

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

**DENEYSEL HİPOTİROİDİ OLUŞTURULAN ERKEK
RATLARDA KOENZİM Q-10'UN SPERMATOJENİK KÖK
HÜCRELERE ETKİSİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYA
TEKNİKLERİ İLE BELİRLENMESİ**

Hatice Nur ŞEFLEK

Danışman
Prof. Dr. S. Serpil KALKAN

Konya-2022

T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi

**DENEYSEL HİPOTİROİDİ OLUŞTURULAN ERKEK
RATLARDA KOENZİM Q-10'UN SPERMATOJENİK KÖK
HÜCRELERE ETKİSİNİN İMMÜNOHİSTOKİMYA
TEKNİKLERİ İLE BELİRLENMESİ**

Hatice Nur ŞEFLEK

Danışman
Prof. Dr. S. Serpil KALKAN

Bu araştırma Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından 221418001 proje numarası ile desteklenmiştir.

Konya-2022

TEZ ONAY SAYFASI

Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Doktora Öğrencisi **Hatice Nur ŞEFLEK**'in “**Deneysel Hipotiroidi Oluşturulan Erkek Ratlarda KoenzimQ-10'un Spermatojenik Kök Hücrelere Etkisinin İmmünohistokimya Teknikleri ile Belirlenmesi**” başlıklı tezi tarafımızdan incelenmiş; amaç, kapsam ve kalite yönünden Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

KONYA 22/11/2022

Tez Danışmanı Prof. Dr. S. Serpil KALKAN İmzası
NEÜ./Tıp Fak./Histoloji-Embriyoloji ABD

Üye Prof. Dr. Aydan ÖZGÖRGÜLÜ İmzası
NEÜ./Tıp Fak./Histoloji ve Embriyoloji ABD

Üye Doç. Dr. Gökhan CÜCE İmzası
NEÜ./Tıp Fak./Histoloji-Embriyoloji ABD

Üye Prof. Dr. Hasan CÜCE İmzası
KTO Karatay Üni./Tıp Fak./Histoloji-Embriyoloji ABD

Üye Dr. Öğr. Üyesi Nejat ÜNLÜKAL İmzası
SÜ./Tıp Fak./Histoloji-Embriyoloji ABD

Yukarıdaki tez, Necmettin Erbakan Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun 30/11/2022 tarih ve 25/13 sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Kısmet Esra NURULLAHOĞLU ATALIK

Enstitü Müdürü

İmzası

TEZ BEYAN SAYFASI

Bu tezin tamamının kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

22.11.2022

Hatice Nur ŞEFLEK



BENZERLİK RAPORU

Tezin Tam Adı: Deneysel Hipotiroidi Oluşturulan Erkek Ratlarda Koenzimq-10'un Spermatojenik Kök Hücrelere Etkisinin İmmünohistokimya Teknikleri ile Belirlenmesi

Öğrencinin Adı Soyadı: Hatice Nur Şeflek

Dosyanın Toplam Sayfa Sayısı: 90

Orijinallik Raporu

Tez			
ORJİNALLİK RAPORU			
%	14	%	14
BENZERLİK ENDEKSİ		İNTERNET KAYNAKLARI	
		%	1
		YAYINLAR	
		%	4
		ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ	
BİNCİL KAYNAKLAR			
1	acikbilim.yok.gov.tr		%5
	İnternet Kaynağı		
2	acikerisim.erbakan.edu.tr		%2
	İnternet Kaynağı		
3	acikerisimarsiv.selcuk.edu.tr:8080		%1
	İnternet Kaynağı		
4	www.saglikadresesi.com		%1
	İnternet Kaynağı		
5	Submitted to Gaziantep Aniversitesi		%1
	Öğrenci Ödevi		
6	dergipark.org.tr		<%1
	İnternet Kaynağı		
7	hdl.handle.net		<%1
	İnternet Kaynağı		
8	books.akademisyen.net		<%1
	İnternet Kaynağı		
9	Submitted to Erciyes Üniversitesi		<%1
	Öğrenci Ödevi		

Danışman Öğr. Üyesi: Prof. Dr. S. Serpil KALKAN

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Doktora eğitimim boyunca hayatıma çok büyük katkıları olan, her konuda yardım ve desteğini esirgemeyen, tez çalışmalarım süresince bilgi ve deneyimleriyle beni yönlendiren danışman hocam Prof. Dr. S. Serpil Kalkan'a,

Tez çalışmalarım sırasında deneyim ve bilgilerinden yararlandığım, benden her türlü ilgisini, yardımını esirgemeyen, sabır ve titizlikle yanımda olan değerli hocam Doç. Dr. Gökhan Cüce'ye, öğretim üyesi hocalarım; Prof. Dr. Aydan Özgörgülü, Prof. Dr. Selçuk Duman, Prof. Dr. T. Murad Aktan ve Öğr. Gör. Burcu Gültekin ve Dr. Öğr. Üyesi Gülsemin Çicek'e,

Birlikte uyum içerisinde çalıştığım, kendilerini tanımaktan mutluluk duyduğum değerli arkadaşlarım; Uzm. Dr. Fatma Öz Bağcı, Uzm. Dr. Zülkar Özden, Dr. Mediha Gül Tol, Dr. Rabia Avcı'ya, Bio. Tuba Koç ve Bio. Nihal Candan'a,

Doktora eğitimim süresince desteklerini esirgemeyen KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Başkanı hocam Prof. Dr. Hasan Cüce'ye, KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Dr. Öğr. Üyesi Elif Gülbahçe Mutlu'ya

Biyokimya çalışmalarından dolayı ve KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim elemanı arkadaşım Arş. Gör. Fatma Zehra Erbayram'a,

Hayatım boyunca maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme,

Çok teşekkür ederim.

Arş. Gör. Hatice Nur Şeflek

İÇİNDEKİLER

İç Kapak	ii
Tez Onay Sayfası	iii
Tez Beyan Sayfası.....	iii
Benzerlik Raporu	v
Önsöz ve Teşekkür.....	vii
İçindekiler	viii
Kısaltmalar ve Simgeler Listesi	x
Şekiller Listesi.....	xiii
Resimler Listesi.....	xiv
Tablolar Listesi.....	xv
Özet	xvi
Abstract	xvii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Testis Embriyolojisi	3
2.2. Testis Histolojisi	4
2.2.1. Seminifer Tübüller	5
2.2.1.1. Sertoli Hücreleri	5
2.2.1.2. Spermatogoniyal Kök Hücreler.....	6
2.2.1.3. Spermatozoidler	7
2.2.1.4. Spermatidler	7
2.2.1.5. Spermatozoon.....	8
2.3. Spermatogenezis	9
2.3.1. Spermatogenezisin Düzenlenmesi	10

2.3.2. Hormonal İlişkiler	10
2.6. Tiroid.....	11
2.6.1. Tiroid Hormonları (TSH, T3, T4)	12
2.6.1.1. Tiroid Hormonlarının Üremeye Etkisi	13
2.6.1.2. Tiroid Hormonlarını Baskılayan Antitiroid Maddeler	15
2.6.2. Hipotiroidizm	16
2.7. Erkek İnfertilitesi	17
2.7.1. Erkek İnfertilitesi ve Oksidatif Stres.....	18
2.7.2. Erkek İnfertilitesi ve Antioksidanlar	19
2.8. Koenzim Q10	20
2.8.1. Koenzim Q10'in Erkek Fertilitesinde Rolü	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Deney Hayvanları.....	25
3.1. Deney Grupları.....	25
3.3. Histolojik Çalışma.....	26
3.3.1. Hematoksilen-Eosin Boyama.....	27
3.3.1.1. Morfometrik Değerlendirme	27
3.3.1.1.2. Seminifer Tübül Çapı Hesaplaması	27
3.4. İmmünohistokimyasal Çalışma	27
3.4.1. İmmünohistokimyasal Çalışmanın Değerlendirilmesi.....	29
3.5. Biyokimyasal Çalışma	29
3.5.1. Biyokimyasal Analizler.....	29
3.5.1.1. Serum Rat Tiroid Uyarıcı Hormon (TSH) Analizi	29
3.5.1.1.1. Çalışma Prosedürü	30
3.5.1.2. fT3 (Free triiodothyronine) ELİSA Analizi	31
3.5.1.2.1. Çalışma Prosedürü	32

3.5.1.3. fT4 (Free Thyroxine) ELİSA Analizi	32
3.5.1.3.1. Çalışma Prosedürü	33
3.6. Veri Analizi ve İstatistik	33
4. BULGULAR.....	35
4.1. Histolojik Bulgular	37
4.1.2. Hematoksilen-Eosin Boyama Sonuçları	37
4.2. Morfometrik Bulgular	39
4.2.1. Seminifer Tübül Çapı Sonuçları	39
4.3. İmmünohistokimyasal Bulgular.....	39
4.4. Biyokimyasal Bulgular.....	48
5. TARTIŞMA	51
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	56
7. KAYNAKLAR	57
8.ÖZGEÇMİŞ.....	63
9. EKLER.....	66

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

µg: Mikrogram

µl: Mikrolitre

µm: Mikrometre

ABP: Androjen bağlayıcı protein

ADP: Adenozin difosfat

AMH: Anti müllerian hormon

ATP: Adenozin trifosfat

cc: Kübik santimetre

cm: Santimetre

dk: Dakika

dl: Desilitre

DMSO: Dimetil sülfoksit

DNA: Deoksiribo nükleik asit

FSH: Folikül uyarıcı hormon

GDNF: Glial hücre kaynaklı nörotrofik faktör

GH: Büyüme hormonu

GnRH: Gonadotropin salgılatıcı hormon

gr: Gram

hCG: İnsan koryonik gonadotropin

HE: Hematoksilen and eosin

Ig: Immünglobülin

kg: Kilogram

LH: Luteinizan hormon

LHRH: Luteinizan hormon salgılatıcı hormon

M: Molar

mIU: Mili uluslararası birim

ml: Mililitre

mm: Miligram

mRNA: Mesajcı ribonükleik asid

ng: Nanogram

OAT: Oligoastenoteratospermi

°C: Santigrat derece

OMI: Oosit matürasyon inhibitörü

PAS: Periodik asit schiff

PBS: Fosfat tamponlu tuz

pg: Pikogram

PLZF: Promyelositik lösemi çinko parmak

PTH: Parat hormon

PTU: Propiltiourasil

ROS: Reactive oxygen species

SKH: Spermatojenik kök hücre

sn: Saniye

SOX-3: SRY ilişkili HMG kutusu-3

SRY: Cinsiyet belirleyici bölge Y

T2: Diiyodotironin

fT3: Serbest triiyodotironin

fT4: Serbest tiroksin

TDF: Testis belirleyici faktör

TEM: Transmisyon elektron mikroskobu

TGF: Transforme edici büyüme faktör

THY-1: Timosit farklılaşma antijeni

TRH: Tiropin salgılatıcı hormon

TSH: Tiroid uyarıcı hormon



ŞEKİLLER LİSTESİ

Sekil No

Sayfa No

Sekil 2.3. Spermatogenezis..... 10



RESİMLER LİSTESİ

<u>Resim No</u>	<u>Sayfa No</u>
Resim 4.1.1. Hematoksilen-eosin boyama	38
Resim 4.1.2. Hematoksilen-eosin boyama	38
Resim 4.3.1. THY1 ekspresyonu	41
Resim 4.3.2. THY1 ekspresyonu	41
Resim 4.3.3. SOX3 ekspresyonu	43
Resim 4.3.4. SOX3 ekspresyonu	43
Resim 4.3.5. PLZF ekspresyonu	45
Resim 4.3.6. PLZF ekspresyonu	45
Resim 4.3.7. GFRA1/GDNF ekspresyonu	47
Resim 4.3.8. GFRA1/GDNF ekspresyonu	47
Resim 4.4.1. TSH absorbans/konsantrasyon grafiği	48
Resim 4.4.2. fT3 absorbans/konsantrasyon grafiği	49
Resim 4.4.3. fT4 absorbans/konsantrasyon grafiği	50

TABLÖLAR LİSTESİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 4.1. Deney başlangıcı deney hayvanı ağırlığı	35
Tablo 4.2. Deney sonu deney hayvanı ağırlığı	35
Tablo 4.3. Grup 2 deney başlangıcı ve deney sonu deney hayvanı ağırlığı	36
Tablo 4.4. Grup 3 deney başlangıcı ve deney sonu deney hayvanı ağırlığı	36
Tablo 4.5. Grup 4 deney başlangıcı ve deney sonu deney hayvanı ağırlığı	36
Tablo 4.6. Deney hayvanı testis (sağ+sol) ağırlığı	36
Tablo 4.1.1. Deney grupları H.E boyama sonuçları	37
Tablo 4.2.1. Deney hayvanı seminifer tübül çap ortalamaları	39
Tablo 4.2.2. Deney hayvanı spermatogonial kök hücre sayı ortalamaları	39
Tablo 4.4.1. Deney hayvanı TSH (mIU/ml) sonuçları	48
Tablo 4.4.2. Deney hayvanı fT3 (pg/ml) sonuçları	49
Tablo 4.4.3. Deney hayvanı fT4 (pg/ml) sonuçları	49

ÖZET

T.C.

NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Deneyisel Hipotiroidi Oluşturulan Erkek Ratlarda KoenzimQ-10'un Spermatojenik Kök Hücrelere Etkisinin İmmünohistokimya Teknikleri ile Belirlenmesi

Hatice Nur ŞEFLEK

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Doktora Tezi / Konya -2022

Testis uzun süre tiroid hormonuna yanıtsız olarak kabul edilmiştir. Ancak hayvanlarda ve insanlarda testisin farklı hücre tiplerinde tiroid hormon reseptörlerinin varlığı gösterilmiştir. Dolayısıyla, hipotiroidizmin testis fonksiyonu üzerinde ve daha yaygın olarak fertilite üzerinde dikkate değer etkileri vardır. CoQ10, erkek infertilite tedavisinde yaygın olarak kullanılır. CoQ10 vb. takviyeler, oluşturma ve olgunlaşmanın tüm aşamalarında anormal sperm üretimini önleyebilmektedir. Hipotiroidi bulgularında testis disfonksiyonu üzerine çalışmalara rastlanmıştır, fakat mevcut literatürde hipotiroidi durumunda spermatogenik kök hücrelerin durumuna ilişkin sınırlı sayıda bilgi yer almaktadır. Çalışmamızda deneyisel hipotiroidi oluşturulmuş ratlarda CoQ10'nin, spermatogenik kök hücrelere etkisi PLZF, GFRA, THY1, SOX3 belirteçleri kullanarak immünokimyasal analizlerle; serum TSH, fT3, fT4 hormon düzeylerine etkisi ise biyokimyasal analizlerle ortaya konmuştur. Sonuç olarak deney grupları arasında PLZF, GDNF, THY1 immüno-ekspresyon düzeylerinde ciddi fark gözlenmemiştir. THY1 immüno-ekspresyonu spermatogoniumlarda, literatürden farklı olarak spermatositler ve genç spermatidlerde de devam etmiştir. SOX3 ifadesinin ise hipotiroidi gruplarında azaldığı görülmüştür. Biyokimyasal verilerle de CoQ10'nin tedavi gruplarında serum hormon düzeylerini düzenlediği saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: CoQ10, hipotiroidizm, PLZF, SKH, SOX3

ABSTRACT
REPUBLIC OF TURKİYE
NECMETTİN ERBAKAN UNIVERSITY
HEALTH SCIENCES INSTITUTE

Determination of the Effect of Coenzyme Q-10 on Spermatogenic Stem Cells by Immunohistochemistry Techniques in Male Rats with Experimental Hypothyroidism

Hatice Nur ŞEFLEK

Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

PhD Thesis / Konya-2022

The testis has long been considered unresponsive to thyroid hormone. However, the presence of thyroid hormone receptors has been demonstrated in different cell types of the testis in animals and humans. Thus, hypothyroidism has notable effects on testicular function and, more commonly, on fertility. CoQ10 is widely used in the treatment of male infertility. CoQ10 etc. supplements can prevent abnormal sperm production at all stages of formation and maturation. Studies on testicular dysfunction in hypothyroidism findings have been found, but there is limited information in the current literature on the status of spermatogenic stem cells in hypothyroidism. Our study determined the effect of CoQ10 on spermatogenic stem cells in rats with experimental hypothyroidism by immunochemical analyses using PLZF, GFRA, THY1, SOX3 marand kers; The effect on serum TSH, fT3, fT4 hormone levels was demonstrated by biochemical analyzes. As a result, no significant difference was observed in the immuno-expression levels of PLZF, GDNF, and THY1 between the experimental groups. THY1 immuno-expression continued in spermatogonia, spermatocytes and young spermatids, unlike the literature. SOX3 expression was found to be decreased in hypothyroid groups. With biochemical data, it was determined that CoQ10 regulated serum hormone levels in the treatment groups.

Keywords: CoQ10, hypothyroidism, PLZF, SCC, SOX3

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Tiroid hormonları vücut metabolizmasının işleyişinde önemli bir yere sahiptir (Schwarz ve ark. 2012). Birçok sistemin çalışmasında etkindir ve tiroid fonksiyon bozukluklarına, biyokimyasal testlerle tanı konulabilmektedir (Sawin ve ark. 1985; Ladenson ve ark. 2000). Hipotiroidizm, tiroid bezinin yetersiz çalışması sonucu gelişen endokrin bir hastalıktır (Weetman 2009). Hipotiroidizm, seksüel disfonksiyona neden olarak erkekte infertiliteye sebep olabilmektedir (Aktümsek 2020).

Erkek infertilite oluşumunda; oksidatif stres, antioksidan seviyenin azalması, spermin zayıflamış mitokondriyal fonksiyonu vb. etkilerin rol oynadığı belirtilmiştir. Koenzim-Q10 antioksidan özelliğiyle sperm fonksiyonunu iyileştirerek, infertilite üzerinde pozitif sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Koenzim-Q10 takviyesi ile yapılan çalışmalarda sperm sayılarının %5 oranında, hareketliliğinin ise %4,5 oranında arttığı bulunmuştur (Tirabassive ark. 2015).

Spermatogonial kök hücreler (SKH) testise özgü bir çeşit unipotenet kök hücre türüdür (Brinster ve Avarbock 1994). Kendini yenileme ve farklılaşabilme yeteneğine sahip olan bu hücreler, gelecek nesile genetik olarak katkı sağlayacak tek hücre çeşidi olması özelliğiyle eşsizdir (Brinster ve Zimmermann 1994; Brinster ve Avarbock 1994; Kubota ve ark. 2004). Son yıllarda birçok çalışma, deney hayvanı ve insan spermatogonial kök hücre biyolojisini anlamayı başarmış, üreme tıbbı ve rejeneratif tıptaki geniş kullanım potansiyeliyle dikkat çekmiştir. Özellikle erkek infertilite tedavisi üzerine yapılmış olan son çalışmalar, umut vadeden niteliktedir (Sadri-Ardekani ve ark. 2009; Sadri-Ardekani ve ark. 2011; Hou ve ark. 2015). Son yapılan birkaç çalışmada SKH fenotipik biyobelirteçleri hakkında oldukça fazla bilgi elde edilmiştir. İnsan ve fare SKH'lerinde görülen biyobelirteçleri olarak; THY1, PLZF, GFRA1, GPR125, ITGA6 (CD49f), SOX3 ve UCHL1 tespit edilmiştir (He ve ark. 2010).

Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmayla, literatürde hipotiroidiye bağlı testis histo-patolojisinde koenzim-Q10 takviyesinin spermatojenik kök hücrelere etkisi üzerine bilgi yer almamasından dolayı çalışmamızın literatüre bilgi sağlaması

amaçlandı. Ayrıca koenzim-Q10 takviyesinin serum tiroid hormon değeri üzerine etkisi de amaçlandı ve araştırıldı.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Testis Embriyolojisi

Cinsiyet farklılaşması, bazıları otozomal olanlar da dahil olmak üzere birçok geni içeren karmaşık bir süreçtir. Cinsel dimorfizmin anahtarı, kısa kolunda (Yp11) SRY (Y'deki cinsiyeti belirleyen bölge) genini içeren Y kromozomudur. Bu genin protein ürünü, ilkel cinsel organların kaderini belirleyen bir dizi aşağı akış genini başlatan bir transkripsiyon faktörüdür. SRY proteini testis belirleyici faktördür; etkisi altında erkek gelişimi, yokluğunda kadın gelişimi gerçekleşir. Embriyonun cinsiyeti, döllenme anında genetik olarak belirlense de, gonadlar gelişimin 7. haftasına kadar erkek veya dişi morfolojik özellikler kazanmazlar. Gonadlar başlangıçta bir çift uzunlamasına sırt, genital veya gonadal çıkıntı olarak görünür. Epitel hücrelerinin çoğalması ve alttaki mezenşimin yoğunlaşması ile oluşurlar. Germ hücreleri, gelişimin 6. haftasına kadar genital sırtlarda görünmez. Primordial germ hücreleri ilk olarak, yol kesesinin allantoise yakın duvarındaki endoderm hücreleri arasında gelişimin erken bir aşamasında ortaya çıkar. Arka bağırsağın dorsal mezenterinde ameboid hareketle göç ederler ve ilkel gonadlara ulaşırlar. 5. haftada ve 6. haftada genital sırtları istila ederler. Genital sırtlara ulaşamazlarsa gonadlar gelişmez. Bu nedenle, ilkel germ hücreleri, gonadın yumurtalık veya testise gelişimi üzerinde endüktif bir etkiye sahiptir. Primordiyal germ hücrelerinin gelmesinden kısa bir süre öncesinde, genital sırtın epiteli çoğalır ve epitel hücreleri alttaki mezenşime nüfuz eder. Burada, ilkel seks kordları olan düzensiz şekilli bir dizi kord oluştururlar. Hem erkek hem de dişi embriyolarda bu kordonlar yüzey epiteline bağlıdır ve erkek ve dişi gonad arasında ayrım yapmak imkansızdır. Bu nedenle, gonad "farklılaşmamış gonad" olarak bilinir. Embriyo genetik olarak erkekse, ilkel germ hücreleri bir XY cinsiyet kromozom kompleksi taşır. SRY geninin testis belirleyici faktörü kodlayan Y kromozomu üzerindeki etkisi altında, ilkel seks kordları çoğalmaya devam eder ve testis veya medüller kordları oluşturmak için medullaya derinlemesine nüfuz eder. Kordonlar bezin hilusuna doğru, daha sonra rete testis tübüllerine yol açan küçük hücre dizilerinden oluşan bir ağa ayrılır. Daha fazla gelişme sırasında, yoğun bir fibröz bağ dokusu tabakası, tunika albuginea, testis kordlarını yüzey epitelinden ayırır. 4. ayda testis kordları at nalı şeklini alır ve ekstremiteleri rete testis ile devamlılık gösterir. Testis kordları artık ilkel germ hücreleri ve bezin yüzey epitelinden türetilen Sertoli'nin sustentaküler hücrelerinden oluşmaktadır. Gonadal çıkıntının orijinal

mezenşiminden türetilen Leydig'in interstisyel hücreleri, testis kordları arasında uzanır. Bu kordonların farklılaşmasının başlamasından kısa bir süre sonra gelişmeye başlarlar. Gebeliğin 8. haftasında, Leydig hücreleri testosteron üretimine başlar ve testis, genital kanalların ve dış genital organların cinsel farklılaşmasını etkileyebilir. Testis kordonları, lümen kazandıkları zaman, puberteye kadar sağlam kalır, böylece seminifer tübüller oluşur. Seminifer tübüller kanalize edildikten sonra, duktuli efferentlere giren rete testis tübüllerine katılırlar. Bu efferent kanallar, mezonefrik sistemin boşaltım tübüllerinin geri kalan kısımlarıdır. Rete testis ile duktus deferens haline gelen mezonefrik veya Wolffian kanalını birbirine bağlarlar. (Sadler 2011).

2.2. Testis Histolojisi

Erkek üreme sistemi; testisler, genital kanallar, aksesuar (yardımcı) bezler (seminal vezikül, prostat, bulboüretal) ve penis yapısından oluşur. Bu sistemin fonksiyonu; spermatozoa, testosteron ve seminal plazma üretimi yapmaktır.

Her bir testis, testiküler tunika (testisi örten kılıf-kapsül) ile çevrelenmektedir; "Tunika vaginalis" her bir testisin anterior ve lateral yüzeylerini kısmen kaplayan peritondan kökenlenmiş seröz kesedir. Kapsülün bir diğer kısmı "tunika albuginea" kalın fibröz bir kapsül yapısındadır. Tunika albuginea yapısı organın içine doğru damarca zengin gevşek bağ doku yapısındaki "tunika vaskülaza"yı oluşturur. Tunika vaskülaza organın içine doğru dallanma yapar. Posteriyor yüzeyi mediastinum testisi oluşturmak üzere kalınlaşır, buradan da testis lobülleri adı verilen sayıları 250 kadar olan kompartmanlara ayrılmaktadır. Ayrıca bu kısım kan ve lenf damarlarının testise giriş çıkış yaptığı bölgedir.

Testis lobülleri, tamamlanmamış septum ile birbirinden ayrılan haberleşmeyi sağlayan pramidial şekilli bağlantı bölümleridir. Lobüllerin her biri spermatozoonların üretildiği yer olup, 1-4 arasında değişen seminifer tübüller içerir. Oldukça kıvrıntılı olan bu tübüller, interstisyel Leydig hücrelerinin, kan ve lenf damarlarının, sinirlerin olduğu gevşek bağ doku yumağının içerisinde gömülüdür. İnterstisyel Leydig hücreleri: seminifer tübüller arasında yer alan dokular arası bölgede bulunan yuvarlak, poligonal şekilli hücrelerdir. Hücrenin merkezinde büyük bir çekirdek, çok sayıda mitokondri, iyi gelişmiş Golgi kompleksi ve bol miktarda lipid damlaları vardır. Bu lipid damlalarında testosteronun öncüsü olan kolesterol esterleri bulunur. Bu hücreleri

çok sayıda kapiler ve lenfatik damarları destekler. Bunlar testosteron üreten ve salgılayan endokrin hücrelerdir. Salgısı hipofizden salgılanan luteinizan hormon (LH, interstisyel hücre stimulan hormonu) tarafından uyarılır. Leydig hücreleri, puberte döneminde olgunlaşır ve sekresyonu başlar (Gartner 2016).

2.2.1. Seminifer Tübüller

Tübüllerin çapları 150-250 µm olup, uzunluğu 30-70 cm'dir. Tübüller, fibröz bir bağ dokusu tarafından sarılır. Seminifer tübülleri testis lobülleri içerisindeki dolambaçlı yapısının ardından daralan kısa düz segmentler halinde rete testis ile bağlantı sağlayan tubuli recti'yi oluşturur. Seminifer tübüllerin lümeni kalın bir epitel (seminiferöz/germinal epitel) ile döşelidir. Epitel 4-8 hücreli sıradan oluşur. Bu epitel, spermatogenetik hücreler ile çok fonksiyonlu Sertoli hücrelerinden oluşur (Gartner 2016).

2.2.1.1. Sertoli Hücreleri

Sertoli hücreleri, bazal laminadan tübül lümenine uzanan prizmatik şekilli hücrelerdir. Sertoli hücrelerin çok fazla katlanmış girinti yapı sergileyen oval ve soluk boyanan bir çekirdeği ve büyük bir nükleolusu vardır. Puberteden sonra bir daha mitoz girmezler. Hücrenin yan plazma membranlarında komşu Sertoli hücresi ile adeta iç içe geçmiş sitoplazmik uzantıları yer alır, girinti çıkıntılar arasında gelişmekte olan spermatogenik hücreler bulunur. Hücre membranının apikal yüzeyi çok kıvrıntılıdır, parmak şeklindeki uzantıların arasında gelişmekte olan spermatozoolar bulunur. Granülsüz endoplazmik retikulum iyi gelişmiştir, az sayıda Granüllü endoplazmik retikulum vardır, Golgi kompleksi gelişmiştir, çok sayıda mitokondri ve lizozoma sahiptir. Hücre membranının bazal bölgesinde FSH için reseptörler yer alır. Sertoli hücrelerinin bazal kısımlarında zonula okludens yer alır, böylece seminifer tübül lümeni bazal ve adlüminal olmak üzere iki kompartmana ayrılır. Bu sıkı bağlantılar, gelişmekte olan spermatozooları otoimmün reaksiyondan koruyan kan-testis bariyerini oluşturmaktan sorumludur. Sertoli hücrelerinin görevi, gelişen spermatozooları destekler, korur ve besler. Spermatidlerin olgunlaşmasında ortaya çıkan fazla sitoplazma parçalarını fagosite eder. Seminifer tübüllerden genital kanallar boyunca spermatozooların taşınmasını kolaylaştıran ve besleyen fruktozdan zengin bir salgıyı lümene salgılar. FSH'nın etkisi altında androjen bağlayıcı protein (ABP)

sentezlerler. ABP ise seminifer tübülünde gerekli testosteron konsantrasyonunu oluşturarak spermatogenezin ilerlemesini sağlar.  nhipofiz tarafından salgılanan FSH'ın sentezini ve salınımını durduran bir hormon olan inhibin salgılar. Aynı zamanda  n-hipofizden FSH sekresyonunu yüksek miktarda salgılatan aktivin sekresyonu da Sertoli hücreleri tarafından yapılır. Kan-testis bariyerini oluşturur. F tal gelişim döneminde anti m ller hormon (AMH) sentez ve sekresyonu yaparak erkek karakterlerinin belirmesini sağlar. Spermatogenik hücreleri olgunlaştırmak üzere demiri serum transferrininden taşınmasını kolaylaştırıcı bir protein olan testiküler transferrini üretir ve salgılar (Gartner 2016).

2.2.1.2. Spermatogonyal Kök Hücreler

Olgun bir spermatozoonun oluşması için birbirini izleyen spermatogenez ve spermiyogenez basamakları cinsiyetin belirlenmesinde etkin rol oynayan ve genetik çeşitliliğe katkıda bulunarak türün sürdürülmesini sağlayan süreçlerdir. Memeli testisinde yer alan germ hücresi kök hücreleri "spermatogonyal kök hücreler (SKH)" veya "spermatogonya (tekil; spermatogonyum)" olarak adlandırılır (Can 2014).

SKH, seminifer tübül epitelinin bazaline bitişik diploid germ hücreleridir. Puberte döneminde testosteron hormonun bu hücrelerin hücre bölünme siklusuna girmesine etkisi vardır. (Gartner 2016). Spermatogenez-spermiyogenez sürecine öncülük eden SKH sayesinde testiste her gün milyonlarca olgun spermatozoon ortaya çıkar. Erkeğin fertilitesi bu sürecin sağlıklı sürmesine bağlıdır. Yani SKH işlevlerinin kaybı veya azalması, spermatogenezin bozulmasına ve buna bağlı olarak subfertilite veya infertiliteye neden olur. SKH'nin kendini yenileme ve farklılaşma özellikleri bu sürecin temelini oluşturur. Memeli testisinde SKH'nin ortaya çıkmaları embriyo döneminde meydana gelsede, ileri gelişmeleri doğumdan hemen sonra başlayan testis gelişimine koşut olarak ortaya çıkar. Amaç, kök hücre havuzu oluşturarak erişkinde spermatogenezin temellerini atmaktır. SKH'nin kendini yenileme ve farklılaşma özelliklerinin sürmesi, başka bir deyişle spermatogonyum öncülerinin oluşumu SKH'ye özgü niş tarafından desteklenir. SKH farklılaşmadan kendini yenileme özelliğine sahiptir ve yapılan çalışmalar bu hücrelerden ikinci kuşak hücrelerinin oluşumunda ana etmenin SKH nişine ait faktörler olduğunu göstermektedir (Can 2014). Spermatogonial kök hücreler unipotenttir: sonuçta sperm üretecek olan tek hücre soyunun k kenindedirler. Kendilerini yenileme yeteneğine sahiptirler ve infertil

bir erkeğin seminifer tübüllerine nakledildiklerinde spermatogenezi yeniden üretebilirler (Brinster ve Avarbock 1994; Brinster ve Zimmermann 1994).

Spermatositogenez adı verilen mitoz bölünme aşamasında spermatogonyumlar bölünerek sıralı şekilde spermatogonyumlara dönüşür. Soluk tip A spermatogonia: soluk boyanan bir çekirdeğe, küresel mitokondriye, küçük bir Golgi kompleksine ve çok sayıda serbest ribozoma sahiptir. Puberteden başlayarak yüksek mitotik aktivite gösterirler, devamlılığı sürdürmek için ya aynı tipte daha fazla hücre ya da tip B spermatogonia'yı oluştururlar. Koyu tip B spermatogonia: mitotik olarak inaktif hücreleri temsil ederler (reserve-depo), koyu çekirdekleri vardır, mitozda kaldıkları yerden devam edip soluk tip A hücrelerini üretebilirler. Tip B spermatogonia: mitoz girerek primer spermatozoayı oluşturur (Gartner 2016).

2.2.1.3. Spermatositler

Primer spermatositler, 4cDNA içeren büyük diploid hücrelerdir. Birinci mayotik bölünmeye girerek sekonder spermatositleri oluştururlar. Sekonder spermatositler, 2cDNA içeren haploid hücrelerdir ve kolayca ikinci mayotik bölünmeye girerler. S fazına girmeden spermatidleri oluştururlar (Gartner 2016).

2.2.1.4. Spermatidler

Küçük 1cDNA içeren haploid hücrelerdir. Seminifer tübüllerin lümenine yakın yerleşirler. Genelde çekirdeklerinde kondanse kromatin bölgeleri bulunur. Bir çift sentriol, mitokondri, serbest ribozom, Granülsüz endoplazmik retikulum ve iyi gelişmiş Golgi kompleksine sahiptir (Gartner 2016). Sperm hücreleri bölünmeleri sırasında birbirlerinden tam olarak ayrılmaz ve sinsityum oluştururlar. Bu hücresel bağların hücrelerin senkronizasyonunda görev aldığı ileri sürülmektedir. Bu senkronizasyonun sonucu olarak, seminifer tübüllerde bazaldan lümene dizilen hücrelerin bağlantıları göz önünde bulundurulduğunda, sabit bir segmentte belirli hücre diziliş aşamalarından basamaklar halinde belirli sürede geçildiği izlenmiştir. Seminifer tübül kesitleri incelendiğinde, insanda altı farklı basamak olduğu gözlenmiştir. Bu basamakların belli segmentte, belli sürede, birbiri ardınca sırayla izlenmesi "seminifer epitel siklusu" olarak adlandırılmıştır. Seminifer tübül içerisinde ardı sıra gelen siklus basamaklarının, tübülün belli bir bölümü boyunca ard arda izlenmesi seminifer tübüldeki spermatojenik dalga olarak adlandırılmıştır. İnsanda bu

spermatogenik dalganın kemirgenlerde olduğu gibi seminifer túbül boyunca lineer seyretmediği, helikal bir seyir gösterdiği bildirilmiştir (Çelik 2011).

Spermiyogenezis, hücre farklılaşmasının olduğu süreçtir, burada spermatidler fazlalık olan sitoplazmalarından kurtularak spermatozoa'ya dönüşürler. Bu şekilde de seminifer túbüllerin lümenine salınırlar. Spermiyogenezis dört fazda incelenir (Gartner 2016).

1) Golgi Fazı: Golgi fazı spermatidin nukleus zarının anterior ucuna bağlanmış olan akrozomal vezikülü ile sarılı akrozomal granülün oluşumuyla karakterizedir. Bu aşamada sentrioller, flagellar aksonemi oluşturmak üzere nukleustan uzaklaşırlar, sonrasında sentriyoller, geri nukleusa göç ederek kuyrukla ilişkili bağlantı parçasının oluşturulmasına katkıda bulunurlar.

2) Kep Aşaması: Akrozomal vezikülün genişleyerek oluşan çekirdeği örtmesiyle karakterizedir.

3) Akrozomal Faz: Nukleus yoğunlaşır, yassılaşır ve baş bölgesindeki yerini alır. Kuyruğun proksimal kısmında mitokondriyumlar toplanıp yoğunlaşır ve kuyruğun orta parçası şekillenir. Spermatid uzar, bu süreç "manşet" adı verilen geçici, silindir şeklindeki mikrotübüller yardımıyla olur. Akrozomal fazın sonlanması spermatid oryantasyonunun seminifer túbüllerin bazalini işaret edecek şekle gelmesi ile sona erer.

4) Olgunlaşma Fazı: Fazlalık olan sitoplazma ve spermatidleri bağlayan intersellüler köprülerin kaybı sinsityum halindedir. Atılan sitoplazma parçaları sertoli hücrelerince fagosite edilir. Hareketsiz spermatozoalar kuyruğundan başlayarak seminifer túbüllerin lümenine salındığında olgunlaşma fazının sona erdiği anlamına gelir. Epididimisi terk edene kadar spermatozoa immotildir. Dişi üreme sistemine girince kapasite (döllenme yeteneğine kavuşma) olurlar (Gartner 2016).

2.2.1.5. Spermatozoon

Spermatozoonun baş kısmı yassıdır. 23 kromozomlu yoğun homojen bir nukleusa sahiptir. Aynı zamanda hidrolitik enzimler (asit fosfataz, nöraminidaz, hyaluronidaz, proteaz) içeren akrozoma sahiptir. Bu enzimler, spermatozoa'nın oositin korona radiata'sına ve zona pellusida'ya penetre olmasına yardımcı olur. Bu enzimlerin

salınma işlemine "akrozom reaksiyonu" adı verilir. Spermatozoanın kuyruk kısmı; boyun, orta, esas, son parça kısımlarından oluşur. Boyun sentriolleri ve kuyruğun geri kalan kısmının 9 adet dış yoğun fibriller ile tutunmuş bağlantı parçasını içerir. Orta parça boyundan annulusa kadar uzar, aksonem, 9 adet dış yoğun fibril ve spiral şeklinde düzenlenmiş mitokondriyal kılıfa sahiptir. Esas kısım annulusdan son parçaya kadar uzanır. Dairesel hatlara sahip bir fibröz kılıf ile kuşatan yoğun fibrillerin sardığı aksonemi içerir. Son parça aksonem ile onu saran hücre membranından oluşur (Gartner 2016).

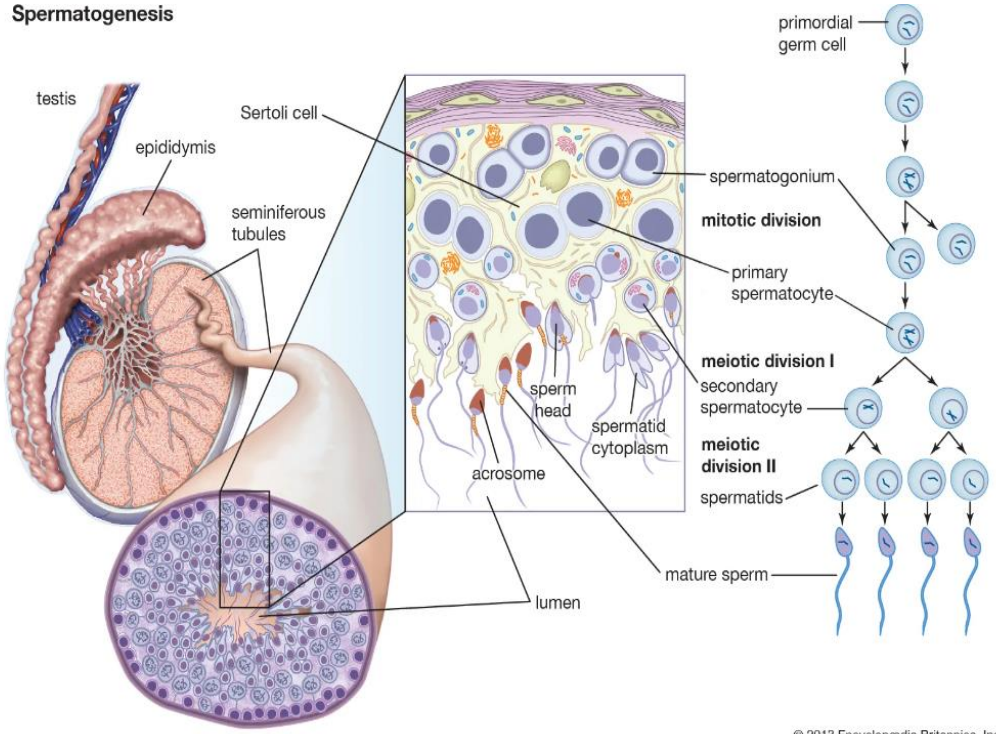
2.3. Spermatogenezis

Ergenlikten önce gonadotropinlerdeki artış, sperm şeklinin olgunlaşması olan spermatogenez sürecini başlatır. Üç evreye ayrılır;

1. Spermatositogenezis: spermatogoniumların primer spermatositlere farklılaşması.
2. Mayoz: primer spermatositteki diploid kromozomu haploid (n) kromozoma sahip spermatide indirecek redüksiyon bölünmesi.
3. Spermiyogenezis: spermatidlerin spermatozoa'ya farklılaşması.

Spermatogenezis, tüm seminifer tübüllerinde kendiliğinden veya senkronize bir şekilde gerçekleşmez aksine, seminifer epitel siklusu adeta bir dalgalanma şeklinde değişik olgunlaşma fazları arka arkaya olaylanır (Gartner 2016).

Spermatogenesis



© 2013 Encyclopædia Britannica, Inc.

Şekil 2.3. Spermatogenesis (<https://www.britannica.com/science/spermatogenesis>. 2022)

2.3.1. Spermatogenezisin Düzenlenmesi

Spermatogenesis de kritik testis ısı değeri 35 °C'dir. Aorttan köken alan arterler, skrotum üzerinden testise damar desteği verir. Bu kıvrıntılı arterler, testise yaklaştıkça arteriyal kanın ısınısını düşürecek olan pampiniform pleksus venleri tarafından çevrenirler, böylece 35°C'ye düşürülmüş olur.

2.3.2. Hormonal İlişkiler

Hipotalamustaki belirgin nöronlar aynı zamanda gonadotropin salgılatıcı hormon (GNRH) adı da verilen luteinizan hormon salgılatıcı hormonu (LHRH) üretirler. LHRH adenohipofizden LH ve FSH salınmasını başlatır. Testis hormon üretiminin uyarılması bu iki hormonun etkisi ile gerçekleşir. LH, leydig hücrelerinden testosteronun salgılanmasını sağlar. FSH, Sertoli hücrelerinden ABP (androjen bağlayıcı protein) sentezini uyarır. Testosteron sadece erkek germ hücrelerinin gelişimi için değil aynı zamanda sekonder seks karakterleri için de gereklidir. ABP testosterona bağlanır ve seminifer tübülleri içinde yüksek konsantrasyonlara ulaşarak spermatogonia'nın spermatozoa'ya dönüşümünü destekler; ancak ABP aynı zamanda östrojenede bağlanarak spermatogenezisi inhibe de edebilir. FSH ve LH salınımının uyarısı ve inhibisyonu; yüksek miktarlardaki testosteron LH salınımını durdurur.

Sertoli hücrelerinden salınan inhibin GnRH inhibe eder ve dolayısı ile hipofizden FSH salınır. Sertoli hücrelerinden salınan aktivin GnRH salınımını uyarır ve böylece hipofizden FSH salınır (Gartner 2016).

2.6. Tiroid

Boyun bölgesinde bulunan trakeanın önünde, "Adem elması" olarak da adlandırılan kalkan biçimli "cricoid" kıkırdığının hemen önünde ve iki yanında iki lob halinde yer alır. Tiroid bezi üzerinde parathormon (PTH) üreten bir başka endokrin bez olan paratiroid bezi de yer alır. Tiroid bezinin iki temel işlevi vardır: Birincisi; dokulardaki normal işlevleri için en uygun metabolizma düzeyini koruyan tiroid hormonlarını salgılamaktır. Tiroid hormonları metabolizmasının tüm yönlerini düzenlemeye yardımcı olur ve böylece vücut kitlesini ve mental gelişimi etkiler. İkincisi ise; dolaşımdaki kalsiyum düzeylerini düzenleyen bir hormon olan kalsitonin salgılamaktır. Tiroid yaşam için gerekli değildir. Hastalık durumunda tiroidekte mi sonrasında, yapay olarak üretilen tiroid hormonları verilince hayat devam eder ancak bu bezin salgılamasındaki herhangi bir bozukluk insanı önemli derecede etkiler. Teorik olarak tiroid bezinin yokluğu metabolik hızın %50 gibi yarı yarıya azalmasına ve herhangi bir nedenden aşırı çalışması ise, nerede ise iki kat artmasına neden olur. Tiroid hormonunun işlevi, anterior-pituiterden salgılanan TSH (Thyroid stimulating hormone) yani tiroid uyarıcı hormon tarafından kontrol edilir. Bu hormonun salgılanması, hipotalamustan salgılanan TRH (thyrotropin releasing hormone) yani tiotropin serbestleştirici hormon ile artar. Tiroid işlevi ayrıca dolaşımdaki yüksek tiroid hormon düzeyleri tarafından hem anterior-pituiter hem de hipotalamusun negatif-feedback mekanizması ile kontrol altında tutulur. Ağırlığı yaklaşık 1520 g kadar olan bir bezdir. Bu ağırlık ve boyutu ile büyük endokrin bezlerden biri olarak kabul edilir. İki loblu bir yapıya sahiptir. Loblar, isthmus ile birbirine bağlıdır. Tiroid yumuşak yapıdadır. Damarlanması oldukça yüksektir dolayısı ile tiroide gelen kan miktarı da yüksektir. Ağırlığına oranla en çok kan alan yapılardan biridir. Bez içerisinde folikül adı verilen jelatinimsi kolloid yapıda olan tiroid hormonları ile dolu olan çok sayıda kesecikler bulunur. Foliküller çok sayıdadır ve çapları yaklaşık 100-300 µm boyutlarındadır. Tiroid hormonu üreten hücreler, foliküler hücrelerdir. Bunların arasında bulunan ve daha geniş hücreler ise parafoliküler hücreler (C hücreleri)'dir. Parafoliküler hücreler ise kalsitonin yapımını ve salgılanmasını gerçekleştirir. Foliküler hücreler, içeriye doğru salgı gerçekleştiren kübik biçimli

epitelial hücrelerle döşelidir. Tiroid bezinin büyük kısmı foliküler hücrelerden meydana gelmiştir. Foliküler hücrelerin bazo-lateral yüzeyi kan akımını alırken, apikal yüzleri lümene bakan yöndedir. Her küresel folikül, tek bir polarize epitelial hücre tabakası ile çevrilidir ve kolloid adı verilen proteinli malzeme ile doldurulur. Bez aktif olmadığı zaman kollodi bol, foliküller büyük ve onları kaplayan hücreler düzdür. Bez aktif olduğunda, foliküller küçüktür ve hücreler kübik veya silindirik biçimlidir. Tiroid kolloidinin ana bileşeni tiroid hormonlarını içeren büyük bir glikoprotein molekülü olan triglobulin'dir. Tiroid bezi hormon yapımının yanı sıra depolanması da gerçekleştirir. Normalde tiroid hormonlarının deposu iki, üç aylık ihtiyacı karşılayacak düzeydedir. Hormonların yapısında iyot elementine ihtiyaç duyulması yönünden diğer hormonlardan farklıdır. Hormonlardan sadece tiroid hormonlarının yapısında inorganik madde bulunur. Tiroid hormonlarının üretilmesi için iyot elementinin varlığı şarttır. İyot yokluğu veya eksikliği, tiroid hormonlarının yokluğuna veya eksikliğine yol açar ve tiroid bozukluğu gelişir. İlginç olarak, iyot eksikliği hormon yapımının bozulmasına yol açarken fazlalığı da aynı etkiye sahiptir (Aktümsek 2020).

2.6.1. Tiroid Hormonları (TSH, T3 ve T4)

TSH, TRH hormonunun etkisi ile pitüiter bezin anterior lobundan salgılanır. TSH, tiroid bezinde hormonlarının yapım ve salınmasını stimüle eder. TSH, anterior-pitüiterin tirotrof hücre grubunda üretilir. Bu yüzden TSH, tirotropin olarak da adlandırılır. Tirotroplar tüm adenohipofizin yaklaşık %5'ini oluşturur. TSH, anterior-pitüiterden salgılanan FSH ve LH gibi glikoprotein yapısındadır. Her üç hormonda α ve β alt birimlerinden oluşan bir dimer yani iki alt birimden yani polipeptid zincirinden oluşmuştur. Her üçünde α alt birimleri aynı yapıdadır. TSH hormonunun α zinciri 89, β zinciri ise 112 amino asitinden oluşur. TSH'nin esas biyolojik etkinliği β zincirinden gelir. Bu hormonun yapısı canlılarda bazı farklılıklar göstermesine rağmen birçok memeli canlının TSH'sı insanda da etkili olur. Normal salgılanma oranı yaklaşık 110 $\mu\text{g/gündür}$. Ortalama plazma düzeyi yaklaşık 2 $\mu\text{mL'dir}$. hCG'deki α alt birimi TSH'deki ile aynı olduğundan, büyük miktarda hCG TSH reseptörlerini spesifik olmayan şekilde aktive edebilir. Plasental kaynaklı iyi huylu veya kötü huylu tümörleri olan bazı kişilerde, plazma hCG düzeyleri, hafif hipertiroidizm etki yaratacak biçimde yükselebilir. TSH'un salgılanması diğer anteriorpitüiter hormonları gibi pulsatildir. Salgısı gece 21.00 sularında yükselmeye başlar ve gece yarısı en yüksek değerine ulaşır ve daha sonra yavaş yavaş düşer. Gündüz nispeten düşük düzeydedir. TSH'nin

yarı ömrü yaklaşık 54 dakikadır. TSH'nin tirotroplardan eksositosisi ile salınır. Kanda bir miktarı plazma proteinleri ile bağlı olmasına rağmen büyük çoğunluğu serbest halde dolaşır. TSH'nin tiroid üzerine etkisi büyüktür. Eğer deneysel olarak pituitari çıkarılıp TSH salınması engellenirse tiroid bezi atrofi olur. Aksine TSH miktarı artarsa bez büyür ve guatr denilen büyümüş bez durumu ortaya çıkar. Genel bir ifade ile tiroidin tüm gelişim ve hormon salgılanması TSH kontrolü altındadır (Aktümsek 2020). T3 ve T4 hormonları, çok fazla hedef hücre üzerinde etki gösterir. Bazal metabolizma oranını artırır ve böylece ısı üretimini teşvik ederler. Protein sentezinin indüklenmesi ve gen ekspresyonu üzerine de kapsamlı etkileri vardır. T4 yaklaşık 6 gün ile bir günden daha az yarı ömre sahiptir, ancak T3'den daha az aktiftir. Her iki hormon da fonksiyonlarını yerini getirmek için nükleus içerisine girmek zorundadır. Kalsitonin, osteoklastlar tarafından yapılan kemik rezorpsiyonunu inhibe ederek, temelde kan kalsiyum seviyesini düşürme görevi yapar (Gatner 2016).

2.6.1.1. Tiroid Hormonlarının Üremeye Etkisi

Üreme üzerinde tiroid hormonlarının normal düzeyleri olumlu etki yapar ancak gonadlar üzerine doğrudan bir etkisi yoktur. Gonadlar üzerindeki etkileri muhtemelen anteriorpituitari hormonlarını etkilemesi sonucunda gerçekleşir. Genel etki çerçevesinde gonadların gelişimi ve işlevi üzerine etki yapmış olur. Tiroid hormonlarının normal değerlerindeki değişiklikler ister hiper isterse hipo olsun, her ikisi de önemli patolojilerin çıkmasına neden olur. Cinsel işlev bozuklukları hem erkekte hem de kadında gerçekleşir. Tiroid hormonları uterusun metabolizması üzerinde herhangi bir etkisi olmamasına rağmen normal adet döngüleri ve doğurganlık için gereklidir. Hipotiroidi kadınlarda menorajiye yol açar ve adet düzensizlikleri gelişir. Genellikle oligomenoreye ve bazı kadınlarda menopoza neden olur. Ayrıca libido azalır. Erkeklerde de hipotiroidi libido kaybına yol açar. Hipertiroidi de benzer cinsel işlev bozukluklarına yol açar. Kadında oligomenore ve hatta menopoz görülebilir ve cinsel istek azalır. Hipertiroidi, erkeklerde iktidarsızlığa yol açabilir. (Aktümsek 2020).

Tiroid disfonksiyonunun erkek fertilitesi üzerindeki etkisi, testisin tiroid hormonlarına yanıt vermediği varsayıldığından uzun süre ihmal edilmiştir (Jannini ve ark. 2000). Ancak farklı hayvan türlerinde tiroid ve testis arasındaki ilişki zaten bilinmektedir. Memelilerde fotoperiyodik girdiler epifiz bezi tarafından melatonin üretimini tetikler. Gece melatonin sinyalinin süresine bağlı olarak, hipofiz pars tuberalis'inin tirotropları, üçüncü ventrikülü çevreleyen tanisitlerde sırasıyla tip 2 veya tip 3 deiyodinazların ekspresyonunu indükleyen yüksek veya düşük seviyelerde tiroid uyarıcı hormon (TSH) üretir. Hipotalamusta ortaya çıkan triiyodotironin (T3) seviyeleri, doğrudan ve dolaylı olarak, kisspeptin/RF-peptid salgılayan nöronlar aracılığıyla, gonadotropin salgılatıcı hormon (GnRH) salgılayan nöronların aktivitesini ve dolayısıyla hipofiz pars distalisi tarafından gonadotropinlerin salgılanmasını etkiler (Hazlerigg ve ark. 2015). İnsan testisi, tiroid hormon reseptörleri farklı testiküler hücre tiplerinde önemli ölçüde mevcut olduğundan, tiroid hormonları için de bir hedef organdır. Tiroid hormonları, testiste birçok hücrel işlevi düzenler (Janini ve ark. 1995; Wagner ve ark. 2008).

T3, büyük ölçüde periferik deiyodinasyon yoluyla tiroksinden (T4) türetilen aktif hormondur. T3 hücre zarı ile ilişkili taşıyıcılara bağlanır, hücreye girer, çekirdek zarını geçer ve reseptörlerine bağlanır. Buna karşılık, hormon-reseptör kompleksi, hedef genlerin promotör bölgelerindeki spesifik hormona yanıt veren elementi bağlayarak, spesifik genlerin aktivasyonunu ve protein sentezini indükler veya inhibe eder. İki farklı gen, TR α ve TR β , tiroid hormon reseptörlerini kodlar. Dört protein izoformu ($\alpha 1$, $\alpha 2$, $\beta 1$, $\beta 2$), TR α ve TR β genlerinin RNA transkriptinin alternatif olarak eklenmesiyle üretilir (Krassas ve ark. 2010).

Son zamanlarda tiroid hormonlarının nongenomik etkileri bildirilmiştir. Aslında bu eylemler, T3'ün nükleer reseptörüne bağlanmasına bağlı değildir ve gen transkripsiyonu ve protein sentezi gerektirmez ve bu nedenle tanım gereği hızlı başlangıçlıdır. Tiroid hormonlarının nongenomik etkileri, tiroid hormonunun bilinen nükleer reseptörlerle yapısal olarak ilişkili olabilen nükleer olmayan reseptörlere bağlanmasından sonra ortaya çıkar. Genomik olmayan eylemlerle T4, T3, ters T3 ve 3,5 diiyodotironin (T2) anjiyogenezi, hücre proliferasyonunu, hücre iskeleti mikofilamentlerini ve mitokondriyal solunumu modüle eder (Davis ve ark. 2016).

Tiroid hormonu, testiste (Sertoli hücreleri, Leydig hücreleri ve spermatozoa) ve epididimde (epitelyal hücreler) farklı hücre tiplerine etki eder. Tiroid hormon reseptörlerinin ekspresyonu hem RT-PCR ile hem de protein düzeyinde belgelenmiştir (Jannini ve ark. 1995; Jannini ve ark. 2000; Hazlerigg ve ark. 2015).

2.6.1.2. Tiroid Hormonlarını Baskılayan Antitiroid Maddeler

Bazı maddeler bir biçimde tiroid hormon düzeyini azaltır. Bu tiroid hormon düzeyini baskıladığı bilinen antitiroid maddeler bazı durumlarda hipertiroidi hastalığının tedavisinde kullanılır. Bu maddelerin en bilinenleri; tiosiyanat, propiltiourasil, yüksek düzeyli iodidler'dir.

Propiltiourasil (propylthiouracil): Metimasol ve karbimasol gibi maddeler tirosininiodidlerle bileşimini önler. Bunu kısmen tirosinio dinlenmesini sağlayan peroksidaz aktivitesini önleyerek kısmen de tiroid hormon oluşumunda iodinle bağlanmış iki tirosinin birleşmesini engelleyerek gerçekleştirir. Propiltiourasil de aynen tiosiyanat gibi triglobulin oluşumunu engellemez ve hipertroidide aşırı tiroid yapımını azaltmak için propiltiourasil kullanımı tiroid bezinin büyüyerek guatr oluşumuna yol açabilir.

Ülkemizde propycil ve thyromazol olmak üzere iki farklı antitiroid ilaç kullanılmaktadır. Antitiroid ilaçlar özellikle nispeten az büyümüş guatlarda ve orta derece şiddetli hipertiroidi durumlarında kullanılır.

Tiroid bezi, tüm endokrin bezler içerisinde hastalıkların en yaygın görüldüğü bezlerden biridir. Kuvvetle muhtemel pankreas bezinden sonra hastalıkları en çok görülen endokrin bezdir. Hem erkeklerde hem de kadınlarda görülmesine rağmen kadınlardaki prevalansı erkeklere göre çok yüksektir.

Tiroid bezi hormolarının salgılanmasındaki aşırılık veya azlık sonucu olarak hipertiroidizm veya hipotiroidizm ortaya çıkar. Ayrıca tiroid hormonlarının yapısında yer alan iyot eksikliği veya antitiroid maddelerin varlığı da hipotiroidizme yol açar (Aktümsek 2020).

2.6.2. Hipotiroidizm

Hipotiroidi yani tiroid hormonları düşüklüğü, T4 ve T3'ün düşüklüğü ve TSH yüksekliği ile karakterizedir. Hipotiroidi, hipertiroideye göre daha fazla görülür ve kadınlarda daha yaygındır. Bezin salgısının fazlalığında ortaya çıkan guatr, salgının eksikliğinde de oluşabilir. Hipotiroidideki guatr, bezin hormon üretebilmek için hipertrofi olmasından kaynaklanır. Hipotiroidinin önemli bir nedeni de hipotiroidi tedavisi nedeniyle totale yakın derecede uzaklaştırılan (tiroidektomi) tiroid'in artık hormon üretmemesidir. Hipotiroidi, nasıl ortaya çıktığına bağlı olarak primer, sekonder ve tersiyer olmak üzere üç tipte ele alınır: Primer hipotiroidi: tiroid bezi yetersizliğinden kaynaklanan nedenlere bağlıdır. TSH düzeyi yüksek, T4 ve T3 düzeyleri düşüktür. Ayrıca otoimmün oluşundan dolayı karakteristik olarak otoantibadi düzeyi yüksektir. Sekonder hipotiroidi: TSH yetersizliğine bağlıdır. T4 ve T3 düzeyi düşüktür. Tersiyer hipotiroidi: hipotalamusun TRH yetersizliğine bağlıdır. T4 ve T3 düzeyi düşüktür.

Hipotiroidizmde görülen belirtiler, genel olarak hipertiroidizmdekilerin tersidir. En önemli belirtileri; kas güçsüzlüğü, yorgunluk, halsizlik, letarji (uyuşukluk hali), uyku ihtiyacının fazlalaşması, ilerlemiş hipotiroidizmde günde 12-14 saate varan uyku ihtiyacını, metabolizmanın yavaşlamasına bağlı olarak ortaya çıkan az veya çok kilo artışı veya fazla kilo artışı olmasa bile kilo verememe durumudur. Hipotiroidili insanlar zayıflamak isterse çok çaba göstermesine rağmen metabolizmasının yavaşlamış olmasından dolayı pek başarılı olamazlar. Bu yüzden zayıflamak için uğraşmasına rağmen başarılı olamayan insanların hipotiroidi olup olmadıkları araştırılır. Zihinsel yavaşlama, bazı şeyleri unutma, muhtemel zihinsel düzey kaybı, kalp atış hızı ve kan hacminde azalma, kabızlık, hipertiroididekinin tersine sindirim sıvılarının azalışının sonucunda gerçekleşir. Saç uzamasının yavaşlaması ve kuru saçlar, özellikle kadınlarda saçların dökülmesine bağlı olarak ortaya çıkan difus kelleşme, karoten artışından kaynaklı cildin soluk renkte, kuru, pul pul oluşu, terlemenin azalması, soğuğa direncin azalması, çabuk üşümedir. Bu durumlar, metabolik hızın düşmesine bağlı olarak vücut ısısının yaklaşık 0,5 °C kadar düşmesinden kaynaklıdır. Ellerde ve ayaklarda ödem gelişimi, tırnak büyümesinin gelişimi, boğuk seslilik durumu, sesin kısılması, işitme kaybı, ileri formlarda orta kulakta sıvı birikimi sonucu sağırılık gelişimi, Diabetes mellitus gelişimi, ileri formlarda vitiligo, B12 vitamini eksikliğine bağlı olarak ortaya çıkabilen pernisiös

anemia, hem erkekte hem de kadında libido kaybı, kadınlarda ise menorajite yol açar ve adet görme düzensizlikleri gelişir. Genellikle oligomenore ve bazı kadınlarda menopoza neden olur. Aterosklerosis, yağ yapımının artmasına ve safra ile atılan kolesterol miktarının azalması sonucunda kolestrol birikimine bağlı olarak koroner damarlarda tıkanma ve daralmalar gerçekleşir. Eğer kalbi besleyen koroner damarlarda herhangi bir tıkanıklık olursa, o damarın beslediği kalp kası dokusu yeteri kadar oksijen ve enerjiye çevireceği maddeleri alamazsa kalp kasının iskemiası sonucunda nekrosis ortaya çıkar. Bu durumun sonucunda bilinmeyen bir zamanda MI (myocardialinfarction) gerçekleşir. Özellikle ağır hipotiroidili ve miksödemli kişilerde aterosklerosis daha tehlikeli bir duruma gelir. Periferik damar hastalığına, sağırlığa ve büyük bir ihtimalle MI sonucu ölüme yol açabilir. Aşırı hipotiroidi durumlarında miksödem gelişir. Miksödem, otoimmundur. Tiroid hormonu etkisinin neredeyse hiç olmadığı kişilerde görülür. Bu kişilerde yüz şişer ve gözaltı torbaları büyüyerek belirgin hale gelir ve derinin kuru, katı bir durumu gelişir. Yüzdeki bu değişiklikler, proteine bağlı konfroisinsulfat ve hiyaluronik asit gibi glikozaminoglikanların artışına bağlı olarak interstitial sıvı miktarının artışından kaynaklanır. İleri yaşlardaki yaşlarda miksödem diğer başka hastalıkların varlığıyla birlikte ölümcül olabilir. (Aktümsek 2020).

2.7. Erkek İnfertilitesi

İnfertilite, bir yıl düzenli korunmasız cinsel ilişkiden sonra gebe kalamama olarak tanımlanır (Zegers-Hochschild ve ark. 2017). İnfertilite, dünya çapında önemli bir sağlık sorunu haline gelmiştir ve çiftlerin ~%8-12'sini etkiler (Ombelet ve ark. 2008). Yaşam tarzındaki değişiklikler ve her iki partnerin de ilk çocuk sahibi olma yaşının artması, dünya çapında infertilite insidansının dramatik artışına katkıda bulunmuştur (Cariati ve ark. 2019). WHO (World Health Organization 2000) verilerine göre erkeğe bağlı infertilite, vakaların %50'sini oluşturur ve potansiyel nedenleri arasında prostatit, epididimit gibi ürogenital sistem enfeksiyonları yer alır (WHO 2000; Ronquist ve ark. 2011). Erkek faktör infertilitesinin %30'unu genetik kaynaklı olduğu tahmin edilmektedir. Etkilenen erkeklerde sıklıkla azospermi ya da oligospermi olup hareket bozuklukları eşlik etmektedir. Genetik bozukluklar içinde kromozomalanöploidi ve Klinefelter sendromu sayılabilir. Hipotalamik ya da pituiterbez yetmezliği olan erkekler sıklıkla hipogonadotropiktir ve azospermi ya da oligospermisi bulunur. Ejakulatuar kanalların yokluğu ya da obstrüksiyonu, retrograd

ejakülasyon ve varikosel de infertiliteyle birliktelik göstermektedir. Semptomatik bakteriyel enfeksiyon, cinsel yolla bulaşan hastalıklar effeient duktusların tıkanmasını önlemek amacıyla tedavi edilmektedir (Çelik 2011). Bununla birlikte, tüm erkek infertilite vakalarının %30-50'sinde, semen anormalliklerinin altta yatan nedeni bilinmemekte olup, idiyopatik erkek infertilitesi olarak sınıflandırılmalarına yol açmaktadır (Chehab ve ark. 2015). Oksidatif stres, önemli sayıda kısır erkekte de katkıda bulunan bir faktördür. Oksidatif stres, yüksek seviyelerde reaktif oksijen türleri (ROS) ile sonuçlanan prooksidan-antioksidan dengesinin bozulması olarak tanımlanır (Agarwal ve ark. 2019). İnfertilitesi olan erkeklerin %30-80'inde artmış seminal ROS seviyeleri bulunmuştur (Arafa ve ark. 2020). Aşırı ROS, olgunlaşmamış sperm, beyaz kan hücreleri, testis torsiyonu, kriptorşidizm, varikosel, yaşlanma, enfeksiyon, tümörler, radyasyon, kemoterapi, çevresel toksinler, sigara, alkol kullanımı veya sistemik hastalığa bağlı olabilir (Leaver 2016). Oksidatif stres düzeylerindeki bir artış, lipid peroksidasyonu, sperm motilitesinin azalması, fertilizasyonun azalması ve sperm DNA fragmantasyonu nedeniyle sperm plazma membranı hasarına yol açabilir (Skoracka ve ark. 2020).

2.7.1. Erkek İnfertilisi ve Oksidatif Stres

Oksidatif stresin yaygın olarak infertilite nedeni olduğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, normal sperm tarafından düşük ROS üretimi seviyeleri, bazı sperm fonksiyonlarının fizyolojik kontrolünde rol oynar ve hiperaktivasyon ve akrozom reaksiyonu dahil olmak üzere kapasitasyon için gereklidir. Reaktif nitrojen türlerinin aşırı olması sperm fonksiyonu için toksik olabilir. Nitrik oksit radikalinin etkisi, konsantrasyonu ve insan spermatozoası için en toksik ROS olduğu düşünülen hidrojen peroksit ile etkileşimine bağlıdır. Nitrik oksitin birincil mekanizması, mitokondrial seviyede sperm hasarının indüklenmesi ve DNA sentezidir. Semende yüksek miktardaki aktif lökositler tarafından aşırı ROS üretimi, enfeksiyon durumunda olduğu gibi, peroksidasyon zararına ve hareketlilik, yaşam süresi, dölleme kabiliyetinin dahil olduğu sperm fonksiyon bozukluğuna yol açar. İnfertil erkeklerin neredeyse %25'inde semende yüksek ROS seviyeleri tespit edilmesine rağmen fertil erkeklerde tespit edilememiştir. ROS, sperm immobilizasyonuna yol açan olaylar zincirini tetikler, aksonemler etkilenir ve hasarı düzeltmek için sınırlı endojen tamir mekanizması vardır, bu da ATP tükenmesine yol açar. Oksidatif stres sperm hücre zarında peroksidatif zarara yol açar hem çekirdek hem mitokondrial

genomda DNA parçalanmasına sebep olur. Spinal kord hasarı olan erkeklerin semeninde yükselmiş ROS seviyeleri ve sperm hareketliliği arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir. Normalde ejaküle edilen sperm, seminal plazmada bulunan antioksidatif enzimler tarafından oksidatif strese karşı korunur (Gvozdjaková 2019).

2.7.2. Erkek İnfertilitesi ve Antioksidanlar

Son yıllarda, oksidatif stresin infertilitedeki rolü ve özellikle antioksidan özellikli vitaminlerin terapötik kullanımı konusu çok geniş biçimde araştırılmıştır. Spermatozoonlarda birçok antioksidan sistem bulunur. Bunlar glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz olarak sıralanabilir. Süperoksit dismutaz eksikliğinin sperm immobilitesiyle, katalaz yokluğunun astenozoospermi ile ilişkili olduğu kabul edilmiştir. Pro-oksidan ve antioksidan maddeler hem seminal plazmada hem de spermatozoonlarda bulunur. Semen patolojisinde, oksidatif stresin özgül şartlara göre, antioksidan sistemlerin küçük farklılıkta cevaplarına yol açabilen farklı tetikleyici mekanizmalar olabilir (Gvozdjaková 2019).

Oksidatif stres, hücrel membranın parçalanmasını ve/veya mitokondriyal inaktivasyonu tetikler. Mitokondri, spermatozoanın orta kısımlarında bulunur ve hareket için gerekli enerjiyi sağlayan adenozintrifosfat (ATP) sentezler. Oksidatif stres mitokondriyal aktiviteyi kısmen bozar, sperm motilitesini ve aktivitesini azaltır. Ek olarak, mitokondriyal enerji üretimi kendi başına oksijensiz radikallerin oluşumuna katkıda bulunur (Comhaire ve ark. 2000; Comhaire ve ark. 2005; Du Plessis ve ark. 2008). Oksidatif strese maruz kalan spermelerde genomik mutasyonların sıklığı (oksidlenmiş guanin [8-OH-2dG] seviyelerinin ölçülmesiyle değerlendirilir önemli ölçüde daha yüksektir (Comhaire ve ark. 2005 ; Hosen ve ark. 2015). Antioksidatif potansiyele sahip moleküller, spermi oksidatif stresin neden olduğu hasardan koruyabilir, sperm kalitesini ve miktarını önemli ölçüde iyileştirebilir ve hamilelik olasılığını artırabilir (Lenzi ve ark. 1993 ; Balercia ve ark. 2004; Showell ve diğerleri, 2011). Bu tür malzemeleri, idiyopatik erkek kısırlığını tedavi etmek için kullanılan diyet takviyelerine dahil etmek faydalıdır. Erkek infertilitesi tedavisinde C vitamini, E vitamini, glutatyon, koenzim Q10 (CoQ10) ve karnitin gibi sayısız antioksidanın faydalı etkileri gösterilmiştir. Folik asit ve çinko takviyesi kombinasyonunun, sperm sayısını artırdığı; karnitin takviyesinin erkek fertilitesi üzerine yararlı etkisi olduğu

gösterilmiştir. Erkek fertilitesi üzerine yayarlı CoQ10 biyosentezinin testislerde belirgin şekilde aktif olduğu ve semende yüksek seviyede indirgenmiş CoQ10 bulunduğu tespit edilmiştir. Endojen CoQ10 seviyesi ile sperm sayısı ve sperm hareketliliği arasında anlamlı bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Idiopatik varikosel olan infertil erkeklerin seminal plazma ve sperm hücrelerinde indirgenmiş CoQ10 konsantrasyonu, astenozoospermi ile ilişkilendirilmiştir. CoQ10 konsantrasyonları astenozoospermik hastaların ejakülatında CoQ10 konsantrasyonları tespit edilememiştir. Erkek infertilitesinin tedavisinde L-karnitin, suda çözünabilir CoQ10, E vitamini ve C vitamini beraber takviyesinin yeni erkek infertilitesinde yeni bir yöntem olma olasılığı vardır (Gvozdjaková 2019).

2.8. Koenzim Q10

"Ubiquinone" olarak da adlandırılan CoQ10, vücudumuzda her hücre zarında doğal olarak bulunan, yağda çözünen, vitamin benzeri bir moleküldür. Diyetimizin normal bir parçasıdır, aynı zamanda endojen olarak da sentezlenir. Mitokondriyal oksidatif solunum zinciri ve adenozintrifosfat (ATP) üretimi içinde elektronların uygun transferi için gereklidir (Schniertshauer ve ark. 2016). Serbest radikallerle etkileşime girer ve bir antioksidan görevi görerek lipid peroksidasyonunu ve biyomolekül hasarını önler. Diğer antioksidanların rejenerasyonunda yer alır. Ayrıca CoQ10'un diğer görevlerinden; membran stabilitesi, hücre sinyali, gen ekspresyonu, hücre büyümesi ve apoptoz kontrolü sağlama gibi işlevleri olduğu belirtilmektedir (Crane 2001).

CoQ10 dokularda ubiquinol-10 (indirgenmiş form) ve ubiquinon-10 (oksitlenmiş form) olarak bulunur. Ubiquinone ve ubiquinol, tüm hücrelerde bulunduğu için Latince "her yerde" anlamına gelen "ubiquitouskinin"den türetilmiştir. CoQ10, ortak benzokinon halkasını bir izoprenoid yan zinciriyle paylaşan kimyasal bir formüle sahiptir. İnsanlarda ve diğer birçok memeli türünde, yan zincir on izopren biriminden oluştuğu için bu yapıya "CoQ10" adı verilir (Overvad ve ark. 1999).

CoQ10, herhangi bir tıbbi durumu tedavi etmek için FDA onaylı değildir. Bununla birlikte, bir diyet takviyesi olarak tezgahta yaygın olarak bulunur ve hem birinci basamak hekimleri hem de uzmanlar tarafından tavsiye edilir. Nörodejeneratif hastalıklar, fibromiyalji, migren, diyabet, kanser, mitokondriyal hastalıklar, kas hastalıkları ve kalp yetmezliği gibi hastalıklar dolaşımdaki CoQ10 seviyelerinin

azalmasıyla ilişkilidir (Cordero ve ark. 2012; Garrido-Maraver ve ark. 2014; Jafari ve ark. 2018; Du ve ark. 2018; Dahri ve ark. 2019). Bu gibi durumlarda sistemik CoQ10 seviyelerinin artırılmasının CoQ10 gerektiren süreçlerin düzgün çalışmasına izin vereceği öncülüğünde birçok çalışma yapılmıştır (Cordero ve ark. 2012; Garrido-Maraver ve ark. 2014; Jafari ve ark. 2018). CoQ10, hipertansif hastalarda vasküler oksidatif stresi azaltabilen bir enzim olan süperoksit dismutaz (SOD) gibi temel antioksidanların üretimini artırır (Kedziora-Kornatowska ve ark. 2010), pro-oksidatif bileşiklerin indirgenmesi yoluyla lipid peroksidasyon seviyelerini azaltır (Cordero ve ark. 2012), ayrıca nitrik oksitin korunması yoluyla kan akışını artırabilmektedir ve kan damarlarını koruyabilmektedir (Lopez-Lluch ve ark. 2019). Son yıllarda üreme sistemi ile ilgili problemlerde antioksidan takviyelerinin faydalı olabileceği bildirilmekte ve bunun yanında antioksidan takviyelerin de faydalı olabileceği belirtilmektedir.

İnsanlarda CoQ10 üzerinde yapılan çalışmaların büyük çoğunluğu, onu yalnızca oral bir takviye olarak değerlendirmiştir. Piyasalarda tabletler, kapsüller, soft-jeller ve sıvı oral takviye formülasyonları mevcuttur. Tezgahta birim doz başına 30-600 mg arasında çeşitli oral formülasyonlar mevcuttur. Topikal reçetesiz preparatlar da mevcuttur, ancak bu uygulama yolu ile ilgili çalışmalar sınırlıdır (Knott ve ark. 2015). Et, en yüksek CoQ10 miktarına sahiptir, bunu süt ürünleri, yumurta ve bitki bazlı gıda kaynakları (baklagiller) takip eder. Canlı dokulardan ekstrakte edilen CoQ10, tutarlı kalite ve daha ucuz takviyeler sağlayan fermantasyon prosedürü ile laboratuvarı üretilenden daha pahalıdır (Cluis ve ark. 2007). Takviyeler, CoQ10'u oksitlenmiş formda (ubikinon) veya indirgenmiş formda (ubiquinol) sunar. Belirli bir CoQ10 takviyesinin biyoyararlanımı, içine birlikte kullanılan lipid taşıyıcıya ve eklenen koruyuculara bağlıdır (Lopez-Lluch ve ark. 2019). Pek çok çalışma, takviyenin etkinliğini değerlendirmek için CoQ10'un kan seviyelerini izlemiştir. Ortalama plazma konsantrasyonları yaklaşık 0,34 ila 1,65 mikrogram/mL gibi görünmektedir (Garrido-Maraver ve ark. 2014). En yüksek oral takviye seviyelerinde bile CoQ10 toksisitesi olmadığı için toksik bir kan CoQ10 seviyesi belirlenmemiştir (Hidaka ve ark. 2008; Garrido-Maraver ve ark. 2014).

2.8.1. Koenzim Q10'un Erkek Fertilitesinde Rolü

Seminal plazmadaki birincil antioksidanlardan biri olan endojen CoQ10, sperm hareketliliği ve sayısı ile önemli ölçüde ilişkilidir. Ekzojen CoQ10 uygulaması ile

sperm hareketliliğinin arttığı belirtilmektedir (Balercia 2017). CoQ10, mitokondride elektron taşıma zincirinde işlev gördüğü için sperm olgunlaşmasında önemli olan mitokondriyal biyoenerjide rol oynar (Littarru 2010). Bazı çalışmalar CoQ10'un sperm motilitesini ve konsantrasyonunu artırmada yararlı bir etkiye sahip olduğunu gösterebilir, gebelik oranlarında bir fark gözlenmemiştir (Balercia ve ark. 2009a; Safarinejad 2009; Balercia ve ark. 2009b). Yakın tarihli bir çalışma, CoQ10, varikoseli olan erkek bireylerde semen parametrelerinde etkili olduğu gösterilmiştir (Festa ve ark. 2014). İki büyük çalışma CoQ10 ve ubiquinol'ün (CoQ10'un indirgenmiş formu) idiyopatik infertilitesi olan erkeklerde sperm parametrelerini etkili ve güvenli bir şekilde iyileştirdiğini doğrulamıştır (Safarinejad 2012; Nadjarzadeh 2014). Başka bir çalışmada, CoQ10 ile tedavi edilen idiyopatik oligoastenozoospermi (OAT) eşlerinin %34'ünde gebelik tespit edilmiştir. Ancak bu çalışmada kontrol grubu olmadığı için karşılaştırma yapılmamıştır (Safarinejad 2012). Yakın zamanda yapılan bir meta-analiz çalışmasında, Literatürde CoQ10'un canlı doğum veya gebelik oranlarını iyileştirdiğine dair net bir veri olmadığı ancak sperm parametrelerinde global bir iyileşme sağladığı sonucuna varılmıştır (Lafuente 2013). CoQ10'un astenozoospermi tedavisinde faydalı bir etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. Mitokondrideki işlevinin yanı sıra antioksidan özelliğinden dolayı, Seminal plazma ve sperm hücrelerinde artan CoQ10 konsantrasyonu ile sperm motilitesi arasında bir ilişki olduğu, ayrıca CoQ10'un sperm DNA'sını oksidatif hasara karşı korumada rol oynadığı belirtilmektedir (Balercia ve ark. 2017). Yakın tarihli bir meta-analiz çalışmasında, CoQ10'un canlı doğum veya gebelik oranlarını iyileştirdiğine dair net bir veri olmadığı, ancak sperm parametrelerinde küresel bir iyileşme sağladığı sonucuna varılmıştır (Lafuente ve ark. 2013). CoQ10, hücreleri lipid peroksidasyonunun neden olduğu hasardan korumaktan sorumludur (Alahmar 2018). Safarinejad (2009) tarafından yapılan randomize, plasebo kontrollü bir çalışmada, idiyopatik OAT'li, 212 infertil erkekte, CoQ10 takviyesinin sperm parametrelerinde önemli iyileşme sağladığı bulunmuştur. CoQ10'un kullanılmadığı dönemde sperm parametrelerinin adım adım temel değerlerine döndüğü gösterilmiştir (Safarinejad 2012). Başka bir çalışmada CoQ10 takviyesinin seminal toplam antioksidan kapasitesini arttırdığı ancak sperm parametrelerini önemli ölçüde değiştirmediği bildirilmiştir (Nadjarzadeh ve ark. 2014). CoQ10 ile desteklenen hastalarda, seminal plazmada katalaz ve süperoksit dismutaz gibi enzimatik antioksidanların aktivitesini 3 ay boyunca arttırdığı belirtilmiştir (Nadjarzadeh ve ark. 2011). Ek olarak, CoQ10

takviye grubunda 8-izoprostan düzeylerinin daha düşük olduğu gösterildi. Aynı çalışmada, total antioksidan kapasitedeki gelişmelere bağlı olarak, CoQ10 seviyelerinin en önemli sperm parametreleriyle önemli ölçüde korele olduğu bildirildi. Bir meta-analizde, menideki CoQ10 konsantrasyonlarında bir artış ve sperm parametrelerinde iyileşme olduğu kaydedildi. Ancak bu durumun gebelik veya canlı doğum olasılığını artırıp artırmadığı konusunda bilgi vermediği için bu sonuçların temkinli yorumlanması gerektiği belirtilmiştir (Alahmar 2018).

CoQ10 günlük tüketilen besinlerle vücudumuza alınan bir vitamindir. Yapılan çalışmalarda CoQ10 takviyesinin etkisi araştırılmış olmasına rağmen, alınan CoQ10'un gıda ve meni parametreleri ile ilişkisinin incelendiği bir çalışmada diyetle alınan CoQ10 alımı ile meni parametreleri arasında ilişki bulunmamıştır. Ancak çalışmadan elde edilen verilere göre diyetle alınan ortalama CoQ10 miktarı, klinik çalışmalarda ek olarak verilen CoQ10 miktarından 10 kat daha azdır. Bu nedenle çalışma sonucunda sadece besinlerle birlikte CoQ10 alımının optimal semen parametreleri için yetersiz kalabileceği bildirilmiştir (Tiseo ve ark. 2017). Bir meta-analiz çalışmasında 3-6 ay süreyle 200-300 mg/gün CoQ10 takviyesinin sperm parametrelerini iyileştirdiği bulunmuştur (Salas-Huetos ve ark. 2018).

Yüksek ve oksitlenmiş düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyelerine sahip erkek sıçanlarla yapılan bir çalışmada, CoQ10 ve LC takviyelerinin hiper kolesterolemiye bağlı doğurganlık sorunlarına karşı koruyucu etkileri olduğu bulunmuştur (Ghanbarzadeh 2014).

Reaktif oksijen türlerinin spermatozoalarda oluşan hasarda anahtar patolojik rolü olduğunu gösteren kanıtlar günden güne artmaktadır, bu da oksidatif stresin erkek infertilitesi etyolojisinde yer alan sperm disfonksiyonundaki aracılığını göstermektedir. Oksidatif stresin potansiyel zararlı etkileri ile mücadele etmek için, spermatozonlar ve seminal plazmada pek çok koruyucu antioksidan sistem çalışır. Bazı çalışmalar, infertil erkeklerde seminal plazma nonenzimatik antioksidan kapasitelerinde bozukluk meydana geldiğini göstermektedir, bu da azalan total antioksidan kapasitenin erkek infertilitesinde patojenik rol oynayabileceğini göstermektedir (Mancini ve ark. 1994).

CoQ10'un indirgenmiş formu ile seminal plazma sperm hücre sayısı ile doğru, hem seminal plazma hem de seminal sıvıda ubikinol ve hidroksiapatid düzeyleri

arasında ise ters korelasyon olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ubikinol/ubikinon oranı ile anormal sperm hücre yüzdesi arasında ters korelasyon tespit edilmiştir. Dahası, idiyopatik astenozoospermi hastalarında sperm hücrelerinde ve varikosel ilişkili astenozoospermi hastalarının seminal plazmalarında ubikinol/ubikinon oranı düşük bulunmuştur. (Alleva ve ark. 1997) Ayrıca, CoQ10'un sperm motilitesi üzerinde in vitro etkisi daha önce de bildirilmiştir (Lewin ve Lavon 1997).

Mitokondriyal solunum zincirinin bir bileşeni olan CoQ10, antioksidan etkiler gösterir (Nguyen-Powanda ve Robaire 2020). CoQ10 eksikliği, daha düşük sperm motilitesi, sayısı ve erkek kısırlığı ile ilişkilendirilirken, CoQ10 takviyesinin infertil erkeklerde sperm sayısını ve sperm morfolojisini iyileştirdiği gösterilmiştir (Balercia ve ark. 2009). Bununla birlikte, idiyopatik Oligoastenospermili erkeklerde CoQ10'un seminal antioksidan kapasite ve substrat düzeyinde fosforilasyon üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar sınırlıdır. Diğer çalışmalar, erkek infertilitesini tedavi etmek için çoklu antioksidan kombinasyonlarını denemiş ve semen parametreleri, antioksidan kapasite ve SDF üzerinde değişken etkiler bildirmiştir (Gual-Frau ve ark. 2015; Ahmadi ve ark. 2016). Ayrıca, IMI'de tek tek veya kombine antioksidanların tipi, dozu veya kullanımı konusunda bir fikir birliği yoktur (Majzoub 2017).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Araştırma ve Uygulama Merkezi'nde, Deney Hayvanları Etik Yerel Kurulu tarafından 06.07.2022 tarih ve 2022-0366 sayılı kararı ile etik yönden uygun bulunarak onaylandı. Çalışma bütçesi Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğü'nün 221418001 no'lu proje kararı gereğince karşılandı.

3.1. Deney Hayvanları

Çalışmamızda Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Merkezi'nden alınan 28 adet erkek, erişkin, 255-304 gr ağırlığında, *Wistar albino* türü ratlar kullanıldı. Deney süresince ratlar saatte 15 kez hava değişimi 20 °C, %30-40 nisbi nem, düzenli olarak 12 saat gece, 12 saat gündüz periyodunda, yem ve suda kısıtlama olmadan, her kafeste en fazla dört adet rat olacak şekilde barındırıldı. Ayrıca her gün ratların genel sağlık durumları ve kafes temizliği takip edildi. Çalışmaya başlamadan önce ve uygulama boyunca haftada bir, her bir ratın ağırlığı kaydedildi. Tüm ratlar rastgele olarak 4 gruba ayrıldı.

3.2. Deney Grupları

1) Kontrol grubu (Grup 1): Bu gruptaki 7 adet erkek erişkin *Wistar albino* türü ratlara 30 gün boyunca hiçbir uygulama yapılmadı. Deney süresince yem ve içme suları ad libidum olarak verildi.

2) Hipotiroidizm grubu (Grup 2): Bu gruptaki 7 adet erkek erişkin *Wistar albino* türü ratlara Hipotiroidizm oluşturmak amacıyla içme sularına 30 gün boyunca %0,05 w/v oranında *6-n-propyl-2-thiouracil (PTU)* (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) verildi (Moulakakis ve ark. 2008). Yem ve içme suları ad libidum olarak verildi.

3) Koenzim Q10 grubu (Grup 3): Bu gruptaki 7 adet erkek erişkin *Wistar albino* türü ratlara 30 gün boyunca, DMSO içerisinde çözündürülmüş 10 mg/kg "koenzim Q10" intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı (Maheshwari ve ark. 2017). Yem ve içme suları ad libidum olarak verildi.

4) Hipotiroidizm + Koenzim Q10 grubu (Grup 4): Bu gruptaki 7 adet erkek erişkin *Wistar albino* türü ratlara hipotiroidizm oluşturmak amacıyla içme sularına 30

gün boyunca, %0,05 w/v oranında 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) (Sigma-Aldrich, St Louis, MO, USA) verildi (Moulakakis ve ark. 2008). Her bir rata, DMSO içerisinde çözdürülmüş, 10 mg/kg "koenzim Q10" i.p. olarak 30 gün boyunca uygulandı (Maheshwari ve ark. 2017). Yem ve içme suları ad libidum olarak verildi.

Deney sonunda (31. gün) ratlar, 50 mg/kg Ketalar-Rampun anestezisi ile uyutuldu. Kalpten enjektörle 4-6 ml kan örnekleri heparinli tüplere alındı. Tüplere alınan kan örneklerinden TSH, fT3 ve fT4 parametrelerinin ölçümlerinde kullanmak üzere santrifüjleme yöntemiyle 3000 devir/dakika hızında 10 dakika da serumlar elde edildi. Elde edilen serumlar ölçümler yapıncaya kadar -80°C'de saklandı. Kan örneklerinin alınmasından sonra, ratların sağ ve sol testisleri vertikal bölünerek alındı. Her bir ratın testis ağırlıklarını ölçmek için 0.001 hassasiyetli bir ölçek kullanıldı. Hacmi ölçmek için 100 ml'lik bir cam ölçüm silindiri kullanıldı. İlk önce bir silindire 20 ml distile su döküldü, daha sonra doku silindirinin içine yerleştirildi. Suyun ilk hacmi ile yeni hacmi arasındaki fark doku hacmi olarak kabul edildi. Ağırlık ölçümü sonrası testis dokuları oda ısısında %10'luk nötral formalin solüsyonu içerisine koyuldu. İki gün sonunda rutin histolojik takip yapılarak dokular hazırlandı.

3.3. Histolojik Çalışma

Preperatların hazırlanması ve tüm histolojik değerlendirmeler Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi. Oda ısısında %10'luk nötral formaldehit solüsyonu (100 ml %37'lik formalin solüsyonu, 900 ml distile su, 6,5 gram Na₂HPO₄, 4 gram NaH₂PO₄H₂O) içerisinde 72 saat süreyle bekletilen testis dokuları çıkarıldı. Sonrası aşamada testis dokularının parafin bloklarının hazırlanması için doku takip yöntemine geçilmiştir. Doku takip yönteminde; dokular, 1'er saat olacak şekilde sırasıyla %70, %80, %95, %100'lük etil alkol serilerinden geçirildi. İki kez 1 'er saat Ksilol'e etkin bırakıldı. %50 Ksilol-%50 Parafin'e 1 'er saat etkin bırakıldı. Üç kez 1 'er saat Parafin'e etkin bırakıldı. Rutin mikroskopik inceleme için parafin bloklar elde edildi. Hazırlanan bloklardan Leica DSC2 marka mikrotom cihazıyla 5µm kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlerden immünohistokimyasal çalışmalarda kullanılacak olanları poly-L lysine kaplı lamlara, normal Hematoksilen-eozin (H-E) boyaması için kullanılacak olanlar ise normal lamlara alındı. Vertikal olarak ikiye bölünen testis dokularının birine histopatolojik incelemeler yapmak üzere H-E boyama yapılırken, diğer yarısı

SKH belirteçleri kullanılarak immünohistokimyasal incelemelerde kullanıldı. İmmün boyama, SKH belirteçleri olan THY1 (CD90), SOX-3, PLZF, GFRA1/GDNF primerleri ve primerlere uygun sekonder antikorlar kullanılarak yapıldı.

3.3.1. Hematoksilen-Eosin Boyama

Deparafinizasyon amacıyla, kesitler bir gece 37 °C'de, ertesi gün bir saat 60 °C'de etüvde bekletildi. Deparafinizasyonu tamamlamak için iki kez 15 'er dakika Ksilol'e etkin bırakıldı. Dehidratasyon için dokular, 5'er dakika olacak şekilde sırasıyla; %100, %96, %80'lik etil alkol serilerinden geçirildi. Dehidrate edilen testis dokuları alkolden arındırılmak amacıyla iki kez distile sudan geçirildi. Hematoksilen boyasında (Merck) 1 dakika bekletildi. Asit-alkol karışımına batırılıp çıkarıldı. Çeşme suyunda yıkandı. Eosin boyasında (Merck) 2 dakika bekletildi. Suda 1 dakika yıkandı. Dokular, 5'er dakika olacak şekilde sırasıyla %70, %80, %96, %100'lük etil alkol serilerinden geçirildi. İki kez 15 'er dakika Ksilol'e etkin bırakıldı. Boyanan testis dokuları ışık mikroskobunda incendi ve tüm fotoğrafları alındı. Her gruptan yuvarlak veya yuvarlağa yakın 20 farklı seminifer tübül seçilip Modifiye Johnsen skorlaması (Yoshida ve ark. 1997) ile testis spermatogenezi değerlendirildi.

3.3.1.1. Morfometrik Değerlendirme

3.3.1.1.2. Seminifer Tübül Çapı Hesaplanması

H. E. boyama sonrası her gruptan yuvarlak veya yuvarlağa yakın 20 farklı seminifer tübül seçilip, Olympus BX53 marka ışık mikroskobunda 20x objektif büyütmede, Olympus SC50 marka kamera ataçmanıyla, tübüllerin total alanı morfometrik ölçüm teknikleriyle hesaplanmıştır. Ayrıca seçilen seminifer tübüllerde kök hücre sayımı yapılmıştır.

3.4. İmmünohistokimyasal Çalışma

Doku takip yöntemi sonrası testis dokusu parafin bloklarından Leica DSC2 marka mikrotom cihazıyla 5µm kalınlığında kesitler alındı. Poly-L lysine kaplı lamlara alınan testis dokularına immünohistokimyasal işlemler gerçekleştirildi.

- Kesitler, benmariden lamlara alınıp lam taşıma sepetine yerleştirildi.
- 60 C°'lik etüvde bir gece bekletildi.

- Deparafinizasyon işlemi için iki kez 15 'er dakika Ksilol'de bekletildi.
- Sırasıyla %100, %96, %80, %70, %50'lik etil alkol serilerinden 2'şer dakika geçirildi.
- Distile suda üç kez 5 dakika yıkandı.
- Lamlar, mikrodalga fırına dayanıklı şale içinde, “%10'luk Citrate Buffer Solution” ‘la 500°C’de 5 dakika bekletildi. Bu işlem üç kez yapıldı. Mikrodalgadan her çıkarmada 1-2 dakika soğutuldu. Daha sonra oda sıcaklığında çözelti içerisinde 30 dakika bekletildi.
- 5 dakika PBS (Phosphate Buffered Saline)'de yıkandı.
- Kalemle dokuların kenarları çizildi.
- Dokulardaki endojen peroksidaz kaynaklı non-spesifik zemin boyamasını azaltmak amacıyla %30'luk hidrojen peroksit ile 10 dakikalık uygulamayla ortadan kaldırıldı.
- Kesitler distile suda üç kez 5 dakika yıkandı.
- 5 dakika PBS'de yıkandı.
- Kesitlere 10 dakika Scy Tek marka Ultra V-Blok (Protein blokajı) uygulandı.
- 1/200 oranında sulandırılmış primer antikolar; THY1/CD90 (Abcam), Sox-3 (Abcam), PLZF (Santacruz), GDNF/GFRA1 (Abcam) ile 1 saat inkübe edildi (ya da 1 gece overnight).
- 5 dakika PBS'de yıkandı.
- 20 dakika primer antikolara uygun sekonder antikor (Ultra Tek Anti-Polvalent Biotinylated) uygulaması yapıldı.
- 5 dakika PBS'de yıkandı.
- Sekonder antikolara kolayca bağlanabilen (Scy Tek marka AEC Substrat System, 20 ml AEC kromojen + 1 ml AEC substrat) 10 dakika kadar muamele edildi.
- 5 dakika PBS'de yıkandı.
- Kromojen boyası DAB 10 dakika dokulara uygulandı.
- Distile suda yıkandı.
- 5 dakika Mayer's Hematoksilen ile zıt boyama yapıldı.
- 3 dakika çeşme suyunda yıkandı.
- Entellan kapama maddesi ile kapatıldı.
- Her bir olgu için hazırlanan kesitler ışık mikroskobunda incelendi.

3.4.1. İmmünohistokimyasal Çalışmanın Değerlendirilmesi

Hazırlanan tüm preparatlar incelenerek, Olympus marka araştırma mikroskopunda fotoğrafları çekildi. Testis doku hücrelerindeki THY1 (CD90), Sox-3, PLZF, GFRA1/GDNF ekspresyonları, boyanma yoğunluk derecesine göre incelendi. Boyanma lokalizasyonları, tüm testis dokusunda ve özellikle SKH'ler için ayrı ayrı değerlendirildi. Boyanmanın yaygınlığı ve yoğunluğuna dair veriler kaydedildi. Boyanma değerlendirilmesinde; boyanma yok ise negatif “-“, hafif şiddette boyanma varsa “+1”, orta şiddette boyanma varsa “+2”, şiddetli boyanma varsa “+3” olarak değer ifadeleri kullanıldı. Şiddetine göre yapılan skorlama sonucuna göre, gruplar arasındaki farklılıklar istatistiksel yönden incelendi (Zık ve ark. 2010).

3.5. Biyokimyasal Çalışma

3.5.1. Biyokimyasal Analizler

Deney bitiminde ayrılan serumlar 1,5 ml'lik ependorf tüplere alınarak örnekler çalışılma süresine kadar -80 °C'de saklandı. Ratların serumlarından, Elabscience marka Elisa test kitleri kullanılarak TSH, fT3 ve fT4 analizleri gerçekleştirildi.

3.5.1.1. Serumda Rat Tiroid Uyarıcı Hormon (TSH) Analizi

Analiz, duyarlılığı 0,75 ng/mL olan E-EL-R0976 katalog numaralı Elabscience marka rat Elisa test kiti ile gerçekleştirildi. Referans aralığı 1.25-80 ng/mL'dir. Elisa okuyucu olarak; Allsheng AMR-100 marka cihaz kullanıldı. Analizlerde kullanılan solüsyonlar kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı. Hazırlanışları aşağıda verilmiştir.

Yıkama Tamponu: 15 ml konsantre yıkama tamponu 360 ml'lik deiyonize su ile seyreltilerek total hacim 375 ml olarak hazırlandı.

Standart Çalışma Solüsyonu: Standart 10.000 g'de bir dakika santrifüjlendi ardından bir ml standart referans eklendi. 10 dakika boyunca inkübe edildi. Ardından birkaç defa hafifçe alt üst ederek ve pipetaj yapılarak tamamen homojen bir şekilde karışması sağlandı. Bu işlemlerin sonrasında 80 ng/mL'lik ana standart elde edildi. Ana standart vortekslendikten sonra seri dilüsyon yöntemi ile seyreltmeler yapılarak diğer standartlar hazırlandı. Diğer standartlar aşağıda verildiği şekilde hazırlandı.

Ependorf tüpler birden yediye kadar numaralandırıldı. Her ependorf tüpe 0,5 ml örnek/standart seyreltme tamponundan eklendi. İlk tüpe 80 ng/mL'lik ana standart tüpünden 0,5 ml eklenip karıştırıldı. İkinci tüpe birinci tüpten 0,5 ml alınarak iyice karıştırıldı. Yedinci tüpe kadar aynı işlemler tekrar uygulanıp iyice karıştırıldı. Bu işlemlerin sonucunda konsantrasyonları 40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25, 0 ng/mL olan yedi farklı standart hazırlandı.

Biyotin işaretli antikor çalışma solüsyonunun hazırlanması: Her kuyucuğa 100 µL olacak şekilde deney için gerekli olan miktar hesaplandı. Konsantre Biyotin işaretli antikor çalışma solüsyonu hazırlamak için, antibody 800 g'de bir dakika boyunca santrifüjlendi ve 1: 99 oranında seyreltme tamponu ilave edilerek hazırlandı (gerekli miktar hesaplanıp bir mililitre fazlası hazırlandı).

HRP-Streptavidin Konjugat (SABC) Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması: Konsantre HRP konjugatı 800 g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. 1 mikrolitre antibody'e 99 mikrolitre seyreltme tamponu ilave edilip vortex de iyice karıştırılarak hazırlandı (gerekli miktar hesaplanıp bir mililitre fazlası hazırlandı).

3.5.1.1.1. Çalışma Prosedürü

- Standart, kör ve numune kuyuları belirlendi. Numune kuyucuğuna 100 µL numune, standart kuyucuğuna standarttan 100 µL eklendi.
- Standart, kör ve numune kuyuları belirlendi. Numune kuyucuğuna 100 µL numune, standart kuyucuğuna standarttan 100 µL eklendi.
- Elisaplate'i kapatıldı ve 37 C 'de 90 dakika boyunca inkübasyona bırakıldı.
- İnkübasyon sonunda plate'ler boşaltıldı ve ardından her kuyucuğa 100 µLBiyotin işaretli antikor çalışma solüsyonundan ilave edildi.
- Plate tekrar kapatıldı ve 37°C'de 1 saat boyunca inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda plate'ler tekrar boşaltıldı ve 350 µL yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı.
- Yıkama sonrasında her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonundan ilave edildi.
- Plate kapatıldı ve 37°C'de 30 dakika boyunca inkübe edildi.

- İnkübasyonun tamamlanmasının ardından 3. Basamakta olduğu gibi 5 kez 350 µL yıkama tamponu ile yıkama yapıldı.
- Yıkamanın hemen sonrasında her kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktifi ilave edildi.
- Plate kapatıldı ve 37°C’de 15 dakika boyunca inkübe edildi.
- Her kuyucuğa stop solüsyonundan 50 µL ilave edildi.
- Bekletilmeden 450 nm’de Elisa okuma cihazında absorbansları ölçüldü.

3.5.1.2. fT3 (Free triiodothyronine) ELISA Analizi

Analiz, E-EL-0079 katolog numaralı Elabscience marka test kiti ile gerçekleştirildi. Duyarlılığı 0,94 pg/mL ve referans aralığı 1.56-100 pg/mL’dir. Elisa okuyucu olarak; Allsheng AMR-100 marka cihaz kullanıldı. Analizlerdeki kullanılan solüsyonlar kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı. Hazırlanışları aşağıda verilmiştir.

Yıkama Tamponu: 375 ml’lik yıkama tamponunun hazırlanması için 15 ml konsantre yıkama tamponu 360 ml’lik deiyonize su ile seyreltilti.

Standart Çalışma Solüsyonu: Standart 10.000 g’de bir dakika santrifüjlendi ardından bir ml standart referans eklendi. 10 dakika boyunca inkübe edildi. Sonrasında birkaç defa hafifçe alt üst edildi ve pipetaj yapılarak tamamen homojen bir şekilde karışması sağlandı. Bu işlemlerin sonrasında 100 pg/mL 'lik ana standart elde edildi. Ana standart vortekslendikten sonra seri dilüsyon yöntemi ile diğer standartlar hazırlandı. Diğer standartların hazırlanışı aşağıda verildiği gibi yapılmıştır.

Eppendorf tüpler birden yediye kadar numaralandırıldı ve her eppendorf tüpe 0,5 ml örnek/standart seyreltme tamponundan eklendi. İlk tüpe 100 pg/mL'lik ana standart tüpünden 0,5 ml eklenip karıştırıldı. İkinci tüpe birinci tüpten 0,5 ml alınarak iyice karıştırıldı. Üçüncü tüpe ikinci tüpten 0,5 ml alınarak iyice karıştırıldı. Yedinci tüpe kadar aynı işlemler tekrar uygulanıp vortekslendi. Tüm yapılan bu işlemlerin sonucunda konsantrasyonları 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0 pg/mL olan yedi farklı standart hazırlandı.

Biyotin işaretli antikor çalışma solüsyonunun hazırlanması: Her kuyucuğa 50 µL olacak şekilde deney için gerekli olan miktar hesaplandı. Konsantre Biyotin işaretli antikor çalışma solüsyonu hazırlamak için, antibody 800 g’de bir dakika boyunca

santrifüjlendi ve 1: 99 oranında seyreltme tamponu ilave edilerek hazırlandı (gerekli miktar hesaplanıp bir mililitre fazlası hazırlandı).

HRP-Streptavidin Konjugat (SABC) Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması: Her kuyucuğa 100 µL olacak şekilde gerekli miktar hesaplandı. Konsantre HRP konjugatı 800 g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. 1 mikrolitre antibody ile 99 mikrolitre seyreltme tamponu ilave edilip vortex de iyice karıştırılarak hazırlandı (gerekli miktar hesaplanıp bir mililitre fazlası hazırlandı).

3.5.1.2.1. Çalışma Prosedürü

- Standart, kör ve numune kuyuları belirlendi.
- Numune kuyucuğuna 50 µL numune, standart kuyucuğuna standarttan 50 µL eklendi.
- Ardından 50 µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu eklendi.
- Elisaplate'i kapatıldı ve 37°C 'de 45 dakika boyunca inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda plate'ler tekrar boşaltıldı ve 350 µL yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı.
- Yıkama sonrasında her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonundan ilave edildi.
- Plate kapatıldı ve 37°C 'de 30 dakika boyunca inkübe edildi.
- İnkübasyonun tamamlanmasının ardından plate boşaltıldı ve 3. basamakta olduğu gibi 5 kez 350 µL yıkama tamponu ile yıkama yapıldı.
- Yıkamanın hemen sonrasında her kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktifi ilave edildi.
- Plate kapatıldı ve 37°C'de 15 dakika boyunca inkübe edildi.
- Her kuyucuğa stop solüsyonundan 50 µL ilave edildi.
- Bekletilmeden 450 nm'de Elisa okuma cihazında absorbanları ölçüldü.

3.5.1.3. fT4 (Free Thyroxine) ELISA Analizi

Analiz, E-EL-0122 katolog numaralı Elabscience marka, duyarlılığı 0,94 pg/mL olan, referans aralığı 1.56-100 pg/mL olan Elisa test kiti ile gerçekleştirildi. Elisa okuyucu olarak; Allsheng AMR-100 marka cihaz kullanıldı. Analizlerdeki

kullanılan solüsyonlar kit prosedürüne uygun olarak hazırlandı. Hazırlanışları aşağıda verilmiştir.

Yıkama Tamponu: 15 ml konsantre yıkama tamponu 360 ml'lik deiyonize su ile seyreltilerek 375 ml'lik yıkama tamponu hazırlandı.

Standart Çalışma Solüsyonu: Standart 10.000 g'de bir dakika santrifüjlendi ardından bir ml standart referans eklendi. 10 dakika boyunca inkübe edildi. Birkaç defa alt üst edildi ve pipetaj yapılarak tamamen homojen bir şekilde karışması sağlandı. Bu işlemlerin sonrasında 100 pg/mL 'lik ana standart elde edildi. Ana standart vortekslendikten sonra seri dilüsyonla seyreltmeler yapılarak diğer standartlar hazırlandı. Diğer standartların hazırlanışı aşağıda verilmiştir.

Eppendorf tüpler birden yediye kadar numaralandırıldı. Her eppendorf tüpe 0,5 ml örnek/standart seyreltme tamponundan eklendi. İlk tüpe 100 pg/mL'lik ana standart tüpünden 0,5 ml eklenip karıştırıldı. İkinci tüpe birinci tüpten 0,5 ml alınarak iyice karıştırıldı. Yedinci tüpe kadar aynı işlemler tekrar uygulanıp iyice karıştırıldı. Bu işlemlerin sonucunda konsantrasyonları 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13, 1.56, 0 pg/mL olan yedi farklı standart elde edildi.

Biyotin işaretli antikor çalışma solüsyonunun hazırlanması: Her kuyucuğa 50 µL olacak şekilde gerekli olan miktar hesaplandı. Konsantre Biyotin işaretli antikor çalışma solüsyonu hazırlamak için, antibody 800 g'de bir dakika boyunca santrifüjlendikten sonra 1:99 oranında seyreltme tamponu ilave edilerek hazırlandı (gerekli miktar hesaplanıp bir mililitre fazlası hazırlandı).

HRP-Streptavidin Konjugat (SABC) Çalışma Solüsyonunun Hazırlanması: Her kuyucuğa 100 µL ilavesi için gerekli olan hacim miktarı hesaplandı. Konsantre HRP konjugatı 800 g'de 1 dakika boyunca santrifüj edildi. 1 mikrolitre antibody ile 99 mikrolitre seyreltme tamponunun ilave edilmesi ile hazırlandı (gerekli miktar hesaplanıp bir mililitre fazlası hazırlandı).

3.5.1.3.1. Çalışma Prosedürü

- Standart, kör ve numune kuyuları belirlendi.
- Numune kuyucuğuna 50 µL numune, standart kuyucuğuna standarttan 50 µL eklendi.

- Ardından 50 µL Biotinylated Detection Ab çalışma solüsyonu eklendi.
- Elisaplate'i kapatıldı ve 37°C 'de 45 dakika boyunca inkübe edildi.
- İnkübasyon sonunda plate'ler boşaltıldı ve 350 µL yıkama tamponu ile 3 kez yıkandı.
- Yıkama sonrasında her kuyucuğa 100 µL HRP Konjugat çalışma solüsyonundan ilave edildi.
- Plate kapatıldı ve 37°C 'de 30 dakika boyunca inkübe edildi.
- İnkübasyonun tamamlanmasının ardından plate boşaltıldı ve 3. basamakta olduğu gibi 5 kez 350 µL yıkama tamponu ile yıkama yapıldı.
- Yıkamanın hemen sonrasında her kuyucuğa 90 µL Substrat Reaktifi ilave edildi.
- Plate kapatıldı ve 37°C'de 15 dakika boyunca inkübe edildi.
- Her kuyucuğa stop solüsyonundan 50 µL ilave edildi.
- Bekletilmeden 450 nm'de Elisa okuma cihazında absorbansları ölçüldü.

3.6. Veri Analizi ve İstatistik

Tüm gruplarda Johnsen skorlamaları, seminifer tübül alanları ve SKH sayımları, hayvan ağırlıkları, testis ağırlıkları ve biyokimyasal karşılaştırmalarda, Duncan test metodu uygulandı.

4. BULGULAR

Tüm deney gruplarındaki hayvanların ağırlık karşılaştırılması deney başlangıcı ve sonuna göre yapılmış olup, ağırlık test sonuçları tablolarla gösterilmiştir. Tüm grup hayvanlarının ağırlıklarında artış gözlenmiştir. Kontrol grubu (Grup 1) ratların ağırlıklarında önemli bir artış tespit edilmemiştir. KoenzimQ10 verilen ratların (Grup3) ağırlıklarında, Grup 1'e kıyasla daha az bir artış tespit edilmiştir. PTU ile indüklenen Grup 2'de, hipotiroidiye bağlı ağırlık artışı tespit edilmiştir. Grup 2'ye kıyasla, PTU ve koenzimQ10 takviye edilen Grup 4'te ise rat ağırlıklarında daha az artış tespit edilmiştir.

Tablo 4. 1. Deney başlangıcı deney hayvanı ağırlığı (P=0,000. Fark var).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 1 (n:7)	288,42 ^a	17,84	6,74
Grup 2 (n:7)	255,14 ^b	14,79	5,59
Grup 3 (n:7)	304 ^a	14,71	5,56
Grup 4 (n:7)	266,85 ^b	17,18	6,49

Tüm gruplar arasındaki deney hayvanı ağırlık farkı istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir (p=0,000).

Tablo 4. 2. Deney sonu deney hayvanı ağırlığı (P<0,14. Fark yok).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 1(n:7)	310,57 ^a	21,4	8,09
Grup 2(n:7)	297,85	26,11	9,86
Grup 3(n:7)	322,42	20,15	7,61
Grup 4(n:7)	300,14	15,38	5,81

Tüm gruplar arasındaki deney hayvanı ağırlık farkı istatistiksel açıdan anlamsız kabul edilmiştir (p<0,14).

Tablo 4. 3. Grup 2 deney başlangıcı ve deney sonu deney hayvanı ağırlığı ($P<0,003$. Fark var).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 2 Baş (n:7)	255,14	14,79	5,59
Grup 2 Son (n:7)	297,85	26,11	9,86

Grup 2 deney başlangıcı ve deney sonu deney hayvanı ağırlık farkı istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir ($p<0,004$).

Tablo 4. 4. Grup 3 deney başlangıcı ve deney sonu deney hayvanı ağırlığı ($P=0,074$ Fark yok).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 3 Baş (n:7)	304	14,71	5,56
Grup 3 Son (n:7)	322,42	20,15	7,61

Grup 3 deney başlangıcı ve deney sonu deney hayvanı ağırlık farkı istatistiksel açıdan anlamsız kabul edilmiştir ($p=0,058$).

Tablo 4. 5. Grup 4 deney başlangıcı ve deney sonu deney hayvanı ağırlığı ($P=0,002$. Fark var).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 4 Baş (n:7)	266,85	17,18	6,49
Grup 4 Son (n:7)	300,14	15,38	5,81

Grup 4 deney başlangıcı ve deney sonu deney hayvanı ağırlık farkı istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir ($p=0,002$).

Tablo 4. 6. Deney hayvanı testis (sağ+sol) ağırlığı ($P=0,0604$. Fark yok)

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 1 (n:7)	3,18	0,51	0,19
Grup 2 (n:7)	3,13	0,4	0,15
Grup 3 (n:7)	3,27	0,27	0,1
Grup 4 (n:7)	3	0,26	0,1

Tüm deney gruplarındaki hayvanların testis (sağ+sol) ağırlıklarının karşılaştırılmasında tüm deney grupları arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmemiştir ($p=0,0604$).

4.1. Histolojik Bulgular

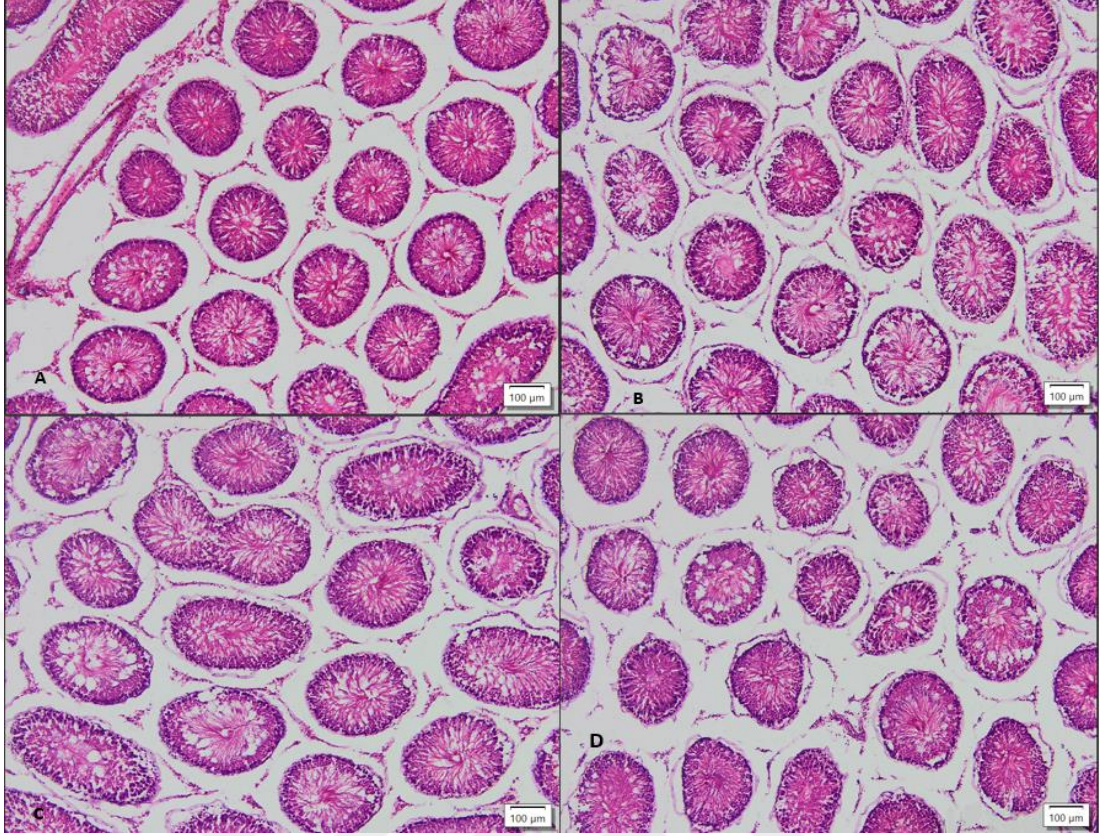
4.1.1. Hematoksilen-Eosin Boyama Sonuçları

Işık mikroskopik görüntülemede, Hematoksilen-Eosin (H-E) ile boyanan kesitlerde Grup 1'e ait histolojik incelemede seminifer tübül sınırlarının düzgün olduğu, spermatogenik seri hücre dizilim sırasının düzenli olduğu ve spermiyogenezin tüm aşamalarında germ hücrelerinin varlığı gözlenmiştir. Grup 2'ye ait histolojik incelemede, seminifer tübül sınırlarının düzgün olduğu ancak, tübül çaplarında daralma gözlenmiştir. Germ hücre dizilim sırasının düzenli olmadığı ve buna paralel olarak spermiyogenezin bazı seminifer tübüllerde duraksadığı, germ hücre sayında azalmalar gözlenmiştir. Grup 3'e ait histolojik incelemede, seminifer tübül yapılarının Grup 1'e benzer şekilde olduğu gözlenmiştir. Grup 4'e ait histolojik incelemede ise, seminifer tübül sınırlarının düzgün olduğu, spermiyogenezin devam ettiği, tübül çaplarının ve germ hücre sayında kontrole yakın değer aldığı gözlenmiştir. Tüm gruplarda Sertoli hücreleri ve interstisyel aralıktaki; Leydig hücreleri, myoid hücreler ve damar yapılarının normal histolojik yapıyı korudukları gözlenmiştir.

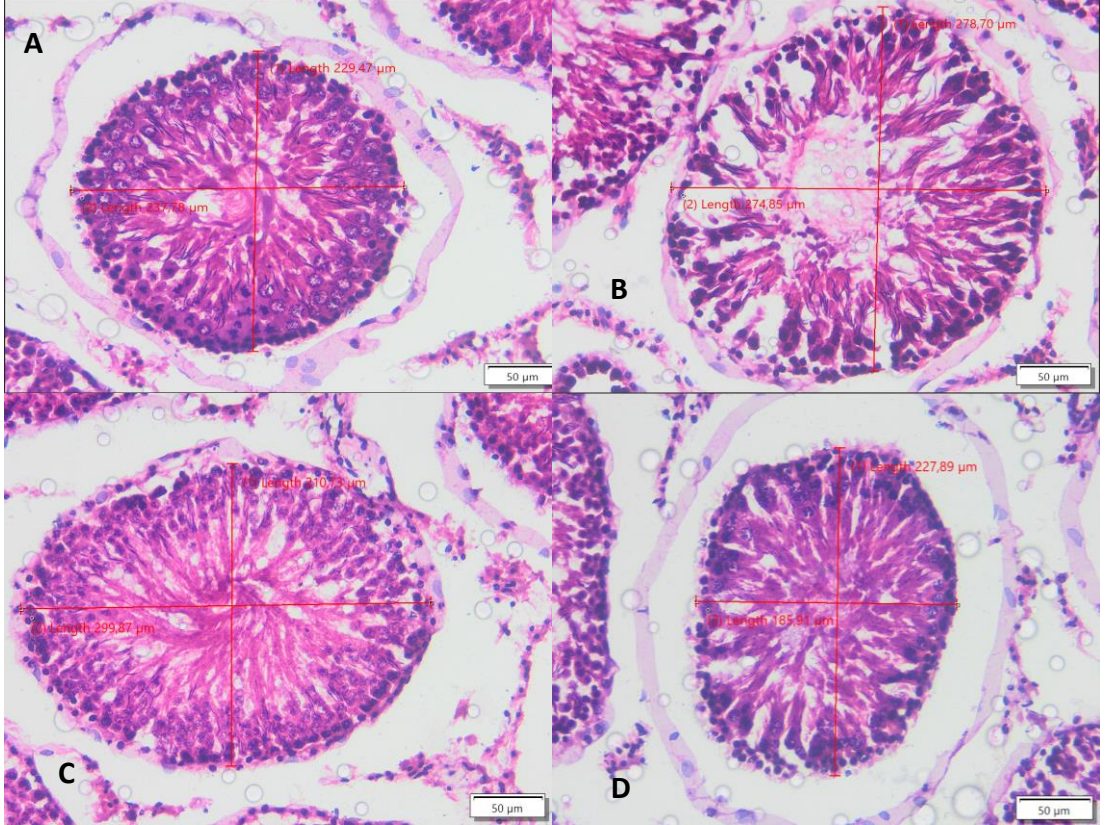
Tablo 4.1.1. Deney grupları H.E. boyama sonuçları ($P=0,00$. Fark var).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 1 (n:7)	11,3	0,47	0,10
Grup 2 (n:7)	8,4	1,42	0,31
Grup 3 (n:7)	10,5	1,23	0,27
Grup 4 (n:7)	9,4	1,35	0,30

Tüm gruplar arasındaki H.E. boyama sonuçları istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir ($p=0,00$).



Resim 4.1.1. Tüm gruplara (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4) ait Hematoksilen-Eosin boyama, testis, enine kesit, x10.



Resim 4.1.2. Tüm gruplara (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4) ait Hematoksilen-Eosin boyama, testis, enine kesit, x40.

4.2. Morfometrik Bulgular

4.2.1. Seminifer Tübül Çapı Sonuçları

Her bir ratın testisinden alınan enine kesit görüntüsünde, 20 adet yuvarlak/yuvarlağa yakın seminifer tübülün çapları Image Pro programı kullanılarak ölçülmüş ve ortalama skor hesaplanmıştır. Değerlendirme sonrasında, seminifer tübül çap ortalama değerleri; Grup 1'de 273,42 μm , Grup 2'de 250,54 μm , Grup 3'de 280,64 μm , Grup 4'de 272,65 μm olarak saptandı.

Tablo 4.2.1. Deney hayvanı seminifer tübül çap ortalamaları ($P<0,186$. Fark yok).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 1(n:7)	273,42	14,04	5,3
Grup 2(n:7)	250,54	49,22	18,6
Grup 3(n:7)	280,64	7,65	2,89
Grup 4(n:7)	272,65	7,45	2,81

Tüm deney grupları arasında istatistiksel bir fark gözlenmemiştir. $P<0,186$.

Tablo 4.2.2. Deney hayvanı spermatogonial kök hücre sayı ortalamaları ($P<0,002$. Fark var).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 1(n:7)	65 ^b	7,04	2,66
Grup 2(n:7)	71,42 ^a	1,98	0,75
Grup 3(n:7)	62,42 ^b	1,71	0,64
Grup 4(n:7)	68 ^{a,b}	1,91	0,72

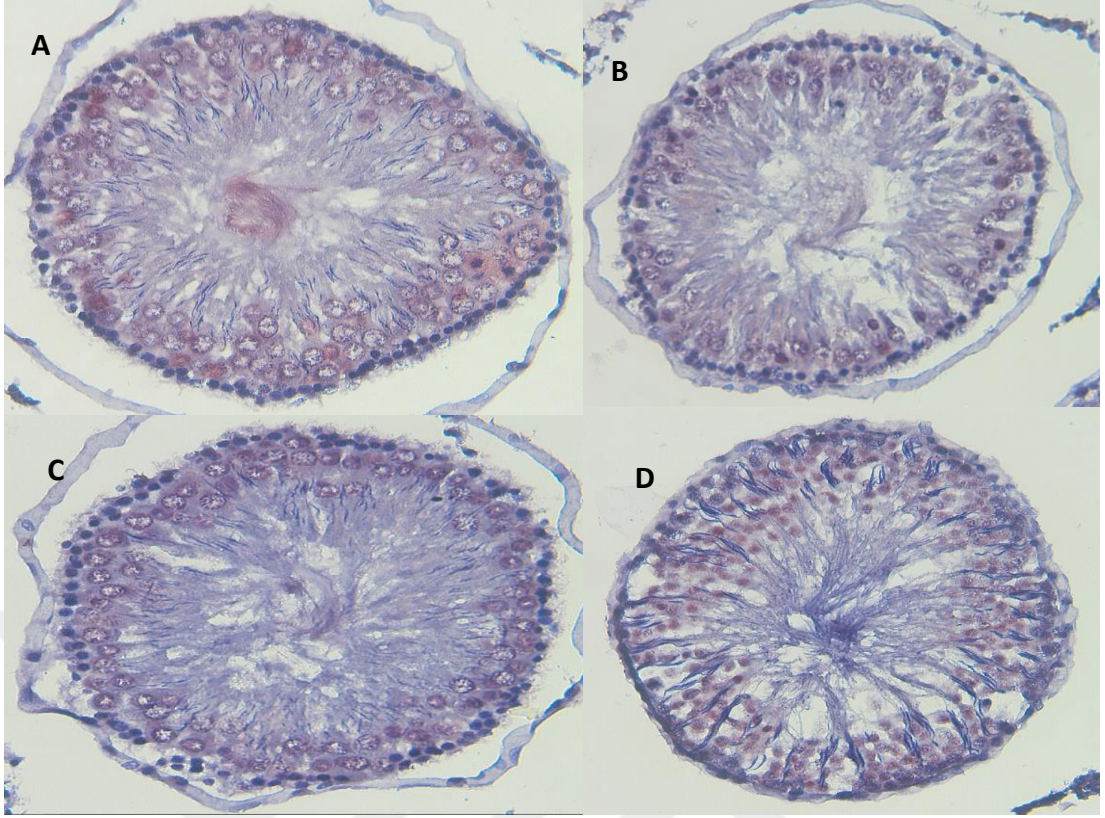
Tüm deney gruplarındaki hayvanların spermatogonial kök hücre sayı ortalama sonuçlarının karşılaştırılmasında tüm deney grupları arasında istatistiksel verilerde fark gözlenmiştir ($p<0,002$).

4.3. İmmünohistokimyal Bulgular

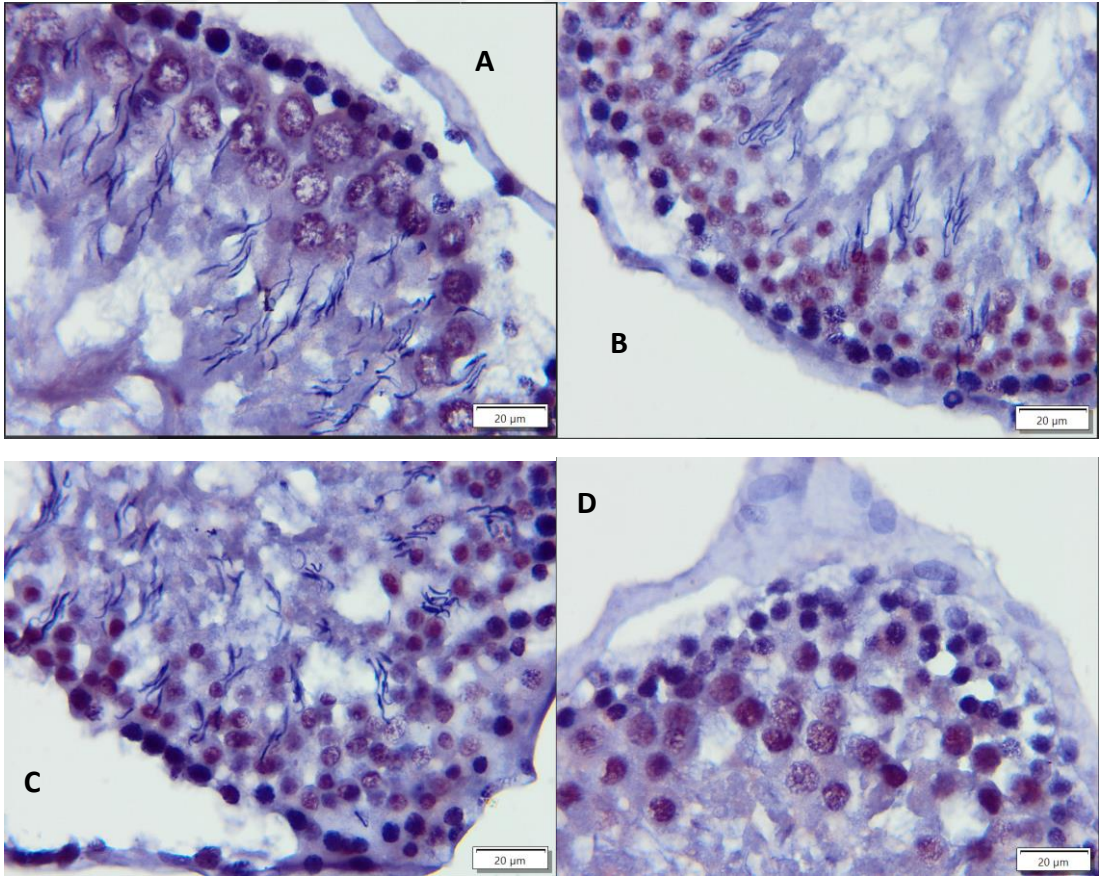
Tüm deney grupları arasındaki testis dokusu immün-boyanma bulgularını belirlemek amacıyla, THY1 ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle değerlendirildi. Grup 1-2-3-4'e ait testis incelendiğinde, seminifer tübül SKH'lerinde, spermatositler ve erken evre spermatidlerde kuvvetli (⁺⁺⁺) ekspresyon görüldü. Tüm

gruPlarda Sertoli hücreleri ile Leydig hücrelerinde immunoreaktivite saptanmadı. THY1 protein ekspresyonu gruplar içinde karşılaştırmada bir anlamlılık gözlenmedi.



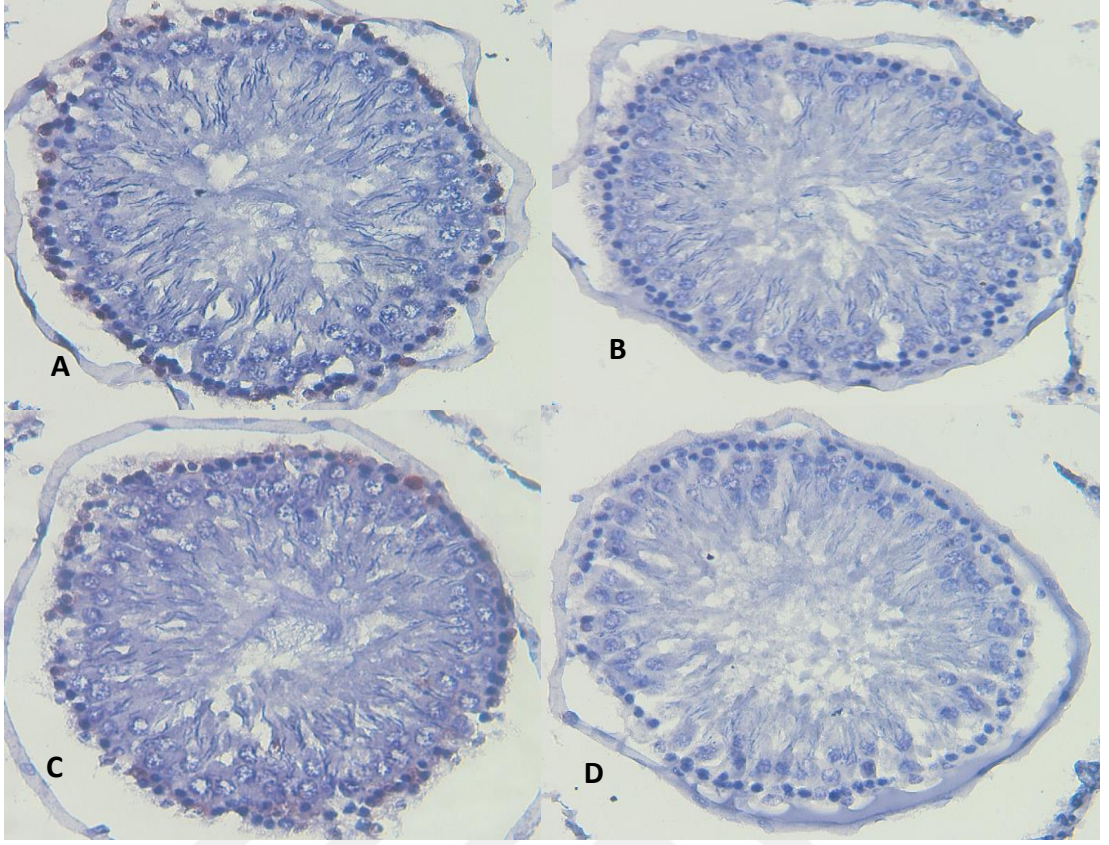


Resim 4.3.1. THY1 ekspresyonu (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4) x20.

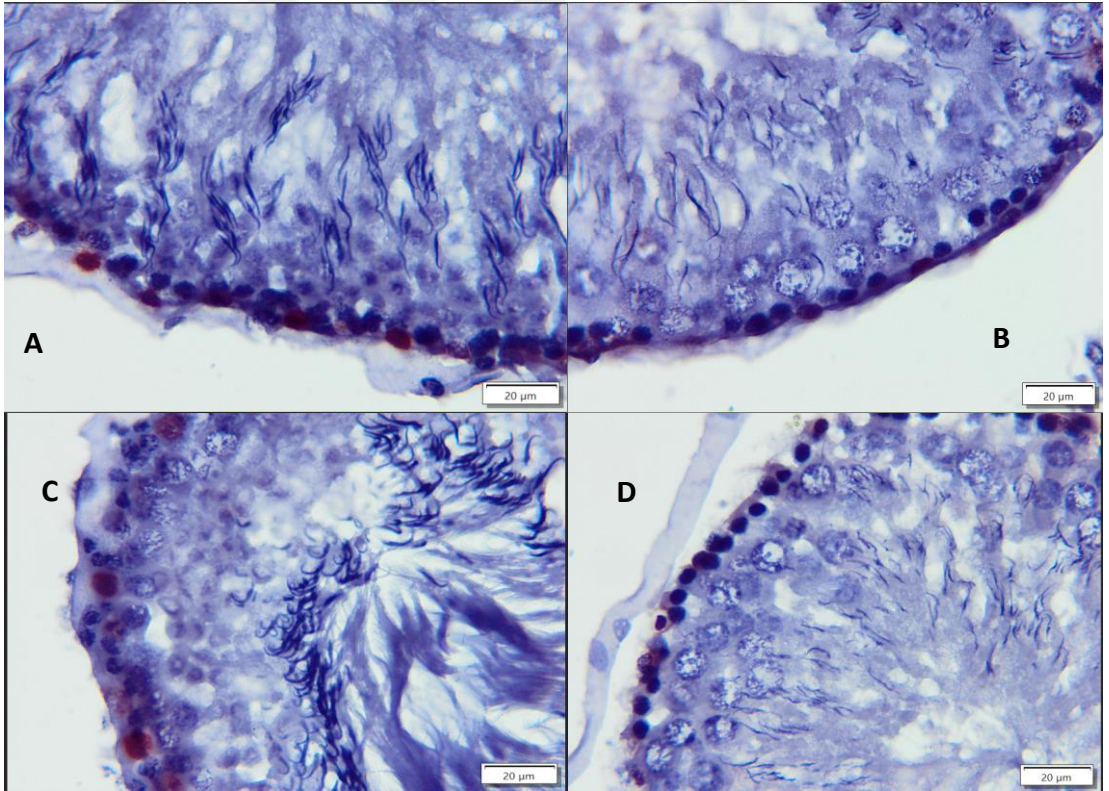


Resim 4.3.2. THY1 ekspresyonu (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4) x100.

Tüm deney grupları arasındaki testis dokusu immün-boyanma bulgularını belirlemek amacıyla, SOX3 ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle değerlendirildi. Grup 1'e ait testis incelendiğinde, seminifer tübül SKH'lerinde, kuvvetli (+++) ekspresyon görülürken, Grup 2'ye ait testis dokusu incelendiğinde SOX3 immüno pozitifliğin azaldığı gözlemlendi. Seminifer tübül SKH'lerinde, (++) orta derece ekspresyon saptandı. Grup 3'ye ait testis dokusu incelendiğinde SOX3 immüno pozitifliğin Grup 1'e benzer şekilde gözlemlendi. Seminifer tübül SKH'lerinde, kuvvetli (+++) ekspresyon saptandı. Grup 4'ye ait testis dokusu incelendiğinde Grup 2'de azalmış olan immüno pozitiflikte önemli bir farklılık gözlemlenmedi. Seminifer tübül SKH'lerinde, orta derece (++) ekspresyon saptandı. Tüm gruplarda Sertoli hücreleri ile Leydig hücrelerinde immunoreaktivite saptanmadı. SOX3 protein ekspresyonu gruplar içinde karşılaştırmada bir anlamlılık gözlemlenmedi.



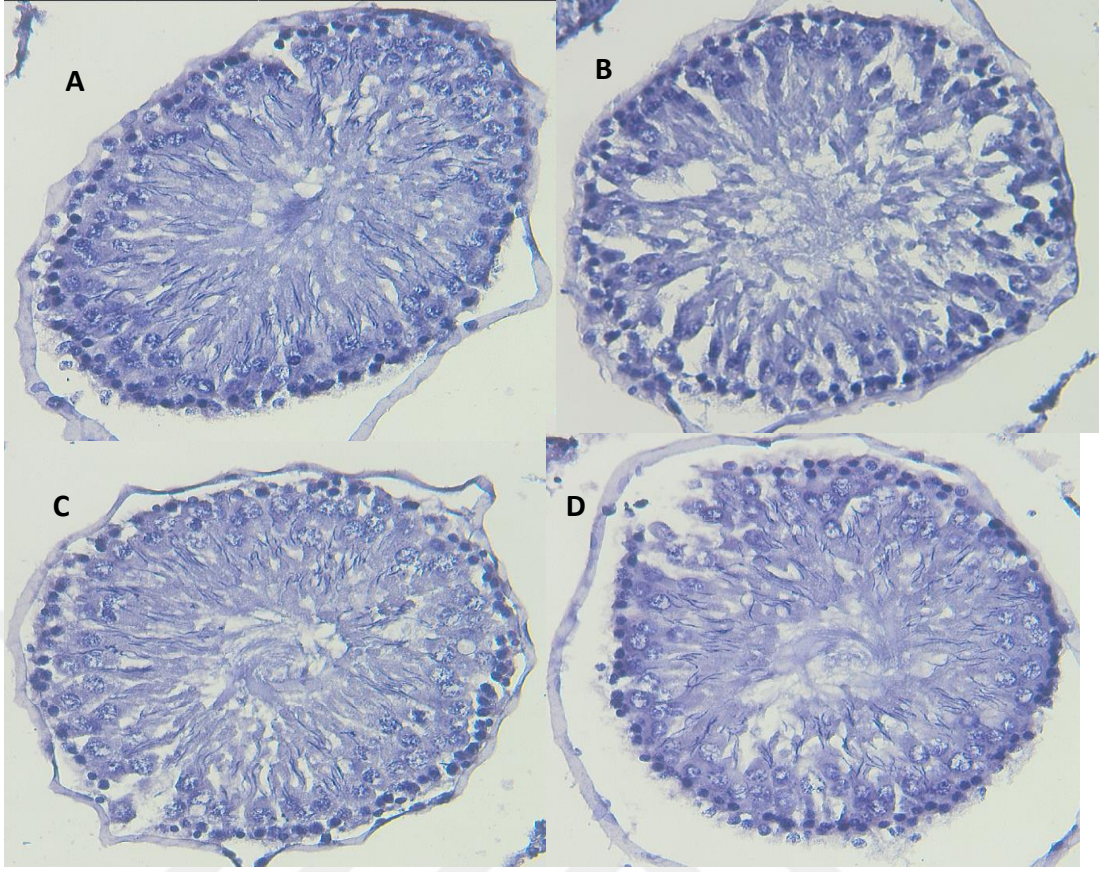
Resim 4.3.3. SOX3 ekspresyonu (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4), x20.



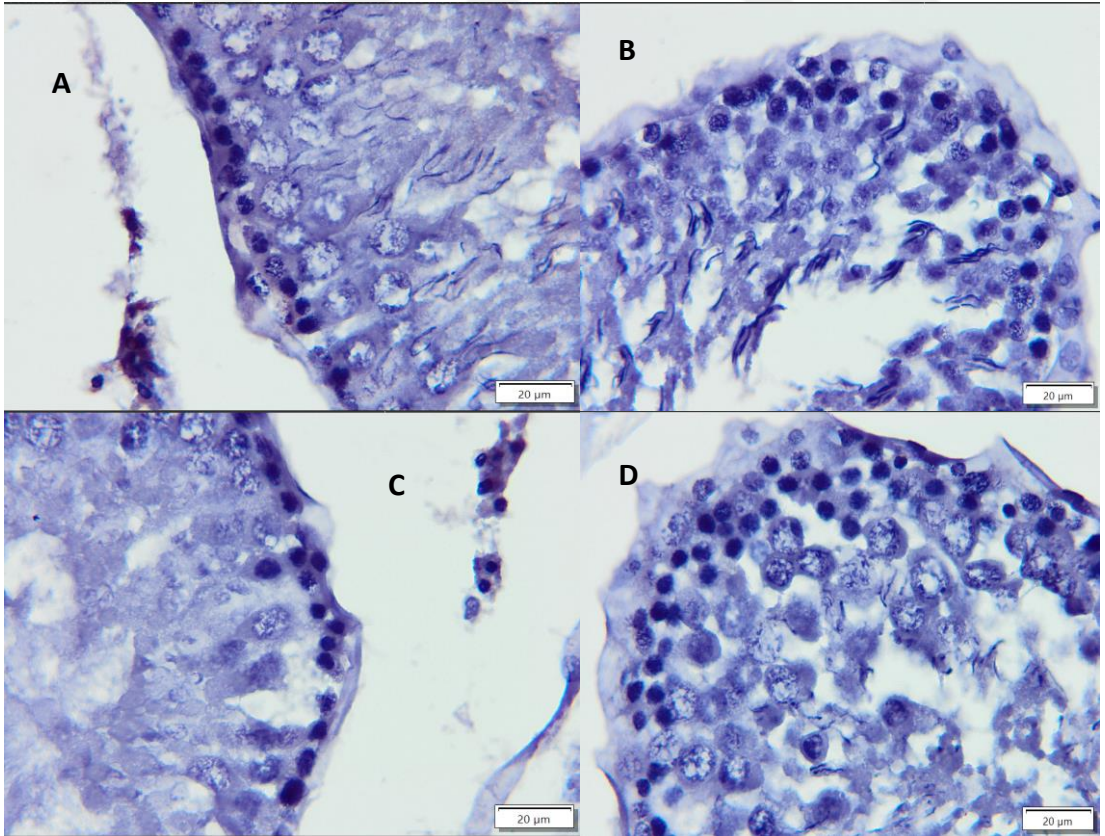
Resim 4.3.4. SOX3 ekspresyonu (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4), x100.

Tüm deney grupları arasındaki testis dokusu immün-boyanma bulgularını belirlemek amacıyla, PLZF ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle değerlendirildi. Grup1'e ait testis incelendiğinde, seminifer tübül SKH'lerinde, orta (++) ekspresyon görülürken diğer tüm seminifer tübül hücrelerinde negatif boyanma gözlemlendi. Grup 2-3-4 'e ait testis dokusu incelendiğinde immüno pozitifliğin Grup 1' e benzer şekilde gözlemlendi. PLZF protein ekspresyonu gruplar içinde karşılaştırmada bir anlamlılık gözlemlenmedi.





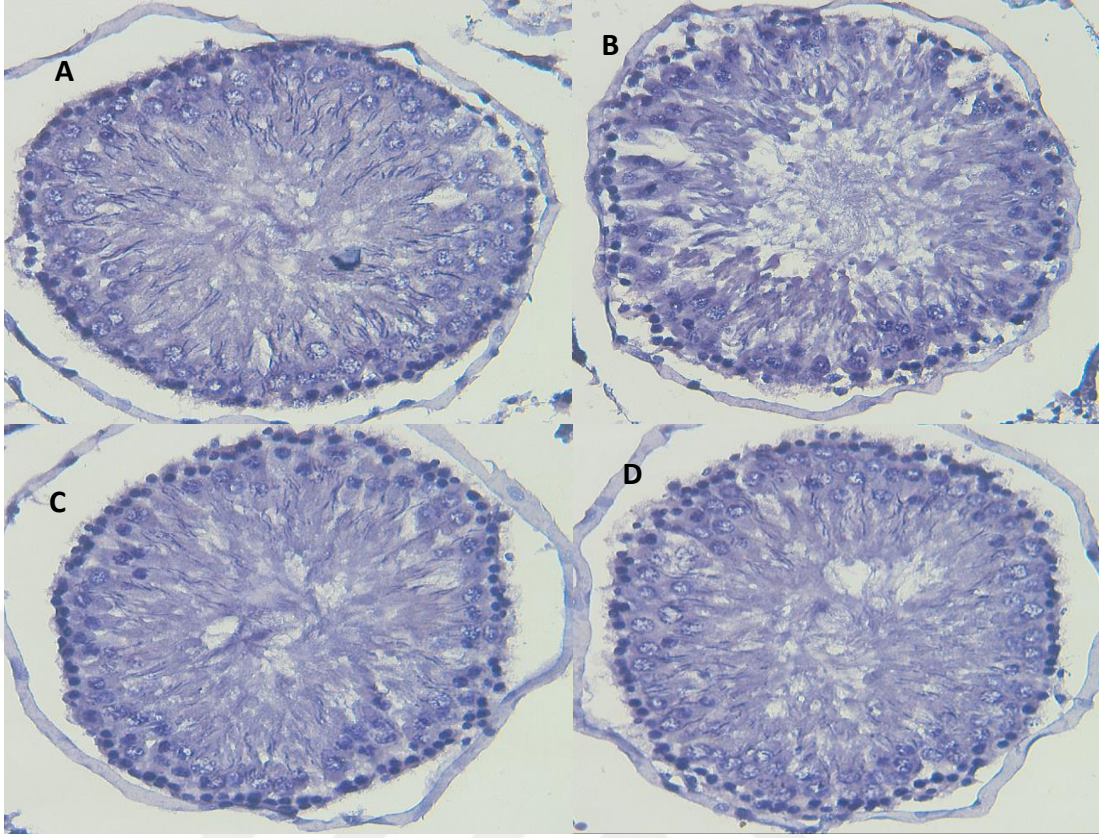
Resim 4.3.5. PLZF ekspresyonu (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4), x20.



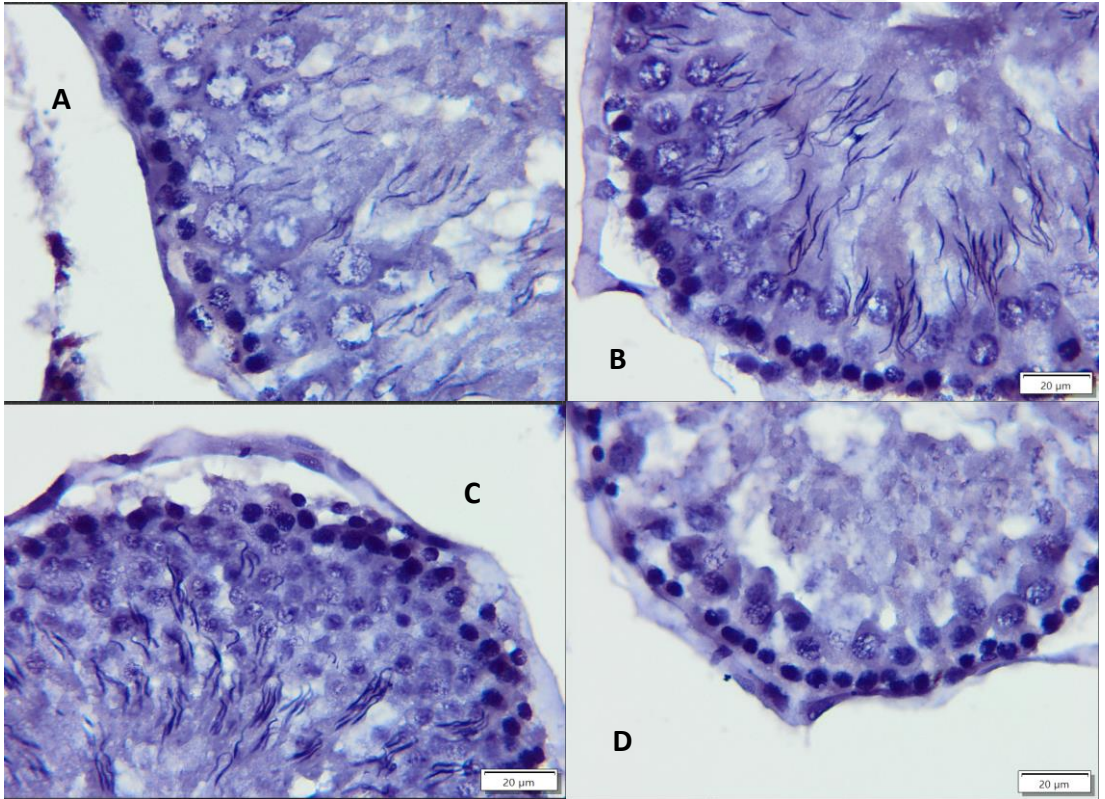
Resim 4.3.6. PLZF ekspresyonu (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4), x100.

Tüm deney grupları arasındaki testis dokusu immün-boyanma bulgularını belirlemek amacıyla, GDNF ekspresyonu immünohistokimyasal yöntemle değerlendirildi. Grup1'e ait testis incelendiğinde, seminifer tübül SKH'lerinde, çok orta (⁺⁺) ekspresyon görülürken diğer tüm seminifer tübül hücrelerinde negatif boyanma gözlemlendi. Grup 2-3-4 'e ait testis dokusu incelendiğinde immüno pozitifliğin Grup 1' e benzer şekilde gözlemlendi. GDNF protein ekspresyonu gruplar içinde karşılaştırmada bir anlamlılık gözlemlenmedi.





Resim 4.3.7. GFRA1/GDNF ekspresyonu (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4), x20.



Resim 4.3.8. GFRA1/GDNF ekspresyonu (A: Grup 1, B: Grup 2, C: Grup 3, D: Grup 4), x100.

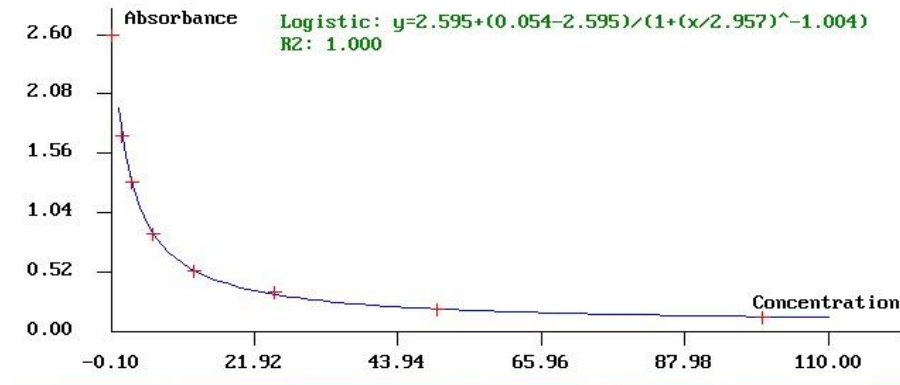
4.4. Biyokimyasal Bulgular

Tüm deney gruplarının tiroid fonksiyon testleri sonuçları (TSH, ft3, ft4) 5-6'da gösterilmiştir. Tüm deney gruplarındaki hayvanların TSH sonuç karşılaştırmasına göre; Kontrol grubu (Grup 1) ratların TSH değerleri normal standart değerlerde sonuç vermiştir. Kontrol grubuna kıyasla sadece KoenzimQ10 takviye edilen ratlarda (Grup 3) TSH değerlerinde azalma tespit edilmiştir. 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) ile indüklenen Grup 2'de hipotiroidiye bağlı TSH artışı, Grup 2'ye kıyasla, PTU ve KoenzimQ10 takviye edilen Grup 4'te ise TSH değerlerinde önemli azalma tespit edilmiştir.

Tablo 4.4.1. Deney hayvanı TSH (mIU/ml) sonuçları (P=0,000. Fark var).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 1(n:7)	2,03	1,06	0,40
Grup 2(n:7)	7,46 ^a	1,94	0,73
Grup 3(n:7)	1,32	1,06	0,40
Grup 4(n:7)	3,53	3,1	1,17

Tüm deney gruplarına ait veriler istatistiksel açıdan anlamlı kabul edilmiştir (p=0,000).



Resim 4.4.1. TSH Absorbans/konsantrasyon grafiği.

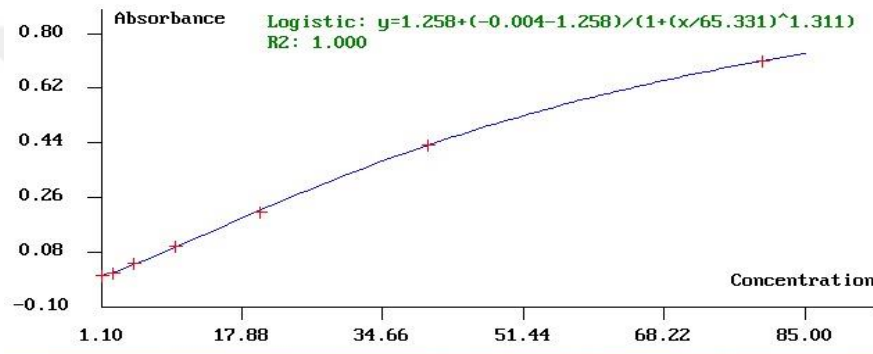
Tüm deney gruplarındaki hayvanların ft3 sonuç karşılaştırmasına göre; Kontrol grubu (Grup 1) ratların ft3 değerleri normal standart değerlerde sonuç vermiştir. Kontrol grubuna kıyasla sadece KoenzimQ10 takviye edilen ratlarda (Grup 3) ft3 değerlerinde artış tespit edilmiştir. 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) ile indüklenen Grup 2'de hipotiroidiye bağlı ft3 düşüklüğü, Grup 2'ye kıyasla, PTU ve

KoenzimQ10 takviye edilen Grup 4'te ise fT3 değerlerinde önemli artış tespit edilmiştir.

Tablo 4.4.2. Deney hayvanı fT3 (pg/ml) sonuçları (P=0,003. Fark var).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 1(n:7)	10,05 ^a	3,57	1,59
Grup 2(n:7)	6,85 ^a	2,21	0,99
Grup 3(n:7)	18,32 ^b	6,66	2,97
Grup 4(n:7)	8,44 ^a	2,91	1,30

Tüm gruplar arasında istatistiksel açıdan fark gözlenmiştir (p=0,003).



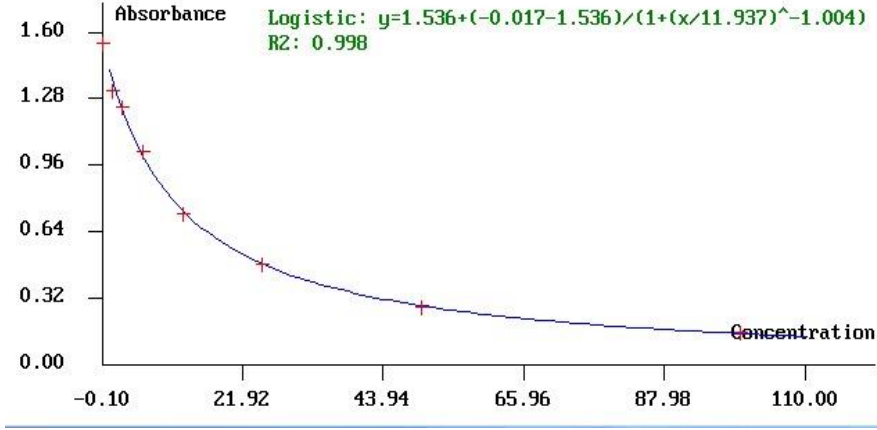
Resim 4.4.2. fT3 Absorbans/konsantrasyon grafiği.

Tüm deney gruplarındaki hayvanların fT4 sonuç karşılaştırmasına göre; Kontrol grubu (Grup 1) ratların fT4 değerleri normal standart değerlerde sonuç vermiştir. Kontrol grubuna kıyasla sadece KoenzimQ10 takviye edilen ratlarda (Grup3) fT4 değerlerinde artış tespit edilmiştir. 6-n-propyl-2-thiouracil (PTU) ile indüklenen Grup 2'de hipotiroidiye bağlı fT4 değerinde azalış, Grup 2'ye kıyasla, PTU ve KoenzimQ10 takviye edilen Grup 4'te ise fT4 değerlerinde önemli artış tespit edilmiştir.

Tablo 4.4.3. Deney hayvanı fT4 (pg/ml) sonuçları (P=0,000. Fark var).

Gruplar	Ortalama	S. sapma	S. hata
Grup 1(n:7)	5,74 ^a	1,33	0,50
Grup 2(n:7)	1,42 ^b	0,4	0,15
Grup 3(n:7)	8,15 ^c	1,63	0,61
Grup 4(n:7)	2,19 ^b	0,71	0,29

Tüm gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir (p=0,000).



Resim 4.4.3. fT4 Absorbans/konsantrasyon grafiği.

Bu araştırmada (her ne kadar CoQ10 düzeyi  l  lmediyse de); CoQ10 verilen Grup 3'de, Grup 1'e göre serum TSH, fT3, fT4 düzeylerinin önemli bir farklılık göstermesi; PTU ile birlikte CoQ10 verilen Grup 4'de, Grup 2'ye göre serum TSH, fT4 düzeyinin önemli bir farklılık göstermesi, CoQ10'un hipotiroidizm nedeniyle değişen serum TSH, fT3, fT4 düzeylerinin düzeltilmesinde etkili olabileceği fikrini vermiştir.

5. TARTIŞMA

Memelilerde tiroid disfonksiyonu pek çok doku ve organda kötü sonuçlara yol açar. Bununla beraber tiroid disfonksiyonun erkek üreme sistemine etkileri yıllardır tartışmalıdır. İlk bulgular, testislerin tiroid hormonları ve bunların etkilerinden bağımsız olduğudur (Barker ve Klitgaard 1952). Ancak, sonraki bulgular tiroid hormonlarının, testislerin gelişiminde önemli bir düzenleyici olduğu ve seminifer tübüllerin yapı ve fonksiyonel özelliklerinde kritik bir rol aldığı bildirilmiştir (Wagner ve ark. 2009). Testiste tiroid hormon reseptörlerinin ekspresyonu hem RT-PCR ile hem de protein düzeyinde kesinleşmiştir (Jannini 1995; Jannini ve ark. 2000). T3'ün testiküler gelişim sırasında testisin olgunlaşmasını düzenlediği, Sertoli hücrelerinin, Leydig hücrelerinin çoğalmasını ve farklılaşmasını kontrol ettiği bildirilmiştir (Holsberger ve ark. 2005). Fare Leydig hücrelerinde yapılan bir çalışmada, hücrelerde uzun süre T3 hormon muamelesinin steroidogenezi baskıladığı bildirilmiştir (Manna ve ark. 2001). Mendulek ve ark. (2010) çalışmasında semene eklenen T4 hormonunun, sperm motilitesini pozitif olarak düzenlediği (artırdığı) gösterilmiştir. Uzun süreli hipotiroidizm oluşturulmuş yetişkin farelerde germ hücrelerinde sayısında azalma ve epididim canlı sperm yüzdesinde önemli bir oranda azalma saptanmıştır (Maran ve Aruldas 2002; Sahoo ve ark. 2007). Benzer şekilde bizim çalışmamızda oluşturulan deneysel hipotiroidi modeli H.E. boyaması yapılarak değerlendirilen histopatolojik incelemede, PTU ile indüklenen Grup 2'de testis seminifer tübül germ hücre sayısında azalma ve spermatogenik seri hücreler arasında açılmalar şeklinde yapı bozuklukları gözlenmiştir.

Hipotiroidizmin insan spermatogenezi ve fertilitesine etkisi üzerine mevcut literatürde çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Griboff (1962), primer hipotiroidizmi olan beş hastayı araştırdığında, hastalarda sperm motilite kaybı olduğunu ortaya çıkarmıştır. De la Balze ve ark. (1962) yetişkin hipotiroid erkeklerin testis biyopsilerinin anormal histolojik yapı sergilediğini bildirmişlerdir. Prepubertel dönemde ortaya çıkan tiroid yetmezliğinin anormal testis biyopsileri ile sonuçlandığı sonucuna varmışlardır. Wortman ve ark. 'larının araştırmasında hipotiroidili sekiz erkek hastanın hepsinde hipogonadizm, yedisinde testiküler atrofi görülmüştür. Araştırmacılar, primer hipotiroidizmi olan erkeklerde gonadal fonksiyon anormalliklerinin yaygın olduğu sonucuna varmışlardır. Yakın zamanda Krassas ve ark. (2008) hipotiroidizmin erkek spermatogenezi üzerine etkilerini prospektif

kontrollü bir şekilde araştırmışlardır. Toplam 25 hipotiroid erkek ve 15 normal birey, semen analizi, fruktoz ve asit fosfataz ölçümleri, teratozoospermi indeksi ve T4 ile tedaviden hem önce hem de 6-9 ay sonra araştırılmıştır. Araştırma sonucunda, hipotiroidizmin insan spermatogenezi üzerinde olumsuz bir etkiye sahip olduğu ve büyük ölçüde etkilenen tek parametrenin sperm morfolojisi olduğudur.

SKH'ler spermatogenez için gereklidir ve bu yetişkin doku kök hücreleri, testisin biyolojik talebini karşılamak için kendi kendini yenileme ve farklılaşmayı dengeler. SKH'lerin gelişim dinamikleri, kısmen Sertoli hücreleri arasında yer alan seminifer tübüllerin bazal membranında bulunan kök hücre nişindeki faktörler tarafından kontrol edilmektedir (Brinster ve Zimmermann 1994; Brinster ve Avarbock 1994; Kubota ve ark. 2004). Son yıllarda deney hayvanı ve insan SKH izolasyonu, karakterizasyonu ve transplantasyonu üzerine yapılan birçok araştırma SKH biyolojisini anlamayı sağlamış, reproduktif/rejeneratif tıptaki geniş kullanım potansiyeliyle dikkat çekmiştir. Özellikle erkek infertilite tedavisi üzerine yapılmış olan çalışmalar, umut vadeden niteliktedir (Sadri-Ardekani ve ark. 2009; Sadri-Ardekani ve ark. 2011; Hou ve ark. 2015). Son yapılan çalışmalarda farelerin SKH fenotipik biyobelirteçleri hakkında oldukça fazla bilgi elde edilmiştir. İnsan ve fare SKH'lerinde görülen biyobelirteçlerden; THY1, PLZF, GFRA1, SOX3 saptanmıştır (He ve ark. 2010).

THY1 (Thymocyte differentiation antigen 1) / CD90 (Cluster of Differentiation 90), HSC (hematopoietik kök hücre)'lerde eksprese edilen, Ig (Immüoglobulin) süper ailesinin bir glikosil fosfatidil inositol bağlantılı glikoproteinidir (Goldscneider ve ark. 1978; Spangrude ve ark. 1988; Baum ve ark. 1992). İlk olarak bir timosit antijeni olarak keşfedilmiştir (Reif ve Allen 1964). THY1, çeşitli kök hücreler ve nöronların aksonal gelişimi için belirteç olarak kabul edilir (Maason ve ark. 2006). Genel olarak türler arasında farklılık göstersede THY1'in eksprese olduğu bildirilen hücreler; timositler, nöronlar, mezenkimal kök hücreler, hematopoietik kök hücreler, NK hücreler, T hücreleri, yüksek endotelial venüller endoleli, renal glomerüler mezangial hücreler, dolaşımdaki metastatik melanom hücreleri, foliküler dendritik hücreler, fibroblastlar ve miyofibroblastlar'dır (Reif ve Allen 1964; Ades ve ark. 1980; McKenzie ve Fabre 1981; Kemshead ve ark. 1982; Pont 1987; Kubota ve ark. 2003; Wu ve ark. 2013; Valli ve ark. 2014; Zheng ve ark. 2014). Kanatsu-Shinohara ve ark. (2004) fare testis hücrelerinin değerlendirilmesinde

germ-line kök hücreler ve sub-populasyonlarında THY1'i saptamışlardır. He ve ark. (2010) insan hücre kültürü çalışmasında, az sayıda spermatogonyumun plazma membranında THY1 lokalizasyonunu saptamışlardır. Başka bir çalışmada Reding ve ark. (2010) farklılaşmamış spermatogonyumlarda THY1'in eksprese edildiğini bildirmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise, bahsedilen mevcut çalışmalara paralel olarak spermatogonyumlarda kuvvetli ekspresyon gözlemledik. Ayrıca, literatür verilerden farklı olarak ekspresyonun spermatositler (I ve II) ve erken evre spermatidlerde de devam ettiğini izledik. Tüm gruplarda yakın bir nükleer pozitif ekspresyon gözlemledik. Bu veriler, KoenzimQ10'in hipotiroidi durumunda THY1 immüno-reaktivitesini etkilemediğine işaret etmektedir.

PLZF (Promyelocytic leukemia zinc finger) proteini, ZBTB16 veya ZFP145 olarak da bilinir. İlk olarak akut promiyelositiklösemik hücrelerin kromozomal translokasyonlarında Rara (retinoicacidreceptor- α) geni ile bir füzyon ürünü olarak tanımlanmıştır (Costoya ve Pandolfi 2001). Daha sonra embriyogenez sırasında dinamik olarak eksprese edilen, gelişmekte olan uzuv ve eksenel iskelet yapılarının modellenmesi için gerekli olduğu bulunmuştur (Cook ve ark. 1995; Barna ve ark. 2000). Hücre döngüsünün G0/G1 evresinde büyümeyi baskılayıcı aktivite de rol alır (Shaknovich 1998). Testisteki rolü, kök hücrelerinin bakımı ve farklılaşması arasındaki normal denge için gereklidir (Buass ve ark. 2004; Costoya ve ark. 2004). Buass ve ark. (2004), Genetik manipülasyonlarla (luxoidmutant) Zfp145 geni çıkarılmış farelerde yapılan çalışmada, spermatogenik arrestle birlikte Spermatogenik kök hücrelerin tamamen yok olduğu bildirilmiştir. Bu araştırmaya benzer şekilde Costoya ve ark. (2004) Zfp145^{-/-} (etkisizleştirilmesi) fare testislerinde Sertoli hücrelerinin kaybı olmaksızın apoptozda artış, yaşla birlikte ilerleyici bir spermatogonia kaybı gözlemlemişlerdir. PLZF'yi, kendi kendini yenilemeyi ve kök hücre havuzunun bakımını düzenlemek için gerekli olan, testiste spermatogonia'ya özgü bir transkripsiyon faktörü olarak tanımlamışlardır. PLZF spesifik olarak spermatogonia'da eksprese edildiğinden, PLZF'nin SKH'leri korumak için hücreyi otonom olarak işlev görmesi muhtemeldir; PLZF, farklılaşmamış spermatogonia'nın bir biyobelirteçi olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Philips ve ark. 2010). Bizim çalışmamızda ise, mevcut literatürdeki araştırmalara benzer şekilde PLZF ekspresyonu spermatogonyumlarda sınırlı kalmıştır. Gruplar arasında PLZF ekspresyon değerlendirmesinde bir fark gözlenmedi. Bu durum Hipotiroidi

durumunda testis SKH'lerinin PLZF ekspresyonunda bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Buna benzer şekilde KoenzimQ10'in hipotiroidi durumunda PLZF immüno-reaktivitesini etkilemediğini işaret etmektedir.

SOX3, SRY ile ilişkili HMG-box (high mobility group) ailesinin üyesi olan bir transkripsiyon faktörüdür (Kamachi ve Kondoh 2013). SOX3, nöral progenitör hücrelerde ve gonadlarda eksprese edilir (Collignon 1996; Shen 2002). SOX3, yaygın olarak beyin gelişimi ve işleviyle ilgili olarak çalışılmış olsada, spermatogenez için de önemlidir (Rizzoti ve ark. 2004). Testis içinde, SOX3 ifadesinin tam yeri belirsizdir. SOX3'ün embriyonik gonadın somatik hücrelerinde ve yetişkin testisin Sertoli hücrelerinde eksprese edildiği öne sürülmüştür (Shen ve Ingraham 2002; Collignon ve ark. 1996). Öte yandan, SOX3, kuş embriyolarının ilkel germ hücrelerinde (Uchikawa ve diğerleri, 1999) ve farelerde spermatogonia'nın bir alt kümesinde (Rizzoti ve ark. 2004) tespit edilmiştir. Weiss ve ark. (2003) SOX3'ün etkisizleştirilmesi ile yapılan mutant fare çalışmalarında küçük testis, seminifer tübül defektlerini bildirmişlerdir. Bununla birlikte, 129 Sv/Ev farelerinde SOX3 geninin silinmesi, cinsiyet tayinine bir etkisi olmazken, hipotalamik/hipofiz gelişiminde kusurlar gözlemlendi (Weiss ve ark. 2003; Rizzoti ve ark. 2004). Bizim çalışmamızda kontrol grubunda spermatogonyumlarda yoğun nükleer eksprese olan SOX3 proteini, hipotiroidi grubunda ekspresyonun azaldığı gözlemlendi. Bu durum hipotiroidideki SOX3 proteininin down regülasyonu sonucu spermatogonial farklılaşma regülasyonundaki bozulmadan kaynaklanabileceğini düşündürmektedir. Kontrol grubuna kıyasla, koenzimQ10 takviye edilen grup arasında ve Hipotiroidi grubuna kıyasla koenzimQ10 takviyesi ile tedavi edilen gruplar arasında SOX3 ekspresyon değerlendirmesinde önemli bir fark gözlenmedi.

GDNF (glial cell line-derived neurotrophic factor), GDNF ligand ailesinin dört (GDNF, NRTN, ARTN, PSPN) nörotrofik faktöründen biridir (Transforming büyüme faktörü ailesinin bir üyesidir). Hücre farklılaşması, hücre göçü, nörit büyümesi, dopaminerjik nöronların ve hücrenin hayatta kalması dahil birçok biyolojik süreçte rol alır (Airaksinen ve Saarma 2002). Ayrıca Parkinson hastalığı klinik çalışmasında umut verici sonuçlar göstermiştir (Gill ve ark. 2003). Testiste GDNF, Sertoli hücreleri tarafından üretilir (Truppve ark. 1995; Golden ve ark. 1999; Meng ve ark. 2000; Viglietto ve ark. 2000). GDNF reseptörü olan GFRa-1(GDNF family receptor alpha-1), seminifer tübül epitelinin bazal kısmında A tipi spermatogonia'nın

alt kümesi tarafından eksprese edilmektedir. GDNF, SKH'ler tarafından ifade edildiği düşünülen GDNF ailesi reseptörü a1'i (GFRA1) içeren bir reseptör kompleksi aracılığıyla sinyal verir. GDNF ekspresyonunun bozulması, spermatojenik kusurlara ve infertiliteye neden olur (Bugeaw ve ark. 2005). GDNF'nin spermatogonial proliferasyon ve farklılaşma olgularında ana indükleyici (belirleyici) rolü bulunmaktadır (Hofmann ve ark. 2005). GDNF, SKH'leri kendini yenileme-farklılaşma aktivitelerini dengeleyerek spermatogenezisi düzenlemektedir. GDNF'in SKH populasyonunun korunması noktasındaki önemine ilişkin en etkili çalışma Meng ve ark. (2000) tarafından yapılmıştır. Çalışmada GDNF'den yoksun farelerde SKH kaynaklarının tükendiğini, GDNF'in aşırı ekspresyonu durumunda ise farklılaşmamış spermatogonialarda bir birikme olduğunu ve SKH büyüklüğünün düzenlenmesinin GDNF/FSH tarafından kontrol edildiği bildirilmiştir. Bizim araştırmamızda da mevcut literatürdeki araştırma paralel olarak GDNF ekspresyonu spermatogonyumlarda sınırlı kalmıştır. Gruplar arasında GDNF ekspresyon değerlendirmesinde bir fark gözlenmiştir. Bu durum hipotiroidi durumunda testis SKH'lerinin GDNF ekspresyonunda bir etkisinin olmadığını göstermektedir. Buna benzer şekilde KoenzimQ10'in hipotiroidi durumunda GDNF immüno-reaktivitesini etkilemediğini işaret etmektedir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Hipotiroidi vakalarında mevcut literatürde testis dokusu üzerine çok az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmada, deneysel hipotiridi oluşturulmuş erişkin *Wistar albino* türü ratlarda CoQ10 takviyesinin testis dokusu üzerine etkileri, immünohistokimyasal, biyokimyasal, morfolojik yöntemlerle araştırıldı. Ayrıca deney süresince her hafta tüm deney gruplarındaki ratların ağırlıkları ölçüldü.

Hipotiroidi oluşturulan grupta, Hipotiroidizme bağlı seminifer tübül hasarı ve dejenerasyon gözlemlendi. Hipotiroidi sonrası verilen Koenzim Q10'nin, testis dokusunda spermatogenezi etkilemiştir. Testis seminifer tübülünde gözlenen değişikliklere rağmen interstisyel aralıkta bulunan Leyding hücreleri dahil, diğer hücrelerde gruplar arasında histolojik açıdan hiçbir farklılık gözlenmemiştir. İmmünohistokimyasal değerlendirmede, SKH belirteçlerinden olan; PLZF, GDNF, THY1 ekspresyon değerlendirmesinde tüm gruplar arasında önemli bir fark gözlenmedi. THY1 ekspresyon değerlendirmesinde literatür verilerden farklı olarak THY1 ekspresyonunun spermatositler (I ve II) ve erken evre spermatidlerde de devam ettiği saptandı. SOX3 ekspresyon değerlendirmesinde hipotiroidi gruplarında ekspresyonun çok aza indiği gözlemlendi. CoQ10 takviyesi yapılan 30 günlük hipotiroidi sonunda, biyokimyasal çalışmalarda serum TSH düzeylerini düşürdüğü, fT3 ve fT4 değerlerini artırdığı saptanmıştır.

30 günlük deneysel hipotiroidi sonunda biyokimyasal, morfolojik ve immünohistokimyasal değerlendirmelerde Hipotiroidi durumunda, muhtemelen kısa süreli deney süresine bağlı olarak, CoQ10'in tüm SKH belirteçlerinde immüno-reaktivite değerlendirmesinde gruplar arasında net bir farklılık ve ilişki gözlenmemiştir. CoQ10 takviyesi, serum TSH, fT3 ve fT4 değerlerini düzelterek terapötik fayda özelliği göstermiştir.

7. KAYNAKLAR

- Ades EW, Zwerner RK, Acton RT, Balch CM. Isolation and partial characterization of the human homologue of Thy-1. *J Exp Med*. 1980; 151(2): 400-6.
- Agarwal A, Parekh N, Panner Selvam MK, Henkel R, Shah R, et al. Male oxidative stress infertility (MOSI): proposed terminology and clinical practice guidelines for management of idiopathic male infertility. *World J Men's Health*. 2019; 37: 296-312.
- Ahmadi S, Bashiri R, Ghadiri-Anari A, Nadjarzadeh A. Antioxidant supplements and semen parameters: an evidence-based review. *Int J Reprod Biomed*. 2016; 14: 729-36.
- Airaksinen M, Saarma M. The GDNF family: signaling, biological functions and therapeutic value. *Nat Rev Neurosci*. 2002; 3(5): 383-94.
- Aktümsek A. Genel Endokrinoloji. Inc. 2020, 1. Baskı, Ankara, Türkiye, p: 59-86.
- Alahmar AT. The effects of oral antioxidants on the semen of men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia. *Clin Exp Reprod Med*. 2018; 45(2): 57-66.
- Alleva R, Scaramucci A, Mantero F, Bompadre S, Leoni L, et al. The protective role of ubiquinol-10 against the formation of lipid hydroperoxides in human seminal fluid. *Molecaspectsmed*. 1997; 18: 221-8.
- Arafa M, Agarwal A, Majzoub A, Selvam MK, Baskaran S, et al. Efficacy of antioxidant supplementation on conventional and advanced sperm function tests in patients with idiopathic male infertility. *Antioxidants (Basel)*. 2020; 9: 219.
- Balercia G, Buldreggini E, Vignini A, Tiano L, Paggi F, et al. Coenzyme Q10 treatment in infertile men with idiopathic asthenozoospermia: a placebo-controlled, double-blind randomized trial. *Fertil Steril*. 2009a; 91(5): 1785-92.
- Balercia G, Mancini A, Paggi F, Tiano L, Pontecorvi A, et al. Coenzyme Q10 and male infertility. *J Endocrinol Invest*. 2009b; 32(7): 626-32.
- Balercia G, Mancini A, Tirabassi G, Pontecorvi A. Coenzyme Q10 in male infertility. In: *antioxidants in andrology*. Springer. 2017: 43-57.
- Barker SB, Klitgaard HM. Metabolism of tissues excised from thyroxine-injected rats. *Am J Physiol*. 1952; 170(1): 81-6.
- Barna M, Hawe N, Niswander L, Pandolfi PP. Plzf regulates limb and axial skeletal patterning. *Nat. Genet*. 2000; 25: 166-72.
- Baum CM, Weissman IL, Tsukamoto AS, Buckle AM, Peault B. Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population. *Proc. Natl. Acad. Sci*. 1992; 89: 2804-8.
- Brinster RL, Avarbock MR. Germ line transmission of donor haplotype following spermatogonial transplantation. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994; 91: 11303-7.
- Brinster RL, Zimmermann JW. Spermatogenesis following male germ-cell transplantation. *Proc Natl Acad. Sci USA*. 1994; 91: 11298-302.
- Buaas FW, Kirsh AL, Sharma M, McLean DJ, Morris JL, et al. Plzf is required in adult male germ cells for stem cell self-renewal. *Nat. Genet*. 2004; 36: 647-52.
- Buageaw A, Sukhwani M, Ben-Yehudah A, Ehmcke J, Rawe VY, et al. GDNF family receptor alpha1 phenotype of spermatogonial stem cells in immature mouse testes. *Biol. Reprod*. 2005; 73: 1011-6.
- Can A. Kök Hücre Biyolojisi Türleri ve Tedavide Kullanımları, Inc. 2014, 1. Baskı, Ankara, Türkiye, p: 577-86.
- Chehab M, Madala A, Trussell JC. On-label and off-label drugs used in the treatment of male infertility. *Fertil Steril*. 2015; 103: 595-604.
- Cluis CP, Burja AM, Martin VJ. Current prospects for the production of coenzyme Q10 in microbes. *Trends Biotechnol*. 2007; 25(11): 514-21.

- Collignon J, Sockanathan S, Hacker A, Cohen-Tannoudji M, Norris D, et al. A comparison of the properties of Sox-3 with Sry and two related genes, Sox-1 and Sox-2. *Development*. 1996; 122: 509-20.
- Comhaire FH, Christophe AB, Zalata AA, Dhooge WS, Mahmoud AMA, et al. The effects of combined conventional treatment, oral antioxidants and essential fatty acids on sperm biology in subfertile men. *Prostaglandins Leukotrienes and Essential Fatty Acids*. 2000; 159-65.
- Comhaire Frank H, El Garem Y, Mahmoud A, Eertmans F, Schoonjans F. Combined conventional/antioxidant. "Astaxanthin" treatment for male infertility: A double blind, randomized trial. *Asian Journal of Andrology*. 2005; 257-62.
- Cook M, Gould A, Brand N, Davies J, Strutt P, et al. Expression of the zinc-finger gene PLZF at rhombomere boundaries in the vertebrate hindbrain. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1995; 92:2249-53.
- Cordero MD, Cano-García FJ, Alcocer-Gómez E, De Miguel M, Sánchez-Alcázar JA. Oxidative stress correlates with headache symptoms in fibromyalgia: coenzyme Q₁₀ effect on clinical improvement. *PLoS One*. 2012; 7(4): e35677.
- Costoya JA, Hobbs RM, Barna M, Cattoretti G, Manova K, et al. Essential role of Plzf in maintenance of spermatogonial stem cells. *Nat. Genet*. 2004; 36: 653-9.
- Costoya JA, Pandolfi PP. The role of promyelocytic leukemia zinc finger and promyelocytic leukemia in leukemogenesis and development. *Curr. Opin. Hematol*. 2001; 8: 212-7.
- Crane FL. Biochemical functions of coenzyme Q10. *J Am Coll Nutr*. 2001; 20(6): 591-8.
- Çelik Ö. Yardımcı Üreme Teknikleri Temel ve Klinik Embriyolojik Uygulamalar. Inc. 2011. 1. Baskı. Adana, Türkiye, p:59-60.
- Çelik Ö. Yardımcı Üreme Teknikleri Temel ve Klinik Embriyolojik Uygulamalar. Inc. 2011. 1. Baskı. Adana, Türkiye, p:129.
- Dahri M, Tarighat-Esfanjani A, Asghari-Jafarabadi M, Hashemilar M. Oral coenzyme Q10 supplementation in patients with migraine: Effects on clinical feature and inflammatory markers. *Nutr Neurosci*. 2019; 22(9): 607-15.
- Davis PJ, Goglia F, Leonard JL. Nongenomic actions of thyroid hormone. *Nat. Rev. Endocrinol*. 2016; 12: 111-21.
- De la Balze FA, Arrillaga F, Mancini RE, Janches M, Davidson OW, et al. Male hypogonadism in hypothyroidism: a study of six cases. *J Clin Endocrinol Metab*. 1962; 22: 212-22.
- Du J, Wang T, Huang P, Cui S, Gao C, et al. Clinical correlates of decreased plasma coenzyme Q10 levels in patients with multiple system atrophy. *Parkinsonism Relat Disord*. 2018; 57: 58-62.
- DuPlessis SS, Makker K, Desai NR, Agarwal A. Impact of oxidative stress on IVF. *Expert Review of Obstetrics and Gynecology*. 2008; 539-44.
- Festa R, Giacchi E, Raimondo S, Tiano L, Zuccarelli P, et al. Coenzyme Q10 supplementation in infertile men with low grade varicocele: an open, uncontrolled pilot study. *Andrologia*. 2014; 46(7): 805-7.
- Garrido-Maraver J, Cordero MD, Oropesa-Ávila M, Fernández Vega A, de la Mata M, et al. Coenzyme Q10 therapy. *Mol Syndromol*. 2014; 5(3-4): 187-97.
- Gartner LP, Hiatt JL. Hücre Biyolojisi ve Histolojisi, Inc. 2016, 1. Baskı, İstanbul, Türkiye, p: 228-31.
- Gartner LP, Hiatt JL. Hücre biyolojisi ve Histolojisi, Inc. 2016, 1. Baskı, İstanbul, Türkiye, p: 350-7.
- Ghanbarzadeh S, Garjani A, Ziaee M, Khorrami A. CoQ10 and L-carnitine attenuate the effect of high LDL and oxidized LDL on spermatogenesis in male rats. *DrugRes (Stuttg)*. 2014; 64(10): 510-5.
- Gill S, Patel N, Hotton G, O'Sullivan K, McCarter R, et al. Direct brain in fusion of glial cell line-derived neurotrophic factor in Parkinson disease. *Nat Med*. 2003; 9(5): 589-95.
- Golden J, Demaro J, Osborne P, Milbrandt J, Johnson EJ. Expression of neurturin GDNF and GDNF family-receptor RNA in the developing and mature mouse. *Exp Neurol*. 1999; 158: 504-28.

- Goldschneider I, Gordon LK, Morris RJ. Human Thy-1 antigen: cell surface expression on early T and B lymphocytes. *J Exp Med*. 1978; 148(5): 1351-66.
- Griboff SI. Semen analysis in myxedema. *Fertil steril*. 1962; 13; 436–43.
- Gual-Frau J, Abad C, Amengual MJ, Hannaoui N, Checa MA, et al. Oral antioxidant treatment partly improves integrity of human sperm DNA in infertile grade I varicocele patients. *Hum Fertil (Camb)*. 2015; 18: 225–9.
- Gvozdjáková A. Temel Mitokondriyal Tıp: Mitokondriyal Metabolizma Hastalıklar Teşhis ve Tedavi. Inc. 2019 Koçyiğit A, Baş M, editörs. Mitokondriyal “Spermatopati”. Celsus kitabevi. p:263-5.
- Hazlerigg D, Simonneaux V. Seasonal Regulation of Reproduction in Mammals, in Knobil and Neill’s Physiology of Reproduction, ed. Plant TM, Zeleznik AJ. 4th edition. Academic, San Diego. 2015; 1575-604.
- He Z, Kokkinaki M, Jiang J, Dobrinski I, Dym M. Isolation characterization and culture of human spermatogonia. *Biol Reprod*. 2010; 82: 363–72.
- Hidaka T, Fujii K, Funahashi I, Fukutomi N, Hosoe K. Safety assessment of coenzyme Q10 (CoQ10). *Biofactors*. 2008; 32(1-4): 199-208.
- Hofmann MC, Braydich-Stolle L, Dym M. Isolation of male germ-line stem cells. influence of GDNF. *Dev. Biol*. 2005; 279: 114–24.
- Holsberger DR, Kiesewetter SE, Cooke PS. Regulation of neonatal Sertoli cell development by thyroid hormone receptor alpha1. *Biol Reprod*. 2005; 73(3): 396- 403.
- Hosen MB, Islam MR, Begum F, Kabir Y, Howlader MZH. Oxidative stress induced sperm DNA damage a possible reason for male infertility. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*. 2015; 525–32.
- Hou J, Niu M, Liu L, Zhu Z, Wang X, et al. Establishment and characterization of human germline stem cell line with unlimited proliferation potentials and no tumor formation. *Sci Rep*. 2015; 20(5): 16922.
- <https://www.britannica.com/science/spermatogenesis>. 13.11.2022
- Jafari M, Mousavi SM, Asgharzadeh A, Yazdani N. Coenzyme Q10 in the treatment of heart failure: A systematic review of systematic reviews. *Indian Heart J*. 2018; 70(1): 111-7.
- Jannini EA, Crescenzi A, Rucci N, Screponi E, Carosa E, et al. Ontogenetic pattern of thyroid hormone receptor expression in the human testis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2000; 85(9): 3453-7.
- Jannini EA, Ulisse S, D'Armiento M. Thyroid hormone and male gonadal function. *Endocr Rev*. 1995; 16(4): 443-59.
- Kamachi Y, Kondoh H. Soxproteins: regulators of cell fatespecification and differentiation. *Development*. 2013; 140: 4129-44.
- Kanatsu-Shinohara M, Toyokuni S, Shinohara T. CD90 is a surface marker on mouse and rat male germline stemcells. *Biol. Reprod*. 2004; 70: 70–5.
- Kedziora-Kornatowska K, Czuczejko J, Motyl J, Szewczyk-Golec K, Kozakiewicz M, et al. Effects of coenzyme Q10 supplementation on activities of selected antioxidative enzymes and lipid peroxidation in hypertensive patients treated with indapamide. A pilot study. *Arch Med Sci*. 2010; 30; 6(4): 513-8.
- Kemshead JT, Ritter MA, Cotmore SF, Greaves MF. Human Thy-1: expression on the cell surface of neuronal and glial cells. *Brain Res*. 1982; 236(2): 451–61.
- Kierszenbaum AL. Endokrin Sistem. Histoloji ve Hücre Biyolojisi, Inc. 2006, Ankara, Türkiye, p:499.
- Knott A, Achterberg V, Smuda C, Mielke H, Sperling G, et al. Topical treatment with coenzyme Q10-containing formulas improves skin's Q10 level and provides antioxidative effects. *Bio factors*. 2015; 41(6): 383-90.
- Krassas GE, Papadopoulou F, Tziomalos K, Zeginiadou T, Pontikides N. Hypothyroidism has an adverse effect on human spermatogenesis: a prospective, controlled study. *Thyroid*. 2008; 18: 1255–9.

- Krassas GE, Poppe K, Glinioer D, Thyroid function and human reproductive health. *Endocr. Rev.* 2010; 31: 702–55.
- Kubota H, Avarbock MR, Brinster RL. Growth factor sessential for self-renewal and expansion of mouse spermatogonial stem cells. *Proc Natl Acad Sci.* 2004; 101: 16489–94.
- Kubota H, Avarbock MR, Brinster RL. Spermatogonial stem cells sharesome but not all phenotypic and functional characteristics with other stem cells. *Proc Natl Acad Sci.* 2003; 100(11): 6487-92.
- Ladenson PW, Singer PA, Ain KB, Bagchi N, Bigos ST, et al. American Thyroid Association guidelines for detection of thyroid dysfunction. *Arch Intern Med.* 2000; 12: 160 (11): 1573-5.
- Lafuente R, González-Comadrán M, Solà I, López G, Brassesco M, et al. Coenzyme Q10 and male infertility: a meta analysis. *J Assist Reprod Genet.* 2013; 30(9): 1147-56.
- Leaver RB. Male infertility: an overview of causes and treatment options. *Br J Nurs.* 2016; 25: 35–40.
- Lenzi A, Culasso F, Gandini L, Lombardo F, Dondero F. Andrology: Placebo-controlled, double-blind, cross-overtrial of glutathione therapy in male infertility. *Human Reproduction.*1993; 1657–62.
- Lewin A, Lavon H. The effect of Coenzyme Q10 on sperm motility and function. *Molec Aspect Med.* 1997; 18: 213-19.
- Littarru GP, Tiano L. Clinical aspects of coenzyme Q10: an update. *Nutrition.* 2010; 26(3): 250-4.
- Lopez-Lluch G, Del Pozo-Cruz J, Sánchez-Cuesta A, Cortés-Rodríguez AB, Navas P. Bioavailability of coenzyme Q10 supplements depends on carrier lipids and solubilization. *Nutrition.* 2019; 57: 133-40.
- Maheshwari R, Balaraman R, Kumar Sen A, Shukla D, Seth A. Effect of concomitant of coenzyme Q10 with sitagliptin on experimentally induced diabetic nephropathy in rats. *Renal failure.* 2017; 39(1): 130-9.
- Majzoub A, Agarwal A, Esteves SC. Antioxidantsforelevated sperm DNA fragmentation: a mini review. *Transl Androl Urol.* 2017; 6: 649–53.
- Mancini A, De Marinis L, Oradei A, Hallgass ME, Conte G, et al. Coenzyme Q10 concentrations in normal and pathological human seminal fluid. *J Androl.* 1994; 15(6): 591-4.
- Manna PR, Roy P, Clark BJ, Stocco DM, Huhtaniemi IT. Interaction of thyroid hormone and steroidogenic acute regulatory (StAR) protein in the regulation of murine Leydig cell steroidogenesis. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2001; 76(1-5): 167-77.
- Maran RR, Arulldhas MM. Adverse effects of neonatal hypothyroidism on Wistar rat spermatogenesis. *Endocr Res.* 2002; 28:141– 54.
- Masson NM, Currie IS, Terrace JD, Garden OJ, Parks RW, et al. Hepatic progenitor cells in human fetal liver expressthe oval cell marker Thy-1. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006; 291(1): 45-54.
- McKenzie JL, Fabre JW. Human thy-1: unusual localization and possible functional significance in lymphoid tissues. *J. Immunol.* 1981; 126(3): 843–50.
- Mendeluk GR, Rosales M. Thyroxin is useful to improve sperm motility. *Int J Fertil Steril.* 2016; 10(2): 208-14.
- Meng X, Lindahl M, Hyvonen M, Parvinen M, De Rooij DG, et al. Regulation of cell fate decision of un differentiated spermatogonia by GDNF. *Science.* 2000; 287: 1489–93.
- Moulakakis KG, Poulakou MV, Dosios T, Dontas I, Sokolis DP, et al. Hypothyroidism and the aorta. evidence of increased oxidative DNA damagetothe aorta of hypothyroidrats. *In vivo.* 2088; 22(5): 603-8.
- Nadjarzadeh A, Sadeghi MR, Amirjannati N, Vafa MR, Motevalian SA, et al. Coenzyme Q10 improves seminal oxidativedefense but does not affect on semen parameters in idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: a randomized double-blind, placebo controlled trial. *J Endocrinol Invest.* 2011; 34(8): e224-8.

- Nadjarzadeh A, Shidfar F, Amirjannati N, Vafa MR, Motevalian SA, et al. Effect of Coenzyme Q10 supplementation on antioxidant enzymes activity and oxidative stress of seminal plasma: a double-blind randomised clinical trial. *Andrologia*. 2014; 46(2): 177- 83.
- Nguyen-Powanda P, Robaire B. Oxidative stress and reproductive function in the aging male. *Biology (Basel)*. 2020; 9: 282.
- Ombelet W, Cooke I, Dyer S, Serour G, Devroey P. Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries. *Hum Reprod Update*. 2008; 14: 605-21.
- Overvad K, Diamant B, Holm L, Holmer G, Mortensen SA, et al. Coenzyme Q10 in health and disease. *Eur J Clin Nutr*. 1999; 53(10): 764-70.
- Phillips BT, Gassei K, Orwig KE. Spermatogonial stem cell regulation and spermatogenesis. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2010; 365(1546): 1663-78.
- Pont S. Thy-1: A lymphoid cells ubset marker capable of delivering an activation signal to mouse T lymphocytes. *Biochimie*. 1987; 69(4): 315–20.
- Reding SC, Stepnoski AL, Cloninger EW, Oatley JM. THY1 is a conserved marker of un differentiated spermatogonia in thepre-pubertalbull testis. *Reproduction*. 2010; 139: 893–903.
- Reif AE, Allen JM. The akrthymic antigen and its distribution in leukemias and nervous tissues. *J Exp Med*. 1964; 120(3): 413-33.
- Rizzoti K, Brunelli S, Carmignac D, Thomas PQ, Robinson IC, et al. SOX3 is required during the formation of the hypothalamo-pituitaryaxis. *Nat Genet*. 2004; 24: 247-55.
- Ronquist GK, Larsson A, Ronquist G, Isaksson A, Hreinsson J, et al. Prostatomal DNA characterization and transfer into human sperm. *Mol Reprod Dev*. 2011; 78: 467-76.
- Sadler TW. *Langman's Medikal Embriyoloji*, Inc. 2011, 11. Baskı, Ankara, Türkiye, p: 246-8.
- Sadri-Ardekani H, Akhondi MA, Van der Veen F, Repping S, van Pelt AM. In vitro propagation of human prepubertal spermatogonial stem cells. *Jama*. 2011; 15; 305(23): 2416-8.
- Sadri-Ardekani H, Mizrak SC, Van Daalen SK, Korver CM, Roepers-Gajadien HL, et al. Propagation of human spermatogonial stem cells in vitro. *Jama*. 2009; 18: 302(19): 2127-34.
- Safarinejad MR, Safarinejad S, Shafiei N, Safarinejad S. Effects of the reduced form of coenzyme Q10 (ubiquinol) on semen parameters in men with idiopathic infertility: a double-blind, placebo controlled, randomized study. *J Urol*. 2012; 188(2): 526-31.
- Safarinejad MR. Efficacy of coenzyme Q10 on semen parameters, sperm function and reproductive hormones in infertile men. *J Urol*. 2009; 182(1): 237-48.
- Safarinejad MR. The effect of coenzyme Q10 supplementation on partner pregnancy rate in infertile men with idiopathic oligoasthenoteratozoospermia: an open-label prospective study. *Int Urol Nephrol*. 2012; 44(3): 689-700.
- Sahoo DK, Roy A, Bhanja S, Chainy GB. Hypothyroidism impairs antioxidant defence system and testicular physiology during development and maturation. *Gen Comp Endocrinol*. 2007; 156:63–70.
- Salas-Huetos A, Rosique-Esteban N, BecerraTomás N, Vizmanos B, Bulló M, et al. The effect of nutrients and dietary supplements on sperm quality parameters: a systematic review and meta analysis of randomized clinical trials. *Adv Nutr*. 2018; 9(6): 833-48.
- Schniertshauer D, Müller S, Mayr T, Sonntag T, Gebhard D, Bergemann J. accelerated regeneration of atp level after irradiation in human skin fibroblasts by coenzyme q10. *Photochem Photobiol*. 2016; 92(3): 488-94.
- Schwarz C, Leichtle AB, Arampatzis S, Fiedler GM, Zimmermann H, et al. Thyroid function and serum electrolytes: does an association really exist?. *Swiss Med Wkly*. 2012; 17: 142.
- Shaknovich R, Yeyati PL, Ivins S, Melnick A, Lempert C, et al. The promyelocytic leukemia zinc finger protein affects myeloid cell growth differentiation and apoptosis. *Mol Cell Biol*. 1998; 18:5533–45.
- Shen JH, Ingraham HA. Regulation of the orphan nuclear receptor steroidogenic factor 1 by Sox proteins. *Mol. Endocrinol*. 2002; 16: 529-40.

- Showell MG, Brown J, Yazdani A, Stankiewicz MT, Hart RJ. Antioxidants for male subfertility. In Cochrane Database of Systematic Reviews. 2001; 1.
- Skoracka K, Eder P, Lykowska-Szuber L, Dobrowolska A, Krela-Kazmierczak I. Diet and nutritional factors in male (in) fertility: under estimated factors. *J ClinMed*. 2020; 9: 1400.
- Spangrude GJ, Weissman SHL. Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells. *Science*. 1988; 241: 58–62.
- Tirabassi G, Vignini A, Tiano L, Buldreghini E, Brugè F, et al. Protective effects of coenzyme Q10 and aspartic acid on oxidative stress and DNA damage in subjects affected by idiopathic asthenozoospermia. *Endocrine*. 2015; 49(2): 549-52.
- Tiseo BC, Gaskins AJ, Hauser R, Chavarro JE, Tanrikut C. Earth study team. Coenzyme Q10 in take from food and semen parameters in a subfertile population. *Urology*. 2017; 102: 100-5.
- Trupp M, Ryden M, Jornvall H, Funakoshi H, Timmusk T, et al. Peripheral expression and biological activities of GDNF a new neurotrophic factor for avian and mammalian peripheral neurons. *J Cell Biol*. 1995; 130: 137–48.
- Uchikawa M, Kamachi Y, Kondoh H. Two distinct subgroups of group b sox genes for transcriptional activators and repressors: their expression during embryonic organogenesis of the chicken. *Mech Dev*. 1999; 84:103-120.
- Valli H, Sukhwani M, Dovey SL, Peters KA, Donohue J, et al. Fluorescence and magnetic activated cell sorting strategies to isolate and enrich human spermatogonial stem cells. *Fertil Steril*. 2014; 102(2): 566- 80.
- Viglietto G, Dolci S, Bruni P, Baldassarre G, Chiariotti L, et al. Glial cell line-derived neurotrophic factor and neurturin can act as paracrine growth factors stimulating DNA synthesis of Ret-expressing spermatogonia. *Int J Oncol*. 2000; 16: 689–94.
- Wagner MS, Wajner SM, Maia AL. The role of thyroid hormone in testicular development and function. *J. Endocrinol*. 2008; 199: 351–65.
- Wagner MS, Wajner SM, Maia AL. Is there a role for thyroid hormone on spermatogenesis? *Mikrosc. research. Technique*. 2009; 72: 796-808.
- Weetman AP. Ioning out thyroid autoimmunity. *Endocr Pract*. 2009; 15(1): 53-5.
- Weiss J, Meeks JJ, Hurley L, Raverot GO, Frassetto A, et al. Sox3 is required for gonadal function, but not sex determination, in males and females. *Mol Cell Biol*. 2003; 23: 8084-91.
- WHO (World Health Organisation). Manual for the standardised investigation and diagnosis of the infertile couple. Inc 2000.
- Wortsman J, Rosner W, Dufau ML. Abnormal testicular function in men with primary hypothyroidism. *Am J Med*. 1987; 82: 207–12.
- Wortsman J, Rosner W, Dufau ML. Abnormal testicular function in men with primary hypothyroidism. *Am J Med*. 1987; 82(2): 207-12.
- Wu J, Song W, Zhu H, Niu Z, Mu H, et al. Enrichment and characterization of Thy1 positive male germ line stem cells (mGSCs) from dairy goat (*Capra hircus*) testis using magnetic microbeads. *Theriogenology*. 2013; 80(9): 1052-60.
- Yoshida A, Miura K, Shirai M. Evaluation of seminiferous tubule scores obtained through testicular biopsy examinations of nonobstructive azoospermic men. *Fertil Steril* 1997; 68(3): 514-8.
- Zegers-Hochschild F, Adamson GD, Dyer S, Racowsky C, Mouzon J, et al. The international glossary on infertility and fertility care. *Hum Reprod*. 2017; 32: 1786-801.
- Zheng Y, He Y, An J, Qin J, Wang Y, et al. THY1 is a surface marker of porcine gonocytes. *Reprod Fertil Dev*. 2014; 26(4): 533-9.
- Zık B, Akkoc CGO, Tütüncü S. Sıçan ovaryumunda düşük doz capsaicinin NF-kB ve XIAP proteininin sentezlenmesi üzerine etkisi. *Ankara ÜniVet Fak Derg*. 2010; 57: 223-8.

8. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı	Hatice Nur	Soyadı	Şeflek
Doğum Yeri		Doğum Tarihi	
E-mail		Uyruğu	T.C.

Eğitim Düzeyi

	Mezun Olduğu Kurumun Adı	Mezuniyet Yılı
Lisans	Selçuk Üniversitesi/Fen Fakültesi/Biyoloji	2012
Yüksek Lisans	NEÜ/Tıp Fakültesi/Histoloji ve Embriyoloji	2015
Doktora	NEÜ/Tıp Fakültesi/Histoloji ve Embriyoloji	2022

İş Deneyimi (Sondan geçmişe doğru sıralayın)

Görevi	Kurum	(Yıl)
. Araştırma Görevlisi	KTO Karatay Üniversitesi Tıp Fakültesi	Devam ediyor.
. ÜYTE Laboratuvar Sorumlusu	Konya Özel Selçuklu Hastanesi	2015-2019

Yabancı Dil	İngilizce
--------------------	-----------

Yayınları/Tebliğleri/Sertifika/Ödülleri

Ulusal/Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

- Şeflek Hatice Nur, Erbayram Fatma Zehra, Menevşe Esmâ. Erkek infertilitesinde güncel semen biyobelirteçleri. Uludağ Üni. Tıp Fak. Derg. 2022;(48)1;121-130.
- Şeflek Hatice Nur, Kalkan Serpil, Cüce Gökhan, Kılınç İbrahim, Sözen Mehmet Enes. Effects of *Nigella sativa* oil on ovarian volume, oxidant

systems, XIAP and NF-kB expression in an experimental model of diabetes. Biotechnic & Histochemistry. 2019;94(5); 325-333. (Yüksek lisans tezi)

- Cüce Gökhan, Sözen Mehmet Enes, Çetinkaya Seda, Canbaz Halime Tuba, Şeflek Hatice Nur, Kalkan Sabiha Serpil (2015). Effects of *Nigella sativa* L. seedoil on intima–mediathickness and Bax and Caspase 3 expression in diabetic rat aorta. Anatol J Cardiol.2015.6326.
- Cüce Gökhan, Şeflek Hatice Nur, Çetinkaya Seda, Aktan Tahsin Murad, Duman Selçuk, Yılmaz Mehmet Tuğrul, Büyükmumcu Mustafa (2014). Effects of Insulin on KidneyTissue in ExperimentalDiabetes. ISJMS. 2015;1(1):8-12.

Ulusal/Uluslararası kongrelerde yayımlanan bildiriler:

- Effect of Black Cumin seed oil on intima-media thickness and Bax and Caspase 3 expression in diabetic rat aorta. Gökhan Cüce, Mehmet Enes Sözen, Seda Çetinkaya Karabekir, Halime Tuba Canbaz, Hatice Nur Şeflek, Sabiha Serpil Kalkan (30.04.2016), Place of Publication: International Participation XIII. National Histology and Embryology Congress. National full text paper.
- Effects of Insulin on Kidney Tissue in Experimental Diabetes. Gökhan Cüce, Hatice Nur Şeflek, Seda Çetinkaya Karabekir, Tahsin Murad Aktan, Selçuk Duman, Mehmet Tuğrul Yılmaz, Mustafa Büyükmumcu (27.05.2014), PublicationPlace: XII. National Histology and Embryology Congress. National Summary statement.
- Effect of *Nigella sativa* oil on ovarian volume, occidan systems, XIAP and NF-KB expression in experimental diabetes model. Hatice Nur Şeflek, Sabiha Serpil Kalkan, Gökhan Cüce, İbrahim Kılınç, Mehmet Enes Sözen (30.04.2016), Place of Publication: XIII. National Histology and Embryology Congress. National Summary statement.

Aldığı Sertifikalar:

- 01.06.2016-01.12.2016 Vehbi Koç Vakfı Özel Amerikan Hastanesi ÜYTE Eğitim Merkezi Embriyoloji Laboratuvar Sorumlusu Sertifikası
- 12.07.2014- 08.02.2015 Necmettin Erbakan Üniversitesi Ahmet Keleşoğlu Eğitim Fakültesi Pedagojik Formasyon Eğitimi Sertifikası

- 08.04.2013-17.04.2013 Necmettin Erbakan Üniversitesi Tıp Fakültesi
Kombassan Araştırma Merkezi Deney Hayvanları Kullanım Sertifikası



9. EKLER

Ek1 Deney hayvanları yerel etik kurul kararı



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN ÜNİVERSİTESİ
KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve
Araştırma Merkezi Müdürlüğü



Karar Sayısı: 2022 – 036

Karar Tarihi: 06.07.2022

Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Kararı

Necmettin Erbakan Üniversitesi Meram Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji ABD'den Prof. Dr. S. Serpil KALKAN ve Hatice Nur ŞEFLEK' in sunduğu **"Deneysel Hipotiroidi Oluşturulan Erkek Ratlarda Koenzim Q10' un Spermatojenik Kök Hücrelere Etkisinin İmmünohistokimya Teknikleri ile Belirlenmesi"** başlıklı tez projesi 11 üyenin katılımı ile değerlendirildi.

Projede 4 grupta toplam 28 adet sıçan kullanılacağı ve anestezi altında servikal dislokasyon ile sakrifiye edileceği bildirilmiştir.

Necmettin Erbakan Üniversitesi KONÜDAM Deneysel Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Yönergesindeki ilgili maddelerde belirtilen başvuru sahibinin sorumlulukları ve hayvan deneyleri ile ilgili etik ilkeler saklı kalmak koşulu ile projenin hazırlanmasında yönerge ilkelerine uyulduğu ve çalışmanın deneysel kısmını gerçekleştirecek araştırmacıların deney hayvanları kullanım sertifikasına sahip olduğu dikkate alınarak projenin hayvan kullanım etiği açısından **"Uygun"** olduğuna oybirliği ile karar verilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Tuğrul YILMAZ

Başkan