Vadhanam, M.V., Gupta, R.C., 2011, Advanced Drug-Delivery Systems of Curcumin for Cancer Chemoprevention, *Cancer Prev Res (Phila)*;4(8): 1158–1171.
20. Berk, M., Ng, F., Dean, O., Dodd, S., Bush, A.I., 2008, Glutathione: a novel treatment target in psychiatry, *Trends in Pharmacological Sciences* Vol.29 No.7.
21. Bilge, N., 1981, Klinik Onkoloji Hekimler ve Tıp Öğrencilerine, İstanbul.
22. Bloom, W., Fawcett, D.W., 1994, A textbook of histology, Chapman&Hall, London.
23. Bozan, E., Gürelik, G., 2004, Proliferatif Vitreoretinopati Tedavisinde Yeni Deneysel Ajanlar, *Ret - Vit*; 12 : 214 -223.
24. Bozdoğan, S., 2012, Erişkin Erkek Sıçanlarda Cisplatin İle Oluşturulan Testis Hasarı Üzerine Sodyum Selenitin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
25. Burukoğlu, D. and Bayçu, C., 2008, Protective effects of zinc on testes of cadmium-treated rats, *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 81(6):521-4 p.
26. Chen, Y., Jungsuwadee, P., Vore, M., Butterfield, D.A., Clair, D.K., 2007, Collateral damage in cancer chemotherapy : Oksidative stress in nontargeted tissues, *Molecular Interventions*, Volume 7, Issue 3.
27. Choudhury, R.C., Ghosh, S.K., Palo, A.K., 2001, Potential transmission of the cytogenetic toxic effects of methotrexate in the male germline cells of Swiss mice, *Environmental Toxicology and Pharmacology* 10/ 81 – 88.
28. Çeribaşı, A.O., Türk, G., Sönmez, M., Sakin, F., Ateşşahin, A., 2010, Toxic Effect of Cyclophosphamide on Sperm Morphology, Testicular Histology and Blood Oxidant-Antioxidant Balance, and Protective Roles of Lycopene and Ellagic Acid, *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, 107, 730–736.
29. Çevikbaş, U., 2007, Temel patoloji, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
30. Çıkrıkçı, S., Mozioglu, E., Yılmaz, H., 2008, Biological Activity of Curcuminoids Isolated from *Curcuma longa*, *Records of Natural Productions* 2:1/19-24.
31. Demir, K., 2008, Sıçanlarda Tiyoasetamid İle Uyarılan Akut Karaciğer Yetmezliğini önlemede Kefirin Etkinliğinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı.
32. Dere, F., 1999, Anatomi atlası ve ders kitabı, Nobel tıp kitabevleri, Adana.
33. Dökmeci, İ., 2007, Farmakoloji ilaçlar ve etkileri, 1. Baskı, Alfa Yayınları, İstanbul, 1254 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

34. Eray, İ.C., 2009, Deneysel Kolit Modeli Üzerine Glutamin, N-Asetil Sistein Ve İntrarektal Metotreksat'ın Etkilerinin İncelenmesi, Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı
35. Facorro, G., Sarrasague, M.M., Torti, H., Hager, A., Avalos, J.S., Foncuberta, M., Kusminsky, G., 2004, Oxidative study of patients with total body irradiation: effects of amifostine treatment, *Bone Marrow Transplantation* 33, 793–798.
36. Farombi, E. O., Abarikwu, S. O., Adedara, I. A., and Oyeyemi, M. O., (2007), Curcumin and kolaviron ameliorate di-n-butylphthalate-induced testicular damage in rats. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 100, 43–8.
37. Feagan, B.G., Alfadhli, A., 2004, Methotrexate in inflammatory bowel disease, *Gastroenterology Clinics Of North Amerika*;33/407–420.
38. Futreal, P.A., Kasprzyk, A., Birney, E., Mullikin. J.C., Wooster, R., Stratton., 2001, M.R., *Cancer and genomics NATURE| VOL 409| 15.*
39. Gartner, L.P. at Hiatt, J.L., 2003, *Color Textbook of Histology, 2nd Edition.*
40. Gartner, L.P., Hiatt, J.L., 2007, *Color textbook of histology, 3. Baskı, W.B., SaundersCompany, Philadelphia, p 489-511.*
41. Gökçe, A., Oktar, S., Koç, A., Yonden, Z., 2011, Protective effects of thymoquinone against methotrexate-induced testicular injury, *Human and Experimental Toxicology* 30(8) 897–903 p.
42. Görük, N.Y., 2009, Ektopik Gebeliklerde Metotreksat İle Tedavi Sonuçları Ve Tubal Pasaj Kontrolü, Tıpta Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Göztepe Eğitim Ve Araştırma Hastanesi 1. Kadın Hastalıkları ve Doğum Kliniği.
43. Gülçiçek, O.B., 2008, Deneysel Tıkanma İkterinde Curcuminin Oksidatif Stres Ve Hepatik Hasar İlişkisi, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Okmeydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi 2.Genel Cerrahi Kliniği
44. Güven, C. ve Tekelioğlu, M., 2004, *Histoloji - Embriyoloji Terimleri Sözlüğü, Sendrom III, Logos tıp yayıncılığı, cilt 2-5.*
45. Halliwell, B., Whiteman, M., 2004, Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: how should you do it and what do the results mean?, *British Journal of Pharmacology* 142, 231–255.
46. Hirsch, I., Huang, B. at Chancellor, M.B., 1999, Spermatogenesis in early and chronic phases of experimental spinal cord injury in the rodent model, *Journal of Andrology*, 20, 1: 63-71 p.
47. Hong, J., Bose, M., Ju, J., Ryu, J.H., Chen, X., Sang, S., Lee, M.J., Yang, C.S., 2004, Modulation of arachidonic acid metabolism by curcumin and related diketone derivatives: effects on cytosolic phospholipase A2, cyclooxygenases and 5-lipoxygenase, *Carcinogenesis* vol.25 no.9 pp.1671—1679.
48. <http://tr.wikipedia.org/w/index.php?title=Zerdeçal&oldid=12939390> Zerdeçal.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

49. Hurst, R., Bao, Y., Jemth, P., Mannervik, B., Williamson, G., 1998, Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase activity of human glutathione transferases, *Biochem. J.* 332, 97-100.
50. Ilbey, Y. O., Ozbek, E., Cekmen, M., Simsek, A., Otunctemur, A., and Somay, A., 2009, Protective effect of curcumin in cisplatin-induced oxidative injury in rat testis: Mitogen-activated protein kinase and nuclear factor kappa B signaling pathways. *Hum Reprod* 24, 1717–25.
51. Inano, H., Onoda, M., Inafuku, N., Kubota, M., Kamada, Y., Osawa, T., Kobayashi, H., Wakanayashi, K., 2000, Potent preventive action of curcumin on radiation-induced initiation of mammary tumorigenesis in rats, *Carcinogenesis Vol.21.No.10*.pp 1835-1841.
52. Işık, A., Işıl, L., Atabenli, Erdemli, E., Akbay, C., Anafarta, K., 1997, Sıçan testisinde metotreksatın ışık ve elektron mikroskop düzeyinde etkileri, *Ankara Üniversitesi Tıp fakültesi Mecmuası cilt 50, sayı 3*, 125-129 p.
53. Jahovic, N., Çevik, H., Şehirli, A.Ö., Yeğen, B.Ç., Şener, G., 2003, Melatonin prevents methotrexate-induced hepatorenal oxidative injury in rats, *Journal of Pineal Research*;34:282–287.
54. Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2009, *Temel Histoloji*, (Çeviri: Aytekin, Y., Solakoğlu, S.,) 10. Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 135.
55. Kane, D., Gogarty, M., O’Leary, J., Silva, I., Bermingham, N., Bresnihan, B., FitzGerald, O., 2004, Reduction of Synovial Sublining Layer Inflammation and Proinflammatory Cytokine Expression in Psoriatic Arthritis Treated With Methotrexate , *Arthritis & Rheumatism Vol. 50, No. 10*,pp 3286–3295.
56. Kantemir, İ., 1969, *Kanser ve tedavisi (Özellikle kemoterapi)*, Güzel İstanbul Matbaası, Ankara.
57. Karaaslan, F.J., 2009, Erişkin Erkek Sıçanlarda Etan Dimetan Sülfonat ile Oluşturulan Testis Hasarı Üzerine Sodyum Selenitin Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
58. Karyağar, E.N., 2006, Uzun Süreli Metotreksat Tedavisi Alan Juvenil İdiyopatik Artritli Çocuklarda Folik Asit Desteğinin Plazma Total Homosistein Düzeyine Etkisi, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı İstanbul Göztepe Eğitim ve Araştırma Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği.
59. Kawamori, T., Lubet, R., Steele, V.E., 1999, Chemopreventive Effect of Curcumin, a Naturally Occurring Anti-Inflammatory Agent, during the Promotion/Progression Stages of Colon Cancer, *Cancer Research* 59:597-601.
60. Kayaalp, O., 1994, *Tıbbi Farmakoloji*, 4. Cilt, Feryal Matbaası, Ankara 1047 s.
61. Krakower, G.A., Kamen, B.A., 1983, In Situ Methotrexate Polyglutamate Formation in Rat Tissues, *The Journal Of Pharmacology And Experimental Therapeutics* 2Vol. 227, No.3.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

62. Kumar, A.S., Deepthi, K.B., Prasad, M.D.V., Mary, P.G., Kumar, S.S., Swathi, M., 2011, Evaluation of the Protective Effects of Omega-3 Fatty Acids against Methotrexate Induced Testicular Toxicity in Male Albino Mice, *International Journal of Phytopharmacology*, 2(2), 2011, 48-52 p.
63. Kutluana, U., Oruç, N., Yılmaz, M., Yönetci, N., Kaptanoğlu, B., Özütemiz, Ö., 2011, Ratlarda metotreksata bağlı oksidatif intestinal hasarda leflunomidinin koruyucu etkisinin araştırılması, *Akademik gastroenteroloji dergisi*, 10 (1): 23-27 s.
64. Küçükşu, M.N., Ruacan, Ş.A., 1978, *Klinik onkoloji*, Ankara, 76-87s.
65. Kürkçü, E., 2008, Deneysel Olarak Oluşturulmuş Meme Tümörlerinde Curcumin'in Arginaz Enzim Aktivitesi, Ornitin ve Nitrik Oksit Düzeylerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyokimya Anabilim Dalı.
66. Maskar, Ü., 1969, *Embryoloji*, Sermet matbaası, İstanbul.
67. Masuzawa, M., Nakao, S., Miyamoto, E., Yamada, M., Murao, K., Nishi, K. at Shingu, K., 2003, Pentobarbital inhibits ketamine-induced dopamine release in the rat nucleus accumbens: a microdialysis study, *Anesth Analg*; 96:148 –52 p.
68. Mehdawi. N.A.R., 2010, Curcumin Based Diazoles And Oxazoles With Potential Antibacterial Activities, An-Najah National University Faculty of Graduate Studies.
69. Meistrich, M.L., 1999, Restoration of spermatogenesis by hormone treatment after cytotoxic therapy, *Acta Pzediatr Suppl* 433: 19-22.
70. Mocan, Kuzey, G., 2007, *Temel patoloji*, Güneş Kitabevi, İstanbul-Ankara.
71. Moore, K.L., Agur, A.M.L., 2006, *Temel klinik anatomi*, (Çev.: Elhan, A.), 2. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara.
72. Murono, E.P., Derk, R.C., de Leo'n, J.H., 2001, Differential effects of octylphenol, 17 bestradiol, endosulfan, or bisphenol A on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells, *Reproductive Toxicology*, 15, 551–560 p.
73. Nagpal, M., Sood, S., 2013, Role of curcumin in systemic and oral health: An overview, *Journal of Natural Science, Biology and Medicine* 4(1); p 3-7.
74. Nouri, H.S., Azarmi, Y., Movahedin, M., 2008, Effect of growth hormone on testicular dysfunction induced by methotrexate in rats, *Andrologia* 41, 105–110.
75. Oğuz, Y., Eyiletten, T., Karaman, M., Ay, S.A., Yılmaz, M.İ., 2011, Böbrek İşlevleri Bozuk İki Olguda Metotreksat Kullanımına Bağlı Pansitopeni Gelişmesi, *Türk nefroloji diyaliz ve Transplantasyon dergisi*; 20 (1): 93-95.
76. Oktar, S., Gökçe, A., Aydın, M., Davarci, M., Meydan, S., Öztürk O.H., Koç, A., 2010, Beneficial effect of erdosteine on methotrexate-induced testicular toxicity in mice, *Toxicology and Industrial Health* 26: 433.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

77. Olah, E., 2005, Basic Concepts of Cancer: Genomic Determination, The Journal Of The International Federation Of Clinical Chemistry And Laboratory Medicine, Vol 16 No 2.
78. Olgun, N., Şimşek, H., 2010, Kemoterapi Hazırlayan ve Uygulayan Hemşirelerin Güvenlik Önlemlerini Kullanma Durumları ve Önlem Almalarını Etkileyen Faktörler, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi Hemşirelik Dergisi, s 13–23.
79. Özalp, Dural, E.A., 2008, Farmakoloji, 4, Baskı, Nobel tıp kitapevleri, İstanbul.
80. Padmanabhan, S., Tripathi, D.N., Vikram, A., Ramarao, P., Jena, G.B., 2008, Cytotoxic and genotoxic effects of methotrexate in germ cells of male Swiss mice, Mutation Research 655/59–67.
81. Padmanabhan, S., Tripathi, D.N., Vikram, A., Ramarao, P., Jena, G.B., 2009, Methotrexate-induced cytotoxicity and genotoxicity in germ cells of mice: Intervention of folic and folinic acid, Mutation Research 673/s 43–52.
82. Pan, M.H., Huang, T.M., Lin, A.K., 1998, Biotransformation Of Curcumin Through Reduction And Glucuronidation In Mice, Drug Metabolism And Disposition Vol. 27.
83. Pandey, A., Gupta, R.K., Srivastava, R., 2011, Curcumin-the Yellow Magic, Asian Journal of Applied Sciences 4(4):343-354.
84. Pandya, U., Saini, M.K., Jin, G.F., Awasthi, S., Godley, B.F., Awasthi, Y.C., 2000, Dietary curcumin prevents ocular toxicity of naphthalene in rats, Toxicology Letters 115/195-204.
85. Patton, H., 1989, Textbook of physiology, Nobel yayınları, İstanbul.
86. Pınar, R., Salepci, T., Afşar, F., 2009, Assessment of quality of life in Turkish patients with cancer, Turkish Journal of Cancer Volume 33, No.2, 96 p.
87. Plummer, S.M., Holloway, K.A., Manson, M.M., Munks. R.JL., Kaptein, A., Farrow, s., Howells, L., 1999, Inhibition of cyclo-oxygenase 2 expression in colon cells by the chemopreventive agent curcumin involves inhibition of NF-kB activation via the NIK/IKK signalling complex, Oncogene 18,6013 – 6020.
88. Ragheb, A.M., Sabanegh, E.S., 2010, Male Fertility-Implications of Anticancer Treatment and Strategies to Mitigate Gonadotoxicity, Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry, 10, 92-102.
89. Romero, F.J., Bosch-Morell, F., Romero, M.J., Jareflo, E.J., Romero, B., Marin, N., Roma, J., 1998, Lipid Peroxidation Products and Antioxidants in Human Disease, Environmental Health Perspectives-Vol 106, Supplement 5.
90. Ross, M.H., Pawlina, W., 2006, Histology- a text and atlas with correlated cell and molecular biology, 5. Edition, Lippincott W&W, Philadelphia. : Lippincott W&W, 784-829 p.
91. Sabanegh, E.S., Ragheb, A.M., 2009, Male Fertility After Cancer, Urology 73: (2) 225–231.
92. Sabuncuoğlu, S., Özgüneş, H., 2011, Kemoterapi, Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres, Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi Cilt 31/Sayı 2/pp.137-150.
93. Sadler, T.W., 1990, Langman’s medikal embriyoloji, Palme Yayıncılık, Ankara.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

94. Salama, A.F., El-Bahr, S.M., 2007, Effect of Curcumin on Cadmium-Induced Oxidative Testicular Damage in Rats, Journal of Medical Research Institute Vol. 28 No.2: 167-73 p.
95. Sancak, B., Cumhuri, M., 2002, Fonksiyonel anatomi baş-boyun ve iç organlar, 2. Baskı, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık ve İletişim A.Ş.-METU Press, Ankara.
96. Sarıkaya, M., Yıldırım, M., Sarı, F., 2013, Hemodiyaliz Uygulanan Hastalarda Kemoterapi, Acıbadem Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi Cilt: 4 / Sayı: 1.
97. Savran, M., 2011, Ratlarda Metotreksat Kaynaklı Karaciğer Ve Böbrek Hasarında C Vitamininin Koruyucu Etkisinin Araştırılması , Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi.
98. Saxena, A.K., Dhungel, S., Bhattacharya, S., JHA, C.B., Srivastava, A.K., 2004, Effect Of Chronic Low Dose Of Methotrexate On Cellular Proliferation During Spermatogenesis In Rats, Archives of Andrology, 50:33–35, 2004.
99. Scartezzini, P., Speroni, E., 2000, Review on some plants of Indian traditional medicine with antioxidant activity, Journal of Ethnopharmacology 70/23 – 43.
100. Schrader, M., Heicappell, R., Müller M., Straub B., Miller, K., 2001, Impact of Chemotherapy on Male Fertility, Onkologie;24:326 – 330
101. Schrader, M., Müller, M., Straub, B., Miller K., 2001, The impact of chemotherapy on male fertility: a survey of the biologic basis and clinical aspects, Reproductive Toxicology 15-611–617.
102. Senel, O.N., Yazar, S., Çetinkale, O., Bulan, R., Konukoglu, D. ve Özdemir, S., 2007, Elektrik yaralanması sonrası kan akışkanlığındaki değişiklikler ve serbest oksijen radikallerinin kan akışkanlığı üzerine etkileri, türk plastik rekonstrüktif ve estetik, Cerrahi Dergisi, Cilt15 / Sayı 1 Say 40-46 s.
103. Sharma, R.A., Gescher, A.J., Steward, W.P., 2005, Curcumin: The story so far, European Journal of Cancer 41 1955–1968.
104. Shishodia, S., Sethi, G., Aggarwali, B.B., 2005, Curcumin: Getting Back to the Roots, Annals New York Academy Of Sciences 1056: 206–217.
105. Shrestha, S., Dhungel, S., Saxena, A.K., Bhattacharya, S., Maskey, D., 2007, Effect of methotrexate (mtx) administration on spermatogenesis: an experimental on animal model, Department of Anatomy, B. P. Koirala Institute of Health Sciences, Dharan, Nepal.
106. Singh, P., Deora, K., Sankhla, V., Mogra, P., 2012, Curcumin rendered protection against cadmium chloride induced testicular damage in Swiss albino mice, Journal of Cell and Molecular Biology 10(2):31-38 p.
107. Sipahioğlu, H., 1981, Onkoloji medikal onkolojide tedavi prensipleri ve protokollar, 1034-1037.
108. Somavawat, K., Thong-Ngam, D., Klaikeaw, N., 2013, Curcumin attenuated paracetamol overdose induced hepatitis, World Journal of Gastroenterology 28;19(12):1962-1967.
109. Sternberg, S.S., 1997, Histology for pathologist, Lippincott-Raven, New York.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 110.Şahintürk, V., 2000, Subfertil Erkeklerin Sperm Morfolojilerinin Işık Mikroskopik ve Floresan Yöntemlerle İncelenmesi, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- 111.Şahintürk, V. ve Erçakır, M., 1999, Histoloji ve Embriyoloji Laboratuvar Kılavuzu, Osmangazi Üniversitesi Yayınları, Eskişehir.
- 112.Şahintürk, V., Güçlü, C., Bayçu, C., 2007, Protective effects of vitamin E on ethane dimethane sulfonate-induced testicular toxicity in rats, *Asian J Androl*; 9 (1): 117–124 p.
- 113.Şimşek, E., 1992, Anatomi fizyoloji, Hacettepe taş kitapçılık, Ankara.
- 114.Tamaddonfard, E., Tajik , H., Hamzeh-Gooshchi, N., 2008, Effects of curcumin and vitamin C on visceral nociception induced by acetic acid in rats, *Medycyna Wet. , 64 (7)*.
- 115.Taşlı, L., Kaçar, N., Yıldız, N., Şanlı, B., Ergin Ş., 2011, Plak tip psoriasisde metotreksatın oral ve subkutanöz kullanımının kıyaslanması: 5 yıllık retrospektif inceleme, *Pamukkale Tıp Dergisi*;4(3):131-135.
- 116.Tempest, H.G., Ko, E., Chan, P., Robaire, B., Rademaker A., Martin, R.H., 2008, Sperm aneuploidy frequencies analysed before and after chemotherapy in testicular cancer and Hodgkin's lymphoma patients *Human Reproduction Vol.23, No.2 pp. 251–258*.
- 117.Tian, H., Cronstein, B.N., 2007, Understanding the Mechanisms of Action of Methotrexate Implications for the Treatment of Rheumatoid Arthritis, *Bulletin of the NYU Hospital for Joint Diseases*;65(3):168-73.
- 118.Tola, H.T., 2008, Doksorubisin İle Oluşturulan Deneysel Kardiyotoksiste Üzerine N-Asetilsisteinin Biyokimyasal Ve Histopatolojik Düzeylerdeki Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı.
- 119.Trottmann, M., Becker, A.J., Stadler, T., Straub, J., Soljanik, I., Schlenker, B., Stief, C.G., Semen, 2007, Quality in Men with Malignant Diseases before and after Therapy and the Role of Cryopreservation, *European Urology 52-355–367*.
- 120.Understanding Chemotherapy, Irish Cancer Society.
- 121.Usta, Yeşilbalkan, Ö., Durmaz, Akyol, A., Çetinkaya, Y., Altın, T., Ünlü, D., 2005, Kemoterapi tedavisi Alan Hastaların Tedaviye Bağlı Yaşadıkları Semptomlar Ve Yaşam Kalitesine Olan Etkisinin İncelenmesi, *Ege Üniversitesi Hemşirelik Yüksek Okulu Dergisi 21 (1) : 13-31, s 15*
- 122.Urso, Maria. L., Clarkson, P.M., 2003, Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation, *Toxicology 189 / 41-54*.
- 123.Uyar, R., Bayçu, C., Gürer, F., Erol, K., Cingi, M.I., Özdemir, M., Alpan, R.S., 1990, Metotreksat'ın kemik iliğindeki toksisitesinin verapamil ile önlenmesi. *Anadolu Tıp Dergisi, 12:27-39*.
- 124.Uzar, E., 2006, Metotreksat Uygulanan Ratların Siyatik Sinir Ve Medulla Spinalisinde Oksidan / Antioksidanların Durumu: Kafeik Asit Fenetil Ester'in Antioksidan Koruyucu Etkisi, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Nöroloji Anabilim Dalı.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 125.Uzer, N., 2007, Sıçanlarda Deri Fleplerinin Yaşayabilirliğinde Curcumin Kullanımının Etkilerinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Sağlık Bakanlığı Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Plastik, Rekonstruktif ve Estetik Cerrahi Kliniği.
- 126.Vardı, N., Parlakpınar, H., Ateş, B., Otlı, A., 2010, Metotreksatın Neden Olduğu Testiküler Hasara Karşı Klorogenik Asidin Koruyucu Etkileri, Türkiye Klinikleri J Med Sci;30(2):507-13.
- 127.Yeter, K., 2006, Kemoterapi Alan Hastalara Verilen Eğitimin Yaşam Kalitesüzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- 128.Yılmaz, O., 2008, Probiyotiklerin Ratlarda Metotreksat Toksisitesi Üzerine Olan Etkileri, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı.
- 129.Young, I.S., Woodside, J.V., 2001, Antioxidants in health and disease, J Clin Pathol;54:176–186.
- 130.Yuluğ, E., Türedi, S., Kahraman, C., 2013, Effect of resveratrol on methotrexate induced testicular damage in rats, Scientific World Journal, 489659.
- 131.Widemann, B.C., Adamson, P.C., 2006, Understanding and Managing Methotrexate Nephrotoxicity, The Oncologist;11:694–703.
- 132.Xu, J., Fu, Y., Chen, A., 2003, Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-contributes to the inhibitory effects of curcumin on rat hepatic stellate cell growth, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol 285: G20–G30.
- 133.Zadak, Z., Hyspler, R., Ticha, A., Hronek, M., Fikrova, P., Rathouska, J., Hrnčiarikova, D., Stetna, R., 2009, Antioxidants and Vitamins in Clinical Conditions, Physiol. Res. 58 (Suppl. 1): s13-s17.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Sezen ATAL

Doğum tarihi ve yeri : 23-02-1989 Bakırköy

Uyruğu : T.C.

Medeni durumu : Bekar

İletişim adresleri : sezenatal@hotmail.com

Eğitim Durumu

2011-2014 : ESOGÜ Tıp Fakültesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji

Anabilim Dalı Yüksek Lisans Eğitimi

2007-2011 : ESOGÜ Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü (İngilizce Hazırlık)

2003-2007 : Çorlu Mehmet Akif Ersoy Anadolu Lisesi- Çorlu/TEKİRDAĞ

Yabancı dil : İngilizce

Bilimsel Etkinlikler

ESOGÜ Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası, 2011, Eskişehir

ESOGÜ Pedagojik Formasyon Sertifikası, 2011, Eskişehir

Klinik Embriyoloji Derneği Androloji Kursu, 2012, Ankara