

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ERİŞKİN ERKEK SIÇANLARDA DOKSORUBİSİN İLE
OLUŞTURULAN TESTİS HASARI ÜZERİNE L-KARNİTİNİN
ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EBRU MUTLU

DANIŞMAN: PROF. DR. VAROL ŞAHİNTÜRK

ARALIK 2013

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜŐÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**ERİŞKİN ERKEK SIÇANLARDA DOKSORUBİSİN İLE
OLUŞTURULAN TESTİS HASARI ÜZERİNE L-KARNİTİNİN
ETKİSİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

EBRU MUTLU

DANIŞMAN: PROF. DR. VAROL ŞAHİNTÜRK

KABUL VE ONAY SAYFASI

Ebru MUTLU'nun Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Erişkin erkek sıçanlarda doksorubisin ile oluşturulan testis hasarı üzerine L-karnitinin etkisi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

11.12.2013

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 13.12.2013 tarih ve 982/6568 sayılı kararı ile onaylanmıştır.


Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

ÖZET

Erişkin erkek sıçanlarda doksorubisin ile oluşturulan testis hasarı üzerine L-karnitinin etkisi.

Doksorubisin, lösemi, lenfoma ve çeşitli kanser tiplerinde, dayanıklı tümörlere karşı antitümör ajanı olarak kullanılan antrasiklin tipi bir antibiyotiktir. Kanser tedavisinde kullanılan doksorubisin, kemoterapik bir ajandır. Sitotoksik etkilerine ek olarak çok sayıda ciddi yan etkileri de bulunmaktadır. L-karnitin, in vivo olarak metiyonin ve lizin aminoasitlerinden sentezlenen, antiapoptotik ve antioksidan etkileri kanıtlanmış vitamin benzeri bir amindir.

Bu çalışmada antioksidan gibi davranan L-karnitin doksorubisin ile hasara uğratılmış sıçan testis dokusuna olan etkisini histolojik olarak inceleyerek, L-karnitin doksorubisine maruziyeti sonucu koruyucu etkisini incelemeyi amaçladık. Çalışmamızda toplam 28 adet erişkin Spraque-Dawley türü erkek sıçan kullanıldı. Sıçanlar her grupta 7 erişkin erkek sıçan olacak şekilde kontrol, 4 mg/kg doksorubisin, 200 mg/kg L-karnitin, 4 mg/kg doksorubisin+200 mg/kg L-karnitin verilen grup olmak üzere 4 gruba ayrıldı. Her hayvanın deney öncesi ve deney sonu vücut ağırlıkları ile deney sonunda testis ağırlıkları ölçülerek karşılaştırıldı. Sol testisler doku takip işlemi için Bouin çözeltisi içerisine, sağ testisler ise formaldehit çözeltisi içerisine alındı ve rutin histolojik işlemlerden sonra bloklandı. Elde edilen parafin bloklardan 3 µm kalınlığında seri kesitler alındı ve kesitler Hematoksilen+Eozin ve Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen ile boyanarak mikroskopik incelemeleri yapıldı.

Çalışmanın sonucunda elde ettiğimiz bulgulara göre, doksorubisinin testis ve vücut ağırlığını azalttığı, testiste seminifer tübüllerde ve hücrelerde hasara yol açarak spermatogenezi etkilediği gözlemlendi. Doksorubisin ile birlikte verilen L-karnitin ise testiste oluşan bu hasarı azaltabileceği gözlemlendi.

Anahtar sözcükler: Doksorubisin, L-karnitin, Sıçan, Testis.

SUMMARY

Effects of L-carnitine on testicular toxicity induced by doxorubicin in adult male rats.

Doxorubicin is an anthracycline antibiotic used as a antitumor agent against the resolute tumors in leucemia, lymphoma, other cancer types and is used. Doxorubicin which is used for cancer treatments is chemotherapeutic agent that has lots of side effects especially on the testicular tissue. L-carnitine, is a vitamine like amine synthesized from methionine and lysine amino acids in vivo, of which antiapoptotic and antioxidant effects has been proved.

In this study, to investigate histological effects of L-carnitine which is acted as an antioxidant, testicular tissue of rats that are damaged by using doxorubicin are studied. We aim to investigate protective effect of L-carnitine against the exposure of doxorubicin. A total of 28 Spraque-Dawley male rats were investigated on this research. Rats were divided into 4 groups having 7 adult rats in each. Consisting of; control group; 4 mg/kg doxorubicin group; 200 mg/kg L-carnitine group; 4 mg/kg doxorubicin + 200 mg/kg L-carnitine group. Body and testicle weights of each rats were before and after experiments. Also weight of testicle measured after experiments. Left testicle was placed into Bouin solution; and right testicle was placed into formaldehyde solution before bracketing for routine histological process. Sections which are 3 μ m thick were taken from paraffine blocks and stained with Hematoxylene+ Eosin; Acid- Schiff+ Hematoxylene and then sections were investigated in light microscope.

Results showed that doxorubicin cause the loss in rats body weight and testicle weight. A doxorubicin also effected the spermatogenesis by damaging the seminiferous tubule and cells. On the other hand, administration of L-carnitine together with doxorubicin might lead to reduction in damage level observed in testicle.

Key Words: Doxorubicin, L-carnitine, Rat, Testicle.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI.....	Hata! Yer işareti tanımlanmamış.
ÖZET	v
SUMMARY	vi
İÇİNDEKİLER	vii
TABLO DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Testisin Anatomisi	3
2.1.1. <i>Testisin damarları, lenf dolaşımı ve sinirleri</i>	5
2.2. Testisin Embriyolojisi	5
2.3. Testisin Histolojisi	10
2.3.1. <i>Seminifer tübüller</i>	13
2.3.1.1. <i>Spermatogenik hücreler ve spermatogenez</i>	13
2.3.1.1.1. <i>Spermatogonyumlar</i>	15
2.3.1.1.2. <i>Primer ve sekonder spermatositler</i>	16
2.3.1.1.3. <i>Erken-geç spermatidler ve spermiyogenez</i>	17
2.3.1.1.4. <i>Spermatozoon</i>	20
2.3.1.2. <i>Sertoli hücreleri</i>	22
2.3.2. <i>İnterstisyel doku ve Leydig hücreleri</i>	24
2.4. Testisin Histofizyolojisi	25
2.5. Kanser ve Kemoterapi	27
2.6. Doksorubisin	31
2.6.1. <i>Doksorubisinin tanımı, klinik kullanımı ve yapısı</i>	31
2.6.2. <i>Doksorubisinin etki mekanizması</i>	32
2.6.3. <i>Doksorubisinin metabolizması ve farmakokinetikleri</i>	36
2.6.4. <i>Doksorubisinin fertilité üzerine etkisi</i>	36

2.6.5. Doksorubisinin yan etkileri	37
2.7. L-karnitin	37
2.7.1. L-karnitinin tarihçesi.....	37
2.7.2. L-karnitin yapısı.....	38
2.7.3. L-karnitinin doğadaki kaynakları	39
2.7.4. L-karnitinin metabolizasyonu	40
2.7.4.1. L-karnitinin biyosentezi	40
2.7.4.2. L-karnitinin dokulardaki dağılımı	41
2.7.5. L-karnitinin farmakokinetiği	42
2.7.6. L-karnitinin fizyolojik etkileri	43
2.7.7. L-karnitinin fertilite üzerine etkileri	45
2.7.8. L-karnitinin kanser ve antikanser ilaçlar ile ilişkisi	45
2.7.9. L-karnitinin antioksidan etkisi	46
2.7.10. L-karnitinin kullanıldığı alanlar	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM	48
3.1. Deney Hayvanları.....	48
3.2. Kimyasallar	50
3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü	50
3.4. Testis Ağırlıklarının Ölçümü	50
3.4.1. Testis ağırlık indeksi hesaplaması.....	51
3.5. Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması	51
3.6. Dokuların Alınması	51
3.7. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması.....	52
3.8. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) Boyasının Hazırlanışı.....	53
3.9. Kesitlerin Alınması ve Boyanması	53
3.10. Histolojik Değerlendirme	55
3.11. İstatistiksel Analiz	56
4. BULGULAR	57
4.1. Vücut ve Testis Ağırlığı Bulguları	57
4.1.1. Vücut ağırlığı analizi	57
4.1.2. Sağ testis ağırlığı.....	61

<i>4.1.3. Sol testis ağırlığı</i>	63
<i>4.1.4. Toplam testis ağırlığı</i>	65
<i>4.1.5. Testis ağırlık indeksi (TAİ)</i>	67
4.2. Histolojik Bulgular	69
<i>4.2.1. Kontrol grubu</i>	69
<i>4.2.2. Doksorubisin grubu</i>	70
<i>4.2.3. L-karnitin grubu</i>	70
<i>4.2.4. Doksorubisin + L-karnitin grubu</i>	71
5. TARTIŞMA	80
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	91
KAYNAKLAR DİZİNİ	93
ÖZGEÇMİŞ	106

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Bazı besin ham maddelerinin L-karnitin içerikleri.....	39
Tablo 2. Deney takip çizelgesi.....	49
Tablo 3. Doku takip yöntemine ait süreler.....	52
Tablo 4. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri..	54
Tablo 5. PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri.....	55
Tablo 6. Gruplara göre deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları.....	58
Tablo 7. Gruplar arasında deney sonrası vücut ağırlığı farkları.....	60
Tablo 8. Gruplar arasında deney sonu sağ testis ağırlığı farkları.....	62
Tablo 9. Gruplar arasında deney sonu sol testis ağırlığı farkları.....	64
Tablo 10. Gruplar arasında deney sonu toplam testis ağırlığı farkları.....	66
Tablo 11. Gruplar arasında deney sonu testis ağırlık indeksi farkları.....	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Primordial germ hücrelerinin primitif gonadlara göçü.....	7
Şekil 2. Testis gelişiminin şematik gösterimi.....	8
Şekil 3. Erkek üreme sistemini oluşturan organ ve kanalların genel görünümü....	10
Şekil 4. Testisin histolojik görünümü.....	11
Şekil 5. Testisin yapısı.....	12
Şekil 6. Testiste seminifer tübüllerin histolojik görünümü.....	14
Şekil 7. Testiste bir seminifer tübülün enine kesiti.....	16
Şekil 8. Testiste seminifer tübül epiteli ve spermatogenik seri hücreler.....	18
Şekil 9. Spermiyogenez.....	20
Şekil 10. Bir seminifer tübülde Sertoli hücrelerinin yapısı.....	22
Şekil 11. Doksorubisinin yapısı.....	32
Şekil 12. Doksorubisinin DNA ile ilişkisi.....	35
Şekil 13. L-karnitin molekülünün kimyasal yapısı.....	38
Şekil 14. L-karnitinin biyosentezi.....	41
Şekil 15. Grupların deney öncesi vücut ağırlıkları.....	58
Şekil 16. Grupların deney sonu vücut ağırlıkları.....	59
Şekil 17. Deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları.....	59
Şekil 18. Deney sonrası vücut ağırlıklarının karşılaştırılması	61
Şekil 19. Grupların deney sonu sağ testis ağırlıkları.....	62
Şekil 20. Deney sonrası sağ testis ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması...	63
Şekil 21. Grupların deney sonu sol testis ağırlıkları.....	64
Şekil 22. Deney sonrası sol testis ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması...	65
Şekil 23. Grupların deney sonu toplam testis ağırlıkları.....	66

Şekil 24. Deney sonrası toplam testis ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması.	67
Şekil 25. Grupların deney sonu testis ağırlık indeksleri.....	68
Şekil 26. Deney sonrası testis ağırlık indekslerinin gruplar arasında karşılaştırılması..	69
Şekil 27. Kontrol grubu testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (H-E).....	72
Şekil 28. Kontrol grubu testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (H-E).....	72
Şekil 29. Kontrol grubu testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (H-E).....	73
Şekil 30. Kontrol grubu testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü (PAS-H).....	73
Şekil 31. Doksorubisin verilen gruba ait testis kesiti (H-E).....	74
Şekil 32. Doksorubisin verilen gruba ait testis kesiti (H-E).....	74
Şekil 33. Doksorubisin verilen gruba ait testis kesiti (H-E).....	75
Şekil 34. Doksorubisin verilen gruba ait testis kesiti (PAS-H).....	75
Şekil 35. L-karnitin verilen gruba ait testis kesiti (H-E).....	76
Şekil 36. L-karnitin verilen gruba ait testis kesiti (H-E).....	76
Şekil 37. L-karnitin verilen gruba ait testis kesiti (PAS-H).....	77
Şekil 38. L-karnitin verilen gruba ait testis kesiti (PAS-H).....	77
Şekil 39. Doksorubisin + L-karnitin grubuna ait testis kesiti (H-E).....	78
Şekil 40. Doksorubisin+L-karnitin grubuna ait testis kesiti (H-E).....	78
Şekil 41. Doksorubisin+L-karnitin grubuna ait testis kesiti (PAS-H).....	79
Şekil 42. Doksorubisin+L-karnitin grubuna ait testis kesiti (PAS-H).....	79

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat derece
µm	Mikrometre
µmol	Mikromol
ABP	Androjen bağlayıcı protein
AMH	Antimüllerian hormon
ATP	Adenozin tri fosfat
ATPaz	Adenozin tri fosfataz
cAMP	Döngüsel adenozin monofosfat
cm	Santimetre
CoA	Koenzim A
D	Dekstrojir
DHT	Dihidrotestosteron
dl	Desilitre
DNA	Deoksiribonükleik asit
FSH	Folikül stimulan (uyarıcı) hormon
GnRH	Gonadotropin serbestleştirici hormon
GSH	Glutasyon
GSH-Px	Glutasyon peroksidaz
H	Hematoksilen
hCG	İnsan koryonik gonadotropin hormonu
H-E	Hematoksilen-Eozin
i.p.	İntraperitoneal (periton içi)

KAT	Katalaz
kg	Kilogram
L	Levojir
LH	Luteinizan hormon
LPS	Lipopolisakkarit
MDA	Malondialdehit
MIS	Müller inhibitör madde
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotid
PAS	Periyodik asit Schiff
RNA	Ribonükleik asit
SOD	Süperoksit dismutaz
SOR	Serbest oksijen radikalleri
SRY	Y kromozomunun cinsiyeti belirleyen bölgesi
TAİ	Testis ağırlık indeksi
TBF	Testis belirleyici faktör

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser, hücrelerin kontrolsüz ve anormal bir şekilde çoğalması, yaygın nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren bir hastalıktır (72).

Kemoterapi, kontrolsüz çoğalan hücrelere karşı seçici öldürücü etkileri olan, doğal veya sentetik kimyasal, biyolojik ajanlar ve hormonlarla yapılan tedavi şeklidir. Kemoterapide kullanılan antineoplastik ilaçlar kanserli hücrelerin çoğalmasını durdurmakta ve yok etmektedir. Ancak tedavi amaçlı kullanılan bu ilaçlar vücuttaki normal hücrelere de etki ederek ciddi yan etkilere sebep olabilirler (10, 78).

Doksorubisin, daunorubisinin hidroksi türevi olup bir antrasiklin bileşiğidir. Sitotoksik bir antibiyotik olan doksorubisin, S dönemindeki hücrelere etki eden, antineoplastik bir ajandır (72).

Doksorubisin, DNA replikasyonuna, transkripsiyonuna, DNA topoizomerez II enzimine ve DNA, RNA polimeraz aktivitelerini bloke ederek hücre döngüsüne inhibe edici etki yapmaktadır (5, 140). Doksorubisine maruziyet sebebiyle gelişen hücresel apoptoza bağlı sperm gelişimi, sperm üretimi, sperm yapısı ve sperm hareket yüzdesinde değişimler gözlemlendiği tespit edilmiştir (40). Doksorubisine maruziyete bağlı olarak oluşan oksidatif stres ve serbest oksijen radikallerinin oluşumu lipid peroksidasyonunu indüklemekte ve buna bağlı olarak spermde fonksiyon bozukluğu ve erkekte infertiliteye sebep olmaktadır (80).

L-karnitin (γ -trimetilamino- β -hidroksibütirat), in vivo olarak metiyonin ve lizin aminoasitlerinden sentezlenir. İnsanlarda ve hayvanlardaki fizyolojik gelişimde rol oynamaktadır. L-karnitin, asetil CoA'yı hücrelerden çıkararak hücreleri apoptozdan korur. Çok sayıda çalışma karnitinin antiapoptotik etkilerini desteklemektedir. Mitokondriyal yağ asidi oksidasyonundaki artış, epididimal fonksiyon ve sperm hareketinde iyileşmeye sebep olduğu görülmüştür. L-karnitin sadece sperm hareketinde, sperm gelişiminde değil, Sertoli hücrelerinin fonksiyonlarının regülasyonu, spermi

oksidatif hasara karşı koruma, spermatogenik hücrelerdeki apoptozun azaltılması ve sperm agregasyonunun inhibe edilmesi gibi önemli roller de oynar. Antiapoptotik ve antioksidan benzeri etkileri, L-karnitin sperm motilitesi çalışmalarında ve erkek infertilitesinde kullanıldığı çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (2, 12).

Doksozobisin ve L-karnitin bilinen bu özelliklerinden yola çıkarak biz bu çalışmada, doksozobisin ile hasara uğramış sıçan testis dokusunda, L-karnitin koruyucu bir etkisi olup olmadığını araştırmayı amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testisin Anatomisi

Testisler, erkek üreme hücrelerinin üretildiği bezlerdir ve aynı zamanda erkeklik hormonu olan testosteron hormonunu da üretirler. Her bir testis, 4-5 cm uzunluğunda 2-2,5 cm genişliğinde ve 20-30 gram ağırlığındadır (123). Testisler kasık bölgesinin alt kısmında skrotum adı verilen deriden oluşan bir torba içinde bulunurlar. Skrotum sıcakta gevşeyerek sarkar ve vücuttan uzaklaşır. Soğukta ise büzüşerek toplanır ve vücuda yaklaşarak testislerin optimum sıcaklıkta tutulması sağlanır. Bu hareketleri skrotumun kremaster kası gerçekleştirir. Testis ısısının korunmasında ter bezlerinin de büyük önemi vardır (9).

Testisler elips şeklinde olup bir çifttir. Üst ucu öne ve dışa, alt ucu ise arkaya ve içe doğru bakar. Testislerin facies medialis ve facies lateralis olmak üzere iki yüzü, margo anterior ve margo posterior olmak üzere iki kenarı extremitas superior ve extremitas inferior adında iki ucu vardır (16, 113). Testislerin arka kenarında dış kısmı boyunca epididimis bulunur. Funiculus spermaticus da, epididimisin medialinde margo posteriorda bulunur. Testislerin ön kenarı, her iki yüzü ve uçları visseral periton (epiorchium) ile örtülüdür. Periton, arka kenarın lateral kısmını örtmektedir (113).

Testisler, 28. haftaya kadar karın arka duvarından anulus inguinalis profundusa gelir. 4 hafta sonra (32. hafta) skrotuma inerler (90). Testisler skrotuma inerken beraberinde arter, ven ve sinirleri taşırlar. Bu oluşumlar ve spermi testisten taşıyan kanal duktus deferens kas, gevşek bağ dokusu ve deri ile kaplıdır. Buna sperm kordonu (kasık kordonu – funiculus spermaticus) adı verilir (123). Peritonun parmak şeklinde bir çıkıntısı olan processus vaginalis, karın ön duvarından skrotuma inerken karın ön duvarı tabakalarını da birlikte sürükler. Bu yüzden testislerin dış tarafında tunica vaginalisten dışa doğru şu tabakalar yer alır: Fascia spermatica interna, m. cremaster, fascia cremasterica ve fascia spermatica externa olarak sıralanır (31, 113).

Sol testis genellikle sağ testisten daha aşağıdadır. Bezin üst ucu hafifçe öne eğilmiştir. Her bir testis sert bir fibröz kapsül olan tunica albuginea ile kaplıdır (150). Tunica albugineadan testis parankimine doğru ince bölmeler uzanır ve bu bölmeler testis parankimini lopçuklara ayırır. Bu lopçukların içinde 1-4 adet kıvrılmış tubuli seminiferi kontorti testis denilen kanalcıklar bulunmaktadır (123). Bu tübüller rete testis denilen kanal ağına açılırlar. Duktuli efferentesler, rete testisi epididimis üst ucu ile birleştirirler (94, 150).

Testisleri saran; tunica vaginalis testisin visseral yaprağı (epiorchium), tunica albuginea ve tunica vasculosa, birlikte testiküler kapsülü oluştururlar (97).

Tunica vasculosa, tunica albugineanın altındaki damar ağı tabakasıdır (97). Bu tabaka, tunica albugineanın uzantısı olan septula testislerin iç yüzünü kapladığı için lobuli testislerin de etrafında tabaka oluşturmaktadır (113).

Tunica vaginalis, fascia spermatica internanın iç, testisin de dış yüzünü saran seröz zardır (peritoneum) (16). Processus vaginalisin alt ucunun kalıntısıdır. Tunica vaginalis iki tabakalıdır. Testisin tüm yüzeyini örtenine **lamina visceralis (epiorchium)**, testis üzerinden skrotumun iç yüzeyine atlayanına **lamina parietalis (periorchium)** adı verilir (97). Peritoneumun fascia spermatica internayı döşeyen kısmıdır. Lamina visceralisden daha geniştir. Lamina parietalisin iç yüzü düzdür ve mezotel ile kaplıdır (16). İki tabaka arasında bulunan boşluğa **tunica vaginalis boşluğu** denir. Bu boşlukta sıvı birikmesi, **hidrozel** adını alır (97).

Tunica albuginea, lamina visceralisin altındaki kalın, fibröz bir tabakadır (97, 113). Elastikiyeti ve genişleme özelliği olmayan bu tabaka, arka kenardan testis içine sokulur ve vertikal bir bölme oluşturur. Bu bölmeye **mediastinum testis** denir (113). Testisin üst ucundan alt ucuna kadar uzanan mediastinum testisinden çıkan uzantılara **septula testis** denir. Bu uzantılar aracılığıyla testis, 200-300 tane lopçuğa ayrılmaktadır. Tubuli seminiferi contorti, testisin arkasında birleşerek 20-30 tane tubuli seminiferi recti denilen kısa ve düz kanalları oluşturur. Bu kanallar, mediastinum testise girer ve **rete**

testis (Haller ağı) adı verilen bir kanal ağı oluşturur. Mediastinum testisin üst ucunda bu ağdan başlayan 12-20 tane duktuli efferentes testis isimli küçük kanallar tunica albugineadan geçerek kanal yumağı olan epididimisi oluşturur (97, 122).

2.1.1. Testisin damarları, lenf dolaşımı ve sinirleri

Testis ve epididimis, aorta abdominalisin dalı olan a.testicularisten beslenir. Testisten ve epididimisten başlayan venler, plexus pampiniformis adı verilen venöz ağı oluştururlar. Duktus deferensin önünde yer alan bu ağın üst ucundan başlayan v.testicularis, sağda v.cava inferiora, solda ise v.renalis sinistraya dökülür. Testiküler venlerin kapakları bulunmaktadır (97).

Yüzeyel lenf damarları tunica vaginalis testisin altında, derin lenf damarları ise testis ve epididimisin içinde yer alır. Bu damarlar funiculus spermaticus ile birlikte karın boşluğuna geçer (113).

Testis ve epididimisin sinirleri, a.testicularisin çevresindeki plexus testicularisten gelir. Sempatikler ise testise torakal 10–11'den gelir. Sempatik sinirler bu yapıların duyusunu taşır. N.genitofemoralisin genital dalı da testislerin duyusunu taşır (97).

2.2. Testisin Embriyolojisi

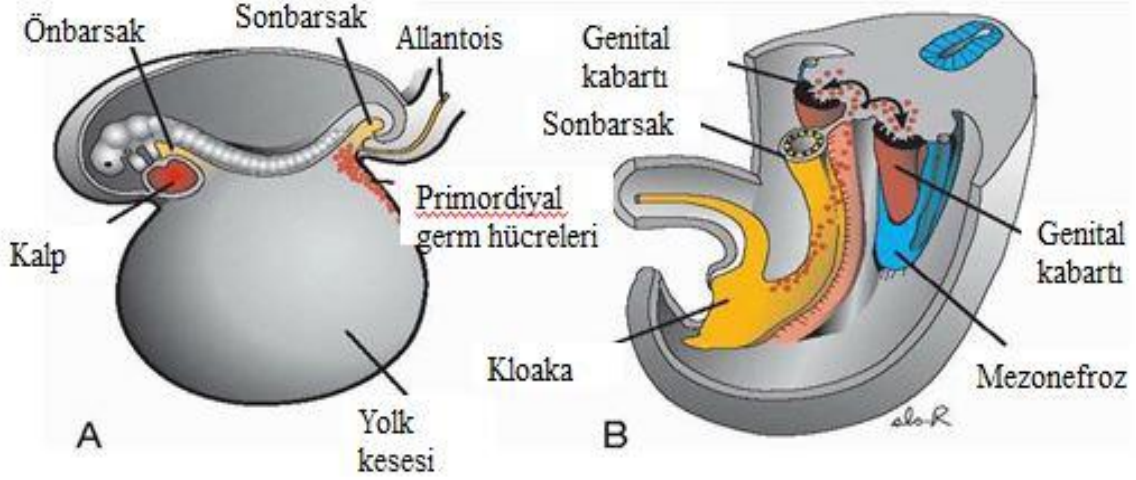
Embriyonun **kromozomal ve genetik cinsiyeti**, sekonder oositi döleyen sperm türüne bağlı olarak fertilizasyonda belirlenir. Gonadların erkek ve dişiliğe farklılaşmaları, yani **gonadal cinsiyet** 7. haftada olur ve **XX, XY kromozom kompleksine** bağlıdır (131). 7. haftadan önce her iki cinste de genital sistem benzerdir. Genital gelişmenin bu başlangıç periyodu **farklılaşmamış dönem** olarak isimlendirilir (115).

Gonadlar 3 farklı yapıdan oluşmaktadır.

- 1) Posterior abdominal duvarı örten mezodermal sölom epiteli (Mezotel).
- 2) Sölom epiteli altındaki mezenşim.
- 3) Primordiyal germ hücreleri (115).

Gonad gelişmesi, ilk kez gelişmenin 5. haftasında, mezonefrozun medialinde sağ ve solda, sölom epitelinin çoğalması ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşan, uzunluğuna iki adet *gonadal ya da genital kabartıyla* belirir (131).

Gelişimin 4. haftasında, büyük yuvarlak ilkel cinsiyet hücreleri, allantois kesesine yakın vitellüs kesesi endoderm hücreleri arasında görülmeye başlarlar. Embriyonun kıvrılması sırasında, vitellüs kesesinin dorsal kısmı embriyon içine alınırken ilkel cinsiyet hücreleri, son bağırsağın dorsal mezenteri yoluyla 6. haftada ameboid hareketlerle gonad kabartılarına göç ederler (131). Gonadal kabartılara ulaşamadıkları durumda, germ hücreleri (spermiler) gelişemez. Gonadların over veya testise farklılanmasında primordiyal germ hücrelerinin indükleyici etkisi vardır (110).



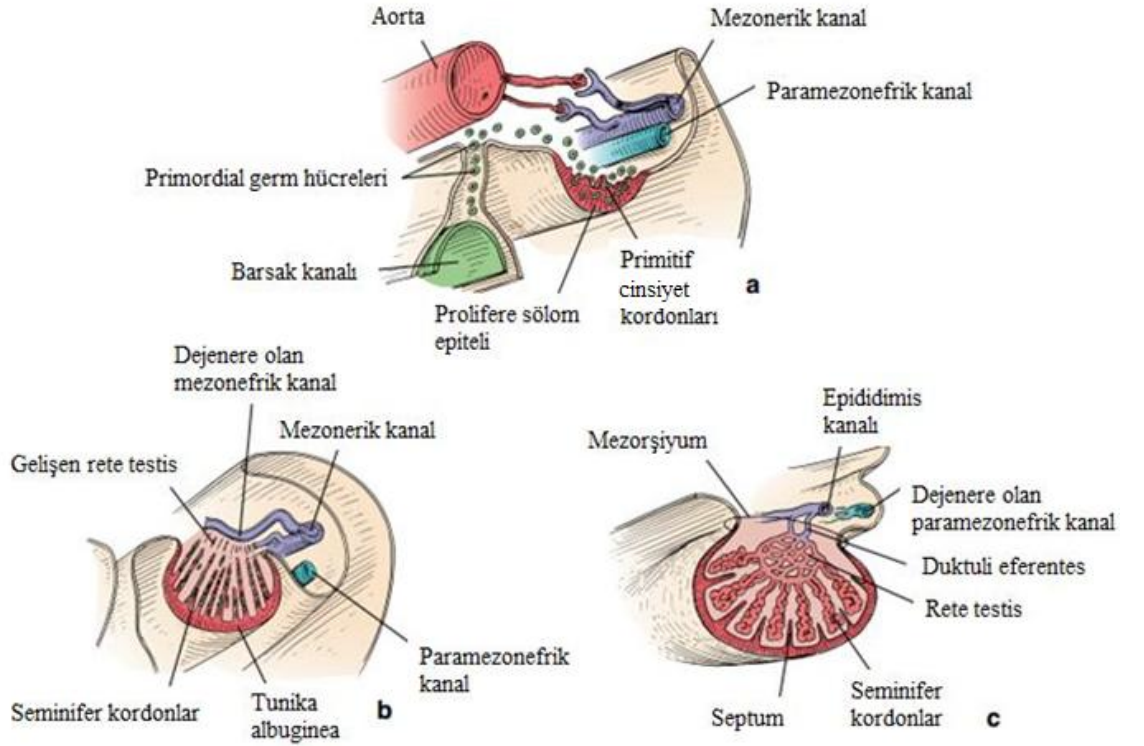
Şekil 1. Primordiyal germ hücrelerinin primitif gonadlara göçü (110). 3 haftalık embriyoda, yolk kesesinin allantois bağlantısına yakın bir yerinde bulunan primordiyal germ hücreleri (A). Primordiyal germ hücrelerinin, son barsağın duvarı ve dorsal mezenteri boyunca genital kabartıya doğru uzanan göç yolları (B).

Primordiyal germ hücrelerinin genital kabartıdaki mezenşim içine girmesinden hemen sonra, genital kabartının çoğalan sölom epitelindeki hücreler, mezenşim içine doğru girerek, primer germ kordonları adı verilen düzensiz sütunlar oluşturur. Primordiyal germ hücreleri bu kordonlarla bağlantı kurarak içerisine yerleşirler. Erkek ve dişi embriyonun her ikisinde de kordonlar yüzeye bağlıdır (115).

Erkek ve dişi gonadlar arasında gözle görülür bir farklılık olmadığı için bu gonada **farklılaşmamış gonad** adı verilmektedir. Farklılaşmamış gonad dışta bir korteks ve içte medullaya sahiptir. XX cinsiyet kromozom kompleksine sahip embriyoda, korteks ovaryumu yapar ve medulla geriler. XY cinsiyet kromozomuna sahip embriyolarda ise medulla testise farklılaşır, korteks geriler (110).

Embriyo genetik olarak erkekse, primordiyal germ hücreleri XY cinsiyet kromozom kompleksini taşırlar. **Testis belirleyici faktörü (TBF)** kodlayan Y kromozomunun etkisiyle, primitif cinsiyet kordonları çoğalmaya devam ederken testis veya medüller kordonları oluşturmak üzere medullanın iç kesimlerine doğru ilerlerler.

Kordonlar, bezin hilusuna doğru, daha sonra **rete testis** tübüllerini oluşturacak şekilde, ince hücre sıralarından oluşan bir ağa dönüşürler (110).



Şekil 2. Testis gelişiminin şematik gösterimi (106).

Gelişimin daha ileri evrelerinde, testis kordonları yüzey epiteliyle ilişkilerini kaybederler. Daha sonra, testisin karakteristik bir özelliği olan **tunica albuginea** adlı yoğun fibröz bir bağ dokusuyla epitelden ayrılmış olurlar (110). Bundan sonra tunica albuginea testisin kapsülünü oluşturur (73).

Gelişimin 4. ayında, germ kordonları kıvrılarak at nalı şeklini alır. Bunların serbest uçları rete testisin hücresel ağıyla devam eder. Daha sonraları bu iki uç birleşerek tubuli recti seminiferiyi yapacaktır (73). Testis kordonları primitif germ hücreleri ve Sertoli destek hücrelerinden meydana gelmiştir (110).

Primordiyal germ hücrelerinden spermatogonyumlar gelişirken epitel hücrelerinden de Sertoli hücreleri oluşur (102).

Testis kordonları arasındaki mezenşimde ise Leydig hücreleri bulunur (131). Gelişimin 8. haftasında Leydig hücrelerinden testosteron üretimi başlar. Artık testisler, genital kanal ve dış genital organların cinsiyet farklılaşmasını etkileyebilir. Puberteye kadar solid halde kalan kordonların, pubertede lümenleri açılarak *seminifer tübülleri* oluştururlar (110).

Fetal testiste Leydig hücreleri tarafından üretilen testosteron erkek genital kanalları oluşturmak için mezonefrik kanalları uyarırken, Sertoli hücreleri tarafından üretilen Müller baskılayıcı madde (Müller inhibitör madde- MIS) ya da Antimüllerian hormon (AMH), Müller kanallarının (paramezonefrik kanalların) gelişmesini baskılar. Sertoli hücreleri, Müller inhibitör madde (MIS) üretimine 6-7. haftada, interstisyel hücreler (Leydig hücreleri) ise testosteron salgılamaya 8. haftada başlarlar (115).

Testosteron üretimi insan koryonik gonadotropin hormonu (hCG) tarafından uyarılır. Testosteron erkeklerde mezonefrik kanallardan erkek genital kanalların oluşmasını uyarırken; MIS, paramezonefrik kanalın epitel-mezenşimal dönüşümü ile kaybolmasına neden olur (115).

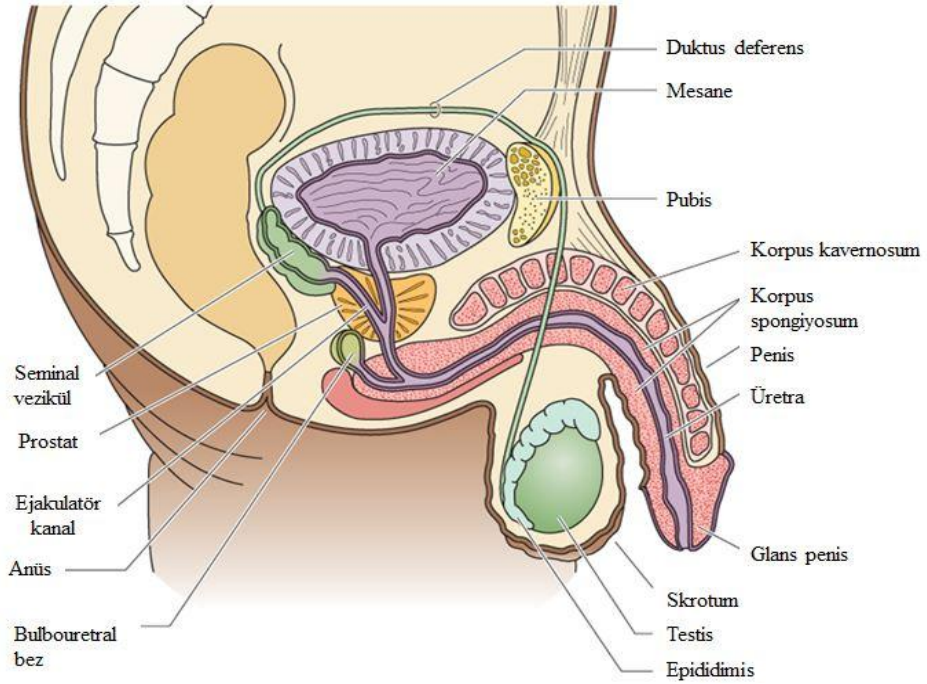
Fetal testiste, Sertoli hücreleri, seminifer tübüllerde çoğunluğu oluşturur. Daha sonraki fetal gelişme sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve yetişkin testisin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, efferent duktuliyi oluşturan, 15-20 adet mezonefrik tübüller ile devam eder ve duktus epididimisi oluşturan mezonefrik kanal ile bağlanırlar (91).

26. haftada testislerin inguinal kanallardan skrotuma 2-3 gün süren inişi başlar. Testisler skrotuma girdikten sonra, inguinal kanal, spermatik kord etrafında kasılır. Yeni doğanların %97'den fazlasında her iki testis de skrotum içindedir. İnmemiş testislerin çoğu doğumdan sonra ilk 3 ayda skrotuma iner (91).

2.3. Testisin Histolojisi

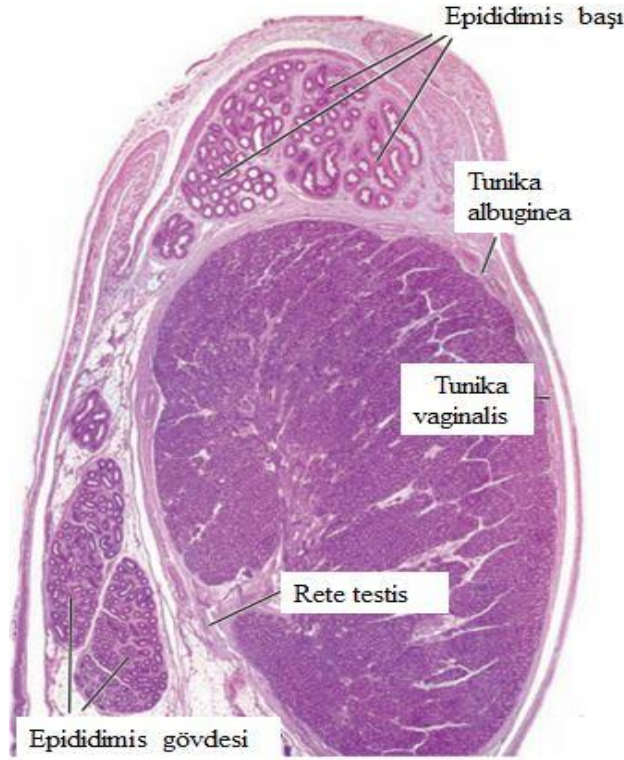
Erkek üreme sistemi; spermatozoon üretimi, beslenmesi, geçici olarak depolanmasından ve erkek cinsiyet hormonlarının (androjenler) sentezi ve sekresyonundan sorumludur (76).

Erkek üreme sistemi; sperm üreten ve sentezleyen ve androjenleri salgılayan **testislerden**, spermatozoa taşınmasından sorumlu olan dış kanallar sistemini oluşturan **epididimis, duktus deferens, ejakülatuar kanal ve erkek üretrasının** parçasından, salgıları semen kitlesini oluşturan ve spermatozoaya besinler sağlayan aksesuar bezler **seminal vezikül, prostat bezi ve bulboüretral bezlerden ve penisten** oluşur (76, 151).



Şekil 3. Erkek üreme sistemini oluşturan organ ve kanalların genel görünümü (54).

Testis, epididimis ve duktus deferensin başlangıç kısmı tunica vaginalis denilen mezotelyum ile döşeli boşluğu içine alan deriyle kaplı bir cep olan skrotal kese içerisinde bulunurlar (76).



Şekil 4. Testisin histolojik görünümü (106).

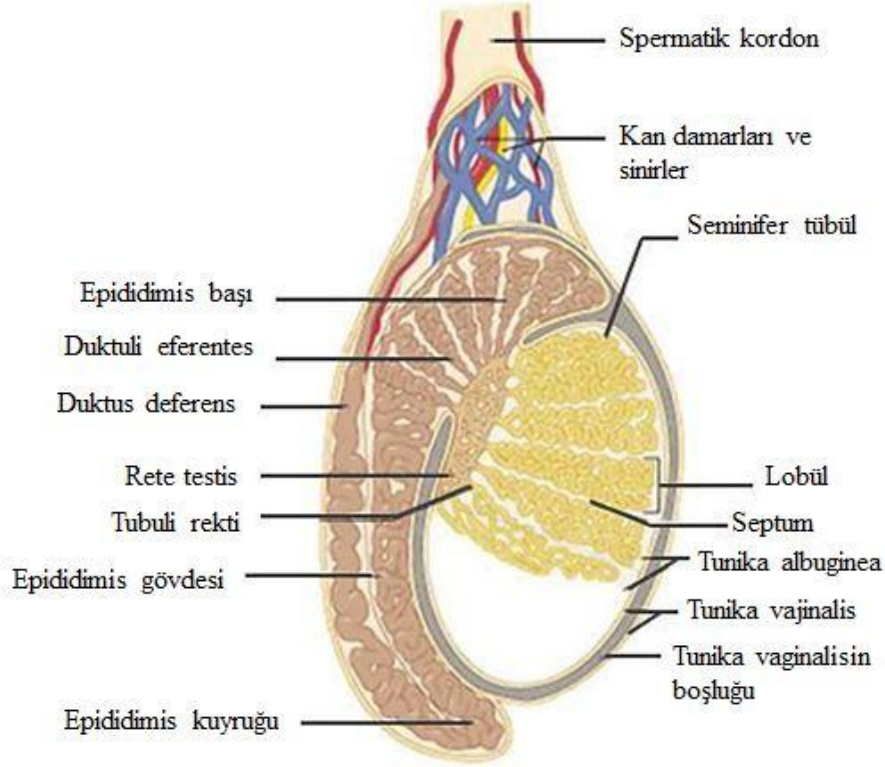
Testisin ısısı spermatogenezde önemli bir rol oynar. Bu ısı vücut ısısından 2-3 °C daha düşük düzeydedir. Testisin skrotumda yerleşmesi bu soğumayı belirli bir dereceye kadar sağlar. Venöz pampiniform pleksus, testiküler arterleri sararak zıt yönde ısı değişimini sağlar. Testiküler arterlerdeki testise giden kan soğutulur, venlerle vücuda giden kan ise ısıtılır (51).

Testisler olgun spermiyumları meydana getiren birleşik tübüler bezlerdir. Salgı maddesi spermiyumlar olduğu için testisler holokrin tipte salgı yapan ekzokrin bezdir. Aynı zamanda Leydig hücreleri tarafından testosteron salgılanmasıyla da endokrin bir bez görevi yapmaktadır (50).

Testisler birbirinden septum scroti ile ayrılmış bir çift birleşik tübüler glanduladır. Biçimleri iki yandan basık ovoid olup, dış ve iç iki yüzleri ön ve arka iki kenarı, üst ve

alt iki de ucu vardır. Her biri 4-5 cm uzunluğunda, 2,5-3,5 cm genişliğinde 2-2,5 kalınlığındadır (50).

Her bir testis **tunica albuginea** adı verilen kalın bir bağ dokusu kapsülü ile sarılmıştır. Organın arka tarafında bu bağ dokusu her iki testisin iç kısmına doğru girerek **mediastinum testisi** yapar. Mediastinum testisten çıkan ince bağ dokusu bölmeleri olan **septalar**, testisi **testis lobülleri** olarak isimlendirilen 250 tane kompartmana ayırır. Her kompartmanda 1-4 adet **seminifer tübül** bulunur. Seminifer tübüllerin etrafını saran gevşek bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve **interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri)** içerir. Seminifer tübüller spermatozoonları üretirken, interstisyel hücreler de testiküler androjenleri salgılamaktadırlar (65).



Şekil 5. Testisin yapısı (87).

2.3.1. Seminifer túbüller

Her testiste yaklaşık 250-1000 sayıda seminifer túbül bulunur. Her seminifer túbül çok katlı epiteli ile döşelidir. Túbüllerin her biri yaklaşık 150-250 µm çapında ve 30-70 cm uzunluğundadır. Bir testisteki túbüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 m'dir. Túbüller kıvrımlıdır ve başlangıçta kör uçludur. Sonlanırken lümen daralır ve düz túbüller ya da tubuli rekti olarak devam eder. Bu düz túbüller seminifer túbüllerin rete testise bağlanmasını sağlar. Anastomoz yapan rete testis kanalları, duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmıştır (55, 65, 129). Seminifer túbüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir **germinal** ya da **seminifer epitelden** oluşur. Semifer túbülü saran fibröz **tunica propria** birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas özellikleri gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir (65, 106).

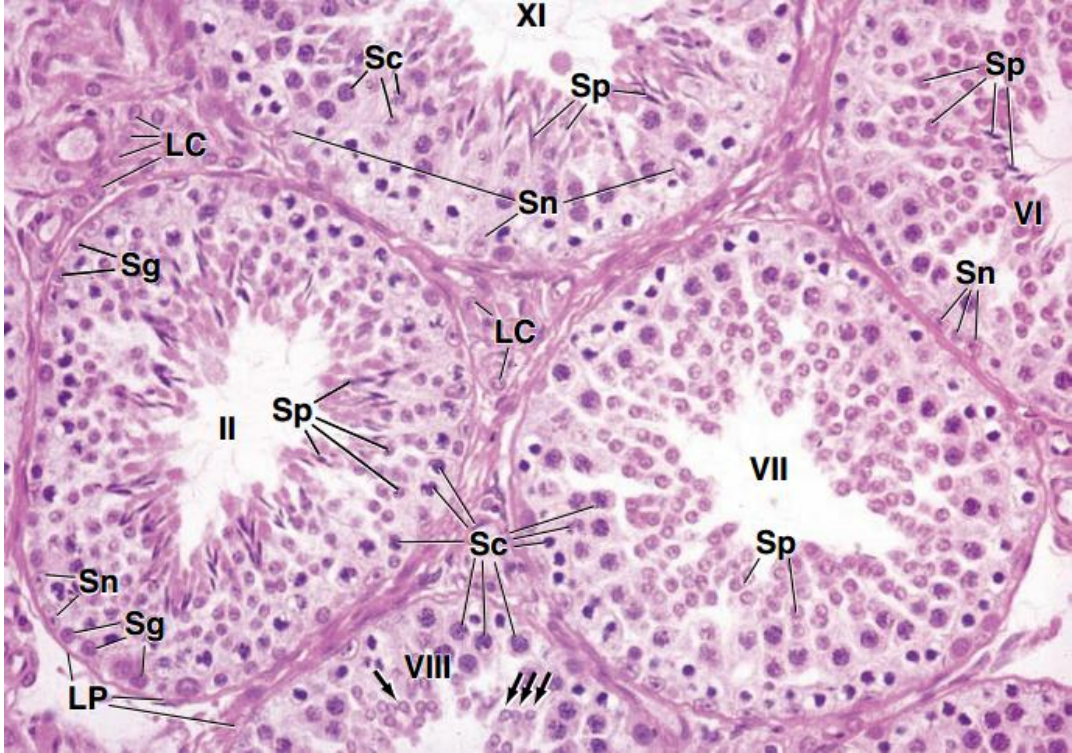
Miyoid hücreler hareketsiz spermleri rete testise ilerleten ritmik kasılma aktivitelerinden sorumludur. Spermler epididimal kanaldan geçtikten sonra ileri motilite özellikleri kazanırlar (76).

Seminifer epitelde Sertoli hücreleriyle spermatogenezdeki seriyi oluşturan hücreler olmak üzere iki tip hücre vardır. Spermatogenik seri hücreleri 4-8 tabaka halinde düzenlenmiştir ve işlevleri spermatozoonları üretmektir. Spermatozoon üretimi **spermatogenez** olarak adlandırılır. Bu süreç mitoz ve mayoz hücre bölünmeleri içerir. Hücrelerin spermatozoonlara farklılaştığı aşama ise **spermiyogenez** olarak adlandırılır (65, 151).

2.3.1.1. Spermatogenik hücreler ve spermatogenez

Seminifer túbüldeki hücreler spermatogenezin değişik evrelerini gösterir. Hücrelerin bazal membrana en yakın olanları yuvarlak çekirdekli **spermatogonyumlardır**. Yine yuvarlak çekirdekli olup ancak daha büyük olan hücreler **primer spermatositlerdir**. Haploid **sekonder spermatositler** seyrek görülür; oluşur

oluşmaz bölünerek **spermatidleri** oluştururlar. Dönüşüm döneminde spermatidler sertoli hüresine tutunurlar. Erken ve ileri dönem olarak adlandırılan spermatidler, bölünmeden lümene bırakılacak ve efferent kanallara aktarılacak olan **spermatozoonlara** olgunlaşır (96).



Şekil 6. Testiste seminifer tübüllerin histolojik görünümü (106). Leydig hücresi (LC), lamina propria (LP), primer spermatosit (Sc), spermatogonyum (Sg), Sertoli hücre nükleusu (Sn), spermatidler (Sp), erken spermatidler (oklar).

Testis hipofizin kontrolü altında çalışır. Gonadotrop hormonlardan folikülü stimüle eden hormon (FSH), spermatogenik hücreleri uyarır. LH hormonu ise Leydig hücrelerinin testosteron salgılamasını uyarır (50).

2.3.1.1.1. Spermatogonyumlar

Spermatogenez ilkel primitif bir germ hücresi olan spermatogonyumla başlar. Spermatogonyum yaklaşık 12 µm çapında küçük bir hücredir (65). Spermatogonyumlar bazal kompartmanda bazal lamina ile direkt ilişkide olan diploid spermatogenik hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların altında yer alırlar ve bu nedenle kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar. Spermatogonyumlar spermatogonyal kök hücreden köken alırlar ve pubertede başlayan mitotik hücre bölünmeleri geçirirler. İki temel morfolojik spermatogonyal hücre tipi gözlenir (76):

- **Tip A Spermatogonyum** (A koyu ve A açık spermatogonyumlar olarak gözlenmektedir.)
- **Tip B Spermatogonyum**

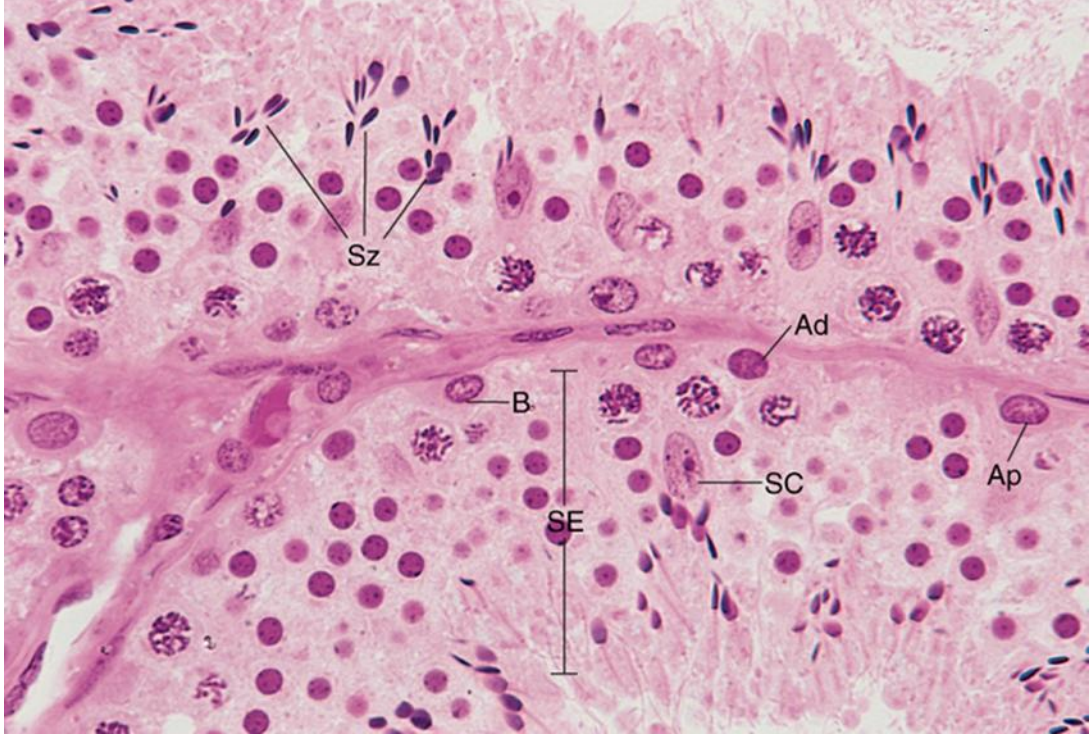
Tip A spermatogonyumlar, mitozla çoğalma sonucunda yarısı tip A olarak kalır yarısı büyüyerek tip B spermatogonyuma dönüşür (98).

Tip A açık spermatogonyumlar; oval şekillidirler. Bazal membran üzerine otururlar. Hücre şekliyle uyumlu olan çekirdek, oval ve ökromatiktir. Açık A tipi spermatogonyumlar, gerektiğinde spermatogenezi başlatmak için devreye giren depo hücreleridir.

Tip A koyu spermatogonyumlar; koyu bazofilik boyanan, heterokromatik çekirdek içeren küçük, uzamış spermatogonyumlardır. Seminifer epitelin kök hücreleridir. Düzensiz aralıklarla bölünerek, yeni koyu ve açık A tipi spermatogonyumları oluştururlar.

En yaygın bulunan spermatogonyumlar tip B'dir. Hücre çekirdeği yuvarlaktır ve merkezdedir. Mitoz bölünme ile primer spermatositleri meydana getirirler (138).

Koyu ya da açık A tipi spermatogonyumlar kök hücrelerdir. Bölünerek yeni açık ve koyu A tipi spermatogonyumları oluşturmaktadırlar. Tip A koyu spermatogonyumlar da B tipi spermatogonyumları oluşturmak için bölünürler (138).



Şekil 7. Testiste bir seminifer tübülün enine kesiti (54). Seminifer epitel (SE), Tip A açık spermatogonyum (Ap), Tip A koyu spermatogonyum (Ad), Tip B spermatogonyum (B), Sertoli hücresi (SC), spermatozoa (Sz).

2.3.1.1.2. Primer ve sekonder spermatositler

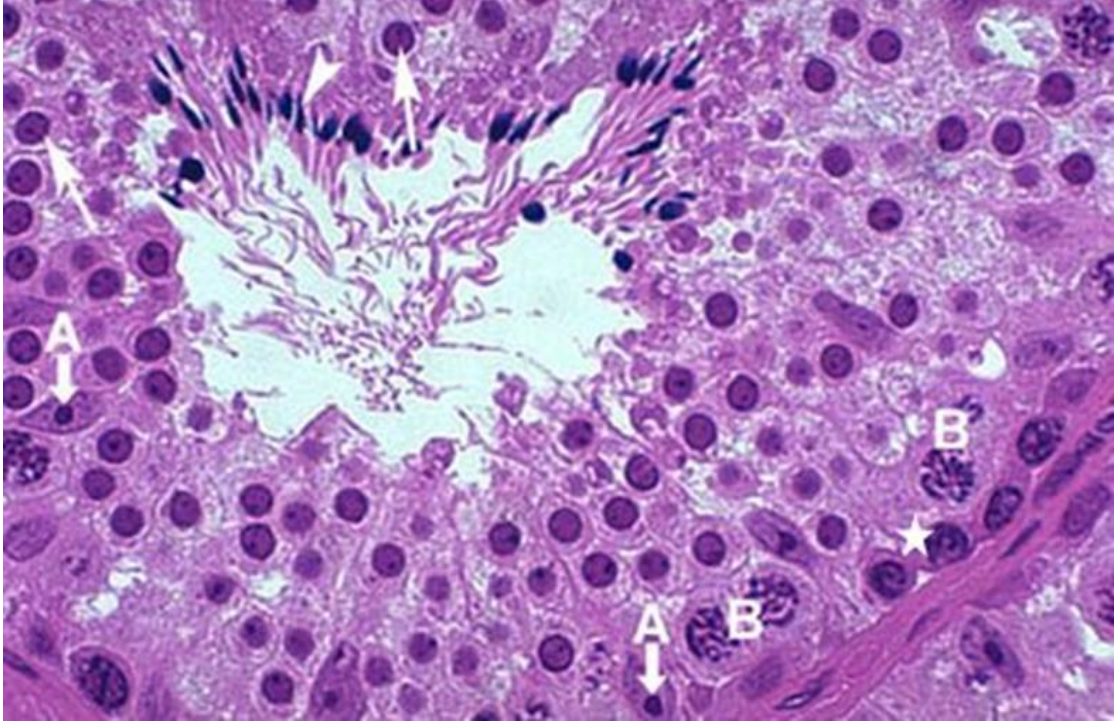
Primer spermatositler, 46 kromozom (44+XY) ve 4N DNA içerir (N haploid kromozom sayısını yani insanlarda 23 kromozom ya da bu kromozomlardaki DNA miktarını gösterir). Oluştuktan hemen sonra bu hücreler I.Mayoz bölünmenin profaz evresine girerler. Bu bölünmenin profaz aşaması yaklaşık olarak 22 gün sürdüğü için, kesitlerde görülen spermatositlerin çoğu bu aşamada olacaktır. Primer spermatositler, spermatogenik serinin en büyük hücreleridir ve nükleuslarında kangal oluşturma sürecinin değişik safhalarında kromozomların bulunmasıyla tanınırlar.

I. Mayoz bölünmeden sonra **sekonder spermatositler** olarak isimlendirilen ve yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler oluşur. Kromozomlardaki bu sayıca azalmaya (46'dan 23'e) her hücredeki DNA miktarının eksilmesi (4 N'den 2 N'ye) eşlik eder. Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin gözlenmesi zordur çünkü bunlar interfazda çok kısa süre kalan ve hızlı bir şekilde II. mayoz bölünmeye giren kısa ömürlü hücrelerdir. Sekonder spermatositlerin bölünmesi 23 kromozom içeren iki hücrenin, **spermatidlerin** oluşmasıyla sonlanır. Spermatositlerde I. ve II. mayoz bölünmeler arasında S fazı (DNA sentezi) görülmez. Bu yüzden II. bölünmeden sonra her hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid (1 N) hücreler meydana gelir. Böylece, mayoz bölünme sürecinin sonunda haploid sayıda kromozom içeren hücreler meydana gelir. Döllenme ile bunlar diploid sayıya dönerler (65).

2.3.1.1.3. Erken-geç spermatidler ve spermiyogenez

Haploid spermatidler seminifer tübül lümenine yakın adluminal kompartmanda yerleşmişlerdir (76). Bu hücreler primer ve sekonder spermatositlerden oldukça küçüktürler. Spermatidler, Sertoli hücreleriyle sıkı ilişkide olacak şekilde seminifer tübüllerin lümenine yakın halde bulunurlar. Bu bölgede spermatidler **spermiyogenez** ile spermatozoonlara dönüşürler. Olgunlaşmakta olan spermatidlerin küçük ve koyu boyanan baş kısımları Sertoli hücrelerinin sitoplazmaları içine gömülür. Kuyruk kısımları ise seminifer tübül lümenine doğru serbest olarak uzanmaktadır (51).

Spermatidler, 23 kromozom taşır. Primer, sekonder spermatosit ve spermatidlerin aralarındaki sitoplazmik köprüler spermatogenezin düzenlenmesinde görev alırlar ve hücreden hücreye bilgi aktarılmasını sağlarlar. Spermatogenez tamamlanınca bu köprüler kaybolarak hücreler serbestleşir, spermatid bölünmez ve şekil değiştirerek spermiuma dönüşür. Böylece spermatogonyumdan spermiyum oluşuna kadar iki evre bulunur: Spermatogonyumdan spermatid oluşması (**Spermatositogenez**), spermatidin şekil değiştirerek spermiyumu oluşturması (**Spermiyogenez**) (98).



Şekil 8. Testiste seminifer tübül epiteli ve spermatogenik seri hücreler (144). Geç spermatid (ok başı), erken spermatid (ok), Sertoli hücresi nükleusu (A), Primer spermatosit (B), spermatogonyum (yıldız).

Küre ya da poligonal biçimli olan spermatidin, küresel nükleusunun kromatini yoğun olup sentrik yerleşimdedir. Çekirdeğe yakın iyi gelişmiş Golgi kompleksi, çok sayıda mitokondri ve bir çift sentriyol bulunur. Spermiyogenezde bu organellerin hepsinde değişim olmaktadır (98).

Seminifer tübül epitelinin üst katmanlarındaki değişiklikler çekirdek kromatinin yoğunlaşması, çekirdeğin uzaması, akrozomun oluşması, sitoplazma organellerinin tipik olgun hücredeki konumuna yerleşmesi, tek bir kamçı yapısının oluşması ve artık sitoplazmanın ortadan kalkması şeklinde sıralanır (96).

Spermiyogenez üç faza ayrılmaktadır:

1-Golgi Fazı: Spermatidlerin sitoplazması, çekirdeğin yakınında belirgin bir Golgi kompleksi, mitokondri, bir çift sentriyol, serbest ribozomlar ve düz endoplazmik retikulum tübüllerini içerir. Küçük PAS-pozitif proakrozomal granüller Golgi

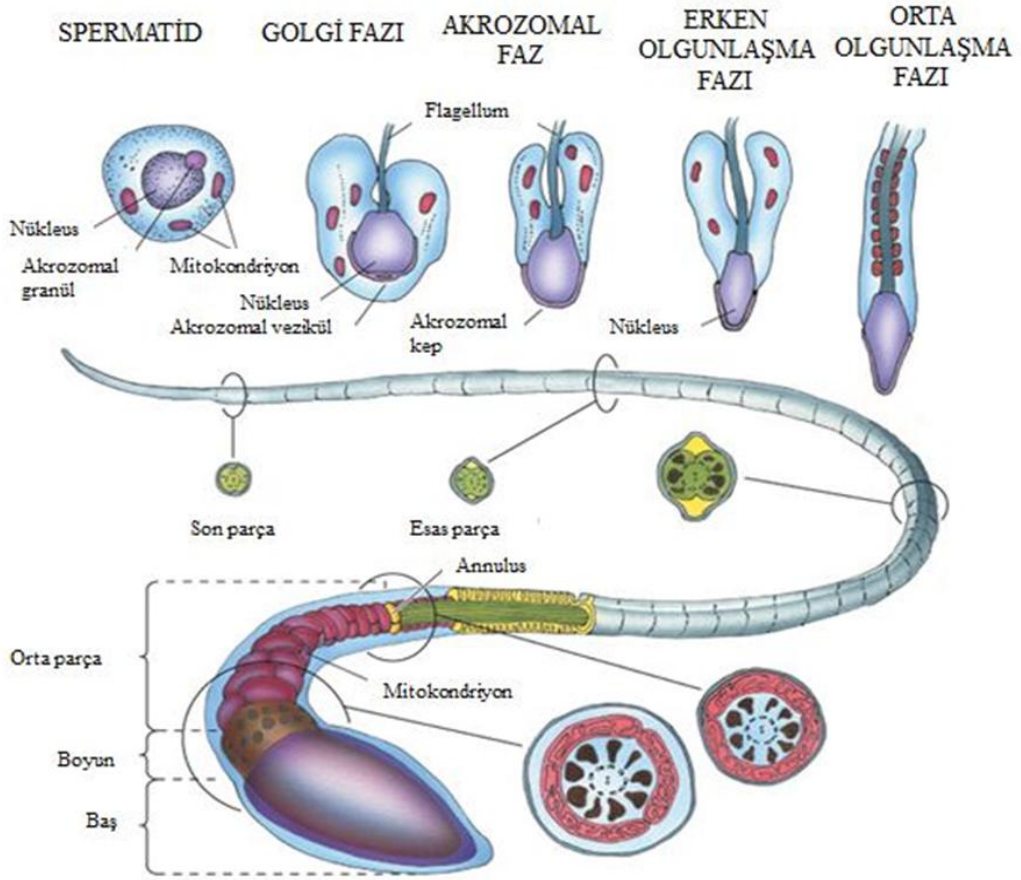
kompleksinde birikirler ve sonrasında birleşerek membranla sınırlanmış bir **akrozomal vezikülün** içinde yer alan tek bir **akrozomal granülü** oluşturmaktadırlar. Sentriyoller göç ederek akrozomun olduğu bölgenin karşı tarafında hücre yüzeyine yakın bir şekilde konumlanırlar. Flagellar aksonem oluşmaya başlar ve sentriyoller yeniden nükleusa doğru göç ederken aksonemal bileşenleri çevresine sarar (65, 55).

2-Akrozomal Faz: Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan nükleusun çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve **akrozom** adını alır. Akrozom, hiyalüronidaz, asit fosfataz ve proteaz gibi bazı hidrolitik enzimleri içermektedir. Spermatozoonlar bir oosite karşılaştığında, akrozomun dış membranı oositin plazma membranı ile kaynaşarak akrozomal enzimler hücre dışına boşalır. Bu işlem **akrozomal reaksiyon** adını alır ve döllenmenin ilk basamaklarından biridir.

Spermiyogenezin bu fazı sırasında spermatid seminifer tübülün tabanına doğru yönelir ve aksonem lümenine doğru uzanır. Nükleus uzar ve yoğunlaşır. Sentriyollerden bir tanesi gelişerek **flagellumu** oluşturur. Mitokondride flagellumun proksimal kısmı etrafında toplanarak **orta parça** adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur. Bu bölge, spermatozoon hareketlerinin enerji kaynağını oluşturmaktadır. Flagellum hareketi, mikrotübüller, ATP ve **dinein** adı verilen ATPaz aktivitesine sahip bir proteinin etkileşmesi sonucunda oluşmaktadır (55, 65, 106).

3-Matürasyon (Olgunlaşma) Fazı: Geriye kalan artık sitoplazma Sertoli hücreleri tarafından fagosite edilir ve spermatozoonlar tübül lümenine serbest bırakılırlar.

Spermatozoonlar, epididimise testis sıvısı olarak adlandırılan, Sertoli hücreleri ve rete testis tarafından üretilen sıvı ile aktarılırlar. Bu sıvı steroidler, proteinler, iyonlar ve androjen bağlayıcı protein içerir.



Şekil 9. Spermiyogenez (54).

Spermatogenez aşaması 64 gün sürmektedir ve tüm seminifer tübüllerde ve her seminifer tübül içinde aynı anda ya da eş zamanlı olarak gerçekleşmez. Bu nedenle bir tübül kesitinin farklı alanlarında ve farklı tübül kesitlerinde spermatogenezin farklı aşamaları görülebilir. Bu yüzden bazı seminifer tübüllerde spermatozoonlar bazı bölgelerde ise spermatidler görülmektedir. Buna **seminifer epitel siklusu** adı verilir (65, 106, 129).

2.3.1.1.4. Spermatozoon

Nüklusunda haploid sayıda kromozom bulunan sitoplazması çok az, ince, uzun, hareketli bir hücredir. İnsan spermatozoonu 55-60 µm uzunluğundadır (50).

Olgun sperm iki kısımdan oluşur: **Baş ve Kuyruk**. Bir bağlantı parçasıyla baş kuyruğa bağlanmıştır. Kuyruk 3 parçaya bölünmüştür: **Orta parça, esas parça, son parça**. Spermin baş ve kuyruk kısımlarını bir plazma membranı sarar (76).

Baş: Önden bakınca oval, yandan bakınca ucu yassılaştırmış armut biçimindedir. Uzunluğu 4-5 µm, genişliği 3-3,5 µm, kalınlığı 1-2 µm'dir (50). Akrozomla sarılmış çekirdekten oluşur, nükleus yassılaştırmış ve yoğunlaşmış haldedir. Nükleusun ön yarısını akrozom örter ve akrozomun içinde **hidrolitik enzimler** (proteazlar, asit fosfatazlar, hiyaluronidaz, nöraminidaz) bulunmaktadır.

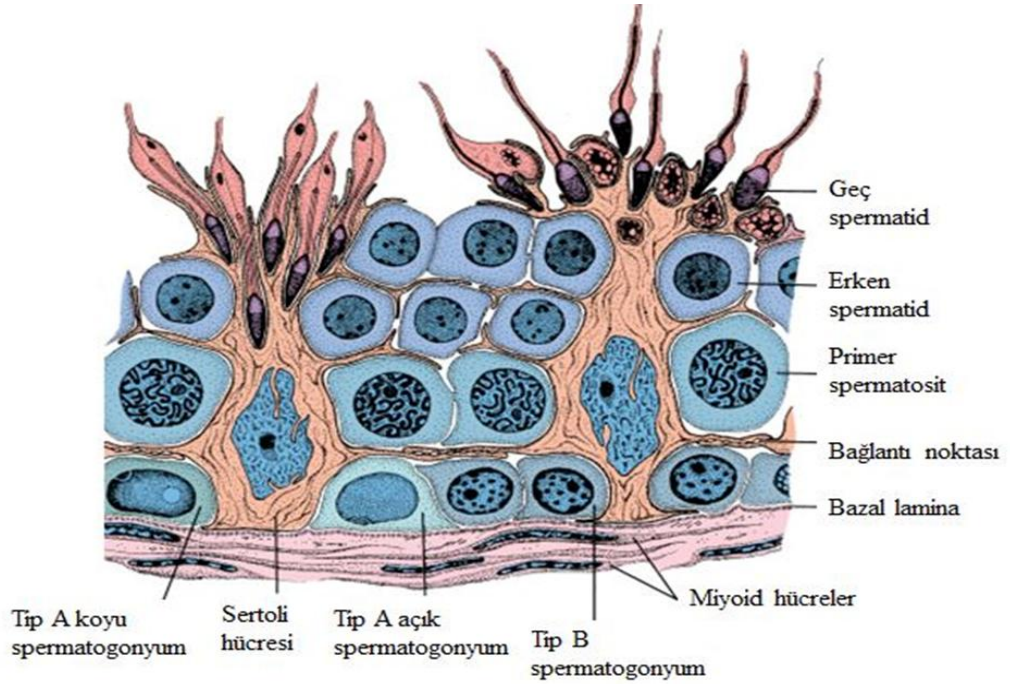
Bağlantı parçası, bir çift sentriyolün bulunduğu dar parçadır. Distal sentriyol, sperm kuyruğunun merkezi parçası olan aksoneme kaynaklık yapar (76).

Kuyruk:

- **Orta parça:** Sarmal olarak dizilmiş mitokondrionların oluşturduğu tabaka, 9+2 mikrotübüleri aksonem ve dış yoğun lifler adı verilen sperm boynundaki bağlantı parçasından kuyruk boyunca uzanan 9 adet kolondan oluşur. Orta parçanın alt sınırı mitokondriyal sarmalın anulusta sonlanmasıyla belirgindir.
- **Esas parça:** Kuyruğun en uzun parçasıdır (76). Aksonema ve fibröz kılıfı içeren 40-45 µm uzunluğundadır (114). Dıştaki yoğun lifler ve fibröz kılıf, spermin öne hareketi sırasında mikrotübüleri kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturan proteinler olan keratin içerir (76).
- **Son Parça:** Fibröz kılıfın bittiği sadece aksonema ve sitoplazmik bölümün olduğu 5-10 µm uzunluğunda kuyruğun çok kısa bir parçasıdır (114).

2.3.1.2. Sertoli hücreleri

Sertoli hücreleri bazal membrandan seminifer tübül lümenine doğru uzanan prizmatik hücrelerdir. Tübüller arası boşluk ve seminifer tübül lümeni arasında köprü hücreler olarak görev yaparlar. Sertoli hücrelerinin apikal ve lateral hücre membranlarının düzensiz sınırları vardır. Çünkü spermatogenik hücelere kriptalar sağlarlar (76). Işık mikroskopunda spermatogenik seri hücrelerini çevreleyen çok sayıda yan uzantı nedeniyle Sertoli hücrelerinin sınırları iyi belirlenemez. Bu hücreler çok sayıda düz endoplazmik retikulum, az sayıda granüllü endoplazmik retikulum, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve çok sayıda mitokondri ile lizozomlar içermektedir (65). Lizozomların çok oluşu fagositik aktivitesini göstermektedir. Spermatozoid artıkları Sertoli hücreleri tarafından temizlenir (98). Sertoli hücresi çekirdeği olukludur ve heterokromatin kitleleri ile ilişkili geniş bir çekirdekçik içerir. Sitoplazmasında organellerin yanı sıra lipid damlacıkları ve zengin bir hücre iskeleti (vimentin, aktin, mikrotübüller) içerir (76). Sertoli hücrelerinin yaygın hücre iskeleti ağı spermatozoidlerin hareketinin sağlanmasına yardımcı olur (96).



Şekil 10. Bir seminifer tübülde Sertoli hücrelerinin yerleşimi, birbirleri ile bağlantıları ve spermatogenik hücreler (106).

Bazolateral bölgelerinde Sertoli hücreleri komşu Sertoli hücreleriyle sıkı bağlantılar oluştururlar. Bazolateral sıkı bağlantıları, seminifer epiteli **bazal** ve **adlüminal** kompartman olmak üzere iki kısma ayırırlar. Bazolateral sıkı bağlantıları geliştirmekte olan spermatositleri ve spermatidleri otoimmün reaksiyonlardan koruyan kan-testis bariyerini oluştururlar (76). Spermatogonyumlar kan-testis bariyeri altındaki bazal kompartmanda bulunur. Spermatositler ve spermatidler ise adlüminal kompartmanda yerleşmişlerdir. Sertoli hücreleri gap-junction adı verilen bağlantılarla hücrelerin iyonik ve kimyasal alışverişini sağlamaktadırlar (65, 151).

Sertoli hücreleri, çeşitli zararlı etkenlere karşı çok dayanıklıdır. Spermatogenik hücrelere kolaylıkla zarar veren X ışınları, yüksek ısı, radyasyon, toksik madde, enfeksiyon, beslenme vs. bu hücrelere pek etki etmez (50, 98).

Sertoli Hücrelerinin İşlevleri

- 1- Gelişmekte olan spermatogenik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek
- 2- Spermiyogenezin sonunda spermatidler tarafından atılan rezidüel cisimciklere fagosite etmek
- 3- Olgun spermatidlerin kasılmalarla seminifer tübül lümenine salınımını kolaylaştırmak
- 4- Seminifer tübül lümenine protein ve iyondan zengin sıvı salgılamak. Androjen bağlayıcı protein üretimi Sertoli hücreleri tarafından folikül uyarıcı hormon (FSH) ve testosteron kontrolü altında gerçekleştirilir (76) ve seminifer tübüldeki spermatogenez için gerekli olan testosteronun yoğunlaştırılmasını sağlar Sertoli hücreleri testosteronu östradiole çevirir. Bu hücreler aynı zamanda ön hipofiz bezinden FSH sentezini ve salınmasını önleyen inhibin adında bir peptid salgılar (55, 65).
- 5- Dış ortamdan seminifer tübüllere bazı maddelerin geçişini önler (114).

- 6- Anti-Müllerian hormon üretmek. Müller kanalını baskılayıcı hormon, embriyonik gelişme sırasında erkek fetusta Müller (paramezonefrik) kanallarının gerilemesini sağlayan glikoproteindir. Testosteron ise Wolf (mezonefrik) kanallarından köken alan yapıların gelişmesini sağlar (65, 106).
- 7- Kan-testis bariyeri. Seminifer tübüllerin iç kısmıyla kan arasında bir bariyerin bulunması testiküler sıvıda kandan gelen çok az madde bulunmasına yol açar. Testiküler kapillerler pencereci tiptedir ve büyük moleküllerin geçişine izin verir. Spermatogonyumlar kanda bulunan maddelere kolayca ulaşabilir ancak Sertoli hücrelerinin oluşturduğu bu bariyer büyük moleküllerin Sertoli hücreleri arasındaki boşluğa taşınmasını engeller böylece germ hücreleri kandaki zararlı maddelere karşı korunmuş olurlar (65, 151).

2.3.2. İnterstisyel doku ve Leydig hücreleri

Testislerde seminifer tübüllerin arası bağ dokusu, sınırlar, kan ve lenf damarlarıyla doludur. Bağ dokusu çeşitli tipte hücreler içerir; bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmamış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte yuvarlak ya da poligonal şekilde, merkezi bir nükleusu ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik bir sitoplazması olan interstisyel ya da Leydig hücreleri belirgin hale gelir. Bu hücreler sekonder cinsiyet karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteronu üretirler (18, 65). Leydig hücreleri kan kapillerleri etrafında tek tek veya küçük gruplar halinde bulunurlar. Leydig hücreleri steroid yapıda olan testosteron hormonunu salgılamasıyla endokrin fonksiyon gösterir. Leydig hücreleri, C vitamininden zengindir. Sarı kahverengi bir pigment olan lipofuskin içerirler. Lipofuskin pigmentinin miktarı yaş ilerledikçe artar (50). Leydig hücreleri karakteristik tübüler kristal mitokondrionlar iyi gelişmiş bir endoplazmik retikulumu sahiptir (76).

İnsanlardaki Leydig hücrelerinde birbirlerine dik açılı çizgiler şeklinde çok düzenli dizilmiş kristaloid inklüzyonlar yani işlevi bilinmeyen Reinke kristalleri

görülmektedir. Bu inklüzyonlar puberteden önce görülmez ve yaş ilerledikçe sayıları artar (96). Serumda bulunan testosteronun yaklaşık % 95'i Leydig hücreleri tarafından sentezlenir; kalan testosteron ise adrenal korteks tarafından üretilir (76).

LH ve prolaktin, Leydig hücre fonksiyonunu düzenler. Prolaktin, LH reseptörünün gen ekspresyonunu düzenler. LH, testosteron üretiminden sorumludur. Hiperprolaktinemi, gonadotropin salınımını ve testisteki etkisini azaltarak, üreme fonksiyonunu baskılar. Aşırı prolaktin, Leydig hücrelerinden androjenlerin üretimini azaltabilir, spermatogenezi zayıflatabilir ve erektil disfonksiyon ve infertiliteye yol açabilir (68, 76).

2.4. Testisin Histofizyolojisi

Spermatogenez üzerinde en büyük etkiyi hormonlar yapmaktadır. Spermatogenez, hipofizden salgılanan FSH ve LH testis hücreleri üzerine etkisi çok önemlidir. Bu hormonlar, spermatogenetik seri hücrelerinin normal gelişiminde gerekli olan testosteron üretimini uyarırlar (65).

Testosteron: Testislerin esas hormonu olan testosteron 17. karbonda bir -OH grubu taşıyan 19 karbonlu bir steroiddir. Leydig hücrelerinde kolesterolden sentezlenir. Testosteron salgısı LH'nin denetimindedir (53). Testiste spermatogenezi parakrin olarak etkilemesi ve hipotalamus ile hipofiz bezi üzerine negatif geri bildirim etkilerinin yanı sıra testosteronun birçok etkisi vardır:

- 1- Spermatogenezin başlatılması ve sürdürülmesi için gereklidir. (Sertoli hücreleri aracılığıyla etki eder)
- 2- Hipotalamus üzerine (negatif) etki ederek GnRH sekresyonunu azaltır.
- 3- Ön hipofiz üzerine doğrudan etki ederek LH salgılanmasını baskılar.
- 4- Erkek aksesuar üreme organlarının farklılaşmasını başlatır ve işlevlerinin devam ettirilmesini sağlar.

- 5- Erkek ikincil cinsiyet karakterinin oluşmasını sağlar, meme dokusu üzerine östrojene zıt yönde etki eder.
- 6- Protein metabolizmasını ve kemik gelişimini uyarır.

Testosteron, bazı hücrelerde sitoplazmaya girdikten sonra kendisinden çok daha güçlü olan dihidrotestosterona (DHT) dönüştürülür. Bu reaksiyon 5 α -redüktaz enzimi tarafından katalize edilir (143).

Testosteron bazal membrandan sızarak Sertoli hücrelerine girer. Bu hücreler yüksek derişimde androjen almaçlarına sahiptirler. Spermatogenezin tamamlanabilmesi için Sertoli hücrelerinin üzerine yüksek miktarda testeosteronun etkisi son derece önemlidir. Testosteron son evreden önceki spermatidlerin Sertoli hücrelerinden olgunlaşmadan ayrılmasını önler. Böylece son evre spermatidlerin doğru zamanda normal ayrılmalarını sağlar (23).

Folikül Uyarıcı Hormon (FSH): Ön hipofiz bezinde gonadotrop adı verilen hücrelerden salgılanırlar. Glikoprotein yapıda bir hormondur (58). Sertoli hücreleri üzerine etkilidir. Adenilat siklazı uyararak cAMP düzeylerini artırır ayrıca androjen bağlı protein sentezi ve salgısını da uyarır (65).ABP, androjenleri (testosteron veya dihidrotestosteron) bağlar ve ABP-androjen kompleksi gelişen spermatogenezik hücrelerin çevresinde yüksek androjen seviyelerini sağlar. FSH, Sertoli hücrelerinden inhibin ve aktivin üretimini başlatır. İnhibin, hipotalamus ve hipofizyal FSH salınımı üzerine negatif feedback etkisi yapar. Aktivin ise ters bir etki yapar (76).

Östrojen: Erkekde testosterona ek olarak az miktarda östrojen sentezlenmektedir. Seminifer tübül sıvılarında oldukça yüksek konsantrasyonda östrojen bulunur. Östrojen oluşumu Sertoli hücrelerinde testosteronun östradiole dönüştürülmesi sonucu gerçekleştirilir. Spermatogenezde önemli bir rolü vardır (58). Testis kaynaklı venöz kandaki östradiolün bir kısmı Leydig hücrelerinden gelir, bir kısmı da androjenlerin Sertoli hücrelerinde aromatisasyonu ile oluşur (53).

Luteinleştirici Hormon (LH): Ön hipofiz bezinden salgılanan gonadotropik hormondur. Glikoprotein yapıdadır. Testislerin interstisyel Leydig hücrelerinden testosteronun salgılanması hipofiz bezinden salgılanan LH'nın uyarısı ile gerçekleşir. Salgılanan testosteron miktarı, uyarıcı LH miktarı ile doğru orantılıdır. Hipofizden LH salgılanması negatif geri besleme ile düzenlenir. Testosteron sentezinin artması LH salınımını baskılar (58).

Inhibin: Sertoli hücrelerinden salgılanan glikoprotein yapıda bir hormondur. Bu hormon doğrudan ön hipofiz bezi üzerinde, FSH salgısını baskılayan kuvvetli bir etkiye sahiptir. Spermatogenezin kontrolünde önemli bir negatif feedback mekanizması oluşturur. Aynı zamanda testosteron sekresyonunun düzenlenmesinde görev alır (58). Leydig hücreleri tarafından testosteron salgılanmasını arttırırken aktivin testosteron salgılanmasını azaltır. Yani FSH, inhibin ve aktivin üretimlerini etkileyerek Leydig hücre işlevini dolaylı olarak etkiler (23).

2.5. Kanser ve Kemoterapi

Kanser, günümüzde ölüm nedenleri arasında kardiyovasküler hastalıklardan sonra ikinci sırada yer alır. Kansere bağlı ölüm oranlarının yüksek olması konunun önemini daha da arttırmaktadır (69, 78).

Türkiye'de yıllık kanser insidensi Sağlık Bakanlığınca yüzbinde yaklaşık 150 olarak kestirilmiştir. Bunun yanı sıra her yıl 90.000-100.000 dolayında yeni kanser olgusu görüleceği bildirilmiştir (71).

Küresel kanser yükü geçtiğimiz 30 yılda iki kattan daha fazla artmıştır. 2008'de 12 milyon yeni kanser vakasının teşhis edildiği, kanserden kaynaklanan 7 milyon ölümün gerçekleştiği ve kanserli 25 milyon kişinin halen hayatta olduğu tahmin edilmektedir. Dünya nüfusunun süregelen artışı ve yaşlanması kanser yükü üzerinde de büyük değişikliklere yol açacaktır. 2030'a gelindiğinde 27 milyon kanser vakası,

kanserden kaynaklanan yıllık 17 milyon ölüm ve son beş yıl içinde kanser tanısı konmuş 75 milyon kişi rakamlarına ulaşılması beklenebilir (25).

Ülkemizde ise Sağlık Bakanlığı'nın yaptığı çalışmada, 2000-2006 yıllarında, Türkiye'de 396 bin kanser olgusu tespit edilmiş olup her yıl, 140 bin kişi kanserden ölmektedir. Türkiye'de kanser hastalarının önümüzdeki 20 yıl içerisinde 1,5 milyona ulaşacağı öngörülmektedir (26).

Kanser, hücrelerin kontrolsüz ve anormal bir şekilde çoğalması, yaygın nitelik kazanması ve metastaz yapması ile kendini gösteren bir hastalıktır. Çoğalan hücrenin kaynağına, tipine ve olduğu organa göre çeşitli kanser şekilleri vardır (29, 72, 149).

Kanser, sürekli çoğalarak aşırı miktarda artan hücre sayısının normal ve uygun miktarda hücre kaybıyla dengelenmemesi sonucunda gerçekleşir. Bu hücreler organizmanın organlarına hasar verirler. Kanser hücreleri normal hücrelere göre daha kısa zamanda ölmelerine rağmen yeni hücre oluşumu o kadar hızlıdır ki, sonuç olarak hücreler devamlı birikir. Bu aşırı hücre birikimi, hem kanser hücrelerindeki genetik anormalliklerden hem de organizmanın bu hücreleri tanımada ve yok etmedeki başarısızlığından dolayı oluşmaktadır (34).

Kanser tedavisinde kullanılan başlıca tedavi yöntemleri; cerrahi, radyoterapi, kemoterapi ve diğer tedavi yöntemleri (hormon tedavisi, immünoterapi, gen tedavisi, kemik iliği transplantasyonu) dir (78, 149).

Kemoterapi, kontrolsüz çoğalan hücrelere karşı seçici öldürücü etkileri olan, doğal veya sentetik kimyasal, biyolojik ajanlar ve hormonlarla yapılan tedavi şeklidir (10). Kemoterapide kullanılan ilaçlar kanserli hücrelerin çoğalmasını durdurmakta ve yok etmektedir. Ancak tedavi amaçlı kullanılan bu ilaçlar, vücuttaki normal hücrelere de etki ederek ciddi yan etkilere sebep olabilirler (78, 125).

Hücre siklusunun başlıca 5 önemli fazı vardır:

1. G₀ fazı: Mitoz sonrası hücrelerin dinlendikleri ve hücre bölünmesine aktif olarak katılmadıkları fazdır. Bu fazda kemoterapötik ajanların etkisi yok denecek kadar azdır. Normal hücreler zamanlarının çoğunu G₀ fazında geçirirler, bir uyarıcının etkisiyle çoğalan hücre haline geçebilirler.

2. G₁ fazı: Uyarılma sonucunda başlar. RNA, enzimler ve diğer proteinler sentez edilir. Hücre bu dönemde kemoterapiye hassastır.

3. S fazı: Yeni DNA sentez edilir, hücre bölünmeye hazırlanır. Hücre bu fazı etkileyen ilaçlara hassastır.

4. G₂ fazı: Mitoz için gerekli protein ve RNA sentezi hızlanır.

5. M fazı: Mitoz fazıdır. Dört safhada iki yeni hücre oluşur. Bu iki yeni hücre ya yaşam döngüsüne girer(G₁) ya da kemoterapiye dirençli olarak G₀ fazında kalırlar (10, 32, 48, 121).

Kanser hücreleri ve normal hücreler benzer hücre sikluslarına sahiptirler. Kanser hücresiyle normal hücre arasındaki en önemli fark, kanser hücrelerinde proliferasyonu frenleyen mekanizmanın bulunmaması ve organizmayı ölüme götüren durmaksızın proliferasyon içinde olmasıdır. Kemoterapötik ajanlar en fazla hücreler proliferatif dönemde iken etkilidirler.

Kemoterapötik ilaçları etkilerine göre iki grupta inceleyebiliriz.

1- Hücre siklusuna bağımlı ilaçlar

- S fazına dönük ilaçlar (Antimetabolitler): Hücre metabolizmasını ve DNA sentezini bozarak etki ederler. Methotrexate, 5Flourouracil, Cytarabine, Procarbazine, 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, Acyctinomycin-D, Daunorubisin gibi.

2- Hücre siklusuna bağımsız ilaçlar

- Alkilleyici ajanlar: Hücre çekirdeğini, DNA ve RNA sentezini etkilerler. Hızlı çoğalan hücrelerin ölümüne yol açarlar. Nitrojen mustard, Cisplatin, Cyclophashamide, Procarbazine gibi
- Hormonlar: Tümör ortamını değiştirerek büyüme ve çoğalmayı engellerler ve protein sentezini bloke ederler. Östrojenler, Kortikosteroidler gibi.
- Antibiyotikler: DNA replikasyonunu bozarlar. Hücrede DNA ve RNA transkripsiyonunu durdurup, dokularda uzun süre kaldıklarından DNA sentezi boyunca hücre ölümüne yol açarlar. Radyasyonla birlikte verildiklerinde toksisiteyi arttırırlar. Actinomycin D, Adriamycin, Bleomycin, Epirubicin, İdarubicin bu gruptadırlar (10).

2.6. Dokсорubisin

2.6.1. Dokсорubisinin tanımı, klinik kullanımı ve yapısı

Dokсорubisin, ticari olarak adriamisin olarak da bilinen geniş spektrumlu antitümör aktiviteye sahip antineoplastik bir ajandır. İlk kez 1967 yılında mutant *Streptomyces peucetius* kültürlerinden izole edilmiştir (85, 88, 93).

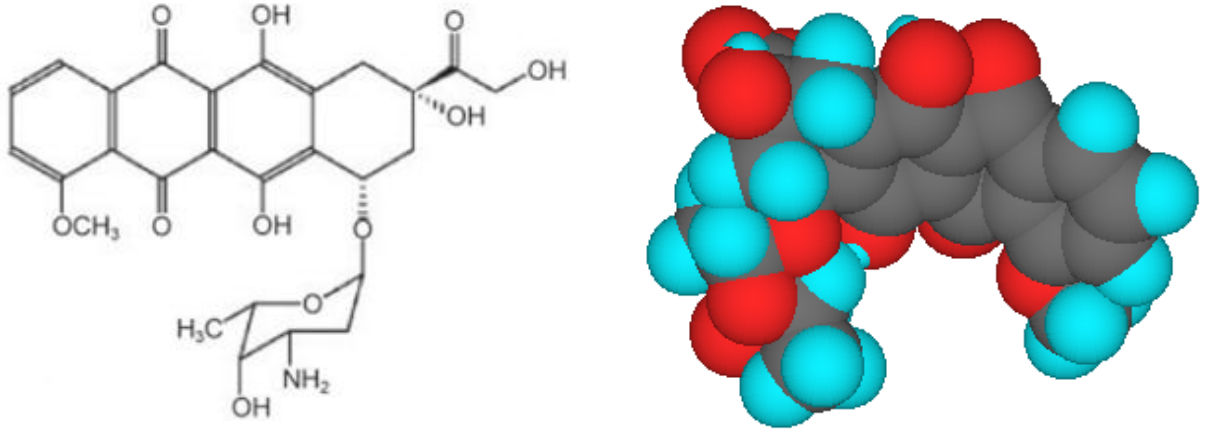
Dokсорubisin, daunorubisinin hidroksi türevi olup aynı kaynaktan elde edilen bir antrasiklin bileşğidir. Sitotoksik bir antibiyotik olan dokсорubisin, faz spesifik bir ajan olmamakla beraber S dönemindeki hücelere etki eder (71, 134).

Dokсорubisin göğüs, over, testis, tiroid ve akciğer kanserlerinde ve Ewing sarkomu, osteosarkom ve rabdomiyosarkom gibi birçok sarkomun tedavisinde önemli klinik uygulaması olan en önemli antitümör ilaçlardandır. Ayrıca akut lösemiler multipl miyoloma, Hodgkin hastalığı ve yaygın non-Hodgkin lenfomaları içine alan hematolojik kanserlerde yararlıdır (43, 70, 71).

Genel olarak diğer ajanlarla (örneğin, siklofosfamid, sisplatin, nitrosürelere) kombine tedavide kullanılmaktadır. Bu şekilde sinerjik etki göstererek tek başına kullanıldığı zaman gözlenen etkisinden daha uzun bir iyileşmeye olanak vermektedir (70).

Dokсорubisin DNA replikasyonunu baskılar ve DNA çift sarmalındaki baz çiftlerine bağlanarak DNA sentezini bloke eder. Hücre büyümesini ve bölünmesini engeller. Sonuç olarak, hücre bütünlüğünü koruyamaz ve lizise gider. Lizis olan hücreyle birlikte dış ortama salınan DNA-dokсорubisin kompleksi, diğer sağlıklı hücelere girerek lizise gitmelerine yol açmaktadır. Bu etki, serbest oksijen radikallerinin rol aldığı enflamatuar doku reaksiyonları ile doku ölümlerine yol açmaktadır (70, 75, 124).

Antrasiklin molekülü, ilaca kırmızı rengini veren tetrasiklik çekirdek ile ona glikosidik bir bağ ile bağlı bir aminoşekerden (daunosamin) oluşmaktadır. Antrasiklin grubunun tüm üyelerinin tetrasiklik halkaya komşu kinon ve hidrokinon grupları bulunmaktadır (135). Bunlar elektron alma ve verme görevi görürler. Daunorubisin molekülündeki 14. karbonun hidroksil grubu alması ile doksorubisin meydana gelmektedir (61). Doksorubisinin kimyasal ve uzaysal düzlemdeki yapıları şekil 11’de gösterilmiştir.



Şekil 11. Doksorubisinin yapısı (63, 142).

2.6.2. Doksorubisinin etki mekanizması

Doksorubisinin hücre tipine göre 3 önemli etkisi vardır. Bu etkilerin en belirgin olduğu dönem S ve G₂ evreleridir. S fazında olan hücreler doksorubisinin etkisine en duyarlı olan hücrelerdir (59, 93). Doksorubisin, bölünen hücrelerin DNA’sını hedef alarak hücre döngüsünü G₂ fazında bloke eder (140).

- 1- DNA yapısına katılmaları
- 2- Akışkanlık ve iyon transportunu değiştirmek üzere hücre zarlarına bağlanmaları
- 3- Lipid peroksidasyon sonucu oksijen radikalleri oluşturma (70, 93).

1-DNA yapısına katılmaları

Antrasiklin bileşikleri DNA ile etkileşerek RNA sentezi dahil DNA'nın birçok fonksiyonunu bozarak tek ve çift-zincir kırılmaları oluşturur. Bu yüzden antrasiklinler mutajenik ve teratojenik etki gösterirler (4, 61).

Doksorubisin, kanser kemoterapisinde kullanılan ilk antrasiklin antibiyotiktir (13). Doksorubisinin sitotoksik ve sitostatik etki mekanizmaları arasında topoizomerez II inhibisyonu, doksorubisin-demir kompleksinin DNA'ya bağlanması ve DNA baz çiftlerinin ilaçla etkileşmesi gibi radikale bağlı olmayan mekanizmalar ve serbest radikal üretimi ile DNA hasarı bulunmaktadır (15, 56, 83). Antrasiklinlerin, apoptotik hücre ölümünü indükledikleri gösterilmiştir (83). Antrasiklin türevi ilaçlar, DNA zincirleri içerisinde komşu guanozin-sitozin baz çiftleri arasında enine yerleşerek interkalasyon yapıp DNA replikasyonunu ve mRNA transkripsiyonunu bozarak membranda değişikliklere yol açarlar (46, 59). İlacın DNA yapısına katılması topoizomerez II enziminin katalizlediği DNA zincirinin kesilmesi ve farklı noktalardan tekrar birleştirilmesini engelleyerek DNA zincirinde tamir edilemeyen kırılmalara neden olurlar (60, 93).

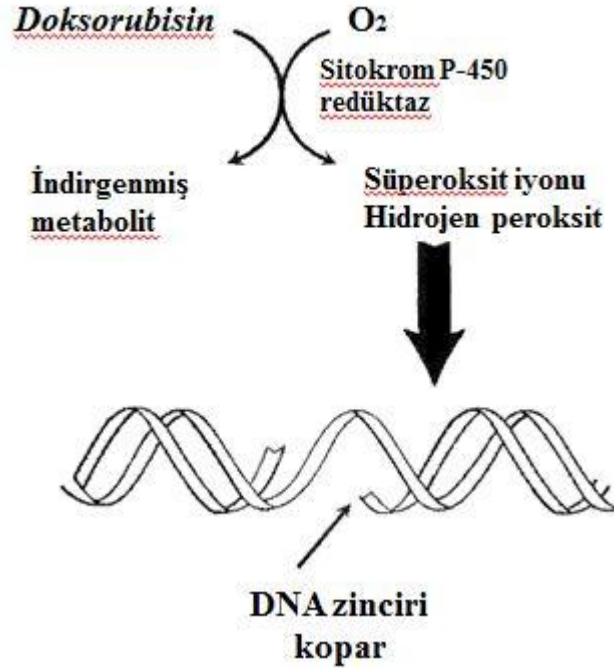
2-Akışkanlık ve iyon transportunu değiştirmek üzere hücre zarlarına bağlanmaları

Bu özellikleri fosfatidilinositol aktivasyonuna kenetli transport mekanizmalarını bozar (93). Antrasiklinler hücre membranı ile etkileşerek lipid peroksidlerinin oluşumuna ve membran fonksiyonlarının değişimine neden olur. Bu durum gerek antitümör etkisinde ve gerekse kardiyak toksisitede önemli rol oynar (61). Lipid peroksidasyonu, membran potansiyelinde ve akışkanlığında azalmaya yol açar. Membranın iyon geçirgenliğinde artışa ve sonuç olarak hücre ölümüne sebep olur (127).

3-Lipid peroksidasyon sonucu oksijen radikalleri oluşturma

Doksozubisinin kimyasal yapısı oksidatif stresi arttırarak serbest radikallerin oluşmasını sağlar ve hücree hasarına yol açmaktadır. Normal koşullarda, aerobik metabolizmanın ürettiği reaktif oksijen türleri inhibe edilir. Bu olayı, organizmada yer alan antioksidan savunma sistemleri gerçekleştirir. Serbest radikallerin oluşum hızı ile savunma sistemlerinin gücü arasındaki denge bozulmadığı sürece, organizma oluşan bu radikallerden etkilenmez. Bu denge, antioksidan sistemlerin aleyhine bozulduğu zaman, potansiyel bir hasar meydana gelir ki buna ‘oksidatif stres’ adı verilir (19).

Sitokrom p-450 redüktaz enzimleri hücre çekirdeğinin zarında bulunur. P-450 redüktaz enzimleri antrasiklinlerin semikinon serbest radikallere indirgenmesini sağlarlar. Semikinon radikali ise oksijen ile reaksiyona girerek DNA zincirini parçalayan süperoksit iyonlarını oluşturur. Süperoksit anyonu, hem hidrojen peroksit hem de hidroksil radikali oluşumunda rol oynar. Bu radikaller DNA bazlarını okside ederek DNA hasarına yol açar (şekil 12). Süperoksit dismutaz (SOD) veya glutatyon peroksidaz enzimlerinin yüksek miktarlarının bulunduğu hücreler bu etkilere dirençlidir. Serbest radikallerin üretimi büyük ölçüde doksozubisin-demir kompleksi aracılığıyla gerçekleşir (1, 61, 66, 93).



Şekil 12. Doksorubisin, moleküler oksijen ile etkileşerek süperoksit iyonları ve hidrojen peroksit oluşumuna ve dolayısıyla DNA zincirinde kırılmalara yol açar (93).

Doksorubisin, Fe³⁺'e karşı yüksek afinite gösterir ve in vivo sistemlerde Fe³⁺ ile şelat oluşturur. Doksorubisin-Fe³⁺ kompleksi hidroksil radikali oluşumunu katalize eder. Doksorubisin-Fe³⁺ kompleksi, DNA ile bağlanarak üçlü kompleks oluşturur. DNA-doksorubisin-Fe³⁺ üçlü kompleksi, doksorubisin-Fe³⁺ kompleksinden daha etkindir (92, 109).

Doksorubisine bağlı serbest radikallerin oluşumu sonucunda lipid peroksidasyonu oluşur ve bunun sonucunda da malondialdehit (MDA) seviyeleri artmaktadır. Doksorubisin serbest oksijen radikallerinin oluşumuna neden olmasının yanı sıra; glutatyon peroksidaz (GSH-Px), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) gibi antioksidan enzimlerin düzeylerinin artmasına sebep olarak toksisiteye neden olmaktadır (13, 14, 95).

2.6.3. Doksorubisinin metabolizması ve farmakokinetikleri

Gastrointestinal sistemde inaktive edildiğinden intravenöz olarak uygulanır. İlacın çevre dokulara sızması doku nekrozuna neden olduğundan ciddi problemlere neden olmaktadır. Doksorubisin türevi ilaçlar plazma proteinlerine ve dağıldıkları dokulara bağlanırlar ancak serebrospinal sıvıya geçemezler (93).

Dokulara fazla bağlanıp dokulardan yavaş salındığından karaciğerde hızlı metabolize edilmesine karşın vücutta kalışı ve etkisi uzun sürer. Karaciğer metastazı veya primer tümörü ya da diğer bir nedenle karaciğer fonksiyonu bozulmuşsa doksorubisinin eliminasyonu yavaşlar ve doz azaltılmazsa vücutta birikir. Hidroliz sonucu vücutta kısmen serbest kalan aglikon kısmı etkinlik göstermez (71).

Enjeksiyondan sonra ulaşılan en yüksek kan konsantrasyonu 30 dakika içerisinde % 50 azalır ancak etkin seviyeler 20 saate kadar sürdürülür. Antrasiklinler karaciğerdeki halka şeklindeki substitüsyonların indirgenmesi ve hidrolizi ile metabolize edilir. Aglikon inaktif olduğunda alkol şekli aktif bir metabolittir. Bazı metabolitler antitümör aktiviteye sahiptir. Safra yolu ile atılım sitotoksik parçaların entero-hepatik dolaşımını kapsamaktadır. Serum bilirubinin önemli yükselmeler gösterdiği hastalarda (>2,5 mg/dL), antrasiklinlerin başlangıç dozunun % 75 azaltılması gerekmektedir (70).

Doksorubisin yoğun bir şekilde metabolize edilir. En önemli atılım yolu safradır. İlacın bir kısmı da böbreklerden atılır, idrarı kırmızıya boyarlar. Karaciğer fonksiyon bozukluğu olanlarda doz ayarlaması gerekirken böbrek yetmezliği olanlarda genellikle gerek yoktur (93).

2.6.4. Doksorubisinin fertilité üzerine etkisi

Spermatogenezisin kemoterapik ilaçlara maruz kalma sonucu etkilenmesi birçok çalışma ile desteklenmiştir. Kemoterapik ilaçlar sperm sayısını azaltarak spermatogenezisi etkilemektedir (5). Doksorubisinin oluşturduğu toksisitenin ana nedeni,

oksidatif stres ve buna bağlı serbest oksijen radikallerinin oluşumudur. Serbest oksijen radikalleri lipid peroksidasyonunu uyarır. Lipid peroksidasyonu ise erkeklerde infertilite ve sperm fonksiyon bozukluğunda kilit rol oynamaktadır (80). Bu yzden doksorubisin, seminifer túbül çapında atrofiye, spermatogonyumlarda Şekil bozukluğuna, hücresel apoptoza, spermin hareketinde azalmaya neden olmaktadır. Kısaca üreme hücreleri üzerinde dejeneratif etki yapmaktadır (28, 62, 126).

2.6.5. Doksorubisinin yan etkileri

Teratojenik, mutajenik ve karsinojeniktir (71). Doksorubisin verilen hastaların çoğunda en sık görülen yan etkiler kemik iliği aktivitesinde azalma, ağız mukoza iltihabı, sindirim bozukluğu ve sa dökülmesidir. Ağır lökosit ve trombosit kaybı olabileceğinden dozu sınırlandırılmıştır (82).

En ciddi yan etki serbest radikallere bağlı olarak ortaya çıkan kalıcı ve doza bağımlı kardiyotoksik etkidir. Doksorubisinin toplam kümültif dozu 550 mg/m² yi geçmemelidir. Akut konjestif kalp yetmezliği riski belirgin Şekilde artar (93, 120).

2.7. L-karnitin

2.7.1. L-karnitinin tarihçesi

L-karnitin 1905 yılında Gulewitsch ve Krimberg isimli Rus bilim adamları tarafından hayvan kas dokusundan izole edilen bir bileşik olarak keşfedilmiştir. Bu keşiften sonra, latince et anlamına gelen “carnis” ismi verilmiştir. L-karnitinin kimyasal yapısı 1927 yılında onaylanmıştır (133).

L-karnitin hakkındaki ilk makale 1935 yılında, Leipzig Üniversitesi’nden Prof. Dr. Strack tarafından yayınlanmıştır. Bu alışma L-karnitinin fizyolojik fonksiyonları

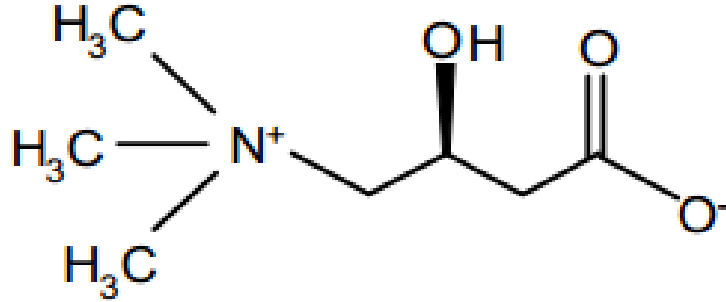
ile ilgili araştırmaların temelini oluşturmuştur. 1952 yılında ise Carter ve arkadaşları, L-karnitini besleyici bir element olarak tanımlamışlardır (133).

Karnitin yapı olarak amino asitlere benzemektedir. Hiçbir proteinin yapısına girmediği için gerçek bir aminoasit olarak kabul edilemeyen karnitin, kuarterner bir amindir (24, 35, 132).

Bremer ve Fritz çalışmalarıyla, karnitinin uzun zincirli yağ asitlerinin β -oksidasyonunda etkili olduğunu belirlemişlerdir (24). Bu olay, yağ asitlerinin mitokondriyal membrandan geçerek açilkarnitinler gibi aktif bir şekilde taşınmasına teşvik etmesiyle açıklanmıştır (27, 141).

2.7.2. L-karnitin yapısı

L-karnitin suda çözünebilir ve kimyasal formülü 3-hidroksi-4-N-trimetilaminyum butirat'tır (35).



şekil 13. L-karnitin molekülünün kimyasal yapısı (153).

Üç metilli bir amino asit olan L-karnitin (β -hidroksi- γ -trimetilamonyum butirik asit) küçük, B grubu vitaminleri ile ilişkili, amino asit ve vitamin benzeri besleyici bir elementtir. Serbest uzun zincirli yağ asitlerinin açil karnitine dönüşmesini sağlar. Hücre enerji üretimi için beta-oksidasyona uğrayacak olan uzun zincirli yağ asitlerinin mitokondri matriksine taşınmasında kofaktör görevi görür (64, 133, 141).

2.7.3. L-karnitinin doğadaki kaynakları

L-Karnitin doğada sadece L (Levojir) formundadır. D (Dekstrojir) formu ise laboratuvar koşullarında üretilmektedir. Yapılan çalışmalara göre, D formu, L-karnitin yağ asitlerinin taşınmasından (sitoplazmadan mitokondriye) sorumlu karnitin translokaz enzimini etkisiz kılarak vücutta enerji kaybına yol açmaktadır. Dokularda sadece L formu sentez edilir ve sadece L formu metabolik olarak aktiftir (17, 42).

L-karnitin, mikroorganizmalar, bitkiler ve hayvanlar için esansiyel bir bileşiktir ve doğada birçok besin maddesinde değişen miktarlarda bulunmaktadır. Bitkisel besinler az miktarda L-karnitin içerirken, hayvansal besinler ise L-karnitin açısından daha zengindir. Bitkisel ve hayvansal kaynaklı yağlar L-karnitin içermemektedir (133).

Tablo 1. Bazı besin ham maddelerinin L-karnitin içerikleri (133).

Bitkisel Kaynaklı Besinler	L-karnitin İçeriği (mg/kg)	Hayvansal Kaynaklı Besinler	L-karnitin İçeriği (mg/kg)
Mısır	5	Balık Unu	120
Arpa	7	Et Unu	150
Buğday Kepeği	15	Kan Unu	10
Buğday Unu	5	Tüy Unu	120
Yulaf	5	Balık İskelet Unu	90
Soya Fasulyesi Unu	12	Et Kemik Unu (%40)	100
Üzüm Tohumu Unu	5	Plasma Proteini	15
Ayçiçeği Tohumu Unu	5		
Pamuk Tohumu Unu	20		
Fındık Unu	10		

2.7.4. L-karnitinin metabolizasyonu

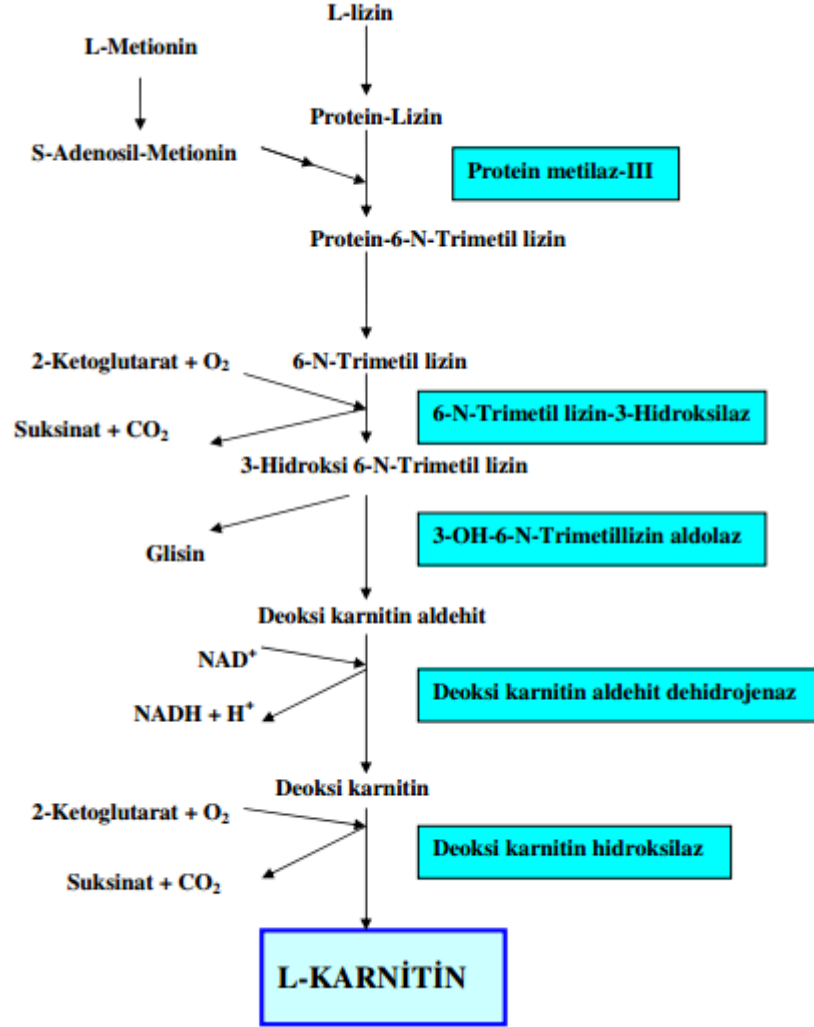
2.7.4.1. L-karnitinin biyosentezi

L-karnitin, tüm memelilerde bulunan endojen moleküldür (35). Vücut total karnitin stoğunun %98'i iskelet ve kalp kasında, %1.6'sı karaciğer ve böbreklerde, %0.6' sı ise ekstrasellüler sıvıda bulunur (42). Yağ metabolizması ve enerji üretiminde önemli bir görevi olan karnitin, organizmaya endojen sentezle ve besinlerle alınır (147). Tüm memeli hayvanlar lizin ve metiyonin gibi aminoasitlerden in vivo olarak karnitin sentezleyebilirler. Karnitin sentezi başlıca karaciğer ve böbrek olmak üzere beyinde de gerçekleşir. Memeliler, karnitinin sentezlenmesi için lizin ve methionin aminoasitlerine ihtiyaç duymaktadırlar. Lizin, karnitinin temeli olan karbon yapısını oluştururken, methionin ise metil gruplarını sağlar (39). Karnitin sentezi yapmayan organlar, ihtiyaçlarını kana verilen karnitinden karşılamaktadırlar. L-karnitin et, süt ve süt ürünlerinde bol, bitkisel besinlerde ise çok az bulunur (42).

Karnitinin karaciğer ve böbrekteki sentezi için başlıca lizin ve metiyonin, kofaktör olarak ise askorbik asit (vitamin C), nikotinik asit, vitamin B3, B6 ve B12, demir, magnezyum, metiyonin, betain ve α -ketoglutarat gerekir. Sentez için öncelikle bir transferaz reaksiyonu ile lizine, metiyoninden metil grupları transfer edilerek 6-N-trimetil lizine dönüştürülür. Daha sonra bu molekül üzerinde hidroksilaz, dehidrojenaz ve aldolaz enzimleri etki göstererek karnitin oluşturulur. Sentez, hücrenin hem mitokondriyal, hem de sitozolik kısmında yürütülür (49, 52, 147).

Biyosentez 5 basamakta şekillenir. Lizin aminoasitinin metilasyonu ile başlar, deoksikarnitin hidroksilaz katalizörlüğünde deoksikarnitin karnitine dönüşmesi ile biter (147). Sentezin birinci basamağı proteine bağlı lizinin metilasyonudur, metilleyici ajan 5'-adenozilmetionindir (SAM), oluşan madde trimetillizindir. İkinci basamakta 3-hidroksitrimetillizin, üçüncü basamakta deoksikarnitinaldehid, dördüncü basamakta ise deoksikarnitin oluşmaktadır. Beşinci ve son basamakta ise etkili katalizör enzim deoksikarnitin hidroksilazdır ve bu enzimin etkisiyle karnitin oluşur. Deoksikarnitin karnitine hidroksilasyonu karaciğer, beyin, epididimis ve insanlarda ayrıca böbreklerde

gerçekleşmektedir. Kas gibi kalan diğer dokularda ilgili basamakta enzim faaliyeti olmadığından karnitin sentezi yapılamamaktadır (27, 42).



Şekil 14. L-karnitin biyosentezi.

2.7.4.2. L-karnitin dokulardaki dağılımı

Endojen olarak sentezlendikten sonra iskelet ve kalp kaslarına taşınır. Plazma ve dokularda serbest formda ya da yağ asitlerine bağlı olarak yani ester formunda (açıl L-karnitin, propiyonil L-karnitin, Palmitoil L-karnitin) bulunur (84). Vücutta L-karnitin, esterleri ile birlikte total L-karnitin havuzunu oluşturmaktadır. Vücutta en yaygın

dağılım gösteren ester Açıl L-karnitindir. Açıl L-karnitin de L-karnitin gibi beyinde ve özellikle hipotalamusta yüksek düzeylerde bulunur (35).

Kan serumunda karnitinin % 80'i serbest, % 20 'si ester halinde bulunur ve kan yoluyla hedef doku ve organlara taşınmaktadır. Kalp kası ve iskelet kası karnitin bağımlıdır. Karnitinin % 98'i kalp ve iskelet kaslarında depo edilir. İnsanlarda iskelet kası ve dokulardaki karnitin konsantrasyonu kan serumuna göre 100-150 kat daha fazladır. Karnitin insan organizmasında 20-25 g depo edilmektedir (13, 39).

Serbest L-karnitin plazma konsantrasyonu 30-70 µmol/L aralığındadır. Kalp, iskelet kası, karaciğer, böbrekler, yağ dokusu, epididimis ve seminal sıvıda karnitin için özel transport sistemleri bulunur ve karnitin bu dokular içinde yoğunlaşır. Testosteronun etkisi ile epididimiste L-karnitin düzeyi plazmadan sağlanarak artar (35).

2.7.5. L-karnitin farmakokinetiği

Diyetle alınan karnitin, aktif transport ile duodenum ve jejunumdan emilir. Böbreklerde, glomerüler filtrata geçen bölümünün %90'ı tübüler reabsorpsiyona uğrar. Çok az bir bölümü ise dışkı ile atılmaktadır (49, 116).

İntravenöz yoldan uygulanan L-karnitin renal yoldan atılır. Oral uygulamada ise L-karnitin bağırsak bakteri florası tarafından trimetilamin ve butirobetain açığa çıkacak şekilde yıkıma uğratılır. Sistemik dolaşıma hiçbir değişime uğramadan geçer ve ilaç miktarı yaklaşık %10-20 civarında olduğundan, oral yoldan uygulanan bir L-karnitin dozunun yaklaşık %80-90'ının eliminasyonundan bağırsak metabolizması sorumludur. Karnitin fizyolojik dağılım hacmi, karnitin kaslarda depolandığı için yüksektir (24, 49, 105).

L- karnitin oral doz alımında mukozal absorpsiyonunun 2 g dozda doygunluğa ulaştığı görüldüğü için 2 g'dan fazla alınırsa yarar sağlamamaktadır, çünkü maksimum kan konsantrasyonu oral doz verildiğinde yaklaşık 3-5 saattir ve yavaş bir şekilde azalır (20, 81).

İnsan vücudu L-karnitin üretmektedir ancak üretilen miktar vücut gereksiniminin %10 u kadardır. Vücudumuzda ortalama 20-25 mg L-karnitin bulunur. Vücudun günlük L-karnitin ihtiyacı ise 200-500 mg arasındadır. Fiziksel aktivite, stres gibi faktörler eklenince günlük ihtiyaç 1200 mg'a kadar çıkabilir (49).

2.7.6. L-karnitin'in fizyolojik etkileri

L-karnitin'in görevi uzun zincirli yağ asitlerini mitokondriye taşımak ve beta oksidasyon ile ATP üretimini sağlamaktır. Bunun dışında hücrel olarak mitokondriyal ve peroksizomal metabolizmada önemli görevleri vardır (6, 74, 84, 141).

Başlıca etkilerini sıralayacak olursak:

Okside edilecek uzun zincirli yağ asitlerinin açıl CoA esterleri ancak karnitin varlığında sitoplazmadan mitokondriye girebilirler. Bu olayda sorumlu enzim karnitin açıl transferazdır. Karnitin açıl transferaz I ve II olmak üzere iki formda bulunur. Karnitin, karnitin açıl transferaz I in katalizi ile asetil CoA ile birleşerek açıl karnitin oluşur. Bu şekilde mitokondri matriksine gelen açıl karnitin, karnitin açıl transferaz II enzimi etkisiyle karnitin ve asetil CoA olmak üzere bileşenlerine ayrılır. Açığa çıkan asetil CoA'lar ise β -oksidasyonla enerji sentezine hizmet ederler (147).

Normal şartlarda mitokondrideki total CoA miktarı sabit kalmalıdır. Serbest CoA, enzimatik reaksiyonlarda gereklidir. Karnitin, CoA-karnitin açıl transferaz enziminin etkisiyle mitokondriyal açıl CoA miktarını azaltarak serbest CoA miktarının artmasına neden olmaktadır. Serbest CoA miktarının artması, α -ketoglutarat dehidrogenaz

aktivitesini arttırır ve Krebs döngüsünü hızlandırır (49, 116, 132). Açıl-CoA beta oksidasyona uğrar, oluşan açıl-CoA krebs veya sitrik asit döngüsüne katılır, bir seri reaksiyon sonucu enerji oluşur. Serbest karnitin ise sonra plazmaya döner, tekrar yeni bir uzun zincir açıl-CoA ile reaksiyona girebilir. Yağ asidi oksidasyonu sonucunda ATP oluşur. Bu oksidasyonda başlangıçta yağ asidinin aktifleştirilmesi sırasında ATP'ye ihtiyaç duyulur ancak yağ asidi aktifleşip mitokondriye girdikten sonra ATP harcamaya gerek duyulmaz (101).

Dallı zincirli amino asitlerin (valin, lösin, izolösin) metabolizmasında da karnitinin yardımcı bir görevi vardır (103).

İskemik dokularda karnitin rezervi hızla tükenir ve uzun zincirli yağ asitleri okside edilemez, trigliserid sentezi artar, bunun sonucunda da uzun zincirli açıl CoA ve uzun zincirli açıl karnitin esterleri birikir. Karnitin kullanımı ile çeşitli deneysel iskemi modellerinde, mitokondrinin metabolik hızı ve oksijen kullanımının arttığı gösterilmiştir. Doku karnitin seviyesinin normale yükseltilmesiyle uzun zincirli açıl CoA'dan açıl grupları ayrılarak intramitokondrial açıl CoA miktarı normale düşürülür ve yüksek açıl CoA seviyelerinin getirdiği olumsuz etkiler ortadan kalkar. Ayrıca karnitin ile aerobik piruvat metabolizması uyarılarak piruvatın laktik aside dönüşmesi baskılanır; bu şekilde hücre içi laktik asit birikimi de engellenir (79, 147).

L-karnitinin metabolizmadaki fonksiyonları aşağıdaki gibi özetlenebilir:

- Yağ asitlerinin taşınması,
- Serbest CoA için gerekli ortamın sağlanması,
- Amonyak toleransını arttırma,
- İmmün sistemin desteklenmesi,
- Spermatogenesis ve sperm hareketliliğini destekleme (132).
- Aminoasit, piruvat ve keton cisimciklerden enerjinin sağlanması
- Trigliserit ve kolesterol seviyesinin düşürülmesi

- Keto asit zinciri bölümlü, kısa ve orta-zincir yağ asitlerinden metabolik enerji üretimi
- Keton metabolizmasını düzenlemek
- Glikojen sentezi ve ATP üretimini düzenleme
- Kahverengi adipoz dokuda termoregülasyon
- Toksik açilkarnitin esterlerinin mitokondride yıkımı
- Açıl CoA'nın transesterifikasyonu
- Çizgili kaslarda oksidatif fosforilasyonla enerji üretimine yardımcı (8, 38, 128, 145).
- Aerobik glikolizin aktivasyonu
- Solunum zincir fonksiyonlarının uyarılması
- Membran stabilizasyonu
- Antioksidan etki (33, 74, 141).

2.7.7. L-karnitinin fertilité üzerine etkileri

L-karnitinin, sperm enerji metabolizmasında ve sperm hareketinde önemli rolü bulunmaktadır (30). Sperm motilitesi bozuk kişilerde açıl-L-karnitin/L-karnitin oranında azalma olduğu belirtilmiştir (7). Yapılan çalışmalara göre karnitinin yoğun olarak epididimide bulunduğu ve infertil erkeklerde L-karnitin tedavisi ile sperm konsantrasyonu ve hareketliliğinde, miktarında artış gözlenmiştir (2, 119, 146). L-karnitin, Sertoli hücrelerinin fonksiyonunu düzenler, oksidatif hasara karşı spermleri korur ve spermatogenik hücre apoptozunu azaltır (11).

2.7.8. L-karnitinin kanser ve antikanser ilaçlar ile ilişkisi

Antikanser ilaçlar lipid peroksidasyonuna neden olurlar ve karnitinler antioksidan etkileri ve serbest radikallere etkileriyle hücreleri antikanser ilaçların toksisitesine karşı korurlar (49). Eksojen L-karnitin Doksorubisin-nedenli lipid peroksidasyonunu

azaltmaktadır. Bu olumlu etki, karnitinin enerji metabolizması üzerine etkisi ve antioksidan etkisiyle ilişkilendirilmiştir (86).

2.7.9. L-karnitinin antioksidan etkisi

L-karnitinin antiradikal ve antioksidan etkileri vardır. Ortamdan SOR'u uzaklaştırır. Biyolojik membran lipidlerini oksidasyondan korur ve MDA gibi lipid peroksidasyon ürünlerinin birikmesini önler (44). Serbest oksijen radikalleri (SOR) sentezini hızlandıran Fe⁺²'le kompleksler oluşturarak lipid peroksidasyonunu azaltır (147).

L-karnitin, bir antioksidan olarak antioksidan savunma mekanizmasında görevli SOD, GPx ve katalaz gibi enzimlerin aktivitelerini korumaktadır (37).

L-karnitin, SOR oluşumunu önler ve hücreleri peroksidatif strese korur. Buna bağlı olarak karnitinle yapılacak bir antioksidan tedavi SOR'a bağlı infertilitesi olan erkeklerde tedavi edici olarak kullanılabilir (45).

2.7.10. L-karnitinin kullanıldığı alanlar

- Yaşlanmayı geciktirmede,
- Hafızanın geliştirilmesinde,
- Kalp krizi ve diğer kalp rahatsızlıklarının önlenmesinde,
- Perifer damar hastalıkları tedavisinde,
- Kronik böbrek yetmezliği tedavisinde,
- Alzheimer hastalığının önlenmesinde,
- HIV virüsü ve AIDS hastalığı tedavisinde,
- Sperm olgunluğu ve hareketliliğini geliştirmede,
- İlaç etkileşimlerinde sekonder L-karnitin azalmasını önlemek için yapılan çalışmalarda,

- Sinirsel rahatsızlıklar ve depresyon tedavisinde,
- Dengeli beslenme, diyet, obezite çalışmalarında ve şeker hastalığı tedavisinde kullanılmaktadır (132).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda, 4 aylık 200-350 g ağırlığında toplam 28 adet erişkin erkek Spraque-Dawley cinsi sıçan kullanıldı. Hayvanlar standart koşullarda, 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ışık periyoduna sahip ortamda uygun kafeslerde barındırıldı ve günlük olarak takip edildi. Yem ve su gereksinimleri her gün takip edilerek karşılandı. Tüm grupları oluşturan sıçanlar deney süresi boyunca normal pelet yem ve su ile beslendi. Bu çalışmada yapılan tüm işlemler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 28.12.2012 tarihli ve 310 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Deney hayvanları, Kontrol grubu, Doksorubisin grubu, L-Karnitin grubu ve Doksorubisin+L-Karnitin grubu olarak, her grupta 7 hayvan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı.

1) Kontrol grubu: Bu gruptaki deney hayvanlarına 4 hafta boyunca 1, 7, 14, 21. ve 28. günlerde olmak üzere günde 1 kez sıçanların vücut ağırlıklarına göre hacmi hesaplanarak belirlenen dozda serum fizyolojik (1cc/kg) (Doksorubisin çözücüsü olduğundan) i.p olarak verildi.

2) Doksorubisin grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, 4 hafta boyunca 1, 7, 14, 21. ve 28. günlerde olmak üzere günde 1 kez Doksorubisin 4 mg/kg i.p. olarak verildi (89, 99, 100, 137).

3) L-karnitin grubu: Bu gruba 4 hafta (28 gün) boyunca her gün, günde 1 kez 200 mg/kg L-karnitin i.p olarak verildi (67, 136, 146).

Tablo2. Deneý Takip Çizelgesi; Doksorubisin: 4mg/kg L-karnitin: 200mg/kg SF:1cc/kg

GÜNLER GRUPLAR	1.GÜN	2.-6. GÜNLER	7.GÜN	8.-13. GÜNLER	14.GÜN	15.-20. GÜNLER	21.GÜN	22.-27. GÜNLER	28.GÜN
Doksorubisin	Doksorubisin		Doksorubisin		Doksorubisin		Doksorubisin		Doksorubisin
Doksorubisin +L-karnitin	Doksorubisin +L-karnitin	L-karnitin	Doksorubisin +L-karnitin	L-karnitin	Doksorubisin +L-karnitin	L-karnitin	Doksorubisin +L-karnitin	L-karnitin	Doksorubisin +L-karnitin
L-karnitin	L-karnitin	L-karnitin	L-karnitin	L-karnitin	L-karnitin	L-karnitin	L-karnitin	L-karnitin	L-karnitin
%0.9 NaCl	SF		SF		SF		SF		SF

4) Dokсорubisin+L-Karnitin grubu: Bu grubu oluşturan deney hayvanlarına, 4 hafta boyunca 1, 7, 14, 21. ve 28. günlerde günde 1 kez Dokсорubisin 4 mg/kg ve 4 hafta (28 gün) boyunca her gün, günde 1 kez 200 mg/kg L-Karnitin i.p. olarak verildi.

3.2. Kimyasallar

Dokсорubisin olarak, SABA ilaç firmasının Adrimisin 10 mg/5ml liyofilize enjeksiyonluk toz içeren flakon kullanıldı. L-Karnitin için ise, SIGMA-TAU Pomezia/İtalya, SANTA FARMA firmasının 1g/5ml L-karnitin iç tuz içeren ampul kullanıldı.

3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Deney başından itibaren hayvanların vücut ağırlıkları uygulanacak madde dozlarını belirlemek üzere her gün tartıldı. Deney öncesinde ve sonunda ağırlıkları tartılarak kaydedildi.

3.4. Testis Ağırlıklarının Ölçümü

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 kayıt edildi. Sol testisler Bouin fiksatifine ve sağ testisler ise %10'luk formaldehit içerisine alındı.

3.4.1. Testis ağırlık indeksi hesaplaması

Deney sonunda ölçülen vücut ağırlığı ile aynı hayvana ait sağ ve sol testis ağırlığı toplamı aşağıdaki formüle göre hesaplanarak her hayvan için TAI değerleri belirlendi (130).

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

3.5. Bouin Çözeltisinin Hazırlanması

Dokuların tespitinde kullanılacak Bouin fiksativi şu 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 çözülerek doymuş pikrik asit elde edildi. Doymuş pikrik asit çözeltisi kullanılmadan önce süzüldü. Bouin fiksatifini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi ile formaldehit, daha sonra üzerine yavaşça glasiyal asetik asit ilave edilerek karıştırıldı (22).

3.6. Dokuların Alınması

Hayvanların son enjeksiyondan 24 saat sonra vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedildi. Ketamin (90 mg/kg) + ksilazin-hidroklorür (10 mg/kg) anestezisi ve servikal dislokasyon ile öldürüldüler (18). Hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı.

3.7. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Çıkarılmış testislerin uzun eksenlerine dik olacak şekilde enjektör ucu ile testislerin kapsüllerine karşılıklı birkaç delik açıldı. Dokular Bouin fiksatifine alındı. Testis dokuları sertleştikten sonra testisler enine olacak şekilde önce ortadan iki eşit parçaya ve daha sonra bu parçalar da yeniden ikiye bölünerek kasetlere alındı. Dokular Bouin fiksatifinde yirmi dört saat bekletildi. Daha sonra doku takibi uygulanarak her hayvana ait parafin bloklar hazırlandı (18, 22). Her testisten 2 blok elde edildi.

Parafin bloklar hazırlanma süresince kullanılan doku takip yönteminin basamakları aşağıda gösterilmiştir.

Tablo 3. Doku takip yöntemine ait süreler

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

%10'luk formaldehit ile tespit edilen dokular rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafin blok haline getirildi.

3.8. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) Boyasının Hazırlanışı

Kesitlerin boyanmasında kullanılacak boya çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı (18, 22, 68).

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 1 gün önce hazırlandı. Periyodik asit saf suda çözdürülerek kaynatıldı. Kaynatılan çözeltiliye bazik fuksin eklenip karıştırıldı ve 50°C'ye kadar soğutuldu. Üzerine 2 g potasyum metabisülfid eklenerek karıştırıldı. Çözelti oda sıcaklığına gelince 2 ml hidroklorik asit eklenerek karıştırıldı, sonra 2 g aktif kömür eklenip yeniden karıştırıldıktan sonra karanlık ortamda oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Çözelti, kullanılacağı zaman süzüldü.

3.9. Kesitlerin Alınması ve Boyanması

Her bloktan 30 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 kesitlerden oluşan lamalar mikroskopik inceleme için PAS+H boyası ve H-E ile boyandı.

Boyama yönteminin basamakları ve uygulama süreleri Tablo 4, Tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 4. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri.

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

Tablo 5. PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri.

Kimyasal madde	Uygulama süresi (dk)
Ksilol I	10
Ksilol II	10
%96 Alkol I	5
%96 Alkol II	5
%90 Alkol	5
%80 Alkol	5
%70 Alkol	5
Distile Su	5
Periyodik asit	5
Distile Su	2
Schiff çözeltisi	15
Çeşme suyu	2
Hematoksilen	1.5
Çeşme suyu	2
%70 Alkol	2
%80 Alkol	2
%90 Alkol	2
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	2
Ksilol I	10
Ksilol II	10
Lamların kapatılması	

3.10. Histolojik Değerlendirme

PAS+H ve H-E yöntemi ile boyanan kesitler histolojik değerlendirme için DP 70 dijital kameraya sahip Olympus BX51 ışık mikroskopunda (Olympus Corp. Tokyo, Japonya) incelenerek grupları temsil eden görüntüler elde edildi.

Hazırlanan preparatlarda, interstisyel alanlar ve seminifer tübüller ayrı ayrı değerlendirildi. Bazal membran, spermatogenik seri hücreler, Sertoli hücreleri, Leydig hücreleri, inflamatuvar hücre artışı, ödem, kanama, makrofaj yoğunluğu ve fibroblast

benzeri hücre artışı, lif, damar yapısı ve damarlardaki kanlanma dikkate alınarak mikroskopta incelendi. Elde edilen histolojik bulgular, istatistiksel bulgular ile karşılaştırıldı.

3.11. İstatistiksel Analiz

Sürekli veriler Ortalama \pm Standart Sapma olarak verilmiştir. Kategorik veriler ise yüzde (%) olarak verilmiştir. Verilerin normal dağılıma uygunluğunun araştırılmasında Shapiro Wilk's testinden yararlanılmıştır. Normal dağılım gösteren grupların karşılaştırılmasında, grup sayısı üç ve üzerinde olan durumlar için Tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) kullanılmıştır. Tekrarlı ölçümler için iki yönlü tekrarlı ölçümler ANOVA (Tek Faktör Tekrarlı) "Two way repeated measures ANOVA (One Factor Repetition)" testi kullanılmıştır. Analizlerin uygulanmasında IBM SPSS Statistics 21.0 ve Sigma Stat 3.5 programlarından yararlanılmıştır. İstatistiksel önemlilik için $p < 0.05$ değeri kriter kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmamızdan elde edilen ve hesaplanan ağırlık verileri Tablo 6-11. ve Şekil. 15-26'da verilmiştir. Işık mikroskopik olarak kontrol ve deney gruplarını oluşturan sıçan testislerinin genel görünümü saptamak için Hematoksilen-Eozin (H-E), Periyodik Asit Schiff (PAS)+Hematoksilen (H) boyası uygulanmıştır. Gözlemlere ait veriler ise mikrograflar eşliğinde aşağıda ilgili bölümde yer almaktadır.

4.1. Vücut ve Testis Ağırlığı Bulguları

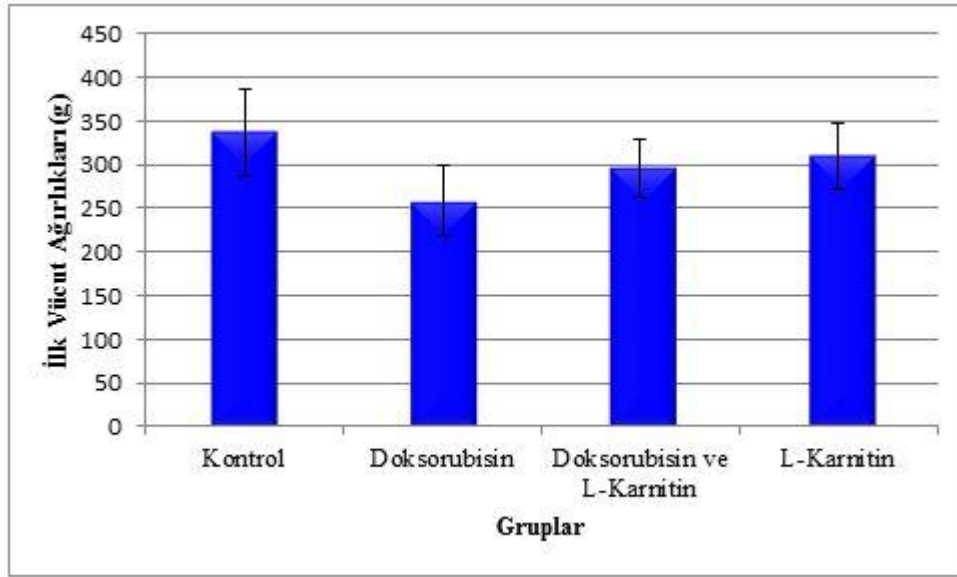
4.1.1. Vücut ağırlığı analizi

Tüm deney gruplarının deney öncesi vücut ağırlıkları ve deney sonrası vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0.001^{***}$). Kontrol grubunda deney sonrası vücut ağırlığının deney öncesinden yüksek olduğu belirlenmiş olup istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0.001^{***}$). Doksorubisin uygulanan grupta ise; deney öncesi vücut ağırlığı deney sonrası vücut ağırlığından yüksek saptanmış, istatistiksel olarak önemli fark gözlenmiştir ($p=0.009^{**}$). Doksorubisin+L-karnitin uygulanan grupta deney sonrası vücut ağırlığı deney öncesi vücut ağırlığından yüksek olup, istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p=0.036^*$). L-karnitin uygulanan grupta ise deney sonrası vücut ağırlığı deney öncesi vücut ağırlığından yüksek saptanmış ve istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0.001^{***}$) (Tablo 6, Şekil 15-17).

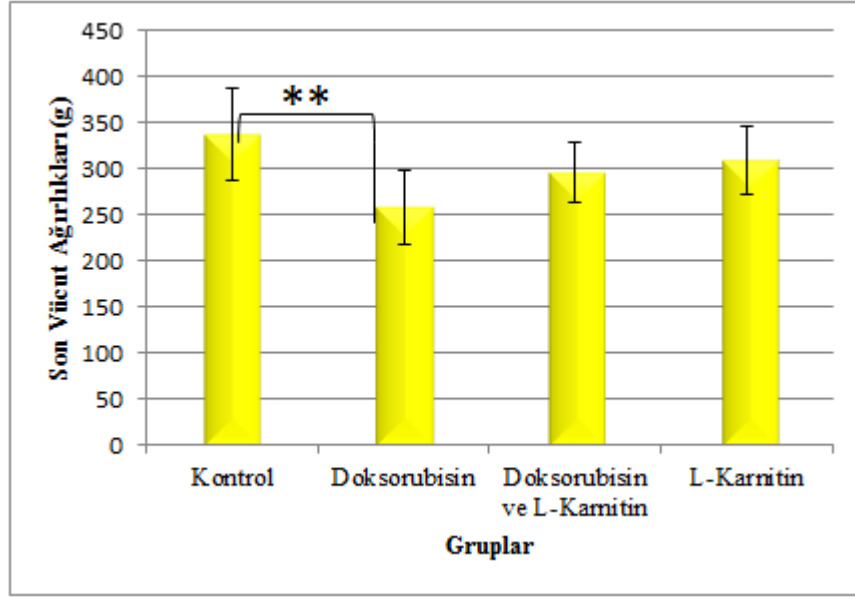
Tablo 6. Gruplara göre deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları.

Deney Öncesi ve Sonrası Vücut Ağırlığı (Ortalama ± Standart Sapma)			
Gruplar	Deney Öncesi Ortalama	Deney sonrası Ortalama	p
Kontrol	268,57±38,05	337,29±49,41	< 0.001***
Dok sorubisin	282,86±31,47	258,29±40,40	0.009 **
L-Karnitin	271,43±39,76	309,14±33,57	< 0.001***
Dok sorubisin +L-Karnitin	277,14±37,29	296,43±37,38	0.036 *

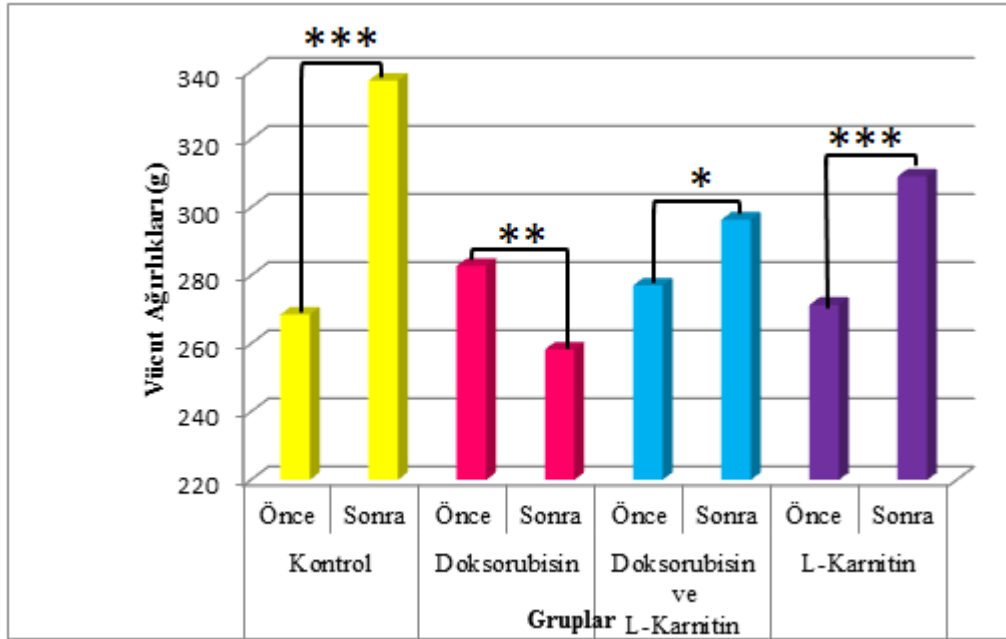
Deney öncesi vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p=0.890^{ns}$) (Şekil 15).



Şekil 15. Grupların deney öncesi vücut ağırlıkları.



Şekil 16. Grupların deney sonu vücut ağırlıkları.

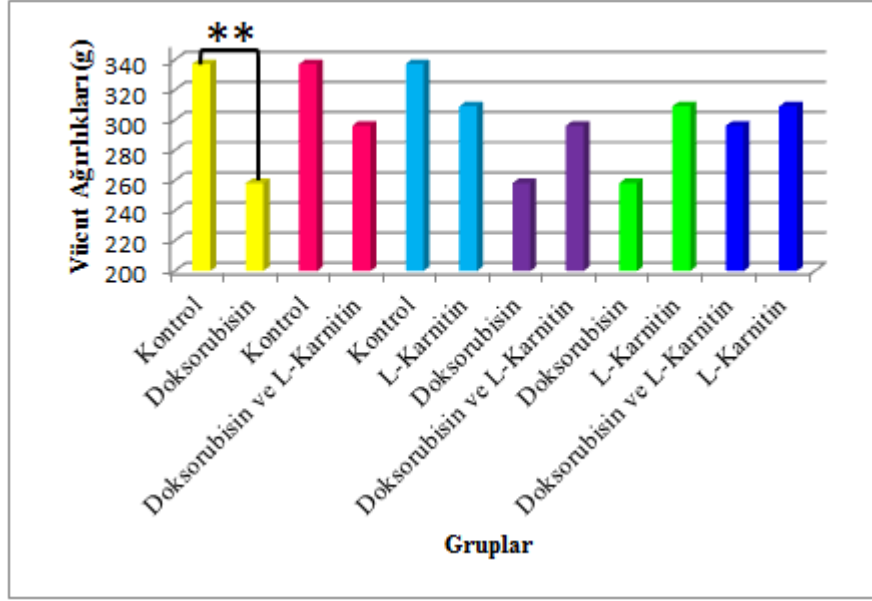


Şekil 17. Sıçanların deney öncesi ve sonrası vücut ağırlığı farkları.

Deney sonrası vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile doksorubisin grubu arasında önemli derecede fark gözlenmiştir ($p=0.001^{**}$). L-karnitin ile doksorubisin grupları arasında da fark yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlam gözlenmemiştir ($p=0.051^{ns}$). Kontrol ile doksorubisin+L-karnitin, doksorubisin+L-karnitin ile doksorubisin, kontrol ile L-karnitin ve L-karnitin ile doksorubisin+L-karnitin grupları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir (sırasıyla, $p=0.058^{ns}$, $p=0.076^{ns}$, $p=0.185^{ns}$, $p=0.544^{ns}$) (Tablo 7, Şekil 18).

Tablo 7. Gruplar arasında deney sonrası vücut ağırlığı farkları (ns= Not Significant) (Anlamlı Değil).

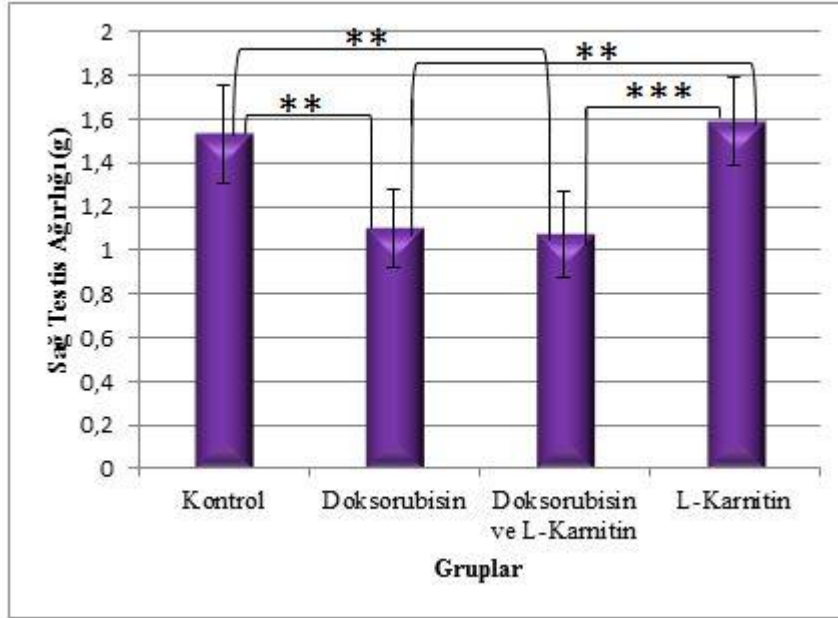
DENEY SONRASI VÜCUT AĞIRLIĞI	Kontrol	Doksorubisin	Doksorubisin + L-karnitin	L-karnitin
Kontrol	■	$p=0.001^{**}$	$p=0.058^{ns}$	$p=0.185^{ns}$
Doksorubisin	■	■	$p=0.076^{ns}$	$p=0.051^{ns}$
Doksorubisin + L-karnitin	■	■	■	$p=0.544^{ns}$
L-karnitin	■	■	■	■



Şekil 18. Sıçanların deney sonrası vücut ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması.

4.1.2. Sağ testis ağırlığı

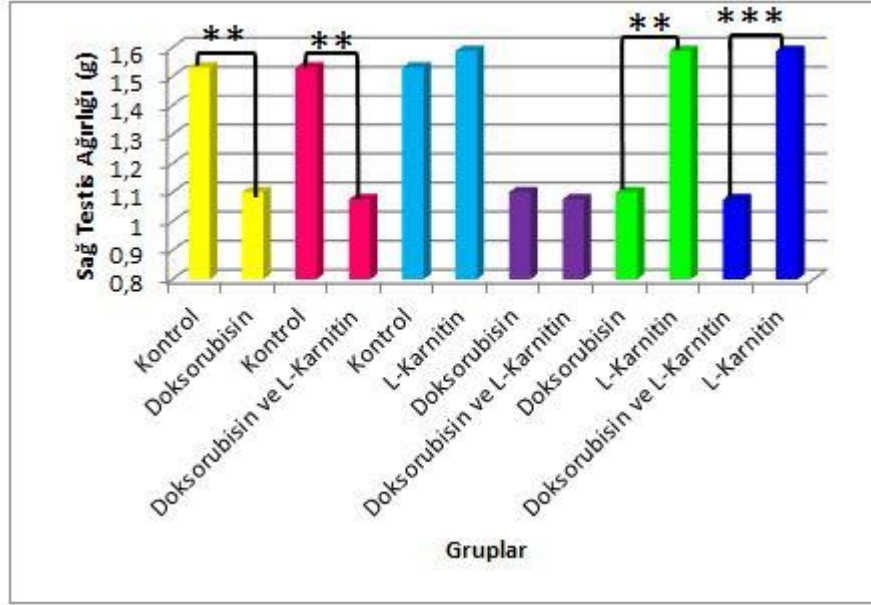
İstatiksel olarak yaptığımız analize göre gruplar arasında sağ testis ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p < 0.001^{***}$). Sağ testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile doksorubisin grubu, kontrol grubu ile doksorubisin+L-karnitin grubu, doksorubisin grubu ile L-karnitin grubu ve L-karnitin grubu ile doksorubisin+L-karnitin grubu sağ testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir (sırasıyla, $p = 0.003^{**}$, $p = 0.002^{**}$, $p = 0.001^{**}$, $p < 0.001^{***}$). Kontrol grubu ile L-karnitin grubu ve doksorubisin ile doksorubisin+L-karnitin grubu sağ testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir (sırasıyla $p = 0.950^{ns}$, $p = 0.995^{ns}$). Sağ testis ağırlığı, doksorubisin+L-karnitin grubunda en düşük değere sahipken, L-karnitin grubunda en yüksek değere sahiptir (Tablo 8, Şekil 19,20).



Şekil 19. Grupların deney sonu sağ testis ağırlıkları.

Tablo 8. Gruplar arasında deney sonu sağ testis ağırlığı farkları.

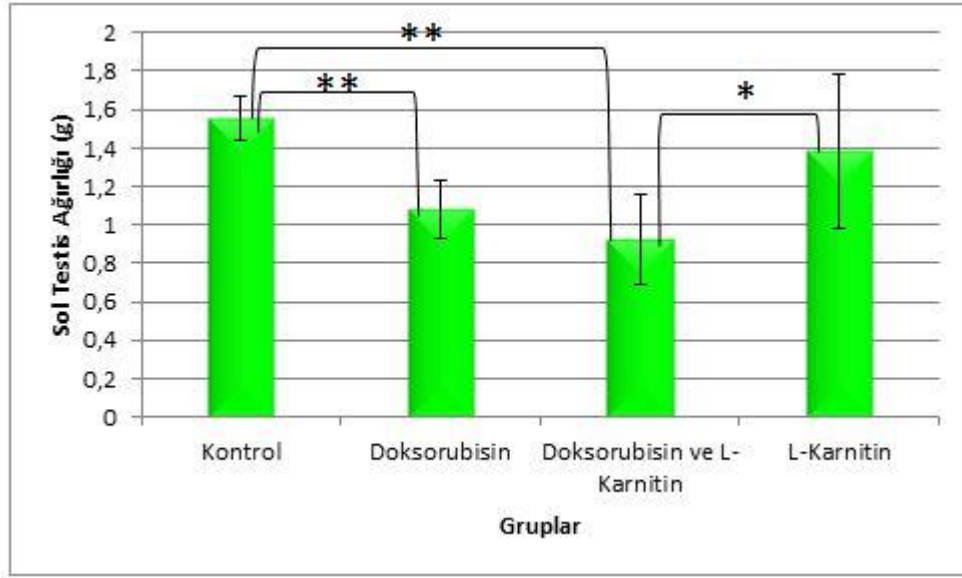
SAĞ TESTİS AĞIRLIĞI	Kontrol	Doksorubisin	Doksorubisin + L-karnitin	L-karnitin
Kontrol	■	p=0.003**	p=0.002**	p=0.950 ^{ns}
Doksorubisin	■	■	p=0.995 ^{ns}	p=0.001**
Doksorubisin + L-karnitin	■	■	■	p< 0.001***
L-karnitin	■	■	■	■



Şekil 20. Sıçanların deney sonrası sağ testis ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması.

4.1.3. Sol testis ağırlığı

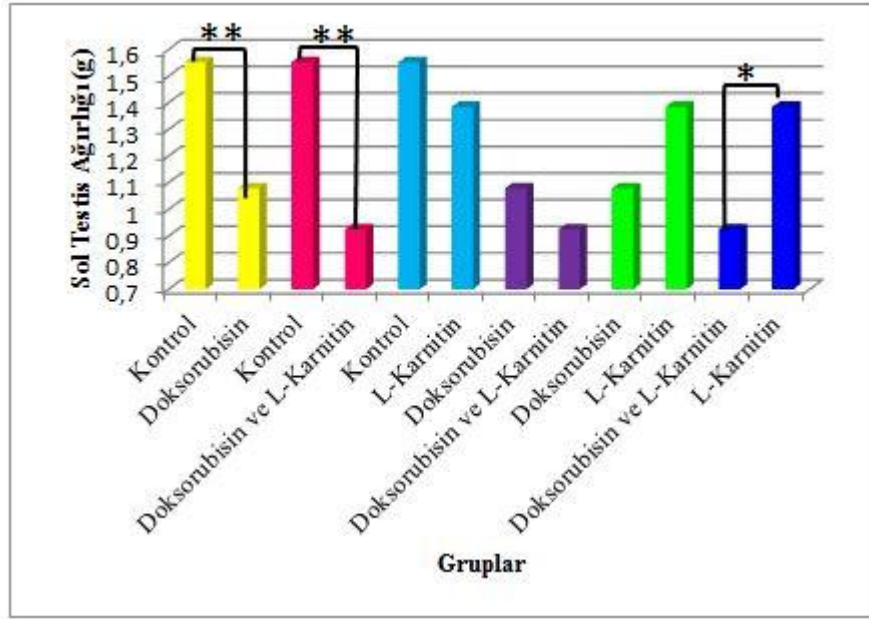
Yapılan istatikselsel analizlere göre gruplar arasında sol testis ağırlıkları karşılaştırıldığında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p < 0.001^{***}$). Gruplar arasında sol testis ağırlıkları karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile doksorubisin grubu, kontrol grubu ile doksorubisin+L-karnitin grubu ve L-karnitin grubu ile doksorubisin+L-karnitin grubu sol testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir (sırasıyla $p = 0.009^{**}$, $p = 0.001^{**}$, $p = 0.012^{*}$). Kontrol grubu ile L-karnitin grubu, doksorubisin ile doksorubisin+L-karnitin grubu ve doksorubisin ile L-karnitin grubu sol testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir (sırasıyla $p = 0.609^{ns}$, $p = 0.670^{ns}$, $p = 0.136^{ns}$). Sol testis ağırlığı, doksorubisin+L-karnitin grubunda en düşük değere sahipken, kontrol grubunda en yüksek değere sahiptir (Tablo 9, Şekil 21,22).



Şekil 21. Grupların deney sonu sol testis ağırlıkları.

Tablo 9. Gruplar arasında deney sonu sol testis ağırlığı farkları.

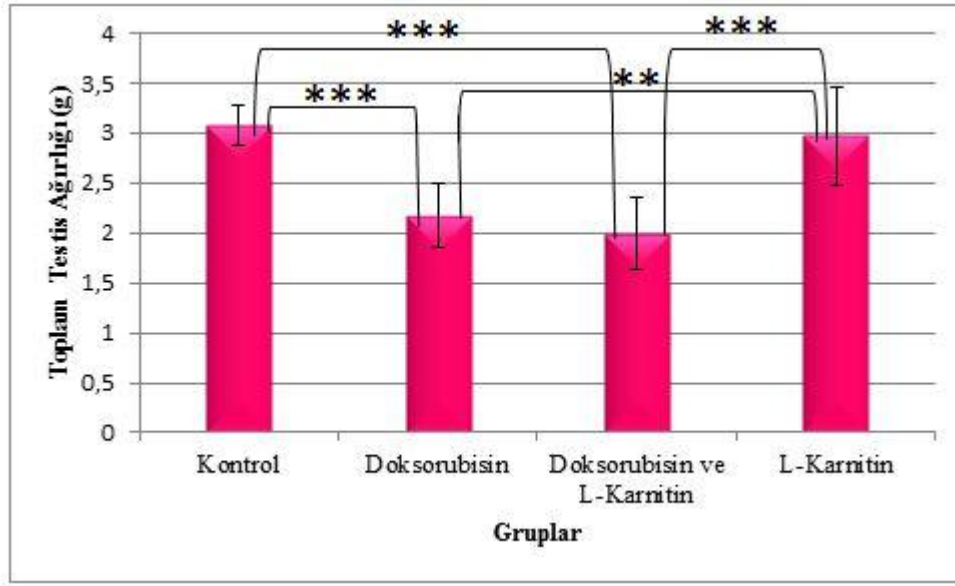
SOL TESTİS AĞIRLIĞI	Kontrol	Dokсорubisin	Dokсорubisin + L-karnitin	L-karnitin
Kontrol	■	p=0.009**	p=0.001**	p=0.609 ^{ns}
Dokсорubisin	■	■	p=0.670 ^{ns}	p=0.136 ^{ns}
Dokсорubisin + L-karnitin	■	■	■	p=0.012*
L-karnitin	■	■	■	■



Şekil 22. Sıçanların deney sonrası sol testis ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması.

4.1.4. Toplam testis ağırlığı

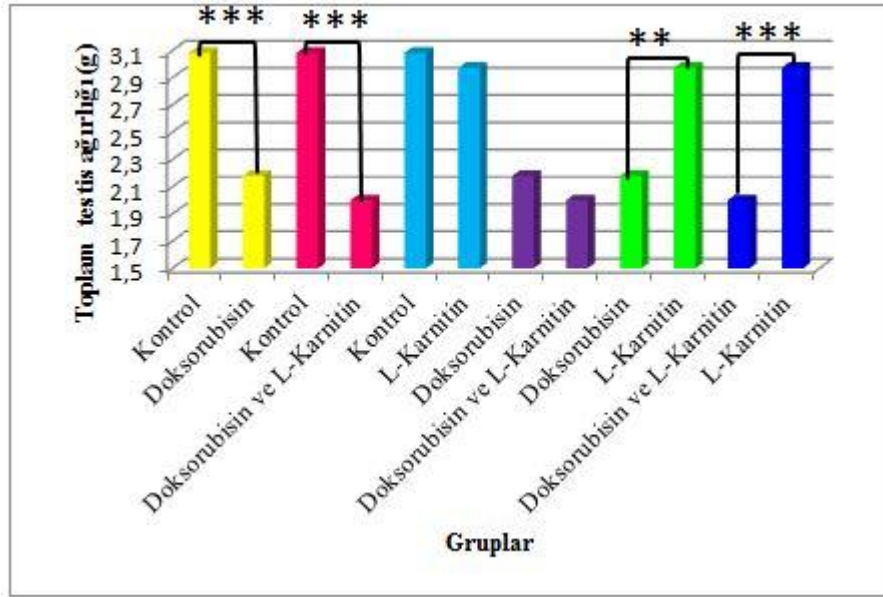
Gruplar arasında toplam testis ağırlıkları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde anlamlı bir fark saptanmıştır ($p < 0,001^{***}$). İstatistiksel olarak gruplar arasında toplam testis ağırlıkları karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile doksorubisin grubu, kontrol grubu ile doksorubisin+L-karnitin grubu, doksorubisin grubu ile L-karnitin grubu ve L-karnitin grubu ile doksorubisin+L-karnitin grubu toplam testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir (sırasıyla, $p < 0,001^{***}$, $p < 0,001^{***}$, $p = 0,002^{**}$, $p < 0,001^{***}$). Kontrol grubu ile L-karnitin grubu ve doksorubisin ile doksorubisin+L-karnitin grubu toplam testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark saptanmamıştır (sırasıyla, $P = 0,939^{ns}$, $P = 0,785^{ns}$) (Tablo 10, Şekil 23,24).



Şekil 23. Grupların deney sonu toplam testis ağırlıkları.

Tablo 10. Gruplar arasında deney sonu toplam testis ağırlığı farkları.

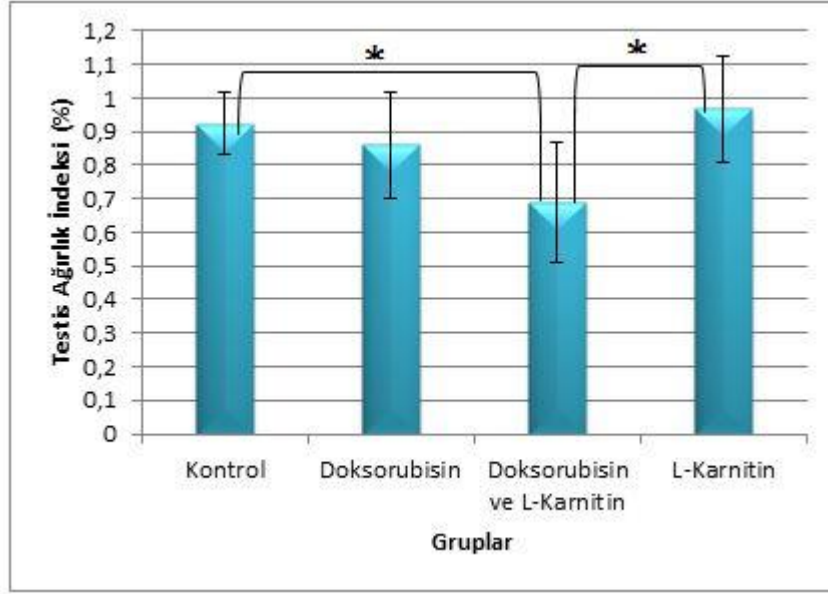
TOPLAM TESTİS AĞIRLIĞI	Kontrol	Doksorubisin	Doksorubisin + L-karnitin	L-karnitin
Kontrol	■	p< 0.001***	p< 0.001***	p=0.939 ^{ns}
Doksorubisin	■	■	p=0.785 ^{ns}	p=0,002**
Doksorubisin + L-karnitin	■	■	■	p< 0.001***
L-karnitin	■	■	■	■



Şekil 24. Sıçanların deney sonrası toplam testis ağırlıklarının gruplar arasında karşılaştırılması.

4.1.5. Testis ağırlık indeksi (TAİ)

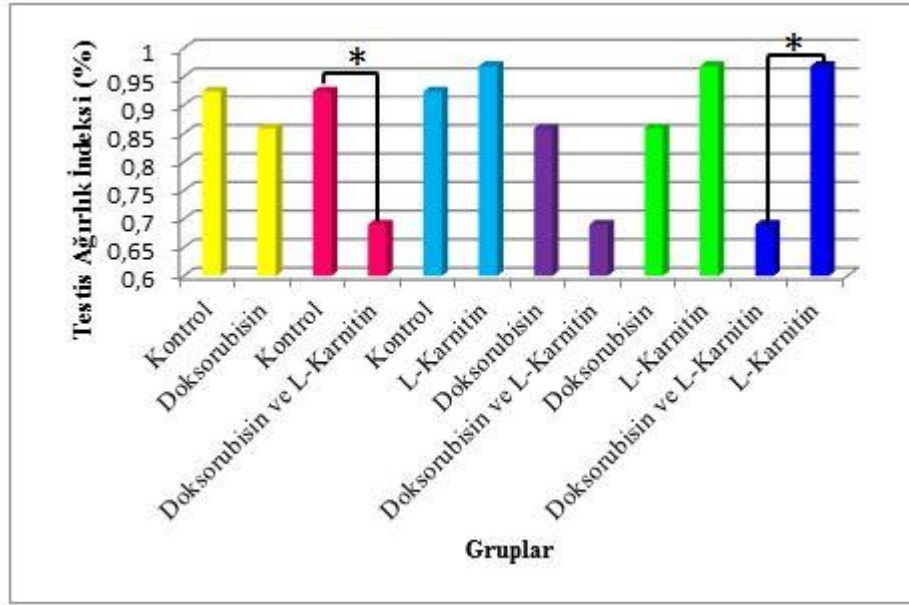
Yapılan istatistiksel karşılaştırmada TAİ açısından gruplar arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p=0.011^*$). İstatistiksel olarak gruplar arasında TAİ değerleri karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile doksorubisin+L-karnitin grubu ve L-karnitin grubu ile doksorubisin+L-karnitin grubu TAİ değerleri arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir (sırasıyla, $p=0.037^*$, $p=0.010^*$) (Tablo 11, Şekil 25,26).



Şekil 25. Grupların deney sonu testis ağırlık indeksleri.

Tablo 11. Gruplar arasında deney sonu testis ağırlık indeksi farkları.

TAİ	Kontrol	Doksorubisin	Doksorubisin + L-karnitin	L-karnitin
Kontrol	■	p=0.852 ^{ns}	p=0.037*	p=0.945 ^{ns}
Doksorubisin	■	■	p=0.183 ^{ns}	p=0.537 ^{ns}
Doksorubisin + L-karnitin	■	■	■	p=0.010*
L-karnitin	■	■	■	■



Şekil 26. Sıçanların deney sonrası testis ağırlık indekslerinin gruplar arasında karşılaştırılması.

4.2. Histolojik Bulgular

Işık mikroskobunda kontrol ve deney gruplarını oluşturan sıçan testislerinde genel görünümü saptamak için Hemotoksilen-Eozin (H-E) boyası, Periyodik Asit-Schiff (PAS + H) boyası yapıldı.

4.2.1. Kontrol grubu

Kontrol grubunu oluşturan sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, bazal membran, seminifer tübül yapıları ve interstisyel alan normal yapıda gözlendi (Şekil 27). İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, çok sayıda çekirdekçik içeren eksantrik yerleşimli nükleusları ve damarların etrafında gruplar halinde yerleşimleriyle düzgün gözlendi. İnterstisyel alandaki damarlar normal yapıda gözlendi (Şekil 28). PAS + H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran ve tunika albuginea yapısı normal yapıda gözlendi. Makrofajlar ise PAS pozitif sitoplazmaları ile ayırt edilerek sayıları ve görünüşleri normal gözlendi (Şekil 30). Tübül duvarı, Sertoli hücreleri, belirgin

spermatogonyumları ve spermatogenik seri hücreleri ile normal yapıda gözlemlendi. Geç spermatidler, kuyruk lümeninde, baş tübül duvarına doğru, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olarak normal görünümdeydiler (Şekil 29).

4.2.2. Doksorubisin grubu

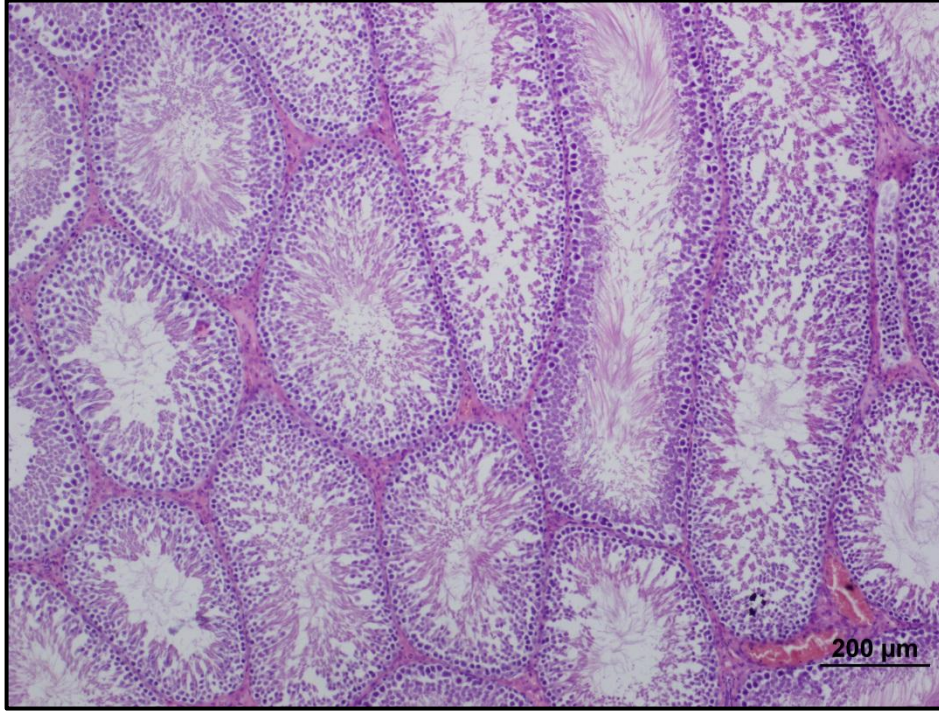
Doksorubisin verilen deney grubunu oluşturan sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik incelemelerinde seminifer tübüllerde hasar ve hücrel dejenerasyon gözlemlendi (Şekil 31). Doksorubisin grubunda testis dokusunda seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde özellikle spermatogonyumlarda dejenerasyonlar ve hücrel kayıplar (Şekil 32) gözlemlendi. Bazı tübüllerin lümenlerinin boş olduğu ve lümenlerde bulunan spermatozoonların dejenerasyon olduğu gözlemlendi (Şekil 32). Seminifer tübül duvarında vakuolizasyon (Şekil 33) gözlemlendi. Tübül lümenine olgunlaşmamış hücrelerin dökülmesi (Şekil 33) ve seminifer tübül çapında azalma gözlemlendi. Bazal membrana oturmuş spermatogonyumların sayısının oldukça az olması, kromatin yapısının heterokromatik hale dönüşmesi ve çekirdek sınırlarının düzensiz oluşu dikkati çekti. Spermatogenik hücrelerin bazal membrandan ayrıldığı ve bazal membranda kondensasyon (Şekil 34) gözlemlendi. İnterstisyel alanda bulunan makrofaj ve Leydig hücreleri normal yapı ve sayıda görüldü (Şekil 34). İnterstisyel alanda ödem, kanama ve polimorf hücre gözlemlenmedi.

4.2.3. L-karnitin grubu

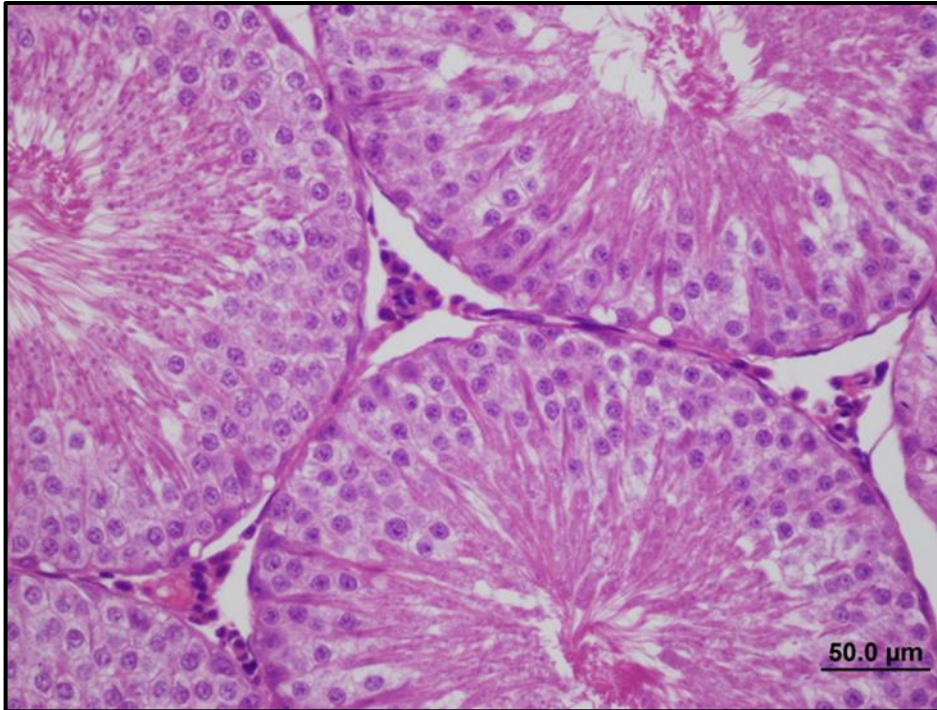
L-karnitin verilen deney grubunun sıçan testis örneklerinin ışık mikroskopik incelenmesinde ise, spermatogenezin normal devam ettiği gözlemlendi (Şekil 35). İnterstisyel alandaki Leydig hücreleri, damar yapıları ve makrofajlar normal görünümdeydi (Şekil 36). Bazal membran, seminifer tübül yapıları ve interstisyel alan kontrol grubuna benzer bir yapıda görüldü (Şekil 37). PAS pozitif boyanmış normal bazal membran yapısı görüldü (Şekil 38). Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücre serileri; spermatogonyum, primer spermatosit, spermatid hücresi ve Sertoli hücresi, tübül lümeninde ise spermatozoonlar normal olarak görüldü (Şekil 38).

4.2.4. Doksorubisin + L-karnitin grubu

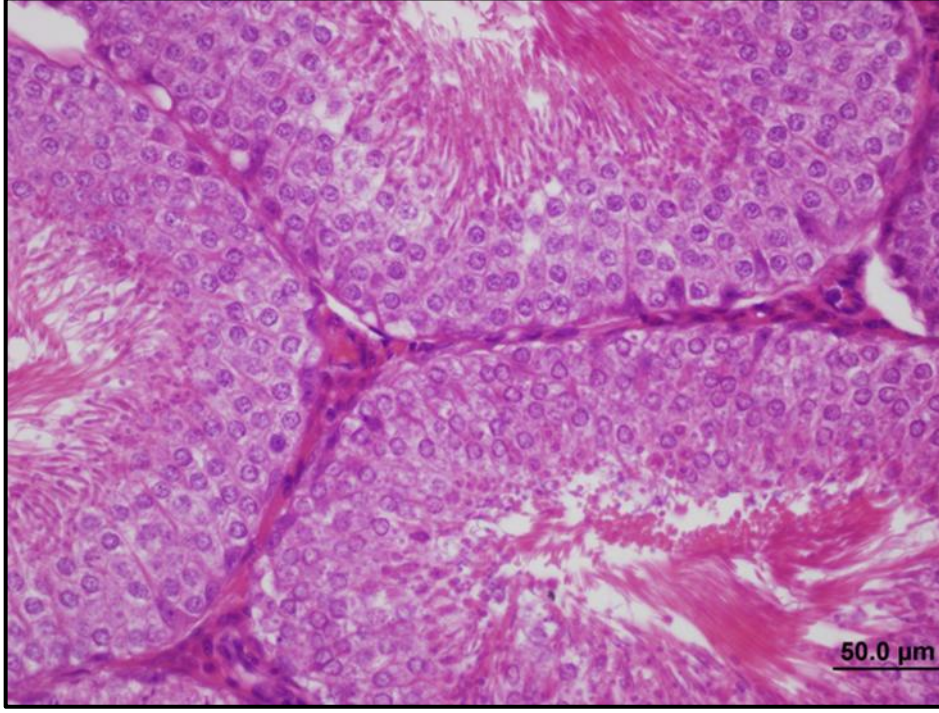
Doksorubisin ile karnitinin birlikte verildiği grupların sıçan testis örnekleri üzerinde yapılan ışık mikroskopik incelemelerde, birkaç tübülde hasarın az da olsa devam ettiği görülmekle birlikte, oldukça azalmış tübüler hasar, korunmuş spermatogenik hücreler ile spermatogenezin devam ettiği görüldü (Şekil 39). İnterstisyel alanda normal görünümlü Leydig hücreleri ve PAS pozitif sitoplazmalı normal görünümlü makrofajlar gözlemlendi (Şekil 40). Tek başına doksorubisin verilen gruplarda spermatogonyumlarda görülen hücresel bozukluklar, bu gruplarda nadir görüldü. PAS pozitif boyanmış bazal membran yapısı normal görüldü (Şekil 41). Normale yakın korunmuş spermatogenik hücreler ile birlikte spermatogenez devam etmekteydi (Şekil 42).



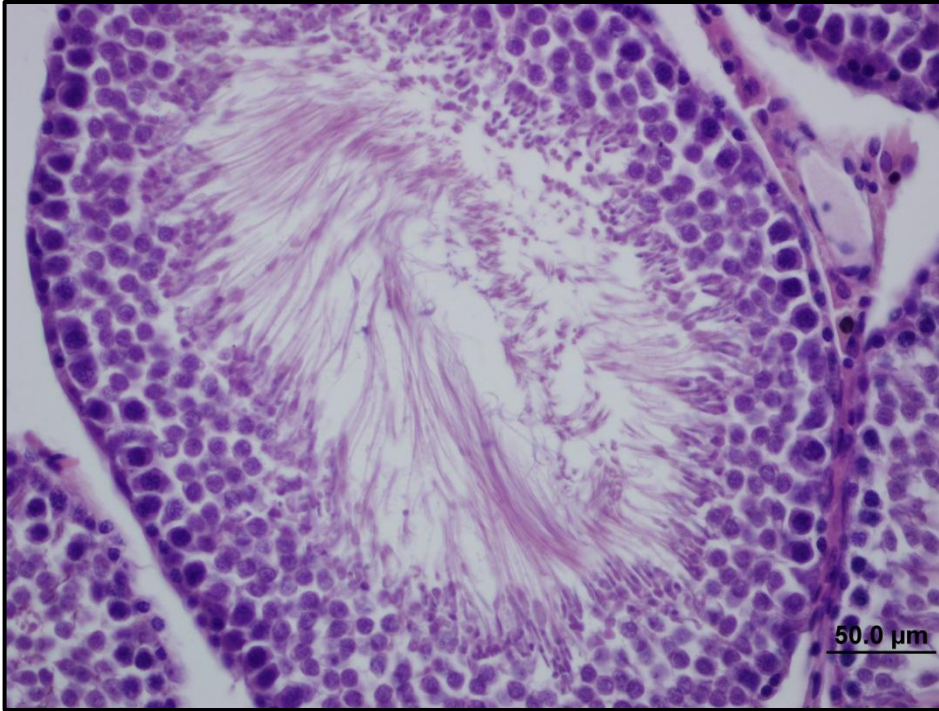
Şekil 27. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve spermatogenik hücreler görülmekte (bar: 200µm, H-E).



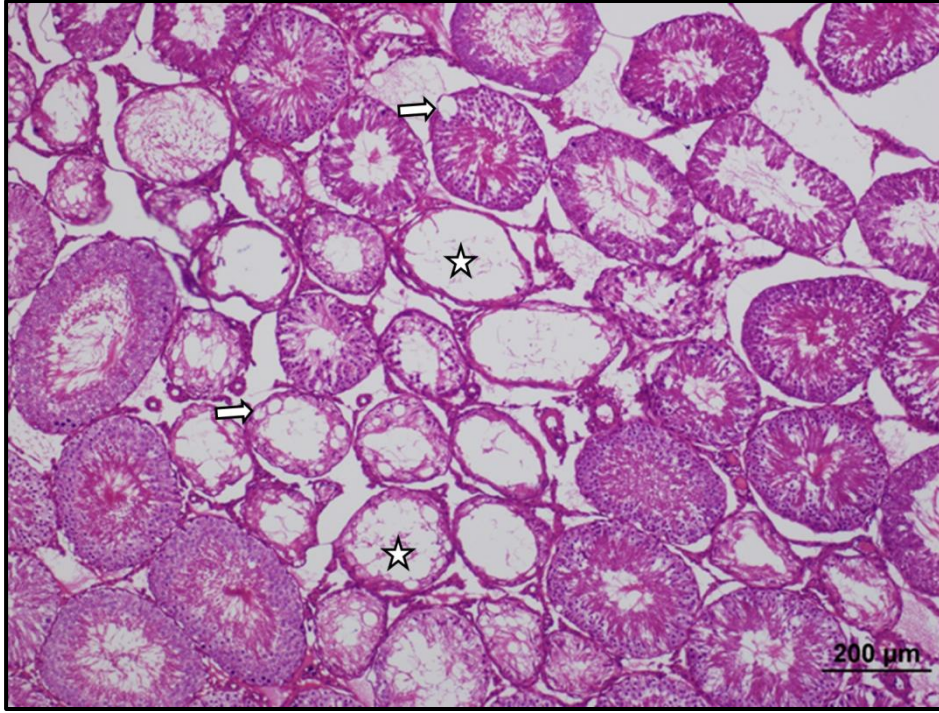
Şekil 28. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve spermatogenik hücreler görülmekte (bar: 50 µm, H-E).



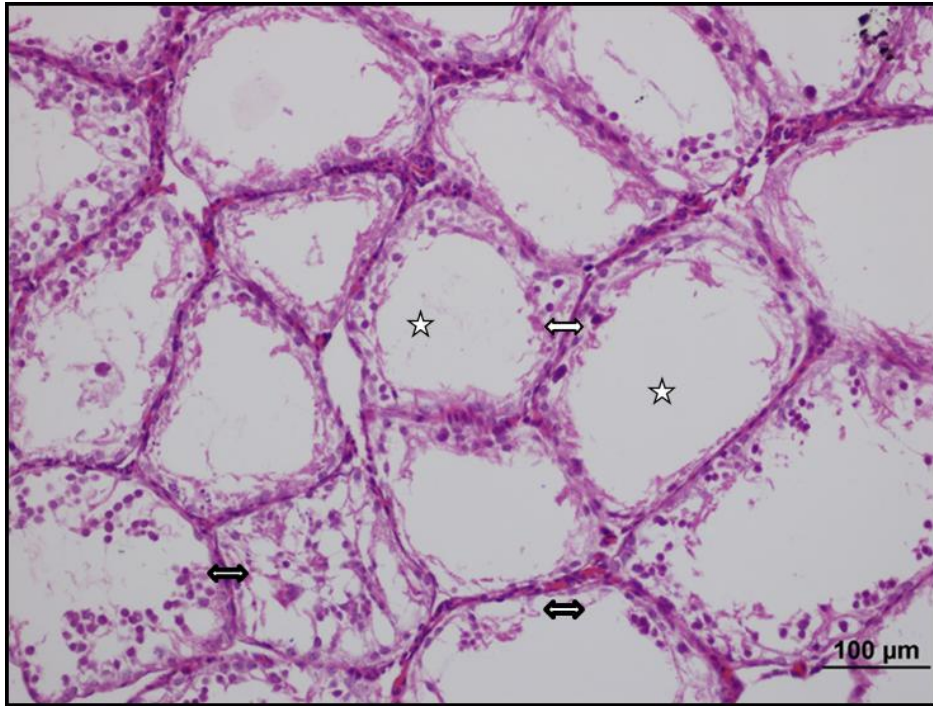
Şekil 29. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve spermatogenik hücreler görülmekte (bar: 50 μm, H-E).



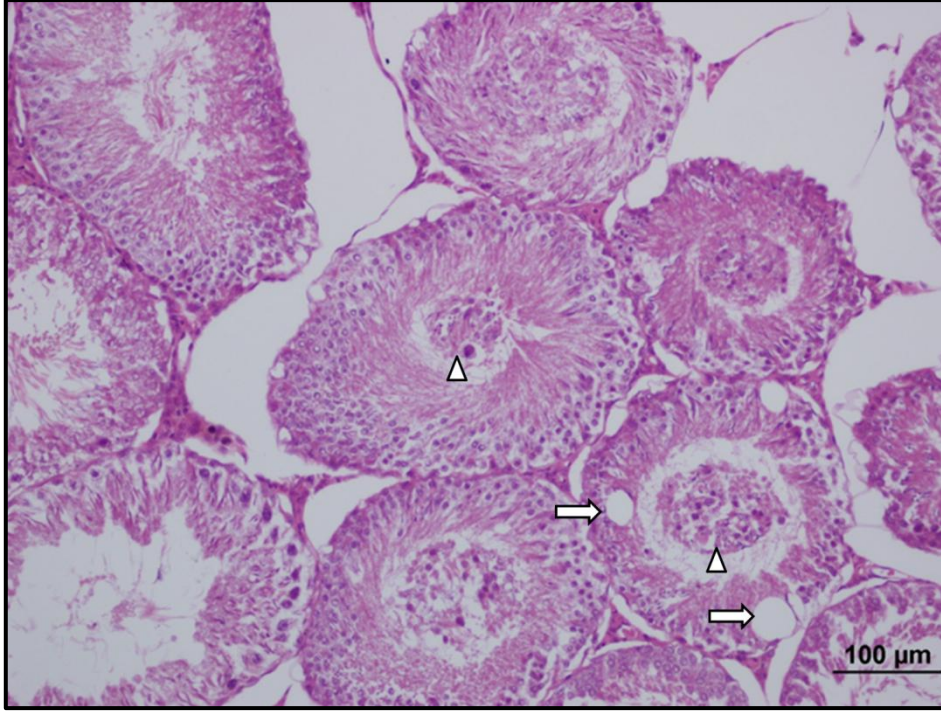
Şekil 30. Kontrol grubu sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve spermatogenik hücreler görülmekte (bar: 50 μm, PAS-H).



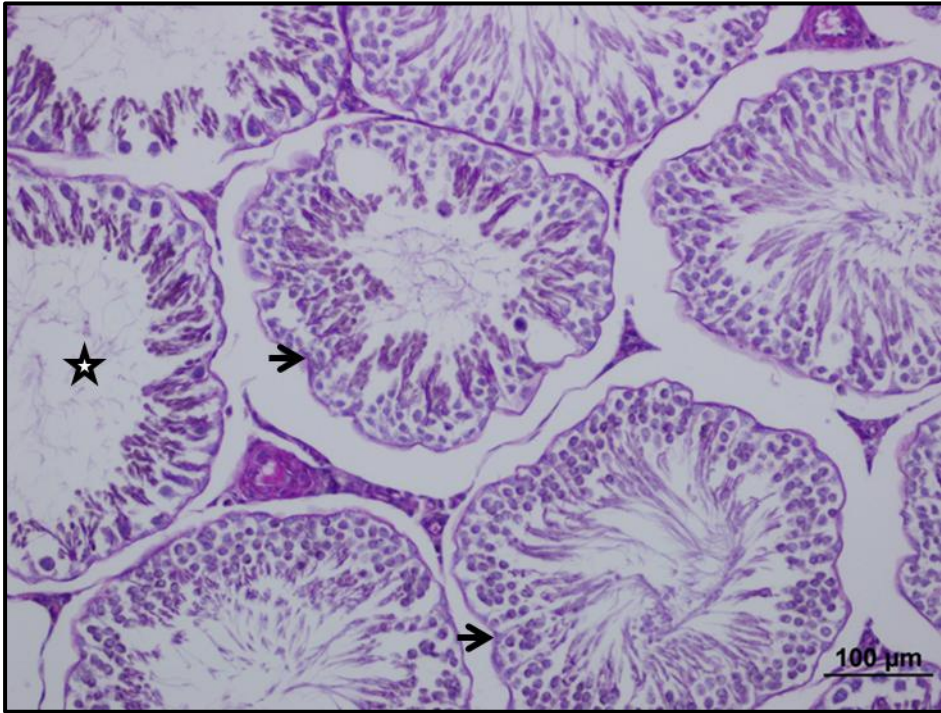
Şekil 31. 4 mg/kg dokсорubisin verilen sıçан testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücrelerde dejenerasyonlar, hücre kayıpları ve seminifer tübül epitelinde dejenerasyon (☆), tübül duvarında vakuolizasyon (⇔) dikkati çekmektedir (bar: 200 µm, H-E).



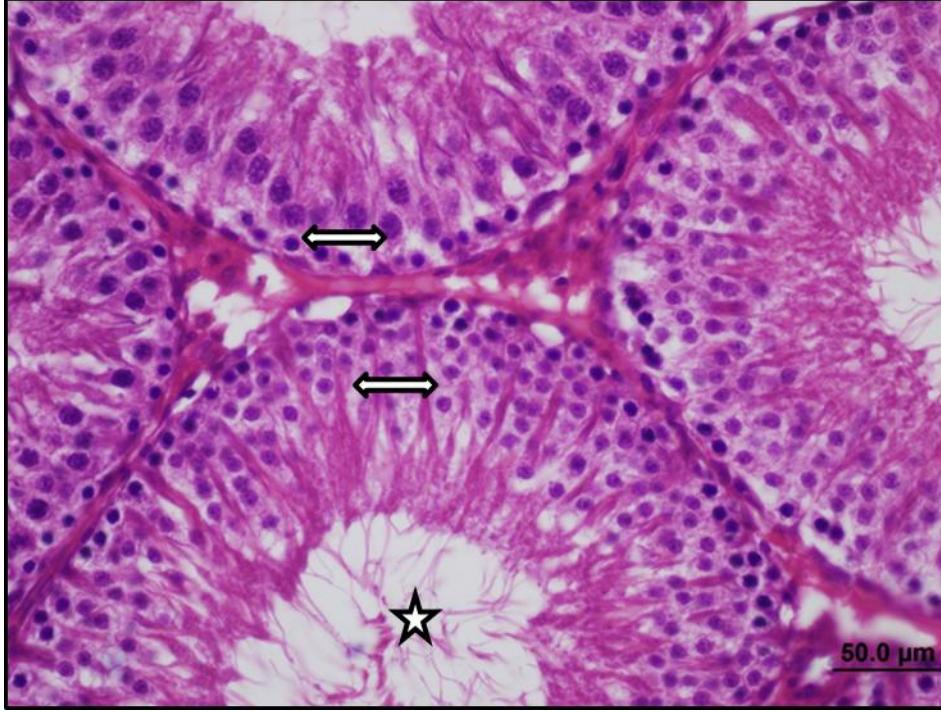
Şekil 32. Dokсорubisin verilen gruba ait testis kesitinde spermatogenik hücrelerde yoğun dejenerasyonlar, hücre kayıpları (⇔) ve seminifer tübül epitelinde dejenerasyon (☆) görülmektedir (bar: 100 µm, H-E).



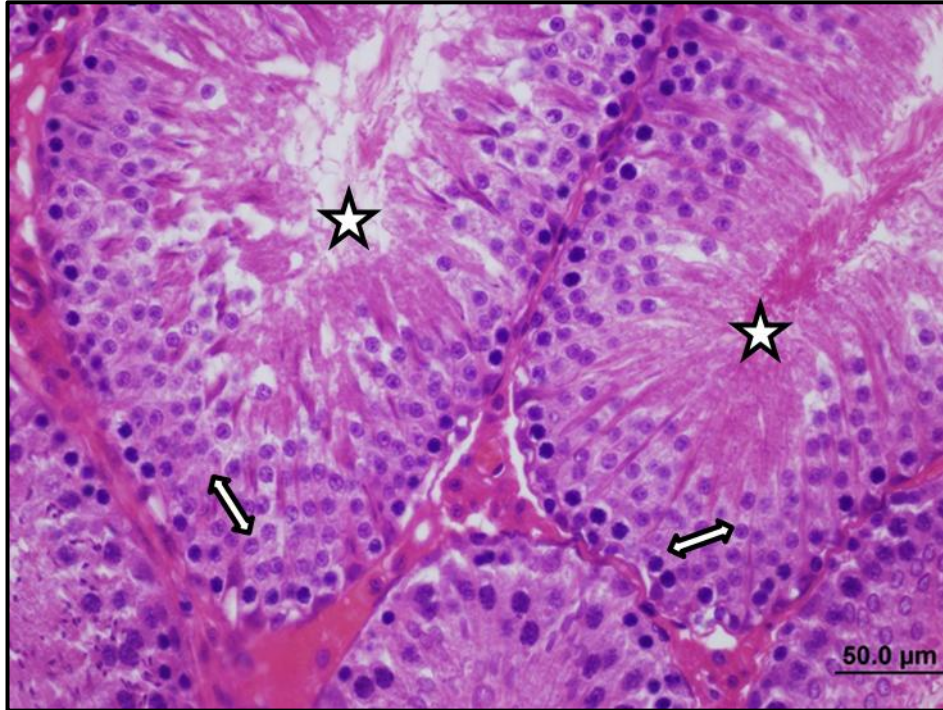
Şekil 33. Dokсорubisin verilen sıçан testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Spermatojenik hücrelerde dejenerasyonlar ve hüresel kayıplar, tübül duvarında vakuolizasyon (\Rightarrow), seminifer tübül lümenine dökülen hücreler (\triangleright) dikkati çekmektedir (bar: 100 μ m, H-E).



Şekil 34. Dokсорubisin verilen gruba ait testis kesitinde, spermatojenik hücrelerde dejenerasyon (\star), bazal membranda ondülasyon (\rightarrow) görölmektedir (bar: 100 μ m, PAS-H).



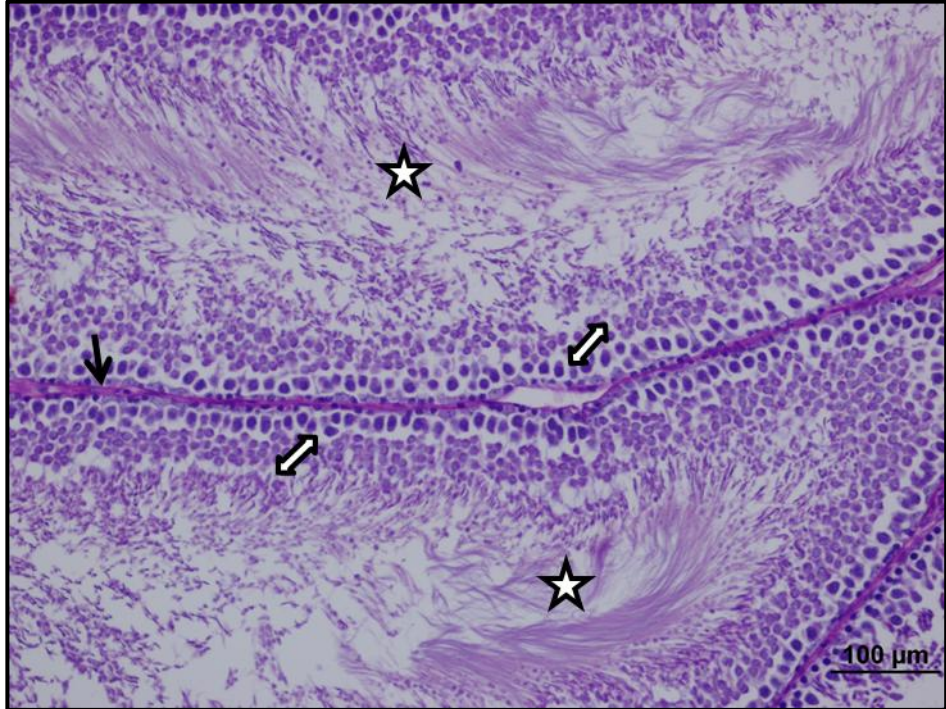
Şekil 35. 200 mg/kg L-karnitin verilen gruba ait testis kesitinde normal yapıda seminifer tübüller, spermatogenik hücreler ve devam eden spermatogenez (\Leftrightarrow), tübül lümeninde spermatozoonlar (☆) görülmektedir (bar: 50 μ m, H-E).



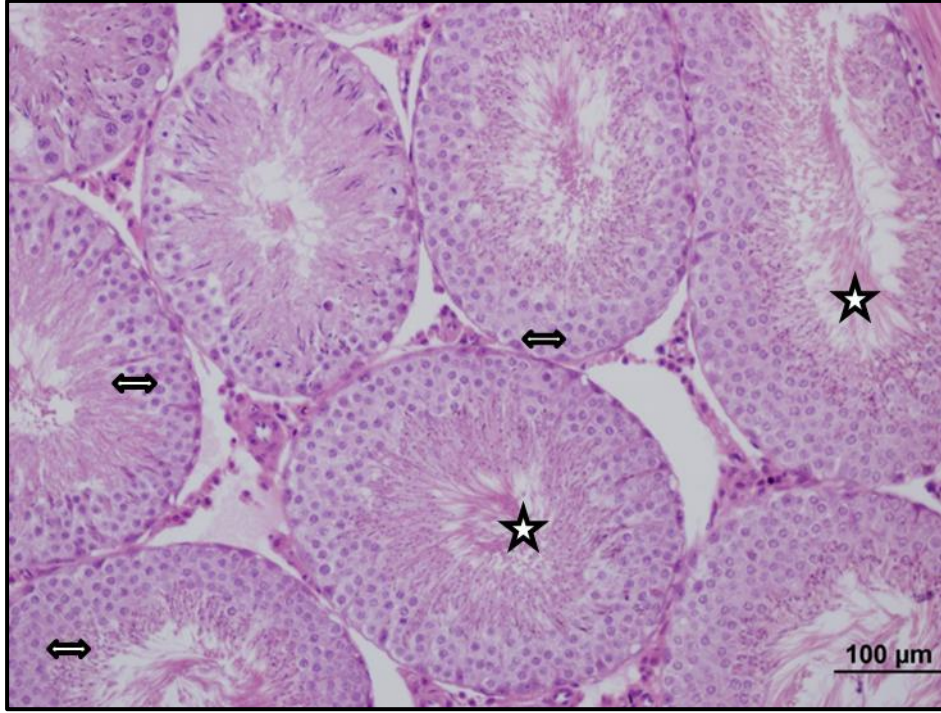
Şekil 36. L-karnitin grubuna ait testis kesitinde, seminifer tübül duvarındaki spermatogenik hücreler (\Leftrightarrow) ve tübül lümenindeki spermatozoonlar (☆) normal histolojik yapıda görülmekte (bar: 50 μ m, H-E).



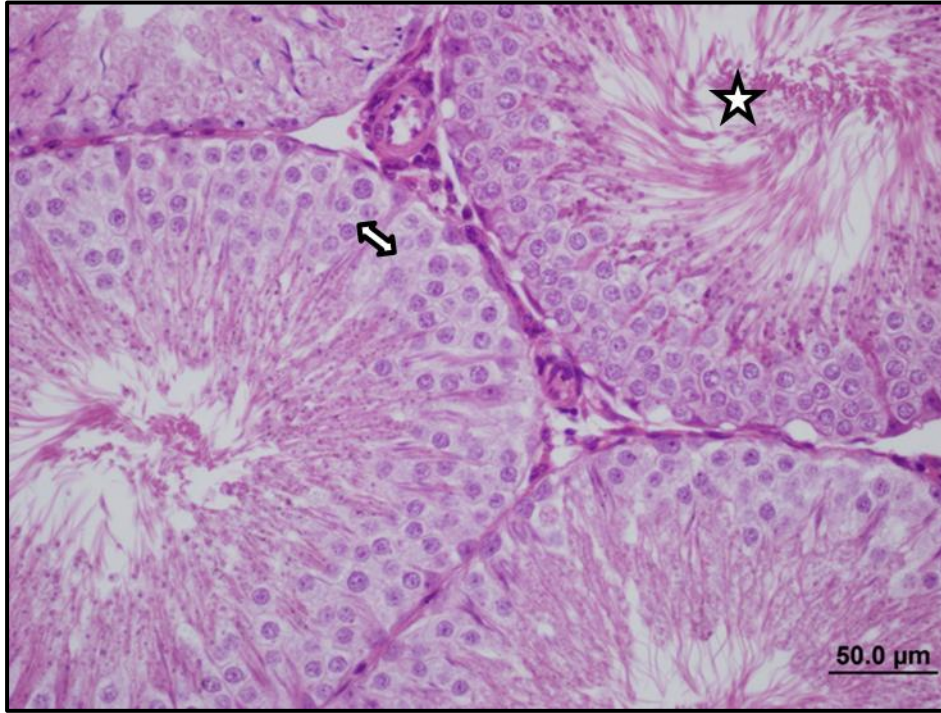
Şekil 37. L-karnitin verilen sıçan testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. Spermatogenik hücreler ve seminifer tübüller normal histolojik yapıda görülmekte (bar: 200 µm, PAS+H).



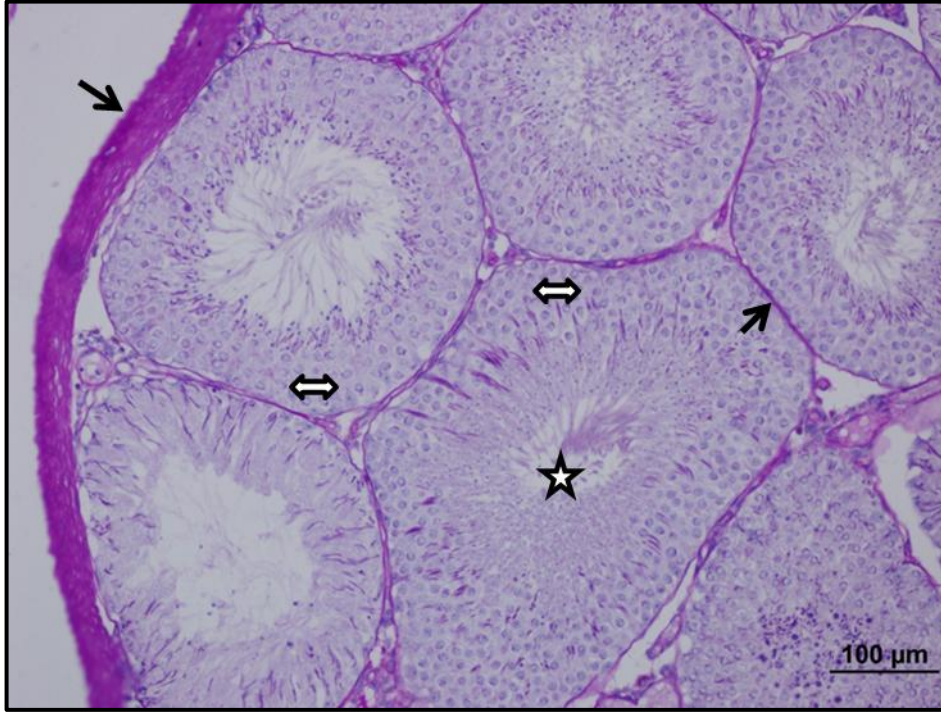
Şekil 38. 200 mg/kg L-karnitin verilen testis dokusunun ışık mikroskopik görüntüsü. PAS pozitif bazal membran yapısı (→), seminifer tübül lümeninde spermatozoonlar (☆), seminifer tübüldeki normal yapıdaki spermatogenik hücre serileri ve spermatogenez (↔) görülmektedir (bar: 100 µm, PAS+H).



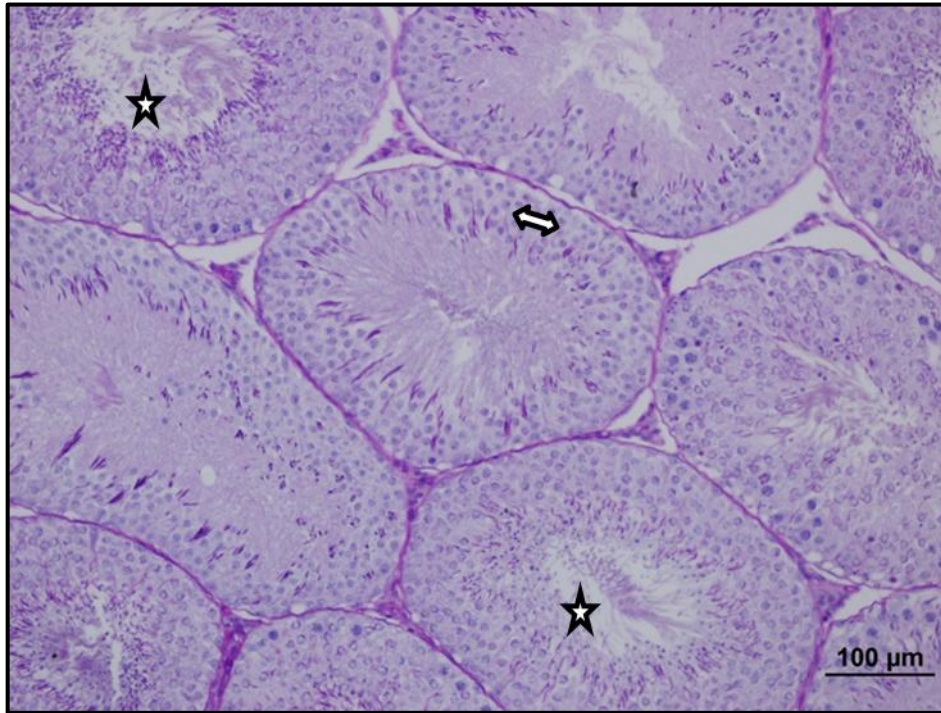
Şekil 39. 4 mg/kg dokсорubisin ve 200 mg/kg L-karnitin verilmiş sıçan testis dokusunda azalmış tübüler hasar, korunmuş spermatogenik hücreler ile birlikte devam eden spermatogenez (↔) ve tübül lümeninde spermatozoonlar (☆) dikkat çekmektedir (bar: 100 µm, H-E).



Şekil 40. Dokсорubisin+L-karnitin grubuna ait testis kesitinde normal yapıda seminifer tübüller, korunmuş spermatogenik hücreler (↔) ve tübül lümeninde spermatozoonlar (☆) görülmektedir (bar: 50 µm, H-E).



Şekil 41. Doksorubisin+L-karnitin grubuna ait testis kesitinde normal yapıda seminifer tübüller, korunmuş spermatogenez hücreleri ve devam eden spermatogenez (\leftrightarrow), tübül lümeninde spermatozoonlar (\star) ve bazal membranların ondülasyon göstermediği (\rightarrow) görülmektedir (bar: 100 μ m, PAS-H).



Şekil 42. Doksorubisin+L-karnitin grubuna ait testis kesitinde, korunmuş tübüller ve spermatogenez hücreleri (\leftrightarrow), tübül lümeninde spermatozoonlar (\star) görülmektedir (bar: 100 μ m, PAS-H).

5. TARTIŞMA

Doksoşubisinin testis histolojisi üzerinde neden olduğu değişiklikler birçok çalışma ile ortaya konulmuştur (47, 80, 89, 99). Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular doksoşubisinin testisler üzerinde bazı olumsuz etkilerinin olduğunu ve doksoşubisinin L-karnitin ile birlikte verilmesi sonucunda testislerde belirli ölçüde bu olumsuz etkilerde düzelme sağlandığı gösterilmiştir.

Çalışmamızın vücut ağırlığı bulguları incelendiğinde doksoşubisinin vücut ağırlığı üzerinde azaltıcı bir etkisinin olduğu görülmektedir. Ancak, doksoşubisin+L-karnitin ve L-karnitin gruplarında artış gözlenmiştir. Bu bulgular bize L-karnitin vücut ağırlığını artırıcı bir etkisinin olduğunu göstermektedir.

Das ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde 28 gün boyunca yaptığı çalışmada 3 mg/kg intraperitoneal olarak doksoşubisin uygulanmış olup vücut ve testis ağırlığında azalma, anormal sperm sayısında artış, sperm sayısı ve hareketinde azalma gözlemlenmiştir. Bizim yaptığımız çalışmada da bu çalışmaya paralel olarak doksoşubisin verilen hayvanlarda 28 gün sonunda yapılan ölçümlerde doksoşubisinin vücut ve testis ağırlığını azalttığı gözlenmiştir (40).

Sridevi ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada 24 saatte bir intraperitoneal olarak 0.5 mg/kg doksoşubisin uygulanmıştır. 6 gün sonunda dokuları alınan hayvanların testis ağırlıklarında azalma, vücut ağırlıklarında azalma gözlemlenmiştir. Bunun yanı sıra testisler incelendiğinde Leydig hücrelerinde dejenerasyon, seminifer tübüllerde vakuolizasyon ve dejenerasyon gözlemlenmiştir (126).

Adam ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, haftada 3 doz olmak üzere toplam 12 doz 1 mg/kg doksoşubisin intraperitoneal olarak ratlara uygulanmıştır. Doksoşubisin uygulanan grupta testis ağırlığında %50'ye varan azalma, vücut ağırlığında kademeli olarak azalma ve sperm sayısında önemli derecede azalma gözlemlenmiştir. Bu çalışma

ile doksorubisinin spermatogenik aktiviteye inhibitör etkisi yaptığı ortaya konmuştur (5).

Saalu ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 10 mg/kg intraperitoneal olarak tek doz doksorubisin uygulandıktan 8 hafta sonra yapılan incelemede doksorubisinin testis dokusuna hasar verdiği ortaya konmuştur. Vücut ağırlığında, testis ağırlığı ve hacminde azalma, sperm sayısı ve hareketinde istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma gözlemlenmiştir. Yapılan bu çalışma ile doksorubisinin testiküler oksidatif strese neden olduğu belirtilmiştir (107).

Gholizad ve arkadaşlarının 2009 yılında yaptığı bir çalışmada doksorubisinin sağ ve sol testis ile epididimis ağırlığında azalmaya, kontrol grubuna kıyasla vücut ağırlığında azalmaya sperm morfolojisinde anomaliye, sperm sayısında azalmaya yol açtığı gözlemlenmiştir (57).

2013 yılında El Sayyad ve arkadaşlarının yayınladığı bir çalışmada adriyamisin (doksorubisin) i.p 0.2 mg/kg 30 gün boyunca uygulanmıştır. Doksorubisinin testis ağırlığına istatistiksel olarak bir etki yapmadığı fakat çok sayıda germ hücresinin ölümüne yol açtığı aynı zamanda sperm sayısında ve hareketinde azalmaya yol açtığı gözlemlenmiştir. İntersitisyel alanda vakuolizasyona bağlı olarak ödem tespit edilip dejenere olmuş Leydig hücrelerinin sayısında artış belirlenmiştir (47). Doksorubisinin testis ağırlığı üzerine olan etkisi çeşitli çalışmalarla belirtilmiştir. Farklı doz ve süreler uygulanmış olsa da çalışmaların çoğunda doksorubisinin testis ağırlığına azaltıcı etkisinin olduğu tespit edilmiştir. Biz de çalışmamızda bu çalışmalara paralel olarak doksorubisin uyguladığımız grupta istatistiksel olarak testis ağırlığında azalma gözlemledik.

Sprague Dawley cinsi sıçanlar ile yapılan bir çalışmada i.p 10 mg/kg tek doz uygulanan doksorubisinin vücut ağırlığında önemli derece azalmaya neden olduğu gözlemlenmiştir. Sperm sayısı ve hareketinde azalma ile birlikte enzimatik testler sonucu oksidatif strese ve testiküler toksisteye neden olduğu ortaya konmuştur (80).

Diğer benzer bir çalışmada ise doksorubisin 28 günlük deney sürecinde 6 mg/kg i.p olarak uygulanmıştır. Doksorubisin grubunda kontrol grubuna kıyasla testis ağırlığında istatistiksel olarak önemli derecede azalma, testosteron ve LH konsantrasyonlarında azalma, sperm sayısında azalma ve buna bağlı olarak ölü ve anormal spermelerde artış gözlenmiştir (21).

Wistar cinsi ratlarla bizim çalışmamızla benzer günlerde yapılan bir çalışmada 3 mg/kg doksorubisin i.p olarak 1,7,14,21 ve 28. günlerde uygulanmış olup vücut ağırlığında ve testis ağırlığında azalma, seminifer tübüllerde dejeneratif değişiklikler, bazal membranda bozulma, spermatozoid polaritesinde bozulma ve sperm sayısında belirgin bir azalmaya yol açarak testis dokusuna hasar verdiği ortaya konmuştur. Mohan ve arkadaşları seminifer tübül lümeninde olgun sperm gözlemlememiştir (89).

Bu çalışmaya benzer olarak bir çalışmada da Balaraman ve arkadaşları 28 günlük deney sürecinde 1,7,14,21 ve 28. günlerde doksorubisin i.p olarak 3 mg/kg uygulanmıştır. Doksorubisin vücut ve testis ağırlığını, testosteron seviyesini ve sperm sayısını azaltmıştır. Seminifer tübülde vakuolizasyon ve fibrinoid döküntü, lümeni daralmış seminifer tübülde üreme hücresi kaybı, intersitisyel alanda genişleme ve vakuolizasyona, lümeni boş seminifer tübüllere rastlanmıştır (99).

Patil ve arkadaşlarının bu çalışmalara paralel olarak yaptığı çalışmada ise doksorubisin 3 mg/kg i.p olarak 1,7,14,21,28. günlerde ratlara verilmiştir. Doksorubisin uygulanan grupta vücut ve testis ağırlığında azalma, testosteron seviyesinde azalma, seminifer tübülde vakuolizasyon, fibrinoid döküntü, seminifer tübülde daralma ve buna bağlı olarak üreme hücresi kaybı, intersitisyel dokuda genişleme ve vakuolizasyon gözlenmiştir (100).

Yapılan bu çalışmaların sonuçlarına paralel olarak bizim çalışmamızda da doksorubisin uygulaması ile seminifer tübül duvarında vakuolizasyon, spermatogonyumlarda dejenerasyonlar gözlenmiştir. Bunlara ek olarak seminifer tübül çapında azalma tespit edilmiştir.

Shalizar ve arkadaşlarının 2013 yılında yaptığı, süresinin ve verilen dozların bizim çalışmamızla benzer olduğu çalışmada 4mg/kg i.p olarak 1,7,14,21,28. günlerde verilen doksorubisinin testis dokusunu olumsuz yönde etkilediği ortaya konmuştur. Son vücut ağırlıkları ve testis ağırlığında azalma, sperm sayısında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma, anormal ve dejenere olmuş sperm sayısında artış, testosteron seviyesinde azalma, bazı üreme hücrelerinde aplazi, bazal membranda kalınlaşma, seminifer tübül epitelinde vakuolizasyon ve testiküler dokuda ödem, intersitisyel alanda fibrozis görüldüğü bildirilmiştir. Bunun yanı sıra Leydig hücrelerinde dejenerasyon ve Sertoli hücrelerinde düzensiz, amorf, küçük nükleus gözlenerek üreme hücreleri ile bağlantılarının kaybolduğu tespit edilmiştir (118). Bizim çalışmamız da bu çalışmanın bulgularıyla paralellik göstermekte olup, doksorubisine uzun süre maruz kalma durumunda doksorubisinin üreme hücreleri üzerinde toksik etki yaptığı gözlenmiştir.

Trivedi ve arkadaşlarının benzer bir çalışmada ise doksorubisin i.p olarak 4 mg/kg 5 hafta boyunca haftada bir kez verilerek testiste ve epididimiste toksik etki yaptığı gözlenmiştir. Testis ve epididimiste vakuolizasyon, hücrel yapı ve organizasyonun bozulması ve DNA hasarının gözlemlenmesiyle bu toksik etki desteklenmektedir (137). Bu bulguların yanı sıra yaptığımız çalışmada vücut ve testis ağırlığında önemli derecede azalma gözlenmiş olup bu bulgularımız literatür bilgilerini desteklemektedir.

Sakr ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada doksorubisin i.p olarak uygulanmış olup tek doz 10 mg/kg verilmiştir.1. hafta sonunda spermatogenik hücrelerin çoğu sitoplazmik vakuolizasyon göstermiştir. Bazal membranda kalınlaşma ve düzensizlik tespit edilmiştir. 2. hafta sonunda tübüller arası bağ dokuda hemoraji, seminifer tübül lümenine dökülmüş spermatogenik hücreler görülmüştür ve seminifer tübüller dejenere olup sınırları belirsizdir. 3. hafta sonrasında ise piknotik nükleus ve dejenere olmuş spermatogenik hücreler gözlemlenmiştir (111).

Saalu ve arkadaşlarının sıçanlar üzerinde yaptığı çalışmada doksorubisin uygulanan grubun vücut ağırlıklarını kaybettikleri gözlenmiştir. Bu grupta doksorubisin i.p olarak 20 mg/kg tek doz uygulanmıştır. 16 hafta süren bu çalışmada testis ağırlığı/

vücut ağırlığı yüzdesi doksorubisin uygulanan grupta diğer gruplara göre anlamlı derecede azalma göstermiştir. Ayrıca seminifer tübül çapında önemli derecede azalma seminifer epitelde lezyonlar oluşmuş olup testiküler atrofi tespit edilmiştir. Oysa bizim çalışmamızda doksorubisin uygulanan grupta TAI değerinde anlamlı derecede azalma gözlenmemiştir. Bu farklılığın çalışma süremiz ve uygulanan dozdan kaynaklandığı düşünülebilir (108).

Yeh ve arkadaşlarının fareler üzerine yaptığı çalışmada her iki günde bir 3 doz olmak üzere 3 mg/kg doksorubisin i.p olarak uygulanmıştır. Tüy kaybı ve fiziksel aktivitede azalma ile karşılaşmıştır. Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı derecede kilo kaybı, testis ağırlığında azalma, spermatogenik seri hücrelerin hepsinde gerileme, seminifer tübül çapında ve sayısında kontrol grubuna göre anlamlı derecede azalma gözlenmiştir (148). Çalışmamızla benzerlik gösteren bu bulgularda da doksorubisin uygulamasının testis histolojisi üzerine olumsuz etki yaptığı gözlenmektedir.

Hozayen ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada doksorubisinin 2 hafta boyunca haftada 3 kere i.p olarak 25mg/kg uygulandığı grupta LH, FSH, testosteron seviyelerinde anlamlı derece azalma gözlenmiştir. Bunun yanı sıra antioksidan savunma sistemi enzimleri olan glutatyon peroksidaz ve glutatyon transferaz seviyelerinde azalma gözlenmiştir. Testisteki lipid peroksidasyonun artışına bağlı olarak oksitatif stres olduğu ortaya konmuştur. Her ne kadar bu çalışmada testis histolojisi incelenmemiş olsa da biyokimyasal bozulmaların bir süre sonra testis histolojisinde de bozulmalara yol açacağı öngörülebilir (62).

Sprague Dawley cinsi sıçanlar ile yapılan başka bir çalışmada vücut ve testis ağırlığında, spermatozoa sayısında, seminifer tübül çapında %20 oranında azalma, üreme hücrelerinde kayıp, seminifer tübül epitelinde vakuolizasyon ve geç spermatid yokluğu gözlenmiştir (139).

Brilhante ve arkadaşlarının Wistar cinsi ratlar üzerinde yaptığı çalışmada 5 mg/kg doksorubisin i.p olarak olarak uygulanmıştır 40,64,127. günlerde ratlar öldürülerek dokuları alınmıştır. 40. günde dokuları alınan ratların vücut ve testis ağırlığında kontrol grubuna göre değişiklik gözlenmemesine rağmen 64 ve 127. günlerde dokuları alınan ratlarda vücut ve testis ağırlıklarında azalma gözlenmiştir. Bu çalışmada doksorubisin gruplarında seminifer epitelde eksilme ve vakuolizasyon, seminifer tübül lümeninde hücre döküntüleri, spermatogenik seri hücrelerde azalma, erken spermatidlerde çok nükleuslu formlar ve seminifer tübül çapında istatistiksel olarak anlamlı derecede azalma ortaya konmuştur (28).

Vendramini ve arkadaşlarının 30 gün boyunca 5 mg/kg i.p olarak tek doz doksorubisin verdikleri sıçanlar üzerinde yaptıkları çalışmada gruplar arasında vücut ağırlığında belirgin bir fark gözlenmemiştir. Doksorubisin uygulandıktan 10 gün sonra bu grupta tüy dökülmesi gözlenmiştir. Çalışmanın 45. gününde seminifer tübül epitelinde bozulma ve vakuolizasyon, seminifer tübül lümeninde ise hücre döküntüleri görülmüştür. 60. günde doksorubisin grubunda seminifer epitelde gerileme, vakuolizasyon, erken spermatidlerde çok çekirdekli görünüm ve yoğun kromatin gözlemlenmesiyle apoptoza gidiş tespit edilmiştir. 90. günde ise sperm anomalisinde artış, spermatogonyumlarda gerileme, sperm hareket ve konsantrasyonunda gerileme gözlenmiştir (140).

Kranti ve arkadaşlarının 5 hafta boyunca haftada 1 kere i.p olarak 3 mg/kg doksorubisin uygulanan grupta tübüler nekroz, tübüler dilatasyon, inflamatuvar hücrelerin yaygınlığı, vakuolizasyon ve üreme hücrelerinde gerileme gözlenmiştir (77).

Bütün bu çalışmaların en dikkat çekici özelliği doksorubisin uygulamasının üreme hücrelerine zarar vermesi, seminifer tübül üzerinde yapı ve fonksiyon bozukluklarına yol açması ve testis histolojisi üzerine toksik etki yapmasıdır. Bunun yanı sıra vücut ve testis ağırlığında da anlamlı derecede azalmaya yol açtığı gözlenmiştir.

L-karnitin çeşitli toksik maddelerin kullanıldığı durumlarda bu toksik maddelerin vücut ağırlığını azaltıcı etkilerini kısmen veya tamamen önleyebilmektedir. Bu da bize L-karnitin vücut ağırlığının korunmasındaki önemini göstermektedir. Yaptığımız çalışmada doksorubisin ve L-karnitin uygulandığı grupta vücut ağırlığında anlamlı derecede artış gözlenmiştir. Bu artışın L-karnitin uygulamasına bağlı olabileceğini öngörmekteyiz.

Salama ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada tritonun spermatogenik seri hücrelerini olumsuz etkilediği, testiste anomali oluşturduğu ve spermatogenezde bozulma meydana getirdiği gözlenmiştir. Triton ile birlikte 3 hafta boyunca haftada bir kere 300 mg/kg i.p olarak uygulanan L-karnitin kullanımı ile Leydig hücrelerinde artış gözlenmiştir. Triton ile spermatogenik seri hücrelerde azalma gözlenirken L-karnitin uygulamasıyla spermatogenik seri hücrelerde artış tespit edilmiştir (112). Bizim çalışmamızda da L-karnitin doksorubisinin oluşturduğu testis histolojisindeki bozulmaları önlediği açıkça görülmüştür.

Deliktaş ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada iskemi ve reperfüzyon ile oluşturan toksisiteye karşı yaptığı L-karnitin koruyucu etkisi araştırılmıştır. Ratlar üzerine yapılan bu çalışmada iskemi-reperfüzyon+ L-karnitin grubuna 500mg/kg i.p olarak L-karnitin uygulanmıştır. İskemi reperfüzyon sonucunda germinal epitel hücrelerinde yerleşim bozukluğu ve dejenerasyon, intersitisyel dokuda ödem gözlenmiştir. Yine aynı çalışmada bazı spermatozoidlerde koyu renkli görünüm ve Leydig hücrelerinde aplazi gözlenmiştir. L-karnitin uygulamasıyla birlikte iskemi reperfüzyon+L-karnitin grubunda sol testiste normale yakın bir iyileşme gözlenmiştir. Bazal laminadan ayrılan germinal epitel hücrelerinde düzleşme gözlenmiştir. Sağ testiste ise intersitisyel ödem harici diğer tüm bozuklukların normalleştiği gözlenmiştir (41).

Shalaby ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada iskemi-reperfüzyon hasarı üzerine L-karnitin koruyucu etkisi araştırılmış olup reperfüzyondan 30 dk önce 500 mg/kg i.p olarak L-karnitin uygulanmıştır. İskemi ve reperfüzyona bağlı olarak spermatogenik hücrelerde şiddetli değişimler meydana gelmiştir. Ayrıca bu etki Leydig hücrelerinin

aktivitelerinde de değişimler meydana getirmiştir. L-karnitin uygulaması ile bu değişikliklerde normalleşme gözlenmiştir. Bunun yanı sıra iskemi ve reperfüzyona bağlı oluşan lezyonlar ve anormal sperm frekansındaki artışta, L-karnitin uygulamasıyla birlikte belirgin derecede iyileşme gözlenmiştir. Deneysel olarak iskemi ve reperfüzyon modellerinde ratlarda L-karnitin uygulamasının antioksidan ve antiapoptik özellikleri nedeniyle tedavi etkisinin olduğu yapılan bu çalışma ile görülmüştür (117).

Dökmeci Dikmen ve arkadaşlarının yaptığı iskemi-reperfüzyon deneyinde L-karnitin 500 mg/kg ip olarak detorsiyondan 30 dk önce uygulanmıştır. L-karnitin kullanımıyla L-karnitin+iskemi reperfüzyon grubunda sol testiste histolojik görünümde iyileşme gözlenmiştir. Seminifer tübüllerin çoğunda sperm seviyesinde artma gözlenmiştir. Testiküler fonksiyonda tübül yapısını koruyarak iyileşmeyi sağlamıştır fakat sağ testiste aynı etkiler gözlenmemiştir. L-karnitinin antioksidan etki yapması nedeniyle ratlarda testiküler torsiyon-detorsiyon modellerinde L-karnitinin koruyucu etkisinin olduğu bu çalışma ile kanıtlanmıştır (45).

Aliabadi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada L-karnitinin yağ asidi metabolizması üzerine etki ederek sperm hareketini arttırdığı görülmüştür. Lipid peroksidasyonuna bağlı tesküler toksisiteyi L-karnitinin inhibe ettiği bu çalışma ile ortaya konmuştur. Bu çalışmanın bulguları biyokimyasal deneylerle desteklenerek L-karnitinin üreme işlevi üzerindeki olumlu etkisi ortaya konulmuştur (11).

Abo-Ghanema ve arkadaşlarının bir ay süresi ile 150 mg/kg dozda uyguladıkları L-karnitin, FSH ve testosteron seviyesini, sperm sayısını, hareketini ve sperm yaşama gücünü arttırıcı etki yapmıştır (3).

Zare ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı bir çalışmada 2g/kg dozda uygulanan DEHP, testis ağırlıklarında anlamlı derecede azalmaya neden olmuştur. Ancak vücut ağırlıklarında tüm gruplarda azalma gözlenirse de istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir. DEHP+L-karnitin uygulanan grupta ise testis ağırlıkları DEHP grubuna göre artmıştır. 1 mg/kg uygulanan L-karnitin farelere oral olarak verilmesi

spermatogeneze anlamlı bir etki yapmamıştır. Buna karşın L-karnitin sperm sayısı ve hareketi üzerine pozitif bir etki yapmıştır. Bizim çalışmamızda ise L-karnitin spermatogenezi olumlu yönde etkilediği gözlenmiştir. Bu iyileşmenin L-karnitin uygulama şekline, dozuna ve süresine bağlı olduğu düşünülmektedir (152).

Bizim çalışmamızda doksorubisin ile birlikte L-karnitin uygulanan grupta testis ağırlığının kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı saptanmıştır. Bu bulgumuz L-karnitin kullandığımız doz ve süreler içinde doksorubisinin testis ağırlığını azaltıcı etkisini önleyemediğini göstermektedir.

Kanter ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptığı bir çalışmada bizim çalışmamızla benzer olarak i.p olarak 200 mg/kg L-karnitin uygulaması yapılmıştır. Bu çalışmada L-karnitin radyasyondan 1 gün önce uygulanmıştır. Radyasyon+L-karnitin grubunda radyasyonun neden olduğu üreme hücrelerindeki apoptozun ve morfolojik değişimlerin L-karnitin uygulamasıyla azaldığı gözlenmiştir. Ayrıca seminifer tübüllerdeki vakuolizasyonu da yok ettiği gözlenmiştir (67). Bizim çalışmamızda da Kanter ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya paralel olarak doksorubisin nedenli testiküler toksisitenin L-karnitin ile engellenebildiği gösterilmiştir.

Topçu ve arkadaşlarının yaptığı benzer bir çalışmada ise 200 mg/kg i.p olarak L-karnitin ve 10 Gy tek doz radyasyon uygulanmıştır. L-karnitin uygulaması radyasyona bağlı testis ağırlık düşüşünü engelleyememiştir ancak seminifer tübül çapında artışa neden olmuştur. L-karnitin+radyasyon grubunda sadece radyasyon uygulanan gruba göre deneyin 21. gününde seminifer tübüllerin büyük bir kısmı normal yapısını korumakta ve seminifer tübüldeki dejeneratif değişiklikler daha az gözlenmektedir. Deneyin 44. gününde seminifer tübüldeki vakuolizasyon azalmıştır. Seminifer tübüllerin çoğunda L-karnitin etkisiyle rejenerasyon meydana gelmiş olsa da bir kısmı hala atrofiktir. Seminifer tübül bazal membranı 70. günde oldukça normal gözlenmektedir. Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarındaki dejeneratif değişiklikler kısmen azalmıştır fakat Sertoli hücrelerinin nükleuslarındaki görünüm radyasyon gruplarındaki aynı düzensiz görünümle benzerlik göstermektedir (136).

Abd-Allah ve arkadaşlarının ratlar üzerinde yaptığı çalışmada 5 mg/kg i.p olarak uygulanan LPS (lipopolisakkarit)'in inflamasyona, spermatogenezin bozulmasına ve testiküler dokuda nekroza yol açtığı gözlenmiştir. Bu hayvanlara i.p olarak 500 mg/kg L-karnitin uygulaması ile inflamasyon ve lökosit infiltrasyonunda azalma, konjesyonda azalma, spermatogenez ve seminifer tübüllerde düzelme belirgin şekilde gözlenmiştir (2).

Coşkun ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada L-karnitin uygulaması sonrası elde edilen tübül yapılarında mitoz geçiren spermatogonyumların daha fazla olduğu ve lümendeki spermiyum sayısının belirgin bir artış gösterdiği gözlenmiştir. Bu çalışmada, L-karnitin oral olarak 3 gün boyunca 300 mg/kg uygulanmıştır. L-karnitin uygulanan grupta kontrol grubuna kıyasla seminifer tübül duvarında yer alan spermatositlerin daha koyu renkte oldukları ve nükleusların heterokromatik özellikte olduğu gözlenmiştir. L-karnitin uygulanan grupta Leydig hücrelerinin sitoplazmalarında granül artışı tespit edilmiştir. Ayrıca sitoplazmaları daha parlak ve eozinofilik olarak gözlenmiştir. Sitoplazmadaki bu granül artışı testosteron hormonunun bu hücreler tarafından sentezlenmekte olduğunun göstergesidir. Leydig hücrelerinin salgıladığı testosteron hormonu sperm yapımını olumlu yönde etkilemektedir. L-karnitin uygulamasının sperm sayısını sürekli arttırmasıyla bazı infertilite vakalarında tedavi amacıyla kullanılabileceği öngörülmektedir (36).

Ramadan ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptığı çalışmada günde 30 dk 2 hafta boyunca haftada 3 kez uygulanan manyetik alandan bir saat önce 200mg/kg L-karnitin uygulanmıştır. L-karnitin+manyetik alan grubunda L-karnitin uygulamasıyla Leydig hücreleri ve seminifer tübüllerde spermatogonia ve primer spermatositler görülmeye başlanmıştır. L-karnitin testiküler toksisiteye karşı koruyucu olduğu bu çalışma ile ortaya konmuştur (104). Çalışmamızla benzerlik gösteren bu bulgularda da L-karnitin uygulamasının testis histolojisi üzerine olumlu etki yaptığı gözlenmektedir.

Tüm bu çalışmalara paralel olarak yaptığımız çalışmada doksorubisin+ L-karnitin grubu incelendiğinde doksorubisinin seminifer tübül epiteli ve üreme hücrelerinde neden olduğu bozuklukların nadir görülmesinden dolayı L-karnitinin seminifer tübül ve spermatogenik seri hücreleri üzerinde koruyucu etkisinin olduğu gözlenmiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Doksorubisin, 28 gün boyunca 1,7,14,21. ve 28. günlerde 4 mg/kg dozunda verildiğinde, vücut ağırlığında ve testis ağırlığında önemli bir düşüşe yol açmaktadır.
2. Doksorubisin, testis üzerinde oldukça toksik etki göstermektedir. Bazal membranda ondülasyon, tübüllerde yoğun hasar ve spermatogenik hücrelerde yoğun hasara ve hücresel dökülmelere neden olarak spermatogenezi olumsuz yönde etkilemektedir. İnterstisyel dokuda bulunan Leydig hücreleri ve makrofajlar üzerinde ise değişikliğe yol açmamaktadır.
3. Yirmi sekiz gün boyunca 1,7,14,21. ve 28. günlerde 4 mg/kg doksorubisin ile 28 gün boyunca her gün 200 mg/kg L-karnitin verilen grupta, doksorubisin+ L-karnitin vücut ağırlığında artışa yol açtığı gözlenmiştir. Testis ağırlığının ise kontrol grubuna göre önemli derecede azaldığı saptanmıştır. L-karnitin kullandığımız doz ve süreler içinde doksorubisinin testis ağırlığını azaltıcı etkisini önleyemediği gözlenmiştir.
4. Doksorubisin ile L-karnitin birlikte verildiği grupta, L- karnitin verilmesi, testisteki hücresel ve seminifer tübül yapısındaki bozuklukların önlenmesine katkıda bulunmaktadır.
5. Yirmi sekiz gün boyunca her gün 200 mg/kg verilen L-karnitin, testis ağırlığında önemli bir değişikliğe yol açmazken, vücut ağırlığında artışa yol açtığı gözlenmiştir.
6. Sonuç olarak, bu çalışmada doksorubisinin, uygulanan süre ve doz göz önüne alındığında testis dokusu için oldukça toksik olduğu ve histolojik yapıyı bozduğu gözlemlendi. Antioksidan etkiye sahip L-karnitin ise doksorubisinin testiste oluşturduğu bu hasarı önemli ölçüde önlediği gözlemlendi.

7. L-karnitin ve doksorubisin arasındaki bu ilişkinin daha ayrıntılı olarak incelenmesi ve mekanizmalarının ayrıntılı olarak açığa çıkarılmasının, biyokimyasal analizler, ileri enzimatik ve immunohistokimyasal düzeyde yapılacak olan çalışmalar ile mümkün olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Abd Elbaky, N.A., Ali, A.A., Ahmed, R.A., 2010, Cardioprotective Effect Of Simvastatin On Doxorubicin Induced Oxidative Cardiotoxicity In Rats, Journal of Basic and Applied Sciences Vol. 6, No. 1, 29-38 p.
2. Abd-Allah, A.R.A., Helal, G.K., Al-Yahya, A.A., Aleisa, A.M., Al-Rejaie, S.S., Al-Bakheet, S.A., 2009, Pro-inflammatory and oxidative stress pathways which compromise sperm motility and survival may be altered by L-carnitine, Oxidative Medicine and Cellular Longevity 2:2, 73-81 p.
3. Abo-Ghanema, I.I., El-Nasharty, M.A., El-Far, A.H., Ghonium, H.A., 2012, Effect of Ginger and L-Carnitine on the Reproductive Performance of Male Rats, World Academy of Science, Engineering and Technology 64.
4. Abou Seif, H. S., 2012, Protective Effects of Rutin and Hesperidin against Doxorubicin-Induced Nephrotoxicity, Beni-Suef University Journal of Applied Sciences; 1(2): 1-18 p.
5. Adam, K.M., Ahmed, S.A., Mustafa, M.E., Cytotoxic Effects of Doxorubicin on Reproductive System of Male Rats, Alneelain University.
6. Adaya, D.S., De La Cruz, V.P., Herrera-Mundo, M.N., Mendoza-Macedo, K., Villeda-Hernández, J., Binienda, Z., Ali, S.F., Santamaría, A., 2008, Excitotoxic damage, disrupted energy metabolism, and oxidative stress in the rat brain: antioxidant and neuroprotective effects of L-carnitine, J. Neurochem. 105, 677–689 p.
7. Agarwal, A., 2004, Carnitines and male infertility, Reproductive BioMedicine Online Vol 8. No 4. 376-384 p.
8. Akın, H., 2005, Farelerde Asetil-L-Karnitin Uygulamasının Deneysel Ağrı Modelleri Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
9. Aktümsek, A., 2006, Anatomi ve Fizyoloji İnsan Biyolojisi, Nobel Yayın Dağıtım, 3. Baskı, Ankara, 435 s.
10. Akyol, H., 2004, Kemoterapinin Temel İlkeleri, XIII. TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Hemşire Programı , 159-163 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

11. Aliabadi, E., Karimi, F., Rasti, M., Akmalı, M., Esmailpour, T., 2013, Effects of L-carnitine and Pentoxifylline on the Activity of Lactate Dehydrogenase C4isozyme and Motility of Testicular Spermatozoa in Mice, *J Reprod Infertil.* 14(2):56-61 p.
12. Aliabadi, E., Mehranjani, M.S., Borzoei, Z., Khozani, T.T., Mirkhani, H., Tabesh, H., 2012, Effects of L-carnitine and L-acetyl-carnitine on testicular sperm motility and chromatin quality, *Iran J Reprod Med Vol.* 10. No. 2. 77-82 p.
13. Alshabanah, O.A., Hafez, M.M., Al-harbi, M.M., Hassan, Z.K., Al Rejaie, S.S., Asiri, Y.A., Sayed-Ahmed, M.M., 2010, Doxorubicin toxicity can be ameliorated during antioxidant L-carnitine supplementation, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 3:6, 428-433 p.
14. Alyane, M., Kebsa, L.B.W., Boussenane, H., Rouibah, H., Lahouel, M., 2008, Cardioprotective Effects and Mechanism of Action of Polyphenols Extracted From Propolis Against Doxorubicin Toxicity, *Pak. J. Pharm. Sci., Vol.*21, No.3, 201-209 p.
15. Arafa, H.M., Abd-Ellah, M.F., Hafez, H.F., 2005, Abatement by Naringenin of Doxorubicin-Induced Cardiac Toxicity in Rats, *Journal of the Egyptian Nat. Cancer Inst., Vol.* 17, No. 4, 291-300 p.
16. Arıncı, K. ve Elhan, A., 2006, *Anatomi, Güneş Kitabevi*, 4. Baskı, 1. Cilt, Ankara, 330-331 s.
17. Arsenian, M.A., 1997, Carnitine and Its Derivatives in Cardiovascular Disease, *Progress in Cardiovascular Diseases*, Vol. 40, No. 3, 265-286 p.
18. 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.
19. Ayla, Ş., Oktar, H., Tanrıverdi, G., Cengiz, M., Özkılıç, A.Ç., Böttjer, N., Altuğ, T., Batur, Ş., 2008, Doksorubisin ile Oluşturulmuş Deneysel Kardiyotoksisite Üzerine Nikotinamidin Etkisi, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 39(1): 7-14 s.
20. Bach, A.C., Schirardin, H., Sahr, M.O., Storck, D., 1983, Free and total carnitine in human serum after oral ingestion of L-carnitine, *Diabete Metab.* (2): 121-4 p.
21. Badkoobeh, P., Parivar, K., Kalantar, S.M., Hosseini, S.D., Salabat, A., 2013, Effect of nano-zinc oxide on doxorubicin- induced oxidative stress and sperm disorders in adult male Wistar rats, *Iran J Reprod Med Vol.* 11. No. 5. 355-364 p.
22. Bancroft, J.D. and Stevens, A., 1977, *Theory and Practice of Histological Techniques*, Churchill Livingstone Edinburgh London and New York.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

23. Berne, R.M., Levy, M.N., Koepfen, B.M., Stanton, B.A., 2008, Fizyoloji, Güneş Kitabevi, 5.Baskı, Ankara, 938-941 s.
24. Bieber, L.L., 1988, Carnitine, Ann. Rev. Biochem. 57: 261-83 p.
25. Boyle, P. ve Levin, B., 2008, Dünya Kanser Raporu, Uluslararası Kanser Araştırmaları Kurumu (IARC), Fransa.
26. 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.
27. Bremer, J., 1983, Carnitine-Metabolism and Functions, Physiological Reviews, Vol. 63, No. 4.
28. Brillhante, O., Stumpp, T., Miraglia, S.M., 2011, Long-term testicular toxicity caused by doxorubicin treatment during pre-pubertal phase, International Journal of Medicine and Medical Sciences Vol. 3(2), 52-60 p.
29. Brooks, S.A., Hannah, L., Kinch, C., Nash, G., Kieda, C., 2009, Altered Cell Surface Glycosylation Functions in Mechanisms Of Cancer Cell Metastasis, Anadolu University Journal Of Science And Technology, Cilt/Vol.:10-Sayı/No: 1 : 91-101 p.
30. Bruns, K.A. and Casillas, E.R., 1989, The Metabolism of Acetylcarnitine and Acetate by Bovine and Hamster Epididymal Spermatozoal, Biology Of Reproduction, 41, 218-226 p.
31. 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.
32. Cabadak, H., 2008, Hücre Siklusu ve Kanser, ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi; 9(3) : 51 – 61 s.
33. Cankorkmaz, L., Köylüoğlu, G., Özer, H., Yıldız, E., Sümer, Z., Özdemir, Ö., 2009, Deneysel tek taraflı testis torsiyonundaki karşı testis hasarında apoptozisin rolü ve karnitinin koruyucu etkisi, Ulus Travma Acil Cerrahi Derg;15(6): 529-534 s.
34. Casciato, D.A. ve Lowitz, B.B., 2008, Klinik Onkoloji El Kitabı, (Çev.: Manavoğlu, O.), Palme Yayıncılık, 4. Baskı, Ankara.
35. Coşkun, N., 2011, Gonadotoksistide Asetil L-Carnitin'in Testisteki Koruyucu Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

36. Coşkun, Ö., Kutlubay, R., Yakan, B., Ekmekçioğlu, O., Öztürk, Ö., 1998, L-Carnitine Uygulanan Ratların Testis Dokusunda Görülen Morfolojik ve Morfometrik Değişiklikler, T Klin Tıp Bilimleri, 18:236-239 s.
37. Çetinkaya, A., Bülbüloğlu, E., Kantarçeken, B., Çıralık, H., Kurutaş, E.B., Büyükbese, M.A., Gümüşalan, Y., 2006, Effects of L-Carnitine on Oxidant/Antioxidant Status in Acetic Acid-Induced Colitis, Digestive Diseases and Sciences, Vol. 51, No. 3, 488-494 p.
38. Çevik, A.F., 2003, Etlik Piliç Yemlerine L – Karnitin İlavesinin Performans Ve Karkas Özelliklerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
39. Çitil, M., 2002, Veteriner Hekimlikte Karnitin, Kafkas Üniv. Vet. Fak. Derg., 8(1): 77-82 s.
40. Das, J., Ghosh, J., Manna, P., Sil, P.C., 2012, Taurine protects rat testes against doxorubicin-induced oxidative stress as well as p53, Fas and caspase 12-mediated apoptosis, Amino Acids 42: 1839-1855 p.
41. Deliktaş, H., Gedik, A., Nergiz, Y., Bircan, M.K., 2012, The Effect of L-Carnitine on Testicular Ischemia Reperfusion Injury due to Testicular Torsion in Rats, Eur J Gen Med; 9(3): 192-196 p.
42. Deniz, G., 1999, Karnitin: Sentez, Metabolizma, Fonksiyon ve İskemik Kalpte Terapötik Önemi, T Klin Tıp Bilimleri, 19:55-62 s.
43. DiPalma, J.R., 1989, Temel Tıp Farmakolojisi, Nobel Tıp Kitabevi, 2. Baskı, İstanbul, 554 s.
44. Dökmeci, D., Akpolat, M., Aydoğdu, N., Doğanay, L., Turan, F.N., 2005, L-carnitine inhibits ethanol-induced gastric mucosal injury in rats, Pharmacological Reports, 57, 481-488 p.
45. Dökmeci, D., İnan, M., Başaran, Ü.N., Yalçın, Ö., Aydoğdu, N., Turan, F.N., Uz, Y.H., 2007, Protective effect of L-carnitine on testicular ischaemia-reperfusion injury in rats, Cell Biochem Funct; 25: 611-618 p.
46. Dökmeci, İ., 2007, Farmakoloji İlaçlar ve Etkileri, 1. Baskı, Alfa Yayınları, İstanbul, 1254 s.
47. El-Sayyad, H.I.H., El-Sherbiny, M.R., Abou-El-Naga, A.M., Gadallah, A.A., Areida, E.K., 2013, Effects Of Adriamycin, Cisplatin, And 5-Fluorouracil On The Testes Of Albino Rats, British Journal of Medical and Health Sciences, Vol. 1, No. 5, 45-62 p.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

48. Engin, K. ve Özyardımcı, N., 2006, Akciğer Kanseri Tanı ve Tedavide İlkeler ve Uygulamalar, Avrupa Tıp Kitapçılık, İstanbul.
49. Erkin, B., 2005, Deneysel Ülser Modellerinde L-Karnitinin Gastrik Mukozayı Koruyucu Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
50. Erkoçak, A., 1980, Özel Histoloji, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 3.Baskı, Ankara, 169-181 s.
51. Eroschenko, V.P., 2001, Histoloji Atlası Fonksiyonel İlişkileriyle, (Çev.: Demir, R.), Palme Yayıncılık, 9. Baskı, Ankara, 283-286 s.
52. Famularo, G. and De Simone, C., 1995, A new era for carnitine? ,Immunology Today, Vol.16, No.5.
53. Ganong, W.F., 2002, Tıbbi Fizyoloji, Türk Fizyoloji Bilimler Derneği, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 20.Baskı, 415-418 s.
54. Gartner, L.P. and Hiatt, J.L., 2007, Color textbook of histology, Saunders Company, 3. Edition, Philadelphia, 489-498 p.
55. Gartner, L.P. Hiatt, J.L., Strum, J.M., 2003, Cell Biology and Histology, 4. Edition, Lippincott Williams & Wilkins, 352 p.
56. Gewirtz, D.A., 1999, A Critical Evaluation of the Mechanisms of Action Proposed for the Antitumor Effects of the Anthracycline Antibiotics Adriamycin and Daunorubicin, Biochemical Pharmacology, Vol. 57, 727-741 p.
57. Gholizad, L.M., Zare, S., Nejati, V., Oskooii, A.E., 2009, A comparison of the effects of ABVD and ChIVPP chemotherapeutic protocols for Hodgkin's disease on the spermatozoa fertility indices of male rats, Iranian Journal of Reproductive Medicine Vol.7. No.2. 65-71 p.
58. Guyton, A.C. ve Hall, J.E., 1996, Tıbbi Fizyoloji, Nobel Tıp Kitabevleri, 9.Baskı, Ankara, 1010-1014 s.
59. Hacettepe Farmakoloji Ders Notları, 1993, Metay Yayınları, 5. Baskı, Ankara, 106 s.
60. Hadi, N., Yousif, N.G., Al-amran, F.G., Huntei, N.K., Mohammad, B.I., Ali, S.J., 2012, Vitamin E and telmisartan attenuates doxorubicin induced cardiac injury in rat through down regulation of inflammatory response BMC Cardiovascular Disorders,12:63.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

61. Hardman JG. and Limbird LE., 2001, Goodman&Gilman's' the Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th Edition. 1425- 1429 p.
62. Hozayen, W.G., 2012, Effect Of Hesperidin and Rutin On Doxorubicin Induced Testicular Toxicity in Male Rats, International Journal Of Food And Nutrition Science Vol. 1 No. 1.
63. http://www.jonathanmiller.com/Anthracycline_DNA_Interact.htm”, (2013-10-30)
64. Jeulin, C., Lewin, L.M., 1996, Role of free L-carnitine and acetyl-L-carnitine in post-gonadal maturation of mammalian spermatozoa, Human Reproduction, Vol. 2, No. 2, 87–102 p.
65. Junqueira, L.C. ve Carneiro, J., 2009, Temel Histoloji, (Çeviri: AYTEKİN, Y., SOLAKOĞLU, S.,) 10.Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 440 s.
66. Kalyanaraman, B., Joseph, J., Kalivendi, S., Wang, S., Konorev, E., Kotamraju, S., 2002, Doxorubicin-induced apoptosis: implications in cardiotoxicity, Molecular and Cellular Biochemistry 234/235:119–124 p.
67. Kanter, M., Topcu, Y., Parlar, Ş., 2010, Antiapoptotic effect of L-carnitine on testicular irradiation in rats, J Mol Hist 41: 121–128 p.
68. 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.
69. Karakurt, Ö., Melli, M., 2005, Antineoplastik Kemoterapinin Bireyselleştirilmesi ve Farmakogenetik, Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi, Sayı / No: 3, Cilt / Vol: 15.
70. Katzung, B.G., 1995, Temel ve Klinik Farmakoloji, Barış Kitabevi, 6. Baskı, 2. Cilt, 1116-1117 s.
71. Kayaalp, O., 1998, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitapçılık, 8. Baskı, 1.Cilt, Ankara, 398 s.
72. Kayaalp, O.S., 2002, Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Taş Kitapçılık, 10. Baskı, Ankara, 380-387 s.
73. Kayalı, H., Şatıroğlu, G., Taşyürekli, G., 1992, İnsan embriyolojisi, Alfa Basım Yayım Dağıtım, 7. Baskı, İstanbul, 210 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

74. Keskin, F., 2008, Ratlarda Bilirubin İle Oluşturulan Nörotoksisitede Oksidatif Stresin Rolü Ve L-Karnitinin Koruyucu Etkisi, Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Erzurum.
75. Kıyak, M.V., Karasoy Yeşilada, A., Yenidünya, M.O., Öz Puyan, F., 2012, Dokсорubisine Bağlı Ekstravazasyon Hasarında Pentoksifilin Etkisi, Şişli Etfal Hastanesi Tıp Bülteni, Cilt: 46, Sayı: 1.
76. Kierszenbaum, A.L., 2006, Histoloji ve Hücre Biyolojisi, (Çev.: Demir, R.), Palme Yayıncılık, Ankara, 548 s.
77. Kranti, V.M., Mahesh, V., Srinivas, P., Ganesh, Y.V., Godwin, A.P., Lahkar, M., 2013, Evaluation Of The Protective Effect Of Silymarin On Doxorubicin Induced Chronic Testicular Toxicity In Rats, Int J Pharm Bio Sci; 4(1): 473 – 484 p.
78. Kutluk, T. ve Kars, A., 1994, Kanser Konusunda Genel Bilgiler, Türk Kanser Araştırma ve Savaş Kurumu Yayınları, Ankara, 13-47 s.
79. Lango, R., Smolenski, R.T., Narkiewicz, M., Suchorzewska, J., Lysiak-Szydłowska, W., 2001, Influence of L-carnitine and its derivatives on myocardial metabolism and function in ischemic heart disease and during cardiopulmonary bypass, Cardiovascular Research 51, 21–29 p.
80. Lee, K.M., Lee, I.C., Kim, S.H., Moon, C., Park, S.H., Shin, D.H., Kim, S.H., Park, S.C., Kim, H.C., Kim, J.C., 2011, Melatonin attenuates doxorubicin-induced testicular toxicity in rats, Andrologia, 44, 796–803 p.
81. Li, B., Lloyd, M.L., Gudjonsson, H., Shug, A.L., Olsen, W.A., 1992, The effect of enteral carnitine administration in humans, Am J Clin Nutr; 55: 838-45 p.
82. Li, T., 2000, Early Changes in Myocardial Antioxidant Enzymes due to Adriamycin and Modulation by Probucol, Journal of the American Heart Association, 102: 2105-2110 p.
83. Li, T., Danelisen, I., Bello-Klein, A., Singal, P.K., 2000, Effects of probucol on changes of antioxidant enzymes in adriamycin induced cardiomyopathy in rats, Cardiovascular Research 46, 523–530 p.
84. Llansola, M., Erceg, S., Hernández-Viadel, M., Felipe, V., 2002, Prevention of Ammonia and Glutamate Neurotoxicity by Carnitine: Molecular Mechanisms, Metabolic Brain Disease, Vol. 17, No. 4.
85. Lorusso, V., Manzione, L., Silvestris, N., 2007, Role of liposomal anthracyclines in breast cancer, Annals of Oncology 18 (Supplement 6): vi70–vi73.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

86. Luo, X., Reichetzer, B., Trines, J., Benson, L.N., Lehotay, D.C., 1999, L-Carnitine Attenuates Doxorubicin-Induced Lipid Peroxidation In Rats, Free Radical Biology & Medicine, Vol. 26, Nos. 9/10, 1158 –1165 p.
87. Marieb, E.N., 2001, Human Anatomy and Physiology, Benjamin Cummings, 5th edition, San Francisco. 567-588 p.
88. Minotti, G., Menna, P., Salvatorelli, E., Cairo, G., Gianni, L., 2004, Anthracyclines: Molecular Advances and Pharmacologic Developments in Antitumor Activity and Cardiotoxicity , Pharmacol Rev56: 185–229 p.
89. Mohan, M. and Bhandare, S., 2012, Protective Effect Of Solanum Torvum Against Testicular Toxicity in Male Wistar Rats, Int J Pharm Pharm Sci, Vol 4, Issue 3, 188-192 p.
90. Moore, K.L. ve Dalley, A.F., 2007, Kliniğe Yönelik Anatomi, (Çev.: Şahinoğlu, K.), Nobel Kitabevi, 4. Baskı, İstanbul, 194 s.
91. Moore, K.L., 2009, İnsan embriyolojisi, (Çev.: Dalçık, H., Yıldırım, M.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 265-281 s.
92. Muindi, J.R.F., Sinha, B.K., Gianni, L., Myers, C.E., 1984, Hydroxyl radical production and DNA damage induced by anthracycline-iron complex, Federation of European Biochemical Societies, Vol 172, No 2.
93. Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C., 1998, Farmakoloji, Nobel Tıp Kitabevi, 2. Baskı, İstanbul, 385-386 s.
94. Noyan, F., 1986, İnsan Anatomisi Atlası, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları, 1. Cilt.
95. Olson, R.D. and Mushlin, P.S., 1990, Doxorubicin cardiotoxicity: analysis of prevailing hypotheses, The FASEB Journal, Vol. 4.
96. Ovalle, W. ve Nahirney, P., 2009, Netter Temel Histoloji, (Çev.: Müftüoğlu, S., Kaymaz, F., Atilla, P.), Güneş Tıp Kitabevleri, 381-386 s.
97. Ozan, H., 2004, Anatomi, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 309-310 s.
98. Parker, Ş., 1990, Histoloji, Uludağ Üniversitesi Basımevi, Bursa, 264-267 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

99. Patil, L. and Balaraman, R., 2009, Effect of Melatonin on Doxorubicin Induced Testicular Damage in Rats, International Journal of PharmTech Research, Vol.1, No.3, 879-884 p.
100. Patil, L.J. and Balaraman, R., 2008, Green Tea Extract Protects Doxorubicin Induced Testicular Damage In Rats, Pharmacologyonline 3: 913-925 p.
101. Pepine, C.J., 1991, The Therapeutic Potential of Carnitine in Cardiovascular Disorders, Clinical Therapeutics, Vol. 13, No. 1.
102. Petorak, İ., 1986, Medikal Embriyoloji, Beta Basım Yayım Dağıtım, 2. Baskı, İstanbul, 223 s.
103. Platell, C., Kong, S., McCauley, R., Hall, J.C., 2000, Branched-chain amino acids, Journal of Gastroenterology and Hepatology 15, 706-717 p.
104. Ramadan, L.A., Abd-Allah, A.R.A., Aly, H.A.A., Saad-El-Din, A.A., 2002, Testicular Toxicity Effects Of Magnetic Field Exposure Andprophylactic Role Of Coenzyme Q10 And L-Carnitine in Mice, Pharmacological Research, Vol. 46, No. 4.
105. Rebouche, C.J. and Chenard, C.A., 1990, Metabolie Fate of Dietary Carnitine in Human Adults: Identification and Quantification of urinary and Fecal Metabolites, J. Nutr. 121: 539-546 p.
106. Ross, M.H. and Pawlina, W., 2011, Histology A Text And Atlas With Correlated Cell and Molecular Biology, 6. Edition, Lippincott W&W, Philadelphia.: Lippincott W&W, 786-801 p.
107. Saalu, L.C., Osinubi, A.A., Jewo, P.I., Oyewopo, A.O., Ajayi, G.O., An Evaluation of Influence of Citrus paradisi Seed Extract on Doxorubicin-Induced Testicular Oxidative Stress and Impaired Spermatogenesis, European International Journal of Science and Technology, Vol. 1, No. 1.
108. Saalu, L.C., Osinubi, A.A., Oguntola, J.A., Adeneye, I.O., Benebo, A.S., 2010, The Delayed Testicular Morphologic Effects of Doxorubicin and the Rejuvenating Role of Grapefruit Seed Extract, International Journal of Pharmacology 6 (3): 192-199 p.
109. Saalu, L.C., Osinubi, A.A., Olagunju, J.A., 2010, Early and delayed effects of doxorubicin on testicular oxidative status and spermatogenesis in rats, International Journal of Cancer Research 6 (1): 1-9 p.
110. Sadler, T.W., 1996, Langman Medikal Embriyoloji, (Çev.: Başaklar, A.C.), 7. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 274 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

111. Sakr, S.A., El-shenawy, S.M., Al-Shabka, A.M., 2012, Aqueous Fenugreek Seed Extract Ameliorates Adriamycin-Induced Cytotoxicity and Testicular Alterations in Albino Rats, *Reproductive Sciences* 19(1) 70-80 p.
112. Salama, A.F., Kasem, S.M., Tousson, E., Elsisy, M., 2013, Protective role of L-carnitine and vitamin E on the testis of atherosclerotic rats, *Toxicology and Industrial Health*, 1–8 p.
113. Sancak, B. ve Cumhuri, M., 2004, *Fonksiyonel Anatomi*, ODTÜ Yayıncılık, 3. Baskı, Ankara, 291-292 s.
114. Seçkin, İ., Ertürkoğlu, A.S., Taşyürekli, M., Arda, O., Alkan, F., Oktar, H., 2008, *Özel Histoloji Ders Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 160-162 s.
115. Seçkin, İ., Ertürkoğlu, A.S., Taşyürekli, M., Arda, O., Alkan, F., Oktar, H., 2008, *Embriyoloji Ders Kitabı*, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Yayınları, İstanbul, 229-239 s.
116. Serdar, M.A., 1996, *Karnitin Ölçümü ve Klinik Uygulamaları*, Uzmanlık Tezi, Genelkurmay Başkanlığı Gülhane Askeri Tıp Akademisi, Askeri Tıp Fakültesi, Ankara.
117. Shalaby, N.M. and Afifi, O.K., 2008, Effect of Experimentally Induced Ischemic-Reperfusion on the Testis and the Possible Protective Role of L-Carnitine in the Adult Albino Rat; *Histological, Histochemical and Immunohistochemical Study*, *Egypt. J. Histol.* Vol. 31, No. 2, 233-244 p.
118. Shalazar Jalali, A. and Hasanzadeh, S., 2013, Crataegus monogynaefruit aqueous extract as a protective agent against doxorubicin-induced reproductive toxicity in male rats, *Avicenna Journal of Phytomedicine*, Vol. 3, No. 2, 159-170 p.
119. Sheikh, N., Goodarzi, M.T., Bab Al-Havaejee, H., Safari, M.R., Amiri, I., Najafi, R., Hadeie, J., 2007, L-Carnitine Level in Seminal Plasma of Fertile and Infertile Men, *J Res Health Sci*, Vol 7, No 1, 43-48 p.
120. Singal, P.K., Iliskovic, N., Li, T., Kaur, K., 2001, Heart failure due to doxorubicin, *Kuwait Medical Journal*, 33 (2): 111-115 p.
121. Sipahioğlu, H., 1981, *Medikal Onkolojide Tedavi Prensipleri ve Protokoller*, Taş Kitapçılık, Ankara, 46-143 s.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

122. Snell, R.S., 1998, Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Klinik Anatomi, Nobel Tıp Kitabevleri, 5.Baskı, Ankara.
123. Solomon, E.P., 1997, İnsan Anatomisi ve Fizyolojisine Giriş, Birol Basın Yayın Dağıtım, 248 s.
124. Sommer, N.Z., Bayati, S., Neumeister, M., Brown, R.E., 2001, Dapsone for the treatment of doxorubicin extravasation injury in the rat, Plastic and reconstructive surgery, Vol. 109, No. 6.
125. Sönmezer, M. and Oktay, K., 2004, Fertility preservation in female patients, Human Reproduction Update, Vol.10, No.3, 251-266 p.
126. Sridevi, T., Nisha, P.V., Arulnathan, G.A., 2012, Effect of Doxorubicin on the morphology, histology and karyology of male reproductive system of White mice, Mus musculus, Indian Journal of Science and Technology, Vol. 5 No. 4.
127. Sun, A.Y., Simonyi, A., Sun, G.Y., 2001, The “french paradox” and beyond: neuroprotective effects of polyphenols, Free Radical Biology & Medicine, Vol. 32, No. 4, 314 –318 p.
128. Sürenkök, Ö., 2007, Sıçanlarda L-Karnitin Desteğinin Kullanılmamaya Bağlı Kas Atrofisine Etkileri, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
129. Şahintürk, V., 2000, Subfertil Erkeklerin Sperm Morfolojilerinin Işık Mikroskopik ve Floresan Yöntemlerle İncelenmesi, Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
130. 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.
131. Şeftalioğlu, A., 1998, Genel&Özel İnsan Embriyolojisi, Tıp&Teknik Yayıncılık, 3.Baskı, Ankara, 346-349 s.
132. Taşbozan, O., 2005, L-Karnitin Ve Farklı Yağ Seviyeleri İle Hazırlanan Yemlerle Beslenen Çipuraların (Sparus aurata) Büyüme Performansı Ve Vücut Kimyasal Kompozisyonlarının Belirlenmesi Üzerine Bir Araştırma, Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
133. Taşbozan, O. ve Gökçe, M.A., 2007, L-Karnitin Ve Akuakültürde Kullanımı, Türk Sucul Yaşam Dergisi, Yıl. 3-5, Sayı. 5-8.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

134. Tatlıdere, E., 2008, Sıçanlarda Doksorubisin'in Neden Olduğu Kardiyak Toksikite Ve Hemodinamik Değişikliklere Karşı Resveratrol'ün Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Marmara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
135. Tola, H.T., 2008, Doksorubisin ile Oluşturulan Deneysel Kardiyotoksikite Üzerine N-Asetilsisteinin Biyokimyasal ve Histopatolojik Düzeylerdeki Koruyucu Etkilerinin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Süleyman Demirel Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Isparta.
136. Topçu, Y., Kanter, M., Uzal, M.C., 2009, Role of L-carnitine in the prevention of seminiferous tubules damage induced by gamma radiation: a light and electron microscopic study, Arch Toxicol 83:735–746 p.
137. Trivedi, P.P., Tripathi, D.N., Jena, G.B., 2011, Hesperetin protects testicular toxicity of doxorubicin in rat: Role of NF κ B, p38 and caspase-3, Food and Chemical Toxicology 49, 838–847 p.
138. Ünal, S.G., 2011, Di-N Bütil Fitalat'ın (DBP) Testis Üzerine Etkisi ve Resveratrol'ün Olası Koruyucu Özelliğinin Çeşitli Mikroskopik Yöntemlerle İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
139. Vaisheva, F., Delbes, G., Hales, B.F., Robaire, B., 2007, Effects of the Chemotherapeutic Agents for Non-Hodgkin Lymphoma, Cyclophosphamide, Doxorubicin, Vincristine, and Prednisone (CHOP), on the Male Rat Reproductive System and Progeny Outcome, Journal of Andrology, Vol. 28, No. 4.
140. Vendramini, V., Sasso-Cerri, E., Miraglia, S.M., 2010, Amifostine reduces the seminiferous epithelium damage in doxorubicin-treated prepubertal rats without improving the fertility status, Reproductive Biology and Endocrinology, 8:3.
141. Virmani, A. and Binienda, Z., 2004, Role of carnitine esters in brain neuropathology, Molecular Aspects of Medicine 25, 533–549 p.
142. Wei, G., Xiao, S., Si, D., Liu, C., 2008, Improved HPLC method for doxorubicin quantification in rat plasma to study the pharmacokinetics of micelle-encapsulated and liposome-encapsulated doxorubicin formulations, Biomed. Chromatogr. 22: 1252–1258 p.
143. Widmaier, E., Raff, H., Strang, K., 2010, Vander İnsan Fizyolojisi, Güven Bilimsel Yayınları, 10. Baskı, 665 s.
144. Wilson, F.J., Gibney, J.A., Matta, S.G., Kestenbaum, M.G., 1997, Histology Image Review, New York.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

145. Yağcıoğlu, G., 2005, Yemlere Eklenen L-Karnitinin Kuruma Karidesi *Marsupenaeus japonicus*(Penaeidae: Decapoda) Juvenillerinin Büyüme, Yaşama Oranı, Proximate Kompozisyonu Ve Soğuğa Toleransı Üzerine Etkileri, Yüksek Lisans Tezi, Mustafa Kemal Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Antakya.
146. Yari, A., Asadi, M.H., Bahadoran, H., Dashtnavard, H., Imani, H., Naghii, M.R., 2010, Cadmium Toxicity in Spermatogenesis and Protective Effects of L-Carnitine in Adult Male Rats, *Biol Trace Elem Res*, 137:216–225 p.
147. Yavuz, H. ve Kurtuğlu, F., 2012, Biyokimyasal Özellikleri ile L – Karnitin, İstanbul Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Dergisi, Cilt.38, Sayı. 2.
148. Yeh, Y., Lai, H., Ting, C., Lee, W., Wang, L., Wang, K., Lai, H., Liu, T., 2007, Protection by doxycycline against doxorubicin-induced oxidative stress and apoptosis in mouse testes, *Biochemical Pharmacology* 74, 969-980 p.
149. Yeter, K., 2006, Kemoterapi Alan Hastalara Verilen Eğitimin Yaşam Kalitesiüzerine Etkisi, Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
150. Yıldırım, M., 1999, İnsan anatomisi, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 151 s.
151. Young, B., Lowe, J.S., Stevens, A., Heath, J.W., 2006, Wheater's Functional Histology: A Text and Colour Atlas, 5. Edition, Elsevier Health Sciences, 448 p.
152. Zare, Z., Mohammadi, M., Eimani, H., Shafaroudi, M.M., 2011, Prevention of di (2-ethylhexyl) Phthalate-induced Testicular Disturbance in Mice by Co-administration of L-carnitine, *Int J Fertil Steril*. 5(3): 186-193 p.
153. Zhang, R., Zhang, H., Zhang, Z., Wang, T., Niu, J., Cui, D., Xu, S., 2012, Neuroprotective Effects of Pre-Treatment with L-Carnitine and Acetyl-L-Carnitine on Ischemic Injury In Vivoand In Vitro, *Int. J. Mol. Sci.*, 13, 2078-2090 p.

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Ebru MUTLU
Doğum tarihi ve yeri : 17.02.1989/Bursa
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : ebru1102@live.com

Eğitim Durumu

Bursa Erkek Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Fakóltesi Biyoloji Bölümü Lisans Eđitimi

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Eğitimi

Yabancı Dil : İngilizce

Yayımlar

Bilimsel Etkinlikler

07-18 Mayıs 2012-Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel
Etik Kurulu Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası

18.06.2012-Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Pedagojik Formasyon Sertifikası

Eylül 2009-Bursa Biyotıp Laboratuvarları Stajı