

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

**BUSULFAN VE BUSULFAN+PROPOLİS UYGULANMIŞ GEBE
SIÇANLARDAN DOĞAN ERKEK SIÇANLARIN TESTİSLERİNİN
MİKROSKOBİK OLARAK İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FULYA ÖZCAN

DANIŐMAN: YRD. DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU DÖNMEZ

NİSAN 2013

T.C.

ESKİŞEHİR OSMANGAZI ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BUSULFAN VE BUSULFAN+PROPOLİS UYGULANMIŞ GEBE
SIÇANLARDAN DOĞAN ERKEK SIÇANLARIN TESTİSLERİNİN
MİKROSKOBİK OLARAK İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

FULYA ÖZCAN

DANIŐMAN: YRD. DOÇ. DR. DİLEK BURUKOĞLU DÖNMEZ

KABUL VE ONAY SAYFASI

Fulya ÖZCAN'ın Yüksek Lisans Tezi olarak hazırladığı "Busulfan ve busulfan+propolis uygulanmış gebe sıçanlardan doğan erkek sıçanların testislerinin mikroskopik olarak incelenmesi" başlıklı bu çalışma Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddesi uyarınca değerlendirilerek "KABUL" edilmiştir.

Tarih

11.04.2013

Üye

Prof. Dr. Cengiz BAYÇU

Üye

Prof. Dr. Varol ŞAHİNTÜRK

Üye

Prof. Dr. Fatma Sultan KILIÇ

Üye

Prof. Dr. Hilmi ÖZDEN

Üye

Yrd. Doç. Dr. Dilek BURUKOĞLU DÖNMEZ

Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun 16.04.2013 tarih ve 952/4430 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kazım ÖZDAMAR

Enstitü Müdürü

ÖZET

Busulfan ve busulfan+propolis uygulanmış gebe sıçanlardan doğan erkek sıçanların testislerinin mikroskopik olarak incelenmesi.

Busulfan (1,4-butandiol dimetansülfonat) kronik miyeloid lösemi tedavisinde sıklıkla kullanılan ve teratojen olarak da bilinen antineoplastik bir ilaçtır. Propolis ise, bal arıları tarafından üretilen antioksidan, antiinflamatuvar, antibakteriyel, nöroprotektif ve tümörosidal etkileri kanıtlanmış doğal bir maddedir. Bu çalışmada busulfan uygulanmış gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların testisleri üzerinde busulfanın oluşturduğu hasarda propolisin etkisini incelemeyi amaçladık.

Bu çalışmada, 40 adet Spraque-Dawley türü gebe sıçandan doğan erkek sıçanların tamamı kullanıldı. Deney hayvanları her grupta 10 sıçan olacak şekilde 4 gruba ayrıldı: kontrol, busulfan, propolis ve busulfan+propolis. Kontrol grubundaki gebe sıçanlara gebelik süresince 0.15 ml DMSO, busulfan grubundaki gebe sıçanlara gebeliğin 15. gününde 10mg/kg busulfan, propolis grubundaki gebe sıçanlara gebelik süresince her gün 50mg/kg propolis, busulfan+propolis grubunu oluşturan gebe sıçanlara gebelik süresince her gün 50mg/kg propolis ve gebeliğin 15. gününde 10mg/kg busulfan uygulandı. Tüm gruplardaki gebe sıçanlardan doğan erkek yavrular 30, 40 ve 50. günlerde anestezik madde uygulanmasının ardından kesildi. Testisler doku takip işlemi için Bouin ve formaldehit çözeltileri içerisinde 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.

Çalışma sonucunda elde edilen bulgulara göre, kontrol grubundan doğan erkek sıçanların testislerinde normal histolojik yapı, busulfan uygulanmış gebe sıçanlardan doğan erkek sıçanların testislerinde yoğun spermatogenetik hücre hasarı, busulfan+propolis verilen grupta ise azalmış hücre hasarı gözlemlendi.

Sonuçta, busulfanın yavru erkek sıçanların testisleri üzerinde toksisiteye yol açtığı, propolisin ise busulfanın testislerde oluşturduğu bu hasarı azalttığı görüldü.

Anahtar sözcükler: Busulfan, Propolis, Sıçan, Testis

SUMMARY

The microscopical examination of testes of male rats arising from the pregnant rats that were given busulfan and busulfan+propolis.

Busulfan (1,4-butandiol dimetansulfonate) is a antineoplastic drug that is also known as a teratogen and frequently used for treatment of chronic myeloid leukemia. Propolis produced by honeybees, is a natural substance whose effects of antioxidant, anti-inflammatory, antibacterial, neuroprotective and tumoricidal were proved. In this study, we aimed to investigate the effect of propolis on testicular damage in male rats arising from pregnant rats that were administered by busulfan.

In this study, all of the male rats arising from 40 pregnant Sprague-Dawley rats were used. Experiment animals were divided into 4 groups including 10 pregnant rats: control, busulfan, propolis and busulfan+propolis. Pregnant rats which are in the control group was given 0.15 ml DMSO every day during pregnancy, 10 mg/kg busulfan was given to the pregnant rats on the 15th day of the pregnancy in busulfan group, for the pregnant rats in propolis group 50 mg/kg propolis was given every day during pregnancy and for the busulfan+propolis group, 50 mg/kg propolis was given every day while 10 mg/kg busulfan was given on 15th day of the pregnancy. All the male rats arising from the pregnant rats are sacrificed after the administration of anesthetic substance on 30, 40 and 50th postpartum day. Testes were put into Bouin and formaldehyde solutions for tissue tracking process and blocked after the routine histological procedures. Serial sections with a 3 μ m thickness were taken from these paraffin blocks and microscopical examinations were done on sections stained with Hematoxyline+Eosin and Periodic Acid-Sciff+Hematoxyline.

According to the findings of this study, normal histological structure was obtained in control group while intense spermatogenic cell damage on the testes of male rats arising from the pregnant rats treated with busulfan was seen also reduced cellular damage was found in busulfan+propolis group.

As a result, it's seen that busulfan caused toxicity on offspring male rats, while propolis reduced the damage on the testes caused by busulfan.

Key words: Busulfan, Propolis, Rat, Testes

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI	iv
ÖZET	v
SUMMARY	vii
İÇİNDEKİLER	ix
TABLO DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Testis'in Anatomisi	3
2.2. Testis'in Embriyolojisi	7
2.2.1. Testisler'in inışı	10
2.3. Testis'in Histolojisi	11
2.3.1. Seminifer tübüller	12
2.3.1.1. Sertoli (destek) hücreleri	13
2.3.1.2. Spermatogenik seri hücreleri	15
2.3.1.2.1. Spermatogonyumlar	16
2.3.1.2.2. Primer ve sekonder spermatoisitler	17
2.3.1.2.3. Erken ve geç dönem spermatidler	17
2.3.1.2.4. Spermatozoon (olgun spermatozoa)	18
2.3.2. İnterstisyel alan	19
2.3.2.1. Leydig hücreleri	19
2.3.2.2. Miyoid hücreler	20
2.3.3. Kan-testis bariyeri	21
2.4. Testis'in Fizyolojisi	21
2.5. Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar	25
2.5.1. Antineoplastik ilaçların yan etkileri	26
2.6. Alkilleyci Ajanlar	26
2.7. Busulfan	27
2.7.1. Busulfan metabolizması	29
2.7.2. Busulfan'ın farmakokinetiği	32

2.7.2.1. Emilimi	32
2.7.2.2. Dağılımı.....	33
2.7.2.3. Eliminasyonu	34
2.8. Propolis	34
2.8.1. Propolis'in tarihçesi	35
2.8.2. Propolis'in fiziksel özellikleri	36
2.8.3. Propolis'in kimyasal yapısı ve özellikleri	37
2.8.4. Propolis'in biyolojik özellikleri	39
2.8.5. Propolis örneklerinde belirlenen bileşik grupları	41
2.8.5.1. Flavonoidler.....	41
2.8.5.2. Fenol bileşikleri	44
2.8.6. Propolis'in metabolik etkileri	47
2.8.6.1. Emilimi, dağılımı ve atılımı	48
2.8.7. Propolis'in antioksidan özellikleri	49
2.8.8. Propolis'in antibakteriyel ve antifungal etkisi	50
2.8.9. Propolis'in anti-inflamatuar etkisi	51
2.8.10. Propolis'in toksik özelliği	51
3. GEREÇ VE YÖNTEM	52
3.1. Deney Hayvanları	52
3.2. Kimyasallar	53
3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü	53
3.4. Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması	53
3.5. Dokuların Alınması	54
3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü	54
3.7. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması	54
3.8. Boyaların Hazırlanması.....	56
3.8.1. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) boyasının hazırlanışı	56
3.9. Kesitlerin Alınması ve Boyanması.....	56
3.10. Histolojik Değerlendirme	59
3.11. İstatistiksel Analiz.....	59
4. BULGULAR.....	60
4.1. İstatistiksel Bulgular	60
4.1.1. Günlere göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri	60

4.1.1.1.	30. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri.....	60
4.1.1.2.	40. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri.....	61
4.1.1.3.	50. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri.....	63
4.1.2.	Gruplara göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri.....	64
4.1.2.1.	Kontrol grubu	64
4.1.2.2.	Busulfan grubu.....	65
4.1.2.3.	Propolis grubu	66
4.1.2.4.	Busulfan+Propolis grubu	67
4.2.	Histolojik Bulgular	68
4.2.1.	Kontrol grubu	68
4.2.2.	Busulfan grubu	69
4.2.3.	Propolis grubu	71
4.2.4.	Busulfan+Propolis grubu	72
5.	TARTIŞMA	103
6.	SONUÇ VE ÖNERİLER	112
KAYNAKLAR DİZİNİ.....		117
ÖZGEÇMİŞ.....		132

TABLO DİZİNİ

Tablo 1. Propoliste tanımlanmış bileşenler ve sayıları.....	38
Tablo 2. Propolisteki Önemli Flavonoidler.....	43
Tablo 3. Fenolik Bileşikler.....	46
Tablo 4. Propolisteki bileşiklerin bilinen özellikleri.....	48
Tablo 5. Doku takip yöntemine ait süreler	55
Tablo 6. Hematoksilen Eozin boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri....	57
Tablo 7. PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri.....	58
Tablo 8. 30. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.....	60
Tablo 9. 40. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.....	61
Tablo 10. 50. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.....	63
Tablo 11. Kontrol grubuna göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.....	64
Tablo 12. Busulfan grubuna göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.....	65
Tablo 13. Propolis grubuna göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.....	66
Tablo 14. Busulfan+Propolis grubuna göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.....	67

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Testisin anatomik yapısı.....	3
Şekil 2. Erkek üreme hormonlarının denetlenmesi.....	24
Şekil 3. Busulfanın metabolik şeması.....	31
Şekil 4. Flanonoidlerin zincir yapıları.....	42
Şekil 5. Kafeik asit fenil eter ester (CAPE).....	44
Şekil 6. Önemli bazı flavonoidlerin kimyasal yapıları.....	45
Şekil 7. Kontrol grubu-30. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	74
Şekil 8. Kontrol grubu-30. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	75
Şekil 9. Kontrol grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	76
Şekil 10. Kontrol grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	77
Şekil 11. Kontrol grubu-50. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	78
Şekil 12. Kontrol grubu-50. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	79
Şekil 13. Busulfan grubu-30. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	80
Şekil 14. Busulfan grubu-30. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	81
Şekil 15. Busulfan grubu-30. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	82
Şekil 16. Busulfan grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	83
Şekil 17. Busulfan grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	84
Şekil 18. Busulfan grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	85
Şekil 19. Busulfan grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	86
Şekil 20. Busulfan grubu-50. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	87
Şekil 21. Busulfan grubu-50. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	88
Şekil 22. Busulfan grubu-50. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	89
Şekil 23. Propolis grubu-30. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	90

Şekil 24. Propolis grubu-30. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	91
Şekil 25. Propolis grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	92
Şekil 26. Propolis grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	93
Şekil 27. Propolis grubu-50. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	94
Şekil 28. Propolis grubu-50. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	95
Şekil 29. Busulfan+propolis grubu-30. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	96
Şekil 30. Busulfan+propolis grubu-30. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	97
Şekil 31. Busulfan+propolis grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	98
Şekil 32. Busulfan+propolis grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	99
Şekil 33. Busulfan+propolis grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	100
Şekil 34. Busulfan+propolis grubu-50. gün grubuna ait testis kesiti (H-E).....	101
Şekil 35. Busulfan+propolis grubu-40. gün grubuna ait testis kesiti (PAS+H).....	102

SİMGELER VE KISALTMALAR

°C	Santigrat Derece
µm	Mikrometre
ABP	Androjen bağlayıcı protein
AMH	Antimüllerian hormon
AML	Akut miyeloid lösemi
AlCl ₃	Alüminyum klorür
BOS	Beyin omurilik sıvısı
Busulfan	1,4-butandiol dimetansülfonat
C	DNA miktarı
cAMP	Döngüsel adenzin monofosfat
CAPE	Kafeik asit fenil eter ester
CAT	Katalaz
cm	Santimetre
CPF	Klorpirifos
dl	Desilitre
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
FSH	Folikül stimulan (uyarıcı) hormon
GBG	Gonadal steroid bağlayıcı globülin
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz

GSH	Glutasyon
H	Hematoksilen
H-E	Hematoksilen-Eozin
hCG	İnsan koryonik gonadotropin hormonu
IARC	Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı
ICHS	İnterstisyel hücreleri uyaran hormon
i.p.	İntraperitoneal (periton içi)
kg	Kilogram
LH	Luteinizan hormon
MİM	Müllerian inhibitör madde
mm	Milimetre
MRSA	Metisiline dirençli Stafilokok aureus
nm	Nanometre
OH	Hidroksil
PAS	Periyodik asit Schiff
pg	Pikogram
RNA	Ribonükleik asit
ROS	Reaktive oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SRY	Y kromozomunun cinsiyeti belirleyen bölgesi
TBF	Testis belirleyici faktör
TPTCl	Trifeniltin klorür
yy	Yüzyıl

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kanser; normal hücrelerin kontrolsüz olarak çoğalması, yaygın nitelik kazanması, metastaz yapması ile kendini gösteren ve kalp hastalıklarından sonra ölüme yol açan nedenler arasında ikinci sırada yer almaktadır (99).

Kanser; günümüzde tipine ve gelişim evresine bağlı olarak cerrahi çıkarım, radyoterapi ve kemoterapi yöntemlerinin ya tek başına ya da kombine uygulamalarıyla tedavi edilmektedir (146).

Busulfan (1,4-butandiol dimetansülfonat), 1959 yılından bu zamana kadar özellikle kronik miyeloid lösemi tedavisi için kullanılmaktadır. Antikarsinojenik etkilerine rağmen, klinik kemoterapide kullanımı, insanlardaki toksisitesi, amenore, jinekomasti, azospermi ve oligospermi gibi gonadal bozuklukların da içinde bulunduğu birçok hastalığa neden olduğundan sınırlıdır (180).

Busulfan, hücre döngüsü sırasında DNA sentez fazında DNA duplikasyonunu ve transkripsiyonunu engelleyerek hücre çoğalmasını bozan alkilleyici bir ajandır (40, 67). Busulfanın yarılanma ömrü 3 saat gibi kısa bir zamandır (76) bundan dolayı etkileri geçicidir.

Günümüzde kullanılan sentetik ilaçların yan etkilerinin ortaya çıkması ve hastalık etmenlerinin bu ilaçlara karşı direnç kazanması, insanları doğal ilaç olarak bilinen ürünlerin tüketimine yönlendirmiştir. Bu doğal ürünler arasında en yaygın olarak kullanılanlardan birisi de arılardan elde edilen ürünlerdir. Bu ürünlerin tümü birçok hastalığın ilerlemesinin önüne geçmek, ağrıların azaltmak ve tedavi etmek amacıyla kullanılmaktadır. Bal arısı ürünlerinin tedavi amacıyla kullanılmasına “apiterapi” denilmektedir. Apiterapi arıcılık kadar eskidir (65). Apiterapi bal, propolis, arı sütü, polen ve arı zehri kullanımını kapsar (183).

Propolis, ilk kez eski çağlarda Yunanlar tarafından bulunarak doğal bir antibiyotik olarak kullanılmıştır (80).

Arılar propolisi;

- a. Kovan deliklerinin ve çatlaklarının kapatılmasında,
- b. Peteklerin tamir edilmesinde ve birbirine yapıştırılmasında,
- c. Çeşitli arı hastalıklarından koloninin korunmasında ve hastalık etmenlerinin etkisiz duruma getirilerek gelişmelerinin önlenmesinde kullanılır (112).

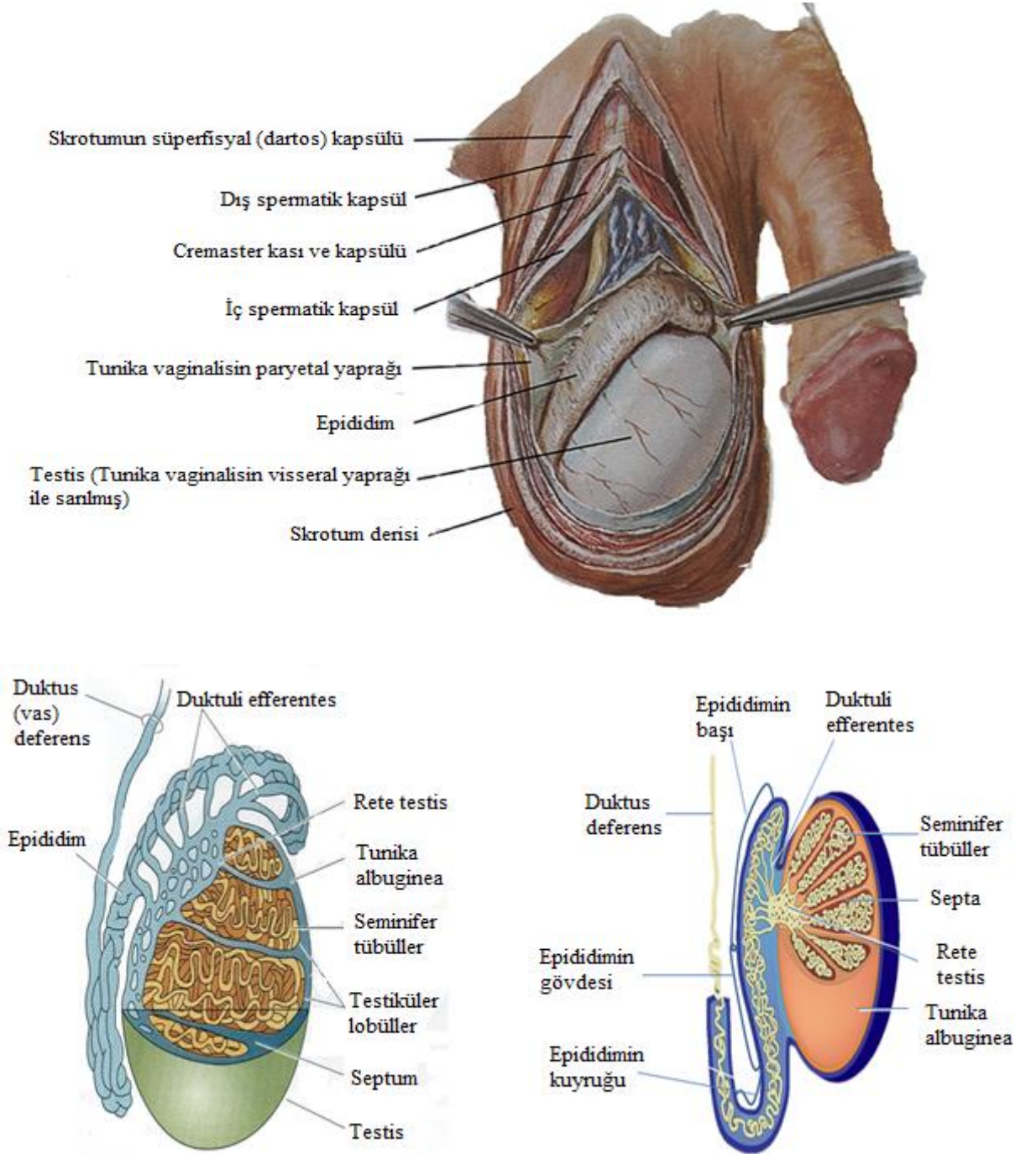
Propolisin, en önemli biyolojik özelliği mikroorganizmalara karşı etkisidir. Propolis altmıştan fazla farmakolojik etkisi nedeniyle insanlar tarafından kullanılan doğal bir arı ürünüdür (114).

Propolisin antimikrobiyal etkisi kimyasal yapısında bulunan Flavonoidler, Krizin, Apigenin, Quercetin, Kaempferide, Kaemperol-7,4-dimethylether, Pinochembrin, Luteolin, İsoferulik asit, Galangin gibi bileşiklerin aktiviteleri sonucunda oluşmaktadır (115, 149).

Bu bilgiler ışığında bu çalışmanın amacı; gebe sıçanlara gebeliklerinin 15. gününde verilen busulfan etken maddesinin, bu gebe sıçanlardan doğacak olan erkek yavruların testisleri üzerinde oluşturduğu hasarın tespit edilmesi ve gebelik süresince verilen propolisin oluşan bu hasar üzerindeki koruyucu etkilerinin araştırılmasıdır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis'in Anatomisi



Şekil 1. Testisin anatomik yapısı.

Testisler, oval şekilli olup yetişkin insanlarda yaklaşık 4-5 cm uzunluğunda, 2.5 cm eninde ve 20-30 g ağırlığında, funiculus spermaticus'a asılı olarak skrotum içinde yerleşmiş, erkek üreme hücrelerinin (spermatozoa) yapıldığı bir çift organdır (5, 9, 54, 145, 216). Kıvrımlı bir deri kesesi olan skrotum'un iç yüzü, skrotal septum (septum scrotum) ile iki ayrı bölüme ayrılır. Testisler bu boşluklarda bulunur.

Testislerin skrotum içindeki duruşları vertikal olmayıp, organın uzun eksenini yukarıdan aşağıya ve önden arkaya eğik ve biri (genellikle sol testis) diğerine göre (genellikle 1 cm) biraz daha aşağı konumdadır. Bezin üst ucu da öne doğru hafif eğilmiştir (159).

Testislerin temel fonksiyonlarını yapabilmeleri için karın boşluğundan skrotum'a inmeleri zorunludur. Testisler bu inişleri sırasında karın ön duvarı tabakalarını da sürüklerler. Testisler aşağıda sıralanmış olan tabakalarla kaplıdır:

- a. Deri
 - b. Tunika dartos
 - c. Fasia spermatika eksterna
 - d. Fasia kremasterika
 - e. Fasia spermatika interna
 - f. Tunika vaginalis testis (26).
- } Skrotum

Sperm üreten testisler için gerekli sıcaklık, vücut sıcaklığından 2-3°C daha düşüktür. Optimum sıcaklık 34°C'dir. Normal spermatogenezis, testislerin karın boşluğundaki ısıdan daha düşük ısıda bulunmasıyla gerçekleşebilir. Testisler skrotum'a yerleştiklerinde karın ısısından 3°C daha düşük ısıda bulunmuş olurlar. Skrotum sıcakta gevşeyerek sarkar ve vücuttan uzaklaşır. Soğukta ise büzüşerek toplanır ve vücuda yaklaştırılarak testislerin optimum sıcaklıkta tutulması sağlanır. Bu hareketleri, musculus cremaster ve musculus dartos'un kasılmaları gerçekleştirir (5, 162).

Her bir testis'in facies medialis ve facies lateralis olarak iki yüzü, margo anterior ve margo posterior olarak iki kenarı, ekstremitas süperior ve ekstremitas inferior olmak üzere iki ucu vardır. Margo anterior, peritoneum viscerale'nin uzantısı olan epiorchium ile kaplıdır. Margo posterior'un medial bölümüne corpus epididimis oturur. Margo posterior'un orta kısmında testis damar ve sinirleri ile spermin kanallarının geçtiği mediastinum testis denilen yapı bulunur. Ekstremitas süperior üst uç olup, buraya caput epididimis yerleşmiştir. Ekstremitas inferior testis'in alt ucu olup, cauda epididimis ile örtülüdür (10, 54).

Testis dıştan içe; **tunica vaginalis**'in lamina visceralis'i (epiorchium), **tunica albuginea** ve **tunica vasculosa** olarak üç tabaka ile sarılıdır (10, 79, 142).

Tunica vaginalis, testisin büyük bölümünü saran periton katlantısı olup, embriyonik processus vaginalis'in distal kalıntısıdır (118, 119). Tunica vaginalis; skrotum'un iç yüzünü döşeyen lamina parietalis (periorchium) ve testisi saran lamina visceralis (epiorchium) olarak iki katmandan oluşur. Lamina visceralis (epiorchium), epididimis'in büyük kısmı ile arka kenarının mediyal bölümü dışında, testis'i sarar ve bu iki yapıyı birbirine bağlar. Lamina parietalis (periorchium), periton'un fascia spermatica interna'yı döşeyen kısmıdır (10, 79). Tunica vaginalis'in iki katmanı arasında kalan aralığa cavum serosum scroti denir ve içinde eklem sıvısına benzer, testislerin serbest hareketini sağlayan kaygan bir sıvı bulunur (10, 118, 119).

Tunica albuginea, lamina visceralis'in altında testis'i dıştan saran mavimsi beyaz renkli, fibröz bir katmandır. Tunica albuginea, testis'in arka dış kısmından içeriye girerek mediastinum testis (Highmore korpusu) adı verilen kalın ve vertikal bir bölme oluşturur (10). Mediastinum testis, organa damar, sinir ve kanalların girip çıktığı bölgedir (10). Mediastinum testis'ten testis içine giren uzantılara septula testis denir (10). Septumlar, testisin derinliklerine doğru ışımsal uzanarak organı piramidal şekilli 250-300 lopçuğa (lobuli testis) ayırır (10). Lobuli testislerin taban kısımları perifer, tepe kısımları ise mediastinum testis'e yönelmiştir (2). Her lopçuk, tübülü seminiferi contorti (seminifer tübül) denilen, sayısı 600-1000 arasında değişen sıkışık, kangal

şeklinde kıvrıntılı tüplerden oluşmaktadır (10, 54, 148, 162). Bu tübüllerin uzunlukları 30-70 cm, çapları 150-250 µm'dir (54, 148). Spermatozoonlar seminifer tübüllerde üretilir (35).

Kıvrıntılı bir yapı gösteren seminifer tübüller kör bir uçla başlar, lopçukların mediastinum testis'e bakan kısımlarında düzleşip, birbirleriyle birleşerek sayıları 20-30'a iner (10). Tubuli seminiferi recti denilen bu kısa düz kanalların çapları genişleyerek 0.5 mm olur (3). Tubuli seminiferi recti'ler mediastinum testis'e uzanarak ve birbirleriyle anastomoz yaparak rete testis'i (Haller ağı) oluştururlar. Rete testis, mediastinum testisin üst bölümünde sayıları 12-15 arasında değişen efferent kanalcık'lara açılır. Efferent kanalcıklar, tunica albuginea'yı delerek testis dışına çıkarlar (10).

Seminifer tübül duvar yapısı, sustentakular (Sertoli, destek) hücreler ve spermatogenik seri hücreleri olarak iki tip hücre içeren germinal doku ile döşenmiştir. Spermatogenik seri hücreleri bazal lamina ile tübül lümeni arasında 4-8 sıralı kat halinde dizilidirler. Bazal membran üzerine oturan ve lümene doğru uzantıları bulunan Sertoli (destek) hücreleri testis'in kan-testis bariyerinin oluşturulması, germinal spermatozoonların olgunlaşmasının sağlaması gibi görevlere sahiptir. Bunun yanı sıra androjen bağlayıcı protein ve inhibin hormonu salgılar (5). Seminifer tübüller arasındaki bağ dokusunda damar ve sinirlerin arasında küme şeklinde Leydig hücreleri (Interstitial endocrinocytes) denilen endokrin hücreler bulunur. Bu hücreler androjenleri salgılar. Androjenlerin en önemlisi, sekonder seks karakterlerinin gelişiminden sorumlu olan testosterondur (5, 35, 178).

Tunica vasculosa, tunica albuginea'nın iç yüzünü ve lopçukları döşeyen damar ağı katmanıdır (10). Damarlar arasında gevşek bağ dokusu bulunur (10).

Testis ve epididimis, aortanın dalı olan arteria testikularisten beslenirler. Testis ve epididimisin venleri, önce funiculus spermaticusu saran bir ağ şeklinde plexus pampiniformisi, daha sonra da birbirleriyle birleşerek vena testikularisi oluştururlar.

Bunlar da sağ tarafta vena cava inferior, sol tarafta vena renalis sinistraya açılır (10, 97, 131).

2.2. Testis'in Embriyolojisi

Testisler (erbezi, orchis), karın boşluğunun arka duvarında yer alan ve paraksiyal mezoderm ile lateral plağı geçici bir süre için birleştiren ara (intermediyer) mezodermden gelişirler (150). Gonadlar (testisler ve overler) üç kaynaktan köken alırlar (120, 121);

1. Karın arka duvarını döşeyen mezotel (mezodermal epitel),
2. Altında bulunan mezenşim (embriyonik bağ dokusu),
3. Primordial germ hücreleri (ilkel cinsiyet hücreleri) (29).

Gonadal gelişimin ilk evreleri embriyonel gelişimin 5. haftasında ortaya çıkar, mezonefrik böbreğin medialinde, mezotelde bir kalınlaşma meydana gelir. Mezodermal epitel (söлом epiteli) ve altındaki mezenşim yoğunlaşır ve mezonefroz'un medialinde bir kabarıklık (genital veya gonadal sırt) biçimlenir. Gelişimin 6. haftasına kadar bu gonadal kabartılar içinde germ hücreleri bulunmaz (29, 119, 152).

Boyutları ve kromatin içerikleri soma hücrelerinden farklı olan ilkel germ hücreleri gelişimin 4. haftasında vitellüs kesesinin allantois'e yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında belirir (120, 121). Dorsal mezenter yoluyla ameboid hareketlerle ilerleyerek 5. haftanın başında ilkel gonadlara ulaşır ve 6. haftada da gonadal kabartılara yerleşirler (29, 152). Bu hücreler gonadal kabartılara ulaşamadıklarında gonadlar gelişemez. İlkel germ hücrelerinin gonadların testise farklılaşmasında indükleyici etkisi vardır (152).

İlkel germ hücrelerinin göçünden az önce ya da göçü sırasında gonadal kabartının epiteli yeniden çoğalmaya başlar ve altlarında bulunan mezenşim içerisine gömülerek

parmak şeklindeki ilkel cinsiyet kordonlarını oluştururlar. Bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır (22, 119, 152).

Erkek fenotipinin gelişimi için bir Y kromozomu gereklidir. Testis belirleyici faktör (TBF) için gerekli olan SRY (Sex-determining region Y) geninin, Y kromozomunun kısa kolunda, cinsiyet belirleyici bölgesinde yerleştiği saptanmıştır. Y kromozomu tarafından düzenlenen, TBF, testiküler farklılaşmayı sağlamaktadır. Bu organizatör faktörün etkisi altında, gonadal kordonlar, seminifer kordonlara (seminiferöz tübül primordiyumlarına) farklılaşır. Seminifer kordonların oluşumu, bir dizi genin uyarılmasıyla sağlanır. TBF, gonadal kordonları uyararak, onların farklılaşmamış gonadın medullasında derinlere doğru uzamasına neden olur. Kordonlar burada dallanarak birbirleriyle anastomoz yaparlar ve böylece rete testis oluşur. Kalın bir fibröz kapsül olan tunika albuginea geliştikten sonra, gonadal kordonların yüzey epiteli ile olan bağlantıları kaybolur. Yoğun bir yapısı olan tunika albuginea'nın gelişimi, testiküler gelişim için oldukça karakteristiktir. Genişleyen testis aşamalı olarak dejenere olan mezonefrozdaki ayrılır ve kendi mezenteri olan, mezorsiyum ile asılı hale geçer. Seminifer kordonlar, seminifer tübüllere, tübülü rekti ve rete testise farklılaşır (26, 63, 100, 120, 121).

Testis belirleyici faktör ilkel cinsiyet kordonlarını uyarır. Parmak şeklindeki epitel kordonları (gonadal kordonlar) altındaki mezenşim içerisine doğru kısa sürede büyür. Farklılaşmamış gonad, dışta yer alan bir korteks ve içte yer alan bir medulla'dan oluşmaktadır. Eğer embriyo XX seks kromozom kompleksine sahip ise, farklılaşmamış gonad'ın korteksi ovaryuma farklılaşır, medullası geriler. Embriyo XY seks kromozom kompleksini içermekteyse, medulla testise farklılaşır, korteks bir takım kalıntıları bırakarak geriler, dejenere olur (26, 63, 100, 120, 121).

Seks kromozom kompleksinin tipi, fertilizasyonla sağlanır, bu da farklılaşmamış gonadın hangi yönde gelişeceğini belirlemektedir. Mevcut gonadın tipi, daha sonra dış genitalerde ve genital kanallarda oluşan cinsiyet farklılaşmasını belirlemektedir. Fetal

testisler tarafından üretilen testosteron, dihidrotestosteron ve antimülleriyan hormon (AMH) normal erkek cinsiyet gelişimini belirlemektedir (26).

Dördüncü ayda testis kordonları at nalı şeklinde kıvrıntılar yapar, iki uçları ile birleşerek ince bir kanal oluşturur. Buna tübüli rekti denir. Bunlar rete testis'e açılırlar. Böylece testis içi iki boşaltma kanalı oluşmuş olur (29). Testis kordonlarında ilkel germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken alan Sertoli destek hücreleri bulunur (152).

Seminifer tübüller, interstisyel hücreleri (Leydig hücreleri) oluşturan mezenşim ile ayrılırlar. Sekizinci haftadan itibaren Leydig hücreleri, androjenik hormonları (testosteron ve androstenediyon) salgılamaya başlarlar. Bu hormonlar mezonefroz kanallarının (Wolff) ve dış genitalerin erkek tipinde farklılaşmasını uyarır. Testosteron üretimini, insan koryonik gonadotropin (hCG) hormonu uyarır. Bu hormonun miktarı, 8-12 haftalık dönemde en yüksek değerine ulaşır. Testosterona ek olarak, fetal testisler, glikoprotein yapıda bir hormon olan antimülleriyan hormon (AMH) veya mülleriyan inhibitör madde (MİM) adı verilen bir hormonu da salgılamaktadır. AMH, Sertoli hücreleri (destek hücreleri) tarafından salgılanır. Bu hormonun salınması ergenliğe kadar devam eder, daha sonra ise seviyesi azalır. AMH, uterus ve tuba uterinalara farklılaşan, paramezonefroz kanallarının (Müller) gelişimini baskılar (26, 63, 100, 120, 121). Seminifer tübüller, ergenliğe kadar katı halde kalırlar, ergenlikten itibaren lümen gelişir. Seminifer tübül duvarında germinal ve non germinal olmak üzere iki tip hücre bulunur:

Sertoli hücreleri: Destek hücreleri olan bu hücreler, testisin yüzey epitelinden gelişirler. Non germinal hücrelerdir.

Spermatogonyum: Sperm hücrelerinin öncüleri olan bu hücreler, primordiyal germ hücrelerinden farklılaşırlar. Germinal hücrelerdir (26, 63, 120, 121).

Fetal testiste, Sertoli hücreleri, seminifer tübüllerdeki hücrelerin çoğunluğunu oluşturur. Daha sonraki fetal gelişme sırasında, testisin yüzey epiteli düzleşir ve yetişkin

testisin dış yüzeyindeki mezoteli oluşturur. Rete testis, efferent kanalcıkları (duktuli efferentes) oluşturan, 15-20 adet mezonefroz tübül ile devam eder. Bu kanalcıklar, duktus epididimisi oluşturan mezonefroz kanalı ile bağlanır (22, 24, 61, 111, 113).

2.2.1. Testisler'in inişi

Yirmi altıncı haftada testisler karın arka duvarından retroperitoneal olarak (peritonun dışında) derin inguinal halkaya doğru inerler. Testislerdeki bu konum değişikliği, fetal pelvis'in genişlemesi ve embriyonun boyutlarındaki uzama ile birlikte olur (118).

Mezonefroz böbreğin dejenerasyonunu izleyerek, her iki tarafta testis'in alt kutbundan çıkan ve hücre dışı matriksten zengin, yoğun mezenşimal yapıda bir ligament şekillenir. Buna gubernakulum adı verilir. Gubernakulum, prosesus vaginalis'in inguinal kanalları oluşturma sırasında ona ön karın duvarı boyunca bir yol oluşturur. Prosesus vaginalis bir periton çıkıntısıdır ve gubernakulum'un ön tarafında gelişir, gubernakulumdan önce karın duvarı katmanlarının uzantılarını taşır. Bu uzantılar da inguinal kanal duvarlarını yaparlar. Erkeklerde bu katmanlar aynı zamanda spermatik kordon ve testis'in yüzeysel katmanlarını oluşturur. Gubernakulum aynı zamanda testis'i skrotum'a bağlar ve testis'in skrotum'a inişine rehberlik yapar. Gubernakulum daha sonra kaudalde, labioskrotal şişkinliklerin iç yüzeylerine yapışır. Testislerin inguinal kanallardan skrotum'a inişi genellikle 2-3 gün sürer. Testisler, periton ve prosesus vaginalis dışından geçerler (79, 119, 152).

Testis'in inişini denetleyen faktörler tam olarak belli değildir. Ancak karın içi göçün gubernakulum'un karın dışı parçasının uzamasıyla gerçekleştiği, organların büyümesinin karın içi basıncını arttırarak inguinal kanaldan geçişi sağladığı ve gubernakulum'un karın dışı kısmının regresyonunun da testis'in skrotum içine doğru olan inişini tamamlamasını sağladığı sanılır (152). Ayrıca testislerin inguinal kanallar boyunca skrotum'a inmelerinin fetal testislerce üretilen androjenler tarafından denetlendiği kabul edilmektedir (161). Normalde testisler gelişimin yaklaşık 12.

haftasında inguinal bölgeye gelmekte, inguinal kanaldan 28. haftada geçmekte ve dört hafta sonra yani 32. haftada skrotum'a inmektedirler (152).

İniş sırasında testisler aortadan beslenmeyi sürdürürler ve testiküler damarlar da başlangıçtaki lumbar yerleşimlerinden skrotum içindeki testislere kadar uzanırlar (152). Testiküler damarlar, testisler henüz arka karın duvarı düzeyindeyken oluşurlar (119)

Yeni doğanların %97'den fazlasında her iki testis de skrotum içerisinde bulunur. Doğumdan sonra ilk üç ay içerisinde inmemiş testislerin çoğu skrotum'a iner. Bir yaşından sonra testislerin kendiliğinden skrotum'a inişleri gözlenmez. Doğumdan sonra testislerden birisi ya da her ikisinin pelvis boşluğunda ya da inguinal kanal içinde yerleşik kalma durumlarına "kriptorşidizm" adı verilir. Kriptorşidizm'in kesin nedeni bilinmemekle birlikte, fetal testislerce üretilen androjenlerin eksikliği önemli bir faktör olarak kabul edilmektedir (119).

2.3. Testis'in Histolojisi

Erkek üreme sistemi; skrotum içerisinde asılı halde duran ve bir septum ile birbirinden ayrılmış bir çift testis, testis içi genital kanallar (tübülü rekti, rete testis, duktuli efferentes), genital boşaltım kanalları (duktus epididimis, duktus (vas) deferens, duktus ejakulatoryus, üretra), yardımcı genital bezler (vezikula seminalis, prostat, bulbouretral bez) ve penis'ten oluşur (44, 54, 94).

Erkek üreme sisteminin bir parçası olan testisler, bu sistemin esas fonksiyonel organlarıdır. Erkek üreme hücresi olan spermatozoonların üretimiyle yükümlüdürler. Ayrıca erkek seks hormonu olan testosteron'un sentezini, depolanmasını ve salınmasını sağlarlar. Birleşik tübüler bez yapısındadırlar (48, 87).

20-30 g ağırlığında oval bir bez olan testis, canlıda beyaz görünüm sergilemesi nedeniyle tunika albuginea adı verilen sıkı fibroelastik bağ dokusundan oluşan kalın bir

kapsülle sarılmış durumdadır (134). Tunika albuginea testisin arka yüzünde kalınlaşarak mediastinum testis adı verilen yapıyı oluşturur. Buradan bezin içine giren fibröz uzantılar (septum), bezi testis lopçukları/bölmeleri denilen yaklaşık 250 adet piramidal bölmeye ayırır. Bu uzantılar kesintisiz değildir ve çoğunlukla bölmeler birbirleriyle bağlantılıdır. Her lobülde gevşek bağ dokusu ile sarılı 1-4 adet seminifer tübül yer alır. Bu bağ dokusu bol miktarda kan ve lenf damarı, sinirler ve Leydig hücreleri adı verilen interstisyel hücreleri içerir. Seminifer tübüller erkek üreme hücreleri olan spermatozoonları üretirken, interstisyel hücreler de testis androjenlerini salgılar (41, 46, 53, 54, 94, 101, 109, 130, 148).

2.3.1. Seminifer tübüller

Seminifer tübüller spermatozoonların üretim yeridir. Her seminifer tübül yaklaşık 150-250 µm çapında, 30-70 cm uzunluğundadır. Her bir testiste ortalama 250-1000 adet seminifer tübül bulunur ve bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 metredir. (44, 54, 94, 148). Tübüller kıvrımlıdır ve uçlarına doğru lümeni daralarak düz tübüller ya da tübüli rekti olarak anılan kısa segmentler halinde devam eden kanallar şeklinde uzanır. Bu düz tübüller, seminifer tübülleri rete testis denilen, epitel ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlar. Anastomoz yapan rete testis kanalları, yaklaşık 10-20 adet duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmaktadır (54, 72, 109, 148, 241).

Seminifer tübüller fibröz bir bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık yapıdaki çok katlı epitelden (germinal ya da seminifer) oluşur (94). Seminifer tübülü saran fibröz tunika propria birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas özellikleri de gösteren yassılaştırmış miyoid hücreler içerir. Seminifer tübüllerin arasındaki boşluğun büyük bir bölümünü interstisyel (Leydig) hücreleri doldurur (94, 109, 148).

Seminifer tübülü saran birkaç fibroblast katmanından oluşan fibröz bağ dokusu yapısındaki kılıfa tunika propria adı verilir. Tunika propria'da birbirine geçmiş yapıda

ve ince Tip I kolajen demetleri de bulunmaktadır (54, 94). Tunika propria ile seminifer túbül epiteli birbirinden, oldukça iyi gelişmiş bir bazal lamina ile ayrılır. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, düz kas hücre özellikleri de gösteren yassılaştırılmış miyoid hücreler içerir. Miyoid hücreler, hareketsiz spermleri rete testis'e ilerleten ritmik kasılmadan sorumludur. Spermler epididimal kanaldan geçtikten sonra ileri hareket özelliklerini kazanırlar (44, 72, 94, 101). Seminifer túbül duvarı, karmaşık yapıda olan ve germinal ya da seminifer epitel denilen çok katlı bir epitel ile döşelidir. Bu epitelde Sertoli (destek) hücreleri ve spermatogenik seriyi oluşturan hücreler bulunur (72, 94).

2.3.1.1. Sertoli (destek) hücreleri

İlk kez 1865 yılında Enrico Sertoli, testiste çok sayıda ince uzantıları ile komşu germ hücrelerini saran ve onları çevreden izole eden, dallanmalar yapmış bu hücreleri tanımlamış ve bu hücreler daha sonra Sertoli hücreleri olarak adlandırılmıştır (126). Puberteye kadar seminifer epitelde hakim olan hücre tipidir. Puberteden sonra germ hücrelerinin çoğalmasıyla, seminifer túbülleri döşeyen hücrelerin yaklaşık %10'unu oluştururlar. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatogenik hücre topluluğu azaldığında, Sertoli hücreleri yeniden epitelin esas yapısı haline gelirler (54, 94, 101, 109).

Sertoli (sustentakular) hücreleri spermatogenik serideki hücreleri saran, uzamış piramidal şekilli hücrelerdir. Hücrelerin tabanları geniştir ve bazal lamina üzerine oturur, apikal uçları ise seminifer túbülün lümenine uzanır (59, 94, 148). Túbüller arası boşluk ve túbül lümeni arasında köprü hücreler olarak görev yaparlar (136). Sertoli hücreleri bölünmezler (148). Kötü koşullara ve yaralanmalara karşı spermatogenik hücrelerden daha dayanıklıdırlar (44). Sertoli hücrelerinin üst ve yan hücre membranlarının sınırları düzensizdir. Gelişmekte olan spermatogenik hücreler bu düzensiz aralıklardan lümenine ulaşırlar (101).

Işık mikroskopunda, spermatogenik seri hücrelerini çevreleyen çok sayıda yan uzantı nedeniyle Sertoli hücrelerinin sınırları iyi belirlenemez ve soluk renkli görünürler (44, 54). Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda bu hücrelerin çok sayıda

granülsüz endoplazmik retikulum, az miktarda granüllü endoplazmik retikulum, iyi gelişmiş Golgi kompleksi, çok sayıda yuvarlak ve uzun mitokondriyonlar, lizozomlar, çok sayıda mikrotübül, lipit damlacıkları, kesecikler, glikojen granülleri ve filamentler içerdiği gösterilmiştir. 7-9 nm uzunluğundaki filamentler, kılıflar içerisinde yer almakta ve çekirdeğin etrafını çevreleyerek, çekirdeği diğer sitoplazmik organelerden ayırmaktadır.

Çekirdek olukludur ve heterokromatin kitleleri ile ilişkili geniş bir çekirdekçik içerir. Sitoplazma, granüllü ve granülsüz endoplazmik retikulum, mitokondriyonlar, lizozomlar, lipid damlacıkları, yaygın bir Golgi aygıtı ve zengin bir hücre iskeleti (vimentin, aktin, mikrotübüller) içerir. Bazolateral bölgelerinde, Sertoli hücreleri komşu Sertoli hücreleri ile sıkı bağlantıları oluştururlar (41, 109).

Sertoli hücrelerinin bazal sitoplazmalarında protein yapısında kristalloid cisimcikler olan Charcot-Böttcher inkluzyonları görülebilmektedir. Bu ince ve mekik şeklindeki kristalloidler 10-25 µm uzunluğunda ve yaklaşık 1 µm genişliğindedir. Elektron mikroskobu ile yapılan çalışmalarda içeriğinde 15 nm uzunluğunda olan, düzenli ve sık yerleşmiş filametler bulundurduğu görülmüştür ancak bu kristalloidlerin görevi ve kimyasal bileşimleri henüz bilinmemektedir (43, 54, 148).

Yan yana bulunan Sertoli hücrelerinin alt yan yüzlerinde (bazolateral) engelleyici özellikte sıkı bağlantı birimleri bulunur. Bunlar kan-testis bariyerini oluştururlar. Bu bariyerin alt kısmı bazal, üst kısmı da adluminal bölüm olarak adlandırılır. Spermatogenezis sırasında spermatogenik hücreler bu bağlantılardan geçerek bazal bölümden adluminal bölüme çıkarlar. Spermatozoonlara değişmekte olan spermatidler, başlarını Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazma çıkıntıları arasına sokarak gelişirler. Bu evrede kuyrukları lümende yüzer. Spermatozoonlar olgunlaşınca Sertoli hücrelerinden ayrılıp lümende serbestleşirler. Sertoli hücrelerinin yan yüzlerinde ayrıca oluklu bağlantılar da bulunur, bunlar da iyonik ve kimyasal alış verişi sağlarlar (41, 44, 94, 109).

Sertoli hücrelerinin işlevleri:

- Gelişmekte olan spermatogonik hücreleri desteklemek, korumak ve beslemek.
- Oluşturdukları bariyer ile gelişen sperm hücrelerini immünolojik saldırıdan korumak.
- Seminifer tübül lümenine genital kanallar yönünde akan ve sperm taşınması için kullanılan bir sıvı salgılamak.
- Seminifer tübülde spermatogenez için gerekli olan testosteronunun yoğunlaşmasını sağlayan androjen bağlayıcı proteini (ABP) salgılamak.
- Testosteronu östradiol haline çevirmek.
- Ön hipofiz bezinden folikül uyarıcı hormon (FSH) sentez ve salınmasını önleyen inhibin adlı peptidi ve FSH salınımı üzerine olumlu bir etki gösteren aktivini salgılamak.
- Embriyo gelişimi sırasında erkek fetüste Müller (paramezonefroz) kanallarının gerilemesini sağlayan bir glikoprotein olan AMH'yi salgılamak.
- Üreme hücrelerine demir taşıdığına inanılan testiküler transferrinin sentezlenmesi ve salgılanmasında görev almak (32).

2.3.1.2. *Spermatogonik seri hücreleri*

Seminifer tübül duvarını döşeyen epitelde çoğunluğu oluşturan hücrelerdir. İlkel germ hücresi olan spermatogonyumun, olgun üreme hücresi olan spermatozoon (spermatozoa) halini alıncaya kadar geçirdiği üretim süreci olan spermatogenezisin tüm evreleri, spermatogonik hücre katmanlarında geçer. Hücreler olgunlaştıkça bazalden lümeneye doğru yer değiştirirler. Lümeneye yaklaştıkça olgunlaşırlar. Seminifer tübül duvarındaki spermatogonik seri hücreleri incelendiğinde bazalden lümeneye doğru dört farklı hücre tipi ayırt edilmektedir (44, 94, 125).

2.3.1.2.1. Spermatogonyumlar

Spermatogonyumlar; yaklaşık 12 µm çapında ve bazal laminanın hemen üstünde yer alan diğer seri hücrelerine karşın daha küçük hücrelerdir (94). Diploid sayıda kromozom taşırlar, Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların altında yer alırlar ve bu nedenle kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar (54). Puberte ile birlikte, testosteronun etkisiyle mitoz bölünme ile çoğalmaya başlarlar. Yapısal olarak üç esas spermatogonyum tipi gözlenir (46, 54, 94).

1. Koyu tip A spermatogonyumlar: Küçük ve kubbe şeklinde hücrelerdir. Çekirdek oval ve heterokromatiktir. Seminifer epitelin kök hücresi olduğu düşünülmektedir. Hücre döngüsüne girmezler, depo hücrelerdir. Mitozla bölünerek yeni koyu ve açık A tipi spermatogonyumları yaparlar (54, 148).

2. Açık tip A spermatogonyumlar: Çekirdek ökromatiktir ve çekirdekçikler çok belirgindir. Mitokondriyonları, az sayıda Golgi kompleksi, birkaç granüllü endoplazmik retikulumu ve ribozomları kapsarlar. Testosteron etkisiyle mitozla bölünürler ve B tipi spermatogonyumları oluştururlar. Bu hücreler B tipine dönüşmeden önce sırasıyla A1, A2, A3, A4 ve daha sonra ara spermatogonyumları yaparlar (54, 148).

3. Tip B spermatogonyumlar: Merkezi yerleşimli çekirdekçiğe sahip, küre biçiminde çekirdek içerirler. B tipi spermatogonyumlar, primer spermatositleri oluştururlar (54, 148).

Spermatogonyal kök hücrelerin erkek fertilitesinde önemli etkileri vardır. Bu hücreler kısmen sessiz hücrelerdir ve bu nedenle radyasyon ve kanser kemoterapisine dirençlidirler. Mitotik olarak bölünen spermatogonyumlar, mayotik bölünen spermatositler ve farklılaşmakta olan spermatidler kanser kemoterapisine ve radyasyona duyarlıdır. Radyoterapi ve antikanser kemoterapisinin sonlandırılmasından sonra, spermatogonyal kök hücreleri spermatogenik süreci yeniden oluşturabilirler. Postmitotik Sertoli hücreleri bu tedavilere yüksek oranda dirençlidirler (46, 54, 94).

2.3.1.2.2. *Primer ve sekonder spermatositler*

Başarılı mitotik bölünmeler geçirdikten sonra, tip B spermatogonyular, son S fazını (DNA sentezi) tamamladıktan hemen sonra mayoz bölünmenin profaz aşamasına girerler. Spermatogenik hücrelerin yaşam süresindeki esas DNA sentez aktivitesinin bu son turu, mayozun profaz I aşamasına başlayan bir primer spermatositin spermatogonyuma göre iki kat DNA miktarına sahip olacağını belirler. Primer spermatosit 4C DNA miktarına sahiptir ve 1C hücre başına yaklaşık 1.5 pg DNA'ya eşdeğerdir (46, 54, 94).

Spermatositler iki başarılı mayotik hücre bölünmesi geçirirler ve Sertoli hücreleri arasındaki tıkaçıcı bağlantıların hemen üzerinde, seminifer tübülün adluminal kompartmanında yer alırlar. Dolayısıyla, mayoz bölünmeler kan-testis bariyerinin içinde gerçekleşir (29).

Birinci mayoz bölünmeden sonra oluşan sekonder spermatositler, 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücrelerdir (94). Spermatositler, Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların hemen üzerinde, seminifer tübülün adluminal bölümünde yer alırlar. Böylece, mayoz bölünmeler kan-testis bariyerinin içinde gerçekleşir (101). Sekonder spermatositler çok hızlı bir şekilde interfaz aşaması ve belirgin bir DNA sentezi olmayan ikinci mayoz bölünmeye giderler. Sekonder spermatositlerin bölünmesi, 23 kromozom taşıyan iki hücrenin, spermatidlerin oluşmasıyla sonuçlanır. Böylece mayoz bölünme sürecinin sonunda haploit sayıda kromozom içeren spermatidler oluşur (94, 101).

Birinci mayoz bölünme uzun, ikinci mayoz bölünme çok kısa (dakikalar) olduğundan, primer spermatositler seminifer tübüllerde en bol gözlemlenen hücrelerdir (101).

2.3.1.2.3. *Erken ve geç dönem spermatidler*

Mayoz bölünme sonucunda oluşan haploid spermatidler, seminifer tübül lümenine yakın adlüminal kompartımda bulunan hücrelerdir. Spermatogenez aşamasında, spermatozoonun oluşumundan önceki en son hücrelerdir. Sertoli hücreleri tarafından beslenerek yeniden şekillenirler (100). Çok sayıda granüllü endoplazmik retikulum, mitokondriyonlar, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve bir çift sentriyol içerirler (43, 94, 101).

Erken spermatidler, yuvarlak ve poligonal şekillidirler. Çekirdeklerinde kaba heterokromatin bulunmaz. Belirgin bir Golgi kompleksi bulunur. Akrozom gelişmesinin kep aşamasında Periyodik asit Schiff (PAS) ile pozitif reaksiyon göstererek yuvarlak şekilli görünürler (29).

Geç spermatidler ise yine PAS pozitif reaksiyon göstererek akrozomlarının uzamış haliyle görünürler.

2.3.1.2.4. Spermatozoon (olgun spermatozoa)

Ortalama 60-65 μm uzunluğunda olan olgun spermatozoon, baş ve kuyruktan oluşmaktadır (44, 54, 148).

Baş: Yaklaşık 4.5-5 μm uzunluğunda, 3 μm genişliğinde ve 1 μm kalınlığındadır. Plazma membranı ile sarılı durumdadır (54, 148). Baş, akrozomla sarılmış çekirdekten oluşur. Çekirdek yassılaştırılmış biçimli ve yoğun bir yapıdadır. Çekirdeğin ön yarısını akrozom örter ve lizozomlarda bulunan hidrolitik enzimler (proteazlar, asit fosfatazlar, hiyaluronidaz ve yanı sıra nöraminidaz) içerir. Akrozomal enzimler oositi saran korona radyata ve zona pellusida'ya spermatozoa girişini kolaylaştırmak için döllenme anında salınır (101).

Kuyruk: Boyun, orta, esas ve son parçalar olarak dört kısımdan oluşur. Boyun yaklaşık 5 μm uzunluğunda, çekirdeğe tutunmuş proksimal sentriyol ve aksoneme kaynaklık eden distal sentriyölü bulunduran dar bir parçadır. Kuyruğun orta parçası

yaklaşık 5 µm uzunluğundadır. Boyun ile esas parça arasında uzanır. 9+2 mikrotübül yapısında filagellumu kapsar. Çevrede spiral mitokondriyon halkası vardır. Ayrıca bu parçada filagellum çevresinde kuyruk sonuna doğru incelerek kaybolan dokuz tek kalın fibril daha vardır. Esas parça yaklaşık 45 µm uzunluğunda, kuyruğun en uzun parçasıdır. Annulus adı verilen mitokondriyon sarmalın son dönümünün altında yoğun bir halka olan son halkadan itibaren başlar, mitokondriyon sarmalı içermez. Yedi dış yoğun lifle sarılı merkezi aksonem ve fibröz bir kılıftan oluşur. Hem dış yoğun lifler hem de fibröz kılıf, spermatozoanın öne hareketi sırasında mikrotübüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturur. Son parça yaklaşık 5 µm uzunluğundadır. Dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın erken sonlanması nedeniyle sadece aksonemi kapsar ve kuyruğun en kısa parçasıdır (54, 101, 148).

2.3.2. İnterstisyel alan

Testislerde seminifer tübüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, kan ve lenf damarlarıyla doldurulmuştur. Testiküler kapillerler pencerelidir ve kan proteinleri gibi makromoleküllerin geçişine olanak verir. Bağ dokusu çeşitli tipte hücreler içerir; bunlar arasında fibroblastlar, farklılaşmış bağ dokusu hücreleri, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte (puberte ile birlikte) bir hücre tipi daha işlevsel olarak belirgin hale gelir. Bu hücreler, testis'in interstisyel ya da Leydig hücreleridir (7).

2.3.2.1. Leydig hücreleri

Leydig hücreleri, kıvrıntılı seminifer tübüller arasındaki üçgenlerde gruplanırlar. Yuvarlak ya da poligonal şekilli ve yaklaşık 15 µm çapında, merkezi bir çekirdeği ve küçük lipid damlacıklarından zengin eozinofilik bir sitoplazması bulunan hücrelerdir (54, 94). Çekirdek ökromatiktir ve 1-2 çekirdekçik içerir (148). Golgi kompleksi çekirdeğe yakındır. Leydig hücreleri sekonder seks karakterlerinin gelişmesinden sorumlu erkeklik hormonu olan testosteron'u üretirler. Bu nedenle de steroid salgılayan hücrelerin yapısal özelliklerini gösterirler. Testosteron sentezi mitokondriyon ve

granülsüz endoplazmik retikulumda bulunan enzimlerce gerçekleştirilir (94). Tübüler kristal mitokondriyonlar, iyi gelişmiş granülsüz endoplazmik retikulum ve Golgi kompleksleri ile birkaç granüllü endoplazmik retikulum içerirler. Sitoplazmaları ayrıca küçük lipid damlacıklarından zengindir ancak salgılayıcı vezikül bulundurmazlar çünkü testosteron, sentezi tamamlandıktan sonra hemen salgılanmaktadır. Lizozom ve peroksizomlarda vardır ancak özellikle daha yaşlı erkeklerde lipokrom (lipofuskin) pigmenti şeklinde bulunurlar. Leydig hücreleri bu özellikleri ile steroid salgısı yapan hücelere benzerler (3, 46, 54, 94, 121).

Leydig hücrelerinde insana özgü olan renksiz, azokarmin ile boyanan ve büyüklükleri değişebilen Reinke kristalleri bulunmaktadır. İşlevleri bilinmemektedir. Bu kristaller, elektron mikroskobunda düzgün kristal kafesler şeklinde izlenir (46, 54).

Embriyonik gelişim sırasında, plasental gonadotropik hormon anne kanından fetüse geçerek, androjenik hormonları üreten fetal testiküler interstisyel hücreleri uyarır. Hormonlar, embriyonik farklılaşmada erkek genital organlarının gelişmesi için gereklidir. Embriyonik interstisyel hücreler insan hamileliğinin 4.5 ayna kadar farklılaşmış olarak kalırlar. Daha sonra ise testosteron sentezindeki azalmaya bağlı olarak gerilerler. Hücreler, gebelik boyunca ve hipofizden salınan luteinizan hormon (LH) uyarımı altında testosteron sentezini yeniden yapmaya başladıkları ergenlik öncesi döneme kadar dinlenmede kalırlar (46, 94, 100).

Olgun Leydig hücreleri, doğumdan sonraki birkaç hafta dışında, 10 yaşına kadar erkek çocuk testisinde bulunmaz. Leydig hücrelerinin sayıları, ergenlikle birlikte artarak ileri yaşlarda azalır. Leydig hücre sayısı, 60 yaşındaki bir erkekte 20 yaşındaki bir erkekteki sayının yarısından daha az sayıdadır (46).

2.3.2.2. *Miyoid hücreler*

Seminifer tübül epitelini çevreleyen lamina propriya bağ dokusundan oluşmaktadır. Miyoid hücreler (peritübüler kontraktıl hücreleri) ve kollajen lifler

seminifer epitelin dış bazal laminasında yer alır. Spermatogenez ile ilgili olarak kemirgenlerde yapılan çalışmalarda lamina propriyanın tek katlı miyoid hücrelerden oluştuğu bildirilmiştir (148).

Miyoid hücreler, hareketsiz spermleri rete testise ilerleten ritmik kasılma hareketlerinden sorumludur. Spermler bu sayede duktus epididimise ulaşır ve burayı geçtikten sonra hareket etme özelliklerini kazanırlar (46, 148).

2.3.3. Kan-testis bariyeri

İnterstisyel doku ile seminifer tübüller arasında yer alan kan-testis bariyeri, kan ve lenfatik yolla gelen maddelerin seminifer tübüller içerisine geçişini ayarlayan bir primer bariyer olarak görev yaparlar. Puberte öncesi insan testisinde, komşu Sertoli hücrelerinin karşılıklı gelen membranları arasında sadece birbirine geçmiş parmaklı uzantılar görülür. Pubertenin başlamasıyla birlikte bunlar işlevsellik kazanırlar. Bu bariyerin oluşması ise, Sertoli hücrelerinin bölünmeyen hücre konumuna geçmesi ve spermatogenezin başlaması ile eş zamanlı olarak gerçekleşir.

Spermatogonyumların farklılaşması spermatozoaya özgü proteinlerin ortaya çıkmasına yol açar. Seksüel olgunlaşmanın, immünojenik yeteneğin gelişmesinden daha sonra oluşması sonucu, farklılaşmakta olan spermatozoonlar yabancı olarak algılanmaktadır. Bu durum, germ hücrelerinin ölümüne neden olabilecek bir immün yanıtı teşvik etmektedir. Kan-testis bariyeri, gelişen spermatozoonlar ve immün sistem arasında oluşabilecek herhangi bir etkileşimi ortadan kaldıracaktır. Bu bariyer seminifer tübüllere immünoglobulinlerin geçmesini önler ve bu nedenle serumlarında çok yüksek düzeylerde spermatozoon antikoru bulunan hastalarda herhangi bir fertilitate bozukluğu görülmemektedir (1, 148).

2.4. Testis'in Fizyolojisi

Üreme fonksiyonları her iki cinsiyette hipofiz bezi ön lobundan (*adenohypophysis, lobus anterior*) salınan gonodotropinler (FSH, LH) tarafından denetlenmektedir. LH erkekte, genellikle interstisyel hücreleri uyaran hormon (ICSH) olarak isimlendirilir. Erkekte FSH ve LH'nin etkileri sadece testisler üzerinde olur. Testosteron testislerden salgılanan, 17. karbonunda bir OH grubu taşıyan 19 karbonlu steroid bir erkeklik hormonudur. Bu hormon testis'in Leydig hücrelerinde kolesterolden sentezlenir. Testosteron ayrıca progesteron yoluyla 17-hidroksiprogesterondan da sentezlenir ancak insanlarda bu yoldan sentez azdır (53).

Yapımı ve salınımı hipofiz ön lobu gonadotropinleri ile denetlenir. Testosteron salgılanması luteinizan hormonun (LH) denetimi altındadır. LH'nin Leydig hücrelerini uyarması cAMP yoluyla olur. cAMP kolesteril esterden kolesterol şekillenmesini artırır, protein kinaz'ın aktive edilmesi ile de kolesterol pregnenolon'a dönüştürülür. Kolesterolden pregnenolon sentezi mitokondriyonlarda olur, pregnenolon mitokondriyonları terk eder ve mikrozomal enzimler aracılığı ile progesteron'a çevrilir. Leydig hücrelerinin endoplazmik retikulumunda progesteron önce androstenedion'a, bu da testosteron'a dönüştürülür.

Normal erişkin erkekteki testosteron'un salgılanma hızı, 4-9 mg/gün'dür. Plazmadaki testosteron'un %98'i proteine bağlıdır, %65'i gonadal-steroid bağlayıcı globulin (GBG) ya da seks steroidi-bağlayıcı globulin olarak adlandırılan bir β -globuline, %33'ü ise albumin'e bağlıdır (53).

Testosteron hormonunun esas etki yeri olan prostat ve diğer birkaç dokuda testosteron, 5α -redüktaz enzimi aracılığı ile dihidrotestosteron'a çevrilir (53). Dihidrotestosteron, dış genital organların gelişiminin uyarılmasında son derece önemli bir etkiye sahiptir (152).

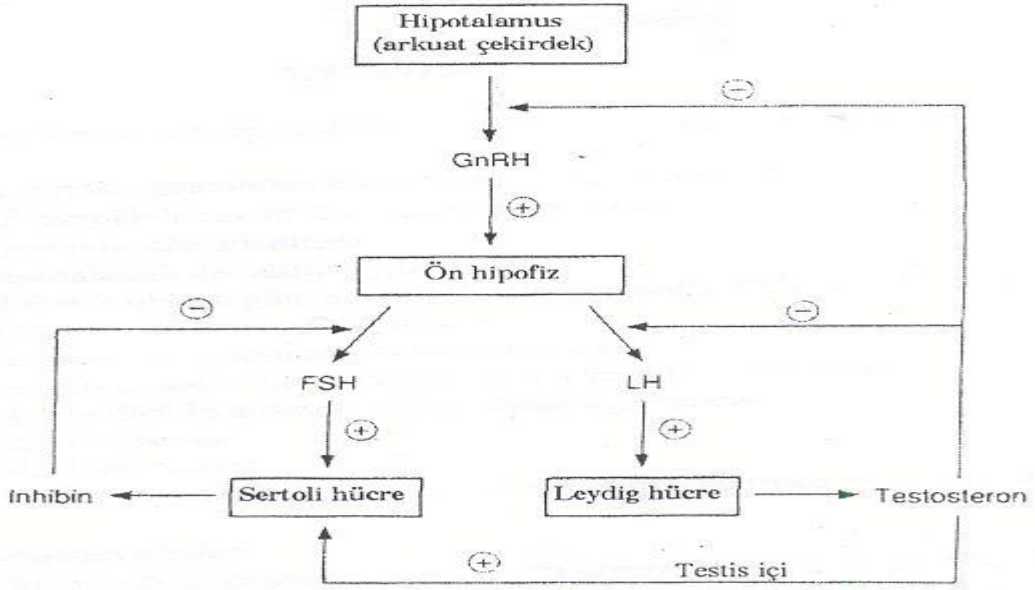
Ergenlik çağında penis boyunun ve eninin büyümesi, seminal vezikül, prostat ve bulbouretral bezlerin büyümesi ve salgı oluşturmaları, ses kalınlaşması, sakal, bıyık çıkması, pubis kıllanması ve genel olarak vücudun kıllanması, karşı cinse ilgi duyma,

vücut biçiminde erkeğe özgü geniş omuz, dar kalça, kuvvetli kas gelişmesi gibi sekonder seks karakterlerinin gelişmesi testosteron hormonuna bağlıdır. Erkek tipi kıl dağılımından ise dihidrotestosteron sorumludur (31, 53).

Ön hipofizden salınan folikül uyarıcı hormon (FSH) Sertoli hücrelerini etkiler. Adenil siklaz yapımını, döngüsel adenozin monofosfat (cAMP) artışını uyarır. Aynı zamanda ABP'nin (androjen bağlayıcı protein) sentez ve salgılanmasını harekete geçirir. Daha sonra ABP testosterona bağlanarak bu hormonu seminifer tübül lümenine taşır. Böylece spermatogenez uyarılmış olur. Bu uyarı olmazsa spermatidlerin spermatozoaya dönüşmesi gerçekleşmez.

Testis dokusunda Sertoli hücrelerinden östrojen salgılandığı bildirilmektedir (179). Yetişkin erkeklerin plazmasındaki östradiol'ün %80'inden ve östron'un %95'inden fazlası, dolaşımdaki testosteron ve androstenedionun aromatisasyonu ile oluşur, geri kalanı ise testis kökenlidir. Testosteron ve androstenedion, aromatazların etkisi ile sırasıyla östrodiol ve östron'a dönüşür. Dolayısıyla erkeklerde dolaşan androjenlerin aromatisasyonu, östrojen oluşumu için asıl yoldur. Testis kökenli venöz kandaki östradiol'ün bir kısmı Leydig hücrelerinden gelir, bir kısmı da androjenlerin Sertoli hücrelerinde aromatisasyonu ile oluşur (23, 53). Erkeklerde plazma östradiol düzeyi yaklaşık 2 ng/dl, toplam yapım hızı 0.05 mg/gün'dür (53). Aromatazlar, en fazla yağ dokusunda, beyin, deri, karaciğer ve meme dokusunda bulunan membrana bağlı enzimlerdir (23). Testislerden salgılanan östrojen'in spermatogenez üzerindeki etkisi henüz açıklanmış değildir (179).

Sertoli hücrelerinde yapılan inhibin hormonu FSH salınımını geri besleme mekanizmasıyla düzenler. İnhibin sürekli salınırsa FSH baskılanır. Üreme hücresi sayısı azalınca da FSH artar.



Şekil 2. Erkek üreme hormonlarının denetlenmesi (31).

İnsanda günlük sperm üretimi testis başına 94.6 milyon olarak hesaplanmıştır. Sperm, dişi üreme yollarında normalde mevcut olan sıvı akıntısına karşı hareket etme yeteneğine sahiptir ve bu özelliğine pozitif reotaksis denir. Sperm, dişi üreme yollarında bazı kimyasal maddeler tarafından ise kendisine doğru çekilir ve bu özelliğe de pozitif kemotaksis denir (46, 53).

Kan ve seminifer tübüllerin iç bölgesi arasında bir bariyerin olması, testiküler sıvı içinde kandan birkaç maddenin bulunduğu anlamına gelmektedir. Kan-testis bariyerinden, Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantılar sorumludur ve erkek germ hücreleri kandan gelecek zararlı maddelere karşı bu şekilde korunurlar (46, 53, 100).

Sertoli hücrelerinin farklılaşması sperme özgü proteinlerin ortaya çıkmasına yol açar. Cinsel olgunlaşmanın immünokompetansın gelişmesinden uzun bir süre sonra ortaya çıkması sebebiyle farklılaşan sperm hücreleri yabancı olarak tanınabilir ve germ hücrelerinin ölümüne sebep olabilecek bir bağışıklık yanıtını tetikleyebilirler. Kan-testis bariyeri, gelişen sperm ve bağışıklık sistemi arasındaki herhangi bir etkileşimi önler. Bu bariyer seminifer tübüllere immüoglobulinlerin geçmesini önler, bu da

serumlarında çok yüksek düzeylerde sperm antikorları bulunan hastalarda döllenenmedeki bozukluğu açıklar. Sertoli hücre bariyeri böylece seminifer epiteli herhangi bir otoimmün tepkiden de korumuş olur (29, 100, 148).

2.5. Kanser Kemoterapisinin Esasları ve Antineoplastik İlaçlar

Kanser, hücrelerin kontrolsüz bir şekilde çoğalması, invazif nitelik kazanması ve metastaz yapması ile karakterize öldürücü bir hücre hastalığıdır. Gelişmiş ülkelerin ölüm istatistiklerinde kalp damar hastalıklarından sonra 2. sıradaki ölüm nedenidir. Kanser tedavisi edilmesinde 3 temel yaklaşım vardır.

1. Cerrahi
2. Radyasyon
3. İlaç (kemoterapi)

Bazı durumlarda 3'ü de (konkomitan tedavi) uygulanabilir. Bazen ilaç ve radyoterapi aynı anda uygulanabilir.

Antineoplastik ilaçlar, kanser hücrelerine karşı sitotoksik etki gösterirken diğer taraftan hızlı bir şekilde çoğalan normal hücreleri de (örneğin, testisin germinatif epiteli, bağırsak ve ağız mukoza epiteli, kemik iliğinin hematopoetik hücreleri, kıl folikülü hücreleri ile embriyo ve fetüs hücreleri) yok edebilir. Bundan dolayı, bugün kullanılan ilaçlar, anti-kanser olmaktan ziyade daha çok antiproliferatiftir.

Bazı antineoplastik ilaçların (alkilleyici ajanların, antimetabolitlerin ve glukokortikoidlerin) immünoşüpresif etkileri vardır.

2.5.1. Antineoplastik ilaçların yan etkileri

Kemik iliği süpresyonu (myelosüpresyon veya myelotoksisite): Nötropeni, buna bağlı ateş, trombositopeni görülebilir. Metotrekast, vinblastin ve purin ile primidin antimetabolitleri gibi döneme özgü ilaçlar akut myelotoksisite yaparlar. Buna karşılık, nitrozoüreler, busulfan ve mitomisin gibi ilaçlar ise genellikle daha geç ortaya çıkan ve uzun süren kümülatif toksisiteye yol açarlar.

Lenfotoksik etki ve immünoşüpresyon: Antineoplastik ilaçlar hücreşel ve hümoreal immüniteyi baskılar. Bu durum enfeksiyonlara yatkınlık oluşturabilir.

Embriyotoksik ve teratojenik etki: Doğum kontrol yöntemleri uygulanmalıdır.

Karsinojenik ve mutajenik etki: Özellikle bazı ilaçlar (alkilleyici ajanlar, epipodofilotoksin ve antrasiklin grubu antibiyotikler) ikincil kanser sıklığını (AML gibi) artırabilirler.

Ayrıca antineoplastik ilaçlar, bulantı ve kusma, lokal reaksiyon, hiperürisemi, alerjik reaksiyonlar, nefrotoksisite, hepatotoksisite, nörotoksisite gibi etkilere de sahiptir (88).

2.6. Alkilleyici Ajanlar

Alkilleyici ajanlar çeşitli kimyasal bileşiklerden oluşan antikanser ilaçlardır. Bu ajanlar, fizyolojik şartlar altında, alkil gruplarını DNA gibi önemli biyolojik makromoleküllere bağlama yeteneğine sahiptir. Reaktif elektrofil olma özelliğı ile hedef moleküllerle karbonyum iyonu oluşturması neticesinde bu kimyasal ajanlar hücreşel DNA ile kompleks oluşturabilirler. Kompleks oluşturma kanser hücre büyümesinin inhibisyonu ile ilişkili olabilir (90). Şimdiye kadar bu ajanlar birçok kanser türünün tedavisinde önemli yer tutmuşlardır.

Alkilleyici ajanlar ile DNA'nın alkillenmesi, kemoterapötik ve sitotoksik etki oluşturmaktadır. Çift fonksiyonlu alkilleyici ajanlar DNA üzerindeki guaninlerin 7. azotu ile kovalent bağ oluştururlar. Diğer yandan unutulmamalı ki DNA'daki diğer pürin ve pirimidin bazlarındaki diğer atomlar da alkillenebilir. Bu diğer atomlar adeninin 1. ve 3. azotu, sitozinin 3. azotu, guaninin 6. oksijeni ve DNA zincirinin fosfat ve oksijen atomlarıdır. Aynı zamanda proteinlerin amino ve sülfidril grupları da alkillenebilir.

Kimyasal yapılarına göre bu ajanlar 5 grup içinde sınıflandırılabilir (160). Nitrojen mustartlar (klorambusil ve siklofosfamid), etilaminler (tiyotepa ve altretamin), alkil sulfonatlar (busulfan), triazenler (dekarbazin) ve nitrosuarezler (karmustin, lomustin ve semustin).

Alkilleyici ajanlar; özellikle hızlı çoğalan hücrelere etki ederler. Yapısındaki alkil kökü ile makromoleküllerin nükleofilik kısımlarına geri dönüşümsüz olarak bağlanırlar ve özellikle DNA zincirlerinde çapraz bağlantıların kırılmasına neden olarak doğrudan DNA'yı etkilerler. Busulfan, Melphalan, Karmustin, Lomustin, Klorambusil, Karboplatin, Cisplatin, Dakarbazin, Siklofosfamid, Prokarbazin, İfosfamid, Nitrojen mustard alkilleyici ajanlar arasında yer alır (6).

2.7. Busulfan

Busulfan, 1959 yılından bu zamana kadar klinikte kullanılmaktadır. Busulfan, ilk olarak kronik miyeloid lösemi (160, 164) tedavisinde kullanılmaya başlanmıştır (52). Busulfan, kanser hücrelerinin büyümesini yavaşlatmakta ya da durdurmaktadır.

Busulfan (1,4- butandiol dimetansülfonat), alkil sülfonat ailesine ait çift fonksiyonlu anti-neoplastik, alkilleyici bir ajandır. Busulfan, hamilelikteki kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılan birincil derecede bir karsinojen (kansere oluşmasına yol açan etken) ve klastojendir (parçalayıcı). Busulfan aynı zamanda bir teratojendir (embriyonel gelişimi etkileyen ve embriyoda çeşitli anomaliler ortaya

çıkaran toksik madde), fare ve sıçanlarda anoptyalmiyi, mikrotyayı, mikrorostellumu, mikrognatyayı, mikroabdomeni, mikromeliayı, oligodaktilyi, brankidaktilyi, körelmiş kuyruğu, kısa kuyruğu, anasarkayı tetikler ve sıçanlarda ovaryum ve testiste azalan germ hücreleri ile toksisiteye yol açar. Bunların yanında, busulfan sıçan fetüslerinde mikroensefaliyi, mikrofitalmiyi ve kataraktı tetikler. Gebe sıçana gebeliğin 14-18. günlerinde tek doz busulfan uygulanmasının ardından fetüsün gelişimindeki anormalliklerin histopatolojik olarak detaylandırılmasına ilişkin raporlar olmasına rağmen busulfanın plasental toksisitesi ile ilgili az sayıda çalışma bulunmaktadır.

Busulfan, hücre döngüsü sırasında DNA sentez fazında, DNA duplikasyonunu ve transkripsiyonunu engelleyerek hücre çoğalmasını bozan alkilleyici bir ajandır. DNA'ya bağlanmasının, etki mekanizmasında bir rolü olduğu düşünülür; di-guanil türevleri izole edilmişse de sarmala çapraz bağlanması kesin olarak kanıtlanamamıştır. Busulfanın, granüositopoez üzerindeki selektif etkisini nasıl gösterdiği tam olarak anlaşılamamıştır.

Busulfan, tamamen tedavi edici olmamasına rağmen, total granüosit kütesini azaltmakta çok etkilidir. Hastanın klinik durumunu iyileştirmede ve hastalık belirtilerinin hafifletilmesinde çok etkilidir. Hemoglobin düzeylerindeki durum ve sağ kalım süreleri göz önüne alındığında dalak radyoterapisinden üstün olduğu gösterilmiştir.

Busulfan, sıçanlarda, farelerde ve tavşanlarda teratojendir. Anlamlı kas-iskelet sistemi değişiklikleri, kilo ve boy azalması, sebep olduğu malformasyon ve anomaliler arasında sayılabilir. Gebe sıçanlara uygulanan busulfan, testis ve yumurtalıklarda üreme hücrelerinin yok olmasına neden olarak erkek ve dişi yavrularda infertiliteye neden olmuştur. Busulfanın kemirgenlerde kısırlığa yol açtığı gösterilmiştir. Busulfan dişi sıçanlarda dişi üreme hücrelerini ortadan kaldırmış, erkek sıçanlar ve hamsterlarda infertiliteye yol açmıştır.

Busulfan, DNA replikasyonunu inhibe etme özelliği ile alkilleyici bir neoplastik olarak kullanılmaktadır (142). Bundan dolayı, yeterli konsantrasyondaki busulfan seçici

olarak spermatogonya ve spermatozoidleri dağıtmaya çalışır, sonucunda da testiste bulunan ve spermatogenezi desteklemek için bulunan somatik hücrelerin yeteneklerini değiştirmeden spermatogenik germ hücrelerini yok eder. Bu şartlar altında, busulfan uygulaması sonucu spermatogenik germ hücrelerinin yok olması geriye kalan spermatogenik kök hücreler ile geri döndürülebilir (23, 68, 175).

Busulfan fertilitiyi bozabilir. Bu nedenle, busulfan ile tedavi edilen erkeklerin tedavi sırasında ve tedavi bitiminden sonra 6 ay süreyle baba olamamaları, ayrıca busulfan ile tedavinin geri dönüşümsüz kısırlığa yol açabilmesi nedeniyle, tedavi öncesinde spermın dondurularak saklanması ile ilgili danışmanlık almaları önerilir. Menopoz öncesi kadınlarda, sıklıkla menopoz semptomlarının eşlik ettiği over supresyonu ve amenore oluşmaktadır. Ergenlik öncesi bir kız çocuğunda, busulfan tedavisine bağlı yumurtalık yetmezliği nedeniyle ergenliğin başlaması engellenmiştir. Erkek hastalarda empotans, kısırlık, sperm sayısında azalma ve testiküler atrofi bildirilmiştir.

Busulfan gibi fetal germ hücre toksik maddeleri, dişilerde infertiliteye neden olabilir, erkeklerde sperm üretimini azaltabilir ve her iki cinsiyette de üreme morfolojilerini etkilemeden hem ovaryumlarda hem de testislerde histolojik lezyonlar ortaya çıkarabilir. Gebe sıçanlarda, busulfan yeni doğan yavruların testislerindeki ve ovaryumlarındaki germinal hücreleri yok ederek steriliteye neden olmaktadır.

2.7.1. Busulfan metabolizması

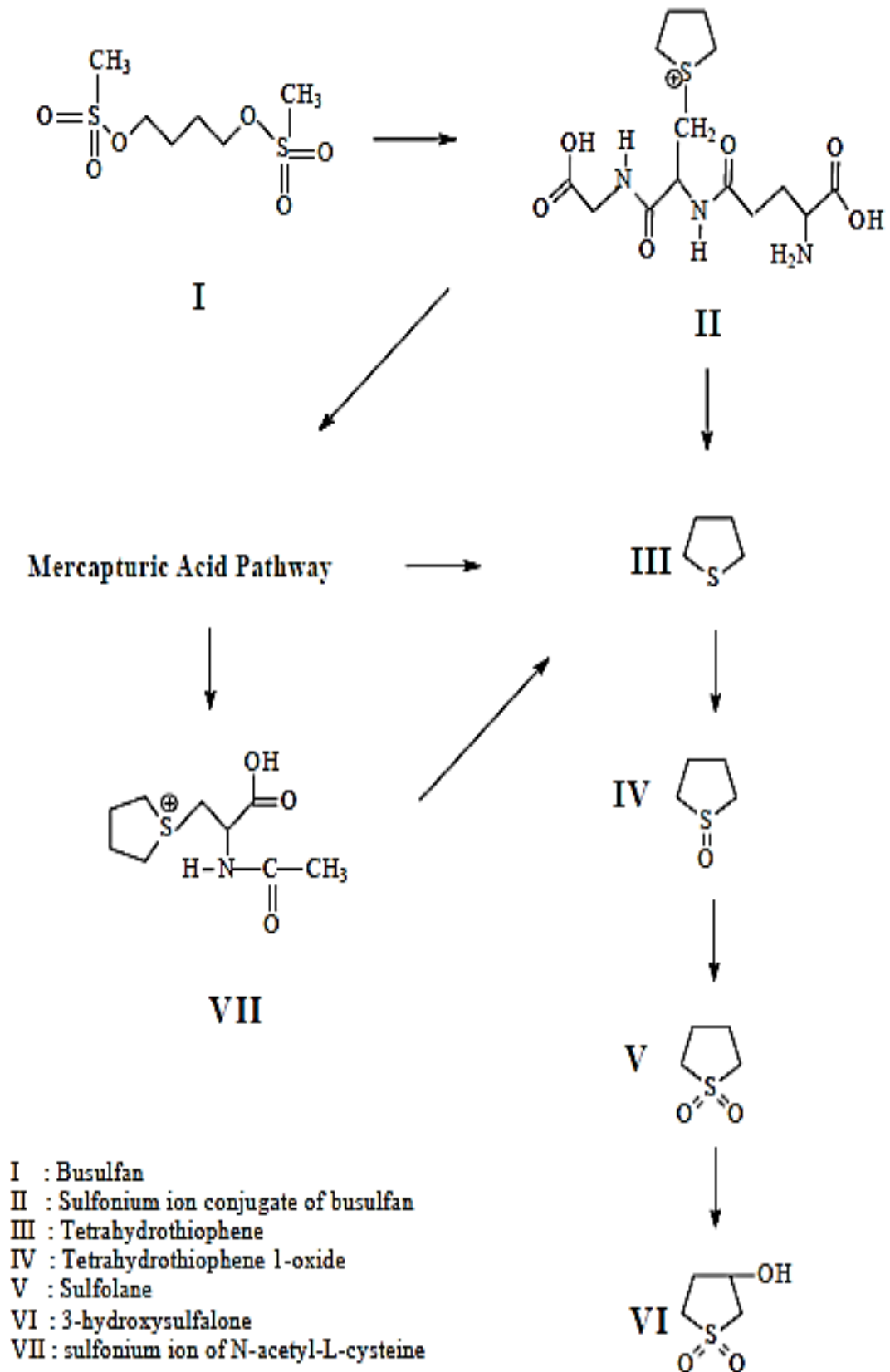
Busulfan, esas olarak glutatyon (GSH) ile reaksiyona girdikten sonra vücut temizlenir. Busulfan metabolizması glutatyon ile karaciğerde oluşan ve glutatyon-S-metil transferazın aracılık ettiği bir reaksiyonu içerir.

Busulfanın tüm metabolitlerinin ortadan kalkması için ilk adımın GSH ile konjugasyon yolu olduğu bildirilmiştir (Şekil 3). Başlangıçta, busulfan klerensinin (birim zamanda, idrarla belirli miktarda maddeden temizlenen plazma hacmi), sistein ile

konjugasyon yoluna ya da döngüsel bir sülfonyum iyonu oluşturmak üzere sistenil grubunun ayrışmaya uğrayarak tetrahidrotiyofene dönüşümüne bağlı olduğu sonucuna ulaşılmıştır (147). Ancak, Hassan ve Ehrsson, izole ettikleri sıçan karaciğerinde, sülfonyum iyonundaki glutatyonun busulfanın ana metabolitlerinden biri olduğunu göstermişlerdir (77).

Sıçanlara intravenöz busulfan uygulanmasının ardından, busulfan glutatyon sülfonyum iyonu safrada tespit edilmiştir (111). Sıçanlara intraplevral ve oral busulfan uygulanmasının ardından ise idrarda sırasıyla 3-hidroksisulfolan, tetrahidrotiyofen 1-oksit ve sülfolan bulunduğu tespit edilmiştir (75,78). Yüksek doz busulfan ile tedavi edilen hastalarda da buna benzer olarak, busulfan üriner metabolitleri olarak; 3-hidroksisulfolan, tetrahidrotiyofen 1-oksit ve sulfolan belirlenmiştir.

Busulfan, etki mekanizmaları temelinde, Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından insanlarda karsinojen olarak sınıflandırılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü, busulfana maruz kalma ve kanser arasında nedensel bir ilişki olduğu sonucuna varmıştır. Hayvanlardan elde edilen mevcut veriler, busulfanın karsinojenik potansiyelini doğrulamaktadır. Farelere intravenöz busulfan uygulaması, timus ve yumurtalık tümörlerinin insidansında anlamlı artışa neden olmuştur.



Şekil 3. Busulfanın metabolik şeması (109).

2.7.2. Busulfan'ın farmakokinetiği

Busulfanın farmakokinetiği, hastalığın durumuna ve hastanın özelliklerine göre değişkenlik gösterebilir (174). Sirkadiyan ritim ile belirlenen (74) ve hastanın içindeki değişiklikleri etkileyen bazı faktörler; yaş (61, 74), hastalık durumu (70, 174), ilaç etkileşimi (21, 49, 54), busulfan emiliminin değişkenliği (261) ve busulfanın biyoyararlarıdır (71).

Kök hücre nakli öncesinde iyileştirme terapisi uygulanmış hastalarda, özellikle genç bireylerde, busulfanın belirli zamanlardaki plazma miktarı gözlenmiştir. Bazı hastalarda gece boyunca plazmada ölçülen busulfan konsantrasyonunun gündüz boyunca ölçülen ile karşılaştırıldığında gecede seviyesinin gündeze göre 3 kat arttığı belirlenmiştir (74). Busulfan klerensi ve dağılım hacmi çocuklarda yetişkinlerdekinden iki kat fazladır (61). Busulfanın toplam vücut klerensi yaş ile birlikte azalır, yani küçük çocuklarda anlamlı olarak fazla (7.3 mL min⁻¹ kg⁻¹), büyük çocuklarda daha az (3.02 mL min⁻¹ kg⁻¹) ve yetişkinlerde en az düzeydedir (2.7 mL min⁻¹ kg⁻¹) (106). Çocuklar arasında dağılımın yüksek hacmi, lizozomal depo hastalığı ile birlikte daha yüksek klerens ve daha uzun bir eliminasyon yarı ömrü olduğu bulunmuştur (174). Yapılan bir çalışmada busulfanın sistemik hasarı, lösemili çocuklarda kalıtsal hastalıkları olan çocuklara göre anlamlı olarak yüksektir (70). Bireyler arasında oral busulfan biyoyararlanımında büyük farklılıklar gözlenmiştir. Bir buçuk ile 6 yaş arasındaki sekiz çocukta biyoyararlanım 0.22-1.20, sekiz çocuk ve 13-60 yaş arasındaki yetişkinlerde 0.47 ile 1.03 aralığında gözlenmiştir (71).

2.7.2.1. Emilimi

Busulfanın gastrointestinal kanaldan emilim kinetiği 0. (62, 263) ve 1. dereceden emilimi ile tarif edilmiştir (18, 153, 169). Ehrsson ve arkadaşları, kronik miyeloid lösemi hastalarında; 2, 4 ve 6 mg oral dozu takiben 0. dereceden busulfan emiliminin olduğunu bildirmiş ve 0. dereceden emilimin busulfanda 0. dereceden çözünmeye neden olduğunu öne sürmüşlerdir (37). Sıfırıncı dereceden işlemin açıklanmasına ek olarak,

oral busulfan uygulamasının ardından, busulfanın emiliminde 1. dereceden kinetiğin başladığı tarif edilmiştir (18, 153, 169). Bir popülasyon farmakokinetiği çalışmasında, gecikme süresi ile birlikte birinci dereceden emilim, 72 hastadaki busulfan emilimini tanımlamak için yeterli olmuştur. Buna dayanarak, busulfan emiliminin kinetiği yalnızca 0. ya da yalnızca 1. dereceden kinetik ile açıklanamamıştır.

2.7.2.2. Dağılımı

Busulfan uygulamasını takiben, uygulanan yüksek orandaki doz karaciğere dağılır (73). Busulfan, merkezi sinir sisteminde ilacın kan-beyin bariyerini geçmesine sebep olur. Yüksek dozda busulfan ile tedavi edilen hastalarda, uygulanan busulfanın %20' sinin kan-beyin bariyerini geçtiği bildirilmiştir (69). İnsan beyinde, ¹¹C-busulfan radyoaktivitesi maksimum 5 dakika içinde beyinciğe, kortekse ve ak maddeye ulaşmıştır. Busulfan radyoaktivitesinin korteksten ak maddeye oranı 1.6 olarak gösterilmiştir. Korteksteki aktivite verimi 30 dakika içinde 1 oran azalmıştır (70). Yapılan bir çalışmada busulfan uygulanan 9 çocuğun hepsinde busulfan konsantrasyonu beyin omurilik sıvısında (BOS), busulfanın son dozunun uygulanmasından (4 gün boyunca her 6 saatte bir 1 mg/kg) 3.25-7 saat sonra tespit edilmiş, sonucunda da BOS plazma konsantrasyon oranı 0.95 (oran 0.5-1.4) olarak hesaplanmıştır (175). Başka bir çalışmada BOS plazma konsantrasyon oranı ise 1.3 olarak belirlenmiştir (75).

Ehrsson ve Hassan busulfanın plazma proteinlerine geri dönüşümsüz olarak bağlandığını bildirmiştir. Busulfan plazma proteinleri için nispeten düşük bir afiniteye sahiptir. Plazma proteinlerine bağlanan busulfan oranı %32.4'tür. Busulfanın kan hücreleri ile plazma arasında eşit olarak dağıtıldığı bulunmuştur. Kan hücrelerine geri dönüşümsüz olarak bağlı busulfan fraksiyonu ise %46.9'dur (36). Başka bir çalışmada ise, busulfan nominal plazma proteinlerinin %7.4'üne bağlanma gösterdiği gözlenmiştir (75).

2.7.2.3. Eliminasyonu

Literatürlerde busulfanın eliminasyonu tek bölümlü bir farmakokinetik model ile iyi bir şekilde açıklanmıştır (18, 37). Yetişkinler ile çocuklar karşılaştırıldığında busulfanın yarı ömrü açısından bir farklılık gözlenmediği bildirilmiştir. Yetişkinlerde busulfanın yarı ömrü 2.75 saat (37, 56) iken, çocuklardaki busulfan yarı ömrü 2.5 saat olduğu tespit edilmiştir (142, 147, 153, 169). Busulfan uygulandığı dozdan çok daha düşük miktarda değişmeden idrar ile atılmaktadır. Ehrsson ve arkadaşları kronik miyeloid lösemi tedavisi sırasında oral olarak 2, 4 ve 6 mg busulfan alan hastaların, busulfanın yalnızca %1'inin değişmeden idrarla attığını bildirmişlerdir (37).

2.8. Propolis

Propolis, işçi arılar (*Apis mellifera*) tarafından, reçine sağlayan ağaç ve çalılıarın, kavak (*Populus spp*), kayın (*Fagus sylvatica*), huş (*Betula alba*), kestane (*Castanea sativa*), atkestanesi (*Aesculus hippocastanum*), akça ağaç (*Alnus glutinosa*) gibi yaprak, tomurcuk, gövde yerleri gibi büyüyerek yenilenen kısımlarından topladıkları, sarıdan koyu kahverengiye kadar değişen renkte reçinemsî (9) yapışkan bir maddedir (9, 55).

Arılar, kovanın giriş deliğinde oluşan kırık ve çatlakları onarmak, kovanın iç duvarını düzgün hale getirmek, başka canlıların içeri girmesine engel olmak ve kovan içerisine giren taşıyamayacakları kadar büyük canlıları da propolis ile kaplayarak enfeksiyon oluşmasını önlemek için kullanmaktadırlar (64). Propolis; petek gözlerinin temizliğinde, ana arının bıraktığı yumurtanın steril bir ortamda gelişmesinde ve yavrunun enfeksiyonlara karşı korunmasında da etkili olmaktadır (12, 16, 55, 59).

Propolisin etanol ekstraktının karaciğer ve mesanedeki kanserli hücreleri dönüşüme uğrattığı ve gelişmelerini önlediği bulunmuştur (154, 172). Bu hücre öldürücü etkiyi sağlayan maddeler, propolisten izole edilen quercetin, kafeik asit ve clerodane diterpenoiddir. Clerodane diterpenoid, tümör hücrelerine karşı seçici bir öldürücü etki gösterir. Propolisin, ayrıca, yumurtalık kanseri hücrelerini ve hücre

bölünmesini durdurucu etkileri olduğu bulunmuştur. Ayrıca, göğüs, cilt, kolon ve böbrek kanseri hücreleri gibi insan tümör hücre kültürleri üzerinde öldürücü etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bu etkileri oluşturan bileşenin kafeik asit fenil etil ester (CAPE) olduğu belirlenmiştir. Propolisten izole edilen Artepillin C, insan mide kanseri hücreleri, insan gırtlak kanseri ve hücreleri, kolon kanseri hücreleri üzerinde hücre öldürücü etki göstermiştir. Kafeik asit esterlerinin tümör oluşumunu kimyasal olarak engellediği görülmüştür. Bu etki, kanserli hücrelerin gelişimini sağlayan genler üzerindeki seçici toksik etki ile gerçekleşmektedir (86).

2.8.1. Propolis'in tarihçesi

Propolis, insanoğlu tarafından binlerce yıldır kullanılmaktadır ancak propolis terimi ilk kez Yunan yazarlar tarafından kullanılmıştır. “Pro” ön, giriş, “polis” ise şehir anlamındadır. Böylece şehrin yani arı kovanının savunulması anlamına gelmektedir. Günümüzde ise artan bir popülerlik kazanmıştır. İnsanlık için bu reçinemsi yapının keşfedilen yararları henüz çok az kalmaktadır (55).

Propolis, geçmiş dönemlerden beri çeşitli amaçlarda özellikle tıpta kullanılmaktadır. Eski Yunan yazıtları bu maddeyi iltihaplanan yaralar ve çürükler için kür olarak tanımlarken, Roma'da yara üzerine konulan lapa benzeri karışımın yapımında pratisyenler tarafından kullanılmaktadır. İbranice eski vasiyetnamelerde “**Tzori**” olarak geçmektedir ve terapötik özellikleri ile anılmaktadır. Avrupa'daki 12.yy kayıtları, propolisin medikal preparatlarının, ağız ve yara enfeksiyonlarının tedavisi ve diş sağlığı için kullanımından bahseder (42, 55, 86, 176).

Propolis, Hipokrat döneminden bu zamana dek insanlık tarafından terapötik ajan olarak kullanılmaktadır. Propolisin etanol ekstraktının antibakteriyel, antiviral, antifungal, anti-inflamatuar, antitümoral, antioksidan, antihepatoksik, anestezik ve sitostatik özellikler gibi bazı farmakolojik özellikler ile diş sağlığı açısından olumlu etkiler sergilediği bilinmektedir (154, 172). Flavonoid aglukanlar, pinocembrin, fenolik asitler ve esterleri, fenolik aldehitler gibi polifenolik bileşikler arılar tarafından farklı

bölgelerden toplanan propolisin bileşenleri olarak tanımlanmıştır. Pinocebrin, galangin, sakuranetin, kamferol ve pinobanksin gibi bazı flavonoidlerin antimikrobiyal olduğu düşünülmektedir (154).

Propolisin üretimi için arılar tarafından kullanılan materyal, bitkilerin yara bölgelerinden salgılanan maddeler olabildiği gibi, yapraklardaki lipofilik materyaller ile reçine, müsilaj, zank gibi maddeler de olabilmektedir. Bitkilerden elde edilen reçine çiğnenmekte, tükürük enzimleri eklenmekte ve kısmen sindirilmiş materyal, balmumu ile karıştırılarak kovanda kullanılmaktadır (19).

Propolis sahip olduğu farmakolojik özellikleri ile çok eski çağlardan beri insanlar tarafından kullanılmıştır. Propolisin antimikrobiyal etkinliğinin yanı sıra lokal anestetik, karaciğer koruyucu, anti ülseratif, immün sistemi stimüle edici ve antikanserojenik aktiviteleri de değişik araştırmacılarca rapor edilmiştir (176). Bu nedenle propolis günümüzde apiterapi, biokozmetik, ilaç ve gıda sektöründe popüler bir hammadde olarak kullanılmaktadır.

2.8.2. Propolis'in fiziksel özellikleri

Propolis reçineli ve yapışkan bir madde olup, rengi kaynağına ve depolama süresine bağlı olarak sarıdan koyu kahverengiye kadar değişebilmektedir. Propolis 60–70°C'de sıvı, 25–45°C'de yumuşak ve yapışkan, 15°C altında ise katı kırılıgandır (87). Ham propolisin bileşimi kaynağına göre değişmekle birlikte, genellikle % 50 reçine ve balsam (flavonoidler, fenolik asitler, esterler), %20-35 mum, %10-15 esansiyel ve aromatik yağlar, %2-5 polen ve %5 diğer organik ve inorganik maddelerden oluşmaktadır (107, 159, 166, 172).

Propolis, suda ve hidrokarbonlarda çok az miktarda çözünür. Genellikle alkolde çözünen propolis, eter ya da kloroformda ise tamamen çözünür (156).

2.8.3. Propolis'in kimyasal yapısı ve özellikleri

Dünyanın değişik bölgelerinden toplanan propolis örneklerinde 200'den fazla kimyasal bileşik tanımlanmıştır (177). Propolis; polifenoller (flavonoid aglikonlar, fenolik asitler) ve onların esterleri, fenolik aldehitler, alkoller ve ketonlar, seskiterpen kinonlar, kumarinler, tripenler (özellikle de stereoidler), aminoasitler ve inorganik bileşikler gibi çeşitli kimyasal bileşikler içermektedir (108, 156).

Propolisin yapısında pinosembrin, akasetin, krisin, rutin, katesin, naringenin, galangin, luteolin, kamferol, apigenin, mirsetin, kuarsetin gibi flavonoidlerin yanı sıra kafeik asit ve sinamik asit gibi fenolik asitlerde saptanmıştır (154, 177). Ayrıca propoliste Mg, Ca, I, K, Na, Cu, Zn, Mn ve Fe gibi elementlerle B₁, B₂, B₆, C ve E vitaminleri ile çok sayıda yağ asidi tanımlanmıştır (57, 155, 173, 177). Propolisin yapısındaki reçine ve balsamın içinde terpenler, polisakkaritler ve kafeik asit gibi maddeler bulunur. Balmumu ise yağ asitleri, B vitaminleri, C ve E vitaminleri içerir. Organik kısmın en önemli bölümü olan flavonoidler (polifenolik içerik) üzerinde en fazla çalışma yapılmış maddelerdir, propolisin biyolojik aktivitesinin önemli bir kısmından sorumludur (57, 159). Bu kısım pinosembrin, pinostrobin, kuersetin gibi maddeler ile farklı mineral ve oligo elemanlar içerir. Flavon ve flavonoidler propolise antifungal, antiviral, antibakteriyel ve antihipertansif özellikler kazandıran maddelerdir (55, 145, 173).

Propolisin kimyasal bileşimi çok komplekstir ve toplandığı alandaki floraya bağlıdır (113). Araştırmacılar propolisin, süksinik dehidrogenaz, glukoz-6-fosfataz, adenosin trifosfataz ve asit fosfataz gibi enzimler içerdiğini belirtmişlerdir. CAPE de, propolis içeriğinde bulunan ve izole edilen çok geniş etkileri bulunan başka bir maddedir. Fenolik bir bileşik olan CAPE, propolisin biyolojik olarak aktif bileşenlerinden biri olmakla beraber, antioksidan, anti-inflamatuar, antiviral, immün uyarıcı, reperfüzyon hasar önleyici ve antikanser özellikleri bulunan bir bileşiktir. En önemli özelliklerinden biri tümör hücreleri üzerindeki sitotoksik etkisidir (82, 105, 150).

Propolis içerisinde bugüne kadar keşfedilmiş çok sayıda bileşen vardır. Bu tanımlanan bileşenler ve sayıları Tablo 1’de gösterilmiştir.

Tablo 1. Propoliste tanımlanmış bileşenler ve sayıları (68).

Bileşikler	Tanımlanan Bileşik Sayısı
Flavanoidler	38
Hidroksiflavonlar	27
Hidroksiflavononlar	11
Kalkonlar	2
Benzoik asit ve türevleri	12
Asitler	8
Esterler	4
Benzaldehit türevleri	2
Sinamil ve sinamik asit ve türevleri	14
Alkoller, ketonlar, fenoller	8
Heteroaromatik bileşikler	12
Terpen ve sekuterpen ve türevleri	7
Alifatik hidrokarbonlar	6
Sekuterpen ve triterpen hidrokarbonlar	11
Steroller ve steroid hidrokarbonlar	6
Mineraller	22
Şeker	7
Aminoasitler	24

Propolis toplamak için kullanılan bitki kaynağının bileşimi, propolisin kimyasal yapısını belirlemektedir (113). Propolisin toplanma sezonu da, aynı bölgeden toplanan propolisin kimyasal yapısını etkileyebilmektedir (14). Örneğin Akdeniz Bölgesi’nden (Sicilya ve Adriyatik kıyıları) toplanan propolis tek tip özellik gösterip, temel bileşeni diterpenik asitler (170) iken Brezilya’da 12 farklı tipte propolis tanımlanmıştır (140). Karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisin (Asya, Avrupa, Kuzey Amerika vb.) başlıca kaynağının kavak bitkisi tomurcukları olduğu belirlenirken, bu propolisin çeşitli flavonoidlerini içeren fenolik bileşikler, aromatik asitler ve onların esterleri

bakımından zengin olduğu belirlenmiştir (113). Kavak ağacı karasal bölgelerde yaygın olarak gözlenirken, tropik ve subtropik bölgelerde yetişmemektedir. Bu sebeple bu bölgelerde bal arıları başka propolis kaynaklarını tercih etmektedirler. Böylece tropik bölgelerde üretilen propolisin kimyasal yapısı kavak propolisinden tümüyle farklı olmaktadır (12). Örneğin Brezilya propolisinin ana kaynağı *Baccharis dracunculifolia* (*Cyote brush*)'dır ve bu propolis tipinde temel kimyasal bileşik sınıfı prenillenmiş p-kumarik asit ve asetofenon türevleri olup kavak tipi propolisten tamamen farklı olarak diterpenler, lignanlar ve flavonoidler içerdiği belirlenmiştir (12). Son yıllarda dikkat çeken Küba propolisinin ana bileşeni ise poliizoprenillenmiş benzofenonlardır ve bu yapı Küba propolisini Avrupa ve Brezilya propolislerinden farklı kılmaktadır (12). Ayrıca, *Clusia minor*, *Clusia major* (*Guttiferae*), *Araucaria heterophylla* ve farklı *Baccharis* türlerinin Venezüella ve Brezilya'dan toplanan propolisin en önemli kaynakları olduğu bildirilmiştir. Bu bitkilerin tropikal propolislerde daha önce rapor edilen proprenillenmiş benzofenonlar ve çeşitli diterpenler içerdiği belirlenmiştir (12, 15, 168). Benzer şekilde klerodan-tipi ve çeşitli labdan-tipi diterpenoidler karasal iklim propolislerinde bulunamamıştır (12). Flavonoidler ise tropikal propolislerde de belirlenmiştir. Tropikal bölgelerden toplanan propolisin karasal iklime sahip bölgelerden toplanan propolisten farklı kimyasal yapı göstermesinin nedeni, vejetasyon farklılığıdır (12, 159). Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanmış propolislerin ana bileşenlerinin naringenin, galangin, krisin, pinobaksin, kuarsetin gibi flavonoidler ve kafeik asit gibi fenolik asitlerden oluştuğu gösterilmiştir (142).

Bioflavonoidler antioksidan moleküller olduğundan, serbest radikal süpürmede çok önemli rol oynamaktadırlar. Propolisin çeşitli enzim sistemlerinde, hücre metabolizmasında ve yangı gideriminde uyarıcı etki yaptığı araştırmalarla gözlenmiştir (104).

2.8.4. Propolis'in biyolojik özellikleri

Propolis çok eski zamanlardan beri halk arasında kullanılmakla birlikte, son yıllarda antibakteriyel, antifungal, antitümoral, immünomodülatör ve diğer faydalı

biyolojik etkileri çok sayıda araştırmacı tarafından ispatlanmıştır (25). Çeşitli çalışmalarda propolisin su, metanol, etanol, eter ve yağ ekstraktları hazırlanmıştır. Bununla birlikte araştırmalarda en çok kullanılan propolisin etanolik ekstraktının antibakteriyel (105, 106, 122), en fazla *Candida albicans*'ta olmakla birlikte Candida türleri ve dermatofitlere karşı antifungal (103, 122, 124, 136), herpes simpleks ve reovirüs üzerine antiviral (8, 64), anti-inflamatuvar (116, 127), lokal anestezik (139), antioksidan (122, 128, 133), immünoestimülatör (47, 48, 123) ve sitostatik (170) etki gösterdiği belirlenmiştir. Farklı orijine sahip propolis örneklerinin biyolojik aktiviteleri ile ilgili çok sayıda çalışma yapılmıştır. Brezilya propolisinin antibakteriyel (13, 105), antifungal (124), antianjiogenik, sitotoksik (15), antiülser (34), hepatoprotektif (14), analjezik ve anti-inflamatuvar aktivitesi (141) belirlenirken, Bulgaristan propolisinin antifungal ve bakterisidal (17) aktivitesi belirlenmiştir. Günümüze kadar, Türk propolisinin antibakteriyel (143, 172), antifungal (103, 136, 172), antioksidan (104), antikarsinojenik (137), yara iyileştirici (58) gibi bazı biyolojik aktiviteleri incelenmiştir (159).

Propolisin güçlü antimikrobiyal aktivitesinden dolayı, propolis doğal antibiyotik olarak bilinir. Yapılan çok sayıda araştırmada, propolisin, yüksek antimikrobiyal bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Propolisin MRSA (Metisilin dirençli Stafilokok aureus) da dahil olmak üzere 21 tür bakteri, 9 tür mantar, Giardia'nın da dahil olduğu 3 protozoa türü ve Herpes ve Influenza'nın da dahil olduğu geniş yelpazeli virüsler üzerinde inhibitör etkisi bulunmuştur. Bunların dışında ayrıca propolisin geniş ölçüde tedavi edici özellikleri vardır. Bu özellikler arasında, anti-kanser etki, yara kapama ve doku tamir etkileri, sindirim sistemi etkileri, deri enfeksiyonları etkisi, kalp-damar sistemi etkileri ve diş sağlığı etkisi sayılabilir (86).

Propolisin içeriğinde bulunan yapılardan biri de sinamik asit ve türevleridir. Sinamik asit ve türevlerinin pıhtılaşmayı hızlandırdığı, gram (+) ve gram (-) bakterilere karşı antibiyotik etki gösterdiği saptanmıştır. Propolisin içeriğinde bulunan bioflavonoidlerin, virüslerin enzim salgılamalarını ve üremelerini engelleyici özelliklerinin olduğu yapılan çalışmalar ile tespit edilmiştir. Hipertansiyon, damar

sertliği ve koroner kalp hastalıklarının tedavisinde 30 gün süre ile üç kez alınan 300 mg propolis dozlarının olumlu etkiler verdiği yapılan klinik çalışmalarla da kanıtlanmıştır (108, 156).

Değişik ülkelerden elde edilen propolisin farklı kimyasal yapıya sahip olması, onların farklı biyolojik aktiviteye sahip olmasına neden olmaktadır. Ancak bu durum her farmakolojik özellik için aynı değildir. İlginç bir şekilde karasal ve ekvatorial bölgeleri de içine alan farklı bölgelerden toplanan ve farklı kimyasal yapıya sahip olan propolislerin benzer biyolojik aktiviteler gösterdiği bulunmuştur (15, 92). Propolis kovanda enfeksiyonlardan korunma amaçlı kullanılmaktadır ve bu nedenle değişik propolis tiplerinin hem antibakteriyel hem de antifungal özellik göstermesi doğaldır.

2.8.5. Propolis örneklerinde belirlenen bileşik grupları

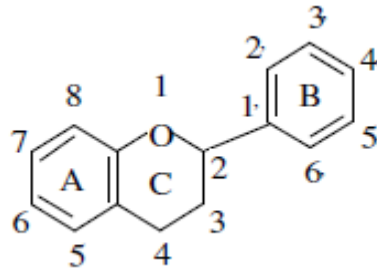
Propoliste bulunan ana kimyasal maddeler flavonoidler, fenolikler ve çeşitli aromatik oluşumlardır. Bunların yanısıra B kompleks vitaminleri, mineraller ve iz elementler diğer önemli bileşenlerdir (78, 143).

2.8.5.1. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkisel orijinli, düşük moleköl ağırlıklı, genellikle flavon çekirdeğine sahip olan bileşiklerdir. Bugüne kadar bitkisel orijinli 4.000 den fazla flavonoid türü tanımlanmıştır. Bitkilerin sahip oldukları renk, koku ve aromalardan da büyük oranda flavonoidler sorumludur (81). Flavonoidler, etanolik ve su ekstraktlarında değişen miktarlarda bulunabilen, biyolojik olarak oldukça aktif bileşiklerdir. Flavonoller biyolojik yönden flavon ve flavononlardan çok daha aktiftirler. Bu bileşiklerin ayrı ayrı kullanımlarına göre flavon ve flavononların birlikte kullanılması sinerjik ve daha baskın etki elde edilmesini sağlar (82).

Flavonoidler, fenolik ve piron halkası içeren benzo- γ -piron kaynakları olup ilave olan yan gruplara göre sınıflandırılırlar (Şekil 4). Diyetesel flavonoidler yapıdaki hidroksil ve glikozidik gruplar yönünden, diğer flavonoidler ise A ve B halkaları arasındaki bağlanmalar yönünden farklılık gösterirler. Organizma içerisinde devam eden metabolizmalar boyunca hidroksilasyon, metilasyon, sülfatasyon ya da glukronidasyona uğrayan flavonoidlerde aktivite değişimleri gerçekleşir. Yiyeceklerde, flavonoidler esas olarak 3-O-glikozitler ve bunların türevleri şeklinde bulunurlar (66).

Flavonoidlerin belirtilen bu yapısal farklılıklarının yanısıra, emilim, farmokinetik ve biyotransformasyon farklılıkları da organizma içindeki biyokimyasal fonksiyonlarını etkilemektedir. Ancak, çok az sayıda flavonoid türünün, sözü edilen bu özellikleri bilinmektedir. Birçok türün ise araştırma aşamasında olan bu nitelikleri henüz kesinlik kazanmamıştır (81). Flavonlar, nukleusta bulunan fonksiyonel gruplarda, alınan miktar, cinsiyet ve gastrointestinal kanalda (kolon) mevcut mikrobiyal popülasyonlarında emilim farklılıklarını oluşturan faktörlerdir (45, 83, 84).



Şekil 4. Flanonoidlerin zincir yapıları (30).

Propoliste bulunan flavonoidler temel olarak antioksidan aktiviteden sorumludurlar. Bir flavon bileşiği olan pinosembrin, bakteriler, küf ve mayalar üzerine etki etmektedir. Bu flavonla birlikte galangin, 3-asetil pinobanksin, kafeik ve ferulik asitler propolisin biyolojik aktivitelerinin çoğundan sorumludur. Propolisteki diğer bir flavon olan quercetin, antiviral aktivite gösterir ve damarların kuvvetlendirilmesini sağlamaktadır. Propolisteki diğer flavonlar ve flavononlar, anti-inflamatuvar, lokal anestetik ve spazmolitik aktivitelere sahiptir (135).

Tablo 2. Propolisteki Önemli Flavonoidler.

Genel adı	Kimyasal adı
Chrysin	5,7-di OH (Hidroksi) flavon
Tectochrysin	5-OH-7-MET (Metoksi) flavon
Galangin 3	3, 5, 7-tri OH flavon
Acecetin	5,7-di OH-4'-MET flavon
Isalpinin	3,5-diOH-7-MET flavon 5-OH-4'-7-di MET flavon
Kaempferol	3, 4, 5, 7-tetra OH flavon
Kaempferide	3, 5, 7-triOH-4'- MET flavon
Rhamnocitrin	3,4',5-triOH-7- MET flavon 3,5-diOH-4'7- MET flavon 5,7-diOH-3,4'-diMETflavon
Isorhamnetin	3,4',5,7- tetraOH-3- MET flavon
Quercetin	3,3',4',5,7- penta OH flavon
Q-3, 3-dimethylether	4', 5, 7-tri OH-3,3'-di MET flavon
Pinoembrin	-di OH flavanon
Pinostrobin	5-OH-7-MET flavanon
Pinobanksin	3, 5, 7-tri Ottflavanon
3-Asetilpinobanksin	5, 7- di OH-3-asetil flavanon 5-OH-4', 7-di MET flavanon
Sakuranetin	4', 5-di OH -7- MET flavanon
Isosakuranetin	5, 7-di OH-4'-MET flavanon

Flavonoidlerin çok sayıda bakteriye karşı etkili olduğu bildirilmektedir. Flavonoidlerce zengin ürünlerin, gram (+) bakterilere karşı gösterdiği anti-bakteriyel etkinin, gram (-) bakterilere göre daha aktif olduğu belirlenmiştir. Flavonoidler, pek çok DNA ve RNA virüslerine karşı etkili olduğu düşünülen, propolisin içinde bulunan en önemli maddelerdir (82).

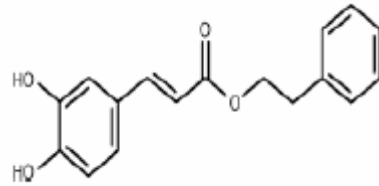
Propolisteki flavonoidler genel olarak;

- Mide ülseri tedavisinde,
- Damarların kuvvetlendirilmesinde,
- Skorbüt hastalığının tedavisinde (C vitaminiyle birlikte) önemli rol oynar.
- Kalp kası üzerinde koruyucu etki gösterir.
- Lipid peroksidasyonunu zincir kırıcı etki göstererek önler.
- Dermatolojik rahatsızlıklarda, gingivitis, stomatitis tedavilerinde etkindir (91, 117, 126).

2.8.5.2. Fenol bileşikleri

Fenolik bileşiklerin en önemlileri sinnamil alkol, sinamik asit, vanilin, benzil alkol, benzoik asit, kafeik ve ferulik asitlerdir. Fenollerin çeşitli metabolik etkileri vardır. Kafeik asit fenetil ester (CAPE), melanom ve karsinomların gelişimini engeller. Pterostilben antidiyabetik, kafeik asit ise anti-inflamatuar özelliğe sahiptir (104, 135).

CAPE, propolis maddesinin aktif bir bileşeni olup antimikrobik, anti-inflamatuar, immunomodülator, antioksidan, antimutajenik olduğu belirtilmiştir. Yapıca flavonoidlere benzer ve iki halkasal yapı içerir. Bu halkasal yapılardan bir tanesinde iki adet hidroksil (OH⁻) grubu taşımaktadır (Şekil 5). Bu OH⁻ grubu sayesinde redoks reaksiyonlarında aktif rol oynayarak, E ve C vitaminlerinde olduğu gibi antioksidan özellik göstermektedirler (62, 138).



Şekil 5. CAPE (Kafeik asit fenetil ester) (158).

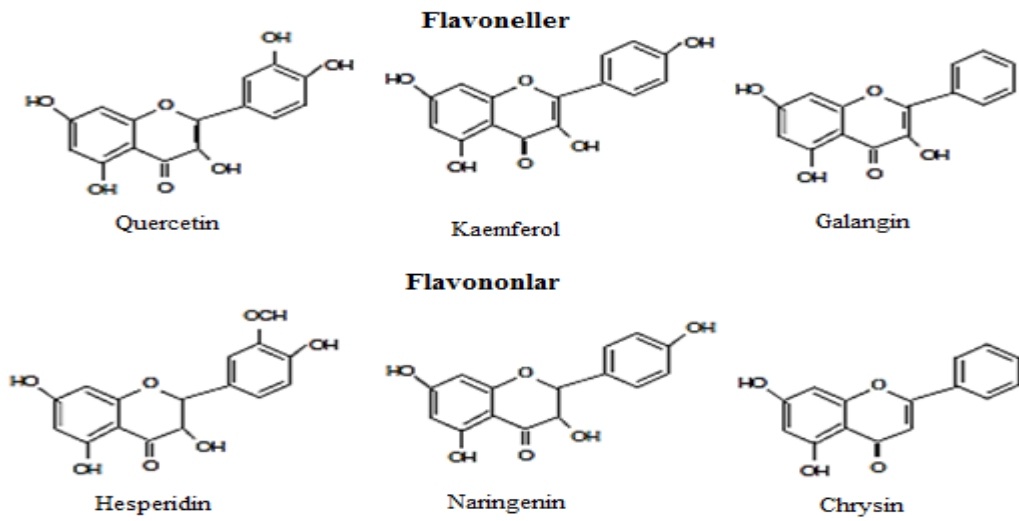
CAPE propolisten izole edilmiştir. CAPE'nin tümör hücreleri için sitotoksik etkisi olduğu belirlenmiştir (4). Propolisin ana bileşenlerinden birisi olan CAPE, reaktif oksijen türlerinin üretimini bloklamaktadır. CAPE, anti tümör, anti virüs, anti bakteriyel, anti fungal ve bağışıklığı uyarıcı (immunostimulatory) özelliklere sahiptir. CAPE tedavisi birçok yanık hastalarında yararlı olabilir (85). Tümöral hücre gelişimini baskılayan normal hücre gelişiminde ise CAPE nin yüksek oranlarda bile herhangi bir zararlı ve baskılayıcı etki göstermediği belirtilmiştir (20).

Normal şartlarda %15-30 arası etanol özünden oluşan ana flavonoidler, galangin, isalpinin, kaempferol, kaempferid, rhamnositrin, rhammenin, quercetin, pinosemprin, pinostabin, pinostrobin ve pinobanksin gibi bileşenlerden oluşur (126).

Flavonoidler majör ve minör olmak üzere ikiye ayrılır:

Majör flavonoidler: Galangin, kaempferol, quercetin ve krisin

Minör flavonoidler: İsoalpinin, kaempferid, ramnositin, naringenin, ramnetin, pinosembrin ve pinobaksin'dir (Şekil 6).



Şekil 6. Önemli bazı flavonoidlerin kimyasal yapıları (24).

Yapılan çalışmalarda, propolisin su ekstraktının içeriğinde bulunan 4 çeşit di-O-kafeoil quinik asit kaynaklarının etkisi ile kimyasal ya da immünolojik yönden hasarlı karaciğere sahip hayvan modelleri üzerindeki denemeleri sonucunda karaciğer üzerinde yüksek oranda koruyucu etkiye (hepatoprotektif etki) sahip olduğunu bildirmişlerdir. Bu kaynaklar; metil-3,4-di-O-kafeoil quinat, 3,4-di-O-kafeoil quinik asit, metil-4,5-di-O-kafeoil quinate, ve 3,5-di-O-kafeoil quinik asittir. Ancak propolis özünde bulunan bu kaynakların antioksidan etkinliği ise henüz araştırılmamıştır (16, 126).

Tablo 3. Fenolik Bileşikler (135).

Genel adı	Kimyasal adı
Vanilin	4-OH-3-MET benzaldehit
Isovanilin	3-OH-4-METbenzaldehit hidroksitoluene
Benzil alkol	3, 5 –diMET benzil alkol
Cinnamil alkol	3-fenil-2-propen-1-ol
Cinnamik asit (CI A)	3-fenil-2-PR(PR=propenoik)asit
Coumarik asit (CO A)	3-(4-OH fenil)-prop-2-enoik asit
Kafeik asit (KA A)	3-(3,4-diOHfenil)-2-PR asit
Ferulik asit (FEA)	3-(4-OH-3MET Tenil)-2-PR asit
İsoferulik asit	3-(4-OH-3MET Tenil)-2-PR asit
Eugenol	2-MET-4-(2-profenil) fenol
CI A benzil esteri	benzil 3-(fenil-2-PP(propenoat)
CO A benzil esteri	benzil 3-(4- OH fenil)-2-propenoat
KA A phetil esteri ve KA A	3- metil-2-butenil esteri-
KA A isopent -3-enil es.	3-metil-3-butenil-3-(3, 4-diOH fenil)-2-pp
KA A 2-CH ₃ -2-butunil e.	2-metil-2-butenil-3-(3, 4-difenil)-2-pp
FE A 3, 3-dimetilallil e.	3-metil-2-butenil - (4-OH-3MET fenil)-2-pp
FE A isopent -3-enil e.	3-metil-3-butenil 3 (4-OH-3-MET fenil)-s2-pp
Pterostilben ve Ksantol	

2.8.6. Propolis'in metabolik etkileri

Herhangi bir doğal üründe olduğu gibi propolisin de içinde farklı bileşenler bulunmaktadır. Bu bileşenler diğer gıdalarla ortaktır ve bu bileşenlerden bazılarının biyolojik etkinliğe sahip oldukları bilinmektedir. Biyolojik etkinliğe sahip bu maddelerden (flavonoidlerden) hiç biri, propoliste gözlenen etkilerden daha fazla etkiye sahip değildir (25).

Yapılan bir çalışmada propolisin aktivitesi dört kategoriye ayrılmıştır:

- 1- Biyolojik polimerlere bağlanma eğilimi.
- 2- Ağır metal iyonlara bağlanması.
- 3- Elektron taşınmasının hızlandırılması.
- 4- Serbest radikalleri tutma, temizleme.

Bu çalışmada propolisin flavonoidlere benzer şekilde hidrolaz ve alkalin fosfatazi da içine alan birçok enzimi engellediği bildirilmiştir. Ayrıca *Streptococcus* bakterilerinin bölünmesini uyaran glikoziltransferazları durdurmaya, iltihabî reaksiyonlarda miyeloperoksidazın, ornitin dekarboksilazın, lipoksigenazın, tirozin protein kinazın aktivitesini ve araşidonik asit metabolizmasını engellediği gösterilmiştir. Ayrıca yapılan başka bir çalışmada, hayvanlara uygulanan propolis tedavisi sonrası, propolisin, patolojik değişkenlerin indeksini azalttığı gösterilmiştir (25).

Literatürde propolis mekanizması ile ilgili kesin çalışmalar bulunmasa da, propolisin bileşenlerinin mekanizması iyi bilinmektedir. Propolisin biyolojik açıdan en aktif bileşeni flavonoidlerin, vücutta hiçbir madde bırakmadan metabolize oldukları bilinmektedir. Bunun yanı sıra yapılan diğer araştırmalar ve propolisin önemli fizyolojik etkileri ve bu etkilerden sorumlu biyolojik etken maddeler şu şekilde sıralanabilmektedir (Tablo 4) (25);

Tablo 4. Propolisteki bileşiklerin bilinen özellikleri.

Aktivite	Bileşen
Antibakteriyel	Pinocembrin, galangin, kafeik asit, ferulik asit
Antifungal	Pinocembrin, 3-asetik pinobanksin, kafeik asit p-coumarik asit benzil esteri, sakuranetin
Antiküf	Pinocembrin
Antiviral	Kafeik asit, luteolin, quercetin
Tümör engelleme	Kafeik asit penetil esteri
Lokal anestezi	Pinocembrin, pinostrobin, kafeik esterleri
Anti-inflamatuar	Kafeik asit, acacetin
Spazmolitik	Quercetin, kaempferid, pectolinerigenin
Antidiyabetik (kanıtlanmamış)	Pterostilben
Mide ülseri tedavisi	Luteolin, apigenin
Akciğer yetersizliğinde destek	Eriodictyol
Damarları kuvvetlendirici	Quercetin (3', 4', -diOH flavonoidler)

- Anti-inflamatuar (117, 126),
- Antioksidan (82, 91, 117),
- Antibakteriyel ve Antiviral (82, 91, 117),
- Antifungal (91, 106, 166),
- Antitümör (106),
- Anestezik ve Sitostatik Etkiler (91),
- İmmünomodülatör (82),
- Hepatokuruyucu (106),
- Antimutajenik (82),
- Antibiyotik (91, 126).

2.8.6.1. Emilimi, dağılımı ve atılımı

Propolis geniş bir madde çeşitliliği içermesine rağmen, bu maddelerin emilimi herhangi bir besinin emiliminden farklı olmayacaktır. Flavonoidler glikozidaz gibi işlev görmelerine rağmen, bakteriyel glikozidazlar emilim için flavonoidleri serbest bırakırlar. Ayrıca, oral olarak alınan flavonoidler idrarda gösterilmiştir.

2.8.7. Propolis'in antioksidan özellikleri

Propolisin son yıllarda üzerinde durulan ve tartışılan özelliklerinden biri de antioksidan etkisidir. Organizmada metabolik olaylar aşamasında kaçınılmaz bir şekilde ortaya çıkan serbest radikaller, hücresel yaşlanma ve buna bağlı olarak, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, diyabet, artrit, parkinson, alzheimer gibi hastalıklara zemin hazırlarlar. Organizma ise başlıca antioksidan enzimler olan SOD (süperoksit dismutaz), CAT (katalaz), GPx (glutasyon peroksidaz), GR (glutasyon redüktaz) ile bunları temizler, eğer oksidan madde düzeyi antioksidan enzim kapasitesini aşarsa antioksidan vitaminler (özellikle C ve E) ikincil savunma hattı olarak devreye girerler (117).

Propolisteki temel bileşikler olan flavonoidler ve bunlarla ilgili bileşiklerin serbest radikalleri temizleme etkisi bilinen antioksidan etkinliği göstermektedir. Bazı flavonoidler doymamış yağ asitlerinin peroksi radikalleri ile reaksiyona girip temizleyici etki yaparak özellikle lipid peroksidasyonunun başlangıç aşamasında etkili olurlar. Flavonoidlerin antioksidan etkileri, peroksit iyonları, hidrojen peroksit, singlet oksijen ve diğer lipid peroksit radikallerini ortamdan uzaklaştırabilme yeteneklerine bağlanmıştır. Bu yeteneklerinin ön plana çıkmasında özellikle yapılarında bulunan OH⁻ gruplarının sayısı önemlidir (27).

Yapılan araştırmalarda propolis ekstraktlarının aktif bileşeni olan CAPE ve flavonoidlerin (galangin, quercetin vb.) reaktif oksijen türlerine karşı antioksidan aktiviteleri araştırılmış ve CAPE'nin galangine oranla daha fazla olmakla birlikte her

ikisinin de antioksidan özellikte olduğu ve ksantin oksidaz aktivitesini belirgin bir şekilde inhibe ederek serbest radikal oluşumunu önlediği gözlenmiştir (149).

Propolisin en önemli antioksidan mekanizması; serbest radikallerin oluşturduğu DNA hasarlarını tamir edici özellikte olmasından ve lipit peroksidasyonuna neden olan polimerize zincir reaksiyonlarını kırıcı özelliği ile ROS (Reactive oxygen species)'ları dokulardan uzaklaştırıcı etki göstermesinden kaynaklanmaktadır (38).

2.8.8. Propolis'in antibakteriyel ve antifungal etkisi

Propolis üzerinde yapılan çalışmalar, bu maddenin birçok antimikrobiyal özellikler taşıdığını, aynı zamanda insan sağlığı için çok önemli ve gerekli olan vitaminler, mineral ve elementleri de içerdiğini göstermiştir. Aristo zamanından beri bilinen propolisin antimikrobiyal aktivitesi üzerine birçok bilimsel çalışma yapılmıştır (135).

Propolisin antimikrobik etkisi bakterileri, virüsleri, mantarları ve parazitleri kapsamaktadır. Propolisin antimikrobik etkinliğinin esas olarak pinosembrin, galangin, pinosilvin ve pinobanksin gibi flavonoidler, sinnamik asit, benzil pkuarat ve kafeik asit esterlerine bağlı olduğu bildirilmiştir (4, 82).

Propolisin, *Toxoplasma gondii* ve *Trichomonas vaginalis*'i 24 saat içinde öldürdüğü tespit edilmiştir (4). Araştırmacılar propolisin *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* ve *Trichophyton mentagrophytes* türlerine karşı antimikrobiyal etkisinin olduğunu belirtmişlerdir. Aynı araştırmacılar, propolisin, insan tüberküloz basilini de kapsayan *Mycobacterium tuberculosis*'in (Gram (+) basillusların) gelişmesini de engellediği ve antibakteriyel etkiye sahip olduğunu tespit etmişler ve propolis ekstraktlarının en güçlü antibakteriyel etkisinin aseton ve kloroformla hazırlanan çözücülerle elde edildiğini gözlemişlerdir.

Propolis etanolik ekstraktının farklı konsantrasyonlardaki çözeltileri *E.coli* dışında, *Bacillus megaterium*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus brevis*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus*, *Enterobacter aerogenes*, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Candida albicans* türlerinin gelişmelerini de engellediği belirtilmektedir (4).

2.8.9. Propolis'in anti-inflamatuvar etkisi

Propolisin anti-inflamatuvar etkisini, trombosit agregasyonunu önleyerek, prostoglandinler ve lökotrienler gibi ekazonoidlerin sentezini inhibe ederek ve histamin gibi inflamasyonda rol oynayan mediatörlerin salınımı engelleyerek oluşturduğu öne sürülmüştür. Propolis ekstraktlarının dihidrofolat redüktaz enzimini inhibe ederek anti-inflamatuvar etki oluşturduğu ve bu enzim üzerindeki inhibisyonun kafeik asit fenetil esterlerine (CAPE) bağlı olduğu belirtilmektedir (102, 163).

2.8.10. Propolis'in toksik özelliği

Propolis aşırı miktarlarda alınmadığı sürece toksik etki göstermemektedir. Bazı flavonlar, Ames testinde mutajen olmalarına karşın, propolis mutajen sonuç vermemiştir. Bazı kişilerin propolise karşı aşırı duyarlı olabilecekleri, dolayısıyla alerjik etkilerinin de olabileceği belirtilmektedir (135). Benzer şekilde normalden daha yüksek alımlarda propolisin insan ve hayvanlar için tehlikeli olabileceği vurgulanmaktadır (25, 167). Ancak propolisin belirtilen bu toksik etkilerini destekleyen literatür veriye rastlanmamıştır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamızın yazımı sırasında kullandığımız biyolojik ve tıp terimlerinin yazımı ve Türkçeleştirilmesinde Histoloji ve Embriyoloji Terimleri Sözlüğü kullanılmıştır.

3.1. Deneysel Hayvanları

Çalışmamızda, 4 aylık, 150-200 g ağırlığında, toplam 40 adet, Sprague-Dawley cinsi gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların tamamı kullanıldı. Sıçanların gebeliklerine günlük olarak yapılan vajinal smear testi sonucu karar verildi. Smear testi sonucunda sperm görülürse, testin yapıldığı gün sıçanların gebeliklerinin sıfıncı günü kabul edildi. Hayvanlar 12 saat aydınlık 12 saat karanlık ortamda anabilim dalımız hayvan odasında, uygun kafesler içinde barındırılarak serbestçe beslenmeleri ve su içmeleri sağlandı. Çalışmamızda yapılan tüm işlemler Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 05.04.2012 tarihli ve 267 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Deneysel hayvanları, her bir grupta 10 adet gebe sıçan olacak şekilde Kontrol, Busulfan, Propolis ve Busulfan+Propolis grubu olarak 4 gruba ayrıldı.

- 1) **Kontrol grubu:** Bu grubu oluşturan gebe sıçanlara, 21 gün boyunca günde 1 kez sıçanların vücut ağırlıklarına göre hacmi hesaplanarak belirlenen dozda DMSO (busulfan çözücüsü olduğundan) i.p. olarak verildi. Bu gruptaki gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların testisleri doğumlarından sonraki 30, 40 ve 50. günlerde sakrifiye edilerek incelendi.
- 2) **Busulfan grubu:** Bu grubu oluşturan gebe sıçanlara, gebeliklerinin 15. gününde tek doz DMSO'da çözülmüş 10 mg/kg busulfan i.p. olarak verildi (28, 50, 144). Bu gruptaki gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların testisleri doğumlarından sonraki 30, 40 ve 50. günlerde sakrifiye edilerek incelendi.

3) Propolis grubu: Bu grubu oluşturan gebe sıçanlara, gebelikleri boyunca (21 gün), her gün tek doz olacak şekilde, 50 mg/kg propolis i.p. olarak verildi (110, 182). Bu gruptaki gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların testisleri doğumlarından sonraki 30, 40 ve 50. günlerde sakrifiye edilerek incelendi.

4) Busulfan+Propolis grubu: Bu grubu oluşturan gebe sıçanlara, gebelikleri boyunca (21 gün), her gün tek doz 50 mg/kg propolis ve gebeliğin 15. gününde tek doz 10 mg/kg busulfan i.p. olarak verildi. Bu gruptaki gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların testisleri doğumlarından sonraki 30, 40 ve 50. günlerde sakrifiye edilerek incelendi.

3.2. Kimyasallar

Busulfan olarak, GlaxoSmithKline firmasının Myleran 100 film 2 mg tablet Busulfan adlı ürünü kullanıldı. Propolis olarak, Hirudolab İlaç Kozmetik San. Ltd. Şti. firmasının Bee Propolis Extract konsantre 15 ml adlı ürünü kullanıldı.

3.3. Vücut Ağırlıklarının Ölçümü

Deney başında gebe sıçanların vücut ağırlıkları madde dozlarını belirlemek üzere gebelik süresince her gün tartıldı. Deney sonunda deney gruplarındaki gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların vücut ağırlıkları ile sağ ve sol testislerinin ağırlıkları, kontrol grubundaki gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların vücut ağırlıkları ile sağ ve sol testislerinin ağırlıkları karşılaştırmak için tartıldı ve kaydedildi.

3.4. Bouin Çözeltilisinin Hazırlanması

Dokuların tespitinde kullanılacak Bouin çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı;

➤ Doymuş pikrik asit çözeltisi 75 ml

- Formaldehit (% 40) 25 ml
- Glasiyal asetik asit 5 ml

Molekül ağırlığı kadar tartılan pikrik asit (12.2 g) 1000 ml saf su içerisinde çözüldü. İyice çözdürülmesine dikkat edilerek gerekli miktarda pikrik asit kullanıldı. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü. Bouin çözeltisini hazırlamak için önce doymuş pikrik asit çözeltisi ile formaldehit karıştırıldı, daha sonra üzerine yavaşça glasiyal asetik asit ilave edilerek çözelti karıştırıldı (11).

3.5. Dokuların Alınması

Gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların 36 tanesi doğumlarından sonraki 30. günde, 39 tanesi 40. günde ve yine 39 tanesi 50. günlerde vücut ağırlıkları ölçülüp kaydedildikten sonra ketamin (Ketalar 90 mg/kg) + ksilazin (Alfazyne 10 mg/kg) i.p. olarak verilerek servikal dislokasyon ile öldürüldü (126, 157). Hayvanların karın bölgesi açılarak testisleri çıkarıldı.

3.6. Testis Ağırlıklarının Ölçümü

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

3.7. Işık Mikroskobu İçin Dokuların Hazırlanması

Çıkarılan sol testislerin üzerine Bouin çözeltisi, sağ testislerin üzerine ise %10'luk formaldehit döküldükten sonra testislerin uzun eksenlerine dik olacak şekilde enjektör ucu ile testislerin kapsüllerine karşılıklı birkaç delik açıldı. Fiksatif içerisindeki testis dokuları sertleştikten sonra testisler enine olacak şekilde önce ortadan iki eşit parçaya

ve daha sonra bu parçalar da yeniden ikiye bölünerek kasetlere alındı. Dokular fiksatiflerin içerisinde toplam 24 saat bekletildi ve daha sonra rutin doku takibi işlemi uygulanarak her hayvana ait parafin bloklar hazırlandı. Her testisten 1 blok elde edildi.

Parafin bloklar hazırlamak için kullanılan doku takip yönteminin basamakları Tablo 5’de gösterilmiştir. Doku takip yöntemine ait süreler her basamağa ait zaman birimi aksi belirtilmediği durumda saat olarak anlaşılmalıdır.

Tablo 5. Doku takip yöntemine ait süreler.

Kimyasal	Uygulama süresi (saat)
Bouin Çözeltisi	24
%70 Alkol	1
%80 Alkol	1
%90 Alkol	1
%95 Alkol I	1
%95 Alkol II	1
%100 Alkol I	1
%100 Alkol II	1
Ksilol I	10 dk
Ksilol II	10 dk
%50 Parafin - %50 Ksilol	1
Parafin I	1
Parafin II	1
Parafin III	1
Bloklama	

3.8. Boyaların Hazırlanması

3.8.1. Periyodik Asit-Schiff+Hematoksilen (PAS+H) boyasının hazırlanışı

Kesitlerin boyanmasında kullanılacak boya çözeltisi aşağıdaki şekilde hazırlandı (11).

a. Periyodik asit	1g
Saf su	200 ml
b. Schiff çözeltisi;	
Bazik fuksin	1g
Saf su	200 ml
c. Potasyum metabisülfid	2g
d. Hidroklorik asit	2 ml
e. Aktif kömür	2 g

Schiff çözeltisi boyama yapılmadan 1 gün önce hazırlandı. Periyodik asit saf suda çözdürüldü ve kaynatıldı. Kaynatılan çözeltiliye bazik fuksin eklenerek karıştırıldı ve 50°C'ye kadar soğutuldu. Daha sonra 2 g potasyum metabisülfid eklenerek karıştırıldı. Oda sıcaklığına geldiğinde 2 ml hidroklorik asit eklenerek karıştırıldı ve 2 g aktif kömür eklenip yeniden karıştırıldıktan sonra karanlık ortamda oda sıcaklığında bir gece bekletildi. Çözelti kullanılmadan önce süzüldü.

3.9. Kesitlerin Alınması ve Boyanması

Her bloktan 60 µm trim aralığı ile 3 µm kalınlığında seri kesitler alındı. Her lam üzerinde 2 kesit olacak şekilde ve kesitin alınma sırasına göre lamalar numaralandı. Her bloktan alınan 3 µm kalınlığındaki seri kesitlerden oluşan 2 adet lam ışık mikroskopunda inceleme için Hemotoksilen-Eozin (H-E) ve Periyodik Asit Schiff (PAS)+Hemotoksilen (H) ile boyandı.

Boyama yönteminin basamakları ve uygulama süreleri Tablo 6 ve Tablo 7’de gösterilmiştir.

Tablo 6. Hematoksilen-Eozin boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri.

Kimyasal madde	Uygulama süresi (dk.)
Ksilol I	15
Ksilol II	15
%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	5
Ksilol II	5
Lamların kapatılması	

Tablo 7. PAS+H boyama yöntemi basamaklarına ait uygulama süreleri.

Kimyasal madde	Uygulama süresi (dk)
Ksilol I	20
Ksilol II	20
%96 Alkol I	2
%96 Alkol II	3
%90 Alkol	3
%80 Alkol	3
%70 Alkol	3
Distile Su	1
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	5
Ksilol II	5
Lamların kapatılması	

3.10. Histolojik Değerlendirme

H-E ve PAS+H ile boyanan kesitlerin histolojik değerlendirmesi için DP 70 dijital kamera ile donatılmış Olympus BX51 ışık mikroskobu (Olympus Corp. Tokyo, Japonya) kullanıldı. Hazırlanan preparatlarda, bazal membran, spermatogenik seri hücreler, Sertoli hücreleri, Leydig hücreleri, bağ dokusunda yer alan hücre, lif, damar yapısı ve damarlardaki kanlanma açısından bu mikroskopta incelenerek grupları temsil eden görüntüler elde edildi. Elde edilen histolojik bulgular, istatistiksel bulgular ile karşılaştırıldı.

3.11. İstatistiksel Analiz

Analizlerin uygulanmasında IBM SPSS Statistics 21 paket programından yararlanılmıştır. Tanımlayıcı veriler ortalama \pm standart sapma olarak verilmiştir. Grupların karşılaştırılmasında veriler normal dağılıyorsa Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA) kullanılmıştır. Normal dağılım göstermeyen çoklu grupların testinde ise Kruskal-Wallis H testi kullanılmıştır. Grupların oklu karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren veriler için Tukey testi, normal dağılım göstermeyen veriler için Dunn's testi kullanılmıştır. Verilerin normal dağılım varsayımına uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile test edilmiştir. İstatistiksel nemlilik için $p < 0.05$ değeri kriter kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. İstatistiksel Bulgular

4.1.1. Günlere göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri

4.1.1.1. 30. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri

Tablo 8. 30. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.

30. Gün	Kontrol (I)	Busulfan (II)	Propolis (III)	Busulfan+Propolis (IV)	p Değeri	Çoklu Karşılaştırma
	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)		
* Vücut Ağırlığı	56.361±9.605 57.73 (48.98-67.31)	64.782±6.211 66.02 (58.61-68.08)	77.909±4.660 76.84 (75.32-78.48)	58.399±6.501 57.19 (52.11-64.40)	<0.001	I-III II-III III-IV
* Sağ Testis Ağırlığı	0.287±0.065 0.26 (0.24-0.34)	0.110±0.012 0.11 (0.10-0.12)	0.316±0.015 0.32 (0.30-0.33)	0.156±0.048 0.18 (0.10-0.20)	<0.001	I-II I-IV II-III III-IV
* Sol Testis Ağırlığı	0.280±0.065 0.25 (0.23-0.35)	0.109±0.015 0.11 (0.10-0.12)	0.316±0.017 0.31 (0.30-0.34)	0.152±0.045 0.17 (0.10-0.19)	<0.001	I-II II-III III-IV

* Kruskal-Wallis H testi

Ort. ± SS: Ortalama±Standart Sapma

Med. (25-75): Medyan (25. - 75.) Persantil

Vücut ağırlıkları: Gebe sıçanlardan doğan yavruların 30. gündeki vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile propolis grubundan, busulfan grubu ile propolis grubundan ve propolis grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların vücut ağırlıkları arasında anlamlı fark gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile busulfan+propolis grubundan, kontrol grubu ile busulfan grubundan ve busulfan grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sağ testis ağırlıkları: Gebe sıçanlardan doğan yavruların 30. gündeki sağ testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile busulfan grubundan,

kontrol grubu ile busulfan+propolis grubundan, busulfan grubu ile propolis grubundan ve propolis grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sağ testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile propolis grubundan ve busulfan grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sağ testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sol testis ağırlıkları: Gebe sıçanlardan doğan yavruların 30. gündeki sol testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile busulfan grubundan, busulfan grubu ile propolis grubundan ve propolis grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sol testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile propolis grubundan, kontrol grubu ile busulfan+propolis grubundan ve busulfan grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sol testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

4.1.1.2. 40. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri

Tablo 9. 40. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.

40. Gün	Kontrol (I)	Busulfan (II)	Propolis (III)	Busulfan+Propolis (IV)	p Değeri	Çoklu Karşılaştırma
	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)		
* Vücut Ağırlığı	65.912±13.616 62.87 (52.43-76.96)	63.876±13.118 71.73 (51.45-75.44)	72.122±2.631 72.17 (71.01-74.43)	71.151±7.580 67.85 (65.59-80.06)	0.700	-
** Sağ Testis Ağırlığı	0.381±0.122 0.32 (0.30-0.50)	0.180±0.066 0.16 (0.12-0.24)	0.337±0.030 0.34 (0.31-0.36)	0.204±0.077 0.21 (0.13-0.30)	<0.001	I-II I-IV II-III III-IV
* Sol Testis Ağırlığı	0.386±0.124 0.33 (0.301- 0.51)	0.191±0.062 0.17 (0.14-0.24)	0.331±0.032 0.33 (0.30-0.34)	0.203±0.080 0.20 (0.14-0.30)	<0.001	I-II I-IV II-III III-IV

* Kruskal-Wallis H testi ** Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA)

Ort. ± SS: Ortalama±Standart Sapma

Med. (25-75): Medyan (25. - 75.) Persantil

Vücut ağırlıkları: Gebe sıçanlardan doğan yavruların 40. gündeki vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, gruplardaki yavruların vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sağ testis ağırlıkları: Gebe sıçanlardan doğan yavruların 40. gündeki sağ testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile busulfan grubundan, kontrol grubu ile busulfan+propolis grubundan, busulfan grubu ile propolis grubundan ve propolis grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sağ testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile propolis grubundan ve busulfan grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sağ testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sol testis ağırlıkları: Gebe sıçanlardan doğan yavruların 40. gündeki sol testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile busulfan grubundan, kontrol grubu ile busulfan+propolis grubundan, busulfan grubu ile propolis grubundan ve propolis grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sol testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile propolis grubundan ve busulfan grubu ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sol testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

4.1.1.3. 50. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri

Tablo 10. 50. gün vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.

50. Gün	Kontrol (I)	Busulfan (II)	Propolis (III)	Busulfan+Propolis (IV)	p Değeri	Çoklu Karşılaştırma
	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)		
*Vücut Ağırlığı	82.010±13.473 79.38 (73.52-86.02)	83.524±11.756 85.77 (71.27-90.90)	103.175±4.296 103.53 (99.36-106.10)	95.634±15.590 93.20 (83.53-109.01)	0.006	I-III
** Sağ Testis Ağırlığı	0.621±0.176 0.64 (0.44-0.76)	0.152±0.036 0.15 (0.12-0.19)	0.628±0.082 0.59 (0.57-0.73)	0.410±0.153 0.44 (0.29-0.51)	<0.001	I-II I-IV II-III II-IV III-IV
** Sol Testis Ağırlığı	0.614±0.182 0.62 (0.44- 0.73)	0.164±0.059 0.15 (0.12-0.21)	0.624±0.085 0.60 (0.59-0.72)	0.416±0.147 0.45 (0.30-0.51)	<0.001	I-II I-IV II-III II-IV III-IV

* Kruskal-Wallis H testi ** Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA)

Ort. ± SS: Ortalama±Standart Sapma

Med. (25-75): Medyan (25. - 75.) Persantil

Vücut ağırlıkları: Gebe sıçanlardan doğan yavruların 50. gündeki vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, yalnızca kontrol grubu ile propolis grubundan doğan yavruların vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0.05$). Diğer gruplardan doğan yavruların vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sağ testis ağırlıkları: Gebe sıçanlardan doğan yavruların 50. gündeki sağ testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile busulfan grubundan, kontrol grubu ile busulfan+propolis grubundan, busulfan grubu ile propolis grubundan, busulfan ile busulfan+propolis grubundan ve propolis ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sağ testis ağırlıkları arasında anlamlı fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile propolis grubundan doğan yavruların sağ testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sol testis ağırlıkları: Gebe sığırcılardan doğan yavruların 50. gündeki sol testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubu ile busulfan grubundan, kontrol grubu ile busulfan+propolis grubundan, busulfan grubu ile propolis grubundan, busulfan ile busulfan+propolis grubundan ve propolis ile busulfan+propolis grubundan doğan yavruların sol testis ağırlıkları arasında anlamlı fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). Kontrol grubu ile propolis grubundan doğan yavruların sol testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

4.1.2. Gruplara göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları analizleri

4.1.2.1. Kontrol grubu

Tablo 11. Kontrol grubuna göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.

	30.Gün (I)	40.Gün (II)	50.Gün (III)	p Değeri	Çoklu Karşılaştırma
	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)		
*Vücut Ağırlığı	56.361±9.605 51.74 (48.98-67.31)	65.912±13.616 62.87 (52.43-76.96)	82.009±13.473 79.38 (75.52-86.02)	<0.001	I-III
** Sağ Testis Ağırlığı	0.287±0.065 0.25 (0.24-0.34)	0.381±0.122 0.32 (0.30-0.50)	0.621±0.176 0.64 (0.44-0.76)	<0.001	I-III II-III
** Sol Testis Ağırlığı	0.280±0.065 0.25 (0.23- 0.35)	0.386±0.124 0.33 (0.30-0.51)	0.614±0.182 0.62 (0.44-0.73)	<0.001	I-III II-III

* Kruskal-Wallis H testi ** Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA)

Ort. ± SS: Ortalama±Standart Sapma

Med. (25-75): Medyan (25. - 75.) Persantil

Vücut ağırlıkları: Gebe sığırcılardan doğan yavruların vücut ağırlıkları her bir grupta 30, 40 ve 50. günler arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubundan doğan yavruların 30. gün ile 50. gün arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 40. gün ve 40. gün ile 50. günde doğan yavruların vücut ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$)

Sağ testis ağırlıkları: Gebe sığırcılardan doğan yavruların sağ testis ağırlıkları herbir grupta 30, 40 ve 50. günler arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubunda 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün sağ testis ağırlıklarının anlamlı derecede farklı olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 40. gün sağ testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sol testis ağırlıkları: Gebe sığırcılardan doğan yavruların sol testis ağırlıkları herbir grupta 30, 40 ve 50. günler arasında karşılaştırıldığında, kontrol grubunda 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün sol testis ağırlıklarının anlamlı derecede farklı olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 40. gün sol testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

4.1.2.2. Busulfan grubu

Tablo 12. Busulfan grubuna göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları.

		30.Gün	40.Gün	50.Gün	p	Çoklu
		(I)	(II)	(III)		
		Ort. ± SS	Ort. ± SS	Ort. ± SS	Değeri	Karşılaştırma
		Med. (25-75)	Med. (25-75)	Med. (25-75)		
Busulfan Grubu	*Vücut Ağırlığı	64.782±6.211 66.02 (58.61-68.08)	63.876±13.118 71.73 (51.45-75.44)	83.523±11.756 85.77 (71.27-90.90)	0.005	I-III II-III
	** Sağ Testis Ağırlığı	0.110±0.012 0.11 (0.10-0.12)	0.180±0.066 0.16 (0.12-0.24)	0.152±0.036 0.15 (0.12-0.19)	0.001	I-II
	* Sol Testis Ağırlığı	0.109±0.015 0.11 (0.10- 0.12)	0.191±0.062 0.17 (0.14-0.24)	0.164±0.059 0.15 (0.12-0.21)	<0.001	I-II I-III

* Kruskal-Wallis H testi ** Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA)

Ort. ± SS: Ortalama±Standart Sapma

Med. (25-75): Medyan (25. - 75.) Persantil

Vücut ağırlıkları: Busulfan grubundan doğan yavruların günlere göre vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında, 30. gün ile 50. gün arasında ve 40. gün ile 50. gün arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 40. gün arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sağ testis ağırlıkları: Busulfan grubundan doğan yavruların günlere göre sağ testis ağırlıkları karşılaştırıldığında, yalnızca 30. gün ile 40. gün sağ testis ağırlıklarının anlamlı derecede farklı olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün sağ testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sol testis ağırlıkları: Busulfan grubundan doğan yavruların günlere göre sol testis ağırlıkları karşılaştırıldığında, 30. gün ile 40. gün ve 30. gün ile 50. gün sol testis ağırlıklarının anlamlı derecede farklı olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). 40. gün ile 50. gün sol testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

4.1.2.3. Propolis grubu

Tablo 13. Propolis grubuna göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları

	30.Gün (I)	40.Gün (II)	50.Gün (III)	p Değeri	Çoklu Karşılaştırma	
	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)			
Propolis Grubu	*Vücut Ağırlığı	77.909±4.660 76.84 (73.32-78.48)	72.122±2.631 72.17 (71.01-74.43)	103.175±4.296 103.53 (99.36-106.10)	<0.001	II-III
	** Sağ Testis Ağırlığı	0.316±0.015 0.32 (0.30-0.33)	0.337±0.030 0.34 (0.31-0.36)	0.628±0.082 0.59 (0.57-0.73)	<0.001	I-III II-III
	* Sol Testis Ağırlığı	0.316±0.017 0.31 (0.30- 0.34)	0.331±0.032 0.33 (0.30-0.34)	0.624±0.085 0.60 (0.59-0.72)	0.001	I-III II-III

* Kruskal-Wallis H testi ** Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA)

Ort. ± SS: Ortalama±Standart Sapma

Med. (25-75): Medyan (25. - 75.) Persantil

Vücut ağırlıkları: Propolis grubundan doğan yavruların günlere göre vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında ise, 40. gün ile 50. gün vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 40. gün arasında ve 30. gün ile 50. gündeki vücut ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sağ testis ağırlıkları: Propolis grubundan doğan yavruların günlere göre sağ testis ağırlıkları karşılaştırıldığında karşılaştırıldığında ise, 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün sağ testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 40. gün testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sol testis ağırlıkları: Propolis grubundan doğan yavruların günlere göre v sol testis ağırlıkları karşılaştırıldığında ise, 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün sol testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 40. gün sol testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

4.1.2.4. Busulfan+Propolis grubu

Tablo 14. Busulfan+Propolis grubuna göre vücut, sağ ve sol testis ağırlıkları

		30.Gün (I)	40.Gün (II)	50.Gün (III)	p Değeri	Çoklu Karşılaştırma
		Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)	Ort. ± SS Med. (25-75)		
Busulfan + Propolis Grubu	**Vücut Ağırlığı	58.399±6.501 57.19 (52.11-64.40)	71.151±7.580 67.85 (65.59-80.06)	95.634±15.590 93.20 (83.53-109.01)	<0.001	I-III II-III
	* Sağ Testis Ağırlığı	0.156±0.048 0.18 (0.10-0.20)	0.204±0.077 0.21 (0.13-0.30)	0.410±0.153 0.44 (0.29-0.51)	0.004	I-III
	** Sol Testis Ağırlığı	0.152±0.045 0.17 (0.10-0.19)	0.203±0.080 0.20 (0.14-0.30)	0.416±0.147 0.45 (0.30-0.51)	<0.001	I-III II-III

* Kruskal-Wallis H testi ** Tek Yönlü Varyans Analizi (One Way ANOVA)

Ort. ± SS: Ortalama±Standart Sapma

Med. (25-75): Medyan (25. - 75.) Persantil

Vücut ağırlıkları: Busulfan+propolis grubundan doğan yavruların günlere göre vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında, 30. gün ile 40. gün, 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. günlerdeki yavruların sağ testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir ($p<0.05$).

Sağ testis ağırlıkları: Busulfan+propolis grubundan doğan yavruların günlere göre sağ testis ağırlıkları karşılaştırıldığında, 30. gün ile 50. gün sağ testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 40. gün ve 40. gün ile 50. gün sağ testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

Sol testis ağırlıkları: Busulfan+propolis grubundan doğan yavruların günlere göre sol testis ağırlıkları karşılaştırıldığında, 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün sol testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmiştir ($p<0.05$). 30. gün ile 40. gün sol testis ağırlıkları arasında ise anlamlı bir fark gözlenmemiştir ($p>0.05$).

4.2. Histolojik Bulgular

Işık mikroskopik olarak kontrol ve deney gruplarını oluşturan sıçan testislerinin genel görünümünü saptamak için H-E ve PAS+H boyaları uygulanmıştır.

4.2.1. Kontrol grubu

30. Gün: Kontrol grubunu oluşturan gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, 30. günde spermatogenik seri hücrelerinin primer spermatosite kadar ilerlediği gözlendi (Şekil 7a-d; 8a-d). Bazı tübüllerdeki seri hücrelerde akrozomal granül oluşumu gözlendi. Sertoli hücreleri ile spermatogonyumlar oldukça belirgin ve normal yapıda gözlendi (Şekil 7a-d; 8a-d). 30. gün olduğundan olgun spermatozoonlara rastlanmadı. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, eksantrik yerleşimli nükleusları ve tipik yerleşim yerleriyle oldukça düzgün olarak gözlendi (Şekil 7d; 8b,d). İnterstisyel

alandaki damarlar normal yapıda gözlemlendi (Şekil 8b). PAS+H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran yapısı normal yapıda gözlemlendi (Şekil 8a-d).

40. Gün: 40. gün kontrol grubunda seminifer tübüllerdeki spermatogenik seri hücreleri normal düzeninde gözlemlendi (Şekil 8a-d; 10a-d). Bazı tübüllerde gelişmekte olan spermatidler, klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümeninde, baş tübül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş şekilde gözlemlendi (Şekil 9d; 10c,d). Bazı tübüllerde akrozomal granül oluşumunun devam ettiği gözlemlendi. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, eksantrik yerleşimli nükleusları ve tipik yerleşim yerleriyle oldukça düzgün olarak gözlemlendi (Şekil 9d; 10d). İnterstisyel alandaki damarlar normal yapıda gözlemlendi. PAS+H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran ve tunika albuginea yapısı normal yapıda gözlemlendi (Şekil 10a-d).

50. Gün: 50. gün kontrol grubunda spermatogenik seri hücreleri normal düzeninde gözlemlendi (Şekil 11a-d; 12a-d). Bazı tübüllerde spermatid gözlemlendi. Spermatidler klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümeninde, baş tübül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş şekilde gözlemlendi. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, eksantrik yerleşimli nükleusları ve tipik yerleşim yerleriyle oldukça düzgün olarak gözlemlendi (Şekil 11d; 12d). İnterstisyel alandaki damarlar normal yapıda gözlemlendi. PAS+H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran ve tunika albuginea yapısı normal yapıda gözlemlendi (Şekil 12a-d).

4.2.2. Busulfan grubu

30. Gün: Busulfan grubunu oluşturan sıçanlardan doğan erkek yavruların testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, 30. günde kurban edilmiş yavru erkek sıçanların testislerinde bulunan seminifer tübüllerde spermatogonyum dışındaki spermatogenik seri hücrelerinde yoğun dejenerasyon gözlemlendi (Şekil 13a-d; 14a-d; 15a-d). Spermatogenik seri hücrelerinin yalnızca Sertoli ve spermatogonyumlar ile temsil

edildiği gözlemlendi. Sertoli hücrelerinin yapısı ve sayısı bakımından bir farklılık gözlemlenmedi. Seminifer tübüllerdeki bazal membran yapısı korunmuş olarak gözlemlendi (Şekil 15a-d). İnterstisyel alanda bağ dokusunda artış (Şekil 13b; 14a-d; 15a-d), bu alandaki damarlarda dilatasyon ve kongesyon gözlemlendi (Şekil 13b-d; 15c). İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, eksantrik yerleşimli çekirdekleri ve tipik yerleşim yerleriyle normal yapıda gözlemlendi (Şekil 14d). Testisi saran tunika albugineanın ayrılmış olduğu gözlemlendi (Şekil 13a).

40. Gün: 40. günde kurban edilmiş yavru erkek sıçanların testislerinde 30. gündeki aksine bazı seminifer tübüllerde spermatogenik seri hücrelerinin oluşmaya başladığı gözlemlendi (Şekil 16a-d; 17a-d; 18a-d; 19a-d). Bu tübüllerde spermatogenezin primer spermatozite kadar ilerlediği gözlemlendi (Şekil 17b,c; 18b,c). Seminifer tübüllerin etrafındaki bazal membran yapısında 30. gündeki benzer şekilde bozulma olmadığı gözlemlendi (Şekil 18a-d). 30. güne göre 40. gündeki seminifer tübüllerdeki interstisyel alandaki bağ dokusunda azalma olduğu gözlemlendi. İnterstisyel alanda bulunan damar duvarlarında kalınlaşma ve damarlarda kongesyon gözlemlendi (Şekil 17d; 18b,d). Testisi saran tunika albugineanın 30. gündeki benzer şekilde ayrılmış olduğu gözlemlendi (Şekil 19c).

50. Gün: 50. günde kurban edilmiş yavru erkek sıçanların testislerinde 40. gündeki yavru sıçanların testislerinin aksine, 30. gündeki benzer şekilde spermatogenik seri hücrelerinin bulunmadığı gözlemlendi (Şekil 20a-d; 21a-d; 22a-d). İnterstisyel alan bağ dokusunda yoğunlaşma gözlemlendi (Şekil 20a-d; 21a-d; 22a-d). İnterstisyel alandaki damarlarda kongesyon ve damar duvarlarında kalınlaşma gözlemlendi (Şekil 20c; 22c). Seminifer tübüllerin etrafındaki bazal membranın 30 ve 40. gündeki benzer şekilde düzgün olduğu gözlemlendi (Şekil 21a-d; 22a-d). İnterstisyel alandaki Leydig hücrelerinin 30 ve 40. gündeki benzer şekilde düzgün olduğu gözlemlendi (Şekil 22b,c,d). Sertoli hücrelerinin çekirdekleri 30. ve 40. gündeki hücreler ile karşılaştırıldığında oldukça küçülmüş olarak gözlemlendi. 50. gündeki seminifer tübüllerin yalnızca birkaçında spermatogenik serinin devam ettiği gözlemlendi. Birçok tübülde atrofi gözlemlendi (Şekil 20d).

4.2.3. Propolis grubu

30. Gün: Propolis grubunu oluşturan sıçanlardan doğan erkek yavruların testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, 30. günde spermatogenik seri hücrelerinin, kontrol grubundaki yavruların testis örneklerine benzer şekilde, primer spermatosite kadar ilerlediği gözlemlendi (Şekil 23a-d; 24a-d). Bazı tübüllerdeki seri hücrelerde akrozomal granül oluşumu gözlemlendi. Sertoli hücreleri ile spermatogonyumlar oldukça belirgin ve normale benzer yapıda gözlemlendi (Şekil 23d; 24d). İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri eozinofilik sitoplazmaları, eksantrik yerleşimli nükleusları ve tipik yerleşim yerleriyle, kontrol grubundaki yavruların testis örneklerine benzer şekilde gözlemlendi. İnterstisyel alandaki damarlar normal yapıda gözlemlendi. PAS+H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran ve tunika albuginea yapısı normale benzer yapıda gözlemlendi (Şekil 24c,d).

40. Gün: Bu gruptaki sıçanlardan doğan ve 40. günde kurban edilmiş erkek yavruların testislerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, seminifer tübüllerin arasındaki spermatogenik seri hücreleri, kontrol grubundaki yavruların testis örneklerine benzer şekilde, normal düzeninde gözlemlendi (Şekil 25a-d; 26a-d). Bazı tübüllerde gelişmekte olan spermatidler, klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümende, baş tübül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş şekilde gözlemlendi. Bazı tübüllerde akrozomal granül oluşumunun devam ettiği gözlemlendi (Şekil 26d). İnterstisyel alandaki damarlar normale benzer yapıda gözlemlendi. PAS pozitif bazal membran yapısı normal olarak gözlemlendi (Şekil 26a-d)

50. Gün: Bu gruptaki sıçanlardan doğan ve 50. günde kurban edilmiş erkek yavruların testislerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, seminifer tübüllerdeki spermatogenik seri hücreleri, kontrol grubundaki yavruların testis örneklerine benzer şekilde, normal düzeninde gözlemlendi (Şekil 27a-d; 28a-d). Bazı tübüllerde spermatid gözlemlendi. Spermatidler klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümende, baş tübül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş şekilde gözlemlendi (Şekil 27c,d; 28c,d). Sertoli hücreleri ile spermatogonyumlar oldukça belirgin ve normale benzer yapıda gözlemlendi

(Şekil 27a-d; 28a-d). İnterstisyel alandaki damarlar normal yapıda gözlemlendi. PAS+H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran yapısı normale benzer yapıda gözlemlendi (Şekil 28a-d).

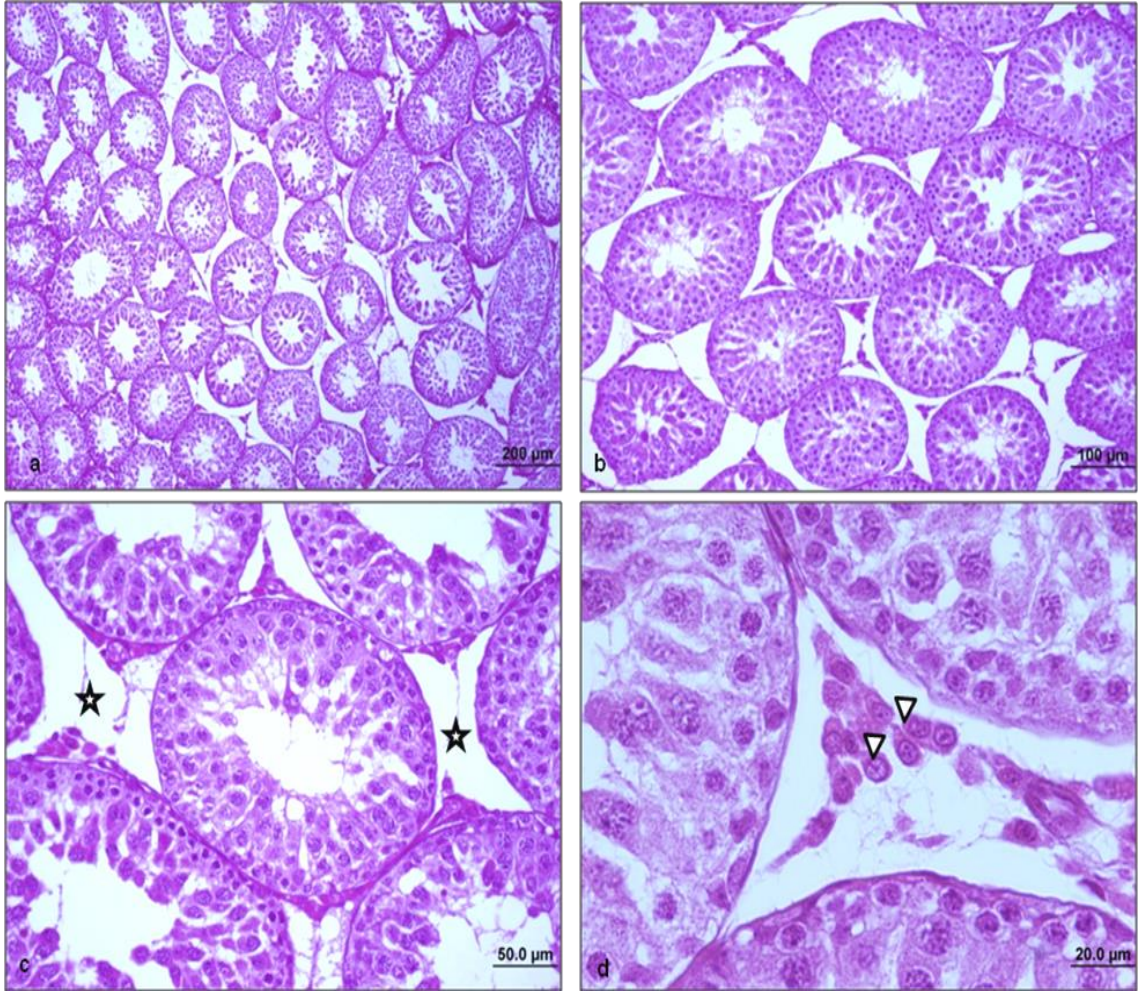
4.2.4. Busulfan+Propolis grubu

30. Gün: Bu grubu oluşturan sıçanlardan doğan erkek yavruların testislerinden alınan kesitlerin mikroskopik incelemelerinde, 30. günde busulfan grubunu oluşturan sıçanlardan doğan erkek yavruların testislerinden alınan örneklerle karşılaştırıldığında, bu grubu oluşturan sıçanlardan doğan erkek yavruların testislerindeki seminifer tübüllerde, spermatogenik seri hücrelerinin varlığı ve bu hücrelerin kontrol grubundaki erkek yavruların testislerine benzer şekilde olduğu gözlemlendi (Şekil 29a-d; 30a-d). İnterstisyel alandaki hücrelerde ve damar yapılarında normale yakın bir görüntü oluştuğu gözlemlendi (Şekil 30d). PAS+H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran normale benzer yapıda gözlemlendi (Şekil 30c,d).

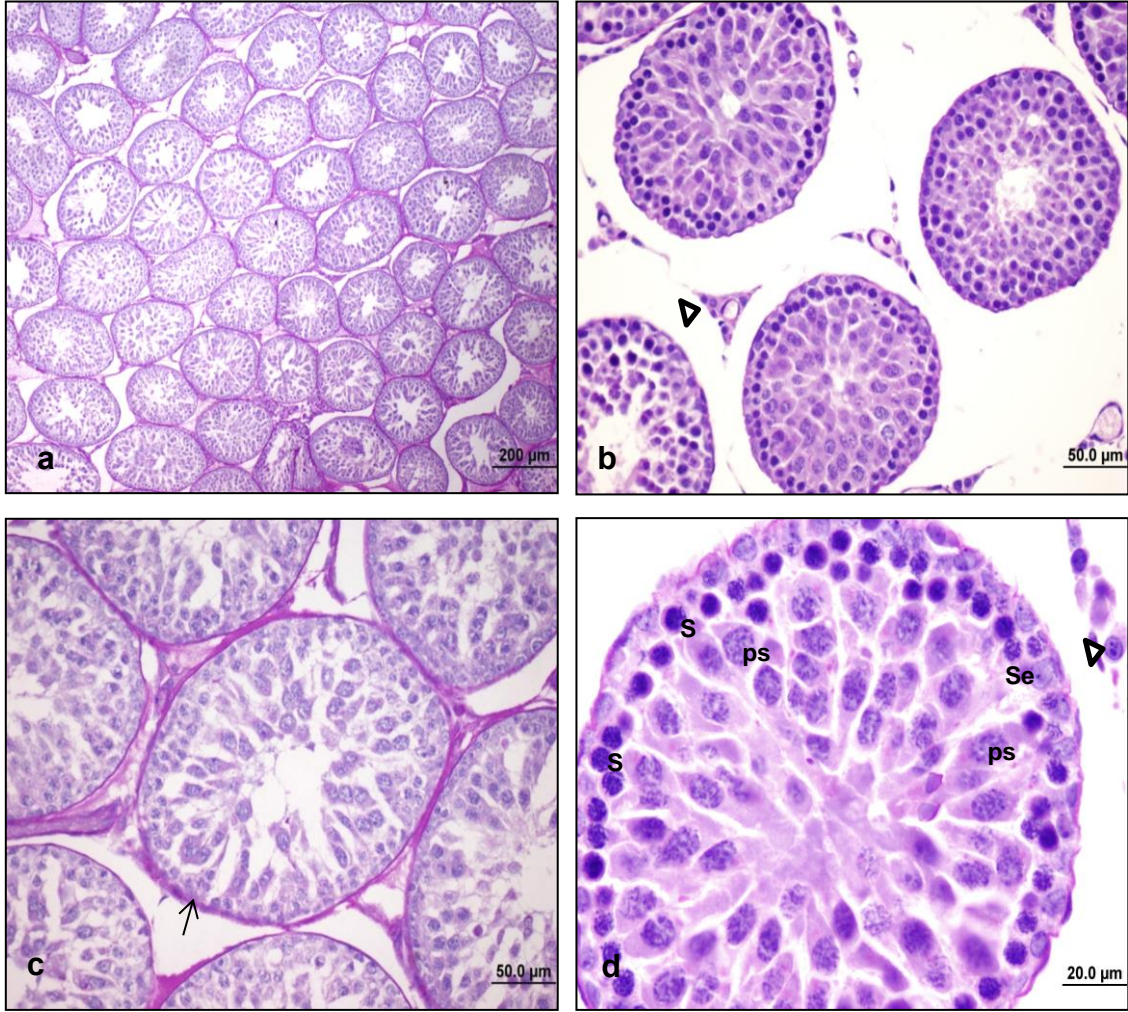
40. Gün: Bu gruptaki sıçanlardan doğan ve 40. günde kurban edilmiş erkek yavruların testislerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, normale benzer yapıda spermatogenik seri hücrelerinin bulunduğu seminifer tübüllerle beraber, busulfan grubundaki yavru erkek sıçanların testislerindeki benzer şekilde spermatogenik seri hücrelerinin yalnızca spermatogonyumlar ile temsil edildiği seminifer tübüllerin de var olduğu gözlemlendi (Şekil 31a-d; 32a-d). Bazı tübüllerde gelişmekte olan spermatidler, klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümeninde, baş tübül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş, normale benzer yapıda gözlemlendi. PAS+H ile boyadığımız testis örneklerinde PAS pozitif boyanmış bazal membran ve tunika albuginea yapısı normale yakın görüldü (Şekil 33a-d). İnterstisyel alan ve içerdiği Leydig hücreleri normal yapıda gözlemlendi (Şekil 31d; 33d)

50. Gün: Bu gruptaki sıçanlardan doğan ve 50. günde kurban edilmiş erkek yavruların testislerinin ışık mikroskopik incelemelerinde ise, spermatogenik seri hücrelerinin bulunduğu normale yakın çok sayıda seminifer tübülün bulunduğu gözlemlendi (Şekil 34a-

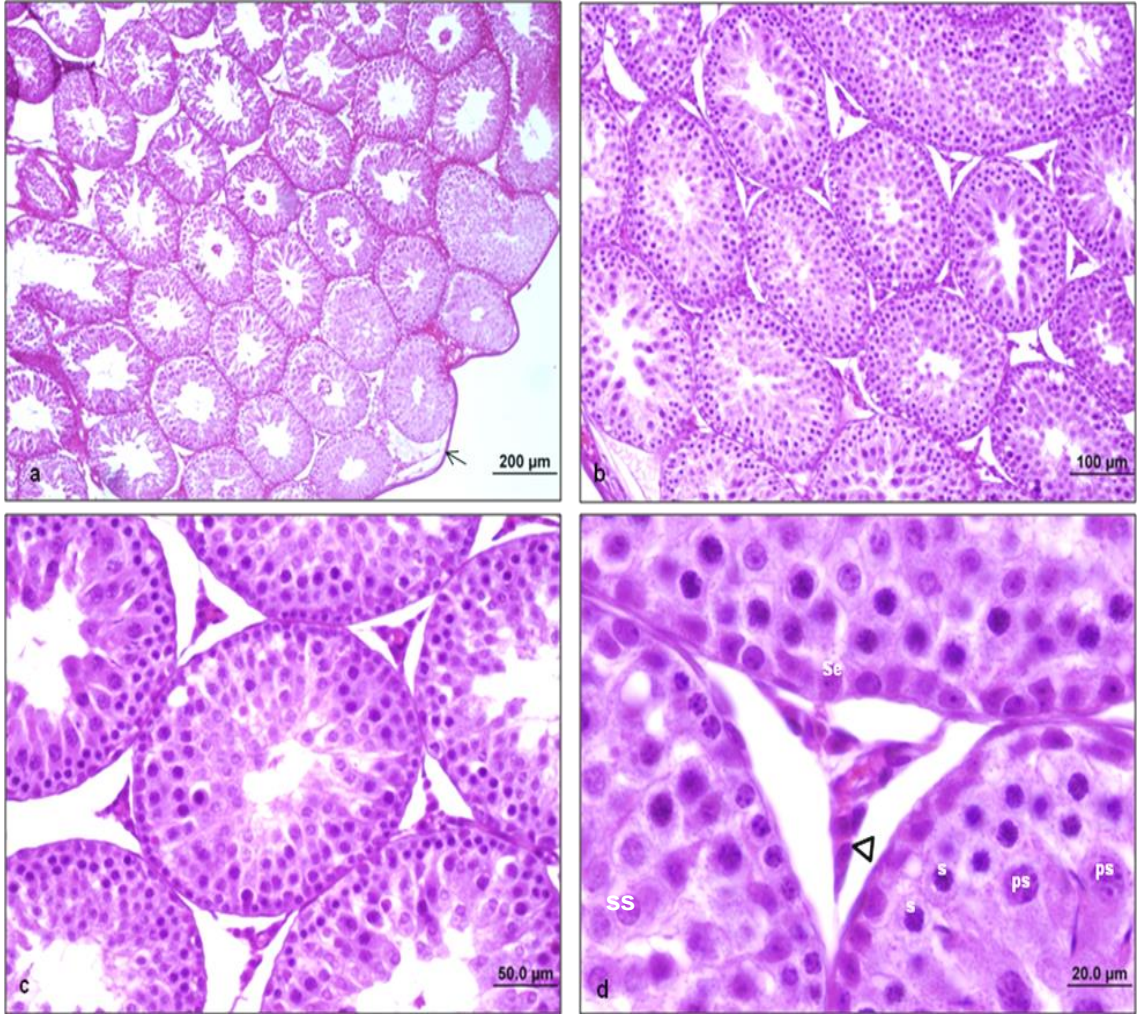
d; 35a-d). Birçok tübülde gelişmekte olan spermatidler, klasik görüntülerindeki gibi kuyruk lümende, baş tübül duvarına yönelik, Sertoli hücrelerinin arasına lokalize olmuş, normale benzer yapıda gözlendi. 30 ve 40. gün busulfan+propolis grubuna oranla 50. günde daha az sayıda hasarlı tübül görüldü (şekil 34b,d).



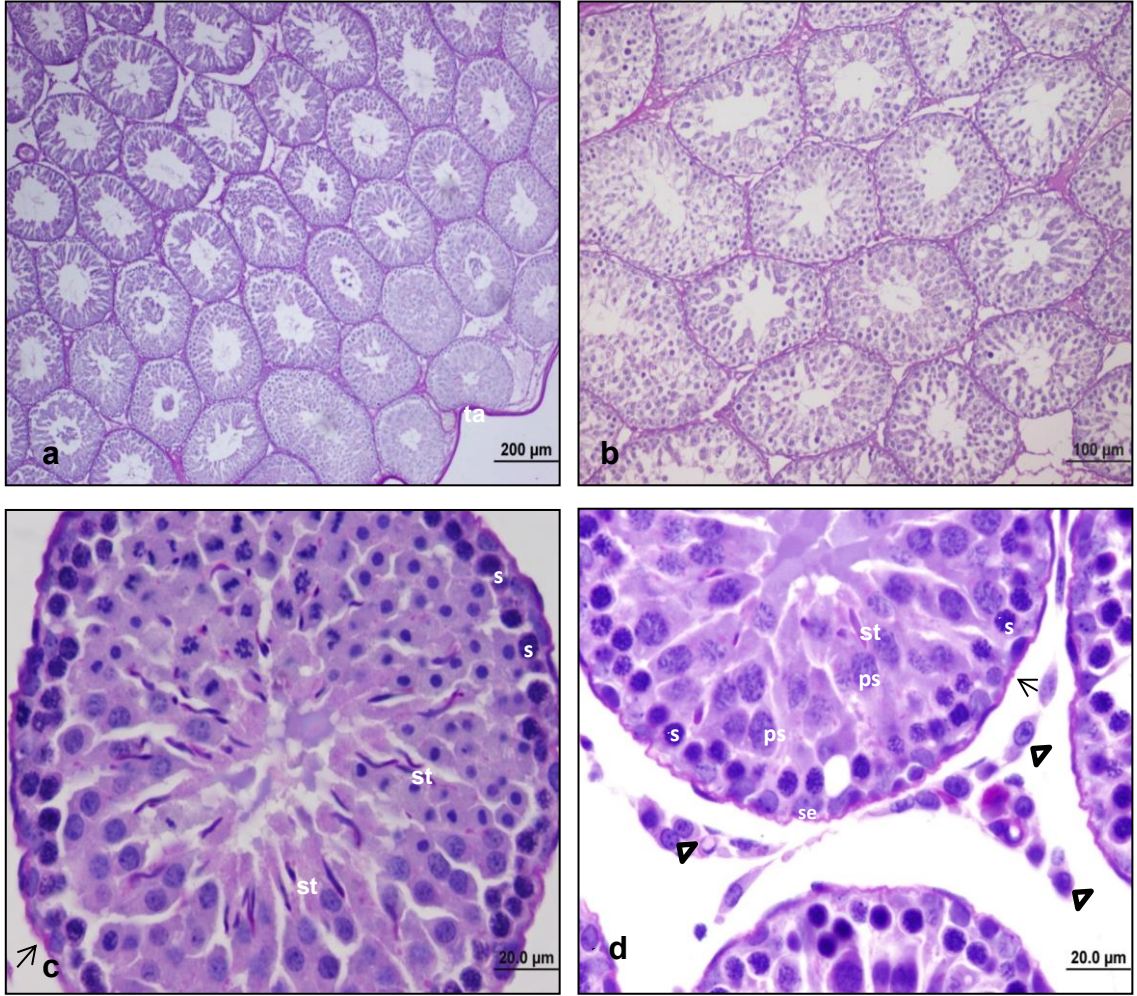
Şekil 7. Kontrol grubu-30. Gün: 30. gün kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan (*) ve Leydig hücreleri (►), primer spermatozite kadarki spermatogenik seri hücreleri görülmekte (bar:200µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, HE) (a-d).



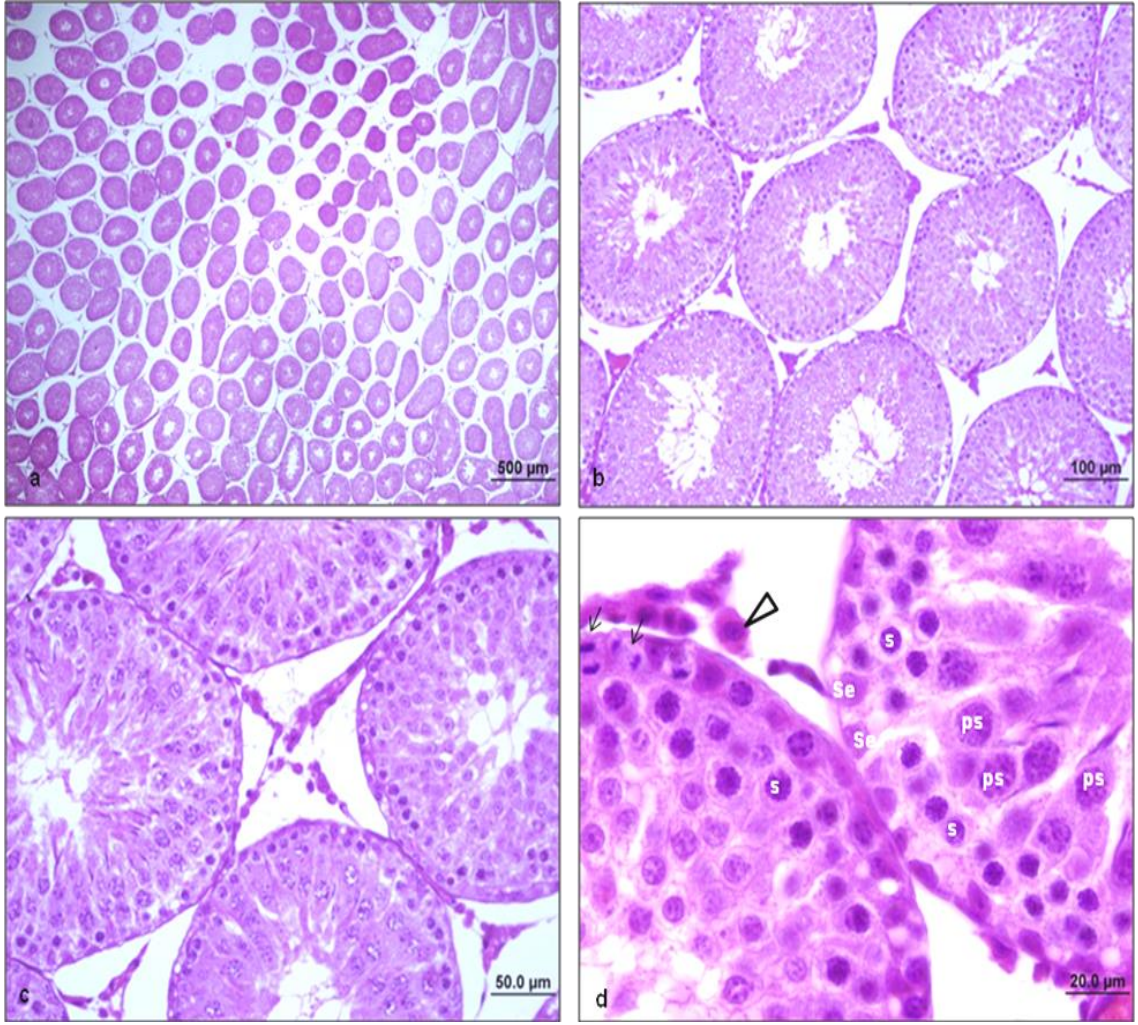
Şekil 8. Kontrol grubu-30. Gün: 30. gün kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve Leydig hücreleri (►), primer spermatozite kadarki spermatogenik seri hücreleri görülmekte (Se: Sertoli hücresi, ps: primer spermatozite, s: spermatogonyum), (bar: 200 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



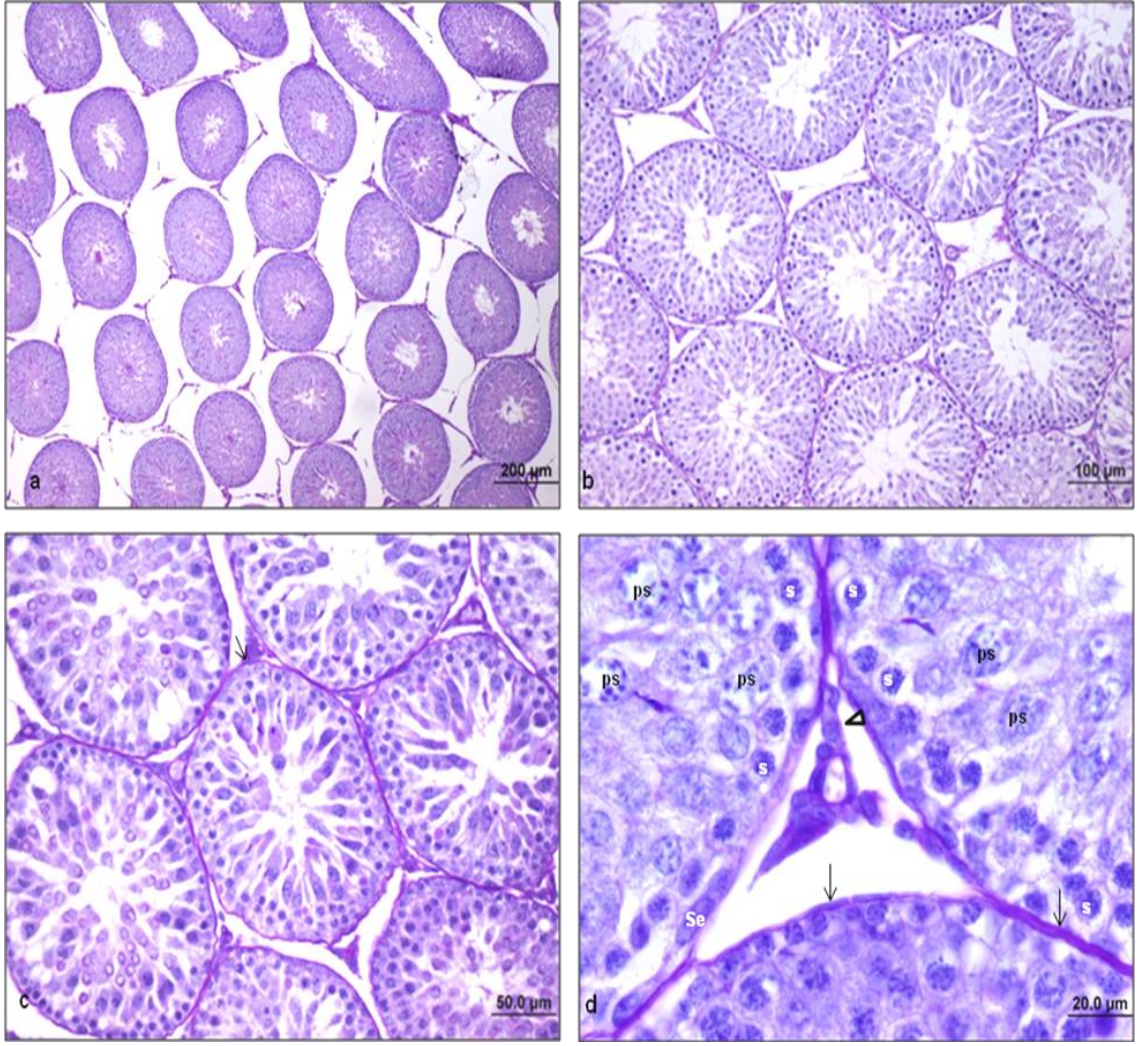
Şekil 9. Kontrol grubu-40. Gün: 40. gün kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve Leydig hücreleri (►), tunika albuginea yapısı (→) ve spermatogenik hücreler görülmekte (Se: Sertoli hücresi, ps: primer spermatozoid, s: spermatogonyum, ss: sekonder spermatozoid) (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, HE) (a-d).



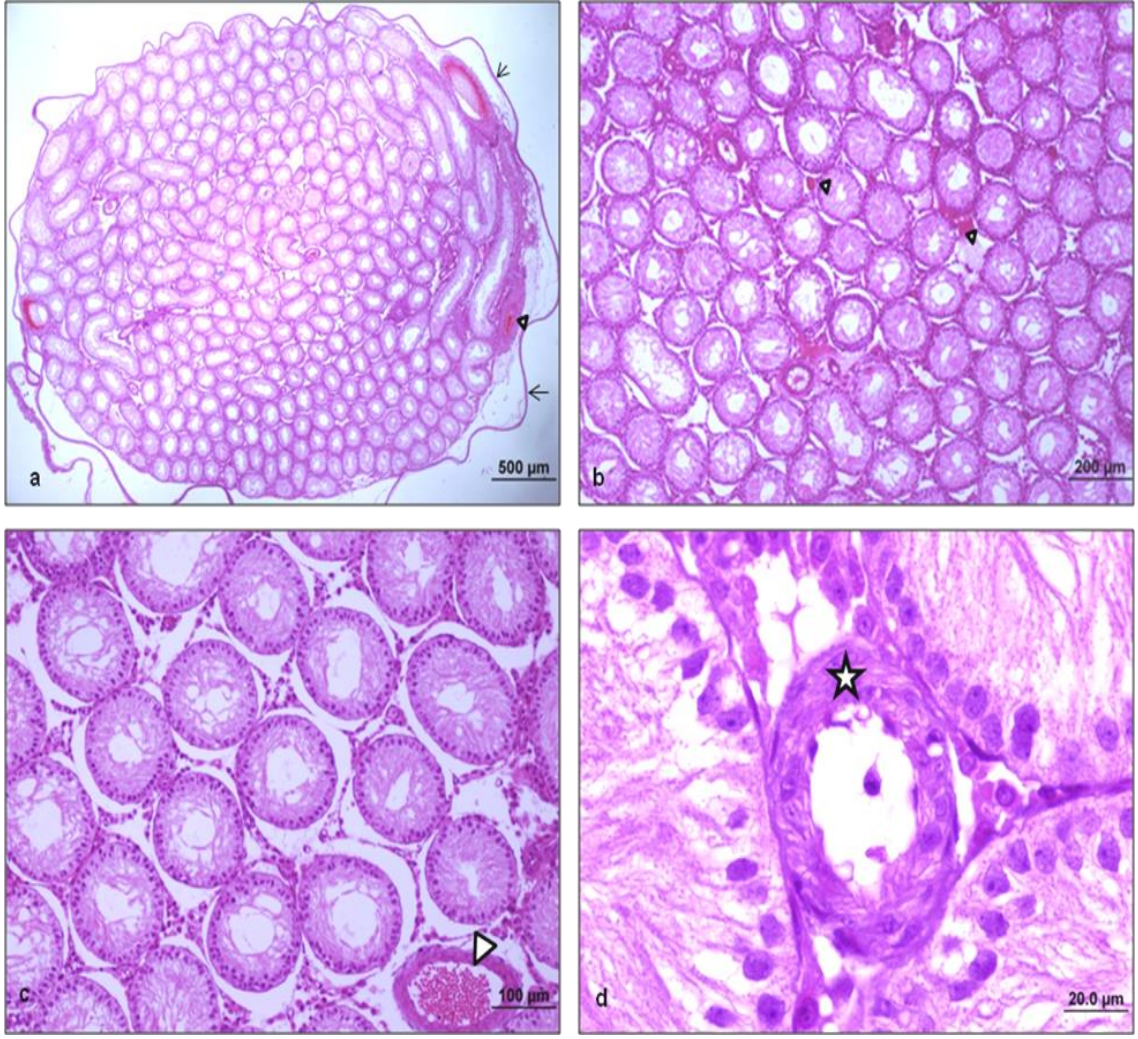
Şekil 10. Kontrol grubu-40. Gün: 40. gün kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, spermatogenik hücreler (Se: Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, s: spermatogonyum, st: spermatid), interstisyel alan ve Leydig hücreleri (►) ile PAS pozitif tunika albuginea (ta) ve bazal membran yapısı (→) görülmekte (bar:200µm, bar: 100 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



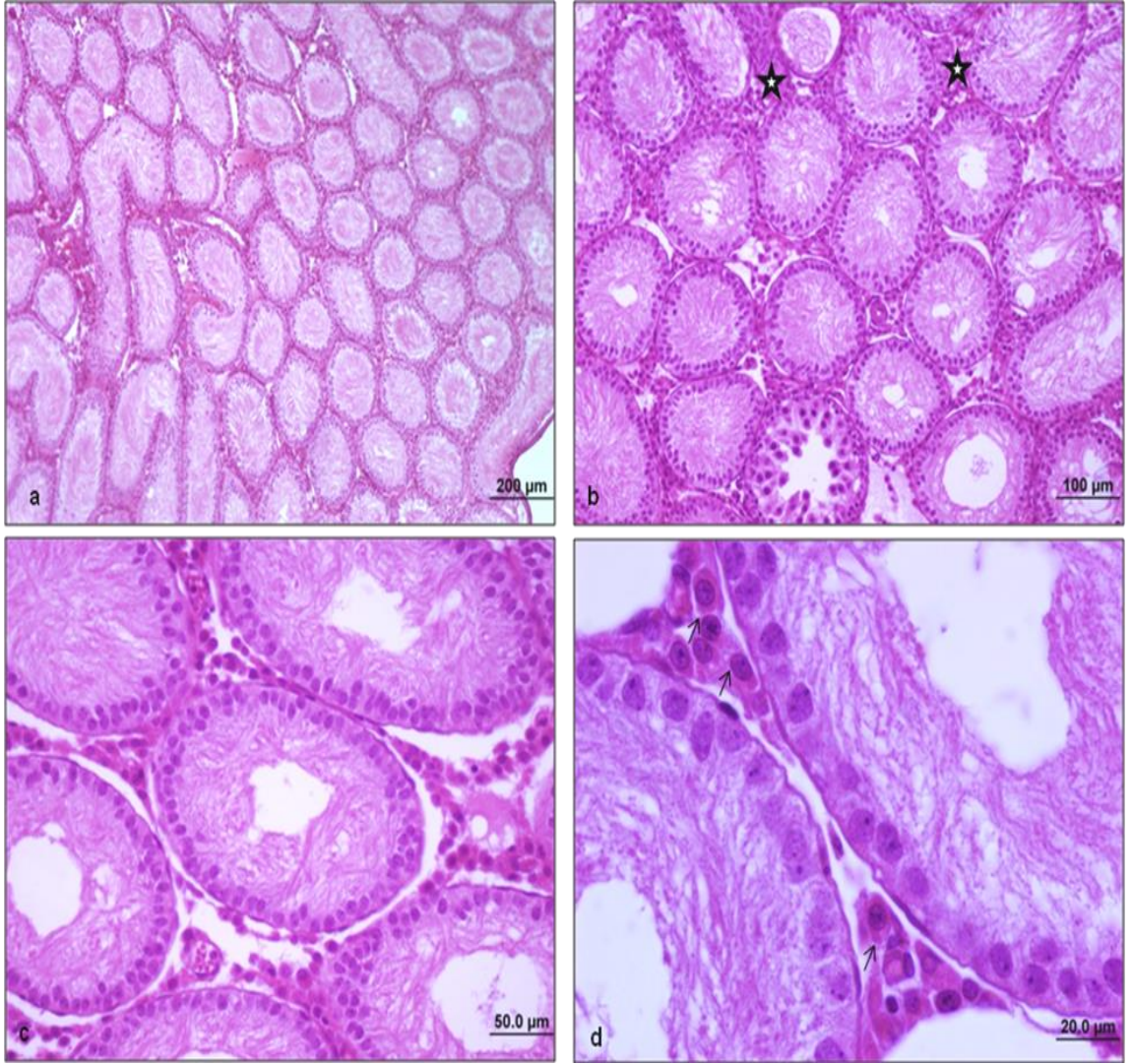
Şekil 11. Kontrol grubu-50. Gün: 50. gün kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve Leydig hücreleri (►) ve spermatogenik hücreler (Se: Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, s: spermatogonyum) ve bölünmekte olan hücreler (→) görülmekte (bar: 500 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar:20.0µm, HE) (a-d).



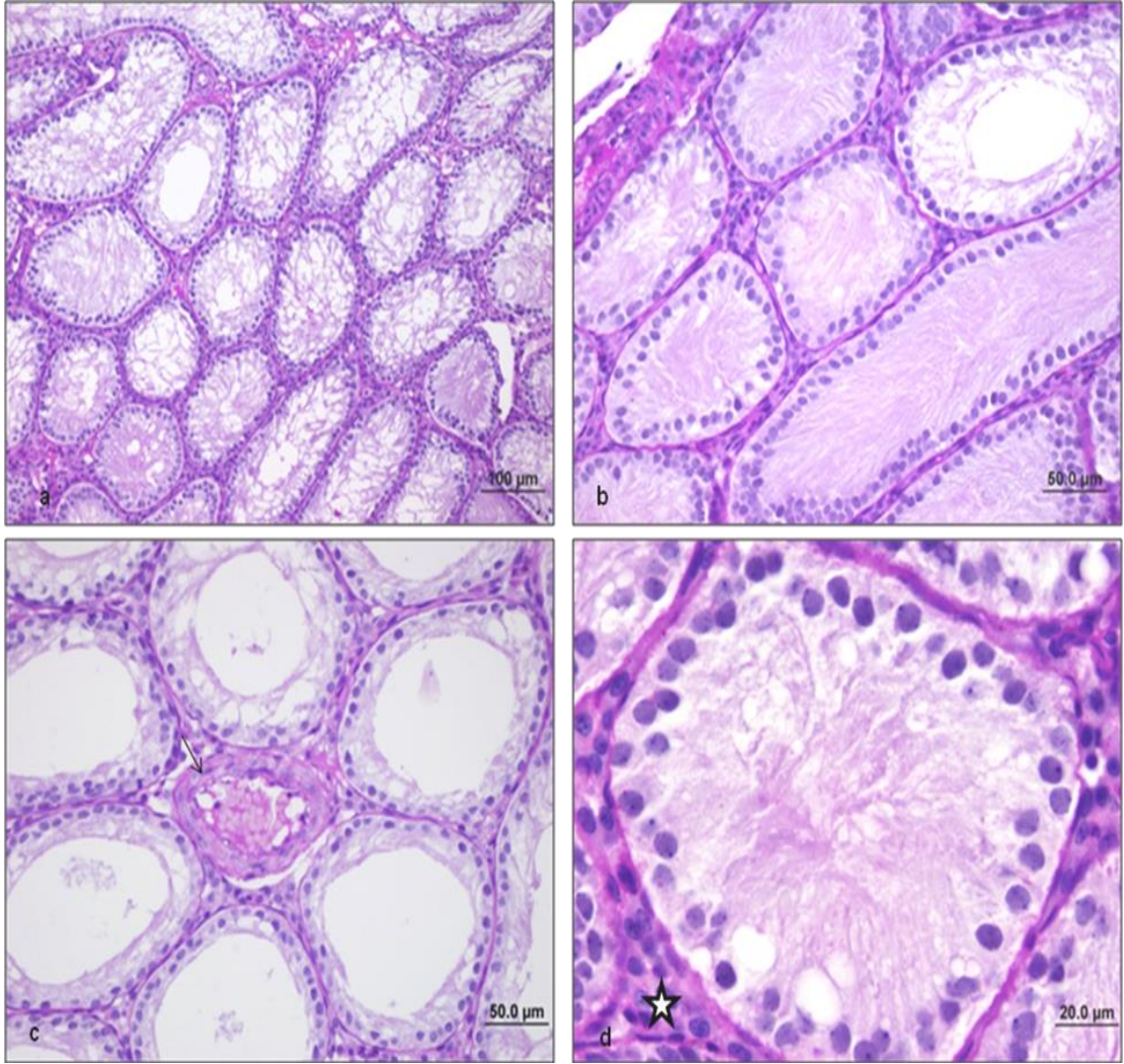
Şekil 12. Kontrol grubu-50. Gün: 50. gün kontrol grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve Leydig hücreleri (►), PAS pozitif bazal membran yapısı (→) ve spermatogenik hücreler (Se: Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, s: spermatogonyum) görülmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar:50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



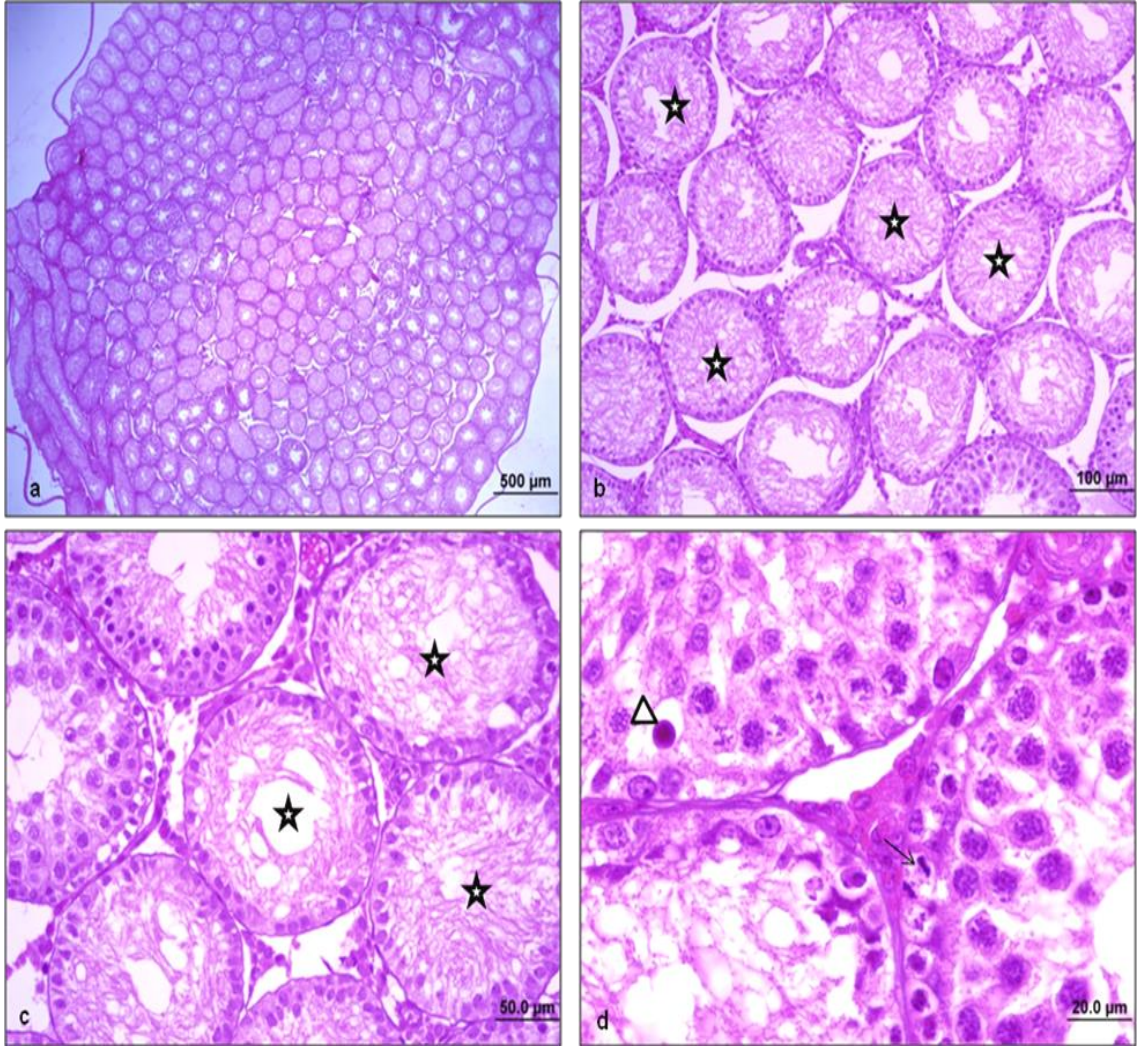
Şekil 13. Busulfan grubu-30. Gün: 30. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Ayrılmış tunika albuginea yapısı (→), tunika vaskulözada ve interstisyel alandaki damarlarda gözlenen kongesyon (►) ve damar duvarında kalınlaşma (*) görülmekte (bar: 500 µm, bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 20.0 µm, HE) (a-d).



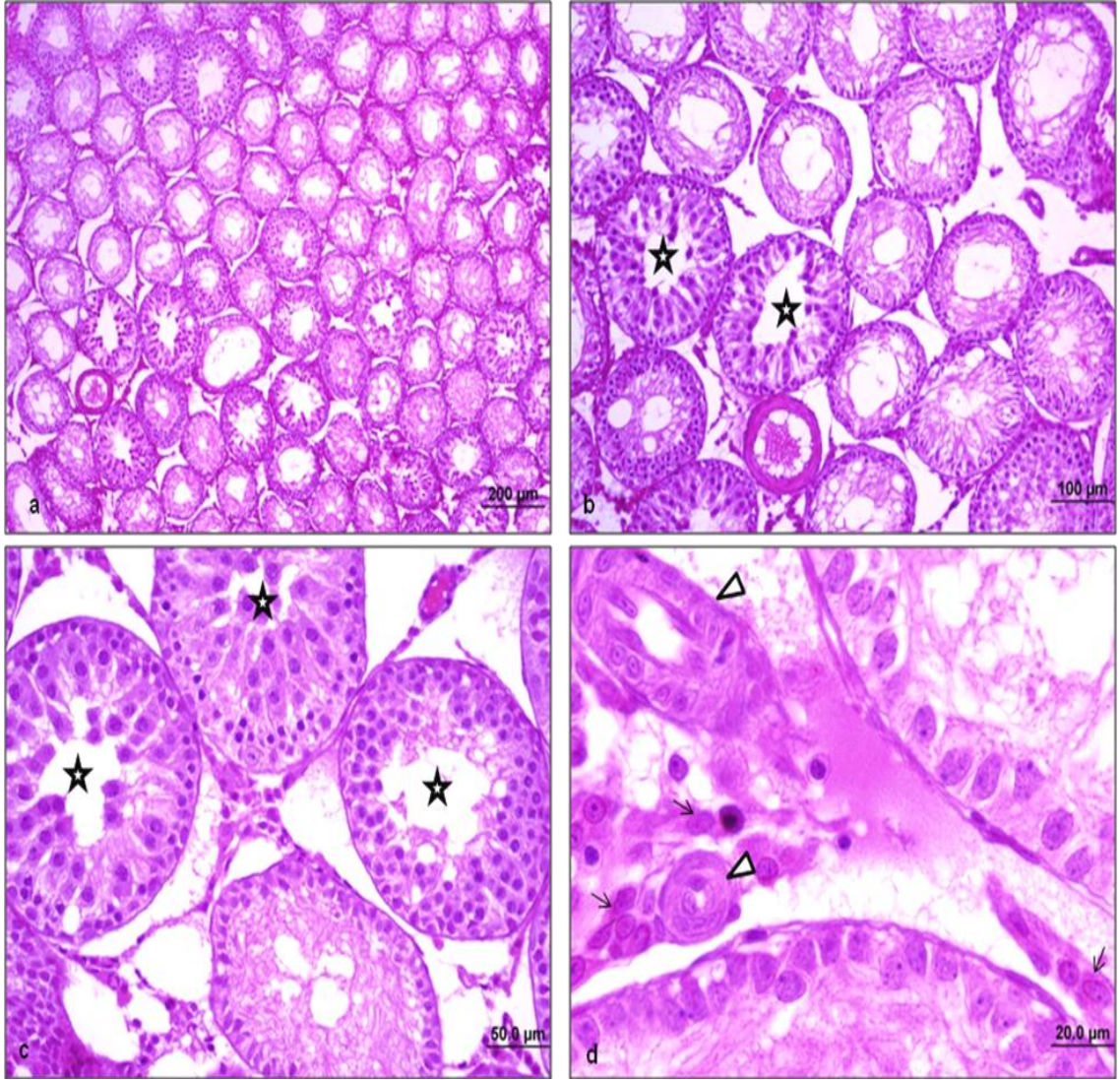
Şekil 14. Busulfan grubu-30. Gün: 30. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Tek tip hücrelerden oluşmuş tübül yapıları, interstisyel alanda bağ dokusunda yoğunlaşma (*) görülmekte. İnterstisyel alandaki Leydig hücreleri ise normal yapıda gözlenmekte (→) (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, HE) (a-d).



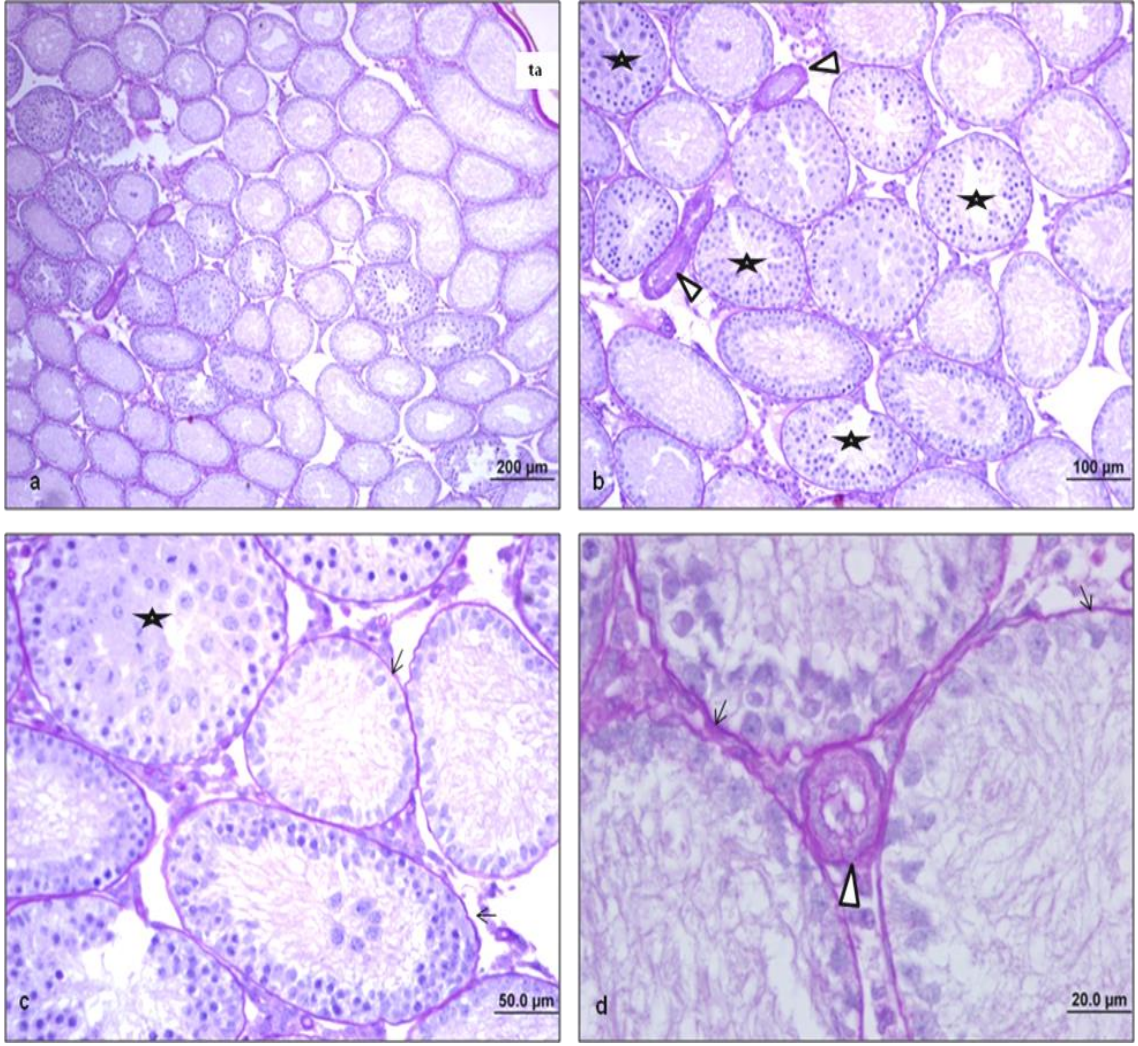
Şekil 15. Busulfan grubu-30. Gün: 30. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Tek tip hücrelerden oluşmuş tübül yapıları, interstisyel alanda bağ dokusunda yoğunlaşma (*) ve damar kongesyonu (→) görülmekte. Tübüller etrafındaki PAS pozitif bazal membran yapısı ise normal yapıda gözlenmekte (bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



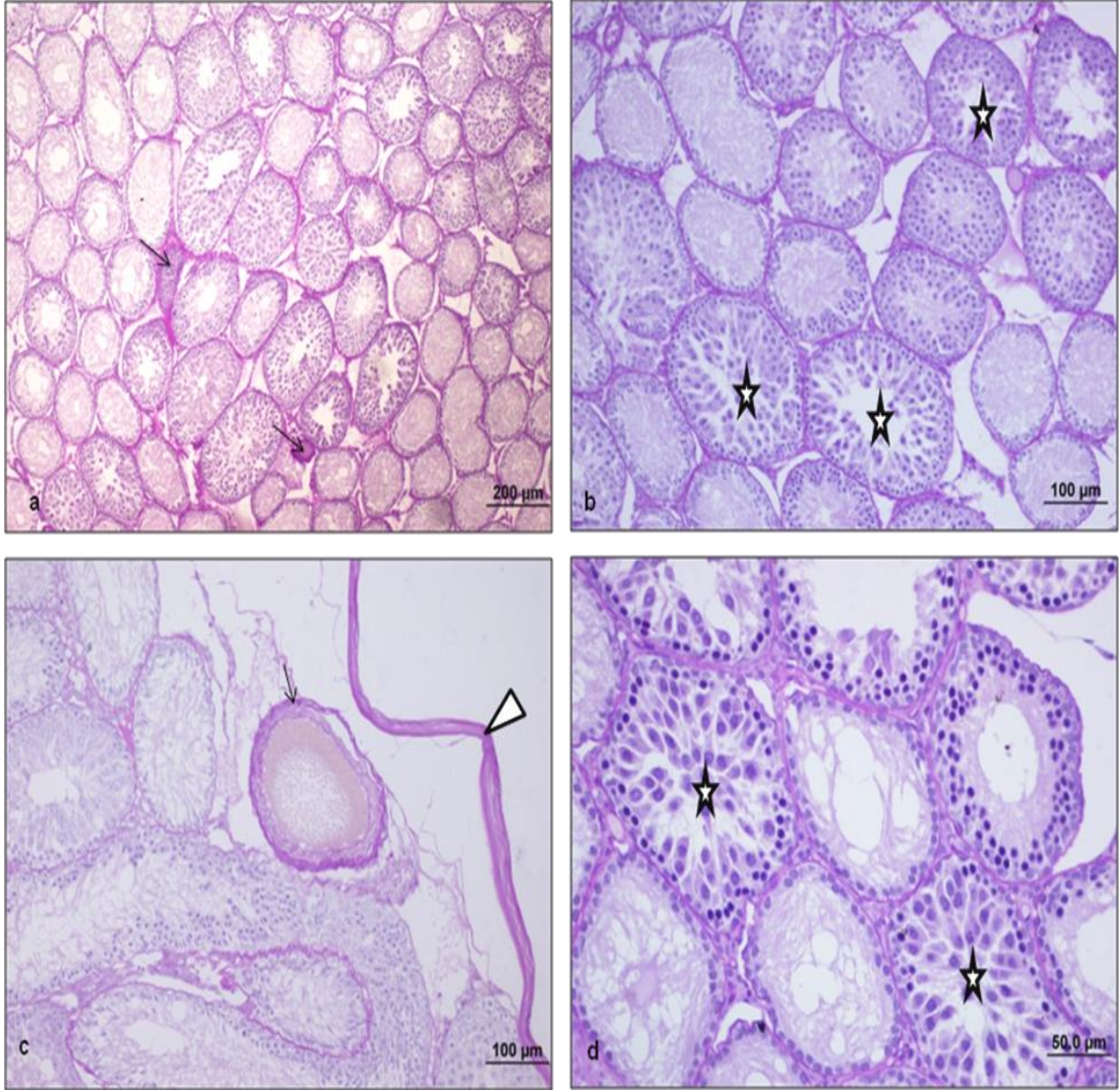
Şekil 16. Busulfan grubu-40. Gün: 40. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Birçok tübülde tek tip hücrelerden oluşmuş tübül duvarı (*), bazı tübüllerde gözlenen eoznofilik sitoplazmalı, piknotik nükleuslu nekrotik hücreler (▶) ve bölünmekte olan hücre yapıları dikkat çekmekte (→) (bar: 500 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, HE) (a-d).



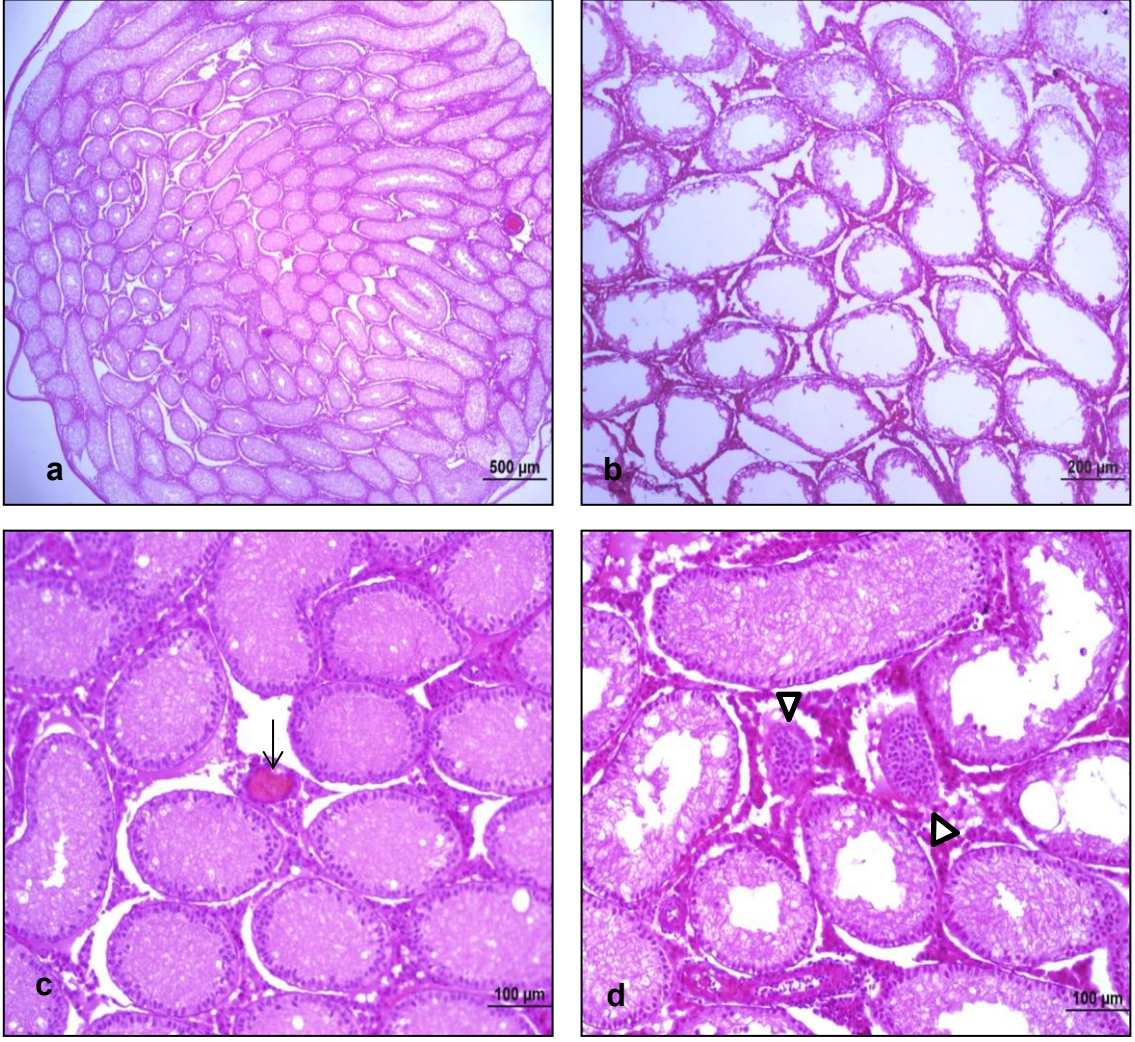
Şekil 17. Busulfan grubu-40. Gün: 40. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Birçok tübülde primer spermatosite kadar gözlenen hücreler (*), interstisyel alanda damar duvarlarında gözlenen kalınlaşma dikkat çekmekte (▶). Leydig hücreleri (→) ise normal yapıda gözlenmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, HE) (a-d).



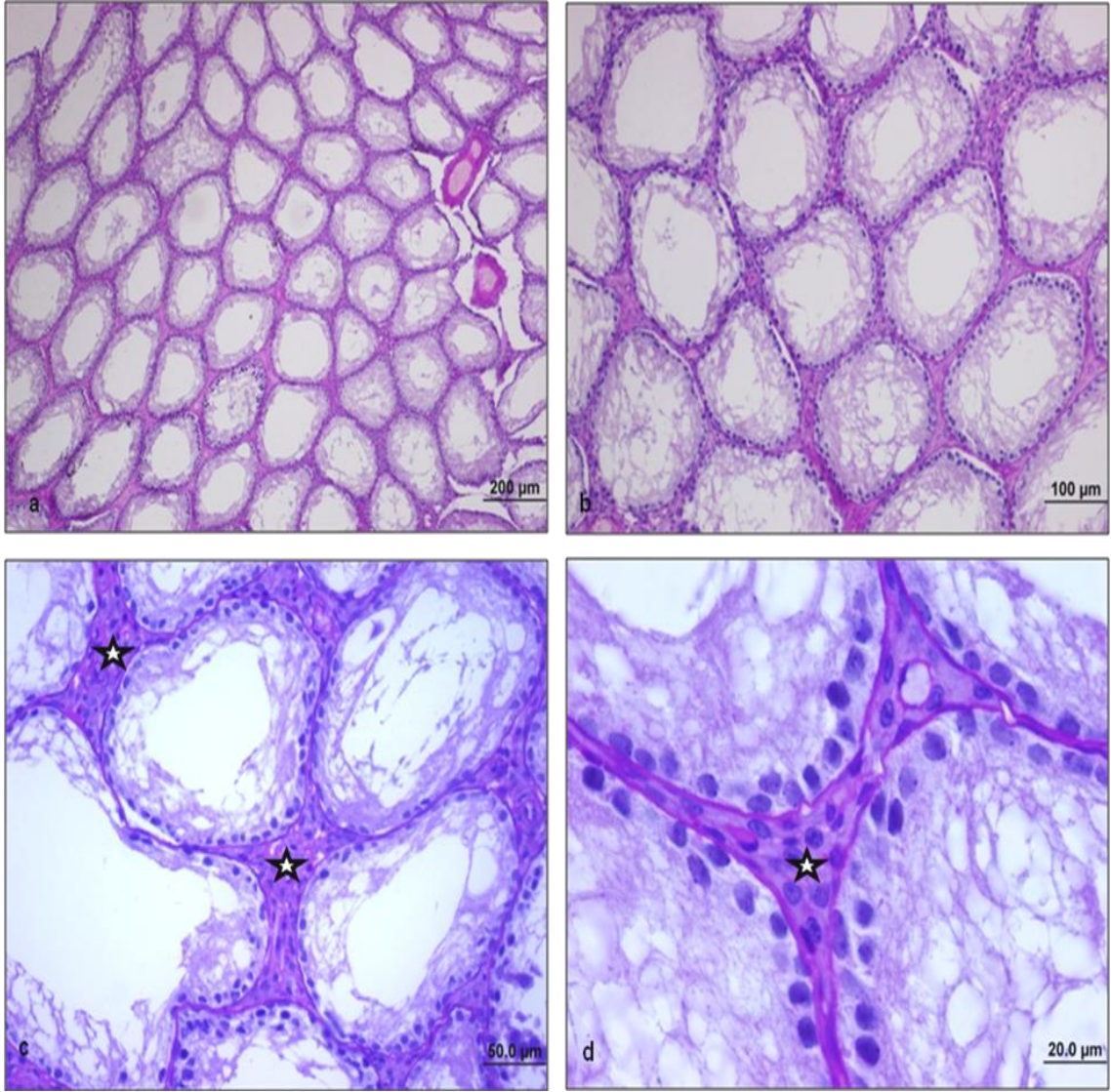
Şekil 18. Busulfan grubu-40. Gün: 40. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Birçok tübülde primer spermatozite kadar gözlenen hücreler (*), interstisyel alanda damar duvarlarında gözlenen kalınlaşma dikkat çekmekte (▶). PAS pozitif bazal membran (→) ve tunika albuginea (ta) yapıları ise normal yapıda gözlenmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



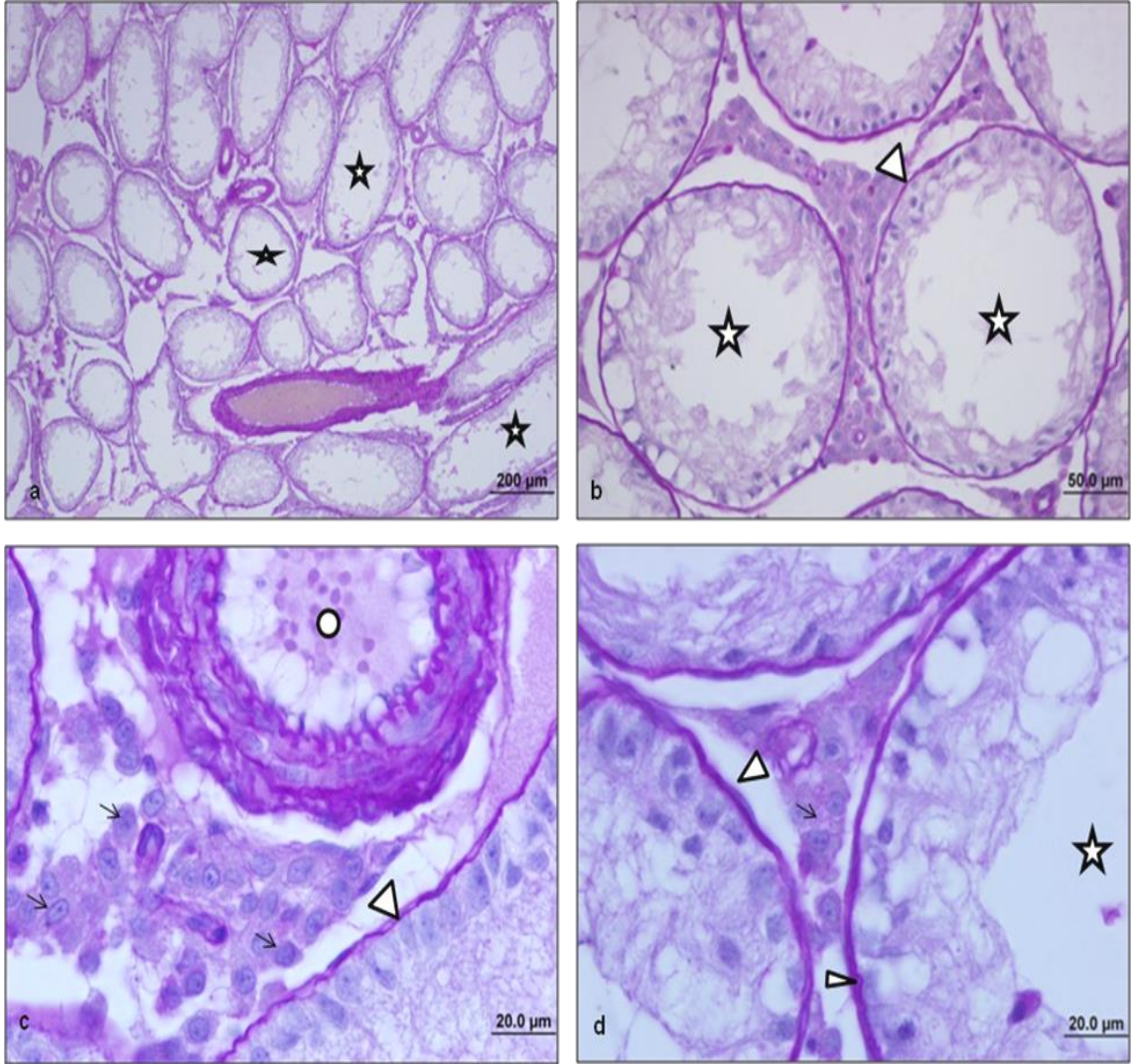
Şekil 19. Busulfan grubu-40. Gün: 40. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Birçok tübülde primer spermatosite kadar gözlenen hücreler (*), interstisyel alandaki ve tunika vaskulozadaki damar kongesyonu (→) ve ayrılmış PAS pozitif tunika albuginea yapısı (▶) dikkat çekmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, PAS+H) (a-d).



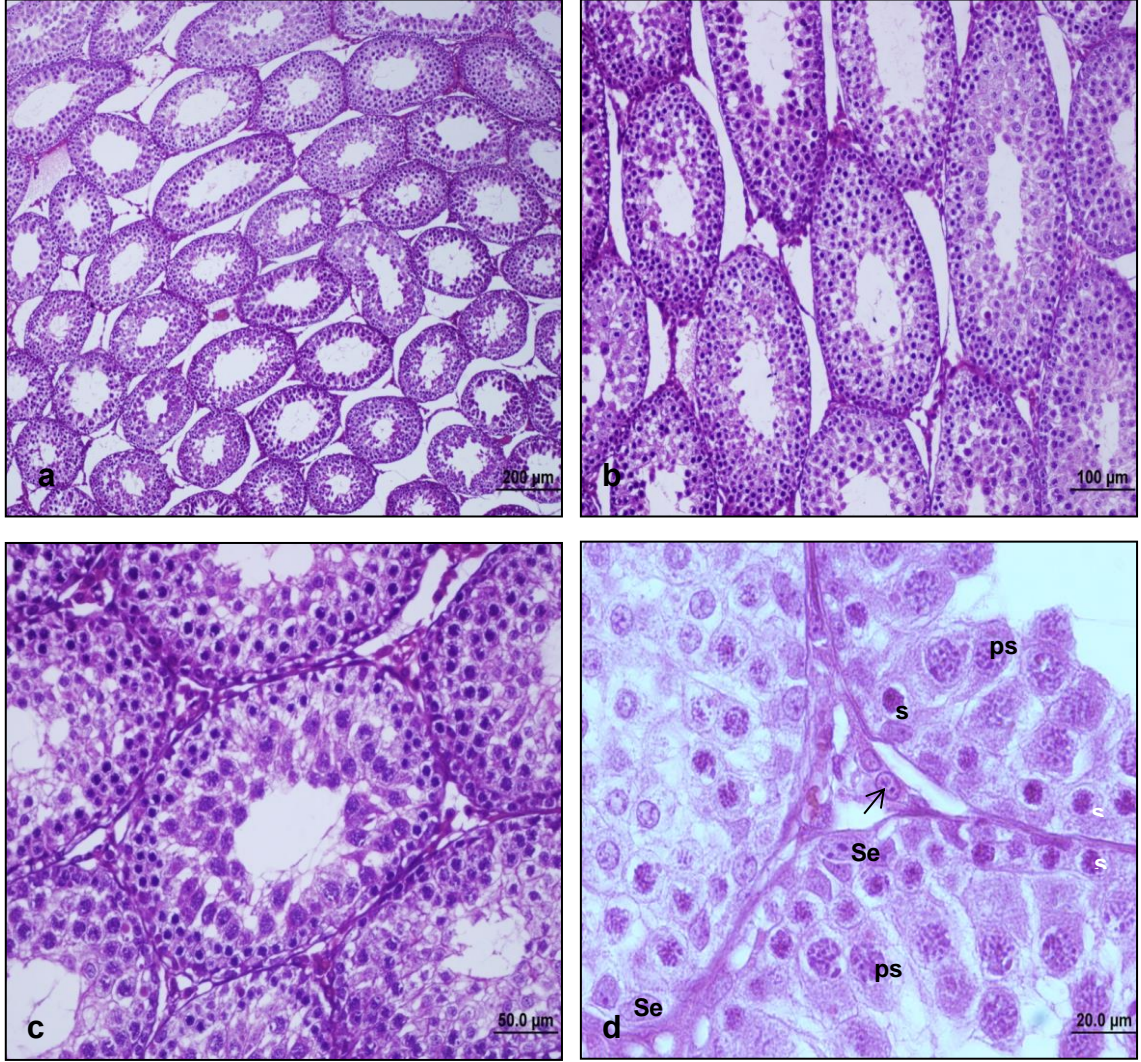
Şekil 20. Busulfan grubu-50. Gün: 50. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Tübüllerde yoğun hasar, bazı tübüllerde atrofi (►) ve interstisyel alanda damar kongesyonu (→) dikkat çekmekte (bar: 500 µm, bar: 200 µm, bar: 100 µm, HE) (a-d).



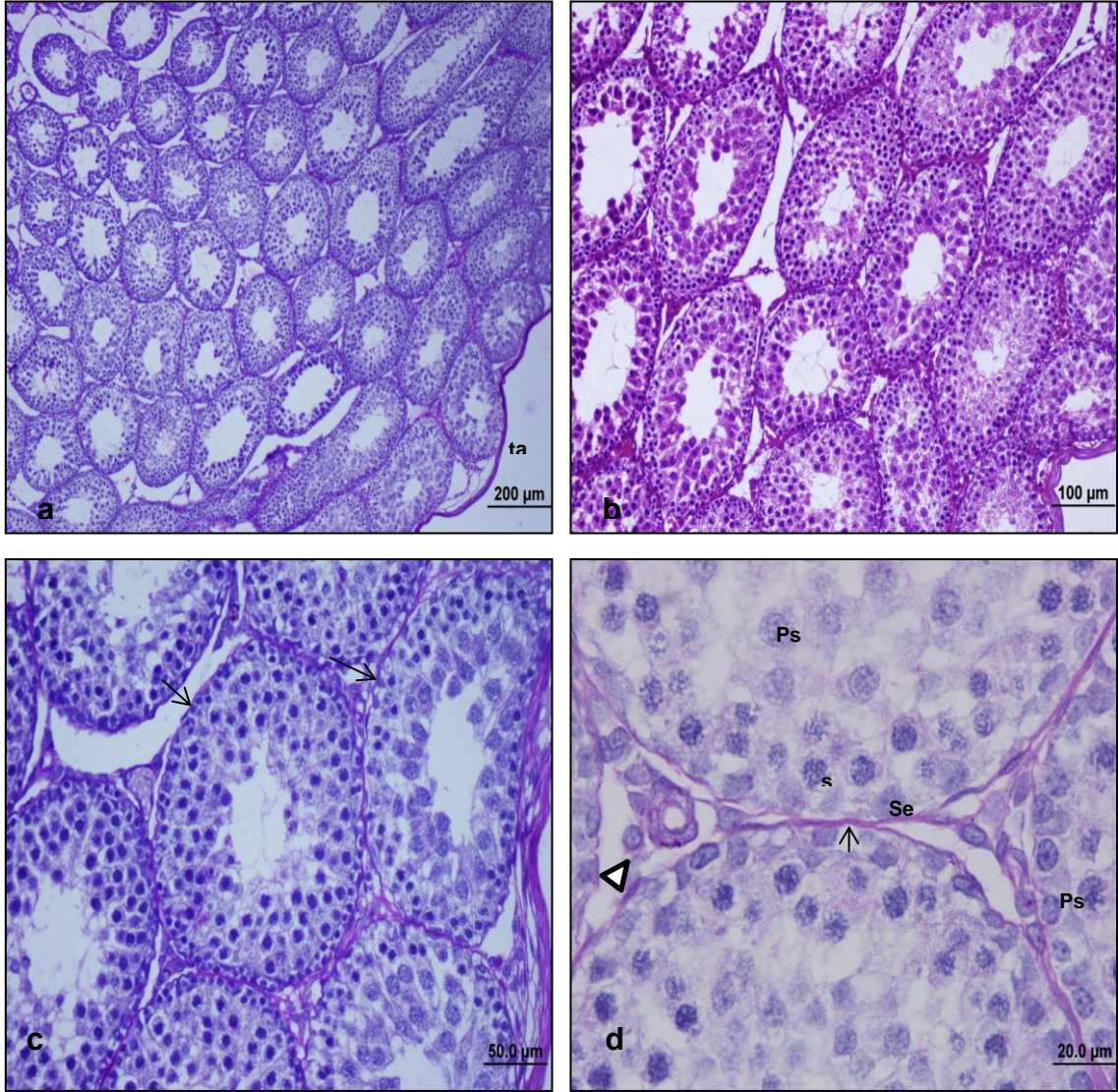
Şekil 21. Busulfan grubu-50. Gün: 50. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Tübüllerde yoğun hasar ve oluşmamış spermatogenik seri hücreleri ve interstisyel alanda bağ dokusunda yoğunlaşma (*) görülmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



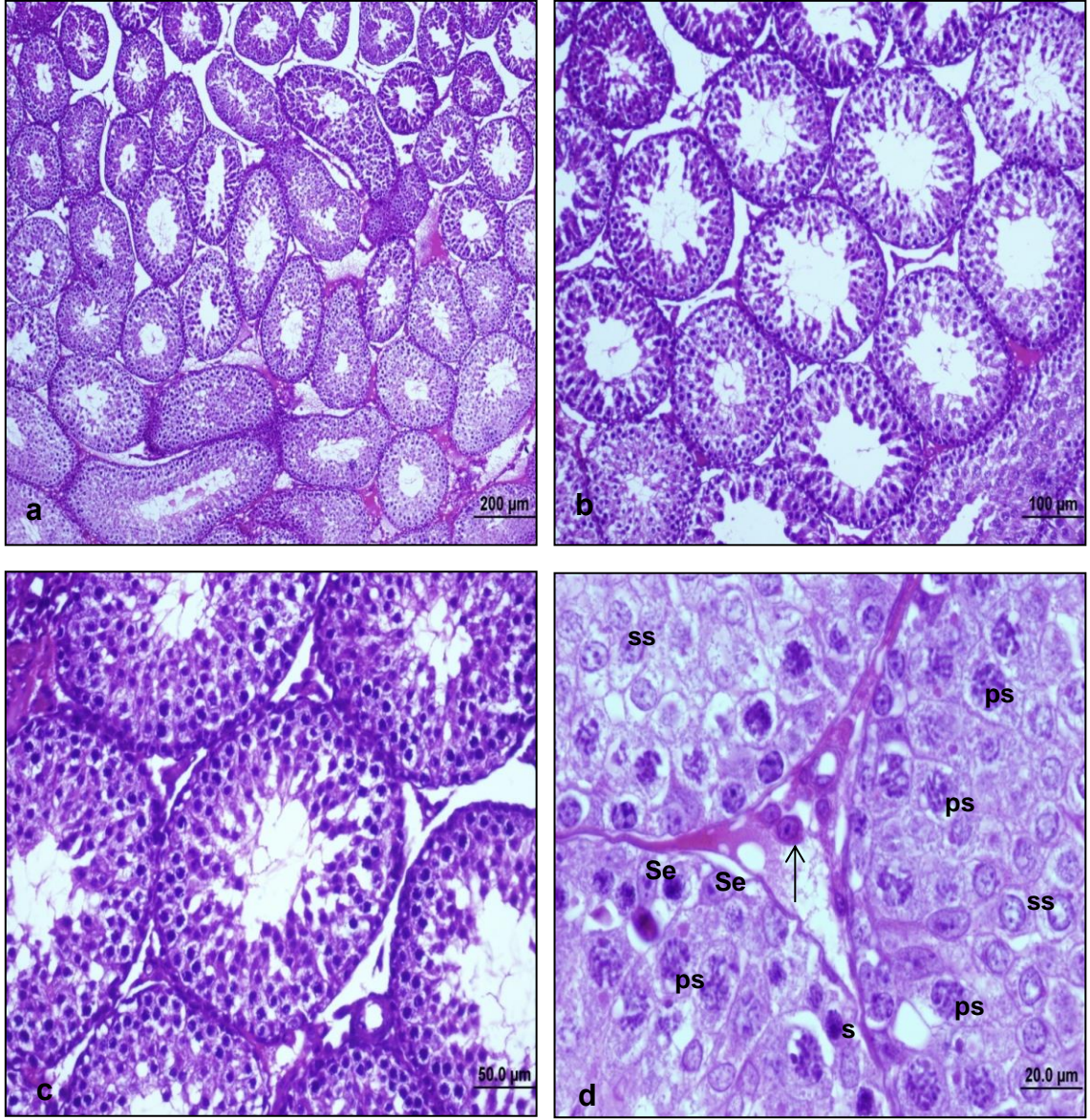
Şekil 22. Busulfan grubu-50. Gün: 50. gün busulfan grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Tübüllerde yoğun hasar ve oluşmamış spermatogenik seri hücreleri (*) ve interstisyel alanda damar duvarlarında gözlenen kalınlaşma dikkat çekmekte (o). Leydig hücreleri (→) ve PAS pozitif bazal membran yapısı ise normal yapıda gözlenmekte (bar: 200 μ m, bar:50.0 μ m, bar: 20.0 μ m, PAS+H) (a-d).



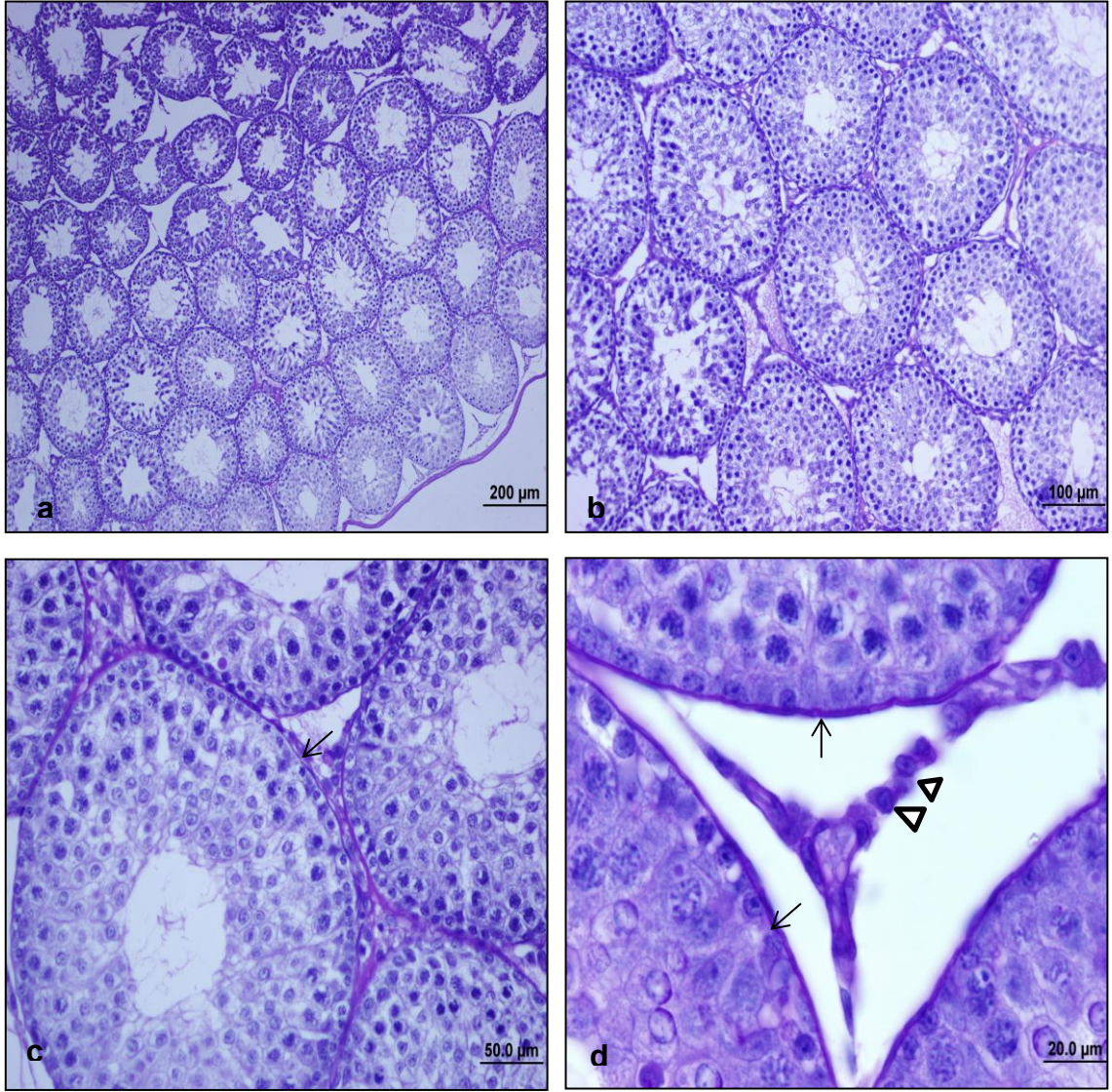
Şekil 23. Propolis grubu-30. Gün: 30. gün propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ile spermatogenik seri hücreleri (Se: Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, s: spermatogonyum) gözlenmekte. İnterstisyel alan ve Leydig hücreleri (→) normal yapıda görülmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar:20.0µm, HE) (a-d).



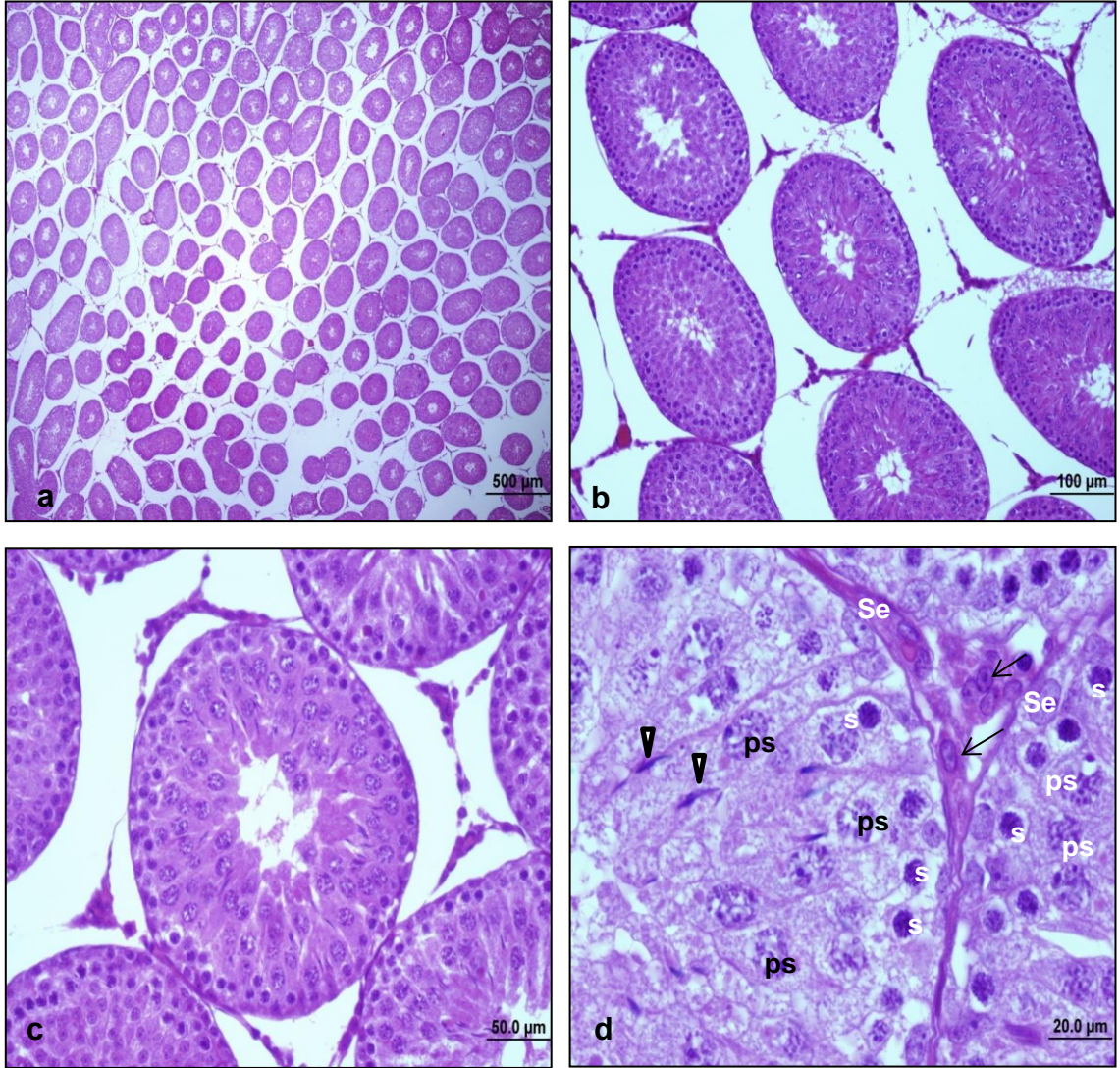
Şekil 24. Propolis grubu-30. Gün: 30. gün propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ile spermatogenik seri hücreleri (Se: Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, s: spermatogonyum) gözlenmekte. İnterstisyel alan ve Leydig hücreleri (►) ile PAS pozitif bazal membran yapısı (→) tunika albuginea (ta) normal yapıda görülmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+HE) (a-d).



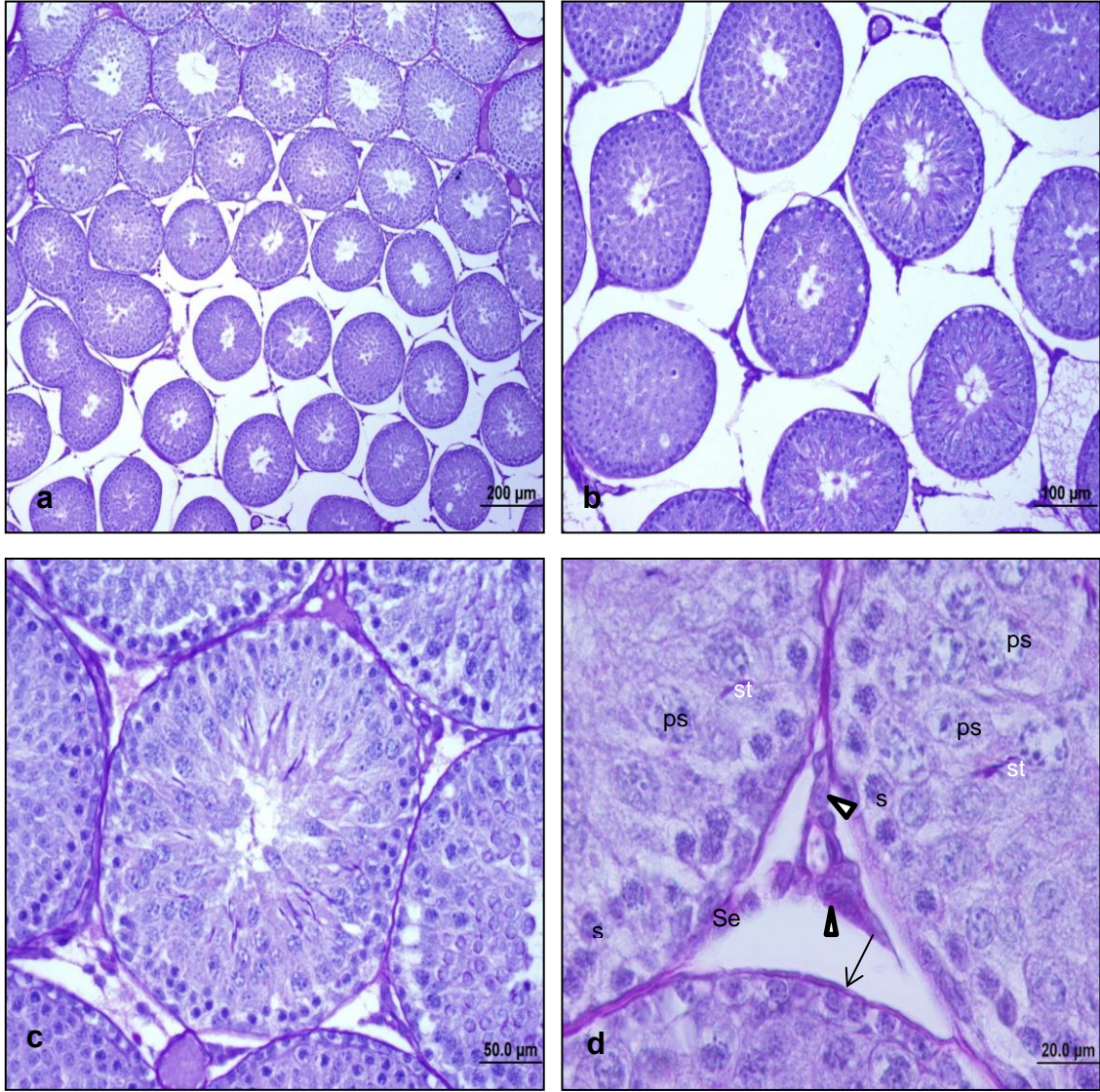
Şekil 25. Propolis grubu-40. Gün: 40. gün propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ile spermatogenik seri hücreleri (Se: Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, s: spermatogonyum, ss: sekonder spermatosit) gözlenmekte. İnterstisyel alan ve Leydig hücreleri (→) normal yapıda görülmekte (bar: 200 µm, bar: 100µm, bar: 50.0 µm, bar:20.0µm, HE) (a-d).



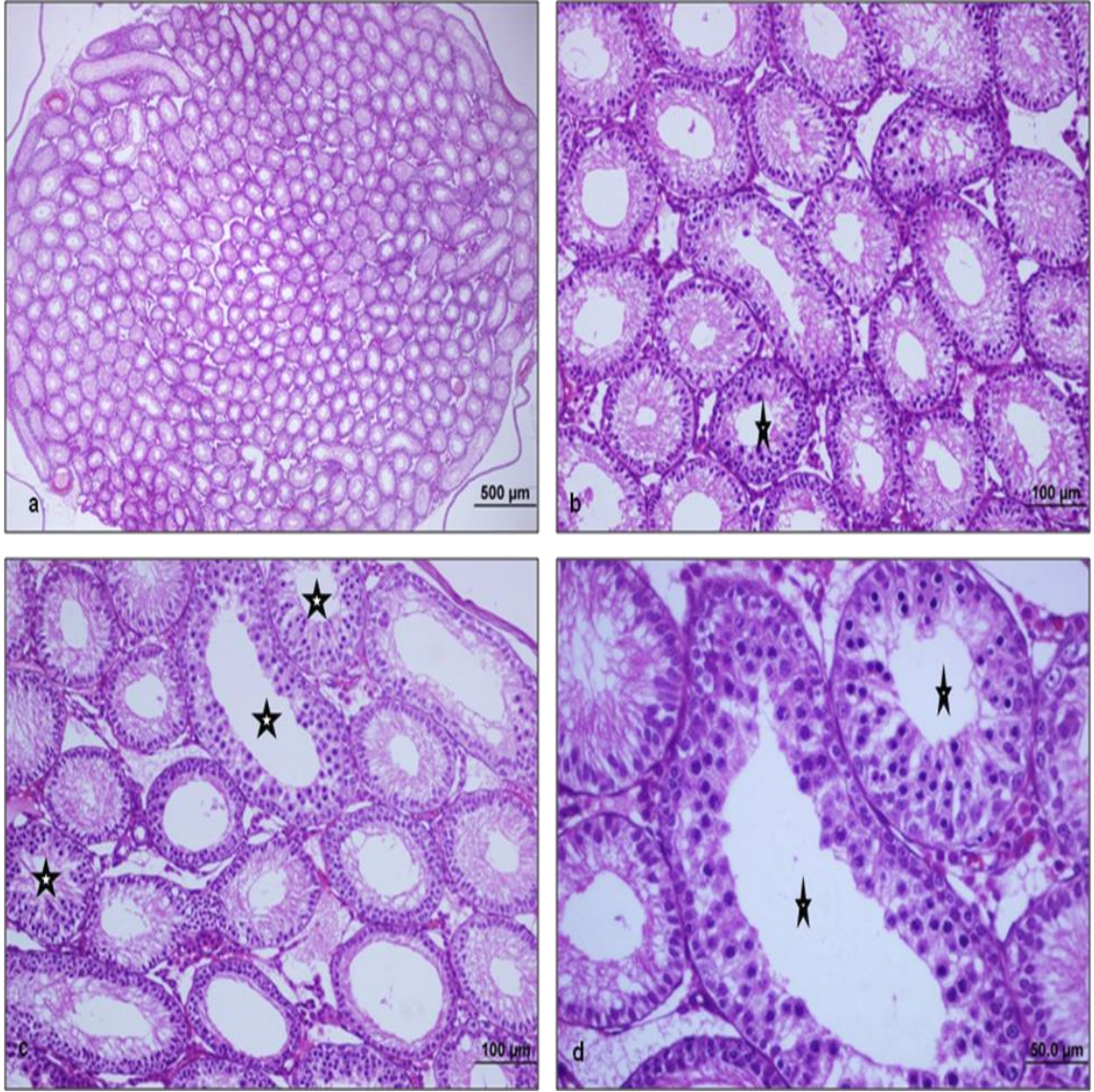
Şekil 26. Propolis grubu-40. Gün: 40. gün propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normal yapıdaki seminifer tübüller ile spermatogenik seri hücreleri gözlenmekte. İnterisyel alan ve Leydig hücreleri (►) ile PAS pozitif bazal membran yapısı (→) normal yapıda görülmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



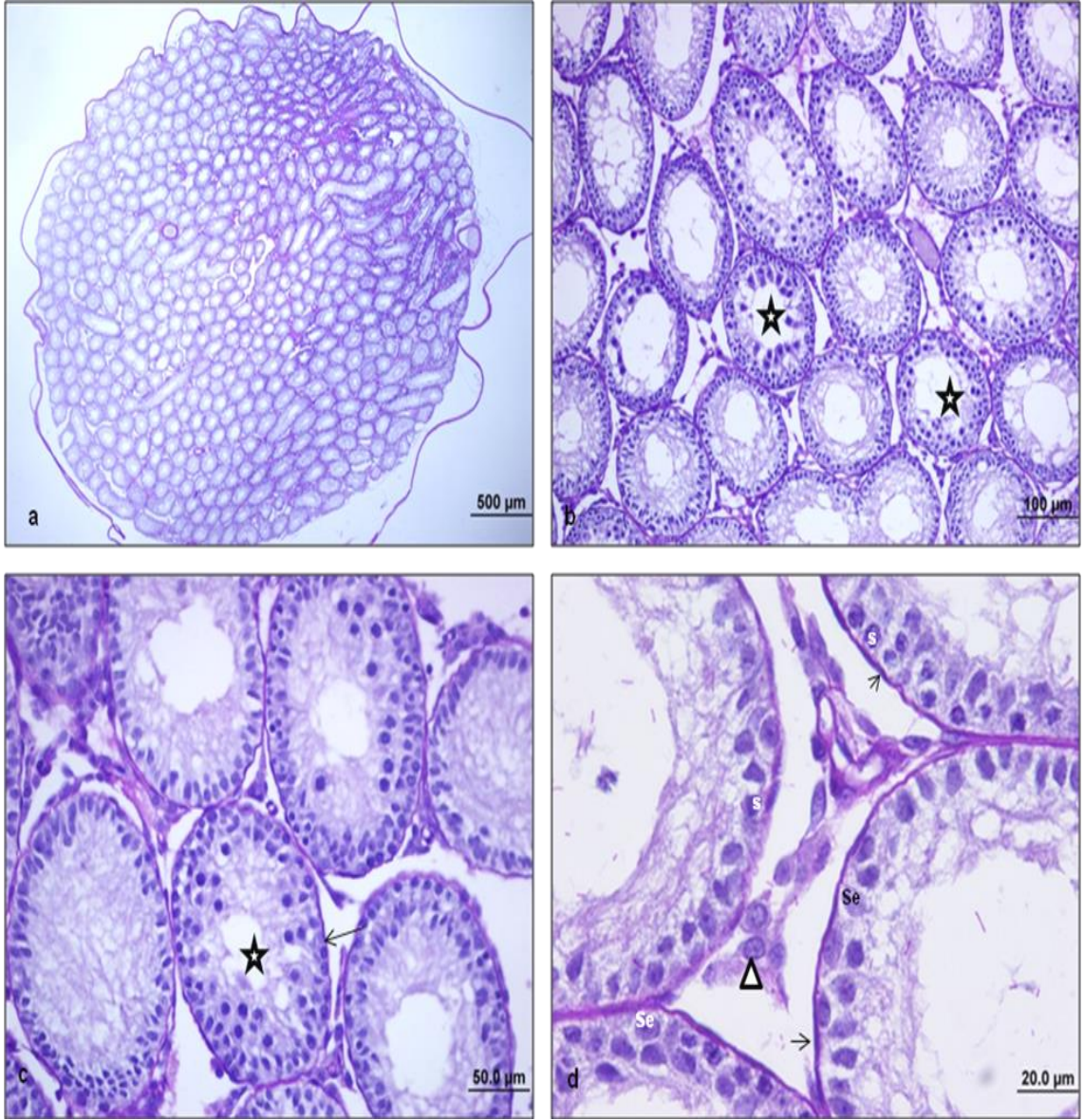
Şekil 27. Propolis grubu-50. Gün: 50. gün propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübüller ile spermatogenik seri hücreleri (Se:Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, s: spermatogonyum ve spermatid (▴) hücresi), interstisyel alan ve Leydig hücreleri (→) normal yapıda görülmekte (bar: 500 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar:20.0 µm, HE) (a-d).



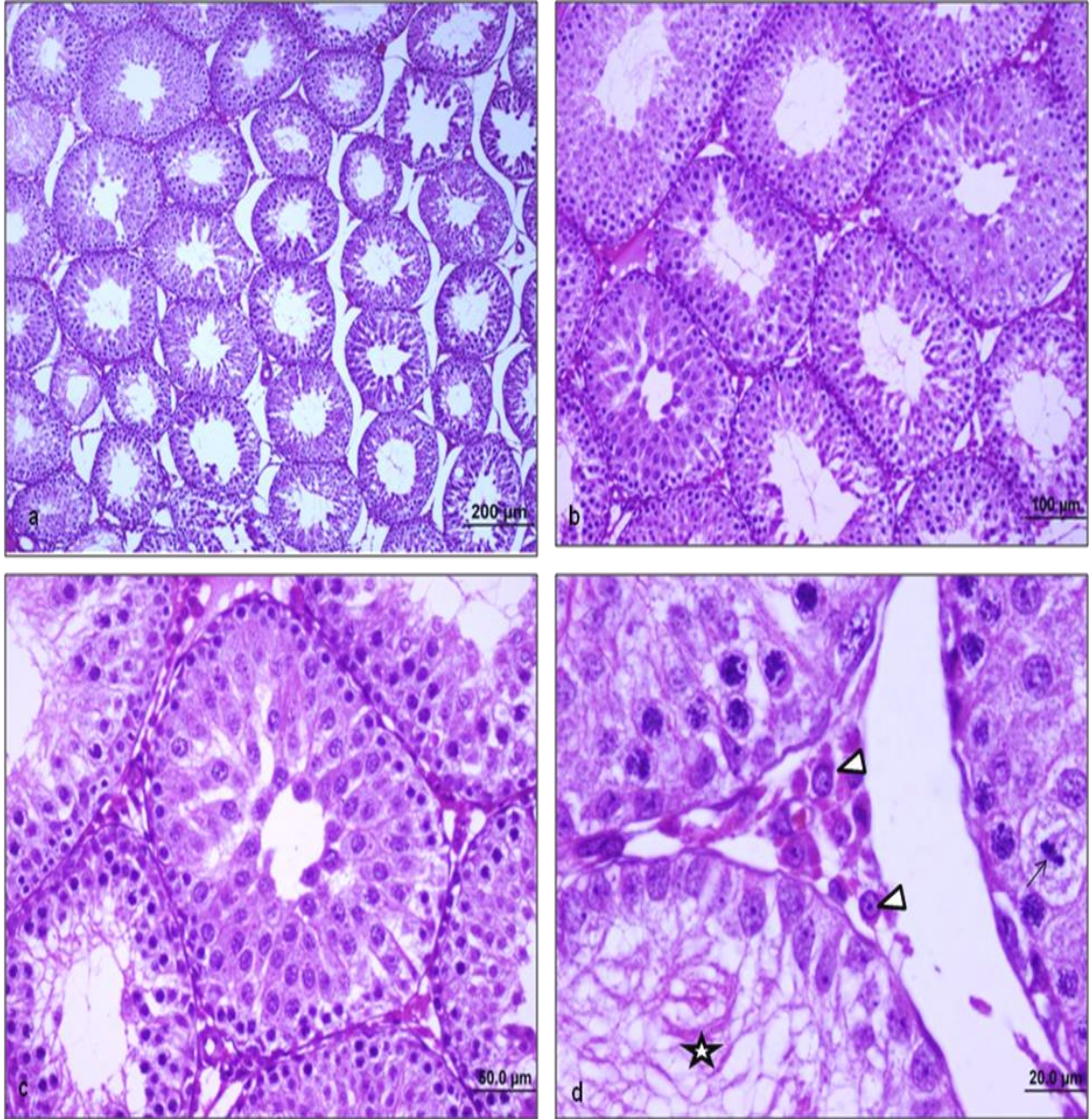
Şekil 28. Propolis grubu-50. Gün: 50. gün propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Seminifer tübüller ile spermatogenik seri hücreleri (Se:Sertoli hücresi, ps: primer spermatosit, s: spermatogonyum ve st: spermatid hücresi), interstisyel alan ve Leydig hücreleri (►) ile PAS pozitif bazal membran yapısı (→) normal olarak görülmekte (bar:200µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



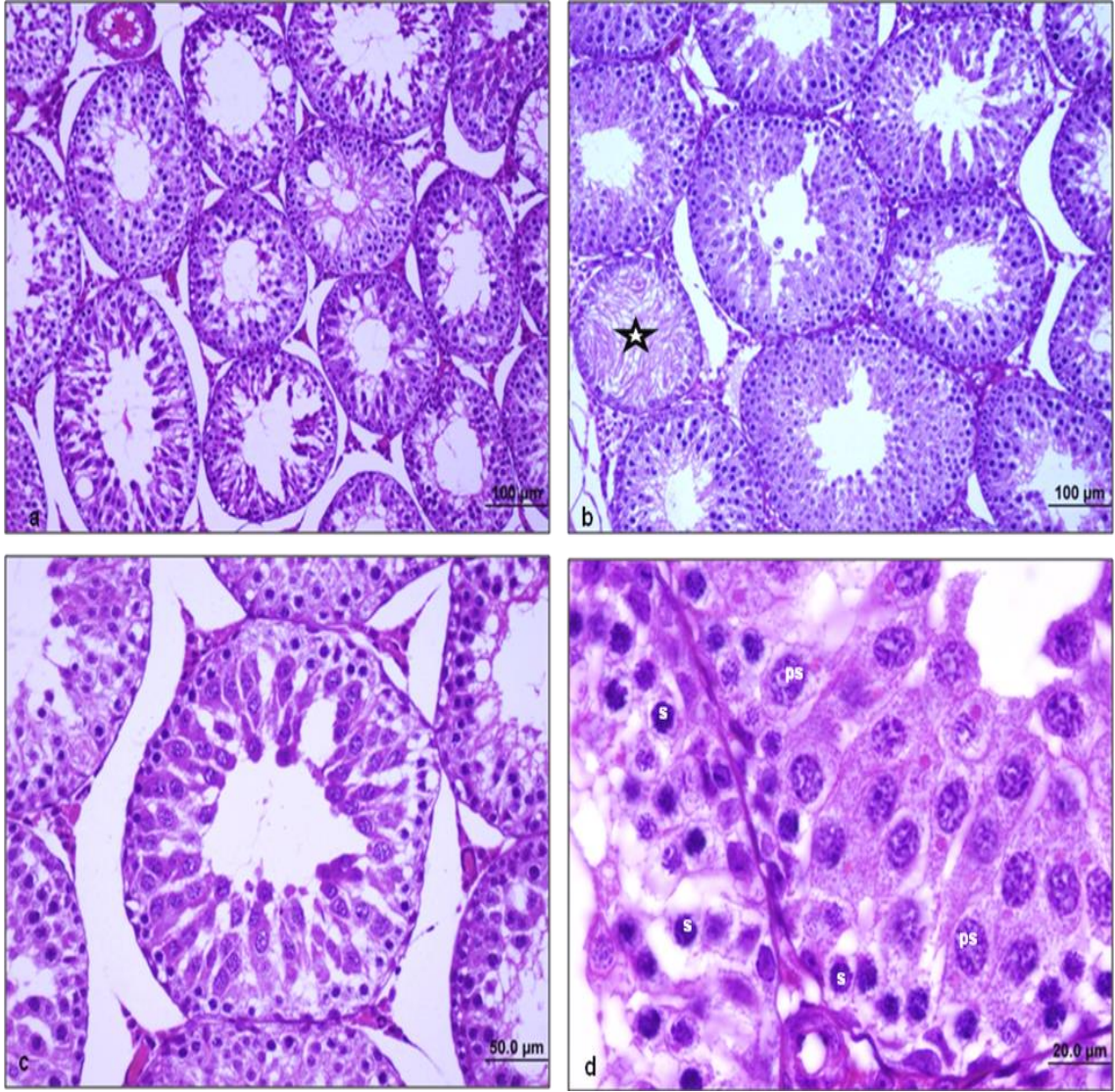
Şekil 29. Busulfan+propolis grubu-30. Gün: 30. gün busulfan+propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı tübüllerde primer spermatosite kadar olan spermatogenik hücreler (*) ile birçok tübülde ise sadece spermatogonyulardan oluşan tübül duvarı görülmekte (bar: 500 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, HE) (a-d).



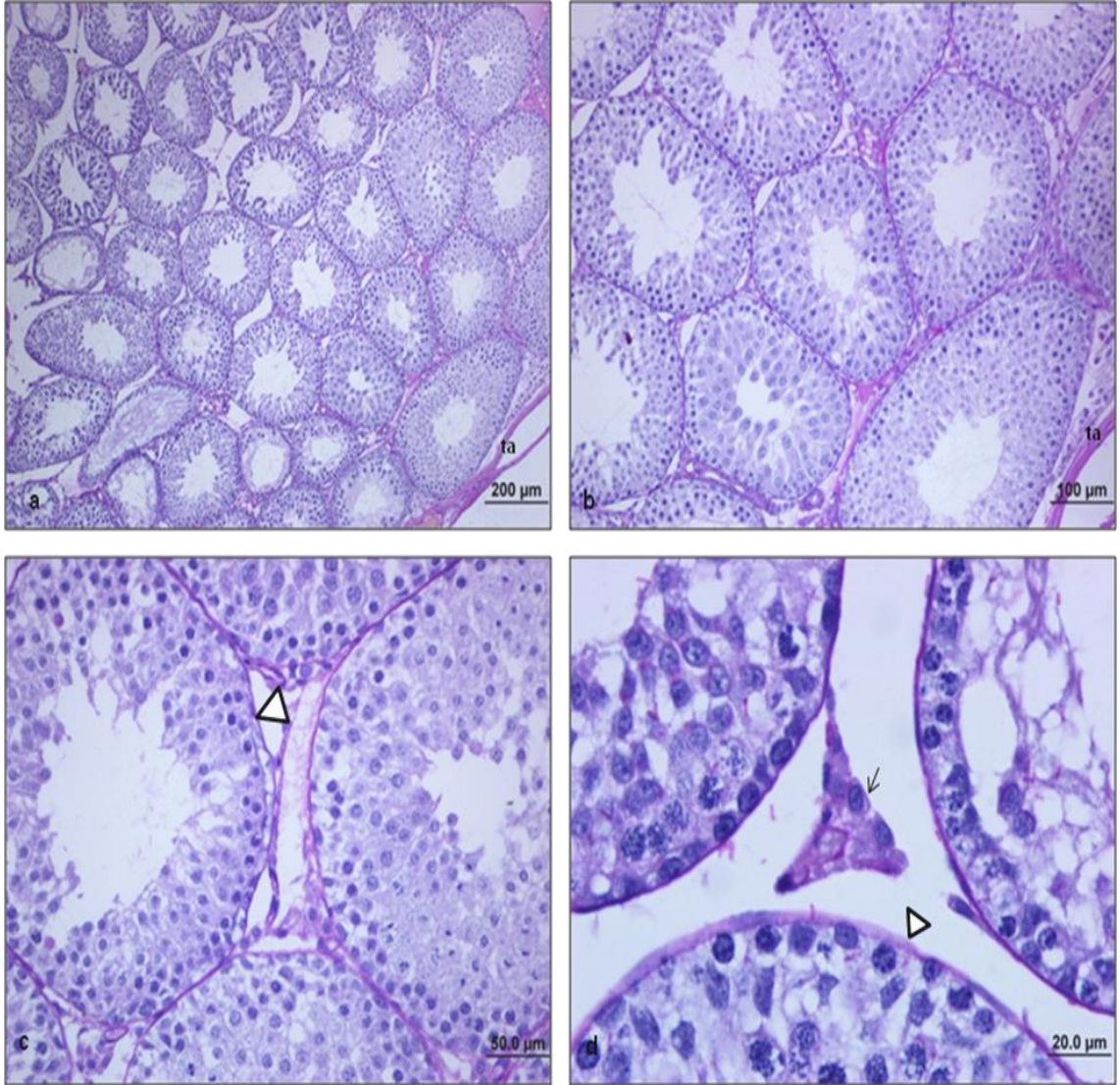
Şekil 30. Busulfan+propolis grubu-30. Gün: 30. gün busulfan+propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı tübüllerde primer spermatosit kadar olan spermatogenik hücreler (*) (Se: Sertoli hücresi, s: spermatogonyum), ile birçok tübülde ise sadece spermatogonyumlardan oluşan tübül duvarı görülmekte. İnterstisyel alan ve Leydig hücreleri (▴) ile PAS pozitif bazal membran yapısı (→) normal olarak gözlenmekte (bar: 500 µm, bar: 100 µm, bar:50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



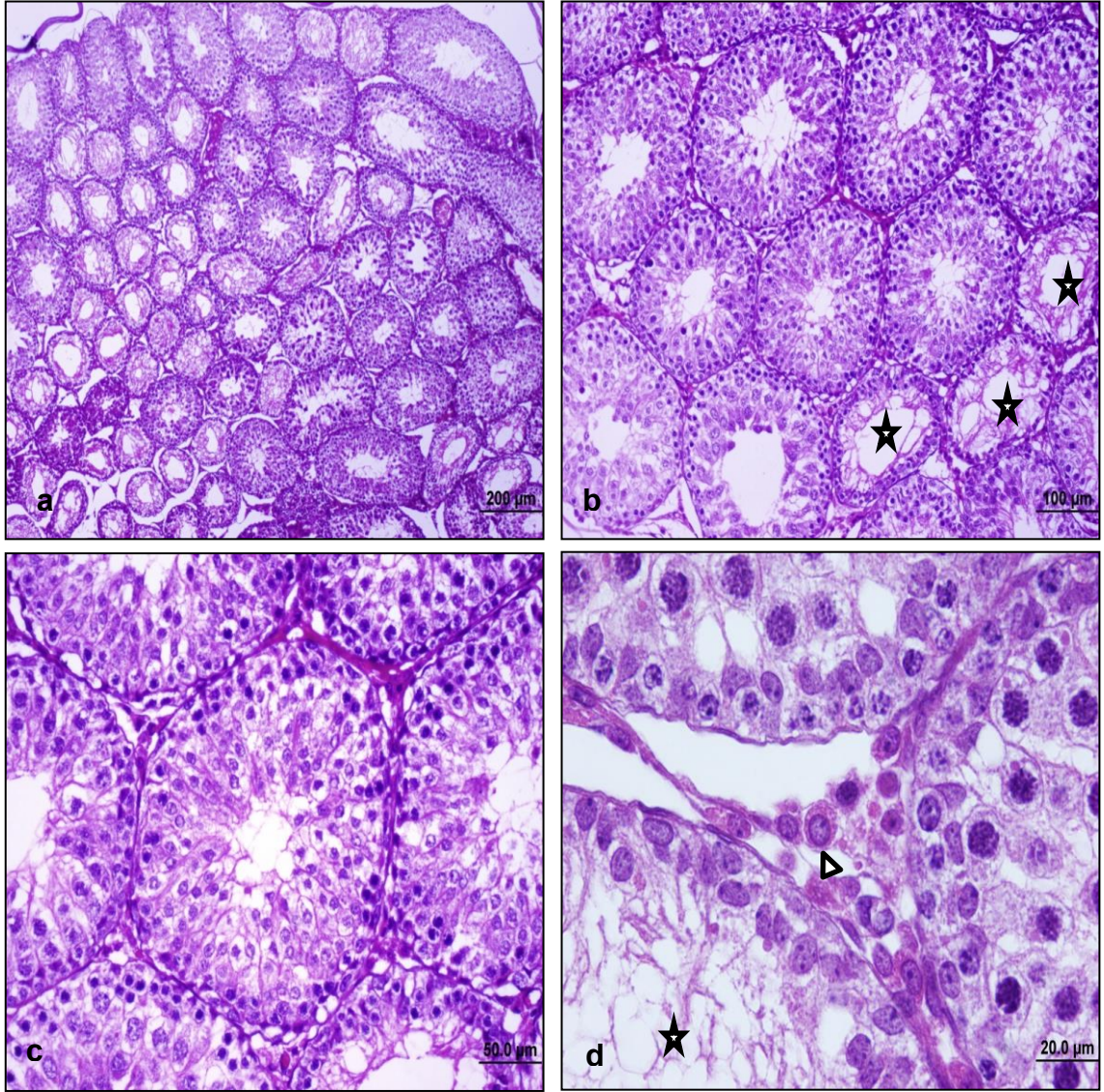
Şekil 31. Busulfan+propolis grubu-40. Gün: 40. gün busulfan+propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı tübüllerde hasar devam etse de sadece spermatogonyumlardan oluşan tübül duvarı (*) gözlenirse de birçok tübülde geri dönmüş spermatogenik seri hücreleri gözlenmekte. İnterstisyel alan ve Leydig hücreleri (▶) ise normal yapıda görülmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, HE) (a-d).



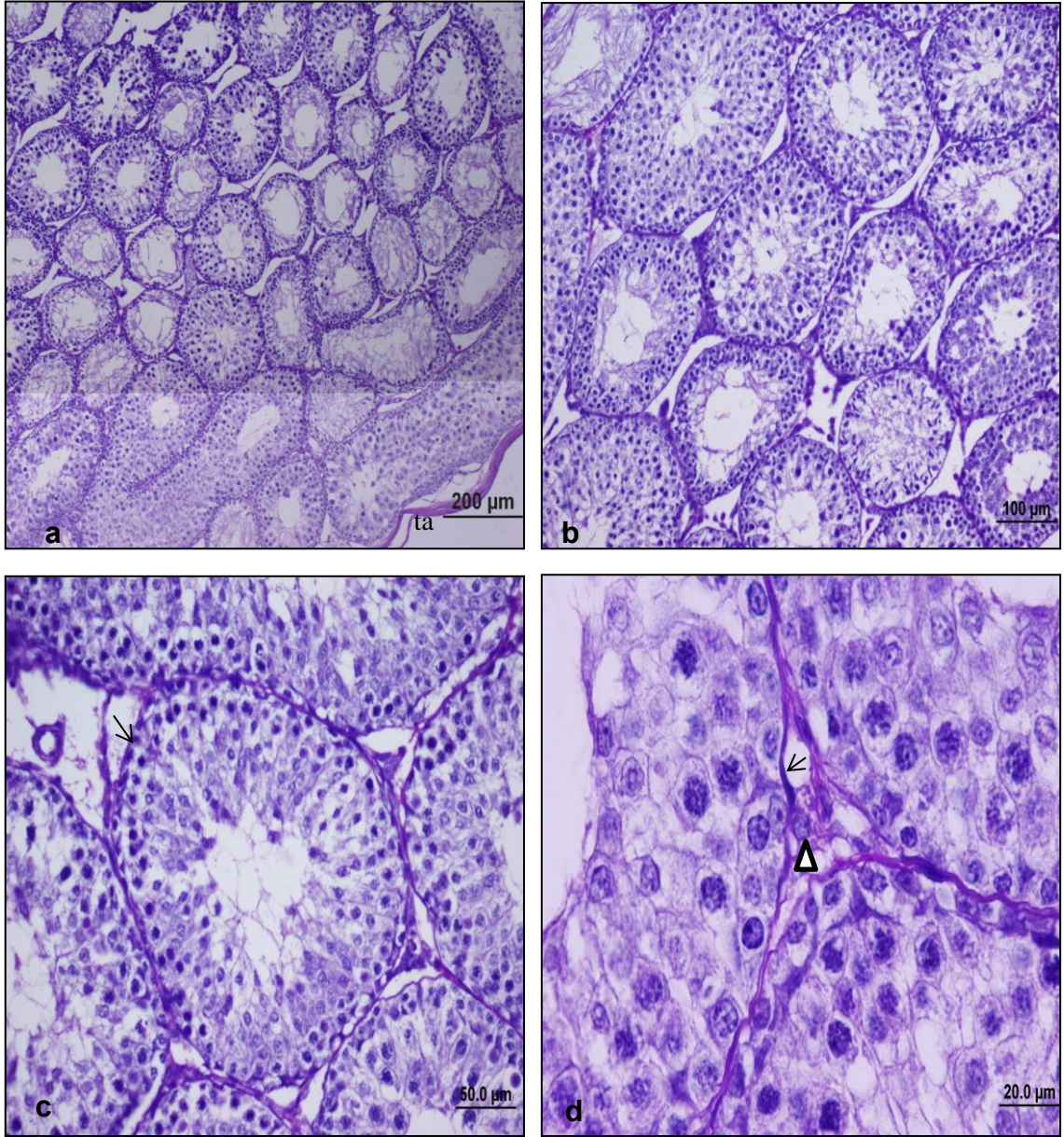
Şekil 32. Busulfan+propolis grubu-40. Gün: 40. gün busulfan+propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Bazı tübüllerde sadece spermatogonyumlardan oluşan tübül duvarı (*) gözlense de birçok tübülde geri dönmüş spermatogenik seri hücreleri (ps: primer spermatosit, s: spermatogonyum) gözlenmekte (bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar:20.0 µm, HE) (a-d).



Şekil 33. Busulfan+propolis grubu-40. Gün: 40. gün busulfan+propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın yapıdaki seminifer tübüller, interstisyel alan ve Leydig hücreleri (→) ile PAS pozitif bazal membran (▴) ve tunika albuginea (ta) yapısı gözlenmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).



Şekil 34. Busulfan+propolis grubu-50. Gün: 50. gün busulfan+propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Birkaç tübülde sadece Sertoli hücresi ve spermatogonyumlardan oluşan tübül duvarı (*) gözlenirse de genelde korunmuş normale yakın seminifer tübüller, interstisyel alan ve Leydig hücreleri (▶) gözlenmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, HE) (a-d).



Şekil 35. Busulfan+propolis grubu-50. Gün: 50. gün busulfan+propolis grubunu oluşturan sıçan testislerinin farklı büyütmelelerdeki ışık mikroskopik görüntüsü. Normale yakın seminifer tübüller, interstisyel alan ve Leydig hücreleri (►) ile PAS pozitif bazal membran (→) ve tunika albuginea (ta) yapısı gözlenmekte (bar: 200 µm, bar: 100 µm, bar: 50.0 µm, bar: 20.0 µm, PAS+H) (a-d).

5. TARTIŞMA

Gonadotoksinler, erkeklerde görülen infertiliteye neden olan önemli ajanlardan birisidir. Gonadotoksinler, zararlı etkilerini testisteki germ hücrelerini doğrudan etkileyerek veya destek sağlayan Sertoli hücrelerinin işlevlerini baskılayarak yaparlar (34).

Spermatogenik hücreler, kemoterapötik ilaçların zararlı etkilerine oldukça duyarlıdır ve kök hücre topluluğunda onarılamayan bir hasar oluşturarak kalıcı infertiliteye yol açabilirler. En duyarlı hücreler aktif bölünen spermatogonyumlar ve preleptoten fazına kadarki spermatositlerdir. Kemoterapötik ajanlardan gonadlar üzerinde en toksik olanları alkilleyiciler (busulfan, mustin, klorambusil, melfelan, siklofosfamid, lamustin, karmustin), antimetabolitler (sitarabin), vinka alkaloidler (vinblastin) ve diğerleri (prokarbazine, cisplatin, nitrojen mustart) olarak bilinir (96).

Busulfan, kronik miyeloid lösemi tedavisi için kullanılan anti-neoplastik etkiye sahip alkilleyici bir ajandır. Busulfan, hamilelikteki kronik miyeloid lösemi tedavisinde kullanılan birincil derecede bir karsinojen ve klastojendir.

Busulfan, dört karbon köprüsünden birinin metilsülfonat ile yer değiştirmesini sağlayarak DNA çapraz bağları yapar ve hücreleri geç G1 evresinde daha hassas hale getirir. Bu hücreler S evresine normal olarak geçerken normal bir mitoz geçirmeleri mümkün değildir (60). Ayrıca, diğer alkilleyici ajanlarda olduğu gibi busulfanda da G2 evresinde hücre döngüsünün ilerlemesi engellenir (19, 89).

Birçok hayvan çalışmasında, spermatogenik seri hücrelerine zarar vermek için siklofosfamid, deoksorubisin, cisplatin ya da prokarbazin gibi kemoterapötik ilaçlar kullanılmıştır. Sunulan bu çalışmada ise busulfan kullanılmıştır. Bu çalışmada, busulfanı seçmemizin nedeni, erken evredeki germ hücrelerine diğer ilaçlara göre daha ciddi hasarlar vermesidir (21, 171).

Furukawa ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada gebe sıçanlara gebeliklerinin 12, 13 ve 14. günlerinde intraperitoneal olarak 10 mg/kg busulfan enjeksiyonundan sonra gebeliğin 15, 16 ve 21. günlerinde anneden ayrılan yavruların embriyo/fetal vücut ağırlıklarının kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha düşük olduğu ve bu oranın sırasıyla %16, 25 ve 64 olduğu gözlenmiştir (50).

Naruse ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, gebe sıçanlara gebeliklerinin 11. gününde oral olarak tek doz 20 mg/kg busulfan uygulamışlardır. Bu sıçanların yavrularını gebeliğin son günü olan 21. günde toplamışlar ve vücut ağırlıklarını ölçmüşlerdir. Busulfan uygulanan sıçanların yavrularının 3.5 g ortalama vücut ağırlıklarının, kontrol grubunun 21. günündeki 4.9 g ortalama vücut ağırlıklarına kıyasla genel olarak daha az olduğunu belirlemişlerdir (129).

Bu çalışmaların bulgularına benzer şekilde bizim yaptığımız çalışmada da gebeliğinin 15. günde intraperitoneal ve tek doz olarak 10 mg/kg busulfan ile tedavi edilen sıçanlardan doğan erkek yavruların, doğumlarından sonraki 30, 40 ve 50. günlerdeki vücut ve testis ağırlıklarının, kontrol grubundaki sıçanlardan doğan erkek yavruların vücut ve testis ağırlıklarından daha düşük olduğunu gözlemledik.

Ji ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, erkek farelere DMSO'da çözdükleri tek doz busulfan (13, 28 ya da 35 mg/kg) uygulamasının ardından testislerin ağırlıklarında belirgin şekilde bir azalma gözlemişlerdir. Biz de çalışmamızda DMSO'da çözülmüş, tek doz 10 mg/kg busulfanı gebeliklerinin 15. gününde dişi sıçanlara uyguladık ve bu gruptaki sıçanlardan doğan erkek yavruların, doğumlarından sonraki 30, 40 ve 50. günlerindeki testis ağırlıklarında, kontrol grubundan doğan erkek yavruların 30, 40 ve 50. günlerindeki testis ağırlıklarına göre belirgin bir azalma olduğunu gözlemledik.

Ji ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmanın diğer bulgusu ise kontrol grubundaki ve protopanakstriol grubundaki farelerden alınan kesitlerde spermatogonyum, spermatosit, spermatid ve spermatozoon ile devam eden spermatogenezi gözlemlerken, busulfan ile tedavi edilen farelerden alınan doku kesitlerine baktıklarında ise yıkıma uğramış

seminifer tübül ve tamamlanamamış spermatojenez olduğunu gözlemlemişlerdir. Biz de yaptığımız çalışmada bu çalışmaya benzer olarak kontrol grubundan ve propolis grubundan doğan erkek yavruların testislerinden alınan kesitlerde 30 ve 40. günlerde spermatojenez sürecinde bulunan spermatojonyum ve spermatozitin, 50. güne gelindiğinde spermatid ve spermatozoon ile aktif seminfer tübül yapısını gözlemledik. Busulfan ile tedavi edilen sıçanlardan doğan yavruların testislerini 30. günde incelediğimizde çoğu seminfer tübüldeki spermatojenik hücrelerin yalnızca spermatojonyum ve Sertoli hücreleri ile temsil edildiğini, 40. günde bazı seminfer tübüllerde round spermatide kadar ilerlemiş olan spermatojenik seri hücrelerini gözlemledik. 50. güne gelindiğinde ise birçok seminfer tübüldeki spermatojenezin tamamen durduğunu ve 40. günde gözlemlenen spermatojenik seri hücrelerinin de yok olduğunu ve seminfer tübül yapısının 30. gündeki seminfer tübül yapısına benzer olduğunu gözlemledik (93).

Sıçan testisleri gelişimleri süresince dramatik değişiklikler sergilemektedir. Bu değişiklikler içinde testis ağırlığının belirgin artışı ve yeni doğandan yetişkine kadar olan süreçte hücrelerin yenilenmesi yer almaktadır. Yeni doğan sıçan testislerindeki tek germ hücresi gonosit (prospermatojonyum)tir ve bu hücreler seminfer tübül lümeninde bulunurlar. Pubertedeki testisler farklılaşmamış ve seminfer tübül bazal membranında bulunan germ hücrelerini içerirler. Olgun sıçan testislerinde ise çok sayıda germ hücresi katmanı ve olgun spermatozoon bulunmaktadır. Biz de yaptığımız çalışmada kontrol grubunda 30, 40 ve 50. günlerdeki yavruların testislerindeki bu gelişim ve değişimi gözlemledik.

Ryu ve arkadaşlarının fareler ile yaptıkları çalışmada, gebeliklerinin 14, 15, 16, 17 ya da 18. gününde intraperitoneal olarak 10 mg/kg busulfan ile tedavi edilen farelerden doğan 3-4 haftalık ve 3 aylık hayvanların testislerinin morfolojik olarak gelişimlerini incelemişlerdir. Kontrol grubundaki 3-4 haftalık testisler spermatojenik seri hücrelerinin oluşturduğu çeşitli katmanları içerirken, fetal dönemde busulfan ile tedavi edilen farelerin testislerinin seminfer tübülleri göreceli olarak bu hücrelerden yoksun olarak belirlendi. Testis ağırlıkları busulfan grubunda, kontrol grubuna göre daha az

olarak belirlendi. Aynı çalışmada kontrol grubundaki 3 aylık farelerin testislerinin seminifer tübüllerinde olgun spermatozoon ve çok sayıdaki germ tabakasının da bulunduğu tamamlanmış spermatogenezin varlığı gösterilmiştir. Fetal dönemde busulfan ile tedavi edilen grupta ise seminifer tübüllerde spermatogenez olmadığı gözlenmiştir. 3 aylık farelerin testis ağırlıklarına bakıldığında ise kontrol grubundaki testis ağırlıklarının, fetal dönemde busulfan ile tedavi edilen farelerin testis ağırlıklarından belirgin şekilde fazla olduğu saptanmıştır (151).

Biz de çalışmamızda gruplar arasında 30, 40 ve 50. günlerdeki sıçan yavrularının testislerini kontrol grubundan doğan yavruların 30, 40 ve 50. günlerdeki yavruların testisleri ile karşılaştırdığımızda bu çalışmaya benzer sonuçlar elde ettik.

Yeni doğmuş sıçanlarda seminifer kordonlar Sertoli hücreleri ve gonositlerden oluşmaktadır. Doğumdan sonraki dönemde (6-8. günlerde), seminifer tübül epiteli bazal membranı üzerinde Sertoli hücreleri, tip A ve tip B spermatogonyum bulunur. Doğumdan sonraki 10. ve 13. günler arasında germ hücreleri preleptoten aşamasına ulaşırlar.

Cavicchia ve arkadaşları gebe sıçanlara gebeliklerinin 13. gününde intraperitoneal olarak 10 mg/kg busulfan uygulamış ve yenidoğan döneminde kan testis bariyeri ile ilk oluşan spermatogenik seri hücreleri arasındaki bağlantıyı anlamaya çalışmışlardır. Doğum öncesi dönemde busulfan uygulanan sıçanların seminifer tübüllerinde yalnızca yetersiz sayıda bazal spermatogonyum gözlemişlerdir. Doğumdan sonraki 13. güne kadar, bu tübüllerdeki Sertoli hücreleri arasında kontrol grubundakine benzer şekilde çok sayıda bağlantı oluşurken kontroldekilerin aksine, 13-35. günler arasında bu bağlantıların immatür karakterlerini korudukları ve oluşturdukları şeritlerin yönlerini değiştirmediklerini gözlemişlerdir (28).

Ohira ve arkadaşları yaptıkları çalışmada gebe sıçanlara gebeliklerinin 13. gününde intraperitoneal olarak 30 mg/kg busulfan uygulamış ve enjeksiyondan sonraki 6, 12, 24, 36, 48, 72 ve 96. saatlerde fetal dokuları incelemişlerdir. Busulfan grubundaki

hayvanların busulfan uygulanmasından 24-90 saat sonraki vücut ağırlıklarının kontrol grubundaki hayvanların vücut ağırlıklarına göre azaldığını ancak anlamlı bir fark bulunmadığını belirlemişlerdir. Busulfan uygulanmasından 72 ve 96 saat sonraki fetal vücut ağırlıkları kontrol grubu ile kıyaslandığında ise anlamlı bir azalma olduğunu gözlemlemişlerdir (132).

Busulfan lösemi tedavisinde kullanılan alkilleyici bir ajandır. 1959 yılından beri bilinen busulfan, fetal dönemde fertilitiyi bozan etkilere sahiptir. Birçok araştırmacı fetal dönemde busulfan ile tedavi edilmiş sıçanların gonadlarının yapısal özellikleri ile ilgili çalışmalar yapmıştır. Bu çalışmalardan sonra, busulfanın fetal gonadlardaki germ hücrelerinin sayısını azalttığı kanıtlanmıştır.

Sıçanlarda germ hücrelerinin, gebeliğin 14-17. günlerinde aktif bir şekilde çoğaldığı bilinmektedir. Yapılan çalışmalarda busulfanın mitozu durdurduğu ve germ hücre sayısının korunması açısından mitozun tamamlanmasının gerekli olduğu tespit edilmiştir.

Fetal dönemde busulfan ile tedavi edilmiş testisteki birkaç spermatogonyum doğumdan sonraki 20. günde mayotik bölünme geçirmeye başlar, fakat farklılaşmaları spermatosit aşamasına gelince durur. Tübüllerdeki oluşmaya başlamış ve belli bir aşamada durmuş olan germ hücrelerinin 50. güne gelindiğinde kaybolduğu tespit edilmiş bundan dolayı da, kök hücre nüfusunun korunması ve daha sonra spermatogenezin devam edebilmesi için yeterli sayıda spermatogonyumun korunması gerektiği düşünülmektedir.

Kasuga ve arkadaşları gebe sıçanlara gebeliklerinin 15. gününde tek doz ve intravenöz olarak 10 mg/kg busulfan enjekte etmişler ve gonadlardaki hücre sayısındaki azalmayı gözlemlemişlerdir. Busulfan uygulanmış gebe sıçanlardan doğan yavruların testislerinde seminifer tübüller ve Leydig hücreleri normal sıçanlardakine benzer şekilde gözlenmiştir. Mayoz bölünmelerin hem kontrol grubunda hem de busulfan grubunda 20. günde başladığı gözlenmesine rağmen busulfan uygulanan sıçanlarda normal sıçanlara

göre bölünme sıklığının daha az olduğu saptanmıştır. 50. günde seminifer tübüllerdeki birçok germ hücresinin yok olduğu, yalnızca Sertoli hücrelerinin kaldığı, kontrol grubundaki sıçanların testislerinde ise 40. günde spermatozoon oluşumunun ilk işaretlerinin varlığı tespit edilmiştir. İnterstisyel alana bakıldığında ise kontrol grubundaki hayvanların Leydig hücre sayısının busulfan uygulanan sıçanlardaki Leydig hücre sayısından oldukça fazla olduğu gözlenmiştir (98).

Yousef ve arkadaşları erkek tavşanlar ile yaptıkları çalışmada trifeniltin vererek üreme dokularında oluşan hasar üzerine propolisin tedavi edici etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmaya göre; trifeniltin klorür (TPTCl) uygulanan tavşanlarda, vücut ağırlıkları, yem tüketimi, testis ve epididimisin ağırlıkları ile plazma testosteron düzeyleri kontrol grubundaki hayvanlara göre anlamlı bir düşüş göstermiştir. Yalnız propolis uygulanan hayvanlarda ise, vücut ağırlıkları, yem tüketimi ve testis ve epididimisin ağırlıkları ile plazma testosteron düzeylerinde göreceli bir artış gözlenmiştir. Bununla birlikte, bu çalışmada propolis ile trifeniltin klorürün uygulanması bu parametrelerde azalmaya neden olmuştur (181).

Yapılan çalışmalar ile propolisin anlamlı şekilde testosteron seviyesini, vücut ağırlığını, testis ve epididimisin ağırlığını, semen karakterini ve seminal plazma enzimlerini arttırdığı, laktat dehidrogenazın ve serbest radikallerin seviyesini azalttığı kanıtlanmıştır. Ayrıca propolis sperm üretimini, motilitesini, sperm sayısını ve kalitesini testosteron üretimini dolayısıyla steroidogenezi arttırarak infertiliteye karşı koruma sağlayabilir (165).

Yousef ve arkadaşları yaptıkları başka bir çalışmada alüminyum klorür ($AlCl_3$) uygulayarak reproduktif toksisite oluşturdukları erkek sıçanları propolis ile tedavi etmeyi amaçlamışlardır. Bu çalışmaya göre $AlCl_3$ ile tedavi edilen hayvanlar, kontrol grubundaki ve yalnızca propolis verilen hayvanlar ile karşılaştırıldığında, testis, seminal vezikül ve epididimis ağırlıkları arasında anlamlı bir düşüş gözlenmiştir. $AlCl_3$ ile birlikte propolis verilen gruplarda bu toksik etkilerin azaldığı ve bu dokuların ağırlıklarının kontrol grubundaki değerlere ulaştığı belirlenmiştir. Yalnızca propolis ile

tedavi edilen sıçanlarda test edilen dokuların ağırlıklarında kontrol grubuna göre anlamlı bir etki görülmemiştir (182).

Biz de yaptığımız çalışmada bu iki çalışmadaki sonuçlara benzer olarak yalnızca busulfan uygulanan sıçanlardan doğan erkek yavruların testis ağırlıklarında belirgin bir azalma, busulfan ile beraber propolis uygulanan gruptaki sıçanlardan doğan yavruların testis ve vücut ağırlıklarında 30 ve 40. günlerde göreceli, 50. günde ise anlamlı bir artış olduğunu gözlemledik. Yalnızca propolis uygulanmış gruptaki sıçanlardan doğan yavruların testis ve vücut ağırlıklarının da yine göreceli olarak artış gösterdiğini gözlemledik.

ElMazoudy ve arkadaşları yaptıkları çalışmada klorpirifos (CPF)'un üreme dokularında oluşturduğu hasar üzerine propolisin koruyucu etkilerini araştırmayı amaçlamışlardır. Yalnızca propolis uygulanan sıçanların vücut ağırlıklarında anlamlı bir değişimin olmadığını, ancak yalnızca CPF uygulanan sıçanların vücut ağırlıkları ya da CPF ile birlikte propolis uygulanan sıçanların vücut ağırlıklarının kontrol grubundaki sıçanların vücut ağırlıkları ile karşılaştırıldığında bu gruptaki hayvanların vücut ağırlıklarının önemli derecede azaldığını belirtmişlerdir. Testis, epididimis, prostat ve seminal vezikül ağırlıklarına baktıklarında ise CPF ve CPF ile birlikte propolis uygulanmış grupların testis, epididimis, prostat ve seminal vezikül ağırlıkları, kontrol grubundaki sıçanlarıki ile karşılaştırıldığında bu gruptaki ağırlıklarda kontrole göre belirgin bir düşüş olduğunu saptamışlardır.

Aynı çalışmanın histopatolojik sonuçlarına göre CPF ile birlikte propolis uygulanan sıçanların testislerinden alınan kesitlerde seminifer tübüllerin neredeyse normal bir yapıda oldukları belirlenmiştir. Kaybolmuş sitoplazmik vakuelleri ile germ hücreleri normal şekillerinde gözlenmiştir. Bununla birlikte, yalnızca CPF ile tedavi edilmiş sıçanların testislerinden alınan kesitlerde spermatogenezin bozulduğu, seminifer tübüllerde dejenerasyon ve Sertoli hücrelerinde toksisite ve seminifer tübüllerin genel yapısında bozulma olduğunu gözlemişlerdir (39).

Biz de yaptığımız çalışmada, ElMazoudy ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmaya benzer sonuçları 50. gün busulfan+propolis grubundaki sıçanlardan doğan yavruların vücut ve testis ağırlıklarında gözlemledik.

Son yıllarda, propolis, sağlık ieeği olarak ayrıca yiyecek ve içeceklerde yaygın olarak kullanılarak popülerlik kazanmıştır. İnsan sağlığını geliştirmek, kalp hastalığı enflamasyon, diyabet ve kanser gibi hastalıkları önlemek için kullanılabileceği düşünölmektedir. Ancak farmakolojik etkileri hala çok iyi bilinmemektedir (97).

Mahran ve arkadaşları yaptıkları çalışmada alüminyum klorid toksisitesinden ($AlCl_3$) etkilenmiş erkek sıçan fertilitésinin düzeltilmesinde propolisin rolünü araştırmışlardır. Yetmiş gün boyunca oral olarak $AlCl_3$ uygulanan erkek sıçanların vücut ağırlıkları kontrol grubundaki sıçanlara göre anlamlı olarak azalmıştır. Diğer taraftan, $AlCl_3$ ile birlikte propolis uygulanan ve uygulanmayan gruplar karşılaştırıldığında, propolis ile tedavi edilen gruptaki sıçanların vücut ağırlıklarının anlamlı şekilde yüksek olduğunu gözlemlemişlerdir. Ayrıca, kontrol grubu ile kıyaslandığında $AlCl_3$ uygulanan gruptaki hayvanların testis ağırlıklarının anlamlı şekilde düştüğünü ve $AlCl_3$ ile birlikte propolis uygulanan gruptaki sıçanların testis ağırlıklarının, yalnızca $AlCl_3$ uygulanan gruptaki sıçanların testis ağırlıklarına göre anlamlı şekilde yüksek olduğunu saptamışlardır. Aynı çalışmanın ışık mikroskopik görüntülerinde, kontrol grubundaki sıçanların testisleri sıkı bağ dokusundan oluşmuş kapsölü (tunica albuginea) ile normal yapısında gözlenmiştir. Testis, iki tip hücrenin (bazal membrana oturmuş olan Sertoli hücreleri ve spermatogonyum, primer ve sekonder spermatosit, spermatid ve son olarak olgun spermatozoondan oluşun çeşitli evrelerdeki spermatogenik seri hücreleri) oluşturduğu seminifer tübüllerden oluşmaktadır. Leydig hücreleri normal düzeninde seminifer tübüllerin arasında kan kapillerleri ile birlikte yer almaktadır. Bizim çalışmamızdaki kontrol grubunda ve yalnızca propolis uygulanan grubunda da bu çalışmaya benzer sonuçlar elde edildi.

Mahran ve arkadaşları bu çalışmada ayrıca 70 günlük $AlCl_3$ tedavisi sonrasında, testislerde interstisyel alandaki kan damarlarında kongesyon, germinal epitel yapısında

bozulma, kalınlaşmış ve düzensiz bazal membran yapısı, seminifer tübüllerin lümeninde bulunan parçalanmış spermatozoon ile birlikte germinal hücrelerinin şeklindeki birçok dejeneratif değişiklikler olduğu gözlenmiştir. Bizim çalışmamızın sonuçları da bu çalışmanın sonuçlarına benzer şekilde sonuçlar verdi. Ancak bu çalışmadan farklı olarak çalışmamızda, busulfan uyguladığımız sıçanlardan doğan yavruların testislerinde 30, 40 ve 50. günlerin hiç birinde seminifer tübüllerin bazal membranlarında herhangi bir bozulma olmadığını gözlemledik.

Yine aynı çalışmada $AlCl_3$ ile birlikte propolis uygulanmasının ardından testislerin histopatolojik incelemesinde, testisler, bazal membran, seminifer tübül epiteli, Leydig hücreleri ve interstisyel kan damarlarında bulunan kongesyondaki azalma ile normale benzer olduğu gözlenmiştir. Biz de yaptığımız çalışmada, bu çalışmadan farklı olarak 30 ve 40. günlerde spermatogenik seri hücrelerinin normale benzer olduğu seminifer tübül sayısının busulfan grubundaki sıçanların testislerindeki tübüllere göre arttığını ancak kontrol grubundakilere çok benzemediğini gözlemledik. 50. günde ise normale benzer seminifer tübüllerin sayısının oldukça fazla olduğunu, tübüler hasarın azaldığını, hücre serilerinin normale yakın olduğunu, interstisyel alan ve içerdiği hücrelerin ve damar yapılarının normale yakın olduğunu gözlemledik (110).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, gebe sıçanlara verilen busulfanın bu sıçanlardan doğan erkek yavruların testisleri üzerinde nasıl bir toksik etki oluşturduğu, propolisin ise busulfanın oluşturduğu bu toksik etkiye karşı nasıl bir görev üstlendiği ışık mikroskopik düzeyde araştırılmıştır.

Deney süreci sonunda yapılan istatistiklere göre;

Gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların 30. gündeki vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol ile propolis, busulfan ile propolis ve propolis ile busulfan+propolis gruplarından doğan erkek yavruların vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların 30. gündeki sağ testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol ile busulfan, kontrol ile busulfan+propolis, busulfan ile propolis ve propolis ile busulfan+propolis; sol testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında ise kontrol ile busulfan, busulfan ile propolis ve propolis ile busulfan+ propolis gruplarından doğan erkek yavruların testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların 40. gündeki vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, gruplardaki yavruların vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların 40. gündeki sağ testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol ile busulfan, kontrol ile busulfan+propolis, busulfan ile propolis ve propolis ile busulfan+ propolis; sol testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında ise, kontrol ile busulfan, kontrol ile busulfan+propolis, busulfan ile propolis ve propolis ile busulfan+ propolis gruplarından doğan erkek yavruların testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların 50. gündeki vücut ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, yalnızca kontrol grubu ile propolis grubundan doğan yavruların vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların 50. gündeki sağ testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol ile busulfan, kontrol ile busulfan+propolis, busulfan ile propolis, busulfan ile busulfan+propolis ve propolis ile busulfan+propolis; sol testis ağırlıkları gruplar arasında karşılaştırıldığında, kontrol ile busulfan, kontrol ile busulfan+propolis, busulfan ile propolis, busulfan ile busulfan+propolis ve propolis ile busulfan+propolis gruplarından doğan erkek yavruların testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Kontrol grubundaki gebe sıçanlardan doğan yavruların vücut ağırlıkları 30, 40 ve 50. günler arasında karşılaştırıldığında doğan yavruların 30. gün ile 50. gündeki vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Kontrol grubundaki gebe sıçanlardan doğan yavruların sağ testis ağırlıkları 30, 40 ve 50. günler arasında karşılaştırıldığında 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün, sol testis ağırlıkları karşılaştırıldığında ise 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün testis ağırlıklarının anlamlı derecede farklı olduğu gözlenmiştir.

Busulfan grubundan doğan yavruların günlere göre vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında, 30. gün ile 50. gün arasında ve 40. gün ile 50. gün arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Busulfan grubundan doğan yavruların günlere göre sağ testis ağırlıkları karşılaştırıldığında yalnızca 30. gün ile 40. gün, sol testis ağırlıkları karşılaştırıldığında ise 30. gün ile 40. gün ve 30. gün ile 50. gün testis ağırlıklarının anlamlı derecede farklı olduğu gözlenmiştir.

Propolis grubundan doğan yavruların günlere göre vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında 40. gün ile 50. gün vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Propolis grubundan doğan yavruların günlere göre sağ testis ağırlıkları karşılaştırıldığında 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün, sol testis ağırlıkları karşılaştırıldığında ise, 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Busulfan+propolis grubundan doğan yavruların günlere göre vücut ağırlıkları karşılaştırıldığında 30. gün ile 40. gün, 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün vücut ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Busulfan+propolis grubundan doğan yavruların günlere göre sağ testis ağırlıkları karşılaştırıldığında 30. gün ile 50. gün, sol testis ağırlıkları karşılaştırıldığında ise 30. gün ile 50. gün ve 40. gün ile 50. gün testis ağırlıkları arasında anlamlı bir fark olduğu gözlenmiştir.

Kontrol grubundaki gebe sıçanlardan doğan yavruların testislerinin 30, 40 ve 50. günlerdeki ışık mikroskopik incelemelerinde, 30. günde spermatogenik hücrelerin primer spermatosit kadar ilerlediği, Sertoli hücreleri ile spermatogonyumların oldukça belirgin ve normal yapıda olduğu ve interstisyel alanda yer alan Leydig hücrelerinin oldukça düzgün olduğu gözlendi. 40. günde bazı tübüllerde gelişmekte olan spermatidler gözlendi. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri oldukça düzgün olarak görüldü. 50. günde bazı tübüllerde spermatidler ve interstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri oldukça düzgün olarak gözlendi.

Busulfan grubundaki gebe sıçanlardan doğan yavruların testislerinin 30, 40 ve 50. günlerdeki ışık mikroskopik incelemelerinde, 30. günde seminifer tübüllerde spermatogonyum dışındaki spermatogenik seri hücrelerde yoğun dejenerasyon gözlendi. Spermatogenik seri hücrelerinin yalnızca Sertoli hücreleri ve spermatogonyumlar ile

temsil edildiği görüldü. Sertoli hücrelerinin yapısı ve sayısı bakımından bir farklılık gözlenmedi. Seminifer tübüllerdeki bazal membran yapısı korunmuş olarak, interstisyel alanda bağ dokusunda artış, bu alandaki damarlarda dilatasyon ve kongesyon görüldü. İnterstisyel alanda yer alan Leydig hücreleri normal yapıda, testisi saran tunika albugineanın ise ayrılmış olduğu gözlendi. 40. günde 30. günde aksine bazı seminifer tübüllerde spermatogenik seri hücrelerinin oluşmaya başladığı, bu tübüllerin bazılarında spermatogenezisin primer spermatosite kadar ilerlediği, seminifer tübüllerin etrafındaki bazal membran yapısında 30. günde benzer şekilde bozulma olmadığı, 30. güne göre 40. günde seminifer tübüllerdeki interstisyel alandaki bağ dokusunda azalma olduğu, interstisyel alanda bulunan damar duvarlarında kalınlaşma ve damarlarda kongesyon, testisi saran tunika albugineanın 30. günde benzer şekilde ayrılmış olduğu gözlendi. 50. günde 40. günde yavru sıçanların testislerinin aksine, 30. günde benzer şekilde spermatogenik seri hücrelerinin bulunmadığı, interstisyel alan bağ dokusunda yoğunlaşma, bu alandaki damarlarda kongesyon ve damar duvarlarında kalınlaşma, seminifer tübüllerin etrafındaki bazal membranın 30 ve 40. günde benzer şekilde düzgün olduğu, interstisyel alandaki Leydig hücrelerinin 30 ve 40. günde benzer şekilde düzgün olduğu, Sertoli hücrelerinin çekirdekleri 30. ve 40. günde hücreler ile karşılaştırıldığında oldukça küçülmüş olarak gözlendi. 50. günde seminifer tübüllerin yalnızca birkaçında spermatogenik serinin devam ettiği gözlendi.

Propolis grubunu oluşturan gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, 30. günde spermatogenik seri hücrelerinin, kontrol grubundaki yavruların testis örneklerine benzer şekilde normal yapıda olduğu gözlendi. 40. günde seminifer tübüllerdeki spermatogenik seri hücreleri, kontrol grubundaki yavruların testis örneklerine benzer şekilde, normal düzeninde gözlendi. 50. gün erkek yavruların testislerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, seminifer tübüllerdeki spermatogenik seri hücreleri, kontrol grubundaki yavruların testis örneklerine benzer şekilde, normal düzeninde gözlendi.

Busulfan+Propolis grubunu oluşturan gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların testis örneklerinin ışık mikroskopik incelemelerinde, 30. günde busulfan grubunu oluşturan sıçanlardan doğan erkek yavruların testislerinden alınan örneklerle karşılaştırıldığında, bu grubu oluşturan sıçanlardan doğan erkek yavruların testislerindeki seminifer tübüllerde, spermatogenik seri hücrelerinin varlığı ve bu hücrelerin kontrol grubundaki erkek yavruların testislerine benzer şekilde olduğu, interstisyel alandaki hücrelerde ve damar yapılarında normale yakın bir görüntü olduğu, bazal membranın normale benzer yapıda olduğu gözlemlendi. 40. günde normale benzer yapıda spermatogenik seri hücrelerinin bulunduğu seminifer tübüllerle beraber, busulfan grubundaki yavru erkek sıçanların testislerindeki benzer şekilde spermatogenik seri hücrelerinin yalnızca spermatogonyumlar ile temsil edildiği seminifer tübüllerin de var olduğu, bazı tübüllerde gelişmekte olan spermatidler ve bazal membran ve tunika albuginea yapısının normale yakın olduğu gözlemlendi. 50. günde ise, spermatogenik seri hücrelerinin bulunduğu normale yakın çok sayıda seminifer tübülün bulunduğu gözlemlendi, birçok tübülde gelişmekte olan spermatidler normale benzer yapıda gözlemlendi. Busulfan+propolis grubunda 50. günde, 30 ve 40. gün oranla daha az sayıda hasarlı tübül görüldü.

Sonuç olarak, bu çalışmada gebe sıçanlardan doğan erkek yavruların testis dokusu için, busulfanın oldukça toksik olduğu ve spermatogenezi durdurduğu bunun sonucunda da histolojik yapının bozulduğu saptandı. Arılardan elde edilen doğal bir madde olan propolisin ise busulfanın testislerde oluşturduğu bu hasarı özellikle 50. günde önemli ölçüde azalttığı görüldü.

Busulfan ile propolis arasındaki bu ilişkinin daha ayrıntılı olarak incelenmesi ve mekanizmalarının daha net bir şekilde açığa çıkarılmasının, biyokimyasal analizler, ileri enzimatik ve immunohistokimyasal düzeyde yapılacak olan çalışmalar ile mümkün olacağı kanısındayız.

KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Abraham, L., 2006, Üreme Sistemi, Histoloji ve Hücre Biyolojisi, (Çev.: Demir, R.), 1. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara, 531-564 s.2
2. Akay, M.T., 2004, Sitoloji, 4. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara,5
3. Akay, M.T., 2001, Genel histoloji, 5. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.6
4. Aksoy, Z., Dığrak, M., 2006, Bingöl yöresinde toplanan bal ve propolisin antimikrobiyal etkisi üzerinde in vitro araştırmalar, Science and Eng. J. of Fırat Univ, 18: 471-478 s. 8
5. Aktümsek , A., 2006, Anatomi ve fizyoloji insan biyolojisi, 3. Baskı, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara.9
6. Akyol, H., 2004, Kemoterapinin temel ilkeleri, Dokuz Eylül Ün. Onk. Ens., 18-22 Mayıs XIII, TPOG Ulusal Pediatrik Kanser Kongresi, Hemşire Programı. 11
7. Alıcı, S., Kösem, M., Çalka, Ö., Kotan, Ç., Mercan, R., 2003, Erkek meme karsinomu (Olgu Sunumu), Türkderm, 37: 117-119 s. 12
8. Amaros, M., Lurton, E., Boustie, J., Gire, L., Sauvager, F., Cormier, M., 1994, Comparison of the anti-Herpes simplex virus activities of propolis and 3-methyl-butyl-2-enyl caffeate, J Nat Prod, 57: 644-647 p.14
9. Anonim, 1989, Propolis Tasarısı, Türk Standartları Enstitüsü, Ankara.15
10. Arıncı, K. ve Elhan, A., 2006, Anatomi, 1. Cilt, Güneş Kitabevi, ISBN, 975-7467-29-4, Ankara. 16
11. Bancroft, J.D. at Stevens, A., 1977, Theory and practice of histological techniques, Churchill, 1 Livingstone, Edinburgh, London and New York. 17
12. Bankova, V., Popova, M., Stefan, B., Sabatini, A., 2002, Chemical composition of propolis expected and unexpected results, Z. Naturforsch, 57c, 530-533 p.19
13. Bankova, V., De Castro, S.L. and Marcucci, M., 2000, Propolis: Recent advances in chemistry and plant orijin, Apidologie, 31: 3-15 p. 20
14. Banskota, A.H., Tezuka, Y., Adnyana, I.K., et al., 2001, Hepatoprotective and antihelicobacter pylori activities of constituents from brazilian propolis, Phytomedicine, 8: 16-23 p. 23

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

15. Banskota, A.H., Tezuka, Y., Prasain, J.K., et al., 1998, Chemical constituents of brazilian propolis and their cytotoxic activities, *Journal of Natural Product*, 61: 896–00 p. 24
16. Basnet, P., Matsushige, K., Hase, K., and Kadota, S., 1996, Potent antihepatotoxic activity of dicaffeoyl quinic acids from propolis, *Biol. Pharm. Bull.*, 19, 1479–484 p. 25
17. Bayankova, L., Derejian, S., Koumanova, R., et al., 2003, Inhibition of helicobacter pylori growth in vitro by bulgarian propolis: preliminary report, *Journal Of Medical Microbiology*, 52: 417-19 p. 26
18. Bertholle-Bonnet, V., Bleyzac, N., Galambrun, C., et al., 2007, Influence of underlying disease on busulfan disposition in pediatric bone marrow transplant recipients: a nonparametric population pharmacokinetic study, *Ther Drug Monit*, 29 (2): 177-84 p. 28
19. Bonvehi, J., Coll, V., 1995, Study on propolis quality from China and Uruguay, *Z.Naturforsch*, 55c, 778, 26: 83-99 p.29
20. Bozkurt, A.F., 2010, Farklı düzeylerde propolis uygulamalarının farelerde lipid peroksidasyonu (MDA) ile bazı biyokimyasal parametrelere etkilerinin değerlendirilmesi, *Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, 56 s.31
21. Bucci, L.R., Meistrich, M.L., 1987, Effects of busulfan on murine spermatogenesis: cytotoxicity, sterility, sperm abnormalities, and dominant lethal mutations, *Mutat Res*, 176 (2): 259-68 p.34
22. Buggia, I., Zecca, M., Alessandrino, E.P., et al. 1996, Itraconazole can increase systemic exposure to busulfan in patients given bone marrow transplantation, *GITMO (Gruppo Italiano Trapianto di Midollo Osseo)*, *Anticancer Res*, 16 (4A): 2083-8 p. 35
23. Buggia, I., Locatelli, F., Regazzi, M.B., Zecca, M., 1994, Busulfan, *Ann Pharmacother*, 28 (9): 1055-62 p.36
24. Buratti, S., Benedetti, S., Cosio, M.S., 2007, Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis, *Talanta*, 71: 1387-1392 p. 38
25. Burdock, G.A., 1998, Review of the biological properties and toxicity of bee propolis, *Food and Chem Toxicol*; 36; 347-363 p.39
26. Burukoğlu, D., 2007, Kadmiyumun sıçan testisinde oluşturduğu toksisitede çinkonun koruyucu etkilerinin ışık ve elektron mikroskop ile incelenmesi, *Doktora Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir*. 40

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

27. Cao, G., Sofic, E., Prior, R.L., 1997, Antioxidant and prooxidant behavior of flavonoids: structureactivity relationships, *Free Radic Biol Med*, 22: 749-760 p.42
28. Cavicchia, J.C., Sacerdote, F.L., 1981, Correlation between blood -testis barrier development and onset of the first spermatogenic wave in normal and in busulfan-treated rats: a lanthanum and freeze-fracture study, *The Anatomical Record*, 230: 361-368 p.44
29. Cheng, C.Y. at Dolores, D. M., 1997, Quantitative (stereological) study of normal spermatogenesis in the adult monkeys (*Macaca fascicularis*), *Journal of Andrology*, 18, 681-687 p.46
30. Cook, N.C., Samman, S., 1996, Flavonoids: chemistry, metabolism, cardioprotective effects and dietary sources, *J Nutr Biochem*, 7: 66-76 p. 48
31. Costanzo, L.S., 2003, *Physiology: Board review series*, Thrid Edition, Philadelphia: Lippincott W&W. 50
32. Cumbul, A., 2008, Deneysel vazokteminin farklı süreler sonrasında erişkin sıçan testisinde oluşturduğu morfolojik değişikliklerin stereolojik yöntemlerle incelenmesi, Doktora Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir. 52
33. Cumhuri, M., Yener, N., Tuncel, M., editörler., 2001, *Temel Anatomi*, Ankara, ODTÜ Geliştirme Vakfı Yayıncılık, 287-291 s.54
34. Dohle, G., 2010, Male infertility in cancer patients, review of the literature, *International Journal of Urology*, 10: 11-11 p. 58
35. Drake, R.L., Vog, I.W., Mitchell, A.W.M., 2007, *Gray's Anatomi*, (Çev.: Yıldırım, M.), Güneş Kitabevi, İstanbul, 406 s.59
36. Ehrsson, H., Hassan, M., 1984, Binding of busulfan to plasma proteins and blood cells, *J Pharm Pharmacol*, 36 (10): 694-6 p. 61
37. Ehrsson, H., Hassan, M., Ehrnebo, M., Beran, M., 1983, Busulfan kinetics, *Clin Pharmacol Ther*, 34 (1): 86-9 p. 62
38. El-khawaga, O., Salem, T., Elshal, M., 2003, Protective role of Egyptian propolis against tumor in mice, *Clinica Chimica Acta*, 338 11-16 p. 64

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

39. ElMazoudy, R.H., Attia, A.A., El-Shenawy, N.S., 2011, Protective role of propolis against reproductive toxicity of chlorpyrifos in male rats, *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 101: 175–181 p.65
40. Elson, L.A., Jarman, M. at Ross, W.C., 1968, Toxicity, haematological effects and anti-tumour activity of epoxides derived from disubstituted hexitols, mode of action of mannitol myleran and dibromomannitol, *Eur. J. Cancer*, 4, 617–625 p. 66
41. Enders, G.C., Henson, J.H. at Millette, C.F., 1986, Sertoli cell binding to isolated testicular basement membrane, *The Journal of Cell Biology*. 67
42. Erbaş, D., Öz, E., Öztürk, G., 1998, *Fizyoloji-Sağlık Meslek Liseleri Ders Kitabı*, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 149 s. 68
43. Erdoğan, D., Hatipoğlu, M.T., Görgün, M., Ilgaz, C., 2008, *Genel Histoloji*, 3. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara.69
44. Erdoğan, D., Görgün, M., Hatipoğlu, T., Ilgaz, C., 2007, *Özel Histoloji*, 2. Baskı, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 156-172 s.70
45. Erlund, I., Alfthan, G., Maenpaa, J., Aro, A., 2001, Tea and coronary heart disease: the flavonoid quercetin is more bioavailable from rutin in women than in man, *Arch Intern Med*, 161: 1919-1921 p. 72
46. Fawcett, D.W. at Jensch, R.P., 2002, *Concise histology*, arnold publisher, 2nd Edition, New York. 73
47. Fischer, G., Cleff, M.B., Dummer, L.A., 2007, Adjuvant effect of green propolis on humoral immune response of bovines immunized with bovine herpesvirus type, *Vet Immunol Immunopathol*, 116: 79-84 p.74
48. Fischer, G., Leite, F.P., Conceicao, F.R., 2007, Immunomodulation produced by a green propolis extract on humoral and cellular responses of mice immunized with suhv-1, *Vaccine*, 25: 1250-56 p.75
49. Fitzsimmons, W.E., Ghalie, R., Kaizer, H., 1990, Anticonvulsants and busulfan, *Ann Intern Med* 1, 112 (7): 552-3 p.76

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

50. Furukawa, S., Usuda, K., Abe, M., Hayashi, S., Ogawa, I., 2007, Busulfan-induced apoptosis in rat placenta, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 59 97–103 p.77
51. Gabrys, J., Konecki, J., Krol, W., Scheller, S., Shani, J., 1986, Free amino acids in bee hive products (propolis) as identified and quantified by gas– liquid chromatography, *Pharmacol Res Comm*, 18: 513-518 p.78
52. Galton, D.A., Myleran in chronic myeloid leukaemia; results of treatment, *Lancet* 1953 January 31; 264 (6753): 208-13 p. 79
53. Ganong, W.F., 2002, *Tıbbi Fizyoloji, Türk Fizyoloji Bilimler Derneği*, 20.Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 415-418 s. 80-81
54. Gartner, L.P., Hiatt, J.L., 2007, *Color textbook of histology*, 3. Baskı, Saunders Company, Philadelphia, 489-501 s. 82-83
55. Ghisalberti, E.L., 1979, Propolis: a review, *Bee World*, 60: 59-84 p.84
56. Gibbs, J.P., Gooley, T., Corneau, B., et al. 1999, The impact of obesity and disease on busulfan oral clearance in adults, *Blood*, 15; 93 (12): 4436-40 p. 85
57. Granje, J.M. and Davey, R.W., 1990, Antibakteriyal properties of propolis (bee gleu), *J. of the Royal Society of Medicine*, 83, 159-160 p. 86
58. Gregory, S.R., Piccolo, N., Piccolo, M.T., et al. 2002, Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns, *J Altern Complement*, 8: 77-83 p. 87
59. Greenaway, W., Scaysbrook, T. and Whatley, F.R., 1990, The composition and plant origins of propolis: A report of work at Oxford, *Bee World*, 71 (3); 107-118 p.88
60. Grimes, P., von Sallman, L., Frichette, A., 1964, Influence of myleran on cell proliferation in the lens epithelium, *Invest Ophthalmol*, 47: 566–76 p.89
61. Grochow, L.B., Krivit, W., Whitley, C.B., Blazar, B., 1990, Busulfan disposition in children, *Blood*, 15; 75 (8): 1723-7 p. 90
62. Gündüz, C., Biray, C., Kosova, B., Yılmaz, B., Eroglu, Z., Şahin, F., Omay, S.B., Coğulu, O., 2005, Evaluation of manisa propolis effect on leukemia cell line by telomerase activity, *Leukemia Res*; 29: 1343-1346 p.92

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

63. Gürsoy, E. ve Koptagel, E., 1997, Embriyoloji atlası, Esnaf Ofset Matbaacılık, Sivas, 222.93
64. Hady, F., Hegazi, A., 2002, Egyptian propolis 2nd chemical composition, antiviral and antimicrobial activities of east delta propolis, Z. Naturforsch, 57c, 386-394 p.94
65. Hamdy, M.H., El- Banby, M.A., Khakifa, K.I., Gad, E.M., Hassanein, E.M., 1989, The antimicrobial effect of honey in the management of septic wounds, Forut International Conference on Apiculture in Tronical Climates, Cairo, International Bee Resarch Association, London, 61-67 p.96
66. Hammerstone, J.F., Lazarus, S.A., Schmitz, H.H., 2000, Procyanidin content and variation in some commonly consumed foods, J Nutr, 130: 2086 S-2092 S p. 97
67. Hassan, Z., Hassan, M. at Hellstrom-Lindberg, E. 2001, The pharmacodynamic effect of busulfan in the P39 myeloid cell line in vitro, Leukemia, 15, 1240–1247 p. 99
68. Hassan, M., 1999, The role of busulfan in bone marrow transplantation, Med Oncol, 16(3):166-76 p.100
69. Hassan, M., Ehrsson, H., Ljungman, P., 1996, Aspects concerning busulfan pharmacokinetics and bioavailability, Leuk Lymphoma, 22 (5-6): 395- 407 p. 101
70. Hassan, M., Fasth, A., Gerritsen, B., 1996, Busulphan kinetics and limited sampling model in children with leukemia and inherited disorders, Bone Marrow Transplant, 18 (5): 843-50 p. 102
71. Hassan, M., Ljungman, P., Bolme, P., et al., 1994, Busulfan bioavailability, Blood, 1; 84 (7): 2144-50 p.103
72. Hassan, M., Oberg, G., Bjorkholm, M., Wallin, I., Lindgren, M., 1993, Influence of prophylactic anticonvulsant therapy on high-dose busulphan kinetics, Cancer Chemother Pharmacol, 33 (3): 181-6 p. 104
73. Hassan, M., Oberg, G., Ericson, K., 1992, In vivo distribution of [11C]- busulfan in cynomolgus monkey and in the brain of a human patient, Cancer Chemother Pharmacol, 30 (2): 81-5 p. 105
74. Hassan, M., Oberg, G., Bekassy, A.N., 1991, Pharmacokinetics of high dose busulphan in relation to age and chronopharmacology, Cancer Chemother Pharmacol, 28 (2): 130-4 p. 106
75. Hassan, M., Oberg, G., Ehrsson, H., 1989, Pharmacokinetic and metabolic studies of high-dose busulphan in adults, Eur J Clin Pharmacol, 36 (5): 525-30 p. 107

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

76. Hassan, M., Ehrsson, H., Wallin, I. at Eksborg, S., 1988, Pharmacokinetic and metabolic studies of busulfan in rat plasma and brain, *Eur. J. Drug Metab, Pharmacokinet*, 13, 301–305 p. 108
77. Hassan, M., Ehrsson, H., 1987, Metabolism of ¹⁴C-busulfan in isolated perfused rat liver, *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 12 (1): 71-6 p. 109
78. Hassan, M., Ehrsson, H., 1987, Urinary metabolites of busulfan in the rat, *Drug Metab Dispos*, 15 (3): 399-402 p.110
79. Hatiboğlu, M.T., 2005, *Anatomi sözlüğü*, 6. Baskı, Hatiboğlu Yayınevi, Ankara. 112-113
80. Hegazi, A.G., Faten,K., Abbd El, H., 2001, Egyptian propolis: I. antimicrobial activity and chemical composition of – upper Egypt propolis, *Z. Naturforsch*, 56, 82-88 p. 114
81. Heim, K.E., Tagliaferro, A.R., Bobilya, D.J., 2002, Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships, *J of Nutr Biochem*, 13: 572-584 p.115
82. Hepşen, I.F., Tilgen, F., Er, H., 1996, Propolis: Tıbbi özellikleri ve oftalmolojik kullanımı, *Turgut Özal Tıp Merkezi Dergisi*, 3 (4), 386-391s. 117
83. Hollman, P.C., Bijlsman, M.N., Gaman, Y.V., Cnossen, E.P., Vries, J.H., Katan, M.B., 1999a, The sugar moiety is a major determinant of the absorption of dietary flavonoid glycosides in man, *Free Radic Res*, 31: 569-573 p. 119
84. Hollman, P.C., Katan, M.B., 1999b, Dietary flavonoids: intake, health effects and bioavailability, *Food Chem Toxicol*, 37: 937-942 p. 120
85. Hoşnüter, M., Gürel, A., Babuççu, O., Armutçu, F., Kargı, E., Işıkdemir, A., 2004, The effect of capon lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury, *Burns*, 30: 121-125 p. 121
86. <http://www.aridunyasi.com.tr/propolis-faydalari.html> (2012-11-07)124
87. <http://www.belgeler.com/blg/2dd0/ari-sutu-polen-propolis> (2012-11-07)125
88. <http://iys.inonu.edu.tr/webpanel/dosyalar/646/file/antineoplastikler.pdf> (2012-02-16)126
89. Hung, D.T., Jamison, T.F., Schreiber, S.L., 1996, Understanding and controlling the cell cycle with natural products, *Chem Biol*, 3: 623–39 p.127

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

90. Hurley, L.H., 2002, DNA and its associated processes as targets for cancer therapy, *Nat Rev Cancer*, 2 (3): 188-200 p. 128
91. Isla, M.I., Nieva, Moreno, M.I., Sampietro, A.R., Vattuone, M.A., 2001, Antioxidant activity of argentine propolis extracts, *J of Ethnopharm*, 76: 165-170 p.130
92. Jenkins, R.R., Tengi, J., 1981, Catalase activity in sceletal muscle of varying filber types, *Experimentia*, 37: 67-68 p. 132
93. Ji, M., Minami, N., Yamada, M. at Imai, H., 2007, Effect of protopanaxatriol saponin on spermatogenic stem cell survival in busulfan-treated male mice, *Reproductive Medicine and Biology*, 6: 99-108 p.133
94. Junqueira, L.C., Carneiro, J., 2009, *Temel Histoloji*, (Çeviri: AYTEKİN, Y., SOLAKOĞLU, S.,) 10. Baskıdan Çeviri, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 135
95. Kumazawa, S., Shimoi, K., Hayashi, K., Ishii, T., Hamasaka, T. at Nakayama, T., 2004, Identification of metabolites in plasma and urine of Uruguayan propolis-treated rats, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 3083-3088 p.136
96. Karakurt, Ö., Melli, M., 2005, Antineoplastik kemoterapinin bireyselleştirilmesi ve farmakogenetik, *Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi*, 15, 3: 156-164 s.138
97. Karataş, S., 1998, Sıçanlarda Kadmiyum Klorür'ün (CdCl₂) testis dokusuna etkisi, Yüksek Lisans Tezi, ESOGÜ, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Eskişehir. 139
98. Kasuga, F. at Takahashi, M., 1986, The endocrine function of rat gonads with reduced number of germ cells following busulphan treatment, *Endocrinol. Japon*, 33 (1), 105-115 p.140
99. Kayaalp, O., 1998, Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar, rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji, 8. Baskı, Ankara, 376-390 s. 141
100. Kierszenbaum, A.L., 2006, *Histoloji ve hücre biyolojisi*, (Çev.: Demir, R.), Palme Yayıncılık, Ankara, 618 s. 144
101. Kierszenbaum, A.L., 2006, *Histoloji ve hücre biyolojisi*, (Çev.: Demir, R.), Palme Yayıncılık, Ankara, 532-550 s. 145

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 102.Kleinrok, Z., Borzecki, Z., Scheller, S., Matuga, W., 1978, Biological properties and clinical application of propolis: X. preliminary pharmacological evaluation of ethanol extract of propolis (Eep), *Arzneim Forsch/Drug Res*, 28: 291-292 p.147
- 103.Koç, A.N., Silici, S., Ayangil, D., et al., 2005, Comparison of in vitro activities of antifungal drugs and ethanolic extract of propolis against *Trichophyton rubrum* and *T. Mentagrophytes* by using a microdilution assay, *Blackwell Publishing Ltd. Mycoses*, 48: 205–10 p. 148
- 104.Kolankaya, D., Selmanoglu, G., Sorkun, K., 2002, Protective effects of Turkish propolis on alcohol-induced serum lipid changes and liver injury in male rats, *Food Chemistry*, 78: 213-17 p. 150
- 105.Koo, H., Rosalen, P.L., Cury, J.A., et al., 2002, Effects of compounds found in propolis on streptococcus mutans growth and on glucosyltransferase activity, *Antimicrob Agents Chemother*, 46: 1302-09 p. 151
- 106.Kujungiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R. And Popov, S., 1999, Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin, *Journal of ethnopharmacol*, 64: 235-240 p. 154
- 107.Kumova, U., Korkmaz, A., Avcı, B.C., Güney, C., 2002, Önemli bir arı ürünü: Propolis, *Uludağ Arıcılık Dergisi*, 10-23 s. 156
- 108.Kutluca, S., Genç, F. ve Korkmaz, A., 2006, Propolis, *Samsun Valiliği Tarım İl Müdürlüğü, Samsun*, 57 s. 157
- 109.Leesen, T.S., Leesen, C.R. at Paparo, A.A., 1988, *Text/Atlas of Histology*, W.B.Saunders Company. 160
- 110.Mahran, A.A., Al-Rashidy, A.H.A.R., El-Mawla, A.M.A.A., 2011, Role of propolis in improving male rat fertility affected with aluminum chloride cytotoxicity, *Spatula DD*, 1 (4): 189-198 p.161
- 111.Marchand, D.H., Rimmel, R.P., bdel-Monem, M.M., 1988, Biliary excretion of a glutathione conjugate of busulfan and 1,4-diiodobutane in the rat, *Drug Metab Dispos*, 16 (1): 85-92 p. 162
- 112.Marcucci, M.C., Rodriguez, J., Ferreres, F., Bankova, V., Groto, R., Popov, S., 1998, Chemical composition of Brazilian propolis from Sao Paulo State, *Z. Naturforsch*, 53, 117-119 p. 164
- 113.Marcucci, M.C., 1995, Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity, *Apidologie*, 25: 83-99 p. 165

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 114.Matsuno, T., Jung, S.K., Matsumoto, Y., Saito, M., Morikawa, J., 1997, Preferential cytotoxicity to tumor cell of 3,5 – diprenyl – 4 hydroxycinnamic acid (Artepillin C) isolated from propolis, *Anticancer Res.*, 17, 3565-3568 p.168
- 115.Matsuno, T., Matsumoto, Y., Saito, M., Morikawa, J., 1997, Isolation and characterization of cytotoxic diterpenoid isomers from propolis, *Z. Naturforsch*, 52, 702-704 p. 169
- 116.Miyataka, H., Nishiki, M., Matsumoto, H., Fujimoto, T., Matsuka, M., Satoh, T., 1997, Evaluation of propolis. I. Evaluation of Brazilian and Chinese propolis by enzymatic and physico-chemical methods, *Biol Pharm Bull*, 20: 496–501 p. 170
- 117.Mohammadzadeh, S., Sharriatpanahi, M., Hamed, M., Amanzadeh, Y., Ebrahimi, S.E.S., Ostad, S.N., 2007, Antioxidant power of Iranian propolis extract, *Food Chem*; 103: 729-733 p. 171
- 118.Moore, K.L., 2009, İnsan embriyolojisi, (Çev.: Dalkılıç, H., Yıldırım, M.), Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 262-265 s. 172-176
- 119.Moore, K.L., Dalley, A.F., 2007, Kliniğe yönelik anatomi, (Çev.: Şahinoğlu, K.), 4. Baskı, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 201-202 s. 173
- 120.Moore, K.L., Agur, A.M.L., 2006, Temel klinik anatomi, (Çev.: Elhan, A.), 2. Baskı, Güneş Kitabevi, Ankara. 174
- 121.Moore, K.L., 2003, The developing human clinically oriented embryology, the beginning of human development: first week, Seventh edition, 15-41 p.175
- 122.Moreno, M.I.N., Isla, M.I., Cudmani, N.G., et al., 1999, Screening of antibacterial activity of amaiche del valle (tucuman, argentina) propolis, *Journal Of Ethnopharmacology*, 68: 97-102 p. 177
- 123.Munker, R., Andreeff, M., 1996, Induction of death (CD95/FAS), activation and adhesion molecules (CD54) on blast cells of acute myelogenous leukemias by TNF- α and IFN- γ , *Cytokines Mol Ther*, 2: 147–159 p. 179
- 124.Murad, J.M., Calvi, S.A., Soares, A.M.V.C., et al., 2002, Effect of propolis from brazil and bulgaria on fungicidal activity of macrophage against *Paracoccidioides brasiliensis*, *Journal Of Ethnopharmacology*, 79: 331-34 p. 180
- 125.Murono, E.P., Derk, R.C., de Leo'n, J.H., 2001, Differential effects of octylphenol, 17 β -estradiol, endosulfan, or bisphenol a on the steroidogenic competence of cultured adult rat Leydig cells, *Reproductive Toxicology*, 15, 551–560 p. 181

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 126.Nagai, T., Inoue, R., Inoue, H., Suzuki, N., 2003, Preparation and antioxidant properties of water extract of propolis, *Food Chem*, 80: 29-33 p. 182
- 127.Naito, Y., Yasumuro, M., Kondou, K., et al., 2007, Antiinflammatory effect of topically applied propolis extract in carrageenan-induced rat hind paw edema, *Pytother Res*, 21: 452-56 p. 183
- 128.Nakajima, Y., Shimazawa, M., Mishima, S., et al., 2007, Water extract of propolis and its main constituents, caffeoylquinic acid derivatives, exert neuroprotective effects via antioxidant actions, *Life Sciences*, 80: 370-77 p. 184
- 129.Narusa, T., Takahara, M., Takagi, M., Oberg, K.C. at Ogino, T., 2007, Busulfan-induced central polydactyly, syndactyly and cleft hand or foot: A common mechanism of disruption leads to divergent phenotypes, *Develop, Growth Differ*, 49, 533-541 p.185
- 130.Neves, W.B., 1973, Permeability of sertoli cell tight junction to Lanthanum after ligation of ductus deferens and ductuli efferentes , *The Journal of Cell Biology*, 59, 559-572 p.186
- 131.Odar, İ.V., 1986, *Anatomi*, Hacettepe Kitapçılık Ltd. Şti, Ankara, 458 s. 188
- 132.Ohira, T., Ando, R., Andoh, R., Nakazawa, T., Nishihara, K., Yamamoto, S., Nakamura, N. at Tamura, K., 2009, Distribution and sequence of pyknotic cells in rat fetuses, *J Toxicol Pathol*, 167-171 p.189
- 133.Orhan, H., Marol, S., Hepşen, İ.F., et al., 1999, Effects of some probable antioxidants on selenite-induced cataract formation and oxidative stress-related parameters in rats, *Toxicology*, 139: 219-32 p. 190
- 134.Ozan, H., 2004, *Ozan Anatomi*, Nobel Tıp Kitabevleri, Ankara, 304-309 s.194
- 135.Ötleş, S., 1995, *Bal ve bal teknolojisi*, Alaşehir MYO Yayınları, 2: 41-44 s. 195
- 136.Özcan, M., Ünver, A., Ceylan, D.A., Yetisir, R., 2004, Inhibitory effect of pollen and propolis extracts, *Nahrung/Food*, 48: 188-194 p. 196
- 137.Özkul, Y., Silici, S., Eroğlu, E., 2005, The anticarcinogenic effect of propolis in human lymphocytes culture, *Phytomedicine*, 12: 742-47 p. 197
- 138.Özyurt, B., Özyurt, H., Atış, Ö., Akbaş, A., Yılmaz, H.R., Söğüt, S., 2006, Deneysel olarak oluşturulan akciğer fibrozisinde E vitamini ve kafeik asit fenetil esterinin akciğer dokusundaki bazı metabolik enzimlere etkisi, *Tıp Araştırma Dergisi*, 4: 14-18 s. 199

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 139.Paintz, M., Metzner, Y., 1979, On the lokal anaesthetic action of propolise and some of its constituents, *Pharmazie*, 34: 839–41 p. 200
- 140.Park, Y.K., Alencar, S.M., et al., 2002, Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2502–06 p. 201
- 141.Paulino, N., Teixeira, C., Martins, R., et al., 2006, Evaluation of the analgesic and antiinflammatory effects of a Brazilian green propolis, *Planta Med*, 72: 899- 06 p. 202
- 142.Poonkuzhali, B., Srivastava, A., Quernin, M.H., et al., 1999, Pharmacokinetics of oral busulphan in children with beta thalassaemia major undergoing allogeneic bone marrow transplantation, *Bone Marrow Transplant*, 24 (1): 5-11 p.204
- 143.Popova, M, Silici, S., Kaftanoğlu, O., Bankova, V., 2005, Antibacterial activity of Turkish propolis and its qualitative and quantitative chemical composition, *Phytomedicine*, 12, 221-228 p.205
- 144.Pospeschova, K., Kopecky, M., Nachtigal, P., Pospisilova, N., Janborova, G. ve Semecky, V., 2006, Changes in the expression of P-cadherin in the normal, cryptorchid and busulphan-treated rat testis, *International Journal of Andrology*, ISSN 0105-6263 p.207
- 145.Prytyk, E., Dantas, A.P., Salomão, K., Pereira, A.S., Bankova, V.S., Castro, S.L. and Aquino Neto, F.R., 2003, Flavonoids and trypanocidal activity of Bulgarian propolis, *J. Ethnopharmacol.*, 88, 189–193 p. 208
- 146.Rang, H.P., Dale, M.M., 1993, Cancer chemotherapy, In: *Pharmacology ELBS*, Hong-Kong, 781-803 p. 209
- 147.Roberts, J.J., Warwick, G.P., 1961, The mode of action of alkylating agents. II. Studies of the metabolism of myleran. The reaction of myleran with some naturally occurring thiols in vitro, *Biochem Pharmacol*, 6: 205-16 p. 211
- 148.Ross, M.H., Pawlina, W., 2006, *Histology- a text and atlas with correlated cell and molecular biology*, 5. Edition, Lippincott W&W, Philadelphia. : Lippincott W&W, 729-747 p. 212-213
- 149.Russo, A., Longo, R., Vanella, A., 2002, Antioksidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin, *Fitoterapia* 73 Suppl, 1, s 21-29 p.215
- 150.Russo, R. and Longo, A.V., 2002, Antioxidant activity of propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and galangin, *Fitoterapia*, 73 Suppl, 1; S 21-S 29 p.216

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 151.Ryu, B.Y., Orwig, E.K., Avarbock, M.R. at Brinster, R.L., 2003, Stem cell and niche development in the postnatal rat testis, *Developmental Biology*, 263; 253–263 p.217
- 152.Sadler, T.W., 2005, Langman Medikal Embriyoloji, (Çev.: Başaklar, A.C.), 9. Baskı, Palme Yayıncılık, Ankara.218
- 153.Sandstrom, M., Karlsson, M.O., Ljungman, P. et al., 2001, Population pharmacokinetic analysis resulting in a tool for dose individualization of busulphan in bone marrow transplantation recipients, *Bone Marrow Transplant*, 28 (7): 657-64 p. 222
- 154.Santos, V.R., Pimenta, F.J., Aguiar, M.C., do Carmo, M.A., Naves, M.D., Mesquita, R.A., 2005, Oral candidiasis treatment with Brazilian ethanol propolis extract, *Phytother Res*, 19: 652-654. 223
- 155.Schkenderoff, S., 1983, Arı Ürünleri Kitap Sofya Bulgarca. 225
- 156.Schmidt, J.O., 1996, Bee products, chemical, composition and application. İn mirzahi, a., lenskky, y., eds., bee products, properties, applications and apitherapy, New York, Plenum Pres., 15, 16–21 p. 227
- 157.Senel, O.N., Yazar, S., Çetinkale, O., Bulan, R., Konukoğlu, D. ve Özdemir, S., 2007, Elektrik yaralanması sonrası kan akışkanlığındaki değişiklikler ve serbest oksijen radikallerinin kan akışkanlığı üzerine etkileri, *Türk plastik rekonstrüktif ve estetik, Cerrahi Dergisi*, Cilt15 / Sayı 1 Say 40-46 s. 228
- 158.Sforcin, J.M., 2007, Propolis and the immune system: a review, *J of Ethnopharmacol*, 113: 1-14 p. 229
- 159.Silici,S., 2003, Propolisin bazı antimikrobiyel ve farmakolojik aktiviteleri üzerine bir araştırma, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Zootekni Anabilimdalı, Adana.232
- 160.Silver, R.T., 2003, Chronic myeloid leukemia, *Hematol Oncol Clin North Am*, 17 (5): 1159-vii. 233
- 161.Skoog, D., Holler, J., Nieman, T., 2000, Enstrümantal analiz ilkeleri, Bilim Yayıncılık, Yayın no 1, Ankara.234
- 162.Snell, R.S., 2004, Klinik anatomi, (Çev.:Yıldırım, M.), 6.Baskı, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul. 236
- 163.Strehl, E., Volper, R., Elstner, E.F., 1994, Biochemical activities of propolis extracts. Inhibition of dihydrofolate reductase, *Z Naturforsch*, 49: 39-43 p.243

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 164.Stone, R.M., 2004, Optimizing treatment of chronic myeloid leukemia: a rational approach, *Oncologist*, 9 (3): 259-70 p. 244
- 165.Syazana, N.S., Hashida, N.H., Majid, A.M., Durriyah, H.A., Kamaruddin, M.Y. at Sharifah, 2011, Effects of gelam honey on sperm quality and testis of rat, *Sains Malaysiana*, 40 (11): 1243–1246 p.246
- 166.Şahinler, N., 2000, Arı ürünleri ve insan sağlığı açısından önemi, *MKÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 5 (1 -2): 139 -148 s. 248
- 167.Talas, Z.S., Gülhan, M.F., 2009, Effect of various propolis concentrations on biochemical and hematological parameters of rainbow trout (*oncorhynchus mykiss*), *Ecotoxicol and Environm. Safety*, 72: 1994-1998 p.251
- 168.Tomas-Barberan, F.A., Garcia-Viguera, C., Vit-Olivier, P., et al., 1993, Phytochemical evidence for the botanical origin of tropical propolis, *Phytochemistry*, 34: 191–96 p.254
- 169.Tran, H.T., Madden, T., Petropoulos, D., et al., 2000, Individualizing high-dose oral busulfan: prospective dose adjustment in a pediatric population undergoing allogeneic stem cell transplantation for advanced hematologic malignancies, *Bone Marrow Transplant*, 26 (5): 463-70 p.255
- 170.Trusehva, B., Popova, M., Bankova, V., et al., 2006, Bioactive constituents of Brazilian red propolis, evid based complementary, *Alternative Medicine*, 3: 249- 54 p. 256
- 171.Udagawa, K., Ogawa, T., Watanabe, T., 2001, GnRH analog, leuprorelin acetate, promotes regeneration of rat spermatogenesis after severe chemical damage, *Int J Urol*, 8 (11): 615-22 p.257
- 172.Uzel, A., Sorkun, K., Oncag, O., Cogulu, D., Gencay, O., Salih, B., 2005, Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples, *Microbiol Res*, 160: 189-195 p. 259
- 173.Vahonina, T.B., 1976, (Rusça Çeviri), Propolisin yapısı özellikleri pratikte uygulama imkanları eğitim makalesi, No: 24, Moskova, 114 s. 260
- 174.Vassal, G., Fischer, A., Challine, D. et al., 1993, Busulfan disposition below the age of three: alteration in children with lysosomal storage disease, *Blood*, 1; 82 (3): 1030-4 p. 261
- 175.Vassal, G., Gouyette, A., Hartmann, O., Pico, J.L., Lemerle, J., 1989, Pharmacokinetics of high-dose busulfan in children, *Cancer Chemother Pharmacol*, 24 (6): 386-90 p. 263

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam ediyor)

- 176.Velikova, M., Bankova, V., Marcucci, M., Tsvetkova, I. and Kujungiev, A., 2000, Chemical composition and biological activity of propolis from brazilian meliponinae, *Z. Naturforsch*, 55c, 785-789 p. 264
- 177.Walker, P., Crane, E., 1987, Constituents of propolis, *Apidologie*, 18: 327–34 p. 267
- 178.Woisky, R. G., 1998, Salatino, A. J. *Apicult. Res*, 37, 99 p.268
- 179.Yaman, K., 1999, *Fizyoloji*, 3. Baskı, Vipaş, Bursa.269
- 180.Younis, I.R., 2008, In vitro elucidation of the metabolic fate of the anticancer drug busulfan, Doktora Tezi, West Virginia University, The School of Pharmacy, 120 p.272
- 181.Yousef, M.I., Mamel, K.I., Hassan, M.S., Ei-Morsy, A.M.A., 2010, Protective role of propolis against reproductive toxicity of triphenyltin in male rabbits, *Food and Chemical Toxicology*, 48: 1846–1852 p.273
- 182.Yousef, M.I., Salama, A.F., 2009, Propolis protection from reproductive toxicity caused by aluminium chloride in male rats, *Food and Chemical Toxicology*, 47: 1168–1175 p.274
- 183.Zumla, A., Lulat, A., 1989, Honey-aremedy rediscovered, *Journal of the Royal Society of Medicine*, 82, 384-385 p. 278

ÖZGEÇMİŞ

Bireysel Bilgiler

Adı-Soyadı : Fulya ÖZCAN
Doğum tarihi ve yeri : 20.02.1986/Kayseri
Uyruğu : T.C.
Medeni durumu : Bekar
İletişim adresleri : ozcan.fulya@yahoo.com

Eğitim Durumu

İstanbul Fatih Şehremini Lisesi (Yabancı Dil Ağırlıklı)
İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü Lisans Eğitimi
İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tezsiz Yüksek Lisans Eğitim

Yabancı Dil : İngilizce

Yayımlar

XI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Denizli 2012

1. Busulfan uygulanan gebe sıçanlardan doğan erkek sıçanlardaki testis hasarı üzerine propolisin etkisi (**Fulya ÖZCAN**, Dilek BURUKOĞLU, Seren BOZDOĞAN) (Poster)
2. Erişkin erkek sıçanlarda cisplatin ile oluşturulan testis hasarı üzerine sodyum selenitin etkisi (Seren BOZDOĞAN, Dilek BURUKOĞLU, **Fulya ÖZCAN**) (Poster)

Bilimsel Etkinlikler (Seminerler)

- 1) Dişi Üreme Sistemi
- 2) Plasentanın Yapısı ve İşlevleri
- 3) Sertoli Hücresi Histolojisi ve İnce Yapı Düzeyinde Değerlendirilmesi
- 4) İmmatür Granüloza Hücrelerinde Hedef Geni Düzenleyen Protein Kinaz A'dan Dallanan FSH Sinyal Yolağı
- 5) Embriyo ve Fetus arasındaki farklar
- 6) Transgenik Canlılar
- 7) Ekstrasellüler Matriks

Katılan Kurslar ve Eğitim Programları

II. Hücre Ölümü Araştırma Teknikleri Teorik Kursu, Eskişehir 2012

XI. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi, Denizli 2012

Türkiye Bilimler Akademisi 2. Kök Hücre Kursu ve 6. Kök Hücre Sempozyumu,
Ankara 2011

Tıbbi ve Cerrahi Deneysel Araştırma Merkezi (TICAM), Deney hayvanları ile araştırma temel eğitim kursu, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Eskişehir 2011

Evrım, Bilim ve Eğitim Sempozyumu Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul 2009

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum
Anabilim Dalı Reprodüktif Endokrinoloji ve İnfertilite Bilim Dalı Yardımla
Üreme Laboratuvarı (Staj) 2008

II. Tıbbi Biyolojik Bilimler Kongresi V. Tıbbi Biyolojik Bilimler Öğrenci
Sempozyumu İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi, İstanbul 2007