

T.C
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**HİPERTERMİNİN ERKEK GERM HÜCRELERİ ÜZERİNE OLAN
ETKİSİNİN YAPISAL OLARAK İNCELENMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Sevinç VELİYEVA

Tez Danışmanı

Prof. Dr. M. Tahir HATİPOĞLU

ANKARA

HAZİRAN 2010

**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü**

**Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı
çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından
Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.**

Tez Savunma Tarihi : 14/06/2010



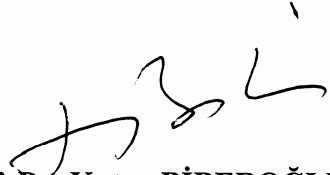
Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN

Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. M.Tahir HATİPOĞLU

Gazi Üniversitesi



Prof. Dr. Kutay BİBEROĞLU

Gazi Üniversitesi

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	i
İçindekiler	ii
Resimler	iv
Kısaltmalar ve Simgeler	ix

1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Testislerin Gelişimi	5
2.1.1. Testislerin İnişi	11
2.2. Testislerin Anatomisi	13
2.2.1. Skrotum ve Testislerin Arterleri	14
2.2.2. Testislerin Venleri	15
2.3. Testislerin Histolojisi	19
2.3.1. Seminifer Tubüller	20
2.3.2. Sertoli Hücreleri (Epitheliocytus sustenans)	22
2.3.3. Spermatogenik Hücreler	25
2.3.4. Spermatogonyum	27
2.3.5. Spermatozitler	28
2.3.6. Mayoz Bölünme	29
2.3.7. Spermatozidler	30
2.3.8. Olgun Sperm (spermium)	32
2.3.9. İnterstisyel Doku ve Leydig Hücreleri	34
2.4. Testislerin Fizyolojisi	36
2.5. Hipertermi	42
2.6. Kullanılan Antikorlar	45
2.6.1. Apoptozis	45
2.6.2. Kaspazlar	46

2.6.3. Süperoksit Dismutaz (SOD)	49
2.6.4. Isı Şok Proteini (HSP)	50
3. GEREÇ ve YÖNTEMLER	52
3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma	52
3.2. İmmünohistokimyasal Yöntemler	53
4. BULGULAR	56
4.1. Kaspaz 3 Bulguları	56
4.2. Kaspaz 8 Bulguları	57
4.3. Kaspaz 9 Bulguları	58
4.4. HSP 70 Bulguları	60
5. TARTIŞMA	95
6. SONUÇ	106
7. ÖZET	107
8.SUMMARY	110
9. KAYNAKLAR	112
10. EKLER	131
11. TEŞEKKÜR	132
12. ÖZGEÇMİŞ	133

RESİMLER

Resim 1: Kontrol grubuna ait testis dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 62

Resim 2: Kontrol grubuna ait testis dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000). 63

Resim 3: Kontrol grubuna ait testis dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000). 64

Resim 4: SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 65

Resim 5: SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 66

Resim 6: SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X100). 67

Resim 7: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 68

Resim 8: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 69

Resim 9: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 3 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400). 70

Resim 10: Kontrol grubuna ait testis dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 71

Resim 11: Kontrol grubuna ait testis dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000). 72

Resim 12: Kontrol grubuna ait testis dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000). 73

Resim 13: SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400). 74

Resim 14: SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000). 75

Resim 15: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400). 76

Resim 16: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000). 77

Resim 17: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 8 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000). 78

Resim 18: Kontrol grubuna ait testis dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 79

Resim 19: Kontrol grubuna ait testis dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000). 80

Resim 20: SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400). 81

Resim 21: SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000). 82

Resim 22: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400). 83

Resim 23: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000). 84

Resim 24: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda Kaspaz 9 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000). 85

- Resim 25:** Kontrol grubuna ait testis dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X100). 86
- Resim 26:** Kontrol grubuna ait testis dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 87
- Resim 27:** Kontrol grubuna ait testis dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000). 88
- Resim 28:** SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X100). 89
- Resim 29:** SOD uygulanan ve 30. dakika da örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 90
- Resim 30:** SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000). 91
- Resim 31:** SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400). 92
- Resim 32:** SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000). 93

Resim 33: SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda HSP 70 antikor tutulumu (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000).

94

KISALTMALAR VE AKRONİM TERİMLER

GSH: Glutasyon

SOD: Süperoksit Dismutaz

APAF-1: Apoptotik Peptidaz Aktivatör Faktör

SRY: Cinsiyet Belirleyici Bölge Y

TBF: Testis Belirleyici Faktör

TGF: Dönüştürücü Büyüme Faktörü

MIF: Müller Baskılayıcı Faktör

hCG: İnsan Koryonik Gonodotropin

DNA: Deoksiribonükleik Asit

MIS: Müller Baskılayıcı Madde

A. a: Arter

V. v: Ven

FSH: Folikül Uyarıcı Hormon

LH: Luteinize Edici Hormon

ATP: Adenozin trifosfat

ATPaz: Adenozin trifosfataz

GBG: Gonadalsteroid Bağlayıcı Globulin

DHT: Dihidrotestosteron

GnRH: Gonodotropin Serbestleştirici Hormon

ABP: Androjen Bağlayıcı Protein

DISC: Ölüm Uyarıcı Sinyal Kompleksi

TNFR: Tümör Nekroz Faktör Reseptör

HSP: Isı şok Proteini

RNA: Ribonükleik Asit

Cyt c: Sitokrom c

UCP: Koitusu Engelleyici Protein

T: Testosteron

MPF: M-faz Uyaran Faktör

1. GİRİŞ

İnsan gelişimi, erkek cins hücresi spermiyumun dişi cins hücresi ovumla birleşerek zigot oluşturmasıyla başlar. Bu olaya döllenme (fertilizasyon) denir. Fertilizasyona hazırlık ereğiyle erkek cins hücreleri gametogenezis sürecine girerler. Gametogenezis sürecinde mayoz bölünmelerle kromozom sayıları indirgenir. Hücreler daha sonra hücre farklanması ile olgunlaşırlar.

Erkeklerde, primordial hücreler puberteye değin dinlenme evresinde kalırlar. Spermatogenezis pubertede başlar ve spermatogonyumların olgun spermiyum haline dönüşmesini sağlayan olaylar dizisinin tümünü kapsayan süreçtir.¹

Spermatogenezis hücreleri seminifer tubüllerin duvarını döşeyen ve epitel katta çoğunluğu oluşturan hücrelerdir. Olgun spermiyum oluşuncaya değin spermatogenezisin tüm aşamaları spermatogenezis hücre katmanlarında geçer. Hücreler olgunlaştıkça tüp bazalinden lümene doğru yer değiştirirler. Hücrelerin en genci olan spermatogonyumlar bazal laminanın (lamina basalis) hemen üzerinde yerleşiktir. Bunlar lümene yaklaştıkça sırasıyla primer spermatozoid (spermatocytus primarius), sekonder spermatozoid (spermatocytus secundarius) ve spermatozoid (spermatidium) adını alırlar. En olgun şekilleri olan spermatozoidler lümeninde bulunur.^{2,3}

Memeli testisinde normal spermatogenezisin olaylanması için testisin skrotum ısısının vücut sıcaklığından 2-8 °C az olması

gerekmektedir.^{4,5} Hafif bir ısı artışı, olgun spermiumların hızlı bir şekilde kaybı ile sonuçlanır.⁶

Hipertermi, dokuların ya da hücrelerin belirli bir süre normal fizyolojik sıcaklıktan daha yüksek bir ısıya (41 - 44° C) etkin kalmasıdır.⁷ Belirli bir süre bu değerde kalması fertilité açısından çeşitli sorunlara neden olabilir. Hipertermi enfeksiyonlar, sıcak banyolar, egzersiz, sauna gibi nedenlere bağılı olarak gelişebilir.⁸

Gametogenezis oldukça karmaşık bir süreç olup, toksik maddeler, radyasyon, ısı değişimleri gibi streslere karşı son derece duyarlıdır. Bu etkenler cins hücrelerinde oksidatif strese neden olur; Deneysel hipertermi modellerinde hücrelerde serbest oksijen radikallerinin arttığı ve sitosolik antioksidan olan GSH ve SOD düzeylerinin azaldığı ve spermatogenik hücreler ile oositlerde mayoz bölünme düzeninin bozulduğu bilinmektedir.^{9,10,11}

Son yıllarda yapılan infertilite çalışmalarında hiperterminin olası etkileri yaygın olarak incelenmektedir.¹² Araştırmacılar, gelişen teknolojiyle birlikte diz üstü bilgisayarların kullanımının artması, uzun süreli araba kullanımı, çocuklarda plastik içerikli bezlerin kullanılmasının artışıyla erkeklerde infertilitenin arttığını vurgulamaktadırlar.⁸ Testisin işlevi yüksek derecede ısı denetimine bağılı olduğu için bugüne değin hiperterminin erkek üreme sistemi üzerine etkileriyle ilgili yapılan çalışmalarda, testis fonksiyonlarında bozulmaya yol açtığı bildirilmiştir.¹³ Sıcaklık stresinin Leydig hücreleri fonksiyonlarını baskıladığıda saptanmıştır.¹⁴ Ayrıca sıcaklık artışı spermium sayısında, yapı ve hareketlilik yönünden

yüzdesinde azalmaya neden olmaktadır. Yüksek ısıda spermatogenezis düzeni de bozulmakta bu da infertiliteye yol açmaktadır.^{4,5,8}

Araştırma verileri hiperterminin gametogenezis üzerinde gösterdiği olumsuz etkisini apoptozisi indükleyerek gerçekleştirdiğini bildirmektedir. Hipertermi moleküler düzeyde oositlerde ve Leydig hücrelerindeki zar bütünlüğünü bozar. Bu sfingomyelinazları aktive eder. Yine ceramis mekanizması üzerinden Bcl-2 yolağını uyararak sitoplazmada APAF-1 erkini arttır. Sonuçta apoptozis gerçekleşir.¹²

Yapılan kaynak taramalarında, germ hücrelerinde çeşitli nedenlerle artan oksidatif stresden hücreleri korumak, ya da olumsuz etkileri geri döndürmek ereğiyle birçok ajanın kullanıldığı çalışmalara rastlanılmaktadır. Bu ajanlar arasında E vitamini, astataksin, epigalloktein, amifostin, selenyum bulunmaktadır.^{15,16,17,18} Hiperterminin neden olduğu hasarları engelleyen ya da aza indirgemeye yönelik bir antioksidan ya da anti apoptotik ajan henüz belirlenememiştir.

Apoptozisin genel özelliği oksidatif stresin oluşmasıdır.¹¹ Son yıllarda yayımlanan verilerde, sitosolik bir antioksidan olan SOD, lipid peroksidasyonunu engelleme ve serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırabilme özellikleri ile ön plana çıkmıştır.¹⁹ Oksidatif stresi engelleme özelliği, bu enzimin apoptotik süreci geri döndürebileceğini düşündürmektedir.

Bu nedenle çalışmamızda gametogenezis sürecinde hiperterminin neden olduğu apoptozise, sitozolik bir antioksidan olan

süperoksit dismutazın koruyucu ve tedavi edici etkilerinin apoptotik ve oksidatif stres belirteçleri kullanılarak belirlenmesi amaçlandı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testislerin Gelişimi

Cinsiyetin farklanması, çok sayıda otozomal genin rol oynadığı karmaşık bir süreçtir. Seksüel farklanmanın anahtarı kısa kolunda (Yp 11) SRY geni (Y kromozomu üzerindeki seks belirleyici bölge) taşıyan Y kromozomudur. Bu genin protein ürünü cinsiyet organlarının gelişimini belirleyen genleri harekete geçiren bir transkripsiyon faktörüdür. SRY proteini testis belirleyici faktördür (TBF). Bu faktörün varlığıyla fetusun cinsiyeti erkek tipinde, yokluğu ya da hatalı olmasında ise kadın tipinde gelişir.^{1,21}

Embriyonun kromozomal ve genetik cinsiyeti, sekonder oositi döleyen spermiumun türüne bağlı olarak döllenme anında belirlenir. XX ya da XY genotiplerinden birine sahip erkek ve dişi embriyonlar 1-6. haftalar arasında fenotipik olarak ayırt edilmezler; bu evre farklanmamış evre, bu evredeki gonadlar da farklanmamış gonad olarak adlandırılırlar. Gonadların erkek ve dişiliğe farklanmaları, yani gonadal cinsiyet 7. haftada olur ve XX, XY kromozom kompleksine bağlıdır. Fenotipik farklanma 20. haftada tamamlanır.^{21,22,23,24}

Gonadlar üç kaynaktan köken alarak gelişirler:

1. Arka karın duvarını döşeyen mezotel
2. Mezotelin altındaki mezenşim
3. İlkel cins hücreleri (Primordial germ hücreleri)

Gonad gelişimi, ilk kez 5. haftada, mezonefrozun medialinde, sağ ve solda, kölomik epitelin çoğalması ve altındaki mezenşimin yoğunlaşmasıyla oluşan, uzunluğuna gonadal ya da genital kabartı ile gözlemlenir.^{1,21,25}

Köloom epiteli, ilkel germ hücrelerini buraya çeken TGF beta ailesinden bir kemotaktik faktör salgılar ve bu hücrelerin çoğalmasını uyarır. Köloom epiteli alttaki mezenşime doğru dallanan parmak şeklinde epitel kordonları oluşturur. İlkel seks kordonları denilen bu kordonlar alttaki mezenşim içine doğru büyürler. Farklanmamış gonad, dışta korteks ve içte medulla katmanlarından yapılıdır.^{24,25}

Y kromozomu taşıyan embriyonda farklanmamış gonadın medullası testise farklanırken, korteks bir grup kalıntı dışında geriler ve dejenere olur.²⁵

Gelişimin 4. haftasında, büyük yuvarlak şekilli ilkel cins hücreleri, allantois kesesine yakın vitellus kesesi endoderm hücreleri arasında görülmeye başlar. Embriyonun kıvrılması sırasında, vitellus kesesinin dorsal kısmı embriyon içine alınır. Bu kıvrılma olaylanırken, ilkel cins hücreleri, son bağırsağın dorsali boyunca ameboid hareketlerle ilerleyerek 5. haftanın başında ilkel gonadlara ulaşırlar. 6.haftada da genital kabartıları işgal ederler. Bu hücreler genital kabartılara ulaşmadıklarında gonadlar gelişemez. Gonadların ovaryum veya testise farklanmasında ilkel cins hücrelerinin indükleyici etkisi vardır.

Primordiyal germ hücrelerinin ilkel gonadlara ulaşmasından hemen önce ve o sırada, genital kabartı epitelı çoğalı ve epitel hücreleri altlarındaki mezenşimin içine gömülürler. Bunlar burada ilkel cins (seks) kordonları denilen düzensiz şekilli kordonları oluştururlar. Erkek ve dişi embriyonlarda bu kordonlar, yüzey epitelı ile ilişkilidir. Bu evrede dişi ve erkek gonadlarının birbirinden ayırt edilebilmesi olası değildir.^{21,1,25,24}

Testislerin gelişimi birçok genin uyarılması ile olur. Testis belirleyici faktörü kodlayan genin Y kromozomu üzerindeki SRY geninin etkisiyle, ilkel cins kordonları testis yada medullar kordonları oluşturmak için, çoğalmayı sürdürüp medullanın derinliklerine doğru ilerlerler.¹ Kordonlar burada dallanarak birbiriyle anastomozlaşırlar ve rete testis oluşur. Seks kordonları, kalın fibröz bir kapsül olan tunika albuginea geliştikten sonra yüzey epitelı ile olan bağlantılarını yitirirler. Seks kordonları seminifer ya da testiküler kordon olarak adlandırılır.²⁴

12. haftada kalın fibröz tunika albugineanın oluşması özgün olup, testisin geliştiğinin önemli bir göstergesidir. 16 haftada, testis kordonları at nalı biçimini alırlar ve at nalının, uçları birleşerek tubuli rekteleri yaparlar.²¹ Testis kordonları bu evrede ilkel germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden köken alan Sertoli destek hücrelerinden (epitheliocytus sustenans) oluşmaktadır.

Gonadal kabartının mezenşiminden köken alan intersitisyel Leydig hücreleri (endocrinocytus intersititialis) testis kordonlarının arasında bulunur ve bu kordonların farklanmaya başlamasından hemen sonra gelişmeye başlarlar. Gebeliğın 8. haftasında, Leydig hücreleri

testosteron hormonu salgırlarlar. Testis artık genital kanal ve dış genital organların gelişimini etkileyecek hale gelmiştir.¹

Puberteye değin kapalı kalan testis kordonlarının bu evrede lümenleri açılır ve seminifer tubülleri (tubulus seminifer convolutus) oluştururlar. Seminifer tubüller kanalize olur olmaz rete testis tubülleriyle birleşir ve duktuli efferentes'lere açılırlar. Duktuli efferentesler boşaltım tubülleridir. Duktus deferens ile rete testisi birbirine bağlarlar.^{1,21}

Testisler giderek büyürler, gerileyen mezonefrozdun ayrılır ve mezorşium (mesorchium) denilen kendi mezenteriyile asılı dururlar. Testis gelişmesinin son aşamasında, yüzey epiteli yassılaşıarak, ergin testisin dış yüzünü örten tek katlı mezotel'i oluşturur.²¹

Gelişimin 5-6 haftalarında, erkek ve dişi embriyonlar iki çift genital kanal içerirler:

Mezonefrik (Wollfian) kanal: Erkek genital sistemin gelişmesinde işlev yapar. Her mezonefrik kanalın proksimal kısmı epididimisi oluşturmak için katlanır. Mezonefroz dejenere olduğunda kanal kalıntıları duktus deferens ve ejakülatör kanalı (ductus ejaculatorius) yapar.

Paramezonefrik (Müllerian) kanal: Kadın genital sistemin gelişmesinde işlev görür. Paramezonefrik kanal, ürogenital kabartının ön-yan yüzeyindeki epitelin uzunlamasına bir içe çöküntüsü şeklinde ortaya çıkar. Kanal kranial uçtan karın boşluğu içine huni şeklinde bir yapıyla açılır. Kaudal yönde de, önce mezonefrik kanalın lateralinde uzanır ve onu

önden çaprazladıktan sonra kaudomedial yönde gelişmeyi sürdürür. Orta düzlemde diğer paramezonefrik kanala aksi yönden yaklaşır. Başlangıçta bir bölmeyle birbirinden ayrılmış olan bu iki kanal daha sonra birleşerek uterus'u oluşturur. Birleşmiş olan kanalların kaudal ucu, ürogenital sinusun arka duvarına doğru ilerleyerek paramezonefrik ya da Müller tüberkülü denilen küçük bir şişkinlik yapar. Mezonefrik kanallar, ürogenital sinusa Müller tüberkülünün her iki yanından açılır. ^{1,21,25,26}

İntrauterin evrede, fetuste (foetus) dolaşımındaki hormonların uyarımıyla erkek genital boşaltım yolları ve bezleri gelişir. Fötal testisler, erkeklik hormonu testosteron ve Müller kanalını baskılayan faktör (Müllerian- Baskılayıcı Faktor = MIF) üretirler. Sertoli hücreleri, 6-7. haftalarda MIF'ü, Leydig hücreleri ise 8-12. haftalarda testosteron hormonu salgılamaya başlar. İnsan koryonik gonadotropin (hCG) uyarımı ile üretilen testosteron, mezonefroz kanalları uyararak, erkek genital boşaltım yollarını, penisin büyümesini, penil uretranın gelişmesini, skrotal şişkinliklerinin birleşmesini, prostat, seminal vezikül ve bulboüretal bezlerin (gl. Bulbourethralis) gelişmesini sağlar; buna karşın, MIF Müller kanallarının gelişmesini baskılar. Mezonefroz gerilerken, gelişen testislere yakın bazı mezonefroz tubülleri kalır. Bunlar epigenital tubüller (epigenital tubules) olarak adlandırılırlar ve duktuli efferentes'leri (ductuli efferentes) oluştururlar. Testisin kaudal kutbu boyunca uzanan mezonefroz tubülleri, paragenital tubüller (paragenital tubules) olarak bilinirler ve testislerle bağlantı kurmazlar. Paradidimis denilen kalıntı yapıları oluştururlar. Testosteron etkisiyle mezonefrik kanalın bir bölümü duktus epididimis'e dönüşür. Leydig hücrelerince oluşturulan testosteron hedef dokulardaki hücrelerin içine girip ya öylece kalır ya da 5 α redüktaz enzimiyle dihidrotestosterona dönüştürülür. Testosteron ve dihidrotestosteron hücre içinde, bu hormonlara karşı özel ve yüksek çekiciliği olan bir reseptör proteine bağlanır. Bu reseptör kompleksi de dokuya özgü transkripsiyon

genlerinin ve bu genlerin protein ürünlerinin ortaya çıkabilmesi için DNA'ya bağlanır. Testosteron reseptör kompleksi mezonefrik kanalların erkekliğe farklanmasını sağlarken, dihidrotestosteron reseptör kompleksi de erkek dış genital organlarının farklılaşmasına yardım eder.

Mezonefroz kanalının büyük bir kısmı kalır, erkek genital boşaltma yollarını yapar. Mezonefrik kanalın en kranial ucu geriler ve apendiks epididimis (appendix epididymis) olarak adlandırılan kalıntıyı alır. Erkek genital boşaltma yollarını yapacak geri kalan mezonefroz kanal parçası, duktuli efferentesler'e giriş yerinin hemen altında uzar son derece kıvrıntılı olur ve duktus epididimis'i oluşturur. Epididimis kuyruğundan, seminal vezikül tomurcuğuna kadar mezonefroz kanalı, kalın bir kas katmanı kazanır ve duktus deferens'i yapar. Her duktus deferensin kaudal ucundan yanlara doğru çıkan tomurcuklar seminal vezikül'ü oluştururlar. Bu bez kanalı ile üretra arasında mezonefroz kanal parçası, duktus ejakulatorius'u yapar. Üretra'nın prostatik bölümünden dışa doğru birçok tomurcuklanmalar oluşur ve çevre mezenşime doğru uzanırlar. Prostat bezi epiteli, üretra'nın bu endodermal epitelinden köken alır. Çevre mezenşimi ise prostat'ın stroma ve kas tellerine farklanır. Üretra'nın penil ya da spongiyoz parçasından bir çift tomurcuklanma gelişerek, bezelye büyüklüğünde bulboüretal bezler'i oluşturur. Bu bezin stroma düz kas lifleri, çevre mezenşimden gelişir.^{1,21,24,25}

2.1.1. Testislerin İnişİ

Testislerin karın boşluğundan karın ön duvarı boyunca skrotuma kadar olan inişleri inguinal kanallardan olur. İnguinal kanallar seksüel gelişimin yapısal olarak farklanmamış aşamasında her iki cinstede gelişirler. İkinci ayın sonunda testis ve mezonefroz karın arka duvarına ürogenital mezenterle bağlı durumdadır. Mezonefroz dejenere olduktan sonra bu bağlar gonadın mezenteri haline gelir ve kaudal genital ligament adını alır. Testisin kaudal kutbundan çıkan ve hücre dışı matriksten zengin, yoğun mezenşimal bir yapı da gubernakulum olarak bilinir. Testisin aşağı inişinden önce, bu mezenşim bandı inguinal bölgede, internal ve eksternal abdominal oblik kasların arasında sonlanır. Testis inguinal halkaya doğru aşağı inmeye başladığında gubernakulumun ekstra abdominal parçası da inguinal bölgeden skrotal şişliğe doğru büyümeye başlar. Testisler inguinal kanaldan geçerken, gubernakulum'un ekstraabdominal kısmı, skrotumun tabanına değer.

Testisin inişini denetleyen faktörler tam olarak belli değildir. İnterabdominal göçün gubernakulumun ekstraabdominal parçasının uzamasıyla gerçekleştiği; organların büyümesinin karın içi basıncı artırarak inguinal kanaldan geçişi sağladığı ve gubernakulumun ekstraabdominal kısmının regresyonunun da testisin skrotum içine doğru olan inişini tamamlamasını sağladığı düşünülmektedir. Normalde testisler gebeliğin 12. haftasında inguinal bölgeye gelmekte, inguinal kanaldan 28. haftada geçmekte ve 33. haftada skrotuma ulaşmaktadır. Bu süreç, androjenler ve MIS gibi hormonlardan etkilenmektedir.

İniş sırasında testisler aorta tarafından beslenmeyi sürdürürler ve testiküler damarlar başlangıçtaki lumbar yerleşimlerinden skrotum içindeki testislere kadar uzanırlar.

Testislerin aşağı inişinden bağımsız olarak, karın duvarını saran periton (peritoneum) da, karın ön duvarı orta çizgisinin her iki yanında cepler oluşturur. Vajinal proses olarak bilinen bu periton cepleri, skrotal şişliğe doğru ilerleyen gubernekulumu izlerler. İnguinal kanal kas ve fasiyel katmanlarla birlikte skrotal şişliğe doğru ilerleyen vajinal proses tarafından oluşturulur.

Testisler, inguinal kanaldan ve pubis kemiği üstünden geçerler ve gebeliğin 7. ayında skrotuma inmiş olurlar. Skrotum içindeki testis vajinal prosesce sarılmış durumdadır. Testisi saran bu peritoneal tabakaya tunika vajinalisin visseral katmanı, peritoneal kesenin diğer kısımlarına da tunika vajinalisin pariyetal katmanı denir. Vajinal prosesi periton boşluğuna bağlayan bu dar kanal, doğumda veya doğumdan kısa bir süre sonra kapanır.

Testisler, vajinal proses kökenli peritoneal katman dışında, içinden geçtiği karın ön duvarına ait tabakalarla da örtülüdür. Transversal fasya internal spermatik fasyayı; internal oblik kas, kremaster kasını ve fasyasını; ve eksternal oblik kas da eksternal spermatik fasyayı oluşturur. Transversus abdominis kası bu bölgenin üzerinde arkus yaptığı ve göç yolu üzerinde bulunmadığı için testis ve testise ait yapıların çevresinde bu kasa ait bir kat bulunmaz.^{1,25,27,28}

2.2. Testislerin Anatomisi

Testisler, iki uyluk arasında scrotum denilen torba içinde funikulus spermatikus ile asılı duran, birbirinden septum scroti ile ayrılmış bir çift organdır.^{28, 2, 29} Testis'ler döltsel yaşamda üstte karın arka duvarında lumbal bölgede gelişmeye başlarlar. Giderek aşağıya inen testisler yedinci ayda canalis inguinalis'i geçerek scrotum'a inerler. Embriyodaki labioskrotal şişkinlikler arasındaki kaynaşma çizgisinin kalıntısı, scrotum derisi üzerinde orta çizgide uzunlamasına uzanan raphe scroti olarak görülür; Raphe scroti anus'tan başlar scrotum kesesini dolanarak penis'in alt yüzüne uzanır.³⁰

Funiculus spermaticus demet şeklindedir. Kasıktan testis'e değin uzanan kan ve lenf damarları, sinirler ve kanalların oluşturduğu kordondur. Funiculus spermaticus yaklaşık 15-20 cm uzunluktadır. Sol funiculus spermaticus biraz daha uzundur. Bu nedenle sol testis, sağ testise karşın daha aşağıdadır. Funiculus spermaticus'u içten dışa doğru fascia spermatica interna, m. cremaster ile fascia cremasterica ve fascia spermatica externa sarar.^{29, 32,33}

Testis'in yan ve ön yüzleri cavitas abdominis ile bağlantılı kapalı bir periton (peritoneum) kesesi (tunica vaginalis) ile örtülüdür. Normalde testis indikten sonra bağlantı kapanır ve fibröz bir kalıntı kalır. Her bir testis lobüllere ayrılır. Her lobül tubuli seminiferi contorti'lerden ve interstitial dokudan oluşur. Testis dıştan kalın sıkı bağ dokusundan bir kapsülle (tunica albuginea) çevrilidir.³⁰

Skrotum (scrotum, testis torbası) deri ve eklerinden yapılmış bir kesedir. Epidermis, çok pigmentli deri katıdır. İçinde testis, epididimis, duc.deferens' in başlangıç kısmı, bu organlara gelen damar ve sinirler bulunur. Yeri; perineum'un önünde, simfisis pubis ve penis'in altında ve iki uyluğun arasındadır. Büyüklüğü ve şekli yaşa göre değişir.^{2, 29} Testisler intrauterin yaşamda karın boşluğunda gelişmeye başladıktan sonra yedinci ayda aşağıya iner ve skrotum içine girerler. Skrotum'un duvarı dıştan içe doğru cutis (deri), tunica dartos, m.obliquus externus abdominis'den köken alan fascia spermatica externa, m. obliquus internus abdominis'ten köken alan fascia cremasterica ile sarılı m. cremater, fascia transversalis'den köken alan fascia spermatica interna ve en içte de peritoneum'un lamina parietalis'inden oluşur.³³

Skrotum derisi, epidermis hücreleri pigment içerdiği için, daha koyudur; bol miktarda ter bezi içerir. Erişkinde derialtı bağ dokuda yağ ve ter bezleri ile seyrek kıl folikülleri bulunur; yağ dokusu kapsamaz. Tunica dartos'ta çok miktarda düz kas hücreleri ve elastik lifler görülür. Düz kas hücreleri kasılırsa skrotum büzülür ve küçülür. Gevşerse aşağıya sarkar. Skrotum sıcaklığa duyarlıdır. Sıcaklığı sabit tutmak için soğuk havalarda büzülür, sıcak ortamlarda ise kas lifleri gevşer ve sarkar.

2.2.1. Skrotum ve Testislerin Arterleri

Skrotum, A. femoralis'in dalı olan a. pudenda externa profunda' nin rr. scrotales anteriores denilen dallarıyla beslenir.^{29, 34}

Testisin arterleri a.testicularis'ler, aorta abdominalis'ten çıkar, aşağıya inerler ve sonra canalis inguinalis'ten geçerek, testis ile birlikte skrotum içine uzanırlar.³⁰ A. testicularis testis kan akımının 2/3'sini sağlayan ana testiküler arterdir. İnsan testiküler parankimi 100 mg dokuya yaklaşık 9 ml/dk kan sağlar.³⁷ A.iliaca externa'nın a.epigastrica inferior'undan çıkan a.cremasterica'lar skrotum içinde funiculus spermaticus'la birlikte ilerler. A. cremasterica testis kan akımının 1/6'ini sağlar, esas olarak tunica vaginalis'i besler.³⁵

2.2.2. Testislerin Venleri

Testisin venöz dolaşımı vena testicularislerle olur. V. testicularis dextra karın boşluğunda eğik olarak v. cava inferiora açılır. V. testicularis sinistra ise v. renalis'e açılır. Bu iki ven iki dala ayrılmadan önce ductus deferensin çevresinde plexus pampiniformis denilen ven ağını yaparlar.

Testis içi küçük venler, testis yüzeyel venlerine ve rete testis'de hilus venlerine açılırlar. Testis ve epididimiden çıkan venler, ductus deferens'in başlangıcında a. testicularis çevresinde 8- 12 venden oluşan bir ağ yaparlar. Bu ven ağına plexus pampiniformis denir. Pampiniform pleksustaki damarsı yapı bazı alanlarda sadece damar duvarlarının kalınlığıyla ayrılan karşılıklı akan arter ve venlerle, ısının ve küçük moleküllerin değişimini kolaylaştırır.³⁶ Testosteron yoğunluğu derecesine göre pasif difüzyonla venden artere taşınır.⁴¹ Pampiniform pleksus, epididimis ve skrotal duvarın akışını sağlayan kremasterik pleksus ve yerel ven sistemi arasında, skrotum ve inguinal kanal düzeyinde birbirleriyle anastomozlar yaparlar; Pleksuslar tekrar kendi aralarında birleşerek venleri oluştururlar.³⁵

Testisin damarları, funikulus spermaticus'u yapan damarlar grubundandır. Lenf akışı lenf damarlarıyla olur. Damarlar canalis inguinalis'ten geçer ve L1-L2 vertebralar düzeyinde doğrudan aorta çevresindeki nodi aortici laterales ve nodi preaortici'ye katılmak üzere karın duvarında yukarı doğru ilerlerler.³⁰

Testisler otonom sinirlerle sinirlendirilirler. Sempatik ve parasempatik lifler pl. testicularis'i oluştururlar. Plexus testicularis'e ait sinirler a.testicularis ve a.ductus deferentis'ler duvarında testis'e ulaşır. Sempatik lifler medulla spinalis'in T10-T12 segmentlerinden, parasempatik lifler 10. kafaçıfti n. vagus'tan gelir.⁴³

Testislerin her biri 4-5 cm uzunluğa, 2-3 cm enine ve 2-3 cm kalınlığa, 10-15 g ağırlığa sahiptir. Bir testisin iki kenarı (margo anterior ve posterior), iki yüzü (facies lateralis ve medialis) ve iki ucu (extremitas superior ve inferior) bulunur. Üst ucu ve arka kenarı dışında kalan kısmı serbesttir.^{3, 29, 42, 43}

Testis, üç örtü ile sarılmış testis parankimi (parenchyma testis)'nden yapıldır. Örtüler dıştan içe doğru epiorchium, tunica albuginea ve tunica vasculosa'dır.

Epiorchium, testis'in inişi sırasında önüne katarak sürüklediği parietal peritondan oluşan saccus vaginalis'in visseral yaprağıdır.

Epididymium'un altında beyaz-mavi renkli, kalın bir fibröz bağ dokudan örtü olan tunica albuginea yer alır. Tunica albuginea, testis'in arka kenarından testis dokusu içine mediastinum testis (Corpus Higmorei; Nathanael Higmore İngiliz cerrahı, 1613-1685) olarak adlandırılan vertikal bir yarım bölme gönderir. Daha sonra mediastinum testis'in ön ve yan bölümlerinden çıkarak, tunica albuginea'nın iç yüzüne uzanan birçok fibröz bölme (septula testis), testis'i piramidal şekilli 250-300 lobçuğa (lobuli testis) ayırır.^{29, 43}

Tunica albuginea'nın altında, testis parankimine değen örtüye tunica vasculosa denir. Bu örtü kan damarları ve gevşek bağ dokudan yapılı olup, tunica albuginea'nın iç yüzü ile septula testisleri sarar.⁴³

Epididymis (epididymis, erbeziüstü), (Gr. epi = üst, didymis = ikiz, testis), her bir testisin arka kenarına yarımay şeklinde abanmış iki küçük organdır. Üst kısmı daha kalındır; aşağıya doğru incelik. Epididymisin üç parçası vardır: Baş (caput epididymidis), gövde (corpus epididymidis) ve kuyruk (cauda epididymidis). Epididymis ortalama 5-6 m uzunlukta yumak yapmış (ductus epididymidis) bir borudur.⁴³ Epididymisin baş kısmında bu boruya, testisten çıkan 12-15 ductuli efferentes testis açılır. Boru kıvrımları arasını gevşek bağ doku doldurur. Duvarı yalancı çok katlı yüksek prizmatik epitel hücreleri (epithelium pseudostratificatum) ile bunlar arasına serpilmiş kısa bazal hücrelerle döşelidir.² Epitel katın altında bağ doku (tunica adventita) ve bunun içinde düz kas hücreleri (tunica fibromuscularis) bulunur. Epididymisin baş kısmı testisin üst ucuna dayanır. Gövde, testisin arka kenarı, kuyruk ise alt uç üzerindedir. Testiste üretilen spermiumlar baş ve gövde kısmında olgunlaşırlar ve depo

edilirler. Boşalma sırasında kuyruk parçasından ductus deferens'e geçirilirler.²⁹

Ductus deferens, epididimisin alt ucundan, ductus epididymidis'in devamı olarak başlar; testise ait damar ve sinirlerle birlikte uzanır. Sağ ve solda yerleşik iki borudur. Ductus deferens 2-4 mm çaplı, 40-50 cm uzunlukta, geniş lümenli ve kalın duvarlı bir kanaldır. Epididimisin kuyruk parçasından başlayan ductus deferens, kasık bölgesinde inguinal kanaldan (canalis inguinalis) geçerek pelvis boşluğuna (cavitas pelvis) girer. Bu boşluktaki parçasına pars pelvica denir. Ductus deferens, vesicula seminalis'in kanalı ductus excretorius ile birleştikten sonra ductus ejaculatorius adını alır.^{29, 32, 33}

2.3. Testislerin Histolojisi

Erkek genital sistemi; haploid erkek cins hücreleri olan spermiumların sürekli üretimi, beslenmesi ve geçici olarak depolanması, taşınması, erkek seks hormonları olan androjenlerin sentezi ve salgılanmasıyla yükümlüdür.²⁸

Erkek genital sistemi; spermiumları üreten, sentezleyen ve androjenleri salgılayan testislerden, spermiumların taşınmasıyla yükümlü olan dış boşaltım sistemini oluşturan epididimis, vas deferens, ejakülatuar kanal ve erkek uretrasının bir parçasından, eklenti bezleri (vesicula seminalis, prostata ve gl. Bulbo-urethralis) ve erektil dokudan yapılmış penisten oluşur.^{26, 45, 3, 46, 47}

Testisler, birleşik tubüler, ekzokrin ve endokrin salgı yapan bir çift bezdir. Testislerin ekzokrin salgısı erkek cins hücreleri olan spermiumlardır. Endokrin salgısı ise Leydig hücrelerince üretilen testosterondur.^{2, 3}

Testisler skrotum denilen deri torba içinde funikulus spermatikus ile asılı duran birbirinden bir septum ile ayrılmış oval biçimli bir çift organdır. Testis'in ön kenarı ile yan yüzleri periton kökenli, çift yapraklı seröz bir zar, tunika vaginalis (tunica vaginalis) ile örtülüdür. Testislerin arka yüzeyinde tunika vaginalis yoktur. Testis en dışta tunika vaginalis'in visseral yaprağı olan tunika albuginea denilen kalın, sıkı, düzensiz fibröz bağ dokudan yapılmış kapsülle sarılıdır. Burada kollajen lif demetleri uzunlamasına, enine ve çapraz uzanan katlar yaparlar. Tunika

albuginea' nın derin kısmı kan damarlarından zengin ve daha gevşek yapıdadır. Buraya tunika vaskuloza (tunica vasculosa) denir. Tunika albuginea, testisin arka kenarında, organın parankiması içerisine sokulan üçgen biçiminde bir kalınlaşma yapar. Buna mediastinum testis denir. Kan damarları, sinirler ve lenfatik damarlar testise bu bölgeden girer ve organı, yine bu bölgeden terk ederler.^{27, 28, 2, 44, 45, 3, 48}

Tunika albugineadan ayrılan ince, fibröz bağ dokudan bölmeler (septa) mediastinuma doğru uzanarak testisi, sayıları 200- 300 arasında değişen piramidal lobüllere ayırırlar. Lobüllerin tabanları testisin dış yüzüne, tepeleri ise mediastinum testise bakar. Her bir lobül içinde bir ya da dört kadar kör uçla başlayan kıvrıntılı seminifer tubüller (tubuli seminiferi convolutus) bulunur. Bu tubüller periferik olarak şişkince uçlarla başlarlar, mediastinum'a doğru birbirlerine yaklaşarak uzanırlar. Sonuçta bu lopçuğun kanalcıkları birbirleriyle birleşip mediastinuma açılan kısa bir boşaltım kanalı tubülü rekti' yi (tubulus seminifer rectus) yaparlar. Bunlar da rete testis (testis ağı) denilen kanallara açılırlar. Mediastinum bağ dokusunda bulunan rete testis, 10 - 20 kadar duktus efferentes (ductulus efferens) ile epididimis' in baş kısmına bağlanmıştır.²

2.3.1. Seminifer Tubüller

Spermiyumların üretildiği yerler olan seminifer tubüller karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşeli olup, yaklaşık 30 – 70 cm uzunluğunda, 150 – 200 mikrometre genişliğinde, iki ucu U şeklinde olan çok kıvrıntılı kanallardır. Her testiste yaklaşık 250 - 1000 seminifer tubül bulunur. Bir testisteki tubüllerin toplam uzunluğu yaklaşık 250 metredir.²

44, 45

Seminifer tubüller (tubulus seminifer convolutus) fibröz bağ dokudan kılıf, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir germinal ya da seminifer epitelden (epithelium spermatogenicum) oluşur. Seminifer tubülü saran fibröz bağ dokudan kılıf (tunica propria – lamina limitans) birkaç fibroblast katmanından oluşur. Bazal laminaya yapışık olan en içteki katman, (stratum myoiddeum) düz kas özellikleri de gösteren 3 – 5 sıra yassılaştırmış miyoid hücreler (miyofibroblastus) içerir. Bunun dışı fibröz bağ doku (stratum fibrosum) yapısındadır. Miyoid hücreler hareketsiz olan spermiyumları, rete testise ileten ritmik kasılma devinimleriyle yükümlüdür. Spermiyumlar, epididimal kanal (ductus epididymidis) sonrasında ileri hareketlilik özelliği kazanırlar.

Seminifer tubüller arasında intersitisyel doku (interstitium testis) bulunur. İnterstitiyel bağ doku ince kollajen ve retiküler lifler, mast hücreleri, kan damarları, lenfatik damarlar ya da sinüzoidler, makrofajlar, histiyositler ve hormon üreten Leydig hücre grupları tarafından doldurulmuştur.^{2, 44, 45}

Seminifer tubül ortada bir lümen çevresinde iki belirgin hücre topluluğundan oluşan seminifer epitel ile döşelidir: (1) Sertoli hücreleri (Epitheliocytus sustentans) ve (2) spermatogenik hücreler (cellulae spermatogenicae) (spermatogonyumlar, spermatositler ve spermatidler).^{2,}

45

2.3.2. Sertoli Hücreleri (Epitheliocytus sustentans)

Sertoli hücreleri (Enrico Sertoli, İtalya'lı fizyolog, 1842-1910) testislerin işlevi açısından çok önemlidir. Bunlar spermatogenik serideki hücreleri saran uzantıları olan uzamış piramidal şekilli hücrelerdir. Sertoli hücrelerinin tabanları bazal laminaya oturur, apikal uçları ise sıklıkla seminifer tubülün lümenine uzanır. Işık mikroskopunda, spermatogenik seri hücrelerini çevreleyen çok sayıda yan uzantı nedeniyle, Sertoli hücrelerinin sınırları iyi belirlenemez. Sertoli hücreleri puberteye değin seminifer epitelde çok sayıda bulunurlar. Puberteden sonra, seminifer tubülleri döşeyen hücrelerin yaklaşık % 10' unu oluşturur. Daha ileri yaştaki erkeklerde spermatogenik hücre topluluğu azaldığında, Sertoli hücreleri yeniden epitelin ana ögesi haline gelir.^{27, 28, 2, 44, 45}

Sertoli hücrelerinde çekirdek kromatinden yoksun olduğundan açık renkli, iri, üçgen ya da yuvarlak şekilli olup bazalde yerleşiktir. Çekirdekçik iridir. Elektron mikroskopta sitoplazmanın bol granülsüz endoplazmik retikulum sarnıçları, az granüllü endoplazmik retikulum tubulusları, iyi gelişmiş Golgi kompleksi, çok sayıda mitokondriyonlar, lizozomlar ile lipid damlacıkları içerdiği görülür. Sertoli hücrelerinin çekirdeklerinin çevresi 7-9 nm'lik fibröz yapılarla (vimentin, aktin, mikrotübüller) kuşatılmıştır. Zengin bir hücre iskeleti içerir. Sitoplazmalarında ayrıca işlevleri henüz bilinmeyen Charcot-Bottcher kristaloidleri denilen inklüzyon cisimcikleri vardır.^{26, 27, 28, 2, 44, 45, 49}

Sertoli hücrelerinin sitoplazması germ hücrelerini sarar ve bunların arasındaki boşlukları doldururlar.⁵¹

Yan yana bulunan Sertoli hücrelerinin yan yüzleri arasında sıkı bağlantı birimleri (junctio intercellularis complex) bulunur. Bunlar kan-testis bariyerini oluştururlar. Böylece seminifer tubüller, tabana (bazal) ve lumene yakın (adluminal) olarak iki bölüme ayrılır. Bazal bölüm, spermatogonyumların bulunduğu bölgeyi kapsar. Adluminal bölümde spermatozoidler, spermatidler ve spermatozoidler bulunur. Bu bağlantı birimleri seminifer tubülde bazal bölgede Sertoli hücreleri arasında yerleşerek kandaki materyallerin denetimli geçmesine olanak verirler. Spermatogenez sırasında, spermatogonyumların bölünmesi sonucu oluşan hücreler bu bağlantı noktalarından geçerek, bariyerin üzerinde yer alan adluminal bölgeye ulaşırlar. Spermatozoidler ve spermatidler, bariyerin üzerinde, Sertoli hücrelerinin yan ve üst kenarlarındaki derin girintilerde yerleşmişlerdir. Spermatidlerin kuyrukları geliştikçe, bunlar Sertoli hücrelerinin üst uçlarından çıkan saçaklar halinde görülürler. Sertoli hücreleri arasında nekzusalarda bulunur. Bunlar hücreler arasında iyonik ve kimyasal alışverişi sağlarlar. ^{27, 2, 44, 3, 46}

Sertoli hücrelerinin çeşitli işlevleri vardır;

1. Gelişmekte olan spermatozoidlerin desteklenmesi, korunması ve beslenmesi: Spermatogenez seri hücreleri birbirlerine sitoplazmik köprülerle bağlanmışlardır. Bu hücre ağı, Sertoli hücrelerinin yaygın sitoplazmik dallanmaları ile fiziksel olarak desteklenir. Spermatozoidler, spermatidler ve spermatozoidler kan-testis bariyeri ile kan akımından izole edildiği için, bu spermatogenez hücreleri besin maddelerinin ve metabolitlerin alınıp verilmesinde Sertoli hücrelerine gereksinim duyarlar. Sertoli hücre bariyeri gelişen spermatozoidleri zararlı etkenlere karşı korur.

2. Fagositoz: Spermiyogenezis sırasında arta kalan spermatid sitoplazma artıkları Sertoli hücrelerince fagosite edilir.

3. Salgılama: Sertoli hücreleri sürekli olarak seminifer tubüllere genital kanallar yönünde akan ve spermlerin taşınması için kullanılan bir sıvı salgılar. Androjen-bağlayıcı protein üretimi Sertoli hücrelerince Folikül Uyarıcı Hormon (FSH) ve testosteron denetimi altında gerçekleştirilir ve seminifer tubül içinde spermatogenezis için gerekli olan testosteronun yoğunlaştırılmasını sağlar. Testosteronun yerel olarak yüksek yoğunlukta kalması; spermiyum üretiminde uzun süre koruyucu olarak işlev görür. Sertoli hücreleri testosteronu östradiole dönüştürebilir. Bu hücreler aynı zamanda, hipofiz bezi ön lobundan FSH sentezini ve salınmasını önleyen inhibin denilen bir peptid salgılar.

4. Anti-Müllerian hormon üretimi: Müller kanalını baskılayıcı hormon embriyonik gelişim aşamasında erkek fetusta Müller (Johannes, Müller, Alman fizyoloji profesörü, 1801-1858) (paramezonefrik) kanallarının gerilemesini sağlayan glukoprotein yapıda bir hormondur. Testosteron ise Wolf (Kapsar Frederich Wolff, Alman anatomisti ve embryoloğu, 1733-1794) (mezonefrik) kanallarından köken alan yapıların gelişmesini sağlar. Sertoli hücreleri insanda ve diğer hayvanlarda üreme dönemi süresince bölünmezler. Enfeksiyon, kötü beslenme, X- ışınlarının etkisinde kalma gibi olumsuz koşullara karşı oldukça dayanıklı hücrelerdir ve bu zararlı etkilere maruz kaldıklarında canlı kalma oranları spermatogenik seri hücrelerine karşın çok daha yüksektir. Memelilerde spermiyumlar, büyük olasılıkla, Sertoli hücrelerinin üst sitoplazmasında bulunan mikrotübüler ve mikrofilamanların katılımıyla, hücre sel hareketler sonucu salınırlar.

5. Kan -testis bariyeri: Seminifer tubüllerin iç kısmıyla kan arasında bir engelin bulunması, testiküler sıvıda kandan gelen çok az madde bulunmasına yol açar. Testiküler kapillerler pencere tiptedir ve

büyük moleküllerin geçişine olanak verirler. Kan-testis bariyerinde engelleyici bağlantılar, bir önleç (Fr. barriere) oluşturarak büyük moleküllerin seminifer tüp içine taşınmasını engeller. Böylece, spermatogenezisin daha ileri aşamalarındaki germ hücreleri, kandaki zararlı maddelere karşı korunmuş olur.^{26, 27, 44, 49}

2.3.3. Spermatogenik Hücreler:

Spermatogenik hücreler seminifer tüplerin duvarını döşeyen ve epitel katta çoğunluğu oluşturan hücrelerdir. Olgun spermium oluşuncaya değin spermatogenezisin tüm evreleri spermatogenik hücre katmanlarında geçer. Hücreler olgunlaştıkça kenardan lümene doğru yer değiştirirler. Bazal laminanın, hemen üzerinde yerleşik hücreler spermatogonyumlardır. Bunlardan lümene yaklaştıkça sırasıyla primer spermatosit (spermatocytus primarius, spermatosit I), sekonder spermatosit (spermatocytus secundarius, sekonder spermatosit II) ve spermatidler (spermatidium) oluşur. Olgun spermiumlar lümeninde yer alır.²

3

Spermatogenezis; erkek cins hücrelerinin oluşması, sayılarının artması ve olgun spermiumlara dönüşmesi sürecidir.⁵¹

Testiste spermatogenezis hipofiz bezi ön lobundan salınan FSH (Folikül Uyaran Hormon) tarafından denetlenir. Leydig hücre işlevide yine hipofizden salgılanan LH (Lüteinleştirici Hormon) tarafından kontrol edilmektedir.² Pubertede başlayan spermium üretimi, yaklaşık 45 yaşına değin aktif olarak ve 45 yaşından sonra, azalarak da olsa tüm yaşam

boyunca sürer.⁴⁸ Bir testiste günlük ortalama 50-150 milyon spermiyum üretilir. Olgunlaşma ise insanlarda 70 günlük süreçte tamamlanır.

Spermatogenetik hücrelerin olgunlaşma süreci; spermatogonial evre (spermatogenezis), mayoz bölünme (spermatosit) evresi ve spermatid evresi (spermiyogenezis) olarak üç evrede olur.⁴⁸

1.Spermatogonial Evre (Spermatositogenezis): (Yun. Spermiyuma; tohum + kytos; hücre + genesis; üretim)⁴⁴ Seminifer epitelde, bazal membran üzerinde bulunan ve diploid kromozom kapsayan spermatogonyumlar mitoz bölünme ile birkaç kez bölünerek primer spermatositleri oluştururlar.

2.Spermatosit Evresi (Mayoz bölünme) : Primer spermatositler I mayoz bölünmeyle sekonder spermatositleri oluştururlar. Sekonder spermatositlerde II mayoz bölünmeyle kromozom sayılarını ve DNA'larını indirgerler ve haploid hücreler olan seprmatidleri yaparlar.

3.Spermatid Evresi (Spermiyogenezis): Spermatidler olgun spermiyumlara dönüşürler.²⁸

2.3.4. Spermatogonyum

Spermatogonyumlar bazal kompartmanda doğrudan bazal lamina üzerine oturan diploid hücrelerdir. Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantıların altında yer alırlar. Bu nedenle, kan-testis bariyerinin dışında yer alırlar. Spermatogonyumlar spermatogonyal kök hücreden köken alırlar ve puberteden başlayarak mitoz bölünmeler geçirirler.

Spermatogonyumların yapısal olarak üç tipi ayırd edilir: Koyu A tipi, Açık A tipi ve Tip B

1. Koyu A tipi spermatogonyumlar: Kaynak hücrelerdir ve gereğinde açık A tipi spermatogonyumları oluştururlar.⁴⁹ Küçük, 12 µm çapında, yuvarlak şekilli hücrelerdir.²⁷ Oval heterokromatik bir çekirdek içerirler.²⁸

2. Açık A tipi spermatogonyumlar: Yuvarlak şekilli, ökromatik çekirdekli hücrelerdir. Açık hücrelerin mitozla bölünmesiyle B tipi spermatogonyumlar oluşur.⁴⁹

3. B tipi spermatogonyumlar: Çekirdek yuvarlak ve merkezi yerleşimlidir. Kromatin çekirdek zarı altında yoğunlaşmıştır. Çekirdekcik belirgindir.²⁸ B tipi spermatogonyumlar mitozla çoğalarak primer spermatositleri (Spermatosit I) oluştururlar.^{2, 52}

Tip A spermatogonyumların bölünmesiyle ortaya çıkan hücreler, bu hücrelerden biri B tipi spermatogonyuma dönüşene dek ayrı kalır. Bundan sonra, bu hücrelerin bölünmesiyle oluşan hücreler tamamen ayrılmaz ve sitoplazmik köprülerle birbirine bağlı kalırlar. Hücreler arasındaki köprüler, tek bir spermatogonyumdan oluşan primer, sekonder spermatositler ve spermatid arasında ilişkiyi sağlar. Bu köprüler, hücreden hücreye bilgi aktarımına olanak tanıyarak spermatogenezisdeki olaylar zincirinin ilişkilerinde önemli bir rol oynar. Spermatogenezis süreci tamamlandığında sitoplazma ve sitoplazmik köprülerin artık cisimcikler olarak atılmasıyla olgun spermatidler arasında bir ayrılma olur.⁴⁴

2.3.5. Spermatozidler

B tipi spermatogonyumlar mitoz bölünmeler sonrası son S fazını (DNA sentezini) tamamladıklarında I mayoz bölünmenin profaz aşamasına girerler. Primer spermatozid 4N DNA'ya sahiptir ve 1n hücre başına yaklaşık 1.5 pg DNA'ya eşdeğerdir.

Spermatozidler iki mayoz bölünme geçirirler ve Sertoli hücreleri arasındaki sıkı bağlantı birimlerinin hemen üzerinde, seminifer tubülün adluminal bölgesinde yer alırlar. Bu nedenle mayoz hücre bölünmeleri kan-testis bariyerinin içinde gerçekleşir.

Bir primer spermatozid birinci mayoz bölünmeye girerek iki adet sekonder spermatozid oluştururlar. Sekonder spermatozidler çok hızlı bir şekilde interfaz aşaması ve belirgin bir DNA sentezi olmayan ikinci mayoz bölünmeye girerek her biri iki adet spermatid oluştururlar. Bunlarda spermiyogenezis sonucu olgun spermium halini alırlar.

Birinci mayoz bölünmenin sonunda, primer spermatozidin 4n DNA miktarı sekonder spermatozitte 2n'e düşer. İkinci mayoz bölünmenin sonunda oluşan spermatidlerin DNA kapsamı 1n'dir. Spermatidler haploid sayıda kromozom içerirler ve spermiyogenezis süreci başlar.

Birinci mayoz bölünme uzun sürer. İkinci mayoz bölünme ise çok kısadır. Bu nedenle primer spermatozidler seminifer tubüllerde en çok gözlemlenen hücrelerdir.

2.3.6. Mayoz Bölünme

Tip B spermatogonyumların en son mitotik bölünmesinin ardından, oluşan, hücreler DNA sentezlerler (S fazı), G2 fazına ilerlerler ve 4n DNA içerikleri ile birinci mayoz bölünmeye başlarlar. Birinci mayoz bölünme uzun bir profaz evresi ile özelleşmiştir.

Birinci mayoz bölünmenin profaz dönemi; leptoten, zigoten, pakiten, diploten ve diyakinez evrelerini kapsar.

Bir alt evrelerde dört esas olay gözlemlenir:

1. Zigoten – pakiten evresinde homolog kromozomların (otozomal ve seks kromozomları X veY) eşleşmesini ya da sinapsını kolaylaştıran sinaptonemal birleşke oluşur.

2. Homolog kromozomların eşleşmesi (sinapsis) gerçekleşir,

3. Homolog kromozomların kardeş olmayan kromatidleri arasında genetik bilgi değişimi (kros over) olur,

4. Eşleşmiş homolog kromozomlarının ayrılması.

Profaz evresini izleyerek çekirdek zarı ortadan kalkar ve homolog kromozomlar, metafaz(ekvatoryal düzleme dizilirler), anafaz (kutuplara çekilen ve birbirinden ayrılan iki kromatidli kromozomlar) ve telofaz evrelerinden geçer ve haploid sayıda kromozom içeren sekonder

spermatositleri oluştururlar. Her bir sekonder spermatosit 22 otozomal ve X yada Y kromozomlarına sahiptir.

İkinci mayoz bölünme sırasında, kardeş kromatidler birbirinden ayrılırlar ve spermatidler oluşur.^{27, 28, 45}

2.3.7. Spermatidler

Haploid kromozom içeren spermatidler seminifer tubül (tubulus seminiferi volutus) lümenine yakın (adluminal) bölümde yerleşmişlerdir. Spermatidler Sertoli hücrelerinin sitoplazma girintileri içinde gömülüdürler.⁴⁵ Yuvarlak spermatidler yaklaşık 8 µm çapında haploid kromozom içeren hücrelerdir.³

Spermatidlerin çekirdekleri yuvarlaktır. Sitoplazmada çekirdeğe yakın yerleşimli iki sentriyol (diplosoma) ve Golgi kompleksi (complexus Golgiensis) (Camillo Golgi İtalya'lı anatomist, 1844-1926) bulunur. Çekirdeğin üst kutbunda kenarları koyu boyanan irice yuvarlak bir vezikül (idiosoma) dikkat çeker. Bu veziküle ön akrozomal vezikül (Vesicula proacrosomatica) denir. Spermatidler bölünmezler, her biri özel değişimle spermiyum şeklini alırlar. Spermatid'in olgun spermiyum'a değişmesi olayına spermiyogenezis denir.² Spermiyogenez, spermatogenezisin son aşamasıdır.⁴⁵

Spermiyogenezis üç aşamada olaylanır:

1. Golgi evresi: Spermatitlerin sitoplazmalarında granüllü endoplazmik retikulumda üretilen hidrolitik enzimler, Golgi kompleksine gelir. Proakrozomal granüller olarak adlandırılan küçük PAS (+) granüller Golgi kompleksinde birikir ve daha sonra birleşerek membranla sınırlı bir akrozomal vezikülün içinde yer alan tek bir akrozomal granülü oluştururlar. Sentriyoller akrozomun karşı tarafına göç ederek hücre yüzeyine yakın bir konuma gelirler. Filajellar aksonem oluşmaya başlar, sentriyoller yeniden çekirdeğe doğru göç ederken hareket ettikçe aksonemal bileşenleri çevresine sarar.

2. Akrozomal evre: Akrozomal vezikül ve granül, yoğunlaşan çekirdeğin ön yarısını kaplayacak şekilde yayılır ve akrozom adını alır. Akrozom , hiyalüronidaz, nöraminidaz, asit fosfataz ve etkisi tripsine benzer bir proteaz gibi bazı hidrolitik enzimler içerir. Akrozom bu nedenle lizozomların özelleşmiş bir tipi olarak işlev görür. Bu enzimler zona pellusidanın sindirmesinde yardımcıdır. Spermiyumlar bir oosite karşılaştıklarında, akrozomun dış membranı birçok bölgede spermium plazma membranı ile kaynaşarak akrozomal enzimlerin hücre dışına boşalmasını sağlar. Bu akrozomal tepkime (reaksiyon) olarak adlandırılır ve döllenmenin ilk aşamalarından biridir.

Spermiyogenezisin bu evresinde spermatid, seminifer tubülün tabanına doğru yönelir ve aksonem lümene doğru uzanır. Çekirdek bu sırada uzar ve daha yoğunlaşır. Aynı süreçte sentriyollerden bir tanesi gelişerek filajellumu yapar. Mitokondriyonlar filajellumun başlangıç bölgesi çevresinde toplanarak orta parça adı verilen kalınlaşmış bölgeyi oluşturur. Bu bölge, spermium hareketlerinin enerji kaynağıdır.

Filajellum hareketi, mikrotübüller, ATP ve dinein denilen ATPaz erkine sahip bir proteinin etkileşmesi sonucunda oluşur.⁴⁴

3. Olgunlaşma (Maturasyon) Evresi: Spermiyum olgunlaşıp kuyruklu hale gelince olgunlaşma sürecini tamamladığı Sertoli hücrelerinden ayrılır ve tüp lümenine atılır. Bu olaya spermiyasyon denir. Lümene atılan spermiyum henüz döllenme yeteneğine sahip değildir. Fertilizasyon için gereken olgunlaşma ve hareket erki epididimiste gerçekleşir. 54 spermiyogenez sırasında geri kalan sitoplazma artıkları Sertoli hücrelerince fagosite edilir. Toplam spermatogenez süresi 61-64 gündür.²

2.3.8. Olgun sperm (spermiyum)

Spermiyum ortalama 60 mikron uzunluğundadır. Baş, gövde ve kuyruk bölümlerinden oluşur. Baş bir bağlantı parçası ile kuyruğa tutunmuştur. Kuyruk orta, esas ve son parçalardan oluşmuştur.

Baş (caput): Akrozomla sarılı (acrosoma) çekirdeği kapsar.⁴⁵ DNA ve haploid kromozomları içerir.2 Akrozomal başlık çekirdeğin önünde yerleşik olup baş kısmının yaklaşık 2\3 ünü yapar.⁴⁸ Çekirdek yassılaştırılmış yoğun bir yapıdır. Çekirdeğin ön yarısını akrozom örter. Akrozom hidrolitik enzimler (proteazlar, asit fosfatazlar, hiyaluronidaz ve yanı sıra nöraminidaz) içerir.

Akrozomal enzimler, oositi (ovocytus) saran korona radiata'yı ve zona pellusida'yı delerek spermiyum girişini kolaylaştırmak için, döllenme anında salınırlar.⁴⁵

Baş boyun denilen bağlantı parçasıyla kuyruğa bağlanır.

Kuyruk: (flagellum) 50-55 µm uzunluğundadır.⁴⁸ İlk parçası filajelluma bağlayan kısımdır (pars conjugens). Orta parça (pars intermedia) ise sarmal olarak dizilmiş mitokondriyonların oluşturduğu bölümdür, 9+2 mikrotübüler aksonem (axonema, flamentum axiale) ve dış yoğun lifler adı verilen spermiumun boynundaki bağlantı parçasından kuyruk boyunca uzanan, uzamına seyreden dokuz kolonlardan oluşur. Orta parçanın alt sınırı mitokondriyal sarmalın annulus'ta sonlanmasıyla belirgindir.⁴⁵

Esas parça (pars principalis): Kuyruğun en uzun parçasıdır. Yedi dış yoğun lifçe sarılı (orta parçadaki dokuz liften farklı) merkezi aksonem (axonoma) ve bir fibröz kılıftan oluşur.

Fibröz kılıf, eş uzaklıktaki uzamına kolonlardan çıkan dairesel iskelet tarafından oluşturulur. Hem dış yoğun lifler, hem de fibröz kılıf, spermiumun öne hareketi sırasında mikrotübüler kayma ve kıvrılma için sağlam bir iskelet oluşturan proteinler olan keratin içerir.

Son parça (Pars terminalis): Dış yoğun lifler ve fibröz kılıfın erken sonlanması nedeniyle, sadece aksonem bulunan kuyruğun çok kısa bir parçasıdır.⁴⁵

Erkek genital boşaltım yolları, tubuli rekti, rete testis, duktuli efferentes, ductus epididimis, ductus deferens, ductus ejakulatoryus (ductus ejaculatorius) ve üretradan oluşur.^{2, 46}

2.3.9. İnterstisyel Doku ve Leydig Hücreleri

Testisin interstisyel dokusu, androjen üretimiyle önemlidir. Testislerde seminifer tubüller arasındaki boşluklar bağ dokusu, sinirler, kan ve lenf damarlarıyla doldurulmuştur.⁵² Testiküler kapillerler pencerelidir ve kan proteinleri gibi büyük moleküllerin geçişine olanak verirler. Bağ dokusunda fibroblastlar, farklılaşmamış hücreler, mast hücreleri ve makrofajlar bulunur. Ergenlikte (puberte) bir hücre tipi daha işlevsel olarak belirgin hale gelir. Bu hücreler, testisin interstisyel ya da Leydig hücreleridir (Endocrinocytus intersititialis).⁴⁴ İlk kez, Franz Leydig tarafından (Alman anatomi ve zooloji profesörü, 1821-1908) memeli testislerinde gösterilmiştir. Toplam testis hacminin %35'ni interstisyel doku, %12'sini Leydig hücreleri oluşturur. Leydig hücreleri endokrin işlevi olan ve testosteron hormonu salgılayan hücrelerdir. Mezenşimden köken alırlar. Leydig hücreleri yuvarlak ya da poligonal şekilli 15-20 mikrometre çapındadır. Çekirdek hücre ortasında yerleşiktir. Leydig hücreleri steroid salgı yapan hücrelerin genel yapı özelliklerini gösterirler. Çekirdek ökromatiktir. Bir ya da iki çekirdekçik içerir. Sitoplazma eozinofilik boyanır, taze materyallerde kuvvetli ışık kırıcı granüllerle doludur. Granüller nötral yağ ve lipitlerden (kolesterol, fosfatid) zengindir.

Leydig hücreleri ikincil (sekonder) seks karakterinin gelişmesinden sorumlu testosteron hormonunu salgırlar. Testosteron sentezi için gerekli olan enzimlerin interstisyel hücrede bulunduğu histokimyasal yöntemlerle gösterilmiştir. Bu enzimler mitokondriyonlarda bulunur. Leydig hücre sitoplazmasında ayrıca büyük çomak şeklinde protein yapısında Reinke kristalloidleri (crystalloideum) vardır. İntersitisyel hücreler C vitamininden zengindir. Yaş ilerledikçe artan lipofuksin pigmenti

içerirler. Sitoplazma granülsüz endoplazmik retikulum'dan çok zengindir. Mitokondriyonların kristaları tubüler tiptir. Golgi kompleksi gelişkindir.^{27, 2, 3}

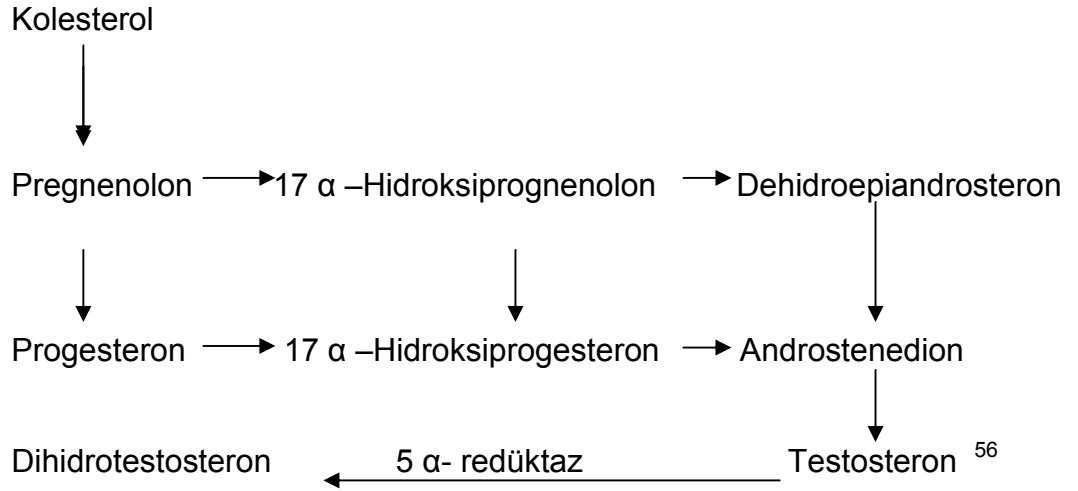
2.4. Testislerin Fizyolojisi

Testislerin önemli iki işlevi vardır.

1- Spermiumları oluşturmak (spermatogenezis)

2- Erkek steroid hormonlarını salgılamak (steroidogenezis)⁵⁴

3- Testislerin esas hormonu olan testosteron 17.karbonda bir –OH grubu taşıyan, 19 karbonlu bir steroiddir. Leydig hücrelerinde kolesterolden sentezlenen testosteron, ayrıca, böbreküstü bezi korteksinden salgılanan androstenediondan da oluşturulur. Steroid hormonları üreten tüm endokrin organlardaki biyosentetik yollar birbirinin benzeridir. Organlar, sadece içerdikleri enzim sistemleriyle farklılık gösterirler. Leydig hücrelerinde, böbreküstü bezi korteksinde bulunan 11- ve 21- hidroksilazlar yoktur, 17 α hidroksilaz ise vardır. Bu nedenle, pregnenolon 17. karbondan hidroksillenir ve daha sonra, dihidroepiandrosteronu oluşturmak için yan zincir ayrılmasına etkin kalır. Androstenedion, aynı zamanda progesteron ve 17- hidroksiprogesteron üzerinden de oluşur. Dihidroepiandrosteron ve androstenedion, daha sonra testosterona dönüştürülür. ⁵⁶



Testosteron salgısı Luteinize edici hormonun (LH'nın) denetimindedir. LH'nın Leydig hücrelerini uyarması cAMP yoluyla olur. cAMP, protein kinaz A'yı harekete geçirerek, kolesterol esterlerinden kolesterol yapımını ve kolesterolün pregnenolona dönüşümünü artırır. Kolesterolde pregnenolon sentezi mitokondriyonlarda olur; pregnenolon mitokondriyonları terk eder ve mikrozomal enzimler aracılığı ile progesterona çevrilir.⁵⁵

Plazmadaki testosteronun % 98'i proteine bağlıdır: %65'i gonadalsteroid- bağlayıcı globulin (GBG) ya da seks steroidi-bağlayıcı globulin olarak adlandırılan bir β- globuline, %33'ü ise albümine bağlıdır. GBG aynı zamanda, östradiölü de bağlar. Plazma testosteron düzeyi, erişkin erkeklerde, yaklaşık 525 ng/dl (18.2 nmol/L)'dir. Ancak değer yaşla birlikte biraz azalır.

Dolaşımdaki testosteronun küçük bir miktarı östrojene dönüştürülür. Ancak, testosteronun çoğu, başlıcaları androsteron ve bunun izomeri olan etikokolanolon olan 17-ketosteroidlere dönüştürülür ve

idrarla atılır. İdrardaki 17- kolesteroidlerin yaklaşık üçte ikisi böbreküstü bezi, üçte biri ise testis kaynaklıdır. 17-ketosteroidlerin çoğu, zayıf androjenler olmakla birlikte (testosteronun gücünün %20'sine ya da daha azına sahiptirler); tüm 17-ketosteroidlerin androjen ve tüm androjenlerin de 17-ketosteroid değildir.

Gelişme sırasındaki etkinliklerin yanı sıra testosteron ve diğer androjenler, hipofiz bezinin LH salgısı üzerinde inhibitör bir geri bildirim etkisi oluşturur; erkek ikincil cinsiyet özelliklerinin gelişmesini (kılınma dağılımı, vücut yapısı ve üreme organlarının boyutlarında oluşan değişiklik, erkeğe özgü ses) ve korunmasını sağlar; önemli bir protein-anabolik, büyümeyi-destekleyici etki gösterir; ve FSH ile birlikte, gametogenezisi sürdürür. Androjenler, vücutta kılınmayı artırırken saçlı deridekini azaltır ve androjen olmadıkça kalıtsal kellik genellikle gerçekleşmez.

Testosteron erkek üreme sistemi yardımcı bezlerinin işlevinde etkiler. Prostat ve seminal veziküller büyür, seminal veziküller fruktoz salgılamaya başlar. Fruktozun spermiyumların temel besin kaynağı olduğu düşünülmektedir.⁵⁶

Testosteron protein sentezini artırır, yıkımını azaltır; büyüme hızını etkiler. Kemik büyümesini sağlayan epifiz kısmının uzun kemiklere eklenmesini oluşturarak kemik büyümesini durdurur. Testosteronun esas etki yeri olan prostat ve diğer birkaç dokuda testosteron, 5 α -redüktaz enzimi aracılığı ile, dihidrotestosteron'a çevrilir. Bu dokularda esas hormon etkisini gösteren, testosterondan çok dihidrotestosterondur. Fötusta dış genital organlarının ve prostatın gelişmesi; ergenlik çağında sakal, bıyık

çıkması, alında saç çizgisinin geriye kayması gibi değişiklikler dihidrotestosteron tarafından oluşturulur. Ergenlik çağında penisin büyümesi, kas kütlesinin artması, karşı cinsle ilgili libido (seks isteği) doğrudan testosteron tarafından meydana getirilir.⁵⁵

Testosteron, diğer steroidler gibi hücre içindeki bir almaca (reseptör) bağlıdır. Almaç-steroid bileşiği, daha sonra, çekirdekteki DNA'ya bağlanarak, çeşitli genlerin transkripsiyonunu kolaylaştırır. Ayrıca, bazı hedef hücrelerde, 5 α -redüktaz aracılığı ile testosteron, dihidrotestosteron'a (DHT) dönüştürülür ve DHT, testosteronla, aynı hücre içi almaca bağlanır. DHT dolaşıma da geçer, plazma düzeyi testosteronunkinin yaklaşık % 10'u kadardır. Hedef hücrelerdeki testosteron- almaç karması, DHT-almaç karmasından daha az kararlı ve DNA'ya bağlanma konumuna dönüşümü daha başarısızdır. Yani, DHT oluşumu, testosteronun, hedef dokulardaki etkisini büyütmenin bir yoludur. İnsanda farklı genlerle kodlanan iki 5 α - redüktaz vardır. Tip1 5 α redüktaz, vücudun her yanındaki deride bulunur ve kafa derisindeki baskın enzimdir. Tip 2 5 α -redüktaz ise, genital deri, prostat ve genital dokularda bulunur.⁵⁶

Her iki cinste de seksüel işlevler hipotalamo-hipofizer sistemin denetimi altında olaylanır. Hipotalamik nöronların arkuat çekirdeklerinde yüksek yoğunlukta sentezlenen gonodotropin serbestleştirici hormon (GnRH), hipotalamik hipofizer portal kan yoluyla, hipofiz bezinin ön lobuna taşınır ve luteinize edici hormonun (LH) ve folikülleri uyaran hormonun (FSH) salgılanmasını uyarır. GnRH, 1-3 saatte birkaç dakika süreyle salgılanır. LH ve FSH hipofiz ön lobunda gonadotrop olarak adlandırılan hücrelerden salgılanırlar. Glikoprotein yapısında hormonlardır. LH ve FSH testislerdeki hedef dokular üzerinde siklik adenozin monofosfat ikinci haberci sistemini aktive ederler. Bu sistem

daha sonra hedef hücrelerdeki özgün enzim sistemlerinin olmasını sağlar. LH Leydig hücrelerinde kendisine ait reseptörlere bağlanarak etki gösterir. Her ne kadar Leydig hücreleri testisin genel oylumunda küçük bir yer tutsa da, steroidojenik erkleri çok yüksektir. Adenohipofizden LH salgısı sürekli değil, geceleri 90 dakikalık aralıklar halinde olur. LH dışında prolaktin ve LHRH da doğrudan Leydig hücrelerini etkileyerek testosteron salgılanmasını etkiler. Salgılanan testosteron miktarı uyarıcı LH miktarıyla doğru orantılıdır. Testosteronun miktarının yüksek olması negatif geri bildirim etkisi ile hipotalamus ve hipofiz ön lobu salgısını azaltarak testosteron sentezini baskılar ve hormon düzeyi normale getirilir. Buna karşıt olarak testosteronun çok az olması koşulunda hipotalamustan yüksek düzeyde GnRH salgılanır. Hipofiz ön lobundan LH ve FSH salgılanması artar ve testiküler testosteron salgısını yükseltir.^{26, 56, 57, 58}

Spermatogenezis, FSH'nin da testiküler hücreler üzerindeki etkisine bağlıdır. FSH'nin Sertoli hücrelerini etkileyerek adenilat siklaz yapımını uyardığı ve sonuçta cAMP'nin artışına yol açtığı ve aynı zamanda da androjen- bağlayıcı proteinin (ABP) sentez ve salgılanmasını sağladığı bilinmektedir. Bu protein testosteron ile bağlanır ve bunu seminifer tubüllerin lümenine taşır. Spermatogenezis testosteron ile uyarılır ve östrojenler ve progesteronlarla baskılanır.^{26, 44, 57}

Testislerin dış salgısı spermiyumdur. Günlük ortalama spermiyum yapımı iki testisten 200 milyon kadardır. Spermiyumlarla birlikte, seminal veziküller, prostat, Cowper bezleri ve olasılıkla da üretral bezlerin salgıları ejakülatı oluşturur. Ejakülat beyaz, opak bir sıvıdır. Semen pH'sı = 7.3 – 7.5 kadardır. Ejakülat hacmi, ortalama 2.5-3.5 mL'dir. Yüzde 60 kadarı seminal vezikülden gelir ve früktoz, fosforilkolin, ergotionein, askorbik asit, flavinler ve prostaglandinler içerir. Ayrıca fosfat

ve bikarbonat tamponlarını ve hiyaluronidaz taşır. Ejakulatin bir mililitresinde normalde yaklaşık 100 milyon spermiyum bulunur. Fruktoz spermiyumlar için enerji kaynağıdır. Ejakülasyondan sonra pıhtılaşan ejakulat, taşıdığı fibrinolizin ile yeniden sıvılaşır (fibrinolizis sonucu). Ejakulatin taşıdığı hiyaluronidaz, vaginanın müköz salgısını eriterek spermiyumların daha kolay hareket etmesini ve uterus boynundan geçmelerini sağlarlar. Spermiyum sayıları 20-40 milyon/mL olan erkeklerin %50 'si, 20 milyon/mL'nin altında olanların ise hemen tamamı kısırdır. ²⁶, 55, 56, 57

2. 5. Hipertermi

Tarihin ilk zamanlarından beri ateş önemli bir semptom olarak insanların dikkatini çekmiştir. Hipokrat (MÖ 360-407) ateşin önemini nabız hızına bağlayarak hastanın hissettiklerine göre varsayımlarda bulunmuştur. Romalı Celsus (MÖ 25- MS 50) vücut ısısının sıcak havalarda da yükselebileceğini belirtmiştir. Galen (MS 129-201) vücutta bulunan sıcak, soğuk, kuruluk ve nemden oluşan dört niteliğin oranının düzgün olmasıyla kişinin sağlıklı olacağına inanmıştır. On birinci yüzyılda İbni Sina (MS 980-1037) ilk ateşin kalpten başlayıp sinir, arter ve venlerle tüm bedene yayıldığını, bu yayılımının bedenin normal işlevini bozduğunu, oluşan hararetin de gazap ve yorgunluğa yol açtığını belirtmiş ateşi semptomatik ve patolojik olarak ayırmıştır.

1868 yılında Carl Wunderlich 25.000 kişide 1 milyon aksiler ısı ölçümü yaparak normal vücut ısısının üst sınırını 100.4° F (38°C) olarak tanımlamıştır.⁵⁸

Normal vücut ısısı kişilere göre farklılık gösterebilir. Sabahın erken saatlerinde 02-08 arasında en düşük, akşama doğru 16-21 arasında ise en yüksek düzeydedir. Çevre ısısı ya da egzersiz ile vücut ısısının artması sonucu vücut ısısı yükseldiğinde; deri ve derialtı kan dolaşımı artar, periferde vazodilatasyon oluşur. Terleme ve evaporasyon ile vücut ısısı sabit tutulmaya çalışılır. Çevre ısısı değiştiğinde ise üşüme hissi ile kaslar kasılır, periferde vazokonstriksiyon oluşur, periferik dolaşım azalır. Isı kaybı azalır ve organizma ısısı sabit tutulur. Organizmada vücut ısısını sabit tutan ve düzenlenimi sağlayan merkez, santral sinir sistemidir. Isı düzenlemesinde, santral sinir sistemi; hipotalamus ve limbik sistem ile

aşağı beyin sapı, medulla spinalis ve sempatik ganglionlara kadar birçok yapı görev alır. Bu yapılar arasında ön hipotalamus esas merkez işlevi yapar. Burası deri ve iç organlardan gelen ısı ile ilgili uyarıları değerlendirir. Vücuttan ısı yitimini artırarak ya da azaltarak, vücut ısısını sabit tutmaya çalışır.

Hipertermi vücut sıcaklığının 41°C ya da daha yüksek bir değere yükseldiğinde ortaya çıkan sıcak çarpmasına yol açabilen bir olgudur. Regülasyon bozukluğu sonucu gelişir. Denetlenmeyen ısı oluşumu, yetersiz ısı kaybı ya da bozuk ısı düzenlenimi vardır.⁵⁹ Hiperterminin patolojik sonuçlara neden olabileceği olgular ortam sıcaklığının yüksek düzeye ulaşması, ateşli hastalıklar, kanserli hastalarda tedavi amaçlı hipertermi uygulamaları ve erkeklerde kriptorşidizm şeklinde sıralanabilir.^{60, 61}

Hipertermik durumlar 3 esas başlıkta toplanabilir:

1. Isı Krampları: Genellikle karın kaslarında oluşan aşırı ağrılı kas spazmlarıdır. Vücuttaki her kas etkilenebilir. Aşırı terleme, elektrolit veya iyon (Na+, K+, Ca++, Mg+) kaybına yol açar. Bu dengesizlik kas kramp ve kasılmalara yol açabilir. Isı krampları uygun miktar su ve iyonun yerine konmasıyla önlenir.

2. Isı Baygınlığı: Isı baygınlığı ısıya aşırı etkin kalma sonucu gelişen hızlı fiziksel yorgunlukla ilgilidir. Genellikle sıcakta uzun süre ayakta kalma ya da sıcakta alışık olmadan egzersiz yapmayla oluşur. Periferik damarlarda vazodilatasyon, hipotansiyon ya da ekstremitelerde kan göllenmesi sonucu oluşur.

3. Isı Yorgunluğu: Terleme ile olan sıvı yitiminin uygun olmayan miktarda sıvı ile replasmanı sonucu oluşur.

4. Isı Çarpması: Yaşamı tehdit eden acil bir durumdur. Rektal ısının 106°F ya da daha fazla olmasıdır. Nabız 160-180 vuru/dak çıkabilir. Kusma, baş ağrısı, yorgunluk görülür. Kalıcı beyin hasarı oluşabilir.⁶²

37°C olan vücut içi sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda oluşan spermatogenezin düzenlenmesinde de ısı çok önemlidir. Testiküler ısı yaklaşık 35°C 'dir, bu birkaç mekanizma ile denetlenir. Zengin bir venöz pleksus (pampiniform pleksus) her bir testiküler arterin etrafını sarar, testiküler ısının sürdürülmesinde önemli olan bir karşı ısı akımı sağlar. Bu ısı değişimiyle testisler serin tutulur. Diğer faktörler; skrotumdaki terin buharlaşması ile ısı kaybı ve spermatik kordondaki krameter kaslarının kasılması ile testislerin daha yüksek bir ısıda kalabileceği inguinal kanallara çekilmesidir.^{44, 53, 63, 64}

Testislerin karın içinde kalması, tubül duvarında yozlaşma ve kısırlık ile sonuçlanır. Gelişen teknolojiyle birlikte diz üstü bilgisayarların kullanımının artması, uzun süreli araba kullanımı, çocuklarda plastik içerikli bezlerin kullanılmasının artışıyla erkeklerde infertilitenin arttığını vurgulamaktadır.⁶⁵ Sıcak banyolar (43-45°C, günde 30. dakika) ve yalıtımlı atletik destekleyiciler, insanlarda, spermiyum sayısını azaltır; bazı olgularda bu azalma %90'ı bulur. Ayrıca, skrotumun etkin kaldığı sıcaklık ne olursa olsun, kış mevsiminde spermiyum sayılarının daha fazla olması erkeklerde mevsimsel bir etkiyi de düşündürmektedir.^{44, 56}

2.6. Kullanılan Antikorlar

2.6.1. Apoptozis

Çok hücreli organizmaların genetik şifrelerinde bulunan “hücre intiharı” programlarının gelişimsel ya da çevresel uyarımlarla etkinleşmesi sonucu ortaya çıkan organ yapısı ve işlevlerinin aktif değişimini sağlayan fizyolojik ya da programlı hücre ölümü olarak tanımlanmaktadır.⁶⁶

Apoptozis sağlıklı doku oluşumu ve gelişimi için gerekli fizyolojik bir olaydır. Hücre topluluğu içinde istenmeyen hücreleri uzaklaştırarak organizmanın yaşamsal işlevlerini sürdürmesini sağlar.^{67, 68, 69}

Yunanca’da “ağaçların yapraklarını dökmesi” anlamına gelen apoptozis, ilk kez biyomedikal kaynaklarda 1972 yılında Kerr tarafından “mitozun karşit anlamı” olarak kullanılmıştır.⁷⁰

Apoptozise uğramış hücrelerin büzülmesi sonucu hacminin azalması gibi yapısal, nükleozomal parçalanma gibi enzimatik ve hücreler arası ilişkinin yitilmesi gibi birçok biyokimyasal değişiklikler gösterdikleri saptanmıştır.^{71, 72, 73} Ayrıca kromatin yoğunlaşmasına koşut olarak tüm çekirdek içeriği parçacıklar halinde sitoplazmaya dağılmış halde bulunmaktadır. Hızlı şekilde sıvı yitimi nedeniyle, apoptotik hücrelerin hücre membranlarında parçalanmalar oluşur. Apoptotik keseler olarak

bilinen ve içerik olarak sitoplazma, organeller ve DNA parçaları taşıyan yapılar biçimlenir. Bu apoptotik keseler ya komşu hücreler ya da makrofajlarca ile ortamdan uzaklaştırılırlar.⁶⁵

2.6.2. Kaspazlar

Ölüm reseptörleri yolu ve mitokondriyal apoptozisde rol alırlar. Apoptoz için uyarılması ile genomik DNA'nın 50-200 kb parçalar halinde kırılması, proteinlerin parçalanması, fosfolipidlerin hücre iç yüzeyinden dış yüzeyine çıkarılması gibi değişiklikler proteolitik sistem tarafından gerçekleştirilir. Bu sistem içinde proteaz ailesi olarak bilinen kaspazlar aktif merkezlerinde sistein amino asiti içeren öncül enzim şeklinde bulunurlar.^{74, 75}

Kaspazların 14 izoformu bulunmuştur. İlk bulunan Kaspaz C. elegans'ın ced-3'ü olup memelilerde interleükin -1 beta dönüştürücü enzim (ICE) ile denktir. Daha sonra Kaspaz 1 olarak adlandırılmıştır.^{76, 77}

Kaspazlar fonksiyonlarına göre üç gruba ayrılırlar. Kaspaz 2, 8, 9 ve 10 başlatıcı kaspazlar olarak bilinirler. Bunlar pro-apoptotik sinyali olarak, sinyalin alt kısmında kalan diğer kaspaz üyelerinin aktive olmasını sağlarlar. Her biri 100 amino asitten oluşan başlatıcı kaspazlar, transmembran reseptörleri ya da sitotoksik etkiye sahip maddeler ile etkileşerek aktifleşirler. Bu kaspazlar adaptör ve düzenleyici proteinlerin farklı bileşimleri ile etkileşime girerek apoptotik mekanizmanın hücre içerisinde farklı yönlerde devam etmesine neden olurlar.⁷⁸ Kaspaz 3, 6 ve 7 ise efektör kaspazlar olarak bilinirler. Bu kaspazlar çeşitli hücre içi

proteinleri enzimatik tepkimelerle parçalarlar ve apoptotik hücre yapısının oluşmasına neden olurlar.

3. grup kaspazlar ise sitokinleri aktive ederler. Bunlar hücre sinyali iletiminde önemli rol sahibi sitokinlerin aktivasyonları için gereklidir. Bu gruba dahil olan Kaspaz 1 interlökin-1 β dönüştürücü enzim (ICE) olarak bilinmekte ve öncül interlökin-1 β 'nin aktif hale geçmesine neden olmaktadır.⁷⁹

Kaspazların apoptozisdeki rolleri sentetik ya da doğal baskılayıcılar kullanılarak tanımlanmış olup bu inhibitörler varlığında apoptozisin tümüyle bloke edildiği ya da mekanizmanın işleyişinde aksaklıkların saptanmıştır edilmiştir.^{74, 80, 81, 82, 83}

Kaspazlar sitoplazmada inaktif öncül-kaspaz şeklinde bulunurlar ve bunların aktif kaspaz formuna geçmelerini sağlayan değişik düzenekler bulunmaktadır. Bunların ilki öncül-kaspaz yapısında yer alan öncül bölge, yapıdan ayrılır ve geriye heterodimer bir yapı kalır. Bu şekilde oluşan iki heterodimer yapı birleşerek iki aktif bölgeye sahip tetramer aktif kaspazı oluşturur.⁷⁷ İkinci mekanizma ise ölüm uyarıcı sinyal kompleksi olarak da bilinmektedir ve prokaspazların, ölüm reseptörü-adaptör kompleksine bağlandığı ve bunun sonucunda bölünerek aktif kaspazları oluşturduğu gösterilmiştir. Diğer mekanizma ise bir prokaspazın aktif kaspaz formuna geçebilmesini düzenleyici bir alt birimin aktivasyonu ile gerçekleşir. Aktif hale geçen kaspazlar hücre içindeki özel substrat molekülleri üzerine proteolitik etkiye sahiptirler ve substratlarındaki C-ucundaki aspartik asit kalıtı ve N-ucundaki en az 3 amino asit kalıtını tanıyarak, katalitik tepkimenin gerçekleşmesini sağlarlar.⁷⁸

Ölüm-uyarıcı sinyal kompleksi (DISC) olarak bilinen ve hücre zarı yüzeyinde yer alan Fas-substrat reseptör (APO-1, CD 95) ve Tümör Nekroz Faktör Reseptör(TNFR) ailelerine ait reseptörlerin, hücre içine sinyal iletmeleri sonucu apoptozis mekanizması uyarılmaktadır.⁸⁴ Bu sinyal yolunda görev yapan reseptörler, substratları ile etkileşime girdikten sonra, kendi aralarında trimerik bir yapı oluşturmaktadırlar.^{85, 86} Kaspaz-8 ve Kaspaz 10 bu sinyal yolunun aktivasyonu sonucu katalitik etkilerini göstermektedirler. Bu iki kaspaz ya TNFR'nın aktivasyonu sonucu uyarılır ki bu durumda, ilk önce TNRF'nin yapısında yer alan ölüm bölgeleri TNRF-bağlı ölüm bölge (TRADD) proteini ile etkileşir daha sonrada adaptör protein (Fas-bağlı protein) yardımı ile TNFR kompleksi, prokaspaz-8 ve prokaspaze-10'a bağlanarak holodimerik bir yapıya dönüşmesini sağlamaktadır.⁸⁷ Ya da Fas substrat reseptörünün uyarılması ile prokaspaz-8 ve prokaspaz-10 aktif hale geçebilmektedir.⁸⁸

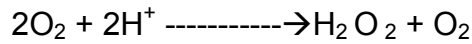
Kaspaz 8 hücre içinde aktif şekle geçtikten sonra iki farklı apoptotik sinyal yolu izleyebilir. İlk sinyal yolunda, Kaspaz 8 doğrudan Kaspaz 3 ve Kaspaz 7 gibi efektör kaspazları aktive ederek apoptozisin oluşmasını sağlayabilir.^{89, 90} İkinci sinyal yolunda ise, inaktif halde bulunan Bid proteini uyarır ve aktif Bid proteini (tBid) mitokondriyon zarında yerleşik Bcl-2 proteininin fonksiyonunu bloke ederek, sitokrom-c'nin mitokondriyon dışına çıkmasını ve buna bağlı olarak mitokondrial sinyal yolunun başlatılmasını sağlamaktadır.⁹¹ Bu mekanizmanın devamında Apaf-1 (Apoptotik proteas-aktive edici faktör-1) adaptör proteini mitokondriyon dışına salınan sitokrom c ile ATP varlığında bağlanmakta ve oligomerizasyon oluşmaktadır. Bunun etkisi ile prokaspaz-9, ilk önce aktif hale dönüştürülür daha sonraki aşamada Kaspaz 3 ve Kaspaz 7 aktifleştirilir.^{92, 93}

Aktif hale geçen efektör kaspazlar daha sonra substratları ile tepkimeye girerek hücrede apoptotik değişikliklerin oluşmasını sağlamaktadırlar.⁹⁴

Apoptotik sinyalin yokluğunda, hücre içinde kaspaz aktivitesi özel inhibitörlerle bloke edilmiş durumdadır. Örneğin: FADD benzeri ICE inhibitörü (FLIPs), DISC sinyal yolundaki prokaspaz-8'in aktivasyonunu engellemektedir.⁹⁵

2.6.3 Süperoksit Dismutaz (SOD)

Süperoksit radikale karşı devreye giren ilk savunma sistemidir. SOD aşağıdaki reaksiyonu katalizleyerek süperoksit radikalının hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar, böylece hücre içindeki süperoksit radikali düzeylerini azaltır. Süperoksit radikali birçok yükseltgenme tepkimesinde yan ürün olarak üretilir ancak büyük bir kısmı mitokondriyonlardaki elektron taşıma zincirinin bir hatası sonucunda ortaya çıkar. Aerobik hücreler dismutasyon reaksiyonunu katalizleyerek O₂'i temizleyen ve detoksifiye eden süperoksit dismutazları içerir.^{96, 97}



SOD'ın insanlarda iki izoenzimi vardır. Bunlar, sitozolde bulunan dimerik yapıdaki bakır ve çinko içeren Cu, Zn –SOD ile mitokondriyonlarda bulunan tetramer yapıdaki Mn içeren Mn-SOD'dır. Bu iki enzimden CU, Zn-SOD baskılanırken, Mn-SOD siyanürden etkilenmez. SOD'nın fizyolojik görevi süperoksit radikallerinin zararlı etkilerine karşı korumaktır. Oksijen kullanımı yüksek olan dokularda SOD aktivitesi

fazladır. Buna karşın ekstraselüler sıvılarda SOD aktivitesi çok düşüktür. SOD izoformlarının dağılımı dokudan dokuya değişiklik göstermektedir. İskelet kasında toplam kas aktivitesinin %15-35'i mitokondriyonlarda gerçekleşirken geri kalanı sitozolde gerçekleşir.⁹⁸ Hiperterminin testislerde apoptozise neden olduğu bilinmektedir. Apoptozisin genel özelliği oksidatif stresin oluşmasını sağlamaktır. Son yıllarda yayınlanan verilerde, sitosolik bir antioksidan olan SOD, lipid peroksidasyonunu engelleme ve serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırabilmesi özellikleri ile ön plana çıkmıştır. Oksidatif stresi engelleme özelliği, bu enzimin apoptotik süreci geri döndürebileceğini düşündürmektedir.^{99, 100}

2.6.4. Isı Şok Proteini (HSP)

Hipertermiyi de kapsayan, birçok stres durumunda üretimi artan proteinlerdir.¹⁰¹ Sıcak stresine koştur olarak apoptozis uyarılan hücrelerden HSP 70 yapımı artar.¹⁰² Bu proteinler, hücresel hasarın onarımıyla hücre yenilenmesini sağlar.^{103, 104, 105, 106} Birçok HSP aynı zamanda hasara uğramamış normal hücrelerden de salgınır ve bu proteinler; proteinlerin katlanması, açılması, translokasyonu gibi birçok hayati fonksiyonu üstlenirler.^{107, 108, 109} Strese koştur olarak üretimi artan esas grup HSP 70'tir.¹¹⁰ HSP ile ilgili ilk incelemeler 1962 yılında yapılmaya başlanmıştır.¹¹¹

HSP üretiminin ısı stresine koştur olarak artış gösterebileceği ilk kez 1975 yılında bildirilmiştir.¹¹² Erken dönemde yapılan ve diğer çalışmalar, şaperon olarak da adlandırılan HSP üretimi sayesinde bu proteinlerin, hücrelerin oluşan değişik koşullara uyum yeteneğinde artış sağladığı görüşünü ortaya koymuştur.¹¹² HSP, birçok hücrede yapılabilen

çok iyi korunmuş proteindir. Normalde de hücrelerde çok düşük ya da saptanamayan düzeylerde bulunabilirler. Ancak metabolik bir hasarı izleyerek fazla miktarda üretilirler. Aminoasit sıralaması ve moleküler ağırlıklarına göre 5 esas gruba ayrılmışlardır. Bunlar moleküler ağırlıklarına göre 100-110 kDa, 83-90 kDa, 66-78 kDa, 60-65 kDa, 15-30 kDa'dur. Buna göre HSP 100, HSP 90, HSP 70, HSP 60 ve HSP 20 olarak adlandırılırlar. ¹¹³ Bunlardan iki grup hasar sonrasında yüksek miktarlarda üretilmeleri ve hücre onarımındaki fonksiyonları nedeniyle önemlidir. HSP 70, 70 kDa ailesinin üretimi yüksek miktarda artırılabilen bir üyesidir. Memelilerin testisi de içererek bir çok dokusunda çok düşük ya da saptanamayan düzeylerde bulunur. HSP 70, neonatal ve erken gelişmekte olan testiste Leydig, Sertoli ve germ hücrelerinde, puberteden sonra ise spermatosit ve spermatidlerde belirtilmiştir. Ayrıca kriptorşik testiste HSP 70 önemli derecede artmış olarak görülmektedir. ¹¹⁴

Çeşitli stres faktörlerinde bağlı olarak yapımı artırılan onarıcı proteinlerdir. Etkilendikleri stres faktörleri hipertermi, iskemi, sinir hasarı ve psikolojik streslerdir. ^{115, 116} HSP 70, hipertermiye etkin bırakılmış testislerde spermatosit, spermatid, Sertoli ve Leydig hücrelerinde ifade olmuştur. ¹¹⁴

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

3.1. Deney Hayvanları ve Gruplandırma

Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'den sağlanan erkek, her birinde 6'şar denek bulunan 3 grup oluşturuldu.

Hiperterminin oluşturulması amacıyla erkek sıçanlar 42°C sıcak su banyosunda 20 dk süreyle bekletildi.

SOD'un antioksidan etkisinin incelenebilmesi ereğiyle 1ml % 0.9' luk NaCl içerisinde 50.000 U/kg SOD ve 90 U/kg katalaz çözülerek hazırlanan sıvı, ısı stresi oluşumundan bir saat önce deneklere subkutan olarak uygulandı.

1. Grup: 22° C sıcak su banyosu uygulanan ve 24 saat sonra dokuların alınacağı grup (erkek) (n=6)

2. Grup: Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması ve hipertermi sonrası 30. dakikada dokuların alınacağı grup (erkek) (n=6)

3. Grup: Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması ve hipertermi sonrası 24. saatte dokuların alınacağı grup (erkek) (n=6)

3.2. İmmünohistokimyasal Yöntemler

Kontrol ve deney gruplarına ait testis dokusu bloklarından polilizinli camlara 4 µm kalınlığında kesitler alınarak immünohistokimyasal boyamaları yapıldı. Çalışmada apoptozisin izlenmesi amacıyla Neomarkers Caspase 3 (CPP32) Ab4, Lot: 1197P08A) tavşan poliklonal primer antikoru, Neomarkers Caspase 9 (LAB6/Ab- 4) tavşan poliklonal antikoru (Cat: RB- 1205-P, Lot:1205P306), Neomarkers Caspase 8 tavşan poliklonal antikoru (Cat: RB-1200-P, Lot: 1200P708C) kullanıldı. Sekonder kit olarak Ultravision Detection System Anti-tavşan HRP (RTU) (Cat: TP-125 HL, Lot: PBN70509, Lab Vision, Fremont, USA) ve HRP/AEC (Cat:TA-007-HAC, Lot: 007HAC13565) kullanıldı. Ayrıca testisteki stresi belirleyebilmek amacıyla Santa cruz HSP 70 (C92F3A-5, Lot#J1408) fare monoklonal IgG1 Zymed Universal kit (Cat: 85-9043, Lot: 1396691) kullanılarak indirekt immünohistokimyasal yöntem ile boyama yapıldı.

Kesitler 37°C'deki etüvde bir gece tutulduktan sonra deparafinizasyonu kolaylaştırmak amacıyla etüv ısısı 57°C'ye çıkarılarak 1 saat daha bekletildi. Camlar deparafinizasyonu tamamlamak için 2 kez 15'er dakika ksilolde bırakıldıktan sonra sırasıyla %100'lük, %96'lık ve %80'lik alkol serilerinden 10'ar dakika geçirilerek sudan, 2 kez 5'er dakika distile sudan geçirilerek alkolden kurtarıldı.

Kesitler doku içerisinde formaldehitin kapattığı reseptör bölgelerinin açığa çıkarılmasını sağlamak amacıyla mikrodalga fırında 1 M sitrat tamponuna (pH: 6. 0) (Cat: AP- 9003- 500, Lot: 9003LT13610, Lab Vision, Fremont, USA) etkin bırakıldı. Oda ısısında 20 dakika soğutulduktan sonra 15 dakika süreyle hidrojen peroksit (Cat: TA-125-HP,

Lot: 125HP14119, Lab Vision, Fremont, USA) uygulandı ve endojen peroksidaz aktivitesi bloke edildi. HSP 70 primer antikoru uygulanacak kesitlere %3'lük H₂O₂ metanol ile hazırlandı. Daha sonra, camlar 3 kez 3'er dakika PBS (Phosphate Buffer Saline) (pH: 7.4) ile yıkandıktan sonra özgün olmayan bağlanmaların engellenmesi amacıyla 5 dakika Ultra V Block (Cat: TA-125-UB, Lot: AUB70803, Lab Vision, Fremont, USA, 95-9043 Zymed, USA) uygulandı. Bloklama aşamasının ardından kesitler yıkanmadan Caspase 3, (CPP32) (Ab4, Lot: 1197P08A) Caspase 8 (Cat: RB-1200-P, Lot: 1200P708C), Caspase 9 (Cat: RB-1205-P, Lot: 1205P306) primer antikolarına etkin bırakılarak 60 dakika bekletildi. HSP 70 primer antikoru için kesitler bir gece süresince +4 derecede bekletildi. Bu sürenin sonunda camlar 3 kez 3'er dakika PBS ile yıkandıktan sonra 20 dakika biyotinli sekonder antikor (Cat:TR-125-BN, Lot: RBN70115, Lab Vision, Fremont, USA,85-9043, Zymed, USA) uygulanarak primer antikora bağlanması sağlandı. Yeniden PBS ile yıkandıktan sonra dokular enzimin biyotine bağlanması amacıyla 20 dakika streptavidin peroksidaz enzim kompleksine (Cat: TS-125- HR, Lot: SHR70515, Lab Vision, Fremont, USA), (85-9043 Zymed, USA) etkin bırakıldı.

Camlar tekrar PBS ile yıkandıktan sonra kromojen olarak Caspase 3, Caspase 8, Caspase 9 antikoları için AEC (3-amino-9-ethylcarbazole) (Cat:TA-007-HAC, Lot: 007HAC13565, Lab Vision, Fremont, USA) uygulanarak gözle görülebilen immün tepkimenin açığa çıkması sağlandı. HSP 70 primer antikoru için kromojen olarak DAB (3,3'iaminobenzidine Tatrahydrochloride-Plus kit) (Cat No; 00-2020, Lot; 421138 A) kullanıldı. Zemin boyaması Mayer'in Hematoksileni ile yapıldı (Cat:TA-125-MH, Lot: AMH70809, Lab Vision, Fremont, USA). AEC ile boyanan camlar Ultramount (Cat: TA-125-UG, Lot: VM13518, Lab Vision, Fremont, USA) ile kapatıldı. DAB ile boyanan camlar alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek entellan ile kapatıldı. Kesitler Leica DM 4000

(Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde, Leica Q Vin 3 programında değerlendirilip resimlendi.

4. BULGULAR:

4.1. Kaspaz 3 Bulguları

22° C' de sıcak su banyosu uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı kontrol grubunda yapılan Kaspaz 3 immünohistokimyasal değerlendirmesinde; testis dokusunda tutulum seminifer tubül epiteli ve tubüller arası bağ dokusundaki Leydig hücrelerinde izlendi. Seminifer tubülde spermatogonyum ve spermatozoidlerde çekirdek ve sitoplazmada granüler şekilde belirgin Kaspaz 3 tutulumu gözlemlenirken diğer hücrelerde tutulumun çok özgün olmadığı, bazı spermatidlerde de orta dereceli tutulumun varlığı dikkati çekti. Sertoli hücrelerinde belirgin immünreaktivite saptanmadı (Resim 1). Büyük büyütmeli incelemelerde seminifer tubüllerde spermatogonyumlarda zayıf tutulum izlenirken, primer ve sekonder spermatozoidlerde yaygın Kaspaz 3 tutulumu belirgindi. Bazı alanlarda, spermatogonyumlarda ortadan kuvvetliye değişen tepkime dikkati çekiyordu. İntersitisyel alandaki Leydig hücrelerinde Kaspaz 3 tutulumu kuvvetliydi (Resim 2-3).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada örneklerin alındığı grupta; seminifer tubüllerde immünreaktivitenin primer ve sekonder spermatozoidlerde yaygın olduğu izlendi. Leydig hücrelerinde de Kaspaz 3 tutulumu belirgindi. Sertoli hücrelerinde zayıf immünreaktivite ilgiyi çekti. Spermatidlerde ise tepkime zayıftı (Resim 4). Spermatogonyumlarda tutulum belirsizdi. Daha büyük büyütmelerde, Kaspaz 3 tutulumunun bazı primer spermatozoidler ve spermatidlerde yaygın sitoplazmik olduğu dikkati çekti (Resim 5). Buna karşın bazı

seminifer tubüllerde tepkime orta-zayıf dereceliydi. Tüp lümeninde döküntü epitelyal hücreler yine Kaspaz 3 pozitif. Büyük büyültmeli incelemelerde intersitisyel alandaki Leydig hücrelerinde oldukça kuvvetli Kaspaz 3 immünoreaktivitesi saptandı (Resim 6).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte örneklerin alındığı grupta; Kaspaz 3 tutulumunun bir önceki gruba karşın azaldığı belirlendi. Bu grupta spermiyogenez aşamasındaki bazı spermiyumların kuyruklarının koptuğu, bazılarının da lümende serbestleştiği görüldü. Bazı tubüllerde tüm hücrelerde zayıf Kaspaz 3 reaktivitesi izlenebilirken diğerlerinde ise primer spermatositlerde immünreaktivitenin yoğun olduğu dikkati çekti (Resim 7). Sertoli hücrelerinde tutulum son derece zayıftı. Seminifer tubül epitelinde dejenerasyon ayırt ediliyordu. Epitel yer yer incelmış ve hücre düzenlenimi bozulmuştu. Lümen sitoplazmik artıklar, kopuk spermiyum kuyrukları ve olgun spermiyumlar ile doldurulmuştu. Leydig hücrelerindeki Kaspaz 3 tutulumu ise diğer gruplara karşın zayıftı (Resim 8-9).

4.2. Kaspaz 8 Bulguları

22° C sıcak su banyosu uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı grupta; seminifer tubül epitelinde Kaspaz 8 tutulumunun özgün olmadığı ve ortadan zayıfa değiştiği dikkati çekti (Resim 10). Büyük büyültmelerde seminifer epitelde bazı spermatidlerde zayıftan ortaya değişen Kaspaz 8 tutulumu belirlendi. İntersitisyel alandaki Leydig hücrelerinde ise yoğun sitoplazmik Kaspaz 8 immünreaktivitesi izlendi. Sertoli hücrelerinde tutulum zayıftı (Resim 10-11-12).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada örneklerin alındığı grupta; Kaspaz 8 tutulumu seminifer epitelde spermatogonyum ve spermatozoid l' lerde görüldü. Bazı seminifer tubüllerde ise epiteldeki zayıftan ortaya değişen tutulum dikkati çekti (Resim 13). Büyük büyültmelerde, Kaspaz 8 tutulumunun spermatogonyum ve spermatozoid l' lerde yaygın, diğer hücrelerde ortadan zayıfa değiştiği belirlendi. Bu gruba ait intersitisyel alandaki Leydig hücrelerinde ise orta dereceli Kaspaz 8 immünreaktivitesi görüldü. Sertoli hücre sitoplazmasında da tutulum belirgindi (Resim 13-14).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte örneklerin alındığı grupta; Kaspaz 8 tutulumunun doku genelinde yaygın olmadığı belirlendi. Bu grupta spermiyogenez aşamasındaki spermatidlerin yer yer kuyruklarının koptuğu, bazı spermiyumlarla birlikte lümene atıldıkları ilgilili çekti. Spermatid sitoplazmalarında Kaspaz 8 tutulumu ortadan kuvvetliye değişiyordu. Bu grupta yapılan incelemelerde seminifer epitelin boyunun incelendiği, hücre düzenleniminin bozulduğu belirlendi. Seminifer epitelde vakuolize alanlar gözlemlendi. İntersitisyel alandaki Leydig hücrelerinde ise Kaspaz 8 tutulumunun ortadan kuvvetliye değiştiği ayırt edildi (Resim 15-17).

4.3. Kaspaz 9 Bulguları

22° C sıcak su banyosu uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı grupta; tüp epitelinde seminifer tubüllerde Kaspaz 9 tutulumunun spermatozoid l'lerde, sitoplazma ve çekirdek düzeyinde olduğu

belirlendi (Resim 18). Sertoli hücrelerinde immünreaktivite görülmedi. Primer spermatositlerdeki Kaspaz 9 tutulumu son derece güçlüydü. Buna karşın Leydig hücrelerinde orta dereceli Kaspaz 9 tutulumu belirlendi (Resim 18-19).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada örneklerin alındığı grupta; diğer gruplara karşın Kaspaz 9 tutulumu daha özgündü. Spermatogonyumlarda tutulum azdan ortaya değişiyordu (Resim 21). Bu grupta yapılan incelemelerde seminifer epiteldeki düzenleniminin bozulduğu, vakuolize alanların varlığı belirlendi. Spermatitlerde tutulum ortadan zayıfa değişiyordu. Spermatosit l'lerde tutulum hem çekirdekte ve sitoplazmikti. Sertoli hücrelerin orta dereceli tepkime ilgiyi çekti (Resim 21). Leydig hücrelerinde ise tutulum özgünleşmişti ve ortadan kuvvetliye değişen düzeydeydi (Resim 20).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte örneklerin alındığı grupta; küçük büyütmeli incelemelerde spermiyumların çoğunun kuyruklarının koptuğu ve artık kuyruk parçalarının lümende biriktiği izlendi. Bazı tüplerde zayıf tutulum olmasına karşın bazılarında spermatogonyum, spermatosit I ve lümene atılmış hücrelerde ortadan kuvvetliye değişen Kaspaz 9 tutulumu ayırt edildi (Resim 22). Spermatogonyumlarda ve primer spermatositlerde belirlenen tutulum orta ve çoğunlukla sitoplazmikti (Resim 23). Bu gruptaki Leydig hücrelerinde hem çekirdekte hem de sitoplazmada orta dereceli Kaspaz 9 tutulumu belirlendi (Resim 24). Bazı tubüllerde seminifer epitel düzenleniminin bozulduğu yer yer vakuollerin oluşumu ilgiyi çekti.

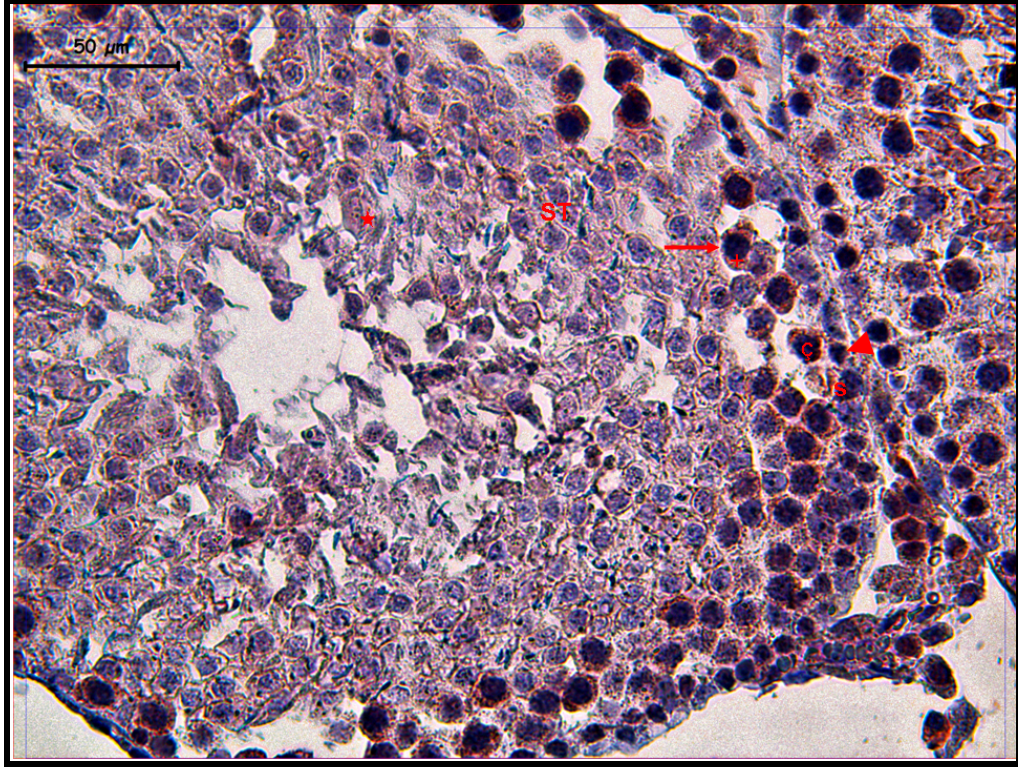
Tüm gruplarda yapılan incelemelerde, Kaspaz tutulumları değerlendirildiğinde, 24. saatte doku genelindeki dejenerasyonunun arttığı, ilk apoptozis belirtisinin; hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD enjeksiyonu yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada örneklerin alındığı grupta olduğu belirlendi. Spermiyogenez aşamasında spermiyum kuyruklarının koptuğu ilgiyi çekti. Sertoli hücrelerinde yer yer kuvvetli tutulum dikkati çekti. Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD enjeksiyonu yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte örneklerin alındığı grupta ise apoptozun azaldığı buna karşın doku genelinde dejenerasyonun arttığı belirlendi.

4.4. HSP 70 Bulguları

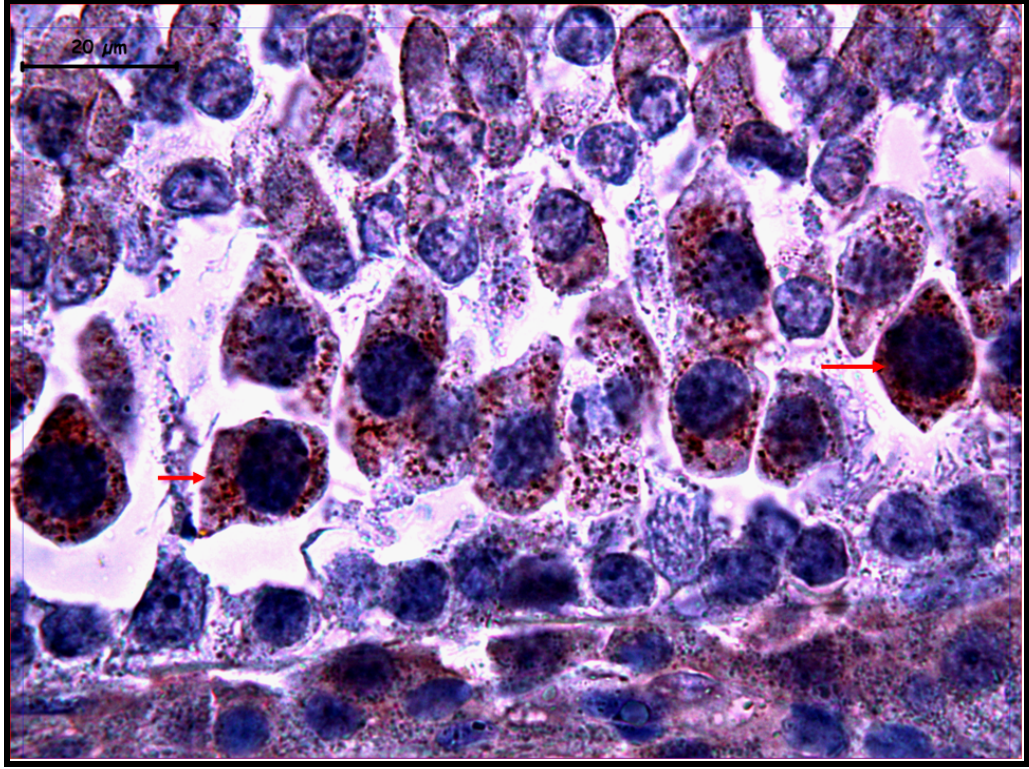
22° C sıcak su banyosu uygulanan ve 24 saat sonra örneklerin alındığı grupta; seminifer tüp epitelinde HSP 70 tutulumunun olmadığı buna karşın, intersitisyel alanda ve Leydig hücrelerinde orta dereceli tutulum olduğu görüldü (Resim 25-26-27).

Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30. dakikada örneklerin alındığı grupta; bazı tubüllerde dejenerasyon görülürken bazı tubüllerde ise normal yapının korunduğu dikkati çekti. Seminifer tübül epitelinde zayıf HSP 70 immünreaktivitesi görüldü. Ara bağ dokuda kuvvetli HSP 70 immünreaktivitesi belirlendi. Büyük büyütmeli incelemelerde bazı intersitisyel alanlarda tutulumun son derece yoğun olduğu belirlendi (Resim 28- 30). Sertoli hücrelerinde ortadan zayıfa değişen sitoplazmik tutulum ilgiyi çekti Yer yer spermatidlerde zayıf tutulum görülüyordu. (Resim 29).

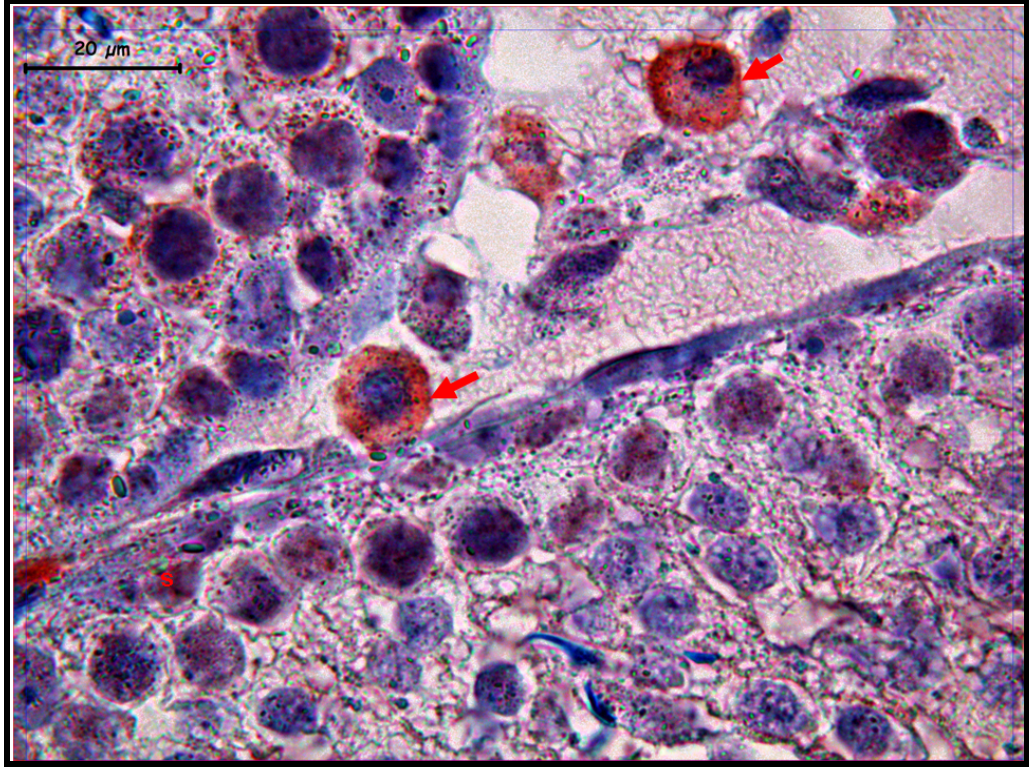
Hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 24. saatte örneklerin alındığı grupta; seminifer epitelin yer yer incelmesi ve vakuolize alanların varlığı ilgiyi çekiyordu. Spermatogonyumlarda ve özellikle sertoli hücrelerinde yaygın sitoplazmik tutulum görüldü (Resim 32). Leydig hücrelerindeki tutulumun ise kontrol grubuna ve SOD uygulanarak 30. dakikada örneklerin alındığı gruba göre artmış olduğu belirlendi (Resim 31-33). Bazı seminifer tübüllerde olgunlaşmakta olan spermiumların son derece azaldığı ve lümende kopuk spermium kuyruklarının varlığı dikkati çekiyordu.



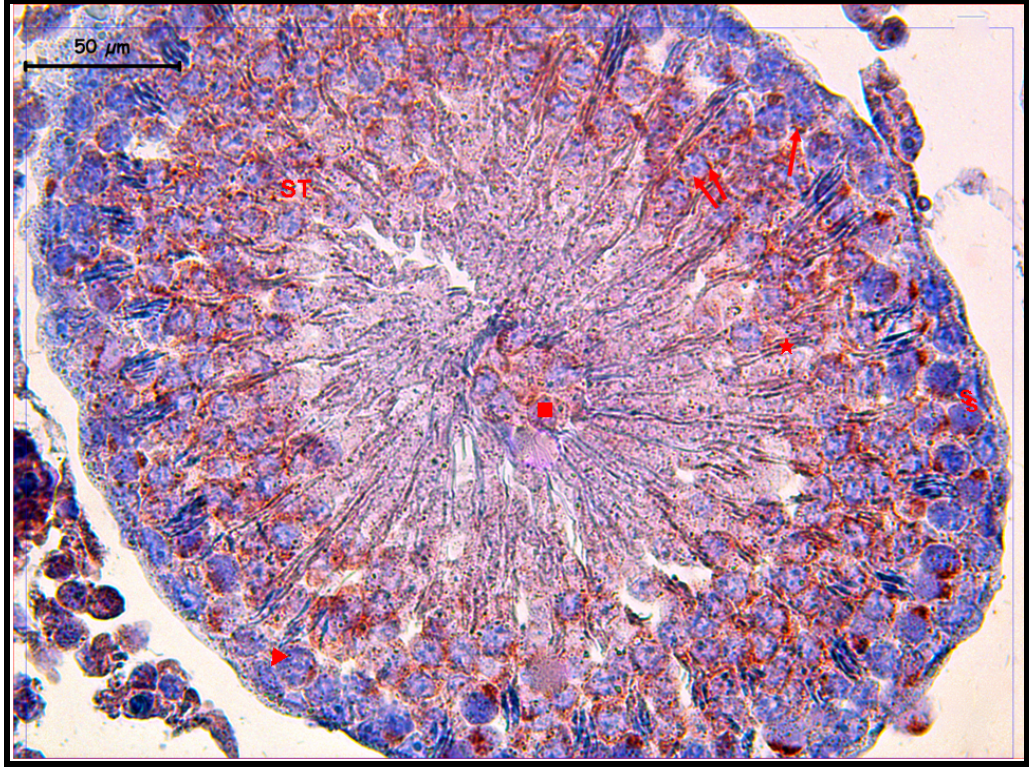
Resim 1: Kaspaz 3 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda; seminifer tubüller (ST), spermatogonyum(▶) ve spermatosit l'lerde (→) çekirdek (Ç) ve sitoplazma (+) düzeyinde belirgin tutulum olduğu görülüyor. Spermatitlerde orta dereceli tutulum (★) ayırt edilirken Sertoli hücrelerinde (S) zayıf sitoplazmik immünreaktivite izleniyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



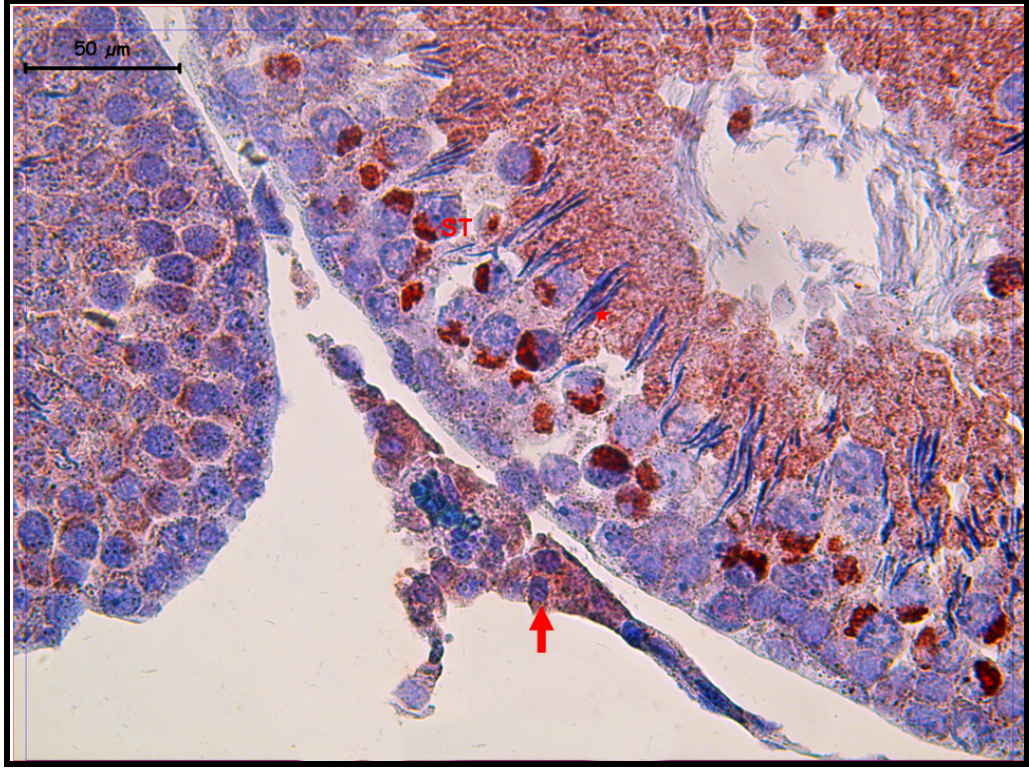
Resim 2: Kaspaz 3 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: seminifer tubüllerde spermatozitlerde orta dereceli granüler tutulum (→) olduğu ayırt ediliyor. (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



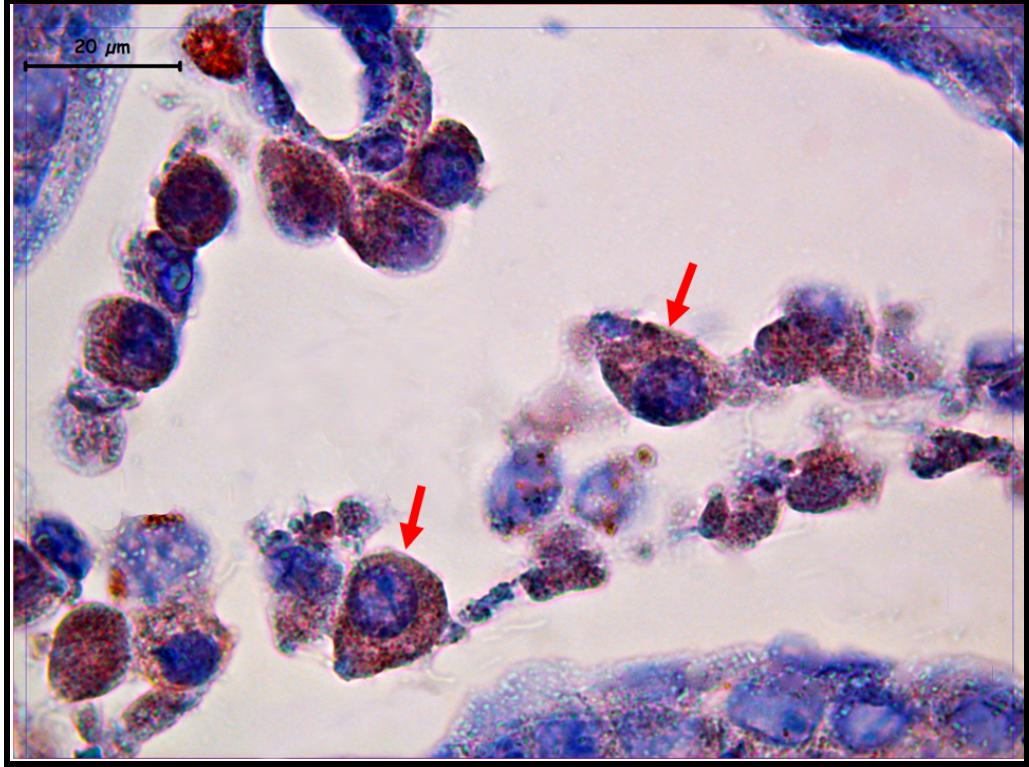
Resim 3: Kaspaz 3 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: intersitisyel alanda Leydig hücrelerinde belirgin Kaspaz 3 tutulumu (→) ayırt ediliyor. Sertoli hücrelerinde (S) zayıf tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



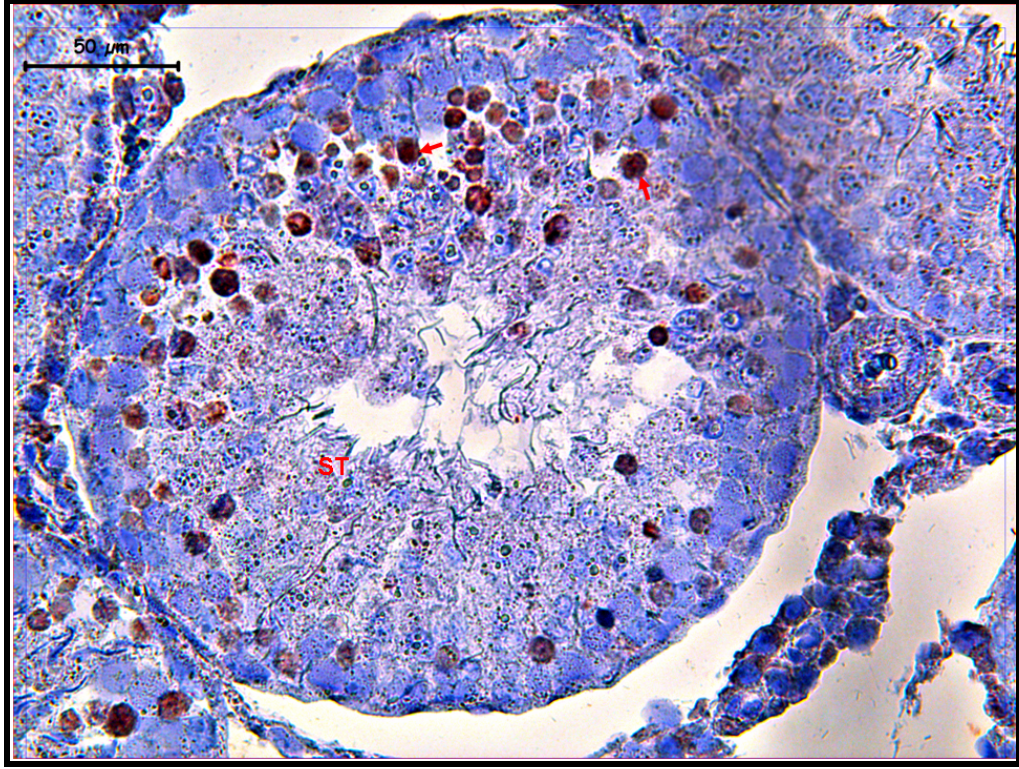
Resim 4: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: seminifer tubülde (ST) primer (→) ve sekonder spermatositlerde (⇔) yaygın olarak görülüyor. Spermatogonyum (▶), Sertoli hücresi (S) ve spermatitler (★) ayırt ediliyor. Tüp lümenindeki döküntü hücreler (■) görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



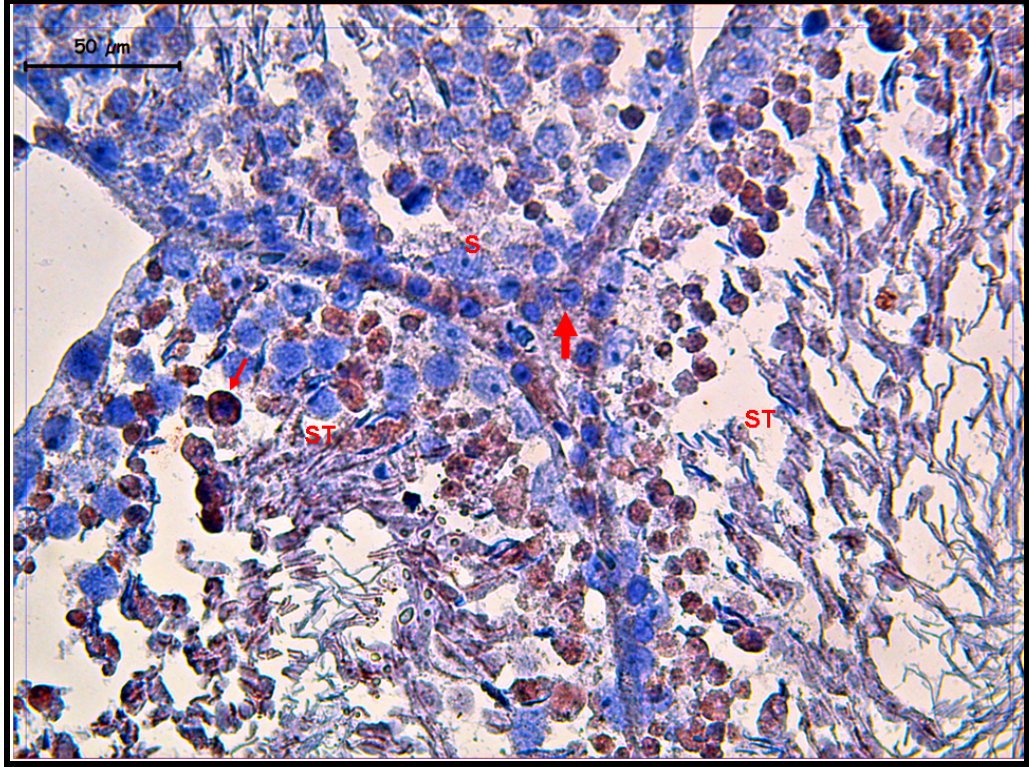
Resim 5: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: seminifer tubüllerde (ST) tutulumunun orta dereceli, spermatidlerde (★) orta yoğunlukta ve yaygın Kaspaz 3 tutulumunun olduğu izleniyor. Leydig hücre (→) immünreaktivitesi belirgin görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



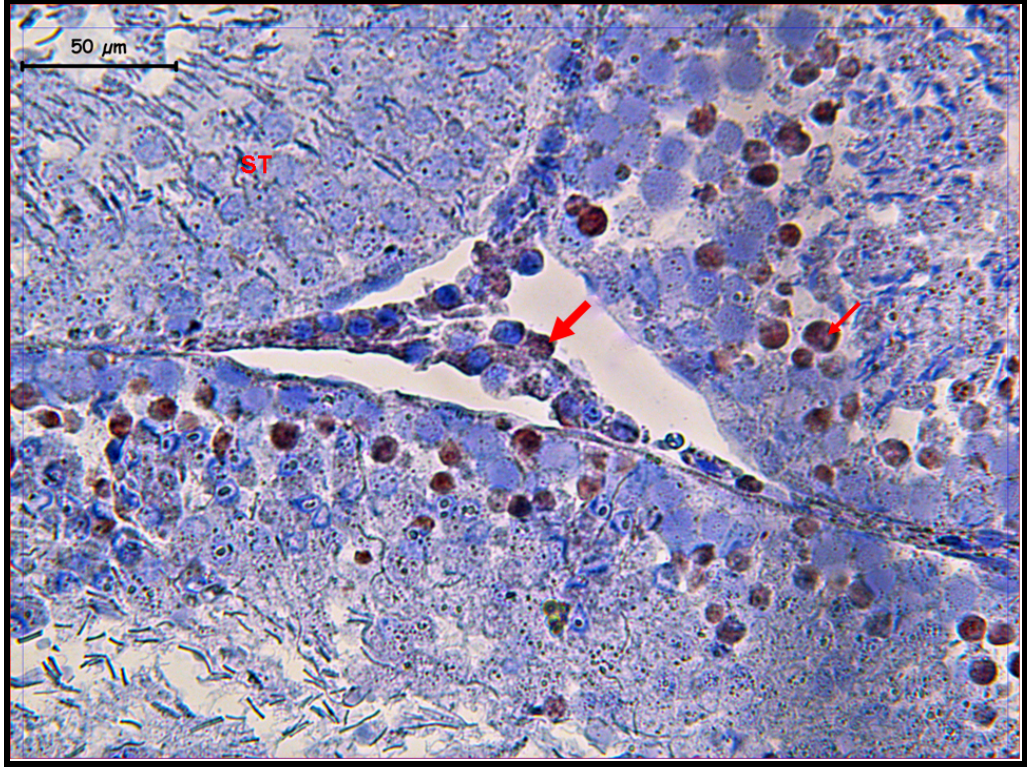
Resim 6: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: intersitisyel dokuda Leydig hücrelerinde ortadan kuvvetliye değişen (→) Kaspaz 3 immünreaktivitesi görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X100).



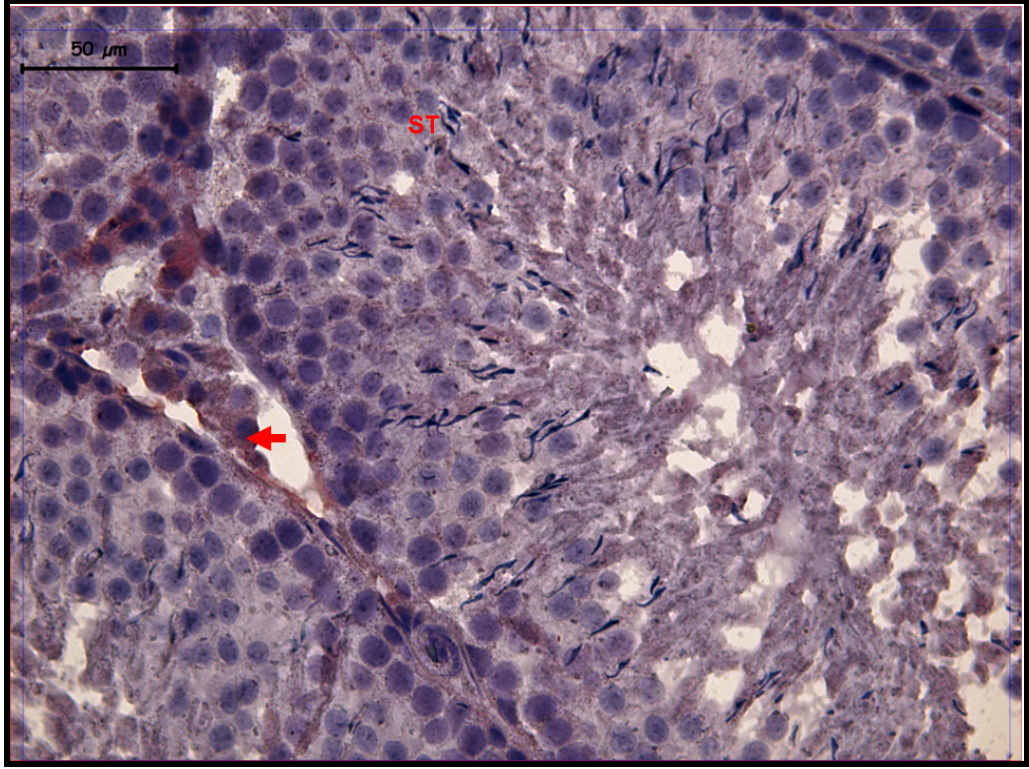
Resim 7: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: seminifer tubülde (ST) bazı primer spermatositlerde belirgin immünreaktivite (→) izlenirken, diğerlerinde tutulumun olmadığı dikkati çekiyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400).



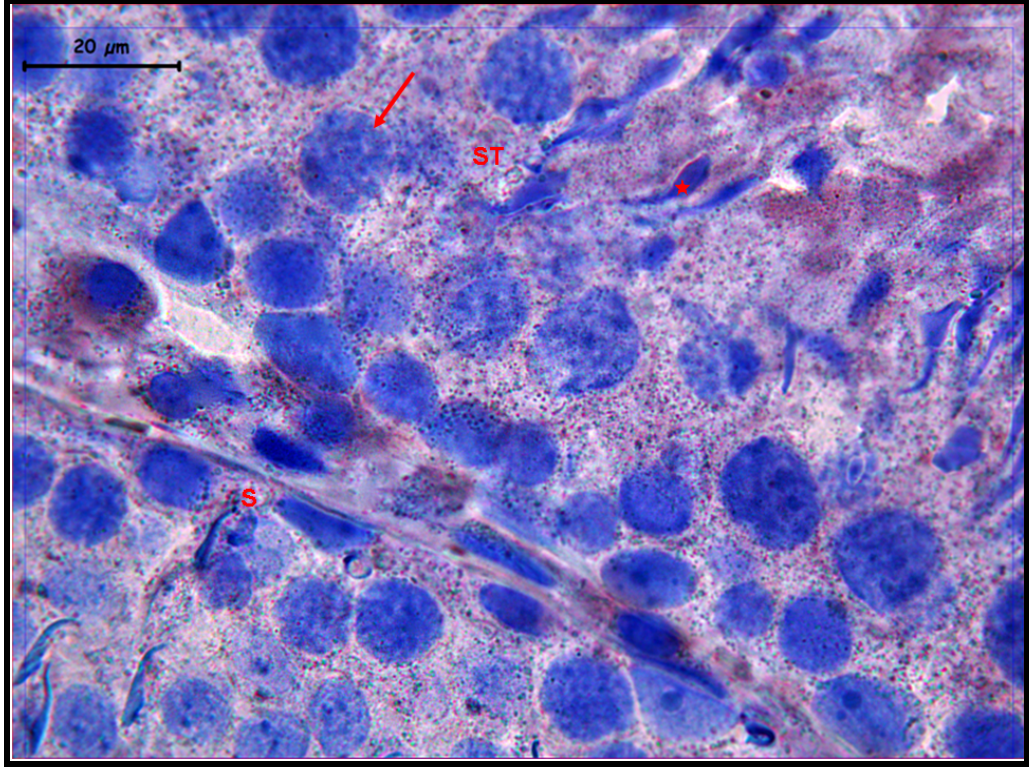
Resim 8: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: İntersitisyel alandaki Leydig hücrelerinde orta (→) ve seminifer tubüllerde (ST) spermatozoidlerde ortadan kuvvetliye değişen immünreaktivite (→) ve Sertoli hücrelerinde (S) tutulumun zayıf olduğu görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



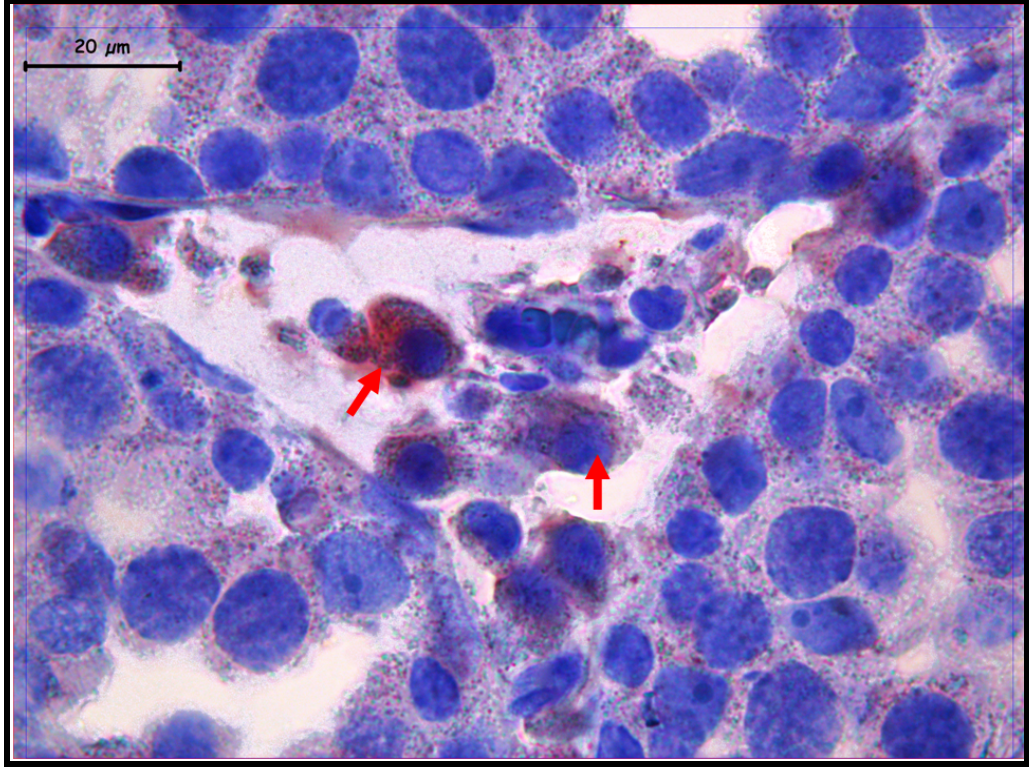
Resim 9: Kaspaz 3 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Leydig hücrelerinde tutulumun orta dereceli (→) olduğu görülüyor. Seminifer tubüllerde (ST) bazı spermatozoidlerde de (→) tutulum ilgiyi çekiyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400).



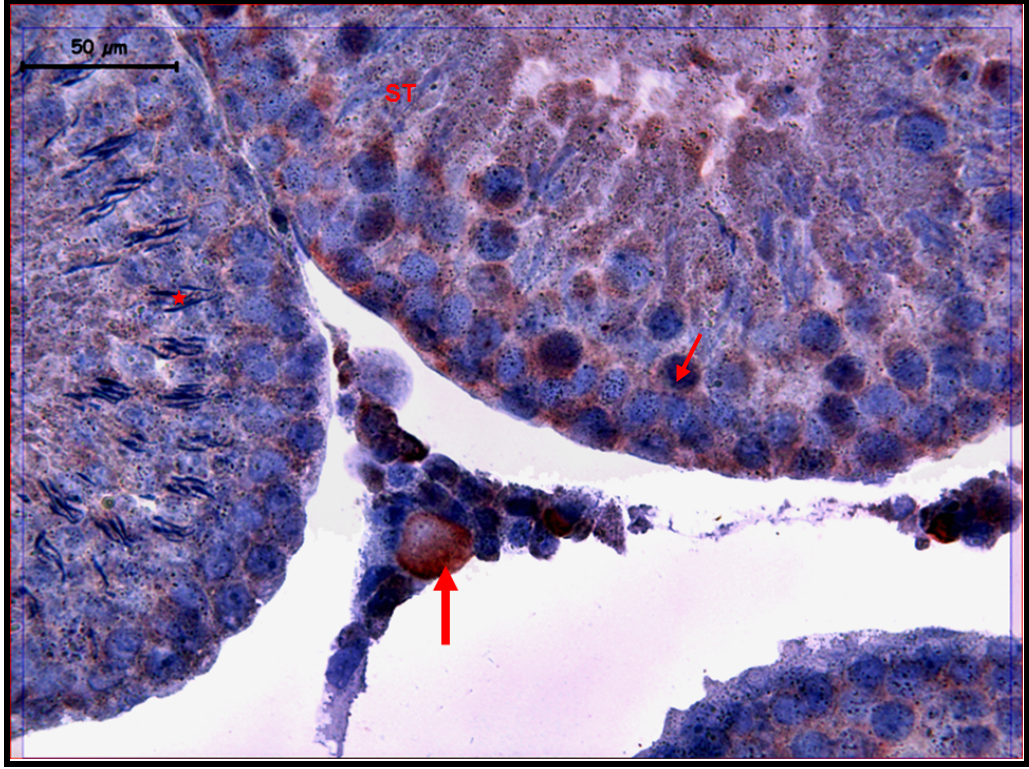
Resim 10: Kaspaz 8 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: Seminifer tubüllerde (ST) özgün olmayan Kaspaz 8 tutulumunun ortadan zayıfa doğru değiştiği izleniyor. Tutulumun intersitisyel alanda Leydig hücrelerinde daha yaygın (→) olduğu ilgiyi çekiyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



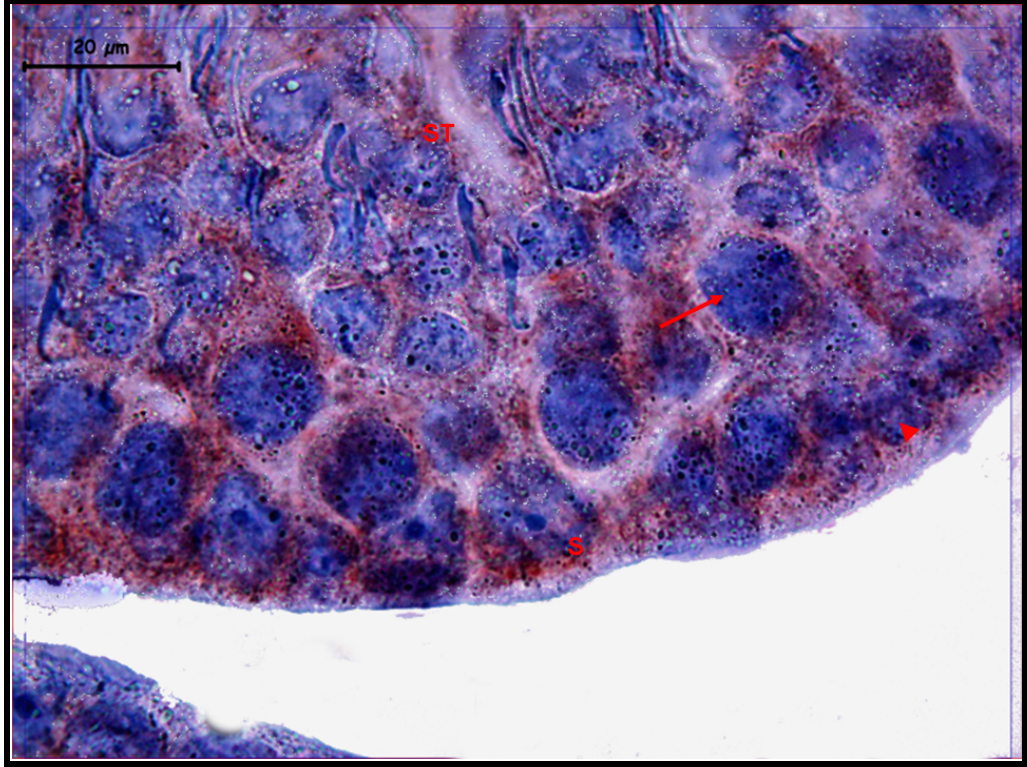
Resim 11: Kaspaz 8 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: Seminifer tubüllerde (ST) primer spermatozoidlerde zayıf immünreaktivite (→), bazı spermatidlerde ise ortadan zayıfa değişen tutulum (★) belirgin. Sertoli hücresinde (S) zayıf tutulum ilgiyi çekiyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



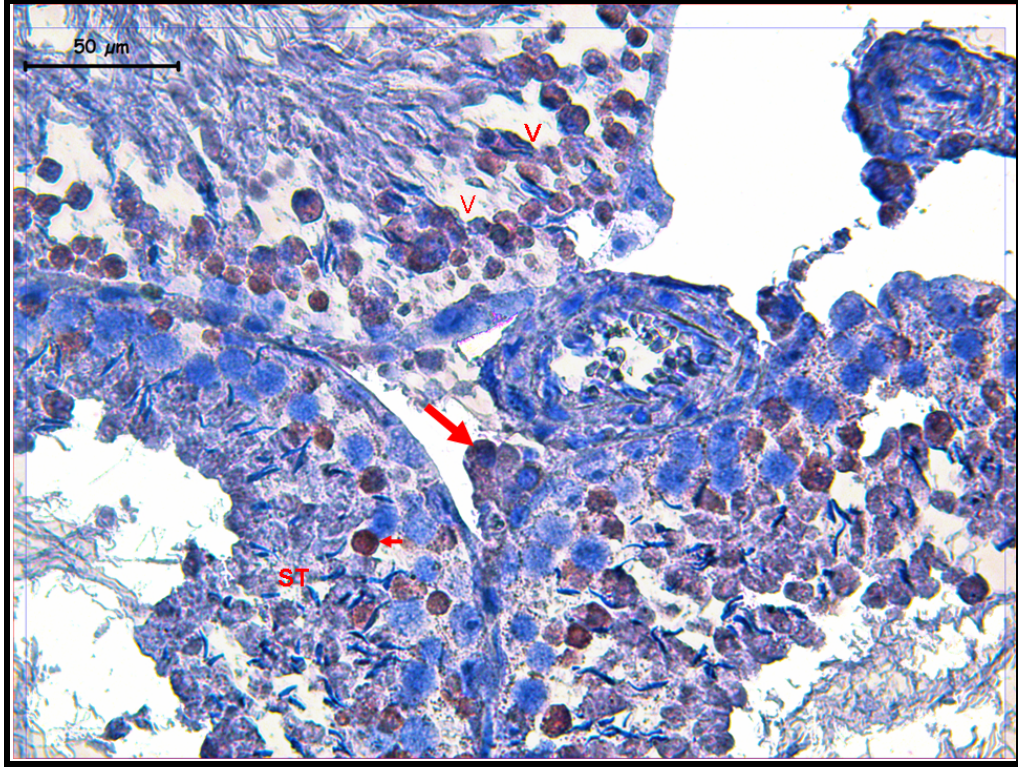
Resim 12: Kaspaz 8 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: Leydig hücrelerinde yoğun tutulumun (→) olduğu dikkati çekiyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



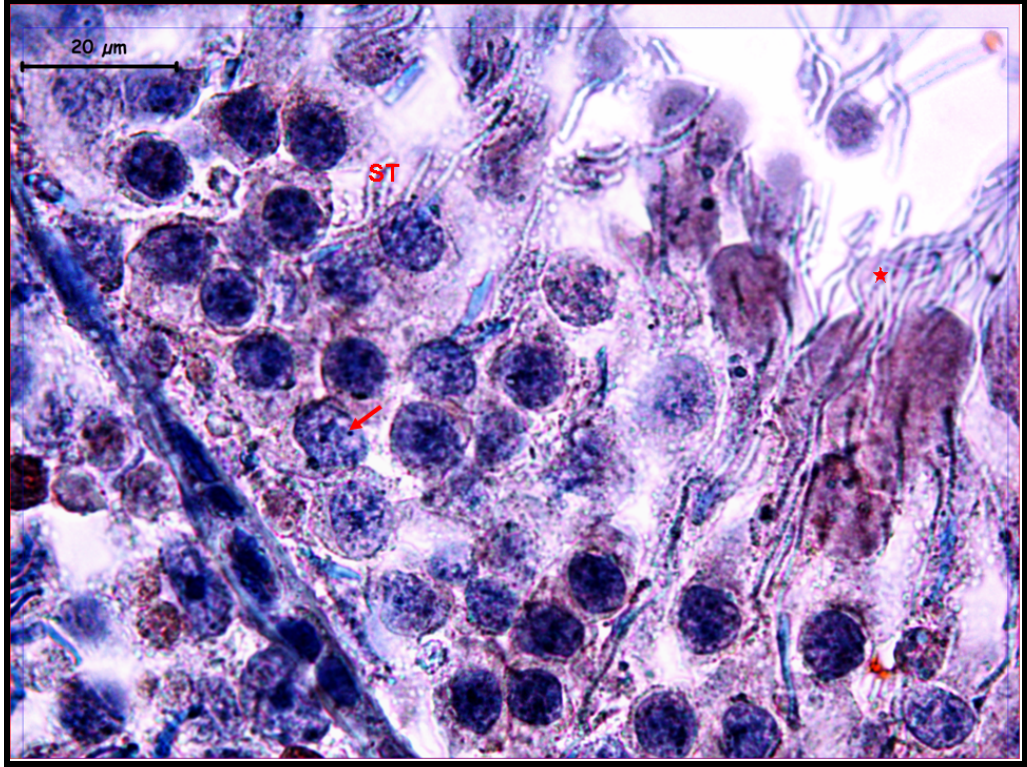
Resim 13: Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Seminifer tubüllerde (ST) epitelin orta dereceli boyandığı primer spermatositde (→) ve Leydig hücrelerinde kuvvetli (→) immünreaktivite görülüyor. Spermatit (★) varlığı izleniyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



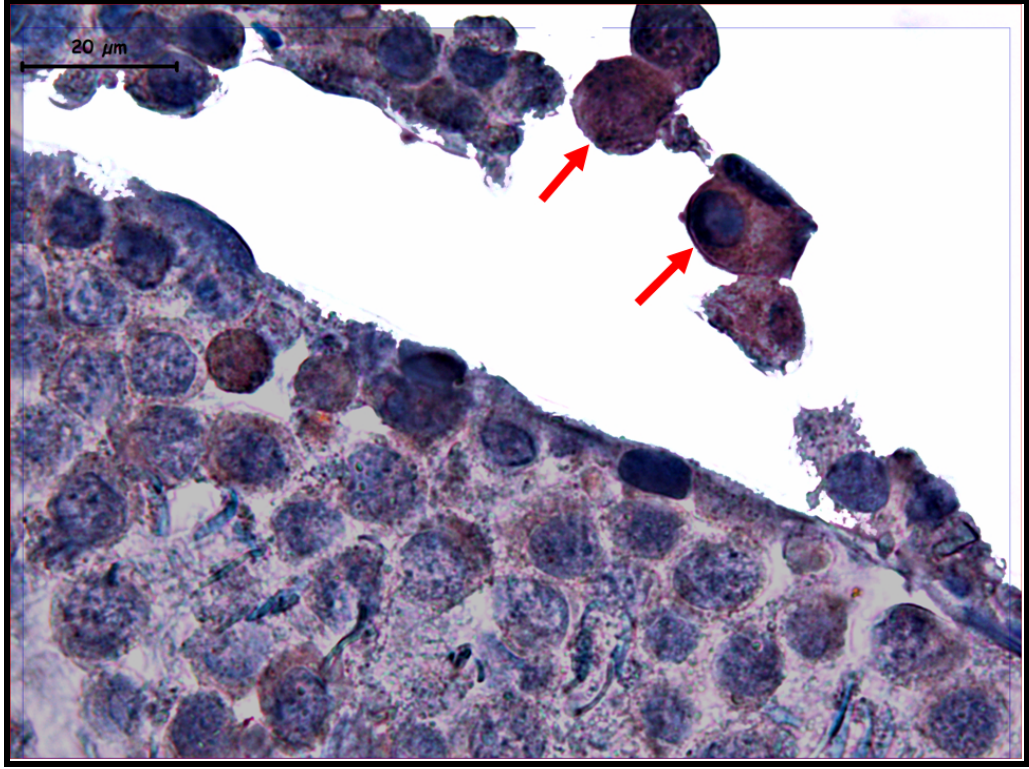
Resim 14: Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Seminifer tubülde (ST) spermatogonyum (►) ve spermatosit l'lerde (→) yaygın ve Sertoli hücre (S) sitoplazmasında tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000).



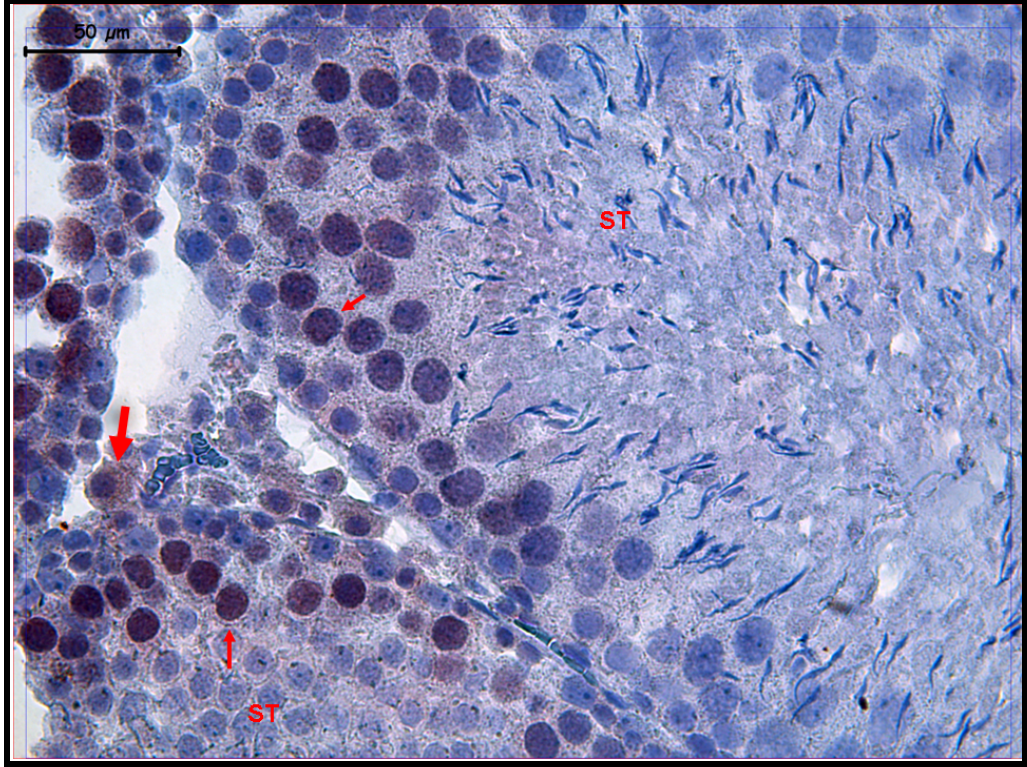
Resim 15: Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Seminifer tubülde (ST) primer spermatositlerde orta dereceden kuvvetliye değişen immünreaktivite (→) izleniyor. Leydig hücrelerinde de tutulum (→) ayırt ediliyor. Vakuolize alanlar (V) dikkati çekiyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400).



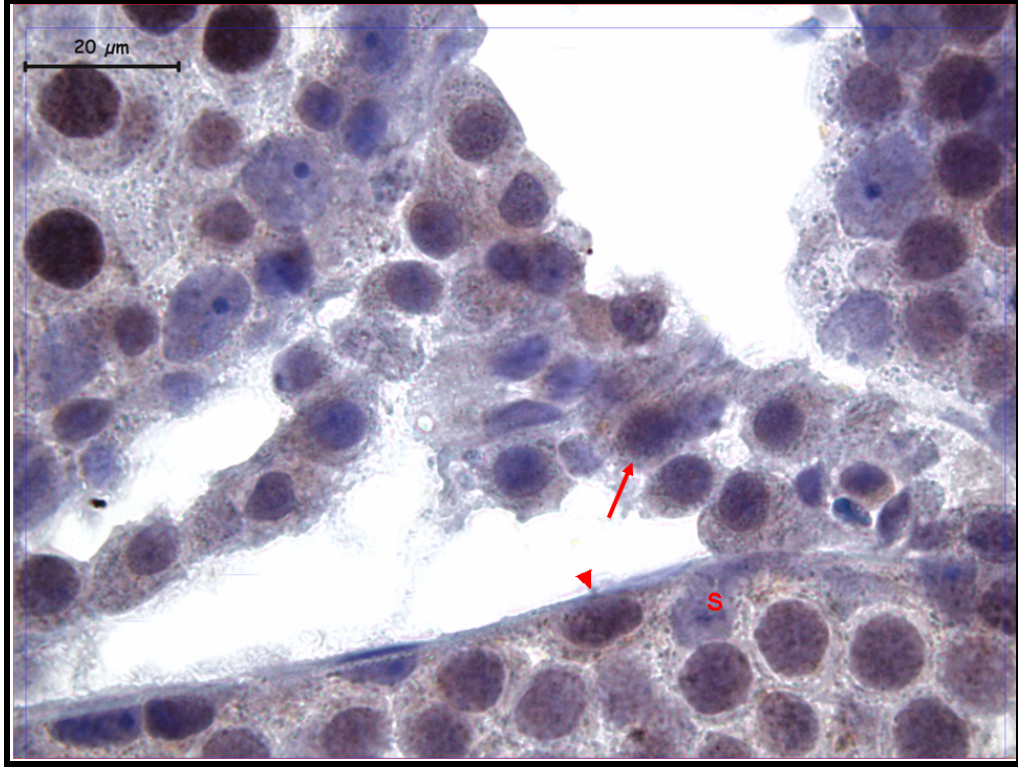
Resim 16: Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Seminifer tubülde (ST) primer spermatositlerde zayıftan ortaya değişen tutulum (→) izleniyor. Spermaitlerde (★) belirgin immünreaktivite ilgiyi çekiyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



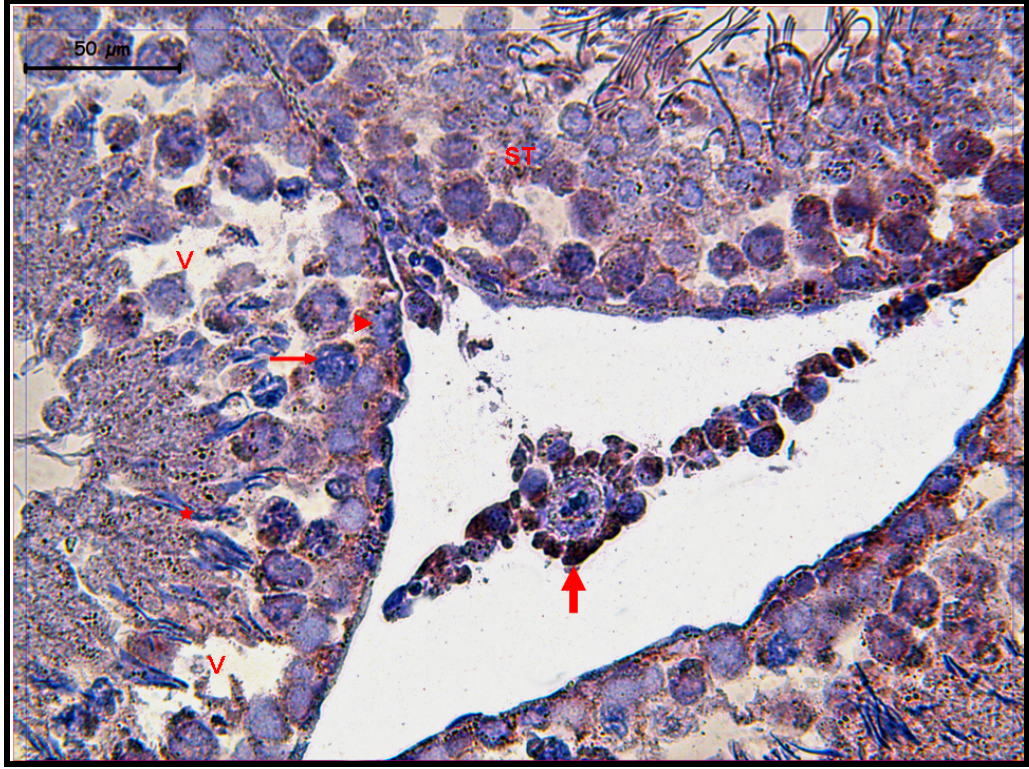
Resim 17: Kaspaz 8 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: İntersitisyel alanda Leydig hücrelerinde kuvvetli tutulum (→) görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000).



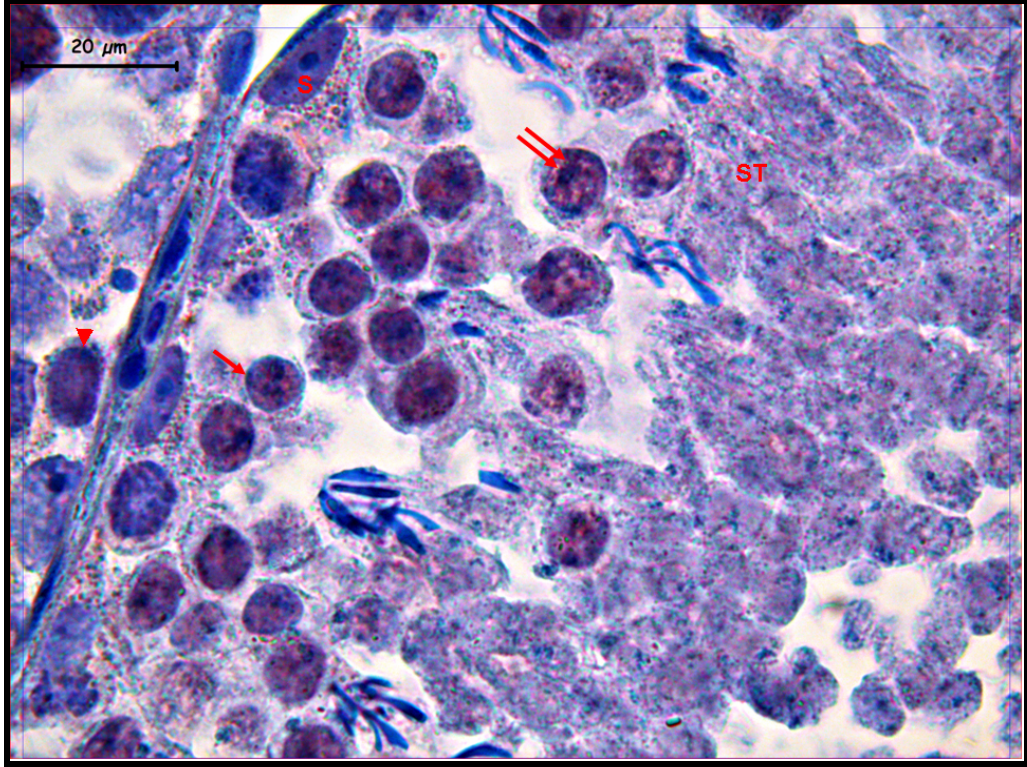
Resim 18: Kaspaz 9 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: Seminifer tubüllerde (ST) spermatosit l'lerdeki immünreaktivite (→) izleniyor. Leydig hücrelerinde ise orta dereceli (→) tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



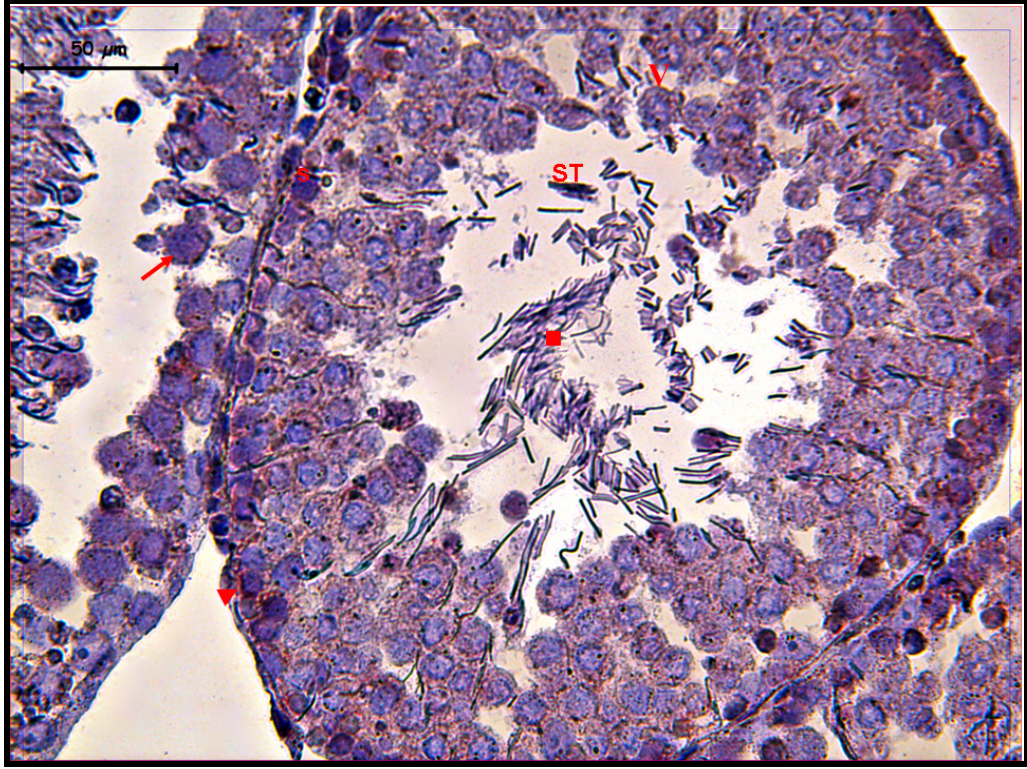
Resim 19: Kaspaz 9 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: Leydig hücrelerinde orta dereceli sitoplazmik tutulum (→) görülürken Sertoli hücrelerinin (S) immünnegatif oldukları izleniyor. Spermatogonyumda ise orta dereceli (▶) immünreaktivite izlendi (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



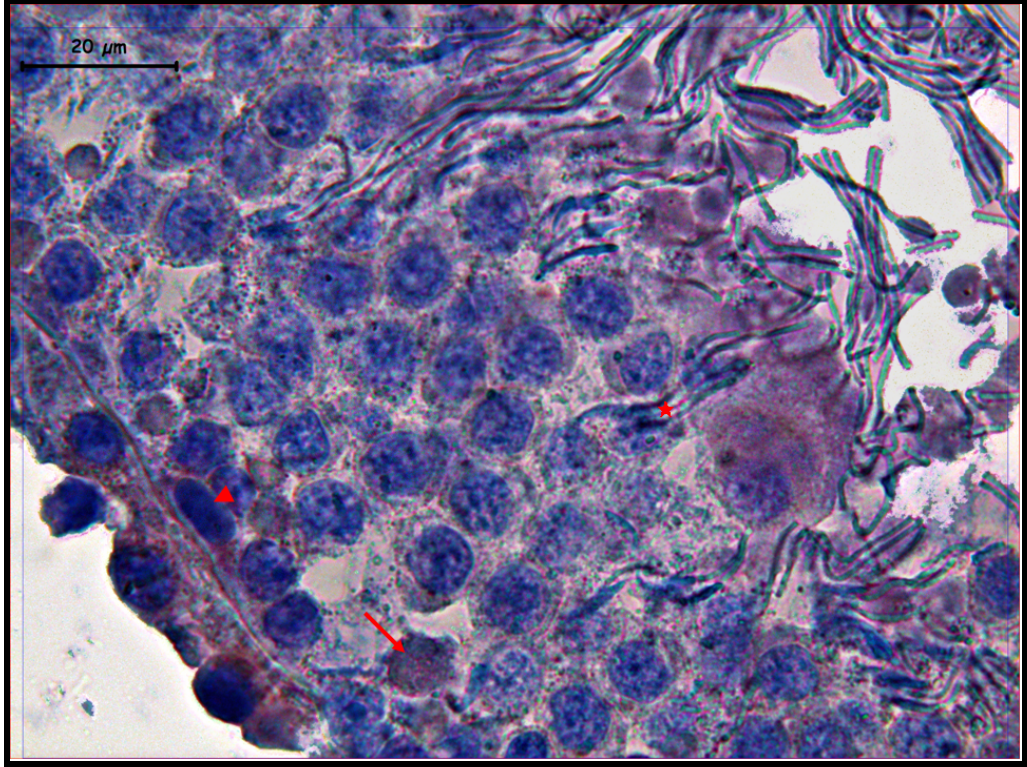
Resim 20: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: seminifer tubüllerde (ST) spermatogonyum (▶), spermatosit I (→) ve spermatidlerde (★) orta dereceli immünreaktivite, Leydig hücrelerinde (→) orta kuvvetliye değişen immünreaktivite ve vakuolize alanların (V) varlığı izleniyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



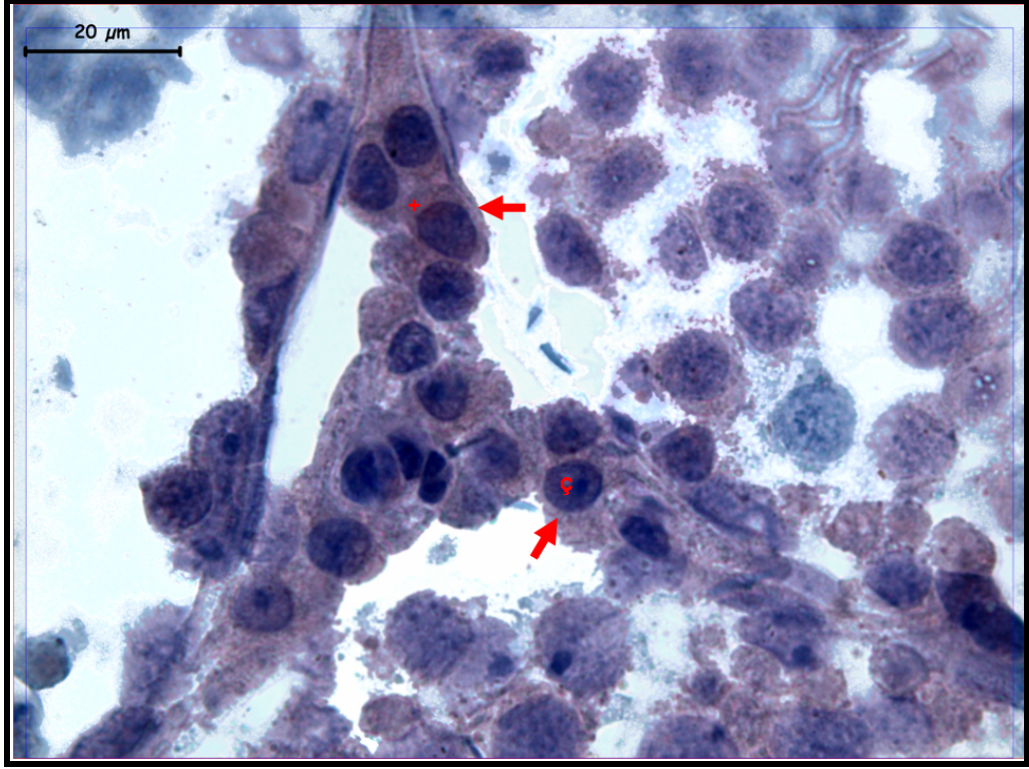
Resim 21: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Seminifer tubüllerde (ST) spermatogonyumlarda tutulumun (▶) zayıf olduğu görülüyor. Primer (→) ve sekonder spermatositlerde tutulum (⇔) izleniyor. Sertoli hücrelerinde (S) orta dereceli tutulumun varlığı ilgiyi çekiyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



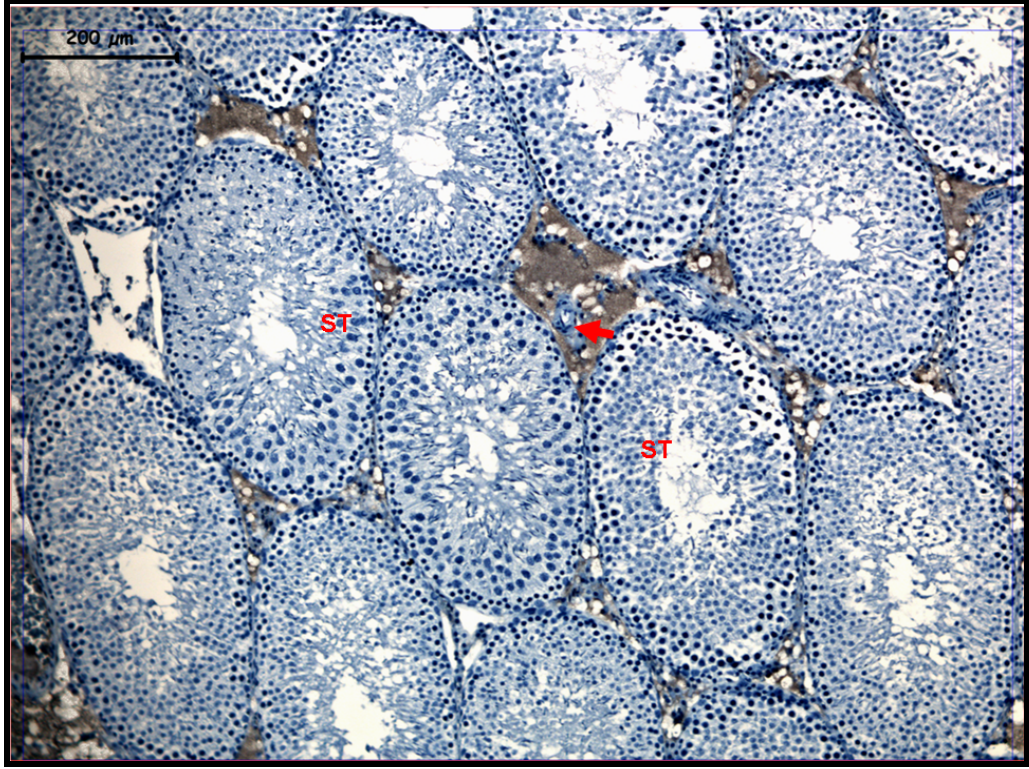
Resim 22: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Seminifer tubülde (ST) vakolize alanların (V) yanı sıra spermatogonyum (▴) ve primer spermatositlerdeki (→) immünreaktivite izleniyor. Sertoli hücrelerinde (S) yer yer kuvvetli tutulum ve lümende kopmuş spermiyum kuyrukları (■) dikkati çekiyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



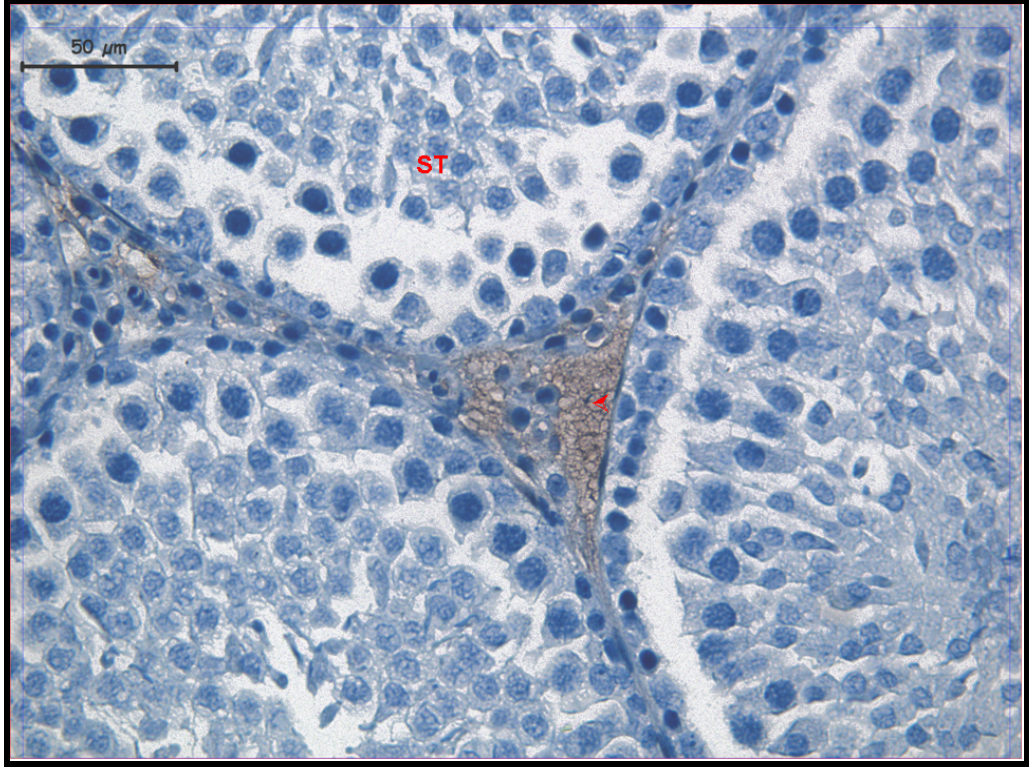
Resim 23: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: spermatogonyum (►) ve spermatitte (★) sitoplazma düzeyinde, primer spermatositlerde ise yer yer kuvvetli (→) Kaspaz 9 immünreaktivitesi görülüyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000).



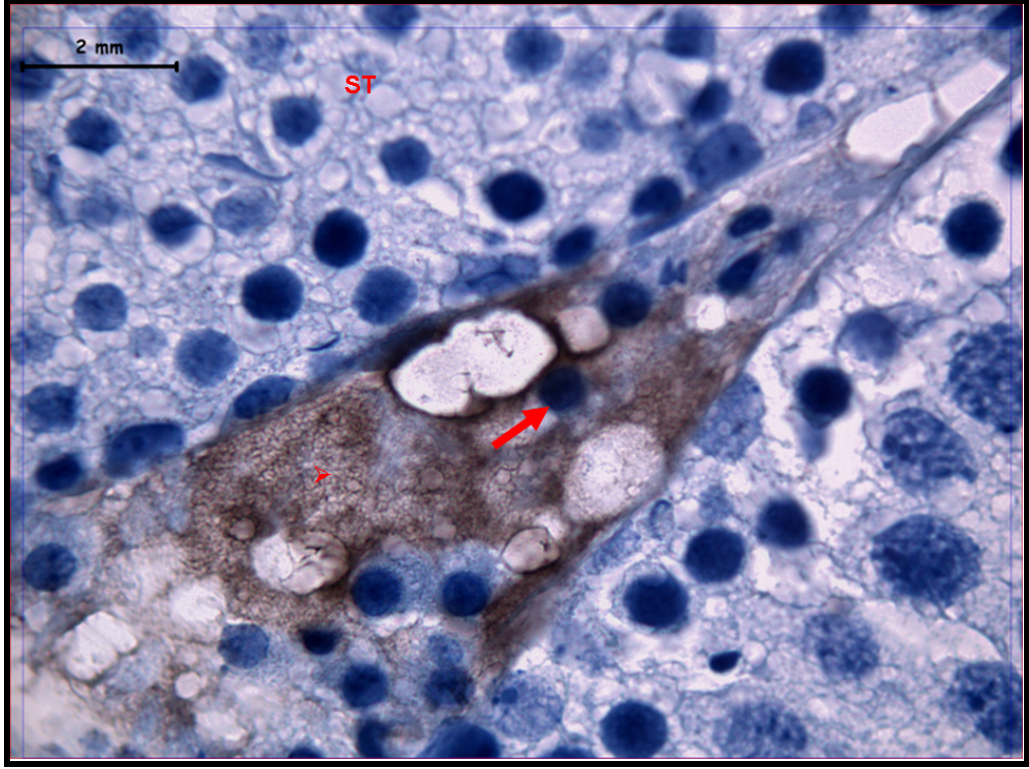
Resim 24: Kaspaz 9 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Leydig hücrelerinde (→) çekirdekte (Ç) sitoplazma (+) orta dereceli Kaspaz 9 tutulumu izleniyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



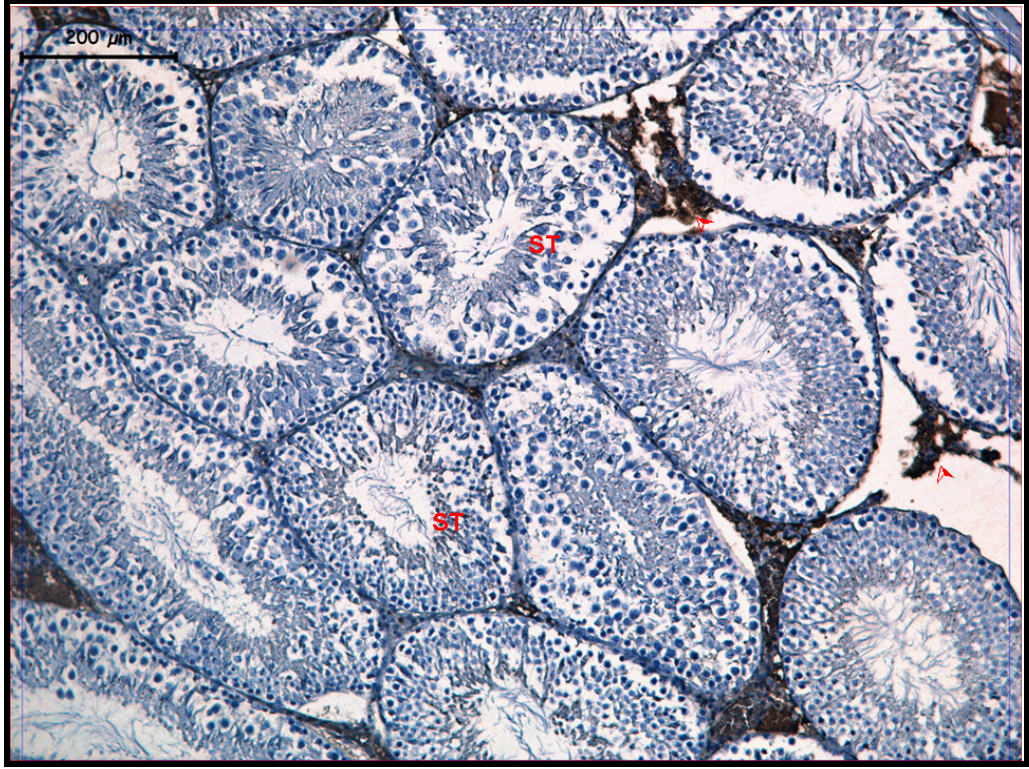
Resim 25: HSP 70 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: Seminifer tubüller (ST) arasındaki intersitisyel alanda ve Leydig hücrelerinde (→) ortadan kuvvetliye değişen tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X100).



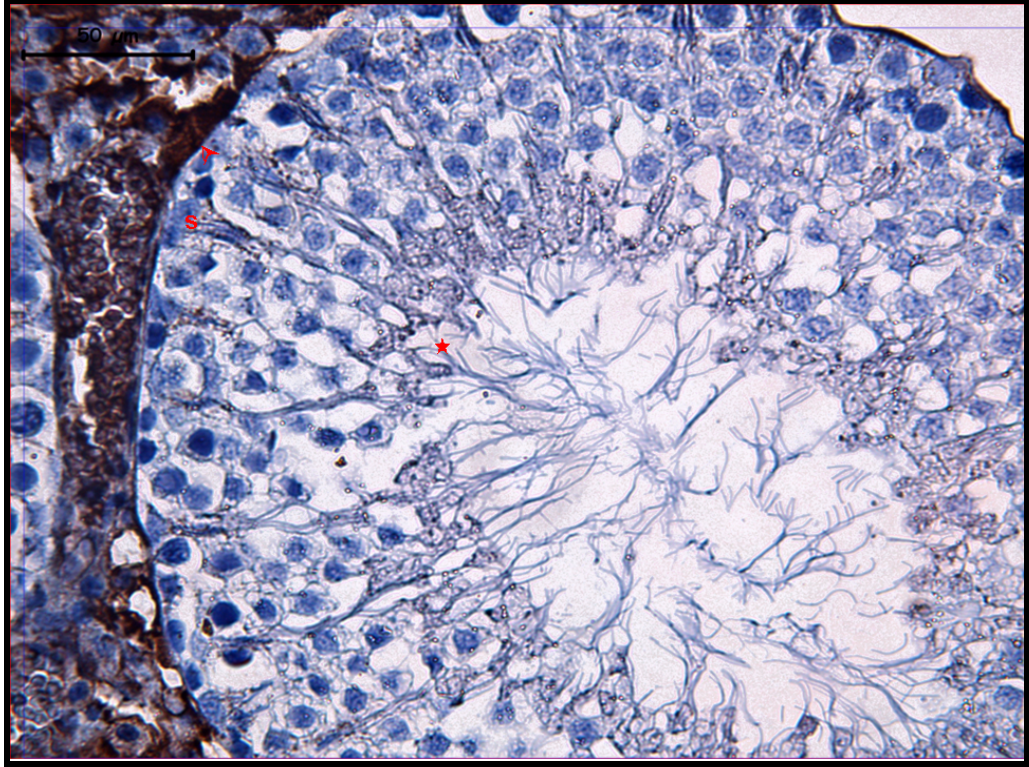
Resim 26: HSP 70 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: Seminifer tubül epitelinde (ST) tutulumun olmadığı görülüyor. İntersitisyel alanda yaygın (>) tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400).



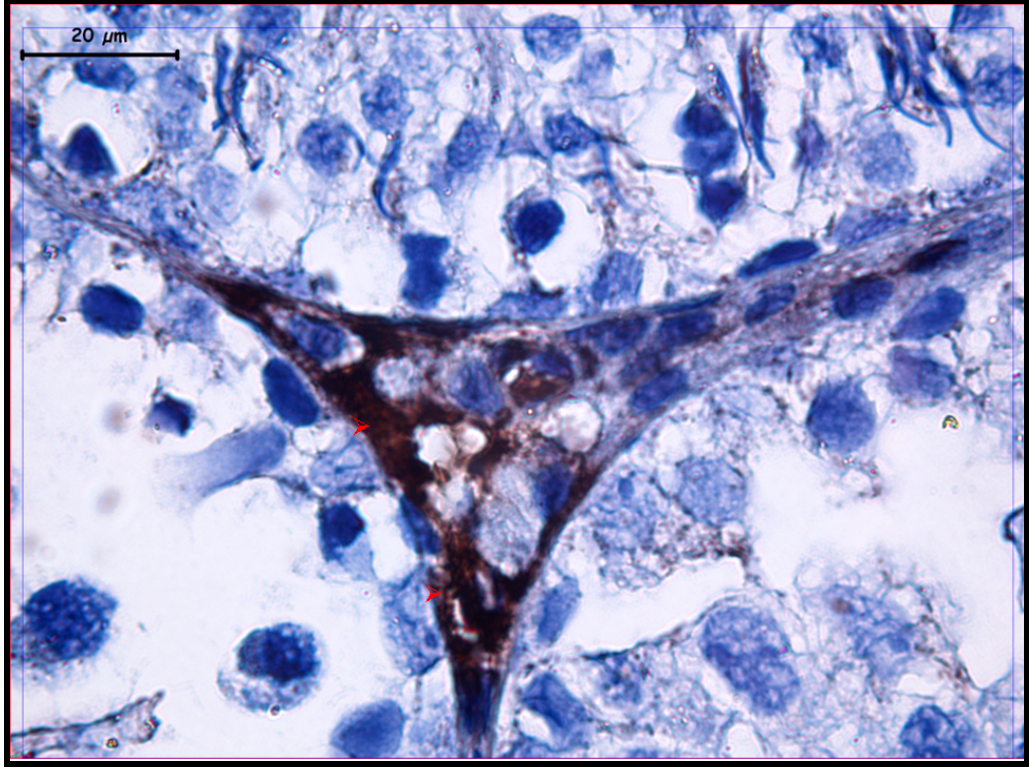
Resim 27: HSP 70 boyaması yapılan kontrol grubuna ait testis dokusunda: Seminifer tubüller (ST) arası intersitisyel dokudaki (➤) Leydig hücrelerinde (➔) tutulum görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



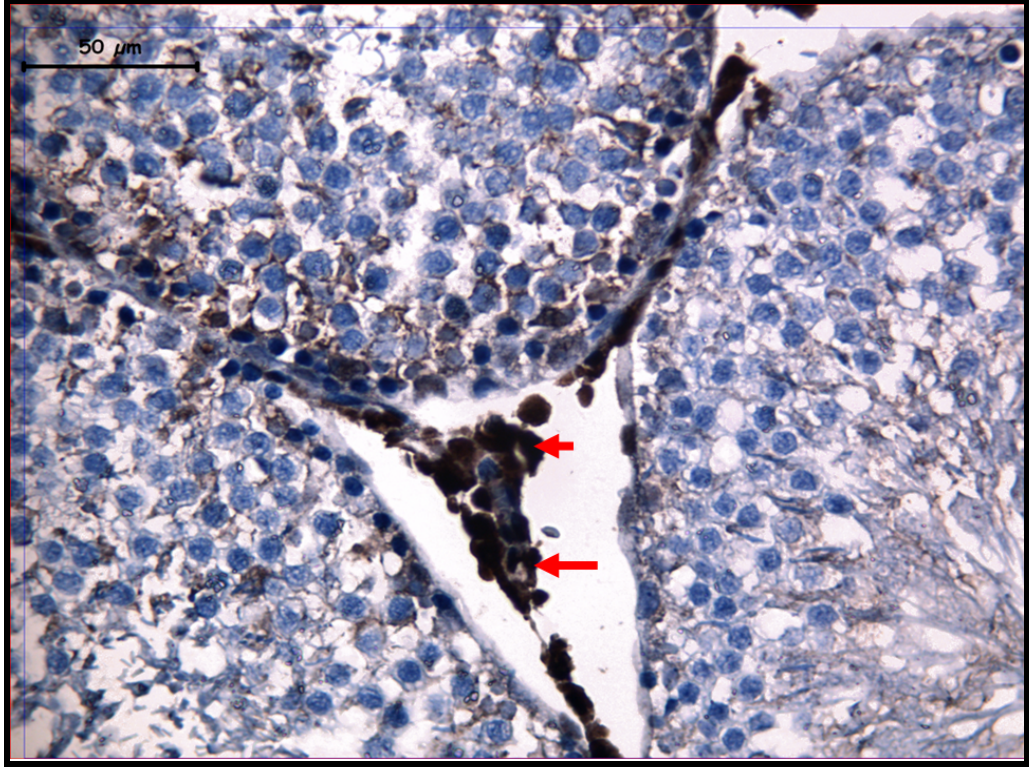
Resim 28: : HSP 70 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: intersitisyel alanda yoğun tutulum (>) görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X100).



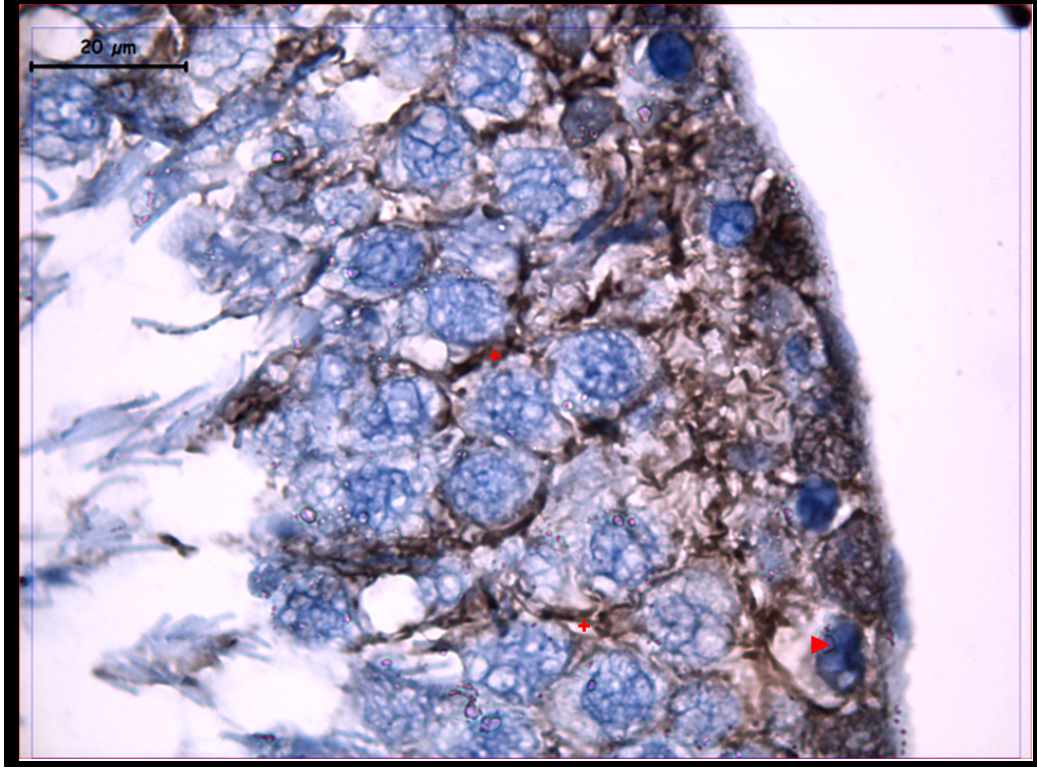
Resim 29: HSP 70 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika da örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Sertoli hücrelerinin (S) sitoplazmalarındaki immünreaktivite izleniyor. Spermatidlerde zayıf tutulum (★), intersitisyel alanda kuvvetli immünreaktivite (➤) izleniyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X400).



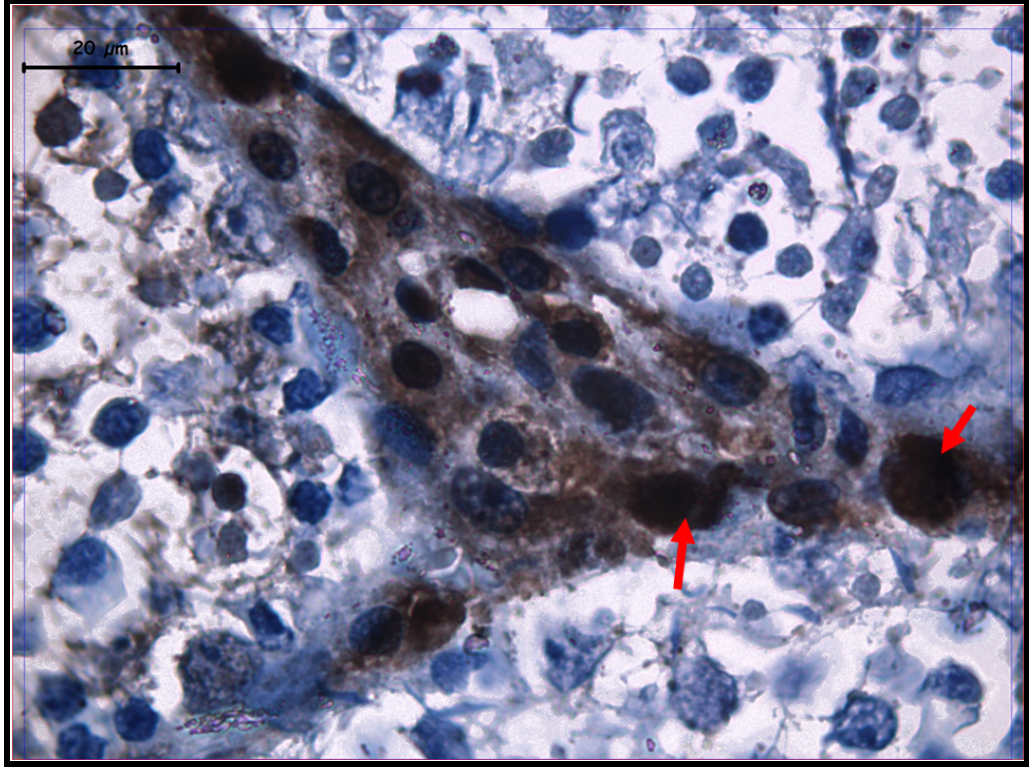
Resim 30: HSP 70 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 30. dakika sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: İntersitisyel alanda yoğun tutulum (➤) görülüyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).



Resim 31: HSP 70 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Leydig hücrelerindeki kuvvetli HSP 70 immünreaktivitesi (→) izleniyor (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X400).



Resim 32: HSP 70 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Sertoli hücrelerinin sitoplazma ve uzantılarında yaygın (+) immünreaktivite görülüyor. Spermatogonyumlarda HSP 70 (►) tutulumu belirgin (İmmünperoksidaz-Hematoksilen X1000).



Resim 33: HSP 70 boyaması yapılan SOD uygulanan ve 24. saat sonra örneklerin alındığı gruba ait testis dokusunda: Leydig hücrelerinde yaygın (→) tutulum izleniyor (İmmünperoksidaz- Hematoksilen X1000).

5. TARTIŞMA

İnsan vücudunun normal koşullardaki ısısı 36,5 - 37 °C'dir, ve sağlıklı bir insan için bu sıcaklık çok hassas bir değerdir.

İnsan vücut ısısı günlük aktiviteye ve dinlenmeye koşul olarak (uyanıklık – uyku döngüsü) fizyolojik değişiklik gösterir. Vücut ısısı öğleden sonra ya da akşama doğru en yüksek, sabaha karşı en düşük düzeydedir. Gece çalışanlarda ise vücut ısısındaki bu değişim aksine döner. Egzersiz, beslenme, kronik böbrek yetmezliği, şok, ısı ölçülen anatomik bölgelerdeki yerel yangılar gibi bazı olgular bu fizyolojik değişikliği etkiler.

Sıcaklık düştüğünde donma tehlikesi yaşanır, sıcaklık arttığında ise kişi kendisini bitkin hisseder. Sıcaklığın 40 derece üzerine çıkmasında ise koma hali görülür. Hipertermi bu koşulda ortaya çıkar.

Hipertermi vücut ısısının 41°C ya da daha yüksek bir değere yükseldiğinde ortaya çıkan sıcak çarpmasına yol açabilen bir olgudur. Düzenlenim bozukluğu sonucu gelişir.⁵⁹

Skrotum sıcaklığı vücut sıcaklığından 2-8° C düşük olmalıdır.

Hiperterminin testis üzerine olan doğrudan etkisinin germ, Sertoli ve Leydig hücrelerinde görüldüğü belirtilmiştir. Isı, germinal epitel

hücre sayısını, spermiyumların testisten kanallara iletim yeteneğini etkilemektedir. Hiperterminin dolaylı etkisi ise testis hücrelerindeki yapısal değişimlerdir.

Testiste sıcaklık artması kriptorşizime neden olur. Bu da germ hücrelerinde apoptozise, spermiyum DNA bütünlüğünde bozulmaya, spermiyumun yaşama yetisinde azalmaya, hatta infertiliteye neden olmaktadır.

Kaynaklarda hiperterminin testis üzerine olan etkilerini inceleyen çok sayıda yapısal ve klinik çalışma bulunmaktadır.

Perez-Crespo ve arkadaşları tarafından 2008 yılında yapılan bir çalışmada spermatogenezis aşamalarındaki farklı hücrelerin ısı artışına olan duyarlılıkları ve skrotal sıcaklık şiddetinin spermiyum kalitesine olan etkisi incelenmiştir. Olgun CD1 fareleri alınarak sıcaklık 42°C'de 30 dakika ve nem %60'a olacak şekilde gün başına 14 saatlik ışık uygulanarak sonuçlar incelenmiştir. Epididimisteki spermiyumlar üzerine sıcaklık şoku etkisiyle termal stres altında cinsiyet oranının bozulduğu vurgulanmıştır. Sıcaklık uygulamasından sonra yaşamda kalan spermiyum yüzdesinin azaldığı belirtilmiştir. Bu çalışmada genel olarak spermatogenezisin bozulduğu, DNA, RNA protein sentezinin zayıfladığı ve sıcaklığın protein yıkımına neden olduğu ve DNA bütünlüğünün bozulduğu belirtilmiştir.⁵

Yanira ve arkadaşları tarafından yapılan bir diğer çalışmada sıcaklığa etkin bırakılmış germ hücrelerinde apoptozis düzeneği incelenmiştir. Isıya etkin bırakılan farelerde uygulamadan 6 saat sonra

seminifer tubüllerdeki Kaspaz 9 pozitif germ hücrelerinde artış görülmüştür. Bu çalışmada ayrıca western blott yöntemi uygulanarak sitozoldeki sitokrom c ve mitokondriyonlardaki diablo (mitokondriyonlardan salınan ikincil kaspaz aktivatörü) birikimi incelenmiştir. Isıya etkin bırakılan testislerde mitokondriyon ve sitozolde cyt c ve diablo birikimi gözlenmiştir. Cyt. c'nin artmasına koşut olarak apoptozisin daha çok olduğu görülmüştür. Çalışmanın sonucunda sıcaklığa etkin bırakılmış germ hücrelerinde Q-VD-OPH dozunun Kaspaz 9 geninin aktivasyonunu önemli ölçüde engellemiş olduğu ve germ hücre ölümlerine engel olduğu saptanmıştır. Kaspaz inhibitörünün ise tipik bir etkisinin görülmediği vurgulanmıştır.¹¹⁷

Çalışmamızda hipertermi uygulamasından bir saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD uygulaması yapılan ve hipertermi sonrası 30 dakikada ve 24. saatte örneklerin alındığı gruplarda Kaspaz 9 bazı tüplerde zayıf tutulum olmasına karşın bazılarında spermatogonyum, spermatozoid, lümene atılmış hücrelerde ve Leydig hücrelerinde kuvvetli Kaspaz 9 tutulumu belirlendi. Yer yer sertoli hücrelerinde de tutulum gözlemlendi. Bazı tubüllerde seminifer epitel düzenleniminin bozulduğu yer yer vakuollerin oluşumu ilgiyi çekti. Kaspaz 9 primer antikoru Kaspaz 3 ve Kaspaz 8 antikoruyla göre seminifer epitel oluşturulan hücrelerde daha özgün tutulum gösterdiği belirlendi. Bu bulgu apoptozisin Kaspaz 9 yolu üzerinden başlatıldığını düşündürdü. İntersitisyel dokuda yer yer Kaspaz 3 tutulumunun, Leydig hücrelerinde daha belirgin olduğu dikkati çekti.

Rockett ve arkadaşları 2001 yılında yaptıkları bir çalışmada, hiperterminin olgun erkek fare fertilitesi, apoptozis ve spermatogenezdeki etkisini araştırmışlardır. Erkek fertilitésinin hücresel ve moleküler mekanizmalarla ilgisini tanımlamak için ısı şoku

uygulamışlardır. Isı şok proteini (HSPs) üreme erkini kolaylaştırmakta ve hücreyi çevreye ait sıcaklık, radyasyon ve kimyasal tehlikelerden korumaktadır. Fareler 43°C'lik sıcaklık şokuna etkin bırakılmış 8 saat sonra seminifer tubüller incelenmiştir. Tubüllerde yaygın vakuoller, yoğun kromatin kapsayan germ hücre çekirdekleri (piknotik çekirdek) ve apoptotik hücreler saptanmıştır. Sıcaklık şokundan 16 saat sonra ise tubüllerde çok büyük dejenere hücreler gözlenmiştir. Lümeninde spermiyum kuyrukları belirlenmemiştir. TUNEL yöntemiyle sıcaklık şokundan 8 saat sonra apoptotik germ hücrelerinin birikmeye başladığı izlenmiştir. HSP 70 'in de spermatositi çevre koşullarından koruduğu için sıcaklıkla arttığı gözlemlenmiştir. Çalışmanın sonucunda; koitus öncesi testiküler ısı artışı çiftleşme sayısında azalma, embriyo gelişiminde geçici gecikme, embriyo dejenerasyonları oranında artma oluşturmaktadır. Ek olarak ısı şokuna etkin bırakılmış erkeklerde spermiyum hareketliliğinde azalma ve kalitesinde düşüş görülmektedir.⁴

Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, koitusu engelleyici protein (uncoupling protein UCP2)'in testiküler germ hücrelerini hiperterminin neden olduğu apoptozisten koruyup korumadığını araştırmışlardır. Bunun için fare testisleri 43°C su banyosunda 5 dk süreyle tutulup 24 saat sonra incelemişlerdir. Sonuç olarak; hiperterminin UCP2 proteinin testiküler yayılımını başlattığını ve tüm germ hücre tiplerinde UCP2 protein düzeyinin arttığını belirtmişlerdir. UCP2'nin, germ hücrelerini apoptozisten koruduğunu bildirmişlerdir.¹¹⁹

Cynomolgus maymunlarında (*Macaca fascicularis*) 2005 yılında Lue Y. ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada; testosteronun ve sıcaklığın birlikte spermatogenezisi durdurucu etkisi olup olmadığına bakılmıştır. 32 olgun maymuna 12 hafta süreyle 2 kez boş (C), 2 kez

testosteron (T) uygulanmıştır ve ardışık 2 gün testis sıcaklığı 43°C' de 30 dakika tutulmuştur. 2 kez (T) uygulamaya ek olarak testise sıcaklık uygulamıştır. Sonuç olarak; tüm gruplarda apoptozisli germ hücre sayısının arttığını ve spermiyum sayısının azaldığı saptanmıştır. Bu nedenle de testis ısı artışı ve testosteron birlikte uygulandığında spermatogenezisi durdurucu etki gösterdiği bildirilmiştir.^{120, 121, 122,123}

Lue ve arkadaşları yaptıkları diğer çalışmada; hiperterminin moleküler düzeyde oosit ve Leydig hücrelerinde membran bütünlüğünü bozduğunu saptamışlardır. Bu sfingomyelinazları aktive ederek Bcl-2 yolağını uyarmakta ve sitoplazmada APAF-1 erkini arttırmaktadır. Sonuçta apoptozis gözlemlenmektedir.^{123 124}

Yüksek sıcaklıkta tüm organizmada yaygın olarak bulunan ısı şok proteinleri (HSP) (şaperonlar), koruyucu bir mekanizma oluştururlar. Organlardaki artan sıcaklık sonucu ribozomlarda HSP sentezi artarak, denatüre proteinlerin renatüre olmasına aracılık ederler.^{125 126}

Testiküler sıcaklığın artması nedeniyle kriptorşizim ya da varikozel gelişmekte ve spermatogenezis bozulabilmektedir. Bunu kanıtlamak ereğiyle Ogi S. ve arkadaşları deneysel kriptorşizimde bozulmuş spermatogenezisi ve sıçanların normal spermatogenezis sırasında hücresel HSPs'in ekspresyonunu immünohistokimyasal olarak değerlendirmişlerdir. Western blott ve immünohistokimyasal yöntemler kullanılarak sıçan testisinde gelişim ve dejenerasyon aşamaları sırasında HSP 25, 60, 70 ve 90'ı içeren HSPs'in hücresel lokalizasyon değişimini çalışmışlardır. Yapılan çalışmada HSP 25, somatik ve germ hücrelerinde belirlenmemiştir. HSP 60, yenidoğan ve puberte öncesinde Leydig

hücrelerinde ve puberteden sonra da primer spermatozoid ve spermatozoidlerde gözlemlenmiştir. Ayrıca HSPs 70 ve 90 yenidoğan ve erken gelişmekte olan testis Leydig, Sertoli ve germ hücrelerinde saptanmıştır. Puberteden sonra ise spermatozoid ve spermatozoidlerde belirlenmiştir. Sonuç olarak: HSPs'ın testis homeostazında önemli rol aldığını bildirilmiştir.^{114 127 128}

Zhang ve arkadaşları 2007 yılında yaptıkları çalışmada sıcaklık stresinin neden olduğu spermatozoidlerin apoptozisi sırasında testiste Cdc2'nin ekspresyonunu incelemiştir. M-faz uyarıcı faktör (MPF), katalitik alt birim Cdc2 ve düzenleyici alt birim Siklin B mayoz ve mitoz bölünmelerin G2/M faz transisyonu için gereken anahtar enzimlerdir. G2/ M faz transisyonunda interfaz aşamasında Siklin B birikmektedir. Testisteki mRNA Cdc2 'nin düzeyi RT-PCR analizi ile değerlendirilmiştir. Sıcaklık uygulamasından 8 saat sonra seminifer tübülde spermatozoid hücre dizilişinde düzensizlik olduğu, 10 saat sonra ise bazı tübülde anormal çok çekirdekli dev hücreler, vakuoller oluştuğu ve çoğu spermatozoidlerin apoptozise uğramaya başladığı Tunel yöntemi ile saptanmıştır. Sonuç olarak; sıcak uygulamasının 3. saatinde apoptozisten önce ortaya çıkan Cdc2 protein miktarında önemli bir azalma görüldüğü ve testiste sıcaklık stresine Cdc2'nin direnci olmadığı belirtilmiştir.^{129,130}

Mclean ve arkadaşlarının yaptığı bir diğer çalışmada, vitamin A yetersizliği ve sıcak uygulanmış testiste in vivo koşullarda spermatozoid kök hücreleri incelemiştir. Sonuç olarak; hipertermi uygulanmış testisteki kök hücrelerin toplam sayısının kontroldekiler ile aynı olduğu bulunmuştur. Vitamin A eksikliği olan, VAD (vit A eksik) deneklerin testisindeki spermatozoid kök hücrelerin sayısı ya da biyolojik erkende

azalma izlenmiştir. Vitamin A'nın fare direnme gücünde ve spermatogonial kök hücre gelişiminde önemli rolü olduğu belirtilmiştir.^{131 132 133}

Chen ve arkadaşları sıcaklık proteini üzerine bir çalışma yapmışlardır. Bu çalışmada maymun Sertoli hücrelerinde sıcaklık şoku proteinleri (HSP 105, HSP 70, HSP 60) ekspresyonu üzerine 43°C'nin etkilerini incelemiştir. Western blott analizi, gerçek zaman polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ve konfokal (çift odaklı) mikroskopi ve immunohistokimyasal yöntemler kullanmışlardır. Sıcak uygulanan Sertoli hücreleri Hoechst 33342 ile boyanmış ve apoptozise uğramadıkları belirtilmiştir. HSP 105 sıcak uygulanmayan Sertoli hücrelerinin sitoplazmasında görülmüştür. Sıcak uygulandıktan 12 saat sonra, sıcak uygulanmayan kontrol grupları karşılaştırıldığında HSP 105'in mRNA ve protein düzeyini 20 kat arttığı görülmüştür. Uygulama yapılmayan Sertoli hücrelerinde HSP 70 belirlenmemiştir Sıcak stresi ise Sertoli hücre sitoplazmasında ekspresyonuna neden olmuştur. Zaman içinde HSP 70'in tutulumu HSP 105'e benzerlik göstermektedir. Sıcak uygulamasından sonraki 12 - 48 saat içerisinde protein düzeyi kontrol grubundan 1,5 kat fazladır. Ayrıca hücre dışı düzenlenen kinaz (ERK) ½ inhibitör (U0126) ya da fosfoinositide kinase-3 (PI3K) inhibitör (LY294002) 'lerin HSP 105 ve HSP 70'in sıcaklık stresine verdiği yanıtı kısmen engel olduğu belirtilmiştir.^{134,135,136}

Çalışmamızda hipertermi uygulamasından sonra HSP 70 boyaması yapılan 30. dakikada örneklerin alındığı gruplarda 24. saattekilere oranla normal yapının korunduğu belirlendi. Sertoli hücrelerinde ve spermatitlerde zayıf tutulum gözlemlendi. Özellikle ara bağ dokuda kuvvetli HSP 70 tutulumu gözlemlendi.

Hipertermi uygulamasından 24 saat sonra örneklerin alındığı gruplarda ise HSP 70 tutulumunun sertoli hücrelerinde ve Leydig hücrelerinde artmıştı.

Amir ve Zvi' nin 2008 yılında yaptıkları çalışmada hiperterminin erkeklerde Leydig hücrelerinde membran dejenerasyonuna neden olarak gametogenezisi engellediği bildirilmiştir.¹³⁷

Okauchi yaptığı çalışmada; fareleri 33°C ısıya 5, 10, 15 ve 20 gün süreyle etkin bırakmıştır. Sıcaklık uygulamasını izleyerek denekler 60 gün süresince 8-18°C'lik ortamda tutmuştur. Bu iki uygulamadan sonra anormal spermium yüzdesi ve ejakülat miktarı incelenmiştir. Çalışmanın sonucunda; sıcaklığa etkin bırakılan grupta anormal spermium sayısı artmış, semen miktarı ise azalmıştır. Diğer grupta ise değerler kısmen normale dönmüştür. Spermiumlarda izlenen esas değişiklikler baş, boyun ve kuyruk anomalileridir.¹³⁸

Jegou ve arkadaşları çalışmalarında kısa süreli sıcaklığın testis, özellikle de Leydig hücre işlevlerinde etkisini incelemişlerdir. Leydig hücre işlevini, in vitro testosteron üretimi ve serum testosteron düzeyini ölçerek araştırmışlardır. 43°C 15 dk süreyle ısı uygulamasından 7 gün sonra testis ağırlığının kontrol grubuna karşın %70 azaldığı, epididimis ağırlığının ise azalmadığını vurgulamışlardır. Serum FSH düzeyi ve testosteron üretiminin önemli ölçüde arttığı bildirilmiştir.¹³⁹

Bartlett ve Sharpe, sıçan testisleri üzerine yaptıkları çalışmada 43°C da 30 dakika süreli sıcaklığın FSH ve ABP (androjen

bağlayıcı protein) yoğunluklarını arttığını ve testis ağırlığının ise %39 oranında azaldığını belirtmişlerdir. Spermatogenezisin ise daha uzun süreli ısı uygulamasından sonra bozulduğunu saptamışlardır.^{140 139}

Steinberger ve Dixon'nun yaptıkları çalışmada testisleri 43°C de 15 dk süreyle sıcak suda bekletildikten sonra testisten alınan doku kesitlerinin incelenmesinde sıcaklığın seminifer epitelde germ hücre dejenerasyonlarına neden olduğunu belirtmişlerdir.¹⁴¹

Mieusset ve arkadaşlarının çalışmalarında sıcaklık uygulamasında testislerin testiküler kan plazmasının akışını incelemişlerdir. Bunun için sıcaklık düşürüldükçe uygulama süresi uzatılarak 39°C' de 60 dk veya 36°C'de 120 dk uygulanan işlemde sonra her 10 dk'da testiküler kan plazmasının akıcılığı sodyum p-aminohippurate seyreltme yöntemi ile ölçülmüştür. Sonuç olarak: kanın akıcılığının damar geçirgenlik değişiminden etkilendiği için sıcaklık ile testiküler kapillerdeki kanın akıcılığının arttığını bildirmişlerdir.^{142 143 144}

Gorostizaga ve arkadaşları MA-10 Leydig hücrelerinde sıcaklık stresinin başlattığı, MAP kinazın hızlı aktivasyonu ve MK1 ve HSP 72 protein indüksiyonu gibi geciktirilmiş olguları saptamaya çalışmışlardır. Sıcaklıkta MAPKs, serin ve threonin kinaz ailesini oluşturmaktadır. Bu da hücre büyüme, farklılaşma ve apoptozisinde önemli bir rol oynamaktadır. 10 dk 45°C'lik sıcaklık şokunda JNK kinaz ve ERK ½' nin aktivasyonu hızlıdır. Ancak geçici bir şekilde üretilir ve MAP kinaz fosfataz-1 (MKP-1) protein düzeyini artırır. Ek olarak 30 dakikada MKP-1 protein düzeyi artışını izleyerek mRNA düzeyide artar. Sıcaklık şokunda MKP-1 uygulamasının Ca²⁺ bağımlı olduğuda belirtilmiştir. Ayrıca MAPK

aktivasyonu ve MKP-1 uyarılmasından sonra HSP72' nin uyarıldığı izlenmiştir. Sonuç olarak sıcaklık stresine karşı Leydig hücrelerinin, MAPKs aktivasyonu, MKP-1 ve HSP 72' nin uyarılması gibi geciktirilmiş olaylarla yanıt verdiği gösterilmiştir.¹⁴⁵

Yüksek sıcaklığın ejakülat kalitesini düşürdüğü bilinmektedir. Hjollund ve arkadaşları oturarak çalışan insanların spermium yoğunluklarını ölçmek için 99 sağlıklı erkekte ölçümler yapmışlardır. Bu erkekleri 24 saat gözlemleyerek kan ve ejakülat örnekleri almışlardır. Sonuç olarak skrotal ısının her 1°C artması ile spermium yoğunluğunun %40 azaldığı belirlenmiştir. Eşdeğer sonuçlar toplam spermium sayısında, FSH ve inhibin B için de bulunmuştur. Hareketlilik, yapı, Ph ve testosteron düzeyinin ise önemli bir şekilde sıcaklık ile ilişkili olmadığını belirtilmiştir. Skrotal sıcaklık ve ejakülat kalitesi arasında yakın bir ilişki olduğu ancak oturarak çalışmanın buna az bir etkisi bulunduğu bildirilmiştir.^{146,147,148}

İrez ve arkadaşları yüksek ısıda çalışan işçilerde ısının spermium değerleri üzerine olan etkilerini incelemek amacıyla bir çalışma yapmışlardır. 1 hafta süresince otomatik ısı ölçer ile ısı ve nem ölçülüp, kaydedilmiştir. Yüksek ısıda çalışan 34 işçi çalışma grubu, normal ısıyla çalışan 26 işçi ise kontrol grubu olarak değerlendirilmiştir. Yapılan spermium analizleri sonucu çalışma grubunda spermium sayımı, normal (%) ve hareketli spermium (%) oranı kontrol grubuna karşın belirgin olarak düşük bulunmuştur ($p < 0.001$). Çalışma grubunda %20.5 olguda spermium sayısı 20 milyon/ml'nin altında saptanmıştır. Bu bulgularla yüksek ısının ejakülat değerleri üzerine olan baskılayıcı etkisi ile erkek infertilitesinde rol oynadığı vurgulanmıştır.¹⁴⁹

Adly ve arkadaşları sıcaklık şoku proteini olan HSP 27'yi belirlemek için yaş aralığı 29-54 olan 30 infertil erkekte alınan testiküler biyopsi örneklerinde seminifer epitelinde HSP 27' nin tutulumunu incelemiştir. HSP 27, Leydig hücrelerinde, spermatogonyum ve Sertoli hücrelerinin sitoplazmalarında güçlü bir tutulum göstermiştir. Ek olarak tepkimenin spermatositlerde orta derecede, spermatitlerde zayıf, spermatogonyumlarda ise olmadığı gösterilmiştir. Olgunlaşması tamamlanmış olan testislerde HSP 27 Sertoli hücrelerinde güçlü, spermatosit ve spermiyumlarda zayıf bir şekilde ifade edilmiştir. Bu proteinin değiştirilen ifadesinde testiste anormal spermatogenezis görülmektedir. Bunun infertil erkek patogenezi ile ilgili olabileceği belirtilmiştir.¹⁵⁰

6. SONUÇ

Çalışmamızda hipertermi uygulamasında SOD'un strese koşt etkisinin değerlendirilmesi amacıyla başlatıcı kaspazlardan Kaspaz 8 ve 9 ile ilerletici kaspazlardan Kaspaz 3 proteinlerinin tutulumu incelendiğinde başlatıcı kaspazlardan Kaspaz 9 tutulumunun daha belirgin olduğu saptandı. İmmünoreaktivitenin özellikle spermatogonyum, spermatozoidler ve Leydig hücrelerinde hipertermi uygulaması ile arttığı izlendi. Kaspaz 9 tutulumunun belirginliği, hiperterminin dış yolak üzerinden apoptozisi uyarılmış olabileceği kanısını uyandırdı. Ancak Kaspaz 3 tutulumunun hipertermi ile çok belirgin artmadığı, dolayısıyla hiperterminin ileri apoptozise neden olmadığı belirlendi. Tüm kaspazlar için SOD uygulamasının süreye koşt tutulumu azalttığı gözlemlendi.

HSP 70 tutulumunun testis genelinde intersitisyel doku düzeyinde olduğu, SOD uygulaması ile tutulumun süreye koşt arttığı belirlendi. Bu bulgu, HSP 70'in koruyucu özellik sergilediğinin bir göstergesi olarak kabul edildi

Sonuç olarak hiperterminin özellikle spermatogonyum ile spermatozoid I ve Leydig hücrelerinde dış yoldan apoptozisi başlattığı, Leydig hücrelerinde gözlenen apoptozisin testosteron sentezini azaltarak, seminifer tubüllerde spermatogenezis ve spermiyogenezisi baskılamış olabileceği ve bu seriyi oluşturan hücrelerde dış yolak apoptozisinden sorumlu olabileceği yargısına varıldı. Ancak SOD uygulamasının süreye koşt apoptozisi baskıladığı, bunu da artan HSP 70'in koruyucu etkisi sayesinde gerçekleşmiş olabileceği sonucuna varıldı.

7. ÖZET

Hipertermi vücut sıcaklığının 41° C ya da daha yüksek bir değere ulaşmasıyla ortaya çıkan ve sıcak çarpmasına yol açabilen bir durumdur. Memelilerde testiküler sıcaklık vücut sıcaklığından daha düşüktür. Skrotal ısının artması düşük kalitede spermium üretimine, germ hücrelerinde apoptozise ve infertiliteye neden olur. Süperoksit dismutaz (SOD) ise serbest oksijen radikallerini ortadan kaldırarak, oksidatif stresi engelleyebilen ve apoptotik süreci geri döndürebileceği düşünülen antioksidan bir maddedir.

Tüm bu nedenlerden ötürü çalışmamızda; hipertermi ile oluşturulan ısı stresinin ve stres öncesinde kullanılan süperoksit dismutazın, testis üzerindeki koruyucu ve tedavi edici etkilerinin apoptotik ve oksidatif stres belirteçleri kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

Çalışmada kullanılan 18 adet Wistar-albino cinsi erkek sıçan, her grupta 6 denek olacak şekilde 3 gruba ayrılmıştır. Kontrol grubu olarak belirlenen birinci gruptaki deneklerin skrotumları, sıcaklığı 22° C'ye ayarlanmış havuzda 20 dakika süre ile tutulmuş ve 24 saat sonra kesilerek testis dokuları alınmıştır. İkinci ve üçüncü gruptaki denekler ise; skrotal hiperterminin oluşturulması amacıyla, sıcaklığı 42° C' ye ayarlanmış havuzda 20 dakika bekletildikten sonra sırasıyla 30. dakika ve 24. saatte testis dokuları alınmıştır. Hipertermi uygulaması yapılan gruplara, uygulamadan 1 saat önce NaCl+ Katalaz+ SOD enjeksiyonu yapılmıştır. Alınan dokular alışıl gelmiş ışık mikroskopik izleme yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklar oluşturulmuştur. Hiperterminin neden olduğu

apoptozise, sitozolik bir antioksidan olan süperoksit dismutazın (SOD) protektif ve törapatik etkilerinin belirlenmesi amacıyla Kaspaz 3, Kaspaz 8 ile Kaspaz 9 ve HSP protein düzeylerine etkisinin belirlenebilmesi amacıyla HSP 70 primer antikorlarıyla indirekt immünohistokimyasal yöntem uygulanmıştır.

Yapılan değerlendirmeler sonucunda; başlatıcı kaspazlardan Kaspaz 8 ve 9 ile ilerletici kaspazlardan Kaspaz 3 proteinlerinin tutulumu incelendiğinde, Kaspaz 9 tutulumunun daha belirgin olduğu saptanmıştır. İmmünoreaktivitenin özellikle spermatogonyum, spermatozoid l'lerde ve Leydig hücrelerinde hipertermi uygulaması ile arttığı izlenmiştir. Kaspaz 9 tutulumunun belirginliği, hiperterminin dış yolak üzerinden apoptozisi uyarılabileceği kanısını uyandırmıştır. Ancak Kaspaz 3 tutulumunun hipertermi ile çok belirgin artmadığı, dolayısıyla hiperterminin ileri apoptozise neden olmadığı belirlenmiştir. Tüm kaspazlar için SOD uygulamasının süreye koşut tutulumu azalttığı gözlenmiştir.

HSP70 tutulumunun testis genelinde intersitisyel doku düzeyinde olduğu, SOD uygulaması ile tutulumun süreye koşut arttığı belirlenmiştir. Bu bulgu, HSP 70'in koruyucu özellik sergilediğinin bir göstergesi olarak kabul edilmiştir.

Sonuç olarak hiperterminin özellikle spermatogonyum ile spermatozoid I ve Leydig hücrelerinde dış yoldan apoptozisi başlattığı, Leydig hücrelerinde gözlenen apoptozisin testosteron sentezini azaltarak, seminifer tubüllerde spermatogenezis ve spermiyogenezisi baskılamış olabileceği ve bu seriyi oluşturan hücrelerde dış yolak apoptozisinden sorumlu olabileceği düşünülmüştür. Ancak SOD uygulamasının süreye

koşut apoptozisi baskıladığı, bunun da artan HSP 70'in koruyucu etkisi aracılığıyla gerekleşmiş olabileceği sonucuna varılmıştır.

8. SUMMARY

Hyperthermia can be caused a heat shock when the body temperature rise up 41 °C. Testicular heat lower than body heat in mammalian. Scrotal temperature increase can cause lower quality sperm production, germ cells apoptosis and infertility. Superoxide dismutase (SOD) can eliminate free can prevent oxidative stress and turn back apoptotic process by element free oxygen radical.

Because of all these reasons in this study our aim to determine protecting and curative effects of heat stress and SOD which used before stress on testis by using apoptotic and oxidative stress marks.

In this study used 18 male Wistar albino, I will be divided into the three groups. Each group contains 6 rats. The first group was identified as a control group of subjects scrotum, temperature 22°C for 20 minutes in the pool were adjusted and testicular tissue were taken 24 hours after the cut. The subjects in the second and third group, in order to create a scrotal hyperthermia, being set in the pool which temperature 42°C for 20 minutes after respectively 30. minutes and 24. hours testicular tissues were obtained per hour. The application of hyperthermia groups enjected with NaCl + SOD + Catalase one hour before application. Tissues which were obtained, compose paraffin blocks which were created by passing methods of light microscopy methods.

Testis tissue had been stained caspase 3, 8, 9 and HSP 70 antibody, and we experimented curative effects of SOD on apoptosis which caused by hyperthermia by using immunohistochemical method.

After assesment of activator caspase 8, 9, effector 3, we detected that caspase 9 is more markedly. Immunoreactivity increasing specially in spermatogonium, spermatocyte I and Leydig cells by hyperthermia exposing. The reason of detecting more caspase 9 positive germ cells, that hyperthermia can induce apoptosis by caspase 9 pathway. But caspase 3 did not increase prominently, so we can say that hyperthermia did not cause high apoptosis. Consequently we detected that SOD decrease caspase positive germ cells.

We detect HSP 70 expression in interstitial location and expression increased with SOD application. This finding indicate of HSP 70's protecting feature.

At the end we can say that hyperthermia activate apoptosis specially in spermatogonium, spermatocyte I and Leydig cells through external pathway. Apoptosis decrease testosterone levels in Leydig cells and can be pressed spermatogenesis in seminiferous tubules and can be caused apoptosis through pathway in these cells. But SOD application decrease apoptosis by HSP 70 protective effect.

9. KAYNAKLAR

1. Sadler TW. Langman' s Medikal Embriyoloji (Türkçe Çeviri), 9. Baskı, Ankara: Palme Yayıncılık; 2005.
2. Erdoğan D, Hatipoğlu MT, Görgün M, Ilgaz C. Özel Histoloji, 2. Baskı, Ankara: Hatiboğlu Yayınevi; 2007.
3. Erbeni T, Histoloji II, 2. Baskı, 153-187, İstanbul: Beta Basım Yayım Dağıtım A.Ş; 1990.
4. Rockett JC, Mapp LF, Carges BJ, et al. Effect of Hyperthermia on Spermatogenesis, Apoptosis, Gen Expression and Fertility in Adult Male Mice, *Biology of Reproduction*. 2001; 65: 229-239.
5. Perez-Crespo M, Pintado B, Gutierrez-Adan A, Scrotal Heat Stres Effects on Sperm Viability, Sperm DNA Integrity, and the Offspring Sex Ratio in Mice, *Molecular Reproduction and Development*. 2008; 75: 40-47.
6. Sailer BL, Sarkar LJ, Bjordahl J A, Jost LK, Evenson D.P, Effects of Heat Stres on Mouse Testicular Cells and Sperm Chromatin Structure. *J Androl*. 1997; 18: 294-301.
7. Numanoğlu S, Östrojen Bağımlı Meme Kanseri Hücrelerinde (MCF-7) Genistein ve Hiperterminin Kombine Etkisinin Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi) Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, 2008.

8. Sheynkin Y, Jung M, Yoo P, Schulsinger D, Komaroff E, (Çeviri Bafflar M.) Diz Üstü Bilgisayar Kullanıcılarda Skrotum Isısında Artış. Hum Reprod. 2005; 20(2): 452-5.
9. Vydra N, Malusecka E, Jarzab M, Lisowska K, Glowala- Kosinska M, Benedyk K, Widlak P, Krawczyk Z, and Widlak W. Spermatocyte-Specific Expression of Constitutively Active Heat Shock Factor 1 Induces HSP70i-resistant Apoptosis in Male Germ Cells. Cell Death and Differentiation 2006; 13: 212–222.
10. Fiorenza MT and Mangia F. Hyperthermia Specifically Inhibits Bivalent Chromosome Disjunction in Maturing Mouse Oocytes, Biology Of Reproduction. 1992; 46: 658-664.
11. Pavitra Ranawat AE M. P. Decreased Glutathione Levels Potentiate the Apoptotic Efficacy of Selenium: Possible Involvement of p38 and JNK MAPKs—in vitro Studies. Mol Cell Biochem. 2008; 309: 21–32.
12. Yanhe Lue, Amiya P. Sinha Hikim, Christina Wang, Michael Im, Andrew Leung, and Ronald S. Testicular Heat Exposure Enhances the Suppression of Spermatogenesis by Testosterone in Rats: The “Two-Hit” Approach to Male Contraceptive Development, Swerdloff. Endocrinology.2000; 141: 41414-1424.
13. Missuet R, Bujan L, Mansat A, Pontonier F, Grandjean H, Effects of Artificial Cryptorchidism on Sperm Morphology, Fertil Steril.1987; 47: 150-5.
14. Gorostizaga A, Brion L, Maloberti P, et al. Heat Shock Triggers MAPK Activation and MKP-1 Induction in Leydig Testicular Cells, Biochemical and Biophysical Research Communications. 2005; 327: 23-28.

- 15.** Lia W, Hellsten A, Jacobsson LS, Blomqvist HM, Olsson AG, et al. Alpha-tocopherol and Astaxanthin Decrease Macrophage Infiltration, Apoptosis and Vulnerability in Atheroma of Hyperlipidaemic Rabbits. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2004; 37: 969–978.
- 16.** Roth Z, Aroyo A, Yavin S, Arav A. The Antioxidant Epigallocatechin Gallate (EGCG) Moderates the Deleterious Effects of Maternal Hyperthermia on Follicle-enclosed Oocytes in Mice. *Theriogenology*. 2008; 70: 887–897.
- 17.** Amifostine Protective Effect on Cisplatin-Treated Rat Testis. Lirdi Lc, Stumpp T, Sasso-Cerri E, Miraglia SM. *Anat Rec (Hoboken)*. 2008 Jul; 291(7): 797-808.
- 18.** Wu SH, Oldfield JE, Whanger PD, and Weswig PH. Effect of Selenium, Vitamin E, and Antioxidants on Testicular Function in Rats *Biology of Reproduction* 1973; 8: 625-629.
- 19.** Jeffrey JL, Turner TT, Peptide and Nonpeptide Reactive Oxygen Scavengers Provide Partial Rescue of the Testis After Torsion, *Journal of Andrology*. 2002; 23: 3.
- 20.** Ren L, Medan MS, Ozu M, Li C, Watanabe G, Taya K, Effects of Experimental Cryptorchidism on Sperm Motility in Adult Male Rats. *J Reprod Dev*. 2006; 52: 219-28.
- 21.** Şeftalioğlu A, Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi, Feryal Matbaası, 3. Baskı, Ankara: 1998.
- 22.** Maskar Ü, Embriyolojisi, 6. Baskı, İstanbul: AR Yayın Dağıtım; 1982.

- 23.** Petorak İ, Medikal Embriyoloji, 1. Baskı, İstanbul: Beta Basım Yayım; 1984.
- 24.** Rethenburger A. Gay R. Renkli Embriyoloji Atlası, İstanbul: Nobel Tıp, Kitabevleri; 2000.
- 25.** Moor KL. Clinically Oriented Anatomy, Third edition, Williams & Wilkins, Baltimore, 1992.
- 26.** Tekelioğlu M. Özel Histoloji İnce Yapı ve Gelişme, 1. Baskı, Ankara: Antıp A.Ş. Yayınları; 2002.
- 27.** Gartner PL, Hiatt JL. Color Text Book of Histology, Second ed, WB. Saunders Company, Philadelphia. 2001.
- 28.** Ross MH, Kaye GI, Pawlina W. Histology A Text and Atlas, Fourt ed, Williams & Wilkins, A Wolters Kluwer Company, Philadelphia. 2003.
- 29.** Hatipoğlu TM, Hatipoğlu HG, Yüksekokullar Anatomi Ders Kitabı, Ankara: Selvi Yayınevi; Mayıs 2006.
- 30.** Drake RL, Vogl W, GRAY'S Tıp Fakültesi Öğrencileri İçin Anatomi, Çeviri Editörü: Yıldırım M, İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Anatomi Anabilim Dalı. Güneş Kitabevi; 2007.
- 31.** Tunç E, UTS, uzmanlar TUS Serisi, Anatomi, 3. Baskı, Atlas Kitapçılık; 2001.
- 32.** Gökmen FG, Sistemik Anatomi, Birinci Baskı, İzmir: Güven Kitabevi; 2003.

- 33.** Arıncı K, Elhan A, Anatomi 1. cilt, 3. Baskı, Ankara: Güneş Kitabevi; 2001.
- 34.** Colognato H, Yurchenco PD, Form and Function: The Laminin Family of Heterotrimer. Developmental Dynamics; 2000.
- 35.** Hargreave TB, Liakatas J, Physical Examination for Varicocele. Br J Urol. 1991; 67 (3): 328.
- 36.** Harrison RG, The Comparative Anatomy of the Blood Supply of the Mammalian Testis. Proc Zool Soc. London: 1949.
- 37.** Pettersson S, Sodernhole B, Peterson JE, et al. Testicular Blood Flow in Man Measured with Versus Occlusion Plethysmography and Xenon-133. Secons J Urol Nephrol. 1973; 7: 115-119.
- 38.** Chenval MJ, Purcell MH, Deterioration of Semen Parameters Over Time in Men with Untreated Varicocele: Evidence of Progressive Testicular Damage. Fertil Steril. 1992; 57(1):174-7.
- 39.** Silber SJ, Microsurgical Aspects of Varicocele, Fertil Steril. 1979; 31(2):230-2.
- 40.** Shafik A, Moftah A, Olfat S, Mohi-el- Din M, EL-Sayed A, Testicular Veins: Anatomy and Role in Varicocele Ogenesis and Other Pathologic Conditions. Urology. 1990; 35(2):175-82.
- 41.** Bayard F, Boulard PY, Huc A, Pontonnier F, Arterio-venous Transfer of Testosterone in the Spermatic Cord of Man. J Clin Endocrinol Metab. 1975; 40: 345

- 42.** Bayramođlu E, Aras D, Akdođan A, et all. Anatomi Histoloji Embriyoloji TUS Birincileri Ders Notları Serisi, Editör: Coşgun A, Aras D. Nobel Tıp Kitabevi Ltd, Şti. 1998; 306-316.
- 43.** Yıldırım M, İnsan Anatomisi 2, Dolaşım Sistemi, İç Organlar, Sinir Sistemine Giriş Duyu Organları, Nobel Tıp Kitabevileri. 2006; 181-183.
- 44.** Junguerira LC, Carniero J, Temel Histoloji. Aytekin Y, Solakođlu S (Çeviri Editörleri). 10. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2006.
- 45.** Abraham L, Kierszen B, Histoloji ve Hücre Biyolojisi Patolojiye Giriş, Demir R (Çeviri Editörü). Ankara: Palme Yayıncılık; 2006.
- 46.** Karagöz E, Özel Histoloji, Isparta: SDÜ Yayınevi; 2002.
- 47.** Tanyolaç A, Özel Histoloji, 3. baskı, Ankara: Yorum Basın Yayın Sanayi; 1999.
- 48.** Delilbaşı L, A'dan Z'ye Tüp Bebek Laboratuar. Veri Medikal Yayıncılık; 2008.
- 49.** Delilbaşı L, Tüp Bebek Yardımcı Üreme Tekniklerinde Laboratuar Yöntemleri Bayındır Tıp Merkezi İnfertilite Bölümü Baysev Bayındır Sağlık, Eğitim ve Araştırma Vakfı; 1997
- 50.** Veeck LL, MLT, hDSc. An Atlas of Human Gametes and Conceptuses, London: The Parthenon Publishing Group; 1998.
- 51.** Delilbaşı L, İn Vitro Fertilizasyon (IVF) Laboratuar Yöntemleri. Güneş Tıp Kitabevi; 2008.

- 52.** Young B, John W, Wheater's Functional Histology a Text and Colour Atlas, Fourth Edition; 2000.
- 53.** Robert E, Donald Cave M, Histology and Cell Biology, Serier Editor Edward F, Goljan MD, Rapid Review Series. 2006.
- 54.** Erbaş D, Öz E, Güler Ö, Fizyoloji Sağlık Meslek Liseleri Ders Kitabı, Ankara: Hatiboğlu Basım ve Yayım; 1998.
- 55.** Noyan A, Yaşamda ve Hekimlikte Fizyoloji. 13. Baskı. Şubat 2003.
- 56.** William F, Ganong Tıbbı Fizyoloji Bilimler Derneği. 20. Baskı. Nobel Tıp Kitabevleri; 2002.
- 57.** Guyton AC, Hall JE, Tıbbı Fizyoloji, 10. Baskı, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri; 2001.
- 58.** Tabak F. Ateş Patogenezi, Ateş Tipleri, Erişkinde Ateş Yönetimi. İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Ateşli Hastaya Yaklaşım Sempozyumu. 2006; 53: 5327-36.
- 59.** Mackowiak PA, Temperature Regulation and The Pathogenesis of Fever, İn: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, Principles and Practice of Infectious Diseases, Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000.
- 60.** Vydra N, Malusecka E, Jarzab M, Lisowska K, et al. Spermatoocyte Specific Expression of Constitutively Active Heat Shock Factor 1 Induces HSP 70i – Resistant Apoptozis in Male Germ Cells, Cell Death and Differentiation; 2006.

- 61.** Khadir A, Verreault J, Averill A, Inhibition of Antioxidants and Hyperthermia Enhance Bleomycin Induce Cytotoxicity and Lipid Peroxidation in Chinese Hamster Ovary Cells, Archives of Biochemistry and Biophysics. 15 October 1999; 370(2),163-175.
- 62.** Safinaz A, Piyer A, Sıcak Ortamda Egzersiz, İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Spor Hekimliği Anabilim Dalı. İstanbul: Klinik Gelişim. 2007; 14-15.
- 63.** Costoanzo LS, Saunder's Text & Review Series Physiology, 9th ed, Philadelphia: W.B, Saunders Company; 1998.
- 64.** Hatiboğlu MT, Anatomi ve Fizyoloji, 15. Baskı, Ankara: Hatiboğlu Yayınevi; 2009.
- 65.** Huges F, Childlowski JA, The Enzimology of Apoptosis, Apoptoz in Normal Development and Cancer. London: S. Mels Ed, Taylor ve Francrs Ltd; 21-22, 1996.
- 66.** Alles A, Alley K, Barrett JC, et al. Apoptozis a General Comment, FASEB J; 1991.
- 67.** Kerr JFR, Harmon B, Searle J, An Electron Microscope Study of Cell Eletion in the Anuran Tadpole Tail during Spontaneous Metamorphosis with Special Reference to Apoptosis of Striated Muscle Fibres. J. Cell Sci. 1974; 14: 571-585.
- 68.** Tomei LD, Cope FO, In Apoptosis: The Molecular Basis of Cell Death, Cold Spring Harbor Laboratory Pres. Newyork; 1991.

- 69.** Gerschenson LE, Rotello R.J, Apoptosis: a Different Type of Cell Death, *FASEB J.* 1992; 6: 2450-22455.
- 70.** Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR, Apoptosis a Basic Biological Phenomenon with Wide Ranging Implications in Tissue Kinetics, *Br J Cancer.* 1972; 26: 239-57.
- 71.** Tanuma S, Shiokawa D, Tanimota Y, Ikekita M, Sakagami H, Takeda M, et al. Benzylidenea Scorbate Induces a Apoptosis L929 Tumor Cells, *Biochem, Byophys. Res. Commun.* 1993; 194: 29-35.
- 72.** Cohen JJ, Duke RC, Fadok UA, Sellins KS, Apoptosis and Programmed Cell Death in Immunity, *Ann. Res. Immunol,* 1992;10: 267-293.
- 73.** Wyllie AH. Glucocorticoid- Induced Thymocyte Apoptosis is Associated with Endogenous Endonuclease Activation. *Nature.* 1980; 284: 555-556.
- 74.** Chang HY, Yang X, Proteases for Cell Suicide: Functions and Regulation of Caspases, *Microbiology and Mol. Biol. Rev.* 2000; 64: 821-846.
- 75.** Almeri ES, Livingston DJ, Nicholson DW, Salvesen G, Thornberry NA, Wong WW, Yuan J, Human ICE/CED – Protease Nomenclature, *Cell,* 1996, 87: 171.
- 76.** Kaufman SH, Hengartner MO. Programmed Cell Death: a Live and Well in the New Millennium. *Trends Cell Biol* 2001; 11: 526-34.

- 77.** Roy N, Cardone MH. The Caspases: Consequential Cleavage. In Jacobson MD, Me Carthy N Editors. Apoptosis: the Molecular Biology of Programmed Cell Death. Oxford University Press. 2002; 93-135.
- 78.** Krauss G, Biochemistry of Signal Transduction and Regulation, WILEY-VCH, Darks. 2001; 456-467.
- 79.** Thornberry NA, Bull HG, Calaycay JR. et al. A Novel Heterodimeric Cysteine Protease is Required for Inter Leukin-1 beta Processing in Monocytes. Nature. 1992; 356: 768-774 .
- 80.** Schierre GS, Hansson O, Lerst M, Nicotera P, et al. Caspase Inhibition Reduces Apoptosis and Increases Survival of Nigral Transplants Nat. Med. 1999; 5: 97-100.
- 81.** Miura M, Zhu H, Rotello R. et al. Induction of Apoptosis in Fibroblasts by IL-1 beta Converting Enzyme, a Mammalian Homolog of the C. Elegans Cell Death Gene ced-3, cell, 1993; 75, 653-660.
- 82.** Kurda K, Zheng TS, Na S. et al. Decreased Apoptosis in the Brain and Premature Lethality in CPP 32 Deficient Mice. Nature. 1996; 384: 368-372.
- 83.** Kurda K, Haydar TF, Juan CY. et al. Reduced Apoptosis and Cytochrome c - Mediated Caspase Activation in Mice Lacking Caspase 9. Cell. 1998; 94: 325-337.
- 84.** Nagata S, Golstein P, The Fas Death Factor, Science. 1995; 267: 1449-1456.

- 85.** Ashkenazai A, Dixit VM. Death Receptor Signalling and Modulation. *Science*. 1998; 281: 1305.
- 86.** Wallach D, Varfolomeev E, Malinin ML. et al. Tumor Necrosis Factor Receptor and Fas Signaling Mechanisms, *Annu. Rev-immunol*. 1999; 17: 331-367.
- 87.** Hsu H, Xiong J, Goeddel DV. The TNF Receptor Associated Protein TRADD Signals Cell Death and NF- Kappa B Activation. 1995; 81: 495-504.
- 88.** Boldin MP, Goncharov TM, Goltsev YV, Wallach D. Involvement of MACH, a Novel MORT1/ FADD Interacting Protease, in FAS / APO-1 and TNF Receptor Induced Cell Death *Cell*. 1996; 85:803-815.
- 89.** Salvesen GS, Dixit VM. Caspases: Intracellular Signaling by Proteolysis. *Cell*. 1997; 91: 443-446.
- 90.** Thornberry MA, Lazebnik Y. Caspases: Enemies Within. *Science*. 1998; 281: 1312-1316.
- 91.** Li H, Zhu H, Xu CJ, Yuan J. Cleavage of BID by Caspase-8 Mediates the Mitochondrial Damage in the Fas Pathway of Apoptosis. *Cell*. 1998; 94: 491-501.
- 92.** Li P, Nijhawan D, Budihardjo I. et al. Cytochrome c and dATP Dependent Formation of Apaf-1/caspase-d Complex Initiates an Apoptotic Protease Cascade. *Cell*. 1997; 91: 479-489.
- 93.** Cain K, Bratton SB, Cohen GM. The Apaf-1 Apoptosome: a Large Caspase Activating Complex. *Biochemie*. 2002; 84: 203-214.

- 94.** Otsu K, Sato K, Ikeda Y. et al. An Abortive Apoptotic Pathway Induced by Single Toxygenis due to The Suppression of Caspase Aktivation. *Biochem. J.* 2005; 389: 197-206.
- 95.** Krueger A, Baumann S, Krammer PH. et al. FLICE-Inhibitory Proteins: Regulators of Death Reseptor- Mediated Apoptosis. *Mol. Sell Biol.* 2001; 21: 8247-8254.
- 96.** Montgomery R, Dryer R, Conway T, Spector A, *Biyokimya-olgu Sunumlu Yaklaşım 6. Baskıdan Çeviri (Çeviri Editörü: Atlan N.)* Ankara: Palme Yayıncılık; 2000.
- 97.** Powers SK, Ji LI, Leeuwenburgh C. Exercise Training –In Duced Alterations in Skeletal Muscle Antroxidant Capacity. *Med Sci Sports Exerc.* 1999; 31:987-97.
- 98.** Günay M, Tamer K, Cicioglu I, *Spor Fizyolojisi ve Performans ölçümü.* Ankara: Gazi Kitabevi; 2006.
- 99.** Ranawat P, Bansal MP, Decreased Glutathione Levels Potentiate the Apoptotic Efficacy of Selenium: Possible Involvement of p38 and JNK MAPKs—In Vitro Studies. *Mol Cell Biochem.* 2008; 309: 21–32.
- 100.** Lysiak JJ, Nguyen T, Turner TT, Peptide and Nonpeptide Reactive Oxygen Scavengers Provide Partial Rescue of the Testis After Torsion. *Journal of Andrology.* 2002; 23; 3.
- 101.** Schlesinger MJ. Heat Shock Proteins. *J. Biol Chem* 1990; 265: 12111.

- 102.** Mosser DD, Caron AW, Bourget L, Merin AB, Sherman MY, Morimoto RI, Massie B. The Chaperone Function of HSP 70 is Required for Protection Against Stress Induced Apoptosis. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 7146.
- 103.** Georgopoulos C, Welch WJ. Role of the Major Heat Shock Proteins as Molecular Chaperones. *Annu Rev Cell Biol*. 1993; 9: 601-634.
- 104.** Parsel DA, Lindquist S. The Function of Heat Shock Proteins in Stress Tolerance: Degradation and Reactivation of Damaged Protein. *Annu Rev Genet*. 1993; 27: 437-496.
- 105.** Hightower LE, Li T. Structure and Function of the Mammalian HSP 70 Family, in *Heat Shock Proteins in the Nervous System*. Editors: Mayer J, Brown I. London, Academic press. 1994; 1-30.
- 106.** Morimoto RI, Tissieres A, Georgopoulos C. *The biology of Heat Shock Proteins and Molecular Chaperones*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor. New York. 1994; 23:234.
- 107.** Ellis RJ, Vandervies SM. Molecular Chaperones. *Annu Rev Biochem*. 1991; 60: 321-347.
- 108.** Gething MJ, Sambrook J. Protein Folding in the Cell. *Nature*. 1992; 355: 33-45.
- 109.** Wu B, Hunt C, Morimoto RI. Structure and Expression of the Human Gene Encoding Major Heat Shock Protein HSP 70. *Mol Cell Biol*. 1985; 5: 330-341.

110. Ritossa F. A New Puffing Pattern Induced by Temperature Shock and DNP in *Drosophila*, *Experientia*. 1962; 17: 571-573.

111. Gerner EW and Schneider MJ. Induced Thermal Resistance in HeLa Cells. *Nature London*: 1975; 256: 500-502.

112. Schlesinger ML, Ashburner M and Tissieres A. Heat Shock: From Bacteriata Man. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Pres. 1982; 13: 426-32.

113. Welch WJ. Mammalian Stress Response: Cell Physiology, Structure /Function of Stress Proteins and Implications for Medicine and Disease. *Physiol. Rev.* 1992; 72: 1063-1081.

114. Ogi S, Tanji N, Iseda T, Yokoyama M. Expression of Heat Shock Proteins in Developing and Degenerating Rat Testes, *Archives of Andrology*, 1999; 43: 163-171.

115. D'souza SM and Brown IR. Constitutive Expression of Heat Shock Proteins HSP 70 and HSp 60 in Neural and Non-neural Tissues of the Rat during Postnatal Development, *Cell Stress Chaperones*.1998; 3: 188-199.

116. Calabrese V, Scapagnini G, Ravagna A, Colombrita C, Spadaro F, Butterfield DA and Giuffrida Stella AM. Increased Expression of Heat Shock Proteins in Rat Brain during Aging: Relationship with Mitochondrial Function and Glutathione Redox State, *Mechanisms of Age Development*. 2004; 125: 325-335.

117. Vera Y, Rodriguez S, Castanares M, Lue Y, et al. Functional Role of Caspases in Heat- Induced Testicular Germ Cell Apoptosis, *Biology of Reproduction*, 2005; 72: 516-522.

- 118.** Zhang K, Shang Y, Liao S, et al. Uncoupling Protein 2 Protects Testicular Germ Cells from Hyperthermia Induced Apoptosis, *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2007; 360: 327-332.
- 119.** Lue Y, Wang C, Liu Y, Hikim S, et al. Transient Testicular Warming Enhances the Suppressive Effect of Testosterone on Sperm Atogenesis in Adult Cynomologus & Metabolism. 2006; 91: 539-545.
- 120.** Sinha Hikim AP, Rajavashisth TB, Sinha Hikim I, Lue Y, Bonavera JJ, Leung A, Wang C, et al. Significance of Apoptosis in the Temporal and Stage- Specific loss of Germ Cells in the Adult Rat After Gonadotropin Deprivation. *Biol Reprod*, Swerdloff RS. 1997; 57: 1193-1201.
- 121.** Sinha Hikim AP, Wang C, Leung A, Involvement of Apoptosis in the Induction of Germ Cell Degeneration in Adult Rats After Gonodotropin-Releasing Hormone Antagonist Treatment, *Endocrinology*, Swerdloff RS, 1995; 136: 2770-2775.
- 122.** Lue YH, Hikim AP, Wang C, et al. Single Heat Exposure to Heat Induces Stage- Specific Germ Cell Apoptosis in Rats: Role of Intratesticular Testosterone on stage Specificity. *Endocrinology*. Swerdloff RS. 1999; 140: 1709-1717.
- 123.** Lue YH, Sinha Hikim AP, Wnag C, Im M, Leung A, Testicular Heat Exposure Enhances the Suppression of Spermatogenesis by Testosterone in Rats: the “two-hit” approach to male contreceptive development, *Endocrinology*. Swerdloff RS. 2000; 141: 1414-1424.
- 124.** O’ Donnell L, Narula A, Balourdos G, Gu YQ, et al. Impairment of Spermatogonial Development and Spermiation After Testosterone –

Induced Gonadotropin Suppression in Adult Monkey, *J. Clin Endocrinol Metab.* 2001; 86: 1814-1822.

125. Edward M, Role of Heat Shock Protein HSP 70-2 in Spermatogenesis, *Eddy. Reviews of Reproduction.* 1999; 4: 23-30.

126. Fiorenza M, Mangia F, Hyperthermia Specifically Inhibits Bivalent Chromosome Disjunction in Maturing Mouse Oocytes, *Biology of Reproduction.* 1992; 46: 658-664.

127. Kim YJ, Shuman J, Sette M, et al. Nuclear Localization and Phosphorylation of three 25- kilodalton Rat Stress Proteins, *Mol Cell Biol.* 1984; 4: 468-474.

128. Sarge KD, Male Germ Cell- Specific Alteration in Temperature Set Point of the Cellular Stress Response, *J. Biol Chem.* 1995; 270: 18745-18748.

129. Zhang Y, Yang X, Huiren C, et al. Heat Stress Induces Cdc2 Protein Decrease Prior to Mouse Spermatogenic Cell Apoptosis, *Acta Histochemica.* 2008; 110: 276-284.

130. Zhu D, Dix DJ, Eddy EM, Hsp70-2 is Required for CDC2 Kinase Activity in Meiosis- I of Mouse Spermatocytes Development, 1997; 124: 3007-14.

131. Mclean J, Russell D, Griswold D, Biological Activity and Enrichment of Spermatogonial Stem Cells in Vitamin A- Deficient and Hyperthermia – Exposed Testis from Mice Based on Colonization Following Germ Cell Transplantation, *Biology of Reproduction.* 2002; 66: 1374-1379.

- 132.** Griswold M, Bioshop P, Kim K, Ping R, et al. Function of Vitamine A in Normal and Synchronized Seminiferous tubules. *Ann NY Acad Sci*, 1989; 564: 154-172.
- 133.** Shinohara T, Avarbock MR, Brister RL, Functional Analysis of Spermatogonial Stem Cells in Steel and Cryptorchid Infertile Mouse Models, *Dev Biol*. 2000; 220: 401-411.
- 134.** Chen M, Yuan J, Shi Y, et al. Effect of 43°C Treatment on Expression of Heat Shock Proteins 105, 70 and 60 in Cultuicd Monkey Sertoli Cells. *Asian Journal of Andrology*. 2008; 1745-7262.
- 135.** Zhang XS, Lue YH, Guo SH, et al. Expression of Hsp 105 and Hsp 60 during Germ Cell Apoptosis in the Heat Treated Testis of Adult Cynomolgus Monkey, *Front Biosci*. 2005; 10: 3110-21.
- 136.** Zhang XS, Zhang ZH, Jin X, et al. Dedifferentiation of Adult Monkey Sertoli Cells through Activation of Extracellularly Regulated Kinase ½ Induced by Heat Threatment. *Endocrinology*. 2006; 147: 1237-45.
- 137.** Arav A, Roth Z, Do Chilling Injury and Heat Stres Share the Same Mechanism of Injury in Oocytes? *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2008; 282: 150-152.
- 138.** Okauchi K, Effects of Environmental Temperature on Sexual Organs of Male Mice III. Effects of High and Subsequent Cool Ambient Temperatures on the Incidence of Abnormal Spermatozoa, *Bull. Fac. Agric, Univ, Miyazaki*. 1963; 9: 89-98.
- 139.** Jegou B, Laws A.O, Kretser D.M, Changes in Testicular Function Induced by Short-Term Exposure of the Rat Testis to Heat: Further

Evidence for Interaction of Germ Cells, Sertoli Cells and Leydig Cells, *International Journal of Andrology*. 1984; 7: 244-257.

140. Barlett S, Sharpe R.M, Effect of Local Heating of the Rat Testis on the Levels in Interstitial Fluid of a Putative Paracrine Regulator of the Leydig Cells and its Relationship to Changes in Sertoli Cell Secretory Function, *Journal of Reproduction & Fertility Ltd*. 1987; 80: 279-287.

141. Steinberger E& Dixon W.J, Some Pbservations on the Effect of Heat on the Testicular Germinal Epithelium, *Fert. Steril*. 1959; 10: 578-595.

142. Mieusset R, Sowerbutts SF, Zupp JL and Setchell BP, Increased Flow of Testicular Blood Plasma During Local Heating of the Testis of Rams, *Journals of Reproduction &Fertility Ltd*. 1992; 94: 345-352.

143. Fowler DG & Setchell BP, Selecting Merino Rams for Ability to with Stand Infertility Caused by Heat 2 the Effect of Heat on Scrotal and Testicular Blood Flow. *Aust. J. exp. Agric. Anim. Husb*. 1971; 11: 143-147.

144. Sand RS, Dutt RH, Preston DF, Effect of Local Heating on Ram Testis Blood Flow, *J. Anim. Sci*. 1971; 32: 391.

145. Gorostizaga A, Brion L, Maloberti P, et al. Heat Shock Triggers MAPK Activation and MKP-1 Induction in Leydig Testicular Cells, *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005; 327: 23-28.

146. Hjollund NH, Storgaard L, Ernst E, Bonde PJ, Olsen J, Impact of Diurnal Scrotal Temperature on Semen Quality, *Reproductive Toxicology*. 2002; 16: 215-221.

- 147.** Hjollund NH, Bonde PJ, Jensen TK, Olsen J, Diurnal Scrotal Skin Temperature and Semen Quality, *Int. J Androl.* 2000; 23: 309-18.
- 148.** Hjollund NH, Storgaard L, Ernst E, Bonde PJ, Olsen J, The Relation Between Daily Activities and Scrotal Temperature, *Reprod Toxicol.* 2002; 16.
- 149.** Irez T, Oral E, Ghahremanpour D, et al. Yüksek Isıya Maruz Kalmanın Spermogram Üzerine Etkileri, *Türk Fertilite Dergisi.* 1997; 1: 54-57.
- 150.** Adly AM, Assaf AH, Hussein ARM, Heat Shock Protein 27 Expression in the Human Testis Showing Normal and Abnormal Spermatogenesis *Cell Biology International.* 2008; 132: 1247-1255.

10. EKLER



T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
REKTÖRLÜĞÜ
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı

26/12/2009

SAYI : B.30.2.GÜN.0.05.06.00/134-17547
KONU:

Sayın

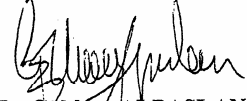
Prof.Dr.Deniz ERDOĞAN
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı
Öğretim Üyesi

G.Ü.ET-09.085 kod numaralı ve “*Deneysel Hipertermide SOD Uygulamasının Gametogenezise Olası Koruyucu Etkisi:İmmünohistokimyasal ve Elektron Mikroskopik Bir Çalışma*” başlıklı araştırma öneriniz incelenmiş ve Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Yönergesindeki ilkelere uygun olduğu saptanarak onaylanmasına oybirliği ile karar verilmiştir.

Bilgilerinizi saygılarımla rica ederim.

It is unanimously approved that the research project numbered G.Ü.ET-09.085 and entitled “*Possible Protective Effects of SOD Administration on Gametogenesis in Experimental Hyperthermia: an Immunohistochemical and Ultrastructural Study*” is in compliance with Gazi University Animal Experiments Local Ethics Committee regulations.

With my best regards.


Prof.Dr.Gökhan ALPASLAN
Gazi Üniversitesi
Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanı

11. TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim sırasında bilgi ve deneyimleriyle bana yol gösteren, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Deniz ERDOĞAN başta olmak üzere, tez Danışmanım Prof. Dr. Tahir HATİPOĞLU'na, tezimin yürütülmesinde bana daima destek olan hocalarım Prof. Dr. Celal ILGAZ'a, Prof. Dr. Suna ÖMEROĞLU'na, Doç. Dr. Gülnur TAKE'ye ve Doç. Dr. Çiğdem ELMAS'a teşekkür ediyorum.

Çalışmalarım sırasında unutulmaz derecede yardımcı olan Arş. Gör. Fatma HELVACIOĞLU ile Arş. Gör. Güleser GÖKTAŞ'a, maddi manevi desteklerini esirgemeyen aileme ve tüm çalışma arkadaşlarıma çok teşekkür ediyorum.

Sevinç VELİYEVA
Haziran 2010 - ANKARA

12. ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Azerbaycan'da doğdum. İlk ve orta öğrenimimi Ankara Halide Edip Adivar İlköğretim Okulu'nda, lise öğrenimimi ise Çankaya Lisesi'nde yaptım. 2006 yılında Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'nü bitirdim. 2007'de yılında Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladım.