



**EGZERSİZ MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA
WHEY PROTEİNİ KULLANIMININ TESTİŐ
DOKUSU VE SPERMATOGENEZ ÜZERİNE
OLAN ETKİLERİ**

Ersan TURAN

**Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı
Tez Danışmanı**

**Yrd. Doç. Dr. Yunus ÖZTAŞYONAR
Yüksek Lisans Tezi -2016**

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**EGZERSİZ MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA
WHEY PROTEİNİ KULLANIMININ TESTİS DOKUSU VE
SPERMATOGENEZ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ**

Ersan TURAN

**Beden Eğitimi ve Spor Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi**

**Tez Danışmanı
Yrd. Doç. Dr. Yunus ÖZTAŞYONAR**

**ERZURUM
2016**

T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BEDEN EĞİTİMİ VE SPOR ANABİLİM DALI

**EGZERSİZ MODELİ OLUŞTURULAN RATLARDA WHEY
PROTEİNİ KULLANIMININ TESTİS DOKUSU VE
SPERMATOGENEZ ÜZERİNE OLAN ETKİLERİ**

Ersan TURAN

Tez Savunma Tarihi : 28.07.2016

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Yunus ÖZTAŞYONAR (Atatürk
Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. İlhan ŞEN (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Elif ŞIKTAR (Atatürk Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Yrd. Doç. Dr. Hüseyin EROĞLU (Sütçü İmam
Üniversitesi)

Jüri Üyesi : Doç. Dr. Erdinç ŞIKTAR (Atatürk Üniversitesi)

Onay

Bu çalışma yukarıdaki jüri tarafından **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.


Prof. Dr. Yavuz Selim SAĞLAM
Enstitü Müdürü

Yüksek Lisans
ERZURUM - 2016

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	I
TEŞEKKÜR	III
ÖZET	IV
ABSTRACT	V
KISALTMALAR DİZİNİ	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ	VIII
TABLolar DİZİNİ	IX
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Testis	3
2.1.1. Anatomi	3
2.1.2. Testisin Embriyolojisi	5
2.1.3. Testisin Histolojisi Fizyolojisi ve Fonksiyonları	6
2.1.3.1 Histoloji	6
2.1.3.2. Fizyoloji	12
2.1.3.3. Fonksiyonu.....	13
2.2. Serbest Radikaller, Oksidan-Antioksidan Denge	16
2.3. Whey Proteini	23
2.4. Kuvvet Türleri.....	24
2.4.1. Genel Kuvvet Antrenmanı	24
2.5. Kuvvet Antrenmanlarının Performansa Etkisi	25
2.6. Beslenme.....	25
2.7. Sporcu Beslenmesi.....	26
2.8. Sporcu Ek Gıda Takviyeleri	26

3. MATERYAL VE METOT	28
3.1. Çalışma Grupları.....	28
3.2. Çalışma Gruplarının Diyetleri	28
3.3. Egzersiz Protokolü.....	28
3.3.1. Adaptasyon Antrenmanı	28
3.3.2. Vücut Geliştirici Egzersiz Programı	29
3.4. Anestezi ve Kan Örneklerinin Alınması	29
3.5. Biyokimyasal İnceleme.....	30
3.5.1. Serum Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçülmesi.....	30
3.5.2. Serum Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesinin Ölçümü	31
3.5.3. Serum Lipid Peroksit (LPO) Düzeylerinin Ölçümü	32
3.6. Histolojik İnceleme.....	33
3.7. İstatistiksel Analizler	34
3.7.1. Histolojik Analizler.....	34
3.7.2. Biyokimyasal Analiz.....	34
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	44
KAYNAKLAR	45
EKLER	55
EK 1. ÖZGEÇMİŞ	55
EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU	56

TEŞEKKÜR

Tez alıŐması sırasında değerli vaktini ayırarak tecrübelerini aktaran, ağladığı bilimsel katkılar sayesinde tezin ortaya çıkmasında büyük emeği geçen danıŐmanım Sayın Yrd. Doç. Dr. Yunus ÖZTAŞYONAR'a en içten teŐekkürlerimi sunarım.

Yaptıkları yönlendirmeler ve bilimsel destekler ile çalıŐmamı teşvik eden Kol DanıŐmanım Sayın Prof Dr. Fikret ERDEMİR'e çok teşekkür ederim. Ayrıca alıŐmamızda bilimsel anlamda katkı sağlayarak çalıŐmamıza destek veren Sayın Op. Dr.Fatih FIRAT, ArŐ Gör. Dr. Engin KLKOğLU'na Yrd. Doç. Dr. Ömer ALICI, Öğr. Gör. Dr.İsmail BENLİ, Yrd. Doç.Dr. Fikret GEVREK ve değerli eŐim Öğr. Gör. Emine BAL TURAN'a teŐekkürlerimi sunarım.

Ersan TURAN

ÖZET

Egzersiz Modeli Oluşturulan Ratlarda Whey Proteinini Kullanımının Testis Dokusu ve Spermatogenez Üzerine Olan Etkileri

Amaç: Bu çalışmanın amacı sporcular arasında yaygın olarak kullanılan whey proteininin testis dokusu ve serum oksidatif stres parametrelerine olan etkisinin değerlendirilmesidir.

Meteryal ve Metot: Altı haftalık erkek ratlar 3 gruba randomiz edildi. Grup 1 (n=7) standart kontrol diyeti aldı. Grup 2 (n=7) whey proteinini alan grup iken grup 3 (n=7) egzersize ilave olarak düzenli olarak whey proteinini aldı. Toplam 8 haftanın sonunda testiküler dokuları alınarak spermatogenez Johnsen skor sistemi ile değerlendirildi. Johnsen skor sisteminin >9.39 olması normal olarak kabul edildi. Ayrıca antioksidan düzeyleri serumda ölçüldü.

Bulgular: MDA seviyeleri grup 1 ve grup 2'ye kıyasla grup 3'te azaldı (p<0.05). Testiküler patolojik inceleme Johnsen skor sisteminin grup 1, grup 2 ve grup 3'te sırasıyla 9.42 ± 0.29 , 9.16 ± 0.25 ve 8.81 ± 0.44 olduğunu ortaya koydu. Grup 3'te testiküler negatif etki grup 1'e göre oldukça yüksekti.

Sonuç: Bu sonuçlara göre whey proteininin oksidatif stresi arttırarak Johnsen skor sistemini düşürdüğü söylenebilir. Bu değişiklikler testiküler fonksiyonları bozabilir ve whey proteininin erkek infertilitesi, etiyojisinde bir faktör olduğu speküle edilebilir. Bundan dolayı whey protein kontrollü olarak kullanılmalıdır. Ancak bu sonuçları doğrulamak için gelecekte daha fazla randomize klinik ve deneysel çalışmalara gerek olduğu söylenebilir.

Anahtar Kelimeler: Whey proteinini, oksidatif stres, rat, testis, semen.

ABSTRACT

The Effect Of Whey Protein Usage On Testicular Tissue And Spermatogenesis In Exercise Induced Rat Model

Aim: The aim of this study was to evaluate the effects of whey protein which is commonly used agent among sportmens on semen parameters and serum antioxidant enzyme levels.

Material And Methods: Six-week-old male rats were randomized into three groups are as follows: group 1 (n=7) received a standard control diet, group 2 (n=7) receive whey protein group and group 3 (n=7) received whey protein plus exercise. At the completion of a 8-week period, testicular tissues were obtained and spermatogenesis was evaluated with Johnsen Score System. The normal Johnsen Score was accepted as >9.39. In addition, antioxidant enzyme levels, were measured in serum.

Results: MDA levels were decreased in group 3 compared to group 1 and group 2 ($p < 0.05$). Testicular pathologic evaluation revealed that Johnsen Score System were 9.42 ± 0.29 , 9.16 ± 0.25 and 8.81 ± 0.44 in group 1, group 2 and group 3, respectively ($P = 0.003$). In group 3 testicular negative effect was quitely higher compared to group 1.

Conclusion: As a result it may be concluded that whey protein may induce oxidative stress and decrease Johnsen score system. These changes may alter testicular functions and consequently it may be speculated that whey protein can be important causative factor in the etiology of the male infertility. For this reason whey protein should be used as controlled. However to confirm of these findings more controlled, randomized clinical studies are required in future.

Key Words: Whey protein, oxidative stres, rat, testis, semen

KISALTMALAR DİZİNİ

Aal	: Aaligned
Ais	: Aisolated
ALS	: Amyotrofik lateral skleroz
Apr	: A paired
CAT	: Katalaz
CuCl₂	: Bakır klorur
DHT	: dihidrotestosteron
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
FSH	: FolikülStimüle Edici Hormon
GSH	: Glutasyon
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
GSH-R	: Glutasyon redüktaz
GST	: Glutasyon-S-Trasferaz
GnRH	: GonadotropinReleasing Hormon
HDL-C	: Yüksek dansiteli lipoprotein
HE	: Hematoksilen-Eozin
In	: Intermediet
kcal	: kilokalori
LDL	: düşük dansiteli lipoporotein
LH	: Lüteinize edicihormon
LOOH[*]	: lipit hidroperoksitleri
LPO	: Lipid Peroksit
MDA	: Malondialdehit
NADPH	: Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat

NBT	: Nitroblue tetrazoliumu
NH₄	: Amonyum
NO	: Nitrik oksit
PC	: Protein karbonil
PGH	: Primordial Germ Hücreleri
TBA	: Tiyobarbitürik asit
TCA	: Trisiklik asetik asit
TG	: Trigliserid
SKH	: Spermatogonyal kök hücre
SOD	: Süperoksit dismutaz
XO	: Xanthine oxidase

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Testisin anatomik tabakaları.....	4
Şekil 2.2. Normal insan testisinde histolojik yapılar	8
Şekil 2.3. Hücre mitokondrisindeki radikal oluşumu	17
Şekil 4.1. Johnsen skorları grup ortalama değerlerinin karşılaştırılması.....	36
Şekil 4.2. Normal - normale yakın seminifer tübüllerin görüntüsü.....	36
Şekil 4.3. Bozulmuş seminifer tübüller görüntüsü.	37
Şekil 4.4. Belirgin olarak bozulmuş seminifer tübüllerin görüntüsü.....	38

TABLolar DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 2.1. Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler.	17
Tablo 2.2. Organizmada bulunan antioksidan sistem elemanları.	20
Tablo 2.3. Serbest radikallerle ilişkili durumlar.....	22
Tablo 4.1. Değişkenlerin gruplara göre dağılımı	35
Tablo 4.2. Johnsen skorları ve istatistik analiz sonuçları.....	36



1. GİRİŞ

Spor, bireylerin fiziksel, zihinsel, duygusal ve sosyal yönden gelişimlerini sağlayan, bilgi, beceri ve liderlik yeteneklerini geliştiren bir araçtır.¹ Spor, oyun yönü ile öne çıkan bir etkinlikler grubu, bu anlamda “kurallara bağlanmış ve geliştirilmiş bir oyun” olmasına rağmen, günümüzde yarışma yönüyle öne çıkan etkinlikler grubu olarak kabul edilmektedir. Sporun yarışma türünden mücadelelere dayandığı, ortaya çıkışında bu tür mücadelelerin yer aldığı doğrudur. İnsanların tarih boyunca yarışma türünden mücadelelere girmekten ya da izlemekten, hatta taraftar olmaktan büyük coşku ve haz duydukları bilinen bir gerçektir.^{2,3}

Spor; ferdi ya da kolektif oyunlar şeklinde gerçekleştirilen ve genellikle bir yarışmaya sonuçlanan, kesin kurallara göre uygulanan ve herhangi bir yararı beklenmeden yapılan beden hareketlerinin bütünü olup, çağımızın en önemli aktivitelerinden birisidir. Spor; eğlenmek, oyalanmak ve bedeni zinde tutmak, başarılı olmak şampiyonluk elde etmek için yapıldığı kadar, ‘iş ve meslek olarak’ da yapılmaktadır. Diğer taraftan spor, kitleleri arkasından sürükleyen, çeşitli rekabet unsurlarını içinde barındıran çok yönlü bir faaliyet olarak tarif edilmektedir.⁴

Whey Protein; peynirin mayalanması sırasında oluşan peynir altı suyu kullanılarak imal edilen bir proteindir. Başlıca beta-laktoglobulin (~%65), alfa-laktalbumin (~%25) ve albumin (~%8) içerir. Sporcuların birçoğu ve vücut geliştiriciler kas gücünü ve büyüme oranlarını artırmak için protein takviyeleri kullanmaktadır. Whey proteini yüksek kalori değeri ve kas kütlesini artırma özellikleri ile protein takviyeleri arasında çok sık tercih edilmektedir. Whey proteini; inek sütü proteini, laktoglobülin, laktalbumin, serum albümin ve immünoglobülinler ihtiva etmektedir. Karaciğerdeki glikojen depoları yoğun egzersizden sonra tükendiği bilinmektedir. Whey proteinleri; yapısında yüksek konsantrasyonlarda amino asit zincirleri ile protein sentezinde önemli

rol oynamakla birlikte egzersiz sırasında karbonhidrat metabolizmasına enerji gereksinimi yönünden katkı sağlamaktadır. Bunlara ek olarak whey proteinleri; genel olarak bağışıklık sisteminin dayanıklılığı, antibakteriyel koruma, in vitro antioksidan mekanizmalar ve mide-bağırsakda bulunan dokulara karşı olan hasarı önlemede önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir

Whey protein yaygın olarak kullanan topluluklarda yapılan araştırmalar da; whey protein tüketimi fazla olan sporcularda proteinlerin parçalanması ile oluşan ürik asit gibi artık maddelerin atımı böbrekler tarafından gerçekleştirildiğinden, fazla protein alımı sporcularda su kaybına, asidoza ve elektrolit bozukluğuna yol açmaktadır. Yine kalsiyum atılımını hızlandırarak spor sakatlanma oranlarını artırdığı açıkça görülmüştür.⁵

Katı içerikli protein ürünler; body building yapan insanların birçoğunun hekim kontrolü olmadan yaygın olarak kullandığı bir üründür. Kısa zaman zarfında yüksek doz protein alımıyla vücut ölçülerini atırmaya çalışan sporcularda ani kardiyak arreste kadar varabilen hayati sağlık problemleri teskil ettiği bilinmektedir. Whey proteinininin başta kas iskelet sistemi olmak üzere çeşitli vücut parametreleri üzerine olan etkilerinin çalışıldığı buna karşın erkek üreme istemi üzerine olan etkileri ile ilişkili olarak bizim bilgilerimize göre İngilizce yazılan literatürde bir çalışma olmadığı anlaşılmaktadır.

Bu çalışmamızda whey proteini alan aktif spor yapan ratlarda whey proteinin testis dokusu ve spermatogenez üzerindeki etkisini ortaya koymayı hedefledik.

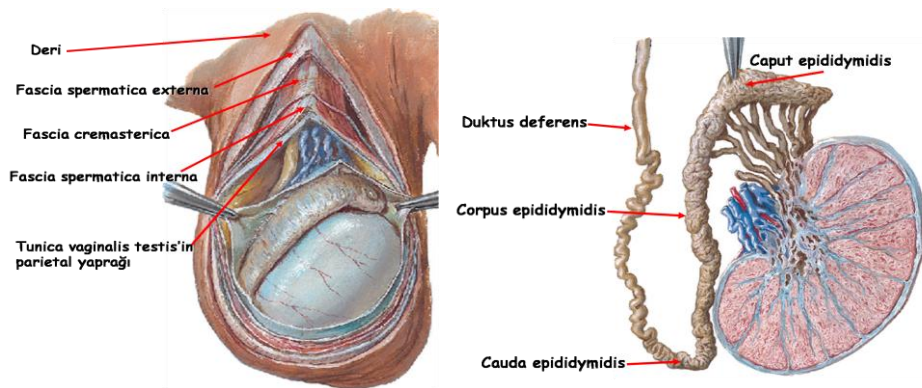
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis

2.1.1. Anatomi

Erkek ve kadında üremede esas olan yapılar overler ve testisler olarak bilinmektedir. Puberte döneminden itibaren gelişimini sürdüren testisler ortalama 4x3.5x3 cm boyutlarında ovoid şekilli yapılardır. Her birinin hacmi yaklaşık 30 ml kadardır. Anatomik olarak testisin anterolateral 2/3 bölümü serbest iken, posterolateral yüzü epididim, bağ dokusu ve damarlarla örtülüdür. “Mediastinum testis” olarak isimlendirilen kranio-posterior kısmından, seminal taşıyıcılar çıkar. Testiste fonksiyonların ve sperm yapımının gerçekleştiği dokular, tunika albuginea adı verilen kompakt bağ dokusu ile çevrelenmiştir. Bu tabaka; fibroblastlar ve kollajen denilen yapılardan meydana gelen koruyucu bir tabakadır. Tunika albuginea'nın altında nispeten daha gevşek bağ dokusu yapısında, tunika vaskulosa adı verilen damarsal bir tabaka yer alır.⁶ Tunika albuginea testisin arkasında kalınlaşarak mediastinum testisi oluşturur. Burada tunika albugineanın iç yüzünden çıkan fibröz septalar testisi yaklaşık 200-400 adet, piramit benzeri lobüllere ayırır. Herbir lobülün içinde bir ile dört arasında değişen sayıda kıvrımlı seminifer tübül bulunur. Seminifer tübüller ise rete testis olarak isimlendirilen kanal ağına açılırlar. Tunika albuginea'nın üzerinde peritonun uzantısı olan tunika vaginalis yer almaktadır. Tunika vaginalis iki yapraklıdır. Anteriorda, testise yakın olan ve epididimi çevreleyen kısmına viseral tabaka, daha dışta yer alan kısmına ise paryetal tabaka adı verilir. Bunların da dışında sırasıyla, “fascia spermatica interna”, “musculus cremaster”, “fascia spermatica externa”, tunika dartos ve cilt yer alır.⁷ Spermatik kord; duktus deferens, duktus deferensin arter ve veni, testiküler arter, “plexus pampiniformis”, “plexus deferentialis”, “processus vaginalis peritonei”, “musculus cremaster”, “arteria cremasterica”, “vena cremasterica”, lenf damarları,

ilioinguinal sinir ve genitofemoral sinirin genital dallarından oluşur. Tüm bu oluşumlar birbirine gevşek bir bağ dokusuyla bağlanmış ve dıştan kas lifleri ile “fascia spermatica externa”, “fascia cremasterica”, “fascia spermatica interna”adı verilen zarlarla sarılmıştır.⁷ Testisin ana damarı aortanın ön yüzünden ve böbrek arterinin yaklaşık iki-üç cm altındançıkan testiküler arterdir. Bu damar iç kasık halkasına kadar retroperitoneumda ilerleyip spermatikkord yapıları arasına katılır. Tek veya dallara ayrılan testiküler arter, testis arka yüzüne ulaşarak oblik biçimde tunikaalbugineayı geçer. Sonra ana dallar bölünerek ilerler ve seminifertübüller arasında yer alan interlobüler arteriollerini oluşturur. Ana damar testiküler arter olmasına karşın, kremasterik, vazal ve epididimal arterlerle testiküler arter arasında birçok anastomoz görülebilmektedir. Testisin venöz drenajı kapiler ile başlar ve testis dışında “plexus pampiniformis” olarak adlandırılan ağı meydana getirirler. Çoğunlukla iç kasık halkası seviyesinde bu venler birleşerek testiküler veni oluştururlar. Testisin innervasyonu asıl olarak sempatik postganglionik ve viseral afferent sinirlerle olmaktadır. Sinirler genelde damarları takip ederek testise ulaşırlar. Tunika albuginea dışında dallaraayrılan sinirler interstisyuma kan damarları ile birlikte ulaşırlar. Testis lenfatikleri, seminifertübüller etrafında görülmeyen lenfatik kapilerlerle interlobülerseptadan başlar. Daha sonra spermatik kordu takip ederek paraaortik, interaortokavale perikaval lenf düğümlerine açılırlar.^{6,7}



Şekil 2.1. Testisin anatomik tabakaları⁷

2.1.2. Testisin Embriyolojisi

Genital sistemi oluşturan yapılar köken olarak **gonadlar**, **genital boşaltım kanalları** ve **dış genital organlar** şeklinde ayrılmakta ve genetik cinsiyete bağlı olarak çevrelerindeki yapılarla etkileşimli bir gelişme süreci izlemektedirler. Bireyin cinsiyeti fertilizasyon sırasında yumurtadaki X kromozomuna bir Y ya da yeni bir X kromozomunun eklenmesiyle belirlenirken fenotipik özellikler ancak 6. haftanın sonunda birbirinden ayrılmaya başlar. Erkeklerde genital sistemin gelişimi bazı noktalarda üriner sistem yapılarıyla ortaklık gösteren bir süreç şeklinde izlenir. Söz konusu süreç ilkel üriner sistem yapılarıyla daha yakın bir ilişki gösterir ve 3. aya dek giderek birbirinden ayrılan yapılar olarak farklılaşma sergiler. Sekonder oositi döleyen sperm türüne bağlı olarak embriyonun kromozomal ve genetik cinsiyeti fertilizasyonda belirlenir.⁸

Primordiyal gonadın mezenkimal kısmı insan embriyosunun 10-12. Dorsal segmentleri arasında gelişmekte iken bununla birlikte gelişimin üçüncü haftasındaki primordiyal germ hücreleri ise allantoisinin başlangıç yerine yakın bir yerde yolk kesesiduarında ve endoderm hücreleri arasında ortaya çıkarlar.⁹ Bu primordiyal (ilkel) germ hücreleri beşinci haftanın başında amibik hareketlerle son barsağın mezenterinin dorsali boyunca ilerleyip primitif gonadlara ulaşır ve altıncı haftada tamamen genital kıvrımlara yerleşerek henüz farklılaşmamış olan fetal gonad, gebeliğin bu haftasında ortaya çıkmış olur. 24 farklılaşmamış gonadlar olarak adlandırılan her iki cinsin gonadları gebeliğinin yedinci haftasına kadar benzerdir.¹⁰ Gebeliğin yedinci haftasında ise gonadların erkek ya da dişiliğe farklılaşmaları XX, XY kromozom kompleksine bağlı olarak belli olur.⁸ Gebeliğin yedinci haftasının başında genetik olarak XY olan embriyoda primitif germ kordonları Y kromozomu üzerindeki testis belirleyici faktör etkisiyle hızla çoğalır.⁹ Gonadın medulla bölgesini dolduran bu kordonlar testis

veya meduller kordonları oluştururlar. Bu kordonlar gonadınhilusunda ince ve daha küçük kordonlara parçalanıp ağ şekline dönüşerek “rete testis”i oluştururlar.⁹ Gelişim ilerledikçe testis kordonları yüzey epiteliyle olan ilişkilerini testisin üzerinde yer alan fibröz yapıdaki tunikaalbuginea sayesinde kaybederler.¹⁰ Kordonlar puberteye kadar kapalıdır. İşte bu dönemde lümen oluşarak seminifertübüller belirir. Seminifertübüllerrete testis lümenine bağlandıktan sonra duktuliefferentes ile devam ederek Wolf kanalına dökülüp duktus deferens oluştururlar.¹¹ 8-18. haftalar arasında interstisyel dokudaki mezenkimal hücrelerin hızlı değişimi sonucunda ortaya çıkan ve testisin % 50’sini oluşturan Leydig hücreleri gebeliğin ortasına gelindiğinde ve doğuma yaklaştığında sayıları azalır. Başlangıçta lomber bölgede bulunan testisler, üçüncü fötal aydan itibaren skrotuma doğru inişe başlarlar.

Yapılan hipotezlere göre testisin inişinin iki evresi vardır: İlki transabdominal evredir. Bu evre androjenden bağımsız olan ve inişin antimülleryan hormon etkisiyle olduğu evredir. Testis bu evrede karın arka duvarı boyunca inişe geçer; gebeliğin 17. haftasında iç inguinal halka hizasına gelir ve gebeliğin 28. haftasına kadar burada kalır. İkincisi inguinokrotal evredir. Testis bu evrede inguinal kanal yoluyla karın ön duvarını geçerek skrotuma iner. Testis gebeliğin yedinci ayından sonra inguinal kanalıgeçmiş ve doğumdan hemen önce de gelişimini tamamlamış halde skrotumdaki yerini alır.¹²

Testis inişine sadece testosteron değil doğum ağırlığı, kalsitonin ilişkili peptid denilen madde ve gubernakulum testis denilen yapısında etki ettiği bilinmektedir.

2.1.3. Testisin Histolojisi Fizyolojisi ve Fonksiyonları

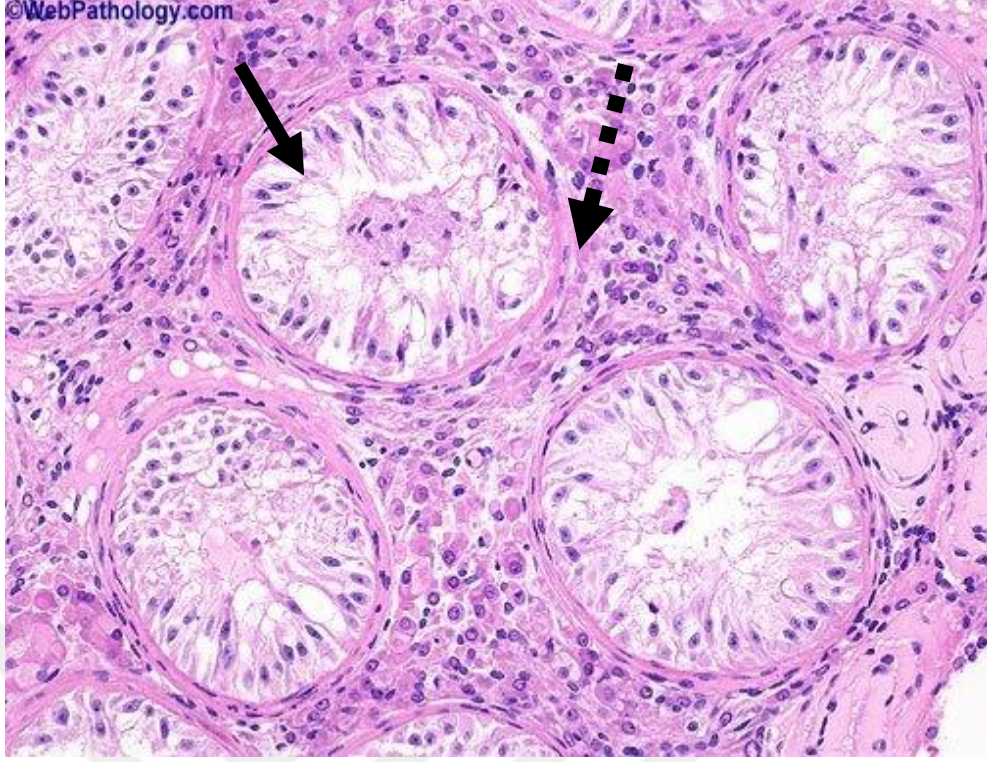
2.1.3.1 Histoloji

Erkek üreme sistemi, testisler genital kanallar, yardımcı bezler ve penisten oluşmuştur. Testisler sperm üretimi olarak bilinen spermatogenezis ve steroid yapıdaki

hormonların üretilmesi fonksiyonlarına sahiptirler.¹³ Herbir testis dıştan tunika vaginalis ile sarılıdır. Testislerin arka yüzünde tunika vaginalis yoktur. Kan damarları, sinirler ve lenfatik damarlar testise bu bölgeden girer ve yine organı bu bölgeden terk ederler. Spermiler, testis dokusu içinde seminifer tübül (tübülus seminiferus kontortus) olarak adlandırılan tübüler yapılarda gelişmelerini sürdürürler.¹³ Testis yapısal ve fonksiyonel olarak iki ayrı kompartmandan oluşmaktadır. Seminifer tübül kompartmanı, Sertoli hücreleri ile germ hücrelerinden oluşur ve testis volümünün %80-90'nını oluşturur. İnterstisyel kompartman ise esas seks steroid hormonu olan testosteronu sentezleyen Leydig hücreleri, peritübüler myoid hücreler, kan damarları, mast hücreleri, lenfatikler fibroblastlar, nörovasküler hücreler ve makrofajlardan oluşur.

Seminifer Tübüller: Her bir seminifer tübül yaklaşık 150–250 µm çapında ve 30 – 70 cm uzunluktadır, karmaşık yapıda çok katlı bir epitel ile döşelidir. Bir testisteki tübüllerin toplam uzunluğu 250 m civarındadır. Kıvrımlı tübüller bir şebeke oluştururlar. Bu şebekedeki her tübül başlangıçta kör uçludur ve dallara ayrılır. Her bir tübül sonlanırken lümen daralır ve düz tübüller ya da tübüli rekti adıyla bilinen kısa segmentler halinde sürer. Bu düz tübüller, seminifer tübüllerin rete testis denilen, epitelyum ile döşeli kanalların oluşturduğu bir labirente bağlanmasını sağlar.

Mediastinumun bağ dokusunda bulunan rete, 10 – 20 duktuli efferentes ile epididimisin baş kısmına bağlanmıştır. Seminifer tübüller bir fibroz bağ dokusu kılıfı, belirgin bir bazal lamina ve karmaşık bir germinal ya da seminifer epitelden oluşur.



Şekil 2.2. Normal insan testisinde histolojik yapılar.¹⁴ Seminifer tübülüs (Siyah ok). İnterstisyel alan (Kesikli siyah ok).

Seminifer tübülü saran fibroz tunika propria birkaç fibroblast katmanından oluşmuştur. Bazal laminaya yapışık olarak bulunan en içteki katman, düz kas özellikleri gösteren yassılaştırmış miyoid hücrelerde içermektedir.¹⁴ Epitelyum Sertoli ya da destek hücreleri ile spermatogenik seriyi oluşturan iki tip hücreden meydana gelmektedir. Spermatogenik seri hücreleri, bazal lamina ve tübül lümeni arasını dolduracak 4– 8 tabaka halinde düzenlenmişlerdir. Bu hücreler birkaç bölünmeden sonra farklılaşır ve spermleri oluştururlar. Bunlar erkek germ hücrelerinin sürekli farklılaşma sürecindeki çeşitli evrelerde bulunabilirler. Başlangıçtan bitişe kadar spermatogenez olarak adlandırılan bu fenomen üç faza ayrılabilir.¹⁴

Spermatositogenez; Spermatositogenez (Yunanca. Sperma; tohum + kytos; hücre +genesis; üretim) olarak adlandırılan evrede, spermatogonyumların bölünmeleri sonucunda oluşan hücrelerden spermatositler meydana gelmektedir.

Mayoz: Spermatozitlerin ardı ardına iki bölünme geçirerek kromozom sayılarının ve DNA miktarının eşit olarak her hücrede yarıya düşürülmesi sonucu gerçekleşen ve spermatidlerin oluştuğu evre mayoz adını almaktadır.

Spermiyogenez: Spermiyogenez ise spermatidlerin özenli bir hücre farklılaşması süreci geçirerek spermleri oluşturduğu safhadır.¹³

Spermatogenez: Spermatogenez, germ hücreleri ve Sertoli hücrelerini barındıran testiste seminifer tübüller içerisinde gerçekleşir. Somatik Sertoli hücreleri, hayat boyu sperm üretimi için gerekli mikroçevreyi oluştururlar. Sertoli hücrelerine destek hücreleri ya da hemşire hücreleri de denilmektedir. Seminifer tübüller arasındaki intersitisyel doku; kan damarları, lenf damarları, makrofajlar ile büyüme faktörleri ve testosteron üreten Leydig hücrelerini içerir (Şekil 2). Peritübüler miyoid hücreler seminifer tübülleri çevrelerler, yapısal destek sağlarlar, büyüme faktörleri kaynağıdır ve seminifer tübül lümeninde sıvı ve sperm hareketinin kolaylaştırırlar. Spermatogenez, spermatogonyal kök hücre (SKH) havuzundaki germ hücrelerinin farklılaşma süreçlerine girerek sperm üretimini sağladığı karmaşık bir gelişimsel süreçtir.¹³

Spermatogenez, bazal laminanın hemen üstüne yerleşmiş bir germ hücresi olan, spermatogonyum ile başlar. Bu, yaklaşık 12 µm çapında, nispeten küçük bir hücredir ve çekirdeği soluk boyanan kromatin içerir. Seksüel olgunlaşmada bu hücreler bir seri mitoz geçirirler ve yeni oluşan hücreler iki yol izleyebilir.¹³ Spermatogonyal kök hücre gelişiminde öncü rol oynayan hücreler sırasıyla PGH ve gonositlerdir. Fetal dönemde vitellüs kesesi duvarından gonadlara göç eden PGH'leri gonositlere farklılıklar ve neonatal dönemde ise gonositlerden tip A spermatogonyumlar meydana gelir. Üçüncü dönem spermatogenik döngünün başladığı süreçtir ve çok iyi düzenlenmiş olaylar zincirini kapsar. Bu dönem; mitoz ve mayoz bölünmeler ile spermiyogenez denilen bir

farklanma sürecini içerir ve SKH havuzundan farklı spermatogonyumlardan son ürün olarak spermatozoa üretilir.

Spermatogonyumların çoğu Ais (Aisolated) spermatogonyum olarak adlandırılan köken hücrelerdir. Bunun yanında diğer Tip A spermatogonyumlar; çoğalan (A paired=Apr ve Aaligned=Aal) ve farklılaşan [A1, A2, A3, A4 ara (Intermediet=In) ve Tip B (B)] spermatogonyumlardır. Spermatogonyal kök hücrelerin, seminifer tübüllerin bazal membranında yer alan tip A spermatogonyumlar, kendilerini yenileyebilmeleri ve farklılaşmaları normal spermatogenez için anahtar rol oynar. Aal, kendilerini yenileyebilen hücreler olarak düşünülürler. Apr ve Aal spermatogonyumlar, hücreler arası köprüler olarak bilinen sitoplazmik bağlantılarla diğer spermatogonyumlarla ilişki halindedirler. Hücreler arası köprüler, diğer tip spermatogenik hücrelerin ve spermatogonyum hücre gruplarının senkronize bir şekilde ilerlemesini sağlarlar. Spermatogonyum bölünme zinciri; “AisoAprAalo Aalo Aal, A1oA2oA3oA4oInoB” şeklindedir. Her bölünme ile hücre sayısı iki katına çıkar, bununla birlikte en olgun Aal, A1 hücrelerini şekillendirirken bölünme olmaz. Aralarında küçük morfolojik farklılıklar vardır. Çoğalan hücreler bundan sonra farklılaşan spermatogonyumlar olarak isimlendirilirler. Tip Ais, Apr, Aal spermatogonyumlar tüm seminifer tübüllerde görülürler. A1’den A2’ye bölünme başlaması ve ardından gelen bölünmeler, seminifer tübüllerde birbirleriyle bağlantılı belli safhaların oluşmasına neden olmaktadır. Tip A, Ara tip ve Tip B spermatogonyumlar yapısal olarak birbirlerinden farklıdır. Farklılıklar genel olarak çekirdekteki kromatin miktarına göre belirlenir. Tip A’da, kromatin genelde az miktarda iken, Ara Tip’de orta derecede, Tip B’de ise çok miktarda bulunmaktadır. Spermatogonyumlar seminifer tübülün bazalinde yer alırlar. Farklılaşma fazının sonunda en olgun spermatogonyumlar genç primer spermatositleri şekillendirirler ve Tip B spermatogonyumların preleptoten spermatositleri

oluşturmalarıyla hücre siklusunun S fazına girilir. Bu yeni hücrelerin oluşumu ile mayoz bölünme başlar ve spermatositogenezis evresine girilir.¹⁵ Tip B spermatogonyumlar primer spermatositlere farklılaşan öncül hücrelerdir. Oluşmalarından hemen sonra bu hücreler birinci mayotik bölünmenin profazına girerler. Bu sırada primer spermatositin 46 (44+XY) kromozomu vardır ve DNA'sı da 4 N'dir. [N haploid kromozom sayısını (bu insanlarda 23 adettir) ya da bu kromozomlardaki DNA miktarını belirtmektedir]. Bu profazda, hücreler dört faz leptoten, zigoten, pakiten ve diploten geçirerek diakinez safhasına ulaşırlar ve sonuçta kromozomlar ayrılır. Genlerdeki "crossing over" mayozun bu safhalarında oluşur. Daha sonra hücre metafaza girer ve metafazı takip eden anafazda kromozomlar her bir kutba doğru giderler. Bu bölünmede profazın yaklaşık 22 gün dolayında bir süre alması nedeniyle incelenen hücrelerin büyük çoğunluğu bu fazda görülürler. Spermatogenik seride en büyük hücreler primer spermatositlerdir, bunlar çekirdeklerinde kangal yapma sürecinin değişik evrelerinde kromozomların bulunması ile tanınırlar.¹³

Birinci mayotik bölünmeden sonra sekonder spermatositler denilen ve yalnızca 23 kromozom (22+X veya 22+Y) içeren daha küçük hücreler oluşur. Bu sayıca azalma (46'dan 23'e) her hücredeki DNA miktarının eksilmesi (4 N'den 2 N'e) ile birlikte olur. Testis kesitlerinde sekonder spermatositlerin gözlenmesi zordur, çünkü bunlar interfazda kısa süre kalan ve çabucak ikinci mayotik bölünmeye giren hücrelerdir. Sekonder spermatositlerin bölünmesi spermatidlerin oluşmasına yol açar; bunlar 23 kromozom içerir. Birinci ve ikinci mayotik bölünmeler arasında spermatositlerde S fazı (DNA sentezi) görülmediği için ikinci bölünmeden sonra her bir hücredeki DNA miktarı yarıya iner ve haploid (1 N) hücreler meydana gelir. Böylece, mayotik sürecin sonunda haploid sayıda kromozomlara sahip hücreler oluşur. Fertilizasyonla bunlar

normal diploid sayıya dönerler. Hücre bölünmesindeki indirgeyici işlev sebebiyle mayotik süreç kromozom sayısının türler için sabit, belirli bir miktarda kalmasını sağlar.

Spermatidlerin şekil değiştirerek olgun erkek cins hücreleri spermiumlara dönüşmesi olayına spermiyogenez denir. Spermatidler sekonder spermatositlerin bölünmesi ile oluşan hücrelerdir. Bunlar, 7 – 8 µm çapta olup, diğer hücrelerden küçük boyutları içeren yoğunlaşmış kromatin bölgeleri taşıyan nukleusları ve seminifer tübüllerde lümen yakınında (jukstaluminal) yerleşimleri ile tanınırlar. Spermatidler spermiyogenez denen karmaşık bir farklılaşma süreci geçirirler. Bu süreçte, akrozom (Yun. akron, ekstremite + soma, gövde) oluşur, çekirdek yoğunlaşır ve uzar, flagellum gelişir ve sitoplazmanın çoğu kaybolur. Sonuçta seminifer tübülün lümenine salınan olgun sperm meydana gelir.¹⁶

2.1.3.2. Fizioloji

Yıllardan beri testis fonksiyonunun hormonal kontrolünün basitçe spermatogenez için Sertoli hücrelerinin FolikülStimüle Edici Hormon (FSH) ile uyarımı ve testosteronsekresyonu için de Leydig hücrelerinin LH ile uyarımından ibaret olduğu düşünülmüştür. Nitekim Leydig hücreleri için bu basitleştirilmiş model halen kabul edilebilir iken, FSH aktivasyonunda azalma ile sonuçlanan mutasyonlardaki genetik bilgiler, spermatogenez için FSH'nin mutlak gerekli olmadığı hipotezini ortaya çıkarmıştır. Defektli FSH reseptörü olan bazı erkeklerde olduğu gibi, ejakülattaki sperm sayısı azalmış olmasına rağmen, FSH ve FSH reseptör genlerinde knockout mutasyon olan erkek farelerde yapılan çalışmalar, bunların beklenenden daha fertil olduklarını ortaya koymuştur¹⁷. Testis fonksiyonunu düzenleyen temel hipofiz hormonları LH ve FSH'dir. Her iki hormon, her biri farklı bir gen tarafından kodlanan α ve β adı verilen 2 polipeptid zincir altbiriminden meydana gelen glikoproteinlerdir. Her hormonun α alt birimi özdeş olup tüm diğer hipofiz hormonlarına benzerlik gösterir. Biyolojik ve

immunolojik aktiviteyi özgün βalt birimi sağlar. Hormonal aktivite için her iki alt birim de gereklidir. Lüteinize edici hormon 24 saat içinde 8 ile 16 kez salgılanırken, amplitüdü ise 1 ile 3 kat arasında değişir. Bu ritmik salınımlar genellikle Gonadotropin Releasing Hormon (GnRH) salgılanmasını yansıtır. Hem androjenler, hem de östrojenler LH salgılanmasını negatif geri bildirimle düzenlerler. Folikülstimüle edici hormon yaklaşık her 1,5 saatte bir salınır ve amplitüdü % 825 oranında değişir. Gonadotropin salgılayan hormona karşı oluşan FSH yanıtını ölçmek, LH yanıtını ölçmekten daha zordur. Folikülstimüle edici hormon yanıtının amplitüdü daha küçük ve serum yarı ömrü daha uzundur¹⁸. Yakın zamanda keşfedilen gonadal proteinler olan inhibin ve aktivin FSH salgılanması üzerine önemli etkiler gösterebilirler. Bu proteinlerin FSH'nin nispeten GnRH'den bağımsız salgılanmasından sorumlu oldukları düşünülmektedir. Folikülstimüle edici hormon ve LH, bilinen tek etkilerini gonadlar üzerinde gösterirler. Hücre içi siklik adenosin monofosfatı arttıran adenilatsiklazı aktive ederler. Testiste LH, Leydig hücrelerinde kolesterolün mitokondride pregnenolon ve testosterona dönüşümünü indükleyerek steroidogenezisi uyarır. Folikülstimüle edici hormon ise Sertoli hücrelerine ve testis içindeki spermatogonyumların membranlarına bağlanır. Gelişim sırasında seminifer tübül büyümesinin major uyararı FSH'dir. Pubertede spermatogenezin başlaması için FSH şarttır. Erişkinde kantitatif olarak normal düzeylerdeki FSH esas olarak spermatogenezisi uyarır.

2.1.3.3. Fonksiyonu

Normal erkek virilitesi ve fertilitesi, testisin ekzokrin ve endokrin fonksiyonlarının uyum içerisinde çalışması ile düzenlenir. Her iki birim de hipotalamus-hipofiz-gonadekseninin direkt kontrolü altındadır. Esas olarak Leydig hücrelerinin oluşturduğu interstisyel kompartman steroidogenezden sorumludur. Seminifer tübüller ekzokrin fonksiyon olarak spermatozoa üretir.¹⁹ Endokrin Testis: Testisler, prostat ve

yardımcı seks doku büyümesini destekleyen major serumandrojenini üretirler. Erkeklerde dolaşımdaki major serum androjeni, hemen hemen tamamen testiküler orjinli olan testosterondur (% 95). Normal fizyolojik koşullar altındatestislerdeki Leydig hücreleri, testikülerandrojenin major kaynağıdır.²⁰ Leydig hücreleri, asetat ve kolesterolden testosteron sentez etmek için esasen LH olmak üzere gonodotropinler tarafından stimüle edilirler. Erkeklerde normal testosteron üretimi yaklaşık günlük 5 gramdır ve salgılanması düzensiz ve belli aralıklarla ritmik olarak gerçekleşir. Normal erkeklerde testosteronun % 0.5-3'ü serbest, diğer bir deyimle bağlanmamış haldedir. Kalanın yaklaşık % 30'u kanda seks hormonu bağlayıcı globuline,% 67'si ise albumin ve diğer serum proteinlerine bağlı haldedir.²¹ Testosteron hipotalamus-hipofiz-gonad eksenini üzerinden negatif geri bildirimle kendi üretiminin başlıca düzenleyicisidir. Testosteronun spermatikven konsantrasyonu 40-50 µgr/dl'dir ve bu testosteron için yaklaşık 600 ng/dl olan periferik venöz serumda tespit edilen seviyeden75 kez daha konsantredir.²² Androstenodiol, androstenodion (3 µgr/dl),dehidroepiandrosteron (7 µgr/dl) ve dihidrotestosteron (DHT)'u (0.4 µgr/dl) içeren diğerandrojenler de spermatikven aracılığı ile testisleri terk ederler. Bundan dolayı spermatikvende bu androjenlerin konsantrasyonu testosterondan çok daha azdır. Spermatikvendekitüm androjenlerin oranı total testosteronun % 15'inden daha azdır.²³ Ekzokrin Testis: Testisin bir diğer hayati fonksiyonu da spermatogonial gelişimdir. Testisin prenatal gelişimi, primordialgerm hücrelerinin gonadal kabartıya göçü ve bu öncülerin primitiftestiküler kordu oluşturmak için Sertoli hücreleri ile birlikteliğini kapsamaktadır.²⁴ Farklılaşmamış gonadın primitif germ hücreleri, seminiferkordların da şekillenmesiyle gonositler olarak adlandırılırlar. Bu esnada, gonositler seminiferkord içinde santral pozisyonda lokalizedir. Gonositler, tübüllerin periferine göç ettikten sonra spermatogonyum olarak adlandırılırlar.²⁵ Gebeliğin 8 ile 22. haftalarında tübül başına

düşen germ hücre sayısında artış meydana gelir. Doğumdan sonraki 4. aya kadar Sertoli hücresi için germ hücre sayısında hafif bir düşme olur. İmmatür Sertoli hücrelerinin proliferatif aktivitesi germ hücrelerindeki bu rölatif azalmaya neden olur.²⁶ Primitif germ hücreleri, yani gonositler iki farklı hücre popülasyonundan meydana gelmişlerdir. Bir kısmı az miktarda mitokondri ama bol miktarda mikrofilament içerir. Yuvarlak çekirdekleri ve büyük çekirdekçikleri vardır. Bu hücreler tüm gestasyon boyunca görülebilirler. İkinci grup gonositler ise sitoplazmalarında bol glikojen ve bol mitokondri bulundurlar. Bunlar ise gestasyonun 10. haftasında kaybolurlar. Gonositler mitoz ile çoğalarak spermatogonyumları meydana getirirler. Spermatogonyumların doğumdan sonra 3. ayda meydana geldikleri gösterilmiştir. Bunun yanı sıra gonositlerin de 4 yaşına kadar testis içinde bulunabilir oldukları bilinmektedir.²⁷ Gonositlerden önce koyu sitoplazmalı spermatogonyumAd'ler oluşur. Bunlar mitozla çoğalarak bir yandan yeni stem hücrelerini yaparken, diğer yandan da daha açık sitoplazmalı spermatogonyumAp'leri oluşturur. SpermatogonyumAp'ler pubertede FSH ve LH'nin etkileriyle spermatogonyum B'ye dönüşürler. Puberte öncesinde seminifertübüllerin lümenleri henüz oluşmamıştır. İmmatür Sertoli hücreleri ile bunların arasında yerleşmiş spermatogonyumlar bulunur. Sertoli hücreleri arasında henüz özel bağlantı kompleksleri gelişmemiştir. Puberte ile birlikte gonadotropik hormonların uyarıları başlayınca germ hücreleri bazale doğru yer değiştirirler ve olgun spermatogonyumları yapmaya başlarlar. Sertoli hücrelerinde ise nükleus bazale kayar ve hücreler arası bağlantı kompleksleri gelişir.²⁷ Spermatogonyum B'ler mitoz ile çoğalarak preleptotenspermatositleri verirler. Bu hücreler seminifertübüllerin bazal kompartmanında ve bazal membrana yakın yeleşmiş olup eş zamanda Deoksiribonükleik Asit (DNA) duplikasyonu yaparlar. Sertoli hücreleri arasından lümeneye doğru ilerlerler. Bu ilerleyişler kan testis bariyerine uygun şekilde olur. Spermatositler bu sırada leptoten ve arkasından zigoten dönemine girerler.

Aynı zamanda eşleşmiş genetik materyalde genetik sinapslar meydana gelir. Pakiten döneminde genetik materyal değişimi devam eder ve arkasından hücre uzun bir diploten safhasına girer. Eşleşmiş kromozomlar ayrılır ve kromozomlar arasında köprüler oluşur. Kromozomların metafaz plağında toplanmalarının ardından I. metafaz ve sırayla anofaz ve telofaz safhaları gelişir. Neticede sekonderspermatositler meydana gelir. Artık bu hücreler haploid (23n) sayıda kromozom içermektedirler. Yeni bir DNA sentezi olmadan II. mayoz bölünmeye girerler ve genç spermatidler oluşur. Spermatidler olgun spermatozoa oluşana kadar birtakım morfolojik ve biyokimyasal değişiklikler geçirirler. Spermatidlerin olgun sperm hücresi olan spermatozoaya başkalaşmalarına ve bu sırada geçirdikleri morfolojik değişikliklere spermiyogenez denir.

2.2. Serbest Radikaller, Oksidan-Antioksidan Denge

Serbest radikal oluşumundaki artışa ve/veya antioksidan sistemdeki yetersizliğe bağlı olarak organizmada oksidatif stres gelişmektedir. Bu yüzden organizmanın oksidan-antioksidan dengesi sağlıklı bir yaşam sürdürebilmemiz için çok önemlidir.^{28,29}

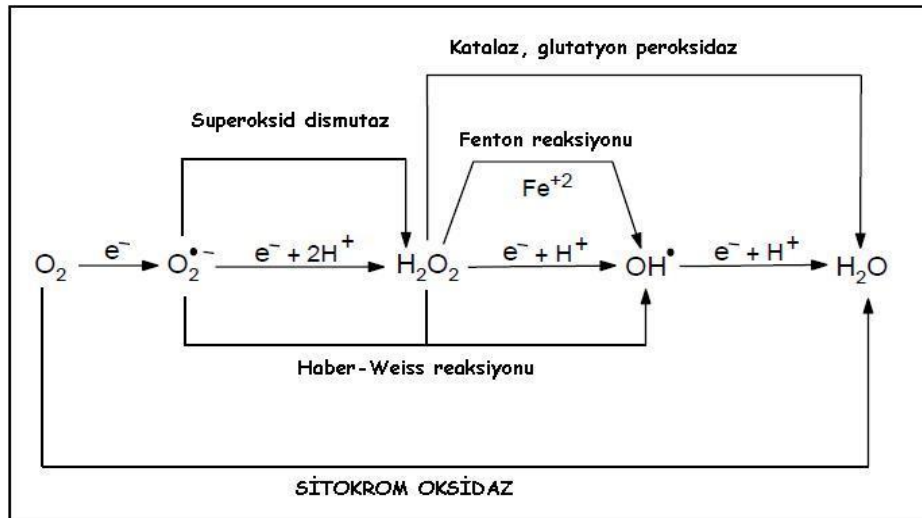
Serbest radikaller, dış orbitalinde paylaşılmamış bir elektron bulunduran ömürleri çok kısa ve kararsız bir yapı gösteren taneciklerdir. Organizmada metabolizma sırasında sürekli oluşurlar, ayrıca radyasyon, ilaçlar ve zararlı kimyasallar gibi çeşitli dış etkenlerin etkisi sonucunda da oluşabilirler.

Serbest radikaller etrafındaki moleküllerle etkileşime girerek elektron almaya çalışırlar ve kararlı hale ulaşmak isterler. Oluşan radikallerin çok önemli bir bölümü oksijen kaynaklıdır. Oksijen dışında karbon, kükürt ve azot merkezli radikallerde oluşmaktadır (Tablo 2.1).

Tablo 2.1. Oksijen ve azot kaynaklı reaktif bileşikler.²⁹⁻³²

Radikaller		Radikal olmayanlar	
Alkoksil	RO [•]	Hidrojen peroksit	H ₂ O ₂
Azot dioksit	NO ₂ [•]	Hipoklorid asit	HOCl
Hidroksil	HO [•]	Lipit hidroperoksit	LOOH
Nitrik oksit	NO [•]	Ozon	O ₃
Peroksil	ROO [•]	Peroksinitrit	ONOO [•]
Süperoksit	O ₂ [•]	Singlet oksijen	

Aerobik organizmalar oksijene ihtiyaç duyarlar. Oksijen mitokondride bir dizi reaksiyondan geçerek suya dönüşmekte ve bu süreçte hücre kendisi için gerekli olan enerjiyi sağlamaktadır. Ancak bu süreçte oksijenin %2-3 kadarı suya dönüşmemekte ve oksijen kaynaklı radikaller meydana gelmektedir (Şekil 2.3). Oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile *süperoksit radikali*, iki elektron alarak indirgenmesi ile *hidrojen peroksit* meydana gelir. Üçüncü elektron ilavesi ile yüksek derecede reaktif *hidroksil radikali* oluşur ve dördüncü elektron eklenmesiyle de *su* oluşmaktadır.²⁸⁻³²



Şekil 2.3. Hücre mitokondrisindeki radikal oluşumu³²

Serbest radikaller organizmada mitokondriyle beraber bunun dışında hücrelerin tüm yapılarında, zara bağlı veya bağımsız olarak bulunan pek çok enzimin katalizlediği reaksiyonlar sırasında oluşmaktadır. Bunlar arasında sitoplazmada ksantin oksidaz, hücre zarına bağlı NADPH (Nikotinamid adenin dinükleotid fosfat) oksidaz, mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi ve lipooksijenazlar gibi enzimlerin kataliz ettiği reaksiyonlar sayılabilir.

Kararsız yapıları sebebiyle aktif oksijen radikalleri öncelikle lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere bütün hücre bileşenleri ile etkileşebilme ve onlara hasar verme özelliğindedir. Bu hasar bazı tamir sistemleri tarafından engellenmeye çalışılır. Eğer bu sistemler yetersiz kalırsa, oksidatif stresin zararlı etkileri meydana gelir.

Serbest radikallerin lipitlere etkisi: Lipit peroksidasyonu serbest radikallerin lipitler üzerindeki en önemli etkileridir. Serbest radikaller tarafından başlatılan lipit peroksidasyonu, hücre membranlarında bulunan doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna neden olan kimyasal bir olaydır. Süperoksit, hidroksil, alkoksil ve peroksil radikalleri, lipit peroksidasyonunu başlatan en önemli radikallerdir.

Doymamış yağ asidi zincirindeki α -metilen gruplarından hidrojen atomunun uzaklaşması ile lipit peroksidasyonu başlar ve bu sayede yağ asidi zinciri bir radikal özelliği kazanır. Dayanıksız bir bileşik olan lipit radikali bazı değişikliklere uğrar. Öncelikle, molekül içi çift bağ aktarılması (rezonans) ile dien konjugatı oluşur. Oksijen eklenmesiyle de bu yağ asidi radikali hızlı bir şekilde peroksil radikaline dönüşür. Membran yapısındaki diğer doymamış yağ asitlerinden, lipit peroksil radikalleri hidrojen atomlarını çıkartarak yeni reaksiyonları başlatırlar. Açığa çıkan hidrojen atomlarında kendileri alarak lipit hidroperoksitlerine (LOOH^{*}) dönüşür. Lipit hidroperoksitlerin aldehit ve diğer karbonil bileşiklerine dönüşmesi ile reaksiyonlar tamamlanır.

Lipit peroksidasyonu sonucu hücre membranlarının transport sistemi etkilenir, hücre içi ve dışı iyon dengeleri bozulur. Sonuçta hücre içi kalsiyum oranı artar ve buna bağlı proteazlar aktive olur. Bunlar hücre hasarında etkin bir rol alırlar. Ayrıca lipit peroksidasyonunun son ürünü olan aldehitlerde sitotoksik etkilere sahiptirler.^{33,34}

Serbest radikallerin proteinlere etkisi: Serbest radikallerin proteinler üzerine doğrudan veya dolaylı olarak etkileri vardır. Peptid bağları, prolin ve lizin gibi aminoasitler serbest radikallerden kolay etkilenirler. Özellikle histidin, fenilalanin, tirozin gibi aminoasitlerde karbonil gruplarının oluşması ile protein oksidasyonu gerçekleşir. Sisteinin sülfidril grupları ile ya da lizin ve histidinler ile kovalent bağlar oluşturan lipit peroksidasyonunun aldehit yapıdaki ürünleri proteinlerde fragmentasyon ve çapraz bağlanmalara neden olur. Bu olayların sonucunda proteinlerin yapı ve fonksiyonları bozulur.^{28,29,33,34}

Serbest radikallerin nükleik asitler ve DNA üzerine etkisi: DNA yapısında serbest radikallerin etkisi ile yapısal değişimler olur. Bu yapısal değişimleri zincir kırılmaları, pürin ve pirimidin bazlarında parçalanma, DNA denatürasyonu gibi çeşitli olaylar oluşturmaktadır.

Oksidatif stresin varlığı organizmada türlü yöntemlerle gösterilebilir. Protein hasarını göstermek için protein karbonil (PC) grupları ölçümü, lipitler üzerindeki hasarın göstergesi için lipit peroksidasyonu ürünü malondialdehit (MDA), DNA hasarını göstermek için 8-hidroksi-deoksiganosin seviyeleri ölçümü kullanılmaktadır.

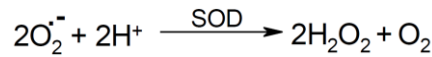
Serbest radikaller organizmada sürekli biçimde oluşmaktadır. Fakat bu radikallerin organizmaya zarar vermesi güçlü bir savunma sisteminin varlığı sebebiyle engellenmektedir. Bu sebeple serbest radikallerin oluşum hızı ile etkisizleştirme hızının dengede tutulması son derece önemlidir. Denge bozulduğunda serbest radikallerin zararlı etkileri görülmekte ve çeşitli organ ve sistemler olumsuz etkilenmektedir.^{28,35,36}

Antioksidanlar, radikal oluşumunu sınırlandırma, oluşan radikalleri ortadan kaldırma, tetiklenen biyokimyasal reaksiyonların kırılmasını sağlama ve hasarlı molekülleri tamir etme ve temizleme gibi çeşitli mekanizmalarla etkilerini göstermektedirler. Antioksidan sistem; enzimleri, metal iyonlarını bağlayan proteinleri ve su ve/veya yağda çözünen radikal tutucularını içermektedir (Tablo 2.2).

Tablo 2.2. Organizmada bulunan antioksidan sistem elemanları.^{28,35,36}

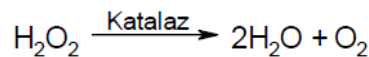
Enzimler	Metal iyonlarını bağlayan proteinler	Suda çözünen radikal tutucuları	Yağda çözünen radikal tutucuları
Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)	Albumin	C vitamini	Bilirubin
Glutatyon redüktaz (GSH-Red)	Ferritin	Glutatyon (GSH)	E vitamini
Glutatyon transferaz (GST)	Haptoglobin	Ürik asit	Flavonoidler
Katalaz	Seruloplazmin		β-Karoten
Süperoksit dismutaz (SOD)	Transferrin		Ubikinol

SOD: Süperoksit dismutaz enzimi (SOD) süperoksit radikalini dismutasyona uğratarak, hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü sağlar.



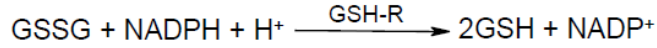
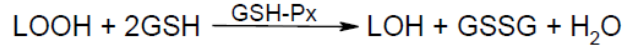
İnsanlarda SOD'un iki izoenzimi bulunmaktadır. Cu-Zn SOD sitozolde, Mn SOD mitokondride bulunur.

Katalaz: Tetramerik hemoprotein yapısı olan bir enzimdir. Yüksek konsantrasyonda oluşan hidrojen peroksidi oksijen ve suya parçalayan reaksiyonu katalizler. Enzim, peroksizomlarda bulunur.^{28,35,36}



GSH-Px: Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gerek hidrojen peroksit ve gerekse lipit hidroperoksitleri metabolize etmektedir. GSH-Px'in selenyuma bağımlı ve bağımsız iki farklı türü vardır. Bağımlı olan formu hem hidrojen peroksidin hem de LOOH'ların metabolizmasında bulunurken, bağımlı olmayan türü sadece LOOH'ları

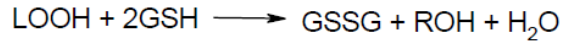
metabolize etmektedir. GSH (Glutasyon), bu reaksiyonlarda hidrojen verici olarak görev yapmakta, hidrojen peroksit ve LOOH'lar indirgenirken, GSH oksitlenmiş şekline (GSSG) dönüşmektedir. NADPH'a bağımlı glutasyon redüktaz (GSH-R) ise oksitlenmiş glutasyonu tekrar GSH'a indirgemektedir.^{28,35,36}



GST: Glutasyon-S-Trasferaz (GST) enzimi dimerik yapıda olup sitozolde bulunmaktadır. Fazla sayıda izoenzimi vardır. Çeşitli endojen ve eksojen bileşiklerin GSH ile konjugasyonunu kataliz eden GST'ler yabancı maddelerin biyotransformasyonunda önemli role sahiptirler.



GST'lerin bazı izoenzimleri GSH-Px aktivitesi gösterirler bu sayede LOOH'ların metabolizmasında sağlarlar.^{66,73,74}



GSH: Glutasyon hücre için en önemli antioksidan moleküldür. Serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücrelerde gelişebilecek oksidan hasarı engeller. GSH, bazı enzimlerin substratı veya kofaktörü olarak görev yaptığı gibi zehirsizleştirme reaksiyonlarında doğrudan katılır. Öncelikle karaciğerde olmak üzere pek çok dokuda yüksek oranda bulunur. Sistein, glutamat ve glisinden sentezlenen bir tripeptiddir ve oldukça fazla sülfidril grupları içerir. GSH-Px, GSH-R ve GST gibi enzimlerin işlevi için gereklidir. Ayrıca pek çok proteinin ve enzimin inaktivasyonunu, hücrenin protein yapısındaki sülfhidril (-SH) gruplarını indirgenmiş halde tutarak engeller.^{28,35,36}

C vitamini (Askorbik Asit) : Suda çözünen en güçlü antioksidan moleküldür. Sentez edilemediği için diyetle alınması zorunludur. Yapıca heksozlara benzeyen vitamin C organizmada kolayca dehidroaskorbik aside oksitlenir. Singlet oksijen,

süperoksit radikali ve hidroksil radikali ile reaksiyona girerek onları etkisizleştirir. Sulu fazda bulunmasına karşın lipitleri ve zarları, lipit peroksidasyonunu başlatıcı radikalleri temizleyerek oksidan hasara karşı korur. E vitamininin rejenerasyonundada görev alır, tokoferoksil radikalının α -tokoferole indirgenmesini sağlar. Bu sayede LDL'yi E vitamini ile birlikte etkin bir şekilde oksidasyona karşı korur.^{28,35,36}

E vitamini (α -tokoferol): Yağda eriyen en kuvvetli antioksidan vitamindir ve yapısal olarak birbiri ile bağlantılı bir grup bileşikten oluşur (tokoferoller ve tokotrienoller). Bunlar izoprenoid takısı içeren bileşiklerdir. Aktif kısmını yapısında bulunan fenol halkasındaki hidroksil grubu oluşturur ve molekülün antioksidan özelliği bu gruptan kaynaklanır.

Organizmada güçlü bir savunma sistemi olmasına rağmen serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı bazı durumlarda savunma sistemi yetersiz kalmakta ve oksidatif stres gelişmektedir. Hasarın yerine ve düzeyine bağlı olarak çeşitli organ ve sistemler etkilenmektedir. Serbest radikallerin günümüzde pek çok patolojik durumun ve hastalığın ortaya çıkışında önemli bir rol oynadığı kabul edilmektedir. Bu patolojik durumlar çok geniş bir dağılım göstermektedir.^{28,29,36,37} (Tablo 3). Serbest radikallerin iskemi-reperfüzyon hasarı, ateroskleroz, yaşlanma, kanser oluşumu, diabetes mellitus komplikasyonlarının gelişimi gibi pek çok hastalıkta etkin bir rol oynadığı saptanmıştır.

Tablo 2.3. Serbest radikallerle ilişkili durumlar.³¹⁻³³

Ateroskleroz	Karaciğer bozuklukları
Akciğer hastalıkları	Kan hastalıkları
İskemi-reperfüzyon hasarı	Radyasyon hasarı
Yaşlanma	Merkez sinir sistemi hastalıkları
Diabetes mellitus	Böbrek bozuklukları
İnflamasyon	Göz bozuklukları
Kanser	Gastrointestinal bozukluklar
Otoimmün hastalıklar	Beslenme yetersizlikleri
Romatoid artrit	Cilt bozuklukları
Kas hastalıkları	Sigara

2.3. Whey Proteini

Spor bilimlerinde kuvvet kavramı (kas kuvveti) çok değişik alanlarda ve değişik biçimlerde tanımlanıp, sınıflandırılmıştır. Birçok bilim adamının değişik tanımlarında, kuvvet kavramı ifade ve anlam bulmuştur. Hollmann' a göre kuvvet "bir dirençle karşı karşıya kalan kasların kasılabilme ya da bu direnç karşısında belirli bir ölçüde dayanabilme yeteneğidir". Biyomekanikte ise kuvvet, fiziksel bir büyüklük olarak tanımlanır. Meusel kuvveti " kuvvet insanın temel özelliği olup, bunun yardımıyla bir kütleyi hareket ettirir (kendi vücut ağırlığını ya da bir spor aracının), bir direnci aşar ya da ona kas gücü ile karşı koyar."³⁸ Sportif performansın belirlenmesinde önemli bir bileşen olan kuvvet, sporcuların yanı sıra daha kaliteli bir hayat yaşamak isteyen bireyler için de önemli bir unsurdur. Özellikle günlük hayatlarında fiziksel olarak aktif olmayan bireylerde zamanla kilo kontrolünün kaybedilmesi, çeşitli eklem ve kemik rahatsızlıkları ve kas ağrıları gibi problemler ortaya çıkmaktadır. Kuvvet gelişimi ile sedanter bireyler kas ve eklem rahatsızlıklarını önleyebilip hayat kalitelerini yükseltirler.³⁹ Sporcular ise kuvvetle beraber becerilerini en etkin biçimde performansa yansıtırlar.³

Kesilmiş sütün sıvı kısmı, sütün serumu ya da peynir altı suyu; whey proteini olarak bilinir. Sütün serumu, peynir yapımı esnasında elde edilen bir üründür. Sütten kazein ve yağın ayrılması sonrası geride kalır.⁴⁸

Sporcu beslenmesi ve bunun özelinde de Whey proteinlerinin kullanımına ilişkin pek çok çalışma bulunmaktadır.⁴⁹⁻⁵³

Bir kuvvet ortaya koyabilmenin birçok faktörü vardır. Kasılmaya katılacak motor ünite sayısı, sinir uyarı düzeyi ve kasın boyutunun yanı sıra eklem açısı, kasın kasılma hızı ve kasılmaya katılan kas grubunun büyüklüğü bir kuvvet ortaya koyabilmek adına

devrede olacak faktörlerdendir. Kuvvet antrenmanlarında kasılmanın niteliği ve niceliği bu faktörlerden bazılarının daha fazla gelişebilmesinde belirleyici olabilir.³⁸

2.4. Kuvvet Türleri

Spor biliminde kuvvet kavramı (kas kuvveti) çok değişik alanlarda ve değişik biçimlerde tanımlanıp sınıflandırılmıştır.³⁸ Bu sınıflamalardan 5 tanesini şu şekilde sıralayabiliriz.

Genel Kuvvet: Herhangi bir spor dalına yönelmeden genel anlamda tüm kasların ürettiği kuvvettir.

Özel Kuvvet: Bir spor dalının niteliğine uygun üretilen kuvvettir.

Maksimal Kuvvet: Kas-sinir sisteminin istemli kasılma sonucu ortaya çıkardığı en büyük kuvvettir.

Çabuk Kuvvet: Kas-sinir sisteminin yüksek bir hızla kasılarak direnci yenmek üzere ürettiği kuvvettir.

Kuvvette Devamlılık: Devamlı ve birçok kez tekrarlanan kısımlarda kas sisteminin yorgunluğa uzun bir süre karşı koyabilmesi veya yenebilmesidir.^{38,40,41}

2.4.1. Genel Kuvvet Antrenmanı

Tüm kasların üretmiş olduğu kuvvettir. Yapılacak olan kuvvet antrenmanında bu doğrultuda bütün kaslara hitap etmesi amaçlanır. Özel kuvvet çalışmalarının alt yapısını oluşturmalıdır. Bu çalışmalarda dikkat edilecek hususlardan bir tanesi de kişilere göre ağırlığın ayarlanmasıdır. Genel kuvvet antrenmanları için tavsiye edilen istasyon çalışmalarıdır. Bütün grupla çalışılabilir, ekonomik ve çok yönlü çalışma imkânı sağlar. Prensip olarak; 8-10 istasyon olmalıdır. İstasyonların yerleşimi, daire, dikdörtgen veya “U” düzenlerinde çalışılabilir.

- ✓ Yüklenme yoğunluk olarak % 40-60 olmalı.
- ✓ Tekrar sayısı her istasyonda 8-12 veya süre açısından 25-30 sn. sürmeli.

- ✓ Her istasyon arası dinlenme 40-50 sn. verilmeli.
- ✓ 3-5 set çalışılmalı.
- ✓ Setler arası dinlenme 4-5 dk. dinlenme verilmelidir.⁹

2.5. Kuvvet Antrenmanlarının Performansa Etkisi

Antrenmanlarının kassal kuvveti, kuvvette devamlılığı, anaerobik gücü ve yapılan fiziksel hareketteki verimliliği arttırdığı yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur.^{3,40}

2.6. Beslenme

Beslenme, yaşamın her döneminde sağlığın temelini oluşturmaktadır. Beslenme; büyüme, gelişme, sağlıklı ve verimli olarak uzun süre yaşamak için gerekli olan enerjiyi ve besin öğelerinin her birini yeterli miktarlarda sağlayacak olan besinleri, besleyici değerlerini yitirmeden, sağlığı bozucu duruma getirmeden, en ekonomik şekilde almak ve vücutta kullanmaktır. Yetersiz ve dengesiz beslenme durumlarında; vücudun büyüme, gelişme ve normal çalışmasında aksaklıklar olacağından yeterli ve dengeli beslenme sağlığın temelidir.^{42,43}

Sporcu beslenmesinde amaç; sporcunun cinsiyetine, yaşına, günlük fiziksel aktivitesine ve yaptığı spor çeşidine göre antrenman ve müsabaka dönemlerine yönelik düzenlemeler yapılarak besinlerin yeterli ve dengeli bir biçimde alınmasıdır. Sporcunun beslenmesi planlanırken; sporcunun boy ve kilosu, vücut yağ yüzdesi, beslenme bilgi düzeyi, beslenme alışkanlıkları, sağlık durumu, sosyal ve ekonomik koşulları da dikkate alınmalıdır.⁴⁴

2.7. Sporcu Beslenmesi

Spor ve sporcu algısı günümüzde değişen sisteme ve teknolojiye ayak uydurmaya başlamış ve fayda sağlayan birçok sektörden yararlanmaya başladığını görmekteyiz. Bunların en başlarında giyim ve gıda sektörünü görmekteyiz. Değişen ve yenilenen teknolojiyle birlikte sporcu beslenmesine destek sağlayan ek gıdalar ortaya çıkmaktadır.

Beslenme ile sporcunun başarısı arasındaki etkilerin konusu eski çağlardan beri ilgi çekmektedir. Sporda başarılı olmak için sporcunun diyetinin nasıl olması gerektiği üzerinde değişik görüşler ileri sürülmektedir. Sportif müsabakalarda başarı kazanabilmek için bazı yiyeceklerin sihirli etkileri olduğuna inananlar bile olmuştur. Bu inançlar sporcuların beslenmede bir takım yanlış ve garip uygulamalara bile yol açmaktadır. Bu uygulamalara bağlı olarak bazı sporcularda dengesiz beslenme belirtileri görülmüş, gereksiz yiyecek veya maddeler için para harcamaya zorlandıkları ve asıl yapmaları gerekenleri ihmal ederek başarısızlığa uğradıkları görülmüştür. Özel bir diyetin sporcuların başarısında etkin olduğunu ileri sürenler olduğu gibi yeterli ve dengeli olarak düzenlenmiş bir diyetin gereksizliğini savunanlar da vardır. Sporcunun beslenmesindeki amaç; cinsiyet, yaş ve fiziksel aktiviteye göre gereken bütün besin öğelerini ve harcanan enerjiyi yeterli oranlarda sağlamaktır.⁴⁵

2.8. Sporcu Ek Gıda Takviyeleri

Günümüzde ister amatör ister profesyonel düzeyde olsun sporcular kaybettikleri enerjiyi geri kazanmak amacıyla sportif destekleyici besinsel ürünlere yönelmektedir. Bu ürünlere yönelik algı, düşünce ve tutumlar ürünün kullanımı üzerinde büyük öneme sahiptir.⁴⁶ Sporcu besin destekleri ya da ergojenik yardım olarak kullanılan bir takım besinsel destekleyici ürünler sporcular tarafından kullanılmaktadır. Sporcuların

performanslarını arttırmak amacıyla doğal yetenek ve antrenman haricinde bir takım madde ve malzemeleri kullanması ergojenik yardımcı olarak adlandırılmaktadır.⁴⁷

Sporcular için enerji verici besin öğeleri:

- ✓ Karbonhidratlar
- ✓ Yağlar
- ✓ Proteinler den oluşmaktadır.



3. MATERYAL VE METOT

3.1. Çalışma Grupları

Bu çalışmada, 21 adet Albino-Wistar cinsi erkek sıçan (220–450 gr) kullanıldı. Deney 12 saat aydınlık / karanlık döngüsü ile sabit sıcaklıkta (22±2 C) yapıldı. Hayvanlar her bir grupta 7 adet olmak üzere 3 gruba ayrıldı. Grup I- Kontrol grubu olarak belirlendi herhangi bir ilaç veya başka tıbbi müdahale uygulanmadı. Grup II- 8 hafta süre ile normal gıda alımına ek olarak whey proteini ile desteklenmiş gıda alan grup. Grup III- 8 hafta süre ile normal gıda alımına ek olarak whey proteini ile desteklenmiş gıda alan ve egzersiz yapan gruplar olarak belirlendi.

3.2. Çalışma Gruplarının Diyetleri

Grup 1’de deney hayvanları standart diyeti alırken grup 2 ve 3 deki ratlar normal diyetlerine ek olarak whey proteini ilave edilmiş gıdalar aldılar. Beslenme rejimleri AIN - 93 protokolü ile uyumlu olarak hazırlandı. Deneysel whey diyet % 15 kcal yağ , % 24 kcal proteini ve % 61 kilokalori karbonhidrat olarak hazırlandı. Kjeldahl un methodu kullanarak hazırlanan bu diyetle grup 2-3 bulunan deney hayvanlarına normal gıda alımlarına ek olarak kg’da 200 gr whey protein verildi.

3.3. Egzersiz Protokolü

Grup III.’ te yer alan tüm ratlara adaptasyon antrenmanı ve vücut geliştirici egzersiz programı uygulanmıştır.

3.3.1. Adaptasyon Antrenmanı

Adaptasyon döneminde ratlar 1 hafta süre ile 32 derece sabit ısıda 40 cm derinliğinde yüzme havuzunda 15 dakika süre ile yüzme egzersizi yaptırıldı. Adaptasyon süresi sonrası (1. haftanın sonunda) yüzme egzersizine ek olarak deney hayvanlarının atlamasına teşvik oluşturularak deney hayvanlarının vücut uzunluğunun yüzde 150 'si uzunluğunda plastik dairesel konteynerden atlatıldı.

3.3.2. Vücut Geliştirici Egzersiz Programı

Deney hayvanların atlamaları sağlamak için kullanılan yöntem; deney hayvanlarının göğsüne aşağıda belirtilen oranlarla ağırlık bağlanarak suya bırakıldı. Konteynerden ratlar nefes almak için atlamak istediler. Günde 10 defa 8 hafta süre ile yapıldı. Her egzersiz sonrası ratlar en az 1 dakika dinlendirildi. Deney hayvanlarının göğsüne bağlanan ağırlıklar ise haftalar içerisinde kademeli olarak artırıldı. Burada kullanılan ağırlık oranları hassas ölçüm cihazı ile 1. haftada farenin aç karınla ağırlığının % 25, 2. haftada içinde % 30, 3. hafta % 35, 5. haftada % 40, 6. haftada ,% 50, 7 ve 8. haftada % 55 olarak belirlendi. Bu belirlen egzersiz modeli 2011 yılında Haraguchi ve arkadaşlarının ratlarda uygulanan vücut geliştirici egzersiz programı örnek alınarak hazırlanmıştır.

3.4. Anestezi ve Kan Örneklerinin Alınması

Deney bitiminde deney hayvanları anestezi amacı ile 50 mg/kg i.p. ketamin hidroklorür ve xylazine 10 mg/kg i.p. olarak enjekte edildikten sonra orşiektomi yapıldı.

İşlem sonrasında ketamin ve xylazine anestezisi altında deney hayvanlarına servikal dislokasyon ile sakrifiye edildiler.

Alınan kan ve doku örnekleri çalışma için en kısa sürede biyokimya ve histoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Ulaştırılan örneklerden kanlar, serumları ayrılıp böbrek doku örnekleriyle beraber çalışma zamanına kadar -80 derecede muhafaza edildi. Serumlardan ve testis dokusu homojenizasyonu sonucu elde edilen homojenatlardan antioksidan parametreler malondialdehit (MDA), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT), protein karbonil (PC) ve nitrik oksit (NO) düzeyleri çalışıldı.

3.5. Biyokimyasal İnceleme

3.5.1. Serum Süperoksit Dismutaz (SOD) Aktivitesinin Ölçülmesi

Süperoksit dismutaz (SOD) aktivitesi düzeyi, Sun ve arkadaşlarının yöntemi ile Durak ve arkadaşlarının yapmış olduğu modifikasyona göre tespit edildi.^{54,55} Bu yöntemde SOD aktivitesi, ksantin/ksantin oksidaz sistemi ile üretilen süperoksitin nitroblue tetrazoliumu (NBT) indirgemesi esasına dayanır. Meydana gelen süperoksit radikalleri NBT'yi indirgeyerek renkli formazon oluşturur. Oluşan kompleks 560 nm'de maksimum absorbands verir. Enzimin bulunmadığı ortamda bu indirgenme meydana gelip mavi-mor renk oluşmaktadır. Ortamda SOD bulunduğunda ise NBT indirgenmesi gerçekleşmeyip mavi-mor renk meydana gelmemekte ve enzim miktar ve aktivitesine bağlı olarak açık renk oluşmaktadır.

$$\text{Enzimin \% inhibisyonu} = (\text{Abs}_{\text{Skör}} - \text{Abs}_{\text{num}}) / \text{Abs}_{\text{Skör}} \times 100$$

Bir SOD ünitesi; NBT redüksiyonunu % 50 oranında inhibe eden enzim aktivitesidir. Sonuçlar U/mg protein olarak ifade edildi.

Kimyasallar

150 µmol/L NBT, 0,3 mmol/L xanthine, 0,6 mmol/L EDTA (2 Na tuzu), 400 mmol/L Na₂CO₃, 1 g/L bovine serum albumin, xanthine oxidase (XO), 2 M (NH₄)₂SO₄, 0,8 mmol/L CuCl₂

Ölçüm yöntemi

Kimyasallar kullanılarak hazırlanan ölçüm reaktifinden 2,85 mL deney tüplerine alındı. Üzerlerine 0,1 mL numunelerin ekstraktlarından ilave edildi. Kör tüpüne ekstrak yerine 0,1 mL distile su konuldu. Elde edilen tüm karışımların üzerine 0,05 mL ksantin oksidaz ilave edilip, hızlı bir şekilde alt üst edilerek karıştırıldı ve oda ısısında 20 dakika inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonrası tüplere stop solüsyonu olarak 0,1 mL bakır klorür eklendi ve numunelerin köre karşı 560 nm'de absorbandsları okundu.

Hesaplama

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(\text{Absorbans kör } \{K\} - \text{Absorbans Örnek } \{Ö\}) / K] \times 100$$

% 50'lik inhibisyona 1 U denildiği için

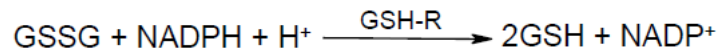
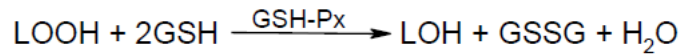
$$\text{Aktivite (U/ml)} = [(\% \text{ inhibisyon}/50) \times (1 / 0,1)] \text{ ml.}$$

$$\text{U/ml} = [(K - Ö) / K] \times 20 \times 5 \text{ (sulandırma faktörü)}$$

$$\text{Spesifik aktivite (U/ mg protein)} = [\text{U/mL} / \text{mg/ml protein}]$$

3.5.2. Serum Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px) Aktivitesinin Ölçümü

Glutasyon Peroksidaz aktivitesi Paglia ve arkadaşlarının yöntemine göre ölçüldü (139). GSH-Px ortamda hidrojen peroksit bulunduğunda redükte glutasyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) yükseltgenmesini katalizler. GSH-Px'in hidrojen peroksidin bulunduğu ortamda oluşturduğu GSSG, glutasyon redüktaz ve NADPH yardımı ile GSH'a indirgenir. GSH-Px aktivitesi NADPH'ın NADP'ye yükseltgenmesi sırasındaki absorbans seviyesinde meydana gelen azalmanın 340 nm'de okunmasıyla hesaplanır.



Enzim Ünitesi: NADPH'ın birim zamanda okside olan mikromol miktarıdır.

Kimyasallar

150 mM redükte GSH, GSH-Redüktaz, 8 mM NADPH, 1 M NaN₃ (Sodyum azid), 50 mM H₂O₂, fosfat tamponu (pH = 7,50 mM), 3,2 M (NH₄)₂SO₄

Ölçüm yöntemi

Hazırlanan deney tüplerine; 2,650 mL EDTA'lı fosfat tamponu,

0,1 mL redükte GSH,

0,1 mL NADPH,

0,01 mL GSH-Redüktaz,

0,01 mL NaN₃,

0,02 mL numune

Karışımları hazırlanarak 30 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonrası deney tüplerine 0,1 mL hidrojen peroksit ilave edilip 5 dakika boyunca dalga boyu 340 nm'ye ayarlanmış spektrofotometrede numunelerin absorbans değerleri kaydedildi. Aktivite azalışının lineer olduğu absorbans aralığının 1 dakikalık süresi esas alınarak hesap yapıldı.

Hesaplama

$$IU/L = [(\Delta A/t)/6,22 \times 10^{-6}] \times (1 / 0,02)$$

$$\text{Spesifik aktivite IU/mg protein} = (IU/L) / (1000 \times W)$$

3.5.3. Serum Lipid Peroksit (LPO) Düzeylerinin Ölçümü

Lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehit (MDA), tiyobarbitürik asit (TBA) ile 90 °C'de reaksiyona girer ve pembe renkli kromojen oluşturur. MDA düzeyinin tayini oluşan pembe renkli bileşiğin 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçümü esasına dayanır.⁵⁶

Kimyasallar

%10'luk Trisiklik asetik asit (TCA), % 0,675'lik Tiyobarbitürik asit (TBA), Stok standart solüsyonu (1,1,3,3 tetra metoksiopropan)

Ölçüm Yöntemi

Kapaklı cam deney tüplerine 2,5 ml %10'luk TCA konuldu, üzerlerine 0,5 ml numune eklenerek vorteksle karıştırıldı. Elde edilen karışımların ağızları kapatılarak 90 °C'de 15 dakika inkübe edildiler. İnkübasyon sonrası soğuk su altında soğutulan numuneler 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifügasyon sonrası elde edilen süpernatantlardan 2 ml ayrı tüplere aktarıldı, bunların üzerlerine % 0,675'lik TBA ilave edildi ve tekrar 90 °C'de 15 dakika inkübe edildiler. İnkübasyon sonrası tekrar soğuk su altında soğutulan numuneler, 532 nm'de köre karşı absorbansları okutuldu. Kör tüpüne de numune yerine 0,5 ml distile su konularak aynı işlemler yapıldı.

Hesaplama

MDA (nmol/ g.yaş doku) = (Örnek OD/Standart OD) x Standart Konsantrasyonu

3.6. Histolojik İnceleme

Deney sonrasında derin anestetik hale getirilen sıçanlardan çıkarılan testisler uygun miktardaki % 4'lük tamponlu nötral formaldehit solüsyonunda 36 saat kadar bırakılarak tespit edildiler. Tespit işleminden sonra dokular; yıkama, dehidratasyon, saydamlaştırma, emdirme gibi birbirini takip eden rutin histolojik doku takip protokolü uygulanarak parafin bloklara gömüldüler. Parafin bloklardaki dokular rotarimikrotom (LEICA RM2125RT, China) ile 4-5 µm kalınlıkta kesilerek lamalar üzerine alındılar. Kesitler parafinin erimesi için 58 °C -60 °C etüvde bir gece bekletildiler. Deparafinizasyondan sonra kesitlere HEboyama (Hematoksilen-Eozin) protokolü uygulanarak doku kesitlerin üzeri lamel ile kapatıldı. Hazırlanan bu testis preparatları araştırma amaçlı kullanılan ışık mikroskobu ile (NikonEclipse, Japan) ile histolojik olarak incelendiler. Histolojik analizler rasgele numaralandırma şeklinde kör çalışma şeklinde gerçekleştirildi. Her grupta 7 hayvan, her hayvanda 7 kesit ve her kesitte de ortalama 25 seminifer tübül değerlendirilmeye tabi tutuldu. Testiküler dokular Johnsen skorlama sistemi ile histolojik ve spermatogenik olarak değerlendirilerek ortalama Johnsen skoru hesap edildi. Johnsen skorlama prensibi birden ona kadar toplam 10 histolojik kriterden ibaret olup aşağıdaki gibidir:

JohnsenSkorlama Kriterleri:

Skor 10: Germinal epitel çok sıralı, çok sayıda spermatozoa var

Skor 09: Germinal epitel disorganize ve lümene doğru yığılma, spermatozoa var

Skor 08: Germinal epitel çok sıralı ancak lümeninde 10'dan az spermatozoa var

Skor 07: Spermatozoa yok, çok sayıda spermatid var

Skor 06: Spermatozoa yok, spermatid 10'dan az

Skor 05: Spermatozoa yok, spermatid yok, spermatosit var

Skor 04: Spermatozoa yok, spermatid yok, spermatosit 5'den az

Skor 03: Germ hücre olarak sadece spermatogonia var

Skor 02: Germ hücresi yok, sadece Sertoli hücresi var

Skor 01: Seminifer tubulus içinde hiç hücre yok

Bu skorum sisteminde ortalama 10'a ne kadar yakınsa sperm yapımının o kadar normal olduğu kabul edilmektedir.

3.7. İstatistiksel Analizler

3.7.1. Histolojik Analizler

Sonuçların istatistiksel olarak karşılaştırmasında IBM SPSS 20 Windows istatistik paket programı kullanıldı. Grup ortalama Johnsen skoru değerlerinin karşılaştırmaları One-WayANOVA sonrası çoklu karşılaştırma testlerinden LSD ile yapıldı. Grup 1 ve Grup 3'ün istatistiksel olarak farklı oldukları ($p:0.003$) Grup 2'nin Johnsen skoru ortalamasının ise iki grup ortalamasının arasında bir değerde olduğu ancak istatistiksel olarak diğer iki gruptan farklı olmadığı ($p:0.065$) tespit edildi.

3.7.2. Biyokimyasal Analiz

Gruplar arası genel karşılaştırmalar için Kruskal Wallis Testi; ikili karşılaştırmalar için ise Mann Whitney U Testi kullanılmıştır. P değerleri 0.05'den küçük hesaplandığında istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir. Hesaplamalarda hazır istatistik yazılımı kullanılmıştır (IBM SPSS Statistics 19, SPSS inc., an IBM Co., Somers, NY).

Serum SOD değerleri grup 1'de 8,4 [6,267-13,467] U/ml olarak saptanırken bu oranın grup 2'de 10,53 [10-11,6] U/ml ve grup 3'te ise 12,4 [10-15,867] olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı. Biyokimyasal parametreler

içerisinde sadece MDA seviyesinin egzersiz yapan ve whey proteini kullanan grupta azaldığı tespit edildi (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Değişkenlerin Gruplara Göre Dağılımı

	Grup 1 (n=7)	Grup 2 (n=7)	Grup 3 (n=7)	X²	p
SOD (U/ml)	8,4 [6,267-	10,53 [10-11,6]	12,4 [10-15,867]	2,820	0,244
(mm)	13,467]				
GSH-PX (U/dL)	482 [168,7-	530,2 [361,5-	747,1 [723-	4,640	0,098
	771,2]	795,3]	988,1]		
MDA (µmol/L)	0,86 [0,729-	0,87 [0,652-1,01]	0,54 [0,519-	8,980	0,011
	1,509]		0,665]		

Veriler Ortanca [Çeyrek 1-Çeyrek 3] şeklinde verilmiştir.

p<0,05 anlamlılık düzeyidir.

Kruskal Wallis Testi

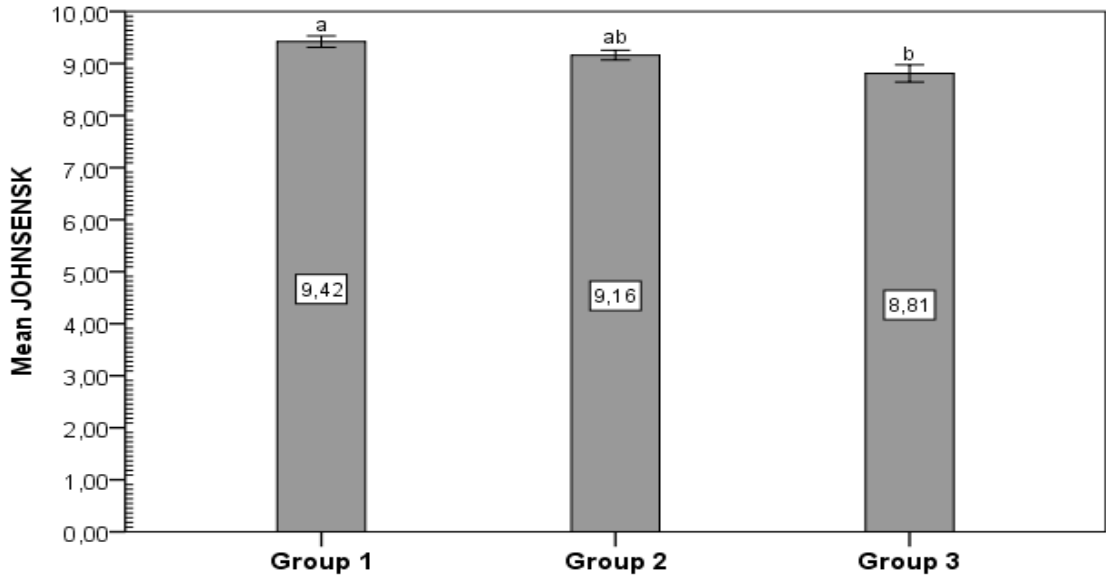
MDA (µmol/L) için farklılık Grup 1 ve Grup 3 (p=0,009) ve Grup 2 ile Grup 3 (p=0,015) arasındaki farktan kaynaklanmıştır. (Mann Whitney U Testi)

Işık mikroskopik analizler sonucunda G1 grubu sıçanların testiküler dokuları histolojik olarak normal testis dokusu görünümündeydi. İnkakt bazal membran ile çevrili seminifer tübüller, germ hücreleri, Sertoli ve Leydig hücreleri infiltrasyon ve hemorajik belirtiler olmadan tam olarak gözüküyordu. Diğer her iki grubun genel histolojik görüntüsünün testiküler mimarisi, seminifer tübül bazal membranı, Leydig hücre hiperplazisi ve konjesyongibi histopatolojik bulgular bakımından kontrolden dikkati çekecek düzeyde pek farklılık göstermedikleri görüldü. Ancak seminifer tübüllerin detaylı analizleri sonucunda kontrol ile karşılaştırıldıklarında G3 grubunda tübül epiteli düzensizlikleri, bazı tübüllerin lümenlerinde spermatazoa yokluğu veya azlığı, epitelin lümenine doğru yığılma yaptığı ve koagulatif nekrozis varlığı dikkati çekmekteydi. G2 grubunun mikroskopik analizlerinde ise G3 deki kadar yağın olmasa da benzer histolojik düzensizlikler G2 de de mevcuttu ancak kontrole yakın bir histolojik düzenlenme daha fazla idi. Ancak G2 grubunun istatistiksel olarak diğer iki gruptan farklı olmadıkları tespit edildi (Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4).

Tablo 4.2. Johnsen skorları ve istatistik analiz sonuçları

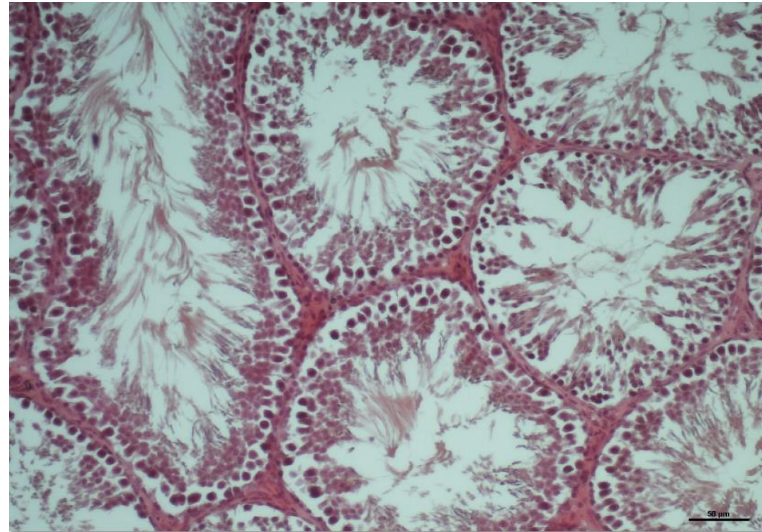
	Group1 (n=7)	Group2 (n=7)	Group3 (n=7)	p
Johnsen Skor	9.42 ± 0.29 (9.0-9.75)	9.16 ± 0.25 (8.80-9.5)	8.81 ± 0.44 (8.81-9.31)	0.003

Veriler ± standart sapma ve minimum maksimum değerler olarak ifade edilmiştir.



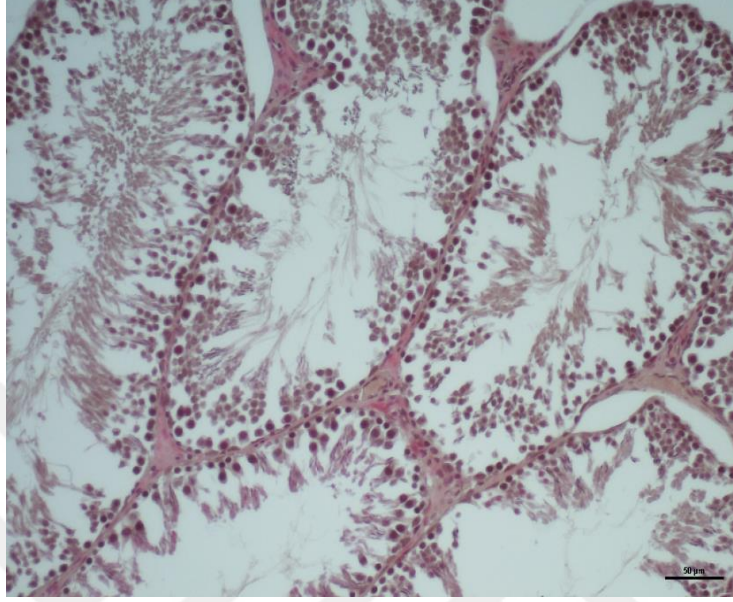
Şekil 4.1. Johnsen skorları grup ortalama değerlerinin karşılaştırılması.

*Barlar üzerindeki her bir harf istatistiksel farklılığı ifade eder: a ve b farklı p:0.003, ab farksız p>0.05



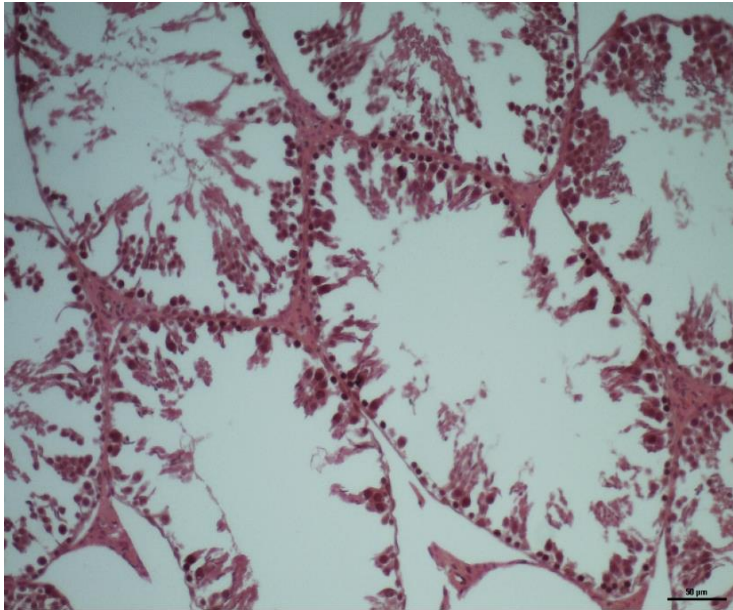
Şekil 4.2. Normal – normale yakın Seminifer tübüllerin görüntüsü:

Seminifertübüllerin ve tübüller arası bağ dokunun normal bütünlüğünü koruduğu, seminifer tübül epitelinde tüm hücrelerin organize bir şekilde mevcut olup belirli bir sıralama takip ettiği, tübül lümeninde çok sayıda spermatozoalar görülmekte (H&E Boyama, Bar:50µm).



Şekil 4.3. Bozulmuş seminifertübüllerin görüntüsü:

Seminifertübüller ve intersitisyel doku genel itibari ile bütünlük arz etmektedir. Tübül epitelinde spermatogenik seri hücrelerinin mevcut olduğu ancak yer yer dökülmelerin olduğu görülmekte ve tübül lümeninde sayıca azalmış spermatozoaların varlığı görülmektedir (H&E Boyama, Bar:50µm).



Şekil 4.4. Belirgin olarak bozulmuş seminifertübüllerin görüntüsü:

Seminifertübüllerin ve intersitisyelbağ dokuların bütünlüğünün bozulma eğiliminde olduğu, tübül epitelinde spermatogenez seri hücrelerin ciddi şekilde dökülmüş olduğu ve tübül lümeninde spermatozoaların belirgin olarak azalmış olduğu ve genellikle olmadığı görülmektedir (H&E Boyama, Bar:50µm).



5. TARTIŞMA

Gebelik öncesi dönemde rahim içinde 4. haftadan itibaren testis öncülleri oluşmaya başlamaktadır. Bu aşamadan sonra 12. hafta civarı FSH, LH gibi beyinde hipofiz olarak adlandırılan alanda yer alan hormonların etkisiyle testis gelişim ve fonksiyonu sürdürmektedir. Rahim içinde geçen gebelik süresinin başlangıcından 36. haftaya kadar testisler ilk aşamada karın içi bölgeden aşağıya doğru hareket ederek skrotum olarak adlandırılan dış genital bölgedeki normal lokalizasyonuna ulaşırlar. Doğum sonrası, doğum öncesi var olan gonosit olarak adlandırılan sperm öncülleri spermatogonium olarak adlandırılan ikincil sperm öncüllerine dönüşerek ergenlik dönemine (puberte) kadar bu şekilde kalırlar. Ergenlik dönemi ile beraber beyinde hipotalamus ve hipofiz bölgelerindeki FSH ve LH etkisi ile testis uyarılmakta bunun sonucu sperm üretimi başlamaktadır. LH testis içerisinde yer alan Leydig hücrelerine etki ederek kolesterolden erkeklik hormonu olarak ta bilinen testosteron yapımına neden olur. Oluşan bu testosteron spermin asıl yapılacağı yanbaşındaki seminifer tübülüs denilen alana taşınır. Testosteron sperm yapımında oldukça önemli olup eksiliğinde sperm yapımı bozulacağı için infertilite (kısırlık) sözkonusu olacaktır. Bu hormonun varlığında FSH'da seminifer tünbülüslere etki ederek puberteden önce var olan spermatogoniumların spermatosit ve sonrasında da normal sperm hücrelerine dönüşümünü sağlamaktadır. Sprem oluşumu sonrası bu sperm normal sağlıklı bir erkekte normal bir kadın partner varlığında vajen içerisine atılarak fertilite denilen çocuk oluşumunu sağlamaktadır. Söz konusu bu süreç oldukça komplekstir. Normal bir kadın partner varlığında düzenli korunmasız cinsel ilişkiye rağmen bir yılın sonunda çocuk sahibi olamama ya da konsepsiyon meydana gelmemesi olarak adlandırılan infertilitenin çiftler arasında görülme oranı % 10-15 civarında olup dünya genelinde 48.5 milyon çifti etkilediği düşünülmektedir.⁵⁷ İnfertilite denilen kısırlık kadın, erkek ya

da her ikisine ait nedenlere bağlı olarak ortaya çıkabilmektedir. İnfertilitede izole kadın faktörü %50, izole erkek faktörü %30 ve her iki cinse ait ortak faktör %20 olarak bilinmektedir.⁵⁹ Erkek olgulara ait faktörler sperm gelişimini bozabilen hemen her durumu kapsamaktadır. Bu faktörler testisin normal yerine inmesinin tam olarak gerçekleşmediği inmemiş testis, testisin kendi etrafında dönüp kansız kalmasına ikincil ortaya çıkan iskemi, FSH ve LH gibi yapıların doğuştan salınımındaki yetersizlik, tiroid bezi bozuklukları, böbrek yetmezliği, karaciğer bozuklukları, diabetes mellitus, genetik nedenler, testisin infeksiyonları, geçirilmiş cerrahi operasyonlar, travma ve günümüzde artık yaşamın her alanında yoğun kullandığımız ilaçlara bağlı olarak ortaya çıkabilir.⁵⁸⁻

⁶⁰ Buna göre kanser, hipertansiyon, diabetes mellitus, epilepsi, çeşitli infeksiyonlar, kolesterol yüksekliği, ağrı, kalp hastalıkları, eklem hastalıkları, bağışıklık sistemi bozuklukları ve depresyon gibi bozukluklara bağlı olarak kullanılan antineoplastik ilaçlar, antibiyotikler, antidiabetikler, statinler, morfin, sulfasalazin, enalapril, kolęisin ve serotonin olarak bilinen ilaç ya da ilaç grupları sperm yapımını bozarak kısırlığa neden olabilmektedirler.⁶⁰⁻⁶⁵ Günümüzde yukarıda belirtilen ilaç ve ilaç grupları haricinde çeşitli katkı maddelerinin hemen her toplumda giderek daha yaygın olarak kullanıldığı görülmektedir. Bununla ilişkili olarak Whey proteininin de sporcularda yaygın olarak kullanıldığı anlaşılmaktadır. Ancak bu ajanın kullanımına bağlı olarak vücutta farklı etkilerin görülebileceğine dair çalışmalar oldukça sınırlı sayıdadır. Zhang ve ark.⁶⁶ yapmış olduğu bir metaanalizde bu destek ajanının kullanımına bağlı olarak trigliserid (TG) seviyelerinde orta düzeyde iyileşme saptanırken LDL (düşük dansiteli lipoprotein), total kolesterol ve HDL-C (yüksek dansiteli lipoprotein) seviyelerinde herhangi bir pozitif bulgu saptanmamıştır. Öte yandan Dijk ve ark.⁶⁷ çalışmalarında antioksidan özellikleri nedeniyle kas fonksiyonlarını ratlarda arttırdığı gösterilmiştir. Bu destek tedavisinin kas üzerine olan olumlu etkileri benzer çalışmalarda ortaya

konulmuştur. Xiao ve ark.⁶⁸ ise bu destek tedavisinin barsakta lippolisakkaridlerin meydana getirdiği hasarı azalttığını bildirmişlerdir. Buna karşılık bazı çalışmalarda kas büyüklüğü ve uzunluğuna etki etmediği de bildirilmiştir.⁶⁹ Whey proteinlerin ovariumları alınmış deneysel hayvanlarda kemik kaybını azalttığı gösterilmiştir. Kanserli olgularda tedavi öncesi verilmesinin yürüyüş kapasitesine anlamlı etki ettiği gösterilmiştir. Yine çeşitli durumlarda whey proteinlerinin yağ miktarını düşürerek dolaylı olarak inflamasyonu azaltıp olumlu etki gösterdiği belirtilmektedir.⁷⁰ Chen ve ark.⁷¹ ise whey protein uygulanmasının farelerde egzersiz performansını arttırdığını, biyokimyasal parametrelerle de bu durumun gösterildiğini bildirmişlerdir. Forbes ve ark.⁷² çalışmalarında whey proteini destek tedavisinin total aminoasit, esansiyel aminoasit ve lösin seviyelerini arttırdığını buna karşılık glukoz, insülin, testosteron ve kortizol seviyelerine etki etmediği belirtilmiştir. Yaş ortalaması 21.7 ± 2.8 yıl olan egzersiz yapan 10 erkek olguda whey proteini uygulanmasının kortizol cevabını bozabileceği bildirilmiştir.⁷³ Whey proteininin karaciğer patolojilerinde, diabetes mellitusta, bilişsel fonksiyonlar, hepatit, sinir sistemi hastalıkları (ALS), yara iyileşmesi, astım hastaları, obez bireylerde kan basıncı ve vasküler fonksiyonlar üzerine olumlu etkilerinin olduğu gösterilmiştir. Bazı çalışmalarda whey proteininin demir yüklenmesine bağlı oksidatif hasarı azalttığı gösterilmiştir. Antioksidan özelliği ile ilgilide çok sayıda çalışma yapıldığı anlaşılmaktadır.⁷⁴

Whey proteini ile ilgili çalışmalarda yan etkilerin son derece az çalışıldığı ya da tam olarak belirtilmediği görülmektedir. İskelet ve böbrek fonksiyonlarına etki etmediği anlaşılmaktadır.⁷⁵ Whey proteinlerinin vücut sistemleri üzerine olan negatif etkisi ile ilgili çalışmaların, özellikle de deneysel çalışmaların son derece yetersiz olduğu görülmektedir. Nunes ve ark.⁷⁶ deneysel çalışmalarında sedanter farelerde karaciğer ve böbrek hasarı ile ilişkili belirteçleri arttırdığı egzersiz grubunda ise kardiyak hipertrofiye

neden olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada egzersiz yapan grupta yapmayanlara göre daha fazla hasar saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da kontrol grubuna kıyasla histolojik değerlendirmelerde egzersiz yapan ve whey proteini alan grupta hücresel hasar ve spermatogenezin daha fazla etkilendiği saptandı. Whey protein desteğine bağlı olarak vücutta akne olabileceği 5 olguluk bir çalışmada gösterilmiştir.⁷⁷ Kullanılan ilaçlar sperm sayısı azlığından tamamen yokluğuna kadar pek çok etki yapabilirler. Bu ilaçlar hormonal ya da hormonal dışı mekanizmalarla testisleri etkileyip sperm bozukluğuna yol açabilirler. Bu ilaç gruplarından ağrı kesici ya da inflamasyon inhibitörü olarak kullanılan siklooksijenaz inhibitörlerinin sperm hücresine kalsiyum girişini artırarak ya da oksidatif hasara yol açarak spermleri olumsuz etkilediği bilinmektedir.⁷⁸ Spermlerin üzerinde poliansatüre yağ dediğimiz yapılar bulunmaktadır. Normalde vücutta günlük fizyolojik işlevlerin bir parçası olarak oluşan oksidan dediğimiz maddeler normal fizyolojik görevlerini tamamladıktan sonra vücuttaki antioksidanlar dediğimiz yapılarca ortadan kaldırılırlar. Ancak bazen ciddi ruhsal stres, diabetes mellitus, sigara içimi, infeksiyonlar, travma ve sayısız patolojiye bağlı olarak meydana gelen yapısal stres aşırı oksidan yapımına neden olmakta vücuttaki antioksidan sistemleri bu oksidanları tam olarak ortadan kaldıramamaktadırlar. Bu durum oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır.⁷⁹ Oksidatif stres sonucu ortaya çıkan ürünler hücrelerin pek çok yapısına etki etse de özellikle lipid denilen yapılara saldırarak etki etmektedirler. Sperm üzerinde de %20 civarında yağ dokusu olduğu için oksidanlar buraları hedef almakta ve sperm membranını etkileyerek hücrenin normal fonksiyonlarını görmesine engel olmaktadır.^{79,81} Yine bir başka ağrı kesici grup olan opiatlar, morfin, kas eklem hastalıkları tedavisinde kullanılan sulfasalazin, tüberküloz tedavisinde kullanılan ilaçlar, sıtma tedavisinde kullanılanlar, iyi huylu prostat büyümesinde kullanılan ilaçlar, hipertansiyon tedavisinde kullanılanların oksidatif hasara yol açarak sperm

fonksiyonlarını etkilediği bilinmektedir.⁸²⁻⁸⁷ Çalışmamızda da oksidatif hasarı gösteren MDA seviyesinin azaldığı bu durumun oksidatif hasarla ilişkili olarak sperm yapımını bozabileceği görüşünü desteklediği düşünölmektedir. Bunun haricinde bazı ajanlarda DNA hasarı, testosteron ya da östrojen gibi spermatogenezde gerekli hormonların yapısını etkileyerek, sperm için gerekli maddeleri azaltarak ya da sperm kanallarının kontraksiyonlarını bozarak, doğrudan spermin hareketini sağlayan tübüllere etki ederek, membran yapısını bozarak ya da enerji metabolizmasını engelleyerek spermatogenezi bozabilmektedirler.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bizim bilgilerimize göre İngilizce yazılan literatürde whey proteinlerinin testis üzerine olan etkisinin daha önce çalışılmadığı anlaşılmaktadır. Çalışmamızda whey proteini verilen grupta kontrol grubuna göre hematolojik parametrelerde olmasa da doku düzeyinde olumsuz etkilenmeler olduğu saptandı. Egzersiz yapıp whey proteini alan grupta ise Johnsen skoru olarak bilinen ve sperm yapımındaki bozukluğu gösteren değerin hem kontrol hem de sadece whey proteini verilen gruptan sayısal olarak daha fazla etkilendiği anlaşılmıştır. Bu bulgular histolojik olarak tübül yapısının daha fazla etkilendiği grup 3'teki Johnsen skoru ile uyumlu görünmektedir.

Her ne kadar bu bir deneysel çalışma olsa da bu sonuçlara göre whey proteininin sporcularda kullanımının testiküler dokularda spermatogenezi olumsuz olarak etkilediği görülmektedir.

Buradan hareketle whey proteininin sporcularda kullanımının yakından takip edilerek uygun dozda ve sürede kullanımının sağlanmasının önemli olduğunu belirtebiliriz.

KAYNAKLAR

1. Açıkada, C., Ergen, E. *Bilim ve Spor*, Büro Tek Ofset Matbaacılık, Ankara.1990:100
2. Durak N., “*Spor ve Felsefe*”, SOBE Sosyal Bilimler Evi, Isparta, 2006:39.
3. Erdemli A., *Temel Sorunlarıyla Spor Felsefesi*, E Yayınları, İstanbul, 2006:45.
4. Özbek A.(2000). İslam’da Spor, *Osmanlılarda Spor Sempozyumu*, Petek Ofset Matbaacılık, 252–259.
5. Ersoy G, Hasbay A., *Sporcu Beslenmesi*, Klasmat Matbaacılık, Ankara,2008:15
6. Anafarta K. Ürogenital organların anatomik ve histolojik yapısı. *Temel Üroloji Kitabı*, Editörler: Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N. Güneş Tıp Kitabevi. Ankara. 2007:16-17.
7. Kırıcı Y, Yıldız S. *Erkek üreme sistemi anatomisi. Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi Kitabı*. Editörler: Aşçı R, Çayan S, Erdemir F, Orhan İ, Yaman Ö, Usta MF, Kendirci M, Ekmeçioğlu O, Kadioğlu A. İstanbul Tıp Kitabevi. 2013:21-9.
8. Kuran O., *Sistematik anatomi*. İstanbul: Filiz Kitabevi, 1983:512-4.
9. Şeftalioğlu A. *Genel ve Özel İnsan Embriyolojisi*. 3. Baskı. Ankara: Feryal Matbaası,1998:346-50.
10. Moore KL. *The Developing Human*. 4th ed. Philadelphia: Saunders Co, 1988:262-7.
11. Sadler TW (Çeviri: AC. Başaklar). *Langman’s Medikal Embriyoloji*. 7. Baskı. Ankara: Palme Yayıncılık; 1996:274-5.
12. Petorak İ., *Medikal Embriyoloji*., İstanbul: Beta Basım Dağıtım A.Ş, 1986:220-3.
13. Rozanski TA, Bloom DA. The undescended testis. Theory and management. *Urol Clin North Am* 1995; 22(1):107-8.

14. Erözenci ÇÇ. *İnfertilite Spermatogenezin Moleküler Düzenlenmesi ve Erkek İnfertilitesi. Erkek Üreme Sistemi Hastalıkları ve Tedavisi Kitabı*. Editörler: Aşçı R, Çayan S, Erdemir F, Orhan İ, Yaman Ö, Usta MF, Kendirci M, Ekmeçioğlu O, Kadioğlu A. İstanbul Tıp Kitabevi. 2013:55-79.
15. Ross MH, Pawlina W. *Histology: a Text and Atlas(6th edt)*, Lippincott Williams-Wilkins, Philedelphia, 2014: p 784 - 815 Clermont Y., Spermatogenesis in man. A study of the spermatogonial population, *Fertility and sterility*, 1966:17:705-21.
16. Neto FT, Bach PV, Najari BB, Li PS, Goldstein M. Spermatogenesis_in humans and its affecting factors. *Semin cell dev biol*. 2016 Apr 30. pii: S1084-9521(16)30104-5. doi: 10.1016/j.semcdb.2016.04.009.
17. Levallet J, Pakarinen P, Huhtaniemi IT. Follicle-stimulating hormone ligand and receptor mutations and gonadal dysfunction. *Arch Med Res* 30(6): 486-494, 1999.
18. Turek PJ. Male Reproductive Physiology. *Campbell-Walsh Urology*. 10 ed. (Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, ed). Philadelphia. Elsevier Saunders. 591-615, 2012.
19. Kiserud CE, Fossa A, Bjoro T, Holte H, Cvancarova M, Fossa SD. Gonadal function in male patients after treatment for malignant lymphomas, with emphasis on chemotherapy. *BJC* 100(3): 455-463, 2009.
20. Darly K, Granner MD. The Diversity of the Endocrine System. *Harper's Illustrated Biochemistry*. (Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Wei PA, ed). 28th ed. 855-890, 2009.
21. Freeman ER, Bloom DA, McGuire EJ. A brief history of testosterone, *J. Urol* 165(2): 371-373, 2001.
22. Hammond GL. Endogenous steroid levels in the human prostate from birth to old age: a comparison of normal and diseased tissues. *J Endocrinol* 78(1): 7-19, 1978.

23. Berman DM, Rodriguez R, Veltri RW. Development, Molecular Biology, and Physiology of the Prostate. Campbell-Walsh Urology. (Wein AJ, Kavoussi LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA, ed). 10th ed. Philadelphia. Elsevier Saunders. 2533-2569, 2012.
24. Witschi E. Migration of the germ cells of human embryos from the yolk sac to the primitive gonadal fold. Carnegie Institute Wash Contrib Embryol 209: 67-80, 1948.
25. Gondos B, Hobel CJ. Ultrastructure of germ cell development in the human fetal testis. Z Zellforsch Mikrosk Anat 119(1): 1-20, 1971.
26. Hilscher B, Engemann A. Histological and morphometric studies on the kinetics of germ cells and immature Sertoli cells during human prespermatogenesis. Andrologia 24(1): 7-10, 1992.
27. Aydos K. Erkek İnfertilitesi. *Temel Üroloji*. (Anafarta K, Bedük Y, Arıkan N, ed). 3. Baskı. Ankara. 967-1011, 2007.
28. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine, Oxford University Press, Oxford, 1999.
29. Uysal M. *Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres*. Biyokimya, Editörler F. Gürdöl ve E. Ademoğlu. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, 2006, s. 829-835.
30. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide, and peroxynitrite: the good, the bad, and ugly. Am J Physiol 1996; 271: C1424-1437.
31. Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress detection: what for? Part I. Eur Rev Med Pharmacol Sci 2006; 10: 1-27.
32. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MTD, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidant in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol 2007; 39: 44-84.

33. Spiteller G. Are lipid peroxidation processes induced by changes in the cell wall structure and how are these processes connected with diseases? *Med Hypotheses* 2003; 60: 69-83.
34. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol* 1996; 46: 15-32.
35. Yalçın AS. Antioksidanlar. *Klinik Gelişim*. 1998; 11: 342-346.
36. Benzie IFF. Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol Part A* 2003;136: 113-126.
37. Knight JA. Diseases related to oxygen-derived free radicals. *Ann Clin Lab Sci* 1995; 25: 111-121.
38. Açıkada, C., Ergen, E. *Bilim ve Spor*, Büro Tek Ofset Matbaacılık, Ankara.1990
39. Doğan O., “*Spor ve Psikolojisi Ders Kitabı*”, Cumhuriyet Üniversitesi Yay., Sivas, 2004, s. 1.
40. Özbek A.(2000). *İslam’da Spor, Osmanlılarda Spor Sempozyumu*, Petek Ofset Matbaacılık, 252–259.
41. Yaşar Sevim, (2002), *Antrenman Bilgisi*, Nobel Yayıncılık, Ankara s. 39.
42. Foss, F. &. (1999). *Beden Eğitimi ve Sporun Fizyolojik Temelleri*. Ankara: Bağırhan Yayımevi, 1999:363.
43. Delavier, F., *Strength Training Anatomy*. paris, Fransa: Human Kinetics.2006
44. Cacchio, A., Don, R., Ranavolo, A., Guerra, E., McCaw, S. T., Procaccianti, R.,Camerota, F., Frascarelli, M.,Santilli, V., Effects of 8-week strength training with two models of chest press machines on muscular activity pattern and strength. *J Electromyogr Kinesiol*, 18(4): 2008:618-27.
45. Gündüz N. *Antrenman Bilgisi*, Saray Medikal Yayıncılık, İzmir, 1995:54.
46. Dündar U. *Antrenman Teorisi*, Bağırhan Yayınevi, Ankara 2000.

47. Rhea, M. R., Alvar, B. A., Burkett, L. N., Ball, S. D., (2003). A Meta-Analysis to Determine the Dose Response for Strength Development. *Med Sci Sports Exerc*, 35(3): p. 456-64.
48. Baysal, A., *Beslenme*. Hatiboğlu Yayınevi, Ankara, 9. Baskı, 2002:494.
49. Güneş, Z., *Spor ve Beslenme*,. Nobel Yayınları, 4. baskı, Ankara, 2005.
50. Baysal A., *Beslenme*, Hatipoğlu Yayınevi, Ankara, 2006:1-162.
51. Argan M., Köse H., Sporcu besin desteklerine (Sportssupplements) yönelik tutum faktörleri: fitness merkezi katılımcıları üzerine bir araştırma, *Spor Bilimleri Dergisi Hacettepe J. of Sport Sciences*, 2009, 20 (4), 152–164.
52. Ünal M., Sporcularda kreatin desteği ve egzersiz performansı üzerine etkileri. *Genel Tıp Dergisi*, 15(1), 2005:43–49.
53. Manukyan MN, Yavuz Y, Erbarut İ, Velioğlu A, Ataizi-Çelikel Ç, Yalçın SA, et al. Sıçanlarda whey proteini ile oluşturulan glutatyon ön koşullandırılmasının karaciğer sıcak iskemi/reperfüzyon hasarında hem oksijenaz-1 sistemi üzerine etkisi. *Ulusal Cerrahi Dergisi*, 2008;24:137-144.
54. Sun Y, Oberley L W, Ying L., A simple method for clinical assay of superoxide dismutase, *Clin Chem*: 1988;34:497-500
55. Durak I, Yurtarslani Z, Canbolat O, Akyol O., A methodological approach to superoxide dismutase (SOD) activity assay based on inhibition of nitroblue tetrazolium (NBT) reduction. *Clin Chim Acta*; 1993;214:103-104
56. Esterbauer H, Cheeseman KH. Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In *Methods in Enzymology*, V 186, Oxygen radicals in biological systems edited by Packer L, Glazer AN. Academic Press, California, 1990, pp 407-421.

57. Mascarenhas MN, Flaxman SR, Boerma T. National, regional, and global trends in infertility prevalence since 1990: a systematic analysis of 277 health surveys. *PLoS Med*, 9 (12) (2012), p. e1001.
58. Jungwirth A, Diemer T, Dohle GR, Giwercman A, Kopa Z, Krausz C, Tournaye H. EAU Guidelines. Guidelines on male infertility. 2014;6-10.
59. Lotti F, Maseroli E, Fralassi N, Degl'Innocenti S, Boni L, Baldi E, Maggi M. Is thyroid hormones evaluation of clinical value in the work-up of males of infertile couples? *Hum Reprod*. 2016 Mar;31(3):518-29.
60. Singh AK, Tomar S, Chaudhari AR, Singh R, Verma N. Type 2 diabetes mellitus affects male fertility potential. *Indian J Physiol Pharmacol*. 2014 Oct-Dec;58(4):403-6.
61. Meistrich ML. Effects of chemotherapy and radiotherapy on spermatogenesis in humans. *Fertil Steril*. 2013 Nov;100(5):1180-6.
62. Cansu A, Ekinci O, Serdaroglu A, Gürgen SG, Ekinci O, Erdogan D, Coskun ZK, Tunc L. Effects of chronic treatment with valproate and oxcarbazepine on testicular development in rats. *Seizure*. 2011 Apr;20(3):203-7.
63. Erdemir F, Atilgan D, Firat F, Markoc F, Parlaktas BS, Sogut E. The effect of sertraline, paroxetine, fluoxetine and escitalopram on testicular tissue and oxidative stress parameters in rats. *Int Braz J Urol*. 2014 Jan-Feb;40(1):100-8.
64. Fukushima T, Kato M, Adachi T, Hamada Y, Horimoto M, Komiyama M, Mori C, Horii I. Effects of sulfasalazine on sperm acrosome reaction and gene expression in the male reproductive organs of rats. *Toxicol Sci*. 2005 May;85(1):675-82.
65. Ferreira C, Sousa M, Rabaça A, Oliveira PF, Alves MG, Sá R. Impact of Metformin on Male Reproduction. *Curr Pharm Des*. 2015;21(25):3621-33.

66. Zhang JW, Tong X, Wan Z, Wang Y, Qin LQ, Szeto IM. Effect of whey protein on blood lipid profiles: a meta-analysis of randomized controlled trials.. *Eur J Clin Nutr.* 2016 Mar 30. doi: 10.1038/ejcn.2016.39. [Epub ahead of print] Review.
67. Van Dijk M, Dijk FJ, Bunschoten A, van Dartel DA, van Norren K, Walrand S, Jourdan M, Verlaan S, Luiking Y. Improved muscle function and quality after diet intervention with leucine-enriched whey and antioxidants in antioxidant deficient aged mice.. *Oncotarget.* 2016 Feb 29. doi: 10.18632/oncotarget.7800. [Epub ahead of print].
68. Xiao K, Jiao L, Cao S, Song Z, Hu C, Han X. Whey protein concentrate enhances intestinal integrity and influences transforming growth factor- β 1 and mitogen-activated protein kinase signalling pathways in piglets after lipopolysaccharide challenge.. *Br J Nutr.* 2016 Mar;115(6):984-93. doi: 10.1017/S0007114515005085. Epub 2016 Jan 26.
69. Hulmi JJ, Laakso M, Mero AA, Häkkinen K, Ahtiainen JP, Peltonen H. The effects of whey protein with or without carbohydrates on resistance training adaptations. *J Int Soc Sports Nutr.* 2015 Dec 16;12:48. doi: 10.1186/s1297.
70. Machado JF¹, Oya V², Coy CS³, Morcillo AM², Severino SD², Wu C⁴, Sgarbieri VC⁵, Vilela MM². Whey and soy protein supplements changes body composition in patients with Crohn's disease undergoing azathioprine and anti-TNF-alpha therapy. *Nutr Hosp.* 2015 Apr 1;31(4):1603-10.
71. *Med Sci Sports Exerc.* 2014 Aug;46(8):1517-24. doi: 10.1249/MSS.0000000000000272. Whey protein improves exercise performance and biochemical profiles in trained mice. Chen WC¹, Huang WC, Chiu CC, Chang YK, Huang CC.

72. Forbes SC, McCargar L, Jelen P, Bell GJ. Dose response of whey protein isolate in addition to a typical mixed meal on blood amino acids and hormonal concentrations. *Int J Sport Nutr Exerc Metab.* 2014 Apr;24(2):188-95.
73. Kraemer WJ¹, Solomon-Hill G, Volk BM, Kupchak BR, Looney DP, Dunn-Lewis C, Comstock BA, Szivak TK, Hooper DR, Flanagan SD, Maresh CM, Volek JS. The effects of soy and whey protein supplementation on acute hormonal responses to resistance exercise in men. *J Am Coll Nutr.* 2013;32(1):66-74. doi: 10.1080/07315724.2013.770648.
74. Shertzer HG, Krishan M, Genter MB. Dietary whey protein stimulates mitochondrial activity and decreases oxidative stress in mouse female brain. *Neurosci Lett.* 2013 Aug 26;548:159-64. doi: 10.1016/j.neulet.2013.05.061. Epub 2013 Jun 6.
75. Kerstetter JE, Bihuniak JD, Brindisi J, Sullivan RR, Mangano KM, Larocque S, Kotler BM, Simpson CA, Cusano AM, Gaffney-Stomberg E, Kleppinger A, Reynolds J, Dziura J, Kenny AM, Insogna KL. The effect of a whey protein supplement on bone mass in older caucasian adults. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015 Jun;100(6):2214-22.
76. Nunes R, Silva P, Alves J, Stefani G, Petry M, Rhoden C, Dal Lago P, Schneider CD. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2013 Nov;38(11):1166-9. doi: 10.1139/apnm-2013-0004. Epub 2013 Jun 20. Effects of resistance training associated with whey protein supplementation on liver and kidney biomarkers in rats.
77. Simonart T. *Dermatology.* 2012;225(3):256-8. doi: 10.1159/000345102. Epub 2012 Dec 13. Acne and whey protein supplementation among body builders.

78. Saeed SA, Anwar N, Khan KM, Sarfraz N. Effect of chronic treatment with a_cyclooxygenase_inhibitor on reproductive parameters in male rat. *J Ayub Med Coll Abbottabad*. 2009 Jul-Sep;21(3):66-71.
79. Sikka SC. Role of_oxidative stress_and antioxidants in andrology and assisted reproductive technology. *J Androl*. 2004 Jan-Feb;25(1):5-18.
80. Sikka SC. Relative impact of_oxidative stress_on male reproductive function. *Curr Med Chem*. 2001 Jun;8(7):851-62.
81. Aitken RJ, Smith TB, Jobling MS, Baker MA, De Iuliis GN. Oxidative stress_and male reproductive health. *Asian J Androl*. 2014 Jan-Feb;16(1):31-8.
82. Delaere KP, Strijbos WE, Meuleman EJ. Sulphasalazine-induced reversible male infertility. *Acta Urol Belg*. 1989;57(1):29-33.
83. Safarinejad MR, Asgari SA, Farshi A, Ghaedi G, Kolahi AA, Iravani S, Khoshdel AR. The effects of opiate consumption on serum reproductive hormone levels,_spermparameters, seminal plasma antioxidant capacity and_sperm_DNA integrity. *Reprod Toxicol*. 2013 Apr;36:18-23.
84. Alp H, Cirit U, Tas M, Rifaioglu MM, Hatipoglu NK, Aytekin I, Yucel M, Firat U, Ozmen MF, Seker U, Eren LB. Effects of sildenafil citrate,_isoniazid, and streptomycin on testicular tissue and epididymal semen quality in rats. *Urology*. 2012 Oct;80(4):953.e9-14. doi: 10.1016/j.urology.2012.05.016. Epub 2012 Jul 25.
85. Samplaski MK, Nangia AK. Adverse effects of common medications on male fertility. *Nat Rev Urol*. 2015 Jul;12(7):401-13.
86. Hellstrom WJ, Sikka SC. Effects of alfuzosin and tamsulosin on_sperm_parameters in healthy men: results of a short-term, randomized, double-blind, placebo-controlled, crossover study. *J Androl*. 2009 Jul-Aug;30(4):469-74.

87. Hellstrom WJ, Wang R, Peterson CA, Varady JC, Gesundheit N, Sikka SC. Effects of alprostadil and prazosin on motility, viability and membrane integrity of human_sperm. Urol. 1998 May;159(5):1559-6.



EKLER

EK 1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Ersan TURAN
Doğum tarihi: 15/02/1981
Doğum Yeri: Tokat
Medeni Hali: Evli
Uyruğu: T.C.
Adres: Yeşilırmak Mah. Çeçenistan Cad. 2. Sokak No:10 TOKAT
Tel: 0356 2132868-0532 7340149
Faks:
E-mail: ersanturan2002@hotmail.com
Eğitim
Lise: Mehmet Akif Ersoy Lisesi Tokat
Lisans: Gazi Osman Paşa Üniv. BESYO TOKAT
Yüksek Lisans: Atatürk Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü ERZURUM
Doktora:
Yabancı Dil Bilgisi
İngilizce:
Almanca:
Rusça:
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
Kickboks Federasyonu Gençler Teknik Kurul Başkanı
Kickboks ve Muay Thai Federasyonu Profesyonel Şube Başkan Yardımcısı
İlgi Alanları ve Hobiler
Spor, KickBoks Muay Thai

EK 2. ETİK KURUL ONAY FORMU

T.C
GAZİOSMANPAŞA ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU

Sayı: 151879863- 92

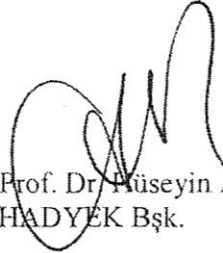
03/06/2015

Konu: Karar

Sayın: Yrd. Doç. Dr. Yunus ÖZTAŞYONAR

HADYEK'na değerlendirilmek üzere sunmuş olduğunuz 'Egzersiz Modeli Oluşturulan Ratlarda Whey Protein Kullanımının Testis Dokusu ve Spermatogenez Üzerindeki Etkisi' başlıklı 2015 HADYEK-33 nolu projeniz kurulumuz tarafından değerlendirilerek etik açıdan uygun bulunmuştur.

Bilgilerinize rica ederim.


Prof. Dr. Hüseyin ASLAN
HADYEK Bşk.